

***Registro y análisis de la variabilidad del
ritmo cardíaco en embriones de pollo con
corto período de gestación***

Br. Yanmir Kempis

Tutor: MSc. Alfredo Marciano

Trabajo Especial de Grado



Caracas, 8 de septiembre de 2010



REPÚBLICA BOLIVARIANA DE VENEZUELA
UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE FÍSICA

REGISTRO Y ANÁLISIS DE LA VARIABILIDAD DEL RITMO CARDÍACO
EN EMBRIONES DE POLLO CON CORTO PERÍODO DE GESTACION

AUTORA: Yanmir del C. Kempis F.

TUTOR: MSc. Alfredo Marcano

CARACAS, 8 DE SEPTIEMBRE, 2010

**REGISTRO Y ANÁLISIS DE LA VARIABILIDAD DEL RITMO CARDÍACO
EN EMBRIONES DE POLLO CON CORTO PERÍODO DE GESTACION**

YANMIR DEL C. KEMPIS FIGUEROA


Trabajo especial de grado presentado ante
la ilustre Facultad de Ciencias de la
Universidad Central de Venezuela como
requisito parcial para optar al título de
Licenciado en Física. Mención Computacional.

MSc. Alfredo Marcano, Tutor

Fecha

CARACAS, 8 SEPTIEMBRE, 2010

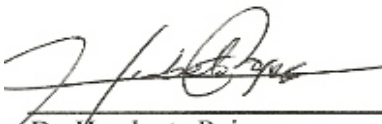
Quienes suscriben, miembros de Jurado que examinó el trabajo presentado por Yanmir del C. Kempis F. de C.I: 10583021 titulado **REGISTRO Y ANÁLISIS DE LA VARIABILIDAD DEL RITMO CARDÍACO EN EMBRIONES DE POLLO CON CORTO PERÍODO DE GESTACION** para optar al título de Licenciado en Física, consideramos que dicho trabajo cumple con los requisitos exigidos por los reglamentos respectivos y por lo tanto lo declaramos APROBADO en nombre de la Universidad Central de Venezuela.


MSc. Alfredo Marcano, Tutor

08/09/2010
Fecha


Prof. Esteban Álvarez

08/09/2010
Fecha


Dr. Humberto Rojas

08/09/2010
Fecha

CARACAS, 8 DE SEPTIEMBRE, 2010

CONTENIDO

	p.
DEDICATORIA	vi
RECONOCIMIENTOS	vii
LISTA DE TABLAS	viii
LISTA DE FÍGURAS	ix
RESUMEN	x
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I. EMBRIONES DE POLLO Y EL DESARROLLO CARDÍACO	4
1. Consideraciones previas	4
2. Partes principales del huevo de gallina	4
3. El corazón	7
4. Formación del corazón de un embrión de pollo	8
5. Frecuencia Cardíaca	9
6. Electrocardiograma (ECG)	9
a. Partes del ECG	12
b. Características de la señal cardíaca según los días de gestación, en embriones de pollo y pollo adulto	13
7. Balistocardiograma (BCG)	14
8. Acustocardiograma (ACG)	16
9. Ópticos	16
10. Variabilidad de la frecuencia cardíaca (VFC)	17
CAPÍTULO II. MATERIALES Y MÉTODOS	20
1. Muestra seleccionada	20
2. Medidas del electrocardiograma	21
a. Funcionamiento	21
b. Registro de datos	24
c. Análisis de los datos	25
3. Medidas del acustocardiograma	25

CAPÍTULO III. SERIE DE INTERVALOS RR, ESPECTRO Y TACOGRAMA	28
1. Promedio Móvil	28
2. El tiempo	30
3. Espectro	30
4. Tacograma	30
CAPÍTULO IV. PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS	31
1. Registro óptico	31
2. Electrocardiograma (ECG)	32
3. Acustocardiograma (ACG)	38
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	44
1. Conclusiones	44
2. Recomendaciones	45
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	46
ANEXOS	48
A Etapas del embrión de pollo	48
B Manual para la adquisición de señales	51

DEDICATORIA

Primero que nada, le agradezco a Dios por darme la fortaleza y entereza para salir adelante en todas las metas propuestas.

A mi madre fuente de energía y entereza, ese gran apoyo siempre lo he sentido ella, es pieza clave en mi vida, Dios te bendiga Ivón gracias por darme la vida este triunfo es sólo tuyo felicidades. Te amo

A mi padre Julio siempre orgulloso de sus hijos, aquí te entrego otro título para que sea complemento de tu vida y de muchas felicidades. Te amo!

A mis tres hermanos Carlos, Luis y José gracias por estar siempre a mi lado, no todo en la vida es malo sólo hay que saber luchar por alcanzar nuestras metas y el tiempo de Dios es perfecto. Los amo.

A Nicolás Acosta (bebé) llegaste justo en el preciso momento para darle sentido a mi vida, siempre tu palabra brilla llena de esperanza y de positivismo gracias de verdad mi vida por creer y confiar en mí, te amo.

A mis Tíos: Giovanni, José Luis, Juan José gracias por ese ejemplo que me han dado, han sido mi fuente de inspiración.

A mis Sobrinas Grecia e Yorgelis gracias por ser la alegría de mi vida.

A mis cuñadas Lourdes e Yaliska que esta celebración sea motivo para que ustedes también concluyan sus metas EXITOS!!!

A mis Tías; Marvy (mami), Yudith por su gran cariño y confianza en todo momento.

No podían faltar mis panas Pablo Ricaurte (peluche) hermano gracias porque sin ti no estuviera celebrando este gran éxito mil gracias, Aleida Gil esta demás decirte gracias por ese apoyo, alojo y para usted de contar. Yelizta Mosquera mi éxito también es el tuyo gracias por tu amistad y por estar en esos momentos más difíciles, Elena Caldeira siempre como una madre mil gracias, a Cristina Parra (Cris) gracias por darme esos ejemplos siempre con sus papers en la mano, resolviendo todo con buen ánimo gracias amiga mi sueño hecho realidad, a Magdalena Gamboa , Alexis Martínez, Esteban Álvarez, Denys Hernández, José Gregorio, Mario Ruiz y a todos aquellos que de una u otra forma estuvieron siempre ahí cuando más lo necesitaba. Muchachos mil gracias.

RECONOCIMIENTOS

A mi tutor el profesor Alfredo Marcano por apartar su tiempo y dejar que este trabajo concluyera en feliz término.

Al profesor Álvarez Marco por su gran paciencia, amistad, confianza y sobretodo por permitirme usar su laboratorio para el desarrollo de este trabajo, siempre tenga presente este éxito que hoy se logra es suyo. Dios lo cuide y mil gracias!!!!

Al profesor Ercolino Joe por su gran apoyo, amistad incondicional, motivación y ayuda en este proyecto, de verdad gracias porque fue uno de los pilares más importantes en este espacio de mi vida.

Al personal del Laboratorio de Microcopia Electrónica. Instituto Anatómico “José Izquierdo” Facultad de Medicina, UCV. Por su gran apoyo en esos momentos difíciles.

Al profesor Pedro Bautista gracias por su apoyo y aporte desinteresado en esta investigación y finalmente, a todos aquellos profesores que creyeron en mi durante mi paso por la ilustre facultad de ciencias y a los que no, también les doy las gracias.

LISTA DE TABLAS

Nº		p.
1	Etapas del desarrollo embrionario del pollo y período de incubación	5
2	Característica de la señal cardíaca en embriones de pollo y pollo adulto	14
3	Mediciones estadísticas de la variabilidad RR	18
4	Parámetros de las medidas espectrales	19
5	Frecuencia cardíaca promedio del ECG	34
6	Parámetros del dominio del tiempo para embriones de 8,9,14 y 15 días de gestación desde un ECG	34
7	Parámetros de frecuencia del ECG	38
8	Frecuencias medias de los embriones de pollo con el ACG	40
9	Parámetros del dominio del tiempo para embriones de 8,9 días de gestación desde un ACG	40
10	Parámetros de frecuencia del ACG	43

LISTA DE FIGURAS

N°		p.
1	Partes principales de un huevo de gallina	6
2	Formación del corazón en 4 partes	8
3	ECG de 0.86 s embrión de pollo 20 días de gestación, presenta onda QRS y T	10
4	Registros eléctricos de acuerdo al desarrollo morfológico del corazón de un embrión de pollo	11
5	Ondas, intervalos y segmentos ECG	12
6	Registros de movimientos balísticos cardiogénicos	15
7	Arreglo electrónico para procesamiento de señales cardíacas eléctricas ECG	22
8	Respuesta en frecuencia del amplificador INA110	22
9	Ubicación de los electrodos en la cáscara del embrión de pollo	23
10	Respuesta en frecuencia del amplificador-filtro	24
11	Polarización del micrófono	26
12	Segunda parte del arreglo electrónico para registrar señales cardíacas con el ACG	26
13	Representación gráfica de a variación del ritmo cardíaco expresada como unas secuencias regulares y homogéneas de intervalos de puntos máximos en función del tiempo. Frecuencia Cardíaca Promedio en embriones con 8,9,14 y 15 días de gestación de un ECG	33
14	Densidad Espectral (PSD) del ECG	35
15	Tacogramas del ECG en embriones de 8,9,14 y 15 días de gestación	37
16	Registros cardíacos con ACG en embriones de pollo con 8 y 9 días de gestación	39
17	Densidad Espectral (PSD) del ACG	41
18	Tacogramas del ACG en embriones de 8 y 9 días de gestación	42

UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE FÍSICA

**REGISTRO Y ANÁLISIS DE LA VARIABILIDAD DEL RITMO CARDÍACO
EN EMBRIONES DE POLLO CON CORTO PERÍODO DE GESTACION**

AUTORA: Yanmir del C. Kempis F.
TUTOR: MSc. Alfredo Marcano
AÑO: 2010

RESUMEN

Los estudios sobre el sistema cardiovascular de las aves se han visto fortalecidos con la aplicación de registros en señales cardíacas. En el presente trabajo se utilizó tres registros definido como: Electrocardiograma (ECG) y Acustocardiograma (ACG) y uno Óptico, reforzado con su respectivo análisis en las señales cardíacas obtenidas de los embriones de pollo con 8, 9, 14 y 15 días de gestación. A fines de aplicar las técnicas de análisis de la variabilidad de la frecuencia cardíaca (VFC). Los resultados mostraron un aumento en la Frecuencia Cardíaca Promedio (FCP), calculada en pulsaciones por minutos (lat/min), a través de la medición en los intervalos entre los puntos máximos del registro del ECG. Este aumento está vinculado a los cambios que van ocurriendo en la formación del embrión, el rango obtenido de FCP esta entre 196-243 latidos por minuto. El tacograma fue mostrado en función del tiempo y los índices de VFC son determinados encontrándose algunas diferencias entre las diferentes edades del embrión. Por otra, la densidad espectral del registro ECG presenta diferentes picos correspondientes a la FCP con sus armónicos, para obtener frecuencias bajas (LF) alrededor de 0,2 - 0,72 Hz y frecuencias altas (HF) entre 1,9 - 2,5Hz. Con respecto al Acustocardiograma la FCP esta en el rango de 169-192 latidos por minuto sólo para embriones de 8 y 9 días de gestación. Con respecto a los índices VFC existen algunas diferencias al comparar el ACG con el ECG. Con todo esto se demostró que puede ser claramente analizada el modelo cardíaco del embrión de pollo en corto período de gestación, fortalecido con los métodos de registros como el ACG y ECG. Y por último, se aplicó un registro óptico el cual no arrojó ningún resultado satisfactorio ya que no se conto con los aparatos ópticos necesarios.

Descriptores: Embrión de pollo- electrocardiograma-acustocardiograma-variabilidad de la frecuencia cardíaca-desarrollo embrionario.

INTRODUCCIÓN

Un sistema biológico de reconocidas propiedades sujeto a las leyes de la Física lo constituye un sistema embrionario, particularmente el sistema cardiovascular, sobre el cual han sido aplicados métodos físicos para una mejor comprensión de la funcionalidad del mismo. Un procedimiento pudiera ser, plantearse modelos que se correspondan con el funcionamiento de las especies animales inferiores a estudiar, lo que significa seleccionarse de acuerdo con la especie, con la naturaleza del estudio y de la capacidad del modelo para dar información requerida (D' Alessandro et al., 2003).

Uno de los animales que se presenta, como alternativa experimental para este tipo de investigaciones; son las aves. Particularmente, los estudios embrionario del pollo porque su sistema cardiovascular demuestra gran similitud con los mamíferos (Romanoff, 1960). Los embriones de pollo son los más indicados para el desarrollo de investigaciones cardiovasculares y, ha contribuido al conocimiento en áreas como: la Fisiología, Bioquímica, la toxicología, entre otras (Sugiyama et al, 1996). Particularmente, los estudios de la biología del desarrollo cardíaco han enriquecido con los estudios descriptivos plasmados en la serie normal de estados del desarrollo del embrión de pollo.

Por tres (3) décadas, investigadores como: Kamino et. al, 1988ab; Rahn et. al, 1990; Arguello et. al, 1995; Sugiyama et. al, 1996; Moriya et. al, 2002; Ritto et. al, 2003; Aubert et. al, 2004 y Tawaza et. al, 2005 han realizado estudios, sobre el sistema cardiovascular de las aves, estas investigaciones a nivel cardiovascular y particularmente referidas a la actividad contráctil del corazón embrionario, han sido fortalecido con métodos de medición de las señales cardíacas entre los cuales se encuentran; el electrocardiograma (ECG), el cual se considera como método semi-invasivo ya que al introducir electrodos causa algunas rompimientos de tejidos al embrión pero sin ocasionarle la muerte, el acustocardiograma (ACG) se conoce como no-invasivo debido a que se registran los movimientos (reflejos) que se producen en la cáscara del huevo a través de un

micrófono, y finalmente los ópticos los cuales son invasivo, debido a la exposición directa de un láser dirigido hacia el corazón pudiendo ocasionar la muerte durante la adquisición de señales.

La mayoría de las investigaciones electrofisiológicas se han dedicado al estudio del funcionamiento del corazón. Sin embargo, los métodos utilizados eran limitados, debido a razones de tamaño y localización topológica en cuanto al corazón se refiere (Fuji et. al, 1980). Estas limitaciones hoy en día se han reducido por el uso de microelectrodos, entre otros, que se han adaptado al tamaño de la superficie a estudiar y más aún a las necesidades del investigador.

Otra técnica empleada para analizar las señales cardíacas pertenecientes a un ECG, ACG u Ópticos es la variabilidad de la frecuencia cardíaca (VFC), esta se presenta como una herramienta sencilla de manejar, sin embargo el significado y entendimiento de muchas medidas realizadas son complejas. Estas medidas según Aubert et. al 2004, resultan de gran importancia clínica y fisiológica debido a que la respuesta cardiovascular envuelve componentes neuronales. Con la aparición de la VFC, comenzaron a desarrollarse diversas técnicas de análisis, siendo históricamente uno de los primeros, el análisis estadístico proveniente de la onda R. Por otra parte, el análisis espectral que se caracteriza por tener frecuencias tanto altas como bajas en medidas de corta duración, lo que aporta información valiosa de los sistemas referentes al simpático¹ y parasimpático². Sin embargo las investigaciones en las que se emplea la técnica de la VFC ha sido estudiada más en seres humanos que en animales, por esto existe poca información en animales como es el caso del embrión de pollo con un desarrollo temprano.

De acuerdo con las consideraciones tratadas anteriormente, el registro de las señales cardíacas en embriones de pollo con corto período de gestación promueve al investigador a formularse dos interrogantes:

- ✓ ¿Los registros empleados en la investigación los cuales son: ópticos (invasivo), electrocardiograma (semi-invasivo) y acustocardiograma (no-invasivo), serán eficientes para adquirir señales cardíacas que aporten alguna información valiosa?

¹ Simpático. Parte del sistema nervioso autónomo, formado por los tubos laterovertebrales a ambos lados de la columna vertebral, conectado con nervios espinales.

² Parasimpático. Parte del sistema nervioso autónomo, cuyos nervios nacen tanto del encéfalo como de la medula espinal a nivel del sacro.

- ✓ ¿Al aplicar las herramientas de la VFC para explorar el sistema cardiovascular en embriones de pollo con 8, 9, 14 y 15 días de gestación se obtendrán resultados que conlleven a la motivación de explorar otros animales?

Partiendo de estas interrogantes, se persiguen el siguiente **objetivo**:

- Analizar y registrar señales cardíacas de embriones de pollo con corto período de gestación, obtenidas a partir de los siguientes métodos: ECG, ACG y Ópticos.

Con esto podemos plantear los siguientes objetivos **específicos**:

- a. Desarrollar un circuito electrónico capaz de capturar las señales cardíacas de embriones de pollo con corto período de gestación.
- b. Realizar un programa que detecte los intervalos de la onda RR y que calcule la frecuencia cardíaca promedio.
- c. Aplicar técnicas de análisis, tanto estadísticas como espectrales a las señales adquiridas

Para el desarrollo de este estudio estructuró su contenido en cuatro capítulos. El capítulo I, está referido al fundamento teórico de la investigación. En esta sección se esbozan algunas consideraciones previas, el corazón del embrión, su formación, así como algunos registros de interés entre ellos encontramos el Electrocardiograma (ECG), el Balistocardiograma (BCG) el Acustocardiograma (ACG) y Ópticos, finalmente las características de las señales cardíacas del embrión de pollo, así como la variabilidad de la frecuencia cardíaca.

