

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 938 808**

21 Número de solicitud: 202130954

51 Int. Cl.:

**A61B 8/10** (2006.01)  
**A61B 8/08** (2006.01)  
**A61B 3/10** (2006.01)  
**G01N 29/24** (2006.01)  
**B06B 1/06** (2006.01)  
**H04R 17/00** (2006.01)

12

PATENTE DE INVENCION CON EXAMEN

B2

22 Fecha de presentación:

11.10.2021

43 Fecha de publicación de la solicitud:

14.04.2023

Fecha de concesión:

02.10.2023

45 Fecha de publicación de la concesión:

09.10.2023

73 Titular/es:

**UNIVERSIDAD DE GRANADA (90.0%)**  
**Hospital Real, Avda. del Hospicio s/n**  
**18071 Granada (Granada) ES y**  
**UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA (10.0%)**

72 Inventor/es:

**RUS CARLBORG, Guillermo y**  
**GONZÁLEZ ANDRADES, Miguel**

74 Agente/Representante:

**ESCUDERO PRIETO, Nicolás**

54 Título: **RECEPTOR ULTRASÓNICO DE ONDA TORSIONAL, DISPOSITIVO, PROCEDIMIENTOS Y USOS ASOCIADOS PARA LA EVALUACIÓN DE PROPIEDADES MECÁNICAS DE TEJIDOS CON SUPERFICIES CURVADAS**

57 Resumen:

Receptor ultrasónico de onda torsional, dispositivo, procedimientos y usos asociados para la evaluación de propiedades mecánicas de tejidos con superficies curvadas.

La presente invención se refiere a un receptor ultrasónico que recibe ondas de torsión procedentes de una muestra (1), que comprende: un anillo (7) receptor flexible acoplado acústicamente con la muestra (1); una o más ranuras perforadas en el anillo (7) receptor; y uno o más transductores (8) alojados en las una o más ranuras del anillo (7) receptor; estando conectados eléctricamente los uno o más transductores (8) al anillo (7) receptor mediante una capa de material conductor. La invención también comprende un dispositivo (2) que comprende: dicho receptor, un emisor (5) ultrasónico y una carcasa (12) que aloja tanto a emisor (5) como a receptor. Asimismo, se describe un procedimiento de medición de parámetros mecánicos de la muestra (1) empleando el dispositivo (2).

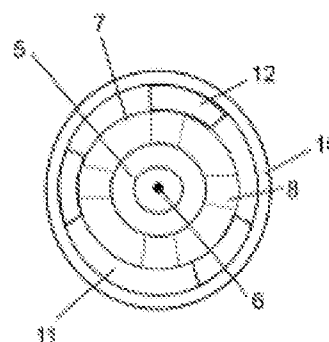


FIG. 2B

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 41 LP 24/2015. Dentro de los seis meses siguientes a la publicación de la concesión en el Boletín Oficial de la Propiedad Industrial cualquier persona podrá oponerse a la concesión. La oposición deberá dirigirse a la OEPM en escrito motivado y previo pago de la tasa correspondiente (art. 43 LP 24/2015).

ES 2 938 808 B2

## DESCRIPCIÓN

RECEPTOR ULTRASÓNICO DE ONDA TORSIONAL, DISPOSITIVO,  
PROCEDIMIENTOS Y USOS ASOCIADOS PARA LA EVALUACIÓN DE  
5 PROPIEDADES MECÁNICAS DE TEJIDOS CON SUPERFICIES CURVADAS

### CAMPO DE LA INVENCIÓN

La presente invención está relacionada con el campo de la elastografía, y más  
10 concretamente, el desarrollo de un dispositivo de emisión y recepción de ondas de  
torsión para la medición de propiedades biomecánicas. Su principal campo de  
aplicación es la evaluación de las propiedades biomecánicas de tejidos curvados o no  
planos, y preferentemente la evaluación del tejido corneal.

### 15 ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

La presente invención se enmarca en el campo de la evaluación de las propiedades  
mecánicas (por ejemplo, rigidez, módulo elástico y viscoelasticidad) de una muestra.  
Los métodos de medición de estas propiedades se dividen en dos grandes grupos: los  
20 destructivos y los no destructivos. Entre los primeros destacan los ensayos de tracción,  
que se basan en someter a una muestra a un esfuerzo axial de tracción creciente hasta  
que se produce su rotura. Por otro lado, los métodos no destructivos comprenden la  
elastografía, donde se aplican ondas mecánicas a la muestra y, a partir de mediciones  
cuando dichas ondas se propagan en la muestra, calcular los parámetros mecánicos  
25 (por ejemplo, mediante formalismos de problema inverso). En el ámbito de la presente  
invención, se particularizará la medición de propiedades mecánicas de la córnea.

Hoy día, se asume que las propiedades mecánicas de la córnea vienen definido casi  
exclusivamente por el estroma, mientras que otras capas de dicha córnea (por ejemplo,  
30 el endotelio) sólo sirven para controlar su transparencia mediante su estado de  
hidratación relativa. El principal componente al que se atribuye la estabilidad mecánica  
de la córnea es el colágeno, cuyas fibrillas están empaquetadas y dispuestas,  
formando laminillas apiladas orientadas. El entrelazamiento de laminillas y las fibrillas  
han sido reconocidos como los mecanismos que resisten las fuerzas de corte (cizalla)  
35 y tracción. Los cambios significativos en la organización de esta capa conducen a  
trastornos de la córnea, incluido su debilitamiento progresivo y generalizado, así como

la opacidad de la misma y la consiguiente pérdida de visión. Entre estos cambios destacan las quemaduras químicas en los ojos, queratocono y otros trastornos ectáticos; los cuales emergen como una prioridad debido a su incidencia y / o su gravedad e impacto en la calidad de vida del paciente. Las quemaduras por álcalis son las lesiones más peligrosas que pueden afectar al ojo debido a la alta penetración que estos reactivos químicos tienen en la superficie ocular, gracias a su alto nivel de pH. La exposición a álcalis causa lesiones graves tanto a las estructuras externas como la córnea, además de a las estructuras internas del ojo (como el cristalino). Estos productos químicos pueden incluso penetrar en la cámara anterior y dañar el cristalino (provocando la formación de cataratas), el cuerpo ciliar y la malla trabecular. El daño ocurrido depende del tiempo de exposición al químico, y muestra diferentes grados de severidad. Por lo general, el daño corneal conduce a una opacidad permanente del estroma, provocando la ceguera parcial o total de sujeto afectado.

Desde una perspectiva fisiológica, la función principal de la córnea, junto con el cristalino, es redirigir la luz a la retina. Mientras que el cristalino puede cambiar su geometría para mejorar el enfoque en objetos cercanos, la córnea tiene un enfoque fijo. Esto significa que patologías o alteraciones en la córnea que se manifiestan como cambios a nivel de microestructura afectan directamente su capacidad refractiva, principalmente modificando la potencia óptica (asociada a la distancia focal de la córnea) y la transparencia. Se cree que el diagnóstico precoz de estos estados podría lograrse mediante la evaluación de las propiedades mecánicas constitutivas, principalmente la elasticidad, ya que se ha demostrado que los cambios en estas propiedades ocurren antes que cualquiera de los cambios estructurales macroscópicamente visibles que se emplean para el diagnóstico habitual en la clínica, como se afirma por ejemplo en Vinciguerra et al. ["Biomechanical characterization of subclinical keratoconus without topographic or tomographic abnormalities", *J. Refract. Surg.*, 33, 399-407, (2017)].

Asimismo, dado que la córnea tiene un comportamiento viscoelástico, la relevancia de la medición de la viscosidad se ha evidenciado en estudios recientes y puede ser un importante parámetro de contraste. Se espera que las diferencias mecánicas entre las condiciones fisiológicas y fisiopatológicas sean lo suficientemente relevantes para ser incluidas en el diagnóstico y el diseño de tratamientos adaptados a cada paciente, cuya evolución podría monitorizarse e incluso predecirse. Por lo tanto, un cuidado visual eficaz podría estar respaldado por técnicas mecánicas cuantitativas fiables.

Hoy día, el estado de la técnica se centra en la cuantificación directa de propiedades mecánicas, ya que aún no se ha desarrollado suficientemente un enfoque multiescala, donde los cambios en la microestructura se utilizan para explicar las propiedades de la macroescala. El método in vivo más extendido para cuantificar la presión intraocular (PI) mediante tonometría sin contacto. La diferencia de presión entre los eventos de aplanamiento ocular proporciona dos índices de viscosidad y elasticidad, sin embargo, su valor predictivo no ha sido bien demostrado, ya que la estimación es una combinación de diversas variables geométricas y mecánicas. También es conocido que la tonometría implica altos desplazamientos para una correcta medición, lo que conduce a un régimen no lineal que está siendo ignorado en las mediciones actuales. Por ello, inspirándose en la elastografía pasiva, recientemente se propuso la elastografía de pulso ocular, véase Clayson, K. et al. ["Ocular pulse elastography: Imaging corneal biomechanical responses to simulated ocular pulse using Ultrasound". Transl. Vis. Sci. Technol. 9, 5–5, (2020)]. Mediante la simulación de la pulsación ocular a una frecuencia cardíaca típica en globos oculares ex vivo, se realizó un seguimiento de desplazamientos de alta frecuencia. Sin embargo, los movimientos oculares involuntarios introdujeron artefactos de ruido durante el posprocesamiento de las medidas, lo que generan incertidumbre en las mismas. Además, se verificó que una tensión relativa campo causado por un campo de tensión desconocido no podría considerarse una evaluación biomecánica cuantitativa fiable.

Otros dispositivos propuestos para hacer una evaluación biomecánica de la córnea se basaron en palpación remota por fuerza de radiación acústica para obtener mapas 2D de elasticidad. En estos dispositivos, se indujeron ondas de cizalla polarizadas dentro del campo de visión de un transductor, y luego los desplazamientos o se siguieron las velocidades a una alta frecuencia de cuadro a medida que se propagaban las ondas. La ventaja de este enfoque es su alta resolución ( $> 15$  MHz), generando imágenes de alta sensibilidad a nivel micrométrico. No obstante, actualmente es difícil diseñar una configuración clínica para su implementación in vivo, ya que el tiempo de escaneo podría tomar decenas de segundos o incluso minutos; y la caracterización y aplicación de la fuerza de radiación acústica de alta energía sigue siendo esquiva, especialmente debido a la geometría corneal delgada.

Por otro lado, la elastografía de coherencia óptica (ECO) se basa en mediciones de desplazamientos generados para calcular parámetros viscoelásticos teniendo en

cuenta la información de tensión o estrés ocular. Las principales ventajas de ECO son la resolución a microescala de las imágenes junto con la sensibilidad a microescala en la detección de movimiento, todo ello sin requerir el contacto con el ojo durante la medida. Aun así, también presenta limitaciones, entre las que destacan: la baja

5 profundidad de penetración (lo que no es un problema en la aplicación corneal, debido a sus reducidas dimensiones), tiempos de adquisición de imágenes prolongados (superiores a 3 min para una medida), baja tasa de fotogramas en las imágenes obtenidas y el hecho de que la estimulación repetida que podría provocar un sesgo debido a los efectos de relajación en el tejido ocular.

10

Pese a los esfuerzos realizados en este campo técnico, aún es necesario perfeccionar los dispositivos de elastografía ya que no se adaptan bien a la variedad de morfología ocular de los distintos animales y humanos.

15 A diferencia de otras muestras biológicas como el cérvix o el hígado (véase el sistema de elastografía ultrasónica empleado en Massó et al., “In Vivo Measurement of Cervical Elasticity on Pregnant Women by Torsional Wave Technique: A Preliminary Study”, *Sensors* 19, 3249, (2019)), la córnea exhibe una propagación de ondas mecánicas diferente donde cobra relevancia el guiado. En tal caso, para estimar las propiedades

20 elásticas hay que tener en cuenta la propagación de las ondas guiadas, si bien la relación entre la velocidad de grupo ( $C_s$ ) y el módulo de elasticidad transversal ( $E$ ) o módulo de cizalla no sigue la fórmula lineal clásica que se emplea para modelar órganos voluminosos, que es  $E = \rho C_s^2$  (siendo  $\rho$  la densidad de la muestra). Esto se debe a que las ondas de cizalla de mayor longitud de onda (menor frecuencia) se

25 propagan con diferentes modos que son reflejados constantemente por los contornos de la córnea, guiando las ondas en su camino durante la propagación en la muestra. Además, cuando el medio está limitado por un líquido, se crean las ondas de Lamb, que se propagan en todo el espesor de la muestra con baja atenuación. Si se considera el bajo rango de frecuencias en las que un dispositivo elastógrafo opera, el modo

30 antisimétrico A0 es el modo dominante, y la velocidad de la onda en la muestra viene dada, de acuerdo con Chen et al. [“High-Resolution Shear Wave Imaging of the Human Cornea Using a Dual-Element Transducer”. *Sensors*, 18, 4244, (2018)], por:

$$C(\omega) = \sqrt{\frac{\omega h C_s}{2\sqrt{3}}}$$

35

donde  $\omega$  es la frecuencia angular,  $h$  es el espesor de la muestra, y  $C_s$  es la velocidad de grupo calculada con la fórmula lineal clásica.

