

CARACTERIZACIÓN ELÉCTRICA DE TEJIDO ENDOCERVICAL PARA DETERMINAR LESIÓN NEOPLÁSICA DE CUELLO UTERINO

SANDRA PATRICIA CORZO MANTILLA



UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE FÍSICA
BUCARAMANGA
2014

CARACTERIZACIÓN ELÉCTRICA DE TEJIDO
ENDOCERVICAL PARA DETERMINAR LESIÓN
NEOPLÁSICA DE CUELLO UTERINO

SANDRA PATRICIA CORZO MANTILLA
PARA OBTENER EL GRADO DE
MAGISTER EN FÍSICA

DIRECTOR: PH.D DAVID ALEJANDRO MIRANDA MERCADO
CODIRECTOR: PH.D CARLOS AUGUSTO GONZÁLEZ CORREA

UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE FÍSICA
BUCARAMANGA
2014



A Isabella

Agradecimientos

Agradezco a mi tutor, David Alejandro Miranda, quien ha compartido sus conocimientos, ideas y su tiempo conmigo para hacer posible el desarrollo de un gran trabajo del cual este reporte es solo una pequeña muestra.

A la profesora Stelia Carolina Méndez por sus valiosos aportes en bio-química celular.

Al personal médico del Hospital Universitario de Santander y de la Clínica Piedecuesta quienes facilitaron la toma de medidas y la adquisición de las piezas quirúrgicas.

A mis compañeros del grupo CIMBIOS Samuel, Karen, Sandra, Jose, Fábian y especialmente Margen Marcela y Cinthia que me apoyaron en la toma de medidas.

Y por supuesto a mi familia y a Mario Enrique que me apoyan todo el tiempo.

Índice general

Introducción	11
1. Generalidades	12
1.1. Técnicas diagnósticas de cáncer de cuello uterino	12
1.2. Espectroscopia de impedancia eléctrica (EIE)	15
1.3. Hipótesis del efecto de campo carcinogénico	19
1.4. Teoría Generalizada de Medio Efectivo de la Polarización Inducida (GEMTIP)	20
1.5. Nuestra Investigación	23
2. Métodos y Materiales	25
2.1. Modelo de tejido intraepitelial cervical basado en GEMTIP	26
2.2. Diseño y calibración de la sonda de medición	26
2.3. Toma de medidas	27
2.4. Análisis de datos	29
2.5. Consideraciones éticas	30
3. Resultados y discusión	32
3.1. Modelo de propiedades eléctricas del tejido (MOPET)	32
3.2. Implementación y caracterización de sonda para la medición de la impedancia eléctrica	35
3.3. Propiedades eléctricas de cuellos uterinos	41
4. Conclusiones	50
Referencias	52
A. Bibliografía	57

Índice de figuras

1.1. Esquema de un modelo heterogéneo y su correspondiente modelo efectivo, tomado de [45]	20
2.1. Toma de medidas en un útero ex-vivo	29
3.1. Esquema modelo del tejido	33
3.2. Configuraciones de sonda 1 y 2 simuladas con COMSOL multiphysics	35
3.3. Gradiente de potencial generado en le tejido para las configuraciones 1 y 2 simuladas con COMSOL multiphysics	36
3.4. Parte real e imaginaria del espectro de impedancia eléctrica para diferentes conductividades de endocérvix simulado con <i>COMSOL Multiphysics</i> , configuraciones 1 y 2	37
3.5. Esquema del modelo de Cole - Cole con dos dispersiones	38
3.6. Espectros impedancia eléctrica de pepinos variando el tiempo de exposición al ambiente	39
3.7. Espectros impedancia eléctrica de pepinos variando la posición de toma de muestra	40
3.8. Espectros impedancia eléctrica de pepinos con barras conductoras (● datos experimentales – ajuste Cole-Cole)	41
3.9. Parte real e imaginaria de EIE medidos en muestras clasificadas como NO, LSIL, HSIL y CA modeladas con MOPET)	42
3.10. Esquema resistencia opuesta por el tejido y la barra conductora	44
3.11. Espectros de impedancia eléctrica medidos en úteros in-vitro en el rango de frecuencias de 0 a 200Hz ajustados al modelo de Cole - Cole (● datos experimentales – ajuste Cole-Cole)	48
3.12. Espectros de impedancia eléctrica medidos en úteros in-vitro en el rango de frecuencias de 200Hz a 100KHz ajustados al modelo de Cole - Cole (● datos experimentales – ajuste Cole-Cole)	49

Resumen

Título: Caracterización Eléctrica de tejido endocervical para Determinar Lesión Neoplásica de Cuello Uterino. ¹

Autor: Sandra Patricia Corzo Mantilla ²

Palabras Claves: Espectroscopia, impedancia eléctrica, cáncer, endocérvix.

El cáncer de cuello uterino es considerado un problema de salud pública en el mundo. Esta enfermedad avanza gradualmente, y en sus primeras etapas es posible revertirla. Sin embargo, sus síntomas solo se presentan cuando el grado de lesión es muy alto.

En países desarrollados se han logrado reducir las tasas de incidencia y mortalidad por medio de campañas que promueven la toma periódica de citología cervicouterina. Desafortunadamente, en países en vía de desarrollo esta técnica no ha tenido el éxito esperado debido principalmente a falta de cobertura y baja calidad del sistema de adquisición y lectura de muestras.

En respuesta a esta problemática el grupo de investigación CIMBIOS ha desarrollado una serie de trabajos encaminados a implementar una técnica de detección temprana del cáncer de cuello uterino basada en espectroscopia de impedancia eléctrica (EIE), que cuente con alta sensibilidad y especificidad de los resultados, bajos costos de operación, fácil acceso y que entregue resultados en tiempo real.

Acorde a lo anterior se planteó la presente investigación con el objetivo de estudiar las propiedades eléctricas del endocérvix por medio de espectros de impedancia eléctrica medidos en el exocérvix. Con este fin se midió el espectro de impedancia eléctrica de ex-vivo en piezas de úteros frescos extraídas por histerectomía, alterando las propiedades eléctricas del endocérvix por medio de barras conductoras.

Los datos se analizaron un modelo de Cole - Cole con múltiples dispersiones y adicionalmente, se desarrolló un modelo físico - matemático de las propiedades eléctricas del tejido, basado en la teoría generalizada del medio efectivo de la polarización inducida (GEMTIP) el cual presenta una relación clara entre las propiedades eléctricas y las características bioquímicas del tejido .

Los resultados obtenidos sugieren que las propiedades eléctricas en un tejido neoplásico están asociadas al efecto de campo carcinogénico.

¹Proyecto de grado

²Facultad de ciencias, Escuela de física, Director: David Alejandro Miranda Mercado, Codirector: Carlos Augusto González Correa.

Abstract

TITLE: ELECTRICAL CHARACTERIZATION OF TISSUE TO DETERMINE ENDOCERVICAL NEOPLASTIC LESION. ³

Author: Sandra Patricia Corzo Mantilla ⁴

KEYWORDS: Spectroscopy, electrical impedance, cancer, endocervix, exocervix.

Cervical cancer is considered a public health problem in the world. This disease progresses gradually, and in early stages is possible to reverse it. However, symptoms only occur at very high degree of lesion.

In developed countries the incidence and mortality rates have been reduced through campaigns that promote regular cervical cytology. Unfortunately, in developing countries, this technique has not have the expected impact. The lack of coverage and poor quality of taking and reading the samples are the main reasons.

In response to this problem CIMBIOS, our investigation group, has developed a set of research towards implementing an early detection technique for cervical cancer, based on electrical impedance spectroscopy (EIS). Furthermore, with high sensitivity and specificity, low cost and real-time results. According to above, the present investigation was propose in order to study the electrical properties of endocervix by electrical impedance spectra measured on the exocervix. In this way, the electrical impedance spectrum of ex vivo fresh pieces of uteri taken from hysterectomy, were measured by altering the electrical properties of the endocervix using conductive bars.

Data were analyzed according to Cole-Cole model with multiple dispersions and additionally, a physical-mathematical model of electrical properties of tissue. Based on the generalized effective medium theory of induced polarization (GEMTIP), this model shows a clear relationship between electrical and biochemical properties of the tissue.

The results suggest that electrical properties in neoplastic tissue are associated to carcinogenic field effect

³Master degree final project

⁴Facultad de ciencias, Escuela de física, Director: David Alejandro Miranda Mercado, Codirector: Carlos Augusto González Correa.

Introducción

La palabra cáncer fue utilizada por primera vez por el médico Griego Hipócrates (460-370 A.C.), sin embargo, esta enfermedad ha sido descrita en textos egipcios que datan de 1600 A.C.[1] y se ha convertido en uno de los problemas más serios enfrentados por la humanidad durante su existencia.

Actualmente el cáncer es la primera causa de muerte en países desarrollados y la segunda en países en vía de desarrollo, donde priman las muertes por violencia. Según la base de datos GLOBOCAN, se estima que en el año 2012 se presentaron 14.1 millones de nuevos casos de cáncer y 8.2 millones de muertes asociadas a esta enfermedad en el mundo, afectando especialmente personas pertenecientes a poblaciones con problemas socio-económicos (57 % de nuevos casos y 65 % de muertes)[2].

En Colombia la incidencia y mortalidad asociadas al cáncer han aumentado durante los últimos 30 años, en el año 2012 se reportaron 71.442 nuevos casos y 37.884 muertes asociadas a esta enfermedad, siendo el cáncer de próstata, estómago y pulmón, los tipos de cáncer más frecuentes en hombres, y el cáncer de mamas, de cuello uterino y colorrectal los más comunes en mujeres[2, 3].

El cáncer de cuello uterino es de especial interés en el sentido que es una enfermedad evitable y su tratamiento es relativamente fácil si se detecta a tiempo. Por esta razón en el mundo se han implementado campañas de detección temprana con las que se ha logrado disminuir las tasas de incidencia y mortalidad de esta enfermedad durante las últimas décadas. A pesar de esto, el cáncer de cuello uterino sigue siendo el cuarto tipo de cáncer más común en mujeres en el mundo y el segundo en Colombia donde las tasas de incidencia y mortalidad son 18.7/100.000 y 8.0/100.000 respectivamente[3].

Capítulo 1

Generalidades

1.1. Técnicas diagnósticas de cáncer de cuello uterino

1.1.1. Diagnóstico tradicional

El cáncer de cuello uterino es una enfermedad que evoluciona gradualmente en diferentes fases neoplásicas. Durante sus etapas iniciales, el tejido experimenta una serie de cambios asintomáticos que son fácilmente reversibles, es por esto que las técnicas de diagnóstico temprano juegan un papel muy importante en la prevención de esta enfermedad.

La técnica de diagnóstico temprano más utilizada tradicionalmente es la citología con tinción de Papanicolaou o Citología Cervico Vaginal (CCV). Esta técnica consiste en un muestreo celular periódico (una vez al año) en el que se toma una muestra del tejido cervical y endo-cervical mediante un raspado de la superficie del cuello uterino. El tejido se esparce sobre una lámina de vidrio y es estudiado bajo el microscopio para determinar presencia de células anormales [4]. La CCV tiene una baja sensibilidad (aproximadamente 62 %) con aceptable especificidad (aproximadamente 98 %), la cual depende de la preparación de la muestra [5].

Recientemente han sido incorporados sistemas automáticos para preparar las láminas con tinción de Papanicolaou que utilizan una preparación de las muestras en un medio líquido. [6]. Estos procedimientos, conocidos como citología de base líquida, mejoran la calidad de la muestra, pero conducen a resultados comparables con la CCV, es decir, su sensibilidad y especificidad son similares a la CCV. Una limitante de este procedimiento es su alto costo. [4, 6].

Si en la citología se encuentran células anormales que puedan estar asociadas con lesiones preneoplásicas se procede a realizar una colposcopia. Esta técnica consiste en observar el tejido de cuello uterino con una lupa binocular conocida como colposcopio y logra una especificidad de superior a 30 % y una sensibilidad de 87 % aproximadamente [7]. Para poder diferenciar entre tejido normal y patológico, se aplican soluciones de ácido acético y lugol sobre el cuello uterino.

En caso de observar alguna anomalía se deberá practicar una biopsia para estudiar el estado del tejido. La biopsia es un procedimiento que consiste en la extracción de tejido del cuello uterino para su estudio histopatológico. De acuerdo al resultado de este estudio, en casos de lesión preneoplásica de alto grado, se procede a realizar una conización, es decir extirpar un segmento mayor de tejido en forma de cono [8].

1.1.2. Técnicas alternativas

Con la puesta en marcha de campañas de prevención de cáncer de cuello uterino que promueven la toma periódica del test de Papanicolaou, se ha disminuido notoriamente las tasas de incidencia y mortalidad de esta enfermedad en países desarrollados. Sin embargo en países en vía de desarrollo no se ha logrado el impacto esperado; esta diferencia se debe a diversos factores, entre los que sobresalen: dificultad para acceder a los programas de prevención por parte de las mujeres pertenecientes a poblaciones con problemas socio económicos y la ausencia de controles de calidad en la toma y lectura de muestras[9]. Como respuesta a esta problemática, diferentes grupos de investigación en el mundo estudian técnicas alternativas que mejoren la calidad del tamizaje, reduzcan los costos y el tiempo de obtención de resultados y que sea mínimamente invasivas. Algunas de las técnicas que se encuentran en estudio se describen a continuación:

Espectroscopia de fluorescencia inducida por láser (LIFS):

Esta técnica consiste en excitar el tejido haciendo incidir un láser (de aproximadamente 337nm - 460 nm) sobre el área a estudiar, cuando la luz es absorbida por un componente este logra un estado de energía más alto, los componentes fluorescentes re - emiten la energía absorbida como una longitud de onda característica. A medida que un tejido evoluciona de normal a cancerígeno, sus propiedades físico - químicas cambian, lo cual se ve reflejado en su fluorescencia [10]. Diferentes estudios en tejido cervical intraepitelial han mostrado que la fluorescencia de tejido normal es mayor que en tejido anormal, adicionalmente reportan que el uso del LIFS en el tamizaje de lesiones neoplásicas logra valores de sensibilidad y especificidad altos en relación a la citología [11].

Técnicas que implementan el uso de Nano - Partículas (NP):

Las NP son ampliamente utilizadas en el diagnóstico y tratamiento de diversas enfermedades. La estrategia más utilizada se desarrolló con el fin de mejorar la eficiencia en la entrega, funcionalizando las NPs con ligandos específicos que presenten alta afinidad con receptores que son sobre - expresados en células enfermas. Los tejidos con lesiones precancerosas sobre - expresan los receptores de folato. Este comportamiento permite utilizar dicha proteína como un antígeno / biomarcador que se une a folatos extracelulares con una elevada afinidad y,

mediante un proceso de endocitosis los transporta dentro de la célula para el consumo biológico. Los métodos terapéuticos y de diagnóstico explotan esta función del receptor para desarrollar tratamientos contra el cáncer [12, 13] . Con base en esto, se ha desarrollado técnicas de detección de células cancerígenas de cuello uterino (HeLa) con electrodos formados por NP's funcionalizadas con ácido fólico [14] y se ha mostrado que las propiedades eléctricas de células en suspensión con NP's se ven alterados por la internalización de las mismas en las células [15].

Caracterización de tejido a partir de sus propiedades eléctricas

La detección del cáncer por medio del estudio de propiedades eléctricas del tejido se basa en los principios físico-químicos de la interacción de la corriente eléctrica con el tejido. La técnica más utilizada para este tipo de estudio se denomina espectroscopia de impedancia eléctrica (EIS) y consiste en excitar el tejido con una señal sinusoidal de corriente (AC) que varía a múltiples frecuencias y medir la respuesta de este[16]. El uso de esta técnica para el tamizaje de tejido intraepitelial cervical, presenta valores de sensibilidad y especificidad considerablemente altos, brinda la posibilidad de obtener resultados en tiempo real y adicionalmente sus costos son relativamente bajos [17–19].

1.2. Espectroscopia de impedancia eléctrica (EIE)

El interés por el estudio de las propiedades eléctricas de los tejidos se remonta a 1786 cuando Galvani mostró experimentalmente el efecto de la electricidad en las funciones motoras de animales. Sin embargo, solo hasta principios del siglo XX se realizaron las primeras medidas de impedancia eléctrica variando la frecuencia de la señal de corriente, fue entonces cuando se introdujo el concepto de espectroscopia de impedancia eléctrica (EIE) [20, 21]. A finales de siglo XX se utilizó por primera vez ésta técnica para caracterizar tejidos con base en los principios físico químicos de la interacción de los mismos con la corriente eléctrica[20].

