

## **ULTRASONIDO Y DOPPLER SHIFT EN APLICACIONES BIOLÓGICAS Y MÉDICAS: CONTRIBUCIÓN DE INVESTIGADORES LATINOAMERICANOS EN LOS TRABAJOS PIONEROS EN ESTA DISCIPLINA, PARTICULARMENTE EN LA MEDICIÓN DE FLUJOS SANGUÍNEOS**

Gianni Pinardi (†)

Instituto de Ciencias Biomédicas. Facultad de Medicina de la Universidad de Chile. Santiago. Chile.

y

Omar A. Bernaola

Radiobiología. Comisión Nacional de Energía Atómica. Buenos Aires, Argentina. E-mail: [bernaola@cnea.gov.ar](mailto:bernaola@cnea.gov.ar). Teléfono (054) 11- 6772715

### **Resumen**

Uno de los campos tecnológicos, que durante las últimas décadas ha alcanzado un vertiginoso desarrollo en sus aplicaciones médicas, es el de los ultrasonidos de alta frecuencia utilizados en diagnósticos no invasivos y comúnmente denominada técnica de Efecto Doppler.

Sin embargo, es poco conocido que algunas de las más importantes innovaciones tecnológicas que llevaron a su aplicación exitosa, fueron desarrolladas en Latinoamérica. En la Escuela de Medicina J.M. Vargas, de la Universidad Central de Venezuela en Caracas, un grupo interdisciplinario de investigadores se dedicó durante varios años a trabajar sobre este tema.

La intención del presente artículo es reseñar algunos de los aspectos que llevaron a este grupo tan particular, a realizar trascendentes contribuciones. Dada la importante y masiva aplicación clínica de la técnica de Efecto Doppler, es necesario y saludable para una sociedad rescatar del olvido la tarea silenciosa de aquellos ciudadanos que contribuyeron tanto a su beneficio.

**Palabras claves:** Venezuela, ultrasonidos, doppler shift, medicina.

### **Abstract**

High frequency ultrasound applied to non-invasive diagnosis, commonly known as Doppler Effect technique, is one of the fields in technology that experienced a tremendous growth in medical practise, in the last decades. However, it is a little-known fact that some of the most important technological advances in this area, which resulted in successful applications, were developed in Latin America.

It was at the School of Medicine J. M. Vargas of the Universidad Central of Venezuela, in Caracas, where an interdisciplinary group of researchers dedicated many years of hard work to this theme.

The aim of this article is to present some of the circumstances and facts that permitted this particular group to realize significant contributions in this field.

In sight of the massive use of Doppler Effect in medicine, the society must recover from oblivion the silent work of those citizens who contributed so largely to the health of the humanity.

**Key Words:** Venezuela, ultrasounds, doppler shift, medicine.

### **Trabajos preliminares**

La velocidad y el volumen del flujo en un vaso sanguíneo constituyen la mejor indicación del aporte de oxígeno y de nutrientes a las células, tanto en situaciones fisiológicas tanto normales como patológicas. La medición del flujo sanguíneo ha sido uno de los principales objetivos de los fisiólogos desde que Harvey en 1628 describió la circulación de la sangre. Se han diseñado muchos instrumentos, generalmente adaptaciones de aplicaciones industriales (turbinómetros, rotámetros, tubos de Pitot, detectores electromagnéticos, etc.), que permiten la medición continua del flujo sanguíneo en preparaciones fisiológicas. Todos estos métodos son invasivos y requieren cortar el vaso sanguíneo para insertar un instrumento y permitir un registro continuo. La famosa preparación corazón-pulmón de Starling, utilizada ampliamente hasta la década de los 50 en el siglo XX, y que permitió formular los principios fundamentales de la fisiología y la farmacología miocárdicas, se desarrolló y se basó en este tipo de mediciones. Obviamente, estas técnicas invasivas son inaplicables en situaciones médicas, por lo que, los fisiólogos, desarrollaron otras técnicas para medir el flujo sanguíneo. Las mejores técnicas desarrolladas, determinaban un promedio del flujo sanguíneo durante un número de latidos cardíacos y se basaban en la inyección endovenosa de un indicador (colorante o isótopo radioactivo) con detección de la dilución que sufre en la circulación (técnicas semi-invasivas). A pesar de la utilidad clínica de estas técnicas, que se siguen utilizando en unidades de terapia intensiva, persistió la necesidad de determinar el flujo sanguíneo en ciertos vasos en forma continua y no invasiva. Las técnicas actuales más sofisticadas, involucran la utilización de ultrasonidos y son de gran variedad en aplicaciones clínicas.

