

Revista Mexicana de Ingeniería Biomédica

Volumen
Volume 23

Número
Number 2

Septiembre
September 2002

Artículo:

Diseño y construcción de un sistema de medida de temperatura para la criopreservación de homoinjertos cardiovasculares – TemperMed

Derechos reservados, Copyright © 2002:
Sociedad Mexicana de Ingeniería Biomédica, AC

Otras secciones de
este sitio:

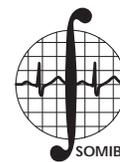
- 👉 Índice de este número
- 👉 Más revistas
- 👉 Búsqueda

*Others sections in
this web site:*

- 👉 *Contents of this number*
- 👉 *More journals*
- 👉 *Search*



Medigraphic.com



Diseño y construcción de un sistema de medida de temperatura para la criopreservación de homoinjertos cardiovasculares - TemperMed

John Bustamante O., MD,
Ph.D,* Alejandra Gallón L. IE,*
Diego Cuartas R., IE, MSc*

* Grupo de Investigación Dinámica
Cardiovascular.
Universidad Pontificia Bolivariana y
Clínica Cardiovascular Santa María
Tel. 4159080, Direc. Cir 1ª No 70 - 01,
Medellín - Colombia
E-mail: johnb@logos.upb.edu.co

Artículo recibido: 22/mayo/2002

Artículo aceptado: 15/julio/2002

RESUMEN

El sistema de medida de temperatura para la criopreservación de homoinjertos cardiovasculares (TemperMed) es un sistema automatizado para la toma, almacenamiento y posterior manipulación de datos de temperatura de tejidos biológicos en proceso de enfriamiento, y surge con el objetivo de optimizar y garantizar una técnica que permita conservar la calidad de los tejidos procesados, con una amortización de costos en el proceso.

El sistema desarrollado permite registrar la temperatura de dos homoinjertos simultáneamente; no requiere la permanencia de personal durante el tiempo demandado por el proceso; introduce garantías de precisión en los intervalos temporales entre una y otra medición, y en el dato mismo; vincula óptimos elementos instrumentales con relación a las características particulares del proceso; y en general, facilita el análisis y la comparación de resultados que pueden relacionarse con las variables y curvas de enfriamiento, así como el refinamiento del proceso.

Para el desarrollo del proyecto TemperMed se implementó una etapa instrumental en la que se construyó un prototipo físico, a la vez que se desarrolló una aplicación en plataforma de Visual Basic®, presentando una interfaz amigable y que satisface las necesidades planteadas en el proceso de criopreservación; finalmente se realizaron pruebas que permitieron validar la funcionalidad del sistema.

Palabras clave:

Adquisición, temperatura, criopreservación, homoinjertos, bioimplantes.

ABSTRACT

The Temperature Measurement System for the Cryopreservation of Cardiovascular Homografts (TemperMed) is an "automatized system for the register, storage and later data manipulation of the temperature of biological tissue in a cooling process, and its objective is to optimize and to guarantee a technique that allows to conserve the quality of tissue processed, with a decrease of costs in the process.

The developed system allows us to register the temperature of two homografts simultaneously; it does not require the personnel permanence during the time demanded by the process; it introduces guarantees of precision in the temporary intervals between one and an-

other measurement, and in the same data; it ties optimal instrumental elements in relation to the particular characteristics of the process; and in general, it facilitates the analysis and the comparison of results that are going to be related to the variables and curves of cooling, as well as the refining of the process.

For the development of the TemperMed project an instrumental phase was implemented in which a physical prototype was constructed, simultaneously an application was developed in Visual-Basic®, presenting a friendly interface that satisfies the necessities raised in the process of cryopreservation; finally tests were made that allowed us to validate the functionality of the system.

Key Words:

Acquisition, Temperature, Cryopreservation, Homografts, Bioimplants.

INTRODUCCIÓN

El progreso en la biología celular y el área biomédica en general, ha propiciado el trasplante de células y tejidos de un humano a otro, permitiendo la restauración funcional de varios órganos perdida por enfermedad, incrementando de esta forma la calidad de vida en los pacientes. Así mismo obra el trasplante de órganos y estructuras anatómicas, acometidos por hace más de 30 años¹, gracias a los cuales millones de personas han tenido la oportunidad de prolongar su vida; por lo que las comunidades de trasplantados han reconocido tanto el valor humanitario como científico del acto de donación de órganos y tejidos. De otro lado, a los bancos de tejidos y órganos les corresponde establecer y promulgar los estándares orientados a la adecuada preservación de los elementos a implantar y el aseguramiento del desempeño del implante biológico al ser trasplantado al nuevo organismo².

El trasplante de tejidos vivos y en general su estudio exige métodos que garanticen que no hay degeneración tisular durante la etapa de conservación³. Surge en esta instancia la criogenización como una alternativa que bajo estrictas consideraciones técnicas arroja excelentes resultados⁴. Durante las últimas décadas se han realizado múltiples experiencias con la criopreservación, que han contribuido a la adquisición de un amplio bagaje para adecuar los procesos y definir procedimientos de enfriamiento a seguir para no afectar el tejido durante su conservación. El seguimiento de la curva de enfriamiento debe realizarse minuciosamente, en especial en ciertas fases críticas del proceso, estas etapas corresponden a un tiempo aproximado de 2 a 2:30 horas. En este sentido, un

proceso que demanda tanto tiempo, a cargo de una persona asignada a tomar lectura de la temperatura minuto a minuto, trae consigo muchas dificultades, como son: posibilidades de error de registro y sobrecostos en el proceso, que conllevan una falta de practicidad del mismo.