El en Capítulo II, se explican detalladamente las técnicas, métodos y materiales utilizados para el registro y análisis de las señales cardíacas de embriones de pollo con 8, 9, 14 y 15 días de gestación. El Capítulo III corresponde a la obtención de los intervalos R, tacograma y la densidad espectral. El Capítulo IV corresponde a la presentación y el análisis de los resultados, con base en los métodos ópticos, del electrocardiograma y el acustocardiograma. Posteriormente, se incluyen las conclusiones y recomendaciones derivadas de la investigación; así como las referencias bibliográficas que contribuyeron a desarrollar el estudio y que sirvieron de fundamento teórico del mismo. Finalmente, se presentan los anexos correspondientes.

CAPÍTULO I

EMBRIONES DE POLLO Y EL DESARROLLO CARDÍACO

1. Consideraciones Previas

El pollo es un animal que tradicionalmente ha sido utilizado en los estudios de biología, debido a su fácil manejo, rápido desarrollo y a una embriogénesis temprana similar a la de los humanos. Además, es usado para obtener información valiosa en investigaciones médicas relacionadas con virus, cáncer y estudios farmacológicos.

El proceso de desarrollo del pollo se divide en etapas sobre la base de eventos morfológicos; su tasa de crecimiento es relativamente constante. El estudio de las etapas en el desarrollo embriológico temprano permite determinar con exactitud la hora en las primeras 20 etapas, aunque éstas no están separadas por tiempos iguales, sino por lapsos de pocas horas, esto contribuye a precisar la edad del embrión (Hamilton et. al, 1992).

Las etapas de desarrollo embrionario del pollo se suceden a intervalos distintos de horas o de días y, en ocasiones, estos no se pueden precisar. La tabla 1 que se transcribe a continuación permite visualizar cuáles son esas etapas de desarrollo y su correspondiente período de incubación.

2. Partes principales del huevo de gallina

El huevo está protegido por una cáscara caliza muy delgada, pero dura; la cáscara permite la respiración al dejar pasar el oxígeno a través de los minúsculos poros de su superficie. Hasta que el pollito sea capaz de romper la cáscara, la respiración únicamente puede ocurrir con la ayuda

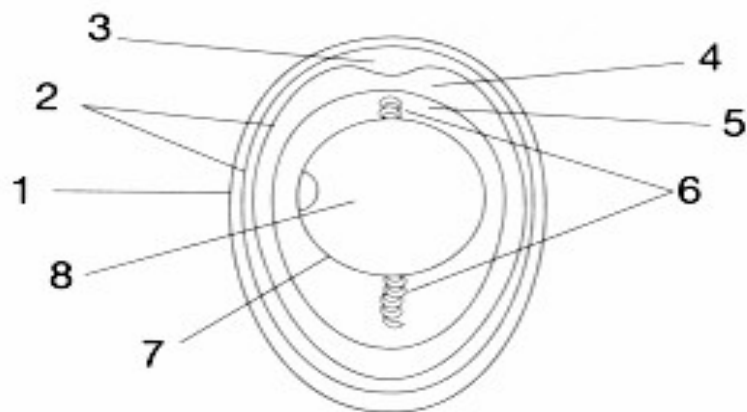
del oxígeno que pasa a través de estos poros. Además de esta cáscara porosa, el huevo contiene dos membranas que también influyen en el desarrollo del pollito. Estas membranas están alineadas muy juntas dentro de la cáscara pero conservan una separación con la cáscara y entre ellas.

Tabla 1. Etapas de desarrollo embrionario del pollo y período de incubación

Etapas	Período de Incubación (Horas)	Etapas	Período de Incubación (Días)
1	-----	21	3 ½
2	6 - 7	22	3 ½
3	8 - 9	23	3 ½ - 4
4	18 - 19	24	4
5	19 - 22	25	4 ½
6	23 - 25	26	4 ½ - 5
7	25 - 26	27	5
8	26 - 29	28	5 ½
9	29 - 33	29	6
10	33 - 38	30	6 ½
11	40 - 45	31	7
12	45 - 49	32	7 ½
13	50 - 52	33	7 ½ - 8
14	50 - 53	34	8
15	50 - 55	35	8-9
16	51 - 56	36	10
17	52 - 64	37	11
18	65 - 69	38	12
19	68 - 72	39	13
20	70 - 72	40	14
		41	15
		42	16
		43	17
		44	18
		45	19-20
		46	20-21

Fuente: Hamburger V. y Hamilton H (1951)

La membrana más pegada a la cáscara se denomina “membrana exterior de la cáscara” y la que está en contacto con la albúmina se denomina “membrana interior de la cáscara”. Durante la incubación la cámara de aire situada en el extremo más ancho del huevo se forma como resultado de la separación de las dos membranas. En la Figura 1 se observa las partes principales de un huevo de gallina.



Fuente: Interiano A y Urla J. (2009)
Figura 1. Partes principales de un huevo de gallina

1. Cáscara
2. Membranas de la cáscara
3. Cámara de aire
4. Albúmina fina del exterior
5. Albúmina firme y espesa del interior (clara)
6. Chalaza
7. Membrana vitelina (yema)
8. Yema

3. El corazón

Durante las primeras etapas del desarrollo de un embrión de pollo el corazón, es el primer órgano que se puede distinguir a simple vista. Cuando comienzan los movimientos cardíacos, se observa que el corazón tiene forma de tubo en el que visualizan: el endocardio, mezcla cardíaca (se mezcla la sangre venosa con la arterial) y el miocardio. Los cuales inician su formación a los tres días de incubación (Steding et al, 1990).

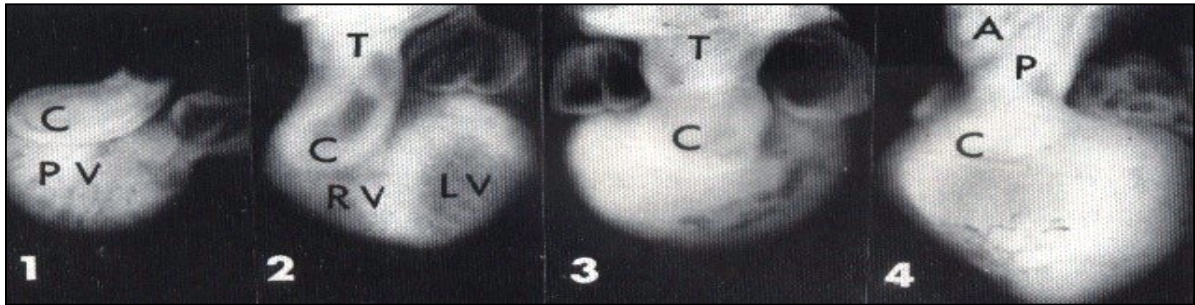
Este órgano vital está constituido por cavidades conectadas de dos en dos: dos aurículas y dos ventrículos (derecho e izquierdo), separados por un tabique interauricular y un tabique interventricular. Al igual que a los mamíferos, la conexión entre las aurículas y los ventrículos se realiza mediante las válvulas aurícula-ventricular derecha o tricúspide y la válvula aurícula-ventricular izquierda o válvula bicúspide. La diferencia con los mamíferos es que el cayado aórtico se orienta hacia la derecha (Patten, 1971).

La circulación del pollo es: a) doble en razón de que presenta dos circuitos sanguíneos independientes. b) cerrada, pues la sangre no se escapa de los vasos sanguíneos; al mismo tiempo es vascular, debido a que la sangre circula en el interior de los vasos sanguíneos (arterias, venas, capilares), y por último, es completa puesto que la sangre venosa y la arteria no se mezclan en los ventrículos del corazón.

Según Arguello et al. 1995, expresa que un embrión de pollo con cinco días de gestación el tamaño de su corazón es aproximadamente de 600 μ m. Asimismo, posee un grupo de células que provocan estímulos eléctricos de forma regular que determinan la frecuencia cardíaca. Ésta está comprendida entre 350 y 400 latidos por minutos.

4. Formación del corazón de un embrión de pollo

La Figura 2 muestra cuatro momentos en la formación del corazón de un embrión de pollo.



Fuente: Stow y col. (1981)

Figura 2. Formación del corazón en 4 partes. (T) = Tronco arterioso, (PV) = Ventrículo primitivo, (C) = bulbos Cordi, (RV)=Ventrículo derecho, (LV)=Ventrículo izquierdo.

1. El embrión se encuentra en la etapa 15-18, que comprende de 2 a 3 días de incubación. En la Figura 2, se pueden diferenciar con claridad el ventrículo primitivo y el tronco arterioso.
2. El embrión está en la etapa 25 lo que significan 4 y medio (4 ½) días de incubación. En esta etapa, ya se pueden visualizar los ventrículos derecho e izquierdo; así como también observar que el tronco arterioso se continúa con el bulbo cordi.
3. El embrión está en la etapa 26 que corresponde a 5 días de incubación. Allí se puede visualizar que el tronco arterioso experimenta un desplazamiento hacia la parte media del corazón.
4. Es la fase final de la formación del corazón, que se sucede en la etapa 29-32, es decir, a los 6 y 7 ½ días de incubación. En la Figura 1, se observa con toda claridad la separación que existe entre la aorta y las arterias pulmonares.

5. Frecuencia cardíaca (FC)

La frecuencia cardíaca es el número de veces que se contrae el corazón durante un intervalo de tiempo comúnmente es expresado en latidos por minuto. Para el correcto funcionamiento del organismo es necesario que el corazón actúe bombeando la sangre hacia todos los órganos, pero además lo debe hacer a una determinada presión (presión arterial) y a una determinada frecuencia. Dada la importancia de este proceso, es normal que el corazón necesite en cada latido un alto consumo de energía.

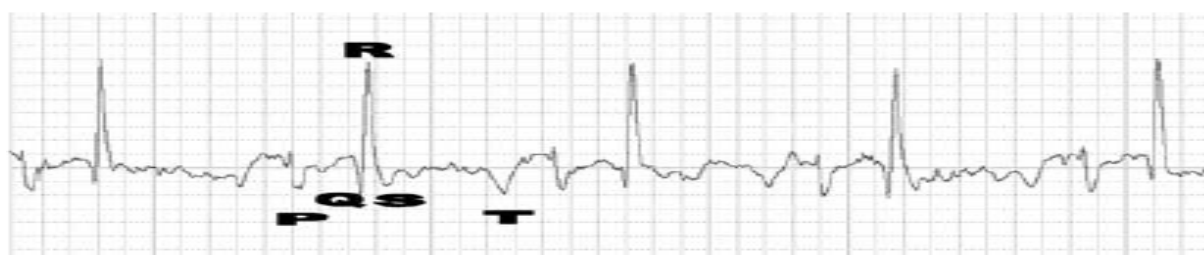
6. Electrocardiograma (ECG)

Entre los primeros métodos aceptados clínicamente para registrar la actividad eléctrica del corazón, se encuentra el electrocardiograma (ECG), en razón de sus aplicaciones y el procesamiento de las señales de forma computarizada. El ECG permite obtener un registro gráfico secuencial de la actividad eléctrica del corazón.

Al igual que los mamíferos, el sistema de conducción eléctrico está formado por el nodo sinusal (SA), el nódulo atrioventricular y la red de Purkinje. El SA es el marcapaso principal del corazón, donde se genera el impulso eléctrico que se dirige hacia el nódulo atrioventricular. Allí, la presencia de un anillo atrioventricular permite la despolarización ventricular. La despolarización ventricular en las aves es subpericárdica y se propaga por el miocardio hacia el endocardio. Esta peculiaridad es la que explica que el complejo QRS en un ECG sea negativo (Giraldo, 2010)

El ECG registra, entonces, no sólo la actividad eléctrica, sino también los cambios eléctricos que acompañan al ciclo cardíaco. Sugiyama et al, (1996), reportaron los resultados de los ECG efectuados a embriones de pollo que tenían 8,10,12,14,16 y 18 días de incubación, entre sus hallazgos observaron sólo funciones de carácter fisiológico, en vista de que hicieron un monitoreo de las etapas recurrentes del embrión en vivo.

Por su parte, Aubert et al. (2004) obtiene en un estudio realizado a un embrión de pollo de 20 días de incubación, un registro electrocardíaco realizado mediante un ECG, en el que se observa el complejo QRS³ cuya frecuencia (promedio) cardíaca resultó ser de 314 ± 2 latido por minuto y un ancho de 24 ± 2 ms. Estos datos se pueden comprobar en la Figura 3 que se presenta a continuación.



Fuente. Aubert y col. (2004)

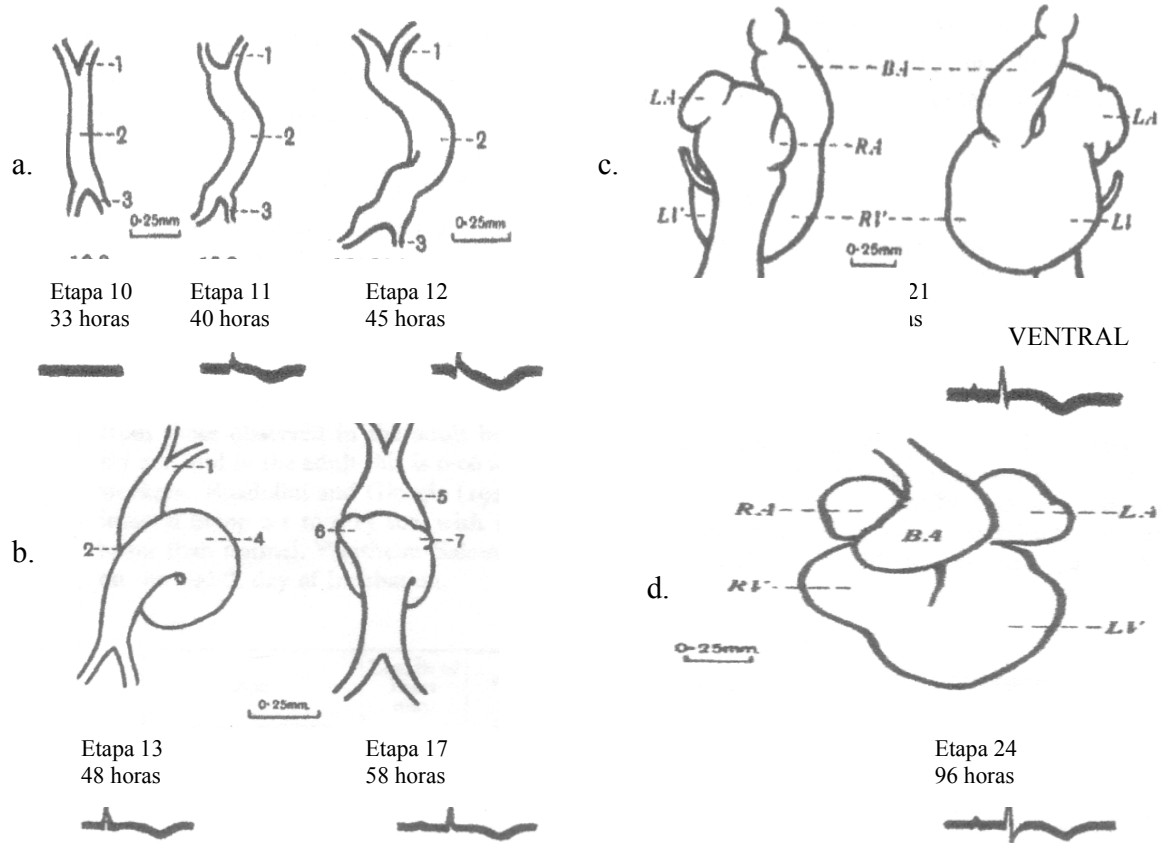
Figura 3. ECG de 0,86 s embrión de pollo 20 días de gestación, presenta onda QRS y T-P.

La Figura 4 muestra los registros eléctricos desde las primeras etapas del desarrollo del embrión de pollo éste evoluciona de la siguiente manera: en parte a de la Figura 4 encontramos que 1 equivale a la aorta, 2 pertenece al tubo cardíaco primitivo y 3 es la vena vitelina. Es de notar que en la etapa 10 correspondiente a 33 horas, no se observan variaciones eléctricas, a partir de 40 horas comienzan ocasionalmente, algunas variaciones.

En la Figura 4 parte b los números 4 es el desarrollo de la aurícula, 5 es el desarrollo del ventrículo y 6, 7 son aurícula derecha e izquierda; ventrículo derecho e izquierdo. Ya a las 58 horas encontramos que se distinguen los ventrículos y las aurículas. Finalmente, en la etapa 24, que corresponde a 96 horas, se visualizan variaciones eléctricas con componentes rápidas, unas, y lentas, otras, esto origina una onda eléctrica con sus componentes Q, R, S, T. asimismo, se puede observar que el corazón del embrión está formado, es decir, presenta ya formados sus ventrículos derecho e izquierdo, y las aurículas derecha e izquierda, inclusive se detecta el bulbo arterioso (ver Figura 4, parte d).

³ El complejo QRS corresponde a la corriente eléctrica que causa la contracción de los ventrículos derecho e izquierdo (despolarización ventricular), la cual es mucho más potente que la de las aurículas y compete a más masa muscular, produciendo de este modo una mayor deflexión en el electrocardiograma.