La presente invención soluciona las dificultades anteriores proporcionando un dispositivo de elastografía adecuado para la medición de propiedades biomecánicas de tejidos curvados o no planos, y preferentemente de la córnea, basado en ondas de torsión y que permite mediciones de forma no destructiva, cuantitativa y fiable. Con dicho dispositivo se pueden extraer propiedades biomecánicas de la muestra basándose en una expresión empírica de ondas de Lamb, sin exceder el límite de intensidad promediada en el tiempo de 17 mW/cm<sup>2</sup> fijado por la Administración de Medicamentos y Alimentos de los Estados Unidos (FDA) como umbral seguro para las aplicaciones oftalmológicas. Además, en comparación con otros dispositivos conocidos en el estado de la técnica, el dispositivo de la presente invención está adaptado a la morfología particular de la córnea, si bien su principio de aplicación es extrapolable a otros tejidos curvos, al permitir establecer contacto con una serie de puntos en el espacio simultáneamente, amoldándose a la muestra bajo estudio cuando ésta no es plana.

## DESCRIPCIÓN BREVE DE LA INVENCION

20

La presente invención se enmarca en el ámbito de la elastografía ultrasónica basados en ondas torsionales adaptado a la geometría del ojo humano y muy diferente de otros dispositivos del estado de la técnica cuyas geometrías no se adaptan bien a las complejas formas que posee la anatomía humana y animal. Concretamente, la presente invención es apropiada para muestras que no son planas, por ejemplo, una córnea u otras muestras con superficies curvadas como, por ejemplo, vasos arteriales durante la realización de procesos de cirugía.

Un primer objeto de la invención se refiere a un receptor ultrasónico adaptado para la recepción de ondas de torsión procedentes de una muestra, donde dicha muestra comprende una superficie curvada; estando caracterizado por que dicho receptor comprende:

- un anillo receptor, fabricado de un material acústicamente conductor y flexible, donde dicho anillo comprende una superficie adaptada para permitir el acoplamiento acústico con la superficie curvada de la muestra;
- una o más ranuras dispuestas en el anillo receptor; y

- uno o más transductores electromecánicos alojados en las una o más ranuras del anillo receptor; estando conectados eléctricamente los transductores al anillo receptor, mediante un material conductor. Los transductores electromecánicos son preferentemente de tipo polarizable y, más preferentemente, transductores de tipo  
5 piezoeléctrico o capacitivo.

En realizaciones preferentes del receptor ultrasónico de la invención, los transductores son de tipo piezoeléctrico (por ejemplo, de titanato zirconato de plomo, abreviado PZT de aquí en adelante, o bien de NCE51, un material piezoeléctrico de Noliac que  
10 presenta buenas propiedades acústicas para aplicaciones que requieren un alto factor de acoplo y alta sensibilidad de carga). Alternativamente, los transductores pueden ser de tipo capacitivo u otros tipos que permitan la conversión eficaz de las ondas de torsión en una señal eléctrica. En ciertas realizaciones aún más preferentes, se emplean transductores ultrasónicos capacitivos micromecanizados (en inglés  
15 abreviados como CMUT, "Capacitive micromachined ultrasonic transducer").

En ciertas realizaciones preferentes del receptor ultrasónico de la invención, cada transductor comprende adicionalmente uno o más electrodos aptos para recibir señales eléctricas y para su conexión a un instrumento de medida (por ejemplo, un  
20 osciloscopio, donde se visualizan y/o registran las señales). La conexión al instrumento de medida puede ser directa o previa amplificación de la señal eléctrica recibida en los electrodos con un amplificador. Las una o más ranuras del anillo receptor se emplean para el guiado de unos elementos cableados para las conexiones.

25 En realizaciones ventajosas del receptor ultrasónico de la invención, el anillo receptor está fabricado de material plástico biocompatible (por ejemplo, MED610, Stratasys Inc., Eden Prairie, MN, USA; o resinas de impresora 3D de estereolitografía) y es apto para recibir ondas de torsión procedentes de una muestra cuando el anillo receptor se encuentra en contacto con dicha muestra.

30

En realizaciones ventajosas del receptor ultrasónico de la invención, el diámetro interior del anillo receptor es inferior o igual a 15 mm, preferentemente inferior o igual a 13 mm y, aún más preferentemente, está comprendido entre 4-8 mm. Asimismo, el diámetro exterior del anillo receptor es, preferentemente, 1-4.5 mm mayor que el  
35 diámetro interior de dicho anillo.

Un segundo objeto de la presente invención se refiere a un dispositivo de elastografía ultrasónica para la emisión de ondas de torsión a una muestra y para la recepción de las ondas de torsión procedentes de dicha muestra, caracterizado por que comprende:

- Un receptor ultrasónico de la invención.

5 - Medios de generación de una o varias señales eléctricas de excitación, por ejemplo, un generador de señales. Los medios de generación de señal (señal de excitación) pueden comprender medios hardware/software para acondicionar la señal de excitación (amplificarla, filtrarla, etc.).

10 - Un emisor ultrasónico que comprende un actuador electromecánico conectado mediante una o más electrodos a los medios de generación de señal de excitación. Dicho actuador está adaptado para inducir la rotación del emisor en torno a un eje de rotación del actuador electromecánico al recibir las una o varias señales eléctricas de excitación. Dicho actuador comprende también una superficie de contacto adaptada para ser dispuesta en contacto con la muestra.

15 - Un elemento de sujeción y centrado del emisor, que delimita un espacio de alojamiento donde se inserta el emisor. Dicho elemento de sujeción y centrado del emisor está fabricado, preferiblemente, de un material no conductor eléctricamente y se emplea para ajustar el eje de rotación del actuador electromagnético del emisor dentro del espacio de alojamiento.

20 - Una carcasa que aloja el emisor, el receptor y el elemento de sujeción y centrado del emisor. La carcasa deja expuesta una de las caras del anillo receptor y la superficie de contacto del emisor. Una función de esta carcasa es mantener sustancialmente el alineamiento del eje de rotación.

- Uno o más atenuadores mecánicos dispuestos entre el anillo receptor y la carcasa.

25 Dichos atenuadores mecánicos (por ejemplo, elastómeros) se emplean para disipar la onda mecánica que se propaga por la carcasa.

30 - Medios de adquisición y almacenamiento de las señales recibidas en los electrodos del anillo receptor y del emisor de manera independiente. Estos medios de adquisición y almacenamiento comprenden, por ejemplo, una tarjeta digitalizadora o cualquier tipo de memoria digital. Estas señales almacenadas son las que nos permiten, mediante la aplicación de diversos algoritmos y la comparación de la señal de excitación y las señales recibidas en el anillo receptor, el cálculo de la velocidad de propagación de las ondas a través de la muestra y consecuentemente, la obtención de parámetros mecánicos de la muestra (rigidez, elasticidad, etc.).

35

El funcionamiento del dispositivo de elastografía ultrasónica según la presente



invención se explica como sigue. La superficie de contacto del emisor del dispositivo de la invención contacta con la capa más externa (por lo general, el epitelio) de la muestra (por ejemplo, una córnea, la cual puede recubrirse con una membrana para que el contacto no sea directo). El emisor se hace rotar y genera ondas de cizalla que se propagan simétricamente de manera radial y en profundidad en dicha muestra. El anillo receptor flexible se acopla a la curvatura de la córnea que actúa como muestra, y así recoge las ondas de cizalla que viajan a través de dicha muestra. A partir de dichas ondas se pueden derivar propiedades biomecánicas basándose en una expresión empírica de ondas de Lamb, lo cual es requerido ya que la geometría de la córnea está limitada por dos superficies que induce la propagación guiada de las ondas de cizalla.

En realizaciones preferentes del dispositivo de elastografía ultrasónica según la reivindicación anterior, el actuador electromecánico del emisor comprende un disco cuyo diámetro es entre 1-4.5 mm inferior al diámetro inferior del anillo receptor. Más preferentemente, dicho disco tiene un diámetro de 4 mm. Al igual que en el caso del anillo receptor, los contornos (o aristas) del disco del emisor son redondeados para no dañar la muestra.

En realizaciones preferentes del dispositivo de elastografía ultrasónica según la presente invención, la carcasa está fabricada de material rígido (por ejemplo, ácido poliláctico o PLA) y comprende una abertura para el guiado de conexiones del receptor y del emisor. Así, los electrodos de emisor y receptor van conectados mediante conexiones (cableado) a un instrumento de medida (por ejemplo, un osciloscopio). Preferentemente, la carcasa se fabrica mediante impresión 3D para que sus dimensiones sean adecuadas para alojar el resto de los elementos del dispositivo de elastografía de forma ajustada, manteniendo la alineación y centrado entre emisor y receptor.

Otras realizaciones preferentes del dispositivo de elastografía ultrasónica según la presente invención comprenden adicionalmente una jaula de Faraday recubriendo el actuador electromecánico del emisor, para eliminar el ruido eléctrico de la resonancia del emisor y del receptor. Esto mejora la calidad (señal a ruido) de las medidas tomadas con el dispositivo de elastografía.

35

En ciertas realizaciones preferentes del dispositivo de elastografía ultrasónica según

la presente invención, los electrodos de cada transductor poseen conexiones independientes entre sí; siendo dichas conexiones aptas para medir en ellas, mediante un instrumento de medida, una señal eléctrica obtenida con el dispositivo. Los electrodos de los transductores están unidos a dicho anillo receptor con resina conductora de plata.

Un tercer objeto de la presente invención comprende un sistema de elastografía ultrasónica que comprende el dispositivo de elastografía ultrasónica, y adicionalmente un módulo de posicionamiento para dicho dispositivo de elastografía ultrasónica, que comprende medios de control de la fuerza ejercida (por ejemplo, un sensor resistivo de fuerza, conectado con la carcasa) por el dispositivo en la muestra.

Un cuarto objeto de la presente invención es el procedimiento de medición de ondas de torsión en una muestra, para obtener parámetros mecánicos de una muestra con una superficie curvada, no plana (preferiblemente, una córnea, de curvatura semiesférica). Dicho procedimiento está caracterizado por que comprende la realización de los siguientes pasos, en cualquier orden técnicamente posible, empleando el dispositivo de elastografía ultrasónica de la presente invención:

a) Opcionalmente, recubrir la muestra con una membrana adaptada para la transmisión de ondas de torsión. Preferentemente, la membrana está realizada de uno o más materiales de base polimérica, como por ejemplo látex. Dichos materiales contribuyen a la citada transmisión de ondas de torsión, y además facilitan la asepsia durante su aplicación a los tejidos examinados.

b) Poner en contacto una de las caras del anillo receptor y la superficie de contacto del emisor con la membrana que recubre la muestra y conectar los electrodos de emisor y anillo receptor a un instrumento de medida (por ejemplo, mediante cable).

c) Polarizar los transductores en la dirección circunferencial, paralela a la superficie del anillo.

d) Emitir, mediante los medios de generación, una o más señales eléctricas de excitación para rotar el emisor e inducir una onda de torsión que atraviesa la muestra.

e) Recibir, a través de los electrodos de uno o más de los transductores, una o más señales eléctricas moduladas (distorsionadas) tras haber atravesado la muestra. Dichas señales están asociadas a las ondas de torsión propagadas a través de la muestra. Cuando los parámetros mecánicos que se quieren medir la muestra comprenden anisotropía, es necesario el uso de múltiples transductores. En caso contrario, con un único transductor es suficiente. No obstante, incluso cuando la

medida de anisotropía no es necesaria, es preferible emplear una pluralidad de transductores por estabilidad estructural del dispositivo de la invención.

f) Opcionalmente, amplificar la señal recibida en cada uno de los electrodos de los transductores mediante un preamplificador.

