

**CARACTERIZACION DE BANDAS POR ESPECTROSCOPIA INFRARROJA
POR TRANSFORMADA RAPIDA DE FOURIER, NUEVA OPCION COMO
DIAGNOSTICO PRECOZ DE DIABETES MELLITUS**

GIOVANNI AGAPITO GONZÁLEZ PEÑA

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
POPAYÁN
2007**

**CARACTERIZACION DE BANDAS POR ESPECTROSCOPIA INFRARROJA
POR TRANSFORMADA RAPIDA DE FOURIER, NUEVA OPCION COMO
DIAGNOSTICO PRECOZ DE DIABETES MELLITUS**

GIOVANNI AGAPITO GONZÁLEZ PEÑA

**Directora general: M.Sc. CRUZ MARINA TORRES CAICEDO
Profesora titular Departamento de Química**

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
POPAYÁN
2007**

Nota de aceptación

Directora: Cruz marina Torres

Jurado: Mg. Isabel Bravo

Jurado: Dr. Fabiola E. González

Popayán, 07 de Septiembre de 2007.

AGRADECIMIENTOS

Doy gracias a Dios y a mi madre Teresa, por estar presente en una mas de mis etapas y poder compartir con mis hermanos Mario y Juliana este logro tan importante en la vida

Gracias a la profesora Cruz Marina por enseñarme a ver la química desde otra perspectiva mas placentera y ayudarme a cumplir con este objetivo tan importante en esta carrera. Agradezco a las Doctoras Fabiola González y Victoria Eljach del grupo BIONESMI por brindarme su apoyo en este trabajo y al Doctor Vargas en conjunto con su grupo de bacteriólogas.

TABLA DE CONTENIDO

		Página
1.	INFORMACIÓN GENERAL DEL PROYECTO	13
2.	RESUMEN	14
3.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	16
4.	OBJETIVOS	17
4.1.	Objetivos generales	17
4.2.	Objetivos específicos	17
5.	HIPOTESIS	18
6.	MARCO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE	19
6.1.	DIABETES MELLITUS	19
6.2.	FISIOPATOLOGÍA DE LA DIABETES	20
6.3.	TIPOS DE DIABETES MELLITUS	30
6.4.	SÍNTOMAS DE LA DIABETES	31
6.5.	DIAGNÓSTICO CLÍNICO	32
6.6.	COMPLICACIONES AGUDAS DE LA DIABETES	33
6.7.	COMPLICACIONES DE LA DIABETES MELLITUS A LARGO PLAZO	35
6.8.	PERSPECTIVAS DE LA ENFERMEDAD	36
6.9.	TERAPIA DE SUSTITUCIÓN CON INSULINA	39
6.10.	AUTOCONTROL DE LA DIABETES (HIPERGLICEMIA)	40
6.11.	ESPECTROSCOPIA INFRARROJA	41

6.11.1.	ESPECTROSCOPIA INFRARROJA POR TRANSFORMADA RÁPIDA DE FOURIER (FTIR)	43
6.11.2.	IMPORTANCIA DEL ANÁLISIS ESPECTROSCOPIA INFRARROJA CON TRANSFORMADA RÁPIDA DE FOURIER	44
6.12.	TEST DE CHI-CUADRADO	46
7.	MÉTODOS	50
7.1.	METODOLOGÍA GENERAL	50
7.2.	MATERIALES E INSTRUMENTACIÓN	52
7.2.1.	Reactivos	52
7.2.2.	Equipos y materiales	52
7.3.	DESCRIPCIÓN DE LA TÉCNICA	53
7.3.1.	Pre-tratamiento de la muestra	53
8.	DATOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS	54
8.1.1.	SUERO DE PACIENTES NO DIABÉTICOS	54
8.1.2.	SUERO DE PACIENTES DIABÉTICOS	54
8.1.3.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO Y ESPECTRAL DE SUERO DIABÉTICO Y SUERO NO DIABÉTICO	61
8.1.3.1.	Banda representativa de 881 cm⁻¹	61
8.1.3.2.	Banda representativa de 952 cm⁻¹	63
8.1.3.3.	Banda representativa de 1043 cm⁻¹	64
8.1.3.4.	Banda representativa de 1076 cm⁻¹	66
8.1.3.5.	Banda representativa de 1239 cm⁻¹	68
8.1.3.6.	Banda representativa de 1384 cm⁻¹	69

8.1.3.7.	Banda representativa de 1405 cm ⁻¹	70
8.1.3.8.	Banda representativa de 1451 cm ⁻¹	72
8.1.3.9.	Banda representativa de 1468 cm ⁻¹	74
8.1.3.10.	Banda representativa de 1521 cm ⁻¹	76
8.1.3.11.	Banda representativa de 1538 cm ⁻¹	77
8.1.3.12.	Banda representativa de 1551 cm ⁻¹	79
8.1.3.13.	Banda representativa de 1646 cm ⁻¹	81
8.4.	ANÁLISIS DE LAS BANDAS QUE PRESENTAN MAYOR ASOCIACIÓN	84
8.4.1.	Combinación de las bandas de absorción de 1043-1521-1076 cm ⁻¹	84
8.4.2.	Combinación de las bandas 1043-1076 cm ⁻¹	86
8.5.	ANÁLISIS ESPECTRAL DE LAS BANDAS 1043, 1521 Y 1076 cm⁻¹	92
9.	CONCLUSIONES	103
10.	RECOMENDACIONES	104
10.1.	PROGRAMA DE MUESTREO	104
10.2.	TIPO DE MUESTRA ANALIZAR	105
11.	BIBLIOGRAFIA	106

Tablas de Contenido que Reporta el Listado de Tablas

Tabla N° 1.	Consecuencias características de la diabetes	37
Tabla N° 2.	Tabla de contingencia	47
Tabla N° 3.	Bandas más representativas para el suero no diabético	55
Tabla N° 4.	Bandas mas representativas para el suero Diabético	56
Tabla N° 5.	Tabla de contingencia para la banda de absorción a 881 cm ⁻¹	61
Tabla N° 6.	Pruebas de Chi-cuadrado para la banda de 881 cm ⁻¹	62
Tabla N° 7.	Tabla de contingencia para la banda de absorción de 952 cm ⁻¹	63
Tabla N° 8.	Pruebas de Chi-cuadrado para la banda de 952 cm ⁻¹	63
Tabla N°9.	Tabla de contingencia para la banda 1043 cm ⁻¹	65
Tabla N°10.	Pruebas de Chi-cuadrado para la banda de 1043 cm ⁻¹	65
Tabla N°11.	Tabla de contingencia para la banda 1076 cm ⁻¹	66
Tabla N°12.	Pruebas de Chi-cuadrado para la banda de 1076 cm ⁻¹	67
Tabla N°13.	Tabla de contingencia para la banda 1239 cm ⁻¹	68
Tabla N°14.	Pruebas de Chi-cuadrado para la banda de 1239 cm ⁻¹	68
Tabla N°15.	Tabla de contingencia para la banda de absorción de 1384 cm ⁻¹	69
Tabla N°16.	Pruebas de Chi-cuadrado para la banda 1384 cm ⁻¹	70
Tabla N°17.	Tabla de contingencia para la banda de absorción de 1405 cm ⁻¹	71
Tabla N°18.	Pruebas de Chi-cuadrado para la banda de 1405 cm ⁻¹	71
Tabla N°19.	Tabla de contingencia para la banda de absorción de 1451 cm ⁻¹	72

Tabla N°20.	Pruebas de Chi-cuadrado para la banda de 1451 cm ⁻¹	73
Tabla N°21.	Tabla de contingencia para la banda de absorción de 1468 cm ⁻¹	74
Tabla N°22.	Pruebas de Chi-cuadrado para la banda de 1468 cm ⁻¹	75
Tabla N°23.	Tabla de contingencia para la banda de absorción de 1521 cm ⁻¹	76
Tabla N°24.	Pruebas de Chi-cuadrado para la banda de 1521 cm ⁻¹	76
Tabla N°25.	Tabla de contingencia para la banda de absorción de 1538 cm ⁻¹	78
Tabla N°26.	Pruebas de Chi-cuadrado para la banda de 1538 cm ⁻¹	78
Tabla N°27.	Tabla de contingencia para la banda de absorción de 1551 cm ⁻¹	79
Tabla N°28.	Pruebas de Chi-cuadrado para la banda de 1551 cm ⁻¹	80
Tabla N°29.	Tabla de contingencia para la banda de absorción de 1646 cm ⁻¹	81
Tabla N°30.	Pruebas de Chi-cuadrado para la banda de 1646 cm ⁻¹	81
Tabla N°31.	Tabla de contingencia para la banda de absorción de 1043-1521-1076 cm ⁻¹	85
Tabla N°32.	Pruebas de Chi-cuadrado para las bandas de 1043-1521-1076 cm ⁻¹	85
Tabla N°33.	Tabla de contingencia para las bandas de absorción de 1043-1076 cm ⁻¹	86
Tabla N°34.	Pruebas de Chi-cuadrado para las bandas de 1043-1076 cm ⁻¹	87
Tabla N°35.	Tabla de contingencia para la banda de absorción de 1043-1521 cm ⁻¹	87

Tabla N°36.	Pruebas de Chi-cuadrado para las bandas de 1043-1521 cm^{-1}	88
Tabla N°37.	Tabla de contingencia para la banda de absorción de 1521-1076 cm^{-1}	88
Tabla N°38.	Pruebas de Chi-cuadrado para las bandas de 1521-1076 cm^{-1}	89
Tabla N°39	Incidencias de las bandas representativas	89

Listado de figuras

Figura N° 1.	Metabolismo de polisacáridos, lípidos y proteínas	20
Figura N° 2.	Función reguladora del páncreas en la concentración de la glucosa en la sangre	21
Figura N° 3.	Reacción general de la glucólisis	22
Figura N° 4.	Esquema de la glucólisis	23
Figura N° 5.	Destinos del Piruvato	24
Figura N° 6.	Ciclo de Krebs o ciclo ácido tricarboxílico	25
Figura N° 7.	Síntomas de la Diabetes Mellitus	26
Figura N° 8.	Salida del oxalacetato de la mitocondria	27
Figura N° 9	Esquema General de la Gluconeogénesis	27
Figura N° 10.	Esquema de la Beta-oxidación	28
Figura N° 11.	Formación de los cuerpos cetónicos	29
Figura N° 12.	Destrucción de las células Beta	30
Figura N° 13.	Inactivación de los receptores insulínicos	31
Figura N° 14.	Cuerpos cetónicos	34
Figura N° 15.	Diabetes Mellitus, órganos afectados más frecuentemente	38
Figura N° 16.	Espectro electromagnético	43
Figura N° 17.	Gráfica de contingencia	49
Figura N° 18.	Banda representativa de 881 cm ⁻¹	62
Figura N° 19.	Banda representativa de 952 cm ⁻¹	64
Figura N° 20.	Banda representativa de 1043 cm ⁻¹	66

Figura N° 21.	Banda de absorción de 1076 cm ⁻¹	67
Figura N° 22.	Banda de absorción de 1239 cm ⁻¹	69
Figura N° 23.	Banda de absorción de 1384 cm ⁻¹	70
Figura N° 24.	Banda de absorción de 1405 cm ⁻¹	72
Figura N° 25.	Banda de absorción de 1451 cm ⁻¹	73
Figura N° 26.	Banda de absorción de 1468 cm ⁻¹	75
Figura N° 27.	Banda de absorción de 1521 cm ⁻¹	77
Figura N° 28.	Banda de absorción de 1538 cm ⁻¹	79
Figura N° 29.	Banda de absorción de 1551 cm ⁻¹	80
Figura N° 30.	Banda de absorción de 1646 cm ⁻¹	82
Figura N° 31.	Espectro de comparación de suero, albúmina, glucosa y urea	83
Figura N° 32.	Comparación de espectros de suero, albúmina, glucosa, urea con espectro de suero no diabético	83
Figura N° 33.	Incidencia de las bandas	90
Figura N° 34.	Incidencias representativas	91
Figura N° 35.	Espectro de los carbohidratos	92
Figura N° 36.	Bandas representativas de 1043 y 1076 cm ⁻¹	93
Figura N° 37.	Espectro de sangre entera	94
Figura N° 38.	Banda de absorción de la glucosa	94
Figura N° 39.	Espectro de referencia de un diabético y no diabético	95
Figura N° 40.	Espectro de comparación de suero, albúmina, glucosa, urea y espectro de suero diabético	96

Figura N° 41.	Comparación del espectro no diabético	97
Figura N° 42.	Espectro de la glucosa	98
Figura N° 43.	Espectro de la mezcla glucosa-diabético	99
Figura N° 44.	Bandas características de los diabéticos tipo I	100
Figura N° 45.	Banda de absorción de 1521 cm^{-1}	100
Figura N° 46.	Espectro de comparación para la banda de 1521 cm^{-1}	101

1. INFORMACIÓN GENERAL DEL PROYECTO

Título: Caracterización de bandas por Espectroscopia Infrarroja por Transformada Rápida de Fourier (FT-IR), nueva opción como diagnóstico precoz de diabetes.

Tesista: Giovanni Agapito González Peña.

Grupos de investigación: Grupo de Órganometálica y Compuestos de Coordinación del Departamento de Química, Facultad de Ciencias Naturales Exactas y de la Educación y el Grupo Bioinorgánica y Espectroscopía Vibracional al Servicio de la Microbiología (Bioinesmi) de la Facultad de Ciencias de la Salud, de la Universidad del Cauca.

Lugar de ejecución: Laboratorio de Química Órganometálica y Laboratorio de Microbiología y Parasitología y la Unidad Metabólica del departamento de Medicina Interna de la Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad del Cauca.

Duración del proyecto: 8 meses.

Tipo de investigación: Investigación aplicada.

Financiación: Grupo de Organometálica y BIONESMI

2 RESUMEN

En esta investigación se analizaron 25 muestras de suero de pacientes con diabetes Mellitus (DM) y 29 muestras de suero de pacientes no diabéticos (glicemia normal), por la técnica analítica de Espectroscopia Infrarroja por Transformada Rápida de Fourier. Los datos o resultados obtenidos por los espectros fueron procesados estadísticamente utilizando parámetros comunes, obteniéndose valores más relevantes comprendidos en la región de 2000-800 cm^{-1} .

Con los valores más relevantes comprendidos en la región de 2000 y 800 cm^{-1} , se llevo acabo la comparación de los valores más sobresalientes de los espectros para pacientes con Diabetes Mellitus con los pacientes no diabéticos (glicemia normal), y de este modo resaltar cuales son las bandas más representativas para un paciente diabético, y de este modo poder hacer un diagnostico precoz a pacientes que presentan este tipo de bandas características.

Para este análisis investigativo se utilizó la Bioestadística, por ser una herramienta eficaz que permite asociar los datos obtenidos en el laboratorio, con cualquier proceso investigativo. Se utilizó el método de Chi-cuadrado de Pearson, que es una asociación de variables cualitativas o categóricas, lo que permite asociar cualquier banda representativa con el Espectro infrarrojo obtenido de un paciente diabético o de un paciente no diabético, siempre y cuando su valor de la asintótica bilateral del valor de Chi cuadrado de Pearson esté por debajo de 0.05. Es importante anotar que no es estadística paramétrica

Las bandas más representativas obtenidas fueron: 1043 ± 5 , 1076 ± 5 y 1521 ± 5 cm^{-1} , ya que para la prueba de Chi-cuadrado de Pearson estas bandas presenta un valor de la asintótica bilateral de 0.001 para 1043 ± 5 cm^{-1} , 0.014 para 1076 ± 5 cm^{-1} , y 0.029 para 1521 ± 5 cm^{-1} , que es menor de 0.05, por lo que están asociadas con los espectros infrarrojos del suero de pacientes diabéticos o no diabéticos.

Bandas a 1043 y 1076 cm^{-1} , representan el enlace éter C-O, C-O-C, por que se encuentran en el rango de 1151-1020 cm^{-1} , este tipo de enlace corresponde al enlace de la glucosa, por este motivo se observa en los espectros diabéticos la presencia de este carbohidrato, por que la diabetes es una enfermedad en la cual la sangre es saturada por la glucosa. Para los espectros no diabéticos existe una

banda significativa de 1521 cm^{-1} que corresponde a una amina secundaria, esta banda juega un papel fundamental para el diagnóstico, puesto que los diabéticos no la presentan en su espectro infrarrojo.

Con lo anterior se puede establecer que la Espectroscopia Infrarroja con Transformada Rápida de Fourier y el Método de Chi-cuadrado de Pearson, se pueden implementar como técnicas analíticas, para el diagnóstico precoz de enfermedades de fluidos biológicos, ya que permite el reconocimiento de grupos funcionales de las sustancias, de una forma rápida y fiable, dado que un espectro de una muestra biológica refleja una huella dactilar, que cambia con las variaciones químicas que presenta una enfermedad, lo que facilita la detección de ésta.

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El diagnóstico de esta enfermedad a tiempo es de vital importancia para el paciente, actualmente dicho diagnóstico se efectúa mediante un seguimiento metabólico. Por ello, hoy en día es necesario implementar el uso de técnicas analíticas novedosas y de bajo costo, sin llevar a cabo un seguimiento metabólico del paciente y evitar su molestia. Por ello se trata de implementar la técnica de Espectroscopia Infrarrojo con Transformada Rápida de Fourier como técnica en el diagnóstico precoz de la Diabetes Mellitus. (30)

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVOS GENERALES

- ❖ Utilizar la Espectroscopia Infrarroja por Transformada Rápida de Fourier como parámetro o herramienta en el diagnóstico aproximado de la Diabetes Mellitus.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ❖ Identificar por Espectroscopia Infrarroja por Transformada Rápida de Fourier (FT-IR), las bandas específicas en suero de personas diabéticas y personas no diabéticas.
- ❖ Caracterizar bandas típicas y representativas de la glucosa y de cuerpos cetónicos en la sangre de diabéticos y no diabéticos y de este modo establecer sus diferencias.
- ❖ Comparar la especificidad y sensibilidad de técnicas de rutina empleadas en los laboratorios clínicos para el diagnóstico de diabetes con los resultados obtenidos por Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier.
- ❖ Formar un banco de espectros de Diabetes Mellitus que pueda ser utilizado en los hospitales y clínicas como diagnóstico precoz de esta enfermedad

5 HIPOTESIS

Para esta investigación se utilizará la Espectroscopia infrarrojo con Transformada Rápida de Fourier como diagnóstico precoz de la diabetes, ya que se tomará el espectro infrarrojo para muestras de suero de pacientes con glicemia normal y espectros para pacientes con Diabetes Mellitus. El estudio que se llevará a cabo para esta investigación es dilucidar como el aumento de la glucosa y de los cuerpos cetónicos en el suero genera cambios en los desplazamientos de absorción en el espectro infrarrojo, en los pacientes con Diabetes Mellitus y de este modo hacer la comparación con el espectro de pacientes con glicemia normal, el cual se utilizará como patrón para observar los cambios de absorción del espectro infrarrojo en la región media. (16)

6 MARCO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE

6.1 LA DIABETES MELLITUS

La Diabetes Mellitus es un padecimiento crónico que afecta múltiples sistemas caracterizado por hiperglicemia (niveles anormalmente elevados de la glucosa en sangre). La alta acumulación de glucosa en la sangre es originada por la insuficiencia o reconocimiento de la insulina por las células productoras de energía química, que requiere nuestro organismo, para cumplir las diferentes funciones fisiológicas. Las células productoras de energía se encuentran en los tejidos periféricos como músculo, hígado, cerebro y tejido adiposo. (2)

La falta de producción o el uso inapropiado de la insulina crea un nivel excesivo de azúcar en la sangre. Y de este modo la glucosa (azúcar) no puede ingresar normalmente a las células, acumulándose en la sangre, lo cual se denomina hiperglicemia (azúcar elevado en la sangre) esta acumulación de glucosa en la sangre lleva a que el organismo genere una serie de características anormales y por ello, ésta se elimine en grandes cantidades en la orina, arrastrando tras de sí un volumen importante de agua corporal (POLIURIA=orina en cantidades mayores), produciéndose un estado de deshidratación secundaria, lo cual, hace que el organismo trate de compensar esta pérdida de líquido mediante el aumento de la sed, lo que obliga a la persona afectada a consumir grandes cantidades de líquido (polidipsia). Los síntomas anteriores son los que manifiestan que el organismo está siendo saturado por una alta concentración de glucosa. (18)(13).

Pero este problema de la falta de ingreso de glucosa a la célula no solo produce el problema de la hiperglicemia, sino que trae consigo una serie de problemas metabólicos, y esto conlleva a que las células, tejidos y órganos no puedan trabajar adecuadamente, por lo que no pueden cumplir con sus funciones normales, manifestándose con cansancio, falta de deseo de hacer las cosas, entre otras. (9)

Como el cuerpo humano requiere de la energía necesaria para llevar a cabo las funciones cotidianas, hace que el organismo aumente la sensación de hambre y la persona comienza a ingerir mayores cantidades de alimento (polifagia), lo que conlleva a que los lípidos y proteínas administradas en la dieta o almacenadas en el organismo se metabolicen para ser transformados en glucosa dentro del organismo y de este modo se acumule sin poder ingresar a las células,

generando consigo una alta acumulación de glucosa en el organismo produciéndose así una mayor hiperglicemia con el consecuente círculo vicioso negativo. (10)

La diabetes es una enfermedad silenciosa y muy peligrosa que día tras día sigue en aumento. Según lo Organización Mundial de Salud, a nivel global hay aproximadamente 143 millones de personas con Diabetes mellitus, América latina presenta el 25%, con 35 millones de personas enfermas, de las cuales Colombia presenta 2,1 millones de personas que padecen esta enfermedad. (19)(20)

6.2 FISIOPATOLOGÍA DE LA DIABETES

La Diabetes Mellitus es una enfermedad generada por la alta acumulación de glucosa en la sangre, por la insuficiencia o reconocimiento de insulina. La insulina es una hormona que desempeña un papel importante en los procesos metabólicos de la economía por control del almacenamiento y metabolismo de los combustibles metabólicos ingeridos en la dieta (polisacáridos, lípidos y proteínas), en la figura 1 se indica el metabolismo de polisacáridos, lípidos y proteínas.

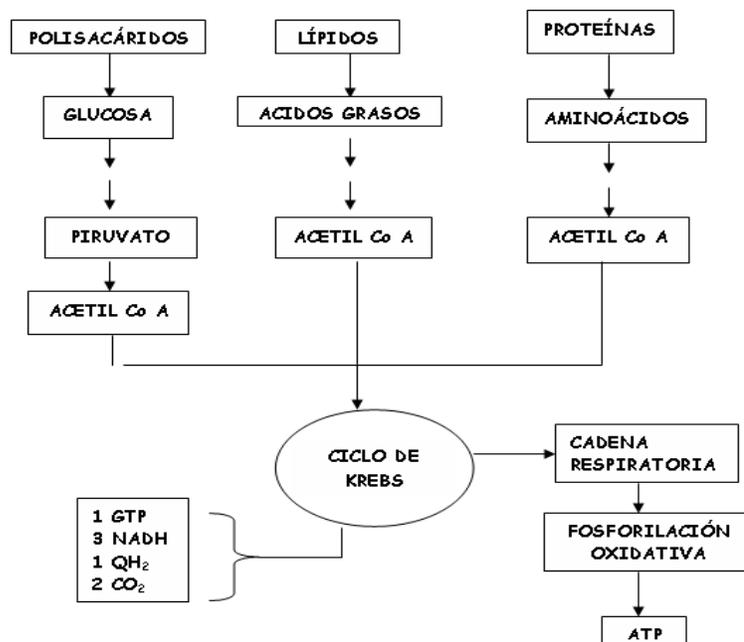


Figura 1. Metabolismo de polisacáridos, lípidos y proteínas

Después de una comida, la secreción de insulina facilita la captación, utilización y almacenamiento de glucosa, aminoácidos y lípidos. Estimula el depósito de glucógeno en el hígado, la utilización de glucosa en los músculos y la acumulación de grasa en el tejido adiposo.

la función de la insulina es regular el nivel de la glucosa en la sangre, ya que permite el ingreso de la glucosa de la parte externa hacia la parte interna de la célula, donde se produce la energía química, por ende ,en forma general, la insulina mantiene la concentración normal de la glucosa en el torrente sanguíneo, cuando la concentración se encuentra por encima de los niveles normales que requiere nuestro organismo; la figura N° 2 indica la función reguladora de la insulina, en la concentración de la glucosa en la sangre.(17)

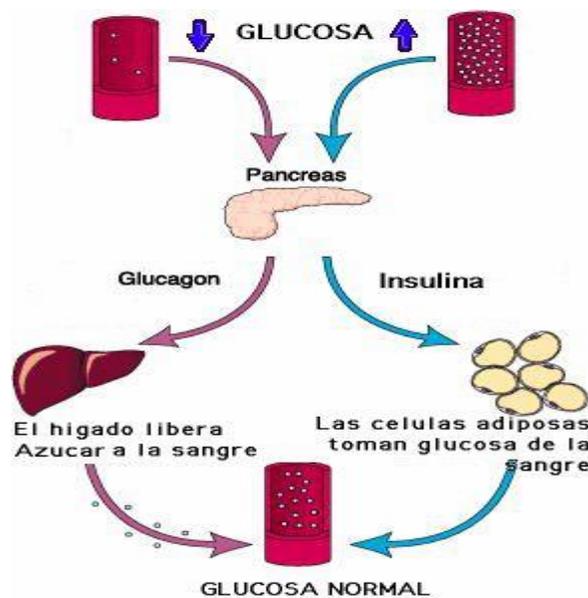


Figura 2.Función reguladora del páncreas en la concentración de la glucosa en la sangre

En la persona sana la frecuencia con la cual es liberada la insulina por el páncreas es proporcional a la cantidad de glucosa en la sangre. En condiciones normales, las células *beta* estimulan o detienen la secreción de insulina minuto a minuto, según los niveles cambiantes de glucosa en sangre. En presencia de diabetes, no es secretada insulina en proporción a los niveles de glucosa en la sangre debido a la insuficiencia o reconocimiento de ella.

La insulina al interactuar con los receptores insulínicos IRS1 y IRS2 de la célula, activa a la proteína periférica 3 quinasa (PI3K) encargada de activar a la proteína integral Glut 4 cuya función es transportar la glucosa de la parte externa hacia la parte interna de la célula en forma activa y facilitada. Una vez dentro de la célula, se lleva a cabo los dos tipos de degradación: Aeróbica (citoplasma) y Anaeróbica (mitocondria). (9)(13)

En el citoplasma se lleva a cabo la degradación aeróbica denominada glucólisis (rompimiento de glucosa), este proceso consiste en degradar una molécula de glucosa y obtener dos moléculas de piruvato, y sus respectivos nucleótidos; en la figura 3 indica la degradación aeróbica (glucólisis)

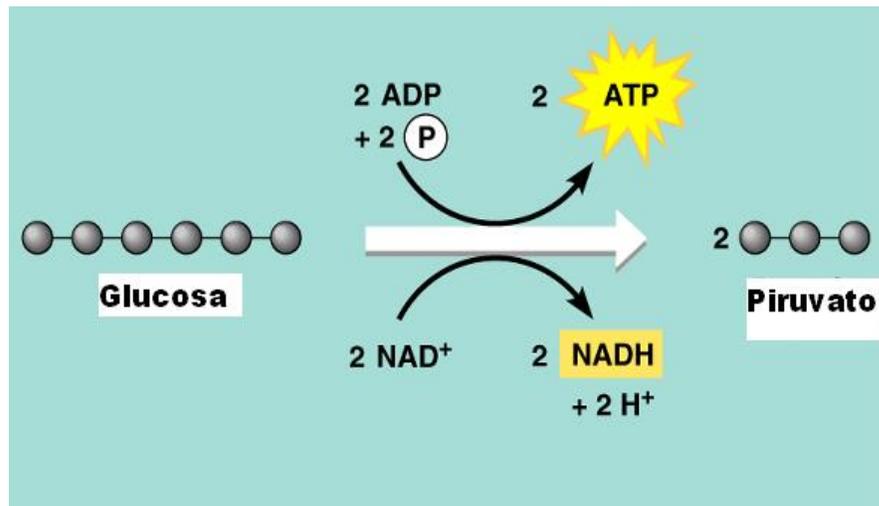


Figura 3.Reacción general de la glucólisis

Las reacciones que componen la degradación aeróbica se pueden agrupar en dos fases:

- a. Fase 1 .Etapa de activación con consumo de 2 moléculas de ATP, desde la glucosa hasta gliceraldehido 3 fosfato.
- b. Fase 2 .Reacciones de degradación del gliceraldehido 3 fosfato a piruvato con producción de 4 moléculas de ATP y 2 nucleótidos reducidos (NADH); en la figura 4 se indica el proceso metabólico de la glucosa.

