

Medida de nitrógeno ureico en sangre (BUN) mediante el empleo de sensores ópticos para su utilización en equipos de hemodiálisis

Cap. 1/o. I.C.E. Gustavo A. **Martínez-Chávez***

Hospital Central Militar, Subseccion de Hemodiálisis, U.D.E.F.A. Secretaría de la Defensa Nacional, México.

RESUMEN

Introducción. El caso de la deficiencia renal, un padecimiento que afecta principalmente el funcionamiento de los riñones. La tendencia actual en las técnicas de diálisis, es la de hacer uso de elementos de medida cada vez más eficaces y membranas de mayor superficie y permeabilidad. Las técnicas de medida de ureas utilizadas en algunos equipos de hemodiálisis emplean biosensores que al entrar en contacto con la sangre permiten obtener la concentración de urea, no obstante presentan la desventaja que han de ser desechables.

Objetivo. El presente trabajo muestra el desarrollo de un sistema de medida de concentración de urea en línea mediante el empleo de técnicas de medida de espectroscopia óptica en el margen visible.

Resultados. Los resultados de las experimentaciones efectuadas con el prototipo hasta este momento, muestran consistencia entorno al desarrollo de las teorías Bioquímicas de la modulación de los niveles de hidratación celular (hiperosmolaridad) y cuyo proceso se manifiesta en la variabilidad de los niveles de concentración de urea en sangre en aquellos pacientes con padecimientos renales que se encuentran sujetos bajo el tratamiento de hemodiálisis.

Palabra clave: hemodiálisis, urea, deficiencia renal.

Measurement of nitrogenous ureic in blood based inoptical sensor by employ in hemodialysis machine

SUMMARY

Introduction. The case of the renal disease, a suffering that affects the function of the kidneys. The current tendency in the dialysis treatment is the one of making use of more and more effective measure elements and membranes of more surface and permeability. The measure techniques of urea in some one Hemodialysis machine is based in the use of biosensor's that allow to entering in contact with the blood, obtain the of urea concentration, when nevertheless they present the disadvantage that they must be disposable.

Objective. The present work shows the development on-line measure system of urea concentration by employment of measure technical based in optic spectroscopic in the visible margin.

Results. The preliminary results with the prototype system show consistency environment to the development of the modulation the Biochemical theories of the levels in cellular hydrate (Hiperosmolarity) and whose process is manifested in the variability in the level of the urea concentration in blood in those patients with renal sufferings under Hemodialysis treatment.

Key word: Hemodialysis, urea, renal deficiency.

Introducción

El interés por desarrollar nuevos mecanismos para la cuantificación de la urea mediante técnicas indirectas, está en aumento. En particular, se están incorporando el uso de bio-

sensores enzimáticos a algunos sistemas de hemodiálisis e incluso el empleo de los cartuchos de ultrafiltración desechables.

En el presente trabajo se ha planteado el objetivo de reducir el coste de dicha medida, para ello se ha planteado el

* Ingeniero en Comunicaciones y Electrónica, adscrito al Servicio de Hemodiálisis en las Instalaciones del Hospital Central Militar.

Correspondencia:

Cap.1/o. I.C.E. Gustavo A. Martinez Ch.

Servicio de Hemodiálisis, Hospital Central Militar.

Correo electrónico: gamartinezch@yahoo.com

Recibido: Febrero 27, 2006.

Aceptado: Abril 19, 2006.

estudio de la viabilidad de la adquisición de la absorción óptica de forma no invasiva a través de la línea arterial de los equipos de hemodiálisis. En este sentido, medidas preliminares llevadas a cabo a una única longitud de onda en el mismo hospital¹ muestran una buena correlación con la concentración de urea.

La hipótesis que se plantea es que el cambio en la absorción óptica observado no es debido a la interacción de la luz con la molécula de urea, sino al cambio de volumen de las células en suspensión en la sangre, fundamentalmente el hematocrito. Esto sería debido a la hiperosmolaridad inducida por la urea.²

Para validar esta hipótesis, se propone utilizar un modelo celular simplificado respecto a la sangre. Para ello se usarán suspensiones de concentración conocida de líquido de diálisis considerando el factor de conductividad controlada. Para lo cual se pretende llevar a cabo medidas de absorción óptica mediante dos prototipos y también medidas de laboratorio como método de contraste de la variación en la medida de BUN.

