

Universidad Autónoma de Baja California

Facultad de Ingeniería, Arquitectura y Diseño



Maestría y Doctorado en Ciencias e Ingeniería



Estudio de Espectroscopia en Infrarrojo Medio de Muestras de Sangre y Modelos de Glucosa e Insulina para Aplicaciones de Cuantificación de Glucosa en Humanos

TESIS

que para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para obtener el grado de

DOCTOR EN CIENCIAS

Presenta

Gerardo Salvador Romo Cárdenas

Ensenada, Baja California, Junio de 2019

Universidad Autónoma de Baja California

Facultar de Ingeniería Arquitectura y Diseño

Estudio de Espectroscopia en Infrarrojo Medio de Muestras de Sangre y Modelos de Glucosa e Insulina para Aplicaciones de Cuantificación de Glucosa en Humanos

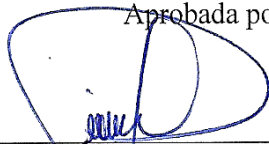
TESIS

que para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para obtener el grado de
DOCTOR EN CIENCIAS

Presenta

Gerardo Salvador Romo Cárdenas

Aprobada por:



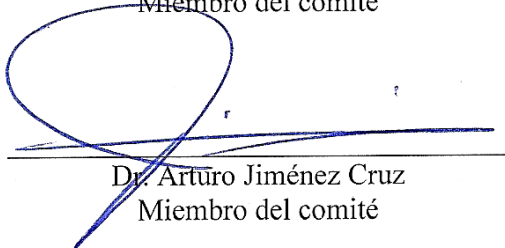
Dr. Juan de Dios Sánchez López
Director de Tesis



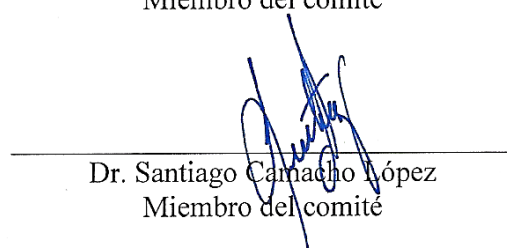
Dr. Juan Iván Nieto Hipólito
Miembro del comité



Dra. Claudia Mariana Gómez Gutiérrez
Miembro del comité



Dr. Arturo Jiménez Cruz
Miembro del comité



Dr. Santiago Camacho López
Miembro del comité

Ensenada, Baja California, Junio 2019

Resumen de la tesis de **Gerardo Salvador Romo Cárdenas**, presentada como requisito parcial para la obtención del grado de DOCTOR EN CIENCIAS del programa de Maestría y Doctorado en Ciencias e Ingeniería (MyDCI) de la Universidad Autónoma de Baja California (UABC). Ensenada Baja California, México, junio del 2019.

Estudio de Espectroscopia en Infrarrojo Medio de Muestras de Sangre y Modelos de Glucosa e Insulina para Aplicaciones de Cuantificación de Glucosa en Humanos

Resumen aprobado por:



Dr. Juan de Dios Sánchez López

Director de Tesis

Para el adecuado control de la diabetes mellitus, es necesario llevar un monitoreo adecuado de la concentración de glucosa en sangre. Dado el dolor y la incomodidad asociados al glucómetro digital, se han realizado diversos esfuerzos a fin de desarrollar técnicas ópticas no invasivas para la medición de glucosa en sangre. Dentro de éstas técnicas, sobresale la espectroscopia de infrarrojo medio. Donde, aunque los resultados muestran ser favorables, siguen siendo parcialmente satisfactorios por la falta de enfoques interdisciplinarios. En especial, respecto a los compuestos que participan en el mecanismo de regulación de glucosa que podrían participar de las mediciones espectroscópicas. Esto conlleva a realizar este estudio, enfoque interdisciplinario, a fin de analizar con detalle la interacción entre la luz, la glucosa y compuestos que participan en su mecanismo de regulación, conocer el efecto de estas sustancias en los espectros de absorción y los posibles alcances de las técnicas de espectroscopia para la medición de glicemia. Los resultados de esta investigación muestran que efectivamente la glucosa y la insulina se traslapan en la región espectral en la región de 1000cm^{-1} . Así mismo, el uso del teorema de Nyquist, hace más eficiente el pre-proceso de señales bio-ópticas. De tal forma que al aplicarlo dentro un diseño de experimento factorial, se encontró que la glucosa tiene una mayor participación en el espectro de absorción. Este diseño experimental ayudo también a encontrar, a pesar del traslape espectral, que no hay cambios estructurales en las muestras por presencia de ambos compuestos, que tengan un efecto en el espectro de absorción.

Palabras Clave: Espectroscopia de infrarrojo medio, glucosa, óptica biomédica.

Dedicatoria

A Erika, mi esposa, compañera, cómplice, amiga, consejera, mi fuente de motivación y apoyo.

A Juan Gerardo por hacer más divertido el proceso.

A mi familia.

Agradecimientos

A Dios por guiarnos en cada día de este proceso, por ponernos lecciones y muestras de su amor para con nosotros.

A mi asesor, el Dr. Juan de Dios Sánchez por guiarme y aconsejarme durante mi estancia en UABC.

Al comité de que me acompañó durante este proyecto. Dr. Juan Iván Nieto, Dra. Claudia Gómez, Dr. Santiago Camacho y Dr. Arturo Jiménez. Agradezco su tiempo, apoyo y lecciones que me brindaron.

A la Dra. Cosio, Dr. Priscy y Dra. Mabel por ser mis *coaches* asistentes.

A mis compañeros y colegas del MyDCI, que me brindaron su amistad y me permitieron aprender junto con ellos.

Al programa MyDCI de UABC, por darme la oportunidad de crecer en su programa doctoral, así como a los profesores por sus enseñanzas y consejos.

Finalmente al CONACYT por su apoyo y confianza otorgados para la realización de este trabajo.

Índice general

CAPÍTULO 1	1
INTRODUCCIÓN	1
1.1 JUSTIFICACIÓN	4
1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	5
1.3 PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN	6
1.4 OBJETIVOS DEL PROYECTO	6
1.4.1. <i>Objetivo general del trabajo.</i>	6
1.4.2 <i>Objetivos específicos del trabajo.</i>	7
1.5 METODOLOGÍA.....	8
CÁPITULO 2	10
DIABETES MELLITUS Y SEGUIMIENTO DE LA PATOLOGÍA.....	10
2.1 MECANISMO DE REGULACIÓN DE GLUCOSA.....	11
2.2 MEDICIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA.....	18
2.3 MEDICIÓN NO INVASIVA DEL NIVEL DE GLUCOSA EN SANGRE.	20
CAPÍTULO 3	23
CUANTIFICACIÓN ÓPTICA DE GLUCOSA.....	23
3.1 CARACTERIZACIÓN DE BIOMATERIALES POR ESPECTROSCOPIA INFRARROJA.	23
3.2 PROCESAMIENTO DE BIOSEÑALES	31
3.3 MECANISMOS DE ESPECTROSCOPIA INFRARROJA PARA CUANTIFICACIÓN DE GLUCOSA	32
3.4 ESTADO DE LA TÉCNICA DE LA CUANTIFICACIÓN DE GLUCOSA POR ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO	42

CAPÍTULO 4	47
EXPLORACIÓN EN MUESTRAS DE SANGRE.	47
4.1 PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.....	48
4.2 RESULTADOS DE ESTUDIO ESPECTROSCÓPICO DE MUESTRAS DE SANGRE EN PRUEBA DE TOLERANCIA A LA GLUCOSA.....	49
4.3 DISCUSIÓN DE RESULTADOS DE ESTUDIO ESPECTROSCÓPICO DE MUESTRAS DE SANGRE EN PRUEBA DE TOLERANCIA A LA GLUCOSA.	52
CAPÍTULO 5	53
PROTOCOLO DE PRE-PROCESO DE SEÑALES BIO-ÓPTICAS	53
5.1 DESCRIPCIÓN DE MÉTODO DE SUAVIZADO CON APLICACIÓN DEL TEOREMA DE NYQUIST-SHANNON	54
5.2 APLICACIÓN DEL MÉTODO SAVITZKY-GOLAY-NYQUIST A SEÑALES ESPECTROSCÓPICAS DE GLUCOSA EN INFRARROJO MEDIO	58
CAPÍTULO 6	64
ANÁLISIS DE MUESTRAS IN VITRO DE GLUCOSA - INSULINA	64
6.1 METODOLOGÍA EXPERIMENTAL PARA ANÁLISIS ESPECTRAL DE MUESTRAS DE GLUCOSA-INSULINA EN INFRARROJO MEDIO.	65
6.2 RESULTADOS DE APLICACIÓN DE DISEÑO EXPERIMENTAL FACTORIAL A MUESTRAS DE GLUCOSA-INSULINA.....	67
CAPÍTULO 7	72
CONCLUSIONES	72

CAPÍTULO 8	76
TRABAJO A FUTURO	76
CAPÍTULO 9	78
PRODUCTIVIDAD ACADÉMICA	78
REFERENCIAS	81
APÉNDICE	93
R MARKDOWN	93

Lista de acrónimos

- Monitoreo del Nivel de Glucosa (MNG)
- Péptido similar al glucagón-1 (GLP-1),
- Péptido insulínotropo dependiente de la glucosa (GIP)
- Diabetes mellitus (DM)
- Autocontrol de la glucosa en sangre (AGG)
- Medición sérica de la hemoglobina A1c (HbA1c)
- Asociación Americana de Diabetes (ADA)
- Espectro infrarrojo (IR)
- Espectrómetro infrarrojo de transformada de Fourier (FTIR).
- Prueba oral de tolerancia a la glucosa (OGTT)
- Algoritmo Savitzky-Golay (SG)
- Teorema de Nyquist-Shannon (NS)
- Región de interés (ROI)

Índice de figuras

Figura 1. Proceso estandarizado para el monitoreo de glucosa en sangre por medio de glucómetro digital (Cullen, 2010).....	2
Figura 2. Mecanismo de regulación de glucosa en esquema bi-normal en sujeto saludable, a) aportación de glucosa por parte del hígado en ayunas, b) aportación de glucosa postprandial (Aronoff et al., 2004).	15
Figura 3. Secreción de insulina y glucagón: sujetos no diabéticos y diabéticos. En sujetos no diabéticos (izquierda), la liberación de insulina y amilina estimulada por la glucosa de las células β produce la supresión de la secreción posprandial de glucagón. En un sujeto con diabetes tipo 1, la insulina infundida no suprime la producción de células α de glucagón. Adaptado de (Unger, 1971).....	16
Figura 4. Diversas técnicas para la medición de glucosa en sangre (Kottmann et al., 2012).	21
Figura 5. Regiones del espectro infrarrojo (Nieto, 2013).	25
Figura 6. Regiones de vibraciones específicas para grupos funcionales (Silverstein et al., 2014).	25
Figura 7. Procesos ópticos presentes en la interacción luz con biomateriales [42].	26
Figura 8. Espectros de absorción óptica para la glucosa. (a) Región MIR extiende de 6.25 a 11 μ m. (b) Infrarrojo cercano región que se extiende desde 2.0 hasta 2.5 μ m.	28
Figura 9. Espectro de absorción de glucosa en infrarrojo medio (Christison & MacKenzie, 1993).	29

Figura 10. Espectro de absorción de solución acuosa de glucosa a 100mg/dl de concentración en región de infrarrojo cercano (Zhang, Liu, Zhang, Jia, & Xu, 2013) .	29
Figura 11. Esquemático de espectrómetro FTIR (Garces, 2012).	33
Figura 12. Espectros de absorción de glucosa a distintas concentraciones en región de infrarrojo medio (Meinke et al., 2008).	34
Figura 13. Medición en voltaje de absorción de luz en muestra acuosa de glucosa. La irradiación se realizó a 1450 nm, capturado por un fotodiodo, cambiando la concentración de glucosa en una muestra acuosa de glucosa (Tang et al., 2013).	35
Figura 14. Esquemático de arreglo electro-fluido de medición de glucosa, con detección por fotodiodos (Tang et al., 2013).	37
Figura 15. Arreglo experimental para cuantización infrarroja por espectroscopia de infrarrojo medio (Liakat et al., 2014).	39
Figura 16. Espectro de luz esparcido en palma de mano por iluminación en región de infrarrojo medio correspondiente a distintas concentraciones de glucosa.	40
Figura 17. Arreglo experimental de irradiación de muestra acuosa de glucosa con fuente de luz LED (Mohd Aziz et al., 2015).	41
Figura 18. Diferentes configuraciones de sensores de fibra en configuración: (a) cilíndrica, (b) semicircular, (c) doble vuelta, (d) tripe vuelta y (e) en conformación U (Yu, Li, Chong, Sun, Yu, et al., 2014).	42
Figura 19. Esquemático de patente de dispositivo de cuantización óptica de glucosa en sangre (Weckstrom & Ristolainen, 2000).	45
Figura 20. Esquemático de patente de dispositivo de uso cotidiano para la medición de glucosa en sangre (Yen, Wang, Chou, & Chuang, 2012).	46
Figura 21. Regiones de absorción características para macromoléculas (Ami et al., 2014).	50

Figura 22. Espectro FTIR para ambas muestras de insulina nativa y glucosa.....	51
Figura 23. Espectro FTIR de muestras de sangre durante la OGTT de una muestra sana. ..	51
Figura 24. Muestreo de señales a distintos múltiplos de la frecuencia natural de la señal...55	
Figura 25. Suavizado SG aplicado a una señal genérica que definiendo el parámetro de tamaño de ventana por el teorema de Nyquist.	57
Figura 26. Espectros de absorción nativos de muestras de glucosa acuosa en la región IR medio.	59
Figura 27. Espectros de la segunda derivada de muestras de glucosa acuosa suavizadas por SG, con tres tamaños de ventana diferentes (WS): A) WS = 29, B) WS = 129, que corresponden a la aplicación del teorema de Nyquist y C) WS = 169. Insertar en B) muestra la dependencia lineal entre la estimación de la absorción y la concentración de glucosa. ...	61
Figura 28. Espectros de absorción en infrarrojo medio de muestras de glucosa-insulina. ...	68
Figura 29. Segunda derivada de espectros de absorción de muestras de glucosa-insulina. .	68
Figura 30. Gráfica de Pareto de comparación de coeficientes de componentes de modelo de regresión lineal para absorción óptica de muestras de glucosa-insulina.	70

Índice de Tablas

Tabla 1. Efectos de las principales hormona glucorreguladoras.....	17
Tabla 2. Mecanismos no invasivos para cuantización de glucosa.	21
Tabla 3. Bandas de absorción en espectro de infrarrojo cercano para diversos compuestos biológicos [66].	38
Tabla 4. Parámetros publicados en patentes de medición de glucosa por espectroscopia de infrarrojo.	43
Tabla 5. Análisis de varianza de absorción óptica de muestras de glucosa-insulina.....	69
Tabla 6. Modelo de regression para absorción óptica de muestras de glucosa-insulina	70

Capítulo 1

Introducción

La diabetes mellitus (DM) se refiere a un grupo de enfermedades que afecta la forma en que el cuerpo utiliza el azúcar o glucosa en la sangre glucosa. Es una enfermedad crónica de causas múltiples. En su etapa inicial no produce síntomas y cuando se detecta tardíamente y si no se trata adecuadamente ocasiona complicaciones de salud graves como infarto del corazón, ceguera, falla renal, amputación de las extremidades inferiores y muerte prematura [1]. Cuando se habla del tratamiento de la diabetes mellitus, se ha demostrado desde el enfoque médico que el monitoreo frecuente y un control estricto de los niveles de azúcar en la sangre son necesarios para la gestión eficaz de la enfermedad y la reducción de las complicaciones asociadas a la misma [2]. Estudios han mostrado que el monitoreo y seguimiento de la concentración de glucosa proporciona la máxima información sobre el cambio los niveles de glucosa en sangre y facilita la toma de decisiones sobre el tratamiento óptimo para el paciente diabético [3-5].

Atendiendo esta necesidad, actualmente, existen una multitud de sistemas de monitoreo de nivel de glucosa (MNG) en el mercado. Un número creciente de nuevos sistemas han sido introducidos. Ante tal escenario, tanto médicos como pacientes se encuentran constantemente buscando orientación para elegir entre sistemas que varían principalmente en el rango de precio [6].

Sin embargo, como se muestra en la Figura 1, la mayoría de estos se basan en una interacción electroquímica que requiere la interacción con fluidos de muestras adquiridos por medio de agujas o implantes. Lo que hace llamar la atención al hecho de que el dolor y la incomodidad de estas pruebas, alejan al paciente o usuario del MNG y por consecuencia, lleguen a comprometer el seguimiento y tratamiento adecuado de la enfermedad [7-9].



Figura 1. Proceso estandarizado para el monitoreo de glucosa en sangre por medio de glucómetro digital [10].

Dado lo invasivo, incómodo y costoso que puede llegar a ser el MNG, basándose en el protocolo de extracción de sangre periférica, como en el caso del glucómetro digital, se puede entender la necesidad de desarrollar opciones que permitan realizar este tipo de monitoreo con mejores posibilidad de éxito al momento de apegarse al protocolo de mediciones indicado.

Recientes avances tecnológicos en la industria de la fotónica han llevado a un resurgimiento del interés en la detección óptica de la glucosa y en la factibilidad de desarrollar un sensor óptico capaz de cuantificar la concentración de glucosa por medios no invasivos [2].

Un sensor de este tipo tiene el potencial de mejorar significativamente la calidad de vida de los aproximadamente 7 millones de diabéticos en este país [11], al permitirles realizar mediciones de rutina de concentración de glucosa de una forma más conveniente. Actualmente más de 100 empresas pequeñas y universidades están trabajando en desarrollar tecnologías de detección de glucosa por medios no invasivos o mínimamente invasivos; dentro de los cuales, los métodos ópticos juegan un papel importante en estos esfuerzos [2].

Las técnicas de medición óptica de glucosa son especialmente atractivas por varias razones: Estas se basan en radiación no ionizante para interrogar a la muestra, por lo general, no requieren reactivos consumibles y se anticipa considerar que serían rápidas para realizar la medición.

Es de suma importancia considerar que para el desarrollo de un dispositivo de medición del nivel de glucosa, requiere de un entendimiento de la fisiopatología de la diabetes, así como de su tratamiento y el seguimiento en función de estándares médicos, a fin de poder plantear una estrategia de solución.

1.1 Justificación

Dado el alcance actual de la epidemia global de diabetes mellitus y a la necesidad intrínseca de realizar un control constante de la glicemia para el tratamiento de dicha enfermedad, en todas sus variantes; se puede visualizar la oportunidad de realizar una investigación cuyos resultados den cabida a una alternativa viable con la que se pueda llevar a cabo la medición del nivel de glucosa en suero de sangre por medio de espectrometría de infrarrojo medio. De tal forma que por la aplicación de medios ópticos, de naturaleza no invasiva, se pueda generar una opción que evite el uso de agujas y otros mecanismos invasivos, los cuáles se ha mostrado, implican factores que no promueven una medición constante y eficiente de la glicemia en pacientes diabéticos.

Como se mencionó con anterioridad, recientemente se han realizado, por diversos grupos de investigación, varios esfuerzos de atacar el problema de desarrollar una herramienta de medición del nivel de glucosa por medios ópticos con resultados parcialmente satisfactorios, debido a la falta de enfoques fisiológicos y bioquímicos en el proceso de investigación. Dejando oportunidad a la aplicación una variedad de opciones y estrategias a considerar para el desarrollo de este ejercicio de investigación.

La realización de una investigación interdisciplinaria, permitirá ampliar el conocimiento en el desarrollo de muestras y protocolos *in vitro* que permiten obtener, a diferencia de lo encontrado en el estado del arte, un enfoque más integral entre la interacción de la luz y la glucosa en sangre y los compuestos que participan del mecanismo de regulación, de tal forma que se podrá aportar conocimiento en el área de la óptica biomédica para aplicaciones tanto médicas como científicas.

1.2 Planteamiento del problema

Ante la búsqueda de métodos no invasivos para la cuantización de la glicemia, se observa que se han hecho diversos ejercicios de investigación aplicando medios ópticos con resultados parciales; una razón importante de esto es la falta de enfoques fisiológicos y bioquímicos en estos trabajos, o una perspectiva ingenieril incompleta respecto al fenómeno físico a investigar. Esto en definitiva muestra una falta de enfoque interdisciplinario en el trabajo de investigación, que permita tener un mejor entendimiento de la interacción entre la luz, la glucosa y los compuestos que participan del mecanismo de regulación de la misma.

Lo que nos lleva a la necesidad de realizar un estudio profundo de la técnica optoelectrónica, que, considerando enfoques bioquímicos, permita entender la interacción de la luz y los compuestos antes mencionados, esto desde una perspectiva de absorción óptica, de tal forma que los hallazgos se puedan derivar en parámetros de instrumentación y protocolos que permitan una medición acertada y con significancia médica de la glucosa. Un objetivo a largo plazo posterior a este trabajo, permitirá explorar el desarrollo de una alternativa a los métodos actuales de medición de concentración de glucosa en sangre, que pueda promover un eficiente control de la enfermedad en pacientes diabéticos. El planteamiento presentado en esta sección, nos lleva a contestar las siguientes preguntas.

1.3 Preguntas de Investigación

1.- ¿Cuáles compuestos del mecanismo de regulación de glucosa participan y que influencia tienen en el mecanismo de absorción por espectroscopia óptica en infrarrojo medio para la cuantificación de glucosa en sangre?

2.- ¿Cuál es el ancho de banda de luz infrarroja más adecuado para analizar la glucosa?

3.- ¿Cómo generar muestras *in vitro* que permitan analizar los parámetros ópticos de la glucosa en el cuerpo humano?

4.- ¿Qué procedimiento permitiría analizar espectros de absorción en la región del infrarrojo medio, a pesar de posible traslape espectral de los componentes integrantes de las muestras?

5.- ¿Cuál debe ser el protocolo de medición *in vitro* de modelos artificiales de glucosa en presencia de compuestos de regulación agregados?

1.4 Objetivos del proyecto

1.4.1. Objetivo general del trabajo.

Determinar los componentes del mecanismo de glucosa que participan en estudios de espectroscopia óptica de infrarrojo medio para la cuantificación de la concentración de glucosa, así como su efecto en las mediciones espectroscópicas.

1.4.2 Objetivos específicos del trabajo.

Determinar que compuestos del mecanismo de regulación de glucosa aportan en los espectros de absorción en infrarrojo medio en ejercicios de cuantificación de glucosa.

Determinar por métodos espectroscópicos, el ancho de banda de luz infrarroja más eficiente para el estudio de la glucosa en sangre y posibles compuestos que se traslapen en la misma región.

Diseñar muestras *in vitro* capaces de representar el mecanismo óptico correspondiente a la interacción de luz del rango de infrarrojo medio, a fin de analizar su participación en los espectros de absorción.

Diseñar e implementar protocolo de análisis de señales espectroscópicas para el estudio de muestras *in vitro* de compuestos participantes del mecanismo de regulación de glucosa para su caracterización y cuantificación.

Analizar el efecto en la de la participación de los compuestos participantes en experimentos de espectroscopia de infrarrojo medio muestras *in vitro*.

1.5 Metodología

La recopilación de la información sobre el tema se realizará mediante la consulta de publicaciones científicas, conferencias, tesis, libros y otras fuentes tales como Internet. Se seleccionará la información que resulte más relevante y que ayude a la realización del proyecto, en base a esta información se considerarán los esquemas de generación de muestras de solución acuosa de glucosa y los parámetros de radiación para el estudio de espectrometría.

Se diseñará una serie de experimentos que permita obtener información respecto a los compuestos del mecanismo de regulación de glucosa que participan en el estudio en un escenario fisiológico real, así como de información adecuada para el diseño de muestras in vitro de solución acuosa de glucosa que permita la integración de distintas macromoléculas a fin de asimilar es espacio donde naturalmente se encuentra esta sustancia en el torrente sanguíneo.

Se llevará a cabo un estudio de espectroscopia a fin de definir las propiedades ópticas de las muestras in vitro diseñadas, a fin de tener un panorama más amplio respecto a la interacción luz-solución de glucosa.

Con la información acumulada a esta fase, se realizarán experimentos para validar los compuestos que presentes en los espectros de absorción en experimentos de espectroscopia de infrarrojo medio. Con lo que se obtendrá información de los compuestos participantes y de las posibles estrategias para el análisis de los espectros de absorción.

Una vez que se obtenga el protocolo adecuado y el diseño de muestras, se procederá a realizar un diseño de experimentos dirigido a estudiar el efecto e involucramiento de los compuestos participantes en el estudio.

Cuando se concluya esta etapa y se comprenda la participación de los compuestos participantes, se analizarán los posibles alcances del uso de esta técnica y la posible aplicación a futuros estudios.

Cápítulo 2

Diabetes Mellitus y seguimiento de la patología

Como se mencionó previamente, la diabetes mellitus son un grupo de enfermedades metabólicas, que aunque tienen diversas causas, están caracterizadas por la hiperglucemia o una elevada concentración de glucosa en sangre delimitada por el umbral de 130mg/dL (11.1mmol/L). La cual se asocia a que el sujeto presenta alteraciones en el metabolismo de carbohidratos y una relativa o absoluta deficiencia de la secreción de insulina, con grados variables de resistencia a ésta resultante de defectos en la secreción de esta hormona, o de la acción de la misma [12].

La hiperglucemia crónica de la diabetes se asocia con daño a largo plazo, disfunción e insuficiencia de diversos órganos, especialmente los ojos, los riñones, los nervios, el corazón y los vasos sanguíneos [13].

Aunque esta puede variar y reasignarse, según su etiología, la diabetes mellitus se clasifica de la siguiente manera:

a) La diabetes de tipo 1, que se caracteriza por la ausencia de síntesis de la hormona insulina, generada por las células β del páncreas.

b) La diabetes de tipo 2 tiene su origen en la incapacidad del cuerpo para utilizar eficazmente la insulina, lo que a menudo a un estilo de vida sedentario y una dieta alta en grasas y azúcares.

c) La diabetes gestacional corresponde a una hiperglicemia que se detecta por primera vez durante el embarazo.

Actualmente en el mundo hay más de 427 millones de personas con diabetes, donde más del 80% de las muertes por diabetes se registran en países de ingresos bajos y medios [14, 15]. Se sabe también que en la proporción de enfermos, entre el 85% y 90% de estos corresponden a diabetes tipo 2 [15]. Aunque las causas subyacentes de la aparición de la enfermedad siguen en proceso de estudio, los escenarios asociados a los casos en que se clasifica la diabetes mellitus, se explican en función del mecanismo de regulación de glucosa. Este mecanismo tiene la función de mantener este compuesto dentro de rangos de operación estable para el funcionamiento adecuado de todos los sistemas y respuestas fisiológicas. Por lo que el estudio de la cuantificación de la glucosa en sangre requiere un entendimiento de los compuestos y su función en este proceso.

2.1 Mecanismo de regulación de glucosa.

Nuestra comprensión de la diabetes como una enfermedad metabólica ha evolucionado significativamente desde el descubrimiento de la insulina en la década de 1920. Esta se identificó como un potente regulador hormonal tanto de la adición como de la eliminación

de la glucosa en circulación. Posteriormente, la diabetes fue vista como un trastorno monohormonal caracterizado por una deficiencia absoluta o relativa de insulina. Desde su descubrimiento, la insulina ha sido el único tratamiento farmacológico disponible para pacientes con diabetes tipo 1 y un pilar de la terapia para pacientes con diabetes tipo 2 deficiente en insulina [16, 17].

El descubrimiento de hormonas adicionales con acciones gluco-reguladoras ha ampliado nuestra comprensión de cómo una variedad de hormonas diferentes contribuyen a la homeostasis de la glucosa [17]. En la década de 1950, el glucagón se caracterizó como un estímulo importante de la producción de glucosa hepática. Este descubrimiento llevó a una mejor comprensión de la interacción entre la insulina y el glucagón, lo que llevó a una definición bi-hormonal de la diabetes. Posteriormente, el descubrimiento de una segunda hormona de células β , la amilina, se informó por primera vez en 1987. Entonces se determinó que la amilina tiene un papel que complementa al de la insulina que al igual que esta, se encontró que es deficiente en las personas con diabetes. Este desarrollo más reciente condujo a una visión de la homeostasis de la glucosa que involucra múltiples hormonas pancreáticas [18].

