

Correlación entre glucemia y variantes obtenidas por espectroscopía fotoacústica en diabetes tipo 1 experimental

Lilia Ivonne Olvera Cano*, Guadalupe Cleve Villanueva**, Evelyn Romero Mateos**, Alfredo Cruz Orea***

*Instituto Politécnico Nacional, Escuela Superior de Física y Matemáticas Lindavista. C.P. 07738 Ciudad de México, CDMX
 **Instituto Politécnico Nacional, Escuela Superior de Medicina Casco de Santo Tomas. C.P. 11340 Ciudad de México, CDMX
 ***Centro de Investigación y de Estudio Avanzados del IPN, San Pedro Zacatenco. C.P. 07360 Ciudad de México, CDMX

RESUMEN

Con base en los datos de la Federación Internacional de Diabetes (FID), se estima que hay 463 millones de personas con diabetes en 2019 y se ha calculado que entre 5% al 7% de casos de diabetes corresponden a Diabetes tipo 1 en el mundo, mientras que en México hay 26,578 niños que padecen diabetes tipo 1.

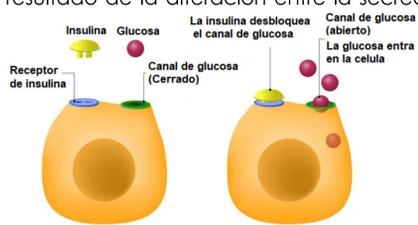
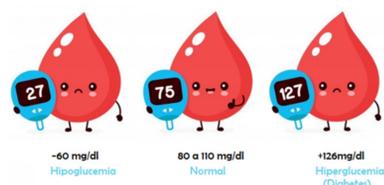
A partir de la problemática descrita sobre la diabetes se ha planteado el objetivo del presente estudio, que consistió en evaluar la relación entre glucemia y la evolución del área bajo la curva de espectros de absorción óptica en muestras de sangre, en un modelo experimental de diabetes tipo 1 mediante la administración de estreptozotocina en ratas Macho Wistar. Se formaron dos grupos de ratas: diabéticas y de control. Las muestras de sangre se tomaron semanalmente de la cola de las ratas durante 10 semanas y se analizaron con una técnica no destructiva, llamada espectroscopía fotoacústica, obteniendo los espectros de absorción óptica de las muestras de sangre.

Obtuvimos que la hiperglucemia se correlacionó positivamente con el área bajo la curva de diferentes picos característicos de la sangre como el pico γ , que está relacionado con la hemoglobina total ($p=0.004$), el área bajo la curva de los picos $\alpha+\beta$ que nos indican la oxihemoglobina ($p=0.003$), el área bajo la curva total de 300 a 800nm que se correlaciona con la HbA1c ($p=0.001$) y el área bajo la curva de P450 ($p=0.001$).

La novedad del estudio es que usando espectroscopía fotoacústica, la cual utiliza pequeñas cantidades de muestras sin dilución, mostró ser sensible a los cambios espectroscópicos en la sangre producidos por la hiperglucemia y se pudo correlacionar significativamente con los espectros obtenidos por espectroscopía fotoacústica y la hiperglucemia, con posibles aplicaciones en el estudio de complicaciones de diabetes a largo plazo.

¿QUÉ ES LA DIABETES?

Es un grupo de enfermedades metabólicas que se caracterizan por glucemia (glucosa en sangre) que están elevadas con respecto a los valores ideal, resultado de la alteración entre la secreción de insulina y la alteración de ella misma.

