



# ESTUDIOS DE RESONANCIA MAGNETICA EN ANEMIA DE HEMATIES FALCIFORMES

*Manuel Arsenio Lores Guevara, Bruce John Balcom, Carlos Cabal Mirabal, Yunior Cabrales Fontela, José Falcón Diéguez, Adolfo Fernández García, Juan Carlos García Naranjo, Nivaldo López Ríos, Eloy Álvarez Guerra*

*Centro de Biofísica Médica, Universidad de Oriente, Patricio Lumumba S/N. Santiago de Cuba, Cuba. CP: 90500. e. mail: manuel.lores@cbiomed.cu.www.cbiomed.cu*

## **RESUMEN / ABSTRACT**

En este trabajo se analizan diferentes aplicaciones de la Resonancia Magnética al estudio de la Anemia de Hematíes Falciformes, incluyendo métodos clásicos y la Resonancia Magnética Unilateral. Las muestras de hemoglobina y sangre total fueron obtenidas a partir de individuos saludables y pacientes con Anemia Drepanocítica. Secuencias de pulso clásicas como spin eco e inversión recuperación fueron utilizadas en los estudios experimentales, el método de STEPR fue utilizado para determinaciones espectrofotométricas de Resonancia Paramagnética Electrónica. Los resultados muestran la posibilidad de los métodos de Resonancia Magnética para estudiar el proceso molecular que causa esta enfermedad y nos permite presentar procedimientos cuantitativos para estimar el estado clínico del paciente y evaluar opciones terapéuticas. Presentamos la Resonancia Magnética Unilateral como un nuevo método para estudiar la Anemia Drepanocítica considerando su portabilidad y nuevas posibilidades como método de imagen.

Palabras claves: Unilateral, Magnética, resonancia, Sicklemia

*Magnetic Resonance applications to the study of Sickle Cell Disease are analyzed using classical procedures and Unilateral Magnetic Resonance. Hemoglobin and whole blood samples were obtained from healthy individual and patients with Sickle Cell Anemia to be used as samples. Classical pulse sequence as spin echo and inversion recovery were used in the experimental studies, the STEPR method was used for EPR spectrometric determinations. The results show the possibility of NMR methods to follow the molecular process causing the disease and allow us to present quantitative procedures to estimate the clinical state of the patients and the results of clinical options. We present the Unilateral Magnetic Resonance as a new method to study Sickle Cell disease considering its portability and new possibilities as new image method.*

**Key words: Unilateral, Magnetic, resonance, Sickle, cell, Disease.  
NMR of Sickle Cell Disease**

## INTRODUCCION

La Anemia Drepanocítica (AD) es un desorden genético en el cual las modificaciones estructurales en la cadena  $\beta$  de la hemoglobina llevan a la aparición de una hemoglobina anormal llamada hemoglobina S (HbS), cuya polimerización intracelular se reconoce como el proceso molecular básico que causa la enfermedad [1]. La AD se encuentra ampliamente distribuida en África, el mar mediterráneo, Norteamérica y Europa, sus portadores sobrepasan el 2 % de la población mundial.

La polimerización de la HbS, que ocurre cuando los eritrocitos se encuentran parcialmente desoxigenados, es la causa primaria de las manifestaciones clínicas de esta enfermedad, provocando que las células rojas cambien su forma y pierdan su flexibilidad. Ciclos repetidos de oxigenación/desoxigenación resultan en un daño irreversible de la membrana y en la formación de células irreversiblemente deformadas [1].

La AD causa una disminución dramática en el tiempo de vida de los pacientes. En 1970, la expectativa de vida estimada era de 20 años para personas viviendo en Estados Unidos de América. Con los avances realizados en el diagnóstico, el tratamiento, y la prevención de complicaciones la expectativa de vida se ha incrementado apreciablemente: datos recientes indican que entre el 80 %-90 % de los pacientes sobreviven más de 20 años y la edad promedio al morir sobrepasa los 42 años para los hombres y los 48 para las mujeres. Además, los pacientes tienen fuertes limitaciones en su vida para la práctica de deportes, viajar en avión, el desarrollo de relaciones sexuales, y la exposición a bajas temperaturas; lo cual afecta considerablemente su calidad de vida.

