

Artículo

¿Como se ve el sonido de la Sangre?

SJ Olvera Vazquez ^{1,3*}, GC Villanueva López ² y A Cruz Orea ¹, SA Tomás Velázquez¹

¹ Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN (CINVESTAV), Depto. de Física, México.

² Instituto Politécnico Nacional, Escuela Superior de Medicina, México.

³ Tecnológico Nacional de México / Instituto Tecnológico Superior de Huichapan, División Ingeniería en Administración.

* Correspondencia: sindy.olvera@cinvestav.mx

Resumen: En este trabajo se utilizó la técnica de espectroscopia fotoacústica para poder observar el sonido característico de la sangre a través de su espectro de absorción óptico, el cual muestra absorciones características debidas a la estructura, composición y propiedades físicas de la sangre, en particular debido al hierro presente en esta (γ) y al oxígeno que transporta (β y α). Para la caracterización de la sangre se utilizó un modelo experimental de choque séptico producido por la administración de lipopolisacárido (LPS, la pared externa de algunas bacterias). Se tomaron muestras de sangre antes de inducir el choque (hora cero) y cada hora después durante seis horas. Se obtuvo el espectro de absorción en cada muestra y se calcularon las razones entre sus picos característicos (γ/β) y (γ/α). Se observó que la disminución en la concentración de hemoglobina se relacionó con la severidad del choque, por lo que se concluye que la espectroscopía fotoacústica es una tecnología útil en el seguimiento del estado de choque.

Keywords: *Espectroscopia fotoacústica; Sangre; Hemoglobina, choque séptico, propiedades físicas.*

1. Introducción

La espectroscopia fotoacústica (PAS por sus siglas en Inglés), es una técnica fototérmica, la cual basa su principio de funcionamiento en el efecto fotoacústico, descubierto por Alexander Graham Bell en 1880 [1], este efecto es también conocido como efecto fototérmico o efecto de onda de sonido. El proceso comienza con la irradiación de la muestra (orgánica o inorgánica), con luz modulada de diferentes longitudes de onda. Esta muestra se encuentra en una cámara con aire, herméticamente cerrada y con una ventana por donde incide la luz. Cuando esta luz interactúa con la muestra, parte de la energía lumínica se absorbe y se convierte en calor. Como resultado, se produce un calentamiento periódico en la muestra, mismo que se transmite al aire circundante, lo que genera una onda de sonido detectable por medio de transductores acústicos (micrófonos), dicho sonido es característico de cada muestra, en pocas palabras la huella dactilar sónica de una muestra[2][3].

La espectroscopía fotoacústica es considerada una técnica analítica avanzada que combina las ventajas de la espectroscopía óptica y la acústica para estudiar la interacción de la materia con la radiación electromagnética. Esta técnica ha demostrado un gran potencial en diversas áreas, y en particular, en la medicina, donde ha sido ampliamente utilizada para diagnosticar y dar seguimiento de manera no invasiva a diversas enfermedades[4][5].

El monitoreo y diagnóstico de enfermedades a través de la sangre es una práctica común en la medicina moderna. La sangre es una fuente valiosa de información sobre el estado de salud de una persona, ya que contiene una amplia gama de elementos, como

Citar este trabajo: Olvera Vazquez, S.J.; Villanueva López, G.C.; Cruz Orea, A.; Tomás Velázquez, S.A. ¿Como se ve el sonido de la Sangre?. RELITEC'S 2023, 6ta edición.

ISSN 2395-972X
relitecs.iteshu.edu.mx/

Recibido: 30-09-2023
Aceptado: 13-11-2023
Publicado: 30-11-2023

células sanguíneas, proteínas, enzimas, hormonas y otros biomarcadores que pueden indicar la presencia o progresión de enfermedades[6].

En este artículo, exploraremos la emocionante aplicación que esta técnica ha brindado al campo de la medicina a través del análisis de muestras biológicas como la sangre, para el diagnóstico oportuno del choque séptico, siendo este la primera causa de muerte en pacientes dentro del área de terapia intensiva. Esta afección alcanza mortalidad del 90% de los pacientes que la presentan[7].