5 g) Adquirir y almacenar, mediante un instrumento de medida conectado a los electrodos de los transductores o al preamplificador (si se ha llevado a cabo el paso e) anterior) las una o más señales distorsionadas por la muestra; y adquirir y almacenar, mediante el instrumento de medida conectado a los uno o más electrodos del emisor, la señal de excitación. Con señales distorsionadas se hace referencia a que las ondas  
10 de torsión que se transmiten a la muestra mediante el emisor son distorsionadas o moduladas durante la propagación en la muestra.

h) Opcionalmente, repetir los pasos b)-g) una pluralidad de iteraciones y promediar las señales distorsionadas adquiridas en cada uno de los transductores.

15 En realizaciones preferentes del procedimiento de medición de ondas de torsión en una muestra según la presente invención, se lleva a cabo un paso de calibración previo a la medición con el fin de tener en cuenta el tipo de membrana seleccionada para recubrir la muestra. Así, primero se lleva a cabo una medición con el dispositivo de la invención en vacío, sin colocar la muestra y sólo midiendo la membrana: así se obtiene  
20 una señal de calibración. Posteriormente, una vez se hace la medición con la muestra recubierta por dicha membrana, se resta la señal de calibración a las señales temporales registradas con el dispositivo de la invención, para compensar el efecto de la membrana.

25 En realizaciones preferentes del procedimiento de medición de ondas de torsión en una muestra según la presente invención, la señal eléctrica empleada como excitación es una señal oscilatoria, más preferentemente una señal sinusoidal y aún más preferentemente, una señal senoidal. En realizaciones aún más preferentes, la señal de excitación, generada por los medios de generación de señal de excitación, es  
30 sinusoidal y de frecuencia entre 200-10000 Hz, y más preferiblemente entre 600-1000 Hz.

Un quinto objeto de la presente invención es el uso del dispositivo de elastografía ultrasónica basado en ondas de torsión para una de las siguientes aplicaciones:  
35 medición de propiedades mecánicas de la córnea, diagnóstico de queratocono, evaluación de quemaduras químicas en córnea, o detección de envejecimiento de la

córnea. De esta manera, algunos usos del dispositivo de la invención comprenden la implementación in vivo de técnicas acústicas para mejorar la detección temprana de ectasia, evaluación de córneas dañadas por diferentes agresiones (por ejemplo, quemaduras químicas, córneas inflamación y fibrosis, etc.), conseguir una mayor personalización del tratamiento corneal, evaluación de la presión intraocular adecuadamente mediante parámetros biomecánicos corneales, o la evaluación de córneas artificiales. También, el dispositivo de la invención puede ser aplicado al diagnóstico de patologías como queratocono, a través de mediciones de rigidez y viscosidad a cizalla. Gracias a la monitorización regular con el dispositivo de la invención se pueden obtener parámetros mecánicos indicativos de degeneración o envejecimiento de la córnea. Por lo tanto, este dispositivo y la elastografía de ondas de torsión en que se basa tienen el potencial de integrarse en los procedimientos convencionales de examen corneal convencionales, como la tonometría o la paquimetría corneal.

15

## **DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS**

Para completar la descripción de la invención se proporciona un conjunto de figuras, que forman parte integral de la descripción e ilustran una realización preferente de la invención. Dichas figuras deben interpretarse de modo ilustrativo, no limitativo, y se detallan a continuación.

20

La Figura 1A corresponde a una vista del emisor ultrasónico del dispositivo de la invención, mientras que la Figura 1B ilustra cómo se emplazaría dicho emisor en el anillo receptor del dispositivo de la invención. En la Figura 1B, se ha hecho un corte transversal en el anillo receptor, para que se pueda visualizar la disposición del emisor en su interior.

25

La Figura 2A muestra dos vistas tridimensionales del anillo receptor del dispositivo de la invención, mientras que la Figura 2B corresponde a una visión cenital de dicho dispositivo.

30

La Figura 3 muestra diversas vistas del elemento de sujeción y centrado del emisor del dispositivo de la invención. El emisor del dispositivo de la invención se inserta en dicho elemento de sujeción y centrado.

35

La Figura 4 ilustra una realización posible de la carcasa del dispositivo de la invención.

La Figura 5 corresponde con el equipo experimental necesario para caracterizar una muestra (por ejemplo, córnea) mediante el dispositivo de la invención.

5

La Figura 6 corresponde con el equipo experimental necesario para implementar el sistema según la presente invención, que comprende el equipo experimental de la Figura 5 y el módulo de posicionamiento para posicionar adecuadamente el dispositivo de la invención en la muestra para la medición de parámetros mecánicos.

10

La Figura 7 corresponde a los resultados de elasticidad obtenidos con el dispositivo de la invención, basado en ondas de torsión. En esta Figura 7 se muestran los diagramas de bigotes y cajas (boxplot) para cada tratamiento considerado en las muestras. Se encontraron diferencias muy significativas entre el grupo tratado con NaOH y los otros; pero estas diferencias no fueron muy significativas entre los grupos de control y NH<sub>4</sub>OH.

15

La Figura 8 representa las curvas de dispersión de la velocidad de cizalla para cada grupo considerado. La velocidad de la onda de Lamb empírica se marca cada 100 Hz. Las líneas corresponden a los ajustes lineales de cada grupo de muestra al modelo de Kelvin-Voigt.

20

La Figura 9 muestra la curva de tensión-deformación que exhiben típicamente las muestras del grupo de control. La primera región, caracterizada por una pendiente K1, es en la que la respuesta mecánica no está dominada por la composición de colágeno de la muestra.

25

La Figura 10 muestra las curvas de tensión-deformación típicas en función del grupo de muestra considerado. El máximo estrés (o tensión) aplicado en cada caso corresponde al punto de ruptura de las muestras durante el ensayo de tracción.

30

La Figura 11 ilustra el diagrama de cajas y bigotes ("boxplot") de la elasticidad para las muestras tratadas con álcalis y las muestras de control, medidas tanto con el dispositivo de la invención (mediante ondas de torsión) como con el ensayo de tracción.

35

Las citadas Figuras 1-11 se acompañan de una serie de referencias numéricas, correspondientes a los siguientes elementos:

- (1) Muestra.
- 5 (1') Superficie curvada de la muestra.
- (2) Dispositivo de elastografía ultrasónica de la invención.
- (3) Ordenador.
- (4) Convertidor analógico-digital/digital-analógico.
- (4') Amplificador.
- 10 (5) Emisor.
- (5') Actuador electromecánico del emisor.
- (5'') Medios de soporte del emisor.
- (5''') Disco del emisor.
- (5'''' ) Superficie de contacto del emisor.
- 15 (6) Eje de rotación del emisor.
- (7) Anillo receptor.
- (8) Transductores.
- (9) Elemento de sujeción y centrado del emisor.
- (9') Saliente.
- 20 (10) Carcasa.
- (10') Abertura.
- (11) Espacio de alojamiento de la carcasa.
- (12) Atenuadores.
- (13) Preamplificador.
- 25 (14) Módulo de posicionamiento.
- (14') Brazo robótico.
- (14'') Motor.
- (14''') Microcontrolador.

### 30 DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCÓN

#### DEFINICIONES

- 35 - "Muestra" se refiere al material, preferiblemente un tejido blando, a través del cual se propagan las ondas emitidas por el sensor para analizar su microestructura (elasticidad, viscoelasticidad, rigidez, etc.). En el ámbito de

esta invención, la muestra se refiere a material biológico que presenta una superficie sustancialmente curvada, preferiblemente córneas, si bien el dispositivo de la invención también es útil para otro tipo de muestras que presenten formas no planas.

5

- Los “medios de generación de señales de excitación” se entienden como dispositivos capaces de generar ondas o señales eléctricas, siendo dichas señales eléctricas unas magnitudes que varía en el tiempo (no necesariamente de forma periódica) y que pueden adoptar diversas formas de onda (sinusoidales, triangulares, diente de sierra, etc.). Un ejemplo de medios de generación de señales podría ser un osciloscopio.

10

- Material biocompatible es aquel que no degrada la muestra biológica medido. En particular, los materiales biocompatibles empleados en esta invención deben ser preferentemente esterilizables.

15

- El término “material conductor” o “material no conductor” hace referencia a la conductividad eléctrica de los mismos.

20

- El término “material acústicamente conductor” permitiendo la transmisión de las ondas ultrasónicas eficazmente. En el ámbito de esta invención, se consideran algunos ejemplos de este tipo de materiales algunos fotopolímeros como PolyJet biocompatible MED610, resina de estereolitografía (SLA) o resina de sinterización selectiva por láser (SLS), entre otros con propiedades acústicas similares (impedancia acústica, atenuación, etc.).

25

- El acoplamiento acústico entre dos materiales se entenderá como aquella que permite la propagación de ondas mecánicas, preferentemente ultrasónicas, entre ambos.

30

- El término anillo hace alusión a un elemento con una geometría similar a la de un toroide de revolución generado por una superficie sensiblemente rectangular.

35

- El término “anillo receptor” hace referencia a un anillo que actúa como receptor de ondas mecánicas, preferentemente ultrasónicas.

- En el contexto de la presente invención, se entenderá el concepto de “ultrasonido” en sentido amplio, siendo equivalente a onda mecánica de cualquier naturaleza, incluyendo tanto las ondas primarias P (puramente acústicas) como las ondas secundarias S. Además, “ultrasonido” abarcará ondas mecánicas sin restringirse al espectro de frecuencias estándar (mayores de 20 KHz), sino que podrá generalizarse a otro rango de frecuencias, incluidas aquellas que son audibles.
- En esta invención, el término ordenador englobará a cualquier dispositivo electrónico con capacidad para ejecutar instrucciones lógicas y equipado con medios de procesamiento de información.
- En el ámbito de la invención, se entenderá asimismo la expresión “sustancialmente” como idéntica, o comprendida en un margen de variación de  $\pm 5\%$ .

### **EJEMPLO DE REALIZACIÓN DE LA INVENCION**

La presente invención corresponde a un dispositivo de elastografía ultrasónica basado en ondas torsionales (de cizallamiento), apto para la medición de propiedades biomecánicas de una muestra (1). Este dispositivo está optimizado para medir ondas de cizallamiento, minimizando la contribución de ondas longitudinales espurias. Principalmente, los ejemplos descritos a continuación hacen referencia a muestras (1) de córnea. No obstante, cabe destacar que esta aplicación no es limitante y el dispositivo de la invención puede emplearse en otros especímenes de tejido.

El dispositivo (2) de la invención es apto para la emisión de ondas de torsión y la recepción de estas, una vez han atravesado la muestra. Se propone, de forma no excluyente, una realización preferente del dispositivo (2) con las siguientes dimensiones y materiales, que comprende:

- Medios de generación de señales eléctricas de excitación, incluyendo los medios hardware/software (amplificadores de señal, filtros analógicos o digitales) necesarios para acondicionar una o más señales de excitación. En este caso, se ha empleado un ordenador (3) para enviar una orden de control a un convertidor (4) analógico-digital/digital analógico que comprende un



5 generador de señales integrado. Así, tras recibir la orden de control, el generador de señales del convertidor (4) genera una señal de excitación, la cual es digitalizada y enviada a un amplificador (4'). Dicho amplificador (4') amplifica la señal de excitación y la transmite a un emisor (5) ultrasónico del dispositivo (2) de la invención.

- 10 - Un emisor (5) ultrasónico (véase Figura 1A y Figura 1B) apto para generar ondas de torsión en una muestra (1) por contacto directo que se propagan simétricamente de forma guiada a lo largo del espesor de la muestra (1). El emisor (5) ultrasónico comprende un actuador (5') electromecánico y unos medios de soporte (5'') o plataforma que proporciona integridad mecánica. A su vez, el actuador (5') comprende un disco (5''') con una superficie (5'''' de contacto (que tiene un diámetro de 4 mm) adaptada para transmitir ondas de torsión a una muestra (1) mediante contacto directo; y dicho actuador (5') rota  
15 alrededor de un eje (6) de rotación del emisor (5). Las ondas de torsión se generan haciendo rotar el actuador (5') electromecánico del emisor (5) al aplicarle las una o más señales de excitación generadas con los medios de generación de señales eléctricas de excitación. Así, se transmite la rotación oscilatoria (onda de torsión) a la muestra (1) a través de la superficie (5'''' de contacto. Además, el emisor (5) comprende al menos un electrodo que luego  
20 se cablea hacia un instrumento de medida, para poder registrar la señal de excitación que ha recibido dicho emisor (5). Cabe destacar que el emisor (5) tiene los contornos redondeados para no dañar la muestra (1).
  
