

DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES ELÉCTRICAS EN TEJIDO SANGUÍNEO

FRANCISCO HERNÁNDEZ CABRERA*, CARLOS A. GUERRERO SALAZAR*, JOSÉ DE J. BERNAL ALVARADO**



El estudio de los materiales biológicos incide, a corto plazo, en la calidad de vida del ser humano, ya que este tipo de investigación tiene una amplia variedad de aplicaciones en el ámbito clínico, farmacológico y terapéutico. Se ha determinado que las propiedades físicas de los tejidos biológicos dependen de su estructura¹⁻³ y estado funcional,⁴⁻⁶ por lo que la caracterización de estas propiedades en los tejidos de origen humano y animal han tenido grandes contribuciones,^{1,7,11-13,16,17} en gran parte porque los parámetros proporcionados pueden aplicarse como un indicador de diagnóstico,^{8-10,14,15} o para fines terapéuticos.¹ Por otra parte, en el campo de las ciencias básicas, los modelos matemáticos que describen la evolución de los sistemas biológicos suponen el conocimiento numérico de las propiedades físicas del objeto de estudio.

Dentro de los métodos para caracterización, la espectroscopía de impedancia se ha aplicado regularmente al estudio de los materiales biológicos desde principios del siglo pasado, estableciendo un

avance importante en la década de los cuarenta, cuando se propuso el modelo de Cole-Cole como vía de caracterización cuantitativa, con base en la representación mediante circuitos eléctricos equivalentes, de la respuesta a la frecuencia de este tipo de materiales. Actualmente, a diferencia de hace veinte años, los avances tecnológicos permiten desarrollar mediciones más precisas de los parámetros eléctricos.

El objetivo de esta investigación se enfoca en la medición y estudio de las propiedades eléctricas del tejido sanguíneo mediante la espectroscopía de impedancia eléctrica, aportando información numérica concisa, obtenida bajo metodologías modernas y rigurosas. Se espera contribuir a un conocimiento más preciso de este importante fluido y, en una estricta colaboración con médicos especialistas, se desea enfocar la línea de investigación hacia el monitoreo y diagnóstico de patologías de carácter e importancia pública, por ejemplo, las leucemias.

Metodología

Las muestras de sangre primero se analizaron clínicamente, siguiendo las normas de seguridad e higiene que rigen los centros de transfusión sanguí-

□ El presente artículo está basado en la investigación «Determinación de las propiedades eléctricas en tejido sanguíneo», galardonada con el Premio de Investigación UANL 2004 en la categoría de Ciencias de la Salud, otorgado en sesión solemne del Consejo Universitario de la UANL, en septiembre de 2005.

* Universidad Autónoma de Nuevo León, Pedro de Alba s/n, 66450 San Nicolás de los Garza, N. L., México.

** Instituto de Física de la Universidad de Guanajuato, A. P. E-143, 37150 León, Gto., México.

nea en el país. Los donadores potenciales de sangre se evaluaron a fin seleccionar sólo aquellos libres de VIH, hepatitis, brucelosis y enfermedad de Chagas. Una vez seleccionadas las muestras de sangre entera y sus componentes principales (eritrocitos, leucocitos y plasma) se utilizaron tiras reactivas para glucómetro Bayer® como contenedores de los fluidos sanguíneos. Estas tiras tienen un par de electrodos de plata en su cavidad y un volumen útil de 2µL. Para determinar las propiedades eléctricas del tejido sanguíneo se empleó la técnica de espectroscopía de impedancia eléctrica que consiste en aplicar una diferencia de potencial alterna en los electrodos, haciendo pasar una corriente alterna de baja potencia a través de una muestra, tomando esta entrada como referencia para compararla con las mediciones de corriente y el voltaje a la salida. Utilizando una representación en el plano complejo de la ley de Ohm, se puede obtener el valor para la impedancia eléctrica en la amplitud y fase. Finalmente, un barrido en frecuencia da como resultado el espectro característico de la muestra. Los espectros obtenidos se caracterizan mediante patrones de circuito eléctrico equivalente que modelan el comportamiento eléctrico de las muestras. El equipo utilizado fue un espectrómetro de impedancia marca Solartron Modelo 1260 y el paquete de ajuste para el estudio de los espectros fue el software Zview®. Las muestras se analizaron espectroscópicamente en un rango de frecuencias de 1Hz a 32MHz, aplicando una diferencia de potencial regulada menor a 20mV. Considerando el modelo Cole-Cole que se basa en la modificación de la fórmula para la reactancia capacitiva, Z_C , la cual se escribe como:

