

**DETECCIÓN TEMPRANA DE CÁNCER DE CUELLO
UTERINO POR MEDIO DE ESPECTROSCOPIA DE
IMPEDANCIA ELÉCTRICA,**

FASE II

SANDRA PATRICIA CORZO MANTILLA

UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE FÍSICA

BUCARAMANGA

2010

**DETECCIÓN TEMPRANA DE CÁNCER DE CUELLO UTERINO POR
MEDIO DE ESPECTROSCOPIA DE IMPEDANCIA ELÉCTRICA,
FASE II**

SANDRA PATRICIA CORZO MANTILLA

Trabajo de Grado como requisito para optar el título de Físico

Director

PhD(C) David Alejandro Miranda Mercado

Codirectores

MD. Esp. Ernesto García Ayala

Ing. Samuel Alberto Jaimes Morales



UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE FÍSICA

BUCARAMANGA

2010

*A mi querido papi, quien aún vive en mi mente,
Ya mi madre porque mis logros se deben a su esfuerzo*

AGRADECIMIENTOS

Al PhD(c) David Alejandro Miranda mi director, y al MD. Esp Ernesto García por su confianza y por su valiosa guía durante el desarrollo de este trabajo.

A Samuel Alberto Jaimes quien dedico parte de su ocupado tiempo para ayudarme y animarme durante los momentos más difíciles de este proyecto.

Al MD. Esp. Jorge Humberto Echeverri Por su apoyo y porque siempre ha estado dispuesto a escuchar y analizar ideas.

Al personal de la Liga Santandereana Contra el Cáncer por acogerme durante la toma de datos, especialmente a María Eugenia Ruiz por su colaboración en la toma de datos y al Ing. Hernando Pardo por abrirnos las puertas de la institución para el desarrollo del proyecto.

Al doctor Carlos Gonzales por facilitarnos el equipo.

A mi familia junto a he vivido innumerables experiencias.

A Elber, Yolima, Mario y mis compañeros de CIMBIOS por acompañarme durante todo este tiempo.

TABLA DE CONTENIDO

1.	FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA.....	14
1.1	ANTECEDENTES DEL PROYECTO.....	14
1.1.1	Cáncer de cuello uterino y neoplasia intraepitelial	14
1.1.2	Medios diagnósticos tradicionales	15
1.1.3	Sistema Bethesda para el diagnóstico citológico.....	17
1.1.4	Espectroscopia de impedancia eléctrica y detección temprana del cáncer de cuello uterino.....	19
1.1.5	Nuestra investigación.	21
1.2.1	Propiedades eléctricas de los tejidos.....	22
1.2.3	Zonas de dispersión	24
1.2.4	Análisis de la impeditividad eléctrica.....	25
1.2.4.1	Modelo de Debye	25
1.2.4.2	Modelo Cole-Cole.....	26
1.2.4.3	Algoritmo Miranda-López.....	27
1.3	EL BIOIMPEDANCIOMETRO.....	31
1.3.1	Bioimpedanciómetro Mark III de Sheffield, UK.....	31
1.3.2	La sonda de medición	31
1.3.4	Zona de incidencia de la sonda de medición.....	32
1.4	CONSIDERACIONES ÉTICAS.....	32
2	RESULTADOS	34
2.1	PROTOCOLO DE MEDICIÓN.....	34
2.1.1	Calibración de la sonda de medición	34
2.1.2	Toma de datos	34
2.2	ESPECTROS DE IMPEDANCIA ELÉCTRICA Y AJUSTE AL.....	37
	MODELO DE COLE-COLE	37
2.3	MODELO COLE-COLE Y RESULTADOS DE LA CITOLOGÍA.....	40
3	ANÁLISIS DE RESULTADOS.....	43

3.1	ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	43
3.1.1	Curvas ROC.....	43
3.1.2	Analisis ANOVA	47
3.1.3	ESPECTROSCOPIA DE IMPEDANCIA ELÉCTRICA COMO TÉCNICA DE TAMIZAJE DEL CÁNCER DE CUELLO UTERINO	50
3.2	DISCUSIÓN.	51
4	CONCLUSIONES.....	54
5	BIBLIOGRAFÍA.....	55

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Izq. estructura normal del tejido epitelial, Der. Tejido neoplásico	15
Figura 2. Biopsia y colposcopia (Fuente: www.mdconsult.com).....	16
Figura 3. Clasificación Bethesda. (Tomado de CRUM, C., ROSE, P., in CRUM, C., LEE, K. Diagnostic Gynecologic and Obstetric Pathology. Capítulo 13. ED. Elsevier Saunders. 2006)	17
Figura 4. Membrana celular. Tomado de [SALAZAR]	22
Figura 5. Corriente a través del tejido	23
Figura 6. Zonas de relajación. Tomado de [SCHWAN_57]	24
Figura 8. Densidad de carga libre después de aplicar un pulso de voltaje	25
Figura 7. Circuito para el modelo de Debye	25
Figura 9. Gráfica de Cole en el plano de impedancia	26
Figura 10 a. Parte real, b parte imaginaria de la impedancia de tejido cervical normal [MIRANDA_08]	30
Figura 11. Bioimpedanciometro MARK III	31
Figura 12. Der foto Sonda de medición (tomado de MD PdD. Carlos Augusto González) Izq. dimensiones sonda de medición	31
Figura 13. Formato para la toma de datos del paciente y operario	35
Figura 14. Formato para toma de EIS.....	36
Figura 15. Secuencia de medidas.....	36
Figura 16. Ajuste de datos parte real de impedancia vs frecuencia (ASCUS CERVICITIS) ..	37
Figura 17. Ajuste de datos parte real de impedancia vs frecuencia (ASCUS)	38
Figura 18. Ajuste de datos parte real de impedancia vs frecuencia (NORMAL)	38
Figura 19. Ajuste de datos parte real de impedancia vs frecuencia (CERVICITIS)	39
Figura 20. Ajuste de datos parte real de impedancia vs frecuencia (LSIL)	39
Figura 21. Parámetro $\rho_0[\Omega \cdot m]$ para todos los datos citología	41
Figura 22. Parámetro $\rho^\infty[\Omega \cdot m]$ para todos los datos citología.....	41
Figura 23. Parámetro $\tau[\mu s]$ para todos los datos citología	42
Figura 24. Parámetro α para todos los datos citología.....	42
Figura 25. Curva ROC ρ^∞ vs LSIL	46
Figura 26. Curva ROC LSIL vs τ_{min} y LSIL vs ρ^∞_{max}	47
Figura 27. Análisis ANOVA para ρ^∞	49
Figura 28. Análisis ANOVA para ρ_0	49
Figura 29. Análisis ANOVA para τ	49
Figura 30. Análisis ANOVA para α	50
Figura 31. Curvas de ajuste según los hallazgos en [MIRANDA_07]	53

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1, Resultados valores de impeditividad	30
Tabla 2. Resultados de estudio citológico para las pacientes que participaron en el estudio	40
Tabla 3. Análisis de correlación entre parámetros de Cole-Cole y ASCUS	44
Tabla 4. Análisis estadístico ρ^{covs} LSIL.....	45
Tabla 5. Análisis estadístico para LSIL con los datos críticos	47
Tabla 6. Valor de significancia p para los parámetros de Cole-Cole	50

ÍNDICE DE ECUACIONES

<i>Ecuación</i> 1.....	23
<i>Ecuación</i> 2.....	26
<i>Ecuación</i> 3.....	26
<i>Ecuación</i> 4.....	26
<i>Ecuación</i> 5.....	28
<i>Ecuación</i> 6.....	28
<i>Ecuación</i> 7.....	28
<i>Ecuación</i> 8.....	28
<i>Ecuación</i> 9.....	28
<i>Ecuación</i> 10.....	29
<i>Ecuación</i> 11.....	29
<i>Ecuación</i> 12.....	29

ABREVIATURAS

AGC: Células Glandulares Con Atipia

ANOVA: Análisis de Varianza

ASCUS: *Células Escamosas Atípicas de Significado Indeterminado*

EIS: Espectroscopia de Impedancia Eléctrica

LSIL: Lesión Intraepitelial de Bajo Grado

ROC: Característica Operativa del Receptor

VPH: Virus del Papiloma Humano

RESUMEN

Título:

DETECCIÓN TEMPRANA DE CÁNCER DE CUELLO UTERINO POR MEDIO DE ESPECTROSCOPIA DE IMPEDANCIA ELÉCTRICA, FASE II¹.

Autor: CORZO MANTILLA, Sandra²

Palabras clave:

Espectroscopia de Impedancia Eléctrica (EIS), Tamizaje, parámetros de Cole-Cole.

Descripción:

El objetivo de este trabajo fue estudiar las propiedades eléctricas de tejido intraepitelial cervical por medio de espectroscopia de impedancia eléctrica y el modelo de Cole-Cole, para discriminar Neoplasia intraepitelial cervical.

Se tomaron 636 espectros de impedancia eléctrica en 53 pacientes de la Liga Santandereana de Lucha Contra el Cáncer, de las cuales 6 obtuvieron resultado normal, 41 presento cervicitis, 4 ASCUS y 2 LSIL según el examen citológico.

Las medidas se tomaron con el Bioimpedanciometro MARK III, diseñado y ensamblado en la universidad de Sheffield (UK) y el cual mide la parte real de la impeditividad. Los espectros medidos se ajustaron al modelo Cole- Cole, para lo cual se utilizó el algoritmo Miranda, López.

Se hizo un análisis ANOVA para correlacionar los resultados del estudio citológico con los parámetro del modelo de Cole-Cole, el cual mostro una buena correlación entre la resistividad a alta frecuencia y el grado de lesión tamizado. Además se utilizó curvas ROC (Característica Operativa del Receptor) para hallar la sensibilidad y especificidad de la técnica.

Se encontró que la técnica discrimina los grados de neoplasia intraepitelial denominados por el sistema bethesda como ASCUS y LSIL con una sensibilidad y especificidad superiores al 60%, siendo la resistividad a alta frecuencia ρ_{∞} y el tiempo de relajación τ los parámetros que presentan mayor variación en cada uno de los grados de lesión intraepitelial cervical.

¹ Proyecto de Grado

² Facultad de Ciencias, Escuela de Física, Director: David Alejandro Miranda Mercado, Codirectores: Ing. Samuel Alberto Jaimes, MD. Esp. Ernesto García

ABSTRACT

Title:

EARLY DETECTION OF THE UTERINE CANCER BASED ON ELECTRICAL IMPEDANCE SPECTROSCOPY, PHASE II³.

Author: CORZO MANTILLA, Sandra Patricia⁴

Key words:

Electrical impedance spectroscopy (EIS), Screening, Cole-Cole parameters.

Description:

The electrical properties of cervical tissue were studied by measuring of the electrical impedance spectrum and the use of the Cole-Cole model. It was measure 636 electrical impedance spectra to 53 patients from the “Liga Santandereana de lucha contra el cancer” who previously were informed about the investigation and gave their approval. The cytology test was used to the classification of tissues: 6 normal, 41 cervicitis, 4 ASCUS, 2 LSIL.

Measures were taken with the Mark III Bioimpedanciometer, designed and assembled at the Sheffield University (UK), which measures the real part of the impedance using a tetrapolar prove.

Measure data were fitted to the Cole-Cole model using the Miranda-Lopez’s algorithm, and an ANOVA analysis was performed to correlate the cytological findings with Cole-Cole’s parameters, which showed a good correlation between the high – frequency resistivity and the lesion degree screening. Also it was used ROC (Receiver Operating Characteristic) curves to find the sensitivity and specificity of the technique.

It was found that the technique discriminates tissue classified as ASCUS and LSIL according the Bethesda system with a sensitivity and specificity above 60%, being high - frequency resistivity ρ_{∞} and the relaxation time τ the Cole-Cole’s parameters that have greater variation in each cervical intraepithelial lesion degree.

³ Proyecto de Grado

⁴ Facultad de Ciencias, Escuela de Física, Director: David Alejandro Miranda Mercado, Codirectores: Ing. Samuel Alberto Jaimes, MD. Esp. Ernesto García

1. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

1.1 ANTECEDENTES DEL PROYECTO

1.1.1 Cáncer de cuello uterino y neoplasia intraepitelial

Se denomina cáncer al crecimiento y propagación descontrolada de células, que puede deberse a factores externos como el tabaco y organismos infecciosos, o internos como desordenes hormonales. A pesar que la mayorías de cánceres cuyas causas son externas son evitables, el cáncer es las segunda causa de muerte mundial, precedido por la enfermedades cardiovasculares.

El cáncer de cuello uterino es una de las enfermedades más comunes en el mundo, convirtiéndose en el segundo tipo de cáncer en presentar mayor incidencia y mortalidad en mujeres, después del cáncer de mamas.

Se estima que en el 2007 se presentaron 555,100 nuevos casos en el mundo de los cuales 309,800 fueron causa de muerte.

Los estudios revelan que la tasa de incidencia de cáncer cervical en mujeres estadounidenses y de países desarrollados ha disminuido considerablemente gracias a programas de prevención que promueven la toma periódica de exámenes diagnósticos. Sin embargo dichos programas no han tenido suficiente impacto en países en vía de desarrollo debido a la falta de información y a que no se cuenta con los quipos ni el personal capacitado para que su cobertura sea suficientemente alta [ADKINDS_04].

Según GLOBOCAN (GLOBAL CANCER) 2007, aproximadamente el 80% del total de nuevos casos de cáncer de cuello uterino ocurre en países en vía de desarrollo [2].

En Bucaramanga y su zona metropolitana la tasa de incidencia anual en el 2002 fue de 19.9 nuevos casos por cada 100.000 habitantes, una incidencia baja

respecto a las demás ciudades Latinoamericanas, pero que no deja de ser preocupante [URIBE_2004].

Es importante resaltar que el cáncer invasor de cuello uterino puede ser prevenido dado que la evolución de un tejido normal a un carcinoma ocurre gradualmente en varias fases de neoplasias intraepiteliales.