Se han formulado varias opciones terapéuticas. La terapia génica es el método que más promete pero también el más difícil de encontrar e implementar. Se han utilizado también drogas químicas empleadas en otras enfermedades como la Hidroxiurea. Sin embargo, a pesar de la AD ya tiene un siglo de descubierta, no existen en la actualidad opciones terapéuticas y de evaluación del estado clínico del paciente completamente aceptadas.

El objetivo de este trabajo es presentar nuevos métodos de Resonancia Magnética para estudiar la Anemia Drepanocítica que proporcionan nuevas opciones para la evaluación del estado clínico del paciente y para la evaluación de la efectividad de tratamientos.

## MATERIALES y METODOS

Las muestras de hemoglobina fueron obtenidas a partir de sangre total colectada en individuos saludables y pacientes de Ad voluntarios. La hemoglobina fue obtenida utilizando procedimientos clásicos y 0.5 ml o 0.02 (en dependencia del método de estudio) fueron utilizados para el experimento de Resonancia Magnética [2-5].

Spin eco, inversión recuperación y Resonancia Paramagnética Electrónica de Transferencia de Saturación (STEPR) fueron los métodos clásicos de Resonancia Magnética usados para determinar el tiempo de relajación transversal ( $T_2$ ) y el tiempo de correlación rotacional ( $\tau_R$ ). Spin eco fue usada también para determinar las imágenes unidimensionales obtenidas a partir de la Resonancia Magnética Unilateral [2-11].

## RESULTADOS Y DISCUSION

La Resonancia Magnética (MR) es una técnica muy poderosa para estudiar la estructura y la dinámica de sistemas biológicos. Ha sido empleada en el Centro de Biofísica Médica para seguir el proceso de polimerización de la HbS [2-5]. Como resultados de estos estudios, tres fases principales del proceso han sido determinadas: solución, polimerización y formación de micro dominios estructurales inhomogéneos, ver figura 1.

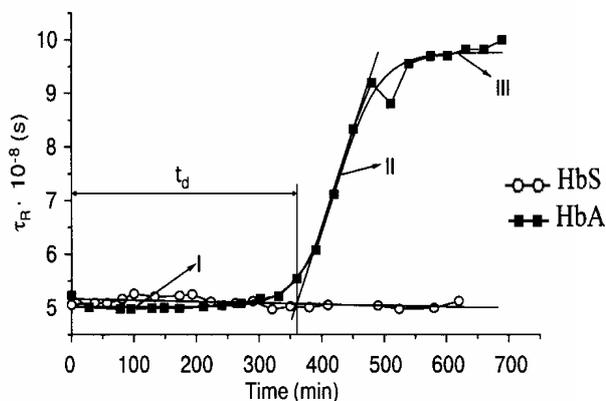


Figura. 1. Proceso de polimerización de la HbS. Solución (I), polimerización (II) y formación de micro dominios estructurales inhomogéneos (III).

Un nuevo parámetro, identificado como tiempo de demora (td), ha sido determinado también y asociado con el comienzo del proceso de aglutinación molecular. Después del tiempo de demora, la polimerización es irreversible.

El td ha sido empleado para distinguir entre los estados asintomáticos y de crisis vaso oclusiva del paciente con AD, ver figura 2. Reducciones de más del 30 % del tiempo de demora fueron observadas en pacientes durante las crisis dolorosas. Resultados similares se han obtenidos en el laboratorio en condiciones semejantes a las existentes en el cuerpo humano.