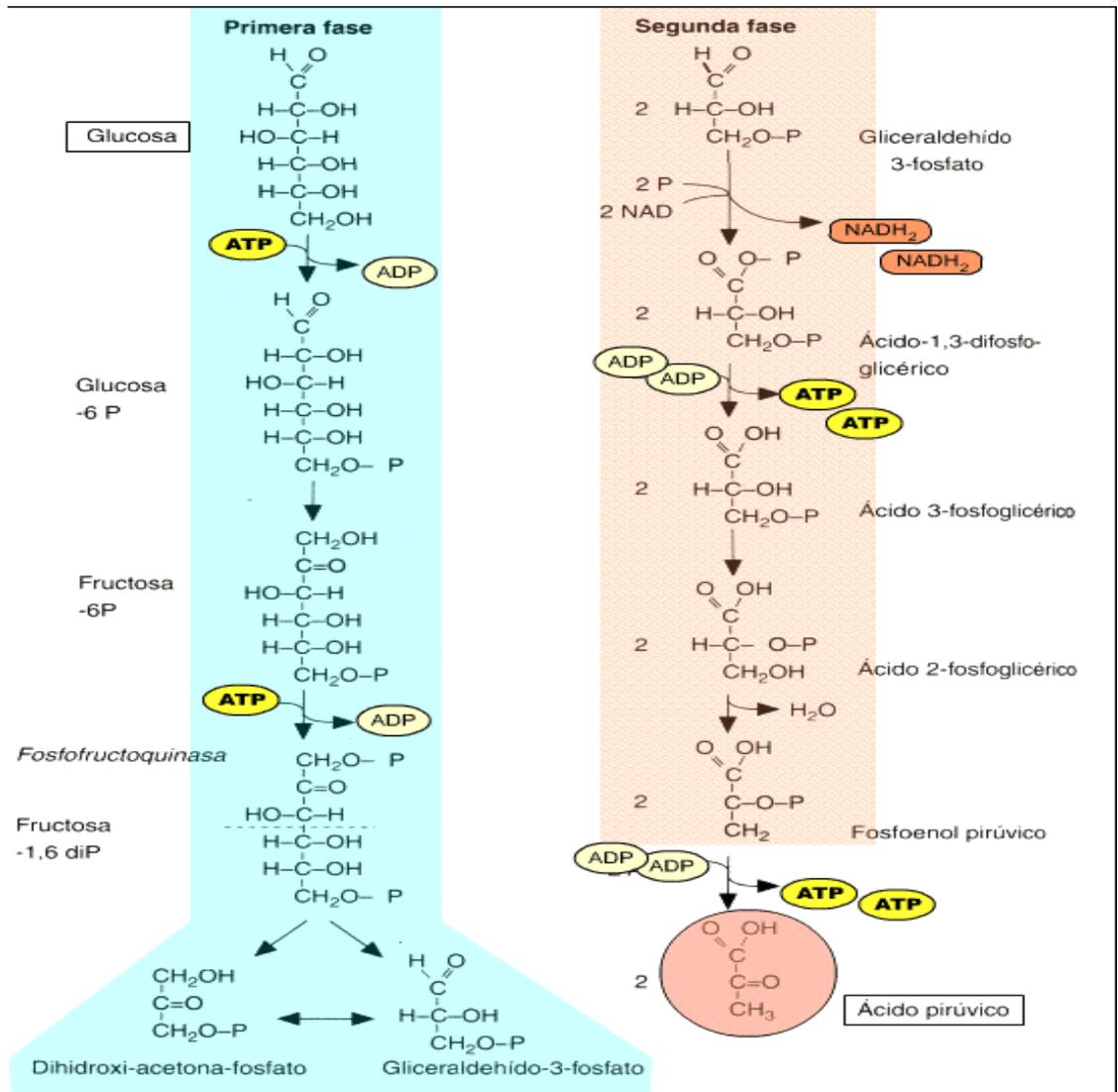


Figura 4. Esquema de la glucólisis

El piruvato puede dar origen a tres derivados: lactato, etanol y acetil CoA; las dos primeras se obtienen en condiciones anaeróbicas, mientras que el tercero requiere la presencia de oxígeno.

La formación de etanol solo se presenta en algunos microorganismos, con el fin de evitar la acidez propia del ácido láctico. En el cuerpo humano se presenta el lactato y acetil CoA. En condiciones aeróbicas, el piruvato pasa del citósol a la mitocondria, donde sufre una descarboxilación oxidativa transformándose en Acetil CoA, la figura N° 5 indica la formación del Acetil CoA a partir del piruvato en condiciones anaeróbica.

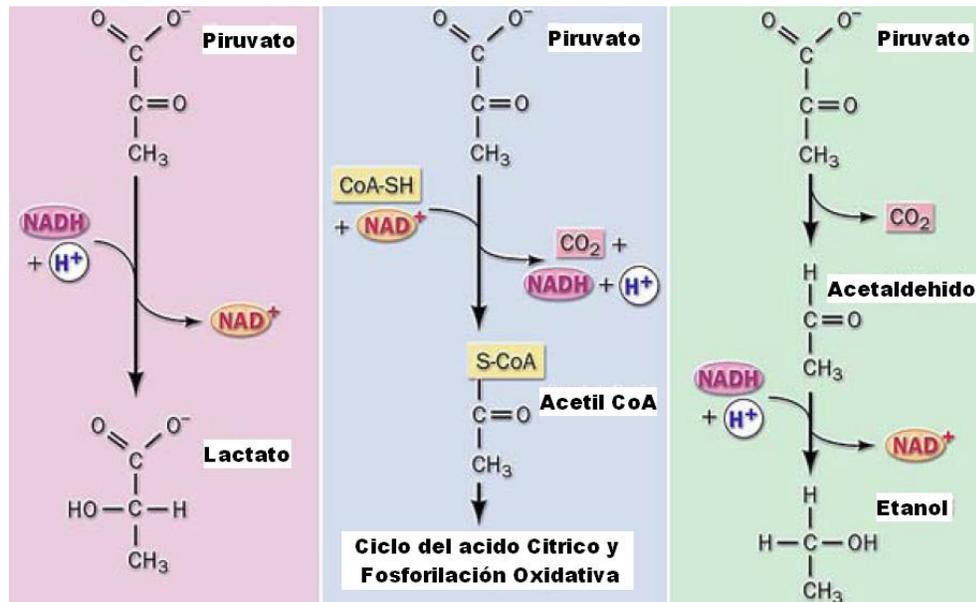


Figura N° 5. Destinos del Piruvato

El acetil CoA es un metabolito intermediario de gran importancia, puesto que es el punto de confluencia de la degradación de azúcares (piruvato), lípidos (B-oxidación) y proteínas (amino ácidos cetogénicos). El fragmento acetilo del Acetil CoA se oxida por completo a CO_2 y H_2O , en presencia de oxígeno, por medio de una vía metabólica cíclica conocida como el ciclo de Krebs. El ciclo de Krebs tiene lugar en todos los organismos aeróbicos: en los procariontes en el citósol; en plantas y animales en la matriz mitocondrial. (10) (20)

Para oxidarse en el ciclo de Krebs, el fragmento acetilo debe condensarse con una molécula de oxalacetato, para dar citrato, por eso el ciclo de Krebs se llama también ciclo del ácido cítrico y como este da lugar a otros ácidos tricarbóxicos (isocitrato-*alfa* cetoglutarato-succinil CoA-succinato-fumarato-malato-oxalacetato). Obsérvese que el oxalacetato se renueva en cada vuelta del ciclo: los dos carbonos que se desprenden en forma de CO_2 corresponden al oxalacetato, y no al último acetilo incorporado. En consecuencia, el oxalacetato que se regenera al final del ciclo no contiene los mismos átomos de carbono que el oxalacetato original. En cada vuelta del ciclo se oxida en residuos acetilo a dos moléculas de CO_2 ; simultáneamente se reducen cuatro coenzimas nucleotídicas, 3NAD y 1 FAD, además se origina 1 ATP por fosforilación oxidativa a nivel de sustrato ADP, en la figura 6 se indica el ciclo de Krebs. (10)(11)

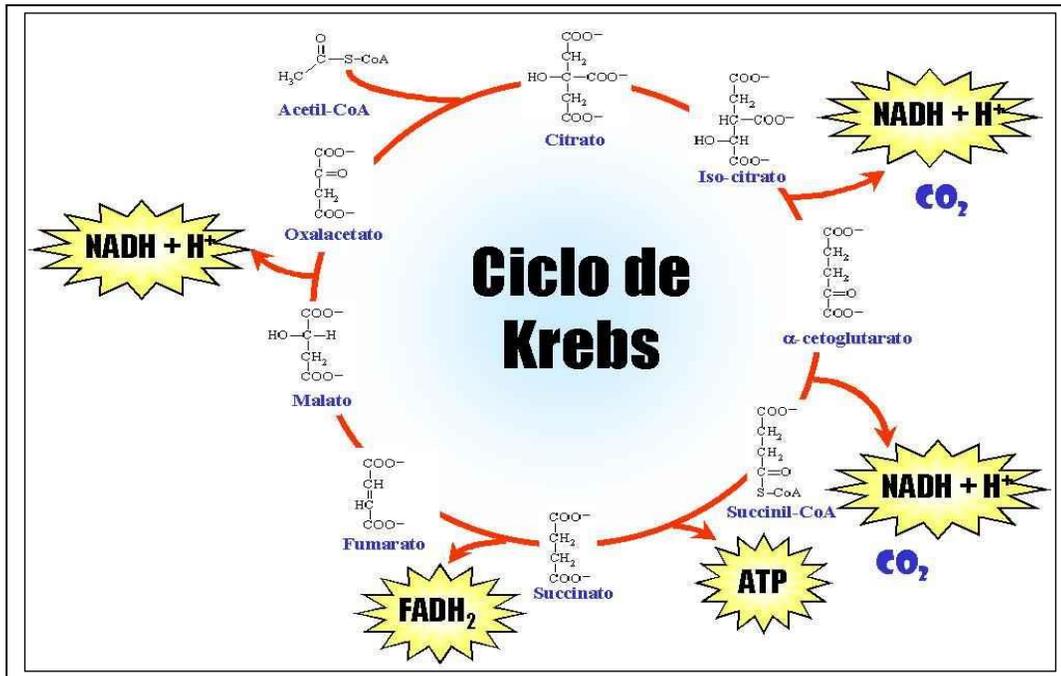


Figura N° 6. Ciclo de Krebs o ciclo ácido tricarbóxico

Por medio de la fosforilación oxidativa cada nucleótido forma a nivel de sustrato moléculas de ATP que son los requeridos por nuestro organismo para cumplir con sus funciones específicas.

La falta de producción o el reconocimiento de la insulina, crea un nivel excesivo de glucosa en la sangre, y de este modo, la glucosa no puede ingresar normalmente a las células, acumulándose en la sangre, lo cual se denomina hiperglicemia (glucosa elevada en la sangre), esta acumulación de glucosa en la sangre lleva a que el organismo genere una serie de características anormales y por ello esta se elimina en grandes cantidades en la orina, arrastrando tras de sí un volumen importante de agua corporal (poliuria= orina en cantidades mayores) produciendo un estado de deshidratación secundaria, lo cual hace que el organismo trate de compensar esta pérdida de líquido mediante el aumento de la sed, lo que obliga a la persona afectada o consumir grandes cantidades de líquido (polidipsia). (2)(17).

Los síntomas anteriores son los que manifiestan que el organismo está siendo saturado por una alta concentración de glucosa, pero este problema de la falta de ingreso de la glucosa a la célula no solo produce el problema de la hiperglicemia, sino que trae consigo una serie de problemas metabólicos y esto conlleva a que

las células, tejidos y órganos no puedan trabajar adecuadamente, por lo que no pueden cumplir con sus funciones normales, manifestándose cansancio, falta de deseo de hacer las cosas, entre otras, la figura N° 7 indica los síntomas de la Diabetes Mellitus. (9)



Figura 7. Síntomas de la Diabetes Mellitus

Como el cuerpo humano requiere energía necesaria para llevar a cabo las funciones cotidianas, hace que el organismo aumente la sensación de hambre y la persona comienza a ingerir mayores cantidades de alimento (polifagia), lo que conlleva a que los lípidos y proteínas administradas en la dieta o almacenados en el organismo, se metabolicen para suplir la cantidad de energía requerida por el organismo por la ausencia del metabolismo de la glucosa dentro de las células, por que los carbohidratos entre ellos la glucosa, es la principal fuente de energía. (13)

Cuando hay deficiencia de insulina, los músculos no pueden utilizar la glucosa, y entonces son movilizados los ácidos grasos libres de las células del tejido adiposo y degradados por el hígado para suministro de energía, y al mismo tiempo, se presenta la gluconeogénesis, que es la síntesis de glucosa a partir de sustratos (oxalacetato). En esta parte el oxalacetato que se encuentra en la mitocondria en el ciclo de Krebs es transportado hacia el citoplasma para catabolizar la glucosa, en la figura 8 y 9 se indica la salida del oxalacetato de la mitocondria y la gluconeogénesis. (15)

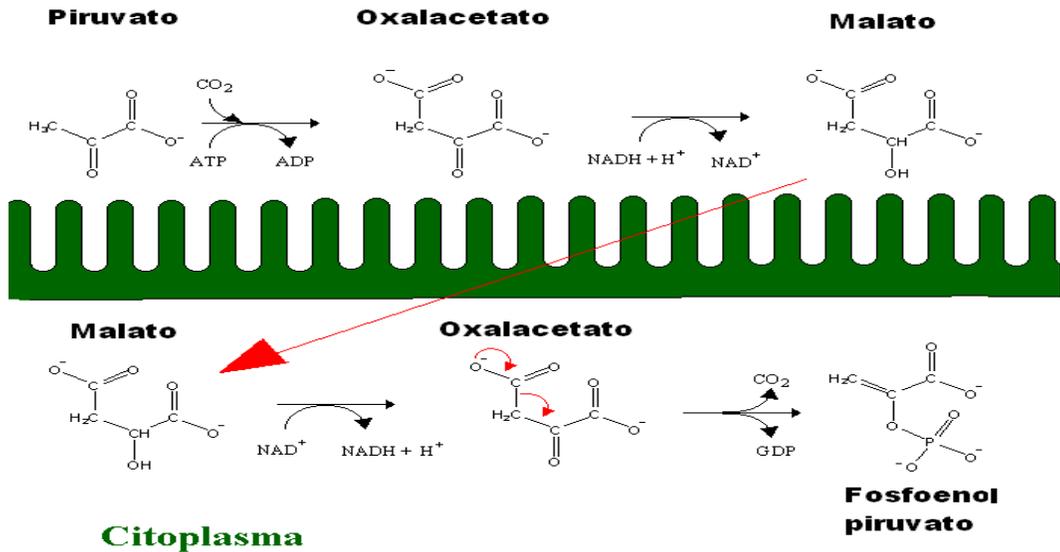


Figura N° 8. Salida del oxalacetato de la mitocondria

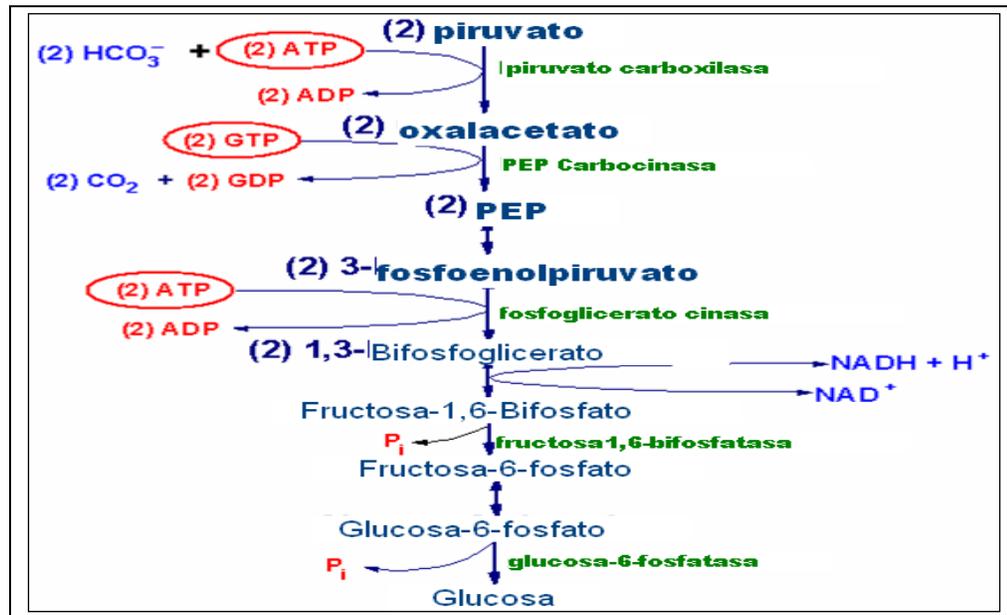


Figura N° 9. Esquema General de la Gluconeogenesis

De este modo la glucosa se acumula, sin poder ingresar a las células, generando consigo una alta acumulación de glucosa en el organismo, produciéndose así, una mayor hiperglicemia con el consecuente círculo vicioso negativo. (10).

Como los ácidos grasos aportan energía, éstos aparecen en el citoplasma celular y se activan convirtiéndose en el correspondiente Acetil CoA y atraviesan la membrana interna mitocondrial, una vez en el interior de la mitocondria, el Acetil CoA sufre una serie de reacciones conocidas como *B*-oxidación. En la *B*-oxidación los ácidos grasos van perdiendo fragmentos de dos carbonos (Acetil CoA), empezando por el extremo carboxílico hasta el final de la cadena, en la figura 10 se indica la degradación de los ácidos grasos.

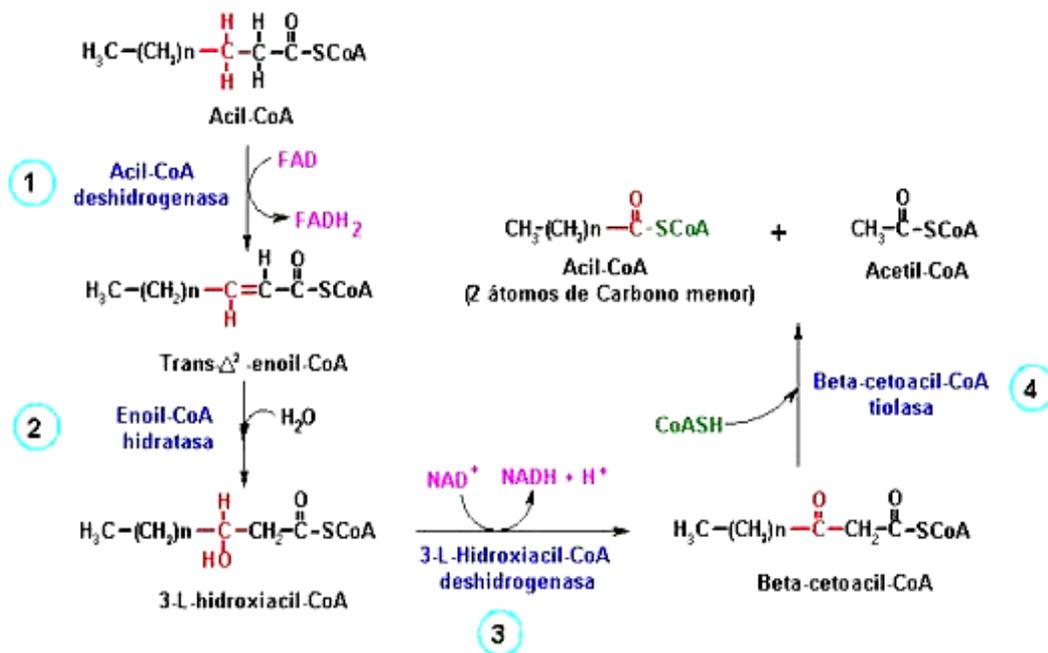


Figura 10. Esquema de la Beta-Oxidación

Simultáneamente se producen nucleótidos reducidos (FADH_2 , NADH), y por medio de la fosforilación oxidativa se produce ATP, las moléculas de Acetil CoA se oxidan en el ciclo de Krebs, cuando por algún motivo el ciclo de Krebs no funciona bien, como en el caso de personas hiperglicémicas o diabéticas, el Acetil CoA procedente de los ácidos grasos se acumulan, por la insuficiencia de oxalacetato requerido para llevar a cabo la gluconeogénesis (síntesis de glucosa), y por ello, se produce la condensación de dos moléculas de Acetil CoA, para producir los cuerpos cetónicos (acetona, acetoacetato y hidroxibutirato), en la gráfica N° 11 se indica la condensación del Acetil CoA. (15)(17).

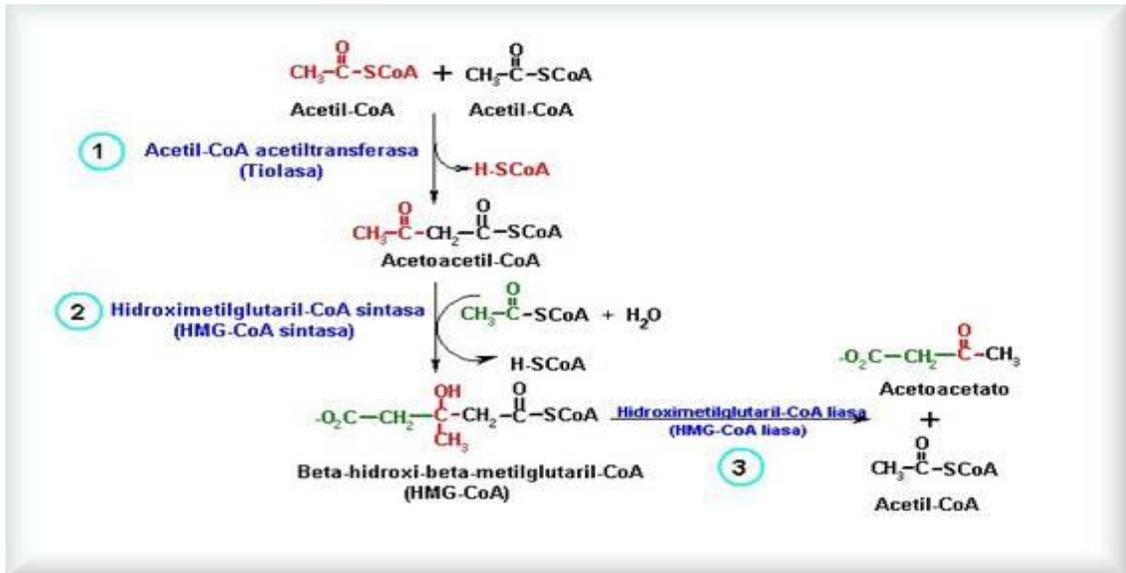


Figura 11. Formación de los cuerpos cetónicos

De lo anterior se deduce que los cuerpos cetónicos se sintetizan en exceso de Acetil CoA (cetoacidosis), cuando no se degradan azúcares en cantidad suficiente. Entre las causas de cetoacidosis (enfermo con acetona), están: el ayuno prolongado, los estados diarreicos y febriles, y las dietas adelgazantes carentes de azúcares.

En la clínica, la cetoacidosis se diagnostica por la presencia de cuerpos cetónicos (reacción de legal) y en el aliento (olor acetona). La cetoacidosis resultante origina descenso del pH sanguíneo, por agotamiento de los amortiguadores fisiológicos para compensar el descenso de pH. El organismo trata de aumentar la eliminación de CO₂, incrementando la ventilación pulmonar (hiperpnea). (10)

En consecuencia, el tratamiento de la cetoacidosis es activar el ciclo de Krebs, por ejemplo, con citrato o con glucosa y bicarbonato. Los Pacientes con cetoacidosis diabética presentan hiperventilación y pérdida de sodio, potasio, cloruro y agua por el organismo. El resultado metabólico neto de la diabetes Mellitus es la pérdida de los depósitos de grasa, glucógeno del hígado, proteína celular, electrolitos y agua.

Las secuelas a largo plazo de la diabetes Mellitus implican daños en los vasos sanguíneos del cerebro, corazón, riñones y extremidades, lo que conlleva a una neuropatía, por ello esta enfermedad es silenciosa y muy peligrosa.(17)

6.3 TIPOS DE DIABETES MELLITUS

Se reconocen 3 tipos mayores que son la de Tipo 1, la de Tipo 2 y la llamada Gestacional:

TIPO 1 (diabetes insulino dependientes). Con frecuencia aparece durante la niñez y generalmente antes de los 20 años, ocurre porque el páncreas produce poca o ninguna insulina, debido a que las células *beta* generadoras de esta hormona en el páncreas, sufre un ataque auto inmunitario por los linfocitos y las células asesinas K-64 produciendo su muerte, la figura 12 indica el origen de la insuficiencia de la insulina.

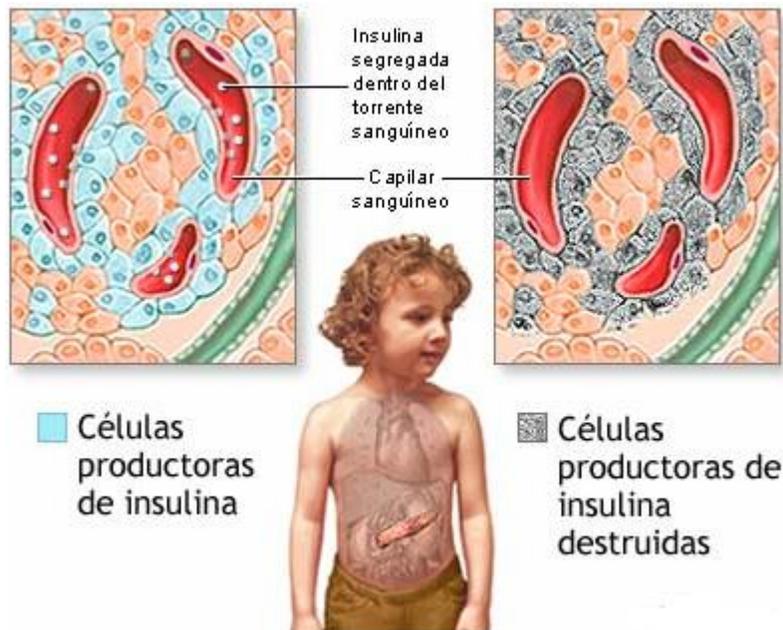


Figura N° 12. Destrucción de las células Beta

La diabetes Mellitus tipo 1 representa del 5 al 10% de todos los casos de la enfermedad, y estos pacientes requieren insulina exógena para conservar la vida, ya que típicamente la enfermedad sigue su curso grave y fatal.(9)(12)(21)

TIPO 2 (diabetes insulino no dependiente) Se presenta usualmente en adultos mayores de 40 años; cerca del 80% de estos individuos tienen peso excesivo.

En los diabéticos obesos, existe al parecer disminución importante en la sensibilidad de los tejidos periféricos a la insulina, por la alta degradación de ácidos grasos, forman en su cuerpo sustratos como el Acetil CoA, DAG y cerámidas, los cuales se encargan de activar a la proteína quinasa teta (pkcO), cuya función es de inactivar los receptores insulínicos, en la figura 13 se indica la inactivación de los receptores insulínicos.

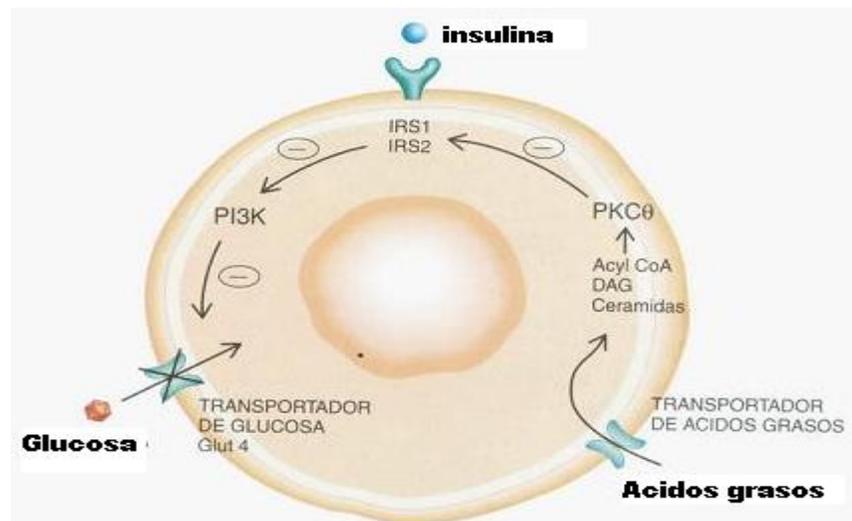


Figura 13. Inactivación de los receptores insulínicos

Como resultado de lo anterior el paciente requiere cantidades crecientes de insulina. (11) (13)

La gestacional, se presenta en un 3 a 5% de las gestantes y donde los cambios hormonales llevan a la elevación de la glucosa en la sangre. (3)

6.4 SÍNTOMAS DE LA DIABETES

En primer lugar, la persona con inicio de diabetes, no siempre tiene síntomas, de lo cual se deduce la importancia de un control periódico de la glucosa en sangre, sobre todo, en aquellas personas que tienen una mayor probabilidad de padecerla (mayores de 45 años, obesos, con antecedentes familiares de diabetes, mujeres que dieron a luz bebés con más de 4 Kg, hipertensos, con niveles de colesterol y/o triglicéridos elevados, etc.).

Los síntomas más comunes son: poliuria (aumento del volumen urinario), polidipsia (aumento de la sed), polifagia (aumento de la ingestión de alimentos), pérdida de peso, cansancio fácil y astenia (falta de deseo de hacer las cosas). (2).

6.5 DIAGNÓSTICO CLÍNICO

Usualmente, él médico sospecha la presencia de diabetes por los síntomas o evaluando a las personas que tienen un mayor riesgo de padecerlas.

El análisis de sangre que se solicita, es la glicemia en ayunas (glucosa en sangre sin ingestión previa de alimentos). Los valores médicos de glicemia en ayunas, en las personas menores de 40 años, según el método utilizado son:

Folin	:	100 mg /100mL
Somogil	:	80-100 mg /100mL

Una glicemia en ayunas superior a 130 mg /100mL puede interpretarse como patológico y casi seguidamente el paciente es diabético (18) (19).

La presencia de glucosa en la orina es señal de diabetes y obliga a la medición inmediata de la glucosa en sangre, especialmente la glucosa sanguínea posprandial (después de una comida), o una prueba de tolerancia a la glucosa, o ambos exámenes.

La prueba para medir la glucosa sanguínea después de una comida, exige tomar una muestra de sangre dos horas después que el individuo ha ingerido una comida rica en carbohidratos (75 a 100g). Las cifras mayores de 140 mg/100mL de sangre son diagnosticadas como personas diabéticas, y los valores menores de 100 mg/100mL excluyen la enfermedad. Entre 100 y 130 mg/100mL, la diabetes es probable, y por ello entre estos niveles, debe hacerse una prueba de tolerancia de glucosa.(18)

La prueba de tolerancia a la glucosa es el examen más sensible, para detectar este trastorno. El individuo ingiere una dieta rica en carbohidratos (150 a 300 g) durante tres días antes de la prueba. Después de ayunar por una noche, se toma una muestra de sangre y de esta manera se pueden observar una disminución de la tolerancia a la glucosa, conocida como diabetes de hambre. Después se le

administra una “carga de carbohidratos”, en forma de una bebida carbonatada azucarada (Glucosa), se pide al paciente que permanezca sentado y tranquilo durante la prueba, y que evite todo ejercicio, fumar y consumo de alimento por vía bucal, exento agua. (19)

A continuación se presenta los criterios para el diagnóstico de la diabetes: Fajans y Conn.