La EIE consiste en medir la resistividad eléctrica compleja de un material a múltiples frecuencias, para esto, se excita el material con una señal de corriente que varía en función de la frecuencia de la forma:

$$I(t) = I_0 \text{sen}(2\pi f_0 t) \quad (1.1)$$

Donde I_0 es la amplitud de la señal y f_0 la frecuencia de la misma. La resistividad eléctrica, ρ , es la medida de la oposición del medio al flujo de corriente. La conductividad eléctrica, σ , es el inverso de la resistividad eléctrica, $\sigma = 1/\rho$, y es una medida de la facilidad de un medio para conducir la corriente eléctrica. Si un campo eléctrico \vec{E} está presente en un determinado medio por el cual circula una densidad de corriente \vec{J} , entonces:

$$\vec{J} = \sigma \vec{E} \quad (1.2)$$

El modelo más simple para describir las propiedades eléctricas de los materiales fue propuesto en 1900 por el físico Alemán Paul Drude. Dicho modelo aún es utilizado para estudiar materiales conductores, pero por su simplicidad es ilustrativo para explicar el comportamiento de otros materiales. En el modelo de Drude la conducción eléctrica (y térmica) está asociado al movimiento de los electrones dentro del material, los cuales son tratados como un gas de electrones que cumple con la teoría cinética de los gases. Drude asumió que los electrones chocan contra los centros iónicos que se mantienen en posiciones fijas en el material. Durante los choques las fuerzas que actúan sobre un electrón son despreciables y si no hay ningún campo externo los electrones se mueven en línea recta entre choque y choque. En presencia de un campo externo, los electrones son acelerados de acuerdo a las leyes del movimiento de Newton. Cuando ocurre un choque la velocidad del electrón cambia abruptamente y no se relaciona con la velocidad antes del choque. Para determinar la cantidad de choques que ocurren por unidad de tiempo Drude definió el tiempo libre medio, τ_D , como el tiempo promedio entre choques. De esta manera, para un intervalo de tiempo dt la probabilidad de que ocurran choques está determinada por la relación dt/τ_D . Para mantener la temperatura en el material Drude asumió que los electrones alcanzan el equilibrio con su entorno sólo a través

de colisiones. De esta manera, la ecuación de movimiento de un electrón cuyo momentum es \vec{p} y está sometido a una fuerza externa $\vec{F}(t)$ queda determinada por la ecuación (1.3), donde el segundo término corresponde a un amortiguamiento por fricción debido al efecto de las colisiones que experimentan los electrones [22].

$$\frac{d\vec{p}(t)}{dt} + \frac{1}{\tau_D}\vec{p}(t) = \vec{F}(t) \quad (1.3)$$

Para una excitación AC el campo eléctrico toma la forma de la ecuación (1.1) y la conductividad eléctrica queda determinada por:

$$\sigma = \frac{\sigma_0}{1 - i\omega\tau_D} \quad (1.4)$$

$$\sigma_0 = \frac{nq_e^2\tau_D}{m_e} \quad (1.5)$$

Donde σ_0 es la conductividad eléctrica en continua (DC); n , la densidad de electrones; q_e , la carga del electrón; m_e , la masa del electrón y $\omega = 2\pi f_0$. El hecho de que la conductividad eléctrica AC dependa de la frecuencia introduce el concepto de dispersión el cual significa que el material en estudio tiene un comportamiento que depende de la frecuencia de la señal de excitación [22, 23].

Pese que el modelo de Drude no explica cuantitativamente el comportamiento eléctrico de materiales que no sean conductores, es un modelo que permite describir de manera cualitativa, en el marco de la mecánica clásica, el comportamiento de los electrones dentro de un material.

En el caso de un material dieléctrico perfecto, el modelo más simple para describir las propiedades eléctricas del mismo es el de Debye [24]. En el modelo de Debye las propiedades del dieléctrico son determinadas por la constante dieléctrica, también conocida como permitividad relativa, ϵ_r . De acuerdo al modelo de Debye, las propiedades eléctricas AC de un material dieléctrico homogéneo e isótropo, descritas por la permitividad eléctrica, ϵ , está dada por:

$$\epsilon = \epsilon_\infty + \frac{\epsilon_s - \epsilon_\infty}{1 + i\omega\tau} \quad (1.6)$$

Donde ϵ_∞ es la permitividad eléctrica a frecuencias altas; ϵ_s , la permitividad eléctrica DC y τ el tiempo de relajación del material. Nótese que la ecuación de Debye tiene la misma forma de la ecuación (1.4) para la conductividad eléctrica.

Para los medios dieléctricos con pérdidas, la descripción de las propiedades eléctricas no pueden realizarse con un sólo tiempo de relajación τ sino que se necesita estudiar la distribución de tiempos de relajación en el material. El modelo más simple para describir estos materiales fue propuesto por Cole-Cole [25]:

$$\epsilon = \epsilon_{\infty} + \frac{\epsilon_s - \epsilon_{\infty}}{1 + (i\omega\tau_0)^{1-\alpha}} \quad (1.7)$$

Donde τ_0 es el tiempo de relajación medio y α , un parámetro relacionado con la heterogeneidad del medio. Si $\alpha = 0$ el modelo de Cole-Cole se transforma en la ecuación de Debye para la permitividad eléctrica en un dieléctrico.

Así como en los conductores y los dieléctricos, las propiedades eléctricas de los tejidos biológicos dependen de la amplitud, I_0 , y frecuencia, f_0 , de la señal de excitación. Para amplitudes bajas, es decir, densidades de corriente y campo eléctricos inferiores a $1mA/cm^2$ y $1V/cm^2$, respectivamente, el tejido cumple con la ley de Ohm, ecuación (1.2); en otras palabras, exhibe un comportamiento lineal. En el caso de la dependencia con respecto a la frecuencia de excitación, hasta aproximadamente $10kHz$ las propiedades eléctricas de un tejido están determinadas por los procesos en la interfaz electrodo tejido así como por la relajación y polarización de los espacios cargados. A esta región (de frecuencias) se le conoce como zona de dispersión α . Para frecuencias en el rango de las ondas de radio, entre $10kHz$ y $10MHz$, se presenta la zona de dispersión β , en la cual las propiedades del tejido están determinadas por la polarización y relajación interfacial; en esta zona es posible estudiar las características eléctricas de los espacios extracelulares ($\sim 10kHz$) e intracelulares ($\sim 10MHz$). A frecuencias superiores a $10MHz$ se presenta la zona de dispersión γ que está relacionada con la relajación dipolar, principalmente debida a las moléculas de H_2O [26, 27].

EIE y tamizaje de neoplasia cervical intraepitelial

El espectro de impedancia eléctrica de un tejido depende de la composición del mismo. Según [28] para frecuencias comprendidas entre unos pocos KHz y 1 MHz (zona de dispersión β) la magnitud de la impedancia es determinada principalmente por la estructura celular. En el caso del tejido intraepitelial cervical normal dicha estructura es estratificada. A medida que el tejido evoluciona de normal a cancerígeno atraviesa unas etapas neoplásicas durante las cuales sufre cambios estructurales y fisiológicos graduales que se ven reflejados en sus propiedades eléctricas [29].

Partiendo de esta premisa, en el año 2000 Brian Brown y sus colaboradores de la universidad de Sheffield midieron el espectro de impedancia eléctrica en 8 puntos del útero, a una población de 124 mujeres que asistieron a un examen colposcópico. De esta forma observaron diferencias en los espectros que estaban relacionadas con el estado en que se encontraba el tejido según la colposcopia, este estudio arrojó una sensibilidad y especificidad de 75 % y 71 % respectivamente para el tamizaje de neoplasia intraepitelial cervical por medio de EIE [30].

El mismo año se reportaron los resultados de un estudio en el que se implementó la técnica de elementos finitos para modelar las propiedades eléctricas del tejido intraepitelial cervical normal y preneoplásico, con el cual se ratificó que los espectros de impedancia eléctrica de

tejidos difieren según el estadio neoplásico del tejido, las diferencias observadas fueron similares a las reportadas en el trabajo experimental de Brown [31].

En 2003 se publicaron los resultados de un estudio realizado con el *Polar Probe*, un dispositivo de fabricación australiana que mide los espectros de impedancia eléctrica e infrarrojo cercano de tejido de cuello uterino in-situ para determinar la presencia de células anormales. Este estudio que se realizó entre varios centros médicos en diez países, e incluyó 651 pacientes sugirió que esta tecnología podría complementar a la citología con tinción de Papanicolaou, [17] aumentando tanto la sensibilidad como la especificidad del tamizaje.

Recientemente se dieron a conocer los resultados de un estudio realizado con un dispositivo de fabricación inglesa llamado *Zilico*, el cual mide el espectro de impedancia eléctrica de tejido de forma tetrapolar ¹. Con este estudio se determinó que el uso de EIE como complemento de la colposcopia mejora el rendimiento clínico de la prueba y conlleva a un tratamiento más adecuado de las pacientes[32].

En Colombia, mejorar el sistema de tamizaje de cáncer de cuello uterino es una necesidad inminente [3]. El uso de la EIE como técnica de acompañamiento al test de Papanicolaou es una potencial solución a algunos de los problemas que presentan las campañas de prevención en nuestro país: mejora la sensibilidad y especificidad del muestreo y permite obtener resultados en tiempo real con lo que se garantiza que las pacientes reciban un diagnóstico preciso y oportuno. Estas razones han incentivado el interés por esta técnica en grupos de investigación pertenecientes a la Universidad de Caldas [33, 34] y a la Universidad Industrial de Santander (UIS).

El grupo de investigación Ciencia de Materiales Biológicos y Semiconductores (*CIMBIOS*) de la UIS inició investigaciones en esta área con un estudio piloto publicado en 2006, en el que se encontró que algunos parámetros de Cole - Cole están altamente relacionados con el estado histopatológico del tejido, sugiriendo valores de sensibilidad y especificidad superiores a 80 % [35] para el tamizaje de neoplasia intraepitelial con EIE.

Dos años más tarde se reportó un algoritmo para la obtención de los parámetros de Cole Cole a partir de medidas solo de la parte real del espectro de impedancia eléctrica [36].

En el 2012 se publicaron los resultados de un estudio in - vivo realizado en 53 mujeres que asistieron a la toma de citología en la Liga Santandereana de Lucha contra el Cáncer. Los datos de este estudio, ajustados al modelo Cole - Cole por medio del algoritmo Miranda - López mostraron valores de sensibilidad y especificidad superiores al 70 % [18, 37].

Un año más tarde se propuso un modelo de tejido intraepitelial cervical basado en la teoría generalizada de medio efectivo (*GEMTIP*), el cual permite comprender la relación entre los parámetros fisiológicos del tejido y su espectro de impedancia eléctrica, los valores numéricos de este modelo muestran indicios de la existencia del campo carcinogénico [38].

¹<http://www.zilico.co.uk>.

1.3. Hipótesis del efecto de campo carcinogénico

El concepto de campo carcinogénico fue introducido en 1953 por *Slaughter* y coinvestigadores [39]. *Slaughter* estaba convencido de que el cáncer no inicia como un fenómeno celular aislado sino como una tendencia anaplásica de la que participan muchas células al tiempo. En un estudio que incluyó 783 pacientes con cáncer de labio, cavidad oral y faringe encontró que estos tipos de cáncer presentan un crecimiento lateral de tumores separados entre sí hasta dos centímetros, adicionalmente 88 de los 783 pacientes presentaron tumores independientes, comprobando la teoría del crecimiento multifocal del cáncer. A este fenómeno lo llamó efecto de campo carcinogénico.

A pesar de la evidencia clínica, no se contaba con el conocimiento suficiente para explicar este efecto, pasó casi medio siglo antes de que se estableciera que la evolución de una célula de normal a cancerígena se debe a la acumulación de una serie de alteraciones genéticas. En el año 2003 [40], presentaron un modelo molecular que explica el efecto de campo carcinogénico como el resultado de que una o más células madre experimentan mutaciones genéticas y forman “parches” con células hijas genéticamente alteradas. Como consecuencia de sucesivas mutaciones genéticas la célula madre pierde el autocontrol de crecimiento y se convierte en un clon en expansión.

Dos años mas tarde [41] publicaron los resultados de un estudio en el que se observó un incremento de sangre en la microvasculatura del colon durante etapas preneoplásicas, en su artículo *Wali* y coinvestigadores sugirieron que este comportamiento era una evidencia del efecto de campo carcinogénico.

Además del modelo de expansión clonal otros modelos han sido propuestos para explicar el efecto del campo carcinogénico, sin embargo aún no se tiene una respuesta clara de cómo se desarrolla este campo que tiene implicaciones clínicas importantes como la tendencia a aparecer nuevos tumores o tumores secundarios en pacientes a quienes se les ha extirpado un tumor primario [42].

El conocimiento de la existencia del campo carcinogénico permite el desarrollo de técnicas de detección temprana más precisas, basadas en la existencia de células genéticamente mutadas, estas células pueden no presentar cambios histológicos y pasar por células normales ante los métodos de detección tradicionales.

Recientemente Backman y Roy propusieron un método de pretamizaje utilizando técnicas ópticas para localizar biomarcadores de campo carcinogénico, con lo cual es posible determinar un factor de riesgo de los pacientes a desarrollar cáncer antes de iniciar etapas preneoplásicas[43, 44] .

1.4. Teoría Generalizada de Medio Efectivo de la Polarización Inducida (GEMTIP)

La teoría generalizada de medio efectivo (GEMTIP) es un modelo físico matemático desarrollado por Zhdanov para explicar el fenómeno de polarización inducida en rocas en presencia de un campo eléctrico externo [45]. Aunque inicialmente GEMTIP fue ideada para aplicación específica a formaciones rocosas, el comportamiento y parámetros descritos por el modelo son similares a los del tejido y pueden ser extrapolados al mismo [38].

La teoría de medio efectivo (EMT) establece que un medio no homogéneo puede ser reemplazado por un medio homogéneo equivalente (medio efectivo) que macroscópicamente responde a perturbaciones externas de la misma forma que el medio original.

En este sentido un medio heterogéneo puede ser modelado como la superposición de un medio base de conductividad homogénea $\hat{\sigma}_b$ con partículas incrustadas cuya conductividad anómala es $\Delta\hat{\sigma}(\mathbf{r})$, de tal forma que la conductividad efectiva puede expresarse como:

$$\widehat{\sigma}_b(\mathbf{r}) = \hat{\sigma}_b + \Delta\hat{\sigma}(\mathbf{r}). \quad (1.8)$$

Con base en esto, Zhdanov consideró una formación rocosa heterogénea como un modelo compuesto formado por un medio homogéneo e isótropo con tensor de conductividad compleja $\hat{\sigma}_0$, en el que se alojan N clases de granos con diferente forma, orientación, tamaño a_l , y conductividad $\hat{\sigma}_l$. Así expresó la conductividad del medio como:

$$\hat{\sigma}(\mathbf{r}) = \begin{cases} \hat{\sigma}_0 & \text{para la fraction de volumen } f_0 = (1 - \sum_{l=1}^N f_l) \\ \hat{\sigma}_l & \text{para la fraction de volumen } f_l. \end{cases} \quad (1.9)$$

Donde f_0 es la fracción de volumen ocupada por el medio homogéneo y f_l la fracción de volumen ocupada por todas las incrustaciones del l-ésimo tipo.

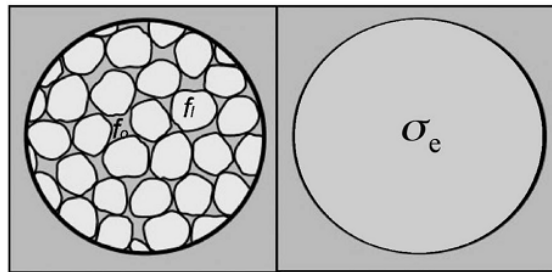


Figura 1.1: Esquema de un modelo heterogéneo y su correspondiente modelo efectivo, tomado de [45]

Adicionalmen asumió que el campo externo aplicado es relativamente pequeño, de tal forma que la caída de potencial Δu generada en la superficie del grano por efectos de doble

capa, que tienen su origen en la interacción electroquímica entre el grano y el medio, es lineal y proporcional al flujo de corriente normal a la superficie de la partícula:

$$\Delta u = k(\mathbf{n} \cdot \mathbf{j}) \quad (1.10)$$

En esta ecuación k es un factor de polarizabilidad superficial que generalmente es complejo y depende de la frecuencia, \mathbf{n} es un vector unitario normal a la superficie y $j^2 = -1$.

La EMT se sustenta en dos postulados fundamentales:

- El medio homogéneo efectivo está sujeto a un campo eléctrico \mathbf{E}^b que es igual al promedio del campo original aplicado:

$$\mathbf{E}^b = \langle \mathbf{E} \rangle = V^{-1} \iiint_{\mathbf{V}} \mathbf{E}(\mathbf{r}) dv \quad (1.11)$$

- La distribución de la densidad de corriente del medio efectivo es igual al promedio de la densidad de corriente del medio original:

$$j_e = \hat{\sigma}_e \cdot \mathbf{E}^b = \hat{\sigma}_e \langle \mathbf{E} \rangle = \langle \hat{\sigma} \cdot \mathbf{E} \rangle \quad (1.12)$$

Reemplazando (1.8) en (1.12) se obtiene:

$$\hat{\sigma}_e \cdot \mathbf{E}^b = \hat{\sigma}_b \cdot \mathbf{E}^b + \langle \Delta \hat{\sigma} \cdot \mathbf{E} \rangle \quad (1.13)$$

Ahora el problema se reduce a hallar el segundo término de la expresión (1.13).

En el medio efectivo, el campo eléctrico debido a las anomalías no es homogéneo, sin embargo es posible hallar una proporcionalidad entre este y el campo eléctrico homogéneo del medio base utilizando una aproximación quasilineal. De esta forma el campo eléctrico total puede ser expresado como:

$$\mathbf{E}(\mathbf{r}) = (\hat{\mathbf{I}} + \hat{\boldsymbol{\lambda}}(\mathbf{r}')) \cdot \mathbf{E}^b \quad (1.14)$$

Donde $\hat{\boldsymbol{\lambda}}$ es un tensor de reflectividad eléctrica. Combinando las ecuaciones (1.12), (1.13) y (1.14) se obtiene:

$$j_e = \hat{\sigma}_e \cdot \mathbf{E}^b = \hat{\sigma}_b \cdot \mathbf{E}^b + \langle \hat{\mathbf{m}} \rangle \cdot \mathbf{E}^b \quad (1.15)$$

Es decir:

$$\hat{\sigma}_e = \hat{\sigma}_b + \langle \hat{\mathbf{m}} \rangle. \quad (1.16)$$

En este caso $\hat{\mathbf{m}}$ es un tensor que depende de las propiedades del material y está definido como $\hat{\mathbf{m}}(\mathbf{r}) = \Delta \hat{\sigma}(\mathbf{r}') \cdot (\hat{\mathbf{I}} + \hat{\boldsymbol{\lambda}}(\mathbf{r}'))$.

