

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 401 235**

51 Int. Cl.:

**G01N 33/487** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.05.2009 E 09742353 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.12.2012 EP 2271933**

54 Título: **Sistema y método para la caracterización de células**

30 Prioridad:

**07.05.2008 GB 0808266**  
**17.04.2009 GB 0906653**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**18.04.2013**

73 Titular/es:

**UNIVERSITY OF STRATHCLYDE (100.0%)**  
**McCance Building 16 Richmond Street**  
**Glasgow G1 1XQ, GB**

72 Inventor/es:

**CONNOLLY, PATRICIA y**  
**SHEDDEN, LAURIE**

74 Agente/Representante:

**BALLESTER CAÑIZARES, Rosalía**

**ES 2 401 235 T3**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## **SISTEMA Y MÉTODO PARA LA CARACTERIZACIÓN DE CÉLULAS**

### **Descripción**

[0001] La presente invención hace referencia a un sistema y método para caracterizar células y estructuras formadas a partir de células.

5

### **Antecedentes de la invención**

[0002] Se han presentado varias técnicas para monitorizar el crecimiento y otras características de células biológicas. Una de las técnicas implica el uso de métodos de impedancia, como los presentados por Und R et al. en "Single Cell Mobility and Adhesion Monitoring Using Extracellular Electrodes", *Biosensors and Bioelectronics*, 6 (4), págs. 359-367, 1991. Otras técnicas presentadas suponen determinar cambios en la impedancia y unirlos al movimiento o crecimiento celular o bacteriano.

[0003] La mayoría de estas técnicas conlleva medir la impedancia de CA de las células o bacterias en los medios de cultivo adecuados. Se ha conseguido un buen nivel de éxito usando estos métodos para unir los cambios generales en la impedancia, Z, en algunas frecuencias fijas eléctricas estimulantes, normalmente en la gama de los kilohercios, al crecimiento de células o bacterias. Sin embargo, el uso de las técnicas de impedancia para monitorizar el crecimiento u otras características de células biológicas es complicado por el hecho de que cada sistema de medición tiene su propia impedancia característica, que debe separarse de la respuesta de impedancia de las células.

15  
20

### **Resumen de la invención**

[0004] Según un primer aspecto de la presente invención, se presenta un método para caracterizar células o estructuras celulares en una muestra como se reivindica en la reivindicación 1.

[0005] Al monitorizar la respuesta de frecuencia de la impedancia normalizada sobre un espectro de frecuencias, se ha hallado que pueden identificarse rasgos característicos en la respuesta de frecuencia de la impedancia normalizada y usarse para clasificar células de manera consistente y repetible. El uso de la impedancia normalizada tiene la ventaja adicional de que no es necesario caracterizar los electrodos de manera continua y separada. Además, la técnica de impedancia de CA es rápida, simple y al eliminarse la necesidad de una constante recalibración se permite una monitorización continua de los cultivos celulares.

[0006] La gama de frecuencias puede ser una gama o espectro de frecuencias

35

continuo o cuasi continuo. La gama de frecuencias puede comprender una serie de mediciones de frecuencias discretas. La gama de frecuencias puede ser cualquier gama de frecuencias comprendida entre 0,1 Hz y 33 MHz.

5 **[0007]** El método puede incluir presentar un sistema que tiene al menos dos electrodos. La muestra puede presentarse en una trayectoria eléctrica entre los electrodos.

**[0008]** La al menos una célula puede ser una bacteria u otro organismo unicelular. La al menos una célula puede ser una célula animal o vegetal tal como una célula de un tejido animal o vegetal. Al menos una célula puede organizarse en una estructura, que  
10 puede ser tejido animal o vegetal o un organismo multicelular.

**[0009]** El método puede comprender obtener una respuesta de impedancia de referencia del sistema sobre la al menos una gama de frecuencias.

**[0010]** La respuesta de impedancia de referencia puede obtenerse midiendo la respuesta de impedancia del sistema sobre la gama de frecuencias prácticamente sin  
15 células en una trayectoria eléctrica entre los electrodos.

**[0011]** La respuesta de impedancia de referencia puede ser una respuesta de impedancia del sistema inicial o calculada o estimada o estándar. La respuesta de impedancia de referencia puede obtenerse midiendo la respuesta de impedancia de un sistema similar y/o estandarizado sobre la al menos una gama de frecuencias  
20 prácticamente sin células en una trayectoria eléctrica entre los electrodos.

**[0012]** El método puede comprender obtener al menos una respuesta de impedancia medida del sistema sobre la al menos una gama de frecuencias.

