

T.D.
A/38

UNIVERSIDAD DE SEVILLA
FACULTAD DE MEDICINA

"ALTERACIONES HEMORREOLOGICAS EN LA DIABETES
MELLITUS TIPO I Y LIPOPROTEINAS PLASMATICAS".

Tesis presentada por
JUAN MANUEL AZNAR MARTIN
para aspirar al grado de
Doctor en Medicina y Cirugía.

R. 8. 364



HOSPITAL UNIVERSITARIO
DE LA
FACULTAD DE MEDICINA

AVDA. DR. FEDRIANI S/N
SEVILLA

D. ANTONIO AZNAR REIG, CATEDRÁTICO NUMERARIO
DE PATOLOGÍA Y CLÍNICA MÉDICAS, DE LA FACUL-
TAD DE MEDICINA DE SEVILLA,

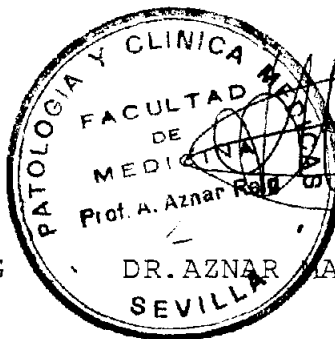
CERTIFICA : Que D. JUAN MANUEL AZNAR MARTIN, ha realizado
el presente trabajo, en esta Cátedra, y bajo
la dirección de D. ANTONIO AZNAR MARTIN, Pro-
fesor Adjunto Numerario, denominado:

"ALTERACIONES HEMORREOLÓGICAS EN LA DIABETES
MELLITUS TIPO I Y LIPOPROTEÍNAS PLASMÁTICAS"

que presenta como Tesis Doctoral.

Y para que conste a los efectos oportunos, se
firma el presente certificado, en Sevilla a
diecisiete de Septiembre de mil novecientos
ochenta y tres.

FDO. PROF. AZNAR REIG



DR. AZNAR MARTIN
SEVILLA

A mi familia.

Mi agradecimiento a:

Dr. D. Manuel Constantino Bermejo, Jefe del Servicio de Hematología del H.U.S.

A D. José Dolz Ripollés, Profesor Agregado de la Cátedra de Hidraulica de la E.S.I.C.C.P.P. de la Universidad Politécnica de Barcelona.

Al Servicio de Hematología del H.U.S.

Al Servicio de Endocrinología del H.U.S.

Al Servicio de Bioestadística del H.U.S.

Cátedra de Hidraulica de la E.S.I.C.C.P.P. de la --
Universidad Politécnica de Barcelona.

Hoescht Ibérica.

Rosa, Leo, Paqui y a todos aquellos que pensaban que su paciencia era infinita y yo con esta Tesis los desen--
gañé.

INDICE.

Página.

INTRODUCCION	7
I. Alteraciones circulatorias en el diabético.	
II. Bases morfológica y bioquímica de las alteraciones vasculares en el diabético.	
III. Homeostasis vascular en el diabético	
IV. Arteriosclerosis y diabetes.	
V. Conceptos en Hemorreología.	
A) Viscosidad sanguínea.	
B) Otros factores hemorreológicos.	
C) Deformación de los eritrocitos, agregación y desagregación de los mismos.	
D) Placa ateromatosa y factores --/ hemorreológicos.	
E) Conceptos sobre la membrana (eritrocitos).	
F) Composición de la membrana eritrocítica.	
HIPOTESIS DE TRABAJO	63

MATERIAL Y METODOS	66
I. Materiales.	
II. Metodos.	
I) Revisión de metodos.	
II) Técnicas utilizadas.	
RESULTADOS	95
I. Características de los grupos.	
II. Estado de control de los diabéticos.	
III. Estudio de la filtrabilidad sanguínea.	
IV. Estudio de la viscosidad sanguínea.	
V. Estudio de los lípidos plasmáticos.	
VI. Análisis de las correlaciones entre - las variables obtenidas.	
DISCUSION	136
I. Deformabilidad.	
II. Viscosidad.	
III. Lípidos.	
CONCLUSIONES	165
RESUMEN	169
BIBLIOGRAFIA	173

INTRODUCCION.

I. ALTERACIONES CIRCULATORIAS EN EL DIABETICO.

Ya han transcurrido más de 50 años de la utilización de la insulina en la diabetes mellitus (BANTING y colab.) (1922) (1), que al conseguir la supervivencia y prolongación de la vida en los jóvenes diabéticos, hizo que la atención de los clínicos, fuera atraída por el problema de las complicaciones vasculares y el practicó en su comodidad, separó en micro y macroangiopatía (aún cuando el problema es único y el mismo) que permitió la intuición genial de JOSLIN (1927): "the diabetic lives and dies in the atherosclerotic zone". Este problema sigue en pie y es un desafío a los clínicos e investigadores, y aún cuando los primeros abogan porque un control rígido con insulina de las alteraciones metabólicas, puede prevenir, enlentecer su progresividad y retardar su aparición, no es la insulinoterapia la clave de la solución, ya que es mucho más complejo.

Así, RASKIN (1978) (2) recoge dos estadísticas de - diabéticos tratados durante 40 años o más con insulina, y aun cuando sorprende la baja frecuencia de las complicaciones, no están libres de ellos:

	PAZ GUEVARA y colab. JOS- LIN CLINIC (BOSTON).	OAKLEY y colab. (LONDON)
Pacientes	73 (32 H y 41 M)	92 (32 H y 60 M)
Complicaciones:		
-- Retinopatía	75,3%	60,8%
-- Nefropatía	41,0%	8,6%
-- Neuropatía	48,0%	16,3%
-- Cardiopatía is- quémica	20,5%	45,6%
-- Enf. vasculares pe- rifericas.	40,0%	44,5%

Por supuesto, que las lesiones son la culminación - de una compleja interacción secuencial de diversos facto- res, que conducen a un deterioro de la función circulatoria: aporte de oxígeno, de nutrientes y retirada de cata- bolitos; y de ahí, el interés de los clínicos por eviden- ciarlos; y al conocerlos, quizá poder intervenir en su - corrección.

