*Anales Acad. Nac. de Cs. Ex., Fís. y Nat., tomo 57 (2017): 163-168.*

# ESPECTROSCOPÍA DE IMPEDANCIA: APLICACIONES BIOMÉDICAS - EL HEMATOCRITO

*Máximo E. Valentinuzzi*

Instituto Superior de Investigaciones Biológicas (INSIBIO/CONICET-UNT) 4000 S.M. de Tucumán, Argentina
E-mail: maxvalentinuzzi@arnet.com.ar

**Resumen**

Luego de definir la interdisciplina denominada bioingeniería, se revisan brevemente los conceptos de impedancia eléctrica y de impedancia biológica así como se generaliza la técnica impedancimétrica a espectroscopia de impedancia para detectar y medir fenómenos físicos y biológicos a partir de las relajaciones o dispersiones alfa, beta y gamma. Es destacada luego la importancia del volumen de sangre para el mantenimiento de la vida de un individuo y se define el hematocrito como parámetro clínico de evaluación del estado fisiológico. La relajación beta de una suspensión de glóbulos rojos apoya un modelo matemático que relaciona el hematocrito con la variación de la permitividad de la muestra sanguínea. Series experimentales sistemáticas han demostrado la validez y aplicabilidad del modelo. Finaliza el artículo con consideraciones generales sobre ciencia y desarrollo tecnológico.

*Palabras clave*: Bioingeniería, Impedancia biológica, Permitividad, Relajaciones alfa, beta y gamma, Volumen de sangre.

**Abstract**

**Impedance spectroscopy: Biomedical applications. The hematocrit.** After defining the interdiscipline called bioengineering, we briefly go over the concepts of electric and biological impedance. The impedance technique is generalized as impedance spectroscopy for detecting and measuring physical and biological events based on either the alpha, beta or gamma relaxations. The importance of blood volume is emphasized for maintenance of life while the hematocrit is defined as a simple clinical evaluating parameter. Beta relaxation of a red cell suspension offers background knowledge to support a mathematical model relating the hematocrit with the permitivity change of a blood sample. Systematic experimental series have demonstrated the validity and applicability of the model. The article ends with general concepts about science and technological development.

*Key words*: Bioengineering, Biological impedance, Permitivity, Alpha beta and gamma relaxations, Blood volume.

## Introducción

La definición aceptada más general de *Bioingeniería* dice que se trata de una actividad interdisciplinaria que aplica conceptos, principios y técnicas propios de las Ciencias Exactas a la solución y/o mejor comprensión de problemas de las Ciencias Biológicas (Valentinuzzi, 2004). El concepto de impedancia eléctrica es típico de la *Ingeniería Eléctrica*, obviamente una Ciencia Exacta Aplicada. Si se extiende la idea a tejidos biológicos, hablaremos de bioimpedancia o de impedancia biológica y estaremos haciendo bioingeniería. Por analogía con el caso tecnológico, diremos que la muestra biológica ofrecerá un *impedimento* al

pasaje de una corriente eléctrica si se le conecta una determinada diferencia de potencial (Morucci, Valentinuzzi y col., 1996).

Se trata, entonces, de utilizar dicho impedimento como estimador de alguna modificación, normal o patológica, de la muestra biológica (que, en principio, puede ser una célula, un trozo de tejido, un órgano –como el corazón o la vejiga–, o un animal o individuo tomados total o parcialmente según sea la ubicación de los electrodos de exploración).

Este artículo describe brevemente la *espectroscopia de impedancia*, que es una forma generalizada de *impedancimetría* (también llamada *técnica impedancimétrica*), para evaluar el *hematocrito*, que es una forma de estimar la cantidad de glóbulos rojos de la sangre. La *espectroscopia Z* suministra información básica, resumida en este caso particular en una expresión matemática, para cumplir tal objetivo.

## Componentes de una impedancia Z

La *Ingeniería Eléctrica* enseña que una impedancia Z está formada por dos componentes que constituyen matemáticamente un número complejo,

$$Z = R + j\,(\omega L - 1/\omega C) \qquad (1)$$

donde R representa un resistencia óhmica conectada en serie con una inductancia L y una capacitancia C. Las tensiones y/o corrientes aplicadas son señales senoidales de frecuencia f (medida en Herz o en ciclos/segundo), con frecuencia angular $\omega = 2\pi f$. Las unidades de L y de C son, respectivamente, henrios H y faradios F. Como cualquier número complejo, Z posee un módulo (medido en ohmios) y un ángulo de fase (medido en grados o en radianes) calculables a partir de la ecuación (1) según relaciones conocidas (Constance, 1970).