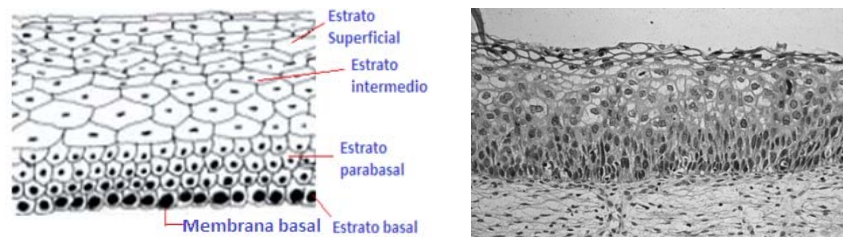


Figura 1.lzq. estructura normal del tejido epitelial, Der. Tejido neoplásico

Si se trata en etapas tempranas, los cambios neoplásicos pueden ser reversibles.

Se han creado diferentes nomenclaturas con el fin de estandarizar la clasificación de lesiones neoplásicas intraepiteliales, Las más utilizadas actualmente son el sistema Bethesda, Y el sistema Richard El sistema Bethesda se describe en detalle en el ítem 1.1.3.

1.1.2 Medios diagnósticos tradicionales

El cáncer de cuello uterino es una enfermedad potencialmente curable si se detecta a tiempo, ya que esta patología no presenta síntomas hasta estar en una fase avanzada es necesario realizar pruebas diagnósticas como la citología y la colposcopia de forma regular.

Citología

Es una de las técnicas de detección de cáncer de cuello uterino más usadas en el mundo y consiste en el estudio microscópico de células endocervicales y exocervicales.

Para obtener las células se introduce un espéculo a través de la vagina con el fin de localizar el cuello del útero, luego se hace un raspado en la exocervix, utilizando una espátula plástica de bordes cortantes, y finalmente se introduce un cepillo en el canal endocervical y se rota 180° sin hacer presión.

El resultado del estudio puede tardar entre 4 y 15 días. Un aspecto importante que debe ser resaltado es que la metodología utilizada para leer las placas citológicas puede afectar considerablemente la sensibilidad y especificidad de la técnica [ANDRADE_01], lo cual incide en la confiabilidad del diagnóstico.

Colposcopia

La colposcopia es un examen visual especializado del cérvix y es más sensible y específica [ZAMUDIO_01] que la citología cervical. Generalmente se practica en aquellos casos donde la citología ha mostrado existencia de células anormales.

Para este procedimiento se utiliza un colposcopio, el cual consiste básicamente en un microscopio, y se aplica ácido acético al 5% a la superficie del cuello uterino. El ácido acético permite diferenciar mucosa normal de patológica.

Biopsia y Conización



Figura 2. Biopsia y colposcopia (Fuente: www.mdconsult.com)

Una biopsia cervical consiste en la extracción de una muestra de tejido del cuello uterino para su posterior estudio histopatológico. Generalmente se realiza en pacientes con citología anormal para determinar el grado de neoplasia que presenta el tejido.

Si el estudio histopatológico de la muestra de tejido, biopsia, sugiere la presencia de tejido maligno, entonces, se practica una conización. La conización es un procedimiento quirúrgico que consiste en la extracción de una porción del cuello uterino, en forma de cono.

1.1.3 Sistema Bethesda para el diagnóstico citológico

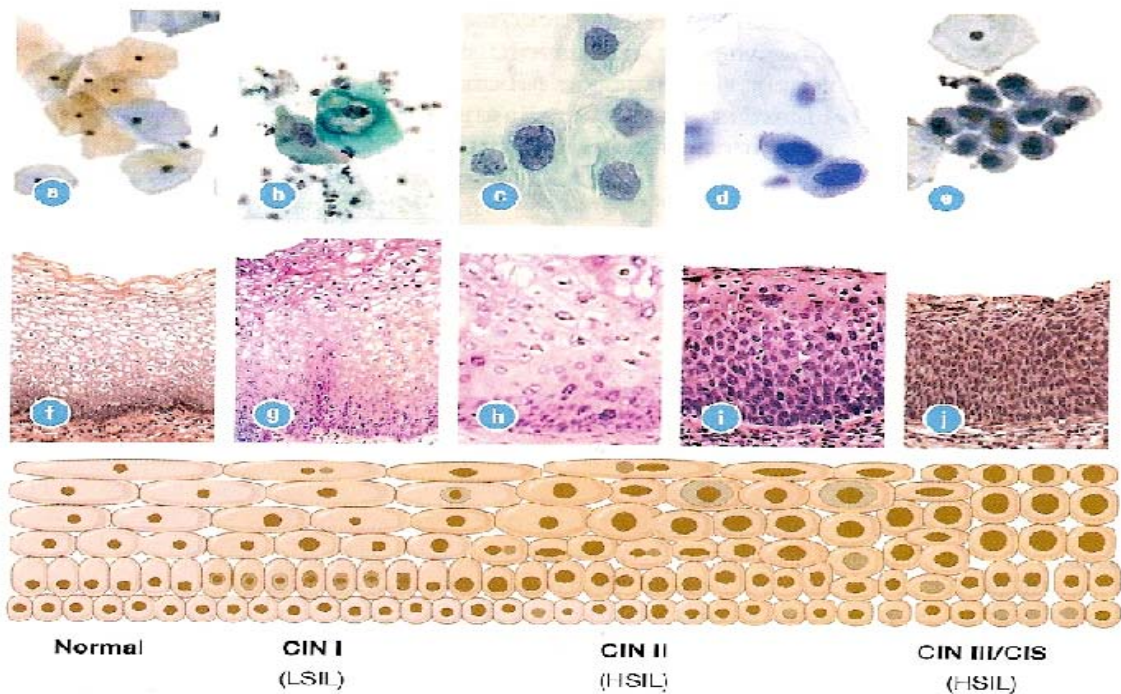


Figura 3. Clasificación Bethesda. (Tomado de CRUM, C., ROSE, P., in CRUM, C., LEE, K. Diagnostic Gynecologic and Obstetric Pathology. Capítulo 13. ED. Elsevier Saunders. 2006)

El sistema Bethesda es una nomenclatura utilizada para la clasificación de los diferentes grados de neoplasia intraepitelial, en la que se definen los siguientes términos:

Negativa para lesión intraepitelial o malignidad: tejido sano.

Citología anormal compatible con:

ASC–US (células escamosas atípicas de significado indeterminado): Se refiere a aquellas muestras en que existen algunos cambios citológicos anormales, pero no son suficientes para hacer un diagnóstico.

ASC–H (células escamosas atípicas, no se puede excluir una anomalía de alto grado): No es claro el significado del cambio en las células pero representa un riesgo mayor de ser precanceroso comparado con ASC–US.

LSIL (Lesión escamosa intraepitelial de bajo grado): Pertenecen a esta categoría las anomalías causadas por la infección de VPH y las displasias leves en que las células superficiales e intermedias presentan cambios iniciales en tamaño y forma.

En el caso de infección por VPH las células presentan núcleos alargados, aproximadamente el doble de lo normal, mientras en el caso de displasia se tiene un aumento del núcleo entre cuatro y seis veces lo normal

También es común observar multinucleación e hiper cromasia.

HSIL (Lesión escamosa intraepitelial de alto grado): Incluye displasia moderada y displasia severa o carcinoma in situ.

Las células presentan mayor grado de hiper cromasia e irregularidad que en LSIL.

El tamaño del conjunto total de células se reduce en comparación con la displasia leve debido a que presentan menos diferenciación nuclear.

Con respecto a las células glandulares las categorías anormales incluyen:

AGC (células glandulares atípicas): Se asigna este término a las muestras que presentan células glandulares anormales, pero que carecen de características de adenocarcinoma.

Atipia en células glandulares endocervicales que favorece neoplasia.

[WRIGHT_2007] presenta una información más detallada sobre el sistema Bethesda.

1.1.4 Espectroscopia de impedancia eléctrica y detección temprana del cáncer de cuello uterino.

El interés por el estudio de las propiedades eléctricas del tejido data de 1780, cuando Luigi Galvani observó que mientras un asistente tocaba el nervio ciático de una rana con un bisturí metálico, el músculo de la rana se movía. Desafortunadamente la falta de tecnología de la época limitó los estudios aplazando el verdadero desarrollo en esta área del conocimiento hasta el siglo xx.

En 1911 Rudolf Höeber hace un importante aporte al descubrir que la conductividad de la sangre depende de la frecuencia de la corriente aplicada, diez años más tarde Philippon realiza medidas de impedancia en tejido en función de la frecuencia, hallando que la capacitancia varia aproximadamente como el inverso al cuadrado de la frecuencia.

En 1950 Herman Paul Schwan, introduce el concepto de dispersión al reportar por primera vez la dependencia en frecuencia de la capacitancia de los músculos, lo que interpretó como un fenómeno de relajación [SCHWAN_57].

Estos y otros trabajos que son la base de actuales estudios de la espectroscopia de impedancia eléctrica como herramienta para caracterización de tejidos biológicos y el diagnostico de diferentes patologías se encuentran recopilados en [RIGAUD_96].

En el año 2000 [BROWN_00], basado en que el tejido epitelial cervical es altamente estructurado y que los principales cambios que sufre en etapas precancerosas pueden ser asociados a la separación entre las células y el incremento del tamaño de los núcleos, propone el uso de la espectroscopia de impedancia eléctrica, en el rango de frecuencias de 1kHz a 1MHz, como técnica diagnóstica de cáncer de cuello uterino.

A partir de esto, diferentes grupos de investigación se han dedicado al estudio de las propiedades eléctricas del tejido intraepitelial de cuello uterino y la espectroscopia de impedancia eléctrica como técnica de tamizaje de neoplasia intraepitelial cervical.

El grupo CIMBIOS ha venido realizando una serie de trabajos encaminados al desarrollo de tecnología y conocimiento de la espectroscopia de impedancia eléctrica [ALEMÁN_06][JAIMES_06] [JARA_08] ,En el 2007 se publicó el “estudio piloto para la detección de cáncer de cuello uterino” [MIRANDA_07] en el que participaron el PhD(c) David Alejandro miranda, el Ing. Jaime Barrero y el MD. Esp. Jorge Humberto Echeverri, y en el que se presentan los resultados de un estudio para la detección de cáncer de cuello uterino basado en las propiedades eléctricas del tejido.

1.1.5 Nuestra investigación.

El objetivo de esta investigación fue estudiar las propiedades eléctricas del tejido epitelial de cuello uterino y su aplicabilidad para discriminar neoplasia intraepitelial.

Para lograr el objetivo se dedicó tiempo a un período de preparación en el que se realizaron las siguientes actividades:

- Se llevó a cabo una revisión bibliográfica.
- Se hizo pruebas a un equipo ensamblado por el Ing. Samuel A Jaimes del grupo CIMBIOS, el cual no pudo ser utilizado en la toma de datos debido a limitantes del tiempo.
- Se calibró el bioimpedanciómetro MARKIII, para lo cual se midió un total de 60 concentraciones diferentes de solución salina, y se preparó una rutina en la plataforma MATLAB para ajustar los datos obtenidos a polinomios de calibración.
- Antes de iniciar la toma de datos con pacientes, se realizaron medidas de espectros de impedancia eléctrica, como prueba, para garantizar el buen uso del equipo.

Después de la etapa de prueba, se inició la toma de datos en la que se midieron 636 espectros de impedancia eléctrica de tejido intraepitelial cervical, en 53 pacientes de la Liga Santandereana de Lucha contra el cáncer quienes previamente recibieron información sobre la investigación y firmaron la debida carta de consentimiento informado.

Los espectros de impedancia fueron tomados con el bioimpedanciometro MARK III, justo antes de realizar el raspado correspondiente para la prueba citológica.

Los datos tomados se ajustaron al modelo Cole-Cole por medio del algoritmo Miranda-López [MIRANDA_07], y se realizó un estudio estadístico consistente en curvas ROC y análisis ANOVA.

1.2 ESPECTROSCOPIA DE IMPEDITIVIDAD ELÉCTRICA

1.2.1 Propiedades eléctricas de los tejidos

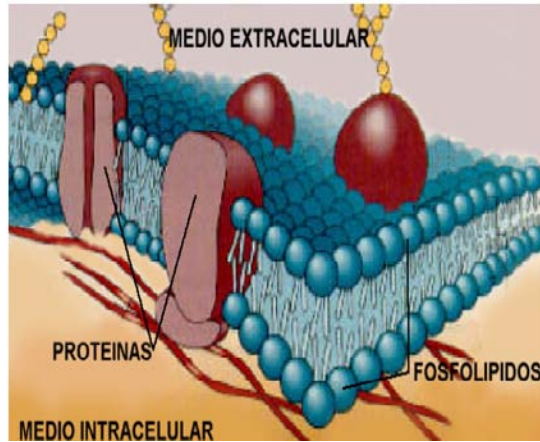


Figura 4. Membrana celular. Tomado de [SALAZAR]

Los tejidos biológicos presentan características tanto resistivas como capacitivas, que se originan en su estructura celular y molecular.

La célula está cubierta por una membrana que separa el medio intracelular del medio extracelular, ver figura 4. Tanto el volumen intracelular como extracelular son conductores pasivos de corriente,

mientras que la membrana celular es una bicapa fosfolípida, en la que se ubican elementos eléctricamente activos como las proteínas, que son fuente de voltajes y corrientes, algunas de estas proteínas funcionan como bombas, y usan la energía para transportar iones a través de la membrana celular, trabajando en contra de un gradiente ya sea de concentración o de voltaje.

La labor más importante de estas bombas es la de mover iones de sodio del volumen intracelular al extracelular e iones de potasio en sentido contrario [DORF_06].

La célula funciona entonces como un capacitor de placas paralelas, donde la membrana representa las placas que son muy delgadas $\sim 75\text{\AA}$, ocasionando una alta capacitancia por unidad de área ($\sim 1\mu\text{F}/\text{cm}^2$).

En presencia de un campo eléctrico

alterno, el tejido presenta un comportamiento similar al de un electrolito, donde cada uno de sus componentes es tanto resistivo como capacitivo, lo que produce una marcada dependencia entre sus propiedades eléctricas y la frecuencia de excitación.

