



UNIVERSITAT^{DE}
BARCELONA

Viscosimetría sanguínea, valores de referencia y diversas alteraciones patológicas

Javier Fuentes Arderiu



Aquesta tesi doctoral està subjecta a la llicència **Reconeixement 4.0. Espanya de Creative Commons.**

Esta tesis doctoral está sujeta a la licencia **Reconocimiento 4.0. España de Creative Commons.**

This doctoral thesis is licensed under the **Creative Commons Attribution 4.0. Spain License.**

UNIVERSIDAD DE BARCELONA

FACULTAD DE FARMACIA

VISCOSIMETRIA SANGUINEA, VALORES DE REFERENCIA

Y DIVERSAS ALTERACIONES PATOLOGICAS

Tesis presentada por el Ldo. Don
Javier Fuentes Arderiu, para optar
al grado de Doctor en Farmacia.

Dirigida por el Profesor Don Antonio
Torralba Rodríguez, Catedrático de
Fisiología Animal Aplicada.

BIBLIOTECA DE LA UNIVERSITAT DE BARCELONA



0700083834

Barcelona, 1978

A mis maestros el Dr. D. Francisco
Pulido Cuchí y Dña. Rosa M^a Fisas
Graupera.

Deseo expresar mi agradecimiento,

- al Dr. D. Antonio Torralba, director de la presente Tesis, por su apoyo y excelente labor crítica;
- a la Dra. Dña. Carmen Ferrán, Jefe del Servicio de Hematología y Hemoterapia de la Ciudad Sanitaria "Príncipes de España", y a todo su equipo por las facilidades y colaboración prestadas en toda la parte experimental del trabajo;
- a Dña. M^a Angeles Durany, por su ayuda en las determinaciones viscosimétricas;
- a Dña. M^a Cruz Lizuain, que me preparó un gran número de programas de computadora para el cálculo estadístico;
- a D. Angel Paz, que desinteresadamente me ha ayudado en la realización gráfica;
- a mi esposa, a mis padres y a los amigos y compañeros que me han alentado y estimulado a lo largo de la evolución de esta Tesis.

INDICE

	<u>Págs.</u>
1.- INTRODUCCION	1
2.- PARTE TEORICA	4
2.1.- REOLOGIA DE LIQUIDOS	5
2.1.1.- Concepto de viscosidad. Líquidos newtonianos	5
2.1.2.- Influencia de la temperatura sobre la viscosidad	13
2.1.3.- Líquidos no-newtonianos. Viscosidad aparente y viscosidad diferencial ..	14
2.1.3.1.- Líquidos con comportamiento "shear thinning"	18
2.1.3.2.- Modelo reológico de CASSON .	19
2.1.3.3.- Comportamiento reológico "shear thickening"	23
2.1.3.4.- Tixotropía	25
2.1.3.5.- Reopexia y tixotropía-reope- xia	27
2.1.3.6.- Líquidos viscoelásticos	29
2.2.- HEMORREOLOGIA	31
2.2.1.- Comportamiento reológico de la san- gre	31
2.2.2.- Caracterización del comportamiento "shear thinning" de la sangre: rela- ción entre $\dot{\gamma}$ y τ	33

	<u>Págs.</u>
2.2.3.- Tixotropía sanguínea	35
2.2.4.- Umbral de fluencia sanguíneo	36
2.2.5.- Factores no vasculares determinantes del comportamiento reológico de la sangre	37
2.2.5.1. Comportamiento reológico del plasma sanguíneo	44
2.2.5.2.- Variación de la viscosidad apa rente de la sangre en función del hematocrito	46
2.2.5.3.- Reología del eritrocito: defor mabilidad eritrocitaria	48
2.2.5.4.- Agregabilidad eritrocitaria ..	51
2.2.6.- Reología de la circulación sanguínea .	53
2.2.6.1.- Fenómeno de FAHRAEUS-LINDQVIST	53
2.2.6.2.- Fenómeno de inversión	54
2.2.6.3.- Separación del plasma ("plasma skimming")	54
3.- MATERIAL Y METODOS	56
3.1.- PACIENTES ESTUDIADOS	57
3.1.1.- Grupo de referencia	57
3.1.2.- Grupo patológico	58
3.2.- OBTENCION DE LAS MUESTRAS	61
3.3.- DETERMINACION DE LOS PARAMETROS REOLOGICOS .	64
3.3.1.- Descripción del viscosímetro	64
3.3.2.- Técnica operatoria	67

	<u>Págs.</u>
3.3.3.- Cálculo de los parámetros reológicos ...	69
3.3.3.1.- Cálculo de la viscosidad aparente a 225 s^{-1}	69
3.3.3.2.- Cálculo de la viscosidad de CASSON y de la tensión tangencial crítica o umbral de fluencia	71
3.4.- TECNICAS ANALITICAS EMPLEADAS PARA LA DETERMINACION DE PARAMETROS BIOQUIMICOS Y HEMATOLOGICOS	72
3.4.1.- Determinaciones bioquímicas	72
3.4.2.- Determinación de la velocidad de sedimentación globular (VSG)	76
3.4.3.- Contaje de eritrocitos y leucocitos, concentración de hemoglobina sanguínea e índices eritrocitarios	76
3.4.4.- Contaje diferencial de leucocitos	77
3.4.5.- Determinación del hematocrito	77
3.4.6.- Determinación del tiempo de protrombina	78
3.5.- TRATAMIENTO ESTADISTICO DE LOS RESULTADOS	78
3.5.1.- Presentación de los resultados experimentales	78
3.5.2.- Estudio de las curvas de distribución de frecuencias	79
3.5.2.1.- Prueba de normalidad según KOLMOGOROV	79
3.5.2.2.- Coeficiente de sesgo, coeficiente de curtosis y K de PEARSON ..	83

3.5.3.- Comparación de dos medias en grupos con datos independientes	84
3.5.3.1.- Prueba \underline{z} o de la distribución normal reducida en grupos con da tos independientes (muestras grandes)	85
3.5.3.2.- Comparación de una muestra a una población de media conocida (mues tras pequeñas)	86
3.5.3.3.- Prueba U de MANN-WHITNEY para com parar dos grupos con datos inde pendientes	87
3.5.4.- Prueba de la independencia (o relación) entre dos caracteres cuantitativos alea torios	89
4.- RESULTADOS	91
4.1.- MUESTRAS DE SANGRE Y PLASMA PROCEDENTES DEL GRUPO DE REFERENCIA	92
4.1.1.- Consideraciones previas	92
4.1.2.- Hematocrito	92
4.1.3.- Viscosidad aparente de la sangre a 225 s^{-1}	93
4.1.4.- Viscosidad del plasma a 225 s^{-1}	98
4.1.5.- Viscosidad de CASSON y umbral de fluencia de la sangre	98
4.1.6.- Viscosidad de CASSON y umbral de fluencia del plasma	104

4.1.7.- Estudio de las distribuciones de frecuencias	112
4.1.8.- Relación entre el hematocrito y los parámetros reológicos estudiados	115
4.1.9.- Valores de referencia de la viscosidad aparente a 225 s^{-1} y de la viscosidad de CASSON	118
4.1.10.-Variación de la viscosidad aparente y de la viscosidad de CASSON	123
4.2.- MUESTRAS DE SANGRE Y PLASMA PROCEDENTES DEL GRUPO PATOLOGICO	131
4.2.1.- Variación de la viscosidad aparente a 225 s^{-1} y de la viscosidad de CASSON ...	131
4.2.2.- Sensibilidad diagnóstica de la variación de la viscosidad aparente a 225 s^{-1} y de la variación de la viscosidad de CASSON .	134
5.- DISCUSION	138
6.- CONCLUSIONES	152
7.- BIBLIOGRAFIA	156

SIMBOLOS REOLOGICOS EMPLEADOS

$\dot{\gamma}$ = gradiente de velocidad.

η = viscosidad o coeficiente de viscosidad.

η' = viscosidad diferencial.

η_a = viscosidad aparente.

η_c = viscosidad de CASSON.

η_i = viscosidad interna.

η_p = viscosidad del plasma.

η_r = viscosidad relativa.

τ = tensión tangencial.

τ_0 = tensión tangencial crítica o umbral de fluencia.

SIMBOLOS ESTADISTICOS UTILIZADOS

- CV = coeficiente de varianza o de variación.
- f = frecuencia.
- K = constante de PEARSON.
- N = tamaño de una muestra.
- r = coeficiente de correlación.
- r^2 = coeficiente de determinación.
- s = desviación estándar de una muestra.
- s^2 = varianza de una muestra.
- t = variable aleatoria que sigue una distribución de STUDENT-FISHER.
- U = variable aleatoria de MANN-WHITNEY.
- \bar{x} = media de una muestra.
- z = variable aleatoria que sigue una distribución normal reducida.
- α = riesgo de primer género.
- β_1 = coeficiente de sesgo.
- β_2 = coeficiente de curtosis.
- μ = media de una población.
- v = grados de libertad.
- σ = desviación estándar de una población.

1. INTRODUCCION

La Reología es la parte de la Física que estudia la deformación de la materia, incluido el flujo (53).

La Hemorreología es la parte de la Biofísica que estudia las propiedades reológicas de la sangre, de sus componentes y de los vasos sanguíneos (44, 117).

La velocidad de sedimentación globular (V.S.G.) es el único parámetro hemorreológico que, desde su introducción por FAHRAEUS en 1921 y pese a su inespecificidad, se determina rutinariamente en todos los laboratorios clínicos. No ha sucedido lo mismo con la determinación de la viscosidad de la sangre y del plasma, ya que después de alcanzar una cierta difusión, gracias a la comercialización del viscosímetro de HESS, esta prueba cayó en desuso debido fundamentalmente a las características del citado viscosímetro, que no permite una adecuada estandarización del método ni es lo suficientemente sensible para detectar pequeñas alteraciones de la viscosidad sanguínea o plasmática. Debido a esto, se pensó que la viscosidad de la sangre era un parámetro poco importante que sólo tenía interés en escasos estados patológicos tales como las poliglobulias y las paraproteinemias.

En la década 1960-1970 se reemprende el estudio de la viscosidad sanguínea gracias al desarrollo de los viscosímetros rotatorios creados inicialmente con fines industriales. Algunos autores como WELLS, MERRILL, SCOTT BLAIR, COPLEY o DINTENFASS

iniciaron el estudio del comportamiento reológico de la sangre con este tipo de viscosímetros, tanto en individuos sanos como en diversos tipos de estados patológicos.

El resultado de los trabajos hemorreológicos realizados en los últimos veinte años ha abierto un nuevo campo de interés: la hemorreología clínica. En la actualidad están descritos numerosos estados patológicos en los que se dan elevaciones de la viscosidad de la sangre o del plasma. Incluso en los dos tipos de enfermedades que provocan la mayor parte de la mortalidad en la mayoría de países desarrollados (enfermedades cardiovasculares y cáncer), están implicados factores hemorreológicos, cuyo estudio podría contribuir al mejor conocimiento de las mismas.

En la presente Tesis, se ha realizado un estudio de la viscosidad aparente a 225 s^{-1} y de la viscosidad de CASSON de la sangre y del plasma, tanto en sujetos presumiblemente sanos como en diversos tipos de enfermos, con el fin de establecer los valores de referencia de estos parámetros y determinar las alteraciones de la viscosidad sanguínea en distintos estados patológicos. La característica diferencial del presente trabajo consiste en la aplicación de una metódica con la que se puede estudiar las variaciones de la viscosidad sanguínea en grupos heterogéneos en cuanto a sexo y hematocrito.

2. PARTE TEORICA

2.1. REOLOGIA DE LIQUIDOS (53, 104, 117, 132).

2.1.1. Concepto de viscosidad. Líquidos newtonianos.

Supongamos un líquido dividido en capas o estratos paralelos e infinitesimales, de superficie A , en cuya capa superior se aplica una fuerza tangencial F , mientras que la capa inferior permanece fija; como consecuencia la capa superior se desplaza con una velocidad dv , arrastrando en su movimiento a las capas que se encuentran entre ella y la capa fija, de modo que el líquido fluye con régimen laminar, esto es, las capas del líquido (o las líneas de flujo) se mantienen paralelas (fig. 1).

La fuerza tangencial aplicada por unidad de superficie se conoce como tensión tangencial ("shear stress") y se representa por τ :

$$\tau = \frac{F}{A} = \frac{MLT^{-2}}{L^2} = \frac{\text{dinas}}{\text{cm}^2} \quad (\text{en el sistema CGS})$$

El efecto deformante por el cual se consigue el flujo de un líquido al aplicarle una tensión tangencial, se denomina cizallamiento o cizalladura ("shear").

El cociente entre dv y dx se conoce como gradiente de velocidad ("shear rate") y se representa por $\dot{\gamma}$:

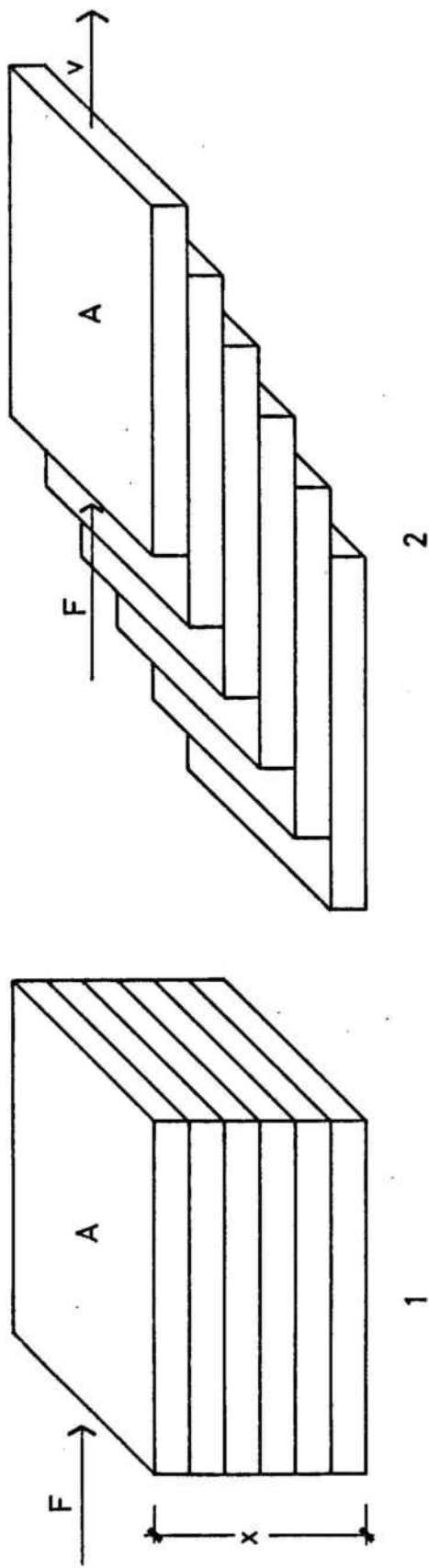


FIGURA 1: 1) Líquido dividido en capas o estratos paralelos infinitesimales.
 2) Efecto de la aplicación de una fuerza tangencial (F) sobre la capa superior mientras la inferior se mantiene fija.

$$\dot{\gamma} = \frac{dv}{dr} = \frac{LT^{-1}}{L} = S^{-1} \quad (\text{en todos los sistemas})$$

A medida que aumenta la tensión tangencial aplicada, el gradiente de velocidad varía de forma que a cada tensión tangencial le corresponde un gradiente de velocidad tal que:

$$\eta = \frac{\tau}{\dot{\gamma}}$$

La constante de proporcionalidad η es el coeficiente de viscosidad o viscosidad. La viscosidad depende de la naturaleza del líquido y representa la resistencia por fricción que ofrecen al flujo los estratos infinitesimales de un líquido. La unidad de viscosidad es el poise (en honor a POISEUILLE, aunque corrientemente se utiliza el centipoise (cP) que es la entésima parte de un poise:

$$\eta = \frac{\tau}{\dot{\gamma}} = \frac{ML^{-1} T^{-2}}{T^{-1}} = ML^{-1} T^{-1}$$

La viscosidad así definida se conoce también por viscosidad absoluta o viscosidad dinámica. Otra forma de expresión es la viscosidad cinemática, que se define como el cociente entre la viscosidad absoluta y la densidad de un líquido. La unidad más difundida es el centistoke.

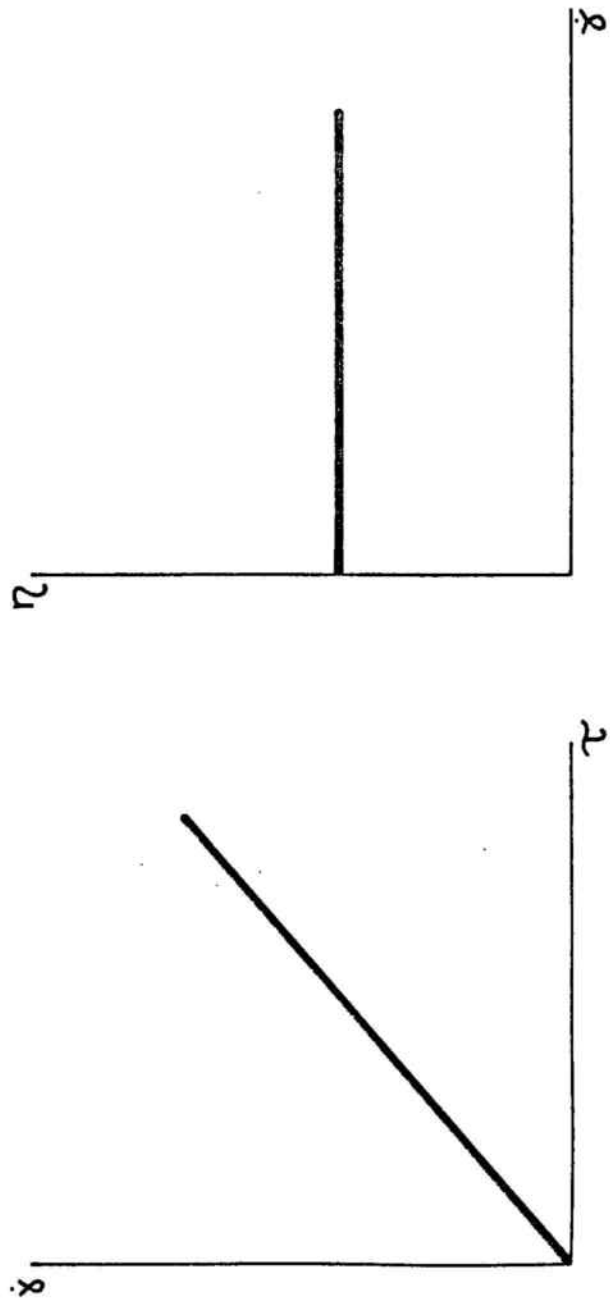


FIGURA 2: Reograma característico de los líquidos newtonianos.

El recíproco de la viscosidad absoluta se conoce como fluidez, Φ , y su unidad es el rhe:

$$\Phi = 1/\eta$$

La relación $\eta = \tau / \dot{\gamma}$ constituye la ley de Newton, y todos los líquidos que la cumplen forman el grupo de los llamados líquidos newtonianos. La característica gráfica de los líquidos newtonianos es que sus reogramas (gráficas en las que se relacionan $\dot{\gamma}$ y τ o $\eta \dot{\gamma}$) dan líneas rectas (fig. 2).

Suponiendo ahora que el líquido fluye a través de un tubo cilíndrico, se le puede considerar formado por una serie de capas concéntricas separadas entre sí por una distancia dr (fig. 3.1). Debido a la fricción que las capas experimentan entre sí y las paredes del tubo, aparecen distintas velocidades de flujo para cada capa; en el centro del tubo la velocidad es máxima, mientras que la capa que está en contacto con la pared posee la mínima velocidad (fig. 3.2).

Para que un líquido fluya por el interior de un tubo cilíndrico se requiere una fuerza F (fig. 3.3) tal que:

$$F = \eta A \frac{dv}{dr} = \eta 2 \pi r l \frac{dv}{dr} \quad \{1\}$$

donde: η = viscosidad

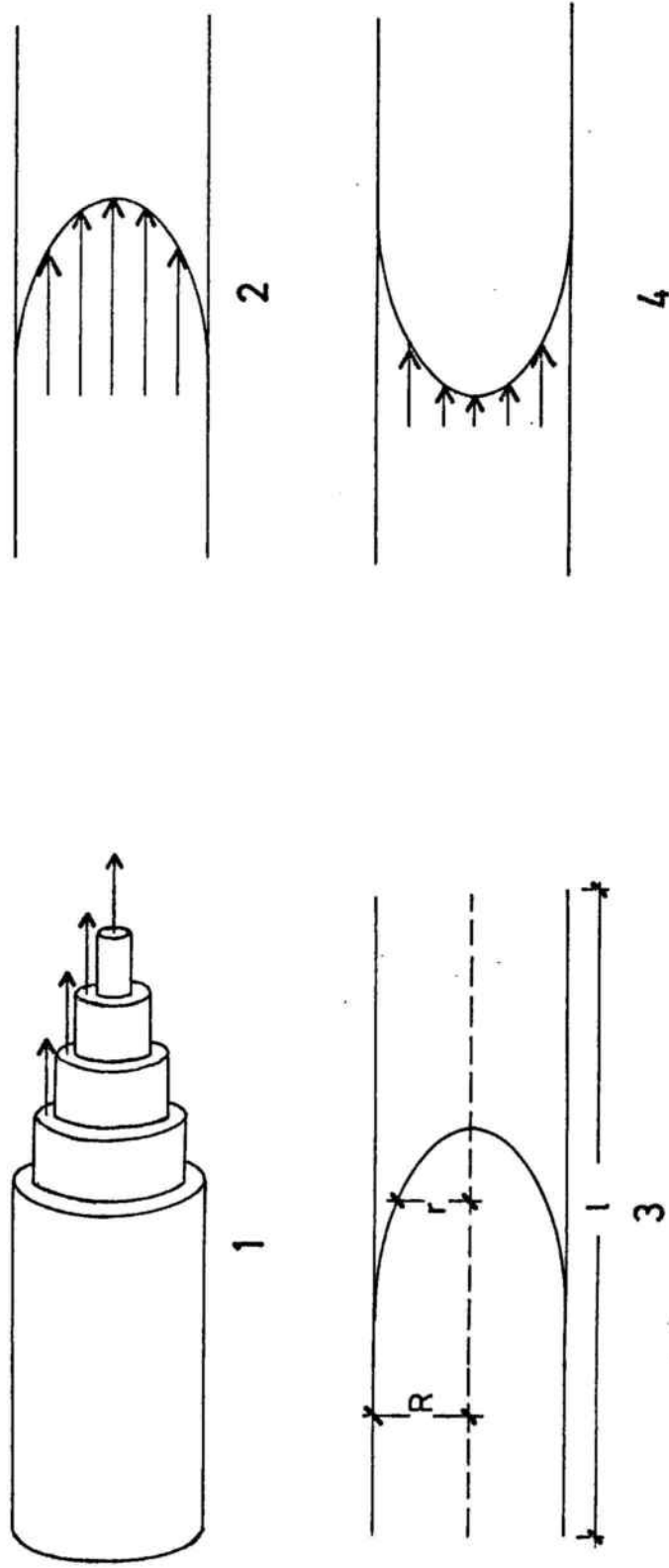


FIGURA 3: 1) Capas infinitesimales de líquido fluyendo a través de un tubo cilíndrico.
 2) Perfil de velocidades de flujo.
 3) Flujo a través de un tubo cilíndrico.
 4) Perfil de gradientes de velocidad.

A = superficie por donde se desplaza el líquido
 dv = diferencia de velocidad entre dos capas
 dr = distancia entre dos capas
 r = radio de la sección del cilindro
 l = longitud del tubo cilíndrico

F/A es la tensión tangencial y dv/dr es el gradiente de velocidad. El perfil del gradiente de velocidad es el inverso del de la velocidad de flujo (fig. 3.4). La resistencia por fricción que el líquido ofrece es una fuerza del mismo tipo que la {1}:

$$\text{resistencia por fricción} = \eta 2 \pi r l \left(- \frac{dv}{dr} \right)$$

Cuando la diferencia de presiones, P , en los extremos del tubo multiplicada por la superficie de la sección del mismo sea igual a la resistencia por fricción, el líquido fluirá con movimiento uniforme:

$$- \eta 2 \pi r l \frac{dv}{dr} = P (\pi r^2)$$

de donde:

$$dv = - \frac{P}{2 \eta l} r dr$$

Como la velocidad de las capas es creciente desde la pared hasta el centro del tubo, se tiene que:

$$\int_0^v dv = -\frac{P}{2\eta l} \int_R^r r dr$$

con lo que:

$$v = \frac{P}{4\eta l} (R^2 - r^2) \quad \{2\}$$

v es la velocidad de flujo de un segmento del líquido; la velocidad de un volumen de líquido será:

$$\begin{aligned} v &= \int_0^R 2\pi r v dv = \int_0^R 2\pi r \frac{P}{4\eta l} (R^2 - r^2) dr = \\ &= \frac{2\pi P}{4\eta l} \int_0^R (R^2 - r^2) r dr = \frac{\pi P}{2\eta l} \left[\int_0^R R^2 r dr - \int_0^R r^3 dr \right] = \\ &= \frac{\pi P R^2}{2\eta l} \left[\frac{r^2}{2} \right]_0^R - \frac{\pi P}{2\eta l} \left[\frac{r^4}{4} \right]_0^R = \frac{\pi P R^4}{4\eta l} - \frac{\pi P R^4}{8\eta l} = \\ &= \frac{\pi P R^4}{8\eta l} \quad \{3\} \end{aligned}$$

Esta ecuación es la ley de POISEUILLE-HAGEN para un líquido que fluye por un tubo capilar. Si se considera el volumen, V , de líquido que recorre una longitud l en un tiempo t , se tiene que:

$$V = \frac{\pi PR^4}{8\eta l} t \quad ; \quad \eta = \frac{\pi PR^4}{8l} \frac{t}{V} \quad \{4\}$$

Las aplicaciones de las ecuaciones {2}, {3} y {4} sólo son válidas cuando son líquidos newtonianos y el flujo es laminar (no turbulento). Para averiguar si el flujo es laminar o turbulento se puede utilizar, de forma orientativa, el número de Reynolds:

$$\text{n}^\circ \text{ de Reynolds} = \frac{d\bar{v}\rho}{\eta}$$

donde: d = diámetro del tubo

\bar{v} = velocidad media del líquido

ρ = densidad

η = viscosidad

Se considera que el flujo deja de ser laminar para un n° de Reynolds mayor de 2.000.

2.1.2. Influencia de la temperatura sobre la viscosidad.

Las moléculas de un líquido sufren atracciones intermoleculares debido a las fuerzas de VAN DER WAALS, LONDON o puentes de

hidrógeno. Cuando se ejerce una presión para que un líquido fluya se consume cierta energía, E, en romper las fuerzas de enlace mencionadas. Si se aumenta la temperatura la energía de las fuerzas enlazantes se hará menor, con lo que E disminuirá. Debido a ésto, al aumentar la temperatura la viscosidad disminuye. Esta variación en función de la temperatura viene dada por:

$$\eta = Ae^{E/RT}$$

donde: E = energía consumida en el flujo

R = constante de los gases

T = temperatura absoluta

A = constante que depende del peso molecular y del volumen molar del líquido.

2.1.3. Líquidos no-newtonianos. Viscosidad aparente y viscosidad diferencial.

Se denominan no-newtonianos aquellos líquidos en los que la razón $\tau/\dot{\gamma}$ no es constante cuando fluyen en régimen laminar, es decir, cuando no cumplen la ley de Newton.

Los tipos de desviaciones de la ley de Newton pueden clasificarse en cuatro grandes grupos:

A) El líquido cuando fluye se comporta de forma newtoniana, pero

para que empiece a fluir se debe aplicar una tensión tangencial que supere una resistencia estática. Esta tensión tangencial mínima para conseguir que el líquido fluya se conoce como tensión tangencial crítica o umbral de fluencia. Los líquidos que se comportan de esta forma se denominan plásticos de BINGHAM.

B) La relación entre τ y $\dot{\gamma}$ es una función no lineal, de tal forma que el cociente $\tau / \dot{\gamma}$ será mayor o menor que el correspondiente en un líquido newtoniano a medida que aumente τ ó $\dot{\gamma}$. En este grupo se encuentran los comportamientos "shear thinning" y "shear thickening" que se describirán más adelante. En muchas ocasiones a estas desviaciones se les suma la existencia de un umbral de fluencia.

C) $\dot{\gamma}$ no sólo es función (lineal ó no) de τ , sino que además es función del tiempo. Para una cierta tensión tangencial el cociente $\tau / \dot{\gamma}$ disminuye (tixotropía) o aumenta (reopexia) con el tiempo.

D) El líquido además de poseer un comportamiento viscoso, que puede ser newtoniano o no, posee un comportamiento elástico, de forma que su viscosidad, η^* , viene dada por:

$$\eta^* = \eta_1 + \eta_2$$

donde η_1 es el componente viscoso y η_2 es el componente elástico. Tales líquidos reciben el nombre de viscoelásticos.

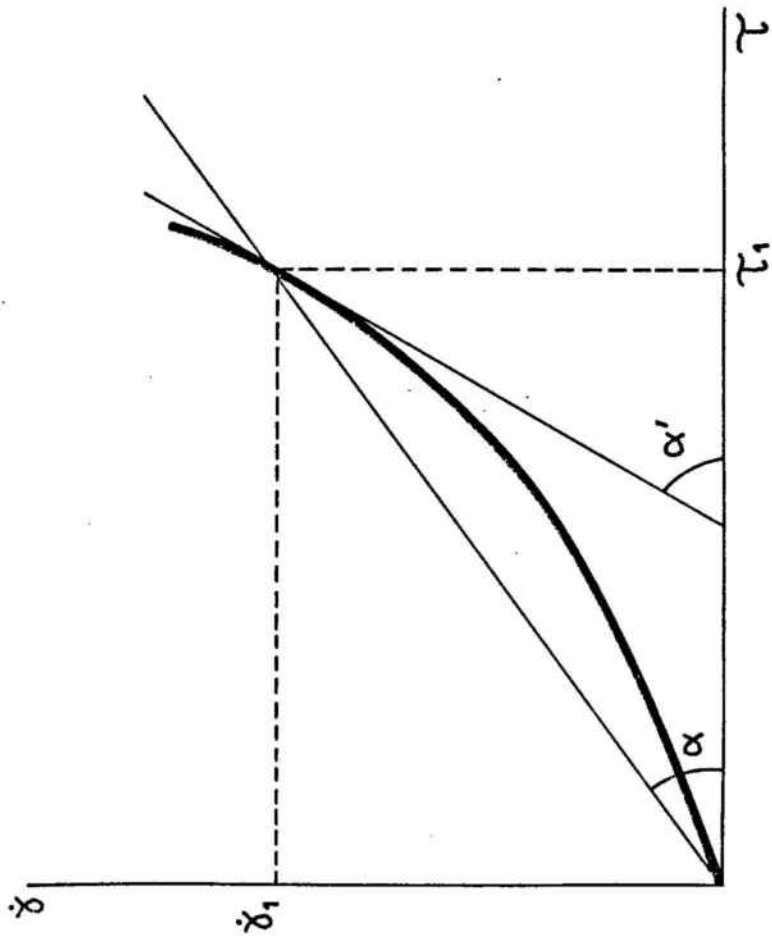
Puesto que en los líquidos no-newtonianos no existe una viscosidad constante y, por lo tanto, característica, para definirlos reológicamente se recurre a los reogramas y a los parámetros reológicos. Un reograma es la representación gráfica de la variación de $\dot{\gamma}$ con τ (o viceversa) o del cociente $\tau / \dot{\gamma}$ con $\dot{\gamma}$. En determinadas ocasiones los reogramas son curvas con ecuaciones perfectamente definidas y de estas curvas se pueden extraer parámetros que cuantifiquen el comportamiento reológico del líquido.

La viscosidad aparente, η_a , es el valor del cociente $\tau / \dot{\gamma}$ para un gradiente de velocidad determinado (y para un tiempo determinado si existe tixotropía o reopexia). Partiendo del reograma de la fig. 4, se puede determinar la viscosidad aparente, para un $\dot{\gamma}_1$ determinado, a partir del ángulo, α , que forma una recta que pasa por el origen y el punto del reograma correspondiente al valor de $\dot{\gamma}_1$:

$$\eta_a = \frac{1}{\operatorname{tg} \alpha}$$

Si en la misma figura se considera el ángulo, α' , formado por el eje de abscisas y una recta tangente a la curva en el punto $\dot{\gamma}_1$, se puede definir la viscosidad diferencial, η' , como:

$$\eta' = \frac{1}{\operatorname{tg} \alpha'}$$



$$\eta_a = \frac{1}{\operatorname{tg} \alpha} = \frac{\tau_1}{\dot{\gamma}_1}$$

$$\eta'_a = \frac{1}{\operatorname{tg} \alpha'} = \frac{d\tau}{d\dot{\gamma}}$$

FIGURA 4: Reograma de un líquido no newtoniano y representación gráfica de η_a y η'_a .

Desde el punto de vista del cálculo diferencial, la viscosidad diferencial es el cociente entre la primera derivada de τ y la primera derivada de $\dot{\gamma}$:

$$\eta' = \frac{d\tau}{d\dot{\gamma}}$$

La η' es, por lo tanto, la pendiente de la recta tangente al reograma en el punto $\dot{\gamma}_1$.

2.1.3.1. Líquidos con comportamiento "shear thinning".

El comportamiento "shear thinning" se caracteriza por una disminución del cociente $\tau / \dot{\gamma}$ o viscosidad aparente, a medida que aumenta τ , esto es, debido a la naturaleza del líquido, al aumentar τ se consigue un $\dot{\gamma}$ mayor que el que se alcanzaría si el líquido fuese newtoniano. Para comprender este comportamiento se puede considerar un líquido newtoniano que contiene moléculas en forma de varillas rígidas o macromoléculas en forma de hilo no rígidas. Si el líquido newtoniano fluye y en su seno hay moléculas en forma de varilla rígida, estas moléculas estarán sometidas a las tensiones a que esté sometido el líquido, con lo que se moverán rotacionalmente hasta orientarse paralelamente a las líneas de flujo. A esta orientación se opone el movimiento browniano, de forma que para cada τ existe un estado de equilibrio. A medida que la τ aumenta, las moléculas se disponen más paralelamente a las líneas de flujo y la fricción de las moléculas disminuye, con lo que disminuye

la viscosidad aparente. Si se considera que en un líquido newtoniano se hallan macromoléculas filiformes no rígidas, las tensiones del flujo provocan una orientación de las moléculas en dirección a las líneas de flujo, por un lado, y una expansión y desenredamiento de dichas moléculas por otro. Esta expansión de la molécula depende de su elasticidad y de la τ . Al orientarse las moléculas se desprende parte del disolvente que estaba absorbido o atrapado en ellas. La orientación, el desenredamiento y el desprendimiento del disolvente, que son dependientes de la τ , producen una disminución de la fricción interna y, por lo tanto, un aumento de $\dot{\gamma}$ y una disminución de la η_a . El comportamiento "shear thinning" puede finalizar por la aparición de otro tipo de comportamiento reológico (newtoniano o no) o porque se alcance el régimen turbulento a una τ determinada. No existe ninguna ecuación matemática que incluya todos los tipos de "shear thinning" posibles. El reograma típico de este tipo de comportamiento es el que se presenta en la figura 5.