Curiosamente, la hidratación celular en los tejidos es de gran importancia en las alteraciones renales y en el mismo proceso de diálisis. Muchas implicaciones clínicas pueden presentarse como consecuencia de la interacción entre la hidratación celular y la función de la célula. La medicina clínica contemporánea presta una atención cuidadosa al estado de la hidratación del espacio extracelular, pero no bastante a la hidratación celular, probablemente debido a la carencia de procedimientos clínicos rutinarios aplicables para el estado de volumen celular en cada paciente.^{3,4}

Materiales y métodos

Prototipos de medida

Se han puesto a punto unos sistemas de medida ópticos basados en arrays de fotodiodos conectados a un microcontrolador PIC16F876 como interfaz física entre los sensores ópticos y el equipo de cómputo. El sistema que se ha utilizado está formado por un Array de 128 fotodiodos de la compañía Texas Instruments en que este es excitado a una única longitud de onda de 620 nm.

El principio de funcionamiento del sistema, consiste en la colocación en el interior de la recámara oscura de una fuente de luz (LED) y el dispositivo semiconductor empleado como sensor (array de fotodiodos) de tal forma que estos se ubican longitudinalmente respecto a la sonda de plástico transparente por donde se harán pasar los líquidos. La tensión resultante de integrar un tiempo controlado la corriente de cada fotodiodo será utilizada como la señal de entrada al convertidor A/D de 10 Bits con que cuenta el microcontrolador. Posteriormente los datos capturados serán transmitidos vía RS-232 a una computadora personal. La interfaz de usuario está desarrollada con la herramienta de programación gráfica Visual Basic ver.5.0, ejecutándose la representación gráfica de los datos, determinándose los valores mínimos, máximos, promedio y desviación es-

tándar de las lecturas efectuadas. La *figura 1* muestra el sistema que conforma el diseño del hemodializador, en cuya parte central se destaca la utilización del equipo de medida.

Preparación de las suspensiones

Para fines de prueba y a efecto de generar el comportamiento representativo de los mecanismos de hidratación celular de las células sanguíneas en presencia de la acumulación de urea (que es un claro indicativo de los trastornos urémicos en aquellos pacientes con deficiencia renal crónica) se ha considerado la utilización de líquido de diálisis para obtener un modelo representativo del intercambio iónico y del fenómeno de ósmosis en el establecimiento del equilibrio intra y extra celular de las moléculas existentes en el plasma sanguíneo, los cuales en función a las variables de concentración, volumen y tiempo determinan el grado de filtración y eficacia en la aplicación clínica de los tratamientos de diálisis.

Equipo de laboratorio para la medida de Bun

De conformidad con los procedimientos establecidos para la cuantificación de urea en sangre y su respectiva aplicación con el equipo de laboratorio se establecen los siguientes criterios de evaluación:

1. La urea por sí misma es una molécula inestable, por lo que algunos equipos de medida recurren al proceso de hidrolizado de la urea, a efecto de obtener la ureasa, produciendo amoníaco y dióxido de carbono.

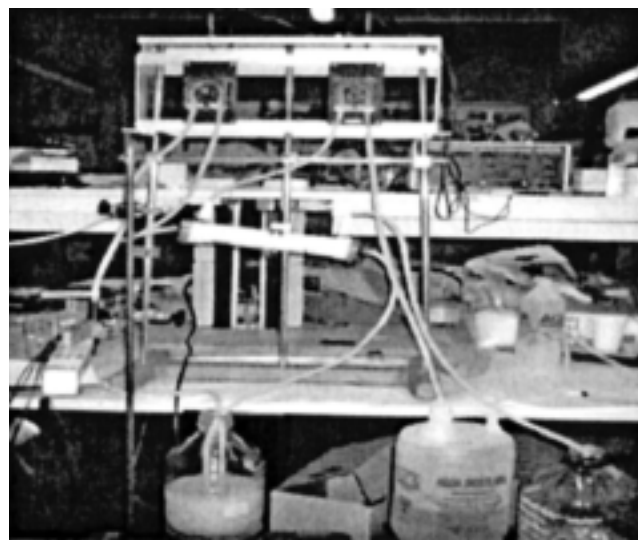
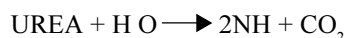


Figura 1. Fotografía del sistema de hemodiálisis en el que se observan el empleo del espectrofotómetro.