$$Z_C = \frac{1}{(j\omega)^P C_T} \quad (1)$$

Donde $j = \sqrt{-1}$ es la unidad imaginaria y ω es la frecuencia angular de la corriente alterna utilizada como excitación. El parámetro C_T está estrechamente relacionado con la capacitancia de la muestra, mientras que la potencia P tiene una interpretación basada en la existencia de múltiples caminos eléctricos entre los electrodos que conllevan a una distribución estadística de tiempos de relajación alrededor de un valor promedio. De hecho, es importante notar que en el caso de observar el comportamiento de un sistema capacitivo ideal, con un solo tiem-

po característico, P habrá de tender a 1 por la izquierda y C_T se convertirá exactamente en la capacitancia ideal del dispositivo. Uno de los circuitos equivalentes más simples, el cual se utiliza en el estudio de tejidos biológicos, está formado por un circuito resistencia (R_p)-Capacitor(C) en paralelo, con una resistencia en serie, R_s , adicional que, en general, refleja la resistencia eléctrica de la interfase muestra-electrodo y mantiene un valor despreciable con respecto a R_p . Este trabajo emplea la representación algebraica del circuito mencionado en el ajuste a los espectros de impedancia con la modificación para el modelo Cole-Cole y con una impedancia total expresada como:

$$Z = R_s + \frac{R_p}{1 + R_p C_T (j\omega)^P} \quad (2)$$

Resultados

El espectro de impedancia característico de la sangre entera se grafica en el plano complejo (figura 1) con el valor característico de cada uno de los parámetros eléctricos medidos.

Por otra parte, se observa que los espectros correspondientes a cada uno de los componentes principales de la sangre (eritrocitos, leucocitos y plasma) se encuentran perfectamente desacoplados (figura 2). Esto indica que existen diferencias medibles en sus parámetros eléctricos que, de acuerdo al modelo de circuito equivalente propuesto, permiten su caracterización eléctrica.

Asimismo, se obtuvieron los histogramas que describen el comportamiento estadístico de los parámetros eléctricos en una población de 58 perso-

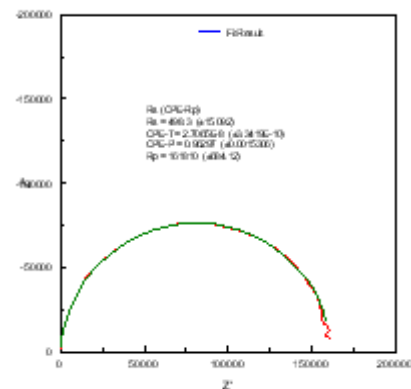


Fig. 1. Espectro de impedancia característico de la sangre humana y ajuste al modelo Cole-Cole.

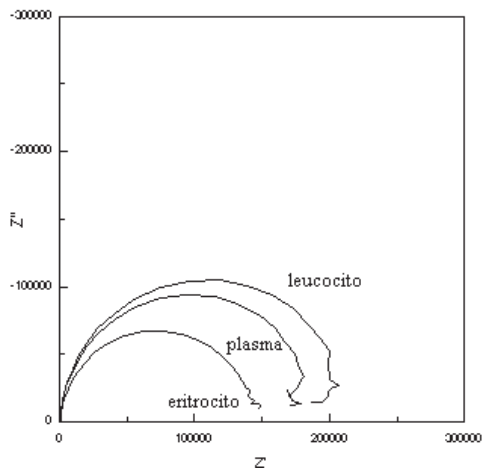


Fig. 2. Espectros de impedancia de los componentes principales de la sangre.

nas saludables. Las figuras 3, 4 y 5 presentan las distribuciones de frecuencia para R_p , C_T y P .

Al tenerse los valores de los parámetros eléctricos de muestras sanas, se analizaron dos muestras de casos clínicos de leucemia para ver las posibles anomalías.

