

# EVALUACION DE LA CIRCULACION CAPILAR DE PARTICULAS DEFORMABLES CON UN EQUIPO DE FILTRACION COMPUTARIZADO CON LECTURA FOTOMETRICA

R.J.Rasia\*, G.E.Schütz, B.D.Riquelme\*\*,

Grupo de Optica Aplicada, Instituto de Física Rosario (IFIR),

Universidad Nacional de Rosario y CONICET, Bv. 27 de Febrero 210 bis, 2000 Rosario.

Para poder cumplir con sus funciones de intercambio gaseoso, los glóbulos rojos (GR) deben circular, frecuentemente, por capilares de diámetro inferior al propio. Esto les obliga a soportar fuertes deformaciones y a realizar movimientos característicos *tank-treading motion*<sup>1</sup> lo cual les ayuda a circular por conductos tan estrechos como los capilares periféricos y los portales esplénicos. Se presenta en este trabajo un dispositivo, automático y computarizado de filtración desarrollado para verificar la capacidad de microcirculación de los glóbulos rojos y establecer diferencias entre el comportamiento normal y el patológico. El sistema de adquisición de datos (volúmenes residuales no filtrados) es fotométrico.

## INTRODUCCION

El método de filtración desarrollado en este trabajo pretende destacar la influencia que tienen las propiedades reológicas de los glóbulos rojos (GR) sobre su comportamiento en la circulación capilar. La técnica de filtración, en sus diferentes versiones<sup>2,3</sup>, es una técnica reométrica de las denominadas indirectas, utilizada para determinar la deformabilidad de los GR. Para analizar aquel comportamiento, se utilizó, a diferencia de otras técnicas de filtración, filtros de papel de celulosa de filtrado rápido (tipo S & S 589 - banda negra) con microporos equivalentes de  $25 \pm 5 \mu\text{m}$  de diámetro aparente y  $250 \pm 50 \mu\text{m}$  de longitud. La suspensión de GR, previamente lavados, destinada a filtrar fue ajustada a un hematocrito (Hto) de  $95 \pm 2 \%$  en medio de solución fisiológica. Con esta técnica se intenta hallar un parámetro que, desde el punto de vista clínico, pueda correlacionarse con la capacidad de microcirculación eritrocitaria *in vivo*.

## FUNDAMENTO FISICO-MATEMATICO

En esta técnica se utilizan filtros de papel celulosa, de poros mayores que las dimensiones de los GR, los cuales, en suspensiones de concentración superior al 90%, deben atravesar la membrana fil-

trante por acción de la presión hidrostática generada por el peso de las células (columna de 30 mm). Suponemos que el volumen de GR que deberá circular por un poro elemental del filtro está contenido en un cono invertido de  $30^\circ$  de ángulo con el vértice ubicado en la entrada del poro. La altura  $h(t)$ , y el volumen  $V(t)$ , del fluido contenido en ese cono irán disminuyendo a medida que el fluido atraviese el filtro

$$h(t) = h_0 \cdot \exp(-\alpha t/3)$$

$$V(t) = V_0 - V_f(t) = h^3(t) \cdot \pi/9$$

donde  $V_0$  es el volumen inicial ( $t=0$ ), y  $V_f(t) = V_0 \cdot (1 - e^{-\alpha t})$  es el volumen filtrado, siendo  $\alpha = 2K\rho g$ , donde  $\rho$  es la densidad del fluido y  $g$  es la aceleración gravitatoria. Si el filtro tiene  $N$  poros en toda su superficie, el caudal filtrado a través de un poro elemental será:

$$q(t) = (1/N) \cdot (dV_f(t) / dt) = (\alpha \cdot V_0 \cdot e^{-\alpha t}) / N$$

La presión de filtrado también variará en el tiempo

$$p(t) = \rho \cdot g \cdot h(t) = \rho \cdot g \cdot h_0 \cdot \exp(-\alpha t/3)$$

Introduciendo  $q(t)$  y  $p(t)$  en la expresión de la ley de Poiseuille

$$\eta = \frac{\pi \cdot R^4}{8L} \frac{p(t)}{q(t)} = \frac{\pi \cdot R^4}{8L} \cdot N \cdot \frac{h_0}{2 V_0} \cdot \frac{1}{K} \cdot \exp(2\alpha t/3)$$

