



## CIENCIAS BIOMÉDICAS

### Artículo original de investigación

# Estudio de la anemia drepanocítica empleando resonancia magnética: potenciales aplicaciones médicas

Manuel Arsenio Lores Guevara <sup>1\*</sup> <https://orcid.org/0000-0003-1949-180X>  
Carlos Alberto Cabal Mirabal <sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0002-2506-9253>  
Adolfo Arsenio Fernández García <sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0002-0146-7193>  
Yulianela Mengana Torres <sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0002-8838-3784>  
Juan Carlos García Naranjo <sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0003-1649-3383>  
Inocente Rodríguez Reyes <sup>2</sup> <https://orcid.org/0000-0002-6682-0525>  
Lidia Clara Suárez Beyries <sup>2</sup> <https://orcid.org/0000-0001-6851-417X>  
Samuel Jorge Rosales Rodríguez <sup>2</sup> <https://orcid.org/0009-0006-4368-1282>  
Yamirka Alonso Geli <sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0001-7683-0615>

<sup>1</sup> Centro de Biofísica Médica, Universidad de Oriente. Santiago de Cuba, Cuba

<sup>2</sup> Hospital General Juan Bruno Zayas Alfonso. Santiago de Cuba, Cuba

\* Autor para la correspondencia: [lores@uo.edu.cu](mailto:lores@uo.edu.cu)

## RESUMEN

**Introducción:** La anemia drepanocítica es una enfermedad hematológica necesitada del desarrollo de métodos experimentales para complementar la evaluación clínica del paciente y el desarrollo de opciones terapéuticas. La relajación magnética protónica ha sido ampliamente utilizada en el estudio de esta enfermedad con resultados importantes, pero controversiales y limitados en su utilidad. **Objetivo:** Aportar nuevo conocimiento que permite explicar la relajación magnética protónica durante la polimerización de la hemoglobina S. **Métodos:** Se emplearon diversos métodos de resonancia magnética para evaluar los tiempos de relajación magnética protónica, la interacción hemoglobina-membrana, el tiempo de intercambio de agua a través de la membrana y la viscosidad dinámica del plasma sanguíneo en pacientes con anemia drepanocítica. Los experimentos fueron realizados a 36 °C, concentración intraeritrocitaria y pH: 7,4. **Resultados:** Ambos tiempos de relajación mostraron comportamientos similares durante la gelificación y la dispersión de la relajación longitudinal se ajustó a un modelo de intercambio de agua de 3 sitios con 2 poblaciones de agua interna e intercambio de protones lábiles con el solvente. El tiempo de correlación rotacional de la hemoglobina, la microviscosidad alrededor de esta proteína y la interacción hemoglobina-membrana crecieron, mientras que el tiempo de intercambio de agua a través de la membrana disminuyó, durante la aglutinación macromolecular. La viscosidad dinámica del plasma se incrementó en pacientes con esta enfermedad. **Conclusiones:** La reducción de la movilidad de las 2 poblaciones de agua interna identificadas permitió explicar los comportamientos de la relajación magnética protónica durante la polimerización de la hemoglobina S. El tiempo de demora, y los valores iniciales y finales del tiempo de relajación transversal, fueron útiles para evaluar clínicamente al paciente y demostrar la eficacia de potenciales opciones terapéuticas. El tiempo de intercambio de agua

### Editor

Lisset González Navarro  
Academia de Ciencias de Cuba.  
La Habana, Cuba

### Traductor

Darwin A. Arduengo García  
Academia de Ciencias de Cuba.  
La Habana, Cuba

a través de la membrana y la viscosidad dinámica del plasma sanguíneo determinados, usando relajación magnética protónica, mostraron similares potencialidades.

**Palabras clave:** resonancia magnética; anemia drepanocítica; interacción hemoglobina-membrana; intercambio de agua a través de la membrana; viscosidad del plasma sanguíneo

---

## Study of Sickle cell disease using magnetic resonance: potential medical applications

### ABSTRACT

---

**Introduction:** Sickle cell disease is a hematological illness needed of new experimental methods to improve the patient clinical evaluation and the test of new therapeutic options. Proton magnetic relaxation has been widely used to study this disease with important, but controversial results and limited in their usefulness. **Objective:** To provide new knowledge that explains the protonic magnetic relaxation during the polymerization of hemoglobin. **Methods:** They were used different magnetic resonance methods to determine the proton magnetic relaxation times, the hemoglobin-membrane interaction, the water exchange time through membrane and the dynamic viscosity of blood plasma in patients with Sickle cell disease. The experiments were carried out at 36°C, intraerythrocytic cellular concentration and pH of 7.4. **Results:** Both relaxation times showed similar behaviors during hemoglobin S polymerization and the dispersion of the longitudinal relaxation in hemoglobin solutions was fitted to one three sites model for water exchange with two populations of internal water and labile protons exchanging with the solvent. The hemoglobin rotational correlation time, the micro viscosity around this protein and the hemoglobin-membrane interaction increased, and the water exchange time through membrane decreased, during macromolecular agglutination. The dynamic viscosity of blood plasma increased in patients with this disease. **Conclusions:** The reduction of mobility of the two populations of internal water identified allowed to explain the proton magnetic relaxation behavior during hemoglobin S polymerization. The delay time, as well as the initial and final values of the transversal proton magnetic relaxation time, were useful for the clinical evaluation of the patients and for the tests of new therapeutic options. The water exchange time through membrane and the dynamic viscosity of blood plasma, determined using proton magnetic relaxation, showed similar potentialities.

**Keywords:** Magnetic Resonance; Sickle cell disease; hemoglobin-membrane interaction; water exchange through membrane; dynamic viscosity of blood plasma

---

## INTRODUCCIÓN

La anemia drepanocítica (AD) es una enfermedad hematológica que causa dolor agudo, anemia severa, infecciones y oclusiones vasculares provocando daños extensivos y acumulativos en el organismo que pueden lesionar de forma significativa la calidad de vida del paciente y provocar la muerte. <sup>(1,2,3,4,5,6)</sup> La AD es una enfermedad de origen genético en la cual el ácido glutámico ha sido sustituido por valina en la posición 6 de las 2 cadenas b de la estructura de la hemoglobina (Hb). <sup>(1,7)</sup> Esto causa la aparición de una Hb estructuralmente anormal, conocida como hemoglobina S (HbS), la

cual representa el mayor porcentaje de proteínas en el interior de los glóbulos rojos (RBC) de pacientes con AD. Bajo condiciones de desoxigenación la HbS polimeriza formando largas fibras y microdominios estructurales inhomogéneos, gracias a lo cual los RBC cambian su forma y se tornan rígidos. <sup>(1)</sup> Estos cambios en las propiedades físicas de los eritrocitos provocan oclusiones en los vasos capilares, causando daño celular y tisular y dando origen a crisis de dolor intensas que constituyen la principal causa de hospitalización en estos pacientes. <sup>(8)</sup> Desde su descubrimiento hasta la actualidad esta enfermedad ha tenido 2 retos básicos: la insuficiente canti-

dad de opciones terapéuticas disponibles para su tratamiento y la necesidad de contar con parámetros cuantitativos que permitan complementar la evaluación clínica del paciente, en especial durante la crisis vasooclusiva. <sup>(3,9,10,11)</sup> En ambos casos la solución está necesariamente vinculada al desarrollo de métodos experimentales que puedan caracterizar y cuantificar apropiadamente los procesos moleculares, celulares y tisulares que gobiernan la fisiopatología de la enfermedad.

