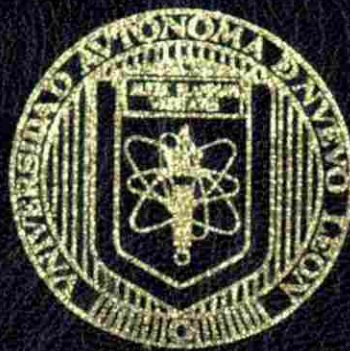


UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE INGENIERIA MECANICA Y ELECTRICA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POST-GRADO



**CARACTERIZACION DE SANGRE
POR ESPECTROSCOPIA DE IMPEDANCIA ELECTRICA
MEDICION DE LA DIFUSIVIDAD TERMICA DEL SUERO**

POR:

FRANCISCO HERNANDEZ CABRETA

TESIS

**PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN
CIENCIAS DE LA INGENIERIA MECANICA
CON ESPECIALIDAD EN MATERIALES**

CD. UNIVERSITARIA

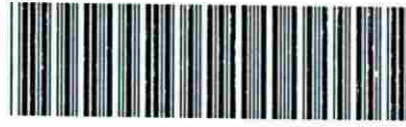
MAYO DEL 2004

23
32

IN
Z5853
FINE
2004
14

CARACTERIZACION DE SANGRE
POR ESPECTROPLA DE IMPEDANCIAS
ELECTRICAS

TE
TE
TE
C



1020146699



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

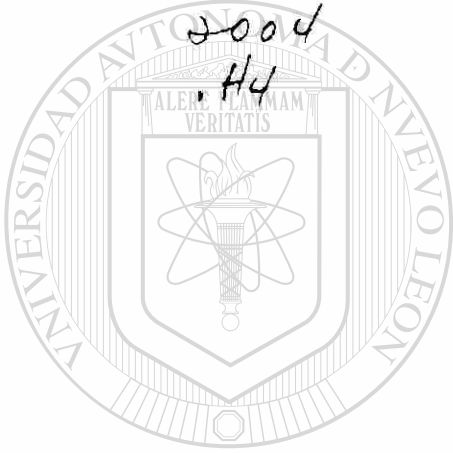


DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

980 006

TH
Z5853
.M2
FIME

2004
.H4



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

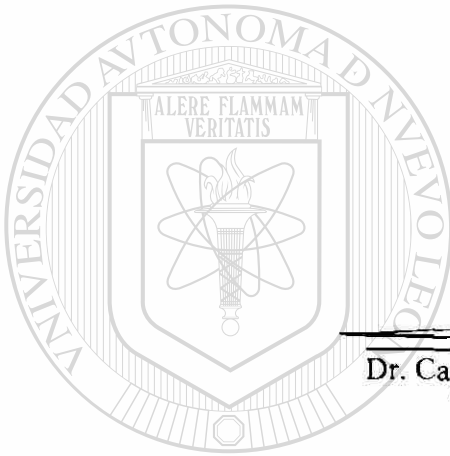


FONDO
TESIS

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE INGENIERÍA MECÁNICA Y ELÉCTRICA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO**

Los miembros del comité de tesis recomendamos que la tesis: "Caracterización de sangre por espectroscopía de impedancia eléctrica. Medición de la difusividad térmica del suero" realizada por el Lic. Francisco Hernández Cabrera con número de matrícula 721152 sea aceptada para su defensa como opción al grado de Maestro en Ciencias de la Ingeniería Mecánica con Especialidad en Materiales.

El comité de Tesis




Dr. Carlos Alberto Guerrero Salazar
Asesor

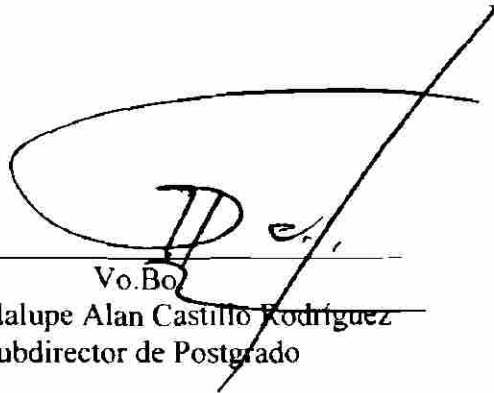
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



Dr. José de Jesús Bernal Alvarado
Coasesor



Dr. Ubaldo Ortiz Méndez
Revisor


Vo.Bo
Dr. Guadalupe Alan Castillo Rodríguez
Subdirector de Postgrado

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE INGENIERÍA MECÁNICA Y ELÉCTRICA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POST-GRADO



**CARACTERIZACIÓN DE SANGRE POR ESPECTROSCOPIA
DE IMPEDANCIA ELÉCTRICA.
MEDICIÓN DE LA DIFUSIVIDAD TÉRMICA DEL SUERO.**

POR:

FRANCISCO HERNÁNDEZ CABRERA

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

TESIS

**PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS
DE LA INGENIERÍA MECÁNICA CON ESPECIALIDAD EN
MATERIALES**

CD. UNIVERSITARIA

MAYO DEL 2004



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



FONDO
TESIS

DEDICATORIA

A mis padres

Raúl (†) y Marcelina por darme la vida y el amor que me impulsa a continuar la búsqueda del conocimiento.

A mis hermanos

Luis, Alma Luz, Raúl, Silvia Elisa, Juan Cristóbal por su cariño incondicional y la felicidad que siempre me comparten.

A mi novia

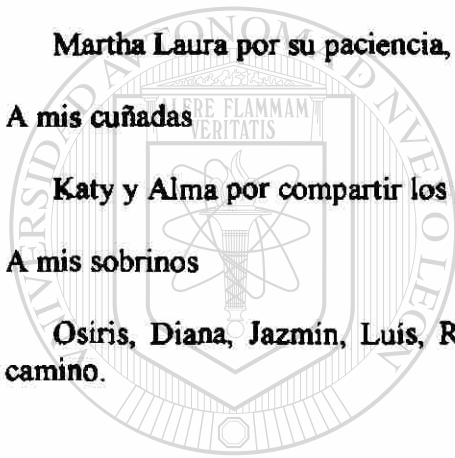
Martha Laura por su paciencia, consejos y comprensión.

A mis cuñadas

Katy y Alma por compartir los momentos felices con la familia

A mis sobrinos

Osiris, Diana, Jazmín, Luis, Raúl, Gema, Lázaro, Vania, Tania y los que vienen en camino.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



AGRADECIMIENTOS

Al postgrado del Instituto de Física de León Gto. y en particular al Dr. Jesús Bernal por todas las atenciones así como por la confianza que me proporciono para llevar a cabo esta Tesis.

Al Doctorado en Ingeniería de los Materiales y en especial al Dr. Carlos A. Guerrero por su infinita paciencia, comprensión y apoyo que me brindo para la realización de este trabajo.

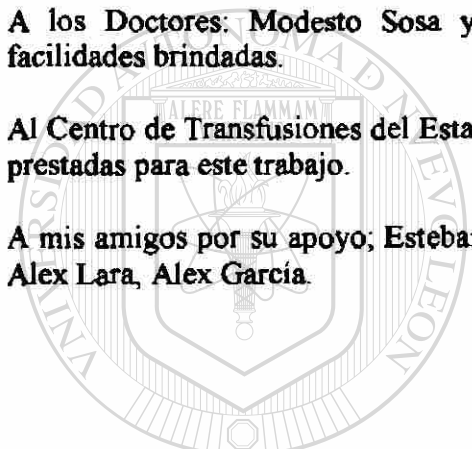
Al Dr. Ubaldo Ortiz por la disponibilidad, comprensión, consejos y apoyo durante mis estudios.

Al Dr. Alan Castillo por permitirme continuar los trámites para la defensa de esta tesis.

A los Doctores: Modesto Sosa y Miguel Vargas por sus observaciones y todas las facilidades brindadas.

Al Centro de Transfusiones del Estado de Guanajuato y al Dr. Palomares por las facilidades prestadas para este trabajo.

A mis amigos por su apoyo; Esteban, Tomas, Juan F., Toño, Quique, Candelario, Valentín, Alex Lara, Alex García.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



RESUMEN

CARACTERIZACIÓN DE SANGRE POR ESPECTROSCOPIA DE IMPEDANCIA ELÉCTRICA

Se extrajeron un total de 58 muestras de sangre entera en el centro de transfusiones del estado de Guanajuato, donde se obtuvieron las biometrías correspondientes y se determinó que pertenecían a personas aptas para donación, de edades entre 18 y 35 años, tomadas aleatoriamente de la población sana, libre de agentes patógenos y contaminantes. Las muestras colectadas en el centro de transfusiones fueron colocadas en un contenedor comercial elite de Bayer con placas de platino de 2 microlitros de volumen y sometidas a un espectrómetro de impedancia (Solartron 1260) en un rango de frecuencia de 1Hz a 10000Hz a voltaje constante de 10mV, de esta forma se obtuvieron los espectros de impedancia eléctrica, después se ajustaron a un circuito equivalente mediante un modelo de Cole-Cole para determinar los parámetros eléctricos y su correspondiente desviación estándar. De la misma manera se analizaron los componentes básicos de la sangre (eritrocitos, leucocitos y plasma) encontrando una clara diferencia entre los valores de los parámetros eléctricos representativos de cada fluido biológico. Por último se hace una comparación del valor promedio de cada parámetro eléctrico de sangre entera y sus componentes entre personas sanas y una persona con leucemia histolítica aguda y otra con anticuerpos de EDTA, haciéndose notar la importancia de la caracterización por espectroscopía de impedancia eléctrica y la rapidez de esta técnica.

MEDICIÓN DE LA DIFUSIVIDAD TÉRMICA DEL SUERO.

Usando un arreglo experimental de lente térmica en modo desacoplado y un lock-in, se midió la variación del índice de refracción de muestras de suero humano, obteniendo una respuesta de relajación térmica en un área específica, conocida como difusividad térmica que depende del índice de refracción del fluido así como de su capacidad para absorber una determinada cantidad de calor, se reporta un promedio de la difusividad térmica $(1.41 \times 10^{-3} \pm 2.5 \times 10^{-4} \text{ cm}^2/\text{s})$ para muestras de suero de donadores saludables aportadas por el Centro de Transfusiones del Estado de Guanajuato. Las variaciones en el índice de refracción reflejan gradientes de densidad, presión y temperatura que dependen de las concentraciones de elementos que se encuentran en el suero normal, tales como proteínas sericas o inmunológicas. Esto es de importancia debido a que numerosos fármacos o grasas saturadas entre muchas macromoléculas pueden dar una variación en el valor de la difusividad térmica y a través de la técnica de lente térmica es posible detectar cambios de concentraciones molares en un orden de 10^{-11} , lo cual hace que esta técnica sea la más sensible.

Índice

Introducción	
Antecedentes.....	3
Objetivos de la investigación.....	6
Metodología.....	7
Justificación de la investigación.....	7
Capítulo I: Espectroscopía de impedancia eléctrica	
Introducción.....	9
Fundamentos teóricos de la Espectroscopía de Impedancia (EI).....	9
Teoría de las gráficas Z' vs. Z''	12
Modelo de Cole-Cole.....	15
Análisis de un espectro típico de EI.....	16
Bibliografía.....	19
Capítulo II: La sangre y sus componentes básicos	
Importancia de la sangre.....	20
Composición de la sangre entera.....	21
La biometría de la sangre y el análisis clínico.....	28
Los anticoagulantes.....	31
Bibliografía.....	32
Capítulo III: Propiedades eléctricas de la sangre	
Introducción.....	33
La dispersión en los tejidos biológicos.....	34
Antecedentes de EI en sangre.....	36
Efecto de un campo eléctrico alterno en células en suspensión.....	37
El efecto del tipo y de la forma de la célula en sus propiedades eléctricas.....	39
Efecto de la hemólisis en las propiedades eléctricas de la sangre.....	40
Propiedades eléctricas de las proteínas.....	41
Otras técnicas de medición de parámetros eléctricos en los tejidos biológicos.....	42
Bibliografía.....	44
Capítulo IV: Experimentación I (Caracterización por EI)	
Metodología experimental.....	45
Muestras de sangre entera con anticoagulante.....	45
Muestras de los componentes básicos de una biometría hemática.....	46
Plasma y suero.....	47
Especificaciones de los instrumentos utilizados.....	48
Incertidumbres.....	51
Dispositivo experimental.....	52
Espectros de EI de sangre entera.....	53
Justificación del modelo teórico.....	54
Análisis de las gráficas Z' vs. Z''	55
Bibliografía.....	56

Capítulo V: Experimentación II (Obtención de la difusividad térmica de plasma y suero sanguíneo utilizando una lente térmica)

Introducción.....	57
Principios básicos de espectroscopia fototérmica.....	58
Métodos experimentales de la espectroscopia fototérmica.....	59
Efecto de lente térmica.....	60
Principales aplicaciones de la espectroscopia de lente térmica.....	62
Metodología experimental.....	63
Descripción del experimento de lente térmica.....	64
Muestras de plasma y suero.....	66
Especificaciones de los instrumentos utilizados.....	66
Incertidumbres.....	68
Gráficas características de una lente térmica.....	69
Bibliografía.....	69

Capítulo VI: Resultados

Resultados del análisis por EI para sangre entera.....	71
Resultados de EI de los componentes de la sangre.....	73
Espectros característicos de EI para los componentes de la sangre.....	76
Correlación de los parámetros eléctricos de los componentes de la sangre.....	77
Resultados de la difusividad térmica del suero.....	79
Resultados de la citometría para sangre entera.....	81
Conclusiones.....	89
Comparación de los componentes de la sangre con la sangre entera.....	90
Muestras especiales.....	94
Medición de los parámetros eléctricos vs. Temperatura.....	104
Perspectivas de estudio.....	107

Apéndice A

Dieléctricos en un campo eléctrico externo.....	112
Dieléctricos biológicos.....	114
Comportamiento en frecuencia: polarización y relajaciones en materiales dieléctricos....	115
Bibliografía.....	119

Apéndice B

La técnica de citometría de flujo y el efecto Coulter.....	120
--	-----

Apéndice C

Anormalidades de la sangre.....	124
Tablas de efectos de sustancias en las pruebas sanguíneas.....	131

Apéndice D

Extracto de la Norma Oficial Mexicana NOM-003-SSA2-1993.....	133
--	-----

Apéndice E

Prueba de ajuste al modelo experimental de EI	137
---	-----

Introducción

El interés en el estudio de las propiedades eléctricas de materiales biológicos, desde un punto de vista moderno, empieza desde hace aproximadamente un siglo con el desarrollo de instrumentos para la medición de resistencia eléctrica y, eventualmente, capacitancia. Durante este lapso de tiempo se ha visto que el comportamiento de las propiedades eléctricas de tales materiales difieren grandemente de las de electrolitos en soluciones. Los primeros investigadores que exploraron este campo observaron que la aplicación de un pulso escalón de potencial eléctrico en tejido muscular cambiaba su conductividad eléctrica, que había una polarización celular e incluso se reportaron valores de conductividad que diferían para la misma muestra cuando la corriente alterna (AC) cambiaba de frecuencia. Cabe mencionar que en los inicios de la técnica de impedancia, los aspectos mencionados y algunos otros atribuidos al mismo tipo de muestras no eran entendidas satisfactoriamente.

Antecedentes⁽¹⁾

Algunos hechos históricos relevantes y asociados a la espectroscopía de impedancia se mencionan a continuación:

- Peltier descubrió en 1834 que había un comportamiento de polarización eléctrica en las células de cuerpos de animales expuestos a corriente directa, (DC).
- Du Bois-Reymond, reconocido neurofisiólogo, introdujo el concepto de polarización de un tejido en 1849.
- Hermann reportó, en 1872, la variación en la resistencia de los músculos cuando se aplicaba una corriente directa.
- Du Bois encontró en 1898 que la piel se comporta como un capacitor si es sujeto a DC.
- Bernstein y Höber en 1902 propone la hipótesis de membrana celular dependiente de la frecuencia, especulando que la membrana excluía corrientes a baja frecuencia y dejaba pasar corrientes a alta frecuencia, esta aportación es ahora conocida como dispersión beta, lo que conduciría después a medir el potencial de las membranas celulares.
- Galler reportó en 1913 las primeras mediciones eléctricas precisas de un tejido, utilizando piel de rana encontró que la resistencia a 1kHz utilizando AC es apreciablemente más pequeña que a DC, lo que hace suponer un comportamiento capacitivo de la piel.
- Gildemeister en 1919, y más tarde Einthoven en 1923, examinaron la dependencia de la frecuencia en AC de la resistencia de materiales biológicos. Observaron también la variación en la resistencia de piel cuando es expuesta a un pulso muy breve de corriente: la resistencia aumentaba hasta un valor fijo y luego empezaba un proceso de relajación hasta obtener aproximadamente su valor inicial. La constante de tiempo en la relajación se podía obtener en forma muy similar a la de un circuito capacitor-resistencia, y la transición entre la resistencia verdadera (inicial) a la inducida (final) era del orden de milisegundos. En efecto, es aquí donde inicia la espectroscopía de impedancia eléctrica, que originalmente se conoció como espectroscopía en el dominio de respuesta temporal, teniendo entonces muchos problemas técnicos por efectos de polarización de electrodo.
- Nikola Tesla trabajó en la generación de corrientes alternas de alta frecuencia, entre 10kHz y 100kHz, y descubrió que las corrientes de alta frecuencia no producen contracciones musculares y pueden ser transmitidas a través del cuerpo.

- Nernst, famoso fisiólogo, desarrolló una teoría para determinar el umbral de estimulación de tejido biológico usando corrientes alternas, según la cual, en primera aproximación, mostraba cómo la conductividad de un tejido cambiaba con la frecuencia, y en qué frecuencia el tejido daba el cambio de aislante a conductor.

Los efectos biológicos de las corrientes eléctricas aumentaron el interés científico y popular del siglo XIX. La electroterapia vino a ser practicada ampliamente lo mismo por charlatanes que por respetables investigadores. A la llegada de la primera guerra mundial, y algún tiempo después de su final, se tuvieron pocos avances en la espectroscopía de impedancia, sin embargo las bases puestas por los científicos de años anteriores conformaron un sólido pilar en la comprensión de los fenómenos eléctricos en materiales biológicos. Estos avances se pueden enumerar como sigue:

- Se reconoce que el tejido conduce electricidad.
- La resistencia eléctrica de los tejidos varía con la frecuencia.
- Uno de los principales mecanismos de conducción es el movimiento de iones.
- La estructura celular y las membranas celulares determinan en gran medida las propiedades eléctricas de los tejidos.
- Existe anisotropía en las propiedades eléctricas de músculos y tejidos nerviosos.
- La polarización eléctrica del tejido refleja propiedades capacitivas.

Hasta esta etapa los eventos que ocurrían cuando un tejido era eléctricamente excitado no fueron claramente entendidos, ya que las teorías involucraban procesos lineales pasivos. En los años 30's los estudios dieléctricos incrementaron el rango de frecuencias y la variedad de materiales, así que métodos más sofisticados y precisos se construyeron para aportar un mejor entendimiento científico, obteniéndose algunos avances como los siguientes:

- Philippon condujo mediciones en muchos tejidos sobre un ancho rango de frecuencias, demostrando que las propiedades eléctricas de todos los tejidos son dependientes de la frecuencia.
- Osterhout estudió los cambios en la conductancia de un tejido de erizo marino, inmediatamente después de que murió el organismo, observando que estos cambios obedecen a la variación en la permeabilidad de la membrana celular.
- Fricke, Curtis y Cole estudiaron células en suspensión y aplicaron la extensión compleja de la teoría de partículas suspendidas de Maxwell para analizar sus datos.
- Dänzen desarrolló una rigurosa teoría para explicar la dispersión beta en las células suspendidas

A la llegada de la segunda guerra mundial se estimuló el rápido desarrollo de la tecnología de microondas, incluyendo la implementación de aparatos que generaban corrientes alternas por arriba de los 10GHz. Para finales de los 40's se desarrolló la diatermia, por Herrick, con la aplicación de microondas a seres vivos. Schwan y colaboradores extendieron y simplificaron las teorías establecidas por Cole, Fricke y Dancen para las propiedades dieléctricas de células en suspensión. Wachter fue el primero en medir la absorción de microondas en agua, sangre, leche, aceite y otros fluidos

biológicos. A principios de los 50's Rajewsky y Schwan fueron los primeros en reportar datos de permitividad compleja para sangre a frecuencias arriba de 1GHz.

Con la llegada del transistor y sus ventajas se introdujeron al mercado modernos analizadores y sistemas de medición en el dominio de tiempo para la determinación de las propiedades dieléctricas de muestras biológicas. Más aún, ahora es posible medir los parámetros eléctricos de células por observación de su respuesta mecánica a un campo eléctrico aplicado. Esto tiene una potencial aplicación para la fusión celular por campo eléctrico inducido, lo cual resulta muy importante en la biotecnología.

Motivación de la investigación

El estudio de los fenómenos bioeléctricos constituye la base de los procesos íntimos a nivel atómico, molecular y celular. Debido a que los medios extracelular e intracelular de los organismos son en gran parte de naturaleza electrolítica, los fenómenos iónicos desempeñan un papel fundamental en numerosos procesos biológicos.

El estudio de biomateriales por excitación electromagnética tiene tres aspectos que motivan esta línea de investigación⁽²⁾

1.- Entendimiento de los procesos eléctricos en el organismo y las propiedades eléctricas y magnéticas de los medios biológicos, por ejemplo, la impedancia eléctrica de tejidos y líquidos, las bases físicas de la magneto-biología, la reografía, la electrocardiografía, etc.

2.- La comprensión del mecanismo de acción de los campos electromagnéticos sobre el organismo. Ésta puede intervenir como factor preventivo, informativo de diagnóstico ó curativo; por ejemplo, la resonancia magnética nuclear es de diagnóstico y la radioterapia es curativa.

3.- Este aspecto guarda relación con los instrumentos y aparatos de la electrónica médica en particular. Existe una tendencia a transformar en señal eléctrica muchos parámetros no eléctricos de los sistemas biológicos a través de un transductor (sensor especializado), por ejemplo la temperatura del cuerpo, la presión arterial, la concentración de glucosa en la sangre, etc. Los sensores de parámetros biológicos responden a la exigencia cada vez mayor de los métodos no invasivos y de mínima interferencia sobre el proceso biológico en estudio, por lo cual es de gran importancia caracterizar sistemáticamente los materiales biológicos; tal es el caso en la determinación de las presiones parciales de gases en sangre (PO_2 , PCO_2 , etc.), midiendo las características de transmisión de impulsos luminosos de determinadas longitudes de onda guiadas a través de fibras ópticas, o la medida de parámetros químicos típicos, tal como el pH, en el sistema cardiovascular, haciendo uso de indicadores colorimétricos acoplados directamente a fibras ópticas.

Objetivos de la investigación

1.- Se estudiarán las propiedades eléctricas de la sangre humana, como material biológico, y sus principales componentes utilizando espectroscopía de impedancia eléctrica.

Este estudio se relaciona con el primer punto de los tres mencionados anteriormente, y por esta razón hay que tomar en cuenta que los tejidos, órganos y líquidos biológicos son formaciones celulares bastante heterogéneas con diferentes resistencias eléctricas que pueden experimentar cambios por acción de una corriente eléctrica. Por ejemplo, la conductividad eléctrica de las distintas partes del organismo depende de modo sustancial de la resistencia de la piel y de las capas subcutáneas. Dentro del organismo la corriente se propaga principalmente por los vasos sanguíneos y linfáticos, por los músculos, tunicas de los troncos nerviosos y tejido conectivo. A su vez la resistencia de la piel viene determinada por su estado, espesor, edad, humedad, etc.

En general la conductividad eléctrica de los tejidos y de los órganos puede depender de su estado funcional y, por consiguiente, utilizarse como un indicador diagnóstico. Así por ejemplo, durante la inflamación de tejido, las células se hinchan, disminuyendo la sección de las uniones intracelulares y aumentando la resistencia eléctrica; por otra parte, los fenómenos fisiológicos que provoca la hidrólisis vienen acompañados con el aumento de conductividad eléctrica de la piel⁽²⁾.

2.- Se medirá la difusividad térmica de los fluidos transparentes contenidos en la sangre tales como plasma y suero, utilizando un arreglo experimental de lentes térmicas.

A pesar de nuestro marcado interés por los fenómenos eléctricos asociados a las propiedades de materiales biológicos como la sangre humana, debido a su potencial relación con el desarrollo de sensores y transductores, deseamos incluir un estudio fototérmico del componente transparente de la sangre. Es importante hacer notar la dificultad de obtención de las muestras bajo estudio debido a sus implicaciones legales, morales y sanitarias, prueba de ello se puede ver en el bajo número de estudios publicados en revistas de investigación en el área física. Así pues, considerando el alcance que este trabajo debe tener como elemento científico y formativo, y estando en capacidad técnica de realizar un estudio original y relevante para la línea de caracterización fototérmica de materiales biológicos, se utilizó la técnica de lentes térmicas para realizar una medición de la difusividad del suero y plasma sanguíneo. Esta vertiente de la investigación aportará un dato actualizado del mencionado fluido que actualizará la literatura existente.

Metodología

Se estudiará la respuesta a la frecuencia de una porción minúscula de sangre humana sujeta a una estimulación con CA. Se utilizará un espectrómetro de impedancia y se investigarán las propiedades del mencionado material biológico. Las muestras serán provistas por el Centro Estatal de Transfusión Sanguínea del Estado de Guanajuato. Las muestras serán seleccionadas de entre un grupo de potenciales donadores clínicamente sanos. Algunos casos clínicos serán también estudiados y se investigarán las particularidades de su respuesta espectroscópica. Los espectros se estudiarán estadísticamente y los resultados se presentarán como parámetros promedio con su respectiva desviación estándar.

Por otra parte el suero y el plasma sanguíneo se obtendrán de las muestras de sangre entera por precipitación ó centrifugado. Las muestras se colocarán entre un par de láseres alineados y en coincidencia sobre la muestra, de tal manera que uno de ellos actuará como fuente de calentamiento ó láser de excitación, y el otro será el láser de prueba que percibirá los cambios en el índice de refracción y en el camino óptico del fluido estudiado. Los cambios inducidos en la muestra serán sensados por el láser de prueba y convertidos a señal eléctrica por medio de un fotodetector. La señal será analizada mediante software de mínimos cuadrados no lineales y el parámetro físico a medir con esta técnica será la difusividad térmica. Se debe mencionar que ésta no es la única información que pueden aportar las lentes térmicas, pero si es el aspecto al cual restringiremos nuestra atención. Nótese que los parámetros térmicos son una información importante en las propiedades físicas de los tejidos biológicos y en particular la sangre humana, ya que ésta juega un papel preponderante en el proceso de intercambio de calor con el medio.

La técnica de espectroscopía de lente térmica cuenta con alta sensibilidad. Ha sido usada en el área de la química analítica para la determinación de trazas en especies químicas orgánicas e inorgánicas, en estudio de vidrios ópticos, etc. A través de esta técnica es posible detectar absorbancias del orden de 10^{-7} cm^{-1} . Por ejemplo se pueden detectar concentraciones de 3×10^{-11} moles del complejo Fe(II) en solución de cloroformo, usando un láser de Argón con 600mW de potencia⁽³⁾.

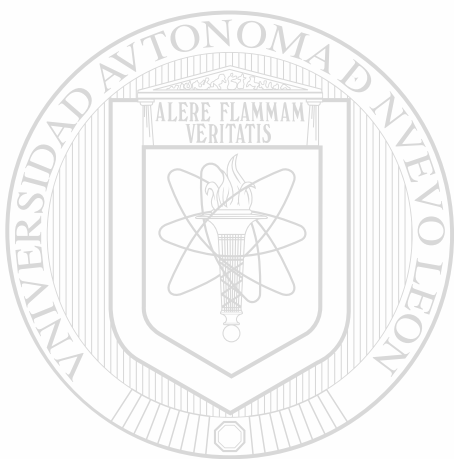
Las características detalladas del arreglo experimental y de los modelos teóricos aplicados se darán en posteriores capítulos, así como diversas informaciones colaterales e importantes que aparecerán en los apéndices.

Justificación

Con todo el largo historial de estudios en el área de la espectroscopía de impedancia desde sus comienzos a finales del siglo XIX, así como el de la técnica de lentes térmicas en los últimos 25 años, e innumerables trabajos sobre tejido humano, aun existe una gran variedad de estudios y líneas de investigación en donde estas técnicas experimentales van tomando un papel preponderante. En particular, el fluido sanguíneo ofrece un campo propicio dado su papel de monitor sensible a los cambios en la salud del ser humano, y a pesar de tablas de datos de propiedades eléctricas, térmicas y espectroscópicas, que la literatura proporciona para tejidos animales, incluyendo sangre humana, el número de artículos, investigaciones y trabajos que aparecen en la literatura científica es muy reducido además de que el número de muestras con el que se han realizado es bajo.

Bibliografía

- [1] Polk, Postow, Handbook of Biological Effects of Electromagnetic Fields, Ed. CRC Press, N.Y., 1998
- [2] Remizov, Física Médica y Biología, Ed. MIR, Moscú, 1980
- [3] Mauro Luciano Baesso, Espectroscopía de lente térmica, Grupo de estudo dos fenómenos fototérmicos, Brasil, 1997



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Capítulo I

Espectroscopia de Impedancia Eléctrica

Introducción

La espectroscopia de impedancia eléctrica es una técnica experimental muy estudiada y difundida como medio de caracterización de los materiales. Tiene una amplia aplicación que va desde el monitoreo de la maduración de frutos, procesos de corrosión, hasta la caracterización de semiconductores, llegando incluso a formar parte de la técnica utilizada en los dispositivos médicos para evaluación de la composición corporal. Los primeros trabajos teóricos pueden encontrarse en las investigaciones de Heaviside, alrededor de 1880, siendo aplicados al estudio de circuitos eléctricos estándares y, ya en la primera mitad del siglo XX, al estudio de diversos sistemas físicos cuyas propiedades resistivas eran función de la frecuencia cuando se sometían a un potencial de AC. Esta técnica se conoce como *espectroscopia de impedancia eléctrica*. Un avance significativo fue la propuesta del modelo teórico de Cole y Cole⁽¹⁾, a principios de los 40's; éste generaliza las expresiones para la impedancia equivalente en un circuito RC, en el caso en el que las corrientes de desplazamiento en el medio capacitivo posean toda una distribución de posibles caminos entre los electrodos. El ajuste de este modelo a los datos experimentales permite medir la resistencia efectiva de la muestra bajo estudio y otros parámetros asociados con la capacitancia promedio.

Fundamentos teóricos de la espectroscopia de impedancia eléctrica

La espectroscopia por impedancia provee de valiosa información física con aplicaciones en electroquímica y ciencia de materiales. En general, representa una medida de la oposición que encuentra la AC al atravesar un medio (llamaremos impedancia eléctrica a este concepto), y que además es función de la frecuencia. Esta propiedad es, en general, función de la frecuencia del potencial aplicado y es una característica de cada sistema. Si cambia una propiedad física en el elemento bajo estudio (grado de cristalización, esfuerzo interno, composición, etc.) cambia también rápida y heterogéneamente la distribución de carga eléctrica⁽²⁾, reduciendo o aumentando la conductividad del sistema, se dice entonces que cambia la polarización del mismo. La razón a la cual una región cambia su polarización cuando se aplica un voltaje es característico del tipo material: por ejemplo el cambio lento se produce en reacciones químicas al entrar en contacto con la atmósfera la interfase del electrodo y la sustancia, y es rápido en las fronteras de grano de electrolitos policristalinos⁽¹⁾. En materiales biológicos, por ejemplo, las bicapas dieléctricas de las células (membrana) y sus inherentes reactancias capacitivas son caracterizadas por la distribución de sus tiempos de relajación⁽¹⁾. La respuesta eléctrica de una célula heterogénea puede variar sustancialmente dependiendo del tipo de iones (carga eléctrica) presente, de la microestructura del electrolito, y de la textura y naturaleza de los electrodos⁽²⁾.

La espectroscopia de impedancia eléctrica (EI por sus siglas en inglés) es un método moderno de caracterización de muchas de las propiedades eléctricas de los materiales y sus interfaces con electrodos conductores. Esto es usado para investigar la dinámica de enlaces moleculares y/o carga en movimiento dentro o en interfaces de materiales sólidos y líquidos, tales como semiconductores, materiales iónicos, mezcla de electrónico-iónico,

aisladores eléctricos, emulsiones, electro-platinado, películas delgadas, fabricación de materiales compuestos, diseño mecánico, corrosión, etc.⁽³⁾. Cualquier propiedad intrínseca que influye en la conductividad de un sistema material-electrodo, estímulo externo de campo eléctrico y magnético es susceptible de ser estudiado por EI.

Básicamente la espectroscopía de impedancia puede ubicarse para su estudio dentro del esquema mostrado en la figura 1.1:

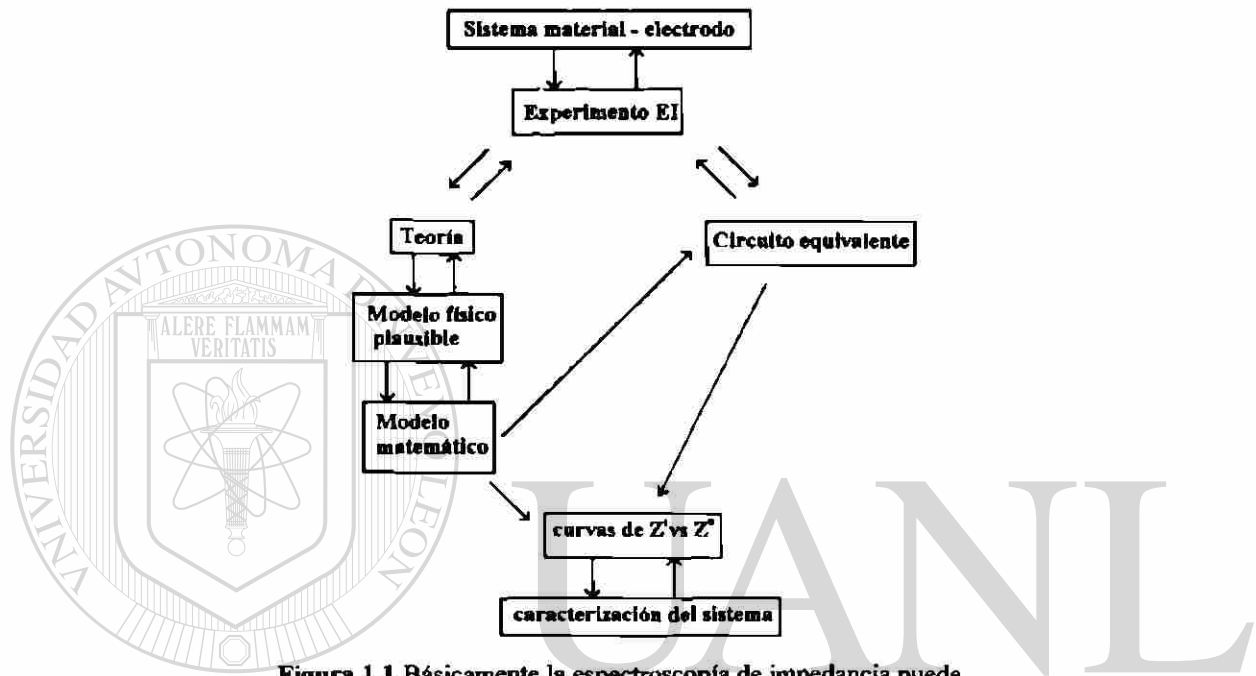


Figura 1.1 Básicamente la espectroscopía de impedancia puede estudiarse en relación al esquema mostrado.

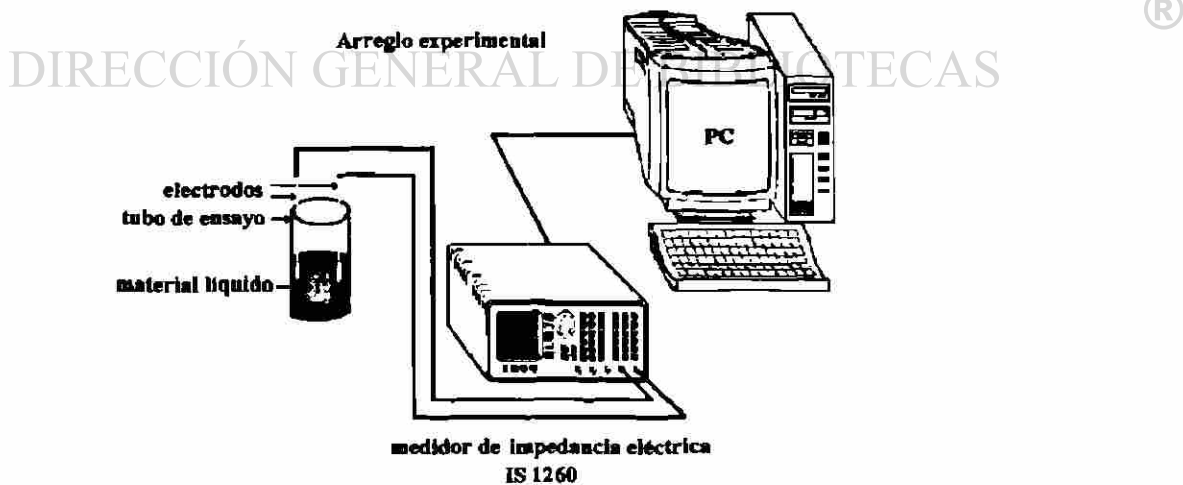


Figura 1.2 Arreglo experimental básico de la espectroscopía de impedancia eléctrica.

A grandes rasgos, el esquema de la figura 1.1 explica lo siguiente: una vez elegida la muestra, ésta se coloca entre dos electrodos conectados al espectrómetro de impedancia, el cual a su vez está controlado por un programa de captura de datos en el puerto paralelo de una PC (figura 1.2). En el programa se elige el rango de frecuencias para la señal de corriente alterna que será enviada a los electrodos en forma de excitación externa. La impedancia de la muestra es almacenada automáticamente en un archivo para su posterior análisis estadístico. Para comprobar el buen funcionamiento del aparato de EI es necesario hacer pruebas de ajuste antes de analizar cualquier muestra (vea Apéndice E).

Sistema Muestra - Electrodo⁽⁴⁾

El aparato de EI envía un voltaje sinusoidal de amplitud constante a frecuencia variable a los electrodos, los cambios en frecuencias reflejan variaciones en las propiedades de los materiales analizados. Asumimos que las propiedades del sistema electrodo-material son invariantes en el tiempo es decir, no hay efectos de polarización del electrodo o procesos de reactividad química en la interfase electrodo-material. Es de gran ayuda elegir electrodos que cumplan estas características para evitar posibles errores en la medición. Para determinar las respuestas dieléctricas de estas propiedades en los materiales, son colocados electrodos en contacto con la muestra y se aplica un voltaje conocido que produce una polarización en la muestra (ver apéndice A). En nuestro caso los electrodos de contacto con las muestras fueron de plata.

Características del estímulo de EI ⁽⁴⁾

En general, hay 3 tipos diferentes de estimulación eléctrica usados en EI.

a) Estímulo por potencial tipo escalón

Se aplica la función escalón de voltaje al sistema ($V(t) = 0$ para $t < 0$, $V(t) = V_0$ para $t > 0$) y se mide la variación de la corriente $i(t)$ con el tiempo. La razón $V_0 / i(t)$, es frecuentemente llamada la impedancia inicial o variación de la resistencia con el tiempo, resultando la medida de la impedancia de la función escalón del voltaje aplicado a la interfase electroquímica. Tal variación en el tiempo se estudia generalmente mediante la transformada de Fourier en el dominio de frecuencia.

b) Estímulo por potencial de ruido blanco

En este tipo de estímulo se aplica una señal $V(t)$ compuesta de ruido blanco a los electrodos y se mide la corriente resultante. Una transformada de Fourier lleva el resultado al dominio de frecuencia así se obtiene el espectro de impedancia. Este enfoque frecuentemente tiene la ventaja de una rápida colección de datos puesto que se aplica sólo una señal en la interfase en un tiempo muy corto; no obstante esta técnica tiene la desventaja de requerir de un verdadero ruido blanco, así como la necesidad de realizar un análisis de Fourier, lo que puede ser computacionalmente difícil y requerir mucho tiempo de trabajo.

c) Estímulo por potencial de frecuencia variable

El más común y estándar de los estímulos de EI es el que mide la impedancia directamente en el dominio de frecuencia por la aplicación de un voltaje de frecuencia variable a la interfase y midiendo el cambio de fase (desfasamiento) y la amplitud, o bien partes reales e imaginarias, de la corriente al pasar en aquella frecuencia.

Los tres tipos de estímulo caen, a final de cuentas, en el análisis del dominio de frecuencia de la señal. En este trabajo utilizaremos el tercer método para la determinación de la impedancia. En seguida se dan las bases teóricas para la respuesta a este tipo de estímulo, para elementos RC convencionales, y las gráficas asociadas a este análisis.

Teoría de las graficas Z' vs. Z'' (3).

La impedancia es un concepto más general que el de resistencia porque toma en cuenta la diferencia de fase involucrada. Por ejemplo, se sabe que una señal de voltaje a frecuencia única puede representarse como $V(t) = V_m \text{Sen}(\omega t)$, donde V_m es la amplitud y ω es la frecuencia angular, la cual se relaciona con la frecuencia natural como $\nu = \omega / 2\pi$, ver la figura 1.3.

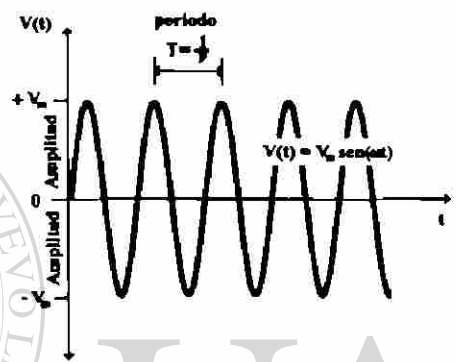


Figura 1.3 Señal de voltaje alterno a frecuencia única.

Cuando esta señal se aplica a un circuito se establece una corriente también armónica pero con un ángulo de desfaseamiento, $I(t) = I_m \text{Sen}(\omega t + \theta)$. Aquí θ es la diferencia de fase entre el voltaje y la corriente, que es cero si el circuito es puramente resistivo (ver fig.. 1.4).

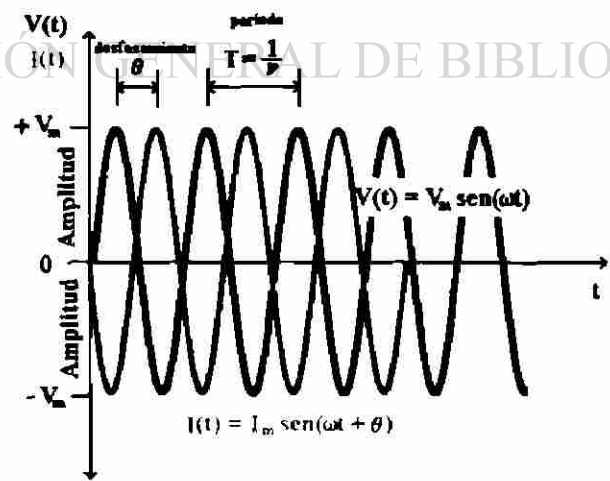


Figura 1.4 Desfasamiento entre la señal de voltaje y la señal de corriente alterna en un circuito eléctrico.

La impedancia se define como $Z_{total} = V_m / I_m$ y posee un ángulo de fase $\theta(\omega)$.

En un circuito eléctrico podemos tener resistencias y capacitancias en combinaciones infinitas, serie y paralelo. Por ejemplo, el caso más simple es cuando un circuito tiene un capacitor en serie con una resistencia, en otro caso podemos tener una resistencia en paralelo con un capacitor. Así podemos considerar un número muy grande de posibles arreglos, pero cada elemento eléctrico tiene una impedancia definida:

Para una resistencia pura la impedancia es: $Z_R = R$

Para un capacitor la impedancia es imaginaria negativa: $Z_C = -\frac{1}{\omega C} j$ con $j = \sqrt{-1}$

Para un inductor la impedancia es imaginaria positiva: $Z_L = L\omega j$ con $j = \sqrt{-1}$

Además, si se tiene un circuito con más de un elemento de los mencionados anteriormente, es posible analizarlo aplicando las reglas de simplificación de circuitos eléctricos, las cuales establecen que:

La impedancia equivalente de elementos en serie se obtiene como la suma de las impedancias de éstos (ver figura 1.5). Ejemplo:

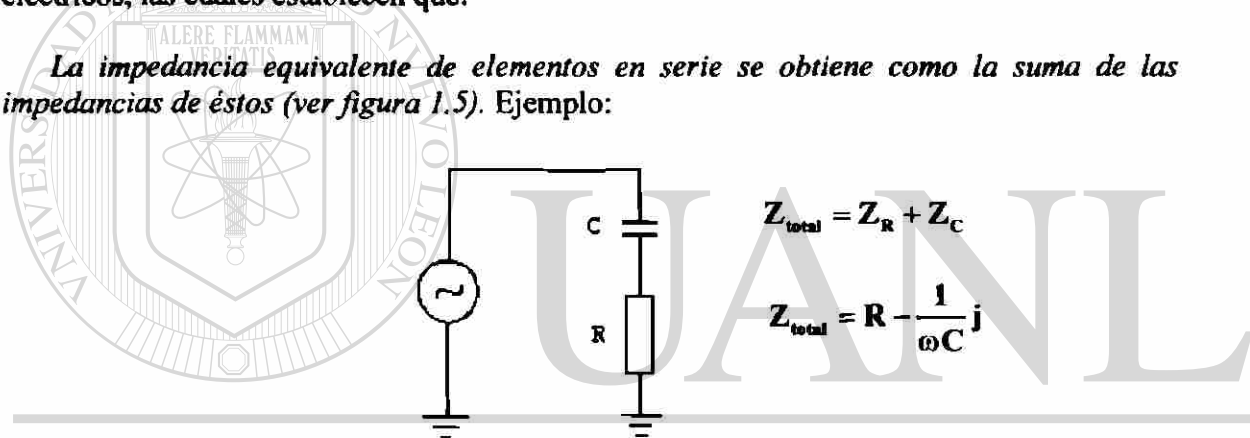


Figura 1.5 Circuito eléctrico RC en serie.

La impedancia equivalente de elementos que estén en paralelo es igual a uno sobre la suma de los recíprocos de las impedancias de los elementos (ver figura 1.6). Ejemplo:

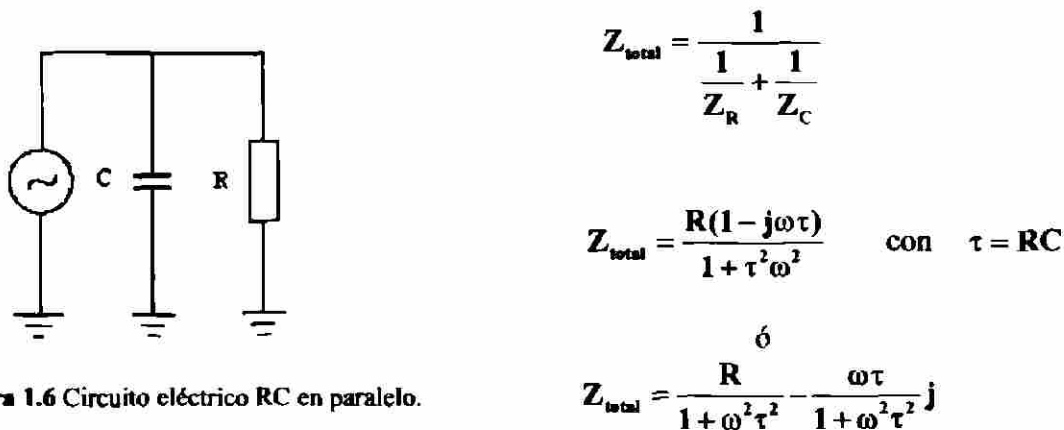


Figura 1.6 Circuito eléctrico RC en paralelo.

En estos dos ejemplos teóricos se observa la forma compleja de la impedancia total del circuito. Llamaremos Z' a la parte real y Z'' a la imaginaria, de tal forma que se llega a una solución general simplificada para circuitos equivalentes que tienen dos o más elementos:

$$Z_{total} = Z' - Z''j$$

Esto se representa gráficamente mediante un vector de posición en el plano complejo. Donde la parte real de Z_{total} , está en la horizontal, y la parte imaginaria está a lo largo del eje de la vertical en la dirección negativa. Las gráficas de los circuitos anteriormente analizados quedan representadas en el cuarto cuadrante..

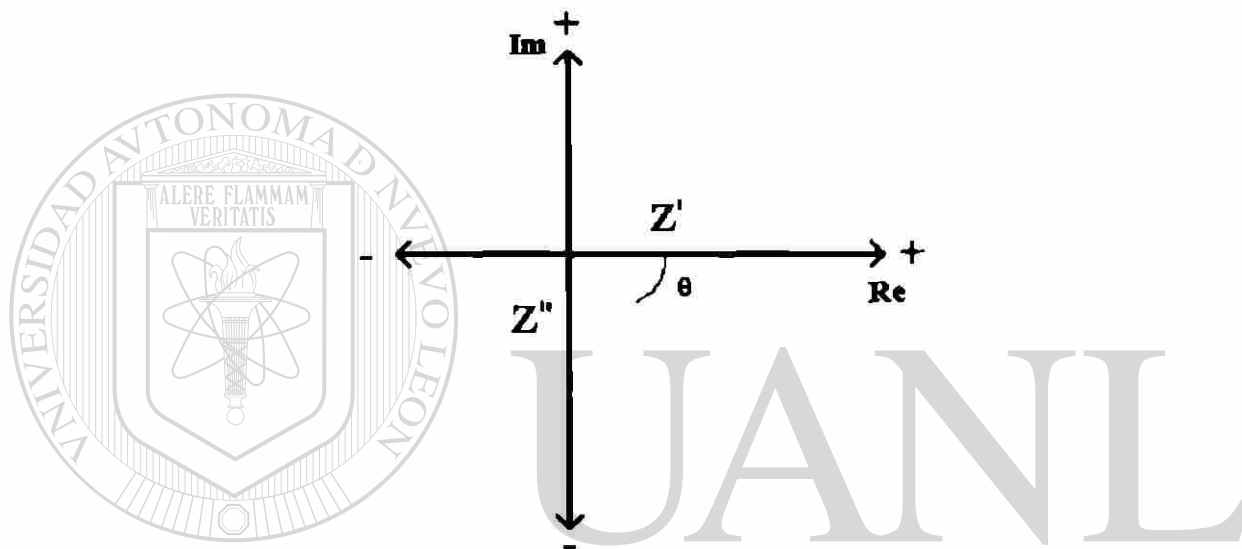


Figura 1.7 Vector de posición en el plano complejo con componentes Z' y Z'' . Por trigonometría se tiene que el ángulo de fase es: $\theta = \tan^{-1}(Z'' / Z')$ y módulo es $|Z_{total}| = [(Z')^2 + (Z'')^2]^{1/2}$.