Discusión

Se realizaron experimentos previos que demuestran que el uso de las tiras reactivas Bayer® empleadas no afectan los espectros de impedancia. Estas tiras tienen un tiempo de reacción de aproximadamente ocho minutos para actuar con la glucosa contenida en la sangre, además son contenedores estandarizados y desechables sumamente prácticos para estudios poblacionales.

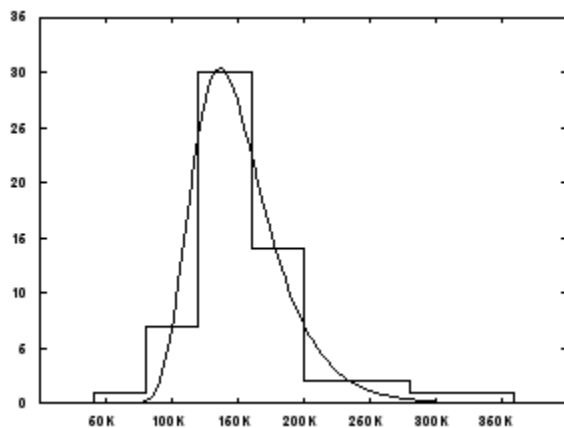


Fig. 3. Histograma para R_p .

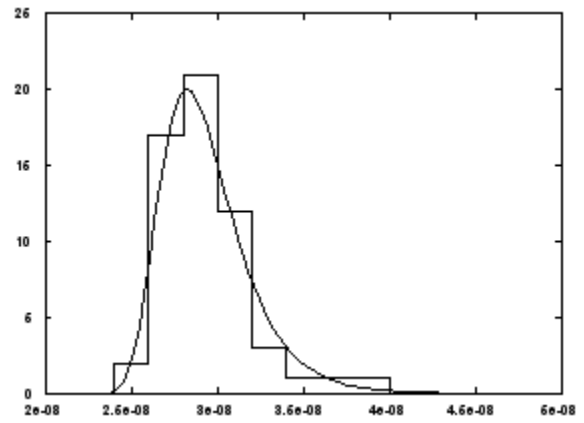


Fig. 4. Histograma para el parámetro C_T .

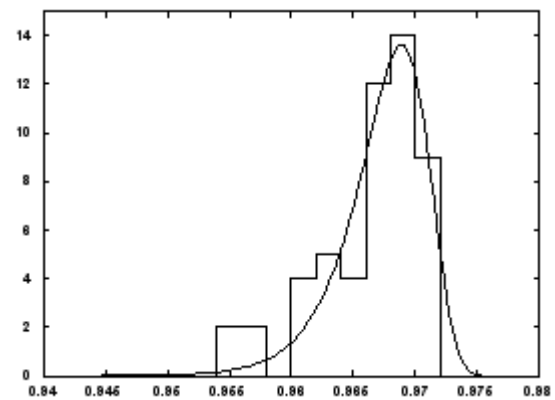


Fig. 5. Histograma de la potencia P del término imaginario.

En general, los tejidos biológicos tienen características de variabilidad dieléctrica, tales variaciones son naturales y pueden atribuirse a procesos fisiológicos o a otros requisitos funcionales de cada individuo. Por esta razón, en los histogramas de los parámetros eléctricos existe cierto sesgo de la distribución y se aprecia una dispersión moderada en los resultados, este efecto dispersivo también aparece al momento de medir clínicamente poblaciones celulares de muestras sanguíneas por métodos convencionales, reflejando diferencias en la concentración de electrolitos, proteínas, hematocritos, volumen corpuscular medio de eritrocitos, etc.

Los resultados en sangre entera pueden presentar semejanza con algún parámetro eléctrico de un componente específico (plasma, eritrocitos, leucocitos), pero si se comparan todos sus parámetros se encontrará una diferencia significativa. Esto proporciona un estado característico del sistema

analizado, fundamentado en tres factores: primero, cada componente posee diferentes frecuencias de excitación; segundo, la impedancia total de la muestra depende del acomodo de los elementos microscópicos y de las propiedades de contacto entre ellos, lo que significa que la mezcla es más complicada que la suma algebraica de los componentes, y tercero, los glóbulos rojos poseen carga eléctrica en su membrana que incluye un factor adicional en la energía eléctrica por unidad de volumen. Sin em-

bargo, aún no se cumple el principio de superposición en los espectros de impedancia. En la figura 6 se aprecia que la impedancia a bajas frecuencias es más alta para leucocitos que para eritrocitos, quedando el plasma en una impedancia intermedia, esto representa una característica importante que los identifica. Para altas frecuencias la impedancia de cada componente tiende a ser a cero. También se observó que a bajas frecuencias se presentan ligeras perturbaciones para leucocitos y plasma. Esto puede deberse a que el sistema expuesto en los primeros instantes a un campo eléctrico tiende a un reacomodo de carga para minimizar los caminos de transferencia entre los electrodos.