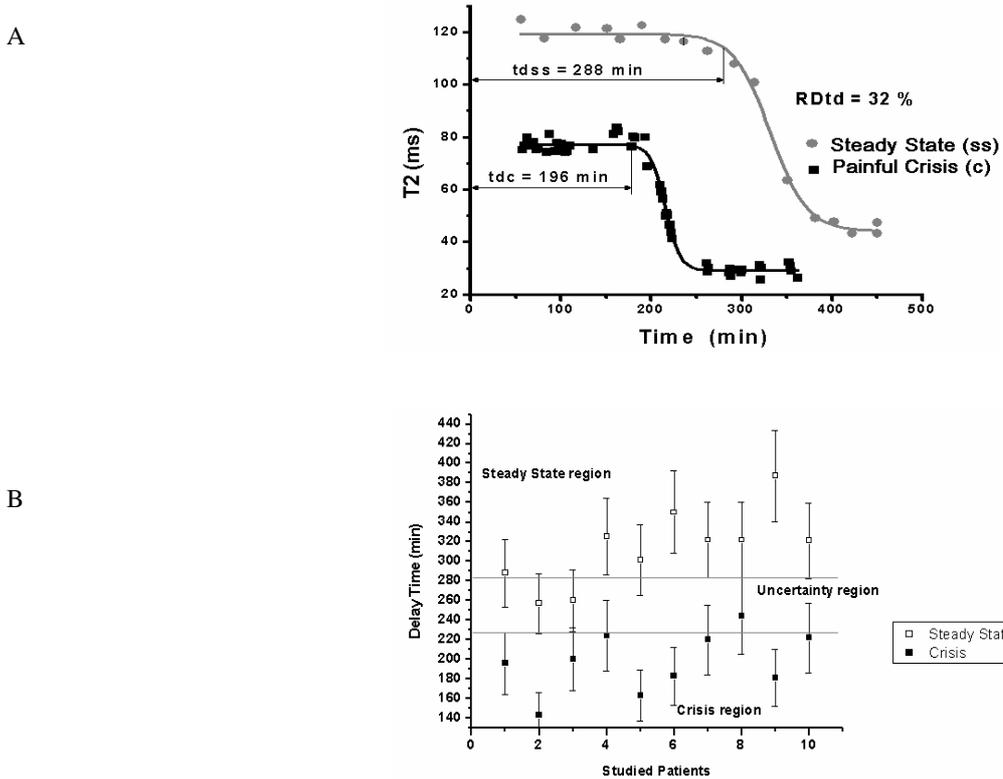


Figura 2. A: Comportamientos temporales típicos de  $T_2$  y  $t_d$  en el mismo paciente en condiciones asintomáticas y en estado de crisis vaso oclusiva. B: evaluación del estado clínico utilizando el tiempo de demora.

La evolución de pacientes bajo el efecto de agentes antisickling puede ser estudiada utilizando MR. La utilidad del tiempo de demora ha sido probada en ensayos clínicos de potenciales medicamentos [2].

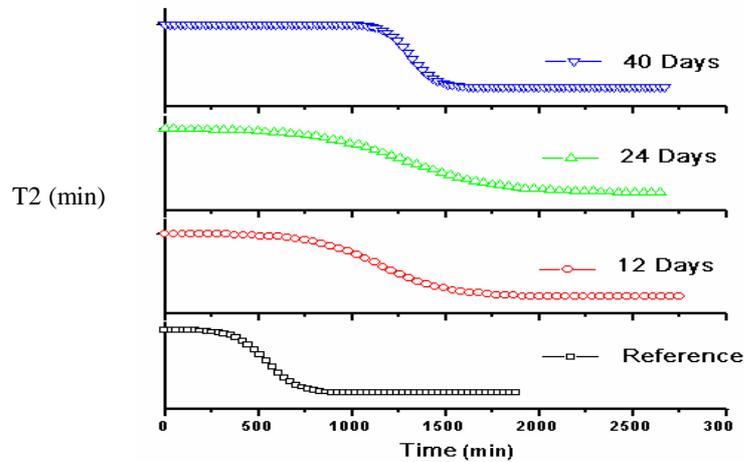


Figura 3. Evolución de un paciente bajo tratamiento con un agente antisickling, se ha utilizado  $T_2$  en unidades relativas.

Un incremento en el td ha sido reportado durante el tratamiento con una nueva droga potencial, ver figura 3. El comportamiento del td en 40 días de tratamiento fue acompañado por la mejora de otros parámetros clínicos y una recuperación visible de los pacientes. Otros estudios se llevan a cabo para encontrar nuevos agentes terapéuticos y llevar a cabo estudios clínicos y formulaciones de medicamentos.

Algunos grupos en el mundo están trabajando en el desarrollo de métodos portables de Resonancia Magnética y que permitan el estudio de los protones estructurales en la solución de hemoglobina. El Centro de Resonancia Magnética de Imágenes de la Universidad de New Brunswick en Canadá ha desarrollado métodos y arreglos de imanes unilaterales en los cuales el gradiente, la intensidad y la forma de los campos magnéticos pueden ser controlados [6-11], ver figura 4. Utilizando esta metodología, pueden ser obtenidas homogeneidades de campo magnético un orden de magnitud superior a las características de los equipos de MR existentes actualmente [11].



Fig. 4. Imanes unilaterales diseñados en el Centro de Resonancia Magnética de Imágenes de la Universidad de New Brunswick.

