

IDENTIFICACIÓN DE POSIBLES BIOMARCADORES DE ENFERMEDADES RENALES EN SUERO SANGUÍNEO MEDIANTE ESPECTROSCOPIA RAMAN.

Espinoza Quintanilla VM^a, Ávila Rodríguez R^a, Vitales Noyola M^b, Alvarado Hernández DL^c

^a Unidad Académica Multidisciplinaria Región Altiplano, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Matehuala, S. L. P., México.

a313005@alumnos.uaslp.mx, raquel.avila@uaslp.mx

^b Laboratorio de Ciencias Básicas, Facultad de Estomatología, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, S. L. P., México.

marlen.vitales@uaslp.mx

^c Departamento de Físico-Matemáticas, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, S. L. P., México.

diana.alvarado@uaslp.mx

RESUMEN

El Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) y el Instituto Nacional de Estadística Geografía (INEGI), reportaron en el 2023 que en México se registran cada año un aproximado de 14,000 muertos a causa de enfermedades renales.

En este proyecto, utilizando espectroscopia Raman, se realiza un análisis comparativo de la caracterización de muestras de suero sanguíneo de tres donadores sanos y nueve pacientes con avances distintos de enfermedades renales, con el propósito de identificar biomarcadores. En el análisis de resultados se visualizan las diferencias y similitudes de los espectros, obteniendo la información sobre las diferentes concentraciones de los compuestos causantes de las principales enfermedades renales, demostrando que la espectroscopia Raman puede ser un método diagnóstico de estas patologías.

Palabras claves: Suero sanguíneo, espectroscopia Raman, diagnóstico

ABSTRAC

The Mexican Institute of Social Security (IMSS) and the National Institute of Geographic Statistics (INEGI) reported in 2023 that in Mexico approximately 14,000 deaths are registered each year due to kidney diseases.

In this project, using Raman spectroscopy, a comparative analysis of the characterization of blood serum samples from three healthy donors and nine patients with different advances of renal diseases is performed in order to identify biomarkers. In the analysis of the results, the differences and similarities of the spectra are visualized, obtaining information about the

different concentrations of the compounds causing the main renal diseases, demonstrating that Raman spectroscopy can be a diagnostic method for these pathologies.

Key words: Blood serum, Raman spectroscopy, diagnostic

1. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades o afecciones renales son la incapacidad progresiva e irreversible del riñón para mantener sus funciones normales, siendo estas unas de las causas más frecuentes de mortalidad en México y en el mundo. Se trata de trastornos considerados una enfermedad catastrófica, término que la salud pública otorga a los padecimientos que presentan un incremento en el número de casos, altos costos de inversión, recursos humanos, materiales limitados por la detección y referencia tardía [1].

La espectroscopia Raman es una técnica empleada para el análisis cuantitativo de prácticamente cualquier material ya sea orgánico o inorgánico, proporciona en pocos segundos información química y estructural del compuesto estudiado, permitiendo así, su identificación. La espectroscopia Raman se fundamenta en la interacción con un haz de luz monocromática, en la cual, una pequeña parte de la luz se dispersa de manera inelástica, resultando en sutiles modificaciones de la frecuencia que son distintivas para el material en cuestión. Posteriormente, la frecuencia registrada se representa gráficamente y se utiliza para identificar los grupos funcionales predominantes, junto con la evaluación de su intensidad espectral [2].

El objetivo de este estudio es caracterizar y comparar el suero sanguíneo de tres donadores sanos y nueve pacientes con enfermedades renales en estadios diferentes de la enfermedad. Se utiliza la espectroscopia Raman para determinar los posibles biomarcadores característicos y obtener información sobre la presencia, ausencia y concentración de diferentes moléculas y compuestos, como aminoácidos, proteínas, lípidos y carbohidratos.

2. TEORÍA

La espectroscopia se originó como el estudio de la interacción entre radiación y materia en función de la longitud de onda. Actualmente la espectroscopia comprende el uso de los efectos de absorción, emisión o dispersión de radiación electromagnética por la materia con el objetivo de estudiar cualitativa o cuantitativamente la materia. La espectroscopia Raman es una técnica poderosa que se utiliza para analizar los grupos funcionales activos presentes en el suero sanguíneo, es una técnica espectroscópica utilizada en química y física de la materia condensada para estudiar los modos de baja frecuencia en un sistema. Se basa en la dispersión inelástica de luz monocromática, generalmente de un láser, que interactúa con excitaciones en el sistema [3]. La espectroscopia Raman es una técnica no invasiva y prometedora que se utiliza para el análisis de muestras biológicas, como el suero sanguíneo.