2.1.3.2. Modelo reológico de CASSON.

Un líquido con comportamiento general tipo "shear thinning" puede poseer, además, un cierto umbral de fluencia, τ_0 , con lo que en este líquido no se inicia el flujo hasta que no se aplica una tensión tangencial determinada. Por debajo de esta tensión tangencial crítica, τ_0 , el líquido se deforma

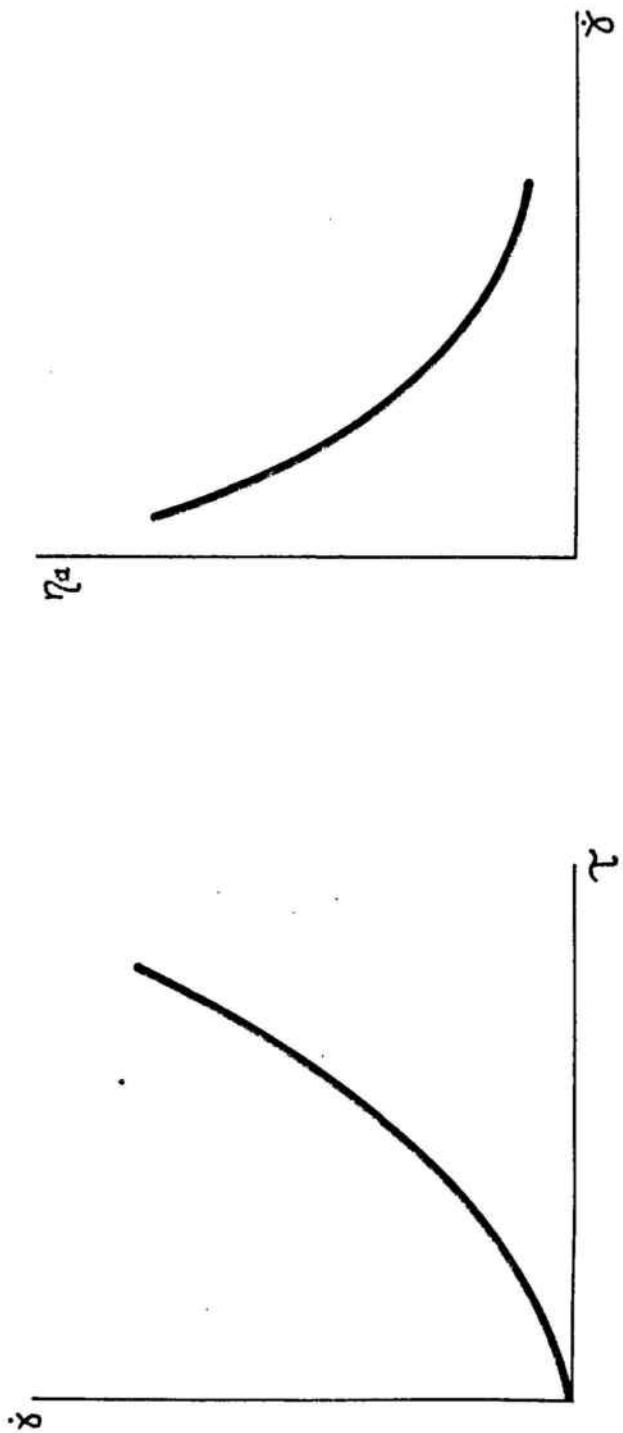


FIGURA 5: Reogramas típicos del comportamiento "shear thinning".

elásticamente sin llegar a fluir; una vez alcanzado y sobrepasado el valor de τ_0 , el líquido fluye con un comportamiento "shear thinning".

Un tipo determinado dentro de este comportamiento general fue descrito por CASSON en 1957 (16). Se conocen como líquidos de CASSON los que cumplen la ecuación del mismo nombre (fig. 6):

$$\dot{\gamma} = \frac{1}{\eta_c} (\sqrt{\tau} - \sqrt{\tau_0})^2$$

o lo que es lo mismo:

$$\sqrt{\tau} = \sqrt{\eta_c} \sqrt{\dot{\gamma}} + \sqrt{\tau_0}$$

siendo η_c la viscosidad de CASSON.

Derivando la ecuación anterior se obtiene:

$$d\tau = \left(\eta_c + \frac{\eta_c \tau_0}{\dot{\gamma}^{1/2}} \right) d\dot{\gamma}$$

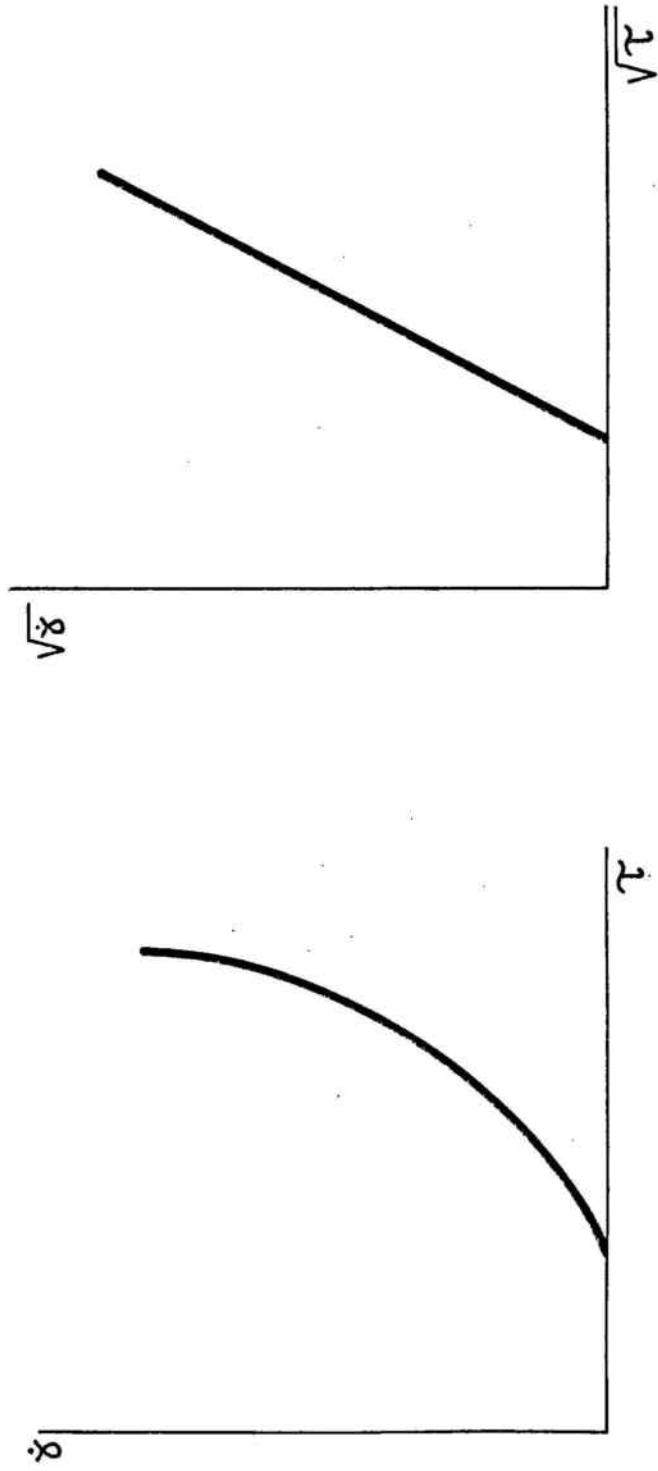


FIGURA 6: Reogramas típicos del comportamiento reológico de Casson.

de donde:

$$\frac{d\tau}{d\dot{\gamma}} = \eta_e + \frac{\eta_e^{1/2} \tau_o^{1/2}}{\dot{\gamma}^{1/2}} = \eta'$$

con lo que cuando $\dot{\gamma} = \infty$ la viscosidad diferencial coincide con la viscosidad de CASSON, y como la viscosidad diferencial para $\dot{\gamma} = \infty$ coincide también con el valor de la viscosidad de un líquido newtoniano cuyo reograma forma un ángulo igual al formado por la asíntota a la curva del líquido de CASSON, resulta que la viscosidad de CASSON se puede interpretar como la viscosidad aparente para $\dot{\gamma} = \infty$.

El valor de la τ_o indica el "grado de no newtonianidad" del líquido, puesto que, para una misma η_e , τ_o será tanto mayor cuanto mayor sea la diferencia existente entre las viscosidades aparentes medidas a distintos gradientes de velocidad.

2.1.3.3. Comportamiento reológico "shear thickening".

El comportamiento "shear thickening" se caracteriza por un aumento del cociente $\tau / \dot{\gamma}$ o viscosidad aparente, a medida que aumenta τ , esto es, debido a la naturaleza del líquido al aumentar τ se consigue un $\dot{\gamma}$ menor que el que se conseguiría si el líquido fuese newtoniano (fig. 7).

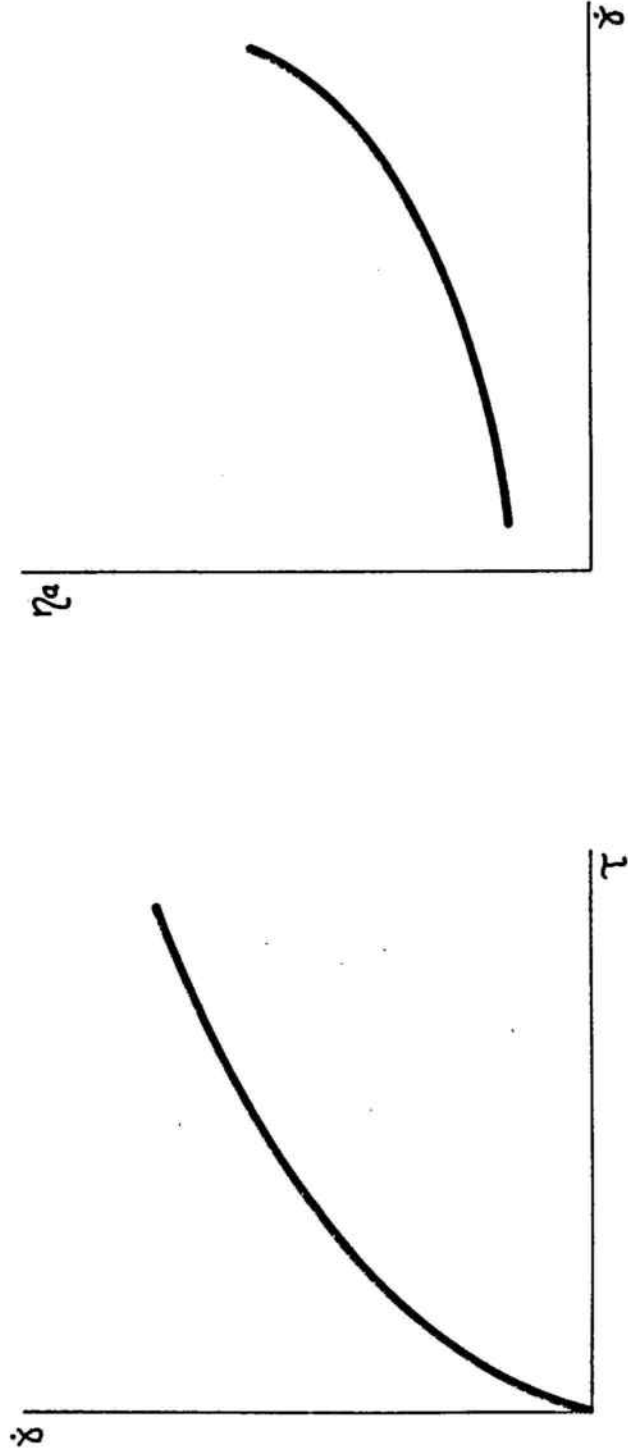


FIGURA 7: Reogramas típicos del comportamiento "shear thickening".

Las causas del comportamiento "shear thickening" no se conocen exactamente, aunque se supone pueda ser debido a la formación de estructuras o aumento de colisiones entre partículas dispersas.

Este comportamiento reológico es mucho menos frecuente que el "shear thinning".

2.1.3.4. Tixotropía.

La tixotropía es el fenómeno reológico por el que la viscosidad aparente disminuye en función del tiempo a un $\dot{\gamma}$ constante, volviendo al valor inicial después de un cierto tiempo de reposo.

El fenómeno tixotrópico puede presentarse en líquidos con comportamiento newtoniano, "shear thinning", "shear thickening" o en alguna combinación de éstos. La tixotropía se reconoce fácilmente si en el reograma aparece un ciclo de histéresis (fig. 8). El área del ciclo de histéresis es proporcional al grado de tixotropía: cuanto mayor es el área, mayor es la diferencia entre la η_a al iniciarse el flujo y la η_a después de un cierto tiempo de estar fluyendo, a una $\dot{\gamma}$ constante.

La tixotropía es debida a fenómenos de estructura orientada en el fluido por uniones entre partículas. La estructura orienen

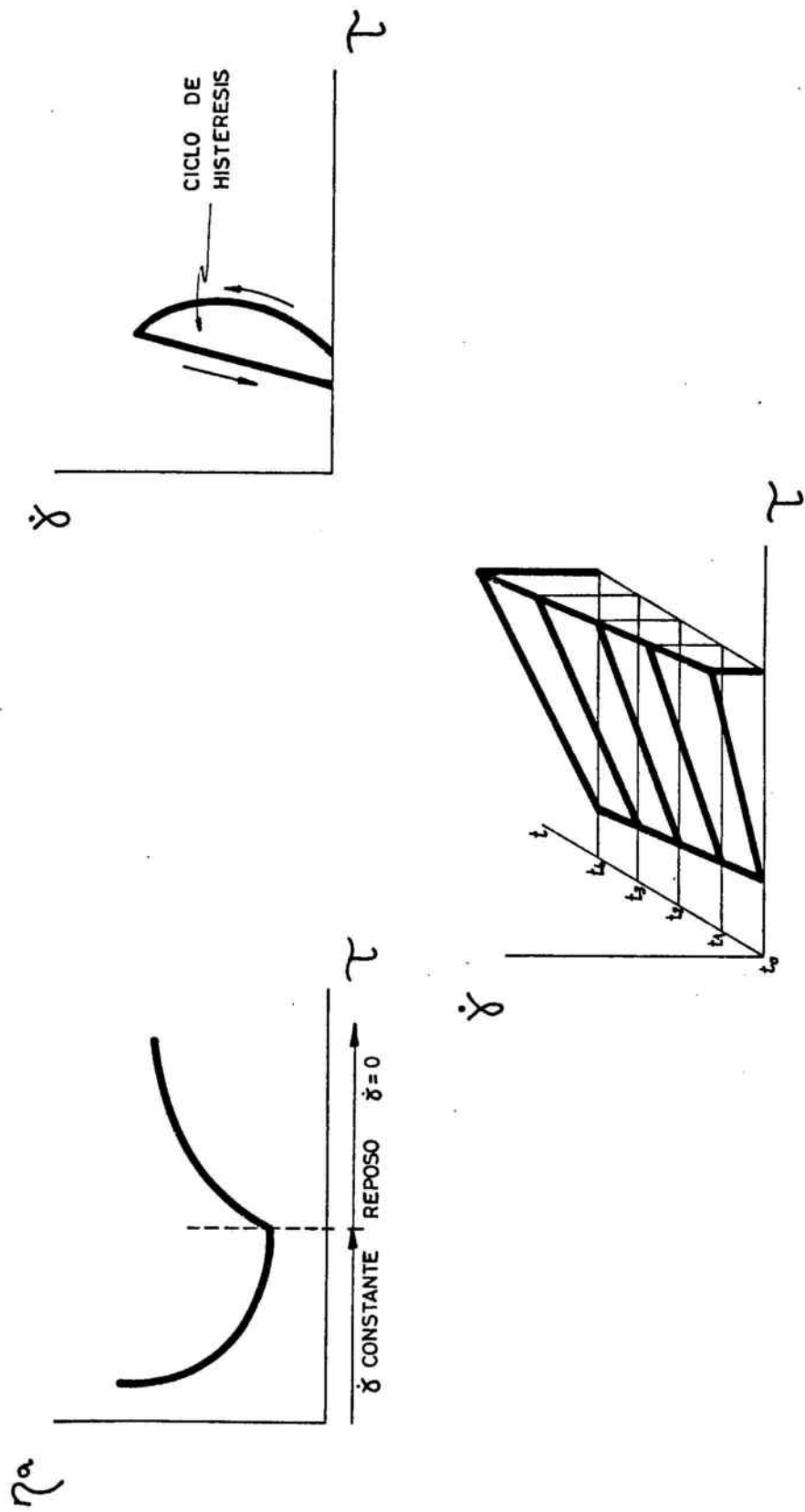


FIGURA 8 : Reogramas de la tixotropía .

tada se destruye por la acción mecánica de la tensión tangencial aplicada, puesto que la energía de unión de las partículas es débil. Por reposo se regenera la estructura. El tiempo necesario para alcanzar la estabilización de la viscosidad aparente, a un $\dot{\gamma}$ determinado, se conoce como tiempo de recuperación tixotrópica.

Cuando se produce una disminución de la η_a con el tiempo a un $\dot{\gamma}$ constante, pero no se recupera la estructura por reposo, el fenómeno no es tixotrópico y el efecto producido se denomina reodestrucción o reomalaxia.

2.1.3.5. Reopexia y tixotropía-reopexia.

La reopexia es el fenómeno por el cual se produce un aumento de la viscosidad aparente con el transcurso del tiempo a un $\dot{\gamma}$ constante (fig. 9).

En la tixotropía-reopexia la η_a varía en función de $\dot{\gamma}$ y t de forma que pasa de un comportamiento tixotrópico a un comportamiento reopéxico (fig. 9).

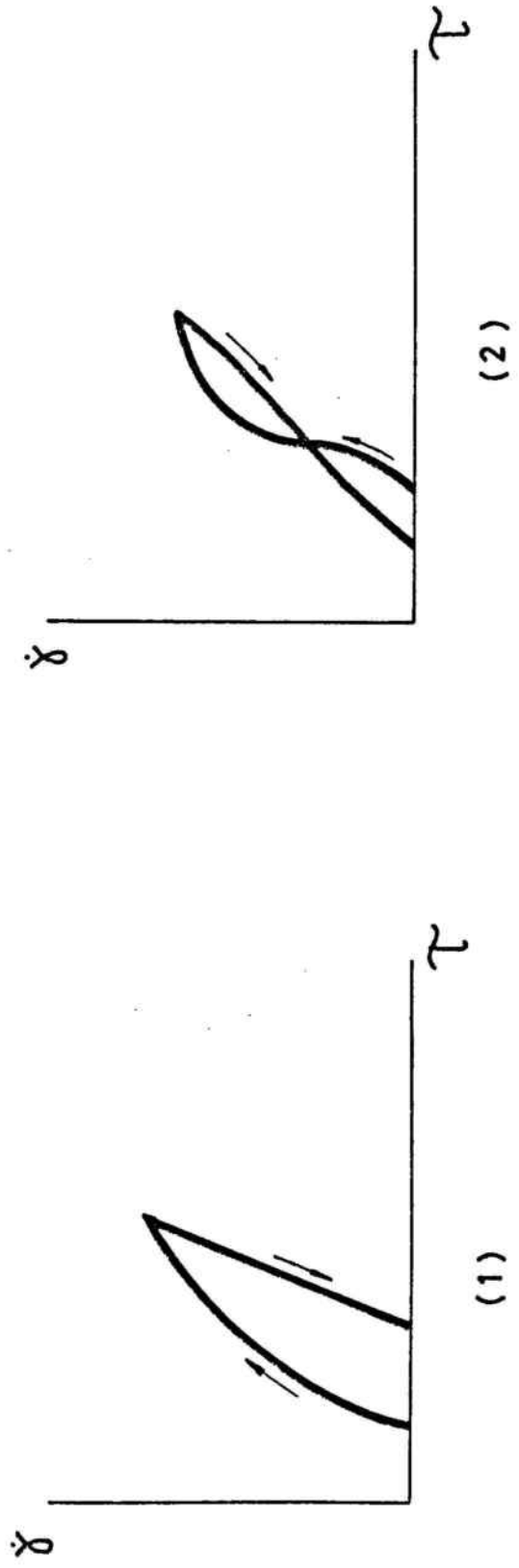
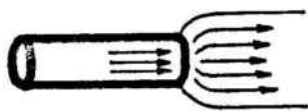
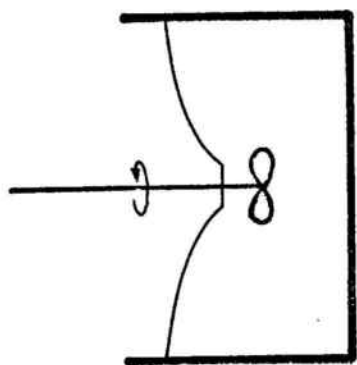
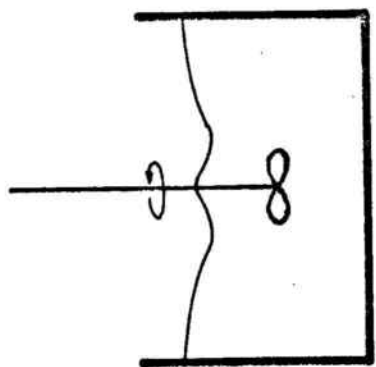


FIGURA 9: Reogramas básicos de la reopexia (1) y de la tixotropía - reopexia (2).

2.1.3.6. Líquidos viscoelásticos.

Los líquidos con comportamiento viscoelásticos poseen un componente elástico y otro viscoso simultáneamente. Cuando se aplica una tensión sobre este tipo de líquidos, el componente elástico absorbe parte de la energía aplicada, transformándola durante la deformación en energía potencial; cuando cesa la tensión externa la energía potencial se utiliza para volver al estado inicial no deformado. El componente viscoso absorbe el resto de la energía aplicada transformándola en calor y fluyendo.

En los líquidos viscoelásticos la energía potencial almacenada durante la deformación elástica da lugar a una tensión normal al plano de la deformación. Esta tensión normal es la responsable del efecto WEISSENBERG y del hinchamiento a la salida de un capilar que caracteriza a los líquidos viscoelásticos (fig. 10).



(2)



(1)

FIGURA 10: Efectos del comportamiento viscoelástico (2) comparados con un líquido no viscoelástico (1).

2.2. HEMORREOLOGIA.

2.2.1. Comportamiento reológico de la sangre.

Desde el punto de vista físico-químico, la sangre se puede considerar como una suspensión de partículas deformables (eritrocitos) en una solución de macromoléculas (plasma). Tanto los leucocitos y las plaquetas como las moléculas de bajo peso molecular tienen, en condiciones fisiológicas, una incidencia despreciable.

Fundamentalmente, la sangre se comporta desde el punto de vista reológico, como un líquido no-newtoniano del tipo "shear thinning" (19, 26, 36, 91, 126, 128, 131), significando que la viscosidad aparente decrece a medida que aumenta el gradiente de velocidad (fig. 11). Además, a bajos gradientes de velocidad, la sangre presenta tixotropía (44) debido al proceso de desmoronamiento reversible de los agregados eritrocitarios. Por otra parte, cuando se estudia el comportamiento reológico con viscosímetros capaces de producir un flujo oscilante, se observa un comportamiento visco-elástico (83).

El comportamiento "shear thinning" de la sangre posee importantes efectos en la circulación, puesto que existen diferentes gradientes de velocidad en los distintos tramos del aparato circulatorio. Por este motivo la sangre posee una mayor

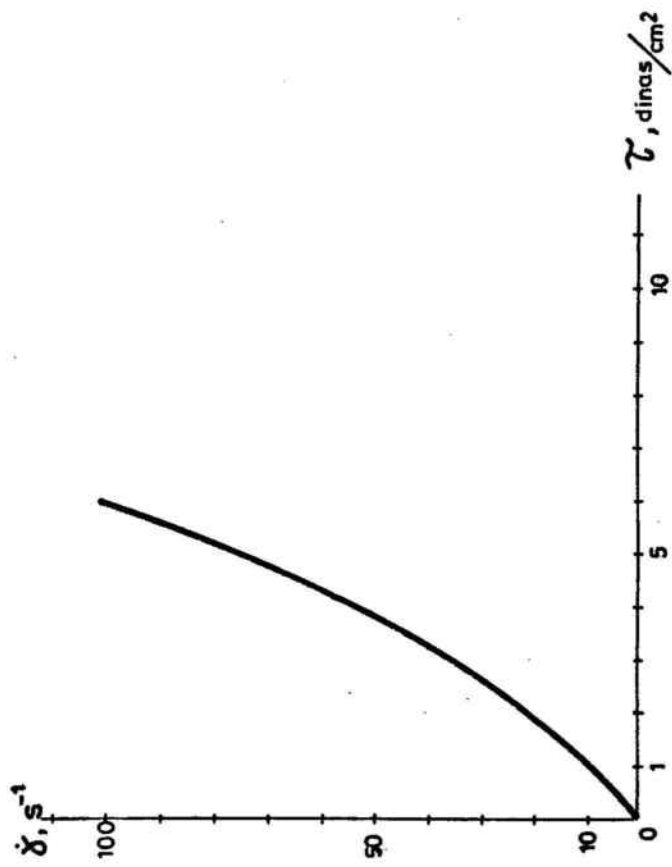


FIGURA 11: Comportamiento "shear thinning" de la sangre.

viscosidad aparente en la aorta, en la cual el gradiente de velocidad es de unos 80 s^{-1} que en los capilares, en los que el gradiente de velocidad es de unos 400 s^{-1} (44, 86). (Tabla I).

2.2.2. Caracterización del comportamiento "shear thinning" de la sangre: relación entre τ y $\dot{\gamma}$.

Hasta el momento no se ha aceptado de forma universal una ecuación que describa el comportamiento "shear thinning" de la sangre, a pesar de que son numerosas las ecuaciones propuestas. Tal vez las que mayor difusión han tenido, o tienen, son las siguientes:

- Modelo de CHARM y col. (23):

$$\tau = b \dot{\gamma}^s \quad ; \quad b, s = \text{constantes}$$

- Modelo de HERSCHEL y BULKLEY propuesto por SCOTT BLAIR (116):

$$\ln \eta_a = \ln (\tau - \tau_0) - a \ln \dot{\gamma} \quad ; \quad a = \text{constante}$$

- Modelo de WHITMORE (131):

$$\sqrt{\frac{\tau}{\eta_p}} = 1,53 \sqrt{\dot{\gamma}} + 2 \quad ; \quad \eta_p = \text{viscosidad del plasma.}$$

- Modelo de CASSON (23, 94, 115, 123):

$$\sqrt{\tau} = \sqrt{\eta_c} \sqrt{\dot{\gamma}} + \sqrt{\tau_0}$$

T A B L A I

Vaso Sanguíneo	Radio, cm	Velocidad de flujo, cm/s	Gradiente de velocidad, s ⁻¹
Aorta	< 2	< 100	0 - 190
Arteria intestinal	0,0068	5,8	0 - 500
Capilares	0,0004	0,04	0 - 1000
Vena cava	2	< 30	0 - 30
Venas intestinales	0,0138	1,4	0 - 100
Venas submucosas	0,064	0,5	0 - 200

Radio, velocidades de flujo y gradientes de velocidad en algunos vasos sanguíneos (valores aproximados). Según DINTENFASS (44).

2.2.3. Tixotropía sanguínea.

La sangre no sólo presenta un comportamiento reológico "shear thinning" sino que además presenta tixotropía (44), la cual se pone de manifiesto sólo a bajos gradientes de velocidad. La tixotropía sanguínea se debe a que el proceso de agregación y desagregación de los eritrocitos, bajo un gradiente de velocidad, requiere un cierto tiempo para producirse, con lo cual se requiere un tiempo determinado para alcanzar un estado de equilibrio a un gradiente de velocidad determinado.

La dependencia del tiempo de la viscosidad sanguínea no se manifiesta a altos gradientes de velocidad, pero es apreciable por debajo de 1 s^{-1} , esto es, el tiempo necesario para alcanzar el equilibrio entre los gradientes de velocidad $0,01$ y 1 s^{-1} (recuperación tixotrópica) oscila entre 20 y 200 s .

Considerando la tixotropía sanguínea se puede concluir que la sangre (bajo condiciones circulatorias normales) no está casi nunca en estado de equilibrio de viscosidad, ya que no se recupera completamente de un gradiente de velocidad a otro, a no ser que el flujo sanguíneo sea muy lento o que se produzca una éstasis en la entrada de un capilar.

2.2.4. Umbral de fluencia sanguínea.

El umbral de fluencia o tensión tangencial crítica, τ_0 , es la tensión tangencial mínima que se debe aplicar para que se inicie el flujo. La existencia de este umbral de fluencia se debe a que las fuerzas que tienden a agregar los eritrocitos deben ser vencidas para que se inicie el flujo.

Se han hecho numerosos estudios para cuantificar el umbral de fluencia (7, 17, 24, 93, 94). Los valores obtenidos van de 0,002 a 0,4 dinas/cm², según el método utilizado. En opinión de DINTENFASS (33, 34) no se debe estudiar el umbral de fluencia sin considerar el factor tiempo. Debido a la tixotropía sanguínea, es posible que se inicie el flujo al aplicar una tensión tangencial por pequeña que sea, después de transcurrir un tiempo determinado, con lo cual cabe la posibilidad de que no exista un verdadero umbral de fluencia si se considera el factor tiempo.

Los estudios citados sobre el umbral de fluencia indican que existe una relación entre dicho umbral y el hematocrito. MERRILL (93) propone que el umbral de fluencia es una función cúbica del hematocrito:

$$\tau_0^{1/3} = A (H - H_c) \quad \text{para } H < 50 \%$$

donde: H = hematocrito

Hc = hematocrito crítico por debajo del cual no existe τ_0 .

A = constante dependiente de la naturaleza de la sangre examinada.

2.2.5.- Factores no vasculares determinantes del comportamiento reológico de la sangre.

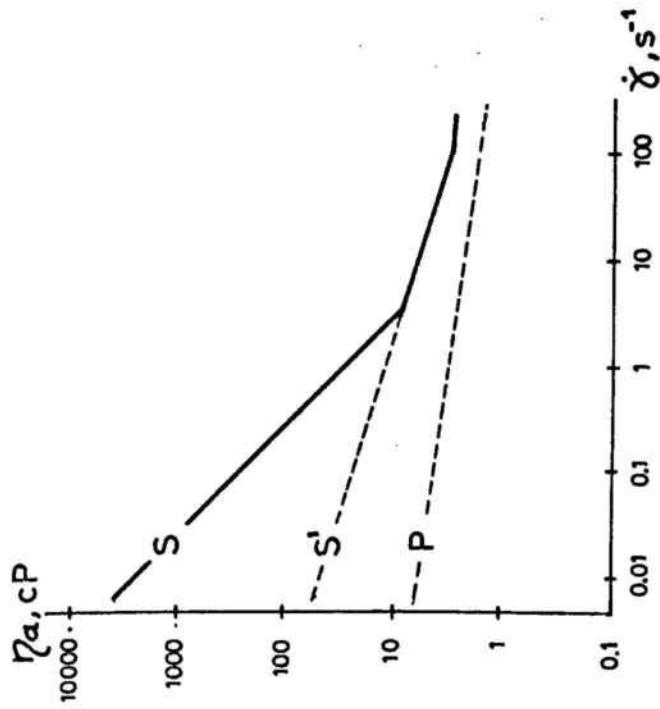
Está ampliamente demostrado que la complejidad del comportamiento reológico de la sangre, a un gradiente de velocidad determinado, se debe a que la viscosidad sanguínea está influenciada por una serie de factores simultáneos. Estos factores son los siguientes:

- la temperatura
- la viscosidad del plasma
- el hematocrito
- la deformabilidad de los eritrocitos, que es función de su viscosidad interna aparente y de la elasticidad de la membrana
- la agregación reversible de los eritrocitos, la cual es usualmente responsable de la mayor parte de la viscosidad aparente y tixotropía a bajos gradientes de velocidad.

En la figura 12 se representa la influencia que, según DINTENFASS (44), ejerce cada uno de los factores citados sobre la viscosidad aparente de la sangre.

En los trabajos de CHIEN (28, 31) se halla la explicación físico-matemática de la influencia sobre la viscosidad aparente de la sangre de los factores mencionados, considerando al hematocrito como una primera aproximación de la concentración celular al tener en cuenta la enorme abundancia de eritrocitos en relación a las otras células sanguíneas.

Según CHIEN (28, 31), si un eritrocito está situado en el seno del plasma que fluye a través de dos superficies paralelas (fig. 13), se observa que se produce una alteración en las líneas de flujo del plasma. Las láminas de plasma, que fluyen a una velocidad determinada, se condensan alrededor del eritrocito produciendo un aumento local del gradiente de velocidad. Ignorando esta circunstancia, se puede calcular, para unas condiciones determinadas, el gradiente de velocidad (aparente en este caso, $\dot{\gamma}_a$) de la sangre, de la misma forma que si se tratase de plasma; $\dot{\gamma}_a = dv/dx$, siendo dv la velocidad con que se mueve una lámina de líquido y dx la distancia a la lámina vecina. El gradiente de velocidad real del plasma, en las mismas condiciones, es mayor que el gradiente de velocidad aparente de la sangre debido a la condensación de las líneas de flujo del plasma alrededor del eritrocito. La mejor manera de



P = VISCOSIDAD DEL PLASMA.

S' = VISCOSIDAD APARENTE DE LA SANGRE CON ERITROCITOS
TOTALMENTE DESAGREGADOS.

S = VISCOSIDAD APARENTE DE LA SANGRE.