De acuerdo con lo anterior se deriva que las actividades eléctricas del corazón dependen del desarrollo morfológico del animal, pues a partir de la etapa 13, es decir dos días de incubación, las variaciones eléctricas comienzan a formarse mejor y al corazón se le visualiza sus ventrículos (D e I) y sus aurículas (D e I).

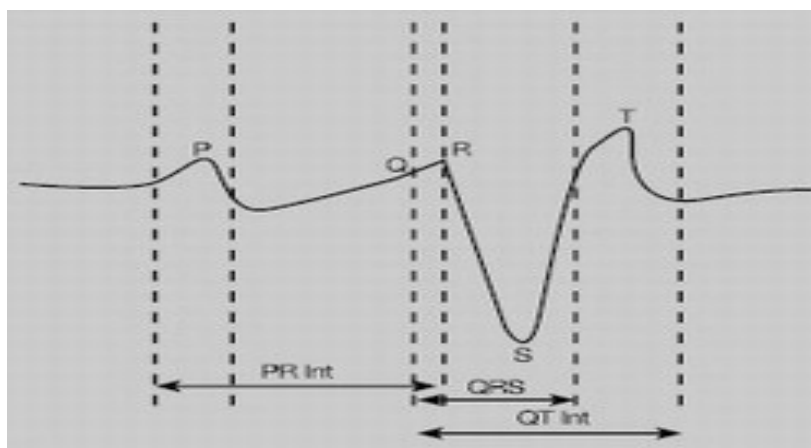


Fuente: Bogue Y (1933)

Figura 4. Registros eléctricos de acuerdo al desarrollo morfológico del corazón de un embrión de pollo. LA y LV= Ventrículos derechos e izquierdas, RA y RV= Aurículas derechos e izquierdas, BA= Bulbos arterioso.

a. Partes del ECG

Los intervalos entre las diferentes ondas del ECG son esenciales en el diagnóstico electrocardiográfico, pues además de reflejar, procesos fisiológicos, tienen implicaciones clínicas cuando están fuera del margen de variación normal. En la Figura 5, se pueden ver: intervalos, segmentos y ondas características de un electrocardiograma.



Fuente: Giraldo, E. (2010)

Figura 5. Ondas, intervalos y segmentos ECG.

De acuerdo a la Figura 5 el patrón de la señal de ECG está compuesto por los siguientes segmentos:

- **Onda P:** representa la despolarización o contracción de las aurículas impulsando la sangre hacia los ventrículos.
- **Complejo QRS:** representa la despolarización de los ventrículos. Está formado por las ondas Q, R, S.
- **Onda T:** representa la repolarización de los ventrículos. La onda T normal es asimétrica a sus ramas y está redondeada en su vértice.

- **Intervalo PR:** refleja en parte, el tiempo de conducción auriculoventricular e incluye el tiempo necesario para la despolarización auricular.
- **Intervalo ST:** representa el tiempo en que los ventrículos permanecen en estado activado y en el que puede iniciarse una repolarización ventricular.
- **Intervalo RR:** corresponde al intervalo de tiempo entre la onda R de un complejo QRS y la onda R del siguiente complejo QRS, representando la frecuencia cardíaca por minuto con un ritmo ventricular regular.

Finalmente, es importante que el equipo del ECG, deba permitir un registro de frecuencias cardíacas elevadas. Para efectos de esta investigación interesa el intervalo de la onda RR, el cual está comprendido entre dos ondas R consecutivas y dividido entre 60 s. Éste representa la frecuencia cardíaca expresada en latidos por minuto.

b. Características de la señal cardíaca según los días de gestación, en embriones de pollo y pollo adulto

En la Tabla 2, se visualiza las características de la señal cardíaca en relación al tiempo y el crecimiento del animal, lo que permite estudiar las respuestas eléctricas generadas, la frecuencia cardíaca y la longitud del corazón. Asimismo, en esta Tabla 2, se observa que los latidos del corazón al igual que su longitud van aumentando progresivamente a medida que el embrión se va desarrollando. Otra relación importante que se establece y que también se distingue en esta Tabla es la que se refiere a la etapa 13 correspondiente a dos (2) días de incubación y en la que se puede medir intervalo de onda P-R.

Tabla 2. Característica de la señal cardíaca en embriones de pollo y pollo adulto

Edad	Longitud del corazón mm.	Latidos	Intervalo P-R seg.	Duración de la onda R	Duración del complejo R-S.T seg.
Embrión 40 horas	0,8	120	-	9-12	0,28-0,32
Embrión 2.5 días	1,2	163	0,11	8-10	0,20-0,21
Embrión 5 días	2,0	230	0,09	10	0,21-0,24
Pollo 5 días	14,0	295	0,06	4-6	0,24-0,33
Gallo adulto	40.0	320	0.06	9	0.15-0.18

Fuente: Bogue Y. (1933)

Finalmente, se puede concluir que los cambios ocurridos en el intervalo P-R son pequeños durante el desarrollo, mientras que los cambios muy grandes ocurren con el tamaño del animal (Clark, 1927), tanto el pollo adulto como el gallo y los embriones de pollo constituyen ejemplos de corazones que difieren mucho en tamaño.

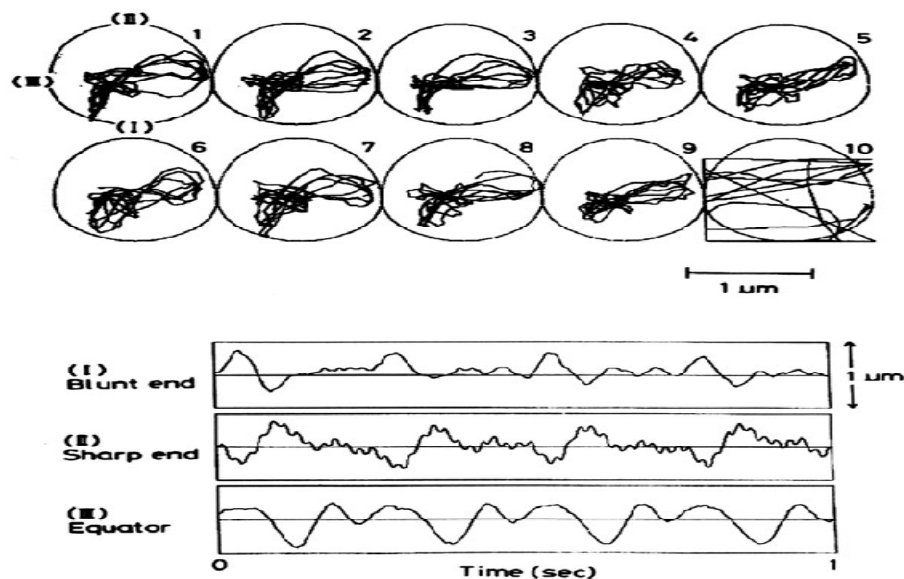
7. Balistocardiograma (BCG)

Al igual que el ECG, el Balistocardiograma (BCG) es un instrumento que permite detectar movimientos del cuerpo, especialmente, aquellos causados por el empuje del corazón durante la

eyección sistólica de la sangre a las arterias, aorta y pulmonar. Es una herramienta sensible que resulta de utilidad para medir; el gasto cardíaco y la fuerza contráctil del corazón.

Existen otros tipos de movimiento formado por el embrión como es el denominado balístico⁴ que es aquel al que se le atribuyen, en parte, a la contracción auricular o ventricular, debido a que las deflexiones del BCG se producen pocos antes del complejo QRS o antes de la aparición de la presión sistólica (Tazawa, 2005).

En la Figura 6, se presenta un registro de los movimientos balísticos cardiogénicos simultáneos. Específicamente en tres sitios dentro de la cáscara del huevo. Registro éste que pertenece a un embrión de pollo con 16 días de gestación.



Fuente: Tazawa H., (2005).

Figura 6. Registro de movimientos balísticos cardiogénicos. (I) parte inferior del huevo, (II) en la mitad y (III) en la parte superior del huevo. Durante 10 s.

⁴ Movimientos Balísticos: son definidos como una explosión de actividad muscular (reflejos), seguida de una relajación ante el cual el movimiento continúa a causa del impulso.

8. Acustocardiograma (ACG)

El acustocardiograma (ACG) es un instrumento que permite registrar los latidos del corazón del embrión que se producen en el interior de la cáscara del huevo y que dan lugar no sólo a los movimientos balísticos dentro del huevo, sino también cambios de presión acústica fuera de la cáscara del huevo. Para detectarlos se emplea un micrófono encapsulado que se fija sobre la superficie de la cáscara, de esta forma se registran las señales, sincrónicamente, provenientes de los latidos del corazón del embrión (Akiyama et al, 1999).

La periodicidad en las señales emitidas es la principal característica de un ACG. También si los picos respectivos coinciden con una señal cardíaca de un ECG.

9. Ópticos

Desde décadas pasadas los investigadores han trabajado en el empleo de métodos ópticos para poder estudiar mejor la actividad eléctrica del corazón de un embrión con corto período de gestación. Al aplicar estas técnicas puede existir posibles ventajas sobre los otros métodos ya mencionados anteriormente, ya que se puede observar la actividad eléctrica a medida que el embrión se va desarrollando, sin embargo este puede interrumpir el desarrollo embrionario causándole la muerte.

El uso de este método fue introducido por primera vez por Okarman y Kalman en 1971, con el fin de cuantificar la contracción, amplitud y frecuencia de los latidos cardíacos en embriones de pollo.

10. Variabilidad de la frecuencia cardíaca (VFC)

Los intervalos entre los latidos de un corazón normal, muestran entre si leves diferencias de duración que se traducen en cambios del ritmo cardíaco. Estos cambios en el ritmo siguen ciertos patrones de repetición, por lo que las prolongaciones y acortamientos de los intervalos se repiten de manera cíclica.

Los métodos informáticos han facilitado la medición y registro de los intervalos entre latidos, por lo que resulta sencillo estudiar su variación. Este tipo de análisis es el que se conoce como Variabilidad de la Frecuencia Cardíaca (VFC) y se ha convertido en una herramienta muy útil para la investigación y el diagnóstico clínico.

El término VFC es la medida de la variación de un ciclo cardíaco normal al siguiente latido normal, ésta no debe ser confundida con la frecuencia cardíaca u otras medidas del registro electrocardiográfico. Debido a su aparente facilidad de uso se ha popularizado. Sin embargo, la importancia y significado de las diferentes medidas de VFC son complejas y pueden inducir a conclusiones incorrectas (Marked, 1996).

La variabilidad de la frecuencia cardíaca utiliza dos métodos:

1. **Estadísticas en el dominio del tiempo:** definiremos las variables del tiempo como los diferentes parámetros estadísticos que resultan de una medición electrocardiográfica o de un acustocardiograma de los intervalos RR normales. Estos intervalos normales son analizados estadística y matemáticamente para obtener los distintos parámetros. Entre los más utilizados y fáciles de calcular son los siguientes: a) SDNN correspondiente a la desviación estándar de todos los intervalos RR. b) Promedio de onda R. c) NN5 es el número de intervalos adyacente que varían más de 5ms. d) PNN5 (%) es el número de intervalos adyacentes que varían por más de 5 ms. expresado en términos de porcentaje. e)RMSSD es la raíz cuadrada del valor medio de los cuadrados de los intervalos RR adyacentes. La Tabla 3 que se presenta a continuación, explica cuáles fueron las mediciones estadísticas utilizadas en la investigación.

2. **Análisis del dominio de la frecuencia:** permite descomponer las variaciones de frecuencia cardíaca en componentes oscilatorios, así como definir la amplitud y la frecuencia de estos componentes. Este análisis ayuda a entender con mayor claridad y precisión cuáles son los efectos que se producen en el sistema nervioso, simpático y parasimpático, sobre la variabilidad de la frecuencia cardíaca. La Tabla 4 señala cuáles fueron los parámetros utilizados en este estudio.

Tabla 3. Mediciones estadísticas de la variabilidad RR

Variable	Descripción
SD	La media de la desviación estándar de todos los intervalos RR.
RMSSD	La raíz cuadrada del promedio de la suma de los cuadrados de las primeras diferencias entre intervalos RR. Se utiliza para observar la influencia del sistema nervioso Parasimpático (SNP) sobre el sistema cardiovascular.
PNN5	Porcentaje de los intervalos para más de 5ms de los latidos previos, se selecciona en este valor porque los embriones de pollo presentan una frecuencia promedio alta la cual es entre 200-300 latidos por minutos.
SDSD	Desviación estándar de la diferencia entre los intervalos RR promedio. De 5 min.

Fuente: Aubert y col. (2004)

Tabla 4. Parámetros de las medidas espectrales

Variable	Descripción	Rango de Frecuencia
LF	Rango de frecuencia baja, las señales presentes en esta región se asocian por la combinación del simpático y parasimpático	(0,195-0,74) Hz
HF	Rango de frecuencia alta, la actividad de esta zona se debe al sistema parasimpático y es la componente sincronizada con la frecuencia de respiración.	(0,78-2,5) Hz
LF/ HF	Refleja las modulaciones simpáticas o el balance simpáticovagal	N/A

Fuente: Aubert y col. (2004)

CAPÍTULO II

MATERIALES Y MÉTODOS

Este Capítulo II constituye uno de los aspectos de mayor relevancia dentro del proceso de esta investigación. Se refiere a la descripción de métodos, técnicas y procedimientos que se utilizaron para llevar a cabo la investigación, en otras palabras, cómo se realizó el estudio.

1. Muestra seleccionada

A los fines de dar inicio a esta investigación, se seleccionó, para su estudio, una muestra de 47 huevos de gallina o ‘individuos’; de estos, 29 fueron desechados por las siguientes razones:

- a. Presencia de huevos no fértiles
- b. Embriones muertos al iniciar las pruebas
- c. Pérdidas de embriones por no funcionar el registro óptico

De forma tal que el número de individuo quedó reducido a 18 huevos de gallina.

La muestra seleccionada, a su vez, se subdividió en dos grupos, así

- a. Doce (12) huevos de gallina para ser estudiados mediante el empleo del ECG
- b. Seis (6) huevos de gallina para ser estudiados mediante el empleo del ACG

En la investigación se utilizaron embriones de pollo con 8, 9, 14 y 15 días de desarrollo, etapas: 35,40 y 41. Los huevos fueron manipulados en la sección de de Microscopía Electrónica. Instituto Anatómico “José Izquierdo”, Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela, estos son incubados a 37°C y 70-80% de humedad relativa. Las etapas 35, 40 y 41 (ver anexo A) de desarrollo en cuestión permite, fácilmente, visualizar tres áreas cardíacas contráctiles: la Ventricular (V), el Tronco Arterioso (TA) y el Atrio (A), que se hacen accesible para evaluar el

patrón de contracción cardíaca del miocardio embrionario durante la sístole y diástole del ciclo cardíaco.

2. Medidas del electrocardiograma (ECG)

La excitación eléctrica generada por el corazón del embrión de pollo se propaga a través del cuerpo embrionario de, los fluidos y del contenido del huevo dentro de la cáscara. La señal eléctrica es detectada de la siguiente manera. En la Figura 7, se muestra el arreglo electrónico el cual se encarga de adquirir la señal cardíaca que proviene del corazón del embrión de pollo. Éste diseño presenta un amplificador instrumental diferencial INA110, seguido de dos etapas, dos filtros pasa-banda. El embrión de pollo se encuentra ubicado en una incubadora a 37°C durante el registro. La respuesta en frecuencia del amplificador INA110 está representada en la Figura 8, y su ganancia es de 500; y con respecto a los filtros su respuesta, se obtiene una ganancia amplificador- filtro de aproximadamente 6.960 para obtener una ganancia total del circuito 76,9 dB. Como se puede apreciar en la Figura 7.

El primer filtro (pasa-alto $R_1 C_1$) permite el paso de las frecuencias superiores a la frecuencia de corte de este. Las ondas que logran pasar por el primer filtro avanzan hasta el segundo donde se eliminan las frecuencias que son superiores a la frecuencia de corte del segundo filtro (pasa-bajo $R_2 C_2$).

a. Funcionamiento

La señal que proviene del amplificador instrumental ingresa al primer filtro (pasa-banda) con una ganancia de 3,73 para aquellos componentes de la señal cuya frecuencia esta dentro del rango admitido por el filtro ($f_1= 0.85$ Hz; $f_2= 13.7$ Hz). El circuito en serie está constituido por R_1 y C_1 trabaja como filtro pasa alto, mientras que R_2 y C_2 como pasa bajo.

