

Desarrollo e implementación de una técnica para la medición de impedancia en muestras de hueso húmedo de bovino

Development and implementation of an impedance measurement technique for bovine wet bone samples

María Elena Moncada^{1}, ²Alfredo Martínez ³Carlos Rafael Pinedo, ¹Héctor Cadavid*

¹Grupo de Investigación en Alta Tensión – GRALTA.

²Grupo de Investigación en Ortopedia y Traumatología – TRAUMATOR

³Grupo de Investigación en Percepción y Sistemas Inteligentes – PSI

Laboratorio de Alta Tensión, Edificio 356, Calle 13 No. 100-00, Ciudad Universitaria Meléndez, Cali, Colombia.

(Recibido el 19 de septiembre de 2007. Aceptado el 29 de enero de 2008)

Resumen

Este artículo presenta el desarrollo e implementación de una metodología para encontrar los valores de conductividad y permitividad eléctrica de los tejidos *cortical* y *medular*, en muestras de fémur de bovino. El tamaño de las muestras fue de diez centímetros, procedentes de animales sanos y jóvenes y con un tiempo de cuatro días después de muerto el animal. El hueso sin partes blandas fue empacado al vacío y conservado a 0°C hasta la realización de las pruebas. Para el mantenimiento y tratamiento de las muestras se desarrollaron protocolos experimentales. Para la medición se construyeron un par de electrodos de contacto de los cuales se encontró su valor de impedancia. El sistema de medición fue acompañado de un circuito *RC* paralelo para disminuir el efecto de la impedancia de los electrodos. Las mediciones se efectuaron para las frecuencias de 100 Hz y 120 Hz. Las variables medidas fueron impedancia (Z) y ángulo (θ), y las calculadas a partir de ecuaciones matemáticas,

* Autor de correspondencia: teléfono: + 57 +2 + 333 42 52 ext 108, fax: + 57 +2 + 321 21 51, correos electrónicos: mariaema@univalle.edu.co; mariaema1@gmail.com (M. E. Moncada)

fueron conductividad (σ) y permitividad (ϵ). Los resultados se encontraron dentro de los rangos reportados en literatura.

----- *Palabras clave:* Bioelectricidad, propiedades eléctricas de tejido óseo, medición de bio-impedancia.

Abstract

This paper presents a development and implementation of a methodology to find the electrical properties (conductivity and permittivity) of cortical and medullar tissue in bovine femur samples. The sample size was ten centimeters; they were obtained of healthy and young animals, and after four days animals were dead. Soft parts were removed from the samples and the samples were vacuum packed at 0°C until the tests were done. Experimental protocols for maintenance and treatment of samples were developed. A couple of contact electrodes were built for the measurements and the electrode's impedance was determined. A parallel *RC* circuit was connected to the measurement system to decrease the electrode's impedance effect. The measurements were done for 100 Hz and 120 Hz. The measured variables were impedance (*Z*) and angle (θ), and the calculated variables were conductivity (σ) and permittivity (ϵ) by means of mathematical equations. The results were in agreement with literature values.

----- *Keywords:* Bioelectricity, electrical properties of bone tissue, bio-impedance measurement.

Introducción

La medición de propiedades eléctricas de tejidos biológicos ha sido ampliamente investigada. Abundantes estudios experimentales, como los desarrollados por Schwan [1], Dursey [2], Geddes y Baker [3], Stuchly y Stuchly [4], Foster y Schwan [5] y Hart [6], han permitido caracterizar las propiedades eléctricas de diversos tejidos biológicos en un amplio rango de frecuencias. Uno de los estudios más importantes relacionados con la medición y tabulación de propiedades eléctricas de los tejidos, fue realizado por Gabriel y Gabriel [7] quienes midieron propiedades de conductividad y permitividad en treinta tipos de tejidos diferentes para un rango de frecuencias entre 10 Hz y 2 GHz. El estudio de propiedades eléctricas en el tejido óseo nació con el descubrimiento del efecto piezoeléctrico en su estructura [8] y de las implicaciones de dicho fenómeno en el proceso de consolidación y tratamiento de patologías óseas [9, 10].