A mediados de la década de 1970, se identificaron varias hormonas intestinales. Una de ellas, una hormona incretina, el péptido similar al glucagón 1 (GLP-1), fue reconocida como otro importante contribuyente al mantenimiento de la homeostasis de la glucosa [18]. Según la comprensión actual, la homeostasis de la glucosa se rige por la interacción de la insulina,

glucagón, amilina y hormonas incretinas. Esta mejor comprensión de la homeostasis de la glucosa es fundamental para el diseño tanto de agentes farmacológicos, como de desarrollos tecnológico que permitan promover mejores resultados clínicos y calidad de vida para las personas con diabetes.

La concentración de glucosa en plasma está en función de glucosa que entra en la circulación equilibrada por la tasa de eliminación de glucosa de la circulación. La glucosa circulante se deriva de tres fuentes: absorción intestinal durante el estado de alimentación, glucogenólisis y gluconeogénesis. El principal determinante de la rapidez con que la glucosa aparece en circulación durante el estado de alimentación, es la tasa de vaciamiento gástrico. Otras fuentes de glucosa en circulación se derivan principalmente de procesos hepáticos: glucogenólisis, correspondiente a la descomposición del glucógeno, que es la forma de almacenamiento polimerizado de glucosa y por otro lado, la gluconeogénesis, la formación de glucosa principalmente a partir de lactato y aminoácidos durante el estado de ayuno [19].

Los mecanismos mencionados arriba se controlan a través de las hormonas glucorreguladoras del cuerpo, estas están diseñadas para mantener las concentraciones de glucosa en circulación en un rango funcional. Estas incluyen insulina, glucagón, amilina, péptido similar al glucagón-1 (GLP-1), péptido insulínico dependiente de la glucosa (GIP), epinefrina, cortisol y hormona del crecimiento. De estos, la insulina y la amilina se derivan de las células β , el glucagón de las células α del páncreas y el GLP-1 y el GIP de las células L del intestino [20].

En estado de ayuno, la glucosa abandona la circulación a una velocidad constante. Para mantener el ritmo de la desaparición de la glucosa, es necesaria la producción de glucosa endógena. La única fuente de producción de glucosa endógena es el hígado. La gluconeogénesis renal contribuye sustancialmente a la glucosa sistémica disponible sólo durante períodos de hambre extrema. Aunque la mayoría de los tejidos tienen la capacidad de hidrolizar el glucógeno, solo el hígado y los riñones contienen glucosa-6-fosfatasa, la enzima necesaria para la liberación de glucosa en la circulación. Por otro lado, después de alcanzar un pico después de las comidas, la glucosa en la sangre disminuye lentamente durante las siguientes horas, y finalmente vuelve a los niveles de ayuno. En el estado inmediato posterior a la alimentación, la extracción de glucosa en el músculo y el tejido adiposo es impulsada principalmente por la insulina. Al mismo tiempo, la producción de glucosa endógena se suprime por la acción directa de la insulina, administrada a través de la vena porta, en el hígado y también por el efecto paracrino o la comunicación directa dentro del páncreas entre las células α y β , lo que resulta en la supresión de glucagón [20]. En la Figura 2 se observa un diagrama de la fisiología normal del mecanismo de regulación de glucosa posprandial y en ayunas.

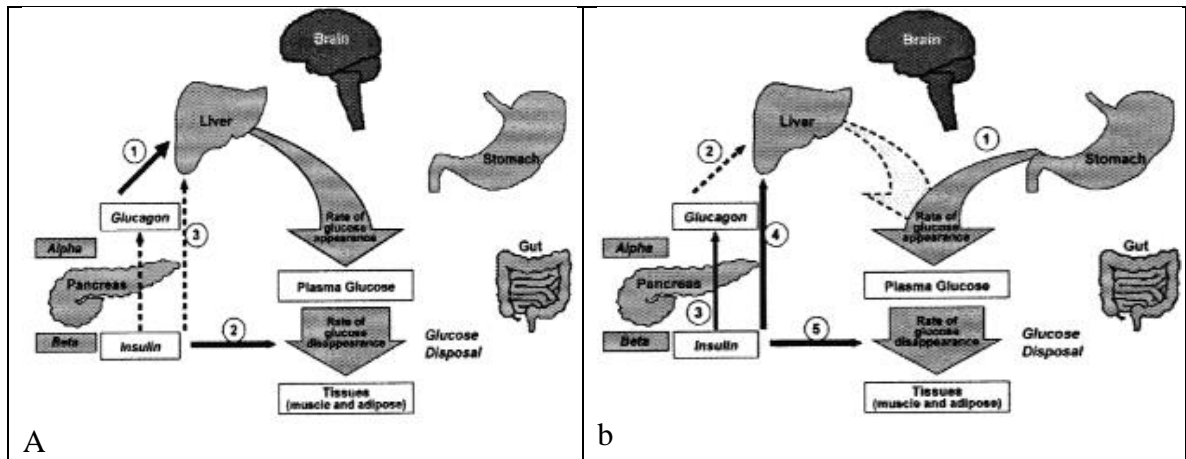


Figura 2. Mecanismo de regulación de glucosa en esquema bi-normal en sujeto saludable, a) aportación de glucosa por parte del hígado en ayunas, b) aportación de glucosa post-prandial [20].

La producción de glucosa hepática, que está regulada principalmente por el glucagón, mantiene las concentraciones basales de glucosa en sangre dentro de un rango normal durante el estado de ayuno. Cuando la glucosa plasmática cae por debajo del rango normal, la secreción de glucagón aumenta, lo que resulta en la producción de glucosa hepática y el retorno de la glucosa plasmática al rango normal [21]. Esta fuente endógena de glucosa no es necesaria durante e inmediatamente después de una comida, y la secreción de glucagón es suprimida. Cuando se combina con el efecto directo de la insulina en el hígado, la supresión del glucagón produce una supresión casi total de la producción de glucosa hepática. En la Figura 3, se pueden observar la concentración liberada en plasma de insulina y glucagón como respuesta de aparición de glucosa, tanto para sujetos saludables como diabéticos.

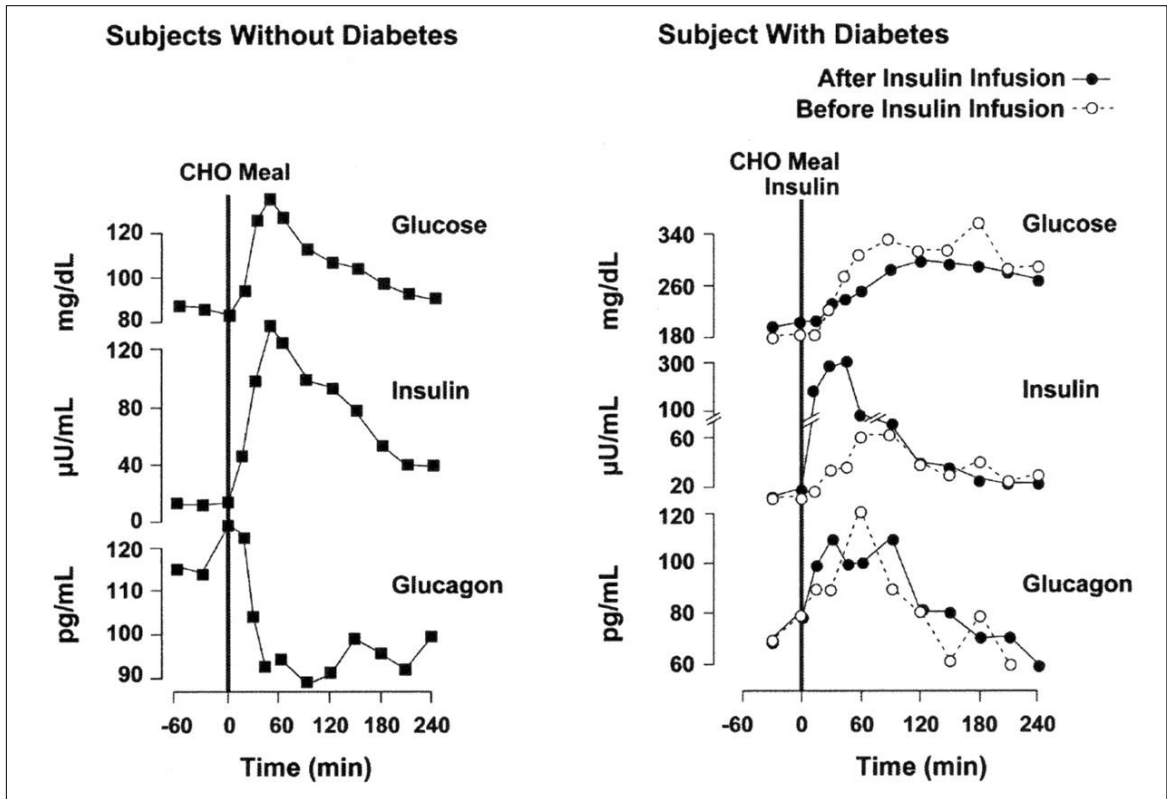


Figura 3. Secreción de insulina y glucagón: sujetos no diabéticos y diabéticos. En sujetos no diabéticos (izquierda), la liberación de insulina y amilina estimulada por la glucosa de las células β produce la supresión de la secreción posprandial de glucagón. En un sujeto con diabetes tipo 1, la insulina infundida no suprime la producción de células α de glucagón. Adaptado de [22].

Por otro lado, en la tabla 1 se resumen los efectos y de las principales hormonas que participan en el mecanismo de regulación de glucosa, así como el origen de las mismas.

Tabla 1. Efectos de las principales hormona glucorreguladoras. Tomado de [20].

Pancreas	
<i>Células α</i>	
Glucagon	Estimula la descomposición del glucógeno hepático almacenado. Promueve la gluconeogénesis hepática Promueve la cetogénesis hepática.
<i>Células β</i>	
Insulina	Afecta el metabolismo de la glucosa y el almacenamiento de nutrientes ingeridos. Promueve la captación de glucosa por las células. Suprime la secreción posprandial de glucagón. Promueve la síntesis de proteínas y grasas. Promueve el uso de la glucosa como fuente de energía.
Amilina	Suprime la secreción posprandial de glucagón. Retrasa el vaciamiento gástrico. Reduce la ingesta de alimentos y el peso corporal.
Intestino	
<i>Células L</i>	
GLP-1	Mejora la secreción de insulina dependiente de la glucosa. Suprime la secreción posprandial de glucagón. Retrasa el vaciamiento gástrico. Reduce la ingesta de alimentos y el peso corporal. Promueve la salud de las células β

A fin de alcanzar mediciones con la sensibilidad y especificidad requerida para el desarrollo de tecnología dirigida hacia la cuantificación de glucosa, el entendimiento del mecanismo de regulación de glucosa y de los compuestos que participan del mismo es de vital importancia para este objetivo y se deberán tener en consideración a lo largo de un proceso de estudio y diseño de modelos y protocolos de cuantificación de glucosa.

2.2 Medición de la concentración de glucosa.

En pacientes diagnosticados con DM, el enfoque terapéutico es prevenir las complicaciones causadas por la hiperglucemia [23]. Un estudio reciente mostró que en los Estados Unidos, el 57.9% de los pacientes con diabetes tienen una o más complicaciones relacionadas con la diabetes y el 14.3% tienen 3 o más [24]. El control primario de la concentración de glucosa o glucemia dentro de los valores recomendados establecidos es el método principal para reducir el desarrollo y la progresión de muchas complicaciones asociados con los efectos microvasculares de la diabetes (por ejemplo, retinopatía, nefropatía y neuropatía). El tratamiento agresivo de la dislipidemia y la hipertensión se centra en disminuir las complicaciones cardiovasculares asociadas con los efectos macro vasculares. Los resultados positivos del control glucémico adecuado sobre las complicaciones microvasculares y macrovasculares se han establecido en grandes ensayos bien controlados [25, 26].

Tradicionalmente se utilizan dos técnicas principales para evaluar el control glucémico de un paciente: autocontrol de la glucosa en sangre (AGS) y medición sérica de la hemoglobina A1c (HbA1c).

El uso de AGS es un método eficaz para evaluar el control glucémico a corto plazo al proporcionar una medición en tiempo real de la glucosa en sangre. Ayuda a los pacientes y médicos a evaluar los efectos de los alimentos, los medicamentos, el estrés y la actividad en los niveles de glucosa en la sangre y hacer los ajustes adecuados[23].

Para los pacientes con DM tipo 1 o DM 2 dependiente de la insulina, los ensayos clínicos han demostrado que la AGS desempeña un papel en el control glucémico eficaz porque ayuda a los pacientes a refinar y ajustar las dosis de insulina mediante el monitoreo de la hipoglucemia asintomática, así como la hiperglucemia preprandial y posprandial [27].

La frecuencia de AGS depende del tipo de terapia médica, el riesgo de hipoglucemia y la necesidad de un ajuste a corto plazo de la terapia. Las pautas actuales de la Asociación Americana de Diabetes (ADA) recomiendan que los pacientes con diabetes monitoreen su glucosa por lo menos tres veces al día [27]. Según es estado de la enfermedad, algunos pacientes requieren un monitoreo más frecuente, incluidas las lecturas preprandiales y posprandiales. Los pacientes con diabetes gestacional que toman insulina deben controlar su glucosa en sangre 3 o más veces al día.

Recientemente, varias compañías han desarrollado monitores continuos de glucosa que miden los niveles intersticiales de glucosa, los cuales han demostrado mejorar el control glucémico sin aumentar sustancialmente el riesgo de hipoglucemia [28]. Sin embargo, es importante hacer notar que la evidencia que respalda la efectividad de esta práctica no es concluyente, considerando los mecanismos fisiológicos del tránsito de la glucosa al fluido intersticial [29].

Con todo lo anterior, se puede concluir que para el tratamiento adecuado de la DM, es necesario controlar y mantener decisiones respecto al nivel de la concentración de glucosa en la sangre de la forma más precisa posible, lo que en principio requiere de mediciones frecuentes. Hasta hoy en día, la técnica de AGS más tradicional, requiere de la punción de la

yema del dedo con un dispositivo para obtener una gota de sangre. La muestra de sangre se coloca sobre una tira de prueba y usualmente analizada a través de una reacción electroquímica. Este procedimiento, aparte de que puede llegar a ser costoso, el uso de una lanceta o con una aguja pequeña para la extracción de la muestra de sangre, puede ser dolorosa e incómoda, como se ha reportado en varios estudios, de que el dolor y la incomodidad relacionados con la adquisición de muestras de sangre, dado el procedimiento invasivo, podrían incluso comprometer la correcta monitorización de la glucosa en sangre y, por lo tanto, el control de la enfermedad [9, 30, 31]. Lo anterior conlleva a explorar el desarrollo de técnicas no invasivas para la medición no invasiva de glicemia, que permita facilite un seguimiento más adecuado tanto para pacientes como para facilitadores de salud [32].

2.3 Medición no invasiva del nivel de glucosa en sangre.

Un estudio previo, reveló que de 43 dispositivos de medición de glucosa basados en la punción del dedo, solo el 79% cumplían con el requisito mínimo de certeza [6]. Otro trabajo de investigación dedicado a la revisión de las tecnologías aplicables para la detección de glucosa, establece que se han explorado 16 diversas técnicas para la cuantización no invasiva del nivel de glucosa en sangre [33]. Estos mecanismos se presentan en la tabla 2.

Tabla 2. Mecanismos no invasivos para la cuantificación de concentración de glucosa.

<ul style="list-style-type: none"> • Iontoforesis inversa. • Espectroscopia de bioimpedancia. • Espectroscopia de emisión térmica. • Espectroscopia de absorbancia. • Espectroscopia de infrarrojo cercano. • Espectroscopia de infrarrojo medio. • Espectroscopia fotoacústica. • Espectroscopia Raman. • Espectroscopia ocular. 	<ul style="list-style-type: none"> • Fluorescencia. • Polarimetría. • Ultrasonido. • Detección electromagnética. • Reflectancia localizada por regulación de temperatura. • Tomografía de coherencia óptica. • Conformación de calor metabólico.
--	---

Cabe mencionar que once de estas técnicas tienen un sustento óptico, lo cual puede entenderse como una oportunidad de utilizar este tipo de técnicas para el análisis de fluidos orgánicos para aplicaciones médicas, tal y como se aprecia en la Figura 4 [32, 34].

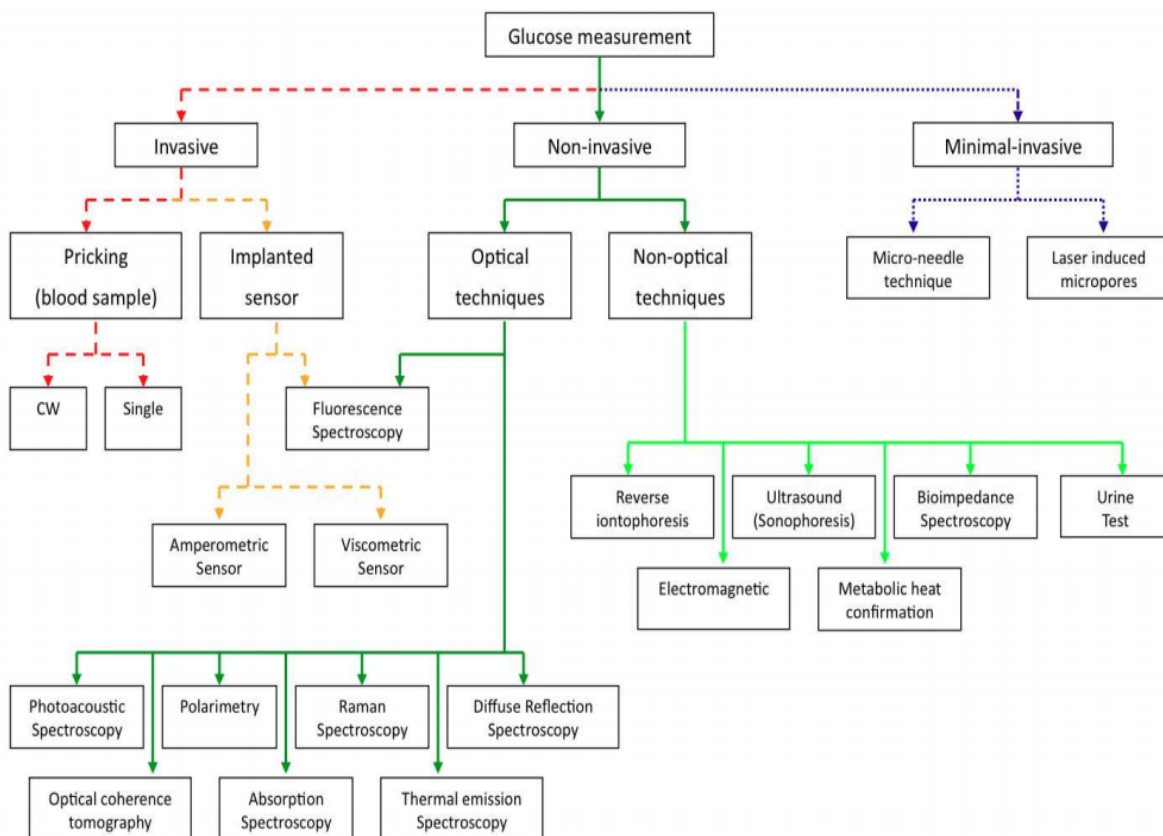


Figura 4. Diversas técnicas para la medición de glucosa en sangre [32].

Por otro lado, se han desarrollado diversos estudios basados en las propiedades ópticas de la glucosa, de tal forma que se han visualizado diversas soluciones dirigidas hacia el desarrollo de sensores ópticos que puedan surgir como una alternativa a la técnica actual del glucómetro digital de punción [32].

Algunos de estos trabajos de investigación reportan tener resultados con una efectividad del 80% al aplicar técnicas de espectroscopia en infrarrojo cercano, en concentraciones acuosas de glucosa de 80 a 400 mg/dl, las cuales son el rango normal de prevalencia de este compuesto en sangre [35]. La base física de la viabilidad de este tipo de investigación, se encuentra en el análisis de los parámetros de absorción óptica de la glucosa, así como en el análisis de la señal adquirida. Es importante señalar, que la búsqueda de un método efectivo, no invasivo y de base óptica para la medición de la glucosa en sangre es un trabajo en curso; varios grupos de investigación han reportado, avances significativos en el desarrollo de una técnica para tal fin, particularmente por espectroscopia en la región del infrarrojo medio, esto considerando mecanismos de interacción y efectividad de los resultados, [36-38]. Lo cual hace que sea de gran importancia hacer una revisión profunda de estas características físicas de los mecanismos involucrados para este fin, tomando en cuenta enfoques fisiológicos y bioquímicos.

Capítulo 3

Cuantificación óptica de glucosa

Como se mencionó con anterioridad, diversos grupos de investigación a lo largo del mundo han mostrado interés en investigar el desarrollo de prototipos para la glicemia por medios ópticos. Estas iniciativas varían tanto en el espectro de excitación, la metodología tanto de la interacción luz –tejido, como del medio fisiológico donde se propone hacer la medición y también del alcance de los resultados.

La mayoría de los trabajos de investigación encontrados, muestran una aproximación al análisis de interacción luz-glucosa desde un enfoque in vitro, basándose en soluciones acuosas con distintas concentraciones de glucosa, analizadas por técnicas espectroscópicas [33]. Esto a fin de plantear una base en los parámetros de irradiación de estas muestras. Donde algunas investigaciones previas, reportan el uso de espectroscopia de infrarrojo para realizar un ejercicio de calibración y análisis de desempeño para los diversos prototipos desarrollos.

3.1 Caracterización de biomateriales por espectroscopia infrarroja.

La espectroscopia infrarroja (espectroscopia IR o espectroscopia vibracional) implica la interacción de radiación infrarroja con la materia. Cubre una gama de técnicas, en su mayoría basadas en espectroscopia de absorción. Al igual que con todas las técnicas espectroscópicas, se puede utilizar para identificar y estudiar materiales. Las muestras pueden ser sólidas, líquidas o gaseosas. El método o la técnica de la espectroscopia infrarroja se realiza con un instrumento llamado espectrómetro infrarrojo (o espectrofotómetro) para producir un espectro infrarrojo. Un espectro de IR se puede visualizar en un gráfico de absorbancia de luz infrarroja (o transmitancia) en el eje vertical en función de la frecuencia o la longitud de onda en el eje horizontal. Las unidades típicas de frecuencia utilizadas en los espectros IR son centímetros recíprocos (a veces llamados números de onda), con el símbolo cm^{-1} [39]. Las unidades de longitud de onda IR se suelen dar en micrómetros (anteriormente denominados "micrones"), símbolo μm , que están relacionados con los números de onda de forma recíproca. Un instrumento de laboratorio común que utiliza esta técnica es un espectrómetro infrarrojo de transformada de Fourier (FTIR).

La región infrarroja del espectro electromagnético se divide generalmente en tres regiones; el infrarrojo cercano, medio y lejano, llamado así por su relación con el espectro visible [40]. Tal y como se muestra en la Figura 5. La energía cercana al IR más alta, aproximadamente $14000\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$ (longitud de onda de $0.8\text{--}2.5\ \mu\text{m}$) puede provocar vibraciones armónicas o de armónicos. El infrarrojo medio, aproximadamente $4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$ ($2.5\text{--}25\ \mu\text{m}$) se puede usar para estudiar las vibraciones fundamentales y la estructura asociada de rotación y vibración. El infrarrojo lejano, aproximadamente $400\text{--}10\text{ cm}^{-1}$ ($25\text{--}1000\ \mu\text{m}$), que se encuentra adyacente a la región de microondas, tiene poca energía y puede usarse para espectroscopia rotacional. Los nombres y clasificaciones de estas subregiones

son convenciones, y se basan únicamente en las propiedades moleculares o electromagnéticas relativas [39]. La espectroscopia IR se utiliza a menudo para identificar estructuras porque los grupos funcionales dan lugar a bandas características tanto en términos de intensidad como de posición (frecuencia) que normalmente se asocian a vibraciones específicas de grupos funcionales, tal y como se puede apreciar en la Figura 6.

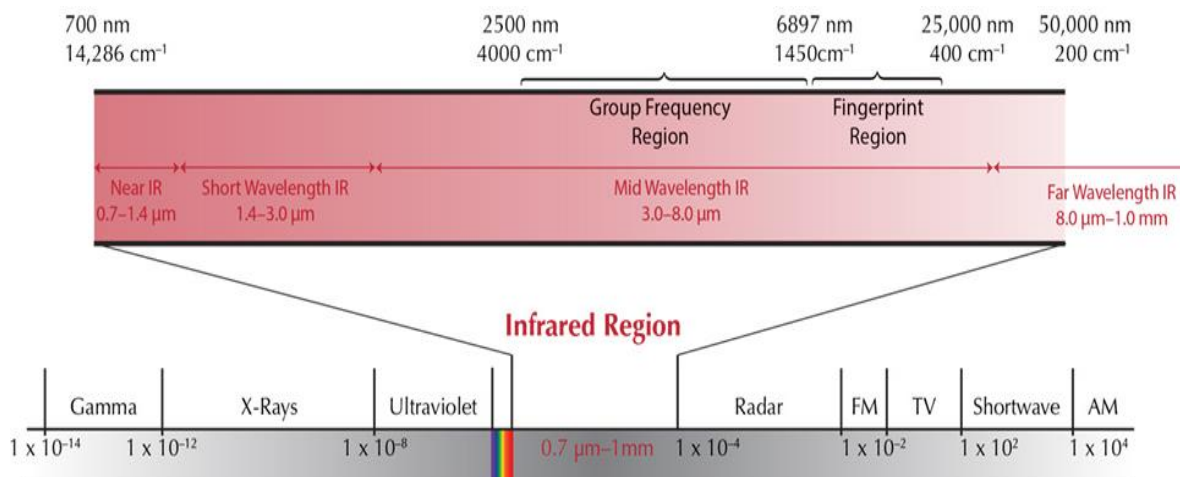


Figura 5. Regiones del espectro infrarrojo [41].

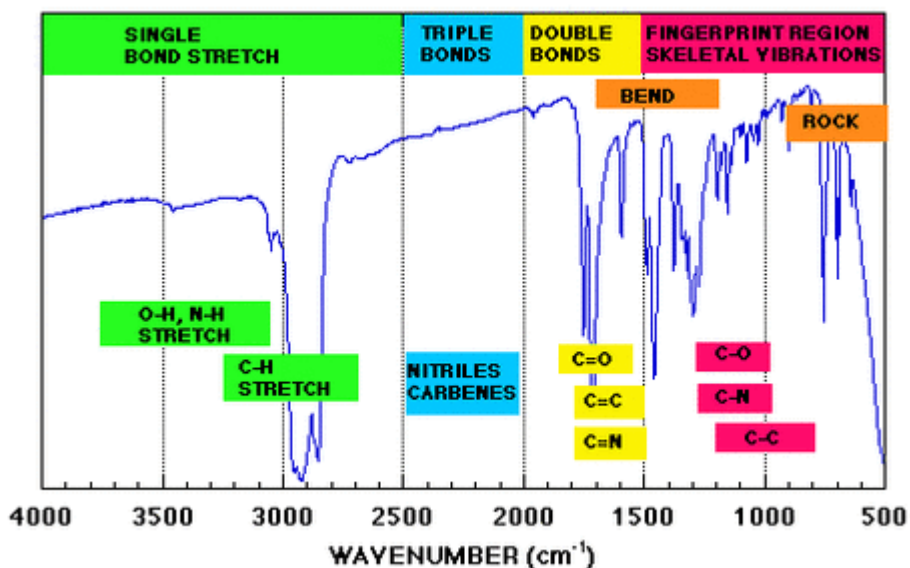


Figura 6. Regiones de vibraciones específicas para grupos funcionales [39].

Como se mencionó anteriormente, la posible caracterización de biofluidos se hace factible considerando la interacción de la luz con estos. Cuando una luz interactúa con el tejido, se pueden presentar cuatro posibles interacciones: reflexión, esparcimiento, absorción y transmisión, como se muestra en la Figura 7. Los procesos que realmente ocurran dependerán de la intensidad y longitud de onda de la fuente de luz utilizada, así como de los componentes en la muestra con la que interactúa [42].



Figura 7. Procesos ópticos presentes en la interacción luz con biomateriales [42].

Dependiendo de la concentración de algunos componentes biológicos las propiedades de las muestras a analizar, se verán modificadas o tendrán coeficientes variables de refracción n , esparcimiento μ_s y absorción μ_a .

En la propagación de luz en materiales biológicos, domina el esparcimiento sobre la reflexión debido a que las estructuras celulares de las que están compuestos los tejidos no son homogéneas, en algunos casos, la interacción se da con estructuras orgánicas como organelos y algunas células, que pueden tener un tamaño comparable al de la longitud de onda utilizada para su estudio [43].

