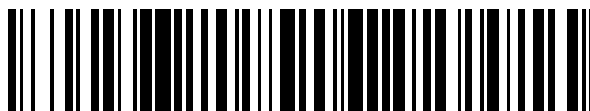


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 582 185**

51 Int. Cl.:

**A61B 5/053** (2006.01)

**A61B 5/145** (2006.01)

**G01N 33/49** (2006.01)

12

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.02.2005** **E 05706464 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.04.2016** **EP 1718200**

54 Título: **Aparato para la medida de glucosa en sangre usando medidas de impedancia de tejido corporal sub-dérmico**

30 Prioridad:

**05.02.2004 US 541748 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**09.09.2016**

73 Titular/es:

**DERMAL DEVICES INC. (100.0%)**  
**3 Sprucedale Court**  
**London, ON N5X 2N9, CA**

72 Inventor/es:

**OLLMAR, STIG;**  
**ABERG, PETER;**  
**BIRGERSSON, ULRİK y**  
**NEIDERUD, FREDRIK**

74 Agente/Representante:

**ISERN JARA, Jorge**

ES 2 582 185 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Aparato para la medida de glucosa en sangre usando medidas de impedancia de tejido corporal sub-dérmico

## 5 Campo de la invención

La presente invención se refiere a un aparato para la determinación del nivel de glucosa en sangre de un sujeto mediante medida de impedancia de un tejido corporal sub-dérmico o subcutáneo.

## 10 Antecedentes de la invención

En la actualidad los pacientes con diabetes confían en el auto-control de glucosa en sangre, usando un glucómetro de sangre invasivo varias veces al día. Este procedimiento implica de forma típica extraer una pequeña muestra de sangre, que se ensaya luego directamente para el nivel de glucosa. Hay diversas desventajas en este procedimiento. El paciente debe extraer muestras de sangre todos los días, varias veces al día a intervalos regulares. Hay alguna incomodidad asociada con la extracción de sangre repetidamente. También hay un margen de error. Por ejemplo, los pacientes pueden olvidar tomar muestras de sangre cuando se requiera. Sería de gran interés económico así como también médico desarrollar un nuevo dispositivo para el auto-control de glucosa en sangre que facilite la monitorización continua del nivel de glucosa en sangre, que sea fiable y preciso, pero que no impacte negativamente en la calidad de vida del paciente. Los costes de salud se verían reducidos y la calidad de vida para pacientes de diabetes se vería mejorada en gran medida.

Ha habido intentos de desarrollar técnicas de medida de glucosa no invasivas que sean capaces de controlar la concentración de glucosa en sangre. Los sistemas de medida no invasivos podrían minimizar la disconformidad de pacientes y por tanto proporcionar una medida más precisa sin riesgo, de glucosa y la dosificación requerida de insulina. Por técnicas no invasivas se entiende que la superficie de la piel no se rompe y/o no se requieren muestras de tejidos corporales de pacientes, incluyendo fluidos corporales tales como sangre.

Algunos de estos procedimientos implican la medida de la impedancia de ciertos tipos de radiación electromagnética con o a través de tejidos corporales. Esto se conoce también como bioimpedancia. Las medidas de impedancia se han usado previamente para evaluar diferentes tipos de condiciones corporales. Debido a que la impedancia total de tejido corporal depende de una variedad de factores, incluyendo estructura celular y la composición de fluido extra- e intra-celular, puede ser una buena herramienta de diagnóstico en el cuidado de la salud. La impedancia de tejido corporal se ha usado en una pluralidad de otras aplicaciones, incluyendo estimación de irritación en piel por diferentes productos químicos (Nicander, I. (1998) "Electrical impedance related to experimentally induced changes of human skin and oral mucosa" PhD thesis, Karolinska Institutet), función de control cardíaco (Min, ME. Y col. "Electrical Impedance and Cardiac Monitoring - Technology, Potential and Applications." International Journal of Bioelectromagnetism, v. 5: 53-56, 2003), y detección de cáncer en piel (Beetner D.G., y col. (2003): "Differentiation among basal cell carcinoma, benign lesions, and normal skin using electric impedance", IEEE T Bio-Med Eng, 50(8), páginas 1020-1025; Aberg P. y col. (2003) "Minimally invasive electrical impedance spectroscopy of skin exemplified by skin cancer assessments", Proc IEEE EMBS, Cancún (MX), 17-21 Sept 2003, páginas 3211-3214, ISBN 07803-7790-7).

Se han descrito procedimientos no invasivos para la determinación del nivel de glucosa en sangre, que implican la medida de impedancia de tejido de piel. Por ejemplo, la patente de Estados Unidos nº 5.036.861 (expedida a Sembrowich y col., 6 de agosto de 1991) describe un dispositivo montable en la muñeca que presenta un electrodo que mide la glucosa presente en el sudor en la superficie de la piel. El documento WO 01/26538 (de Süsstrunk, y col., publicado el 13 de octubre, 2000) describe otro dispositivo montable en la muñeca para la medida de glucosa en sangre. La patente de Estados Unidos nº 5.222.496 (expedida a Clarke y col. el 29 de Junio de 1993) describe un sensor de glucosa infrarrojo montable, por ejemplo, en una muñeca o dedo, la patente de Estados Unidos nº 5.433.197 (expedida a Stark el 18 de Julio de 1995) describe la determinación de glucosa en sangre mediante la iluminación de un ojo del paciente con radiación de infrarrojo cercano. Las patentes de Estados Unidos nº 5.146.091 y 5.197.951 (expedida a Knudson el 19 de Mayo de 1992, 8 de Septiembre de 1992 y 19 de Enero de 1993, respectivamente) describen la medida de glucosa en sangre en vasos sanguíneos de una membrana timpánica en un oído humano mediante medidas de absorción de luz. El documento WO 9504496 (de Fuller, publicado el 16 de febrero de 1995, describe el uso de espectroscopia de radiofrecuencia para determinar concentraciones de analitos en sangre, incluyendo glucosa. El documento WO98/04190 (de Elden y col., publicado el 5 de febrero de 1998) y el documento WO99/39627 (de Elden y col., publicado el 12 de agosto de 1999) describe el uso de medida de impedancia en tejido de piel para determinar la concentración de glucosa en un fluido corporal. La solicitud EP nº 1 437 091, de Ollmar y col., publicada el 14 de Julio de 2004 describe un procedimiento y aparato mínimamente invasivos para la medida de la impedancia en piel y correlación con nivel de glucosa en sangre, mediante un electrodo clavos micromecanizados que penetran la superficie de la piel. Finalmente la patente de Estados Unidos 5.353.802 (expedida a Ollmar el 11 de Octubre de 1994) describe una sonda con una pluralidad de electrodos para la detección y caracterización de fenómenos de superficie en un tejido corporal, mediante medida en superficie de la impedancia del tejido.

El documento US-A-6 517 482 describe un aparato para la determinación del nivel de glucosa en sangre no invasivamente, dicho aparato es configurado para llevar a cabo un análisis de impedancia de 2 puntos. Se mide la impedancia del tejido de la piel y se usa la medida con medidas de impedancia correlacionadas previamente con niveles de glucosa determinados directamente para determinar el nivel de glucosa a partir de la impedancia recién medida.

Puede haber dificultades asociadas con la correlación de la impedancia en la piel con niveles o concentraciones de glucosa en fluidos corporales. Por ejemplo, la precisión y reproducibilidad de las medidas de impedancia en la piel se pueden ver afectadas por diversos factores, incluyendo el estado de la piel, que puede variar entre individuos. Tales estados pueden incluir, por ejemplo, el espesor de la piel, la localización en el cuerpo donde se toma la medida de impedancia, la presencia de suciedad y/o aceites en la superficie y/o la presencia de inflamación o un estado de enfermedad que afecta a la piel. La precisión y reproducibilidad de las medidas de impedancia en piel se ve también afectada por la naturaleza del tejido de la piel. Estas dificultades pueden no ser superadas con algunos dispositivos o procedimientos de la técnica anterior.

De acuerdo con lo anterior hay una necesidad de un procedimiento más preciso y reproducible para permitir monitorizar los niveles de glucosa en fluido corporal, tales como niveles de glucosa en sangre.

#### Sumario de la invención

Es un objeto de esta invención superar las dificultades asociadas con la medida de niveles o concentraciones de glucosa dentro de un fluido corporal, tal como sangre mediante impedancia de la piel. Es otro objeto de la presente invención proporcionar un aparato para la medida u obtención de niveles de glucosa en sangre. Es un objeto adicional de esta invención usar medidas de impedancia en tejido corporal sub-dérmico o subcutáneo para determinar niveles de glucosa en un fluido corporal de una forma exacta y reproducible.

La invención se define en la reivindicación independiente 1. Se describen realizaciones preferidas en las reivindicaciones dependientes.

Se proporciona un aparato para la monitorización de glucosa en un fluido corporal de un sujeto que comprende dos electrodos de inyección para la inyección de corriente eléctrica en dicho tejido corporal sub-dérmico o subcutáneo, dos electrodos de detección para la detección del voltaje del tejido corporal sub-dérmico o subcutáneo, estando dichos electrodos de inyección y electrodos de detección en contacto de conducción eléctrica con un tejido corporal. Se proporciona una fuente de corriente eléctrica, un amperímetro, y un voltímetro para la medida de la impedancia del tejido corporal sub-dérmico entre dichos electrodos de inyección y dichos electrodos de detección, en el que dicha corriente eléctrica se proporciona en una pluralidad de frecuencias en el intervalo de 1 Hz a 10 Hz, y en el que el amperímetro y fuente de corriente eléctrica se encuentran en conexión operativa con los electrodos de inyección y el voltímetro se encuentra en conexión operativa con los electrodos de detección, y un microprocesador conectado de forma operativa a los medios para la medida de la impedancia para determinar la cantidad de glucosa en el fluido corporal en base a la medida de impedancia.