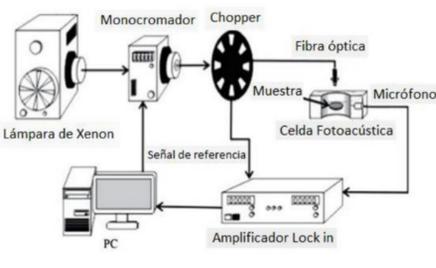
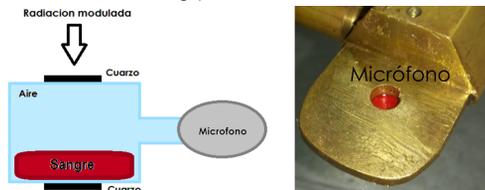


COMPLICACIONES DE LA DIABETES

- Retinopatía** – Visión borrosa hasta que hay pérdida de vista
- Nefropatía** – Se puede desarrollar un fallo renal
- Neuropatía** – Amputaciones provocado por una herida no atendida a tiempo
- Incrementa mortalidad de 2-4 veces un accidente cerebrovascular
- Complicaciones cardiovasculares

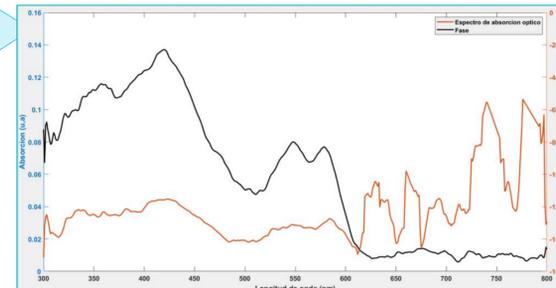
ESPECTROSCOPIA FOTOACÚSTICA

El efecto fotoacústico fue desarrollada y publicada por Allan Rosencwaig y Allen Gersho en 1976.



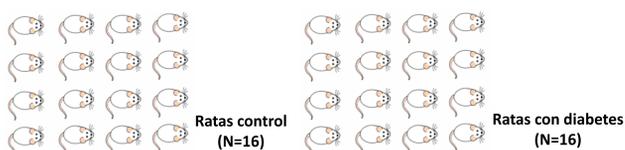
SEPARACIÓN DE LA FASE

Aplicando el método de separación en la fase, se redujeron los espectros de absorción óptica de la banda de Soret, a partir de los espectros originales, y en una banda ancha de 450 nm a 600 nm también se encontró un valor promedio de absorción, a 450 nm, a partir de los espectros obtenidos.



METODOLOGÍA

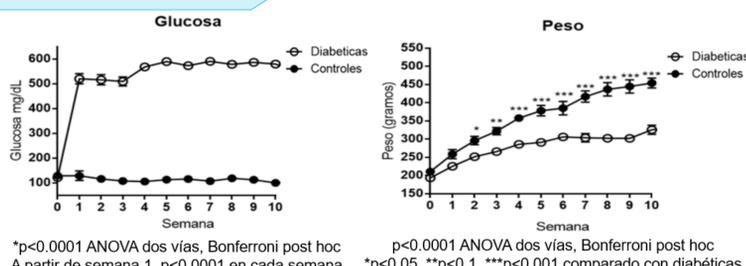
Ratas macho Wistar de 6 semanas de edad y peso de 150 a 180 gr. Y se tomaron dos grupos: Ratas con diabetes y ratas sanas. Semanalmente se registro la evolución de los niveles de peso y glucosa. Se recolecto la sangre de las colas de las ratas en tubos capilares con heparina, este procedimiento se realizó cada semana durante 10 semanas.



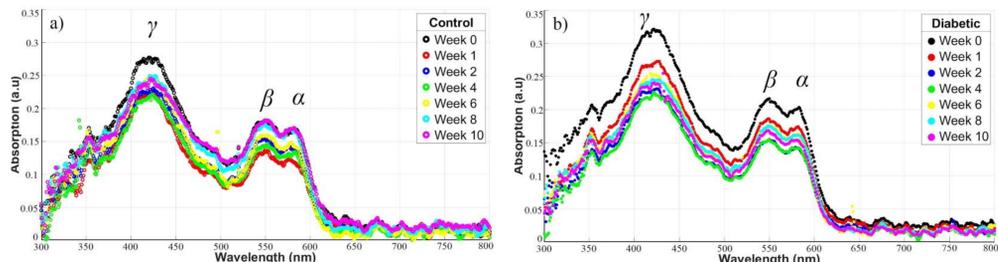
Al grupo con diabetes, se realizó indujo a las ratas con la administración de estreptozotocina (STZ), después de 72 h se comprobó si las ratas tenían una glucosa mayor a 200 mg/dL.