Se obtiene así, una función de transferencia de circuito dada por:

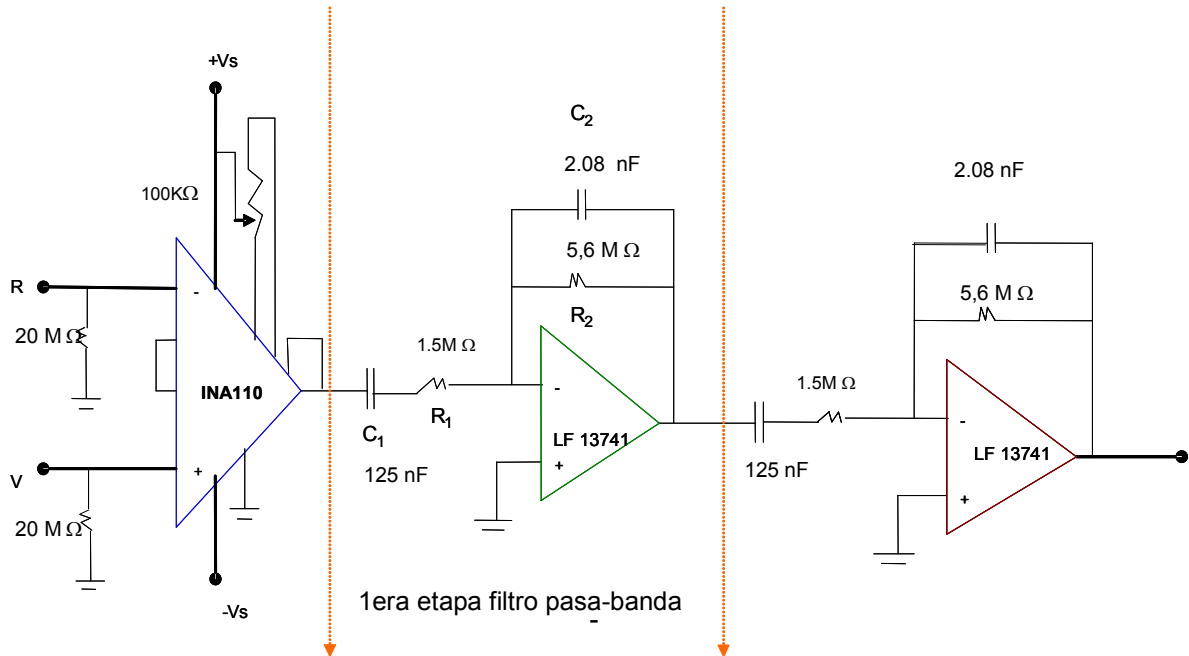


Figura 7. Arreglo electrónico para registro de señales cardiacas eléctricas ECG. Amplificador

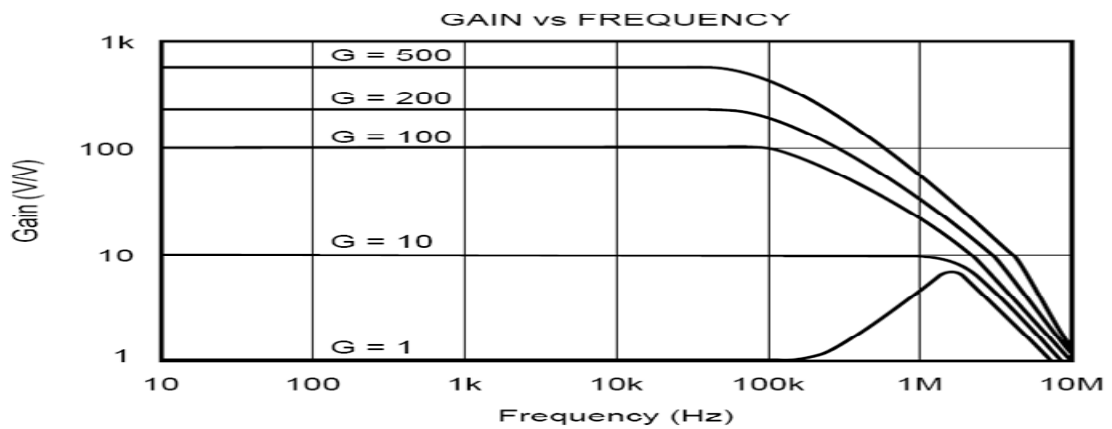


Figura 8. Respuesta en frecuencia del Amplificador INA110 (Tomado de Burr- Brown)

$$T(s) = \frac{V_2}{V_1} = \frac{sC_1R_2}{(1 + sC_2R_2)(1 + sC_1R_1)}$$

Donde: $C_1 = 125\text{nF}$; $C_2 = 2,08\text{nF}$; $R_1 = 1,5\text{M}\Omega$; $R_2 = 5,6\text{M}\Omega$.

La señal eléctrica (ECG) es detectada con electrodos tipo espiral cubierto de oro de 0,5 cm espesor y 0,8 cm de radio. Se usan embriones de: 8, 9, 14 y 15 días de gestación. Para verificar la ubicación del embrión dentro de la cáscara se ubica en un ovoscopio (lámpara que ilumina al embrión a través de la cáscara), luego se procede a identificarlo con un círculo de radio aproximadamente 1,5 cm, después se pincha la cámara de aire (ver figura 9) para liberar la presión presente en la cáscara y el embrión baja un poco de las paredes del huevo. Los electrodos se fijan con cera sobre la cáscara formando un triángulo equilátero. Dos electrodos son conectados a la entrada del amplificador INA110 y el tercer electrodo a tierra. El huevo es introducido en una incubadora a 37°C, y una vez estabilizado el sistema, se conecta a una computadora personal y se procede a los registros de los datos producidos por la actividad eléctrica que envía el corazón del embrión. Todas estas medidas se hacen por un espacio de 20 s, con una tasa de muestreo de 500 Hz.

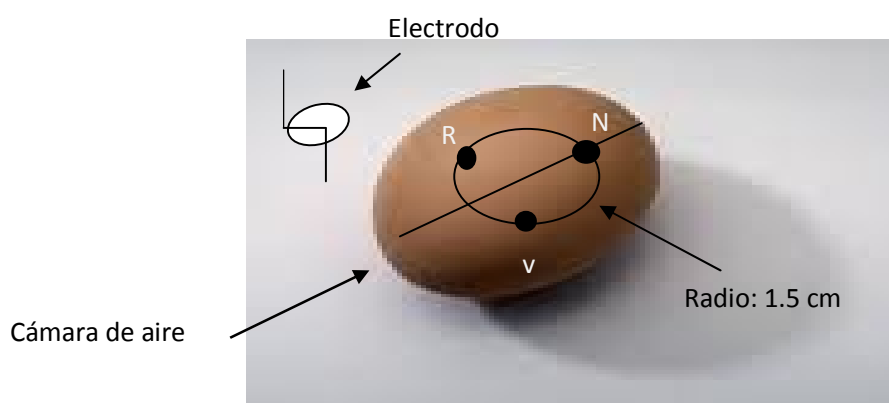


Figura 9. Ubicación de los electrodos en la cáscara del embrión de pollo.

Simulando la respuesta del circuito nos permite predecir la respuesta del mismo, como se observa a continuación en la Figura 10

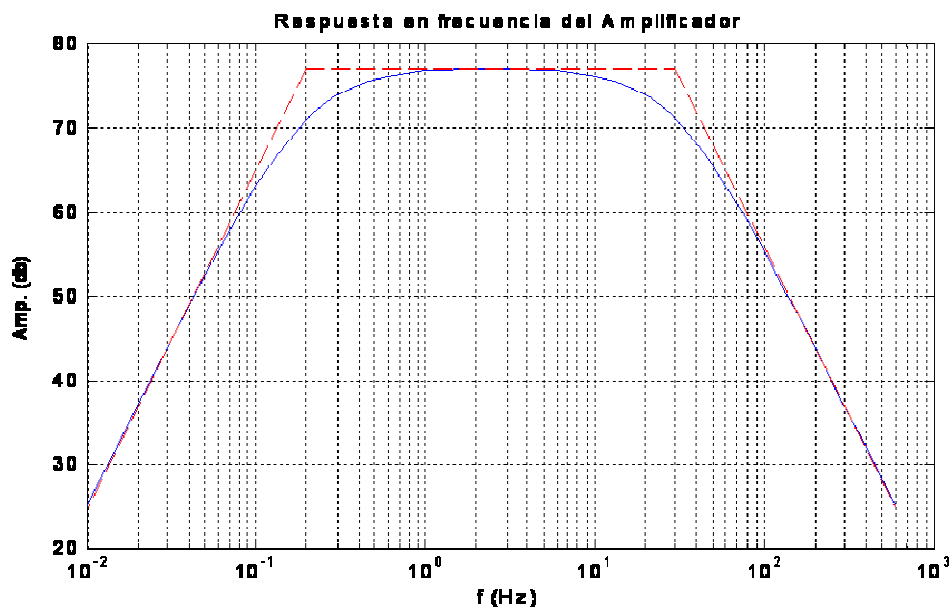


Figura 10. Respuesta en frecuencia del amplificador –filtro mostrado en Figura 7 (representado por el computador)

La frecuencia de corte del filtro pasa-alto en la Figura 10 es de 0,2 Hz y la frecuencia de corte del filtro pasa-bajo es de 30Hz. Obteniendo una banda pasante de 2 décadas.

b. Registro de datos

Para el registro de los datos se utilizó una tarjeta de adquisición de datos USB 6008 de la compañía National Instruments. Ésta Posee un convertidor análogo-digital con 8 canales de 12 bits de resolución, con rango de entrada de ± 1 hasta ± 20 V. Además, tiene dos salidas analógicas con frecuencia de muestreo hasta 10 kS/s. luego, se desarrolló un programa basado en MatLab el cual se encarga de analizar la señal cardíaca obtenida.

c. Análisis de los datos

La digitalización de la señal eléctrica obtenida con el electrocardiograma (ECG) en embriones de: 8, 9, 14 y 15 días de gestación, es registrada y analizada por los siguientes parámetros:

- Dominio del tiempo: estos parámetros son determinados con el registro gráfico de un ECG, se calcula la Frecuencia Cardiaca Promedio, la desviación estándar, La raíz cuadrada del promedio de la suma de los cuadrados de las primeras diferencias entre intervalos RR (rMSSD), Porcentaje de los intervalos para más de 5ms de los latidos previos, se selecciona en este valor porque los embriones de pollo presentan una frecuencia promedio alta la cual es entre 200-300 latidos por minutos (pNN5).
- Análisis espectral: se selecciona la región de interés en los ECG obtenidos, para luego representar los resultados de la aplicación de las transformaciones en gráfica bidimensionales que describan la variación de un cierto parámetro en término de otro. En nuestro caso se mide la variación de la potencia con respecto a la variación de la frecuencia. Luego se mide en el tiempo cuántas muestras abarcan un ciclo circadiano completo, este valor se obtiene contando directamente sobre la señal desplegada. A partir de este dato, usando una función de MatLab y con ventana de Hanning, se calcula PSD tomada en intervalos cortos (256 puntos) y se promedia varios de éstos, a partir de un rango total de 65536 muestras. Luego se resta el promedio para disminuir niveles de DC presentes en la señal.

3. Medidas del acustocardiograma

Con el acustocardiograma (ACG) se empleó un micrófono. Se midió sobre embriones de pollo entre 8 y 9 días de gestación. La Figura 11 muestra la primera parte del circuito con la polarización del micrófono utilizado, se puede observar a continuación.

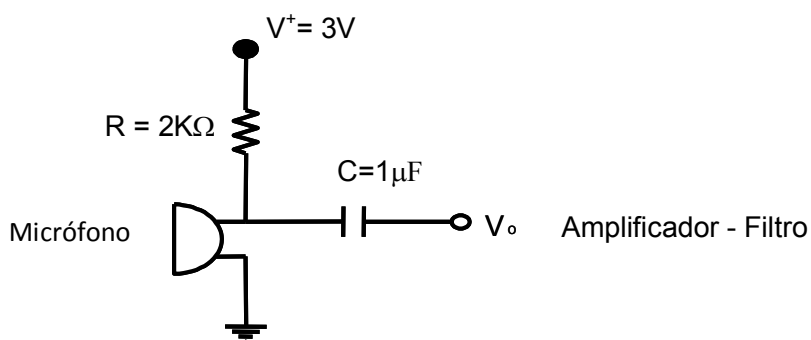


Figura 11. Polarización del micrófono

Éste micrófono fue adherido a la cáscara del huevo de gallina el cual se encuentra ubicado en una incubadora a 37°C, el micrófono es conectado a un amplificador de instrumentación INA110 con una ganancia de 500 y a un filtro pasa-banda con el fin de reducir un poco el ruido de la señal. Esto se puede apreciar en la Figura 12 que se muestra a continuación.

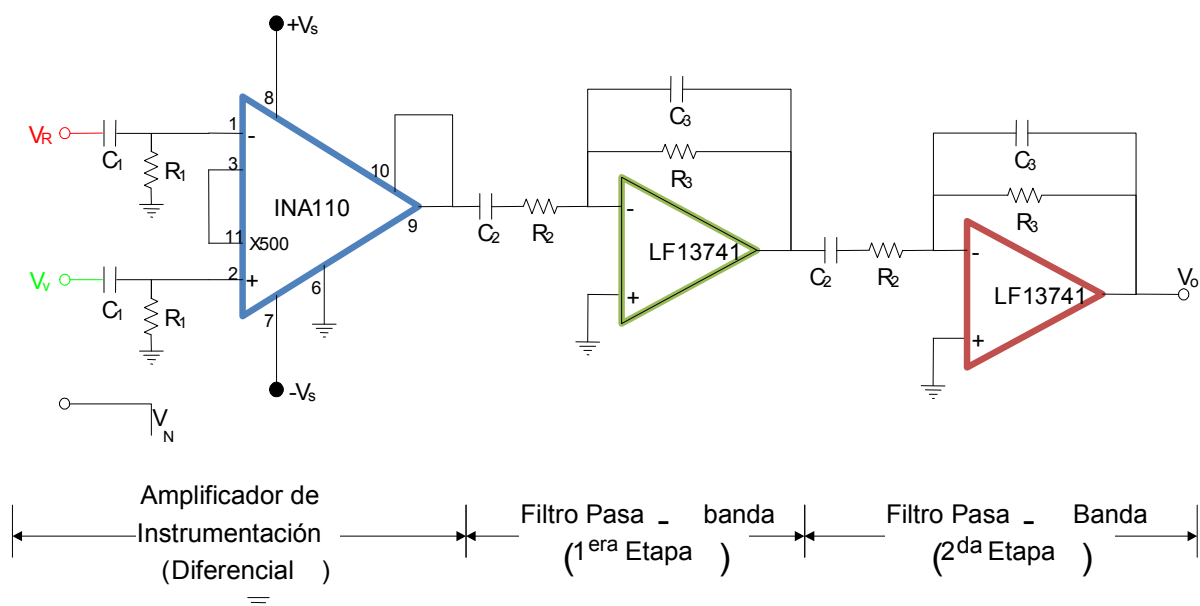


Figura 12. Segunda parte del arreglo electrónico para registrar señales cardíaca con el ACG

Finalmente, el voltaje de la señal (después de 2 etapas de amplificadores-filtros) se encuentra en el rango de -0.5 V y 0.5 V. Por otra, es importante señalar que los valores de: C_1 , C_2 , R_1 , R_2 son; $C_1 = 125\text{nF}$; $C_2 = 2,08\text{nF}$; $R_1 = 1,5\text{M}\Omega$; $R_2 = 5,6\text{M}\Omega$.

La digitalización de los datos para embriones de 8 y 9 días de gestación es registrada y analizada por los parámetros del dominio del tiempo y frecuencia. Usando el mismo procedimiento que en el electrocardiograma. (Ver página 25)

CAPÍTULO III

OBTENCIÓN DE LA SERIE DE INTERVALOS RR, ESPECTRO Y TACOGRAMA

De los registros obtenidos con el electrocardiograma y el acustocardiograma, una vez digitalizados se procedió a la detección de los intervalos R. Por lo general estas señales poseen una cantidad de ruido considerable. Esto se le atribuye a una mala conexión de los electrodos, el ruido ocasionado por la línea, la conexión del micrófono, y/u otros factores externos. Antes de generar la serie de intervalos R debemos procesar la señal de tal manera que podamos eliminar la mayor cantidad de ruido posible. En esta investigación es importante resaltar la onda R sobre todas las demás.

Lo primero que se hace es filtrar la señal, esto se mostró en el Cap. II. Implementando filtros analógicos que constituyen nuestro “hardware”. En esta investigación para el registro continuo del ECG y el ACG se diseñó un algoritmo capaz de determinar los intervalos R, la frecuencia promedio, su período, entre otros. El cual consta de varias etapas que se explican a continuación.

- 1. Promedio móvil.** La señal continúa tanto del ECG y el ACG fue suavizada aplicando un filtro digital, pasa-bajo, éste suaviza un poco el ruido. En esta investigación el filtro aplicado se denomina Savitzki-Golay. Su funcionamiento es el siguiente: a) cada dato de valor f_i se reemplaza por una combinación lineal g_i , del dato mismo y algunos vecinos a n_r obteniendo la siguiente fórmula:

$$g_i = \sum_{n=n_l}^{n_r} C_n * f_{i+n}$$

n_l = es el número de puntos a la izquierda

n_r = es el número de puntos a la derecha

Para cada punto f_i se ajusta un polinomio por mínimos cuadrados a los $n_l + n_r + 1$ puntos, y luego se obtiene g_i como el valor del polinomio en la posición i . Este valor no se utiliza en otro punto al moverse de posición $i+1$ se realiza otro ajuste. Lo que se logró con esto es sumar sobre un grupo de muestras y luego nos movemos al siguiente grupo y se realiza el mismo procedimiento, así obtenemos un promedio móvil y la señal se suaviza eliminando picos no deseados.