**[0013]** La al menos una respuesta de impedancia medida del sistema sobre la al menos una gama de frecuencias puede obtenerse tras la introducción y/o cultivo de al  
25 menos una célula en la trayectoria eléctrica entre los electrodos.

**[0014]** Obtener la al menos una respuesta de impedancia normalizada puede comprender dividir la al menos una respuesta de impedancia medida del sistema en cada frecuencia en la gama de frecuencias entre la respuesta de impedancia de referencia del sistema para la frecuencia correspondiente.

30 **[0015]** La al menos una característica de la respuesta de impedancia normalizada puede depender de la frecuencia. La al menos una característica de la respuesta de impedancia normalizada puede ser la frecuencia y/o el tamaño del pico y/o la forma del pico de al menos un pico en la respuesta de impedancia normalizada sobre la gama de frecuencias. Pueden observarse múltiples picos en la impedancia  
35 normalizada. El pico o picos pueden depender de la actividad celular o bacteriana.

Tales picos únicos o múltiples pueden usarse para determinar la etapa de crecimiento de un sistema celular o bacteriano. Los cambios en al menos un pico obtenidos en el sistema normalizado pueden monitorizarse a lo largo del tiempo para permitir la distinción de los cambios en el crecimiento celular o bacteriano.

5 **[0016]** El al menos un pico en la impedancia normalizada con frecuencia puede ser característico del tipo celular o bacteriano y/o de la etapa de crecimiento. Por lo tanto, la impedancia normalizada puede usarse para determinar la presencia de un tipo de tejido, célula, bacteria o subproducto molecular particular en el sistema.

10 **[0017]** Los electrodos pueden sumergirse en un medio de cultivo. El medio de cultivo puede disponerse para promover el crecimiento de al menos un tipo de células. La al menos una célula puede contenerse en el medio. La al menos una célula puede estar en contacto con uno o más de los electrodos.

15 **[0018]** La medición de la respuesta de impedancia del sistema y/o la respuesta de impedancia de referencia del sistema y/o la respuesta de impedancia normalizada del sistema puede realizarse usando técnicas de impedancia de CA.

**[0019]** Según un segundo aspecto de la presente invención, se presenta un sistema para caracterizar células o estructuras celulares en una muestra como se reivindica en la reivindicación 12.

20 **[0020]** El controlador puede disponerse para determinar la impedancia a través de técnicas de impedancia de CA.

**[0021]** Los electrodos pueden adaptarse para ser sumergidos en un medio de cultivo. Los electrodos pueden ser electrodos de oro, de cloruro de plata o de carbono. Los electrodos pueden ser electrodos planos. Los electrodos pueden colocarse para una medición *in vitro* o *in vivo*.

25 **[0022]** Los electrodos pueden fijarse a un dispositivo implantable y/o al menos formar parte del mismo. El dispositivo implantable puede ser un stent cardíaco, una válvula cardíaca de metal o una válvula de tejido sujeta a un dispositivo fijador de metal o stent, un stent vascular o una superficie metálica de una articulación implantable tal como una articulación coxofemoral.

30 **[0023]** La gama de frecuencias puede ser preferiblemente cualquier gama de frecuencias comprendida entre 0,001 Hz y 33 MHz. Opcionalmente la gama de frecuencias puede ser cualquier gama de frecuencias por encima de 0,001 Hz. En algunas aplicaciones, puede usarse corriente o voltaje de CC para los cálculos de normalización y referencia.

35 **[0024]** El sistema puede disponerse para obtener una respuesta de impedancia de

referencia sobre una gama de frecuencias.

[0025] El sistema puede disponerse para obtener al menos una respuesta de impedancia medida sobre la gama de frecuencias. La al menos una respuesta de impedancia medida puede incluir tanto partes reales como imaginarias de la impedancia o puede incluir solo partes reales o solo imaginarias de la impedancia.

[0026] El sistema puede adaptarse para obtener la al menos una respuesta de impedancia normalizada dividiendo la al menos una respuesta de impedancia medida del sistema en cada frecuencia en la gama de frecuencias entre la respuesta de impedancia de referencia del sistema para la frecuencia correspondiente.