El principio general del ultrasonido consiste en generar ondas de alta frecuencia (ultrasonidos de frecuencias mayores que 1 MHz) y la posterior detección de los ecos, producidos por los obstáculos que se interpongan al haz inicial de ultrasonido, tales como interfases entre líquidos y tejidos blandos o entre tejidos blandos y huesos. La velocidad del ultrasonido en agua y en tejidos es de 1.540 m/seg a 37°C. Este principio de reflexión de ultrasonidos fue inicialmente utilizado durante la 2ª Guerra Mundial para desarrollar localizadores de obstáculos submarinos (sonar) y para radares terrestres. También fue utilizado para evaluar el comportamiento de los

Pinardi y Bernaola. Ultrasonido y doppler shift en trabajos pioneros de medición de flujos sanguíneos

diferentes elementos de las estructuras en aviones de combate, durante el vuelo a altas velocidades.

La exploración de sus posibles aplicaciones médicas comenzó recién alrededor de 1950 en Japón, en el grupo de S. Satomura.

En 1955, el obstetra escocés Ian Donald, ya interesado en radares y electrónica desde sus tiempos como médico en la Royal Air Force, empezó a trabajar junto con el ingeniero Tom Brown, en el desarrollo de aplicaciones médicas de los ultrasonidos. En 1958 lograron demostrar la utilidad de la nueva técnica ultrasonográfica al identificar una masa ovárica en una paciente diagnosticada erróneamente de cáncer inoperable. En 1959 Donald, utilizando ultrasonidos, inició el estudio de fetos durante la gestación, con notables resultados.

Alrededor de la época de los primeros trabajos de Donald, Robert F. Rushmer, un pediatra y fisiólogo de la Universidad de Washington, se dedicaba al desarrollo de instrumentos que le permitieran documentar y evaluar funciones cardiovasculares en animales, en la forma menos cruenta posible. Estaba especialmente interesado en determinar las dimensiones cardiovasculares, las presiones intravasculares y el flujo sanguíneo, por medio de técnicas incruentas. Tres miembros de su equipo de técnicos, Dean Franklin, Dick Ellis y Donald Baker (quien durante la guerra había trabajado en la Air Force norteamericana en las aplicaciones militares del radar) comenzaron a investigar el uso de ultrasonidos para estos nuevos propósitos.

## **El uso médico de ultrasonidos en 1960**

A comienzos de 1959 Gianni Pinardi era profesor en la Cátedra de Fisiopatología de la Escuela de Medicina de la Universidad de Concepción (Chile). Se había graduado 5 años antes, y después de finalizar sus estudios en la Escuela de Medicina en Roma (Italia) y de revalidarlos en la Universidad de Chile, se desempeñó durante un año como becario en el Departamento de Fisiología Clínica del Hospital Karolinska en Estocolmo, Suecia. Posteriormente, estando a cargo en Chile de la docencia de los capítulos de Fisiopatología Cardiovascular y Respiratoria, temas en los cuales realizaba investigaciones experimentales, especialmente sobre shock hipovolémico, consideró la necesidad de perfeccionar sus conocimientos. Esto lo llevó a solicitar una beca del National Institutes of Health de Estados Unidos para incorporarse a un "Training Program in Cardiovascular Research Techniques", dentro de un plan de trabajo postdoctoral de 2 años de duración, que el Prof. Robert F. Rushmer dirigía en el Departamento de Fisiología y Biofísica de la Universidad de Washington en Seattle, USA. Fue aceptado y comenzó su entrenamiento a comienzos de 1960. Participaban del Programa, M.D.'s, Ph.D.'s en Fisiología y en Física, ingenieros electrónicos y estudiantes de doctorado en Física. Además de G. Pinardi, formaban parte del curso un cardiólogo holandés (Egbert Dekker), otro norteamericano (Robert J. Adolph), y un fisiólogo irlandés (Ian C. Roddie). Una de las líneas principales de investigación del laboratorio del Prof. Rushmer era el diseño de instrumentación para utilizar en animales intactos no anestesiados y, en particular, la aplicación de ultrasonidos en la investigación cardiovascular.