Una muestra biológica no posee en general elementos equivalentes del tipo inductivo. de manera que la ecuación (1) se reduce casi siempre a

$$Z = R - j(1/\omega C) \qquad (2)$$

lo cual, en principio, parece simplificar las cosas.

## Variaciones de la muestra que pueden causar cambios en Z

El sistema detector de impedancia (o *impedancímetro*) tiene que inyectar una corriente de una cierta frecuencia y, si la muestra biológica experimenta modificaciones propias, es factible que se traduzcan en cambios en la impedancia Z, sea en módulo, sea en fase, o quizás en ambos.

La simple inspección de la ecuación (1) indica que modificaciones geométricas, de resistividad y/o de permitividad del sistema biológico estudiado producirán modificaciones de Z. La bibliografía existente al respecto, utilizando una sola frecuencia y dos o cuatro electrodos, en aplicaciones en fisiología respiratoria, cardiovascular, gastrointestinal y en otros sistemas fisiológicos es muy extensa (Morucci, Valentinuzzi y col., 1996). El módulo es quizás el parámetro más utilizado; mayoritariamente, se analiza sólo la componente resistiva y, menos comúnmente, la capacitiva, dado que su medición resulta algo más complicada. En pocas ocasiones se mide la fase.

Además, es necesario subrayar que ambas componentes de la impedancia biológica, a diferencia de los elementos similares tecnológicos, varían con la frecuencia y no son elementos lineales. Su representación en modelos circuitales equivalentes es apenas una forma más o menos confiable de facilitar la comprensión del comportamiento y permitir el manejo matemático aproximativo. En ningún momento ni instancia debe suponerse que tales elementos equivalentes substituyen las funciones reales del sistema en cuestión.

La señal aplicada necesariamente debe inyectar una corriente de intensidad pequeña y de frecuencia lo suficientemente elevada para no causar daño, dolor o molestia de tipo alguno a la muestra o al individuo (Geddes y Baker, 1989).

## Espectroscopía de impedancia

¿Qué ocurre cuando la tensión o la corriente aplicadas para medir la impedancia biológica, en cualquiera de sus formas (módulo, componentes resistiva o capacitiva, o fase) varían su frecuencia? En otras palabras, barriendo el espectro de frecuencia, desde valores muy bajos (incluyendo frecuencia cero, que corresponde a corriente continua), hasta valores muy elevados (en el orden de los gigaherz o GHz), se busca obtener la respuesta del sistema en alguna o en todas las manifestaciones mencionadas. De ahí el nombre, *espectroscopía de impedancia*, o sea, muestra las variaciones de la impedancia en el espectro de frecuencia. Este tema, iniciado hace largo tiempo por pioneros como Herman Schwan (Foster, 2002), se ha transformado en los últimos años en una verdadera subespecialidad de la *Bioingeniería*, tanto en sus aspectos instrumentales, experimentales como teóricos, con proyecciones prácticas y heurísticas en fisiología, electroquímica, bioquímica, biofísica y otras áreas asociadas.

**Resistividad y permitividad**

La resistividad y la permitividad son propiedades eléctricas características de cualquier material, sea éste de origen natural (como un mineral, un gas o líquido, o una muestra biológica animal o vegetal) o tecnológico (como un trozo de alambre, de porcelana o de plástico). En términos conceptuales generales, la resistividad mide la facilidad con que ese material puede conducir cargas eléctricas y la permitividad expresa cuánto es capaz ese material de aislar eléctricamente. En consecuencia, la primera estará involucrada en la componente real de la ecuación (2) y la segunda será protagonista esencial en la componente imaginaria.