Administrar 1.75 g de glucosa (glucosa) por Kg de peso corporal

Glicemia a la hora <180 mg

Glicemia a la 1 ½ hora <160 mg

Glicemia a la 2 horas <140 mg

Es necesario los tres valores anormales para el diagnóstico de diabetes,(18).

Servicio de salud de los estados unidos

Administrar 100 g de glucosa (glucosa) para todos los pacientes.

Glicemia en ayunas <125 mg =1.0 punto

Glicemia a la 1 hora <190 mg =0.5 punto

Glicemia a la 2 horas <135 mg =0.5 punto

Glicemia a las 3 horas <125 mg = 1.0 punto

Es necesario 2 puntos para el diagnóstico de diabetes,(18)

Asociación Diabética Americana

Administrar 40g/m² de superficie corporal

Glicemia en ayunas <115 mg

Glicemia a la 1 hora <185 mg

Glicemia a la 1 1/2 hora <165 mg

Glicemia a las 2 horas <140 mg

Hay que tener en cuenta, que la edad ejerce un efecto sobre la tolerancia a la glucosa por encima de los 50 años de edad, se debe agregar un mg por cada año de edad, luego de la carga de carbohidratos. (18)(19).

Los valores de laboratorio varían también según la metodología usada.

6.6 COMPLICACIONES AGUDAS DE LA DIABETES

La primera complicación que se presenta en el organismo es la cetoacidosis que es el aumento de cuerpos cetónicos en todo el cuerpo haciendo que el pH de la

sangre disminuya por debajo de lo normal, a este estado se le denomina cetoacidosis diabética (CAD).

La cetoacidosis es debido a la ausencia o cantidad inadecuada de insulina, lo cual produce hiperglicemia y causa una serie de trastornos bioquímicos. Las manifestaciones tempranas de la acetoacidosis son poliuria (orina excesiva), polifagia (apetito voraz) y polidipsia (sed intolerable).

La diuresis osmótica causa pérdida de agua (deshidratación) y depleción de electrolitos. A medida que el paciente se deshidrata, surge oliguria (disminución del volumen de orina), pudiendo advertir el paciente malestar general y cambios visuales. Destacan entre los signos y síntomas cefalalgia, mialgias, dolor abdominal, náuseas, vómitos, éxtasis gástrica e íleo, en estos casos aumenta la frecuencia respiratoria para compensar la acidosis. El coma y la acidosis grave se anuncian por respiración de Kussmaul (muy profunda, pero no laboriosa) y olor dulzón del aliento, debido a la acidemia.(12)(9)

El origen de los cuerpos cetónicos se debe a que no hay acceso de glucosa en las células para ser metabolizadas, lo que lleva a que el organismo metabolice las grasas (ácidos grasos) para obtener acetil CoA, pero como se ha consumido la mayoría de oxalacetato para llevar a cabo la gluconeogénesis (síntesis de glucosa) en las personas diabéticas e hiperglicémicas, como el Acetil CoA no interactúa con el oxalacetato, estos se condensan con otra molécula de acetil CoA produciendo cuerpos cetónicos (acetona, acetoacetato, hidroxibutirato). Estos cuerpos cetónicos causan acidez metabólica, con descenso del nivel de bicarbonato sérico, pCO_2 y pH; la figura 14 indica la estructura química de los cuerpos cetónicos. (12), (17)



Figura N° 14. Cuerpos cetónicos

La cetoacidosis diabética es una urgencia médica. Sin un buen tratamiento inmediato, puede causar el coma y la muerte. Es necesaria la hospitalización, generalmente en una unidad de cuidados intensivos. Se suministran grandes cantidades de líquidos intravenosos junto con electrolitos, como sodio, potasio, cloro y fosfato, para sustituir los que se han perdido con la micción excesiva. La insulina se suministra por vía intravenosa por goteo pediátrico o bomba para infusión constante (con insulina es 250 mL de solución salina normal), de modo que actúe velozmente. Los valores sanguíneos de glucosa, cuerpos cetónicos y electrolitos se miden cada dos horas, lo que permite adaptar el tratamiento a las necesidades de cada momento. También deben tomarse muestras de sangre arterial para determinar su acidez. (18).

En algunas ocasiones, se necesitan tratamientos adicionales para corregir la acidez, aunque el control de los valores sanguíneos de azúcar y la sustitución de los electrolitos generalmente permiten al organismo restablecer un equilibrio ácido básico normal.

6.7 COMPLICACIONES DE LA DIABETES MELLITUS A LARGO PLAZO

A medida que el trastorno se desarrolla, las concentraciones elevadas de azúcar en la sangre lesionan los vasos sanguíneos, los nervios y otras estructuras internas, sustancias complejas derivadas del azúcar se acumulan en las paredes de los pequeños vasos sanguíneos, provocando su engrosamiento y rotura. Este aumento de grosor es la causa de que los vasos sanguíneos aporten cada vez menos sangre, sobre todo a la piel y a los nervios.

Los valores de azúcar poco controlados tienden también a aumentar las concentraciones de sustancias grasas en sangre, y, en consecuencia, se produce una arteriosclerosis acelerada (formación de placas en los vasos sanguíneos), La arteriosclerosis es de dos a seis veces más frecuente en los diabéticos que en los no diabéticos y se produce tanto en los varones como en las mujeres. La disminución de la circulación sanguínea, tanto por los vasos grandes como por los pequeños, puede provocar alteraciones fisiológicas en el corazón, el cerebro, las piernas, los ojos, los riñones, los nervios y la piel, demorando, además, la curación de las lesiones. (17) (9)

Por todas estas razones, la diabetes implica la aparición de muchas complicaciones graves durante un tiempo prolongado. Los ataques al corazón y los accidentes vasculares cerebrales son muy frecuentes. Los daños a los vasos

sanguíneos del ojo pueden provocar la pérdida de la visión (retinopatía Diabética). La función que cumplen los riñones se altera y da como resultado una insuficiencia renal que requiere diálisis. (11)

Las lesiones nerviosas se manifiestan de varias maneras: Si un solo nervio funciona mal (mononeuropatía), aparece una debilidad característica en un brazo o una pierna. Si se dañan los nervios de las manos, las piernas y los pies (poli neuropatía diabética), puede aparecer una sensación anómala en forma de hormigueo o dolor ardiente, y debilidad en los brazos y las piernas. Los daños a los nervios de la piel predisponen a las lesiones repetidas, porque la persona pierde la sensibilidad para percibir los cambios de presión o temperatura. Un aporte escaso de sangre a la piel también provoca úlceras e influye en que todas las heridas sanen muy lentamente. Las úlceras del pie pueden volverse tan profundas e infectadas y resultar tan difícil su curación, que puede incluso ser necesaria la amputación de una parte de la pierna. En la tabla N° 1 se indican las características de la diabetes (9)(12)

6.8 PERSPECTIVAS DE LA ENFERMEDAD

El objetivo principal del tratamiento de la diabetes es mantener los niveles de azúcar en la sangre dentro de los límites de referencia tanto como sea posible. Aunque es difícil mantener valores completamente normales, se debe intentar que estén en lo posible cerca de la normalidad para que sea menor la probabilidad de complicaciones, ya sean temporales o a largo plazo. El principal problema al tratar de controlar rigurosamente los valores de azúcar en la sangre, es que se produzca una disminución no deseada de los mismos (hipoglucemia). (11)

El tratamiento de la diabetes requiere el control de peso, ejercicios y dieta. En muchos casos de diabetes tipo II, la administración de fármacos no sería necesaria si los pacientes obesos perdieran peso e hicieran ejercicio con regularidad. Sin embargo, reducir el peso y aumentar los ejercicios es difícil para la mayoría de los diabéticos. Por consiguiente, con frecuencia es necesario recurrir a una terapia sustitutiva o bien a una medicación oral con hipoglucemiantes. (12)

El ejercicio favorece el descenso directo de las concentraciones de azúcar en la sangre y reduce la cantidad necesaria de insulina.

Tabla Nº 1. Consecuencias características de la diabetes

Tejido u Órgano afectado	Qué sucede	Complicaciones
Vasos sanguíneos	Se forman placas ateroscleróticas, y se obstruyen las arterias grandes o medianas del corazón, cerebro, piernas y pene. Las paredes de los pequeños vasos sanguíneos se dañan de modo tal que los vasos no permiten el paso normal de oxígeno a los tejidos y a demás pueden romperse y perder sangre.	La escasa circulación causa heridas que sanan con dificultad y pueden producir Insuficiencia cardíaca, ictus, gangrena en los pies y las manos, impotencia e infecciones.
Ojos	Los pequeños vasos de la retina se dañan.	Visión disminuida y finalmente, ceguera.
Riñón	Los vasos sanguíneos del riñón se engrosan, las proteínas se pierden por la orina, la sangre no se filtra normalmente.	Funcionamiento renal deficiente; insuficiencia renal.
Nervios	Los nervios se dañan por que la glucosa no es metabolizada normalmente y por que el suministro de sangre es inadecuado.	Debilidad repentina o gradual de una pierna; sensibilidad reducida, hormigueo y dolor en las manos y en los pies, daño crónico a los nervios.
Sistema nervioso autónomo	Daño en los nervios que controlan la presión arterial y los procesos digestivos.	Oscilaciones en la presión arterial, dificultades en la deglución y alteraciones del funcionamiento gastrointestinal, con episodios de diarrea.
Piel	Mala circulación de la sangre a la piel y pérdida de la sensibilidad como resultado de lesiones hepáticas.	Llagas, infecciones profundas (ulceras diabéticas): curación muy difícil.
Sangre	Se deteriora el funcionamiento de los glóbulos blancos.	Aumento de la propensión a las infecciones, especialmente del tracto urinario y de la piel.
Tejido conjuntivo	Metabolización anormal de la glucosa, haciendo que los tejidos se engrosen o contraigan.	Síndrome del túnel carpiano; contractura de Dupuytren

Sin embargo, comer un bocadillo antes de ir a dormir o durante la tarde evita a veces la hipoglucemia en las personas que se inyectan una insulina de acción intermedia por la mañana o por la tarde. Dado que, las personas con diabetes tienen también tendencia a presentar valores altos de colesterol, los dietistas generalmente recomiendan limitar la ingestión de grasas saturadas. No obstante, el mejor modo de reducir los valores del colesterol es controlar las concentraciones de azúcar en sangre y el peso corporal. (13)

Otra estrategia a seguir es suministrar al diabético toda la información que se considere necesaria acerca de su enfermedad y qué puede ayudar a controlarla. A este respecto, se requiere personal idóneo, preparado en educación sobre la diabetes. Todos los diabéticos deben saber cómo la dieta y los ejercicios afectan los valores de azúcar en la sangre y ser conscientes de cómo evitar las complicaciones, por ejemplo, controlando las ulceraciones de la piel. (20)

También deben tener especial cuidado en evitar las infecciones del pie. Para ello sería útil recurrir a un podólogo para cortarse las uñas de los pies. Las revisiones oculares anuales son esenciales para controlar posibles alteraciones de los vasos sanguíneos, las cuales pueden ocasionar ceguera (retinopatía diabética), en la siguiente figura N° 15 se indica los órganos afectados por la diabetes.

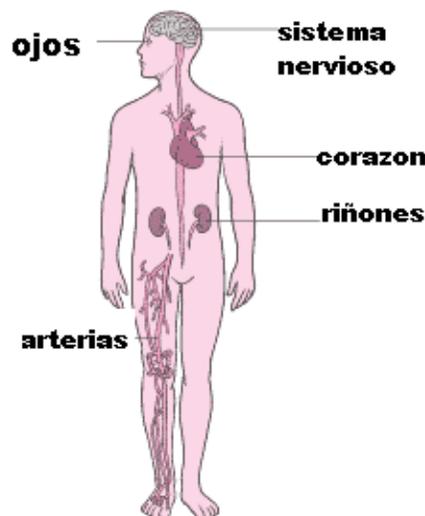


Figura N° 15. Diabetes Mellitus, órganos afectados más frecuentemente

En caso de lesiones o de aumento o descenso de las concentraciones de azúcar en la sangre, los diabéticos deberían llevar siempre consigo una tarjeta o usar una pulsera de alerta médica que identifique la enfermedad. Si los profesionales sanitarios conocen la presencia de diabetes, pueden iniciar rápidamente un tratamiento que salve la vida del afectado. (10)(11)

6.9 TERAPIA DE SUSTITUCIÓN CON INSULINA

El páncreas no produce insulina en la diabetes tipo I, por lo que se debe sustituirse esta hormona. La reposición se lleva a cabo con inyecciones, ya que la insulina se destruye en el estómago y no se puede administrar por vía oral. Se están probando nuevas formas de insulina, como un vaporizador nasal, pero por el momento no son eficaces porque la variabilidad en la velocidad de absorción crea problemas para determinar la dosis. (21)

La insulina se inyecta debajo de la piel en la capa grasa del brazo, del muslo o de la pared abdominal. Hay pequeñas jeringas con agujas muy finas que hacen que las inyecciones sean casi indoloras. Para las personas que no toleran las agujas existe un dispositivo con bomba de aire que insufla la insulina bajo la piel.

Un dispositivo útil para llevar la insulina es el “bolígrafo” de insulina, que contiene un cartucho que la guarda y dispone de un mecanismo de cierre, sobre todo cuando son necesarias varias inyecciones diarias fuera de casa. Otro dispositivo es una bomba que impulsa la insulina continuamente desde un depósito, a través de una pequeña aguja que se deja en la piel. Las dosis adicionales de insulina se programan de modo que sean administradas al mismo ritmo con que el organismo produce la insulina. La bomba ofrece un grado adicional de control, pero es molesta para algunas personas o produce llagas en el lugar de inserción de la aguja. (18)

La insulina se encuentra disponible en tres formas básicas, cuya acción difiere en cuanto a velocidad y duración. La insulina de acción rápida, como la insulina regular (insulina cristalina), es la que tiene una acción más rápida y corta, empieza disminuyendo las concentraciones de azúcar en la sangre al cabo de 20 minutos de su administración, alcanzando su máxima actividad en 2 a 4 horas, con una duración de 6 a 8 horas. Esta insulina se utiliza con frecuencia en diabéticos que reciben varias inyecciones diarias y se inyecta entre 15 y 20 minutos antes de las comidas. La insulina de acción intermedia, como la insulina zinc en suspensión o

la insulina isófono, comienza a actuar al cabo de 1 a 3 horas, alcanzando su máxima actividad en un tiempo de 6 a 10, horas y dura de 18 a 26 horas.

Este tipo de insulina se utiliza por la mañana, para dar cobertura durante la primera parte del día, o al atardecer, para que aporte la cantidad necesaria durante la noche. La insulina de acción prolongada, como la insulina zinc en suspensión de acción prolongada, tiene un efecto muy reducido durante las 6 primeras horas, pero brinda una cobertura de 28 a 36 horas. Los preparados de insulina son estables a temperatura ambiente durante meses, lo que permite transportarlos, llevarlos al trabajo o incluso durante un viaje. (16)(17)

La elección de la forma ideal de insulina es compleja en cada caso. La decisión dependerá del rigor con que una persona desee controlar su diabetes, de la constancia para controlar su valor sanguíneo de azúcar y adaptar la dosis, de su actividad diaria, de su disposición para aprender y comprender su enfermedad y de la estabilidad de los diferentes valores sanguíneos de azúcar durante el día y los días siguientes. (12)

El régimen más fácil de seguir es una sola inyección diaria de insulina de acción intermedia. Sin embargo, dicho régimen proporciona un control mínimo sobre los valores sanguíneos de azúcar. Un control más estricto se logra con la combinación de dos formas insulínicas (la de acción rápida y la intermedia) en una dosis matinal. Esto requiere más habilidad, pero ofrece mayores oportunidades para adaptar los valores sanguíneos de azúcar. Se puede recibir una segunda inyección con la cena o antes de acostarse. El control más riguroso se alcanza inyectando un poco de insulina de acción rápida y de acción intermedia por la mañana y al atardecer, junto con varias inyecciones adicionales de insulina de acción rápida durante el día. (10)(18)

6.10 AUTOCONTROL DE LA DIABETES (HIPERGLICEMIA)

El control de los valores de azúcar en la sangre es una parte esencial del tratamiento de la diabetes. A pesar de que el control de la orina permite detectar la presencia de glucosa, no es un buen método para efectuar un seguimiento del tratamiento o para adaptar la terapia. Por fortuna, los valores de azúcar se pueden medir fácilmente en el propio domicilio del paciente.

Se obtiene una gota de sangre pinchando la punta del dedo con una pequeña lanceta. La lanceta sostiene una aguja minúscula que puede pinchar el dedo o colocarse en un dispositivo con un resorte que la introduce en la piel. La mayoría

de los diabéticos encuentra el pinchazo casi indoloro. A continuación, se coloca una gota de sangre sobre una tira reactiva. En presencia de azúcar, la tira reactiva cambia de color o experimenta algún otro cambio químico. Este cambio de coloración puede ser bastante significativo como para obtener el valor de azúcar en la sangre cuando se compara con los colores impresos en un gráfico. Un sistema mejor y más preciso es usar una máquina que lee los cambios en la tira de prueba e informa del resultado sobre un monitor digital. Las máquinas son pequeñas, del tamaño de un bolígrafo o de un paquete de cigarrillos, y la mayoría de ellas calcula, en un tiempo de 30 segundos, que es el tiempo que dura la reacción y lee el resultado automáticamente. (21) (20)

Las personas con diabetes deben registrar sus valores de azúcar en la sangre e informar al médico al respecto. Éste les aconsejará cómo adaptar la dosis de insulina o del fármaco hipoglucemiante oral. En algunos casos y durante las visitas sucesivas del paciente, el médico o la enfermera le pueden enseñar cómo debe adaptar las dosis de insulina. Los médicos emplean un análisis de sangre denominado hemoglobina glicosilada A1C (hemoglobina que no es controlada genéticamente, por que interactúa mucho con la glucosa) para vigilar el curso del tratamiento. (19)

Cuando la concentración de azúcar en la sangre es elevada, los cambios se detectan en la hemoglobina, la sustancia química que transporta el oxígeno en la sangre y son directamente proporcionales a la concentración de azúcar en la sangre durante un período prolongado. De este modo, a diferencia de la medición de azúcar en la sangre que revela el valor en un momento determinado, la medición de la hemoglobina glicosilada pone de manifiesto el grado de control de azúcar durante las semanas anteriores. El valor normal de esta hemoglobina es inferior al 7 por ciento. En muy raras ocasiones los diabéticos llegan a valores semejantes, pero un control estricto tiene por objetivo alcanzarlos. Los valores superiores al 9 por ciento denotan un escaso control y los que son superiores al 12 por ciento, un control deficiente. La mayoría de los médicos especializados en diabetes recomienda que se evalúe la hemoglobina glicosilada cada 3 a 6 meses. (18)

6.11 ESPECTROSCOPIA INFRARROJA

La Espectroscopia Infrarroja es una técnica analítica bastante efectiva en la determinación de la estructura molecular, determinación de isómeros, composición y concentración de una sustancia. Esta técnica se implemento a partir de la primera mitad del siglo XX, debido a la necesidad de proporcionar

métodos que aporten información confiable de la estructura de estos y de los cambios conformacionales inducidos por factores internos y/o externos,(23).

Los pioneros de esta técnica analítica fueron Elliot y Ambrose quienes en el año 1950 obtuvieron información conformacional de un cierto tipo de proteínas. (15)

La Espectroscopia Infrarrojo proporciona información de la energía vibracional de enlace, por ello no necesita sondas, además de poseer una escala temporal de 10^{-1} segundos. A pesar de estas ventajas, a finales de los años setenta el interés por la Espectroscopia Infrarroja para el estudio de la conformación de biomoléculas decrece. Entre las principales desventajas se encontraba la baja sensibilidad en los Espectros Infrarrojo, que producían espectros con una relación señal/ruido muy baja. (15)

Sin embargo, en la década de los ochenta, se recuperó el interés en el uso del Infrarrojo para el estudio de biomoléculas cuando se implementó la Transformada Rápida de Fourier a los Espectrómetros. El desarrollo de computadoras permitió el diseño de instrumentos basados en el interferómetro de Michelson y la fácil aplicación de rápidos algoritmos de Transformada de Fourier. Esto supuso una mejora de la relación señal/ruido, que a su vez, permitió superar desventajas de los instrumentos dispersivos convencionales, lo cual permitió el uso para tratamiento de datos, lográndose, la sustracción del espectro de la banda del medio (background),(15)

La región del Infrarrojo es una zona del espectro electromagnético correspondiente a frecuencia que van desde valores inferiores a las frecuencias del visible hasta valores cercanos a las frecuencias mas altas de microondas. La radiación Infrarroja incluye la radiación con números de onda comprendidas entre los 12800 y los 10^{-1} . cm^{-1} .El Espectro Infrarrojo puede subdividirse en cercano, medio y lejano. Generalmente se considera la región Infrarroja cercana desde $12800 - 4000 \text{ cm}^{-1}$ (0.78 a $2.5 \mu\text{m}$); la parte media esta comprendida entre los $4000 - 200 \text{ cm}^{-1}$ (50 a $1000 \mu\text{m}$).y la región Infrarroja lejana de $200 - 10 \text{ cm}^{-1}$ (50 a $1000 \mu\text{m}$). En la región del Infrarrojo medio aparecen las bandas de absorción debidas a las vibraciones fundamentales de la molécula, siendo esta región una de las más empleadas, la figura 16 indica el Espectro electromagnético. (23)

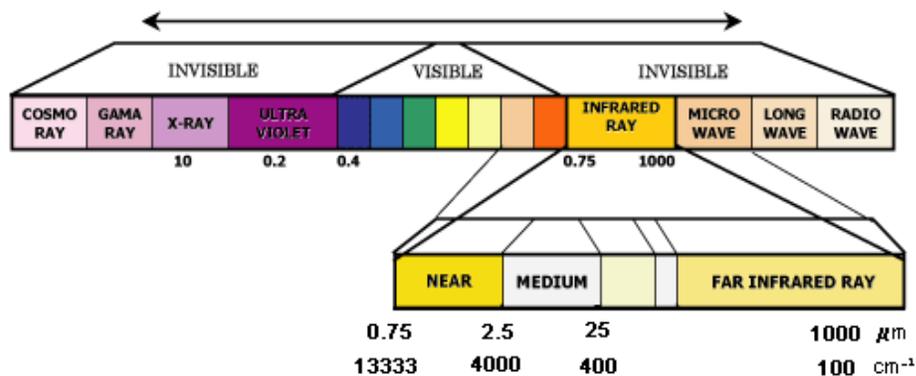


Figura 16. Espectro electromagnético.

6.11.1 ESPECTROSCOPIA INFRARROJA POR TRANSFORMADA RÁPIDA DE FOURIER (FTIR)

La Espectroscopia Infrarroja por Transformada Rápida de Fourier, utiliza una técnica interferométrica, es decir que cuenta con un interferómetro, mediante el cual la radiación policromática pasa a través de la muestra y va hacia un detector con la intensidad y el tiempo como factores básicos, además cuenta con una computadora digital para procesar los datos espectrales.(3)

La Espectroscopia Infrarroja por Transformada Rápida de Fourier (FTIR), puede irradiar una molécula con cada frecuencia de luz Infrarroja a la vez y obtener un espectro perfecto.

Los instrumentos de Espectroscopia Infrarroja por Transformada Rápida de Fourier (FTIR), poseen un láser de He-Ne que permite una calibración interna de frecuencias de 0.0001cm⁻¹, además los materiales utilizados como soporte de la muestra no absorben radiación Infrarroja (KBr, NaCl o AgBr), y las celdas de espesor fijo para el análisis son de 0.1 a 1mm de espesor. Todo esto compensado con una digitalización de los datos; no obstante, la posición de los picos en las bandas de Infrarrojo aparece con precisión produciendo un espectro. (16)

La Espectroscopia Infrarroja por Transformada Rápida de Fourier (FTIR), tiene una gran aplicación en el análisis cuantitativo y cualitativo, su principal utilización ha sido en la identificación de compuestos orgánicos, que proporciona una huella única, con unas características que se distinguen fácilmente de los modelos de

absorción del resto de compuestos, solo los isómeros ópticos adsorben exactamente de la misma forma. (15)

Para absorber radiación Infrarroja una molécula debe experimentar un cambio neto en el momento dipolar, como consecuencia de su movimiento de vibración o de rotación. Solo en estas circunstancias, el cambio eléctrico alternadamente de la radiación puede interactuar con la molécula y causar así cambios en la amplitud de algunos de sus movimientos. (5)

Las posiciones relativas de los átomos en una molécula no están exactamente fijas, si no que fluctúan continuamente, como consecuencia de multitud de diferentes tipos de vibración. Puede distinguirse dos tipos de vibración: la de tensión, la cual es un cambio continuo en la distancia intra-atómica a lo largo del eje del enlace entre dos átomos; y la de flexión, las cuales se caracterizan por un cambio en el ángulo entre los enlaces y son de cuatro tipos: tijereteo, balanceo, aleteo y torsión. Estas vibraciones en conjunto permiten obtener un Espectro Infrarrojo. (3)

6.11.2 IMPORTANCIA DE LA ESPECTROSCOPIA INFRARROJA CON TRANSFORMADA RÁPIDA DE FOURIER

La medicina en los últimos años ha querido implementar el uso de la Espectroscopia Infrarroja con Transformada Rápida de Fourier como técnica analítica, para el diagnóstico de enfermedades, por que esta técnica como tal no requiere el uso de reagentes químicos. Por este motivo hoy en día se están haciendo estudios en el suero y orina, ya que permite el reconocimiento molecular de las sustancias de una forma rápida y fiable, por que un espectro de una muestra biológica refleja una huella dactilar que cambia con las variaciones químicas que se presentan con las enfermedades, lo que facilita la detección de la enfermedad, además ésta no requiere reactivos para encontrar la molécula de interés y cuantificarla. (34)

A nivel mundial en los últimos años se han producido un notable incremento en el empleo de FT-IR para el estudio de materiales biológicos, así muchas investigaciones sobre la utilidad de FT-IR para la determinación de Bacterias por Inés Nieto, (27) (2)

En Europa y Norte América se esta utilizando el FT-IR y UV-Visible como técnica novedosa en el diagnostico de enfermedades Neoplasicas específicamente en el diagnóstico de la leucemia. Spremolla, Benedetti y colaboradores iniciaron estudio en el departamento de Oncologia en la universidad de Pisa en Italia, entre los años 1984-1988 (25)(28). Presentando el análisis de FT-IR y UV-Visible como una nueva posibilidad de investigación en leucemia para diagnóstico precoz de la Leucemia Linfocitica Crónica (LLC), como también la Leucemia Linfocitica Aguda (LLA). (16)

En 1997, Yano (47) realiza una publicación en Internet donde se recopila algunos artículos relacionados con el diagnostico de diferentes tipos de cáncer por FT-IR. Además de evaluar los niveles de glicógeno en tejidos en tejidos carcinogénicos por esta misma técnica, (26).Otras investigaciones se han realizado en 1988 donde se incluye el estudio de diferentes medicamentos que mediante FT-IR pueden indicar la resistencia celular o sensibilidad a dichos fármacos (16).

En nuestro país, el Grupo BIOINESMI de la Universidad del Cauca reporta los primeros resultados sobre la caracterización molecular de microorganismos, específicamente *Candida albicans* por FT-IR, (23)

En los últimos 20 años se le ha dado gran importancia a la técnica de Espectroscopia Infrarrojo con Transformada Rápida de Fourier (FT-IR), para el análisis de glucosa en muestras biológicas, para este caso en el año de 1992, el doctor Robinson M.R publicó un trabajo relacionado donde incluye el estudio de la glucosa por espectroscopia infrarrojo con Transformada Rápida de Fourier en la región cercana.(24)

Gary W. Small de la universidad de Ohio en 1997,2002 y 2004, llevó acabo el análisis de la glucosa en muestras biológicas, y para ello utilizó la Espectroscopia Infrarrojo con Transformada Rápida de Fourier en la región cercana, cuya longitud de onda de la molécula de la glucosa se encuentra a 4900cm, ellos utilizaron la estandarización y calibración de algoritmo para la parcial regresión lineal, lo que les ayudó a determinar cuantitativamente la concentración de la glucosa. (28) (29).