La Impedancia es por definición una cantidad compleja, y sólo es real cuando $\theta = 0$ y $Z_{total} = Z'$, lo cual ocurre para una resistencia simple e ideal. En este caso la impedancia es completamente independiente de la frecuencia.

Convencionalmente, la El consiste en la medida de Z_{total} como función de la frecuencia (ν ó ω) sobre un amplio rango de valores, es decir, se varía la frecuencia de la señal para un mismo circuito desde cero hasta un valor máximo, esto da como resultado que la gráfica del vector de posición (figura 1.7) sea un semicírculo en el sistema complejo coordinado (figura 1.8). Por ejemplo en el sistema resistivo-capacitivo en paralelo simple (figura 1.6) las ecuaciones, como ya se mostró, nos darán impedancias totales con una parte real positiva ($Z' > 0$) y una parte imaginaria negativa ($Z'' < 0$), y cuando se varíe la frecuencia

para graficar Z' vs. Z'' se obtendrá un semicírculo en el cuarto cuadrante del sistema complejo coordenado. Note que de las ecuaciones, si $\omega = 0$ entonces $Z_{total} = R$ y si $\omega \rightarrow \infty$ entonces $Z_{total} \rightarrow 0$, esto hace que la grafica Z' vs. Z'' (figura 1.8) empiece en el lado derecho más alejado al origen del sistema de coordenadas y termine en el origen. Lo que representa un espectro típico de la impedancia eléctrica del sistema.

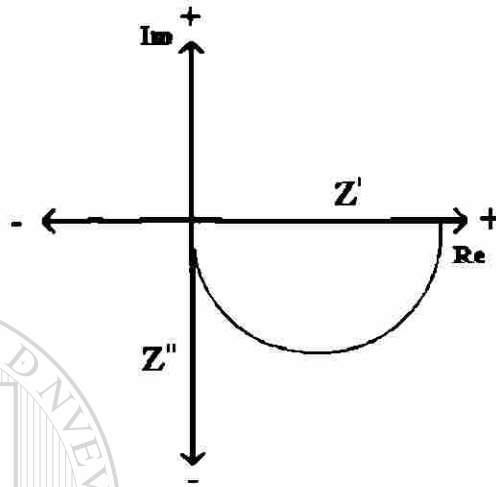


Figura 1.8 Espectro característico de una medición por EI.

Cada sistema analizado presentará un espectro similar en forma, pero de diferentes características eléctricas. Hay otros parámetros que condicionan la forma de la curva, como la temperatura, que modifica el radio del semicírculo en cristales iónicos (ver apéndice A). Incluso puede haber dos semicírculos acoplados representando a circuitos equivalentes dobles para sistemas heterogéneos.

Modelo de Cole-Cole

Un caso más general de un modelo de circuito equivalente presenta un dispositivo llamado elemento distribuido o elemento de fase constante (CPE por sus siglas en inglés) como se representa en la figura 1.9 y 1.10. Esto representa un elemento capacitivo con una reactancia de la forma:



$$Z_c = \frac{1}{(j\omega)^{1-\alpha} C_T}$$

Figura 1.9 Representación esquemática de C_p .

Donde ω es la frecuencia angular de la corriente alterna que pasa por el elemento y α es un parámetro libre asociado con la distribución volumétrica de la trayectoria eléctrica que aparece en una muestra real, este hecho nos lleva a una distribución de la constante de tiempo alrededor de un valor promedio. C_T es una propiedad efectiva de la muestra.

La función teórica de la impedancia de un CPE, conectado en paralelo con una resistencia R_p , y ambos en serie con un resistor R_s resulta como la figura 1.10:



Figura 1.10 Representación del Modelo Cole-Cole.

De la ecuación se nota que para el caso de $p = 1$ el elemento C_T es un capacitor ideal y presentará solo una constante de tiempo.

La ecuación anterior generaliza el modelo de un circuito RC en paralelo en un estudio de EI, en el cual las gráficas en el plano complejo forman familias de semicírculos. Estas gráficas son representativas del modelo Cole-Cole y son características de estudios de EI en tejidos biológicos, siendo la sangre un ejemplo típico de estos materiales. En muchos artículos se menciona este método para estudio impedancia en hematocrito de animales y otros estudios de sangre (ver capítulo 3).

El tipo de gráficas como la figura 1.8 se obtienen con el software del equipo; el ZPLOT grafica los datos enviados por una interfase del espectrómetro a la PC, y a partir de la respuesta del sistema material-electrodo son analizadas por el software ZVIEW. Las graficas se muestran en el primer cuadrante sólo por cuestión de fácil lectura.

Planteamiento del problema

Después de dar una revisión sobre el equipo y de los modelos que pueden utilizarse para ajustar los espectros a una ecuación teórica que representa la naturaleza de la muestra así como también del recipiente que la contiene y de la forma y tamaño de los electrodos nos enfocamos a un problema particular. El problema consiste en identificar en base al análisis experimental de la técnica de EI, como es el comportamiento del material basándonos en los parámetros eléctricos del modelo elegido, así como el grado de confiabilidad de nuestros resultados. A continuación se expone un caso hipotético para explicar como se obtienen los parámetros eléctricos del modelo de Cole-Cole.

Análisis de un espectro típico de EI ⁽⁵⁾.

En la ventana del programa ZPLOT se despliega la gráfica de Z' vs. Z'' en donde se observan los valores que van capturando mientras se corre el espectro. Es una visualización casi inmediata de los resultados y puede apreciarse si los datos están siendo tomados correctamente. También se va graficando el comportamiento del módulo de la impedancia total respecto a la frecuencia y del ángulo de fase con la frecuencia.

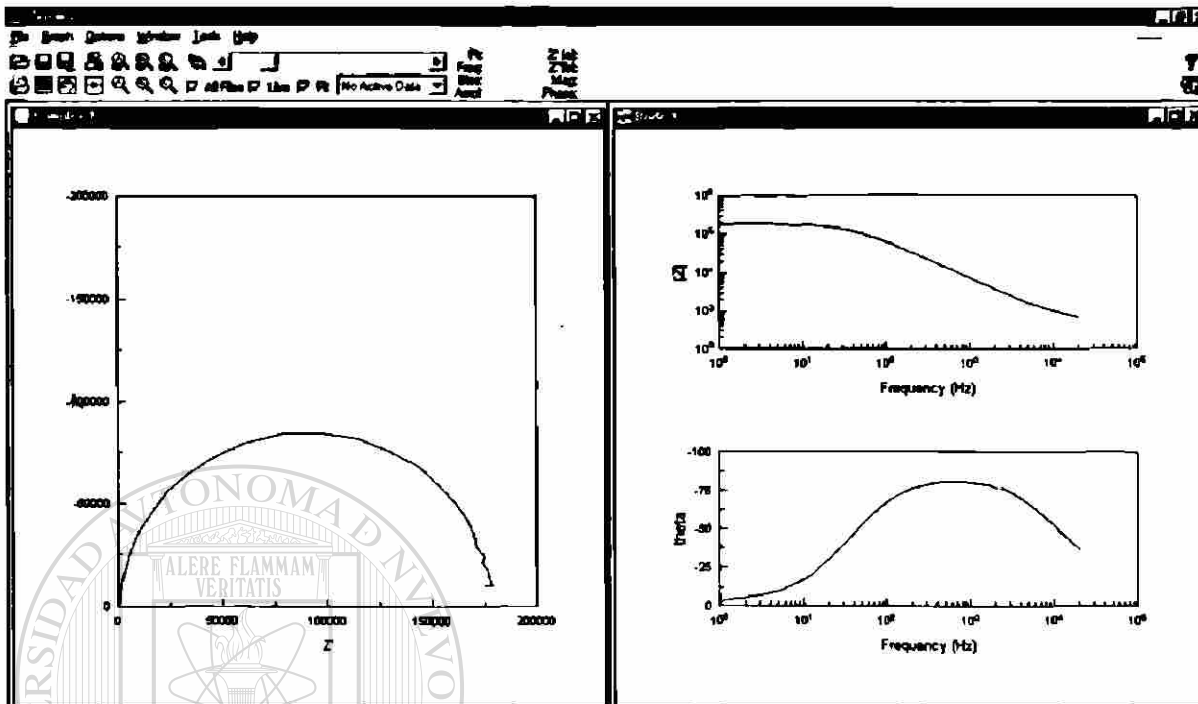


Figura 1.11 Ventana del programa Zplot donde se grafican los datos obtenidos del medidor de impedancias.

Caracterización del sistema por circuito equivalente

El siguiente paso es determinar los parámetros de la muestra, esto es: una muestra analizada por El que presente este tipo de gráfica se describe en términos de un circuito equivalente RC ya sea en serie o en paralelo (como los descritos anteriormente) o combinación de ellos, en consecuencia el programa tiene 6 opciones básicas de circuitos RC (figura 1.13) para que el usuario elija una.

El software automáticamente graficará y ajustará el modelo seleccionado por el usuario. El error estadístico en el ajuste en los parámetros eléctricos es típicamente menor al 1%.

Cabe señalar que en un mismo tipo de muestra homogénea el circuito equivalente que la representa es básicamente el mismo, aunque sus parámetros geométricos pueden variar significativamente, es decir, si el contenedor de la muestra cambia y/o la forma de los electrodos, los valores de capacitancia y resistencia se ven afectados pero no así el modelo del circuito equivalente RC. Otra variante aparece cuando la gráfica no guarda una buena correlación con un semicírculo, en este caso el error en la medición puede aumentar, debido a que la naturaleza del circuito equivalente dado no se ajusta adecuadamente a los datos experimentales. En estos casos se debe identificar si la medición fue realizada correctamente y si el tipo de muestra pertenece al conjunto de interés.

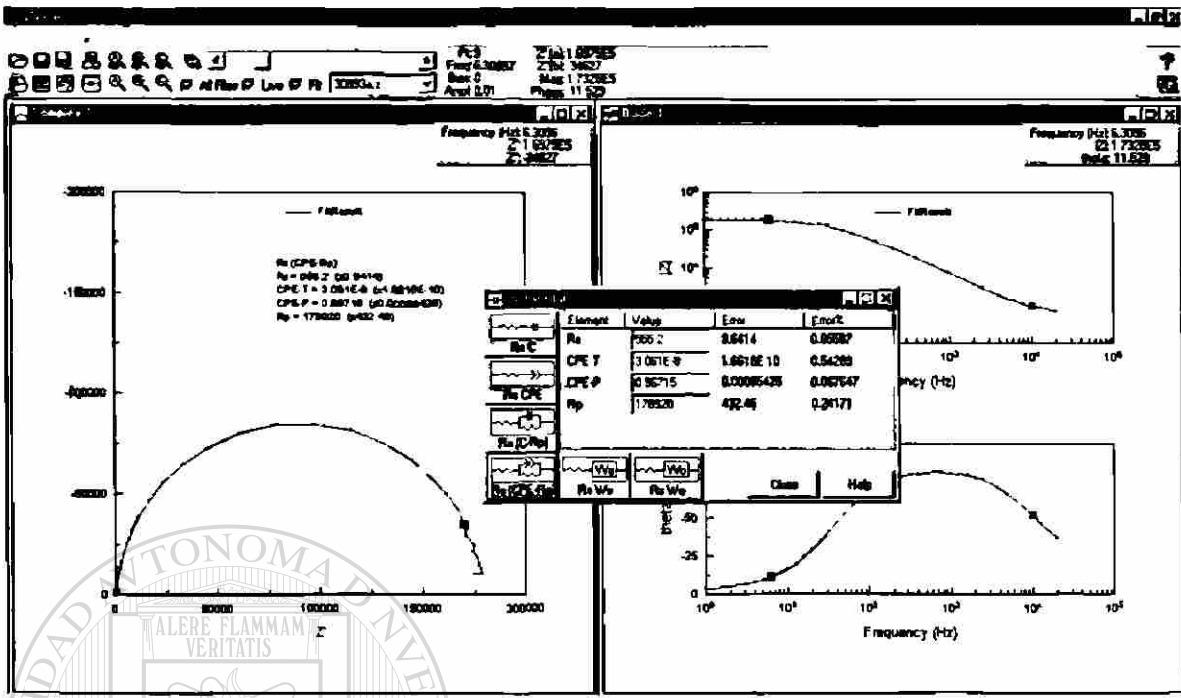


Figura 1.12 Ventana de un ajuste típico utilizando el programa Zview.

Se elige la misma región estudio para todos los espectros y se eliminan los extremos que pudieran contener mezclas con más de un mecanismo de relajación⁽¹⁾. En este ejemplo la parte a la derecha del segundo punto no se consideró para el ajuste por una deficiente relación señal-ruido. Después se selecciona un circuito entre las 6 opciones básicas para efectuar el ajuste. En este caso la línea verde en la figura 1.12 es el ajuste y el error en cada parámetro del circuito se presenta en otra ventana (figura 1.13). En este ejemplo se seleccionó el cuarto circuito que corresponde al modelo Cole-Cole.

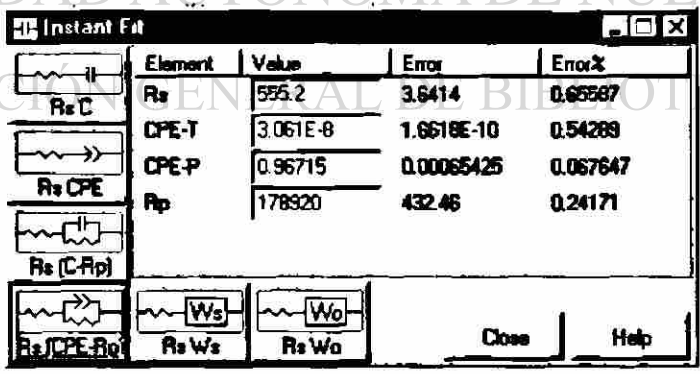


Figura 1.13 Ventana donde se elige el modelo eléctrico que ajusta los datos obtenidos en el medidor de impedancia y calcula los parámetros.

Se trata de un circuito RC_p en paralelo conectado en serie a una resistencia R_s , el capacitor no es convencional, se trata de un capacitor que tiene la frecuencia de su impedancia elevada a una potencia P , que en los capacitores ideales es igual a 1, pero aquí vemos que se aleja de este valor. La resistencia en paralelo al capacitor se conoce como R_p .

De esta forma se obtienen los parámetros eléctricos de un espectro EI que son característicos de cada muestra: R_s , R_p , C_p , P . En adelante nos referiremos a C_p como el elemento de Cole.

Resultados del análisis de un espectro de EI

Entonces, cualquier propiedad intrínseca que haga variar la conductividad de un sistema material-electrodo puede ser estudiada por EI.

Los parámetros derivados de un espectro de EI pueden caracterizar a la muestra en dos amplias categorías:

a) Aquellos correspondientes solo al material mismo

Conductividad

Constante dieléctrica

Movilidad de carga

Equilibrio de concentraciones de las especies cargadas

Rangos de generación y recombinación de compuestos químicos

b) Aquellos responsables de propiedades en la interfase electrodo-material

Constantes de reacción-adsorción

Capacitancia en la región de interfase

Coefficiente de difusión de especies neutras en el electrodo mismo

Bibliografía

[1] Polk, Postow, Handbook of Biological Effects of Electromagnetic Fields, Ed. CRC Press, N.Y., 1998

[2] John R. Scaly, David C. Silverman, and Martin W. Kending, Impedance Electrochemical, Analysis and Interpretation, Ed STP 1188 ASTM, 1996

[3] Núñez, Peláez, Electroquímica electrodo: Estudio de los electrodos en equilibrio, Ed. IPN

[4] Ferrero-Saiz-Arnau, Bioelectrónica: Señales bioeléctricas, Ed. Universidad Politécnica de Valencia

[5] Allen-Cleary-Hawkrigde, Charge and Field Effects in Biosystems-2, Ed. Plenum press

Capítulo II

La sangre y sus componentes básicos

Importancia de la sangre

Una comprensión fisiológica y biométrica de la sangre humana puede obtenerse con bases de la Hematología, ciencia que estudia la sangre desde su formación hasta las enfermedades.

La sangre es un sistema de transporte con el sistema circulatorio (arterias, venas y capilares) funcionando como camino. En el recorrido de la sangre a través del cuerpo, transporta oxígeno desde los pulmones a todas las células del cuerpo. El intestino absorbe sangre y distribuye el producto digestivo usado para metabolismo celular. Los órganos vitales como el cerebro, corazón, hígado y riñones dependen de un importante abastecimiento de sangre para su salud, además de ser esenciales en el funcionamiento mismo de todo el sistema sanguíneo. Por ejemplo, el corazón bombea enormes cantidades de sangre por todas las partes del cuerpo, los riñones filtran las impurezas, la bilis retira las células de sangre muertas y dañadas, el hígado produce la mayoría de las proteínas celulares, el pulmón funciona en el intercambio de oxígeno y dióxido de carbono a través de la sangre, y en el cerebro el flujo de sangre es vital para su funcionamiento, pues su suspensión produce la muerte cerebral en pocos minutos.

La sangre que regresa de los órganos y tejidos del cuerpo es desoxigenada, esto es, baja en O_2 y alta en CO_2 , como resultado esta tiene un color púrpura profundo en las venas. El dióxido de carbono, que es un desperdicio de los productos del metabolismo celular producido en el cuerpo celular y tejidos, se remueve del cuerpo en los pulmones, en la red alveolar-capilar, realizando el intercambio de CO_2 y O_2 . Cuando la sangre es oxigenada se hace roja clara debido al incremento de saturación de hemoglobina por O_2 y es entonces distribuida a todos los órganos y tejidos del cuerpo a través de las arterias, arteriolas y capilares.

La sangre tiene en el cuerpo humano las funciones de:

- 1.- Proveer oxígeno, hormonas, nutrientes y minerales al cuerpo celular.
- 2.- Regulación del pH (equilibrio Ácido-Base)
- 3.- Regular la temperatura corporal
- 4.- Impedir su propia pérdida del organismo.
- 5.- Actuar como transporte primario de inmunidad.
- 6.- Regular el volumen del compartimiento intersticial

Composición de la sangre entera

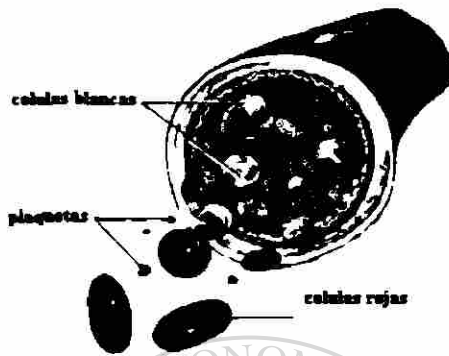


Figura 2.1 Representación de los componentes sanguíneos.

El adulto en promedio tiene de 4 a 6 litros de sangre, que corresponde aproximadamente al 7 % del peso total del cuerpo. La cantidad de sangre en el sistema circulatorio se refiere al volumen total de la sangre. El 45% de este volumen está formado por elementos compuestos, tales como: células rojas (eritrocitos) y células blancas (leucocitos), suspendidas en el medio líquido de la sangre, llamado plasma, el cual constituye el 55%. Del volumen restante el plasma es un fluido viscoso de color amarillo claro, compuesto en más de un 90% de agua y alrededor del 10% de materia sólida. La materia sólida consiste de plaquetas, proteínas, carbohidratos, tales como la glucosa, electrolitos (sales), cationes tales como el sodio, potasio, calcio, magnesio, y aniones como cloro, bicarbonato y sulfatos. El componente celular (glóbulos rojos y glóbulos blancos) y el plasma constituyen lo que se denomina **sangre total, entera o completa**.

Producción de células sanguíneas

La formación de células de sangre que ocurre en la médula espinal se conoce como hematopoyesis. Cuando toma lugar en otro tejido distinto a la médula espinal, por ejemplo, en la yema sacarina, el corazón o la bilis es llamada hematopoyesis extramedular. Este género de producción sanguínea es normal en el embrión. En los adultos esto es anormal y refleja disfunción en la médula espinal. Algunas causas que producen hematopoyesis extramedular son, por ejemplo, tumores, enfermedades, quimioterapias e ionización por radiación.

Existen dos tipos de médula espinal: roja, preferentemente llamada hematopoiética y amarilla. Ambas están compuestas de una esponja, una matriz fibrosa compuesta de células endoteliales, macrófagos, fibroblastos (precursores del tejido celular conectivo), células grasas y una extensa red capilar. La médula amarilla es 96% grasa y no está relacionada con la hematopoyesis. La médula hematopoiética es donde el desarrollo de células rojas, células blancas y plaquetas toma lugar. La médula amarilla aparece como una masa gelatinosa y es 25% materia sólida y 75% agua. Dentro de la médula roja hay un infinito número de células especializadas precursoras llamadas tallo o raíz celular. El desarrollo de las células sanguíneas a partir de células progenitoras se denomina proceso de diferenciación del tallo o raíz celular (figura 2.2) y ocurre cuando de un solo tipo de célula aparecen los diferentes tipos de células de la sangre (neutrófilos, eosinófilos, basófilos, monocitos, linfocitos y eritrocitos) por división celular.

El tallo o raíz celular son células no diferenciadas que tienen dos funciones:

1. Producir más tallo celular (auto renovar su número).
2. Generar células de sangre maduras (adultas).

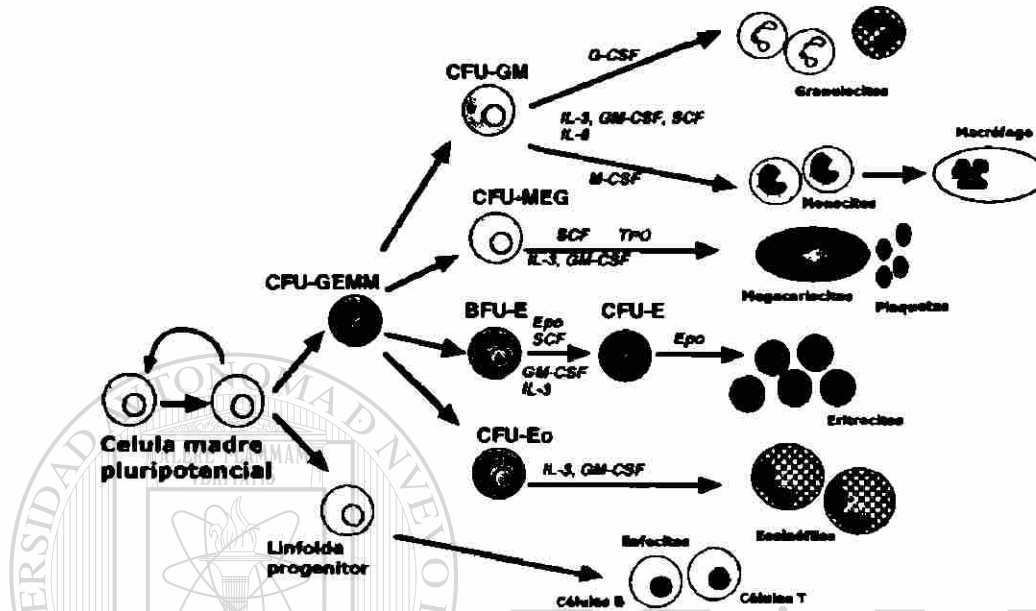


Figura 2.2 Representación del tallo o raíz celular.

Tipos de células sanguíneas

Como se muestra en la figura 2.2 pueden existir un gran número de tipos de células en la médula pero se toma una rama de la diferenciación como un mismo tipo de célula y al final se tiene la célula madura; el tiempo de desarrollo y vida de cada una varía según el tipo de célula. De esta forma tenemos seis tipos de células que se dividen en dos grupos: Células rojas y células blancas. Cada tipo de célula de sangre tiene una característica especial. Algunas células funcionan pocas horas, días, o meses, mientras otras permanecen en el cuerpo por años o posiblemente durante toda la vida. Las células de sangre maduras predominan en la circulación de individuos sanos. En personas con estado de enfermedad, las células de sangre inmaduras o anormales pueden estar presentes en un gran número (ver apéndice C).

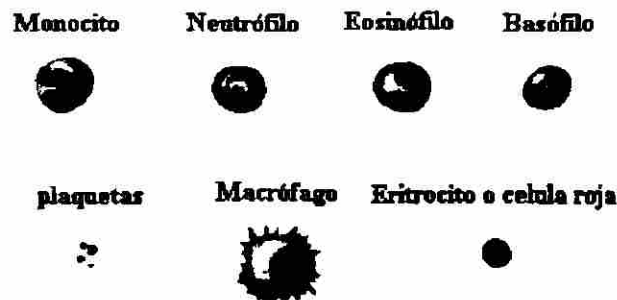


Figura 2.3 Componentes principales de la sangre.

Las células rojas

Las células rojas también se conocen como glóbulos rojos, hematíes o eritrocitos. Son las células más numerosas en la sangre y tienen una vida de tres a cuatro meses en el torrente circulatorio y cuando envejecen son destruidos principalmente en el bazo. Para poder realizar sus funciones, los glóbulos rojos poseen, entre otros elementos, la hemoglobina, sustancia que transporta oxígeno y dióxido de carbono. Las células rojas, una vez que ellas son liberadas de la médula espinal dentro de la circulación, no requieren un núcleo para realizar sus funciones

Cada día se producen o reemplazan un trillón de células rojas. El número de células de sangre en un individuo sano es constante porque la producción y destrucción de células es relativamente balanceada. Ciertas condiciones estimulan un incremento en la producción de células de sangre. Por ejemplo, la hipoxia, un bajo nivel de oxígeno en los tejidos, aumenta la producción de células rojas, una infección lleva a un aumento en la producción de células blancas y la pérdida de sangre a un incremento de plaquetas. El desarrollo de células de sangre se basa en el control de hormonas llamadas hematopoiéticas, las cuales pertenecen a una gran clase de moléculas llamadas glicoproteínas.

La producción de células rojas es dependiente de la hormona renal eritropoietina. Esta molécula se libera en los riñones. Durante la vida fetal la eritropoietina es producida en el hígado, continuando la producción alrededor del 10% después del nacimiento. Su liberación es un agente estimulador del tallo celular para aumentar en número la producción de células rojas.

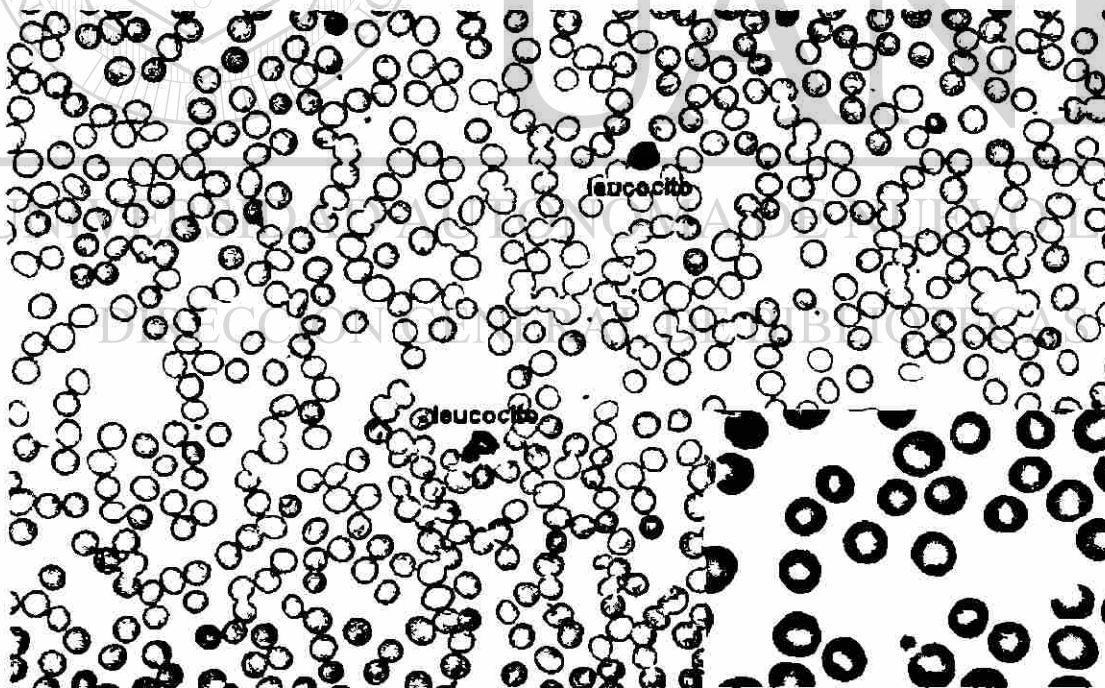


Figura 2.4 Muestra de sangre vista al microscopio en aumento de x1000; detalle de glóbulos blancos.

Células blancas

Se forman en la médula ósea y en algunos ganglios linfáticos y se conocen como leucocitos, glóbulos blancos o células blancas. En la sangre sólo las células blancas tienen núcleo, que les permite reaccionar rápidamente para llevar a cabo funciones de inmunidad, que protege al cuerpo contra materia externa. En condiciones normales el número de células blancas es muy inferior al número de células rojas por un factor de mil, en la figura 2.4 se observa esta gran diferencia, sin embargo la producción de células blancas aumenta ante estímulos de infección e inflamación. Los leucocitos o glóbulos blancos se dividen en dos grupos: **agranulocitos** y **granulocitos**

Agranulocitos

Son células con gran núcleo, no presentan gránulos en su membrana citoplasmática, tienen funciones fagocíticas y producen anticuerpos responsables de la respuesta inmunitaria, solo dos tipos de célula presentan estas características: Monocitos y Linfocitos.

Los *monocitos* son células de tamaño grande pero variable. Su núcleo tiene un aspecto reniforme, de cromatina laxa (ver figura 2.5). Se pueden convertir en macrófagos cuando hay cuerpos extraños en el cuerpo o en infecciones, su función es fagocitar restos celulares y partículas, lo que los convierte en elementos clave para la respuesta inmunitaria no específica.



Figura 2.5 Monocitos: encargados de fagocitar cuerpos extraños y células muertas.

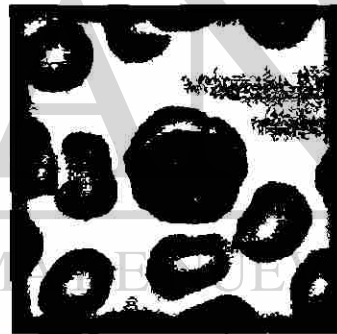


Figura 2.6 Linfocitos: son los principales responsables de la respuesta inmune específica.

Los *linfocitos* son células mononucleadas cuyo tamaño varía entre 6-8 a 10-20 micras dependiendo de su estado de activación (ver figura 2.6). Son los principales efectores de la respuesta inmune específica. Su núcleo es redondo y su citoplasma es en general escaso. Los linfocitos son las células más importantes del sistema inmunológico en algunos aspectos. Hay dos tipos de linfocitos, los linfocitos B y los linfocitos T.

Los linfocitos B reconocen las bacterias y se unen a ellas. Los granulocitos y los monocitos únicamente pueden reconocer y destruir a las bacterias cuando los linfocitos están unidos a éstas. Son también las células responsables de la producción de unos componentes del suero de la sangre, denominados inmunoglobulinas. En general, los leucocitos realizan su función de defensa en el interior de los tejidos y para ello poseen la

capacidad de, mediante movimientos ameboides, abandonar el sistema circulatorio y migrar por los tejidos.

Los linfocitos T reconocen a las células infectadas por los virus y las destruyen con ayuda de los macrófagos. Estos linfocitos amplifican o suprimen la respuesta inmunológica global, regulando a los otros componentes del sistema inmunológico, y segregan gran variedad de citoquinas. Constituyen el 70% de todos los linfocitos. Tanto los linfocitos T como los B tienen la capacidad de "recordar" una exposición previa a un antígeno específico, así cuando haya una nueva exposición a él, la destrucción por parte del sistema inmunológico será más eficaz.

Granulocitos

Los granulocitos son las células con núcleo más abundantes en la sangre, se distinguen por el tamaño y por el color de sus gránulos. Cuando los microorganismos o antígenos penetran en el cuerpo, los granulocitos los ingieren y los destruyen gracias a las enzimas que tienen en sus gránulos que contrarrestan la acción de los elementos químicos que producen los antígenos. Los granulocitos son más eficaces si los antígenos son recubiertos previamente en la sangre por inmunoglobulinas o por proteínas del sistema del complemento⁽²⁾.

Existen tres tipos de granulocitos: Neutrófilos, Eosinófilos y Basófilos. Son leucocitos de 10-14 micras de diámetro. Su núcleo presenta diversas lobulaciones, por esa razón también se conocen como polimorfonucleares, y su citoplasma contiene granulación. En función del tipo de granulación se diferencian los tres subtipos de granulocitos: **neutrófilos** (granulación fina neutrofila ver figura 2.7a), **eosinófilos** (granulación eosinófila: de color rosado oscuro figura 2.7b) y **basófilos** (granulación basófila: color azul oscuro ver figura 2.8c). Los precursores inmediatos se llaman cayados o bandas y se caracteriza por un núcleo menos segmentado.

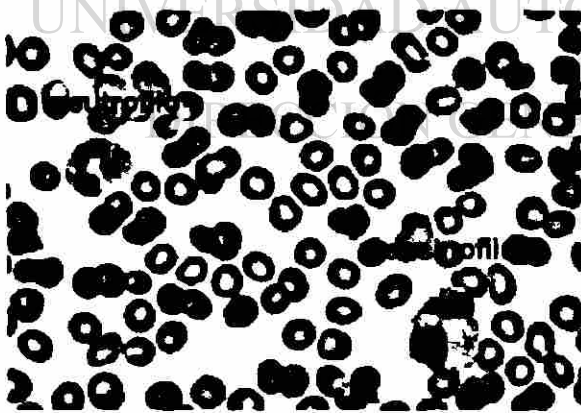


Figura 2.7a Diferencia entre eosinófilos y neutrófilos.



Figura 2.7b Precursores de leucocitos (bandas).

En una hoja de biometría hemática se ven las palabras “polys” y “bands” (que significa “polis” y “bandas”). Los polys son neutrófilos maduros; las bandas son neutrófilos jóvenes, las cuales combaten también las infecciones.



Figura 2.8a Neutrófilos.

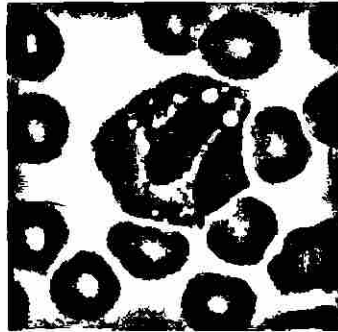


Figura 2.8b Eosinófilos.

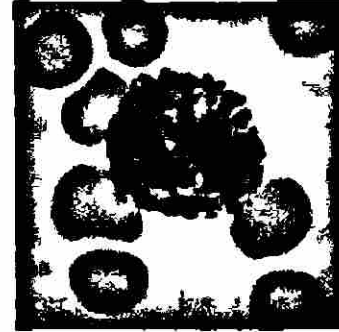


Figura 2.8c Basófilos.

Plaquetas

Las plaquetas también se forman en la médula ósea, y son elementos indispensables, junto a otros factores, para controlar la pérdida de sangre; en una herida forman un tapón que es uno de los pasos iniciales en la hemostasis de coagulación.

Plasma

El agua constituye el 90% del volumen plasmático y en ella se transportan las sustancias hidrosolubles como son los electrolitos y las proteínas séricas e inmunológicas. El suero también contiene lípidos y glúcidos.

Constituyentes del suero:

Electrolitos

- Cationes: Sodio, potasio, calcio, magnesio
- Aniones: Cloro, bicarbonato, sulfatos, fosfatos, ácidos orgánicos ionizados

Proteínas séricas (de 62 a 80 g/litro)

- Albúmina, fibrinógeno
- Lípidos
- Glúcidos

Proteínas inmunológicas

- Inmunoglobulinas G, M, A, D y E
- Citoquinas
- Proteínas del complemento

Las inmunoglobulinas reciben el nombre de anticuerpos y cada una de ellas (hay miles en el cuerpo) se combinan de manera exacta con un tipo específico de antígeno y contribuyen a su eliminación.

Las citoquinas son responsables en gran medida de la regulación de la respuesta inmunológica. Esto es importante pues no siempre es necesario que esté activado este sistema y su reacción debe estar adecuada al tipo de agresión. Las citoquinas que son secretadas por los linfocitos, se denominan linfoquinas; si son secretadas por los monocitos, monoquinas.

Las proteínas del complemento⁽²⁾ actúan para propiciar una respuesta inmunológica adecuada. Cuando una inmunoglobulina o anticuerpo se une a un antígeno, las proteínas del complemento pueden unirse a ese complejo y facilitan la fagocitosis de las células inmunológicas.

A excepción de las hormonas peptídicas y de las inmunoglobulinas, las proteínas circulantes son de síntesis preferentemente hepática. Entre ellas están los factores de coagulación, los factores del sistema complemento, las lipoproteínas, las proteínas reactantes de fase aguda, etc. La concentración de las proteínas en suero es de 6.6 a 8.7 g/dl.

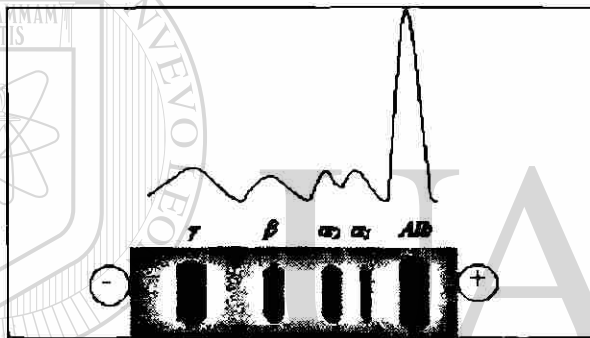


Figura 2.9 Gráfica comparativa de la composición proteica del suero sanguíneo.

La albúmina representa el 50-60 % del total de la proteína plasmática. Se sintetiza en el hígado y permanece en circulación unos diecinueve días, hasta que se metaboliza en los tejidos para los que es fuente de aminoácidos. Sus funciones más importantes guardan relación con su tamaño, que le mantiene dentro del torrente circulatorio, contribuyendo a retener líquido en este espacio, y con su carga eléctrica negativa, que le capacita como un gran transportador de inespecífico de hormonas, iones, fármacos, etc.

Tabla 2.1 Composición cuantitativa de los componentes del plasma sanguíneo.

Plasma Sanguíneo	
Agua	91 g%
Proteínas (total)	7 g%
Albúmina	4,5 g%
Globulinas	2,5 g%
Fibrinógeno	0,3 g%

La biometría de la sangre y el análisis clínico

Un conteo sanguíneo completo o biometría sanguínea, también frecuentemente conocido como un CBC (cells blood count), por sus iniciales en inglés, es una prueba común de la sangre. Un CBC proporciona información detallada acerca de tres tipos de células de la sangre: glóbulos rojos, glóbulos blancos y plaquetas. Cada tipo de células sanguíneas juega un papel importante en la función normal del cuerpo. Un conteo sanguíneo completo incluye cinco mediciones principales:

- **Conteo de glóbulos blancos (WBC, por sus iniciales en inglés)**

Se miden en miles por milímetro cúbico (K/mm^3) o en miles por microlitro ($K/\mu l$) de sangre.

- **Conteo de glóbulos rojos (RBC)**

Se miden en millones por milímetro cúbico ($mill/mm^3$) o en millones por microlitro ($mill/\mu l$) de sangre.

- **Valor de la hemoglobina (HGB)**

La hemoglobina es la proteína que transporta oxígeno de los pulmones a los tejidos y remueve dióxido de carbono (los productos de desecho) de los tejidos a los pulmones. La hemoglobina proporciona a los glóbulos rojos su color y se mide en gramos por decilitro ($g./dl.$) de sangre.

- **Valor del hematocrito (HCT)**

El hematocrito es el porcentaje de glóbulos rojos en relación a su volumen total de sangre. El hematocrito revela la proporción de células y líquidos en la sangre.

- **Conteo de plaquetas.**

Las plaquetas son necesarias para la coagulación sanguínea normal (hemostasis); y aún más importante, se agrupan para taponar pequeños orificios en vasos que presenten daño. Asimismo, activan el factor VIII (un componente de la cascada de la coagulación) y liberan fosfolípidos necesarios para el proceso de coagulación. Ellos se miden en miles por milímetro cúbico (K/mm^3) o en miles por microlitro ($K/\mu l$) de sangre.

Rangos normales de las células en un conteo

Cada medición en un conteo sanguíneo completo tiene un rango normal de valores en cada componente, y puede estar influenciado por la edad, el sexo y el nivel del mar donde viva la persona. Según la **NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-003-SSA2-1993, "Para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos"** (ver apéndice D) los valores normales deben estar de acuerdo con la siguiente tabla.

Altura SNM	Sexo			
	Masculino		Femenino	
	HEMOGLOBINA	HEMATOCRITO	HEMOGLOBINA	HEMATOCRITO
0 a 1500 m	13.5 g/dl	0.41	12.5 g/dl	0.38
1501 m o más	14.5 g/dl	0.44	14.0 g/dl	0.42

Tabla 2.2 Valores reportados como normales de acuerdo a la altura sobre el nivel del mar.

En particular para la Cd. de León Guanajuato a 1,800 m sobre el nivel del mar donde se tomaron todas las muestras de sangre, los rangos de los parámetros en una biometría hemática de cualquier persona apta a donar son los siguientes:

• WBC:	4.6 – 10.2 K/ μ l	
• LYM	0.6 – 3.4 K/ μ l	10.0 – 50.0 %L
• MID	0.0 – 1.8 K/ μ l	0.0 – 21.5 %M
• GRAN	2.0 – 6.9 K/ μ l	37.0 – 80.0 %G
• RBC:	4.69 – 6.13 M/ μ l	
• HGB:	14.1 – 18.1 g/dl	
• HCT:	43.5 – 53.7 %	
• MCV	80.0 – 97.0 fL	
• MCH	27.0 – 31.2 pg	
• MCHC	31.8 – 35.4 g/dl	
• RDW	11.6 – 14.8 %	
• Plaquetas	142 – 424 K/ μ l	
• MVP	0-0 – 99.8 fL	

El valor de laboratorio del WBC no es significativo a menos que también se conozca el “diferencial”. El diferencial mide cada uno de los cinco tipos de glóbulos blancos por lo general basado en 100 células contadas en una muestra de laboratorio:

Leucocitos

- neutrófilos (polis o polimorfonucleares y bandas)
- basófilos
- eosinófilos
- linfocitos
- monocitos

El análisis diferencial de leucocitos humanos se realiza rutinariamente en laboratorios clínicos para identificar leucemia y para discriminar entre bacteriano y las infecciones de virus. Otros parámetros que normalmente aparecen en una citometría hemática son:

LYM, MID, GRAN, MCV, MCH, MCHC y MPV que a continuación se detalla su significado (véase apéndice B).

LYM: es el porcentaje de linfocitos respecto al total de glóbulos blancos que existe en el torrente sanguíneo.

MID: es el porcentaje de células blancas poco frecuentes relacionadas con los precursores (células jóvenes) de los monocitos, eosinófilos, basófilos, blastos y otros.

GRAN: es el porcentaje de granulocitos respecto al total de células blancas

MCV: se conoce como la media del volumen corpuscular de los glóbulos rojos, también se asocia a MCD o media del diámetro corpuscular de las células rojas y es un indicativo de su tamaño.

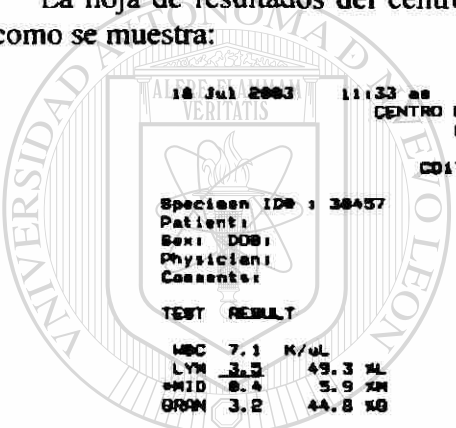
MCH: es la media de hemoglobina corpuscular indicando cuanta hemoglobina se transporta por célula.

MCHC: es la media de la concentración de hemoglobina corpuscular y es un indicativo de la densidad de hemoglobina en la sangre.

MPV: se conoce como la media del volumen plaquetario en la sangre.

RDW: anchura de la distribución de glóbulos rojos

La hoja de resultados del centro estatal de transfusiones del estado de Guanajuato es como se muestra:

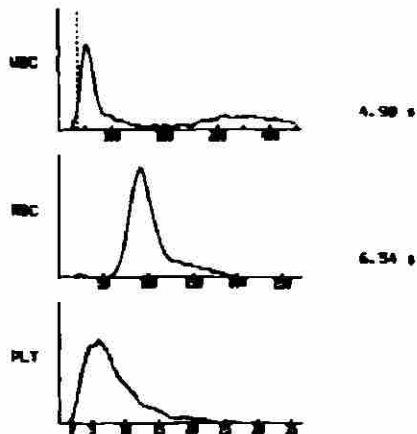


18 Jul 2003 11:33 am Version 1.01
 CENTRO ESTATAL DE LA TRANSFUSION SANGUINEA
 BANCO DE SANGRE LEON, GTO.
 C01700 SPECIMEN DATA REPORT

<p>Specimen ID# : 30457 Patient: Sex: DOB: Physician: Comments:</p>	<p>Analyzed: 18/07/03 11:11 Operator I.D.: B3 Sequence #: 655 Mode: Open Collected:</p>
---	---

TEST	RESULT	FLAG	LIMIT	REFERENCE RANGE (LIMIT 1)
MCV	7.1 K/uL		[*]	4.6 - 10.2 K/uL
LYM	3.2 49.3 %L	H	[*]	0.6 - 3.4 10.0 - 50.0 %L
*MID	0.4 5.9 %M		[*]	0.0 - 1.8 0.0 - 21.5 %M
GRAN	3.2 44.8 %G		[*]	2.0 - 6.9 37.0 - 69.0 %G
RBC	4.82 M/uL	L	*[]	4.69 - 6.13 M/uL
HGB	13.5 g/dL	L	*[]	14.1 - 18.1 g/dL
HCT	32.8 %	L	[*]	43.3 - 53.7 %
MCV	98.7 fL		[*]	80.0 - 97.0 fL
MCH	21.2 pg	H	[*]	27.0 - 31.2 pg
MCHC	33.9 g/dL		[*]	31.8 - 35.4 g/dL
RDW	14.8 %		[*]	11.6 - 14.8 %
PLT	320 K/uL		[*]	142 - 424 K/uL
MPV	7.9 fL		[*]	0.0 - 99.8 fL

* MID cells may include less frequently occurring and rare cells correlating to senocytes, eosinophils, basophils, blasts and other precursor white cells.



En el apéndice C se da una explicación más detallada de lo que sucede si los valores de los componentes de la sangre no caen en los rangos indicados y de porque es importante tomar en cuenta cada valor.

Anticoagulantes

Al realizar una citometría la muestra debe contener un anticoagulante para evitar la aglomeración de células, de los anticoagulantes utilizados los más empleados son: EDTA, Heparina y Citrato sódico.

EDTA

Se comercializa en forma de sal di-sódico, di-potásico o tri-potásico, siendo éstos dos últimos los más comunes.

El *EDTA* es el anticoagulante de elección para hematología, se utiliza a una concentración 1mg por 1c.c. de sangre o 0.5ml de solución al 1 % para 5ml de sangre, o 0.1ml de solución al 1% para 1ml de sangre.

El *EDTA* también es el anticoagulante de elección para test de Inmunohematología: Test de Coombs y para realizar tinciones citoquímicas.

La coagulación se evita por eliminación del calcio de la sangre. Pueden realizarse recuentos entre 24 horas y 36 horas de la extracción siempre que se mantengan a una temperatura de refrigeración de 4°C, nunca deben congelarse, ni sufrir temperaturas superiores a los 37°C, ya que estos casos la muestra es totalmente inviable.

Una excesiva prolongación con el anticoagulante hace que se altere las células sanguíneas. Lo primero que se detecta es una vacuolización de los monocitos, seguido del hinchamiento de los linfocitos, presencia de vacuolas en neutrófilos que se confunden con cambios tóxicos, condensación del núcleo de los neutrófilos que pueden aparecer como redondeado y binucleado, aumento de células en cariorrexis y crenación de los hematíes. Por lo tanto se recomienda realizar un frotis sanguíneo si el envío se prolonga más de 24 horas.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Heparina

La coagulación se evita por neutralización de la trombina. Se utiliza a una concentración de 0.2c.c. de heparina saturada por cada 1c.c. de sangre.

Aunque se pueden realizar recuentos entre 12 y 24 horas a la extracción, produce daños muy graves en el frotis sanguíneo que lo hacen totalmente inviable.

Las alteraciones que se producen son: degeneración nuclear de los neutrófilos, degeneración citoplasmática de los neutrófilos y monocitos, los leucocitos no se tiñen de forma tan clara en comparación con otros anticoagulantes, sobre todo si hay un exceso de heparina, formación de cuerpos de Heinz, alteración en la tinción vital para reticulocitos, formación de agregados plaquetarios y si la extensión se realiza a las 24 36 horas, los

posibles cuerpos de inclusión víricos, parásitos hemáticos o cuerpos de inclusión de erlichias en monocitos y neutrófilos serán indistinguibles.

No es APTA par estudios de inmunohematología: Test de Coombs.

No se utiliza para las tinciones citoquímicas.

Una de las ventajas de la heparina es que es excelente para determinaciones de perfiles bioquímicos

Citrato sódico

Es el anticoagulante ideal para los estudios de coagulación. Se utiliza a una concentración de un parte de citrato sódico 0.1 M por nueve partes de sangre total. Es totalmente necesario e imprescindible mantener la relación anticoagulante / sangre para realizar las pruebas de coagulación, los valores obtenidos sin esta relación no tienen ningún valor diagnóstico.

Bibliografía

- [1] Fernando-García-Tamayo, Fundamentos de inmunológica. Ed. UNAM, México DF. 1997
- [2] John F. Dailey, Blood, Ed. Medical Consulting Group, MA, 1998
- [3] Silberstein and McGlave, Hematology: basic principles and practice, 3a. Ed. Churchill Livingstone, New York, 1998
- [4] MEDLINEplus. Biblioteca Nacional de Medicina (información de salud para el público). <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/bloodlymphaticsystem.html>
- [5] Arias-Massieu-Zentella-Tapia, Enfermedades neurodegenerativas: mecanismos celulares y moleculares. Ed. Fondo de cultura económico, 2000
- [6] Jacques Wallach, M.D., Interpretation of diagnostic test: A handbook synopsis of laboratory medicine 3ª Ed, 1999
- [7] Norma Oficial Mexicana NOM-003-SSA2-1993

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Capítulo III

Propiedades eléctricas de la sangre

Introducción

Los tejidos, órganos y líquidos biológicos son formaciones bastante heterogéneas con propiedades eléctricas diferentes entre si, y pueden experimentar cambios por la acción de una corriente. En especial dentro del cuerpo humano la corriente se propaga principalmente por los vasos sanguíneos y linfáticos, por los músculos, las túnicas de los troncos nerviosos y el tejido conectivo⁽¹⁾. La resistencia de la piel viene determinada por su estado: el espesor, la edad, la humedad, el pH del sudor etc. siendo lo que condiciona las mediciones de cualquier parámetro físico (temperatura, absorbancia, resistencia mecánica, conductividad eléctrica, permitividad, permeabilidad, capacitancia, difusividad térmica, etc.) en sistemas vivos. Por ejemplo, la conductividad eléctrica de las distintas partes del organismo que se encuentran entre 2 ó más electrodos aplicados directamente a la superficie del cuerpo depende de la resistencia del tejido, de la cantidad y hasta de la orientación de las células en el campo eléctrico aplicado. El caso más significativo es el del tejido muscular, donde se encuentran diferencias significativas para las medidas longitudinales y transversales⁽²⁾.