P-S' = AREA INDICADORA DE LA INFLUENCIA DEL HEMATOCRITO
Y DE LA VISCOSIDAD INTERNA DE LOS ERITROCITOS.

S'-S = AREA INDICADORA DE LA INFLUENCIA DE LA AGREGACION
REVERSIBLE DE LOS ERITROCITOS.

FIGURA 12: Influencia de las diversas fases sanguíneas sobre la viscosidad aparente de la sangre.

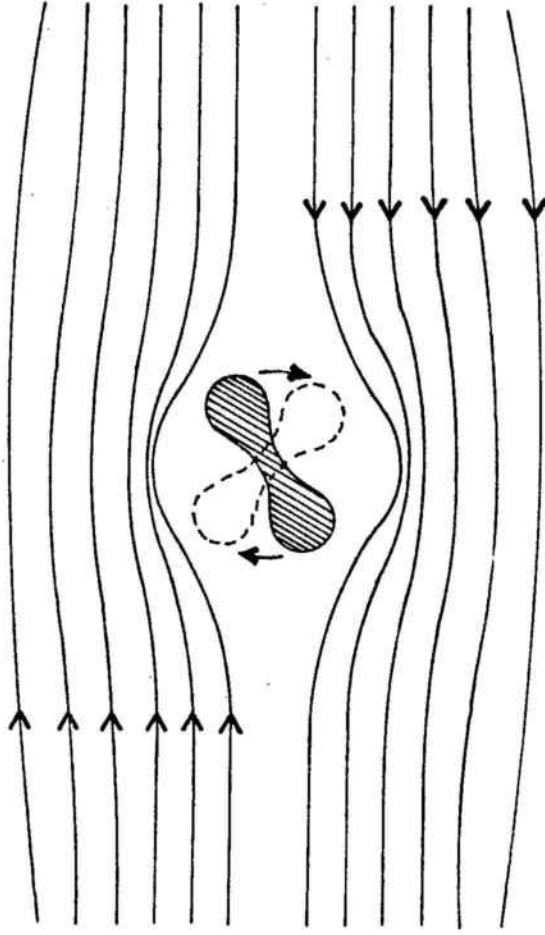


FIGURA 13 : Deformación de las líneas de flujo del plasma provocada por un eritrocito .

representar el gradiente de velocidad en el plasma es con la raíz cuadrática media del mismo, $\bar{\dot{\gamma}}_p$, puesto que la energía disipada debida a la fricción que supone la viscosidad del líquido, varía con el cuadrado del gradiente de velocidad (32). En ausencia de eritrocitos, el gradiente de velocidad del plasma sería igual al gradiente de velocidad aparente de la sangre, pero la presencia de eritrocitos aumenta el gradiente de velocidad del plasma hasta $\bar{\dot{\gamma}}_p$, con lo que aumenta la tensión tangencial ($\tau = F/A$) necesaria para alcanzar un gradiente de velocidad aparente determinado.

Normalmente la viscosidad aparente de la sangre se calcula partiendo de la tensión tangencial aplicada a la suspensión, τ_s , y el gradiente de velocidad aparente, $\dot{\gamma}_a$:

$$\eta_a = \frac{\tau_s}{\dot{\gamma}_a}$$

Si el plasma (sin células) está sometido a una tensión tangencial τ_p y el gradiente de velocidad obtenido es $\dot{\gamma}_a$, su viscosidad, η_p , vendrá dada por:

$$\eta_p = \frac{\tau_p}{\dot{\gamma}_a}$$

Para conseguir en la sangre un gradiente de velocidad igual a $\dot{\gamma}_a$ se debe someter aquélla a una tensión tangencial τ_s mayor que τ_p . De esto se deduce que si

$$\eta_a = \frac{\tau_s}{\dot{\gamma}_a} \quad \text{y} \quad \eta_p = \frac{\tau_p}{\dot{\gamma}_a} \quad \text{y} \quad \tau_s > \tau_p$$

se cumple que la viscosidad aparente de la sangre es mayor que la del plasma, debido a la presencia de las células en suspensión (eritrocitos fundamentalmente) (28). La razón entre η_a y η_p se denomina viscosidad relativa, η_r , de la sangre:

$$\eta_r = \frac{\eta_a}{\eta_p}$$

Considerando las alteraciones que los eritrocitos ejercen sobre las líneas de flujo del plasma, resulta que al volumen de los eritrocitos se le suma el volumen del plasma que se comporta hidrodinámicamente como una extensión rígida de los mismos (28), es decir, una porción del plasma se encuentra atrapada por los eritrocitos, con lo que, considerando el hematocrito como una primera aproximación de la concentración celular, se tiene:

$$H_a = H_r + H_v$$

siendo H_a el hematocrito aparente, H_r el hematocrito real y H_v el hematocrito virtual ocasionado por el plasma que se comporta como una extensión de los eritrocitos.

El cociente entre H_a y H_r se denomina factor de hematocrito efectivo, F_h . El valor de F_h depende del volumen corpuscular medio, de la distribución espacial y de la variación temporal

de los ejes del eritrocito. El efecto de la deformación y la agregación de los eritrocitos se puede considerar como un cambio de F_h a un H_r dado, alterando de esta forma el H_a y la viscosidad aparente (28).

El porcentaje de volumen sanguíneo real ocupado por el plasma, Pr , es igual a $100 - H_r$ y puede considerarse integrado por dos componentes, siendo uno de ellos el hematocrito virtual, H_v , o porcentaje de volumen sanguíneo ocupado por el plasma circundante a los eritrocitos y que se comporta como ellos, y siendo el otro el porcentaje de volumen sanguíneo ocupado por el plasma libre, Pl :

$$Pl = Pr - H_r = 100 - H_a$$

El grado con que los eritrocitos se extienden hidrodinámicamente en el plasma circundante varía con la deformación de los eritrocitos, en respuesta a la tensión tangencial, y con la agregación de los mismos que tiene lugar a bajas tensiones tangenciales. Por lo tanto, la viscosidad aparente de la sangre a una temperatura determinada es función de: a) viscosidad plasmática, b) hematocrito real, c) deformabilidad eritrocitaria y d) agregabilidad eritrocitaria.

Puesto que la deformación y la agregación de los eritrocitos son fenómenos dependientes de la tensión tangencial aplicada, forman la base microrreológica de la dependencia de la tensión

tangencial de la viscosidad aparente de la sangre (30).

2.2.5.1. Comportamiento reológico del plasma sanguíneo.

El plasma sanguíneo es, por su composición, una disolución de sustancias de bajo peso molecular y de macromoléculas en agua. Las sustancias de bajo peso molecular, por sus características estructurales y su pequeña concentración, tienen poca influencia sobre la viscosidad del plasma, la cual se debe mayoritariamente a las macromoléculas, es decir, a las proteínas plasmáticas. En determinadas condiciones patológicas pueden aparecer en el plasma cantidades elevadas de ácidos nucleicos liberados por la rotura de los leucocitos; estos ácidos nucleicos, por tener un elevado peso molecular, pueden influir notablemente en la viscosidad del plasma.

Revisando la influencia que sobre la viscosidad plasmática poseen las proteínas y los lípidos (81), se observa que existe una correlación positiva entre la viscosidad plasmática y el fibrinógeno y las globulinas α_1 , α_2 , β y γ , mientras que la correlación es inversa con la albúmina y no hay correlación con las lipoproteínas. La molécula que confiere al plasma la mayoría de sus propiedades reológicas es el fibrinógeno.

No se han hallado correlaciones entre los niveles de lípidos totales y la viscosidad del plasma. El colesterol tampoco está

correlacionado con la viscosidad plasmática, aunque parece ser que la viscosidad aparente de la sangre sí está correlacionada con él (99). Por otra parte, la viscosidad de plasma está afectada por la concentración de sales. Un cambio en el balance entre Ca^{++} y Na^+ , puede ocasionar un cambio en la viscosidad del plasma, siendo los iones calcio los que ejercen un efecto mayor (25).

El mecanismo por el cual las proteínas plasmáticas causan un incremento de la viscosidad del plasma sobre la del agua o el suero fisiológico, es atribuible a la influencia hidrodinámica de las moléculas de proteínas sobre las líneas de flujo del plasma, de una forma similar al descrito para comprender la influencia de los eritrocitos sobre el plasma (32).

Inicialmente los estudios reológicos del plasma indicaban un comportamiento no-newtoniano del mismo (18, 130). Posteriormente se ha demostrado (12, 92, 93) que el plasma posee un comportamiento reológico newtoniano y que los anteriores resultados se debían a una película que aparecía en la interfase plasma-aire, pudiéndose eliminar este efecto por adición de un tensoactivo.

Los resultados de viscosidad plasmática a 37°C hallados por diversos autores (82, 109, 135), con diferentes métodos, oscilan alrededor de 1,5 cP.

2.2.5.2. Variación de la viscosidad aparente de la sangre en función del hematocrito.

Cuando se produce un aumento en el hematocrito real, el volumen de plasma disponible para el paso de las líneas de flujo se reduce progresivamente, con lo que el aumento resultante de \bar{v} (apartado 2.2.5) para un gradiente de velocidad aparente determinado, conduce a un aumento en la viscosidad aparente. La variación de la viscosidad aparente con el hematocrito depende del gradiente de velocidad, a causa de las variaciones en el hematocrito aparente debidas a la deformación y agregación de los eritrocitos.

Hasta el momento se han propuesto diversos modelos matemáticos que relacionan la viscosidad aparente o la relativa y el hematocrito, a un gradiente de velocidad determinado. En la tabla II se indican algunos de estos modelos.

Puesto que el hematocrito es factor determinante de la viscosidad sanguínea y existe una gran variedad fisiológica de los valores del mismo (los valores de referencia del hematocrito son: 37-47 % para las mujeres y 40-54 % para los hombres (133)), existirá también una amplia gama de viscosidades aparentes fisiológicas, observándose una clara diferencia entre la viscosidad aparente media de hombres y mujeres.

TABLA II

Modelo	Referencias Bibliográficas
$\eta_a = \frac{\eta_p}{1-H^{5/3}}$	5
$\eta_a^{1/3} = aH^{3/2} + 1$	38
$\eta_a = (1-kH)^{-n} \eta_p$	11,27,39,110
$\eta_a = e^{bH} \eta_p$	1, 4, 52, 60, 61, 81
$\eta_a = cH + \eta_p$	20, 131

donde: η_a = viscosidad aparente de la sangre

η_p = viscosidad del plasma

H = hematocrito

a, b, c, k, n = constantes

Modelos matemáticos de la relación entre la viscosidad aparente de la sangre y el hematocrito.

2.2.5.3. Reología del eritrocito: deformabilidad eritrocitaria.

Una de las características más notables de la sangre es que a un hematocrito de 98 % permanece fluída, mientras que una suspensión de partículas rígidas a una concentración aproximada del 65 % deja de fluir y adquiere la consistencia de un sólido compacto.

Este comportamiento reológico se debe a que los eritrocitos son deformables, de forma que la sangre puede considerarse como una emulsión o como una suspensión de gotas líquidas deformables (35).

La deformabilidad de los eritrocitos ha sido evidenciada por diferentes métodos, entre los que destacan la observación de la circulación en capilares "in vivo" por cinematografía a alta velocidad (8, 10, 70), las técnicas de microfiltración por tamices de policarbonatos con poros de $3\mu\text{m}$ (29, 68, 98) y las técnicas de aspiración con capilares de $3\mu\text{m}$ de diámetro (79).

El grado de deformación de los eritrocitos depende de la tensión tangencial aplicada (66, 75, 113) y de su deformabilidad intrínseca que es función de la viscosidad interna del eritrocito y de la flexibilidad de la membrana eritrocitaria (54).

La deformación del eritrocito se puede expresar como una deformación lineal sin cambio de área, D_l , y/o como una deformación

superficial, Da , apareciendo ambas como respuesta a la tensión deformadora que actúa sobre la célula:

$$Dl = (l - l_0) / l_0$$

$$Da = (a - a_0) / a_0$$

donde l y a son la longitud y el área, respectivamente, y el subíndice 0 indica valores iniciales. La relación tensión/deformación depende de la deformabilidad de la célula, la cual está en relación inversa con el módulo de elasticidad, E . Los módulos de elasticidad lineal, El , y superficial, Ea , se pueden definir como sigue:

$$El = \tau_m / Dl$$

$$Ea = \tau_m / Da$$

donde τ_m es la tensión sobre la membrana eritrocitaria, y es función del promedio de las tensiones deformadoras que actúan sobre la superficie celular, τ_c . La τ_c causante de la deformación celular durante el flujo es función de la viscosidad del plasma, η_p , y del gradiente de velocidad en la superficie celular, $\dot{\gamma}_c$:

$$\tau_c = \eta_p \dot{\gamma}_c$$

siendo $\dot{\gamma}_c$ una función del gradiente de velocidad aparente, de la forma y de la modificación del perfil de velocidades en los alrededores del eritrocito causada por la presencia de otros eritrocitos.

Un aumento en el hematocrito real causa un aumento en la deformación eritrocitaria. Esto se debe a que un mayor número de células produce una alteración de las líneas de flujo del plasma causando un incremento del gradiente de velocidad en la superficie celular, ya que aumenta el gradiente de velocidad del plasma que la rodea, y por lo tanto un incremento de la tensión que actúa sobre la célula. Por otra parte, cuando aumenta la viscosidad del plasma los eritrocitos presentan mayor deformabilidad a un gradiente de velocidad aparente determinado.

La viscosidad aparente de la sangre, a un gradiente de velocidad determinado, se eleva con un aumento en la viscosidad del plasma o con un aumento del hematocrito. Pero un incremento en la viscosidad del plasma o en el hematocrito eleva también el grado de deformación eritrocitario, con lo cual se minimiza la elevación de la viscosidad aparente. Estos hechos se pueden conceptuar como un mecanismo de autorregulación de la viscosidad sanguínea por la deformabilidad eritrocitaria (32).

Como se ha indicado anteriormente, la deformabilidad intrínseca del eritrocito depende de la viscosidad interna del mismo, η_i , y de las características reológicas de su membrana.

La tensión tangencial que actúa sobre el eritrocito es transmitida a su interior a través de la membrana, produciéndose un flujo interno del contenido celular con un gradiente de velocidad determinado, resultando que su viscosidad interna decrece a medida que el gradiente de velocidad aumenta (39). Para que la tensión tangencial se transmita al interior de la célula, parece ser que la membrana del eritrocito gira alrededor de su contenido de forma similar a como sucede en el sistema de locomoción de un tanque o carro de combate (59).

La viscosidad interna depende de la concentración de hemoglobina corpuscular media (22, 72, 114) y de las características físico-químicas de la hemoglobina (21, 37, 72, 95).

Para el cálculo de la viscosidad interna del eritrocito a un gradiente de velocidad determinado, lo suficientemente alto para que no haya agregación, se puede utilizar la ecuación siguiente (39, 43):

$$\eta_r = \left[1 - H \frac{\frac{\eta_i}{\eta_p} + 0,4}{\frac{\eta_i}{\eta_p} + 1} \right]^{-2,5}$$

2.2.5.4. Agregabilidad eritrocitaria.

Los eritrocitos en suspensión pueden agruparse de forma reversible, o irreversible en algunos casos, formando estructuras semejantes a montones de monedas o "rouleaux". Las causas principales de la agregabilidad eritrocitaria son de tres tipos:

electroestáticas, hidrodinámicas y mecánicas.

Las fuerzas electroestáticas se derivan principalmente de la carga eléctrica de la superficie del eritrocito y de la naturaleza de la fase dispersante (plasma) y de la carga eléctrica de los vasos sanguíneos. Las fuerzas hidrodinámicas son originadas por el gradiente de velocidad existente en el flujo y por la reología del eritrocito. Para que exista agregación, es necesario que las fuerzas electroestáticas e hidrodinámicas sean inferiores a las fuerzas de unión entre los eritrocitos.

El modelo teórico que explica la existencia de uniones interglobulares, supone que las macromoléculas del plasma tienen sus extremidades absorbidas por dos eritrocitos, formando puentes intercelulares (32, 78). Estas fuerzas de unión pueden ser de diversa naturaleza según que las macromoléculas estén cargadas positivamente (polilisinas), negativamente (fibrinógeno) o neutras (dextranos). Existen numerosas confirmaciones experimentales de este modelo teórico: utilizando la microscopía electrónica se ha observado que la distancia interglobular aumenta con el tamaño de las macromoléculas utilizadas; además, cuando el tamaño de la macromolécula es muy pequeño, no se produce agregación, pues en este caso las fuerzas de repulsión eléctrica son muy intensas (32).

2.2.6. Reología de la circulación sanguínea.

En general, la red capilar está constituida por vasos cilíndricos (excepto en los pulmones) de unos $8\mu\text{m}$ de diámetro y de unos $800\mu\text{m}$ de longitud (84). Las paredes de estos capilares se consideran rígidas, de forma análoga a un túnel en el interior de una matriz rígida (62, 64). Una variación de presión entre 0 y 100 mm de Hg causa menos de un 10 % de cambio en el diámetro del capilar, menos de un 12 % en las arteriolas y menos de un 5 % en las arteriolas terminales (62).

Los capilares pulmonares, a diferencia de todos los restantes, no están rodeados de tejido compacto y tienen forma de láminas paralelas separadas por columnas (63).

Como ya se ha expuesto anteriormente (Tabla I), en los capilares es donde tienen lugar los mayores gradientes de velocidad de todo el aparato circulatorio. Estos altos gradientes de velocidad condicionan el comportamiento reológico de la sangre en los capilares, pero además existen tres factores que influyen de forma muy notable sobre este comportamiento. Estos tres factores son: el fenómeno de FAHRAEUS-LINDQVIST, el fenómeno de inversión y la separación del plasma o "plasma skimming".

2.2.6.1. Fenómeno de FAHRAEUS-LINDQVIST.

El fenómeno de FAHRAEUS-LINDQVIST consiste en una disminución

de la viscosidad aparente de la sangre cuando circula a través de capilares con radios decrecientes comprendidos entre 100 y 1000 μm (3, 56, 74, 71). No se conocen con exactitud las causas de este fenómeno, aunque son varias las teorías postuladas para explicarlo (14, 40, 67).

2.2.5.2. Fenómeno de inversión.

El fenómeno de inversión consiste en un aumento repentino de la viscosidad aparente de la sangre al circular por capilares de radios comprendidos entre 1,5 y 10 μm (44).

A medida que el radio del capilar decrece, se produce una disminución de la viscosidad aparente de la sangre (fenómeno FAHRAEUS-LINDQVIST), hasta que a un radio determinado se produce un repentino aumento de dicha viscosidad. El radio del capilar a que se produce este aumento se conoce como radio crítico. El radio crítico del fenómeno de inversión depende de la reología de los eritrocitos y también de la tonicidad y de la temperatura. Si existen agregados plaquetarios, el fenómeno puede presentarse a un radio cualquiera, debido a la elevada rigidez de estos agregados (44).

2.2.6.3. Separación del plasma ("plasma skimming").

Cuando la sangre fluye a través de un capilar con ramificaciones laterales, las capas sanguíneas más cercanas al capilar principal son las que pasan mayoritariamente a los capilares

laterales. Como las células tienden a concentrarse en el centro de los vasos durante el flujo, la sangre que pasa a los capilares laterales tiene un hematocrito menor, es decir, se produce mayor transferencia de plasma a los capilares laterales. Este hecho se conoce como separación del plasma o "plasma skimming".

Según PALMER (101, 102), en una ramificación en ángulo recto, la relación entre los hematocritos, H , y las velocidades de flujo, v , en los dos capilares (principal y ramificación) es:

$$H' - H'' = 15 (1 - v''/v')$$

Según su tendencia a la migración axial, las células sanguíneas se pueden ordenar de la siguiente forma: plaquetas, eritrocitos, leucocitos y agregados eritrocitarios. El orden de separación hacia los capilares laterales es inverso, con lo que los leucocitos se desplazarán a las ramas laterales sólo en presencia de eritrocitos altamente agregados, mientras que las plaquetas se desplazan siempre (102).

El "plasma skimming" aumenta con la agregación de los eritrocitos pero disminuye con un elevado hematocrito. Consecuentemente, la separación del plasma puede ser un mecanismo de hemoconcentración.

3. MATERIAL Y METODOS

3.1. PACIENTES ESTUDIADOS.

Se han realizado determinaciones viscosimétricas en un total de 491 individuos, divididos en dos grandes grupos: grupo de referencia y grupo patológico.

3.1.1. Grupo de referencia.

Para el establecimiento de los valores de referencia de los parámetros reológicos de la sangre estudiados, se han utilizado 300 muestras de sangre procedentes de 222 mujeres y 78 hombres, de edades comprendidas entre 18 y 60 años, adscritos a la plantilla de personal de la Ciudad Sanitaria "Príncipes de España", a los que no se les había detectado ninguna alteración patológica después del examen periódico que practica el Servicio de Medicina Preventiva.

Con el fin de detectar alguna alteración patológica no hallada en el examen clínico, se determinaron los siguientes parámetros analíticos: 1) en sangre: velocidad de sedimentación globular (VSG), recuento de eritrocitos, recuento de leucocitos, fórmula leucocitaria, hematocrito, hemoglobina, volumen corpuscular medio (VCM), contenido de hemoglobina medio (CHM) y concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM); 2) en plasma: tiempo de protrombina; 3) en suero: glucosa, colesterol, urea, creatinina, ácido úrico, calcio, fósforo, hierro, sodio, potasio, cloro, proteínas totales, albúmina, bilirrubina

total, bilirrubina directa, fosfatasas alcalinas, transaminasa glutámico oxalacética (GOT), transaminasa glutámico pirúvica (GPT), láctico deshidrogenasa (LDH) y creatin fosfoquinasa (CPK); 4) en orina: examen del sedimento. Las técnicas analíticas utilizadas para determinar estos parámetros se detallan en el apartado 3.4.

Se han aceptado como normales todas las muestras de sangre cuyos resultados analíticos estuviesen comprendidos dentro de los intervalos expuestos en las Tablas III y IV.

Para el estudio de los valores de referencia de los parámetros reológicos del plasma, se han utilizado 48 muestras, procedentes de 29 mujeres y 19 hombres, de las 300 muestras utilizadas para el estudio de la sangre total.

3.1.2. Grupo patológico.

El grupo patológico estudiado está constituido por 191 pacientes, repartidos en los seis subgrupos siguientes:

- pacientes con diversos tipos de anemia (excluida la anemia hemolítica).
- pacientes con artritis reumatoide.
- pacientes con cor pulmonale.

TABLA III

V S G :	♂: 0 - 10 mm/h	Leucocitos:	4,0 - 9,0 x 10 ⁹ /l
	♀: 0 - 20 mm/h		
Eritrocitos:	♂: 4,4 - 6,0 x 10 ¹² /l	Neutrófilos segmen- tados:	55 - 65 %
	♀: 4,1 - 5,3 x 10 ¹² /l	Neutrófilos en cayado:	3 - 5 %
Hematocrito:	♂: 40 - 54 %	Eosinófilos:	0 - 4 %
	♀: 37 - 47 %	Basófilos	0 - 1 %
Hemoglobina:	♂: 14 - 18 g/100 ml	Linfocitos:	25 - 35 %
	♀: 12 - 16 g/100 ml	Monocitos:	2 - 6 %
V C M:	82 - 101 fl	Tiempo de protrombina:	≥ 70 %
C H M:	27 - 34 pg		
CHCM:	31,5 - 36,0 %		

Valores límite aceptados de los parámetros hematológicos determinados en el grupo de referencia.

TABLA IV

Glucosa:	3,85 - 6,05 m mol/l	Hierro:	9,0 - 26,9 μ mol/l
Colesterol:	3,90 - 6,50 m mol/l	Proteínas totales:	60 - 78 g/l
N. ureico:	2,9 - 6,4 m mol/l	Albumina:	0,59 - 0,77 n mol/l
Creatinina:	53 - 106 μ mol/l	Bilirrubina total:	1,7 - 20,5 μ mol/l
Acido úrico: ♂:	0,12 - 0,46 m mol/l	Bilirrubina directa:	\leq 5,1 μ mol/l
♀:	0,12 - 0,38 m mol/l	Fosfatasa alcalinas:	30 - 115 UI/l
Calcio:	2,25 - 2,65 m mol/l	GOT:	\leq 40 UI/l
Fósforo inorgánico:	0,97 - 1,45 m mol/l	GPT:	\leq 45 UI/l
Sodio:	136 - 142 m mol/l	LDH:	100 - 225 UI/l
Potasio:	3,8 - 5,0 m mol/l	CPK: ♂ :	10 - 230 UI/l
Cloro:	95 - 103 m mol/l	♀ :	5 - 150 UI/l

Valores límite aceptados de los parámetros bioquímicos determinados en el grupo de referencia.

- pacientes con infarto de miocardio.
- pacientes con mieloma múltiple.
- pacientes con diversos tipos de neoplasias.

Estos diagnósticos se efectuaron en los diferentes servicios de la Ciudad Sanitaria "Príncipes de España".

En la Tabla V se detallan el número de pacientes y varios parámetros analíticos de interés reológico hallados en cada subgrupo. En la tabla VI se hallan desglosados los diversos tipos de neoplasias estudiadas.

3.2. OBTENCION DE LAS MUESTRAS.

Todas las muestras de sangre se han obtenido por punción venosa en la flexura del codo, en ayuno, utilizando para ello jeringuillas de plástico y agujas hipodérmicas 25/9.

Inmediatamente después de la extracción, la sangre se ha vertido en un tubo de plástico conteniendo sal dipotásica del ácido etilendiaminotetraacético (EDTA-di-K) como anticoagulante, en cantidad suficiente para conseguir una concentración final de 1 mg/ml.

TABLA V

Número de pacientes y sexo	H, %		CHCM, %		Leucocitos, x 10 ⁹ /l		VSG, mm/h		
	\bar{x}	$\pm s$	\bar{x}	$\pm s$	\bar{x}	$\pm s$	\bar{x}	$\pm s$	
Anemia	6♂	28,6	$\pm 6,3$	32,6	$\pm 2,1$	8,8	$\pm 4,5$	46,4	$\pm 25,5$
(no hemolítica)	13♀	26,6	$\pm 6,4$	33,4	$\pm 2,4$	8,0	$\pm 2,7$	41,0	$\pm 40,4$
Artritis	4♂	43,0	$\pm 1,7$	33,8	$\pm 1,0$	9,3	$\pm 2,1$	27,5	$\pm 17,1$
reumatoide	11♀	36,1	$\pm 6,8$	32,7	$\pm 3,1$	6,4	$\pm 1,1$	36,2	$\pm 21,8$
Cor pulmonale	36♂	51,5	$\pm 7,0$	32,9	$\pm 2,7$	9,9	$\pm 2,8$	25,3	$\pm 25,6$
	4♀	41,0	$\pm 6,9$	31,3	$\pm 2,9$	11,1	$\pm 3,6$	19,5	$\pm 5,0$
Infarto de miocardio	6♂	40,8	$\pm 3,0$	35,5	$\pm 2,0$	9,2	$\pm 2,6$	46,3	$\pm 20,3$
	4♀	37,0	$\pm 3,4$	33,2	$\pm 2,9$	8,7	$\pm 0,5$	45,5	$\pm 12,0$
Mieloma	17♂	32,0	$\pm 8,7$	-	-	-	-	-	-
múltiple	12♀	28,0	$\pm 6,5$	-	-	-	-	-	-
Neoplasias	58♂	35,0	$\pm 7,5$	34,3	$\pm 2,9$	9,4	$\pm 4,2$	52,9	$\pm 42,4$
	20♀	37,5	$\pm 8,4$	34,2	$\pm 4,3$	8,8	$\pm 3,7$	42,5	$\pm 30,5$

Parámetros de interés reológico determinados en el grupo patológico.

TABLA VI

	Número de pacientes	Sexo	Hematocrito, %	
			\bar{x}	$\pm s$
Neoplasia de antro	2	♀	38,0	$\pm 1,4$
Neoplasia de cardias	4	♂	34,5	$\pm 5,6$
Neoplasia de colon	3	♂	38,2	$\pm 2,0$
	1	♀	48,0	
Neoplasia de esófago	8	♂	34,2	$\pm 8,5$
Neoplasia gástrica	11	♂	34,9	$\pm 6,6$
	3	♀	37,0	$\pm 7,2$
Neoplasia de laringe	12	♂	36,0	$\pm 5,4$
Neoplasia de mama	7	♀	31,7	$\pm 10,2$
Neoplasia de próstata	5	♂	29,6	$\pm 11,9$
Neoplasia pulmonar	11	♂	34,9	$\pm 8,9$
Neoplasia de recto	5	♀	41,0	$\pm 4,7$
Neoplasia sigma	1	♂	29,0	
	1	♀	47,0	
Tumor cerebral	3	♂	42,0	$\pm 3,5$
	1	♀	44,0	

Tipos de neoplasias estudiadas.

La elección del EDTA-di-K como anticoagulante se debe a que esta sustancia no produce alteraciones reológicas en la sangre (106, 111) y es compatible con la determinación de los parámetros hematológicos rutinarios.

Las muestras de plasma se han obtenido mediante centrifugación a $700 \times g$, durante 10 minutos, de la sangre anticoagulada con EDTA-di-K.

3.3. DETERMINACION DE LOS PARAMETROS REOLOGICOS.

Los parámetros reológicos determinados en el presente trabajo son: viscosidad aparente a 225 s^{-1} , η_{225} , viscosidad de CASSON, η_c , y umbral de fluencia o tensión tangencial crítica, τ_c . Estas determinaciones se han realizado con el viscosímetro rotatorio, sistema cono-placa, Wells-Broockfiel Microviscometer, modelo LVT-C/P, provisto de un cono de $0,8^\circ$ (Brookfield Engineering Laboratories, Inc.).

3.3.1. Descripción del viscosímetro.

Fundamentalmente el viscosímetro rotatorio sistema cono-placa consiste en un cono, suspendido por un eje giratorio conectado a un sistema de medida de fuerza de torsión, que gira sobre una superficie plana a diferentes velocidades preestablecidas.

Cuando se interpone un líquido entre el cono y la placa y se hace girar el cono, aparece una resistencia que desarrolla una fuerza de torsión sobre el eje que suspende el cono.

La intensidad de esta fuerza de torsión, que es función del gradiente de velocidad con que fluyen las capas del líquido, se puede cuantificar mediante el mecanismo de medida conectado al eje que suspende al cono.

El sistema de medida consiste en un resorte de berilio calibrado que está conectado con el eje giratorio. Este resorte tiene adosada una varilla que termina en una aguja indicadora que señala en un dial giratorio (en fase con el cono) la magnitud de la fuerza de torsión (fig. 14).

Mediante un embrague conectado a un sistema de engranajes reductores incorporado en el motor, se puede seleccionar varias velocidades de giro. Estas velocidades son: 0,3; 0,6; 1,5; 3; 6; 12; 30 y 60 rpm.

Las características geométricas del sistema cono-placa y sus relaciones con el gradiente de velocidad y la tensión tangencial, se describen en la figura 14.

En un viscosímetro sistema cono-placa, cuando el vértice del cono toca a la placa, para un valor cualquiera del radio tomado desde el vértice del cono, tanto la distancia entre el cono y la placa como la velocidad periférica de un punto de la

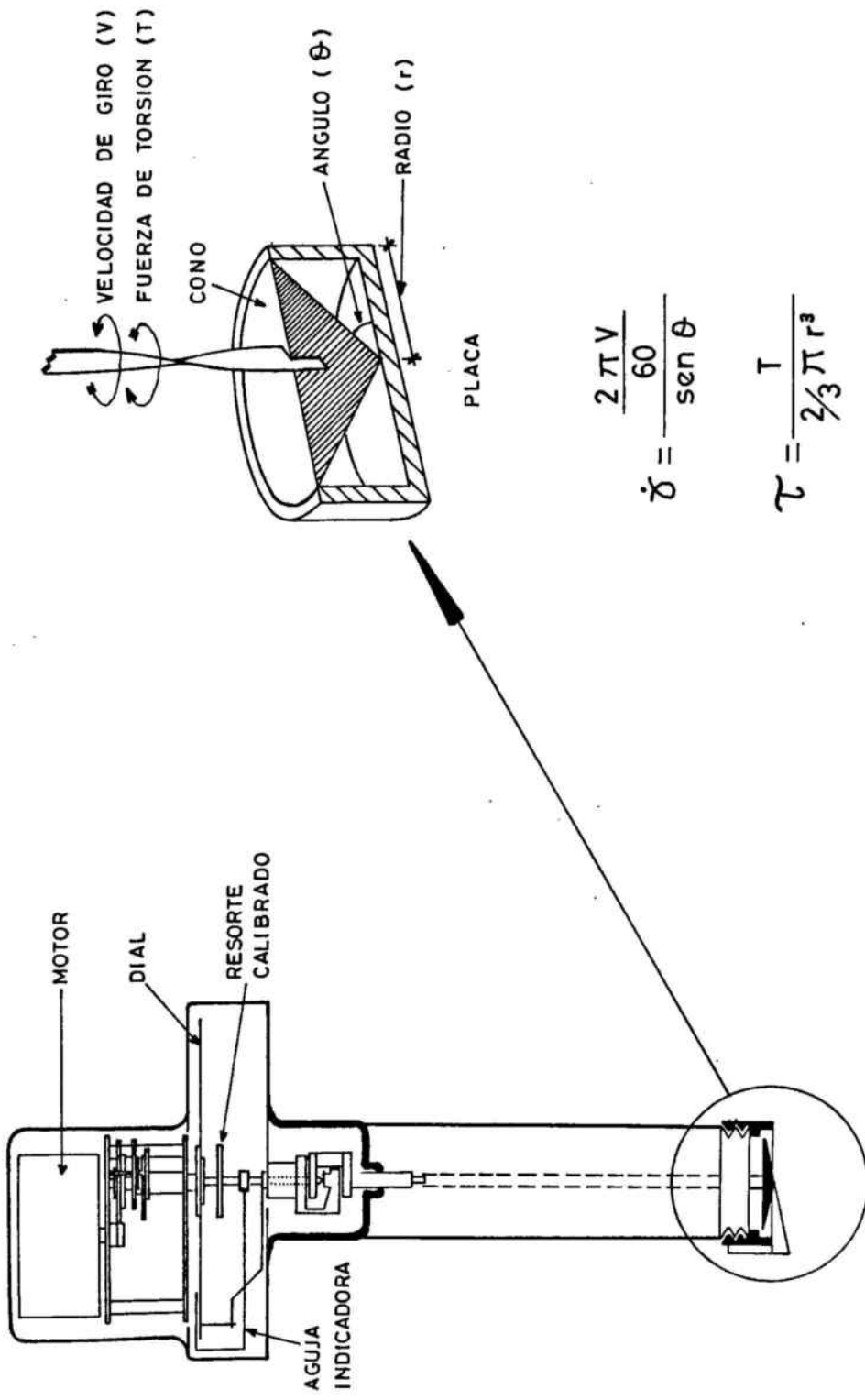


FIGURA 14 : Esquema del viscosímetro utilizado y principales relaciones matemáticas.

superficie del cono situado al mismo radio, son directamente proporcionales al valor del radio considerado. Como consecuencia, el gradiente de velocidad (en este caso: velocidad periférica/distancia cono-placa) es independiente de la posición radial de cualquier porción del líquido que se encuentre entre el cono y la placa, es decir, el gradiente de velocidad es homogéneo en todo el volumen del líquido.