Ya desde mediados de los años 50, el Prof. Rushmer y su grupo trabajaban con ultrasonidos. Utilizaban un instrumento que, mediante la medición continua del tiempo de tránsito entre pulsos de ultrasonidos, generados por dos cristales de titanato de bario resonando a 2 – 5 MHz y suturados a ambos lados de una cavidad cardíaca o de un vaso sanguíneo, permitía medir en forma continua los cambios de dimensiones cardíacas y vasculares en perros intactos no anestesiados. En esa época, para el diseño y construcción de los circuitos electrónicos, se utilizaban amplificadores diferenciales a válvulas y elementos simples de computación analógica, como diferenciadores e integradores (RUSHMER 1954:14-21), (IRISAWA, CREER and RUSHMER 1959: 741-744), (RUSHMER 1959:897-905). Fue bastante más tarde, con el advenimiento de los transistores, que se pudo dar un enorme impulso a la electrónica de los instrumentos detectores.

El curso del Prof. Rushmer consistía en un entrenamiento intensivo teórico-práctico en matemáticas, electrónica y física, con posterior desarrollo de un proyecto de investigación, aplicando técnicas innovadoras a algún problema cardiovascular. Mientras tanto, en el laboratorio permanentemente se organizaban discusiones sobre la teoría y la posibilidad práctica de medir continuamente el flujo sanguíneo aprovechando el efecto Doppler de ultrasonidos.

El efecto Doppler, llamado así en 1842 en homenaje al físico austríaco Christian Doppler (1803-1853), consiste en la variación de las longitudes de onda, entre la emitida y la reflejada por un objeto en movimiento. Cuando la fuente de ondas y el observador están en movimiento relativo, la frecuencia de la onda observada es diferente a la de la emitida por la fuente.

Para el caso de ondas de sonido, es el clásico efecto de la sirena de una ambulancia que pasa frente a un observador. A medida que la ambulancia se acerca, las longitudes de onda del sonido de la sirena se comprimen hacia el observador (Figura 1), los intervalos entre las longitudes de onda disminuyen, se produce un aumento de la frecuencia y el sonido es más agudo. A medida que la ambulancia se aleja, las longitudes de onda se estiran en relación al observador, ocasionando que la frecuencia disminuya y el sonido sea más grave. Si se mide la velocidad de cambio de la tonalidad (o de la frecuencia), se puede estimar la velocidad de la ambulancia, respecto al observador.

Por lo tanto, si se ilumina un vaso sanguíneo con un haz de ultrasonidos de una determinada frecuencia, las ondas ultrasónicas se reflejarán en los eritrocitos en movimiento de forma tal que, si éstos se alejan de la fuente de ultrasonido, la frecuencia de las ondas reflejadas será menor. Algo similar, pero en sentido inverso, se producirá cuando se acercan a la fuente de ultrasonido. Este cambio de frecuencia (Doppler shift) puede entonces ser utilizado para determinar la velocidad del flujo sanguíneo.

Durante los trabajos en la Universidad de Washington, Egbert Dekker, participó en los ensayos preliminares que se realizaron en modelos hidráulicos, para evaluar los ultrasonidos reflejados por partículas en suspensión. Sin embargo debió regresar a Holanda antes de finalizar el curso.

En este grupo de trabajo, era muy alto el interés por determinar en forma continua el flujo sanguíneo y, hasta ese momento, se utilizaba un instrumento ultrasónico diseñado en el mismo laboratorio. Permitía monitorear en forma continua el flujo sanguíneo en un vaso, mediante la medición continua de la diferencias en el tiempo de tránsito de pulsos ultrasónicos enviados a favor y en contra del flujo, emitidos por dos cristales colocados a ambos lados de un determinado vaso sanguíneo.

Así:

$$\Delta t = t_1 - t_2 = \frac{L}{c - V \cos \theta} - \frac{L}{c + V \cos \theta}$$

Donde  $\Delta t$  es la diferencia del tiempo de tránsito,  $L$  la distancia entre cristales,  $c$  la velocidad del sonido en el medio (1.540 m/seg a 37°C),  $V$  la velocidad del flujo

sanguíneo y  $\theta$  el ángulo formado entre la dirección del flujo sanguíneo y la línea perpendicular a la superficie de los transductores. Este instrumento fue utilizado durante el desarrollo de numerosos trabajos experimentales (RUSHMER, SMITH and FRANKLIN, 1959: 602-627), (FRANKLIN, ELLIS and RUSHMER, 1959: 809-812).

