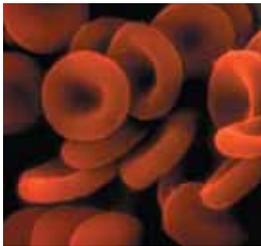


Determinación de las propiedades eléctricas en tejido sanguíneo

Francisco Hernández Cabrera, Carlos Alberto Guerrero Salazar
Universidad Autónoma de Nuevo León,
Pedro de Alba s/n, 66450 San Nicolás de los Garza, N. L., México.
fcabrera007@yahoo.com.mx

José de Jesús Bernal Alvarado
Instituto de Física de la Universidad de Guanajuato,
Apartado Postal E-143, 37150 León, Gto., México.



RESUMEN

Utilizando tiras reactivas de glucómetro Bayer® como contenedor para muestras de sangre humana se obtuvieron los correspondientes espectros de impedancia eléctrica. Los resultados fueron ajustados utilizando el 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 proporcionadas por el Centro de Transfusiones del Estado de Guanajuato, México.

PALABRAS CLAVE

Impedancia Eléctrica, diferencia de potencial, circuito eléctrico equivalente, proteínas inmunológicas, modelo Cole-Cole.

ABSTRACT

Using reactive strips of the Bayer's portable glucometer as a container, the electric impedance spectrum of human blood was obtained. The results were fitted using the distributed element of the Cole-Cole model and the corresponding parameters were obtained. Several samples were studied and the result for the electric parameters of the equivalent circuit, are reported. The samples were obtained from donors at the Guanajuato State Transfusion Center, in México; people were adult individuals in an aleatory sampling from healthy donors, they were free of hepatitis and other diseases.

KEYWORDS

Electrical impedance, potential difference, electrical equivalent circuit, immunological proteins, Cole-Cole model.

INTRODUCCIÓN

El estudio de los materiales biológicos posee la característica de incidir a corto plazo en la calidad de vida del ser humano, ya que este tipo de investigación

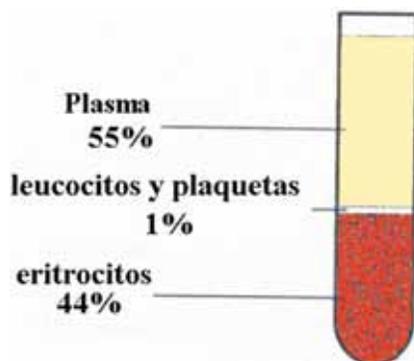


Proyecto galardonado con el Premio de Investigación UANL 2004, en la categoría de Ingeniería y Tecnología, otorgado en la Sesión Solemne del Consejo Universitario de la UANL el 14 de Septiembre de 2005.

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 en la caracterización de estas propiedades en los tejidos de origen humano y animal se han hecho grandes aportaciones,^{1,7,11-13,16,17} en gran parte porque los parámetros medidos pueden utilizarse como un indicador de diagnóstico^{8-10,14,15} o para fines terapéuticos¹. Por otra parte, en el campo de las ciencias básicas, los modelos matemáticos que describen la evolución de los sistemas biológicos asumen 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 años 40's, cuando se propuso el modelo de Cole-Cole como vía de caracterización cuantitativa, en base a la representación mediante circuitos eléctricos equivalentes, de la respuesta a la frecuencia de este tipo de materiales. Actualmente los avances tecnológicos permiten desarrollar mediciones de parámetros eléctricos más precisos que incluso hace veinte años.

El objetivo de esta investigación, se enfoca a 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

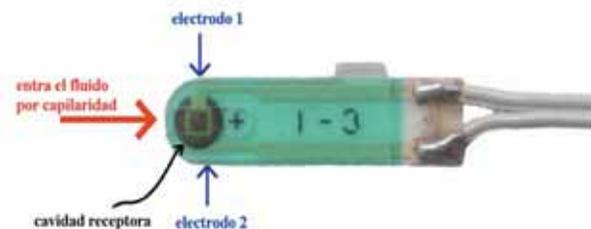


Principales componentes del fluido sanguíneo

y, basados en una estricta colaboración con médicos especialistas, deseamos enfocar nuestra línea de investigación hacia el monitoreo y diagnóstico de patologías de carácter e importancia pública, tales como las leucemias.