Cuando la luz entra en contacto con la materia, aquellos fotones que no fueron reflejados por la capa superior de la muestra o tejido, logran penetrar interactuando con los electrones en las capas exteriores de las moléculas presentes en el material a considerar. De esta interacción, existen dos resultados pueden tener lugar, ya sea que el fotón sea absorbido o esparcido [43].

Para estas dos posibilidades en la interacción entre la luz y tejido biológico, la absorción se le mide utilizando el coeficiente de absorción (μ_a), con unidades de (1/cm). Donde en caso de que la energía que tiene el fotón no es igual a la diferencia de energías entre los niveles de la molécula, el fotón puede ser esparcido, variando, en la mayoría de las ocasiones, la dirección del fotón. Al esparcimiento se le cuantifica de forma similar, utilizando un coeficiente de esparcimiento μ_s , que se define como la probabilidad de ocurrencia de un evento de esparcimiento por unidad de longitud [44-46]. Basándonos en lo presentado anteriormente, se puede afirmar que se deben considerar los parámetros ópticos de la glucosa y de los tejidos vasculares y dermatológicos en la región del infrarrojo (figura 3) a fin de aproximarse a una posible solución.

Las técnicas de absorción óptica para la cuantificación de la glucosa están basadas en la absorción selectiva de la luz por parte de la molécula que está descrita por la ley de Beer-Lambert:

$$I = I_0 e^{-\epsilon CL} \quad (1)$$

Donde I_0 es la intensidad de la radiación óptica incidente, I es la intensidad transmitida, ϵ es el coeficiente de extinción molar en $(\text{mol/L}^{-1}) \text{cm}^{-1}$ y es dependiente de la longitud de onda, C es la concentración molar y L es la longitud de la trayectoria en cm [47].

Estas mediciones se reportan generalmente en absorbancia, $A = \log(I_0/I)$, de tal manera que la absorbancia de varios especímenes es de carácter aditivo. La espectroscopia óptica de absorción para la cuantificación de glucosa generalmente se ha limitado a las regiones espectrales de ya sea el MIR (sección media del infrarrojo) o el infrarrojo cercano NIR [48, 49] Como se observa en las Figuras 8, 9 y 10 señalando el resultado para cada región del infrarrojo.

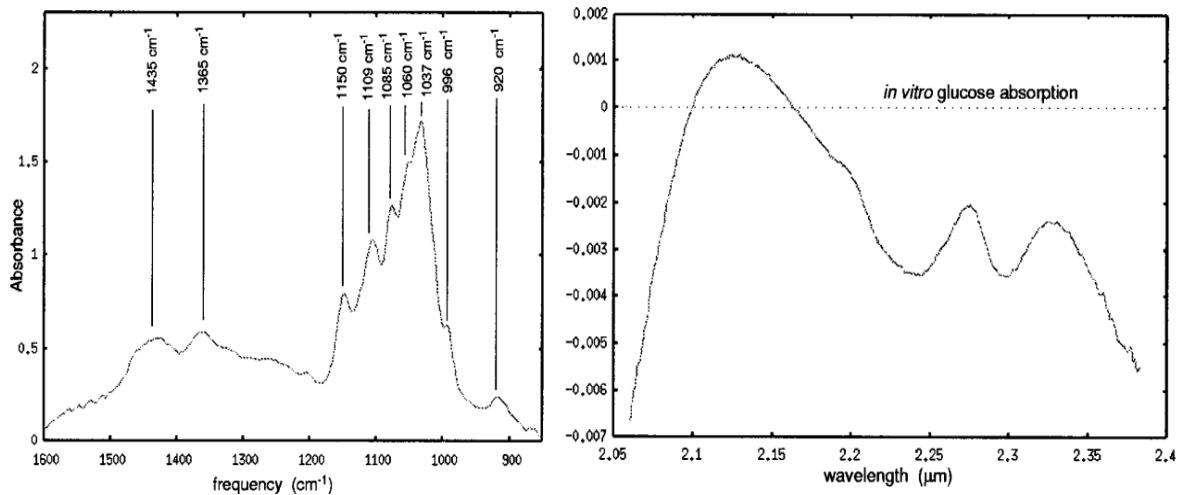


Figura 8. Espectros de absorción óptica para la glucosa. (a) Región MIR extiende de 6.25 a 11 μm . (b) Infrarrojo cercano región que se extiende desde 2.0 hasta 2.5 μm .

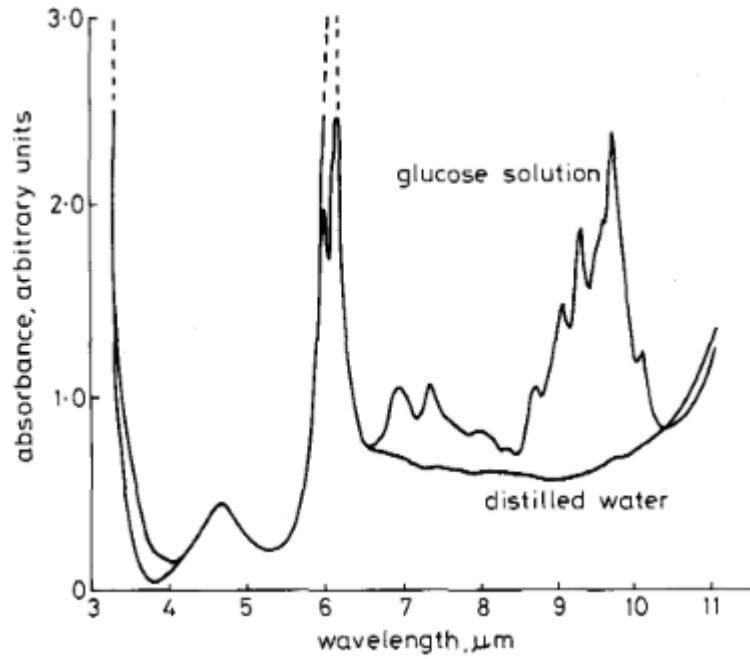


Figura 9. Espectro de absorción de glucosa en infrarrojo medio [50].

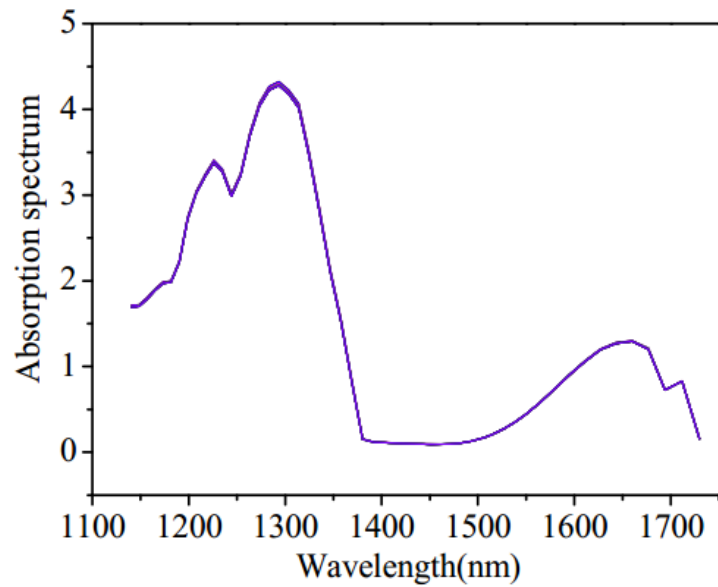


Figura 10. Espectro de absorción de solución acuosa de glucosa a 100mg/dl de concentración en región de infrarrojo cercano [51].

La detección de glucosa usando espectroscopia de infrarrojo cercano no es un problema sencillo. Los picos de absorción de glucosa, cuya magnitud es relativamente pequeña en comparación con el gran espectro de fondo acuoso, dan normalmente mediciones con tasas de señal-ruido no favorables [52].

Una aproximación importante a considerar es por medio de estudios específicos de muestras de sangre de tal manera que se puedan considerar las propiedades ópticas de esta como un material, así como de sus componentes [50].

Se debe considerar también que los espectros de infrarrojo cercano son sensibles a una serie de factores incluyendo la temperatura, el pH, y el esparcimiento. Además, las mediciones *in vivo* pueden ser susceptibles a las diferencias en la pigmentación de la piel, hidratación, el flujo de sangre, colocación y la presión del sensor.

Cabe señalar que el espectro NIR de la glucosa es muy similar a la de otros azúcares, incluyendo en particular, fructosa que se utiliza a menudo por los diabéticos como una alternativa a la glucosa. Sin embargo, a pesar de estas dificultades, los métodos de infrarrojo cercano han demostrado ser significativamente promisorios para convertirse en una técnica viable para la detección no invasiva de glucosa.

Por otro lado, los métodos que usan radiación en la región del infrarrojo medio donde la glucosa exhibe una fuerte absorción son ventajosos para mejorar la sensibilidad de la medición, cuando se comparan con los métodos que usan radiación en las regiones del infrarrojo cercano [36-38].

3.2 Procesamiento de bioseñales

Desde una perspectiva ingenieril, nuestros cuerpos están constantemente comunicando información sobre nuestra salud. Esta información puede ser capturada a través de instrumentos fisiológicos que son capaces de medir fenómenos como la frecuencia cardíaca, la presión arterial, los niveles de saturación de oxígeno, la glucosa en sangre, la conducción nerviosa, la actividad cerebral y demás; tradicionalmente, este tipo de medidas se toman en momentos y lugares específicos [53].

El procesamiento de señales biomédicas implica el análisis de estas medidas para proporcionar información útil sobre la cual los facilitadores de salud puedan tomar decisiones. Los ingenieros están descubriendo nuevas formas de procesar estas señales usando una variedad de fórmulas matemáticas y algoritmos. Mediante el uso de medios más sofisticados para analizar lo que nuestros cuerpos están diciendo, es potencialmente factible determinar el estado de salud de un paciente a través de medidas cada vez menos invasivas [53].

En particular, la óptica biomédica, se puede definir como la ciencia y la tecnología que utilizan toda la gama de la radiación electromagnética para aplicaciones médicas. Este campo implica la generación y el aprovechamiento de la luz y otras formas de energía radiante cuya unidad cuántica es el fotón. Esta ciencia incluye el uso de absorción de la luz, emisión, transmisión, dispersión, amplificación y detección y utiliza una amplia variedad de métodos y tecnologías, tales como láseres y otras fuentes de luz, fibra óptica, instrumentación electro-óptica, sofisticados sistemas microelectromecánicos y nanosistemas, para aplicaciones médicas. La gama de aplicaciones de la óptica biomédica se extiende desde el diagnóstico

médico al tratamiento y prevención de enfermedades [44]. La posible toma de decisiones de protocolos y diseños de instrumentación se basarán en función de los métodos de procesamiento de bioseñales que se apliquen al problema que se esté buscando caracterizar y cuantificar. Que en este caso corresponde a la glicemia o concentración de glucosa en sangre.

3.3 Mecanismos de espectroscopia infrarroja para cuantificación de glucosa

Diversos estudios muestran la viabilidad de analizar estas muestras in vitro por medio de espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR, por sus siglas en inglés) [54-56]. Recientemente, esta herramienta, mostrada en la Figura 11, se ha convertido en una de las principales herramientas para la biomédica aplicaciones y ha logrado avances significativos en el campo de la evaluación clínica y de materiales. [57].

En esta técnica, la radiación IR se hace pasar a través de una muestra. Parte de la radiación infrarroja es absorbida por la muestra y parte de ella pasa a través de la misma (transmisión). El espectro resultante representa la absorción y transmisión molecular, creando de una huella digital molecular de la muestra [58].

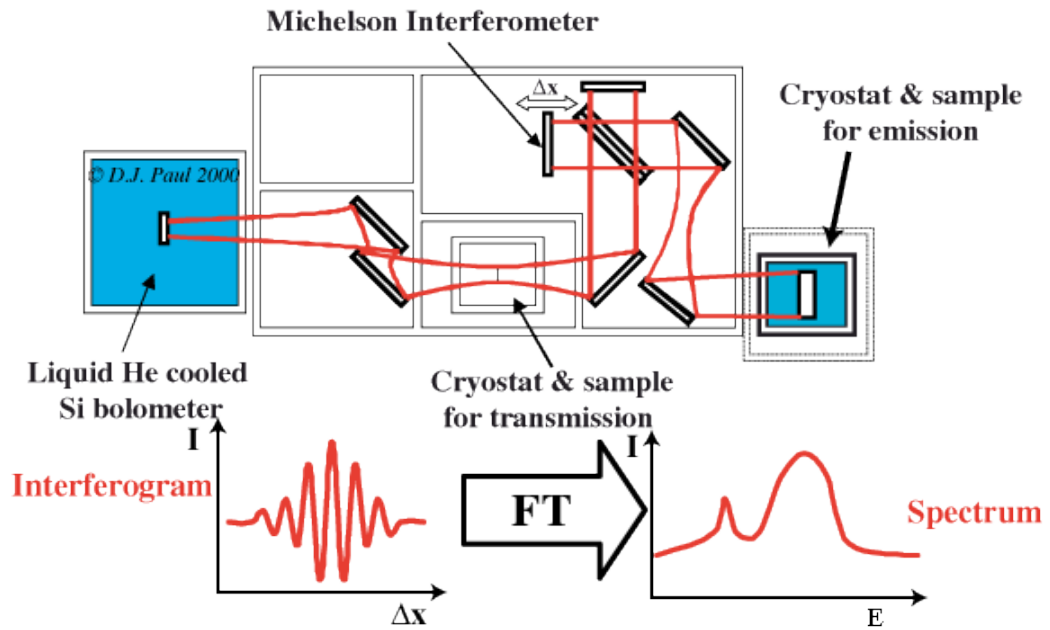


Figura 11. Esquemático de espectrómetro FTIR [59].

Éstas técnicas son relativamente simples, reproducibles, no destructivas al tejido, y sólo pequeñas cantidades de material (microgramos a nanogramos) con una preparación mínima de las muestras, son requeridas para llevar a cabo este tipo de estudios [57].

Diversos trabajos previamente publicados consideran esta técnica como una herramienta de calibración y análisis, a fin de estimar el desempeño de los diversos métodos y prototipos para el estudio de la cuantización de glucosa por medios ópticos [56, 60]. Lo cual lo sugiere como una técnica válida y de utilidad para el desarrollo de un prototipo de medición de glucosa por medios ópticos.

Un parámetro importante en el desarrollo de estos ejercicios de investigación, corresponde al desarrollo de la muestras in vitro para analizar o definir una métrica para el estudio de la interacción luz-glucosa.

Se han realizado ejercicios de investigación donde en base al resultado de estudios de espectroscopia de la glucosa o de soluciones acuosas de glucosa los cuales han sido utilizados para analizar la ya mencionada interacción y a fin de considerar parámetros de irradiación [61], tal y como se puede apreciar en los distintos espectros mostrados en la Figura 12.

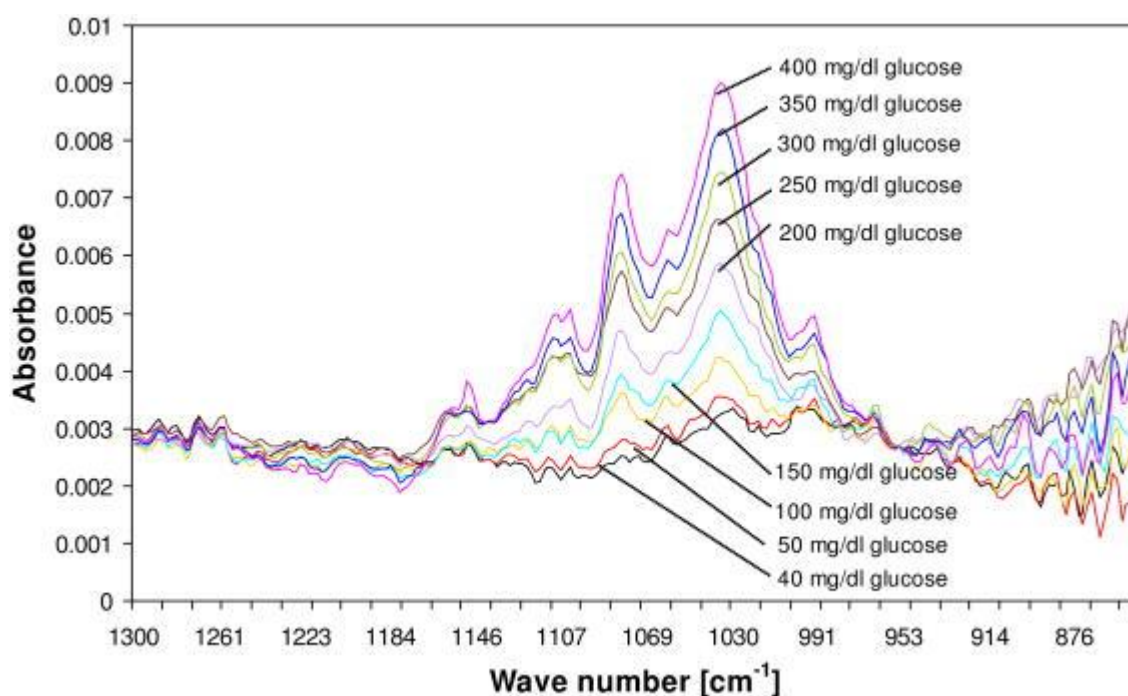


Figura 12. Espectros de absorción de glucosa a distintas concentraciones en región de infrarrojo medio [61].

Sin embargo, la composición de las muestras in vitro con las cuales se han hecho estos estudios, se basan en soluciones acuosas [62, 63]. Se ha encontrado que en algunas ocasiones,

este ejercicio de detección se ha realizado dándole más importancia a la búsqueda del umbral de resolución de la técnica o de los detectores, que al significado biomédico o fisiológico de la técnica o modelos de solución de in vitro propuestos. Tal y como se puede ver en la Figura 13, donde la cantidad de soluto de glucosa en las muestras analizadas, se basa en un porcentaje de concentración, lo que no necesariamente tendría una significancia fisiológica.

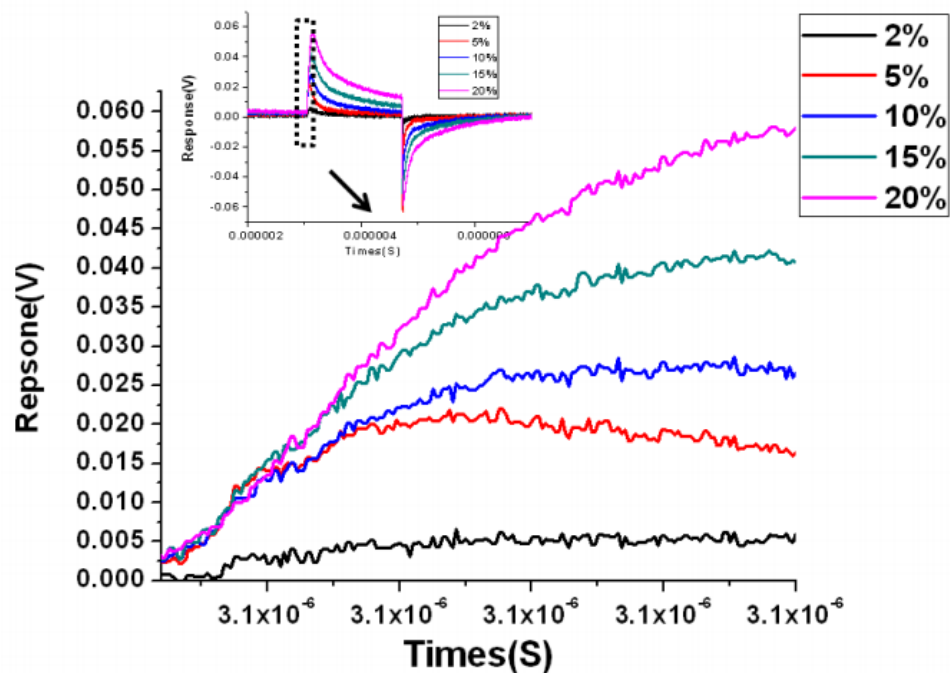


Figura 13. Medición en voltaje de absorción de luz en muestra acuosa de glucosa. La irradiación se realizó a 1450 nm, capturado por un fotodiodo, cambiando la concentración de glucosa en una muestra acuosa de glucosa [62].

Considerando lo mencionado arriba, hace importante considerar la importancia de utilizar modelos in vitro que tengan una similitud en composición y con propiedades ópticas similares a las que se conocen in vivo. De tal forma que la aproximación pueda ser adecuada.

Un estudio ha revelado el uso de glucosa, suero fisiológico y de solución intralipid, este último es un nutriente de uso intravenoso constituido por una emulsión de micelas de fosfolípidos y agua, que se usa comúnmente en experimentos de dosimetría de luz [64]. De tal forma que de manera fisiológicamente significativa, se puedan construir modelos *in vitro* que permitan realizar pruebas de calibración de un prototipo de medición de nivel de glucosa por espectroscopia de infrarrojo [56].

Sin embargo los resultados siguen siendo preliminares al momento de analizar los resultados de sensibilidad ante los diversos componentes y la información que esta técnica aporta al momento de hacer la transferencia tecnológica a muestras *in vivo*.

Teniendo en consideración los diversos factores y componentes que constituyen el tejido corporal y en particular la sangre. Se han realizado diversas aproximaciones para la construcción de modelos *in vitro* que permitan analizar el alcance de la espectroscopia infrarroja para el procesamiento de señales para la cuantización de glucosa en el flujo sanguíneo.

Algunas de estas aproximaciones han considerado longitudes de onda de infrarrojo cercano para la irradiación de las muestras a analizar [51, 62, 65, 66]. Se sabe que esta región del espectro electromagnético es segura para las células y tiene bandas de absorción específicas para la glucosa [54]. Por lo tanto, diversos investigadores se han dado a la tarea de considerar diversos factores y escenarios para analizar la viabilidad de desarrollar un método de cuantización de glucosa basado en espectroscopia de infrarrojo. Un esquema

revisado, considera la dinámica de fluidos para hacer aproximaciones similares a las existentes en el cuerpo humano, tal y como se puede apreciar en la Figura 14 [62].

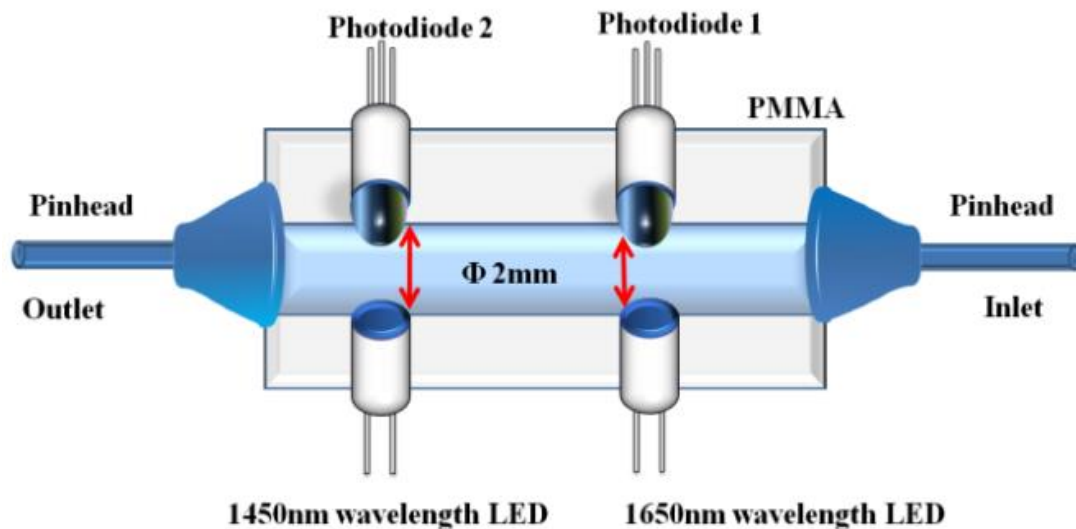


Figura 14. Esquemático de arreglo electro-fluido de medición de glucosa, con detección por fotodiodos [62].

Como se puede apreciar en la figura 6, debido a lo preliminar de este estudio, las concentraciones de glucosa utilizada en sus modelos, estaban definidas en función de porcentajes, estas fueron establecidas de tal forma que permitieran encontrar distintas respuestas en los fotodiodos utilizados para realizar la medición, más no necesariamente para seguir una significancia fisiológica. Esta estrategia ha sido utilizada en diversos trabajos a fin de definir parámetros de absorción en función de los sensores utilizados [62, 63].

A pesar de existir bandas de absorción específicas para la glucosa en la región infrarroja, se ha reportado que existe un considerable riesgo de superposición con otros compuestos

biológicos que presentan bandas de absorción similares, tal y como se puede apreciar en la tabla 3.

Tabla 3. Bandas de absorción en espectro de infrarrojo cercano para diversos compuestos biológicos [67].

Glucose^a	Water^b	Hemoglobin^b	Fat^b	Protein^b
714	749			
		760 (E)		
			770	
		805 (E)		
		820 (E)		
	880			
939		910	920	910
	980			
1126	1211	1020 (E)	1040	1020
1408	1450			
1536				
1688				
	1787			
	1934			
2261			2299 ^c	2174 ^d
2326			2342 ^c	2288 ^d

Debido a lo mostrado en la tabla 3, otros trabajos analizados sugieren la necesidad de considerar estrategias específicas de análisis como el uso de bases de datos para comparación o ajustes de calibración a fin de mejorar la especificidad factible a alcanzar con esta técnica [54, 68].

De manera más reciente, dado el desarrollo de nuevas fuentes de luz, se ha explorado la espectroscopia para la región del infrarrojo medio con resultados considerablemente positivos, como el del esquemático mostrado en la figura 15. Donde se hace una exploración de la cuantificación de glucosa en fluido intersticial [35, 56, 69].

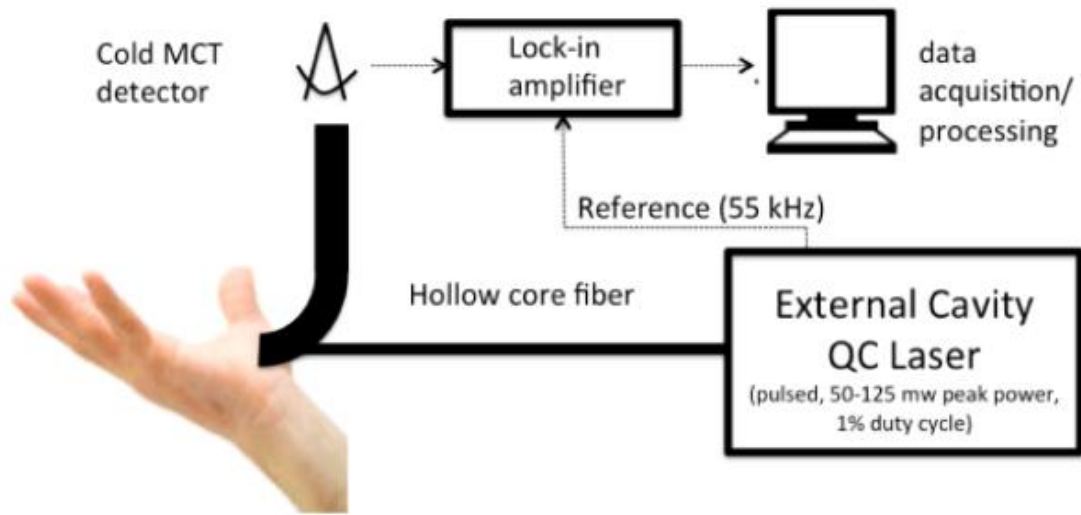


Figura 15. Arreglo experimental para cuantización infrarroja por espectroscopia de infrarrojo medio [35].

Sin embargo, al momento de realizar la validación de desempeño de este prototipo, se encontró que no es del todo factible realizar una discriminación de niveles en sus resultados, como se puede apreciar en la Figura 16.

