



## **DESARROLLO DE UN SISTEMA DE PRESERVACIÓN Y PERFUSIÓN DE ÓRGANOS AISLADOS**

**Vanesa Olivares Velencoso**

**Tutora: Dra. María de la Salud Guillem Sánchez**

**Cotutor: Dr. Andreu Martínez Climent**

**Cotutor: D. Miguel Rodrigo Bort**

Trabajo Fin de Grado presentado en la Escuela Técnica Superior de Ingenieros de Telecomunicación de la Universitat Politècnica de València, para la obtención del Título de Graduado en Ingeniería de Tecnologías y Servicios de Telecomunicación

Curso 2015-16

Valencia, 13 de septiembre de 2016

## Resumen

En la actualidad, los trasplantes de órganos han supuesto una auténtica revolución en la medicina y se han convertido en una actividad cotidiana en los hospitales. Entre los más comunes se encuentra el trasplante hepático. Cada día se da la necesidad de utilizar órganos de donantes de avanzada edad o sin la calidad deseable para garantizar el éxito. Encontramos aquí la necesidad de poder optimizar las condiciones del órgano antes de proceder al trasplante y no tener que desechar los que no cumplan los requisitos mínimos de calidad. La existencia de un dispositivo que permita mantener *ex vivo* al órgano durante unas horas para poder aplicarle las mejoras necesarias sería de vital importancia. El objetivo de este proyecto es desarrollar un sistema que permita la presencia de un flujo constante de solución de perfusión con niveles de presión y temperatura controlados y que puedan ser monitorizados con el fin de que pueda ser utilizado en la práctica clínica.

## Resum

En l'actualitat, els trasplantaments d'òrgans han suposat una autèntica revolució en la medicina i s'han convertit en una activitat quotidiana als hospitals. Entre els més comuns es troba el trasplantament hepàtic. Cada dia es dona la necessitat d'utilitzar òrgans de donants d'avançada edat o sense la qualitat desitjable per garantir l'èxit. Trobem ací la necessitat de poder optimitzar les condicions de l'òrgan abans de procedir al trasplantament i no tindre que rebutjar els que no compleixen els requisits mínims de qualitat. L'existència d'un dispositiu que permeti mantindre *ex vivo* a l'òrgan durant unes hores per poder aplicar-li les millores necessàries seria de vital importància. L'objectiu d'aquest projecte es desenvolupar un sistema que permeti la presència d'un flux constant de solució de perfusió amb nivells de pressió i temperatura controlats i que poden ser monitoritzats amb la finalitat de que pugui ser utilitzat en la pràctica clínica.

## Abstract

Nowadays, organ transplants have brought a revolution in the field of Medicine. They are a daily routine in hospitals, being the liver transplants one of most common. Because of a very short supply, organs from elderly donors or without desirable quality to ensure success are being used every day. Therefore, it is important to optimize the conditions of the organ prior to transplantation so organs with minimum quality requirements do not have to be discarded. In that context, it would be extremely important to have a device that can keep the organ *ex vivo* during a few hours during the application of the necessary treatments. The objective of this project is to develop a system that allows a constant flow of perfusion solution with controlled pressure and temperature levels that can be monitored with the goal of using it in clinical practice.

# Índice

<b>Capítulo 1.</b> Introducción.....	4
<b>Capítulo 2.</b> Objetivos.....	5
<b>2.1 Motivación</b> .....	5
<b>Capítulo 3.</b> Metodología.....	7
<b>3.1 Antecedentes clínicos</b> .....	7
<b>3.1.1 El hígado</b> .....	7
<b>3.1.2 Patologías del hígado</b> .....	9
<b>3.1.3 Transfecciones génicas</b> .....	12
<b>3.2 Antecedentes técnicos</b> .....	13
<b>3.2.1 Sistemas de perfusión</b> .....	13
<b>3.3 Gestión del proyecto</b> .....	16
<b>3.4 Distribución de tareas</b> .....	17
<b>3.5 Diagrama temporal</b> .....	18
<b>Capítulo 4.</b> Desarrollo y resultados .....	19
<b>4.1 Hardware</b> .....	19
<b>4.1.1 Módulo de control</b> .....	19
<b>4.1.2 Módulo de bombas</b> .....	32
<b>4.1.3 Suplementos</b> .....	37
<b>4.2 Software</b> .....	38
<b>4.3 Resultados</b> .....	41
<b>Capítulo 5.</b> Pliego de condiciones y presupuesto .....	48
<b>Capítulo 6.</b> Conclusiones y propuestas futuras.....	51
<b>Capítulo 7.</b> Bibliografía.....	52
<b>Anexo I.</b> Guías y manuales. ....	54
<b>I.1 Programación Arduino</b> .....	54
<b>I.2 Importación de librerías</b> .....	55
<b>I.3 Calibración de los sensores de presión</b> .....	56
<b>I.4 Conexión Xbee</b> .....	56

## Índice de figuras

FIGURA 1. <b>RADNOTI 130003 ISOLATED PERFUSED LIVER SYSTEM</b> .....	6
FIGURA 2. <b>LIVER ASSIST (ORGAN ASSIST)</b> . .....	6
FIGURA 3. <b>ÓRGANOS DEL APARATO DIGESTIVO</b> . .....	7
FIGURA 4. <b>ANATOMÍA DEL HÍGADO</b> . .....	8
FIGURA 5. <b>DIFERENCIAS ENTRE HÍGADO SANO E HÍGADO CON ESTEATOSIS</b> . .....	9
FIGURA 6. <b>DIFERENCIAS ENTRE HÍGADO SANO E HÍGADO CON FIBROSIS</b> . .....	10
FIGURA 7. <b>DIBUJO COMPARATIVO ENTRE EL HÍGADO SANO DE UN RATÓN Y UN HÍGADO CON ISQUEMIA PARCIAL</b> . .....	11
FIGURA 8. <b>MODELO DE TRANSFERENCIA GÉNICA EX VIVO</b> . .....	12
FIGURA 9. <b>BOMBA PERISTÁLTICA</b> . .....	14
FIGURA 10. <b>BOMBA ROTATIVA</b> . .....	14
FIGURA 11. <b>BOMBA DE DESPLAZAMIENTO</b> . .....	14
FIGURA 12. <b>SISTEMA DE PERFUSIÓN DE LANGENDORFF</b> . .....	15
FIGURA 13. <b>ESQUEMA DEL SISTEMA DE PERFUSIÓN IMPLEMENTADO</b> . .....	16
FIGURA 14. <b>DIAGRAMA DE LA DISTRIBUCIÓN DE TAREAS DEL PROYECTO</b> . .....	17
FIGURA 15. <b>DIAGRAMA DE GANTT</b> . .....	18
FIGURA 16. <b>DIAGRAMA GENERAL DEL SISTEMA</b> . .....	19
FIGURA 17. <b>CONTENIDO DEL MÓDULO DE CONTROL</b> . .....	20
FIGURA 18. <b>ARDUINO MEGA 2560</b> . .....	21
FIGURA 19. <b>ARDUINO DATA LOGGER SHIELD</b> . .....	22
FIGURA 20. <b>CONEXIÓN ARDUINO MEGA – DATA LOGGER SHIELD</b> . .....	22
FIGURA 21. <b>TERMOPAR TIPO K CON ACONDICIONADOR MAX31855</b> . .....	23
FIGURA 22. <b>CONEXIÓN ARDUINO MEGA CON EL ACONDICIONADOR Y EL TERMOPAR TIPO K</b> . .....	24
FIGURA 23. <b>SENSOR DE PRESIÓN TRUEWAVE</b> . .....	24
FIGURA 24. <b>TRANSDUCTOR DE PRESIÓN</b> . .....	25
FIGURA 25. <b>CORRESPONDENCIA ENTRE LOS PINES Y LAS SEÑALES DEL SENSOR TRUEWAVE</b> . .....	25
FIGURA 26. <b>CONEXIÓN ARDUINO, TRANSDUCTORES, CONECTORES XLR-4 Y SENSORES DE PRESIÓN</b> . .....	26
FIGURA 27. <b>PANTALLA LCD OLIMEX 16x2</b> . .....	27
FIGURA 28. <b>CONEXIÓN ARDUINO CON PANTALLA LCD</b> . .....	27
FIGURA 29. <b>ENCODER ROTATORIO</b> . .....	28
FIGURA 30. <b>CIRCUITO ACONDICIONADOR PARA LOS ENCODERS</b> . .....	28
FIGURA 31. <b>CONEXIÓN ENCODERS – ARDUINO</b> . .....	29
FIGURA 32. <b>DISPOSITIVO INALÁMBRICO XBEE</b> . .....	30
FIGURA 33. <b>REGULADOR PARA XBEE</b> . .....	30
FIGURA 34. <b>PLACA USB PARA CONEXIÓN ENTRE PC Y XBEE</b> . .....	30
FIGURA 35. <b>CONEXIÓN ARDUINO MEGA CON LA PLACA REGULADORA Y XBEE</b> . .....	31
FIGURA 36. <b>FUENTE DE ALIMENTACIÓN DEL MÓDULO DE CONTROL</b> . .....	31
FIGURA 37. <b>CONECTOR DEL MÓDULO DE CONTROL A LA RED ELÉCTRICA</b> . .....	32
FIGURA 38. <b>ESQUEMA GENERAL DEL MÓDULO DE BOMBAS</b> . .....	32
FIGURA 39. <b>BOMBA VERDERFLEX M1500</b> . .....	33
FIGURA 40. <b>BOMBA VERDERFLEX R3</b> . .....	33
FIGURA 41. <b>DRIVER POLOLU DUAL MC33926</b> . .....	34
FIGURA 42. <b>TABLA DE FUNCIONAMIENTO DEL DRIVER POLOLU DUAL MC33926</b> . .....	34
FIGURA 43. <b>DRIVER POLOLU 36v9</b> . .....	35
FIGURA 44. <b>CONEXIÓN DRIVERS DE POTENCIA – ARDUINO</b> . .....	35
FIGURA 45. <b>PIEZA DISEÑADA PARA EL SOPORTE DE LOS DRIVERS DE POTENCIA</b> . .....	36
FIGURA 46. <b>FUENTE DE ALIMENTACIÓN 24V PARA EL MÓDULO DE BOMBAS</b> . .....	36
FIGURA 47. <b>OXIGENADOR MAQUET QUADOX-I PEDIATRIC</b> . .....	37
FIGURA 48. <b>BAÑO TERMOSTÁTICO GRANT T100</b> . .....	38

FIGURA 49. PANTALLA DE BIENVENIDA DEL EQUIPO.....	39
FIGURA 50. PANTALLA DE MONITORIZACIÓN DE VARIABLES.....	39
FIGURA 51. MENÚ DE MODIFICACIÓN DEL CAUDAL DE LA BOMBA 2.....	39
FIGURA 52. SCADA PARA EL CONTROL DEL MÓDULO DE BOMBAS DESDE EL PC.....	40
FIGURA 53. RECTA DE FUNCIONAMIENTO PARA UNA BOMBA VERDERFLEX M1500 CON TUBO DE 8MM. ....	41
FIGURA 54. RECTA DE FUNCIONAMIENTO PARA UNA BOMBA TIPO VERDERFLEX M1500 CON TUBO DE 6.4MM. .....	41
FIGURA 55. RECTA DE FUNCIONAMIENTO PARA LA BOMBA RÁPIDA CON UN TUBO DE 9.6MM. ....	42
FIGURA 56. GRÁFICA QUE REPRESENTA EL CAUDAL DE LA BOMBA 1 EN RELACIÓN CON LA TEMPERATURA A LA SALIDA DEL OXIGENADOR Y A LA SALIDA DEL TUBO DE LA BOMBA 1. ....	43
FIGURA 57. GRÁFICA QUE RELACIONA LA TEMPERATURA A LA SALIDA DE LA BOMBA 2 CON LA TEMPERATURA DEL RESERVORIO. ....	43
FIGURA 58. GRÁFICA QUE RELACIONA LA TEMPERATURA DEL BAÑO CON LA DEL RESERVORIO. ....	44
FIGURA 59. GRÁFICA QUE REPRESENTA LA PRESIÓN A LA SALIDA DE LA BOMBA 1 EN FUNCIÓN DE SU CAUDAL. .....	44
FIGURA 60. PARTE FRONTAL DEL MÓDULO DE CONTROL.....	45
FIGURA 61. PARTE TRASERA DEL MÓDULO DE CONTROL.....	45
FIGURA 62. INTERIOR DEL MÓDULO DE CONTROL. ....	45
FIGURA 63. PARTE FRONTAL DEL MÓDULO DE BOMBAS. ....	46
FIGURA 64. INTERIOR DEL MÓDULO DE BOMBAS.....	46
FIGURA 65. EQUIPO COMPLETO DONDE SE OBSERVA EL MÓDULO DE CONTROL, EL MÓDULO DE BOMBAS, EL OXIGENADOR, EL BAÑO TERMOSTÁTICO, EL RESERVORIO (BOTELLE AZUL) Y LA JARRA QUE EN UN EXPERIMENTO DE CLÍNICA SERÍA SUSTITUIDA POR EL HÍGADO. ....	47
FIGURA 66. COMPROBACIÓN DEL PUERTO DE ARDUINO.....	54
FIGURA 67. LIBRERÍAS IMPORTADAS. ....	55
FIGURA 68. MANÓMETRO.....	56
FIGURA 69. CALIBRACIÓN DEL SENSOR DE PRESIÓN. ....	56
FIGURA 70. VERIFICACIÓN DEL XBEE. ....	57
FIGURA 71. CONFIGURACIÓN DEL XBEE. ....	57

## Capítulo 1. Introducción

En la segunda mitad del siglo XX, los trasplantes de órganos han supuesto una auténtica revolución en el mundo de la medicina y se han convertido en una actividad cotidiana en nuestros hospitales [1]. En la Unión Europea se realizan aproximadamente 30.000 trasplantes de órganos anuales, de los que casi 4.000 se llevan a cabo en España [1]. Esto se ha conseguido gracias a importantes avances en los procedimientos quirúrgicos, el desarrollo de nuevos fármacos inmunosupresores y el perfeccionamiento de las técnicas de preservación de órganos. Estas últimas han sido decisivas para incrementar la viabilidad de los órganos trasplantados y la supervivencia de los mismos en el receptor.

El trasplante hepático ha supuesto uno de los mayores avances médicos recientes, siendo el tratamiento de elección de enfermedades hepáticas terminales o insuficiencia hepática aguda sin respuesta a otro tipo de tratamientos convencionales. Sus excelentes resultados han supuesto un importante incremento en la demanda de injertos para trasplante hepático y en la actualidad la demanda excede a la oferta, con lo que un 10% de los pacientes mueren en lista de espera [2]. La creciente demanda está forzando la utilización de órganos de donantes de avanzada edad o sin la calidad que sería deseable para garantizar al máximo el éxito del trasplante. Entre un 25% y un 30% de los injertos extraídos padecen esteatosis, fibrosis o isquemia prolongada [2]. En estos casos, la eficacia de los procedimientos actuales de preservación en frío del órgano ha tocado techo y no aporta mejoras, implicando un importante descenso en el número de pacientes trasplantados y prolongando las listas de espera. Se haría necesario poder optimizar las condiciones del órgano donado al máximo antes de introducirlo en el receptor o incluso poder resucitar órganos que de otro modo serían descartados o desechados por no cumplir los requisitos mínimos de calidad. Dos tipos de actuaciones pueden mejorar la disponibilidad, calidad y tolerancia del órgano en el trasplante hepático: el desarrollo de métodos de preservación del órgano aislado, basados en procedimientos de perfusión continua del mismo o la instauración precoz de una inmunosupresión segura y eficaz que permite minimizar los rechazos e incrementar la supervivencia del trasplante.

En cuanto a la preservación del órgano aislado, la existencia de un dispositivo que mantenga el órgano *ex vivo* durante unas horas y de forma viable, permitiría que se pudieran aplicar las mejoras necesarias para conseguir la calidad deseable y así poder utilizar en órgano en trasplantes disminuyendo el número de órganos desechados, cambiando el panorama actual en el campo del trasplante hepático. Este dispositivo debe permitir la presencia de un flujo constante de solución de perfusión con niveles de presión, temperatura y oxigenación fisiológicas mientras estas son monitorizadas.

En el presente proyecto, realizado en colaboración con el grupo de ingeniería biomédica COR perteneciente al instituto universitario de investigación ITACA y el grupo de investigación del Hospital Universitario y Politécnico La Fe, se desarrolla una máquina de perfusión de injertos hepáticos con el fin de recuperarlos o mejorarlos antes de su implante, intentando su resucitación funcional de manera que pueda ser usada en la práctica clínica. Existen ya algunos dispositivos comerciales de perfusión de órganos, pero ninguno encaja perfectamente con las necesidades del grupo, tampoco son actualizables y sus precios son demasiado prohibitivos. Además, como objetivo secundario, el dispositivo será empleado también en la faceta de investigación dentro del campo de la terapia génica, en el que se ha logrado ya transferir genes de interés a segmentos de hígado humano *ex vivo* procedentes de resecciones quirúrgicas y con la que se pretende utilizar los ácidos nucleicos como medicamentos con el fin de tratar un amplio espectro de enfermedades de carácter hereditario o adquirido.

## Capítulo 2. Objetivos

En este proyecto se usará la electrónica y la programación para cumplir con un objetivo principal, construir y validar un sistema de perfusión con interfaz de usuario y con medida de presión mientras se asegura un flujo de solución de perfusión dado con el fin de cubrir las necesidades fisiológicas de un hígado para mantenerlo vivo mientras se realizan una serie de mejoras sobre él.

El sistema debe contar con tres bombas de perfusión, dos para impulsar el líquido a través de un oxigenador hacia el hígado, otra para extraerlo y un baño termostático. Además, se debe implementar una interfaz de usuario que permita controlar el sistema desde el PC y de una manera totalmente independiente a este, como puede ser una pantalla, para que en caso de fallo del ordenador el sistema siga funcionando sin problemas.

Para ello, se han marcado una serie de objetivos generales que permitirán llevar a cabo este trabajo:

1. Estudio documental sobre sistemas de perfusión comerciales y en desarrollo.
2. Familiarización con el sistema de perfusión desarrollado en el grupo de investigación. Se incluye en este apartado el análisis de cada una de sus partes y el estudio de su programación.
3. Elección de los componentes comerciales a incorporar. Una vez estudiado el sistema, se eligen y compran los componentes que serán necesarios para la construcción del sistema, teniendo en cuenta que el sistema a construir debe contar con una interfaz de control para el usuario por teclado y pantalla.
4. Ensamblado de los componentes y programación de un software que permita controlar el sistema.
5. Calibración y validación del sistema. Con todo ensamblado y programado, se realizará la comprobación del funcionamiento y se tomarán las medidas que se estimen necesarias.

### 2.1 Motivación

La realización de este proyecto está enmarcada en el ámbito de la ingeniería de Telecomunicaciones aplicada a la ingeniería biomédica. Las Telecomunicaciones y la ingeniería biomédica están relacionados, en parte, porque ambos realizan el estudio y procesado de señales, en este caso provenientes del cuerpo humano, y también por el uso de la electrónica aplicada para construir instrumentos de ayuda en la práctica clínica.

La principal motivación de este proyecto es la de proveer al grupo de investigación de un equipo de perfusión de órganos aislados con presión controlada, con interfaz de control para el usuario y monitorización de las variables fisiológicas necesarias. Existen equipos comerciales que realizan la función de perfusión pero ninguno de ellos se adapta perfectamente a las necesidades del grupo, además estos equipos comerciales tienen un coste muy alto, que se podría destinar a la realización de otros experimentos. Por ejemplo, en la marca Radnoti, podemos encontrar un sistema de perfusión de hígado y riñón (Radnoti 130003 Isolated Perfused Liver System, ver en la figura 1) cuyo precio es 26.253,88 \$ [3]. Organ Assist también tiene otro sistema de perfusión dedicado a hígados (Liver Assist, ver en la figura 2) cuyo precio ronda también los 24.000 \$.

Con la realización del presente proyecto obtendremos un sistema personalizado, con las características que el grupo necesita, modificable y actualizable, ya que se programará en lenguaje Arduino que es una plataforma abierta proporcionando una mayor versatilidad pudiéndose

adaptar a experimentos futuros, y además tendrá un coste mucho más reducido que los equipos comerciales.



*Figura 1. Radnoti 130003 Isolated Perfused Liver System*

[4]



*Figura 2. Liver Assist (Organ Assist)*

[5]

## Capítulo 3. Metodología

En este capítulo presentaremos brevemente la teoría necesaria para la realización del proyecto introduciendo el hígado y las enfermedades que muchos de los órganos donados padecen y que hacen necesario el desarrollo de este sistema de perfusión y también de las transfecciones génicas, objetivo secundario para el cual será utilizado el dispositivo. Además se explicarán las partes del sistema completo de perfusión, así como su funcionamiento. Posteriormente, detallaremos las tareas realizadas y el diagrama temporal.

### 3.1 Antecedentes clínicos

#### 3.1.1 El hígado

El aparato digestivo es el encargado de realizar la digestión, es decir, transformar los alimentos para que puedan ser absorbidos y utilizados por las células de nuestro organismo. Está formado por el tracto digestivo, una serie de órganos huecos que forman un largo y tortuoso tubo que va de la boca al ano y por otros órganos que ayudan a transformar y absorber los alimentos (ver figura 3).

