

Caracterización eléctrica de tejido sanguíneo mediante función de transferencia

José Francisco Gómez Aguilar*, J. Jesús Bernal Alvarado*, J. Juan Rosales García**, Manuel Guía Calderón**, Teodoro Córdova Fraga*, Modesto Sosa Aquino*, Francisco Hernández Cabrera***, Pascual Palomares Anda****

RESUMEN

En este trabajo se presenta un análisis y modelado de espectros de impedancia eléctrica aplicados al estudio de datos experimentales de tejido sanguíneo y sus principales componentes: glóbulos rojos, blancos y plasma. Usando la teoría de circuitos eléctricos se obtienen las funciones de transferencia y la representación gráfica de Bode y Nyquist. Se puede ver en este trabajo el potencial de la técnica experimental para diferenciar los elementos que forman al tejido sanguíneo, así como la utilidad de desarrollar modelos precisos para su análisis.

ABSTRACT

This paper presents an analysis and modeling of electrical impedance spectra applied to the study of experimental data of blood tissue and its main components: red cells, white and plasma. Using the electrical circuit theory yields the transfer functions and the graphic representation of Bode and Nyquist. You can see in this work the experimental technique's potential to differentiate cellular components of blood tissue, and the usefulness of developing accurate models for analysis.

Recibido: 18 de junio de 2010
Aceptado: 23 de noviembre de 2010

INTRODUCCIÓN

La espectroscopia de impedancia eléctrica (IE) se basa en la transmisión de una señal eléctrica de corriente alterna, la cual induce una oposición al paso de la misma a través del material de estudio. La IE se describe como una función compleja dependiente de la frecuencia de la señal de entrada. Experimentalmente se puede medir su magnitud y fase. Esta técnica ha sido ampliamente empleada en la caracterización de múltiples materiales orgánicos, biológicos, biomédicos, etc. Particularmente, el tejido sanguíneo ha sido objeto de aplicación de esta técnica a lo largo de muchos años. De acuerdo a Rigaud (1994), a principios del siglo XX se comenzó a estudiar la estructura de los tejidos biológicos basados en sus propiedades eléctricas, lo que demostró que los tejidos biológicos son conductores y su resistencia varía con la frecuencia, Fredix (2009). Los estudios de impedancia en sistemas biológicos relacionan generalmente mediciones directas de impedancia y ángulo de fase como funciones de la frecuencia, de la tensión o corriente aplicada, Edelberg (1971), Cole (1933) y Stephens (1963). Cuando la frecuencia es menor o igual a 10 kHz, la corriente no atraviesa la membrana celular y por tanto la resistencia obtenida es relativa sólo a la masa extracelular, Hernández (2007). Las técnicas de bioimpedancia también se han utilizado para obtener las curvas de resistividad eléctrica de tejido cervical en presencia de cáncer invasivo del cuello uterino, Olarte (2010), y en tejido epitelial, Jones (2003).

Palabras clave:
función de transferencia; diagrama de Bode; impedancia eléctrica.

Keywords:
transfer function; Bode diagram; electrical impedance.

Una función de transferencia es un modelo matemático que a través de un cociente relaciona la respuesta de un sistema a una señal de entrada o excitación. El cociente formado por los modelos de la señal de salida respecto de la señal de entrada permite encontrar los ceros y los polos, respectivamente. Es decir, representa la región fronteriza a la que no debe llegar ya sea la respuesta del sistema o la excitación al mismo, Dorf (2000). El diagrama

* Departamento de Ingeniería Física, División de Ciencias e Ingenierías, Campus León. Universidad de Guanajuato. C.P. 37150, León, Gto. México. Correo electrónico: jfga@fisica.ugto.mx

** Departamento de Ingeniería Eléctrica, División de Ingenierías, Campus Irapuato-Salamanca. Universidad de Guanajuato. Carretera Salamanca-Valle de Santiago km 3.5+1.8 km. Comunidad de Palo Blanco. Tel. (464) 647 99 40. Fax 2311.

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

**** Centro Estatal de la Transfusión Sanguínea, 20 de enero 927, C.P. 37130, León, Gto.

de Bode proporciona la representación gráfica de la magnitud y la fase en función de la frecuencia de la función de transferencia, Dorf (2000). La utilidad del diagrama de Nyquist está relacionada con el análisis de estabilidad de los circuitos estudiados y con un modelo en variable compleja de la impedancia de la muestra, Dorf (2000).

Las muestras de tejido estudiadas provienen de donadores potenciales obtenidas según el protocolo internacional para manejo de sangre para donación. La sangre entera fue separada mediante sedimentación en sus componentes básicos: eritrocitos, leucocitos y plasma.