Serán evidentes para los especialistas en la técnica otras y adicionales ventajas y características de la invención a partir de la siguiente descripción detallada de una realización de la misma, tomada junto con los dibujos acompañantes.

#### Breve descripción de los dibujos

Se llegarán a apreciar por completo y entender mejor diversos objetos, características y ventajas de la presente invención cuando se consideren junto con los dibujos acompañantes, en los que los caracteres de referencia designan las mismas o similares partes en las diversas vistas.

La figura 1 es una vista esquemática de la superficie de una sonda de electrodo de la presente invención.

La figura 2 se trata de los datos del primer ajuste de profundidad obtenidos con una sonda de electrodo de la figura 1.

La figura 3 es el diagrama de valoración de un modelo PCA de los datos ilustrados en la figura 2.

La figura 4 es un diagrama de datos brutos y barras de los datos obtenidos usando una sonda de electrodo de la presente invención.

La figura 5a es un diagrama de carga, de 5 Hz a 500 Hz, para datos de impedancia de sonda de electrodo de la presente invención.

La figura 5b es un diagrama de carga tras exclusión de frecuencias problemáticas, de 34 Hz a 232 Hz para datos de

impedancia de una sonda de electrodo de la presente invención.

La figura 6 es un resultado de la validación de permutación de los datos de la figura 5b, en la que el eje y representa  $R^2 Y_{cum}$  y  $Q^2_{cum}$  y el eje x muestra la correlación entre los valores de glucosa permutados y originales (datos Y). Los originales  $R^2 Y_{cum}$  y  $Q^2_{cum}$  son los valores más correctos.  $\Delta = R^2 Y_{cum}$  y  $\square = Q^2_{cum}$ .

La figura 7 es una rejilla de errores BD, que muestra la predicción resultante basada en el análisis de los datos de la figura 5b y 6, que correlaciona el nivel de glucosa predicho (en base a las medidas de impedancia) con el nivel de glucosa medido directamente.

La figura 8 es un diagrama de valoración PCA de los dos primeros componentes principales.

La figura 9 es el resultado de la validación de permutación, en el que el eje y representa  $R^2 Y_{cum}$  y  $Q^2_{cum}$  y el eje x muestra la correlación entre los valores de glucosa permutados y originales (datos Y). Los  $R^2 Y_{cum}$  y  $Q^2_{cum}$  originales son los valores más correctos.  $\Delta = R^2 Y_{cum}$  y  $\square = Q^2_{cum}$ .

La figura 10 es la predicción resultante en base a una muestra sí y otra no, presentada en una rejilla de errores BD para mostrar significancia clínica.

#### Descripción detallada de las realizaciones preferidas

Con el fin de que la invención se pueda entender de forma más completa se describirá ahora, a modo de ejemplo, en referencia a los dibujos acompañantes en los que las figuras 1 a 10 ilustran realizaciones de la presente invención.

En este documento se describe un procedimiento que implica poner en contacto un tejido corporal con uno o dos pares de electrodos de inyección y de electrodos de detección, con el fin de medir la impedancia a la que se hace referencia como "análisis de impedancia de dos puntos" y "análisis de impedancia de cuatro puntos". El tejido corporal puede ser piel (por ejemplo, tejido dérmico) o un tejido sub-dérmico o subcutáneo (por ejemplo, cualquier tejido corporal distinto de la piel). En el análisis de impedancia de dos puntos, se usan un par de electrodos de inyección y de detección, mientras que en el análisis de impedancia de cuatro puntos, se usan dos pares de electrodos de inyección y de detección. Tal equipamiento se puede designar como "equipamiento de 2 puntos" o "equipamiento de 4 puntos". El "equipamiento de 2 puntos" no se encuentra dentro del alcance de la invención reivindicada.

Se ha usado análisis de impedancia de cuatro puntos, usando electrodos implantados, para examinar la función cardíaca, mediante detección de alteraciones en propiedades eléctricas de tejidos del músculo cardíaco (Min, M. y col. "Electrical Impedance and Cardiac Monitoring - Technology, Potential and Applications." International Journal of Bioelectromagnetism, v. 5: 53-56, 2003), pero hasta ahora no se ha usado para medir niveles de glucosa en sangre de una forma exacta y fiable.

La invención usa análisis de impedancia de cuatro puntos para medir la impedancia de tejido corporal sub-dérmico (es decir subcutáneo o bajo la dermis). El uso de análisis de impedancia de cuatro puntos de impedancia eléctrica de tejidos corporales subcutáneos proporciona medidas de impedancia reproducibles que se pueden correlacionar de forma exacta con niveles de glucosa en sangre. Mediante la medida de la impedancia de tejidos sub-dérmicos, tales como músculo, adiposo (por ejemplo, graso), vasos sanguíneos o sangre para determinar niveles de glucosa en sangre se pueden reducir y posiblemente evitar los problemas potenciales asociados con la exactitud y reproducibilidad de procedimientos y aparatos de la técnica anterior, incluyendo algunos de los procedimientos y aparatos que usan medidas de impedancia en piel.

El procedimiento y aparato que usa análisis de impedancia de 4 puntos usa dos electrodos de inyección para la inyección de corriente eléctrica en un tejido corporal, y dos electrodos de detección para la media del voltaje o potencial de tejido corporal, siendo el tejido corporal piel o un tejido sub-dérmico. Se entendería también que se proporcionase un amperímetro para la medida de la cantidad de corriente aplicada, y un voltímetro para la medida del potencial del tejido corporal. El tejido corporal tal como se define en esta invención puede ser cualquier tejido corporal. Mediante la inyección de corriente eléctrica con dos electrodos de inyección se puede inyectar corriente a profundidades variables bajo la superficie del tejido corporal al que se han aplicado los electrodos de inyección, como se describe en la patente de Estados Unidos nº 5.353.802 de Ollmar. El procedimiento comprende inyección de corriente eléctrica en o por debajo de la piel (por ejemplo, sub-dérmicamente o subcutáneamente), tal que se puedan obtener medidas de impedancia del tejido subyacente o sub-dérmico. Tales medidas de impedancia sub-dérmica proporcionan una mejora frente a procedimientos previos ya que los tejidos sub-dérmicos no se pueden ver afectados por las variables que puedan afectar a la fiabilidad de las medidas de impedancia tomadas de la piel. Como tales las medidas de impedancia de tejido sub-dérmico pueden ser reproducibles, precisas y fiables.

Se usa un espectrómetro de impedancia equipado con una sonda de electrodo selectivo de profundidad de 2 puntos o de 4 puntos para medidas no invasivas en piel humana para obtener medidas de impedancia de tejido corporal sub-dérmico. Por ejemplo, se puede usar el espectrómetro selectivo de profundidad SciBase II™ (SciBase AB, Huddinge, Suecia). Se puede usar también un analizador de segmento corporal de impedancia ("IBSA"), modificado para incluir una sonda de electrodo de 4 puntos (Department of Medical Technology, Huddinge University Hospital, Huddinge, Suecia; Ollmar, Nicander I. (1995) "Information in multi-frequency measurements on intact skin", *Innov. Tech. Biol. Med.* 16: 745-751)). La sonda y el espectrómetro se conectan de forma operativa a un ordenador y/o un microprocesador programado con software apropiado para para presentación y almacenamiento de datos de impedancia medida, tal como ImpSoft™ (SciBase AB, Huddinge, Suecia). La impedancia se mide a diferentes frecuencias. En una configuración adicional el aparato usa corrientes eléctricas que pueden estar entre 1 Hz y 10 MHz y se encuentran preferiblemente entre 10 Hz y 10 MHz.

Se aplica un voltaje suficientemente alto a través de los electrodos de inyección para superar la impedancia de la piel, permitiendo que la corriente fluya en todas las frecuencias. Se usa un sensor de voltaje ideal que no restaría corriente por el electrodo de detección de voltaje. Se fuerza una corriente de prueba a través de los electrodos de inyección y de los electrodos de detección detectando el voltaje consiguiente.

Los electrodos de inyección y los electrodos de detección se encuentran en contacto de eléctricamente conductor con tejido de la piel, y preferiblemente una superficie de la piel. La superficie de sonda de electrodo de 2 puntos puede consistir en cuatro electrodos concéntricos, que se tienen que aplicar a una superficie de la piel de un sujeto, como se muestra en la figura 1. Los dos electrodos más exteriores, 10, 11 se designan como electrodos de inyección ya que se usan para inyección eléctrica en el tejido corporal. Los dos electrodos interiores 12, 13 se designan como electrodos de detección ya que se usan para recepción y detección de la corriente eléctrica, que pasa a través del tejido corporal. Mediante la inyección de la electricidad con dos electrodos se puede generar un electrodo virtual, que se posiciona un poco entre los dos electrodos de inyección físicos. La profundidad de penetración de la corriente eléctrica en el tejido corporal depende de la distancia entre los dos electrodos de inyección, y la cantidad de corriente eléctrica que se inyecta a través de un electrodo de inyección respecto al otro. En la sonda de electrodo SciBase II indicada anteriormente el sistema se configura para medir a cinco profundidades predeterminadas entre 0,1 y 2 mm por debajo de la superficie de la piel, pero se puede programar cualquier número de profundidades. El electrodo 12 de detección más exterior es conocido también como un electrodo de guarda ya que se usa para proteger el electrodo de detección central 13 de corrientes que pasan a lo largo de la superficie de la piel desde los electrodos de inyección. Cuando estas corrientes no han pasado a través de cualquier tejido corporal no representan un valor de impedancia que se pueda correlacionar con el nivel de glucosa en sangre.