Considerando la relación matemática expuesta en la figura 14:

$$\text{gradiente de velocidad} = \dot{\gamma} = \frac{2 \pi V / 60}{\text{sen } \theta}$$

siendo V el número de rpm, se tiene que los gradientes de velocidad que puede desarrollar el viscosímetro son: 2,25; 4,5; 11,25; 22,5; 45; 90; 225 y 450 s⁻¹.

3.3.2. Técnica operatoria.

Todas las determinaciones viscosimétricas se han realizado antes de que transcurrieran cuatro horas desde el momento de la extracción.

Antes de la determinación, las muestras de sangre se han agitado durante 15 minutos, como mínimo, con un agitador Mixer Coulter (Coulter Electronics Inc.) a fin de homogeneizar la suspensión.

La cámara del viscosímetro donde se aloja la muestra se ha mantenido a $37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ durante todo el tiempo de medición, mediante un baño de agua termostatzado de circulación externa.

El volumen de la muestra depositada en el viscosímetro en todos los casos ha sido 1,0 ml. La cantidad de la muestra utilizada influye sobre los resultados debido al diseño del sistema cono-placa del instrumento (106).

Cada día de trabajo, antes de iniciar las mediciones en la sangre o en el plasma, se han efectuado determinaciones con un líquido patrón de viscosidad conocida, haciendo los ajustes pertinentes en caso de observar alguna anomalía.

Para obtener los parámetros reológicos estudiados, la pauta de medición ha sido la siguiente:

1. Disponer 1,0 ml de la muestra en la placa del viscosímetro, iniciar la rotación del cono a 3 rpm ($22,5 \text{ s}^{-1}$) y mantenerla durante 5 min con el fin de que se estabilice la temperatura.
2. Transcurridos los 5 min, leer en el dial las unidades que indica la aguja; pasar a la velocidad 6 rpm (45 s^{-1}) y mantenerla durante 1 min.

3. Leer en el dial; pasar a la velocidad 12 rpm (90 s^{-1}) y mantenerla durante 1 min.
4. Leer en el dial; pasar a la velocidad 30 rpm (225 s^{-1}) y mantenerla durante 1 min.
5. Leer en el dial; pasar a la velocidad 60 rpm (450 s^{-1}) y mantenerla durante 1 min.
6. Leer en el dial.

Con las cinco lecturas obtenidas se efectúan los cálculos que se describen en el siguiente apartado.

Pese a que el viscosímetro puede seleccionar las ocho velocidades de giro citadas anteriormente, con las tres primeras (0,3; 0,6 y 1,5 rpm) no se consigue una lectura fiable ni con la sangre ni con el plasma, ya que la aguja del dial se desplaza muy poco a lo largo de la escala.

3.3.3. Cálculo de los parámetros reológicos.

3.3.3.1. Cálculo de la viscosidad aparente a 225 s^{-1}

Considerando que la viscosidad aparente viene dada por:

$$\eta_a = \frac{\tau}{\dot{\gamma}}$$

y que en este caso $\dot{\gamma} = 225 \text{ s}^{-1}$, para hallar la viscosidad aparente es necesario calcular el valor de la tensión tangencial, τ .

Según las relaciones matemáticas expuestas en la fig. 14:

$$\tau = \frac{T}{2/3\pi r^3}$$

siendo T la fuerza de torsión que es transmitida por el cono al resorte de berilio. Puesto que la fuerza de torsión se lee en el dial del viscosímetro sobre una escala que va de 0 a 100 divisiones y que la fuerza de torsión en la división 100 es 673,7 dinas/cm, debido a la naturaleza del resorte utilizado, el valor de la tensión tangencial vendrá dado por:

$$\tau = n \cdot 0,23 \text{ dinas/cm}^2$$

siendo n el número de divisiones leídas en la escala del dial.

Finalmente:

$$\eta_{225} = \frac{n \cdot 0,23 \text{ dinas/cm}^2}{225 \text{ s}^{-1}} \cdot 100$$

El factor 100 se ha incorporado para obtener el resultado en centipoides, cP.

3.3.3.2. Cálculo de la viscosidad de CASSON y de la tensión tangencial crítica o umbral de fluencia.

El modelo reológico de CASSON, $\sqrt{\tau} = \sqrt{\eta_c} \sqrt{\dot{\gamma}} + \sqrt{\tau_0}$, coincide con la ecuación de una recta en la que $\sqrt{\tau}$ es el valor de la ordenada, $\sqrt{\dot{\gamma}}$ es la abscisa, $\sqrt{\eta_c}$ es la pendiente y $\sqrt{\tau_0}$ es el término independiente. Por lo tanto, teniendo varios pares $\sqrt{\tau} - \sqrt{\dot{\gamma}}$ se puede hallar la ecuación de la recta que mejor describe la relación entre $\sqrt{\tau}$ y $\sqrt{\dot{\gamma}}$, y de ella se obtienen los valores de η_c y τ_0 .

En el presente trabajo hemos hallado los valores de τ hallados a los gradientes de velocidad siguientes: 22,5; 45; 90; 225 y 450 s^{-1} . Después de calcular la raíz cuadrada de τ y $\dot{\gamma}$, se ha aplicado el método de los mínimos cuadrados para obtener la ecuación de la recta que mejor describe la relación observada entre $\sqrt{\tau}$ y $\sqrt{\dot{\gamma}}$. El término independiente hallado nos da, después de elevarlo al cuadrado, el valor de la tensión tangencial crítica extrapolado (o umbral de fluencia extrapolado) expresado en dinas/cm². La pendiente de la recta, $\sqrt{\eta_c}$, después de elevarla al cuadrado y multiplicarla por 100, es el valor de la viscosidad de CASSON expresada en cP.

3.4. TECNICAS ANALITICAS EMPLEADAS PARA LA DETERMINACION DE PARAMETROS BIOQUIMICOS Y HEMATOLOGICOS.

3.4.1. Determinaciones bioquímicas.

Los parámetros bioquímicos estudiados en personas presuntamente sanas, para establecer el grupo de referencia, han sido determinados con el multianalizador automático SMAC (Technicon Instruments Corp.). En este aparato las muestras de suero, previamente codificadas, son aspiradas por un muestreador y pasan a un sistema de flujo continuo separadas entre sí por burbujas de aire. En su recorrido las muestras se fraccionan, pasando cada fracción a cada uno de los veinte canales que posee el instrumento. En cada canal las muestras se mezclan con los reactivos adecuados que también se mantienen circulando por un sistema de flujo continuo impulsados por una serie de bombas peristálticas. En algunos canales, cuando la reacción química requiere una desproteínización, tiene lugar una diálisis de la muestra antes de que se mezcle con los reactivos. Una vez mezclados el suero y los reactivos, el conjunto se incuba a la temperatura adecuada a su paso por un serpentín cuya longitud depende del tiempo de incubación necesario. Finalmente se efectúa una lectura espectrofotométrica en cada canal, o más de una en el caso de que se requiera un "blanco" o que la reacción sea de tipo cinético. En los canales del sodio y del potasio las determinaciones

de estos iones se realizan mediante electrodos selectivos de iones.

Gracias al microcomputador que lleva incorporado el sistema, el SMAC efectúa autocalibraciones y realiza los cálculos necesarios para suministrar, de forma impresa, los resultados de los veinte parámetros analizados.

Las técnicas analíticas utilizadas por el SMAC son las siguientes:

Acido úrico: Colorimetría con reactivo de ácido fosfotúngstico (MUSSER, W.A. y ORTIGOZA, C. (1966). Tech. Bul. Reg. Med. Tech. 30 (2), 21).

Albúmina: Colorimetría con verde de bromocresol (DOUMAS, B.T. y col. (1971). Clin. Chim. Acta 31, 87).

Bilirrubina total y directa: Colorimetría con reactivo de ácido sulfanílico (GAMBINO, S.R. y SCHREIBER, H. (1965). En "Automation in Analytical Chemistry", Technicon Symposia, 1964, Mediad Inc., New York.

Calcio: Colorimetría con reactivo de cresolftaleina complexona y 8-hidroxiquinolina (GITELMAN, H.J. (1967). Anal. Biochem. 18, 521).

Cloro: Colorimetría con sulfocianuro de mercurio (MORGENSTERN, S. y col. (1973). En "Advances in Automated Analysis", Technicon International Congress 1972, vol. 1, White Plains, Mediad Inc., New York).

Colesterol: Colorimetría con reactivo de LIEBERMANN-BURCHARD (LEVINE, J. y col. (1968). En "Automation in Analytical Chemistry", Technicon Symposia 1967, White Plains, Mediad Inc., New York).

C P K: Colorimetría con ADP y creatínfosfato como sustrato (SIEGEL, A.L. y COHEN, P.S. (1967). En "Automation in Analytical Chemistry", Technicon Symposia 1966, White Plains, Mediad Inc., New York).

Creatinina: Colorimetría con ácido pícrico (CHASSON, A.L. y col. (1961). Am. J. Clin. Pathol. 35, 83).

Fosfatasas alcalinas: Colorimetría con p-nitrofenilfosfato como sustrato (MORGENSTERN, S. y col. (1965). Clin. Chem. 11, 876).

Fósforo inorgánico: Colorimetría con reactivo de fosfonolibdato (AMADOR, E. y URBAN, J. (1972). Clin. Chem. 18, 601).

Glucosa: Colorimetría con glucosa-oxidasa (GOCHMAN, N. y SCHMITZ, J.M. (1972). Clin. Chem. 18, 943).

G P T: Método cinético a 37° C, con sustrato de dl-alanina y α -cetoglutarato (KESSLER, G. y col. (1975). Ninth-International Congress on Clinical Chemistry, Toronto, Canadá).

G O T: Método cinético a 37°C, con sustrato de l-aspartato y α -cetoglutarato (KESSLER, G. y col. (1975). Ninth International Congress on Clinical Chemistry, Toronto, Canadá).

Hierro: Colorimetría con tripiridil-s-triazina (TPTZ) (GIOVANNIELLO, T.J. y col. (1968). En "Automation in Analytical Chemistry", Technicon Symposia, 1967, vol. 1, White Plains, Mediad Inc. New York).

L D H: Método cinético a 37°C, con sustrato de l-lactato (MORGENSTERN, S. y col. (1973). En "Advances in Automated Analysis", 1972 International Congress, vol. 1, Tarrytown, Mediad Inc., New York).

Nitrógeno uréico: Colorimetría con diacetilmonoxima (DAM) (MARCH, W.H. y col. (1965). Clin. Chem. 11, 624).

Potasio: Electrodo selectivo de iones (RAO, J. y col. (1973). En "Advances in Automated Analysis", 1972 International Congress, vol. 1, Tarrytown, Mediad Inc., New York).

Proteínas totales: Colorimetría con reactivo de Biuret (SKEGGS, L.T. y HOCHSTRASSER, H. (1964). Clin. Chem. 10, 918).

Sodio: Electrodo selectivo de iones (RAO, J. y col. (1973). En "Advances in Automated Analysis", 1972 International Congress, vol. 1, Tarrytown, Mediad Inc., New York).

3.4.2. Determinación de la velocidad de sedimentación globular (VSG).

La VSG se ha determinado según la técnica de WESTERGREN (15), efectuando solamente la lectura de la primera hora.

3.4.3. Contaje de eritrocitos y leucocitos, concentración de hemoglobina sanguínea e índices eritrocitarios.

Los contajes de eritrocitos y leucocitos, así como la determinación de la hemoglobina y de los índices eritrocitarios, se han efectuado con el contador electrónico de células Coulter S (Coulter Electronics, Inc.). En este instrumento, una corriente eléctrica constante pasa entre dos electrodos de platino, sumergidos en un líquido conductor seleccionado según el tipo de célula a contar. Los electrodos están separados entre sí por un aislador con un orificio de 60 a 100 μm . Las células sanguíneas se suspenden en el líquido diluyente en una dilución exacta. A medida que la suspensión diluída de células pasa a través de los electrodos, cada célula produce un cambio de la impedancia, la cual es practicamente proporcional a su volumen. Los impulsos eléctricos resultantes son amplificados y contados durante el tiempo que tarda en pasar entre los electrodos un volumen determinado de suspensión diluída, con lo cual se obtiene el número de células contenidas en un determinado volumen de suspensión.

Además del conteo de los impulsos eléctricos, se puede registrar la suma de las amplitudes de los mismos, con lo que dividiendo el conteo de impulsos por la suma de las amplitudes, se obtiene el volumen corpuscular medio (VCM).

Por otra parte, el sistema Coulter S incorpora un hemoglobímetro fotoeléctrico capaz de determinar la concentración de hemoglobina sanguínea por el método de la cianmetahemoglobina. A partir de los valores del conteo de eritrocitos, del VCM y de la hemoglobina, el instrumento calcula los parámetros contenido de hemoglobina medio (CHM) y concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM).

3.4.4. Contaje diferencial de leucocitos.

El conteo diferencial de leucocitos (fórmula leucocitaria) se ha realizado por observación microscópica de los frotis sanguíneos teñidos por el método de May-Grunwald-Giemsa o el de Wright (15).

3.4.5. Determinación del hematocrito.

La determinación del hematocrito se ha efectuado siguiendo la técnica de la microcentrifugación (15), partiendo de sangre anticoagulada con EDTA-di-K y centrifugando a 12.000 x g durante 7,5 minutos.

3.4.6. Determinación del tiempo de protrombina.

La determinación del tiempo de protrombina se ha efectuado mediante la técnica de la tromboquinasa cálcica (15) y utilizando un dispositivo automático para medir el tiempo que tarda en aparecer el coágulo.

3.5. TRATAMIENTO ESTADISTICO DE LOS RESULTADOS.

La pauta general que se ha seguido en el tratamiento estadístico de los resultados, ha sido evitar las presunciones sobre el tipo de distribución de frecuencias de los resultados, y, en consecuencia, las conclusiones que se deriven de las pruebas estadísticas tendrán un máximo de rigor. Para ello se han estudiado las curvas de distribución de frecuencias de cada parámetro determinado, o se han empleado pruebas estadísticas no paramétricas, esto es, pruebas estadísticas que son independientes de la naturaleza de la distribución de frecuencias de la población en estudio.

3.5.1. Presentación de los resultados experimentales.

Gran parte de los resultados experimentales se presentan en forma de histograma, con indicación del número de efectivos de la muestra, la media y la desviación estándar.

Para evitar la arbitrariedad en la elección de los intervalos de clase de los histogramas, se ha seguido el método de STRICKBERGER (124). Dicho método calcula el valor de un intervalo de clase en función de la amplitud y del número de efectivos de la muestra, según se indica en la tabla VII. Partiendo de los datos de esta tabla, hemos construido la gráfica presentada en la fig. 15 con el fin de poder interpolar comodamente valores no incluidos en dicha tabla.

3.5.2. Estudio de las curvas de distribución de frecuencias.

Para el estudio de las curvas de distribución de frecuencias, se han efectuado pruebas de normalidad según KOLMOGOROV (51) y se han calculado los coeficientes de sesgo y curtosis (121), así como el parámetro estadístico conocido como K de PEARSON (103).

3.5.2.1. Prueba de normalidad según KOLMOGOROV.

La prueba de KOLMOGOROV, que es sólo aplicable cuando la muestra es aleatoria y cuantitativa continua, consiste básicamente en probar estadísticamente que la muestra en estudio (de media \bar{x} y desviación estándar s) pertenece a una población que se distribuye de forma normal y cuyos parámetros definitorios (media μ y desviación estándar σ) coinciden con la media y la

TABLA VII

METODO PARA OBTENER EL INTERVALO DE CLASE DE UN HISTOGRAMA

Tamaño de la muestra	Número para dividir la amplitud o rango
20	9,2
30	10,2
50	10,7
70	12,0
100	12,5
150	13,2
200	13,7
300	14,5
400	14,7
500	15,2
700	15,7
1000	16,2

Se halla la diferencia entre el menor y el mayor de los resultados obtenidos (amplitud). La amplitud se divide por el número hallado en la columna de la derecha correspondiente al tamaño de la muestra en estudio; el resultado es el intervalo de clase.

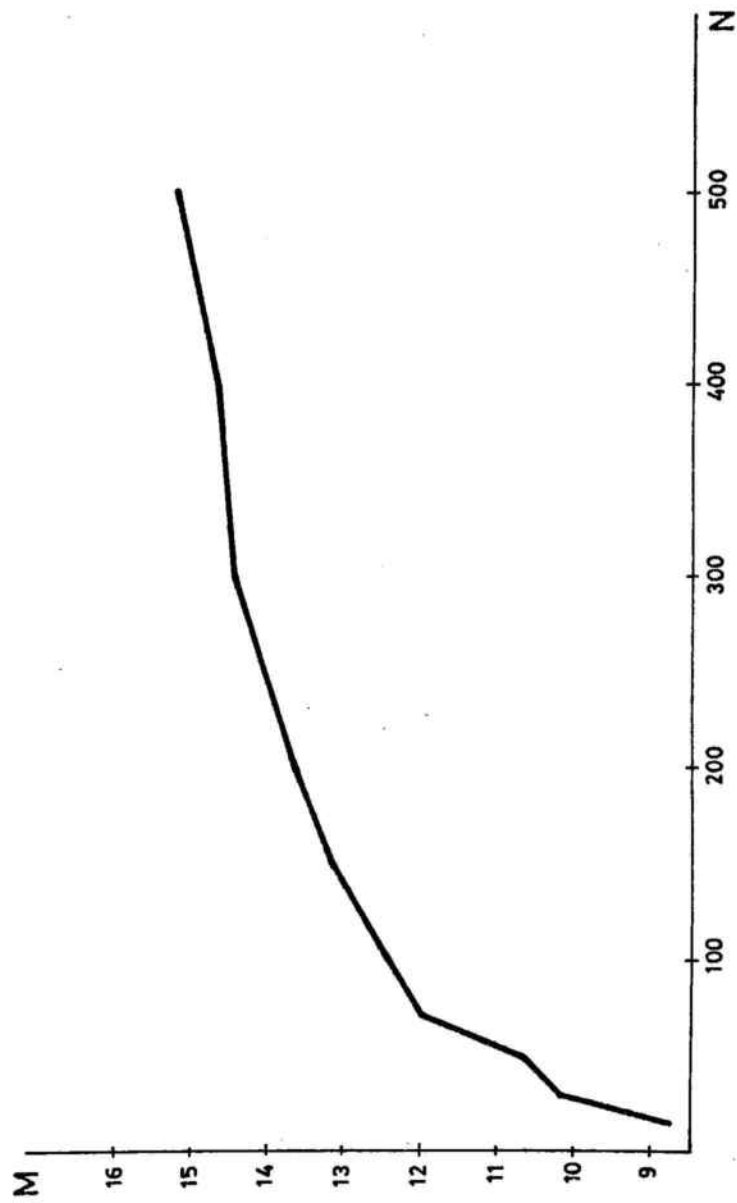


FIGURA 15: Método para obtener el intervalo de clase para un histograma.

N = tamaño de la muestra.

M = n.º para dividir el rango y obtener el intervalo de clase.

desviación estándar calculados en la muestra. Para ello se distribuyen los resultados en intervalos de clase y se calculan las frecuencias relativas acumuladas reales de cada clase y las frecuencias relativas acumuladas teóricas en el supuesto de que dicha muestra se distribuyese según una ley normal, de media y desviación estándar iguales a las halladas en la muestra. A partir de estos datos se calculan las diferencias, D_i , que existen entre las frecuencias relativas acumuladas reales, P_i , y las frecuencias relativas acumuladas teóricas, S_i . Las diferencias D_i serán tanto mayores, en valor absoluto, cuanto mayor sea la discrepancia entre las distribuciones real y teórica.

La tabla de LILLIEFORS contiene los valores límite de D_i en función del número de efectivos, N , de la muestra y de la magnitud del riesgo de primera especie, α , que se acepte.

La comparación estadística se efectúa como sigue:

- Si $D_i \leq D(N, \alpha)$: nada se opone a aceptar la normalidad de la población origen de la muestra.
- Si $D_i > D(N, \alpha)$: se rechaza la normalidad de la población origen de la muestra con un riesgo α .

El riesgo de primer género que hemos aceptado en las pruebas de normalidad en el presente trabajo, ha sido $\alpha = 0,05$.

3.5.2.2. Coeficiente de sesgo, coeficiente de curtosis y K de PEARSON.

El coeficiente de sesgo, β_1 , indica el grado de asimetría de una distribución de frecuencias. Se calcula de la forma siguiente:

$$\beta_1 = \frac{\left(\frac{1}{N} \sum x_i^3 - \frac{3}{N} \bar{x} \sum x_i^2 + 2\bar{x}^3\right)^2}{\left(\frac{1}{N} \sum x_i^2 - \bar{x}^2\right)^3}$$

El coeficiente, β_2 , de curtosis indica el grado de apuntamiento o altura de una distribución de frecuencias. El cálculo de β_2 se efectúa como sigue:

$$\beta_2 = \frac{\frac{1}{N} \sum x_i^4 - \frac{4}{N} \bar{x} \sum x_i^3 + \frac{6}{N} \bar{x}^2 \sum x_i^2 - 3\bar{x}^4}{\left(\frac{1}{N} \sum x_i^2 - \bar{x}^2\right)^2}$$

PEARSON (103) concibió un parámetro, posteriormente conocido como K de PEARSON, que caracteriza numéricamente distintos tipos de curvas de frecuencias. Este parámetro se calcula según la fórmula:

$$K = \frac{\beta_1 (\beta_2 + 3)^2}{4 (4 \beta_2 - 3 \beta_1) (2 \beta_2 - 3 \beta_1 - 6)}$$

siendo β_1 y β_2 los coeficientes de sesgo y curtosis, respectivamente.

Cuando una distribución de frecuencias es normal, los parámetros mencionados poseen los siguientes valores:

$$\beta_1 = 0$$

$$\beta_2 = 3$$

$$K \text{ de PEARSON} = 0$$

Estos parámetros han sido calculados en nuestras muestras para decidir si una distribución se considera normal o logaritmo-normal cuando tanto los valores de los efectivos de la muestra, como sus \ln , indican normalidad con la prueba de KOLMOGOROV. En estos casos el criterio seguido ha sido tomar la distribución con valores de β_1 , β_2 y K más próximos a los correspondientes a la distribución normal.

3.5.3. Comparación de dos medias en grupos con datos independientes.

Para este tipo de comparaciones se han utilizado tres tipos de pruebas según el número de efectivos de los grupos a comparar o el tipo de su distribución de frecuencias (51).

3.5.3.1. Prueba \underline{z} o de la distribución normal reducida en grupos con datos independientes (muestras grandes).

Esta prueba se utiliza cuando el número de efectivos que componen la muestra es igual o superior a 30. De hecho, por ser ésta su única condición de aplicación, se podría considerar como una prueba no paramétrica, aunque su desarrollo teórico esté basado en consideraciones paramétricas.

El valor de \underline{z} se calcula como sigue:

$$z = \frac{|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|}{\sqrt{\frac{s_1^2}{N_1} + \frac{s_2^2}{N_2}}}$$

El criterio de decisión estadística es:

- Si $z \leq z_{2\alpha}$: nada se opone a aceptar que los dos grupos proceden de dos poblaciones con igual media.
- si $z > z_{2\alpha}$: se rechaza la igualdad de la media con riesgo α .

El valor de z se encuentra tabulado a partir de la ecuación de la curva normal reducida para distintos valores de α . El riesgo que hemos aceptado es $\alpha = 0,05$.

3.5.3.2. Comparación de una muestra a una población de media conocida (muestras pequeñas).

La condición de aplicación de la presente prueba es que la población sea normal. La prueba consiste en el cálculo de la t de STUDENT de la manera siguiente:

$$t = \frac{|\bar{x} - \mu|}{\sqrt{\frac{s^2}{N}}}$$

y el grado de libertad es $\nu = n-1$.

Comparando la t hallada con la correspondiente de la tabla en que se hallan los posibles valores de t según la ley de STUDENT-FISHER, para un grado de libertad y un riesgo α determinados, el criterio de decisión estadística es:

- Si $t \leq t(\nu, \alpha)$: nada se opone a aceptar que la muestra procede de una población con media μ .
- Si $t > t(\nu, \alpha)$: se rechaza la hipótesis anterior con un riesgo α .

El riesgo que se ha aceptado es el correspondiente a $\alpha = 0,05$.

3.5.3.3. Prueba U de MANN-WHITNEY para comparar dos grupos con datos independientes.

Esta prueba constituye la alternativa más útil a la prueba t cuando se desea evitar las suposiciones que ésta exige (119).

Para la realización de esta prueba se ordenan, de menor a mayor, los valores de los efectivos de cada grupo conjuntamente, asignando a cada valor el número de orden correspondiente. En caso de efectivos de un mismo valor, se tomará como número de orden el promedio de los números de orden correspondientes.

Sea R_1 la suma de los números de orden de los efectivos pertenecientes al grupo 1 y R_2 la suma de los pertenecientes al grupo 2. A partir de R_1 y R_2 se calculan los índices U mediante las fórmulas siguientes:

$$U_{12} = N_1 N_2 + \frac{N_1 (N_1 + 1)}{2} - R_1$$

$$U_{21} = N_1 N_2 + \frac{N_2 (N_2 + 1)}{2} - R_2$$

De estos dos índices se toma el menor. Si el tamaño de la menor de las dos muestras es inferior o igual a 20, se utilizará la tabla donde están tabulados los valores mínimos de U para los que se cumple que los grupos estudiados proceden de

poblaciones iguales, para un riesgo α determinado. En este caso el criterio de decisión estadística es el siguiente:

- Si $U \geq U(N_1, N_2, \alpha)$: nada se opone a aceptar que las dos muestras proceden de la misma población.
- Si $U < U(N_1, N_2, \alpha)$: se rechaza la hipótesis anterior con un riesgo α .

En el caso de que el tamaño de cada una de las dos muestras sea superior a 10, se cumple que:

$$z = \frac{U - \frac{N_1 N_2}{2}}{\sqrt{\frac{N_1 N_2 (N_1 + N_2 + 1)}{12}}}$$

con lo que se puede comparar el valor de z hallado con el correspondiente de la tabla de los valores de z en la distribución normal reducida, de forma que:

- Si $z \leq z_\alpha$: nada se opone a aceptar que las dos muestras proceden de una misma población.
- Si $z > z_\alpha$: se rechaza la hipótesis anterior con un riesgo α .

Una vez más, el riesgo de primer género que se ha aceptado en el presente trabajo, ha sido $\alpha = 0,05$.

3.5.4. Prueba de la independencia (o relación) entre dos caracteres cuantitativos aleatorios.

Esta prueba consiste en el cálculo de un valor r , llamado coeficiente de correlación, y su comparación con los coeficientes de correlación observados en muestras extraídas al azar de dos poblaciones sin correlación, tal que su coeficiente de correlación sea cero, conocida la ley de probabilidad que siguen estos coeficientes.

El cálculo de r se efectúa como sigue:

$$r = \frac{\sum (x_i - \bar{x}) (y_j - \bar{y})}{\sqrt{\sum (x_i - \bar{x})^2 \sum (y_j - \bar{y})^2}}$$

El criterio de decisión estadística es:

- Si $|r| \leq r(\nu, \alpha)$: nada se opone a aceptar la independencia de las dos variables.
- Si $|r| > r(\nu, \alpha)$: se admite la dependencia de las variables con un riesgo α .

Siendo $\nu = N - 2$, el número de grados de libertad.

En el caso de que el tamaño de las muestras sea superior a 30, la única condición de aplicación de esta prueba es que la relación entre las variables sea constantemente creciente o constantemente decreciente. Si el tamaño de las muestras es igual o inferior a 30, es necesario que se cumpla la normalidad de las dos variables.

4. RESULTADOS

4.1. MUESTRAS DE SANGRE Y PLASMA PROCEDENTES DEL GRUPO DE REFERENCIA.

4.1.1. Consideraciones previas.

Los resultados de los parámetros estudiados se han separado en dos grandes grupos: grupo de referencia masculino y grupo de referencia femenino. Esta separación se ha efectuado al considerar la gran influencia que tiene el hematocrito como factor de viscosidad y la influencia del sexo sobre el valor del hematocrito. Además, la mezcla de los resultados obtenidos con las muestras procedentes de ambos sexos no sería aleatoria, ya que han sido tomadas de una población en la que predomina el sexo femenino. Por lo tanto, los resultados se mantienen separados, atendiendo al sexo, a no ser que exista evidencia para poderlos mezclar.

4.1.2. Hematocrito.

El hematocrito ha sido determinado según la técnica de la microcentrifugación expuesta en el apartado 3.4.5.

Se debe resaltar que en un estudio preliminar, se llegó a la conclusión de que los valores del hematocrito suministrados por el contador de células Coulter S, no son adecuados para correlacionarlos con los parámetros reológicos, ya que este instrumento obtiene el hematocrito por cálculo a partir de la concentración de eritrocitos y del volumen corpuscular

medio, con lo que omite la porción de plasma que rodea al eritrocito y se comporta hidrodinámicamente como una extensión rígida del mismo (apartado 2.2.5).

Los resultados del hematocrito hallados en los grupos de referencia femenino y masculino se exponen en las figuras 16 y 17 respectivamente.

4.1.3. Viscosidad aparente de la sangre a 225 s^{-1} .

Los valores de la viscosidad aparente de la sangre obtenidos a un gradiente de velocidad de 225 s^{-1} se detallan en las figuras 18 y 19.

Comparando las medias de viscosidad aparente a 225 s^{-1} entre los grupos de referencia masculino y femenino, se observa que existe una diferencia muy significativa entre ambos ($p < 0,001$). Ante este hecho cabe pensar, si las diferencias halladas son debidas tan solo a que los hematocritos de cada grupo son diferentes, o bien a que existe algún otro factor que hace que las viscosidades aparentes sean diferentes, aún teniendo iguales hematocritos.

Para averiguar si esta diferencia de viscosidad aparente entre los dos sexos, para un mismo gradiente de velocidad, es debida tan solo a la diferencia de hematocritos, se han realizado comparaciones mediante la prueba U de MANN-WHITNEY,

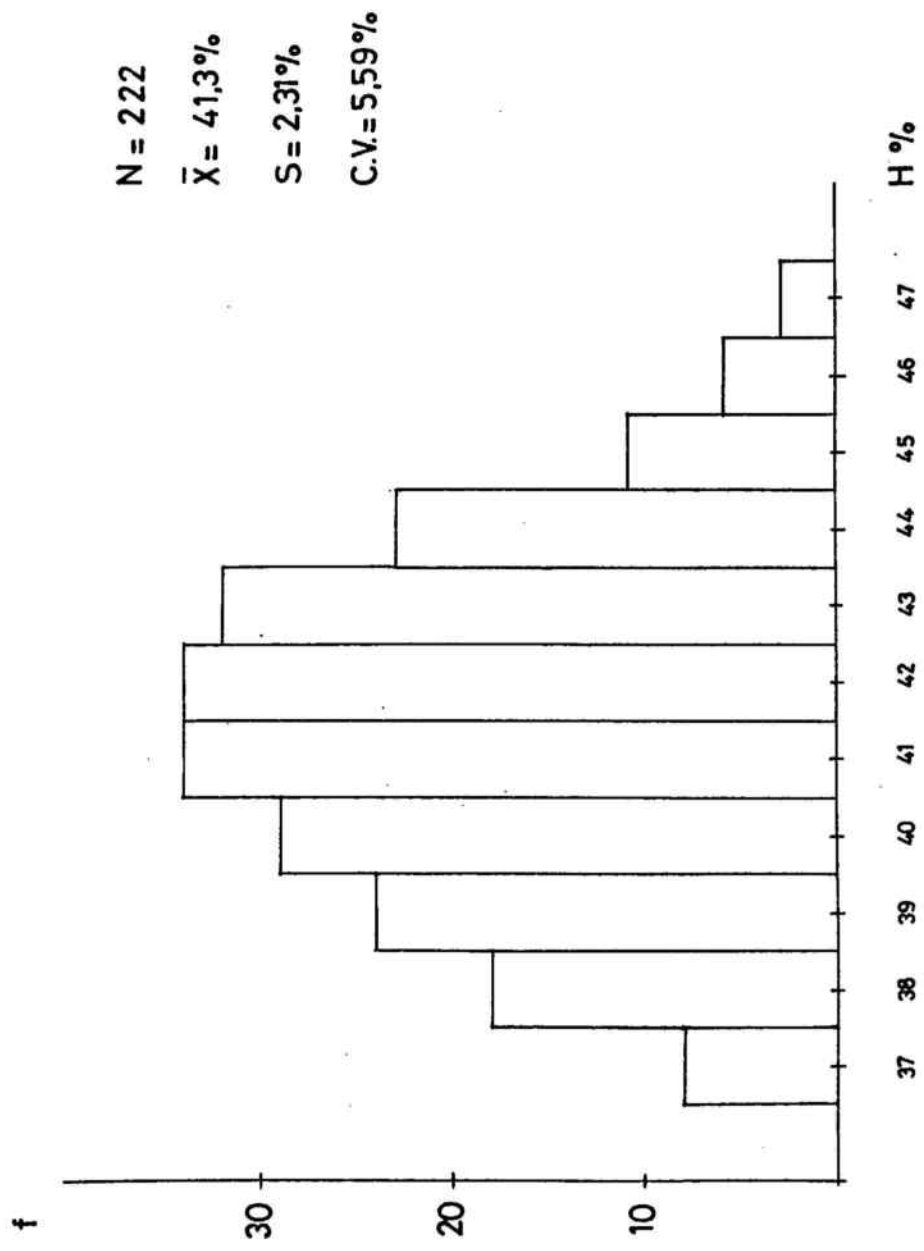


FIGURA 16: Histograma de los hematocritos hallados en el grupo de referencia femenino .