Modelo matemático de la impedancia eléctrica

El estudio de circuitos con corrientes que varían en el tiempo, en forma sinusoidal, es especialmente importante. Un voltaje que genera una corriente con éstas características se puede representar como:

$$V(t) = V_0 e^{j\omega t} \quad (1)$$

Donde V_0 es la amplitud del voltaje de excitación, $j = \sqrt{-1}$, $\omega = 2\pi f$, f es la frecuencia temporal de la señal armónica. Por otra parte, la corriente a través de una rama que incluya un capacitor eléctrico de capacitancia C , sujeto a un voltaje variable en el tiempo es: $i(t) = C \frac{dV}{dt}$. Para una señal de entrada sinusoidal se puede escribir:

$$i(t) = j\omega C (V_0 e^{j\omega t}), \quad \text{ó} \quad i(t) = (j\omega C) V(t). \quad (2)$$

La última fórmula (2) establece una relación de proporcionalidad entre el voltaje y la corriente a través de un capacitor, operacionalmente análoga a la relación de la ley de Ohm ($V=RI$), con la particularidad de poseer factor de proporcionalidad dependiente del parámetro ω (frecuencia angular del voltaje aplicado). Del análisis dimensional de la ecuación anterior se desprende que $(j\omega C)^{-1}$ tiene unidades de resistencia eléctrica, ohms, esto permite establecer la variable Z_C denominada reactancia capacitiva o impedancia eléctrica de un condensador con capacitancia C y se interpreta como la oposición al flujo de corriente alterna a través del capacitor. Simbólicamente:

$$Z_C = \frac{1}{j\omega C}, \quad (3)$$

Circuitos eléctricos equivalentes

Se conoce como circuito equivalente aquél que exhibe idénticas características (comportamiento) a otro. Una muestra de estudio, especialmente una de naturaleza biológica, tiene un comportamiento eléctrico que puede ser modelado mediante un circuito de resistencia-capacitancia en paralelo (circuito RC). En

este caso, las formulas básicas para simplificación de circuitos en paralelo nos permiten obtener fácilmente la impedancia eléctrica del modelo como función de la frecuencia de la señal aplicada:

$$Z_T = \frac{1}{\frac{1}{Z_R} + \frac{1}{Z_C}} = \frac{Z_R Z_C}{Z_R + Z_C} = \frac{Z_R}{\frac{Z_R}{Z_C} + 1} = \frac{R}{1 + j\omega RC}. \quad (4)$$

Se ha descrito a Z_R como el valor de la impedancia resistiva en paralelo, R . Si se analiza el resultado de aplicar un voltaje sinusoidal a un circuito RC en paralelo, manteniendo fija la amplitud V_0 pero cambiando progresiva y paulatinamente la frecuencia de la señal de excitación, el primer efecto que puede inferirse es un cambio en la magnitud de la reactancia capacitiva, en virtud de la fórmula (3). La gráfica de la magnitud y fase de la impedancia eléctrica representa la respuesta a la frecuencia del sistema eléctrico, ver figura 1. El módulo de la impedancia, $|Z_T|$, es una función de la frecuencia, ω , a valores muy altos es prácticamente nula:

$$|Z_T| = \frac{R}{\sqrt{1 + (\omega RC)^2}}. \quad (5)$$

En los sistemas biológicos la reactancia se asocia con diversos tipos de polarización (separación de cargas o gradientes electroquímicos) que son producidos por membranas celulares y por interfaces celulares. La reactancia hace que la corriente administrada se mantenga por debajo del voltaje y se produzca una fase de retraso, ϕ , que matemáticamente se obtiene como la tangente inversa de la parte imaginaria de (4) entre su correspondiente parte real.

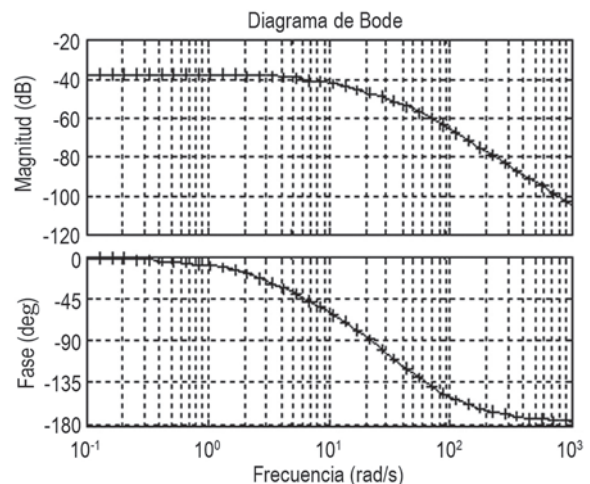


Figura 1. En la parte superior se observan los valores que toma el módulo de Z_T al realizar un barrido en la frecuencia ω . En la parte inferior se observan los valores que toma el ángulo de fase como función de ω .

Las curvas obtenidas con los diferentes valores para el circuito forman parte del conocido diagrama de Bode. En algunas ocasiones la parte real e imaginaria de la impedancia se expresan en términos de su comportamiento a frecuencias bajas o altas, y se obtiene lo mostrado en la figura 2.