\* Investigador CONICET

\*\* Becario CONICET

Lo cual indica que la viscosidad depende del parámetro K y varía exponencialmente con el tiempo. Esto es esperable puesto que se trata de un fluido estructural cuya viscosidad es función de la velocidad de deformación. En efecto, a bajas velocidades de corte la carga eléctrica superficial de los GR y la presencia de macromoléculas introducen efectos electroviscosos y agregación que modifican los valores de  $\eta$ . Se ha demostrado<sup>4</sup> además, que las técnicas de filtrado seleccionan las poblaciones, priorizando el filtrado de las células con mayor velocidad de deformación (menor tiempo de retardo) dejando las más lentas para el final, lo cual es otra justificación de la dependencia de la viscosidad con el tiempo. Para simplificar el procesamiento, consideramos la viscosidad constante e igual al promedio  $\bar{\eta}$  de la muestra

$$\bar{\eta} = \frac{\pi \cdot R^4}{8L} \cdot N \cdot \frac{h_0}{2V_0} \cdot \frac{1}{K} =$$

$$= \left( \frac{\pi \cdot R^4}{8L} \cdot N \cdot \frac{h_0}{2V_0} \cdot 2\rho g t \right) / \ln \left( \frac{V_0}{V(t)} \right)$$

siendo

$$K = - \ln \left( \frac{V(t)}{V_0} \right) / 2\rho g t$$

Trazando el gráfico de V(t) en función del tiempo, en coordenadas semilogarítmicas, obtenemos una recta cuya pendiente es proporcional al valor de K, y por lo tanto, inversamente proporcional a la viscosidad promedio  $\bar{\eta}$ .

#### MONTAJE EXPERIMENTAL

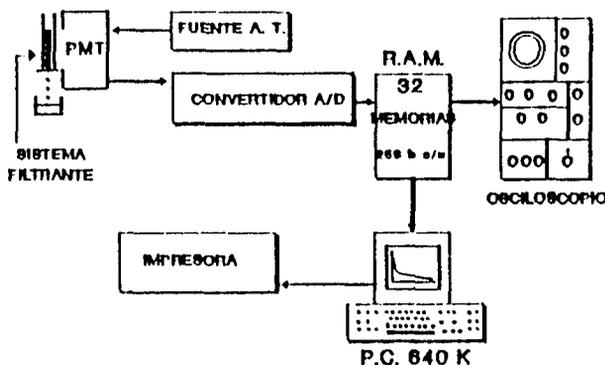


Figura 1: Esquema del Filtrómetro.

Las determinaciones experimentales fueron

obtenidas utilizando un modelo de filtrómetro desarrollado en nuestro laboratorio (Fig. 1)

El dispositivo consiste de una jeringa plástica de 10 ml en cuya base se fija un portafiltro. La columna fluida contenida en la jeringa (suspensión de GR al 95±2 %) obtura la entrada de luz proveniente de una fuente estabilizada. A medida que la suspensión atraviesa el fitro aumenta la cantidad de luz que llega al fotodetector, a través de una ranura vertical practicada en la cámara en que está instalado, de manera que la señal de salida, es proporcional en cada instante al volumen filtrado. Esta seña es digitalizada y almacenada en una de las 32 memorias instaladas en el conversor A/D. Durante los 50 minutos que dura un experimento, se realiza un registro fotométrico automático cada 12 segundos. Los 256 datos un experimento, almacenados en una memoria, pueden ser enviados a un osciloscopio para reproducir la curva, o a una PC para ser transferidos a *diskette* y procesados.

#### RESULTADOS Y CONCLUSIONES

Esta nueva técnica de filtrado fue aplicada para la evaluación del comportamiento reológico de la sangre de pacientes adultos que padecen diabetes tipo I (insulino-dependientes). Se establecen además, las diferencias con un control normal (C). Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 1 y las curvas de filtración correspondientes se ven en la Fig. 2. Un dato importante es el valor final V(t)/V<sub>0</sub> para el cual, se supone que se ha producido la oclusión de los poros del filtro.

