

Nuevo método para determinar la viscosidad en plasma sanguíneo y solución de hemoglobina

Lores-Guevara MA.¹, Mengana-Torres Y¹, García-Naranjo JC¹, Ricardo-Ferro BT¹, Suárez-Beyrío LC², Marichal-Felue MA², Simón-Brada T², Rodríguez-Reyes IC², Philippé J³, Rodríguez-Sánchez N⁴.

¹Centro de Biofísica Médica, Universidad de Oriente, Santiago de Cuba, Cuba; ²Hospital General “Dr. Juan Bruno Zayas Alfonso”, Santiago de Cuba, Cuba; ³Department of Clinical Chemistry, Immunology and Microbiology, Ghent University, Ghent, Belgium; ⁴Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Oriente, Santiago de Cuba, Cuba

Email: yulianela.mengana@cbiomed.cu

RESUMEN

Las mediciones de viscosidad del plasma sanguíneo son muy importantes en el manejo clínico de pacientes con síndrome de hiperviscosidad. El síndrome de hiperviscosidad puede ocurrir asociado a una variedad de diagnósticos clínicos como la policitemia, la macroglobulinemia de Waldenström, el mieloma múltiple, la leucemia, la artritis reumatoidea, el asma, la anemia Drepanocítica y el ICTUS. El objetivo del presente trabajo es aumentar la eficiencia y disminuir la invasividad de los métodos actuales para la determinación clínica de la viscosidad del plasma sanguíneo, a partir de la utilización de un procedimiento que disminuye en un orden de magnitud la cantidad de muestra necesaria y no necesita el lavado del instrumento entre medición y medición. Para determinar experimentalmente el valor de T_2 se empleó la serie de impulsos Carr-Purcell-Meiboon-Gill en una consola MARAN DRX (OXFORD INSTRUMENTS) y un sistema magnético homogéneo ($B_0=0.095T$). Se obtuvieron valores para la viscosidad del plasma sanguíneo y la hemoglobina de 1.58 ± 0.09 mPas y 11.80 ± 2.40 mPas respectivamente que concordó con lo determinado, en las mismas muestras, empleando un viscosímetro de Oswald (1.47 ± 0.07 mPas para el plasma y 12.11 ± 2.74 mPas para la disolución de hemoglobina). La viscosidad dinámica del plasma sanguíneo fue determinada en 166 pacientes con Mieloma Múltiple (2.10 ± 0.47 mPas), 54 con Anemia Drepanocítica (1.92 ± 0.17 mPas) y 15 mujeres embarazadas (1.71 ± 0.14 mPas) mostrando incrementos estadísticamente significativos con respecto a los valores característicos de los controles. Los resultados demuestran la fiabilidad y

utilidad del nuevo método desarrollado para las evaluaciones de viscosidad con fines diagnóstico y evaluaciones terapéuticas.

Palabras clave: viscosidad del plasma sanguíneo.

INTRODUCCIÓN

El síndrome de hiperviscosidad puede ocurrir asociado a una variedad de diagnósticos clínicos como la policitemia, la macroglobulinemia de Waldenström, el mieloma múltiple, la leucemia, la artritis reumatoidea, el asma, la anemia drepanocítica y el ICTUS.¹ Este síndrome se manifiesta en forma de sangramientos, síntomas visuales y déficit neurológico que puede llegar hasta el coma.

La viscosidad del plasma sanguíneo puede ser determinada con viscosímetros capilares, Fallingbody o rotacionales² y el método recomendado por el Comité Internacional para la estandarización en hematología es el viscosímetro de Harkness, que es de tipo capilar automatizado. Sin embargo, estos viscosímetros necesitan, como mínimo, 2 mL de muestra, pudiendo llegar a 10 mL o más, y precisan ser lavados después de cada determinación, lo cual es un proceso invasivo, engorroso y consumidor de tiempo. Por otro lado, no todos reportan la viscosidad dinámica, siendo necesaria la determinación de la densidad de la muestra (ρ) por otros métodos (pignometría) para poder calcularla a partir de la viscosidad cinemática (ν): $\eta = \rho\nu$, lo cual conduce a la necesidad de mayor cantidad de muestra o mayor consumo de tiempo. La resonancia magnética es, sin duda, una opción para resolver estos imponderables.