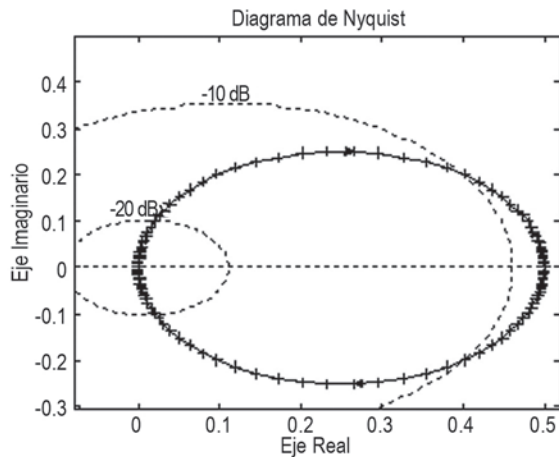


Figura 2. Partes real e imaginaria como componentes de la impedancia Z_r , modelo de Nyquist; este diagrama muestra la variación de impedancia en función de la frecuencia.

Modelo matemático de los espectros de impedancia eléctrica

En la medición de bioimpedancia se aplica un estímulo de tipo eléctrico y posteriormente se analiza la respuesta que este produce sobre una determinada región del organismo. Usualmente, el estímulo es una señal de corriente alterna de baja amplitud y se mide el campo eléctrico o la diferencia de potencial generada entre puntos diferentes del tejido. La relación entre los datos del estímulo aplicado y la respuesta obtenida permite obtener el espectro de impedancia de los tejidos. Sin embargo, para poder extraer información útil es necesario correlacionar directamente estas medidas con algún mecanismo fisiológico, parámetro característico, variable dinámica, tipo de muestra o bien ajustarlas a un modelo. En este caso, se emplearon muestras de diferentes tipos de elementos formes perfectamente caracterizadas, Casona (1999).

El diagrama de Nyquist (figura 2), relaciona la impedancia con la frecuencia aplicada, de modo que la gráfica de espectroscopia se asemeje a la parte positiva de un semicírculo, Casona (1999).

Sin embargo, el modelo matemático más simple que permite describir el comportamiento de los tejidos biológicos es el modelo de Cole – Cole, formado por un circuito que tiene una resistencia (R_p) un capacitor (C_p)

en paralelo, con una resistencia en serie (R_s) que en general refleja la resistencia eléctrica de la interface muestra–electrodo y mantiene un valor despreciable con respecto a (R_p), n representa el orden de la potencia que ajusta mejor al modelo obtenido. Utilizando la representación algebraica del circuito mencionado se puede representar la impedancia total como:

$$Z_r = R_s + \frac{R_p}{1 + R_p C_p (j\omega)^n} \quad (6)$$

Este modelo permite realizar la caracterización de los tejidos con los valores de impedancia medidos con los parámetros del modelo de Cole y con los valores de los componentes de los modelos de circuitos, Casona (1999).

Tratamiento de las muestras

Las muestras fueron obtenidas en el centro estatal de la transfusión sanguínea, en León, Guanajuato, todas fueron estudiadas clínicamente según el protocolo de sangra para transfusión sanguínea. Eso significa que se les realizaron pruebas para estar libres de enfermedades infecto-contagiosas, tales como VIH, hepatitis, brucelosis, chagas. Después de la recolección se trasladaron a 4 grados Celsius al Instituto de Física para la realización de los estudios de impedancia eléctrica.

Las poblaciones de células fueron controladas en su número mediante un estudio de conteo celular usando un citómetro de flujo tipo Coulter. De esta manera se supo que no influía la mortalidad de las células en los resultados.

Desarrollo del experimento y obtención de espectros

Para la obtención de los espectros IE de las muestras se utilizó un equipo Solartron® 1260 (figura 3). La técnica de espectroscopia de IE aplica una diferencia de potencial entre los dos electrodos haciendo pasar una corriente alterna de baja potencia a través de la muestra y esta es comparada con la corriente y voltaje detectados al salir. Con ayuda de la representación en el plano complejo se obtienen los valores para la IE, en amplitud y fase. Es importante el barrido de frecuencia, puesto que da como resultado el espectro característico de la muestra, que al ser analizados se pueden comparar con los parámetros eléctricos de un circuito equivalente. La frecuencia utilizada fue de 10 Hz a 100 KHz. Las muestras fueron depositadas en tiras reactivas Bayer®, directamente a un contenedor, de uso clínico, recubierto con el anticoagulante EDTA de marca Vacutainer, de tal forma que no presentan coagulación y con capacidad para 2 μ L. Un voltaje de 25 mV fue aplicado a través de 2 electrodos integrados en el contenedor Bayer®.



Figura 3. Se observa el equipo Solartron 1294 utilizado para medir la impedancia eléctrica y obtener los espectros de impedancia.