- 25 - Un anillo receptor (7) flexible (véase Figuras 1B y 2A), adaptado para la recepción de ondas de torsión que han atravesado la muestra. Este anillo (7) comprende una cara cuya curvatura está adaptada en función de la morfología de las muestras (en este caso córneas). Los valores de los diámetros (tanto diámetro interior como diámetro exterior) del anillo (7) se han escogido para  
30 que cubran por completo la forma de la córnea: el diámetro interior es 8.9 mm de y el diámetro exterior es de 13 mm. El espesor del anillo (7) receptor es variable y se adapta a la superficie (1') curvada de la muestra (1). Además, es destacable que dicho anillo (7) tiene los contornos redondeados para no dañar la muestra (1). La geometría del anillo receptor se ha diseñado debido al valor  
35 promedio del diámetro estándar de córneas de cerdo y de humanos, que son las muestras con los que se ha testado el dispositivo. La geometría del anillo

(7) debe adaptarse a la morfología la muestra de modo que no haya huecos cuando se haga contacto y el acoplamiento acústico entre la superficie (5''') de contacto del emisor (5) y la muestra (1) (o la membrana que recubra dicha muestra) sea óptimo. El anillo (7) receptor está fabricado en material plástico, preferentemente fotopolímero biocompatible (por ejemplo, MED610, Stratasys Inc., Eden Prairie, MN, USA). El anillo (7) receptor comprende cuatro ranuras y uno o más electrodos, que luego son cableados hacia un instrumento de medida (por ejemplo, un osciloscopio o un convertidor analógico-digital/digital-analógico conectado a un ordenador), para el registro de las señales eléctricas recibidas en el anillo (7) receptor asociadas a las ondas de torsión.

- Cuatro transductores (8), particularmente fabricados de cerámica piezoeléctrica de titanato zirconato de plomo (abreviado PZT de aquí en adelante), PZT-4 o PZT-5, con dimensiones 1.5 x 1.5 x 2.5 mm, que son fijados al anillo. En este caso se han dispuesto cuatro transductores (8), cada 90° en el anillo (7) receptor, por estabilidad estructural del conjunto del dispositivo (2). Los cuatro transductores, que operan en modo de cizallamiento, se alojan en las cuatro ranuras del anillo receptor. Además, los transductores (8) están soldados entre sí, de modo que actúan como un único canal de medida para la recepción de ondas de torsión procedentes de la muestra (1) Los transductores (8) piezoeléctricos se conectan con el anillo (7) receptor mediante una resina conductora. Estos transductores (8) piezoeléctricos están polarizados en la dirección circunferencial, en paralelo a la superficie del anillo (7) receptor, mientras que unos electrodos están ubicados en la unión entre los transductores (8) piezoeléctricos y la cara interior del anillo. Cada uno de los transductores (8) comprende adicionalmente uno o más electrodos aptos para recibir señales eléctricas y para su conexión a un instrumento de medida. De esta manera, las ondas de torsión recibidas en el anillo (7) receptor son convertidas en señales eléctricas por los transductores (8), y dichas señales eléctricas son detectadas en los electrodos (que actúan como puntos de medición o canales de salida) del anillo (7) receptor. Dichos electrodos son cableados hacia un instrumento de medida (por ejemplo, el convertidor (4) analógico-digital/digital-analógico para adquirir dichas señales o un osciloscopio para visualizar la señal recibida una vez ha sido distorsionada por la muestra (1). Los huecos entre las ranuras del anillo (7) receptor servirán para guiar el cableado necesario para las conexiones del emisor (5) y del propio

anillo (7) receptor. En la Figura 2B, vista superior del dispositivo, se observa cómo el emisor (5) queda alojado en el interior del anillo (7) receptor y cómo se distribuyen los transductores (8).

- 5 - Un elemento (9) de sujeción y centrado del emisor (véase la Figura 3), que aporta estabilidad y posee una serie de ranuras para guiar los cables provenientes de los transductores (8) (no se muestran los cables en la Figura 3, en aras de la claridad). El elemento (9) de sujeción y centrado del emisor cumple dos funciones: por un lado, centrar el emisor (5) respecto del anillo (7)
- 10 receptor; y por otro, darle robustez al ensamblaje final. Asimismo, el elemento (9) de sujeción y centrado del emisor (5) permite ajustar el eje (6) de rotación del emisor (5). Por otro lado, la parte central del elemento (9) de sujeción y centrado del emisor (5) tiene un saliente (9') redondeado para poder insertar una membrana higiénica esterilizada para cada muestra (1), manteniendo el
- 15 acoplo acústico entre muestra (1), membrana y superficie (5''') de contacto del emisor (5). Mediante el anillo (7) receptor flexible se fija esta membrana y el saliente (9') hace de tope para evitar que dicha membrana se separe de la muestra (1). Un ejemplo de estos materiales esterilizables aptos para la membrana es látex, que además es apropiado para la transmisión de ondas de
- 20 torsión y permite un acoplamiento acústico apropiado con la muestra (1).
- Una carcasa (10), adaptada a las dimensiones del dispositivo de la invención, fabricada en ácido poliláctico (PLA) u otro material de rigidez similar. Dicha carcasa (10) comprende una abertura (10') y un espacio (11) de alojamiento
- 25 donde se aloja la totalidad del dispositivo (2), incluyendo el emisor (5), el receptor y el elemento (9) de sujeción y centrado del emisor (5), salvo la superficie (5''') de contacto del emisor (5) y una de las caras del anillo (7) receptor, que quedan expuestas para poder hacer contacto con la muestra (1). La Figura 4 comprende una realización de dicha carcasa (10). La carcasa (10)
- 30 evita el enmascarado de las ondas de cizalla (ondas S) debido a las ondas primarias (P). De esta manera, la medición de parámetros mecánicos con el dispositivo (2) basada en la velocidad de propagación de las ondas de cizalla en la muestra (1), es más fiable. En los tejidos blandos, es el módulo de cizalla el que varía de manera significativa en función de modificaciones de la
- 35 microestructura de dicho tejido. Por ello, se requiere también que los transductores (8) exhiban una alta sensibilidad a la detección de ondas S.

- 5                   - Uno o más atenuadores (12) mecánicos (elastómeros) que se ubican en el espacio (11) de alojamiento de la carcasa y se fijan por presión mecánica al ensamblar la carcasa (10), el emisor (5) y el anillo (7) receptor. Los atenuadores (12), como se muestra en la Figura 2B, se colocan a presión entre la carcasa (10) y el anillo (7) receptor. Los atenuadores (12) permiten minimizar el cross-talk y el registro de ondas compresionales no deseadas, ya que no aportan la información necesaria de la microestructura de la muestra (1).
  
- 10                  - Medios de adquisición y almacenamiento de las señales emitidas en el/los electrodo/s del emisor (5) y las señales recibidas en los electrodos de los transductores (8) del anillo (7) receptor. Estos medios de adquisición y almacenamiento comprenden un preamplificador (13), que amplifica la señal recibida en los electrodos de los transductores (8) ya que su amplitud suele ser pequeña. Posteriormente, se emplea el convertidor (4) analógico-digital/digital-analógico para su adaptación y posterior almacenamiento en el ordenador (3). Estos medios de adquisición y almacenamiento de las señales se muestran en la Figura 5, donde se observa también que el ordenador (3) y el convertidor (4) analógico-digital/digital-analógico pueden emplearse simultáneamente tanto para la generación de la señal de excitación como para la adquisición de las  
15                   señales (tanto la adquisición de las señales recibidas en los transductores (8)  
20                   como la adquisición de la señal de excitación).

El convertidor (4) analógico-digital/digital-analógico es multicanal, con 24 bits y una frecuencia de muestreo de 192 kHz para generar y registrar la información de las  
25                   señales recibidas en los transductores (8), estando dichas señales asociadas a las ondas de torsión que se han propagado a través de la muestra (1). Esta frecuencia de muestreo aumenta la sensibilidad del límite de velocidad máxima de la onda en comparación con otras modalidades de elastografía ultrasónica. El convertidor (4) de digital a analógico emite un solo pulso sinusoidal y está conectado a un amplificador  
30                   (4'). Inmediatamente después se lleva a cabo el registro de la señal eléctrica de los transductores (8) del anillo (7) receptor mediante un preamplificador (13) con 40 dB de ganancia), para llegar al convertidor (4), tal como se ilustra en la Figura 5.

El procesamiento de la señal adquirida con el dispositivo (2) comprende la aplicación  
35                   de un filtro de paso bajo de 5 kHz de frecuencia de corte para eliminar la fluctuación de fase de alta frecuencia. Para reducir el ruido aleatorio, la señal resultante consistió

en un promedio de 16 señales, adquiridas en intervalos de tiempo de 200 ms, para un tiempo total medido de 3,2 segundos. Antes de medir cada muestra (1), se tomó una señal de calibración (sin muestra) para contrarrestar los efectos de la diafonía (cross-talk o ruido mecánico).

5

Una vez se dispone de las medidas procedentes de las ondas de torsión que se han propagado por la muestra (1), se ejecuta en el ordenador (3) un algoritmo para calcular la velocidad de la onda de cizalla de grupo, donde se estima el inicio teórico de la señal recibida y se emplea como tiempo de vuelo. Gracias al tiempo de recorrido medido entre la señal emitida por el emisor (5) y la señal recibida en uno o más de los transductores (8) del anillo (7) receptor se pueden deducir parámetros mecánicos de la muestra (rigidez, elasticidad, viscoelasticidad). Cabe destacar que la velocidad que se estima es una velocidad de grupo. No obstante, como se observa mediante la obtención del espectro de potencia, las mediciones suelen presentar una frecuencia predominante, por lo que para dicha frecuencia la velocidad se puede considerar igual a la velocidad de fase.

El diseño y dimensiones de la realización anterior del dispositivo (2) han sido optimizados mediante un programa de cálculo por elementos finitos, con el fin de maximizar la relación señal a ruido (SNR) de las medidas de la señal distorsionada en los transductores (8) del anillo (7) receptor tras atravesar la muestra (1).

Como también se observa en la Figura 5, la superficie (5'') de contacto del emisor (5) del dispositivo (2) de la invención debe englobar a la muestra (1), debiendo contactar con dicha muestra (1), o con una membrana que la recubre, a través de la aplicación de una presión moderada (entre 10-50 gramos, y más preferentemente, 20 gramos). Los desplazamientos originados en la muestra (1) debido a las ondas de torsión se miden mediante un escáner ultrasónico ultrarrápido (Vantage 128, Verasonics Inc., Redmond, WA, USA) que es capaz de medir la propagación de ondas en la muestra (1) a una frecuencia de 12.5 KHz, cuando se emplea un transductor de 7.6 MHz ubicado en el plano perpendicular al eje (6) del emisor (5). Cabe destacar que se asume un régimen lineal de desplazamientos, ya que el máximo desplazamiento registrado en el grupo de control de muestras (1) fue de 10  $\mu\text{m}$ .

Adicionalmente, el dispositivo de la invención se integra en un sistema de la invención (véase la Figura 6), que comprende también el módulo (14) de posicionamiento del

dispositivo (2) de la invención para medir la muestra (1) apropiadamente. Cabe destacar que, en este caso, la muestra (1) presenta una superficie (1') curvada, por lo que el módulo (14) de posicionamiento se fija en un soporte médico como los utilizados habitualmente en oftalmología que permite el buen posicionamiento de la cabeza del paciente. El módulo (14) de posicionamiento comprende: un brazo (14') robótico articulado y móvil, conectado al dispositivo (2) de la invención y configurado para colocar dicho dispositivo (2) ante la muestra (1) a medir; un motor (14'') conectado a dicho brazo (14') robótico y configurado para desplazar dicho brazo (14') a una posición adecuada; y un microcontrolador (14''') conectado al ordenador (3) y al brazo (14'), estando configurado dicho microcontrolador (14''') para recibir órdenes de control para mover el motor (14'') y el brazo (14'). A efectos de prueba, se emplean muestras de córnea de cerdo colocadas en un maniquí de poliestireno con dimensiones estándar de una cabeza humana. El módulo (14) de posicionamiento está configurado también para verificar la fuerza de contacto entre la superficie de contacto del emisor (5) y la muestra (1) de córnea. Para ello, se dispone de un sensor resistivo de fuerza conectado con la carcasa (10) y con el maniquí, para poder detectar la presión que ejerce el dispositivo (2) sobre la muestra durante la medida. El brazo robótico articulado regulado por el motor (14'') del módulo (14) de posicionamiento (servomotor) que se desplaza en un carril de desplazamiento, de manera que dicha presión sea moderada. Al mismo tiempo, debe asegurarse el acoplamiento acústico entre la superficie (5''') de contacto del emisor (5) y la muestra (1). El módulo (14) de posicionamiento también comprende un sensor de fin de carrera, de modo que cuando se alcanza una determinada posición se bloquea el desplazamiento del brazo (14') robótico para evitar daños en la muestra (1).