El suero sanguíneo es la fracción líquida de la sangre obtenida después de la coagulación. Contiene una amplia gama de compuestos químicos, incluyendo proteínas, lípidos, carbohidratos, metabolitos y electrólitos. Estos componentes desempeñan funciones vitales en

el organismo, como el transporte de nutrientes, la eliminación de desechos y la regulación del equilibrio ácido-base. [4].

Al aplicar la espectroscopia Raman al suero sanguíneo, es posible identificar y cuantificar biomarcadores y cambios metabólicos asociados con enfermedades renales. Por ejemplo, se ha demostrado que la concentración de ácido siálico en el suero sanguíneo puede variar en grupos control, pacientes con gingivitis y pacientes que padecen periodontitis [5]. Además, la espectroscopia Raman amplificada de superficie (SERS) puede ser utilizada para caracterizar y obtener información sobre los grupos funcionales activos en el suero sanguíneo para detectar enfermedades renales [6].

Las enfermedades renales son un problema de salud significativo en México. Según datos recientes, la enfermedad renal crónica (ERC) afecta a una proporción considerable de la población mexicana. Factores como la diabetes, la hipertensión y la obesidad contribuyen al aumento de los casos de enfermedad renal en el país. Además, la falta de acceso a servicios médicos adecuados y la falta de conciencia sobre la importancia de la detección temprana agravan aún más la situación. [7]

En el contexto de las enfermedades renales, la espectroscopia Raman ha demostrado su capacidad para detectar alteraciones bioquímicas asociadas con estas enfermedades. Los estudios han revelado cambios en la concentración y distribución de compuestos como proteínas, lípidos y metabolitos en el suero sanguíneo de pacientes con enfermedad renal. [8]

Los problemas renales en México, particularmente la enfermedad renal crónica y la diabetes tipo 2, representan una carga significativa para el sistema de salud [9]. La espectroscopia Raman puede identificar cambios bioquímicos sutiles en el suero sanguíneo que pueden indicar la presencia de enfermedad renal en etapas tempranas, lo que permite una intervención temprana y un mejor manejo de la enfermedad y puede proporcionar información en tiempo real sobre la progresión de la enfermedad renal, lo que ayuda a los médicos a evaluar la eficacia de los tratamientos y ajustarlos según sea necesario.

En un estudio realizado por Staritzbichler y cols, se evaluó la aplicación potencial de la espectroscopia Raman en laboratorios médicos para una variedad de biomarcadores. El estudio analizó espectros Raman de muestras de suero sanguíneo de pacientes con enfermedad hepática utilizando algoritmos matemáticos y validó los resultados en muestras independientes. Se encontró que la espectroscopia Raman tiene un alto potencial para cuantificar múltiples biomarcadores en diagnósticos de laboratorio médico. La prevención del sobreajuste y la validación de datos independientes son importantes en los estudios de espectroscopia Raman [10]. Otro estudio utilizó la espectroscopia Raman para analizar muestras de orina y se identificaron genes clave expresados diferencialmente en la enfermedad renal crónica [11].

3. PARTE EXPERIMENTAL

Para la parte experimental se empleó un análisis comparativo, metodología que implica elaborar la comparación sistemática de diferentes muestras o grupos con el fin de identificar

similitudes y diferencias en las variables de interés. En este caso, se realizó una comparación entre los diferentes ejemplares de suero sanguíneo mostrados en la Figura 1. La obtención de muestras utilizadas, tanto de pacientes sanos como de aquellos que padecen enfermedades, fueron obtenidas en colaboración con un profesional con experiencia en el campo correspondiente y con el previo consentimiento informado de los pacientes involucrados. Las muestras fueron adquiridas exclusivamente con el propósito de servir como material de investigación en el contexto de este estudio.



Figura 1. Muestras de suero sanguíneo

Para la preparación de muestras, con una pipeta se depositó cada suero sanguíneo en cubetas para espectrofotetría. En la realización de las mediciones se utilizó un espectrómetro Raman marca Ocean Optics modelo QE65000 con una potencia de 499 mW y una luz láser de 785 nm, el espectrómetro empleado se puede visualizar en la Figura 2. El procesamiento de datos se desarrolló mediante el software Origin 2018.