### **Breve descripción de los dibujos**

[0027] A continuación se describirán varios aspectos de la invención a modo de ejemplo solo con referencia a los dibujos adjuntos, de los cuales:

La figura 1 es un sistema para caracterizar células;

La figura 2 es un diagrama de flujo de un método para caracterizar células;

La figura 3 muestra la respuesta de frecuencia de la impedancia normalizada de células musculares lisas obtenida usando el sistema de la figura 1 y el método de la figura 2;

La figura 4 muestra la respuesta de frecuencia de la impedancia normalizada de células musculares lisas, células epiteliales y células endoteliales obtenida usando el sistema de la figura 1 y el método de la figura 2; y

La figura 5 muestra la respuesta de frecuencia de la impedancia normalizada de bacterias estafilococo áureo obtenida usando el sistema de la figura 1 y el método de la figura 2.

### **Descripción detallada de los dibujos**

[0028] La figura 1 muestra un aparato 5 para caracterizar células biológicas 10, tales como células vegetales o animales, bacterias, tejido vegetal o animal, organismos multicelulares, arqueobacterias y similares. El aparato 5 comprende un controlador 15 para generar una señal eléctrica a un sistema de medición 20 y obtener una respuesta eléctrica de este sistema de medición 20 que comprende dos electrodos de oro planos 25 ubicados dentro de un recipiente 30 para contener el medio de cultivo 35. El medio de cultivo 35 es conductor de tal forma que cuando el recipiente 30 se llena, se completa un circuito eléctrico incluyendo los electrodos 25, el controlador 15 y el medio de cultivo 35.

[0029] El controlador 15 está dispuesto para llevar a cabo la espectroscopia de impedancia de CA monitorizando la respuesta de impedancia del sistema 20 a una pequeña corriente de perturbación de CA sobre una gama de frecuencias. Esto supone aplicar un estímulo eléctrico entre los electrodos 25 y medir la magnitud y fase de la corriente y voltaje entre al menos dos puntos en la trayectoria eléctrica entre ellos. En este caso, los puntos de medición están en los mismos electrodos 25. Sin embargo, una persona experta entenderá que pueden darse modos de realización alternativos en los que se usan uno o más electrodos de medición adicionales. Las corrientes y los voltajes medidos pueden usarse para determinar la impedancia del sistema y la magnitud y/o fase y/o diferencia de fase de la impedancia, el voltaje y/o corriente pueden analizarse para determinar propiedades del circuito eléctrico.

[0030] En la figura 2 se resume de forma esquemática un método para caracterizar células situadas en la trayectoria eléctrica entre los electrodos 25. La preparación para la caracterización, indicada en el paso 40, supone limpiar los electrodos 25 o proporcionar electrodos frescos 25 con el fin de eliminar cualquier contaminación u oxidación de las superficies de los electrodos 25, que podrían de lo contrario llevar a resultados espurios. Después, se llena el recipiente 30 con un medio de cultivo 35 adecuado para cultivar las células deseadas, de tal forma que los electrodos 25 se sumergen en el medio de cultivo 35. El medio de cultivo 35 puede ser cualquier medio de cultivo conductor y electroquímicamente estable adecuado conocido en la técnica.

[0031] El controlador 15 está operativo para llevar a cabo un barrido de impedancia de CA del sistema 20, midiendo la impedancia del sistema 20 sobre una gama de frecuencias seleccionada,  $f$ , con el fin de recoger una respuesta de impedancia de referencia,  $Z_{medida}(f, t=0)$ , para ese sistema 20 y gama de frecuencias, como se indica en el paso 45. La gama de barrido de frecuencias,  $f$ , se puede ajustar a una gama indicativa de una célula o células para ser investigada o puede llevarse a cabo un amplio barrido, por ejemplo, si el tipo o tipos de célula son desconocidos o si se caracteriza una amplia gama de tipos de célula. Normalmente, para caracterizar la mayoría de los tipos de célula son adecuadas las frecuencias entre 0,1 Hz y 32 MHz.

[0032] La gama de barrido de frecuencias puede incluir una o más subgamas de frecuencias, en la que cada subgama puede seleccionarse para investigar una respuesta de impedancia esperada. Además, aunque la medición se lleva a cabo recogiendo datos para los espectros de frecuencias en lugar de para una frecuencia individual, se entenderá que algunos aparatos, especialmente aparatos digitales, pueden recoger una gama de frecuencias cuasi continua recogiendo una serie de

mediciones en frecuencias discretas, separando cada frecuencia por un paso de frecuencia. El paso de frecuencia se selecciona para que sea lo suficientemente pequeño de tal forma que la serie de frecuencias discretas parece ser continua. De forma alternativa, puede obtenerse una gama continua interpolando los puntos discretos.