Los órganos que forman el tracto digestivo son la boca, el esófago, el estómago, el intestino delgado, el intestino grueso o colon, el recto y el ano. El interior de estos órganos huecos está revestido por una membrana llamada mucosa. El tracto digestivo además contiene una capa muscular suave que ayuda a transformar los alimentos y transportarlos a lo largo de él. Además de lo ya nombrado, el aparato digestivo cuenta con otros dos órganos “macizos”, el hígado y el páncreas, que se encargan de producir jugos que llegan al intestino a través de pequeños conductos. Los jugos producidos por el hígado son almacenados en la vesícula biliar hasta que son necesarios en el intestino.

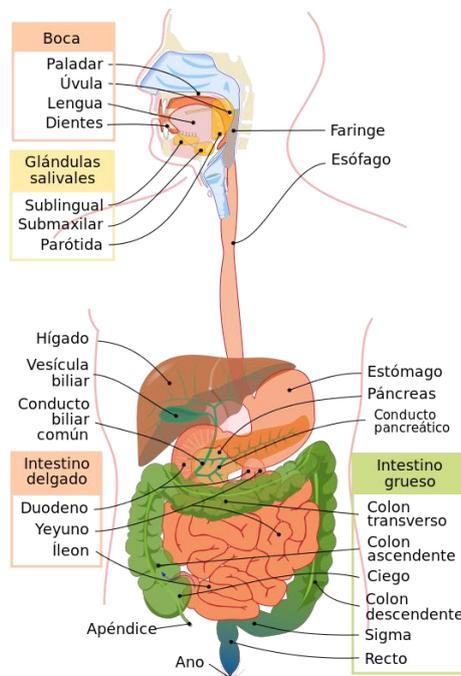


Figura 3. Órganos del aparato digestivo. [6]

El hígado es el órgano sólido más grande del cuerpo humano y una de las vísceras más importantes por su actividad metabólica. Recibe 1,5 litros de sangre por minuto [7] e interviene en tres importantes funciones vitales: la depuración, la síntesis de proteínas plasmáticas y el almacenamiento de vitaminas y glucógeno. El hígado se localiza en casi la totalidad de la región del hipocondrio derecho, el epigastrio y una porción del hipocondrio izquierdo, donde puede alcanzar hasta la quinta costilla y se relaciona con el corazón a través del centro frénico, a la derecha de la vena cava inferior. Tiene consistencia blanda, depresible y está recubierto por una cápsula fibrosa, sobre la cual se aplica el peritoneo, membrana serosa que cubre la mayor parte de los órganos del abdomen.

La circulación hepática es de naturaleza centrípeta y está formada por el sistema de la vena porta y la arteria hepática, siendo el único órgano que recibe sangre de dos fuentes. El sistema porta hepático contiene sangre poco oxigenada y rica en nutrientes proveniente del tracto gastrointestinal y del bazo. La sangre oxigenada proveniente del corazón fluye hacia el hígado a través de la arteria hepática. El hígado contiene aproximadamente un 13% de la sangre total del cuerpo en todo momento [8].

Este órgano consta de dos lóbulos principales divididos por el ligamento falciforme y formados por ocho segmentos que contienen miles de lobulillos. Estos lobulillos se conectan con pequeños conductos que, a su vez conectan con conductos más grandes que, finalmente, forman el conducto hepático común. El conducto hepático común transporta la bilis producida hacia la vesícula biliar, que se encuentra a nivel del lóbulo derecho, y el duodeno.

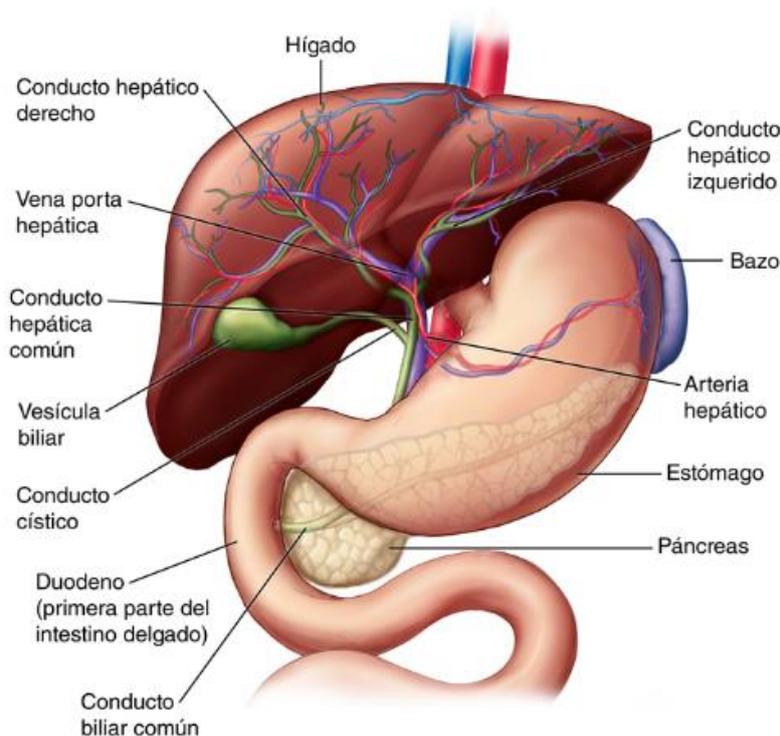


Figura 4. Anatomía del hígado. [8]

Las funciones principales del hígado son las siguientes:

- **Depuración:** El hígado recupera y transforma numerosos tóxicos para hacerlos inofensivos antes de eliminarlos. Destruye los glóbulos rojos y los blancos envejecidos y algunas bacterias presentes en la sangre. También destruye los tóxicos procedentes de los desechos producidos de forma natural por nuestro organismo, como el amoníaco que lo transforma en urea, y los tóxicos que ingerimos como puede ser el alcohol. Neutraliza los medicamentos que absorbemos una vez que han producido sus efectos evitando así una acumulación peligrosa.
- **Síntesis:** El hígado interviene en el metabolismo de los glúcidos, los lípidos y de las proteínas. Juega un papel esencial en la producción de los factores de la coagulación que evitan las hemorragias. Interviene también en la producción y secreción de la bilis que es necesaria para la digestión de los alimentos.
- **Almacenamiento:** Este órgano almacena las vitaminas liposolubles y el glucógeno. De este modo, almacena la energía en forma de azúcar para ponerla a disposición del organismo en el caso que sea necesaria.

Una vez el hígado ha descompuesto las sustancias nocivas, los subproductos se excretan en la bilis o la sangre. Los subproductos biliares ingresan en el intestino y finalmente, salen del cuerpo en forma de heces. Los subproductos sanguíneos filtran en los riñones y salen del cuerpo en forma de orina.

### 3.1.2 Patologías del hígado

El tejido hepático es un tejido estable. Presenta una gran capacidad de regeneración en respuesta a estímulos externos, como lesiones o procesos tumorales. Sin embargo, las lesiones crónicas como el alcoholismo o las infecciones hepáticas implican una pérdida constante y prolongada del tejido celular, sin la proliferación compensatoria necesaria produciendo una serie de enfermedades. Las enfermedades más comunes con las que se encuentran día a día en los hospitales (entre un 25 y un 30%) a la hora de hacer un trasplante son la esteatosis, fibrosis o la isquemia prolongada.

La **esteatosis hepática o hígado graso** se asocia a un consumo excesivo de alcohol, un 90% de los individuos con alcoholismo crónico padecen esta anomalía [9], aunque también puede desarrollarse en personas abstemias. Esta enfermedad consiste en una acumulación de triglicéridos en el hígado produciendo un aumento de su tamaño y apareciendo gotas de grasa dispersas por todo el tejido hepático como se aprecia en la figura 5.

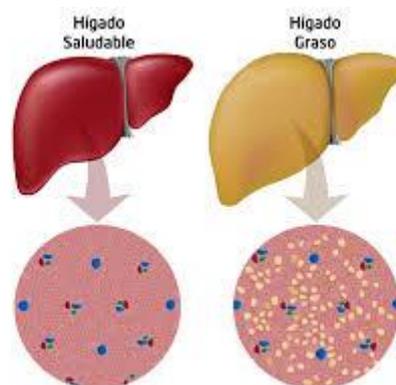


Figura 5. Diferencias entre hígado sano e hígado con esteatosis. [10]

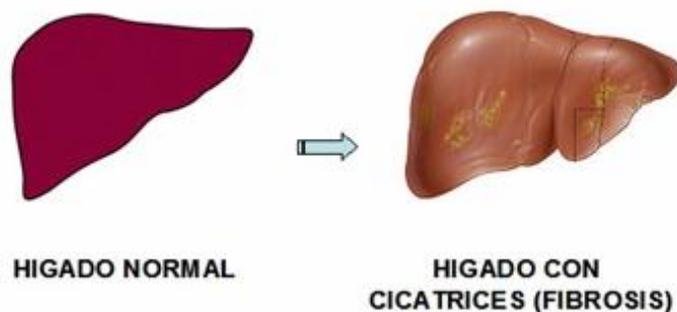
La esteatosis es la causa de enfermedad hepática crónica más frecuente en los países desarrollados. Su incidencia ha aumentado debido al mayor número de personas con obesidad y diabetes. En relación con la obesidad, en individuos con índice de masa corporal normal, la esteatosis se presenta en uno de cada 10 pacientes, mientras que en individuos con índice en rango de obesidad aparece en el 80% de los pacientes [9].

La causa principal de formación del hígado graso es la captación de los ácidos grasos libres y su depósito en el hígado. En la mayoría de los casos se trata de un proceso benigno y reversible que con el debido tratamiento no provoca daño al hígado, sin embargo, si la situación evoluciona y se produce un fenómeno inflamatorio hepático, se produce esteatohepatitis pudiendo progresar a cirrosis si la inflamación crónica se transforma en fibrosis.

El tratamiento de la esteatosis hepática, en un primer momento, se basa en resolver la causa del problema, es decir, si la causa de la enfermedad es el alcoholismo hay que abandonar el consumo del mismo y evitar la exposición a agentes tóxicos y a medicamentos hepatotóxicos. En el caso de que la enfermedad aparezca por obesidad, la reducción de peso puede asociarse a la disminución de las gotas de grasa en el hígado. Normalmente, con el control de las causas de la aparición de la enfermedad suele remitirse, aunque en ocasiones es necesario el uso de algún fármaco, únicamente destinados a tratar los síntomas para no sobrecargar el hígado.

La **fibrosis hepática** es otro tipo de enfermedad en la cual se acumulan cicatrices fibrosas y duras en el hígado. La formación de cicatrices es una respuesta normal del organismo ante las lesiones, pero cuando se produce fibrosis, este proceso curativo pasa a ser dañino.

Cuando los hepatocitos, que son las células funcionales del hígado, sufren daños debido a infecciones con un virus, abuso del alcohol, toxinas, traumatismos u otros factores, el sistema inmunológico se activa para reparar los daños. La lesión o muerte de los hepatocitos estimula la liberación de citosinas, factores de crecimiento y otras sustancias químicas por parte de las células inmunitarias inflamatorias. Estas sustancias químicas activan el funcionamiento de los hepatocitos estrellados, unas células de soporte situadas en el hígado, para que produzcan colágeno, glucoproteínas y otras sustancias. Todas ellas se depositan en el hígado provocando la acumulación de matriz extracelular. En un tejido sano existe equilibrio entre la síntesis y la degradación del tejido matricial, la fibrosis aparece cuando el tejido se acumula a un ritmo más rápido del que puede ser degradado y eliminado por el órgano.



*Figura 6. Diferencias entre hígado sano e hígado con fibrosis. [11]*

La fibrosis hepática no se desarrolla a la misma velocidad en todo el mundo. Hay varios factores que influyen en la progresión de la enfermedad: avanza más rápidamente en hombres que en mujeres, y también en personas de más edad, especialmente a partir de los 50 años. La

depresión del sistema inmunitario, el abuso del alcohol, la esteatosis o la resistencia insulínica están vinculadas a una progresión más rápida y un grado más avanzado de fibrosis.

La infección crónica con el virus de las hepatitis B o C puede terminar provocando a largo plazo daños en el hígado, como puede ser la fibrosis, cirrosis o cáncer hepático. Entre el 10 y el 25 % de las personas con hepatitis C llegan a sufrir cirrosis [12]. Hace tiempo se pensaba que esta enfermedad era irreversible, pero se ha demostrado que el tratamiento de la hepatitis C puede ralentizar o detener la fibrosis o incluso curar las lesiones existentes. Además, se deben tomar medidas saludables para ralentizar el avance de la enfermedad tales como hacer ejercicio con regularidad, seguir una dieta sana, eliminar el alcohol, etc.

La **isquemia prolongada o hepatitis isquémica** es una lesión en todo el hígado causada por una falta de riego sanguíneo o de oxígeno. Las células del hígado quedan dañadas o mueren por la falta de sangre u oxígeno. Aunque hepatitis haga normalmente referencia a inflamación del hígado, en la isquemia no hay inflamación del mismo, sino que se produce una necrosis.

La causa más frecuente de aparición de isquemia hepática es la disminución del flujo sanguíneo en todo el organismo, ya sea por insuficiencia cardíaca o por un descenso importante y repentino de la presión arterial. La disminución de la concentración de oxígeno, que puede ser resultado de trastornos respiratorios graves, la mayor necesidad de oxígeno y sangre, como sucede en el curso de una infección generalizada grave, o la obstrucción de los vasos sanguíneos (en concreto la arteria hepática y la vena porta, ambas simultáneamente) son también causas de la hepatitis isquémica.

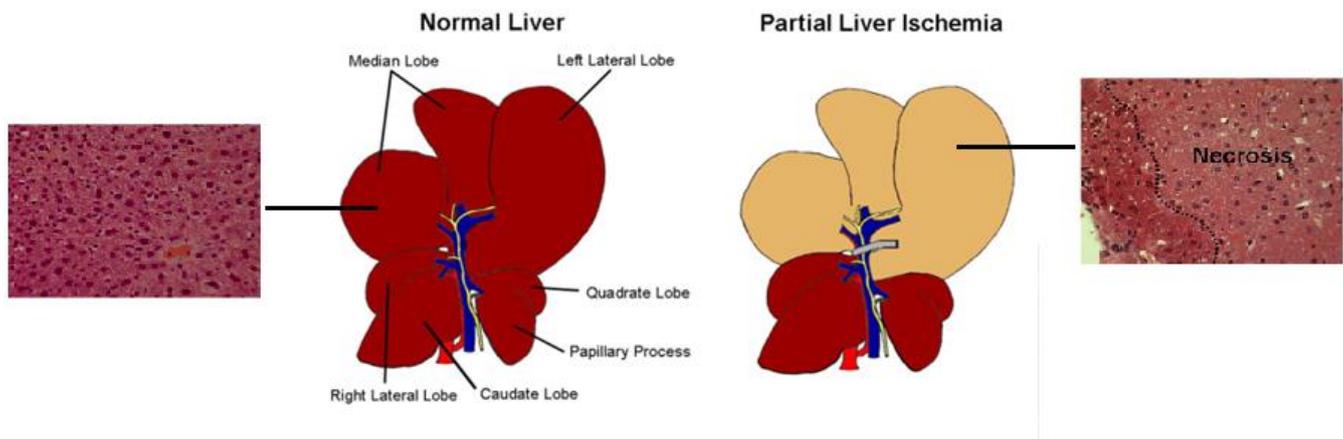


Figura 7. Dibujo comparativo entre el hígado sano de un ratón y un hígado con isquemia parcial. [13]

La obstrucción de los vasos sanguíneos normalmente se produce por la aparición de coágulos de sangre. Los trastornos que predisponen a la formación de estos coágulos pueden causar obstrucciones en la arteria hepática o en la vena porta. El tratamiento de esta enfermedad es localizar cual ha sido la causa de reducción del flujo sanguíneo en el hígado, para restablecer el flujo de la sangre y resolviéndose la enfermedad en la mayoría de los casos.

Estas enfermedades de las que hemos hablado, pueden llegar a causar **cirrosis**, que es la inflamación intersticial del hígado. Es una enfermedad crónica e irreversible y provoca cambios en la estructura del hígado y en sus funciones. No hay ningún tratamiento que elimine por

completo esta enfermedad, pero hay intervenciones que pueden aliviar los síntomas, como puede ser cambiar el estilo de vida eliminando el alcohol, perdiendo peso, con una dieta baja en sodio, etc.; tomar algunos medicamentos que retrasen el avance de algunos tipos de cirrosis o que disminuyan los efectos; disminuir la presión sanguínea mediante endoprótesis vasculares, que pueden ayudar a aliviar problemas de retención de líquidos o sangrado venoso en el estómago y esófago; mejorar el flujo de bilis, mediante un endoscopio de extraen los cálculos biliares que obstruyen el paso de la bilis o finalmente, recurriendo a un trasplante de hígado.

### 2.1.3 Transfecciones génicas

La técnica de transfección génica se puede definir como el conjunto de técnicas que permiten vehicular secuencias de ADN o de ARN al interior de células diana, con objeto de modular la expresión de determinadas proteínas que se encuentran alteradas, revirtiendo así el trastorno biológico que ello produce, es decir, utilizar los ácidos nucleicos como medicamentos con el fin de tratar un amplio espectro de enfermedades de carácter hereditario o adquirido. En función del tipo de célula diana existen dos modalidades de terapia génica:

- Terapia génica de células germinales: es la dirigida a modificar la dotación genética de las células implicadas en la formación de óvulos y espermatozoides y por tanto, transmisible a la descendencia. Con este tipo de terapia se podrían corregir las enfermedades congénitas.
- Terapia génica somática: es la dirigida a modificar la dotación genética de células no germinales. Estas modificaciones no se transmiten a la descendencia.

La terapia génica puede realizarse *in vivo*, esto es cuando el material genético se introduce directamente en las células del organismo, sin que se produzca su extracción ni manipulación *in vitro*, o también *ex vivo*, las células o el tejido a tratar es extraído del paciente, aislado, crecido en cultivo y sometido al proceso de transferencia *in vitro*, una vez las células han sido efectivamente transducidas se introducen de nuevo en el paciente.

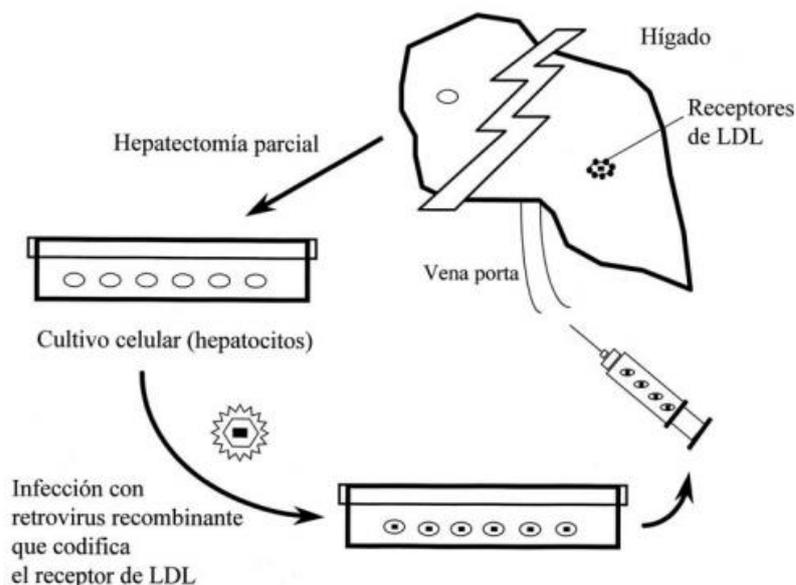


Figura 8. Modelo de transferencia génica *ex vivo*: Introducción del gen que codifica el receptor de LDL (lipoproteína de baja densidad que transporta nuevo colesterol del hígado al resto de células del organismo) en el tratamiento de la hipercolesterolemia familiar monogénica. [14]

La terapia génica puede ser mediada por vectores virales (eficaces pero menos seguros) o por vectores no virales (seguros pero menos eficaces). En la terapia génica no viral, la transferencia hidrodinámica, basada en la inyección rápida de grandes volúmenes de una solución de ADN desnudo, ha obtenido los resultados más eficientes en modelos preclínicos [1].

En el grupo de investigación en el que se enmarca este proyecto, se ha realizado el proceso de traslación clínica del procedimiento de hidrofeción en modelos animales de tamaño grande [15,16]. Los primeros resultados fueron desalentadores, sin embargo, gracias al equipo de perfusión construido se mantendrán órganos viables durante el tiempo suficiente para que la proteína alcance su pico máximo de expresión. Este modelo serviría para la evaluación de multitud de construcciones génicas conteniendo genes de interés terapéutico en diferentes situaciones patológicas, dada la importancia del hígado como órgano endocrino y exocrino. Como el producto génico inyectado es ADN de origen humano, no se espera la aparición de anticuerpos neutralizantes. En el ámbito del trasplante hepático, la terapia génica puede tener un papel destacado empleando genes que codifiquen proteínas capaces de modular la respuesta inflamatoria desencadenada tras un trasplante.

## 3.2 Antecedentes técnicos

### 3.2.1 *Sistemas de perfusión*

Un aspecto de vital importancia en el campo de los trasplantes es el mantenimiento y preservación del órgano. La posible lesión inducida en el órgano durante la extracción, preservación y transporte son unas de las principales causas de fracaso del injerto. La perfusión artificial de órganos ha sido objetivo de investigación durante más de 100 años [17]. La meta primaria de la preservación de cualquier órgano es el mantenimiento de la integridad de todos los sistemas celulares, de tal manera que la posibilidad de lesión del órgano sea mínima.

