Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Ciencias Físicas
Escuela Profesional de Física

Desarrollo de un equipo compacto y portátil de Espectroscopia de Impedancia Eléctrica para realizar análisis del tejido sanguíneo

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

Para optar el Grado Académico de Bachiller en Física

AUTOR

Christian Hugo LEXEQUÍAS CABRERA

ASESOR

Mg. Oscar Rolando BALTUANO ELÍAS

Lima, Perú

2023



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Lexequías, C. (2023). *Desarrollo de un equipo compacto y portátil de Espectroscopia de Impedancia Eléctrica para realizar análisis del tejido sanguíneo*. [Trabajo de investigación de bachiller, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Ciencias Físicas, Escuela Profesional de Física]. Repositorio institucional Cybertesis UNMSM.

Metadatos complementarios

Datos de autor	
Nombres y apellidos	Christian Hugo Lexequías Cabrera
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	75374385
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0002-2121-0950
Datos de asesor	
Nombres y apellidos	Oscar Rolando Baltuano Elías
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	10301565
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0003-1767-7141
Datos del jurado	
Presidente del jurado	
Nombres y apellidos	Galo Patiño Camargo
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	09458366
Miembro del jurado 1	
Nombres y apellidos	José Fernando Márquez Pachas
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	21824638
Miembro del jurado 2	
Nombres y apellidos	Eduardo Becquer Carrasco Solis
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	42100747
Datos de investigación	

Línea de investigación	A.2.2.2. Física Medica
Grupo de investigación	Instrumentación Físicas y Aplicaciones – INFISA
Agencia de financiamiento	Perú. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Vicerrectorado de Investigación y Posgrado. Programa de Promoción de Tesis de Pregrado. VRIP UNMSM-RR N^{O}016948-R-20 código B20130050c.
Ubicación geográfica de la investigación	Edificio: UNMSM, Unidad de postgrado e investigación de Ciencias Físicas, G.I.INFISA, Laboratorio de Física Medica y Biofísica. País: Perú Departamento: Lima Provincia: Lima Distrito: Lima Calle: Av. Carlos Germán Amezaga #375 Latitud: -12.059305 Longitud: -77.081265
Año o rango de años en que se realizó la investigación	Obligatorio. Ejemplo: Marzo 2019 - Septiembre 2020
URL de disciplinas OCDE	Física Nuclear https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#1.03.04

UNMSM
Firmado digitalmente por JIMENEZ TINTAYA Cesar Omar FAU 20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 11.02.2023 10:54:23 -05:00

Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América

FACULTAD DE CIENCIAS FÍSICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE FÍSICA

ACTA DE SUSTENTACIÓN DEL TRABAJO DE INVESTIGACION PARA OPTAR EL GRADO ACADEMICO DE BACHILLER EN FÍSICA

Siendo las 16:00 horas del miércoles 08 de febrero del 2023, en el Salón de Grados de la Facultad de Ciencias Físicas (Auditorio 109), bajo la Presidencia del Dr. Galo Patiño Camargo (Presidente), Mg. José Fernando Márquez Pachas (Miembro), el Mg. Oscar Rolando Baltuano Elías (Asesor) y el Mg. Eduardo Becquer Carrasco Solis (Suplente), se dio inicio a la Sesión Pública de Sustentación del Trabajo de Investigación para optar el Grado Académico de Bachiller en Física, del egresado:

CHRISTIAN HUGO LEXEQUÍAS CABRERA

Dando lectura al Resumen del Expediente, el Presidente del Jurado, invitó al egresado Christian Hugo Lexequías Cabrera a realizar una exposición de Trabajo de Investigación titulado: "Desarrollo de un equipo compacto y portátil de Espectroscopia de Impedancia Eléctrica para realizar análisis del tejido sanguíneo"

Concluida la exposición del candidato y luego de las preguntas de rigor por parte del Jurado, el Presidente, invitó al egresado y al público a abandonar momentáneamente la Sala de Sesión, para dar paso a la deliberación y calificación por parte del Jurado.

Al término de la deliberación del Jurado el Dr. Galo Patiño Camargo, invitó al candidato y al público a pasar a la Sala de Sesión, para dar lectura al resultado de la deliberación. Ha obtenido la calificación de:

APROBADO CON MÁXIMOS HONORES	19	DIECINUEVE
(MENCIÓN)	(NÚMERO)	(LETRAS)

Finalmente, el Presidente del Jurado, propone al consejo de la Facultad que se le declare Bachiller en Física al egresado Christian Hugo Lexequías Cabrera. Siendo las 16:53 Horas, se levanta la Sesión.

Dr. Galo Patiño Camargo
PRESIDENTE

Mg. José Fernando Márquez Pachas
MIEMBRO

Mg. Oscar Rolando Baltuano Elías
ASESOR

Mg. Eduardo Becquer Carrasco Solis
SUPLENTE

Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América

FACULTAD DE CIENCIAS FÍSICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE FÍSICA

INFORME DE EVALUACIÓN DE ORIGINALIDAD

1. Facultad: Ciencias Físicas
2. Escuela Profesional: Física
3. Autoridad Académica que emite el informe de originalidad: Mg. Jiménez Tintaya, César Omar
4. Apellidos y nombres de la autoridad académica: Mg. Jiménez Tintaya, César Omar
5. Operador del programa Informático de similitudes: Mg. Jiménez Tintaya, César
6. Documento evaluado: Tesis para optar el Título profesional de Licenciado en Física: "**Desarrollo de un equipo compacto y portátil de Espectroscopia de Impedancia Eléctrica para realizar análisis del tejido sanguíneo"**
7. Autor del documento: Christian Hugo Lexequías Cabrera.
8. Fecha de recepción del documento: 15/11/22
9. Fecha de aplicación del programa informático de similitudes: 16/11/22
10. Software utilizado
    - Turnitin
11. Configuración del programa detector de similitudes
    - Excluye textos entrecomillados
    - Incluye Bibliografía
    - Excluye cadenas menores a 40 palabras
12. Porcentaje de similitudes según programa detector de similitudes: 6% (seis por ciento)
13. Fuentes originales de las similitudes encontradas
    - revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe< 4%
    - cybertesis.unmsm.edu.pe < 1%
    - vrip.unmsm.edu.pe< 1%
    - dspace.ups.edu.ec< 1%
14. Observaciones: ninguna
15. Calificación de originalidad
    - Documento cumple criterios de originalidad, sin observaciones
16. Fecha del Informe: 16 de noviembre del 2022

UNMSM
Firmado digitalmente por JIMENEZ TINTAYA Cesar Omar FAU 20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 16.11.2022 18:59:56 -05:00

Firma del Evaluador

Dedicado a mis padres Hugo Lexequias y Liz Cabrera, y a mis hermanos H. Martin Lexequias y H. Gonzalo Lexequias que siempre estuvieron apoyándome en mis investigaciones, poniendo en riesgo sus propias vidas o decisiones para salir adelante.

Agradecimientos

La presente investigación se pudo realizar gracias a la colaboración de profesores y distintas personalidades de la FCF-UNMSM. Especialmente al G.I. INFISA, que me ofreció la oportunidad de crecer como investigador, apoyando la propuesta del proyecto en todo momento.

Por ello, mi agradecimiento es para:

- Dr. Galo Patiño Camargo coordinador del grupo de investigación Instrumentación Física y Aplicaciones (INFISA), quien me brindo las instalaciones del laboratorio de biofísica y física médica para poder desarrollar el proyecto.
- Mg. Oscar Baltuano Elías por su orientación y ayuda para poder realizar el trabajo de investigación brindándome su equipo EIE para utilizar sus piezas, cuando aun el proyecto propuesto encontraba en fase teórica, sobre todo en esta situación de emergencia sanitaria por COVID-19 en la que se llevo a cabo.
- Mg. Adriano Peña Rolando Wilder, Lic. Cesar Toledo y Dr. Sthy Warren Flores Doarta quienes apoyaron también en el desarrollo del trabajo de investigación facilitando el acceso a una cantidad de herramientas necesarias.
- Bryan Urcia Ramos por su apoyo incondicional pude realizar el T.I. y conformar juntos la misma linea de investigación que plantea atraer a mas estudiantes. Además de ser el primer voluntario en brindar su sangre sin pensarlo dos veces, sacándole mas de una vez muestras sanguíneas hasta obtener la disposición experimental adecuada. El mejor compañero de investigación que pude conocer.
- Lucero Cisneros Huarcaya y Senayda Ortiz quienes apoyaron tanto en obtener las muestras como también su mayor interés por lograr desarrollar los objetivos del T.I.
- Manuel Torres Calla y Sara Vanessa Díaz quienes aportaron las pautas de hemoglobina sumado a su inmenso interés incondicional de ver avanzar el proyecto.
- Dr. Juan José Torres Vega quien apoyo a la impresión 3D en el CITBM, pero que ahora descansa en paz a causa de la situación sanitaria actual. Gracias por todo el apoyo brindado donde quiera que se encuentre ahora.
- Dr. Justiniano Quispe Macatoma de quien recibí su mayor interés incondicional y apoyo de querer que salga bien la investigación.
- Al Museo Histórico de Ciencias Físicas y sus integrantes ya que gran parte de ellos fueron voluntarios y apoyaron con distintas herramientas con las que aun no contaba el laboratorio de biofísica.

Índice general

Agradecimientos II

Índice general III

Índice de figuras V

Índice de cuadros VII

Abreviaciones VIII

Resumen IX

Abstract X

1. Introducción 1
- 1.1. Antecedentes . . . 1
- 1.2. Objetivos . . . 2
- 1.3. Planteo del problema . . . 2

2. Marco Teórico 4
- 2.1. Biofísica . . . 4
- 2.2. Análisis de Impedancia Bioeléctrica (BIA) . . . 4
  - 2.2.1. Impedancia Eléctrica . . . 5
  - 2.2.2. Espectroscopia de Impedancia Eléctrica (EIE) . . . 7
  - 2.2.3. Diagrama de Nyquist . . . 7
  - 2.2.4. Circuito de Randles . . . 8
- 2.3. Comportamiento Eléctrico Celular . . . 10
- 2.4. Tejido sanguíneo . . . 12
  - 2.4.1. Eritrocito . . . 13
  - 2.4.2. Hemoglobina . . . 13

3. Metodología 14
- 3.1. Diagrama de Bloques . . . 14
- 3.2. Analog Discovery 2 . . . 15
- 3.3. Resistencia de Shunt . . . 16
- 3.4. Electrodos: Tiras Reactivas *Accu-Check* . . . 17

3.5. Sonda para el conector de electrodo 18
3.6. Integración y Ensamblado 19
3.7. Calibración del equipo 21
3.8. Población de estudio y muestra 22
3.9. Muestra Analizada 24

4. Resultados **25**
4.1. Arreglo experimental 25
4.2. Determinación del rango de frecuencias 26
4.3. Espectros en tejido sanguíneo 28

5. Conclusiones y Recomendaciones **31**
5.1. Conclusiones 31
5.2. Recomendaciones 32

A. Permisos de Pacientes Voluntarios **33**

Bibliografía **39**

Índice de figuras

2.1. Diagrama de Bode obtenido por un equipo EIE. *Fuente: Elaboración de T. Pérez publicada en la UAC, México [Per02].* 7
2.2. Diagrama de Nyquist que emula la respuesta en un circuito R-C en paralelo. *Fuente: Elaboración de J. Mendoza, R. Durán y J. Genescá publicada en la UNAM [Men10].* 8
2.3. Circuito de Randles representando una reacción electroquímica simple. . . . 8
2.4. Diagrama de Nyquist teórico para un circuito de Randles. *Fuente: Elaboración de J. Mendoza, R. Durán y J. Genescá publicada en la UNAM [Men10].* . . 10
2.5. Célula animal con la descripción de alguna de sus partes internas. *Fuente: Elaboracion de Terese Winslow LLC, Medical And Scientific Illustration publicado en el Instituto Nacional del Cáncer de U.S.A. [Ins14].* 11
2.6. Comportamiento eléctrico de la membrana celular al paso de iones. *Fuente: Elaboración propia publicada en el RIF [Lex21].* 11
2.7. Esbozo del circuito eléctrico correspondiente a la membrana celular. 12
2.8. Composición del tejido sanguíneo. 12
2.9. Adherencia del oxigeno al eritrocito mediante la hemoglobina. *Fuente: Elaboración de Assigment Point en su publicada en su pagina web [Hem04].* 13

3.1. Diagrama de bloques simplificado del equipo compacto de espectroscopia de impedancia eléctrica para análisis de tejido sanguíneo. 15
3.2. Diagrama de la configuración utilizada durante la medición de las muestras sanguíneas. *Fuente: Elaboración propia publicada en el RIF [Lex21].* 15
3.3. Analog Discovery 2 unido a un circuito de resistencia de shunt en el protoboard, realizando lecturas de calibración a un circuito en paralelo R-C 16
3.4. Tarjeta multifuncional Analog Discovery 2 unido al circuito de resistencia de Shunt para la salida del canal de electrodos. 16
3.5. Electrodos de las Tiras reactivas *Accu-Check* Performa PK50. 17
3.6. Tira reactiva *Accu-Check* Performa PK50 utilizado para la experimentación en un diagrama explosionado. (1) Extremo reactivo con la enzima glucosa deshidrogenasa. (2) Protector de los electrodos interdigitados. (3) Salida de 6 contactos de oro para su conexión con un equipo de medición. *Fuente: Imagen referencial del producto ofrecido por la farmacéutica MedShop en Nueva Zelanda [Med21].* 17

3.7. Evolución de como se fue desarrollando la sonda para el conectar el electrodo.(A) Se muestra el primer conector elaborado, donde se utilizo una cinta aislante para poder hacer contacto con el electrodo. (B) En este modelo se usa un conector rígido a base de un cuerpo de cianocrilato, cumpliendo con mayor precisión su función de hacer contacto con el electrodo. (C) A partir de las partes de un glucómetro *Accu-Check* se obtiene la pieza compatible para realizar contacto con el electrodo. *Fuente: Elaboración propia publicada en el RIF [Lex21].* 18
3.8. Diseño 3D final del conector para los Electrodos con sus respectivas partes internas, desarrollado en el programa de TinkerCad [Tin20]. 19
3.9. Diseño terminado de la sonda para conectar los electrodos, con dos terminales para realizar lecturas en el equipo de compacto de espectroscopia de impedancia. 19
3.10. Equipo compacto EIE desarrollado durante la investigación. *Fuente: Elaboración propia publicada en el RIF [Lex21].* 20
3.11. Diseño 3D del espectrómetro de impedancia eléctrica antes de su impresión en PLA+, desarrollado en el programa de INVENTOR [Inv20]. (1) Tapa superior del case, (2) Analog Discovery 2, (3) Tarjeta de resistencia de shunt, (4) Parte inferior del case. 20
3.12. Vista frontal, superior e inferior del equipo EIE. *Fuente: Elaboración propia publicada en el RIF [Lex21].* 21
3.13. Circuito patrón desarrollado para analizar la capacidad de lectura del equipo EIE. 21
3.14. Diagrama de Nyquist obtenido de la lectura del circuito patrón. 22
3.15. Anatomía de la piel. *Fuente: Imagen elaborada por Braun. B. publicada en su página web [Bra16].* 24