El doctor R.A. Shaw , desde el año de 1993 es uno de los gestores en ampliar el uso de la espectroscopia Infrarroja como técnica analítica en los laboratorios clínicos, por que durante sus investigaciones ha descubierto que esta técnica

permite hacer el análisis de una muestra biológica de una forma general o total, lo cual permite tener varios análisis, con un solo tipo de muestra. Además esta técnica no requiere el uso de reactivos químicos como los empleados por la espectrofotometría.(34)

Gracias a los estudios investigativos realizados por el doctor Shaw se están haciendo investigaciones con mayor intensidad en el suero, por que éste presenta una alta concentración de especies químicas como: colesterol, glucosa, triglicéridos, urea y entre otros), que son de análisis para el diagnóstico de múltiples enfermedades. Los laboratorios médicos pretenden implementar el diagnóstico de muchas enfermedades, y para ello están haciendo el estudio en muchos fluidos biológicos del cuerpo humano, como el líquido amniótico, materia fecal y orina. El instituto de Biodiagnóstico en Canadá está llevando acabo el estudio del líquido amniótico para detectar los niveles de los grupos lipídicos y el contenido de colesterol en las proteínas de baja densidad (LDL) en el suero, por que es un análisis directo, y lo están comparando con la aproximación de Friedewald.(34)

En los últimos 5 años se ha llevado acabo estudios mas profundos respecto a la Espectroscopia infrarrojo con Transformada Rápida de Fourier en la region media, en el año 2003 Yoen-joo Kim determinó la banda específica para la molécula de la glucosa ubicada en el rango de 1119-1022 cm y de este modo cuantificarla, por el método de aplicación parcial de lectura de regresión lineal (PLSR), el cual puede monitorear cuantitativamente la concentración de la glucosa en la sangre entera. Curil Petibois, en el año de 2004 determinó la concentración de la glucosa en muestras de suero y para ello utilizó el método de selección de banda donde encontró la banda específica a la cual absorbe el grupo C-O de la glucosa que se encuentra en la región de 1033cm y a partir de ello utilizaron el método (PLSR) para determinar la concentración de la glucosa. (29)

6.12. TEST DE CHI-CUADRADO

La **prueba de Chi-cuadrado** es considerada como una prueba no paramétrica que mide la discrepancia entre una distribución observada y otra teórica (bondad de ajuste), indicando en qué medida las diferencias existentes entre ambas, de haberlas, se deben al azar. También se utiliza para probar la independencia de dos muestras entre sí, mediante la presentación de los datos en tablas de contingencia.

Esta es un prueba estadística no paramétrica, que no presupone nada acerca de la naturaleza de la distribución de los datos, por lo que no tiene que utilizar parámetros, y solo se utiliza asociación de variables de forma cualitativas o categóricas.

Utiliza diseño aleatoriamente controlado, en el que los individuos se asignan de forma aleatoria, bien a un grupo de tratamiento, bien a uno en control, y nadie sabe a qué grupo va a ir hasta que está allí, para hacer este estudio se utiliza la tabla de contingencia 2x2. Recibe el nombre de 2x2 debido a que tiene dos filas y dos columnas, y de contingencia, por que los valores que aparecen en cada posición son contingentes con los que ocurren en los márgenes. En las tablas de contingencia se considera un grupo de indiscriminado de individuos con la enfermedad y sin ella, y se observa la cantidad de exposición de interés a la que han estado sometidos.

La tabla numero 2 relaciona esto con el fin de sumarizar datos categóricos. El interés radica en ver si las dos categorías de las variables en las hileras está relacionada a las 2 categorías de las variables en las columnas.

Tabla Nº 2 Tabla de contingencia

Hileras	Columnas		total
	1	2	
1	n₁₁	n₁₂	n_{1.}
2	n₂₁	n₂₂	n_{2.}
Total	n_{.1}	n_{.2}	n

La fórmula que da el estadístico es la siguiente:

$$\chi^2 = \sum \frac{(\text{observada} - \text{teórica})^2}{\text{teórica}}$$

Los grados de libertad vienen dados por:

gl= (r-1)(k-1). Donde r es el número de filas y k el de columnas.

Para columnas de 2x2 el grado de libertad es 1 ya que (2-1) * (2-1) = 1

La frecuencia teórica se denomina **e** y la frecuencia observada **n**

La frecuencia teórica se determina así:

$$\mathbf{e} = (\mathbf{n.1} \times \mathbf{n1.})/\mathbf{n}$$

NOTA: no es lo mismo **n1.** que **n .1**, porque **n1.** es la suma de las hileras y **n .1** es la suma de las columnas.

$$\chi^2 = \frac{(n_{11} - e_{11})^2}{e_{11}} + \frac{(n_{12} - e_{12})^2}{e_{12}} + \dots + \frac{(n_{rs} - e_{rs})^2}{e_{rs}} = \sum_{i=1}^r \sum_{j=1}^s \frac{(n_{ij} - e_{ij})^2}{e_{ij}}$$

El análisis estadístico del método de Chi cuadrado de Pearson se puede utilizar para los siguientes:

1. Asociación entre Sobrepeso (si, no) e Hipertensión (si, no).
2. Bajo peso del niño al nacer (≤ 2500 grs., > 2500 grs.) y edad de la madre (< 40 años, ≥ 40 años).
3. Tipo de patología (inflamatoria, neoplasia, traumática, otras) y tipo de operación (limpia, potencialmente contaminada, contaminada, sucia).
4. Estado del paciente aquejado de artrosis (peor, igual, mejor) y tipo de

tratamiento recibido (T1, T2)....

..

El cual, bajo la hipótesis nula sigue una distribución χ^2

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^r \sum_{j=1}^s \frac{(n_{ij} - e_{ij})^2}{e_{ij}} \rightarrow \chi_{(r-1)(s-1)}^2$$

5. Fijar un nivel de significación α (p.e, 0.05), y construir el “valor crítico” $\chi^2_{1-\alpha}$

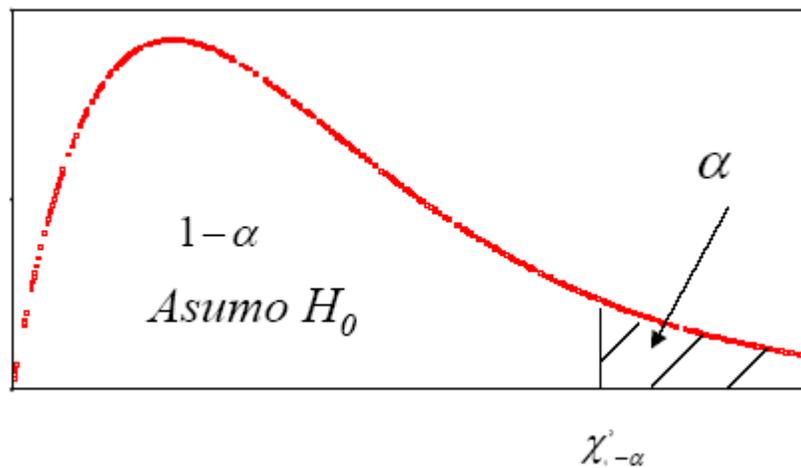


Figura N° 17. Grafica de contingencia

6. Regla de decisión:

- Si $\chi^2 > \chi^2_{1-\alpha}$ rechazamos H_0 y existe asociación significativa (p -valor $< \alpha$)
- Si $\chi^2 \leq \chi^2_{1-\alpha}$ asumimos H_0 (p -vaor $\geq \alpha$). El test es no significativo (n.s.)

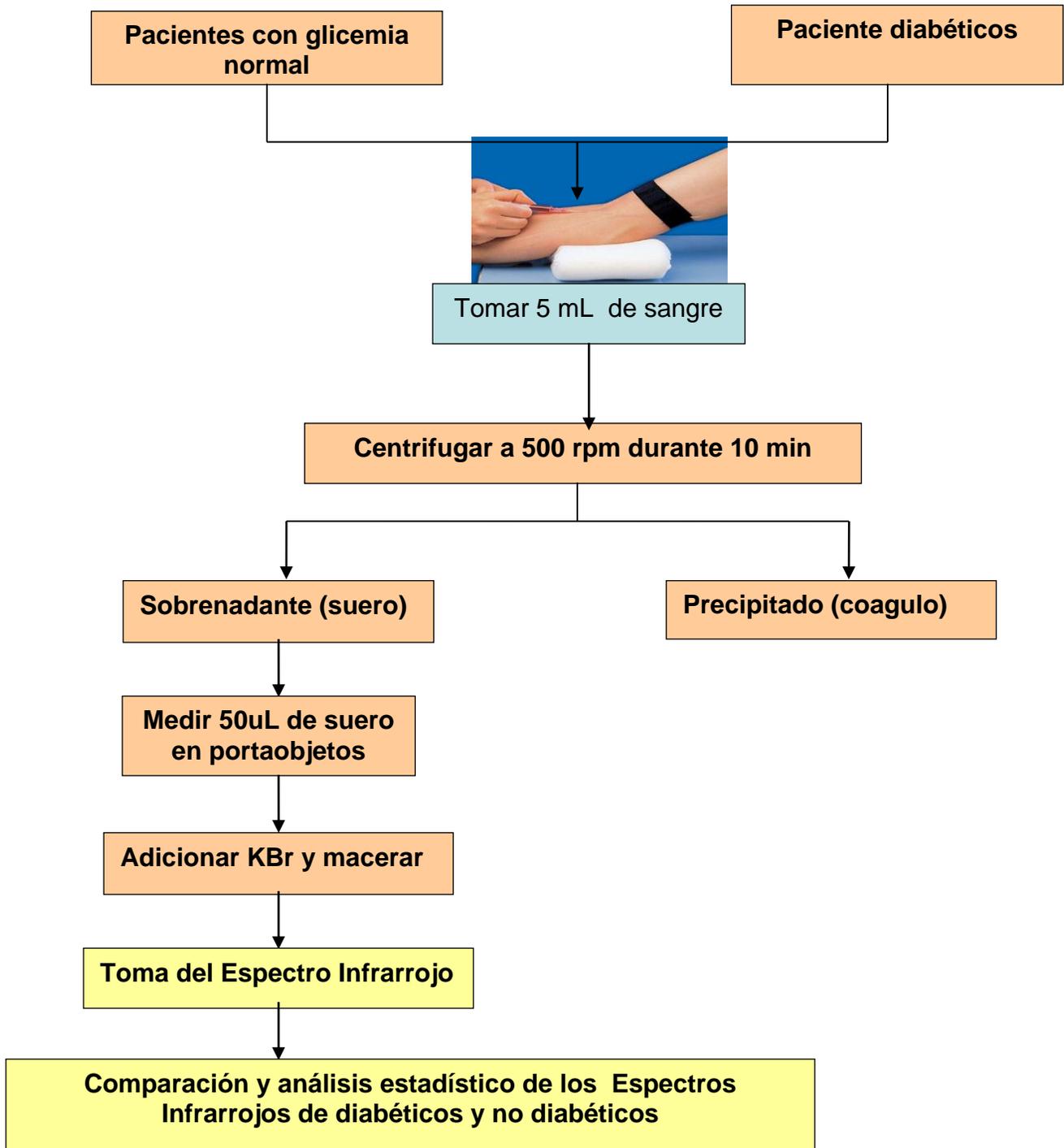
Cuando se lleva acabo la tabla de contingencia se tiene en cuenta el valor de chi-cuadrado de Pearson de la asintótica bilateral, ya que un valor por encima de α que corresponde a 0.05 llamado valor critico, el test no es significativo y por ello no hay asociación entre los datos pero si el valor es menor que 0.005 si hay asociación con los datos. La tabla N° 17 se presenta la grafica de contingencia. (33)

7. METODOS

7.1 METODOLOGIA GENERAL

El análisis del suero de los 25 pacientes con diabetes Mellitus y de los 25 pacientes con valores normales de glicemia se realizó en dos pasos. El primero, incluye el sangrado y preparación de las muestras. En el segundo, se tomó y se llevó a cabo el análisis espectral de las muestras. De acuerdo al procedimiento desarrollado a continuación.

- ❖ El sangrado se realizó en frascos de aproximadamente 7 mL, BD Vacutainer para la obtención del suero.
- ❖ De la mezcla se tomaron 50 μ L y se depositaron en un porta-objetos.
- ❖ Se adicionó inmediatamente aproximadamente 0.01 g de KBr.
- ❖ Se tomó el espectro Infrarrojo.
- ❖ Se identificaron las bandas del suero perteneciente a los pacientes con valores normales de glicemia, los cuales se utilizaron como patrón para hacer un análisis cualitativo a los espectros del suero de pacientes con Diabetes Mellitus.
- ❖ A los datos obtenidos en los espectros, se les realizó un análisis estadístico, con las correspondientes longitudes de onda más representativas y/o repetitivas.



7.2 MATERIALES E INSTRUMENTACION

7.2.1 Reactivos

- ❖ Suero con Diabetes Mellitus. Suministrado por la unidad de Enfermedades Metabólicas da la Facultad de Ciencias de la salud de la Universidad del Cauca. Las muestras se recopilaron en un periodo de 4 meses, correspondiendo a pacientes con remisión.

- ❖ Suero con valores normales de glicemia. Suministrado por la unidad de Enfermedades Metabólicas de la Facultad de ciencias de la Salud de la Universidad del Cauca.

- ❖ KBr (99+% FT-IR) de la marca Merck y Carlo Erba Reagenti.

7.2.2 Equipos y materiales

Los materiales utilizados en el sangrado y preparación de las muestras fueron:

- ❖ Jeringas de 5 mL.
- ❖ Porta-objetos esterilizados en auto clave.
- ❖ Frascos de vidrio Vacutainer de 7 mL para la obtención del suero.

Los equipos utilizados tanto en la preparación de la muestra como en el análisis espectral y el valor de la glicemia fueron:

- ❖ Centrifuga Leonard Electric Internacional, Clinical Centrifuge. Modelo 901 H.Laboratorio de Enfermedades Metabólicas.

- ❖ Micro pipeta de 100 μ L Duran.Laboratorio de Microbiología y Parasitología (Bioinesmi).

- ❖ Equipo Vitros System DT 60 II Chemistry, Jhonson y Jhonson.Laboratorio de Enfermedades Metabólicas.

- ❖ Espectrofotómetro Infrarrojo Genesis FT-IR Mattson (ATI), Modelo 240 Resolución (4000cm^{-1})-Laboratorio de Órgano metálica.

7.3 DESCRIPCION DE LA TECNICA

7.3.1 Pre-tratamiento de la muestra

Todo el material utilizado en el transcurso de esta investigación fue esterilizado previamente en auto clave y/o adquirido comercialmente esterilizado.

El sangrado se realizó en la Unidad Metabólica perteneciente a la Universidad del Cauca, en frascos de 7 mL Vacutainer Serun con el fin de extraer el suero, para ello se extrajo 5 mL de sangre a cada paciente, tanto con Diabetes Mellitus como a los que tienen valores normales de glicemia (no diabéticos).

Las muestras recolectadas se rotularon con el fin de tener en cuenta la persona de la cual provenía. Previo a esto la sangre se centrifugo aproximadamente a 500 rpm, durante 10 minutos, con el fin de obtener una buena separación del suero.

Una vez separado el suero se tomó de cada frasco (o tubo) 50 μL de suero, que fue depositado en un porta objetos debidamente rotulado, y llevado inmediatamente al Laboratorio de Órganometálica, para llevar acabo la toma del espectro infrarrojo.

Hay que tener en cuenta que la toma del espectro debe realizarse inmediatamente, ya que el proceso de la glicólisis continua con su desarrollo, una vez se haya hecho la extracción de la sangre. Esto se hace con el fin de evitar posibles errores en la investigación.

La muestra de suero en el portaobjetos se le adiciona Aproximadamente 0.01 g de KBr, y se procedió a tomar una cantidad considerable de la mezcla para llevar acabo la formación de la pastilla, para hacer toma del espectro infrarrojo.

Previo a lo anterior se le aplicaron las correcciones algorítmicas, incluidas en el software del equipo, que incluyeron: corrección de la línea base y la disminución del ruido para evitar posibles errores en el espectro infrarrojo.

8. DATOS Y ANALISIS DE RESULTADOS

Se seleccionaron los valores mas representativos correspondientes a la longitud de onda de cada banda de absorción en un acotamiento de un rango de 2000-800 cm^{-1} , para cada espectro infrarrojo de pacientes diabéticos y no diabéticos, con el propósito de encontrar un marcaje entre diabéticos y no diabéticos.

Estos datos se tabularan y se representaran en la tabla N° 3 y N° 4

8.1.1 SUERO DE PACIENTES NO DIABETICOS

Cada espectro del suero de los pacientes no Diabéticos se presenta en la tabla N° 3, con las bandas de absorción mas representativas en un rango de ± 5 para cada uno de ellos. A continuación a cada banda se estableció un marcaje especial que establece que el numero 1 representa la presencia de la respectiva banda y el numero 0 representa que no hay presencia o incidencia sobre la banda representativa.

8.1.2 SUERO DE PACIENTES DIABETICOS

Cada suero de los pacientes diabéticos presenta en la tabla N° 4 las bandas de absorción mas representativas para cada uno de ellos en un rango de ± 5 , y a las cuales se le indico un marcaje especial que establece que el numero 1 corresponde a la incidencia con la respectiva banda y el numero 0 corresponde a la no incidencia sobre la banda representativa.

Tabla Nº 3 Bandas más representativas para el suero no diabético

No Diabéticos	Bandas de absorción mas representativas cm ⁻¹												
	881	952	1043	1076	1239	1383	1405	1451	1468	1521	1538	1551	1646
1	0	0	0	0	1	1	0	1	1	0	1	1	1
2	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1
3	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1
4	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1
5	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	1	0	1
6	1	1	0	0	1	1	1	1	1	0	1	0	1
7	0	0	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1
8	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1
9	0	1	0	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1
10	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1
11	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1
12	1	0	1	1	1	1	0	1	1	0	0	0	1
13	1	0	0	0	1	1	1	1	1	0	0	1	1
14	1	0	0	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1
15	1	0	0	0	1	1	1	1	1	0	0	1	1
16	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	1
17	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1
18	1	1	0	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1
19	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1
20	1	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	1
21	0	1	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	1
22	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1
23	1	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1
24	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1
25	1	0	0	0	1	1	1	1	1	0	0	1	1
26	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1
27	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	1
28	1	0	0	0	1	1	1	1	1	0	0	1	1
29	1	1	0	0	1	1	0	1	1	0	1	1	1

Tabla N° 4. Bandas más representativas para el suero diabético

Diabéticos	Bandas de absorción mas representativas cm ⁻¹												
	881	952	1043	1076	1239	1383	1405	1451	1468	1521	1538	1551	1646
1	1	0	0	0	1	1	0	1	1	0	1	1	1
2	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1
3	1	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	1
4	0	1	0	0	0	1	0	1	1	0	1	1	1
5	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1
6	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	0	1
7	1	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	1
8	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1
9	1	0	0	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1
10	1	0	1	1	0	1	0	1	1	0	1	1	1
11	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	1
12	1	0	1	0	0	1	0	1	1	0	1	1	1
13	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1
14	1	0	1	0	0	1	0	1	1	0	0	1	1
15	1	0	0	0	1	1	0	1	1	0	0	1	1
16	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	1
17	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1
18	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	1
19	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	1
20	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1
21	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	1
22	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1
23	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	1
24	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0
25	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	1

Para esta investigación se trabajó con suero de pacientes con Diagnóstico confirmado de Diabetes Mellitus y pacientes cuya glicemia se encuentra en los límites de referencia (75-115 mg/dl). (36)

Para el análisis de los espectros se presenta dos regiones:

- a) Región de los grupos funcionales: 3700 a 1600 cm^{-1}
- b) Frecuencia de esqueleto o región de la huella digital: 1600 a 400 cm^{-1}

Para este trabajo de investigación se llevó a cabo un acotamiento espectral comprendido en la región de 4000 a 2000 cm^{-1} , debido a que las bandas que se presentan por encima de los 1600 cm^{-1} , no presentan mucha información para esta investigación, debido a que algunos grupos funcionales generan bandas muy grandes que producen solapamiento, lo cual no permite la identificación de ciertos grupos.

Por este motivo se lleva a cabo el estudio investigativo en esta región comprendida entre 2000 y 800 cm^{-1} , la cual brinda más información, ya que se extiende sobre un solo grupo pequeño, pero lo más interesante es que la región dactilar es característica para cada molécula, hasta tal punto que se considera que se puede detectar grupos estereoisómeros (16) (10).

Los grupos funcionales más destacados aparecen en la región de 4000 a 2000 cm^{-1} , son bandas de tensión de los grupos funcionales, que no representa mayor información para el diagnóstico precoz de la Diabetes Mellitus, se describen a continuación.

- **Amidas- R-CO-NH:** para las amidas primarias R-NH₂ se presentan dos bandas de tensión: una simétrica comprendida entre 3550 a 3420 cm^{-1} y una asimétrica entre 3450 a 3320 cm^{-1} . para las amidas secundarias R-NH-R esta presenta una banda de estiramiento entre 3440 a 330 cm^{-1} .
- **Aminas R-NH :** las aminas primarias presentan 2 bandas de tensión: una simétrica comprendida entre $3550 - 3300\text{ cm}^{-1}$ y otra asimétrica entre $3450-3320\text{ cm}^{-1}$, la secundaria presenta una banda débil entre $3500-3300\text{ cm}^{-1}$.

- **Alcoholes y Fenoles R-OH:** banda de O-H presenta una banda aguda de tensión entre 3640-3610 cm^{-1} cuando presenta puente de hidrógeno y una banda ancha de tensión comprendida entre 3550-3200 cm^{-1} , cuando presenta puente de hidrógeno. Además en el caso de los alcoholes, la frecuencia de la banda de estiramiento del grupo hidroxilo ha sido asignada para moléculas no asociadas de la manera siguiente: alcoholes primarios 3642 cm^{-1} , alcoholes secundarios 3629 cm^{-1} y alcoholes terciarios 3618 cm^{-1} .

- ❖ **Ácidos Carboxílicos R-CO-O-H:** banda ancha e intensa correspondiente a la tensión O-H asociado (puentes de hidrógeno) entre 3300-2500 cm^{-1} , la cual es tan ancha que se superpone con la señal de tensión del C-H, cuando se encuentra en 35595 cm^{-1} indica que el O-H es libre, y que solo se observa en soluciones muy diluidas en solventes no polares o en fase gaseosa, (16)

- ❖ **Alcanos Lineales CH₃- CH₂-C-H :** empezando siempre de izquierda a derecha, la primera serie de bandas que encontramos corresponde a las tensiones simétricas y asimétricas de los enlaces C-H de los metilos y los metilenos entre 3000-2840 cm^{-1}

- ❖ **Metilos CH₃:** presentan 2 bandas de tensión una simétrica y una asimétrica ubicadas en 2962 cm^{-1} y 2872 cm^{-1}

- ❖ **Metilenos CH₂:** presentan 2 bandas de tensión simétrica y asimétrica ubicadas en 2926 cm^{-1} y 2853 cm^{-1} respectivamente.

Sin embargo, no siempre se alcanzan a distinguir las cuatro señales, generalmente aparece una señal fuerte y pequeños hombros sobre ella, el que aparezca una o varias señales depende del grado de mayor o menor resolución del instrumento.

En la figura N° 18, aparece el espectro infrarrojo del suero de un paciente diabético, para el cual las bandas mencionadas anteriormente comprendidas en el rango de 4000-2000 cm^{-1} , no muestran mucha información en esta investigación

por presentar solapamiento en las bandas de tensión. Estas bandas se mencionan a continuación.

La región entre $800\text{-}400\text{ cm}^{-1}$ no se tiene en cuenta, dado que presenta bandas múltiples que no a portan mucha información en esta investigación.

diabetico

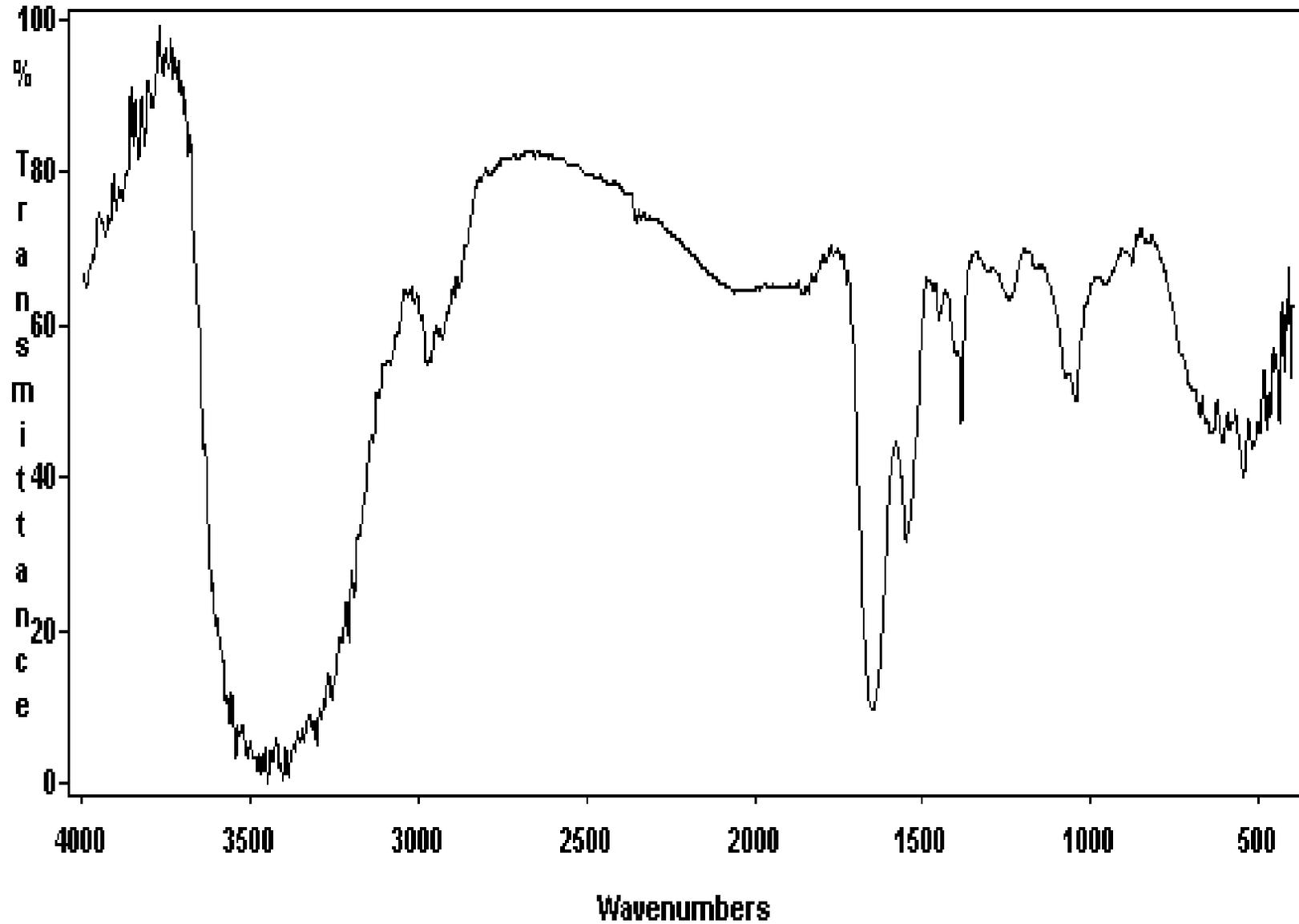


Figura N° 18. Espectro Infrarrojo del suero de un paciente Diabético. Región comprendida entre 4000-400 cm^{-1}

8.1.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO Y ESPECTRAL DE SUERO DIABÉTICO Y SUERO NO DIABÉTICO

La representación del número 0, en este estudio estadístico, indica la ausencia de la banda en el espectro y el número 1 indica la presencia de la banda en el espectro.

8.1.3.1 Banda representativa de 881 cm⁻¹.

En la tabla N° 5 en las pruebas de Chi-cuadrado se observa que la asintótica significativa bilateral para el valor de Chi-cuadrado de Pearson tiene un valor de 0.092 que es mayor que el valor de nivel de significación ($\alpha = 0.05$), que indica que no hay asociación entre los no Diabéticos o los Diabéticos con respecto a la banda y por ello se considera que no es significativa, ya que si se observa la tabla de contingencia N° 6 se observa una asociación constante por lo que se puede decir que esta se presenta tanto en los espectros de los diabético como en los no diabéticos.

Tabla N° 5 Tabla de contingencia para la banda de absorción a 881 cm⁻¹

			DIABETICO		Total
			No	Si	
881	0	Recuento	12	5	17
		Frecuencia esperada	9.1	7.9	17.0
	1	Recuento	17	20	37
		Frecuencia esperada	19.9	17.1	37.0
Total	Recuento		29	25	54
	Frecuencia esperada		29.0	25.0	54.0

Tabla N° 6. Pruebas de Chi-cuadrado para la banda de 881 cm⁻¹

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)	Sig. exacta (bilateral)	Sig. exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	2.845 ^b	1	.092		
Corrección por continuidad	1.940	1	.164		
Razón de verosimilitud	2.917	1	.088		
Estadístico exacto de Fisher				.142	.081
Asociación lineal por lineal	2.792	1	.095		
N de casos válidos	54				

a. Calculado sólo para una tabla de 2x2.

b. 0 casillas (.0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es 7.87.

El espectro infrarrojo para la banda de absorción de 881 cm⁻¹ es débil, como se muestra en la figura N° 18, esta banda es representativa de los dobles enlaces carbono-carbono, C=C, presente posiblemente de enlaces conjugados. Esta banda también puede indicar la presencia del enlace P=S, ya que el rango de este grupo se encuentra en 800-650 cm⁻¹.

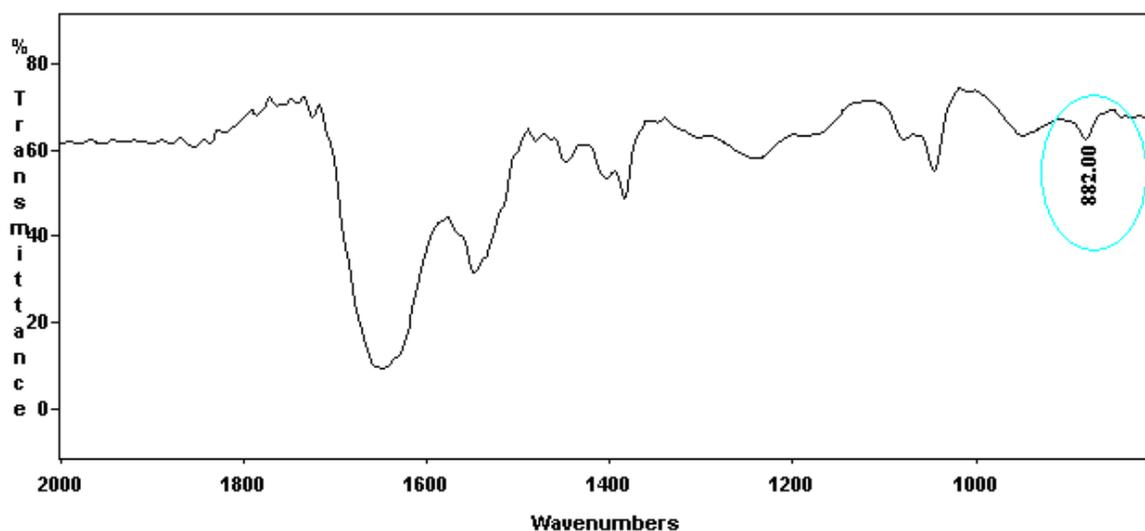


Figura N° 18 banda representativa de 881 cm⁻¹

8.1.3.2 Banda representativa de 952 cm⁻¹

El valor de Chi-cuadrado de Pearson es de 3.367, como lo indica la tabla N° 8, en las pruebas de Chi-cuadrado y el valor de la asintótica bilateral es de 0.67, lo que refleja que no hay una asociación definida de esta banda con los diabéticos o los no diabéticos, ya que el valor crítico del nivel de significación es menor ($\alpha = 0.05$). En la tabla N° 7 de contingencia esta banda de absorción refleja que no hay preferencia para ninguno de los dos tipos de pacientes y por ello, puede decirse que esta banda puede si/no presentarse tanto en diabéticos como en no diabéticos, por ello, no se establece como parámetro para el diagnóstico de esta enfermedad.