Utilizaremos dos modelos simples, clásicos en electricidad básica, para introducir resistividad y permitividad en términos cuantitativos: el resistor cilíndrico y el capacitor de placas paralelas. En el primer caso, la resistencia entre ambos extremos del cilindro de longitud L y sección transversal A está dada por,

$$R = \rho \frac{L}{A} \qquad (3)$$

donde $\rho$, en (ohms×cm), representa la resistividad del material. Su inversa, $1/\rho$, es la *conductividad* $\sigma$. Por ejemplo, la resistividad de la sangre humana y la del plasma están, respectivamente, en el orden de 135 y 55 ohms×cm. Geddes y Baker (1967) midieron valores para otros tipos de tejidos. La determinación de este parámetro en tejidos biológicos así como el estudio de su constancia es aún tema válido de investigación, especialmente *in vivo*. La ecuación (3) muestra claramente que tanto cambios geométricos como de conductividad provocan modificaciones de la resistencia.

El segundo modelo considera un capacitor de placas paralelas de área A separadas por una distancia *d*, con material aislante en el medio. Si el aislante es vacío, el valor de la capacitancia lo llamamos $C_o$; en cambio, cuando se coloca otro tipo de aislante, la capacitancia tomará el valor C. La relación $K = C/C_o$ define la denominada *constante dieléctrica* de dicho material. El valor $C_o$ se obtiene de una simple y bien conocida expresión, esto es,

$$C_o = \varepsilon_o \frac{A}{d} \qquad (4)$$

en la cual $\varepsilon_o = 8.85\times10^{-12}$ coulombs$^2$/N×m$^2$ corresponde a la permitividad del vacío (Tippens, 1973). De la relación K y usando la (4), es fácil llegar a,

$$C = KC_o = K\varepsilon_o \frac{A}{d} = \varepsilon \frac{A}{d} \qquad (5)$$

donde $\varepsilon$ representa la permitividad del medio aislante. Como $K = \varepsilon/\varepsilon_o$, se la suele denominar también *permitividad relativa*. En forma similar a la expresada para la resistividad, cambios en K o en la geometría del sistema se manifestarán también en cambios en la componente capacitiva de la impedancia.

Todavía se requieren estudios para completar el conocimiento de esta característica eléctrica de los materiales biológicos. Foster y Schwan (1989) publicaron una lista de valores de permitividad para algunos tejidos. Por ejemplo, la permitividad relativa de la sangre es de $4\times10^3$, medida a 100 kHz, mientras que la de músculo esquelético se ubica en $1\times10^7$ a 10 Hz y en $8\times10^4$ a 10 kHz, es decir, cae cuando la frecuencia de prueba aumenta. Observar, además, que la permitividad relativa, por su misma definición, es un número adimensional.

En resumen, la permitividad es la cualidad de los materiales que permite el almacenamiento de cargas eléctricas (en capacitores). Materiales de alta permitividad pueden almacenar más carga eléctrica que aquéllos de baja permitividad. Los dieléctricos son aislantes de alta permitividad. La espectroscopia de impedancia, también llamada *espectroscopia dieléctrica*, estudia las variaciones de la permitividad relativa a medida que se barre el espectro de frecuencia. En consecuencia, resulta imprescindible especificar la frecuencia cuando se hace referencia al valor de la permitividad.

Otra forma de definir la permitividad proviene de la Teoría de Campos Eléctricos, detalladamente desarrollada por James Clerk Maxwell a mediados del Siglo XIX. En ella, la permitividad relaciona el campo eléctrico E (por ejemplo, aplicado entre las placas de un capacitor) con el desplazamiento eléctrico D provocado en el seno del dieléctrico (Page, 1965).

**Relajaciones (dispersiones)**

El comportamiento de los materiales dieléctricos al aumentar la frecuencia de prueba da lugar a tres zonas de caída para todos los tejidos biológicos llamadas, respectivamente, *relajaciones* o *dispersiones* $\alpha$, $\beta$ y $\gamma$ (Foster, 2002; Morucci, Valentinuzzi y col., 1996). El barrido va desde unos pocos Hz hasta 10 GHz (Figura 1). La dinámica del fenómeno de relajación se basa en la interacción del campo eléctrico aplicado con cargas eléctricas de la muestra en estudio. Intervienen mecanismos relacionados con electrones,

átomos, orientación de dipolos y polarización iónica. A medida que aumenta la frecuencia, los mecanismos más lentos van perdiendo efectividad, lo cual significa que cada mecanismo se identifica aproximadamente por una zona característica bastante estrecha de frecuencias. Por ejemplo, a bajas frecuencias predomina el mecanismo de movimientos iónicos.