RESULTADOS DEL PESO Y GLUCOSA

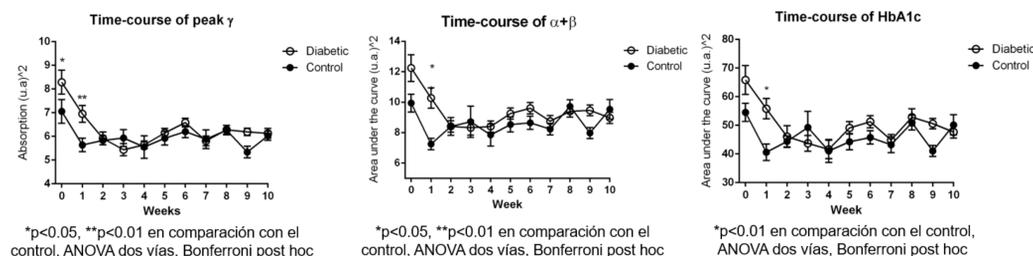
Al realizar el estudio estadístico, podemos observar que en la primera semana, la hiperglucemia grave comenzó desde la primera semana después de la administración de STZ.



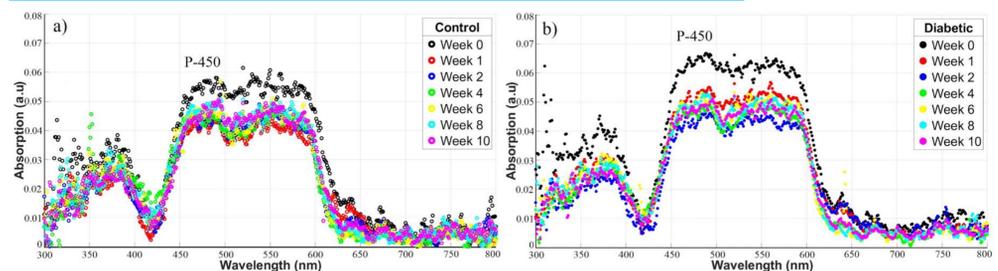
RESULTADOS DE LOS ESPECTROS DE ABSORCIÓN ÓPTICOS



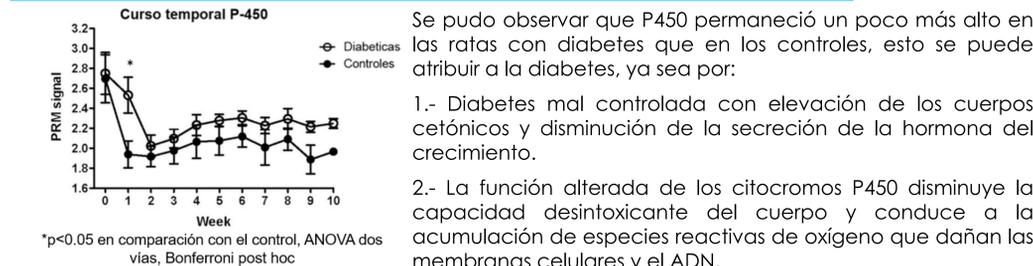
ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LAS ÁREAS BAJO LA CURVA



RESULTADOS USANDO SEPARACIÓN DE LA FASE



ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA SEPARACIÓN DE LA FASE



CORRELACIONES ENTRE GLUCEMIA Y ÁREAS BAJO LA CURVA

Las correlaciones entre la glucemia y el área bajo la curva se muestran en la tabla. Todos los datos se distribuyeron según la glucemia. Se consideró glucemia <200 mg/dl, mientras que la hiperglucemia fue ≥ 200 mg/dl. La correlación se realizó por cada nivel de glucosa individual.