Este artículo presenta una metodología para medición de impedancia eléctrica y cálculo de conductividad y permitividad eléctricas de los tejidos *cortical* y *medular* en muestras de fémur de bovino. El tamaño de las muestras fue de diez centímetros, procedentes de animales sanos y jóvenes y con un tiempo de cuatro días después de muerto el animal. La consecución de las muestras fue aprobada por el comité de ética animal de la Universidad del Valle y los procedimientos cumplieron con un protocolo experimental desarrollado. El material biológico seleccionado fue la parte diafisaria del fémur de bovino. El estudio se realizó con cinco muestras, las cuales fueron empacadas al vacío sin partes blandas y conservadas a 0°C. Para la medición se diseñaron, construyeron y probaron técnicamente, un par de electrodos de contacto. Los valores obtenidos por medición directa fueron la impedancia (Z) y el ángulo de fase (θ). Los valores calculados (a partir de ecuaciones matemáticas) fueron los de conductividad (σ) y permitividad (ϵ). Las mediciones se efectuaron para las frecuencias de 100 Hz y 120 Hz. Los resultados estuvieron dentro de los rangos reportados en la literatura.

Materiales y métodos

Muestra de fémur

El material seleccionado para el desarrollo experimental fue la parte diafisaria de fémur de bovino adulto en buen estado, obtenido con cuatro días después de muerto el animal (Figura 1). Las muestras fueron empacadas al vacío y conservadas a temperatura de 0°C hasta el momento de las pruebas. El trabajo se efectuó con cinco muestras de aproximadamente 10 cm de longitud (figura 2).



Figura 1 Muestra tomada de la parte diafisaria del fémur de bovino



Figura 2 Dimensión de las muestras pertenecientes a la diáfisis del fémur de bovino

Al inicio de la prueba, todas las muestras se retiraron al mismo tiempo de la nevera a 0°C y se conservaron en una nevera de icopor con hielo. Los equipos en contacto con la muestra se limpiaron previamente con alcohol al 70% y se revisaron técnicamente. Los materiales utilizados para la manipulación de las muestras se esterilizaron. Se midió la impedancia a diferentes tiempos. Una vez terminada la prueba, la muestra se marcó y se registraron las dimensiones geométricas (médula, hueso cortical, longitud). La geometría se utiliza actualmente en otro estudio. Finalmente las muestras se descartaron.

Electrodos

El equipo utilizado para las mediciones de impedancia fue el *HP 4263A LCR Meter*. El equipo utiliza el método de puente Wheatstone para el cálculo de la impedancia; sin embargo, al equipo se le adaptó una conexión (utilizando cables coaxiales) para unir cada salida de voltaje con una entrada de corriente, para obtener el valor de impedancia (relación voltaje/corriente) con solo dos puntos de contacto. El equipo permite realizar las pruebas “*short circuit*” y “*open circuit*” para considerar y anular los valores correspondientes a los cables de conexión. La reproducibilidad de las señales en frecuencia y voltaje inyectado se evaluaron a partir de cinco repeticiones, de cinco valores dados para cada señal. Las señales fueron registradas en un osciloscopio con variaciones inferiores al 1%. La incertidumbre dada por el equipo para valores de capacitancia es de $\pm 0,00044 \mu\text{F}$ y para valores de resistencia $\pm 0,10 \text{ m}\Omega$.

Los electrodos se construyeron en acero 316L (utilizado para fijación de fracturas). Para obtener la impedancia de los electrodos, estos se sumergieron en una solución salina 0,9%NaCl con valor de impedancia conocida, en un recipiente de características geométricas definidas y separados una distancia d . Las características de los electrodos se evaluaron para 100 Hz y 120 Hz con inyecciones de voltaje de 50 mV, 250 mV, 500 mV y 1 V. La resistencia de los electrodos se obtuvo como la diferencia entre la resistencia de la solución salina ($\rho=78,2 \Omega\cdot\text{cm}$) y la resistencia total registrada (figura 3). La medición se efectuó a 25°C. El valor de la resistencia de electrodos obtenido, se conectó al sistema de medición mediante un circuito *RC* paralelo para disminuir el efecto de polarización de acuerdo a lo recomendado por Chakkalakal [11].