Si se inyecta una señal de corriente de baja frecuencia al tejido , la corriente solo atravesará el medio extracelular, en este caso la forma en que están organizadas las células y el espacio entre ellas son factores determinantes de la resistencia que presenta el tejido al flujo.

Si la frecuencia de la señal es alta se producirá un cortocircuito en las membranas celulares, y la corriente circulará tanto por el medio intracelular como por el medio extracelular, proporcionando información interna de la célula, como por ejemplo el tamaño del núcleo.

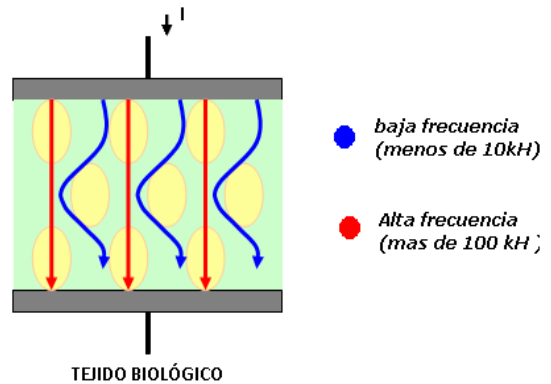


Figura 5. Corriente a través del tejido

Existen tres intervalos principales de frecuencia en los que la permitividad y conductividad del material biológico presentan cambios importantes [SCHWAN_57]. Estas tres regiones se conocen como las dispersiones α , β y γ , estas zonas se explicaran en el ítem 1.2.3.

1.2.2 Impeditividad eléctrica

Impeditividad es la adaptación al español del término propuesto por Bryan Brown, “impedivity”, para hacer referencia a la resistividad eléctrica compleja, la cual se puede definir como la relación que existe entre la intensidad de campo eléctrico aplicada a un material y la densidad de corriente generada, como se muestra en la siguiente expresión:

$$\rho^* J = E \rightarrow E = \frac{1}{\sigma + j\omega\epsilon} J$$

ρ^* Impeditividad

E intensidad de campo

J densidad de corriente

σ Conductividad eléctrica real

$$j = \sqrt{-1}$$

ω Frecuencia angular

ϵ Permitividad eléctrica real

Como se puede observar, la impedividad es independiente de cualquier factor geométrico del material. De modo que pueden llevarse a cabo estudios del cambio en la estructura y organización de los tejidos biológicos, independientemente del tamaño y forma de la muestra.

1.2.3 Zonas de dispersión

Después de estudiar, en un amplio rango de frecuencia, las propiedades eléctricas de diversos tejidos y células en suspensión Schwan [SCHWAN_57] observó que

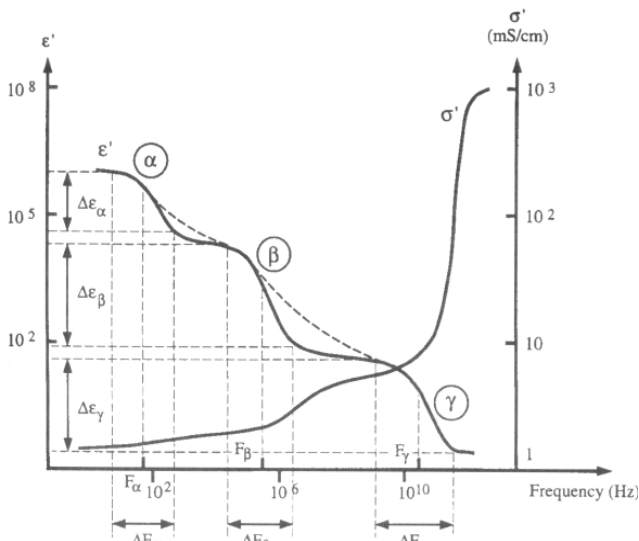


Figura 6. Zonas de relajación. Tomado de [SCHWAN_57]

hay tres rangos principales de frecuencia en los que ocurren diferentes fenómenos físicos, a los cuales denomino dispersiones α , β y γ .

La dispersión α se refiere a las frecuencias bajas (<100 Hz) y está asociada con procesos de difusión iónica en la membrana celular.

La zona β comprende frecuencias desde algunos kHz hasta MHz y los factores determinantes en ella son la estructura celular, la polarización de la membrana celular y la polarización de las proteínas y otras macromoléculas. Esta zona es de gran importancia en el estudio de las propiedades del tejido.

Al rango de frecuencias de microondas ($>1\text{GHz}$) se le conoce como dispersión γ y su principal causa es la polarización de las moléculas de agua, en este caso el comportamiento del tejido es similar al del agua pura.

1.2.4 Análisis de la impeditividad eléctrica

Entre los modelos utilizados para el análisis de la impeditividad eléctrica del tejido se destacan el modelo de Debye y el de Cole-Cole [GABRIEL_96]. En este estudio se utiliza el modelo de Cole-Cole para analizar los datos experimentales. La obtención de los parámetros de dicho modelo se realizó con el algoritmo Miranda-López.

1.2.4.1 Modelo de Debye

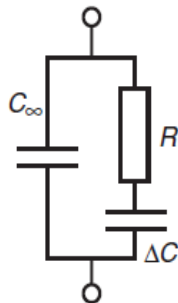


Figura 7. Circuito para el modelo de Debye

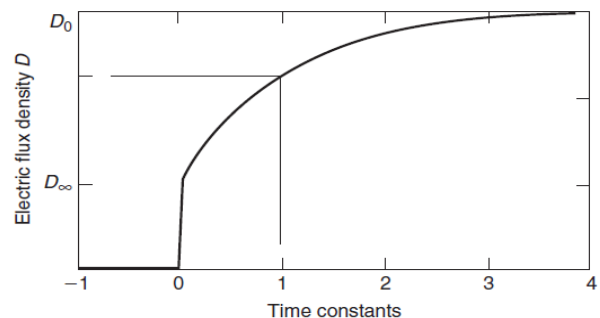


Figura 8. Densidad de carga libre después de aplicar un pulso de voltaje

El modelo de Debye es un modelo de dispersión simple. A continuación se describe este modelo utilizando un dieléctrico con única constante de tiempo τ .

Sea un dieléctrico ubicado entre dos placas paralelas como el que se muestra en la figura 7. Si en $t=0$ se aplica un voltaje de forma que $V(t=0)=0$ y $V(t>0)=V_0$, entonces, la polarización eléctrica dentro del material incrementará, en el tiempo, describiendo una curva exponencial (ver figura 8). La polarización dentro del

dieléctrico se verá reflejada en un cambio en la densidad de carga superficial $D(t)$ en las placas del capacitor. La densidad superficial de cargas incrementará desde D_∞ a D_0 de acuerdo con la ecuación:

$$D(t) = D_\infty + \frac{D_0 - D_\infty}{1 - e^{-\frac{t}{\tau}}} \quad 2$$

Donde D_∞ es la densidad de carga transitoria, en el instante $t \sim 0$, D_0 es la densidad de carga en la cual se estabiliza el sistema, $t \rightarrow \infty$, y τ es el tiempo de relajación.

Realizando una transformada de Laplace, y utilizando la relación $\epsilon' = \frac{D}{E}$ se obtiene:

$$\epsilon(\omega) = \epsilon'_\infty + \frac{\Delta\epsilon'}{1 + j\omega\tau} \quad \text{Donde, } \Delta\epsilon' = \epsilon'_s - \epsilon'_\infty \quad 3$$

Que es la llamada ecuación de Debye para dispersión simple, o única dispersión.

1.2.4.2 Modelo Cole-Cole

El modelo de Cole-Cole presenta una expresión para determinar la permitividad compleja, propuesta por los hermanos Cole en un reporte de sus estudios sobre dispersión y absorción de dieléctricos en 1941[COLE_41].

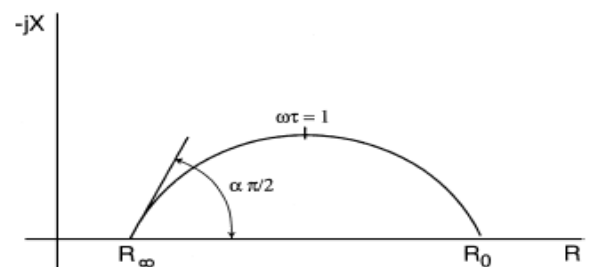


Figura 9. Gráfica de cole en el plano de impedancia

En términos de la impeditividad eléctrica la ecuación de los hermanos Cole puede escribirse como:

$$\rho^*(\omega) = \rho_\infty + \frac{\rho_0 - \rho_\infty}{1 + (j\omega\tau)^{1-\alpha}} \quad 4$$

Donde ρ_∞ es la resistividad a alta frecuencia, ρ_0 es la resistividad a baja frecuencia, τ es el tiempo medio de relajación, y α es un parámetro de dispersión.

1.2.4.3 Algoritmo Miranda-López

En el año 2008 Miranda y López, [MIRANDA_08], reportaron un algoritmo para la obtención de los parámetros del modelo Cole-Cole usando sólo la parte real de las medidas de impedividad eléctrica.

Este algoritmo, utiliza la inversión directa del modelo de Debye, el método de Xiang [XIANG_03], basado en la estimación por mínimos cuadrados multi-pliegue para la inversión del modelo de Cole-Cole, así como algoritmos genéticos.

El Algoritmo Miranda-López fue creado para obtener los parámetros del modelo de Cole-Cole a partir sólo la parte real del espectros de impedividad eléctrica y con pocos datos espectrales. En este estudio se utilizó este algoritmo como base para el análisis de los resultados experimentales.

A continuación se describe el procedimiento básico para el ajuste de datos al modelo de Cole-Cole utilizando el algoritmo Miranda-López: en primer lugar, un método de inversión directa se utiliza para obtener los parámetros de los modelos de Debye y para calcular una aproximación a la parte imaginaria del espectro. En segundo lugar, el algoritmo de Xiang [XIANG_01] se utiliza para invertir el espectro de la resistividad eléctrica formado a partir de datos experimentales y la parte imaginaria obtenidos en el primer paso. En tercer lugar, los parámetros de Cole-Cole obtenidos con el algoritmo de Xiang y el tiempo de relajación del modelo de Debye se utilizan para calcular el espectro impedivity eléctrica. Por último, un algoritmo genético se utiliza para minimizar el error cuadrático medio entre los datos experimentales y la ecuación de Cole-Cole.

Como ejemplo numérico se presenta el cálculo de los parámetros de Cole-Cole para tejido cervical normal hallados en [MIRANDA_07]:

Usando un conjunto de parámetros de Cole-Cole dado, obtenido para [MIRANDA_07].

$$\tau = 5.4 * 10^{-6}(s), \quad \rho_0 = 14.25 (\Omega * m), \quad \rho_\infty = 1.98(\Omega * m), \quad \alpha = 0.14$$

Antes de implementar el algoritmo es necesario calcular la parte real de la impedividad usando la ecuación:

$$R_k = \rho_\infty + \frac{\rho_0 - \rho_\infty}{1 + (\omega_k \tau)^2} \quad \text{Donde } R_k = \text{Re}\{\rho(j\omega_k)\}, \quad k = 1, 2, 3 \dots N + 1 \quad 5$$

Los valores de frecuencia y los parámetros:

$$\omega = 2\pi\{100,464.16,2154.40, 10^4, 46416,215441, 10^6\}[\text{rad/s}]$$

$$R = \{2.9578,3.7414,4.9356,6.678,8.7289,10.641, 12.081\}[\Omega.m]$$

Para implementar el algoritmo se siguen los pasos:

Primero, se calculan los parámetros de Debye usando las ecuaciones:

$$A_k = (R_{k+1} - R_k)\omega_{k-1}^2 - (R_{k+1} - R_{k-1})\omega_k^2 - (R_k - R_{k-1})\omega_{k+1}^2$$

$$B_k = (R_{k+1} - R_k)R_{k-1}\omega_{k-1}^2 - (R_{k+1} - R_{k-1})R_k\omega_{k-1}^2 - (R_k - R_{k-1})R_{k+1}\omega_{k-1}^2$$

$$\rho_\infty = \frac{\sum_{k=1}^N A_k B_k}{\sum_{k=1}^N A_k^2} \quad 6$$

$$A_{O_k} = (R_{k+1} - R_\infty)\omega_{k+1}^2 - (R_k - R_\infty)\omega_k^2 \quad 7$$

$$B_{O_k} = (R_{k+1} - R_\infty)R_k\omega_{k+1}^2 - (R_k - R_\infty)R_{k+1}\omega_k^2 \quad 8$$

$$\rho_0 = \frac{\sum_{k=1}^N A_{O_k} B_{O_k}}{\sum_{k=1}^N A_{O_k}^2} \quad \tau = \sqrt{\frac{\sum_{k=1}^{N+1} J_k L_k}{\sum_{k=1}^{N+1} J_k^2}} \quad 9$$

Segundo, se hace una primera aproximación de la parte imaginaria de la impedividad utilizando:

$$I_k = -\frac{(\rho_0 - \rho_\infty)\omega_k \tau}{1 + \omega_k^2 \tau^2} \quad 10$$

Tercero, tomando R, I, y el algoritmo de Xinang, se calcula la primera aproximación de los parámetros de Cole-Cole.

Cuarto, se define un algoritmo genético con los siguientes parámetros: Generaciones =100, límite de ajuste= 10^{-4} , STALL límite genético= infinito, STALL límite de tiempo= infinito, Fracción cruzada= 0.6, conteo ELITE = 20, dirección de migración = ambos, fracción de migración = 0.4, intervalo de migración= 5, tamaño de población = 5000 y rango de población inicial =[0,1].