4.1. Fotografía del primer arreglo experimental desarrollado para poder realizar lectura de impedancia en tejido sanguíneo. 26
4.2. Diagrama de Bode correspondiente a las lecturas realizadas en circuito en paralelo R-C para su calibración. 27
4.3. Diagrama de Bode correspondiente a las lecturas sanguíneas de los 10 pacientes voluntarios. 28
4.4. Gráfica compleja correspondiente a muestras sanguíneas de 10 pacientes voluntarios varones en donde se les saco la tendencia correspondiente al aproximado de sus valores de Hemoglobina. 29
4.5. Diagrama de Nyquist correspondiente a la cantidad de hemoglobina relacionada durante la lectura de las muestras sanguíneas. El eje de la reactancia (Z')se encuentra en forma logarítmica, mientras que el eje de la resistencia (Z) se encuentra sin alterar. Este diagrama quiere mostrar con mayor pronunciación el punto mas bajo del valle entre cada una de las gráficas. 30

Índice de cuadros

3.1. Los valores que se observan en esta tabla corresponde a una toma de 121 muestras, donde se resalto el valor inicial y final de la resistencia y reactancia. *Fuente: Elaboración propia publicada en el RIF [Lex21].* 22
3.2. Relación entre sexo y cantidad de sangre en el cuerpo humano pasado los 15 años, ya que pasado dicha edad el cuerpo del hombre y la mujer pasan a la edad madura de su tejido sanguíneo, evidenciando así la diferencia requerida para múltiples estudios científicos-médicos [Car03]. 23

4.1. Tabla de valores inicial y final del Diagrama de Bode correspondiente al circuito R-C. *Fuente: Datos de investigación propia publicada en el RIF [Lex21].* 26
4.2. Tabla de valores del comportamiento de la resistencia y la reactancia comparado con la de hemoglobina en las frecuencias 29
4.3. Tabla de valores del comportamiento de la resistencia y la reactancia comparado con la de hemoglobina en el punto inflexión. 30

Abreviaciones

BIA	**B**iolectrical **I**mpedance **A**nalysis
EIE	**E**spectroscopia de **I**mpedancia **E**léctrica
CA	**C**orriente **A**lterna
CC	**C**orriente **C**ontinua
Hb	**H**emoglo**b**ina
MIDIS	**MI**nisterio de **D**esarollo e **I**nclusion **S**ocial

Resumen

Desarrollo de un equipo compacto y portátil de Espectroscopia de Impedancia Eléctrica para realizar análisis del tejido sanguíneo

por Christian Lexequías

Basados en las últimas cifras registradas en el Perú de pacientes con prevalencia de anemia, se puede observar que una cifra aproximada del 40 % de la población nacional padece de esta enfermedad. Esta cifra, sumada a la actual situación sanitaria (COVID19) en la que se encuentra el país y el mundo, provoca que se incrementen los casos de anemia en la población urbana y rural. A pesar que el tratamiento de la anemia es accesible, se requiere de un método de despistaje rápido y eficiente. Los métodos actuales de despistaje son invasivos; típicamente se requiere punzar la piel para extraer una muestra de sangre de 5 mL. Estos métodos resultan incómodos en niños y mujeres gestantes.

La problemática arriba mencionada es la que esta investigación pretende resolver con el desarrollo de un dispositivo capaz de analizar tejido sanguíneo con un método mucho menos invasivo, rápido y altamente confiable haciendo uso de una muestra sanguinea de 0.6 uL. Su principio de funcionamiento se basa en la espectroscopia de impedancia eléctrica (EIE) sobre una tira reactiva dopada con una proteína dimérica que reacciona con la Hemoglobina (Hb1Ac).

El presente proyecto fue llevado a cabo dentro del laboratorio de Instrumentación Física y Aplicaciones de la UNMSM (INFISA). Como resultado de este trabajo se pudo observar una diferencia notoria entre los espectros de impedancia correspondientes al diagrama de Nyquist en diferentes concentraciones de hemoglobina en sangre, con lo cual se pudo cumplir el objetivo de poder realizar un equipo capaz de analizar tejido sanguíneo por EIE. Este hallazgo ha sido el producto de una investigación financiada por el Vicerrectorado de Investigación de la UNMSM a través de su programa IPCONFIG-2020 y el Programa de Promoción de Trabajo de Investigación (TI) para optar al grado académico de Bachiller-2020, ganando también el segundo galardón en Global First Penguin Club Conference (G1PEC).

Abstract

Development of a compact and portable Electrical Impedance Spectroscopy equipment for blood tissue analysis.

by Christian Lexequías

Based on the latest figures recorded in Peru for patients with prevalence of anemia, it can be observed that approximately 40 % of the national population suffers from this disease. This figure, added to the current health situation (COVID19) in which the country and the world find themselves, leads to an increase in cases of anemia in the urban and rural population. Although the treatment of anemia is accessible, a fast and efficient screening method is required. Current screening methods are invasive; typically, skin puncture is required to draw a 5 mL blood sample. These methods are uncomfortable for children and pregnant women.

The above mentioned problem is the one that this research aims to solve with the development of a device capable of analyzing blood tissue with a much less invasive, fast and highly reliable method using a 0.6 uL blood sample. Its principle of operation is based on electrical impedance spectroscopy (EIE) on a test strip doped with a dimeric protein that reacts with hemoglobin (Hb1Ac).

The present project was carried out at the Physical Instrumentation and Applications Laboratory of the UNMSM (INFISA). As a result of this work, it was possible to observe a noticeable difference between the impedance spectra corresponding to the Nyquist diagram in different concentrations of hemoglobin in blood, with which the objective of being able to make a kit capable of analyzing blood tissue by EIE could be met. This finding has been the product of a research funded by the Vice Rectorate of Research of the UNMSM through its IPCONFIG-2020 program and the Program for the Promotion of Research Work (TI) to qualify for the academic degree of Bachelor-2020, also winning the second prize in the Global First Penguin Club Conference (G1PEC).

Capítulo 1

Introducción

1.1. Antecedentes

En el Perú el Ministerio de Desarrollo e Inclusión Social (MIDIS) señala que para el 2019, último año que fue censado, el 45 % de la población padece de prevalencia de anemia, del cual el 43 % son niños menores de tres años [Ine19]. Para realizar el diagnóstico de anemia los profesionales de la salud utilizan un método que consiste en la extracción de tejido sanguíneo (una muestra de 5 mL de sangre) que luego es sometida a un proceso donde se analiza la medición de absorbancia total de la sangre en un punto isosbéstico entre Hemoglobina (Hb) y oxihemoglobina (HbO2) [Est04]. Este método (el más utilizado) es invasivo y tiene el riesgo de provocar efectos adversos en los pacientes debido a una punción accidental de una arteria. Una mala praxis puede provocar formación de hematomas por el desbordamiento de la sangre en el tejido antes, durante o después de la punción [And10]. El segundo método más utilizado en la actualidad se basa en una técnica fotométrica el cual consiste en diluir la sangre en un reactivo Drabkin [Bri09]. A diferencia del primer método, este requiere de la extracción de 10 uL de sangre mediante una punción capilar o venosa. El método menos utilizado para el descarte rápido es el tamizaje por peso, altura y observación del interior del párpado; siendo este último método no tan confiable como el análisis sanguíneo [May19].

La espectroscopia de impedancia eléctrica (EIE) es una técnica que estudia el comportamiento eléctrico de una muestra. Este método ha sido utilizada para caracterizar organismos biológicos tales como la E. Coli [Bal19] y la Salmonella [Yan04], en tejido adiposo [Mar03] y tejido sanguíneo [Her05, Sos05].

A finales del 2019 en el laboratorio de Biofísica y Física Médica de INFISA en la UNMSM, se empezó desarrollar un circuito base de impedancia para realizar pruebas en tejido sanguíneo, logrando obtener los espectros de Nyquist y Bode correspondientes a dicho tejido [Lex21].

1.2. Objetivos

Objetivo general:

- Desarrollar un espectrómetro de bioimpedancia eléctrica compacto el cual conectado a un ordenador o portátil, con compatibilidad a múltiples sistemas operativos, sea capaz de realizar lecturas en muestras sanguíneas de 0.6 uL.

Objetivos específicos:

- Indentificar diferencias observables entre pacientes con diferente cantidad de hemoglobina en sangre.
- Analizar el espectro de impedancias de los tejidos sanguíneos y encontrar los valores que se ven afectados en relación con la hemoglobina.
- Establecer las bases preliminares para el desarrollo de un futuro equipo para descarte de Anemia.

1.3. Planteo del problema

Hoy en día la anemia es una enfermedad de prevalencia mundial que afecta el 24.8 % de la población [Org08]. El grupo más afectado son los niños menores de 5 años y las mujeres gestantes. Ambos grupos suman una prevalencia de anemia del 41.7 % a nivel mundial [Per18]. Con respecto al Perú, el 43.6 % de los niños menores de 3 años sufre de anemia, lo que se convierte en un grave problema de salud pública [Sal17]. Para el diagnóstico de la anemia se utiliza el método clínico convencional el cual requiere de la extracción de 5 mL de sangre para la realización de un hemograma cuyo equipamiento es voluminoso y costoso, además que el método para la extracción de la muestra resulta invasivo [Per13].

Ante los actuales métodos invasivos que se utilizan para detectar enfermedades sanguíneas como la Anemia, el uso del método de espectrometría de impedancia para estudiar el tejido sanguíneo podría dar inicio al desarrollo de nuevos métodos menos invasivos para diagnosticar anemia o incluso otros tipos de enfermedades que afecten al mismo tejido.

Capítulo 2

Marco Teórico

2.1. Biofísica

Biofísica es la disciplina que se ocupa de estudiar los fenómenos biológicos haciendo uso de los conceptos de la física. Entre las competencias de esta disciplina se encuentra el análisis del comportamiento eléctrico de los tejidos biológicos, el cual nos ayuda a caracterizar los circuitos que se interpretan a partir de las resultados obtenidos en las muestras a partir de métodos e instrumentaciones de la física [Sol18].

2.2. Análisis de Impedancia Bioeléctrica (BIA)

El análisis de impedancia bioeléctrica o BIA por sus siglas en ingles (Bioelectrical Impedance Analysis) es un método confiable para realizar observaciones en el comportamiento de tejidos biológicos sometidos a una diferencia potencial eléctrica de baja intensidad de corriente alterna. El BIA utiliza como base el fenómeno eléctrico conocido como impedancia, logrando así obtener gráficas que sirven para poder interpretar el material biológico estudiado [Mal10].

Actualmente el uso de este método permitió caracterizar tejidos adiposos, proteínas, tejido muscular, tejido sanguíneo entre otros. Siendo el tejido adiposo el mas estudiado a nivel mundial tomando un lugar de importancia en las áreas médicas [Cie19].

2.2.1. Impedancia Eléctrica

La impedancia Eléctrica (Z) es un resistencia compleja que presenta todo cuerpo al ser sometido al paso de corriente alterna (AC). En un circuito de corriente directa (DC) la resistencia es representada simplemente como R debido a que su ángulo de fase de igual a 0 pero en un circuito de corriente alterna la resistencia posee magnitud y fase el cual nos brinda dentro de sus valores información importante para la lectura de Espectros de impedancia.

La ecuación eléctrica que relaciona la resistencia con la diferencia potencial e intensidad de corriente tenemos que en un circuito directo es:

$$V = I \times R, \tag{2.1}$$

Donde V es el potencial eléctrico, I es la intensidad de corriente. Mientras que para un circuito de corriente alterna la ecuación es:

$$V = I \times Z, \tag{2.2}$$

Donde Z es la resistencia compleja conocida como impedancia. Dentro se este concepto se debe tomar en cuenta que Z esta relacionado directamente a la frecuencia(Hz) aplicada en el circuito CA. También con fines netamente teóricos se debe mencionar la admitancia (Y) el cual representa la facilidad de un circuito AC al paso de corriente y este concepto es el que maneja todo equipo de Espectroscopia de Impedancia para obtener la impedancia. La ecuación que se utiliza para obtener Z es la siguiente:

$$Y = Z^{-1} = \frac{1}{Z} \tag{2.3}$$

Debido que para interpretar los circuitos biológicos se entender los conceptos internos de la impedancia por ello a continuación se muestra un breve de la teoría que comprende el BIA. Para la comprensión de Z en la corriente debemos considerar el potencial eléctrico o voltaje (V) como vectores giratorios los cuales se conocen como fasores [Oba21]. Entonces en el siguiente marco observamos la representación de un voltaje sinusoidal:

$$V = \Delta V sen\omega t, \tag{2.4}$$

Donde V es el potencial instantáneo, δV es la amplitud maxima y ω la frecuencia angular, la cual podemos relacionar directamente con la frecuencia en la ecuación(2.4).

$$\omega = 2\pi f \tag{2.5}$$

En este punto se puede entender que la intensidad de corriente(I) se encuentra relacionado con el potencial mostrando también una señal sinusoidal a una misma frecuencia pero con amplitud y fase distintas a la del potencial. Se deduce que en este punto que los fasores se encuentran separados por un ángulo ϕ (2.6).

$$I = \Delta I sen(\omega t + \phi) \tag{2.6}$$

En un circuito DC la respuesta cuando es sometido a un potencial eléctrico la resistencia es únicamente R debido a que el ángulo de fase es igual a 0 ($\phi = 0$). En el caso del circuito AC si se encuentra presente el ángulo de fase el cual sometido a un potencial eléctrico la resistencia es un valor complejo que presenta una parte resistiva y una parte compleja llamada reactancia capacitiva (2.7).

$$Z = R - jX_c, \tag{2.7}$$

Donde R es la resistencia, j es la parte irreal ($\sqrt{-1}$) y X_c es la reactancia capacitiva. Remplazando la ecuación (2.7) en (2.2) tenemos:

$$V = I \times (R - jX_c), \tag{2.8}$$

Por ultimo relacionamos el ángulo de fase con la ecuación (2.8), obteniendo lo siguiente:

$$tan\phi = \frac{X_c}{R} = \frac{1}{\omega RC} \tag{2.9}$$

Con esto podemos comprender e interpretar mejor los datos obtenidos durante la etapa experimental.