Medición de impedancia

La medición de impedancia y ángulo de los tejidos *medular* y *cortical* de las muestras de fémur de bovino se realizaron con el equipo *HP 4263A LCR Meter* inyectando 50 mV para frecuencias de 100 Hz y 120Hz. Al momento de la medición

se depositó una capa de crema conductora entre los electrodos y la muestra. Los valores registrados fueron: temperatura, humedad, impedancia (Z), ángulo de fase (Θ), capacitancia paralelo (C_p), resistencia paralelo (R_p), frecuencia, tiempo y constantes geométricas. La figura 4 ilustra el esquema de medición.

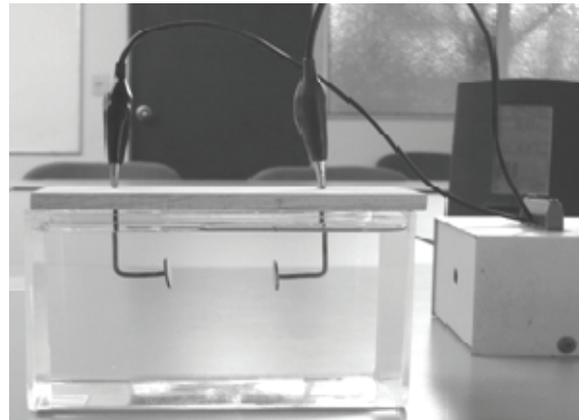


Figura 3 Medición de impedancia de los electrodos utilizando solución 0,9% NaCl

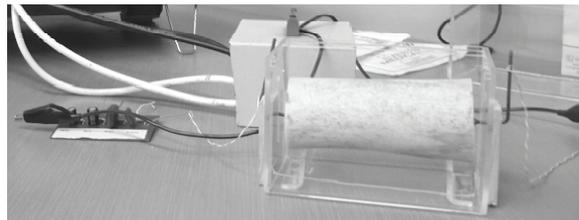


Figura 4 Esquema de medición de impedancia para una muestra de fémur de bovino

El tiempo de medición se registró desde el momento en que la primera muestra fue extraída de la bolsa de vacío. Cada medición se realizó a 0, 1 y 2 min. Para cada nueva muestra, los electrodos se calibraron y reposaron durante dos minutos sin inyección de corriente. El tiempo total de la prueba para las cinco muestras fue de dos horas treinta minutos, con el material conservado en hielo, pero a temperatura ambiente de 25°C, lo que fue provocando descongelamiento de las muestras. Este fenómeno se reflejó en los valores

de conductividad obtenidos. Con los valores de impedancia (Z) y ángulo de fase (θ) en cada tejido biológico y para las frecuencias de estudio, la conductividad y permitividad se calcularon como sigue [12]:

La resistencia y la reactancia:

$$R = Z * \cos(\theta); Xc = Z * \sin(\theta) \quad (1)$$

La capacitancia a cada frecuencia:

$$C = 1 / (2 * \pi * f * Xc) \quad (2)$$

La resistencia específica a cada frecuencia:

$$R_{especifica} = R * A / d, \quad (3)$$

La conductancia a cada frecuencia:

$$\sigma = 1 / R_{especifica} \quad (4)$$

La capacitancia específica:

$$C_{especifica} = C * d / A \quad (5)$$

La permitividad dieléctrica:

$$\epsilon' = C_{espec} / \epsilon_0 \quad (6)$$

Donde, A : área del electrodo y d : separación entre electrodos. Los cálculos se efectuaron en Excel para las cinco muestras del estudio, en los materiales *medular* y *cortical*, para tres tiempos cercanos y frecuencias de 100 Hz y 120 Hz.

Resultados

Las mediciones de impedancia y ángulo de los tejidos *cortical* y *medular* de las muestras se realizaron con el *HP 4263A LCR Meter*. El voltaje inyectado fue de 50 mV y las frecuencias de 100 Hz y 120 Hz. La impedancia de electrodos ($Z1$) obtenida de la medición se deriva en las componentes de resistencia (R) y capacitancia (C). Estos valores RC se llevaron a valores comerciales para formar la impedancia $Z2$. $Z2$ es la impedancia conectada en serie al sistema de medición para

reducir los efectos de polarización de los electrodos; la figura 5 ilustra el esquema de conexión.