Los bancos de tejidos y órganos de países desarrollados han avanzado bastante en estas técnicas, pero el acceso a dichas tecnologías es difícil, básicamente por factores económicos. Por este motivo, se debe desarrollar una gran capacidad para elaborar instrumentos propios; en este marco, TemperMed viene a dar un apoyo a los procesos de criopreservación de la Clínica Cardiovascular Santa María, de Medellín-Colombia, permitiendo mejorar la técnica de aloinjertos valvulares y asegurar la viabilidad de dichos tejidos in vitro, incurriendo en la creación de un sistema altamente confiable, que minimiza la intervención humana en procesos mecánicos de posible automatización, como lo es la adquisición del dato térmico, dando paso a un seguimiento minucioso del proceso, y permitiendo a la labor profesional su concentración en aspectos de mayor relevancia antes que invertir tiempo valioso en tareas de tipo operacional.

Con la realización del presente proyecto se supera una falencia en el proceso de automatización de la criogenización en nuestro medio, constituyéndose en plataforma para un importante trabajo de investigación biomédica en tejidos preservados.

MARCO TEÓRICO

Se han desarrollado diferentes técnicas de preservación de tejidos para uso cardiovascular, los cua-

les buscan finalmente asegurar la mayor durabilidad y funcionalidad del aloinjerto, al lograr que el tejido conserve células vivas como los fibroblastos, que son los encargados de producir los elementos de soporte de la estructura anatómica. Las primeras técnicas utilizadas, que emplearon diferentes compuestos químicos en los que introducían los tejidos, fueron fallidas y ello llevó a incursionar entonces en la utilización del frío a temperaturas de -190°C para la conservación tisular¹.

Las técnicas de criopreservación desarrolladas inicialmente para células en suspensión y tejidos aislados, que fueron posteriormente aplicadas a estructuras complejas como injertos valvulados (aórticos y pulmonares) y segmentos vasculares (cayado aórtico, troncos arteriosos), han producido alentadores resultados, al modo que los aloinjertos valvulares criopreservados son vástamente superiores a cualquier otro tipo de dispositivo protésico, tipo mecánico o biológico, hablando en términos de durabilidad y desempeño^{5,6}.

La mayoría de las técnicas criobiológicas han sido desarrolladas empíricamente. Para la criopreservación de tejidos cardíacos humanos básicamente se sigue un protocolo que considera cuatro etapas:

1. Obtención y transporte del corazón donante,
2. Preparación del tejido y esterilización antibiótica,
3. Enfriamiento con crioprotectores a una tasa controlada,
4. Almacenamiento de los tejidos procesados.

En nuestro medio el enfriamiento de los tejidos se realiza utilizando un tanque de nitrógeno líquido, marca M.V.E. referencia XC47-11, el cual debe contener entre 15 y 20 litros de nitrógeno líquido. Una vez empacado el homoinjerto en una bolsa especial, se envuelve con algodón laminado y es introducido en el tanque de congelación, quedando suspendido en la fase de vapor del nitrógeno. El tanque es sellado, dando paso al descenso de temperatura del homoinjerto, el cual debe cumplir con una tasa de $1^{\circ}\text{C} \pm 0,3^{\circ}\text{C}/\text{min}$, entre rangos de 0°C y -40°C .

El proceso de criopreservación demanda aproximadamente 70 min entre el rango de temperatura de 4°C a -40°C , rango en el cual se presenta la fase más crítica del proceso debido a las posibles lesiones celulares por la elevada o la deficiente tasa de congelación, que puede alterar estructuras vitales de las células.

Una vez el homoinjerto ha alcanzado una temperatura de -130°C , se retira del tanque de congelación, se libera de la envoltura de algodón laminado y se coloca en una canastilla que es introducida en el tanque de almacenamiento sobre la fase de vapor, dejándose el homoinjerto criopreservado en este recipiente hasta su utilización.

Para el proceso se emplean bolsas de aleación poliéster-polietileno como empaque interno y como empaque externo se emplean bolsas de aluminio, que por su naturaleza metálica sirven como conductoras de temperatura, contribuyendo al proceso, y predisponiendo una mayor tolerancia de la bolsa para el amplio rango exigido de temperatura.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los componentes básicos del sistema son (Figura 1):

1. Computador tipo PC que contiene una tarjeta de adquisición de datos, que interactúa con el programa TemperMed,
2. Tarjeta de adquisición de datos⁷,
3. Puerto de conexiones,
4. Gabinete,
5. Transmisores de temperatura PI-T,
6. Sensor de temperatura (termocupla tipo T),
7. Canastilla y tanque con nitrógeno líquido,
8. Cable Ribon,
9. Cable de datos de los canales,
10. Cable de control de motor paso a paso (No utilizado),
11. Cable de alimentación del sistema,
12. Cable de extensión Ohmeda.

Para la aplicación de adquisición de datos de temperatura y almacenamiento de datos, se consideran los siguientes pasos:

Fenómeno físico a supervisar

El fenómeno físico a supervisar corresponde a las señales de temperatura en el rango de 35°C a -90°C , con una variación lenta y monótonamente decreciente, trabajándose convencionalmente a velocidades de 1 muestra/min por canal^{8,9}. Sin embargo; estas tasas pueden ser cambiadas vía software por medio de la aplicación desarrollada.