2.2.2. Espectroscopia de Impedancia Eléctrica (EIE)

La espectroscopia de impedancia eléctrica es una técnica que forma parte del BIA, mediante esta se puede observar visualmente el espectro de impedancia producido por una muestra biológica. El espectros observable se plasma en 2 tipos importantes de diagrama conocidos como el diagrama de Bode y diagrama de Nyquist.

En el diagrama de Bode se puede analizar la frecuencia en relación al modulo de impedancia y el ángulo de fase (Figura.2.1), mientras que en un diagrama de Nyquist se puede observar la resistencia en relación con la reactancia.

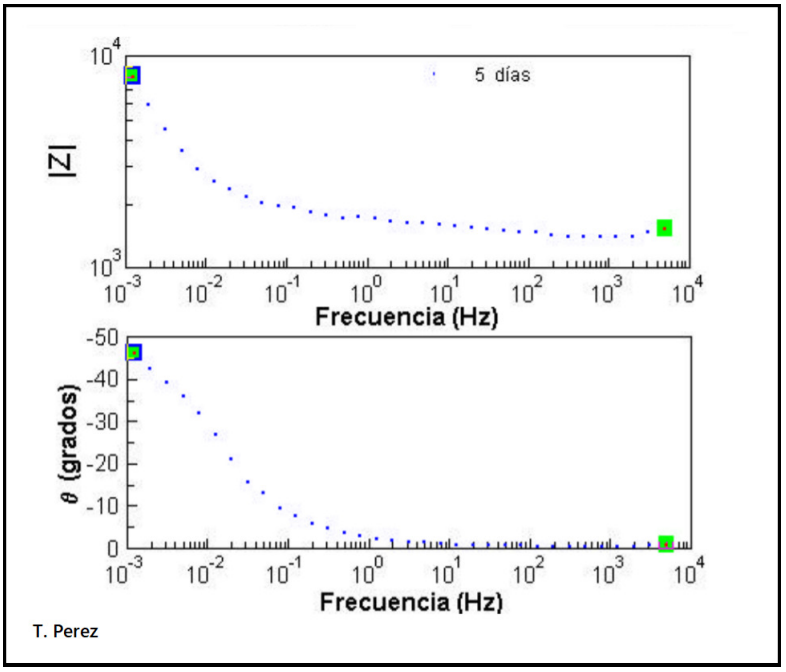


FIGURA 2.1: Diagrama de Bode obtenido por un equipo EIE. *Fuente: Elaboración de T. Pérez publicada en la UAC, México [Per02].*

2.2.3. Diagrama de Nyquist

El diagrama de Nyquist es un gráfico complejo que nos muestra la respuesta de un material en un determinado rango de frecuencia al aplicarse una corriente alterna. En coordenadas cartesianas observamos que la parte real está en el eje de las abscisas (Z) el cual nos indica

la resistencia ejercida al paso de corriente y la parte imaginaria se encuentra en el eje de las ordenadas (Z') el cual nos indica la reactancia capacitiva.

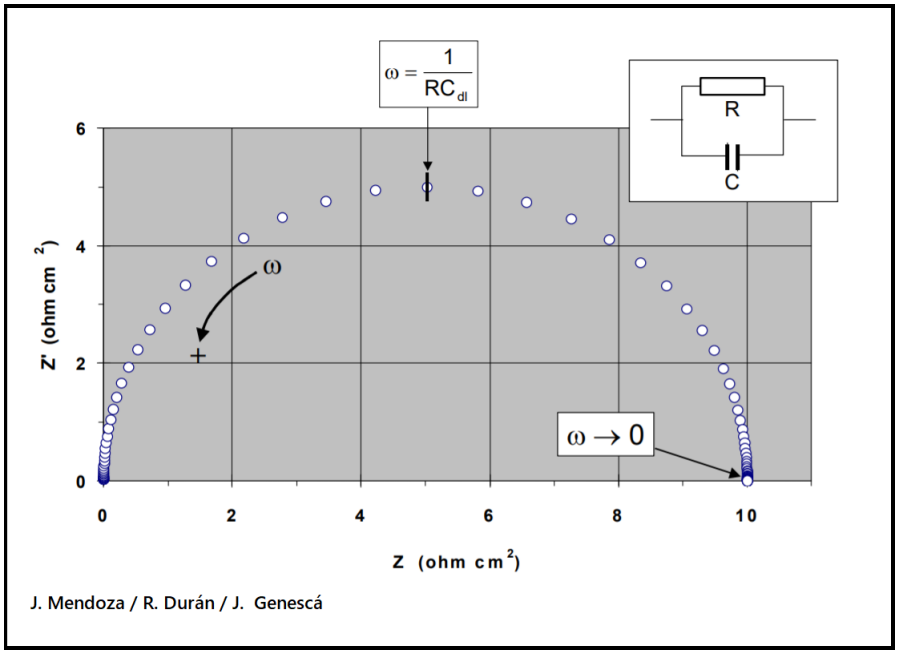


FIGURA 2.2: Diagrama de Nyquist que emula la respuesta en un circuito R-C en paralelo. *Fuente: Elaboración de J. Mendoza, R. Durán y J. Genescá publicada en la UNAM [Men10].*

2.2.4. Circuito de Randles

Este circuito corresponde a la representación de una reacción electroquímica en el cual se nota que la resistencia de transferencia de carga se encuentra en serie con la impedancia de Warburg.

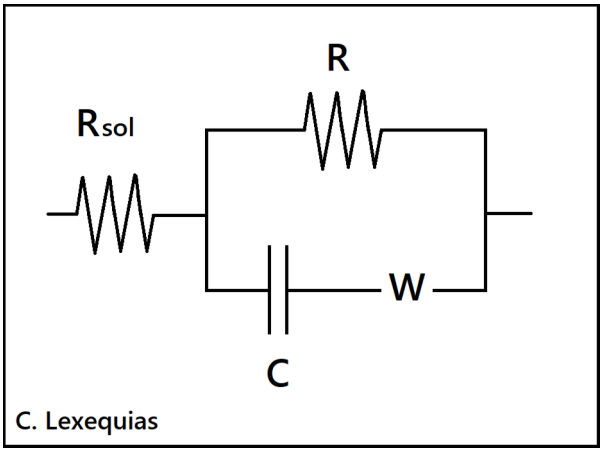


FIGURA 2.3: Circuito de Randles representando una reacción electroquímica simple.

Para el circuito de Randles podemos encontrar dos formulaciones que cambian su tendencia en función a la frecuencia aplicada. En el caso de bajas frecuencias se nota que ω tiende a 0, tomando la relación de los valores Z y Z' como se muestra a continuación :

$$Z' = Z - R_{sol} - R_{ct} + 2\sigma^2 C_{dl} \tag{2.10}$$

Donde R_{sol} es la resistencia de solución, R_{ct} es la resistencia de transferencia de carga, σ es el parámetro de difusión del sistema y C_{dl} es la capacitancia en una doble capa. La ecuación (2.13) llevado al diagrama de Nyquist resulta una pendiente que termina por cruzarse con el eje de Z en el plano complejo, siendo el punto de intersección Z_i el siguiente:

$$Z_i = R_{sol} + R_{ct} - 2\sigma^2 C_{dl} \tag{2.11}$$

Para el caso de altas frecuencias se observa que la función que relaciona los valores Z y Z' nos muestra en el diagrama de Nyquist la tendencia circular el cual se enuncia en la siguiente ecuación:

$$(\frac{R_{ct}}{2})^2 = (Z - R_{sol} - \frac{R_{ct}}{2})^2 + (Z')^2 \tag{2.12}$$

En donde su centro (2.13) y su radio (2.14) son los siguientes:

$$Z = R_{sol} + \frac{R_{ct}}{2} \tag{2.13}$$

$$r = \frac{R_{ct}}{2} \tag{2.14}$$

Cuando se realiza la lectura de una muestra correspondiente a un circuito de Randles se puede observar en el circuito de Nyquist un punto de inflexión en la gráfica (Figura.2.4) el cual se debe a la diferencia en el rango de frecuencias. Por ultimo en los valores del circuito de Randles tenemos la impedancia de Warburg el cual corresponde a la difusión semi infinita que se ocasiona en la reacción electroquímica [Vaz07].

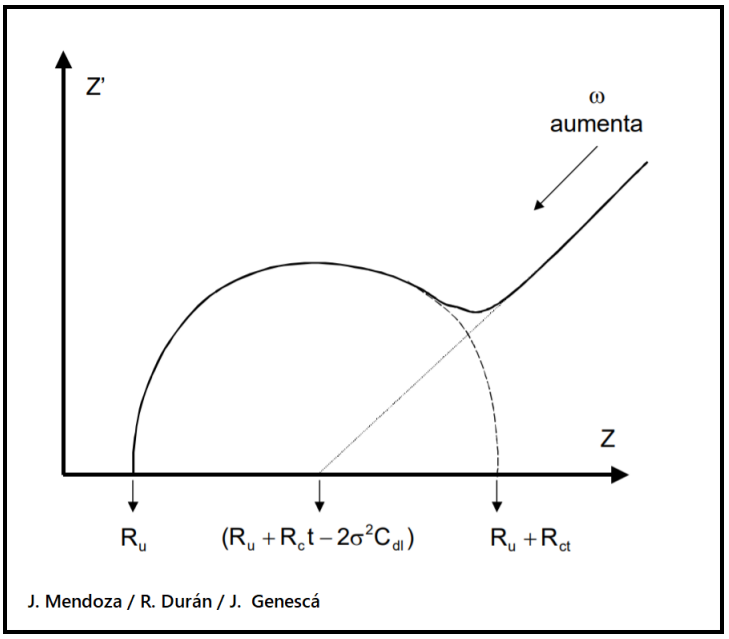


FIGURA 2.4: Diagrama de Nyquist teórico para un circuito de Randles. *Fuente: Elaboración de J. Mendoza, R. Durán y J. Genescá publicada en la UNAM [Men10].*

2.3. Comportamiento Eléctrico Celular

Las células son la base de todo tejido en los seres vivos, por ende al querer realizar un análisis de impedancia bioeléctrica debemos tomar en cuenta como es el comportamiento de la célula ante el flujo de electrones dentro de si mismo. Basándonos principalmente por el estudio de esta investigación en la célula animal (Figura.2.5), podemos observar que su estructura interna comprende varios elementos biológicos como la membrana celular, aparato de Golgi, receptores de membrana, mitocondria, núcleo, entre otros.

Es en la membrana celular donde se concentra la mayor parte del estudio eléctrico, debido a que es la primera barrera por la que el electrón debe pasar para lograr la continuidad de corriente en el circuito. Adentrándonos tanto en la parte externa como interna de la membrana celular se encuentra iones a distintas concentraciones que van acumulando a los lados de la bicapa lipídica y es por los canales iónicos donde se regula el paso de iones que entran o salen de la célula. Esto intercambio de iones de un lado a otro de la bicapa lipídica genera un campo eléctrico y a su vez un flujo de corriente iónica que pasa a través de la membrana [Ram05].

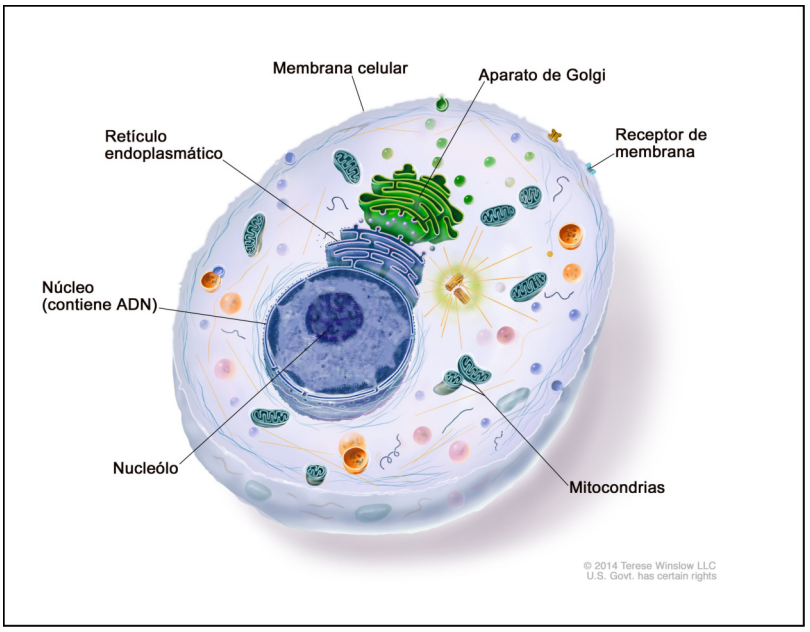


FIGURA 2.5: Célula animal con la descripción de alguna de sus partes internas. *Fuente: Elaboracion de Terese Winslow LLC, Medical And Scientific Illustration publicado en el Instituto Nacional del Cáncer de U.S.A. [Ins14].*

De acuerdo al estudio del comportamiento eléctrico de la célula en su membrana es que se define a la bicapa lipídica como la capacitancia debido a la acumulación de iones y al canal iónico como conductancia ya que interviene directamente con el pase de los iones mediante el cierre del poro iónico (Figura.2.6).

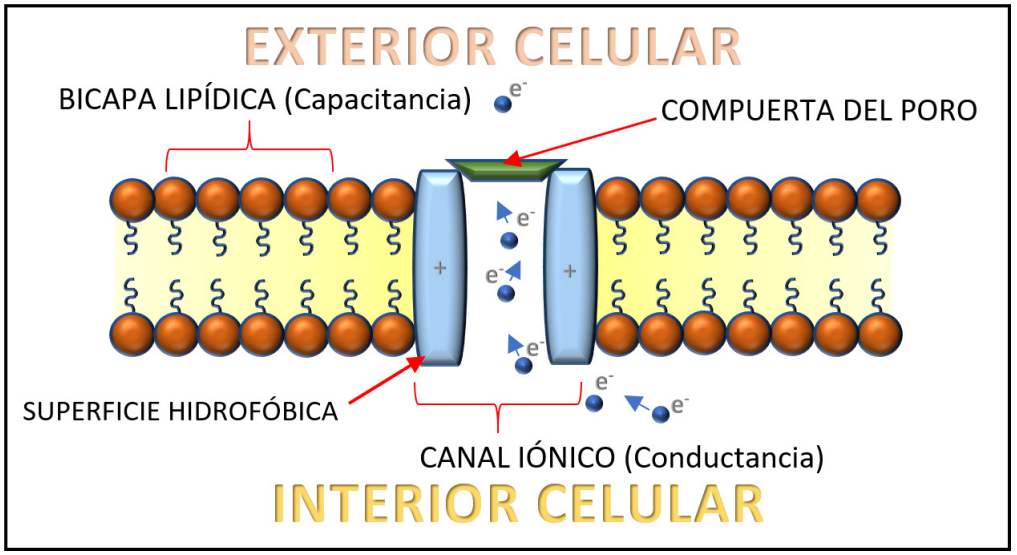


FIGURA 2.6: Comportamiento eléctrico de la membrana celular al paso de iones. *Fuente: Elaboración propia publicada en el RIF [Lex21].*

Finalmente para llevar el concepto eléctrico de la membrana celular para realizar un esquema de circuito eléctrico, se remplaza la bicapa lipídica por un capacitor y el canal iónico por una resistencia resultando el circuito mostrado en la figura.2.7 .