Tabla N° 7. Tabla de contingencia para la banda de absorción de 952 cm⁻¹

			DIABETICO		Total
			No	Si	
952	0	Recuento	21	12	33
		Frecuencia esperada	17.7	15.3	33.0
	1	Recuento	8	13	21
		Frecuencia esperada	11.3	9.7	21.0
Total		Recuento	29	25	54
		Frecuencia esperada	29.0	25.0	54.0

Tabla N° 8. Pruebas de chi-cuadrado para la banda de 952 cm⁻¹

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)	Sig. exacta (bilateral)	Sig. exacta (Unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	3.367 ^b	1	.067	.095	.060
Corrección por continuidad ^a	2.418	1	.120		
Razón de verosimilitud	3.391	1	.066		
Estadístico exacto de Fisher					
Asociación lineal por lineal	3.305	1	.069		
N de casos válidos	54				

a. Calculado sólo para una tabla de 2x2.

b. 0 casillas (.0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es 9.72.

Esta banda ancha y difusa como se muestra en la figura N° 19 para el espectro de la banda de absorción de 952 cm^{-1} , corresponde al enlace P-O-P, que corresponde a las moléculas de ATP, ADP y AMP, por que este enlace P-O se encuentra en el rango de $970\text{-}910\text{ cm}^{-1}$, este rango es único y exclusivo para este tipo de enlace, ya que el enlace carbono en esta parte no es muy frecuente. Estas moléculas juegan un papel importante en el nivel energético del cuerpo humano. (16)

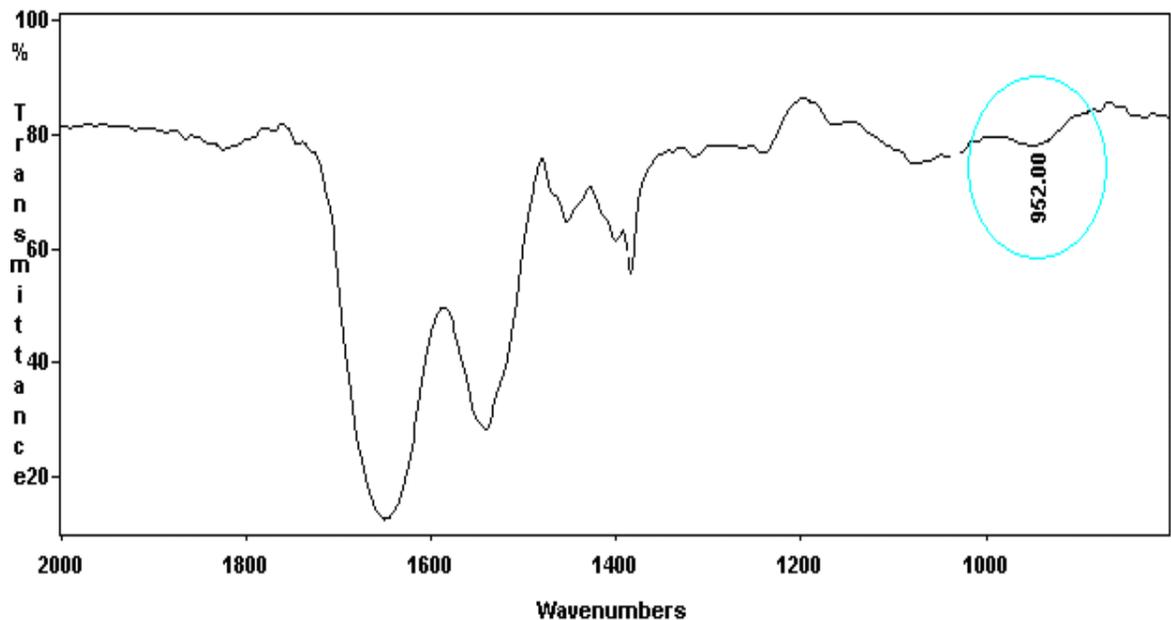


Figura N° 19. Banda representativa de 952 cm^{-1}

8.1.3.3 Banda representativa de 1043 cm^{-1}

El valor de la asintótica bilateral de Chi-cuadrado de Pearson de la tabla N° 10, de las pruebas de Chi-cuadrado es de 0.001, el cual está por debajo del valor crítico de 0.05, por ello refleja una clara asociación de esta banda con los espectros infrarrojos de los diabéticos, como se observa en la tabla N° 9 de contingencia, ya que 19 diabéticos presentan esta banda de los 25 diabéticos en total, y para los no diabéticos hay 20 pacientes que no presentan esta banda, de las 29 personas no diabéticas, lo que indica que esta banda es representativa para el diagnóstico de esta enfermedad, por que muestra mayor preferencia para el espectro infrarrojo del suero diabético.

Tabla N° 9. Tabla de contingencia para la banda 1043 cm⁻¹

			DIABETICO		Total
			No	Si	
1043	0	Recuento	20	6	26
		Frecuencia esperada	14.0	12.0	26.0
	1	Recuento	9	19	28
		Frecuencia esperada	15.0	13.0	28.0
Total		Recuento	29	25	54
		Frecuencia esperada	29.0	25.0	54.0

Tabla N° 10. Pruebas de chi-cuadrado para la banda de 1043 cm⁻¹

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)	Sig. exacta (bilateral)	Sig. exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	10.873 ^b	1	.001		
Corrección por continuidad	9.147	1	.002		
Razón de verosimilitud	11.308	1	.001		
Estadístico exacto de Fisher				.001	.001
Asociación lineal por lineal	10.672	1	.001		
N de casos válidos	54				

a. Calculado sólo para una tabla de 2x2.

b. 0 casillas (.0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es 12.04.

Esta banda de absorción de 1043 cm⁻¹ corresponden al enlace C-O-C y C-O del grupo éter, en este caso corresponde a los carbohidratos, por que según los estudios realizados por espectroscopia infrarroja esta banda corresponde a la glucosa, ya que el rango de absorción de ella es de 1050-980 cm⁻¹, por ello se puede observar en la figura N° 20 la banda representativa de absorción de 1043cm⁻¹, que corresponde al enlace de los éter. (16)(37)

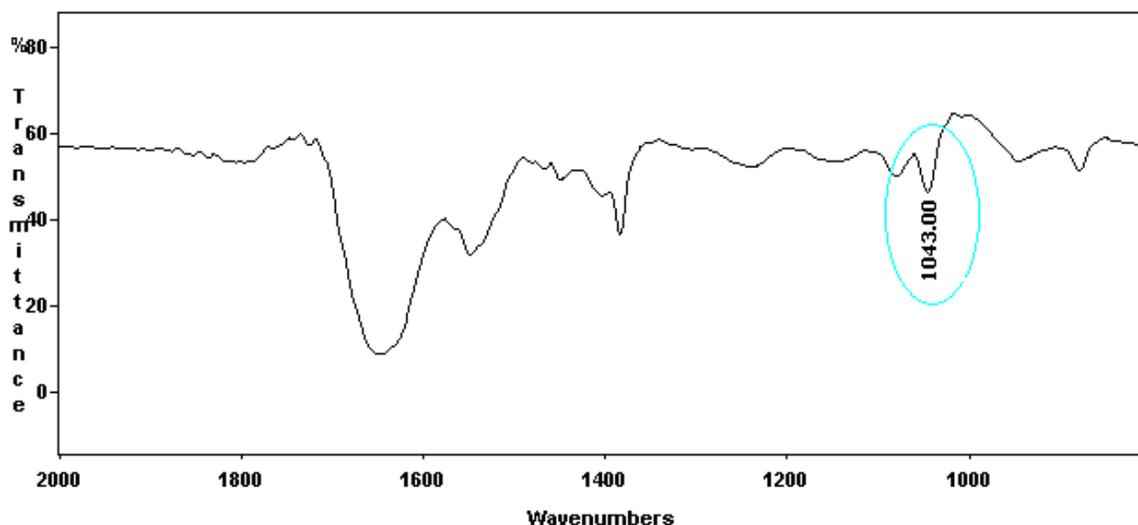


Figura N° 20. Banda representativa de 1043 cm⁻¹

8.1.3.4 Banda representativa de 1076 cm⁻¹

Esta banda de absorción como se indica en la tabla N° 12 en las pruebas de Chi cuadrado, presenta un valor de la asintótica bilateral de 0.014, que establece que esta banda es representativa para hacer el diagnóstico precoz de la diabetes Mellitus, ya que se encuentra por debajo del nivel de significación de 0.05, por lo que esta banda está asociada solo con las personas diabéticas, ya que la tabla N° 11 de contingencia, presenta que la incidencia es mayor para los diabéticos, por que de los 25 casos, 17 son los que presentan esta banda.

Tabla N° 11. Tabla de contingencia para la banda 1076 cm⁻¹

			DIABETICO		Total
			No	Si	
1076	0	Recuento	19	8	27
		Frecuencia esperada	14.5	2.5	27.0
	1	Recuento	10	17	27
		Frecuencia esperada	14.5	2.5	27.0
Total		Recuento	29	25	54
		Frecuencia esperada	29.0	25.0	54.0

Tabla N° 12. Pruebas de Chi-cuadrado para la banda de 1076 cm⁻¹

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)	Sig. exacta (bilateral)	Sig. exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	6.033 ^b	1	.014		
Corrección por continuidad	4.767	1	.029		
Razón de verosimilitud	6.154	1	.013		
Estadístico exacto de Fisher				.028	.014
Asociación lineal por lineal	5.921	1	.015		
N de casos válidos	54				

a. Calculado sólo para una tabla de 2x2.

b. 0 casillas (.0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es 12.50.

Esta banda como se mencionó anteriormente corresponde a los enlaces éter: C-O-C y C-O, por que según la literatura e investigaciones corresponde a los carbohidratos (glucosa, fructosa y maltosa) por que estos absorben en un rango de 1153-904 cm⁻¹. Como la muestra la figura N° 21, que corresponde a la banda de absorción de 1076 cm⁻¹

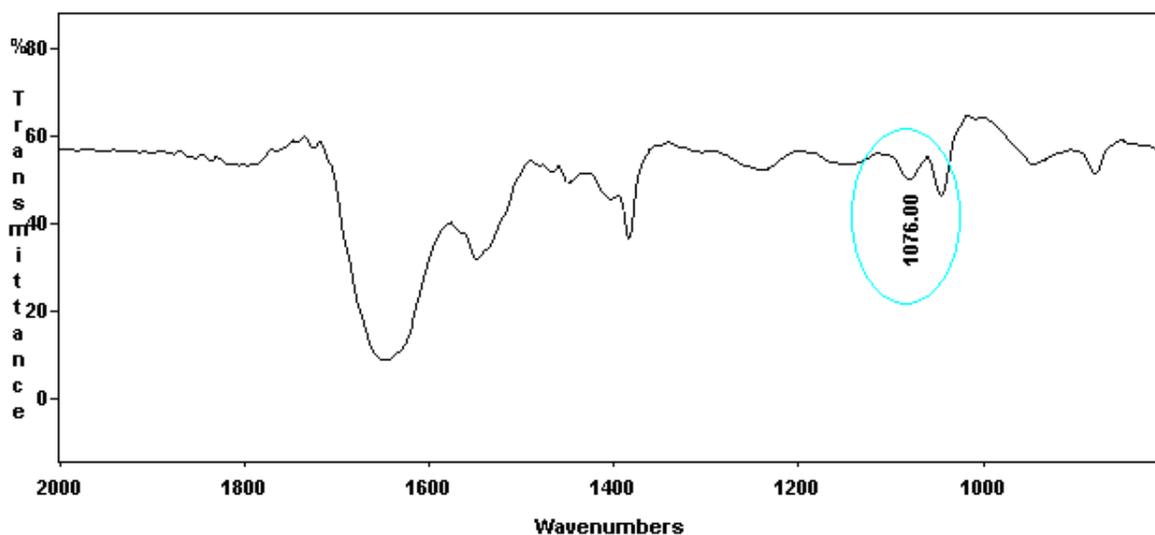


Figura N° 21. Banda de absorción de 1076 cm⁻¹

8.1.3.5 Banda representativa de 1239 cm⁻¹

La banda de absorción de 1239 cm⁻¹ presenta un valor de la asintótica bilateral como lo muestra la tabla N° 14 de la prueba de Chi-cuadrado de 0.539, lo que indica que no hay asociación de esta banda con los espectros de los sueros diabéticos o no diabéticos, por que esta banda como lo muestra la tabla N° 13 de contingencia, aparece en los diabéticos y en los no diabéticos, ya que de 29 espectros no diabéticos, 24 presentan esta banda de absorción característica, y en los diabéticos hay 19 espectros que presentan esta banda, el problema de no ser significativa es que no hay una preferencia significativa para ninguno de los casos por ello no tiene asociación significativa.

Tabla N° 13. Tabla de contingencia para la banda 1239 cm⁻¹

			DIABETICO		Total
			No	Si	
1239	0	Recuento	5	6	11
		Frecuencia esperada	5.9	5.1	11.0
	1	Recuento	24	19	43
		Frecuencia esperada	23.1	19.9	43.0
Total		Recuento	29	25	54
		Frecuencia esperada	29.0	25.0	54.0

Tabla N° 14. Pruebas de Chi-cuadrado para la banda de 1239 cm⁻¹

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)	Sig. exacta (bilateral)	Sig. exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	.378 ^b	1	.539		
Corrección por continuidad	.076	1	.782		
Razón de verosimilitud	.377	1	.539		
Estadístico exacto de Fisher				.736	.390
Asociación lineal por lineal	.371	1	.542		
N de casos válidos	54				

a. Calculado sólo para una tabla de 2x2.

b. 0 casillas (.0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es 5.09.

Esta banda débil es originada por la flexión simétrica del grupo PO_2^- , ya que esta banda se encuentra íntimamente ligada con los enlaces hidrógeno y oxígeno de este grupo en ácidos nucleicos, Posición afectada por el número de sustituyentes electronegativos. La presencia de esta banda se observa en la figura N° 22, que indica la banda de absorción de 1239 cm^{-1} . (29) (15)

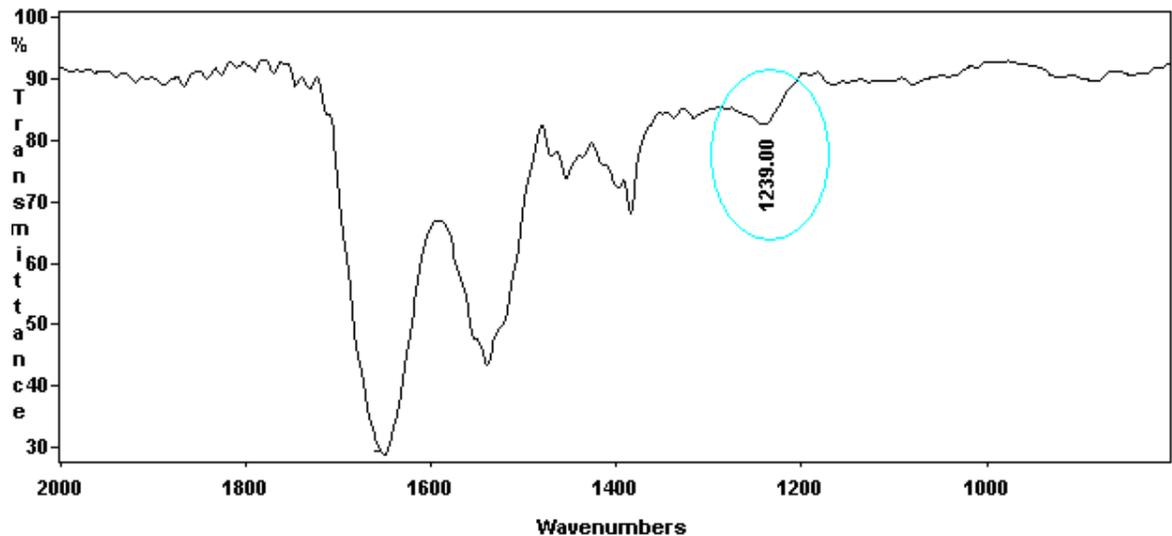


Figura N° 22. Banda de absorción de 1239 cm^{-1}

8.1.3.6 Banda representativa de 1384 cm^{-1}

Esta banda no presenta valor de Chi-cuadrado de Pearson, como lo indica la tabla N° 16 de pruebas de Chi-cuadrado, por que el test no es significativo, debido a que esta banda es constante, tanto para los diabéticos como para los no diabéticos, según la tabla N° 15 de contingencia, indica que los 29 no diabéticos y los 25 diabéticos presentan esta banda representativa de absorción en el espectro infrarrojo del suero.

Tabla N° 15. Tabla de contingencia para la banda de absorción de 1384 cm^{-1}

			DIABETICO		Total
			No	Si	
1384	1	Recuento	29	25	54
		Frecuencia esperada	29.0	25.0	54.0
Total	Recuento		29	25	54
	Frecuencia esperada		29.0	25.0	54.0

Tabla N° 16. Pruebas de chi-cuadrado para la banda de 1384 cm⁻¹

	Valor
Chi-cuadrado de Pearson	. ^a
N de casos válidos	54

a. No se calculará ningún estadístico
Porque B1384 es una constante.

Esta banda semi pronunciada como lo muestra la figura N° 23 del espectro infrarrojo para la banda de absorción de 1384 cm⁻¹ ± 5, representa la presencia de los grupos metilos y metilenos, -CH₃ y -CH₂, que son representativos en el rango entre 1390-1370 cm⁻¹, las cuales son vibraciones de torsión simétricas, esta banda es muy importante para detectar la presencia de principales constituyentes de la estructura de las proteínas y de lípidos, cuya representación establece la conformación de proteínas mencionadas posteriormente. (15) (116)

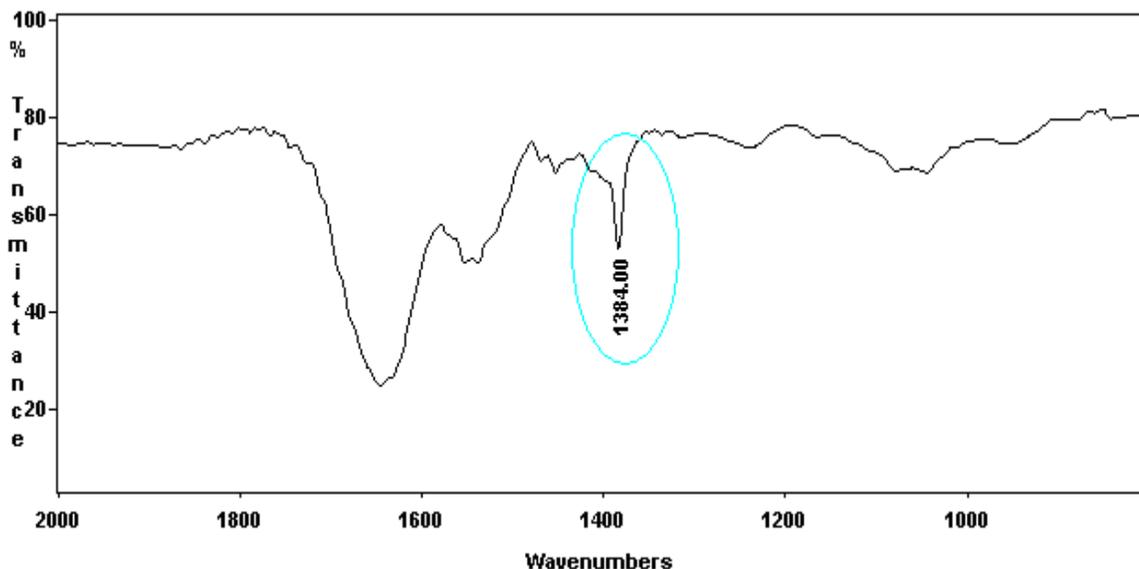


Figura N° 23. Banda de absorción de 1384 cm⁻¹

8.1.3.7 Banda representativa de 1405 cm⁻¹

Esta banda de absorción como lo muestra la tabla N° 18, en la prueba de Chi-cuadrado de Pearson, tiene un valor de 0.847 en la asintótica bilateral, que indica que no tiene asociación o preferencia por alguno de los dos tipos de los espectros

de los pacientes, por que la tabla N° 17 de contingencia, muestra la variación respecto a la presencia o ausencia de esta banda, indicando que esta banda es solo una variable respecto al proceso metabólico o estilo de vida que la persona presenta.

Tabla N° 17. Tabla de contingencia para la banda de absorción de 1405 cm⁻¹

		DIABETICO		Total	
		No	Si		
1405	0	Recuento	10	8	18
		Frecuencia esperada	9.7	8.3	18.0
	1	Recuento	19	17	36
		Frecuencia esperada	19.3	16.7	36.0
Total		Recuento	29	25	54
		Frecuencia esperada	29.0	25.0	54.0

Tabla N° 18. Pruebas de chi-cuadrado para la banda de 1405 cm⁻¹

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)	Sig. exacta (bilateral)	Sig. exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	.037 ^b	1	.847		
Corrección por continuidad	.000	1	1.000		
Razón de verosimilitud	.037	1	.847		
Estadístico exacto de Fisher				1.000	.539
Asociación lineal por lineal	.037	1	.848		
N de casos válidos	54				

a. Calculado sólo para una tabla de 2x2.

b. 0 casillas (.0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es 8.33.

Esta banda representada como un hombro en la figura N° 24 en la banda de absorción de 1405 cm⁻¹, indica la presencia del enlace C-H, por estar presente en esta región de 1420-1395 cm⁻¹ de flexión que es fundamental para encontrar esta banda, y que indica la presencia de lípidos solubles en muestras biológicas.

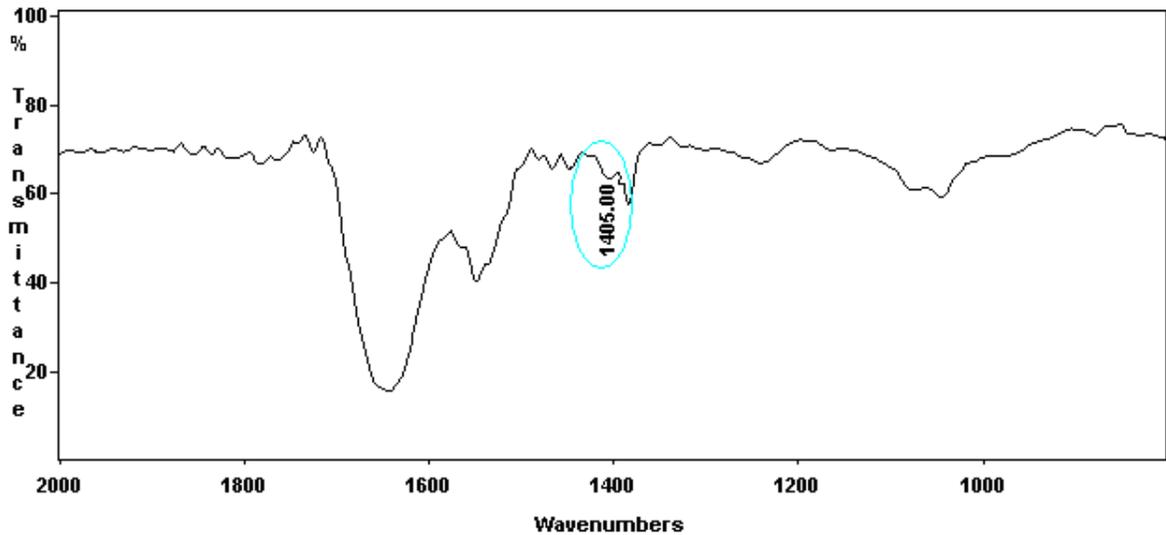


Figura N° 24. Banda de absorción de 1405 cm⁻¹

8.1.3.8 Banda representativa de 1451 cm⁻¹

El valor de Chi-cuadrado de Pearson para esta banda es de 0.767 como se indica en la tabla N° 20 de pruebas de Chi-cuadrado, la cual establece que esta banda esta asociada para los dos tipos de espectros infrarrojos pertenecientes al suero de diabéticos y no diabéticos, ya que aparece tanto en los diabéticos y en los no diabéticos, por eso se observa 26 no diabéticos y 23 diabéticos que presentan dicha banda. Por ello este grupo es común para los 2 tipos de espectros, como lo muestra la tabla de contingencia N° 19.

Tabla N° 19. Tabla de contingencia para la banda de absorción de 1451 cm⁻¹

			DIABETICO		Total
			No	Si	
1451	0	Recuento	3	2	5
		Frecuencia esperada	2.7	2.3	5.0
	1	Recuento	26	23	49
		Frecuencia esperada	26.3	22.7	49.0
Total		Recuento	29	25	54
		Frecuencia esperada	29.0	25.0	54.0

Tabla N° 20. Pruebas de chi-cuadrado para la banda de 1451 cm⁻¹

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)	Sig. exacta (bilateral)	Sig. exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	.088 ^b	1	.767		
Corrección por continuidad	.000	1	1.000		
Razón de verosimilitud	.089	1	.766		
Estadístico exacto de Fisher				1.000	.572
Asociación lineal por lineal	.086	1	.769		
N de casos válidos	54				

a. Calculado sólo para una tabla de 2x2.

b. 2 casillas (50.0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es 2.31.

Esta banda pequeña y débil como lo muestra la figura N° 25, indica la presencia de enlaces metilos, por que esta banda se encuentra en el rango de 1493-1429 cm⁻¹, correspondiente a los enlaces metilos -CH₃, por ende esta banda es sensible al tipo de sustituyentes ligado al grupo metilo. En este caso es el principal constituyente de la estructura de las proteínas.

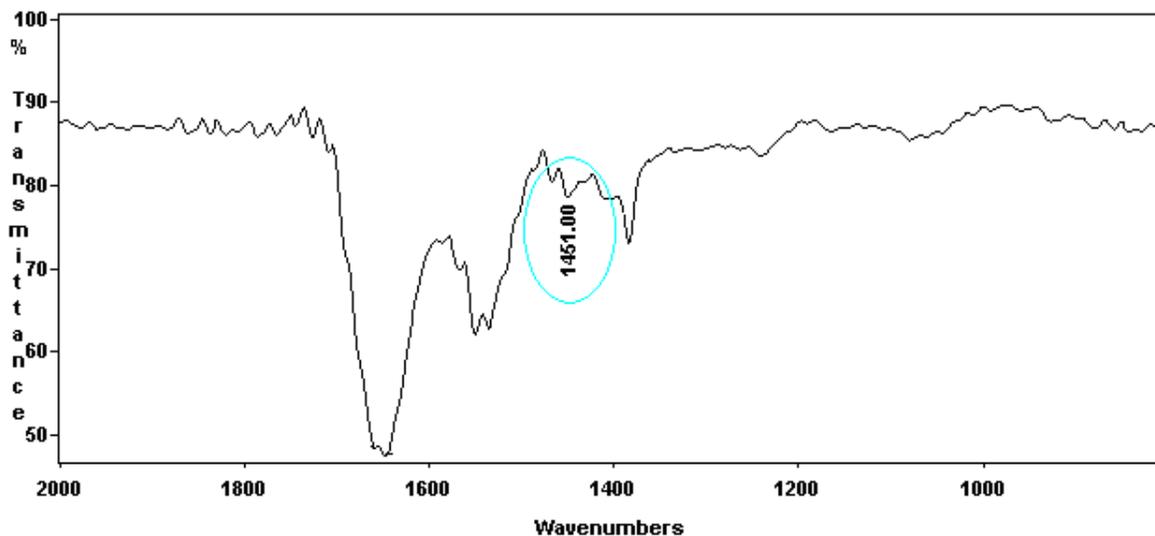


Figura N° 25. Banda de absorción de 1451 cm⁻¹

Este rango de 1451cm^{-1} es muy valioso para detectar la presencia de grupos metilo, ya que esta región está casi exenta de otros tipos de bandas de absorción, mientras que las otras tres bandas debidas al grupo metilo están muy próximas a las bandas de absorción análogas, que presentan grupos metileno, CH_2 y metílico CH. Por ello siempre se encontrará esta banda en los espectros de suero de un paciente diabético y no diabético.

8.1.3.9. Banda representativa de 1468 cm^{-1}

Esta banda presenta una asintótica bilateral de 0.063 como lo indica la tabla N° 22 en las pruebas de Chi-cuadrado, este valor es muy cercano al valor crítico de asociación de 0.05, pero no presenta una asociación significativa entre los diabéticos y no diabéticos para este trabajo, por ello se descarta como patrón, por que aunque se presenta con mayor regularidad en los no diabéticos se presentan unos casos significativos en los diabéticos, como se lo muestra la tabla N° 21 de contingencia.