25

#### Muestras (1) para los ensayos experimentales

Para validar la funcionalidad del dispositivo (2), se realizaron mediciones en córneas porcinas ex vivo, considerando cinco grupos de muestras (1): un primer grupo de control, y los otros cuatro sujetos a diferentes tratamientos de quemaduras alcalinas que modificaron las propiedades mecánicas corneales. Las propiedades biomecánicas de las córneas de muestra (1) fueron medidas con el dispositivo (2) de la invención y después, fueron sometidas a una prueba de tracción (método destructivo) con el fin de comparar las medidas no destructivas obtenidas con el dispositivo de la invención y las medidas destructivas. De esta manera, se buscarán tendencias de la estimación de distintas propiedades biomecánicas con el dispositivo (2) de la invención. Los

35

resultados experimentales que se detallarán a continuación mostraron evidencia de que el dispositivo (2) es capaz de discernir diferentes estados mecánicos, lo que lo hace apropiado para ser testado en condiciones in vivo dada su simplicidad metodológica y rápida reconstrucción de parámetros biomecánicos de la muestra.

5

En lo referente a la selección de las muestras (1) de córnea porcina, se enuclearon inmediatamente post-mortem y se introdujeron en una solución salina tamponada con fosfato (PBS, con PH de 7.4) hasta el momento de ser medidas, con el fin de prevenir la deshidratación de las mismas. Para inducir cambios en las propiedades mecánicas de las muestras, se emplearon diversas soluciones álcalis que inducen quemaduras y que modifican la estructura del estroma. Las soluciones álcalis se escogieron entre aquellas que más frecuentemente se observan en pacientes que sufren quemaduras químicas oculares. Entre dichas soluciones, se emplearon:

- 15
- Solución de hidróxido de sodio al 1.5 M (NaOH), que simula la quemadura química más agresiva que sufre el ojo cuando es expuesto a sosa cáustica.
  - Solución de hidróxido de amonio 3mM (NH<sub>4</sub>OH, diluido al 10%), siendo este elemento frecuente en fertilizantes y en productos de limpieza.

20

Ambas soluciones se prepararon en agua ultrapura Mili-Q. Al grupo de control no se lo sometió a ningún tratamiento por álcalis, tan solo fue lavado 1 minuto en PBS. Así, los cinco grupos de prueba son: grupo 1 (control), grupo 2 (NH<sub>4</sub>OH, sumergiendo en dicho tratamiento la muestra durante 5 minutos), grupo 3 (NH<sub>4</sub>OH, sumergiendo la muestra durante 1 minuto en dicho tratamiento), grupo 4 (NaOH, sumergiendo la muestra durante 5 minutos en dicho tratamiento) y grupo 5 (NAOH, sumergiendo la muestra durante 1 minuto en dicho tratamiento). Tras la exposición al tratamiento con álcalis, las muestras (1) son lavadas en PBS y el epitelio se elimina con una espátula. Dichas muestras (1) son sometidas a un ensayo con ondas de torsión y posteriormente, un ensayo de tracción destructivo. Veinte muestras de cada grupo fueron analizadas en las 10 h posteriores a la obtención de estas. Cabe destacar que cuanto más agresivo es el tratamiento (en este caso, el de NAOH), mayor opacidad se induce en la córnea.

35

Análisis estadístico

Los resultados de módulo de elasticidad de los cinco grupos de muestras (1), obtenidos mediante ensayos de tracción y el dispositivo (2) de ondas de torsión, se indicarán con su valor promedio y la desviación estándar. Un análisis de varianza ANOVA unifactorial se aplica para comparar el valor promedio de los distintos parámetros mecánicos de los grupos de muestras (1), seguida de una prueba post-hoc de Tukey en los casos en los que se encontraron diferencias significativas entre grupos. Para evaluar si las diferencias son significativas, se evalúa el p-valor de dos colas de cada comparación: p<0.05 (\*) se considera significativo, p<0.01 (\*\*) se considera muy significativo y p<0.001 se considera extremadamente significativo. Las diferencias no significativas se marcarán con el signo “ns”.

Modelo mecánico para las muestras (1)

Si la muestra (1) a estudiar es una córnea porcina, su geometría se asemeja a una lámina delgada y elástica con un espesor de aproximadamente 1-1.5 mm (este espesor puede medirse con un calibre electrónico antes de ensayar las muestras). En lo referente al modelo mecánico para las muestras (1), la velocidad de grupo  $C(\omega)$  se obtiene de manera particular en cada muestra, según su espesor específico, su respuesta en frecuencia (localizando el pico del espectro de potencia mediante la Transformada de Fourier de la señal registrada con el dispositivo de la invención) y la velocidad de grupo específica obtenida de cada medida basada en ondas de torsión. Si se tiene en cuenta que  $C_s = \sqrt{\mu/\rho}$  y que  $E \approx 3\mu$  (siendo  $\mu$  el módulo de cizalla), la elasticidad E (que considera el comportamiento dispersivo de la muestra) se puede obtener a partir de la velocidad de grupo de propagación de la onda obtenida con la expresión empírica de las ondas de Lamb, como:

$$E = \frac{36\rho C(\omega)^4}{h^2\omega^2}.$$

Para caracterizar la viscoelasticidad de la muestra (1) dada la curva de dispersión de velocidad de grupo en función de la frecuencia, el enfoque más sencillo es emplear un modelo reológico, por ejemplo, el modelo Kelvin-Voigt (KV) que es apropiado para un rango de bajas frecuencias como el que emplea el dispositivo de elastografía ultrasónica de la invención. Empleando este modelo, y la expresión de la curva  $C(\omega)$ , se aplica un algoritmo de mínimos cuadrados no lineal y se extrae tanto  $C(\omega)$  como E.



El procedimiento para calcular la curva de dispersión  $C(\omega)$  a partir de medidas de ondas de torsión obtenidas con el dispositivo (2) comprende los siguientes pasos:

- 5        1) La muestra (1) es excitada con una señal de excitación (por ejemplo, ultrasónica) y la señal recibida en uno o más de los transductores (8) del anillo (7) receptor, procedente de dicha muestra (1), es registrada. A partir de un punto de inicio teórico de la señal (correspondiente a la posición donde la superficie (5''') de contacto del emisor (5) está situada en la muestra (1)) y  
10        aplicando a dicha señal registrada un algoritmo de cálculo de tiempo de vuelo, se calcula la velocidad de cizalla de grupo  $C_s$  en función de la distancia recorrida por la onda de torsión en la muestra (1). La estimación del punto de inicio teórico se lleva a cabo como sigue: cuando la señal supera un umbral de ruido por primera vez, se resta la cantidad de tiempo transcurrido para corregir el tiempo  
15        de subida hasta dicho umbral.
- 2) Se aplica una transformada de Fourier a la señal registrada en el paso 1 para obtener su espectro de potencia y su pico de frecuencia.
- 20        3) La curva de dispersión de la onda de cizalla  $C(\omega)$  se obtiene analizando el rango de frecuencia donde la mayor parte de la energía de la onda se concentra. Por ejemplo, se puede analizar un intervalo de frecuencias centrado en la frecuencia del pico y que albergue más entre el 50-90% (umbral variable, que puede ajustarse en cada caso según el tipo de muestra (1)) de la energía de la  
25        onda.

#### Mediciones con el dispositivo (2) de la invención: resultados experimentales

Para medir la elasticidad de las distintas muestras (1), cada uno de los cinco grupos  
30 de muestras (1) se excita con una señal senoidal de frecuencia fundamental 1000 Hz. En la Figura 7 se muestra un diagrama de cajas y bigotes ("boxplot") de los valores de elasticidad medidos con el dispositivo de la invención. Cabe destacar que los grupos tratados con NaOH exhiben un mayor módulo de elasticidad, lo cual está asociado a que el tratamiento químico es más agresivo para la estructura de la córnea. Esta mayor  
35 elasticidad en el caso de las muestras en las que se aplica un tratamiento químico se debe posiblemente al debilitamiento de la integridad interlaminar de la córnea y a que, al principio, la quemadura alcalina reorganiza los componentes del estroma mediante

fusión de los mismos, con lo cual las matrices de proteoglicanos de las córneas de los grupos tratados son capaces de resistir una mayor deformación respecto a las muestras (1) del grupo de control. Cabe destacar que no hay diferencias significativas entre los tiempos de aplicación de cada tratamiento químico ( $p > 0.05$ ), por eso en la

5 Figura 7 se han agrupado las muestras por tratamiento y no por tiempo de aplicación del tratamiento.

La Tabla 1 resume los valores promedio y las desviaciones estándar correspondientes del módulo de elasticidad. Las diferencias en módulo E entre el tratamiento NaOH y

10 los otros son extremadamente significativas ( $p < 0.001$ ). Sin embargo, las diferencias entre los grupos de control y  $\text{NH}_4\text{OH}$  no son significativas, lo que implica que la alteración mecánica no es relevante a nivel macroscópico. Un aspecto para destacar es que la desviación estándar de las mediciones mediante el dispositivo (2) de elastografía basado en ondas de torsión es menor que en el caso de las mediciones

15 con los ensayos de tracción convencionales, como se verá más adelante.

Tabla 1. Módulo de elasticidad promedio obtenido con el dispositivo de la invención.

Tratamiento y grupos	Valor promedio de E (kPa)
Control (grupo 1)	$391.08 \pm 66.03$
$\text{NH}_4\text{OH}$ (grupos 2 y 3)	$498.99 \pm 111.42$
NaOH (grupos 4 y 5)	$738.47 \pm 132.21$

Además de la elasticidad, es posible hacer una estimación de la viscoelasticidad de las muestras (1), de acuerdo con el modelo de Kelvin Voigt (KV), que tiene en cuenta

20 tanto la elasticidad transversal ( $\mu_1$ ), o elasticidad de la onda de cizalla, como la viscoelasticidad transversal ( $\mu_2$ ) del material.

Como medio dispersivo, la estimación de la velocidad de grupo de las ondas de cizalla a través de la córnea depende de la frecuencia de excitación, obteniéndose mayores

25 velocidades con las mayores frecuencias. Por ello, la velocidad de grupo se calcula en intervalos de 100 Hz en el rango de 300-1200 Hz, donde se concentra la mayor parte de la energía del espectro de potencia. La Figura 8 ilustra las curvas de dispersión de la velocidad de la onda de cizalla ajustadas según el modelo KV, para una muestra (1)

30 representativa de cada uno de los grupos 1 a 5. Nótese que la velocidad de grupo en los grupos tratados con álcalis es superior a la del grupo de control, siendo mayor en

el grupo tratado con NaOH. Los valores promedio de los parámetros del modelo KV para cada grupo de muestra se resume en la tabla siguiente:

5 Tabla 2. Parámetros viscoelásticos para muestras de córnea ex vivo obtenidos mediante elastografía de ondas de torsión.

Tratamiento químico (y tiempo de aplicación)	$\mu_1$ (kPa)	$\mu_2$ (Pa . s)
Control	5.11±0.41	2.83±0.22
NH4OH (1 minuto)	5.61±1.15	3.11±0.63
NH4OH (5 minutos)	5.57±0.63	3.09±0.35
NaOH (1 minuto)	6.08±1.00	3.37±0.55
NaOH (5 minutos)	6.61±0.62	3.66±0.34

Claramente se observa que la viscosidad y la elasticidad se incrementan en los grupos tratados químicamente con álcalis respecto a las muestras del grupo control.