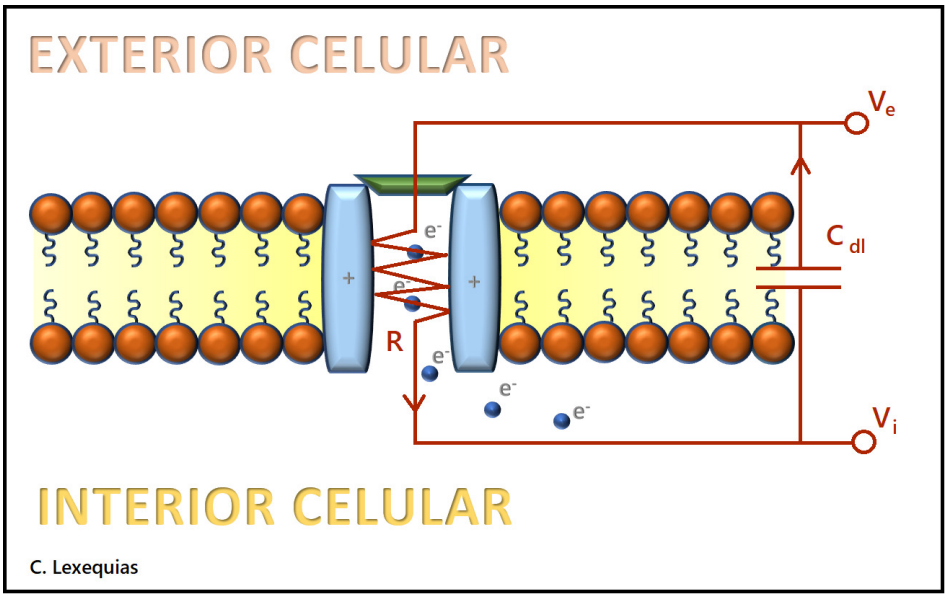


FIGURA 2.7: Esbozo del circuito eléctrico correspondiente a la membrana celular.

2.4. Tejido sanguíneo

El tejido sanguíneo es uno de los principales tejidos que se encuentra en los seres vivos. Entre sus funciones mas importantes tenemos la de oxigenar todos los órganos de los seres vivos formado 8 % del peso corporal total y mediante una observación clínica se puede separar mediante el un equipo de centrifuga los componentes de este tejido en dos fases esenciales [Zam17].

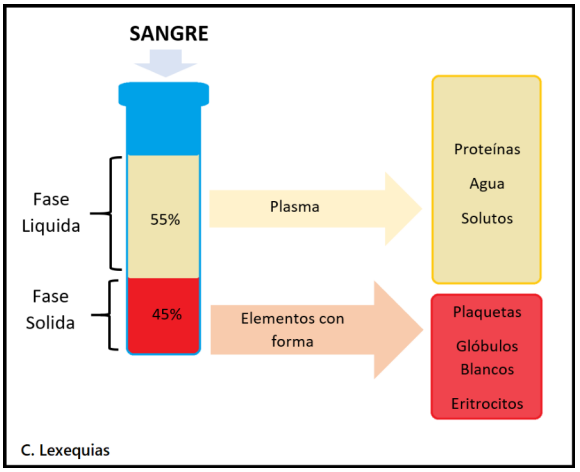


FIGURA 2.8: Composición del tejido sanguíneo.

En la fase liquida de la sangre podemos encontrar el plasma el cual se encuentra conformado por un 91 % de agua, quedando un porcentaje pequeño correspondiente a proteínas (Albuminas, globulina y fibrogeno) y solutos (Iones, nutrientes, desechos de gases y sustancias reguladoras). Por otro lado la fase solida contiene plaquetas, glóbulos blancos (Neutrófilos, linfocitos, monocitos, eosinófilos y basófilos) y eritrocitos, siendo este ultimo el que ocupa mayor cantidad en esta fase.

2.4.1. Eritrocito

Los eritrocitos o glóbulos rojos son células que se encuentran dentro del tejido sanguíneo, estas a diferencia de la mayoría de las células carece de núcleo y mitocondrias al llegar a su estado maduro. Su función es captar las molecular de oxigeno e irrigarlas por todos los órganos que necesitan de esta para poder funcionar [Mus14].

2.4.2. Hemoglobina

La Hemoglobina (Hb) es una hemoproteina que se encuentra dentro de la célula de la sangre, ocupando un 32 % de su masa total. Su función es poder encapsular las moléculas de oxigeno (O_2) para que la sangre pueda oxigenar todo el cuerpo. Cuando la hemoglobina se encuentra unido al O_2 toma un aspecto de color rojizo y se llama oxihemoglobina (HbO_2) , el cual le da el tono característico al color de la sangre [For10].

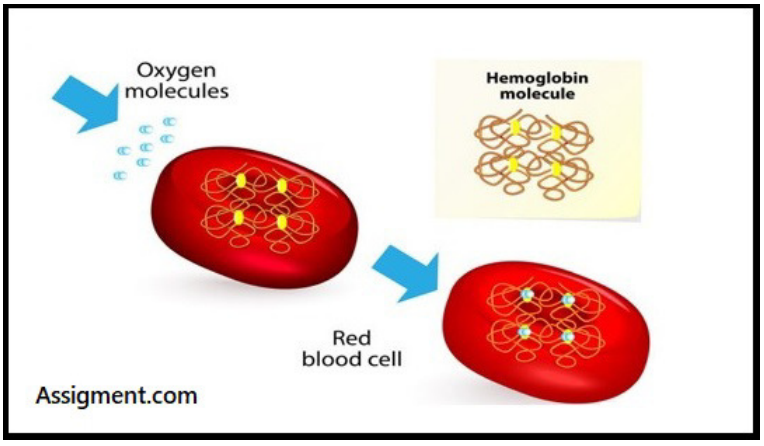


FIGURA 2.9: Adherencia del oxigeno al eritrocito mediante la hemoglobina. *Fuente: Elaboración de Assigment Point en su publicada en su pagina web [Hem04].*

Capítulo 3

Metodología

En la actualidad existen diversos equipos para realizar espectroscopia de impedancia eléctrica en distintos materiales, sin embargo el costo que ocasiona poder adquirir uno es muy alto para llevar a cabo un análisis de impedancia bioeléctrica. Debido a esto, como parte del presente trabajo de investigación se desarrollo un equipo de impedancia compacto con componentes que formaron parte de un anterior equipo de EIE multielectrodos [Bal19]. Aunque el valor monetario del equipo armado es ligeramente alto comparado con otros equipos de medición física, este es tiene un valor mucho mas bajo que los demás equipos de EIE, especialmente de aquellos equipos que fueron utilizados en los antecedente para poder realizar lectura en material biológico.

3.1. Diagrama de Bloques

Podemos observar en la figura.3.1 el diagrama de bloques correspondiente al equipo compacto EIE, el cual cuenta con una tarjeta Analog Discovery 2 (AD2) el cual se encarga de emitir y recepcionar la corriente a la muestra, este se encuentra controlado desde un ordenador(Computador o laptop). Como el software para controlar el Analog Discovery 2 es libre puede usarse en cualquier ordenador que utilice sistemas operativos Linux y Windows. Acoplado al AD2 se encuentra una tarjeta con una resistencia de shunt la cual tiene dos puertos para que pueda unirse la sonda con la que se conecta el electrodo y realizar la lectura de la muestra. Este equipo desarrollado tiene como objetivo principal realizar lectura en muestras biológicas humanas (Saliva, sangre, fluido nasal,etc.) que sean pequeñas.

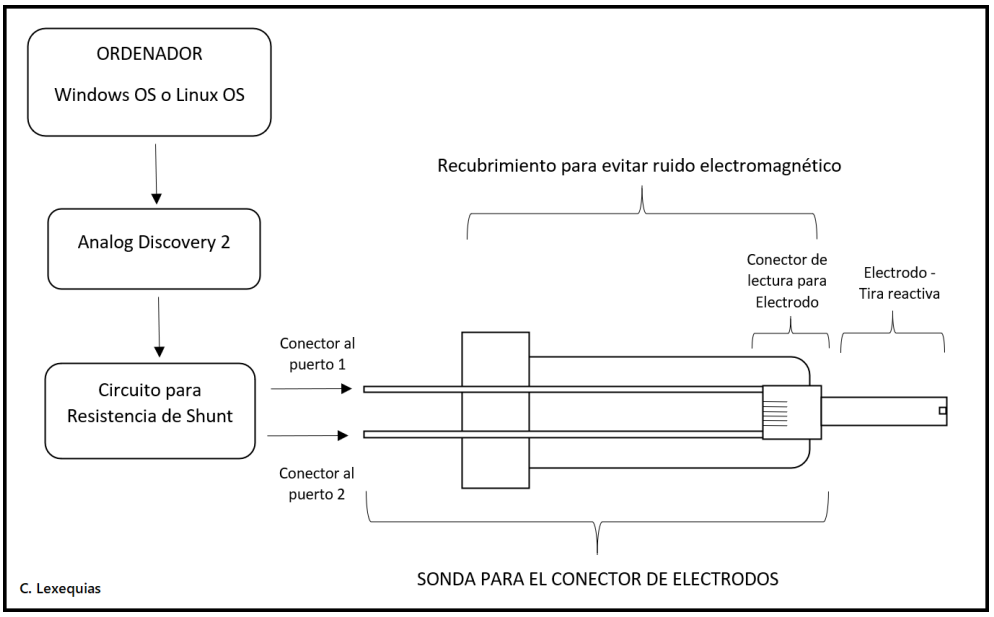


FIGURA 3.1: Diagrama de bloques simplificado del equipo compacto de espectroscopia de impedancia eléctrica para análisis de tejido sanguíneo.

3.2. Analog Discovery 2

El Analog Discovery 2 (AD2) es una tarjeta multifuncional que permite realizar mediciones, emitir, controlar, y registrar señales eléctricas como el usuario lo requiera. El AD2 es fabricado por la empresa Diligent, la cual es una reconocida marca por producir componentes de gamma alta. La tarjeta nos brinda un barrido de frecuencias que llega entre los 200 uHz a 25 MHz con un rango de amplitud de diferencia potencial de 0 V a 5 V,además de contar con un analizador lógico y generador de patrones digitales de 16 canales. El equipo de EIE tiene la siguiente configuración para el AD 2 mostrada en la figura.3.2.

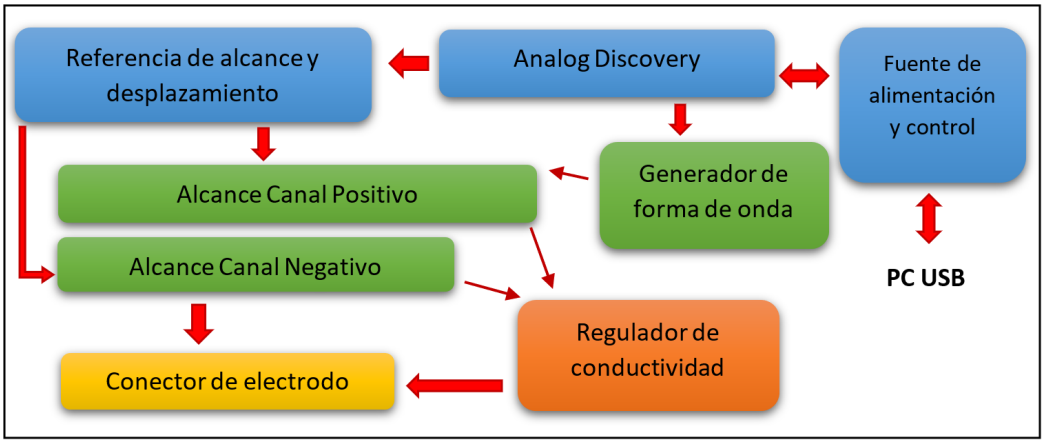


FIGURA 3.2: Diagrama de la configuración utilizada durante la medición de las muestras sanguíneas. *Fuente: Elaboración propia publicada en el RIF [Lex21].*

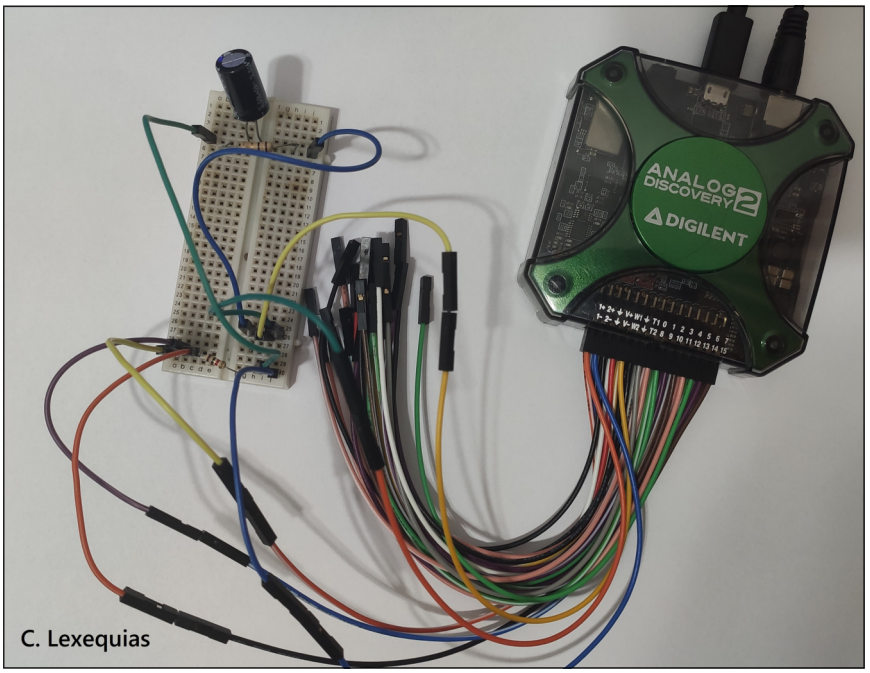


FIGURA 3.3: Analog Discovery 2 unido a un circuito de resistencia de shunt en el protoboard, realizando lecturas de calibración a un circuito en paralelo R-C

3.3. Resistencia de Shunt

La resistencia de shunt ayuda a regular la señal de salida dependiendo de la frecuencia que se le aplique. La resistencia utillizada en el circuito funcional es de 10 $kOhm$ se encuentra unida en una placa PCB mediante un T-block. Ademas este circuito cuenta con la salida de dos conectores hembras para cable coaxial, los cuales cumplirán la función de unirse con la sonda para conector de electrodo.