El campo eléctrico generado en el medio por las corrientes inducidas dentro de las incrustaciones con conductividades anómalas $\Delta\hat{\sigma}(\mathbf{r})$ puede ser expresado como:

$$\mathbf{E}(\mathbf{r}) = \mathbf{E}^b + \iiint_{\mathbf{V}} \hat{\mathbf{G}}_b(\mathbf{r}/\mathbf{r}') \cdot [\Delta\hat{\sigma}(\mathbf{r}') \cdot \mathbf{E}(\mathbf{r}')] dv' \quad (1.17)$$

Donde $\hat{\mathbf{G}}(\mathbf{r}/\mathbf{r}') = \nabla \cdot \nabla' g_b(\mathbf{r}/\mathbf{r}') = \nabla \cdot \nabla' \frac{1}{4\pi\sigma_b|\mathbf{r}-\mathbf{r}'|}$, es un tensor de Green.

Los efectos de polarizabilidad debidos a la polarización superficial de las incrustaciones, pueden ser expresados como un campo generado por la doble capa formado cerca de la superficie de cada anomalía que con densidad de momento dipolar eléctrico $\mathbf{M}_s = \Delta u \mathbf{n}$:

$$\mathbf{E}^p(\mathbf{r}) = \nabla \iint_{\mathbf{S}} \nabla' g_b(\mathbf{r}/\mathbf{r}') \sigma_b \cdot \mathbf{n}(\mathbf{r}') \Delta u ds' \quad (1.18)$$

Donde la caída de potencial Δu tiene la forma de la ecuación (1.10).

El campo total se obtiene sumando el campo del medio anfitrión y el campo de polarización inducida, reemplazando $\hat{\mathbf{m}}$ tenemos:

$$\mathbf{E}(\mathbf{r}) = \mathbf{E}^b + \iiint_{\mathbf{V}} \hat{\mathbf{G}}(\mathbf{r}/\mathbf{r}') \cdot [\hat{\mathbf{m}}(\mathbf{r}') \cdot \mathbf{E}^b] dv' + \iint_{\mathbf{S}} \hat{\mathbf{G}}_b(\mathbf{r}/\mathbf{r}') \cdot \mathbf{n}(\mathbf{r}') \times (\mathbf{n}(\mathbf{r}') \cdot \hat{\xi}(\mathbf{r}') \cdot [\hat{\mathbf{m}}(\mathbf{r}') \cdot \mathbf{E}^b]) \quad (1.19)$$

Donde $\hat{\xi}(\mathbf{r}')$ es el tensor conductividad relativa de una incrustación.

En la ecuación (1.19) la primera integral representa una suma de integrales sobre el volumen V_l y la segunda una suma de integrales sobre la superficie S_l de de cada incrustación.

Se puede asumir que los tensores $\hat{\mathbf{m}}(\mathbf{r}')$ y $\hat{\xi}(\mathbf{r}')$ son constantes dentro del volumen V_l acotado por la superficie S_l de tal forma que $\hat{\mathbf{m}}(\mathbf{r}') = \hat{\mathbf{m}}_l$ y $\hat{\xi}(\mathbf{r}') = \hat{\xi}_l$ para $\mathbf{r}' \in V_l$.

Las integrales sobre un solo grano están dadas por:

$$\mathbf{E}_l(\mathbf{r}) = \iiint_{V_l} \hat{\mathbf{G}}(\mathbf{r}/\mathbf{r}') dv' \cdot \hat{\mathbf{m}}_l \cdot \mathbf{E}^b + \iint_{S_l} \hat{\mathbf{G}}_b(\mathbf{r}/\mathbf{r}') \cdot \mathbf{n}(\mathbf{r}') \mathbf{n}(\mathbf{r}') ds' \cdot \hat{\xi}_l \cdot \hat{\mathbf{m}}_l \cdot \mathbf{E}^b \quad (1.20)$$

Donde,

$$\mathbf{\Gamma}_l = \iiint_{V_l} \mathbf{G}(\mathbf{r}/\mathbf{r}') dv'; \quad \mathbf{\Lambda}_l = \iint_{S_l} \mathbf{G}(\mathbf{r}/\mathbf{r}') \cdot \mathbf{n}(\mathbf{r}') \mathbf{n}(\mathbf{r}') ds' \quad (1.21)$$

son tensores de depolarización.

Substituyendo los tensores de depolarización en la ecuación (1.20), y usando los tensores de polarizabilidad superficial y volumétrica:

$$\hat{\mathbf{p}}(\mathbf{r}') = \mathbf{\Gamma}_l^{-1} \cdot \mathbf{\Lambda}_l \cdot \hat{\xi}(\mathbf{r}') \quad \hat{\mathbf{q}}(\mathbf{r}') = [\hat{\mathbf{I}} + \hat{\mathbf{p}}(\mathbf{r}')] \cdot \hat{\mathbf{m}}(\mathbf{r}') \quad (1.22)$$

el campo total puede ser expresado como:

$$\mathbf{E}_l(\mathbf{r}) = \mathbf{E}^b + \iiint_{\mathbf{V}} \hat{\mathbf{G}}(\mathbf{r}/\mathbf{r}') \hat{\mathbf{q}}(\mathbf{r}') dv' \cdot \mathbf{E}^b \quad (1.23)$$

Y el tensor $\hat{\mathbf{m}}$ como:

$$\hat{\mathbf{m}} = [\hat{\mathbf{I}} + \hat{\mathbf{p}}^{-1}] \hat{\mathbf{q}}; \quad \langle \hat{\mathbf{m}} = [\hat{\mathbf{I}} + \hat{\mathbf{p}}^{-1}] \hat{\mathbf{q}} \rangle \quad (1.24)$$

Reemplazando la ecuación (1.24) en (1.16) se obtiene una expresión para calcular la conductividad efectiva de cualquier medio compuesto polarizado:

$$\hat{\sigma}_e = \hat{\sigma}_b + \langle [\hat{\mathbf{I}} + \hat{\mathbf{p}}]^{-1} \hat{\mathbf{q}} \rangle = \hat{\sigma}_b + [\hat{\mathbf{I}} + \hat{\mathbf{p}}_0]^{-1} \hat{\mathbf{q}}_0 f_0 + \sum_{l=1}^N [\hat{\mathbf{I}} + \hat{\mathbf{p}}_l]^{-1} \hat{\mathbf{q}}_l f_l \quad (1.25)$$

Puede demostrarse que el modelo de Cole - Cole es un caso particular de GEMTIP, en que todas las esferas tienen radio a_1 y resistividad ρ_1 .

Bajo la hipótesis de que el comportamiento de tejidos biológicos en presencia de un campo eléctrico aplicado es similar al descrito por Zhdanov para formaciones rocosas, se propuso un modelo para describir las propiedades eléctricas de tejidos en el marco de GEMTIP [38], el cual se presentará en el capítulo 3.

Una descripción más detallada de GEMTIP puede ser consultada en [45, 46].

1.5. Nuestra Investigación

La presente investigación forma parte de una serie de trabajos desarrollados por el grupo de investigación CIMBIOS, en los que se estudia las propiedades físico-químicas del cáncer con el fin de generar técnicas que mejoren la prevención, detección y tratamiento del mismo.

Una de las técnicas que se ha estudiado es el tamizaje de tejido cervical por medio de espectroscopia de impedancia eléctrica. Esta técnica ha mostrado resultados favorables para la detección temprana de cáncer de cuello uterino, presentando resultados con alta sensibilidad y especificidad en tiempo real y con costos de operación relativamente bajos.

Sin embargo, en los estudios que se encuentran reportados solo hacen medidas de impedancia eléctrica en el exocervix. Teniendo en cuenta que el cáncer de cuello puede iniciar tanto en el endocervix como en el exocervix, una técnica de detección completa debe dar información tanto del estado del tejido endocervical como del exocervical.

En vista de lo anterior, y debido a que tomar medidas en el endocervix no es fácil debido a sus dimensiones, se planteó esta investigación con el objetivo principal de estudiar las propiedades eléctricas del endocervix por medio de espectros de impedancia medidos en el exocervix.

En el capítulo 2 de este libro se describe la metodología utilizada para cumplir este objetivo y los resultados obtenidos se presentan en el capítulo 3. Las conclusiones del trabajo realizado pueden ser revisadas en el capítulo 4.

Capítulo 2

Métodos y Materiales

A continuación se describe la metodología seguida para cumplir el objetivo principal de la presente investigación: estudiar las propiedades eléctricas del tejido endocervical a partir el espectro de impedancia eléctrica medido en el exocervix.

Es importante tener presente que este trabajo fue propuesto en el marco de una investigación más generalizada cuyo objetivo es desarrollar una técnica de detección temprana de cáncer de cuello uterino que logre la máxima eficacia posible en cuanto a capacidad de discriminación de los diferentes estadios de neoplasia intraepitelial cervical, bajo costo, fácil accesibilidad a la toma de muestras y entrega de resultados en tiempo real.

Por tanto algunos aportes metodológicos de este estudio no solo buscan cumplir el objetivo planteado, sino que además están pensados para contribuir a la mejor comprensión del comportamiento del tejido intraepitelial cervical.

2.1. Modelo de tejido intraepitelial cervical basado en GEMTIP

Con base en la literatura consultada y en trabajos desarrollados anteriormente por el grupo de investigación CIMBIOS, se identificaron algunas dificultades al analizar los datos obtenidos por espectroscopia de impedancia eléctrica en tejido cervical intraepitelial.

En consecuencia se planteó un modelo físico matemático del tejido en el marco de la teoría generalizada del medio efectivo de la polarización inducida propuesta por [45], y se implementó en el análisis de espectros de impedancia eléctrica medidos in-vivo a 56 mujeres que asistieron a la toma citología en la Liga Santandereana Contra el Cáncer [37].

Los datos fueron ajustados al modelo propuesto por medio de algoritmos genéticos y se extrajeron los parámetros: Resistividad del medio extracelular ρ_0 , M_l que relaciona la resistividad del medio extracelular con la del medio intracelular, el tiempo de relajación τ_l y c_l un parámetro relacionado con el proceso de relajación del tejido.

2.2. Diseño y calibración de la sonda de medición

2.2.1. Diseño de la sonda

Con el fin de seleccionar la sonda que presentara mayores beneficios para nuestro estudio, es decir, que permitiera obtener la mayor cantidad de información acerca de las propiedades eléctricas del endocervix a partir de de espectros de impedancia medidos en el exocervix, se simuló el comportamiento de sondas con diferentes configuraciones geométricas.

Para ello se utilizó la interfaz gráfica de la herramienta computacional COMSOL multiphysics, en la cual se construyó la geometría a simular: dos electrodos sobre el cuello del útero representado por un cilindro de $12.5mm$ de radio y $35mm$ de altura (exocervix) concéntrico con otro de $3.5mm$ de radio y $25mm$ de altura (endocervix). Se definieron las propiedades eléctricas de los electrodos y se asignó el material correspondiente a cada ente geométrico.

Una vez montado el prototipo físico se construyó una malla tetraedral y se implementó un estudio en el dominio de la frecuencia en el rango de $100mHz$ a $1000KHz$ aplicando una señal de corriente de $40\mu A$.

De esta manera se evaluó el comportamiento de cada configuración para seleccionar la más sensible a cambios en las propiedades eléctricas del endocervix y proceder a su fabricación. Los electrodos fueron fabricados en oro debido a que es un material biocompatible.

2.2.2. Calibración de la sonda

La sonda escogida a partir de los resultados de las simulaciones fue calibrada digitalmente simulando mediciones de impedancia eléctrica de en medios con resistividad real ρ conocida.

Se graficó la resistividad en función de la impedancia y se aplicó una regresión lineal para hallar una función de la forma $\rho = mZ + b[\Omega m]$ y calcular el valor del factor de forma m .

Una vez fabricada la sonda se sometió a un proceso de calibración experimental, en este caso se midió el espectro de impedancia eléctrica de soluciones electrolíticas de NaCl preparadas en el laboratorio y cuya resistividad ρ se conocía.

Usando un modelo inverso de Cole - Cole se calculó la impedancia a alta frecuencia Z_∞ de cada solución y se graficó la resistividad en función de esta impedancia. El factor de forma experimental m_{exp} fue calculado por medio de una regresión lineal.

2.3. Toma de medidas

La toma de medidas constó de dos etapas : Medidas en tejido vegetal y medidas en úteros ex-vivo. Las medidas se tomaron con el potencióstato PGSTAT204 de Autolab, en modo galvanostático y con una señal de excitación de $40\mu A$ variando en el rango de frecuencias de 100 mHz a 100 KHz.

Inicialmente se planteó inyectar soluciones electrolíticas de cloruro de sodio de diferentes conductividades en el endocervix para emular cambios en sus propiedades eléctricas. Sin embargo, por sugerencia del personal médico, se cambiaron las soluciones electrolíticas por barras sólidas de diferentes materiales con el fin de evitar daños en las células, que podrían alterar los resultados del estudio histopatológico, debido al agua inyectada.

2.3.1. Medidas en tejido vegetal

Antes de iniciar la toma de medidas en piezas de uteros fue preciso elaborar y afinar un protocolo de medición que permitiera verificar la hipótesis de que el espectro de impedancia eléctrica proporciona información no solo de la zona en la que se ubican directamente los electrodos de medición, sino también de los cambios en las propiedades eléctricas de la zona central a la distribución de los electrodos.

Con este fin se midió el espectro de impedancia de rodajas de pepino, alterando intencionalmente las propiedades eléctricas de su centro geométrico con barras de diferentes materiales.

Un aspecto importante en este tipo de medidas es garantizar que los cambios observados en las propiedades eléctricas del pepino no fueran ocasionados por la oxidación del tejido al interactuar con el aire, ni de la ubicación longitudinal de la cual se toma la rodaja. Por lo anterior se realizaron medidas variando el tiempo de exposición del tejido al medio ambiente y la ubicación longitudinal de la rodaja en el pepino de la siguiente forma:

Variación del tiempo de exposición

Se tomó una rebanada de aproximadamente 1cm de longitud y se midió su espectro de impedancia eléctrica mientras el resto del pepino quedo expuesto al aire. Minutos después se tomó otra rebanada similar a la anterior y del mismo pepino, cuidando de eliminar unos milímetros del borde expuesto al aire y se midió un nuevo espectro de impedancia. Este procedimiento se repitió cinco veces a intervalos de 8 minutos y limpiando los electrodos con agua tipo uno antes de cada medida.

Variación de la posición longitudinal

Para observar como varían las propiedades eléctricas del pepino dependiendo de la posición longitudinal en la que se midan, se midió el espectro de impedancia eléctrica en rodajas de aproximadamente 1cm de longitud tomadas de diferentes ubicaciones respecto a un extremo de un mismo pepino.

Variación de las propiedades eléctricas del centro de la geometría

Con la sonda de medición ubicada en una cara transversal de una rodaja de pepino de aproximadamente 1cm de longitud se midió el espectro de impedancia eléctrica y se almacenaron los datos.

A una nueva rodaja se le introdujo una barra conductora ($\sigma = 1.21 * 10^{-06} \Omega m$) en el centro, y se midió su espectro de impedancia eléctrica ubicando la sonda de medición en una las caras transversales y concéntrica con la barra.

Este procedimiento se repitió con barras de hierro, aluminio y bronce cuyas conductividades experimentales respectivas fueron: $\sigma = 1.21 * 10^{-06} \Omega m$, $\sigma = 1.47 * 10^{-07} \Omega m$, $\sigma = 1.06 * 10^{-07} \Omega m$ y $\sigma = 0.62 * 10^{-07} \Omega m$, $0.62E - 07 \Omega m$. Antes de cada medida se limpiaron los electrodos con agua tipo uno para eliminar impurezas.

2.3.2. Medidas en úteros ex-vivo

Se midió el espectro de impedancia eléctrica en 6 piezas de úteros obtenidos por histerectomía. Estas medidas se llevaron a cabo bajo el aval del comité de ética de la Universidad Industrial de Santander en las instalaciones del Hospital Universitario de Santander y de la clínica Piedecuesta. Se contó con el apoyo del personal médico de estas dos instituciones, con quienes fue preciso acordar el procedimiento a seguir.

Antes de iniciar la toma de medidas se contactó a cada paciente y posible participante del estudio para explicarle los objetivos, el procedimiento, los riesgos y beneficios de la investigación y consultar si deseaba participar. En los casos en que la respuesta fue afirmativa se pidió firmar un consentimiento informado.

Para ingresar al área de cirugía se vistió el traje de mayo, polainas, gorro, tapabocas y guantes asegurándose de cumplir las normas del quirófano. En esta área se preparó el equipo de medición para iniciar la toma de medidas en el momento en que el personal médico facilitara la pieza extraída.

