

DETERMINACION DE PROPIEDADES ELECTRICAS DE SISTEMAS
BIOLÓGICOS CON TÉCNICAS DIGITALES

R VALDIOSERA
CINVESTAV

Numerosos procesos fisiológicos de las células y tejidos se llevan a cabo mediante eventos eléctricos. La actividad eléctrica tiene lugar en la transducción de las señales del medio ambiente en impulsos nerviosos, en la transmisión de estos impulsos en todo el sistema nervioso, en la contracción del músculo esquelético y liso, en la generación, conducción y propagación del impulso en el músculo cardíaco y en el paso de líquidos y solutos a través de las membranas biológicas. Esta actividad bioeléctrica se desarrolla con la participación activa de las membranas plasmáticas, mediante sus propiedades estructurales y físico-químicas.

La actividad eléctrica de una célula está determinada, en gran medida, por sus propiedades eléctricas lineales, las cuales a su vez, dependen de la estructura anatómica. En este sentido, no es fortuito que históricamente, el axón haya sido el primero en ser estudiado con técnicas cuantitativas. La razón es que el axón, por ser una estructura cilíndrica simple pudo ser estudiado con mayor facilidad y con teorías más o menos simples y que ya se habían desarrollado para estructuras cilíndricas, como es la teoría de cable unidimensional. En el caso de la fibra muscular estriada, aun cuando es una estructura cilíndrica, la presencia de invaginaciones de la membrana para formar sistemas membranales internos tan complejos como el sistema tubular transversal, complica en gran medida el estudio de sus propiedades eléctricas ya que la teoría de cable tiene que modificarse para ser aplicada a estas estructuras. En el caso del músculo cardíaco las complicaciones son aún mayores ya que en este caso se trata de una estructura formada por muchas células conectadas eléctricamente entre sí, de manera que la corriente fluye en tres dimensiones, lo cual representa un problema teórico formidable. Problemas similares se encuentran en el

estudio de músculo liso.

Una manera de abordar el problema ha sido suponer que la célula o tejido puede ser representado como un circuito equivalente de resistencias, condensadores y alambres. Este circuito se construye en base a la estructura anatómica de la célula o tejido y la relación entrada-salida (impedancia o admitancia), del sistema así construido se calcula teóricamente. La relación entrada-salida más convenientemente usada es la impedancia o la admitancia.

Una vez que se tiene el modelo matemático que representa con precisión las propiedades eléctricas del sistema se procede a determinar experimentalmente la función de transferencia apropiada. Los valores de los parámetros del modelo teórico que dan el mejor ajuste a los datos experimentales se interpretan entonces como las propiedades eléctricas intrínsecas de la célula o tejido.

La determinación experimental de la función de transferencia en sistemas biológicos requiere de cuidados especiales debido a las características de los mismos. El tamaño de las células es usualmente de 10 a 100 μm por lo que es necesario utilizar microelectrodos para aplicar corriente o medir potencial. Los microelectrodos necesariamente deben de tener una punta muy pequeña y por lo tanto una impedancia importante al flujo de corriente del orden de varios $M\Omega$ con los problemas consiguientes de ruido, además tienden a comportarse de manera no lineal. Por otra parte, se necesita medir las propiedades eléctricas en una gama amplia de tiempo o de frecuencia por lo que el flujo de corriente a través de las capacidades espúreas que inevitablemente están asociadas con los microelectrodos es muy importante, de hecho, éste es uno de los factores limitantes en varios casos. Otra limitación importante es el hecho de que las propiedades

eléctricas de las membranas celulares son funciones no-lineales del voltaje y del tiempo y sólo se comportan de manera lineal en una gama muy pequeña de potencial de membrana por lo que debemos limitar el tamaño de nuestras señales.

La determinación de la función de transferencia compleja en el dominio de la frecuencia $H(f)$ expresada como magnitud $\text{Mag}H(f)$ y fase $\text{Arg}H(f)$ pueden ser obtenidas a partir de la transformada de Fourier de la respuesta impulso $h(t)$ en el dominio del tiempo. En principio este método es rápido ya que $h(t)$ es un transiente, sin embargo el cociente energía pico a promedio es muy alto por lo que la membrana puede ser llevada a valores de potencial en los cuales ya no se comporta linealmente, además es un método poco sensible para distinguir entre varios circuitos teóricos que pudieran representar las propiedades de la membrana.