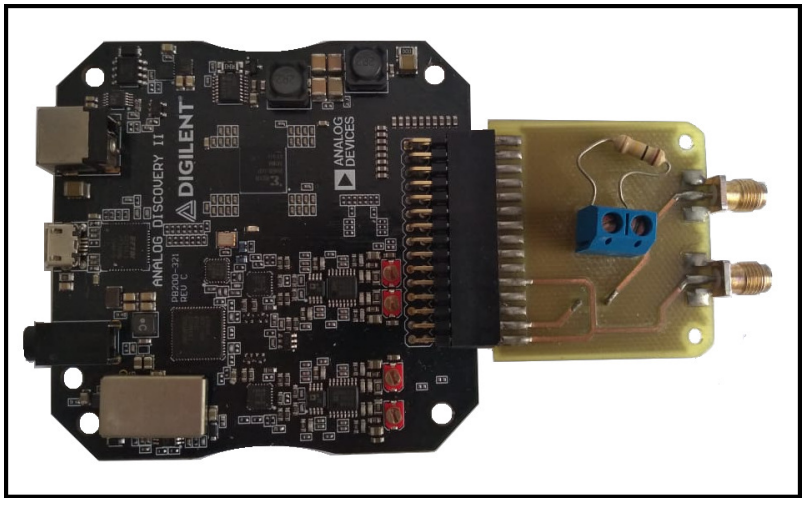


FIGURA 3.4: Tarjeta multifuncional Analog Discovery 2 unido al circuito de resistencia de Shunt para la salida del canal de electrodos.

3.4. Electrodos: Tiras Reactivas *Accu-Check*

En esta investigación se utilizan las tiras reactivas *Accu-Check* Performa PK50 debido a su bajo costo y la efectividad de poder realizar lectura en muestras de 0.6 uL. Esta tira reactiva esta conformado por un electrodo interdigitado son 6 contactos de oro dopadado con glucosa deshidrogensa que sirve para eliminar reducir las moléculas de oxigeno al momento de realizar lectura.

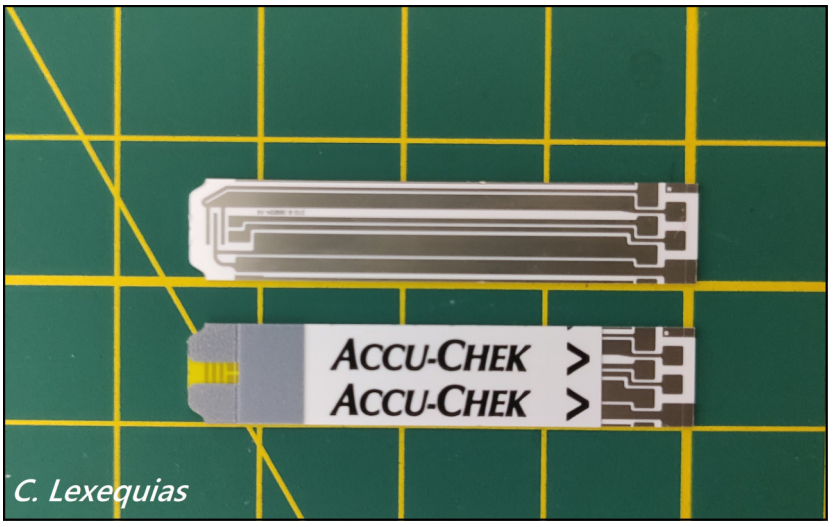


FIGURA 3.5: Electrodos de las Tiras reactivas *Accu-Check* Performa PK50.

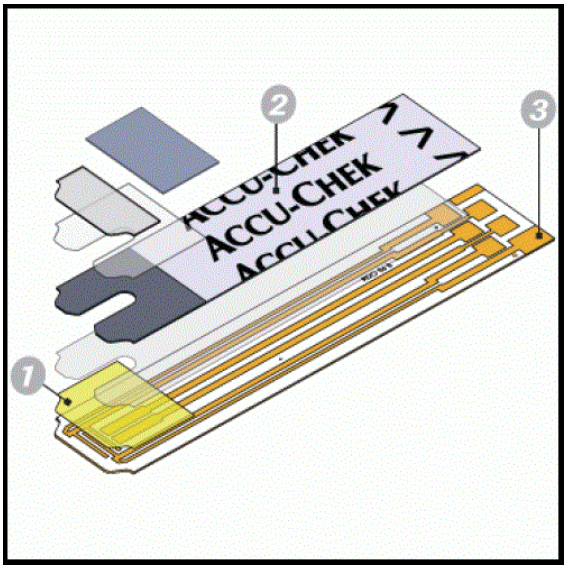


FIGURA 3.6: Tira reactiva *Accu-Check* Performa PK50 utilizado para la experimentación en un diagrama explosionado. (1) Extremo reactivo con la enzima glucosa deshidrogenasa. (2) Protector de los electrodos interdigitados. (3) Salida de 6 contactos de oro para su conexión con un equipo de medición. *Fuente: Imagen referencial del producto ofrecido por la farmacéutica MedShop en Nueva Zelanda [Med21].*

3.5. Sonda para el conector de electrodo

La necesidad de elaborar un conector que evite dañar los electrodos durante la lectura y sin interferencias es lo que motiva a implementar esta sonda en el equipo EIE. La sonda en lo mas básico esta compuesto por 2 cables coaxiales con conectores hembra para su unión con la tarjeta de la resistencia de shunt en un extremo y en el otro extremo 6 filamentos delgados de cable de cobre que realizan contacto con la tira los 6 contactos del electrodo.

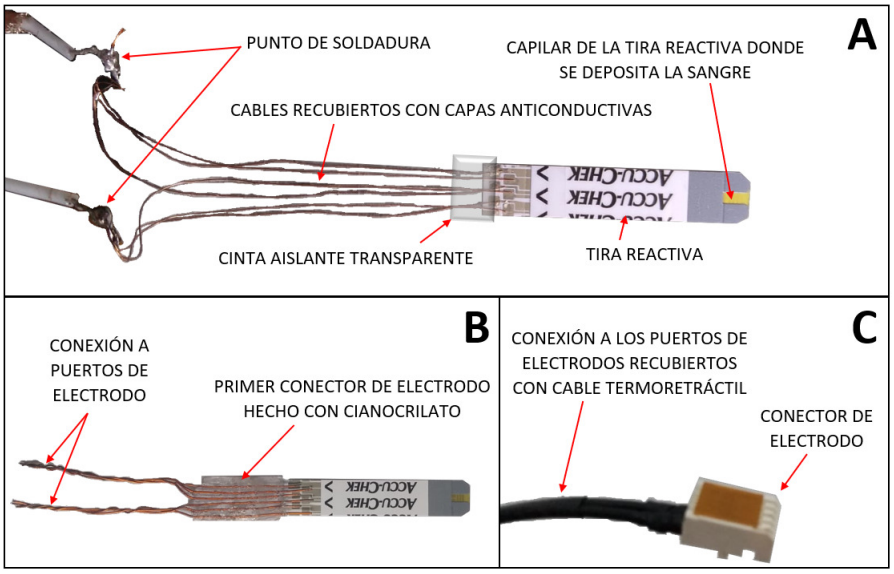


FIGURA 3.7: Evolución de como se fue desarrollando la sonda para el conectar el electrodo.(A) Se muestra el primer conector elaborado, donde se utilizo una cinta aislante para poder hacer contacto con el electrodo. (B) En este modelo se usa un conector rígido a base de un cuerpo de cianocrilato, cumpliendo con mayor precisión su función de hacer contacto con el electrodo. (C) A partir de las partes de un glucómetro *Accu-Check* se obtiene la pieza compatible para realizar contacto con el electrodo. *Fuente: Elaboración propia publicada en el RIF [Lex21].*

En el extremo que conecta al electrodo se añadió un cabezal de plástico obtenido de las piezas internas de un glucómetro, el cual sostiene los 6 filamentos de contacto de manera mas solida a una separación adecuada entre cada contacto del electrodo. Además las uniones que tiene con el cable coaxial fueron recubiertos con cable termoretractil y a su vez envuelto en aluminio para reducir en la mayor expresión el ruido electromagnético que podría encontrarse en el momento de la experimentación. Sumado a esto, se encontraba aun una pequeña problemática el cual era una posible interferencia al momento de realizar la lectura de impedancia por sostener la sonda con la mano o sostenerla muy cerca del cabezal conector, por lo cual se decide encapsular esta parte con un tubo de ensayo de plástico, el cual evita el contacto

directo con la sonda y le añade un agarre ergonómico para poder sacar muestras y realizar lectura de forma directa manteniendo todo el equipo ensamblado (Figura.3.8).

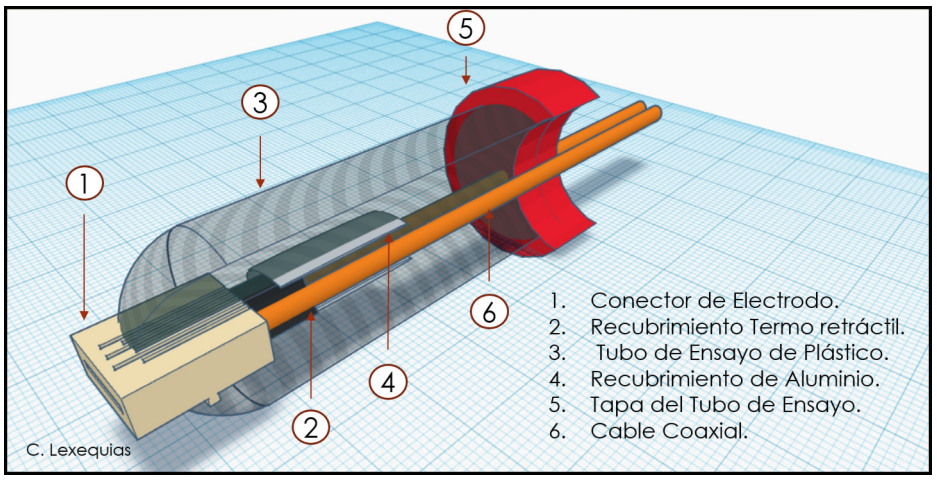


FIGURA 3.8: Diseño 3D final del conector para los Electrodos con sus respectivas partes internas, desarrollado en el programa de TinkerCad [Tin20].



FIGURA 3.9: Diseño terminado de la sonda para conectar los electrodos, con dos terminales para realizar lecturas en el equipo de compacto de espectroscopia de impedancia.

3.6. Integración y Ensamblado

Para el ensamblado del presente equipo se desarrolló un case impreso en 3D en el material de PLA+ (Figura.3.10). El diseño de impresión se llevo a cabo en el programa TinkerCad [Tin20] y su diagrama explosionado en el programa INVERTOR 2020 [Inv20], teniendo las dimensiones de 8 cm de ancho, 12.3 cm de largo y 2.5 cm de alto .



FIGURA 3.10: Equipo compacto EIE desarrollado durante la investigación. *Fuente: Elaboración propia publicada en el RIF [Lex21].*

En el interior del case se dispone a unir el Analog Discovery 2 con la resistencia de shunt dejando espacios para su conexión con la sonda, salida de datos al odernador y alimentación de energía (Figura.3.11) . En la tapa del case tiene una pequeña abertura para un lente colimador, el cual concentra la luz del led que indica el funcionamiento del equipo (Figura.3.12).

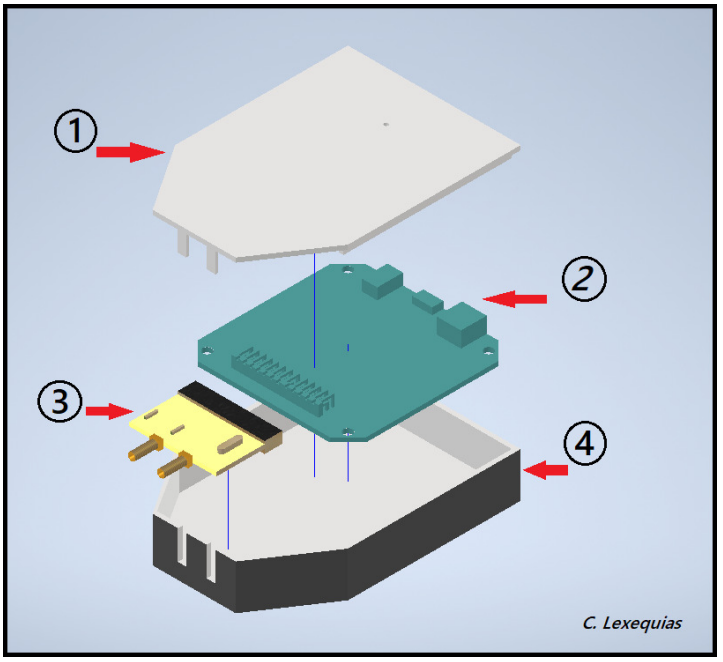


FIGURA 3.11: Diseño 3D del espectrómetro de impedancia eléctrica antes de su impresión en PLA+, desarrollado en el programa de INVENTOR [Inv20]. (1) Tapa superior del case, (2) Analog Discovery 2, (3) Tarjeta de resistencia de shunt, (4) Parte inferior del case.

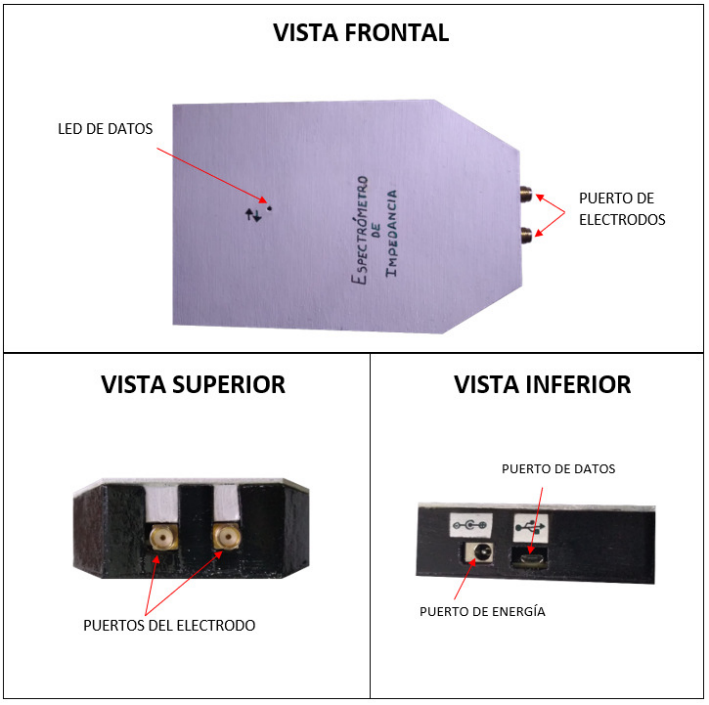


FIGURA 3.12: Vista frontal, superior e inferior del equipo EIE. *Fuente: Elaboración propia publicada en el RIF [Lex21].*

3.7. Calibración del equipo

Para poder realizar las mediciones, primero se tuvo que realizar la calibración respectiva del equipo. Debido a que el proceso experimental se llevaría a cabo en material biológico, se armo un circuito que sea semejante a los de una célula simple como se muestra en la Figura.3.13 .