La primera referencia bibliográfica encontrada en la literatura data de 1812 cuando J.J. Cesar-Le Gallois [18] plantea la sustitución del corazón por un sistema de bombeo que proporcionase sangre arterial o un medio líquido alternativo adecuado de forma continuada para mantener viable una parte del organismo. Leobell [19] es el primero en realizar una perfusión renal experimental. En la segunda mitad del siglo XIX se llevan a cabo experimentaciones sobre sistemas de oxigenación sanguínea para perfusión renal aislada [20,21]. Finalmente Jacobi [22] diseña en 1890 un aparato para perfusión renal que oxigena sangre mediante infusión directa de aire, extrayendo posteriormente las burbujas. En 1913 Gesell [23] destaca las dificultades que presenta diseñar un sistema experimental de perfusión de órgano aislado. Este autor realiza sus trabajos de perfusión renal en el animal intacto, utilizando modelos con presiones de perfusión pulsátil y no pulsátil.

En el campo de la perfusión cardíaca, sobresale el trabajo del médico y fisiólogo Oscar Langendorff [24], en el cual se describe el proceso para mantener vivo un corazón aislado de mamífero. El principio básico del sistema radica en perfundir las arterias coronarias utilizando para ello una cánula de perfusión retrograda posicionada en la aorta. Se ejerce una presión de perfusión adecuada del líquido nutriente para mantener cerrada la válvula aórtica y de esta manera el flujo se desvía en su totalidad al musculo cardiaco a través del sistema coronario, alimentando las células cardíacas y manteniendo vivo el corazón. En estas condiciones el latido del corazón se realiza en vacío, puesto que no existe un llenado de los ventrículos.

Posteriormente, se definieron dos campos de estudio en la perfusión, la conservación por simple hipotermia y la perfusión mecánica del órgano. Diversas causas como el perfeccionamiento de las técnicas de extracción de órganos en donantes vivos, introducción de soluciones para preservación mediante inmersión hipotérmica simple, el alto precio de los

sistemas de perfusión existentes, etc. Hicieron que ganara interés la conservación de órganos por hipotermia frente a la perfusión mecánica en bomba. Son muchos los trabajos que han aparecido después en favor de la perfusión de órganos de donantes a corazón parado frente a la conservación en hipotermia simple [25,26], aun así se sigue utilizando mayoritariamente la conservación de órganos en hipotermia.

Con respecto a las características de los sistemas de perfusión para órganos aislados, independientemente del órgano al que vayan destinados todos tienen una serie de factores comunes: una o varias bombas que hacen circular la solución de perfusión a través del órgano, un reservorio donde se encuentra el líquido de perfusión, un sistema de refrigeración o baño, un sistema de control que maneja todo el dispositivo, una serie de sensores para controlar los parámetros de flujo y de presión y en algunos casos, como es el nuestro (sistema de perfusión para hígados), el sistema posee un oxigenador.

La bomba con la que cuentan los sistemas de perfusión puede ser de tres tipos: peristáltica (figura 9), rotativa (figura 10) o de desplazamiento (figura 11). Las bombas peristálticas se basan en la compresión progresiva de un tubo elástico y generan un flujo pulsátil, con ellas el líquido de perfusión no entra en contacto con el sistema mecánico en ningún momento. Las rotativas se basan en el giro de un rotor y producen un flujo continuo. Las bombas de desplazamiento tratan de imitar el funcionamiento del corazón produciendo flujo pulsátil y conteniendo una válvula de entrada por la que aspira el líquido con cada latido y una de salida por la que lo expulsa.



Figura 9. Bomba peristáltica.

[22]

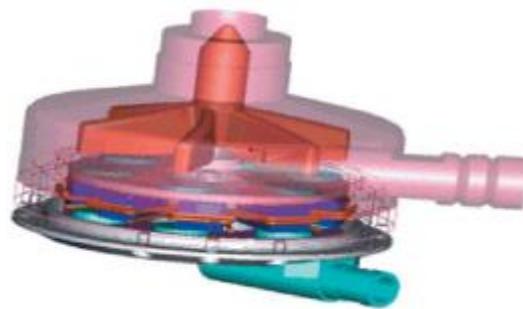


Figura 10. Bomba rotativa.

[22]



Figura 11. Bomba de desplazamiento.

[22]

El refrigerador o baño se usa para mantener el líquido de perfusión a la temperatura adecuada. Hasta hace poco tiempo, se pensaba que la perfusión hipotérmica presentaba beneficios frente a la normotérmica [22], sin embargo, recientemente se han confirmado los beneficios que aporta el mantenimiento del órgano en normotermia respecto al mantenimiento en hipotermia [27]. Se ha mostrado que es posible recuperar órganos esteatósicos (antes descartables) para poder emplearlos en trasplantes.

El sistema de control integra todas las señales que llegan del sistema y va a permitir controlar los distintos parámetros del dispositivo, normalmente a través de un microcontrolador.

Los sensores de registro de los parámetros permiten controlar y saber cómo varía el flujo, la presión o la temperatura durante la perfusión para así poder tener un control total del órgano.

Por último, como ya hemos dicho, algunos sistemas de perfusión incluyen un oxigenador que se encarga de oxigenar el líquido de perfusión para los órganos que lo necesiten.

En la figura 12 podemos observar un sistema de perfusión para corazón aislado, remarcando que los condicionantes para los sistemas de perfusión de todos los órganos son iguales. En la figura faltaría únicamente el sistema de control, parte que suele ir separada del resto del dispositivo para poder modificar y controlar parámetros sin necesidad de adentrarse en el experimento que se esté realizando.

Existen también dispositivos de perfusión comerciales dedicados a órganos específicos, como es el hígado en este caso, mostrados en las figuras 1 y 2, de Radnoti u Organ Assist.

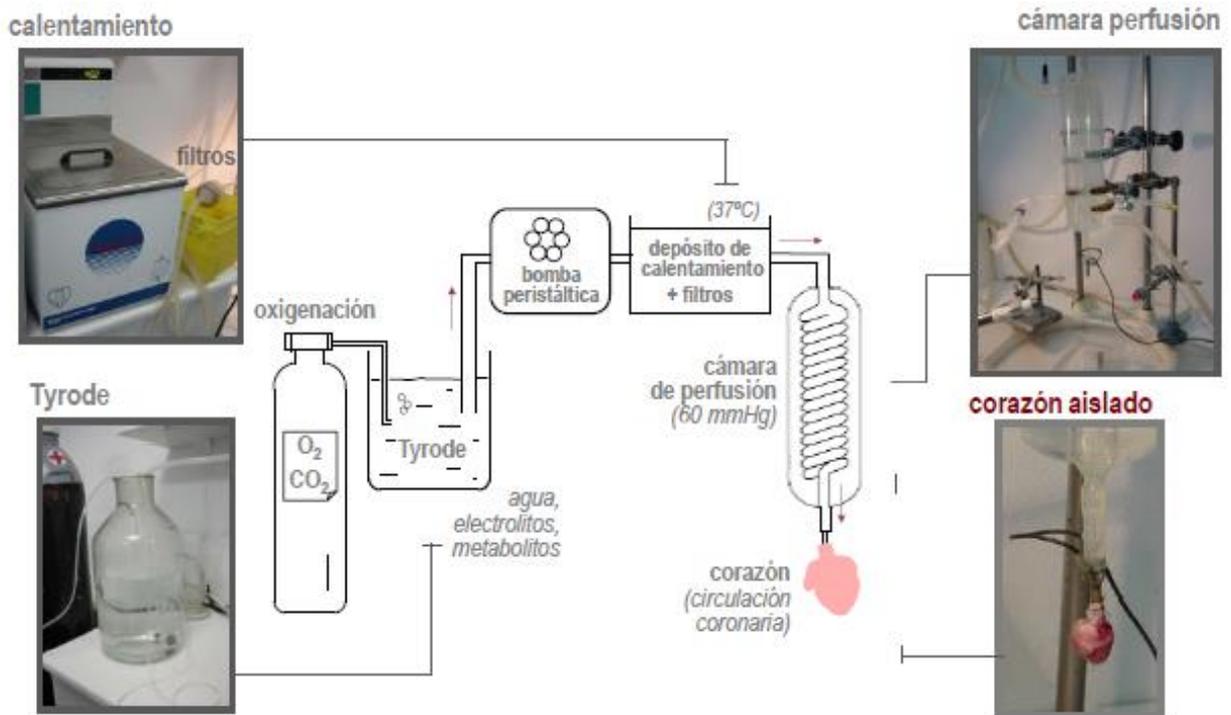


Figura 12. Sistema de perfusión de Langendorff.

[28]

### 3.3 Gestión del proyecto

Este trabajo se enmarca dentro de una línea de investigación entre la UPV y el Instituto de Investigación Sanitaria La Fe. Dentro de la misma, se está llevando a cabo un proyecto que consiste en desarrollar una máquina de perfusión *ex situ* de injertos hepáticos con el fin de recuperarlos o mejorarlos antes de su implante, intentando su resucitación funcional. Además, esta máquina permitirá al grupo realizar tests de viabilidad del injerto antes de llevar a cabo el implante. Si todo esto funciona, el incremento en el número de trasplantes hepáticos realizados en nuestro país podría ser entre un 15 y un 20% superior, disminuyendo así la tasa de mortalidad en listas de espera.

Por otra parte, el dispositivo ayudará a continuar en la línea de investigación traslacional en Terapia Génica. En este sentido, se utilizarán los hígados descartados para el trasplante, excepto los que presenten cirrosis o signos de isquemia, para evaluar la eficacia de la transferencia génica mediada por hidrofección mediante la cuantificación de la proteína en el líquido de perfusión a lo largo del tiempo.

Este trabajo final de grado es la primera parte del proyecto completo y consiste en la creación y puesta en marcha del dispositivo. Una vez conseguido esto y comprobado su correcto funcionamiento se podrán abordar los aspectos de investigación en clínica.

A continuación, se da el detalle de las especificaciones del sistema de perfusión. El prototipo de perfusión estará basado en dos bombas, una para la perfusión por entrada portal y la otra para la perfusión por entrada arterial. La perfusión saliente por la vena hepática se hace recircular con una tercera bomba y se toman muestras de la salida por el conducto biliar. El líquido de perfusión se oxigena y calienta en un oxigenador extracorpóreo neonatal de membrana, con entradas para carbógeno y líquido intercambiador de temperatura, que es mantenido en un baño termostático. Una de las bombas empuja el agua a través del oxigenador y la lleva hasta la entrada arterial. Como el líquido recircula por todo el circuito la segunda bomba también cogerá agua oxigenada y caliente. Incluirá, además, sensores para la medición de la presión en las entradas para su mantenimiento dentro de los rangos fisiológicos y sensores de temperatura. El sistema tendrá un control inalámbrico por PC para evitar cableado molesto, así como uno manual en el mismo aparato para poder manejar el flujo sin necesidad de recurrir al ordenador. Se incluirá un data logger para almacenamiento de datos y evitar así pérdidas en caso de fallo del PC.

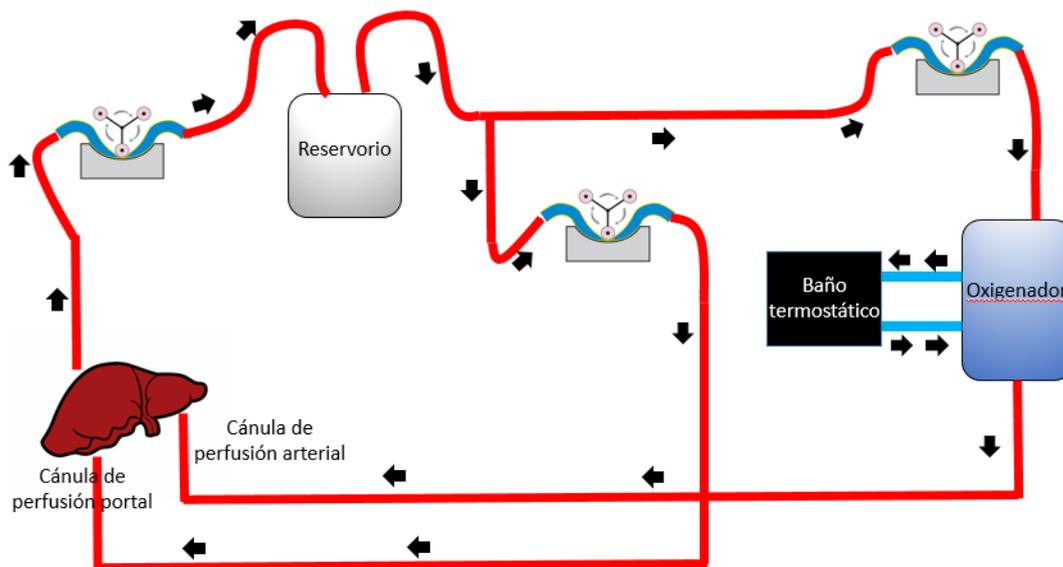


Figura 13. Esquema del sistema de perfusión implementado. [2]

### 3.4 Distribución de tareas

En este apartado se distribuirá el proceso de realización del proyecto, desde el momento de puesta en situación y estudio de la teoría hasta la comprobación del dispositivo ensamblado.

En primer lugar, se realizó un estudio documental sobre los sistemas de perfusión comerciales y en desarrollo para conocer, tanto el funcionamiento como las partes de los mismos, ya que no se había trabajado en el sector biomédico antes de este proyecto.

En segundo lugar, se llevó a cabo la familiarización con el sistema de perfusión desarrollado con anterioridad en el grupo de investigación en el que se ha desarrollado este proyecto. En esta parte se incluye la revisión de las piezas que forman cada parte del equipo, la interconexión y la programación del mismo, llegando a entender totalmente el funcionamiento.

Después, se llevó a cabo la elección y compra de los componentes comerciales que se iban a incorporar, teniendo en cuenta que el equipo debía incorporar una interfaz de control manual para el usuario desde el mismo sistema.

Más tarde, se diseñaron todas las etapas del sistema de perfusión, los subsistemas electrónicos y montaje de las placas de circuito impreso para, una vez, todo interconexionado llevar a cabo la programación del microcontrolador a través de un software abierto, Arduino.

Una vez realizado todos estos pasos, se ensamblaron todos los subsistemas para la comprobación del correcto funcionamiento.

Por último y para finalizar el dispositivo, una vez todo funcionaba, se llevaron a cabo diversas mediciones con el fin de calibrar las bombas y los sensores de presión.

Con el dispositivo puesto en marcha y las convenientes medidas realizadas, llegó la hora de redactar la presente memoria.



Figura 14. Diagrama de la distribución de tareas del proyecto.

### 3.5 Diagrama temporal

A continuación se muestra el diagrama de Gantt estableciendo las fechas aproximadas para la realización de cada fase así como las reuniones realizadas en el grupo para presentar los avances del proyecto:

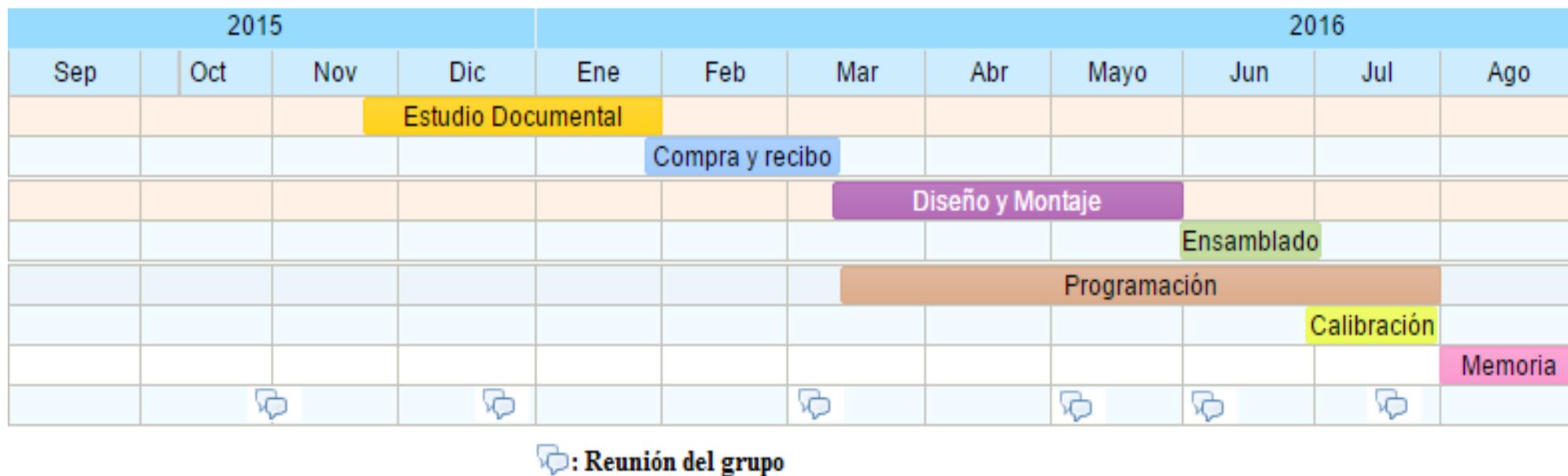


Figura 15. Diagrama de Gantt.

## Capítulo 4. Desarrollo y resultados

En este apartado se van a ilustrar los pasos realizados para conseguir los objetivos del trabajo. En primer lugar se detallará el hardware del sistema, seguido del software y por último serán expuestos los resultados obtenidos.

### 4.1 Hardware

En la figura 16 se puede observar un esquema del funcionamiento general de los módulos que componen el sistema de perfusión. El sistema de control contiene una pantalla por la que se puede controlar el módulo de bombas y monitorizar las variables fisiológicas, además existe un “Supervisory Control and Data Acquisition” en GUIDE de Matlab, que fue programado para el antiguo sistema de perfusión y que ha sido adaptado al nuevo prototipo para poder controlar fácilmente desde un PC las variables necesarias, conectado por Xbee al módulo de control.

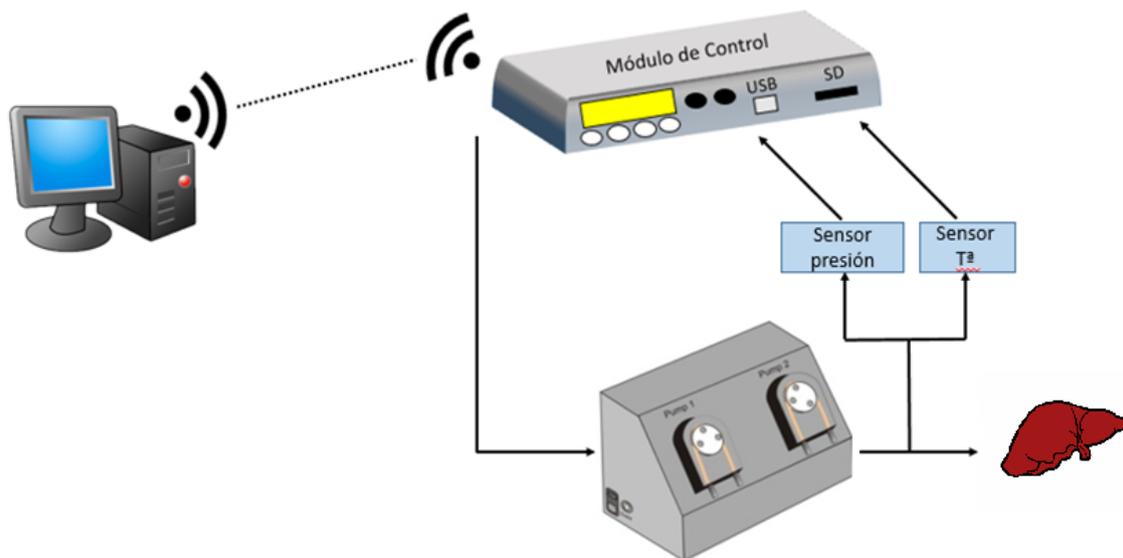


Figura 16. Diagrama general del sistema.

#### 4.1.1 Módulo de control

El módulo de control contiene todo lo necesario para manipular los caudales de solución de perfusión que atravesarán el órgano, siendo capaz de monitorizar la presión aplicada y la temperatura tanto por la pantalla que contiene como por el PC. Además dispone del dispositivo inalámbrico que permite la conexión con el PC.

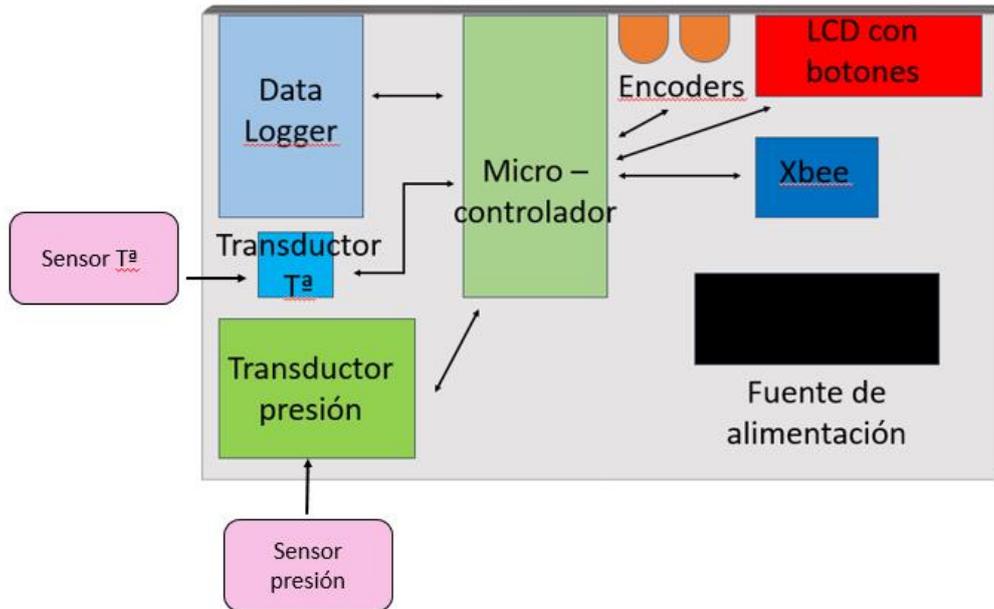


Figura 17. Contenido del módulo de control.