Un tejido biológico puede modelarse⁽³⁾, desde un punto de vista estructural, como la agrupación de una serie de elementos denominados células, que están inmersas en un medio iónico denominado medio extracelular. Así mismo, en el interior de la célula existe también una concentración de fluidos e iones (en el medio intracelular es donde tienen lugar los procesos metabólicos de la célula). La frontera entre ambos es la membrana celular, encargada del control osmótico de los dos medios. Las alteraciones más usuales sobre los medios intra y extracelulares son aquellas en las que uno de los dos experimenta una variación en su volumen, ya sea debido a un aumento o disminución de la cantidad de fluido, o bien al aumento o disminución de la concentración de iones disueltos en él. Mas adelante se explica porque es de importancia los iones de los medios intra y extracelular para la técnica de espectroscopía de impedancia eléctrica.

Existen marcadas diferencias entre los estudios de impedancia aplicados a suspensiones celulares y los aplicados a tejidos. Por un lado, hay una gran heterogeneidad entre los diferentes tejidos, ya que están formados por agrupaciones de células de formas y dimensiones muy diferentes. Estas células no se encuentran aisladas, sino que forman una estructura tridimensional con enlaces de tejido conectivo⁽⁴⁾. Sin embargo las características eléctricas de los tejidos y sus dispersiones vendrán determinadas, por tres efectos diferentes.

1.- Las características de las células, ya sean sus propias características eléctricas (capacitancia, resistencia), o la integridad y normalidad de las mismas.

2.- La variación de los volúmenes iónicos de los medios intra y extracelular.

3.- Efectos capacitivos de doble capa que surgen al tratar con agrupaciones de elementos celulares⁽⁵⁾, como es el caso de los tejidos biológicos.

Las dispersiones en los tejidos biológicos

Se ha observado que si se inyecta una corriente de alta frecuencia, se produce un efecto de cortocircuito en la membrana celular, circulando dicha corriente tanto por el medio intra como por el extracelular⁽¹⁾. Sin embargo, si la frecuencia de la excitación es baja, sólo atraviesa el medio extracelular, siendo mayor el valor de la impedancia a estas frecuencias que a las altas, estos efectos se deben en gran parte a la concentración de iones de ambos medios y de la membrana celular que actúa como circuito capacitivo. Es por tanto necesario que exista algún comportamiento de relajación, como en los materiales dieléctricos, que modele este comportamiento en frecuencia de los tejidos.

En los tejidos biológicos, como materiales dieléctricos que son, se observa una disminución de la permitividad y un aumento de la conductividad al aumentar la frecuencia. El aumento en la conductividad se puede interpretar como un aumento del porcentaje de volumen de la suspensión que transporta la corriente⁽⁶⁾. En la figura 3.1 se pueden observar tres zonas de variación de conductividad, que se denominan dispersiones.

La *primera zona* es para frecuencias inferiores a 100 Hz, en ella la célula es poco conductora comparada con el medio extracelular. Su valor está modelada por un estudio realizado por Maxwell⁽⁷⁾.

La *segunda zona* plana se considera para frecuencias entre 10 MHz y 100 MHz. En ella la membrana de la célula no ofrece una impedancia alta al paso de corriente, siendo el tejido modelado como una suspensión de proteínas no conductoras en un medio electrolítico. El valor típico en esta segunda zona de la conductividad es de 1 Sm^{-1} .

La *tercera zona* es para frecuencias superiores a 100 MHz donde existe un incremento significativo de la conductividad debido a tres factores: la existencia de efectos de polarización interfacial de Maxwell-Wagner⁽⁷⁾, pérdidas dieléctricas de moléculas polares y la relajación dieléctrica del agua. En esta zona, la conductividad puede alcanzar valores de 100 Sm^{-1} o incluso superiores.

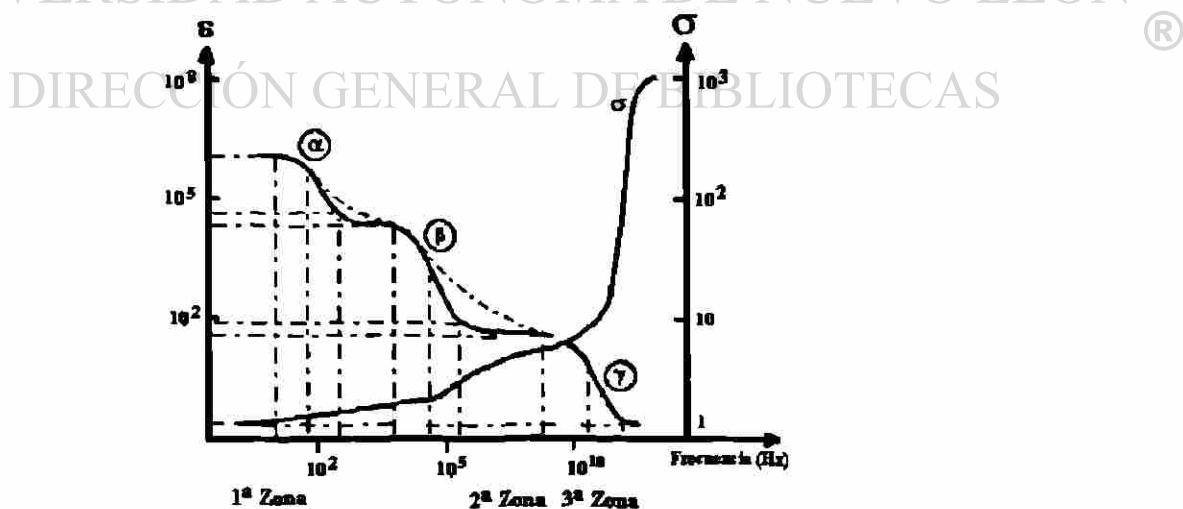


Figura 3.1 Gráfica de permitividad (izq.) y conductividad (der.) vs. Frecuencia donde se observan las regiones de dispersión.

La permitividad presenta un efecto contrario al de la conductividad. Desde la baja frecuencia donde puede alcanzar valores de $10^6 - 10^7$ se observan tres dispersiones fundamentales (figura 3.1), aunque en algunos sistemas biológicos se pueden identificar un mínimo de hasta siete mecanismos diferentes de relajación⁽⁸⁾.

La dispersión a más baja frecuencia de 1 a 100Hz, denominada dispersión alfa (α), es debida a fenómenos de difusión iónica, correspondiente a los iones que envuelven la membrana celular. Principalmente ocurre como efecto global que identifica al tejido como entidad específica.

La dispersión beta (β), llamada también relajación estructural, es debida al cortocircuito de la membrana celular. Se produce en el margen de radiofrecuencias, desde decenas de kilohercios hasta decenas de megahercios. En esta región se corre el riesgo de alterar las funciones básicas de concentración iónica en la célula.

La dispersión gama (γ) se encuentra en el margen de los 10 a los 100 GHz y es debida a la relajación bipolar de las moléculas libres de agua presentes en el medio. Entre la dispersión β y la γ existe una pequeña dispersión denominada δ debida a la relajación del agua ligada a las proteínas. Cada tejido se diferenciará de los demás mayoritariamente por las características de sus relajaciones y en menor medida, por los valores de conductividad o permitividad que presentan, siendo posible su caracterización mediante los modelos de Cole-Cole.

Espectros copia de Impedancia Eléctrica

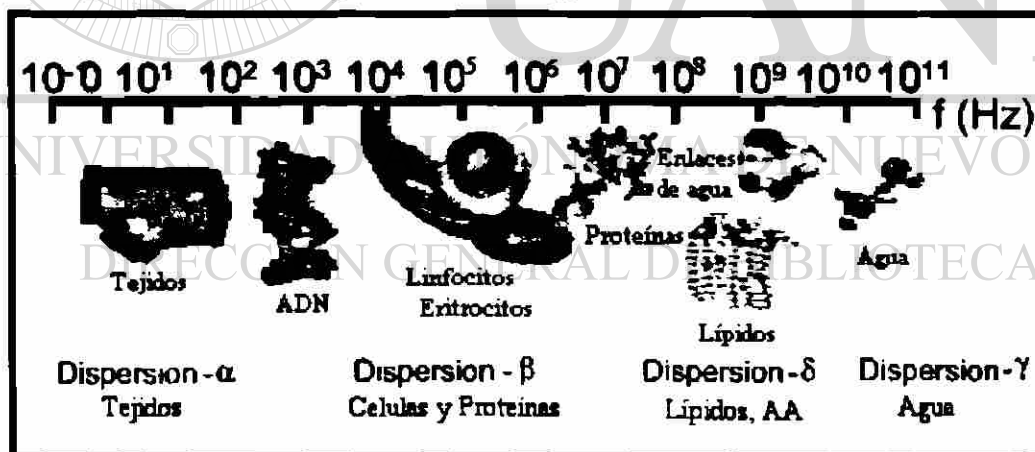


Figura 3.2 Rangos de frecuencias para cada tipo de dispersión y la causa de ésta.

Atendiendo a la similitud de su comportamiento en el dominio de la frecuencia se realiza una clasificación de los diferentes tejidos⁽⁶⁾. Esta clasificación los divide en: tejidos líquidos (sangre y linfa), musculares (estriados, cardíacos,...), blandos (hígado, riñón, páncreas,...), óseos, adiposos, la piel y otros tipos donde se pueden englobar por ejemplo los tejidos cancerosos.

A modo de ejemplo se ha extraído de *Physiological Measurement*⁽⁹⁾ una representación del comportamiento del módulo de impedancia en el dominio de la frecuencia entre 100 Hz y 10 MHz para diferentes órganos mostrados en la figura 3.3.

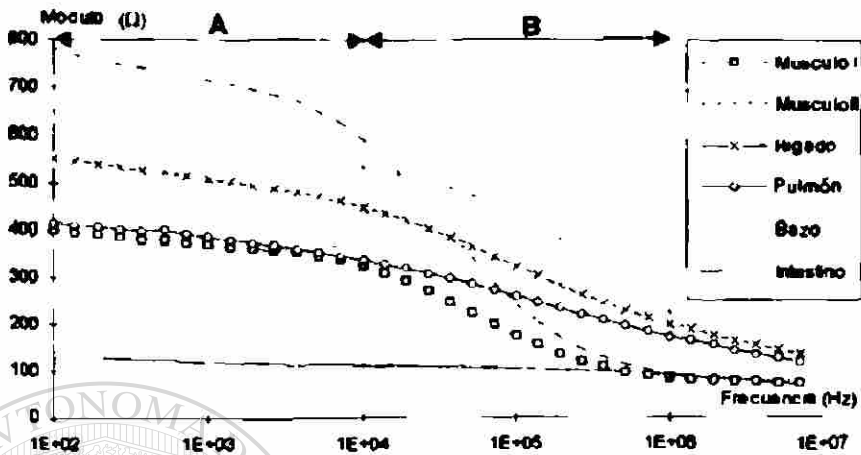


Figura 3.3 Representación del comportamiento del módulo de impedancia en el dominio de la frecuencia entre 100 Hz y 10 MHz para diferentes órganos.

Antecedentes de la espectroscopía de impedancia eléctrica en sangre

La aplicación de teorías de dieléctricos en muestras sanguíneas tienen limitaciones, en parte porque la teoría de Maxwell falla en suspensiones de células concentradas como ocurre normalmente en la sangre, y también porque los eritrocitos no son esféricos como lo demanda la teoría.

El trabajo de Höber⁽¹⁰⁾ ayudó a clarificar la fuerte dependencia con la frecuencia que presentaba la resistencia de la sangre, infiriendo la resistencia en suspensiones de eritrocitos a alta frecuencia con oscilaciones de corriente generadas por un circuito resonante de descarga de chispa. Sustituyendo en varias soluciones salinas midió la aparente fuerza iónica de la sangre, y mostró que se incrementaba en proporción directa. Midió la impedancia capacitiva de las células de sangre rojas, y fue el primero en concluir que tales células consisten esencialmente en un sobre dieléctrico fino (es decir una membrana) a que rodea agua-como electrolito.

Mucho más adelante, Stewart⁽¹¹⁾ estudió las propiedades de impedancia de la sangre, midiendo la resistencia de sangre a baja frecuencia mientras desarrollaba medidores de dilución en flujo sanguíneo. Estos trabajos contribuyeron a reconocer que los eritrocitos se comportan como partículas no conductoras en un medio conductor (en bajas frecuencias).

Cole⁽¹¹⁾ concluyó que, ampliando medidas hasta frecuencias microondas, la estructura interna de células condujo al descubrimiento de canales selectivos de iones.

Wachter⁽¹⁾ fue probablemente el primero en medir la absorción de agua, sangre, leche, aceites y otros fluidos biológicos de 1Hz a 10GHz usando oscilaciones amortiguadas, obteniendo hace 55 años valores que se aproximan mucho a los reportados actualmente.

En 1948, Rajewsky y Schwan⁽¹⁾ fueron los primeros en reportar datos de permitividad compleja para sangre a frecuencias arriba de 1 GHz.

Las medidas de la constante dieléctrica compleja de suspensiones de las células de la sangre han sido divulgadas recientemente por Ackmann⁽¹²⁾. En las frecuencias debajo de 100 KHz, la parte real de la constante dieléctrica (ϵ') tiene un máximo en una fracción del volumen de las células sanguíneas.

El efecto de un campo eléctrico AC en células en solución

Mientras que el campo DC polariza unidireccionalmente las células, cuando se aplica un campo AC hace cambiar la dirección de la corriente por la separación de carga. Las figuras 3.4a y 3.4b demuestran que cuando se invierte la dirección del campo eléctrico aplicado a una suspensión de células se invierte simplemente la dirección de las polarizaciones de la membrana sin afectar la magnitud del efecto de la polarización. Así la capacitancia de la suspensión de la células no se afecta por la dirección del campo eléctrico.

Figura 3.4a Las células suspendidas en un medio isotónico sufren polarización en la membrana y los iones disueltos migran hacia el electrodo de carga opuesta.

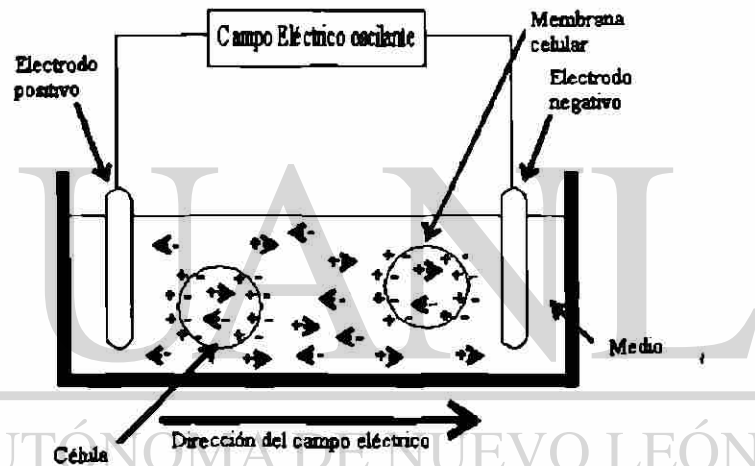
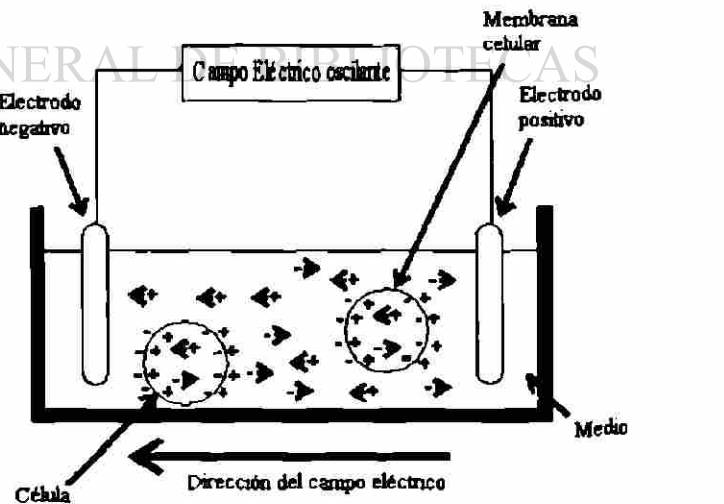


Figura 3.4b El cambio en la dirección del campo eléctrico produce la inversión de la polaridad sin afectar a la magnitud del efecto de polarización.



El efecto de la frecuencia en la capacitancia de una suspensión de la célula.

La frecuencia del campo eléctrico aplicado tiene un efecto marcado en la capacitancia de células en suspensión. Mientras que la frecuencia aumenta, la capacitancia baja porque el grado de la separación de la carga decae. La razón de esto es que los iones que son polarizados tienen un tiempo de respuesta al campo eléctrico. Cuando el campo cambia la dirección más rápidamente (aumenta la frecuencia), menos y menos iones tienen tiempo para alcanzar las membranas y así que el grado de las separaciones de la carga decae y la capacitancia baja.

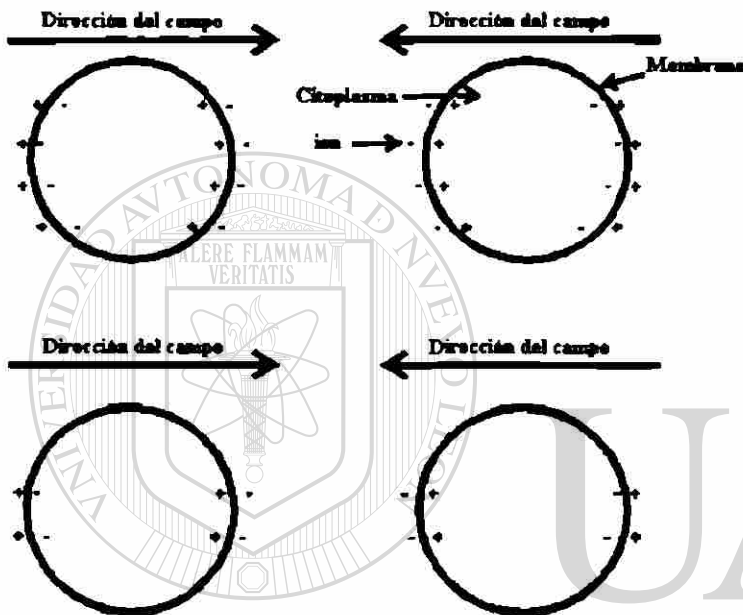


Figura 3.5a En frecuencias bajas, el campo está cambiando la dirección lentamente. Muchos iones tienen tiempo para alcanzar la membrana y polarizarla antes de que el campo cambie de dirección otra vez y haga la membrana se polarice de manera opuesta. Debido a que hay una gran cantidad de carga, la capacitancia de las células es alta.

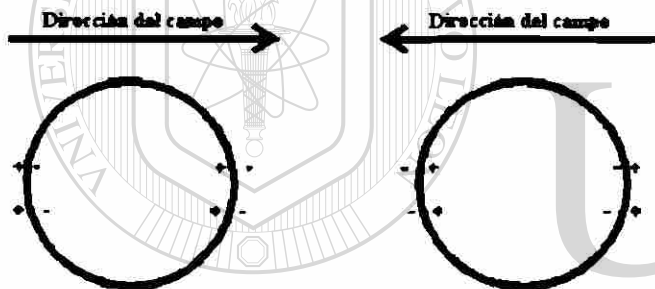


Figura 3.5b En frecuencias más altas menos iones tienen tiempo para alcanzar la membrana antes de que el campo cambie de dirección. Como la polarización es menor, la capacitancia de las células se reduce.

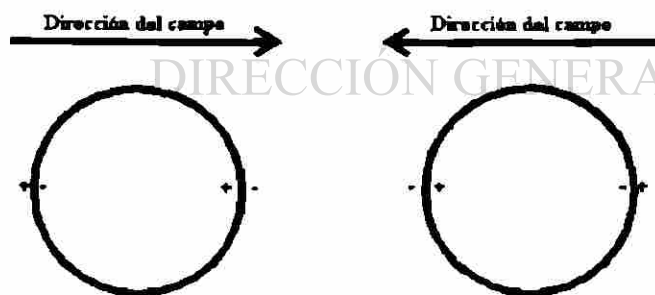


Figura 3.4c En frecuencias muy altas, el campo está cambiando de dirección tan rápidamente que cuando apenas empieza a moverse un ion en respuesta al campo, el campo cambia la dirección otra vez y comienza a empujarlo en dirección opuesta. Muy pocos iones tienen tiempo para alcanzar la membrana y la polarización a través de ella es muy pequeña. Por lo tanto la capacitancia de la suspensión considerada es debida completamente al medio y no a las células. De hecho el agua y moléculas polares cortas en el medio son responsables de esta capacitancia a alta frecuencia.

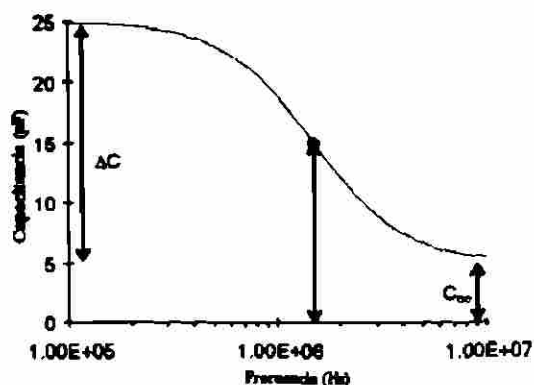
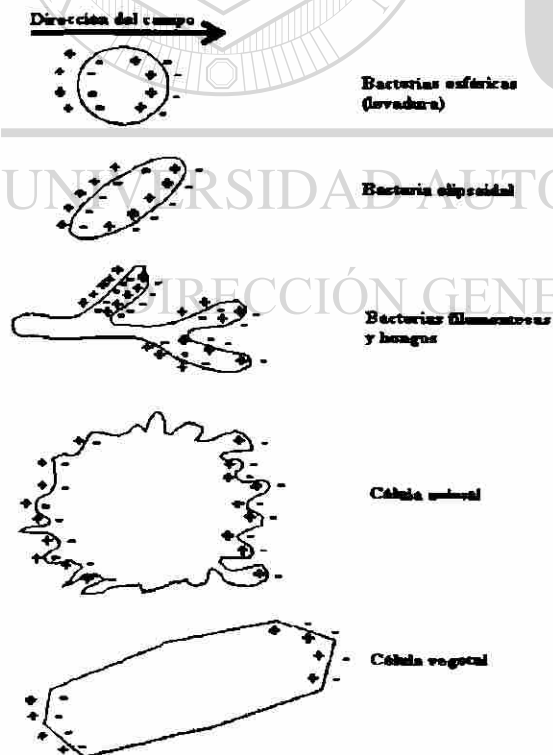


Figura 3.6 Capacitancia de una suspensión de la célula en función de la frecuencia.

En las frecuencias bajas las membranas de la célula se polarizan al máximo siendo alta la capacitancia. Mientras que si aumenta la frecuencia la capacitancia de la suspensión baja porque las membranas del plasma de la célula no se polarizan tanto. A C_{∞} se le conoce como capacitancia residual, cuando la frecuencia está a la mitad de ΔC (ver fig 3.6) se llama la frecuencia (característica) crítica (f_c). Para la figura 3.6, $\Delta C = 20 \text{ pF}$, $C_{\infty} = 5 \text{ pF}$ y $f_c = 1,5 \text{ MHz}$. A la disminución de capacitancia con el aumento de la frecuencia debido a la pérdida de la polarización inducida en la membrana se llama *dispersión- β*

El efecto del tipo y de la forma de la célula en sus propiedades eléctricas



Un campo eléctrico puede polarizar las membranas de cualquier tipo y forma de célula. El tamaño de la membrana así como la concentración de iones dentro del citoplasma resulta significativo en la capacitancia individual celular. Es de esperarse que los dos grandes grupos de células en la sangre presenten diferencias significativas en la capacitancia y la conductividad. Como se ha visto las células rojas tienen forma de disco, no presentan núcleo y además poseen grupos peptídicos polares en su membrana, a diferencia de las células blancas que son relativamente más grandes presentan un núcleo muy grande (casi sin citoplasma) y la mayoría son esféricas (con excepción de los macrófagos).

Figura 3.7 La polarización respecto al tipo de célula.

El efecto de la hemólisis en las propiedades eléctricas de la sangre

Si la membrana de las células se rompe, la célula muere, a este fenómeno se le conoce como hemólisis, y puede originarse por incompatibilidad sanguínea, temperatura relativamente alta, y cambio en el pH, entre otras causas. Cuando esto ocurre los iones del interior de la célula escapan al medio, si los fragmentos de la membrana están presentes los iones se mueven alrededor de estos bajo influencia del campo eléctrico (atracciones electrostáticas entre los iones con carga opuesta). El resultado de esto es que las células muertas (rotas) ya no inducen separaciones de carga (polarizaciones) a través de sus membranas por el campo eléctrico (incluso a las frecuencias bajas). Un barrido de frecuencia en una suspensión de células muertas (totalmente rotas), presentará mayor conductividad (debido a que aumentó el número de iones en el medio) y disminuirá la capacitancia (ya no hay membranas) además el valor de la capacitancia será dada por el medio.

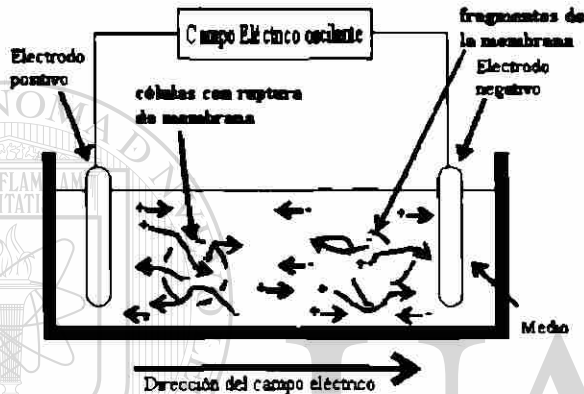


Figura 3.8 En el proceso de hemólisis los iones del interior de la célula escapan al medio.

Cuando existe un estado más avanzado de hemólisis el medio puede presentar pequeñas burbujas de gas, su presencia reducirá la capacitancia ligeramente sobre el rango de frecuencias porque se está substituyendo una fracción finita del volumen del material polarizable (fragmentos de células y agua) por el material no polarizable (burbujas, sólidos etc.) así que no contribuyen perceptiblemente a la capacitancia considerada.

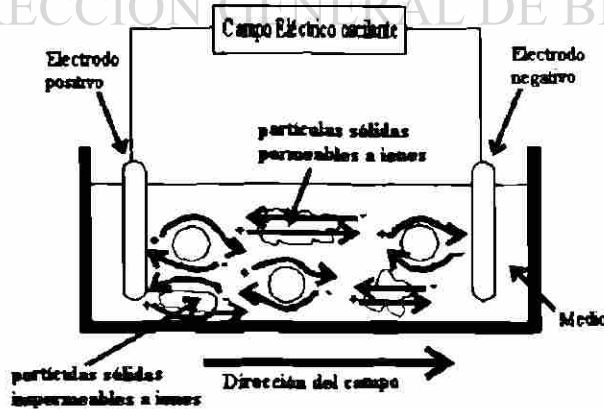


Figura 3.9 El material no polarizable (burbujas, sólidos, etc.) en la solución, producen una disminución en la capacitancia.

Propiedades eléctricas de las proteínas

Las proteínas en la sangre juegan un papel fundamental en las interacciones eléctricas de este tejido. Las interacciones entre grupos polares de largo y corto alcance en el suero son debidas a las proteínas. Por ejemplo, las catálisis enzimáticas son producidas en un medio polar organizado dentro de un sitio activo, la interacción antígeno-anticuerpo tiene en parte un enlace polar para la identificación de los grupos funcionales, y las interacciones de grupos proteicos hidrofóbicos e hidrofílicos con moléculas de agua también son de carácter polar. En términos únicamente de su carácter polar la comunicación entre dos proteínas ocurre cuando tienen una densidad de carga equivalente a 10 puentes de hidrógeno por cada 600-1000 Å². En general la interacción proteína-proteína tiene contribuciones de carácter polar, estérico, y entrópico. Sin embargo la estabilidad estructural de una proteína no radica en el número de grupos polares que posea sino donde se encuentran ubicados. Esto sucede porque la proteína tiene varios tipos de interacciones directas, tal como puentes de hidrógeno, uniones de Van der Waals, y las interacciones iónicas, junto con contribuciones de entropía.

Algunas proteínas por efecto de su carga eléctrica negativa, les capacita como transportadores de hormonas, iones, fármacos, etc

Si el plasma se expone a una fuerza de un campo eléctrico, las propiedades del medio, como la fuerza iónica que determina el radio de la nube en torno a cada molécula, y la temperatura tendrán un aspecto primordial en la respuesta de polarización.

Electrolitos en la sangre

Algunos de los iones más comunes en la sangre que pueden inducir una polarización en el medio se encuentran localizados dentro y fuera de la célula ya que de su concentración en el medio dependen sus funciones, por otro lado algunos iones además ayudan al equilibrio del pH y en general a la homeostasis. A continuación se presentan algunos de los iones y moléculas que afectan a la polarización en el plasma.

Soluto	Intracelular (mM)	Extracelular (mM)
Na ⁺	10 - 20	145
K ⁺	140	4 - 5
Mg ²⁺	5,5	1,5 - 2
Ca ²⁺	100 x 10 ⁻⁶	1 - 2
Cl ⁻	8	97 - 107
SO ₄ ²⁻	-	1
HCO ₃ ⁻	9	25
Glicose		97 mg/dL
Proteínas		Intersticio = 0 Plasma = 6 - 8 mg/dL

Tabla 3.1 Concentraciones de iones dentro y fuera de las células.

Otras técnicas de medición de parámetros eléctricos en los tejidos biológicos

Los métodos convencionales de la impedancia miden las características voltaje-corriente dependientes de la frecuencia de suspensiones de las partículas (células biológicas). Después se calculan las características de la partícula con modelos eléctricos en el plano complejo.

Actualmente el conocimiento de las propiedades eléctricas de las células se utiliza en el control y manipulación de biopartículas en suspensión por medio de campos eléctricos alternos, mas específicamente se puede hacer:

- Clasificación y Separación de células, virus y moléculas.
- Detección de microorganismos.
- Micro bombas electro-hidráulicas

Un método ampliamente utilizado es la dielectroforesis, bajo la acción de un campo eléctrico, las partículas en suspensión (células, virus,...) adquieren un dipolo eléctrico inducido. En un campo no uniforme los dipolos sufren una fuerza que origina el movimiento de las partículas, conocido como dielectroforesis (DEP). Usando este método se ha podido manipular biopartículas tales como los virus ⁽²⁾ y proteínas.

Utilizando *Microelectrodos* diseñados en formas diferentes: en placa, barra, dentados, hiperbólicos, etc., una misma partícula puede sentir dielectroforesis (DEP) positiva o negativa dependiendo de la frecuencia del campo aplicado.

Dielectroforesis positiva: Si la polarización de la partícula es más grande que la del agua, el dipolo inducido es paralelo al campo eléctrico y la partícula es atraída por regiones de campo intenso.

Dielectroforesis negativa: Si la polarización de la partícula es más pequeña que la del agua, el dipolo inducido es antiparalelo al campo eléctrico y la partícula es repelida por regiones de campo intenso.

Las teorías que se han desarrollado para describir las fuerzas de DEP que actuaban en partículas en campos no uniformes se pueden también remontar de nuevo al trabajo de Maxwell⁽¹⁵⁾ debido a que los parámetros más importantes de la célula que pueden influenciar el comportamiento de DEP a frecuencias menores a 1MHz incluyen:

- La viabilidad de la célula (en términos de la integridad de su membrana)
- El tamaño y la forma de la célula
- La morfología superficial de la membrana del plasma de la célula
- Concentración del lípido en la membrana de la célula
- Resistencia mecánica de la célula asociada a su citoesqueleto
- Composición interna de la célula, tal como volumen del núcleo y forma
- Características bioquímicas
- Polarizabilidad y de la célula
- Fase del ciclo vital de la célula

En frecuencias más altas, el volumen y la composición interna de una célula llegan a ser importantes. Entonces las diferencias en las características físicas de un tipo de la célula pueden ser explotadas. Por ejemplo, las células en las varias etapas de la diferenciación (células de vástago, células fetales) poseen diversos grados del citoesqueleto de la proteína. Esto reflejará diferencias en la resistencia mecánica de una célula, y el grado a el cual la morfología de la superficie de la membrana (y por lo tanto comportamiento del DEP) cambiará como resultado de cambios en osmolalidad o la exposición media a las fuerzas físicas.

Las ventajas de tales dispositivos incluyen la capacidad de:

- Cambiar la morfología o estructura de células
- Cambiar la viabilidad de la célula
- Separar células de alta especificidad para la identificación y la enumeración
- Separar células extrañas
- Separar células sin la necesidad del etiquetado con poco o nada de daño biológico

La dielectroforesis se puede explotar como tecnología de gran alcance de la separación aplicándose a una amplia gama de blancos biológicos, como células, bacterias, parásitos, virus, proteínas y DNA. Los aspectos dieléctricos de la técnica sirven simultáneamente como herramienta analítica para complementar la separación, proporcionando una huella digital electrónica que pueda distinguir o identificar la biopartícula separada. En relación a los líquidos biológicos, la técnica se puede utilizar para sustituir los métodos convencionales de detección de células patológicas. La caracterización de los parámetros dieléctricos naturales de células puede también conducir a una comprensión mejor de la estructura y de la función celulares.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Bibliografía

- [1] Polk, Postow, Handbook of Biological Effects of Electromagnetic Fields, Ed. CRC Press, N.Y., 1998
- [2] Beving, H., Eriksson, L.E.G., Davey C.L. and Kell D.B. (1994). Dielectric Properties of Human Blood and Erythrocytes at Radio Frequencies (0.2-10 MHz); Dependence on Cell Volume Fraction and Medium Composition. Eur. Biophys. J. 23, p207-215.
- [3] Bergethon, Simons Biophysical Chemistry: Molecules to Membranas, Ed. Springer-Verlag, 1995
- [4] Roth B.J., The electrical properties of tissues, Biomedical Eng. Handbook, J.D. Ed Bronzino., pp 126-138, CRC Press-IEEE, 1995
- [5] Rigaud B., Morucci, Bioelectrical impedance techniques in medicine. Part I Bioimpedance Measurements. Impedance Spectrometry, John R Bourne Ed. Critical reviewa in Biomedical Eng. Vol. 24, issues 4-5, 1996
- [6] Foster K.R., Schawn H. P., Dielectric properties of tissues and biological materials: A critical review. Critical Reviews in Biomedical Eng. Vol. 17, No. 1, pp. 25-104, 1989
- [7] K.S . Cole Y R.F. Baker, J. Gen. Physiol. 24: 771 (1940)
- [8] Schawn H.P., Analysis of dielectric data: Experience gained with biological material IEEE transactions on Electrical Insulation, Vol. EI-20,6, pp. 913-922, 1985.
- [9] In vitro tissue characterization and modeling using electrical impedance measurements un the 10Hz-100MHz frequency range. Physiological measurement, Vol. 16, suppl. 3, pp. 15-28, 1995.
- [10] R. Höber, ges del Arch.. Physiol. 148: 237 (1910)
- [11] K.S . Cole, Transporte. Soc. De Faraday, 33: 966 (1937)
- [12] John R. Scaly, David C. Silverman, and Martin W. Kending. Impedance Electrochemical, Analysis and Interpretation,Ed STP 1188 ASTM.
- [13] Remizov, Física Médica y Biología, Ed. MIR, Moscú, 1980
- [14] J.C . Maxwell, un tratado en electricidad y magnetismo, pp. 439-441, Oxford Univ. Presione, 1873
-
- [15] J.J. Ackmann, Ann. Biomedical Eng. Vol24, pg. 58, 1996.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Capítulo IV

Experimentación I: (Caracterización por EI)

Metodología

Una vez definido el objetivo, y la hipótesis se procede a realizar la experimentación:

1.- En el Centro Estatal de Transfusiones de Guanajuato se extrae de cada donante una muestra de 3ml de sangre entera, promediando 30 donantes diarios entre 8am a 11am.

2.- La biometría de las muestras se obtiene con un equipo Celldyn 1700 marca Abbot por el personal del Centro Estatal de Transfusiones de Guanajuato.

3.- Si las muestras requeridas son suero o componentes básicos, el procedimiento que se sigue es el indicado en el párrafo obtención de las muestras, escrito más abajo.

4.- Se recogen de 10 a 20 muestras de sangre entera, de suero o de componentes básicos (plasma, leucocitos, eritrocitos) con su biometría a las 11am, recolectándolas en un contenedor a 0°C y transportándolas cuidadosamente al Instituto de Física de la Universidad de Guanajuato en donde se encuentra el equipo de EI.

5.- A partir de las 12pm una a una se sacan las muestras del contenedor para analizar por EI las propiedades eléctricas, utilizando un dispositivo comercial de dos electrodos de platino con un depósito estándar de 2 microlitros de capacidad el cual se llena del fluido por capilaridad.

6.- El equipo de impedancia eléctrica solo tarda medio minuto para barrer las frecuencias de 10 a 10000Hz a voltaje constante de 10mV. El tiempo total de la toma de la muestra, instalación en el EI y la corrida del espectro lleva en promedio 1.5 ± 0.2 minutos.

7.- Cuando se corren todos los espectros se hace el análisis de ajuste de los datos con el programa Zview y se grafica en forma de histograma con los parámetros eléctricos obtenidos y se realiza una correlación con los parámetros de la biometría.

1.- Obtención de las Muestras

Muestras de sangre entera con anticoagulante

Las muestras a analizar serán tomas de 3ml, extraídas y previamente analizadas por el personal especializado del Centro Estatal de Transfusiones del Estado de Guanajuato. El fluido forma parte de la prueba clínica obligatoria para todos los candidatos a donantes.

Las muestras de sangre ya sean para su estudio hematológico o bioquímico deben recogerse en ayunas. El periodo de ayuno debe ser al menos de 8 horas y preferiblemente de 12 horas y además son tratadas con el anticoagulante comercial EDTA (ácido etilendiamin-tetra-acético) solo si la sangre a analizar es entera o con sus componentes básicos separados.

La primera premisa a respetar para realizar un análisis hemocitológico es que la sangre obtenida y transferida a un tubo con anticoagulante no tenga coágulo.

La segunda premisa es conservar siempre la proporción entre sangre y anticoagulante, esto es crítico para realizar un estudio hematológico fiable. En este estudio cada tubo tenía 0.5 ml con anticoagulante para las muestras. Si existe un defecto del anticoagulante va a producir la coagulación de la muestra y esto implica que la muestra no sea apta para realizar el análisis hematológico.

Si hay un exceso de anticoagulante se producirá:

- Falsos valores del hematocrito
- Crenación total de los hematíes: son eritrocitos con proyecciones citoplasmáticas irregulares muy abundantes.
- Degeneración citoplasmática de los neutrófilos, con presencia de cuerpos intracitoplasmáticos, que no se podrán reconocer si son bacterianos o de otra etiología.
- Vacuolización de monocitos
- Hemólisis de los hematíes con resultados falsos de hemoglobina

Los tubos donde es transferida la sangre son de vidrio, siempre han de ser de un solo uso y nunca reciclados, ya que por muy bien que se laven siempre quedará restos de jabones, lejías etc.. Las alteraciones observadas en estos casos dependerán de los productos utilizados, pero lo más normal es que exista una hemólisis generalizada de los hematíes y degeneración de las formas sanguíneas.

Muestras de los componentes básicos de una biometría hemática

Hay tres componentes básicos en la sangre entera que representan una parte fundamental en este trabajo, se trata de los eritrocitos, los leucocitos y el plasma. Estos componentes se obtienen con el siguiente procedimiento:

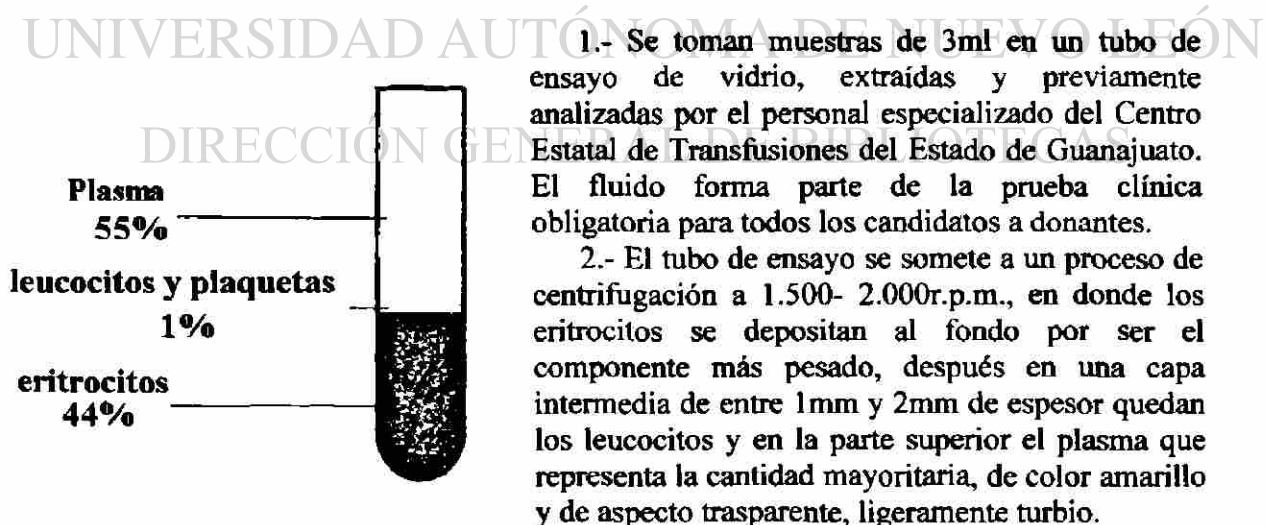


Figura 4.1 Elementos de la sangre en %.

Muestras de Plasma

El tubo que contiene sangre más anticoagulante se debe centrifugar a 1.500-2.000r.p.m. durante 10-15 minutos. El plasma que es la capa más externa se puede extraer, empleando un pipeta Pasteur o un cuentagotas y se transfiere a un tubo de almacenamiento estéril y conservarlo a 4° C. entre 4 y 7 días según pruebas, o mantenerlo en congelación a menos 20° C.

Muestras de Suero

Se deja que la sangre transferida a un tubo sin anticoagulante, se coagule completamente en el tubo, permitiendo que el coágulo se retraiga durante el mayor tiempo posible. Cuanto más tiempo se deje el tubo a temperatura ambiente, alrededor de dos horas, mayor cantidad de suero se obtendrá y más pruebas diagnósticas se podrán realizar.

A temperatura ambiente entre 20-25° C la sangre transferida al tubo se debe dejar un mínimo de media hora; y preferiblemente de 1-2 horas, la coagulación y la retracción se pueden producir mucho más rápidamente si se incuba el tubo a 37° C. durante 30 minutos y después se pone en refrigeración durante 30-60 minutos. Una vez obtenida la retracción del coágulo se centrifuga igual que si de plasma se tratase.

Los tubos deben ser siempre de un solo uso y a poder ser estériles, ya que la presencia de bacterias en el medio, pueden hacer que estas consuman parte de los sustratos y dar resultados totalmente falsos.

Lo que nunca se debe hacer es centrifugar la sangre antes de que se complete la coagulación, en estas situaciones se formarán cadenas de fibrina que retendrán en su arquitectura, enzimas (ALT, AST, lipasa...), sustratos (calcio, fósforo, colesterol...), iones (sodio, potasio, cloro...), proteínas (anticuerpos, globulinas...) y los resultados obtenidos de estos sueros siempre serán menores y por consiguiente inexactos a los obtenidos de sueros normalmente procesados. También es importante resaltar que no se deben poner los tubos con sangre sin anticoagulantes inmediatamente a la temperatura de 4° C ya que tampoco se obtendrá la retracción del coágulo.

Si la extracción de sangre se realiza a última hora de la tarde, es preferible dejarla en reposo a 20-25° C. durante toda la noche y a la mañana siguiente ponerla en refrigeración a 4° C durante 30 minutos y separar el suero.

Si la muestra ha de ser enviada al Laboratorio ésta debería estar separada del coágulo ya que los golpes sufridos por las células en el coágulo, durante el viaje, puede originar su rotura y que se produzca hemólisis, que afectará negativamente a la mayoría de las pruebas.

Para la correcta realización y envío de muestras para realizar pruebas bioquímicas, hormonales y electroforesis se debe emplear suero o plasma separado en tubos de poliestireno estériles y refrigerados a 4°C.

En la tabla del apéndice C se expone la interferencia de los diferentes anticoagulantes utilizados, influencia de factores externos en la confiabilidad y estabilidad de las pruebas.

2.- Especificaciones de los instrumentos utilizados

Biometría

La sangre analizada se hace acuerdo a la norma oficial vigente para los centros de transfusiones **NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-003-SSA2-1993** (apéndice D) e incluye un conteo de hematocrito por medio de citometría de flujo, se utiliza un equipo Celdyn 1700 marca Abbot, el cual proporciona, entre otros parámetros, el número de células sanguíneas por tipo (glóbulos rojos, blancos o plaquetas) y el histograma de volumen corpuscular. La medición de volumen y recuentos de partículas se lo debemos a Wallace H. Coulter quien el año 1956 inventó el primer contador automático de células sanguíneas. (ver apéndice B). También se realizan las pruebas obligatorias de sífilis, brucelosis, VIH, hepatitis (B y C) y Chagas.

Muestreo para EI

Las muestras colectadas en el centro de transfusiones se someterán al espectrómetro de impedancia (Solartron 1260) en un rango de frecuencia de **1Hz a 10000Hz**, colocadas en un contenedor comercial elite de Bayer de 2 microlitros de volumen (figura 4.2). La solución líquida, se confina entre dos electrodos conectados a una fuente de voltaje alterno senoidal. En estas condiciones, pasa a través del circuito una corriente senoidal desfasada con respecto al voltaje debido a la contribución del fluido a la componente reactiva (reactancia capacitiva), y es precisamente este desfase el que permite, junto con los valores máximos instantáneos de la corriente y del voltaje obtener los valores de impedancia medidos.

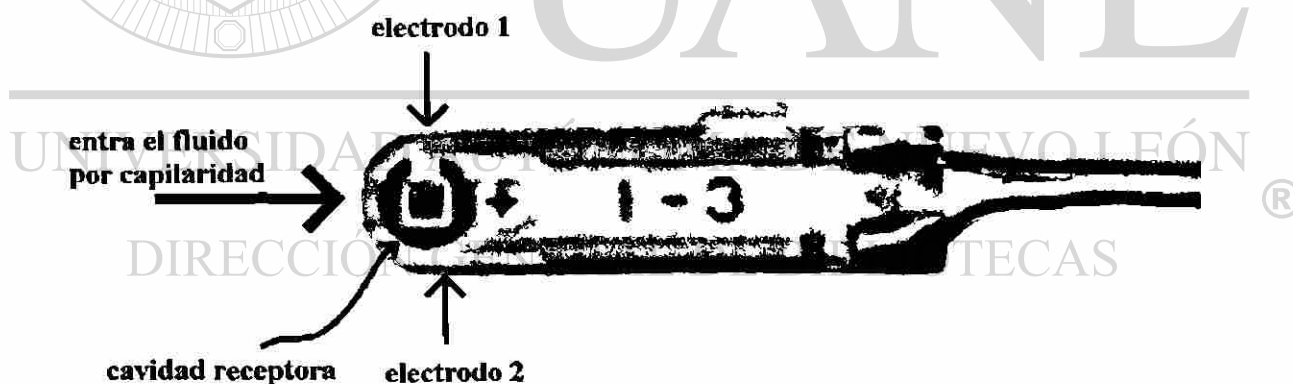


Figura 4.2 Contenedor comercial elite de Bayer con depósito de 2 microlitros de volumen.

Después se harán barridos como función del voltaje aplicado, de 1mV a 200mV, a fin de estudiar efectos de histéresis y regímenes no lineales, y se ajustaran los modelos adecuados para circuitos RC ó de elementos distribuidos del tipo Cole-Cole.

Espectroscopía de impedancia eléctrica

El espectroscopio que se ha empleado es un Frequency Response Analyzers (FRA) o Solartron 1260 Impedance/Gain-Phase Analyzer (figura 4.3) el cual es de los equipos más modernos en su categoría. El software es el Zplot para Windows o Electrochemical Impedance Software versión 2.1; aunque existe una nueva versión 2.6, esta sigue siendo igualmente útil para la lectura y modelación de sistemas; se cuenta además con Zview, el cual se encarga en la presentación tanto gráfica como numérica.

Especificaciones

Sensibilidad

Resistencia 10mOhms a 100MOhms

Capacitancia 1pF a 10mF

Inductancia 100nH a 1KH

Rango de temperatura de operación

De 0 a 50°C (lo cual garantiza un trabajo óptimo para este tipo de investigación).

Rango de frecuencias

De 1Hz a 32MHz.

Generación de corriente y voltaje

Sobre esta generación, Para la corriente

60mA para frecuencias < 10MHz

20mA para frecuencias > 10MHz

Para el voltaje

De 0V a 3V para frecuencias < 10MHz

De 0V a 1V para frecuencias > 10MHz

La señal alterna de salida tiene un voltaje de BIAS, que es un voltaje de DC constante y tiene un rango de +40.95V; (es empleado para mantener el offset).



Figura 4.3 Espectroscopio Solartron 1260.

El GEN OUTPUT (figura 4.4) conduce una corriente a través de la muestra, introduciéndose en CURRENT. Debido a que existe una oposición al flujo de ésta, se genera un voltaje y éste es aplicado en las terminales HI y LO de la entrada de VOLTAGE 1. Esta razón entre los valores de corriente y voltaje llevan al valor de la impedancia Z.

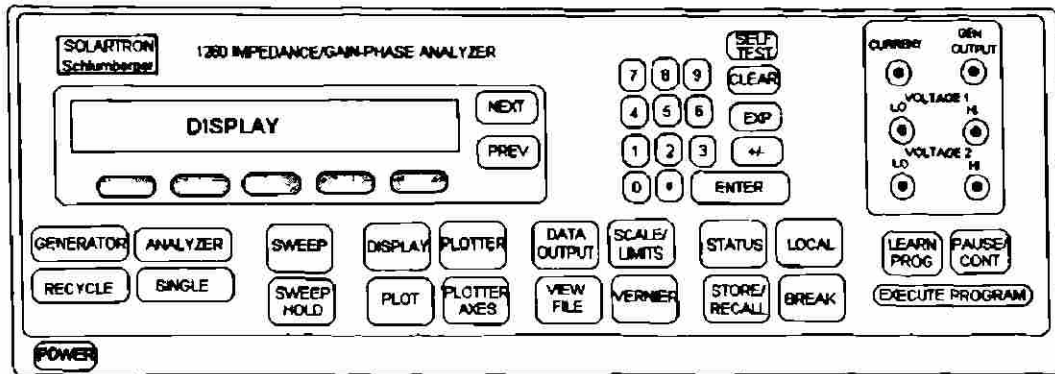


Figura 4.4 Controles del Espectroscopio de Impedancia.

