

ESTUDIO DE LA SENSIBILIDAD EN LA MEDICION DE LA PREVALENCIA EN
COLESTEROL TOTAL EN SUERO DE SANGRE POR TECNICAS
INTERFEROMETRICAS


Informe de investigación

Presentada en cumplimiento parcial de los requisitos para el grado de licenciatura en
Ingeniería Industria y de Sistemas

Por

Bettsy Hernández Zacarías


APROBADA POR LA COMISION



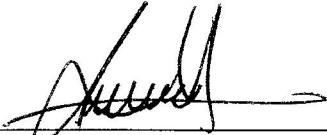
M.C. Gerardo Salvador Romo Cárdenas
Asesor principal



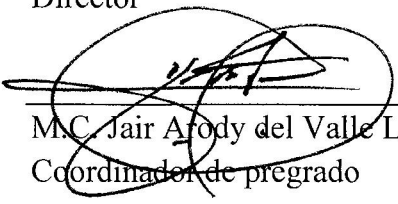
M.C. Jair Arody del Valle López
Evaluador



M.C. Gilberto Pablo Lemus Alonzo
Evaluador



M.C. Alejandro Walterio García Mendoza
Director



M.C. Jair Arody del Valle López
Coordinador de pregrado

17-Abril-2015

Fecha de aprobación

Estudio de la Medición de la Prevalencia de Colesterol Total en Suero de Sangre por Técnicas Interferométricas

B.Hernandez-Zacarias¹, A.W.Muñoz-Arpaiz¹, G.Romo-Cardenas¹, I. Chable-Hernández²,
A.Guillen-Peralta¹

¹Facultad de Ingeniería y Tecnología, Universidad de Montemorelos, Montemorelos Nuevo León

²Escuela de Químicos, Universidad de Montemorelos, Montemorelos Nuevo León

Resumen – Los interferómetros ópticos son instrumentos que pueden hacer mediciones muy precisas de objetos utilizando el patrón de interferencia de dos ondas de luz. Estos dispositivos se han utilizado para caracterizar materiales y para estudiar sus propiedades. Resultados de estudios de interferometría demuestran que por medio de este tipo de arreglos ópticos y el procesamiento de imágenes hacen posible una caracterización de fluidos. Siendo esta una herramienta no destructiva para distintas aplicaciones en la ingeniería. La metodología consiste en analizar diferentes muestras de suero de sangre previamente cuantizadas para conocer el efecto de la variabilidad de sus componentes en los interferogramas adquiridos. El alcance de este trabajo pretende considerar el efecto de la prevalencia de los componentes lipídicos en el suero de sangre a fin de poder desarrollar una técnica estandarizada que permita hacer el estudio de la concentración en la información del interferograma adquirido. Ayudando a completar el conocimiento de la bioquímica de la sangre.

Palabras Clave- Colesterol, Interferometría óptica.

I.INTRODUCCIÓN

El colesterol es una sustancia adiposa producida por el hígado y se encuentra en todas las partes del organismo[1]. Si bien, hay que advertir que su presencia es necesaria, ya que el organismo utiliza el colesterol para producir hormonas sexuales, corticoesteroidales, vitamina D y ácidos biliares que ayudan a digerir la grasa. Pero basta con cantidades mínimas de colesterol en la sangre para satisfacer estas necesidades siendo el hígado el que produce todo el colesterol que el cuerpo necesita.

Tanto los triglicéridos como el colesterol son sustancias grasas conocidas como lípidos. El colesterol es una sustancia cerosa y sin olor hecha por el hígado. Los triglicéridos son las reservas del cuerpo en forma de grasa, guardados para su uso como energía. Los triglicéridos vienen de los alimentos que comemos y también son producidos por el cuerpo como el colesterol.