### • Microcontrolador

El microcontrolador que se eligió para ser el “cerebro” del sistema debe ser capaz de recopilar la información de los sensores, dar órdenes al módulo de bombas, mostrar por pantalla la información, recibir señales de los encoders para modificar las variables de uso y comunicarse con el PC a través del módulo inalámbrico. Debido al alto número de pines necesarios para realizar todas estas funciones, se optó por usar un Arduino Mega 2560 (figura 18). En el Arduino Mega destacan las siguientes características:

- Posee 54 pines digitales de entrada/salida, de los cuales usaremos 3 para el control de la temperatura.
- Entre los pines digitales, 15 pueden ser usados como pines PWM, suficientes para el control del módulo de bombas.
- Dispone de 16 entradas analógicas, suficientes para los dos sensores de presión que van a ser utilizados.
- Tiene suficientes salidas digitales para el manejo de la pantalla LCD.
- Posee un puerto UART de comunicaciones serial para comunicarse con el PC a través del Xbee.
- Entre las salidas digitales restantes, existen las necesarias para el manejo del Data Logger.
- Para los encoders, necesitamos un pin PWM y dos digitales para cada uno, requisito que también podemos cumplir con este microcontrolador.
- Se alimenta con una tensión entre los límites de 6 y 20 V, nuestra fuente nos da una salida de 12 V, con lo cual podemos alimentar perfectamente el dispositivo.
- Dispone de capacidad de procesamiento suficiente para realizar las tareas necesarias.

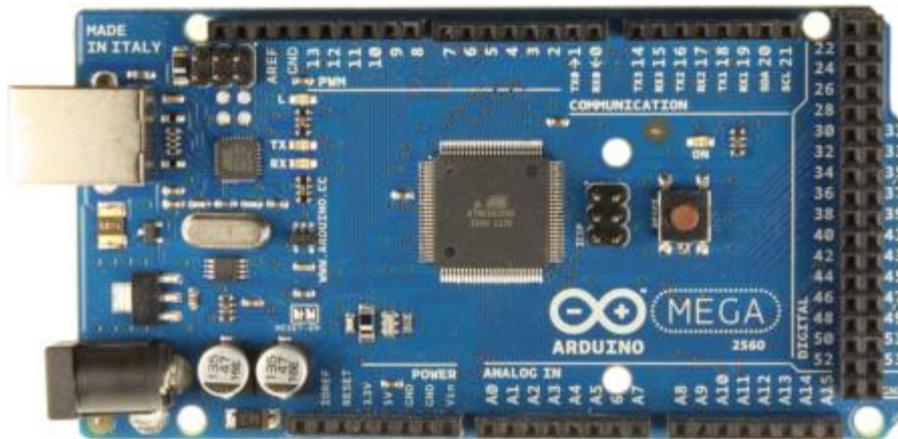


Figura 18. Arduino Mega 2560.

El microcontrolador debe ser capaz de recibir órdenes por parte del usuario, tanto con el control por la pantalla LCD a través de los botones y encoders como por el PC, y responder a ellas:

- Puesta en funcionamiento de las bombas.
- Control del sentido de las bombas.
- Parada de las bombas.
- Control de la velocidad de las bombas.

Además, debe ser capaz de mostrar por pantalla o enviar por tramas hasta el PC los valores de temperatura y presión.

- **Data Logger**

Con el fin de registrar las variables de presión y temperatura durante la perfusión y poder observar su evolución mediante un PC se decidió usar un dispositivo como este para poder almacenar los datos en una tarjeta de memoria SD cada minuto y después poder utilizar, con solo extraer la tarjeta, los datos almacenados de forma directa en un ordenador ya sea para crear una hoja excel o para utilizarlos en Matlab y crear las gráficas oportunas. Con este dispositivo no será necesario tener encendido el PC durante el tiempo que esté en funcionamiento y nos aseguraremos de mantener los datos almacenados en caso de fallo o apagado del sistema. Además de la función de almacenamiento, el Data Logger contiene un reloj de tiempo real RTC que nos servirá para registrar la hora de captura junto con los datos.



Figura 19. Arduino Data Logger Shield.

Las características de esta placa son:

- Interfaz para tarjetas SD FAT16 y FAT32.
- Real Time Clock basado en el RTC integrado 1307.
- Porta pilas incluido para mantener la fecha durante años.
- Regulador propio de 3.3V para alimentar la tarjeta SD.
- Zona de prototipos para incluir sensores.

En la figura 20 se muestra la conexión que se realizó entre el Data Logger Shield y nuestro Arduino Mega:

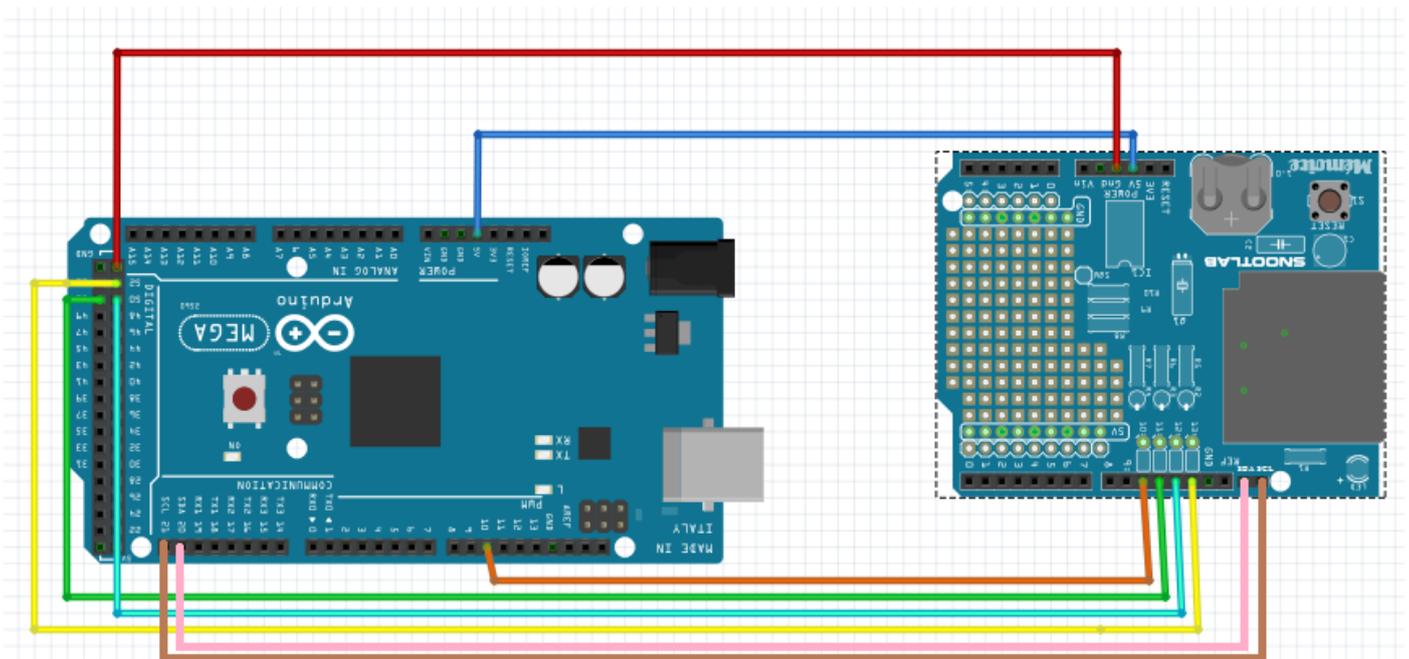


Figura 20. Conexión Arduino Mega – Data Logger Shield.

- **Sensor de temperatura**

Una variable fundamental durante la perfusión de órganos es la temperatura. Es necesario mantener el líquido que atraviesa el órgano a la temperatura adecuada. Para mantener el control de esta variable fisiológica, se utiliza un sensor de temperatura con termopar tipo K y un circuito de acondicionamiento de la señal con comunicación SPI, que permitía en todo momento obtener una lectura de la temperatura (figura 21).

El funcionamiento del sensor es muy simple, está compuesto por un transductor formado por la unión de dos metales que produce una diferencia de potencial de orden de mV en función de la diferencia de temperatura entre sus dos extremos, denominados unión caliente y unión fría. Esta diferencia de tensión es amplificada, digitalizada y enviada al microcontrolador por el chip MAX31855 y con una resolución de 0.25°C en una señal de 14 bits. Las temperaturas máxima y mínima de medición son 1800°C y -270°C.

La comunicación con el Arduino se realiza con un bus de comunicaciones SPI, estándar que se usa principalmente para la transferencia de información entre circuitos integrados en equipos electrónicos. El SPI incluye una línea de reloj, un dato entrante, uno saliente y un pin de chip select que conecta o desconecta la operación del dispositivo con el que se quiere comunicar, así se consigue una multiplexación de las líneas de reloj.

El microcontrolador es el encargado de enviar la orden de lectura hacia el acondicionador además, recibe el valor de la temperatura para retransmitirlo a través del Xbee hacia el PC o para monitorizarlo por pantalla. La conexión entre el Arduino Mega y el MAX31855 es la mostrada en la figura 22.



*Figura 21. Termopar tipo K con acondicionador MAX31855.*

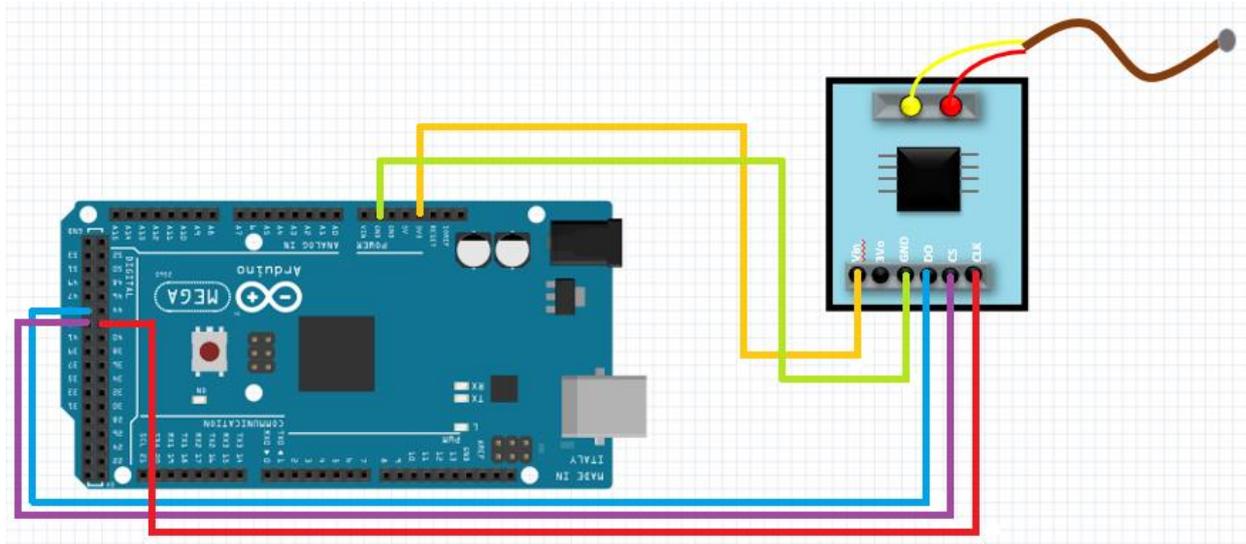


Figura 22. Conexión Arduino Mega con el acondicionador y el termopar tipo K.

- **Sensor de presión**

La medida de la presión es muy importante dentro de un sistema de perfusión. En el dispositivo se incluyeron dos sensores de presión Truewave (figura 23). Estos sensores poseen un rango de medida entre -50 y 300 mmHg, una sensibilidad de  $5.0\mu\text{ V/V/mmHg}$  y un offset de  $\pm 5\%$ . Este sensor necesitaba un conector especial difícil de conseguir, por ello se optó por hacer una unión entre el sensor y un cable que acabase en un conector XLR-4, de esta manera, podríamos conectar el sensor al módulo de control de manera fácil y con un conector común. El sensor Truewave posee 4 galgas extensiométricas consiguiendo convertir la medida de presión en una señal eléctrica diferencial gracias a un puente de Wheastone interno. Con este mecanismo, el sensor consigue cancelar las derivas térmicas obteniendo una señal diferencial proporcional a la medida de presión.



Figura 23. Sensor de presión Truewave.

Estos sensores son desechables ya que está diseñado para entrar en contacto con líquidos sensibles como la sangre. Por este motivo, el sensor no incluye la etapa de acondicionamiento de señal, ya que se encarecería el producto. Es necesario, por tanto, utilizar algún tipo de acondicionamiento para que el microcontrolador sea capaz de leer la señal débil que proporciona el sensor. Se decidió utilizar un circuito impreso que el grupo ya había utilizado

y por tanto estaba fabricado ya, únicamente habría que soldar los componentes a la PCB, quedando como se muestra en la figura 24.



Figura 24. Transductor de presión.

Este transductor permite regular la ganancia de salida mediante el ajuste de dos de los potenciómetros. El otro sirve para ajustar un valor de cero a la salida cuando no existe presión alguna en el sensor. Además, amplifica la señal de entrada para alcanzar unos niveles de salida comprendidos entre 0 y 5 V que permitan al microcontrolador mediante una calibración por software obtener el valor de la medida.

Como ya hemos comentado anteriormente, para tener un conector entre el sensor y el módulo de control económico y fácil de conseguir, se realizó un empalme entre el sensor y un cable con un conector XLR-4 macho. Para ello, se tuvo que tener en cuenta cual era cada uno de los terminales del sensor y que no se produjesen errores a la hora de realizar la conexión. Los terminales del Truewave tienen la forma que se muestra en la figura 25.

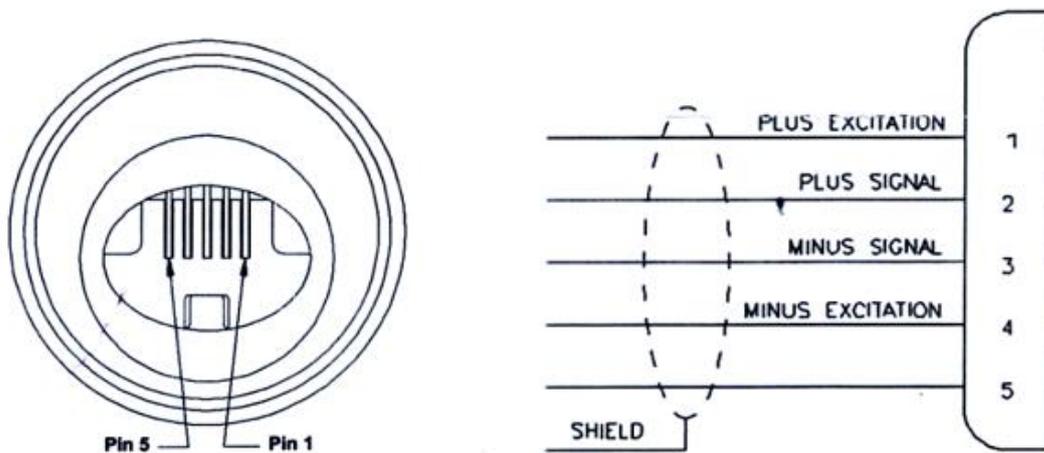


Figura 25. Correspondencia entre los pines y las señales del sensor Truewave.

Una vez conocido todo esto, se llevó a cabo la unión y el interconexión entre los sensores, los conectores XLR-4, los transductores y el microcontrolador, quedando como se muestra en la figura 26.

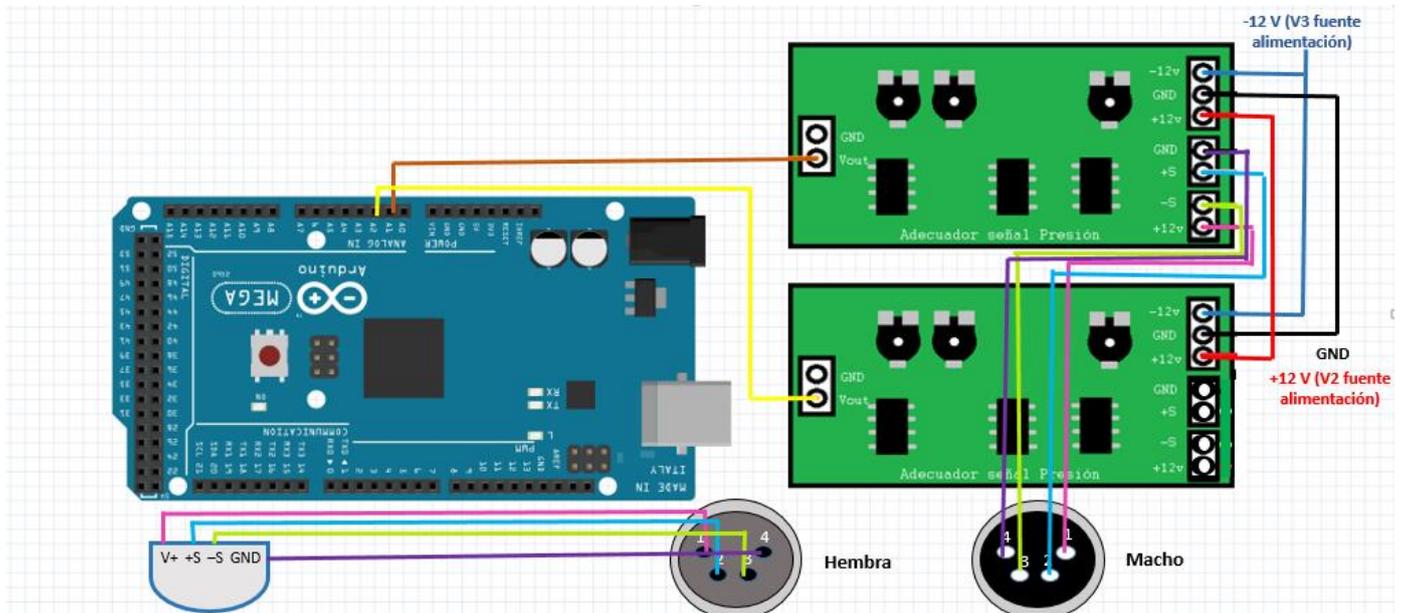


Figura 26. Conexión Arduino, transductores, conectores XLR-4 y sensores de presión. En el gráfico únicamente se representa la conexión de uno de los sensores de presión a su transductor, el otro sería exactamente igual.

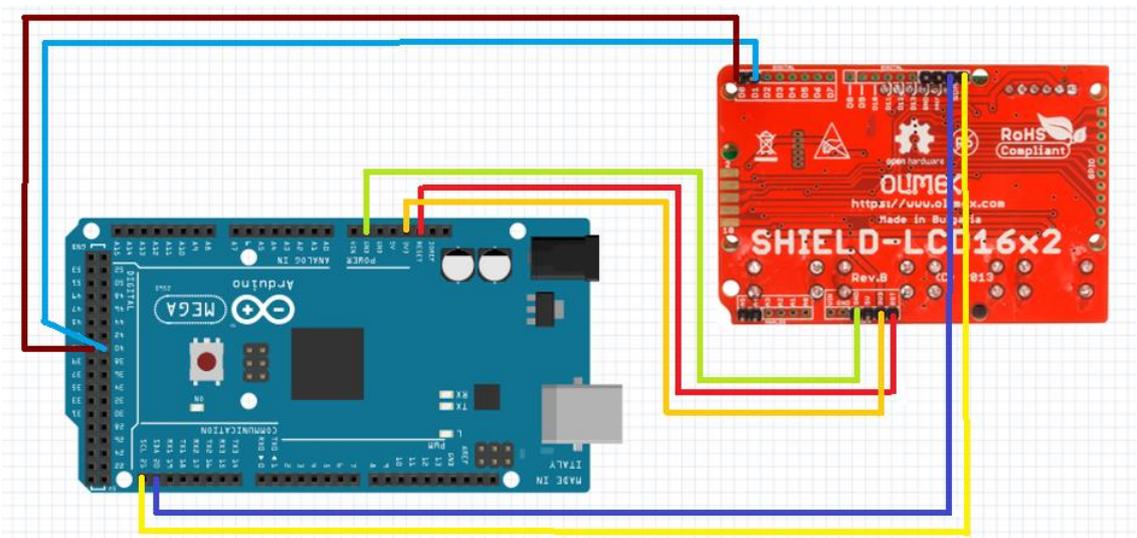
- **Pantalla LCD**

El dispositivo construido debía contar con una interfaz desde la cual el usuario pudiese cambiar los parámetros intuitivamente y sin necesidad de recurrir al PC. Para ello, se eligió una pantalla LCD 16x2 que incluye cuatro botones que nos serán de ayuda a la hora del manejo del sistema. Además de servirnos para el manejo, la pantalla será la encargada de estar monitorizando los valores de presión y temperatura. El dispositivo que se eligió es de la marca Olimex y se muestra en la figura 27.