A fines de 1960 se diseñó el primer prototipo de flujómetro por efecto Doppler utilizando un haz de ultrasonido dirigido sobre un vaso y reflejado por los eritrocitos del flujo sanguíneo en movimiento. El flujómetro permitía medir continuamente la velocidad promedio del flujo sanguíneo, utilizando un transductor de plástico colocado transcutáneamente sobre una arteria. El transductor estaba compuesto por dos cristales opuestos, un cristal transmisor (T) excitado con onda continua a 2 MHz y un cristal receptor (R) que, conectado a un circuito electrónico adecuado, permitía medir el cambio de frecuencia producido (Doppler shift,  $\Delta f$ ), en función de la velocidad de las partículas en la sangre y del ángulo de incidencia del haz ultrasónico. El procesado electrónico del Doppler shift permitió llevar la frecuencia al rango de sonidos audibles (Figura 3) (FRANKLIN, SCHLEGEL and RUSHMER, 1961:564-565), (FRANKLIN, SCHLEGEL, and WATSON, 1963: 309-315) (Figura 3).

La diferencia de frecuencias entre los ultrasonidos transmitido y reflejado (Doppler shift,  $\Delta f$ ) permite calcular la velocidad V como:

$$V = \frac{c \Delta f}{2 f_T \cos \theta}$$

Este flujómetro permitía medir solo el flujo sanguíneo en el sentido de su movimiento. Es decir era unidireccional. Pero la dificultad principal que presentaba, era la necesidad de un desarrollo electrónico sofisticado, que permitiera una evaluación más rigurosa del Doppler shift de frecuencias y de la velocidad y la direccionalidad del flujo sanguíneo.

Mientras tanto, en 1962 finalizó el período de beca de G. Pinardi por lo que regresó a Chile.

### **Desarrollos posteriores**

En 1964 G. Pinardi fue contratado por la Facultad de Medicina de la Universidad Central de Venezuela en Caracas, como profesor de Fisiopatología, en la recién formada Escuela de Medicina J.M. Vargas. En ese momento, en la Cátedra de Fisiología, se encontraba realizando su tesis de grado Antonio Sáinz un estudiante de ingeniería electrónica, quien después de graduado, se incorporó al

grupo de Pinardi, colaborando en algunos proyectos de instrumentación experimental.

A sugerencia de G. Pinardi, A. Sáinz decidió realizar un Master of Science en Bioingeniería en la Universidad de Washington en Seattle, donde fue becado por la Universidad Central de Venezuela. Ya para esa época, el Departamento del Prof. Rushmer se había convertido en un Centro de Bioingeniería y A. Sáinz colaboró en investigaciones sobre flujometría Doppler con pioneros como D.W. Baker y H.F. Stegall (RUSHMER, BAKER and STEGALL, 1966: 554-566), (STEGALL, RUSHMER and BAKER, 1966: 701-711), especialmente en el procesamiento electrónico de las señales de ultrasonido y en su separación del nivel de ruido electrónico.

Al regresar Sáinz a Venezuela, junto con Pinardi colaboraron en diferentes proyectos de instrumentación cardiovascular y bioingeniería, sin una dedicación especial en efecto Doppler (SÁINZ y PINARDI, 1969: 86), (SÁINZ y PINARDI, 1970: 51), PINARDI, SÁINZ y SANTIAGO, 1975: 927-929). Pero en 1973, A. Sáinz obtuvo una nueva beca de la Universidad Central de Venezuela para cursar un Ph.D. en Bioingeniería en el Departamento de Bioingeniería del King's College Hospital Medical School de Londres, dirigido por el Prof. V.C. Roberts, quien tenía un gran interés en mediciones de flujo sanguíneo en forma no invasiva (SÁINZ, 1977. Thesis). A fines de 1973, G. Pinardi, como Profesor Visitante del King's College Hospital Medical School, durante su año sabático, se reunió nuevamente en Londres con A. Sáinz.

Para el desarrollo experimental de un flujómetro, resulta imprescindible lograr una colaboración multidisciplinaria de un equipo de fisiólogos, ingenieros, técnicos electrónicos y médicos clínicos. Fue en un ambiente de estas características donde Pinardi y Sáinz colaboraron en el desarrollo de un sistema de procesamiento electrónico de señales Doppler obtenidas en forma no invasiva de la aorta humana, irradiando ultrasónicamente el hueco supraesternal.