El colesterol por sí mismo, no puede mezclarse o disolverse en la sangre. Por lo tanto, el hígado empaqueta el colesterol con los triglicéridos y las

proteínas en transportadores llamados lipoproteínas teniendo como resultado lipoproteínas de baja densidad o LDL las cuales están relacionadas con enfermedades cardiovasculares a presencia de rangos altos, las lipoproteínas de alta densidad o HDL las cuales transportan el colesterol de los tejidos del cuerpo hacia el hígado, relacionados como protector de enfermedades cardíacas en presencia de rangos elevados. La cuantificación de colesterol y triglicéridos en suero es un procedimiento analítico básico en el diagnóstico y seguimiento de enfermedades metabólicas, primarias o secundarias[2]. Sin embargo, es válido explorar alternativas para la realización de este estudio.

Las técnicas ópticas no destructivas y sus aplicaciones industriales han jugado un papel muy importante en los últimos años. Esto es debido a que se pueden hacer mediciones sin estar en contacto con las muestras a analizar. Entre las técnicas ópticas no destructivas más importantes encontramos la interferometría [3]. El principio fundamental de la interferometría consiste en la interacción o interferencia entre dos ondas luminosas que se encuentran una con otra, de forma parecida a lo que sucede cuando se encuentran dos ondas superficiales en el agua [4]. En cualquiera de estos casos, cuando la cresta de una onda coincide con el valle de la otra, la interferencia es destructiva y las ondas se anulan. Cuando coinciden las dos crestas o los dos valles, las ondas se refuerzan mutuamente, la interferencia es constructiva y las ondas se suman obteniéndose un principio de superposición.

Los lípidos en suero de sangre actúan como coloides. El reconocimiento de los coloides comienza con la diferenciación de las soluciones en “cristaloides o verdaderas” y “coloides”. [5] El coloide es un sistema formado por dos o más fases, principalmente: una continua, normalmente fluida, y otra dispersa en forma de partículas; por lo general sólidas. La fase dispersa es la que se halla en menor proporción. Normalmente la fase continua es un líquido, pero pueden encontrarse coloides cuyos componentes se encuentran en otros estados de agregación. Los coloides se clasifican según la magnitud de la atracción entre la fase dispersa y la fase continua o dispersante.

Las soluciones verdaderas son claras y transparentes y no es posible distinguir ni macroscópica ni microscópicamente sus partículas disueltas de la fase dispersante. En cambio, las dispersiones groseras presentan un aspecto turbio que se debe a la facilidad con que se visualizan las partículas suspendidas en el medio líquido. En cuanto a las dispersiones coloidales, si bien aparecen perfectamente claras en el microscopio, al ser examinadas de una manera especial se comportan de forma muy singular. En efecto, cuando un rayo luminoso atraviesa un recipiente transparente que contiene una solución verdadera, es imposible visualizarlo a través de ella, por lo que se dice que es una solución ópticamente vacía, esto es, en el ultramicroscopio presentan un fondo negro sin puntos brillantes pero, si dicho rayo penetra en una habitación oscurecida, su trayectoria estará demarcada por una sucesión de partículas que, al reflejar y refractar las radiaciones luminosas, se convierten en centros emisores de luz. Con las soluciones coloidales pasa exactamente lo mismo; sus micelas gozan de la propiedad de reflejar y refractar la luz, con el agregado de que la luz dispersada está polarizada. De este modo, el trayecto que sigue el rayo luminoso en una solución Coloidal es visualizado gracias a las partículas coloidales, convertidas en centros emisores de luz. Recientemente se ha encontrado que el uso de la interferometría en el análisis de coloides, habilita la adquisición de información en una perspectiva de análisis espectral, siendo posible un análisis más profundo del contenido de estas muestras [6].