El algoritmo genético minimiza el error de todos los pasos anteriores de la forma:

$$E_{RR} = \frac{1}{N+1} \sqrt{\sum_i (R_i - R\{\rho_{calculado}\})^2} \quad 11$$

Quinto, para obtener la parte imaginaria de la Impeditividad se usa la ecuación:

$$\rho = \rho_0 + \frac{\rho_0 - \rho_\infty}{1 + (j\omega\tau)^{1-\alpha}} = \rho_0 \left\{ 1 - m \left[1 - \frac{1}{1 + (j\omega\tau)} \right] \right\} \quad 12$$

$$\text{Donde, } \begin{cases} \alpha = 1 - c \\ \rho_\infty = \rho_0(1 - m) \end{cases}$$

Se obtiene $I = \{0.63025, 1.0202, 1.4974, 1.894, 1.9753, 1.683, 1.2107\} [\Omega \cdot m]$

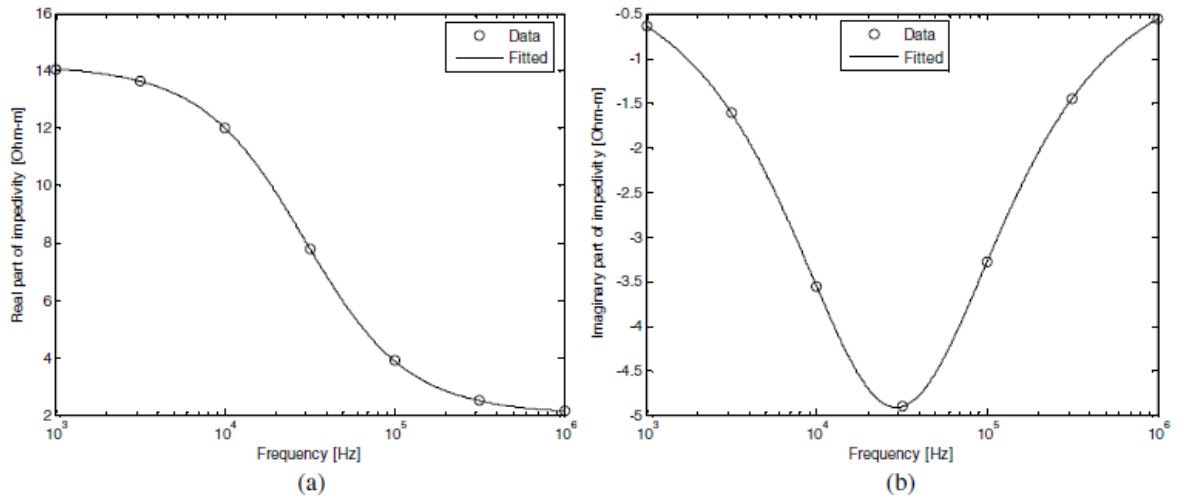


Figura 10 a. Parte real, b parte imaginaria de la impedividad de tejido cervical norma [MIRANDA_08]

Tabla 1, Resultados valores de impedividad

Number of spectral data	Generations	τ (μs)	r_0 (Ωm)	ρ_{∞} (Ωm)	α
5	10	5.46	14.268	1.9927	0.14109
5	100	5.40	14.25	1.9809	0.13993
5	440	5.40	14.25	1.9799	0.14002
7	10	5.43	14.22	2.0074	0.13709
7	100	5.40	14.249	1.9803	0.13988
7	440	5.40	14.25	1.98	0.13998
10	10	5.31	14.207	1.9314	0.13446
10	100	5.40	14.251	1.979	0.14022

La figura muestra los resultados para siete datos de impedividad, y la tabla presenta los resultados para diferentes valores de Impedividad y diferentes generaciones

1.3 EL BIOIMPEDANCIOMETRO

1.3.1 Bioimpedanciómetro Mark III de Sheffield, UK



Fuente: MD. PhD. Carlos Augusto González Correa, Universidad de Caldas, Manizale

Figura 11. Bioimpedanciómetro MARK III

El equipo utilizado para la toma de espectros de impedancia eléctrica fue el Sistema Mono canal Mark III, llamado así por [WALKER_00]. Este equipo fue diseñado y ensamblado en la universidad de Sheffield UK, por el profesor Bryan Brown y colaboradores.

Este dispositivo, que opera en siete frecuencias distintas, excita el tejido con una corriente sinusoidal de frecuencia variable, y mide su respuesta en voltaje.

En [BROWN_04] se puede constatar que el equipo cumple con las normas internacionales de seguridad eléctrica para equipos médicos: BS4724 e IEC601 que han sido aceptadas en Colombia y están contempladas en la norma ICONTEC número NTC-IEC60601.

1.3.2 La sonda de medición

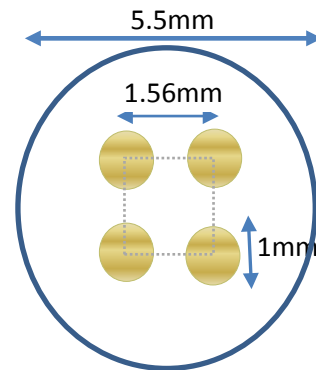
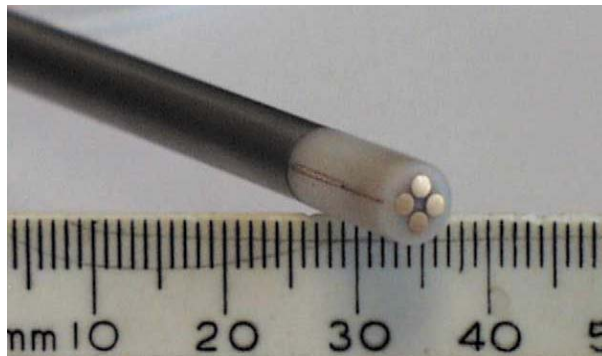


Figura 12. Der foto Sonda de medición (tomado de MD PdD. Carlos Augusto González) Izq. dimensiones sonda de medición

El bioimpedanciómetro MARK III utiliza una sonda de medición como la que se muestra en la figura 12.

La sonda está formada por cuatro electrodos de oro, de 1mm de diámetro cada uno, y espaciados entre si 1.56mm. El diámetro externo de la sonda es 5.5mm.

Una corriente de $40\mu A$ se aplica mediante dos electrodos adyacentes, y la parte real de la respuesta en tensión es medida por los otros dos.

1.3.4 Zona de incidencia de la sonda de medición

Para poder correlacionar los resultados del estudio histopatológico con los espectros de impedancia eléctrica del tejido epitelial cervical es necesario conocer el área de incidencia de la sonda de medición.

Por medio del uso de elementos finitos, para modelar el comportamiento eléctrico del tejido epitelial estratificado, [MIRANDA_07] reporta que la región en la que se concentra la mayor cantidad de corriente que penetra el tejido es alrededor de los electrodos de medición.

En este caso la zona de incidencia de la sonda sería el área comprendida por un círculo cuyo diámetro es la distancia comprendida entre dos electrodos, es decir dos veces el diámetro de un electrodo sumado a la separación entre ellos, 3,56mm.

1.4 CONSIDERACIONES ÉTICAS

Este estudio se llevó a cabo teniendo en cuenta los principios éticos establecidos en el reporte Belmont y en la resolución 008430 de Octubre 4 de 1993:

1. Respeto por las personas:

- Decisión personal: La población estudiada fue conformada por mujeres con capacidad de tomar decisiones por sí mismas, sometidas a citología cervical.
- Consentimiento informado: Solo se tomó medidas en aquellas pacientes que después de haber sido informadas sobre el procedimiento y objetivo de la investigación, aceptaron participar y firmaron el debido consentimiento informado.

- Confidencialidad: Los datos personales de las pacientes se mantienen en completa reserva.

2. Beneficencia:

Seguridad de las personas involucradas en la investigación

- La técnica estudiada no es invasiva, su riesgo es mínimo.
El equipo utilizado para la toma de medidas cumple con las normas internacionales de seguridad eléctrica en equipos médicos.
- Las medidas se tomaron justo antes de realizar la citología cervical, bajo supervisión médica.
- Para garantizar la seguridad biológica de la paciente se utilizó la vestimenta requerida: Bata, Guantes de latex, tapabocas.

Entre medición y medición se esterilizo la sonda mediante inmersión den Cidex® OPA durante un tiempo mínimo de 7 minutos.

Beneficios que ofrece la investigación

- Entre las ventajas de la espectroscopia de impedancia eléctrica como técnica de tamizaje de tejido epitelial cervical, se cuentan: es una técnica de bajo costo, no requiere presencia de un especialista para la toma de datos, es un sistema portable lo cual facilita su uso en zonas rurales, los resultados son inmediatos, no requiere extracción de tejido.

3. Justicia

- La población a estudiar fue escogida de manera heterogénea, no se discriminó estrato social, nivel de estudio ni raza.
- El objetivo central de la investigación es validar una técnica de detección temprana de cáncer de cuello uterino, de bajo costo, y resultados inmediatos, lo cual favorece a la población en general, pero especialmente a las poblaciones rurales y de estratos bajos.

2 RESULTADOS

2.1 PROTOCOLO DE MEDICIÓN

2.1.1 Calibración de la sonda de medición

A continuación se describe el procedimiento utilizado para la calibración de la sonda:

- ✓ Sumergir la sonda limpia y seca, en un frasco plástico con agua desionizada. Agregar lentamente solución salina hasta obtener una medida de voltaje alrededor de 1V, 3V, 5V, 7V, 9V,
- ✓ Marcar el frasco con el valor de la corriente, la ganancia y la medida de voltaje.
- ✓ Medir la conductividad de la solución resultante para lo que se utilizó un conductivímetro HL8033 de Hanna instruments.
- ✓ Este procedimiento se repite para cada una de las ganancias y corrientes del equipo, en total 60 veces.
- ✓ Se organizaron los datos obtenidos y se analizaron por medio de la herramienta computacional MATLAB para obtener los polinomios de calibración..

2.1.2 Toma de datos

Las medidas fueron realizadas en la Liga Santandereana de Lucha Contra el cáncer.

En el consultorio permanecían dos personas, debidamente vestidas, aparte de la paciente: la enfermera encargada de la toma de citología y quien colaboro con la ubicación de la sonda en los puntos de medición, y Sandra Patricia Corzo, quien registro la información en el computador.

El procedimiento para la toma de medidas fue el siguiente:

1. Informar sobre el estudio a cada paciente, invitándole a participar en él y, en caso de estar de acuerdo, solicitarle firmar una carta de consentimiento informado.
2. Introducir la sonda en Cidex® OPA, durante por lo menos siete minutos antes de la toma de datos. Este es un efectivo procedimiento rutinario de esterilización de equipo médico.

3. Registrar los datos de la paciente y del operario según el formato de toma de datos mostrado en la figura 12. Dicho formato pertenece a un programa creado por el PhD (c) David Alejandro Miranda para la visualización y el almacenamiento de los espectros tomados con el bioimpedanciometro MARK III.

The screenshot shows the 'Mark3UI Scent' software window. At the top, there are four tabs: 'Toma de datos', 'Datos de la paciente y el operario', 'Configuración y visualización del último espectro medido', and 'Abrir archivos de datos'. The 'Datos de la paciente y el operario' tab is active. The interface is divided into two main sections: 'Nuevo paciente' and 'Tomar Espectro'. Under 'Nuevo paciente', there are input fields for '# Historia Clínica', 'Nombre del paciente:', and 'Edad [años]'. Below these is a field for 'Operario(s):'. Under 'Tomar Espectro', there are two dropdown menus: 'i = 20 uA' and 'G = 1'. Below these is a dropdown menu for 'Sonda 1'. At the bottom, there are two large text areas: 'Evaluación clínica de la lesión' and 'Observaciones:'. The window title bar shows 'Mark3UI Scent.vi'.

Figura 13. Formato para la toma de datos del paciente y operario

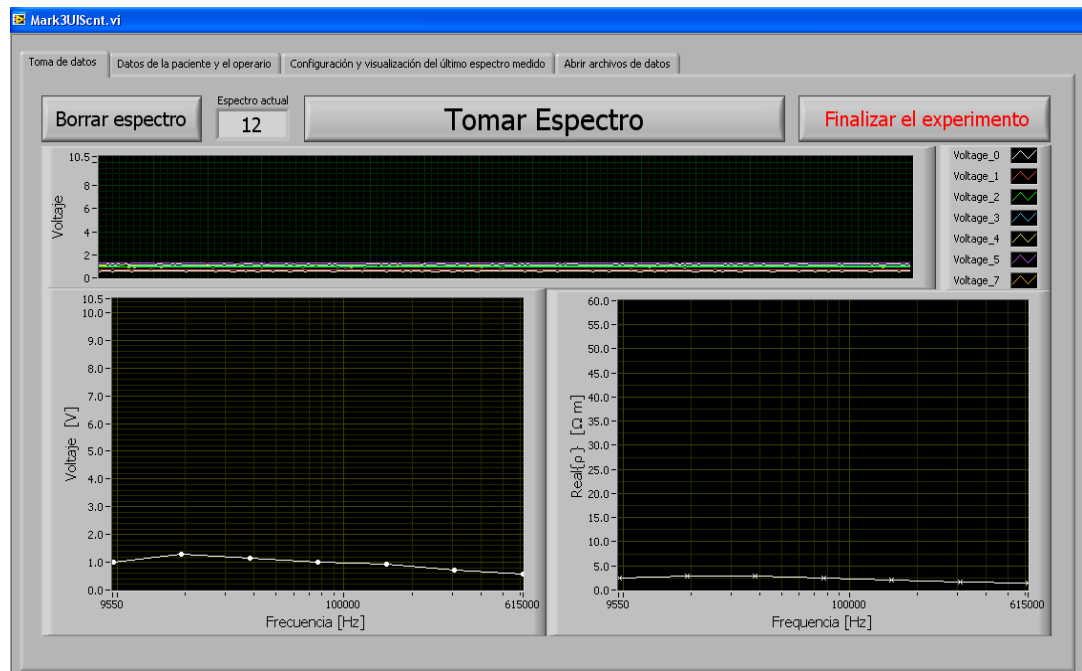


Figura 14. Formato para toma de EIS

4. Limpiar y secar la sonda usando agua destilada, y gaza estéril.

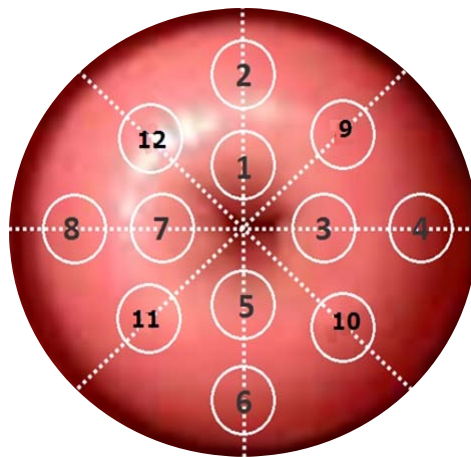


Figura 15. Secuencia de medidas

5. Tomar los espectros de impedancia eléctrica ubicando la sonda en cada zona de medición, según el orden mostrado en la figura 13 (iniciando por 1, 2,..., 8 y siguiendo con a, b, c y d), y guardar el espectro de impedancia eléctrica.