La leucemia histolítica aguda se caracteriza por un aumento en la cantidad de leucocitos, conteo bajo de eritrocitos, bajo porcentaje de hematocritos y conteo bajo de plaquetas. Estas características se ven reflejadas en la grafica comparativa (figura 6) de las curvas de impedancia.

Las gráficas comparativas de la figura 7 permiten plantear las siguientes conclusiones: la resistencia en paralelo del modelo eléctrico es un factor importante en la representación de la conductividad dentro del fluido. Con este dato se pueden diferenciar claramente los glóbulos rojos de cualquier componente de la sangre, así como la relación de este parámetro respecto al número de células presentes. En las graficas de plasma y glóbulos blancos se tiene que las barras de error son relativamente estrechas, pero se diferencian en un pequeño margen de resistividad, así que se requiere otro parámetro que caracterice claramente entre sí a estos componentes. La resistividad en serie del modelo eléctrico es provocada por la estructura presente y su interacción en la interfase electrodo-muestra, así que con este parámetro es posible diferenciar claramente el plasma de los glóbulos blancos, y éstos, a su vez, de los eritrocitos. Las barras de error de cada uno no se traslapan con el siguiente, lo que indica que es un buen parámetro para realizar la caracterización. La comparación del parámetro C_p muestra que las barras de error están traslapándose y de esta forma no es posible tomar la medida de C_p como parámetro confiable en la caracterización de los componentes de la sangre. El valor de la potencia en el modelo eléctrico podría utilizarse en conjunto con la resistencia en serie, la resistencia en paralelo, o bien con ambas, para comprobar el estado del componente analizado. Porque, si bien se aprecia definitivamente la variación en la poten-

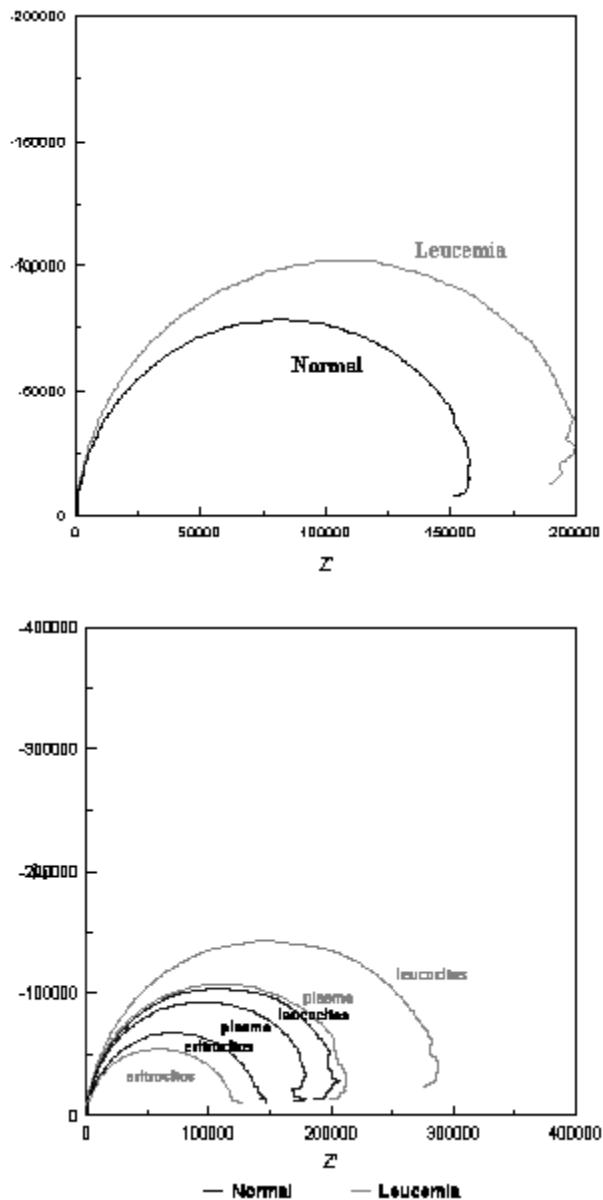


Fig. 6. Comparación de las curvas de impedancia en sangre normal y un caso de leucemia (arriba: sangre entera; abajo: componentes principales).