El software utilizado para graficar el espectro de impedancia eléctrica es el Zplot y cuenta con una utilidad que permite el control sobre la frecuencia, la amplitud AC, el potencial DC y el tiempo. El otro software es el ZView que permite el análisis de los datos en forma gráfica que son presentados tres planos: uno complejo (figura 4.5a), módulo de la impedancia contra frecuencia (figura 4.5b) y ángulo de fase contra frecuencia (figura 4.5c).

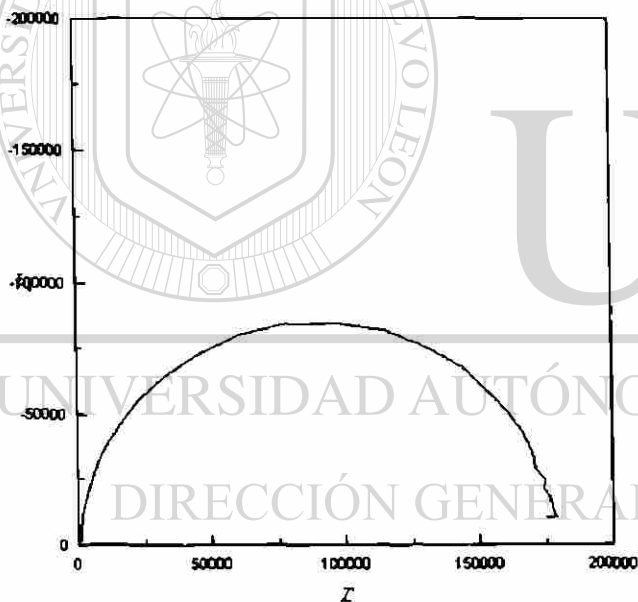


Figura 4.5a Gráfica Z' vs. Z''

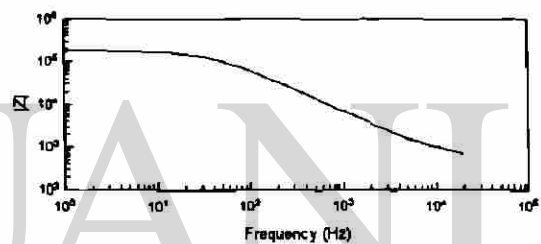


Figura 4.5b Módulo de la impedancia vs. Frecuencia

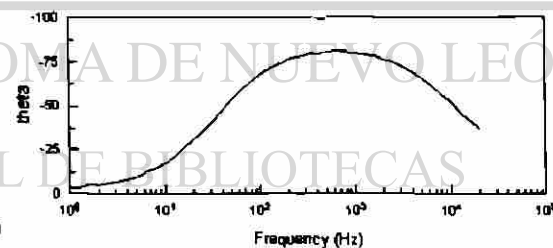


Figura 4.5c Ángulo de fase vs. Frecuencia.

Con ZPlot y ZView se puede:

- Ajustar y controlar los valores en rango de trabajo
- En los experimentos se pueden emplear uno de los ocho formatos, incluyendo frecuencia, bias y amplitud del voltaje y/o corriente
- Gráfica datos con opción a una variedad de formatos en los ejes
- Simula y modela conjuntos de datos en circuitos equivalentes
- Analiza datos de impedancia

El software ofrece también la ventaja de simular un circuito físico equivalente a partir de datos obtenidos de la muestra. Los tres métodos para modelar son:

- 1.-Simulación de datos: se debe de proveer un modelo con los valores adecuados y entonces ZView calcula el espectro de impedancia
- 2.-Fijar datos: a partir del espectro obtenido, se propone un modelo con sus valores; éstos son ajustados para la mejor aproximación
- 3.-Fijar instante: una pequeña porción de los datos es fijada a un modelo simple, el resultado es entonces usado como valores iniciales para el modelo del circuito completo

La modelación de circuito equivalente solo es útil cuando ZView no puede seleccionar un modelo apropiado, sin embargo determina los valores que mejor ajustan a la base de datos. La modelación de circuito equivalente está basado en un método de aproximaciones sucesivas y es por esa razón que deben darse valores iniciales, el programa altera los valores en la dirección la cual mejor produce una mejor fijación, repitiendo este proceso hasta encontrar la más próxima. La simulación por circuitos equivalentes está basada en un programa LEVM 6.0 escrito por Dr. Ross Macdonald.

Incertidumbres

De la técnica utilizada

Las técnicas de la medida y la instrumentación asociada usada en este estudio dan reproducibilidad al azar de el cerca de 1% a través de la gama de frecuencia. Esta declaración se basa en las medidas múltiples realizadas en muestras estándar de la composición uniforme. Se han eliminado todas las fuentes sabidas de posibles errores sistemáticos tomando en cuenta que:

Los electrodos son no polarizables

Los electrodos no reaccionan químicamente con la muestra al aplicar el voltaje

La señal de los electrodos no es contaminada con ruido eléctrico (interferencias derivadas de la red eléctrica alterna u otras corrientes parásitas) externo

No hay efecto micrófono (variación de capacitancia que lleve a la aparición de oscilaciones aleatorias).

No hay corrientes de inducción ni efectos calentamiento en la muestra por la frecuencia en el campo eléctrico.

La sangre presenta isotropía eléctrica.

De las muestras analizadas

En general los tejidos biológicos tienen características de variabilidad dieléctrica, tales variaciones son naturales y pueden ser debido a los procesos fisiológicos o a otros requisitos funcionales de cada individuo. Por esta razón es posible que haya una dispersión moderada de los datos.

0146699

Dispositivo experimental

Se instaló el arreglo como se muestra en la figura 4.6a y 4.6b, por un lado las muestras de 3ml en tubo de ensayo (con sangre entera, o de sus componentes) dentro de un recipiente a menos de 4°C, luego se acercaban los dispositivos colectores elite que toman solo 2 microlitros del fluido por capilaridad.

Los dos electrodos de platino del colector son conectados al medidor de impedancias y se corre el espectro mediante el programa Zplot que tiene conexión de puerto paralelo.

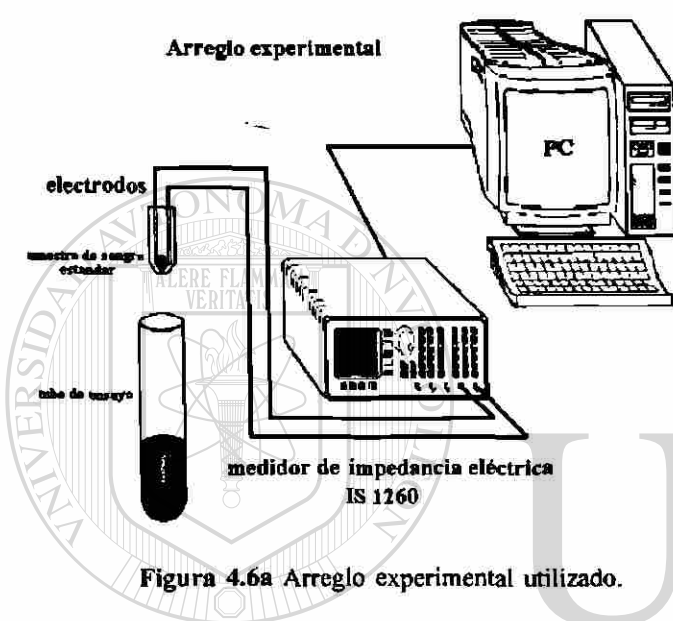


Figura 4.6a Arreglo experimental utilizado.

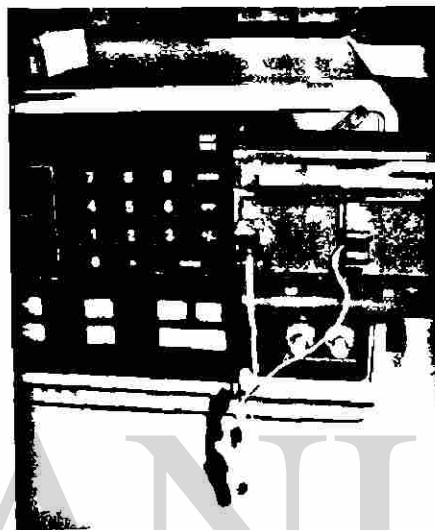


Figura 4.6b Contenedor Bayer instalado en el medidor de impedancias.

Medición por espectroscopia de impedancia eléctrica

Los espectros de impedancia característicos de la sangre humana en forma entera y por componentes básicos (plasma, eritrocito, y leucocitos) se realizaron bajo las mismas especificaciones:

Barrido de frecuencias

de 10 a 10000Hz

Voltaje constante

de 10mV

Como ya se vio en el capítulo III, los rangos elegidos corresponden a la respuesta del tejido en la región de la dispersión alfa, ya que se requiere del efecto global del tejido como material dieléctrico para su caracterización. Hay que remarcar que se realizó un estudio preliminar para encontrar el rango adecuado de los parámetros eléctricos del espectroscopio a fin de obtener los mejores resultados para este tipo de muestras, siendo la respuesta óptima a estas frecuencias y con la magnitud de voltaje elegido.

Cuidados en el manejo de la sangre

La sangre representa uno de los tejidos mas riesgosos en su manejo, conservación y tratamiento. Aunque el análisis infeccioso de las muestras fue realizado por el centro de transfusiones las condiciones de trabajo con este material deben incluir guantes de látex, tapaboca, lentes protectores y una bata. Una vez analizadas todas las muestras por EI se regresan los tubos de ensayo al centro de transfusiones para su desecho en la forma correcta.

Espectros de EI de sangre entera

A continuación se presenta una gráfica típica de Z' vs. Z'' que corresponde a una muestra de sangre entera (figura 4.7a), la gráfica empieza a realizarse de derecha a izquierda. Los valores que están más cerca del origen corresponden a las frecuencias mas altas, donde la impedancia total es baja y los valores más alejados del origen corresponden a frecuencias bajas, donde la impedancia es alta como lo predice la teoría de dispersión dieléctrica. Lo anterior puede verse claramente cuando se gráfica el módulo de Z_{tot} vs. Frecuencia (figura 4.7b), la curva empieza en meseta (como se expuso en el capítulo III para la dispersión α) y luego decae en forma exponencial cuando la frecuencia aumenta.

El ángulo de fase que hay entre el voltaje alterno y la corriente alterna también se grafica para visualizar las variaciones en la potencia total del circuito (figura 4.7c).

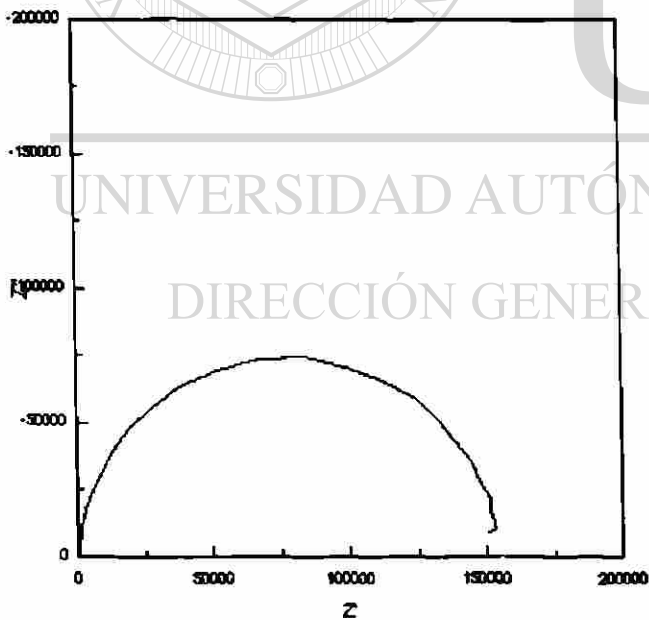


Figura 4.7a Los valores que están más cerca del origen corresponden a las frecuencias más altas.

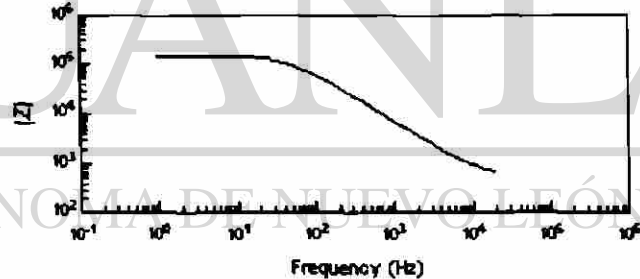


Figura 4.7b El módulo total de impedancia tiene un decaimiento exponencial.

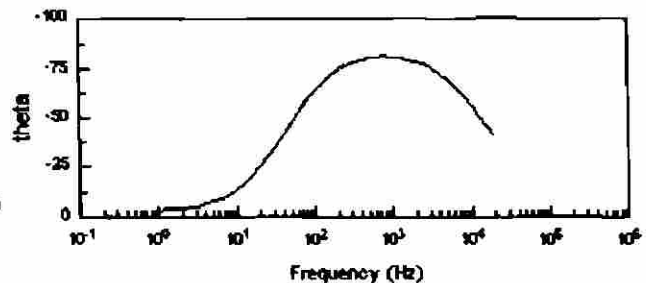


Figura 4.7c Se aprecia como se desfasa el voltaje de la corriente con la frecuencia.

Justificación del modelo teórico para la determinación de los parámetros eléctricos de las muestras

El modelo teórico que se utilizó para calcular los parámetros eléctricos de todas las muestras es un modelo Cole-Cole, que consta de un elemento capacitivo llamado elemento distribuido o elemento de constante de fase (CPE) (ver capítulo I) en paralelo con una resistencia y este arreglo en serie con otra resistencia como se ve en la figura 4.8 y definido por la siguiente fórmula.

$$Z_{\text{Total}} = R_s + \frac{R_p}{1 + R_p C_p (j\omega)^p}$$

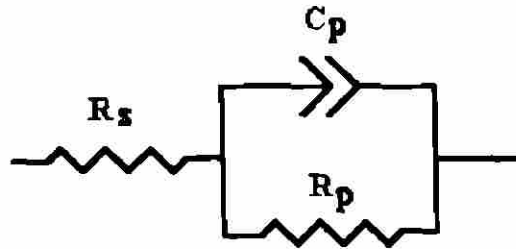
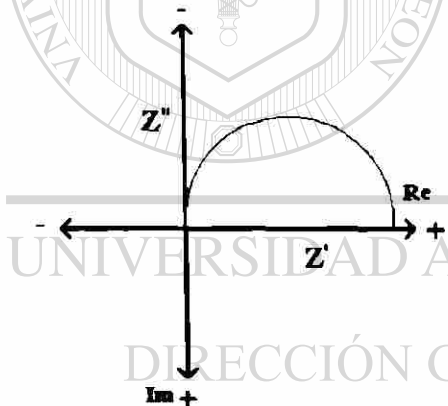


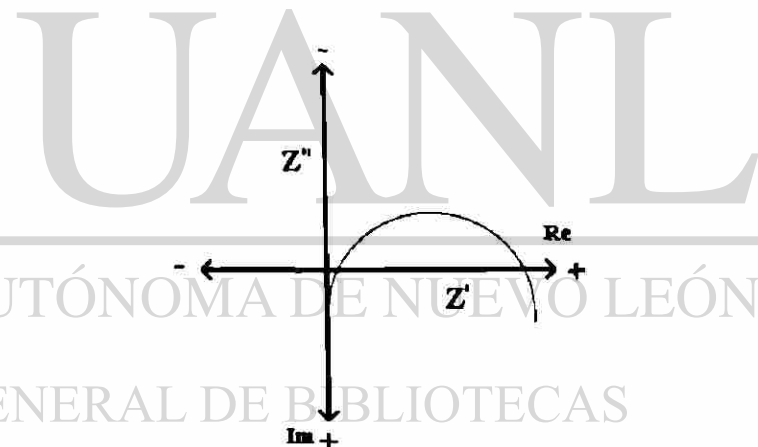
Figura 4.8 Modelo de Cole-Cole.

Es el caso más general del análisis de EI, la ecuación puede representar cualquier tipo de arco para las gráficas de Z' vs. Z'' . Note que si $p = 1$ se tendrá un semicírculo con el centro en el eje real (figura 4.9a), si $p < 1$ el centro queda en el cuadrante positivo y la gráfica visible será un arco achatado de la parte superior (figura 4.9b).



$p = 1$

Figura 4.9a si $p = 1$ se tendrá un semicírculo



$p < 1$

Figura 4.9b si $p < 1$ la gráfica visible será un arco achatado en la parte superior.

Este modelo ha sido utilizado en numerosas ocasiones para estudios en células y fluidos biológicos, aunque no es el único para el estudio en biomateriales se considera uno de los modelos Cole-Cole más representativos en el estudio de las propiedades eléctricas de tejidos biológicos, y la sangre forma parte de estos materiales. En muchos artículos se menciona este método para estudio impedancia en hematocrito de animales y a otros estudios de sangre⁽¹⁾.

Análisis de las gráficas Z' vs. Z''

Este tipo de gráficas son realizadas por el software Zplot para espectrómetros de impedancia eléctrica a partir de la respuesta del sistema material-electrodo y analizadas por el software Zview. Las gráficas se muestran por comodidad en el primer cuadrante.

A continuación se dan los parámetros eléctricos de una muestra de sangre entera de la población, analizada con el programa Zview tomando el modelo de circuito eléctrico.

$$R_s = 472 \pm 2.7173\Omega$$

$$CPE - T = 2.8492E - 8 \pm 2.0603E - 10f$$

$$CEP - P = 0.96877 \pm 0.00082813$$

$$R_p = 155380 \pm 555\Omega$$

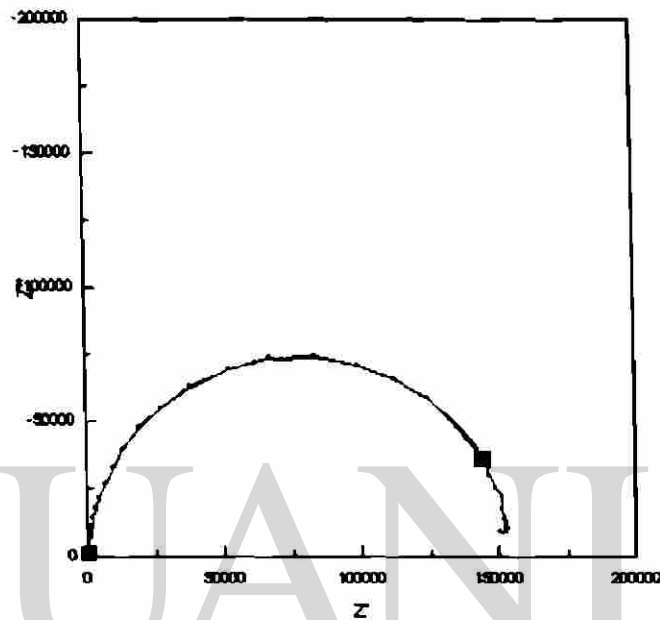
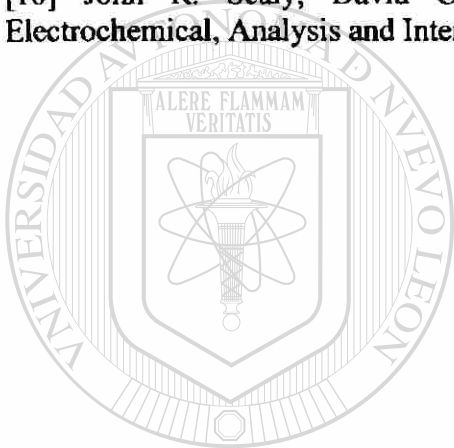


Figura 4.10 A bajas frecuencias se observan perturbaciones en la medición de impedancia.

Observe que el ajuste (marcado con los puntos verdes en la figura 4.10) no siempre toma los valores de bajas frecuencias debido a perturbaciones del sistema al pasar por este estado, esta consideración se hace para todas las muestras en el mismo rango de ajuste.

Bibliografía

- [1] Polk, Postow, Handbook of Biological Effects of Electromagnetic Fields, Ed. CRC Press, N.Y., 1998
- [2] Ferrero-Saiz-Arnau, Bioelectrónica: Señales bioeléctricas, Ed. Universidad Politécnica de Valencia
- [3] Allen-Cleary-Hawkridge, Charge and Field Effects in Biosystems-2, Ed. Plenum press
- [4] Remizov, Física Médica y Biología, Ed. MIR, Moscú, 1980
- [5] Van Holde, Bioquímica-Física, Ed. Alambra, 1996
- [6] Bergethon, Simons, Biophysical Chemistry: Molecules to Membranas, Ed. Springer-Verlag
- [7] Olguin, Quiñones, Flores, Fundamentos de electroquímica, Ed. IPN, 2000
- [8] Núñez, Peláez, Electroquímica electroquímica: Estudio de los electrodos en equilibrio, Ed. IPN, 2000
- [9] . Ross MacDonald, Impedance spectroscopy, J. Ed. John Wiley & Sons.
- [10] John R. Scaly, David C. Silverman, and Martin W. Kending, Impedance Electrochemical, Analysis and Interpretation, Ed STP 1188 ASTM.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Capítulo V

Obtención de la difusividad térmica de plasma y suero sanguíneo utilizando una lente térmica

Introducción

Las técnicas fototérmicas comprenden un grupo de métodos de caracterización de alta sensibilidad utilizados para la determinación de propiedades ópticas y térmicas de los materiales. El principio físico básico de esta técnica consiste en que la luz incidente en una muestra induzca un cambio térmico de la misma. Una parte de la energía absorbida es convertida en calor y provoca un calentamiento de la muestra. Este calentamiento induce un cambio de temperatura de acuerdo con los parámetros termodinámicos de la muestra. La base de los métodos que componen las técnicas fototérmicas es una medida en la variación de temperatura, presión, o de la densidad que puede ocurrir debido a la absorción óptica.

En 1988 Crouch, clasificó las técnicas fototérmicas como un grupo de métodos indirectos para analizar la absorción óptica. Los métodos indirectos no miden la luz transmitida usada para excitar la muestra, sin embargo determinan la eficiencia de la absorción óptica de la misma. Una vez que el calentamiento resultante en la muestra es una consecuencia directa de la absorción óptica, se forma una sombra en una pantalla de forma circular y su tamaño y forma dependen de la absorción de luz.

La naturaleza indirecta de la espectroscopía fototérmica resulta en mediciones más sensibles que las mediciones por métodos de transmisión convencionales. Dos de las características que hacen más sensible la espectroscopía fototérmica son la amplificación de la señal y la precisión con que pueden medirse los parámetros térmicos y ópticos.

El efecto fototérmico del poder de amplificación de la señal óptica medida se conoce como factor de incremento (Dovichy y Harris 1979, Mori 1982), es una señal obtenida usando espectroscopía fototérmica y comparada con la espectroscopía de transmisión convencional⁽¹⁾. El otro factor de incremento depende de la temperatura y de las propiedades ópticas de la muestra, de la potencia y energía de la fuente de luz usada para la excitación, y de la geometría óptica usada para excitar la muestra. Tanto el valor de la potencia como la energía óptica de excitación son variables que dependen de la geometría óptica y pueden ser por lo tanto controladas por el experimentador. Una segunda razón por la cual para las técnicas fototérmicas son más sensibles que las mediciones de transmisión es la precisión con que pueden ser realizadas.

La magnitud de la señal obtenida por técnicas fototérmicas depende del método usado o del tipo de muestra analizada. Es difícil especificar un límite absoluto de detección por fototérmica pero son dos o tres ordenes de magnitud más sensibles que por espectroscopía de transmisión convencional.

Principios básicos de espectroscopia fototérmica

Los procesos básicos responsables de la señal fototérmica están mostrados en el siguiente esquema:

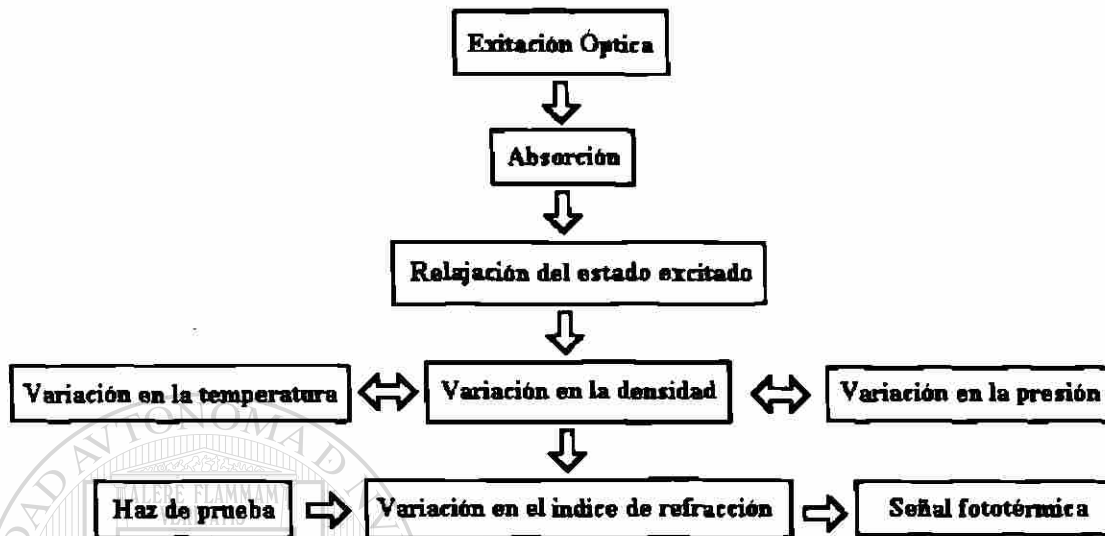


Figura 5.1 El esquema ilustra como se realiza el análisis mediante métodos fototérmicos.

La radiación óptica utilizada para excitar una muestra generalmente es un láser de baja potencia. La muestra absorbe parte de la radiación, resultando en un incremento de energía interna. Como consecuencia ocurre un cambio de la temperatura en la muestra. Este cambio de temperatura ocurre en un intervalo de tiempo menor que el mínimo exigido para que la muestra se expanda o en algunos casos contraiga, un cambio en la temperatura resultará en una variación en la presión local donde actúen el láser de excitación. Esta perturbación será disipada en forma de ondas acústicas.

Inicialmente la luz incidente, de la cual una fracción es absorbida, puede generar básicamente cuatro efectos con la energía transferida:

- 1.- Relajación radiativa: esto es que parte de la radiación absorbida es reemitida
- 2.- Relajación térmica: una fracción absorbida es transformada en energía de vibración
- 3.- Estado metastable
- 4.- Reacción química: una fracción absorbida es utilizada para realizar reacciones químicas

A consecuencia de estos efectos la muestra sufre un calentamiento y posiblemente una reacción química. Los efectos térmicos que pueden ocurrir son:

- 1.- Variación en la temperatura de la muestra
- 2.- Variación de la densidad
- 3.- Variación en la presión
- 4.- Variación química

La medida de estas últimas cuatro variaciones es lo que refleja las propiedades ópticas y térmicas de la muestra estudiada y representa el pilar de los métodos fototérmicos.

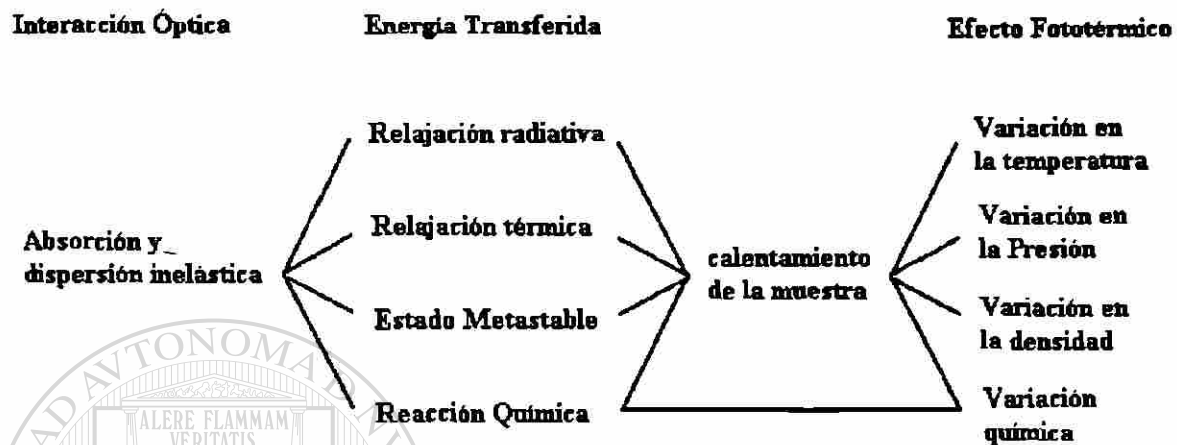


Figura 5.2 Procesos por los que pasa la muestra en un análisis fototérmico.

Métodos experimentales de la espectroscopía fototérmica

Los métodos fototérmicos pueden ser divididos en tres grupos principales de acuerdo a lo que mide cada uno:

Medida de temperatura

Calorimetría: mide la variación de temperatura de la muestra

Emisión infrarroja: mide la emisión en la longitud de onda infrarroja

Radiometría Fototérmica: mide la emisión en la longitud de onda infrarroja

Medición de presión

Espectroscopia fotoacústica: mide las ondas acústicas

Medición de la densidad

Lente térmica: mide la variación del índice de refracción

Interferometría fototérmica: mide la variación del índice de refracción

Deflexión fototérmica: mide la variación del índice de refracción

Refracción fototérmica: mide la variación del índice de refracción

Difracción fototérmica: mide la variación del índice de refracción

Deflexión superficial: mide la deformación superficial

Lo que utilizaremos en este trabajo es la medición de la variación del índice de refracción usando un arreglo de lente térmica.

Efecto de Lente Térmica

Introducción histórica

Descubrimiento del efecto experimental. JAP, 1964

El efecto de lente térmica fue descubierto en 1964 en los laboratorios de la Bell Telephone. Entre los descubridores estaban los brasileños R. C. C. Leite y S. P. S. Porto. Este hecho ocurrió de manera accidental cuando al introducir un colorante dentro de la cavidad de un láser He-Ne, ellos observaron que la intensidad en el centro del láser, en el detector, tenía una variación en una escala de milisegundos. La siguiente figura es una representación del experimento realizado.



Figura 5.3 Representación del experimento realizado por Leite y Porto en 1964, para demostrar el efecto de lente térmica en los laboratorios Bell.

F son fotodiodos, A es una abertura, Mp es un espejo de reflexión parcial, M son espejos, I son iris, S es un obturador, L es un tubo láser, AM es la muestra y MP es un medidor de potencia.

Montaje de experimentos extracavidad. 1970

El efecto extracavidad fue observado en la década de los 70 por Whinnery y Hu. Demostraron que el efecto de lente térmica inducido con una muestra fuera de la cavidad del láser era más simple desde el punto de vista teórico, ofreciendo grandes ventajas con relación a la intracavidad, por ser más fácil de realizar. La configuración utilizada se muestra en la figura 5.4:

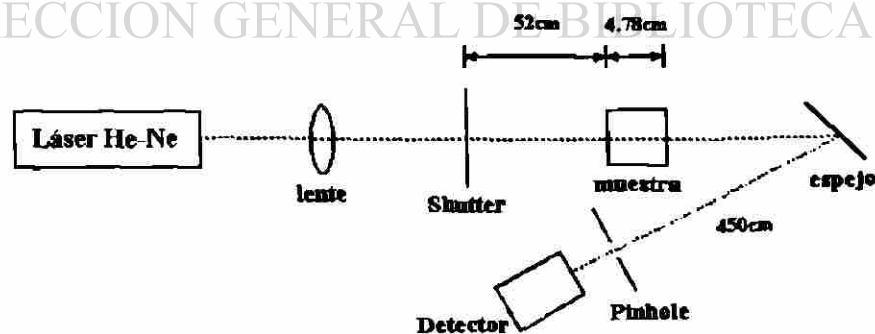


Figura 5.4 Representación del experimento realizado por Whinnery y Hu en 1970, para demostrar el efecto extracavidad de una lente térmica.

Modelo aberrante para un sistema de dos lasers desacoplados. JAP, 1994

Las configuraciones experimentales fueron cambiando desde la primera versión experimental que utilizaba un láser, ahora se utilizan dos lasers, siendo más sensible a la utilizada en un principio, y se caracteriza por utilizar un láser de prueba con diámetro mayor que el láser de excitación conocido como modelo aberrante, trata la lente térmica como consecuencia de un cambio en la longitud del camino óptico del láser de prueba; en este experimento se muestra que la intensidad del láser de prueba en el detector es una función del tiempo.

Formación de la lente térmica

Un haz de luz sale del láser de excitación, llamado haz de excitación con un perfil de distribución de intensidad de tipo gaussiana.

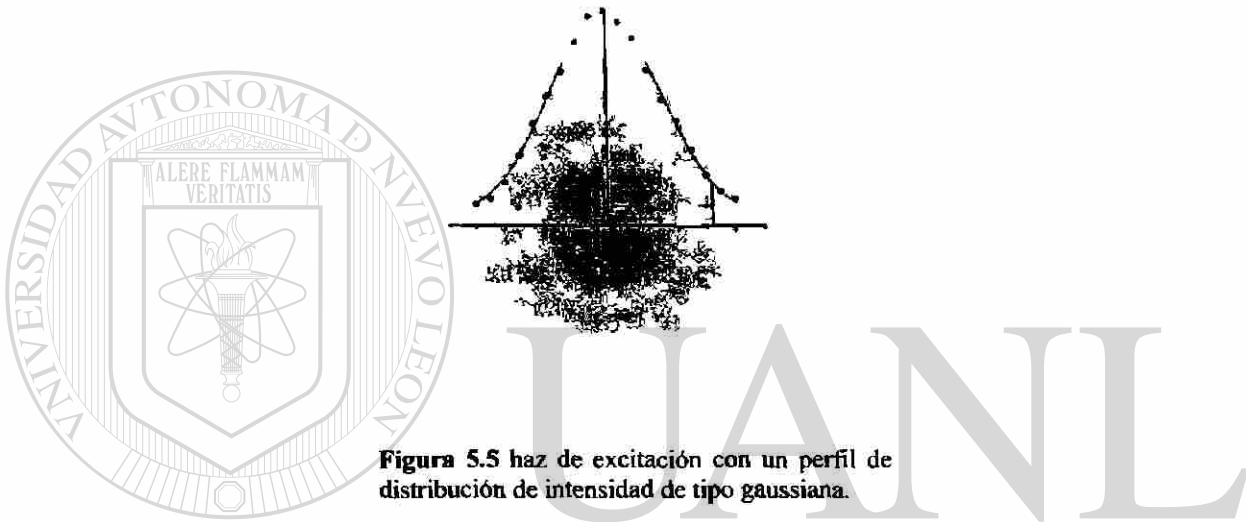


Figura 5.5 haz de excitación con un perfil de distribución de intensidad de tipo gaussiana.

Cuando parte de su radiación se absorbe por la muestra se convierte en calor y se induce un cambio radial de temperatura en la muestra, lo que a su vez provocará una variación en el índice de refracción de la muestra iluminada y tomará una forma espacial de una lente.

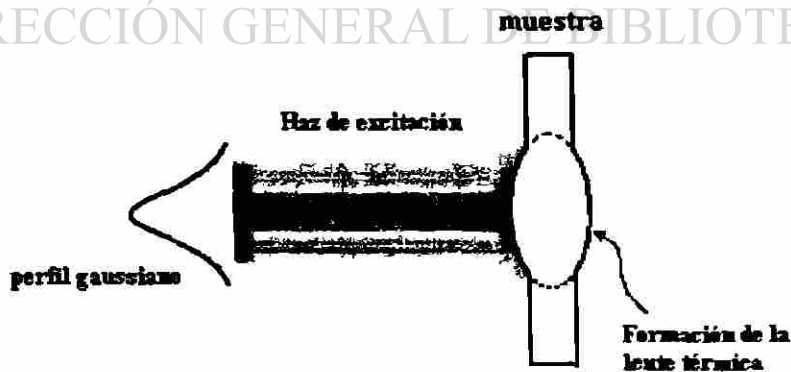


Figura 5.6 Formación espacial de la lente térmica en la muestra al incidir el haz del laser de excitación.

Un principio físico de la lente térmica es que la luz incidente sufre una desviación en la región de mayor índice de refracción. Así cuando incidimos otro haz láser, llamado haz de prueba, éste sufrirá una convergencia o divergencia, dependiendo de la naturaleza de la muestra utilizada y del cambio en el índice de refracción.

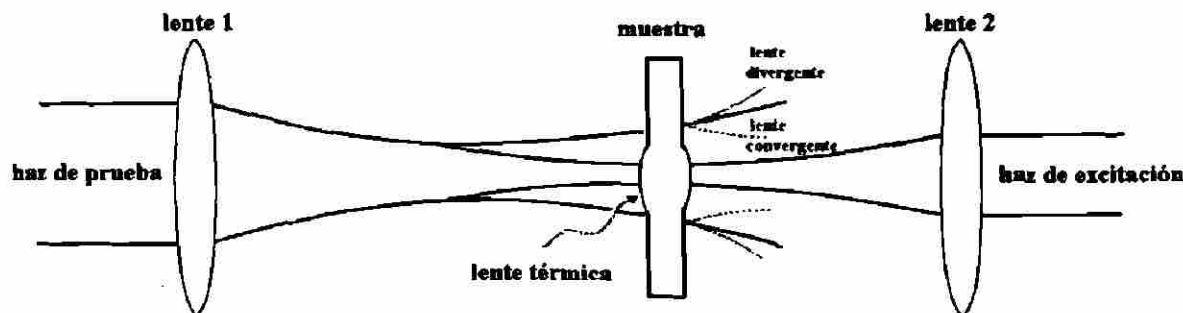


Figura 5.7 El haz de prueba puede sufrir una convergencia o divergencia, dependiendo del cambio en el índice de refracción respecto a la temperatura.

Este efecto puede ser observado en sólidos, líquidos y en gases, sólo cuando estos materiales sean transparentes. Cuando la variación del índice de refracción (dn/dT) es negativa tendremos una lente divergente, y cuando es positiva la variación será una lente convergente.

Principales aplicaciones de la espectroscopía de lente térmica

Debido a su alta sensibilidad, la espectroscopía de lente térmica ha sido usada en el área de la química analítica para la determinación de trazas en especies químicas orgánicas e inorgánicas, en estudio de virios ópticos, etc. A través de estas técnicas es posible detectar absorbancias del orden de 10^{-7} cm^{-1} . Por ejemplo se pueden detectar concentraciones de 3×10^{-11} moles del complejo Fe(II) en solución de cloroformo, usando un láser de Argón con 600mW de potencia. Pero en general esta técnica puede utilizarse para caracterizar propiedades ópticas y térmicas de:

Sólidos y líquidos transparentes

Medición de propiedades ópticas

Evaluación de concentraciones de mezclas

Tiempos de relajación en procesos fototérmicos ultrarrápidos

A continuación se presentan algunas mediciones de la difusividad térmica en aceites:

aceite	Difusividad térmica ($10^{-4} \text{ cm}^2/\text{s}$)
<i>Mauritia Flexuosa</i> (Buriti)	9.5
<i>Copaifera officinalis</i> (Copaiba)	16.7
<i>Caryocar brasiliense</i> (Piqui)	3.8
<i>Orbignia Martiana</i> (Babacu)	6.7
Oliva	5.4

Tabla 5.1 Difusividad térmica en aceites.

Por otro lado los parámetros térmicos son una parte muy relevante en las propiedades físicas de los tejidos biológicos, en particular la sangre humana juega un papel importante en el proceso de intercambio de calor con su medio; en las venas periféricas, y en los órganos que tienen gradientes de temperatura provocados por agentes externos. Algunos estudios de las propiedades térmicas de sangre se han reportado^{1,2} aunque no la difusividad térmica de suero ni plasma por la técnica de lente térmica. La aplicación de lentes térmicas en el estudio de materiales orgánicos y cristales líquidos es reciente. Esta técnica requiere una muestra que no absorba en el ancho de banda de la longitud de onda del láser de prueba y tampoco en el ancho de banda de la longitud de onda del láser de excitación.

Metodología experimental

La metodología llevada a cabo para este experimento fue la siguiente:

1.- En el Centro Estatal de Transfusiones de Guanajuato se extrae de cada donante una muestra de 3ml de sangre entera, promediando 30 donantes diarios entre 8am a 11am.

2.- La biometría de las muestras se obtiene con un equipo Celldyn 1700 marca Abbot por el personal del Centro Estatal de Transfusiones de Guanajuato.

3.- Las muestras requeridas son plasma y suero, así que su separación de la sangre, debe ser el procedimiento ya descrito en el capítulo IV.

4.- Se recogen de 10 a 15 muestras que pueden ser de suero o plasma, con la biometría correspondiente a las 11am, recolectándolas en un contenedor a 0°C y son transportadas cuidadosamente al CINVESTAV Unidad Querétaro donde se cuenta con el dispositivo experimental de lente térmica.

5.- Se calibra el equipo de lente térmica de 2 a 3pm con los parámetros estándar (ver Tabla 5.2) de acuerdo a los lasers que se tienen y al arreglo óptico experimental.

6.- A partir de las 3pm una a una son sacadas las muestras del contenedor para analizarlas por espectroscopía de lente térmica y son colocadas en un recipiente de cuarzo de 1cm x 14.5cm x 1 cm (fisher scientific 14-385-910).

7.- La misma muestra es analizada por espectroscopía de IR para verificar la absorción óptica y estar en el rango adecuado para aplicar el método de lente térmica.

8.- Se registran nueve mediciones de cada muestra para hacer la estadística de ajuste. El experimento para tomar los datos de un espectro solo tarda un minuto.

9.- Cuando se corren los espectros de lente térmica y de IR después se hace el análisis de ajuste de los datos con el programa Origin 6.0, se grafica en forma de histograma con los parámetros eléctricos obtenidos y se realiza una correlación con los parámetros de la biometría.

El procedimiento 4 se repitió en tres ocasiones para obtener las muestras necesarias para un buen análisis estadístico.

Descripción del experimento de lente térmica

Para realizar los experimentos de espectroscopía de lente térmica utilizamos un arreglo experimental en modo desacoplado:

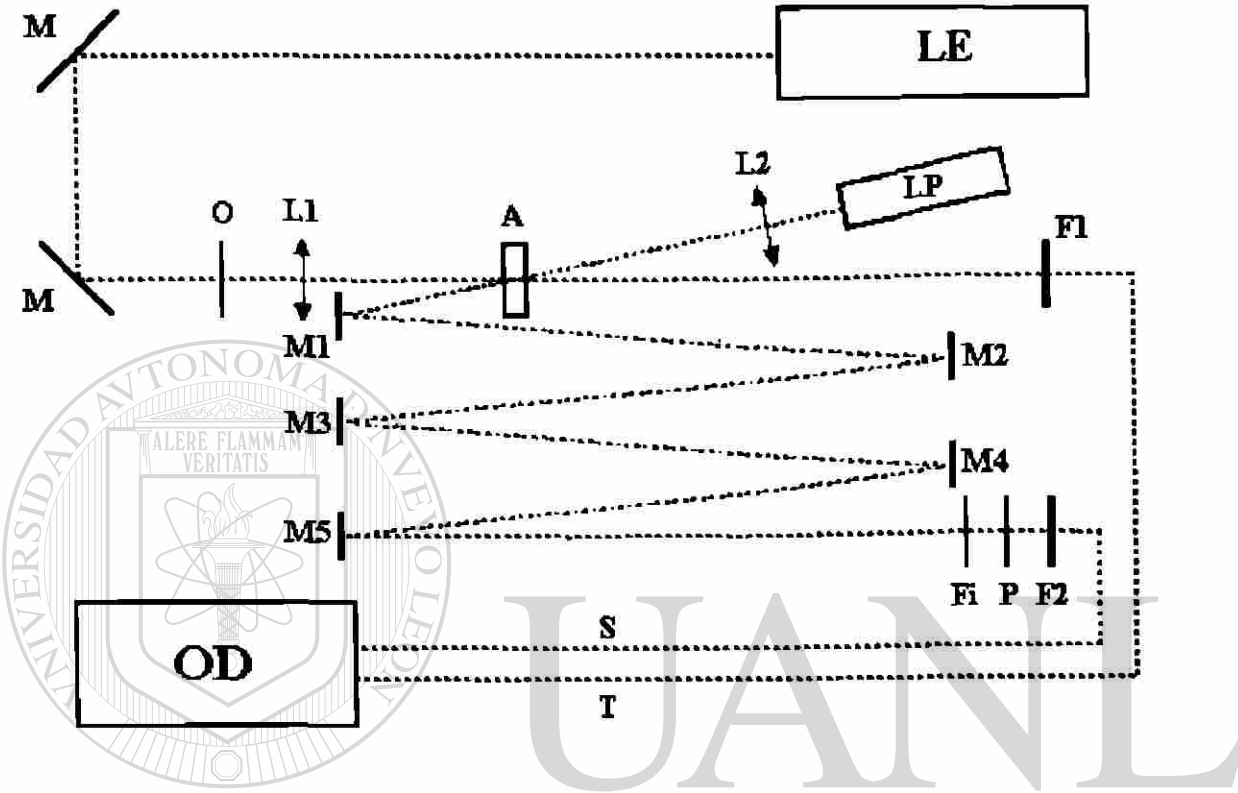


Figura 5.8 Arreglo experimental en modo desacoplado, utilizado para medir la difusividad térmica de las muestras de suero a partir del principio de formación de lente térmica.

Donde L1 y L2 son lentes convergentes, M son espejos planos, O es un obturador, F son fotodiodos, Fi es un filtro, P es un pinhole, LE es el láser de excitación, LP es el láser de prueba, OD es el osciloscopio digital, A es la muestra, S es la señal de la lente térmica, T es la señal del trigger. Esta configuración es la que se utilizó para realizar los experimentos que generaron los resultados de este trabajo.

El sistema fue montado en una mesa óptica libre de vibración, los lentes L1 y L2 son montados sobre transladores XY para permitir un perfecto alineamiento. La incidencia del láser de excitación en la muestra fue controlada por un obturador de luz acoplado al puerto paralelo de una PC para indicar el inicio de la adquisición de datos. El láser de prueba después de pasar por la muestra fue desviado por los espejos M1-M5 para llegar al fotodiodo conectado al sistema de captura de datos. Un diafragma con apertura de 2mm fue colocado sobre el fotodiodo posibilitando analizar solamente el centro del haz del láser de prueba. El ángulo de inclinación del láser de prueba en la muestra fue de aproximadamente un grado con respecto al láser de excitación. Un filtro con pasa banda en 632.8nm fue

posicionado en frente del fotodiodo 2, impidiendo que la luz ambiental o del láser de argón (láser de excitación) contribuyan a la señal.

Para colocar la muestra se recomienda colocarla en la cintura del láser de excitación y aproximadamente a $Z_1 = 10\text{m}$ de la cintura del láser de prueba.

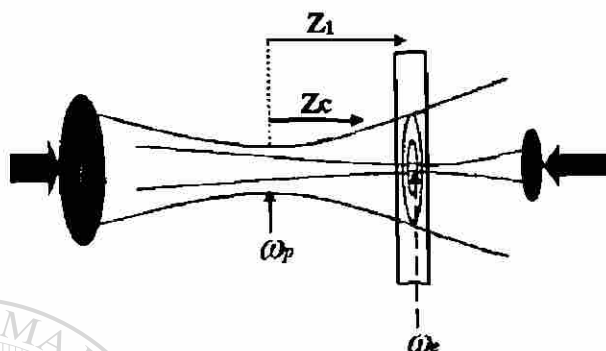


Figura 5.9 Representación esquemática del laser de prueba (rojo), laser de excitación (verde) y el plano donde se localiza la muestra con algunos parámetros importantes del experimento.

A través del espejo M5 realizamos el alineamiento (ajuste del espejo M5 ver gráfica 5.8). de modo que el centro del láser de prueba pase por el diafragma, que se encuentra en la abertura del fotodiodo 2, con esto se maximiza la señal en el detector. Durante este proceso el láser de excitación es interrumpido por el obturador, el siguiente paso es permitir que el láser de excitación pase a través de la muestra. Para que se obtenga un perfecto alineamiento, a través del translador XY, la lente L1 se ajusta de modo que el láser de excitación pase por el centro del láser de prueba. En esta fase pueden ocurrir dos situaciones: que la muestra presente un cambio en el índice de refracción respecto a la variación de la temperatura (ds/dT) negativo, esto hace que el láser de prueba sea divergente al pasar por la lente térmica formada en la muestra y por tanto la señal en el fotodiodo F2 disminuirá; en caso contrario para (ds/dT) positivo la señal del detector aumentará. Por esta razón es muy importante el alineamiento del dispositivo óptico, para minimizar la señal del láser de prueba al pasar por la lente térmica cuando el gradiente es negativo, o bien para maximizar la señal si el gradiente es positivo. Una vez obtenido el alineamiento, el experimento puede llevarse a cabo sin alterar ningún parámetro ajustado, únicamente manipulando el obturador para permitir que el láser de excitación incida en la muestra. Es importante remarcar que este haz de excitación no debe permanecer un tiempo largo (más de 2 seg.) sobre la muestra ya que puede ocurrir un calentamiento severo de la misma. Por esta razón se midió la temperatura de las muestras al inicio y al final del experimento con un termopar de precisión. Además se obtuvo el análisis de IR para descartar cualquier absorción importante en el rango de la longitud de onda de los lasers del experimento.

Muestras de plasma y suero

Las muestras fueron obtenidas mediante el procedimiento descrito en el capítulo anterior.

Por un lado la separación del plasma es relativamente fácil, sin embargo hay que considerar el hecho que implica obtener el suero de una muestra de sangre entera. Además si la muestra ha de ser enviada a otro Laboratorio ésta debería estar separada del coágulo ya que los golpes sufridos por las células en el coágulo, durante el viaje, puede originar su rotura y que se produzca hemólisis, que afectará negativamente a la mayoría de las pruebas. Para la correcta realización y envío de muestras para realizar pruebas bioquímicas, hormonales y electroforesis se debe emplear suero o plasma separado en tubos de poliestireno estériles y refrigerados a 4°C.

En la tabla del apéndice C se expone la interferencia de los diferentes anticoagulantes utilizados, influencia de factores externos en la confiabilidad y estabilidad de las pruebas.

Especificaciones de los instrumentos

Las muestras se colocaron en una cubeta de cuarzo de 1cm x 14.5cm x 1 cm (fisher scientific 14-385-910) entre dos lentes convergentes, Le1 (B1-CX Melles Griot, 01LDX222 distancia, focal de 23.4cm) y Le2 (B1-CX Melles Griot, 01LDX205, distancia focal de 15cm); a una distancia de 23cm y 25cm. Respecto a cada uno de ellos.