La respuesta en estado estacionario a una entrada senoidal también da estimados precisos de $\text{Mag}H(f)$ y $\text{Arg}H(f)$; sin embargo, este método tiene la desventaja de que toma mucho tiempo para hacer las medidas ya que este procedimiento se debe de repetir a cada frecuencia y dado que se requiere un número importante de frecuencias para tener la resolución adecuada, esto implica demasiado tiempo, lo cual limita importante su aplicación.

A partir de las consideraciones anteriores, es aparente que un estímulo apropiado para el análisis de la función de transferencia debe de tener

las propiedades siguientes:

a) Todas las frecuencias de interés deben de estar presentes simultáneamente y con suficiente energía para tener un cociente señal-ruído adecuado, es decir, debe tener un ancho de banda amplio.

b) Un cociente bajo de potencia pico a promedio para mantenerse en la zona de potencial de membrana en el cual las respuestas son lineales.

c) Ser determinístico, es decir, que tenga características conocidas de magnitud y de fase sin fluctuaciones estadísticas ya que de esta manera no es necesario promediar.

Una señal que tiene estas características es la secuencia binaria pseudoaleatoria (PRBS). Las PRBS pueden ser generadas con circuitos que pueden implementarse fácilmente y con el ancho de banda deseado, poseen un espectro de potencia igual a la unidad y son determinísticos.

Por otra parte, el cómputo de la transformada de Fourier discreta (DFT) tal como se implementa con el algoritmo de la transformada de Fourier rápida es más eficiente para arreglos de datos con una longitud 2^P , sin embargo, el período de la PRBS cuando se genera con registros de corrimiento con retroalimentación lineal es de la forma 2^P-1 . La manera como se soslayó este problema se describe a continuación.

La PRBS se generó con registros de corrimiento de 10 bits por lo que $N = 2^P-1 = 1023$ y el cómputo de la transformada requiere $N = 1024$ por lo que en el circuito del generador PRBS se integró un cristal de 22,1184 MHz cuya salida pasa a través de contadores de década para poder seleccionar varios anchos de banda; la salida de los contadores es entonces el reloj maestro y se pasa a través de 2 conjuntos de contadores binarios para dividir en frecuencia por 1023 y 1024, estos pulsos son usados como el reloj de los registros de corrimiento para generar una secuencia de 1023 puntos y el de 1024 puntos se utilizó para la adquisición de datos por el convertidor A/D. Ya que la PRBS es una señal determinística es muy importante el adquirir exactamente un período de esta señal, esto

se logra con un circuito que detecta el momento en el cual los 2 relojes (el de 1023 y el de 1024) coinciden lo cual ocurre una vez en cada periodo. Cuando esto ocurre se genera un pulso que inicia la adquisición de 1024 puntos. Es posible entonces medir la entrada y la salida del sistema biológico y de esta manera calcular la función de transferencia compleja $H(f)$. Este método determina las propiedades eléctricas en tiempos muy cortos (segundos o menos de un segundo dependiendo del ancho de banda) y se está usando en músculo esquelético, corazón, axón de calamar, células secretoras y epitelios.

Bibliografía

Fernández J.M., Bezanilla E. and Taylor R.E. J. Gen. Physiol. 79: 41-67 (1982).

Fernández J.M., Neher E. and Gomperts B.D. Nature 312: 453-456 (1984).

Poussart D. and Ganguly V.S. Proceedings of the IEEE, 65: No. 5, 741-747 (1977).

Valdiosera R.F., Clausen C. and Eisenberg R.S. Biophys. J. 14: 293-315 (1974).

se logra con un circuito que detecta el momento en el cual los 2 relojes (el de 1023 y el de 1024) coinciden lo cual ocurre una vez en cada periodo. Cuando esto ocurre se genera un pulso que inicia la adquisición de 1024 puntos. Es posible entonces medir la entrada y la salida del sistema biológico y de esta manera calcular la función de transferencia compleja $H(f)$. Este método determina las propiedades eléctricas en tiempos muy cortos (segundos o menos de un segundo dependiendo del ancho de banda) y se está usando en músculo esquelético, corazón, axón de calamar, células secretoras y epitelios.

Bibliografía

Fernández J.M., Bezanilla E. and Taylor R.E. J. Gen. Physiol. 79: 41-67 (1982).

Fernández J.M., Neher E. and Gomperts B.D. Nature 312: 453-456 (1984).

Poussart D. and Ganguly V.S. Proceedings of the IEEE, 65: No. 5, 741-747 (1977).

Valdiosera R.F., Clausen C. and Eisenberg R.S. Biophys. J. 14: 293-315 (1974).