La determinación de la viscosidad dinámica en muestras de plasma sanguíneo con métodos de resonancia magnética tiene como antecedentes las patentes de los Estados Unidos de América.³

El objetivo del presente trabajo es aumentar la eficiencia y disminuir la invasividad de los métodos actuales para la determinación clínica de la viscosidad del plasma sanguíneo, a partir de la utilización de un procedimiento que disminuye en un orden de magnitud la cantidad de muestra necesaria y no necesita el lavado del instrumento entre medición y medición. Este procedimiento permite evaluar el estado clínico y la efectividad de los tratamientos en enfermedades donde puede tener lugar un síndrome de hiperviscosidad.

La novedad del presente trabajo radica en la no utilización de agentes externos a la muestra (ejemplo: partículas superparamagnéticas) y en el cálculo de la viscosidad dinámica a partir de los valores del tiempo de relajación magnética transversal (T_2) de los protones del agua irrotacionalmente enlazada a las moléculas de proteína (especialmente a la albúmina) empleando una expresión que relaciona directamente ambas magnitudes.

MATERIALES Y MÉTODOS

La obtención de una muestra de plasma sanguíneo a partir de sangre total venosa una vez transcurrido el tiempo de eritrosedimentación, es decir, mediante su separación natural del resto del contenido sanguíneo (glóbulos rojos, glóbulos blancos y plaquetas) y nunca mediante el uso de otros métodos de separación que provoquen ruptura de las células rojas y paso de su contenido citoplasmático al plasma. Se tomarán entre 250 y 500 μL de plasma de la parte superior de la columna líquida y se depositarán en un tubo o ampolla adecuado para estudios de resonancia magnética. La muestra de plasma será utilizada inmediatamente para determinar la viscosidad o almacenada a temperatura ambiente (20°C - 25°C) durante un máximo de 4 horas hasta realizar dicha determinación.

La determinación del tiempo de relajación magnética transversal (T_2) de la muestra de plasma obtenida. Para lo cual se empleará la serie de impulsos Carr-Purcell-Meiboom-Gill con ancho de $5 \mu\text{s}$ para el pulso de 90° , $10 \mu\text{s}$ para el pulso de 180° , un tiempo entre estos 2 pulsos (τ) de 2600 μs , 800 o más ecos (señales de resonancia magnética), 32 o más acumulaciones y un tiempo de repetición de 12 s. En esta serie de impulsos la relación entre la amplitud de los ecos y el tiempo al cabo del cual se obtiene cada eco ($2m\tau$, donde $m= 0, 1, 2, 3, 4\dots$ es el número correspondiente a cada eco obtenido) está dada por la siguiente ecuación:

$$A(2m\tau) = A_0 \exp\left(-\frac{2m\tau}{T_2}\right) \exp\left(-\frac{DG^2\gamma^2\tau^2}{3} 2m\tau\right) \quad (1)$$

Donde G es el gradiente de campo magnético producto de las no homogeneidades del campo magnético fijo (B_0) y D el coeficiente de auto difusión del agua.

La determinación de resonancia magnética se efectuará, a 20°C , en un equipo donde el campo magnético principal (B_0) sea lo suficientemente homogéneo para que el producto G^2D sea tal que el segundo exponente de la relación amplitud de eco vs tiempo de eco en la serie de impulsos

recomendada sea igual a la unidad. Lo anterior garantiza la determinación del T₂ propio de la muestra de plasma.