Los pacientes diabéticos tienen alterados ciertos

MUESTRA	$\delta$	$\eta$	AGREGACION
1	0.743 ± 0.037	12.75 cP	+
2	0.693 ± 0.020	9.81 cP	+
C	0.691 ± 0.014	6.87 cP	-

TABLA I: Diferencias en el comportamiento reológico de la sangre: diabéticos insulino-dependientes (1 y 2, normales C)

parámetros reológicos como la viscosidad sanguínea y la deformabilidad eritrocitaria. Además los GR del diabético tienen mayor tendencia a la gregación (el fenómeno de agregación eritrocitaria

es la asociación espontánea de los GR formando

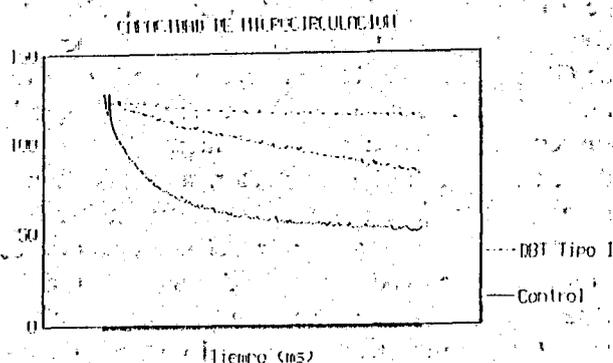


Figura 2: Capacidad de Microcirculación.

agrupamientos celulares de gran tamaño), lo cual incrementa la viscosidad sanguínea y dificulta el ingreso de los GR a la microcirculación. La Fig. 3 muestra la evolución de un proceso de agregación, obtenida mediante el registro de intensidades lumínicas provenientes de la difracción laser producida por una suspensión de GR que se van agregando espontáneamente. Los resultados muestran que los pacientes analizados tienen el valor de  $\bar{n}$  significativamente mayor que el control normal. Analizando, con técnicas difractométricas <sup>5</sup>, la deformabilidad de los GR ( $\delta$ ) y su grado de agregabilidad, podemos deducir que este último es el factor responsable de la escasa capacidad de filtración que muestran los GR de los pacientes diabéticos, en comparación con los GR del control normal:

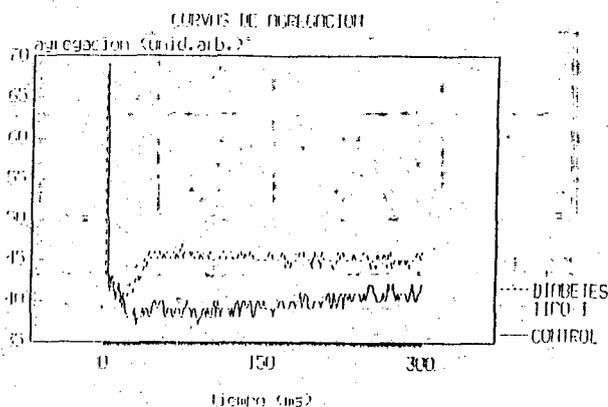


Figura 3: Curvas de agregación.

Con esta técnica, extremadamente simple y de bajo costo, se determina la velocidad de flujo a través del filtro, demostrándose que es equivalente a una determinación polimicroviscométrica, realizada dentro de rangos de tensiones cortantes de considerable importancia fisiopatológica. El análisis demuestra, además, que no se requiere la regularidad geométrica de los poros del filtro para obtener resultados experimentales válidos y clínicamente relevantes. Valores anormales de los parámetros analizados pueden deberse a 1) valores alterados de las propiedades reológicas de los GR, 2) tendencia anormal a la agregación, 3) desórdenes en la capacidad de movimiento *tank-treading* de los GR en circulación. Los resultados se correlacionan con una discapacidad en la microcirculación y con las propiedades masivas de las células.

#### REFERENCIAS

1. Fischer T., Stör-Liesen M., Schmid-Schönbein H. Science 202, 894-896, 1978
2. Nash, G. B. Clinical Hemorheology 10, 353-362, 1990
3. Teitel P., Mussler K., Proc. of Congress on Microcirculation and Ischemia Vascular Diseases. Munich (FRG) Nov. 28,29-1980. Eds. Messmer 85-101, 1981.
4. García Rosasco M., Porta R., Rasia R. J. Clinical Hemorheology 9, 1023-1028, 1989
5. Rasia, R. J., Porta P. E., Review of Scientific Instruments, 57, 1, 33-35, 1986.o