Se ha estudiado el "continente": el vaso, capilar - arterial fundamentalmente y el "contenido": plasma y ele

mentos formes, así como las circunstancias que rigen la circulación: reología.

Hay un lugar excepcional, para poder contemplar la microcirculación directamente: son los vasos de la conjuntiva y de la retina. Así DITZEL y colab. (1954) (3), --/ (1959) (4) y (1960) (5) encontraron, que se podía ver -- frecuentemente en los diabéticos, agregados eritrocitarios intravasculares, y los agregados en las venas, eran más frecuentes que en las arterias; aunque los primeros, se veían tanto en sanos como en diabéticos. Estos agregados intraeritrocitarios, se veían solamente en los diabéticos de larga duración con retinopatía o nefropatía, y con frecuencia estaban asociados a estrechamientos arteriulares; observaron que los agregados eritrocitarios intrarteriulares, no obstruían la microcirculación por periodos significativos, sino que usualmente eran desplazados a las bifurcaciones de las ramas arteriulares, en menos de un segundo.

Asímismo observaron que las vénulas de la conjuntiva, estaban dilatadas precozmente en la diabetes; antes de que se produjeran el estrechamiento arteriolar. La dilatación de las vénulas, eran más sorprendentes en la mañana que en la tarde, en las fases precoces de la diabetes; pero quedaban dilatados de una manera fija, en las diabetes de larga duración (DITZEL, BEAVEN y RENOLD) --/ (1960) (5).

La dilatación se incrementaba con la duración de la diabetes, e incluso estaba presente en la diabetes latente. La dilatación de las venas de la retina en la diabetes juvenil, progresa durante los 10 primeros años y es más marcada en los diabéticos con retinopatía.

Estos cambios de dilatación venular, se han descrito en otras partes del cuerpo, tales en la mucosa bucal y enrojecimiento facial (rubeosis); y que se reduce con un control severo de la glucemia, y que ya era conocido de antiguo (WELL) (1924) (6); (V. NOORDEN e ISAAC) (1927) (7); en los dedos y en los lechos vasculares ungueales (LANDAU y DAVIS) (1960) (8); (CHAZAN y colab.) (1970) -- (9).

Parece ser, que precediendo a la dilatación de las vénulas, hay alteraciones circulatorias en forma de un incremento del flujo sanguíneo al inicio de la diabetes; así, en el tejido adiposo (HAGGENDALE y colab.) (1970) -- (10) encuentran que precozmente aparece en diabéticos -- mal controlados, y que el flujo sanguíneo del antebrazo está elevado (CHRISTENSEN) (1970) (11), y esto coincide con un incremento de aporte sanguíneo al tejido adiposo, y que se normaliza en la retina con un buen control y -- aquí persiste, aunque el control sea bueno (KOHNER y colab.) (1975) (12) han medido el flujo sanguíneo, combinando fluoresceína con cinematografía en la retina, el cual está elevado antes de que se presente la retinopa--

tía y persiste, aún en presencia de la retinopatía.

El tercer estadio, es la constricción arteriolar, - que es una manifestación tardía, al principio es funcional, se puede ver en la conjuntiva y en lecho ungueal; cuando es sostenida y pronunciada en la conjuntiva, las vénulas también están estrechadas; y coexisten áreas microscópicas de edema.

A medida que aumenta la duración de la diabetes, - la irreversibilidad de la dilatación de las vénulas, se acompaña de acumulación en las paredes de material hialino, que se tiñen por el PAS; se asocia con arterioesclerosis, que es precoz en la retinopatía diabética y en la glomeruloesclerosis.

Frecuentemente se asocia con retinopatias leves una fleboesclerosis, que impide a las pequeñas venas que se colapsen.

Cuando se ha instaurado la esclerosis vascular, conduce lentamente a una progresiva descompensación de la microcirculación: zonas no perfundidas en la retina, microaneurismas, aumento de la permeabilidad capilar en la retina; en el riñón, engrosamiento de la membrana basal y proteinuria, y en las extremidades inferiores, se puede apreciar disminución de la circulación y aparición de zonas atróficas "marrones" en la piel de las piernas (MELIN) (1964) (13).

II. BASES MORFOLOGICA Y BIOQUIMICA DE LAS ALTERACIONES VASCULARES EN EL DIABETICO.

Se afianza la base morfológica de las alteraciones vasculares en la diabetes, cuando SIPERSTEIN y colab. - (1968) (14), miden el grosor de la membrana basal de -- los capilares musculares del cuadriceps, y encuentran - que los diabéticos tienen engrosada la membrana basal - del capilar; y además comprueban, que en diabéticos adultos con antecedentes genéticos, -hijo de ambos padres - diabéticos-, el 53% tenían engrosada la membrana basal, comparado con el grupo control.

El engrosamiento de la membrana no se limita a los vasos sanguíneos, cuando hay glomeruloesclerosis nodular están engrosados la membrana de la capsula de Bowman y - la del túbulo contorneado proximal (WARREN y colab.) --/ (1966) (15); también se ha comprobado en animales hechos diabéticos por productos químicos (BLOODWORTH y colab.) (1969) (16). No está aclarado, por qué se produce este engrosamiento; LAZAROW y SPEIDEL (1964) (17) sugieren -- que la perturbación del "turn-over" de la membrana basal es la responsable. Según VRACKO (1970) (18) la prematura muerte de los pericitos, con regeneración de la membrana basal, -durante su reemplazamiento-, es la causa del engrosamiento.