II. METODOLOGÍA

Los interferómetros pueden dividirse en dos clases, los basados en la división del frente de onda y los que se fundamentan en la división de la amplitud.[7]. El interferómetro de Mach-Zehnder fue desarrollado por los físicos Ludwing Mach y Ludwing Zehnder. Este utiliza dos divisores de haz para dividir y recombinar los haces, tiene dos salidas, que pueden ser enviadas a foto detectores. La distribución de potencias ópticas en las dos salidas, que pueden ser casi idénticas, pueden ser diferentes (por ejemplo, con una línea de retardo adicional). La distribución de potencias ópticas en las dos salidas depende de la diferencia precisa en longitudes de brazo óptico y en la longitud de ondas (frecuencia óptica). Su ventaja principal es que permite interponer elementos en uno de los haces sin que el otro sea afectado, y de esta manera se altera la diferencia de camino óptico, cambiando el patrón de interferencia debido a un cambio de fase en el campo eléctrico de la

luz que viaja en el medio a analizar. De tal forma que esto permite analizar el efecto de algún material “desconocido” posicionado en uno de los brazos del interferómetro, dando así cabida a su análisis. Para el caso del presente proyecto, el material “desconocido” será el suero de sangre. Con lo que podemos aplicar las conocidas bondades de los sistemas interferométrico, donde la fineza de las mediciones que se obtendrían de los interferómetros, permitirían encontrar de forma no destructiva, información sobre el contenido de colesterol total en el suero de la sangre para posteriormente ser procesado por modelos matemáticos (Fourier, Correlación).

Con la intención de plantear la caracterización de los lípidos en sueros de sangre, se utilizó la base de datos que previamente fue cuantizada por la escuela de Químico Clínico Biólogo, la cual fue adquirida en un evento el 8 de Julio del 2013. Los datos obtenidos se analizaron con el software Minitab 14 con el cual, se comprueba su normalidad, al realizar este estudio se obtuvo la media, desviación estándar, filos cuartiles y los intervalos de confianza con un 95% de confiabilidad.

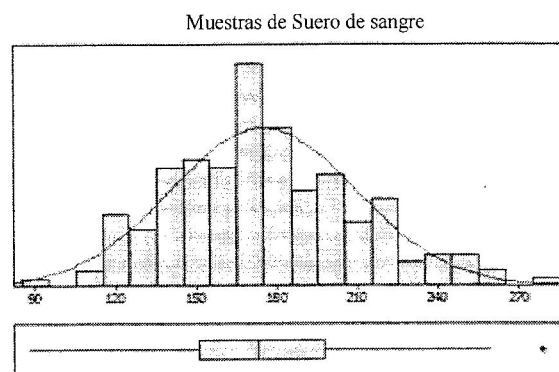


Fig. 1. Gráfica de distribución de los sueros (distribución normal).

La gráfica de todos los sueros muestra un comportamiento con distribución normal, esto nos facilita el muestreo ya que tiene una tendencia central. Con esta información se eligen los tres rangos de clasificación, se utilizan como referencia el primer y tercer cuartil además de la media (promedio).

Después de obtener estos datos, las muestras se agruparon en 2 rangos, los que se encontraban menores de la media y mayores de la media encontrándose una distribución no muy común, pero sin afectar los resultados. El muestreo se realizó por conveniencia, para ello se utilizaron los cuartiles como medidas centrales para determinar 3 rangos de clasificación. Las muestras seleccionadas fueron las que más se repetían (moda), en cada uno de los intervalos de confianza obtenidos de los cuartiles de cada una de las

clasificaciones, quedando así seleccionadas las muestras en 3 categorías. Alto 197 mg/dl Colesterol total, Medio 179 mg/dl Colesterol total, Bajo 153 mg/dl Colesterol total. Obteniendo así, un total de 16 muestras distribuidas de la siguiente manera: alto con 4 muestras, medio con 7 muestras, bajo con 4 muestras. Las pruebas se llevaron a cabo con sueros ya centrifugados y colocados en cubetas desechables de polimetacrilato de metilo de 2.5 ml, con un aproximado de 1 ml de suero.

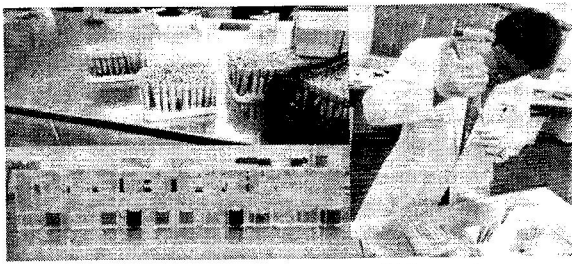


Fig. 2 Preparación de muestras en el laboratorio.