El transductor empleado es la termocupla o termopar, que supone una manera precisa, robusta y de bajo costo de medir temperatura (Figura 2).

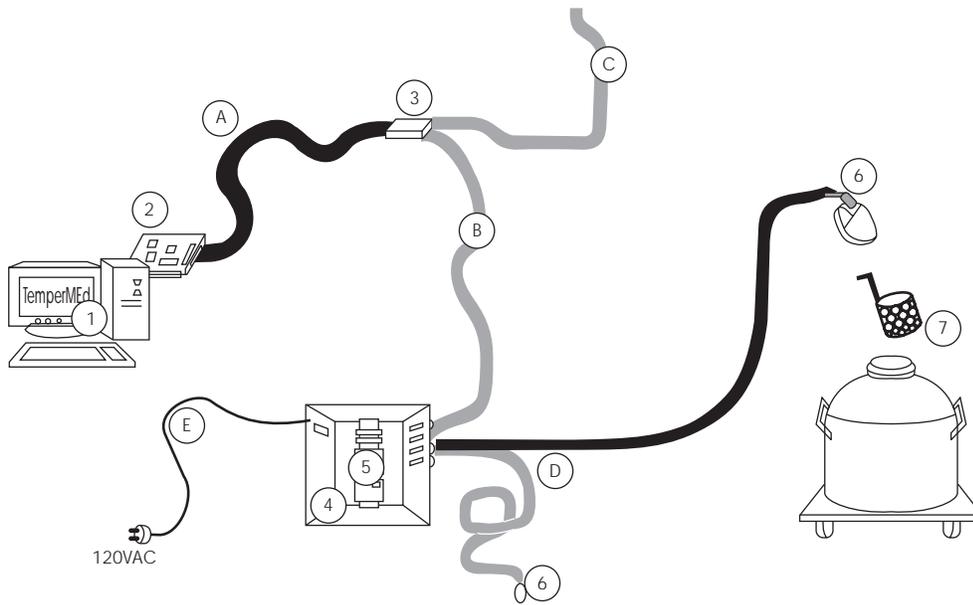


Figura 1. Componentes básicos del sistema.

La termocupla tipo T presenta las mejores características de precisión y linealidad para un rango de temperatura de 200°C a -100°C , satisfaciendo plenamente las necesidades específicas del proceso de enfriamiento a supervisar^{10,11}. Se rediseñó el terminal del termopar buscando aumentar el área de contacto entre la unión caliente y el tejido a criopreservar (ancho=5mm, largo=14m, espesor=1mm), en pro de mejorar las condiciones de registro de la temperatura, y eliminar el empleo de una sustancia grasa (silicona pesada) para la adhesión de la unión caliente al empaque del tejido, elemento que además de implicar un paso adicional en el proceso de criopreservación de los homoinjertos, introduce un error en las temperaturas registradas.

La longitud de la extensión de la termocupla, se minimizó al máximo para evitar el efecto resistivo inherente a dicho elemento, que debilita el millivoltaje generado en la unión caliente.

Acondicionamiento de la señal

Para adquirir mediciones exactas, las termocuplas requieren importantes tipos de acondicionamiento



Figura 2. Termocupla tipo "T" modo de fijación, electrodo, cable de extensión y terminal.

de señal⁸; para ello, se emplea para cada canal un transmisor Aislado de Temperatura Programable (PI-T), módulo de gran versatilidad en cuanto a programación para diferentes características de adquisición de temperatura, no limitando el empleo del equipo a esta aplicación específica. Este módulo proporciona un aislamiento de 1.6 Kv entre la entrada y la salida; amplifica la señal de milivoltios (7 a 50mV por cada grado) para lograr un rango de salida de $\pm 5\text{V}$ y proporciona una salida lineal a la temperatura (linearización vía hardware); aunque, la aplicación TemperMed abre la posibilidad de optar por una linearización vía Software (empleo de polinomios para el cálculo de la temperatura a partir del voltaje generado por el tipo específico de termocupla) para eventuales características de adquisición, distintas a las determinadas por el hardware diseñado. El PI-T genera un voltaje de compensación de unión fría de acuerdo a la temperatura ambiente y así adiciona el voltaje apropiado para cancelar las señales termoelectrónicas indeseadas logrando que la temperatura de las terminales del sistema DAQ sean irrelevantes y que la señal medida por el sistema corresponda al voltaje proveniente únicamente de la unión de la termocupla; adicionalmente, el acondicionador de termocupla incluye un filtro de ruido pasa-bajo para suprimir el ruido de 50 y 60 Hz. La acción de filtrado es complementada vía software con un tratamiento estadístico sobre la señal digitalizada^{12,13}.

Ambos transmisores están debidamente ubicados en un gabinete metálico con cerradura (Figura

ra 3), pintura galvanizada y cierre hermético, que protege a los equipos de sustancias externas y facilita la conexión con el alojamiento de las terminales debidamente señalizadas.