**[0033]** En algunas circunstancias, puede no conocerse la respuesta de impedancia de referencia, o la recogida de estos datos puede ser poco práctica. En estos casos, se puede crear un sistema de electrodos similar o estándar y obtener una aproximación de la respuesta de impedancia de referencia  $Z_{\text{medida}}(f, t=0)$ . Sin embargo, si se implantan los electrodos 25 o forman parte de un sistema implantado / *in vivo*, entonces es preferible recoger la respuesta de impedancia de referencia *in situ*, debido a la complejidad del medio de cultivo y a la disposición de los electrodos, a la que puede ser difícil de aproximarse.

**[0034]** Una vez se han obtenido los datos de referencia recogidos o aproximados, entonces las células que se van a analizar se introducen y/o se cultivan en el medio de cultivo en el paso 50. En el paso 55, el controlador 15 está entonces operativo para llevar a cabo al menos otro barrido de impedancia de CA del sistema 20, midiendo la impedancia del sistema 20 sobre la gama de frecuencias seleccionada,  $f$ , con el fin de recoger al menos una respuesta de impedancia medida,  $Z_{\text{medida}}(f, t)$ .

**[0035]** Después, se divide la respuesta de impedancia medida,  $Z_{\text{medida}}(f, t)$  para la gama de frecuencias entre la correspondiente respuesta de impedancia de referencia  $Z_{\text{medida}}(f, t=0)$  para la gama de frecuencias con el fin de obtener la frecuencia normalizada,  $Z_n(f, t)$ , en el paso 60. Para los modos de realización en los que la respuesta de impedancia se mide como una serie cuasi continua de valores de impedancia en frecuencias discretas, se divide la respuesta de impedancia medida para cada frecuencia discreta en la gama de frecuencias entre la respuesta de impedancia de referencia para esa frecuencia.

**[0036]** Para sistemas dinámicos, en los que la composición o el tipo de célula está cambiando o en los que las células 10 están creciendo y/o se están multiplicando en el medio de cultivo 35, se puede determinar la respuesta de impedancia medida,  $Z_{\text{medida}}(f, t)$  y recharacterizar las células 10 en intervalos de tiempo regulares. De este modo, puede monitorizarse la evolución de las células dentro del sistema a lo largo del tiempo.

**[0037]** La figura 3 muestra el cambio de la dependencia de la frecuencia de la impedancia normalizada a lo largo del tiempo con el cultivo de células musculares

cardíacas lisas. Puede verse a partir de esto que aparece un pico 65 en la impedancia normalizada al tiempo que el cultivo de células cardíacas crece. En la confluencia, es decir, cuando las células cubren los electrodos, puede verse que el pico característico de este tipo de célula se da justo por debajo 3000 Hz.

5 **[0038]** Sin ánimo de apoyar ninguna teoría en concreto, es probable que el pico 65 se deba a componentes de una célula individual 10 que contribuyen a la resistencia y capacitancia del sistema 20 y a interacciones entre el cultivo celular y los electrodos 25. Algunas pequeñas cantidades de inductancia también pueden contribuir en la respuesta.

10 **[0039]** Al determinar la frecuencia a la que tienen lugar los picos 65, se pueden caracterizar las células 10 en el paso 70. De forma alternativa, pueden usarse técnicas más avanzadas tales como ajuste de modelos, magnitud de la impedancia normalizada o ajuste de los picos. Las posiciones de los picos pueden compararse con las posiciones características de los picos almacenadas en una tabla de consulta con 15 el fin de identificar el tipo de célula. De forma opcional, puede usarse el análisis de circuitos equivalentes en lugar del ajuste de los picos. El análisis de circuitos equivalentes puede proporcionar valores para la resistencia y capacitancia celular o bacteriana que son características del organismo y/o su etapa de crecimiento.

**[0040]** Para demostrar la capacidad de esta técnica de diferenciar entre tipos de 20 célula, se repitió el método anterior de forma separada para células epiteliales y células endoteliales. Como se puede ver a partir de los resultados, como se muestra en la figura 4, en la confluencia, la respuesta de frecuencia de la impedancia normalizada para las células epiteliales alcanza el pico a aproximadamente 1000 Hz, el pico para células musculares lisas está más cerca de los 2000 Hz mientras que el 25 pico para células endoteliales está más cerca de los 20000 Hz. De esta forma, cuando se enfrentan a tres tipos de células desconocidos, el aparato y método tal como se describen anteriormente son capaces de caracterizar el tipo de célula basándose en la posición de los picos característicos en la respuesta de frecuencia de la impedancia normalizada en la confluencia.