Se tomaron dos interferogramas por cada una de las muestras para la obtención de datos más confiables ya que se promedian los resultados obtenidos.

Los interferogramas fueron obtenidos minutos después de preparadas las muestras para evitar que los sueros sufrieran cambios en su composición debido a la temperatura ambiente. Este interferómetro está compuesto por un kit de laboratorio de óptica láser.

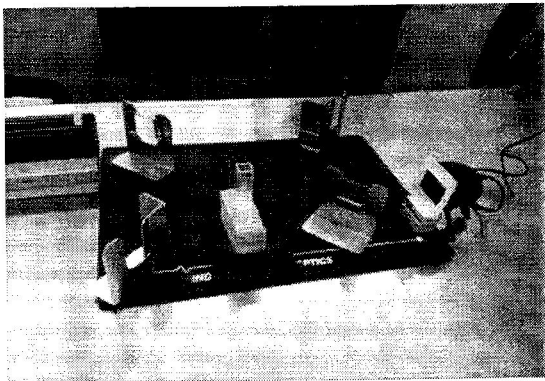


Fig. 3 Montaje y calibración del interferómetro

Las medidas en las que se calibro el interferómetro son las que se muestran en la Fig. 4, de esta manera se inició el proceso de captura de imágenes.

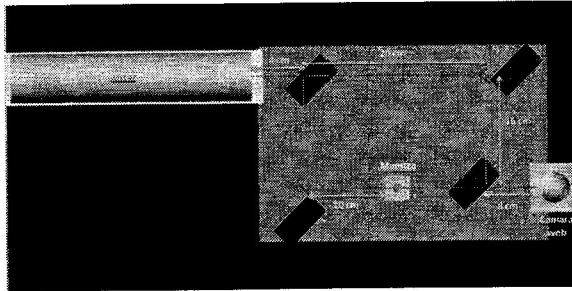


Fig. 4 Interferómetro Mach- Zehnder que se utilizó.

El software que se utilizó para la captura de los interferogramas fue el "AmpCap" con el cual se manipuló una cámara web de 300 pixeles. De igual forma se colocó un filtro de color azul en la cámara para que se percibiera mejor el interferograma. El láser de HeNe tiene una salida máxima de 10 mW y la longitud de la onda es de 632.8 nm.

Para el estudio de los interferogramas se utilizó el software "Image J", en este se analizaba cada uno de los interferogramas obtenidos de las muestras.

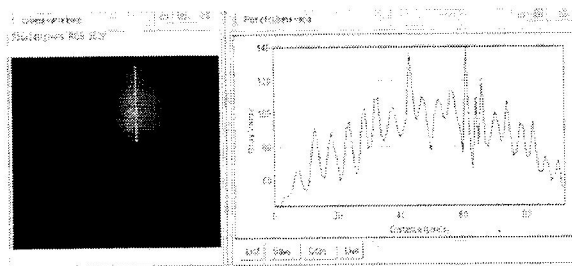


Fig. 5 Interferograma de cubeta vacía en Image J

El procesamiento de los interferogramas se basó en la medición del ancho total a la mitad del máximo (FWHM) es un parámetro comúnmente utilizado para describir la anchura de una "protuberancia" en una curva o función. Esta se define por la distancia entre puntos de la curva en la que la función alcanza la mitad de su valor máximo. FWHM se aplica a fenómenos tales como la duración de las formas de onda de pulso y la anchura espectral de las fuentes utilizadas para las comunicaciones ópticas y la resolución de los espectrómetros. [8]

III. RESULTADOS

Después de haber obtenido los datos, se sacó el promedio y la desviación estándar de cada interferograma, para después obtener el promedio total de cada rango, quedando de la siguiente manera.