Todos los puntos de prueba son recubiertos de plata y por tanto es despreciable su contribución por polarización, por lo que no se necesitan compensar. Los parámetros del programa de control se fijaron para realizar un barrido en frecuencia con una amplitud de voltaje constante de 25 mV.

En cuanto a los espectros obtenidos, estos exhiben un comportamiento consistente con un circuito RC equivalente, no obstante, para este trabajo, no se presentan ajustes ni simulaciones de este tipo, ya que el tratamiento teórico consiste en la caracterización de la función de transferencia del sistema.

En la figura 4 se muestra la ventana de visualización de datos que genera el software ZView®, obtenida con el equipo Solartron® 1294. Se muestra el ejemplo de una muestra de sangre de un voluntario sano.

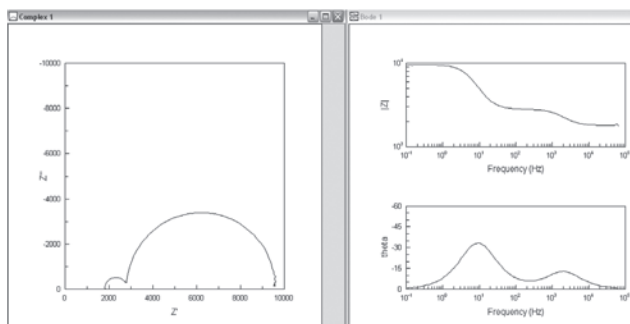


Figura 4. Ejemplo donde se observan las curvas de impedancia mostradas por el software ZView®, tanto para el diagrama de Nyquist en primer plano, como para el diagrama de Bode, en segundo.

Función de transferencia de datos experimentales

Los datos de la respuesta en frecuencia para un sistema se pueden obtener en forma experimental mediante una señal senoidal como entrada y monitorear la salida en estado estable a fin de determinar el cociente de la magnitud de la salida entre la magnitud de la entrada (éste

es entonces la magnitud) y la diferencia de fase entre la salida y la entrada. La medición se repite para varias frecuencias y, de esta manera, se obtiene la traza de Bode. Al examinar la traza de Bode se puede identificar la función de transferencia del sistema. Por lo general, la función de transferencia se determina a partir de la traza de magnitud y la traza de fase se usa para verificar los resultados, Bolton (2001). Para propósitos de discusión y para ejemplificar el procedimiento que determina la función de transferencia de un conjunto de datos se tomará el caso mostrado en la figura 5.

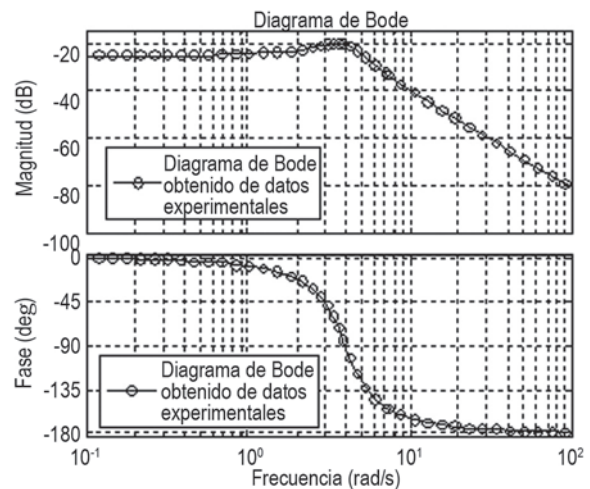


Figura 5. Ejemplo de trabajo para la obtención de la función de transferencia a partir del diagrama de Bode (magnitud - fase).

De la figura 6 se puede observar que la pendiente inicial es cero, de modo que no existe un factor $1/s$. Se tiene un cambio en la pendiente de la asíntota de -40 dB/década en una frecuencia de alrededor de 4 rad/s

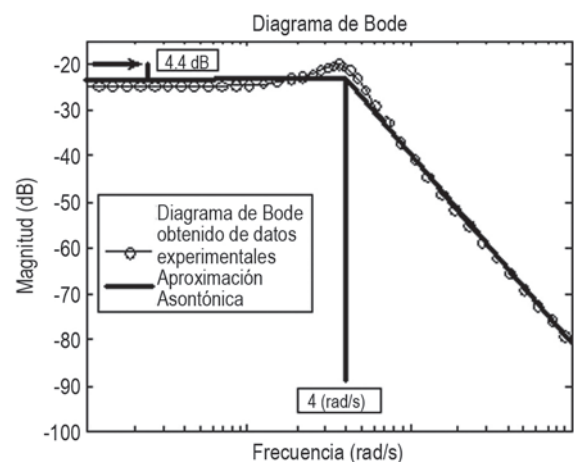


Figura 6. Aproximación asíntótica mostrando solo la magnitud en el diagrama de Bode.