6. Finalmente, la persona encargada toma la muestra de tejido para el análisis microscópico, cuyos resultados son comparados con los parámetros del modelo Cole-Cole extraídos de los espectros de impedancia eléctrica correspondientes.

2.2 ESPECTROS DE IMPEDANCIA ELÉCTRICA Y AJUSTE AL MODELO DE COLE-COLE

Para el ajuste de los espectros de impedancia eléctrica al modelo Cole-Cole se utilizó el algoritmo Miranda, López [MIRANDA_08], con el que se obtuvieron los parámetros ρ_0 , ρ_∞ , α , τ y una curva de ajuste al modelo, para cada zona medida.

Las figuras 16-20 son algunos espectros de impedancia eléctrica representativos de los distintos grados de lesión, de acuerdo al estudio citológico realizado en las muestras analizadas. En las figuras 16 a 20 se presenta la parte real de la impedancia en función de la frecuencia, y se puede apreciar los cambios de las curvas según el grado de lesión, nótese por ejemplo la diferencia de rango entre las gráficas de impedancia de LSIL y las de las demás categorías.

ASCUS + CERVICITIS

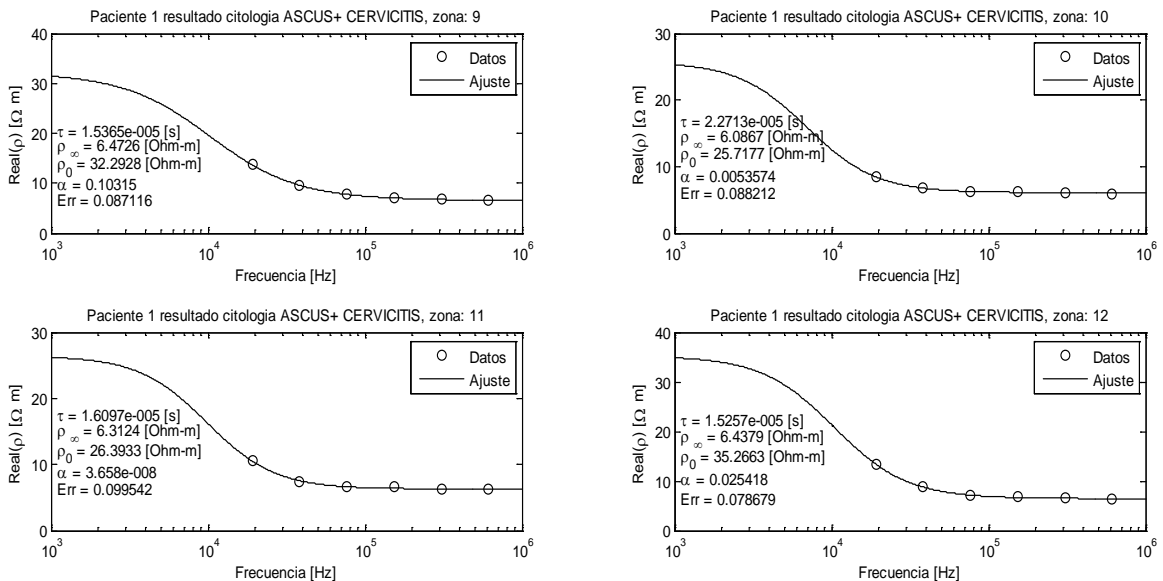


Figura 16. Ajuste de datos parte real de impedancia vs frecuencia (ASCUS CERVICITIS)

ASCUS

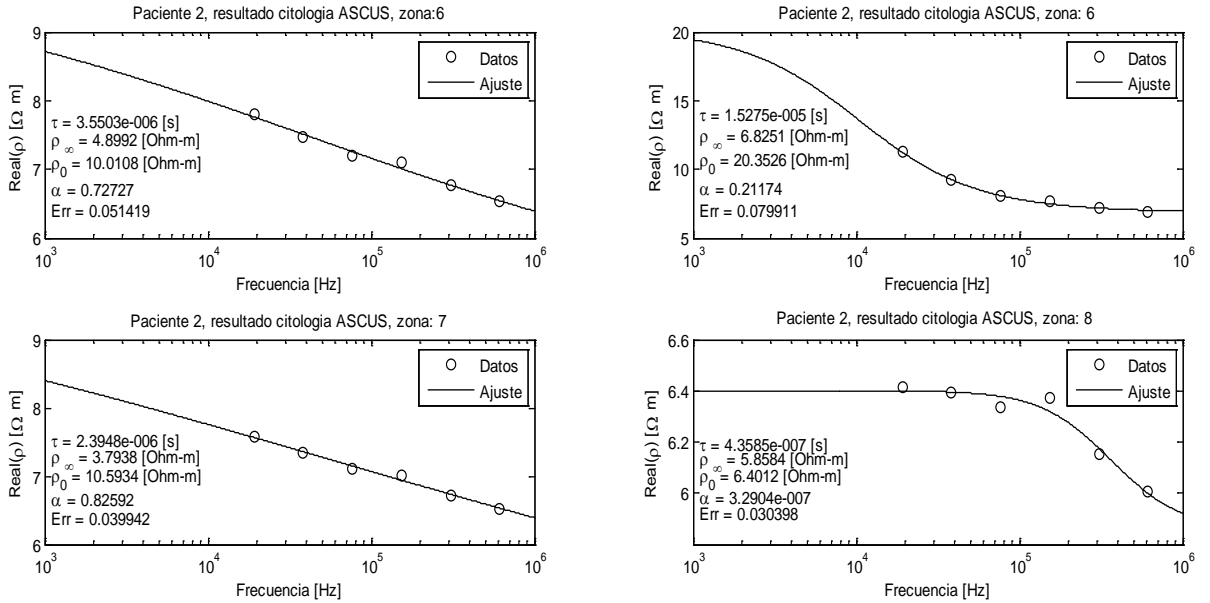


Figura 17. Ajuste de datos parte real de impedancia vs frecuencia (ASCUS)

Normal

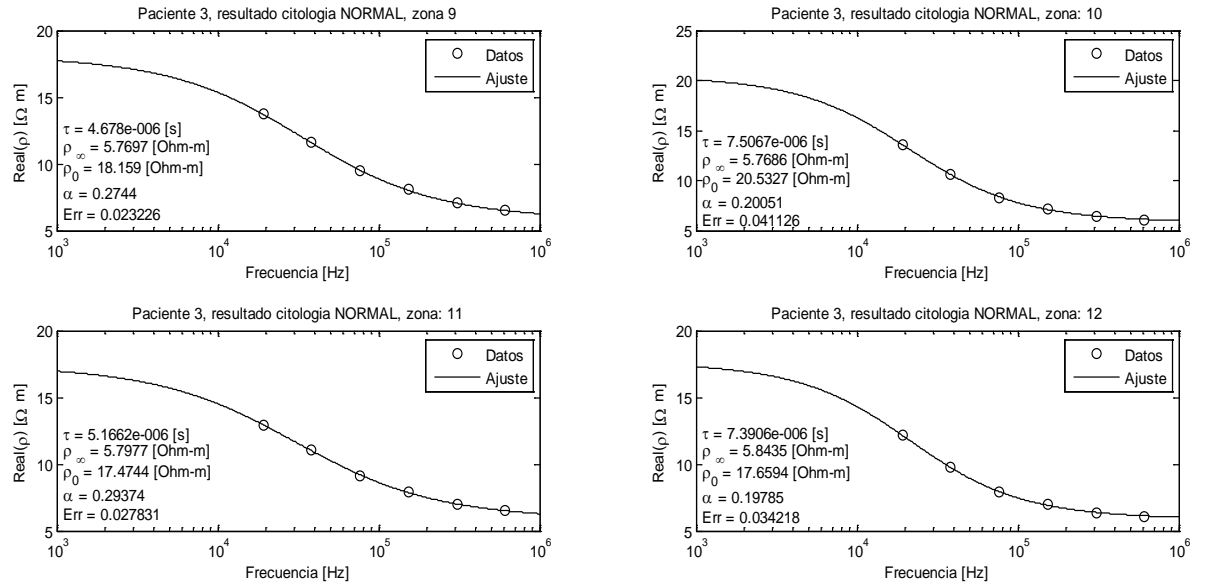


Figura 18. Ajuste de datos parte real de impedancia vs frecuencia (NORMAL)

NORMAL CERVICITIS

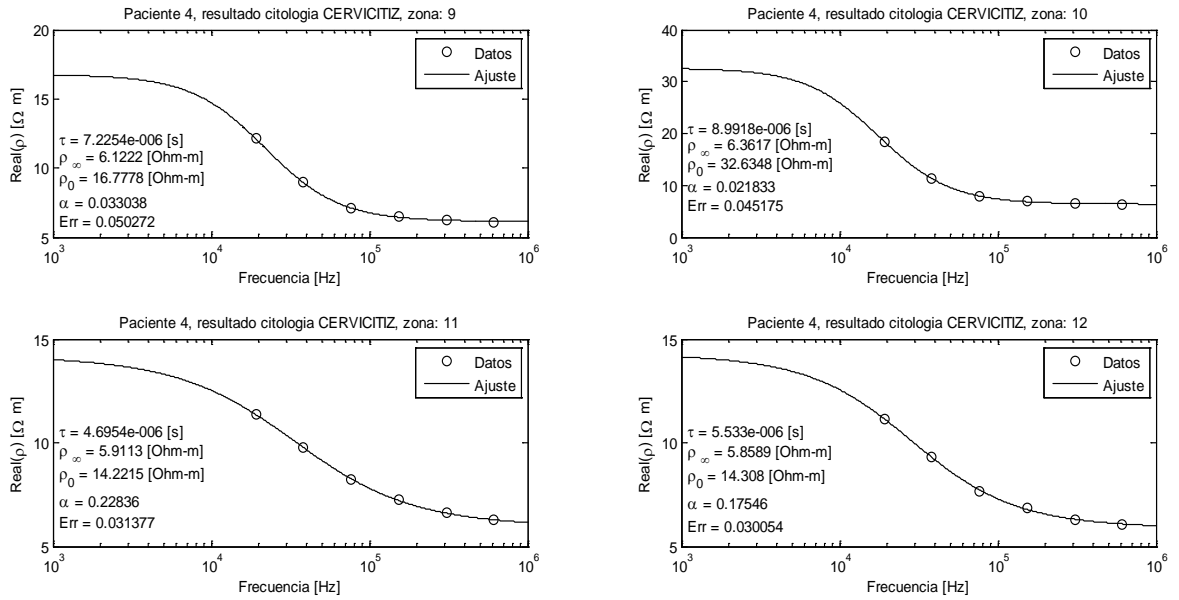


Figura 19. Ajuste de datos parte real de impedancia vs frecuencia (CERVICITIS)

LSIL

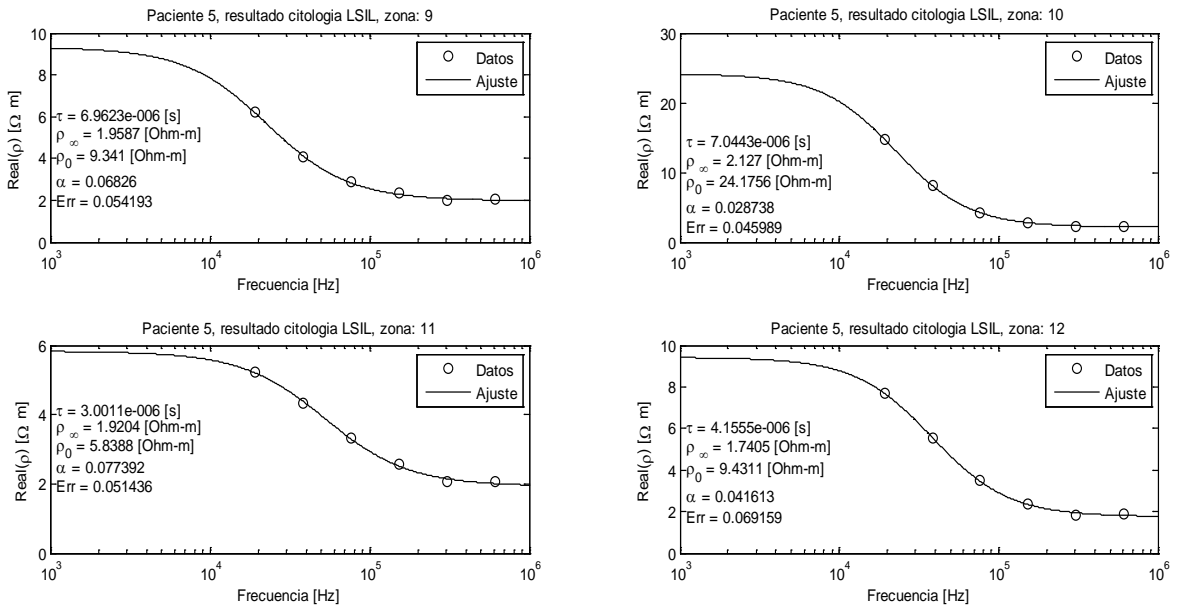


Figura 20. Ajuste de datos parte real de impedancia vs frecuencia (LSIL)

2.3 MODELO COLE-COLE Y RESULTADOS DE LA CITOLOGÍA

El análisis citológico fue realizado por personal especializado de la Liga Santandereana Contra el Cáncer, los resultados de dicho análisis fueron clasificados por patólogo de la siguiente manera:

Tabla 2. Resultados de estudio citológico para las pacientes que participaron en el estudio

RESULTADO	NORMAL	CERVICITIS	ASCUS	LSIL	TOTAL PACIENTES
<i>PACIENTES CON ESTE RESULTADO</i>	6	41	4	2	53

Debido a la cantidad de datos no es práctico listarlos en este informe, por tanto se decidió presentarlos en forma compacta en gráficos de cajas, en los que se puede observar el valor medio de cada parámetro según el grado de lesión para todas las zonas medidas.