El T₂ propio de la muestra, obtenido a partir de la determinación por resonancia magnética, estará afectado por el intercambio rápido de moléculas de agua entre las fases enlazada (a) y libre (L) del agua en el plasma:⁴

$$\frac{1}{T_2} = \frac{P_a}{T_{2a}} + \frac{P_L}{T_{2L}} \quad (2)$$

Donde P_a y T_{2a} son la fracción y el T₂ del agua enlazada respectivamente y P_L y T_{2L} la fracción y el T₂ del agua libre. Considerando que el plasma es una solución diluida de proteínas podemos considerar que P_L > P_a y T_{2L} = (2.5-3)s >> T_{2a}.⁴ Entonces la ecuación 2 puede ser escrita como:

$$\frac{1}{T_2} = \frac{P_a}{T_{2a}} \quad (3)$$

RESULTADOS

En la tabla se muestra la comparación entre los valores medios de viscosidad dinámica determinados, a 20°C, con el procedimiento de resonancia magnética presentado en este trabajo, de individuos sanos (muestras obtenidas en el Banco de Sangre Provincial Renato Guitart Rosell), de individuos con mieloma múltiple (muestras obtenidas en el Servicio de Hematología del Hospital General “Juan Bruno Zayas Alfonso” de Santiago de Cuba) y pacientes que padecen de anemia drepanocítica (muestras obtenidas en el Servicio de Hematología del Hospital General “Juan Bruno Zayas Alfonso” de Santiago de Cuba) y de embarazadas. Así como la comparación entre los valores medios de viscosidad dinámica determinados, a 20°C, con el procedimiento de resonancia magnética, en 17 individuos sanos (muestras obtenidas en el laboratorio del Hospital Infantil Norte), 11 pacientes con mieloma múltiple y 7 pacientes con anemia drepanocítica (muestras obtenidas en el Servicio de Hematología del Hospital General “Juan Bruno Zayas Alfonso” de Santiago de Cuba).

Tabla. Comparación entre los valores medios de viscosidad dinámica del plasma sanguíneo y la solución de hemoglobina (Hb) a 20°C, con el procedimiento de resonancia magnética

Individuos	Viscosidad del plasma (cP)	Viscosidad de la solución de Hb (cP)
Sanos	1,58 ± 0,09	23,10 ± 5,64
Mieloma múltiple	2,16 ± 0,57	25,00 ± 7,30
Sicklemia	2,04 ± 0,50	31,60 ± 10,89
Embarazadas	1,71 ± 0,14	-

Pueden observarse las diferencias entre los valores medios de individuos sanos y los diferentes pacientes. Los valores de viscosidad dinámica en pacientes con mieloma múltiple son significativamente mayores con respecto a los individuos sanos, lo cual se explica por el incremento que produce esta enfermedad en la concentración de las proteínas plasmáticas. Estos datos demuestran la utilidad del procedimiento desarrollado en la evaluación del estado clínico del paciente con mieloma múltiple y la efectividad de los tratamientos empleados.

CONCLUSIONES

- La evaluación de viscosidad en plasma es de suma utilidad en la evaluación clínica de diferentes enfermedades.
- La resonancia magnética es una opción para evaluar la viscosidad en plasma porque minimiza el volumen de muestra necesario y elimina la necesidad del lavado del viscosímetro entre determinaciones.
- La resonancia magnética puede compensar su relativo alto costo, comparado con otros métodos de viscosimetría lo que facilita otras determinaciones de utilidad en varias enfermedades.

BIBLIOGRAFÍA

1. Wright DJ, Jenkins DE, Jr. Simplified method or estimation of serum and plasma viscosity in multiplemyeloma and related disorders. *Blood*. 1970 Oct;36(4):516-22.
2. Rosencranz R, Bogen SA. Clinical laboratory measurement of serum, plasma, and blood viscosity. *Am J Clin Pathol*. 2006 Jun; 125(Suppl 1): S78-S86.
3. Wellman PS, Blanco M, Peine W. Portable device for nmr based analysis of rheological changes in liquid samples, Patent application number: US 2015/0130463A1, Publication date: may 15, 2015.
4. Lores M, Cabal C. Proton magnetic relaxation process during the polymerization of hemoglobin S. *Appl MagnReson*.2005;28:79-84.