Con LAZAROW y SPEIDEL (1964) (17) se iniciaron estu

dios bioquímicos de la membrana en 1963, que fueron ampliados por BEISSWENGER (19) en 1970, los cuales, comunicaron que estaban alteradas en los diabéticos; indicaron que presentaban un incremento de la hidroxilisina, y del número de unidades de disacáridos, glucosil-galactosa en la membrana basal glomerular de los diabéticos; demostraron también, un descenso recíproco en el número de residuos de kininas, y significativas diferencias en el contenido de hidroxiprolina, glicina, valina y tirosina, respecto a los sujetos normales; estas diferencias se incrementaban con la duración de la diabetes -- (SPIRO y SPIRO) (1971) (20); y en ratas diabéticas alo--xánicas, comprobaron que tenían una elevada actividad -- del enzima glucosiltransferasa en los riñones. SPIRO --/ (1976) (21), indicó que en la membrana basal glomerular del diabético, había un incremento de hidroxilación de los residuos de lisina, con la subsiguiente glicosilación de los lugares de agregación de la hidroxilisina, nuevamente formada. KHALIFA y COHEN (1975) (22), en ratas diabéticas por streptozotocina, comprueban un incremento de la actividad de la hidroxilisinasa, aunque --/ otros autores no los han confirmado, si han demostrado una composición bioquímica cualitativamente diferente en el diabético; a estas alteraciones se les ha hecho responsables del aumento de la permeabilidad de la misma, con salida transcápilar de electrolitos y grandes -- moléculas y a cuya técnica de medición hemos hecho una aportación de gran utilidad clínica por su sencillez --

(VEGA VAZQUEZ y colab.) (1979) (23).

Asimismo, cabe pensar como contribución a la patología vascular, que la perturbación funcional celular del diabético, alcance a las células endoteliales y a los pericitos o células paraendoteliales. Se ha comprobado en cultivos celulares de fibroblastos de diabéticos, que su multiplicación se detiene, tras un reducido número de generaciones, a semejanza de los fibroblastos procedentes de personas de avanzada edad (por algunos se ha sugerido, que la diabetes era un envejecimiento prematuro).

Se ha demostrado también, una disminución de la función lisosómica en los diabéticos, cuyos indicadores: - la incrementada actividad en el suero de la beta-glucuronidasa (MILLER y colab.) (1966) (24) y de la N-acetil-beta-glicosaminidasa (BELFIORI y colab.) (1972) (25), - que son de origen lisosómico, se correlacionarían con una incrementada actividad enzimática lisosómica, la cual correría parejas con la severidad de la diabetes; y esta actividad desciende, cuando se controla la enfermedad.

Por otra parte, como contribución a la angiopatía, se ha señalado una alteración de la síntesis de la fructosa (GABBAY) (1973) (26); la aldosa-reductasa, es el primer paso enzimático en la vía que forma sorbitol, --

por reducción directa de la glucosa. Esta enzima está - presente en nervios -las células de SCHWANN tienen la mayor actividad de la enzima-, páncreas, cristalino y pared de la aorta y en otros tejidos. Se ha comprobado "in vitro" que cuando la glucosa de la célula se incrementa, el sorbitol y la fructosa también se elevan --/ (WARD) (1973) (27); mientras el exceso de fructosa --/ abandona la célula, el sorbitol permanece y actúa como un agente osmótico, cuyo poder osmótico es proporcional a su concentración; y se correlaciona la cuantía del -- sorbitol con la cuantía de la hiperglucemia; produciendo se un hinchazón celular; reversible, cuando disminuye - la hiperglucemia. Una manera indirecta de medirlo es mi diendo el mesoinositol, que está muy relacionado químicamente con el sorbitol, aun cuando no metabólicamente; el mesoinositol, es un componente de los fosfolípidos - de la membrana celular y está muy disminuido en el diabético (GREENE y colab.) (1975) (28).

III. HOMEOSTASIS VASCULAR EN EL DIABETICO.

Además de estas alteraciones estructurales, la homeostasis vascular del diabético está modificada por su alterada respuesta a prostanoides vasoconstrictores -- -tromboxano y endoperoxidos análogos-, mostrando el músculo liso aórtico de la rata diabética, una incrementada sensibilidad a sustancias tromboxano-like (ROTH y colab.) (1983) (29). El tromboxano A-2 es un potente vasoconstrictor, que induce agregación plaquetaria y labiliza las membranas lisosomales; es generado por las plaquetas, pero también, por los vasos sanguíneos y células miocárdicas; así como hay una incrementada respuesta a vasoconstrictores no-prostanoides, tales: noradrenalina, angiotensina, cloruro potásico y cloruro cálcico (OWEN y CARRIER) (1979) (30).

ROTH y colab. (1983) (29) encuentran un significativo descenso en la producción de prostaciclina (eicosanoide vasodilatador), tanto en la aorta torácica como abdominal de la rata diabética. En contraste con la reducida síntesis de prostaciclina (PGI_2) en el tejido aortico, - la PGI_2 se libera dos a tres veces más en el corazón perfundido de rata diabética y en preparaciones aisladas de la arteria coronaria de perro diabético; y se piensa que ésta incrementada producción de PGI_2 en animales diabéticos, representa una acción compensadora de los vasos coronarios, para protegerse contra estímulos nocivos.

IV. ARTERIOESCLEROSIS Y DIABETES.

La arterioesclerosis tiene un origen multifactorial: herencia, dieta (en varios estudios epidemiológicos, se comprueba un descenso del colesterol plasmático entre - 7 a 16%, media de 11%, con la disminución alimentaria), - hipertensión, diabetes, una posible lesión viral de la pared vascular, el tabaco, "stress" y efectos dinámicos de tensión sobre el vaso, aparte de otros factores.