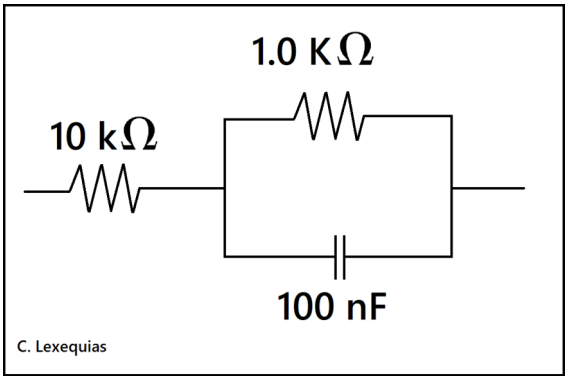


FIGURA 3.13: Circuito patrón desarrollado para analizar la capacidad de lectura del equipo EIE.

La medida de impedancia se realizó a un potencial de 100 mV en un rango de frecuencias de 50 Hz a 50 kHz. El resultado se puede observar en la Figura.3.14, donde la linea amarilla corresponde al resultado teórico de los valores del circuito mostrado.

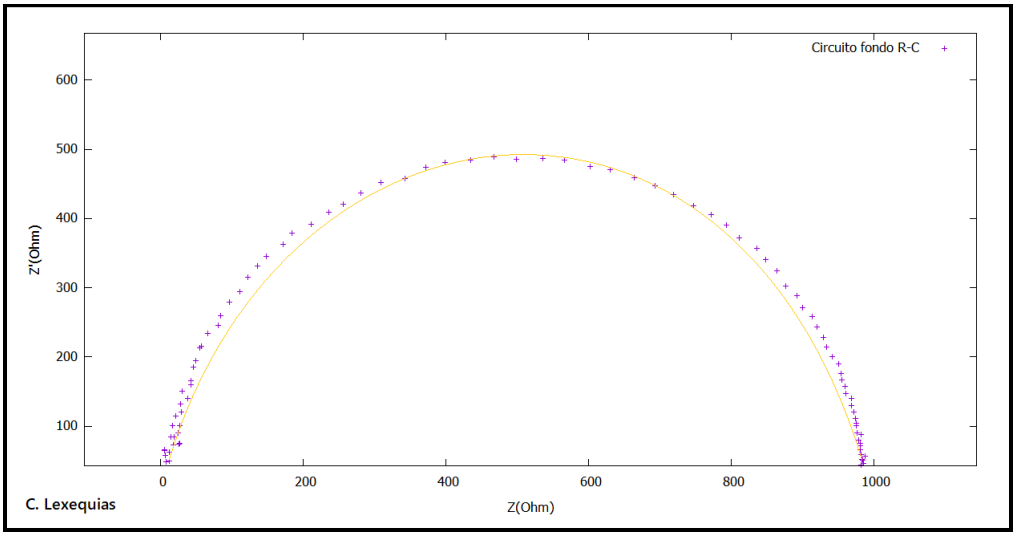


FIGURA 3.14: Diagrama de Nyquist obtenido de la lectura del circuito patrón.

Frecuencia (Hz)	Z (Ω)	Z' (Ω)
50.0	983.62	34.84
50.0x10^3	1.14	24.29

CUADRO 3.1: Los valores que se observan en esta tabla corresponde a una toma de 121 muestras, donde se resalto el valor inicial y final de la resistencia y reactancia. *Fuente: Elaboración propia publicada en el RIF [Lex21].*

3.8. Población de estudio y muestra

La población estudiada en esta investigación fueron varones, en el rango de 20 a 50 años de edad debido a la estabilidad de su hemoglobina en un rango de tiempo mayor a un mes; además, esta población es la que se presento legalmente como voluntarios en el ensayo clínico. Esta selección nace a partir de un análisis biológico-médico, el cual nos muestra que existen diferencias notables en la cantidad sangre entre mujeres y varones como se muestra a continuación:

Sexo	Sangre (Litros)
Varones mayores de 15 años	4,25
Mujeres mayores de 15 años	5,67

CUADRO 3.2: Relación entre sexo y cantidad de sangre en el cuerpo humano pasado los 15 años, ya que pasado dicha edad el cuerpo del hombre y la mujer pasan a la edad madura de su tejido sanguíneo, evidenciando así la diferencia requerida para múltiples estudios científicos-médicos [Car03].

Aparte de esto, se encuentras los factores naturales como los del periodo sanguíneo de las mujeres, un posible embarazo, entre otros factores. Por ello para reducir estos factores se realiza la investigación con una población de 10 pacientes varones voluntarios, quienes se les midió la hemoglobina mediante un examen de hemograma en la Clínica Universitaria de la UNMSM mientras a la par que se les tomó una muestra para la lectura de impedancia. Cabe resaltar que que la cantidad de población estudiada en este trabajo satisface el objetivo principal de poder obtener el espectro sanguíneo mediante el equipo EIE desarrollado, ya que para poder realizar un estudio comparativo de diagnostico sanguíneo mediante EIE con los métodos clónicos actuales si se requeriría un población mucho mayor.

3.9. Muestra Analizada

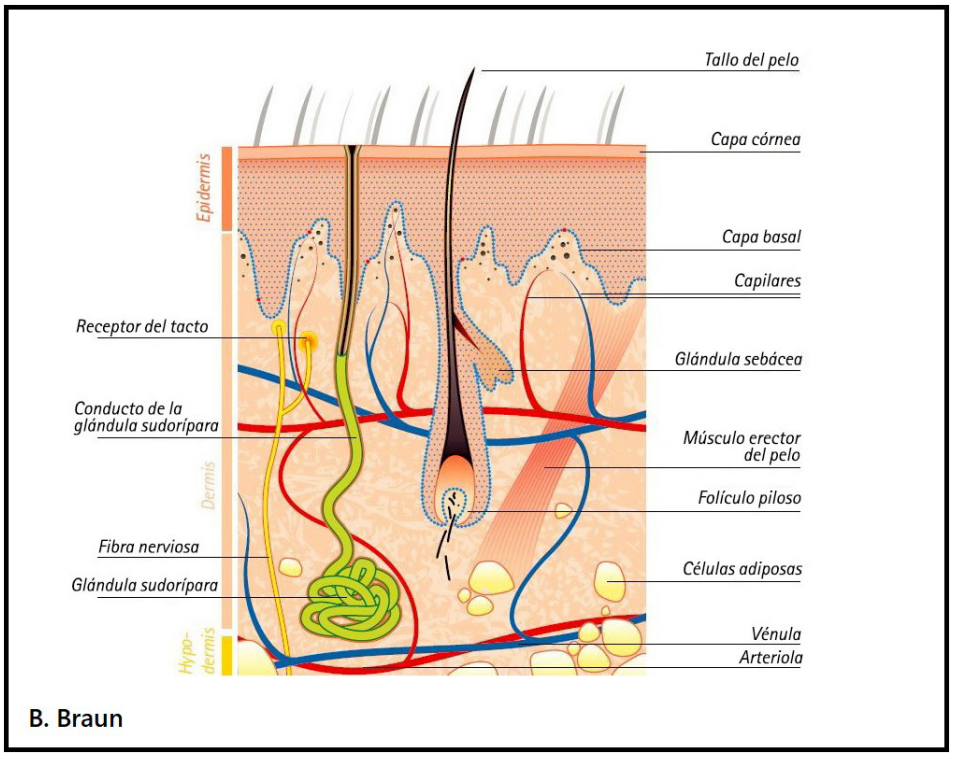


FIGURA 3.15: Anatomía de la piel. *Fuente: Imagen elaborada por Braun. B. publicada en su página web [Bra16].*

Para esta investigación se utilizó la muestra de 0.6 uL del tejido sanguíneo, la cual se obtuvo mediante punción capilar de los dedos del paciente. Los capilares los son vasos sanguíneos que se encuentran mas carca a la superficie de la piel, para poder llegar al vaso este se procedió a punzar con una lanceta la piel hasta atravesar toda la epidermis (Figura 3.15).

Cada punción capilar realizada con la lanceta nos brinda un máximo de 1 mL si esta es realizada con profundidad, debido a ello esta parte del trabajo lo llevó a cabo una persona especializada en el campo clínico médico. Además, las tiras reactivas utilizadas aseguran mediante su sistema de capilaridad en la base interdigitada de lectura la absorbencia de unicamente 0.6 uL de muestra.

Debido a eso, una vez asegurado el sistema de extracción sanguínea se procedió a tomar dos muestra a 10 pacientes voluntarios, los cuales consistían es un tubo clínico que corresponde al sistema estándar de 5 mL para hemograma para Hemoglobina y el segundo correspondiente a la extracción capilar de 0.6 uL para el equipo de impedancia desarrollado.

Capítulo 4

Resultados

Una vez desarrollado, integrado y ensamblado el equipo EIE tal como se muestra en la metodología descrita anteriormente (Cap. 3), se procedió a realizar el estudio clínico con el fin de poder obtener resultados correspondientes al tejido sanguíneo, los cuales se muestran a continuacioón.

4.1. Arreglo experimental

En todas las mediciones de impedancia se utilizó la tira reactiva como electrodo interdigitado de lectura, los cuales fueron insertados en el cabezal conector de la sonda. Una vez unido el equipo EIE (Figura 3.10) al ordenador y la sonda, se procedió a emitir un potencial eléctrico de 100 mV con un conteo de 201 datos por muestra en los rangos de frecuencias de 50 Hz a 50 kHz y 50 kHz a 25 MHz.

Durante las primeras medidas haciendo uso de la primera sonda, se tomo como paciente a un solo individuo hasta poder obtener las gráficas que se requerían. Una vez obtenido los parámetros adecuados para la medición, se realizó el muestreo experimental de las 10 personas voluntarias.

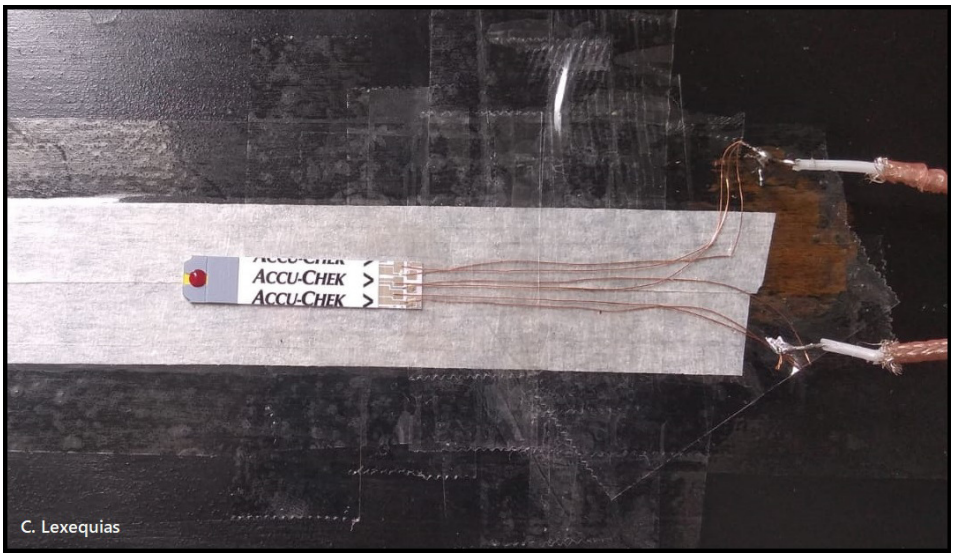


FIGURA 4.1: Fotografía del primer arreglo experimental desarrollado para poder realizar lectura de impedancia en tejido sanguíneo.

4.2. Determinación del rango de frecuencias

En los primeros pasos experimentales para realizar el análisis sanguíneo, se procedió a utilizar los parámetros obtenidos durante las mediciones del circuito patrón. Sin embargo en la primera lectura de impedancia, se empezó a mostrar data con demasiado ruido siendo el rango de frecuencia de 50 Hz a 50 kHz. Se puede observar en su diagrama de Bode que mientras mas aumentaba la frecuencias mas resultaba distorsionado los valores de ángulo de fase.