30 **[0041]** La utilidad de esta técnica recae no solo en la caracterización de las células de tejido, sino de forma sorprendente también puede usarse para caracterizar otros tipos de célula y organismos celulares. Como ejemplo, el método de caracterización de células anterior se aplicó a un cultivo de bacterias estafilococo áureo en un medio de caldo de cultivo de bacterias. Como puede verse a partir del espectro de impedancia 35 normalizada resultante, como se muestra en la figura 5, se obtienen un número de

picos en la impedancia normalizada en determinadas frecuencias características. Estos picos son útiles para caracterizar las bacterias en cuestión. Cada curva es característica del tipo de bacteria y la etapa de crecimiento.

**[0042]** En un modo de realización de la presente invención, al menos los electrodos 5 25 pueden incorporarse a un dispositivo implantable, o al menos formar parte del mismo. El dispositivo implantable puede ser un sensor especializado, o de forma alternativa, el dispositivo implantable puede ser un implante médico o prótesis, tal como un stent, un órgano de reemplazo o parte de un órgano tal como una válvula cardíaca. De esta forma, se pueden monitorizar el ambiente y la condición del dispositivo implantable. Por ejemplo, puede detectarse y cuantificarse el grado de reestenosis que se forma alrededor de un stent o puede determinarse la formación de tejido cicatrizal alrededor de un implante o puede identificarse la infección bacteriana dentro del cuerpo. En otro ejemplo, si el sistema de electrodos se coloca dentro del vendaje cercano a la superficie de una herida, puede usarse para señalar tanto la presencia de una infección bacteriana como el tipo de bacterias. También puede verse que un sistema como tal podría emplearse en un instrumento pequeño para su uso en la caracterización de cultivos de células, o usarse como un instrumento para caracterizar extensiones de heridas o extensiones de superficies en el laboratorio.

**[0043]** Una persona experta entenderá que se pueden dar variaciones en las disposiciones divulgadas sin alejarse del alcance de la invención. Por ejemplo, aunque el aparato 5 descrito anteriormente usa electrodos de oro 25, se entenderá que pueden usarse otros materiales, tal como platino. El método y aparato anteriores pueden aplicarse a una variedad de aplicaciones tal como determinar el grado de reestenosis, en investigaciones científicas del organismo, detección de materiales químicos, calcificación, etc. Aunque se describe un sistema con dos electrodos 25 que tiene un electrodo en funcionamiento y un contraelectrodo, se entenderá que pueden usarse otras disposiciones de los electrodos, tal como al menos un electrodo de medición adicional. Aunque los electrodos 35 descritos anteriormente son planos, se entenderá que pueden usarse otras configuraciones de electrodos, especialmente si se incorpora un electrodo 25 a un dispositivo implantable, en el que los electrodos 25 pueden conformar la forma del dispositivo. Aunque la unidad de control 15 y los electrodos 25 se describen unidos directamente a través de cables, se entenderá que pueden proporcionarse otros medios de unión, tal como una unión conductora o una unión inalámbrica, especialmente para dispositivos implantables *in vivo*.

35

**Reivindicaciones**

1. Un método para caracterizar células o estructuras celulares en una muestra que consiste en:

5 obtener al menos una respuesta de impedancia normalizada de la muestra sobre al menos una gama de frecuencias (60), donde la impedancia normalizada es una impedancia medida dividida en cada frecuencia en la gama de frecuencias entre una impedancia de referencia para la frecuencia correspondiente, donde la impedancia medida comprende una parte real y/o imaginaria, y la impedancia de referencia es una respuesta de impedancia del sistema sobre la gama de frecuencias prácticamente sin células en una trayectoria eléctrica entre al menos dos electrodos (25); y caracterizar al menos una célula usando al menos una característica de la respuesta de impedancia normalizada (75).

15 2. Método de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la gama de frecuencias es una gama o un espectro de frecuencias continuo o cuasi continuo y/o en el que la gama de frecuencias comprende una serie de mediciones de frecuencias discretas.

20 3. Método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la al menos una célula es una bacteria u otro organismo unicelular y/o la al menos una célula es una célula animal o vegetal tal como una célula de un tejido animal o vegetal y/o al menos una célula se organiza en una estructura, tal como tejido animal o vegetal o un organismo multicelular.

25 4. Método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la respuesta de impedancia de referencia se obtiene midiendo la respuesta de impedancia del sistema sobre la gama de frecuencias prácticamente sin células en una trayectoria eléctrica entre al menos dos electrodos (25).