Tabla N° 21. Tabla de contingencia para la banda de absorción de 1468 cm^{-1}

			DIABETICO		Total
			No	Si	
1468	0	Recuento	5	10	15
		Frecuencia esperada	8.1	6.9	15.0
	1	Recuento	24	15	39
		Frecuencia esperada	20.9	18.1	39.0
Total		Recuento	29	25	54
		Frecuencia esperada	29.0	25.0	54.0

Tabla N° 22. Pruebas de chi-cuadrado para la banda de 1468 cm⁻¹

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)	Sig. exacta (bilateral)	Sig. exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	3.466 ^b	1	.063		
Corrección por continuidad	2.425	1	.119		
Razón de verosimilitud	3.498	1	.061		
Estadístico exacto de Fisher				.076	.060
Asociación lineal por lineal	3.402	1	.065		
N de casos válidos	54				

a. Calculado sólo para una tabla de 2x2.

b. 0 casillas (.0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es 6.94.

Esta banda de absorción pequeña y notable como lo muestra la figura N° 26, es representativa solo para los grupos metilenos CH₂, ya que absorción es fundamental para la determinación de los grupos metilenos, por que según el rango establecido para este grupo, aparecen entre 1470-1450 cm⁻¹, esta banda como tal, es muy difícil su determinación por que siempre se solapa con la banda de absorción 1451 cm⁻¹ mencionada anteriormente en la figura N° 25, y se presenta como un hombro.(15)

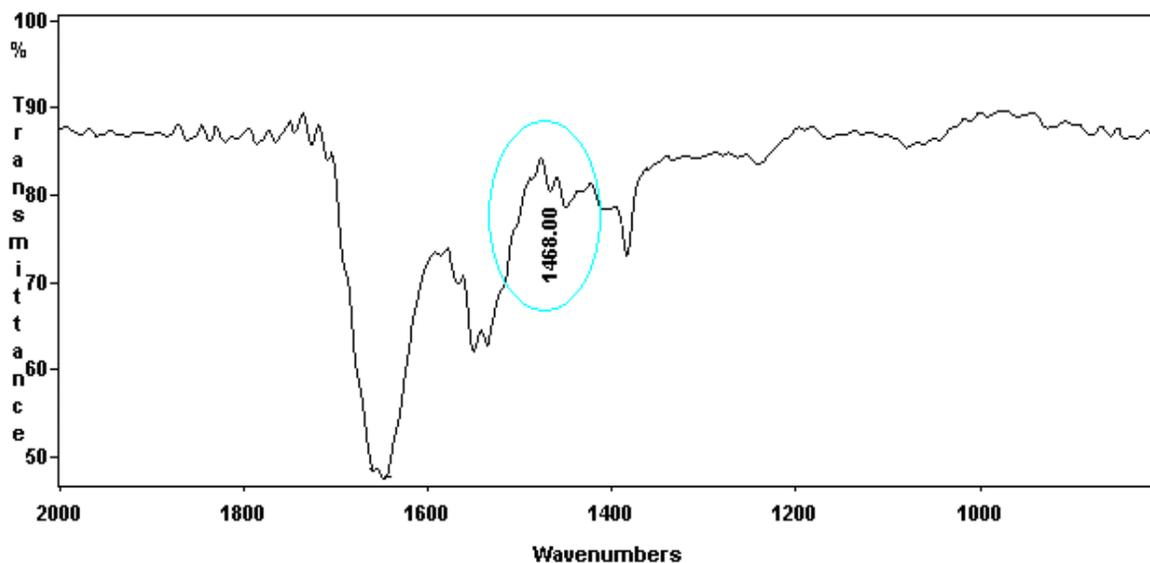


Figura N° 26. Banda de absorción de 1468 cm⁻¹

8.1.3.10. Banda representativa de 1521 cm⁻¹

Esta banda presenta una asintótica bilateral de 0.029 como lo indica la tabla N° 24 en la pruebas de Chi-cuadrado de Pearson, y por ello indica que se presenta una asociación muy significativa para los espectros infrarrojos del suero de pacientes no diabéticos, por que 5 pacientes no diabéticos presentan esta banda, mientras que para los diabéticos no hay presencia de esta banda, como se muestra en la tabla de contingencia N° 23 por ello, esta banda juega un papel fundamental para este diagnóstico.

Tabla N° 23. Tabla de contingencia para la banda de absorción de 1521 cm⁻¹

			DIABETICO		Total
			No	Si	
1521	0	Recuento	24	25	49
		Frecuencia esperada	26.3	22.7	49.0
	1	Recuento	5	0	5
		Frecuencia esperada	2.7	2.3	
Total		Recuento	29	25	54
		Frecuencia esperada	29.0	25.0	54.0

Tabla N° 24. Pruebas de chi-cuadrado para la banda de 1521 cm⁻¹

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)	Sig. exacta (bilateral)	Sig. exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	4.750 ^b	1	.029		
Corrección por continuidad	2.920	1	.088		
Razón de verosimilitud	6.655	1	.010		
Estadístico exacto de Fisher				.054	.038
Asociación lineal por lineal	4.662	1	.031		
N de casos válidos	54				

a. Calculado sólo para una tabla de 2x2.

b. 2 casillas (50.0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es 2.31.

Esta banda de flexión débil a 1521 cm^{-1} como lo muestra la figura N° 27, se presenta como un radical y corresponde a una amina secundaria N-H, nos indica la presencia de enlaces peptídico de aminoácidos básicos presentes en proteínas, (16)

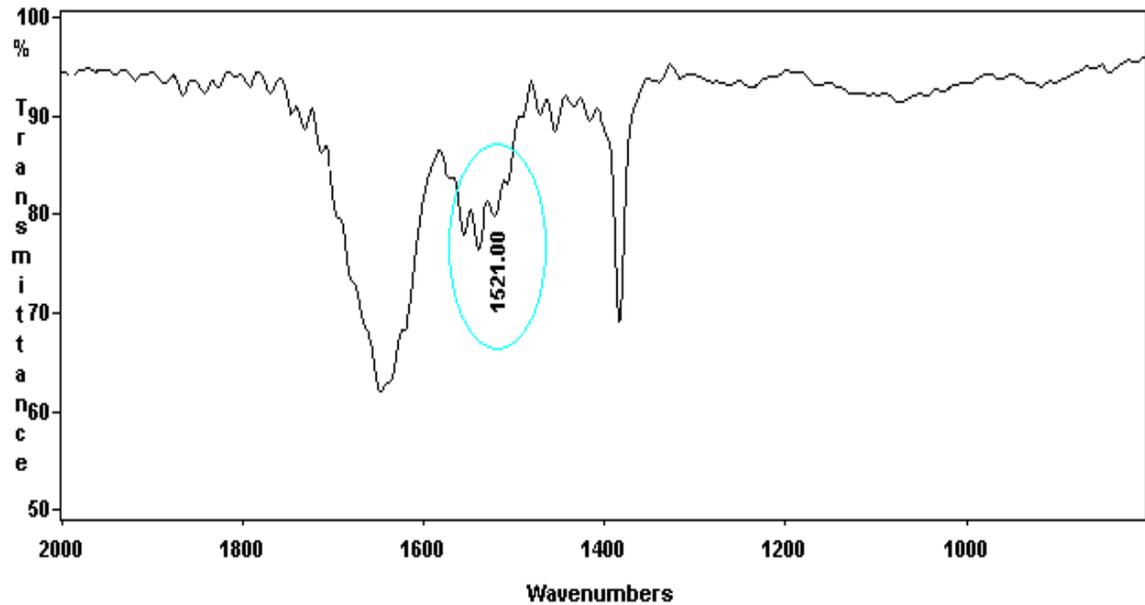


Figura N° 27. Banda de absorción de 1521 cm^{-1}

8.1.3.11 Banda representativa de 1538 cm^{-1}

El valor de Chi-cuadrado de Pearson para esta banda como se muestra en la tabla N° 26 en la prueba de Chi-cuadrado, de la asintótica bilateral es de 0.065, que presenta una pequeña tendencia a los no diabéticos, por que de los 29 casos 14 presentan esta banda y para los diabéticos solo 6 de los 25 casos presentan esta banda, aunque se observe esta diferencia en la tabla N° 25 de contingencia, no se refleja una asociación preferencial muy bien definida para los no diabéticos ($\alpha > 0.05$), por ello esta banda se descarta para este diagnóstico.

Tabla N° 25. Tabla de contingencia para la banda de absorción de 1538 cm⁻¹

			DIABETICO		Total
			No	Si	
1538	0	Recuento	15	19	34
		Frecuencia esperada	18.3	15.7	34.0
	1	Recuento	14	6	20
		Frecuencia esperada	10.7	9.3	20.0
Total		Recuento	29	25	54
		Frecuencia esperada	29.0	25.0	54.0

Tabla N° 26. Pruebas de chi-cuadrado para la banda de 1538 cm⁻¹

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)	Sig. exacta (bilateral)	Sig. exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	3.393 ^b	1	.065		
Corrección por continuidad	2.432	1	.119		
Razón de verosimilitud	3.466	1	.063		
Estadístico exacto de Fisher				.092	.059
Asociación lineal por lineal	3.330	1	.068		
N de casos válidos	54				

a. Calculado sólo para una tabla de 2x2.

b. 0 casillas (.0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es 9.26.

La absorción de 1538 cm⁻¹ como lo muestra la figura N° 28 del espectro infrarrojo se presenta como un radical, que refleja la presencia de un grupo N-H de una amida II, que indica un tipo de enlace peptídico con grupos electro atrayentes que puede ser reflejados por esta banda pequeña, esta banda suele presentarse como un triplete o un duplete. Para los no diabéticos que presentan la banda de 1521cm⁻¹ se refleja como un triplete como en la anterior figura N° 27, y para algunos casos como un duplete, como en este caso, hay que tener en cuenta que la presencia de estas bandas es originadas por el metabolismo de ciertas personas, ya que todas no presenten el mismo ámbito de vida, que se puede ver reflejado en estas bandas. (34) (17)

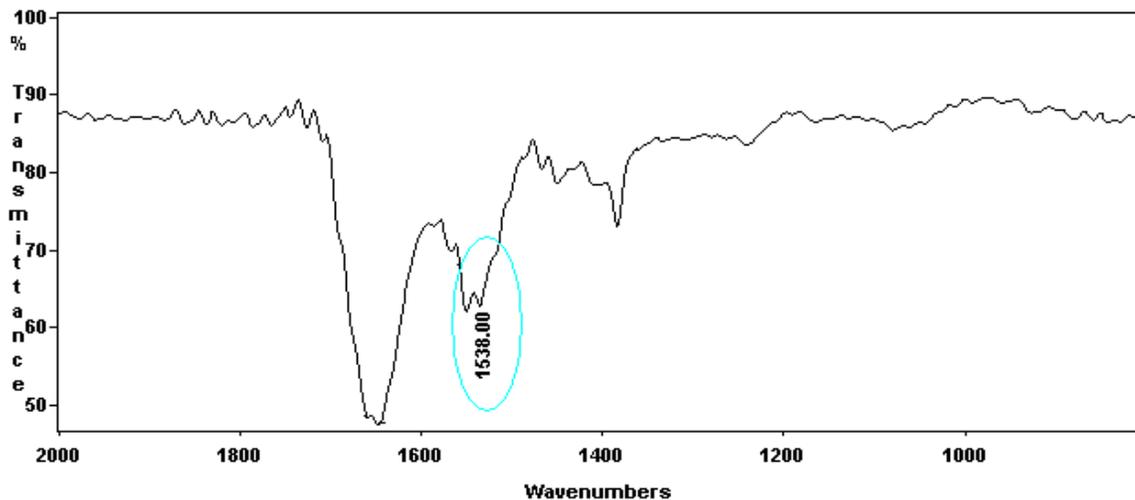


Figura N° 28. Banda de absorción de 1538 cm⁻¹

8.1.3.12. Banda representativa de 1551 cm⁻¹

El valor de Chi-cuadrado para esta banda es de 0.537 como lo indica la tabla N° 28 en la prueba de Chi-cuadrado de Pearson, lo que define que esta banda tiene incidencia tanto en diabéticos como en no diabéticos, como lo indica la tabla N° 27 de contingencia, ya que para los no diabéticos se presentan esta banda en 26 casos de los 29 casos no diabéticos y para los diabéticos 21 de los 25 casos, para un total de 47 personas que presentan esta banda, por ello se puede decir que esta banda es constante para los dos casos.

Tabla N° 27. Tabla de contingencia para la banda de absorción de 1551 cm⁻¹

			DIABETICO		Total
			No	Si	
1551	0	Recuento	3	4	7
		Frecuencia esperada	3.8	3.2	7.0
	1	Recuento	26	21	47
		Frecuencia esperada	25.2	21.8	47.0
Total		Recuento	29	25	54
		Frecuencia esperada	29.0	25.0	54.0

Tabla N° 28. Pruebas de chi-cuadrado para la banda de 1551 cm⁻¹

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)	Sig. exacta (bilateral)	Sig. exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	.381 ^b	1	.537		
Corrección por continuidad	.044	1	.833		
Razón de verosimilitud	.380	1	.538		
Estadístico exacto de Fisher				.692	.415
Asociación lineal por lineal	.374	1	.541		
N de casos válidos	54				

a. Calculado sólo para una tabla de 2x2.

b. 2 casillas (50.0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es 3.24.

Esta banda es común en los espectros infrarrojos del suero de pacientes diabéticos y no diabéticos, ya que es una banda fuerte y prominente como lo muestra la figura N° 29 en la banda de absorción de 1551 cm⁻¹, que corresponde a la banda de la amida II de flexión del grupo N-H, esta banda por estar ubicada en el rango de 1563-1531 cm⁻¹ corresponde a una amida secundaria, lo que corrobora con el desplazamiento de la amida I del grupo carbono en la región de 1646cm⁻¹, esta banda es muy fuerte debido a que la mayor parte del suero está constituido por proteínas y por presentar puentes de hidrógeno,. (16)(34)

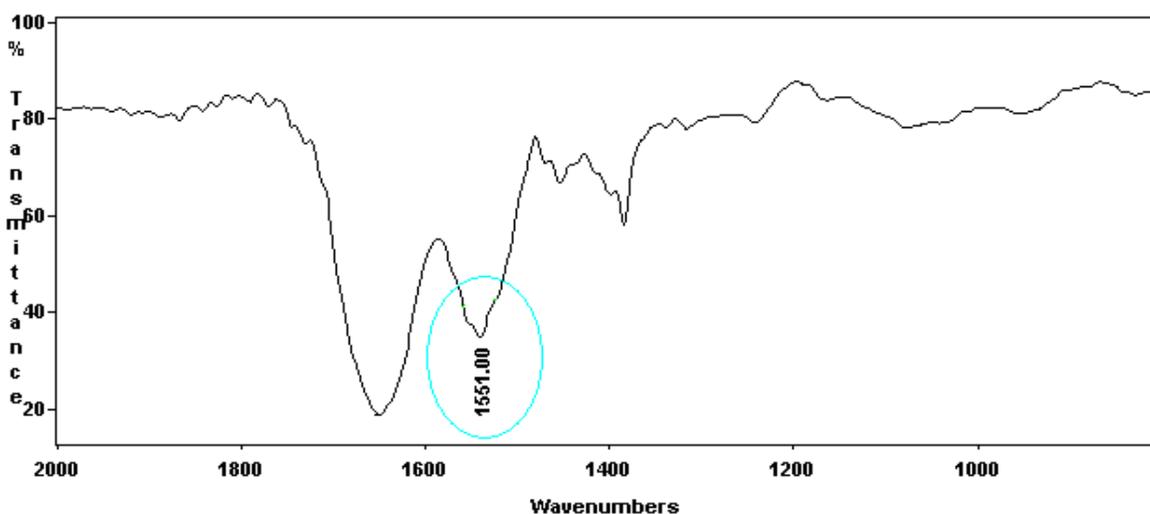


Figura N° 29. Banda de absorción de 1551 cm⁻¹

8.1.3.13. Banda representativa de 1646 cm⁻¹

El valor de Chi-cuadrado de Pearson de la asintótica bilateral presenta un valor de 0.277, como lo indica la tabla N° 30 en la prueba de Chi-cuadrado, con lo que se puede dilucidar que esta banda no presenta asociación definida para ninguno de los dos casos, pues esta presente en diabéticos como en no diabéticos como aparece en la tabla de contingencia N° 29 (29) (24)

Tabla N° 29. Tabla de contingencia para la banda de absorción de 1646 cm⁻¹

			DIABETICO		Total
			No	Si	
1646	0	Recuento	0	1	1
		Frecuencia esperada	0.5	0.5	1.0
	1	Recuento	29	24	53
		Frecuencia esperada	28.5	24.5	53.0
Total		Recuento	29	25	54
		Frecuencia esperada	29.0	25.0	54.0

Tabla N° 30. Pruebas de Chi-cuadrado para la banda de 1646 cm⁻¹

	Valor	gl	Asintótica bilateral (bilateral)	Asintótica bilateral (bilateral)	Asintótica unilateral (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	1.182 ^b	1	.277		
Corrección por continuidad	.006	1	.940		
Razón de verosimilitud	1.562	1	.211		
Estadístico exacto de Fisher				.463	.463
Asociación lineal por lineal	1.160	1	.281		
N de casos válidos	54				

a. Calculado sólo para una tabla de 2x2.

b. 2 casillas (50.0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es .46.

Banda de tensión muy fuerte y prominente que indica la presencia de amidas, correspondiente al grupo C=O, esta banda se presenta en un rango de 1690-1640 cm⁻¹ comúnmente llamada banda I de amidas. Esta banda por estar cerca del rango de 1640 cm⁻¹ refleja que la amida presenta puentes de hidrógeno, por lo que

corresponde a las proteínas, ya que las amidas se encuentran asociadas como banda de una proteína alifática R-CO-NH-R (N sustituida), lo que corrobora la presencia en el espectro infrarrojo del suero de diabéticos y no diabéticos como se observa en la anterior figura N° 30 en la banda de absorción de 1646 cm^{-1} , ya que esta banda es común para los dos casos. Esta banda es prominente debido a que el mayor constituyente del suero son las proteínas, (16)(34).

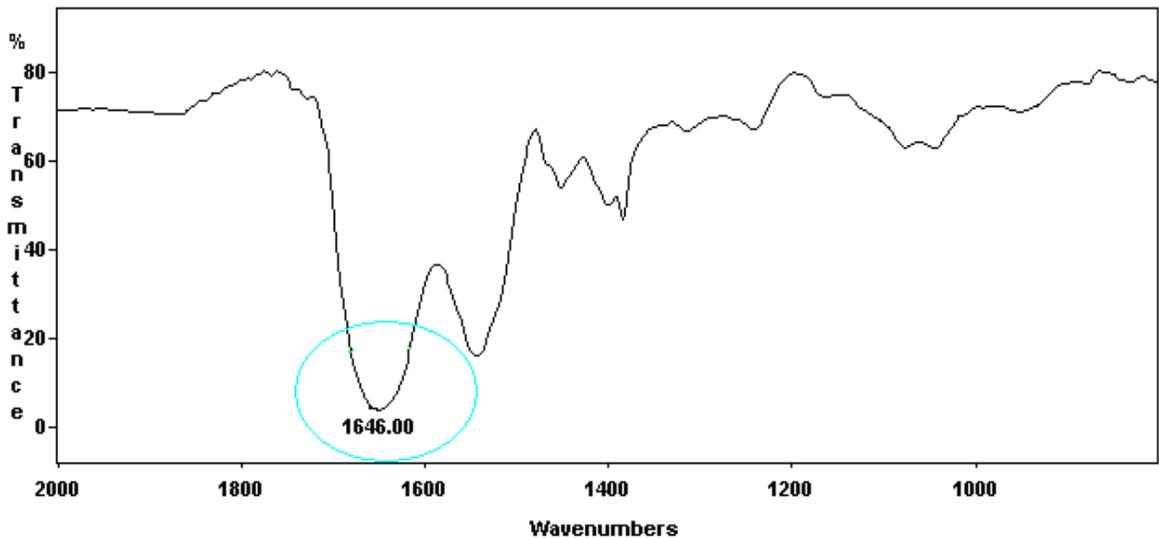


Figura N° 30. Banda de absorción de 1646 cm^{-1}

Mencionado lo anterior, el espectro infrarrojo que se obtuvo del suero de pacientes diabéticos y no diabéticos, es la suma de las absorciones de la albúmina, glucosa y urea, por que los grupos químicos de estas moléculas se presentan con mayor concentración en el suero de los dos tipos de pacientes. Según los estudios realizados por el grupo de investigación Biodiagnósticos, la espectroscopia infrarroja de las proteínas del suero produce una banda de absorción muy ancha que representa la presencia de las proteínas como un todo, y es muy predominante la absorción de éstas en el espectro de suero, por que al hacer la comparación del espectro del suero y de la albúmina, hay una cierta similitud por lo predominante que son las proteínas y esto se observa en la grafica N° 31, espectro de comparación. (34).

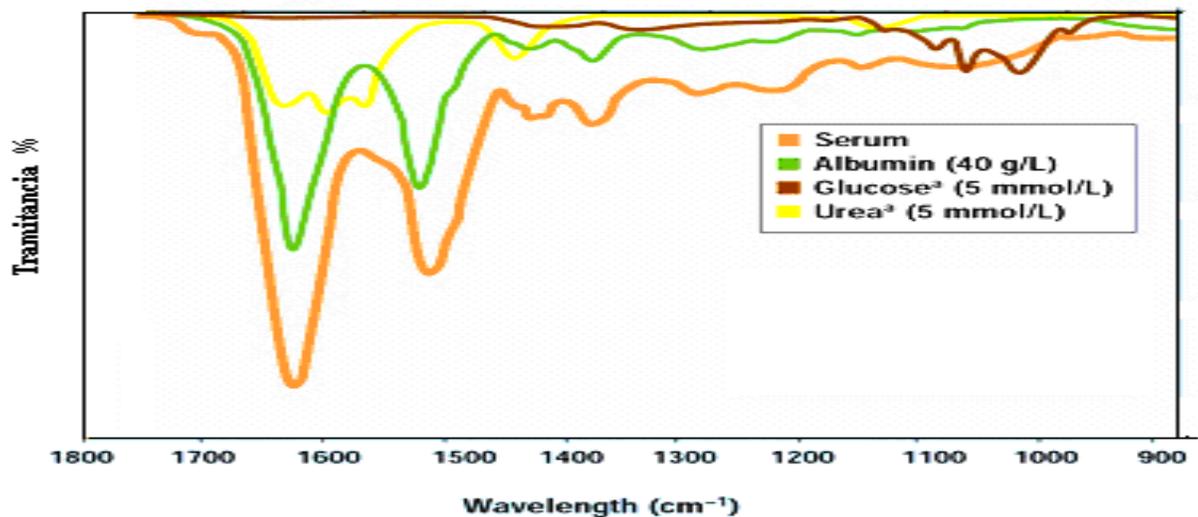


Figura N° 31. Espectro de comparación de suero, albúmina, glucosa y urea

El anterior espectro refleja que la mayor absorbancia corresponde al grupo de las amidas provenientes de la albúmina. Al hacer la comparación del anterior espectro de la figura N° 31 con el espectro obtenido en este trabajo, se observa que las bandas más sobresalientes, se encuentran en el rango de 1646, 1538, 1451 y 1383 cm⁻¹ correspondientes a las proteínas, como lo muestra la figura N° 32, donde muestra la Comparación de espectros de suero, albúmina, glucosa, urea con el espectro de suero no diabético.

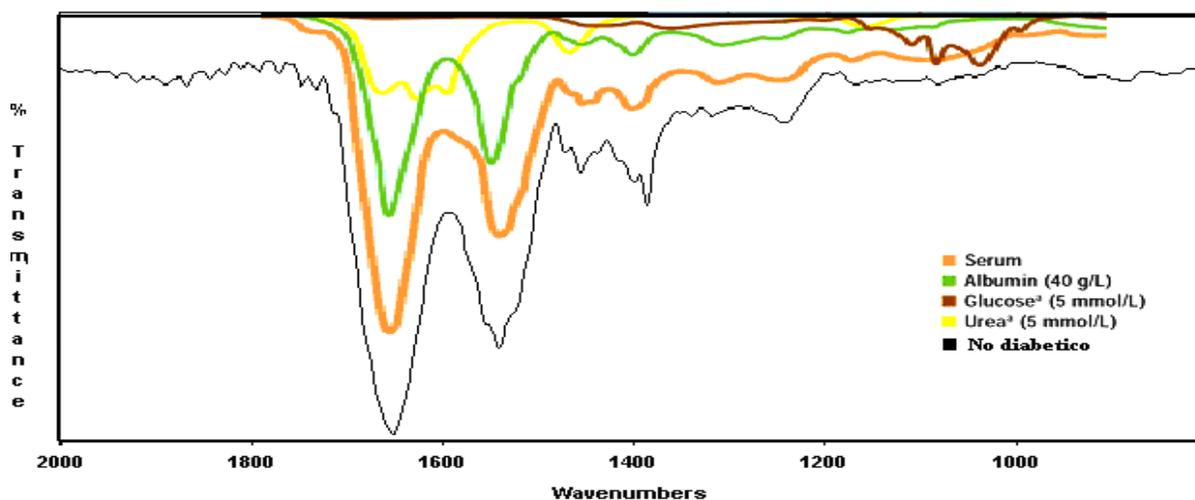


Figura N° 32. Comparación de espectros de suero, albúmina, glucosa, urea con espectro de suero no diabético

8.4 ANÁLISIS DE LAS BANDAS QUE PRESENTAN MAYOR ASOCIACIÓN

Las bandas de absorción de 1043-1076 y 1521 cm^{-1} son las que presentan la asociación significativa, respecto a todas las bandas representativas en el espectro infrarrojo del suero de pacientes diabéticos como para los no diabéticos, por que los valores de Chi-cuadrado de Pearson son menores que el valor crítico de asociación $\alpha = 0.05$, 1043 cm^{-1} =0.001, 1076 cm^{-1} =0.014 y 1521 cm^{-1} =0.029.

Como estas bandas son las que presentan diferencia entre los espectros infrarrojos del suero de pacientes diabéticos y no diabéticos, se hace una combinación de las tres bandas de absorción para obtener una relación entre éstas, y de este modo establecer la preferencia de cada banda con respecto a los espectros infrarrojos de los pacientes.

En la primera parte se hace una combinación de las 3 bandas. Para ello se tiene en cuenta nuevamente que el 0 significa la ausencia de la banda y el 1 la presencia de la absorción de la banda.

8.4.1. Combinación de las bandas de absorción de 1043-1521-1076 cm^{-1}

El valor de Chi-cuadrado como lo indica la tabla N° 32 en la prueba de Chi-cuadrado de Pearson, presenta un valor de la asintótica bilateral de 0.009, lo que indica que hay una gran asociación o preferencia de las bandas por alguno de los dos tipos de espectros infrarrojos del suero de pacientes diabéticos o no diabéticos. Respecto a la tabla N° 31 de contingencias se observa que la ausencia de estas tres bandas (0-0-0), es representativa para los no diabéticos, mientras que para los diabéticos solo 6 no presentan esta banda, para un total de veinte pacientes.

Cuando se observa la presencia de las bandas 1043 y 1076 cm^{-1} y la ausencia de la banda 1521 cm^{-1} (1-0-1), hay 17 espectros infrarrojos de diabéticos que presentan estas dos bandas y para los no diabéticos hay 9 espectros que presentan estas bandas, estos valores de alguna manera muestran la asociación de las bandas con los dos tipos de espectros.

Tabla N° 31. Tabla de contingencia para la banda de absorción de 1043-1521-1076cm⁻¹

			DIABETICO		Total
			No	Si	
	0-0-0	Recuento	14	6	20
		Frecuencia esperada	10.7	9.3	20.0
1043	0-0-1	Recuento	1	0	1
		Frecuencia esperada	0.5	0.5	1.0
1521	0-1-0	Recuento	5	0	5
		Frecuencia esperada	2.7	2.3	5.0
1076	1-0-0	Recuento	0	2	2
		Frecuencia esperada	1.1	0.9	2.0
	1-0-1	Recuento	9	17	26
		Frecuencia esperada	14.0	12.0	26.0
Total	Recuento		29	25	54
	Frecuencia esperada		29.0	25.0	54.0

Tabla N° 32. Pruebas de Chi-cuadrado para las bandas de 1043- 1521-1076 cm⁻¹

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	13.439 ^a	4	.009
Razón de verosimilitud	16.587	4	.002
Asociación lineal por lineal	10.202	1	.001
N de casos válidos	54		

a. 6 casillas (60.0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es .46.

Los resultados anteriores muestran hay una asociación de dos bandas continuamente por lo se lleva una combinación de dos bandas mutuamente entre las tres bandas de asociación, para corroborar lo anteriormente establecido por la tabla de contingencia N° 31.

8.4.2 Combinación de las bandas 1043-1076 cm⁻¹

Para una mejor asociación se combinaron las bandas de absorción de 1043 y 1076 cm⁻¹ como se observa en la tabla N° 33 de contingencia y de este modo corroborar con lo mencionado anteriormente e indicado en la tabla N° 31 y 32, por que para la tabla 31 de contingencia se observa que hay un total de 19 no diabéticos que no presentan estas dos bandas frente a 6 espectros que no presentan esta absorción-, para un total de 25 pacientes, al llevar a cabo la presencia de estas 2 bandas (1043 y 1076) tanto en las tablas de contingencia N° 31 y 33 se presenta que hay 9 espectros de no diabéticos que presentan estas bandas y 17 espectros infrarrojos diabéticos que presentan esta absorción. El valor de Chi-cuadrado de la asintótica bilateral de estas dos bandas de absorción de 1043-1076 cm⁻¹ combinadas, como lo muestra la tabla N° 34 es de 0.007 para tres grados de libertad, (4-1) (2-1) = 3 gL

Tabla N° 33. Tabla de contingencia para la bandas de absorción de 1043-1076 cm⁻¹

			DIABETICO		Total
			No	Si	
1043	0-0	Recuento	19	6	25
		Frecuencia esperada	13.4	11.6	25.0
1076	0-1	Recuento	1	0	1
		Frecuencia esperada	0.5	0.5	1.0
	1-0	Recuento	0	2	2
		Frecuencia esperada	1.1	0.9	2.0
	1-1	Recuento	9	17	26
		Frecuencia esperada	14.0	12.0	26.0
Total		Recuento	29	25	54
		Frecuencia esperada	29.0	25.0	54.0

Tabla N° 34. Pruebas de Chi-cuadrado para las bandas de 1043-1076 cm⁻¹

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	11.991 ^a	3	.007
Razón de verosimilitud	13.468	3	.004
Asociación lineal por lineal	10.372	1	.001
N de casos válidos	54		

a. 4 casillas (50.0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5.
La frecuencia mínima esperada es .46.