Table 1. Correlation between area under the curve and glycaemia

Area under the curve AU	Glycaemia < 200 mg/dL		Glycaemia ≥ 200 mg/dL	
	p value	r	p value	r
γ	0.363	0.126	0.004	0.239
β	0.821	0.031	0.003	0.245
α	0.929	0.012	<0.0001	0.325
Area 300-800 nm	0.712	0.051	0.001	0.269
$\alpha + \beta$	0.676	0.058	0.003	0.245
p450	0.076	0.243	0.001	0.261

CONCLUSIONES

Correlación significativa con la glucemia ≥ 200 mg/dL y el área bajo la curva:

- **Total que es directamente proporcional con HbA1c, c.** En el grupo con diabetes hay mayor concentración de HbA1c debido a la glucosa en el torrente sanguíneo.
- **De P450.** Se ha observado en la literatura un aumento en la cantidad total del grupo hemo y del citocromo P450, provocando una disminución en la actividad de la hemo-oxigenasa microsomal. Además de este citocromo consume oxígeno en el metabolismo de xenobióticos y producción de radicales libres.
- **De $\alpha+\beta$ donde estos picos nos indican la presencia de oxiHb.** El aumento de glucosa en el torrente sanguíneo induce cambios estructurales de la oxiHb, incluida la transformación del hemo como la globina. Por lo que hay disociación del oxígeno de la Hb. Esto es importante porque podría implicar que la oxiHb, durante la glucosa elevada no brinda una oxigenación óptima.

REFERENCIAS

1. WHO. Global Report on Diabetes. Isbn. 2016;978:6-86.
2. Diabetes DOF. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care. 2009;32(SUPPL. 1):562-567. doi:10.2337/dco9-5062
3. Ogurtsova K, da Rocha Fernandes JD, Huang Y, et al. IDF Diabetes Atlas: Global estimates for the prevalence of diabetes for 2019 and 2045. Diabetes Res Clin Pract. 2019;128:40-50.
4. Ditzel J. DIABETIC VASCULAR DISEASE: The Importance of Insulin Deficiency, Hyperglycemia and Hypophosphatemia on Red Cell Oxygen Unloading. Acta Paediatrica. 1977;66:112-120.
5. Jeffcoat SL. Diabetes control and complications: The role of glycated haemoglobin, 25 years on. Diabet Med. 2004;21(7):657-665. doi:10.1046/j.1464-5491.2003.01065.x
6. Olvera LI, Villanueva GC, Cruz A, Sanchez N, Olvera JS, Alvarado LM. Relationship between haemoglobin and glucose in type 1 experimental diabetes. In: Journal of Physics: Conference Series. Vol 1221. ; 2019:012070. 7. 10. Rosencwaig A. Photoacoustic Spectroscopy of Biological Systems. Photochem Photobiol. 1981;34(6):749-752.

7. Rosencwaig, Allan and Gersho A. Theory of the photoacoustic effect with solids. J Appl Phys. 1976;47:64-69.
8. Pan Q, Guo S, Zhang S, Zhang J, Zhu S. Application of Photoacoustic Spectroscopy to Human Blood. Photoacoustic Phothermal Phenom. Published online 1988:542-545. doi:10.1007/978-3-540-48181-2_146
9. Baldwin JM. A model of co-operative oxygen binding to haemoglobin. Med Res Council. 2018;32(3):213-218.
10. Mallaya M, Shenoy R, Kodyalamole G, Biswas M, Karumathil J, Kamath S. Absorption spectroscopy for the estimation of glycated hemoglobin (HbA1c) for the diagnosis and management of diabetes mellitus: A pilot study. Photomed Laser Surg. 2013;31(5):219-224.
11. Nebert DW, Russell DW. Clinical importance of the cytochromes P450. Lancet. 2002;360(9340):1155-1162. doi:10.1016/S0140-6736(02)11203-7
12. Qiang M, Dannan GA, Guengerich FP, Yang CS. Similarities and differences in the regulation of hepatic cytochrome p-450 enzymes by diabetes and fasting in male rats. Biochem Pharmacol. 1989;38(19):3179-3184.
13. Peters G. Heme degradation by reactive oxygen species. Pacific Journal Rev Te Kaokoa. 2004;10(1):1-238.