30 5. Método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 3, en el que la respuesta de impedancia de referencia es una respuesta de impedancia del sistema inicial o calculada o estimada o estándar, en el que opcionalmente la respuesta de impedancia de referencia se obtiene midiendo la respuesta de impedancia de un sistema similar y/o estandarizado sobre la al menos una gama de frecuencias prácticamente sin células en una trayectoria eléctrica entre al menos dos electrodos (25).

35 6. Método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la

al menos una respuesta de impedancia medida del sistema sobre la al menos una gama de frecuencias se obtiene tras la introducción y/o cultivo de al menos una célula en la trayectoria eléctrica entre al menos dos electrodos (25).

- 5 7. Método de acuerdo con cualquiera con las reivindicaciones anteriores, en el que la al menos una característica de la respuesta de impedancia normalizada es la frecuencia y/o el tamaño del pico y/o la forma del pico de al menos un pico en la respuesta de impedancia normalizada sobre la gama de frecuencias.
- 10 8. Método de acuerdo con la reivindicación 7, en el que se usa el al menos un pico para determinar la etapa de crecimiento de al menos un sistema celular o bacteriano, en el que opcionalmente los cambios en al menos un pico en el sistema normalizado se monitorizan a lo largo del tiempo para permitir la distinción de cambios en el crecimiento celular o bacteriano.
- 15 9. Método de acuerdo con la reivindicación 7 o la reivindicación 8, en el que al menos un pico en la impedancia normalizada con frecuencia es característico de un tipo celular o bacteriano y/o de una etapa de crecimiento y la impedancia normalizada se usa para determinar la presencia de un tipo de tejido, célula, bacteria o subproducto molecular particular en el sistema.
- 20 10. Método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que al menos dos electrodos (25) usados para obtener la respuesta de impedancia normalizada se sumergen en un medio de cultivo, en el que opcionalmente el medio de cultivo se dispone para promover el cultivo de al menos un tipo de células.
- 25 11. Método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la medición de la respuesta de impedancia del sistema y/o la respuesta de impedancia de referencia del sistema y/o la respuesta de impedancia normalizada del sistema se realiza usando técnicas de impedancia de CA.
- 30 12. Un sistema (5) para caracterizar células o estructuras celulares en una muestra que comprende: al menos dos electrodos (25) conectados a un controlador (15), controlador (15) que se adapta para obtener al menos una respuesta de impedancia normalizada de la muestra sobre una gama de frecuencias a través de los electrodos dividiendo una impedancia medida en cada frecuencia en la gama de frecuencias entre una impedancia de referencia para la frecuencia correspondiente, donde la impedancia de referencia es una respuesta de impedancia del sistema sobre la gama de frecuencias prácticamente sin células
- 35 en una trayectoria eléctrica entre al menos dos electrodos (25); y caracterizar al

menos una célula o estructura celular usando al menos una característica de la respuesta de impedancia normalizada, donde opcionalmente el controlador (15) está dispuesto para determinar la impedancia a través de técnicas de impedancia de CA.

- 5    **13.** Sistema (5) de acuerdo con la reivindicación 12, en el que los electrodos están adaptados para ser sumergidos en un medio de cultivo y/o en el que los electrodos son electrodos de oro, de cloruro de plata o de carbono y/o en el que los electrodos están fijos a un dispositivo implantable y/o al menos forman parte del mismo, en el que opcionalmente el dispositivo implantable es un stent
- 10    cardíaco, una válvula cardíaca de metal o una válvula de tejido sujeta a un dispositivo fijador de metal o stent, un stent vascular o una superficie metálica de una articulación implantable tal como una articulación coxofemoral.
- 14.** Método o sistema (5) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la gama de frecuencias es cualquier gama de frecuencias
- 15    comprendida entre 0,001 Hz y 33 MHz.
- 15.** Sistema (5) de acuerdo con la reivindicación 14, adaptado para obtener la al menos una respuesta de impedancia normalizada dividiendo la al menos una respuesta de impedancia medida del sistema en cada frecuencia en la gama de frecuencias entre la respuesta de impedancia de referencia del sistema para la
- 20    frecuencia correspondiente.
- 16.** Método de acuerdo con la reivindicación 1 o sistema (5) de acuerdo con la reivindicación 12, en el que se usa una corriente o voltaje de CC para determinar la impedancia normalizada.