La aterogenesis es un problema complejo, que espera su solución y ensamblamiento de las secuencias; pero en reciente revisión desde el punto de vista hemoreológico CARO (1982) (31), dice que se pueden concretar tres hechos:

1) Lesión del endotelio (y esto no se sabe cuando, cómo y dónde tiene lugar, y no es debido, como reiteradamente se ha afirmado, al impacto dinámico de la corriente sanguínea en bifurcaciones y curvas, ni en la cuantía de la cizalladura de la corriente), hipótesis que inició en 1822, RINDFLEISH.

2) Incrementada entrada de lipoproteínas (modernización de la "teoría de la insudación" de VIRCHOW, 1862), y en la cual, la arteria toma material de la sangre circulante, reforzada por las experiencias de ANITSCHOW; que propuso que el material de la sangre pasaba a través de

la pared arterial, para ser evacuado por los linfáticos o venas de la adventicia. La "hipótesis lípida", supone que un incremento de lípidos (colesterol o LDL-colesterol) puede incrementar el grado de desarrollo de la arterioesclerosis, y

3) Interacción de las plaquetas con la lesión del endotelio, que conducen a la replicación celular y emigración de las células musculares lisas de la media (BENDITT) (1977) (32); el cuál demostró, que todas las células musculares lisas proliferantes de una placa ateromatosa, -- proceden de una sola célula mutada de la media de la arteria, como las células de un tumor benigno; las sustancias premutágenas serían transportadas por las lipoproteínas de baja densidad (LDL); que son un excelente caldo nutritivo para cultivo de las células musculares lisas de la pared arterial; y piensa BENDITT que éstas -- transportan un epóxido de colesterol, que puede producir tumores de tejido conjuntivo experimentalmente en ratas y ratones (vease más adelante los hallazgos de TAUBER y colab. (1980) (33), de acción de las HDL y LDL sobre cultivos de células endoteliales vasculares bovinas; y --/ GOLDSTEIN y BROWN (1977) (34) en células musculares lisas arteriales humanas, que contienen receptores de colesterol LDL, y según TAUBER (1980) (33) tiene poder mitogenico a la concentración de 150 μ g/proteína ml).

Desde hace años, se ha demostrado que en los diabé-

ticos tipo I la arterioesclerosis se desarrolla aceleradamente (SANTEN y colab.) (1972) (35) y (GARCIA y colab.) (1974) (36); en el estudio de FRAMINGHAN, lo encuentran asímismo; y en parte está relacionada con la composición de lípidos y lipoproteínas del plasma de estos sujetos diabéticos (CHANCE y colab.) (1969) (37), (BILLIMORIA y colab.) (1976) (38).

Las lipoproteínas son los vehículos que transportan en el plasma los lípidos insolubles en agua, desde los lugares de síntesis y absorción, hasta los lugares de utilización y almacenamiento. Normalmente, en el plasma humano, el sistema lipoproteína contiene aproximadamente 150 mgr/100 ml. de triglicéridos y 200 mlgrs./ml. de colesterol. En un día, son transportados a través de la corriente circulatoria, un total de 70-100 grs. de triglicéridos y de 3 a 6 grs. de colesterol, en forma de lipoproteínas: quilomicrones, lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), lipoproteínas de baja densidad (LDL) y lipoproteínas de alta densidad (HDL); las cuales dinámicamente se están interconvirtiendo, y más, bajo la influencia de drogas, hormonas y dieta (EISENBERG) (1982) (39).

Ya se han aclarado, dos vías mayores del metabolismo de las lipoproteínas plasmáticas (BREWER y colab.) - (1982) (40).

1) Las lipoproteínas segregadas por el hígado del hombre, son ricas en triglicéridos con densidad muy baja (VLDL) y contienen apoproteína-B. Las VLDL son hidrolizadas por la lipoproteína-lipasa y convertidos en lipoproteínas de densidad intermediana (IDL), y finalmente, en lipoproteínas de baja densidad (LDL).

2) Por otra parte, el intestino, segrega quilomicrones ricos en triglicéridos, que contienen apoproteína B. Estos quilomicrones bajo hidrólisis por la lipoproteína-lipasa, se convierten en VLDL y finalmente en IDL. La mayoría de los remanentes de los quilomicrones, son tomados por el hígado por vía del sistema receptor apoproteína E. El sitio mayor de catabolismo de las lipoproteínas ricas en triglicéridos de los quilomicrones, es el hígado.

Las LDL son catabolizadas primariamente por la alta afinidad del sistema receptor en las células periféricas (células musculares lisas, fibroblastos, etc.) y en el hígado.

La biosíntesis y catabolismo de las HDL es compleja, por la polidispersa naturaleza de las partículas de lipoproteínas que existen dentro de las HDL. Los lípidos y proteínas constituyentes de HDL están derivados del catabolismo de las lipoproteínas ricas en triglicéridos, tanto quilomicrones como VLDL, y por biosíntesis directa en

el hígado y en el intestino. Es de particular interés, el papel de las HDL en el transporte del colesterol de las células periféricas al hígado, que se denomina --/ "transporte inverso del colesterol", para la producción de arterioesclerosis; como lo demuestra la correlación inversa entre cuantía de colesterol HDL y enfermedad cardiovascular prematura (BREWER y colab.) (1982) (40); en el estudio de FRAMINGHAM comparando sujetos normales con colesterol HDL en sujetos varones con niveles de menos de 35 mgrs./100 ml. y en mujeres con niveles de menos de 45 mgr./100 ml. desarrollaron enfermedad coronaria en un periodo de 4 años. La diabetes es un factor que induce descenso de HDL (GORDON y colab. (1977) (41).