De esta manera, la función de transferencia incluye el término.

$$\frac{\omega_n^2}{s^2 + 2\xi\omega_n s + \omega_n^2} \quad (7)$$

Donde $\omega_n = 4$ rad/s. El pico es de 4.4 dB por arriba de las asíntotas en el punto de quiebre. Para un pico de 4,4 dB se tiene un amortiguamiento relativo de 0.3, Bolton (2001). Por lo tanto la función de transferencia tiene el término:

$$\frac{16}{s^2 + 2.4s + 16} \quad (8)$$

no existen otros cambios en la pendiente y, así, la función de transferencia es de la forma:

$$G(s) = \frac{16K}{s^2 + 2.4s + 16} \quad (9)$$

donde K representa a la ganancia.

La función de respuesta en frecuencia es, entonces:

$$G(j\omega) = \frac{16K}{-\omega^2 + j2.4\omega + 16} = \frac{16K[(16 - \omega^2) - j2.4\omega]}{(16 - \omega^2)^2 + 2.4^2\omega^2} \quad (10)$$

Por lo tanto, la magnitud es:

$$|G(j\omega)| = \frac{16K}{\sqrt{(16 - \omega^2)^2 + 2.4^2\omega^2}} \quad (11)$$

Cuando ω tiende a cero, entonces los datos experimentales dan una magnitud de -25 dB. De esta forma:

$$20\log\left(\frac{16K}{16}\right) = -25, \quad (12)$$

Con K La función de transferencia es:

$$G(s) = \frac{0.9}{s^2 + 2.4s + 16} \quad (13)$$

Análisis de datos, resultados y caracterización de espectros

En las figuras de la 7 a la 12 se observan los resultados experimentales representados en forma de diagrama de Bode y Nyquist. Se estudian los espectros de IE para eritrocitos, leucocitos y el plasma de tejido sanguíneo humano, las graficas se representan como puntos unidos por líneas en las que cada símbolo representa un dato experimental, el diagrama de Bode incluye la espectroscopia de 3 muestras diferentes cuyos datos experimentales son indistinguibles en la escala que se ha elegido para representarlas. Por otra parte, en los diagramas de Nyquist se puede observar que son más sensibles para mostrar variaciones en los espectros de muestras similares pero aun en esta representación se puede ver que las mediciones sobre el mismo tipo de célula (eritrocitos) presentan un comportamiento similar: semicírculos con diámetro alrededor a los 150 K Ω . La descripción de los espectros tanto para leucocitos como para plasma lleva a una discusión similar que muestra la reproductibilidad del experimento.

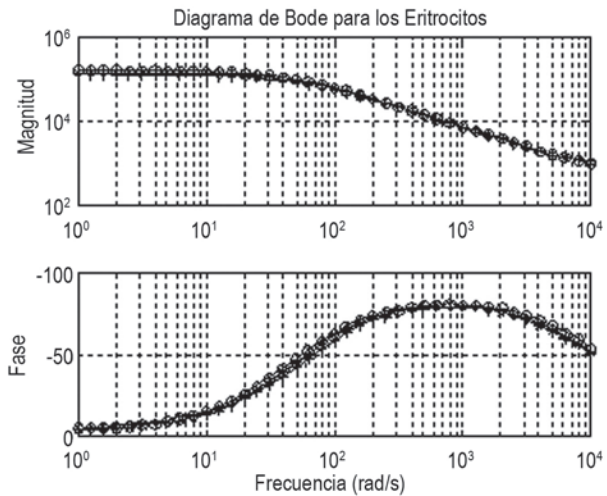


Figura 7. Diagrama de Bode correspondiente a la medición de eritrocitos.

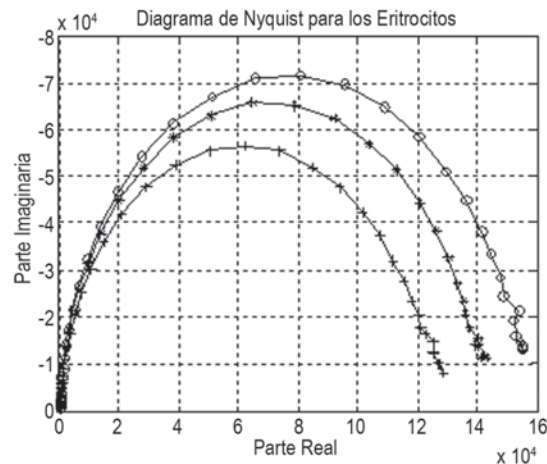


Figura 8. Diagrama de Nyquist correspondiente a la medición de eritrocitos.