Poco tiempo antes, en Londres, L. H. Light había descrito una técnica para obtener señales ultrasónicas de flujo de la aorta humana a través del hueco supraesternal (Light, 1969: 1119-1121) y había diseñado un flujómetro Doppler que podía resolver la dirección del flujo electrónicamente midiendo los cruces de la señal por cero dependiendo del signo de  $\Delta f$  (Light 1971: 5P-7P). Sin embargo, la técnica de "zero crossings" no permitía resolver adecuadamente la direccionalidad, especialmente cuando el flujo era pequeño, ya que en este caso, la señal era pequeña y se confundía con el ruido electrónico. El trabajo realizado durante la colaboración entre Pinardi y Sáinz, que luego se constituyó en la tesis de doctorado de este último en el King's College trató sobre el desarrollo de nuevas técnicas electrónicas para el procesamiento de las señales Doppler, diseñando y construyendo un flujómetro de onda continua que, por primera vez, permitía medir la direccionalidad, velocidad promedio, velocidad pico, aceleración y desaceleración del flujo sanguíneo (SÁINZ, ROBERTS,

PINARDI and LINDENAUER, 1977: 6-18). El aporte tecnológico de este nuevo equipo fue notable y la mayor parte de los primeros resultados obtenidos fueron comunicados en reuniones científicas (SÁINZ, PINARDI and ROBERTS, 1975), (SÁINZ y PINARDI, 1976), (SÁINZ, PINARDI y VÁSQUEZ, 1988: 201-208). Los actuales equipos de diagnóstico por señales Doppler, aplican esta innovación tecnológica.

En un desarrollo posterior, el procesamiento del espectro de la señal Doppler con este instrumento, permitió además, realizar la medición del diámetro de los vasos sanguíneos (SÁINZ, ROBERTS and PINARDI, 1976: 128-132), (PINARDI y SÁINZ, 1977: 305-312), (COTTON, ROBERTS, SÁINZ, STEVENS and THOMAS, 1977: 17P-18P). Al finalizar su doctorado, A. Sáinz volvió a Venezuela y, en el contexto del Curso de Postgrado de Farmacología de la Universidad Central de Venezuela, junto con G. Pinardi utilizaron este instrumento para el desarrollo de diversas tesis de magister y doctorado con aplicaciones clínicas (IZQUIERDO DE GARCÍA, 1983. Thesis.) Al poder contar con un instrumento versátil, al cual se le podían incorporar modificaciones, se pudo iniciar a varios estudiantes de medicina en las aplicaciones del flujómetro, especialmente en la evaluación de flujo sanguíneo en aplicaciones vasculares periféricas y en el estudio de flujos superficiales arteriales y venosos.

Se realizaron además innovaciones en el sistema de los transductores con el fin de lograr, por un lado, un mejor enfoque del haz de ultrasonido mediante la utilización de lentes acústicos epóxicos convexos y, por el otro, la incorporación de 4 cristales en el transductor y 2 transmisores y 2 receptores a todo el sistema, para permitir resonar en dos frecuencias diferentes.

Los tejidos atenúan más las frecuencias altas que las bajas. Esto significa que mientras más alta sea la frecuencia, mayor será la resolución, pero menor será la penetración en los tejidos.

Se diseñó y construyó entonces, un sistema con frecuencias resonantes de 2.5 y 5 MHz. De esta forma, el transductor acoplado a un equipo que permitía pasar con facilidad de una frecuencia a otra, resultaba de suma utilidad en aplicaciones vasculares periféricas, ya que facilitaba realizar una mejor discriminación entre los flujos superficiales de 5 MHz y los más profundos de 2.5 MHz. El transductor se diseñó incorporando en su superficie lentes acústicas epóxicas convexas, a fin de lograr una mejor focalización del haz de ultrasonido. Pese a las dificultades iniciales de financiamiento para realizar la construcción y puesta a punto de los equipos, el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICIT) de Venezuela, finalmente otorgó los recursos económicos para la realización de un proyecto a fin de equipar un laboratorio completo de electrónica. Esto permitió realizar la construcción del instrumental planificado, e incorporar las innovaciones electrónicas necesarias para incluir el sistema de dos frecuencias mencionado.

El poder contar con este instrumental permitió el planteo de diversos objetivos, entre ellos:

Pinardi y Bernaola. Ultrasonido y doppler shift en trabajos pioneros de medición de flujos sanguíneos

Optimización de las frecuencias de emisión para isonar estructuras a diferentes profundidades.