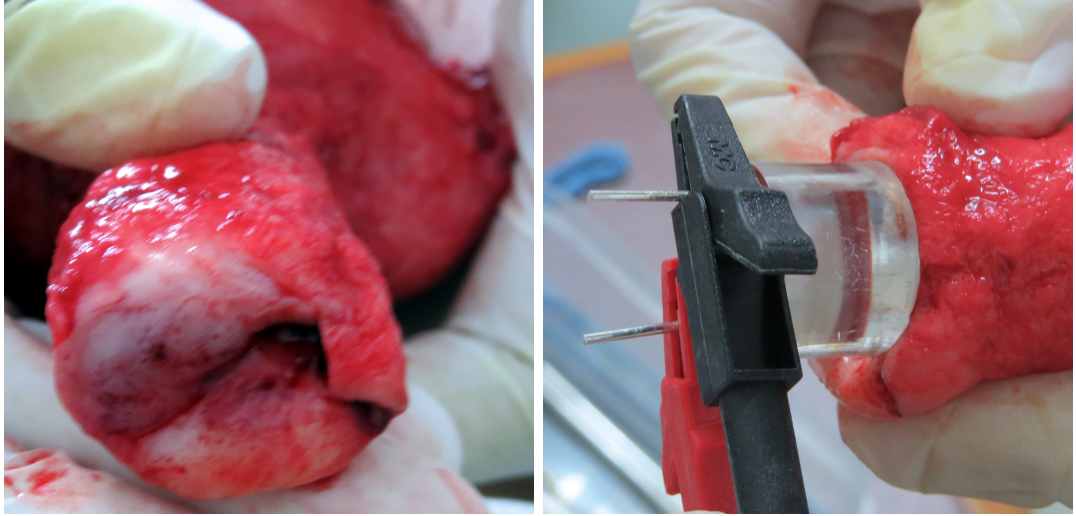


Figura 2.1: Toma de medidas en un útero ex-vivo

Una vez obtenida la pieza se ubicó la sonda sobre el cuello uterino de manera que el endocervix quedara en medio de los dos electrodos, se midió el espectro de impedancia eléctrica y se almacenaron los datos.

Paso seguido se introdujo una barra de acero en el endocervix cuidando de no dañar el tejido, se ubicó nuevamente la sonda y se tomó y almaceno el espectro de impedancia eléctrica.

Este procedimiento se repitió para barras de hierro, aluminio y bronce cuyas conductividades experimentales respectivas fueron: $\sigma = 1.21 * 10^{-06} \Omega m$, $\sigma = 1.47 * 10^{-07} \Omega m$, $\sigma = 1.06 * 10^{-07} \Omega m$ y $\sigma = 0.62 * 10^{-07} \Omega m$, $0.62E - 07 \Omega m$, limpiando la sonda de medición con agua tipo uno antes de cada medida para eliminar impurezas que pudieran alterar los resultados.

Por último se esterilizaron los materiales utilizados sumergiéndolos en Cidex durante al menos 20 minutos.

2.4. Análisis de datos

Los espectros de impedancia eléctrica medidos fueron separados en dos rangos de frecuencia para facilitar su análisis: (0 - 200Hz) y (200Hz a 100KHz). A cada segmento del espectro se le aplicó un modelo inverso de Cole - Cole con múltiples dispersiones por medio del algoritmo propuesto por [47] y se extrajeron los parámetros: impedancia a alta frecuencia Q_{∞} , impedancia a baja frecuencia Q_0 , la diferencia $\Delta Q_i = Q_0 - Q_{\infty}$ para $i = 1, 2, 3, \dots N$ donde N

es el número total de dispersiones del espectro y c_i un parámetro relacionado con el tiempo de relajación del tejido.

Con base en estos parámetros se hizo un análisis para determinar los cambios que sufre el espectro de impedancia eléctrica al alterar las propiedades del endocervix.

2.5. Consideraciones éticas

El protocolo de investigación fue aprobado por el comité de ética en investigación Científica de la UIS y por el comité asesor de posgrado de la maestría en física de la UIS. Todos los procedimientos se llevaron a cabo de acuerdo con los principios y las normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud de la Resolución 008430 del 04 de Octubre de 1993 del Ministerio de Salud de la República de Colombia [48]. Para garantizar los principios éticos en esta investigación se tuvo en cuenta lo siguiente:

Respeto y Autonomía

La participación de los individuos en la investigación fue voluntaria. Para ingresar al estudio se solicitó el consentimiento informado escrito de la paciente y se le informo su derecho a retirarse voluntariamente del estudio en cualquier momento, y/o a negarse a contestar cualquier pregunta si así lo deseaba.

Beneficencia - No Maleficencia

Esta investigación se clasifica como estudio sin riesgo, según el numeral a del Artículo 11, de la Resolución 008430 del 04 de Octubre de 1993 del Ministerio de Salud de la República de Colombia[48]. El diseño metodológico propuesto fue adecuado y los investigadores fueron personas competentes para realizar el estudio y salvaguardar el bienestar de los participantes

Justicia

Ninguna participante fue objeto de discriminación por razones de raza, sexo o creencias religiosas. Los procedimientos no tuvieron ningún costo para las participantes. Ninguna participante involucrada en el estudio, recibió beneficios sociales, políticos, económicos o laborales, como pago por su participación.

Confidencialidad

La información se mantendrá bajo estricta confidencialidad y estará disponible solo para los investigadores. Los resultados del estudio se publicarán pero en ningún caso se

utilizará el nombre o cualquier otra información que pueda identificar personalmente a cualquier participante.

Capítulo 3

Resultados y discusión

3.1. Modelo de propiedades eléctricas del tejido (MOPET)

El análisis de datos obtenidos con EIE suele realizarse por medio de modelos físico - matemáticos. Un modelo comúnmente empleado es el propuesto por los hermanos Cole [25, 49] el cual implementa una serie de parámetros que varían de acuerdo a la composición y estructura del material a estudiar.

Los parámetros de Cole - Cole son de utilidad en una amplia gama de aplicaciones entre las que se destacan la caracterización de tejidos y de rocas [49, 50]. Sin embargo su interpretación no es sencilla debido a que no presentan una relación clara con las propiedades fisiológicas del tejido.

La espectroscopia de impedancia eléctrica consiste en excitar un material por medio de una señal que varía en función de la frecuencia y medir su resistividad media efectiva, la cual puede ser calculada teóricamente por medio de la teoría generalizada de medio efectivo descrita en la sección 1.4.

Con base en lo anterior y partiendo de la hipótesis de que el tejido epitelial estratificado puede ser modelado como un medio electrolítico con inclusiones (células), de manera análoga a formaciones rocosas, se desarrolló un modelo de tejido basado en la teoría generalizada de medio efectivo de la polarización inducida (*GEMTIP*) propuesta por [45].

En nuestro modelo, el tejido está formado por un arreglo de N capas de células esféricas, sumergidas en el medio extracelular que se asume homogéneo y cuya resistividad es ρ_0 . Las células de la l -ésima capa tienen resistividad efectiva ρ_l , radio a_l y ocupan una fracción de volumen f_l ($l = 1, 2, 3, \dots, N$). De tal manera que la fracción de volumen ocupada por el medio extracelular está dada por: $f_0 = 1 - \sum_{l=1}^N f_l$. La membrana celular está representada por la superficie de las esferas, cumple la función de separar los medios extracelular e intracelular y sus propiedades eléctricas se representan por los efectos de polarización inducida debidos a la doble capa formada alrededor de cada célula, donde se genera un campo eléctrico como el

descrito en la ecuación 1.18.

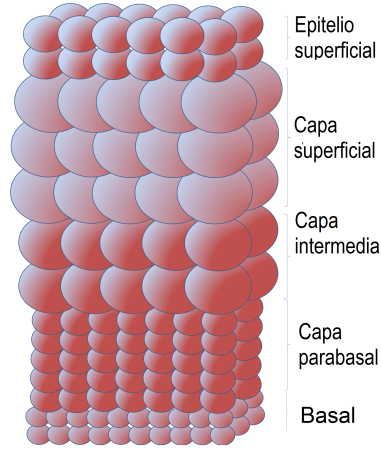


Figura 3.1: Esquema modelo del tejido

Si no se quiere alterar las propiedades del tejido, la señal de excitación aplicada debe ser del orden de unos pocos μA , por tanto, la caída de voltaje puede considerarse lineal y cumple la ecuación (1.10).

Al modelar el tejido de esta forma, su conductividad puede ser calculada por la ecuación 1.25.

Como se asume que las células tienen simetría esférica de radio a_l los tensores de depolarización toman la forma:

$$\mathbf{\Gamma}_l = -\frac{1}{3\sigma_b} \hat{\mathbf{I}}, \quad \mathbf{\Lambda}_l = -\frac{2}{3\sigma_b a_l} \hat{\mathbf{I}}. \quad (3.1)$$

Y la conductividad puede expresarse como:

$$\sigma_e = \sigma_0 \left[1 + 3 \sum_{l=1}^N f_l \frac{\sigma_l - \sigma_0}{2\sigma_0 + \sigma_l + 2k_l a_l^{-1} \sigma_0 \sigma_l} \right] \quad (3.2)$$

Donde $k_l = \alpha_l (i\omega)^{-c_l}$ es el parámetro de polarizabilidad superficial. α_l es un coeficiente experimental y c_l es el parámetro de relajación de la l -ésima incrustación

Multiplicando el numerador y denominador por $\rho_l \rho_0$ ($\rho_l = 1/\sigma_l$ y $\rho_0 = 1/\sigma_0$) se obtiene la expresión equivalente para la resistividad efectiva del medio compuesto:

$$\rho_e = \rho_0 \left[1 + 3 \sum_{l=1}^N f_l \frac{\rho_0 - \rho_l}{2\rho_0 + \rho_l + 2k_l a_l^{-1}} \right]^{-1} \quad (3.3)$$

Con el fin de facilitar los análisis la resistividad efectiva puede ser re-escrita como:

$$\rho_e = \rho_0 \left[1 + \sum_{l=1}^N f_l M_l \left[1 - \frac{1}{1 + (i\omega\tau_l)^{c_l}} \right] \right]^{-1} \quad (3.4)$$

Donde:

$$M_l = 3 \frac{\rho_0 - \rho_l}{2\rho_0 + \rho_l} \quad (3.5)$$

Y τ_l es el tiempo de relajación de la l-ésima incrustación.

$$\tau_l = \left[\frac{a_l}{2\alpha_l} (2\rho_0 + \rho_l) \right]^{1/c_l} \quad (3.6)$$

La resistividad intracelular y los tamaños de las células pertenecientes a la l-ésima pueden ser calculados por las ecuaciones:

$$\rho_l = \frac{3 - \eta_l}{3 + 2\eta_l} \rho_0; \quad a_l = \frac{\alpha_l \tau_l^{c_l}}{\rho_0 + 2\rho_l} \quad (3.7)$$

Donde, $\eta = \frac{M_l}{f_l}$ las fracciones $f_l < 1$ deben escogerse de acuerdo a la estructura del tejido [38].

Adicionalmente se define el parámetro γ como una función, con valor negativo, que relaciona las propiedades eléctricas intracelulares respecto de las extracelulares.

3.2. Implementación y caracterización de sonda para la medición de la impedancia eléctrica

3.2.1. Sonda de Medición

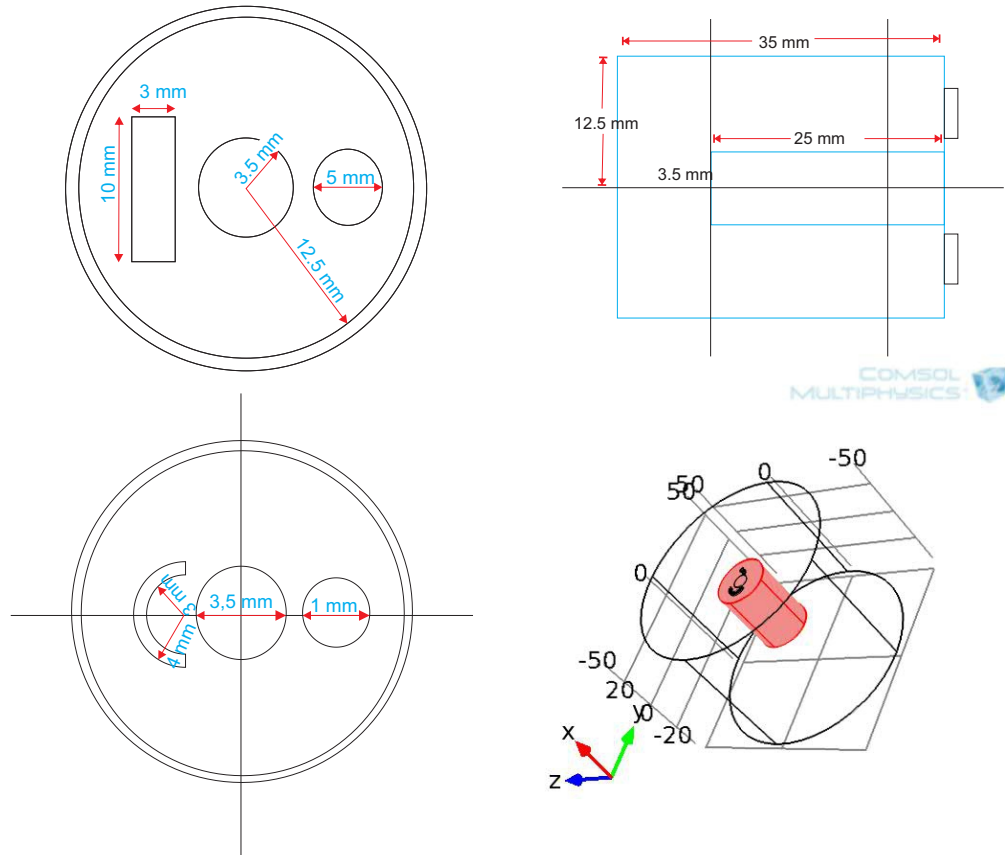


Figura 3.2: Configuraciones de sonda 1 y 2 simuladas con COMSOL multiphysics

La figura 3.2 muestra las configuraciones geométricas de las sondas 1 y 2 construidas en la interfaz gráfica de COMSOL multiphysics.

Con cada una de estas sondas se simuló una polarización inducida en tejido sano, aplicando una señal de excitación de $40\mu A$, y se calculó el gradiente de potencial resultante, el cual se ilustra en la figura 3.3.

En esta figura se observan cambios significativos en los valores de voltaje, el voltaje máximo calculado para la configuración de sonda 1 es $33.4\mu V$, mientras que par la configuración 2 es de $3.7nV$. Sin embargo, nuestro interés se centra en el comportamiento del espectro de impedancia eléctrica, y los cambios que este sufre al ser alteradas las propiedades eléctricas de

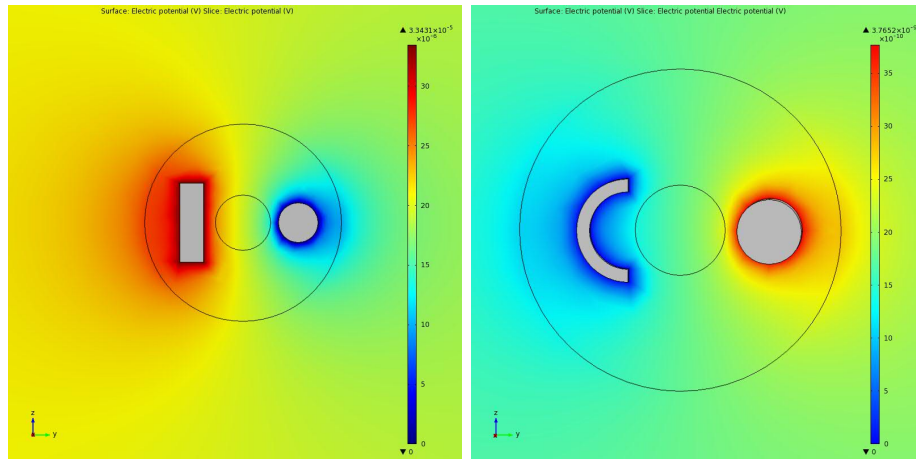


Figura 3.3: Gradiente de potencial generado en el tejido para las configuraciones 1 y 2 simuladas con COMSOL multiphysics

la zona central a la geometría de los electrodos.

Por esta razón se simularon medidas en úteros con diferentes conductividades eléctricas de endocérnix y se evaluó su impedancia eléctrica en el dominio de la frecuencia.

Los espectros resultantes para cada una de las sonda diseñadas se presentan en la figura 3.4, la cual sugiere que el comportamiento de las dos sondas es similar y no permiten discriminar cual de las dos configuraciones ofrece mayor sensibilidad a los cambios de las propiedades eléctricas en la zona central a los electrodos. Sin embargo la configuración 2 ilustrada en la figura 3.2, presenta ventajas en cuanto facilidad de fabricación y comodidad para la toma de medidas, por tanto la sonda esta fue la configuración seleccionada para tomar las medidas de este estudio.

Según el proceso de calibración digital, la configuración seleccionada tiene un factor teórico de forma igual a $0.002[m]$. Durante el proceso de calibración experimental de la sonda se aplicó un modelo inverso de Cole-Cole con múltiples dispersiones de la forma propuesta por Miranda y Jaimes [47], a espectros de impedancia eléctrica medidos en soluciones electrolíticas de cloruro de sodio de diferentes concentraciones. El modelo que mejor representó los datos experimentales fue el de dos dispersiones a baja frecuencia ($0 - 200Hz$) el cual exhibe una impedancia constante a frecuencias altas.

El error cuadrático de los datos experimentales respecto al modelo aplicado es menor a 0.01 en todos los casos.

Una vez modelados los datos, se calculó el factor de forma experimental de la sonda, por medio de un análisis de regresión lineal de la gráfica de la resistividad en función de la impedancia a alta frecuencia. El factor de forma hallado fue $m = 0.011[m]$.