Además de estar en contacto con la piel, uno o más de los electrodos de inyección o los electrodos de detección pueden estar en contacto eléctricamente conductor con un tejido corporal sub-dérmico o subcutáneo, por ejemplo, tejido muscular del que se tiene que medir la impedancia. Todos o algunos de los electrodos de inyección y los electrodos de detección se pueden implantar dentro del cuerpo del sujeto, de forma típica se pueden implantar sub-dérmicamente. Por ejemplo, los electrodos se pueden implantar subcutáneamente, por ejemplo, sobre la superficie de un músculo grande. De forma alternativa los electrodos de inyección pueden estar en contacto conductor con tejido de la piel, preferiblemente una superficie de la piel y los electrodos de detección pueden estar en contacto conductor con el tejido corporal del cual se tiene que medir la impedancia, tal como tejido sub-dérmico.

Los dos electrodos de inyección se pueden disponer en diferentes posiciones en el cuerpo del sujeto con el fin de medir la impedancia de uno o más segmentos corporales (por ejemplo, una parte de un brazo o una pierna) o todo el cuerpo. En otras palabras, cada par de electrodos de inyección y detección se puede localizar en dos posiciones diferentes. Un par de un primer electrodo de inyección y un primer electrodo de detección se disponen en contacto conductor con un tejido de la piel o un tejido corporal sub-dérmico en una primera posición en el cuerpo del sujeto, y un segundo par de un segundo electrodo de inyección y un segundo electrodo de detección se disponen en contacto conductor con un tejido de la piel o un tejido corporal sub-dérmico en una segunda posición del cuerpo del sujeto.

En una configuración descrita adicional se dispone un primer electrodo de inyección sobre una superficie de la piel cerca de la rodilla de un sujeto, y un segundo electrodo se dispone en una superficie de la piel cerca del tobillo de la misma pierna del sujeto. Los electrodos de detección se pueden disponer en la superficie de la piel o insertarse bajo la piel. En esta configuración se mide la impedancia de la pierna inferior, desde la rodilla al tobillo.

Cuando los electrodos de inyección y/o los electrodos de detección se encuentran en contacto conductor con una superficie de la piel, la superficie de la piel se puede tratar con solución salina antes de entrar en contacto con el electrodo para aumentar el acoplamiento eléctrico entre la piel y el electrodo. Por ejemplo, la piel se puede humedecer con solución salina durante 60 segundos, usando un pañuelo de papel humedecido con solución salina. Se elimina luego el exceso de solución salina y se dispone el(los) electrodo(s) dispuesto(s) sobre el sitio tratado. Por tanto, un gel eléctricamente conductor puede mejorar el contacto entre la superficie de la piel y los electrodos proporcionando medidas más precisas y reproducibles. El gel se puede dejar en la piel durante la etapa de medida de la impedancia, es decir, mientras que el electrodo está en contacto con la superficie de la piel. Tales geles eléctricamente conductores serían bien conocidos por un especialista en la técnica pertinente.

La determinación de la cantidad de glucosa incluye la comparación de la impedancia medida con una interrelación predeterminada entre impedancia de tejido corporal y nivel de glucosa en sangre. Por ejemplo, se pueden determinar niveles de glucosa en sangre directamente de una muestra de sangre y medir el nivel de glucosa en sangre con un glucómetro disponible comercialmente, por ejemplo, un glucómetro Elite™ Glucometer (Bayer Diagnostics). Al mismo tiempo se pueden recoger medidas de impedancia en tejido corporal usando las configuraciones anteriormente citadas de electrodos para cada nivel de glucosa en sangre medido directamente para formar un conjunto estándar de datos para la calibración del aparato de la invención. Los electrodos de inyección y los electrodos de detección se encuentran en conexión operativa con un ordenador o un microprocesador programado para determinar la cantidad de nivel de glucosa en base a la impedancia medida.

El microprocesador se puede programar para determinar el nivel de glucosa de un sujeto en base a un análisis de componente principal y un análisis de regresión por mínimos cuadrados parciales de la impedancia medida. En el análisis de componente principal ("PCA") se acumulan datos reunidos en un experimento con un gran número de variables en una matriz de datos  $X$  de tamaño  $n \times k$ , donde las filas  $n$  representan las diferentes medidas y las columnas  $k$  significan las variables, con el fin de reducir el número de dimensiones y por tanto encontrar modelos ocultos que no sean detectables por simple análisis de datos brutos (Eriksson L. y col. Multi- and Megavariate Data Analysis, Umetrics AB).

El algoritmo de análisis de componente principal NIPALS divide la matriz de datos en una nueva estructura de datos así como también una matriz residual en la que se reúne la parte de ruido de los datos. La ecuación para la descomposición PCA viene dada por:

$$\begin{aligned} X &= t_1 p_1' + t_2 p_2' + \dots + t_a p_a' = E \\ X &= TP' + E \end{aligned} \quad (1)$$

donde  $t_i$  es el vector de valoración de componente principal  $i$ ;  $p_i$  es el vector de carga de componente principal  $i$ ;  $T$  es la matriz de valoración y  $P$  la matriz de carga y  $E$  la matriz residual.

La regresión por mínimos cuadrados parciales ("PLS") es la proyección de estructuras latentes por medio de mínimos cuadrados parciales (Eriksson L. y col. (2001) Multi- and Megavariate Data Analysis, Umetrics AB). El algoritmo de mínimos cuadrados parciales NIPALS usa un peso de carga extra  $W$ , que conecta directamente con la construcción de interrelación de  $X$  e  $Y$ . En tanto que las estructuras dominantes en  $X$  sean acordes con la dirección máxima de correlación en  $Y$ , las cargas  $P$  y  $W$  se mantienen similares. Estas deberían mostrar diferencia significativa lo que implicaría que las características encontradas en  $Y$  no se correlacionan bien con las características dominantes en  $X$  (Esbensen K. y col. (1994) Multivariate Analysis in Practice, Camo AS). Se dan a continuación las fórmulas para la descomposición de las matrices de datos con el algoritmo NIPALS:

$$X = TP' + E \quad (2)$$

$$Y = UQ' + F \quad (3)$$

$$Y = (W(P'W)^{-1}Q')X \quad (4)$$

donde  $T$ ,  $U$  son las matrices de valoración y  $P$ ,  $W$ ,  $Q$  las matrices de carga y  $E$ ,  $F$  las matrices residuales para  $X$  e  $Y$  respectivamente.  $Y$  se refiere al valor predicho de un modelo PLS. Para sumarizar intentos PLS para capturar la mayor varianza dentro de cada matriz de datos  $X$  e  $Y$  y también tener en cuenta que la correlación entre los dos debería ser tan grande como fuese posible.

La validación cruzada calculará iterativamente un valor para la cercanía del ajuste para el modelo, denominado  $Q^2$ , que se calcula como sigue:

$$Q^2 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_{ip})^2}{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2} \quad (5)$$

donde  $y_i$  son los valores de respuesta observados e  $\hat{y}_{ip}$  los valores de respuesta predichos obtenidos mediante validación cruzada usando solo el componente de PLS  $p$ -th e  $y$  siendo la media de todas las respuestas medidas. La cercanía del ajuste,  $Q^2$  para cada componente PLS pone de manifiesto su significancia individual. Si se calcula  $\hat{y}_{ip}$  cuando se incorporan todos los componentes de PLS  $p$  significativos, se alcanza una valoración acumulativa para  $Q^2$ , denominada  $Q^2_{Cum}$  mediante la ecuación anterior. Se considera que un  $Q^2_{Cum}$  de 0,5 es Bueno y un valor de 0,9 es excelente. Sin embargo, este valor es específico de la solicitud, en función de qué proceso se modelice. De ahí que se pueda considerar una  $Q^2_{Cum}$  inferior o mayor buena o excelente. La varianza explicada de  $Y$ ,  $R^2Y_{Cum}$ , se compara luego con  $Q^2_{Cum}$ . Los resultados del análisis anteriormente descrito de las medidas de impedancia se pueden presentar luego en una rejilla de errores. En los ejemplos se usa una rejilla BD (Parkes J.L., y col. (2000), "A new consensus error grid to evaluate the clinical significance of inaccuracies in the measurement of blood glucose," Diabetes Care, 23, páginas 1143-1148). Se pueden usar otros tipos de análisis de error tales como la rejilla de Clarke (Clarke W.L., y col. (1987) "Evaluating clinical accuracy of systems for self-monitoring of blood glucose", Diabetes Care, 10, páginas 622-628.; Cox D.J., y col. (1989) "Clarification of Error-Grid Analysis", Diabetes Care, 12, páginas 235-236). Se entenderá que a la vista de la anterior descripción y de las referencias citadas, los especialistas en la técnica pertinente entenderán que se pueden usar algoritmos multivariantes para correlacionar las medidas de impedancia con niveles de glucosa, cuando se proporcionan con niveles de glucosa medidos directamente.