METODOLOGÍA

Al inicio, todas las muestras de sangre fueron analizadas clínicamente, siguiendo las normas de seguridad e higiene que rigen los centros de transfusión sanguínea en el país. Los potenciales donadores de sangre fueron evaluados a fin de seleccionar sólo aquellos libres de VIH, Hepatitis, Brucelosis y Enfermedad de Chagas. Una vez seleccionadas las muestras de sangre 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.



Se utilizó una tira de glucómetro comercial marca Bayer® como contenedor con capacidad de 2µl de fluido.

Para determinar las propiedades eléctricas del tejido sanguíneo se utilizó la técnica de espectroscopía de impedancia eléctrica, la cual consiste en aplicar una diferencia de potencial alterna en los electrodos de manera que pase una corriente alterna de baja potencia a través de la muestra; esta entrada se tomará 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.

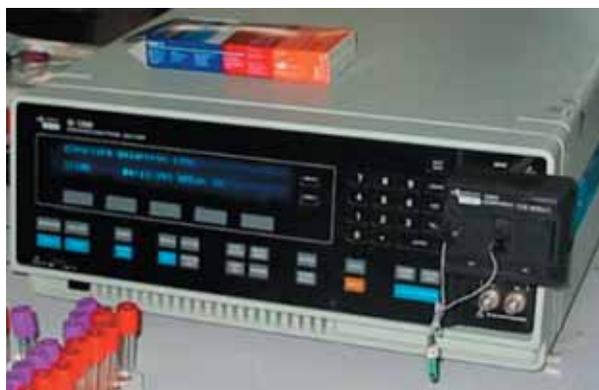
Los espectros obtenidos son caracterizados mediante modelos de circuito eléctrico equivalente que reflejan el comportamiento de las muestras a un estímulo eléctrico.

El equipo utilizado fue un espectrómetro de impedancia marca Solartron Modelo 1260. Las muestras se analizaron espectroscópicamente en un rango de frecuencias de 1Hz a 32MHz, aplicando una diferencia de potencial regulada menor a 20mV. Se usó el modelo Cole-Cole para el ajuste de los espectros medidos, este modelo 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. Uno de los circuitos equivalentes más simples y que se usa regularmente en el estudio de tejidos biológicos, está formado por una resistencia (R_p) unida a un capacitor (C) en paralelo y éstos a su vez con una resistencia en serie, R_s . Esta última refleja la resistencia eléctrica de la interfase muestra-electrodo. Este trabajo utiliza la representación algebraica correspondiente al mencionado circuito en el ajuste a los espectros de impedancia con la modificación para el modelo Cole-Cole y con una impedancia total expresada como:

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



Equipo de espectroscopía de impedancia eléctrica (Solartron 1260) analizando una muestra.

RESULTADOS

El espectro de impedancia característico de la sangre entera es graficado en el plano complejo (figura 1) con el valor característico de cada uno de los parámetros eléctricos obtenidos de acuerdo a la ecuación 2.

Por otra parte, se observa que los espectros correspondientes a cada uno de los principales componentes de la sangre (eritrocitos, leucocitos y plasma) se encuentran perfectamente desacoplados (figura 2). Lo cual indica que existen diferencias

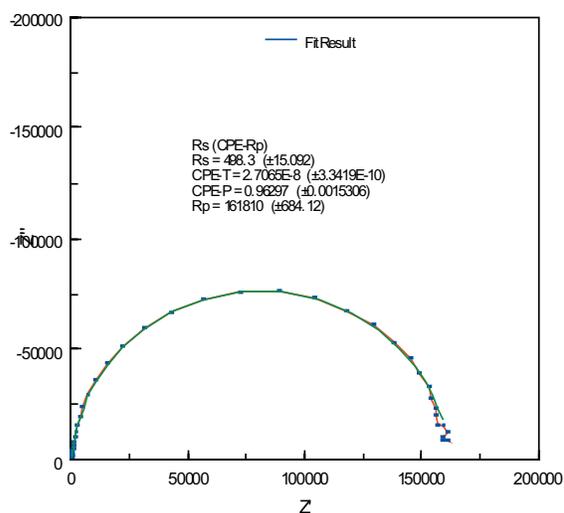


Fig. 1. Espectro de impedancia característico de la sangre humana y ajuste al modelo Cole-Cole.

