

ESTUDIO DEL PROCESO DE COAGULACIÓN SANGUÍNEA MEDIANTE LA TÉCNICA DE BIOSPECKLE

Moschini Guillermo¹, Raviola Mariana², Detarsio Germán², Galassi Mariel^{1,3}, Galizzi Gustavo^{1,3}, Alet Analía^{2,3,4}, Tendela Lucas^{1,3}.

- 1 - Facultad de Ciencias Exactas, Ingeniería y Agrimensura - Universidad Nacional de Rosario.
2 - Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas - Universidad Nacional de Rosario.
3 - Instituto de Física Rosario - CONICET.
4 - Consejo de Investigaciones de la Universidad Nacional de Rosario.

Introducción

Al iluminar una superficie ópticamente heterogénea con un haz láser coherente, la luz dispersada genera un patrón de interferencia de puntos brillantes y oscuros denominado *speckle*. En particular, cuando el medio dispersor es de naturaleza biológica, este fenómeno se conoce como *biospeckle*. En el ámbito biomédico, dicha técnica es capaz de evidenciar los cambios en el índice de refracción que ocurren en el plasma durante la formación de la malla de fibrina, proceso fundamental en la coagulación sanguínea. En este trabajo se evalúa la técnica de biospeckle láser como una herramienta óptica y de alta sensibilidad para caracterizar la dinámica de coagulación, aportando una base física sólida para el desarrollo de nuevas tecnologías de diagnóstico clínico automatizado.



Figura 1. Proceso de coagulación sanguínea.

Metodología

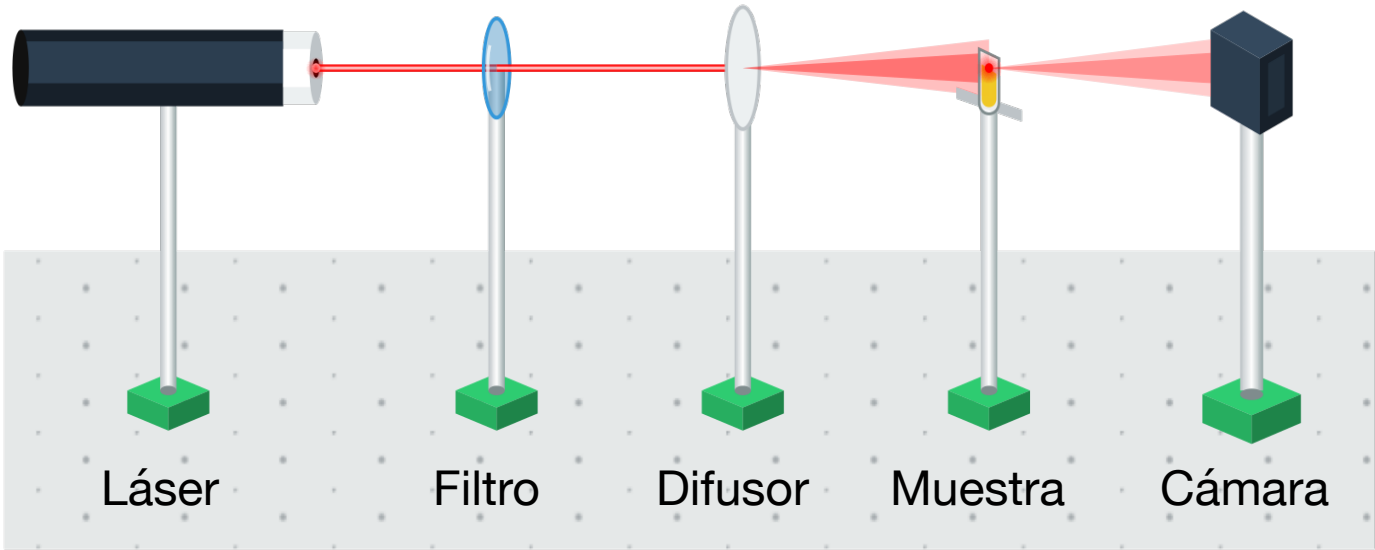


Figura 2. Disposición experimental.

Se utilizó un láser de He-Ne como fuente de iluminación coherente y una cámara digital de alta velocidad con frecuencia de adquisición variable. Para las mediciones se utilizaron tres niveles de plasma calibrador liofilizado, con distintos niveles de Razón Internacional Normalizada (RIN): RIN 1,2; RIN 2,8 y RIN 4,7. Para la activación de la coagulación se utilizaron dos reactivos de tromboplastina comerciales: Innovin Siemens® y STA-NeoPTimal®. Las determinaciones se realizaron por quintuplicado para cada nivel de plasma y reactivo. El tiempo de coagulación se obtuvo procesando la historia temporal de la actividad del speckle, identificando el punto medio entre dos mesetas de actividad máxima y mínima.