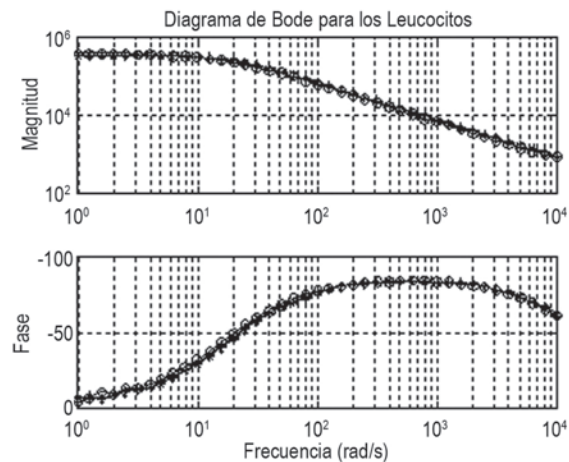


Figura 9. Diagrama de Bode correspondiente a la medición de leucocitos.

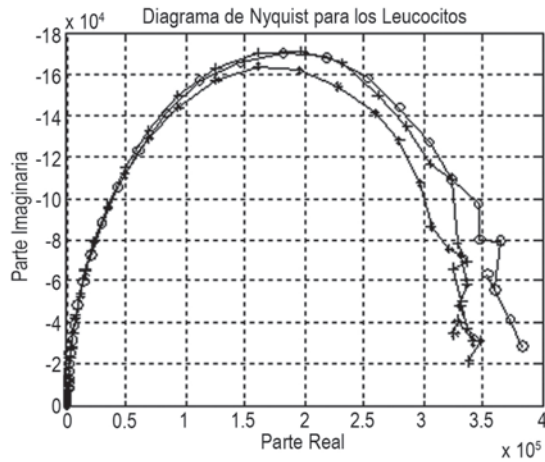


Figura 10. Diagrama de Nyquist correspondiente a la medición de leucocitos.

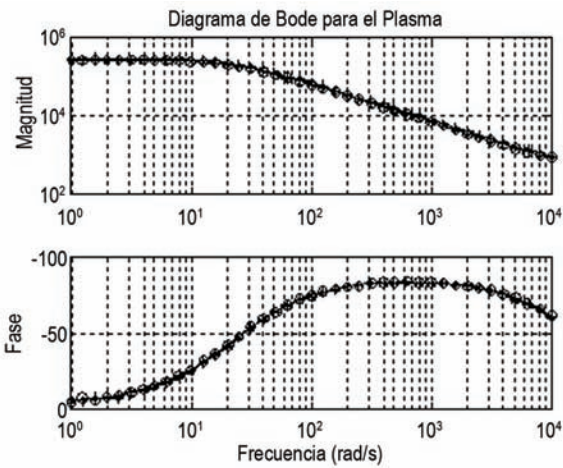


Figura 11. Diagrama de Bode correspondiente a la medición de plasma.

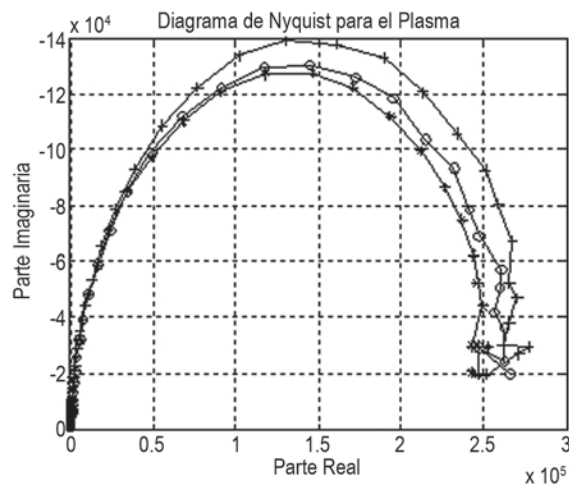


Figura 12. Diagrama de Nyquist correspondiente a la medición de plasma.

Siguiendo con el procedimiento anterior, del diagrama de Bode de magnitud y fase se encontrara la función de transferencia para una medición de eritrocitos, Rohrs (1994) y Hassul (1992), la ecuación 14 muestra esta función de transferencia, $G_E(s)$, y en la figura 13 se muestra el diagrama de Bode resultante de la aproximación.

$$G_E(s) = \frac{-1}{7487 \times 10^{-16} s^3 + 2069 \times 10^{-12} s^2 - 2093 \times 10^{-8} s + 3454 \times 10^{-5}} \quad (14)$$

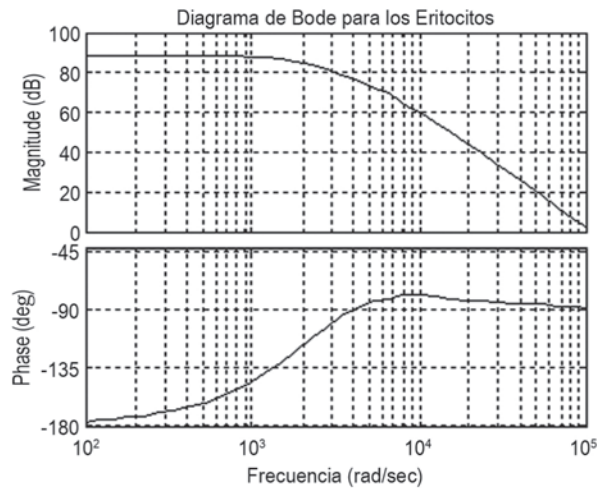


Figura 13. Diagrama de Bode correspondiente a la función de transferencia obtenida para los eritrocitos, se observa un cambio en la magnitud respecto al diagrama original debido a que se representa en decibeles.