La portabilidad y el bajo costo de la Resonancia Magnética Unilateral, junto a la posibilidad de crear un campo magnético en el exterior del imán, que es compatible con experimentos de Resonancia Magnética, hacen de este método una herramienta promisoriosa para el estudio de sistemas biológicos “In vitro” e “In vivo”. La combinación de estas potencialidades con la experiencia del Centro de Biofísica Médica y el Centro de Resonancia Magnética de Imágenes de la Universidad de New Brunswick pudiera ser muy útil para incrementar los resultados del primero relacionados con la AD e introducir nuevos avances en el diagnóstico y tratamiento de esta enfermedad.

## CONCLUSIONES

La Anemia Drepanocítica causa importantes daños en el tiempo y la calidad de vida de los pacientes, siendo por ello un importante problema de salud y social en el mundo. Sin embargo, no han sido desarrollados, en más de un siglo, opciones terapéuticas y de evaluación del estado clínico del paciente completamente aceptadas. La Resonancia Magnética ha probado su utilidad para seguir el proceso molecular que causa la enfermedad y para determinar parámetros cuantitativos que permiten evaluar el estado clínico del paciente y el efecto de drogas terapéuticas. La Resonancia Magnética Unilateral pudiera ser un procedimiento más útil para implementar estudios “In vivo” relacionados con esta enfermedad.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores queremos agradecer, por el apoyo brindado para el desarrollo de este trabajo, al Gobierno Cubano, las autoridades de la Universidad de New Brunswick y de la Agencia Canadiense para el Desarrollo Internacional (CIDA), CAPES de Brasil y SECYT de Argentina.

## REFERENCIAS

1. **SVARCH, EVA:** “Sickle Cell Disease in Cuba” en *Information center for sickle cell and thalassemic disorders*. <http://sickle.bwh.harvard.edu>
2. **FERNANDEZ GARCIA, ADOLFO:** “In vivo Action of Vainillin on Delay Time Determinated by Magnetic Relaxation”, en *Hemoglobin*, Vol.XXIX. No. 3, 2005.
3. **LORES GUEVARA, MANUEL ARSENIO:** “Proton Magnetic relaxation Process during the polymerisation of Hemoglobin S” en *Applied Magnetic Resonance*, Vol. XXVIII. No. 1, 2005.
4. **LORES GUEVARA, MANUEL ARSENIO:** “EPR Study of the Hemoglobin Rotation Correlation Time and Microviscosity During the Polymerization of Hemoglobin S” en *Applied Magnetic Resonance*, Vol.XXX., 2006.
5. **CABRALES FONTELA, YUNIOR:** “Deuterium magnetic relaxation process during the polymerization of hemoglobin S” en *Applied Magnetic Resonance*, Vol.XXXIII. No. 1, 2007.
6. **BALCOM, BRUCE JOHN:** “Core Analysis with Unilateral Magnetic Resonance –Bitumen Measurements in Alberta Tar Sands” en *2007 CSPG CSEG Convention, 2007*.
7. **BRAY, C:** “Unilateral MRI using a rastered projection” en *Journal of Magnetic Resonance*, Vol.CLXXXVIII., 2007.
8. **MARBLE, A:** “An analytical methodology for magnetic field control in unilateral NMR” en *Journal of Magnetic Resonance*, Vol.CLXXIV., 2005.
9. **MARBLE, A:** “A constant gradient unilateral magnet for near surface MRI profiling” en *Journal of Magnetic Resonance*, Vol. CLXXXIII., 2006.
10. **MARBLE, A:** “A compact permanent magnet array with a remote homogeneous field” en *Journal of Magnetic Resonance*, Vol.CLXXXVI., 2007.
11. **MASTISKHIN, IGOR,** web page <http://www.unb.ca/fredericton/science/physics/prof/mast2.html>

## AUTOR

Manuel Arsenio Lores Guevara, Ingeniero en Física Nuclear, Doctor en Ciencias Físicas, Profesor Titular, Investigador Titular, Centro de Biofísica Médica, Universidad de Oriente, Patricio Lumumba S/N, CP: 90500, Santiago de Cuba, Cuba. Teléfonos: 53 22 632787, 5322632545, 5322636005. Correo electrónico: [manuel.lores@cbiomed.cu](mailto:manuel.lores@cbiomed.cu). Página Web: [www.cbiomed.cu](http://www.cbiomed.cu).