Tabla N° 35. Tabla de contingencia para la banda de absorción de 1043- 1521 cm⁻¹

			DIABETICO		Total
			No	Si	
1043	0-0	Recuento	15	6	21
		Frecuencia esperada	11.3	9.7	21.0
1521	0-1	Recuento	5	0	5
		Frecuencia esperada	2.7	2.3	5.0
	1-0	Recuento	9	19	28
		Frecuencia esperada	15.0	13.0	28.0
Total		Recuento	29	25	54
		Frecuencia esperada	29.0	25.0	54.0

Tabla N° 36. Pruebas de chi-cuadrado para las bandas de 1043-1521 cm

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	12.199 ^a	2	.002
Razón de verosimilitud	14.271	2	.001
Asociación lineal por lineal	10.228	1	.001
N de casos válidos	54		

a. 2 casillas (33.3%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es 2.31.

En la tabla de contingencia N° 31 para el cual solo se observa la presencia de la banda 1521 cm⁻¹ y la ausencia de las bandas 1043 y 1076 cm⁻¹ (0-1-0), cinco pacientes no diabéticos la presentan mientras que para los diabéticos no se presenta esta absorción, por ello al observar la combinación de la banda 1521 cm⁻¹ con las bandas 1043 cm⁻¹ y 1076 cm⁻¹ por separado como lo muestran las tablas de contingencia N° 35 y 37, para las cuales esta banda solo está asociada con los no diabéticos, por ello el valor de la asintótica bilateral para las combinaciones de la tabla N° 36 y 38 de la prueba de Chi-cuadrado de Pearson es de 0.002 y 0.017 lo que refleja una sola preferencia.

Tabla N° 37. Tabla de contingencia para la banda de absorción de 1521- 1076 cm⁻¹

			DIABETICO		Total
			No	Si	
1521	0-0	Recuento	14	8	22
		Frecuencia esperada	11.8	10.2	22.0
1076	0-1	Recuento	10	17	27
		Frecuencia esperada	14.5	12.5	27.0
	1-0	Recuento	5	0	5
		Frecuencia esperada	2.7	2.3	5.0
Total		Recuento	29	25	54
		Frecuencia esperada	29.0	25.0	54.0

Tabla N° 38. Pruebas de Chi-cuadrado para las bandas de 1521-1076 cm⁻¹

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	8.200 ^a	2	.017
Razón de verosimilitud	10.128	2	.006
Asociación lineal por lineal	3.290	1	.070
N de casos válidos	54		

a. 2 casillas (33.3%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5.
La frecuencia mínima esperada es 2.31.

Para observar una gran diferencia en las absorciones de los espectros de los diabéticos y los no diabéticos, se realizó el porcentaje de incidencia de las bandas más representativas para cada uno de los dos casos como lo muestra la tabla N° 74, y se graficó longitud de onda Vs el porcentaje de incidencia, como lo muestra la figura N° 31 en las incidencias de las bandas, pues esta gráfica permite diferenciar el comportamiento de incidencia entre los diabéticos y los no diabéticos con los bandas mas representativas de absorción.

Tabla N° 39. Incidencias de las bandas representativas

Longitud de Onda cm ⁻¹	Diabéticos 25		No Diabéticos 29	
	Incidencias	%	Incidencias	%
881	20	80	17	59
952	13	52	8	28
1043	19	76	9	31
1076	17	68	10	34
1239	19	76	24	83
1384	25	100	29	100
1405	17	68	19	65
1451	23	92	26	90
1488	15	60	24	83
1521	0	0	5	17
1534	6	24	14	48
1551	21	84	26	90
1646	24	96	29	100

En la figura N° 33, se observa que la incidencia de bandas es diferente para las cuatro primeras bandas representativas a: 881, 952, 1043 y 1076 cm^{-1} y las bandas numero 9, 10 y 11 que corresponden a las longitudes de onda: 1468, 1521 y 1534 cm^{-1} .

Para las bandas 881, 952, 1043 y 1076 cm^{-1} se observa un comportamiento diferente en la secuencia grafica, ya que se observa una variación en los porcentajes de incidencia notable para los diabéticos, por encima de el valor de los no diabéticos. El valor de diferencia en el porcentaje de incidencia de los diabéticos de los no diabéticos para las cuatro primeras bandas es de 30 %, y por este motivo no se observa una sobreposición en los puntos entre diabéticos y no diabéticos. Mientras que las bandas de absorción 1384, 1405, 1451, 1536 1551 y 1643 cm^{-1} (5, 6, 7, 8, 11 y 12), si presentan superposición ya que los valores de incidencia son muy parecidos o similares.

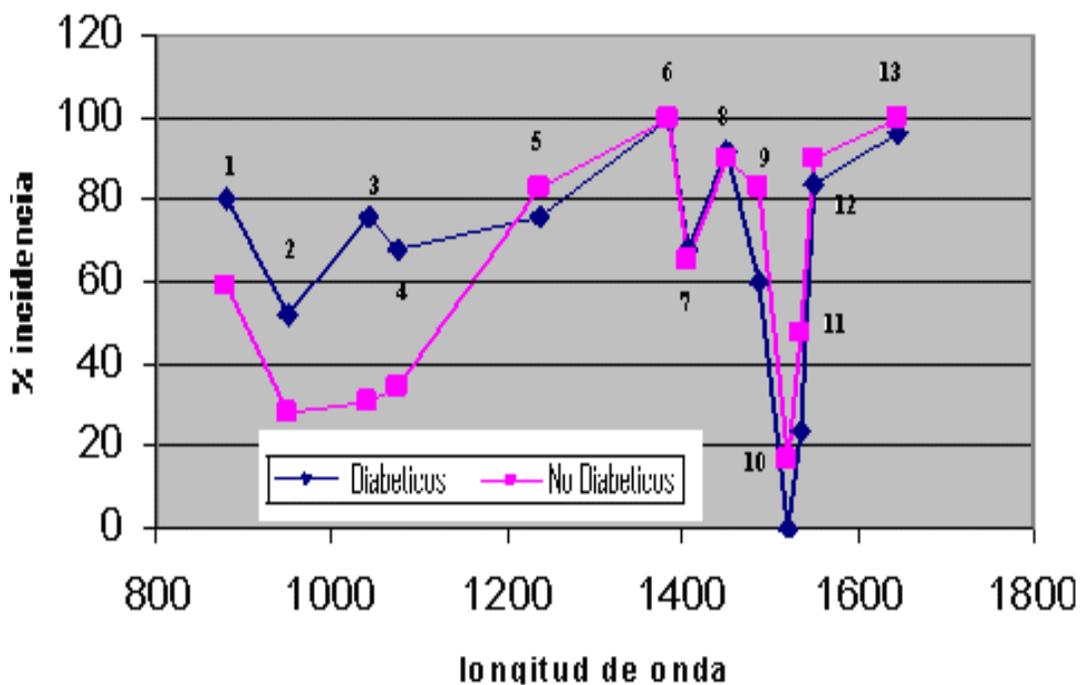


Figura N° 33. Incidencia de las bandas

Para las bandas 1468, 1521 y 1534 cm^{-1} (9, 10 y 11) hay una diferencia en el porcentaje de incidencia, ya que no hay sobreposición entre los puntos representativos de los diabéticos y los no diabéticos, aunque se observe un comportamiento grafico de incidencia similar.

Esta diferencia en las bandas de absorción de 881, 952, 1468 y 1534 cm^{-1} (1, 2, 9, 11) en la grafica de incidencia entre los diabéticos y los no diabéticos como lo muestra la figura N° 34, en las incidencias representativas, se asume por que el valor de Chi-cuadrado de Pearson de la asintótica bilateral se encuentra en el rango de 0.05-0.1, que son valores que muestran una tendencia para alguno de los dos tipos de espectros de los diabéticos y los no diabéticos, pero no son significativos para el diagnóstico precoz de la diabetes Mellitus

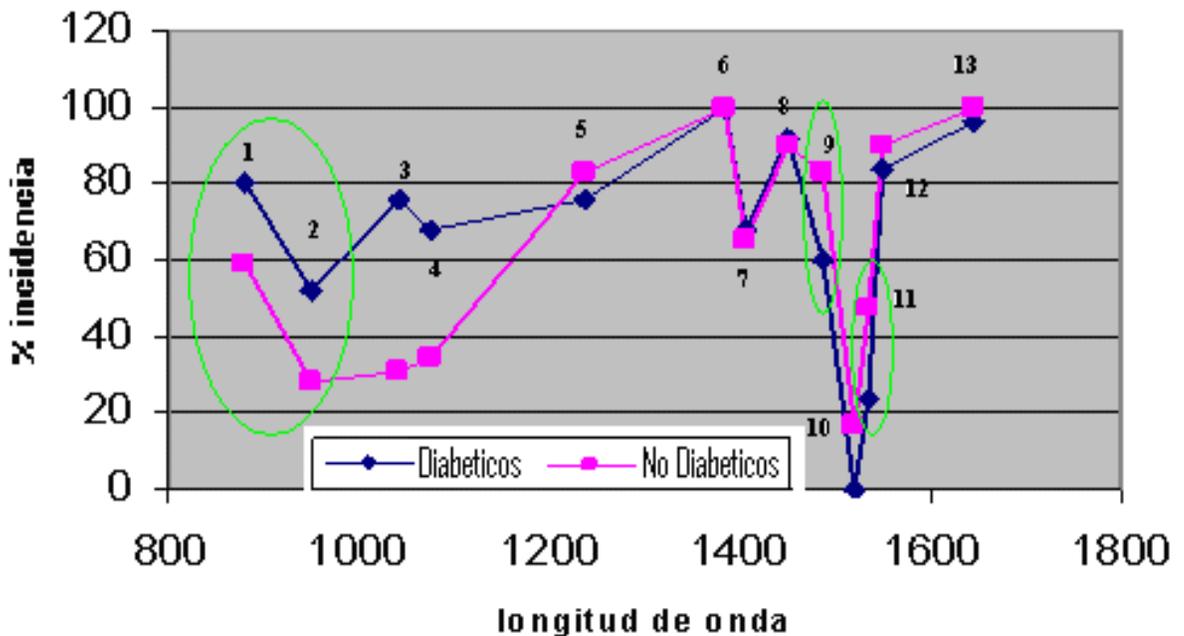


Figura N° 34. Incidencias representativas

Aunque se observe diferencia en la grafica de incidencia para las bandas mencionadas a continuación, solo hay 3 bandas representativas que presentan una diferencia en el espectro para el diagnostico que son: 1043, 1076 y 1521 cm^{-1} (3, 4 y 10), ya que según el valor de Chi-cuadrado de Pearson es menor de 0.05.

Por lo anterior se puede establecer que las bandas 1043, 1076 y 1521 cm^{-1} podrían determinar la diabetes mellitus de forma precoz, porque los espectros infrarrojos de las personas diabéticas presentan en mayoría las bandas de absorción de 1043 y 1076 cm^{-1} , mientras que la banda 1521 cm^{-1} es representativa solo para los espectros infrarrojos del suero de pacientes no diabéticos.

Hay que tener en cuenta que para este trabajo investigativo se trabajo con un numero de personas al azar, lo cual no era fácil de obtener muestras de sangre por triplicado para hacer replicas, y por este motivo se trabajo con una prueba no paramétrica, ya que solo se buscaba hacer una asociación de bandas para cada tipo de espectro infrarrojo,

8.5. ANÁLISIS ESPECTRAL DE LAS BANDAS 1043, 1521 Y 1076 cm^{-1}

Como las bandas 1043 cm^{-1} y 1076 cm^{-1} son las más representativas o tienen mayor tendencia en los espectros infrarrojos de pacientes diabéticos, dichas bandas pueden determinar un papel fundamental para el diagnóstico precoz de la Diabetes Mellitus.

Estas bandas como se mencionó anteriormente corresponden al grupo químico éter; C-O y C-O-C dado que se encuentran en el rango entre $1150\text{-}1020 \text{ cm}^{-1}$, ya que estudios realizados por Cyril Petebois determino la concentración de la glucosa por la técnica analítica de FT-IR y determino el espectro de la fructosa, galactosa manosa y glucosa en la región de $1200\text{-}900 \text{ cm}^{-1}$ cuyas longitudes de onda son: fructosa- 1075 cm^{-1} , manosa- 1064 cm^{-1} , fructosa- 1059 y glucosa 1033 cm^{-1} como se indica en la figura N° 35, la región de los carbohidratos.(29)

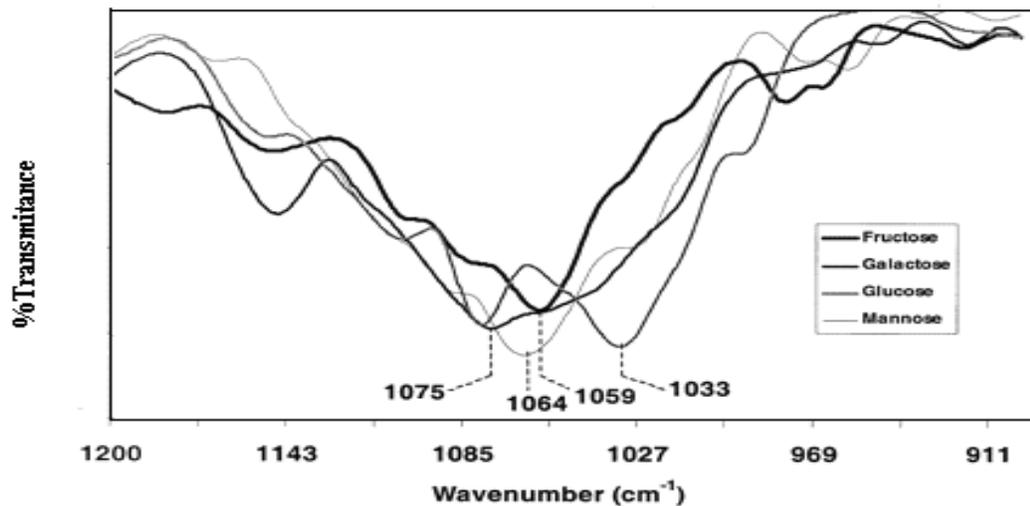


Figura N° 35. Espectro de los carbohidratos (29)

Como la técnica para el análisis del suero es un poco diferente, implementada por Cyril Petebois, cuyo trabajo es en suero seco, el cual se macera con KCN utilizando propileno como soporte de absorción para la muestra, mientras que en esta investigación se utilizó suero fresco macerado con KBr, con la técnica de disco prensado, y por este motivo no se presenta la misma longitud de onda. Ya que si se compara los espectros, la banda 1043 cm^{-1} obtenida en este trabajo puede ser el de la glucosa que absorbe a 1033 cm^{-1} y la de 1076 cm^{-1} al de la fructosa a 1075 cm^{-1} , como lo muestra la figura N° 36 en las bandas representativas de 1043 y 1076 cm^{-1}

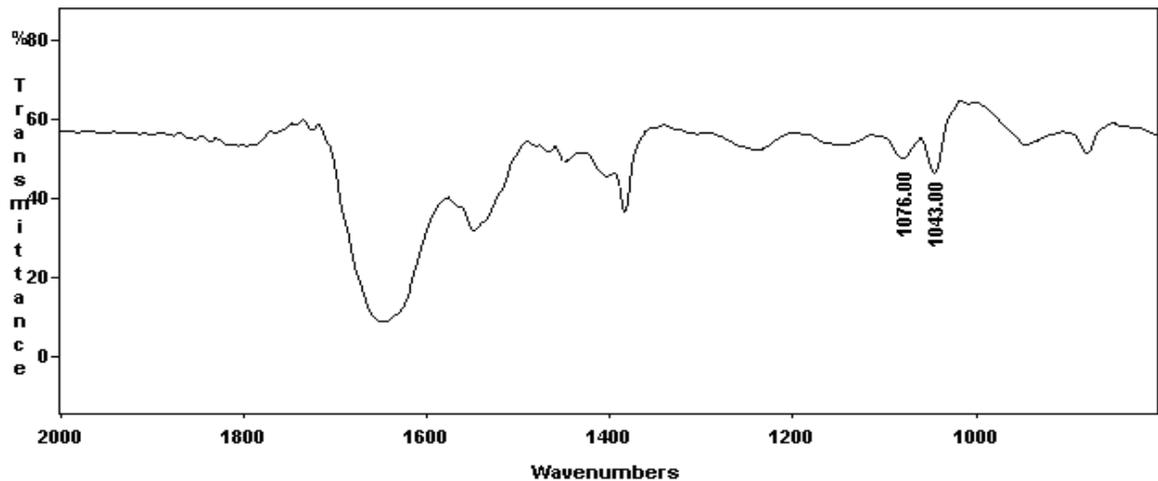


Figura N° 36 bandas representativas de 1043 y 1076 cm^{-1}

Una diferencia que se tiene es que los diabéticos, en si no presentan reserva de fructosa ni galactosa, ya que para un diabético el cuerpo necesita glucosa y por este motivo se presenta la glucógenolisis que es la conversión de los otros carbohidratos (fructosa y galactosa) en glucosa. (17)

Además la importancia de estas 2 bandas es que aparecen simultáneamente. Según el estudio realizado por Yoen-Jookim, que determinó la concentración de la glucosa en sangre entera, como también que la glucosa presenta 2 absorciones como se observa en la grafica N° 37 en el espectro de sangre entera. (30)

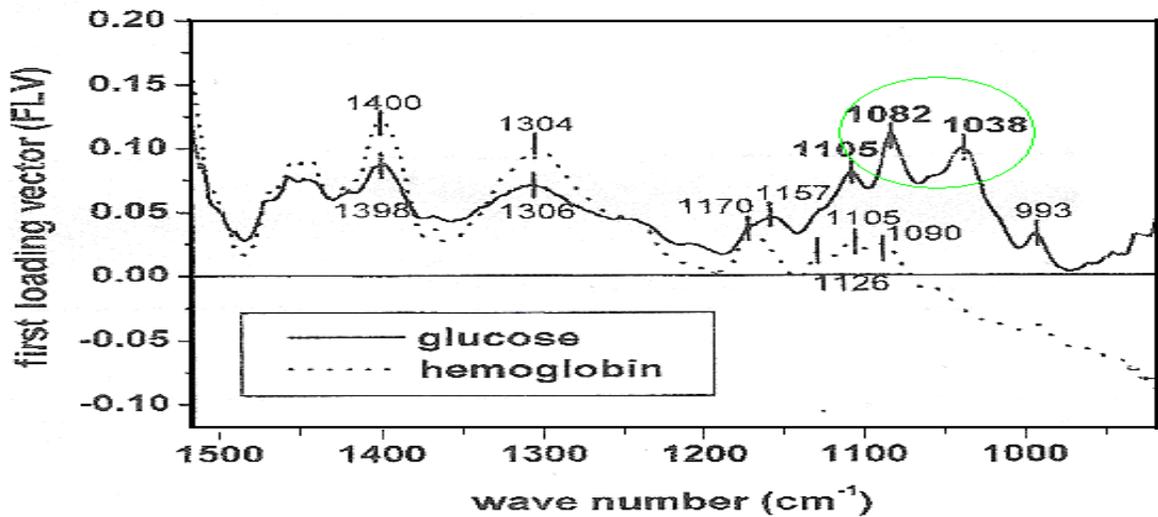


Figura N° 37: Espectro de sangre entera (30)

Por este motivo, la glucosa presenta 2 absorciones a 1038 y 1082 cm^{-1} , que corresponden a los enlaces C-O y C-O-C de 1076 cm^{-1} simétrico y 1043 cm^{-1} asimétrico.

En la grafica N° 38, en la cual se descartaron las demás bandas de la figura N° 35 en el espectro de los carbohidratos, se observa la presencia de estas dos bandas para la cual Cyril Petebois no prestó atención.

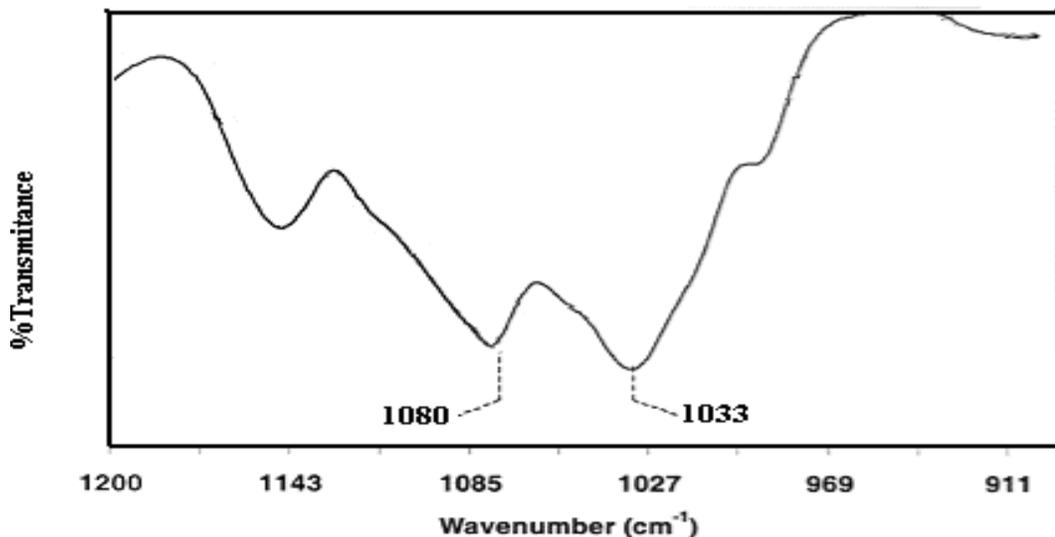


Figura N° 38 banda de absorción de la glucosa (29)

Estas bandas son de especial cuidado dado que representan la alta concentración de glucosa en la sangre del cuerpo humano y son importantes para el diagnóstico precoz de la Diabetes Mellitus, por que al comparar el espectro de un diabético con uno no diabético se da una gran diferencia por la presencia de estas dos bandas, para un no diabético la ausencia de estas dos bandas pronóstica que la concentración de azúcar es muy baja en estado pre y de esta forma no es significativa su absorción en el espectro infrarrojo, por que estas personas tienen la insulina normal y esto hace que las reservas de glucosa sean muy bajas, además en estado de ayuno, una persona no diabética su fuente de energía son los lípidos saturados e insaturados. (20) (17)

Para una persona diabética su concentración es alta por la insuficiencia de la hormona de la insulina, cuya función es permitir el acceso de la glucosa en las células y como no hay suficiencia o no hay reconocimiento de ésta, su concentración permanece en la sangre en constante ascenso, y como el organismo la requiere, presenta un círculo vicioso, ya que se presenta la glucógenolisis (conversión de carbohidratos a glucosa) y la gluconeogénesis (síntesis de glucosa a partir de otros sustratos) y esto hace que la concentración aumente progresivamente. Por ello, se ve reflejado la diferencia entre un espectro del suero de un diabético de uno no diabético como lo muestra la figura N° 39. (9)

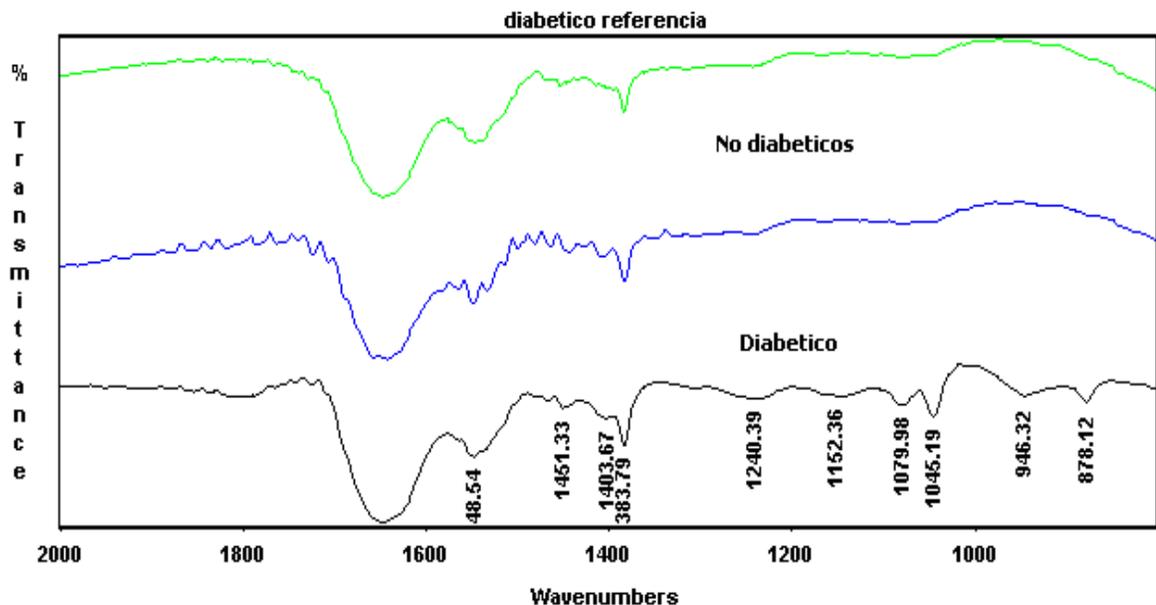


Figura N° 39. Espectro de referencia de un diabético y no diabético

La figura No 39, muestra la diferencia de los picos de absorción de 1043 y 1076 cm^{-1} para un diabético, los picos que se presenta de 1045.19 cm^{-1} y 1079.98 cm^{-1} se necesitan para el análisis estadístico teniendo en cuenta un rango de absorción de más o menos (± 5)

Al realizar la comparación del espectro de la figura N° 31, en el espectro de comparación de suero, albúmina, glucosa y urea, de la página 85, obtenido por el instituto investigativo de biodiagnóstico y sobre ponerlo a un espectro de suero de una persona diabética, se observa una gran diferencia en la región de absorción de 1043 y 1076 cm^{-1} , ya que el espectro de comparación no presenta las absorciones de la glucosa, por que este espectro es de una persona que presenta una glicemia normal (no diabético), y por este motivo no se observa las bandas sobresalientes como lo muestra un espectro diabético, como lo indica la figura N° 40.

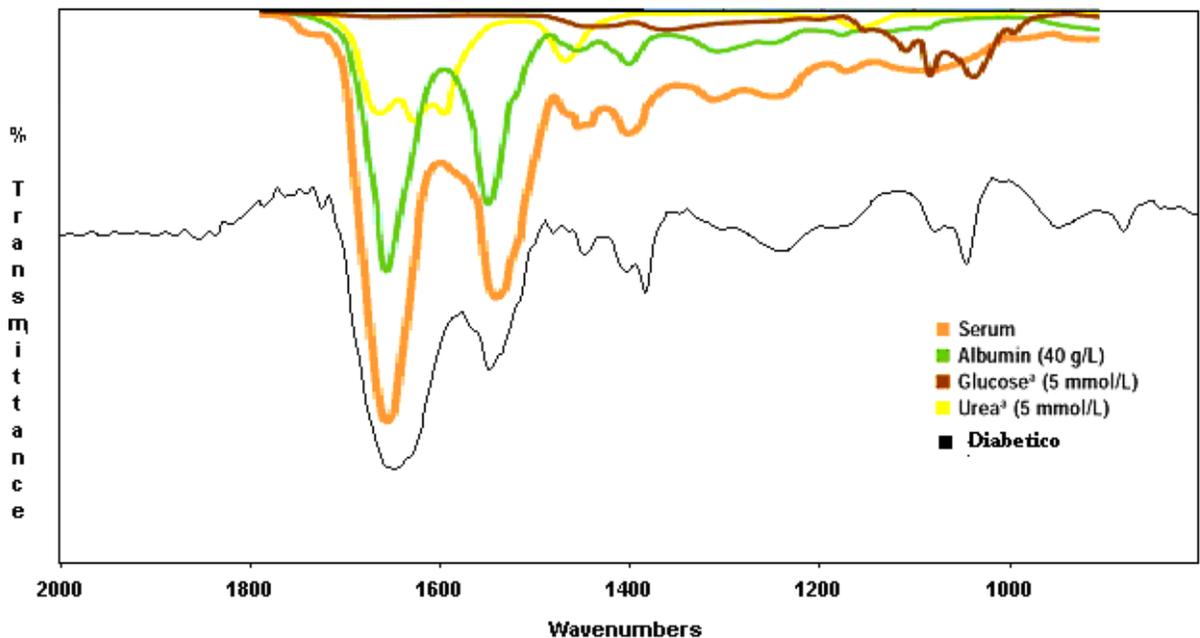


Figura N° 40 Espectro de comparación de suero, albúmina, glucosa, urea y espectro de suero diabético

Al hacer la comparación de la figura N° 40, se establece que las bandas de absorción de un diabético sobresalen de las de un no diabético, debido a la alta concentración de la glucosa lo que permite que su absorción sea bien definida y

concuerdan con las bandas de la glucosa que se muestran en este espectro de comparación.

Si se compara un espectro de un no diabético, se observa una gran similitud con el espectro de suero obtenido por el instituto Bodiagnóstico, ya que sirve como referencia para tener de este modo una comparación relacionada con el diagnostico precoz de la diabetes mellitus. En relación a estos dos espectros de suero patrón normal y no diabético, muestra una gran similitud, por que no hay presencia de las bandas a 1043 y 1076cm^{-1} , lo que establece que la concentración de azúcar es muy baja. Por consiguiente no hay presencia de estas bandas. Como lo muestra la figura N° 41.