En la figura 14 se muestra el diagrama de Bode resultante de la aproximación para los leucocitos y la ecuación 15 muestra la función de transferencia, $G_L(s)$.

$$G_L(s) = \frac{1}{1887 \times 10^{-15} s^3 - 5141 \times 10^{-12} s^2 + 9467 \times 10^{-8} s + 4317 \times 10^{-5}} \quad (15)$$

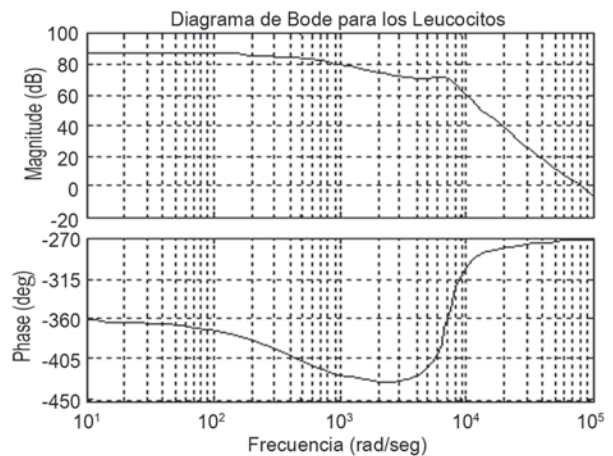


Figura 14. Diagrama de Bode correspondiente a la función de transferencia obtenida para los leucocitos, se observa un cambio en la magnitud respecto al diagrama original debido a que se representa en decibeles.

En la figura 15 se muestra el diagrama de Bode resultante de la aproximación para el plasma y la ecuación 16 muestra la función de transferencia, $G_p(s)$.

$$G_p(s) = \frac{1}{6483 \times 10^{-16} s^3 + 904 \times 10^{-12} s^2 - 2469 \times 10^{-10} s - 203 \times 10^{-5}} \quad (16)$$

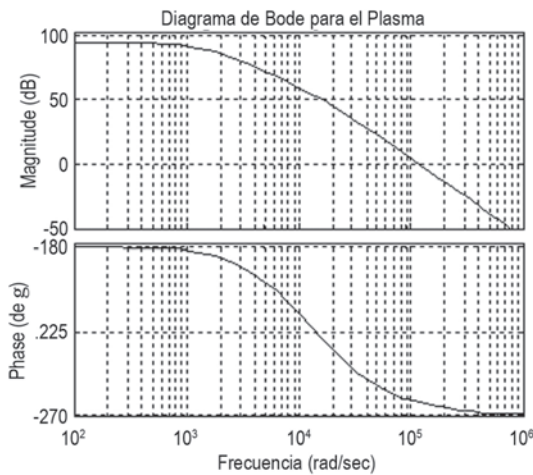


Figura 15. Diagrama de Bode correspondiente a la función de transferencia obtenida para el plasma, se observa un cambio en la magnitud respecto al diagrama original debido a que se representa en decibeles.

CONCLUSIONES

La IE se muestra eficaz para diferenciar los principales componentes del tejido sanguíneo, esto es evidente en las figuras 16 y 17, donde se muestran el diagrama de Bode y de Nyquist para todas las mediciones realizadas.

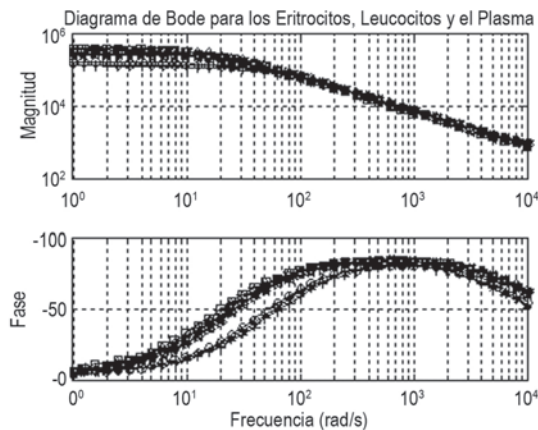


Figura 16. Diagrama de Bode correspondiente a la medición de eritrocitos, leucocitos y plasma.