El agua y los electrolitos (substancias de moléculas disociables) poseen conductividad y permitividad esencialmente independientes de la frecuencia hasta varios GHz y, en consecuencia, siempre son descriptas por números reales. En cambio, al generalizar para cualquier substancia, se definen la *impedividad*, introducida por Otto Schmitt, uno de los pioneros de la Bioingeniería (Valentinuzzi, 2005), y la *admitividad*, respectivamente, como

$$\rho = \rho' + j\,\rho'' \qquad (6)$$

y

$$\sigma^* = \sigma + j\,\omega\varepsilon \qquad (7)$$

en las cuales $\rho$ y $\sigma$ representan las ya introducidas resistividad y conductividad como números complejos. Observar que en la segunda ecuación (7) interviene también la permitividad $\varepsilon$. No entraremos en mayores detalles, pues escapan al objetivo de este artículo. Para lectores interesados referimos a la abundante bibliografía disponible (Schwan, 2000).

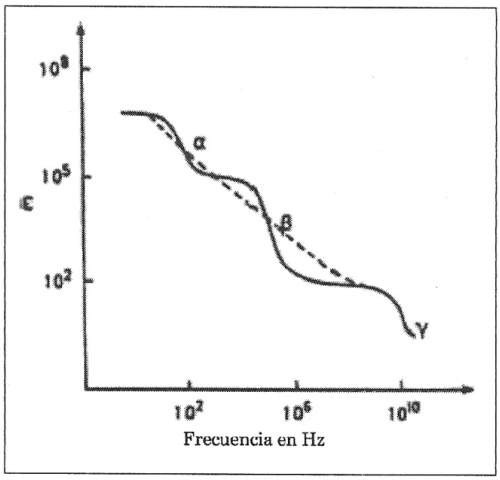


Fig. 1. Permitividad dieléctrica de un tejido blando (músculo). Se muestra las tres regiones de dispersión o relajación (caídas de la permitividad), según describiera Herman P. Schwan, al aumentar la frecuencia de la señal exploratoria (Foster, 2002). La dispersión alfa ocurre a baja frecuencia (unos 100 Hz), la beta aparece algo por debajo de 1 MHz, y la gamma recién se la detecta en el orden de los 10.000 MHz.

## El hematocrito

El peso corporal *BW* está formado por una porción sólida y una porción líquida llamada *agua total corporal*, o *TBW*, usando las iniciales en inglés (*total body water*). Del 60% al 70% de un individuo es *TBW*, a su vez subdividida en líquido extracelular *ECF* y líquido intracellular *ICF*, nuevamente con iniciales tomadas del inglés (*extracellular* e *intracellular fluids*). Estos compartimientos, como sus nombres indican, se encuentran separados por la membrana celular (que es un "personaje" fundamental en biología pues muchas funciones esenciales ocurren en ese delgado lugar). El 70% de *TBW* corresponde al líquido intracelular y el 30% se ubica fuera de las células, y esto incluye una parte de la sangre (la porción líquida). O sea, todas las células del organismo están inmersas en un mar interno, el famoso *medio interno* introducido conceptualmente por el famoso fisiólogo francés Claude Bernard a mediados del Siglo XIX (Figura 2). Las células, entonces, contienen la mayor parte del líquido y la fracción fuera de ellas las alimenta, limpia y protege (Valentinuzzi, 2004.

El líquido o fluido intersticial, ubicado entre las células y fuera de los capilares y vasos linfáticos, junto con el volumen de plasma com-

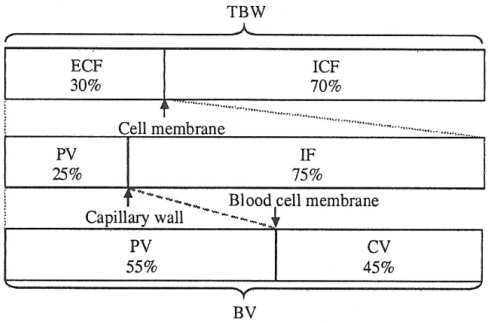


Fig. 2. El agua total corporal TBW se compone de las porciones extra e intra celulares ECF e ICF. Ambas están separadas por la membrana celular. La fracción extracelular se forma por el volumen de plasma PV y el líquido intersticial IF, separados por la pared de la red de vasos capilares. El volumen de sangre BV está constituido por una parte líquida, (plasma PV), y una parte celular (CV).