10

#### Ensayos de tracción y resultados experimentales de módulo de elasticidad y viscoelasticidad de las muestras de córnea

Para corroborar los resultados obtenidos con el dispositivo (2) de la invención, las muestras de córnea son sometidas también a ensayos de tracción estándar, por ejemplo, fijándolas a una mordaza y aplicándoles una carga cada vez mayor, para que se vayan deformando progresivamente. Durante el ensayo de tracción, las muestras (1) se mantienen hidratadas mediante aplicación de PBS pulverizado para evitar una alteración severa de las propiedades mecánicas durante el experimento debido a la deshidratación. En estos ensayos, se obtienen curvas de tensión-deformación de la muestra, donde el punto de ruptura corresponde al valor máximo de estrés. Principalmente, las curvas exhiben dos regiones: una primera región lineal caracterizada por la pendiente K1 y que corresponde a la respuesta dominada por los componentes del estroma diferentes del colágeno, mientras que una segunda región aproximadamente lineal está caracterizada por la pendiente K2 y es la región de comportamiento donde predomina el colágeno del estroma. Este comportamiento se explica como sigue: inicialmente, las fibras de colágeno están comprimidas, pero conforme se va aplicando una mayor tracción, dichas fibras se van desenredando hasta predominar en el comportamiento elástico de la muestra (1). Un ejemplo de esta

25

curva se muestra en la Figura 9. El valor promedio del módulo de elasticidad E para cada grupo y región de la curva se resume en la tabla siguiente.

Tabla 3. Módulo de elasticidad promedio obtenido por tracción.

Grupo	Módulo E en región K1 (kPa)	Módulo E en región K2 (kPa)
Control	717.25±451.48	4638.75±1722.92
NH <sub>4</sub> OH	818.42±531.45	8731.28±2789.29
NaOH	3102.25±1927.04	17275.50±2832.08

5

Además, en la Tabla 4 se indican los p-valores de la comparativa entre grupos analizados en la Tabla 3. En esta Tabla 4, las muestras (1) se agrupan por tratamiento químico y no por tiempo de exposición a dicho tratamiento porque no se observaron diferencias significativas al respecto.

10

Tabla 4. Comparativa de p-valores entre grupos.

Grupos comparados	p-valor en región K1	p-valor en región K2
Control vs NH <sub>4</sub> OH	p=0.98	p=0.06
Control vs NaOH	p=0.02(*)	p<0.001 (***)
NH <sub>4</sub> OH vs NaOH	p=0.01(*)	p<0.001 (***)

Las curvas tensión (estrés mecánico)-deformación de una muestra (1) representativa de cada grupo (grupos de muestra 1 a 5) se ilustra en la Figura 10. Se observa que, al aplicar el tratamiento con álcalis, se modifica sustancialmente la elasticidad en comparación con el grupo de control.

15

#### Comparativa entre resultados con el dispositivo de la invención y los resultados de los ensayos de tracción

20

A continuación, se lleva a cabo la comparación cuantitativa de los resultados entre las mediciones con el dispositivo (2) de la invención, basado en elastografía de ondas de torsión, y los ensayos destructivos de tracción; teniendo en cuenta las diferencias en escala temporal y espacial. Concretamente, sólo la región de la curva asociada a K1 se compara, ya que la deformación de las muestras está en un rango similar al medido con el dispositivo de la invención. Por el contrario, en la región asociada a K2, las

25

muestras (1) experimentaron un rango de deformación mayor, poco realista en el régimen de deformaciones en el que se suele operar cualquier técnica de elastografía.

Los resultados de la elasticidad obtenida con el dispositivo (2) de la invención (Tabla 1) y la obtenida a través de ensayos de tracción convencionales (Tabla 3, región K1) se compara en la Figura 11. Los resultados del módulo de elasticidad mostraron que se siguió una tendencia similar tanto en las medidas de elastografía basada en ondas de torsión como el ensayo de tracción. A través del módulo de elasticidad se detectan alteraciones mecánicas cuando eran sustanciales, como el caso de las córneas tratadas con NaOH. Además, las mediciones obtenidas con elastografía basada en ondas de torsión mostraron una desviación estándar reducida en comparación con las mediciones del ensayo de tracción.

Comparando la elasticidad obtenida con el dispositivo (2) de la invención (Tabla 1, región K1) y la obtenida a través de ensayos de tracción convencionales (Tabla 3) se pueden extraer algunas conclusiones:

- Las elasticidades medidas, tanto con el dispositivo de la invención como a través de ensayo de tracción, son mayores en los grupos tratados químicamente respecto al grupo de control.
- El dispositivo de la invención permite obtener mediciones con menor incertidumbre.
- La diferencia entre módulos de elasticidad se debe a que durante el ensayo destructivo se pierde la curvatura de la muestra (1) durante el proceso de estiramiento de la misma, lo que afecta a la microestructura. Por el contrario, la medición con el dispositivo de la invención permite mantener la microestructura de la muestra en condiciones de estrés mecánico más próximas al caso in vivo.
- La medida con el dispositivo de la invención es más adecuada para casos in vivo y permite trabajar en condiciones fisiológicas.

## REIVINDICACIONES

1.- Receptor ultrasónico adaptado para la recepción de ondas de torsión procedentes de una muestra (1), donde dicha muestra (1) comprende una superficie  
5 (1') curvada; estando **caracterizado por que** dicho receptor comprende:

- un anillo (7) receptor, fabricado de un material acústicamente conductor y flexible, donde dicho anillo (7) comprende una superficie adaptada para permitir el acoplamiento acústico con la superficie (1') curvada de la muestra (1);

- una o más ranuras dispuestas en el anillo (7) receptor; y

10 - uno o más transductores (8) electromecánicos alojados en las una o más ranuras del anillo (7) receptor; estando conectados eléctricamente dichos transductores (8) al anillo (7) receptor, mediante un material conductor.

2.- Receptor ultrasónico según la reivindicación anterior, donde los  
15 transductores (8) son de tipo piezoeléctrico o capacitivo.

3.- Receptor ultrasónico según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde uno o más de los transductores (8) comprende, adicionalmente, uno o más electrodos aptos para recibir señales eléctricas y para su conexión a un instrumento  
20 de medida, siendo dicha conexión directa o previa amplificación de la señal eléctrica recibida en los electrodos con un amplificador; y donde las una o más ranuras del anillo (7) receptor están adaptadas para el guiado de unos elementos cableados para las conexiones.

25 4.- Receptor ultrasónico según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde el anillo (7) receptor está fabricado de material plástico biocompatible y es apto para recibir ondas de torsión procedentes de una muestra (1) cuando el anillo (7) receptor se encuentra en contacto con dicha muestra (1).

30 5.- Receptor ultrasónico según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde el diámetro interior del anillo (7) receptor está comprendido entre 4-8 mm, y/o el diámetro exterior del anillo (7) receptor es 1-4.5 mm mayor que el diámetro interior.

6.- Dispositivo (2) de elastografía ultrasónica para la emisión de ondas de  
35 torsión a una muestra (1) y para la recepción de las ondas de torsión procedentes de dicha muestra (1), **caracterizado por que** comprende:

- un receptor ultrasónico según cualquiera de las reivindicaciones anteriores;
- medios de generación de una o varias señales eléctricas de excitación;
- un emisor (5) ultrasónico que comprende un actuador (5') electromecánico conectado mediante uno o más electrodos a los medios de generación de señal de  
5 excitación, donde dicho actuador (5') está adaptado para inducir la rotación del emisor (5) en torno a un eje (6) de rotación del actuador electromecánico al recibir las una o varias señales eléctricas de excitación; y donde dicho actuador (5') comprende una superficie (5''') de contacto adaptada para ser dispuesta en contacto con la muestra;
- un elemento (9) de sujeción y centrado del emisor (5) y que delimita un espacio  
10 (11) de alojamiento donde se inserta el emisor (5), estando fabricado dicho elemento (9) de sujeción y centrado del emisor (5) de un material no conductor eléctricamente;
- una carcasa (10) que aloja el emisor (5), el receptor y el elemento (9) de sujeción y centrado del emisor (5); donde la carcasa (10) deja expuesta la cara del anillo (7) receptor que se acopla a la muestra (1) y la superficie (5''') de contacto del  
15 emisor (5), y donde dicha carcasa (10) mantiene sustancialmente el alineamiento del eje (6) de rotación;
- uno o más atenuadores (12) dispuestos entre el anillo (7) receptor y el emisor (5), y entre el anillo (7) receptor y la carcasa (10), estando dichos atenuadores (12) adaptados para disipar la onda mecánica que se propaga por la carcasa (10);
- 20 - medios de adquisición y almacenamiento de las señales recibidas en los electrodos del anillo (7) receptor y del emisor (5).

7.- Dispositivo (2) de elastografía ultrasónica según la reivindicación anterior, donde la superficie (5''') de contacto del actuador (5') electromecánico presenta un  
25 diámetro entre 1-4.5 mm menor que el diámetro interior del anillo (7) receptor.

8.- Dispositivo (2) de elastografía ultrasónica según cualquiera de las reivindicaciones 6-7, donde la carcasa (10) está fabricada de material rígido y comprende una abertura (10') para el guiado de conexiones del anillo (7) receptor y  
30 del emisor (5).

9.- Dispositivo (2) de elastografía ultrasónica según cualquiera de las reivindicaciones 6-8 que comprende adicionalmente una jaula de Faraday recubriendo el actuador (5') electromecánico del emisor (3), para eliminar el ruido eléctrico de la  
35 resonancia del emisor (5) y del anillo (7) receptor.

10.- Dispositivo (2) de elastografía ultrasónica según cualquiera de las reivindicaciones 6-9, donde los electrodos de los transductores (8) poseen conexiones independientes entre sí, siendo dichas conexiones aptas para medir, mediante un instrumento de medida, una señal eléctrica obtenida con el dispositivo (2); y estando  
5 dichos electrodos conectados al anillo (7) receptor con resina conductora de plata.

11.- Sistema de elastografía ultrasónica que comprende el dispositivo (2) de elastografía ultrasónica según cualquiera de las reivindicaciones 6-10, y adicionalmente un módulo (14) de posicionamiento de dicho dispositivo, que  
10 comprende a su vez medios de control adaptados para controlar la fuerza ejercida por el dispositivo (2) ultrasónico en la muestra (1).

12.- Procedimiento de medición de señales asociadas a ondas de torsión que se propagan en una muestra (1), **caracterizado por que** comprende la realización de  
15 los siguientes pasos empleando un dispositivo (2) de elastografía ultrasónica según cualquiera de las reivindicaciones 6-10 o un sistema según la reivindicación 11:

b) poner en contacto una de las caras del anillo (7) receptor y la superficie de contacto del emisor (1) con la membrana;

c) polarizar los transductores en una dirección circunferencial, paralela a la  
20 superficie del anillo (7) receptor;

d) emitir una señal eléctrica de excitación para rotar el emisor (5) e inducir una onda de torsión que atraviesa la muestra (1);

e) recibir, en uno o más de los electrodos de los transductores (8), una o más señales eléctricas distorsionadas tras haber atravesado la muestra (1);

g) adquirir y almacenar, mediante un instrumento de medida conectado a los  
25 electrodos de los transductores (8) o al preamplificador (13), las una o más señales eléctricas distorsionadas recibidas en los transductores (8); y adquirir y almacenar, mediante el instrumento de medida conectado a los uno o más electrodos del emisor (5), la señal de excitación.

30

13.- Procedimiento según la reivindicación anterior, donde se realiza al menos uno de los siguientes pasos:

a) antes del paso b), recubrir la muestra con una membrana adaptada para la transmisión de ondas de torsión;

f) amplificar la señal recibida en los electrodos de los transductores (8)  
35 mediante un preamplificador (13);

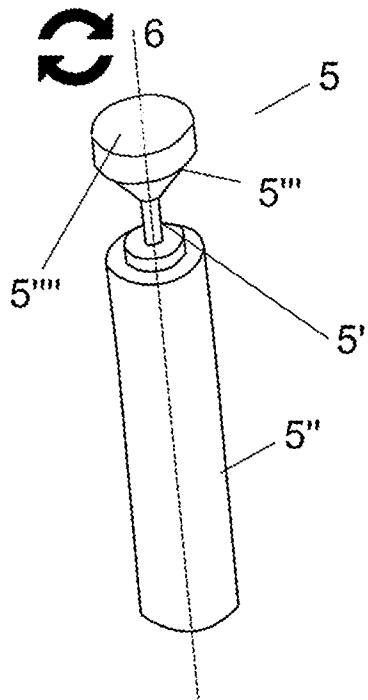


h) repetir los pasos b)-g) una pluralidad de iteraciones y promediar las señales adquiridas en cada uno de los transductores (8).