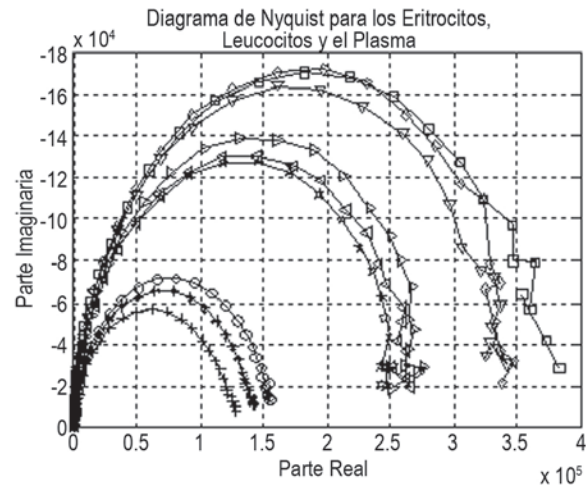


Figura 17. Diagrama de Nyquist correspondiente a la medición de eritrocitos, leucocitos y plasma.

Tanto para los eritrocitos, leucocitos y el plasma sanguíneo forman familias de curvas con parámetros similares (R y C), no obstante que se han obtenido a partir de tres muestras diferentes (provenientes de tres donadores distintos). Esta capacidad experimental puede ser aprovechada con fines de caracterización, estudio e investigación del tejido sanguíneo en la medida en la que sean desarrolladas metodologías teóricas eficaces y rigurosas. En la literatura es común encontrar procesos de caracterización basados en el ajuste de mínimos cuadrados de modelos de circuitos eléctricos equivalentes sobre los datos experimentales, incluyendo los modelos de Cole-Cole. En este trabajo se ha mostrado en detalle una metodología alternativa basada en la teoría de circuitos y la obtención de funciones de transferencia. Si bien este método ha sido empleado en el pasado para estudiar sistemas de naturaleza biológica su desarrollo no había sido descrito con el formalismo y el detalle que aquí se presenta.

Una perspectiva interesante de este trabajo se encuentra en el análisis de similitudes y diferencias entre muestras provenientes de personas sanas y poblaciones con patologías de naturaleza hematológica, tal como podría ser el estudio de la leucemia, anemia, la parasitosis hematológica, entre otras.

AGRADECIMIENTOS

José Francisco Gómez Aguilar agradece el apoyo brindado por el CONACYT mediante la beca doctoral asignada. Los autores agradecen a la DIRECCIÓN DE APOYO A LA INVESTIGACIÓN Y AL POSGRADO (DAIP) de la Universidad de Guanajuato, por el apoyo 000051/09

REFERENCIAS

- Bolton W. (2001). "Ingeniería de control", 2 ed., Alfaomega.
- Casona Román M., Paul Torres S., Casanova Bellido M. (1999). "Bases físicas del análisis de la impedancia bioeléctrica". *Vox pediátrica*, 7,2 (139-143).
- Cole K. S. (1933). "Cold Spring Harbor Sump". *Quant. Biol.*,1, 107.
- Dorf, Svoboda. (2000). "Circuitos electricos", 6 ed., Alfaomega. Diciembre.
- Edelberg R. (1971). in "Biophysical Properties of the Skin," H. R. Elden, Editor, pp. 513-550, John Wiley & Sons, New York.
- Fredix, H. M., Saris H.M., Soeters P.B., Wouters F.M, Kester D.M. (Julio 2009). "Estimation of body composition by bioelectrical impedance in cancer patients". *European Journal of Clinical Nutrition* 44. Mc Millan Press, (pp. 749-752).
- Hassul M., and Shahian B. (Nov. 1992). "Frequency domain identification for undergraduates,". *IEEE Trans. Educ.*, vol. 35, no. 4. (pp. 368-375).
- Hernández F., Salazar C. A., Bernal J. J. (2007). "Determinación de las propiedades eléctricas en tejido sanguíneo". *Ciencia UANL*. (pp. 510-515).
- Jones DM, (2003). Smallwood RH, Hose DR, Brown BH, Walker DC. "Modelling of epithelial tissue impedance measured using three different designs of probe". *Physiol Meas* 24(605-23).
- Olarte-Echeverri G, Aristizábal-Botero W, Gallego-Sánchez PA, Rojas-Díaz J, Botero BE, Osorio GF. (2010). "Espectroscopia de impedancia eléctrica en cáncer invasivo del cuello uterino en mujeres de Caldas (Colombia) mediante la técnica de espectroscopia de impedancia eléctrica". *Rev Colomb Obstet Ginecol*. Vol. 61 No.1.
- Rigaud B., Hamzaoui L., Chauveau N., Granie M., Scotto J. P. and Morucci J. P. (1994). "Tissue characterization by impedance: a multifrequency approach". *Physiol. Meas.* 15 A13-A20.
- Rohrs Charles E., Melsa James L., Schultz Donald G. (1994). "Sistemas de Control Lineal". Ed. Mc. Graw Hill.
- Stephens W. G. S., (1963). *Med. Electron, Biol. Eng.*, 1, 389.