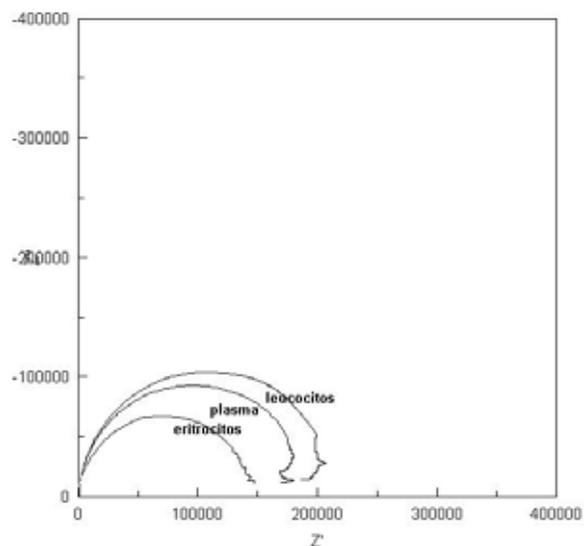


Fig. 2. Espectros de impedancia de los componentes principales de la sangre.

mensurables 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 personas saludables. Las gráficas de 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. Estos resultados se comparan con los valores normales en las gráficas de la figura 6.

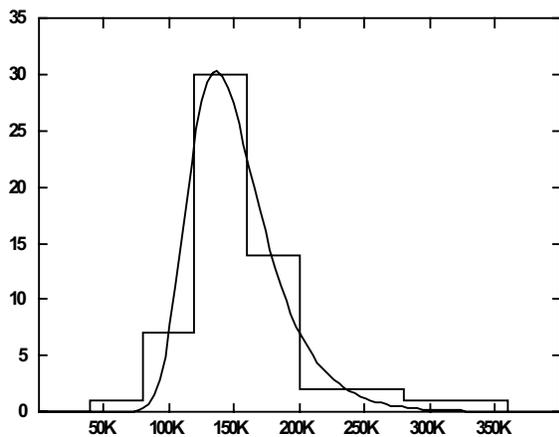


Fig. 3. Histograma para R_p .

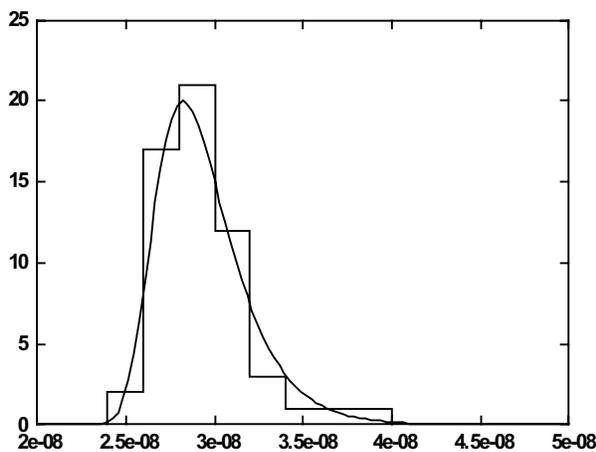


Fig. 4. Histograma para el parámetro C_T .