*Figura 27. Pantalla LCD Olimex 16x2.*

La pantalla está equipada con un microcontrolador PIC15 que contiene un firmware personalizado. Este firmware hace que recibir y enviar tramas desde el Arduino a la pantalla sea más sencillo. Implementa el protocolo I2C y usa la UART para comunicarse. Hay una librería gratuita que incluye funciones con las que se pueden realizar cualquier tipo de operación en la pantalla, como la situación del cursor, escribir textos o ajustar el brillo, entre otras. La conexión entre el Arduino y la pantalla se muestra en la siguiente figura (28).



*Figura 28. Conexión Arduino con pantalla LCD.*

- **Encoders**

Como acabamos de comentar, el dispositivo es controlado por la pantalla LCD con ayuda de los botones incluidos, pero no sólo con esto se puede manejar todo el menú. Se decidió usar un par de encoders rotatorios con pulsador para ajustar más fácil y rápidamente el valor del caudal por pantalla.

Los encoders rotatorios son dispositivos electromecánicos que convierten la posición angular de un eje en un código digital.



Figura 29. Encoder rotatorio.

El encoder consta de tres patillas a un lado por las que se transmiten los pulsos digitales y otras dos patillas al otro lado para el pulsador principal. Es recomendable utilizar un circuito acondicionador para evitar rebotes de las señales y consecuentemente, una mala detección del sentido de giro. En nuestro proyecto usamos el siguiente circuito acondicionador:

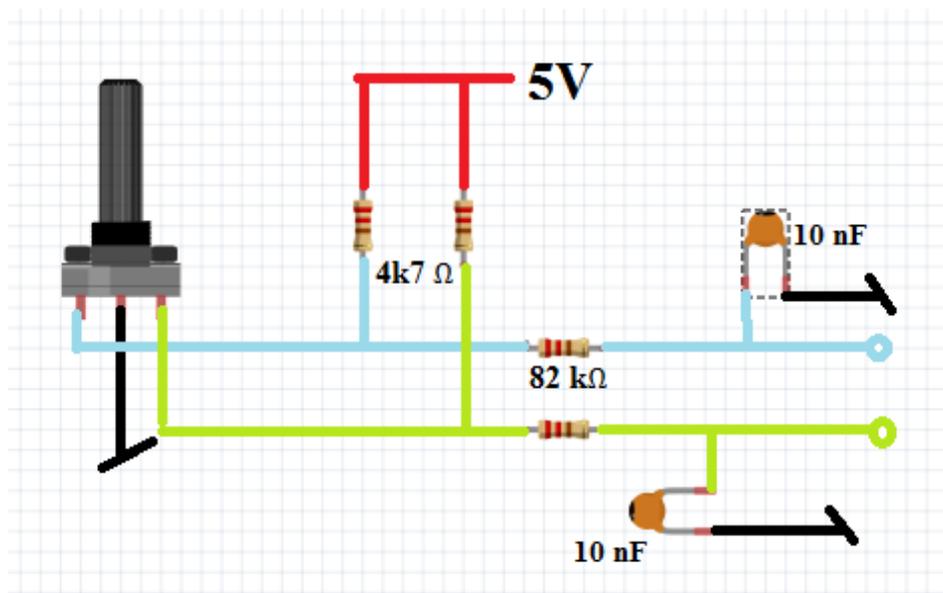


Figura 30. Circuito acondicionador para los encoders.

En el lado de las dos patillas, una de ellas va a 5V y la otra a tierra, así cuando se pulsa el botón la entrada al Arduino valdrá 0 y el resto del tiempo se mantendrá a nivel alto.

Según vamos girando, el encoder conecta las patillas a tierra pero con un ligero desfase, efectuando así un pulso que podremos detectar en el arduino. Según en qué patilla se detecte primero un nivel bajo estaremos girando en el sentido horario o antihorario. En nuestro proyecto se usó una librería <Encoder.h> la cual ya traía implementados los métodos de lectura y detección de sentido de giro del encoder. El esquema de conexión de los encoders con arduino se muestra en la figura 31, en esta imagen faltaría incluir la etapa de acondicionamiento entre el encoder y el pin de Arduino.

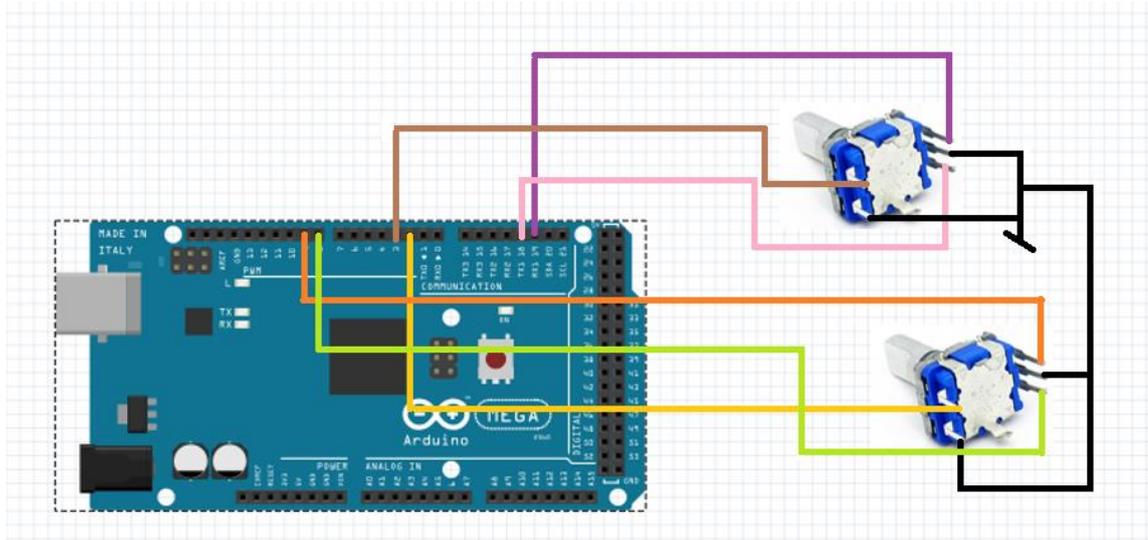


Figura 31. Conexión encoders – Arduino.

Al realizar estas conexiones se ha tenido en cuenta que los pulsadores de ambos encoders hacen saltar una interrupción y por lo tanto, como los pines del Arduino Mega válidos para interrupciones son 2, 3, 18, 19, 20, 21, se han reservado el 2 y 3 para este caso.

- **Xbee**

La conexión entre el Xbee y el microcontrolador permite la comunicación inalámbrica entre los mismos. Esta conexión se realizó a través del puerto serial2, el cual se corresponde con los pines 16 y 17 de nuestro Arduino.

Para adaptar los valores de tensión proporcionados por el micro a través del puerto serie, es necesario usar un divisor de tensión o un regulador comercial. En este proyecto se optó por la segunda opción en la que el divisor de tensión ya viene incorporado (figura 33). Este circuito integrado se encarga de la regulación de 3.3 V, del acondicionamiento de la señal y además incluye indicadores básicos a través de LEDs.



Figura 32. Dispositivo inalámbrico Xbee.

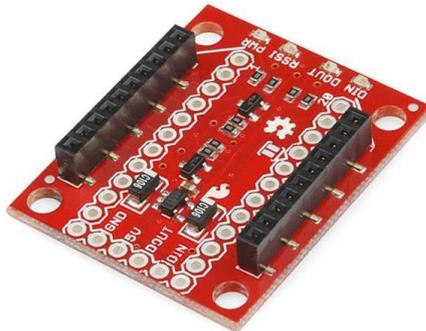


Figura 33. Regulador para Xbee.

Este módulo Xbee se conecta con otro Xbee, conectado al PC a través de un adaptador USB (figura 34), de manera inalámbrica. Para comunicar Arduino con Xbee se utiliza un puerto serie UART a través de conexión por cable y compuesto por una línea de transmisión y otra de recepción, esta conexión está indicada en la figura 35.

La configuración de la red de comunicación entre los Xbee se mostrará con más detalle en el Anexo I.4.

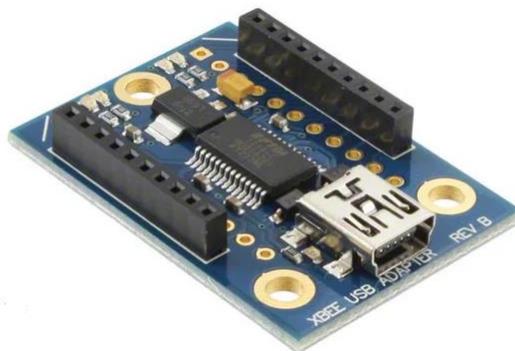


Figura 34. Placa USB para conexión entre PC y Xbee.

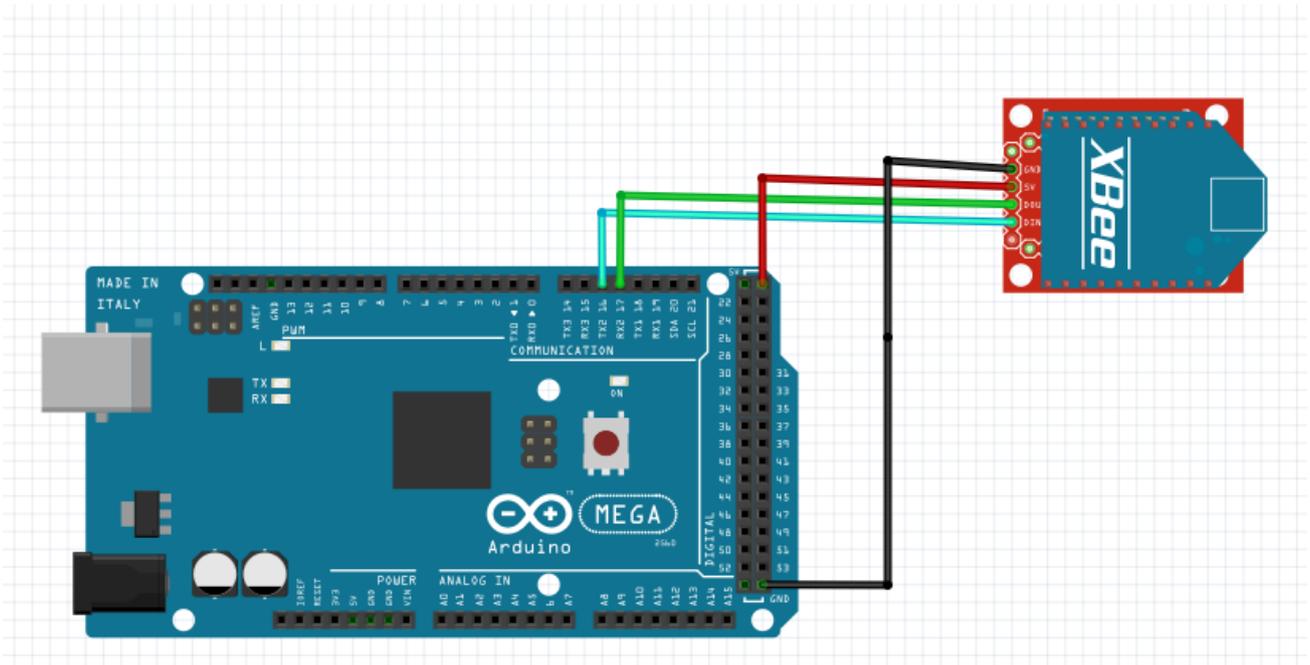


Figura 35. Conexión Arduino Mega con la placa reguladora y Xbee.

- **Fuente de alimentación**

Por último en el módulo de control, encontramos una fuente de alimentación simétrica (figura 36) que incluye un convertidor de AC/DC y nos da tres salidas, 5V, 12V y -12V. Esta fuente de alimentación va conectada a la red eléctrica de 220V, a través de un conector como el que se muestra en la figura 37 que necesita un fusible de protección y tiene un interruptor. La fuente se encarga de alimentar el Arduino Mega y el resto de componentes del módulo. Es necesario que la fuente sea simétrica para alimentar la PCB del transductor de presión.



Figura 36. Fuente de alimentación del módulo de control.



Figura 37. Conector del módulo de control a la red eléctrica.

#### 4.1.2 Módulo de bombas

El módulo de bombas es el encargado de recibir las señales del módulo de control y actuar de la manera correspondiente, modificando el caudal o el sentido de las bombas peristálticas según las órdenes del usuario. Este módulo consta de las partes que se muestran en la figura 38 y está conectado con el módulo de control a través de un conector XLR-5, para dos de las bombas contenidas, y un conector de audio Jack para la bomba restante.

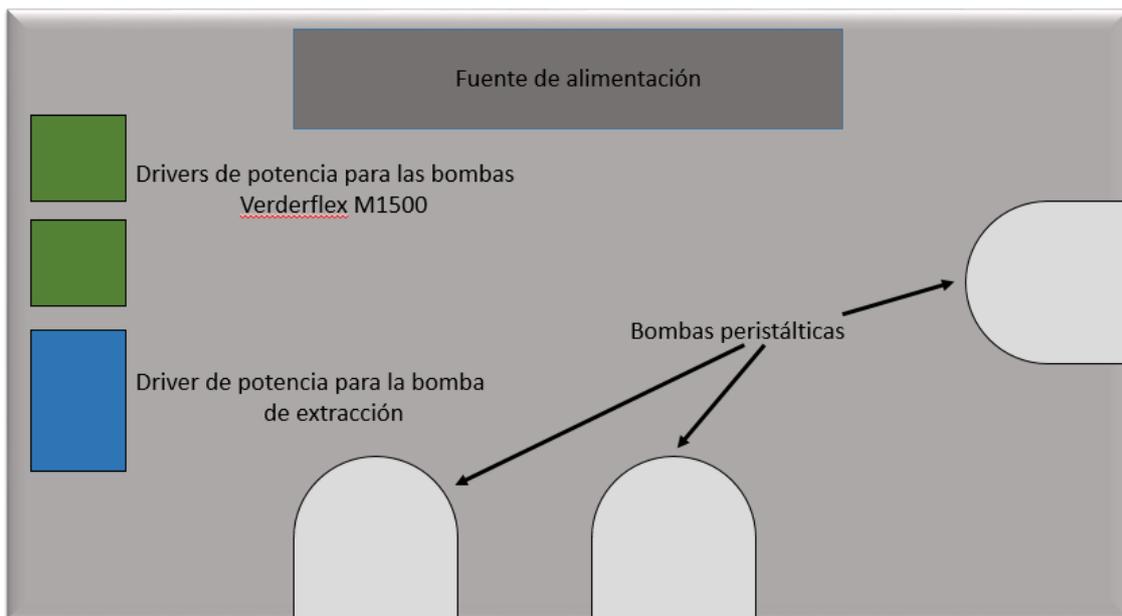


Figura 38. Esquema general del módulo de bombas.

- **Bombas peristálticas**

Para impulsar la solución de perfusión se requieren bombas lo suficientemente potentes y que además mantengan el fluido lo más limpio y estéril posible. En este proyecto, el líquido en ningún momento debe entrar en contacto con las partes mecánicas de la bomba ya que es muy difícil limpiarla y esterilizarla. Por estas razones se eligen bombas peristálticas, que comprimen el tubo en sentido rotatorio empujando el líquido a través de él sin entrar en contacto en ningún momento con partes mecánicas del aparato.

En nuestro sistema hay 3 bombas peristálticas, una de ellas empujará el líquido pasando a través del oxigenador, donde se oxigenará y calentará, hacia el órgano, otra tendrá la misma función pero la solución no atravesará el oxigenador. Para estos dos casos, se eligió el modelo Verderflex M1500 (figura 39) porque cumplía con el caudal de perfusión requerido. Este modelo de bomba ha de ser alimentado por una tensión de 24V DC y tiene una potencia de 30 W. La función de la otra bomba es extraer todo el líquido impulsado por las otras dos, por ello, necesitamos una bomba más potente que sea capaz de mover la suma de los caudales de ambas. Se eligió para este caso un modelo de bomba peristáltica Verderflex R3 (figura 40), de mayor potencia que la anterior.

El caudal que las bombas darán es controlado por una señal PWM proveniente del Arduino y la cual se acondicionará en los drivers para proporcionar una corriente y una potencia capaz de hacer funcionar las bombas. Las bombas fueron ensambladas en una caja tipo consola metálica junto al resto de componentes del módulo de bombas.



Figura 39. Bomba Verderflex M1500.



Figura 40. Bomba Verderflex R3.

- **Drivers de potencia**

Para poder controlar las bombas peristálticas a través del Arduino ha sido necesaria la incorporación de unos dispositivos capaces de amplificar la señal PWM proveniente del microcontrolador y convertirla en una más potente capaz de alimentar las bombas peristálticas.

Para el modelo de bombas M1500 se eligió el driver Pololu Dual MC33926 (figura 41), capaz de controlar dos bombas a la vez desde el mismo circuito integrado. Este dispositivo es capaz de proporcionar 3 A de corriente continua por cada canal para motores DC que trabajen entre 5 y 28V, suficiente para las especificaciones de la bomba M1500. El driver emplea la técnica PWM para conseguir la regulación de potencia de las bombas, esto consiste en modificar el ciclo de trabajo de una señal periódica para controlar la cantidad de energía que absorbe el motor. Según el tipo de señal que mandemos a cada entrada se comportará de una manera u otra. En la figura 42 se muestran unas tablas con el funcionamiento del driver según el estado de las entradas.



Figura 41. Driver Pololu Dual MC33926.

**Configuración A**

IN 1	IN 2	RESPUESTA
Pin Digital	Pin PWM	
Dirección	Velocidad	
Nivel Alto	15 – 255	<b>Sentido: Horario</b> <b>Velocidad: Lento → Rápido</b>
Nivel Bajo	240 - 0	<b>Sentido: Antihorario</b> <b>Velocidad: Lento → Rápido</b>

**Configuración B**

IN 1	IN 2	RESPUESTA
Pin PWM	Pin PWM	
Dirección y velocidad	Dirección y velocidad	
IN 1 > IN 2 (Ambas mayor que 15)		<b>Sentido: Horario</b> <b>Velocidad: Depende de la diferencia entre IN1 y IN2</b>
IN 1 = IN 2 (O ambas menores que 15)		<b>Bombas paradas</b>
IN 1 < IN 2 (Ambas mayor que 15)		<b>Sentido: Antihorario</b> <b>Velocidad: Depende de la diferencia entre IN1 y IN2</b>

Figura 42. Tabla de funcionamiento del driver Pololu Dual MC33926.

Para el control de la bomba rápida R3 este driver no era capaz de proporcionar la corriente necesaria, por lo tanto, se eligió el modelo Pololu 36v9 (figura 43), que tiene una capacidad para controlar motores de hasta 36V y 9 A. Este driver emplea también la técnica PWM para regular la potencia de la bomba, y tiene otra entrada digital que se encargará de dirigir el sentido de la misma. La entrada PWM podrá adoptar valores de 0 a 255, siendo 0 el valor donde no se entrega energía y 255 donde se entrega la máxima potencia posible.

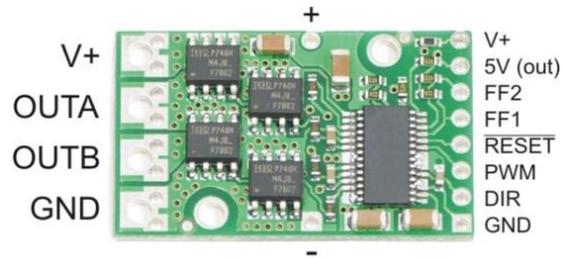


Figura 43. Driever Pololu 36v9.

Como se ha comentado anteriormente, el módulo de bombas está conectado con el módulo de control a través de dos conectores: un Jack y un XLR-5. El Jack conectará el driver de la bomba rápida con Arduino y el XLR-5 se encarga de conectar el driver Dual. Las conexiones entre Arduino, los conectores y los drivers se muestran en la figura 44.

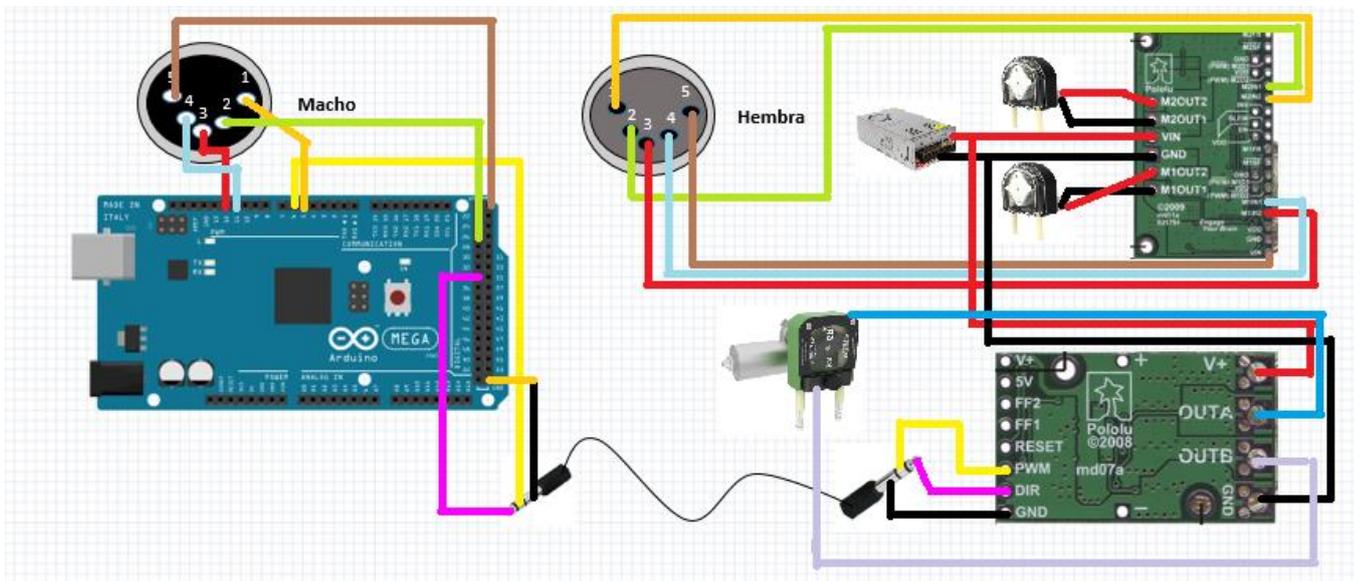


Figura 44. Conexión Drivers de potencia – Arduino.