ponen el fluido extracelular. La porción plasmática está confinada dentro del sistema cardiovascular y se comunica con el espacio intersticial a través de las paredes capilares altamente permeables. El volumen de plasma es de aproximadamente 55% del volumen total de sangre y el otro 45% está compuesto por células (glóbulos rojos, blancos y otros cuerpos celulares menores). En símbolos,

$$BV = PV + CV \qquad (8)$$

o, en términos relativos, dividiendo por BV y multiplicando por 100,

$$100 = 100\ (PV/BV) + 100\ (CV/BV) \qquad (9)$$

de donde surgen dos relaciones matemáticas simples de gran importancia clínica, el *plasmacrito*

$$PCT = 100\ (PV/BV) \qquad (10)$$

y el *hematocrito,*

$$HCT = 100\ (CV/BV) \qquad (11)$$

ambas expresadas en porcentajes relativos al volumen de sangre. Para el segundo, valores menores de 40% se consideran ya anormales. La centrifugación de muestras de sangre deja en el fondo del tubo un volumen compactado de célula con el plasma en la parte superior. Es una forma simple de evaluar una posible condición de anemia y es el método más utilizado en el ámbito hospitalario. El hematocrito incluye el líquido contenido en las células sanguíneas. Si el material es desecado, se obtiene el peso seco de sangre. El porcentaje de células en sangre, entonces, sin distinción de la clase de células, se denomina volumen sanguíneo celular total (en inglés, "*packed-cell volume*"). Dado que de todas las células sanguíneas los hematíes (o glóbulos rojos) son los que predominan, su porcentaje o *hematocrito* (HCT) resulta numéricamente muy cercano al primero.

**Permitividad y hematocrito**

La idea básica surge del modelo de Foster y Schwan (1989) en el cual se define el cambio de permitividad $\Delta\varepsilon$ de una suspensión de partículas esféricas recubiertas por una membrana dieléctricamente diferente, esto es,

$$\Delta\varepsilon = kP/(1 + P/2)^2 \qquad (12)$$

donde $\Delta\varepsilon = \varepsilon_s - \varepsilon_\infty$ es precisamente la variación de permitividad en la zona de relajación $\beta$, desde un valor medido en baja frecuencia, $\varepsilon_s$, hasta otro valor medido en frecuencia elevada, $\varepsilon_\infty$. La relajación $\beta$ se centra en las denominadas radiofrecuencias y ocurre por cargas acumuladas en la capacidad de la membrana (que es del orden de 1 $\mu$F/cm$^2$). En la ecuación (12), $P$ representa la fracción celular del volumen de sangre, es decir, HCT/100. La constante $k = 9RC_m/4\varepsilon_o$, con $R$ = radio celular, $C_m$ = capacidad de membrana y $\varepsilon_o$ = permitividad del vacío ($8.85\times10^{-12}$ F/m), esta última ya definida antes. Estudios experimentales han demostrado que $\Delta\varepsilon$ y HCT se relacionan linealmente con una elevada correlación estadística de 0.95–0.99), indicando la validez práctica del modelo (Figura 3; Treo y col., 2005a, b).

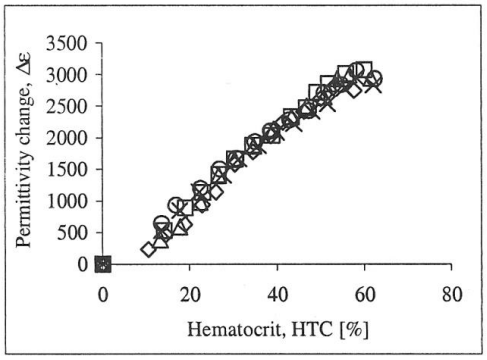


Fig. 3. Cambios de permitividad en cinco suspensiones de globulos rojos en función del hematocrito (Treo y col., 2005a)

**Discusión y conclusiones**

Por aplicación del concepto generalizado de impedancimetría, que es la denominada espectroscopia de impedancia, y apoyados en resultados sólidos teóricos y experimentales, se llegó a un método para monitorear en forma continua el hematocrito. El error máximo hallado no superó el 5%. El método puede ser empleado en el entorno clínico, es calibrable y de uso simple.