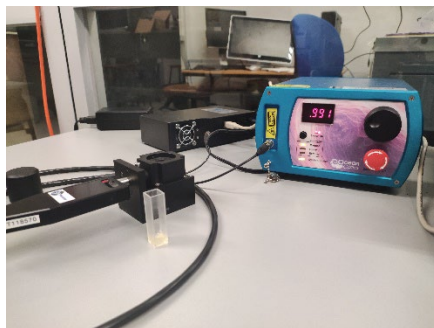


Figura 2. Espectrómetro Raman

3.1 Resultados

Los resultados se compararon visualmente a través de tres gráficas distintas mostradas en la Figura 3. En la primera gráfica, se agruparon los espectros obtenidos a partir del suero sanguíneo de donadores sanos. En la segunda gráfica, se presentaron los datos de los pacientes que padecen alguna enfermedad renal. La tercera gráfica, permitió la comparación de un espectro de un donador sano con el de un paciente que presenta deficiencia renal.

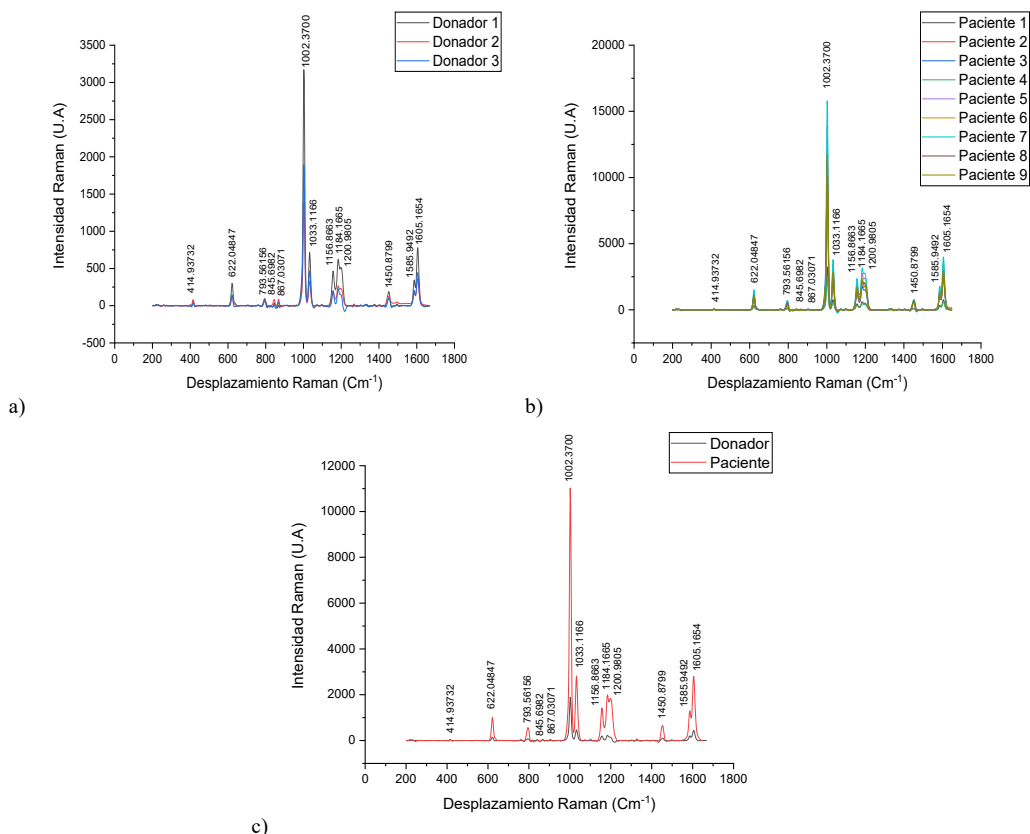


Figura 3. a) Espectros de donadores sanos, b) Espectros de pacientes con enfermedades renales, c) Comparación del espectro de un donador sano con un paciente con afección renal

Al examinar las gráficas, se observó que todos los espectros mostraron picos en rangos de frecuencia similares. Sin embargo, la diferencia notable se encontró en la intensidad de estas frecuencias. La intensidad refleja la cantidad de un compuesto específico presente en la muestra analizada. A través de esta comparación, se pudo apreciar que la intensidad de todos los picos en los espectros de los pacientes con enfermedad renal difiere significativamente de la de los donadores sanos.