Una vez que se realiza el procesamiento de la señal, se definen unos umbrales, los cuales permiten detectar con una buena precisión la onda R , los umbrales que se van a usar son dinámicos en el que se define para cada pixel una zona vecina N a la que se le asigna un umbral adecuado $t(N)$. la importancia de aplicar estos umbrales es para discriminar un poco el ruido que aún persiste en las señales luego del procesamiento. Una vez que llegan a un valor máximo en cada onda R se promedia y el resultado es tomado como el umbral. Se calcula un primer promedio; todos los valores por encima de éste se le aplicará el criterio de la primera derivada para así determinar el máximo valor en los picos.

Luego, se debe cumplir la siguiente condición.

$$\text{Indexes} = c > \text{Thereshold}$$

Donde; **Thereshod** es el umbral;

Indexes almacena los picos de entrada que se trabaja con 0 y 1.

c es la muestra.

Una vez aplicada la primera derivada, se hallan los puntos donde sea negativa. Después se aplica la segunda derivada y así obtener entradas con 1. Un nuevo pico es definido sólo después del nivel encontrado.

La siguiente instrucción `Peaks2 (Imax) = true`, marca la posición del pico con unos círculos en los puntos más altos. Luego, al procesar todas las entradas, se repite todo el procedimiento hasta obtener todas las entradas en una instrucción llamada `Peaks` sean cero. Finalmente, se grafica la señal.

2. **El tiempo.** Es escogido entre los intervalos consecutivos es de un segundo correspondiente a 500 muestras. Al conocer esto tenemos un aproximado de cuanto debe durar cada intervalo RR; la unidad de tiempo empleada es en el orden de los milisegundos.
3. **Espectro.** Se extrae la información del registro ya adquirido. El método se basa en el promedio de la transformada rápida de Fourier de la superposición de los segmentos de los datos. Para cada registro la componente DC es removida para sustraer el valor medio. Después se aplica una ventana llamada Hanning la cual toma los extremos del registro y los suaviza, finalmente, se obvian los pequeños saltos que se producen al inicio de la onda registrada.
4. **Tacograma.** Se diseñó un algoritmo para calcular el tacograma. Los tiempos de los picos R son usados como las entradas del programa. Además, se define un vector que contiene todos los picos de las medidas. Por esto, se toma la diferencia entre los picos R en valor absoluto. Se obtiene así el período entre dos picos R consecutivos. Al sumar las diferencias, obtenemos, el tiempo total transcurrido el cual es expresado en segundos. Finalmente, se grafica el tacograma. Con esto, podemos observar como la frecuencia cardíaca permanece de manera uniforme en el tiempo.

CAPÍTULO IV

PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

A partir de los algoritmos descritos en el Capítulo III de este estudio, se desarrollaron algunos programas para cuantificar la variabilidad de la frecuencia cardíaca (VFC) en embriones de pollo, en el dominio del tiempo y en la frecuencia, aplicado a los registros obtenidos del ECG y ACG. Conviene resaltar, que el desarrollo del embrión de pollo con corto período de gestación ha sido poco estudiado. Asimismo, parece oportuno significar que se pudo constatar en las literaturas consultadas, que la mayoría de los estudios analíticos realizados sobre la variabilidad de la frecuencia cardíaca han sido efectuados en seres humanos y en algunas especies de animales diferentes a la seleccionada para esta investigación. A continuación, se hace un esbozo de cada uno de los registros obtenidos.

1. Registro óptico

No se pudo efectuar ya que se presentaron ciertos inconvenientes, entre los que se mencionan: a) los materiales electrónicos necesarios para el registro de la señal no se lograron conseguir completos. b) La Falta de una incubadora pequeña, para no exponer a embriones con 5 días de gestación a cambios bruscos de temperatura, lo que dificultó un descenso en la señal a medida que transcurre el tiempo lo que dio como resultado, el fallecimiento de embriones.

2. Electrocardiograma (ECG)

El valor del período promedio de los intervalos entre los puntos máximos en función del tiempo, permitió estimar la Frecuencia Cardíaca Promedio (FCP) a partir de los registros adquiridos del ECG para embriones de 8, 9, 14 y 15 días de gestación (Figura 13).

En la Figura 13a (ver pág. siguiente), el registro gráfico del ECG perteneciente a embriones de 8 días muestra una secuencia de puntos máximos homogéneos pero irregular con algunos defectos ocasionados por el programa (flechas). Se estimaron valores de FCP alrededor de $196,23 \pm 0,82$ lat/min. (Fig.13b) para embriones de 9 días, muestra una secuencia regular y homogénea de intervalos de puntos máximos. Se registró un valor mayor de FCP de $225,71 \pm 0,48$ lat/min. (Fig. 13c) embriones de 14 días de gestación, muestra una secuencia regular y homogénea de intervalos de puntos máximos en función del tiempo. Se registro un valor mayor de FCP de 243.1 ± 1.1 lat/min. Sin embargo, esta adquisición de la señal presenta un error el cual pudo ser ocasionado por el sistema o movimientos de los cables (flecha). Finalmente, la Fig.13d embriones de 15 días de gestación, muestra un registro con una secuencia irregular en sus intervalos de puntos máximos, presentando una gran cantidad de ruido. El valor de FCP es de $212,70 \pm 3,65$ lat/min al comparar encontramos un valor menor con respecto al anterior. Los valores de FCP que se estimaron, están cercanos a los valores presentados en otras bibliografías.

Por otra, en la Figura 13 el eje de las 'x' corresponde al tiempo en segundo correspondiente al registro de la señal cardíaca del corazón de los embriones de pollo. El eje 'y' representa la amplitud de la onda expresada en voltios. A

En la Tabla 5 se reportan las Frecuencias Cardíacas Promedio obtenidas del registro ECG, todas están expresadas en latido por minuto. Podemos apreciar en ésta Tabla, que a medida que el embrión se va desarrollando su frecuencia cardíaca va ir aumentando, sin embargo en el embrión de 15 días hubo un descenso cabe destacar que eran embriones diferentes. Con esto, podemos suponer que la actividad del Sistema Nervioso Parasimpático influye sobre los parámetros del tiempo se observa debido a la disminución de la FCP ya que la actividad vagal también disminuye.

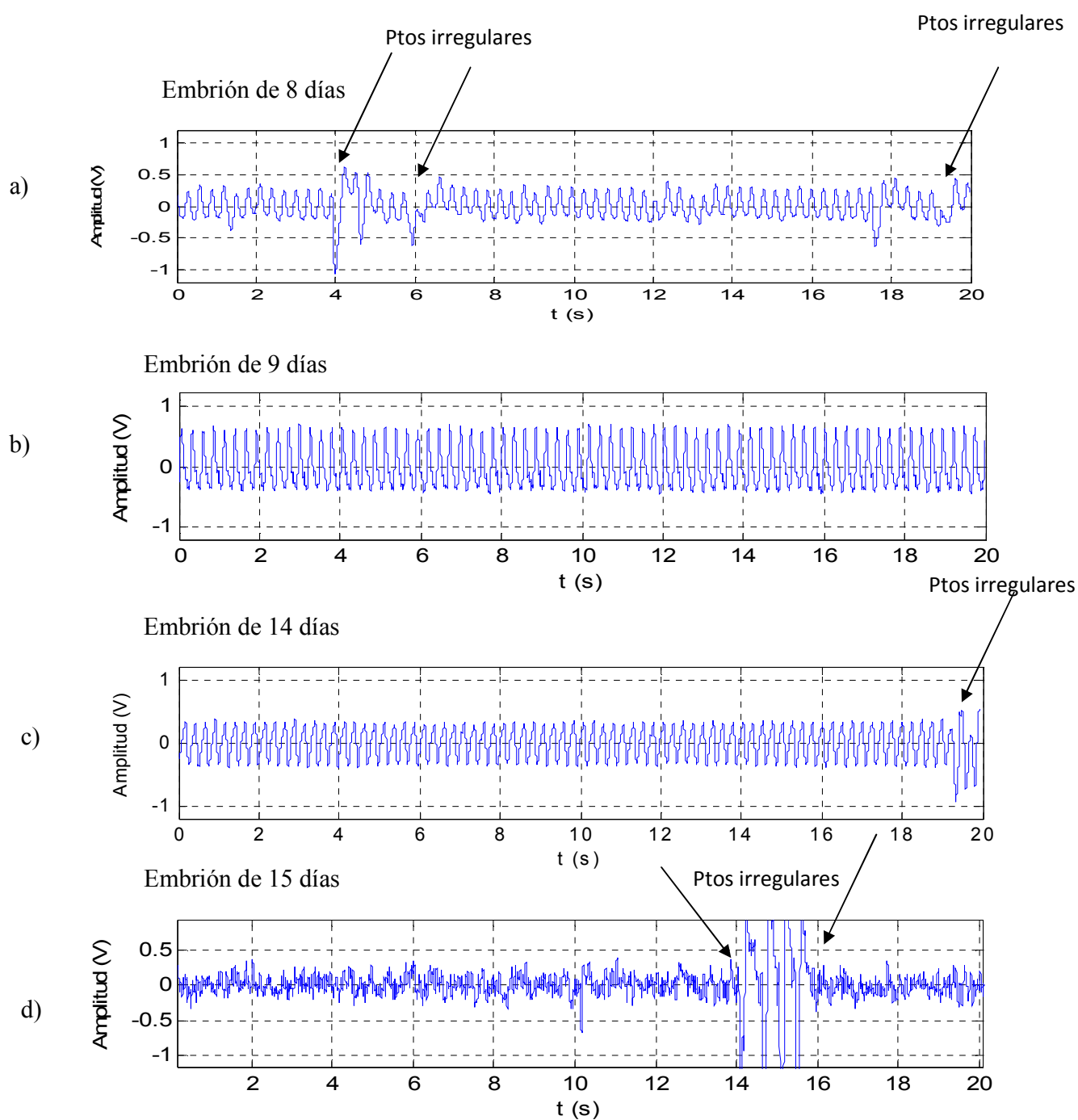


Figura 13. Representación gráfica de la variación del ritmo cardiaco expresada como unas secuencias regulares y homogéneas de intervalos de puntos máximos en función del tiempo. Frecuencia Cardiaca Promedio (FCP) en embriones con 8, 9, 14 y 15 días de gestación

Tabla 5. Frecuencias Cardíaca Promedio (FCP) del ECG

Días de gestación embriones de pollo.	Frecuencia cardíaca promedio + desviación estándar (SD)
8	196,2 ± 1,2
9	225,7 ± 0,8
14	243,1 ± 1,0
15	212,7 ± 1,3

El promedio de la Frecuencia Cardíaca obtenida en este estudio (Ver Tabla 5) se encuentra dentro del rango dado por varios autores en embriones de pollo. En un estudio previo (Bogue, 1932) se informó que los valores de la Frecuencia Cardíaca Promedio oscila entre 231 y 240 latidos por minutos en embriones de 8, 9, 14 y 15 días de gestación.

Los parámetros del dominio del tiempo se obtienen realizando cálculos directos sobre los intervalos R. estos son mostrados en la Tabla 6 (SD, RMSSD, PNN5, SDDSD). A continuación se presentan los resultados

Tabla 6. Parámetros del dominio del tiempo para embriones de pollo con 8, 9, 14 y 15 días de gestación

Edad embrionaria	SDDSD (ms)	RMSSD (ms)	PNN5 (%)
8	22,45	16,93	72,72
9	3,76	3,85	15,38
14	6,46	5,47	54,54
15	25,39	25,25	45,45

Densidad espectral del ECG

En la Figura 14, se muestra la densidad espectral del ECG, en embriones de pollo con 8, 9, 14 y 15 días de gestación

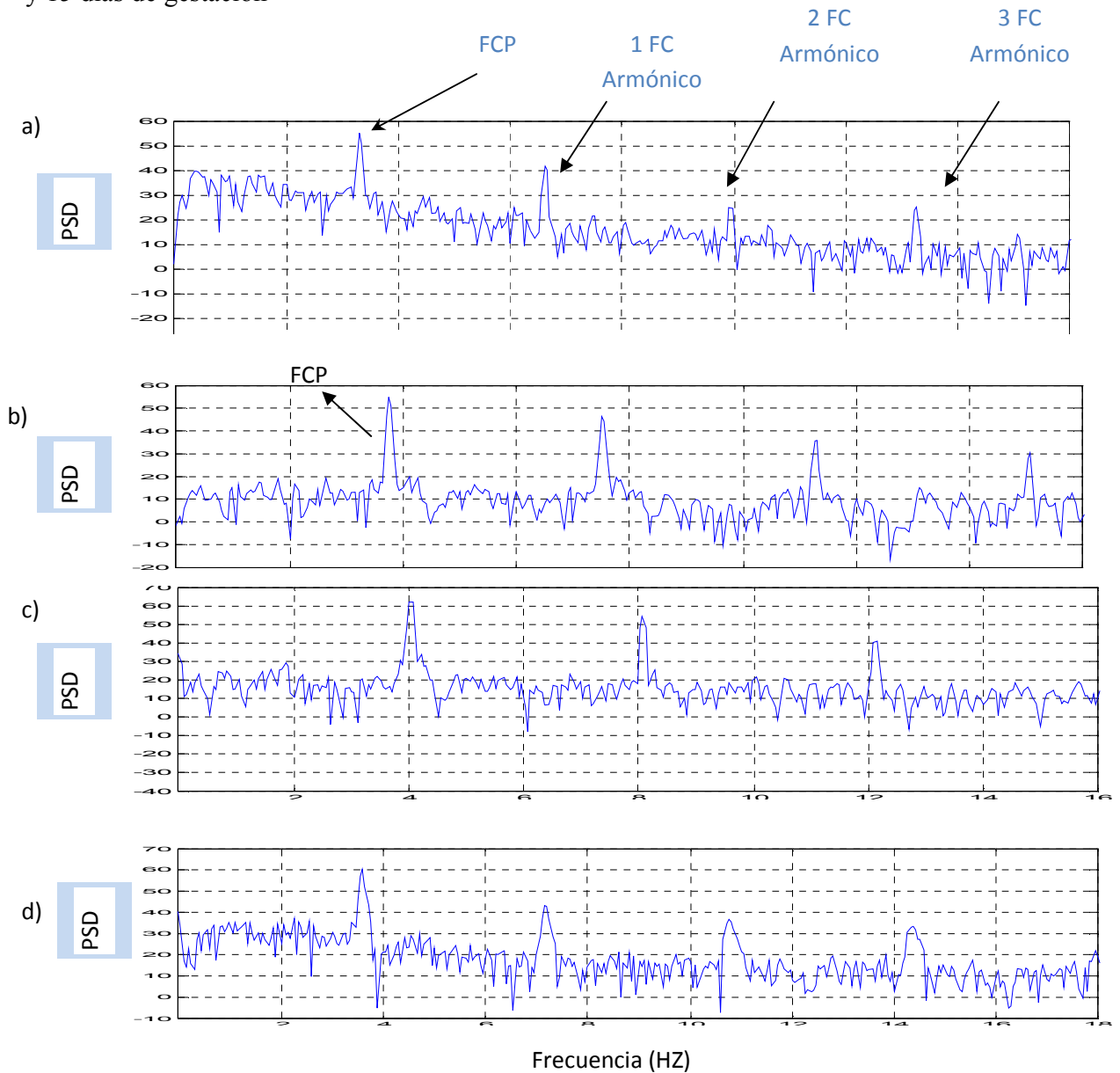


Figura 14. Densidad Espectral de un ECG. a) Embrión de 8 días, b) Embrión de 9 días, c) Embrión de 14 días y c) Embrión de 15 días. En el eje 'y' representa PSD y eje 'x' representa frecuencia Hz.

Al observar la figura 14 encontramos los espectros de un registro ECG con duración de 20s, en los cuatro espectros (a, b, c y d) existen diferentes picos el primero y muy notable corresponde con la frecuencia promedio determinada anteriormente. Para los embriones de 8 días (Figura 14a) el primer pico corresponde a una frecuencia de 196 latidos por minutos, esto es equivalente a un intervalo RR de 305ms el resto de los picos corresponden a sus armónicos los cuales son: 6,6Hz, 9,9 Hz, y 13,2Hz. En la figura 14b el primer pico se encuentra desplazado hacia la derecha teniendo un valor de 225 latidos por minutos con sus respectivos armónicos. Con respecto al embrión de 14 días (ver figura 14c) presenta un pico de aproximadamente de 4 unidades de frecuencia correspondiente a 240 latidos por minuto, hasta ahora se observa desplazamientos de los picos hacia la derecha, teniendo como consecuencia el aumento del promedio de la frecuencia cardíaca de los embriones de pollo estudiados, recordando que los picos siguientes son sus armónicos. Finalmente, El embrión de pollo con 15 días de gestación (ver figura 14d) presenta un incremento del pico, con un descenso en la frecuencia promedio; este pico corresponde a 212 latidos por minutos.

Los cuatro espectros obtenidos, tres presentan bien marcados sus picos y tiene una particularidad que a medida que el embrión va incrementando en día sus picos tiene un desplazamiento hacia la derecha, excepto el embrión de pollo de 15 días de gestación ya que su frecuencia disminuyo con respecto a los otros, como se aprecia en la Tabla 5.

a. Tacograma del ECG

La Figura 15 presenta los tacogramas obtenidos desde los intervalos RR de un registro ECG con duración de 20s para embriones con 8, 9, 14 y 15 días de gestación. Estos presentan en el gráfico lo siguiente: a) en el eje de la 'y' se encuentra el período expresado en milisegundo. b) y, en el eje de las 'x' se muestra el tiempo de registro en segundo.