El haz de prueba se hizo pasar a través de un filtro neutro (Melles Griot, 03FNA220) colocado antes de Le2. Al salir de la muestra se hizo incidir en una serie de espejos para recorrer una distancia de 3.8m antes de llegar al fotodetector de Silicio-pin, frente al cual se colocó un diafragma con una apertura de 1mm de diámetro.

El haz de excitación se hizo pasar a través de un filtro neutro (Edmund Industrial Optics L30-889) colocado antes de la lente Le1. Al salir de la muestra se hizo incidir en un espejo para dirigirse hacia el disparador y activarlo, permitiendo la captura de los datos en la pantalla del osciloscopio.

Los láseres utilizados son:

- 1.- láser de excitación: Argón de 3mW
- 2.- láser de prueba: He-Ne de 2.4 mW

Utilizamos para los experimentos fotodiodos que poseen respuesta lineal para la variación de intensidad luminosa y corto tiempo de respuesta, en la escala de nanosegundos. El osciloscopio usado fue el HP54615B, de 500Mhz, equipado con memoria de almacenamiento de datos.

Se estuvo monitoreando la temperatura de la muestra para evitar alteraciones en la medición debida a un cambio brusco en las condiciones de temperatura iniciales.

La obtención de la difusividad térmica se hizo capturando la señal durante 2 segundos y ajustándola a un modelo teórico de difusividad térmica⁽²⁾ del cual se deduce la siguiente ecuación en base a parámetros y variables experimentales del arreglo óptico:

$$I(t) = I_0 \left[1 - \frac{\theta}{2} \arctan \left(\frac{2mV}{\left[(1+2m)^2 + V^2 \right] \times \left(\frac{\tau}{2t} \right) + 1 + 2m + V^2} \right) \right]^2$$

$I(t)$ es la intensidad del centro del haz de prueba en función del tiempo e I_0 es la intensidad del mismo al tiempo cero, cuando todavía no se produce el efecto de lente térmica. La intensidad registrada es proporcional al voltaje medido en el fotodetector, por tanto, se puede utilizar directamente la lectura del osciloscopio.

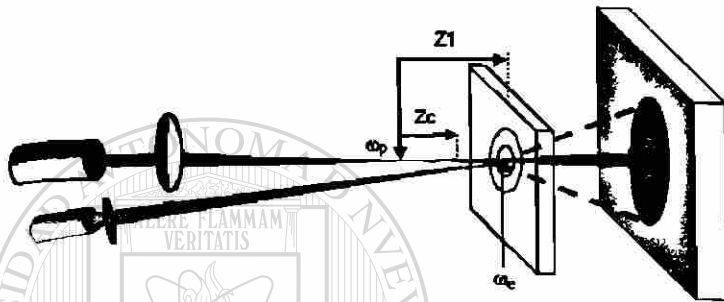


Figura 5.10 El spot del haz de prueba se proyecta en una pantalla con un fotodiodo en el centro para registrar la intensidad del haz.

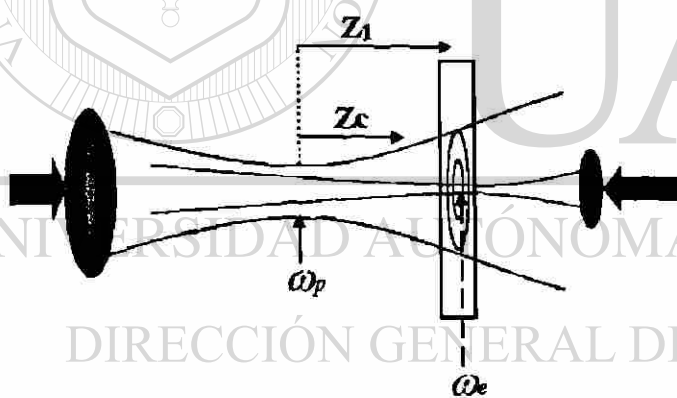


Figura 5.11 El radio del haz de prueba es mayor que el radio del haz de excitación para poder dispersar más en un medio.

El parámetro m depende del montaje experimental y representa la proporción entre el radio del haz de prueba ω_p y el radio del haz de excitación ω_e medidos justamente en el plano donde esta la muestra:

$$m = \left(\frac{\omega_p}{\omega_e} \right)^2$$

El parámetro m es adimensional y para este experimento tiene un valor de $m = 105.45$

El parámetro V también depende del montaje experimental y es una proporción entre la distancia que existe de la cintura del haz de prueba a la muestra (Z_1) y la distancia confocal⁽¹⁾ del haz de prueba (Z_c).

$$V = \frac{Z_1}{Z_c}$$

El valor de V en este experimento es $V = 9.76$

Los parámetros τ y θ se obtienen directamente de la regresión no lineal de Levenberg-Marquardt, corrida mediante el software Origin aplicándose a la ecuación teórica utilizando los datos experimentales de cada corrida del experimento para una muestra en particular. El parámetro τ es la constante de tiempo característica de la lente térmica y el parámetro θ es una diferencia de la fase termalmente inducida⁽²⁾.

Los parámetros reportados fueron obtenidos con el modelo aberrante de lentes térmicas y usando el modelo desacoplado y las gráficas características de las muestras de plasma son como se muestra a continuación.

Parámetros	Valor
Potencia del láser de excitación = P_e	3 mW
Potencia del láser de prueba = P_p	2.4 mW
Radio del haz de excitación = ω_e	43.4 μm
Longitud de onda del haz de excitación = λ_e	632.8nm
Radio del haz de prueba = ω_p	445.67 μm
Longitud de onda del haz de prueba = λ_p	488nm
Proporción entre el radio del haz de prueba y el de excitación = m	105.45
Proporción entre la distancia Z_1 y la distancia $Z_c = V$	9.76
distancia confocal del haz de prueba = Z_c	1.024 cm

Tabla 5.2 Parámetros utilizados en el experimento de lente térmica.

Finalmente la difusividad térmica se obtiene de la siguiente expresión:

$$\alpha = \frac{\omega_e^2}{4\tau}$$

Incertidumbres

De la técnica utilizada

Esta técnica fototérmica es de alta sensibilidad y se pueden detectar absorbancias del orden de 10^{-7} cm^{-1} , por lo que el error asociado al dispositivo es despreciable para los efectos prácticos de la experimentación. Entonces la incertidumbre sistemática solo puede deberse en mayor medida al movimiento de partículas relativamente grandes en el fluido que se está analizando, ya que esto ocasiona mayor dispersión en el láser de prueba y excitación, obteniéndose una señal con ruido. Por otro lado en menor medida contribuyen los movimientos mecánicos que son casi nulos al montar el dispositivo en una mesa óptica.

Se han eliminado todas las fuentes sabidas de posibles errores tomando en cuenta que:

- La muestra no presenta movimiento de altas concentraciones de partículas grandes
- No hay vibración mecánica del dispositivo experimental
- La muestra no tiene un pico de absorción en la longitud de onda del láser de excitación, así como tampoco lo presenta en la longitud de onda del láser de prueba
- No hay efectos de variación en la temperatura de la muestra al momento de estarse corriendo el espectro

- El rango de temperaturas en las que se realizan todas las mediciones debe ser en el mismo.

-La incertidumbre referente al ajuste del modelo por la regresión no lineal de Levenberg-Marquardt, para obtener los parámetros τ y θ representa un error menor al 1% de acuerdo a la correlación obtenida.

De las muestras analizadas

En general los tejidos biológicos tienen características de variabilidad en la transparencia, siendo el suero más transparente que el plasma por el mismo proceso de separación, esto es porque el suero se obtiene después de una depositación de coagulo (con fibronogenos) lo cual hace que arrastre a su paso partículas suspendidas (moléculas grandes). Existen variaciones naturales propias del fluido por el historial clínico puede presentar mas anticuerpos, grasa, glucosa, etc. Por esta razón es posible que haya una dispersión moderada de los datos.

Gráficas características para obtener la difusividad térmica

Las gráficas son realizadas por el software Origin 6.0 utilizando los datos calculados mediante un ajuste de la ecuación de lente térmica usando el mismo software. La línea roja representa el ajuste de los puntos experimentales.

Note el tipo de respuesta exponencial decreciente que representa cómo la intensidad del láser de prueba (proporcional al voltaje medido en el fotodetector) decrece con el tiempo cuando el láser de excitación incide sobre la muestra. Tenemos una variación en el índice de refracción negativa entonces se forma una lente divergente en la muestra en la figura 5.7.

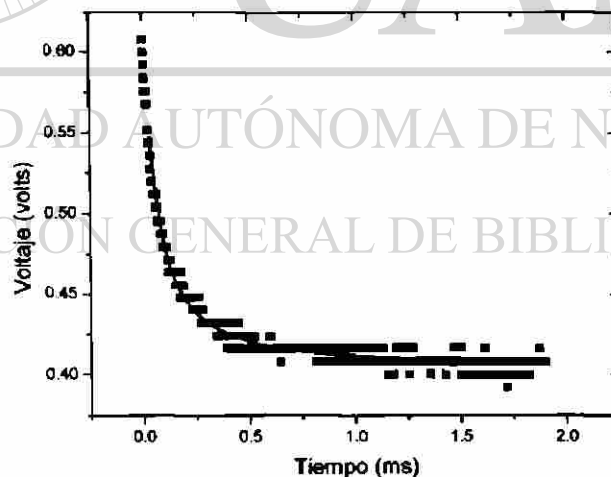


Figura 5.12 Gráfica característica de la relajación de una muestra en el experimento de lente térmica.

Bibliografía

[1].-Espectroscopia de lente térmica

Mauro Luciano Baesso, Grupo de estudio dos fenómenos fototermicos, Brasil

[2].-Nuevas aplicaciones de técnicas fototérmicas para estudio de interfaces

Marcos Eduardo Sedra Gugliotti, Universidad de Sao Paulo, Brasil

Capítulo VI Resultados

Resultados del análisis por espectroscopía de impedancia eléctrica.

El objetivo fundamental de esta tesis ha sido la caracterización de la sangre y sus componentes básicos mediante la medida de su impedancia eléctrica y la difusividad térmica de suero. Para realizar esto se han empleado dos técnicas diferentes, como son las espectroscopias de impedancia eléctrica (método eléctrico) y de lente térmica (método fototérmico) realizándose contribuciones en uno y otro campo.

El estudio busca la aplicación de la espectroscopía de la impedancia eléctrica y fototérmica (método de lente térmica) en aplicaciones clínicas preliminares, y en concreto para la caracterización del tejido sanguíneo, en sangre entera y componentes principales (eritrocitos, leucocitos, plasma). Partiendo por un lado del modelo eléctrico establecido y por otro lado de la difusividad térmica, posteriormente correlacionando estos parámetros con las propiedades citométricas establecidas de un análisis riguroso del laboratorio del centro de transfusiones del estado de Guanajuato.

Resultados del análisis por EI

Nuestro interés se centra en las propiedades eléctricas de la sangre de acuerdo a la capacidad de permitir la conducción de corriente cuando se le aplica un voltaje, estos parámetros están basados en un modelo de circuito eléctrico tipo Cole-Cole propuesto y justificado para tejidos biológicos, en donde se tienen los tres elementos básicos: resistencia en serie (R_s), resistencia en paralelo (R_p), y el elemento de Cole C_p (descrito en el capítulo I).

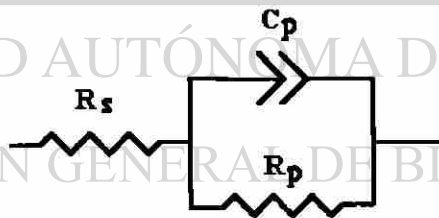


Figura 6.1 Modelo de circuito eléctrico tipo Cole-Cole propuesto.

La medida del espectro de impedancia de un sistema biológico nos proporciona información de sus características eléctricas pasivas. Sin embargo, para poder extraer información útil es necesario o bien correlacionar directamente estas medidas con algún mecanismo fisiológico o bien ajustarlas a un modelo. Por lo anterior las magnitudes de estos parámetros eléctricos, se utilizarán para la caracterización del tejido con respecto a un análisis clínico estándar de citometría.

Es importante remarcar dos aspectos fundamentales en todos los estudios de EI realizados:

1.- El numero de elementos constitutivos de las muestras hemáticas es extremadamente abundante para ser abarcado por un solo estudio científico, tomando en cuenta desde eritrocitos hasta electrolitos, anticuerpos, etc.

2.- En todos los experimentos la muestra se encuentra rodeada de aire, es decir, que la muestra no esta dentro de un medio donde hay sangre u otro fluido. Hay dos razones por las cuales el dispositivo contenedor con electrodos no se deja dentro (inmerso en la sangre) del tubo de ensayo mientras se realiza la toma de datos por EI.

La primera tiene que ver con uno de los objetivos del trabajo; tener una muestra relativamente pequeña para la caracterización del tejido, para posiblemente en un futuro hacer un diagnostico preliminar por esta técnica (como ocurre con la glucosa en la sangre).

La segunda razón se relaciona con algunos trabajos anteriores que se realizaron en el IFUG, en donde se dejaban las muestras dentro de la sangre y los parámetros eléctricos determinados así eran sensiblemente diferentes a los que se reportan en esta tesis. Esta diferencia puede ser explicada en términos del flujo iónico, mas que la corriente de desplazamiento, cuando se tiene una muestra de 2 microlitros el fluido iónico puede establecer una corriente dependiente de su concentración, entonces queda limitada a la cantidad en cuestión, cuando el contenedor con electrodos es colocado dentro de un recipiente con sangre, y permanece ahí mientras se realiza el análisis de EI se tiene en el medio circundante a los electrodos mayor cantidad de carga que puede ser movida y esto causa que los parámetros eléctricos se vean afectados.

Sangre entera

El espectro característico para la sangre entera no presentaba una dispersión significativa para las bajas frecuencias, como se aprecia en la figura 6.2.

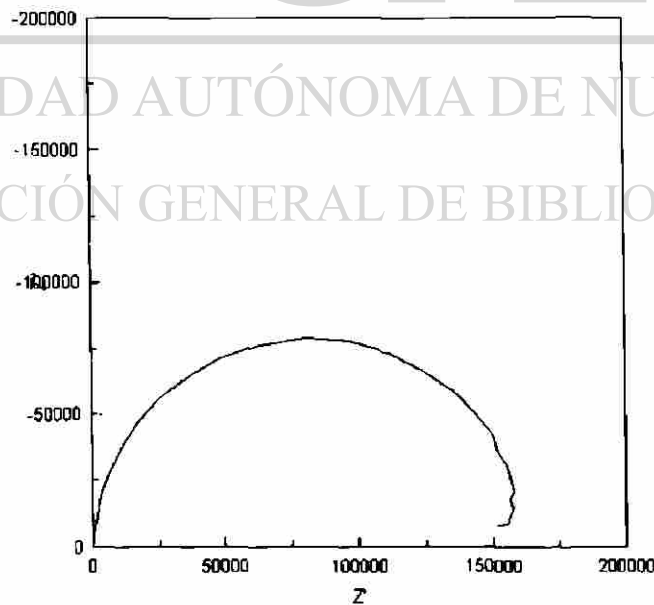
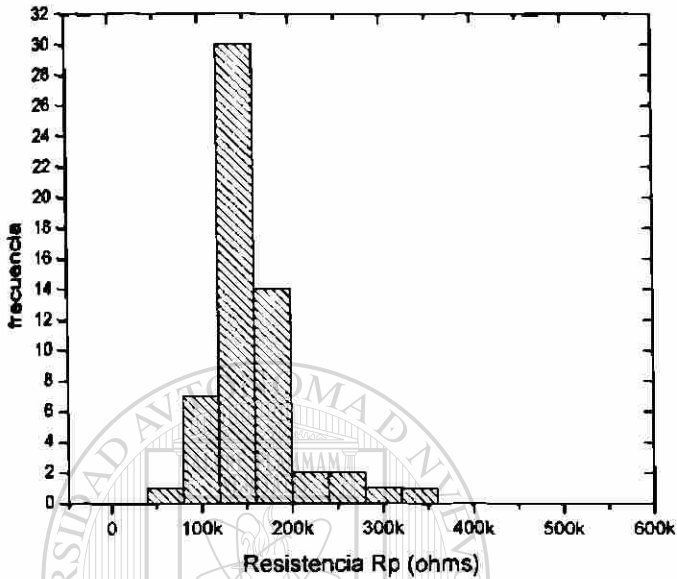


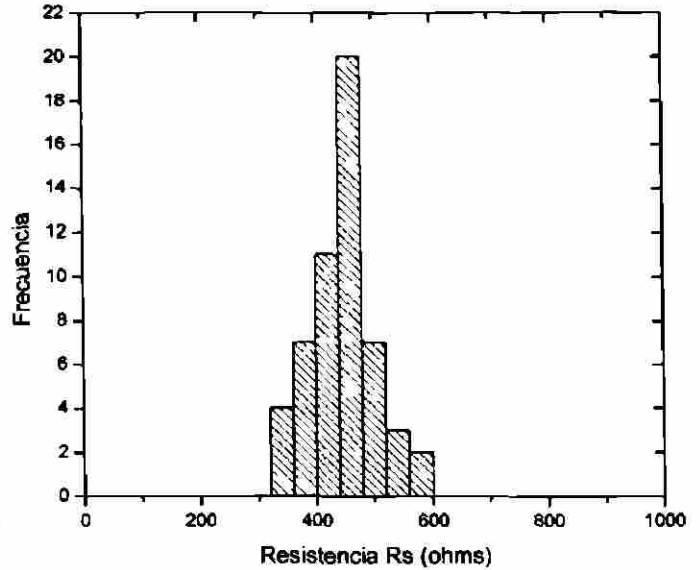
Figura 6.2 Grafica Z' vs. Z'' para sangre entera normal.

Se analizaron un total de 58 muestras correspondientes a sangre entera obteniéndose los siguientes histogramas después de analizar los espectros y determinar los parámetros eléctricos (R_p , R_s , C_p , P) de cada muestra utilizando el modelo Cole-Cole.



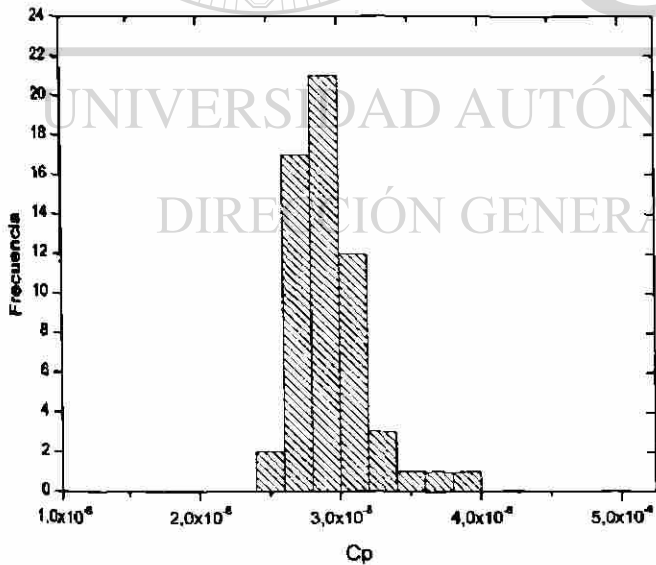
$$\overline{R_p} = (156 \pm 48)K\Omega$$

Figura 6.3 Histograma de la resistencia en paralelo R_p .



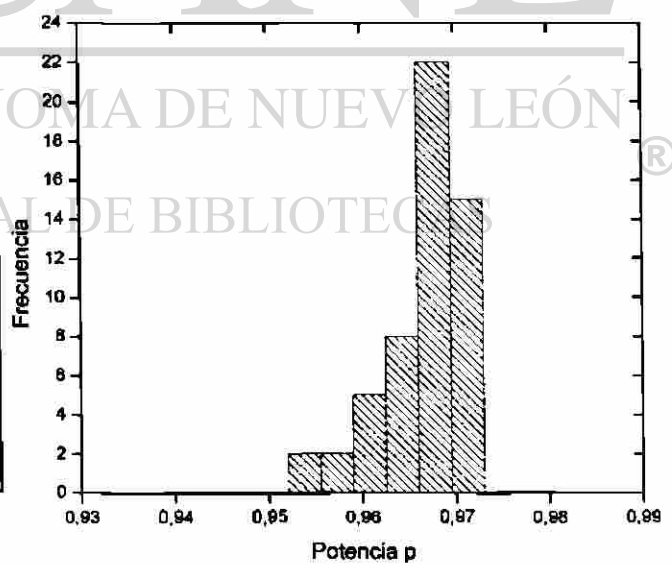
$$\overline{R_s} = 451 \pm 58\Omega$$

Figura 6.4 Histograma de la resistencia en serie R_s .



$$\overline{C_p} = (2.94 \pm .25) \times 10^{-8}$$

Figura 6.5 Histograma del elemento C_p .



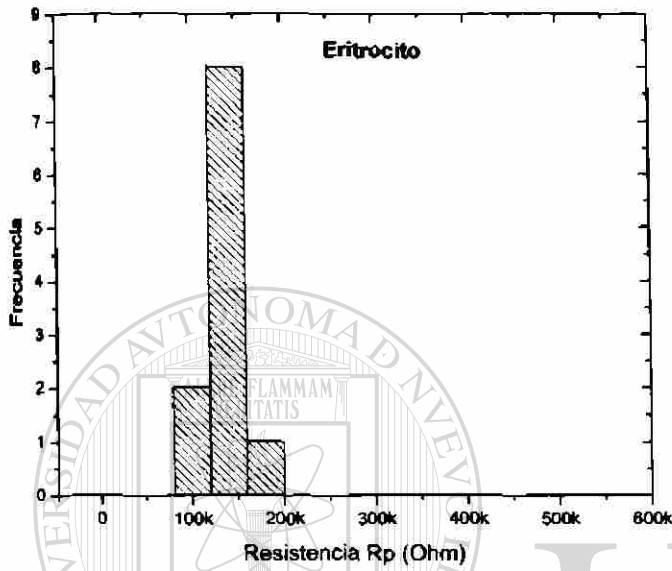
$$\overline{p} = 0.966 \pm 0.008$$

Figura 6.6 Histograma de la potencia p .

Componentes principales de la sangre

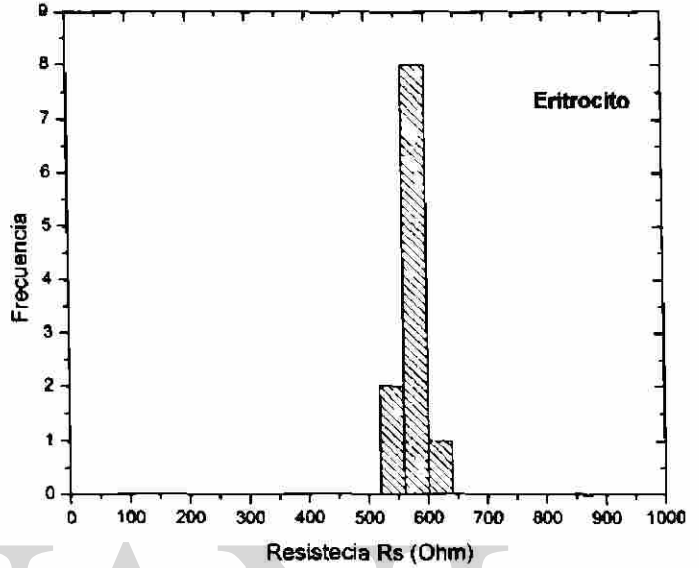
Para los componentes de la sangre debido a sus características se tuvieron un número de muestras reducido, sin embargo debido a su repetibilidad y reproducibilidad los datos son aceptables. Se analizaron un total de 11 muestras de cada componente.

Eritrocitos



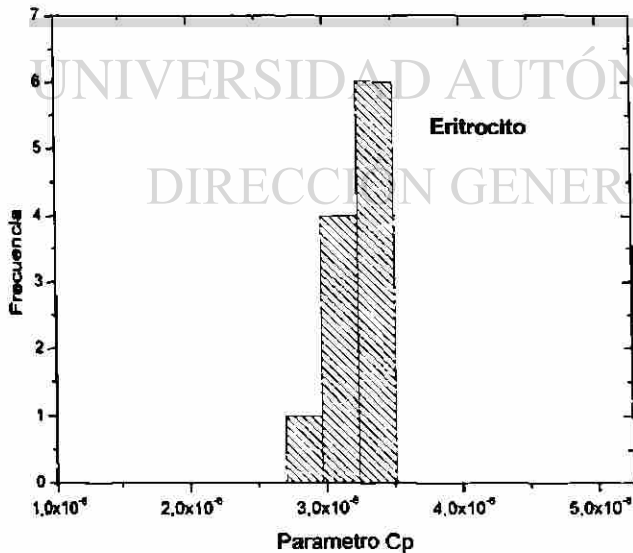
$$\overline{R_p} = (134 \pm 17) K\Omega$$

Figura 6.7 Histograma de la resistencia en paralelo R_p .



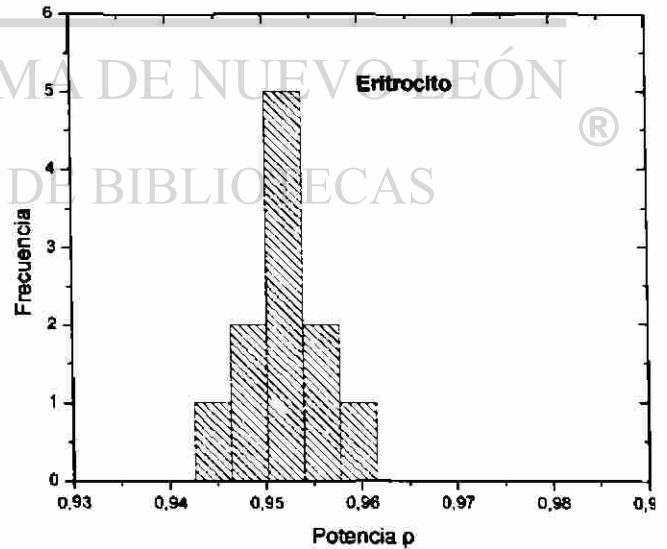
$$\overline{R_s} = 576 \pm 24 \Omega$$

Figura 6.8 Histograma de la resistencia en serie R_s .



$$\overline{C_p} = (3.23 \pm 0.19) \times 10^{-8}$$

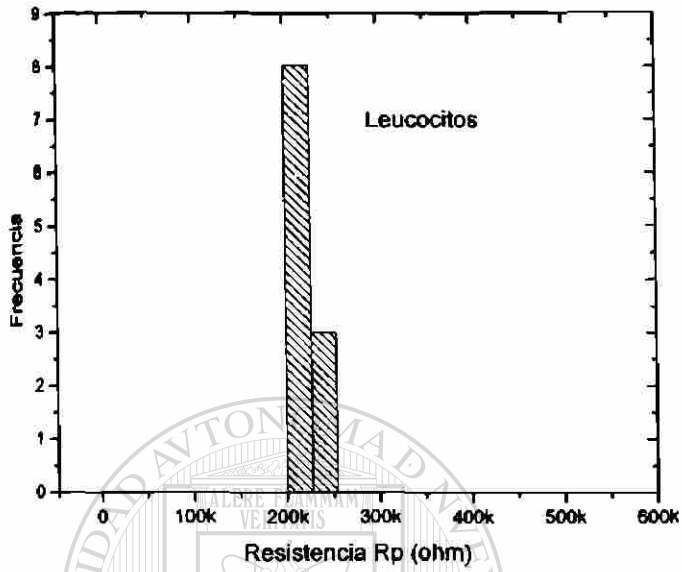
Figura 6.9 Histograma del elemento C_p .



$$\overline{P} = 0.952 \pm 0.004$$

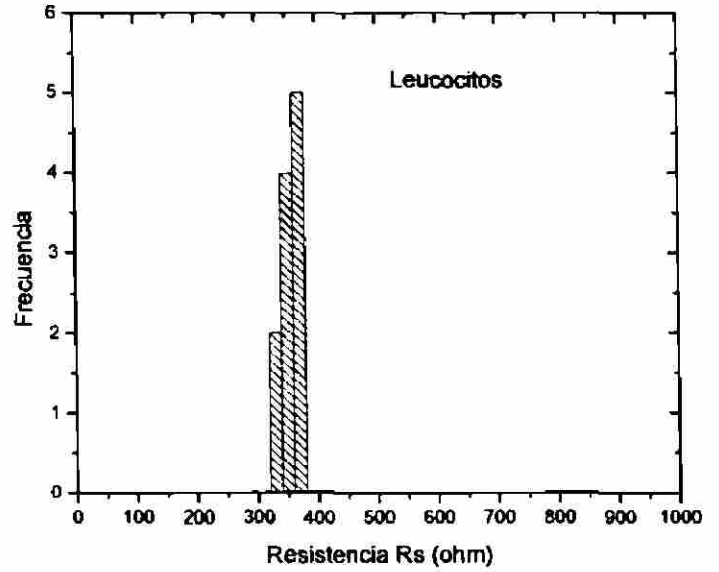
Figura 6.10 Histograma de la potencia p .

Leucocitos



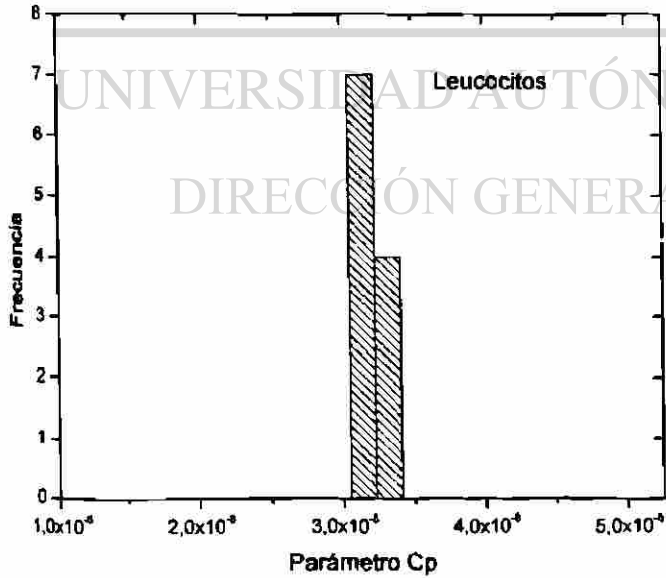
$$\bar{R}_p = (219 \pm 11) \text{K}\Omega$$

Figura 6.11 Histograma de la resistencia en paralelo Rp.



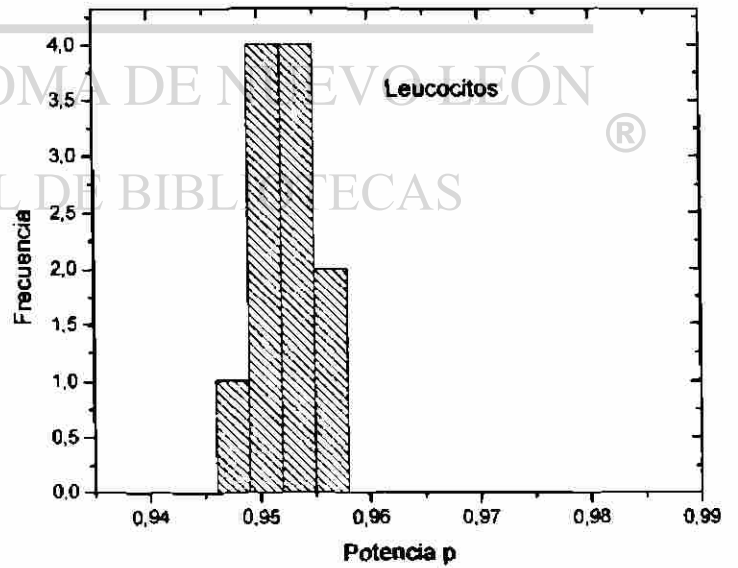
$$\bar{R}_s = (354 \pm 17) \Omega$$

Figura 6.12 Histograma de la resistencia en serie Rs.



$$\bar{C}_p = (3.19 \pm 0.006) \times 10^{-8}$$

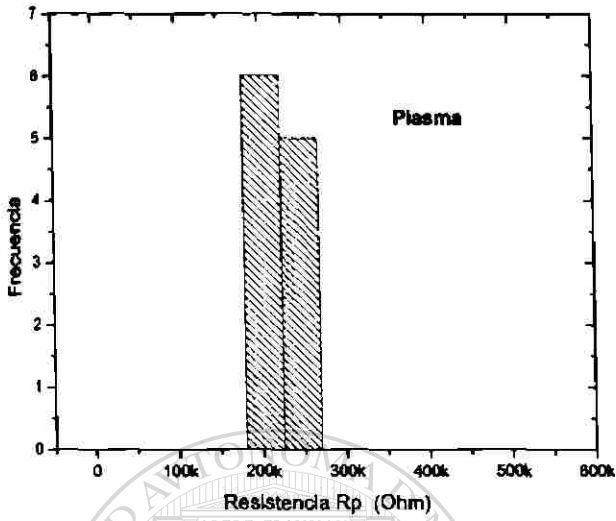
Figura 6.9 Histograma del elemento Cp.



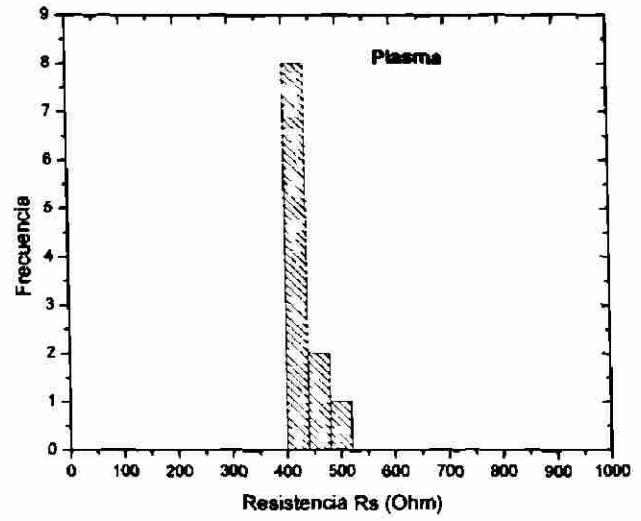
$$\bar{p} = 0.952 \pm 0.002$$

Figura 6.10 Histograma de la potencia p.

Plasma

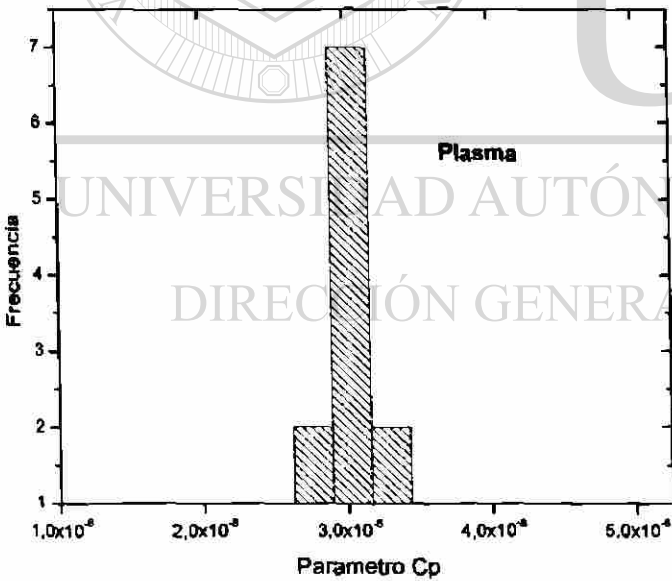


$$\overline{R_p} = (222 \pm 22) K\Omega$$



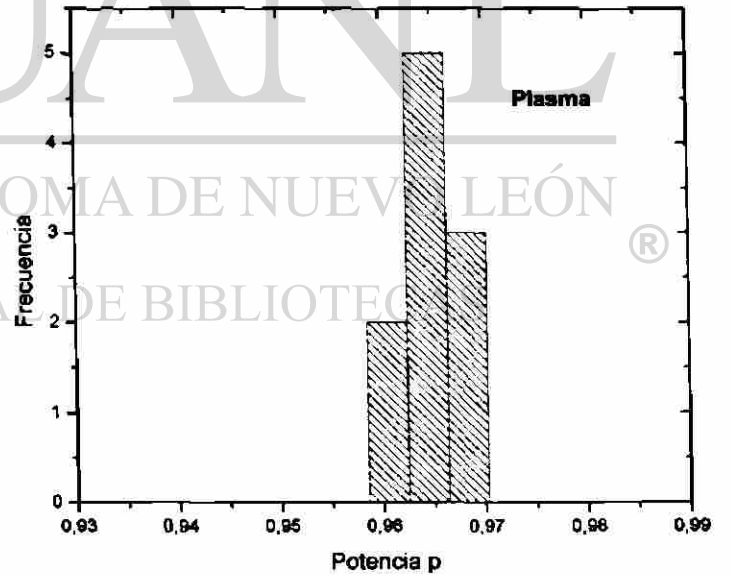
$$\overline{R_s} = 432 \pm 30\Omega$$

Figura 6.11 Histograma de la resistencia en paralelo Rp. Figura 6.12 Histograma de la resistencia en serie Rs.



$$\overline{C_p} = (3.04 \pm 0.14) \times 10^{-8}$$

Figura 6.13 Histograma del elemento Cp.



$$\overline{p} = 0.965 \pm 0.003$$

Figura 6.14 Histograma de la potencia p.

Espectros característicos de EI de los componentes de la sangre (glóbulos rojos, glóbulos blancos y plasma)

Se tiene que los componentes de la sangre presentan graficas de impedancia características como se observa en la siguiente grafica.

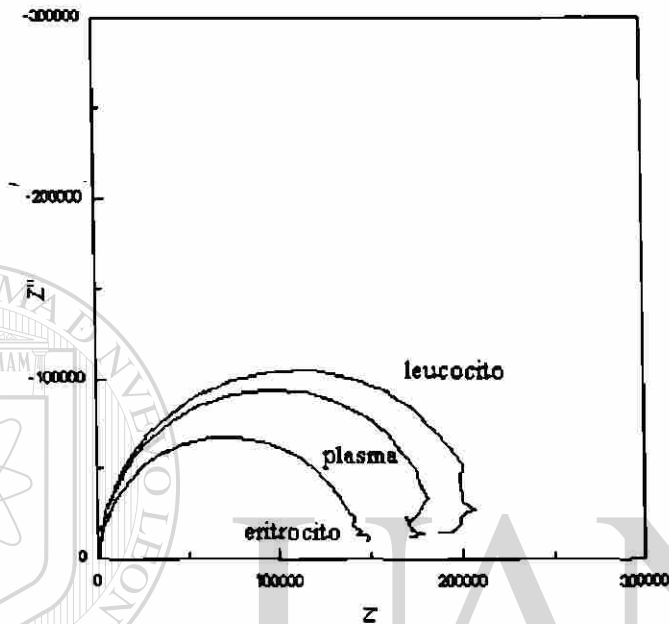


Figura 6.15 Grafica comparativa de los componentes sanguíneos más importantes.

En la figura 6.15 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 (ver los datos reportados para R_p). Para altas frecuencias la impedancia de cada componente tiende a ser la misma (convergen a cero).

También se ha observado que a bajas frecuencias se presentan más perturbaciones para leucocitos y plasma, como las que aparecen en la figura 6.15. Esto se debe a que el sistema expuesto en los primeros instantes a un campo eléctrico tiende a un reajuste de carga para minimizar los caminos de transferencia entre los electrodos.

Correlación de los parámetros eléctricos de los componentes de la sangre

Para que se correlacionar los resultados de la caracterización utilizamos ahora los parámetros eléctricos obtenidos, para graficar comparativamente los componentes de la sangre.

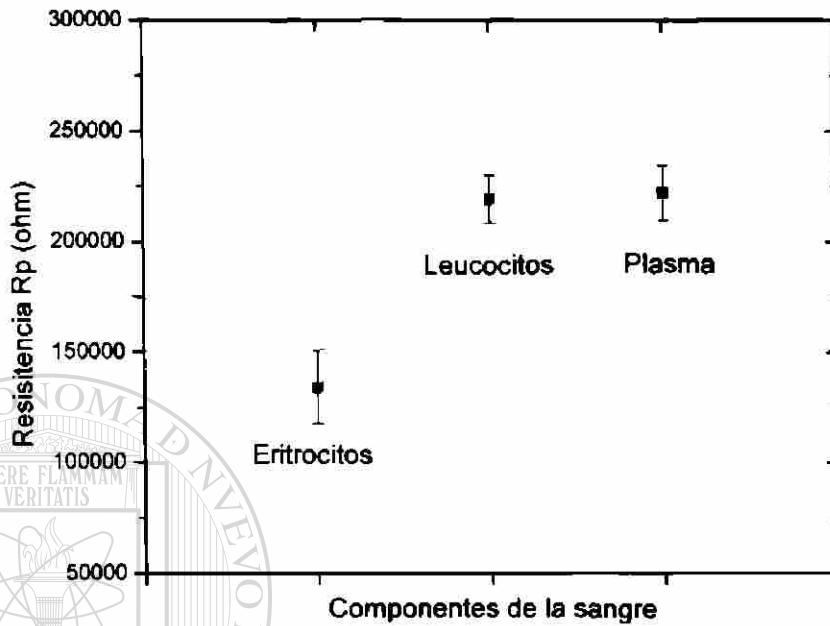


Figura 6.16 Correlación de los componentes de la sangre para el parámetro Rp.

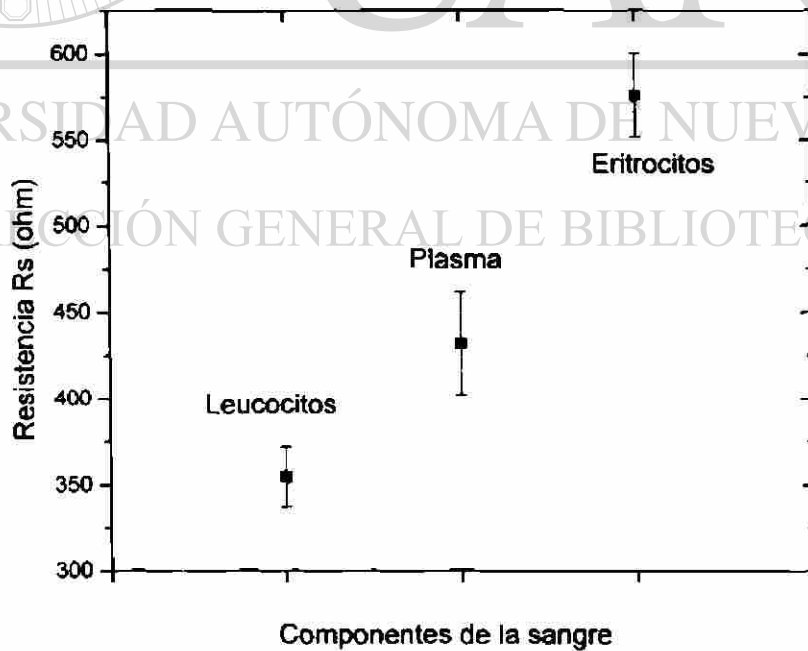


Figura 6.17 Correlación de los componentes de la sangre para el parámetro Rs.

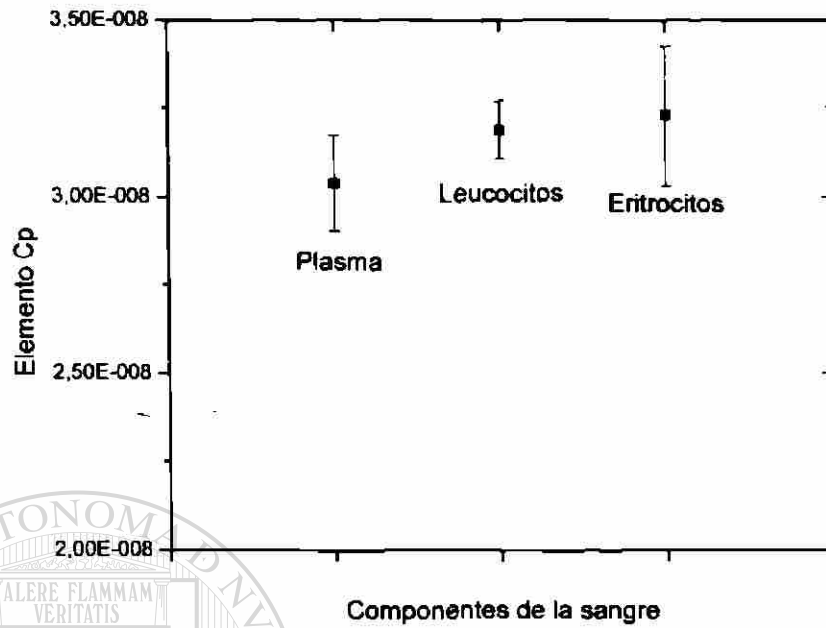


Figura 6.18 Correlación de los componentes de la sangre para el parámetro Cp.

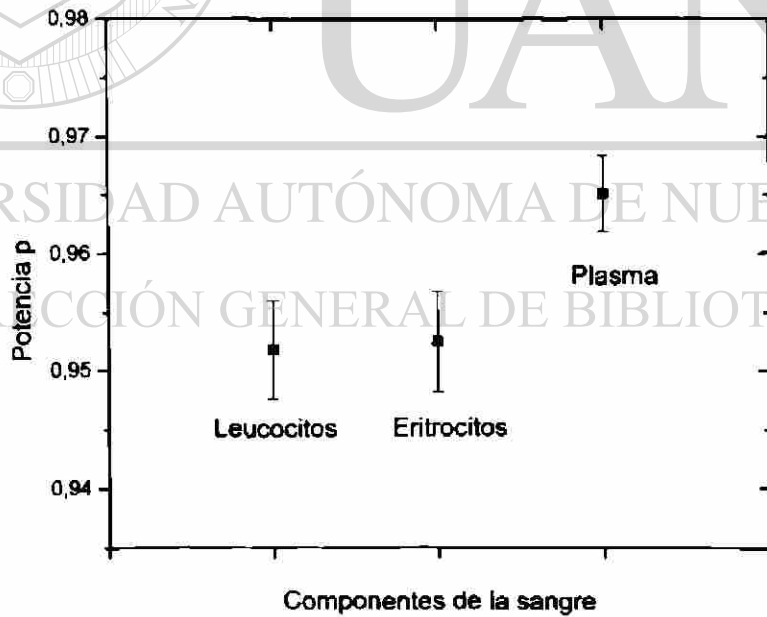


Figura 6.19 Correlación de los componentes de la sangre para el parámetro p.

Resultados de la difusividad térmica del suero

La evolución temporal de la señal de lente térmica en una muestra típica de suero presenta una fuerte dispersión, ya que aunque el suero es resultado de un proceso de sedimentación a partir de un coágulo y aún tiene un gran número de macromoléculas orgánicas y granulocitos. Para reducir el error que puede ser producido por la dispersión se analizó cada muestra de nueve a diez veces, tomándose un promedio de los valores obtenidos.

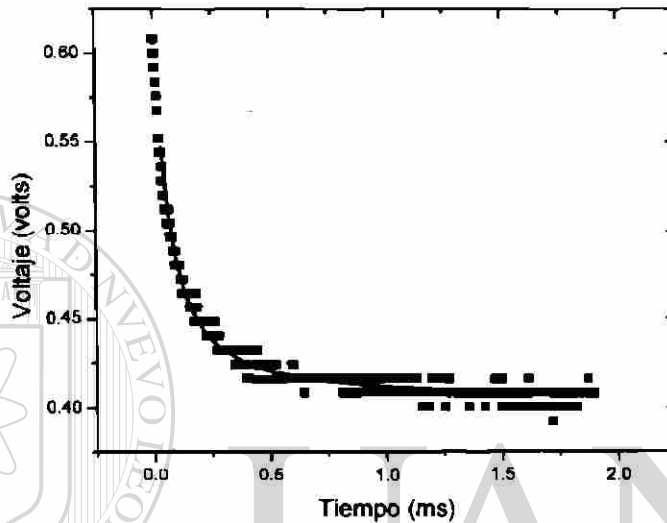
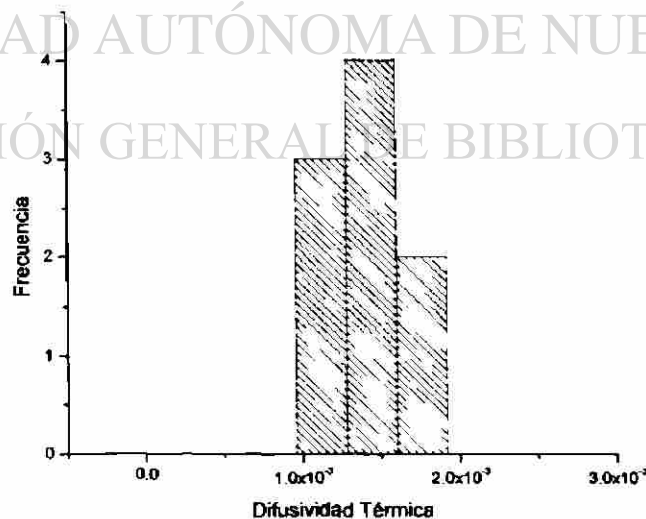


Figura 6.51 En la grafica se observa la dispersión de la muestra después de los 0.75ms.

El siguiente histograma de frecuencia fue el resultado de los nueve promedios.



$$\alpha = 0.00141 \pm 0.00025 \text{ cm}^2/\text{s}$$

Figura 6.52 Histograma representativo de los promedios de difusividad térmica.

La técnica de lente térmica requiere que la muestra no absorba en el rango de longitud de onda de los láseres (de prueba y de excitación). Para evitar que se tenga un calentamiento excesivo por la absorción de cualquiera de los láseres en la muestra se realizaron estudios de absorbancia en el rango de 300 a 800nm, encontrándose un pico de absorbancia de la muestra en 410nm, siendo una longitud de onda que no es cercana a la longitud de onda de los láseres, ya que el láser de prueba He-Ne tiene una longitud de onda de 488nm y el láser de excitación tiene una longitud de onda de 632.8nm. La literatura reporta⁽³⁾ un valor para la difusividad del plasma humano de $\alpha = (1.21 \pm 0.05) \times 10^{-3} \text{ cm}^2/\text{s}$.