El choque séptico inicialmente se origina por la presencia de bacterias en el torrente sanguíneo, lo cual se puede deber a múltiples causas ocasionando una sepsis en el paciente, si la infección no es tratada el paciente progresa a choque séptico. El choque tiene dos etapas la etapa compensatoria y la etapa descompensatoria, cada una de ellas con signos y síntomas característicos. Si un paciente que presenta choque séptico se detecta en la etapa compensatoria, tiene mucha probabilidad de vivir, no pasa así cuando el choque se detecta ya en su segunda etapa, he aquí la importancia de hacer una detección oportuna del choque para poder disminuir la mortalidad y sus consecuencias a corto o largo plazo (morbilidad)[8]. Con la espectroscopia fotoacústica el sonido que emite la sangre, traducido como espectro de absorción óptico, es posible monitorear los niveles de hemoglobina presentes en la sangre. En este trabajo se postuló la hipótesis de que la concentración de hemoglobina podría ser un marcador biológico para la detección oportuna de choque en pacientes con sepsis.

Cabe mencionar que dentro del área médica existen ya instrumentos y estudios especializados para para la detección del choque séptico, sin embargo, estos son poco precisos, arrojan resultados burdos y en la mayoría de ellos la obtención de muestras biológicas (sangre, orina, plasma, etc.) implica la manipulación del paciente y su posible contaminación con bacterias que en el ambiente hospitalario generalmente son multirresistentes. Con la tecnología que mostramos, el espectro de absorción óptico permite obtener información sobre las propiedades de la muestra, como su composición química, estructura molecular, concentración de ciertos compuestos y propiedades físicas. utilizando una cantidad muy pequeña de muestra biológica (aproximadamente 100µl menos de una gota)[9].

La espectroscopía fotoacústica es particularmente útil para estudiar muestras biológicas, ya que puede detectar componentes específicos de los tejidos y fluidos corporales sin dañarlos, lo que la convierte en una técnica no invasiva y segura[10]. Esta técnica ha tenido otras aplicaciones dentro del área biológica. A continuación se mencionan algunas de sus aplicaciones realizadas en ortopedia, rehabilitación, cirugía, hematología, oncología: medición de la difusividad térmica del hueso, hidroxiapatita y metales para aplicaciones biomédicas[11], estudio de protoporfirina IX en ratones [12], fotoestimulación al proceso de cicatrización [9], estudio en muestras de sangre de ratas con cáncer hepático [13], análisis fotoacústico del callo óseo de fractura a diferentes tiempos de consolidación [14], determinación de protoporfirina inducida por ácido aminolevulínico IX en piel de ratones[15].

2. Materiales y Métodos

La técnica utilizada para este trabajo fue la Espectroscopia Fotoacústica, la cual consta de los siguientes componentes:

- Fuente de luz: Lámpara de xenón (Emite luz en un rango de 200 a 1100nm, a 700W de potencia)
- Monocromador (Separador de la luz en las diferentes longitudes de onda)
- Chopper (Modulador de luz, 17Hz)
- Fibra óptica (Por donde se conduce la luz monocromática modulada)
- Celda Fotoacústica (Donde se coloca la muestra)
- Micrófono (Detector de variaciones de presión, traducidas a sonido)

- Lock-in (Amplificador de señales)
- PC (decodificador de sonido en espectro de absorción óptico)

El montaje experimental de la técnica de Espectroscopia Fotoacústica se muestra en la figura 1.

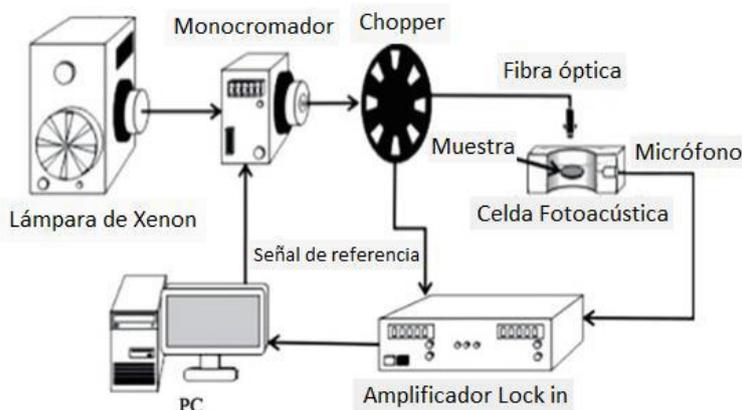


Figura 1.- Montaje para Espectroscopia fotoacústica (Esquema tomado de la referencia 3).

Para caracterizar las muestras biológicas y obtención de su espectro de absorción óptico, se colocaron éstas dentro de la celda fotoacústica, sellando la celda herméticamente, se hizo incidir la luz modulada proveniente de la fuente de luz y como resultado de ello la muestra se calienta periódicamente y este calentamiento se transmite al aire circundante, generándose variaciones de presión en este aire dentro de la celda, dichas variaciones son detectadas por un micrófono que se encuentra dentro de la celda, estas señales son amplificadas por el amplificador Lock-in y almacenadas por la PC.