Mejoramiento del campo de resolución para cada frecuencia de emisión.

Rastreo arterial desde arterias superficiales pequeñas hasta arterias grandes y profundas.

Mejoramiento del nivel de ruido blanco proveniente del transductor, del proceso de modulación y de la amplificación posterior de la señal.

Estudio sobre el desarrollo de filtros dinámicos pasa bajos, pasa banda y pasa altos, para contrarrestar en forma automática el cambio de ancho de banda del espectro Doppler durante el ciclo cardíaco.

Determinación del tiempo de tránsito de las ondas de flujo arterial y su relación con patologías arterioescleróticas de la circulación cerebral.

Asimismo, el instrumental fue probado preliminarmente en pacientes vasculares periféricos.

Desgraciadamente, como sucede tantas veces en América Latina, las condiciones económicas del país cambiaron bruscamente, y esta situación determinó que muchos investigadores trataran de encontrar mejores condiciones de trabajo en diferentes lugares. Por esta razón, en la década de los 80, A. Sáinz se incorporó a la Universidad de Lleida en España, donde trasladó el equipo desarrollado en Venezuela, a fin de continuar con esta línea de trabajo. Actualmente, en dicho lugar, A. Sáinz realiza investigaciones en flujometría Doppler en colaboración con el grupo de V.C. Roberts de Londres (SÁINZ and ROBERTS, 1981: 665-667), (ROBERTS and SÁINZ, 1981: 140-142), (SÁINZ, CABAU and ROBERTS, 1995: 91-95).

Por su lado G. Pinardi regresó a Chile donde se incorporó al Programa de Farmacología Molecular y Clínica del Instituto de Ciencias Biomédicas de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile. En este lugar desarrolló una línea de investigación sobre mecanismos antinociceptivos de diversas drogas y sus combinaciones.

El día jueves 27 de agosto del 2009, murió Gianni Pinardi en Santiago de Chile.

En este breve recuento histórico se ha querido delinear a grandes rasgos, la forma en que dos investigadores latinoamericanos se vieron involucrados en las investigaciones pioneras sobre mediciones de flujo sanguíneo con ultrasonidos y Doppler shift. Y de cómo lograron realizar, dentro de las limitaciones en recursos de todo tipo, una contribución fundamental en las áreas tecnológicas y médicas de este nuevo campo.

Se puede considerar que el campo del ultrasonido y de Doppler shift en aplicaciones biológicas y médicas ha sido el desarrollo tecnológico más intenso, durante los últimos años. Basta considerar la complejidad de los ecocardiógrafos de última generación actualmente en uso, que incorporan ultrasonido Doppler a color, para apreciar su importancia y su utilidad clínica. Por su trascendencia en Biomedicina, es bueno recordar que el flujómetro Doppler original, de onda continua (1962-63) y el flujómetro Doppler pulsante (1966-67), diseñados por D. Baker y construidos en la Universidad de Washington, se encuentra en exhibición permanente en el Smithsonian Museum of America Medical History desde el año de 2000.

### Referencias Bibliográficas

COTTON L.T., ROBERTS V.C., SÁINZ A., STEVENS A.L. and THOMAS M.H. (1977), *Doppler shift spectra in the assessment of peripheral arteries*. J. Physiol. 266:17P-18P.

FRANKLIN D.L., ELLIS R.M. and RUSHMER R.F. (1959), *Aortic blood flow in dogs during treadmill exercise*. J. Appl. Physiol. 14:809-812.

FRANKLIN D.L., SCHLEGEL W. and RUSHMER R.F. (1961), *Blood flow measured by Doppler frequency shift of back-scattered ultrasound*. Science 134:564-565.

FRANKLIN D.L., SCHLEGEL W.A. and WATSON N.W. (1963), *Ultrasonic Doppler shift blood flowmeter: circuitry and practical applications*. Biomed. Sci. Instrum. 1:309-315.

IRISAWA H., GREER A.P. and RUSHMER R.F. (1959), *Changes in the dimensions of the venae cavae*. Am. J. Physiol. 196:741-744.

IZQUIERDO DE GARCÍA D. (1983), *Determinación del parámetro tiempo de tránsito arterial mediante una técnica no invasiva*. Magister Scientiarum en Farmacología, Universidad Central de Venezuela, Caracas.