El siguiente es el gráfico de cajas correspondiente al parámetro ρ_0 , las líneas rojas horizontales indican el valor medio, los extremos de las cajas representan los cuartiles primero y tercero, respectivamente, y los bigotes son el valor máximo y mínimo del parámetro en cada categoría, los valores que están fuera de rango se representan con los puntos rojos.

En este caso los valores medios son semejantes, por lo que no se esperaría que el parámetro pudiese ser utilizado para discriminar tejido normal de anormal.

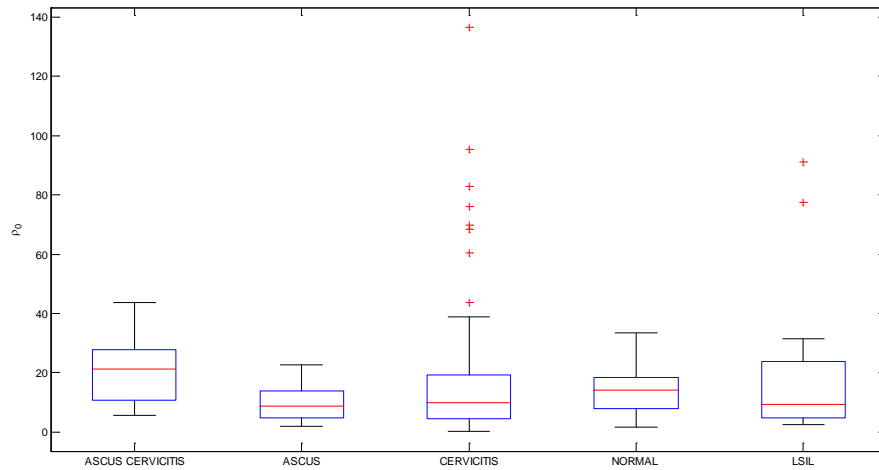


Figura 21. Parámetro ρ_0 [Ω*m] para todos los datos citología

En la gráfica de ρ_∞ se puede observar una diferencia entre los valores medios de las muestras que presentan cervicitis y las que no, además, se puede ver que los valores de este parámetro para las muestras clasificadas por la citología como LSIL tienen un rango muy estrecho, lo que los hace fácilmente diferenciables y sugiere que ρ_∞ es altamente discriminante. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que en este estudio sólo se obtuvieron dos casos de LSIL, por lo tanto, esta observación no es concluyente.

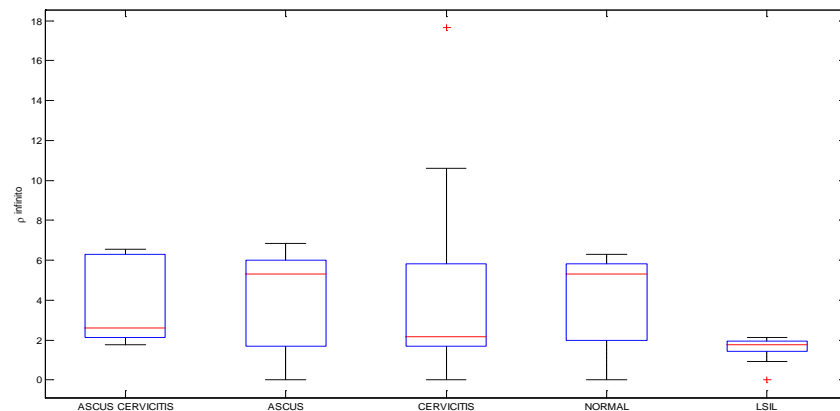


Figura 22. Parámetro ρ_∞ [Ω*m] para todos los datos citología

El tiempo de relajación muestra alta dispersión de datos en todas las categorías, excepto en las correspondientes a ASCUS, por lo que puede esperarse una estrecha relación entre las variaciones de las medidas de este parámetro y los

cambios del tejido intraepitelial cervical durante el paso de normal a ASCUS. Es decir el tiempo de relajación τ puede servir para diferenciar tejidos con ASCUS de tejidos normales.

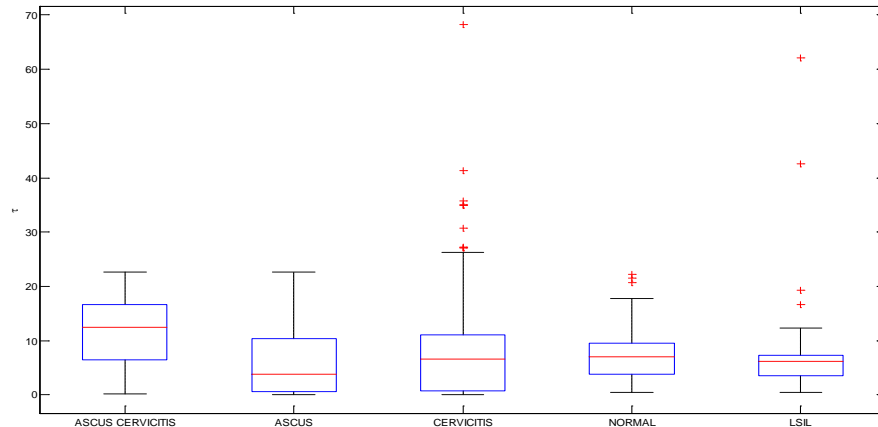


Figura 23. Parámetro τ [μs] para todos los datos citología

La siguiente gráfica corresponde al parámetro α . En ella se puede ver que los valores para este parámetro presentan en dispersión para todos los grados de lesión tamizados, dicha dispersión significa que el factor de heterogeneidad α no logra discriminar tejidos normales de tejidos neoplásicos para los datos de este estudio. Sin embargo no se puede descartar que en un estudio en el que se cuente con una muestra más grande y heterogénea, es decir que contenga tejidos con mayor grado de neoplasia se logre observar diferencias importantes para los valores de α .

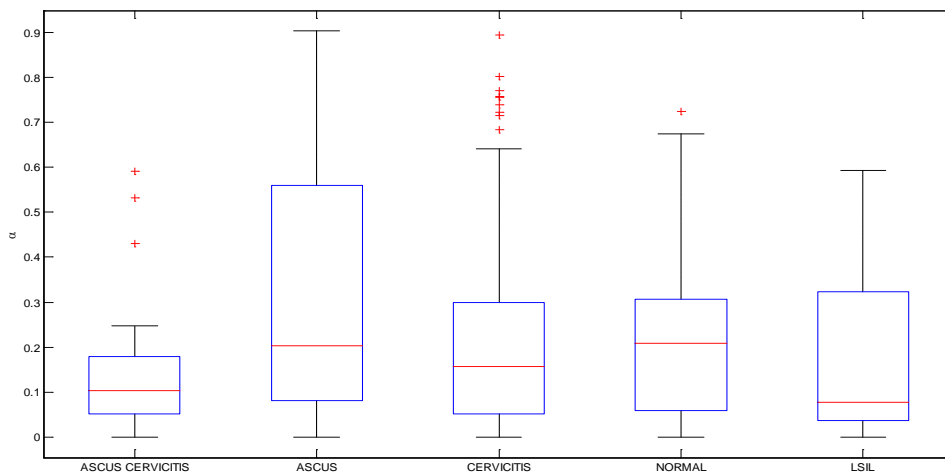


Figura 24. Parámetro α para todos los datos citología

3 ANÁLISIS DE RESULTADOS

3.1 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Para el análisis de datos se utilizó el software Stata, por medio del cual se obtuvieron las curvas ROC (Receiver Operating Characteristic) de cada uno de los parámetros del modelo Cole-Cole con los resultados del estudio citológico correspondientes, Además se realizó un análisis ANOVA one way para determinar la correlación los mismos.

3.1.1 Curvas ROC

Las curvas ROC son un análisis estadístico que básicamente estudia la capacidad predictiva de un sistema clasificador. En ellas se representa gráficamente la sensibilidad, o razón de verdaderos positivos, contra la 1-especificidad, o razón de falsos positivos.

Una de las características más importantes de este análisis es el área bajo la curva, la cual se puede interpretar como un índice de la exactitud del sistema.

A continuación se muestran los resultados del análisis ROC:

ASCUS

Se aplicó un análisis ROC a cada parámetro del modelo Cole-Cole correspondiente a las muestras clasificadas por la citología como ASCUS, con el fin de determinar si alguno de estos parámetros es un factor discriminante de dicha patología.

Como resultado del análisis el software Stata generó la tabla 3, en la que se puede ver el área bajo la curva ROC, el error estándar y el intervalo de confianza para cada parámetro.

Como se describió anteriormente, un valor cercano a uno para el área bajo la curva implica alta discriminación. En la tabla 3, los datos están normalizados, y el área bajo la curva para τ es superior a 0.8, lo que indica que el valor de dicho parámetro tiene una marcada diferencia entre las muestras que presentan ASCUS y las demás.

Tabla 3. Análisis de correlación entre parámetros de Cole-Cole y ASCUS

	Obs	Area	Std. Err.	[95% Conf. Interval]	
τ	48	0.8883	0.0540	0.78250	0.99410
ρ_0	48	0.5532	0.1408	0.27721	0.82918
ρ_∞	48	0.6702	0.1593	0.35799	0.98243
α	48	0.6277	0.1224	0.38767	0.86765

Los demás parámetros presentan un área bajo la curva cercana a 0.5, esto indica que con respecto a ellos la clasificación se haría de manera aleatoria.

La figura 24 muestra la curva ROC que relaciona la sensibilidad y especificidad de la clasificación ASCUS con respecto a τ , nótese que el punto de corte es (0.234, 1) lo que sugiere una sensibilidad y especificidad superiores a 76,6%.

Es importante resaltar que los intervalos de confianza obtenidos en este estudio son muy amplios debido al tamaño de la muestra, por tanto los valores de sensibilidad y especificidad que se muestran son solo indicadores de la alta probabilidad que la técnica estudiada sea válida, pero, para hallar la sensibilidad y especificidad exactas es necesario ampliar el tamaño de la muestra.

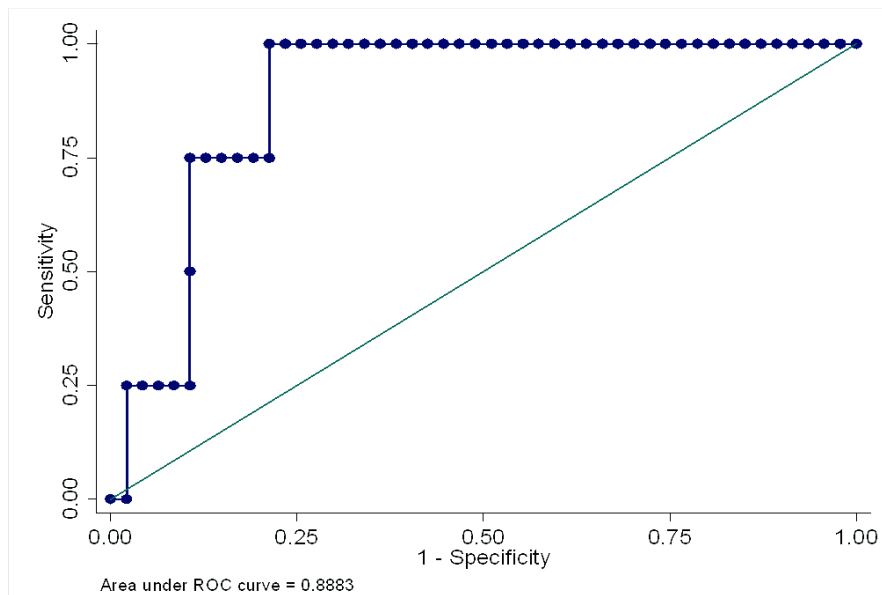


Figura 24. Curva ROC de ASCUS vs τ

LSIL

Para esta categoría se hizo el análisis de dos formas distintas:

- a. utilizando todos los datos (las doce zonas de cada paciente).
- b. utilizando sólo el dato crítico de cada paciente, es decir, según las características del tejido se esperaría que el valor de ρ_{∞} sea mayor en un tejido lesionado que en uno sano, dado que este parámetro representa la oposición al flujo de corriente que hace el tejido a altas frecuencias, en las que la corriente atraviesa el medio intracelular el cual es más denso en una célula cancerígena que en una normal ya que su núcleo se alarga. Lo contrario ocurre con ρ_0 y τ , los cuales se espera sean mayores en tejido no lesionado, entonces, de las doce medidas de cada paciente se escogió el valor máximo de ρ_{∞} y el valor mínimo de ρ_0 y τ .

a. Utilizando todos los datos:

Al utilizar todos los datos se encuentra una relación significativa entre la patología LSIL y el parámetro ρ_{∞} .

La figura 26 muestra un área bajo la curva 0,9 y su punto de corte sugiere una sensibilidad de 100% y especificidad de 89,13%, estos valores de sensibilidad y especificidad corresponden sólo a los datos de este trabajo, para hallar valores de la técnica en general es necesario hacer más estudios en los que se incluya una mayor cantidad de datos.