El espectro de absorción óptico proviene de la amplificación del sonido emitido por la muestra, graficado en función de la longitud de onda de la luz incidente y es característico de cada una de éstas, ya que depende en su totalidad de la composición y elementos de la muestra. Estos espectros fueron analizados, encontrándose diferencias entre ellos.

A continuación, se detalla el proceso utilizado en la inducción a choque séptico del modelo animal.

Para este estudio, se obtuvieron muestras de sangre de un grupo de ratas en las que se indujo choque séptico mediante la administración de un Lipopolisacárido (LPS, pared externa de las bacterias, en este caso *Escherichia coli*), a razón de 7mg por kg, modelo utilizado por Moncada y Cols que reproduce la condición humana)[3]. Las muestras se tomaron antes (muestra 0) y después de la administración de LPS (1, 2, 3, 4, 5 y 6 horas).

Para la inducción a choque séptico, ratas macho Wistar con peso aproximado de 400g se anestesiaron con pentobarbital sódico (45mg/kg de peso) para canalizar la vena yugular derecha. Se extrajeron 1.5ml de sangre en cada toma de muestra, reemplazo de 3 veces el volumen con solución Harman.

Las muestras fueron caracterizadas por espectroscopia fotoacústica, siguiendo el método detallado al inicio de esta sección, de esta manera se obtuvo el sonido emitido por cada muestra, el cual fue traducido a su espectro de absorción óptico que fue analizado posteriormente para evaluar las diferencias.

3. Resultados

Al caracterizar las muestras de sangre del modelo animal por espectroscopia fotoacústica, fue posible obtener el sonido que emite la sangre que al traducirse este a una absorción óptica en función de la longitud de onda se ve como se muestra en la siguiente figura.

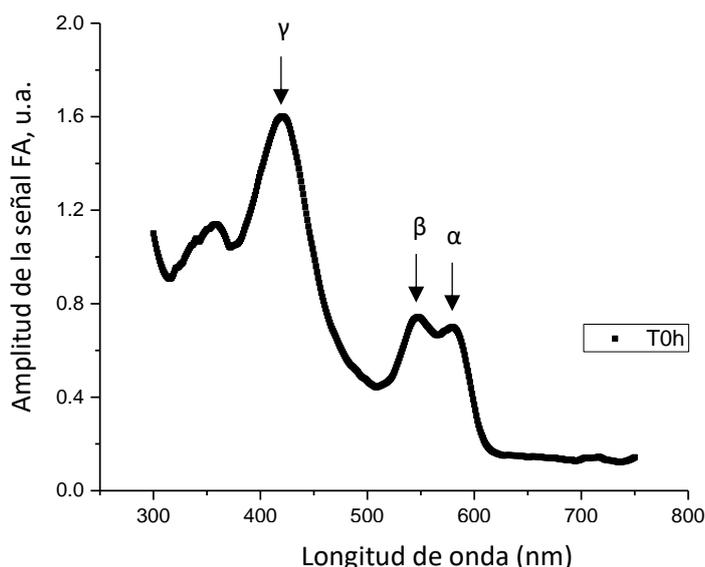


Figura 2.- Espectro de absorción óptico de la sangre.

En la figura 2 se muestra el espectro de absorción óptico de la sangre el cuál presenta tres picos característicos, γ localizado aproximadamente a 420nm, β y α ubicados alrededor de 545nm y 580nm respectivamente, el pico γ se presenta debido al hierro presente en la hemoglobina, molécula de la cual se constituye principalmente la sangre, los picos β y α están relacionados con la oxigenación presente en la sangre [16]. Al analizar los espectros de absorción ópticos de las muestras se pueden obtener las razones entre los picos γ/β y γ/α , según reportes de la literatura estas razones son inversamente proporcionales a la concentración de hemoglobina[17], encontrándose que estas razones iban aumentando durante el choque séptico, en consecuencia, la concentración de hemoglobina iba disminuyendo. Para estimar el porcentaje de disminución de la concentración de hemoglobina se utilizó una curva de calibración con hemoglobina (Sigma Chemical Co), al ajustar y extrapolar con los datos obtenidos, se pudo estimar que dicha concentración disminuye después de la sexta hora a 30.2%.

4. Discusión

Como se mencionó al inicio de este artículo al caracterizar muestras por espectroscopia fotoacústica es posible obtener el sonido que cada una de estas emite al ser irradiadas con luz modulada [18]. En el caso particular de la sangre esta también emite un patrón de sonido muy característico, debido principalmente a su composición, que en su mayoría es de moléculas de hemoglobina, las cuales a su vez están estructuradas con hierro (pico γ), además, una de las principales funciones de la hemoglobina es el transporte de oxígeno, el cual también puede ser escuchado y detectado por espectroscopia fotoacústica (picos β y α), dando lugar al espectro completo de absorción óptico de la sangre (figura 2).