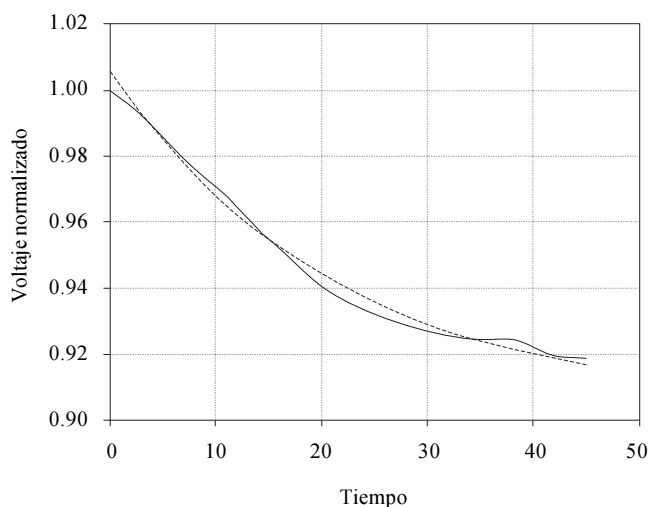


Figura 2. Valores obtenidos con el sistema que emplea una longitud de onda fija.

Como se observa en la segunda reacción el 2-oxoglutarato reacciona con amoníaco para formar l-glutamato en presencia de glutamato deshidrogenasa (gldh). En esta misma reacción, dos moles de nadh (nicotinamida dinuclótido hidroxizada) son oxidadas a nad (nicotinamida dinuclótido) por cada mol de urea hidrolizada. la disminución en el valor de la absorbencia a 540 nm (nanómetros) lo que ésta es proporcional al nivel de urea en la muestra. Tal como se establece en las técnicas para el empleo del equipo de laboratorio.⁵

Resultados

Mediciones con el sistema propuesto

Las mediciones con el sistema electrónico empleado como espectrofotómetro en el rango de 600-620 nm, correspondientes a un LED de color rojo se muestran en la *figura 2*.

Las mediciones obtenidas por el sistema fueron obtenidas previamente la calibración del mismo se ajustaron a la respuesta del modelo propuesto y se extrajeron sus parámetros. Los resultados parciales no se muestran, no obstante en la *figuras 2* se presenta la respuesta gráfica de este modelo, por lo que podemos observar cómo el voltaje disminuye monótonamente, indicando un aumento del espacio extracelular si la conductividad del medio se mantiene constante, como es el caso. El estimador de densidad de biomasa (no mostrado), también descende. Dado que no hay cambio en el número de células, la disminución de densidad de biomasa debe atribuirse a la disminución del radio medio de las células.

Respuesta clínica del sistema

Las medidas presentadas hasta ahora muestran el comportamiento experimental del mecanismo bajo estudio, a efecto de comprobar su respuesta real. Se pretende realizar diferentes mediciones en pacientes sujetos al tratamiento de hemodiálisis en el Hospital Central Militar de la Ciudad

de México, previa la autorización del protocolo médico. En dicho protocolo se estableció como objetivo el comparar las medidas en contenido de nitrógeno ureico en sangre (BUN) a través del equipo de laboratorio (Dade Behring) con que cuenta ese nosocomio y las obtenidas con el equipo empleado como espectrofotómetro a una longitud de onda 620 nm durante la práctica del tratamiento. La *figura 3* muestra una fotografía de la realización de la mediada efectuada con el prototipo en pacientes sujetos al tratamiento de hemodiálisis en la Subsección de Hemodiálisis del Hospital Central Militar en la Ciudad de México.

En las mediciones con el sistema electrónico empleado como espectrofotómetro, se puede observar un decremento de tipo exponencial, como consecuencia del proceso dinámico de hemodiálisis tal como se presenta en la *figura 4*.

Finalmente, lo que se pretende en la etapa de muestreo es el de comparar el promedio en la medida de las concentraciones de urea, efectuadas por el laboratorio y las mediciones que se obtengan con el sistema de medida.

Lo que permitirá obtener el factor de correlación entre los valores obtenidos con el sistema de prueba y los resultados del propio laboratorio.

Discusión y conclusiones

Lo expuesto en el presente trabajo implica el comparar dos técnicas de espectroscopia distintas, pero a la vez complementarias. Las cuales validan la hipótesis en cuanto al comportamiento de la urea en células vivas, tal como sucede con el incremento en el contenido ureico en sangre.

De los resultados obtenidos hasta este momento, así como los valores del contenido ureico en sangre (BUN) para la estimación de concentración en el sistema experimental a



Figura 3. Medida efectuada en pacientes sujetos al tratamiento de Hemodiálisis en el Hospital Central Militar de la Ciudad de México.