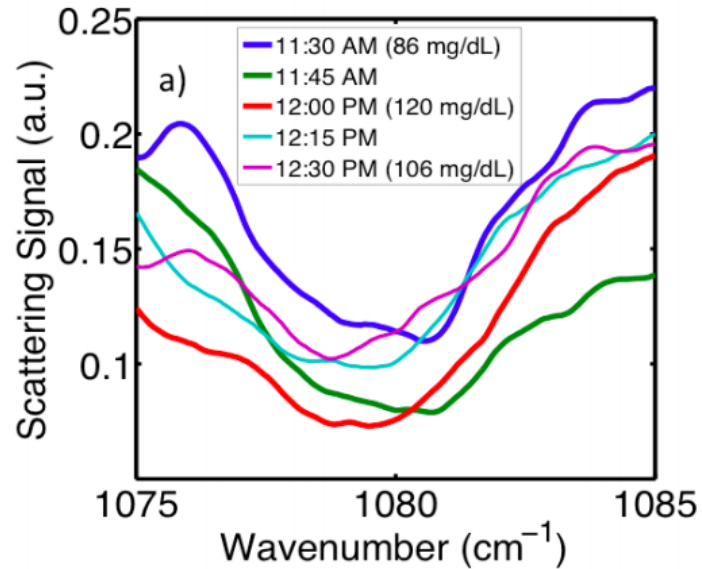


Figura 16. Espectro de luz esparcido en palma de mano por iluminación en región de infrarrojo medio correspondiente a distintas concentraciones de glucosa [35].

Donde estos resultados se obtuvieron de analizar solamente a tres individuos saludables, los cuales solamente tomaron una ración de dulces de grenetina para aumentar temporalmente la concentración de glucosa. Se puede notar cierta superposición en las curvas que podría comprometer la evaluación de la medición, así como también la necesidad de considerar una metodología integral para la validación que pueda considerar casos más generales y cercanos a la realidad.

La detección de la señal óptica para el análisis ha sido reportada por diversos mecanismos, lo cuales van desde sensores ópticos específicos [35], así como accesorios de detección basados en fenómenos ópticos como la reflexión total atenuada U [69]. Del mismo modo se han hecho estudios considerando el uso de fibras monomodales conectadas a espectrómetros comerciales [63].

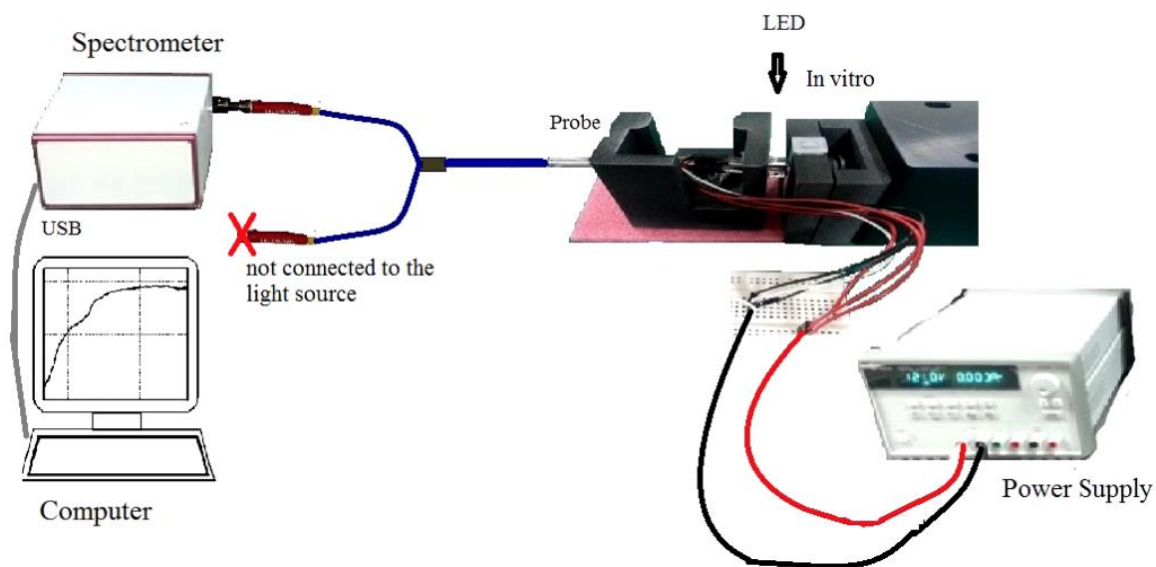


Figura 17. Arreglo experimental de irradiación de muestra acuosa de glucosa con fuente de luz LED [63].

En la Figura 17 se puede observar un esquemático de sistema óptico para la detección de glucosa basado en irradiación por led, donde la luz transmitida a través de una muestra in vitro es llevada a un espectrómetro a través de una fibra óptica. Mientras que en la Figura 18 se observa diversas configuraciones de sensores de fibra para medición de absorción de luz por reflexión total atenuada.

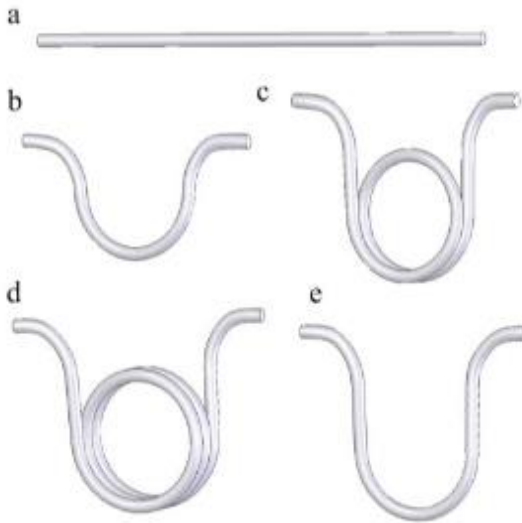


Figura 18. Diferentes configuraciones de sensores de fibra en configuración: (a) cilíndrica, (b) semicircular, (c) doble vuelta, (d) tripe vuelta y (e) en conformación U [69].

Dado el interés global respecto a la epidemia de diabetes, es de entender que existan a nivel mundial, una variedad de esfuerzos por diversos particulares y grupos de investigación, para encontrar una alternativa al proceso de medición tradicional para el nivel de glucosa en sangre que no requiera la extracción de una muestra de sangre para realizarla.

3.4 Estado de la técnica de la cuantificación de glucosa por espectroscopia de infrarrojo

En esta sección se presentan los avances plasmados en patentes de los mencionados con anterioridad, donde se muestra la protección del desarrollo de dispositivos o ideas para la cuantización de glucosa por medios ópticos.

En la tabla 4 se listan las patentes P# estudiadas, donde se considera el rango de irradiación utilizado, la región del cuerpo que se considera para llevar a cabo la medición, así como la mención de especificaciones como el procesamiento de la bioseñal adquirida y si la información presentada en la patente evidencia la existencia de un prototipo funcional.

Tabla 4. Parámetros publicados en patentes de medición de glucosa por espectroscopia de infrarrojo.

	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8
Detección de glucosa	x	x	x	x	x	x	x	x
Método Óptico	x	x	x	x	x	x	x	x
Infrarrojo cercano	x					x	x	x
Infrarrojo medio			x					
Luz visible	x							
Se especifica λ								
Espectroscopia	x		x	x	x			x
Irradiación en mano			x					
Irradiación en brazo	x							x
Irradiación en dedo				x		x		
Lugar de irradiación no específico					x		x	
Procesamiento de señal	x					x		x
Idea plasmada en prototipo funcional	x		x	x				
País	U SA	U SA	U SA	U SA	U SA	U SA	U SA	U SA

P1) Kanayama, S., Khalil, O. S., Jeng, T. W., & Yeh, S. J. (2012). *U.S. Patent No. 8,315,681*. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.

P2) Yen, M. S., Wang, W., Chou, C. C., & Chuang, C. P. (2012). *U.S. Patent Application 13/421,290*. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.

P3) Liakat, S., Gmachl, C. F., Michel, A. P., & Bors, K. (2014). *U.S. Patent Application 14/470,386*. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.

P4) Weckstrom, K. P., & Ristolainen, K. J. (2000). *U.S. Patent No. 6,041,247*. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.

P5) Polak, A. J. (2002). *U.S. Patent No. 6,383,767*. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.

P6) Fine, I., & Shvartsman, L. (2003). *U.S. Patent No. 6,587,704*. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.

P7) Ciurczak, E. W., Bynum, K. P., & Mark, H. (2004). *U.S. Patent No. 6,675,030*. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.

P8) Miki, K., Amano, T., & Hoshina, S. (2001). *U.S. Patent Application 09/966,531*. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.

Se reportan varios documentos de patente registrados en Estados Unidos, con los cuales se protege el posible desarrollo de algún dispositivo de medición de glucosa en sangre. La mayoría de estos corresponden a desarrollos realizados en algún país distinto a donde están siendo registrados y presentan ciertas observaciones respecto al alcance de estas patentes.

Como se puede apreciar en la tabla 1, un número considerable de las patentes analizadas (P2, P5, P6, P7, P8), proponen el registro y protección de ideas que no evidencian el desarrollo tangible o funcional de un prototipo construido que sustente la viabilidad funcional de lo patentado. Se sabe que es factible en ciertas oficinas de patentes el hecho de proteger por medio de esta figura jurídica, una idea que no necesariamente represente a un prototipo funcional.

En la figura 19 se puede apreciar un ejemplo de esto; donde una (P4) reporta haber desarrollado un sistema de medición de glucosa en sangre donde se hace referencia a la medición directa por medio de luz de una longitud de onda no especificada emitida por una fuente, (referencia 38 en la figura 5), la cual es captada por una fibra posicionada en la sección opuesta del dedo.

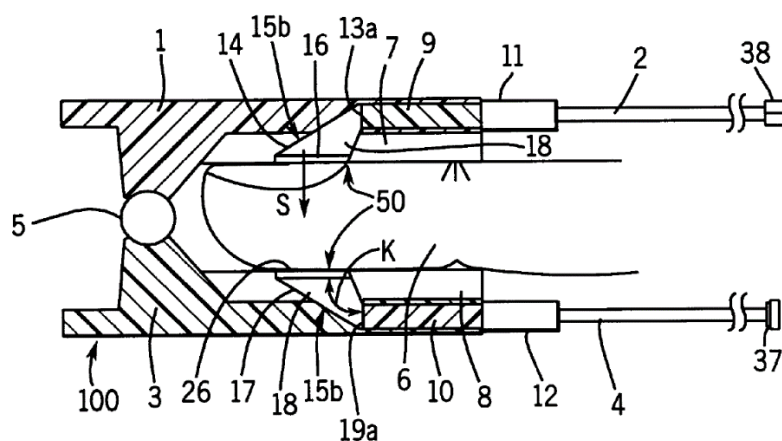


Figura 19. Esquemático de patente de dispositivo de cuantización óptica de glucosa en sangre [70]

Así mismo, existen documentos de patente que consideran dispositivos “wearebles” (de uso cotidiano), en donde de igual manera se propone el uso de un dispositivo similar a un reloj de pulsera, capaz de irradiar luz de longitud de onda no especificada y cuantificar la glucosa en sangre por reflectancia difusa (P2), como se puede apreciar en la Figura 20.

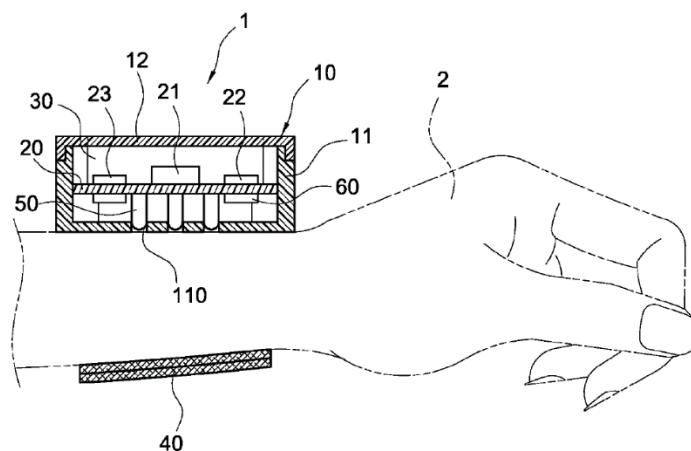


Figura 20. Esquemático de patente de dispositivo de uso cotidiano para la medición de glucosa en sangre [71].

Ninguna de las patentes encontradas considera el efecto de los compuestos que participan en el mecanismo de regulación de glucosa. Dejando la posibilidad de explorar la participación de estas sustancias a fin de encontrar una solución que tenga sustento fisiológico y considere los requisitos de sensibilidad y especificidad requeridos para aplicación médica.

Con todo lo anterior, se puede notar que se encuentran diversos esfuerzos por parte de varios grupos de investigación y particulares a fin de encontrar una alternativa funcional para la medición del nivel de glucosa en sangre por medios ópticos.

Por un lado, esto muestra el amplio interés por este tema y la oportunidad del mismo como un área de investigación vigente.

Las aproximaciones protegidas a través de patentes muestran un avance en estas investigaciones y desarrollos, sin embargo, siguen dejando oportunidad de explorar posibilidades y variantes del proceso a fin de obtener un producto viable con un funcionamiento adecuado para realizar la tarea de la medición de glucosa.

Entre las posibles variantes, se puede mencionar el uso de una región del infrarrojo específica, el mecanismo de adquisición y procesamiento de la bioseñal, así como también el uso de presión mecánica en la región corporal a analizar.

El estudio de estas variantes plantea la posibilidad de algún desarrollo tecnológico que pueda ser de consideración dentro de los esfuerzos globales en este tema.

Capítulo 4

Exploración en muestras de sangre.

En la búsqueda para desarrollar alternativas no invasivas al glucómetro digital común, varios estudios han explorado técnicas para la cuantificación de la glucosa en sangre basadas en la espectroscopia de infrarrojo medio [2, 33]. En la referencia [56], los autores reportaron que longitudes de onda entre 9 y 11 μm son útiles para la medición adecuada de la glucosa en escenarios *in-vitro*.

Otros estudios, llevados a cabo en etapas *in vitro*, se han basado en el uso de muestras de glucosa acuosas, para analizar la viabilidad de la técnica, proponiendo así un modelo simplificado de sangre simplificado y desde allí, desarrollar un protocolo para adquirir y analizar espectros con el objetivo de cuantificar la glucosa. [56, 61, 69]. Pero cuando estas técnicas se transfirieron a un escenario *in vivo*, se requirió la aplicación de diferentes métodos matemáticos para transformar o adaptar los resultados por lecturas y obtener una posible lectura de la concentración de glucosa que se acercara a los resultados de las medidas de control. [35, 72]. Por lo tanto, para obtener una mejor comprensión de la interacción entre las muestras de sangre reales y la luz infrarroja en la región IR mencionada anteriormente, es importante considerar la composición de la sangre total y los compuestos involucrados en el mecanismo de regulación de la glucosa. En ambos casos, la insulina desempeña un papel predominante tanto en la absorción óptica en la región en la que se han reportado firmas espectrales para la glucosa, así como en la regulación de la concentración de glucosa. [73]. Un estudio en este ámbito aportaría una mejor comprensión del papel de la insulina durante la cuantificación de la glucosa por medios espectroscópicos en la región del medio IR en un escenario fisiológico real.

4.1 Procedimiento experimental

Se realizó una caracterización espectroscópica inicial de insulina con una muestra farmacéutica de insulina de origen de ADN recombinante humano de acción intermedia (Lilly, Humulin N®), que se comparó con el espectro obtenido de una solución estándar de glucosa a 550 mg / dL (Carolina Biological Supply). La adquisición de muestras de sangre

con un gradiente de concentración de glucosa se realizó mediante una prueba oral de tolerancia a la glucosa (OGTT). Por razones de salud y seguridad, este experimento se aplicó a un sujeto sano. [74]; de quien se obtuvieron muestras de sangre de tamaño de gota y se cuantificaron con un glucómetro digital (Jhonson & Jhonson, One touch Ultra 2®). Los espectros de absorción para las muestras de sangre, glucosa e insulina se obtuvieron con un espectrómetro FTIR (PerkinElmer, Spectrum Two), con una resolución de 4 cm^{-1} . Con el fin de obtener lecturas específicas de los cambios en la concentración de glucosa de los ensayos de OGTT, una muestra del estado de ayuno del sujeto se consideró la lectura base para aplicar una medición de espectroscopia diferencial. Por lo tanto, todos los cambios en los espectros de absorción de las muestras de sangre están relacionados con las variaciones de concentración en la glucosa y sus correspondientes mecanismos de regulación del mecanismo, descuidando los efectos del resto de los componentes de la sangre.

4.2 Resultados de estudio espectroscópico de muestras de sangre en prueba de tolerancia a la glucosa.

Un primer hallazgo en esta investigación es que la insulina es una hormona proteínica que tiene un espectro de absorción en la región IR media que también corresponde a la glucosa. Como se muestra en la Figura 21, se han reportado zonas de traslape entre la región de los carbohidratos y ácidos nucleicos, comunes en las proteínas [73].

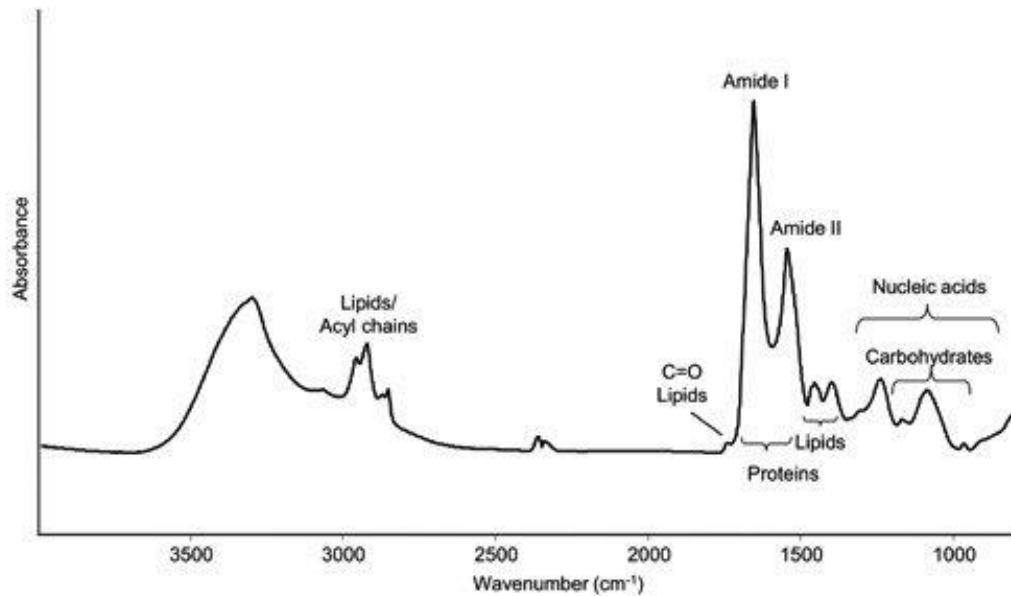


Figura 21. Regiones de absorción características para macromoléculas [73].

La Figura 22 muestra que el espectro de absorción se encuentra en la misma región tanto para la glucosa como para la insulina ($1100-900\text{ cm}^{-1}$). A pesar de que corresponden a diferentes modos de vibración y perpendiculares entre si. [75], la magnitud de su espectro de absorción se encuentra en el mismo orden de magnitud.

La Figura 23 muestra los espectros obtenidos de muestras de sangre durante el OGTT, en el que se observa un aumento en los espectros de absorción en la región específica de glucosa ($1100-1000\text{ cm}^{-1}$). No obstante, en la misma figura, se esperaría que los picos de absorción para las muestras obtenidas a $t = 40$ minutos y $t = 50$ minutos, que tienen una magnitud similar, estén por debajo de la que corresponde a la concentración más alta ($t = 30$ minutos), dada la cantidad de glucosa que contienen con respecto a la de $t = 30\text{min}$ que es la que mayor concentración.

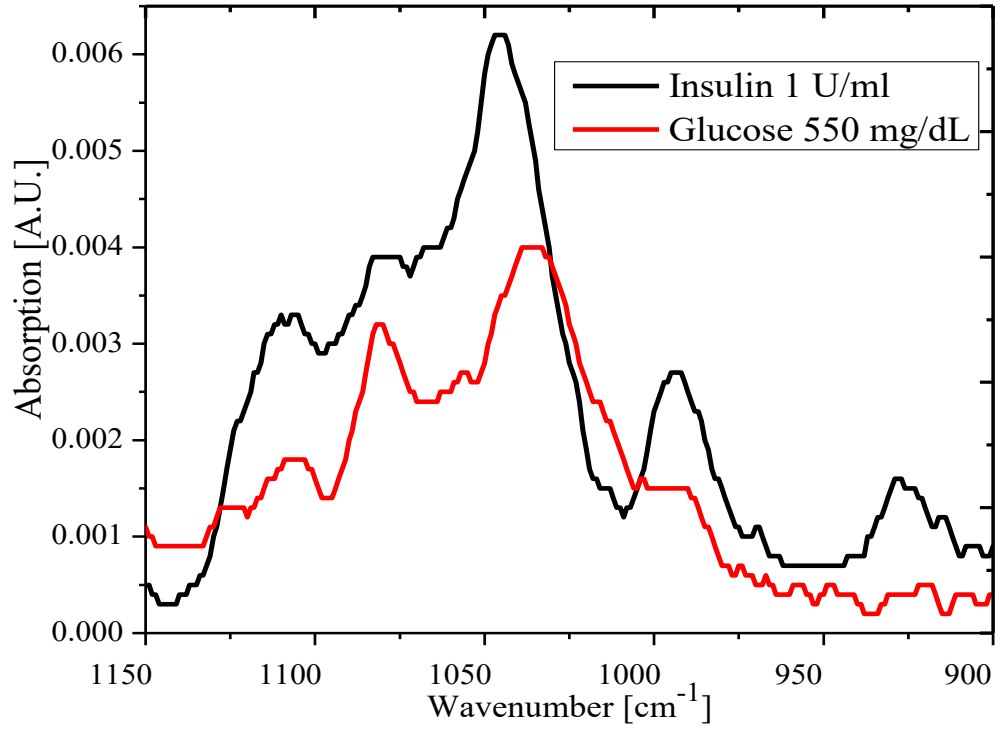


Figura 22. Espectro FTIR para ambas muestras de insulina nativa y glucosa.

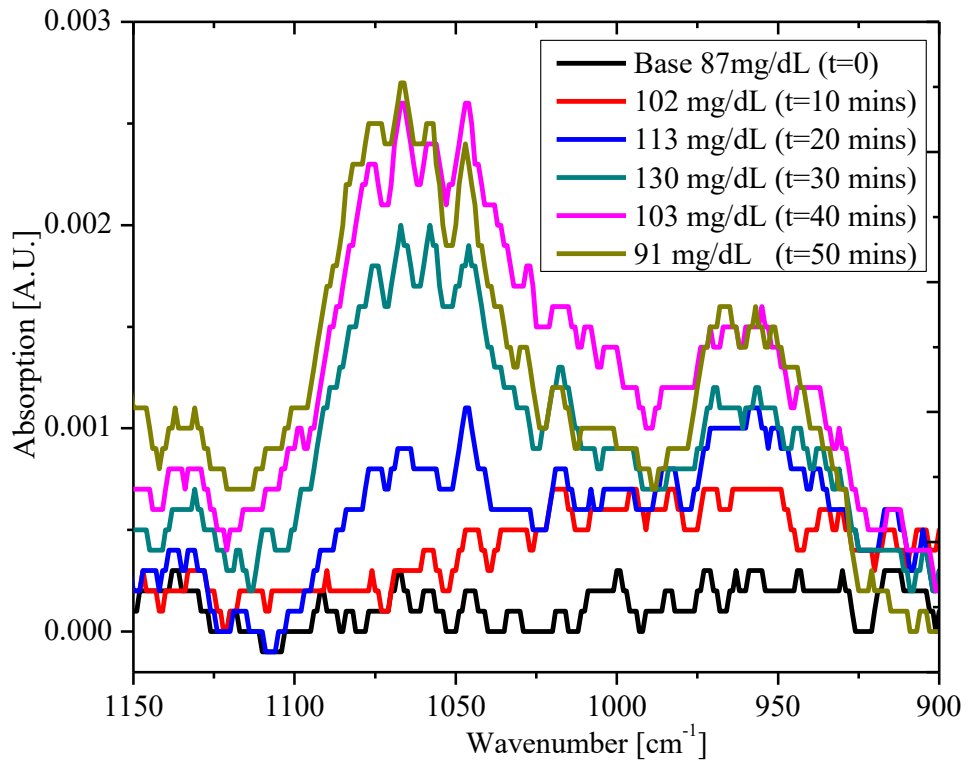


Figura 23. Espectro FTIR de muestras de sangre durante la OGTT de una muestra sana.

Estas lecturas de absorción inesperadas podrían estar asociadas a la insulina existente en las muestras de sangre. Desde una perspectiva médica, la liberación de insulina en el torrente sanguíneo se activa por medio de la ingesta de carbohidratos, haciéndola disponible durante el OGTT a una tasa positiva y similar a la de la glucosa. [20]. La interferencia de absorción óptica de estos compuestos no permite una cuantificación directa de la glucosa.

4.3 Discusión de resultados de estudio espectroscópico de muestras de sangre en prueba de tolerancia a la glucosa.

En resumen, con los resultados de este capítulo, se muestra que la insulina es un compuesto regulador de la glucosa que se superpone en la misma región del IR medio que la glucosa y tiene una absorción óptica similar en concentraciones fisiológicas relevantes, no permitiendo una cuantificación directa de la concentración de glucosa a partir de muestras de sangre. Es importante tener en cuenta este hallazgo para la implementación del modelado in vitro de sangre total para aplicaciones espectroscópicas. Dado que los pacientes con diabetes tipo II y gestacional son capaces de liberar insulina en el torrente sanguíneo, es relevante estudiar su participación en la medición, así como los otros compuestos del mecanismo de regulación de la glucosa en el análisis espectroscópico con el fin de fines de cuantificación. Estos resultados son importantes porque proporcionan información relevante para definir protocolos seguros para experimentos similares en pacientes diabéticos. También para explorar la cuantificación de la participación de cada compuesto en la medición óptica e invita a considerar nuevas técnicas, como algunas propuestas en quimiometría, que involucra el uso de algoritmos matemáticos y computarizados para abordar una solución para una

cuantificación y clasificación de sistemas bioquímicos complejos. El siguiente problema a resolver a raíz de estos hallazgos tiene que ver con analizar espectros de absorción de muestras con traslape espectral.

Capítulo 5

Protocolo de pre-proceso de señales bio-ópticas

El ruido en los datos es un problema común que debe abordarse en la investigación. Dada la importancia de la resolución y la precisión en las mediciones, este problema se ha vuelto cada vez más importante en ciencias de la salud, biología de sistemas, nanociencias, sistemas de información y ciencias físicas. [76, 77]. Desde que Savitzky y Golay publicaron su trabajo en 1967. [78], Su método se ha convertido en la herramienta común utilizada para suavizar el ruido de cualquier tipo de señal. [79, 80]. El algoritmo Savitzky-Golay (SG) es un método en el que un promedio móvil reemplaza las instancias de datos basándose en dos

parámetros: orden polinomial y tamaño de ventana. Una estrategia común utilizada para el ajuste de parámetros del tamaño de la ventana, se basa en la apreciación arbitraria del usuario. Esta estrategia considera una comparación visual entre la señal original adquirida y el resultado después de que haya sido procesado por el algoritmo SG utilizando el parámetro modificado a consideración del usuario [81]. Sin embargo, las señales bio-ópticas complejas pueden no tener una curva espectral esperada que podría permitir pruebas empíricas en un intento de aproximación y se podría introducir una compensación de sesgo. Desde este enfoque, el significado físico de la señal procesada podría verse comprometido. Esto es de enorme importancia en los campos de la ingeniería biomédica, dado que las especificaciones de instrumentación, las decisiones de procesamiento de datos y los protocolos se definen en esta etapa de análisis. Algunos métodos han sido reportados capaces de automatizar los parámetros de SG [82-86]. Aunque estos algoritmos reportan un buen rendimiento, los métodos utilizados para definir la optimización se basan en aproximaciones a curvas espectrales predefinidas específicas, lo que podría conducir a un espectro con características eliminadas importantes. En este trabajo, proponemos un método para el suavizado de señales bio-ópticas, desde un enfoque de muestreo de señales. En el cual el parámetro de tamaño de ventana del algoritmo SG se define en base al teorema de Nyquist-Shannon (NS), acercando la señal bio-óptica a una función periódica para definir el tamaño del parámetro de ventana. La aplicación de este método se mostrará en el análisis de espectros de absorción de muestras acuosas de glucosa en IR medio.

5.1 Descripción de método de suavizado con aplicación del teorema de Nyquist-Shannon

El teorema de NS es un principio comúnmente utilizado en la adquisición de señales, que establece que una señal real cuyo espectro se limita a B (Hz), puede reconstruirse a partir de muestras tomadas uniformemente, a una tasa mínima de $2B$ muestras por segundo [87], como se ha utilizado comúnmente para la teoría de las comunicaciones y el procesamiento de señales. [88]. Como puede apreciarse en la Figura 24, donde la aproximación a $2B$ permite una recuperación del perfil adecuado de una señal analógica.