En el diabético se ha señalado la presencia de hiperlipoproteinemia entre el 20-70% (OM) (1982) (42), -- (GRIES) (1983) (43), (HAYES) (1972) (44); pero en ellas, hay que distinguir: a) hiperlipoproteinemia secundaria, relacionada con una deficiencia absoluta de insulina -- (diabetes mellitus tipo I), b) hiperlipoproteinemia secundaria en los diabetes mellitus tipo II, en los cuales el factor patogénico es la síntesis aumentada de lipoproteínas por el hígado, y c) hiperlipoproteinemia -- primaria en la diabetes mellitus; o sea una anomalía primaria de las lipoproteínas que se simultánea con una diabetes mellitus; y en la cual debe pensarse, cuando -- tras el tratamiento adecuado (dieta e insulina), no se normalizan las cifras alteradas de lipoproteínas (BRUN-

ZELL y colab.) (1975) (45); los cuales indican, que la Diabetes Mellitus y las formas familiares de hiperlipoproteinemias son heredadas independientemente, y es una coincidencia que ambas se presenten en el mismo sujeto.

La insulina interviene en el metabolismo de los lípidos en 4 facetas diferentes (SAUDEK y EDER) (1979) -- (46).

- 1) A nivel del adipocito, ya que promueve el almacenamiento de triglicéridos.
- 2) A nivel hepático, promoviendo la síntesis de -- VLDL.
- 3) Estimula la lipoprotein-lipasa, y por tanto favorece el aclaramiento periférico de triglicéridos.
- 4) Estimula a β -hidroxi-metil-glutamil-CoA-reductasa hepática (HMG-CoA-reductasa).

De ahí, que la falta de insulina (D.M. tipo I), motiva un incremento de la lipólisis, lo que condiciona un aumento de los ácidos grasos libres plasmáticos (FFA) -- (reducida actividad de la lipoproteína-lipasa), que a su vez propicia una mayor síntesis hepática de los triglicéridos. Es cierto, que este efecto es en parte contrarrestado por la acción negativa de la falta de insulina, que induce una retención de triglicéridos por el hígado, lo cual conduce a una esteatosis hepática diabética.

Si la insulino-deficiencia es parcial, la interferencia sobre este metabolismo es menos acusada; si bien los niveles elevados de substrato (triglicéridos y ácidos grasos libres), conducen a una síntesis aumentada de lipoproteínas.

En los diabéticos tipo I, mal controlados, sobre todo en los que presentan cetoacidosis, aparece lo que clásicamente se conocía como "lipemia diabética" (ELIX) (1926) (47), y actualmente se la conoce como una forma transitoria secundaria de la hiperlipoproteinemia tipo β (LDH). En esta situación, el defecto predominante, es un aclaramiento defectuoso de los triglicéridos, por disminución de la actividad de la lipoproteína-lipasa; este aumento de triglicéridos y VLDL, se acompaña de un incremento de colesterol plasmático, con incremento de los LDL y de la cuantía de colesterol, que estas lipoproteínas transportan.

Las LDL juegan un importante papel en la arterioesclerosis, causante principal de la morbilidad y mortalidad diabética, (STOUT) (1979) (48); (COLWELL y colab.) (1981) (49). El aclaramiento plasmático de las LDL, depende de un proceso endocítico mediante un receptor, --previo reconocimiento por dicho receptor de alta afinidad, presente en las membranas celulares de la apoproteína B. Según el trabajo clásico de GOLDSTEIN y BROWN (1977) (34) la internalización de las LDL conduce a la

degradación de la apoproteína B, y a la hidrólisis de los esterios del colesterol. Este colesterol libre actúa intracelularmente: a) reduciendo la actividad de HMG--CoA-reductasa, suprimiendo la síntesis de colesterol; b) estimula la reesterificación, por activación de la enzima acyl-CoA colesterol acyltransferasa (ACAT).

Estos hechos conducen a la disminución del número de receptores de LDL (down-regulation).

En los diabéticos tipo I, no se ha podido demostrar defecto de la unión LDL-receptor "per se" (SAUDEK y --/EDER) (1979) (46). La deficiencia de insulina, y su importante acción sobre la actividad de HMG-CoA-reductasa, sería asimismo, un paso limitante en el metabolismo de los LDL.

Sobre el comportamiento de los HDL en la diabetes tipo I, los resultados son controvertidos. Así BIERMAN (1979) (50), NIKKILA y HORMILLA (1978) (51), encuentran concentraciones normales e incluso elevadas; mientras que otros, las encuentran disminuidas, EDER y colab. -- (1979) (52), ASH y SAILER (1981) (53) correlacionándose con el control de la diabetes LOPEZ-VIRELLA y colab. -- (1977) (54); ELKELES y HAMBLEY (1978) (55); CLAVERT y colab. (1978) (56).

A este respecto, es interesante la aportación de DUNN y colab. (1981) (57) que estudian el comportamiento de un grupo de diez diabéticos tipo I portadores de bombas de infusión de insulina de "asa abierta", que les mantiene normal o casi normal la glucemia, durante las 24 horas del día, y encuentran un significativo descenso del colesterol total del plasma y de los triglicéridos; VLDL y LDL, después de dos a cuatro semanas de tratamiento con infusión de insulina subcutánea constante. La concentración de HDL se eleva después de dos meses de tratamiento. Y estas modificaciones en los niveles de lípidos y colesterol de las lipoproteínas, persisten a través de un periodo de 6 meses; lo cual hace pensar que su uso mantenido podrá influir en un futuro, favorablemente para el no desarrollo prematuro de la arterioesclerosis. Esta lentitud en los cambios de concentración de HDL, no puede ser explicado totalmente por el relativo índice lento de "turn over" de HDL en el hombre (BLUM y colab.) (1977) (58) y es semejante a la que se encuentra después de intervenciones quirúrgicas (CARLSON y colab.) (1977) (59) o tras la ingestión de alcohol (BELFRAGE y colab.) (1977) (60).

De ahí, que el aumento del colesterol de la relación LDL_c/HDL_c , en el diabetico tipo I explique la acelerada arterioesclerosis observada en este tipo de diabéticos.