El ordenador o microprocesador incluye un indicador para la indicación del nivel de glucosa determinado. Este indicador puede incluir un monitor visual para que vea el sujeto. El ordenador o microprocesador pueden estar conectado de forma operativa opcionalmente con una bomba de insulina y medios para ajustar la cantidad de flujo de insulina por la bomba al sujeto, en base al nivel de glucosa en sangre determinado. En el caso de electrodos implantados, los electrodos pueden estar unidos de forma operativa con un microprocesador, programado como se describe anteriormente, y los electrodos y el microprocesador disponerse en una carcasa, similar a un dispositivo marcapasos, que permite la implantación. Se puede combinar también una bomba de insulina con los electrodos y microprocesador implantados.

Se ilustran más detalles del procedimiento y aparato descrito en los siguientes ejemplos que se entiende que son no limitantes respecto a las reivindicaciones anexas.

#### Ejemplo 1

Se midió la impedancia de la piel usando el espectrómetro de impedancia de la piel SciBase II con electrodo de 2 puntos (figura 1), aplicado a una superficie de la piel de un sujeto. Para aumentar la conductancia de la capa córnea de la piel, se humedeció con solución salina fisiológica. En este experimento se usaron las superficies volares de los antebrazos de dos voluntarios. Un voluntario se diagnosticó con diabetes mellitus tipo 1, mientras que el otro sujeto no se conoce que sufra de diabetes alguna ni de otra enfermedad relacionada con la sangre o la piel. Se midió la impedancia cada diez minutos durante aproximadamente 4 horas durante varios días.

Sobre las superficies volares de los voluntarios se marcaron dos sitios sin pelo con medidas de 2x2 cm, localizadas por encima y por debajo de la mitad del brazo. Se humedeció un sitio de cada vez con solución salina durante 60 segundos, usando un pañuelo de papel con dimensiones de 4,5x6,5 cm humedecido con 2,5 ml de solución salina. Se limpió rápidamente tras esto el exceso de agua y se dispuso la sonda sobre el sitio marcado. La sonda se posó sobre la piel meramente con su propio peso durante diez segundos con el fin de establecer un buen contacto. Se llevaron a cabo medidas en piel con el espectrómetro de impedancia a cinco profundidades diferentes usando 31 frecuencias para cada profundidad. Esto dio lugar a 155 magnitudes y 155 valores de fase tras un tiempo de medida de 20 segundos.

Los datos adquiridos se analizaron usando PCA para mostrar posibles valores atípicos o derivas dentro de los datos medidos. Se aplicó luego PLS a los datos con el fin de correlacionar la impedancia frente a la glucosa en sangre medida en una gota de sangre de la punta de un dedo.

Para el sujeto sin diabetes los datos mostraron fluctuaciones significativas entre las medidas consecutivas incluso sin cambios en nivel de glucosa en sangre. Las fluctuaciones eran tan severas que la esperanza de hallar alguna correlación era casi inexistente. Por tanto los resultados presentados a continuación provienen solo del sujeto diabético.

La aplicación de PCA a los datos brutos mostró rápidamente la existencia de cuatro valores atípicos en el diagrama de valoración (figura 3). Estos valores atípicos se corresponden con la magnitud y curvas de fase marcadas en el diagrama de datos brutos (figura 2). Estos son probablemente el resultado de demasiada inundación, exceso de fluido sobre la superficie de la piel o almacenamiento demasiado prolongado del fluido en las capas superiores de la piel.

Tras eliminar estos valores atípicos de los datos se aplicó PCA una vez más. No se encontraron nuevos valores atípicos críticos y el resto de datos se considera que es una buena base para más análisis.

## Ejemplo 2

En el experimento no invasivo del ejemplo 1 se detectó una pequeña correlación entre la concentración de glucosa y la magnitud de impedancia, lo que sugiere que se podría detectar una correlación disponiendo los electrodos en contacto directo con el tejido corporal, en el caso de tejido muscular.

Se obtuvieron medidas de impedancia de tejido corporal con un instrumento obtenido modificando un analizador de segmento corporal de impedancia ("IBSA"), Department of Medical Technology, Huddinge University Hospital, Huddinge, Suecia (Ollmar, Nicander I. (1995) "Information in multi-frequency measurements on intact skin", Innov. Tech. Biol. Med. 16:). Se transformó las medidas de IBSA en el intervalo de frecuencia de 5 Hz a 500 kHz y se transformó en medidas de impedancia de 4 puntos para este experimento. Se añadió a IBSA circuitería para la separación de la inyección de corriente y detección de voltaje.

Las medidas se llevaron a cabo en la pierna derecha de un voluntario que sufre de diabetes mellitus tipo 1. Se usó un molde de espuma de estireno para estabilizar la pierna durante el periodo de medida, ya que el movimiento afecta a las medidas. Se dispusieron dos electrodos de inyección en contacto conductor con la superficie de la piel de la pierna del sujeto, y se insertaron dos electrodos de detección en forma de agujas por debajo de la piel de la pierna del sujeto. Se decidieron las posiciones de las agujas (electrodos de detección) tras estudios de anatomía humana, así como también discusiones con personal médico. Se dispuso un electrodo de inyección cerca de la rodilla, y el segundo electrodo de inyección se dispuso cerca del tobillo. Se implantaron electrodos de detección cerca de la mitad del músculo de la pantorrilla, es decir, aproximadamente a medio camino entre los dos electrodos de inyección.

Se obtuvo un valor de glucosa en sangre estimado para cada medida usando un glucómetro en sangre invasivo (Glucometer Elite XL 3901E, Bayer).

Las medidas se iniciaron aproximadamente 60 minutos después de que las agujas se pusiesen en su lugar, con el fin de asegurar un mínimo de respuestas inflamatorias restantes (Koschinsky T. Heinemann L. (2001) "Sensors for glucose monitoring: technical and clinical aspects" Diabetes Metab. Res. Rev. 17, 113-123).

Se registraron valores de impedancia y glucosa en sangre cada 10 minutos durante aproximadamente cuatro horas. Para cada medida de la impedancia se realizaron cinco registros para ser capaz de investigar la desviación dentro de cada medida en comparación con la desviación entre medidas consecutivas.

Para conseguir un amplio abanico de concentraciones de glucosa en sangre en el sujeto se consumieron 75 g de polvo de glucosa sin agua disueltos en agua después de la primera hora. Cuando la glucosa en sangre alcanzó un valor suficientemente alto se administró insulina dando lugar a una caída en el valor de glucosa. Se consumió también alimento durante el periodo de medida. Al final del experimento la glucosa en sangre del sujeto se comprobó a fondo durante un tiempo más prolongado para asegurar que no se estableciese la hipoglucemia.

Se analizó los datos recogidos en diversas etapas. Primero se visualizó los datos de partida como tales, sin aplicar análisis de datos alguno. Después de esto se usaron procedimientos estadísticos diagrama de cajas, valor medio y desviación estándar para desvelar artefactos tales como ruido. Se usó PCA para asegurar que ningún dato atípico afectase al modelo.

Los datos brutos reunidos a partir de las medidas se muestran en la figura 4. Dos electrodos de inyección en contacto conductor con la superficie de la piel de una pierna de un sujeto, y dos electrodos de superficie implantados por debajo de la superficie de la piel de la pierna. Los datos muestran signos de interferencia a frecuencias específicas. Debido a que todas las frecuencias se correlacionan en cruzado, no debería haber discontinuidades aparentes en el diagrama. Se ven afectados por el ruido tres intervalos de frecuencia diferentes (5-10 Hz, 1-2 kHz y 100-500 kHz) que se representan a partir del análisis de datos.

Después de tales ajustes se analizó el conjunto de datos con PCA para asegurar que los cinco registros que se hicieron para cada medida mostraban áreas características similares, lo que implica que la desviación total es grande dentro de una observación. Aunque había ruido de fondo es evidente a partir del análisis de datos que hay una correlación entre impedancia de tejido sub-dérmico y el nivel de glucosa medido directamente.

## Ejemplo 3

Se repitió el procedimiento del ejemplo 2, con el sujeto sentado en una jaula de Faraday construida de modo que en las paredes, suelo y techo están cubiertas con placas de metal hechas de metal  $\mu$ . El ordenador usado para análisis de las medidas era un ordenador portátil, con el fin de reducir adicionalmente las fuentes de ruido. Tan pronto como las agujas fueron puestas en su lugar se iniciaron las medidas. El procedimiento era el mismo que el ejemplo 2 realizándose cinco registros para cada medida de la impedancia, con una adicional. Durante las medidas se



consumió alimento y 75 g de polvo de glucosa sin agua con el fin de alcanzar un amplio abanico de valores de glucosa en sangre.

Debido a que los datos de impedancia brutos contenían menos ruido que antes, se consideraron directamente los valores medios de las réplicas. Se creó un modelo PCA basado en valores medios de las magnitudes y se identificaron posibles valores atípicos. Después de esto se construyó un modelo PLS para ver si existe una correlación entre impedancia y glucosa en sangre. Se usó cada muestra como dato de prueba para el modelo y uno sí y otro no como conjunto de predicción. Se realizó también la validación cruzada del modelo usando SIMCA.

Para validar el modelo adicionalmente se permutó el vector de glucosa de referencia un número de veces y para cada permutación se calcularon nuevos  $Q^2_{cum}$  y  $R^2Y_{cum}$  usando la misma cantidad de componentes PLS para validar la significancia estadística del modelo.