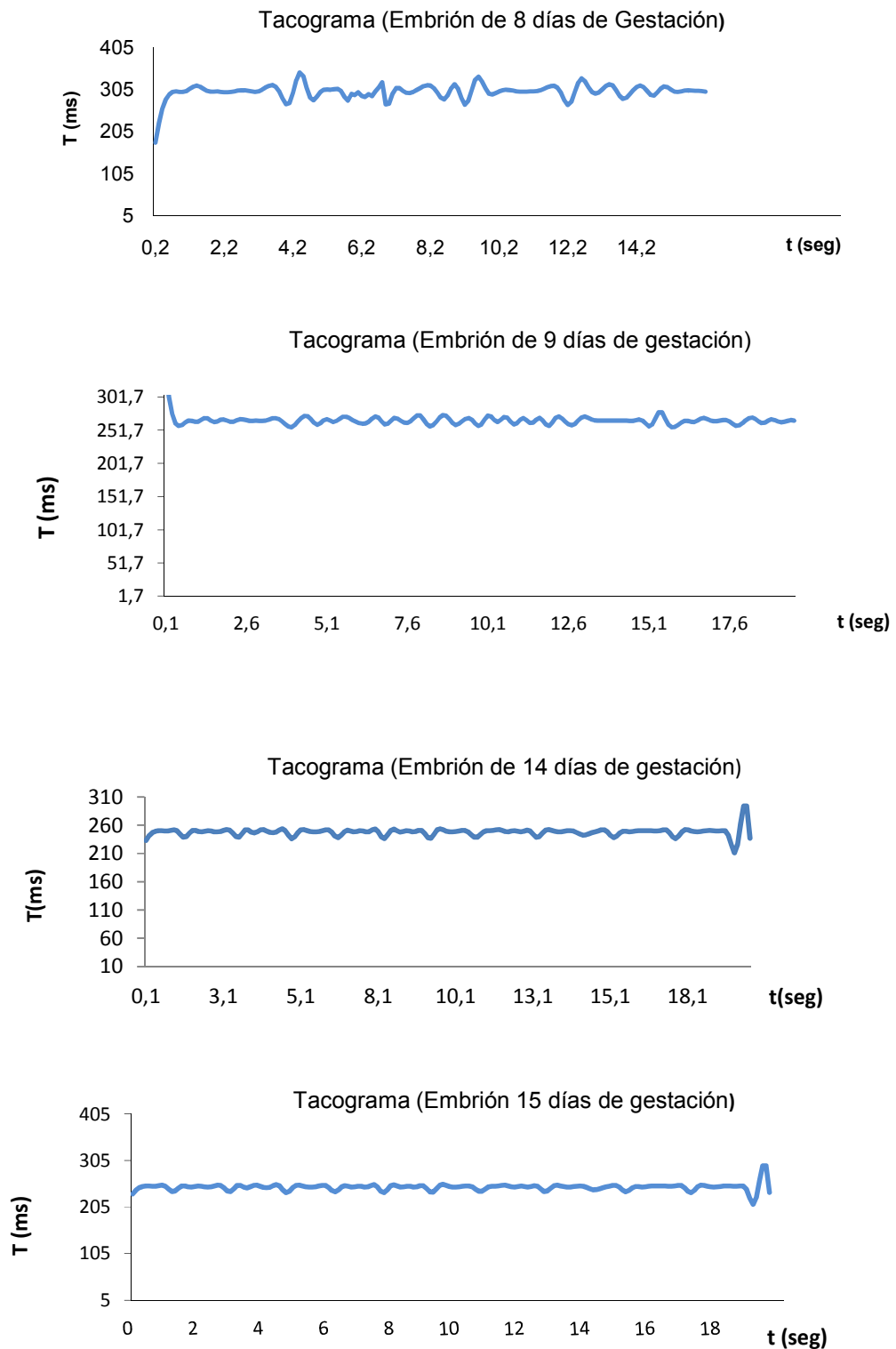


Figura 15 Tacogramas del ECG en embriones de 8, 9, 14 y 15 días de gestación

En la Tabla 7, se presenta un rango de frecuencias altas y bajas, las frecuencias bajas corresponden con algunos reportes de la literatura consultada, pero en el caso de frecuencias altas el rango se pasa. Por ejemplo, Arguello et al, (2004), expresa que para frecuencias mayores de 2,5 Hz éstas se consideran como presencia de arritmias respiratorias.

Tabla 7 Parámetros de frecuencia del ECG

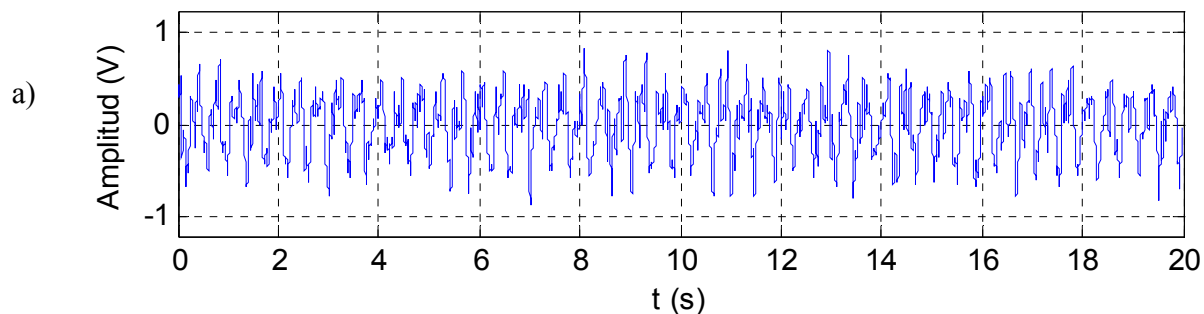
Edad embrionaria	LF (Hz)	HF (Hz)	LF/HF
8	0,6	2,1	0,28
9	0,2	2,5	0,08
14	0,1	2,4	0,041
15	0,72	1,9	0,37

3. Acustocardiograma (ACG)

El valor del período promedio de los intervalos entre los puntos máximos en función del tiempo, permitió estimar la Frecuencia Cardíaca Promedio (FCP) a partir de los registros adquiridos del ACG para embriones de 8 y 9 días de gestación (Figura 16).

En la Figura 16a, el registro gráfico del ACG perteneciente a embriones de 8 días muestra una secuencia de puntos máximos homogéneos pero irregular con algunos defectos ocasionados por el ruido de la señal. Se estimaron valores de FCP alrededor de $168,98 \pm 5,96$ lat/min. (Fig.16a) para embriones de 9 días, muestra una secuencia regular y homogénea de intervalos de puntos máximos con menos ruido. Se registró un valor mayor de FCP de $191,75 \pm 1,71$ lat/min. (Fig. 16b) Los valores de FCP que se estimaron, están cercanos a los valores presentados en otras bibliografías, aunque al compararlos con los del ECG las FCP son menores.

Embrión 8 días de gestación



Embrión 9 días de gestación

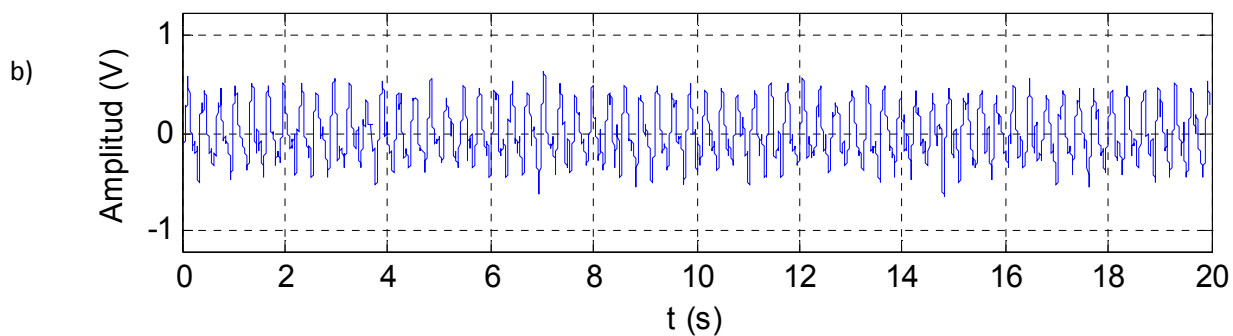


Figura 16 a) Embrión 8 días ACG b) Embrión 9 días de gestación ACG

El promedio de la Frecuencia Cardíaca obtenida en este estudio (Ver Tabla 8) se encuentra por debajo del rango dado por varios autores en embriones de pollo. En un estudio previo (Bogue, 1932) se informó que los valores de la Frecuencia Cardíaca Promedio oscila entre 231 y 240 latidos por minutos en embriones de 8 y 9 días de gestación.

Tabla 8 Frecuencias Cardíaca Promedio (FCP) del ACG

Días de gestación embriones de pollo.	Frecuencia cardiaca promedio + desviación estándar (SD)
8	168,1 ± 5,1
9	191,8 ± 1,7

Los parámetros del dominio del tiempo se obtienen realizando cálculos directos sobre los intervalos R. estos son mostrados en la Tabla 9 (SD, RMSSD, PNN5, SDDSD). Al comparar la Tabla 6 y la Tabla 9 encontramos que los parámetros reportan medidas muy cercana, cabe destacar que son diferentes embriones pero con edad embrionaria igual.

Tabla 9 Parámetros del dominio del tiempo para embriones de pollo con 8 y 9 días de gestación

Edad embrionaria	SDDSD (ms)	rMSDD (ms)	PNN5 (%)
8	21,32	12,66	70,70
9	2,16	1,26	18,90

a. Densidad espectral

En la Figura 17, se muestra la densidad espectral de un registro de un ACG para embriones de pollo con 8 y 9 días de gestación, obteniendo un primer pico el cual corresponde a la frecuencia del embrión. Básicamente la frecuencia reportada en el primer pico (Figura arriba embrión de 8 días de gestación) es de 2,5 Hz (150 latido por minuto, comparada con la obtenida en el registro del ACG en el dominio del tiempo es $168,98 \pm 5,96$ latidos por minuto. Los picos siguientes corresponden a sus armónicos. En la misma Figura 17 (abajo) pero para el embrión de 9 días sucede lo mismo, presenta un pico de frecuencia 3,1 Hz (186 latidos por minuto, comparada con la obtenida en el registro del ACG en el dominio del tiempo es $191,75 \pm 1,71$ latidos por minutos)

Los picos siguientes corresponden a sus armónicos, ya que la frecuencia de muestreo se tomaron inicialmente en Hz.

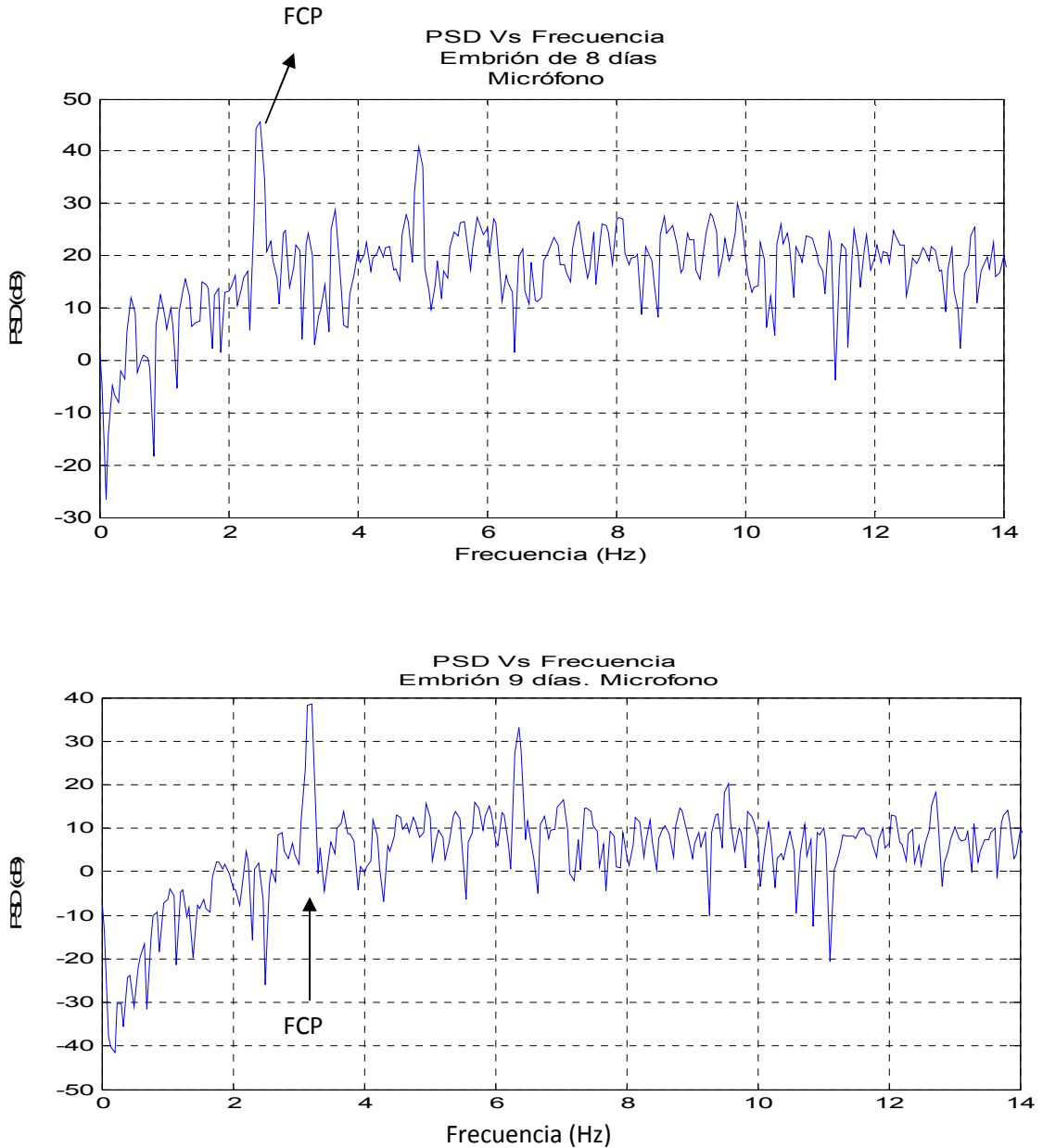


Figura 17. Densidad espectral (PSD) con el ACG

b. Tacograma

Los tacogramas se obtienen de los intervalos R en un tiempo de 16 segundos. La Figura 18 que se muestra a continuación se observa los tacogramas de los embriones con 8 y 9 días de gestación con registro de un ACG.

La Figura 18, muestra los dos tacogramas obtenidos de los registros del ACG. Estos presentan en el gráfico lo siguiente: a) en el eje de la 'y' se encuentra el período expresado en milisegundo. b) y, en el eje de las 'x' se muestra el tiempo de registro en segundo

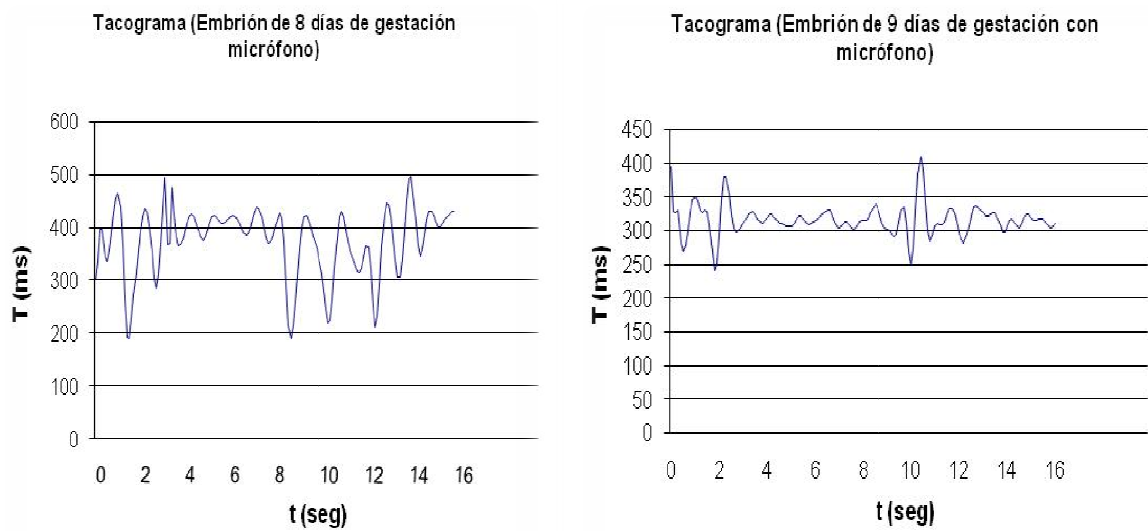


Figura 18. Tacograma del ACG en embriones de 8 y 9 días de gestación

En la Tabla 10, se presenta un rango de frecuencias altas y bajas, las frecuencias bajas corresponden con algunos reportes de la literatura consultada, pero en el caso de frecuencias altas el rango se pasa. Por ejemplo, Arguello et al, (2004), expresa que para frecuencias mayores de 2,5 Hz éstas se consideran como presencia de arritmias respiratorias

Tabla 10 Parámetros de frecuencia del ACG

Edad embrionaria	LF (Hz)	HF(Hz)	LF/HF
8	0,4	2,3	0,17
9	0,3	2,1	0,14

Finalmente, todos los resultados nos han servido para obtener los índices de la Variabilidad de la Frecuencia cardíaca desde un ECG como de un ACG en embriones de pollo durante su desarrollo.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

1. Conclusiones

Los resultados obtenidos en el registro de las señales cardíacas en embriones de pollo con 8, 9, 14 y 15 días con los diferentes métodos: ECG y ACG, permitieron llegar a las conclusiones que se presentan a continuación, éstas se concibieron desde dos perspectivas una referente al ECG y, otra, al ACG.