Han sido empleados 2 enfoques experimentales básicos para estudiar la AD: evaluar la polimerización de la HbS y observar el cambio de forma de los eritrocitos (Sickling); lo cual permitió la evaluación del período de tiempo entre la desoxigenación y el inicio irreversible de la polimerización de la HbS llamado tiempo de demora ( $t_d$ ). <sup>(12,13)</sup> Los métodos empleados en los enfoques anteriores, especialmente aquellos dedicados al estudio de la cinética de polimerización de la HbS, son complejos y susceptibles a la variación de las condiciones experimentales. <sup>(12)</sup>

La resonancia magnética nuclear (RMN) ha sido uno de los métodos más empleados para estudiar la polimerización de la HbS dentro de los RBC y las disoluciones acuosas de Hb. <sup>(12,14,15,16,17,18,19,20,21,22,23,24,25,26,27,28,29,30,31,32,33,34)</sup> Particularmente, la relajación magnética protónica ha sido sensible a la polimerización y capaz de describir su cinética en muestras de RBC y HbS a través del empleo del tiempo de relajación magnética transversal ( $T_2$ ), así como la amplitud y el ancho de la línea de RMN. <sup>(27,28,30,31,33,34)</sup>

En la mayoría de los experimentos de relajación magnética protónica se ha empleado, para explicar el comportamiento de los parámetros estudiados, un modelo de intercambio de agua entre 3 sitios: agua libre (f), agua hidratada (h) y agua irrotacionalmente enlazada (b) como se muestra en las ecuaciones 1 y 2. <sup>(1,28,30,32,34)</sup>

Aquí  $P$  representa las fracciones de agua y  $T_1$  el tiempo de relajación magnética longitudinal. La relajación en cada sitio ha sido descrita a través de la interacción dipolar entre los 2 protones de una misma molécula de agua, considerando ambos protones embebidos en una molécula con simetría esférica y asumiendo una función de autocorrelación de tipo monoexponencial: <sup>(28,32)</sup>

En las ecuaciones 3 y 4  $\mu_0$  es la permeabilidad magnética del vacío,  $\hbar$  la constante de Planck dividida por  $2\pi$ , y la razón giromagnética del protón,  $r$  la distancia entre los 2 protones de una misma molécula de agua,  $\tau_c$  el tiempo de correlación rotacional de la molécula de agua,  $\omega_0$  la frecuencia angular de resonancia e  $i$  puede ser f, h o b. En el caso del agua irrotacionalmente enlazada a la Hb  $\tau_c^b = \tau_R$ , donde  $\tau_R$  es el tiempo de correlación rotacional de la molécula de Hb. <sup>(28)</sup>

El incremento de  $\tau_c^b$  durante la polimerización de la HbS, gracias al aumento de las interacciones Hb-Hb, se ha considerado el mecanismo fundamental para explicar las disminuciones de  $T_2$  y el incremento del ancho de la línea observados. <sup>(1,23,28,30,32,34)</sup> Sin embargo, no existen en la literatura determinaciones previas de  $\tau_c^b$  o  $\tau_R$  durante la cinética usual de gelificación. Además, todo lo descrito anteriormente ha sido controversial por varias razones: a) los valores de  $\tau_c^b$  obtenidos con diferentes técnicas de relajación magnética protónica han sido significativamente diferentes y no describen adecuadamente la polimerización de la HbS; b)  $T_1$  ha permanecido casi invariable con la polimerización de la HbS en franca contradicción con las ecuaciones 1 y 3 y no ha sido empleado para evaluar la cinética de aglutinación macromolecular. <sup>(12,27,28,29,34,35)</sup>

Otros mecanismos que pudieran contribuir al comportamiento de la relajación magnética protónica, como la diferencia de corrimiento químico entre el agua intracelular y extracel-

$$\frac{1}{T_1} = \frac{P_b}{T_1^b} + \frac{P_h}{T_1^h} + \frac{P_f}{T_1^f} \quad (1)$$

$$\frac{1}{T_2} = \frac{P_b}{T_2^b} + \frac{P_h}{T_2^h} + \frac{P_f}{T_2^f} \quad (2)$$

$$\frac{1}{T_1^i} = \frac{3}{10} \left( \frac{\mu_0}{4\pi} \right)^2 \frac{\gamma^4 \hbar^2}{r^6} \left[ \frac{\tau_c^i}{1 + (\omega_0 \tau_c^i)^2} + \frac{4\tau_c^i}{1 + 4(\omega_0 \tau_c^i)^2} \right] \quad (3)$$

$$\frac{1}{T_2^i} = \frac{3}{20} \left( \frac{\mu_0}{4\pi} \right)^2 \frac{\gamma^4 \hbar^2}{r^6} \left[ 3\tau_c^i + \frac{5\tau_c^i}{1 + (\omega_0 \tau_c^i)^2} + \frac{2\tau_c^i}{1 + 4(\omega_0 \tau_c^i)^2} \right] \quad (4)$$

lular y la deshidratación de los RBC, fueron experimentalmente descartados. <sup>(33)</sup> Sin embargo, el análisis de la contribución de otros mecanismos ha sido controversial; este es el caso del incremento de la viscosidad de la solución de Hb intracelular ( $\eta_{Hb}$ ); la aparición de inhomogeneidades de campo magnético en la disolución acuosa de HbS debido a las diferencias de susceptibilidad magnética entre la solución y los polímeros y a la anisotropía de la susceptibilidad magnética propia de los polímeros; la interacción con el electrón no apareado ubicado en el grupo Hemo de la Hb y el intercambio de protones entre los protones lábiles (menor tiempo de residencia) en la estructura de la Hb y los protones del agua. <sup>(23,33,34)</sup> En el primer caso el origen de la controversia es que se plantea que, a pesar de los incrementos de  $\eta_{Hb}$  observados durante la polimerización de la HbS, esto no se refleja en los parámetros determinados utilizando relajación porque éstos están más relacionados con la viscosidad en el entorno cercano de la Hb o microviscosidad ( $\eta_{\mu}$ ). <sup>(20,21,23)</sup> Sin embargo,  $\eta_{\mu}$  nunca ha sido determinada durante la cinética de aglutinación de la HbS y  $\eta_{Hb}$  lo ha sido parcialmente debido a limitaciones experimentales. <sup>(20,21)</sup> Del segundo al cuarto mecanismo, son descartados debido a la independencia con la temperatura del parámetro de relajación medido y, en el tercer caso, a esto se suma la invariabilidad de este parámetro en la Hb del adulto sano (HbA) también desoxigenada. <sup>(35)</sup> No obstante, el tercer mecanismo es considerado en otros trabajos, aunque considerando solo su componente dipolar y olvidando la componente escalar y la interacción spin curie. <sup>(23)</sup> Por otro lado, otros estudios han hecho resurgir la importancia del intercambio de protones recogido en el cuarto mecanismo. <sup>(36,37)</sup>