Las cinco primeras medidas (es decir, las medidas llevadas a cabo durante los primeros 50 minutos) estaban distorsionadas y se descartaron. Las primeras cinco frecuencias (es decir 5-23 Hz) también se excluyeron ya que estaban alteradas. Se conoce que las medidas a baja frecuencia son difíciles de conseguir sin ruido. La figura 5a es un diagrama de carga de los datos de impedancia recogidos entre 5 Hz y 500 kHz. Como se observa en los diagramas de carga (figuras 5a,b), las dos frecuencias más altas (340 y 500 kHz) se encuentran separadas del resto, lo que indica que estas frecuencias estaban afectadas por ruido igualmente y de ahí que fueran excluidas. La figura 5b es un diagrama de carga tras exclusión de frecuencias problemáticas, de 34 Hz a 232 kHz para datos de impedancia de una sonda de electrodo de la presente invención.

La figura 7 muestra el resultado de las 200 permutaciones de los datos Y. Para cada permutación se han calculado nuevos valores para  $R^2Y_{cum}$  y  $Q^2_{cum}$ . El hecho de que los nuevos valores  $R^2Y_{cum}$  y  $Q^2_{cum}$  permanezcan por debajo de los valores calculados para el modelo indica su significancia estadística. La correlación entre nivel de glucosa en sangre e impedancia encontrada en este experimento es bastante clara. La  $Q^2_{cum}$  es 0,516 que indica que el modelo debe considerarse que es importante desde un punto de vista estadístico. La validación mediante la permutación de los datos Y refuerza la significancia del modelo. Como se puede apreciar en la rejilla de errores BD (figura 7), 7 valores están categorizados como A y 5 valores están categorizados como B (véase Parkes J.L., y col. (2000), "A new consensus error grid to evaluate the clinical significance of inaccuracies in the measurement of blood glucose," Diabetes Care, 23, páginas 1143-1148). Desde un punto de vista clínico el modelo basado en una muestra sí y otra no es significativo y el procedimiento proporciona una correlación entre impedancia medida y nivel de glucosa en sangre.

#### Ejemplo 4

Se usó el SciBase II en lugar el IBSA modificado de ejemplos 2 y 3, ya que es mucho menos sensible a ruido de fondo. El experimento se llevó a cabo en un ambiente sin protección. Se hicieron intentos para reducir posibles fuentes de ruido, tales como el apagado de pantallas de ordenadores cercanas. Se usó el mismo procedimiento experimental que en los ejemplos 2 y 3.

El SciBase II es un dispositivo de medida de la impedancia de dos puntos. Como tal se dispusieron las dos agujas subcutáneamente en la parte superior e inferior del brazo izquierdo del mismo voluntario que en los experimentos previos. Para asegurar que las agujas no provocasen más de una respuesta inflamatoria inicial se empujaron las puntas de las agujas de modo que saliesen de la piel unos centímetros desde el punto de inserción. Se tomaron muestras de sangre de la punta de los dedos de la mano derecha y se usaron para medidas directas de concentración de glucosa en sangre.

Las medidas no se iniciaron hasta dos horas tras la incisión de las agujas. Tanto el nivel de glucosa como los valores de impedancia fueron registrados simultáneamente cada cinco minutos durante todo el experimento, que duró casi cuatro horas. Para cada medida de impedancia se realizaron dos registros para comparar la desviación dentro de cada medida con la desviación entre medidas consecutivas.

Se consumió alimento al comienzo de las medidas, y se consumió a medio camino 75 g de polvo de glucosa sin agua disuelto en un vaso de agua para alcanzar un amplio abanico de concentraciones de glucosa en sangre en el sujeto. Se administró insulina cuando el nivel de glucosa en sangre alcanzó aproximadamente 300 mg/dl. Al final del experimento el sujeto fue observado durante un periodo largo de tiempo, para asegurar que el sujeto volvía y permanecía en la euglucemia.

Se examinaron las dos réplicas de las medidas de impedancia tanto en un diagrama de datos brutos como en el diagrama de valoraciones PCA. Se identificaron igualmente posibles valores atípicos en el diagrama de valoraciones. Después de esto se construyó un modelo PLS y se calcularon  $R^2Y$  y  $Q^2$  usando el mismo procedimiento de validación cruzada de antes. Se llevaron a cabo también permutaciones de los datos Y para validar el modelo adicionalmente. Al final se construyó un modelo PLS de una muestra sí y otra no y el resto se usaron como un conjunto de predicción.

No se descartaron medidas debido a la respuesta inflamatoria inicial en este experimento, ya que las medidas no comenzaron hasta dos horas tras la inserción de las agujas. Se construyó un diagrama de valoración PCA de todos modos para revelar posibles valores atípicos posteriormente durante el experimento (figura 8). Se encontró que las siete últimas medidas (muestras 40-46) son valores atípicos y fueron descartadas. No se encontraron frecuencias que se desviasen sustancialmente del resto y por tanto todas las frecuencias fueron incluidas en el modelo. Después de esto se creó un modelo PLS con las primeras 39 medidas. Se llevó a cabo validación cruzada para obtener valores para  $R^2Y_{cum}$  y  $Q^2_{cum}$ . Se llegó a la conclusión de que debían usarse cuatro componentes, ya que al aumentar de cuatro a cinco componentes PLS solo daba un cambio mínimo en varianza de Y y  $Q^2$ . Para mayor validación los datos Y se permutaron 200 veces usando la misma aleatorización vista anteriormente. Se calcularon nuevos valores para  $R^2Y_{cum}$  y  $Q^2_{cum}$  para cada permutación. Como se aprecia en la figura 9 todos los nuevos valores permanecían bien por debajo de  $R^2Y_{cum}$  y  $Q^2_{cum}$  originales lo que es otra indicación de un modelo preciso.

Se llevó a cabo otra validación como anteriormente, usándose la mitad de los datos como un conjunto de prueba y la otra mitad como un conjunto de predicción. El resultado de esta predicción se muestra en una rejilla de errores BD en la figura 10. Usando cada segundo punto para la construcción del modelo y el resto para la predicción dio un modelo muy significativo tanto de desde un punto de vista clínico como estadístico. En la rejilla de errores BD (figura 10) solo se categorizaron 3 puntos fuera A y todos ellos fueron categorizados en B.

El  $Q^2_{cum}$  calculado para el modelo mediante validación cruzada fue 0,875 y  $R^2Y_{cum}$  0,909 para componentes PLS. Esto es una aproximación a modelo excelente cuando solo se consideran estos valores y por tanto la correlación entre concentración de glucosa en sangre e impedancia sub-dérmica o sub-cutánea es cada vez más fuerte.

Se pueden hacer numerosas modificaciones, variaciones y adaptaciones a las realizaciones particulares de la invención descrita anteriormente sin apartarse del alcance de la invención, que se define en las siguientes reivindicaciones.

## REIVINDICACIONES

1. Un aparato para la medida o control de nivel de glucosa en sangre de un sujeto mediante medida de la impedancia de un tejido corporal subdérmico, del sujeto que da lugar a una corriente eléctrica que fluye a través de dicho tejido corporal y determinación de un nivel de glucosa en sangre de dicho sujeto en base a la impedancia medida, en el que dicho aparato es un equipo de cuatro puntos configurado para llevar a cabo un análisis de impedancia en 4 puntos, que comprende
  - un par de electrodos de inyección adaptados para la inyección de corriente eléctrica en el tejido corporal, en el que se pasa la corriente eléctrica por tejido subdérmico o subcutáneo de dicho sujeto;
  - un par de electrodos de detección adaptados para detectar el voltaje provocado por dicha corriente inyectada por los electrodos de inyección, tras fluir a través del tejido corporal;
  - un medio para la medida de la impedancia del tejido corporal sub-dérmico entre dichos electrodos de inyección y dichos electrodos de detección;
  - un microprocesador conectado de forma operativa a los medios para la medida de la impedancia y que es programado para determinar un nivel de glucosa en la sangre del sujeto en base a una comparación de la impedancia medida con una interrelación predeterminada entre la impedancia del tejido corporal sub-dérmico y el nivel de glucosa.
2. El aparato de la reivindicación 1 en el que el tejido subdérmico es músculo, grasa o vasos sanguíneos.
3. El aparato de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que comprende además un amperímetro, un voltímetro y fuente de corriente eléctrica para la medida de la impedancia de tejido corporal subdérmico entre dichos electrodos de inyección y dichos electrodos de detección; en el que el amperímetro y fuente de corriente eléctrica se encuentran en conexión operativa con los electrodos de inyección y el voltímetro está en conexión operativa con los electrodos de detección.
4. El aparato de la reivindicación 3, en el que dicha fuente de corriente diferencia se configura para proporcionar corriente eléctrica a una pluralidad de frecuencias en el intervalo de 1 Hz a 10 MHz.
5. El aparato de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que el microprocesador se conecta de forma operativa con una bomba de insulina e incluye medios para ajustar la cantidad de flujo de insulina mediante la bomba al sujeto en base al nivel de glucosa en sangre determinado.
6. El aparato de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que comprende además medios para la calibración del aparato contra un nivel de glucosa medido directamente de dicho sujeto.
7. El aparato de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que el microprocesador se programa para determinar el nivel de glucosa de un sujeto en base a un análisis de componente principal y un análisis de regresión por mínimos cuadrados parciales.
8. El aparato de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que comprende además un indicador conectado de forma operativa al microprocesador para indicación de la cantidad determinada de glucosa.
9. El aparato de la reivindicación 8, en el que el indicador comprende una pantalla visual.
10. El aparato de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que los electrodos de detección están adaptados para inserción en tejido corporal sub-dérmico o subcutáneo.
11. El aparato de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que al menos uno de los pares de electrodos de inyección o el par de electrodos de detección está adaptado para inserción en tejido corporal sub-dérmico o subcutáneo.