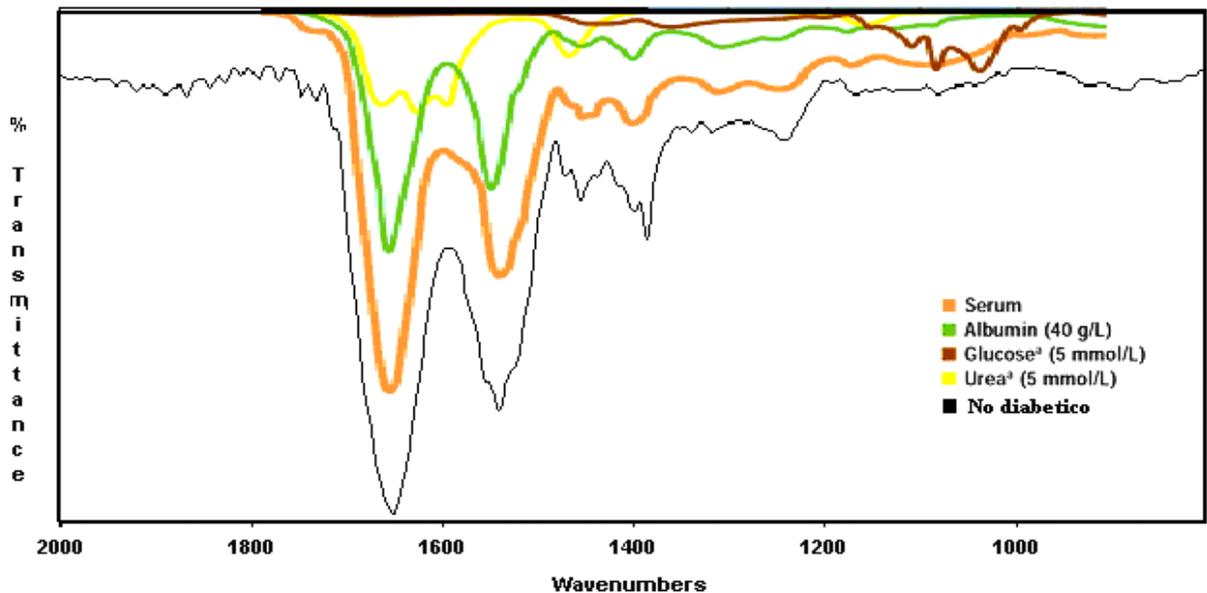


Figura N° 41. Espectro de comparación de suero, albúmina, glucosa, urea y espectro de suero no diabético

Para comprobar lo anteriormente mencionado de que la glucosa presenta una absorción del enlace C-O y C-O-C entre 1159 y 1020cm^{-1} , se tomó un espectro infrarrojo de la glucosa pura en estado sólido para tener en cuenta su absorción como lo muestra la figura N° 42 del espectro de la glucosa. (29)

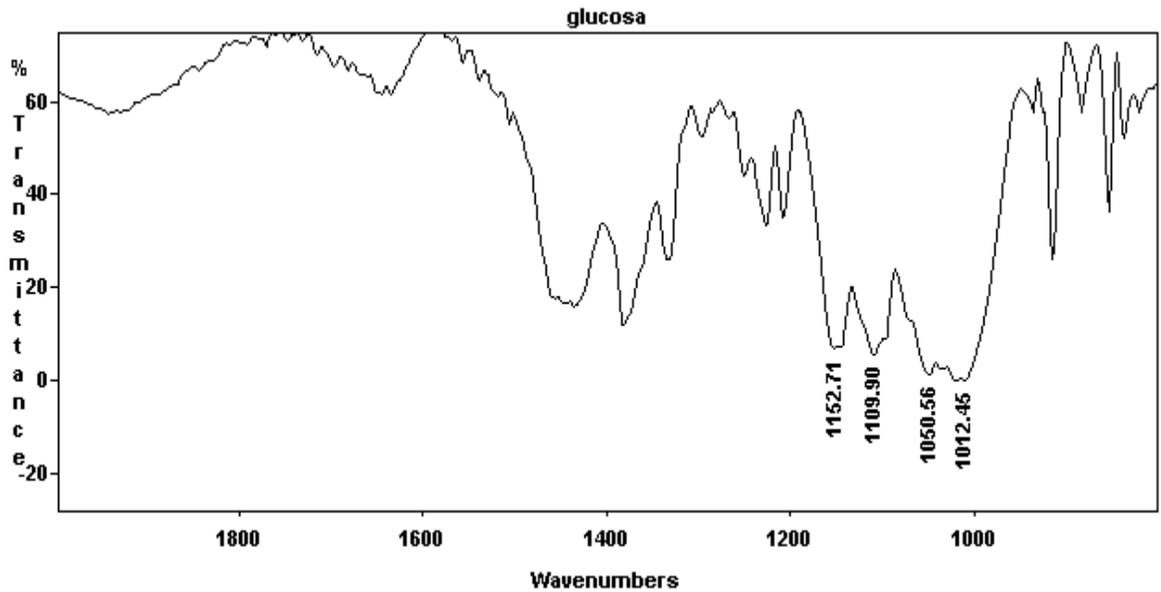


Figura N° 42. Espectro de la glucosa

El espectro de la glucosa sólido, en estado puro presenta un espectro no muy bien definido para las bandas de 1043 y $1076 \pm 5 \text{ cm}^{-1}$, por que la alta condensación de los enlaces O-H que absorben en esta región y además la glucosa es un compuesto higroscópico (absorbe agua), la cual presenta una banda ancha que hace que las bandas de los éter se solapen y no sean visibles.

Para tener una comparación más significativa se adicionó una pequeña cantidad de glucosa pura a una muestra de suero de un diabético y de esta manera se observó la presencia de este grupo éter en la mezcla glucosa-diabético como se observa en la grafica N° 43 y se puede observar la absorción de las dos bandas que se presentan a una longitud de onda de 1076.08 y 1055.35 cm^{-1}

Aunque se presente un desplazamiento en la longitud de onda de 1043 cm para un diabético a 1055.35 en la mezcla glucosa diabético corrobora que las dos bandas son de la glucosa.

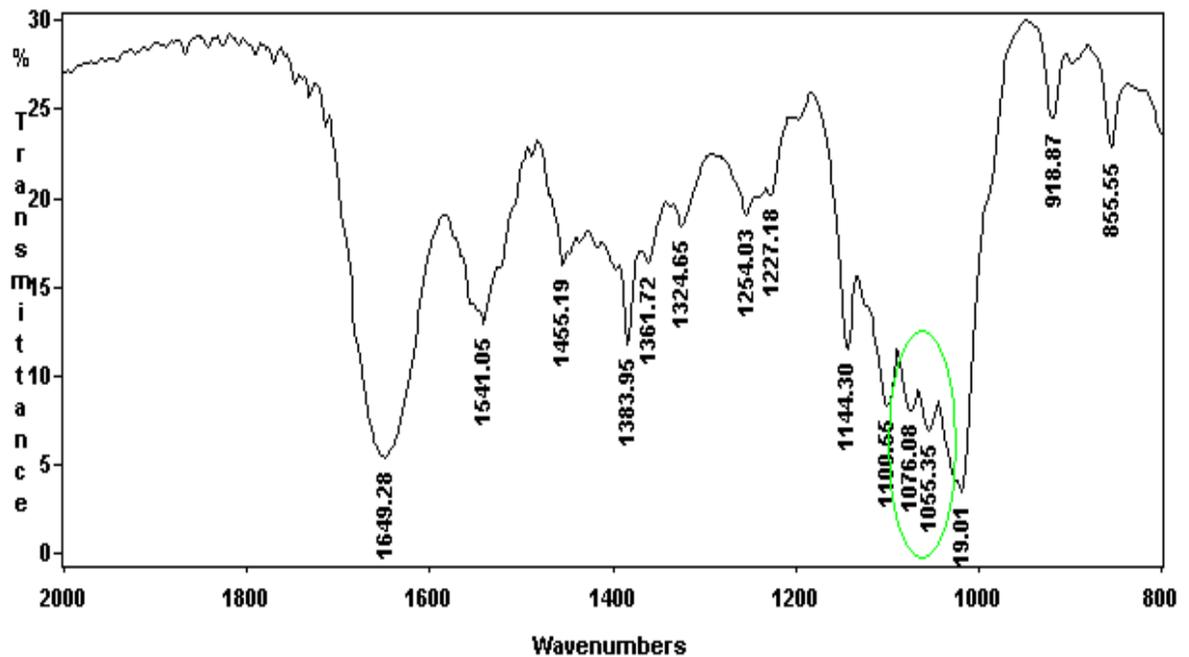


Figura N° 43. Espectro de la mezcla glucosa-diabético

Por esta razón se puede referenciar que estas dos bandas son fundamentales para hacer el diagnostico precoz de la Diabetes mellitus.

Por lo anterior se puede decir que las bandas de absorción de 1043 y 1076 cm^{-1} , juegan un papel muy importante para diagnosticar la Diabetes Mellitus y estas bandas representan la alta concentración de la glucosa. Una característica muy importante es que el instituto de Biofluidos estableció unas bandas muy características para los diabéticos tipo 1, como lo señalan las bandas resaltadas en verde que indican que esos puntos hay una notable diferencia entre los espectros diabéticos y no diabéticos. Por este motivo se puede establecer que las bandas encontradas en este trabajo deben tenerse en cuenta, puesto que la absorción de la glucosa, indica la presencia de la diabetes como se presenta a continuación en la figura N° 44, las bandas características de los diabéticos tipo II.

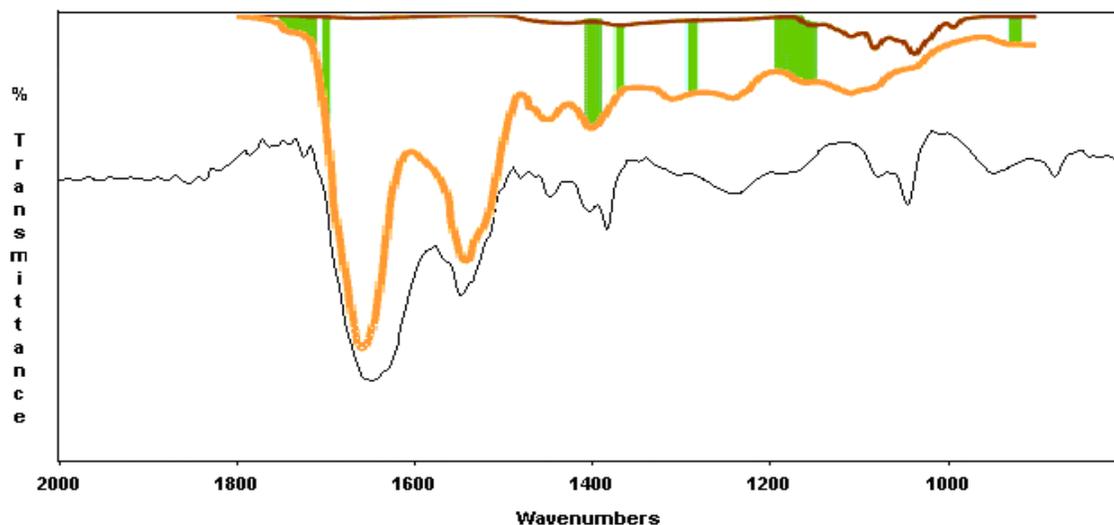


Figura N° 44. Bandas características de los diabéticos tipo I

Por esta razón se pueden referenciar que estas dos bandas son fundamentales para hacer el diagnostico precoz de la Diabetes mellitus.

Respecto a la banda de absorción de 1521 cm^{-1} , presenta una significativa tendencia para los espectros infrarrojos del suero de pacientes no diabéticos, al presentarse como un radical en una banda ancha y prominente en el rango de 1563 y 1520 cm^{-1} , en conjunto con otras dos bandas formando un triplete, como se observa en la figura N° 45 para la absorción de la banda de 1521 cm^{-1} ,

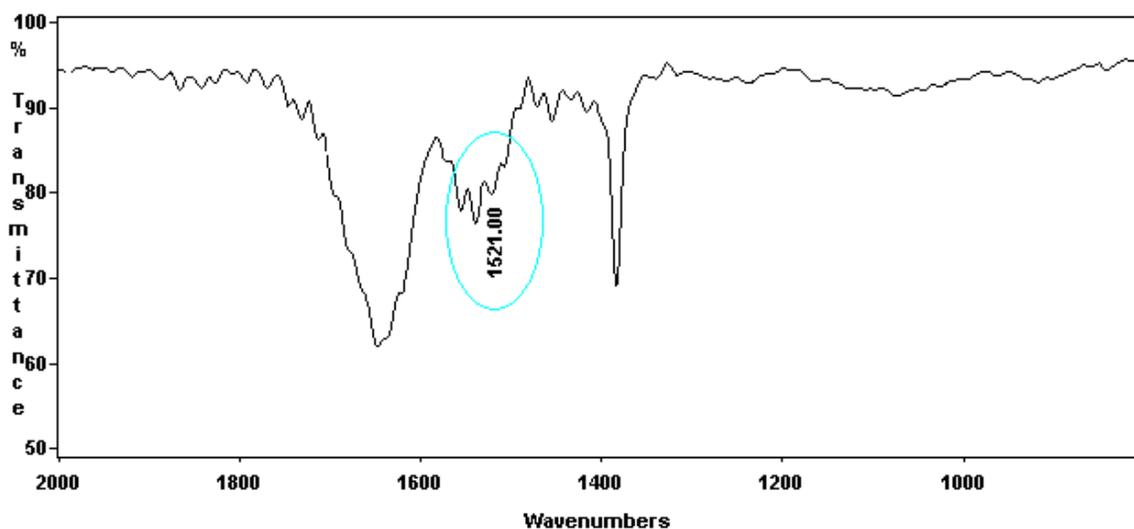


Figura N° 45 banda de absorción de 1521 cm^{-1}

Esta banda débil y reflejada como un radical, es originada por la absorción de los grupos de las aminas primarias $-NH$, como la arginina, lisina y histidina que corresponden a los aminoácidos y entre otras sustancias que contiene el suero de cualquier paciente.

Normalmente esta banda como tal no aparece en los espectros infrarrojos reportados por el grupo Bodiagnóstico, ni en revistas científicas, ya que esta banda de 1521 cm^{-1} por lo general se solapa con la banda principal de 1551 cm^{-1} que corresponde a la banda de la amida II del enlace $-NH$, la cual por ser muy predominante y ancha, no permite que se observe la banda de 1521 cm^{-1} , como lo muestra la figura N° 46, donde se muestra la comparación de la banda característica para los no diabéticos, con la el espectro obtenido por el grupo de Bodiagnóstico.

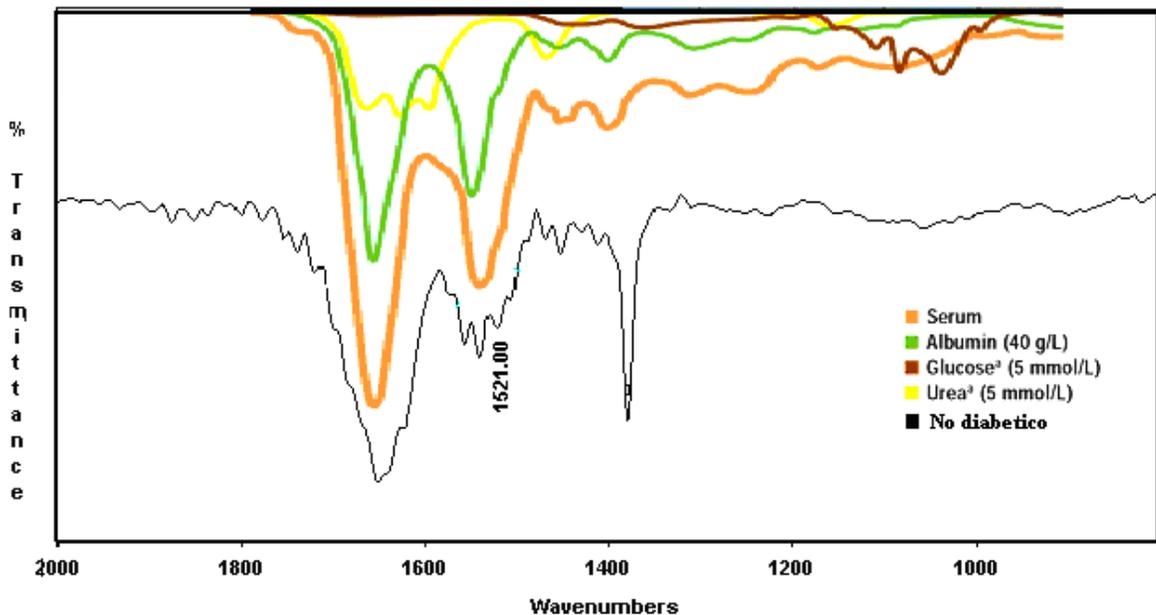


Figura N° 46. Espectro de comparación para la banda de 1521 cm^{-1}

Para este trabajo es fundamental que esta banda aparezca en los espectros infrarrojos del suero de los pacientes no diabéticos, por que permite observar la diferencia y establecer un parámetro para diagnosticar que una persona no es diabética,

Esta investigación permite establecer que las bandas 1043, 1076 y $1521 \pm 5 \text{ cm}^{-1}$ juegan un papel fundamental para el diagnóstico precoz de la Diabetes Mellitus, por que están asociadas a los espectros infrarrojos de los pacientes diabéticos o no diabéticos, por lo que sirven de referencia, como un estándar o patrón para establecer con bastante aproximación si una persona es diabética o no presenta esta enfermedad.

9. CONCLUSIONES

En esta investigación se estableció que la Espectroscopia Infrarroja con Transformada Rápida de Fourier, como técnica analítica para el diagnóstico precoz de la Diabetes Mellitus en sueros de pacientes diabéticos y no diabéticos, ya que los cambios químicos presentes en una muestra de suero varían con respecto a la enfermedad, y esto es notable en el espectro infrarrojo ya que este analiza una muestra como un todo dando una información total de la muestra con una presencia o ausencia de bandas representativas.

Cabe notar que es muy importante delimitar la zona espectral como huella dactilar porque realmente hay longitudes de onda que no reportan ninguna información, como en éste trabajo investigativo que no se tubo en cuenta el rango de $4000-2000\text{ cm}^{-1}$, región de tensión, dado que se presenta mucho solapamiento de las bandas para determinados grupos químicos en esta región.

Esta técnica analítica (FT-IR) implementada en esta investigación en conjunto con el estadística no paramétrica, tiene como finalidad dar a conocer esta herramienta a la comunidad publica y científica, con el fin de poder prestar un servicio en el área de la salud, ya que es fiable y económica que favorece a las personas de bajos recursos. Además esta técnica analítica está siendo implementada actualmente en investigaciones por que cualquier muestra biológica presenta su respectivo espectro infrarrojo y por ende este campo es muy amplio, que permite futuras investigaciones relacionadas con esta área.

Los espectros infrarrojos del suero diabético muestran gran simetría y semejanza entre si, mientras que los espectros del suero de los no diabéticos presentan variaciones, que corresponden al estilo de vida que les rodea, por que no todos presentan la misma alimentación, al contrario de los diabéticos que están sometidos a una dieta, y por ello presentan el mismo desarrollo metabólico, (evitar grasas y azucares). Por esta razón los espectros infrarrojos de los diabéticos presentan con mayor frecuencia las bandas representativas de absorción de 1043 y 1076 cm^{-1} , estas dos bandas son pertenecientes al grupo éter C-O de la glucosa, mientras que para los no diabéticos la banda de absorción de 1521 cm^{-1} , es notable solo para ellos, puesto que los diabéticos no presentan esta banda, como un triplete en esta región dactilar.

10. RECOMENDACIONES

Este trabajo no tendría importancia real si no dejara algunas recomendaciones para futuras investigaciones en el área de la salud relacionada con la espectroscopia infrarroja, la toma de muestras, el Método Bioestadístico (no paramétricos) Chi-Cuadrado y el análisis de las mismas.

Realmente cabe notar que la banda de absorción de 1521 cm^{-1} es de gran importancia para este análisis pero deja una gran inquietud en la presencia de esta misma en los espectros de las personas no diabéticas, por que aunque absorba en la región de las amidas representa una información notable para estos pacientes sin Diabetes Mellitus, valdría la pena investigar un poco más a fondo a qué se debe específicamente.

Para un posterior trabajo de investigación con la técnica analítica de la espectroscopia Infrarroja con Transformada Rápida de Fourier en esta área, sería de vital importancia, tener en cuenta el porcentaje de transmitancia, ya que esta es una valiosa información para un análisis cuantitativo. Al igual se recomienda utilizar la bioestadística no paramétrica, ya que paralela con la espectroscopia infrarroja se establece otro parámetro acertado de análisis investigativo.

10.1 PROGRAMA DE MUESTREO

Para el diagnóstico de la diabetes mellitus, se debe tener en cuenta el tipo de diabetes que padece la persona y el tiempo o edad a la cual adquirió esta enfermedad, por que hay dos tipos de diabéticos tipo I y II, además de tener en cuenta que la persona diabética que acuda al examen de la glicemia, no tome los medicamentos ni se aplique la insulina el día anterior o posterior al examen ya que esto hace presentar variabilidad en los espectros infrarrojos.

Hay que tener en cuenta que la toma de la muestra juega un papel fundamental para este estudio, por que el tubo de recolecta varía dependiendo el tipo de análisis, ya que uno es para suero y el otro es para plasma, por lo que se debe escoger solo un tipo de tubo recolector. Otra característica principal es la centrifugación de la muestra por que esto permite una buena separación de la muestra en este caso dependiendo el tipo de análisis, que se vaya hacer por que se puede trabajar con sangre entera, plasma y suero, lo que equivaldría a tres tipos de investigación.

Para esta técnica analítica como lo es la espectroscopia infrarroja es muy importante la repetitividad del desarrollo experimental para cada muestra, ya que para muestras biológicas como lo son la sangre, plasma y suero debe hacerse con los mismos parámetros y condiciones como la temperatura por que el proceso metabólico en estas muestras juega un papel en el diagnóstico.

10.2 TIPO DE MUESTRA ANALIZAR

El suero es una sustancia de vital importancia para análisis clínicos, por presentar múltiples sustancias químicas como: colesterol, glucosa, triglicéridos, Proteína total, albúmina, urea y entre otros, los cuales sufren variaciones que indican la presencia de algún tipo de enfermedad, además del suero también hay múltiples análisis en el plasma porque la única diferencia entre el suero y el plasma es el factor de coagulación

Cabe notar que la medicina en los últimos años ha querido implementar el uso de la Espectroscopia Infrarroja con Transformada Rápida de Fourier como técnica analítica, para el diagnóstico de muchas enfermedades y para ello se están haciendo estudios en los biofluidos como el líquido amniótico, materia fecal y orina. Por este motivo esta técnica ha adquirido una vital importancia para el desarrollo de la ciencia, al igual que el Método de bioestadística (no paramétrica) de Chi-cuadrado.

11. BIBLIOGRAFIA

1. S. Pan, H. Chung, M. A. Arnold, G. W. Small, "Near-Infrared Spectroscopic Measurement of Physiological Glucose Levels in Variable Matrices of Protein and Triglycerides", *Analytical Chemistry* **68**, pp.1124-1135, 1996.
2. H. Chung, M. A. Arnold, M. Rhiel, and D. W. Murhammer, "Simultaneous Measurements of Glucose, Glutamine, Ammonia, Lactate, and Glutamate in Aqueous Solutions by Near-Infrared Spectroscopy", *Applied Spectroscopy* **50**, pp. 270-276, 1996.
3. M. A. Arnold and G. W. Small, "Determination of Physiological Levels of Glucose in an Aqueous Matrix with Digitally Filtered Fourier Transform Near-Infrared Spectra", *Analytical Chemistry* **62**, pp.1457-1464, 1990.
4. L. A. Marquardt, M. A. Arnold, and G.W. Small, "Near-Infrared Spectroscopic Measurement of Glucose in a Protein Matrix", *Analytical Chemistry* **65**, pp.3271-3276, 1993.
5. C. Fischbacher, K. U. Jagemann, K. Danzer, U. A. Muller, L. Papenkordt, J. Schuler, "Enhancing calibration models for non-invasive near-infrared spectroscopic blood glucose determination", *Fresenius J Analytical Chemistry* **359**, pp. 78-82, 1997.
6. A. Graps, "An Introduction to Wavelets", *IEEE Computational Science and Engineering* **2**, 1995.
7. G. Strang and T. Nguyen, *Wavelets and Filter Banks*, Wellesley-Cambridge Press, Wellesley MA, 1996.
8. H. Martens and T. Naes, *Multivariate Calibration*, John Wiley & Sons, New York NY, 1989
9. A. Mark, K. Maclaren, origen de la diabetes, investigación y ciencia, Pag 38-46, 1997
10. F. Goñi, J. Cacarella, Bioquímica Humana, Curso Básico, Editorial-Reverte.S.A, Barcelona-España, 1994, Pag 74-81
11. Monografía. Diabetes Mellitus. Disponible en Internet <http://www.diabetes>. Fecha de consulta 14 de marzo de 2006.

12. Monografía. Cetoacidosis diabética. Disponible en Internet: <http://www.revista Argentina de medicina interna 1999>. fecha de consulta 25 de mayo de 2006.
13. G.Gmoes.C.Lelliottt. Lipotoxicidad y diabetes, Investigación y ciencia,septiembre,2004, Pag 58-65.
14. A. Arnold, G.Small, comparison of combination and first overtone spectral regions for Near_Infrared Calibration Models for Glucose and other Biomolecules in Aqueous Solutions, Analytical Chemistry, Vol. 76,Nª. 18, September 15, 2004, Pag 5405-5413.
15. A.M.Pino Hidrobo. TE.Q016, Espectroscopia Infrarroja por Transformada Rapida de Fourier, una nueva luz como parametro en el diagnostico de Leucemia, Popayan: Unicauca.2002, pag
16. C.E. Calderon, Ph, Manual para la interpretacion de Espectros Infrarrojos, Universidad Nacional de Colombia, Bogota, D.E .1985,Pag 59-72
17. L.S Brunner, D.S.Suddarth, Manual de Enfermería Medico-Quirúrgica, Vol II, Editorial Interamericana Cuarta Edición, México, D.F.1986,Pág. 875-897.
18. Z.Torregroza, Exámenes de Laboratorio en la Practica Corriente, Laboratorio Lutecia de Colombia S.S, Pág. 58-60.
19. http://www2.uah.es/ana_garcia/Hbs-glicosiladas.pdf, Determinaciones para Valorar la diabetes, Curso-2005-06 Diabetes.
20. WWW. La Diabetes en las Américas según la Organización Mundial de la Salud, 20 julio, 2006
21. WWW. Avances en Diabetología. Vol13, Nº 2, 1997, Sociedad Español, 22 julio de 2006
22. M.R.Robinson, R.P.Eaton, Noninvasive Glucosa Monitoring in Diabetic Patients: a preliminary Evaluation,Clinical Chemistry,Vol 38,Pag 1618-1622.
23. D.A.Plazas, S.L.Ordoñez, Caracterizacion Fenotipica de Secrecion Vaginal,TE.B 196 e2, Facultad de Ciencias y Exactas de la Educación, Popayán:Universidad del Cauca, Pag 25-30.
24. **Robinson MR, Eaton RP, Haaland DM, Koeppe GW, Thomas EV, Stallard BR, Robinson PL**. Noninvasive glucose monitoring in diabetic

patients: a preliminary evaluation. *Clinical Chemistry*, sep, 38, 1992, pag 1618-22.

25. Benedetti.E, Bramantti.E, An approach to the study of primitive thrombocythemia (pt) Megalocaryocytosis by means of Fourier Transform Infrared Microscopy (FT-IT-M) in cellular and Molecular Biology. Vol 44, N^a 1, febrero, 1998, Pag 129-39

26. Yano, Kazuyuki, Evaluation of Glycogen Levels in Human Carcinoma Tissues by Fourier Transform Infrared Spectroscopy, *Hyroshima University, Analytical Life Sciences*, Vol 1, Sep 26, Pag 1226-32.

27. www.scielo.org, Empleo de la Espectroscopia Infrarroja con Transformada Rapida de Fourier para Diferenciar Bacterias de Importancia Clinica, Agosto 12, 2006.

28. Spemolla.g, An Investigation of a Cure Lymphoblastic Leucemia (ALL) in Children by Means of Infrared Spectroscopy, *Hecmetologica*, Vol 73, N^a 1, Pag 21-4.

29. Cyril.Petibois, Vicent.Rigalleau, determination of glucose in dried serum samples by Fourier-Transform Infrared Spectroscopy, *Clinical Science* Vol----, Pag —

30. Yoen-Joo.Kim, Sangjoon.Hahn, determination of glucose in whole blood samples by Mid-Infrared Spectroscopy, *Applied Optics*, Vol. 42 ,N^a 42, Pag 745-749, 1 February 2003.

31 R.A. Shaw, H. H. Mantsh, Infrared Spectroscopy in Biological Fluids, Infrared spectroscopy clinica land Diagnostic Analysis. *Biomedical Spectroscopy, Encyclopedia of Analytical Chemistry*, 2000, Pag 83-102

32. WWW Asociacion de Variables cualitativas o Categoricalas, Test Chi-Cuadrado. (5 febrero 2007)

33. G.R.Norman, D. L. Streiner, *BIOESTADISTICA*, Mosby/Doyma Libros, Madrid España, 1996, pag 150-162.

34 WWW Medical Device. R. Anthony Shaw, Sarah Low Ying, Angela Man, and Kan-Zhi Liu , Infrared Spectroscopy Technology Enables Clinical Analytical Labs to Carry out Common Serum and Urine Assays without Reagents.