Módulo de adquisición de datos

La interfaz física que realiza la conversión del dato analógico al correspondiente dato digital, para ser posteriormente analizado y almacenado por la aplicación TemperMed, está constituida por una tarjeta de adquisición de datos (PC-516) por bloques terminales y conectores¹⁴ (R30-30, CB27, DB9) que permiten la conexión de señales hacia la tarjeta DAQ (Figura 4). Las características más relevantes de la tarjeta de adquisición de datos son: resolución de 152 µV (convertor A/D de 16 bits → 0.003051°C), 50 kmuestras/seg (20 mseg para cada conversión), rango de voltaje de entrada ± 5V y cuatro canales de entrada (modo diferencial); se encuentra instalada en un computador Pentium III empleando el bus AT (o ISA).

Software

Se trata de una aplicación práctica y amigable que satisface las necesidades funcionales del proceso y ofrece opciones de expansión técnica. Fue

desarrollado en Visual Basic® por las ventajas en cuanto a rapidez de desarrollo y presentación brindadas por la programación orientada a objetos¹⁵. Para el correcto desempeño de la aplicación se requiere de una versión del Sistema Operativo Windows 95® o superior, EXCEL® 97 o superior¹⁶ y la librería de software NI-DAQ¹⁷, esta última para controlar la tarjeta de adquisición de datos evitando utilizar los comandos de registro a bajo nivel y lograr el máximo provecho del hardware y el sistema operativo.

La aplicación vincula varias formas que permiten de modo general activar cualquiera de las siguientes funciones, enunciadas en su orden lógico mas no estricto de ejecución, ya que al tratarse de una respuesta a eventos, mientras la orden sea coherente con el estado del proceso se podrá iniciar o detener cualquier tarea (Figura 5).

1. *Configuración.* Elección de las características de adquisición: número de canales, tipo de termocupla, tipo y límites del rango de adquisición (temperatura o tiempo), velocidad de muestreo, tipo de linearización (por hardware o por software), habilitación del filtro, código de los homoinjertos a criopreservar (nombre que se asigna al archivo destinado para el almacenamiento de los datos), diámetro de los homoinjertos, código del tanque empleado para el proceso de enfriamiento.



Figura 3. Etapa de acondicionamiento de la señal: gabinete y elementos transmisores.



Figura 4. Elementos constitutivos del módulo de adquisición de datos.

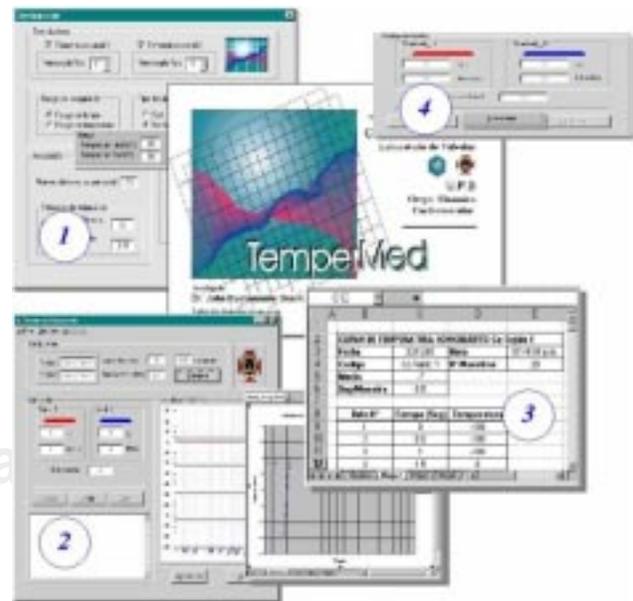


Figura 5. Aplicación de software: TemperMed.

2. *Inicio de adquisición.* Proceso de muestreo y conversión del valor digital adquirido a su equivalente numérico de temperatura en grados centígrados. Simultáneamente se observa la gráfica de las muestras tomadas.
3. *Almacenamiento.* Llamado a la hoja de cálculo EXCEL® donde de modo ordenado y práctico se almacena la información de la sesión de adquisición, se genera automáticamente la gráfica de la curva de enfriamiento, se calcula la rata de descenso de temperatura entre los valores críticos de -4°C y -20°C (si aplica para la sesión de adquisición realizada) y se transcriben datos como el código y diámetro de los tejidos, fecha, media y número de muestras tomadas.
4. *Visualización de una sesión previa.* Elección de una sesión de adquisición anterior, almacenada bajo el formato dispuesto por la aplicación TemperMed, pudiéndose visualizar punto a punto los datos de modo literal y gráfico, además se tiene acceso a la función del cálculo de la media, donde se carga la lista de datos y a partir de éstos se puede elegir el rango al que se quiere aplicar dicha función.
5. *Detención/finalización.* Detención de la Adquisición en proceso o finalización de la aplicación. Si se trata de esta última opción se pide confirmar el deseo de realizar tal acción.

RESULTADOS

Se realizaron pruebas simultáneas con los tejidos a preservar, homoinjertos control, bajo idénticas condiciones, registrándose con el método TemperMed y con el método manual convencional. Ambos homoinjertos son introducidos en el tanque de criopreservación y ubicados en la parte superior del mismo, quedando suspendidos en la fase de vapor del nitrógeno. El tanque es sellado, dando paso al descenso de temperatura del homoinjerto. El proceso de criopreservación demanda aproximadamente dos horas, recorriendo un rango desde temperatura ambiente hasta -40°C . Una vez el homoinjerto ha alcanzado una temperatura de -130°C , se retira del tanque, se libera de la envoltura de algodón laminado y se coloca en una canastilla que es introducida inmediatamente en el tanque de almacenamiento sobre la fase de vapor.