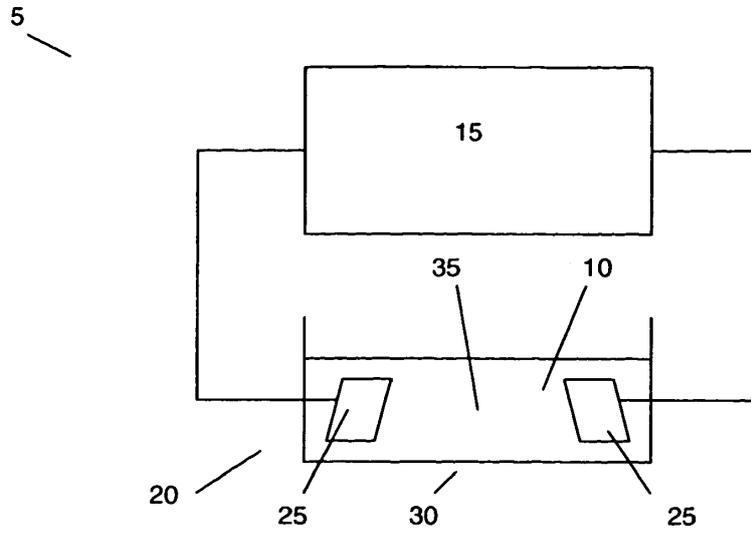


Figura 1

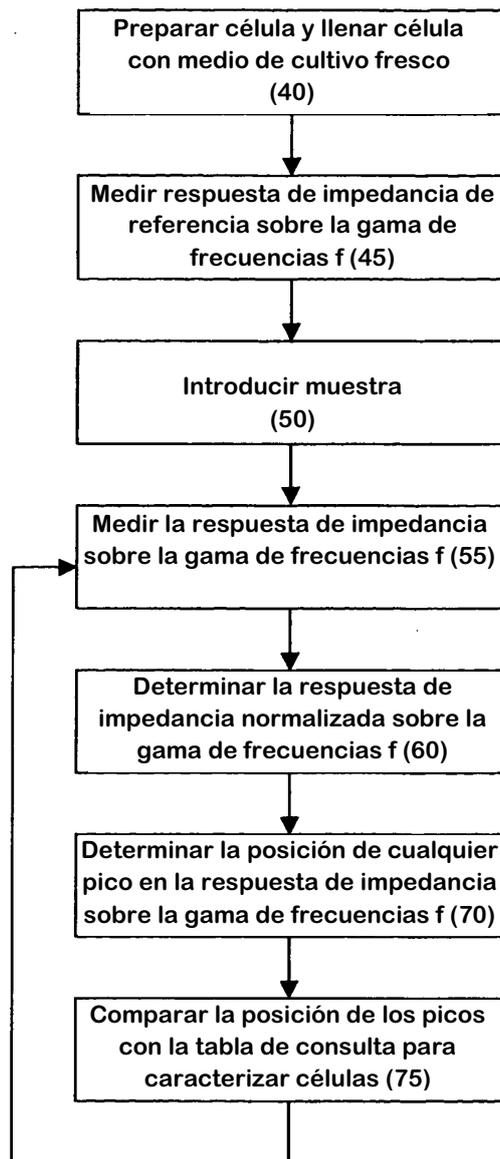


Figura 2

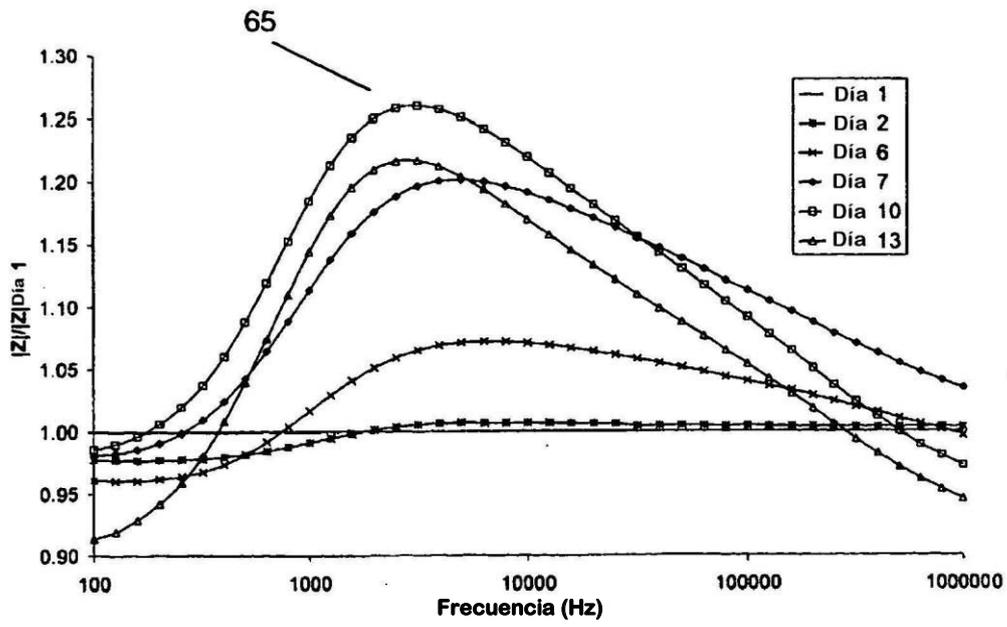