Resultados

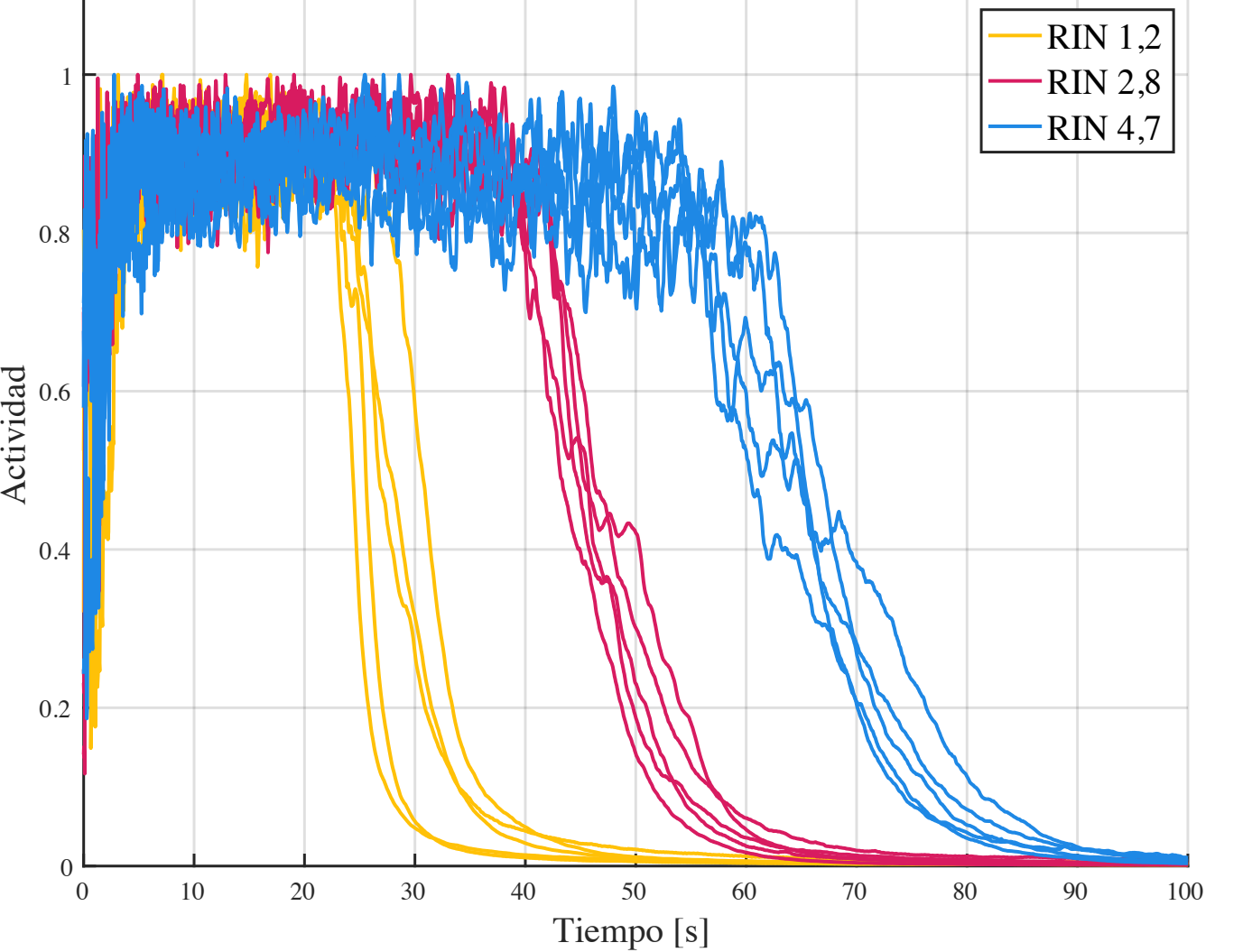


Figura 3. Gráfica de la actividad en función del tiempo para reactivo Siemens®.

Las curvas de actividad demuestran que el sistema óptico discrimina claramente los distintos niveles de plasma. Conforme aumenta el valor de RIN, se observa un desplazamiento sistemático en la caída de la señal hacia la derecha, reflejando tiempos de coagulación más prolongados.

Los resultados se analizaron estadísticamente empleando un análisis de varianza (ANOVA) de dos factores, seguido de un test de comparaciones múltiples de Tukey. En ambos casos, el análisis estadístico demostró una diferencia significativa entre todos los niveles evaluados (ANOVA y test de Tukey, $p < 0,0001$).