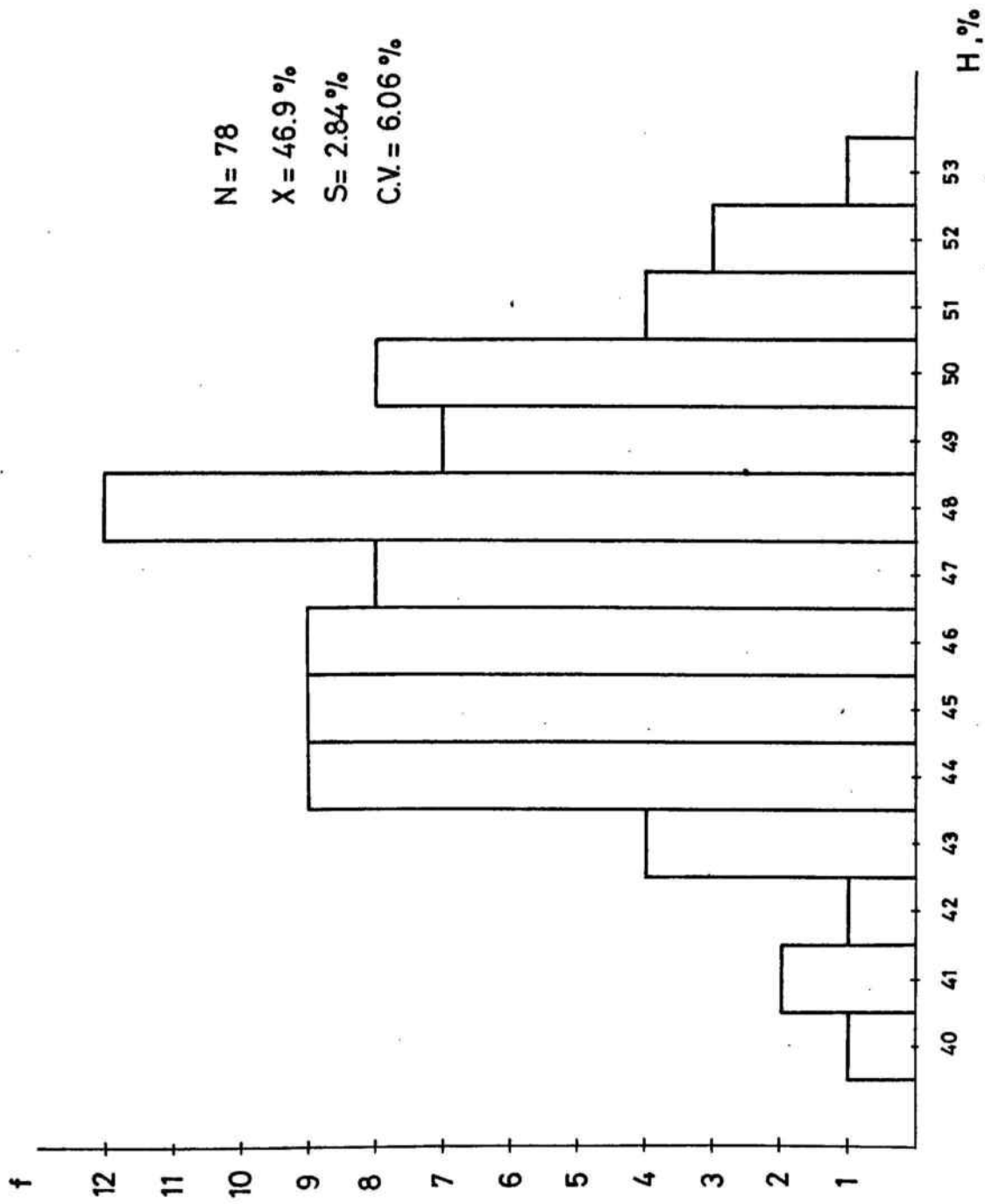


FIGURA 17: Histograma de los hematocritos hallados en el grupo de referencia masculino.

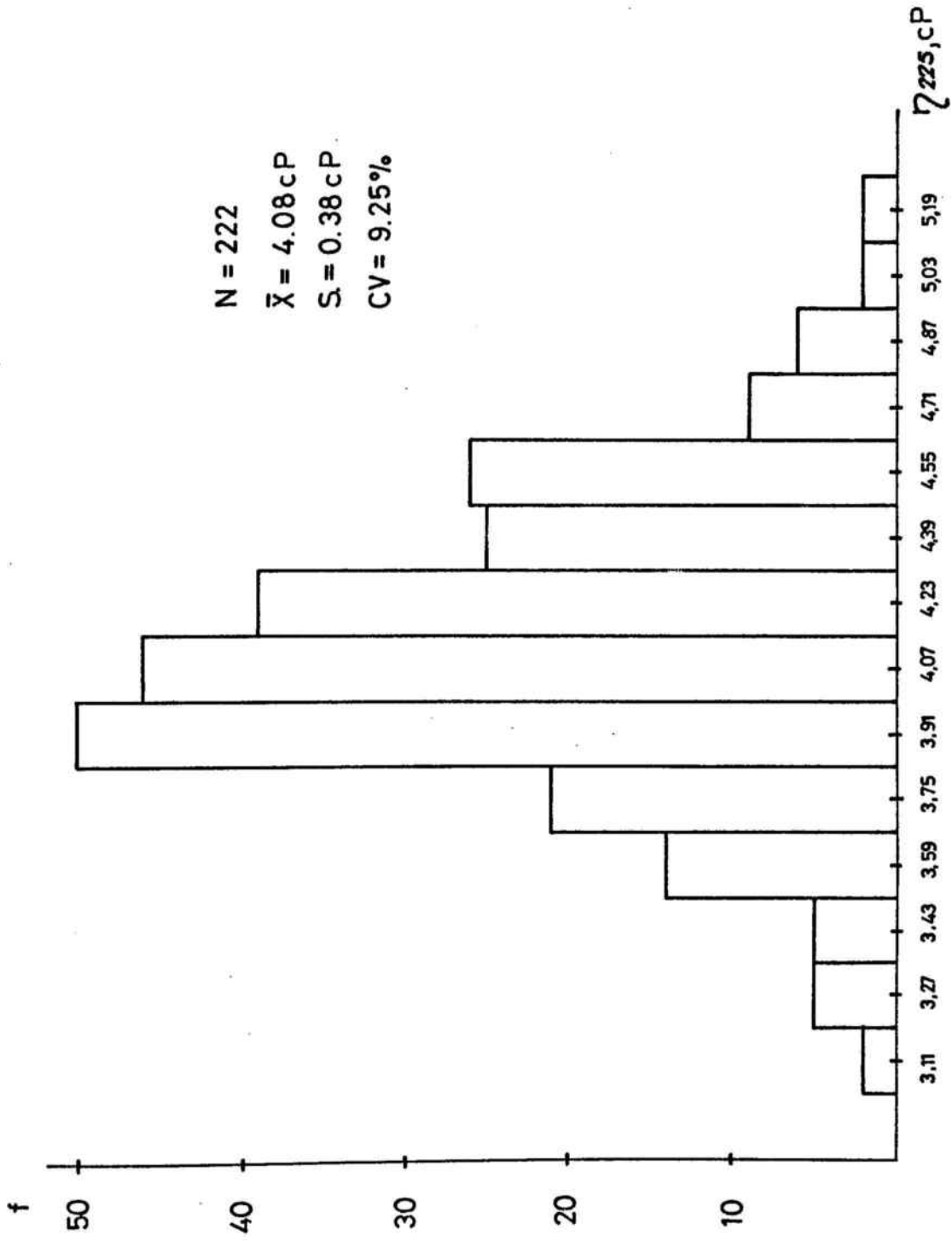


FIGURA 18 : Histograma de las viscosidades aparentes de la sangre a 225 s^{-1} hallados en el grupo de referencia femenino.

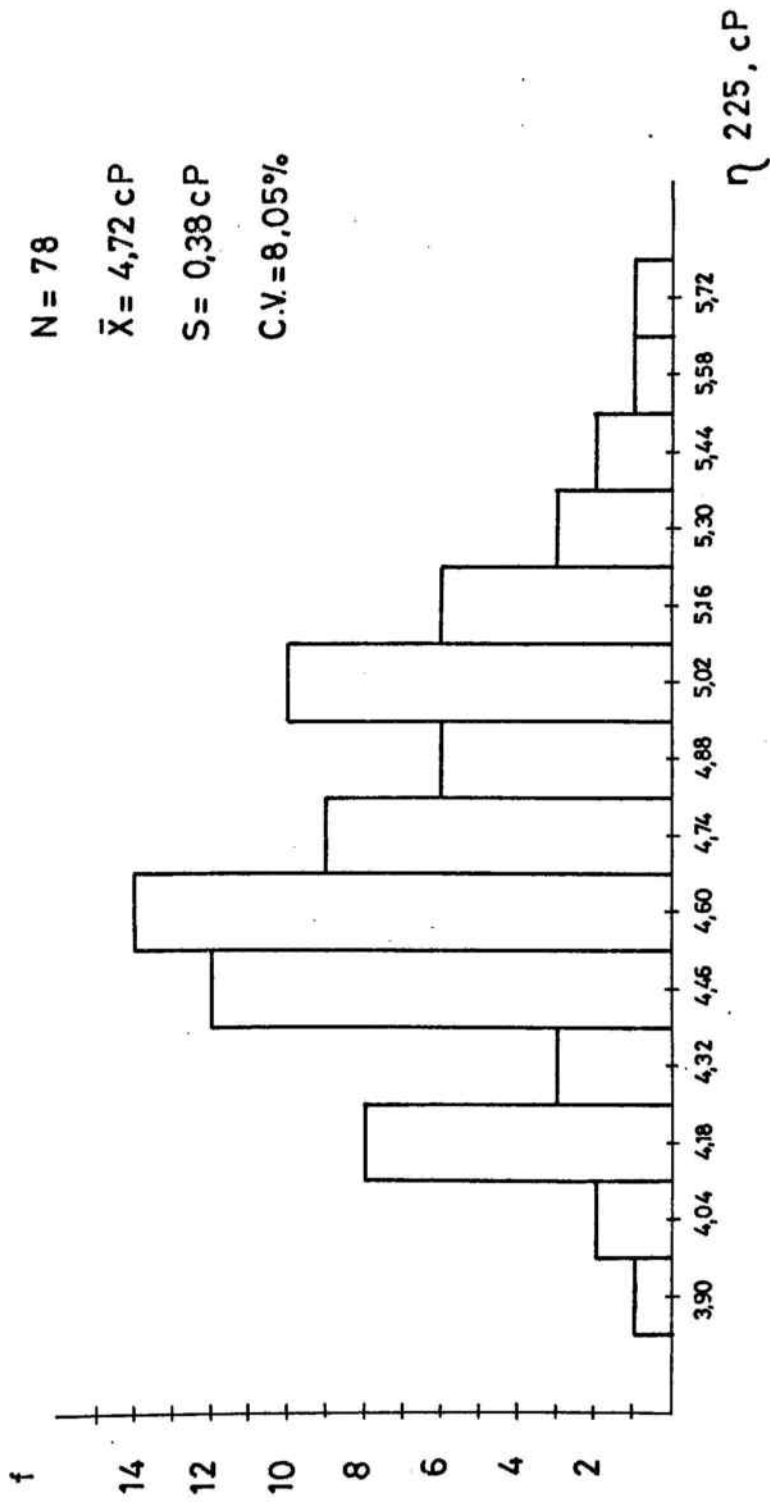


FIGURA 19: Histograma de las viscosidades aparentes de la sangre a 225 s^{-1} hallados en el grupo de referencia masculino.

entre la viscosidad aparente de cada grupo de referencia correspondientes a muestras de sangre con igual hematocrito. Después de aplicar la prueba estadística citada a cinco pares de grupos de datos con hematocritos 43, 44, 45, 46 y 47%, se observa que no hay diferencias significativas entre la viscosidad aparente de muestras con un mismo hematocrito ya sean del grupo de referencia masculino o del femenino.

4.1.4. Viscosidad del plasma a 225 s^{-1} .

Los valores de viscosidad del plasma obtenidos a 225 s^{-1} se exponen en las figuras 20 y 21. El análisis estadístico (prueba U de MANN-WHITNEY) entre la viscosidad del plasma del grupo de referencia masculino y del femenino, indica que no existen diferencias significativas entre los dos grupos. Esta conclusión ya era previsible en tanto que en el plasma, a diferencia de la sangre, no existe un condicionante tan importante, dependiente del sexo, como el del hematocrito.

A raíz de la anterior conclusión, se han fusionado los valores de viscosidad del plasma procedentes del grupo de referencia masculino y femenino. Estos valores reagrupados se presentan en el histograma de la figura 22.

4.1.5. Viscosidad de CASSON y umbral de fluencia de la sangre.

En las tablas VIII y IX, quedan reflejados los pares de valores viscosidad de CASSON y umbral de fluencia obtenidos al

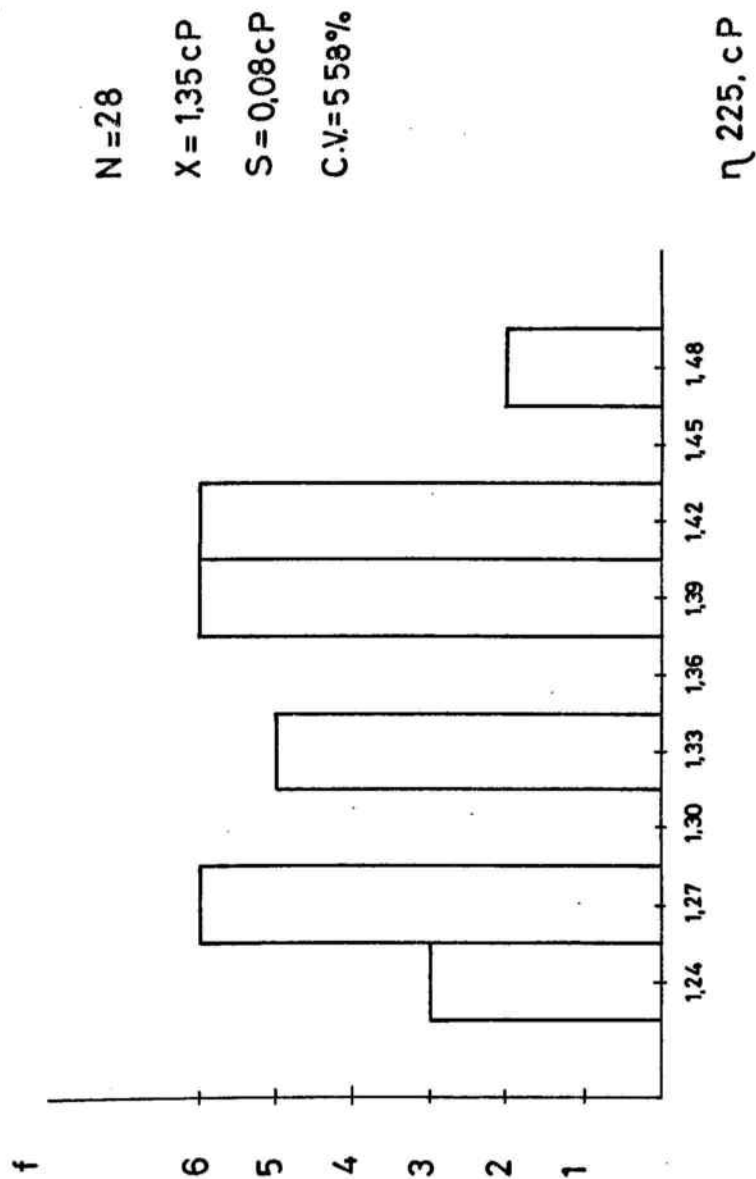


FIGURA 20: Histograma de las viscosidades aparentes del plasma a 225 s^{-1} hallados en el grupo de referencia femenino.

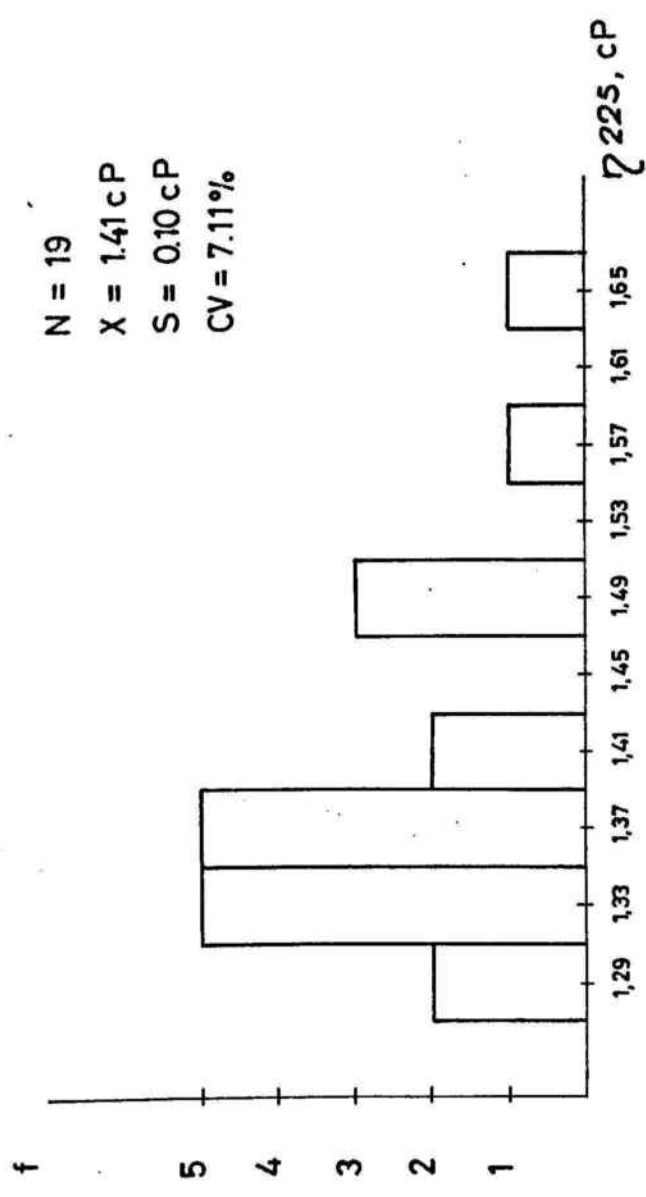


FIGURA 21: Histograma de las viscosidades aparentes del plasma a 225 s^{-1} hallados en el grupo de referencia masculino.

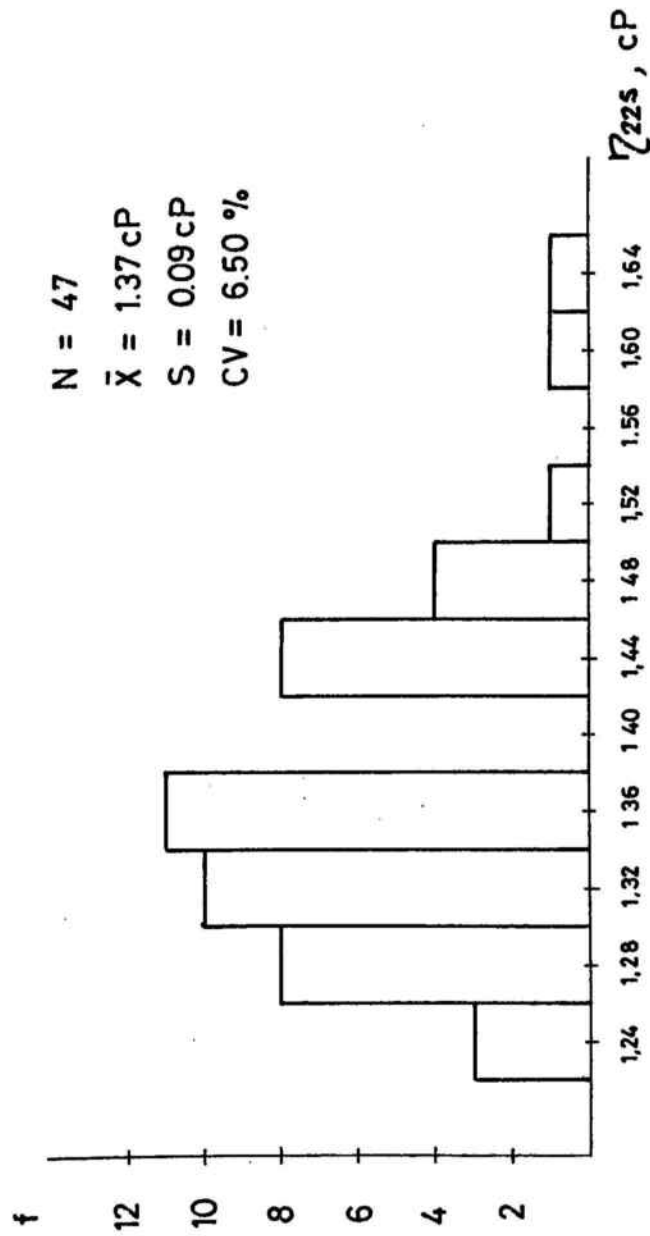


FIGURA 22: Histograma de las viscosidades aparentes del plasma a 225 s^{-1} halladas en el grupo de referencia (masculino y femenino).

TABLA VIII

τ_0	0,05 0,06 0,07 0,08 0,09 0,10 0,11 0,12 0,13 0,14 0,15 0,16 0,17 0,18 0,19 0,20																			$f n_c$	
n_c																					
2,44-2,56										1											2
2,57-2,69	1																			1	5
2,70-2,82	1																			1	10
2,83-2,95																					18
2,96-3,08	1	1	1	4	1	7	9	2	3	3	1	1	2	2						1	39
3,09-3,21	1	2	2	4	4	5	7	4	9	3	2	1									40
3,22-3,34	1			5	3	5	6	8	4	4	2	3								1	42
3,35-3,47																					27
3,48-3,60																					20
3,61-3,73																					10
3,74-3,86																					2
3,87-3,99																					5
4,00-4,12																					1
4,13-4,25																					1
$f \tau_0$	3	4	6	18	16	29	35	26	22	29	10	11	5	4	3	1					222

Pares de valores de viscosidad de CASSON, n_c , y umbral de fluencia, τ_0 , obtenidos en el grupo de referencia femenino.

TABLA IX

η_c \ τ_o	0,05	0,07	0,09	0,11	0,13	0,15	0,17	0,19	0,21	f η_c
	0,06	0,08	0,10	0,12	0,14	0,16	0,18	0,20	0,22	
2,96-3,07						1				1
3,08-3,19						2		2		4
3,20-3,31			1	1	1		1	1		5
3,32-3,43				1	1	1	1	2		6
3,44-3,55			1		2	4	4			11
3,56-3,67				4	3	1	1			9
3,68-3,79			1	1	3	2	3	1	1	12
3,80-3,91		1		3	1	3	2		1	11
3,92-4,03			1	1	1		1	2		6
4,04-4,15			2	1	1		1	1		6
4,16-4,27					2	1	1			4
4,28-4,39							1	1		2
4,40-4,51	1									1
f τ_o	1	1	6	12	15	15	16	10	2	78

Pares de valores de viscosidad de CASSON, η_c , y umbral de fluencia, τ_o , obtenidos en el grupo de referencia masculino.

aplicar la ecuación de CASSON a nuestros datos. En las figuras 23, 24, 25 y 26, se presentan los histogramas de cada parámetro por separado.

De la misma forma que se ha hecho para las viscosidades aparentes, se comparan las viscosidades de CASSON y los umbrales de fluencia de los grupos de referencia masculino y femenino, concluyendo que la diferencia es muy significativa ($p < 0,001$) para cada uno de los dos parámetros.

Al igual que en el caso de las viscosidades aparentes, se ha estudiado si las diferencias observadas entre los dos grupos son debidas únicamente al hematocrito. Para ello se han realizado comparaciones, utilizando la prueba U de MANN-WHITNEY, entre las viscosidades de CASSON de cada grupo que correspondieran a muestras de sangre con igual hematocrito. El mismo criterio se ha seguido para comparar los umbrales de fluencia de cada grupo. Después de aplicar la prueba citada a cinco pares de grupos de datos con hematocritos de 43, 44, 45, 46 y 47 %, no se han observado diferencias significativas ni entre las viscosidades de CASSON, ni entre los umbrales de fluencia de muestras con un mismo hematocrito, ya fuesen de hombres o de mujeres.

4.1.6. Viscosidad de CASSON y umbral de fluencia del plasma.

En las figuras 27, 28, 29 y 30 se presentan los histogramas de los valores de la viscosidad de CASSON y del umbral de fluencia, dedu-

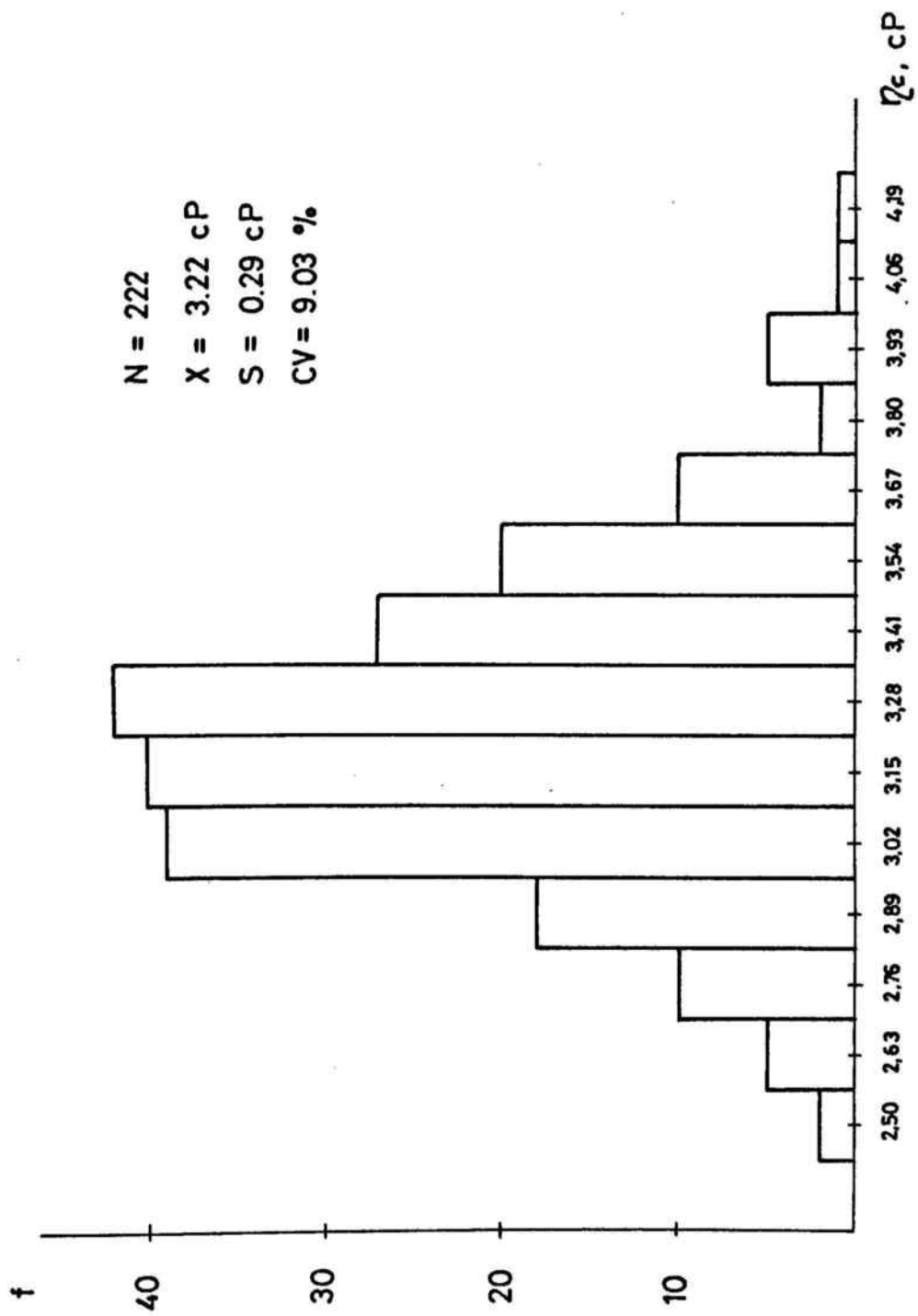


FIGURA 23 : Histograma de las viscosidades de Casson de la sangre halladas en el grupo de referencia femenino.

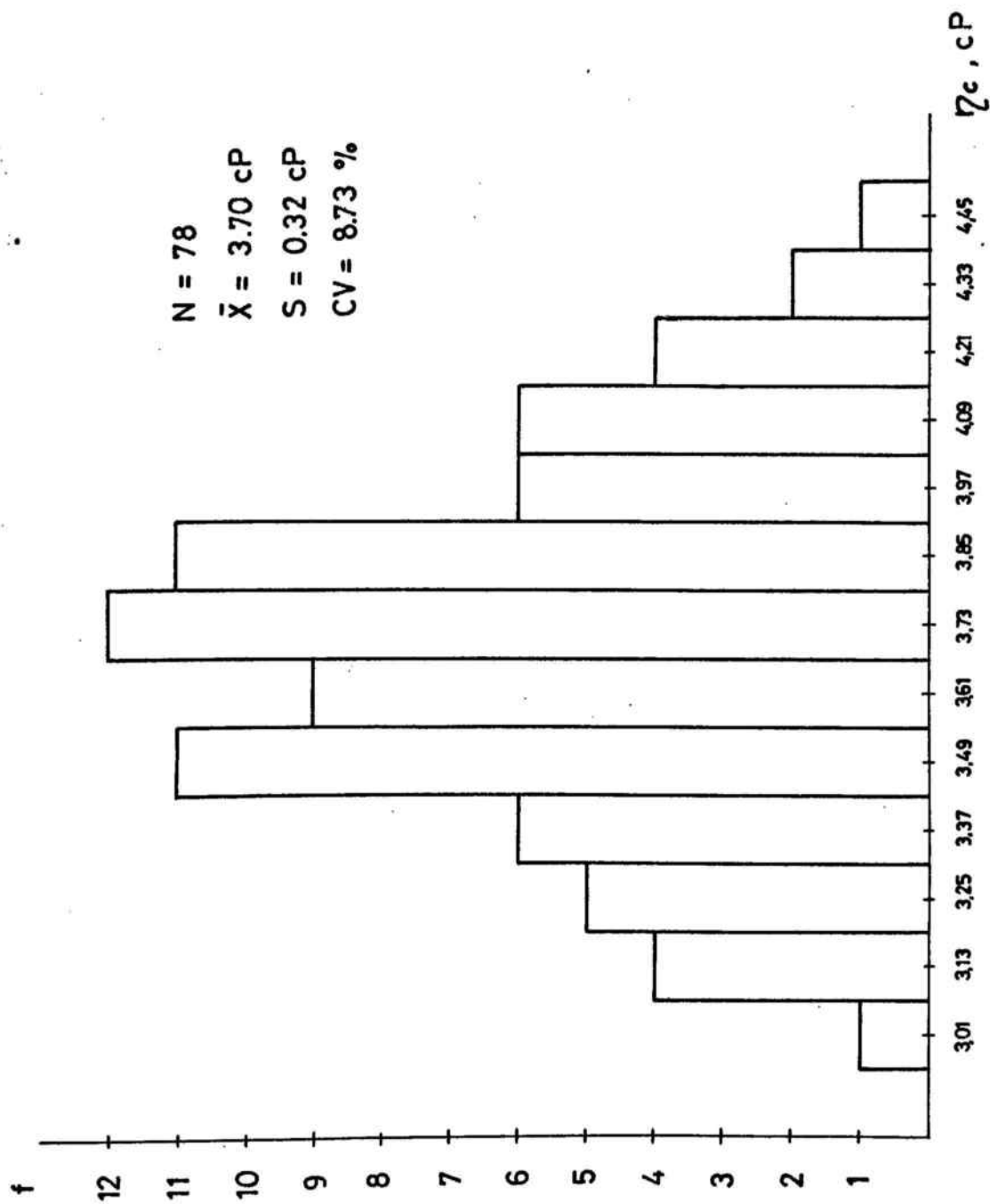


FIGURA 24 : Histograma de las viscosidades de Casson de la sangre halladas en el grupo de referencia masculino.

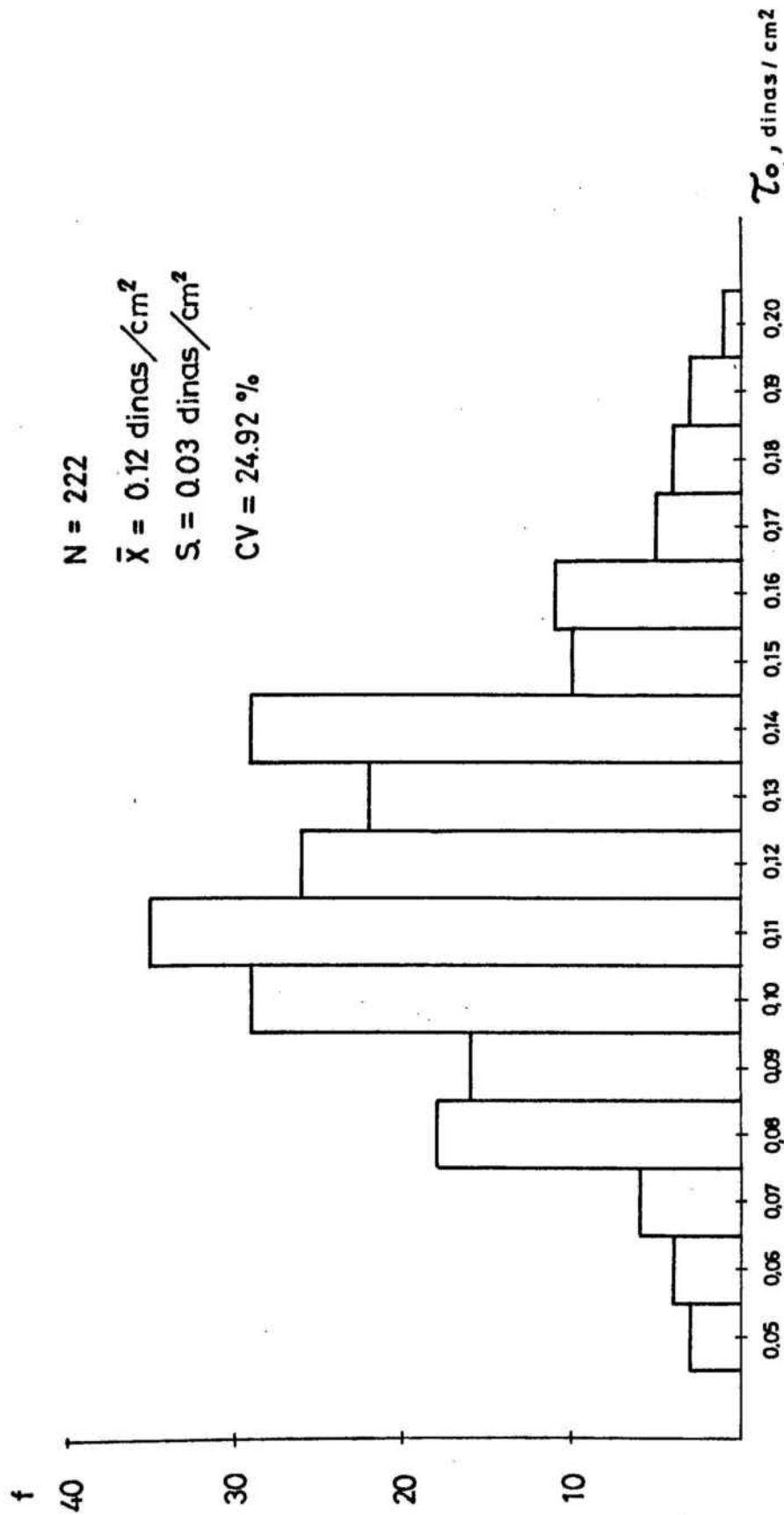


FIGURA 25 : Histograma de los umbrales de fluencia de la sangre hallados en el grupo de referencia femenino.