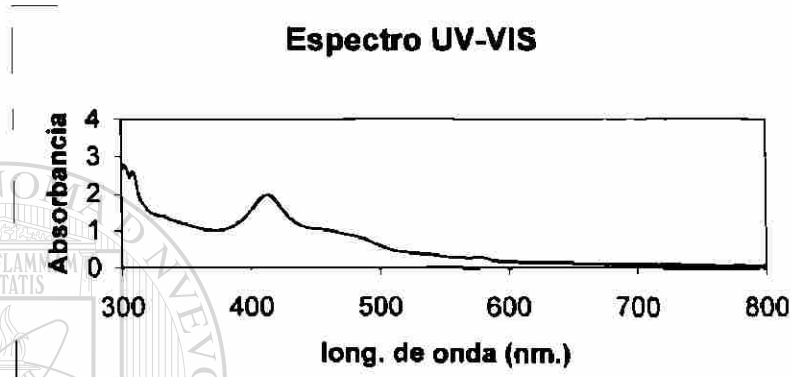
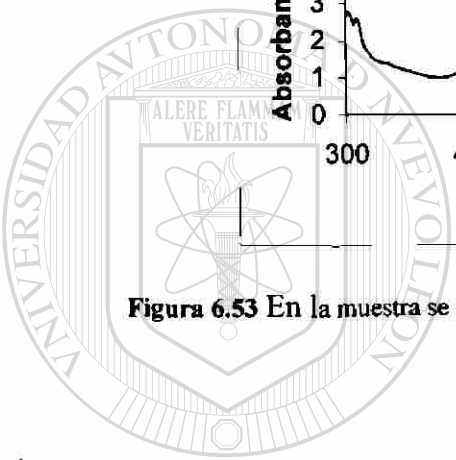


Figura 6.53 En la muestra se encontró un pico de absorbancia a una longitud de onda de 410nm

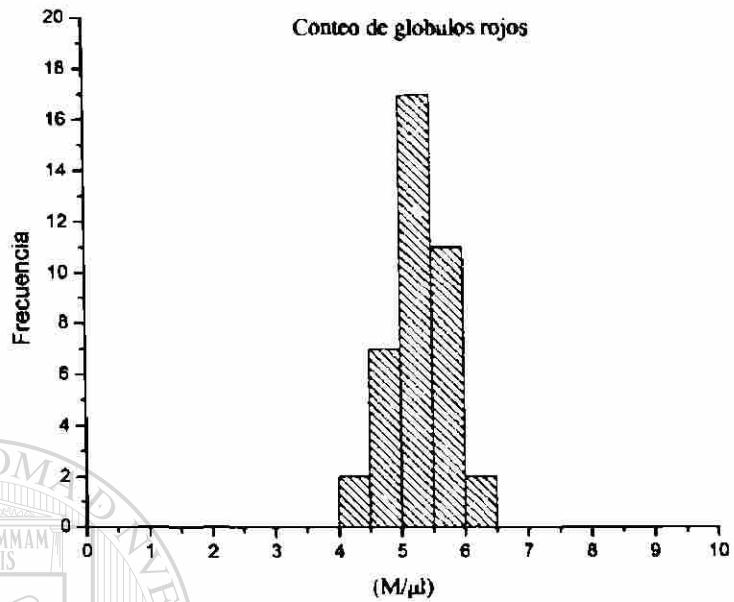


UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

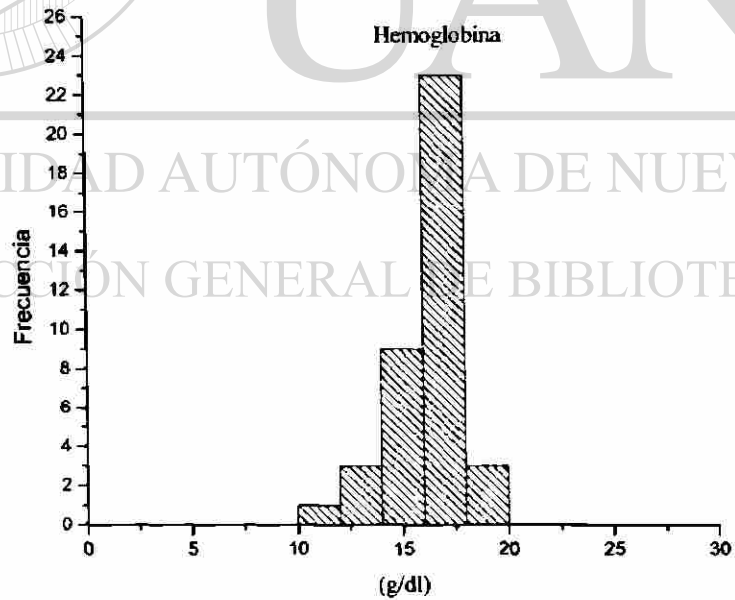
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Resultados de la citometría para sangre entera



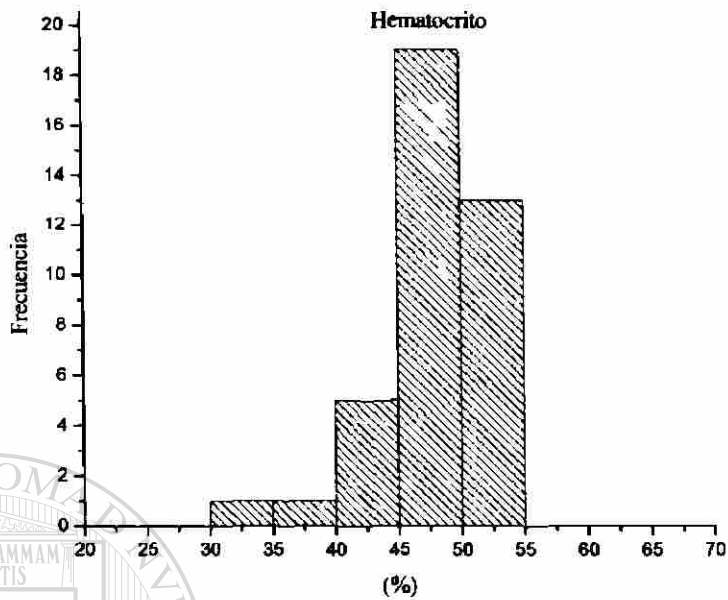
$5.32 \pm 0.56 \text{M}/\mu\text{l}$

Figura 6.54 Histograma del conteo de eritrocitos.



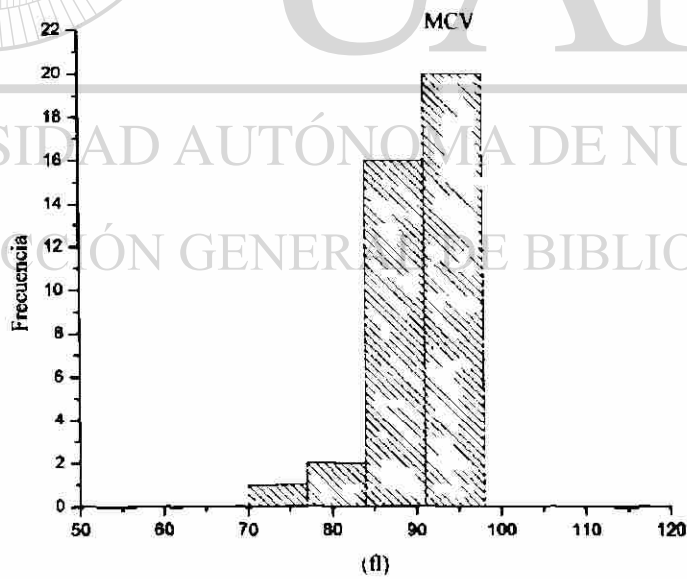
$16.1 \pm 1.5 \text{g}/\text{dl}$

Figura 6.55 Histograma de la Hemoglobina.



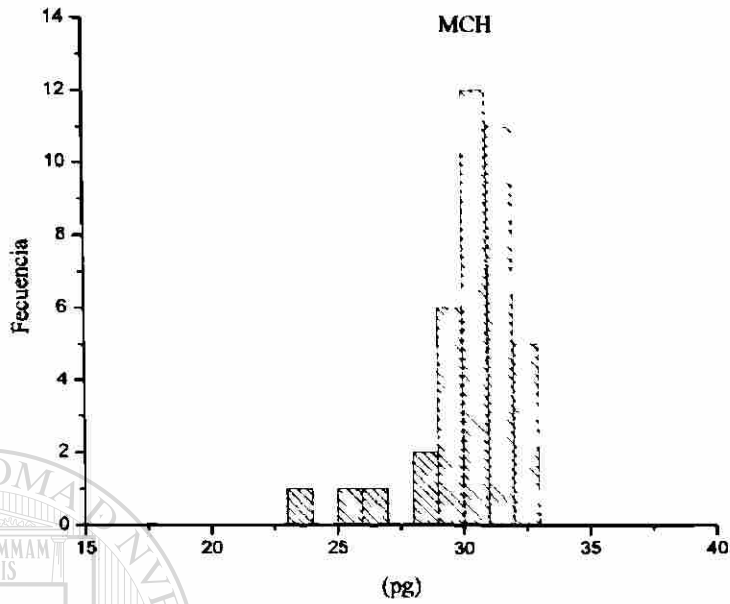
$48.2 \pm 3.8\%$

Figura 6.56 Histograma del porcentaje de hematocrito.



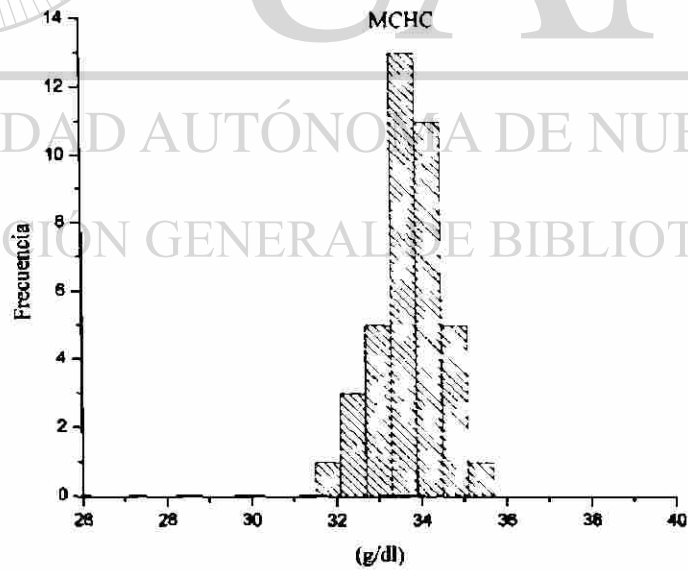
$90.4 \pm 4.3fl$

Figura 6.57 Histograma de la cantidad MCV.



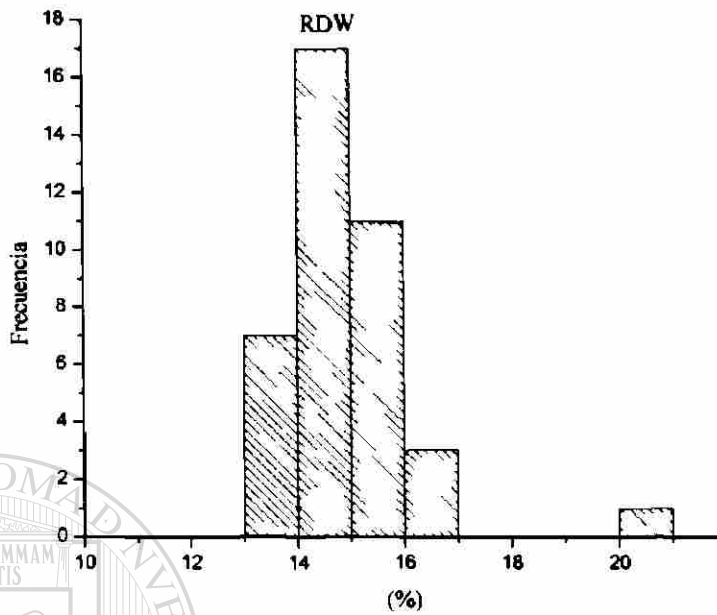
$30.5 \pm 1.5 \text{pg}$

Figura 6.58 Histograma de la cantidad MCH.



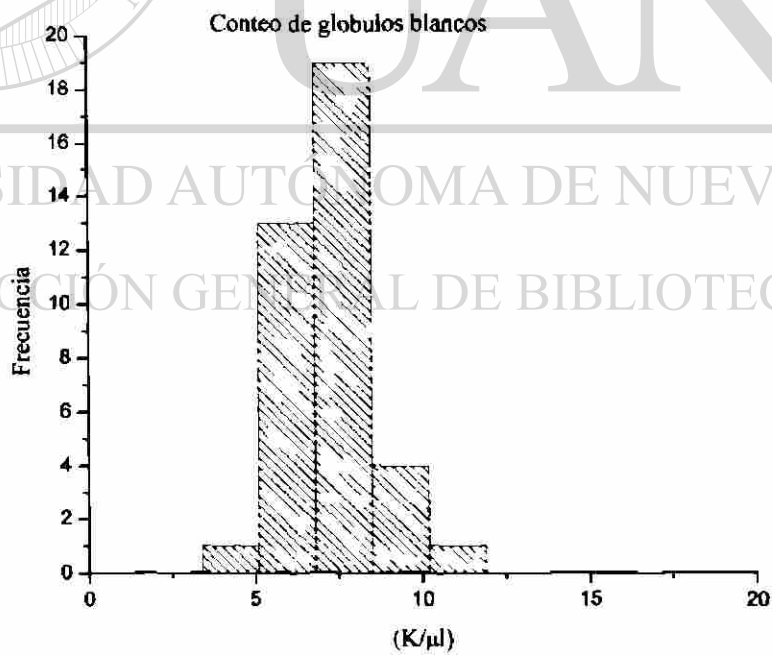
$33.8 \pm 0.7 \text{g/dl}$

Figura 6.59 Histograma de la cantidad MCHC.



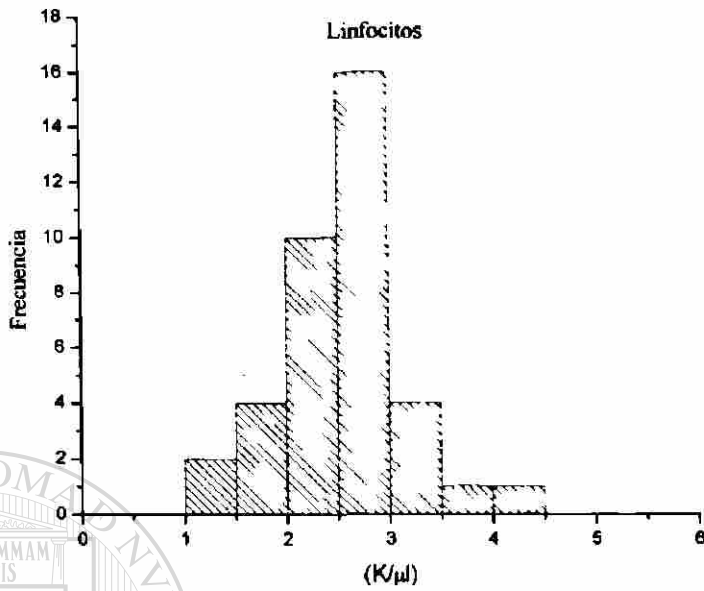
14.7 ± 0.8%

Figura 6.60 Histograma del porcentaje de RDW.



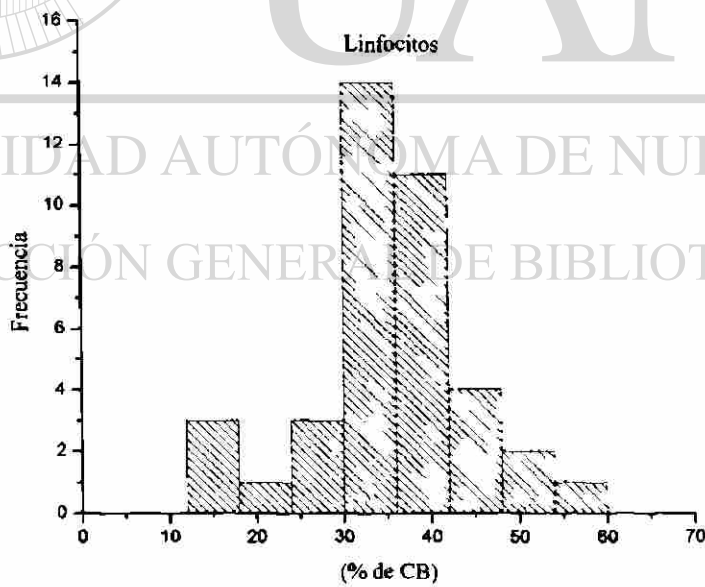
7.4 ± 1.9K/μl

Figura 6.61 Histograma del conteo de leucocitos.



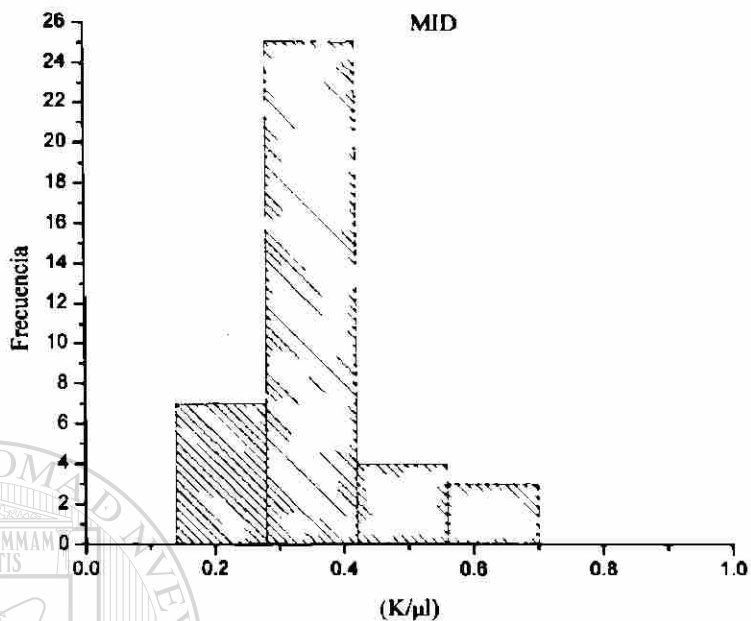
$2.6 \pm 0.7 \text{K}/\mu\text{l}$

Figura 6.62 Histograma del conteo de linfocitos.



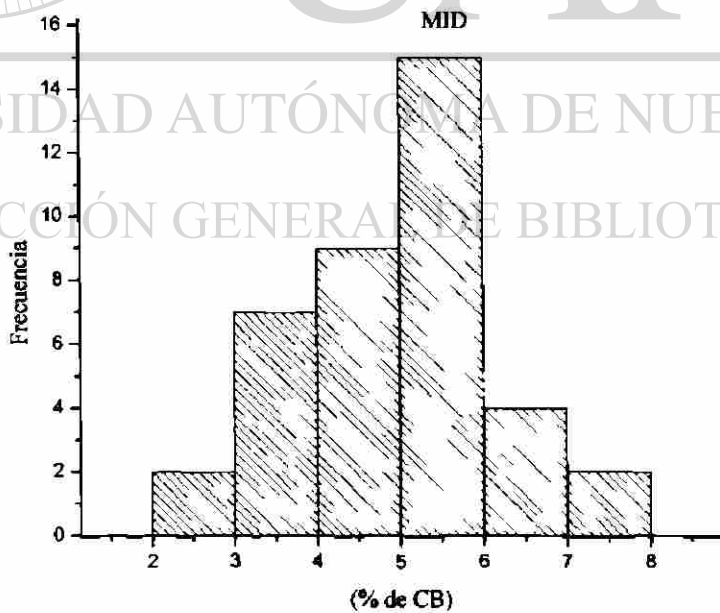
$35.4 \pm 9.0\%$

Figura 6.63 Histograma del porcentaje de linfocitos.



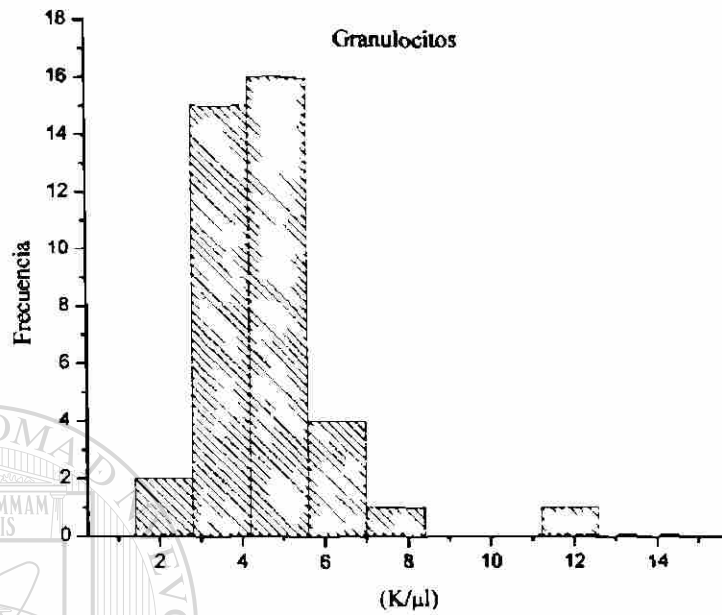
$0.4 \pm 0.1 \text{K}/\mu\text{l}$

Figura 6.64 Histograma del conteo de MID.

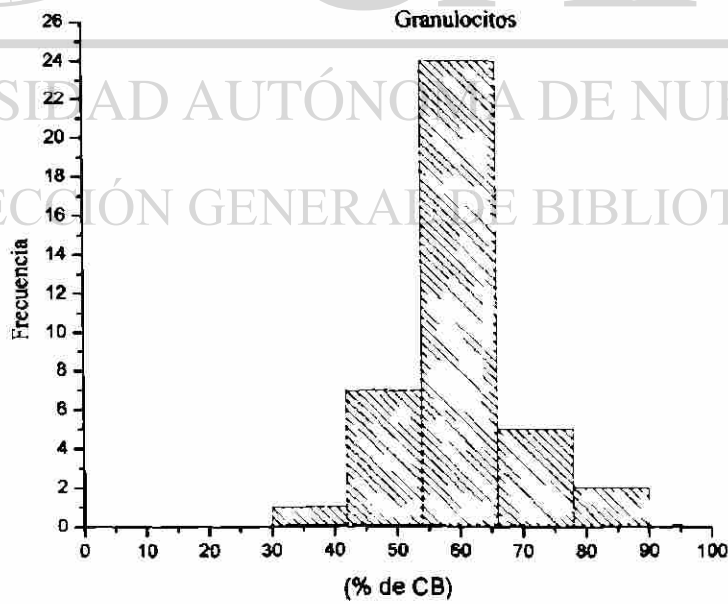


$4.8 \pm 1.2\%$

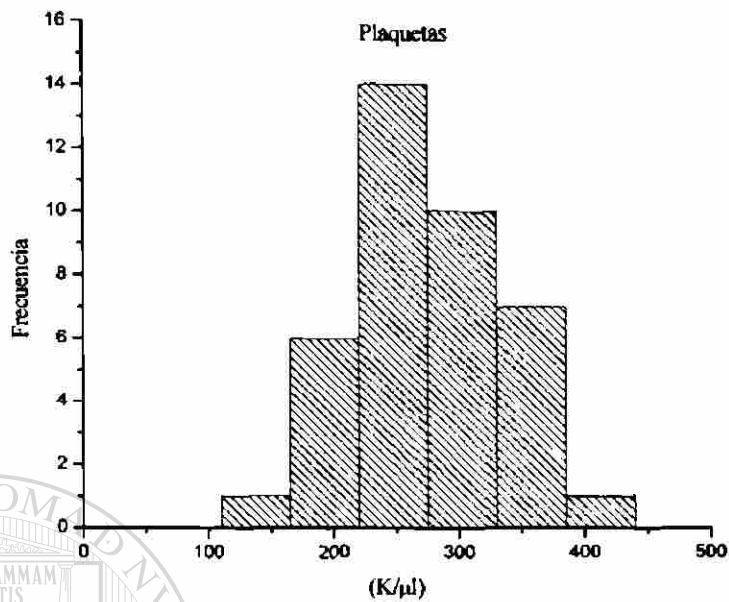
Figura 6.65 Histograma del porcentaje de MID.



4.2 ± 1.1K/μl
Figura 6.66 Histograma del conteo de Granulocitos.

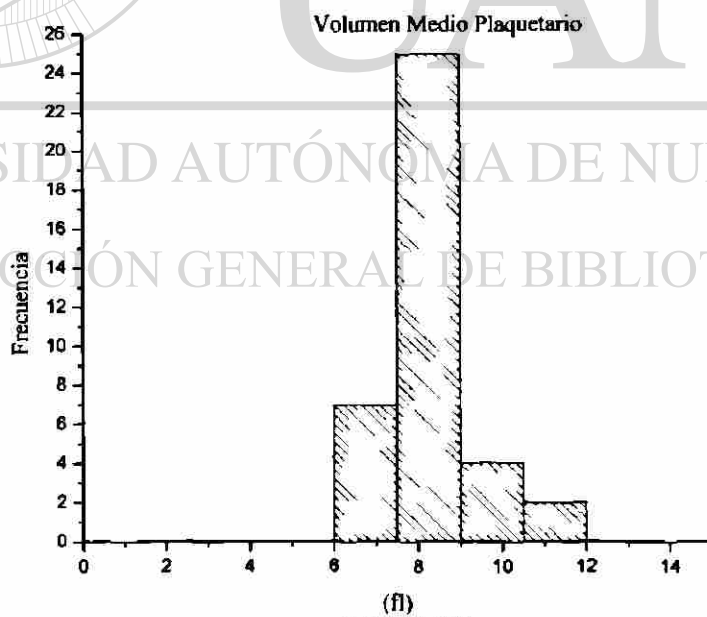


59.6 ± 9.4%
Figura 6.67 Histograma del porcentaje de Granulocitos.



$272 \pm 56 \text{K}/\mu\text{l}$

Figura 6.68 Histograma del conteo de plaquetas.



$8.1 \pm 1.1 \text{fl}$

Figura 6.69 Histograma del volumen medio plaquetario.

Conclusiones

Sangre entera

La espectroscopía de impedancia eléctrica y la aplicación del modelo Cole-Cole en el tejido sanguíneo completo (sangre entera) de pacientes aptos para donación, ha permitido realizar los histogramas, de los cuales se obtienen los valores de los parámetros eléctricos que caracterizan en conjunto a la sangre entera estándar. Mas adelante se dará la explicación detallada del uso de la caracterización de sangre cuando es aplicada a pacientes con algún padecimiento que afecta a las células sanguíneas.

Componentes de la sangre

Las gráficas comparativas de los componentes respecto a los parámetros eléctricos del modelo Cole-Cole nos permiten hacer el análisis que se requiere para la caracterización en los componentes de la sangre así tenemos las siguientes conclusiones:

- La resistencia en paralelo del modelo eléctrico resulta un factor importante en la representación de la conductividad dentro del fluido. Con este dato podemos diferenciar claramente los glóbulos rojos de cualquiera de los componentes de la sangre. Con respecto al plasma y a los glóbulos blancos tenemos que el error es relativamente bajo pero se diferencian en un estrecho margen de resistividad, así que necesitamos otro parámetro que caracterice claramente a estos componentes entre si.
- La resistividad en serie del modelo eléctrico es en parte provocada por la interacción en la interfase electrodo-muestra. 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.
- El parámetro C_p del modelo eléctrico en principio se supuso como el que pudiera estar íntimamente relacionado con la caracterización, sin embargo no fue así, la gráfica comparativa 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. Este hecho se fundamenta en los parámetros expuestos en tres de las gráficas comparativas; Resistencia en paralelo vs. Componentes, Resistencia en serie vs. Componentes y Potencia vs. Componentes. Se deben utilizar en conjunto para hacer un estudio mas completo de cada componente.

- Los leucocitos son las células más grandes dentro del fluido biológico en cuestión, presentan núcleo grande y con poco citoplasma sin carga neta en su superficie, a diferencia de los eritrocitos poseen una carga específica en su membrana que les confiere un carácter de fluido no newtoniano, es decir, cuando se comprime el fluido, el trabajo realizado no solo depende de las propiedades mecánicas del sistema sino también de la contribución eléctrica de los glóbulos rojos. Por otro lado el plasma formado por moléculas proteicas (oligómeros) y iones 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 de cada componente, por ejemplo se esperaba que los leucocitos presentaran mayor resistencia en paralelo que se demuestra en la primer gráfica comparativa, también se esperaba una mejor respuesta capacitiva, y se observa como sus barras de error son pequeñas denotando la confiabilidad en el valor de un C_p específico. Los eritrocitos tienen mayor conductividad (menor resistencia en paralelo) y tienen mayor dispersión en el valor de C_p .

Comparación de los componentes de la sangre con la sangre entera

Cuando se toman en cuenta los valores de la sangre entera y los de cada componente por separado es posible apreciar una diferencia clara de los datos. En las gráficas de impedancia en el plano complejo (figura 6.20), se observa como resulta la impedancia de los componentes separados y cuando se encuentran integrados (sangre entera). El modelo utilizado es lineal y los componentes guardan proporción directa a la cantidad presente, por ejemplo el plasma constituye el 55% del total de la sangre, los eritrocitos el 44% y los leucocitos solo el 1%. Así que la contribución mayor a la impedancia total básicamente la hacen los eritrocitos y el plasma.

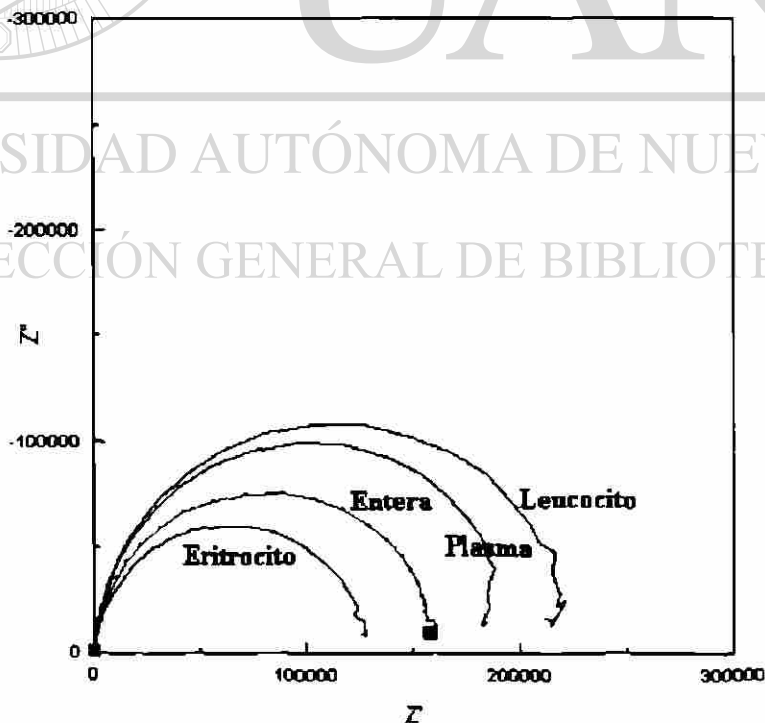


Figura 6.20 Gráficas características de los componentes sanguíneos y de la sangre entera

Los espectros de impedancia no cumplen del todo el principio de superposición, porque si bien es cierto que el modelo eléctrico de Cole-Cole es lineal ya que utiliza la adición de elementos eléctricos invariantes en sus propiedades intrínsecas a nivel de excitación externo y se cumple la ley de Ohm, los espectros de impedancia tienen una característica fractal: el mismo modelo se puede encontrar en el bulto y en los componentes individuales cada vez que se aísla uno de ellos, pero la suma no da el total, ya que

- 1.- Los elementos individuales poseen diferentes frecuencias características de excitación (constantes de tiempo)
- 2.- La impedancia total 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.
- 3.- Los glóbulos rojos poseen una carga neta en su membrana que incluye un factor adicional en la energía eléctrica por unidad de volumen.

A continuación se expondrán las gráficas comparativas de la sangre entera y de sus componentes para apreciar mejor sus diferencias:

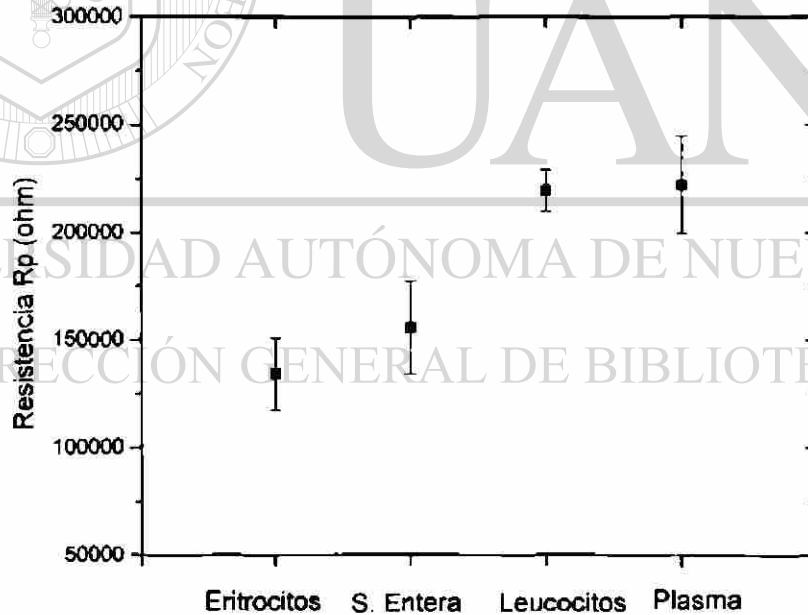


Figura 6.21 Correlación de los componentes de la sangre y sangre entera para el parámetro Rp.

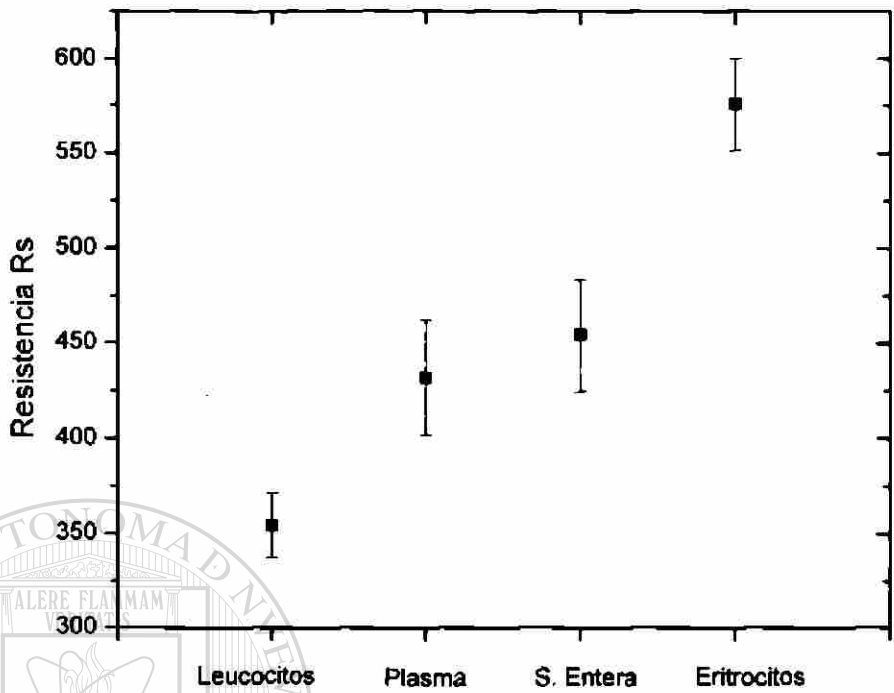


Figura 6.22 Correlación de los componentes de la sangre y sangre entera para el parámetro Rs.

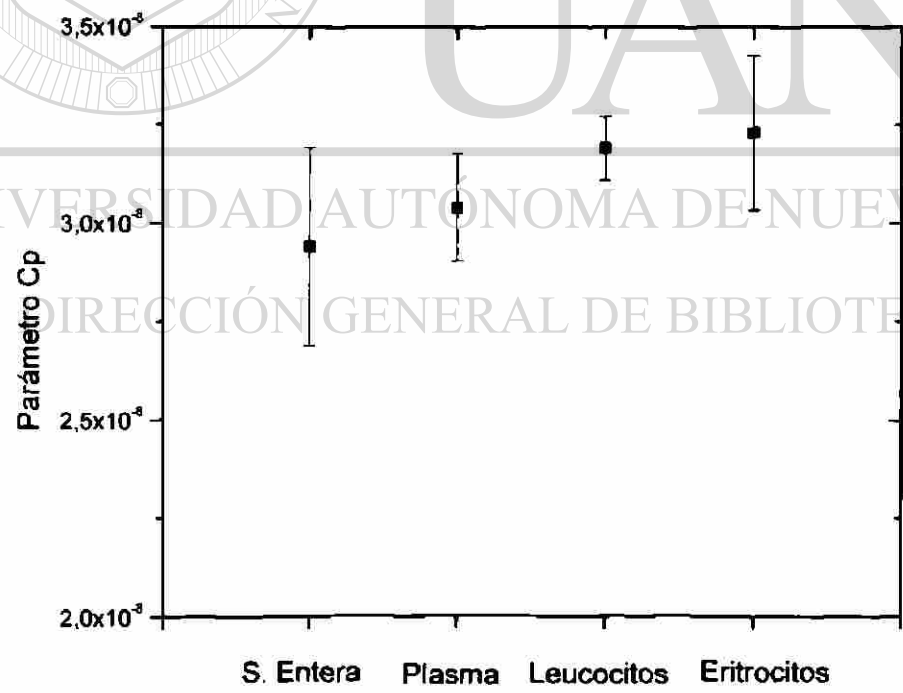


Figura 6.23 Correlación de los componentes de la sangre y sangre entera para el parámetro Cp.

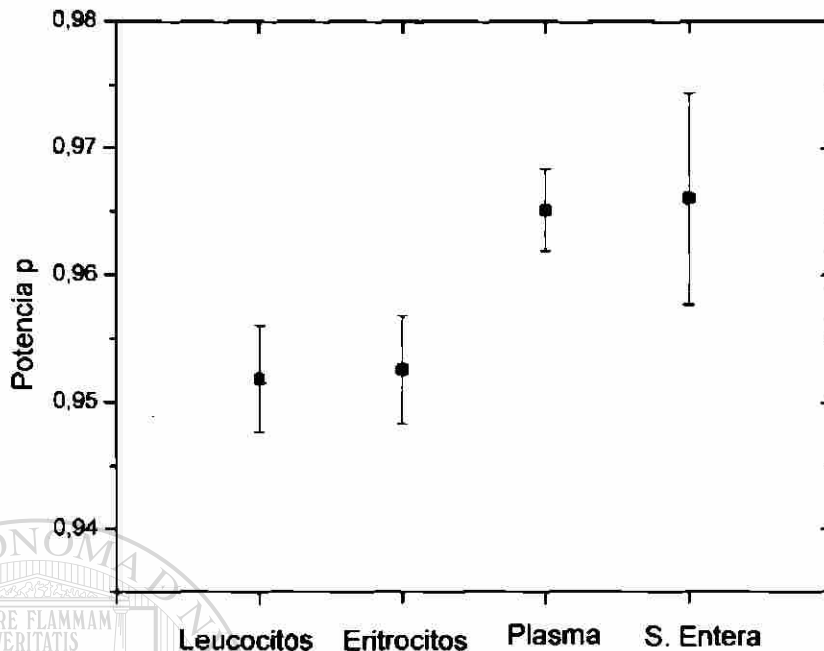


Figura 6.24 Correlación de los componentes de la sangre y sangre entera para el parámetro p.

De las gráficas anteriores se observa que la sangre entera puede presentar semejanza en sus propiedades eléctricas con un componente específico, por ejemplo, cuando se compara el valor de la resistencia en paralelo o bien la potencia p, en el eritrocito y la sangre entera pueden tenerse valores iguales, pero no así para los otros componentes. Cuando se compara la resistencia en serie el valor que toma en el plasma puede ser semejante al de la sangre entera. Si se mide el módulo de la impedancia total Z_{total} , puede resultar sin algún valor característico significativo para cualquier componente o sangre entera, por esto no es muy confiable, tomándose en cuenta las características de los elementos que lo conforman.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Muestras especiales

Una forma de saber si los parámetros eléctricos determinados para sangre entera así como de sus componentes principales (plasma, eritrocitos, y leucocitos) tienen alguna aplicación con valor de diagnóstico preliminar, se realizaron estudios con muestras tomadas de pacientes con alguna afección no contagiosa (sin riesgo en la parte experimental).

Muestras con anticuerpos al EDTA

Se analizaron varias muestras de sangre entera y de los componentes sanguíneos de una persona con reacción al anticoagulante EDTA. La persona generaba anticuerpos para el EDTA presentando una alta respuesta inmunológica, con esto el nivel de glóbulos blancos era elevado. Las gráficas de la figura 6.25 son una comparación entre sangre entera normal en color negro y la sangre entera con los anticuerpos en rojo.

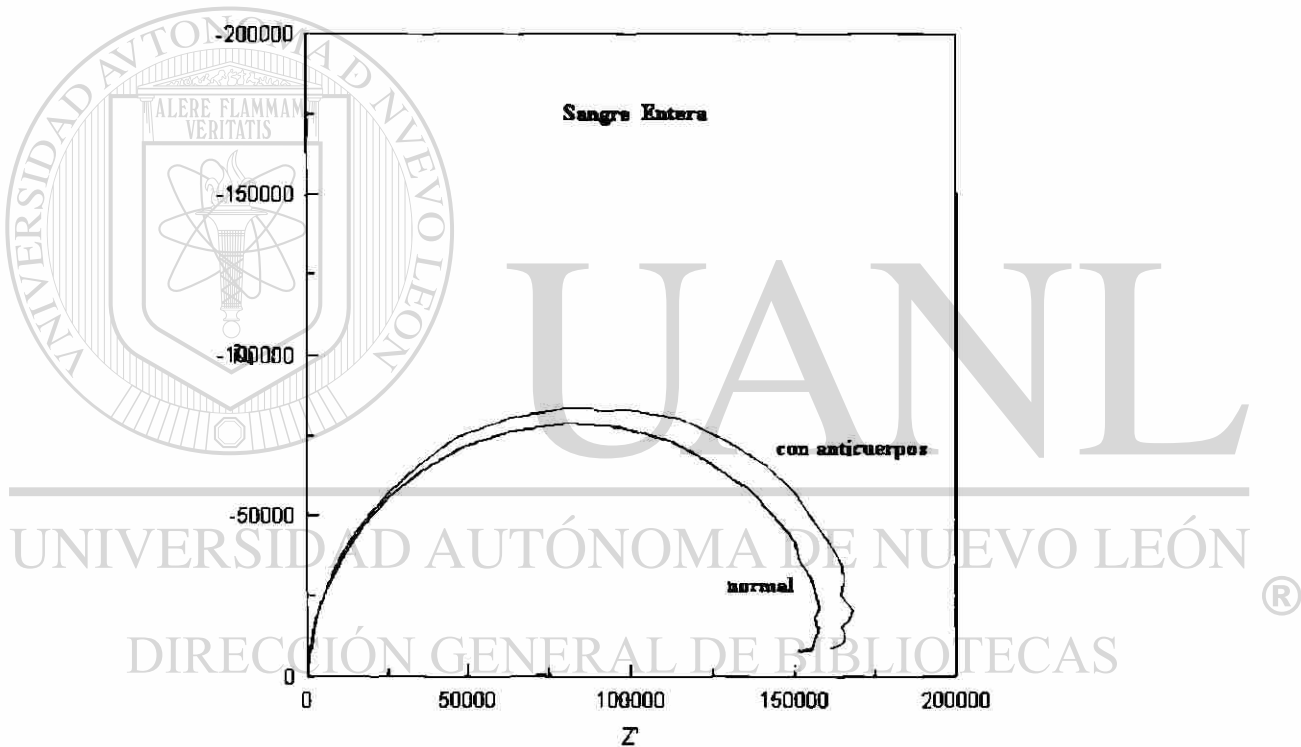


Figura 6.25 Comparación de las curvas de impedancia de sangre entera normal y sangre entera con reacción de anticuerpos al EDTA

Las curvas de la figura 6.25 no pueden compararse porque no hay una diferencia significativa, cuando consideramos los valores de los parámetros en la tabla 6.1 para sangre entera en las muestras con anticuerpos y los valores normales de la tabla 6.2 se observa que los datos de la muestra especial caen en el rango de los valores normales. Por lo tanto necesitamos hacer un estudio de los componentes para determinar una posible característica que nos permita percibir la anomalía presentada en estas muestras.

Las gráficas de la figura 6.26 son una comparación entre los componentes de la sangre normal en color negro (eritrocitos, leucocitos y plasma), y los de la muestra con respuesta inmunológica en rojo.

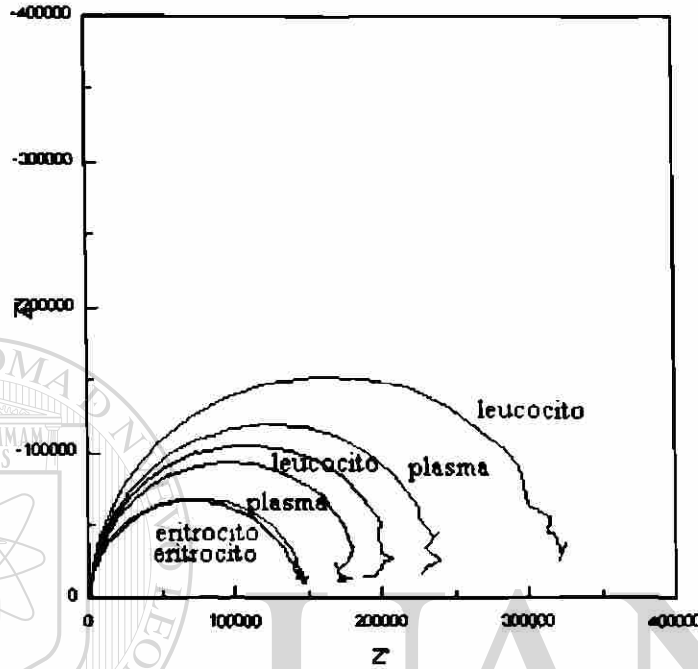


Figura 6.26 Comparación de las curvas de impedancia de los componentes de la sangre normal (color negro) y de los componentes de la sangre con anticuerpos al EDTA (color rojo).

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

Se aprecia notablemente el aumento en el radio de la curva para el plasma y los leucocitos, esto provoca un cambio en los valores de los parámetros eléctricos del modelo de Cole-Cole, debido a que en estos componentes se concentra la respuesta inmunológica, son un monitor para este tipo de afección. Fisiológicamente se tiene, por un lado el aumento en el número de células blancas y por otro lado como ya se mencionó en el capítulo II, hay un aumento en la cantidad de proteínas inmunológicas (inmunoglobulinas, citoquinas y proteínas de complemento) en el plasma debido a la respuesta inmunológica. La gráfica que corresponde al componente eritrocito es similar a la que presenta una persona apta para donación, esto se debe a que no se ve afectado significativamente este componente con la presencia de los anticuerpos. La comparación entre las gráficas de plasma y leucocitos evidencian una anomalía en las muestras del paciente con anticuerpos al EDTA y los valores de los parámetros lo pueden confirmar.

El análisis de las curvas para las muestras de la persona con anticuerpos para EDTA proporciona los siguientes parámetros eléctricos:

Tabla 6.1 Muestras con anticuerpos para EDTA

Parámetro	Sangre entera	Leucocitos	Plasma	Eritrocitos
$\overline{R_p}$	$(177 \pm 1)K\Omega$	$(325 \pm 3.3)K\Omega$	$(254 \pm 2)K\Omega$	$(150 \pm 2)K\Omega$
$\overline{R_s}$	$467 \pm 12\Omega$	$384 \pm 3\Omega$	$391 \pm 3\Omega$	$486 \pm 5\Omega$
$\overline{C_p}$	$(2.99 \pm 0.03) \times 10^{-8}$	$(3.05 \pm 0.04) \times 10^{-8}$	$(3.12 \pm 0.04) \times 10^{-8}$	$(3.29 \pm 0.08) \times 10^{-8}$
\overline{p}	0.965 ± 0.001	0.962 ± 0.001	0.961 ± 0.001	0.954 ± 0.003

Tabla 6.2 Valores normales de los parámetros eléctricos para personas aptas a donación:

Parámetro	Sangre entera	Leucocitos	Plasma	Eritrocitos
$\overline{R_p}$	$(156 \pm 48)K\Omega$	$(219 \pm 11)K\Omega$	$(222 \pm 22)K\Omega$	$(134 \pm 17)K\Omega$
$\overline{R_s}$	$451 \pm 58\Omega$	$354 \pm 17\Omega$	$432 \pm 30\Omega$	$576 \pm 24\Omega$
$\overline{C_p}$	$(2.94 \pm 0.25) \times 10^{-8}$	$(3.19 \pm 0.01) \times 10^{-8}$	$(3.04 \pm 0.14) \times 10^{-8}$	$(3.23 \pm 0.19) \times 10^{-8}$
\overline{p}	0.966 ± 0.008	0.952 ± 0.002	$0.965 \pm .003$	0.952 ± 0.004

Como se puede apreciar en las tablas 6.1 y 6.2 el parámetro R_p tanto en leucocitos como en plasma cae fuera de los rangos establecidos anteriormente para la población de personas aptas a donación. En la gráfica 6.27 se percibe notablemente un aumento en el valor de R_p para leucocitos siendo lógico el resultado porque se tiene una densidad mayor de leucocitos que contribuyen a este valor. En el caso de plasma también se observa un ligero aumento en R_p que está fuera de los rangos normales. Sin embargo cuando se compara sangre entera o eritrocitos, los valores de los parámetros eléctricos están dentro de los valores normales.

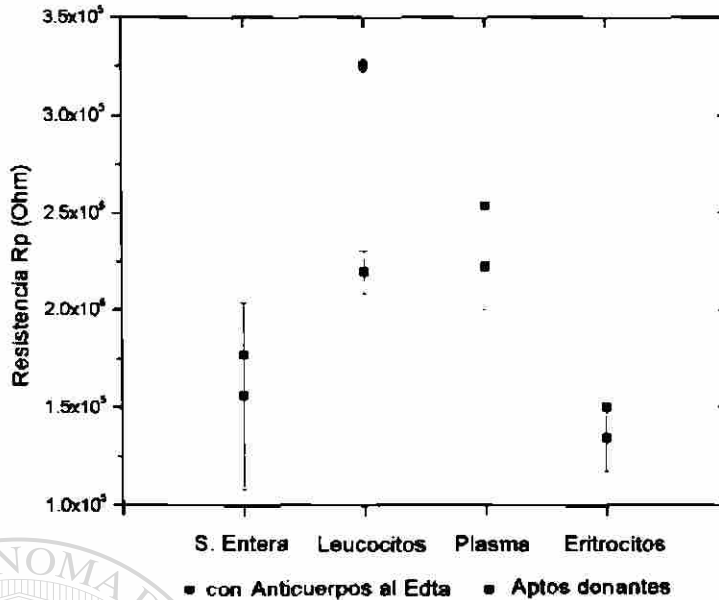


Figura 6.27 Gráfica comparativa de los valores del parámetro Rp para los componentes de la sangre y sangre entera de muestras aptas para donación (color negro) y de muestras con anticuerpos al EDTA (color rojo).

En la gráfica comparativa del parámetro Rs (figura 6.28) se tiene una disminución significativa para eritrocitos y moderada para plasma quedando el valor fuera de rango en ambos casos. En leucocitos y sangre entera el valor de Rs está dentro de los límites aceptables.