Los valores numéricos obtenidos con el ajuste pueden observarse en la tabla 3.1, donde, ΔQ_1 y ΔQ_2 representan la diferencia entre el las impedancias a alta frecuencia y a baja frecuencia

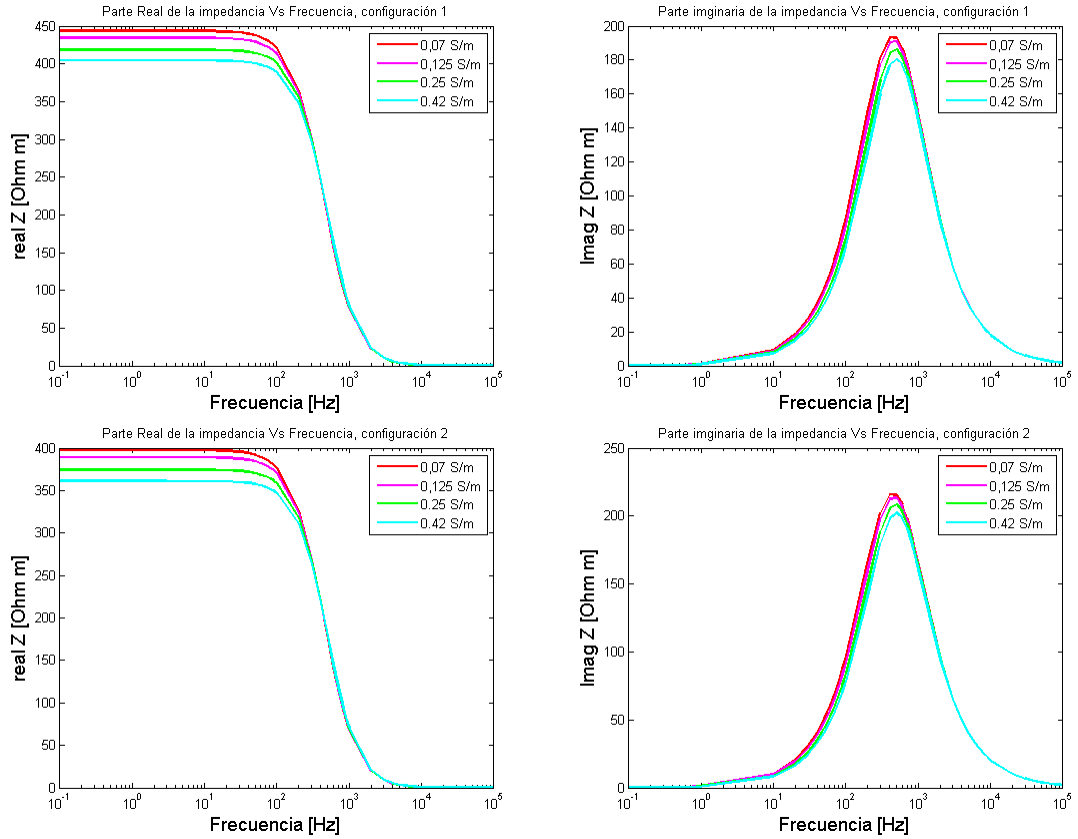


Figura 3.4: Parte real e imaginaria del espectro de impedancia eléctrica para diferentes conductividades de endocérvis simulado con *COMSOL Multiphysics*, configuraciones 1 y 2

de cada dispersión, ε_1 y ε_2 son parámetros relacionados con el tiempo de relajación para cada dispersión, y Q_0 y Q_∞ son las impedancias a baja frecuencia y alta frecuencia de todo el espectro.

El modelo de dos dispersiones puede representarse de forma esquemática como una combinación de elementos resistivos y elementos de fase constante en serie como se ilustra en la figura 3.5, las dos dispersiones a baja frecuencia pueden asociarse a la impedancia de polarización de los electrodos alrededor de los cuales se forma una doble capa eléctrica [27] y presentan valores diferentes debido a que la geometría de los electrodos es distinta.

Los elementos de fase constante tienen una impedancia de la forma $Z_{CPE} = \frac{\Delta Q}{(j\omega\varepsilon)^c}$, la cual tiende a cero a altas frecuencias. Por ejemplo, para la primera dispersión de la solución de $55\Omega m$ mostrada en la tabla 3.1, $Z_{CPE} = 0.019\Omega$ a $100KHz$, este valor es despreciable si se compara con el valor de $Q_\infty = 7621\Omega$.

Lo anterior sugiere que la impedancia que se observa a alta frecuencia se debe solo al parámetro Q_∞ . Además, como la impedancia eléctrica de una solución electrolítica de cloruro de sodio no depende de la frecuencia de la señal de excitación [51], se puede asociar el parámetro

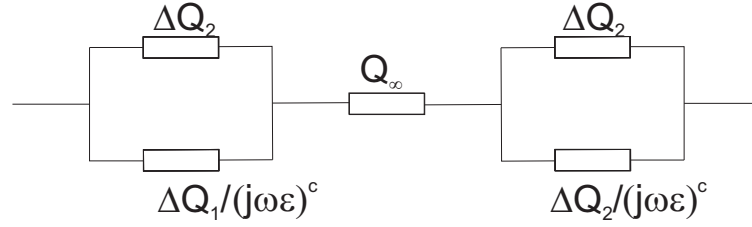


Figura 3.5: Esquema del modelo de Cole - Cole con dos dispersiones

$\rho[Ohmm]$	N	ΔQ_1	ΔQ_2	Q_∞	Q_0	Error	ϵ_1^{-c}	ϵ_2^{-c}
54.64	2.00	10445.63	10131.28	7621.60	28198.51	0.014	8.00E-05	3.27E-04
26.39	1.00	35456.17		2949.44	38405.62	0.012	2.82E-05	
19.16	2.00	14469.00	15067.45	1917.15	31453.60	0.003	6.01E-05	1.86E-04
12.33	2.00	14430.09	14680.86	1298.51	30409.46	0.003	6.01E-05	1.70E-04
9.66	2.00	14463.65	14992.88	989.32	30445.85	0.003	5.81E-05	1.92E-04
0.57	2.00	4947.35	5061.68	45.34	10054.37	0.002	1.74E-04	4.50E-04

Tabla 3.1: Parámetros de Cole-Cole para soluciones de cloruro de sodio

Q_∞ con la impedancia de la solución.

3.2.2. Propiedades eléctricas de tejido vegetal

Las figuras 3.6 y 3.7 muestra los resultados de las pruebas en pepinos variando el tiempo de interacción del tejido con el medio ambiente y la distancia respecto a un extremo del pepino a la cual se hace la medida. Los correspondientes valores numéricos se tabulan en las tablas 3.2 y 3.3.

Estos resultados sugieren que no hay cambios significativos en las propiedades eléctricas del tejido durante los primeros 32 minutos de exposición al medio ambiente. De manera similar, las propiedades eléctricas del tejido no presentan cambios importantes al variar la ubicación longitudinal de la muestra respecto a un extremo del pepino, en este caso los cambios son notorios solo si la muestra se toma muy cerca de uno de los extremos.

Para eliminar posibles variaciones debido a la posición longitudinal, todas las muestras fueron tomadas a una distancia mínima aproximada de $L = 3\text{cm}$ del extremo.

Una vez confirmada la invarianza relativa de las propiedades eléctricas del tejido vegetal con respecto al tiempo de exposición al medio ambiente y/o la posición de toma de la medida, pasamos a analizar los cambios observados en el espectro de impedancia eléctrica debido a las alteraciones inducidas en el centro geométrico de la rodaja.

La figura 3.8 muestra los espectros obtenidos al inducir cambios en las propiedades de la zona central de rodajas de pepinos junto con sus respectivos ajustes al modelo de Cole - Cole.

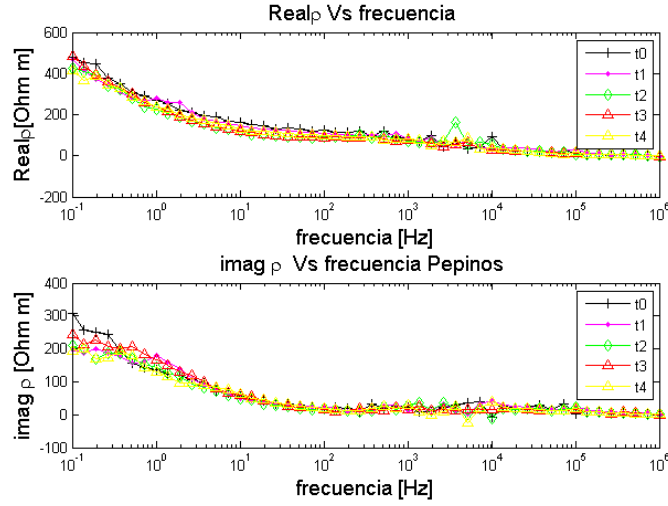


Figura 3.6: Espectros impedancia eléctrica de pepinos variando el tiempo de exposición al ambiente

$t[min]$	N	$\Delta Q_1[\Omega m]$	$\Delta Q_2[\Omega m]$	$Q_\infty[\Omega m]$	$Q_0[\Omega m]$	γ_1	γ_2	ε_1^{-c}	ε_2^{-c}	Error
0	2	753.8	867.10	89.13	1710.03	-81.91	-67.91	0.001	0.001	0.01
8	2	630.3	521.52	90.17	1242.00	-67.83	-86.77	0.002	0.002	0.03
16	2	649.6	735.50	71.74	1456.86	-80.76	-68.35	0.002	0.001	0.01
24	2	806.7	516.65	71.99	1395.36	-54.79	-99.35	0.001	0.002	0.02
32	2	609.2	828.29	72.67	1510.19	-90.78	-60.06	0.002	0.001	0.01

Tabla 3.2: Parámetros de Cole-Cole para tejido vegetal con diferentes tiempos de exposición al ambiente

L	N	$\Delta Q_1[\Omega m]$	$\Delta Q_2[\Omega m]$	$Q_\infty[\Omega m]$	$Q_0[\Omega m]$	γ_1	γ_2	ε_1^{-c}	ε_2^{-c}	Error
L0	2	350.81	598.81	64.50	1014.12	-106.15	-52.68	0.006	0.001	0.01
L1	2	466.04	549.84	54.39	1070.27	-83.14	-66.60	0.004	0.002	0.01
L2	2	652.57	725.21	60.26	1438.05	-79.01	-68.46	0.001	0.001	0.01
L3	2	745.26	548.32	80.66	1374.25	-61.19	-91.88	0.002	0.002	0.03
L4	2	382.36	246.09	68.96	697.41	-60.10	-104.17	0.005	0.004	0.01

Tabla 3.3: Parámetros de Cole-Cole para tejido vegetal variando posición de muestra respecto al extremo del pepino

Los valores numéricos de los parámetros de Cole-Cole normalizados correspondientes al ajuste de cada espectro tabulan en la tabla 3.4.

Los espectros de impedancia eléctrica de pepinos presentan dos dispersiones a baja frecuencia similar a las soluciones de cloruro de sodio. Sin embargo a altas frecuencias los datos están dispersos y no permiten un ajuste al modelo de Cole-Cole, por esta razón nuestro análisis en tejido vegetal se limita al rango de frecuencias de 0 a 200 Hz.

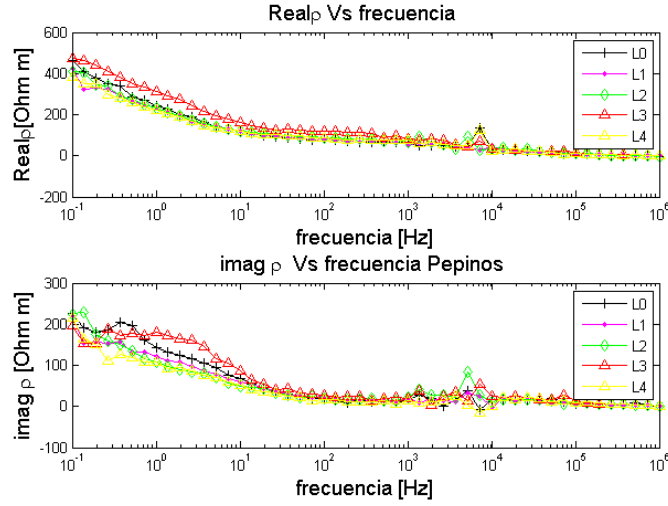


Figura 3.7: Espectros impedancia eléctrica de pepinos variando la posición de toma de muestra

$\rho[\Omega m]$	N	$\Delta Q_1[\Omega m]$	$\Delta Q_2[\Omega m]$	$Q_\infty[\Omega m]$	$Q_0[\Omega m]$	γ_1	γ_2	ε_1^{-c}	ε_2^{-c}	Error
Sin barra	2	652.57	725.2	60.26	1438.0	-79.01	-68.46	0.001	0.001	0.01
Bronce	2	483.33	832.1	103.01	1418.4	-107.66	-53.34	0.004	0.001	0.02
Aluminio	2	878.14	549.8	71.67	1499.6	-53.51	-100.34	0.001	0.002	0.02
Hierro	2	573.94	461.5	0.11	1035.5	-59.01	-80.82	0.002	0.000	0.03
Acero	2	653.49	405.1	0.18	1058.8	-48.25	-96.07	0.002	0.000	0.02

Tabla 3.4: Parámetros de Cole-Cole para tejido vegetal con diferentes barras conductoras incrustadas

Las propiedades eléctricas del tejido vegetal muestran cambios importantes al introducir las barras. Dado que el tiempo de medición es menor a 8 minutos, estos cambios pueden atribuirse a las barras y no a la interacción del pepino con el medio

La tabla 3.4 muestra que el parámetro que sufre mayores variaciones en respuesta a los cambios inducidos en el centro de la geometría es la resistividad a alta frecuencia Q_∞ .

Lo anterior sugiere que los cambios en las propiedades eléctricas pueden ser medidos con la sonda bipolar implementada, con lo cual se cumple el objetivo específico de esta etapa del estudio, confirmando que tanto la sonda como el protocolo de medición elaborados permiten detectar los cambios en las propiedades eléctricas de la zona central a los electrodos y son aptos para usarse en el estudio del endocérvix.

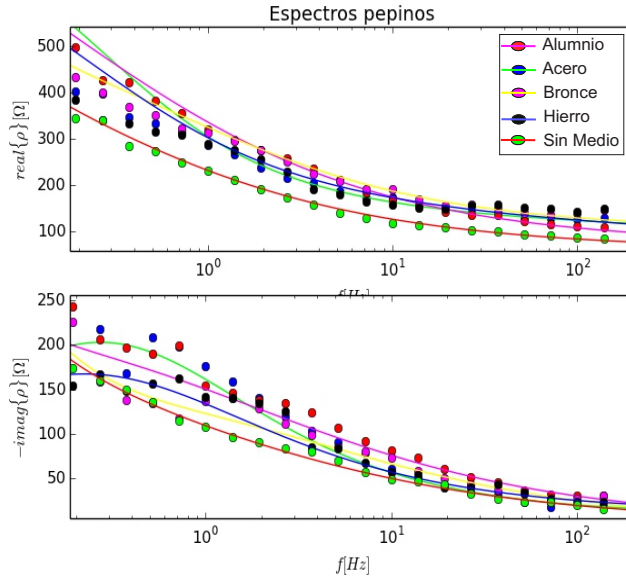


Figura 3.8: Espectros impedancia eléctrica de pepinos con barras conductoras (● datos experimentales – ajuste Cole-Cole)

3.3. Propiedades eléctricas de cuellos uterinos

3.3.1. Implementación del Modelo de Propiedades Eléctricas del Tejido MOPET

Se implementó el modelo inverso descrito en la sección 3.1 basado en algoritmos genéticos para interpretar datos experimentales de cuello uterino medidos in-vivo. Los espectros estudiados fueron medidos con una sonda de cuatro puntas en el rango de frecuencias de 9.6 a 614KHz [37]. Del modelado se extrajeron los parámetros ρ_0 , M_l , τ_l y c_l . La resistividad intracelular y los tamaños de las células se calcularon con la ecuación (3.7).

Las fracciones de volumen ocupadas por cada tipo de célula, $f_l < 1$, se escogieron de acuerdo a la estructura del tejido intraepitelial estratificado, mientras que los coeficientes de polarizabilidad superficial, α_l , fueron seleccionados de forma arbitraria para lograr tamaños típicos de células eucariotas ($10\mu m < a_l < 23\mu m$).

Se seleccionó una muestra representativa de cada estado neoplásico para el análisis de sus propiedades eléctricas. La figura 3.9 muestra espectros de cuatro muestras clasificadas como NO (Normal), LSIL (Lesión Intraepitelial de Bajo Grado), HSIL (Lesión Intraepitelial de Alto grado) y CA (Carcinoma In-situ) por el estudio citológico con las curvas correspondientes al MOPET.