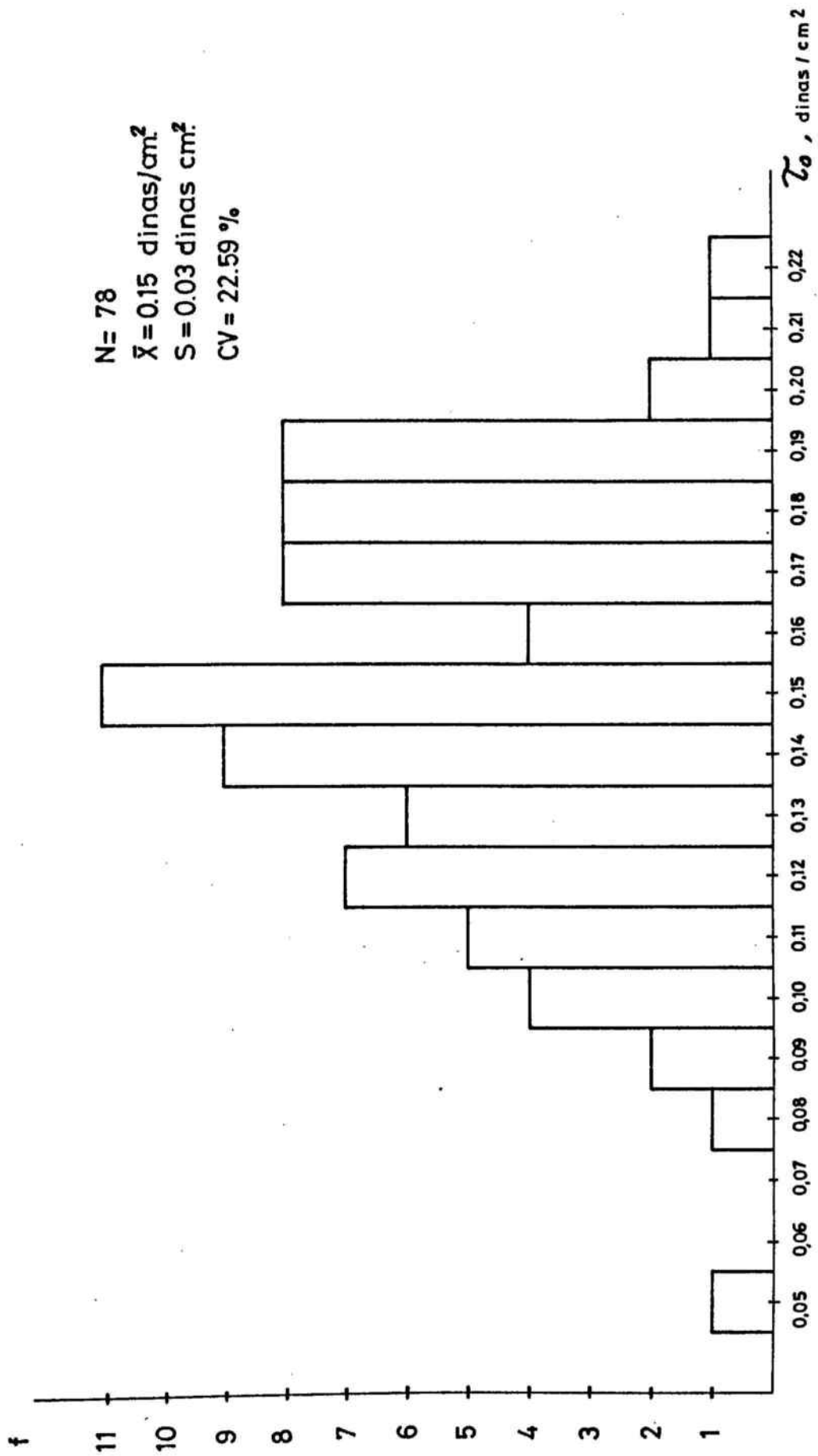


FIGURA 26: Histograma de los umbrales de fluencia de la sangre hallados en el grupo de referencia masculino.

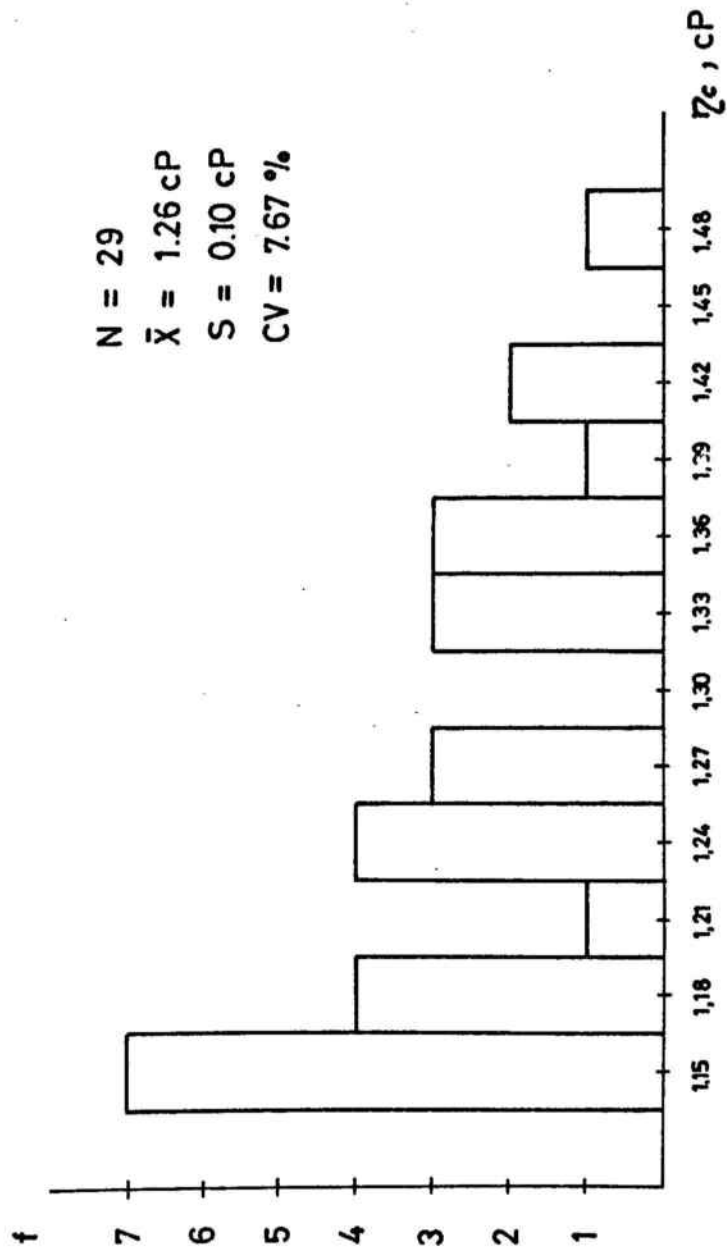


FIGURA 27 : Histograma de las viscosidades de Casson del plasma halladas en el grupo de referencia femenino.

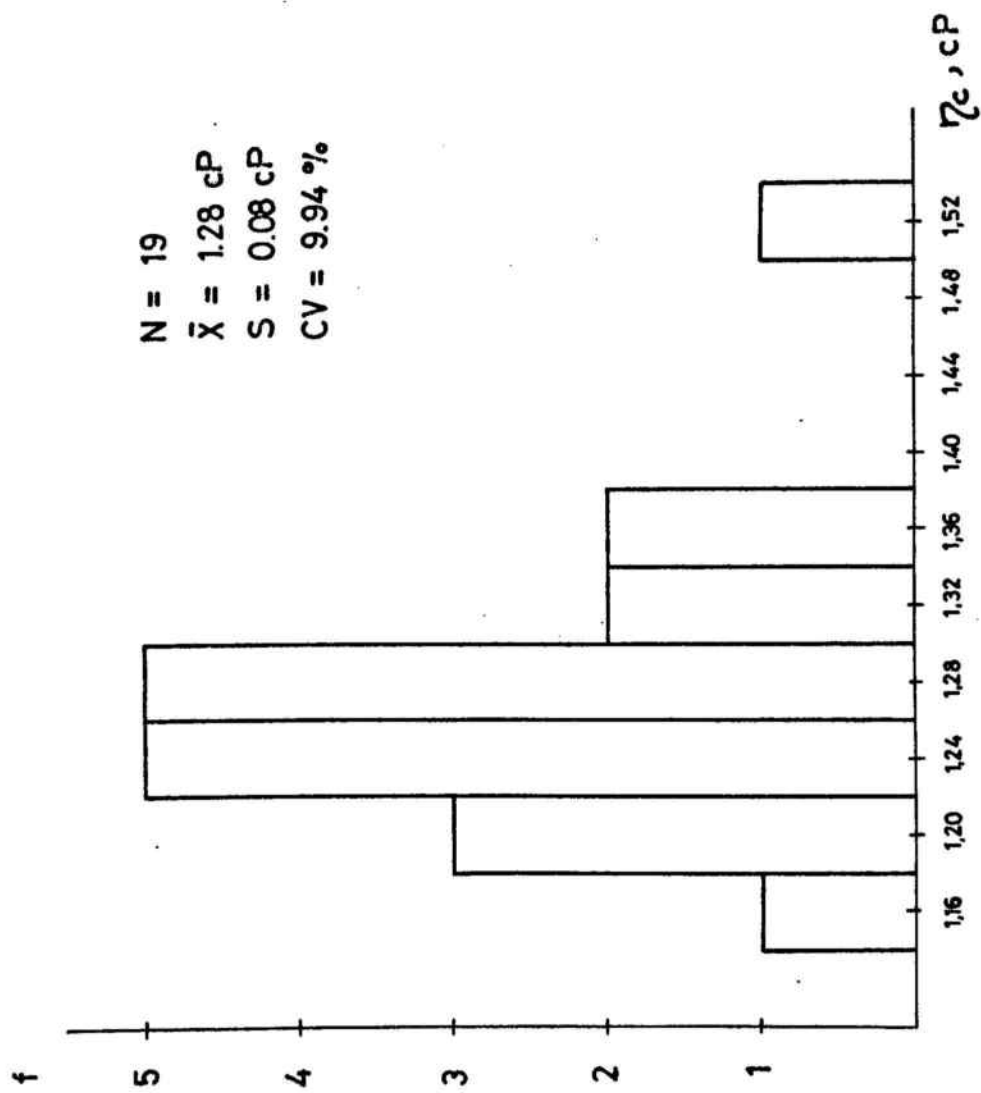


FIGURA 28: Histograma de las viscosidades de Casson del plasma halladas en el grupo de referencia masculino.

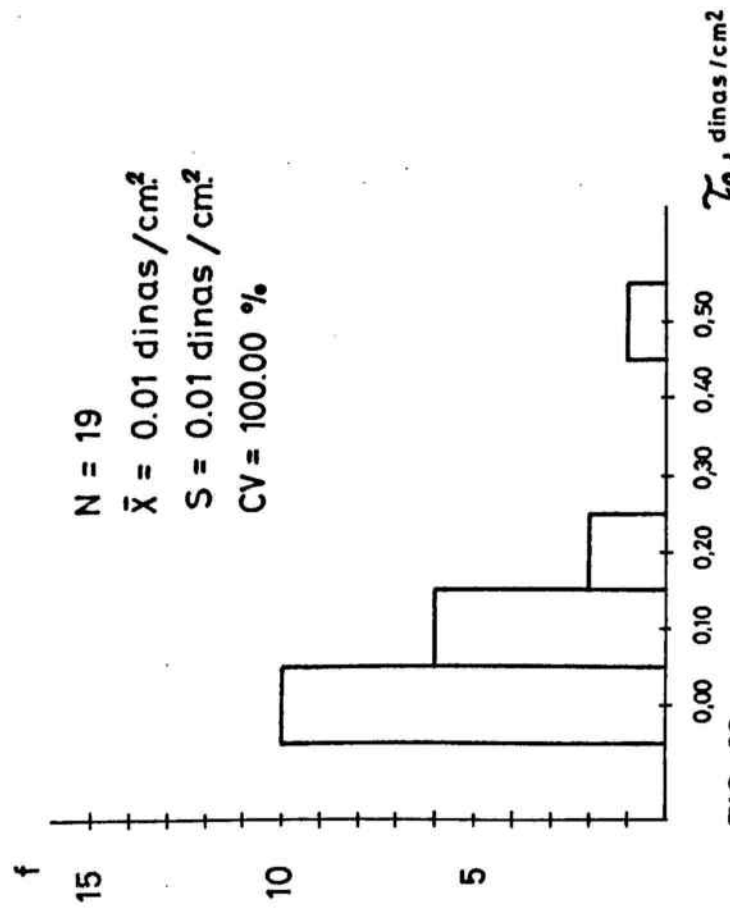


FIG. 29

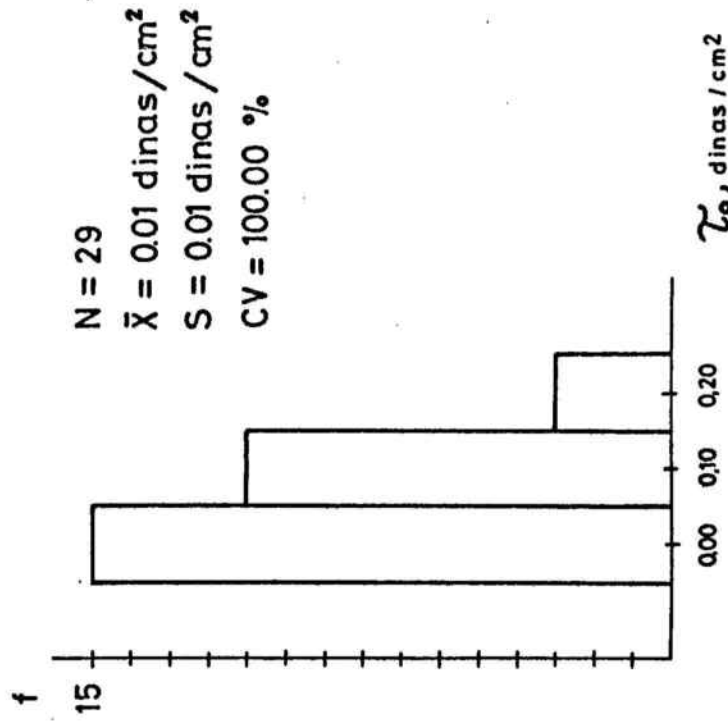


FIG. 30

FIGURAS 29-30 : Histogramas de los umbrales de fluencia del plasma hallados en el grupo de referencia masculino y femenino, respectivamente.

cidos de la ecuación de CASSON aplicada a los datos viscosimétricos de las muestras de plasma sanguíneo.

Aplicada la prueba U de MANN-WHITNEY a las viscosidades de CASSON del grupo de referencia masculino y del femenino, y a los umbrales de fluencia de los mismos grupos, se ha observado que no existen diferencias significativas para ninguno de los dos parámetros, entre los citados grupos.

Después de estas conclusiones, se han agrupado los valores obtenidos de viscosidad de CASSON, por un lado, y de umbral de fluencia, por otro, con independencia del sexo (figuras 31 y 32).

4.1.7. Estudio de las distribuciones de frecuencias.

El análisis del tipo de distribución de frecuencias de cada parámetro estudiado ha sido realizado, en el caso de la sangre, en el grupo de referencia femenino, por estar esta muestra constituida por muchos más efectivos que la del grupo masculino. En el caso del plasma el estudio se ha realizado con los dos grupos mezclados ya que, como se ha visto anteriormente, no existen diferencias significativas entre ambos.

De la información visual proporcionada por los histogramas de cada uno de los parámetros obtenidos, se pensó que las distribuciones de frecuencias podían ser de tipo normal o logarítmico-normal. Para comprobarlo se aplicó la prueba de normalidad de

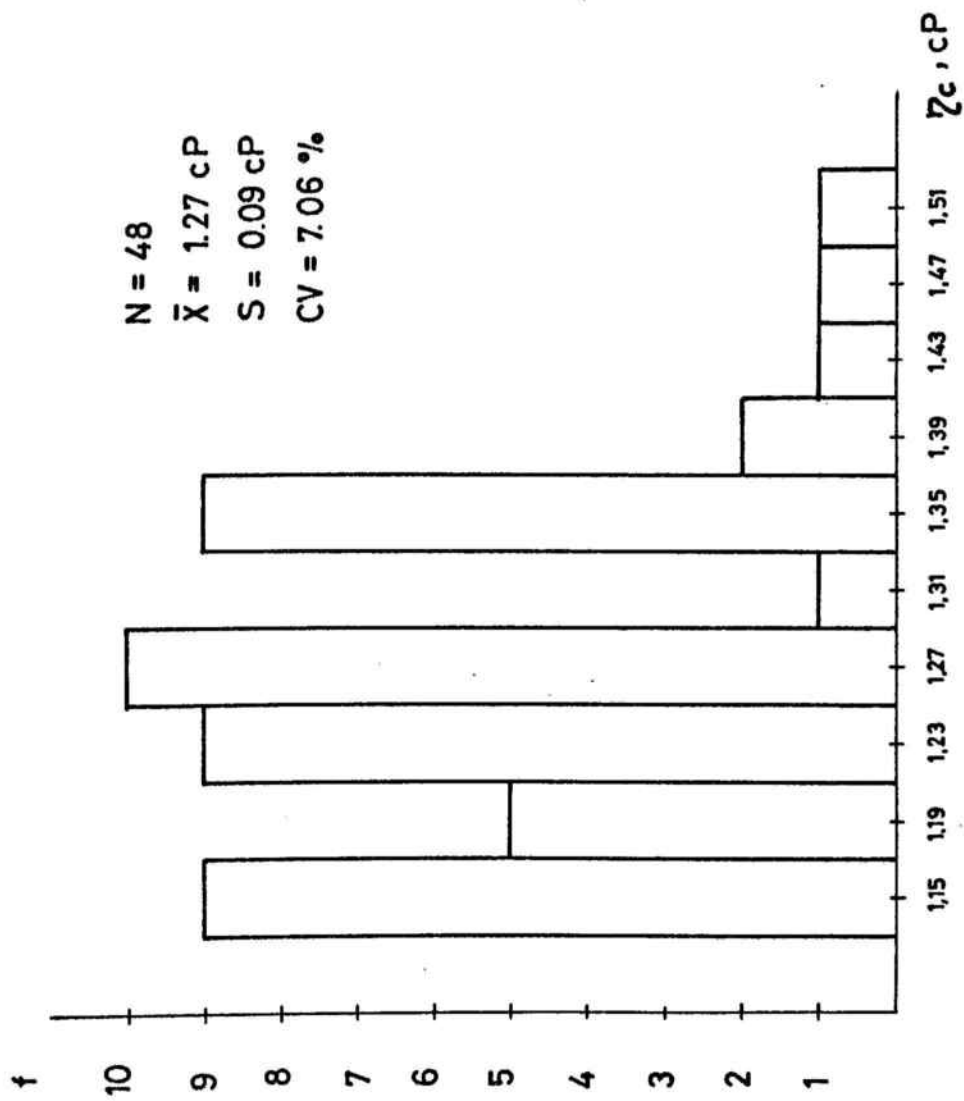


FIGURA 31: Histograma de las viscosidades de Casson del plasma halladas en el grupo de referencia (masculino y femenino).

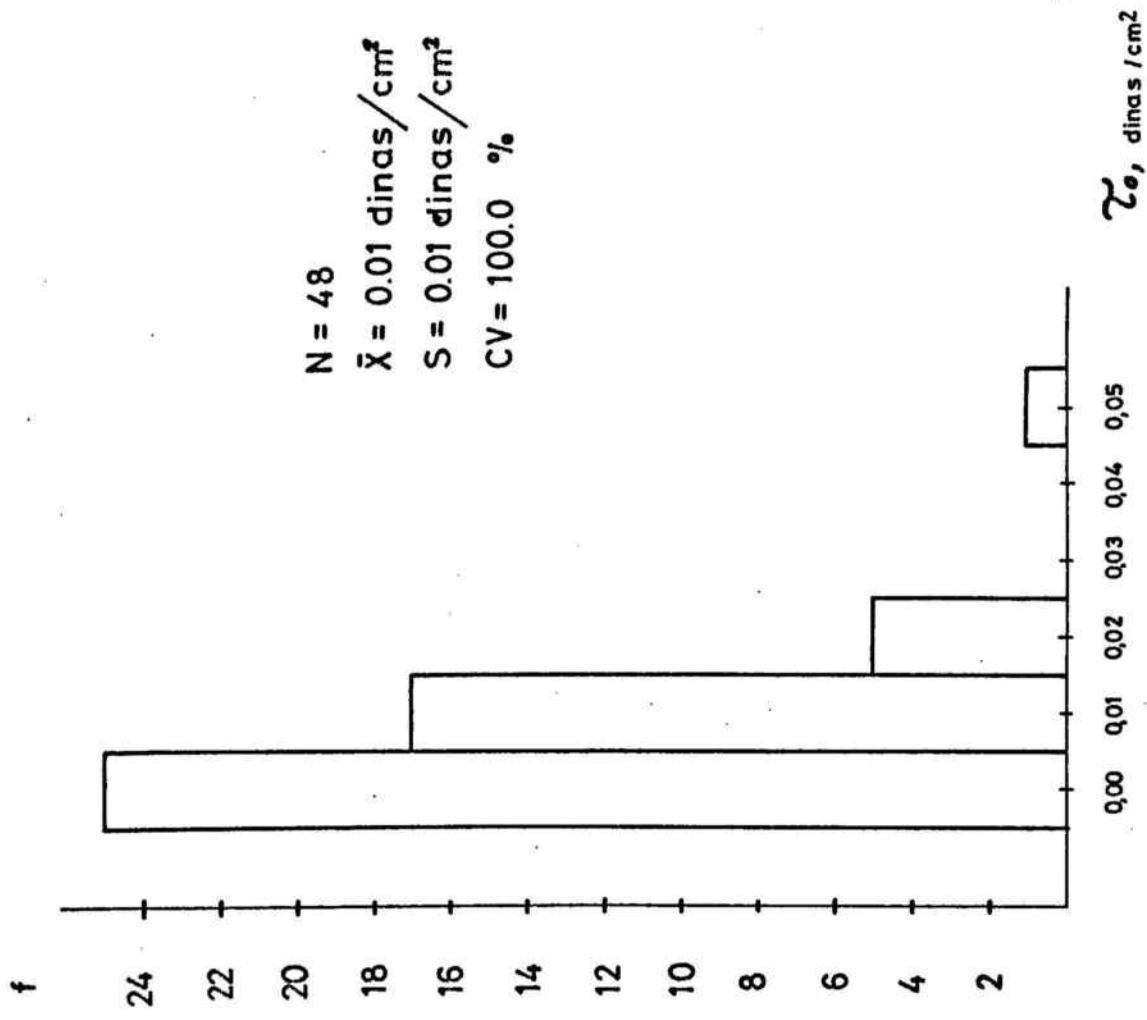


FIGURA 32: Histograma de los umbrales de fluencia del plasma hallados en el grupo de referencia (masculino y femenino).

KOLMOGOROV a los valores obtenidos y a sus logaritmos neperianos. Además se determinó en cada grupo el coeficiente de sesgo, el coeficiente de curtosis y la K de PEARSON.

En las tablas X y XI se hallan expuestos los resultados de las pruebas estadísticas y de los coeficientes hallados para sangre y plasma respectivamente.

De los resultados citados se deduce que: el hematocrito se distribuye de forma normal; la viscosidad aparente a 225 s^{-1} y la viscosidad de CASSON, tanto de sangre como de plasma, se distribuyen de forma logaritmo-normal; el umbral de fluencia de la sangre no se distribuye de forma normal ni logaritmo-normal; del umbral de fluencia del plasma sólo se ha podido averiguar que no se distribuye de forma normal.

4.1.8. Relación entre el hematocrito y los parámetros reológicos estudiados.

La relación entre la viscosidad de CASSON y el hematocrito, según un estudio realizado anteriormente (61), es de tipo exponencial, cuya ecuación es $\eta_c = e^{0,02208H} 1,29074$. El resultado que de esta ecuación se obtiene para el hematocrito cero no difiere significativamente del valor medio hallado para la viscosidad de CASSON media del plasma. Por este motivo, el estudio de la relación de los parámetros reológico y el hematocrito se ha realizado con los 300 resultados obtenidos de las muestras de sangre más

TABLA X

	D máxima de KOLMOGOROV	Coefficiente de sesgo	Coefficiente de curtosis	K de PEARSON
H	0,0208	0,922	2,4094	- 0,0494
ln H	0,0655	-0,0198	1,7179	0,0063
η_{225}	0,0710	0,1923	3,5382	0,8341
ln η_{225}	0,0362	-0,0317	3,4875	- 0,0222
η_c	0,0422	0,2729	3,5065	1,1264
ln η_c	0,0306	-0,0539	3,4406	- 0,0385
τ_0	0,0793	0,2171	2,8934	- 0,1996
ln τ_0	0,0857	-0,5442	3,4343	- 0,1465

$$D \text{ máx. } (222; 0,05) = 0,0595 ; D \text{ máx. } (222; 0,01) = 0,0692$$

Estudio de las distribuciones de frecuencias de los parámetros reológicos femeninos de la san-
gre determinados en el grupo de referencia.

TABLA XI

	D máxima de KOLMOGOROV	Coefficiente de sesgo	Coefficiente de curtosis	K de PEARSON
η_{225}	0,1367	0,7258	3,6643	-0,7608
$\ln \eta_{225}$	0,1185	0,5316	3,2755	-0,4357
η_c	0,0992	0,3321	2,9870	-0,2658
$\ln \eta_c$	0,0644	0,4167	2,7028	-0,1921
τ_0	0,2637	2,3094	10,8422	0,3467
$\ln \tau_0$	-	-	-	-

$$D \text{ máx. } (48 ; 0,05) = 0,1279 \quad ; \quad D \text{ máx. } (48 ; 0,01) = 0,1488$$

Estudio de las distribuciones de frecuencias de los parámetros reológicos del plasma determinados en el grupo de referencia femenino y masculino.

los 48 resultados obtenidos con las muestras de plasma sanguíneo.

Los resultados que se presentan en las figuras 33 y 34 indican que la viscosidad aparente a 225 s^{-1} y la viscosidad de CASSON de la sangre, incluyendo los valores obtenidos con el plasma (sangre con hematocrito cero), se relacionan con el hematocrito de forma exponencial, de acuerdo con las ecuaciones que en las citadas figuras se detallan y con una alta significación (en los dos casos $p < 0,001$). Los valores que de estas ecuaciones se obtienen para cada parámetro al extrapolar para el hematocrito cero, no difieren ($\alpha=0,05$) de las medias correspondientes a dichos parámetros, hallados en las muestras de plasma. En el caso del umbral de fluencia, no hemos podido hallar una ecuación general que relacionara de forma aceptable este parámetro con el hematocrito. Tan solo podemos decir que τ_0 está relacionado linealmente con el hematocrito ($p < 0,001$) para valores de éste comprendidos entre 37 y 52 % (figura 35).

4.1.9. Valores de referencia de la viscosidad aparente a 225 s^{-1} y de la viscosidad de CASSON.

Puesto que tanto el hematocrito como el logaritmo neperiano de la viscosidad aparente a 225 s^{-1} y la viscosidad de CASSON, se distribuyen de forma normal (apartado 4.1.7), para la determinación de los valores de referencia, se han utilizado, en

$$N = 348 \quad \eta_{225} = 0,02642 H + 1,36099$$

$$r = 0,98158 \quad \bar{x} \pm s$$

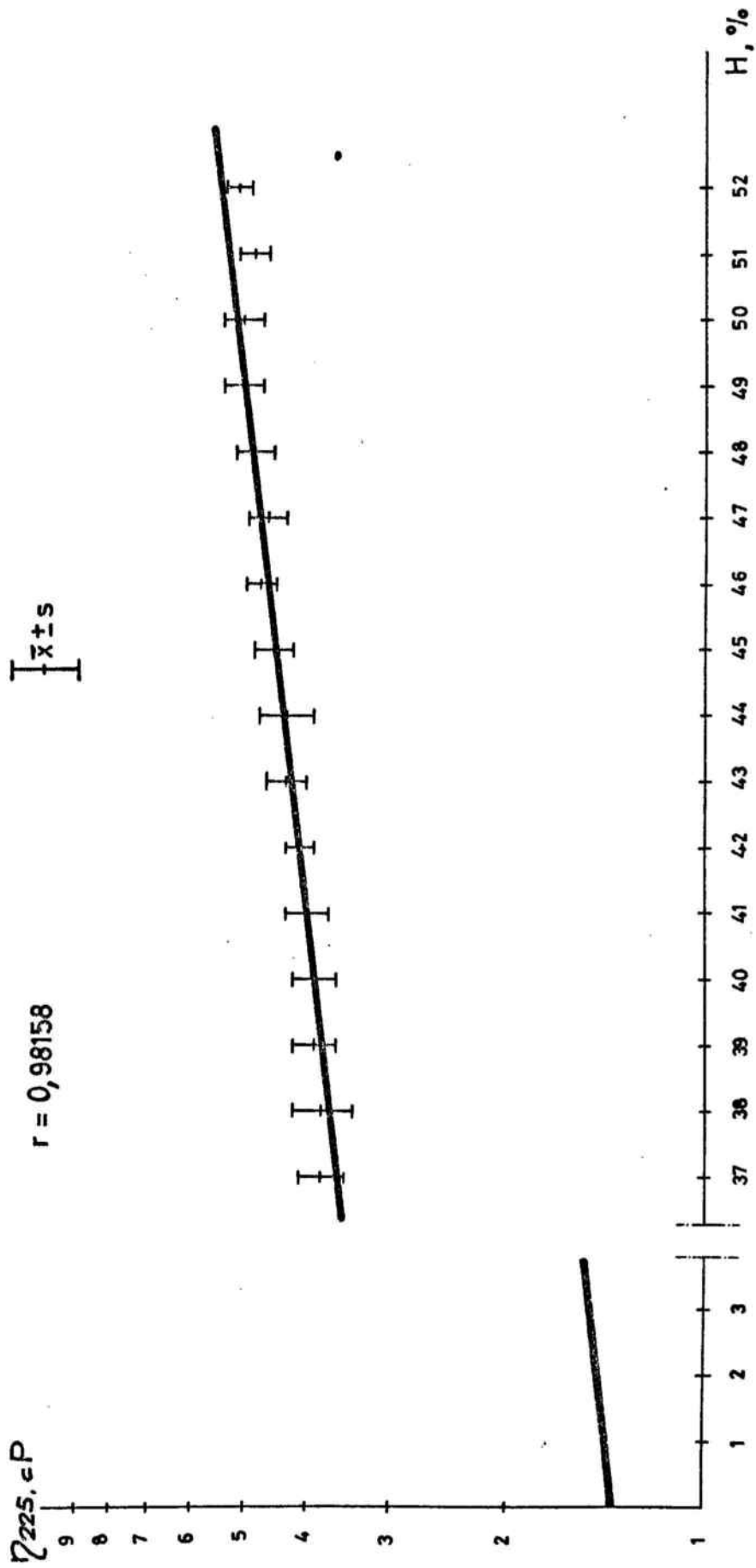


FIGURA 33. Relación entre la viscosidad aparente de la sangre a 225 s⁻¹ y el hematocrito.