- ✓ Se corrobora que en embriones con 8, 9, 14 y 15 días de gestación el complejo QRS no se evidencia con facilidad en el ECG.
- ✓ Se evidencia que a medida que el embrión se desarrolla su frecuencia cardíaca va ir aumentando hasta alcanzar los rangos dados por otros autores.
- ✓ Los resultados demostraron que es posible obtener los índices de la variabilidad de la frecuencia cardíaca a través de ECG y del ACG en embriones con desarrollo temprano.
- ✓ Esta investigación aporta valores de referencia para comparaciones futuras entre embriones de pollo de diferentes días de gestación.
- ✓ Con el análisis de la VFC podemos afirmar que está sujeto al sistema nervioso del embrión de pollo, y se registra una valiosa información para embriones con corto período de incubación.

2. Recomendaciones

A continuación se proponen algunas recomendaciones generales relacionadas con el registro de señales cardíacas en embriones de pollo.

- ✓ Aumentar el número de la población para estudios posteriores, pero con una edad de gestación igual.
- ✓ Realizar el estudio con otros tipos de técnicas, pero usando elementos ópticos para lograr señales cardíacas.
- ✓ Estudiar otras especies de animales en estado de gestación temprana como huevos de: avestruz, patos u otros y aplicar los parámetros de la variabilidad de la frecuencia cardíaca estudiados en esta investigación.
- ✓ Mejorar los algoritmos de esta investigación para la obtención de frecuencias tanto bajas como altas.

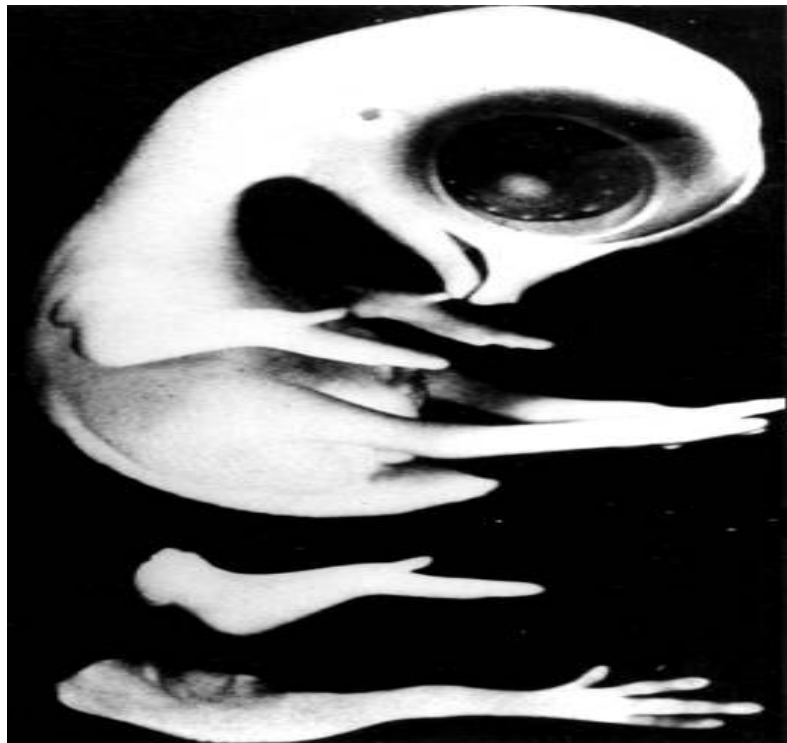
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arguello c., Alvarado j., Delgadillo I., Chirtoc and Vargas (1995) A new optical method based on laser 'knife edge' detection for monitoring an early embryonic beating heart *Sci. Technol* **6** pp.1433-1435.
- Álvarez M., Figueroa C., León I., y Rodríguez M. (2004) Cardiotoxicidad de la Cloroquina y Protección con Rojo de Rutenio en el Corazón de Embrión de Pollo *Informe Médico* **6**, **4** pp. 196-205.
- Aubert A., Beckers F., Ramaekers D., Verheyden B., Leribaux Ch., Aerts J and Berckmans D. (2004) Heart rate and heart rate variability in chicken embryos at the end of incubation *Exp Physiol* **89**, **2** pp.199-208.
- Burggren W., Warburton S., and Slivkoff M., (2000) Interruption of cardiac output does not affect short-term growth and metabolic rate in day 3 and 4 chick embryos. *The Journal of Experimental Biology* **203**, pp. 3831-3838
- Carrasco S., González R., Román R., Medina B., y Azpiroz L.J., (1997) Comparación entre Parámetros de la Variabilidad de la Frecuencia Cardíaca obtenido del Intervalo R-R y del Cardiotacograma *Mexicana de Ingeniería Biomédica*. XVIII **1** pp. 15-25.
- Clark E., (1990) *Hemodynamic Control of the Embryonic Circulation*. En Developmental Cardiology Morphogenesis and Fuction. Futura *Publishing Company*. Mount Kisco, N.Y
- D. Juan y MacArthur C., (1997) Variabilidad del Ritmo Cardíaco [Resumen en línea]. Disponible: <http://www.maces.ucsf.edu/Research-Allostatcmetcbook-heart-rate.htm> [Consulta: 2008, agosto 16]
- D'Alessandro A., Bracamonte W., y Sutil A., (2003) Temas de Biofísica y Fisiología. Caracas. Desarrollo Embrionario (2003) [Resumen en línea] Disponible: <http://www.webinf.com/Desarrollo.pdf> [Consulta:2008,agosto 16]
- Fujji S., Hirota A., y Kamino K., (1979) Optical signals from early Embryonic Chick Heart Stained with Potential Sensitive Dyes: Evidence for Electrical Activity *J. Physiol* **304** pp. 503-518
- Gallo J., Farbiarz J., Álvarez D., (1999). Análisis espectral de la variabilidad de la frecuencia cardíaca *IATREIA*. Vol 12 N° 2. pp 61-71
- González C., Infante O., y V M., (1992) Sistema de Análisis de la Variabilidad de la Frecuencia Cardíaca *Rev Mex.Ing Biom*.
- Katona Peter., (s.f) Computer Application En Electronics in Medicine and Biology. Section 26 pp. 26-43
- Marked. M., (1996) Heart Rate Variability American Heart Association. *Circulation* **93** **5** pp.1043-1065
- Mora F., Passariello G., Urbano L., y Ruesta V., (1988) Electrocardiograma de Alta Frecuencia: Utilidad del Espectro de Potencia en la Cuantificación de los Componentes de Alta Frecuencia *Latina de Cardiología*. **9**, **1**

- Moriya K., Pearson J., Burggren W., AR A., and Tazawa H. (2000) Continuous measurements of instantaneous heart rate and its fluctuations before and after hatching in chickens. *The Journal of Experimental Biology* 203, pp.895-903
- Moriya K., Kato K., Matsumura M., Dzialowski E., Burggren WW., Tazawa H., (2001). Cardiac rhythms in developing emu hatchling. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A* 131 pp. 787-795
- Moriya K., Akiyama R., Dzialowski E., Burggren W., and Tazawa H., (s /f). Development of heart rate circadian rhythm in chickens. p.211-218
- Palma JL., Arribas A., González J., Huerta E., y Simarro (2000). Artículos Especiales. *Rev Esp. Cardiología* 53 pp. 91-109
- Patten Bradley M. (1971) Early Embryology of the Chick Bombay- New Delhi fifth Edition. Tata McGraw Hill.
- Ritto P., Contreras and Alvarado (2003) Monitoring by laser beam reflection *Sci. Technol* (14) 317-322.
- Steding G., y Gleidl W., (1990) Morphology and Physiology of the Early Embryonic Heart: the Correlations between Blood Flow and Septation En *Developmental Cardiology Morphogenesis and Function*. Futura Publishing Company. Mount Kisco, NY
- Sugiyama T., Miyazaki H., Saito K., Shimada H., and Miyamoto K., (1996) Chick Embryos as an Alternative Experimental Animal for Cardiovascular Investigations: Stable Recording of Electrocardiogram of the Chick Embryos in Ovo on the 16 th Day of Incubation *Toxicology and Applied Pharmacology* 138 (124) pp 262-267.
- Tazawa H., Mitsubayashi H., Hirata M., Hochel J., Pearson J., (1999). Cardiac rhythms in chick embryos during hatching. *Biochemistry and Physiology Parte A* 124 pp. 511-521.
- Tokuyasu K.T., (1990) Hemodynamic Control of the Embryonic Circulation En. *Developmental Cardiology Morphogenesis and Function*. Futura Publishing Company. Mount Kisco, NY
- Yoshiyama Y., Sugiyama T., and Kanke M., (2003). Cardiotoxicity of Trastuzumab (Heceptin) in Chick Embryos. *Biol. Pharm.Bull.* 26 (6) pp. 893-895.
- Yoshiyama Y., Sugiyama T., Kanke M., and Tsuchimoto K., (2004) Drug-Drug Interactions Between Antiarrhythmic Drugs in Chick Embryos. *Biol. Pharm. Bull* 27 (1) pp. 128-130.

ANEXOS A

Etapas del embrión de pollo



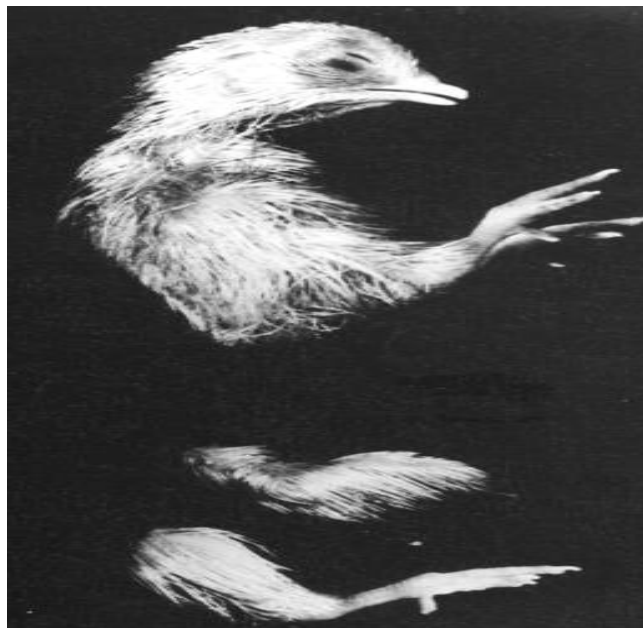
Etapa 35(tomado de: Hamburger and Hamilton, 1951)

Miembros: Las membranas interdigitales en manos y pies apenas son visibles. Se distinguen las falanges en los dedos de los pies.

Arcos viscerales: El alargamiento del pico continua (Distancia entre ojo y diamante mayor).

Esbozos de las plumas: Línea medio-dorsal elevada. Cuatro hileras en el lado interno de cada ojo. Aparición de esbozos al lado del esternón y extendiéndose a ambos lados del cordón umbilical.

Ojo: La membrana nictitante ha crecido mucho, aproximándose a la papila esclerótica externa. Los párpados se han extendido hacia el pico y empiezan a sobresalir del globo ocular. La abertura palpebral se hace elipsoidal.



Embrión de pollo 40-41HH (Tomado de: Hamburger and Hamilton, 1951)

Miembros: Las escamas se solapan en la superficie inferior y superior de la pierna. La superficie plantar de las falanges está cubierta por papilas totalmente desarrolladas.

Alargamiento del tercer dedo del pie = 14.9 ± 0.8 mm.

Arcos viscerales: Alargamiento del pico desde el borde anterior de la nariz hasta la punta del pico = 4.0 mm.

ANEXO B

Manual para la adquisición de señales

Adquisición de señales eléctricas cardíacas

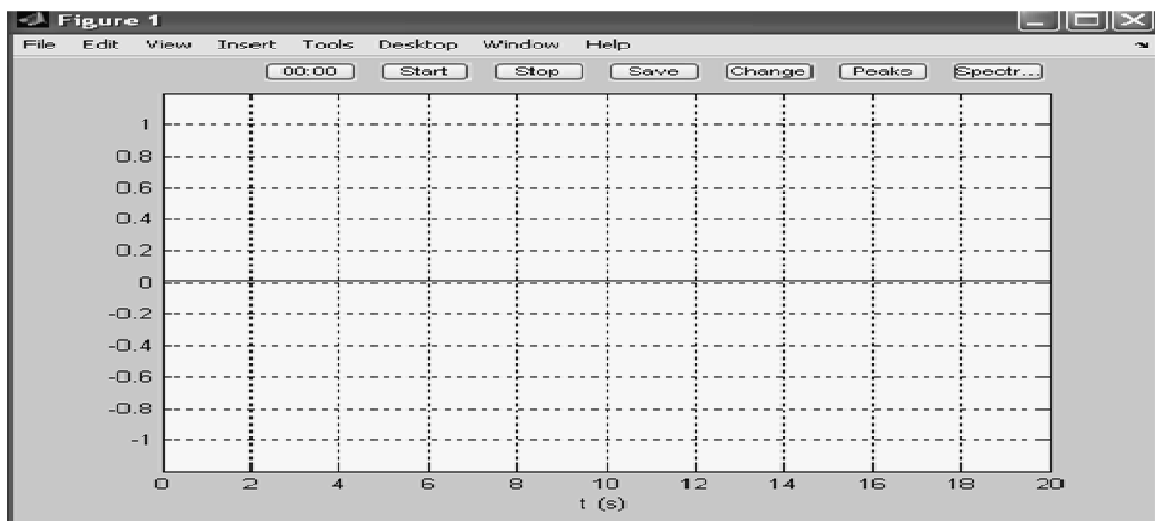
Las señales se adquieren a través de un computador personal se realizó un programa bajo la herramienta de Matlab el cual detecta las señales que el embrión emite desde la incubadora a través del método semi-invasivo o no- invasivo.

Se realizó un programa llamado ECG el cual comienza mostrando una ventana dando los parámetros fijos para poder comenzar a recibir las señales y quedarse con el mejor registro.



Esta pantalla muestra; nombre del archivo, número de la muestreo, tiempo máximo, altura máxima y mínima y por último el umbral.

Al darle ok, se nos abre otra ventana la cual tiene las opciones de comienzo para la adquisición de señales.



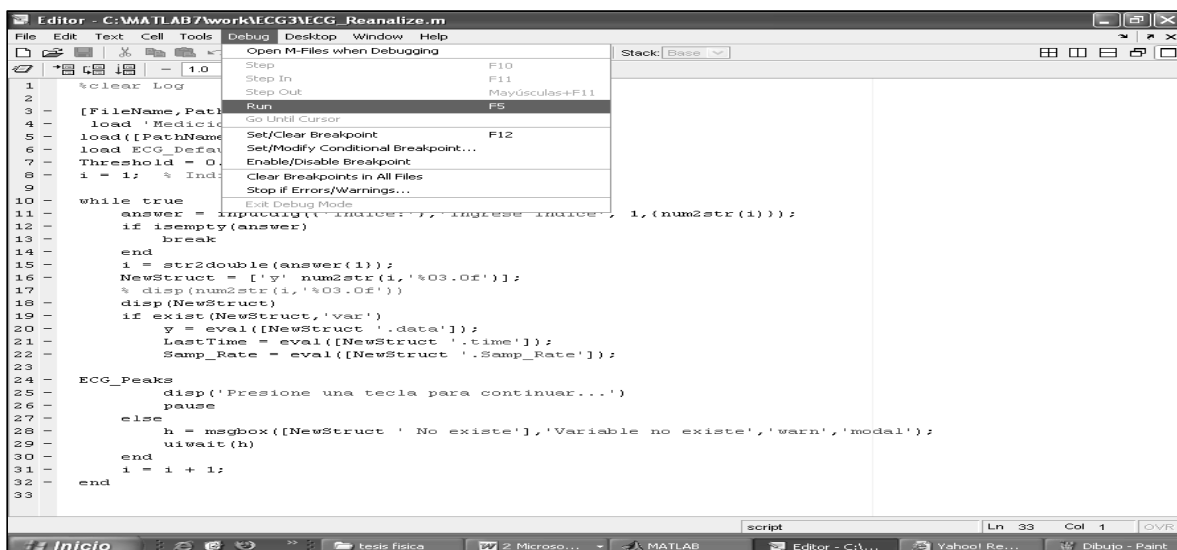
Esta ventana contiene 7 botones cada uno con cierta función:

- 1.- Muestra el reloj
- 2.- Botón de inicio para adquirir la señal eléctrica del embrión.
- 3.- Botón de finalizar.
- 4.- Botón de salvar la señal seleccionada.
- 5.- Botón para cambiar a otra adquisición.
- 6.- Botón de mostrar picos máximos.
- 7.- Botón de realizar la densidad espectral y la serie temporal de la señal adquirida.