Tabla 4. Análisis estadístico ρ_{∞} vs LSIL

Obs	Area	Std. Err.	[95% Conf. Interval]	
47	0.9348	0.0364	0.86343	1.00000

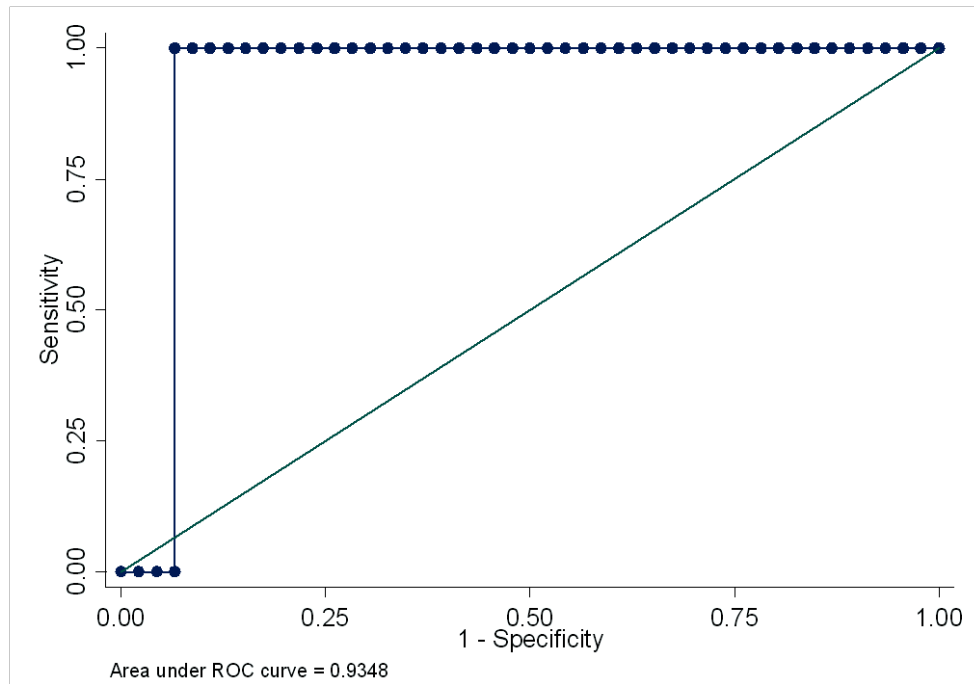


Figura 255. Curva ROC ρ_{∞} Vs LSIL

b. Utilizando los datos críticos:

La tabla 4 muestra los valores característicos para este tipo de análisis, nuevamente la resistividad a alta frecuencia ρ_{∞} se presenta como un factor altamente discriminante, pero en este caso también el tiempo de relajación τ tiene un área bajo la curva superior a 0,8.

En la figura 26 se puede observar las curvas correspondientes a estos dos parámetros respecto a la patología LSIL, la gráfica sugiere una sensibilidad superior a 90% en ambos casos, pero la especificidad respecto a τ es más baja, alrededor de 67%. Aunque estos valores no son validos en caso de comparar la espectroscopia de impedancia electrica contra otras tecnicas, debido a la poca cantidad de datos incluidos en este estudio, son buenos resultados y sugieren que vale la pena realizar futuros estudios en los que se incluya mayor cantidad de pacientes.

Tabla 5. Análisis estadístico para LSIL con los datos críticos

	Obs	Area	Std. Err.	[95% Conf. Interval]	
τ_{min}	53	0.8137	0.1894	0.44254	1.00000
ρ_{0min}	53	0.6275	0.3738	0.00000	1.00000
$\rho_{\infty max}$	53	0.8235	0.0637	0.69876	0.94830
α	53	0.6765	0.2490	0.18845	1.00000

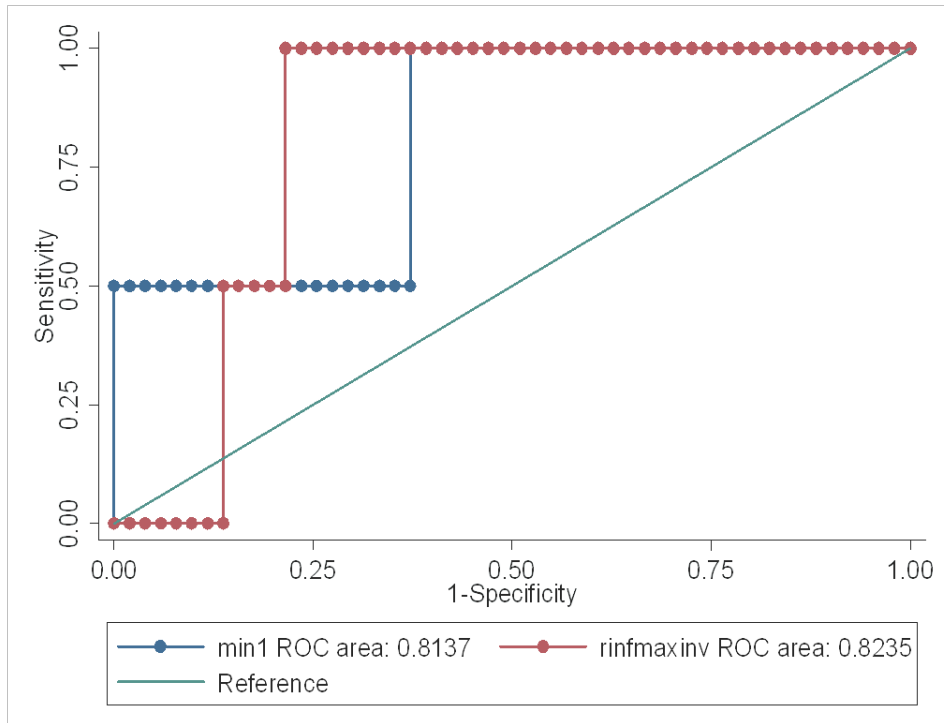


Figura 26. Curva ROC LSIL vs τ_{min} y LSIL vs $\rho_{\infty max}$

3.1.2 Analisis ANOVA

El analisis ANOVA, o analisis de varianza, permite comparar los valores numericos de grupos diferentes de datos y establecer si hay diferencias significativas entres ellos. Para ello se plantea una hipotesis nula y se le asigna un valor de

significancia p . En caso que los grupos de datos difieran lo suficiente, el valor de p sera $p < 0.05$ y la hipótesis nula es rechazada, de lo contrario no se tiene un criterio seguro de clasificación.

Para realizar este analisis los datos se dividieron en tres grupos: Normal, ASCUS, y LSIL. No se separaron los datos con cervicitiz debido a que esta es una patologia muy comun en las mujeres y sus causas no están directamente relacionada con neoplasia intraepitelial cervical.

Los resultados fueron los siguientes:

Las figuras 27 – 30 muestran la gráfica de la prueba ANOVA para cada uno de los parametros de Cole – Cole, la linea roja representa el valor medio del parametro para cada tipo de lesión, y en la tabla 5 se puede ver el valor de significancia respectivo.

Según la tabla 5 los parametros ρ_{∞} y α son altamente diferenciables para cada grupo escogido ya que sus valores de significancia son menores a 0,05.

Si se observa la figura 27, correspondiente al parametro ρ_{∞} se puede ver la marcada diferencia de los valores medios en cada clasificación lo cual es un indicador de que efectivamente este parametro permite clasificar los diferentes tipos de lesión.

En la figura 30, correspondiente al factor de heterogeneidad, los valores se muestran muy dispersos, por lo que a pesar de tener un $p < 0,05$ seria precipitado afirmar que este parametro es un factor discriminante por si solo.



Figura 27. Análisis ANOVA para ρ_{∞}

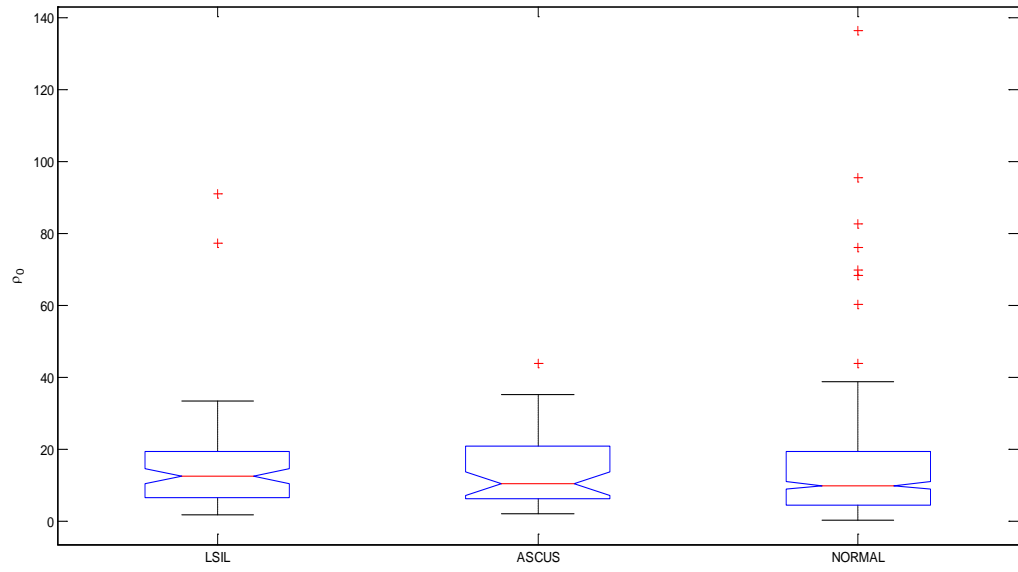


Figura 28. Análisis ANOVA para ρ_0

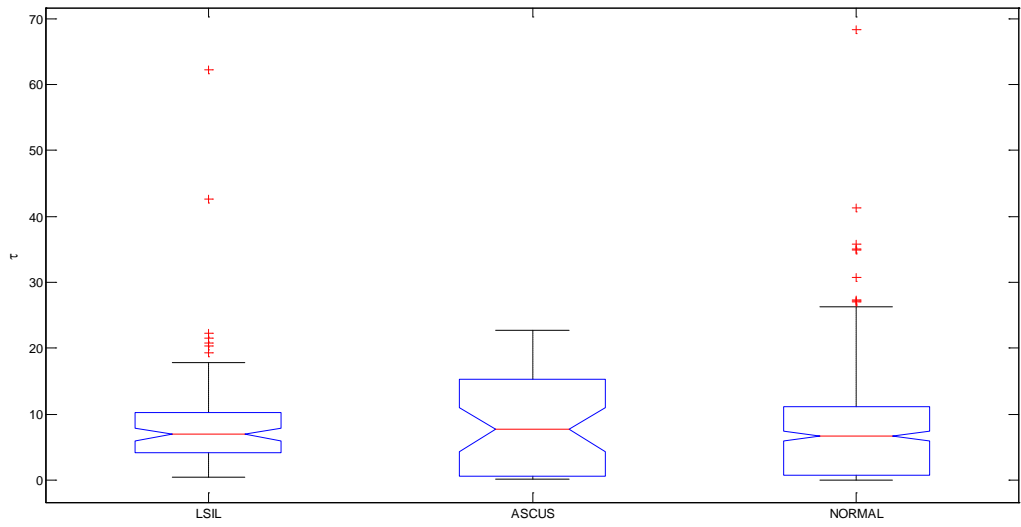


Figura 29. Análisis ANOVA para τ

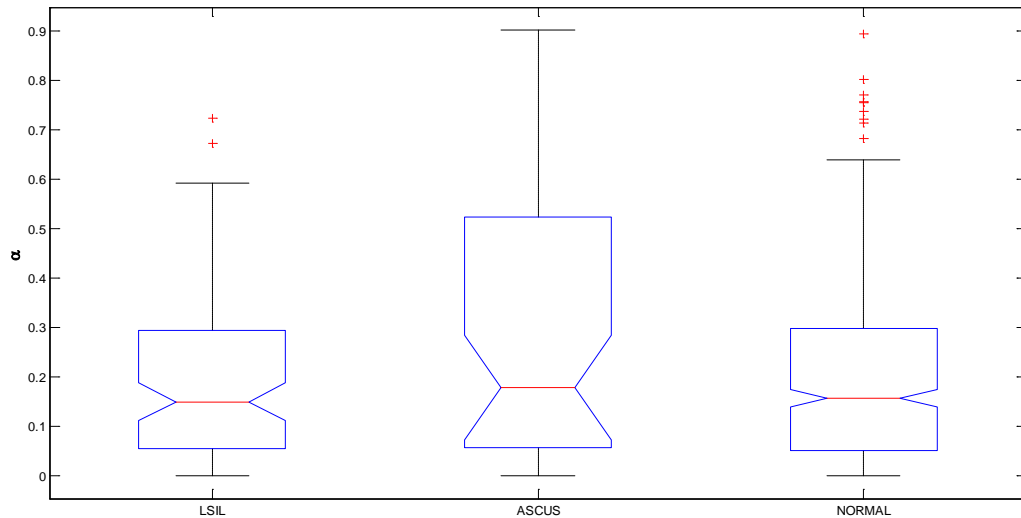


Figura 30. Análisis ANOVA para α

Tabla 6. Valor de significancia p para los parámetros de Cole-Cole

<i>Parametro</i>	ρ_{∞}	ρ_0	τ	α
<i>P</i>	0,0002	0,5959	0,4181	0,0148

3.1.3 ESPECTROSCOPIA DE IMPEDANCIA ELÉCTRICA COMO TÉCNICA DE TAMIZAJE DEL CÁNCER DE CUELLO UTERINO

Tanto las curvas ROC como el análisis de varianza sugieren que utilizando la espectroscopia de impedancia eléctrica, y los parámetros de Cole-Cole, es posible clasificar una muestra de tejido intraepitelial cervical como normal o precanceroso (LSIL).

Las diferencias en los parámetros para cada tipo de lesión tienen explicación en los cambios morfológicos que sufre el tejido afectado.

Por ejemplo, un tejido normal es altamente estructurado, mientras que en un tejido que presenta una lesión leve (LSIL), se empieza a notar cambios en las características de las células como aumento del tamaño del núcleo y fenómenos de binucleación, estos cambios no sólo afectan el medio intracelular sino que también alteran la estructura del tejido.

Este estudio ha mostrado que el parámetro que presenta mayor diferencia de valores en cada grado de lesión es ρ_{∞} , teniendo en cuenta que la corriente a alta frecuencia penetra la membrana celular y que ρ_{∞} representa la oposición del tejido al paso de corriente en el rango de frecuencias altas, se puede afirmar que la variación de dichos valores está relacionada con los cambios internos de las células lesionadas.