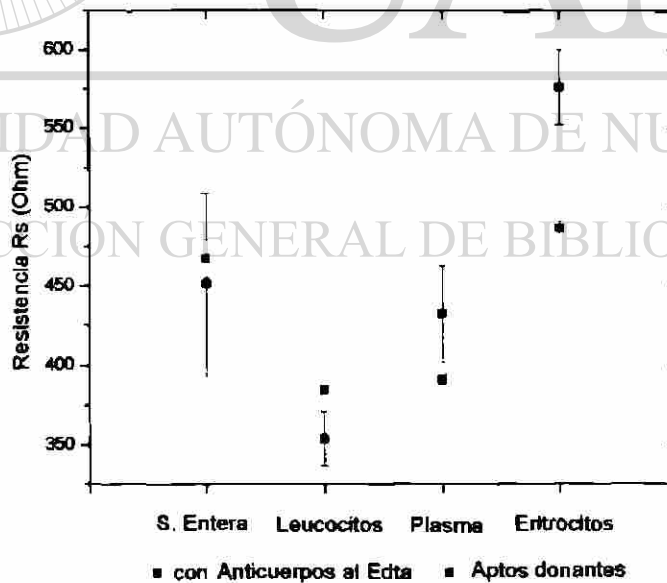


Figura 6.28 Gráfica comparativa de los valores del parámetro Rs para los componentes de la sangre y sangre entera de muestras aptas para donación (color negro) y de muestras con anticuerpos al EDTA (color rojo).

En la grafica comparativa del parámetro Cp (figura 6.29) y del parámetro p (figura 6.30) se muestra una vez más la diferencia clara en este valor cuando se comparan leucocitos normales y con los correspondientes a la respuesta inmunitaria.

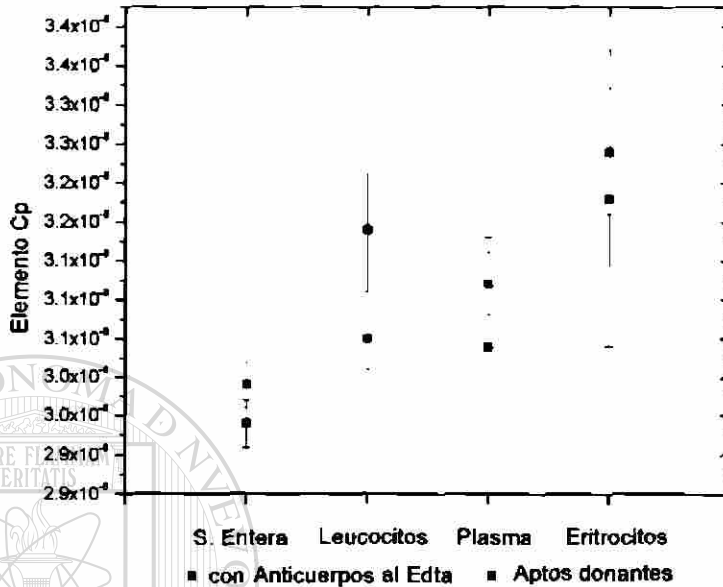


Figura 6.29 Gráfica comparativa de los valores del parámetro Cp para los componentes de la sangre y sangre entera de muestras aptas para donación (color negro) y de muestras con anticuerpos al EDTA (color rojo).

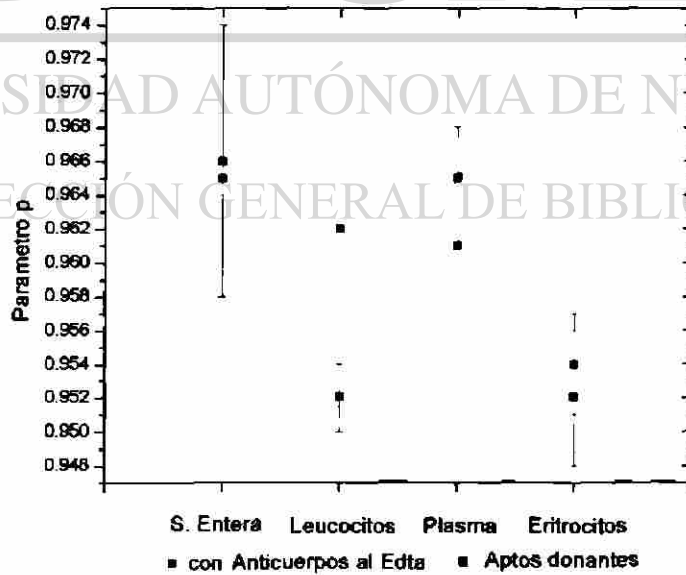


Figura 6.30 Gráfica comparativa de los valores del parámetro p para los componentes de la sangre y sangre entera de muestras aptas para donación (color negro) y de muestras con anticuerpos al EDTA (color rojo).

Muestras con leucemia

Se analizaron varias muestras de sangre entera y de los componentes sanguíneos (plasma y eritrocitos) de una persona con leucemia. La gráfica de la figura 6.31 hace una comparación entre sangre entera normal en color negro y la sangre entera con leucemia en rojo.

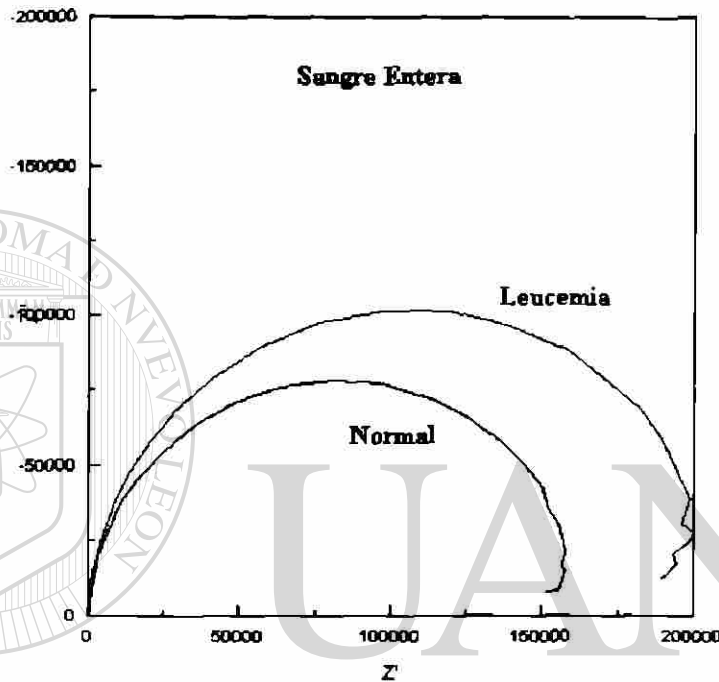


Figura 6.31 Comparación de las curvas de impedancia de sangre entera normal (color negro) y sangre entera con leucemia (color rojo).

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Las curvas de la figura 6.31 pueden compararse porque hay una diferencia significativa, cuando consideramos los valores de los parámetros en la tabla 6.3 para sangre entera en las muestras con leucemia y los valores normales de la tabla 6.2, se observa que solo el valor R_p de la muestra especial cae fuera del rango normal. Aunque es posible considerar R_p para caracterizar una anomalía de este tipo, un análisis más completo se puede hacer si se tienen los valores de los parámetros de cada componente.

La gráfica de la figura 6.32 hace una comparación entre los componentes de la sangre normal en color negro (eritrocitos, leucocitos y plasma), y los de la muestra con leucemia en rojo.

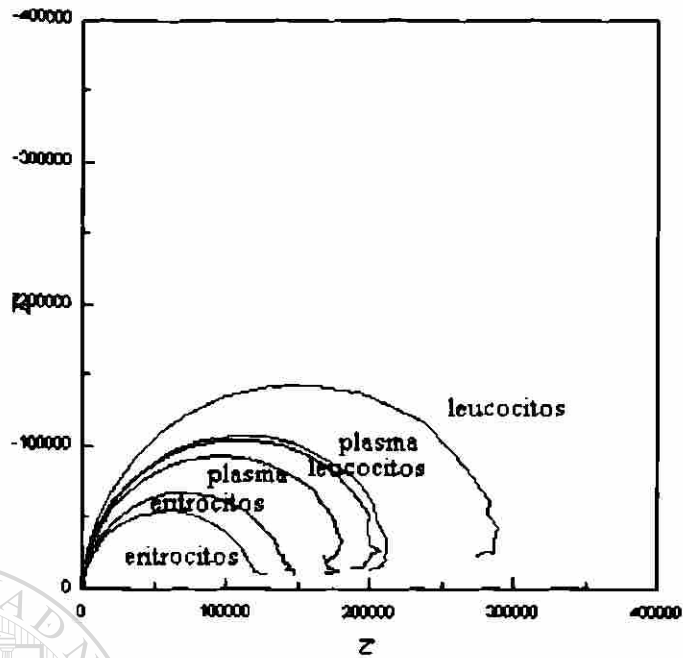


Figura 6.32 Comparación de las curvas de impedancia de los componentes de la sangre normal (color negro) y de los componentes de la sangre con leucemia (color rojo).

Este tipo de padecimiento se caracteriza por un aumento en la cantidad de leucocitos, conteo bajo de eritrocitos, bajo porcentaje de hematocrito y conteo bajo de plaquetas. En la grafica (figura 6.32) se observa nuevamente como el radio de las curvas de leucocitos y plasma aumenta, indicando una similitud con la respuesta inmunitaria analizada en el caso anterior, de hecho el aumento de los glóbulos blancos y proteínas inmunológicas es la característica similar. También se tiene una pequeña disminución en el radio de la curva de eritrocitos.

El análisis de las curvas para las muestras de la persona con leucemia proporciona los siguientes parámetros eléctricos:

Tabla 6.3 Muestras con leucemia

Parámetro	Sangre entera	Leucocitos	Plasma	Eritrocitos
\bar{R}_p	$(215 \pm 1)K\Omega$	$(298 \pm 9.7)K\Omega$	$(212 \pm 1)K\Omega$	$(115 \pm 1)K\Omega$
\bar{R}_s	$415 \pm 12\Omega$	$364 \pm 31\Omega$	$410 \pm 6\Omega$	$549 \pm 10\Omega$
\bar{C}_p	$(3.05 \pm 0.03) \times 10^{-8}$	$(3.19 \pm 0.08) \times 10^{-8}$	$(3.00 \pm 0.02) \times 10^{-8}$	$(3.27 \pm 0.03) \times 10^{-8}$
\bar{p}	0.967 ± 0.001	0.952 ± 0.004	0.966 ± 0.001	0.961 ± 0.001

Tabla 6.2 Valores normales de los parámetros eléctricos para personas aptas a donación:

Parámetro	Sangre entera	Leucocitos	Plasma	Eritrocitos
$\overline{R_p}$	$(156 \pm 48)K\Omega$	$(219 \pm 11)K\Omega$	$(222 \pm 22)K\Omega$	$(134 \pm 17)K\Omega$
$\overline{R_s}$	$451 \pm 58\Omega$	$354 \pm 17\Omega$	$432 \pm 30\Omega$	$576 \pm 24\Omega$
$\overline{C_p}$	$(2.94 \pm 0.25) \times 10^{-8}$	$(3.19 \pm 0.01) \times 10^{-8}$	$(3.04 \pm 0.14) \times 10^{-8}$	$(3.23 \pm 0.19) \times 10^{-8}$
$\overline{\rho}$	0.966 ± 0.008	0.952 ± 0.002	$0.965 \pm .003$	0.952 ± 0.004

Como se puede apreciar en las tablas 6.3 y 6.2 el parámetro R_p nuevamente resulta importante en la comparación entre los componentes sanguíneos para muestras normales y con alguna afección, de la gráfica 6.33 se observa que el valor de R_p para la muestra con leucemia cae fuera de los rangos establecidos anteriormente para la población de personas aptas para donación. En la grafica de la figura 6.33 se percibe notablemente un aumento en el valor de R_p para leucocitos, siendo lógico el resultado ya que se tiene una densidad mayor de leucocitos que contribuyen a este valor (capítulo III). En el caso de plasma también se observa un ligero aumento en R_p que está fuera de los rangos normales. Sin embargo cuando se compara sangre entera o eritrocitos, los valores de los parámetros eléctricos están dentro de los valores normales.

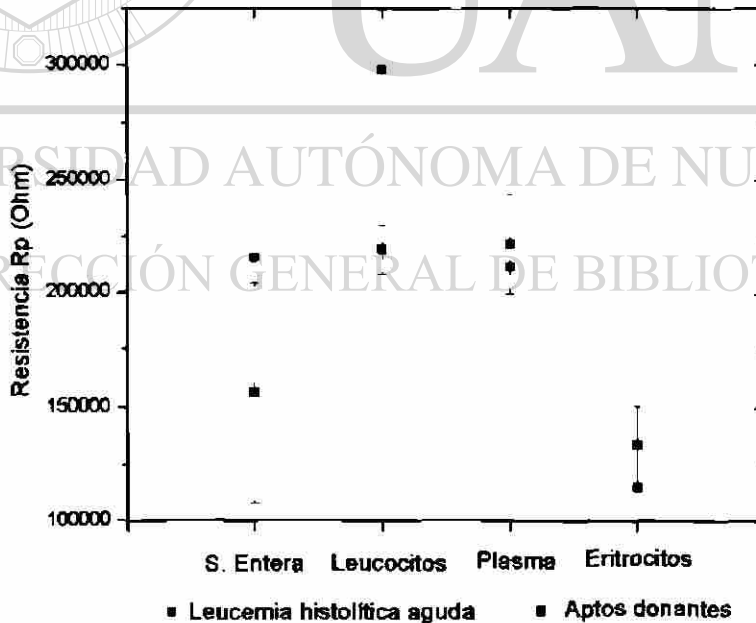


Figura 6.33 Gráfica comparativa de los valores del parámetro R_p para los componentes de la sangre y sangre entera de muestras aptas para donación (color negro) y de muestras con leucemia (color rojo).

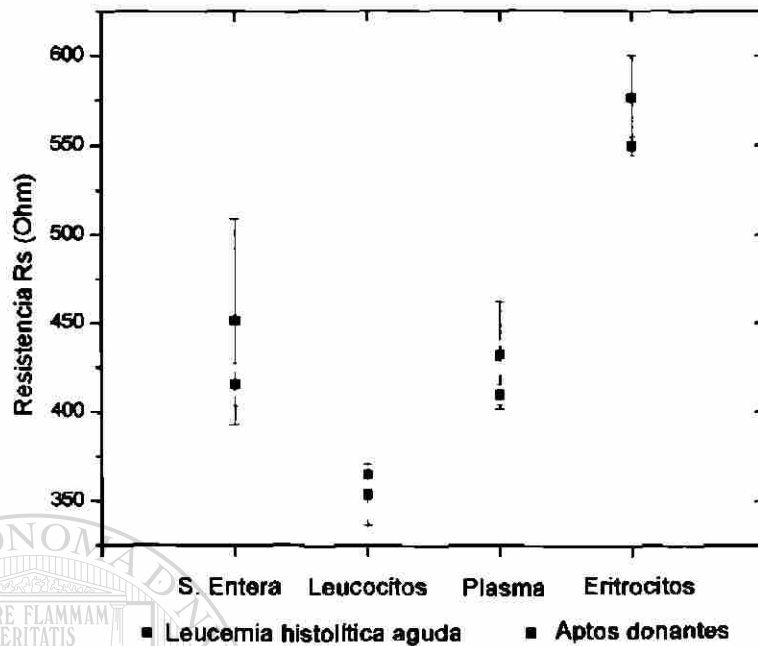


Figura 6.34 Gráfica comparativa de los valores del parámetro R_p para los componentes de la sangre y sangre entera de muestras aptas para donación (color negro) y de muestras con leucemia (color rojo).

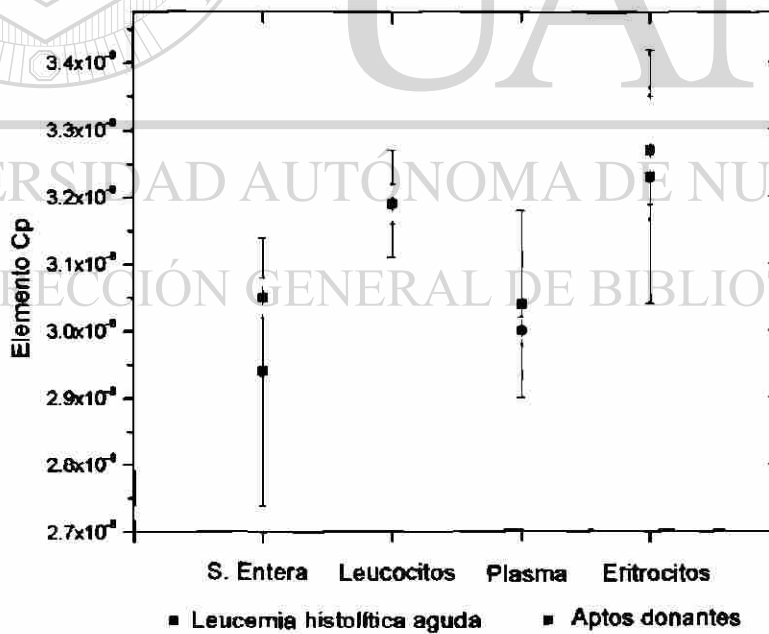


Figura 6.35 Gráfica comparativa de los valores del parámetro R_p para los componentes de la sangre y sangre entera de muestras aptas para donación (color negro) y de muestras con leucemia (color rojo).

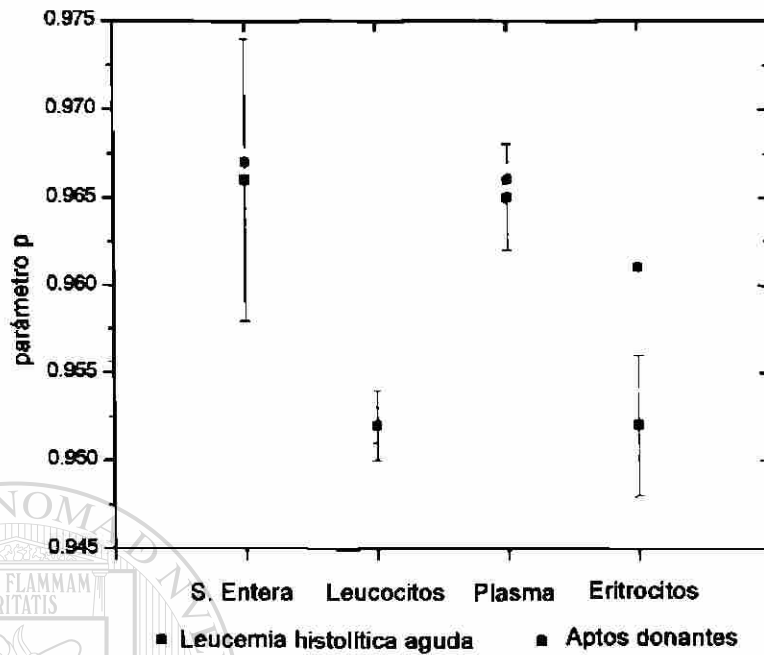


Figura 6.36 Gráfica comparativa de los valores del parámetro R_p para los componentes de la sangre y sangre entera de muestras aptas para donación (color negro) y de muestras con leucemia (color rojo).

Conclusiones del análisis realizado a las muestras especiales por la EI

El estudio preliminar del análisis realizado a muestras de pacientes con alguna anomalía en el fluido sanguíneo permite establecer una comparación entre los parámetros eléctricos del modelo Cole-Cole y en base a esto poder distinguir que los parámetros que salen de rango muy posiblemente estén en relación directa con la afección. Existen dos parámetros que pueden ayudar a diferenciar en estos casos a muestras normales y muestras con un aumento en el número de leucocitos, los valores de R_p y p en las gráficas comparativas de las figuras 6.27, 6.30, 6.33 y 6.36 demuestran que no cumplen con los rangos obtenidos para personas aptas para donación (tabla 6.2)

Medición de los parámetros eléctricos vs. Temperatura

Se realizaron experimentos variando la temperatura para observar cuales eran los cambios en los parámetros eléctricos de sangre entera.

En la grafica de resistencia en paralelo vs. Temperatura se observa como disminuye exponencialmente a partir de los 21 grados Celsius y luego pasa por un estado meta estable, semejante al que se presenta cuando hay un cambio de fase. La grafica representa que a partir de una temperatura superior a los 37 grados Celsius la resistencia en paralelo empieza nuevamente a decrecer drásticamente.

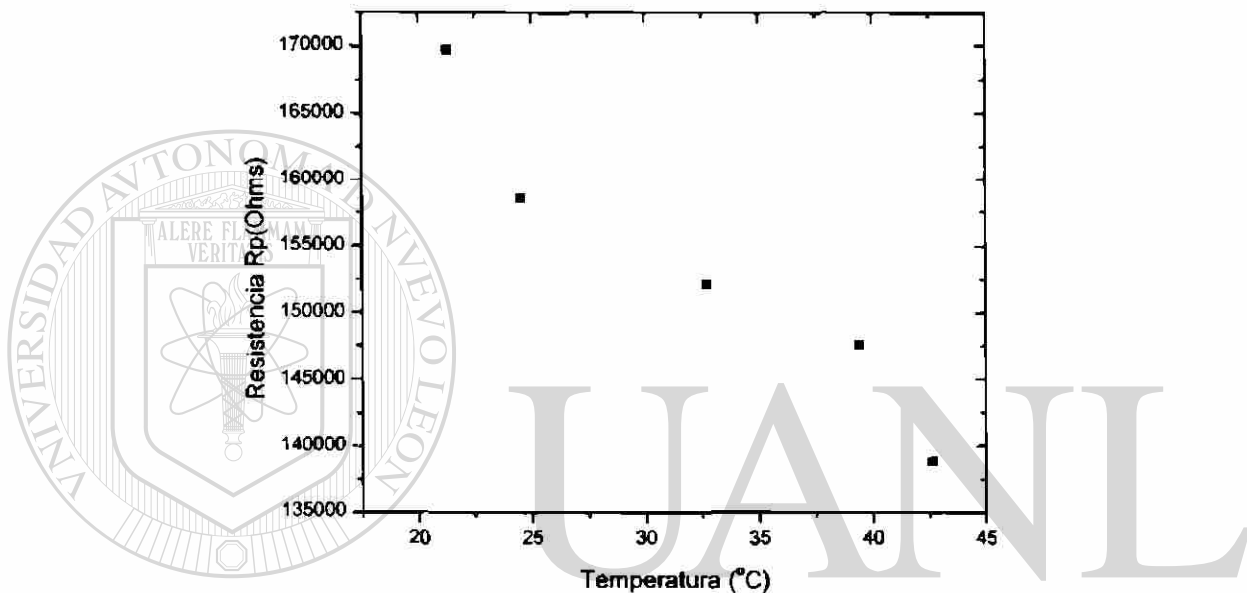


Figura 6.48 Comportamiento de Rp al modificar la temperatura de la muestra de 22 a 42 grados Celsius.

Es evidente que los parámetros del modelo eléctrico que representan al fluido cambian por efecto de la temperatura. La homeostasis tiene un papel fundamental en este proceso ya que los valores de resistencia en paralelo son estables para un rango de temperaturas entre 27 y 37 grados Celsius y además corresponden al valor obtenido en los estudios de EI para sangre entera:

$$\overline{R_p} = (156 \pm 22)K\Omega$$

Esto también nos proporciona un factor de confianza al saber que nuestro estudio se realizó dentro de los rangos de temperatura donde los valores son estables.

La grafica de la potencia (figura 6.49) parece ser la mas significativa en este experimento ya que muestra como el fluido en estudio empieza de ser un circuito eléctrico con un Cp que tiene una impedancia elevada a una potencia menor a la unidad, y evoluciona con la tendencia a convertirse en un capacitor ideal ya que su potencia tiende a uno rápidamente conforme aumenta la temperatura.

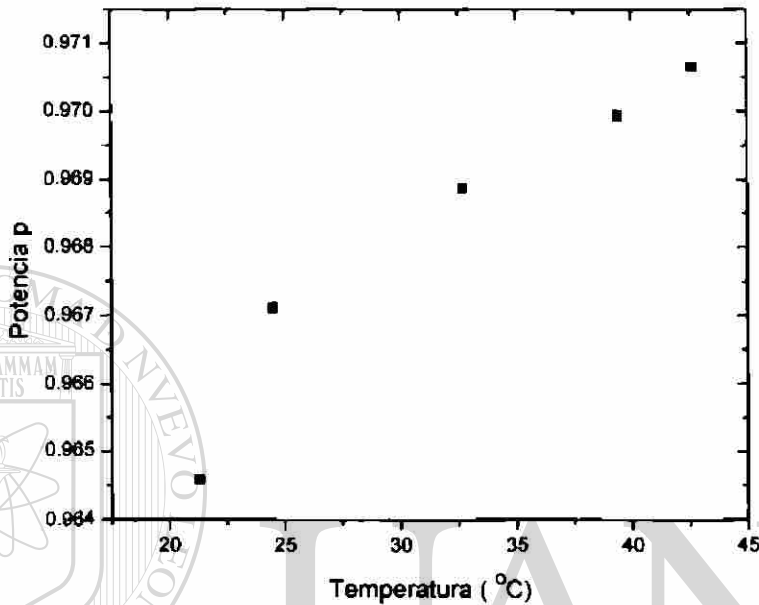


Figura 6.49 Comportamiento del parámetro p al modificar la temperatura de la muestra de 22 a 42 grados Celsius.

Por lo anterior las propiedades del capacitor son debidas a los electrolitos libres en el medio una vez que empieza la hemólisis. También en esta grafica se aprecia un estado metaestable del parámetro de potencia en el rango en donde lo presenta la resistencia en paralelo. Nuevamente esto representa un grado de confiabilidad de los valores obtenidos ya que fuera de el rango de temperaturas adecuadas los valores en los parámetros eléctricos empiezan a cambiar muy rápidamente con pequeñas variaciones en la temperatura, es importante remarcar que la sangre es uno de los tejidos mas especializados del cuerpo humano y sus rangos de trabajo (temperatura, pH, cantidad de gases disueltos, cantidad de glucosa, lípidos, etc) son extremadamente delicados. Cuando se trata de hacerse un estudio se deben mantener estos rangos para que los resultados sean de lo más confiables.

En el estudio para sangre entera se obtuvo:

$$\bar{p} = 0.966 \pm 0.003$$

La grafica del parámetro Cp vs. Temperatura revela que el Cp también se ve afectado significativamente después de los 40 grados Celsius, antes de esto los valores de Cp también caen en el rango obtenido para las muestras de sangre entera:

$$\overline{C_p} = (2.99 \pm 0.12) \times 10^{-4} \text{ F}$$

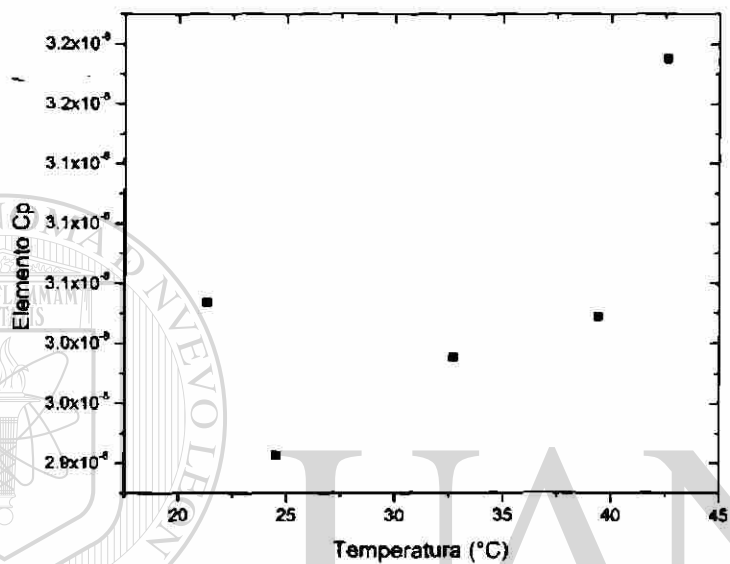


Figura 6.50 Comportamiento del parámetro Cp al modificar la temperatura de la muestra de 22 a 42 grados Celsius.

Perspectivas de estudio

La búsqueda de nuevos métodos de diagnóstico en sangre

Las propiedades eléctricas de los tejidos y células en solución han sido de interés en el último siglo por muchas razones. Por ejemplo estas propiedades determinan las trayectorias de los flujos de corriente a través del cuerpo. En general la conductividad eléctrica de los biomateriales depende de su estado funcional y, por consiguiente, puede utilizarse como indicador para diagnóstico. Así por ejemplo, durante la inflamación (cuando las células se hinchan), disminuye la sección de las juntas intracelulares, aumentando la resistencia eléctrica⁽²⁾; los fenómenos fisiológicos que provocan la hidrólisis vienen acompañados con el aumento de conductividad eléctrica de la piel.

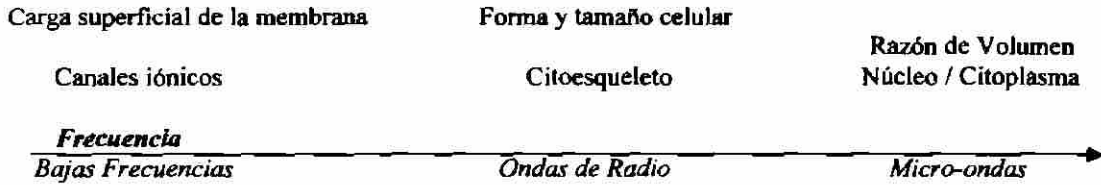
La investigación en el campo de la espectroscopía de impedancia eléctrica así como dieléctrica lineal y no lineal, para el estudio no invasivo de la química y de la enzimología de las membranas de células animales, resulta de mucha importancia para aumentar la comprensión de los procesos físico-químicos de células eucariotas simples (eritrocito humano) y complejas (célula animal). Esto proporcionará métodos mas completos y nuevos para estudiar la fisiología de la célula, abriendo el panorama en la parte de diagnóstico. Por ejemplo el monitoreo de la glucosa por medio del sistema no invasivo de la espectroscopía de impedancia eléctrica trabajando en el rango de frecuencias de 10^6 a 10^8 Hz por efecto de dispersión del campo electromagnético⁽¹⁾. Los dispositivos diseñados para permitir a pacientes diabéticos inhalar, en vez de inyectar insulina, incorporan las tecnologías que se han desarrollado de los estudios dieléctricos entre enlaces proteicos por Schwan y Grant⁽¹⁾.

Actualmente está en desarrollo una nueva tecnología, llamada patología electrónica, en donde se describen objetivos que incluyen sustituir microscopía manual y manchas para detectar y para aislar las células anormales de los líquidos biológicos. Basados en estos mismos parámetros estructurales, la detección, la clasificación y el aislamiento de células patológicas, pueden ser alcanzados explotando sus características dieléctricas intrínsecas, utilizando arreglos de microelectrodos que se energizan para imponer fuerzas dielectroforeticas ante las células.

Dependiendo de la frecuencia del campo eléctrico aplicado, las características dieléctricas de células reflejan diversos aspectos de sus características estructurales, esto se debe a la dispersión dieléctrica que presentan cada una de las estructuras que componen a la célula (ver capítulo III). El siguiente esquema resume lo anterior.

PATOLOGÍA ELECTRÓNICA
 Las Características Dieléctricas Reflejan La Estructura De la Célula

Morfología de la membrana
 (dobles, microvellosidades,
 Integridad de la membrana)



Caracterización de tejidos cancerosos

Es conocido que la morfología de los tejidos cancerosos es diferente a la de los tejidos sanos. Este hecho da pie a pensar que la espectroscopia de impedancia eléctrica puede ser una herramienta útil en la caracterización de estos tejidos, ya que estas diferencias pueden inducir cambios en sus propiedades eléctricas. En la bibliografía se pueden encontrar trabajos que hacen referencia al estudio, mediante medidas tanto in-vitro como in-vivo, de la detección de tumores, haciendo hincapié, sobre todo, en el estudio del cáncer de mama, al ser ésta una aplicación clínica potencialmente muy importante.

La tendencia en los últimos trabajos presentados sobre el tema es el empleo, no sólo de la variación del módulo de la impedancia, sino también del estudio de la evolución de la fase o de los dos comportamientos mediante la modelización con arcos de Cole-Cole. Jossinet⁽⁴⁾ en 1985 comprobó que el espectro de fase es una herramienta más significativa que la variación del módulo para realizar su caracterización. Desde 1992, muchos son los trabajos presentados sobre el tema^(5,6,7), que utilizan la parametrización de Cole-Cole en la caracterización y diferenciación de los tejidos cancerosos, llegando a la conclusión, que dichos parámetros permiten su diferenciación respecto a los tejidos normales.

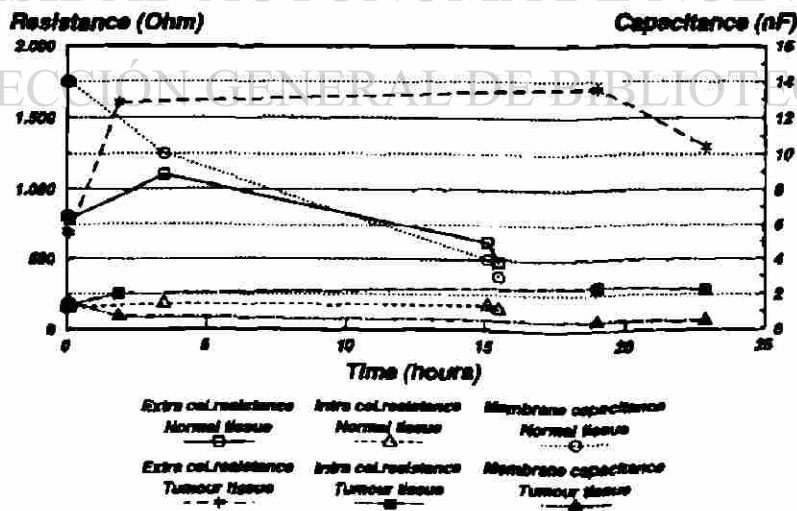


Figura 6.70 Evolución temporal de los parámetros eléctricos del modelo Cole-Cole en tejido normal y tumoral.

La gráfica anterior (figura 6.70) muestra la diferenciación paramétrica (R_p y C_p) del tejido normal y tumoral⁽⁶⁾. El paso a la caracterización de los tumores mediante medidas in-vivo es dificultoso, siendo complicado controlar que la medida se realice sólo sobre el volumen ocupado por el tumor, ya que para que la medida tenga utilidad desde el punto de vista de prevención, el tamaño del tumor ha de ser aún reducido. Además en Chaveau⁽⁸⁾ et al., 1995 se presentan las limitaciones existentes para conseguir una buena reproducibilidad en las medias. Al igual que en las medidas in-vitro, es la modelización de Cole, la herramienta más utilizada en los últimos trabajos presentados para su caracterización.

Caracterización del nivel de isquemia en tejidos

El primer grupo que presentó la espectroscopia de impedancia eléctrica como una técnica capaz de cuantificar el nivel de isquemia fue de la universidad de Göttingen. Sus trabajos empezaron en la década de los 80, con la caracterización in-vitro de la isquemia del tejido miocárdico^(9,10,11). Ya en la década de los 90, extendieron al uso de la espectroscopia de impedancias a la caracterización del tejido hepático⁽¹²⁾. En sus medidas, realizadas en el dominio de frecuencia de 0.1 Hz a 10 MHz, sobre corazón canino e hígado porcino, se demostró la correlación existente entre los cambios en el nivel de impedancia y el grado de isquemia. En estos trabajos no se presenta tan sólo las modificaciones que sufre el espectro de frecuencia en su evolución temporal sino también posibles modelos eléctricos que ayudan a la comprensión de los procesos fisiológicos que inducen estos cambios.

En los últimos años, otros grupos se han incorporado al estudio de este tema con diferentes contribuciones. R. Bragós⁽¹³⁾ ha estudiado el miocardio de un modelo porcino, caracterizando y modelando espectralmente la evolución temporal de la isquemia, concluyendo que la fase es la magnitud más robusta para su caracterización. También se ha caracterizado otros tejidos, como el muscular, estudiando la evolución de su isquemia⁽¹⁴⁾ para su aplicabilidad en cirugía estética y reparadora o su comportamiento frente a los diferentes niveles de radiación que puede sufrir en un tratamiento de radioterapia⁽¹⁵⁾.

La recopilación bibliográfica de medidas experimentales sobre tejidos nos muestra la necesidad de completarla mediante un estudio que conlleve la realización de medidas in vivo e in-situ que nos permitan caracterizar los diferentes tejidos y su evolución isquémica, para obtener información acerca de los márgenes que podemos encontrar en sus valores de impedancia o en los parámetros que les caracterizan.

La caracterización de los parámetros dieléctricos naturales de células pueden conducir a una comprensión mejor de la estructura y de la función celulares.

Proteínas

Los análisis estructurales y teóricos de proteínas son centrales a la comprensión de mecanismos moleculares complejos y son fundamentales al proceso del descubrimiento de nuevos medicamentos. El papel central de interacciones electrostáticas con respecto a la función, a la estructura y a la estabilidad de la proteína se han investigado y algunas características electrostáticas se pueden modelar teóricamente.

Aunque en la coagulación de la sangre están implícitas más de 30 proteínas que trabajan específica y recíprocamente con varios grados de afinidad, la regulación y el impacto de mutaciones en este proceso requieren el desarrollo de nuevas terapias y de herramientas de diagnóstico para comprensión fundamental de mecanismos moleculares y del plegamiento de proteínas.

Otra importante proteína es la Albúmina, que es el 50-60 % del total de la proteína plasmática, que su carga eléctrica negativa le capacita como un gran transportador de inespecífico de hormonas, iones, fármacos,

Bibliografía

- [1] Polk, Postow, Handbook of Biological Effects of Electromagnetic Fields, Ed. CRC Press, N.Y., 1998
- [2] Remizov, Física Médica y Biología, Ed. MIR, Moscú,
- [3] Francis A. Duck, Physical properties of tissue A comprehensive reference book, Ed. Academic Press limited, 1990. London, U.K
- [4] Jossinet J., Lobel A., Michoulet C., J. Schmitt M., Biomed. Eng., Vol. 7, pp. 289-294, 1985, Quantitative technique for bioelectrical spectroscopy
- [5] McRae D. A., Esrick M. A., Phys. Med. Biol., Vol. 37, pp. 2045-2058, 1992, The dielectric parameters of excised EMT-6 tumours and their change during hyperthermia.
- [6] Blad, B., Baldetorp B., Physiological Measurement, Vol. 17, Suppl. 4, pp. A105-A115, 1996, Impedance spectra of tumor tissue in comparison with normal tissue, a posible clinical application for electrical impedance tomography.
- [7] Heintz J., Minet O., Proc. Of IX International Conference on Electrical Bioimpedance, Heidelberg. Alemania, pp. 356-359, 1995, Dielectric properties of female breast tumours
- [8] Chauveau, N. Dumont P., Aligne C., Rigaud B., Cros S., Morucci J. P., Proc. Of IX International Conference on Electrical Bioimpedance, Heidelberg. Alemania, pp. 215 – 219, 1995, In vivo impedance spectrometry of MCF-7 tumors in nude mice: Measurement problems and examples.
- [9] Gersing E., Preusse C. J., Gebhard M. M., Bretschneider H. J. Pflügers Arch. Ges. Physiol. Europ. J. Physiol., p. 381, R2, 1981, Use of electric impedance spectroscopy for survives of the myocardial ischemic stress.
- [10] Preusse c. J., Gersing E., Gebherd M. M., Ponizy A., Schnabel A., Bretschneider H.J. Thorac. Cardiovasc. Surg., Vol. 30 (special issue), p. 18, 1982, Intraoperative atraumatic monitoring of myocardial revivability by continuous or intermittent measurement of electrical impedance of the Herat
- [11] Schnabel A., Gebhard M. M., Gersing E., Preusse L. J., Ulbricht Th., Pomykaj J., Tichter J., Schwartz P., Speickermann B., Bretschneider H. J., Evaluation of alterations in

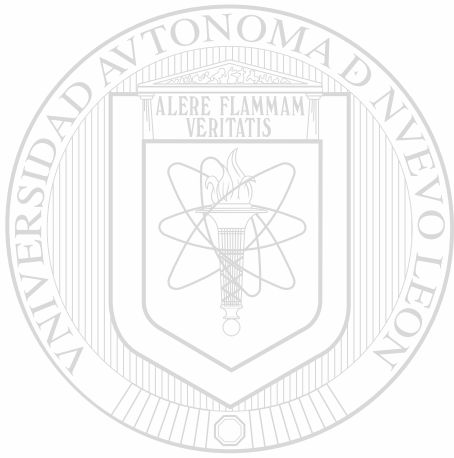
ischemically stressed myocardium by electron microscopy and electric impedance spectroscopy.

[12] Gersing E., Hoffmann B., Hehrer G., Pottel R., *Innovation and Technology in Biology and Medicine*, Vol. 16, No. 6, pp. 672-678, 1995, Modelling based on tissue structure – The example of porcine liver.

[13] Bragós R. Tesis doctoral. Universitat Politècnica de Catalunya. Barcelona. 1997, Contribució a la caracterització de teixits i sistemes Biològics mitjançant tècniques d'espectroscòpia d'impedància elèctrica.

[14] Ristic B., Kun S., Peura R. A., Proc. XIX International Conference –IEEE/EMBS, Chicago, pp. 2108-2111, 1997, Muscle tissue ischemia monitoring using impedance spectroscopy: Quantitative results of animal studies.

[15] Osterman K. S., Paulsen K. D., Hoopes P. J., Hartov A., Jones S. B., Proc. X International Conference on Electrical Bioimpedance, Barcelona, pp. 41-44, 1998, Application of linear circuit models to impedance spectra in irradiated muscle



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Apéndice A Dieléctricos

Dieléctricos en un campo eléctrico externo

El término dieléctrico para los materiales lo introdujo Michael Faraday para designar las sustancias a través de las cuales penetran los campos eléctricos, a diferencia de los metales en cuyo interior no hay campo electrostático. En general se denomina material dieléctrico a los cuerpos que no conducen corriente eléctrica en condiciones normales, sin embargo cuando se cambian las condiciones externas (calentamiento, campo eléctrico, radiactividad, etc.) el dieléctrico puede conducir una corriente eléctrica. De hecho el cambio del estado del dieléctrico al colocarlo en un campo eléctrico se puede explicar por su estructura molecular, según la cual los materiales dieléctricos pueden clasificarse en tres clases:

- 1.- Dieléctricos con moléculas polares
- 2.- Dieléctricos con moléculas no polares
- 3.- Dieléctricos cristalinos

Brevemente analizaremos cada una de estas clases

Dieléctricos con moléculas polares

las sustancias como el agua, nitrobenzono y muchos ácidos tienen estructura molecular asimétrica, entonces los centros de masa de sus cargas positiva y negativa no coinciden, por lo cual poseen una separación de estas cargas, este comportamiento produce que sean polares y se dice que tienen un momento bipolar eléctrico que las caracteriza ($p = q l$), incluso sin campo eléctrico externo posee polarización en sus moléculas pero no están orientadas preferentemente (la sustancia no está polarizada, solo sus moléculas). Cuando se aplica un campo eléctrico externo se observa como las moléculas se orientan y entonces se polariza toda la sustancia, aunque en la realidad la polarización no es total debido al movimiento térmico-molecular.

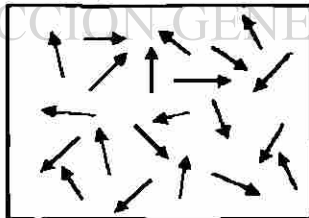


Figura A.1 En ausencia del campo eléctrico externo los momentos dipolares de las moléculas tienen orientación caótica y la suma vectorial de los momentos bipolares de todas las N moléculas es igual a cero

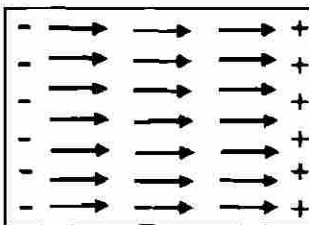


Figura A.2 Si el dieléctrico se coloca en un campo externo la alineación de los momentos dipolares no son totales por lo tanto la polarización total es menor a la ideal

Dieléctricos con moléculas no polares

A este grupo de dieléctricos pertenecen las sustancias cuyas moléculas, en ausencia del campo eléctrico, no poseen momentos dipolares (H_2 , O_2 , etc.), estas moléculas son simétricas, sin embargo cuando se someten a un campo eléctrico externo las cargas de diferente signo se desplazan en sentidos contrarios y la molécula adquiere un momento bipolar eléctrico de intensidad dependiente del campo aplicado.

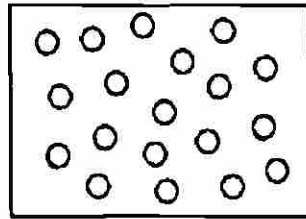


Figura A.3 Moléculas no polares en ausencia de campo eléctrico

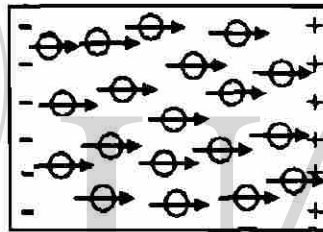


Figura A.4 Moléculas no polares en un campo eléctrico

Dieléctricos cristalinos

Son generalmente sales cristalinas cuyas redes se componen de iones positivos y negativos (por ejemplo: $NaCl$). El dieléctrico de este tipo se puede considerar como un conjunto de dos subredes una de las cuales lleva una carga positiva, y la otra negativa. En ausencia del campo eléctrico externo las subredes están dispuestas simétricamente y el momento bipolar eléctrico es cero. Si el dieléctrico se coloca en un campo eléctrico, las subredes se desplazarán en sentidos opuestos, y el dieléctrico adquirirá polarización.

La primera clase de dieléctricos es conocida como polarización dipolar o de orientación, para la segunda clase se llama polarización electrónica (o sea el desplazamiento de los electrones) y la tercera clase se conoce como polarización iónica. Estos tres procesos son una clasificación convencional, puesto que en un dieléctrico real pueden existir simultáneamente todos los tipos de polarización, por esta razón la medida de la polarización total de un material en presencia de un campo eléctrico unifica todos los procesos involucrados.

Dieléctricos biológicos

El estudio de las propiedades dieléctricas de materiales biológicos sigue siendo de gran interés. Al aplicar un campo eléctrico a cierto tejido (o a un sistema celular, molecular, etc.), la respuesta del tejido se nota en la permitividad eléctrica ϵ (densidad de carga) y en la conductividad σ (densidad de corriente). La respuesta de un material a un voltaje involucra el desplazamiento de carga y la cinética de este desplazamiento determina la dependencia a la frecuencia de la muestra. Algunos investigadores⁽¹⁾ mencionan que la respuesta a este estímulo pudiera deberse a efectos del tipo de *resonancia* ya que estos han observado efectos de este tipo (en particular en soluciones de DNA a frecuencias menores a los GHz); mientras que otros defienden la idea de una *relajación natural*, donde los efectos pueden ser descritos mediante una ecuación diferencial de primer orden; la discrepancia parece dar la razón a la relajación natural, ya que ese fenómeno de resonancia no ha sido confirmado por trabajos subsecuentes⁽¹⁾. Un ejemplo de la relajación natural para un caso simple de polarización es presentado por la ecuación:

$$D = D_{\alpha} + (D_0 - D_{\alpha})(1 - e^{-t/\alpha})$$

Donde D es la densidad de carga, D_{α} es la respuesta instantánea del sistema (en un proceso muy rápido), D_0 es la respuesta a un tiempo después de la aplicación de un estímulo al sistema. La constante de tiempo α depende del proceso físico involucrado: esta puede ser corta (de algunos picosegundos para dipolos moleculares reorientados) o larga (en el orden de segundos). El comportamiento de relajación dieléctrica puede ser convenientemente graficado sobre un plano complejo. Pueden ser empleadas diferentes gráficas para enfatizar los diferentes aspectos del comportamiento de relajación. A la frecuencia de relajación o frecuencia característica (f_c) la permitividad es la mitad entre los valores de las bajas y altas frecuencias; y es este valor el que determina el ápex del arco circular en las diferentes gráficas. De los métodos gráficos más empleados está el propuesto por Cole y Cole⁽¹⁾.

Varios son los fenómenos que se presentan al aplicarse un campo eléctrico a un tejido, el llamado *mecanismo de relajación dieléctrica* es el más importante. Son tres los procesos que involucra la relajación dieléctrica en tejidos: ***polarización interfacial, orientación bipolar y difusión iónica.***

Polarización interfacial. Si un material es eléctricamente heterogéneo, ocurre dispersión en las propiedades del material desde la carga hasta la interfase dentro del material. Este fenómeno no se presenta desde la relajación dieléctrica en la fase del material, pero es una consecuencia de las condiciones de frontera en los campos a la interfase entre fases. Estos efectos dominan en las propiedades dieléctricas de coloides y emulsiones.

Relajación bipolar. Este mecanismo es la orientación de dipolos.

Difusión iónica. Este mecanismo se presenta cuando dos superficies adyacentes se encuentran cargadas. La constante de tiempo para tales efectos es de la forma L^2/D , donde L es una longitud sobre la cual ocurre la difusión y D es un coeficiente de difusión (en contraste con los efectos de Maxwell-Wagner⁽¹⁾), donde la constante de tiempo es de la

forma RC ó $\epsilon\epsilon_0/\sigma$, donde $R(1/\sigma$ -conductividad-) es una resistencia y C ($\epsilon\epsilon_0$ -permitividad del materia y del vacío respectivamente-) representa la capacitancia. Este mecanismo es comúnmente dominante en sistemas biológicos a bajas frecuencias (por debajo de los KHz) mientras que los efectos Maxwell-Wagner son dominantes en el rango de las radiofrecuencias.

Estos mecanismos de relajación son los que se consideran para tener el desplazamiento de cargas, y es esta propiedad física aprovechada en la EI para hacer el análisis en la caracterización de sus propiedades eléctricas. Puesto que se obtiene el comportamiento en un rango de frecuencias del valor de la impedancia Z, la cual está relacionada con la frecuencia en un sistema biológico; las propiedades de conductividad y capacitivas de la muestra son obtenidas mediante el análisis de los datos.