El análisis de la relajación magnética protónica efectuado no considera la contribución de la relajación cruzada entre los protones de la estructura de la Hb y los protones del agua. Adicionalmente, los estudios de relajación magnética protónica realizados previamente se circunscriben al proceso de polimerización de la HbS sin considerar la caracterización de otros compartimentos, como la membrana del eritrocito o el medio extracelular (plasma sanguíneo), que también aportan a la fisiopatología de la AD. <sup>(27,28,29,30,31,32,33,34)</sup> Por otro lado; estos estudios no demuestran la utilidad de los comportamientos de  $T_2$ , el ancho de la línea de RMN o su amplitud para complementar la evaluación clínica del paciente y evaluar el efecto de potenciales agentes terapéuticos, se limitan a sugerir una potencial utilidad del  $td$ . <sup>(23)</sup>

En este trabajo se empleó la resonancia magnética (nuclear y electrónica) con el objetivo de aportar nuevo conocimiento que permite explicar la relajación magnética protónica durante la polimerización de la HbS: relativo al comportamiento temporal de  $T_1$ , el modelo físico de la relajación, los com-

portamientos de  $\eta_{\mu}$  y de  $\tau_R$ , y el aporte de otros mecanismos como la relajación spin curie y la aparición de gradientes de campo magnético interno como resultado de la aglutinación molecular. Se demostró el fortalecimiento de la interacción Hb-membrana durante la gelificación y la utilidad del comportamiento temporal de  $T_2$  para diferenciar las crisis vasocclusivas y el estado asintomático del paciente, así como para evaluar la eficacia de diferentes opciones terapéuticas en condiciones *in vivo* e *in vitro*.

## MÉTODOS

**Materiales y reactivos utilizados:** Los reactivos como heparina sódica, EDTA, buffer fosfato salino (PBS), albúmina bovina del suero (BSA), cloruro de manganeso ( $MnCl_2$ ), agua deuterada (99 %), 4-maleimido-tempo (4MT), monóxido de carbono (CO), vainillina, glutatión reducido (GSH) y dalcetrapib (dal) fueron obtenidos comercialmente teniendo como mínimo la exigencia de la calidad reactiva.

**Preparación de muestras biológicas:** En este trabajo se emplearon muestras de soluciones de Hb obtenidas a partir de la lisis de los RBC, deuteradas, marcadas con 4MT y mezcladas con GSH, vainillina y dal. <sup>(1,13,24,25,26,27,28,29,30,31,32,33,34,35,36,37,38,39,40)</sup> De igual forma se utilizaron RBC empaquetados, dopados con  $MnCl_2$  y otros cuya membrana fue marcada con 4MT. <sup>(36,38,39)</sup>

La sangre total fue obtenida a partir de la donación voluntaria de individuos "aparentemente sanos" y pacientes con AD. La misma fue colectada en ambiente hospitalario y empleando punción venosa para ser inmediatamente mezclada con el anticoagulante (heparina sódica o EDTA). A continuación, el plasma sanguíneo fue separado utilizando centrifugación (2500 rpm, 10 min) y decantación; 0,5 mL fueron depositados en un ampulla de RMN para las determinaciones de la viscosidad dinámica en este medio ( $\eta_p$ ) y el resto fue descartado. Los RBC fueron lavados 3 veces con PBS descartando, en cada lavado, el sobrenadante utilizando centrifugación (2500 rpm, 10 min) y decantación; en el caso específico de los RBC utilizados para obtener Hb deuterada, estos fueron incubados previamente con PBS deuterado (PBS preparado con agua deuterada) durante 2 h y después lavados 3 veces también con PBS deuterado. <sup>(39)</sup>

Para la determinación del tiempo de intercambio de agua a través de la membrana ( $\tau_e$ ) <sup>(25)</sup> los RBC lavados fueron resuspendidos en PBS (hematocrito 45 %, pH 7,4; 0,5 % de BSA) y una porción fue centrifugada (1000 g, 30 min, 25 °C) eliminando el sobrenadante para obtener RBC empaquetados; 0,5 mL fueron depositados en un ampulla de RMN para las mediciones de  $T_2$  ( $T_{2a}$ ). Luego 0,3 mL de RBC resuspendidos fueron mezclados con 0,6 mL de una solución madre de  $MnCl_2$  para obtener una concentración final de 2,5 mM

en la muestra de RBC dopados; 0,5 mL fueron depositados en un ámpula de RMN para las mediciones de  $T_2$  ( $T_{2d}$ ).  $\tau_e$  fue calculado como sigue (ecuación 5):

$$\frac{1}{\tau_e} = \frac{1}{T_{2d}} - \frac{1}{T_{2a}} \quad (5)$$

Los RBC lavados fueron sometidos a un ciclo de congelación y descongelación para provocar la lisis de los mismos y la obtención de un hemolizado, en el caso específico del experimento para evaluar la efectividad terapéutica de la vainillina la lisis fue realizada utilizando saponina blanca. (29) El hemolizado fue centrifugado (2500 rpm, 10 min) para separar la solución de Hb de los restos de membrana y 0,5 mL de Hb fueron depositados en ámpulas o tubos de RMN para determinar  $T_1$  y  $T_2$ . Las muestras de Hb deuteradas se obtuvieron de igual forma, pero a partir de los RBC incubados y lavados con PBS deuterado. (39)

Para la evaluación de la interacción Hb-membrana se prepararon membranas fantasmas abiertas (RBC libres de Hb) con una concentración de proteínas de 4 mg/mL, las cuales fueron marcadas con 4MT (50 $\mu$ g de 4MT por mg de proteína) y reconstituidas con solución de Hb de concentración intracelular (5 mM). Los 0,5 mL de RBC reconstituidos y marcados fueron colocados en un tubo de resonancia paramagnética electrónica (RPE) para realizar los experimentos. Para la determinación de  $\tau_R$  la muestra de Hb fue marcada con 4MT (2:1). De la misma forma fue marcada la muestra de Hb previamente sometida a una atmósfera de CO (30 min) para obtener carbonmonóxihemoglobina (HbCO), la cual fue posteriormente disuelta en muestras de Hb del adulto aparentemente sano (HbA) y HbS para determinar  $\eta_{\mu}$ . (31)