Frecuencia (Hz)	$\theta(^\circ)$	$\lvert Z \rvert$
50.0	-2.029	984.245
50x10^3	-87.299	24.321

CUADRO 4.1: Tabla de valores inicial y final del Diagrama de Bode correspondiente al circuito R-C. *Fuente: Datos de investigación propia publicada en el RIF [Lex21].*

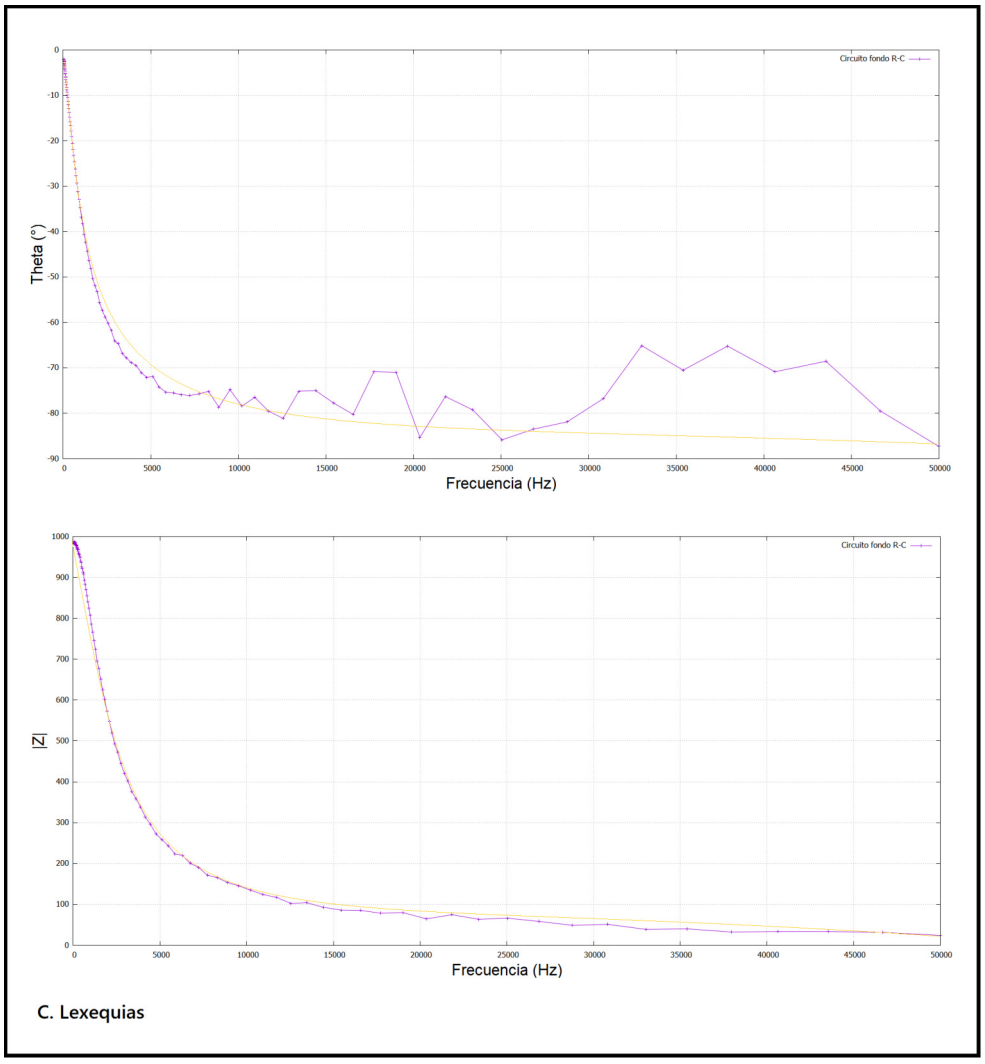


FIGURA 4.2: Diagrama de Bode correspondiente a las lecturas realizadas en circuito en paralelo R-C para su calibración.

Debido a las primeras lecturas, se decide cambiar las frecuencias por el rango de 50 kHz a 25 MHz con los mismos valores de potencial usados anteriormente. Es en estas frecuencias que se ve el diagrama de Bode con satisfacción con bajo ruido como se muestra en la Figura.4.3. Al determinarse esta frecuencia como la adecuada para empezar a realizar las medidas en los pacientes voluntarios, también se aumentan la cantidad de muestra por lectura (Samples) de 121 a 201, esto si bien no afecta en los resultados de impedancia, si nos brinda una mejor resolución para observar con mayor rigor al momento de pasar los datos a la gráfica.

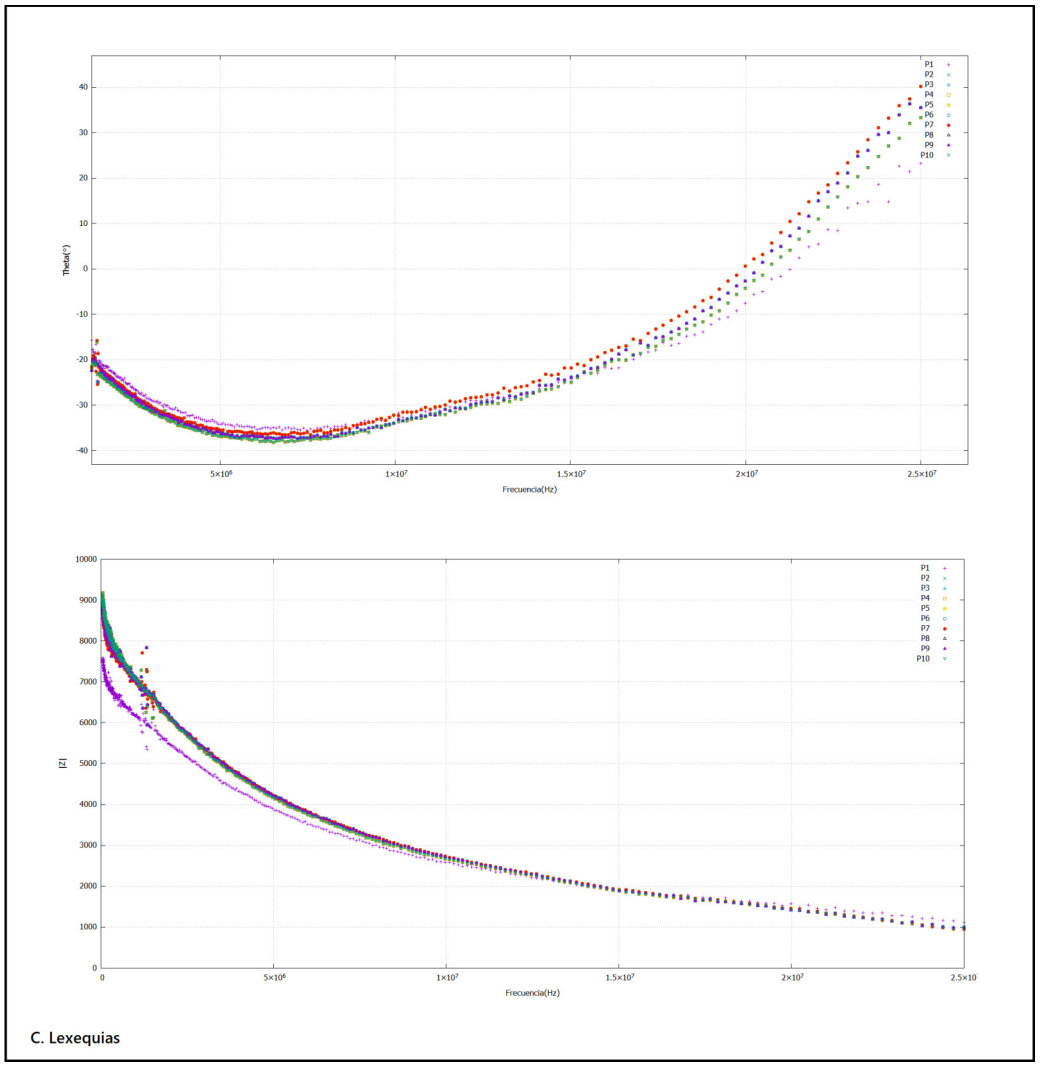


FIGURA 4.3: Diagrama de Bode correspondiente a las lecturas sanguíneas de los 10 pacientes voluntarios.

4.3. Espectros en tejido sanguíneo

Una vez ajustados los rangos de frecuencias, se procedió a realizar la medida de impedancia en sangre obteniendo los diagramas de Nyquist. Cada dato obtenido del equipo EIE fue guardado con su respectivo valor hemoglobinico del paciente al momento de ser analizado. Al ser las células las que comprenden el tejido sanguíneo, se esperaba un diagrama de Nyquist que mostrara un semicírculo correspondiente a un circuito en paralelo R-C. Sin embargo, los espectros mostraron un diagrama de Nyquist correspondiente a un circuito de Randles como se muestra en la Figura.4.4.

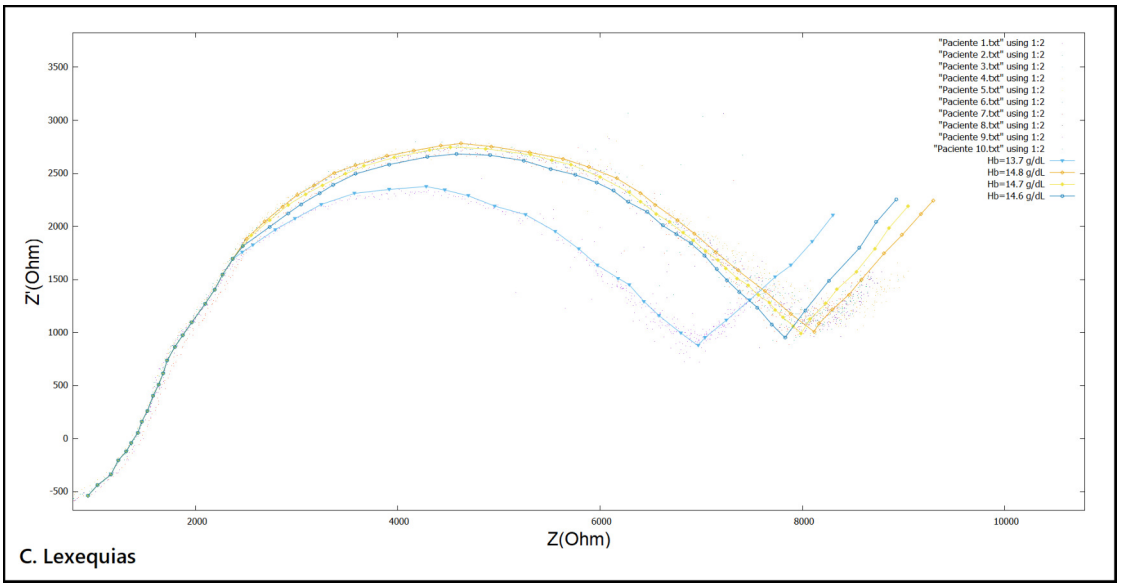


FIGURA 4.4: Gráfica compleja correspondiente a muestras sanguíneas de 10 pacientes voluntarios varones en donde se les saco la tendencia correspondiente al aproximado de sus valores de Hemoglobina.

Hb (g/dL)	Z_i (Ω)	Z'_i (Ω)	Z_f (Ω)	Z'_f (Ω)
13.7	8301.00	2105.43	935.930	-538.376
14.6	8924.59	2252.11	935.930	-538.376
14.7	9045.54	2192.93	935.930	-538.376
14.8	9290.55	2242.49	935.930	-538.376

CUADRO 4.2: Tabla de valores del comportamiento de la resistencia y la reactancia comparado con la de hemoglobina en las frecuencias .

Con las gráficas obtenidas, se relaciona sus tendencias con la hemoglobina correspondiente a cada paciente. En este caso se puede observar un desplazamiento gradual el eje de la resistencia (Z) y capacitancia (Z'), siendo mas visible el desplazamiento de Z. A partir de esto, se procede a pasar los datos del eje Z' a valores logarítmicos mediante una función de GNUplot con el fin de hacer mas marcada la diferencia observable y relacionar la cantidad de hemoglobina con los valores de Z del punto de inflexión de la gráfica. Los resultados se muestran en la Figura.4.5. donde se puede notar satisfactoriamente una diferencia mucho mas notoria en la resistencia real respecto a la cantidad de hemoglobina.

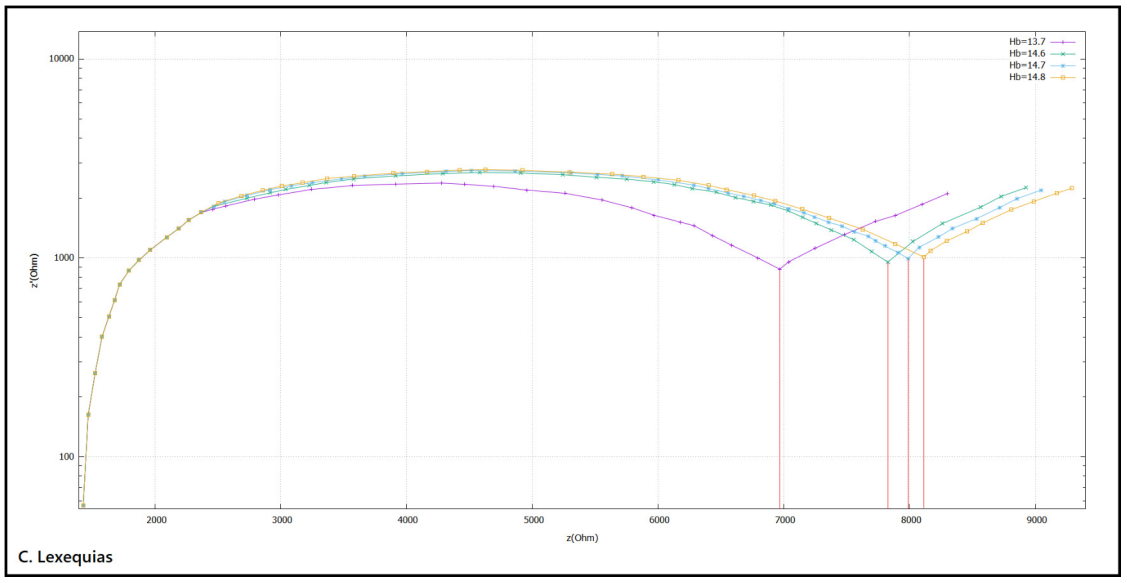


FIGURA 4.5: Diagrama de Nyquist correspondiente a la cantidad de hemoglobina relacionada durante la lectura de las muestras sanguíneas. El eje de la reactancia (Z')se encuentra en forma logarítmica, mientras que el eje de la resistencia (Z) se encuentra sin alterar. Este diagrama quiere mostrar con mayor pronunciación el punto mas bajo del valle entre cada una de las gráficas.

Hb (g/dL)	Z (Ω)	Z' (Ω)
13.7	6967.66	877.210
14.6	7826.73	952.169
14.7	7987.52	992.337
14.8	8115.05	1007.210

CUADRO 4.3: Tabla de valores del comportamiento de la resistencia y la reactancia comparado con la de hemoglobina en el punto inflexión.

Capítulo 5

Conclusiones y Recomendaciones

5.1. Conclusiones

1. Se pudo desarrollar un equipo compacto y portátil funcional de Espectroscopia de Impedancia Eléctrica, el cual conectado a cualquier laptop o computadora puede obtener análisis en tejido sanguino y distintos fluidos biológicos que se requieran medir con muestras de 0.6 uL; los cuales, corresponden con sus respectivos espectros característicos en la literatura.

2. Se pudieron hallar diferencias observables en los diagramas de Nyquist en pacientes con cantidad de hemoglobina distinta, siendo los valores asociados la de resistencia y reactancia.

3. La causa que provocaría el cambio de valores en la resistencia y reactancia de la sangre podría deberse a la relación directa que tiene la hemoglobina con el hierro dentro de cada eritrocito.

4. El desarrollo de este equipo satisface los conceptos básicos para poder desarrollar un equipos que pueda realizar descarte en pacientes con anemia o problemas hemoglobinicos.

5. Los valores útiles del rango de frecuencia para poder realizar lectura en tejido sanguíneo son de 50 kHz a 25 MHz y un potencial de amplitud de 100 mV.

6. El diagrama de Nyquist corresponde a un circuito de Randles, esto se debe a la reacción química que ocurre entre la sangre y la enzima glucosa deshidrogenasa de la tira

reactiva *Accu-Check*. Además se debe considerar que todo electrodo presenta una capacitancia de doble capa y que en toda reacción electroquímica se encuentra presente una resistencia de solución(R_{sol}).