Comportamiento en frecuencia: polarización y relajaciones en materiales dieléctricos

La propiedad más importante de los dieléctricos es la capacidad de polarizarse bajo la acción de un campo eléctrico exterior. Este fenómeno consiste en la variación de la posición en el espacio de las partículas eléctricamente cargadas, adquiriendo por tanto el dieléctrico un momento eléctrico. La polarización (P) coincide con la densidad superficial de cargas ligadas en el dieléctrico, siendo su relación con el campo (E) e inducción eléctrica (D) la siguiente:

$$\underline{D} = \epsilon_0 \underline{E} + \underline{P} = \epsilon \underline{E}$$

Como indica esta ecuación, hay una relación directa entre la polarización del dieléctrico y la variación de la permitividad del mismo. Existe, por tanto, una relación entre la expresión del cambio de la polarización y la de la permitividad ante una excitación senoidal de frecuencia ω . En las siguientes ecuaciones modelan este comportamiento⁽²⁾.

$$P^*(\omega) = P_\infty + \frac{P_s - P_\infty}{1 + j\omega\tau}$$

$$\epsilon^*(\omega) = \epsilon_\infty + \frac{\epsilon_s - \epsilon_\infty}{1 + j\omega\tau}$$

En ellas es, ϵ_s , P_s y ϵ_∞ , P_∞ son respectivamente la permitividad y polarización en continua y a frecuencia infinita y τ el tiempo de relajación. En este modelo se ha hecho la aproximación de dieléctrico perfecto. Si éste no lo fuera, existiendo corrientes de conducción para $\omega = 0$, es necesario añadir al modelo el efecto de la conductividad estática σ_s , quedando la expresión completa:

$$\epsilon^* = \epsilon_\infty + \frac{\epsilon_s - \epsilon_\infty}{1 + j\omega\tau} - \frac{j\sigma_s}{\omega\epsilon_0}$$

Siendo su representación, mediante diagramas de Bode y Nyquist, la que se muestra en la

Figura. Este desarrollo es idéntico para la expresión de la conductividad compleja, llegándose a la ecuación

$$\sigma^* = j\omega\epsilon_0\epsilon^* = \sigma_\infty + \frac{\sigma_s - \sigma_\infty}{1 + j\omega\tau} + j\omega\epsilon_0\epsilon_\infty$$

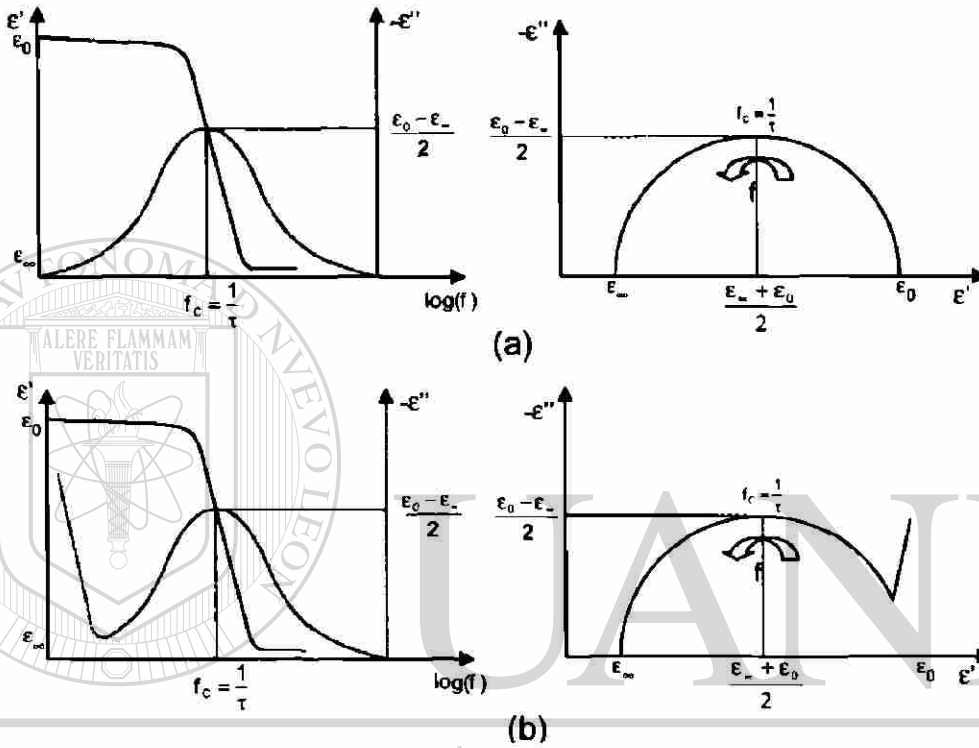


Figura A.5 Representaciones de la ecuación de Debye: (a) Diagramas de Bode y Nyquist para un dieléctrico perfecto y (b) considerando las pérdidas por corrientes de conducción.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

En general, no existe un único mecanismo de relajación. En una primera aproximación se puede considerar que si el dieléctrico tiene más de una constante de relajación y éstas están suficientemente separadas, $\tau_1 \ll \tau_2 \ll \tau_3$, respondiendo todas ellas a un comportamiento de primer orden, la permitividad se puede modelar con la expresión:

$$\epsilon^*(\omega) = \epsilon_\infty - \frac{j\sigma_s}{\omega\epsilon_0} + \frac{\Delta\epsilon_1}{1 + \omega\tau_1} + \frac{\Delta\epsilon_2}{1 + \omega\tau_2} + \frac{\Delta\epsilon_3}{1 + \omega\tau_3} + \dots = \epsilon' + j\epsilon''$$

Si estas constantes de tiempo no están suficientemente separadas, y vienen dadas por dispersiones dentro del mismo mecanismo que produce una determinada relajación, se tendrá una relajación dieléctrica más ancha, que cumplirá la expresión siguiente⁽³⁾.

$$\epsilon^* = \epsilon_\infty + (\epsilon_s - \epsilon_\infty) \int_0^\infty \frac{\rho(\tau)}{1 + j\omega\tau} d\tau$$

Donde $\rho(t)$ es la función de distribución normalizada de las constantes de tiempo.

Esta expresión permite describir cualquier dieléctrico, en ausencia de fenómenos de resonancia y suponiendo un comportamiento lineal. El problema es, para cada caso, encontrar la función de distribución adecuada. Se puede pensar en hallar una función que responda a los mecanismos físicos que se producen en el dieléctrico, pero este planteamiento acostumbra a dar soluciones matemáticamente muy complejas. La alternativa es encontrar alguna expresión sencilla que se ajuste a los datos experimentales encontrados. La solución de este tipo más utilizada en la bibliografía fue presentada por K.Cole y R.Cole⁽⁴⁾, que modelan la evolución de la permitividad como:

$$\epsilon^* = \epsilon_\infty + \frac{\epsilon_s - \epsilon_\infty}{1 + \left(j\frac{\omega}{\omega_c}\right)^{(1-\alpha)}} - \frac{j\sigma_s}{\omega\epsilon_0}$$

En esta expresión el parámetro α da idea del grado de dispersión de las constantes de tiempo asociadas al fenómeno de la relajación dieléctrica. Si $\alpha = 0$, indica que sólo hay una constante de tiempo y la expresión compleja de la permitividad coincide con la ecuación de Debye. La dispersión de las constantes de tiempo aumenta al hacerlo este parámetro, por esto nos da idea del grado de homogeneidad del dieléctrico. La ecuación que rige esta distribución de constantes, para el modelo de Cole-Cole es:

$$\rho(\tau) = \frac{1}{2\pi} \frac{\sin(\alpha\pi)}{\cosh\left[(1-\alpha)\ln\frac{\tau}{\tau_c}\right] - \cos(\alpha\pi)}$$

El parámetro f_c es la frecuencia ligada a la constante de tiempo media de esta distribución

$$f_c = \frac{1}{2\pi\tau_c}$$

De forma análoga es posible encontrar las expresiones que modelan el comportamiento de la conductividad

$$\sigma^* = \sigma_\infty + \frac{\sigma_s - \sigma_\infty}{1 + (-j\frac{\omega}{\omega_c})^{(1-\alpha)}} + j\omega\epsilon\epsilon_{\infty 0}$$

O la impedancia del dieléctrico

$$Z = R_\infty + \frac{R_0 - R_\infty}{1 + \left(j\frac{\omega}{\omega_c}\right)^{(1-\alpha)}}$$

Siendo posible utilizar cualquiera de estas dos ecuaciones para modelar el comportamiento de materiales dieléctricos

Cuando el medio estudiado es pasivo, isótropo y está libre de generadores independientes, la parte real e imaginaria de la conductividad compleja (o permitividad compleja) están relacionadas mediante las ecuaciones de Kramers-Kronig⁽⁵⁾. Ésta es una relación similar a la que se encuentra con las partes reales e imaginarias de la impedancia de circuitos pasivos de parámetros concentrados. Esto podría hacernos pensar en la posibilidad de medir únicamente uno de los dos componentes. Sin embargo, esto no es aplicable en la práctica debido al número finito de valores discretos medidos en un margen reducido de frecuencias. Las limitaciones del uso de las relaciones de Kramers-Kronig en datos experimentales de bioimpedancia se muestran en Riu y Lapaz⁽⁶⁾, 1998.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



Bibliografía

[1] Handbook of Biological Effects of Electromagnetic Fields

Polk, Postow. Ed. CRC Press

[2] Campos y Ondas

Ramo S., Whinnery J. R., Van Duzer T. , Ed. Piramide, Madrid 1965.

[3] Dielectric properties of tissues and biological materials: A critical review. Critical Reviews in Biomedical Eng. Vol. 17, No. 1, pp. 25-104, 1989

Foster K.R., Schawn H. P.

[4] Dispersión and absorption in dielectrics. I. Alternating current characteristics

Cole K. S., Cole R. H., Journal of Chemical Physics, Vol. 9, pp. 341-351, 1941

[5] Application of Kramers-Kronig Transforms in the Analysis of electrochemical impedance data, II, Transformations in the complex plane.

Urquidi-MacDonald M., Real S., MacDonald D. D.

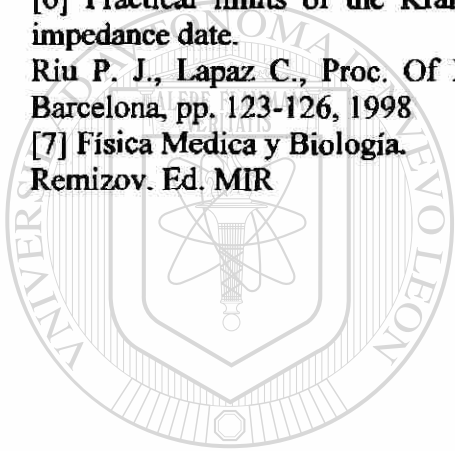
J. Electrochem. Soc., Vol. 133, pp. 2018-2024, 1986.

[6] Practical limits of the Kramers-Kronig relationships applied to experimental bio-impedance data.

Riu P. J., Lapaz C., Proc. Of X International Conference on Electrical Bioimpedance. Barcelona, pp. 123-126, 1998

[7] Física Medica y Biología.

Remizov. Ed. MIR



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Apéndice B

Conteo de células en sangre

El conteo celular es una técnica conocida como *citometría*, W. Coulter describió un método⁽¹⁾ muy exacto que es utilizado por los aparatos modernos, en el cual un instrumento emplea un sistema de medición no óptico, que provee un rango de medición que excede las 6.000 células individuales por segundo con un intervalo de conteo de 15 segundos. Una suspensión de células sanguíneas es pasada a través de un pequeño orificio simultáneamente con una corriente eléctrica. Las células sanguíneas individuales que pasan a través del orificio producen un cambio de impedancia el cual está determinado por el tamaño de la célula. El sistema cuenta las células individuales y provee distribución de tamaños. El número de células contadas por muestra es aproximadamente 100 veces mayor que los recuentos microscópicos, reduciendo el error estadístico aproximadamente 10 veces⁽¹⁾. Los contadores COULTER realizan este recuento por triplicado para eritrocitos, leucocitos y plaquetas. Este sistema es actualmente el método de referencia para el recuento de células y es usado por todos los fabricantes de contadores celulares.

- El número de pulsos eléctricos indica la cantidad de partículas que pasan a través de la apertura y el tamaño de los pulsos es proporcional al volumen de las partículas^(2,3,4)
- Los contadores modernos aún siguen usando este método, el cual es el método de referencia para recuentos de células

Las limitaciones de este método están relacionadas con los tipos de partículas a medir, como condición básica las partículas en estudio deben ser menos conductoras de electricidad que el medio en que están disueltas, el tamaño de las partículas a medir debe estar entre el 2 y el 60 % de el diámetro de la apertura

Como se diferencian las células

Los sistemas COULTER poseen 2 baños, uno de eritrocitos y otro de leucocitos, en el baño de eritrocitos se encuentra una apertura de 50 μ m y en el de los leucocitos otra de 100 μ m.

En cada apertura se realizan 3 recuentos de 4 segundos y se obtiene el promedio(en el caso de STKS y GEN-S, estos poseen 3 aperturas de eritrocitos y 3 de leucocitos por lo que la lectura sólo dura 4 segundos y se obtiene el promedio de las 3 aperturas)

En el baño de los eritrocitos el sistema identifica los eritrocitos como aquellas partículas que poseen un volumen igual o mayor que 36fL (femtolitro), en este mismo baño se realiza el recuento de plaquetas las cuales tienen un volumen entre 2 y 20fL, en los contadores COULTER si existe un recuento pequeño de plaquetas, el tiempo de recuento se extiende por 4 segundos más, a fin de tener un mayor valor estadístico.

En el baño de leucocitos posterior a la dilución con diluyente isotónico, se aplica agente lisante, el cual destruye la membrana citoplasmática de eritrocitos y leucocitos,

permaneciendo los núcleos intactos. Es así que las partículas que midan 35 fL o más son contadas como leucocitos. Hay que hacer notar que los núcleos de eritroblastos si existiesen también son contados, por lo que si el instrumento señala sospecha de su presencia se deben buscar en el frotis y de tener un número considerable, se debe corregir el recuento de leucocitos.

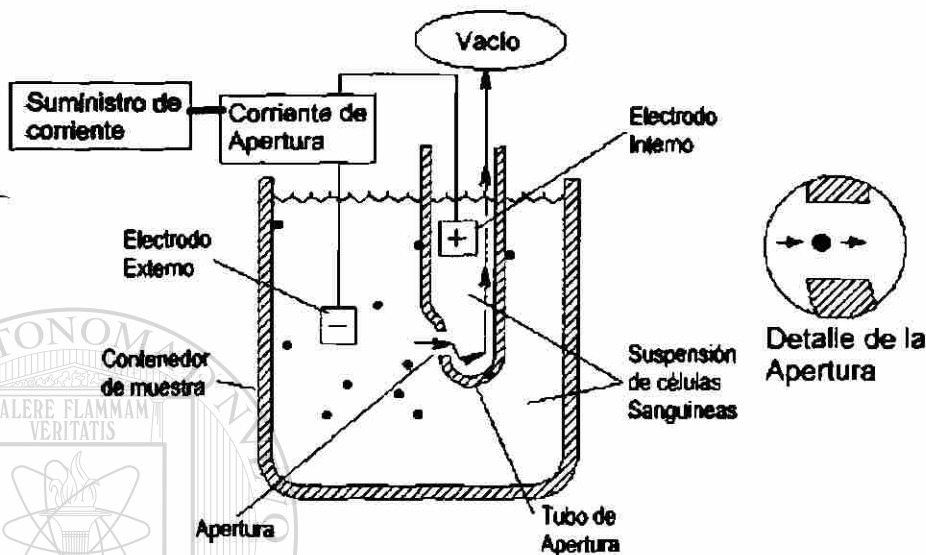


Figura B.1 Las células sanguíneas individuales que pasan a través del orificio producen un cambio de impedancia el cual está determinado por el tamaño de la célula

Leucocitos y Plaquetas

Posterior al recuento de leucocitos y utilizando la reacción química del lisante con la hemoglobina libre en la mezcla, se mide un complejo químico estable a 525nm, el cual dependiendo del instrumento, puede ser realizado en el mismo baño o en una cubeta de flujo especialmente diseñada.

Consecuentemente los parámetros medidos son: Eritrocitos (RBC), Leucocitos (WBC), Plaquetas (PLT) y Hemoglobina (Hgb)

Los parámetros derivados de las mediciones de volumen son:

- Volumen corpuscular medio (VCM o MCV)
- Ancho de distribución eritrocitaria (ADE o RDW)
- Volumen plaquetario medio (VPM o MPV)

Los parámetros calculados son:

- Hematocrito (Hct)
- Hemoglobina corpuscular media (HCM o MCH)
- Concentración corpuscular media (CHCM o MCHC)

Histogramas de leucocitos, eritrocitos y plaquetas

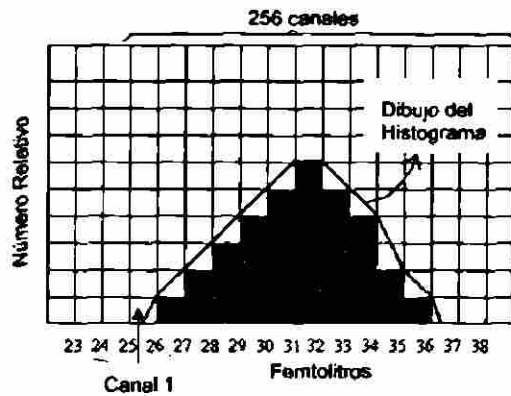


Figura B.2a Histograma representativo del conteo de células en volumen.

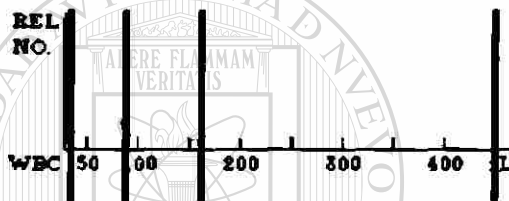


Figura B.2b Histograma de Leucocitos

Como se mencionaba anteriormente el analizador mantiene una estadística de los volúmenes celulares, y luego realiza una distribución de cantidad relativa versus volumen de estas tres poblaciones, la separación de volúmenes se hace con una resolución de 256 canales para cada parámetro.

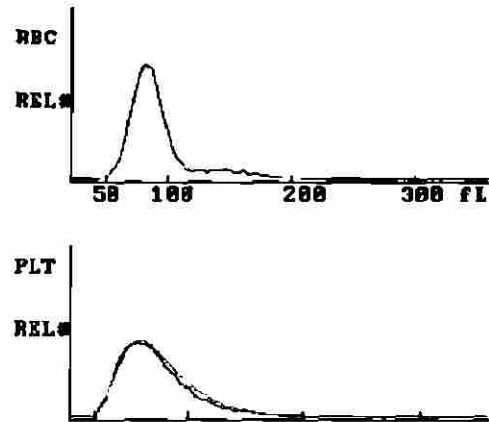


Figura B.2c Histograma de Eritrocitos (arriba) y Plaquetas (abajo).

Reproducibilidad y exactitud del método COULTER

Si el recuento en el tiempo predefinido de lectura (4 segundos) es muy bajo, el analizador cuenta por otros 4 segundos más. Como comprobación y a fin de detectar posible acumulación plaquetaria, los instrumentos COULTER, utilizando el método de mínimos cuadrados menores para ajustar la curva de distribución a log normal y se verifica que la curva sea positiva, que la moda de los tamaños de las plaquetas este entre 3 y 15 fL y el ancho de distribución plaquetaria sea menos de 20%, si alguno de estos criterios no se cumple, se informa una alarma.

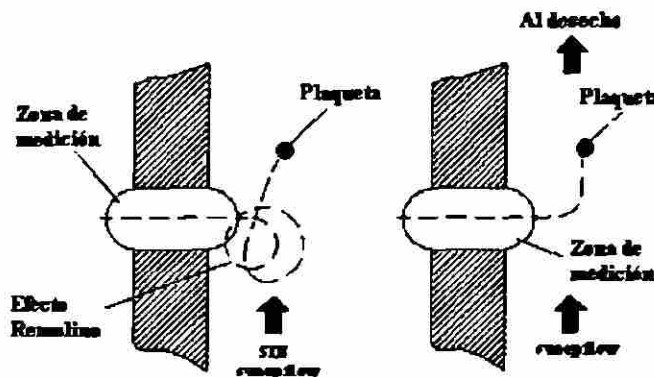


Figura B.3 Sistema SWEET FLOW que permite minimizar el error debido a un posible recuento de plaquetas.

El método de conteo COULTER utiliza su tecnología de SWEET FLOW, que consiste en hacer circular una corriente de diluyente en la parte inmediatamente posterior de la apertura de eritrocitos, a fin de que las plaquetas como son tan pequeñas no permanezcan en el área de recuento y por lo tanto no se cuenten más de una vez.

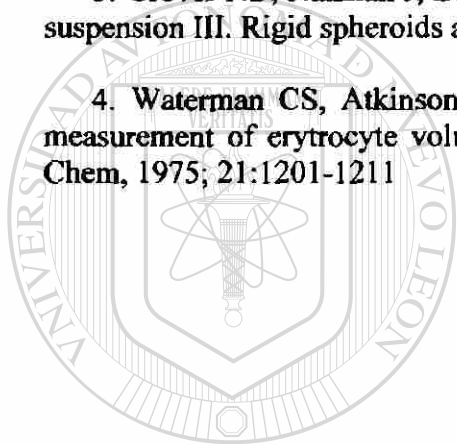
Bibliografía

1. Coulter W.H, High speed automatic blood cell counter an cell size analyzer. paper presented al National Electronics Conference, Chicago, IL, 1956; October 3.

2- Eckhoff RF. An experimental indication of the volume proportional response of the Coulter Counter for irregularly shaped particles. J Sci Inst, 1967; 44:648-649

3. Grover NB, Naaman J, Ben Asson S and Dojanski F. Electrical sizing of particles in suspension III. Rigid spheroids an red blood cells. Biophys J,1972;12:1099-1116

4. Waterman CS, Atkinson EE, Wilkins B, Fischer CL and Kimsey SL. Improved measurement of erythrocyte volume distribution by aperture-counter signal analysis, Clin Chem, 1975; 21:1201-1211



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Apéndice C

Anormalidades de la sangre

Razones por las que se realiza el examen del conteo de glóbulos blancos

El examen se realiza debido a que los glóbulos blancos son las células que combaten las infecciones y también están relacionados a reacciones alérgicas, tumores y estrés en general. Esta evaluación es importante en muchas condiciones y estados diferentes de las enfermedades. Por ejemplo cuando se tiene en el conteo 1,000 neutrófilos o menos, el riesgo de infección aumenta. Esta condición se conoce como "neutropenia".

Significado de los resultados anormales

El conteo bajo de GB (leucopenia) pueden ser indicio de:

- Insuficiencia en la medula ósea debido por ejemplo a: infecciones, granuloma, tumor o fibrosis
- Presencia de una sustancia citotóxica
- Enfermedades vasculares del colágeno (tales como el lupus eritematoso)
- Enfermedad del hígado o el bazo
- Irradiación

El conteo alto de GB (leucocitosis) puede ser indicio de:

- Enfermedades infecciosas
- Enfermedades inflamatorias (tales como artritis reumatoide o alergia)
- Leucemia
- Estrés emocional o físico severos
- Daño tisular (como por ejemplo, quemaduras)

Consideraciones especiales

Cualquier infección o estrés agudo ocasiona un aumento en la producción de leucocitos, que generalmente lleva a un incremento en el porcentaje de células inmaduras en la sangre (células en banda). Este cambio se conoce como "desviación a la izquierda" por el histograma de la biometría.

Factores que interfieren en los resultados del examen:

El conteo de leucocitos se incrementa por:

- Estrés físico y emocional agudo
- Personas que han tenido una esplenectomía
- Los medicamentos: la epinefrina, el alopurinol, la aspirina, el cloroformo, la heparina, la quinina, los corticosteroides y el triamtereno.

El conteo de los leucocitos disminuye por:

Los medicamentos: los antibióticos, los anticonvulsantes, los antihistamínicos, las drogas antitiroideas, los arsenicales, los barbitúricos, los agentes quimioterapéuticos, los diuréticos y las sulfonamidas.

Razones por las que se realiza el examen del conteo de glóbulos rojos

Este examen puede ayudar en la evaluación de un cuadro de anemia (hemoglobina baja) al igual que otras condiciones que afectan el compartimiento de los glóbulos rojos.

Significado de los resultados anormales

Los glóbulos rojos anormales tienen un período de vida corto debido a diversos trastornos; por ejemplo: trauma intravascular de los glóbulos rojos, como el que causan las válvulas cardíacas artificiales o placas ateroscleróticas vasculares periféricas (vasos sanguíneos), que pueden destruirlos. De igual manera, ciertas condiciones tales como el agrandamiento del bazo, como cuando es causado por hipertensión portal o la leucemia, pueden destruir tanto los glóbulos rojos normales como los senescentes (viejos).

Un conteo alto de glóbulos rojos puede ser indicio de tensión baja de oxígeno en la sangre como consecuencia de :

- Enfermedad cardíaca congénita
- Cor pulmonale
- Fibrosis pulmonar
- Policitemia vera
- Deshidratación (por diarrea severa)
- Enfermedad del riñón con alta producción de eritropoyetina

Los conteos bajos de GRS pueden ser indicio de pérdida de sangre como consecuencia de:

- Anemia (varios tipos)
- Hemorragia (sangrado)
- Insuficiencia de la médula ósea (ejemplo: irradiación, toxinas, fibrosis y tumores)
- Deficiencia de eritropoyetina (secundaria a las enfermedades renales)
- Hemólisis (destrucción de glóbulos rojos) por reacción a la transfusión
- Leucemia
- Mieloma múltiple
- Desnutrición

Deficiencias nutricionales de:

- Hierro
- Folato
- Vitamina B12
- Vitamina B6
- Sobrehidratación

Condiciones adicionales bajo las cuales se puede realizar el examen:

- Síndrome de Alport
- Anemia hemolítica debido a la deficiencia de G6PD
- Anemia hemolítica autoinmune idiopática
- Anemia hemolítica inmune

- Macroglobulinemia de Waldenstrom
- Hemoglobinuria paroxística nocturna (HPN)
- Mielofibrosis primaria
- Carcinoma de células renales
- Anemia hemolítica inmune inducida por medicamentos
- Anemias congénitas como la talasemia

Anemia

Cuando no tiene suficientes glóbulos rojos existe una condición conocida como "anemia", los niveles de hematócrito y hemoglobina estarán por debajo de lo normal. Se pueden tener los siguientes síntomas:

- Mareos
- Falta de aliento
- Palpitaciones cardiacas (latidos cardiacos acelerados)
- Punzadas en su cabeza
- Zumbido en sus oídos.

Razones por las que se realiza el examen de hemoglobina

Las anomalías de los valores de la hemoglobina indican defectos en la homeostasia (balance) de los glóbulos rojos y tanto los valores altos como los bajos son indicadores de estados patológicos.

Significado de los resultados anormales de hemoglobina

Los valores bajos de hemoglobina pueden ser indicio de:

- Anemia (de varias tipos)
- Falta de eritropoyetina (secundaria a la enfermedad renal)
- Hemólisis (destrucción de los glóbulos rojos) por reacción a transfusión
- Hemorragia (sangrado)
- Intoxicación por plomo
- Desnutrición
- Deficiencias nutricionales de hierro, folato, vitamina B12 y vitamina B6
- Sobrehidratación

Los valores altos de hemoglobina pueden ser indicio de:

- Enfermedad cardiaca congénita
- Cor pulmonale
- Fibrosis pulmonar
- Policitemia vera
- Aumento en la formación de glóbulos rojos asociada con el exceso de eritropoyetina

Otras condiciones bajo las cuales se puede realizar el examen:

- Anemia por enfermedad crónica
- Hemoglobina C clínica

- Diabetes mellitus
- Arteritis de células gigantes (temporal, craneal)
- Anemia hemolítica debido a una deficiencia de G6PD
- Diabetes mellitus insulino dependiente (DMID)
- Anemia aplásica idiopática
- Anemia hemolítica autoinmune idiopática
- Anemia inmuno hemolítica
- Anemia ferropénica
- Hemoglobinuria paroxística por frío (HPF)
- Hemoglobinuria paroxística nocturna (HPN)
- Anemia perniciosa
- • Desprendimiento prematuro de la placenta
- Polimialgia reumática
- Rbdomiólisis
- Anemia aplásica secundaria
- Anemia inmuno hemolítica inducida por drogas

Razones por las que se realiza el examen de hematocrito

El hematocrito revela la proporción de células y líquidos en la sangre.

Significado de los resultados anormales de hematocrito

Los valores bajos de hematocrito pueden ser indicio de:

- Anemia por deficiencia de B12
- Anemia por enfermedad crónica
- Anemia por deficiencia de ácido fólico
- Anemia hemolítica inmune inducida por medicamentos
- Anemia hemolítica
- Anemia hemolítica por deficiencia de glucosa 6 fosfato deshidrogenasa (G6PD)
- Anemia aplásica idiopática
- Anemia hemolítica autoinmune idiopática
- Anemia hemolítica inmune
- Anemia por deficiencia de hierro
- Anemia megaloblástica
- Anemia perniciosa
- Anemia aplásica secundaria
- Anemia de células falciformes
- Pérdida de sangre (hemorragia)
- Insuficiencia de la médula ósea (debido a la radiación, toxina, fibrosis o tumor)
- Hemólisis (destrucción de los glóbulos rojos) por reacción a transfusión
- Leucemia
- Leucemia mielógena crónica (LMC)
- Leucemia de células pilosas
- Leucemia linfocítica crónica (LLC)
- Leucemia linfocítica aguda
- Leucemia no linfocítica aguda (LMA)
- Leucemia mielomonocítica crónica

- Desnutrición o deficiencia nutricional específica
- Mieloma múltiple
- Artritis reumatoide

Los valores altos de hematocrito pueden ser indicio de:

- Deshidratación
- quemaduras
- diarrea
- Eritrocitosis (producción excesiva de glóbulos rojos)
- Policitemia vera

Razones por las que se realiza el examen del conteo plaquetario

Se puede medir para evaluar la causa de un sangrado excesivo.

Significado de los resultados anormales del conteo plaquetario

La disminución en el número de plaquetas (por debajo del límite menor normal) se llama trombocitopenia y el aumento en el número de las mismas (superior al límite normal más alto) se llama trombocitosis

La disminución del número de plaquetas puede estar relacionada con:

- Quimioterapia por cáncer
- Coagulación intravascular diseminada (CID)
- Anemia hemolítica
- Hiperesplenismo
- Púrpura trombocitopénica idiopática (PTI)
- Leucemia
- Válvula coronaria protésica
- Secuela por masiva transfusión de sangre

El aumento en el número de plaquetas puede estar relacionado con:

- Policitemia vera
- Síndrome post-esplenectomía
- Trombocitosis primaria
- Algunas malignidades
- CML temprana

Trombocitopenia

Cuando no hay suficientes plaquetas existe una condición conocida como “trombocitopenia.” Se pueden desarrollar moretones o magulladuras fácilmente y también puede tener algunos de los siguientes signos:

- manchas pequeñas del tamaño de la cabeza de un alfiler rojas o moradas en su piel (petequias)
- sangrado por la nariz
- encías que sangran

Pruebas proteicas por electroforesis

La electroforesis es una técnica de laboratorio en la cual el suero sanguíneo se coloca en un papel especialmente tratado y luego se expone a una corriente eléctrica. Las diferentes proteínas migran o se mueven en el papel con el fin de formar bandas que indican la proporción relativa de cada fracción de proteína. Por lo general, las proteínas individuales, a excepción de la albúmina, no se miden; sin embargo, se miden las fracciones o grupos de proteínas. Los niveles de las fracciones se pueden calcular aproximadamente mediante las mediciones de la proteína sérica total y multiplicada por el porcentaje relativo de cada fracción de la proteína del componente. La electroforesis de lipoproteínas es un tipo de electroforesis de proteínas que se concentra en la determinación de la cantidad de lipoproteínas, como el colesterol LDL.

Razones por las que se realiza el examen

Las proteínas séricas están separadas enormemente en albúminas y globulinas, así que la proteína total = albúmina + globulina. La albúmina es la proteína de mayor concentración en el suero (el plasma es suero más fibrinógeno) que sirve para transportar muchas moléculas pequeñas y también juega un papel decisivo en el mantenimiento de la presión oncótica de la sangre, la cual hace que el líquido no se filtre a los tejidos.

Las globulinas se dividen a grandes rasgos en globulinas alfa-1, alfa-2, beta y gama globulinas, las cuales se pueden separar y cuantificar en el laboratorio mediante la electroforesis y la densitometría.

La fracción alfa-1 incluye la alfa-1 antitripsina y la globulina fijadora de tiroxina. La fracción alfa-2 contiene la haptoglobina, ceruloplasmina, HDL y alfa-2 macroglobulina. En general, los niveles de proteínas alfa-1 y alfa-2 aumentan cuando hay inflamación. La fracción beta incluye la transferrina, el plasminógeno y las beta lipoproteínas (ver LDL). La fracción gama incluye los diferentes tipos de anticuerpos (inmunoglobulinas M, G y A).

Valores normales

- Proteína total: 6,4 a 8,3 g/dl
- Albúmina: 3,5 a 5,0 g/dl
- Alfa-1 globulina: 0,1 a 0,3 g/dl
- Alfa-2 globulina: 0,6 a 1,0 g/dl
- Beta globulina: 0,7 a 1,2 g/dl
- Gama globulina: 0,7 a 1,6 g/dl

Nota g/dl = gramos por decilitro.

Significado de los resultados anormales

La disminución de la proteína total puede indicar:

- Desnutrición
- Síndrome nefrótico
- Enteropatía por pérdida de proteínas gastrointestinal

El aumento de las proteínas alfa-1 globulina puede indicar:

- Enfermedad inflamatoria crónica (por ejemplo artritis reumatoide, LES)
- Malignidad
- Enfermedad inflamatoria aguda

La disminución de las proteínas alfa-1 globulinas pueden indicar:

- Deficiencia de alfa-1 antitripsina

El aumento de las proteínas alfa-2 globulinas puede indicar:

- Inflamación aguda
- Inflamación crónica

La disminución de las proteínas alfa-2 globulinas puede indicar:

- Hemólisis

El aumento de las proteínas beta globulinas puede indicar:

- Hiperlipoproteinemia (por ejemplo, hipercolesterolemia familiar)
- Terapia de estrógenos

La disminución de las proteínas beta globulinas puede indicar:

- Trastorno de coagulación congénito
- Coagulopatía de consumo
- Coagulación intravascular diseminada

El aumento de las proteínas gama globulinas puede indicar:

- Mieloma múltiple
- Enfermedad inflamatoria crónica (por ejemplo artritis reumatoidea, LES)
- Hiperinmunización
- Infección aguda
- Macroglobulinemia de Waldenstrom
- Enfermedad hepática crónica

Consideraciones especiales

Los medicamentos que pueden afectar la medición de las proteínas totales incluyen clorpromazina, corticosteroides, isoniazida, neomicina, fenacemida, salicilatos, sulfonamidas y tolbutamida.

No se recomienda ingerir alimentos 4 horas antes del examen (únicamente antes del examen para electroforesis de lipoproteínas).

Tabla C.1 Sustancias más comunes en la sangre y su relación a los exámenes de diagnóstico.

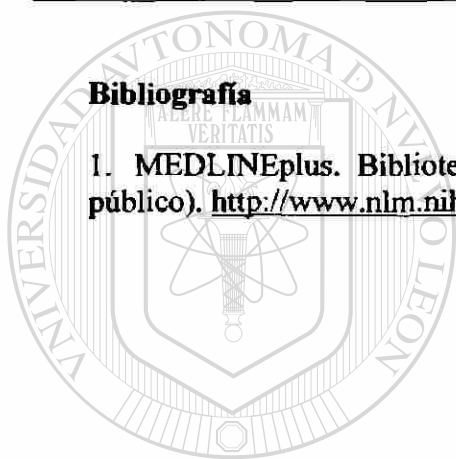
Prueba	Heparina	EDTA	Hemólisis	Ictericia	Otros	25° C	4° C	-20° C
Ac. Úrico	No interfiere	No interfiere	Sí interfiere	Hasta 10 mg/dl	-		5 días	5 días
Ac. Biliares	No interfiere	Sí interfiere	Sí interfiere	-	-	8 horas	1 semana	meses
Albumina	No interfiere	No interfiere	Sí interfiere	No interfiere	-	6 días	6 días	meses
ALT	No interfiere	No interfiere	Sí interfiere	-	-	1 día	7 días	meses
Amilasa	No interfiere	No interfiere	Sí interfiere	-	-	7 días	7 días	meses
Amoníaco	Sí interfiere	No interfiere	Sí interfiere	-	-	Inestable	Inestable	Inestable
AST	No interfiere	No interfiere	Sí interfiere	-	-	3 días	7 días	meses
Bilirubina	No interfiere	No interfiere	Sí interfiere	-	Luz	1 día	1 día	-
Calcio	No interfiere	Sí interfiere	Sí interfiere	-	Lipemia	10 días	10 días	8 meses
Cloro	No interfiere	Sí interfiere	Sí interfiere	Sí interfiere	-	7 días	7 días	7 días
Cobre	Sí interfiere	Sí interfiere	Sí interfiere	-	-	14 días	14 días	meses
Colesterol	No interfiere	No interfiere	No interfiere	Hasta 4 mg/dl	-	6 días	4 meses	meses
Colinesterasa	No interfiere	No interfiere	No interfiere	-	-	7 días	7 días	3 meses
CK activada	No interfiere	No interfiere	Sí interfiere	Hasta 200 mg	-	2 días	1 semana	1 mes
Creatinina	No interfiere	No interfiere	No interfiere	Hasta 5 mg/dl	-	24 h.	2 días	meses
Fosfa. Alca.	No interfiere	Sí interfiere	Sí interfiere	Hasta 3 mg/dl	-	24 h.	3 días	3 meses
Fósforo	No interfiere	No interfiere	Sí interfiere	-	-	2 días	7 días	meses
Fructosamimina	No interfiere	No interfiere	-	-	-	3 días	15 días	2 meses
GGT	Sí interfiere	Sí interfiere	Sí interfiere	Sí interfiere	-	5 días	10 días	1 mes
Glucosa	No interfiere	No interfiere	Sí interfiere	-	-	8 horas	-	-
Gldh	No interfiere	No interfiere	Sí interfiere	-	Lipemia	1 día	3 días	meses
Hierro	No interfiere	Sí interfiere	Sí interfiere	-	-	4 días	7 días	-
LDH	No interfiere	No interfiere	Sí interfiere	-	-	7 días	-	No congelar
Lipasa	No interfiere	Sí interfiere	Sí interfiere	-	-	24 h.	5 días	1 mes
Magnesio	No interfiere	No interfiere	Sí interfiere	-	-	7 días	-	-
Potasio	No interfiere	Sí interfiere	Sí interfiere	-	-	2 sema.	2 semanas	-
Proteínas	No interfiere	No interfiere	Sí interfiere	-	-	7 días	1 mes	meses
Sodio	No interfiere	Sí interfiere	Sí interfiere	-	-	2 sema.	2 semanas	-
Triglicéridos	No interfiere	No interfiere	No interfiere	-	-	3 días	4 días	4 meses
Urea	No interfiere	No interfiere	No interfiere	-	-	24 h.	3 días	6 meses

Tabla C.2 Hormonas y metabolitos más comunes en la sangre y su relación a los exámenes de diagnóstico.

Prueba	Heparina	EDTA	Hemólisis	Ictericia	Otros	25° C	4° C	-20° C
Ac. Fólico	No interfiere	No interfiere	Sí interfiere	-	-	1 día	1 semana	meses
B 12	No interfiere	No interfiere	Sí interfiere	-	-	1 día	1 semana	meses
Cortisol	No interfiere	No interfiere	No interfiere	-	-	2 días	8 días	3 meses
Progesterona	No interfiere	No interfiere	Sí interfiere	-	-	1 día	1 semana	meses
T4 total	No interfiere	Sí interfiere	Sí interfiere	-	-	1 semana	1 semana	1 mes
T3 total	No interfiere	Sí interfiere	Sí interfiere	-	-	24 horas	2 semanas	1 mes
T4 libre	Sí interfiere	Sí interfiere	Sí interfiere	-	-	2 días	2 días	1 mes
Tripsina canina (TLI)	No interfiere	No interfiere	Sí interfiere	-	-	1 día	3 días	meses

Bibliografía

1. MEDLINEplus. Biblioteca Nacional de Medicina (información de salud para el público). <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/bloodlymphaticsystem.html>



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



APÉNDICE D

Extracto de Norma Oficial Mexicana NOM-003-SSA2-1993

De acuerdo con la NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-003-SSA2-1993, "Para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos" publicada el lunes 18 de julio de 1994 en el DIARIO OFICIAL DE LA FEDERACIÓN se presentan algunos puntos de interés para este trabajo en relación a la conservación y desecho de la sangre humana.

La sangre extraída debe hacerse por personal capacitado y en las condiciones indicadas en el capítulo 6 de la norma, después de ello:

Se conservarán entre $+1^{\circ}$ y $+6^{\circ}$ C

Su vigencia máxima (como sangre fresca) después de la recolección, será de seis horas

En sistemas cerrados, su vigencia máxima a partir de la recolección dependerá del anticoagulante empleado, con las variaciones siguientes:

- Heparina: 48 horas
- ACD (dextrosa, ácido cítrico y citrato trisódico): 21 días
- CPD (dextrosa, citrato trisódico, ácido cítrico, fosfato sódico): 21 días
- CPDA (dextrosa, citrato trisódico, ácido cítrico, fosfato sódico y adenina): 35 días
- CPDA con manitol (dextrosa, citrato trisódico, ácido cítrico, fosfato sódico, adenina y manitol): 45 días

Para cualquier unidad de sangre o componente sanguíneo en un sistema abierto, bajo condiciones de esterilidad, su vigencia máxima será:

- De 24 horas, si se conserva entre $+1^{\circ}$ y $+6^{\circ}$ C;
- De cuatro horas, si se conserva entre $+20^{\circ}$ y $+24^{\circ}$ C
- Las unidades que se conservan en congelación, mantendrán el periodo de vigencia que indican las tablas D.2 y D.3.

Componentes sanguíneos

Los componentes sanguíneos se podrán obtener mediante los procedimientos siguientes:

- Sedimentación por gravedad (de unidades de sangre);
- Centrifugación a temperatura controlada (de unidades de sangre);
- Aféresis.

Eritrocitos

La separación de los eritrocitos se realiza por centrifugación, la temperatura de conservación, su vigencia máxima a partir de su extracción así como las características especiales se presentan en la tabla D.1.

Tabla D.1 CONCENTRADO DE ERITROCITOS Y SUS VARIANTES

Tipo de unidad	Volumen	Temperatura de conservación	Vigencia máxima	Características especiales
Concentrado de eritrocitos	180 a 350 mL	+1° a +6°C.	Según el anticoagulante	Ninguno
Concentrado de eritrocitos pobre en leucocitos	180 a 350 mL	+1° a +6°C.	Según el anticoagulante	Contenido máximo de leucocitos por unidad: 1×10^9
Concentrado de eritrocitos lavados (con solución salina, al 0.9 %)	180 a 350 mL	+1° a +6°C.	4 a 24 horas, a partir de su preparación (véase nota)	Plasma ausente, pobre en leucocitos y plaquetas
Concentrado de eritrocitos congelados (preparados con glicerol)	180 a 350 mL	65°C. o menor (glicerol al 40 %)	6 a 10 años (dependiendo de la concentración de glicerol)	Sobrenadante claro después del último lavado.
		-120°C. o menor (glicerol al 20 %)	Lavados, véase nota	Máximo de hemoglobina libre en el sobrenadante: 2,000 mg/L

NOTA: Cuando el procedimiento para el lavado o desglicerado de los eritrocitos sea capaz de conservar el sistema cerrado o semicerrado, los eritrocitos tendrán una vigencia máxima de 24 horas, de lo contrario, su vigencia máxima será de cuatro horas.

Leucocitos y plaquetas

Los concentrados de leucocitos se obtendrán por técnicas de aféresis o bien, por fraccionamiento de unidades de sangre fresca.

Las unidades de concentrados de leucocitos y de plaquetas, deberán tener los requisitos intrínsecos, de obtención, conservación y vigencia que indica la tabla D.2:

Tabla D.2 CONCENTRADOS DE LEUCÓCITOS Y DE PLAQUETAS

Tipo de unidad	Fuente de obtención	Volumen	Temperatura de conservación	Vigencia máxima	Mínimos en el 75 % o más de las unidades (al límite de vigencia)
Concentrado de leucocitos (neutrófilos)	Por aféresis	Variable	+20° a +40° C.	24 horas	1.0×10^{10} neutrófilos
Concentrado de plaquetas	Por fraccionamiento de sangre fresca entre +18° y +24° C.	45 a 60 mL	+20° a +24° C. (véase nota)	24 a 72 horas (véase nota)	5.5×10^{10} plaquetas y pH de 6.0
	Por aféresis	200 a 250 mL	+20° a +24° C. (véase nota)	24 horas a 5 días (véase nota)	3.0×10^{11} plaquetas y pH de 6.0

NOTA: Las plaquetas podrán conservarse entre +1° y +6° C, en sistemas cerrados y sin agitación (en estas condiciones no mantienen su función y viabilidad tanto como las conservadas entre +20° y +24° C. y en agitación).

Plasma

Las unidades de plasma se podrán obtener por centrifugación o por sedimentación de unidades de sangre, así como, por aféresis. La sangre fresca deberá centrifugarse a temperaturas entre +1° y +6° C para que se obtenga plasma fresco. El plasma fresco contiene proteínas (albúmina e inmunoglobulinas) y todos los procoagulantes; se considerará como tal al que se encuentra en las primeras seis horas después de su recolección; el plasma fresco congelado es el que se congela durante las primeras seis horas después de su recolección y deberá mantenerse a las temperaturas que indica la tabla D.3 correspondiente a plasma de esta Norma.

El plasma fresco congelado que ha llegado al término de su periodo de vigencia o que no se hubiese mantenido a las temperaturas apropiadas de conservación, deberá considerarse como plasma envejecido.

El plasma desprovisto de crioprecipitado, contiene proteínas y factores de coagulación, con excepción de que su contenido de factor VIII, fibrinógeno y fibronectina se encuentran reducidos. Su volumen, temperatura de conservación y periodo de vigencia serán los que señala la tabla D.3 para el plasma envejecido.

Las unidades de plasma y crioprecipitado (Fracción proteica del plasma fresco congelado que precipita al descongelarse en condiciones controladas), deberán tener los requisitos intrínsecos, de conservación y vigencia que indica la tabla D.3.

Tabla D.3 PLASMA Y CRIOPRECIPITADOS

Tipo de unidad	Volumen	Mínimos en el 75 % más de las unidades (al límite de vigencia)	Temperatura de conservación	Vigencia máxima a partir de la recolección
Plasma fresco	150 a 180 mL (por centrifugación de unidades de sangre fresca) 450 a 750 mL (por aféresis)	Proteínas 60 g/L Factor VIII I UI/mL Fibrinógeno 160 mg/dl	-18° C. o menor (véase nota)	12 meses (6 horas, una vez descongelado)
Plasma envejecido	150 a 180 mL (por fraccionamiento de unidades de sangre 450 a 750 mL (por aféresis)	Proteínas 60 g/L	-18° C. o menor +1° a +6° C.	5 años (véase nota) 26 días (con ACD o con CPD); 40 días (con CPDA) 12 meses
Crioprecipitado	10 a 25 mL	Factor VIII: 80 UI	-18° C. o menor (6 horas, una vez (véase nota)	

Nota: El factor VIII de la coagulación se preserva mejor cuando el plasma fresco y crioprecipitado se conservan a temperaturas de -30°C . o menores. El plasma envejecido conservado en congelación pero a temperaturas por arriba -18°C , tendrá una vigencia máxima de un año a partir de su recolección.

Desecho de la sangre

Se deberá dar destino final a las unidades de sangre o componentes sanguíneos en los casos siguientes:

- a) Las recolectadas de donantes que en el folleto de autoexclusión confidencial, respondieron que su sangre "NO ES SEGURA" para transfusión alogénica;
- b) Las que pasan su periodo de vigencia de acuerdo a lo señalado en el capítulo 9 de esta norma;
- c) Las que son devueltas al banco de sangre o, en su caso, al servicio de transfusión, en las condiciones que a continuación se indican:
 - Cuando hayan transcurrido dos horas o más después de su egreso;
 - Aquéllas en las que se hubiere abierto el sistema, que contengan aire, que muestren signos de hemólisis, cualquier cambio físico o que tengan una temperatura inapropiada para su correcta conservación;
- d) Cuando sea tomada en condiciones inciertas de esterilidad.

Para dar destino final a las unidades de sangre o de sus componentes, se emplearán cualquiera de los procedimientos siguientes:

- a) Incineración;
- b) Inactivación viral, mediante cualquiera de los métodos que se enlistan:
 - Utilizando soluciones de hipoclorito de sodio con una concentración del 4 al 7 % de cloro libre, y que agregadas en una proporción tal a la sangre o sus componentes, se logre una concentración final de cloro libre de 0.4 a 0.7 %, manteniéndose de esta manera durante una hora, previo a su desecho.
 - Esterilización antes de su desecho, de acuerdo a lo indicado en el apartado B.6 de esta Norma.

Bibliografía

Para más referencias sobre el manejo del tejido sanguíneo pueden verse también:

- Norma Oficial Mexicana NOM-017-SSA1-93
- Norma Oficial Mexicana NOM-018-SSA1-93
- Norma Oficial Mexicana NOM-019-SSA1-93
- Norma Oficial Mexicana NOM-010-SSA2-1993
- El artículo decimocuarto de la Ley General de Salud

APÉNDICE E

Prueba de ajuste al modelo experimental de EI

El medidor de impedancias IS 1260 puede probar su funcionamiento mediante dos métodos sencillos, el primero consiste en la medición de los parámetros eléctricos del agua destilada y se comparan con los reportados en la literatura⁽¹⁰⁾, y el segundo método es con un circuito real de elementos previamente medidos con un multímetro preciso. El segundo método es el más confiable y rápido.

Ajuste por circuito real conocido

Para este caso, el arreglo experimental prueba en tres sencillos pasos

Paso 1

Se mide por separado una resistencia (figura 1.14a) y un capacitor (figura 1.14b) convencional con ayuda un multímetro de precisión (Fluke 187).

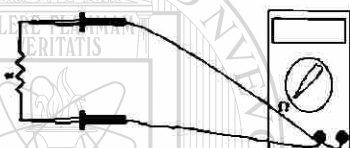


Figura 1.14a Medición directa de la resistencia

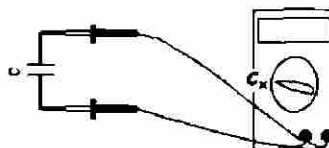


Figura 1.14b Medición directa de la capacitancia

Paso 2

Se ponen en paralelo la resistencia y el capacitor y sus extremos se colocan en el medidor de impedancias IS 1260 (figura 1.15), luego mediante el software de análisis se mide el valor de la resistencia y del capacitor a partir del espectro EI.

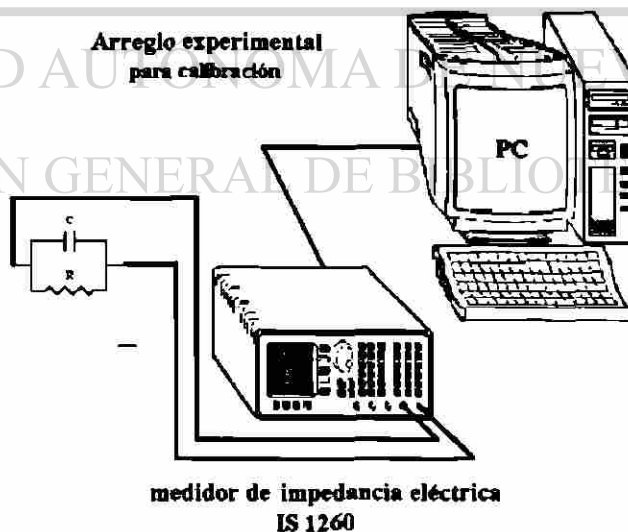


Figura 1.15 Medición indirecta de los parámetros del arreglo RC en paralelo.

Paso 3

Finalmente se comparan ambos resultados. Esta prueba aporta un error menor al 0.01% en las mediciones del espectrómetro.