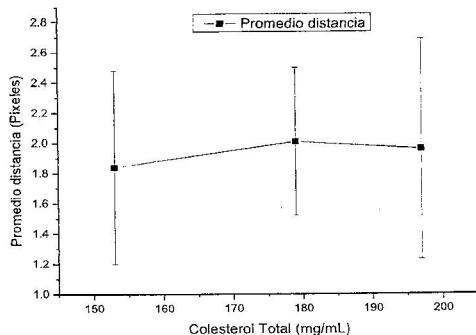


Fig. 6 Gráfica de promedio general de colesterol total

De acuerdo a la gráfica de la figura 6, donde se comparan los tres valores de colesterol analizados, se puede observar que hay una diferencia en los valores promedio obtenidos en los anchos del interferograma; donde se esperaría que los resultados de este fueran consistentes con el incremento de la cantidad de colesterol presente en la muestra. Sin embargo, se nota un descenso en el parámetro correspondiente a 197mg/ml. Por lo cual, se analizaron de manera estadística los otros componentes del suero de sangre contenidos en el colesterol total con tal de explicar este resultado obtenido.

IV. DISCUSIÓN

El resultado de la gráfica de la figura 6 nos muestra un ligero descenso al final, presentándose de una manera distinta a la que esperaríamos, por eso corroboramos con los demás componentes (triglicéridos, LDL, HDL, VLDL) encontrándose los resultados anteriores. Esto nos indica que existe uno o varios factores que provocan este comportamiento de los sueros de sangre utilizados en la muestra.

Una aproximación que se propone con este estudio, consiste en revisar el límite superior saludable del colesterol, sino que este límite puede estar en un rango menor al mencionado anteriormente. Esta hipótesis aún está en proceso, ya que existen muchos factores pre-analíticos que modifican los resultados en la toma de muestra y esto se observa en la concentración de sus componentes a estudiar.

En los estudios a futuro se analizarán cada uno de estos componentes y la manera en que actúan directa o indirectamente sobre los resultados del colesterol total.

V. CONCLUSIÓN

Encontramos que es factible hacer una medición por técnicas no destructivas del contenido lipídico del suero

de sangre. Se requieren de estudios estadísticos para generar el protocolo y para validar procedimientos biomédicos.

Para estudios a futuro se considera realizar un nuevo muestreo de suero de sangre mucho más amplio y con muestras recientes, tomando en cuenta los factores pre-analíticos que pueden alterar los resultados.

De igual manera se espera identificar cuales componentes del suero afectan la concentración del colesterol total.

RECONOCIMIENTO

Agradecemos a la Universidad de Montemorelos por el apoyo en la realización de este proyecto, así también a CONACYT por el financiamiento a esta investigación.

REFERENCIAS

- [1] B. Brigo, "Todo sobre el colesterol," *Barcelona: terapias verdes*, 2004.
- [2] M. Herrera and G. Huck, "EVALUACIÓN DEL ESTADO NUTRICIONAL Y SU RELACIÓN CON EN EL," *Clin Nutr*, vol. 26, pp. 912-5, 1973.
- [3] J. Schwider, "Advanced evaluation techniques in interferometry," *Progress in optics*, vol. 28, pp. 271-359, 1990.
- [4] E. Hecht, "Hecht optics," *Addison Wesley*, vol. 997, pp. 213-214, 1998.
- [5] L. J. Gosting, "Measurement and interpretation of diffusion coefficients of proteins," *Advances in protein chemistry*, vol. 11, pp. 429-554, 1956.
- [6] M. Csete, Á. Sipos, A. Szalai, and G. Szabó, "Theoretical Study on Interferometric Illumination of Gold Colloid-Sphere Monolayers to Produce Complex Structures for Spectral Engineering," *Photonics Journal, IEEE*, vol. 4, pp. 1909-1921, 2012.
- [7] R. Guseo, A. Dalla Valle, and M. Guidolin, "World Oil Depletion Models: Price effects compared with strategic or technological interventions," *Technological forecasting and social change*, vol. 74, pp. 452-469, 2007.
- [8] E. S. Bahaa and C. T. Malvin, "Fundamentals of photonics," *New York/A WILEY-INTERSCIENCE PUBLICATION*, 1991.