Cada pico en el espectro corresponde a la presencia de un grupo funcional particular en una molécula, el procesamiento de datos y la caracterización se visualizan en la Tabla 1. Los grupos funcionales son conjuntos de átomos unidos químicamente que tienen características y propiedades específicas. Estos grupos funcionales agrupan diferentes compuestos químicos que comparten enlaces químicos similares.

Al identificar los picos y asignarlos a grupos funcionales conocidos, podemos inferir la presencia de compuestos químicos que contienen esos grupos funcionales en la muestra analizada. Por ejemplo, si encontramos un pico característico de un grupo funcional de Amidas, podemos deducir que hay compuestos químicos en la muestra que contienen enlaces de tipo peptídicos.

Tala 1. Caracterización de frecuencias Raman para determinar grupos funcionales activos

Frecuencia Raman (cm-1)	Rango de Frecuencia	Nombre del grupo	Grupo Funcional Raman	Compuestos Químicos
414.93732	400-600	Proteínas	Amidas	Albúmina, Globulinas, Fibrinógeno, Enzimas, Anticuerpos, Creatinina, Urea, Alanina, Prolina, Valina, Treonina, Lisina, Glutamina, Glutamato, Leucina, Isoleucina, Serina, Asparagina, Aspartato, Glicina, Fenilalanina, Tirosina, Triptófano, Metionina, Cisteína.
622.04847	600-800	Azúcares	Carbohidratos	Glucosa, Fructosa, Galactosa, Manosa, Xilosa, Ribosa, Arabinosa, Lactosa, Maltosa, Sacarosa.
793.56156	750-900	Proteínas/ Lípidos	Colina/ Fosfolípidos	Prolina, Hidroxiprolina, Glicina, Serina, Alanina, Glutamina y Asparagina, Colina, Fosfatidilcolina, Fosfatidiletanolamina, Fosfatidilinositol, Fosfatidilserina, Esfingomielina.
845.6982	800-900	Proteínas/ Lípidos	Proteínas/ Lípidos	Prolina, Hidroxiprolina, Glicina, Serina, Alanina, Glutamina, Asparagina, Colina, Fosfatidilcolina, Fosfatidiletanolamina, Fosfatidilinositol, Fosfatidilserina, Esfingomielina.
867.03071	800-900	Proteínas/ Lípidos	Proteínas/ Lípidos	Prolina, Hidroxiprolina, Glicina, Serina, Alanina, Glutamina, Asparagina, Colina, Fosfatidilcolina, Fosfatidiletanolamina, Fosfatidilinositol, Fosfatidilserina, Esfingomielina.
1002.3700	900-1100	Lípidos	Ésteres	Prolina, Hidroxiprolina, Glicina, Serina, Alanina, Glutamina, Asparagina, Colina, Fosfatidilcolina, Fosfatidiletanolamina, Fosfatidilinositol, Fosfatidilserina, Esfingomielina.
1033.1166	1000-1100	Proteínas/ Lípidos	Amidas/ Ésteres	Beta-caroteno, Licopeno, Amidas de Ácidos Grasos, Fosfolípidos, Colesterol Esterificado.
1156.8663	1100-1200	Proteínas	Amidas	Glucosa, Colágeno, Elastina, Albumina, Globulinas, Fibrinógeno, Hemoglobina, Mioglobina, Proteínas de fase aguda (CRP, haptoglobina, etc.), Creatinina.
1184.1665	1100-1200	Proteínas	Amidas	Prolina, Hidroxiprolina, Glicina, Serina, Alanina, Glutamina y Asparagina, Fenilalanina, Tirosina, Triptófano, Histidina.
1200.9805	1100-1300	Aminoácidos/ Ácidos Nucleicos	Aminoácidos/ Ácidos Nucleicos	Prolina, Hidroxiprolina, Glicina, Serina, Alanina, Glutamina y Sparagina, Ácidos nucleicos (ADN, ARN).