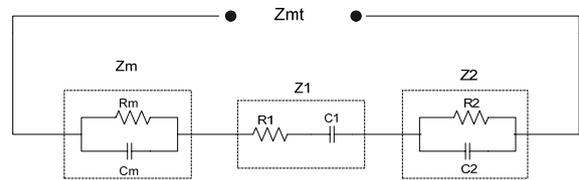


Figura 5 Esquema del circuito utilizado para obtener la impedancia de los tejidos. Con Zm : impedancia de la muestra; $Z1$: impedancia medida de los electrodos; $Z2$: impedancia comercial conectada en serie y Zmt : impedancia total medida

El valor de impedancia de la muestra Zm , se calculó como la diferencia entre el valor de impedancia total medida en la muestra Zmt y la impedancia equivalente $Z1-2$. Con los valores de Zm y las ecuaciones 1 a 7, se calcularon los valores de conductividad (σ) y permitividad específica (ϵ') para las cinco muestras. La tabla 1, resume los valores para las cinco muestras en los materiales *cortical* y *medular* y para las dos frecuencias de medición.

La figura 6 presenta los valores de conductividad vs. tiempo para el material *medular* a 100 Hz. La figura 7 ilustra los valores de conductividad vs. tiempo para el material *cortical* a 120 Hz y la figura 8 compara los valores de conductividad vs. tiempo del material *medular* y *cortical* a 100 Hz y 120 Hz en una muestra dada.

Los valores de conductividad en las muestras, no presentan cambios significativos con los tiempos de medición (2 min.), ni con las frecuencias de estudio (100 Hz y 120 Hz). Los valores de conductividad entre las muestras tienden a aumentar, el mayor valor se encuentra en la muestra cinco M5 (última muestra probada) con aproximadamente 1,23 veces M4, 1,39 veces M3, 1,6 veces M2 y 1,5 veces M1. La conductividad del material *medular* es aproximadamente 1,4 veces la encontrada en el material *cortical* y esta relación se conserva en todas las muestras.

Tabla 1 Valores de conductividad y permitividad para 100 Hz y 120 Hz en las muestras de fémur de bovino

Muestra	Médula				Cortical			
	Conductividad (S/m)		Permitividad		Conductividad (S/m)		Permitividad	
	100 Hz	120 Hz	100 Hz	120 Hz	100 Hz	120 Hz	100 Hz	120 Hz
M1	6,78e-4	6,79e-4	8,42e+6	7,49e+6	6,69e-4	6,71e-4	5,42e+6	4,85e+6
M2	6,64e-4	6,67e-4	6,80e+6	6,17e+6	5,26e-4	5,27e-4	3,67e+6	3,15e+6
M3	7,46e-4	7,47e-4	7,82e+6	6,96e+6	5,55e-4	5,56e-4	3,94e+6	3,61e+6
M4	8,53e-4	8,52e-4	1,06e+7	9,48e+6	6,91e-4	7,89e-4	6,56e+6	5,93e+6
M5	1,05e-3	1,05e-3	1,07e+7	9,84e+6	8,30e-4	8,29e-4	8,21e+6	7,34e+6

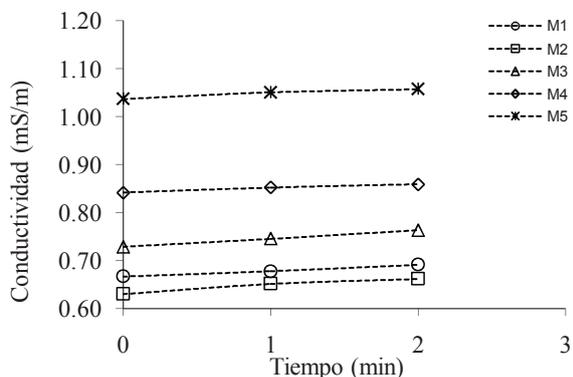


Figura 6 Conductividad vs. Tiempo a 100Hz, material *medular* para las muestras de estudio

La figura 9 presenta los valores de permitividad relativa vs. tiempo para el material *medular* a 100 Hz. La figura 10 ilustra los valores de permitividad relativa vs. tiempo para el material *cortical* a 120 Hz y la figura 11 compara los valores de permitividad relativa vs. tiempo del material *medular* y *cortical* a 100 Hz y 120 Hz en una muestra dada. Los valores de permitividad relativa no

presentan cambios significativos con el tiempo (4 min). Al modificar la frecuencia de 100 Hz a 120 Hz el valor de la permitividad aumenta en 1,1 veces para ambos materiales. Este comportamiento es semejante en todas las muestras. La permitividad relativa del material *medular* es aproximadamente 1,62 veces la encontrada en el material *cortical*. Este comportamiento es semejante para todas las muestras.