En los experimentos realizados, para evaluar el efecto del GSH y el dal sobre la polimerización de la HbS, la Hb fue mezclada con estos compuestos para obtener concentraciones finales de 4 mM/L y 102,7  $\mu$ M/L respectivamente. (13) En los experimentos diseñados para evaluar el efecto terapéutico de la vainillina los pacientes consumieron 1 g diario del compuesto y las muestras de Hb fueron obtenidas como fue descrito arriba. (29)

Experimentos de resonancia magnética: Las determinaciones de  $T_1$  y  $T_2$  durante la cinética de polimerización de la HbS fueron realizadas utilizando la primera instalación cubana de relajación magnética nuclear, el Giromag 02 (4 MHz), durante 8 h y a una temperatura de 36 °C. (8) Para determinar  $T_1$  se empleó la secuencia de pulsos de radiofrecuencias (RF) conocida como inversión por recuperación y para determinar  $T_2$  se utilizó la secuencia de pulsos de RF de 90°- $\tau$ -180°. En el caso del estudio de la HbS deuterada se realizaron, en el mismo experimento, determinaciones de  $T_2$  del protón y el deuterio variando el campo magnético externo y constante aplicado a la muestra. (39)

Los estudios de dispersión de  $T_1$  fueron realizados utilizando la secuencia de pulsos de inversión por recuperación, en un relaxómetro de campo ciclado (Stelar FFC 2000 Spinmaster) trabajando en el rango entre 20 KHz y 10 MHz. (33) Mediciones adicionales fueron realizadas a 20 MHz y 60 MHz empleando las instalaciones Mq20 y Mq60 (Minispec, BRUKER), donde también se determinó  $T_2$  empleando la secuencia de pulsos de Carr-Purcell-Meiboom Gill (CPMG).

La secuencia de pulsos CPMG fue empleada también para determinar  $T_{2a}$  y  $T_{2d}$  en RBC no dopados y dopados, respectivamente, durante las evaluaciones de  $\tau_e$  en una consola de RMN MARAN DRX (OXFORD INSTRUMENTS, 4 MHz). (36) Así como para determinar experimentalmente  $T_2$  en muestras de plasma sanguíneo (Consola de RMN LApNMR de Tecmag, 4 MHz) con el objetivo de determinar  $\eta_p$ . (35)

El valor de  $\tau_R$  fue determinado empleando una curva de calibración que relaciona este parámetro con el cociente de las amplitudes de las 2 líneas centrales del espectro de RPE de transferencia de saturación (ST-RPE) del 4MT enlazado a la Hb, para lo cual fue empleado un espectrómetro Varian E-109 (Banda X). Para determinar  $\eta_{\mu}$ , se determinó experimentalmente el valor de  $\tau_R$  en la solución de Hb y en una muestra de agua a partir del ST-RPE del 4MT enlazado a la HbCO disuelta en muestras de HbA y HbS. (31) La evaluación de la interacción Hb-membrana fue realizada empleando el cociente entre las amplitudes de la segunda (W) y primera (S) línea del espectro de RPE del 4MT enlazado a la membrana de los RBC. (38,39)

Todos los experimentos de resonancia magnética fueron realizados a 36 °C. Todos los procedimientos experimentales realizados cumplieron la normativa de Helsinki relativa a los preceptos éticos a seguir para experimentos realizados con seres humanos.

## RESULTADOS

Los estudios de  $T_1$  y  $T_2$  permitieron monitorear la cinética de polimerización de la HbS en muestras de Hb de concentración intraeritrocitaria (tabla 1). (1,8,38) En el caso de la HbA se observó una disminución ligera, por encima del error experimental, de ambos tiempos de relajación. Sin embargo, en la HbS, se presentó un comportamiento temporal sigmoidal con 3 regiones: la (I) y la (III) donde la efectividad de la relajación es prácticamente constante; y la (II) en la cual  $T_1$  y  $T_2$  disminuyen, a partir del  $t_{\sigma}$ ; 1,29  $\pm$  0,09 y 2,38  $\pm$  0,48 veces respectivamente.

Los experimentos de dispersión de  $T_1$  mostraron que un modelo de intercambio de agua entre 3 sitios; con 2 poblaciones diferentes de agua en el término de dispersión e intercambio de protones lábiles con el solvente es la mejor opción para describir la relajación magnética protónica en disoluciones acuosas de Hb (ecuaciones 6 y 7): (13,33)

**Tabla 1.** Valores de  $T_1/T_2$ , y  $\eta_\mu$  en muestras de HbA y durante la polimerización de la HbS

Parámetro	HbA	HbS Región I	HbS Región II	HbS Región III
$T_1/T_2$	2,3 $\pm$ 0,2	2,54 $\pm$ 0,4	2,54 $\pm$ 0,4 $\leq T_1/T_2 \leq$ 6,0 $\pm$ 2,5	6,0 $\pm$ 2,5
$\times 10^{-8}$ (s)	5,1 $\pm$ 0,13	5 $\pm$ 0,11	5 $\pm$ 0,11 $\leq \tau_R \leq$ 9,8 $\pm$ 0,22	9,8 $\pm$ 0,22
$\eta_\mu$ (mPa s)	2,06 $\pm$ 0,1	2,06 $\pm$ 0,1	2,06 $\pm$ 0,1 $\leq \eta_\mu \leq$ 3,79 $\pm$ 0,19	3,79 $\pm$ 0,19

Aquí  $R_{1w}^{\text{bulk}}$  y  $R_{2w}^{\text{bulk}}$  son las velocidades de relajación magnética de los protones del solvente (agua libre). Están relacionadas  $\alpha$  y  $\alpha'$  con la relajación de los protones de las moléculas de agua enlazadas a la superficie de la Hb (agua hidratada). Están relacionadas  $\beta$  y  $\beta'$  con la relajación de los protones de las moléculas de agua fuertemente enlazadas a la Hb en cavidades internas y orificios profundos ubicados en la estructura macromolecular (agua interna), así como con la relajación de los protones lábiles. El subíndice  $i$  toma valores 1 y 2 para representar las 2 poblaciones de agua interna.