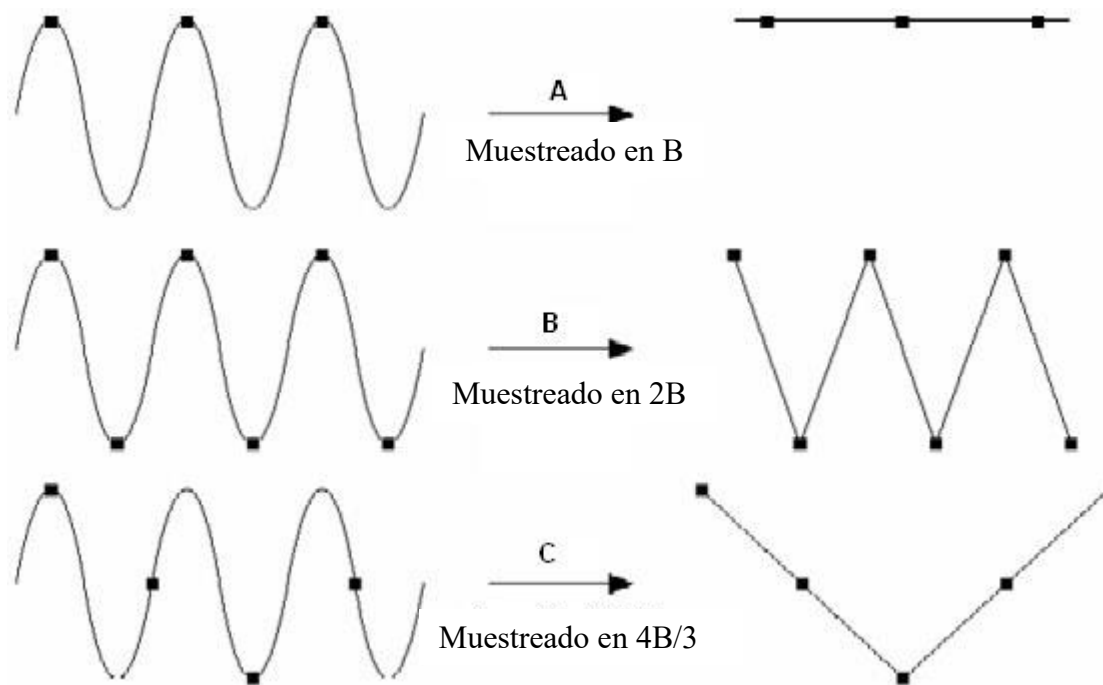


Figura 24. Muestreo de señales a distintos múltiplos de la frecuencia natural de la señal.

En el caso de las señales bio-ópticas, estas se adquieren mediante el uso de una fuente de luz dirigida a una muestra con un detector que recoge la respuesta de la interacción luz-muestra. En general, las muestras biológicas y los tejidos poseen principalmente tres características ópticas: absorción, dispersión y fluorescencia [89]. El resultado de esta

interacción puede considerarse como la señal analógica que se pretende digitalizar. La correcta caracterización de las características de estas señales bio-ópticas es importante para la comprensión del fenómeno analizado. Se ha informado que el estudio y la clasificación de estas características mencionadas pueden realizarse en función de la forma real o las estructuras relacionadas con el perfil de las señales bio-ópticas. [90, 91]. Nuestro enfoque propone utilizar la forma de perfil de la señal definida sobre su soporte correspondiente (es decir, longitud de onda, número de onda, luminiscencia), traduciendo la definición típica de frecuencia medida en Hz, a una con connotación óptica. Por lo tanto, dado que la mayoría de estas señales bio-ópticas muestran distribuciones en forma de lóbulos, a partir de las cuales se puede construir el análisis, se puede usar el caso de una función periódica para acercarse a estas señales. En consecuencia, se puede considerar que una señal bio-óptica tiene un perfil periódico, determinado a partir del número de lóbulos adquiridos en la señal, a partir de los cuales se puede estimar la frecuencia de muestreo. Este mismo valor también se puede usar para definir el parámetro de tamaño de ventana para el algoritmo SG, como se muestra en la ecuación 2. Donde el resultado de la división, como se explica en el algoritmo SG original, se debe redondear al número impar más cercano.

$$Tamaño\ ventana\ SG = \frac{tamaño\ de\ datos\ muestra\ (soporte\ de\ la\ señal)}{lóbulos\ en\ perfil\ de\ señal} \quad (2)$$

Permitiendo aplicar este algoritmo desde una perspectiva muestral. En el ejemplo que se muestra en la Figura 25, el ruido gaussiano blanco aleatorio se aplica a una señal periódica genérica llamada función Original. Dado que se adquirieron siete lóbulos principales por encima y por debajo de cero en más de 121 puntos de datos, como se puede observar en la

Figura 25B. El coeficiente $121/7$ o 17 , es el tamaño de ventana definido para ser utilizado para el método de suavizado Savitzky-Golay-Nyquist (SGN). Recuperación de una señal con amplitud y distribución espacial similar en comparación con la original, como se muestra en la Figura 25C.

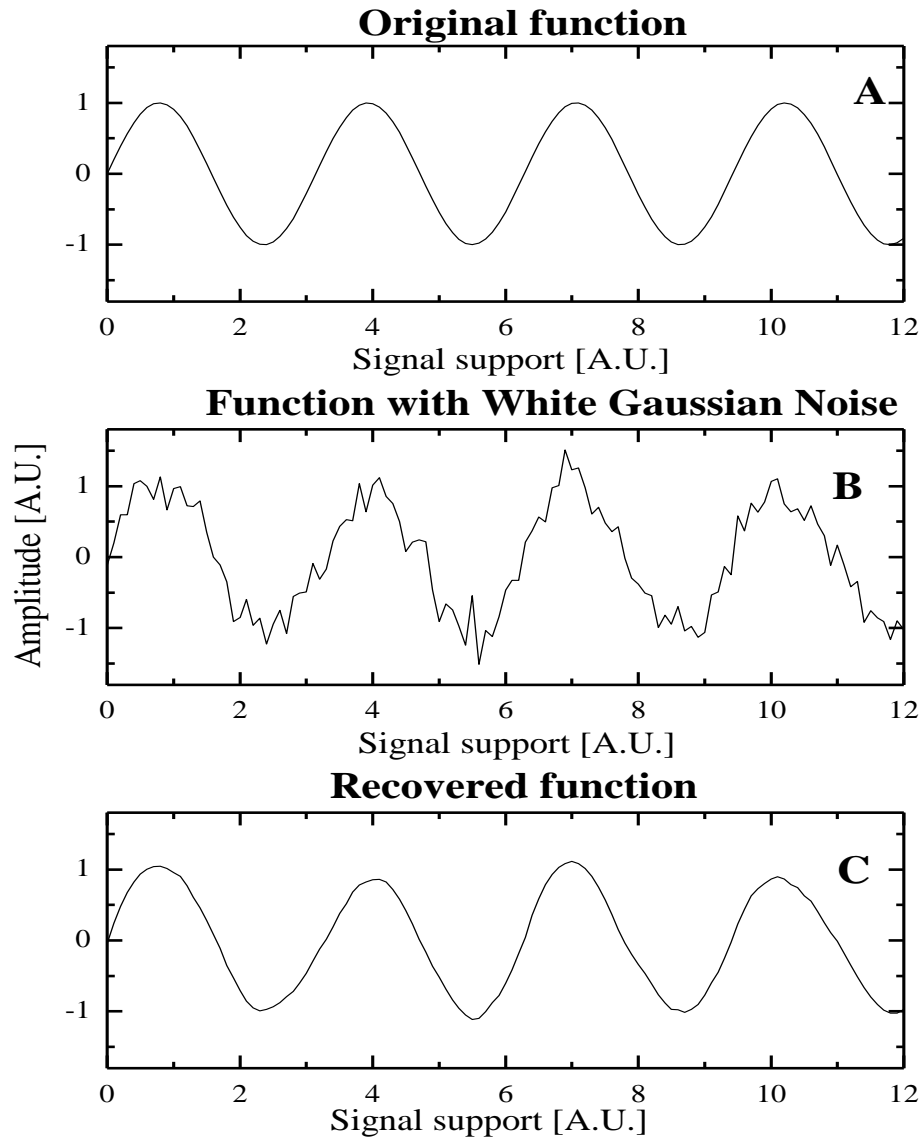


Figura 25. Suavizado SG aplicado a una señal genérica que definiendo el parámetro de tamaño de ventana por el teorema de Nyquist.

Dado que el resultado de las lecturas experimentales de absorción nativa, dispersión y fluorescencia, generaría señales con forma de lóbulo con valores mayores que cero. Por lo tanto, la cantidad de lóbulos utilizados para el cálculo de la ventana SG, en el caso de señales bio-ópticas, se basaría en aquellos con valores positivos.

5.2 Aplicación del método Savitzky-Golay-Nyquist a señales espectroscópicas de glucosa en infrarrojo medio

Como se ha mencionado, la glucosa es un compuesto cuya cuantificación en humanos se ha estudiado con varios métodos, incluidas técnicas basadas en la óptica. [33]. La Figura 26, muestra los espectros de absorción de muestras de glucosa acuosa en diferentes concentraciones que van desde 50 a 500 mg / dL. Estos espectros se obtuvieron con un espectrómetro FTIR (PerkinElmer, Spectrum Two), con una resolución de 4 cm^{-1} . Es notable que la absorción de luz generó tres lóbulos en las regiones definidas en: $1300\text{-}1200\text{cm}^{-1}$ para L1, $1150\text{-}950\text{cm}^{-1}$ para L2 y $960\text{-}850\text{cm}^{-1}$ para L3, como se observa en la Figura 26. Se ha informado que para Cuantificación de la concentración de glucosa por espectros de absorción en la región IR media, las lecturas del compuesto se pueden encontrar entre $1150\text{ y }950\text{ cm}^{-1}$ [56, 92].

Es importante tener en cuenta que los datos muestran un cambio en la línea de base, además, la selección del pico de absorción para fines de cuantificación puede no ser clara. Para lo cual, se podría usar una técnica de espectroscopia derivada para un análisis cuantitativo [93].

Para este caso particular, la técnica requiere un suavizado del espectro de absorción adquirido, aplicando el algoritmo SG. Seguido del cálculo de la segunda derivada del espectro. [94]. Después de ejecutar los procesos mencionados anteriormente en la señal adquirida, se puede obtener una relación entre la concentración y la absorción óptica tomando la diferencia entre el máximo más alto y los valores mínimos más bajos del espectro derivado. Cuando se espera una curva de calibración lineal entre la métrica de absorción óptica, definida por esta diferencia y las concentraciones de compuesto analizadas [93, 94].

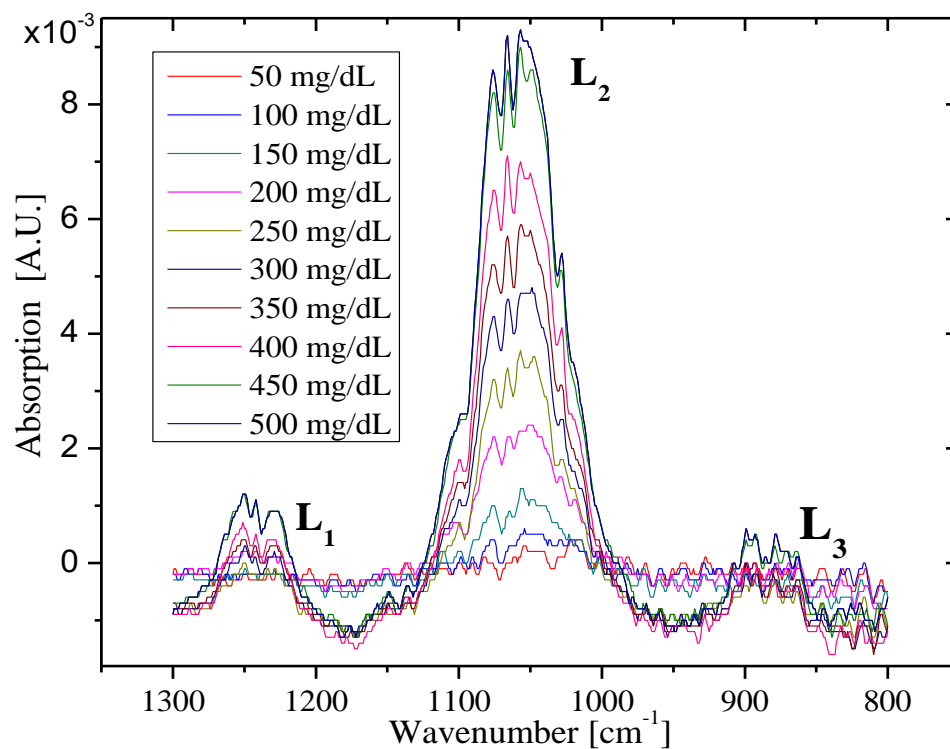
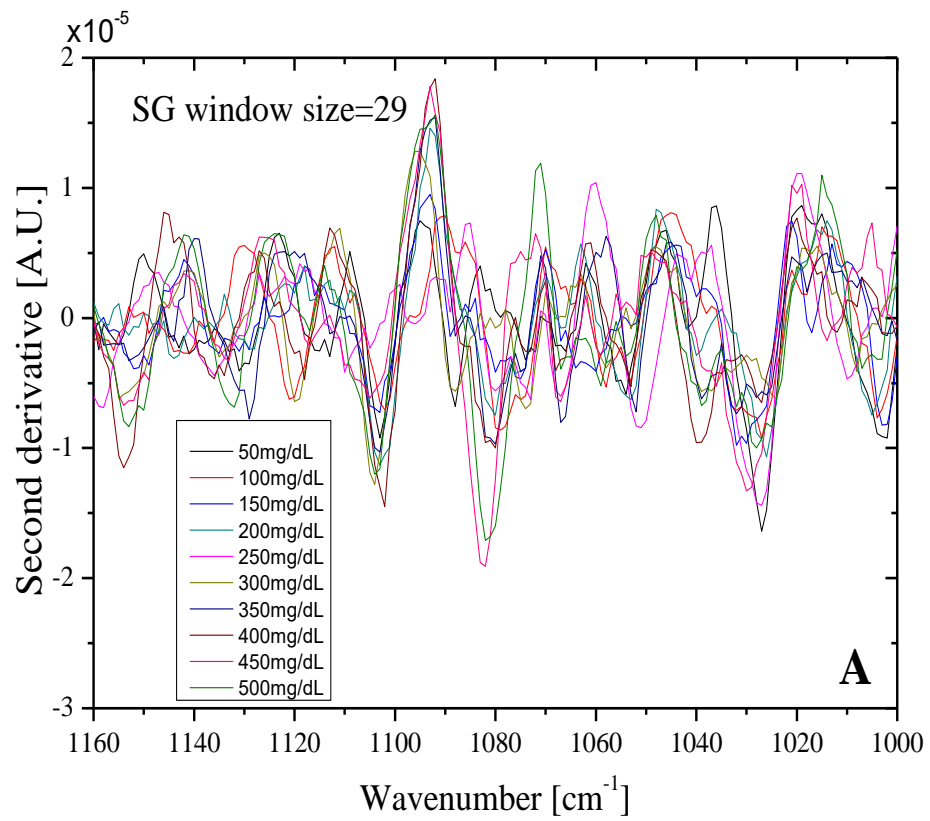


Figura 26. Espectros de absorción nativos de muestras de glucosa acuosa en la región IR medio.



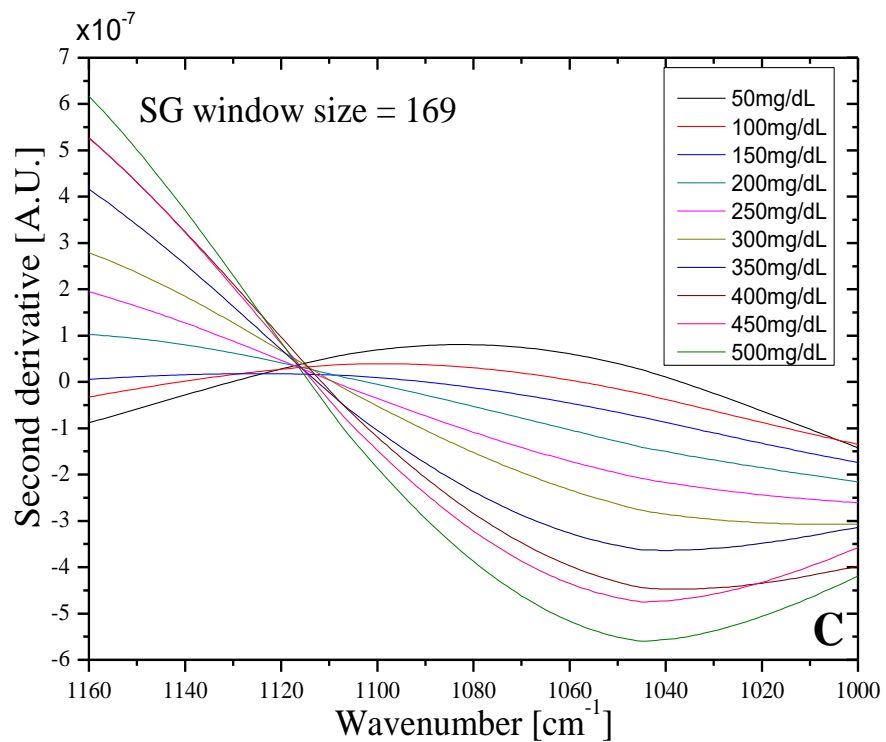
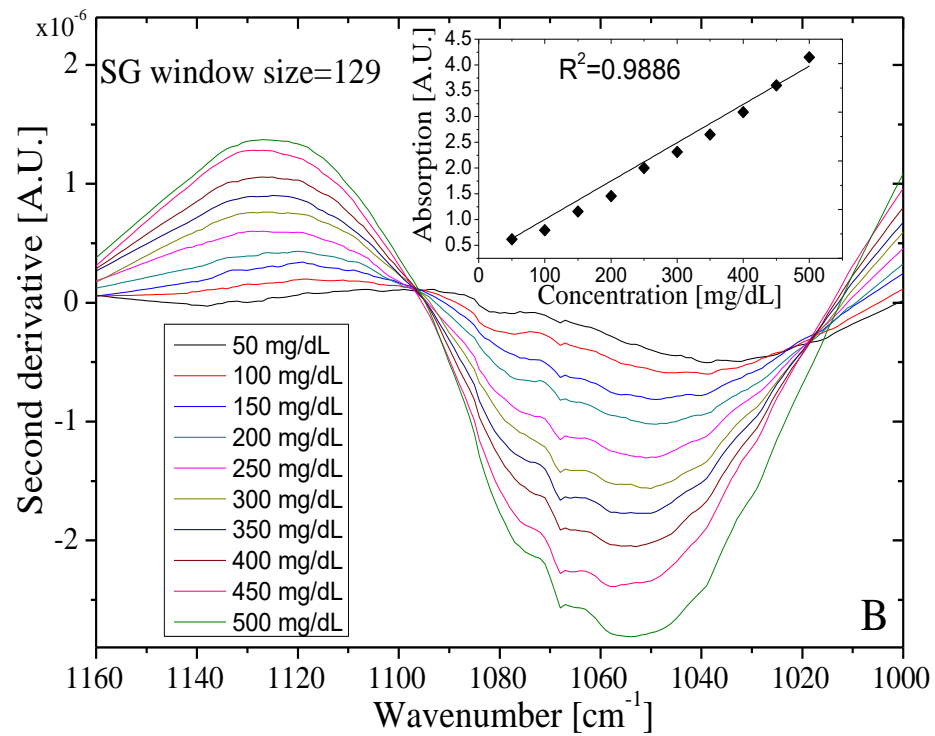


Figura 27. Espectros de la segunda derivada de muestras de glucosa acuosa suavizadas por SG, con tres tamaños de ventana diferentes (WS): A) WS = 29, B) WS = 129, que

corresponden a la aplicación del teorema de Nyquist y C) $WS = 169$. Insertar en B) muestra la dependencia lineal entre la estimación de la absorción y la concentración de glucosa.

La Figura 27 muestra los espectros de la segunda derivada de L2 de las muestras de glucosa acuosa que se muestran en la Figura 2, utilizando tres tamaños de ventana diferentes. La aplicación del teorema de NS para el parámetro de tamaño de ventana para el filtro SG, da un resultado de 129, considerando tres lóbulos, para 384 puntos de datos. La Figura 27A muestra la segunda derivada de la señal de la Figura 26, suavizada con un tamaño de ventana más pequeño que el calculado con el teorema de NS. Donde, es notable que los máximos y mínimos no se alinean correctamente, no permitiendo un cálculo de cuantificación. Además, gran cantidad de picos no es consistente, considerando el lóbulo principal que corresponde a la sección analizada. La Figura 27C muestra la segunda derivada de la señal suavizada con un tamaño de ventana mayor que el calculado con el teorema de NS. Allí, se habían eliminado demasiadas características de la señal. La forma de los espectros derivados todavía no corresponde a un lóbulo principal y forzar el cálculo de cuantificación mostraría que la concentración de 150 mg / dL tendría una absorción óptica más pequeña que las de 50 y 100 mg / dL, lo que llevaría a un error de cálculo. La Figura 27B muestra la segunda derivada de la señal suavizada con un tamaño de ventana estimado con el teorema de NS. La forma de este espectro derivado es consistente con lo que se define en la literatura para un lóbulo principal [93], con una clara dependencia lineal entre la concentración de glucosa y la métrica de absorción óptica, que se muestra en el inserto de la misma figura.

En la misma figura, una característica relacionada con la forma específica observable en la región de alrededor de 1070 cm^{-1} está presente para todas las concentraciones para el segundo gráfico derivado, que también se nota en las muestras nativas de la Figura 26. Esa característica espectral podría considerarse para más detalles Análisis con el uso de otras técnicas quimiométricas.

Por lo tanto, se obtuvo un resultado esperado de la relación entre la absorción óptica y la concentración, con la observación de confirmar que L2 es una Región de interés (ROI) para el análisis.

En resumen, la propuesta para determinar el parámetro de tamaño de ventana para el método de suavizado Savitzky-Golay, considera señales bio-ópticas con un perfil en forma de lóbulo. Donde, al considerar la cantidad de lóbulos dividida por la magnitud del soporte de la señal, se puede calcular el tamaño de la ventana, ver Fórmula 2. El uso del teorema de Nyquist-Shannon, permite la implementación del algoritmo de Savitzky-Golay desde un enfoque de muestreo, considerando la distribución espacial de la señal adquirida para el proceso de toma de decisiones. Los resultados muestran que el uso de este enfoque reduce el ruido en las señales bio-ópticas, sin la eliminación de características importantes, lo que permite confirmar o definir regiones de interés. Incluso cuando el significado físico de los datos utilizados en los ejemplos analizados era de diferente naturaleza, los resultados de la aplicación de este método de preparación de señal para los espectros de absorción de glucosa en IR Medio y la distribución de luminiscencia en imágenes médicas digitales permitieron obtener resultados válidos para posterior estudio y análisis.

Dado que la mayoría del análisis de señales está basado en computadora, el uso de esta técnica podría mejorar el rendimiento de los algoritmos de análisis, para etapas posteriores de investigación.

El desarrollo de esta técnica puede ser utilizado para el estudio de muestras generadas en mezclas a distintas concentraciones de glucosa e insulina a fin de analizar la posible aportación de cada uno de estos compuestos a los espectros de absorción.

Capítulo 6

Análisis de muestras in vitro de glucosa - insulina

La búsqueda de un método efectivo, no invasivo y de base óptica para la medición de la glucosa en sangre es un trabajo en curso. Varios grupos de investigación han reportado avances significativos en el desarrollo de una técnica para tal fin, particularmente en la región del IR medio. [36-38]. Cuando un desafío importante que se debe abordar está relacionado con la superposición en los espectros de absorción de glucosa e insulina, como se mencionó en el capítulo 3 de este documento [92]. Este es un tema importante, ya que ambos

compuestos pertenecen al mecanismo de regulación de la glucosa y su concentración en cambios en la sangre a tasas de magnitud similar. [20]. Como se ha presentado en este trabajo, la presencia de insulina en muestras de sangre no permite una cuantificación directa de la concentración de glucosa [92]. Por lo tanto, es muy importante estudiar la participación de cada compuesto en el análisis espectroscópico, con el objetivo de cuantificar la glucosa y la selección de técnicas adecuadas de procesamiento y análisis de señales, según sea necesario para abordar el problema de superposición espectral. Una pregunta importante que debe responderse es la magnitud de la contribución al espectro de absorción de cada compuesto, en proporciones similares a las que se encuentran en la sangre.

Una técnica estadística que se ha informado para evaluar y comparar de manera efectiva las configuraciones de diseño y los efectos de los componentes se conoce como diseño experimental factorial [95-97]. Una técnica estadística que se ha informado para evaluar y comparar de manera efectiva las configuraciones de diseño y los efectos de los componentes se conoce como diseño experimental factorial [96]. Para k factores, a 2 niveles para cada uno, 2^k lecturas experimentales serían requeridas [95]. Desde donde, un análisis estadístico de la salida permite construir modelos basados en las entradas, desde donde se puede analizar y describir la magnitud del efecto de las entradas. Este trabajo utiliza esta metodología y la configuración descrita anteriormente (2^k), para comprender la contribución de la insulina y la glucosa al espectro de absorción en la región del infrarrojo medio.

6.1 Metodología experimental para análisis espectral de muestras de glucosa-insulina en infrarrojo medio.

Para el diseño experimental factorial, se definieron dos niveles de concentración, Bajo y Alto, para los insumos, considerando la importancia fisiológica. Según la literatura, para la glucosa (Pisa, Solución DX-10®), la concentración baja (*Lg*) se definió en 80 mg / dL y 180 mg / dL para la concentración alta (*Hg*) [98]. Para la insulina (Lilly, Humulin N®), la concentración baja fue definida en 30µU/mL (*Li*) y 130µU/mL para la correspondiente concentración alta (*Hi*) [20]. La concentración de estos niveles resulta en el siguiente orden de muestras: *Lg-Li*, *Lg-Hi*, *Hg-Li*, *Hg-Hi*. Los espectros de absorción se obtuvieron por medio de un espectrómetro FTIR (PerkinElmer, Spectrum Two), con una resolución de 4 cm⁻¹. Las lecturas de un total de 5 ensayos de cada muestra fueron adquiridas y utilizadas para el estudio. Con el fin de procesar la señal espectral y obtener una cuantificación de la absorción óptica de la muestra, se utilizó espectroscopia derivativa. [94]. La técnica utilizada requiere suavizar el espectro de absorción adquirido, la cual se realizó aplicando el algoritmo de Nyquist-Savitzky-Golay (NSG) [99]. Seguido por el cálculo de la segunda derivada del espectro. Después de ejecutar los procesos mencionados anteriormente en la señal adquirida, se puede obtener una relación entre la constitución de la muestra y la absorción óptica, calculando la sustracción entre los valores del mínimo más bajo y el máximo más alto del espectro derivado. [94]. Se utilizó un análisis de varianza (ANOVA) y un modelo de regresión de la absorción en términos de las concentraciones de los compuestos, para estudiar la contribución de la insulina y la glucosa.

El modelo de regresión lineal es de la forma:

$$y = y_0 - Ax_1 + Bx_2 + ABx_1x_2 \quad (3)$$

Donde la absorción (y) queda en términos de un modelo lineal donde participan la aportación de la insulina (A), la glucosa (B) y un término que representa la mezcla de ambos compuestos (AB).

6.2 Resultados de aplicación de diseño experimental factorial a muestras de glucosa-insulina

Como se muestra en la Figura 28, el espectro de absorción para las muestras hechas de una combinación de glucosa e insulina se ubicó en el rango de $1100-950\text{ cm}^{-1}$. Las señales se suavizaron con el método NSG. Los picos bajos y altos se identificaron y restaron para obtener un parámetro de absorción, como se muestra en la Figura 29. La absorción de todas las muestras y ensayos se utilizó para realizar un análisis de varianza y también para obtener un modelo de regresión lineal. Los resultados del ANOVA se muestran en la Tabla 1. Cuando, dado que solo la glucosa y la insulina tienen un valor de p menor que 0.05, tienen un efecto significativo sobre la absorción, que no es el caso de la interacción, lo que podría representar una posible Enlace de los compuestos. La tabla 2 muestra los resultados del modelo de regresión. La estimación de los coeficientes, que representa la participación de cada compuesto en el resultado, muestra que la glucosa tiene una mayor contribución al espectro de absorción que la insulina. Su combinación, llamada interacción, no tiene una participación considerable en el resultado. Este modelo es capaz de explicar el 88% de las variaciones en la absorción.