Los valores numéricos de los parámetros del modelo GEMTIP obtenidos para estas muestras

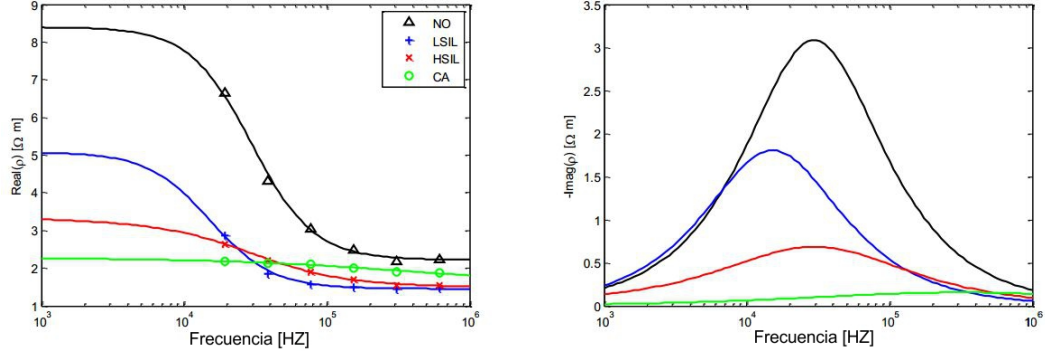


Figura 3.9: Parte real e imaginaria de EIE medidos en muestras clasificadas como NO, LSIL, HSIL y CA modeladas con MOPET)

Estado del tejido	$a_l[\mu m]$	$\tau_l[s]$	c_l	M_l	$\rho_l[\Omega m]$	$\gamma_l[mV]$
NO $\rho_0 = 8.40[\Omega m]$	10.6	1.18E-06	0.999	0.289	0.05	-51
	15.7	1.40E-06	1.000	1.400	0.08	-46
	20.9	1.50E-06	1.000	1.094	0.11	-43
LSIL $\rho_0 = 5.08[\Omega m]$	10.8	2.63E-06	0.999	1.094	0.03	-51
	15.4	3.29E-06	0.999	1.400	0.01	-62
	22.7	0.671036	0.998	0.001	4.84	-0.5
HSIL $\rho_0 = 3.49[\Omega m]$	13.5	2.01E-06	0.834	1.247	0.22	-27
	24.2	3.46E-05	0.269	0.119	2.33	-4
CA $\rho_0 = 2.28[\Omega m]$	26.0	2.63E-07	0.548	0.430	1.38	-5

Tabla 3.5: Valores numéricos de los parámetros del modelo propuesto

se tabulan en la tabla 3.5. En la última columna aparece el valor del pseudopotencial de membrana γ_l definido matemáticamente como:

$$\gamma_l = 10 \ln \left[\frac{\rho_l}{\rho_0} \right] [mV] \quad (3.8)$$

Correlacionando estos valores con los resultados del estudio citológico se puede inferir una relación clara entre los parámetros del modelo y el estado del tejido.

El parámetro que presentó mayor contraste fue la resistividad del medio extracelular, la cual decrece notoriamente a medida que aumenta el grado de lesión del tejido. Esto concuerda con los resultados reportados en otros estudios [52].

Adicionalmente, la resistividad del medio intracelular presenta un comportamiento muy interesante para los tejidos con LSIL y HSIL, en los cuales las células se pueden separar en dos grupos según el valor de ρ_l : Un grupo cuyos valores de ρ_l son similares a los células de tejido normal, y otro grupo en el que este valor aumenta.

Como se mencionó en la sección 1.3, debido al efecto de campo cancerogénico, las células transformadas en una parte del tejido afectan las propiedades bioquímicas del tejido circundante. A pesar que en un tejido con estado LSIL hay muy pocas células transformadas [53], el MOPET permite identificar células con propiedades diferentes al resto del tejido. Como la cantidad de células anormales es muy pequeña, si no se considera la polarización inducida, el aporte de la resistividad eléctrica de las mismas es despreciable, sin embargo se observa experimentalmente. Un aspecto adicional es que el parámetro γ_l tiene valores similares al potencial de membrana de células normales para el estadio NO, según la tabla 3.5; en los otros tipos de estadio aparecen células con valores bajos que se podrían atribuir a células transformadas (cancerígenas). Este comportamiento se atribuye al efecto de campo carcinogénico [38].

El modelo de las propiedades eléctricas del tejido proporciona herramientas para comprender el significado de las diferencias entre las resistividades del medio intracelular y el medio extracelular como consecuencia de la polarización inducida debido a la redistribución de cargas. En la tabla 3.5 se puede observar que la diferencia entre la resistividad extracelular ρ_0 y la intracelular ρ_l decrece a medida que el grado de malignidad del tejido avanza, teniendo en cuenta que no todas las células del tejido se transforman simultáneamente. Lo cual sugiere que este efecto está relacionado con cambios en el potencial de membrana asociados a los diferentes estadios neoplásicos del tejido.

3.3.2. Estudio del las propiedades eléctricas del endocérvix

Se midió el espectro de impedancia eléctrica de 6 úteros de los cuales 5 fueron clasificados NO y 1 como CA por estudio histopatológico. En las figuras 3.11 y 3.12 se presentan los espectros de impedancia eléctrica medidos en cada paciente y las curvas obtenidas al aplicarles el modelo inverso de Cole - Cole con múltiples dispersiones. Los parámetros correspondientes se tabulan en las tablas 3.6 y 3.7, donde el pseudopotencial de membrana γ se calculó de la forma:

$$\gamma = 100 \ln \left[\frac{\Delta Q}{Q_0} \right] [mV] \quad (3.9)$$

Es de anotar que, como se definió en la sección 3.1, γ relaciona las propiedades eléctricas de los medios intra y extracelular, en el caso de un tejido cancerígeno la composición iónica de estos medios cambia, y este cambio se ve reflejado en el potencial de membrana.

Si se comparan los parámetros de los espectros medidos en los úteros antes de introducir barras en el endocérvix, puede verse que el parámetro γ del espécimen 5 es diferente al de los demás. Estas medidas corresponden al útero clasificado por el estudio histopatológico como carcinoma in-situ.

por otro lado, los materiales utilizados para inducir cambios en el endocérvix, tienen resistividades experimentales del orden de $10^{-7} \Omega m$ y área transversal de, aproximadamente,

$10\mu m^2$, mientras que las resistividades de los úteros sanos son del orden de $10^1\Omega m$ y el área transversal de un útero promedio es de aproximadamente $20cm^2$.

Si no se tiene en cuenta la polarización inducida, la impedancia eléctrica medida por la sonda corresponde a una suma de resistencias que en primera aproximación puede modelarse como se ilustra en la figura 3.10. Por ejemplo, si $R_b = 10^{-4}\Omega$, $R_{t1} = 7 \times 10^{-2}\Omega$ y $R_{t2} = 3 \times 10^{-2}\Omega$, entonces, la resistencia equivalente (medio efectivo) sería $R_e = 2.21 \times 10^{-2}\Omega$ que comparado con el caso sin barra, $R_b = 0\Omega$ y $R_{t2} = 3.5 \times 10^{-2}\Omega$, para el cual $R_e = 2.33 \times 10^{-2}\Omega$, muestra un variación despreciable.

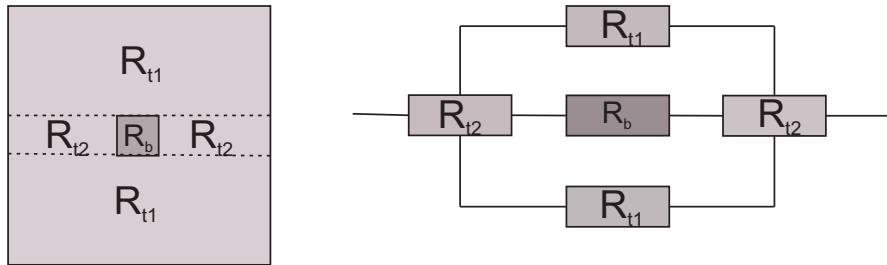


Figura 3.10: Esquema resistencia opuesta por el tejido y la barra conductora

De acuerdo con este análisis, los espectros de impedancia eléctrica no deben sufrir cambios significativos al introducir las barras en el endocérnix, sin embargo, en las gráficas 3.11 y 3.12 los espectros presentan cambios importantes al introducir una barra en el endocérnix y también muestran cambios significativos para barras de diferentes materiales.

Por lo anterior, es posible atribuir estos cambios a efectos de polarización inducida asociados a la formación de una doble capa alrededor de la barra conductora. Entonces, la barra induce una polarización a su alrededor y por ende, alrededor del tejido circundante. Es decir, se producen efectos de polarización que pueden ser detectados en zonas relativamente alejadas de la barra. Estos efectos no locales pueden atribuirse al efecto de campo carcinogénico.

Otro resultado que confirma los efectos producidos por la formación de la doble capa eléctrica es la diferencia encontrada en los factores de forma de la sonda calculados digital y experimentalmente.

En la calibración experimental intervienen varios efectos que no son tenidos en cuenta en la calibración digital, por ejemplo, los efectos de polarización inducida por los electrodos. Según la teoría de Stern [27], alrededor de los electrodos se forma una doble capa eléctrica por la interacción de los iones de la solución electrolítica con las cargas superficiales de los electrodos. Esta doble capa ocasiona un incremento en la diferencia de potencial y la resistividad eléctrica.

Teniendo en cuenta que la resistividad de la solución es constante, el cambio en la resistencia de la misma debe ser compensado por el factor de forma. Lo cual explica por qué el factor de forma obtenido por simulaciones digitales es mayor que el hallado de manera experimental.

En este sentido, los resultados indican que el efecto de campo carcinogénico está asociado

a procesos de polarización inducida presentes en el tejido que rodea a una célula alterada y pueden presentarse en zonas alejadas a la misma.

U	ρ_0 [Ωm]	N	ΔQ_1 [Ωm]	ΔQ_2 [Ωm]	ΔQ_3 [Ωm]	Q_4 [Ωm]	Q_0 [Ωm]	γ_1	γ_2	γ_3	Error	ε_1^{-c}	ε_2^{-c}	ε_3^{-c}
1	Bronce	1	28.29			7.18	35.48	-22.63			0.0015	18.03		
1	Acero	2	184.61	0.02		8.95	193.57	-4.74	-945.1		0.0019	76.50	0.01	
1	Hierro	2	47.86	0.00		13.22	61.08	-24.40	-1111.8		0.0142	12.40	0.00	
1	Aluminio	2	339.89	0.59		3.06	343.55	-1.07	634.9		0.0002	191.93	0.64	
1	Sin barra	2	16.12	13.68		9.55	39.36	-89.24	-105.6		0.0091	16.11	11.02	
2	Bronce	3	302.95	0.83	1.82	2.60	308.20	-1.72	-591.4	-513.21	0.0021	178.82	660.53	12.44
2	Hierro	2	54.92	0.00		7.68	62.61	-13.10	-1175.0		0.0019	19.08	0.02	
2	Aluminio	1	6357.58			10.14	6367.73	-0.16			0.0016	51652.76		
3	bronce	3	85.89	2.75	0.71	32.82	122.18	-35.24	-379.31	-514.20	0.0060	6.04	2.75	1.32
3	Aluminio	3	26.16	27.35	25.65	36.16	115.32	-148.3	-4.42	-150.32	0.1397	13.66	27.20	20.31
3	Hierro	3	125.18	5.93	0.93	56.59	188.63	-41.00	-345.95	-531.03	0.0059	24.72	5.93	3.40
4	Bronce	2	4431.31	4431.79		2.43	8865.52	-69.35	-69.34		0.0724	697.15	4375.59	
4	Acero	3	36.72	43.92	13.87	0.00	94.51	-94.53	-76.63	-191.93	0.0479	13.49	43.92	34.25
4	Hierro	3	37.20	38.21	8.34	0.00	83.76	-81.16	-78.48	-230.67	0.0298	14.33	38.19	43.57
4	Aluminio	3	47.02	44.98	48.34	3.98	144.33	-112.14	4.45	-109.37	0.0205	32.75	9.73	48.33
4	Sin barra	3	35.01	40.43	8.52	0.00	83.97	-87.48	-73.08	-228.79	0.0292	14.16	40.39	47.27
5	Bronce	2	116.66	8.37		0.00	125.03	-6.93	-270.4		0.0942	37.99	7.26	
5	Acero	3	95.90	83.08	0.63	0.20	179.80	-62.86	-77.21	-565.58	0.0112	1.65	30.18	15.83
5	Hierro	3	38.17	39.48	39.95	51.88	169.48	-149.08	-145.69	-144.50	0.0421	13.48	39.45	35.90
5	Aluminio	3	40.52	38.76	26.62	12.88	118.79	-107.54	4.45	-149.56	0.0065	2.83	33.59	26.62
5	Sin barra	3	40.66	101.59	2.73	0.12	145.10	-127.22	-35.64	-397.48	0.0192	0.53	41.05	6.93
6	Bronce	3	3086.31	3139.4	3125.7	695.0	10046.5	-118.02	-116.32	-116.7	0.0080	32400000	3139.0	6711.5
6	Acero	2	10696.5	10850.70		397.22	21944.47	-71.86	-70.43		0.0026	5382.54	6878.15	
6	Hierro	2	43.51	42.55		3.98	90.03	-72.72	-74.95		0.0049	13.13	42.52	
6	Aluminio	2	43.46	43.03		3.61	90.10	-72.92	0.98		0.0043	12.04	42.75	
6	Sin barra	2	61.15	30.61		4.37	96.14	-45.24	-114.4		0.0029	13.40	21.69	

Tabla 3.6: Parámetros de Cole - Cole úteros frecuencias 0 a 200Hz

U	$\rho_b [\Omega m]$	N	$\Delta Q_1 [\Omega m]$	$\Delta Q_2 [\Omega m]$	$\Delta Q_3 [\Omega m]$	$Q_i [\Omega m]$	$Q_0 [\Omega m]$	γ_1	γ_2	γ_3	Error	ϵ_1^{-c}	ϵ_2^{-c}	ϵ_3^{-c}
1	Sin barra	2	70.8	63.7		1.41	135.9	-65.2	-75.7		0.02	0.01	0.01	
1	Bronce	3	10.8	16.6	0.03	0.65	28.1	-95.8	-52.4	-694.6	0.00	248.0	0.06	7.44
1	Aluminio	2	26.1	20.6		1.06	47.7	-60.5	-84.0		0.07	0.04	0.07	
1	Hierro	3	8.5	128.4	1.57	1.54	140.0	171.4	-8.7	-449.1	0.00	10.18	0.04	0.02
1	Acero	4	7.5	0.8	32.94	1.51	43.2	-175.5	-394.7	-27.1	0.00	37.11	8.7E+10	0.08
2	Bronce	3	10.7	22.3	12.01	0.00	45.0	-143.3	-70.4	-132.1	0.00	127.54	0.14	0.09
2	Aluminio	3	20.9	22.9	0.20	0.31	44.3	-75.3	-65.9	-539.1	0.00	7.66	0.07	9787.30
2	Hierro	3	8.1	44.2	0.94	1.30	54.6	182.5	-21.0	-406.3	0.00	143.21	0.05	0.78
3	Bronce	2	10.7	169.6		2.30	182.6	-283.4	-7.4		0.00	0.55	0.18	
3	Aluminio	2	28.3	100.7		4.40	133.4	-155.0	-28.1		0.00	6.24	0.05	
3	Hierro	2	30.3	563.2		1.22	594.7	320.7	-5.4		0.00	0.07	0.00	
4	Sin barra	2	7.6	14.7		1.64	23.9	-114.7	-48.8		0.00	126.50	0.07	
4	Bronce	2	12.2	51.2		0.01	63.3	-165.1	-21.3		0.00	562.14	0.07	
4	Aluminio	2	27.2	24.0		0.22	51.4	-63.6	-76.3		0.02	0.04	0.18	
4	Hierro	3	13.0	34.6	0.00	0.00	47.6	799.0	-31.9	-1080.7	0.00	166.09	0.11	4013.83
4	Acero	2	21.2	18.4		0.03	39.6	-62.7	-76.5		0.00	65.57	0.09	
5	Sin barra	2	3.6	31.8		2.60	38.0	-234.5	-18.0		0.00	93.26	0.14	
5	Bronce	3	29.8	31.2	21.69	2.79	85.5	-105.4	-100.8	-137.2	0.00	3.15	0.07	0.02
5	Aluminio	2	51.7	59.7		1.56	112.9	-78.2	-63.8		0.00	1.65	0.02	
5	Hierro	2	58.3	23.3		3.59	85.2	-37.9	-129.8		0.00	0.60	0.04	
5	Acero	2	39.7	68.9		2.02	110.7	-102.4	-47.4		0.00	2.59	0.05	
6	Sin barra	3	10.0	21.4	1.18	0.39	33.0	-118.9	-43.4	-333.4	0.02	179.8	0.05	5.2E+23
6	Bronce	3	20.2	0.0	13.04	0.00	33.2	-49.9	-1044.1	-93.5	0.01	0.08	220.13	0.01
6	Aluminio	2	14.0	10.6		0.00	24.7	-56.4	-84.2		0.01	0.09	9.48	
6	Hierro	3	13.3	0.0	13.61	0.01	26.9	766.6	-943.1	-68.2	0.01	0.09	4269.56	0.03
6	Acero	2	728.4	15.9		0.00	744.3	-2.2	-384.6		0.01	0.00	0.01	