Adicionalmente se demostró que la relajación Spin Curie puede contribuir con hasta el 25 % y el 50 %, de la relajación provocada por la interacción dipolar de los protones del agua con el electrón no apareado ubicado en el  $\text{Fe}^{3+}$  de la estructura de la HbS desoxigenada, durante la nucleación y la formación de microdominios estructurales inhomogéneos respectivamente. Por otro lado, a partir del estudio simultáneo de la relajación de los protones y el deuterio en muestras de Hb deuteradas, se descartó el aporte a la relajación de gradientes de campos magnéticos internos resultantes del proceso de polimerización de la HbS. <sup>(39)</sup>

El comportamiento de  $\tau_R$  durante la polimerización de la HbS se corresponde con un incremento desde  $5 \times 10^{-8}$  s hasta  $9,8 \times 10^{-8}$  s que puede explicarse, a través del modelo de Debye, por el incremento de  $\eta_\mu$  desde 2 mPas hasta 4 mPas (ver tabla 1). <sup>(31)</sup> Ambos comportamientos se reportan por primera vez durante la glicosilación.

Utilizando los comportamientos de  $T_2$  durante la cinética de polimerización de la HbS fue posible establecer un valor de 250 min para el  $t_d$  en el paciente en estado asintomático y determinar que una crisis vasooclusiva se establece cuando este valor decrece más de un 20 %. <sup>(1,9,38)</sup> También se demostró que la Vainillina incrementa, hasta el doble, los valores de  $t_d$  observados previo al tratamiento. <sup>(1,38,40)</sup> Por otro lado, se demostró que el  $t_d$  se incrementó en el 60 % de las muestras tratadas con GSH, mientras en el 100 % de las tratadas con dal se incrementaron los valores iniciales y finales de  $T_2$ . <sup>(13)</sup> El cociente de las amplitudes de las líneas del espectro de RPE del 4MT enlazado a la membrana de los RBC, W/S, disminuyó con la polimerización de la HbS. Adicionalmente, los valores de  $\tau_e$  disminuyeron como consecuencia de este mismo proceso (tabla 2).

Se desarrolló un método basado en relajación magnética protónica para determinar  $\eta_p$ ; el cual se basa en encontrar una relación experimental directa entre la velocidad de relajación protónica transversal ( $1/T_2$ ) y  $\eta_p$  que puede ser demostrada teóricamente. <sup>(35)</sup> En la tabla 3 se muestran los valores de  $\eta_p$  en individuos "aparentemente sanos" y pacientes con AD obtenidos con este método. Existe una coincidencia estadística entre los valores de  $\eta_p$  determinados con relajación magnética protónica y aquellos medidos empleando el método de referencia utilizado (viscosímetro de Ostwald) con un 99,95 % de confianza ( $p = 0,00215782$ , muestras pareadas). Sin embargo, los valores de  $\eta_p$  en pacientes con AD son estadísticamente mayores (99,95 % de confianza) que los medidos en individuos "aparentemente sanos".

$$\frac{1}{T_1}(\omega_0) = R_{1w}^{\text{bulk}} + \alpha + \sum_{i=1}^2 \left( \beta_i \tau_{ci}^b \left[ \frac{0.2}{1+(\omega_0 \tau_{ci}^b)^2} + \frac{0.8}{1+4(\omega_0 \tau_{ci}^b)^2} \right] \right) \quad (6)$$

$$\frac{1}{T_2}(\omega_0) = R_{2w}^{\text{bulk}} + \alpha' + \sum_{i=1}^2 \left( \beta_i' \left[ \frac{3}{5} \tau_{ci}^b + \frac{\tau_{ci}^b}{1+(\omega_0 \tau_{ci}^b)^2} + \frac{0.4 \tau_{ci}^b}{1+4(\omega_0 \tau_{ci}^b)^2} \right] \right) \quad (7)$$

**Tabla 2.** Valores de  $\tau_e$  en RBC de pacientes con AD antes (oxigenados) y después (desoxigenados) de la polimerización de la HbS

Muestra	$\tau_e$ (ms)
RBC oxigenados	20,8 $\pm$ 2,7
RBC desoxigenados	15,2 $\pm$ 1,0

## DISCUSIÓN

Las 3 regiones observadas en los comportamientos de  $T_1$  y  $T_2$  durante la cinética de polimerización de la HbS se corresponden con las 3 etapas de este proceso. La región I se corresponde con la nucleación, donde las agregaciones moleculares son reversibles, la II con el desarrollo irreversible de la polimerización, y la III con la alineación y crecimiento de los polímeros (formación de microdominios estructurales inhomogéneos).<sup>(1,38)</sup> El comportamiento de  $T_2$  coincide con lo obtenido previamente por otros investigadores, pero, el comportamiento de  $T_1$  es totalmente novedoso.<sup>(30,31,34)</sup> Por primera vez se logra describir el comportamiento de este parámetro durante la cinética de aglutinación de la HbS, previamente solo se habían realizado reportes puntuales de valores de  $T_1$  antes y después de la desoxigenación de la Hb.<sup>(27,34)</sup> Aun así, la magnitud de la variación de  $T_1$  (1,29  $\pm$  0,09) durante la etapa de gelificación (II) es inferior a la de  $T_2$  (2,38  $\pm$  0,48); sin embargo, el comportamiento de  $T_1$ , permite observar las 3 etapas y, sobre todo, determinar el  $t_d$ .

Los estudios de dispersión de  $T_1$  confirman la propuesta de un modelo de 3 sitios utilizada previamente y también la mejoran sustancialmente al proponer 2 poblaciones diferentes de moléculas de agua interna contribuyendo a la relajación.<sup>(1,23,28,30,32,34)</sup> Una población con valores de  $\tau_{c1}^b$  en el rango entre 14  $10^{-8}$ s y 32  $10^{-8}$ s y otra con valores de  $\tau_{c2}^b$  en el rango entre 1  $10^{-8}$ s y 2  $10^{-8}$ s. y pueden determinarse como sigue (ecuación 8):<sup>(33,36)</sup>

$$\frac{1}{\tau_{ci}^b} = \frac{1}{\tau_{resi}^b} + \frac{1}{\tau_R} \quad | \quad (8)$$

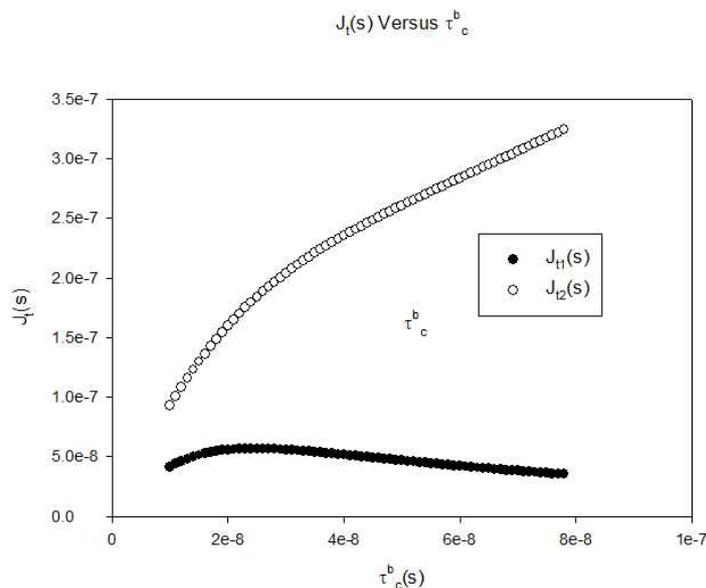
Donde  $\tau_{res}^b$  es el tiempo de residencia e  $i$  toma valores 1 y 2  $\tau_{c1}^b$  se corresponde con las predicciones teóricas de  $\tau_R$  de acuerdo a los modelos de Mooney y Debye, y con el caso en el cual  $\tau_{res1}^b \gg \tau_R$  y  $\tau_{c1}^b = \tau_R$ . Por su parte  $\tau_{c2}^b$  se corresponde con los casos en los cuales  $\tau_{res2}^b$  es mucho menor o comparable con  $\tau_R$ .<sup>(33)</sup>