Por otra parte, según estudios reportados en la literatura, se puede establecer una relación inversamente proporcional entre la razón de los picos γ/β y γ/α y la concentración de hemoglobina presente en la sangre[17]. En este estudio se calcularon estas razones para cada una de las muestras de cada hora, y se observó que estas van aumentando a lo largo del choque séptico, por lo que en lo consecuente se puede evidenciar que la concentración de hemoglobina va disminuyendo, aunado a esto, al hacer una extrapolación de los datos obtenidos con el ajuste a una curva de calibración de hemoglobina también ya reportada [4], se pudo hacer una estimación de la concentración de hemoglobina presente en la sangre, dando como resultado que la disminución de dicha concentración es del 30.2% a lo

largo del choque séptico, esta disminución en la concentración de hemoglobina está relacionada con la severidad de este, por lo que se puede postular que es un biomarcador potencial para detectar y dar seguimiento al choque séptico[4]. Es por esta razón que, si se pudiera detectar dicha disminución en etapas iniciales de la sepsis, habría una amplia posibilidad de evitar que un paciente progrese a choque séptico con lo que podría disminuir la mortalidad por choque en pacientes en estado crítico.

En un futuro se tiene pensado diseñar un prototipo cuyo principio de funcionamiento básico sea el efecto fotoacústico, un dispositivo tipo glucómetro, solo que en lugar de medir glucosa mediría concentraciones de hemoglobina. De esta manera se podría hacer un seguimiento más preciso de los pacientes con sepsis para evitar la progresión a estado de choque. La tecnología puede detectar otras variables lo que da la posibilidad de evaluar en una sola y pequeña cantidad de sangre sustancias que son importantes en el estudio del paciente en condición crítica, sin la necesidad de tomar muestras múltiples, lo cual conlleva el riesgo de infección por bacterias multirresistentes.

5. Conclusiones

La técnica de espectroscopia fotoacústica nos permite observar el sonido que emite una muestra de sangre a través de su espectro de absorción óptico, este espectro es característico de la sangre y muestra los componentes de esta, como el hierro presente en la molécula de hemoglobina (ν), de lo cual esta principalmente constituida la sangre y el oxígeno (β y α) presente en esta, ya que la principal función de la hemoglobina es el transporte de este [19].

La espectroscopia fotoacústica es una técnica altamente sensible para detectar los componentes estructurales de una muestra, en particular de muestra biológicas, convirtiéndola en una técnica con un amplio potencial en la detección y monitoreo de enfermedades.

Los resultados mostraron que la espectroscopia fotoacústica es una tecnología que puede aplicarse a la valoración del paciente en estado crítico para disminuir la presencia de choque séptico y la morbimortalidad.

Contribución: Conceptualización, Dra Sindy Olvera y Dr Alfredo Cruz; metodología, Dra. Cleva Villanueva y Dr. Alfredo Cruz; Caracterización de las muestras e interpretación y discusión de resultados, Dra. Sindy Olvera, validación de los resultados: Dra. Cleva Villanueva, Dr. Alfredo Cruz y Dra. Sindy Olvera.

Financiamiento: A la escuela Superior de Medicina y al Centro de Investigación y Estudios Avanzados de IPN por permitirnos utilizar sus laboratorios y darnos acceso al material de estos para el desarrollo de este estudio. A CONACYT por el apoyo económico brindado en la estancia posdoctoral de la Convocatoria 2022(1) Estancias Posdoctorales por México – Modalidad Académica.

Agradecimientos: En esta sección puedes dar reconocimiento a cualquier autor o institución cuyo soporte al desarrollo del estudio realizado no haya sido cubierto en las secciones de contribución de autores o financiamiento. Esto puede incluir soporte administrativo o técnico, donaciones, etc.

Conflicto de interés: Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Referencias

- [1] H. C. Chow, "Theory of three-dimensional photoacoustic effect with solids," *J. Appl. Phys.*, vol. 51, no. 8, pp. 4053–4058, 1980.
- [2] A. Miklós, S. Schäfer, and P. Hess, "Photoacoustic Spectroscopy, Theory," *Encycl. Spectrosc. Spectrom.*, pp. 2151–2158, 2010.
- [3] R. Rico Molina, C. Hernández Aguilar, A. Dominguez Pacheco, A. Cruz-Orea, and J. L. López Bonilla, "Characterization of maize grains with different pigmentation investigated by photoacoustic spectroscopy," *Int. J. Thermophys.*, vol. 35, no. 9–10, pp. 1933–1939, 2014.
- [4] S. J. Olvera Vazquez, C. Villanueva López, M. Macías Mier, M. L. Alvarado Noguez, and A. Cruz Orea, "Qualitative Determination of Hemoglobin in Rats with Septic Shock by Photoacoustic Spectroscopy," *Int. J. Thermophys.*, vol. 40, no. 7, pp. 1–8, 2019.