El descenso de la temperatura se registra con el sistema de adquisición desarrollado TemperMed (Figura 6), que viene a sustituir el método manual previamente utilizado, consistente en: empleo de

un termosensor con grasa de silicona para mejorar el contacto, anotación manual temporizada a cargo de una enfermera y posterior transcripción de los resultados para su almacenamiento como documento de EXCEL®, datos térmicos suministrados por un termómetro electrónico digital y una termocupla tipo K como sensor.

El sistema desarrollado reemplaza la labor de la enfermera y el termómetro, de modo que la adquisición de los datos y su almacenamiento en una hoja de cálculo es automático; se exime en este nivel de los errores humanos fácilmente presentes, se logra visualización en tiempo real de la curva de enfriamiento y, además, la supervisión del descenso de temperatura se puede efectuar sobre dos tejidos simultáneamente.

Con la realización de pruebas iniciales se verificó el funcionamiento del sistema físico y del programa TemperMed, sin embargo se evidenció la presencia de ruido. Una vez identificadas las causas y características de este (interferencia eléctrica, interferencia térmica y aleatoriedad), se procedió a su eliminación tomando ventaja de las marcadas características del proceso de adquisición y del conocido comportamiento físico de la variable a tratar, la temperatura.

Se implementó vía software un filtro* óptimo para la aplicación que permitió superar las anomalías térmicas en la adquisición y el registro. El algoritmo de ajuste considera la pendiente, puntos de inflexión y la historia de la serie, hace uso de las proyecciones para la evaluación y corrección del dato presente estableciendo coherencia con el comportamiento suave esperado de la variable térmica en el proceso de criopreservación, que es finalmente la tendencia de la serie de datos.

La efectividad del método se evaluó en cada una de la pruebas realizadas, considerando los siguientes criterios estadísticos para determinar el buen grado de ajuste: las medias y las varianzas



Figura 6. Conjunto de componentes físicos del sistema de adquisición de datos de temperatura.

* Opción habilitable a través del software TemperMed.

se conservan entre la serie original y la serie producto del ajuste; media del error tendiente a 0, varianza del error S_E^2 (varianza residual) pequeña respecto a la varianza de la serie sin ajuste, el coeficiente de correlación de Pearson**, r, que refleja el grado de dependencia entre dos conjuntos de datos es próximo a 1, por lo que el grado de bondad del ajuste ($r^2 \times 100$) tiende al 100%.

De los resultados de esta evaluación se pudo afirmar que las diferencias entre los valores de la temperatura instantánea y los de su aproximación son pequeños en relación con los de la variabilidad de la temperatura que es aproximada; y el grado de bondad del ajuste, mayor al 99% (99.39% en promedio), reveló que el ajuste aplicado explica el 99% de la variabilidad de la temperatura real y confirma la efectividad del modelo empleado (Figura 7).

Posteriormente se realizaron pruebas que permitieron confirmar la validez del sistema implementado en todo su conjunto e identificar situaciones críticas para la toma adecuada de los datos. En resumen se realizó el siguiente tipo de pruebas:

Pruebas Tipo 1

Curva de enfriamiento de dos tejidos simultáneos (homoinjerto aórtico, canal 1, y homoinjerto pulmonar, canal 2); depositados dentro de una misma canastilla y en el mismo tanque de nitrógeno líquido, utilizando Termocuplas tipo T. Ambas curvas siguen el mismo comportamiento, pero existe una diferencia prácticamente constante, cercana a 4°C, en la temperatura de los tejidos durante el proceso de enfriamiento (Figura 8). Esto carece de sentido dado que ambas válvulas poseen iguales características a nivel estructural y se sometieron a condiciones idénticas. Pruebas de este tipo

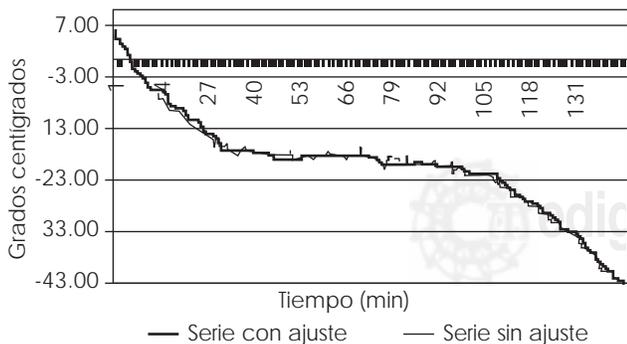


Figura 7. Curva de temperatura con aplicación del ajuste y sin el mismo.

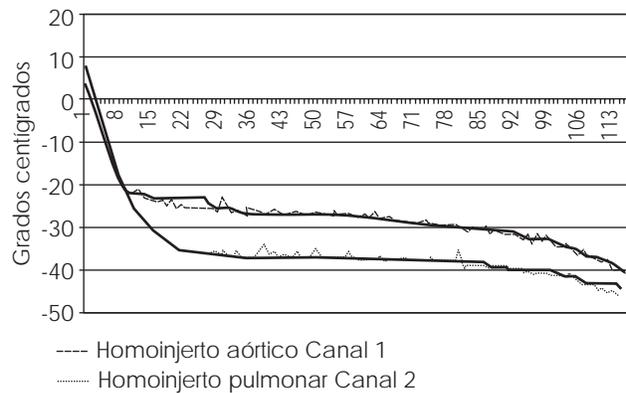


Figura 8. Curva de temperatura: diferencia aproximadamente constante de 4°C entre el par de series.

fueron realizadas en varias ocasiones obteniendo repetidamente los mismos resultados.