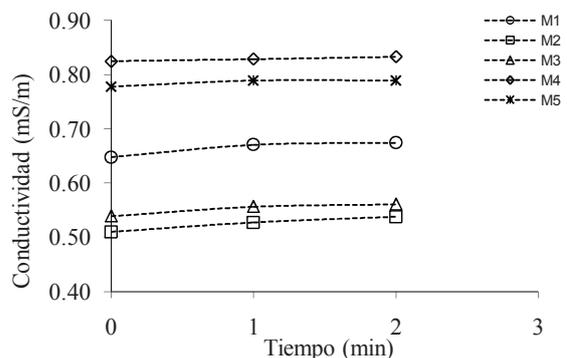


Figura 7 Conductividad vs. Tiempo a 120 Hz, material *cortical* para las muestras de estudio

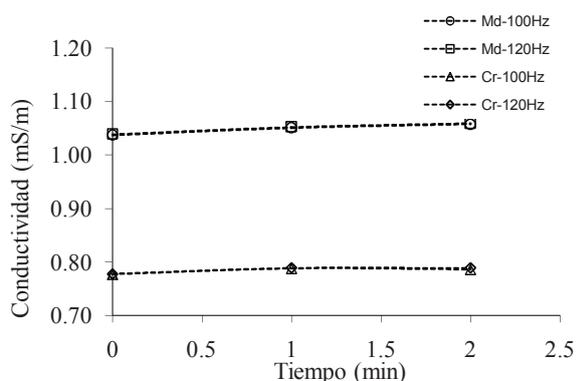


Figura 8 Conductividad vs. Tiempo a 100 Hz y 120 Hz, materiales *medular* y *cortical* en una muestra dada

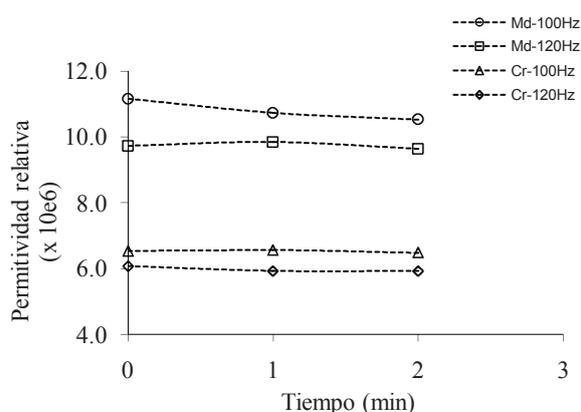


Figura 11 Permittividad relativa vs. tiempo a 100 Hz y 120 Hz, materiales *medular* y *cortical* en una muestra dada

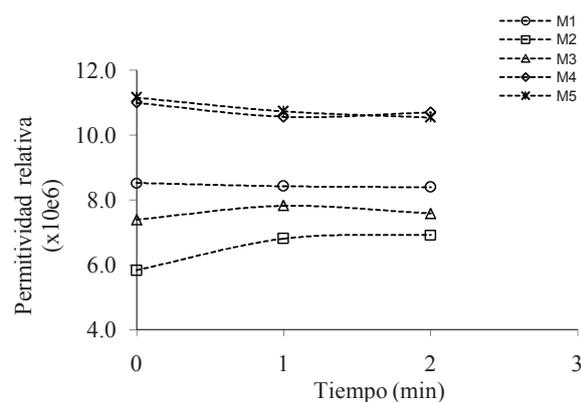


Figura 9 Permittividad relativa vs. tiempo a 100 Hz, material *medular* para las muestras de estudio