FIGURA 1

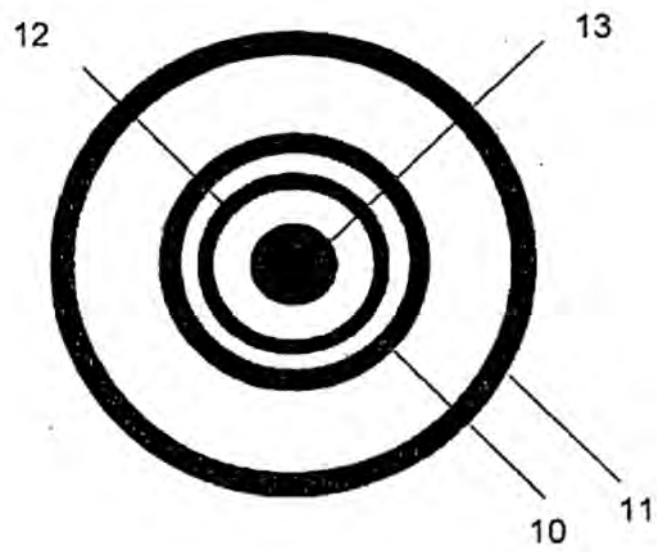


FIGURA 2

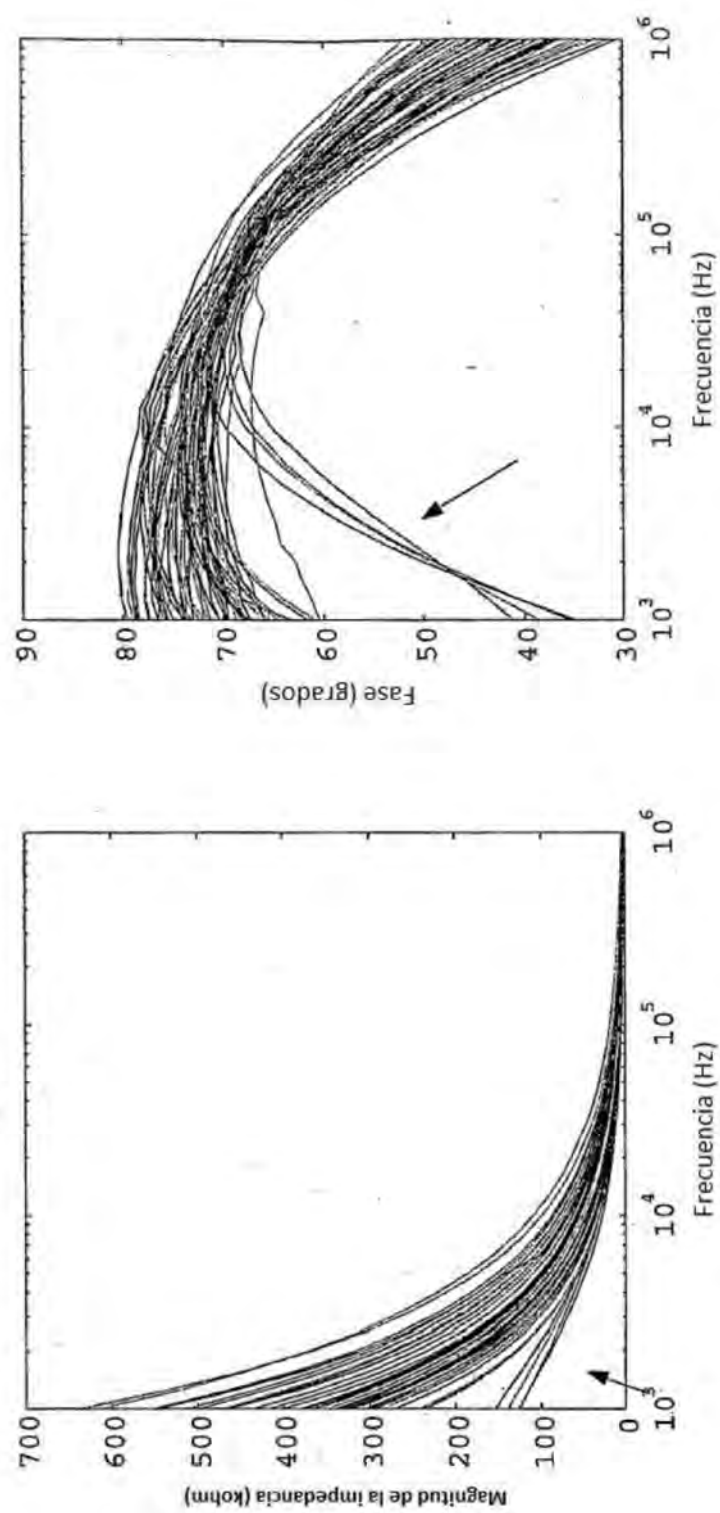


FIGURA 3

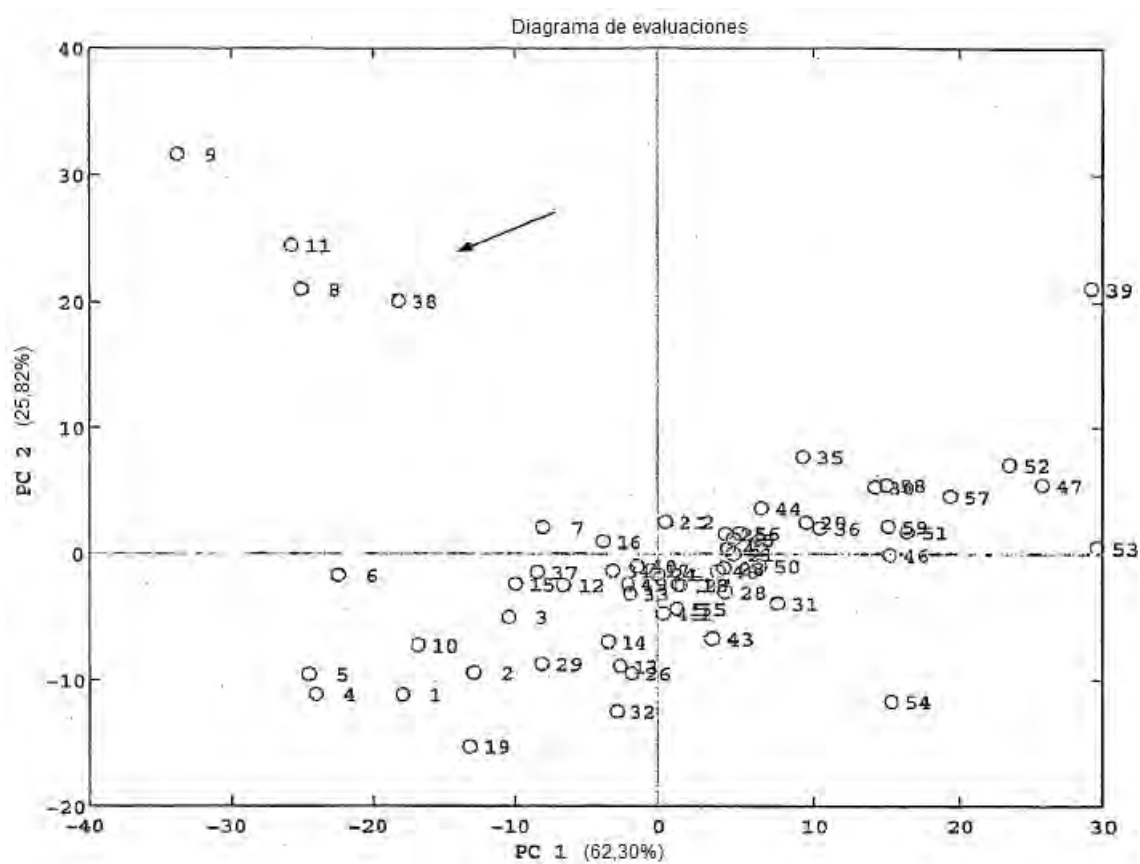


FIGURA 4