1450.8799	1400-1500	Proteínas	Amidas	Ácidos Grasos, Triglicéridos, Fosfolípidos, Amidas de Aminoácidos y Urea.
1585.9492	1500-1600	Proteínas	Amidas	Prolina, Hidroxiprolina, Glicina, Serina, Alanina, Glutamina y Asparagina, Amidas de Proteínas (I, II, III, IV, V), Ácido Úrico.
1605.1654	1500-1700	Proteínas	Amidas	Prolina, Hidroxiprolina, Glicina, Serina, Alanina, Glutamina y Asparagina, Amidas de Proteínas (I, II, III, IV, V), Creatinina.

4. CONCLUSIONES

La metodología utilizada, análisis comparativo, en el procesamiento de los espectros obtenidos mediante espectroscopia Raman de suero sanguíneo aporta información sobre grupos funcionales activos de cada muestra. Los picos presentados en los espectros de donadores sanos y pacientes con enfermedades renales difieren en la intensidad Raman, además se localizaron picos característicos de grupos funcionales, lo que podría mostrar la posibilidad de utilizar la espectroscopia Raman como una herramienta altamente sensible para la detección temprana y diferenciación de enfermedades renales, ya que cada pico representa un grupo funcional distinto que podría servir como indicador de la presencia de alguna deficiencia renal específica. La notable variación en las intensidades de los espectros indica la posible existencia de rangos de intensidad que podrían ser considerados para determinar la salud de una persona, lo que podría tener un impacto significativo en la atención médica y el diagnóstico de estas condiciones.

Sin embargo, es necesario realizar un mayor número de pruebas, así como comparar los resultados con estándares de referencia para respaldar plenamente la hipótesis.

5. REFERENCIAS

- [1] Wein, A. J., Kavoussi, L. R., Partin, A. W., & Peters, C. A. (2016). Campbell-Walsh Urology.
- [2] Willard, H. H. (1991). Métodos instrumentales de análisis.
- [3] Gutiérrez Cano, V., & Otero Márquez, J. (diciembre de 2014). Espectroscopia Raman: Fundamento y aplicaciones. Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/280720782_Espectroscopia_Raman_Fundamento_y_aplicaciones
- [4] K. T. Pattanaik, R. V. R. Murthy, and P. S. Pandiyan, "Serum: The Platinum Standard in Liquid Biopsy," Trends Biomater. Artif. Organs, vol. 33, no. 1, pp. 2–7, 2019.
- [5] Hernández Cedillo, A. (2019). Estudio del ácido siálico en saliva como biomarcador clínico para la implementación de una herramienta adicional en el tamizaje de cáncer cervicouterino, lesiones precancerosas y enfermedad periodontal [Master's thesis, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Facultad de Ciencias, CIACYT-UASLP]. Recuperado de

<http://www.fc.uaslp.mx/pca/tesis/2019Maestria/Hern%C3%A1ndezCedilloAlondra-Maestria201991.pdf>

- [6] Mendoza Sánchez, A. N. (2011). Estudio de las propiedades ópticas y dosimétricas del nano conjugado ^{99m}Tc -EDDA/HYNIC-GGC-AUNP-BOMBESINA por efecto del tamaño de nana partícula (Tesis de maestría en ciencias con especialidad en física médica). Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares, Facultad de Medicina, Toluca, México. Recuperado de <https://www.osti.gov/etdeweb/servlets/purl/21471615>
- [7] Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI), "Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino 2016," 2016.
- [8] A. J. Berger, I. Itzkan, and M. S. Feld, "Mechanical model of Raman excitation of biological media," *J. Phys. Chem. B*, vol. 101, no. 29, pp. 5780–5789, 1997.
- [9] Delrue, C., & Speeckaert, M. M. (2022). The potential applications of Raman spectroscopy in kidney diseases. *Journal of Personalized Medicine*, 12(10), 1644. <https://doi.org/10.3390/jpm12101644>
- [10] Staritzbichler, R., Hunold, P., Irina, E., Hildebrand, P. W., Isermann, B., & Kaiser, T. (2021). Raman spectroscopy on blood serum samples of patients with end-stage liver disease. *PLOS ONE*, 16(9), e0256045. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0256045>
- [11] Kong, X., Liang, H., An, W., Bai, S., Miao, Y., Qiang, J., Wang, H., Zhou, Y., & Zhang, Q. (2023). Rapid identification of early renal damage in asymptomatic hyperuricemia patients based on urine Raman spectroscopy and bioinformatics analysis. *Frontiers in Chemistry*, 11. <https://doi.org/10.3389/fchem.2023.1045697>