Al respecto, son muy interesantes los hallazgos de TAUBER y colab. (1980) (33) de la acción de las lipoproteínas HDL y LDL, sobre cultivos de células endoteliales vasculares bovinas, mantenidas en recipientes revestidos de matriz extracelular, y expuestos a un medio, al que se suplementaba con suero deficiente en lipoproteínas, y comprobaron, que para proliferar optimamente, necesitaban la presencia de lipoproteínas.

La lipoproteína HDL a concentraciones fisiológicas (100 - 150 $\mu\text{g/proteína/ml}$), podía reemplazar por completo al suero normal; y parece ser, que es el factor mayor involucrado en la proliferación de las células vasculares endoteliales.

Otras aportaciones interesantes, eran que la adición de lipoproteína HDL sólo, a cultivos mantenidos en plástico, tenía una escasa respuesta; a no ser, que se añadiese al medio, el factor de crecimiento de fibroblastos; por el contrario, cuando el medio, es mantenido sobre matriz extracelular, aparece un crecimiento óptimo de células endoteliales por lipoproteínas HDL, aún en ausencia del factor de crecimiento fibroblasto. Esto les hace sugerir, que "in vivo" la integridad de la membrana basal, sobre la que descansan las células endoteliales y emigran, es un factor muy importante en el determinismo de las respuestas de las células endoteliales a las lipoproteínas presentes en el plasma.

Asímismo comprueban, que la lipoproteína HDL parece ser únicamente eficiente sobre las células endoteliales vasculares; ya que no tiene ningún efecto sobre --/ otro tipo de células probadas: células de la granulosa, de la corteza adrenal, del endotelio corneal y célula muscular lisa vascular.

Es muy interesante asímismo, que la respuesta óptima de proliferación, además de la lipoproteína HDL, necesitan insulina (la cual puede ser reemplazada por somatomedina C).

Las lipoproteínas LDL, a diferencia de las lipoproteínas HDL tenían un efecto trifásico: si estaban a baja concentración, estimulaban las mitosis de las células endoteliales vasculares; pero a medida que aumentaba la concentración, y se llegaba a alcanzar la concentración fisiológica, resultaban tóxicas para las células; o sea, que según este estudio, la lipoproteína LDL a --/ unas concentraciones por bajo de las suyas fisiológicas "in vivo", se ha demostrado es tóxica para las células endoteliales vasculares. Una observación semejante, la obtuvo HENRIKSEN y colab. (1979) (61) y (1979) (62), -- con células endoteliales de la vena umbilical.

GOLDSTEIN y BROWN (1977) (34), han demostrado que en las células humanas estudiadas (fibroblastos, músculos lisos arteriales y células linfoides), el receptor

de lipoproteína LDL, es capaz de mantener el crecimiento celular, consiguiendo mantener suprimida la HMG-reductasa, cuando las lipoproteínas están a un nivel de 15 $\mu\text{g}/\text{proteína/ml.}$, y sugirieron, que el nivel apropiado de la concentración de lipoproteína LDL, debía ser de 150 $\mu\text{g}/\text{proteína/ml.}$ A este nivel exacto, observaron TAUBER y colab. (1980) (33) el máximo potencial mitogénico de proteína LDL; en contraste, una concentración cinco veces más elevada, que es la que normalmente está presente en el plasma humano, es citotóxica para los cultivos de células endoteliales vasculares.

Es curioso, que el nivel de lipoproteínas LDL, predicho por GOLDSTEIN y BROWN (1977) (34), es el mismo que se ha encontrado en otras dieciocho especies de mamíferos, que no sufren arterioesclerosis (MILLS y TAYLAUR) (1971) (63); y es el nivel que presenta la lipoproteína LDL en el recién nacido humano (TSANG y colab.) (1975) - (64).

V. CONCEPTOS EN HEMORREOLOGIA.

Actualmente, hay un creciente interés en estudiar las complicaciones vasculares del diabético, desde el punto de vista del "contenido", o sea, las circunstancias dinámicas de la circulación sanguínea y las posibles interacciones de sus componentes, que son variables; con modificaciones influenciadas y sometidas a los disturbios inducidos por la carencia de insulina en la diabetes mellitus.

En física, la reología ("ρεω", fluir y "λογος", ciencia o tratado), es la parte de la misma, que se ocupa del flujo y deformación de los cuerpos, bajo la influencia de las tensiones que le son aplicadas (BINGHAM, 1928); y que JOLY (1967) (65) aplica a la materia viva, que "está constituida por conjuntos más o menos complicados, de medios viscosos, viscoelásticos y plásticos, con una proporción relativamente pequeña de partes sólidas". Mucho más tarde, COPLEY (1979) (66), propone el término de Bio-reología; y dentro de ella, a la Hemorreología, que estudia el flujo y deformación de la sangre.

El médico J.L.M. POISSEUILLE en 1835, presentó a la Academia de Ciencias de Francia, un estudio del flujo de la sangre a través de tubos capilares; donde indicaba la existencia de una capa de plasma junto a la pa-

red del conducto, y postuló la conocida ley, que lleva su nombre.

Esta ley, relaciona la cantidad de volumen que fluye, y el gradiente de presión, al que está sometida dicho fluido, en un capilar rígido; expresado matemáticamente así:

$$Q = K \frac{(P_1 - P_2) d_i^4}{L}$$

o dicho de otro modo

$$\bar{V} = \frac{(P_1 - P_2) r_i^2}{8 L \eta}$$

En donde:

Q = cantidad de volumen que pasa.

\bar{V} = velocidad media = $\frac{Q}{r^2}$

k = constante que depende de la viscosidad del líquido.