El incremento de  $\tau_R$  obtenido conduce, de acuerdo a la ecuación 8, a un incremento de  $\tau_c^b$  en ambas poblaciones de agua interna si se asume que  $\tau_{res2}^b$  es comparable con  $\tau_R$  y no se modifica con la polimerización de la HbS. Es coherente esperar que  $\tau_{res2}^b$  no se modifique con la gelificación por cuanto el agua interna se encuentra en pequeños orificios y cavidades en la estructura de la Hb y, por tanto, no expuesta a los contactos Hb-Hb propios de la aglutinación macromolecular. En el caso de la población 2, si  $\tau_{res2}^b \ll \tau_R$  entonces en la ecuación 9  $\tau_{c2}^b = \tau_{res2}^b$  siendo independiente de  $\tau_R$ . No es importante un análisis similar para  $\tau_{res1}^b$  porque en esta población  $\tau_{c1}^b = \tau_R$ .

En la figura 1 mostramos la dependencia con  $\tau_c^b$  de una estimación teórica de los términos entre corchetes en las ecuaciones 6 y 7, a los cuales llamaremos  $J_{t1}$  y  $J_{t2}$  por ser la suma de las contribuciones de las funciones densidades espectrales  $J_0$ ,  $J_1$  y  $J_2$  y según corresponda al caso de  $T_1$  o  $T_2$ .<sup>(35)</sup> Al analizar estos comportamientos podemos concluir que los incrementos de  $\tau_{c1}^b$  y  $\tau_{c2}^b$  como resultado de la polimerización de la HbS provocan un decremento de  $T_2$  como

**Tabla 3.** Valores de  $\eta_p$  en muestras de plasma sanguíneo pertenecientes a individuos “aparentemente sanos” y pacientes con AD. Las determinaciones fueron realizadas con el método de relajación magnética protónica y un método de referencia (viscosímetro de Oswald)

Muestras	$\eta_p$ (mPa s)	
	Ostwald	Relajación magnética protónica
Sanos ( $n = 20$ )	1,61 $\pm$ 0,06	1,68 $\pm$ 0,11
AD ( $n = 72$ )	-	2,45 $\pm$ 0,62



**Fig. 1** Dependencia con  $\tau_c^b$  de una estimación teórica de  $J_{11}$  y  $J_{12}$

se obtuvo experimentalmente. Sin embargo, en el caso de  $T_1$ , el incremento de  $\tau_{c1}^b$  causará su crecimiento mientras que el aumento de  $\tau_{c2}^b$ , al menos hasta  $2,6 \cdot 10^{-8}$ s, traerá como consecuencia su disminución. La variación de  $J_{11}$ , en el rango de  $\tau_{c2}^b$  entre  $1 \cdot 10^{-8}$ s y  $2,6 \cdot 10^{-8}$ s, posee una mayor pendiente que su variación con el incremento de  $\tau_{c1}^b$  y por ello se hace dominante permitiendo explicar la disminución experimental de  $T_1$  obtenida; pero es de esperar que la disminución de  $T_1$  sea menor que la de  $T_2$  dado el efecto competitivo del incremento de  $\tau_{c1}^b$ . Entonces no se trata de que  $T_1$  sea menos sensible a la polimerización que  $T_2$ , sino de que su sensibilidad es diferente. Asumir que  $\tau_{c2}^b = \tau_{res2}^b$  conduce a esperar un incremento de  $T_1$  que no se corresponde con lo obtenido experimentalmente o a suponer un incremento de  $\tau_{res2}^b$  con la polimerización que no tiene sustento teórico ni experimental.

La disminución de W/S demostró el fortalecimiento de la interacción Hb-membrana como resultado del proceso de polimerización de la HbS. (38,39) Este es un resultado muy importante porque establece un puente entre el proceso molecular que causa la enfermedad (polimerización de la HbS) y la estructura celular (membrana) que determina la forma y rigidez de los RBC. La disminución observada en  $\tau_e$  con la gelificación macromolecular significa un aumento de la velocidad de deshidratación celular, lo cual pudiera incrementar la concentración de HbS favoreciendo su agregación.

El incremento de  $\eta_p$  en pacientes con AD se debe al aumento de la concentración de fibrinógeno en estos pacientes,

así como a la particular asimetría de esta proteína. Recientemente hemos desarrollado un método similar en Hb que pudiera permitir la evaluación de la viscosidad de la sangre a partir de  $\eta_p$  y  $\eta_{Hb}$ . (34) Las evaluaciones experimentales relacionadas con la membrana del RBC y con el medio extracelular (plasma sanguíneo), asociadas a los métodos desarrollados para la disolución de Hb, permiten realizar una evaluación más integral de los procesos moleculares, celulares y tisulares que desencadenan la fisiopatología de la AD.

Las variaciones de  $t_{d'}$  y los valores iniciales y finales de  $T_2$ , obtenidos durante la crisis vasooclusiva del paciente, el tratamiento con Vainillina y la mezcla de la HbS con GSH y dal son la base del método, basado en relajación magnética protónica, que hemos desarrollado y permite la disponibilidad de una herramienta cuantitativa para contribuir a evaluar el estado clínico del paciente con AD y establecer la eficacia de acciones terapéuticas. Esto es sumamente importante también porque puede ser una herramienta de evaluación evolutiva y para el establecimiento del criterio de alta médica. Las determinaciones de  $\tau_e$  en RBC y  $\eta_p$  pueden sumarse a las determinaciones anteriores para conformar una evaluación más integral y multicompartmental.