7. En el diagrama de Nyquist del tejido sanguíneo, la parte que ayudar a analizar la diferencia entre cada gráfica es el punto de inflexión. Este punto se encuentra entre los rangos de frecuencias de 140 kHz a 170 kHz

5.2. Recomendaciones

En una investigación futura, para seguir desarrollando un método de descarte de anemia se tomara las siguientes recomendaciones:

1. No utilizar las altas frecuencias debido a que mientras mas aumenta esta, mas se van igualando las impedancias y la distinción entre gráficas ya no es visible. Por ello se aconseja no pasar de 1 MHz.

2. Reducir el tamaño de la tarjeta de resistencia de shunt y desaparecer la sonda para que el cabezal del conector vaya directo a la tarjeta.

3. Desarrollar un carcasa mas ergonómico, el cual en su interior tenga una jaula de Faraday, además de añadirle unas aberturas para su ventilación interna durante el funcionamiento del equipo.

4. Analizar la relación de Hemoglobina-Hematocrito ya que esta podría desarrollar un índice base para relacionar Hemoglobina-Impedancia.

5. Utilizar una mayor cantidad de población de muestra, para tener un valor significativo y coincidencia de la diferencia observable en gráfica respecto a su cantidad de hemoglobina, así poder lograr predecir posibles descartes de anemia.

6. Reducir las salidas de alimentación y data del equipo EIE a una salida unificada sin que este afecte la lectura de las muestras.

Anexo A

Permisos de Pacientes Voluntarios

En este apéndice se reúnen los permisos simples de los pacientes que participaron de manera voluntaria en el trabajo de investigación. Estos permisos contienen sus iniciales salvaguardando su anonimato ante la publicación de sus análisis sanguíneo.

PACIENTE 1

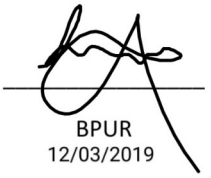
Yo, con iniciales **CHLC** y **23** años, mediante la presente dejo constancia de autorizar la utilización de mis análisis sanguíneos de manera anónima con fines de investigación para el desarrollo del trabajo titulado ''Desarrollo de un equipo compacto y portátil de espectroscopia de impedancia eléctrica para análisis del tejido sanguíneo''. También autorizo la comunicación con respecto a mis datos personales si en caso el trabajo de investigación lo requiriese. Además, se me a informa totalmente los objetivos científicos del trabajo y la literatura que lo respalda.



CHLC
12/03/2019

PACIENTE 2

Yo, con iniciales **BPUR** y **21** años, mediante la presente dejo constancia de autorizar la utilización de mis análisis sanguíneos de manera anónima con fines de investigación para el desarrollo del trabajo titulado ''Desarrollo de un equipo compacto y portátil de espectroscopia de impedancia eléctrica para análisis del tejido sanguíneo''. También autorizo la comunicación con respecto a mis datos personales si en caso el trabajo de investigación lo requiriese. Además, se me a informa totalmente los objetivos científicos del trabajo y la literatura que lo respalda.



BPUR
12/03/2019

PACIENTE 3

Yo, con iniciales **HDLS** y **24** años, mediante la presente dejo constancia de autorizar la utilización de mis análisis sanguíneos de manera anónima con fines de investigación para el desarrollo del trabajo titulado ''Desarrollo de un equipo compacto y portátil de espectroscopia de impedancia eléctrica para análisis del tejido sanguíneo''. También autorizo la comunicación con respecto a mis datos personales si en caso el trabajo de investigación lo requiriese. Además, se me a informa totalmente los objetivos científicos del trabajo y la literatura que lo respalda.



HDLS
12/03/2019

PACIENTE 4

Yo, con iniciales **SBHL** y **28** años, mediante la presente dejo constancia de autorizar la utilización de mis análisis sanguíneos de manera anónima con fines de investigación para el desarrollo del trabajo titulado ''Desarrollo de un equipo compacto y portátil de espectroscopia de impedancia eléctrica para análisis del tejido sanguíneo''. También autorizo la comunicación con respecto a mis datos personales si en caso el trabajo de investigación lo requiriese. Además, se me a informa totalmente los objetivos científicos del trabajo y la literatura que lo respalda.



SBHL
12/03/2019

PACIENTE 5

Yo, con iniciales **EMS** y **26** años, mediante la presente dejo constancia de autorizar la utilización de mis análisis sanguíneos de manera anónima con fines de investigación para el desarrollo del trabajo titulado ''Desarrollo de un equipo compacto y portátil de espectroscopia de impedancia eléctrica para análisis del tejido sanguíneo''. También autorizo la comunicación con respecto a mis datos personales si en caso el trabajo de investigación lo requiriese. Además, se me a informa totalmente los objetivos científicos del trabajo y la literatura que lo respalda.



EMS
12/03/2019

PACIENTE 6

Yo, con iniciales **GPC** y **45** años, mediante la presente dejo constancia de autorizar la utilización de mis análisis sanguíneos de manera anónima con fines de investigación para el desarrollo del trabajo titulado ''Desarrollo de un equipo compacto y portátil de espectroscopia de impedancia eléctrica para análisis del tejido sanguíneo''. También autorizo la comunicación con respecto a mis datos personales si en caso el trabajo de investigación lo requiriese. Además, se me a informa totalmente los objetivos científicos del trabajo y la literatura que lo respalda.



GPC
12/03/2019

PACIENTE 7

Yo, con iniciales **RCH** y **47** años, mediante la presente dejo constancia de autorizar la utilización de mis análisis sanguíneos de manera anónima con fines de investigación para el desarrollo del trabajo titulado ''Desarrollo de un equipo compacto y portátil de espectroscopia de impedancia eléctrica para análisis del tejido sanguíneo''. También autorizo la comunicación con respecto a mis datos personales si en caso el trabajo de investigación lo requiriese. Además, se me a informa totalmente los objetivos científicos del trabajo y la literatura que lo respalda.



RCH
12/03/2019

PACIENTE 8

Yo, con iniciales **MJTC** y **27** años, mediante la presente dejo constancia de autorizar la utilización de mis análisis sanguíneos de manera anónima con fines de investigación para el desarrollo del trabajo titulado ''Desarrollo de un equipo compacto y portátil de espectroscopia de impedancia eléctrica para análisis del tejido sanguíneo''. También autorizo la comunicación con respecto a mis datos personales si en caso el trabajo de investigación lo requiriese. Además, se me a informa totalmente los objetivos científicos del trabajo y la literatura que lo respalda.



MJTC
12/03/2019

PACIENTE 9

Yo, con iniciales **LJMA** y **31** años, mediante la presente dejo constancia de autorizar la utilización de mis análisis sanguíneos de manera anónima con fines de investigación para el desarrollo del trabajo titulado ''Desarrollo de un equipo compacto y portátil de espectroscopia de impedancia eléctrica para análisis del tejido sanguíneo''. También autorizo la comunicación con respecto a mis datos personales si en caso el trabajo de investigación lo requiriese. Además, se me a informa totalmente los objetivos científicos del trabajo y la literatura que lo respalda.



LJMA
12/03/2019

PACIENTE 10

Yo, con iniciales **OAGC** y **30** años, mediante la presente dejo constancia de autorizar la utilización de mis análisis sanguíneos de manera anónima con fines de investigación para el desarrollo del trabajo titulado ''Desarrollo de un equipo compacto y portátil de espectroscopia de impedancia eléctrica para análisis del tejido sanguíneo''. También autorizo la comunicación con respecto a mis datos personales si en caso el trabajo de investigación lo requiriese. Además, se me a informa totalmente los objetivos científicos del trabajo y la literatura que lo respalda.



OAGC
12/03/2019

Referencias

[And10] Andriolo, A., Martins, A., Franco Ballarati, C., Barbosa, I., Mendes, M., Melo, M., & Sumita, N. (Enero de 2010). Recomendaciones de la Sociedad Brasileña de Patología Clínica Medicina Laboral para la EXTRACCIÓN DE SANGRE VENOSA. Brasil: Manole.

[Bri09] Briones N., Jiménez T., & Farías M. (2009). Evaluación de espectrofotómetros para la elaboración de material de referencia empleado en la calibración y el control de la determinación de hemoglobina. Revista de la Facultad de Medicina, 32(1), 46-53.

[Est04] Estados Unidos de América Patente nº US 6,831,733, 2004.

[Ine19] INEI. (Agosto de 2019). PERÚ: Indicadores de Resultados de los Programas Presupuestales, Primer Semestre 2019. Encuesta Demográfica y de Salud Familiar (Resultados Preliminares al 50 % de la muestra). Lima, Perú.

[May19] Mayo Clinic (14 diciembre del 2019), Anemia - síntomas y causas - Mayo Clinic, https://www.mayoclinic.org/es-es/diseases-conditions/anemia/symptoms-causes/syc-20351360

[Bal19] Baltuano Elías, O. R. (2019). Desarrollo y evaluación de un analizador compacto de impedancias para aplicaciones médicas y biológicas (Tesis de Maestría) UNI. Lima, Perú.

[Yan04] Yang, L., Li, Y., Griffis, C., & Johnson, M. (2004). Interdigitated microelectrode (IME) impedance sensor for the detection of viable Salmonella typhimurium. Biosensor and Bioelectronics, 1139-1147.

[Her05] Hernández Cabrera, F., Guerrero Salazar, C., & Bernal Alvarado, J. (Diciembre de 2005). Determinación de las Propiedades Eléctricas en Tejido Sanguíneo. Ciencia UANL, VIII(4), 510-515.

[Sos05] Sosa, M., Bernal-Alvarado, J., Jiménez-Moreno, M., Hernández, J., Gutiérrez-Juárez, G., Vargas-Luna, M., Palomares, P. (2005). Magnetic Field Influence on Electrical Properties of Human Blood Measured by Impedance Spectroscopy. Bioelectromagnetics, 564-570.

[Mar03] Martín Moreno, J. Benito Gómez Gandoy, M. de Oya Otero, Agustín Gómez de la Cámara y M. J. Antoranz González (2003). Grado de acuerdo entre los índices adiposo-musculares obtenidos a partir de medidas antropométricas del brazo, pliegues cutáneos e impedancia bioeléctrica. Nutrición Hospitalaria XVIII (2) 77-86 ISSN 0212-1611.

[Lex21] Lexequias, C. Urcia, B. (2021). Desarrollo de un espectrómetro de impedancia eléctrica portátil para análisis y caracterización del tejido sanguíneo. Revista de Investigación Física, 24, pp.9-16.

[Org08] Organization, W. H. (2008). Worldwide prevalence of anaemia 1993-2005. (B. de Benolst, E. McLean, I. Egli, & M. Cogswell, Edits.).

[Per18] Perú, G. d. (Octubre de 2018). PLAN MULTISECTORIAL de Lucha Contra la Anemia. Lima, Perú.

[Sal17] Salud, M. d. (2017). Plan Nacional para la REDUCCIÓN Y CONTROL DE LA ANEMIA Materno Infantil y la Desnutrición Crónica Infantil en el Perú: 2017-2021. Lima, Perú: Ministerio de Salud del Perú.

[Per13] Perú, M. d. (2013). Procedimientos de Laboratorio. (I. N. Salud, Ed.) Lima, Perú.

[Med21] Medshop.co.nz. 2021. Accu-chek performa strips pk 50. [online] Available at: ¡http://www.medshop.co.nz/accu-chek-performa-strips-pk-50¿[Accessed 29 April 2021].

[Mal10] Malik, A. Aplicaciones clínicas del método de impedancia bioeléctrica (BIA). Renut (2010) 4 (12):624-628.

[Men10] Mendoza Flores, J., Durán Romero, R., y Genescá Llongueras, J. (2010). Espectroscopía de Impedancia Electroquímica en Corrosión. México.

[Sol18] Solomon, Arthur K.. "Biophysics". Encyclopedia Britannica, 30 Mar. 2018, https://www.britannica.com/science/biophysics. Accessed 5 May 2021.

[Cie19] CIENUT (2019). Procedimientos clínicos para la evaluación nutricional (Consenso 3). IIDENUT SAC.

[Per02] Perez, T. (2002). Aplicación de la técnica espectroscopía de impedancia electroquímica (EIS) en el estudio de la corrosión del acero de refuerzo embebido en concreto. Programa de corrosión del Golfo de México. Universidad Autónoma de Copehce, Mexico. http://depa.fquim.unam.mx/labcorr/libro/concreto.PDF

[Oba21] Obando, L. (2021, 8 enero). Representación Fasorial de corrientes y voltajes – Fasores. dademuchconnection. https://dademuch.com/2019/04/08/representacion-fasorial-de-corrientes-y-voltajes-fasores/

[Vaz07] Vazques J. (2007) Empleo de la técnica de espectroscopia de impedancias electroquímicas para la caracterización de biomateriales aplicado a una aleación biomédica de Co-Cr-Mo (Tesis de Maestría) Universidad Politécnica de Valencia, Valencia, España.

[Ins14] Institutos Nacionales de Salud de E.E.U.U. (2014). Diccionario de cáncer del NCI. Instituto Nacional del Cáncer, U.S.A. https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionario-cancer/def/celula

[Ram05] Ramón, F., Mansilla, A., & Rivera, A. (2005). Neurofisiología. Universidad Autónoma Nocional de México (UNAM). México. http://www.facmed.unam.mx/Libro-NeuroFisio/

[Zam17] Zamudio, L. (2017). Cálculos del volumen sanguíneo. Revista Mexicana de Medicina Transfusional, 10(1), 14–17. Mexico.

[Mus14] Musso, A. (2014). Eritrocitos y Eritrocitopatías. Hematología, 18(2), 151–155. Buenos Aires.

[For10] Forrellat-Barrios, Mariela, Hernández-Ramírez, Porfirio, Fernández-Delgado, Norma, & Pita-Rodríguez, Gisela. (2010). ¿Se cumple siempre la relación hemoglobina-hematócrito?. Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia, 26(4), 359-361. Cuba.

[Hem04] Hemoglobin - Assignment Point. (2004). Assignment Point. Recuperado 2021, de https://www.assignmentpoint.com/science/chemistry/hemoglobin.html

[Tin20] Tinkercad. (2020). Linux. Autodesk.

[Inv20] Inventor(2020). Windows. Autodesk.

[Bra16] Braun. B. (2016). Qué saber sobre la piel. B. Braun Melsungen AG. https://www.bbraun.es/es/pacientes/cicatrizacion-de-heridas/que-saber-sobre-la-piel.html

[Car03] Carmona-Fonseca J. (2003) Valores de referencia de hemoglobina y hematocrito en una población laboral colombiana. Acta Med Colomb ;28:63-70.