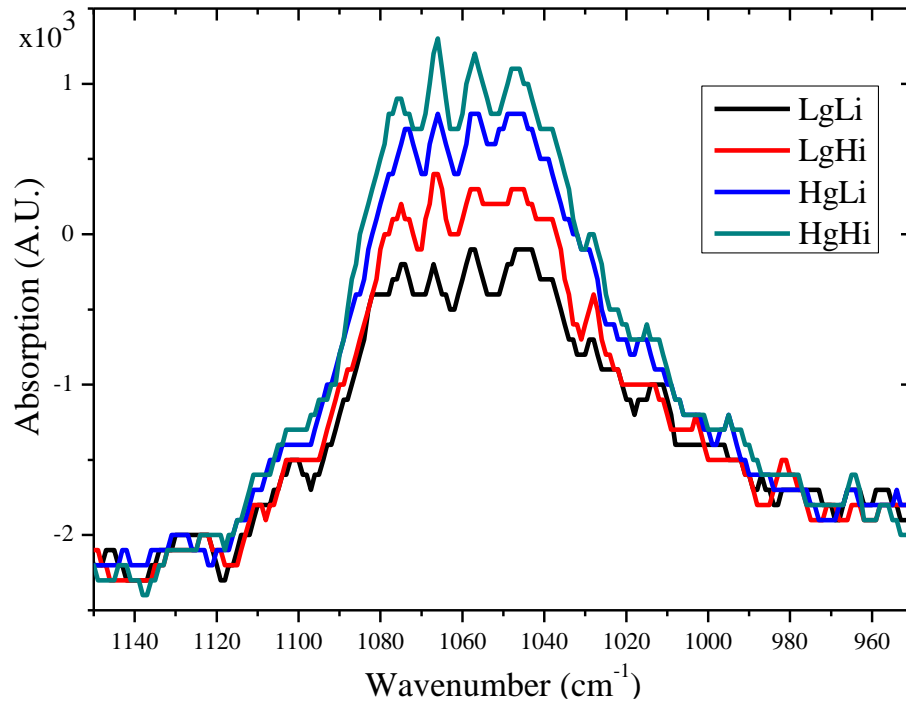


Figura 28. Espectros de absorción en infrarrojo medio de muestras de glucosa-insulina.

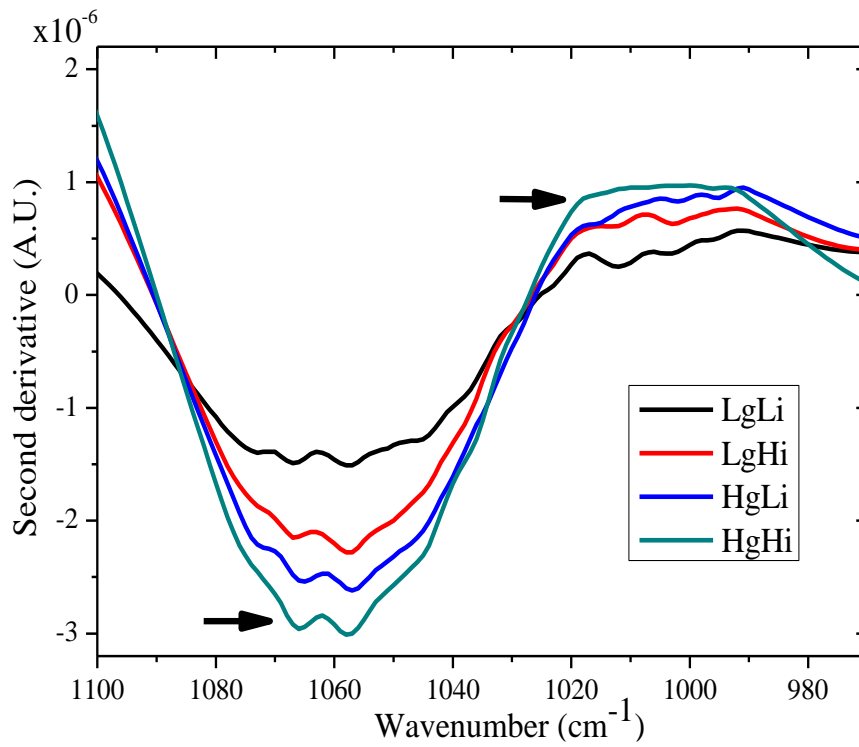


Figura 29. Segunda derivada de espectros de absorción de muestras de glucosa-insulina.

Tabla 5. Análisis de varianza de absorción óptica de muestras de glucosa-insulina.

	DF	Sum de cuadrados	Mean Square	Valor-F	Valor-p
Insulina	1	$7.61e^{-13}$	$7.61e^{-13}$	35.74	$1.93e^{-5}$
Glucosa	1	$2.44e^{-12}$	$2.44e^{-12}$	114.50	$1.06e^{-8}$
Interacción	1	$4.61e^{-14}$	$4.61e^{-14}$	2.16	0.1605
Modelo	3	$3.24e^{-12}$	$1.08e^{-12}$	50.80	$2.12e^{-8}$
Error	16	$3.40e^{-13}$	$2.13e^{-14}$		

Tabla 6. Modelo de regresión para absorción óptica de muestras de glucosa-insulina

	Coef	Std.Err.	valort	Pr(> t)
Intercept (γ_0)	$2.55e^{-6}$	$3.262e^{-8}$	78.18	$2.0e^{-16}$
Insulina (A)	$1.95e^{-7}$	$3.262e^{-8}$	5.979	$1.93e^{-5}$
Glucosa (B)	$3.49e^{-7}$	$3.262e^{-8}$	10.70	$1.06e^{-8}$
Interacción (AB)	$4.8e^{-8}$	$3.262e^{-8}$	1.472	0.16
AdjR ² =0.887	F=50.8		p-val	$2.12e^{-8}$

Como se puede apreciar en la Figura 30, se confirma que la participación en la absorción de luz en la región de infrarrojo medio, definida por la magnitud de los

coeficientes, es mayor para la glucosa que para la insulina, mientras que la posible interacción no tiene una aportación considerable.

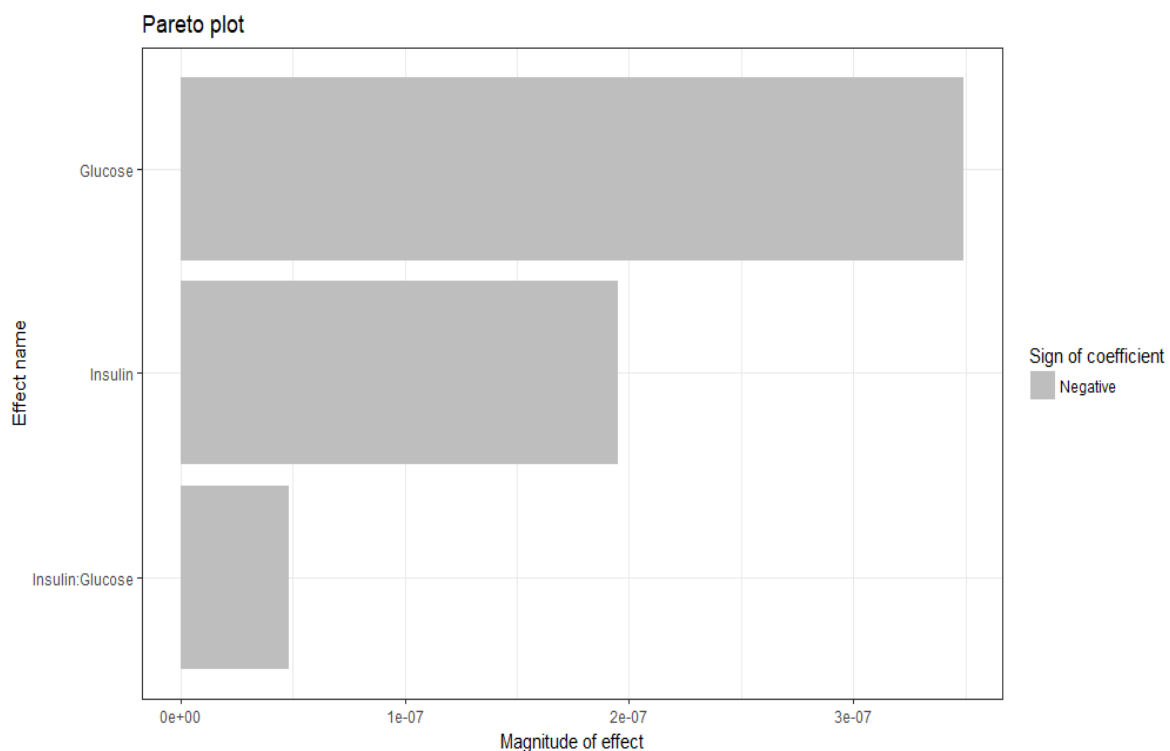


Figura 30. Gráfica de Pareto de comparación de coeficientes de componentes de modelo de regresión lineal para absorción óptica de muestras de glucosa-insulina.

El uso del diseño experimental factorial permitió encontrar que la glucosa tiene una mayor influencia en la absorción óptica que la insulina en muestras combinadas. Además, que la interacción de estas sustancias no tiene influencia significativa en el resultado. Esto podría explicarse dado que, a pesar de la presencia de ambos compuestos, no hubo cambios químicos en los enlaces. Estos hallazgos se obtuvieron independientemente de la

superposición espectral conocida de estas sustancias. Además, la magnitud de la contribución de las sustancias involucradas en el experimento podría usarse para definir técnicas de procesamiento de señales y quimiométricas, con el objetivo de la cuantificación selectiva. Al igual que en este caso, el uso del diseño experimental factorial podría proporcionar nuevas e interesantes perspectivas para la caracterización de materiales ópticos.

Capítulo 7

Conclusiones

En primera instancia, con el planteamiento de analizar muestras de sangre en un protocolo experimental de un usuario sano sometido a una prueba de tolerancia a la glucosa, se mostró que la insulina es un compuesto regulador de la glucosa que se superpone en la misma región del IR medio que la glucosa y tiene una absorción óptica similar en concentraciones fisiológicas relevantes, no permitiendo una cuantificación directa de la concentración de glucosa a partir de muestras de sangre. Es importante tener en cuenta este hallazgo para la implementación del modelado in vitro de sangre total para aplicaciones espectroscópicas. Dado que los pacientes con diabetes tipo II y gestacional son capaces de liberar insulina en el torrente sanguíneo, es relevante estudiar su participación en la medición, así como los otros compuestos del mecanismo de regulación de la glucosa en el análisis espectroscópico con el fin de fines de cuantificación. Estos resultados son importantes porque proporcionan información relevante para definir protocolos seguros para experimentos similares en pacientes diabéticos. También para explorar la cuantificación de la participación de cada compuesto en la medición óptica e invita a considerar nuevas técnicas, como algunas propuestas en quimiometría, que involucra el uso de algoritmos matemáticos y computarizados para abordar una solución para una cuantificación y clasificación de sistemas bioquímicos complejos.

Una vez encontrada el posible traslape espectral entre la glucosa y la insulina en la caracterización de muestras de sangre en un protocolo de OGTT, se hizo necesario determinar una técnica para el análisis de señales espectrales en la región del infrarrojo medio. Donde la técnica comúnmente basada en espectroscopia derivativa implica un proceso de suavizado donde el método de Savitzky-Golay, generalmente usado, se basa en dos parámetros, el orden de polinomio de regresión y el tamaño de la ventana de puntos a promediar. La propuesta presentada en esta investigación, para determinar el parámetro de tamaño de ventana para el método de suavizado Savitzky-Golay, considera señales bio-ópticas con un perfil en forma de lóbulo. Donde, dependiendo de la cantidad de lóbulos dividida por la magnitud del soporte de la señal, se puede calcular el tamaño de la ventana, ver Fórmula 2. El uso del teorema de Nyquist-Shannon, permite la implementación del algoritmo de Savitzky-Golay desde un enfoque de muestreo, por Considerando la distribución espacial de la señal adquirida para el proceso de toma de decisiones. Los resultados muestran que el uso de este enfoque reduce el ruido en las señales bio-ópticas, sin la eliminación de características importantes, lo que permite confirmar o definir las Regiones de Interés. Incluso cuando el significado físico de los datos utilizados en los ejemplos analizados era de diferente naturaleza, los resultados de la aplicación de este método de preparación de señal para los espectros de absorción de glucosa en IR Medio y la distribución de luminiscencia en imágenes médicas digitales permitieron obtener resultados válidos para posterior estudio y análisis.

Dado que la mayoría del análisis de señales está basado en computadora, el uso de esta técnica podría mejorar el rendimiento de los algoritmos de análisis, para etapas posteriores de investigación.

Para este trabajo, la selección del lóbulo se realizó manualmente, un trabajo futuro podría centrarse en la automatización de este proceso.

Con el desarrollo de la técnica de análisis mencionada arriba, fue posible realizar un estudio basado en un diseño experimental factorial que permitió encontrar que la glucosa tiene una mayor influencia en la absorción óptica que la insulina en muestras combinadas. Además, que la interacción de estas sustancias no tiene influencia significativa en el resultado. Esto podría explicarse dado que, a pesar de la presencia de ambos compuestos, no hubo cambios químicos en los enlaces. Estos hallazgos se obtuvieron independientemente de la superposición espectral conocida de estas sustancias. Además, la magnitud de la contribución de las sustancias involucradas en el experimento podría usarse para definir técnicas de procesamiento de señales y quimiométricas, con el objetivo de la cuantificación selectiva. Al igual que en este caso, el uso del diseño experimental factorial podría proporcionar nuevas e interesantes perspectivas para la caracterización de materiales ópticos.

En general, estos resultados permitieron obtener un panorama de la interacción de la glucosa y de un importante compuesto que participa en su mecanismo de regulación, que es la insulina, cuyo involucramiento desde la perspectiva óptica, no había sido considerado en

la literatura existente. Por lo que estos hallazgos serán de utilidad al considerarse junto a otros esfuerzos realizados por otros grupos de investigación, con la intención de desarrollar técnicas no invasivas de cuantificación de glucosa, con la sensibilidad y especificidad requerida para aplicaciones médicas.

Capítulo 8

Trabajo a futuro

Con los resultados presentados en esta investigación se han obtenido pueden considerarse para el estudio de técnicas basadas en técnicas quimiométricas para realizar cuantificaciones de los compuestos de interés, en este caso, la glucosa y la insulina.

Al mismo tiempo se puede considerar un experimento donde con muestras de concentración controlada de glucosa e insulina se pueda simular una prueba de tolerancia a la glucosa en sujetos sanos, de tal forma que se comprobaría que este es el modelo o *phantom* adecuado para este tipo de estudios, sobre el cual se pudieran considerar casos patológicos para su correspondiente estudio, como se muestra en el anexo.

Un complemento importante de este tipo de investigaciones se relaciona a simulaciones computacionales, donde a partir de estimaciones hechas a partir de los resultados presentados en esta investigación, se pueden hacer aproximaciones a escenarios fisiológicos que permitan entender más detalles de la interacción entre la luz, las sustancias y los medios de interés.

Otra oportunidad existe en explorar la espectroscopia Raman. Esta es a menudo considerada complementaria a la espectroscopia IR. Para moléculas simétricas con un centro de inversión, Raman e IR se excluyen mutuamente. En otras palabras, los enlaces que son activos por IR no serán activos por Raman y viceversa. Otras moléculas pueden tener enlaces que son Raman-activos, IR-activos, o aplicar para ambos o ninguno de los casos. Por lo que cabría la posibilidad de encontrar regiones de caracterización distintas a pesar de los componentes que participen en las muestras y posiblemente hacer cuantificaciones directas más específicas [40].

La continuación de esta línea de investigación permitirá hacer propuestas de instrumentación y prototipos con los que se puedan explorar experimentos de cuantificación de glucosa por medios no invasivos, basados en espectroscopia de infrarrojo medio y así definir, basándose la resolución de la medición, así como de la sensibilidad y especificidad de las mismas, el alcance de estas técnicas para el objetivo mencionado.

Capítulo 9

Productividad académica

En el año 2016 se participó en la conferencia SPIE Optics+Photonics con un trabajo que presentaba el enfoque con el que proponía llevar a cabo esta investigación.

Romo-Cárdenas, G. S., Sanchez-Lopez, J. D., Nieto-Hipolito, J. I., Cosio-León, M., Luque-Morales, P., & Vazquez-Briseno, M. (2016, September). Proposal for study on IR light and glucose phantom interaction for human glucose quantification applications. In *Reflection, Scattering, and Diffraction from Surfaces V* (Vol. 9961, p. 99610V). International Society for Optics and Photonics.

Con el avance de la investigación, a principios de 2017, se publicó en la revista Results in Physics, los resultados de los experimentos del análisis de la absorción óptica de las muestras de sangre durante la prueba OGTT. Donde se presentó el hallazgo de traslape espectral entre la glucosa y la insulina.

Romo-Cárdenas, G., Sánchez-López, J. D. D., Luque, P. A., Cosío-León, M., Nieto-Hipólito, J. I., & Vázquez-Briseño, M. (2017). Insulin overlapping in whole blood FTIR spectroscopy in blood glucose measurements. *Results in Physics*, 7, 1221-1222.

Al continuar con el análisis de las señales espectrales basándose en técnicas derivativas, se publicó nuevamente en la revista Results in Physics, a mediados de 2018,

sobre la aplicación del teorema de muestreo para preparar muestras espectrales y su aplicación a señales bio-ópticas de distinta naturaleza.

Romo-Cárdenas, G., Avilés-Rodríguez, G. J., Sánchez-López, J. D. D., Cosío-León, M., Luque, P. A., Gómez-Gutiérrez, C. M., Gómez, M. Vázquez & Navarro-Cota, C. X. (2018). Nyquist-Shannon theorem application for Savitzky-Golay smoothing window size parameter determination in bio-optical signals. *Results in Physics*, 11, 17-22.

Dando continuación a los avances, en agosto de 2018 se presentó una plática en la conferencia Optics+Photonics 2018 en la ciudad de San Diego Ca. Donde se expuso sobre los avances y perspectivas de esta investigación.

Romo-Cárdenas, G. S., de Dios Sánchez-López, J., Cosío-León, M., Luque-Morales, P., Gómez, C. M., Nieto-Hipólito, J. I., Nieto & Briseño, M. V. (2018, September). Study on mid-IR spectroscopy on whole blood samples for human glucose quantification applications. In *Infrared Sensors, Devices, and Applications VIII* (Vol. 10766, p. 107660L). International Society for Optics and Photonics.

A finales de 2018 se sometió nuevamente en la revista Results in Physics sobre los resultados de la aplicación del diseño experimental factorial a las muestras de glucosa e insulina, donde se encontró sobre la participación de cada una de estas al espectro de absorción en la ventana de interés y a pesar del traslape espectral.

Application of Factorial Experimental Design on the Optical Absorption from Glucose – Insulin Samples in Mid-Infrared Spectroscopy

G. Romo-Cárdenas¹, J. de D. Sánchez-López¹, M. Cosío-León², P.A. Luque¹, C.M. Gómez-Gutiérrez¹, Juan I. Nieto-Hipólito¹, Santiago Camacho-López³, Arturo Jiménez-Cruz⁴,

Referencias

- [1] R. A. DeFronzo, "Pathogenesis of type 2 diabetes mellitus," *Medical Clinics*, vol. 88, pp. 787-835, 2004.
- [2] R. J. McNichols and G. L. Cote, "Optical glucose sensing in biological fluids: an overview," *Journal of Biomedical Optics*, vol. 5, pp. 5-16, 2000.
- [3] D. C. Klonoff, "Continuous glucose monitoring roadmap for 21st century diabetes therapy," *Diabetes care*, vol. 28, pp. 1231-1239, 2005.
- [4] W. V. Tamborlane, R. W. Beck, B. W. Bode, B. Buckingham, H. P. Chase, R. Clemons, *et al.*, "Continuous glucose monitoring and intensive treatment of type 1 diabetes," *The New England journal of medicine*, vol. 359, pp. 1464-1476, 2008.
- [5] H.-C. Yeh, T. T. Brown, N. Maruthur, P. Ranasinghe, Z. Berger, Y. D. Suh, *et al.*, "Comparative effectiveness and safety of methods of insulin delivery and glucose monitoring for diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis," *Annals of internal medicine*, vol. 157, pp. 336-347, 2012.
- [6] G. Freckmann, C. Schmid, A. Baumstark, S. Pleus, M. Link, and C. Haug, "System accuracy evaluation of 43 blood glucose monitoring systems for self-monitoring of blood glucose according to DIN EN ISO 15197," *Journal of diabetes science and technology*, vol. 6, pp. 1060-1075, 2012.
- [7] M. F. Castilla-Peón, S. Ponce-de-León-Rosales, and R. Calzada-León, "Knee skin pricking to monitor capillary blood glucose is less painful than finger pricking in children with type 1 diabetes," *International Journal of Diabetes in Developing Countries*, pp. 1-4, 2015.

- [8] D. Pacaud, J. Lemay, M. Buithieu, and J. Yale, "Blood volumes and pain following capillary punctures in children and adolescents with diabetes," *Diabetes care*, vol. 22, pp. 1592-1594, 1999.
- [9] M. R. Burge, "Lack of compliance with home blood glucose monitoring predicts hospitalization in diabetes," *Diabetes Care*, vol. 24, pp. 1502-1503, 2001.
- [10] M. Cullen, "HE BALANCE GUIDE TO TESTING 2011–12," 2010.
- [11] M. Hernández-Ávila, J. P. Gutiérrez, and N. Reynoso-Noverón, "Diabetes mellitus in Mexico: Status of the epidemic," *salud pública de méxico*, vol. 55, pp. s129-s136, 2013.
- [12] S. Fajans, "Classification and diagnosis of diabetes," *Ellenbergand Rifkin's Diabetes Mellitus. Theory and Practice. Elsevier, New York*, pp. 346-356, 1990.
- [13] N. D. D. Group, "Classification and diagnosis of diabetes mellitus and other categories of glucose intolerance," *Diabetes*, vol. 28, pp. 1039-1057, 1979.
- [14] OMS. (2015). *Qué es la diabetes*. Available: http://www.who.int/topics/diabetes_mellitus/es/
- [15] N. Cho, J. Shaw, S. Karuranga, Y. Huang, J. da Rocha Fernandes, A. Ohlrogge, *et al.*, "IDF Diabetes Atlas: global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045," *Diabetes research and clinical practice*, vol. 138, pp. 271-281, 2018.
- [16] I. B. Hirsch, "Type 1 diabetes mellitus and the use of flexible insulin regimens," *American Family Physician*, vol. 60, pp. 2343-52, 2355-6, 1999.
- [17] A. D. Association, "15. Diabetes Advocacy: Standards of Medical Care in Diabetes-2018," *Diabetes Care*, vol. 41, p. S152, 2018.

- [18] E. Näslund, J. Bogefors, S. Skogar, P. Grybäck, H. Jacobsson, J. J. Holst, *et al.*, "GLP-1 slows solid gastric emptying and inhibits insulin, glucagon, and PYY release in humans," *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, vol. 277, pp. R910-R916, 1999.
- [19] H. Lodish, A. Berk, J. E. Darnell, C. A. Kaiser, M. Krieger, M. P. Scott, *et al.*, *Molecular cell biology*: Macmillan, 2008.
- [20] S. L. Aronoff, K. Berkowitz, B. Shreiner, and L. Want, "Glucose metabolism and regulation: beyond insulin and glucagon," *Diabetes Spectrum*, vol. 17, pp. 183-190, 2004.
- [21] N. Ahmed, *Clinical biochemistry*: Oxford University Press, 2016.
- [22] R. H. Unger, "Glucagon physiology and pathophysiology," *New England Journal of Medicine*, vol. 285, pp. 443-449, 1971.
- [23] M. Skugor, "Medical Treatment of Diabetes Mellitus," *Cleveland Clinic journal of medicine*, vol. 84, pp. S57-S61, 2017.
- [24] M. Mitka, "Report quantifies diabetes complications," *Jama*, vol. 297, pp. 2337-2338, 2007.
- [25] L. M. Welschen, E. Bloemendal, G. Nijpels, J. M. Dekker, R. J. Heine, W. A. Stalman, *et al.*, "Self-monitoring of blood glucose in patients with type 2 diabetes who are not using insulin: a systematic review," *Diabetes care*, vol. 28, pp. 1510-1517, 2005.
- [26] H. P. Chase, W. E. Jackson, S. L. Hoops, R. S. Cockerham, P. G. Archer, and D. O'Brien, "Glucose control and the renal and retinal complications of insulin-dependent diabetes," *Jama*, vol. 261, pp. 1155-1160, 1989.

- [27] A. D. Association, "6. Glycemic targets: standards of medical care in diabetes—2018," *Diabetes Care*, vol. 41, pp. S55-S64, 2018.
- [28] J. D. R. F. C. G. M. S. Group, "Continuous glucose monitoring and intensive treatment of type 1 diabetes," *New England Journal of Medicine*, vol. 359, pp. 1464-1476, 2008.
- [29] E. Cengiz and W. V. Tamborlane, "A tale of two compartments: interstitial versus blood glucose monitoring," *Diabetes technology & therapeutics*, vol. 11, pp. S-11-S-16, 2009.
- [30] M. F. Castilla-Peón, S. Ponce-de-León-Rosales, and R. Calzada-León, "Knee skin pricking to monitor capillary blood glucose is less painful than finger pricking in children with type 1 diabetes," *International Journal of Diabetes in Developing Countries*, vol. 35, pp. 620-623, 2015.
- [31] D. Pacaud, J.-F. Lemay, M. Buitthieu, and J.-F. Yale, "Blood volumes and pain following capillary punctures in children and adolescents with diabetes," *Diabetes care*, vol. 22, p. 1592, 1999.
- [32] J. Kottmann, J. M. Rey, J. Luginbühl, E. Reichmann, and M. W. Sigrist, "Glucose sensing in human epidermis using mid-infrared photoacoustic detection," *Biomedical optics express*, vol. 3, pp. 667-680, 2012.
- [33] S. K. Vashist, "Non-invasive glucose monitoring technology in diabetes management: A review," *Analytica chimica acta*, vol. 750, pp. 16-27, 2012.
- [34] I. Fine and L. Shvartsman, "Method for non-invasive optical measurements of blood parameters," ed: Google Patents, 2003.

- [35] S. Liakat, K. A. Bors, L. Xu, C. M. Woods, J. Doyle, and C. F. Gmachl, "Noninvasive in vivo glucose sensing on human subjects using mid-infrared light," *Biomedical optics express*, vol. 5, pp. 2397-2404, 2014.
- [36] A. Werth, S. Liakat, A. Dong, C. M. Woods, and C. F. Gmachl, "Implementation of an integrating sphere for the enhancement of noninvasive glucose detection using quantum cascade laser spectroscopy," *Applied Physics B*, vol. 124, p. 75, 2018.
- [37] K. Yoshioka, S. Kino, and Y. Matsuura, "Noninvasive measurement of blood glucose level using mid-infrared quantum cascade lasers," in *Biomedical Imaging and Sensing Conference*, 2017, p. 102511U.
- [38] R. Kasahara, S. Kino, S. Soyama, and Y. Matsuura, "Noninvasive glucose monitoring using mid-infrared absorption spectroscopy based on a few wavenumbers," *Biomedical optics express*, vol. 9, pp. 289-302, 2018.
- [39] R. M. Silverstein, F. X. Webster, D. J. Kiemle, and D. L. Bryce, *Spectrometric identification of organic compounds*: John wiley & sons, 2014.
- [40] R. Splinter and B. A. Hooper, *An introduction to biomedical optics*: Taylor & Francis, 2006.
- [41] A. Nieto. (2013). *Infrarrojo lejano*. Available: <http://www.0grados.com/infrarrojo-lejano/>
- [42] N. Y. A. Heredia, "Construccion de un sistema optico no invasivo basado en Speckle para la medicion de flujo sanguineo In-Vitro e In-Vivo," 2007.
- [43] M. Soto Thompson, *Photodynamic therapy utilizing interstitial light Delivery combined with spectroscopic methods*: Lund University, 2004.
- [44] T. Vo-Dinh, *Biomedical Photonics Handbook: Biomedical Diagnostics vol. 2*: CRC press, 2014.