Tabla 3.7: Parámetros de Cole - Cole uteros frecuencias 200Hz a 100KHz

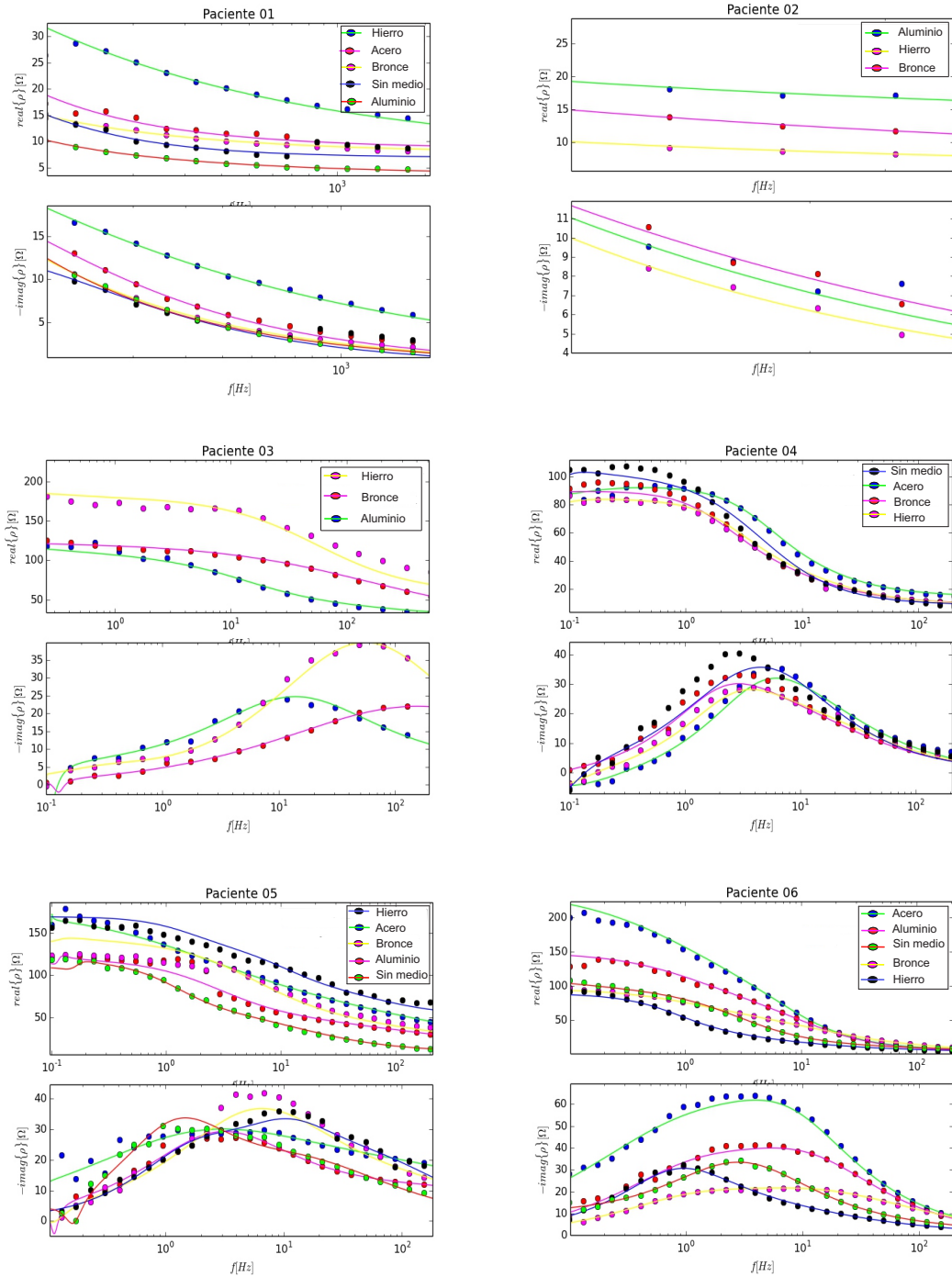


Figura 3.11: Espectros de impedancia eléctrica medidos en úteros in-vitro en el rango de frecuencias de 0 a 200Hz ajustados al modelo de Cole - Cole (● datos experimentales – ajuste Cole-Cole)

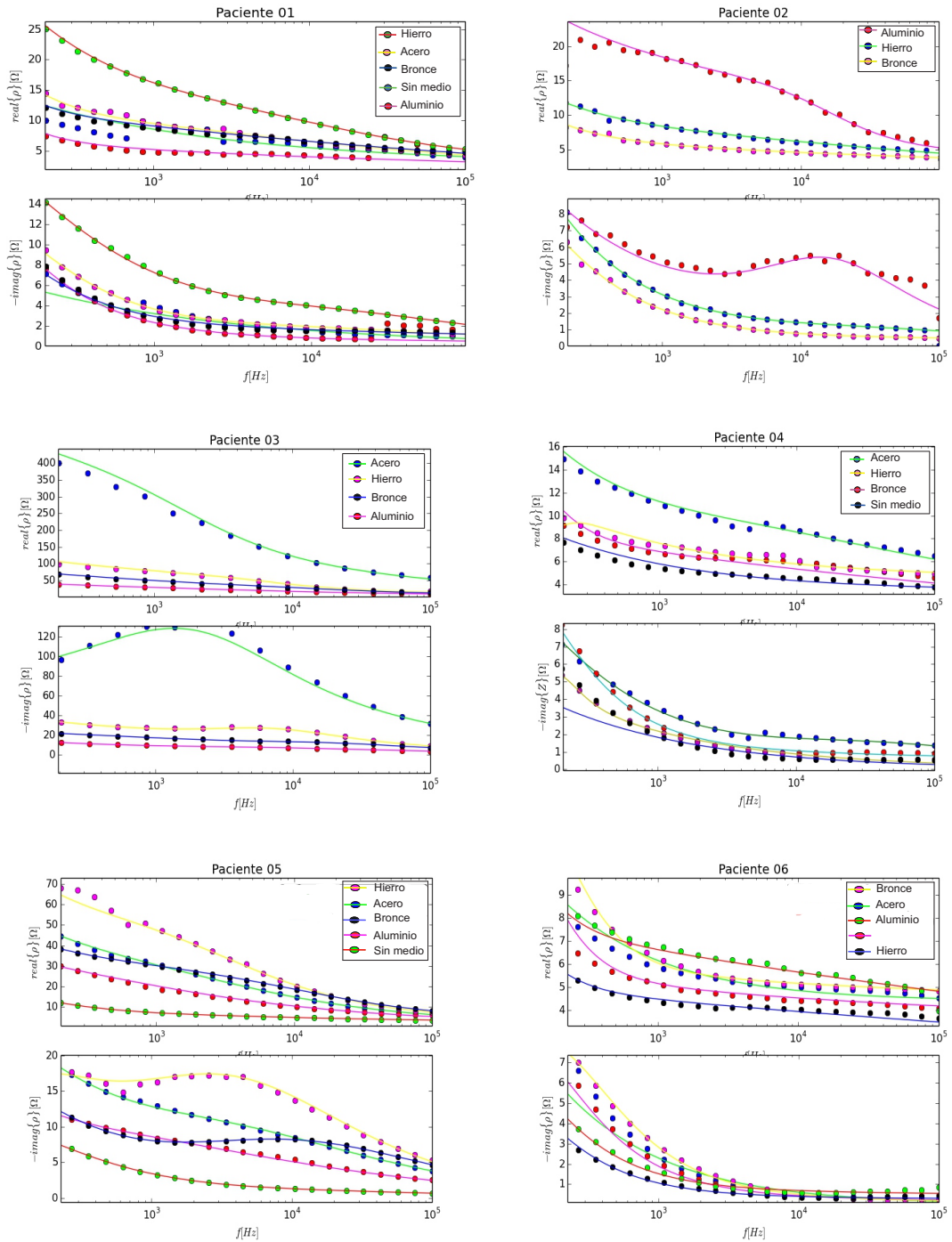


Figura 3.12: Espectros de impedancia eléctrica medidos en úteros in-vitro en el rango de frecuencias de 200Hz a 100kHz ajustados al modelo de Cole - Cole (● datos experimentales – ajuste Cole-Cole)

Capítulo 4

Conclusiones

Se estudiaron las propiedades eléctricas del tejido cervical por medio de espectroscopia de impedancia eléctrica. En este estudio se diseñó digitalmente e implementó una nueva sonda de medición de solo dos electrodos, lo cual simplifica notoriamente la electrónica necesaria para una aplicación práctica de la misma. Esta sonda fue caracterizada digital y experimentalmente. En la caracterización experimental con tejido vegetal, se encontró que la sonda es capaz de detectar variaciones en las propiedades eléctricas del medio, causadas por alteraciones de su conductividad eléctrica en la zona comprendida entre los electrodos.

La sonda de medición se utilizó para caracterizar piezas de úteros obtenidos por histerectomía. En los resultados obtenidos se evidencia que las propiedades eléctricas de un cuello uterino al introducir una barra conductora en el canal endocervical presentan variaciones que solo pueden ser explicadas si se considera la polarización inducida. Como solo una de las piezas quirúrgicas mostró anomalías celulares debido a carcinoma in-situ (CA), no es posible hacer conclusiones decisivas sobre la detección, con la sonda diseñada, de los cambios en las propiedades eléctricas del tejido debidos a anomalías. Pese a lo anterior, en la pieza CA se encontraron propiedades eléctricas diferentes a las de las demás estudiadas con la sonda de dos electrodos.

Un nuevo parámetro bio-físico-químico, el pseudopotencial de membrana, γ , se definió como una función, con valor negativo, que relaciona las propiedades eléctricas intracelulares respecto de las extracelulares. De acuerdo a los resultados experimentales, este parámetro presenta variaciones importantes para cada estadio neoplásico del tejido, que pueden asociarse a los cambios en las concentraciones iónicas de los medios intra y extracelular sufridos por el tejido durante su evolución de normal a cancerígeno.

Por otra parte, para comprender mejor la relación entre las propiedades eléctricas del tejido y los parámetros del espectro de impedancia eléctrica, se desarrolló un modelo físico-matemático basado en la teoría generalizada del medio efectivo de la polarización inducida (GEMTIP). Con este modelo se pueden estimar, entre otros parámetros, las resistividades efectivas del interior y exterior de las células que conforman un tejido. Al aplicar el modelo inverso a espectros

de impedancia eléctrica de diferentes estadios cancerígenos, se encontró que la resistividad efectiva al interior de la célula varía para un grupo de células en el tejido que se atribuyen a células transformadas (cancerígenas). Después de comparar este resultado con la definición del efecto de campo carcinogénico, se sugiere que dicho efecto está asociado con cambios en las propiedades eléctricas del tejido. Además, con base en la teoría GEMTIP, se puede sugerir que la relación entre el efecto de campo carcinogénico y los cambios en las propiedades eléctricas, respecto a tejido normal, están asociadas a las anomalías en la conductividad que según GEMTIP se deben a la polarización inducida.

Referencias

- [1] Akulapalli Sudhakar. History of Cancer, Ancient and Modern Treatment Methods. *NIH Public Access*, 1(2):1–4, 2009.
- [2] International Agency for Research on Cancer. GLOBOCAN 2012: Estimated Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012, 2014.
- [3] Ministerio de Salud y Protección and Instituto Nacional de Cancerología. *Plan decenal para el control del cáncer en Colombia 2012-2021*. 2012.
- [4] Drs Paula Cortiñas, Indira Centeno, Jorge Sánchez Lander, and David Martín. Reunión de consenso en virus de papiloma humano 2008 Manifestaciones clínicas genitales y métodos diagnósticos para VPH. *Gac Méd Caracas*, 117(1):49–69, 2009.
- [5] Remani Wesley, Thara Somanathan, Namrata Dhakad, B Shyamalakumary, N Sreedevi Amma, D Maxwell Parkin, and Madhavan Krishnan Nair. Visual Inspection of the Uterine Cervix after the Application of Acetic Acid in the Detection of Cervical Carcinoma and Its Precursors. pages 2150–2156, 1998.
- [6] Albertus G. Siebers, Paul J. J. M. Klinkhamer, Johanna M M Grefte, Leon F A G Massuger, Judith E M Vedder, and Angelique Beijers-broos. Comparison of Liquid-Based Cytology With Conventional Cytology for Detection. 302(16):1757–1764, 2009.
- [7] Scott B Cantor, Marylou Cárdenas-Turanzas, Dennis D Cox, E Neely Atkinson, Graciela M Nogueras-Gonzalez, J Robert Beck, Michele Follen, and J L Benedet. Accuracy of colposcopy in the diagnostic setting compared with the screening setting. *Obstetrics and gynecology*, 111(1):7–14, January 2008.
- [8] L Stewart Massad, Mark H Einstein, Warner K Huh, Hormuzd A Katki, Walter K Kinney, Mark Schiffman, Diane Solomon, Nicolas Wentzensen, and Herschel W Lawson. 2012 Updated Consensus Guidelines for the Management of. pages 1–27, 2013.
- [9] Gopal K Singh, Romuladus E Azuine, and Mohammad Siahpush. Global Inequalities in Cervical Cancer Incidence and Mortality are Linked to Deprivation , Low Socioeconomic Status , and Human Development. 1(1):17–30, 2012.

- [10] Wei Liu, XiaoHe Zhang, KunPing Liu, SiDa Zhang, and YiXiang Duan. Laser-induced fluorescence: Progress and prospective for in vivo cancer diagnosis. *Chinese Science Bulletin*, 58(17):2003–2016, May 2013.
- [11] N Ramanujam. In vivo diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia using 337-nm-excited laser-induced fluorescence. 91(October):10193–10197, 1994.
- [12] Frank Alexis, Eric M Pridgen, Robert Langer, and Omid C Farokhzad. Nanoparticle technologies for cancer therapy. *Handbook of experimental pharmacology*, (197):55–86, January 2010.
- [13] Terry B Huff, Ling Tong, Yan Zhao, Matthew N Hansen, Ji-Xin Cheng, and Alexander Wei. Hyperthermic effects of gold nanorods on tumor cells. *Nanomedicine (London, England)*, 2(1):125–32, February 2007.
- [14] John J Castillo, Winnie E Svendsen, Noemi Rozlosnik, Patricia Escobar, Fernando Martínez, and Jaime Castillo-León. Detection of cancer cells using a peptide nanotubefolic acid modified graphene electrode. *The Analyst*, 138(4):1026–31, February 2013.
- [15] Carlos Andres Amaya and David Fernando Torres. *Estudio del Espectro de Impedancia Eléctrica en nanopartículas de plata en cultivos de células HeLa*. Tesis confidencial, Universidad Industrial de Santander, 2013.
- [16] Evgenij Barsoukov and j Ross Macdonald. *Impedance Spectroscopy Theory , Experiment , and applications*. John Wiley & Sons, Inc., Canada, second edition, 2005.
- [17] A. Singer, M. Coppleson, K. Canfell, V. Skladnev, G. Mackellar, N. Pisal, and A. Deery. A real time optoelectronic device as an adjunct to the Pap smear for cervical screening: A multicenter evaluation. *International Journal of Gynecological Cancer*, 13(6):804–811, November 2003.
- [18] SP Corzo, DA Miranda, Ernesto Garcia, Yolima Estupiñan, and Carlos-A González-Correa. Citología de cuello uterino e impedividad eléctrica en la detección temprana del cáncer cervical. *Revista SaludUIS*, 44(2):15–19, 2012.
- [19] Brian H Brown, John A Tidy, Karen Boston, Anthony D Blackett, Rod H Smallwood, and Frank Sharp. Early report Relation between tissue structure and imposed electrical current flow in cervical neoplasia. 355:892–895, 2000.
- [20] Bernard Rigaud, Jean Pierre Morucci, and Nicolas Chauveau. Bioelectrical Impedance Techniques in Medicine. Part I: Bioimpedance Measurement. *Biomedical Engineering*, 24(4-6):257–351, 1996.

- [21] E T McAdams and J Jossinet. Tissue impedance: a historical overview. *Physiological measurement*, 16(3 Suppl A):A1–13, August 1995.
- [22] N. David Mermin Neil W. Ashcroft. *Solid state physics*. 1976.
- [23] Peter Y. Yu and Manuel Cardona. *Fundamentals of Semiconductors*. Graduate Texts in Physics. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 2010.
- [24] P. J. W. Debye. Polar molecules. *New York: Chemical Catalog Co.*, 1929.
- [25] Kenneth S. Cole and Robert H. Cole. Dispersion and Absorption in Dielectrics I. Alternating Current Characteristics. *The Journal of Chemical Physics*, 9(4):341, 1941.
- [26] Herman P Schwan. Electrical properties of tissue and cell suspensions. *Advances in biological and medical physics*, 5:147–209, January 1957.
- [27] Sverre Grimnes and Orjan G Martinsen. *Bioimpedance & Bioelectricity Basics*. Elsevier, Oslo, second edition, 2008.
- [28] Herman P Schwan. Interface phenomena and dielectric properties of biological tissue. (7):2643–2652, 2002.
- [29] D C Walker, B H Brown, a D Blackett, J Tidy, and R H Smallwood. A study of the morphological parameters of cervical squamous epithelium. *Physiological measurement*, 24(1):121–35, March 2003.
- [30] B H Brown, J a Tidy, K Boston, a D Blackett, R H Smallwood, and F Sharp. Relation between tissue structure and imposed electrical current flow in cervical neoplasia. *Lancet*, 355(9207):892–5, March 2000.
- [31] D.C. Walker, B.H. Brown, D.R. Hose, and R.H. Smallwood. Modelling the electrical impedivity of normal and premalignant cervical tissue. *Electronics Letters*, 36(19):1603–1604, 2000.
- [32] J A Tidy, B H Brown, T J Healey, S Daayana, M Martin, W Prendiville, and H C Kitchener. Accuracy of detection of high-grade cervical intraepithelial neoplasia using electrical impedance spectroscopy with colposcopy. *BJOG : an international journal of obstetrics and gynaecology*, 120(4):400–10; discussion 410–1, March 2013.
- [33] Germán Olarte-echeverri, William Aristizábal-botero, Gloria Fátima Osorio-g, and Jerónimo Rojas-díaz. Mujeres de Caldas (Colombia), 2008-2009 Electrical impedance spectroscopy in cervical cancer in women from Caldas , Colombia 2008-2009. 61(1):28–33, 2010.