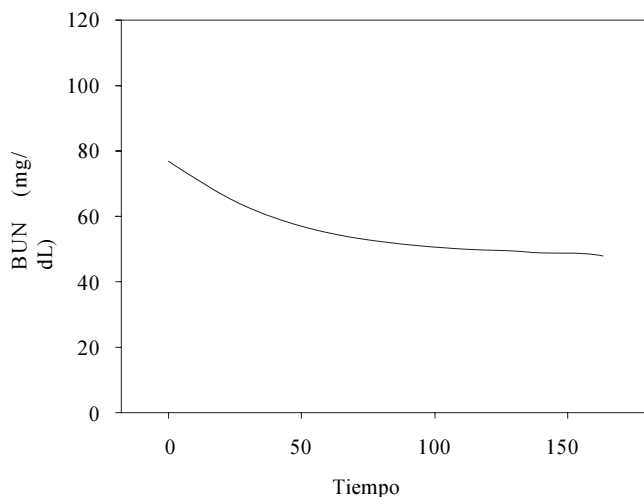


Figura 4. Evolución temporal en que se muestra la exponencial deciente ($\tau = 60$ min) obtenida con el equipo de medida para verificar el comportamiento dinámico en pacientes sujetos al tratamiento de hemodiálisis.

una única longitud de onda, se desprenden los siguientes comentarios:

La fuente de luz seleccionada en el sistema de medida más simple y que se sitúa en el rango de los 620 a 650 nm que para el caso de la sangre tendrá que adaptarse a su espectro de absorción. Se espera también ampliar el número de longitudes de onda de observación para reducir la incidencia de otras moléculas en las medidas y mejorar la dispersión observada en los resultados preliminares con pacientes.² En este sentido, el prototipo simple está preparado para incorporar filtros que permitan una implementación de bajo costo de esta solución.

La representación del comportamiento celular de las muestras de sangre con alto contenido ureico, ponen de manifiesto un comportamiento acorde para validar la hipótesis de que el cambio de volumen celular es la causa de la relación entre concentración de urea y absorción óptica observada en el margen visible.

A partir de las relaciones existentes entre las medidas efectuadas y las expresiones analíticas de los mecanismos de control celular (Ley de Beer – modelo macrocelular) se deduce que la representación matemática es muy sencilla, pero es lo suficientemente descriptiva del comportamiento de los mecanismos de regulación celular, que para este caso corresponden al de la urea, y que han sido estudiado ampliamente como mecanismos de regulación del volumen celular.

El comportamiento dinámico del mecanismo descrito muestra una constante de tiempo dominante del orden de minuto. Esto hace que el sistema de medida basado en este fenómeno sea potencialmente útil para la monitorización y/o control del intercambio de urea en el proceso de diálisis, que puede tardar varias horas y cuya fase crítica puede durar algunas decenas de minutos.

La aplicación analítica del comportamiento de absorción de la molécula de urea, dependerá del hecho de que su consistencia molecular sólo absorbe luz en regiones específicas del espectro, la cual se realiza de forma gradual y con un cierto grado de variabilidad, todo ello de acorde con las estructuras celulares contenidas en dicha molécula, y que determinan el grado de filtración de la práctica de los tratamientos de dializado.

Se tiene una evidencia científica de la existencia de una correlación entre la concentración de urea y la transmitancia a 620 nm. Para ello se empleó la técnica fotométrica en el rango del visible, lo que por su sencillez, su exactitud y repetibilidad, pero sobre todo por las grandes posibilidades de automatización que ofrecen, es posible considerar el establecimiento de un centro de monitorización de la Sala de Hemodiálisis con que cuenta el Hospital Central Militar.

Agradecimientos

A las autoridades de la SEDENA, Hospital Central Militar, por su apoyo en la financiación y realización del presente trabajo de Investigación, así como al Dr. Ignacio Martínez Calva, Ricardo Mendiola y demás personal médico y de enfermería de la Subsección de Hemodiálisis del mismo nosocomio por su apoyo y colaboración en la realización del presente trabajo.

Referencias

1. Hausinger D. *Biochemical J* 1996; 313: 697-710.
2. Gimsa J, Schnelle Th, Zechel G, Glaser R. Dielectric spectroscopy of human erythrocytes investigations under the influence of nystatin. *Biophysical J* 1994; 66: 1244-53.
3. Gotch FA, Sargent JA, Keen ML. Whither goest Kt/V?. *Kidney International* 2000; 58(Suppl. 76): S3-S18.
4. Gotch FA, Sargent JA. Mathematic modelling of dialysis therapy. *Kidney International* 1980; 18(Suppl. 10): S2-S10.
5. Valtek Diagnostics. Reactivos para determinación de urea en suero, plasma y otros fluidos biológicos, Santiago de Chile: 2003.