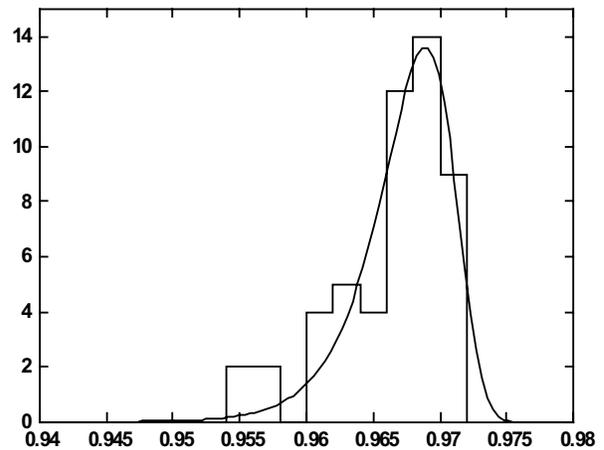


Fig. 5. Histograma de la potencia del término imaginario.

DISCUSIÓN

Para las propiedades eléctricas se realizaron experimentos previos demostrando que el uso de las tiras reactivas Bayer® usadas no afectan los espectros de impedancia. Estas tiras tienen un tiempo de reacción de aproximadamente 8 minutos para actuar con la glucosa contenida en la sangre, por otro lado, es un contenedor estandarizado y desechable sumamente práctico para estudios poblacionales.

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, hematocrito, 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 comparamos todos sus parámetros encontramos una diferencia significativa. Esto nos proporciona un estado característico del sistema analizado, fundamentado en tres factores: primero,

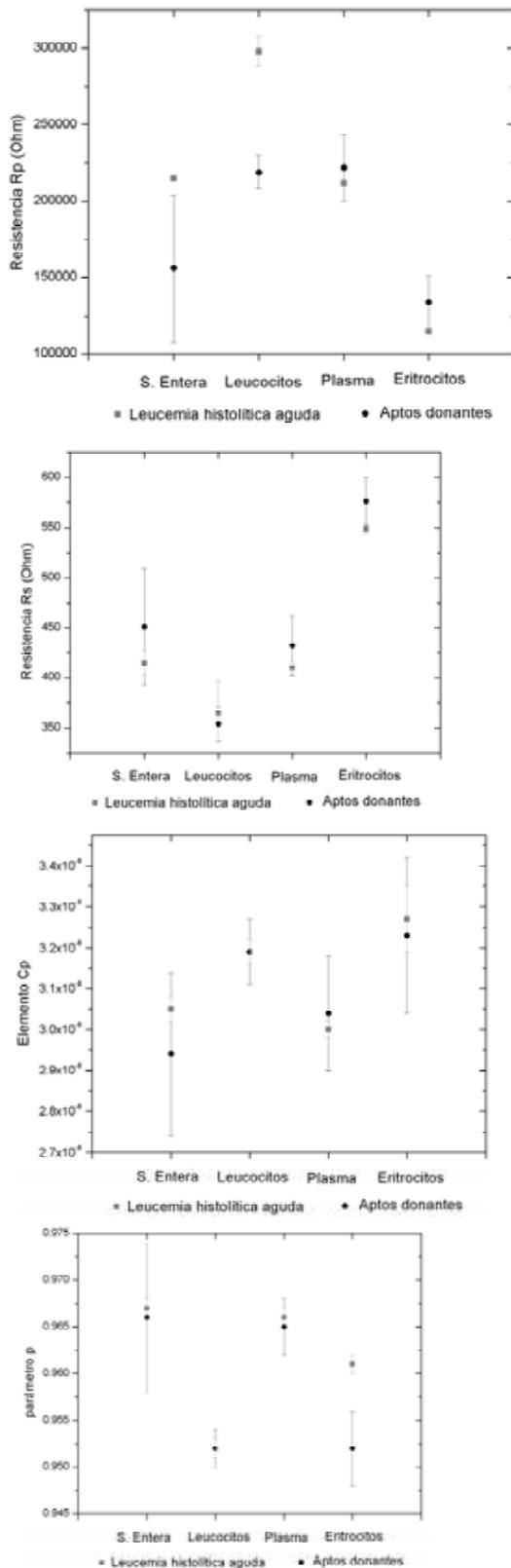


Fig. 6. Gráficas comparativas de los parámetros eléctricos del modelo de Cole-Cole.