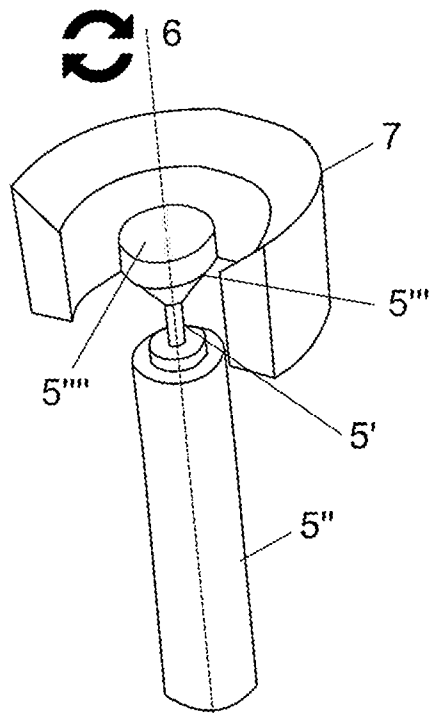
14.- Procedimiento según la reivindicación anterior, donde la señal de excitación  
5 es sinusoidal y de frecuencia fundamental entre 200-10000 Hz.

15.- Uso del dispositivo (2) de elastografía ultrasónica según las reivindicaciones 6-10 o del sistema según la reivindicación 11 para la medición de propiedades mecánicas de la córnea.