- [5] L. I. Olvera Cano, G. C. Villanueva Lopez, E. R. Mateos, and A. C. Orea, "Photoacoustic Spectroscopy and Hyperglycemia in Experimental Type 1 Diabetes," *Appl. Spectrosc.*, vol. 75, no. 12, pp. 1465–1474, 2021.
- [6] "Human Blood Plasma Proteins: Structure and Function - Johann Schaller, Simon Gerber, Urs Kaempfer, Sofia Lejon, Christian Trachsel - Google Libros." [Online]. Available: https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=Pw4xDPa0P_cC&oi=fnd&pg=PR5&dq=structure+and+function+of+blood&ots=rpDkBCYMG&sig=bWHld-6-a1tGJeZRBSkfQF5I_F8#v=onepage&q=structure+and+function+of+blood&f=false. [Accessed: 09-Feb-2021].
- [7] E. Christaki and S. M. Opal, "Is the mortality rate for septic shock really decreasing?," *Curr. Opin. Crit. Care*, vol. 14, no. 5, pp. 580–586, 2008.
- [8] P. D. Annane, P. E. Bellissant, and J. M. Cavillon, "Septic shock," in *Lancet*, 2005, vol. 365, no. 9453, pp. 63–78.
- [9] P. A. Lomelí-Mejía, N. Castellanos-Ábrego, M. González Méndez, A. C. Orea, and J. L. Pérez-Jiménez, "Aplicaciones biofísicas de la fotoacústica," *Investig. en Discapac.*, vol. 1, no. 2, pp. 90–94, 2012.
- [10] G. Gómez and R. Carlos, "Espectroscopia Fotoacústica : Una teoría antigua con nuevas," *Concienc. Tecnológica*, 2004.
- [11] G. P. Rodríguez, A. C. Arenas, and R. A. M. Hernández, "Measurement of Thermal Diffusivity of Bone , Hydroxyapatite and Metals for Biomedical Application," *Anal. Chem.*, vol. 17, pp. 357–360, 2001.
- [12] E. Ramón-gallegos, S. Stolik, C. Ponce-parra, and G. López-bueno, "Photoacoustic Spectroscopy Applied to the study of Protoporphyrin IX Induced in Mice", *Analytical Sciences*, vol. 17, pp. s361–s364, 2001.
- [13] M. L. Alvarado-Noguez *et al.*, "Curcuma Longa Treatment Effect on Blood Samples of Rat with Hepatic Damage: A Photoacoustic Spectroscopy Application," *Int. J. Thermophys.*, vol. 39, no. 9, 2018.
- [14] P. M. Harrison, M. Henry, and J. Wendland, "High Speed Processing Applications of High Average Power Diode Pumped Solid State Lasers," *Proc. Third Int. WLT-Conference Lasers Manuf.*, vol. 125, no. June, pp. 1–5, 2005.
- [15] S. Stolik, S. A. Tomsás, E. Ramón-Gallegos, A. Cruz-Orea, and F. Sánchez-Sinencio, "Determination of aminolevulinic-acid-induced protoporphyrin IX in mice skin," *Rev. Sci. Instrum.*, vol. 74, no. 1 II, pp. 374–376, 2003.
- [16] Q. Pan, S. Qiu, S. Zhang, J. Zhang, and S. Zhu, "Application of Photoacoustic Spectroscopy to Human Blood," pp. 542–545, 2013.
- [17] J. L. González-Domínguez, C. Hernández-Aguilar, F. A. Domínguez-Pacheco, E. Martínez-Ortiz, A. Cruz-Orea, and F. Sánchez-Sinencio, "Absorption Peaks: α , β , γ and Their Covariance with Age and Hemoglobin in Human Blood Samples Using Photoacoustic Spectroscopy," *Int J Thermophys*, vol. 33, no. 33, pp. 1827–1833, 2012.
- [18] A. Miklós, S. Schäfer, and P. Hess, "Photoacoustic Spectroscopy, Theory," 1999.
- [19] M. D. Oscar Andres Peñuela, "Hemoglobina: una molécula modelo para el investigador," vol. 36 N°3, pp. 215–225, 2005.