El parámetro ρ_0 no presento diferencias significativas para los grados de lesión tamizados, esto no significa que no pueda ser un factor discriminante de cáncer, ya que dicho parámetro está relacionado con la corriente que pasa el medio extracelular, y la máxima lesión que se ha tratado en este estudio es LSIL, en la cual no se presentan cambios drásticos de la arquitectura del tejido, es de esperar que para lesiones más graves, como HSIL y CAI, en las que la estructura del tejido se ve seriamente afectada, los valores de la resistividad a baja frecuencia muestren cambios importantes respecto al tejido normal.

El tiempo de relajación τ , es el tiempo que demora el tejido en volver a su estado de equilibrio después de haber sido excitado por una señal de corriente alterna; un tejido normal tiene una estructura más “rígida” que uno anormal y tiende a mantener intactas sus características, un tejido lesionado puede resultar más vulnerable a cambios por factores externos, esta puede ser la causa de la diferencia observada en los valores de este parámetro.

3.2 DISCUSIÓN.

En el análisis estadístico resalta la calidad de ρ_{∞} como factor discriminante de neoplasia intraepitelial, confirmando los hallazgos de investigaciones anteriores sobre el tema [MIRANDA_07], [BROWN_00].

Las curvas ROC para la resistividad a alta frecuencia ρ_{∞} y tiempo de relajación τ presentan valores de sensibilidad y especificidad superior al 80%. Aunque estos valores corresponden sólo a los datos de este estudio, y no son válidos en el caso de comparar la espectroscopia de impedancia eléctrica como técnica de tamizaje de neoplasia intraepitelial, contra otras técnicas, son buenos resultados que indican alta probabilidad de que la técnica sea válida.

Aunque en este estudio no se hallaron características destacables para ρ_0 y α , se debe tener en cuenta que el hecho de no contar con muestras que

presentaran un alto grado de lesión es un limitante, y sugiere, en una próxima investigación, ampliar la cantidad de mujeres incluidas en el estudio.

El análisis ANOVA revela una relación del factor de heterogeneidad α con el grado de lesión del tejido, sin embargo el rango de los valores para este parámetro es muy amplio. Esta dispersión de datos hace que los resultados no sean claros, es de esperar que en un estudio en el que se cuente con una muestra mayor y más heterogénea se pueda establecer en qué forma afecta el grado de lesión al valor de α .

Es importante tener en cuenta las diferencias de este trabajo, con el correspondiente a la fase I de la investigación [MIRANDA_08].

A continuación se comentan las más destacables:

Los datos de la primera fase de la investigación fueron tomados en pacientes sometidas a biopsia, conización, e hysterectomía, mientras que en la fase actual los datos se tomaron en mujeres que asistieron a tomarse un examen citológico rutinario.

Para el análisis de datos de este trabajo, se hizo una comparación estadística de los parámetros de Cole – Cole, hallados con el algoritmo Miranda-López, contra los resultados del estudio citológico de las muestras. En la fase anterior de la investigación se utilizó una versión de dicho algoritmo para hallar los parámetros del modelo Cole-Cole, pero, los datos fueron tamizados de acuerdo al estudio histopatológico de las muestras.

Esto causa que los resultados difieran entre sí, debido a que el epitelio escamoso es un sistema dinámico de células en proceso de maduración, propiedad que es posible observar en el estudio histopatológico, en el cual se analiza la arquitectura completa del epitelio, que consta de 25 capas celulares, mientras que en el estudio citológico se cuenta con un raspado superficial, que muestra sólo una imagen estática de todo el sistema por lo que un tejido neoplásico puede mostrarse ante el estudio citológico como uno normal.

A causa de lo anterior, se infiere que el hecho de tomar los resultados del estudio histopatológico como gold estándar, hace que la técnica sea más sensible pero menos específica, esto se puede observar al comparar el tamizaje de los datos actuales realizado según las curvas de clasificación halladas en [MIRANDA_07], con los resultados de la citología. A continuación se muestra una de dichas curvas de clasificación:

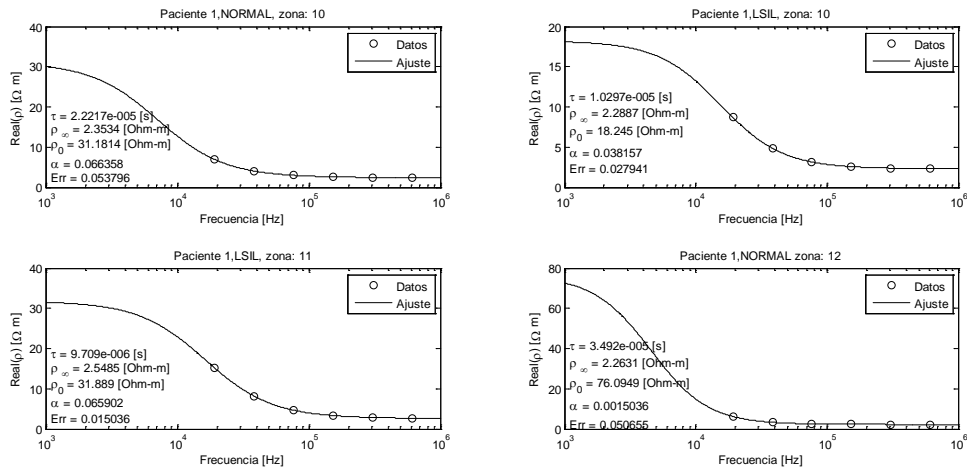


Figura 31 Curvas de ajuste según los hallazgos en [MIRANDA_07]

La figura 30, muestra las curvas de ajuste para cuatro zonas medidas en una misma paciente, cuyo resultado de la citología fue NORMAL, sin embargo el tamizaje realizado según los hallazgos de [MIRANDA_07] sugieren que dos de las zonas medidas presentan LSIL.

Para próximos estudios, se recomienda tomar datos a una población más grande y hacer seguimiento especial a las pacientes con resultados anormales, con el fin de ampliar la cantidad de muestra de tejido lesionado, reducir los intervalos de confianza, y garantizar la calidad de la técnica.

4 CONCLUSIONES

- ✓ Las curvas ROC sugieren que ninguno de los parámetros del modelo de Cole-Cole logra discriminar cervicitis, esto indica que no hay diferencias significativas entre las propiedades eléctricas de tejido intraepitelial cervical con cervicitis y tejido normal.
- ✓ Según el análisis ANOVA, la resistividad a alta frecuencia ρ_{∞} es el parámetro del modelo Cole-Cole que está más fuertemente relacionado con el grado de lesión del tejido, mostrando un valor de significancia $p < 0,002$. Esto se corrobora con los resultados de las curvas ROC las cuales sugieren que la sensibilidad y especificidad de la clasificación de tejido por parte de este parámetro, en los diferentes grupos tamizados son superiores a 80% para los datos de este estudio, es muy importante resaltar que estos valores de sensibilidad y especificidad no son válidos a la hora de comparar la espectroscopia de impedancia eléctrica contra otra técnica, ya que la población estudiada fue muy pequeña, pero si son un importante indicador de que la técnica promete ser altamente confiable y que vale la pena seguir estudiándola
- ✓ Los resultados de este estudio sugieren que el tiempo de relajación τ juega un papel importante en el tamizaje de tejido intraepitelial cervical por medio de Espectroscopia de impedancia eléctrica EIS, siendo el área bajo las curvas ROC para ASCUS y LSIL correspondientes a dicho parámetro superiores a 0,81.
- ✓ La Espectroscopia de Impedancia Eléctrica y los parámetros del modelo Cole-Cole diferenciaron los tejidos con ASCUS de los normales para los datos de este estudio, esto es confirmado por los resultados de la curva ROC del parámetro τ para ASCUS, en la que se logra un área bajo la curva superior a 0.8, los amplios intervalos de confianza mostrados por esta curva sugieren que se debe ampliar la muestra para poder descartar o afirmar que la técnica lograra diferenciar ASCUS en cualquier caso.
- ✓ Los resultados sugieren que la espectroscopia de impedancia eléctrica como técnica de tamizaje de tejido intraepitelial cervical discrimina ASCUS y LSIL con alta sensibilidad, lo que la convierte en una buena técnica de acompañamiento para la citología, ya que según la literatura la sensibilidad de esta última varía según la metodología utilizada para la lectura de las muestras.

5 BIBLIOGRAFÍA

[ADKINDS_04] **SARA ADKINDS** "La prevención del cáncer cervical a nivel mundial",ACCP,2004

[ALEMÁN_06] ALEMÁN B, PÁEZ B. "Modelado y simulación de propiedades eléctricas de tejido epitelial estratificado sano". Trabajo de grado para optar el título de Ing. Electrónico. Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ingenierías Físico-Mecánicas. Bioingeniería. Bucaramanga, 2006.

[DORF_06] DORF R, "The Electrical Engineering Handbook Series, Biomedical Engineering Fundamentals", Capítulo 19, 19.1 Membrane. Taylor & Francis Group,2006.

[BROWN_00] BROWN B, TIDY J, BLACKETTA, SMALLWOOD R SHAP F. "*Relation between tissue structure and imposed electrical current flow in cervical neoplasia*". Lancet, Marzo de 2000.

[COLE_41] COLE K, COLE R, "Dispersion and absorption in dielectrics", Journal of Chemical Physics. Vol. 9, 1941

[GARCIA_07] GARCIA E, DIAZ J, MELO M, PARRA F, VERA L, LATREJ. "Factores asociados a la identificación del cáncer de cuello uterino en la citología, colposcopia y biopsia en la liga santandereana de lucha contra el cáncer de 2002 a 2003", Revista Española de Patología, 2007, vol 40.

[GABRIEL_96] GABRIELC, CABRIEL S. CORTHOUT E. "The dielectric properties of biological tissues: I. Literature survey" Phys.Med.Buik.col 41, 1996 pp 2231-2249.

[GABRIEL_96] CABRIEL S, LAU R, CORTHOUT E. "The dielectric properties of biological tissues: II. Measurements in the frequency range 10Hz to 20GHz" Phys.Med.Buik.col 41, 1996 pp 2251-2269.

[GABRIEL_96] CABRIEL S, LAU R, CORTHOUT E. "The dielectric properties of biological tissues: III. Parametric models for the dielectric spectrum of tissues" Phys.Med.Buik.col 41, 1996 pp 2271-2293.

[GRIMNES_08] GRIMNES S, GROTTEN O,"BIOIMPEDANCE AND BIOELECTRICITY BASICS" Segunda edición, Capitulas 3, 4 y 8. Elsevier Ltd. 2008.

[JAIMES_06] JAIMES J, VALENCIA J,"Diseño de un medidor de conductividad eléctrica de soluciones Salinas, haciendo uso de una celda de conductancia calculable, para la calibración de una sonda tetrapolar utilizada en la medición de impedancia eléctrica en tejido humano"CIMBIOS UIS, 2006

[JARA_08] JARA J, CELIS J, "Tanatocronodiagnostico en humanos basado en espectroscopia de impedancia eléctrica, fase I" CIMBIOS UIS, 2006

[JENNINGS_95]D. Jennings, A. Flint, B.C.H. firton and L.D.M. Nokes," Introduction to Medical Electronics Applications"Capitulo 1, Edward Arnold,1995.

[MIRANDA_07]MIRANDA D, BARRERO J, ECHEVERRI J. "*Estudio para la detección temprana de cáncer de cuello uterino*",1ª Edición. Universidad Industrial de Santander. Sic editorial ltd., 2007.

[MIRANDA_08]MIRANDA D, LOPEZ S. "Determination of Cole-Cole parameters using only the real part of electrical impedivity measurements". Physiological Measurement, 2008.

[NANDA_00] NANDA K, McCRORY D, MYERS E, BASTIAN L, HASSELBLAD V, HICKEY J, MATCHAR D. " Accuracy of the Papanicolaou Test in Screening for and Follow-up of Cervical Cytologic Abnormalities: A Systematic Review", American Journal of Epidemiology 141,no. 7, 1995

[RIGAUD_96] RIGAUD B, MORUCCI J, CHAUVEAU N. "Bioelectrical Impedance Techniques in medicine, Part I. Bioimpedance Measurement. Natsvile: Editorial Advisory Board, Critical Review in Biomedical Engineering Vol. 24 Issues 4-6 1996.

[SALAZAR_2004] SALAZAR Y. "Caracterización de Tejidos Cardiacos mediante métodos Mínimamente Invasivos y No Invasivos basados en Espectroscopia de Impedancia Eléctrica", Universidad Politécnica de Cataluña, Tesis doctoral, 2004.

[SCHWAN_57] SCHWAN H, "Electrical properties of tissue and cell suspensions", Vol V. New York, Academic Press, 1957.

[URIBE_2004] URIBE C, MEZA E, "Incidencia de cáncer en el área metropolitana de Bucaramanga, 2000-2004", vol 10 número 3, Med Unab, 2007.

[WALKER_00] WALKER D, BROWN B, HOSE D. "Modeling the electrical impedivity of normal and premalignant cervical tissue" Electronics letters. Vol 36, No 19, 2000.

[WRIGHT_07] WRIGHT T, STEWART L, DUNTON C, SPITZER M, WILKINSON E, SOLOMON D. "2006 Consensus Guidelines for the Management of Women With Abnormal Cervical Screening Tests", Journal of Lower Genital Tract Disease, Vol. 11 No 4, 2007.

[XIANG_01] XIANG J, JONES N, CHENG D SCHLINDWEIN F. "Direct inversion of the apparent complex – resistivity spectrum". Geophysics, Vol 66, No 5. Pp 1399-1404

Páginas web consultadas

[1] http://www.cancer.org/downloads/STT/Datos_Estadisticas_Hispanos_Latinos_2009-2011.pdf Última consulta 7 de abril de 2010

[2] http://www.cancer.org/downloads/STT/Global_Facts_and_Figures_2007_rev2.pdf Última consulta 7 de abril de 2010.