## Conclusiones

La reducción de la movilidad de las 2 poblaciones de agua interna identificadas permitió explicar los comportamientos de la relajación magnética protónica durante la polimerización de la hemoglobina S. El tiempo de demora, y

los valores iniciales y finales del tiempo de relajación transversal, fueron útiles para evaluar clínicamente al paciente y demostrar la eficacia de potenciales opciones terapéuticas. El tiempo de intercambio de agua a través de la membrana y la viscosidad dinámica del plasma sanguíneo, determinados usando relajación magnética protónica, mostraron similares potencialidades.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Lores MA, García JC, Cabal CA. MR Relaxation Studies of Hemoglobin Aggregation Process in Sickle Cell Disease: Application for Diagnostics and Therapeutics. *Applied Magnetic Resonance*. 2019;50:541-51.
- Serjeant GR, Chin N, Asnani MR, Serjeant BE, Mason KP, Hambleton JR, Knight-Madden JM. Causes of death and early life determinants of survival in homozygous sickle cell disease: The Jamaican cohort study from birth. *PLoS ONE*. 2018;13(3):e0192710.
- Piel FB, Steinberg MH, Rees DC. Sickle Cell Disease. *The New England Journal of Medicine*. 2017;376(16):1561-73.
- Parise LV, Berline N. Sickleceldisease: challenges and progress. *Blood*. 2016;127(7):789.
- Ayala V, Alfonso J, González HJ, Gabriel J, Tarud D. Anemia de Células falciformes: una revisión. *Salud Uninorte*. 2016;32(3):513-27.
- Obeagu IE, Ochei KC, Nwachukwu BN, Nchuma BO. Sickle Cell Anaemia: A Review. *Scholars Journal of Applied Medical Sciences*. 2015;3(6B):2244-52.
- Ajjack EA, Awooda HA, Abdalla SE. Haemoglobin Patterns in Patients with Sickle Cell Haemoglobinopathies. *International Journal of Hematological Disorders*. 2014;1(1):8-11.
- Eaton WA, Bunn HF. Treating sickle cell disease by targeting HbS polymerization. *BLOOD*. 2017;129(20):2719-26.
- Archer N, Galacteros F, Brugnara C. Clinical trials update in sickle cell anemia. 2015. *American Journal of Hematology*. 2015;90(10):934-50.
- Nagel RL, Chang H. Methods for the study of sickling and hemoglobin S gelation. *Methods in Enzymology*. 1981;A76:760-92.
- Somoano-Delgado LM, Lores-Guevara MA, García-Naranjo JC, Niesor JE, Pérez A, Rodríguez I, Rosales S, Tamayo-Delgado F. Dalcetrapib and Reduced Glutathione effect on hemoglobin S polymerisation studied by NMR. *Research on Biomedical Engineering*. 2022;38:831-8.
- Fabry ME. Detection of hemoglobin S polymerization in intact red cells by P-31 NMR. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 1980;97(4):1399-406.
- Cottam GL, Valentine KM, Yamaoka KM, Waterman MR. The gelation of deoxyhemoglobin S in erythrocytes as detected by transverse water proton relaxation measurements. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 1974;162:487-92.
- Cottam GL, Waterman MR. Effect of oxygen concentration on transverse water proton relaxation times in erythrocytes homozygous and heterozygous for hemoglobin S. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 1976;177:293-8.
- Lindstrom TR, Koenig SH. Magnetic-field-dependent water proton spin-lattice relaxation rates of hemoglobin solutions and whole blood. *Journal of Magnetic Resonance*. 1974;15(2):344-53.
- Waterman MR, Cottam GL. Kinetics of the polymerization of hemoglobin S: studies below normal erythrocyte hemoglobin concentration. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 1976;73(3):639-45.
- Shibata K, Waterman MR, Cottam GL. Alteration of the rate of deoxyhemoglobin S polymerization. Effect of pH and percentage of oxygenation. *Journal of Biological Chemistry*. 1977;252(21):7468-74.
- Thompson BC, Waterman MR, Cottam GL. Evaluation of the water environments in deoxygenated sickle cell by longitudinal and transverse water relaxation rates. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 1975;166:193-200.
- Zipp A, Kuntz ID. Proton Magnetic Resonance Studies of intracellular water in sickle cells. *FEBS LETTERS*. 1974;43(1):9-12.
- Zipp A, James TL, Kuntz ID, Shohet SB. Water proton magnetic resonance studies of normal and sickle erythrocytes. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1976;428:291-303.
- Bloembergen N, Purcell EM, Pound RV. Relaxation effects in Nuclear Magnetic Resonance Absorption. *Physical Review*. 1948;73(7):679-715.
- Bertil Halle. Protein hydration dynamics in solution: a critical survey. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B*. 2004;359:1207-24.
- Venu K, Denisov VP, Halle B. Water 1H Magnetic Relaxation Dispersion in protein solutions. A quantitative assessment of internal hydration, proton exchange and cross relaxation. *J. Am. Chem. Soc.* 1997;119:3122-34.
- Cabal CA, Fernández AA, Lores MA, González E, Oramas L. Kinetic studies of complex biomedical process by magnetic resonance: Cuban experiences. *Applied Magnetic Resonance*. 2018;49:589-98.
- Cabrales Y, Lores M, Machado Y. Deuterium magnetic relaxation process during the polymerization of the Hemoglobin S. *Applied Magnetic Resonance*. 2008;33:207-12.
- Del Toro G, Falcón JE, Alonso Y, Valdés YC, Cabal C. Vainillina: Agente inhibidor de la polimerización de la hemoglobina S. *Bioquímica*. 2003;28(4):4-10.
- Falcón JE, Del Toro G, Alonso Y. Evaluación de la actividad antipolimerizante del 2,4-dihidroxibenzaldehído. *Revista Cubana de Química*. 2006;18(3):41-5.
- Falcón JE, Del Toro G, Geli Y. Evaluación de la actividad antipolimerizante de 4 aldehídos aromáticos en hemoglobinas por relajación magnética protónica. *Bioquímica*. 2006;31(4):132-9.
- Fernández A, Cabal CA, Losada J, Álvares E, Soler C, Otero J. In vivo action of vanillin on delay time determined by magnetic relaxation. *Hemoglobin*. 2005;29(3):181-7.
- Lores M, García JC, Mengana Y. Hemoglobin S polymerization effect on water self-diffusion coefficient. *Advances in Biological Chemistry [Internet]*. 2014 [citado 15 feb 2022];4:388-94. Disponible en: SciRes. <http://www.scirp.org/journal/abc>
- Lores MA, Cabal CA, Nascimento O, and Gennaro A. EPR study of the hemoglobin rotational correlation time and microviscosity during the polymerization of hemoglobin S. *Applied Magnetic Resonance*. 2006;30:121-8.
- Losada J, Gilart F, Cabal CA, Valiente L. NMR relaxation study of Sickle Cell Disease. *Proceedings of the 24th Ampere Congress, Magnetic Resonance and Related Phenomena, Poznan*. 1988;1027-30.
- Lores-Guevara MA, Cabal-Mirabal CA, Muller RN, Laurent S, Tamayo-Delgado F, García-Naranjo JC. Proton MRD profile analy-