$P_1 - P_2$ = es la caída de presión, a los lados de un tubo de longitud L

d_i = diámetro interno del tubo

r_i = radio interno del tubo

η = viscosidad del fluido

Por otra parte FAHREUS y LINDQVIST (1931) (67) estudiaron el flujo capilar de la sangre; y observaron, que

la viscosidad de la sangre (considerandola como si tuviera un comportamiento newtoniano) disminuye, al disminuir el diámetro del capilar; y a este fenómeno se conoce como "efecto FAHREUS-LINQVIST".

La ecuación de Poiseuille es válida para el flujo laminar de un fluido newtoniano, a través de un capilar de paredes rígidas; y este no es el caso de la circulación sanguínea, cuyo flujo es pulsátil y pasa a través de arterias y venas con paredes visco-elásticas.

Todos los fluidos, no tienen el mismo comportamiento reológico, y así se pueden dividir en dos grupos: newtonianos y no-newtonianos. Los primeros son los que cumplen la ley enunciado de NEWTON en 1687:

$$\tau = \eta D$$

τ = tensión de cizalladura (shear stress) (ss)

η = viscosidad

D = velocidad de deformación (shear rate) (sr)

y los no-newtonianos, son aquellos fluidos que no la cumplen.

El plasma, es un líquido newtoniano; y la sangre total, es un líquido no-newtoniano.

A) VISCOSIDAD SANGUINEA.

Consideramos necesarias, para la ulterior comprensión de los términos reológicos en que nos expresemos, acotar las siguientes explicaciones de DORMANDY (1981) (68).

"La viscosidad de un líquido es debido a la fricción interna de las capas adyacentes".

En la dinámica circulatoria, capas adyacentes se mueven paralelamente una a otra, la diferencia de velocidad es una medida de la deformidad (shear) dentro del líquido fluyente y este gradiente de velocidad se denomina "velocidad de deformación" (internacionalmente --/ "shear rate"). La velocidad de la corriente y de deformación dentro del líquido, es producida por una fuerza "tensión de cizalladura" (shear stress). Entonces, la velocidad del líquido estará definida por la proporción o, razón de la "tensión de cizalladura" por la "velocidad de deformación" que produce. Lo cual se comprende fácilmente en la figura 1.

En la figura 1, A y A', son dos capas de fluido -- que fluyen en relación una con la otra, a velocidades de V_1 y V_2 empujada por una fuerza F.

La "velocidad de deformación" (shear rate), es el

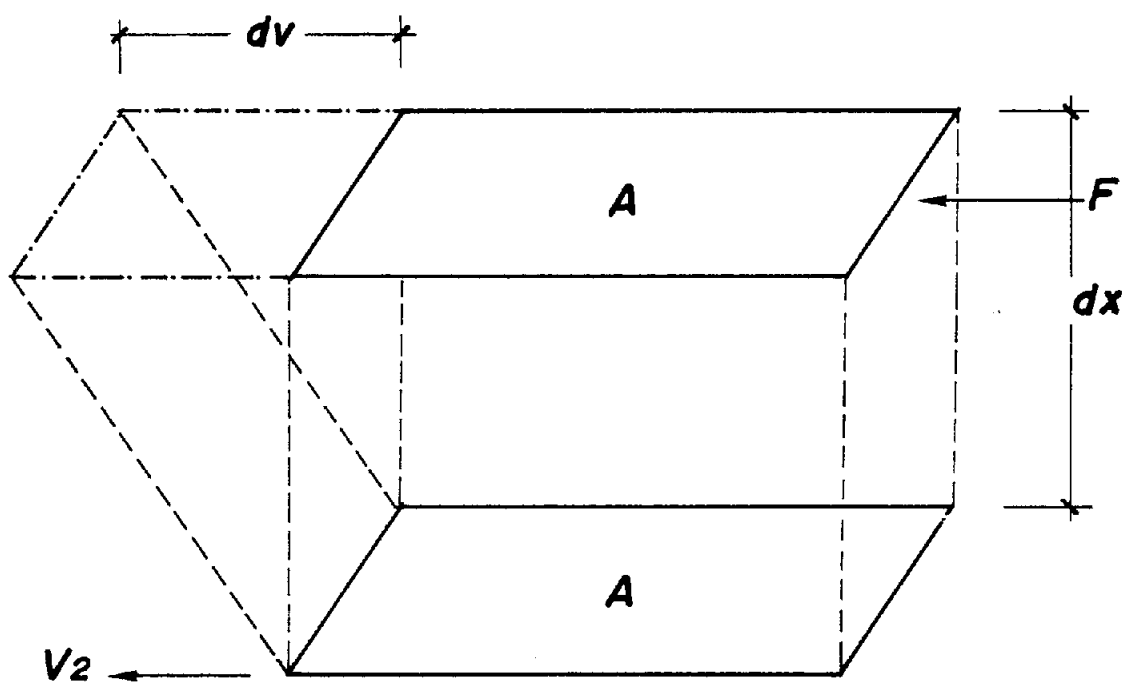


Figura 1.-

gradiente de velocidad = dv/dx en la que V es la diferencia entre V_1 y V_2 y X , la distancia entre las dos capas de fluido consideradas.

Las unidades de "velocidad de deformación" (SR) será igual a distancia por tiempo, dividido por la distancia, y se expresan en la inversa de segundos (S_9^{-1}).

La "tensión de cizalladura" (SS) como la relación de la fuerza por la unidad de área, o sea F/A , y se expresa en unidades Pascal (Pa).

La viscosidad de un líquido, será la "velocidad de deformación" (SR) dividida por la "tensión de cizalladura" (SS) que produce, y será expresado en Pascal-segundo (Pa.S).

Definiciones de algunos términos utilizados en la viscosidad sanguínea:

-- "shear": cizalladura. Es un estado de acción, resultante de una fuerza aplicada a partes adyacentes de un cuerpo, que tiende a deslizarlo relativamente a otro, en una dirección a su plano de contacto. En la mayoría de los casos la palabra se usa como un adjetivo de fuerza ("stress").