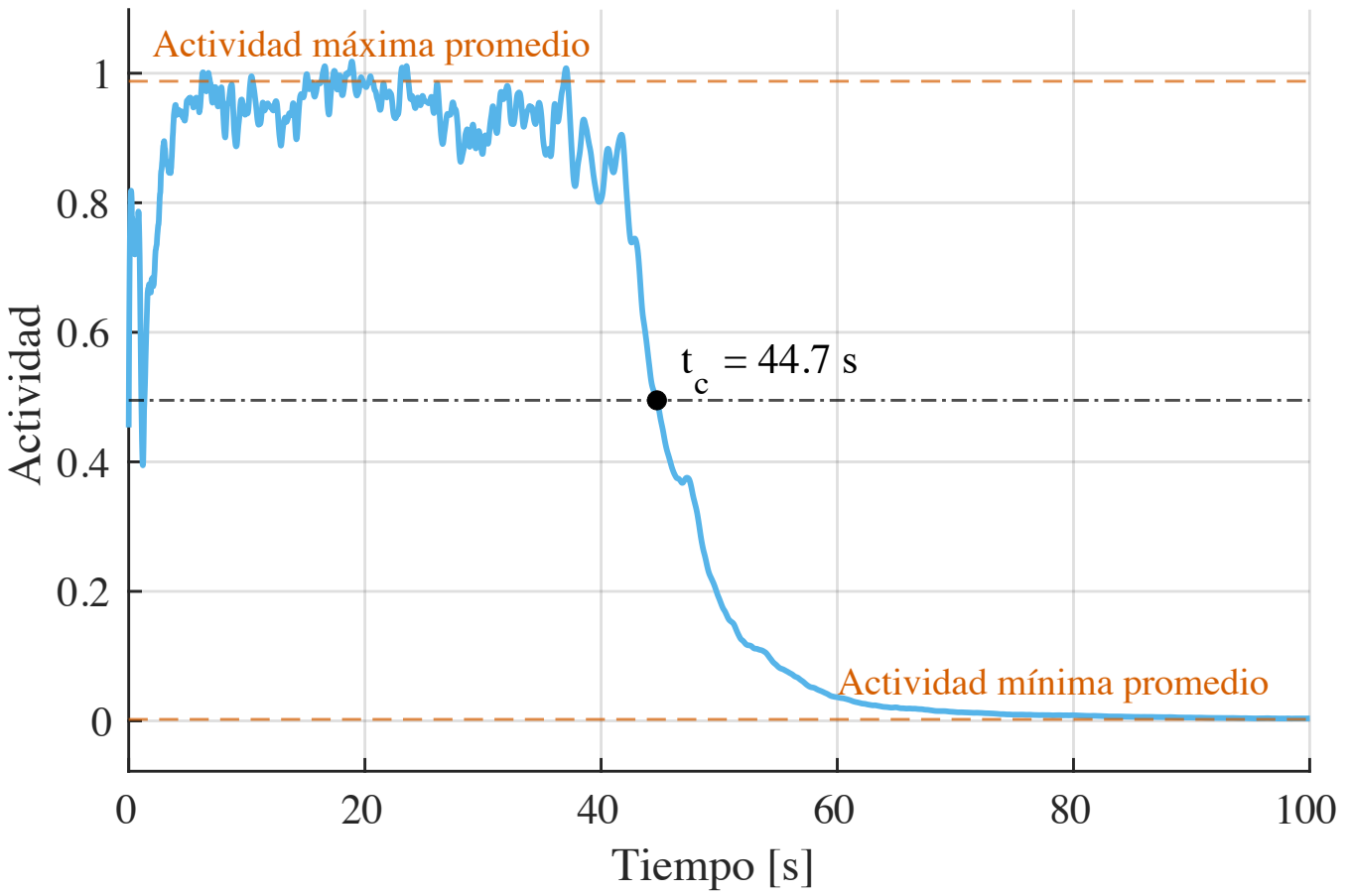


Figura 4. Cálculo del tiempo de coagulación tomando una de las repeticiones de RIN 2,8 como ejemplo.

El desarrollo del método permitió extraer el tiempo de coagulación (t_c) de forma automática. Al definirlo como el punto medio entre las mesetas de actividad máxima y mínima promedio, se logró una determinación robusta que sorteaba el ruido estocástico inicial.

Plasma Reactivo	RIN 1,2	RIN 2,8	RIN 4,7
Siemens®	(26 ± 2) s	(45 ± 2) s	(65 ± 3) s
NeoPTimal®	(33 ± 1) s	(51 ± 2) s	(71 ± 5) s

Tabla 1. Resumen de los valores promedio de t_c junto con su desviación estándar para cada nivel de plasma y reactivo.

Conclusiones

Los resultados preliminares muestran que el análisis de la actividad relativa del patrón de speckle posee la sensibilidad necesaria para diferenciar significativamente tanto el comportamiento cinético de los distintos niveles de RIN como el reactivo utilizado. A su vez, el método de procesamiento implementado demostró ser una estrategia robusta para determinar el tiempo de coagulación de forma objetiva y automatizada. Estos hallazgos reafirman el potencial de la técnica de biospeckle como una herramienta óptica innovadora para el estudio de la hemostasia y el desarrollo de nuevas metodologías de análisis clínico.