El estudio de propiedades esenciales de la materia basado en principios teóricos, concomitantes o seguidos de validación experimental, constituye no cabe duda alguna la base del método científico, y esta afirmación ha sido amplia y reiteradamente confirmada a lo largo del desarrollo de la ciencia moderna. Los biólogos nunca encontraron evidencia de una "fuerza vital especial", que distinguiera la materia viva de la materia no-viva, hasta finalmente concluir que la vida es una forma bastante compleja de química y física. Una coincidencia histórica feliz ubica el comienzo nuevo de las investigaciones biológicas objetivas en la publicación de *De Humani Corporis Fabrica*, de Andrea Vesalio, en 1543, el mis-

mo año que Copérnico publicara *De Revolutionibus Orbium Coelestium*. Es decir, 1543 aparece como un marcador temporal conveniente de arranque de la gran revolución científica que transformó y continúa transformando el mundo, incluyendo sus proyecciones humanas, sociales y económicas (Gribbin, 2003).

Además, y extremadamente importante, no son solamente el genio humano, la oportunidad y el lugar adecuados los únicos motores del gran (o del pequeño y también significativo) descubrimiento, es el desarrollo tecnológico asociado más o menos cercanamente. No debe sorprender pues que el comienzo de la revolución científica coincida con la introducción del telescopio y del microcopio.

Bioingeniería es interdisciplina, es teoría y es experimentación, es ciencia y es desarrollo tecnológico, es pensamiento y es práctica profesional, se ubica en una intersección múltiple y así favorece y acelera los procesos de comprensión, descubrimiento e invención. La convergencia de la Teoría de Comunicaciones, según la planteara Claude Shannon en 1948, y la actual Biología Molecular, apenas esbozada en 1944 por Erwin Schrödinger en su pequeño gran libro *What is Life?*, claramente avanza hacia nuevos horizontes aún con no predecibles pero seguramente fascinantes hallazgos (May, 2006).

**Reconocimientos**

Este artículo ha sido preparado especialmente y por invitación para la Academia Nacional de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales en ocasión del Premio Félix Cernuschi de Bioingeniería otorgado en noviembre de 2005 al autor.

***Referencias***

Constance, J.D., Electrical Engineering for Professional Engineers´ Examination, McGraw-Hill, NY, 2nd ed. (1970).

Foster, K.R., Annual Rev. Biomed. Eng., 4, 1 (2002).

Foster, K.R., Schwan, H.P., CRC Critical Reviews in Biomedical Engineering, 17, 25 (1989).

Geddes, L.A., Baker, L.E., Med. & Biol. Eng., 5, 271 (1967).

Geddes L.A., Baker, L.E., Principles of Applied Biomedical Instrumentation. J. Wiley, NY, 3rd ed. (1989).

Gribbin, J., Science: A History (1543-2001). Penguin Books, London (2003).

May, E., IEEE/EMB Magazine, 25, 28 (2006). Este número está dedicado íntegramente al tema señalado.

Morucci, J.P., Valentinuzzi, M.E., Rigaud, B., Felice, C.J., Chauveau, N., Marsili, P.M., Bioelectrical Impedance Techniques in Medicine, en Critical Reviews in Biomedical Engineering 24, 221-677. Begell House, Inc., New York (1996).

Page, L., Introduction to Theoretical Physics, D. van Nostrand Co., New Jersey, 3a. ed, 6a impression (1965).

Schwan, H.P., Biophys. Chem., 85, 273 (2000).

Tippens, P.E., Appl. Phys., McGraw-Hill, NY (1973).

Treo, E.F., Felice, C.J., Tirado, M.C., Valentinuzzi, M.E., Cervantes, D.O., IEEE Trans. BME, 52, 124 (2005 a).

Treo, E.F., Felice, C.J., Tirado, M.C., Valentinuzzi, M.E., Cervantes, D.O., IEEE Trans. BME, 52, 549 (2005 b).

Valentinuzzi, M.E., Understanding the Human Machine: A Primer to Bioengineering. World Scientific Publisher, New Jersey & Singapore, 396 pp, Series on Bioengineering & Biomedical Engineering, vol. 4 (2004).

Valentinuzzi, M.E., IEEE/EMB Magazine, 23, 42 (2004).

*Manuscrito recibido y aceptado en julio de 2006.*