- [45] P. Davidovits, *Physics in biology and medicine*: Academic press, 2012.
- [46] V. V. Tuchin and V. Tuchin, *Tissue optics: light scattering methods and instruments for medical diagnosis* vol. 13: SPIE press Bellingham, 2007.
- [47] K. Fuwa and B. Valle, "The Physical Basis of Analytical Atomic Absorption Spectrometry. The Pertinence of the Beer-Lambert Law," *Analytical Chemistry*, vol. 35, pp. 942-946, 1963.
- [48] H. Zeller, P. Novak, and R. Landgraf, "Blood glucose measurement by infrared spectroscopy," *The International journal of artificial organs*, vol. 12, pp. 129-135, 1989.
- [49] R. D. Rosenthal, L. N. Paynter, and L. H. Mackie, "Non-invasive measurement of Blood Glucose," ed: Google Patents, 1991.
- [50] G. Christison and H. MacKenzie, "Laser photoacoustic determination of physiological glucose concentrations in human whole blood," *Medical and biological engineering and computing*, vol. 31, pp. 284-290, 1993.
- [51] W. Zhang, R. Liu, W. Zhang, H. Jia, and K. Xu, "Discussion on the validity of NIR spectral data in non-invasive blood glucose sensing," *Biomedical optics express*, vol. 4, pp. 789-802, 2013.
- [52] P. S. Jensen, J. Bak, and S. Andersson-Engels, "Influence of temperature on water and aqueous glucose absorption spectra in the near-and mid-infrared regions at physiologically relevant temperatures," *Applied spectroscopy*, vol. 57, pp. 28-36, 2003.
- [53] J. D. Enderle and J. D. Bronzino, *Introduction to biomedical engineering*: Academic press, 2012.

- [54] T. Lekha and C. S. Kumar, "NIR spectroscopic algorithm development for glucose detection," in *Innovations in Information, Embedded and Communication Systems (ICIIECS), 2015 International Conference on*, 2015, pp. 1-6.
- [55] S. C. Lam, J. W. Chung, K. L. Fan, and T. K. Wong, "Non-invasive blood glucose measurement by near infrared spectroscopy: Machine drift, time drift and physiological effect," *Journal of Spectroscopy*, vol. 24, pp. 629-639, 2010.
- [56] S. Liakat, K. A. Bors, T.-Y. Huang, A. P. Michel, E. Zanghi, and C. F. Gmachl, "In vitro measurements of physiological glucose concentrations in biological fluids using mid-infrared light," *Biomedical optics express*, vol. 4, pp. 1083-1090, 2013.
- [57] Z. Movasaghi, S. Rehman, and D. I. ur Rehman, "Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy of biological tissues," *Applied Spectroscopy Reviews*, vol. 43, pp. 134-179, 2008.
- [58] P. R. Griffiths and J. A. De Haseth, *Fourier transform infrared spectrometry* vol. 171: John Wiley & Sons, 2007.
- [59] F. Garces. (2012). *Thermo Nicolet® FTIR-ATR*. Available: <http://faculty.sdmiramar.edu/fgarces/LabMatters/Instruments/FTIR/FTIR.htm>
- [60] S. Yu, D. Li, H. Chong, C. Sun, and K. Xu, "Continuous glucose determination using fiber-based tunable mid-infrared laser spectroscopy," *Optics and Lasers in Engineering*, vol. 55, pp. 78-83, 2014.
- [61] M. Meinke, G. Müller, H. Albrecht, C. Antoniou, H. Richter, and J. Lademann, "Two-wavelength carbon dioxide laser application for in-vitro blood glucose measurements," *Journal of Biomedical Optics*, vol. 13, pp. 014021-014021-6, 2008.

- [62] J.-Y. Tang, M.-H. Wang, M.-K. Chen, and L.-S. Jang, "Glucose detection using an electro-optical fluidic device based on pulse width modulation," in *Sensing Technology (ICST), 2013 Seventh International Conference on*, 2013, pp. 325-329.
- [63] N. A. Mohd Aziz, N. Arsad, P. S. Menon, S. Shaari, Z. Md Yusof, and A. R. Laili, "An assessment study of absorption effect: LED vs tungsten halogen lamp for noninvasive glucose detection," *Journal of Innovative Optical Health Sciences*, vol. 8, p. 1550013, 2015.
- [64] S. T. Flock, S. L. Jacques, B. C. Wilson, W. M. Star, and M. J. van Gemert, "Optical properties of Intralipid: a phantom medium for light propagation studies," *Lasers in surgery and medicine*, vol. 12, pp. 510-519, 1992.
- [65] G. Reich, "Near-infrared spectroscopy and imaging: basic principles and pharmaceutical applications," *Advanced drug delivery reviews*, vol. 57, pp. 1109-1143, 2005.
- [66] C.-h. Lam, "Clinical evaluation of non-invasive blood glucose measurement by using near infrared spectroscopy via inter-and intra-subject analysis," The Hong Kong Polytechnic University, 2009.
- [67] O. S. Khalil, "Spectroscopic and clinical aspects of noninvasive glucose measurements," *clinical chemistry*, vol. 45, pp. 165-177, 1999.
- [68] S. F. Malin, T. L. Ruchti, T. B. Blank, S. N. Thennadil, and S. L. Monfre, "Noninvasive prediction of glucose by near-infrared diffuse reflectance spectroscopy," *Clinical chemistry*, vol. 45, pp. 1651-1658, 1999.
- [69] S. Yu, D. Li, H. Chong, C. Sun, H. Yu, and K. Xu, "In vitro glucose measurement using tunable mid-infrared laser spectroscopy combined with fiber-optic sensor," *Biomedical optics express*, vol. 5, pp. 275-286, 2014.

- [70] K. P. Weckstrom and K. J. Ristolainen, "Non-invasive optical measuring sensor and measuring method," ed: Google Patents, 2000.
- [71] M.-S. Yen, W. Wang, C.-C. Chou, and C.-P. Chuang, "Optical blood glucose detecting apparatus and operating method thereof," ed: Google Patents, 2012.
- [72] Y. Beiderman, R. Blumenberg, N. Rabani, M. Teicher, J. Garcia, V. Mico, *et al.*, "Demonstration of remote optical measurement configuration that correlates to glucose concentration in blood," *Biomedical optics express*, vol. 2, pp. 858-870, 2011.
- [73] D. Ami, M. Di Segni, M. Forcella, V. Meraviglia, M. Baccarin, S. Doglia, *et al.*, "Role of water in chromosome spreading and swelling induced by acetic acid treatment: a FTIR spectroscopy study," *European Journal of Histochemistry*, vol. 58, 2014.
- [74] D. A. Racusin, N. S. Crawford, S. Andrabi, M. A. Suter, H. Sangi-Haghpeykar, L. Showalter, *et al.*, "Twizzlers as a cost-effective and equivalent alternative to the glucola beverage in diabetes screening," *Diabetes care*, vol. 36, pp. e169-e170, 2013.
- [75] M. De La Guardia and S. Garrigues, *Handbook of green analytical chemistry*: John Wiley & Sons, 2012.
- [76] H. Azami, K. Mohammadi, and B. Bozorgtabar, "An improved signal segmentation using moving average and Savitzky-Golay filter," *Journal of Signal and Information Processing*, vol. 3, p. 39, 2012.
- [77] J. Gao, H. Sultan, J. Hu, and W.-W. Tung, "Denoising nonlinear time series by adaptive filtering and wavelet shrinkage: a comparison," *IEEE Signal Processing Letters*, vol. 17, pp. 237-240, 2010.
- [78] A. Savitzky and M. J. Golay, "Smoothing and differentiation of data by simplified least squares procedures," *Analytical Chemistry*, vol. 36, pp. 1627-1639, 1964.

- [79] J. L. Guiñón, E. Ortega, J. García-Antón, and V. Pérez-Herranz, "Moving average and Savitzki-Golay smoothing filters using Mathcad," in *International Conference on Engineering Education*, 2007, pp. 1-4.
- [80] M. Člupek, P. Matějka, and K. Volka, "Noise reduction in Raman spectra: Finite impulse response filtration versus Savitzky–Golay smoothing," *Journal of Raman Spectroscopy*, vol. 38, pp. 1174-1179, 2007.
- [81] W. Gander and J. Hrebicek, *Solving problems in scientific computing using Maple and Matlab®*: Springer Science & Business Media, 2004.
- [82] G. Vivó-Truyols and P. J. Schoenmakers, "Automatic Selection of Optimal Savitzky–Golay Smoothing," *Analytical Chemistry*, vol. 78, pp. 4598-4608, 2006.
- [83] M. U. Bromba and H. Ziegler, "Application hints for Savitzky-Golay digital smoothing filters," *Analytical Chemistry*, vol. 53, pp. 1583-1586, 1981.
- [84] Q. Quan and K.-Y. Cai, "Time-domain analysis of the Savitzky–Golay filters," *Digital Signal Processing*, vol. 22, pp. 238-245, 2012/03/01/ 2012.
- [85] X. Jun, P. Tao, C. Jie-Mei, C. Hua-Zhou, and R. Xiao-Huan, "Joint optimization of Savitzky-Golay smoothing models and partial least squares factors for near-infrared spectroscopic analysis of serum glucose," *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, vol. 38, pp. 342-346, 2010.
- [86] B. Turton, "A novel variant of the Savitzky-Golay filter for spectroscopic applications," *Measurement Science and Technology*, vol. 3, p. 858, 1992.
- [87] B. P. Lathi and R. A. Green, *Essentials of digital signal processing*: Cambridge University Press, 2014.
- [88] A. J. Jerri, "The Shannon sampling theorem—Its various extensions and applications: A tutorial review," *Proceedings of the IEEE*, vol. 65, pp. 1565-1596, 1977.

- [89] A. Akin, "Bio-Optical Signals," *Wiley Encyclopedia of Biomedical Engineering*, 2006.
- [90] G. S. Nayak, O. Davide, and C. Puttamadappa, "Classification of bio optical signals using k-means clustering for detection of skin pathology," *International Journal of Computer Applications*, vol. 1, pp. 92-96, 2010.
- [91] G. S. Nayak, C. Puttamadappa, A. Kamath, B. R. Sudeep, and K. Kavitha, "Classification of Bio-optical signals using Soft computing Tools," in *2008. SNPD'08. Ninth ACIS International Conference on Software Engineering, Artificial Intelligence, Networking, and Parallel/Distributed Computing*, 2008, pp. 661-663.
- [92] G. Romo-Cárdenas, J. d. D. Sánchez-López, P. Luque, M. Cosío-León, J. I. Nieto-Hipólito, and M. Vázquez-Briseño, "Insulin overlapping in whole blood FTIR spectroscopy in blood glucose measurements," *Results in Physics*, vol. 7, pp. 1221-1222, 2017.
- [93] A. J. Owen, "Uses of derivative spectroscopy," *Agilent Technologies*, vol. 8, 1995.
- [94] Y. Shen, A. Davies, E. Linfield, P. Taday, D. Arnone, and T. Elsey, "Determination of glucose concentration in whole blood using Fourier-transform infrared spectroscopy," *Journal of Biological Physics*, vol. 29, pp. 129-133, 2003.
- [95] D. C. Montgomery, *Design and analysis of experiments*: John wiley & sons, 2017.
- [96] M. H. Esfe, H. Rostamian, A. Shabani-samghabadi, and A. A. A. Arani, "Application of three-level general factorial design approach for thermal conductivity of MgO/water nanofluids," *Applied Thermal Engineering*, vol. 127, pp. 1194-1199, 2017.

- [97] A. Regti, M. R. Laamari, S.-E. Stiriba, and M. El Haddad, "Use of response factorial design for process optimization of basic dye adsorption onto activated carbon derived from *Persea* species," *Microchemical Journal*, vol. 130, pp. 129-136, 2017.
- [98] N. Y. Pardo-Buitimea, M. Bacardí-Gascón, L. Castañeda-González, and A. Jiménez-Cruz, "Glycaemic index and glycaemic load of three traditional Mexican dishes," *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, vol. 63, pp. 114-116, 2012/02/01 2012.
- [99] G. Romo-Cárdenas, G. J. Avilés-Rodríguez, J. d. D. Sánchez-López, M. Cosío-León, P. A. Luque, C. M. Gómez-Gutiérrez, *et al.*, "Nyquist-Shannon theorem application for Savitzky-Golay smoothing window size parameter determination in bio-optical signals," *Results in Physics*, vol. 11, pp. 17-22, 2018/12/01/ 2018.

APÉNDICE

Análisis de espectroscopia para experimento factorial programado en RStudio

2K Mid-IR Glu-Ins

Gerardo S. Romo-Cárdenas

28 de mayo de 2018

R Markdown

```
# Análisis datos experimento 2^k de glucosa e insulina 5 abril 2018  
# Hecho por GSRC  
# UABC Junio 2018
```

```
# Librerías
```

```
library(ChemometricsWithR)
```

```
## Loading required package: ChemometricsWithRData
```

```
## Loading required package: MASS
```

```
## Loading required package: pls
```

```
##
```

```
## Attaching package: 'pls'
```

```
## The following object is masked from 'package:stats':
```

```
##
```

```
## loadings
```

```
## Loading required package: kohonen
```

```
##
```

```
## Attaching package: 'ChemometricsWithR'
```

```
## The following object is masked from 'package:stats':
```

```
##
```

```
## screeplot
```

```
library(signal)
```

```

##
## Attaching package: 'signal'

## The following objects are masked from 'package:stats':
##
##   filter, poly

library(ggplot2)

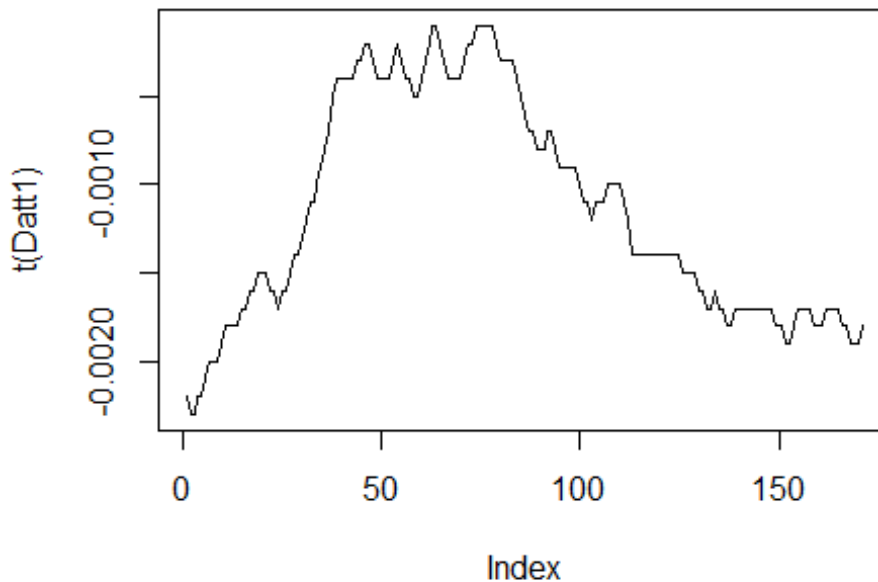
setwd("C:/Users/Gerardo/Dropbox/Proyecto Detección de Glucosa/Experimentos/FTIR/2K/Confirm")

#Archivos
Datt1<-read.csv(file="LgLi2.csv", header = FALSE, sep = ",")
Datt2<-read.csv(file="LgHi2.csv", header = FALSE, sep = ",")
Datt3<-read.csv(file="HgLi2.csv", header = FALSE, sep = ",")
Datt4<-read.csv(file="HgHi2.csv", header = FALSE, sep = ",")
wavenum<-read.csv(file="wave171.csv", header = FALSE, sep = ",")

sgw<- 83 #No se observa ruido
sgwp<-7

# Análisis de L-L
plot(t(Datt1), type="l")

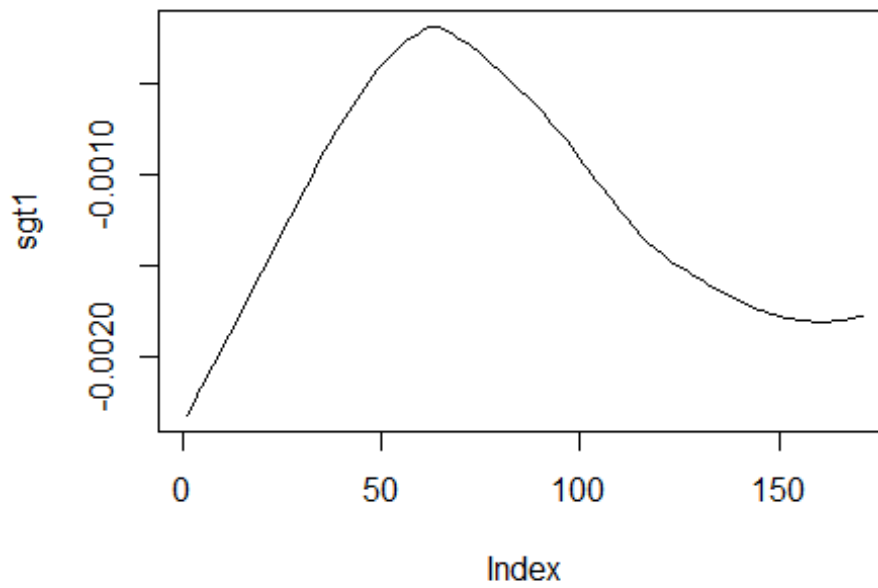
```



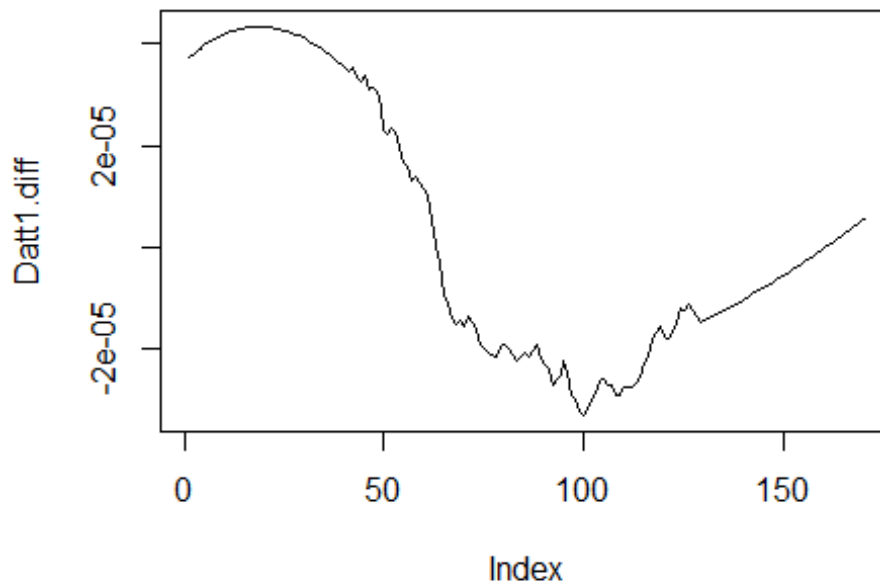
```

sgt1<-sgolayfilt(t(Datt1),p=3,n=sgw)
plot(sgt1, type = "l")

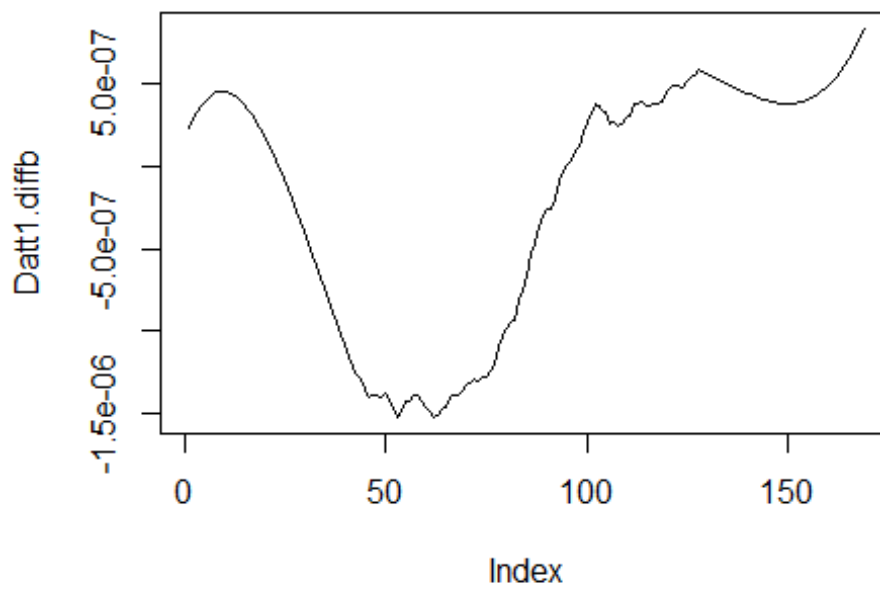
```



```
Datt1.diff<-apply(t(sgt1),1,diff)  
Datt1.diffb<-sgolayfilt(apply(t(Datt1.diff),1,diff),p=3,n=sgw)  
  
plot(Datt1.diff, type="l")
```

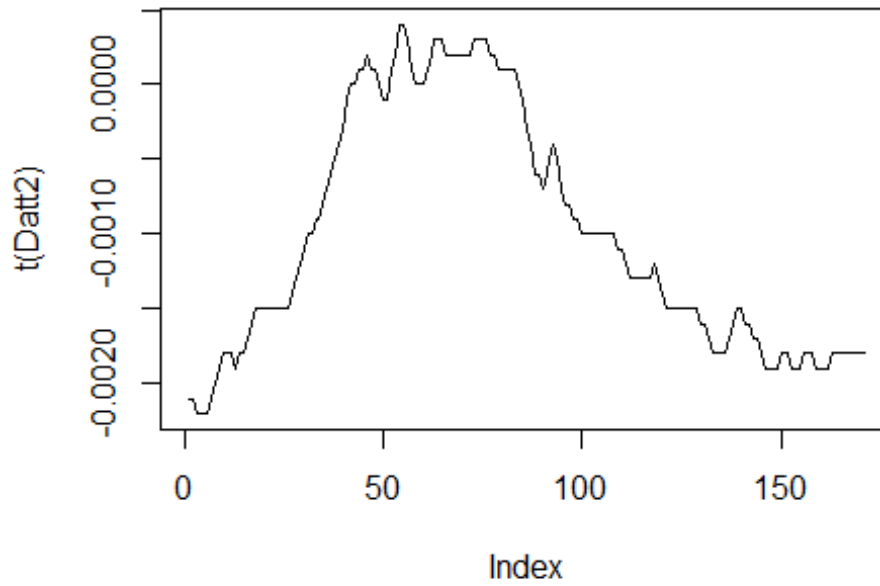


```
plot(Datt1.diffb,type="l")
```

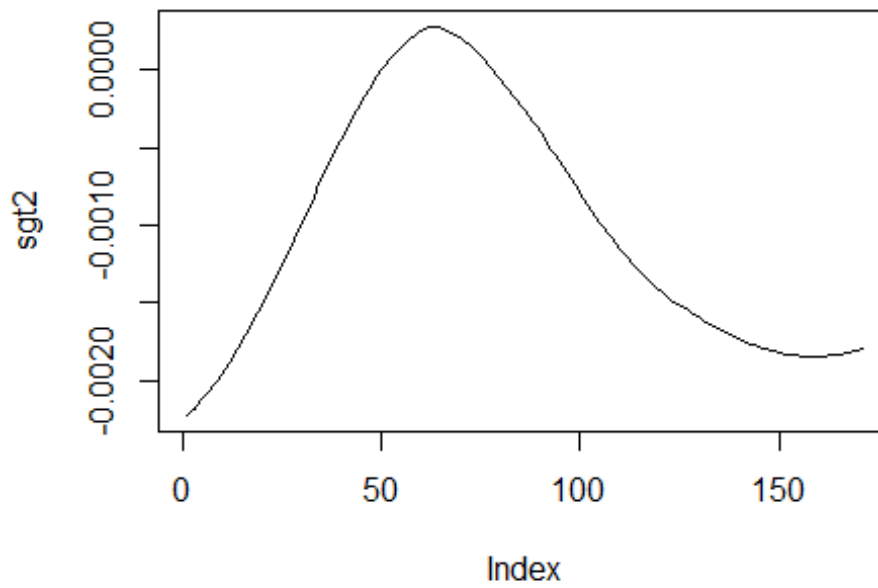


```
sgt1Diffb<-sgolayfilt((Datt1.diffb),p=3,n=sgwp)
```

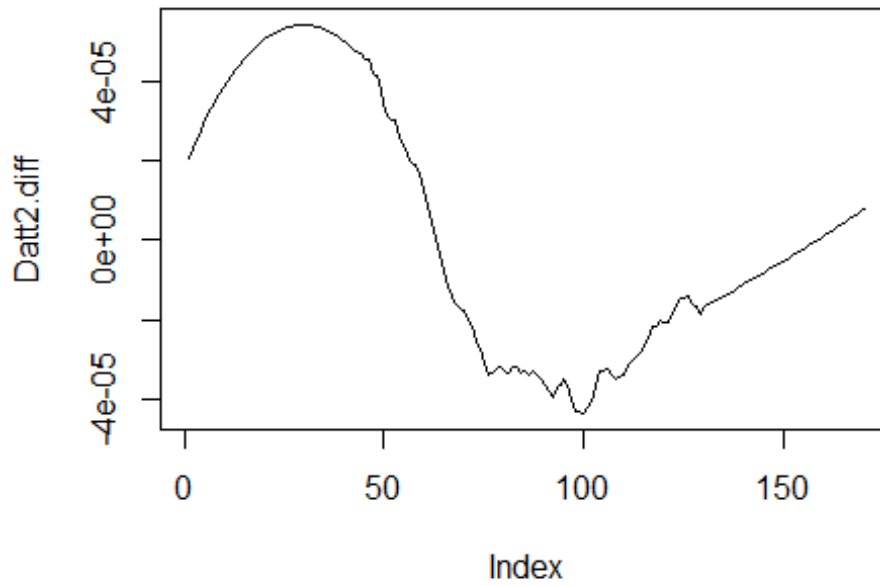
```
# Análisis Lg-Hi  
plot(t(Datt2), type="l")
```



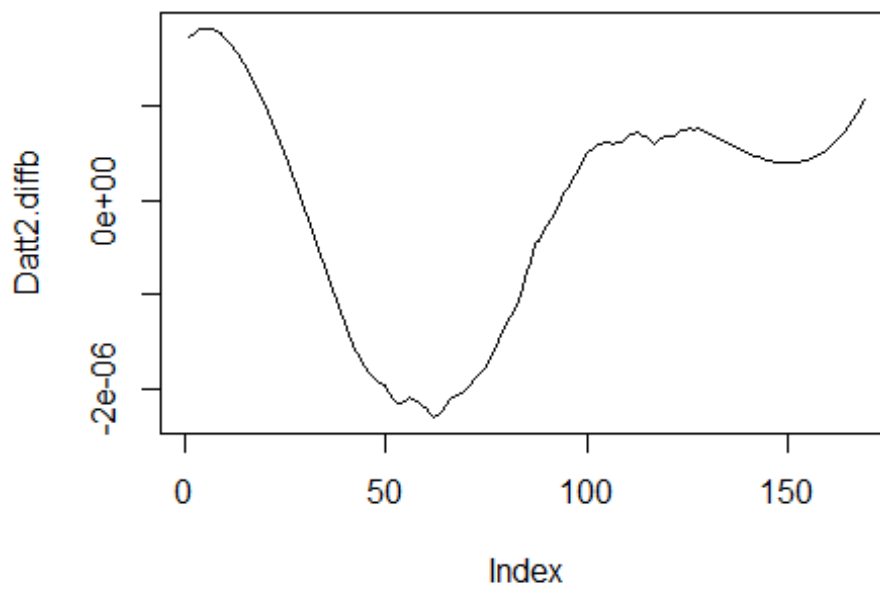
```
sgt2<-sgolayfilt(t(Datt2),p=3,n=sgw)  
plot(sgt2, type = "l")
```



```
Datt2.diff<-apply(t(sgt2),1,diff)  
Datt2.diffb<-sgolayfilt(apply(t(Datt2.diff),1,diff),p=3,n=sgw)  
  
plot(Datt2.diff, type="l")
```