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 embargo no se cumple el principio de superposición en los espectros de impedancia.

En la figura 7a se muestra que los valores de impedancia en sangre entera normal se diferencian claramente de sangre entera para un caso clínico de leucemia y en la figura 7b 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.

En relación a la leucemia histolítica aguda caracterizada por un aumento en la cantidad de leucocitos, conteo bajo de eritrocitos, bajo porcentaje de hematocrito y conteo bajo de plaquetas. Se tiene que estas características son reflejadas en la gráfica comparativa (figura 7b) de las curvas de impedancia.

CONCLUSIONES

El análisis de los datos permite plantear que la resistencia en paralelo del modelo eléctrico resulta un factor importante en la representación de la conductividad dentro del fluido, ya que con este dato se puede diferenciar claramente los glóbulos rojos de cualquiera de los componentes de la sangre, así como la relación de este parámetro respecto al número de células presentes.

En las gráficas de plasma y glóbulos blancos se observa que las barras de error son relativamente estrechas pero se diferencian en un pequeño

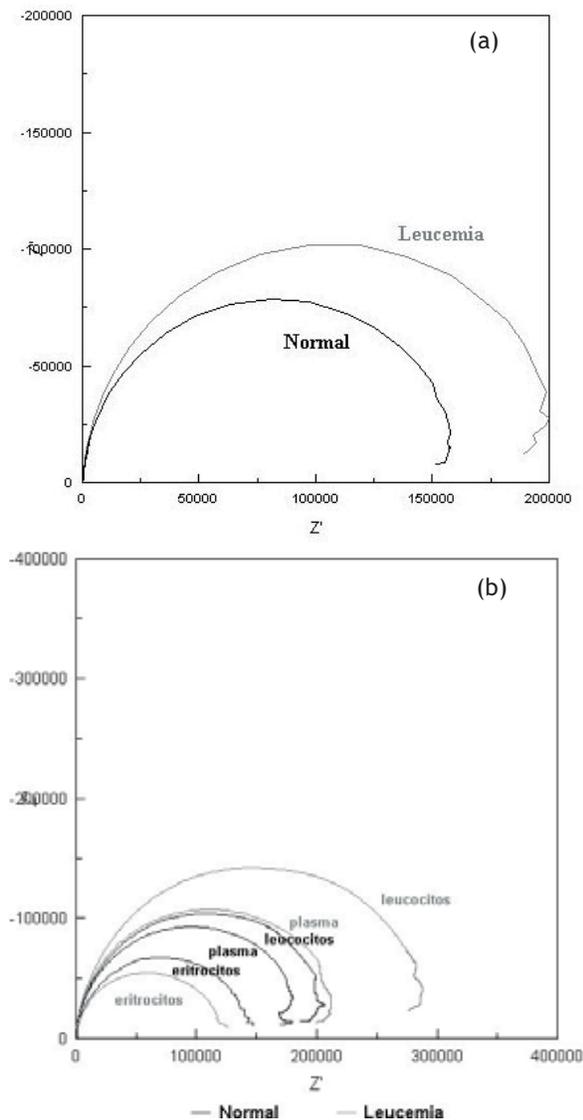


Fig. 7. Comparación de las curvas de impedancia en sangre normal y un caso de leucemia (a) sangre entera, (b) componentes principales.

margen de resistividad, así que 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 hacer 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 potencia 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 de 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, también se esperaba una mejor respuesta capacitiva en base a su estructura cuasi-esférica, y se observa como 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 .

El estudio realizado a muestras de casos clínicos con alguna patología (leucemia) en el fluido sanguíneo, permitió establecer una comparación entre los parámetros eléctricos determinados para sangre entera así como de 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 rango muy posiblemente estén en relación directa con la afección. La espectroscopía de impedancia eléctrica utilizada en esta investigación proporciona resultados confiables aún 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 solo una gota de sangre.

BIBLIOGRAFÍA

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