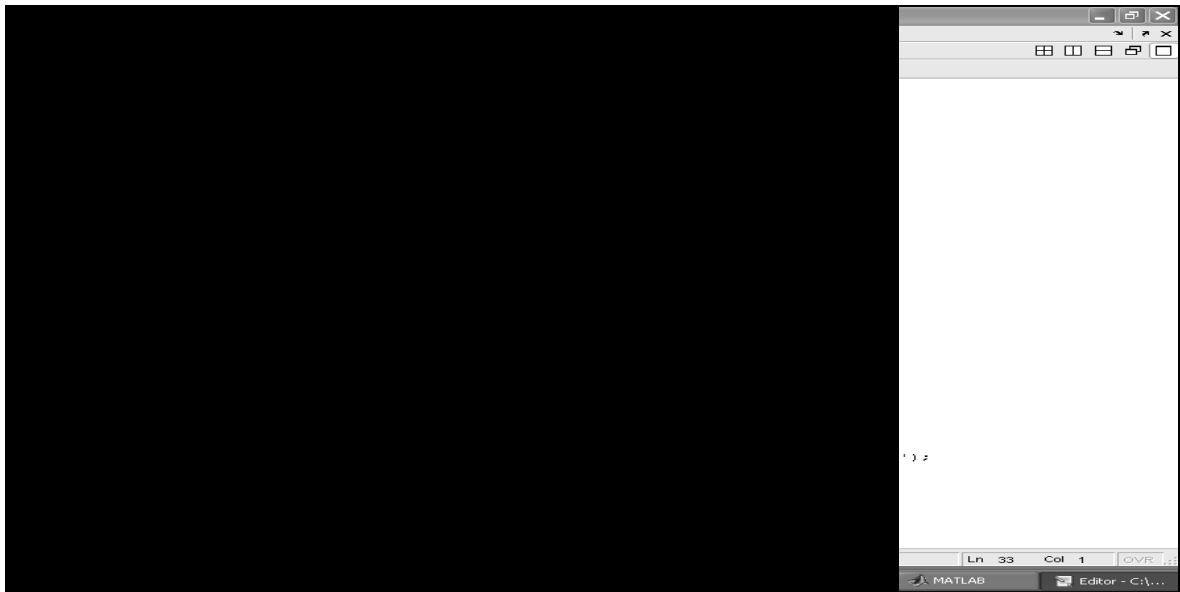
Se busca el programa ECG_Reanalice.m este consiste en abrir el archivo por su nombre, el cual llama a los programa picos y periodo para ir analizando la señal adquirida.



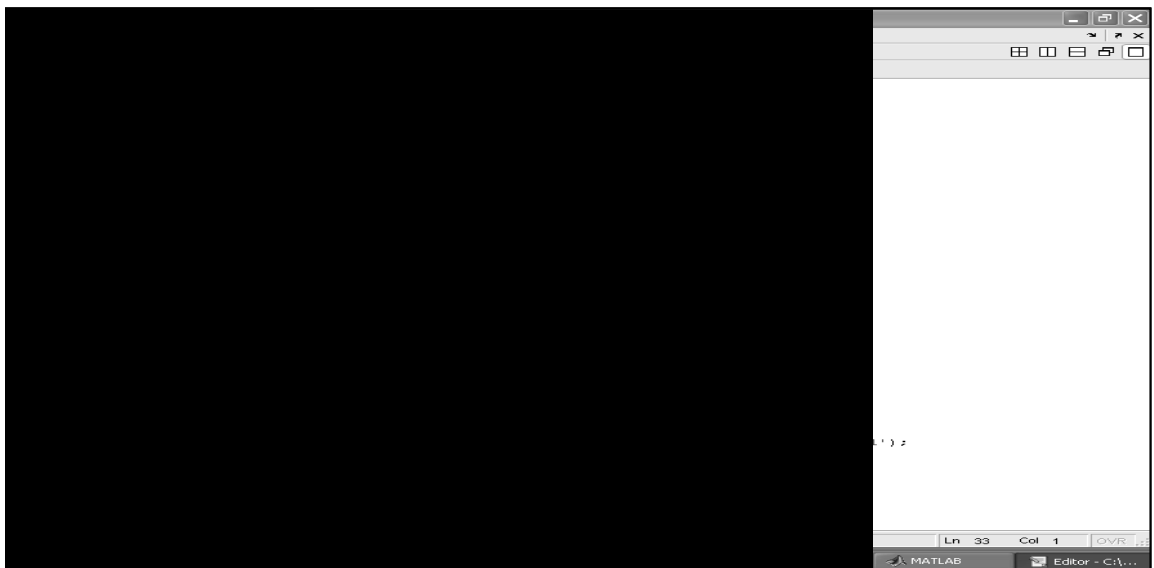
En la barra superior se le da clic en Debug y luego a Run para que el programa comience a trabajar.



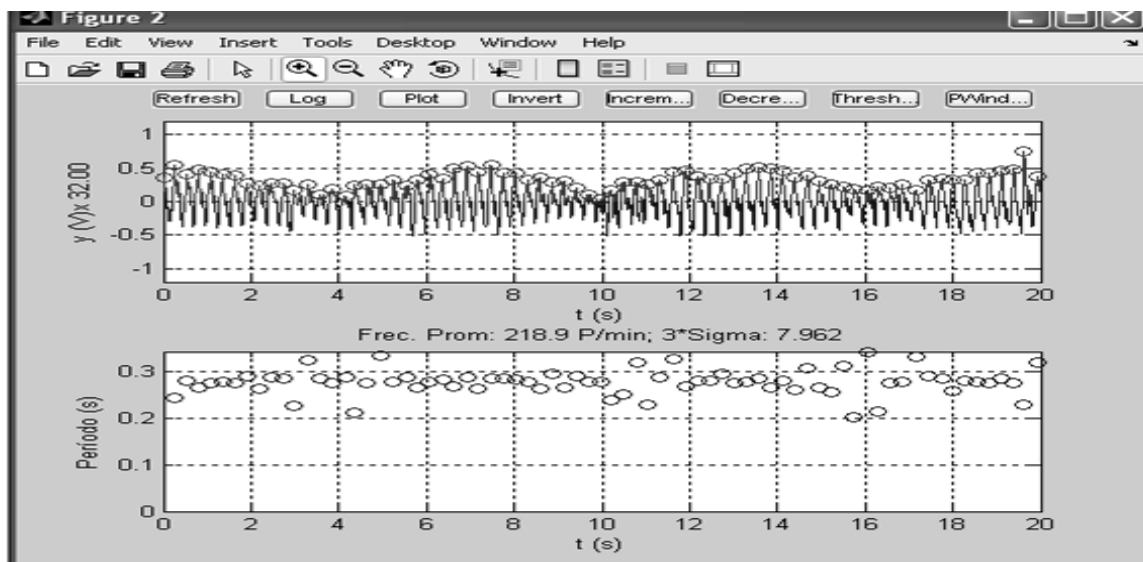
Este comienza abriendo una ventana pequeña para seleccionar la data y comenzar a procesarla.



Al abrir los datos, abre una ventana pequeña que indica el índice y esta comienza en 1.

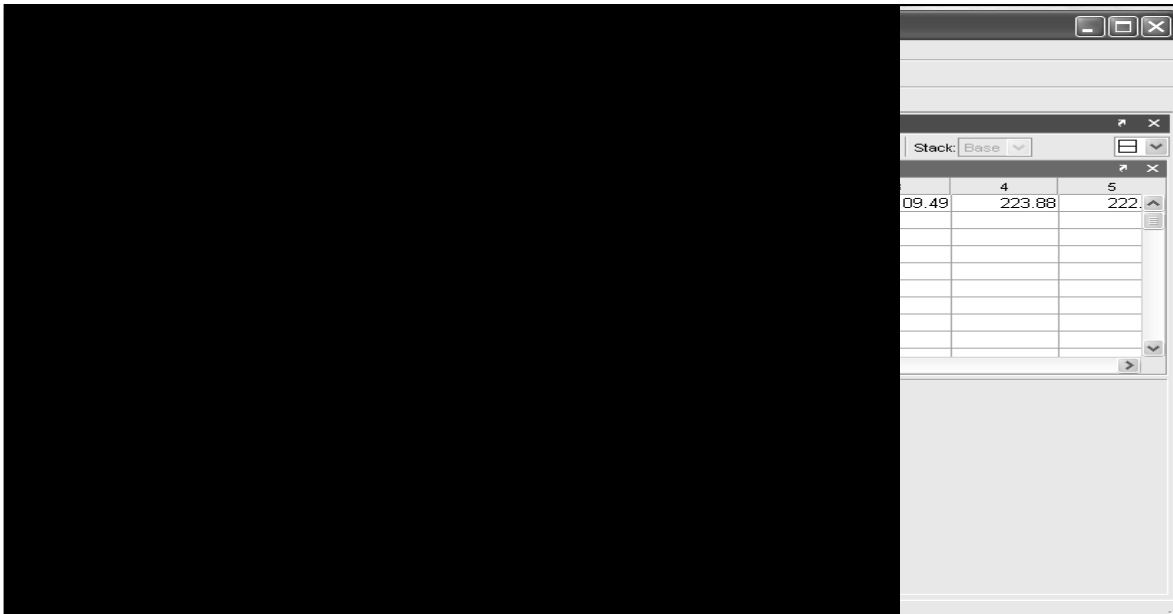


Luego, sale una ventana que te da la imagen de la señal con los picos máximos señalados, y otra con el periodo. Calcula la frecuencia promedio más tres veces la desviación estándar, todo esto tiene un tiempo de 20seg.

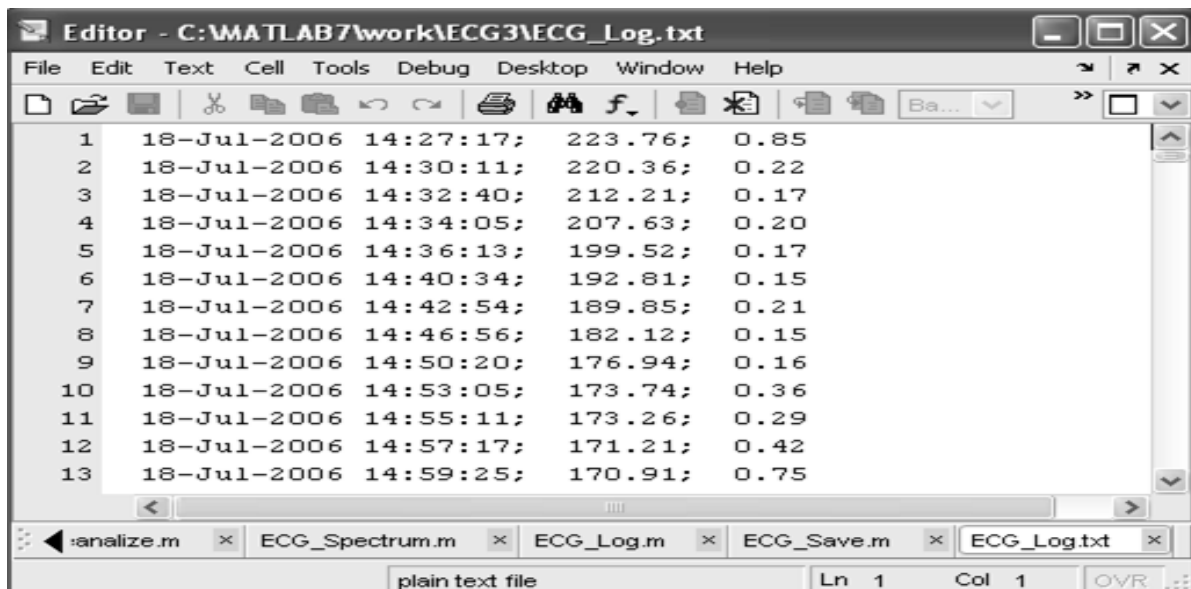


Esta ventana tiene varias funciones; hace que la señal crezca, decrezca, y guarde en un archivo .log todas las frecuencias promedios calculadas en los datos a procesar., con sus respectivas desviaciones estándar. Este programa se va a detener hasta que cumpla la condición de que $i = i + 1$; ($i = \text{índice}$).

Una vez analizado el archivo, aparece en el Workspace todos los resultados del procesamiento de la señal eléctrica del corazón del embrión, por ejemplo; la frecuencia promedio, el tiempo de registro, el número de la muestra, el número de la ventana, período, la desviación estándar, los datos, la distancia entre los R, los HR, y otros.

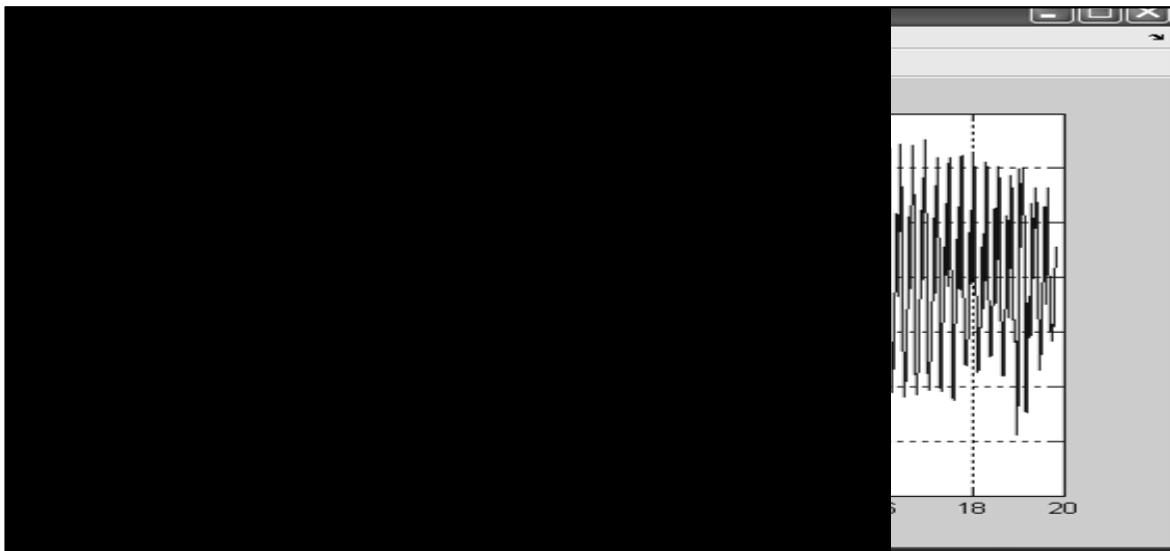


En el archivo ECG_log. Txt guarda el nombre del archivo, el tiempo la frecuencia promedio y su desviación estándar.

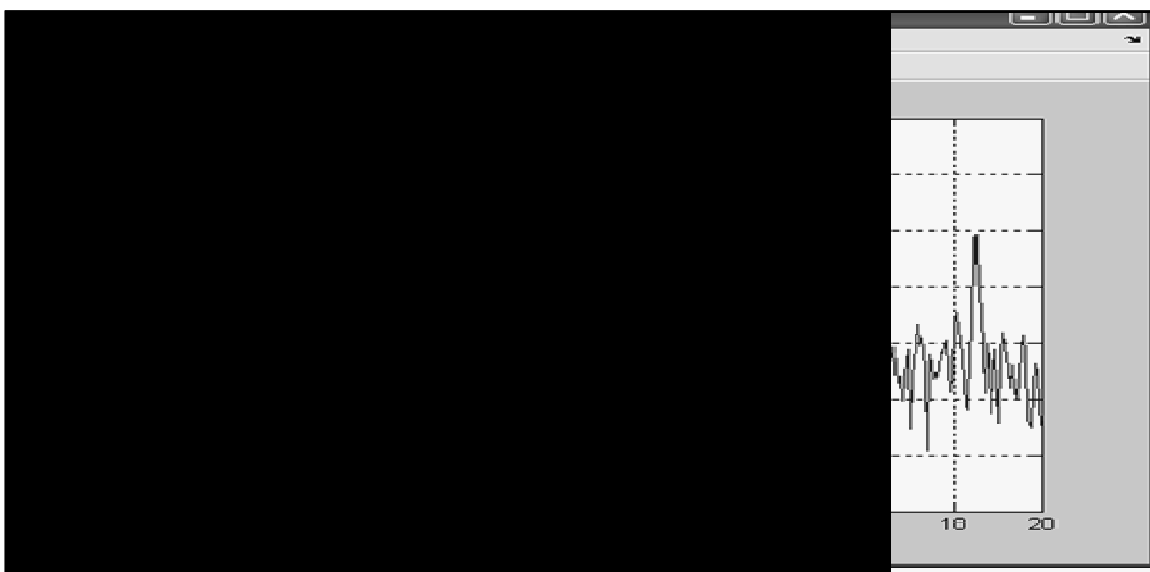


Para obtener el dominio del tiempo y la densidad del espectro se debe abrir el programa ECG_Spectrum.m, este se encarga de una vez analizada los datos, realizar la serie temporal, para luego aplicar la densidad espectral. Quedando así:

Serie Temporal



Densidad Espectral



Para calcular los parámetros del dominio del tiempo y la frecuencia se procedió hacer en un programa que calcula las siguientes variables:

Mean RR = media de los valores RR, una vez analizada los datos los valores que adquiridos fueron llevados a sacar un promedio.

rMSSD = la raíz cuadrada del promedio de la suma de los cuadrados de las primeras diferencias entre los intervalos RR.

SDRR = desviación estándar de todos los intervalos RR.

Pnn5 = porcentaje de los intervalos para más de 5 ms de los latidos.