Figura 3

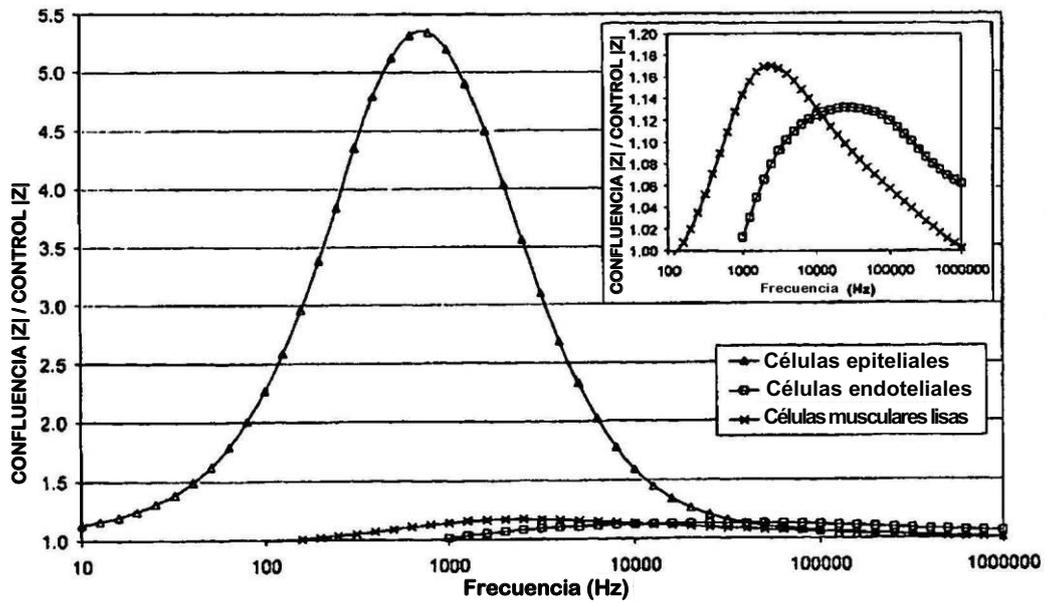


Figura 4

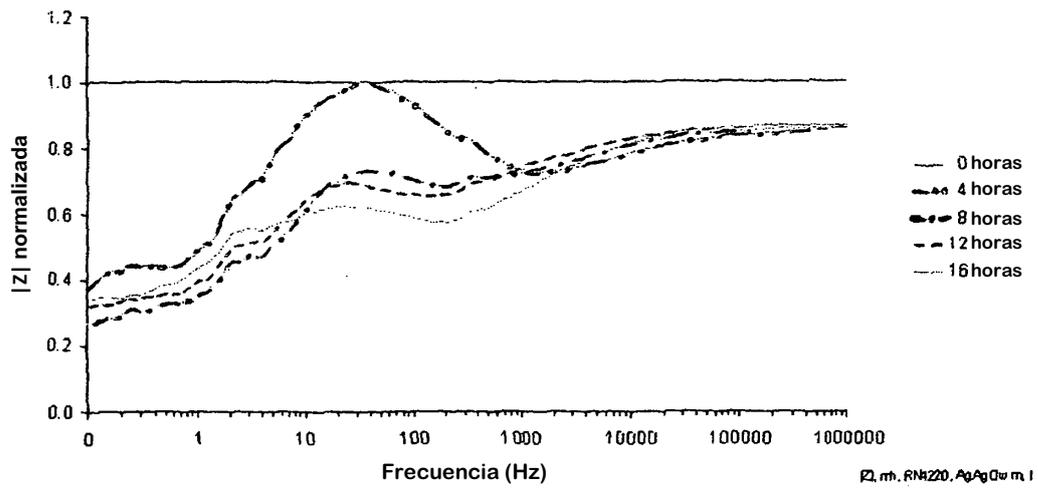


Figura 5