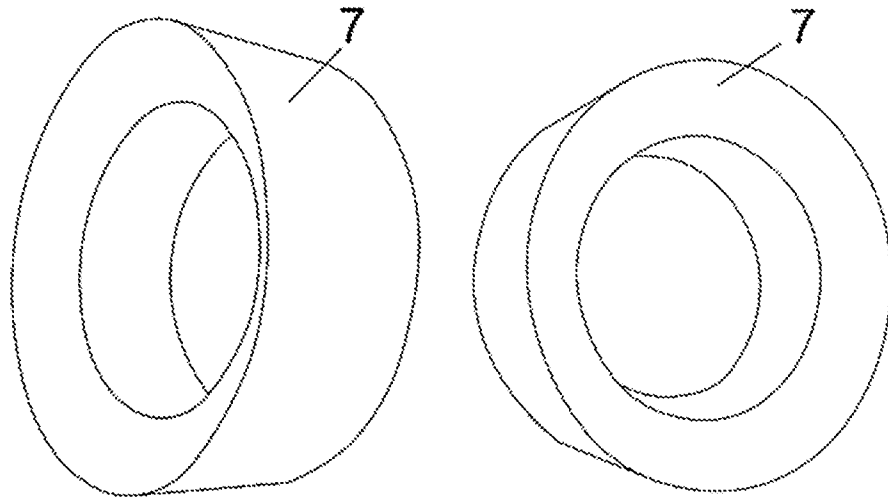
10



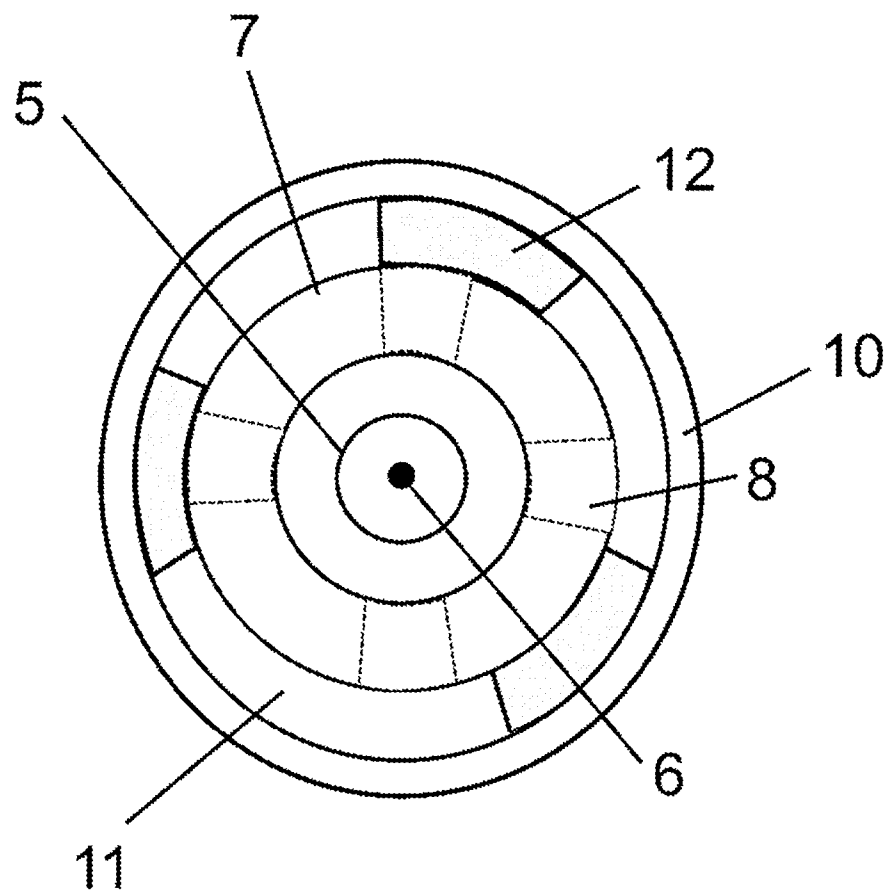
**FIG. 1A**



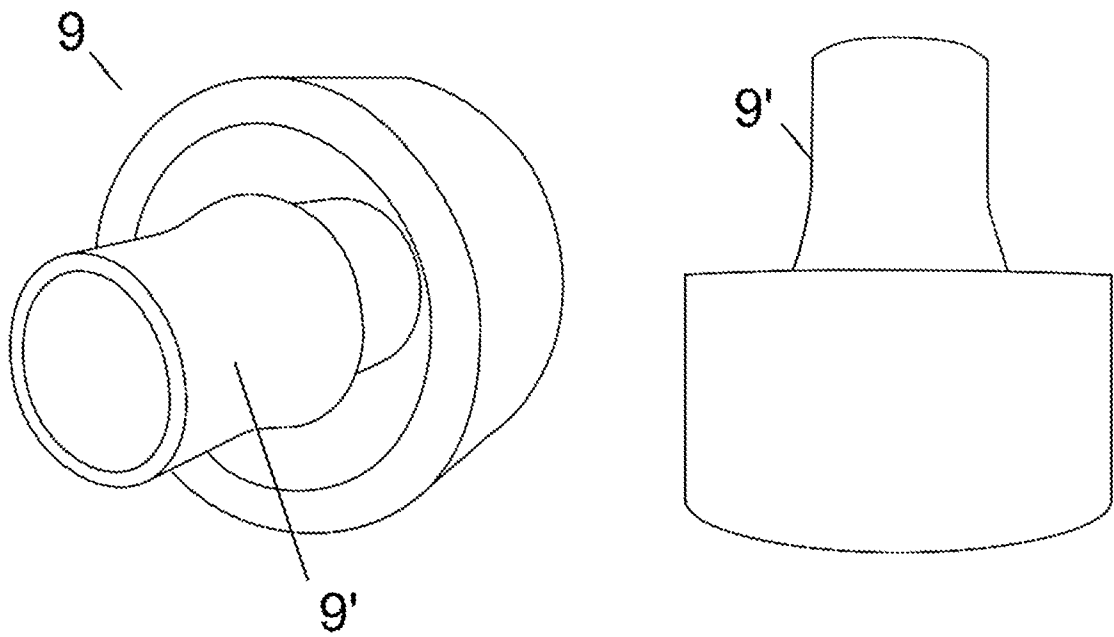
**FIG. 1B**



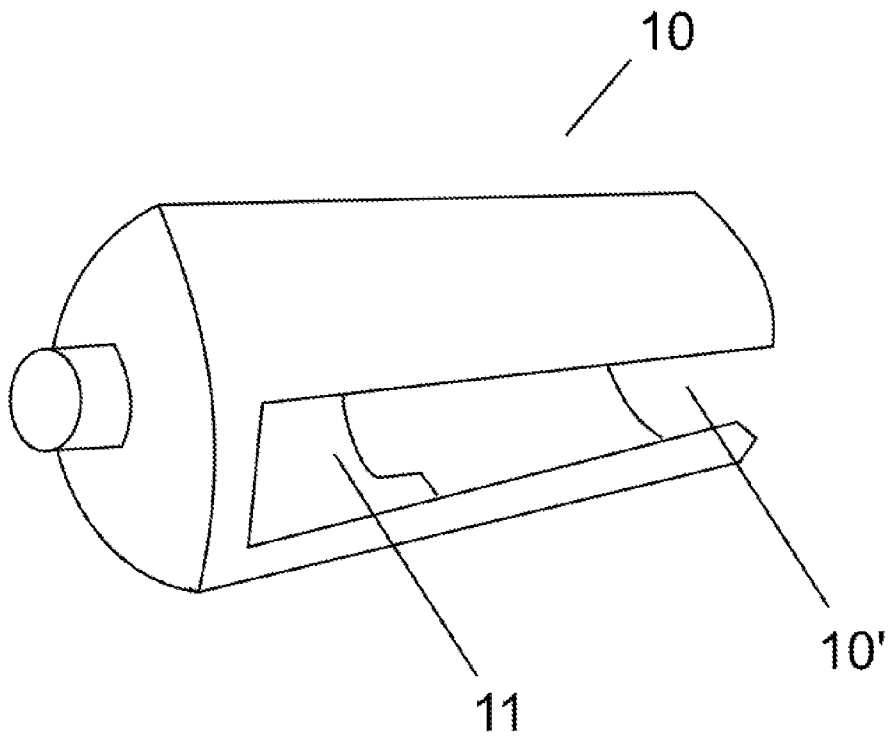
**FIG. 2A**



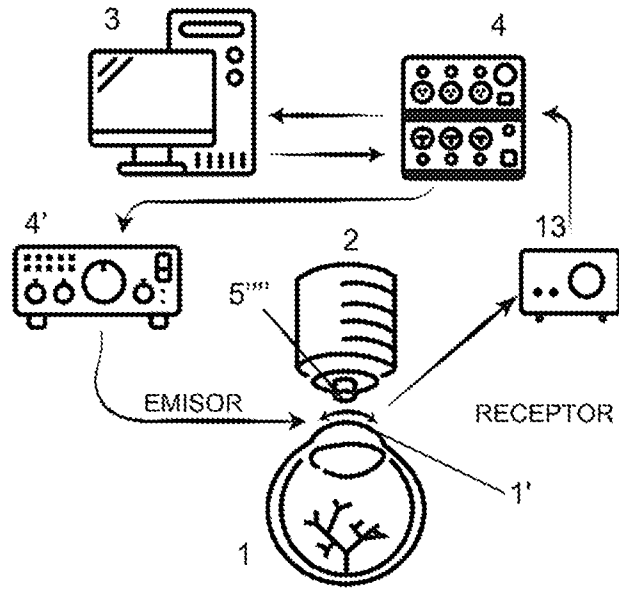
**FIG. 2B**



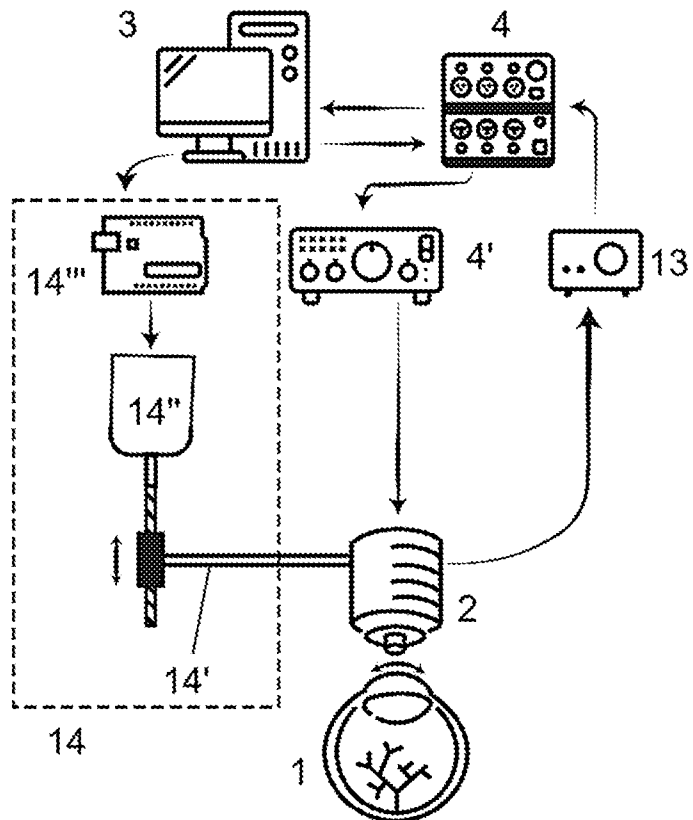
**FIG. 3**



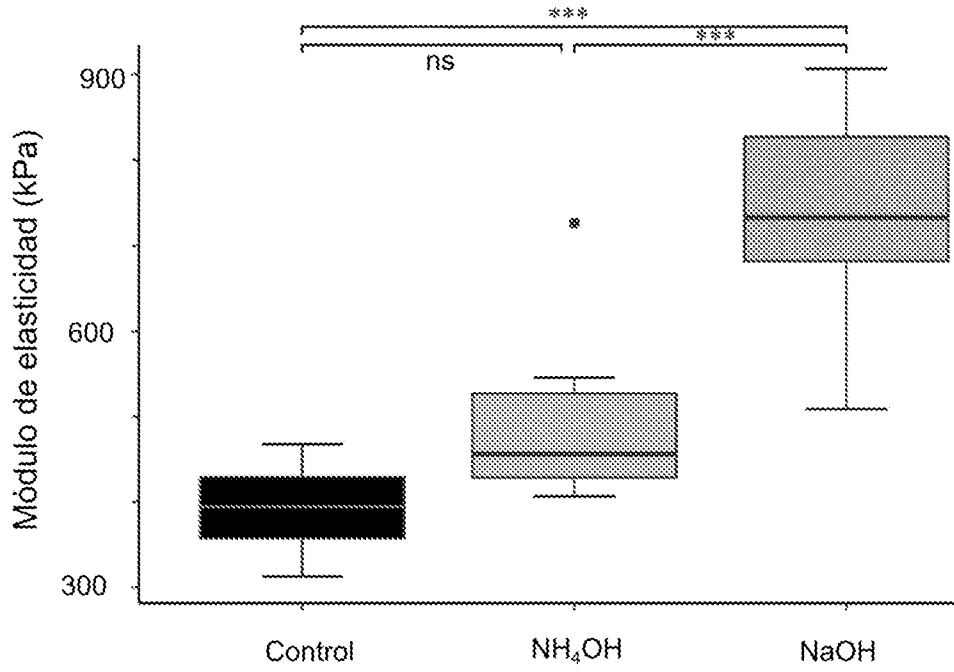
**FIG. 4**



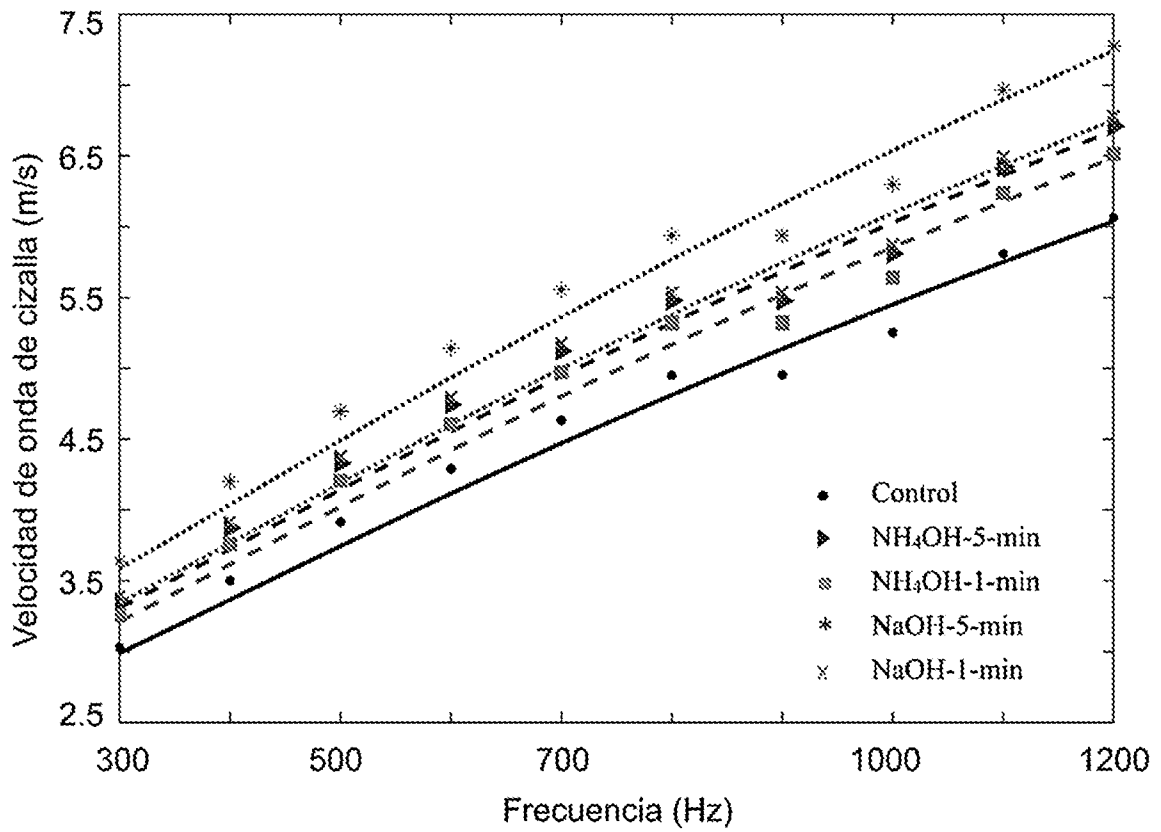
**FIG. 5**



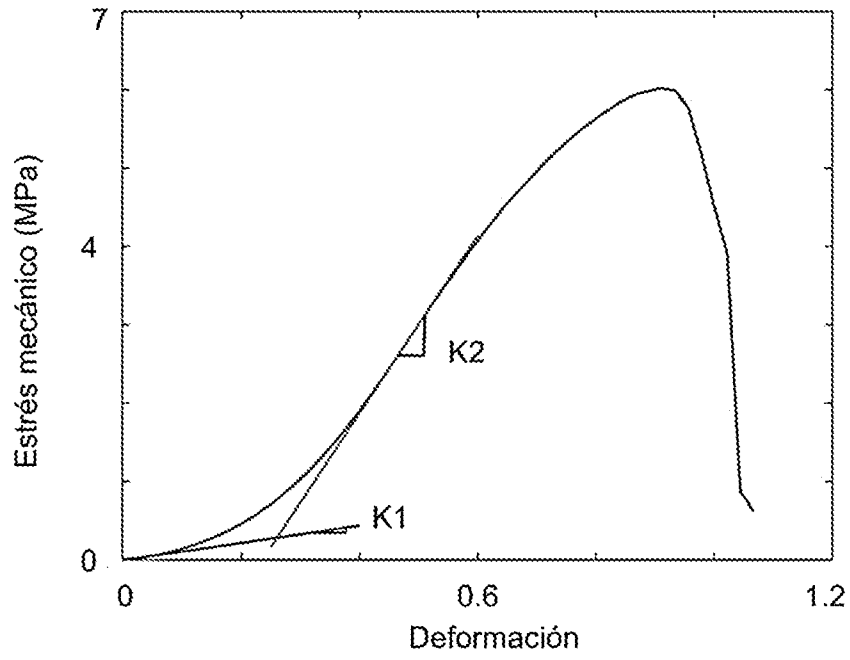
**FIG. 6**



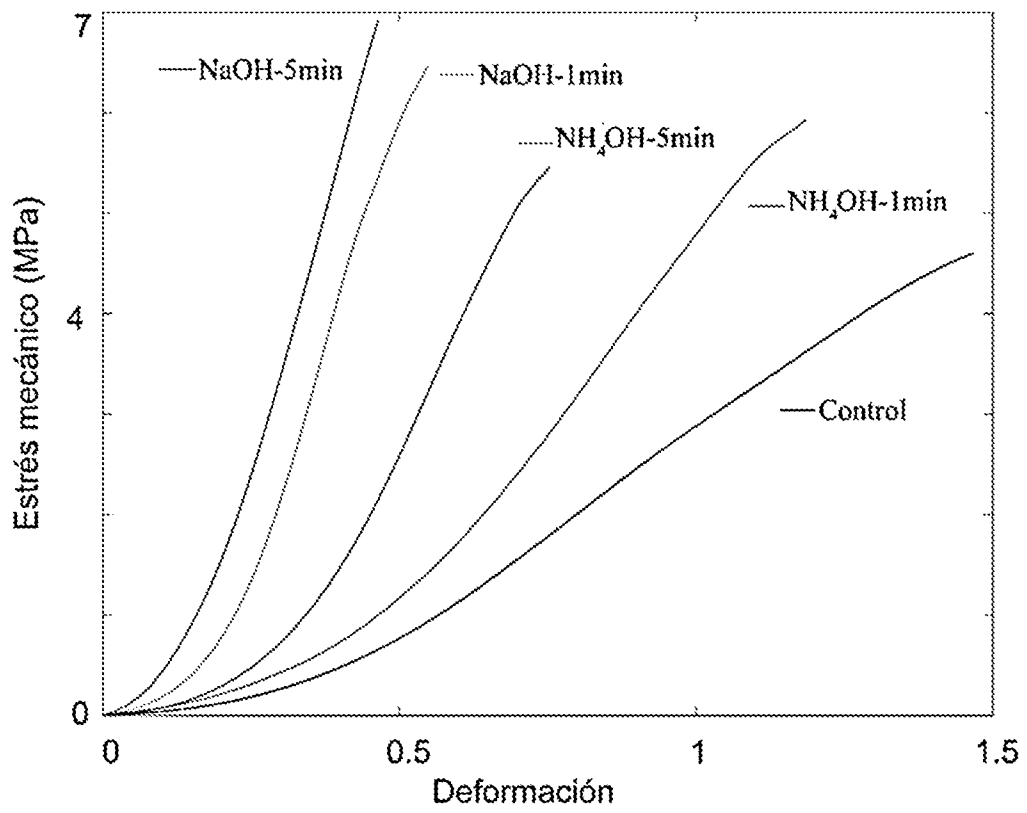
**FIG. 7**



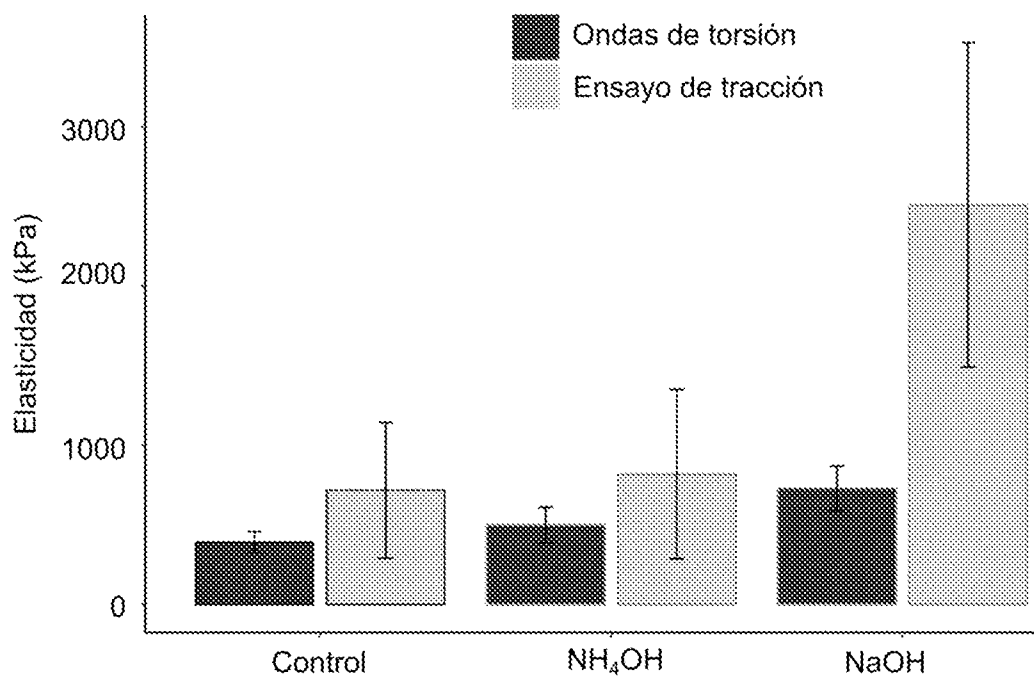
**FIG. 8**



**FIG. 9**



**FIG. 10**

**FIG. 11**