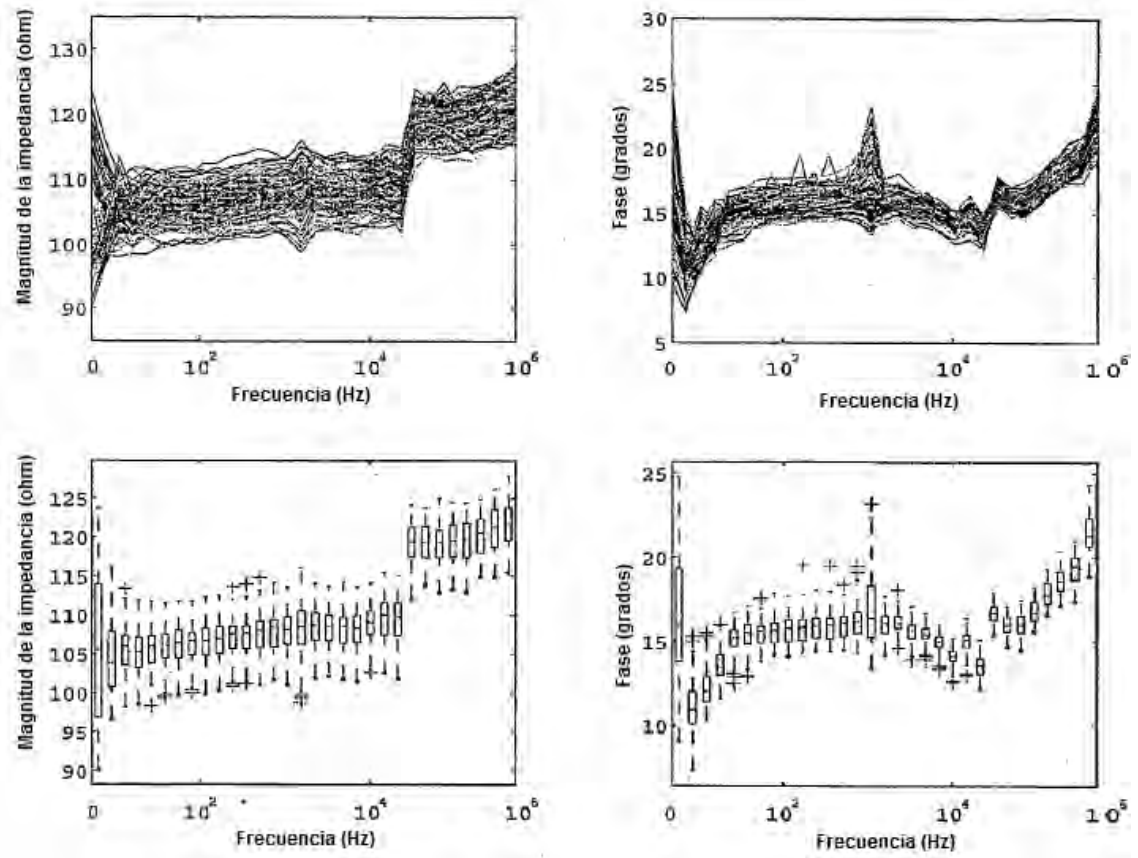


FIGURA 5a

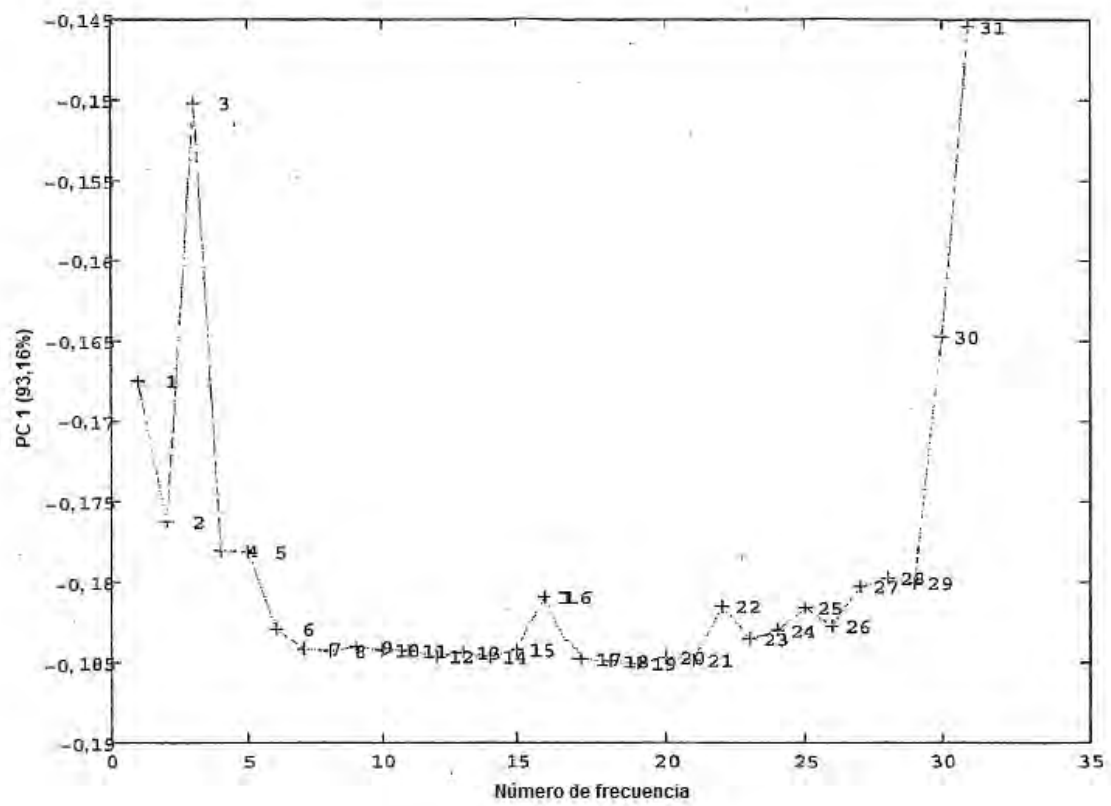




FIGURA 5b

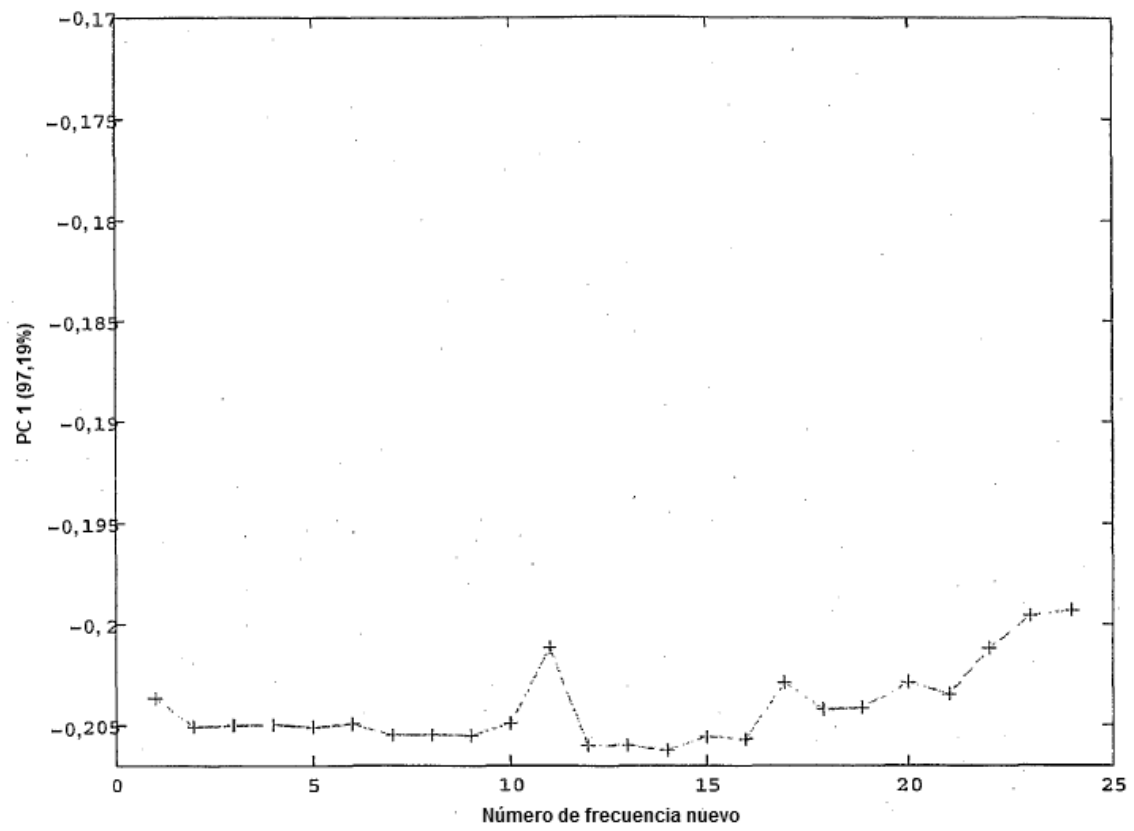


FIGURA 6

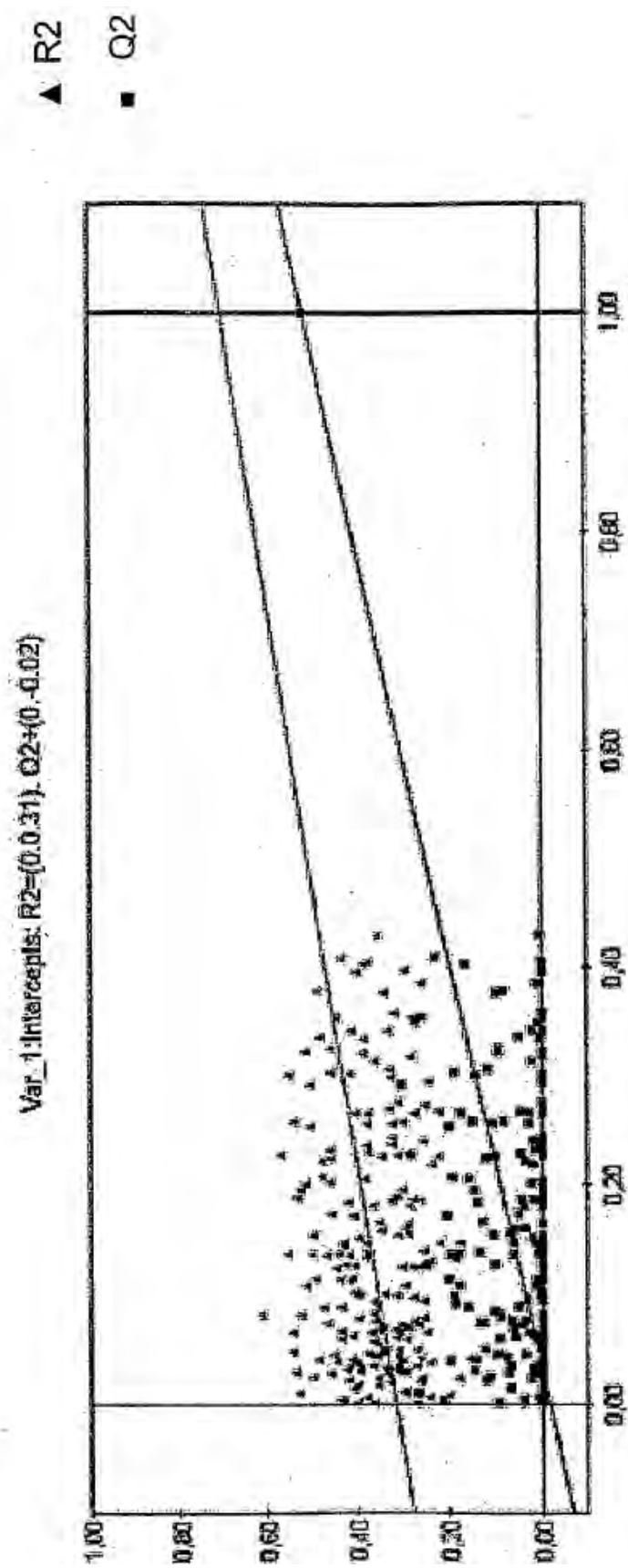