Es de anotar que el homoinjerto aórtico registra un estado de latencia a temperaturas cercanas a los -30°C que se aleja de lo esperado desde la teoría.

En cada prueba, de modo rutinario se asignó al homoinjerto aórtico el canal 1 y al homoinjerto pulmonar el canal 2. Confiando en la igualdad constitutiva y funcional de ambos canales y en el procedimiento de calibración¹ dirigido por personal técnico de la empresa fabricante de los equipos, se asumió completa simetría.

Pruebas Tipo 2

Se invirtió la asignación de canal a cada tipo de tejido. Esta prueba arrojó resultados idénticos a los anteriores, curvas con igual comportamiento, con una diferencia constante entre una y otra, con la salvedad que el canal que registró el rango de temperaturas más bajas correspondió esta vez al tejido aórtico, y no al tejido pulmonar (Figura 9). Se confirmó que la diferencia térmica entre ambos tejidos no se debió a su tipo (aórtico o pulmonar) sino a un problema de calibración del equipo.

Esto se ve respaldado por los siguientes datos. Para las dos curvas de enfriamiento anteriores se tiene: coeficiente de correlación*** = 0.992; diferencia media = 3.58****.

Existe una alta relación entre la variación de ambas curvas, por lo que la diferencia media tien-

** Índice adimensional acotado entre -1,0 y 1,0.

*** Modelo de cálculo presentado en la sección anterior.

**** Responde al cálculo $(\sum (T_{aórtico} - T_{pulmonar})) / N_{muestras}$ donde T es temperatura y N, número total de muestras.

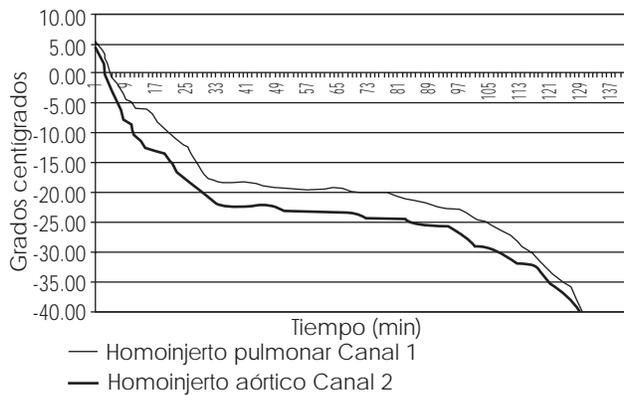


Figura 9. Curva de temperatura con intercambios de canales: persiste la diferencia de temperatura entre los mismos.

de a ser la diferencia constante existente entre los dos rangos de datos. Sumando a cada punto de la curva de enfriamiento del homoinjerto pulmonar el valor de la Diferencia Media, se encontró gran similitud en el recorrido de ambas curvas. La Figura 10 muestra tal resultado.

Pruebas Tipo 3

Se procedió a la calibración del equipo usando como referencia un termómetro de mercurio y un equipo de medición de temperatura marca FLUKE. Posteriormente, se realizó un proceso de enfriamiento independiente para cada tipo de tejido, tomando en las sesiones los registros de temperatura tanto de modo automático (Sistema TemperMed), como de modo manual (Sistema tradicional) (Figura 11). Sobre el empaque del tejido a criopreservar se ubicaron dos electrodos: el correspondiente a la termocupla tipo "T", fijado con cinta de enmascarar, y el electrodo de la termocu-

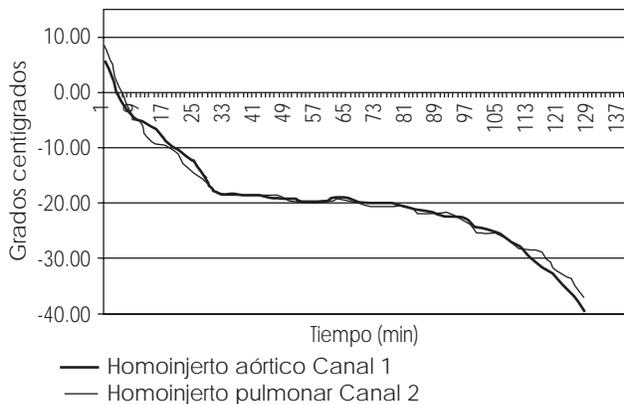


Figura 10. Curva de temperatura corregida estadísticamente.

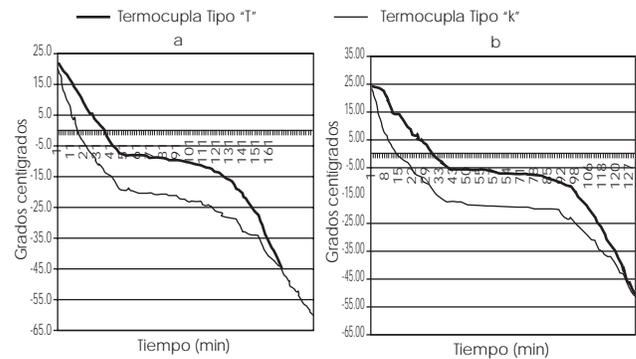


Figura 11. Curva de temperatura de cada tejido con ambas termocuplas. a) H. aórtico, b) H. pulmonar.

pla tipo "K", igualmente fijado con cinta de enmascarar pero con el uso adicional de la grasa pesada, necesaria para garantizar el buen contacto entre la unión caliente y la superficie del empaque del tejido dada la magnitud y forma de este segundo transductor.