Para el ensamblado de los drivers dentro de la caja metálica junto a los demás componentes del módulo de bombas, se diseñó una pieza que posteriormente se imprimió mediante impresora 3D con el fin de servir como soporte a los drivers y evitar cortocircuitos con la caja metálica. La pieza se diseñó con una herramienta online llamada Tinkercad. El soporte se muestra en la figura 45.

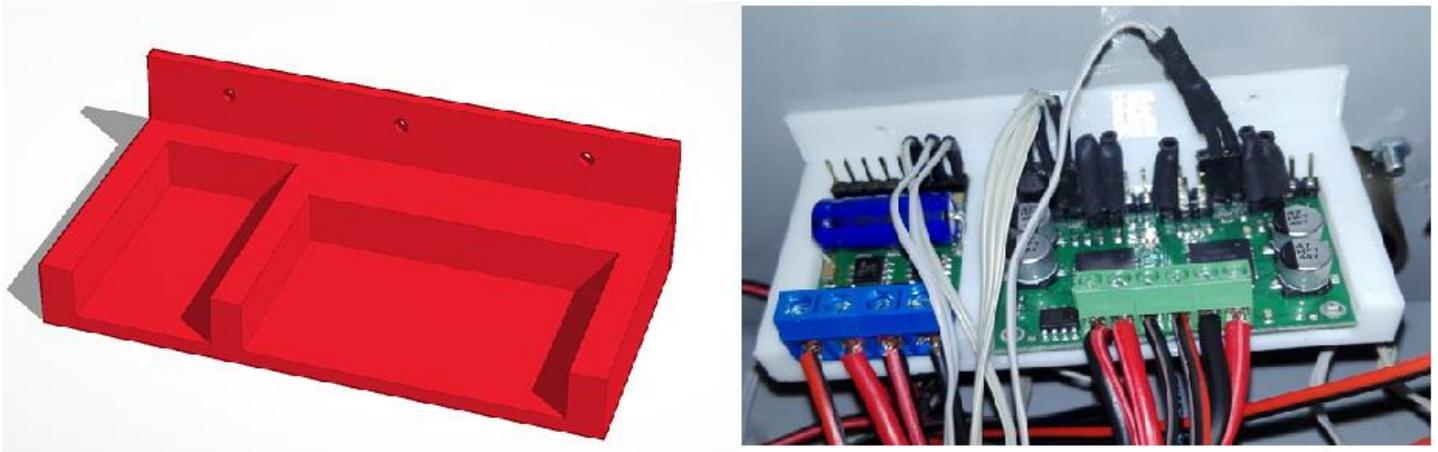


Figura 45. Pieza diseñada para el soporte de los Drivers de potencia.

- **Fuente de alimentación**

Por último en este módulo, encontramos una fuente de alimentación de 24 V y 240 W, con convertidor AC/DC para dar soporte tanto a los motores como a los drivers. Esta fuente se conectó a la red eléctrica con un conector como el de la figura 37, incluyendo un fusible de protección, al igual que se hizo en el módulo de control. La fuente es la mostrada en la figura 46.



Figura 46. Fuente de alimentación 24V para el módulo de bombas.

### 4.1.3 Suplementos

El objetivo de este proyecto era construir un sistema que mantenga *ex vivo* hígados para conseguir su recuperación antes de ser trasplantados. Para ello, a parte de los módulos que ya se han descrito necesitamos usar un oxigenador y un baño termostático.

- **Oxigenador**

El oxigenador que se ha elegido para este proyecto ha sido el modelo MAQUET Quadrox-i Pediatric, ver en la figura 47. Este oxigenador ofrece un amplio intervalo de flujo y unas tasas de intercambio de gases elevadas. Las características del oxigenador son:

- Caudal máximo de 2.8 l/min.
- Volumen de cebado de 38 y 39 ml.
- Fibras huecas de poliuretano de alto rendimiento para un intercambio térmico rápido y eficaz.



Figura 47. Oxigenador MAQUET Quadrox-i Pediatric.

- **Baño termostático**

El baño que se ha usado para calentar el agua que va a pasar al oxigenador y que se va a encargar de calentar el líquido de perfusión del circuito ha sido de la marca Grant modelo Optima T100, figura 48. Las características del baño son:

- Temperaturas de 15 °C a 99 °C.
- Estabilidad de  $\pm 0.05$  °C.
- Volumen de 12 litros.



Figura 48. Baño termostático Grant T100.

## 4.2 Software

La programación software del dispositivo se ha llevado a cabo a través del IDE de Arduino. Para la creación del código se ha utilizado el entorno de desarrollo y el lenguaje propio de la compañía, que está basado en un lenguaje de programación similar a C.

Uno de los objetivos del presente proyecto era incorporar un interfaz de usuario para enviar órdenes al módulo de bombas sin necesidad de recurrir al PC, aunque también debía poder controlarse a través del PC simultáneamente.

El interfaz de usuario, como se ha nombrado anteriormente, es la pantalla LCD de 16x2 que incorpora cuatro botones. Para la programación del control de la misma se ha hecho uso de la librería <LCD16x2.h> que incorpora las funciones básicas para monitorizar textos por pantalla o para capturar las pulsaciones de los botones. Los encoders también son necesarios para el control del menú de la pantalla.

La pantalla se programó para que nos muestre la fecha y hora durante unos segundos al arrancar el sistema a modo de verificación de la misma (figura 49). Después, se muestra la pantalla por defecto en la que están continuamente apareciendo y actualizándose (una vez por segundo) los valores de los dos sensores de presión y del sensor de temperatura incorporados (figura 50). Si hacemos uso del pulsador de cualquiera de los encoders, cambiaremos al modo edición del caudal (figura 51), el cual podemos controlar girando los mismos. Para una mayor rapidez en el ajuste del caudal, se ha programado el uso de los cuatro botones pudiendo controlar los millares, las centenas, las decenas y las unidades de manera individual. Por último, este interfaz de usuario incorpora la función de detención de las bombas y cambio de giro pulsando los botones correspondientes.



Figura 49. Pantalla de bienvenida del equipo.



Figura 50. Pantalla de monitorización de variables.



Figura 51. Menú de modificación del caudal de la bomba 2.

La pantalla incluida en el módulo de control no es suficiente para poner a punto el equipo por primera vez, ya que, para ello necesitamos calibrar los sensores de presión. Esto se realiza mediante el PC y solo es necesario realizarlo cada vez que se quieran cambiar los valores de calibración ya que se almacenan en la EEPROM del Arduino, aunque es recomendable que se calibren para cada experimento que se realice. Se decidió utilizar un SCADA (Supervisory Control and Data Acquisition) programado en GUIDE de Matlab ya existente en el grupo (figura 52). Se realizaron las modificaciones necesarias en el software para que el código desarrollado en este proyecto y el existente en Matlab encajaran perfectamente. Con esta aplicación, podremos calibrar los sensores de presión, tal y como se explica en el Anexo I.3, además de controlar las bombas de la misma manera que lo podemos hacer por pantalla.

El PC se conecta mediante el XBee al módulo de control, enviando desde Matlab las tramas con las órdenes del usuario una vez recibidas en el módulo de control a través del Xbee el microprocesador se encarga de interpretar las órdenes y actuar acorde a ellas. El Arduino también envía datos hacia el PC con los valores de presión y temperatura que serán monitorizados en la aplicación.

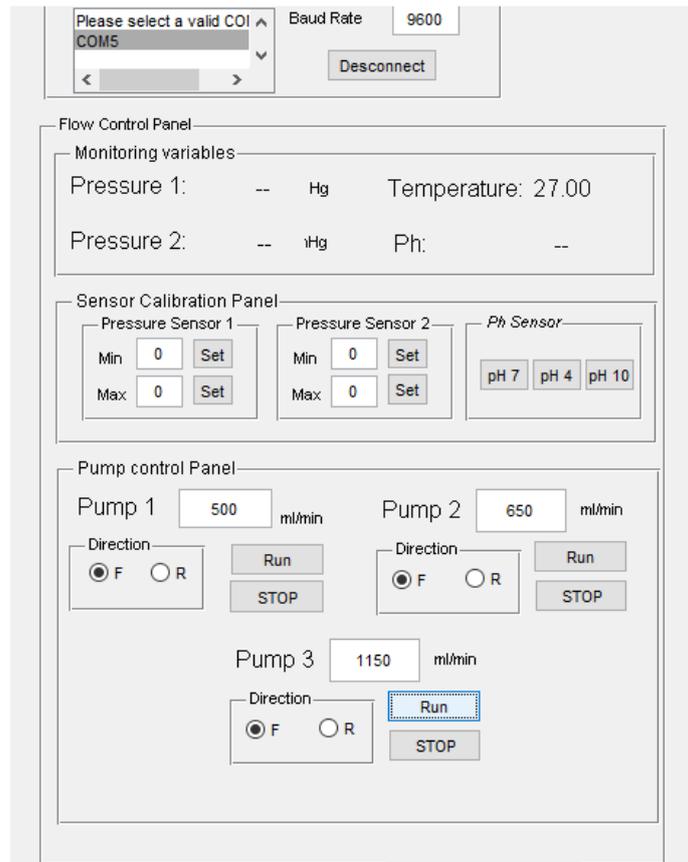


Figura 52. SCADA para el control del módulo de bombas desde el PC.

### 4.3 Resultados

Con el dispositivo ya ensamblado y programado, llegó la hora de ponerlo en marcha. Comprobamos que las bombas giraban con el sentido que les decíamos, que cambiaba la velocidad cuando aumentábamos el caudal o que se detenían cuando mandábamos la orden. Sin embargo, faltaba ajustar las rectas de funcionamiento para que el caudal por minuto que ordenábamos se correspondiese con el obtenido. Para ello, se llevó a cabo un experimento en el cual se midió la cantidad de agua extraída por cada una de las bombas por minuto con una báscula de precisión para diferentes valores de entrada y para diferentes diámetros del tubo. Después, con estos datos se obtuvieron las gráficas de funcionamiento y de ellas cada una de las rectas, que son las mostradas a continuación:

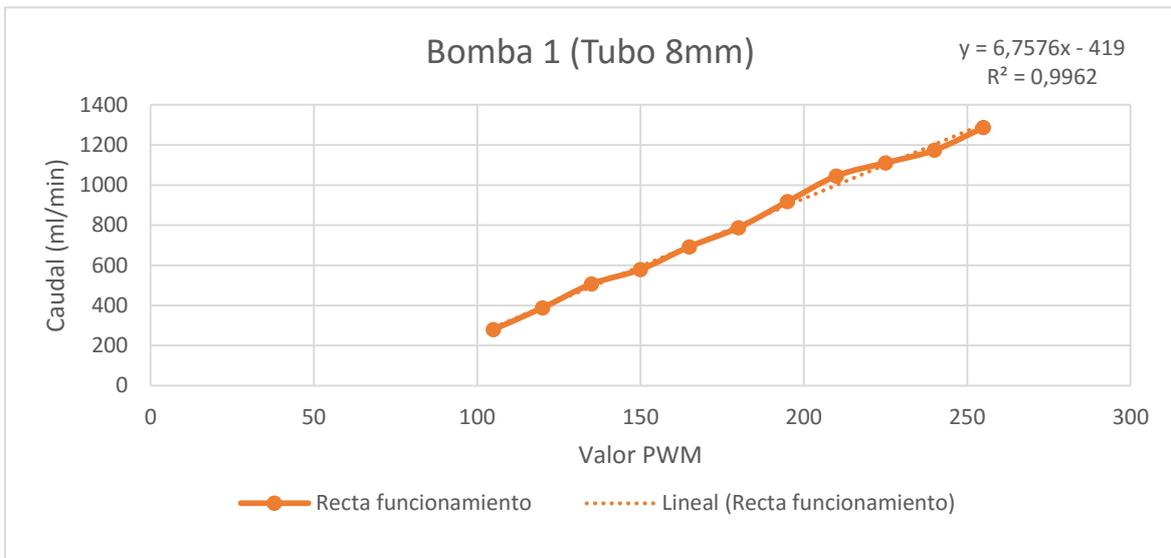


Figura 53. Recta de funcionamiento para una bomba Verderflex M1500 con tubo de 8mm.

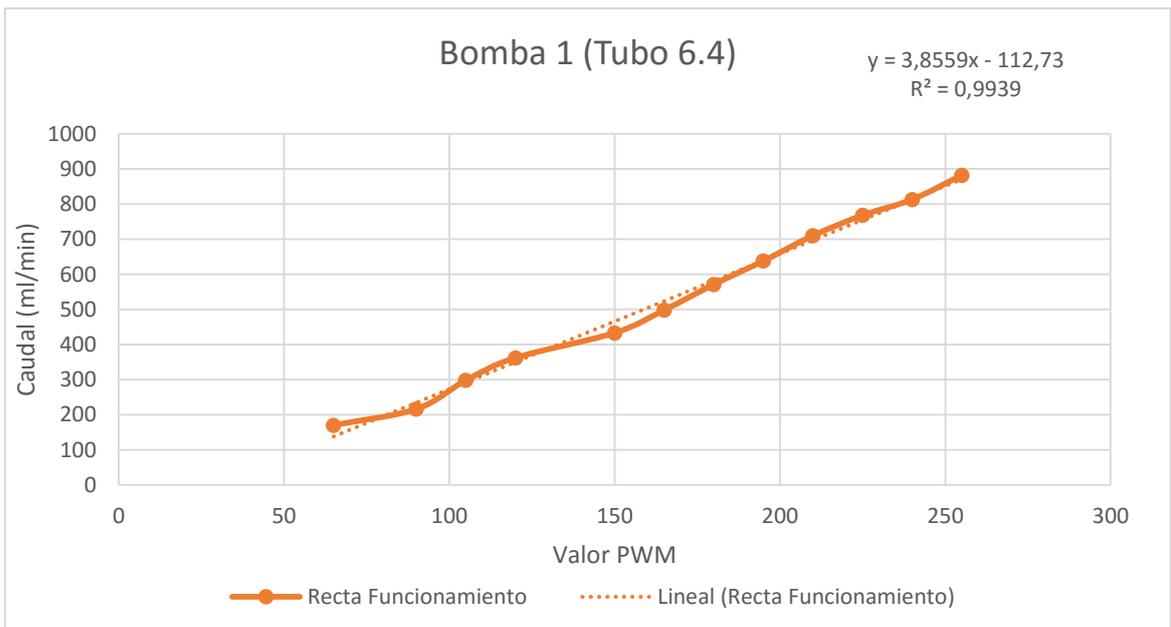


Figura 54. Recta de funcionamiento para una bomba tipo Verderflex M1500 con tubo de 6.4mm.

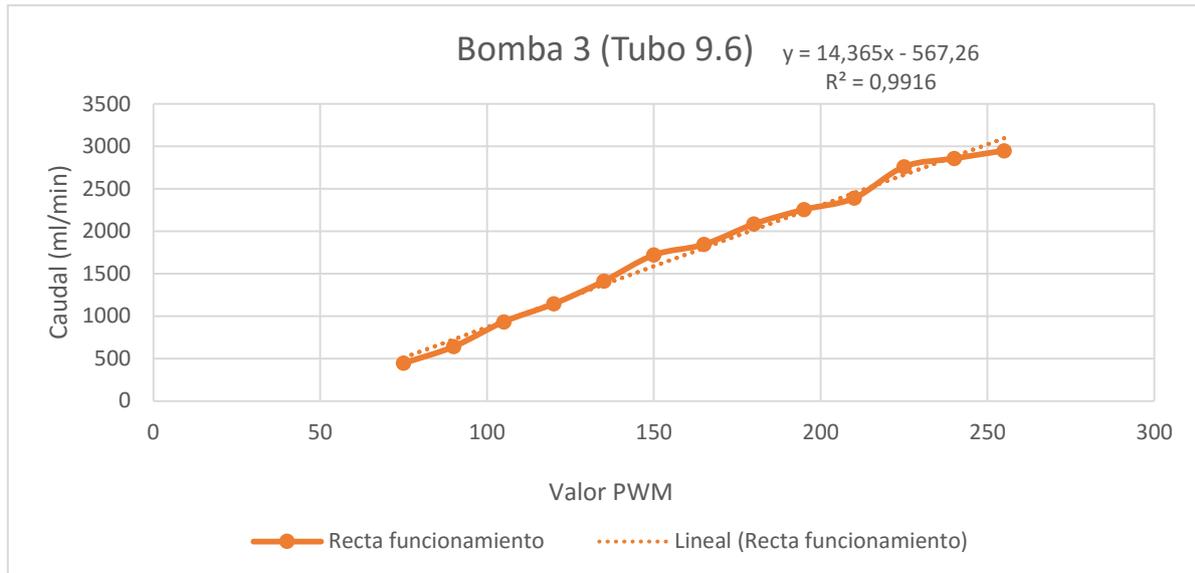


Figura 55. Recta de funcionamiento para la bomba rápida con un tubo de 9.6mm.

Una de las bombas M1500 debe ser capaz de llegar a un caudal de 1100 ml/min para satisfacer las necesidades del hígado, y como vemos, con el tubo de 8mm se consigue este valor para un valor PWM de 225. El mínimo caudal que podemos conseguir con esa bomba y ese tubo son 300 ml/min para un PWM de 100. La otra bomba debe llegar a 800 ml/min por el mismo motivo, con lo cual el tubo de 8mm es excesivo y se decidió usar uno de 6.4mm. Se consigue ese máximo para un valor PWM de 240. El caudal mínimo que nos da esta bomba se produce para un PWM de 65 y tiene un valor de 170 ml/min. Por último, la tercera bomba debe ser capaz de recoger todo el líquido extraído por las bombas anteriores, por ello, necesita una mayor potencia y además un tubo mayor, que se eligió el de 9.6mm que satisface las necesidades de achique. Esta bomba tiene un máximo caudal de 3000ml/min y un mínimo de 500 ml/min para unos valores de PWM de 255 y 75, respectivamente.

En cada una de las gráficas aparece la recta de funcionamiento que debe incluirse en el código programado para que las bombas se comporten correctamente.

Como segunda parte del apartado de resultados, mostraremos varias gráficas sobre las medidas capturadas por los sensores del sistema y observaremos la relación que tienen con el caudal configurado.

En la figura 56 observamos dos curvas de medida de temperatura realizadas a la salida del oxigenador y a la salida del tubo de la bomba 1. En el circuito la bomba uno se encarga de impulsar el líquido de perfusión a través del oxigenador, donde se oxigena y calienta, y recogerlo a la salida del mismo. Como conclusión a esta gráfica, se puede afirmar que por los tubos no se pierde calor ya que la temperatura al principio y al final de este “pequeño circuito” es la misma.

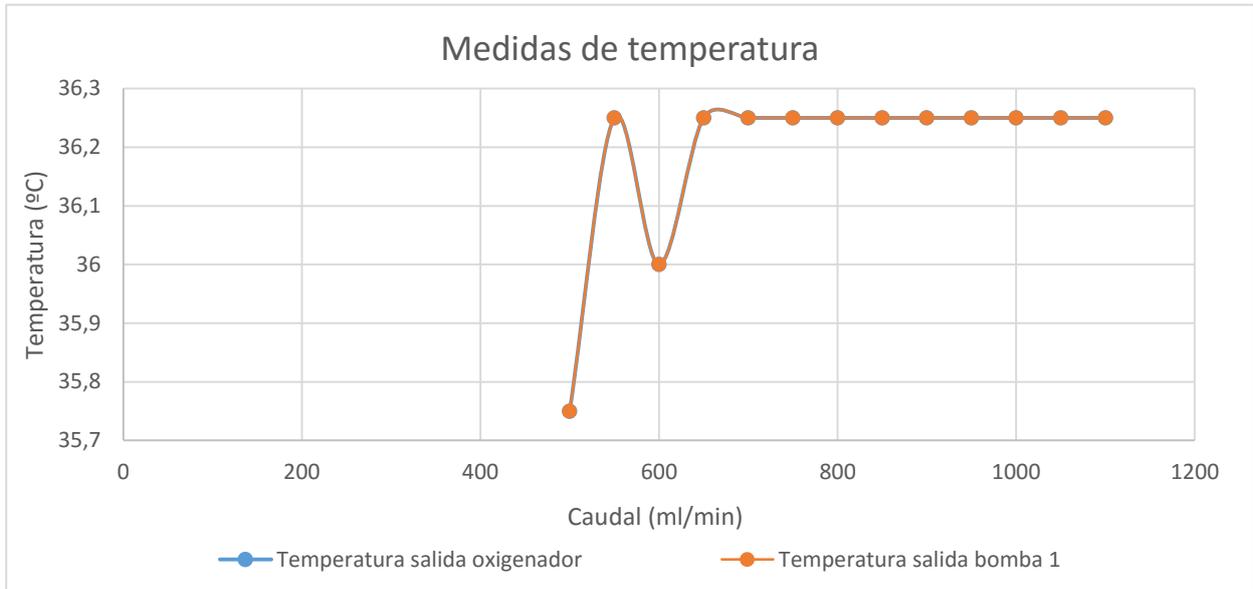


Figura 56. Gráfica que representa el caudal de la bomba 1 en relación con la temperatura a la salida del oxigenador y a la salida del tubo de la bomba 1.