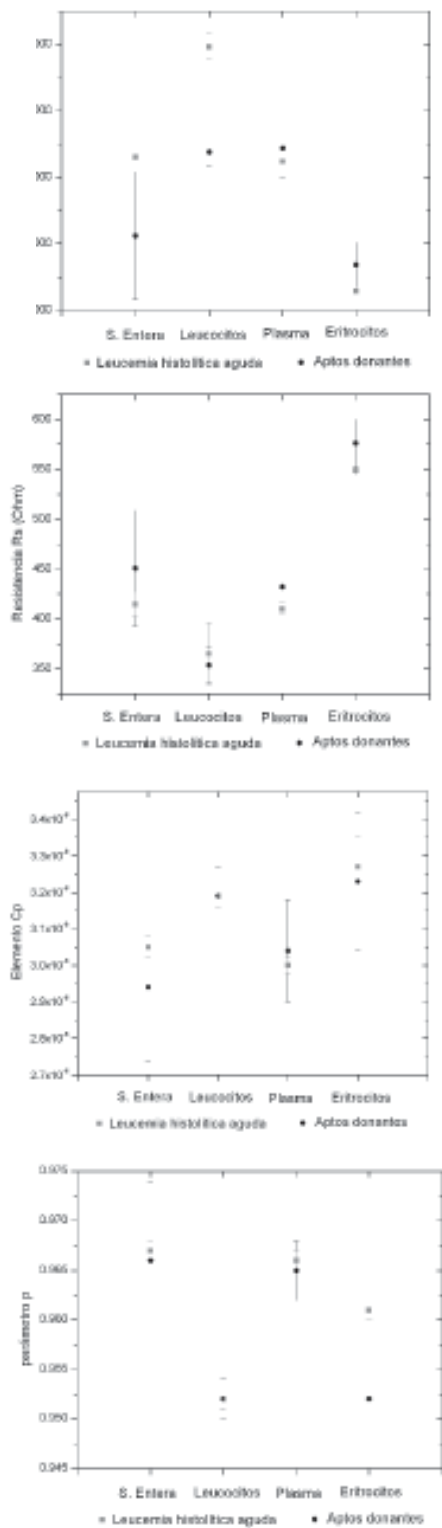


Fig. 7. Gráficas comparativas de los parámetros eléctricos del modelo de Cole-Cole.

cia con relación a los componentes de la sangre, hay un pequeño traslape de las barras de error que hace disminuir el intervalo de confianza para hacer un juicio objetivo del estado de la muestra. Con base en lo anterior, es posible diferenciar los componentes básicos de la sangre en pacientes aptos para donación, siempre que se tengan todos los parámetros.

Los leucocitos son las células más grandes dentro del fluido biológico en cuestión, presentan núcleo grande y con poco citoplasma, a diferencia de los eritrocitos que poseen una estructura en disco y propiedades que les confieren un carácter de fluido no newtoniano. Por otro lado, el plasma formado principalmente por iones y moléculas proteicas en solución acuosa tiene la apariencia a un electrolito con partículas en suspensión. Por todo lo anterior, los valores de los parámetros eléctricos encontrados corresponden a las características estructurales de cada componente, por ejemplo, se esperaba que los leucocitos presentaran mayor resistencia en paralelo que se demuestra en la primer gráfica comparativa (figura 7), también se esperaba una mejor respuesta capacitiva en base a su estructura cuasi-esférica, y se observa cómo sus barras de error son pequeñas, denotando la confiabilidad en el valor de un C_p característico. Los eritrocitos tienen mayor conductividad (menor resistencia en paralelo) y tienen mayor dispersión en el valor del parámetro C_p.

Conclusión

El estudio realizado a muestras de casos clínicos con alguna patología (leucemia) en el fluido sanguíneo permitió comparar los parámetros eléctricos determinados para sangre entera y sus componentes principales (plasma, eritrocitos, leucocitos) y los valores característicos correspondientes a personas sanas.