Ambas curvas parten del mismo valor de temperatura dada la previa calibración del sistema; sin embargo las tasas de descenso de temperatura fueron muy distintas. La temperatura correspondiente a lo censado por el sistema TemperMed, termocupla "T", bajó rápidamente una vez se depositó la canastilla con el tejido en el interior del tanque con nitrógeno, planteando valores razonables de acuerdo a lo conocido empíricamente, mientras que los datos arrojados por la termocupla "K" determinaron una curva muy lenta, registrando para el tejido aórtico temperaturas de 9.3°C luego de 20 minutos de encontrarse sometido a temperaturas menores a -100°C; en este mismo punto, el sistema TemperMed arrojó un dato de -4.07°C. Para el tejido pulmonar luego de 20 minutos se obtuvo 4°C en el método manual y -9.15°C con el sistema TemperMed.

Un aspecto de suma importancia es la temperatura de latencia registrado por cada uno de los métodos (Cuadro 1).

A partir de estudios previos, se sabe que a medida que el tejido se acerca a -20°C, la mayoría de los líquidos extracelulares se han congelado y el medio restante ha empezado a solidificarse por lo que la liberación de calor asociada a la cristalización de agua rápidamente disminuye en este punto, entrando en un período de latencia en el que la temperatura permanece prácticamente invariante. Estos datos cuantitativos coinciden perfectamente con las mediciones realizadas por el sistema TemperMed.

Cuadro 1. Temperatura de latencia registrada por ambos sistemas de medición.

Sistema de medición	Temperatura de latencia	
	Tejido aórtico	Tejido pulmonar
TemperMed ("T")	-20.55	-19.25
Sistema tradicional ("K")	-8.7	-8.5

Posterior al período de latencia, el descenso de temperatura continúa y sobrepasados los -60°C las curvas obtenidas por ambos transductores se unen. Todo esto permite afirmar que la grasa pesada empleada para garantizar el contacto entre la termocupla tipo K y el empaque del tejido, actúa como aislante térmico para la unión caliente de la termocupla, afectando de modo directo la temperatura registrada por el sistema manual con el termómetro FLUKE.

En la Figura 12 se muestran las mismas pruebas anteriores superponiendo en un mismo gráfico las curvas correspondientes a los dos tejidos, adquiriendo los datos con el mismo tipo de transductor y sistema de medición. Se aprecia la temperatura de latencia registrada por ambos sistemas de medición.

Si bien las gráficas son muy similares entre sí en cuanto a tendencia, es clara la presencia de un nivel de temperatura, anteriormente justificado. Lo que interesa resaltar es la diferencia existente entre una curva y otra, realizadas en espacios temporales distintos pero procurando garantizar las mismas condiciones de la prueba. Si bien la temperatura de latencia se conservó, las ratas de descenso variaron notablemente de una prueba a otra. En el proceso de enfriamiento participan muchas variables a tener en cuenta, que ante mínimas variaciones afectan la evolución del proceso de medición.

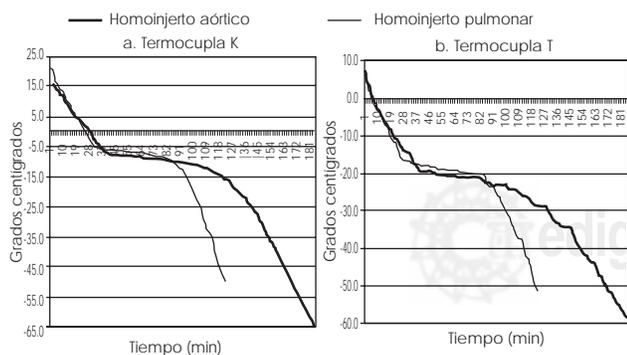


Figura 12. Curva de temperatura comparando en tiempo de latencia entre ambos tipos de tejidos.

El punto de ubicación de la unión caliente de la termocupla y tipo de electrodo: fue visible como una mala ubicación, un mal contacto y, terminales inadecuadas que exigen la vinculación de sustancias adicionales al proceso, alteran de modo drástico los resultados de la curva.

El volumen de líquidos conservantes para los tejidos: el volumen debe ser mantenido constante, ya que incluso cambios de sólo el 5% generan alteraciones considerables en la temperatura.

El número de tejidos dispuestos en el interior del tanque de enfriamiento: una válvula pulmonar y una válvula aórtica pueden ser enfriadas simultáneamente, pero más de dos tejidos liberan demasiado calor generando una drástica alteración no conveniente para la tasa de enfriamiento óptima de $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$.

Las características de ubicación del tejido en los tanques de congelación: el tejido debe permanecer equidistante a las paredes del recipiente, para conservar la condiciones homogéneas sobre el homoinjerto.

CONCLUSIONES

Este proyecto permitió implementar un sistema que garantiza el adecuado procedimiento de enfriamiento de tejidos durante su criopreservación en la Clínica Cardiovascular Santa María, Medellín-Colombia, proceso que conlleva la calidad del tejido criopreservado.