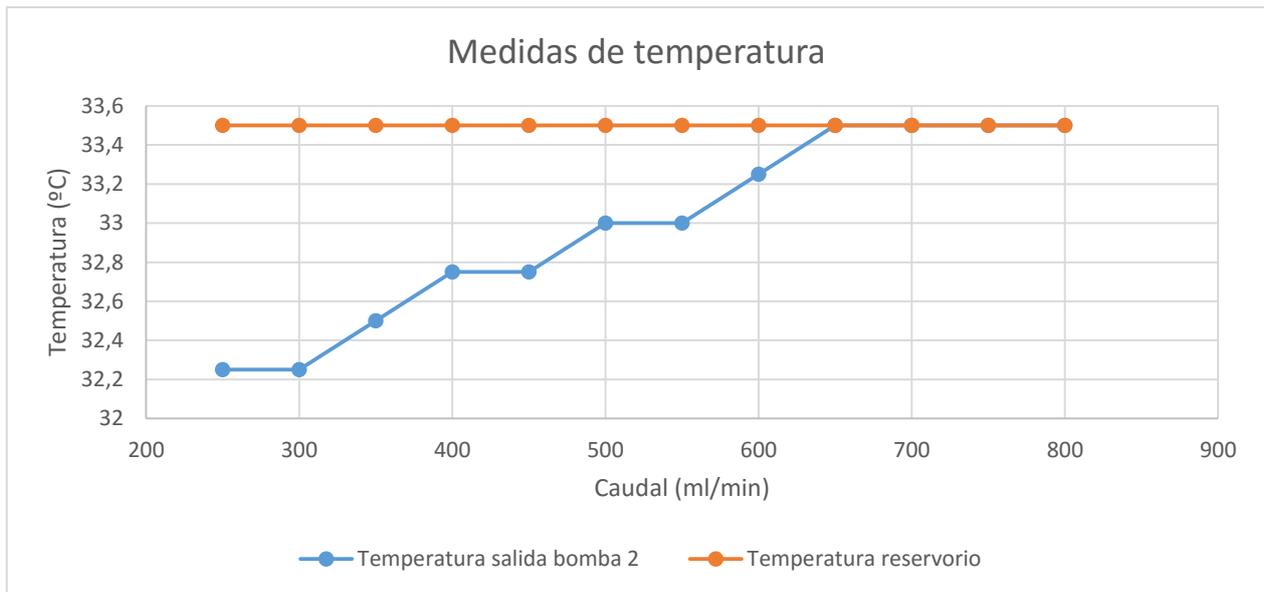


Figura 57. Gráfica que relaciona la temperatura a la salida de la bomba 2 con la temperatura del reservorio.

En la figura 57 se representa la temperatura del reservorio, que es de donde extrae líquido la bomba 2, y la temperatura a la salida de la misma en función del caudal. El líquido de este reservorio se mantiene caliente porque la bomba 3 se encarga de recoger la solución saliente del hígado, caliente y oxigenada gracias a la bomba uno, y llevarla a este recipiente. Sin embargo, observamos que mientras la temperatura a la salida de la bomba uno era de 36 °C (salía directamente del oxigenador caliente por el baño), la salida de la bomba dos y el reservorio alcanzan unos 33,5 °C. Esto es debido a que el líquido contenido en ese recipiente se almacena y no está pasando continuamente por el baño y el oxigenador. En la figura 58 se muestra la gráfica

que nos relaciona la temperatura del reservorio con la temperatura del baño con el sistema completo funcionando para que haya circulación de agua caliente a través de todo el circuito.

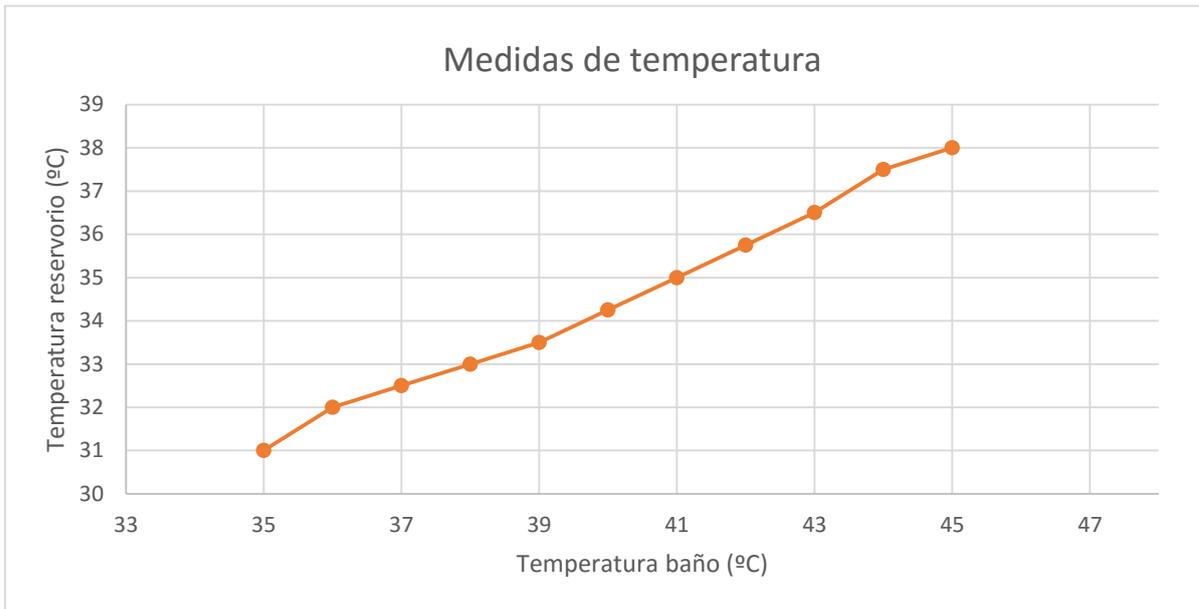


Figura 58. Gráfica que relaciona la temperatura del baño con la del reservorio.

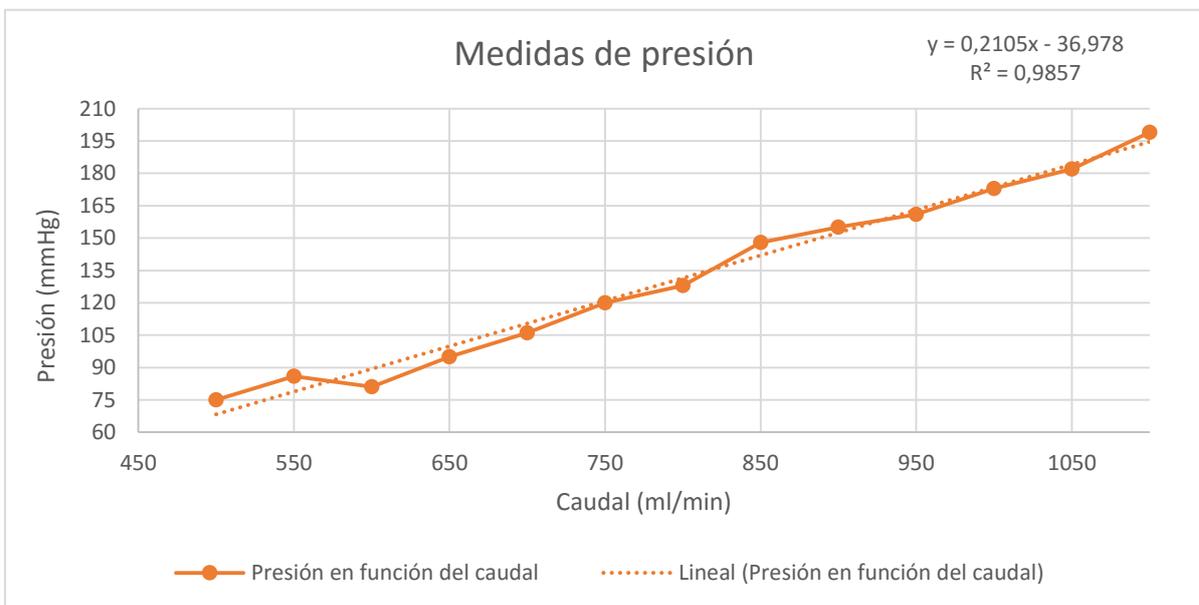


Figura 59. Gráfica que representa la presión a la salida de la bomba 1 en función de su caudal.

La figura 59 muestra la presión que hay a la salida del tubo de la bomba uno en función de su caudal. Como era de esperar, la presión es función casi lineal del caudal ya que cuanto más solución de perfusión arrastre la bomba a través del tubo, más presión se produce.

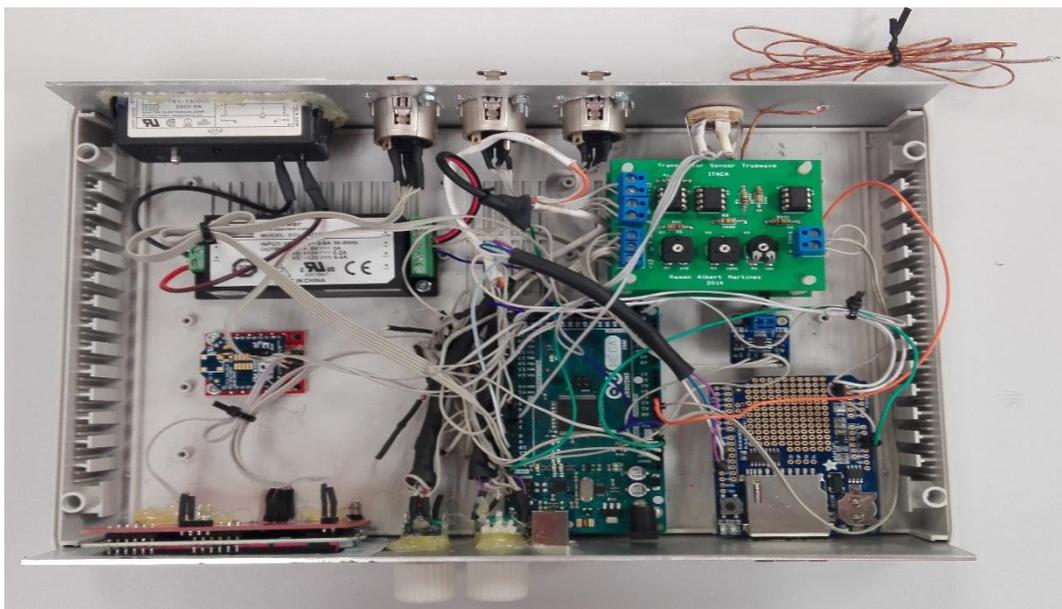
Para finalizar con este apartado de resultados, mostraremos unas fotos del equipo montado completo en el que se aprecia claramente el módulo de control, el módulo de bombas, el baño y el oxigenador necesarios para la perfusión hepática.



*Figura 60. Parte frontal del módulo de control.*



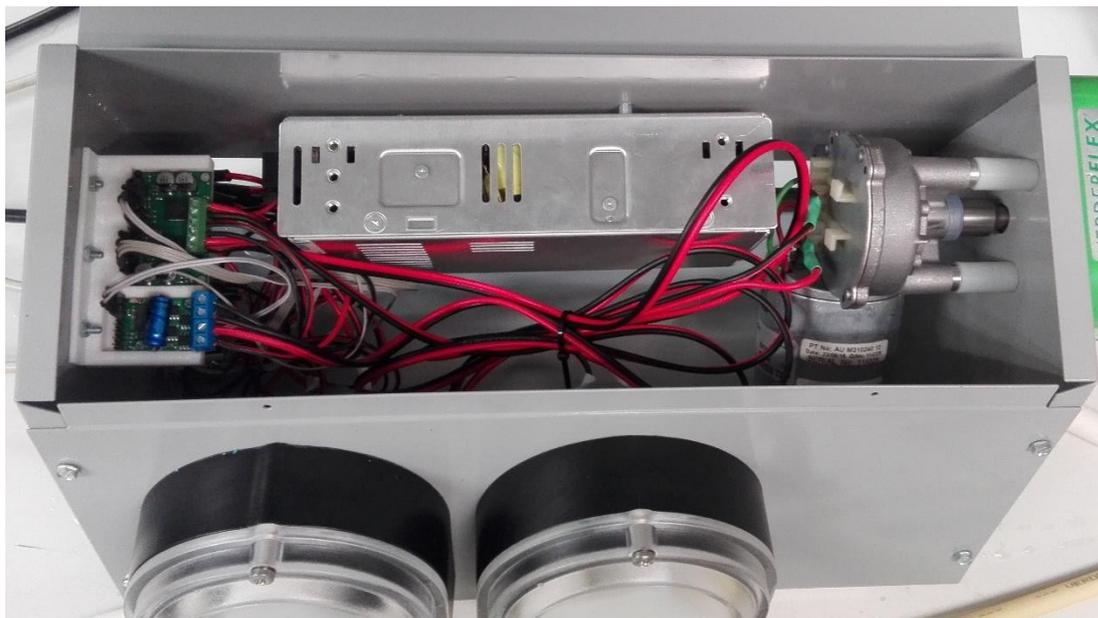
*Figura 61. Parte trasera del módulo de control.*



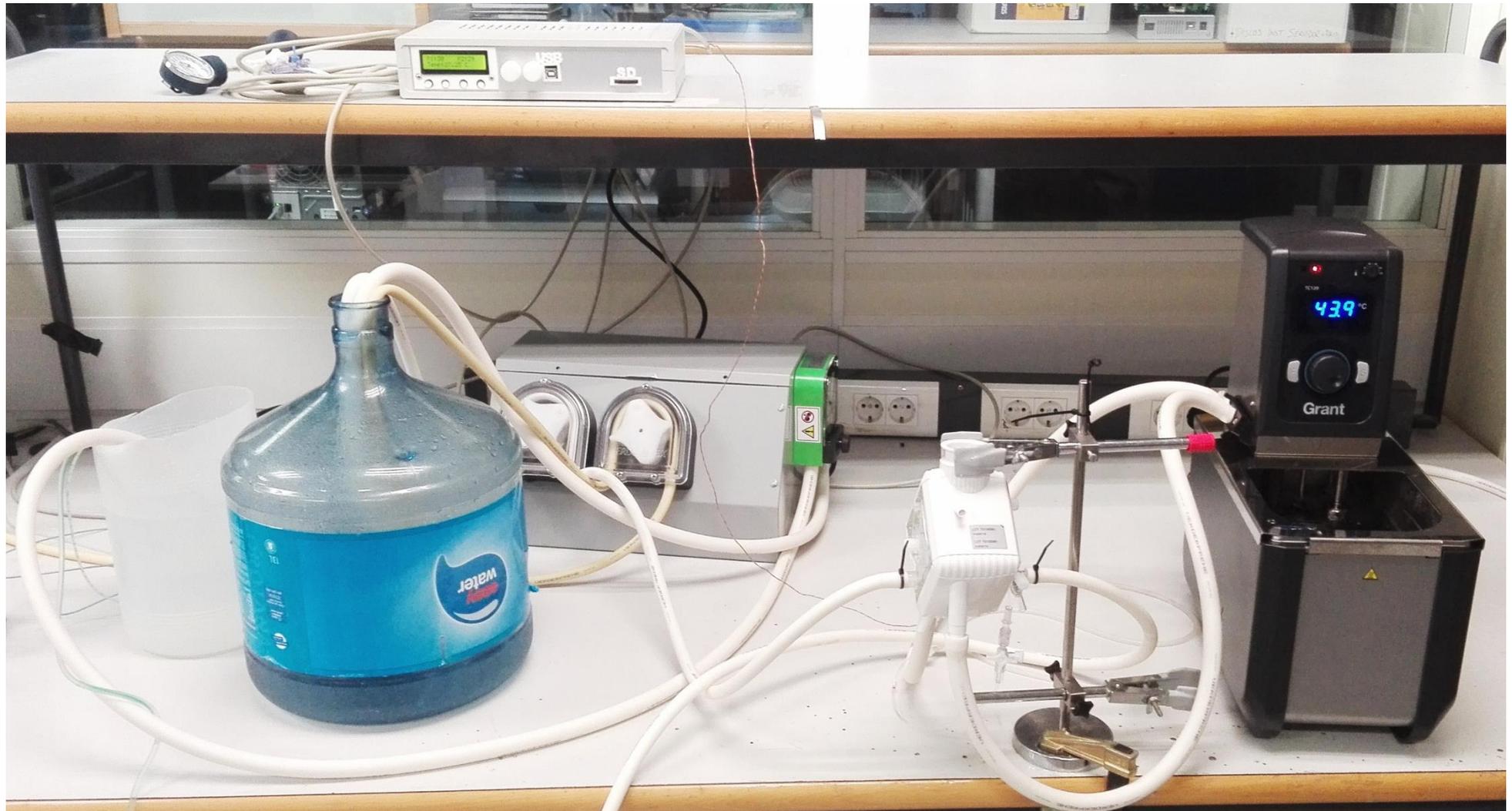
*Figura 62. Interior del módulo de control.*



*Figura 63. Parte frontal del módulo de bombas.*



*Figura 64. Interior del módulo de bombas.*



*Figura 65. Equipo completo donde se observa el módulo de control, el módulo de bombas, el oxigenador, el baño termostático, el reservorio (botelle azul) y la jarra que en un experimento de clínica sería sustituida por el hígado.*

## Capítulo 5. Pliego de condiciones y presupuesto

El equipo desarrollado en este proyecto tiene las siguientes características:

- Alimentación a 220 V.
- Integración de tres bombas para el ajuste del caudal. Los caudales mínimos de las bombas 1, 2 y 3 son 300 ml/min, 170 ml/min y 500 ml/min y los máximos 1100 ml/min, 800 ml/min y 3000 ml/min, respectivamente.
- Medida de temperatura con una precisión de 0.25 °C y un rango de -270 °C a 1800 °C.
- Medida de presión con una precisión de 1 mmHg y un rango de 0 mmHg a 999 mmHg.
- Dos encoders y cuatro botones para el control de los menús.
- Conexión de los sensores de presión a través de dos conectores XLR-4.
- Interconexión entre el módulo de control y el de bombas con conectores XLR-5 y Jack.
- Tarjeta SD.
- Dos encoders para el control de flujo de la bomba 1 y 2.
- Dos botones para el control del sentido de las bombas 1 y 2.
- Dos botones para la parada de las bombas 1 y 2.

El dispositivo se ha programado en lenguaje Arduino, procedente de un lenguaje multiplataforma llamado C. Tanto para escribir y compilar el código como para poder cargarlo al dispositivo necesitamos tener instalada en nuestro PC el entorno de desarrollo que es gratuito y podemos obtenerlo desde la página web de la compañía fácilmente.

La última versión de la aplicación [Arduino 1.6.11](#) está disponible para sistemas operativos como Windows, Mac OS X y Linux. El entorno está programado en Java y basado en otros lenguajes de código abierto. Con esta aplicación podemos subir código a cualquier modelo de placa Arduino, en nuestro caso será Arduino Mega 2560.

Se utilizan varias librerías auxiliares en el código con el fin de facilitar la realización de algunas operaciones. La instalación de las librerías está explicada con detalle en el Anexo I.2. Algunas de estas librerías vienen por defecto instaladas en el entorno, si no aparecen, pueden ser descargadas de la web fácil y gratuitamente con solo saber su nombre:

- “Adafruit\_MAX31855.h”
- “EEPROM.h”
- “stdio.h”
- “stdlib.h”
- “LCD16x2.h”
- “wire.h”
- “RTCLib.h”
- “Encoder.h”
- “SD.h”

Los pines configurados para cada dispositivo conectado al Arduino, en principio, no se van a ver modificados, si así fuera, en el código existen numerosas variables globales que fácilmente pueden ser modificadas cambiando el valor del pin en todo el programa.

Con respecto al presupuesto del proyecto, se va a presentar una tabla excell para cada uno de los módulos incluyendo todos sus componentes y su precio. A esto, habrá que sumarle las horas de trabajo del alumno, que según el centro de apoyo a la innovación y la investigación se establece que un ayudante de universidad tiene un coste de 23.70 € / hora.