- sis in intracellular hemoglobin solutions: a three sites exchange model approach. *Applied Magnetic Resonance*. 2022;53:387-99.
34. Mengana-Torres Y, Lores-Guevara MA, García-Naranjo JC, Ricardo-Ferro BT, Suárez-Beyries LC, Rodríguez-Reyes IC, Philippé J. Determination of the dynamic viscosity in blood plasma samples and hemoglobin solution using nuclear magnetic relaxation. *International Journal of Biochemistry, Biophysics & Molecular Biology*. 2019;4(2):25-30.
35. Lores-Guevara MA, Mengana-Torres Y, García-Naranjo JC, Rodríguez-Suárez N, Suárez-Beyries LC, Marichal-Feliu MA, Simón-Boada T, Rodríguez-Reyes IC, Phillipé J. Plasma Dynamic Viscosity Determined by NMR. *Applied Magnetic Resonance*. 2018;49(10):1075-83.
36. Guevara MAL, Torres YM, Naranjo JCG, Aguilera AR, Beyrio LCS, Felue MAM, Brada TS, Philippé J. Water Efflux in Red Blood Cells of Sickle Cell Patients under Spontaneous Deoxygenation. *Journal of Biosciences and Medicines*. 2016; 4:152-61.
37. Lores-Guevara MA, Balcom BJ, Cabal-Mirabal C, Cabrales-Fontela Y, Falcón-Diéguez J, Fernández-García A, García-Naranjo JC, López-Ríos N, Álvarez-Guerra E. Magnetic Resonance studies in Sickle Cell Disease. *Revista Ingeniería Electrónica, Automática y Comunicaciones*. 2012;33(2):29-33.
38. Falcón-Diéguez JE, Rodi P, Lores-Guevara MA, Gennaro AM. Spin labels studies of the hemoglobin-membrane interaction during sickle hemoglobin polymerization. *Applied Magnetic Resonance*. 2010;38:443-453.
39. Falcón-Diéguez JE, Rodi P, Lores-Guevara MA, Gennaro AM. Evaluación de la interacción Hemoglobina Membrana durante la polimerización de la hemoglobina S. *Bioquímica*. 2009;34(1):13-20.
40. Cabal C, Lores M, Chizhik VI, Rabdano SO, García-Naranjo JC. Assessment of Contribution of Curie-Spin Mechanism in Proton Relaxation During Aggregation Process of Hemoglobin S. *Applied Magnetic Resonance [Internet]*. 2020;51:1647-1652.
- Curación de datos: Manuel Arsenio Lores Guevara, Adolfo Arsenio Fernández García, Yulianela Mengana Torres, Juan Carlos García Naranjo
  - Análisis formal: Manuel Arsenio Lores Guevara, Adolfo Arsenio Fernández García, Yulianela Mengana Torres
  - Adquisición de fondos: Manuel Arsenio Lores Guevara, Carlos Alberto Cabal Mirabal, Juan Carlos García Naranjo
  - Investigación: Manuel Arsenio Lores Guevara, Adolfo Arsenio Fernández García, Yulianela Mengana Torres
  - Metodología: Manuel Arsenio Lores Guevara, Carlos Alberto Cabal Mirabal, Adolfo Arsenio Fernández García
  - Administración del proyecto: Manuel Arsenio Lores Guevara, Carlos Alberto Cabal Mirabal, Juan Carlos García Naranjo, Adolfo Arsenio Fernández García, Yamirka Alonso Geli
  - Recursos: Inocente Rodríguez Reyes, Lidia Clara Suárez Beyries, Samuel Rosales Rodríguez
  - **Software**: Adolfo Arsenio Fernández García, Juan Carlos García Naranjo
  - Supervisión: Manuel Arsenio Lores Guevara, Carlos Alberto Cabal Mirabal, Juan Carlos García Naranjo
  - Validación: Manuel Arsenio Lores Guevara, Adolfo Arsenio Fernández García, Yulianela Mengana Torres
  - Visualización: Manuel Arsenio Lores Guevara, Carlos Alberto Cabal Mirabal, Adolfo Arsenio Fernández García, Yulianela Mengana Torres
  - Redacción-Borrador original: Manuel Arsenio Lores Guevara, Carlos Alberto Cabal Mirabal, Adolfo Arsenio Fernández García, Yulianela Mengana Torres
  - Redacción-Revisión y Edición: Manuel Arsenio Lores Guevara, Carlos Alberto Cabal Mirabal, Adolfo Arsenio Fernández García, Juan Carlos García Naranjo, Yamirka Alonso Geli, Yulianela Mengana Torres

Recibido: 4/01/2025

Aprobado: 10/02/2025

### Agradecimientos

Los autores desean agradecer al gobierno de la República de Cuba, en especial a los Ministerios de Educación Superior y Salud Pública, por el apoyo recibido para la realización de este trabajo. Además, agradecemos la colaboración de instituciones internacionales como el Centro de Resonancia Magnética de Imágenes de la Universidad de New Brunswick en Canadá, el Consejo de Universidades Flamencas y el laboratorio de resonancia magnética de la Facultad de Medicina y Farmacia de la Universidad de MONS en Bélgica. Explícitamente queremos agradecer, por su colaboración, a los doctores Robert Muller, Sophie Laurent, Jan Phillipe, María Altargracia Marichal Feliu y Teresa Simón Boada.

### Conflictos de intereses

No existe conflicto de interés entre los autores ni en relación con la investigación presentada.

### Contribuciones de los autores

- Conceptualización: Manuel Arsenio Lores Guevara, Carlos Alberto Cabal Mirabal

### Financiamientos

Las fuentes de financiamiento de esta investigación fueron el presupuesto de los Ministerios de Educación Superior y Salud Pública de la República de Cuba y fondos recibidos de proyectos internacionales con instituciones como CAPES de Brasil, el MINCYT de Argentina, así como el VLIR y el FNRS de Bélgica.

### Cómo citar este artículo

Manuel Arsenio Lores Guevara MA, Cabal Mirabal CA, Fernández García AA, Mengana Torres Y, García Naranjo JC, Rodríguez Reyes I et al. Estudio de la anemia drepanocítica empleando resonancia magnética: potenciales aplicaciones médicas. *An Acad Cienc Cuba [Internet]* 2025 [citado en día, mes y año];15(1):e2896. Disponible en: <http://www.revistaccuba.cu/index.php/revacc/article/view/2896>

El artículo se difunde en acceso abierto según los términos de una licencia Creative Commons de Atribución/Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional (CC BY-NC-SA 4.0), que le atribuye la libertad de copiar, compartir, distribuir, exhibir o implementar sin permiso, salvo con las siguientes condiciones: reconocer a sus autores (atribución), indicar los cambios que haya realizado y no usar el material con fines comerciales (no comercial).

© Los autores, 2025.