Dicho equipo se dotó de un hardware y un software que permite realizar un seguimiento detallado de la curva de enfriamiento de dos tejidos de modo simultáneo.

Las ventajas del sistema desarrollado frente al procedimiento manual que se venía practicando son:

1. Seguimiento simultáneo sobre dos tejidos,
2. Precisión en cuanto a los intervalos definidos para la toma de cada muestra y el valor de la misma,
3. Concentración de los esfuerzos del personal del laboratorio de válvulas en tareas relevantes y críticas que exigen de sus conocimientos y habilidades, en lugar de invertir tiempo valioso en tareas rutinarias que de modo sencillo y automático puede desempeñar el sistema,
4. Almacenamiento automático de los datos como documento de EXCEL® para su posterior análisis y comparación,

5. Eliminación de la utilización de grasa pesada para garantizar el contacto entre la unión caliente de la termocupla y el empaque del tejido. Elemento que afecta la validez de los datos de temperatura registrados,
6. Utilización de dispositivos óptimos para los rangos de temperatura trabajados, específicamente termocuplas tipo T, con una superficie de contacto ideal en cuanto a forma y área de contacto se refiere.

AGRADECIMIENTOS

El desarrollo de la presente investigación no hubiera sido posible sin el apoyo de la enfermera Silvia Medina y la auxiliar de enfermería Alba Nidia Jiménez, personal del Laboratorio de Válvulas y Banco de Tejidos de la Clínica Cardiovascular Santa María; para ellas, nuestro agradecimiento.

BIBLIOGRAFÍA

1. Hopkins RA. Cardiac reconstructions with allograft valves. Springer-Verlag. 1989 p. 194. New York.
2. Bustamante J, Zapata J. Tejidos biológicos para uso cardiovascular. Gaceta Cardiovascular 1998; (1): 5.
3. American Association of Tissue Banks (AATB). Standars for Tissue Banking. s.n.: s.l., 1998. 45p.
4. Castillo VR. Criopreservación de Aloiinjertos Valvulares Cardíacos: plantación, diseño y experimentación de un sistema para el Centro Cardiovascular Colombiano. Medellín, 1994; 254 p. Tesis (Especialización Cirugía Cardiovascular). U.P.B. Facultad de Medicina.
5. Management of patients with valvular heart disease. American College of Cardiology - American Heart, Association Task Force on Practice Guidelines (Eds). July 2000 p. 48. Washington.
6. Guidelines for the management of patients with valvular heart disease. A report of the American College of Cardiology and American Heart Association - Committee on management of patients with valvular heart disease. Robert O. Bonow et al. Circulation 1998; 98: 1949-1984.
7. PC-516/DAQCard-516 User Manual. Estados Unidos: National Instruments, 1996. 75p.
8. House R. Application Note 092: Data Acquisition Specifications – a Glossary. En: Instrupedia [CD-ROM]. Versión ©Windows/Macintosh Volumen 5, N°1. USA: National Instruments Corporation, c2000.
9. Thermocouple Measurements. En: Developer Zone. Base de Datos textual [en línea]. Estados Unidos: National Instruments, 2001. <<http://zone.ni.com/devzone/>>. [consulta: 04 Feb. 2001].
10. Gil S. y Rodríguez E. Termometría – sensores. En: Física recreativa [en línea]. Buenos Aires: Universidad Nacional de San Martín y Universidad de Buenos Aires, 2000. <<http://www.fisicarecreativa.com/>>. [consulta: 08 Dic. 2001].
11. Introduction to Thermocouples. En: Technical Reference: Base de Datos textual [en línea]. Estados Unidos, 2001. <<http://www.omega.com/techref/themointro.html>>. [consulta: 17 Dic. 2001].
12. Bioestadística: métodos y aplicaciones. Versión electrónica del manual de la Universidad de Málaga [en línea]. Málaga: Universidad de Málaga-Facultad de Medicina, s.f. <<http://ftp.medprev.uma.es/libro>>. [consulta: 20 Ene. 2002].
13. Alcocer A. Diccionario Estadístico. Base de datos textual [en línea]. s.p.i. <<http://www.doxmatic.com/EE/>>. [consulta: 20 Ene. 2002].
14. NI-DAQ® User Manual for PC Compatibles, Version 4.9. s.l: National Instruments Corporation, 1996. 285 p.
15. Sánchez F. Creando una aplicación en ®Visual Basic. Base de datos textual División de Educación Pre-universitaria [en línea]. Nuevo León: Universidad Regiomontana, 1997. <http://www.ur.mx/division/chepe/homepage/tutorvb/vbhtml/create_a.htm>. [consulta: 08 Dic. 2001].
16. Fernández de Lázzeri E y Vázquez M. Guía Básica de EXCEL® [en línea]. Puebla: UDLA, Universidad de las Américas, Septiembre 1996. <<http://mailweb.udlap.mx/~progra/Ayuda/Guias/ExcelBasico/Fexcel/excel.html>>. [consulta: 08 Dic. 2001].
17. NI-DAQ® Function Reference Manual for PC Compatibles, Version 5.0. s.l: National Instruments Corporation, 1997. 609p.
18. Thermocouple Calibration Procedure. s.p.i. <<http://www.branom.com/LITERATURE/thermocouple-reg.html>>. [consulta: 17 Dic. 2001].