Aunque sólo se compararon dos casos, se observó que los parámetros, fuera de intervalo, muy posiblemente están en relación directa con la afección. La espectroscopía de impedancia eléctrica aplicada en esta investigación proporciona resultados confiables aun en muestras relativamente pequeñas del fluido hemático, lo que nos motiva a proponer una técnica de diagnóstico preliminar para algunas patologías caracterizadas rigurosamente mediante este método, utilizando para ello tan sólo una gota de sangre.

Resumen

Con tiras reactivas de glucómetro Bayer® como contenedor para muestras de sangre humana, se obtuvieron los espectros correspondientes de impedancia eléctrica. Los resultados se ajustaron al modelo de elemento distribuido de Cole-Cole para determinar los parámetros eléctricos del circuito equivalente. Los valores de los parámetros eléctricos reportados indican que son característicos en la sangre entera, plasma, eritrocitos y leucocitos para las muestras de una población de personas saludables, aptas para donación.

Palabras clave: Impedancia eléctrica, Diferencia de potencial, Circuito eléctrico equivalente, Proteínas inmunológicas, Modelo Cole-Cole.

Abstract

By using reactive strips of the Bayer's portable glucometer, as a container, the electric impedance spectrum of human blood was obtained. The results were adjusted by using the distributed element of the Cole-Cole model, and the corresponding parameters were obtained. Several samples were studied and the results for the electric parameters of the equivalent circuit are reported -average value and standard deviation-. The samples were obtained during a random sampling from healthy donors. These donors were adults and free of infectious diseases.

Keywords: Electrical impedance, Potential difference, Electrical equivalent circuit, Immunological proteins, Cole-Cole model.

Referencias

- Ahuja, A. S., and Hendee, W. R, *Phys. Med. Biol.* 23, 937-951 (1978).
- Jaspard, F. and Nadi, M., *Physiol. Meas.* 23, 547-554 (2003).
- Spells, K.E. *Phys. Med. Biol.* 5, 139-153 (1960).
- Tungjitkusolmun, S.; Woo, E.J.; Cao, H.; Tsai, J.-Z.; Vorperian, V.R.; Webster, J.G. *Med. Biol. Eng. Comput.* 38, 562-568 (2000).
- Chatterjee, I.; Gandhi, O.P. *IEEE Trans. Bio-Med. Eng.* BME-30, 707-715 (1983).
- Sherar, M.D.; Gladman, A.S.; Davidson, S.R.H.; Trachtenberg, J.; Gertner, M.R. *Phys. Med. Biol.* 46, 1905-1918 (2001).
- Bernal-Alvarado, J., Manzanares, A. M., da Silva, E.C., Moreira, S.G.C., *Rev. Sci. Inst.* 74, 697-699 (2003).
- Pereira, J.R.D., Manzanares, A.M., Palangana, A. J. And Baesso, M. L., *Mol. Cris. Liq.* 333, 3079 (1999).
- Martínez-Flores, J. O., Yáñez Limón, J. M., Espinoza-Beltrán, F.J., González-Hernández J. *Rev. Sci. Inst.* 74, 814-817 (2003).
- Antonio, J.S.; Egée, M.; Chirtoc, M.; Bissieux, C.; Potron, G. *J. Phys. IV* 4, C7469-C7472 (1994).
- Landa, A.; Alvarado-Gil, J.J.; Gutiérrez-Juárez, G.; Vargas-Luna, M. *Rev. Sci. Inst.* 74, 377-379 (2003).
- Baesso, M. L., Shen, J., Snook, R.D., *Chem. Phys. Lett.* 197, 255 (1992).
- Baesso, L.; Snook, R.D. *J. App. Phys.* 75, 3732 (1994).
- Shen, J.; Lower, R.D.; Snook, R.D. *Chem. Phys.* 165, 385 (1992).
- Cruickshank, A.M. *J. Clin. Pathol.* 54, 827-830 (2001).
- Duck F.A. *Physical Properties of Tissues: A comprehensive Reference Book.* Ed.: Academic Press: San Diego, 1990; 16-17.
- Balasubramaniam T.A., Bowman H.F, J. *Biomech. Eng. Trans. ASME*, 99, 148-154, (1977).