- **Módulo de bombas**

Cantidad	Nombre	Precio unidad €	Precio total €
2	Bomba peristáltica Verderflex M1500	142	284
1	Fuente Alimentación 24V C-Serie	50,7	50,7
1	Conector 220V con Fusible	9,97	9,97
2	Conector XLR-5 Hembra	2,71	5,42
2	Conector XLR-5 Macho	2,25	4,5
2	Conectores Jack Audio Macho	0,7	1,4
2	Conectores Jack Hembra	0,52	0,52
10	Fusible 2A 250V	0,297	2,97
1	Caja Metálica para ensamblaje	74,96	74,96
1	Driver motor MC33926	26,42	26,42
1	Driver motor 36v9	36,90	35,90
	Tubos Verderplene	216	216
	Cánulas adaptación entre tubos	86	86
	Pieza impresa en 3D	8,5	8,5
		<b>TOTAL</b>	<b>807,26</b>

- **Módulo de control**

Cantidad	Nombre	Precio unidad	Precio total
1	Arduino Mega 2560	45,72	45,72
1	Fuente Alimentación Simétrica	46,68	46,68
1	Termopar	13,17	13,17
1	Amplificador termopar	13,17	13,17
1	Placa USB para Xbee	22,01	22,01
1	Placa Xbee para arduino	8,76	8,76
2	Xbee	14,97	29,94
1	Conector 220V con Fusible	9,97	9,97
2	Potenciómetro 47K	0,49	0,98
2	Potenciómetro 100K	0,33	0,66
2	Potenciómetro 10k	0,37	0,74
2	AD620	6,89	13,78
4	OP07	1,36	5,44
2	XLR-4 Macho	7,19	14,38
2	XLR-4 Hembra	6,54	13,08
10	Resistencias 1/4W 1000	0,035	0,35
10	Resistencias 1/4W 10K	0,035	0,35
10	Resistencias 1/4W 100K	0,035	0,35
1	Sistema de data loggin	17,57	17,57
6	Conectores IC 8 pines	0,44	2,64
2	Terminal blocks 3 vias	0,52	1,04
6	Terminal blocks 2 vias	0,55	3,3
12	Patas hexagonales spacer	0,411	4,932

<b>1</b>	Caja para ensamblaje	31,89	31,89
<b>1</b>	Pantalla LCD 16x2	14,89	14,89
<b>2</b>	Encoder	0,85	1,7
		<b>TOTAL</b>	<b>317,50</b>

- **Trabajo realizado**

	<b>Número de horas</b>	<b>TOTAL €</b>
	12 créditos * 25 horas/crédito = 300	<b>7.110</b>

- **Precio Total : 8234,76**

## Capítulo 6. Conclusiones y propuestas futuras

Llegados a este punto, podemos hacer balance de los objetivos marcados y del cumplimiento o incumplimiento de los mismos.

El primer objetivo era obtener una base teórica sobre el tema a tratar en el proyecto. En el capítulo tres se pone de manifiesto el cumplimiento de este objetivo, ya que se realiza un análisis tanto del hígado como de las posibilidades de sistemas de perfusión existentes comerciales o en la literatura.

La segunda meta era familiarizarse con el sistema presente en el laboratorio del grupo. Se analizó cada uno de los componentes que constituían el sistema y se estudió y comentó el código solucionando las dudas que aparecieron.

En tercer lugar, se llevó a cabo la búsqueda y compra de todos los componentes en la página de distribución electrónica DigiKey para facilitar la compra y la facturación de la misma. Con la compra de los mismos se cumplió el tercer objetivo.

En el capítulo cuatro se describe tanto el proceso de conexión y ensamblado de los componentes como el de la programación del software que hace funcionar al sistema, cumpliendo así con el cuarto objetivo.

En este mismo capítulo se analizan los resultados, con los que se consigue calibrar el sistema cumpliendo con el quinto objetivo y con el objetivo principal, desarrollar el sistema de perfusión con interfaz de usuario y medida de presión y temperatura continua.

El dispositivo en un breve plazo de tiempo pasará a estar en fase de prueba en el laboratorio con órganos provenientes de animales. Una vez verificado el funcionamiento del sistema será utilizado para los fines con los que se ha construido en el Hospital Universitario La Fe de Valencia.

En conclusión, las metas del trabajo han sido logradas superando muchas dificultades que han ido apareciendo a lo largo del montaje, prueba y programación del dispositivo. Se ha conseguido mejorar el antiguo sistema de perfusión existente en el grupo añadiendo una tercera bomba de extracción, un oxigenador, un baño y la función de control manual del equipo para no tener que depender de un PC.

Como mejoras al sistema, cabe destacar la adición de una función de control automático del flujo, control PID. En este modo de funcionamiento el caudal de las bombas se regula automáticamente a partir de los valores de presión obtenidos de los sensores. Los sensores de presión se colocan a través de conexiones por cánulas a los tubos por donde se transporta el líquido. Al estar de esta manera conectados, el valor de presión no es muy preciso y por tanto, es difícil realizar un control PID del equipo. Para un correcto funcionamiento, deberíamos pensar algún tipo de mecanismo que nos permita conocer los valores de presión de forma más fiable y así poder modificar el software añadiendo la función de control PID.

Además podría añadirse al menú una opción para poder calibrar los sensores de presión desde la pantalla sin necesidad de recurrir al PC para ello.

Otras posibles mejoras podrían ser la incorporación de sistemas de alarma cuando los niveles de presión o el valor de temperatura se salgan de los valores predeterminados. Podría implementarse una alarma con un simple sonido, o bien algo más avanzado como una conexión a Internet mandar un mensaje o realizar una llamada al personal.

## Capítulo 7. Bibliografía

- [1] M.S. Guillem, R. López. “Modelo de hígado aislado en perfusión para el rescate de órganos en el trasplante y terapia génica traslacional”. Solicitud de proyecto UPV – La Fe. 2016.
- [2] M.S Guillem, F. Orbis. “Desarrollo de un sistema de perfusión”. Solicitud de proyecto UPV – La Fe 2015.
- [3] Radnoti LLC. “USD International Price List”. July 2015. [www.radnoti.com](http://www.radnoti.com)
- [4] Radnoti LLC. “Liver/Kidney System”. [www.radnoti.com](http://www.radnoti.com)
- [5] Organ Assist. “Liver Assist”. [www.organ-assist.nl](http://www.organ-assist.nl)
- [6] Wikipedia. Aparato digestivo. 9 Agosto 2016. es.wikipedia.org
- [7] Echosens. [www.myliverexam.com](http://www.myliverexam.com)
- [8] The StayWell Company LLC. “University of Chicago Medicine”. [www.healthlibrary.ichospitals.edu](http://www.healthlibrary.ichospitals.edu)
- [9] M.D. Tuñón. “Esteatosis hepática”. [www.webconsultas.com](http://www.webconsultas.com)
- [10] R. Rodríguez. “Esteatosis hepática”. [www.periodicomédico.com](http://www.periodicomédico.com)
- [11] O.Lwiskaya, M. Knas, et al. “Effects of statins on liver fibrosis reversibility and activities of lysosomalexoglycosidases”. Medical University Poland and Belarus, Experimental and Clinic Patology, 2007.
- [12] A. Franciscus. “¿Qué es la fibrosis?”. Hepatitis C Support Project.
- [13] Y. Abe, I. N. Hines, G. Zibari, K. Pavlick, L. Gray, Y. Kitagawa, M. B. Grisham. “Mouse model of liver ischemia and reperfusion injury: method for studying reactive oxygen and nitrogen metabolites in vivo”.
- [14] C.L. Ronchera – Oms, J.M. González. “Terapia génica”. Farmacia hospitalaria, capítulo 6: 921.
- [15] M.J. Herrero et al. “Mouse and pig nonviral liver”. Gene Therapy and Molecular Biology 2005; 9: 169-180.
- [16] S.F. Aliño et al. “Pig liver gene therapy by noninvasive”. Gene Therapy 2007; 14:334-343.
- [17] D. Rodríguez, R. Cabello, G. Pedemonte, D. Subirá, J.F. del Cañizo, E. Lledó. “Aspectos técnicos de los dispositivos de perfusión de órgano aislado”. Actas urológicas Españolas. 2008; 32: 59-66.
- [18] J.J.C Le Gallois. “Expériences sur le principe de la vis, notamment sur celui des mouvements du coeur, et sur le siège de ce principe”. D’Hautel, Paris 1812.
- [19] L. Leobell. “Dissertation”. Marburg, 1849.
- [20] G. Bunge, O. Schmiedeberg. “Über die bildung der huppursaur”. 1876.
- [21] W. Von Schroeder. “Über die bildungsstate des hanrstoffs”. 1876.
- [22] C. Jacobi. “Apparat zur Durchbluttung isolirter überlebender organe”. 1890.
- [23] R.A. Gessel. “On the relation of pulse pressure to renal secretion”. 1913.
- [24] O. Langendorff. “Untersuchungen am überlebenden Säugetierherzen Investigation of the living mammalian heart”. Revista española de cardiología, 2009.
- [25] M.H. Booster, M. Yin, B.M. Stubenitski, G.A.K. Heidendal, M.J.P.G. Kroonenburg, G.J. Kemerink, S.G.E.A Hinders, E. Heineman, W.A. Buurmen, R.M.H. Wijnen, A.T.M. Bonke, G. Kootstra. “Beneficial effect of machine perfusión on the preservation of renal microcirculatory integrity in ischemically damaged kidneys”.1995

[26] N. Matsuno, E. Sakurai, I. Tamaki, K. Furuhashi, A. Saito, S. Zhang, et al. "Effectiveness of machine perfusión preservation as a viability determination method for kidneys procured from non-heart-beating donors". 1994.

[27] Z.B. Zhang et al. "Protective role of normothermic machine". Liver Transplantation 2016.

[28] A. Martínez. "Biorreactores". Transparencias asignatura SCBIO 2016. Grado en Ingeniería de Tecnologías y Servicios de Telecomunicación.

## Anexo I. Guías y manuales.

### I.1 Programación Arduino

Una vez descargado e instalado el entorno de desarrollo, como se dijo en el pliego de condiciones, procederemos a subir a nuestra placa Arduino Mega el programa desarrollado.

Lo primero que debemos realizar es la conexión a través del USB entre el PC y la placa. Si es la primera vez que conectamos Arduino a nuestro ordenador, el sistema operativo empezará a instalar los drivers necesarios. Una vez instalados los drivers, abrimos el programa Arduino y en Herramientas seleccionamos la placa, el procesador y el puerto correspondientes. Para averiguar a qué puerto está conectado nuestro Arduino podemos ir a Administración del equipo > Administración de dispositivos > Puertos (COM y LPT), ahí nos dirá que puerto COM utiliza nuestro Arduino.

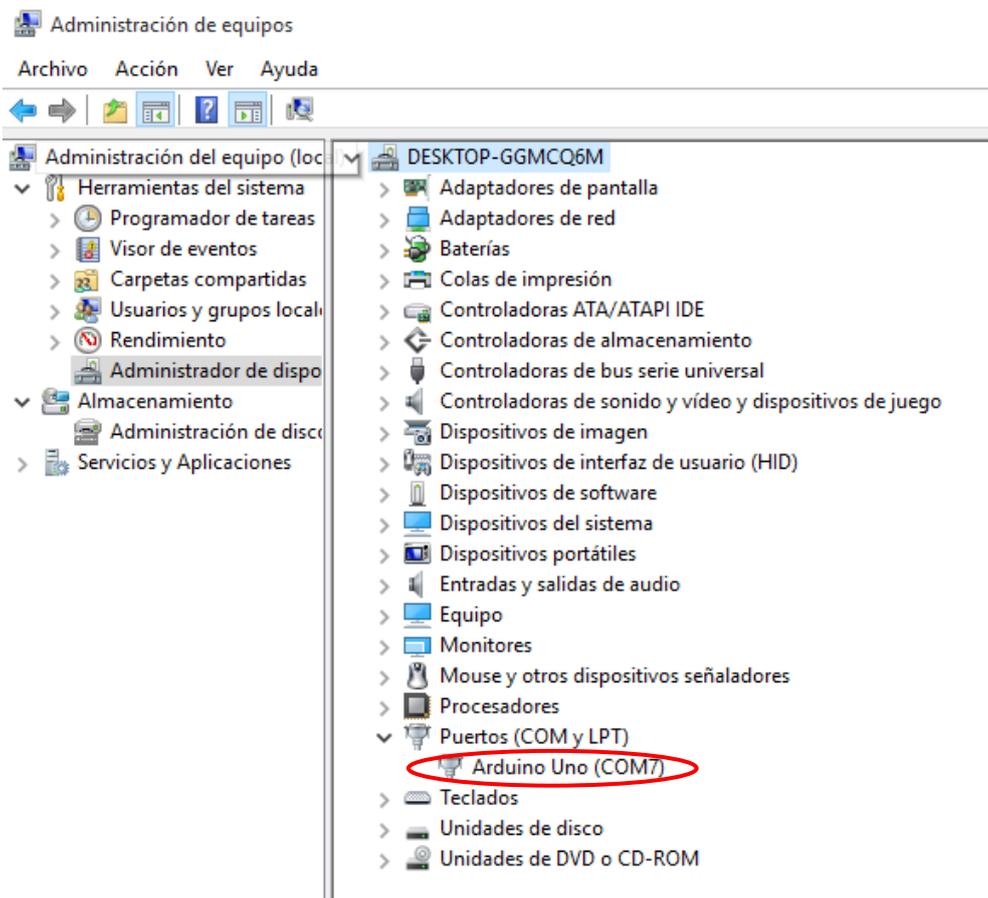


Figura 66. Comprobación del puerto de Arduino.

Una vez este configurada correctamente la placa, podremos pasar a subir el programa.

## I.2 Importación de librerías

Para poder compilar el programa desarrollado y que este pueda realizar correctamente las funciones empleadas debemos importar las librerías que no aparezcan en el entorno de desarrollo de Arduino por defecto. Para ello debemos seguir los siguientes pasos:

1. Buscar, descargar y descomprimir la librería.
2. Cerrar el programa Arduino en caso de que este abierto.
3. Nos dirigimos a la siguiente carpeta C:\Program Files (x86)\Arduino\libraries.
4. Copiamos la carpeta descomprimida aquí dentro.
5. Abrimos el entorno de desarrollo y comprobamos que se han instalado correctamente en Programa/Incluir librería, donde aparecen todas las librerías importadas.

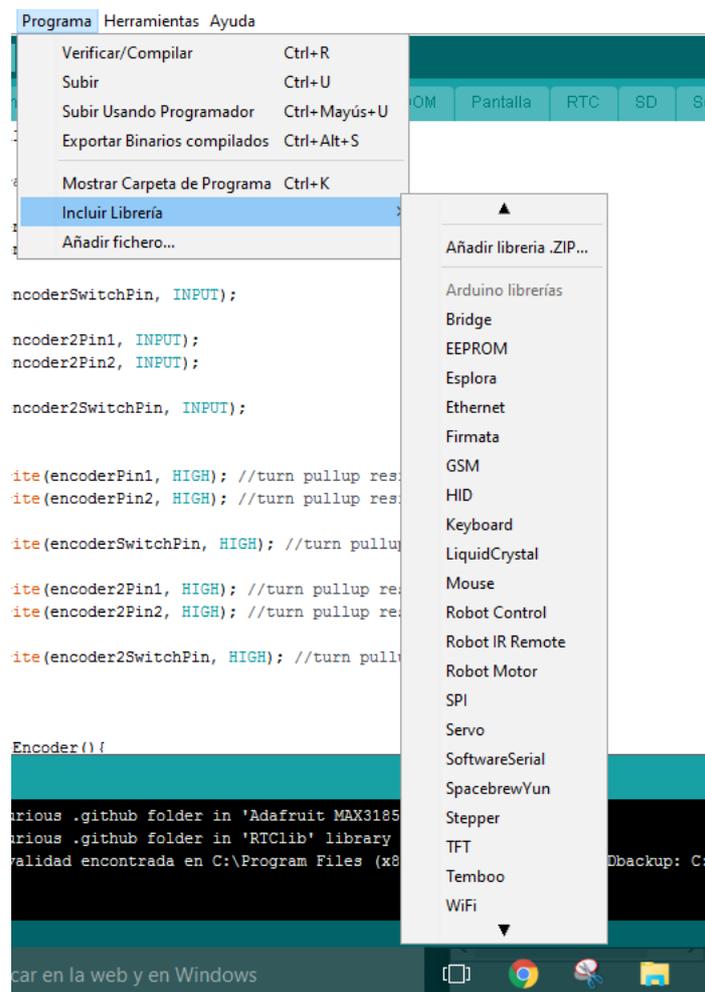


Figura 67. Librerías importadas.

Cuando tengamos todas las librerías necesarias para el sistema de perfusión, ya podremos compilar y subir a la placa el programa desarrollado.

### I.3 Calibración de los sensores de presión

Para calibrar los sensores necesitamos tener el equipo completo encendido y arrancar el GUIDE programado para Matlab. Además es recomendable tener un manómetro como el que se muestra a continuación para saber exactamente la presión que estamos ejerciendo en el sensor:



Figura 68. Manómetro.

Abierto el control de Matlab, introducimos el valor de presión mínimo que este marcando el manómetro en el cuadrado correspondiente al sensor que estemos calibrando dentro del panel de calibración y pulsamos set.

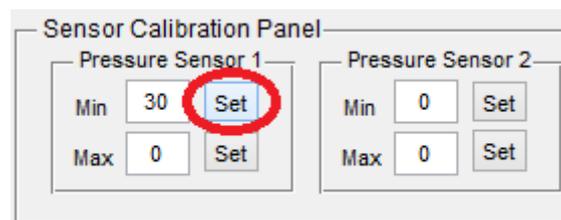


Figura 69. Calibración del sensor de presión.

Ahora aumentamos la presión del manómetro hasta un valor conocido y la mantenemos mientras configuramos de la misma manera el valor máximo en Matlab. De esta forma y mediante el software programado, el microcontrolador habrá calibrado los sensores de presión.

### I.4 Conexión Xbee

Para que la comunicación entre ambos Xbee, el conectado al arduino y el conectado al PC, funcione debemos programarlos y crear una red por la que se comuniquen. Uno de los dos arduinos ha de configurarse como coordinador y otro como router, si no la comunicación no funcionará.

Para ayudarnos con esta configuración descargaremos de internet el programa gratuito XC-TU. Una vez instalado, conectamos uno de los Xbee a la placa USB y abrimos el programa.

Por defecto, se abrirá en la pestaña de PC Settings, donde debemos seleccionar el puerto del XBee conectado y pulsar en Test/Query. Al pulsar esta pestaña, si la conexión es correcta, nos dará información sobre el dispositivo como por ejemplo el número de serie.

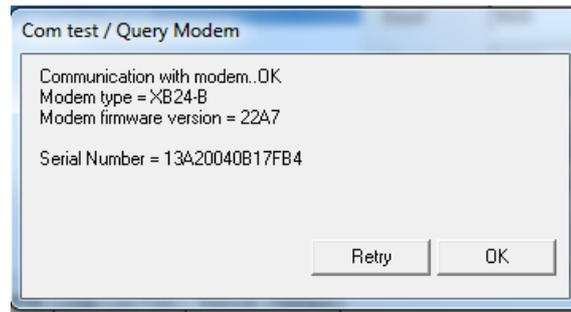


Figura 70. Verificación del Xbee.

Seguidamente, abrimos la pestaña Modem Configuration/Load. De esta forma cargará el firmware que el dispositivo lleva configurado. En la pestaña de Function Set seleccionaremos si el dispositivo que estamos configurando es el router o el coordinador.

Más abajo, debemos asignar un número a la red en PAN ID, en ambos dispositivos debe ser el mismo para que puedan comunicarse. Después, en la pestaña de Addressing les indicaremos el número de serie del otro Xbee, es decir, del dispositivo al que tienen que enviarle los datos. Una vez configurados todos estos parámetros, damos a Write y quedarán preparados para enviarse datos.

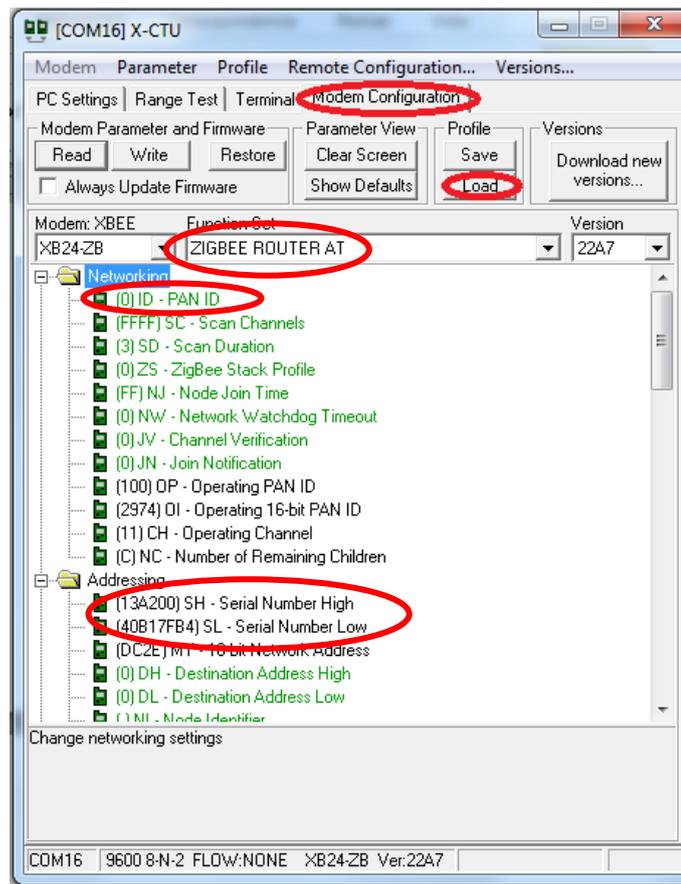


Figura 71. Configuración del Xbee.