$N = 348$ $\eta_c = e^{0,02249H} \cdot 1,26785$

$r = 0,97641$ $\bar{x} \pm s$

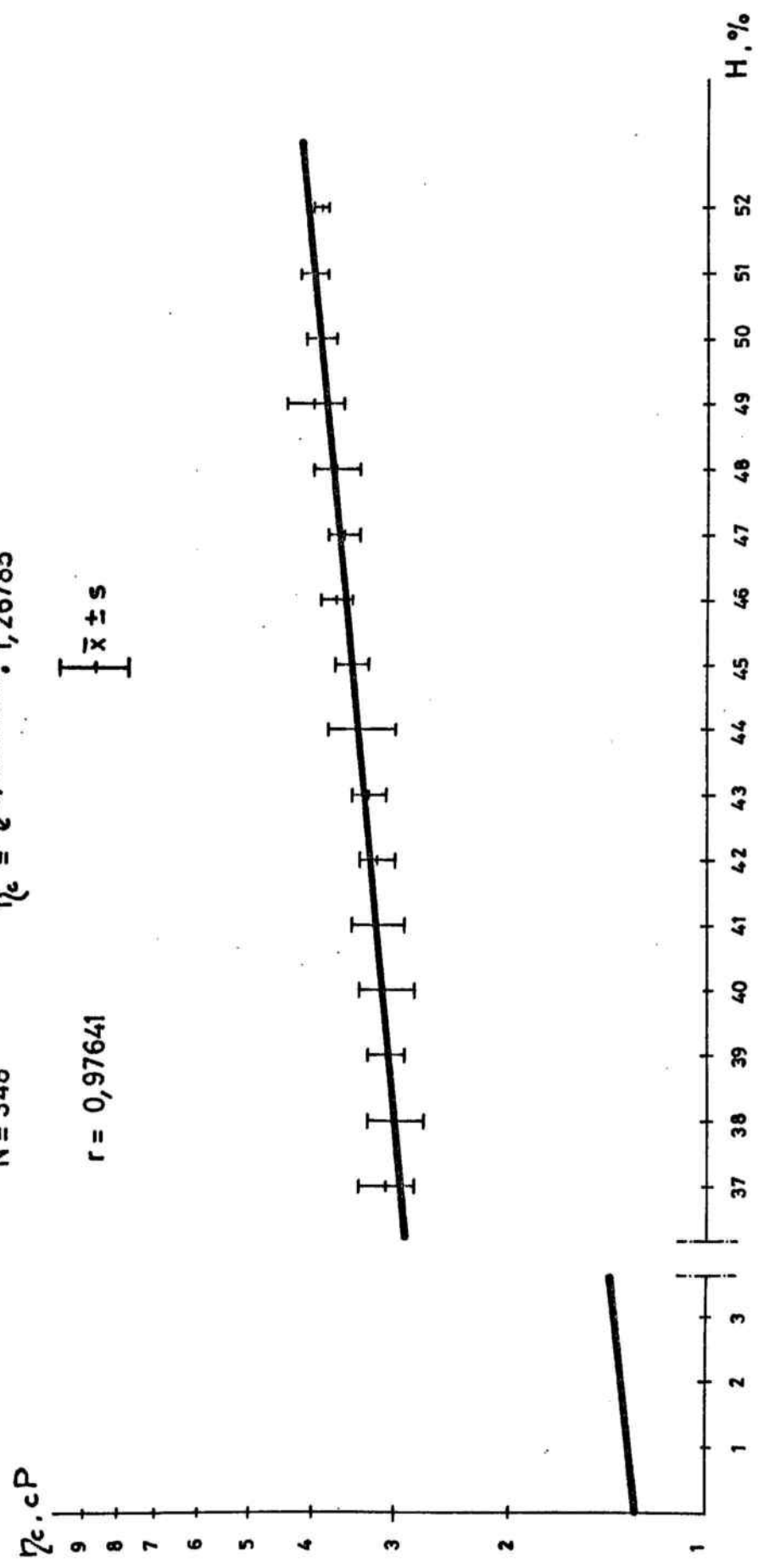


FIGURA 34: Relación entre la viscosidad de Casson de la sangre y el hematocrito.

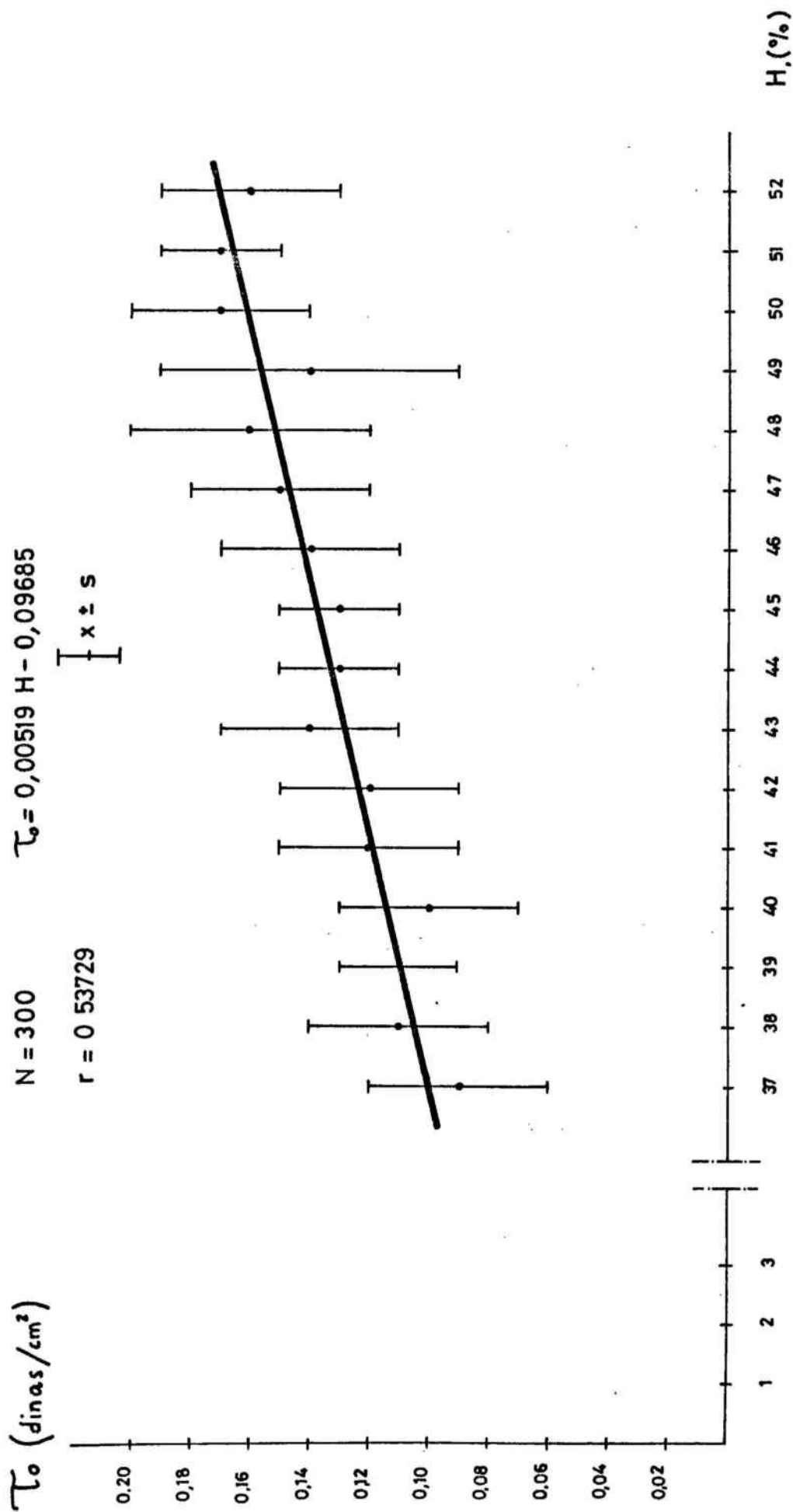


FIGURA 35: Relación entre el umbral de fluencia de la sangre y el hematocrito
 (para valores de hematocrito comprendidos entre 37 y 52%)

ambos casos, las propiedades de la correlación lineal cuando las dos variables son aleatorias y su distribución de frecuencias es normal (51). Para ello, se han calculado las desviaciones estándar de las rectas de regresión de los \ln de la viscosidad aparente a 225 s^{-1} y de la viscosidad de CASSON sobre el hematocrito, según la fórmula:

$$s_{y,x} = \sqrt{s_y^2 (1 - r_{xy}^2)}$$

donde s_y^2 es la varianza de la variable Y (\ln de la viscosidad aparente o de la de CASSON), y r_{xy}^2 es el coeficiente de determinación.

Los valores así obtenidos son:

$$\text{- para } y = \ln \eta_{225} \quad \text{y } x = H : s_{y,x} = 0,07779$$

$$\text{- para } y = \ln \eta_c \quad \text{y } x = H : s_{y,x} = 0,07524$$

Partiendo de las ecuaciones de las rectas de regresión citadas en el apartado anterior, que relacionan el \ln de las viscosidades y el hematocrito, se han calculado las rectas paralelas que se hallan a una distancia de $\bar{x} \pm 2s_{y,x}$ de aquéllas. De esta manera, se puede predecir el intervalo que contiene el 95 % de los posibles valores de viscosidad, así como la viscosidad media, correspondiente a cada hematocrito (incluyendo el hematocrito cero, esto es, el plasma).

Los resultados así obtenidos se detallan en las figuras 36 y 37 y en las tablas XII y XIII, después de hallar los antilogaritmos neperianos correspondientes.

Por otra parte se ha aplicado el método no paramétrico de estimación de percentiles e intervalos de tolerancia* para la obtención de valores de referencia a los 300 resultados de viscosidad de CASSON, obteniendo un límite inferior, para el hematocrito 37 %, de 2,70 cP y un límite superior, para el hematocrito 52 %, de 4,17 cP (a un nivel de confianza del 90 %). Ambos valores son próximos a los correspondientes obtenidos de la forma anteriormente citada: 2,51 cP y 4,75 cP, respectivamente.

4.1.10. Variación de la viscosidad aparente y de la viscosidad de CASSON.

Las rectas que contienen los puntos $\bar{x} + 2s_{x,y}$ y $\bar{x} - 2s_{x,y}$ en las figuras 36 y 37 son, por definición, paralelas a las rectas que contienen los puntos \bar{x} .

Consideremos dos rectas paralelas del tipo de las que aparecen en las figuras citadas:

$$\ln y_1 = mH + \ln b_1 \quad \{1\}$$

$$\ln y_2 = mH + \ln b_2 \quad \{2\}$$

estas rectas dan lugar a las curvas exponenciales siguientes:

* (108)

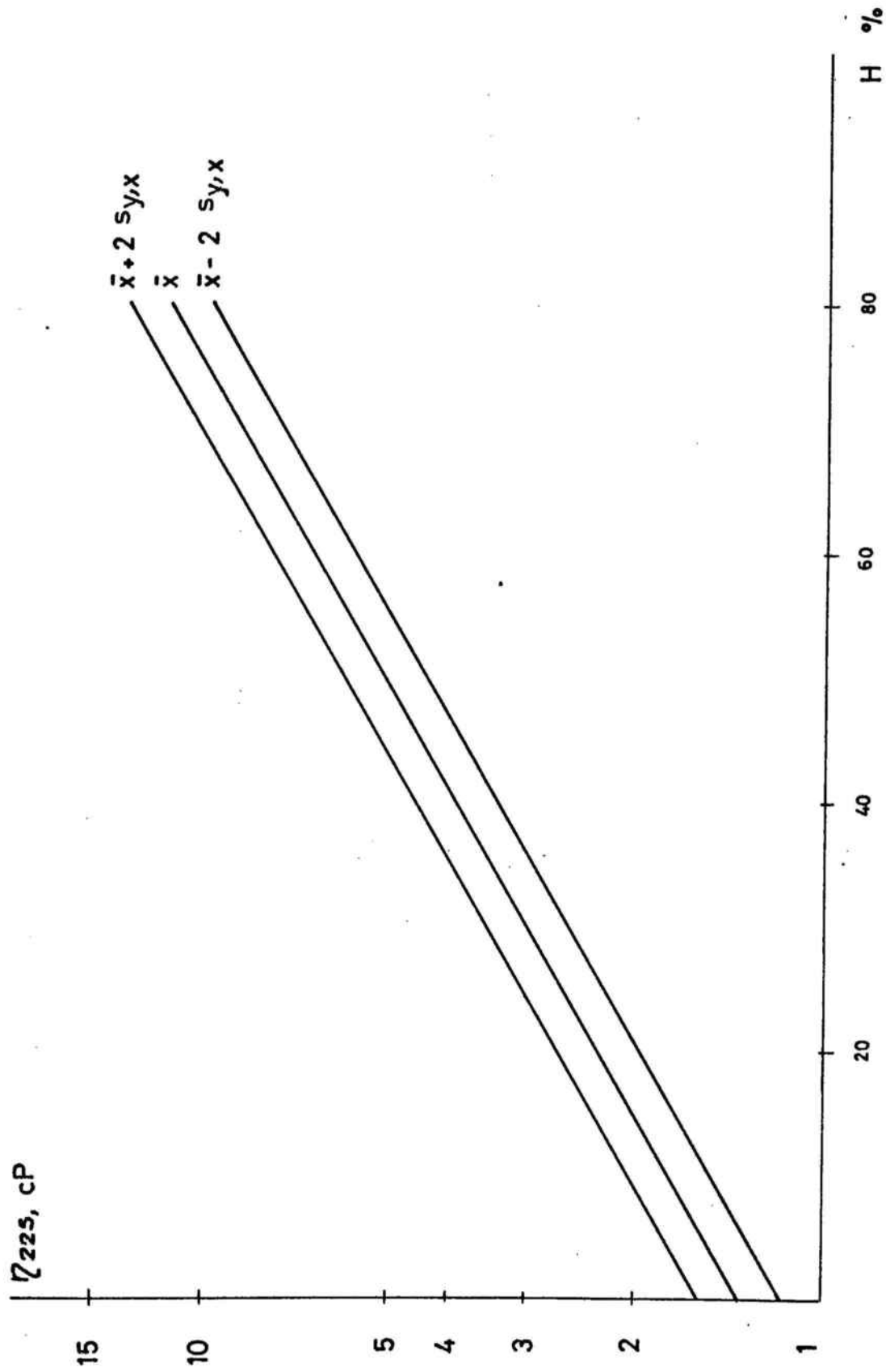


FIGURA 36: Rectas de regresión entre el hematocrito y el logaritmo neperiano de la viscosidad aparente de la sangre a 225 s^{-1}

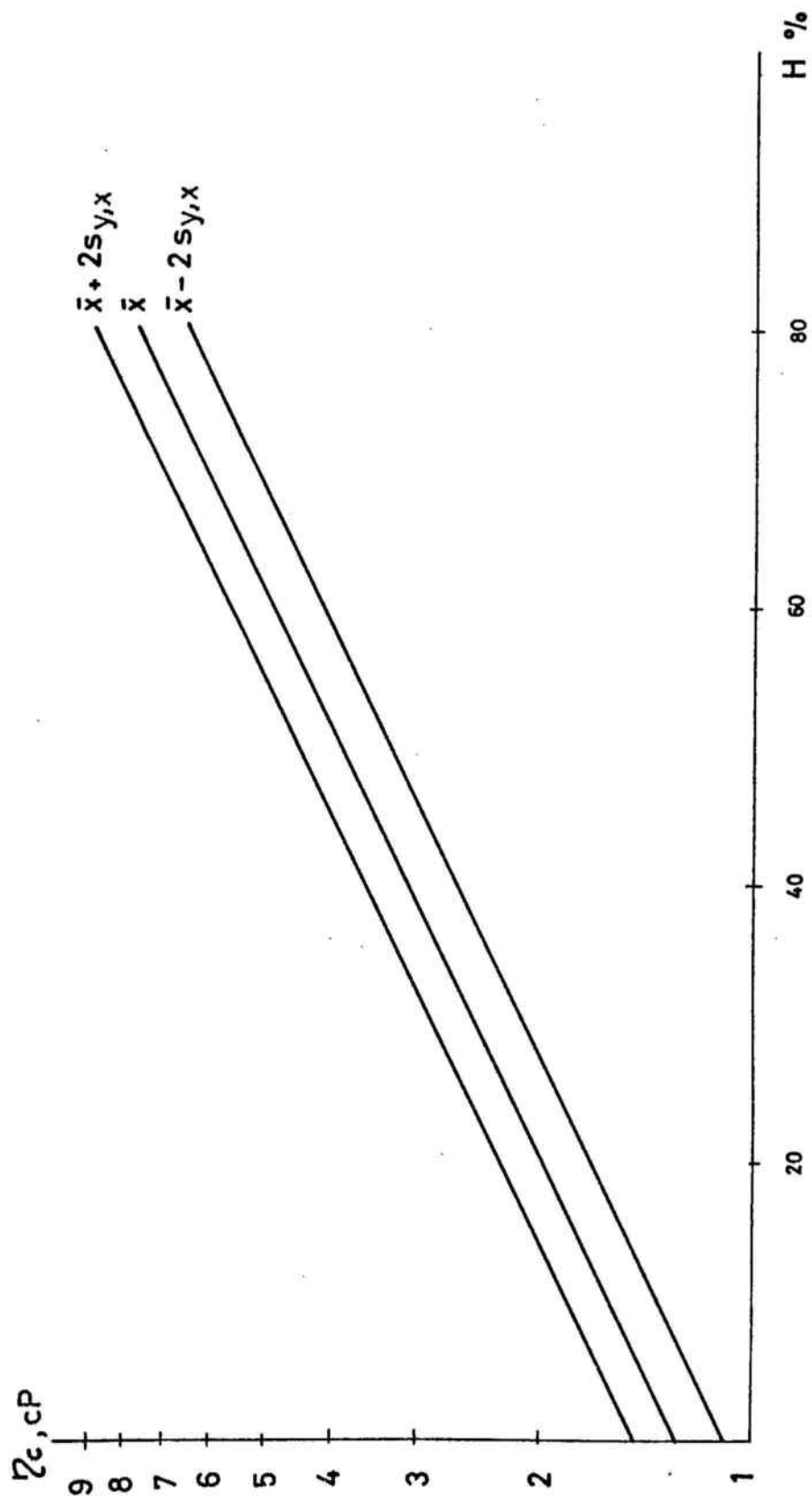


FIGURA 37: Rectas de regresión entre el hematocrito y el logaritmo neperiano de la viscosidad de Casson de la sangre.

TABLA XII

H	\bar{x}	límites	H	\bar{x}	límites
0	1,36	1,16 - 1,59	26	2,71	2,32 - 3,16
1	1,40	1,20 - 1,63	27	2,78	2,38 - 3,25
2	1,43	1,23 - 1,68	28	2,85	2,44 - 3,33
3	1,47	1,26 - 1,72	29	2,93	2,51 - 3,42
4	1,51	1,29 - 1,77	30	3,01	2,57 - 3,51
5	1,55	1,33 - 1,81	31	3,09	2,64 - 3,61
6	1,59	1,36 - 1,86	32	3,17	2,71 - 3,70
7	1,64	1,40 - 1,91	33	3,25	2,79 - 3,80
8	1,68	1,44 - 1,96	34	3,34	2,86 - 3,90
9	1,73	1,48 - 2,02	35	3,43	2,94 - 4,01
10	1,77	1,52 - 2,07	36	3,52	3,02 - 4,12
11	1,82	1,56 - 2,13	37	3,62	3,10 - 4,23
12	1,87	1,60 - 2,18	38	3,71	3,18 - 4,34
13	1,92	1,64 - 2,24	39	3,81	3,26 - 4,46
14	1,97	1,69 - 2,30	40	3,92	3,35 - 4,57
15	2,02	1,73 - 2,36	41	4,02	3,44 - 4,70
16	2,08	1,78 - 2,43	42	4,13	3,53 - 4,82
17	2,13	1,83 - 2,49	43	4,24	3,63 - 4,95
18	2,19	1,87 - 2,56	44	4,35	3,73 - 5,08
19	2,25	1,92 - 2,63	45	4,47	3,82 - 5,22
20	2,31	1,98 - 2,70	46	4,59	3,93 - 5,36
21	2,37	2,03 - 2,77	47	4,71	4,03 - 5,50
22	2,43	2,08 - 2,87	48	4,84	4,14 - 5,65
23	2,50	2,14 - 2,92	49	4,97	4,25 - 5,80
24	2,57	2,20 - 3,00	50	5,10	4,37 - 5,96
25	2,63	2,25 - 3,08	51	5,24	4,48 - 6,12

TABLA XII (continuación)

H	\bar{x}	Límites	H	\bar{x}	Límites
52	5,38	4,60 - 6,28	67	7,99	6,84 - 9,34
53	5,52	4,73 - 6,45	68	8,21	7,02 - 9,59
54	5,67	4,85 - 6,62	69	8,42	7,21 - 9,84
55	5,82	4,98 - 6,90	70	8,65	7,40 - 10,11
56	5,98	5,11 - 6,98	71	8,88	7,60 - 10,38
57	6,14	5,25 - 7,17	72	9,12	7,81 - 10,66
58	6,30	5,39 - 7,36	73	9,36	8,01 - 10,94
59	6,47	5,54 - 7,56	74	9,61	8,23 - 11,23
60	6,64	5,68 - 7,76	75	9,87	8,45 - 11,53
61	6,82	5,84 - 7,97	76	10,14	8,68 - 11,84
62	7,00	5,99 - 8,18	77	10,41	8,91 - 12,16
63	7,19	6,15 - 8,40	78	10,69	9,15 - 12,49
64	7,38	6,32 - 8,63	79	10,97	9,39 - 12,82
65	7,58	6,49 - 8,86	80	11,27	9,64 - 13,16
66	7,78	6,66 - 9,09			

Valores de referencia de la viscosidad aparente a 225 s^{-1} de la sangre y del plasma (hematocrito cero), expresados en cP.

H = hematocrito ; \bar{x} = valor medio.

TABLA XIII

H	\bar{x}	Límites	H	\bar{x}	Límites
0	1,27	1,09 - 1,47	26	2,28	1,96 - 2,64
1	1,30	1,12 - 1,51	27	2,33	2,00 - 2,71
2	1,33	1,14 - 1,54	28	2,38	2,05 - 2,77
3	1,36	1,17 - 1,58	29	2,43	2,09 - 2,83
4	1,39	1,19 - 1,61	30	2,49	2,14 - 2,89
5	1,42	1,22 - 1,65	31	2,55	2,19 - 2,96
6	1,45	1,25 - 1,69	32	2,60	2,24 - 3,03
7	1,48	1,28 - 1,73	33	2,66	2,29 - 3,10
8	1,52	1,31 - 1,76	34	2,72	2,34 - 3,17
9	1,55	1,34 - 1,80	35	2,79	2,40 - 3,24
10	1,59	1,37 - 1,85	36	2,85	2,45 - 3,31
11	1,62	1,40 - 1,89	37	2,91	2,51 - 3,39
12	1,66	1,43 - 1,93	38	2,98	2,56 - 3,46
13	1,70	1,46 - 1,97	39	3,05	2,62 - 3,54
14	1,74	1,49 - 2,02	40	3,12	2,68 - 3,62
15	1,78	1,53 - 2,07	41	3,19	2,74 - 3,71
16	1,82	1,56 - 2,11	42	3,26	2,81 - 3,79
17	1,86	1,60 - 2,16	43	3,34	2,87 - 3,88
18	1,90	1,64 - 2,21	44	3,41	2,93 - 3,96
19	1,94	1,67 - 2,26	45	3,49	3,00 - 4,06
20	1,99	1,71 - 2,31	46	3,57	3,07 - 4,15
21	2,03	1,75 - 2,36	47	3,65	3,14 - 4,24
22	2,08	1,79 - 2,42	48	3,73	3,21 - 4,34
23	2,13	1,83 - 2,47	49	3,82	3,28 - 4,44
24	2,18	1,87 - 2,53	50	3,90	3,36 - 4,54
25	2,22	1,91 - 2,59	51	3,99	3,43 - 4,64

TABLA XIII (continuación)

H	\bar{x}	Límites	H	\bar{x}	Límites
52	4,08	3,51 - 4,75	67	5,72	4,92 - 6,65
53	4,18	3,59 - 4,85	68	5,85	5,03 - 6,80
54	4,27	3,67 - 4,97	69	5,99	5,15 - 6,96
55	4,37	3,76 - 5,08	70	6,12	5,27 - 7,12
56	4,47	3,84 - 5,19	71	6,26	5,39 - 7,28
57	4,57	3,93 - 5,31	72	6,40	5,51 - 7,44
58	4,67	4,02 - 5,43	73	6,55	5,63 - 7,61
59	4,78	4,11 - 5,56	74	6,70	5,76 - 7,79
60	4,89	4,21 - 5,68	75	6,85	5,89 - 7,96
61	5,00	4,30 - 5,81	76	7,01	6,03 - 8,14
62	5,11	4,40 - 5,94	77	7,17	6,16 - 8,33
63	5,23	4,50 - 6,08	78	7,33	6,30 - 8,52
64	5,35	4,60 - 6,22	79	7,50	6,45 - 8,71
65	5,47	4,71 - 6,36	80	7,67	6,59 - 8,91
66	5,59	4,81 - 6,50			

Valores de referencia de la viscosidad de CASSON de la sangre y del plasma (hematocrito cero), expresados en cP.

H = hematocrito ; \bar{x} = valor medio.

$$y_1 = e^{mH} b_1$$

$$y_2 = e^{mH} b_2$$

Al ser paralelas las rectas {1} y {2}, se tiene que

$$\ln y_2 - \ln y_1 = \ln b_2 - \ln b_1$$

con lo que:

$$\frac{y_2}{y_1} = \frac{b_2}{b_1}$$

llamando Δ al porcentaje de variación de b_2 respecto a b_1 :

$$\Delta = \frac{b_2 - b_1}{b_1} 100$$

se cumplirá que:

$$\frac{b_2 - b_1}{b_1} 100 = \frac{y_2 - y_1}{y_1} 100$$

de lo que se deduce que para la viscosidad aparente y para la viscosidad de CASSON, tanto la variación de la $\bar{x} - 2s_{x,y}$ como $\bar{x} + 2s_{x,y}$ respecto a \bar{x} , es constante para todos los valores de viscosidad correspondientes a los distintos hematocritos.

Calculadas dichas constantes tenemos que los valores de referencia de la viscosidad se pueden expresar como valores de referencia de la variación de la viscosidad:

Valores de referencia de $\Delta\eta_{225}$: de -14,41 a 16,83 %

Valores de referencia de $\Delta\eta_c$: de -13,97 a 16,24 %

Por lo tanto, con estos datos se dispone de unos parámetros que, dando una información relativa de la viscosidad, son independientes del hematocrito, permitiendo efectuar comparaciones entre grupos con hematocritos diferentes.

En la Tabla XIV se presentan la media y la desviación estándar de $\Delta\eta_{225}$ y $\Delta\eta_c$, calculadas en el grupo de referencia de sangre y plasma.

4.2.- MUESTRAS DE SANGRE Y PLASMA PROCEDENTES DEL GRUPO PATOLÓGICO.

4.2.1.- Variación de la viscosidad aparente a 225 s^{-1} y de la viscosidad de CASSON.

En las muestras pertenecientes al grupo patológico se han determinado los valores de la viscosidad aparente a 225 s^{-1} y de la viscosidad de CASSON. A partir de estos datos y del hematocrito, que previamente ha sido determinado en todas las muestras, se ha calculado la variación de la viscosidad aparente a 225 s^{-1} , $\Delta\eta_{225}$, y la variación de la viscosidad de CASSON, $\Delta\eta_c$, según lo expuesto en el apartado 4.1.7. Las medias y las desviaciones estándar de estos valores, para cada subgrupo patológico, se exponen en la Tabla XV.

Estas medias se han comparado estadísticamente, mediante la prueba z o la prueba t, con las medias de la variación de la viscosidad aparente a 225 s^{-1} y la variación de la viscosidad de CASSON de las muestras del grupo de referencia. El resultado de esta comparación estadística indica que la media de la variación de la viscosidad de CASSON de la sangre

TABLA XIV

	N	$\Delta\eta_{225}$, %	$\Delta\eta_c$, %
Sangre	300	$\bar{x} = 0,35$ % $s = 7,41$ %	$\bar{x} = 0,27$ % $s = 7,71$ %
Plasma	48	$\bar{x} = -0,06$ % $s = 9,11$ %	$\bar{x} = 0,17$ % $s = 7,07$ %

Media, \bar{x} , y desviación estándar, s , de la variación de la viscosidad aparente a 225 s^{-1} , $\Delta\eta_{225}$, y de la variación de la viscosidad de CASSON, $\Delta\eta_c$, de la sangre y del plasma hallados en el grupo de referencia (N = tamaño de la muestra).

TABLA XV

	Número de pacientes	$\Delta\eta_{225}$ (%)	$\Delta\eta_c$ (%)
Anemia (no hemolítica)	19	$\bar{x} = 13,72$ $s = 9,06$	$\bar{x} = 9,16$ $s = 8,37$
Artritis reumatoide	15	$\bar{x} = 19,68$ $s = 9,07$	$\bar{x} = 14,43$ $s = 7,46$
Cor pulmonale	40	$\bar{x} = 7,15$ $s = 15,97$	$\bar{x} = 2,40$ $s = 14,91$
Infarto de miocardio	10	$\bar{x} = 26,33$ $s = 7,91$	$\bar{x} = 20,77$ $s = 8,09$
Mieloma múltiple (plasma)	18	$\bar{x} = 57,80$ $s = 80,46$	$\bar{x} = 61,40$ $s = 85,09$
Mieloma múltiple	29	$\bar{x} = 51,76$ $s = 51,97$	$\bar{x} = 47,54$ $s = 55,53$
Neoplasias	78	$\bar{x} = 18,67$ $s = 14,22$	$\bar{x} = 12,75$ $s = 11,09$

Variaciones de la viscosidad aparente a 225 s^{-1} , $\Delta\eta_{225}$, y de la viscosidad de CASSON, $\Delta\eta_c$, de la sangre y del plasma (en el mieloma múltiple) en el grupo patológico.

está significativamente elevada ($p < 0,001$) en todos los subgrupos patológicos, mientras que la media de la viscosidad aparente a 225 s^{-1} de la sangre, está significativamente elevada ($p < 0,001$) en todos los subgrupos excepto en el del cor pulmonale.

La variación de la viscosidad aparente a 225 s^{-1} y la variación de la viscosidad de CASSON en el plasma procedente de individuos enfermos, sólo se han estudiado en el subgrupo del mieloma múltiple. La comparación estadística con el grupo de referencia indica que existe una elevación significativa ($p < 0,001$) en ambos casos.

4.2.2.- Sensibilidad diagnóstica de la variación de la viscosidad aparente a 225 s^{-1} y de la variación de la viscosidad de CASSON.

La sensibilidad diagnóstica, S , de un parámetro analítico se puede calcular, según VECCHIO (125), mediante la fórmula siguiente:

$$S = \frac{\text{N}^\circ \text{ de individuos enfermos con resultado patológico}}{\text{N}^\circ \text{ total de individuos enfermos examinados}} \cdot 100$$

Siguiendo este criterio, se ha calculado la sensibilidad diagnóstica de la variación de la viscosidad aparente a 225 s^{-1} y de la variación de la viscosidad de CASSON en cada subgrupo patológico examinado, así como en cada tipo de neoplasia estudiado. Los resultados así obtenidos se detallan en las Tablas XVI y XVII.

TABLA XVI

	Número de pacientes	$S\Delta\eta_{225}$ (%)	$S\Delta\eta_c$ (%)
Anemia (no hemolítica)	19	36,8	10,5
Artritis reumatoide	15	66,7	53,3
Cor pulmonale	40	27,5	20,0
Infarto de miocardio	10	100,0	80,0
Mieloma múltiple (plasma)	18	61,1	66,7
Mieloma múltiple	29	79,3	79,3
Neoplasias	78	47,4	28,2

Sensibilidad diagnóstica, S , de la variación de la viscosidad aparente a 225 s^{-1} , $\Delta\eta_{225}$, y de la variación de la viscosidad de CASSON, $\Delta\eta_c$, de la sangre o del plasma en los distintos estados patológicos estudiados.

TABLA XVII

	Número de pacientes	$S\Delta\eta_{225}$ (%)	$S\Delta\eta_c$ (%)
Neoplasia de antro	2	100,0	100,0
Neoplasia de cardias	4	50,0	50,0
Neoplasia de colon	4	33,3	33,3
Neoplasia de esófago	8	37,5	37,5
Neoplasia gástrica	14	64,3	35,7
Neoplasia de laringe	12	41,7	8,3
Neoplasia de mama	7	57,1	28,6
Neoplasia de próstata	5	60,0	20,0
Neoplasia pulmonar	11	45,5	36,4
Neoplasia de recto	5	0,0	0,0
Neoplasia sigma	2	100,0	50,0
Tumor cerebral	4	25,0	25,0

Sensibilidad diagnóstica, S , de la variación de la viscosidad aparente a 225 s^{-1} , $\Delta\eta_{225}$, y de la variación de la viscosidad de CASSON, $\Delta\eta_c$, de la sangre en los distintos tipos de neoplasia estudiados.

5. DISCUSSION

De la revisión de los trabajos hemorreológicos publicados hasta hoy se deduce el enorme interés del estudio de la viscosidad sanguínea y de otros datos de la reología de la sangre como parámetros clínicos. La utilización de estos parámetros hemorreológicos tiene un especial interés en el diagnóstico y control del tratamiento de enfermedades cardiovasculares, neoplásicas y hematológicas. Por otra parte, con la determinación de este tipo de parámetros clínicos en Medicina Preventiva, se pueden detectar individuos aparentemente sanos con elevaciones de la viscosidad sanguínea, con lo que, según algunos autores, se podrían detectar precozmente determinados casos de cáncer, enfermedades cardiovasculares, hemoglobinas anormales o alteraciones inmunológicas (45).

En las publicaciones de hemorreología se observa que no todos los viscosímetros válidos para las determinaciones hemorreológicas pueden trabajar a los mismos gradientes de velocidad. Cada modelo de viscosímetro está diseñado de tal forma que puede efectuar determinaciones hemorreológicas sobre un rango discontinuo de gradientes de velocidad prefijados, que no tiene porque coincidir, y en general no coincide, entre ellos. Puesto que la viscosidad aparente de la sangre depende del gradiente de velocidad al que se efectúa la medición, las viscosidades aparentes obtenidas a distintos gradientes de velocidad no son comparables entre sí. Este hecho dificulta enormemente la comparación estadística de los resultados obtenidos por distintos autores.

De lo expuesto se deriva la necesidad de un parámetro viscosimétrico que sea independiente del gradiente de velocidad utilizado para hallarlo. La utilización de un parámetro de estas características permite la investigación de unos valores de referencia que tengan un carácter general desde el punto de vista tecnológico.

Teniendo en cuenta que la viscosidad de la sangre depende fundamentalmente del hematocrito, los valores de viscosidad sanguínea de individuos con distinto hematocrito no serán comparables entre sí, a pesar de que las determinaciones se efectúen al mismo gradiente de velocidad o se utilice un parámetro viscosimétrico que sea independiente de los gradientes de velocidad utilizados. Además, existirán unos valores de referencia para cada valor del hematocrito, lo que significa un inconveniente práctico. Por todo ello, se ha creído conveniente estudiar un método para conseguir un parámetro reológico independiente del gradiente de velocidad y del hematocrito.

Para poder trabajar con un parámetro viscosimétrico que fuese independiente de los gradientes de velocidad empleados en la determinación, se decidió aplicar a la sangre el modelo reológico de CASSON. La validez de este modelo reológico, en las condiciones experimentales del presente trabajo, ha sido demostrada por diversos autores (23, 94, 115, 123). Con la

aplicación de la ecuación de CASSON, mediante los cálculos descritos en el apartado 3.3.3.2., el hemorreograma queda reducido a dos parámetros: la viscosidad de CASSON y el umbral de fluencia. Además, como para la obtención de dichos parámetros se recurre al método de los mínimos cuadrados, los errores de lectura a los distintos gradientes de velocidad quedan notablemente compensados. Como ya se ha expuesto en el apartado 2.1.3.2., la viscosidad de CASSON indicará la viscosidad de la sangre considerada newtoniana, mientras que el umbral de fluencia, pese a ser un valor teórico, informará del "grado de no-newtonianidad" de la muestra estudiada.