FIGURA 7

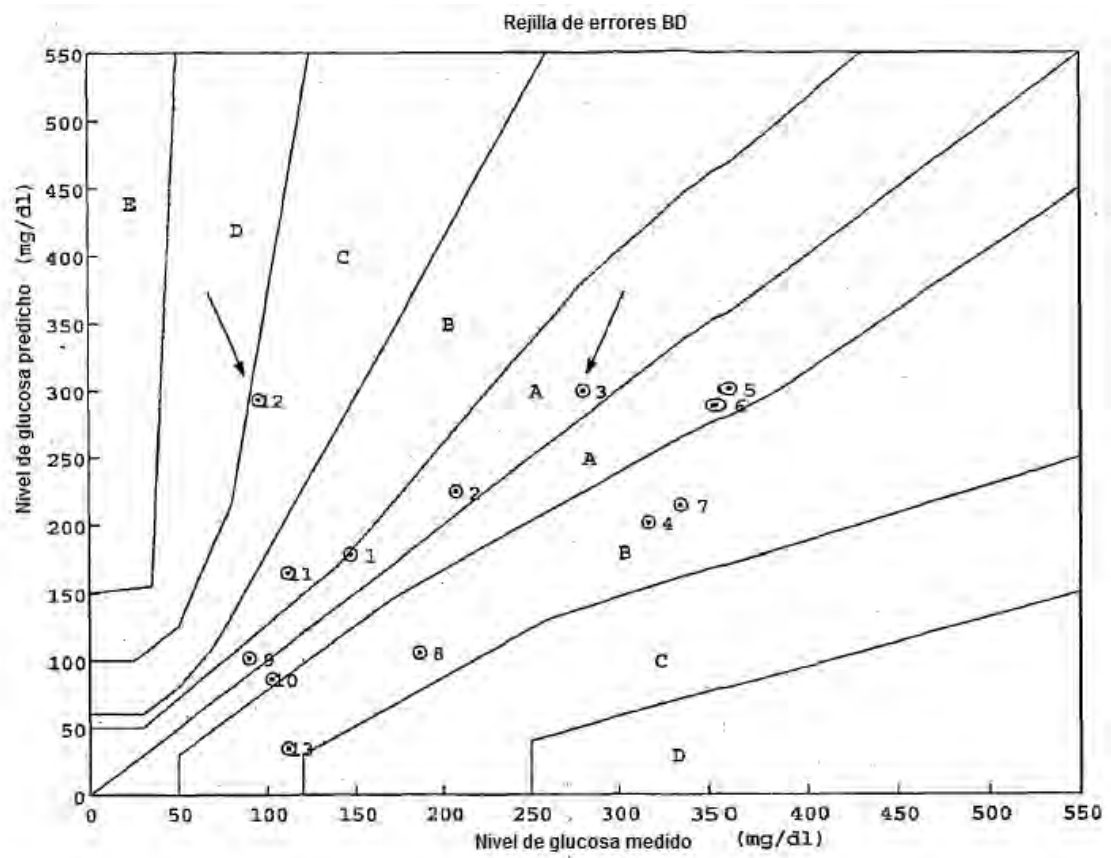


FIGURA 8

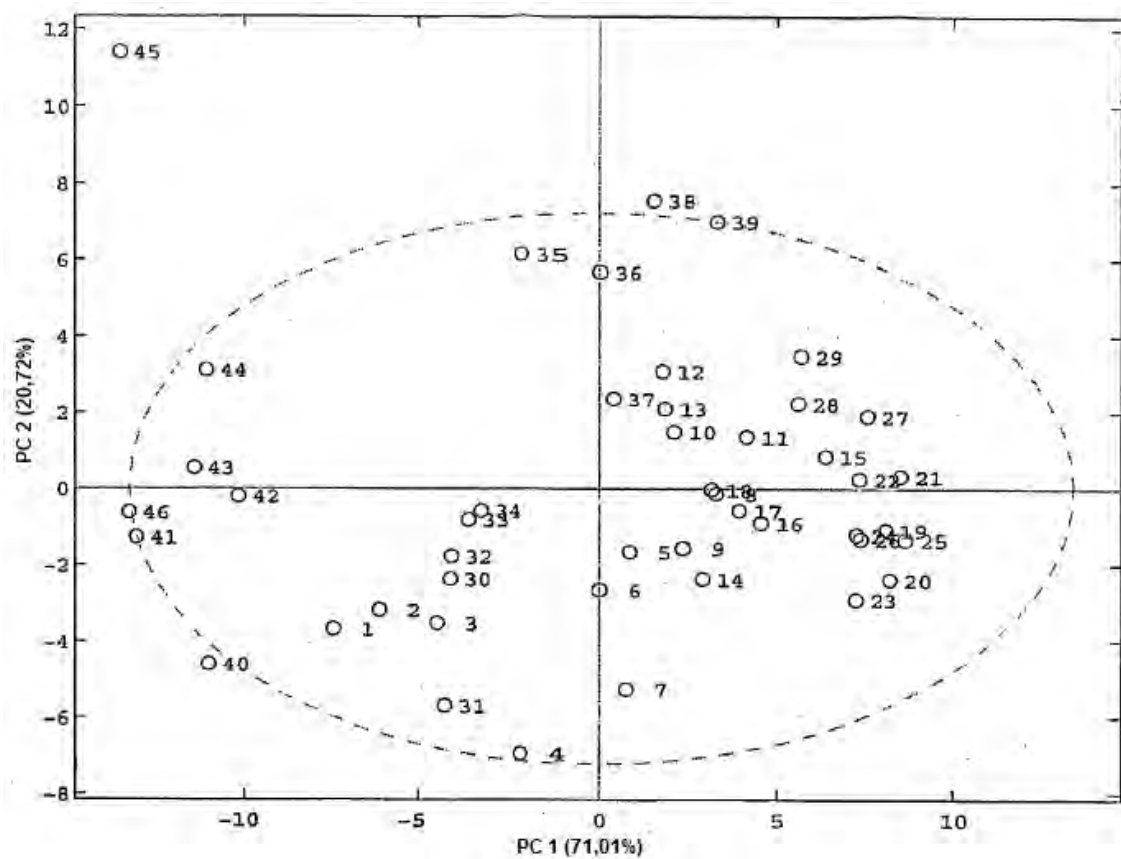


FIGURA 9

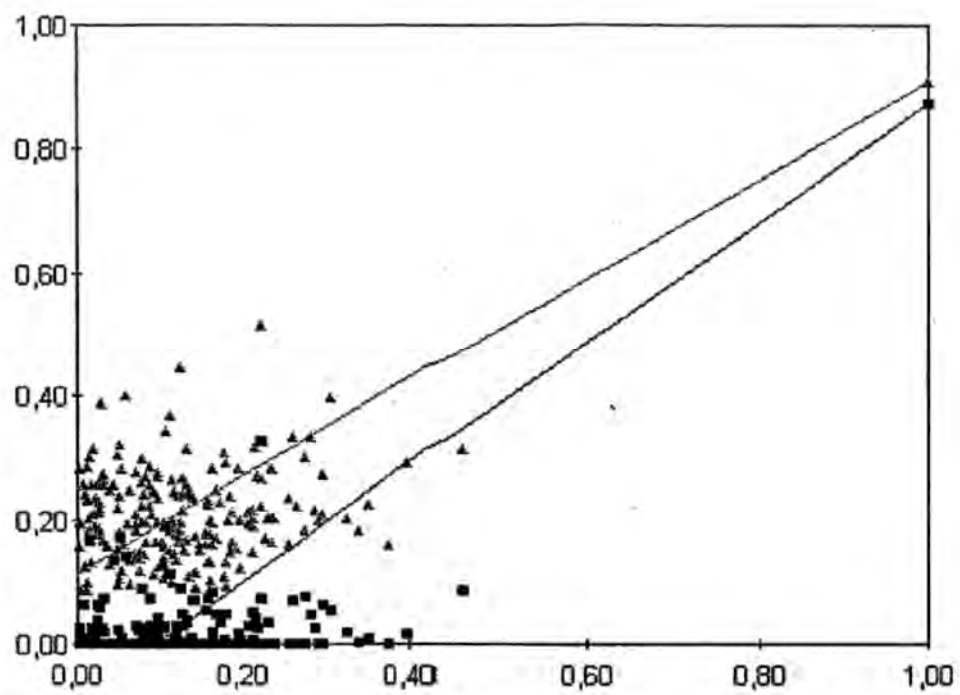


FIGURA 10