- [34] Paula Andrea Gallego-sánchez, Jerónimo Rojas-díaz, Beatriz Eugenia Botero, and Gloria Fátima Osorio. Early detection of cervical intraepithelial lesions in women from Caldas , Colombia , by electrical impedance spectroscopy. 58(1):13–20, 2007.
- [35] David a Miranda, Jaime Barrero Pérez, and Jorge Echeverri Perico. cáncer de cuello uterino basado en espectroscopía de impedancia eléctrica . *SaludUIS*, 38, 2006.
- [36] David a Miranda and S a López Rivera. Determination of Cole-Cole parameters using only the real part of electrical impedivity measurements. *Physiological measurement*, 29(5):669–83, May 2008.
- [37] David a Miranda, Sandra P Corzo, and Carlos-A González-Correa. Early Detection of Cervical Intraepithelial Neoplasia in a Heterogeneous Group of Colombian Women Using Electrical Impedance Spectroscopy and the Miranda-López Algorithm. *Journal of Physics: Conference Series*, 407:012010, December 2012.
- [38] David a Miranda, Sandra P Corzo, and Carlos-A González-Correa. Cervical cancer detection by electrical impedance in a Colombian setting. *Journal of Physics: ...*, 434:012056, April 2013.
- [39] DP Slaughter, HW Southwick, and W Smejkal. Field cancerization in oral stratified squamous epithelium. *Cancer (Phila.)*, 1953.
- [40] Boudewijn J M Braakhuis, Maarten P Tabor, J Alain Kummer, and Ruud H Brakenhoff. A Genetic Explanation of Slaughter ’s Concept of Field Cancerization : Evidence and Clinical Implications A Genetic Explanation of Slaughter ’ s Concept of Field Cancerization : Evidence and. *Cancer research*, pages 1727–1730, 2003.
- [41] R K Wali, H K Roy, Y L Kim, Y Liu, J L Koetsier, D P Kunte, M J Goldberg, V Turzhitsky, and V Backman. Increased microvascular blood content is an early event in colon carcinogenesis. *Gut*, 54(5):654–60, May 2005.
- [42] Gabriel D Dakubo, John P Jakupciak, Mark a Birch-Machin, and Ryan L Parr. Clinical implications and utility of field cancerization. *Cancer cell international*, 7:2, January 2007.
- [43] Vadim Backman and Hemant K Roy. Light-scattering technologies for field carcinogenesis detection: a modality for endoscopic prescreening. *Gastroenterology*, 140(1):35–41, January 2011.
- [44] Andrew J Radosevich, Nikhil N Mutyal, Ji Yi, Yolanda Stypula-Cyrus, Jeremy D Rogers, Michael J Goldberg, Laura K Bianchi, Shailesh Bajaj, Hemant K Roy, and Vadim Backman.

- Ultrastructural alterations in field carcinogenesis measured by enhanced backscattering spectroscopy. *Journal of biomedical optics*, 18(9):097002, September 2013.
- [45] Michael Zhdanov. Generalized effective-medium theory of induced polarization. *Geophysics*, 73(5):F197–F211, September 2008.
- [46] Michael Zhdanov. *Geophysical Electromagnetic Theory and Methods*. Elsevier Science, 2009.
- [47] David a. Miranda, S. a. Jaimes, and J. M. Bastidas. Assessment of carbon steel microbiologically induced corrosion by electrical impedance spectroscopy. *Journal of Solid State Electrochemistry*, 18(2):389–398, October 2013.
- [48] Ministerio de Salud y Protección. Resolución N° 008430 DE 1993, 1993.
- [49] W.H. Pelton, S.H. Ward, P.G. Hallof, W.R. Sill, and P.H. Nelson. Mineral discrimination and removal. 43(3), 1978.
- [50] C Gabriel, S Gabriel, and E Corthout. The dielectric properties of biological tissues: I. Literature survey. *Physics in medicine and biology*, 41(11):2231–49, November 1996.
- [51] Larry R. Faulkner Allen J. Bard. *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*. Wiley, 2 edition, 2000.
- [52] Brian H Brown, Peter Milnes, Summi Abdul, and John a Tidy. Detection of cervical intraepithelial neoplasia using impedance spectroscopy: a prospective study. *BJOG : an international journal of obstetrics and gynaecology*, 112(6):802–6, June 2005.
- [53] Meggan Zsemlye. LSIL: definition and management. *Obstetrics and gynecology clinics of North America*, 40(2):283–9, June 2013.

Bibliografía

- Alexis, F., Pridgen, E. M., Langer, R., and Farokhzad, O. C. (2010). Nanoparticle technologies for cancer therapy. *Handbook of experimental pharmacology*, (197):55–86.
- Allen J. Bard, L. R. F. (2000). *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*. Wiley, 2 edition.
- Amaya, C. A. and Torres, D. F. (2013). *Estudio del Espectro de Impedancia Eléctrica en nanopartículas de plata en cultivos de células HeLa*. Tesis confidencial, Universidad Industrial de Santander.
- Backman, V. and Roy, H. K. (2011). Light-scattering technologies for field carcinogenesis detection: a modality for endoscopic prescreening. *Gastroenterology*, 140(1):35–41.
- Barsoukov, E. (2005). *Impedance Spectroscopy*. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA.
- Barsoukov, E. and Macdonald, j. R. (2005). *Impedance Spectroscopy Theory , Experiment , and applications*. John Wiley & Sons, Inc., Canada, second edition.
- Braakhuis, B. J. M., Tabor, M. P., Kummer, J. A., and Brakenhoff, R. H. (2003). A Genetic Explanation of Slaughter ’ s Concept of Field Cancerization : Evidence and Clinical Implications A Genetic Explanation of Slaughter ’ s Concept of Field Cancerization : Evidence and. *Cancer research*, pages 1727–1730.
- Brown, B. H., Milnes, P., Abdul, S., and Tidy, J. a. (2005). Detection of cervical intraepithelial neoplasia using impedance spectroscopy: a prospective study. *BJOG: an international journal of obstetrics and gynaecology*, 112(6):802–6.
- Brown, B. H., Tidy, J. A., Boston, K., Blackett, A. D., Smallwood, R. H., and Sharp, F. (2000a). Early report Relation between tissue structure and imposed electrical current flow in cervical neoplasia. 355:892–895.

- Brown, B. H., Tidy, J. a., Boston, K., Blackett, a. D., Smallwood, R. H., and Sharp, F. (2000b). Relation between tissue structure and imposed electrical current flow in cervical neoplasia. *Lancet*, 355(9207):892–5.
- Cantor, S. B., Cárdenas-Turanzas, M., Cox, D. D., Atkinson, E. N., Nogueras-Gonzalez, G. M., Beck, J. R., Follen, M., and Benedet, J. L. (2008). Accuracy of colposcopy in the diagnostic setting compared with the screening setting. *Obstetrics and gynecology*, 111(1):7–14.
- Castillo, J. J., Svendsen, W. E., Rozlosnik, N., Escobar, P., Martínez, F., and Castillo-León, J. (2013). Detection of cancer cells using a peptide nanotube-folic acid modified graphene electrode. *The Analyst*, 138(4):1026–31.
- Cole, K. S. and Cole, R. H. (1941). Dispersion and Absorption in Dielectrics I. Alternating Current Characteristics. *The Journal of Chemical Physics*, 9(4):341.
- Cortiñas, D. P., Centeno, I., Lander, J. S., and Martín, D. (2009). Reunión de consenso en virus de papiloma humano 2008 Manifestaciones clínicas genitales y métodos diagnósticos para VPH. *Gac Méd Caracas*, 117(1):49–69.
- Corzo, S., Miranda, D., Garcia, E., Estupiñan, Y., and González-Correa, C.-A. (2012). Citología de cuello uterino e impedividad eléctrica en la detección temprana del cáncer cervical. *Revista SaludUIS*, 44(2):15–19.
- Dakubo, G. D., Jakupciak, J. P., Birch-Machin, M. a., and Parr, R. L. (2007). Clinical implications and utility of field cancerization. *Cancer cell international*, 7:2.
- Debye, P. J. W. (1929). Polar molecules. *New York: Chemical Catalog Co.*
- Echeverri, G. O., E, J. H. E., Alexander, J., Sánchez, G., Clemencia, J., and Jaramillo, O. Uso de la bioimpedanciometria para la deteccion precoz de lesiones intraepiteliales y de cancer invasivo de cuello uterino.
- Elwakil, A. and Maundy, B. (2010). Extracting the Cole-Cole impedance model parameters without direct impedance measurement. *Electronics Letters*, 46(20):1367.
- Gabriel, C., Gabriel, S., and Corthout, E. (1996). The dielectric properties of biological tissues: I. Literature survey. *Physics in medicine and biology*, 41(11):2231–49.
- Gallego-sánchez, P. A., Rojas-díaz, J., Botero, B. E., and Osorio, G. F. (2007). Early detection of cervical intraepithelial lesions in women from Caldas , Colombia , by electrical impedance spectroscopy. 58(1):13–20.

- Ghorbani, a., Camerlynck, C., Florsch, N., Cosenza, P., and Revil, a. (2007). Bayesian inference of the Cole?Cole parameters from time- and frequency-domain induced polarization. *Geophysical Prospecting*, 55(4):589–605.
- Grimnes, S. and Martinsen, O. G. (2008). *Bioimpedance & Bioelectricity Basics*. Elsevier, Oslo, second edition.
- Huff, T. B., Tong, L., Zhao, Y., Hansen, M. N., Cheng, J.-X., and Wei, A. (2007). Hyperthermic effects of gold nanorods on tumor cells. *Nanomedicine (London, England)*, 2(1):125–32.
- International Agency for Research on Cancer (2014). GLOBOCAN 2012: Estimated Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012.
- Keshtkar, A., Keshtkar, A., and Smallwood, R. H. (2006). Electrical impedance spectroscopy and the diagnosis of bladder pathology. *Physiological measurement*, 27(7):585–96.
- Kuang, W. and Nelson, S. O. (1998). Low-frequency dielectric properties of biological tissues: A Review with some new insights. 41(1):173–184.
- Kutz, M. (2003). *Standard handbook of biomedical engineering and design*. McGraw Hill.
- Lafarge, A. L., Cardonne, M. M. n., Bonne, J. C., Larramend, R. M., Montoya, A. R., and Bouron3, A. I. N. n. (2003). Bioimpedancia eléctrica en 50khz, evidencias experimentales. 1. (1):4–7.
- Liu, W., Zhang, X., Liu, K., Zhang, S., and Duan, Y. (2013). Laser-induced fluorescence: Progress and prospective for in vivo cancer diagnosis. *Chinese Science Bulletin*, 58(17):2003–2016.
- Massad, L. S., Einstein, M. H., Huh, W. K., Katki, H. A., Kinney, W. K., Schiffman, M., Solomon, D., Wentzensen, N., and Lawson, H. W. (2013). 2012 Updated Consensus Guidelines for the Management of. pages 1–27.
- McAdams, E. T. and Jossinet, J. (1995). Tissue impedance: a historical overview. *Physiological measurement*, 16(3 Suppl A):A1–13.
- Medida, L. A., El, D. E. I., and Biol, C. D. E. T. Introducción a la medida de impedancia eléctrica de tejidos biológicos.
- Michael S. Zhdanov (2009). *Geophysical Electromagnetic Theory and Methods*. Elsevier Inc., Salt Lake City.

- Ministerio de Salud y Protección (1993). Resolución N° 008430 DE 1993.
- Ministerio de Salud y Protección and Instituto Nacional de Cancerología (2012). *Plan decenal para el control del cáncer en Colombia 2012-2021*.
- Miranda, D., Barrero, J., and Echeverri, J. (2006a). Estudio piloto de detección temprana de cáncer de cuello uterino basado en espectroscopía de impedancia eléctrica. *Revista SaludUIS*, 38(3).
- Miranda, D. a., Corzo, S. P., and González-Correa, C.-A. (2012). Early Detection of Cervical Intraepithelial Neoplasia in a Heterogeneous Group of Colombian Women Using Electrical Impedance Spectroscopy and the Miranda-López Algorithm. *Journal of Physics: Conference Series*, 407:012010.
- Miranda, D. a., Corzo, S. P., and González-Correa, C.-A. (2013a). Cervical cancer detection by electrical impedance in a Colombian setting. *Journal of Physics: ...*, 434:012056.
- Miranda, D. a., Jaimes, S. a., and Bastidas, J. M. (2013b). Assessment of carbon steel microbiologically induced corrosion by electrical impedance spectroscopy. *Journal of Solid State Electrochemistry*, 18(2):389–398.
- Miranda, D. a., Pérez, J. B., and Perico, J. E. (2006b). cáncer de cuello uterino basado en espectroscopía de impedancia eléctrica . *SaludUIS*, 38.
- Miranda, D. a. and Rivera, S. a. L. (2008). Determination of Cole-Cole parameters using only the real part of electrical impedivity measurements. *Physiological measurement*, 29(5):669–83.
- Neil W. Ashcroft, N. D. M. (1976). *Solid state physics*.
- Olarte-echeverri, G., Aristizábal-botero, W., Osorio-g, G. F., and Rojas-díaz, J. (2010). Mujeres de Caldas (Colombia), 2008-2009 Electrical impedance spectroscopy in cervical cancer in women from Caldas , Colombia 2008-2009. 61(1):28–33.
- Pattabhi, V. and Gautham, N. (2002). *Biophysics*.
- Pelton, W., Ward, S., Hallof, P., Sill, W., and Nelson, P. (1978). Mineral discrimination and removal. 43(3).
- Radosevich, A. J., Mutyal, N. N., Yi, J., Stypula-Cyrus, Y., Rogers, J. D., Goldberg, M. J., Bianchi, L. K., Bajaj, S., Roy, H. K., and Backman, V. (2013). Ultrastructural alterations

- in field carcinogenesis measured by enhanced backscattering spectroscopy. *Journal of biomedical optics*, 18(9):097002.
- Ramanujam, N. (1994). In vivo diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia using 337-nm-excited laser-induced fluorescence. 91(October):10193–10197.
- Rigaud, B., Morucci, J. P., and Chauveau, N. (1996). Bioelectrical Impedance Techniques in Medicine. Part I: Bioimpedance Measurement. *Biomedical Engineering*, 24(4-6):257–351.
- Román, M. C., Torres, S. P., and Bellido, M. C. (1999). Bases físicas del análisis de la impedancia bioeléctrica Analysis. 2:139–143.
- Roy, H. K., Turzhitsky, V., Kim, Y., Goldberg, M. J., Watson, P., Rogers, J. D., Gomes, A. J., Kromine, A., Brand, R. E., Jameel, M., Bogovejic, A., Pradhan, P., and Backman, V. (2009). Association between rectal optical signatures and colonic neoplasia: potential applications for screening. *Cancer research*, 69(10):4476–83.
- Schwan, H. P. (1957). Electrical properties of tissue and cell suspensions. *Advances in biological and medical physics*, 5:147–209.
- Schwan, H. P. (2002). Interface phenomena and dielectric properties of biological tissue. (7):2643–2652.
- Siebers, A. G., Klinkhamer, P. J. J. M., Grefte, J. M. M., Massuger, L. F. A. G., Vedder, J. E. M., and Beijers-broos, A. (2009). Comparison of Liquid-Based Cytology With Conventional Cytology for Detection. 302(16):1757–1764.
- Singer, A., Coppleson, M., Canfell, K., Skladnev, V., Mackellar, G., Pisal, N., and Deery, A. (2003). A real time optoelectronic device as an adjunct to the Pap smear for cervical screening: A multicenter evaluation. *International Journal of Gynecological Cancer*, 13(6):804–811.
- Singh, G. K., Azuine, R. E., and Siahpush, M. (2012). Global Inequalities in Cervical Cancer Incidence and Mortality are Linked to Deprivation , Low Socioeconomic Status , and Human Development. 1(1):17–30.
- Slaughteter, D., Southwick, H., and Smejkal, W. (1953). Field cancerization in oral stratified squamous epithelium. *Cancer (Phila.)*.
- Sudhakar, A. (2009). History of Cancer, Ancient and Modern Treatment Methods. *NIH Public Access*, 1(2):1–4.

- Tidy, J. A., Brown, B. H., Healey, T. J., Daayana, S., Martin, M., Prendiville, W., and Kitchener, H. C. (2013). Accuracy of detection of high-grade cervical intraepithelial neoplasia using electrical impedance spectroscopy with colposcopy. *BJOG: an international journal of obstetrics and gynaecology*, 120(4):400–10; discussion 410–1.
- Vlahov, I. R. and Leamon, C. P. (2012). Engineering folate-drug conjugates to target cancer: from chemistry to clinic. *Bioconjugate chemistry*, 23(7):1357–69.
- Wali, R. K., Roy, H. K., Kim, Y. L., Liu, Y., Koetsier, J. L., Kunte, D. P., Goldberg, M. J., Turzhitsky, V., and Backman, V. (2005). Increased microvascular blood content is an early event in colon carcinogenesis. *Gut*, 54(5):654–60.
- Walker, D., Brown, B., Hose, D., and Smallwood, R. (2000). Modelling the electrical impedivity of normal and premalignant cervical tissue. *Electronics Letters*, 36(19):1603–1604.
- Walker, D. C., Brown, B. H., Blackett, a. D., Tidy, J., and Smallwood, R. H. (2003). A study of the morphological parameters of cervical squamous epithelium. *Physiological measurement*, 24(1):121–35.
- Wesley, R., Somanathan, T., Dhakad, N., Shyamalakumary, B., Amma, N. S., Parkin, D. M., and Nair, M. K. (1998). Visual Inspection of the Uterine Cervix after the Application of Acetic Acid in the Detection of Cervical Carcinoma and Its Precursors. pages 2150–2156.
- Yang, M. and Brackenbury, W. J. (2013). Membrane potential and cancer progression. *Frontiers in physiology*, 4:185.
- Yu, P. Y. and Cardona, M. (2010). *Fundamentals of Semiconductors*. Graduate Texts in Physics. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg.
- Zhdanov, M. (2008). Generalized effective-medium theory of induced polarization. *Geophysics*, 73(5):F197–F211.
- Zhdanov, M. (2009). *Geophysical Electromagnetic Theory and Methods*. Elsevier Science.
- Zsemlye, M. (2013). LSIL: definition and management. *Obstetrics and gynecology clinics of North America*, 40(2):283–9.