Para poder comparar las fluctuaciones de la viscosidad de CASSON obtenidas en nuestras muestras, con las fluctuaciones de un parámetro viscosimétrico convencional, se ha calculado la viscosidad aparente a 225 s^{-1} de todas las muestras de sangre y plasma estudiadas, tanto las pertenecientes al grupo de referencia como las del grupo patológico.

En nuestros resultados se ha hallado una diferencia significativa ($p < 0,001$) entre las medias de los parámetros de viscosidad aparente a 225 s^{-1} , de viscosidad de CASSON y de umbral de fluencia de la sangre, entre los grupos de referencia femenino y masculino. No obstante, esta diferencia se debe tan solo a la diferencia entre las medias de los hematocritos de dichos grupos. En cambio, y como es de esperar a la vista

de lo expuesto, no existen diferencias significativas entre los grupos de referencia femenino y masculino para los parámetros citados obtenidos en plasma. Estos resultados coinciden, en el caso de la viscosidad aparente, con los obtenidos por ROSENBLATT y col. (111), BOLLINGER y col. (9) y DITZEL y KAMPMANN (50); no hemos hallado información bibliográfica acerca de estas variaciones en la viscosidad de CASSON y en el umbral de fluencia.

Del estudio de las distribuciones de los parámetros determinados, se ha llegado a la conclusión de que tanto la viscosidad aparente a 225 s^{-1} como la viscosidad de CASSON de la sangre o del plasma, se distribuyen de forma logaritmo-normal. Respecto al tipo de distribución del umbral de fluencia, no hemos llegado a ninguna conclusión afirmativa. DINTENFASS ha publicado numerosos trabajos en los que considera que la viscosidad aparente se distribuye de forma logaritmo-normal (44). No se ha podido hallar información bibliográfica acerca del tipo de distribución de frecuencias de la viscosidad de CASSON ni del umbral de fluencia de la sangre.

Puesto que la viscosidad sanguínea, tanto aparente como de CASSON, depende en gran parte del hematocrito, se deben establecer valores de referencia de la viscosidad para cada hematocrito, independientemente del sexo. Por otra parte, se deben conocer los valores de viscosidad sanguínea correspondientes a hematocritos patológicos, cuando no existe paralelamente otro

tipo de alteración que pueda afectar el comportamiento reológico de la sangre; esto es necesario en aquellos casos en que se desea averiguar si en una anemia o en una poliglobulia, la alteración de la viscosidad es sólo debida al hematocrito, o bien, si existe otra causa que influya en dicha alteración.

Partiendo de las consideraciones citadas, la determinación de los valores de referencia de la viscosidad sanguínea presenta graves dificultades, ya que siguiendo los procedimientos estadísticos habituales (90) se necesitarían unas 300 muestras de cada hematocrito fisiológico, lo cual da un total de unas 5.400 muestras procedentes de otros tantos sujetos clínicamente sanos. A esto hay que añadir la contradicción que representa el tener que utilizar muestras de sujetos clínicamente sanos con hematocritos patológicos para la obtención de valores de referencia a tales hematocritos, teniendo en cuenta que si se utilizan para este fin muestras con hematocritos normales que se modifican por manipulación "in vitro", se pueden introducir factores influyentes en el comportamiento reológico del eritrocito, como es la centrifugación que provoca una deformación y agregación de los eritrocitos, cuya reversibilidad es difícil de controlar.

Para hallar los valores de referencia de la viscosidad aparente a 225 s^{-1} y de la viscosidad de CASSON, tanto de la sangre como del plasma, hemos recurrido a la relación existente entre el hematocrito y los dos parámetros citados. Puesto que esta

relación es de tipo exponencial (apartado 4.1.8) y el hematocrito se distribuye de forma normal, y tanto la viscosidad aparente a 225 s^{-1} como la viscosidad de CASSON de la sangre y plasma, se distribuyen de forma logaritmo-normal, hemos aprovechado las propiedades de la correlación lineal cuando las dos variables son aleatorias y su distribución es normal. A partir de estas propiedades se puede calcular el intervalo de valores de viscosidad aparente a 225 s^{-1} o de viscosidad de CASSON que, con una probabilidad del 95 %, corresponden al hematocrito cero (plasma). Siguiendo este procedimiento hemos hallado los intervalos de valores de la viscosidad de CASSON y de la viscosidad aparente a 225 s^{-1} correspondientes, con una probabilidad del 95 %, a todos los hematocritos comprendidos entre 0 y 80 %, ambos inclusive.

Puesto que no se ha podido determinar el tipo de distribución de frecuencias del umbral de fluencia, tampoco se han podido calcular los valores de referencia de dicho parámetro.

En la bibliografía revisada no se han hallado valores de referencia de la viscosidad de CASSON ni del umbral de fluencia de la sangre. En cuanto a la viscosidad aparente, se dan valores obtenidos en pequeños grupos de individuos clínicamente sanos utilizados como grupo control; en otros trabajos se dan resultados de viscosidad aparente en grupos de 50 ó 60 individuos presuntamente sanos (85, 106). En ningún caso aparecen

valores de referencia hallados con un número de muestras y un tratamiento estadístico adecuado. Suponemos que ésto es debido a que las determinaciones viscosimétricas de la sangre, no son todavía una técnica habitual en los laboratorios clínicos.

Del estudio de las rectas de regresión de los logaritmos neperianos de las \bar{x} y de las $\bar{x} \pm 2s$ de la viscosidad aparente a 225 s^{-1} y de la viscosidad de CASSON, llegamos a la conclusión de que tanto el porcentaje de variación de los valores $\bar{x} + 2s$ como el de $\bar{x} - 2s$, respecto a \bar{x} , es constante para todos los valores de viscosidad aparente a 225 s^{-1} correspondientes a cada hematocrito, y también es constante para todos los valores de viscosidad de CASSON correspondientes a cada hematocrito. A estos porcentajes de variación les denominamos variación de la viscosidad aparente a 225 s^{-1} , $\Delta\eta_{225}$, y variación de la viscosidad de CASSON, $\Delta\eta_c$. Con estos dos nuevos parámetros se obtienen unos valores de referencia que son independientes del hematocrito. La utilización del parámetro $\Delta\eta_c$ permitirá, por lo tanto, comparar la viscosidad sanguínea entre grupos con distinto hematocrito e independientemente de los gradientes de velocidad a los que se hayan efectuado las mediciones.

A partir de los datos viscosimétricos obtenidos en los distintos subgrupos patológicos, se han calculado los nuevos parámetros, $\Delta\eta_{225}$ y $\Delta\eta_c$. En cada subgrupo patológico se ha

calculado, además, el valor de la sensibilidad diagnóstica de dichos parámetros siguiendo la metodología de VECCHIO (125). Los resultados obtenidos indican que la sensibilidad diagnóstica para la mayoría de estados patológicos estudiados, es mayor para la $\Delta\eta_{225}$ que para la $\Delta\eta_c$. Esto se debe, probablemente, a que para el cálculo de la viscosidad de CASSON se han utilizado datos viscosimétricos obtenidos a $22,5 \text{ s}^{-1}$ de gradiente de velocidad, ya que posteriormente observamos que el viscosímetro empleado es poco sensible a este gradiente de velocidad cuando se trabaja con sangre o plasma.

En el subgrupo de pacientes con distintos tipos de neoplasias, se ha hallado una elevación significativa tanto de la $\Delta\eta_{225}$ como de la $\Delta\eta_c$ de la sangre. Este resultado no es sorprendente en cuanto que en los pacientes oncológicos es frecuente el aumento del fibrinógeno y de las globulinas y la disminución de la albúmina, hecho que conduce en definitiva a un aumento de la viscosidad sanguínea. Los resultados del presente trabajo concuerdan con las elevaciones de la viscosidad sanguínea halladas en este tipo de pacientes por ISOGAY y col. (76), HARKNESS (73) y DINTENFASS y MILTON (48).

Puesto que las células cancerosas que circulan libremente en la sangre no son responsables de la formación de metástasis a no ser que se instalen en algún punto del organismo (88), el

hecho de que en los pacientes oncológicos se puedan producir elevaciones de la viscosidad sanguínea, posee un especial interés al considerar la hipótesis de DINTENFASS (45), esbozada en 1928 por EWING (55). En esta hipótesis se defiende que la importancia principal de la elevación de la viscosidad sanguínea en pacientes cancerosos es el favorecer la aparición de metástasis, puesto que las células cancerosas que circulan en la sangre se desplazarán hacia el espacio adyacente a la pared vascular, debido a la agregación aumentada de los eritrocitos; al circular en esta zona las células cancerosas tienen más probabilidades de ser atrapadas por las irregularidades del endotelio vascular, pudiendo dar lugar a metástasis.

La validez de esta hipótesis no ha sido totalmente demostrada, aunque se debe señalar que de los trabajos de ARMSTRONG y COHN (2), GRIFFIN y AUST (69), BROWN (13) y MICHAELS (96), se deduce que gracias a disminuir alguno de los factores de la viscosidad sanguínea se ha conseguido, en determinados casos, una disminución del número de pacientes con metástasis respecto a la esperanza estadística de que aparecieran. Estos hechos sugieren que un tratamiento que logre disminuir la viscosidad sanguínea en los pacientes oncológicos, puede disminuir el número de casos con aparición de metástasis.

De nuestros resultados de sensibilidad diagnóstica de la Δn_{225} ,

se deriva, siguiendo la hipótesis citada, que tal vez los tipos de neoplasia en que este tratamiento podría tener más éxito, son las neoplasias gástricas y las neoplasias de mama, por presentar una mayor incidencia de la elevación de la viscosidad sanguínea que en otros tipos de neoplasia estudiados.

La elevación de la viscosidad sanguínea en el infarto de miocardio o en la oclusión coronaria, ha sido descrita por diversos autores (38, 46, 47, 49, 77). Según DINTENFASS (41, 42), el infarto de miocardio y la oclusión coronaria podrían ser enfermedades no específicas con múltiples etiologías pero caracterizadas por un síndrome común de hiperviscosidad sanguínea. DITZEL (49) considera que la elevación de la viscosidad sanguínea en el infarto de miocardio agudo es debida a un incremento de la globulina α_2 y del fibrinógeno, siendo este último el responsable principal de dicha elevación.

LANGSJOEN ha demostrado (80) que la reducción de la viscosidad sanguínea que se consigue tras la administración endovenosa de dextran 40, en los casos de infarto de miocardio, conduce a una significativa mejora de la supervivencia inmediata y a largo plazo. El índice de supervivencia de los pacientes tratados de esta forma ha sido notablemente mayor que el conseguido por los métodos convencionales. El trabajo de LANGSJOEN se halla apoyado por los estudios de MAROKO (89) y GINKS (65), en los que se demuestra que una reducción de la viscosidad sanguínea en las horas consecutivas al infarto, consigue

una notable disminución en la magnitud del mismo.

En nuestros resultados hallamos una notable elevación de la $\Delta\eta_{225}$ y de la $\Delta\eta_c$ de la sangre en el grupo de pacientes que han sido hospitalizados por haber sufrido un infarto de miocardio. Puesto que la sensibilidad de los parámetros estudiados es 80 % para la $\Delta\eta_c$ y 100 % para la $\Delta\eta_{225}$ en el caso del infarto de miocardio, consideramos que estos parámetros pueden ser útiles para seguir la evolución y tratamiento de este tipo de pacientes.

Las paraproteinemias son, tal vez, los casos clínicos que han recibido una mayor atención hemorreológica por el síndrome de hiperviscosidad que pueden ocasionar. En el mieloma múltiple, la presencia de macroglobulinas sanguíneas causa una elevación de la viscosidad del suero o del plasma (57, 58, 87, 97, 100, 105, 120, 122, 127, 134), un aumento de la agregación de los eritrocitos (6, 112, 129) y un consecuente aumento de la viscosidad sanguínea, especialmente a bajos gradientes de velocidad (44, 112). El valor de la viscosidad del plasma o del suero depende del tamaño molecular y de la concentración de la macroglobulina presente. El síndrome de hiperviscosidad puede aparecer a distintos valores de viscosidad plasmática y no existe correlación entre el valor de dicha viscosidad y el inicio o gravedad del mieloma (87, 127).

En nuestros resultados hallamos una sensibilidad diagnóstica del 79 % tanto para la $\Delta\eta_{225}$ como la $\Delta\eta_c$ de la sangre, mientras

que para el plasma es de 67 % para la $\Delta\eta_c$ y 61 % para la $\Delta\eta_{225}$. La mayor sensibilidad de ambos parámetros en las determinaciones en sangre, suponemos que es debida a que en la sangre, además del plasma hiperviscoso, se da una mayor agregabilidad de los eritrocitos inducida por las macroglobulinas.

En el transcurso del presente trabajo, hemos podido comprobar la utilidad de las determinaciones de la viscosidad plasmática para seguir el tratamiento con plasmaféresis del mieloma múltiple y de la macroglobulinemia de WALDENSTROM.

En la artritis reumatoide, SHEARN y col. (118) hallan elevaciones de la viscosidad plasmática que están correlacionadas con la concentración de gamma globulinas y con el título de factor reumatoide, mientras que REDISCH y col. (107) observan un aumento de la agregabilidad eritrocitaria en los capilares de la piel de pacientes con artritis reumatoide. Estos hallazgos concuerdan con las elevaciones de la $\Delta\eta_{225}$ y de la $\Delta\eta_c$ que se describen en nuestros resultados.

Para verificar la validez de los valores de referencia de la viscosidad aparente a 225 s^{-1} y de la viscosidad de CASSON de la sangre, correspondientes a hematocritos patológicos (menores de 37 % y mayores de 54 %) obtenidos por extrapolación en las rectas de regresión de logaritmo neperiano de la viscosidad aparente a 225 s^{-1} o del logaritmo neperiano de la visco-

sidad de CASSON sobre el hematocrito, se determinaron los valores de viscosidad aparente a 225 s^{-1} y de viscosidad de CASSON en 19 pacientes con anemia (no hemolítica) y en 40 pacientes afectados de cor pulmonale, ya que en estos pacientes se dan valores patológicos del hematocrito sin que haya motivos, en general, para que estén alterados otros factores hemorreológicos. Los resultados de la sensibilidad diagnóstica descritos en la tabla XIV para estos grupos, son lo suficientemente bajos para aceptar los valores de referencia citados.

6. CONCLUSIONES

Las principales conclusiones que del presente trabajo se derivan, son las siguientes:

1.- La viscosidad aparente a 225 s^{-1} y la viscosidad de CASSON de la sangre poseen una distribución de frecuencias de tipo logaritmo-normal.

2.- La viscosidad a 225 s^{-1} y la viscosidad de CASSON del plasma sanguíneo poseen una distribución de frecuencias de tipo logaritmo-normal.

3.- No existen diferencias significativas entre ambos sexos en relación a la viscosidad a 225 s^{-1} y a la viscosidad de CASSON del plasma.

4.- Las diferencias de viscosidad aparente a 225 s^{-1} y de viscosidad de CASSON de la sangre halladas entre sexos, son debidas únicamente a la diferencia de hematocritos.

5.- La viscosidad aparente a 225 s^{-1} de la sangre y del plasma está relacionada con el hematocrito (incluido hematocrito cero) de forma exponencial. La ecuación de esta relación es:

$$\eta_{225} = e^{0,02642 H} \cdot 1,36099$$

6.- La viscosidad de CASSON de la sangre y del plasma está relacionada con el hematocrito (incluido hematocrito cero) de

forma exponencial. La ecuación de esta relación es:

$$\eta_c = e^{0,02249 H} \cdot 1,26785$$

7.- Los valores de referencia de la viscosidad aparente a 225 s^{-1} de la sangre, correspondientes a los hematocritos comprendidos entre 0 (plasma) y 80 %, ambos inclusive, son los que se detallan en la tabla XII.

8.- Los valores de referencia de la viscosidad de CASSON, correspondientes a los hematocritos comprendidos entre 0 (plasma) y 80 %, ambos inclusive, son los que se detallan en la tabla XIII.

9.- Se han hallado dos nuevos parámetros viscosimétricos de la sangre: variación de la viscosidad aparente a 225 s^{-1} , $\Delta\eta_{225}$, y variación de la viscosidad de CASSON, $\Delta\eta_c$, de la sangre. Ambos parámetros son independientes del hematocrito.

10.- Los valores de referencia hallados de la variación de la viscosidad aparente a 225 s^{-1} son: de -14, 41 a 16,83 %.

11.- Los valores de referencia hallados de la variación de la viscosidad de CASSON son: de -13,97 a 16,24 %.

12.- En los grupos de pacientes afectados de diversos tipos de

neoplasias, infarto de miocardio, artritis reumatoide y mieloma múltiple, tanto la variación de la viscosidad aparente a 225 s^{-1} como la variación de la viscosidad de CASSON, de la sangre, están significativamente elevadas.

13.- La mayor sensibilidad diagnóstica de los parámetros variación de la viscosidad aparente a 225 s^{-1} y variación de la viscosidad de CASSON de la sangre, se halla en el infarto de miocardio y en el mieloma múltiple.

7. BIBLIOGRAFIA

- 1.- ALBERTO, S.; COLONGO, P.G.; USLENGHI, E. y MEDA, A. (1965). *Boll Soc. It. Biol. Sper.* 41, 1098.
- 2.- ARMSTRONG, J.R. y COHN, I. (1966). *Surg. Forum* 17, 100.
- 3.- BARBEE, J. y COKELET, G.R. (1971). *Microvasc.Res.* 3, 17.
- 4.- BARRAS, J.P. (1969). *Bibl. Haemat.* 33, 277.
- 5.- BAYLISS, L.E. (1960). "Flow Properties of Blood and Other Biological Systems". (A.L. Copley y G. Stainsby, dirs.), p. 29, Pergamon Press, Oxford.
- 6.- BAYRD, E.D.; HAGEDORN, A.B. y MC. GUCKIN, W.F. (1965). *J. Amer Med. Ass.* 193, 724.
- 7.- BENIS, A.M. y LACOSTE, J. (1968). *Circulation Res.* 22, 29.
- 8.- BLOCH, E.H. (1962). *Amer. J. Anat.* 110, 125.
- 9.- BOLLINGER, A.; LUTHY, E. y JENNY, E. (1967). *Klin. Wochschr.* 45, 939.
- 10.- BRANEMARK, P.I. y LINDSTROM, J. (1963). *Biorheology* 1, 139.
- 11.- BRINKMAN, H.C. (1952). *J. Chem. Phys.* 20, 571.
- 12.- BROCK-SIMONI, F.; HOLZMAN, F.; RAMOT, B. y DANON, D. (1970). *Israel J. Med. Sci.* 6, 161.
- 13.- BROWN, J.M. (1973). *Cancer Res.* 33, 1217.

- 14.- BURTON, A.C. (1969). "Ciba Foundation Symposium on Circulatory and Respiratory Mass Transport". (G.E.W. Wolsstenholme y J. Knight, dirs.), p. 67, Churchill Ltd., London.
- 15.- CARTWRIGHT, G.E. (1963). "Diagnostic Laboratory Hematology", Grune & Stratton, New York.
- 16.- CASSON, N. (1957). Brit. Soc. Rheol. Bull. 52, 5.
- 17.- COKELET, G.R.; MERRILL, E.W.; GILLIAND, E.R. y SHIN, H. (1963). Trans. Soc. Rheol. 7, 303.
- 18.- COPLEY, A.L. (1960). "Flow Properties of Blood and other Biological Systems" (A.L. Copley y G. Stainsloy, dirs.), p. 97, Pergamon Press, Oxford.
- 19.- COPLEY, A.L. (dir.) (1968). "Hemorheology", Pergamon Press, New York.
- 20.- COULTER, N.A. y PAPPENHEIMER, J.R. (1949). Am. J. Physiol. 159, 401.
- 21.- CHARACHE, S. y CONLEY, C.L. (1964). Blood 24, 25.
- 22.- CHARACHE, S.; CONLEY, C.L.; WAUGH, D.F.; UGORETZ, R.J. y SPURRELL, J.R. (1967). J. Clin. Invest. 46, 1795.
- 23.- CHARM, S. y KURLAND, G.S. (1962). Am. J. Physiol. 203, 417.
- 24.- CHARM, S. y KURLAND, G.S. (1967). Nature, London 216, 1121.

- 25.- CHATTERJI, A.C. y BHARGAVA, H.N. (1958). Kolloidzeitschrift 160, 35.
- 26.- CHIEN, S. (1969). Adv. Microcirc. 2, 89.
- 27.- CHIEN, S.; USAMI, S.; DELLENBACK, R.J. y GREGERSEN, M.I. (1970). Amer. J. Physiol. 219, 136.
- 28.- CHIEN, S. (1970). Science 168, 977.
- 29.- CHIEN, S.; USAMI, S.; DELLENBACK, R.J. y BRYANT, C.A. (1971). Biorheology 8, 35.
- 30.- CHIEN, S. (1973). Bibl. Anat. 11, 244.
- 31.- CHIEN, S.; USAMI, S.; JAN, K.M. y SKALAK, R. (1973). "Rheology of Biological Systems" (H.L. Gabelnick y M. Litt, dirs.), p. 12, Thomas, Springfield, Illinois.
- 32.- CHIEN, S. (1974). "The Red Blood Cell" (D.Mac N. Surgenor, dir.), p. 1037, Academic Press, New York.
- 33.- DINTENFASS, L. (1959). Kolloidzeitschrift 163, 48.
- 34.- DINTENFASS, L. (1962). Rheol. Acta 2, 187.
- 35.- DINTENFASS, L. (1962). Angiology 13, 333.
- 36.- DINTENFASS, L. (1963). Biorheology 1, 91.
- 37.- DINTENFASS, L. (1964). J. Lab. Clin. Med. 64, 594.
- 38.- DINTENFASS, L. (1966). Nature, Lond. 211, 632.

- 39.- DINTENFASS, L. (1968). *Nature, Lond.* 219, 956.
- 40.- DINTENFASS, L. (1968). *Med. J. Aust.* 1, 688.
- 41.- DINTENFASS, L. (1969). *Am. Heart.* 77, 139.
- 42.- DINTENFASS, L. (1969). *Israel J. Med. Sci.* 5, 652.
- 43.- DINTENFASS, L. (1969). *Mol. Cryst.* 8, 101.
- 44.- DINTENFASS, L. (1971). "Blood Microrheology". Butterworths, London.
- 45.- DINTENFASS, L. (1976). "Rheology of Blood in Diagnostic and Preventive Medicine". Butterworths, London.
- 46.- DINTENFASS, L. y FORBES, C.D. (1973). *Biorheology* 10, 457.
- 47.- DINTENFASS, L. y FORBES, C.D. (1974). *Haematologia* 8, 523.
- 48.- DINTENFASS, L. y MILTON, G.W. (1973). *Med. J. Aust.* 1, 1091.
- 49.- DITZEL, J. (1968). *Dan. Med. Bull.* 15, 49.
- 50.- DITZEL, J. y KAMPMANN, J. (1971). *Acta Physiol. Scand.* 81, 264.
- 51.- DOMENECH, J.M. (1977). "Bioestadística". Herder, Barcelona.
- 52.- DORMANDY, J.A. (1970). *Ann. R. Coll. Surg. Engl.* 47, 211.
- 53.- EIRICH, F. R. (dir.) (1967). "Rheology: Theory and Applications". Academic Press, New York.

- 54.- EVANS, E.A. y LA CELLE, P.L. (1975). Blood 45, 29.
- 55.- EWING, J. (1928). J. Chronic Dis. 16, 703.
- 56.- FAHRAEUS, R. y LINDQUIST, T. (1931). Am. J. Physiol. 96, 562.
- 57.- FAHEY, J.L. (1963). J. chronic. Dis. 16, 703.
- 58.- FAHEY, J.L.; BARTH, W.F. y SOLOMON, A. (1965). J. Amer. Med. Ass. 192, 464.
- 59.- FISCHER, T. y SCHMID-SCHONBEIN, H. (1977). Blood Cells 3, 351.
- 60.- FUENTES, J.; LIZUAIN, M.C.; MAYAYO, P.; GALMES, A. y FERRAN, C. (1976). XIX Reunión Nacional de la Sociedad Española de Hematología y Hemoterapia, Oviedo.
- 61.- FUENTES, J.; DURANY, M.A. y FERNANDEZ-SIMO, E. (1977). XVI Congreso Nacional de la Sociedad Española de Ciencias Fisiológicas, Bellaterra.
- 62.- FUNG, Y.C. (1966). Fedn. Proc. 25, 1761.
- 63.- FUNG, Y.C. y SOBIN, S.S. (1968). Fedn. Proc. 27, 578.
- 64.- FUNG, Y.C.; ZWEIFACH, B.W. y INTAGLIETTA, M. (1966). Circulation Res. 19, 441.
- 65.- GINKS, W.R.; SYBERS, H.D.; MAROKO, P.R.; COVELL, J.W.; SOBEL, B.E. y ROSS, J. (1972). J. clin. Invest. 51, 2717.

- 66.- GOLDSMITH, H.L. (1968). J. Gen. Physiol. 52, 5.
- 67.- GOLDSMITH, H.L. y MASON, S.G. (1967). "Rheology" (F.R. Eirich, dir.), vol. 4, p. 85. Academic Press, New York.
- 68.- GREGERSEN, M.I.; BRYANT, C.A.; HAMMERLE, W.E.; USAMI, S. y CHIEN, S. (1967). Science 157, 825.
- 69.- GRIFFIN, W.O. y AUST, J.B. (1964). Surg. Forum. 15, 338.
- 70.- GUEST, M.M.; BOND, T.P.; COOPER, R.G. y DERRICK, J.R. (1963). Science 142, 1319.
- 71.- HALIKAS, G. y SHEPPARD, C.W. (1968). Fedn. Proc. 27, 230.
- 72.- HAM, T.H.; DUNN, R.F.; SAYRE, R.W. y MURPHY, J.R. (1968). Blood 32, 847.
- 73.- HARKNESS, J. (1971). Biorheology 8, 171.
- 74.- HAYNES, R.H. (1960). Nature, Lond. 185, 679.
- 75.- HOCHMUTH, R.M.; MARPLE, R.N. y SUTERA, S.P. (1970). Microvasc. Res. 2, 409.
- 76.- ISOGAY, Y.; IIDA, A.; CHIKATSU, I.; MOCHIZUKI, K. y ABE, M. (1973). Biorheology 10, 411.
- 77.- KALLIO, V.; SALMIVALLI, M. y BRUMMER, P. (1967). Cardiología 50, 323.

- 78.- KATCHALSKY, A.; KEDEM, O.; KLIBANSKY, C. y DE VRIES, A. (1960). "Flow Properties of Blood and Other Biological Systems" (A.L. Copley y G. Stainsby, dirs.), p. 155, Pergamon Press, Oxford.
- 79.- LA CELLE, P.L. y WEED, R.I. (1971). Progr. Hematol. 7, 1.
- 80.- LANGSJOEN, P.H. (1972). Biblphie. anat. 11, 180. Basel: Karger.
- 81.- LARCAN, A. y STOLTZ, J.F. (1970). "Microcirculation et Hémorhéologie", Masson, Paris.
- 82.- LARCAN, A.; STREIFF, F.; PETERS, A. y GENET, B. (1965). Path. Biol. 13, 648.
- 83.- LESSNER, A.; ZAHAVI, J.; SILBERBERG, A.; FREI, E.H. y DREYFUS, F. (1971). "Theoretical and Clinical Hemorheology" (H.H. Hartert y A.L. Copley, dirs.), p. 194, Springer Verlag, Berlín.
- 84.- LINDSTROM, J. y BRANEMARK, P.I. (1962). Arthritis Rheum. 5, 226.
- 85.- LITWIN, M.S.; CHAPMAN, K. y STOLIAR, J.B. (1970). Surgery 67, 342.
- 86.- MCDONALD, D.A. (1974). "Blood Flow in Arteries", The Camelot Press, Southampton.

- 87.- MAC KENZIE, M.R.; FUDENBERG, H.H. y O'REILLY, R.A.
(1970). J. clin. Invest. 49, 15.
- 88.- MAC KINNA, J.A. y ROWBOTHAM, M.D. (1971). Proc. R. Soc.
Med. 64, 569.
- 89.- MAROKO, P.R.; LIBBY, P.; GINKS, W.R.; BLOOR, C.M.; SCHELL,
W.E.; SOBEL, B.E. y ROSS, J. (1972). J. clin. Invest. 51,
2710.
- 90.- MARTIN, H.F.; GUDZINOWICZ, B.J. y FANGER, H. (1975).
"Normal Values in Clinical Chemistry". Marcel Dekker, New
York.
- 91.- MERRILL, E.W. (1969). Physiol. Rev. 49, 863.
- 92.- MERRILL, E.W.; COKELET, G.C.; BRITTEN, A. y WELLS, R.E.
(1963). Circulation Res. 13, 48.
- 93.- MERRILL, E.W.; GILLILAND, E.R.; COKELET, G.C.; SHIN, H.;
BRITTEN, A. y WELLS, R.E. (1963). Biophys. J. 3, 199.
- 94.- MERRILL, E.W.; BENIS, A.M.; GILLILAND, E.R.; SHERWOOD, T.K.
y SALZMAN, E.W. (1965). J. appl. Physiol. 20, 954.
- 95.- MESSER, M.J. y HARRIS, J.W. (1970). J. Lab. Med. 76, 537.
- 96.- MICHAELS, L. (1971). J. Am. med. Ass. 215, 595.
- 97.- MICHAELS, M.M. y ZAWADZKI, Z.A. (1974). "Abstracts XV Congr.
Intern. Sol. Haematology", Jerusalem, Part. I, p. 119.

- 98.- MILLER, L.H.; USAMI, S. y CHIEN, S. (1971). J. clin. Invest. 50, 1451.
- 99.- NEWMAN, D.L. y TWINN, K.W. (1973). Biorheology 10, 527.
- 100.- O'REILLY, R.A. y MAC KENZIE, M.R. (1967). Arch. Intern. Med. 120, 234.
- 101.- PALMER, A.A. (1964). "Proceedings of the 4th International Congress on Rheology, Symposium on Biorheology". (A.L. Copley, dir.), p. 245, Wiley and Sons, New York.
- 102.- PALMER, A.A. (1966). Biblphie. anat. 9, 300.
- 103.- PEARSON, K. (1916). Phil. Trans. Roy. Soc. A. 216, 429.
- 104.- PERSOZ, B. (dir.) (1960). "Introduction a l'étude de la Rhéologie", Dunod, Paris.
- 105.- PRUZANSKI, W. y WATT, J.G. (1972). Ann. Intern. Med. 77, 853.
- 106.- RAND, P.W.; LACOMBE, E.; HUNT, H.E. y AUSTIN, W.H. (1964). J. appl. Physiol. 19, 117.
- 107.- REDISCH, W.; TERRY, E.N.; MESSINA, E.J. y CLAUSS, R.H. (1970). Angiology 21, 63.
- 108.- REED, A.H.; HENRY, R.J. y MASON, W.B. (1971). Clin. Chem. 17, 275.

- 109.- REEMTSMA, K. y CREECK, O. (1963). J. Thorac. Cardiovas. Surg. 44, 676.
- 110.- ROSCOE, R. (1952). Brit. J. Appl. Phys. 3, 267.
- 111.- ROSENBLATT, G.; STOKES, J. y BASSET, D.R. (1964). J. Lab. clin. Med. 65, 202.
- 112.- SCHMID-SCHONBEIN, H. (1971). "Proceedings of the 6th European Conference on Microcirculation". (J. Ditzel y D.H. Lewis, dirs.), p. 2, Karger, Basel.
- 113.- SCHMID-SCHONBEIN, H. y WELLS, R.E. (1969). Science 165, 281.
- 114.- SCHMIDT-NIELSEN, K. y TAYLOR, C.R. (1968). Science 162, 274.
- 115.- SCOTT-BLAIR, G.W. (1959). Nature 183, 613.
- 116.- SCOTT-BLAIR, G.W. (1967). Rheol. Acta. 6, 201.
- 117.- SCOTT-BLAIR, G.W. (1969). "Elementary Rheology". Academic Press, London.
- 118.- SHEARN, M.A.; EPSTEIN, W.V.; ENGLEMAN, E.P. y TAYLOR, W.F. (1963). J. Lab. clin. Med. 61, 677.
- 119.- SIEGEL, S. (1975). "Estadística no paramétrica", Trillas, México.

- 120.- SOMER, T. (1966). Acta Med. Scand. Suppl. 456, 180, 1.
- 121.- SPIEGEL, M.R. (1969). "Estadística". McGraw-Hill, Panamá.
- 122.- STEEL, A.E. (1963). Clin. Chim. Acta 8, 86.
- 123.- STOLTZ, J.F. y LARCAN, A. (1969). J. Colloid and Interface Sci. 30, 574. |
- 124.- STRICKBERGER, M.W. (1968). "Genetics". McMillan, New York.
- 125.- VECCHIO, T.J. (1966). N. Eng. S. Med. 274, 1171.
- 126.- WAYLAND, H. (1967). Gastroenterology, 52, 342.
- 127.- WELLS, J.V.; RIES, C. y FUDENBERG, H.H. (1974). Abstracts XV Congr. Intern. Soc. Haematology, Jerusalem, Part. II, p. 348.
- 128.- WELLS, R.E. (1964). N. Engl. J. Med. 270, 832.
- 129.- WELLS, R.E. (1964). "Proceeding of the 4th International Congress on Rheology, Symposium on Biorheology". (A.L. Copley, dir.), p. 431, J. Wiley and Sons, New York.
- 130.- WELLS, R.E. y MERRILL, E.W. (1961). Rheol. Bull. 30, 6.
- 131.- WHITMORE, R.L. (1967). "Rheology of the Circulation". Pergamon Press, London.
- 132.- WILKINSON, W.L. (1960). "Non-newtonian Fluids", Pergamon Press, Oxford.

- 133.- WINTROBE, M.M. (1976). "Clinical Hematology". Lea & Febiger, Philadelphia.
- 134.- WRIGHT, D.J. y JENKINS, D.E. (1970). Blood 36, 516.
- 135.- YAU, S.T. y SHOEMAKER, W.C. (1966). Ann. Surg. 164, 973.