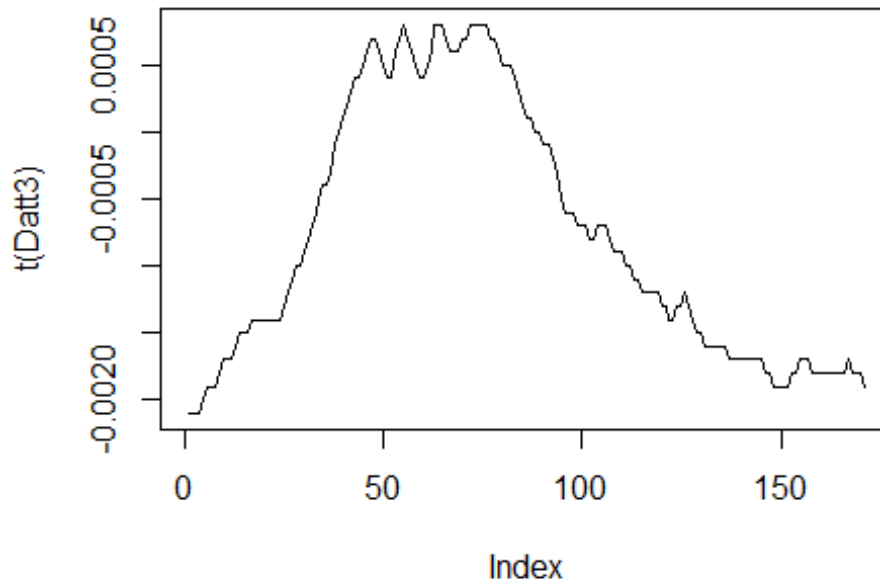
```
plot(Datt2.diffb,type="l")
```



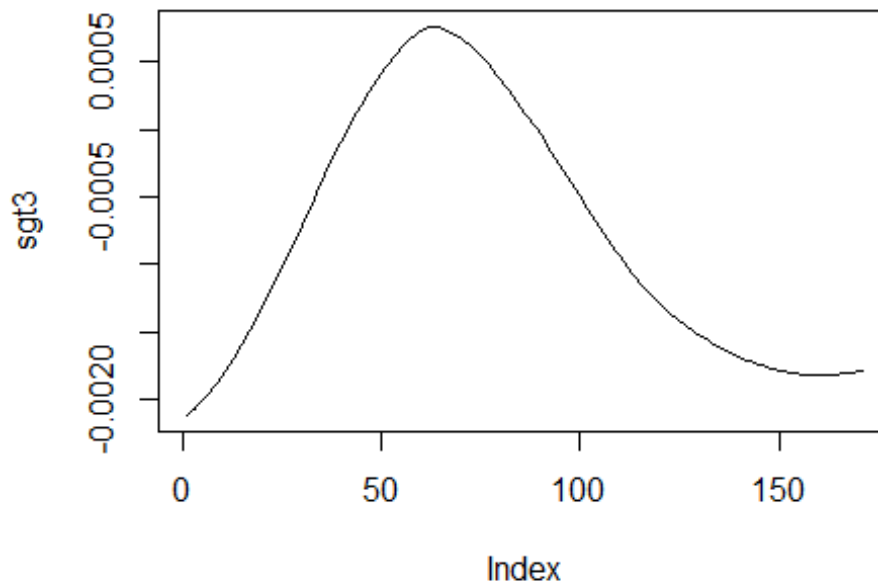
```
sgt2Diffb<-sgolayfilt((Datt2.diffb),p=3,n=sgwp)
```



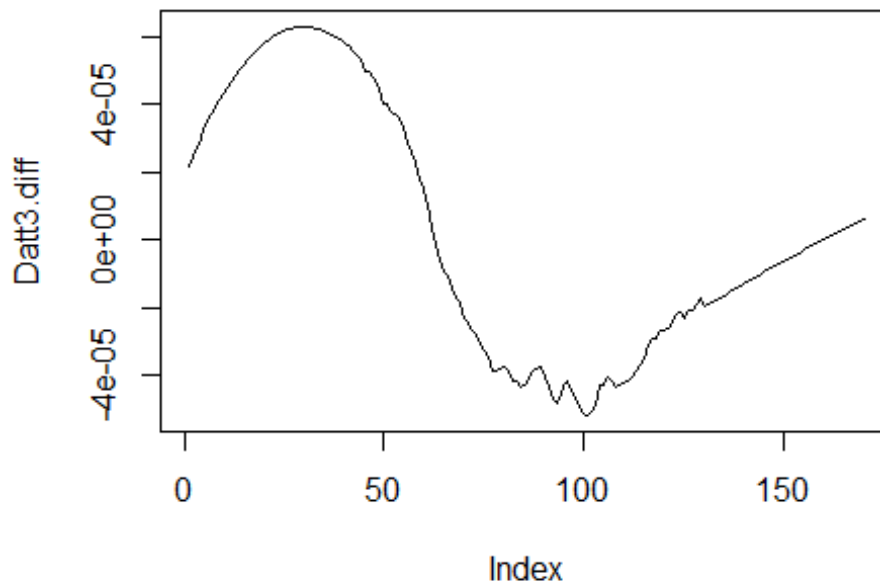
```
# Análisis Hg-Li  
plot(t(Datt3), type="l")
```



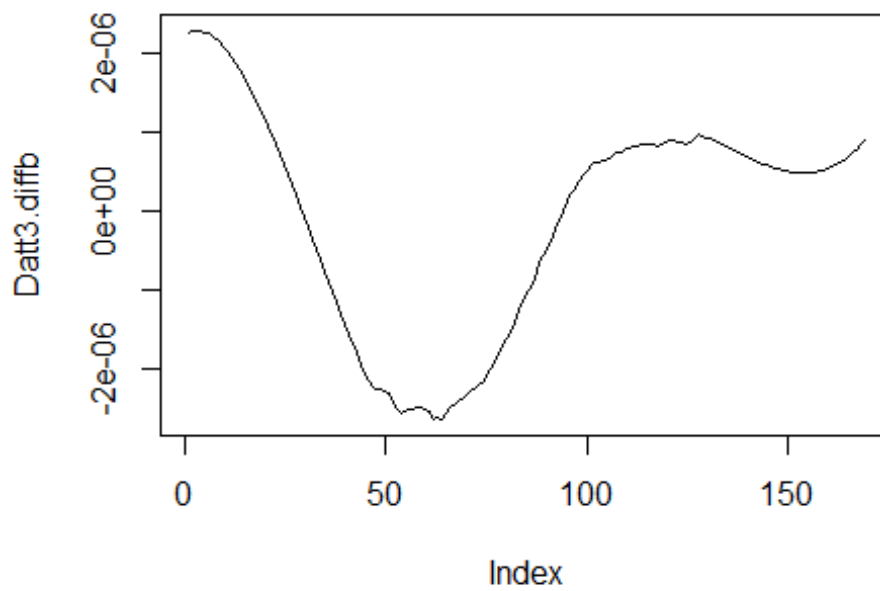
```
sgt3<-sgolayfilt(t(Datt3),p=3,n=sgw)  
plot(sgt3, type = "l")
```



```
Datt3.diff<-apply(t(sgt3),1,diff)  
Datt3.diffb<-sgolayfilt(apply(t(Datt3.diff),1,diff),p=3,n=sgw)  
plot(Datt3.diff, type="l")
```

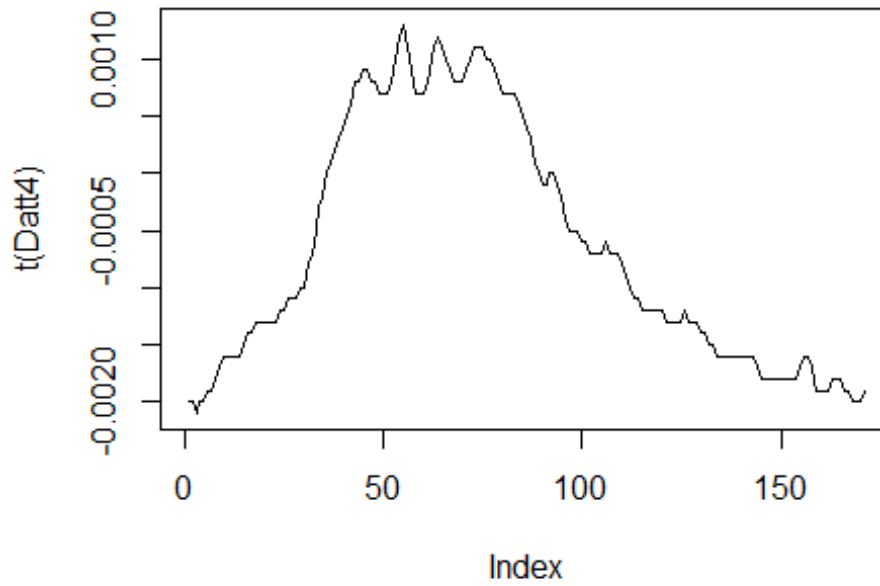


```
plot(Datt3.diffb,type="l")
```

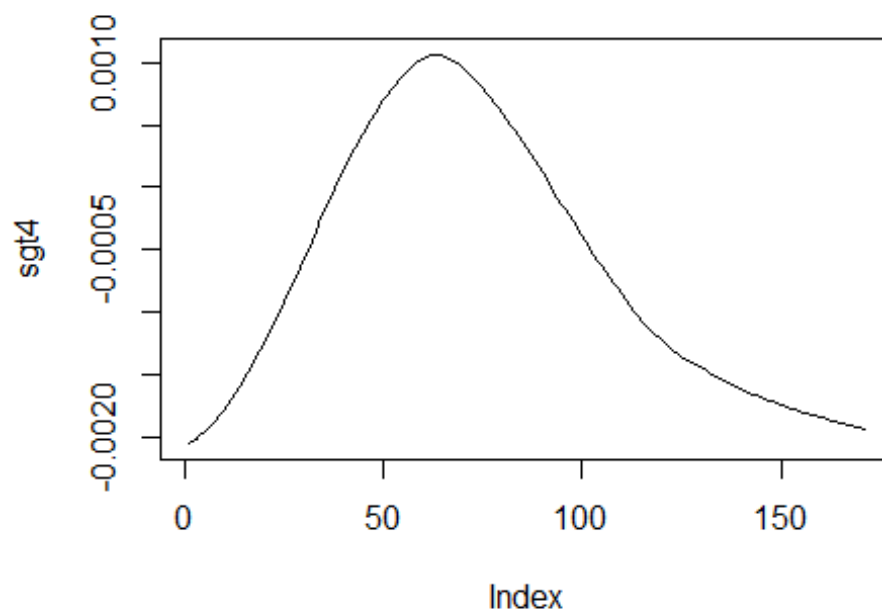


```
sgt3Diffb<-sgolayfilt((Datt3.diffb),p=3,n=sgwp)
```

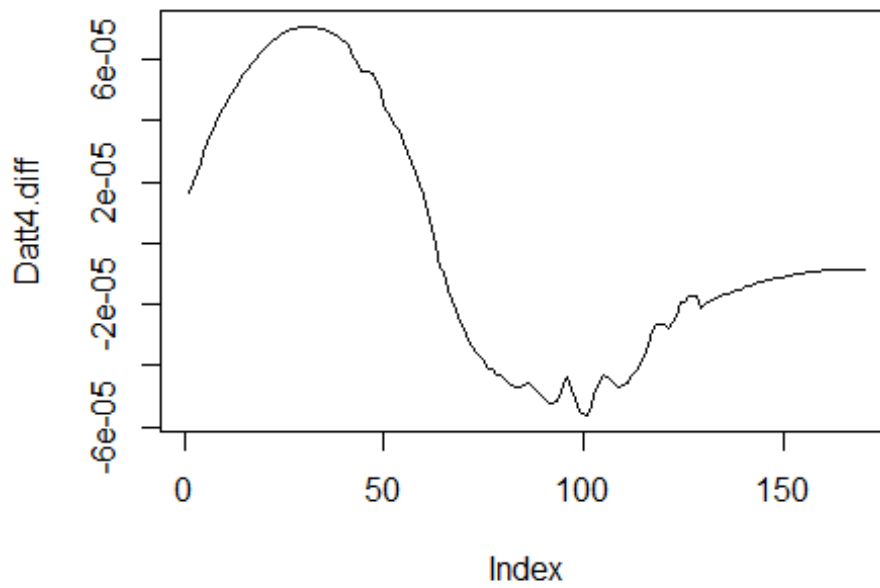
```
# Análisis Hg-Hi  
plot(t(Datt4), type="l")
```



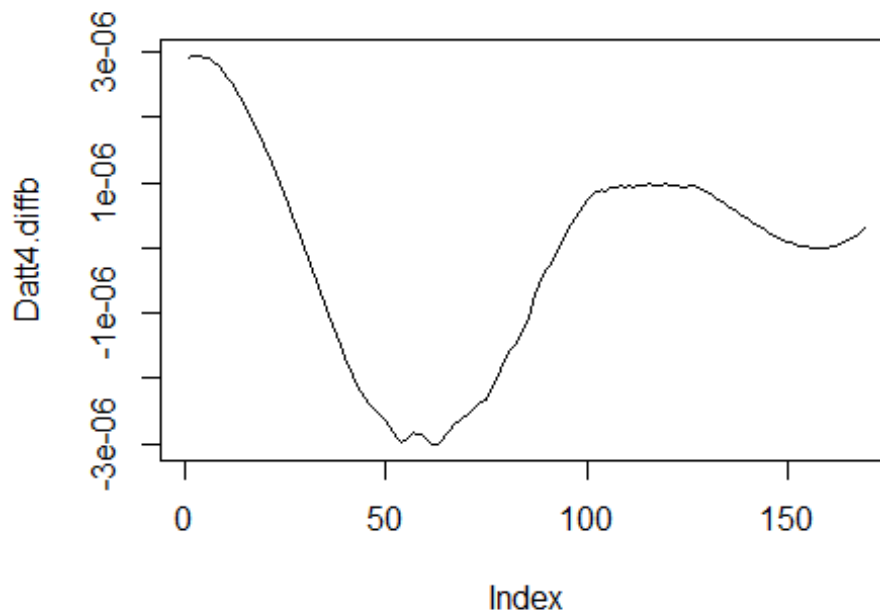
```
sgt4<-sgolayfilt(t(Datt4),p=3,n=sgw)  
plot(sgt4, type = "l")
```



```
Datt4.diff<-apply(t(sgt4),1,diff)  
Datt4.diffb<-sgolayfilt(apply(t(Datt4.diff),1,diff),p=3,n=sgw)  
  
plot(Datt4.diff, type="l")
```



```
plot(Datt4.diffb,type="l")
```



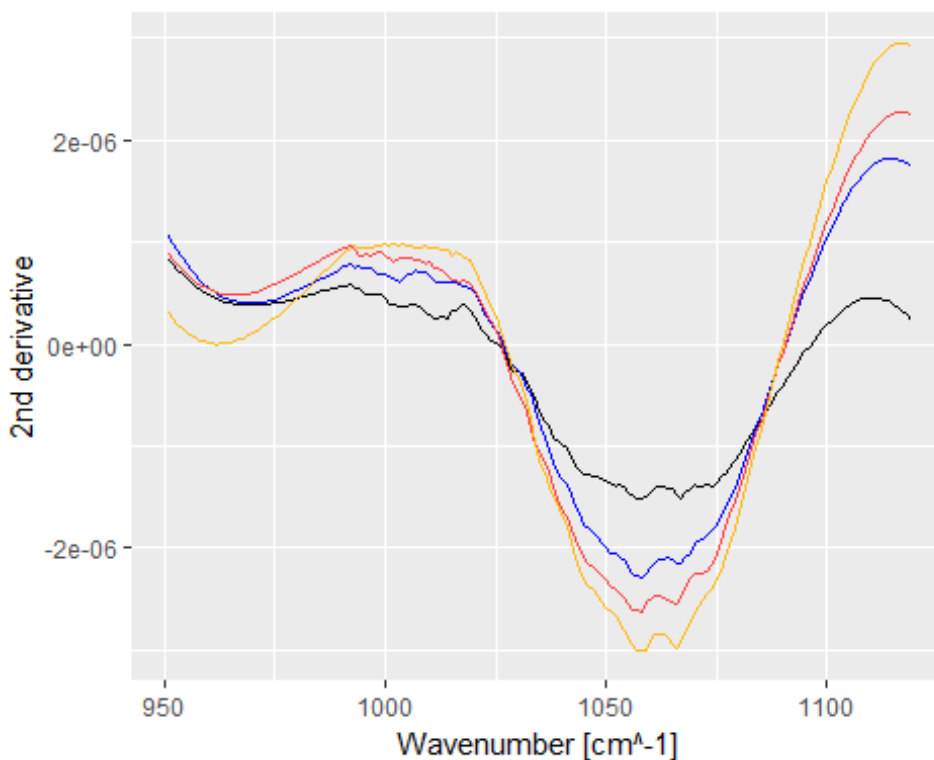
```
sgt4Diffb<-sgolayfilt((Datt4.diffb),p=3,n=sgwp)
#Graficando
```

```

#Data frame 2da derivada
dif2<- data.frame(wavenum,Datt1.diffb,Datt2.diffb,Datt3.diffb, Datt4.diff
b)
ggplot(dif2, aes(wavenum)) + # basic graphical object
  geom_line(aes(y=Datt1.diffb), colour="black") + # First layer
  geom_line(aes(y=Datt2.diffb), colour="blue") + # second layer
  geom_line(aes(y=Datt3.diffb), colour="brown1") + # third layer
  geom_line(aes(y=Datt4.diffb), colour="darkgoldenrod1") + # fourth layer
  ylab("2nd derivative")+xlab("Wavenumber [cm^-1]")

## Don't know how to automatically pick scale for object of type data.frame.
Defaulting to continuous.

```

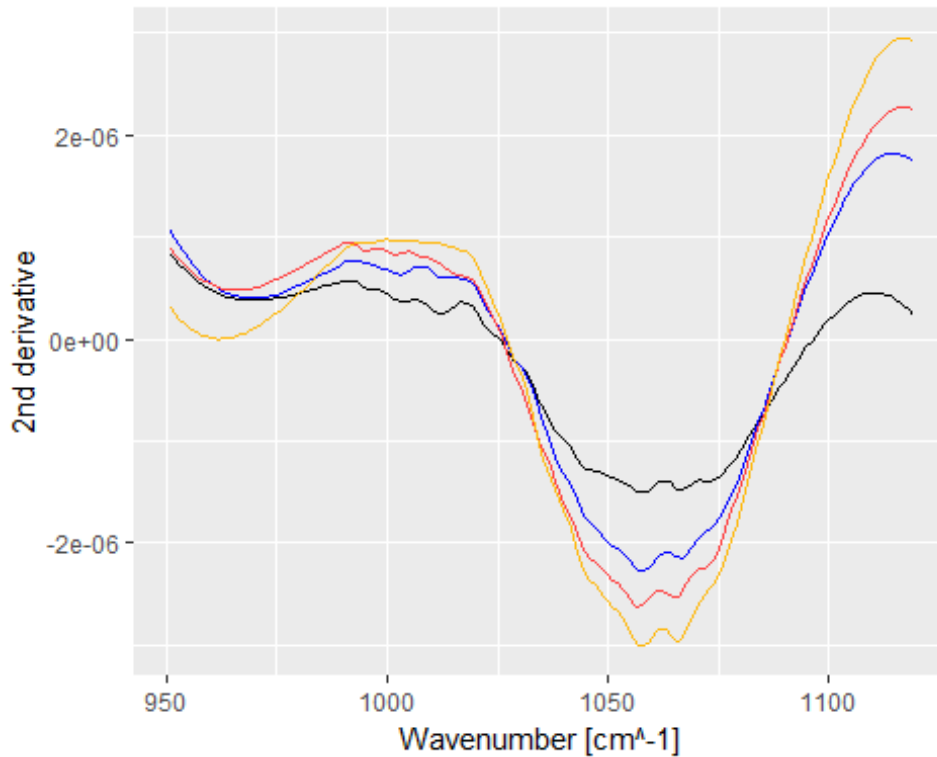


```

#Data frame 2da derivada
sgdif2<- data.frame(wavenum,sgt1Diffb,sgt2Diffb,sgt3Diffb, sgt4Diffb)
ggplot(sgdif2, aes(wavenum)) + # basic graphical object
  geom_line(aes(y=sgt1Diffb), colour="black") + # First layer
  geom_line(aes(y=sgt2Diffb), colour="blue") + # second layer
  geom_line(aes(y=sgt3Diffb), colour="brown1") + # third layer
  geom_line(aes(y=sgt4Diffb), colour="darkgoldenrod1") + # fourth layer
  ylab("2nd derivative")+xlab("Wavenumber [cm^-1]")

## Don't know how to automatically pick scale for object of type data.frame.
Defaulting to continuous.

```



```

#Generación de archivo CSV con resultados
write.csv(sgdif2,file = "2Ktrial2.csv", sep = ",", col.names = NA,qmethod
= "double")

## Warning in write.csv(sgdif2, file = "2Ktrial2.csv", sep = ",", col.names =
## NA, : attempt to set 'col.names' ignored

## Warning in write.csv(sgdif2, file = "2Ktrial2.csv", sep = ",", col.names =
## NA, : attempt to set 'sep' ignored

## Warning in write.csv(sgdif2, file = "2Ktrial2.csv", sep = ",", col.names =
## NA, : attempt to set 'qmethod' ignored

library(pid)

## Loading required package: png
## Loading required package: FrF2
## Loading required package: DoE.base
## Loading required package: grid
## Loading required package: conf.design

```



```
##
## Attaching package: 'DoE.base'

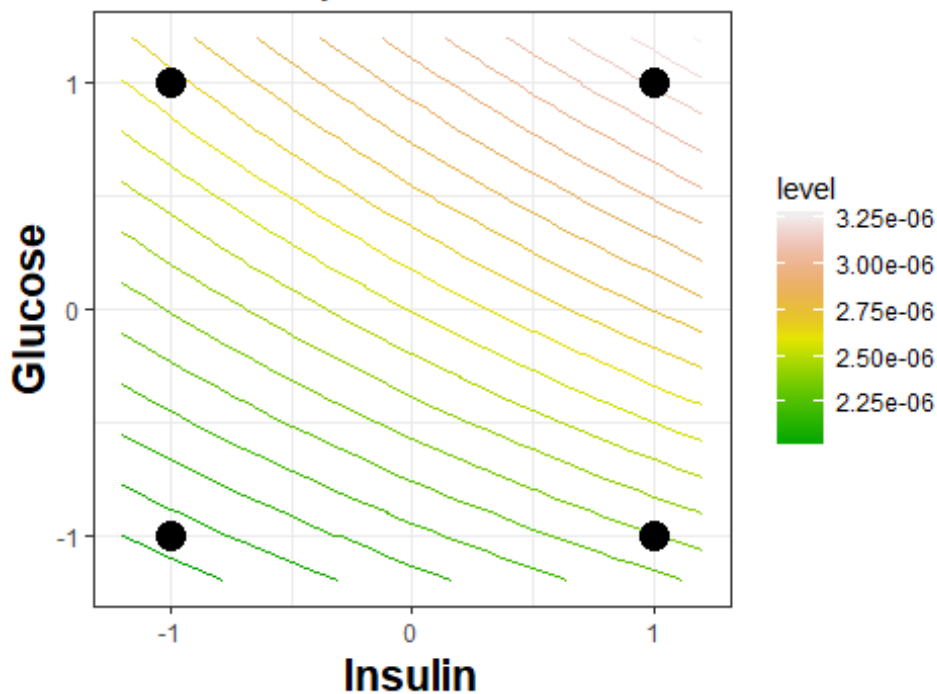
## The following objects are masked from 'package:stats':
##
##   aov, lm

## The following object is masked from 'package:graphics':
##
##   plot.design

## The following object is masked from 'package:base':
##
##   lengths

Insulin<-c(-1,+1,-1,+1,-1,+1,-1,+1,-1,+1,-1,+1,-1,+1,-1,+1,-1,+1)
Glucose<-c(-1,-1,+1,+1,-1,-1,+1,+1,-1,-1,+1,+1,-1,-1,+1,+1,-1,-1,+1,+1)
y<-c(2.12E-06, 2.57E-06, 2.61E-06, 3.12E-06, 2.08E-06, 2.16E-06, 2.66E-06, 3.01E-06, 1.99E-06, 2.19E-06, 2.44E-06, 3.09E-06, 2.12E-06, 2.47E-06, 2.61E-06, 3.31E-06, 1.96E-06, 2.35E-06, 2.96E-06, 3.18E-06)
model<-lm(y~Insulin*Glucose)
contourPlot(model, xlim=c(-1.2, 1.2), ylim=c(-1.2,1.2))
```

Contour plot



```
# Visualize output
model
```

```

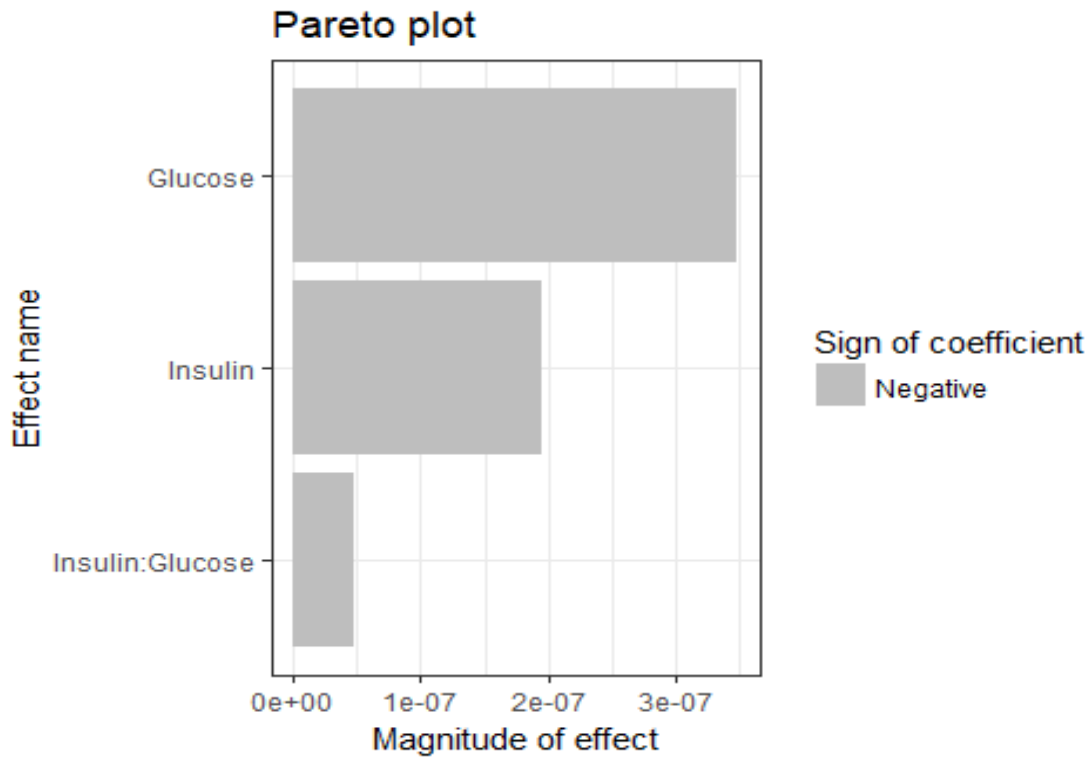
##
## Call:
## lm.default(formula = y ~ Insulin * Glucose)
##
## Coefficients:
##      (Intercept)          Insulin          Glucose  Insulin:Glucose
##      2.55e-06          1.95e-07          3.49e-07          4.80e-08

summary(model)

##
## Call:
## lm.default(formula = y ~ Insulin * Glucose)
##
## Residuals:
##      Min          1Q      Median          3Q          Max
## -2.16e-07 -7.15e-08 -1.00e-08  6.60e-08  3.04e-07
##
## Coefficients:
##              Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
## (Intercept)  2.550e-06  3.262e-08  78.184 < 2e-16 ***
## Insulin      1.950e-07  3.262e-08   5.979 1.93e-05 ***
## Glucose      3.490e-07  3.262e-08  10.701 1.06e-08 ***
## Insulin:Glucose 4.800e-08  3.262e-08   1.472   0.16
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
##
## Residual standard error: 1.459e-07 on 16 degrees of freedom
## Multiple R-squared:  0.905, Adjusted R-squared:  0.8872
## F-statistic: 50.8 on 3 and 16 DF, p-value: 2.12e-08

paretoPlot(model)

```



```
z<-aov(y~Insulin*Glucose)
summary(z)
```

```
##           Df    Sum Sq   Mean Sq F value   Pr(>F)
## Insulin     1 7.605e-13 7.605e-13  35.746 1.93e-05 ***
## Glucose     1 2.436e-12 2.436e-12 114.502 1.06e-08 ***
## Insulin:Glucose 1 4.610e-14 4.610e-14   2.166   0.16
## Residuals   16 3.404e-13 2.130e-14
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```