LIGHT L.H. (1969), *Non-injurious ultrasonic technique for observing flow in the human aorta*. Nature 224:1119-1121.

LIGHT L.H. (1971), *Zero crossings direction-resolving Doppler instrument with improved rejection of tissue artifacts for transcutaneous aortovelocity*. J. Physiol. 217, 5P-7P.

PINARDI G., SÁINZ A. y SANTIAGO E. (1975), *A simple module for on line computation of stroke volume and cardiac output*. J. Appl. Physiol. 38:927-929.

Pinardi y Bernaola. Ultrasonido y doppler shift en trabajos pioneros de medición de flujos sanguíneos

PINARDI G. and SÁINZ A. (1977), *The use of Doppler-shifted ultrasound in cardiovascular evaluation*. Acta Cient. Venez. 28:305-312.

ROBERTS V.C. (1973), *The measurement of blood flow in intact blood vessels*. CRC Crit. Rev. Bioeng. 1:419-452.

ROBERTS V.C. and SÁINZ A. (1981), *Reduction of operator fatigue in Doppler ultrasound blood flow investigations*. J. Biomed. Eng., 3, 140-142.

RUSHMER R.F. (1954), *Continuous measurements of left ventricular dimensions in intact unanesthetized dogs*. Circ. Res. 2:14-21.

RUSHMER R.F. (1959), *Postural effects on the baselines of ventricular performance*. Circulation 20:897-905.

RUSHMER R.F., SMITH O.A. and FRANKLIN D.L. (1959), *Mechanisms of cardiac control in exercise*. Circ. Res. 7:602-627.

RUSHMER R.F., BAKER D.W. and STEGALL H.F. (1966), Transcutaneous Doppler flow detection as a nondestructive technique. J. Appl. Physiol. 21:554-566.

SÁINZ A. y PINARDI G. (1969), *Medición de flujo sanguíneo por variaciones de impedancia eléctrica*. Acta Cient. Venezolana 20 (Supl.1): 86.

SÁINZ A. y PINARDI G. (1970), *Tacómetro de estado sólido*. Acta Cient. Venezolana 21 (Supl.1): 51.

SÁINZ A. (1977), *A new analogue system for processing Doppler shifted ultrasound and its application in the study of cardiovascular hemodynamics*. Ph. D. Thesis. University of London, England.

SÁINZ A., ROBERTS V.C., PINARDI G. and LINDENAUER S.M. (1977), *Blood flow velocity and acceleration measurements by Doppler shift ultrasound*. En: "Non Invasive Clinical Measurements", edited by D.E.M. Taylor and J. Whamond. Pitman Medical Publ. Co. Ltd., London, 1977, pp. 6-18.

SÁINZ A., PINARDI G. and ROBERT V.C. (1975), *Analogue processing of CV Doppler flow signals*. Proc. 15<sup>th</sup> Anniversary International Conference of the Biological Engineering Society. Edimburg, Escocia.

SÁINZ A. and PINARDI G. (1976), *Blood flow measurements: velocity, acceleration and cross sectional area using Doppler shift ultrasound: a new approach*. Proc.11<sup>th</sup> International Conference on Medical and Biological Engineering, Ottawa. Canadá.

Pinardi y Bernaola. Ultrasonido y doppler shift en trabajos pioneros de medición de flujos sanguíneos

SÁINZ A., PINARDI G. y VÁSQUEZ JOSÉ V. (1988), *Desarrollo de un nuevo flujómetro Doppler de onda continua para la evaluación de parámetros hemodinámicos*. Proc. Workshop de Física Médica. 14-18 Noviembre, 201-208. San Carlos de Bariloche. Argentina.

SÁINZ A., ROBERTS V.C. and PINARDI G. (1976), *Phase-locked loop techniques applied to ultrasonic Doppler signal processing*. Ultrasonics 14:128-132.

SÁINZ A. and ROBERTS V.C. (1981), *Signal-to-noise enhancement in Doppler ultrasound systems*. Med. Biol. Eng. Comput., 19:665-667.

SÁINZ A., CABAU J. and ROBERTS V.C. (1995), *Deceleration vs. acceleration: a hemodynamic parameter in the assessment of vascular reactivity. A preliminary study*. Med. Eng. Phys. 17, 91-95.

STEGALL H.F., RUSHMER R.F. AND BAKER D.W. (1966), *A transcutaneous ultrasonic blood-velocity meter*. J. Appl. Physiol. 21:707-711.