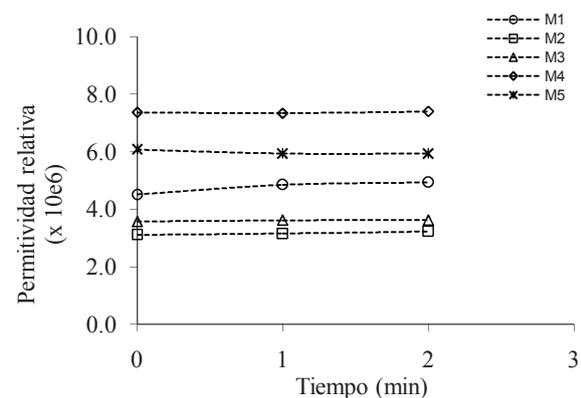


Figura 10 Permittividad relativa vs. tiempo a 120 Hz, material *cortical* para las muestras de estudio

Conclusiones

Los valores de resistividad obtenidos fueron del orden de *kilohm*, debido a que se trabajó con material biológico de 4 días de muerto el animal, lo cual coincide con lo enunciado en otros estudios [9, 10]. La permitividad relativa fue del orden de los Mega (10^6) coincidiendo igualmente con la literatura [7, 9]. Se encontró que los valores de conductividad eléctrica aumentaron con el número de la muestra; esto se debió a la forma serial como se realizaron las mediciones iniciando con la muestra uno (M1) y finalizando con la muestra cinco (M5). Las muestras fueron extraídas juntas del empaque de vacío y de la nevera, y cada medición tardó alrededor de 30 minutos. Así, el material biológico sufrió descongelamiento lo que provocó el aumento de los valores de la conductividad.

Para las frecuencias de medición (extremada baja frecuencia) el material biológico se comportó mayormente resistivo, con una componente reactiva menor al 2% para el material *medular* y menor al 5% para el material *cortical*. Estos resultados también coinciden con los valores de literatura.

Referencias

1. H. Schwan. *Electrical properties of tissue and cell suspensions, in advances in biological and medical physics*, Academic Press, New York. Vol. 5. 1957. p. 147.
2. C. Durney, H. Massoudi, M. Iskander. *Radiofrequency radiation dosimetry handbook*, Brooks Air Force Base. 1986. USAFSAM-TR. pp. 85-73.
3. L. Geddes, L. Barker. "The specific resistance of biological material - a compendium of data for the biomedical engineer and physiologist". *Medicine and Biology Engineering*. Vol. 5. 1967. pp. 271-293.
4. M. Stuchly, S. Stuchly. "Dielectric properties of biological substances – tabulated". *Journal of Microwave Power*. Vol. 15. 1980. pp. 19-26.
5. K. Foster, H. Schwan. "Dielectric properties of tissues and biological materials: A critical review", *Critical Reviews in Biomedical Engineering*. Vol. 17. 1989. pp.25-104.
6. F. Hart, N. Berner, R. McMillen. "Modeling the Anisotropic Electrical Properties of Skeletal Muscle". *Physical Medical Biology*. Vol. 44. 1999. pp. 413-421.
7. S. Gabriel, R. Lau, C. Gabriel. "The dielectric properties of biological tissues. 2. Measurements in the frequency range 10 Hz to 20 GHz". *Physical Medical Biology*. Vol. 41. 1996. pp. 2251-2269.
8. E. Fukada, I. Yasuda. "On the piezoelectric effect in bone". *Journal of the Physical Society of Japan*. Vol. 12. 1957. pp.1158-62.
9. R. Aaron, D. McK, B. Simon. "Treatment of non-unions with electric and electromagnetic fields". *Clinical Orthopaedics & Related Research*. Vol. 419. 2004. pp. 21-29.
10. C. Polk, E. Postow. *Biological Effects of electromagnetic fields. Hand book*. by CRC Press LLC, 2nd ed., New York, Washington DC. 1995. pp: 25-96.
11. D. Chakkalal, L. Lippiello, R. Shindell, and J. Connolly. "Electrophysiology of Direct Current Stimulation of Fracture Healing in Canine Radius". *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*. Vol. 37. 1990. pp. 1048-1058.
12. S. Saha, and P. Williams. "Electric and dielectric properties of wet human cortical bone as a function of frequency". *IEEE Transaction on Biomedical Engineering*. Vol. 39. 1992. pp. 1298-1304.