-- "shear stress": tensión de cizalladura. Es la in

tensidad de la fuerza que produce una cizalladura, en - dirección de un plano de contacto; tiene las dimensiones de fuerza por unidad de área del plano de cizallamiento: dinas/cm².

-- "stress": es la fuerza ejercida, cuando un cuerpo tiende a distorsionarse por la presión de otro; empujón, compresión o torcimiento.

-- "yield point": es el punto en el cual la conducta elástica finaliza y comienza la conducta plástica.

-- "yield stress": Umbral de la fluencia. La cuantía de fuerza para pasar de la conducta plástica a la - elástica.

-- "conducta plástica": Es la conducta de un material, que cuando es forzado a un grado tal, que rebasado no puede volver a sus dimensiones originales.

-- "conducta elástica": Es la de un material, cuando moderadamente forzado, puede recobrar sus dimensiones originales, una vez retirada dicha fuerza.

La ecuación de POISEUILLE-HAGEN es válida para el - flujo laminar de un líquido newtoniano, a través de un - capilar de paredes rígidas; estos líquidos cumplen la -- ley enunciada por NEWTON (1687)

$$\tau = \eta D$$

τ = tensión de cizalladura (shear stress) (SS)

η = viscosidad

D = velocidad de deformación (shear rate) (SR).

Los líquidos newtonianos, a una temperatura constante, tienen una única viscosidad constante, ya que - la proporción o razón de "tensión de deformidad"/"velocidad de deformación" (SS/SR) es constante; y a determinado cambio en la "tensión de cizalladura" aplicada al fluido, se produce un cambio exactamente proporcional en la "velocidad de deformación" resultante. Tienen pues una viscosidad constante, es decir presentan la - misma resistencia al movimiento, cualesquiera que sean las condiciones del flujo.

Se llaman líquidos no-newtonianos, a los que no -- cumplen esta ley; y si bien el plasma es un líquido newtoniano, la sangre total no lo es; o sea, que su viscosidad no es constante.

Así cuando en la sangre la "tensión de cizalladura" (SS) disminuye, la resultante "velocidad de deformación" disminuye, pero no proporcionalmente. El que la sangre era un fluido no newtoniano, lo señaló HESS en 1915 -- (69). Esto se puede apreciar en la figura 2 tomada de - DORMANDY (1981) (68).

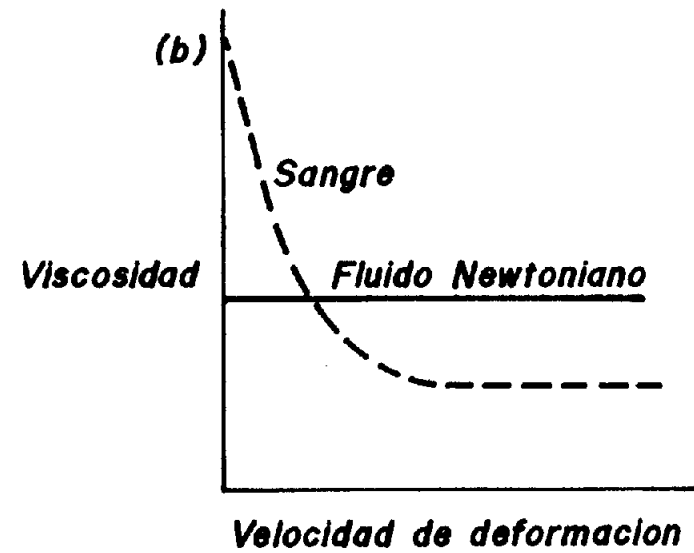
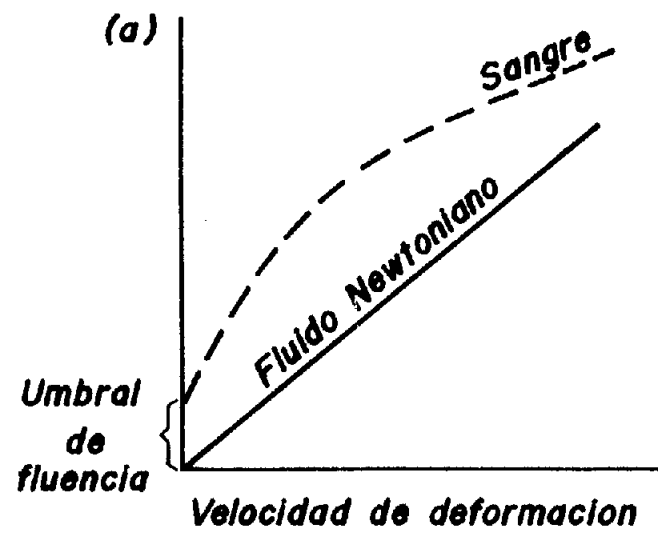


Figura 2.-

La línea recta en la figura, representa la viscosidad del líquido newtoniano. En la sangre, líquido no-newtoniano, se comprueba que cuando disminuye la "tensión de cizalladura", la "velocidad de deformación" resultante disminuye desproporcionadamente, como se ve en la línea de trazos; y se puede comprobar como la viscosidad se incrementa a baja "velocidad de deformación".

En relación con esto, está la observación antigua de FAHREUS y LINDQVIST (1931) (67) que al estudiar el flujo capilar de la sangre como si fuera un fluido newtoniano, encontraron, que al disminuir el diámetro del capilar, cuando se reduce la velocidad se incrementa grandemente la viscosidad, y esto se conoce con el nombre de "efecto FAHREUS-LINDQVIST".

Este comportamiento no-newtoniano de la sangre, significa que se requiere relativamente una mayor fuerza, para moverla lentamente, que la que se necesita para moverla más rápidamente.

Un hecho interesante, para la medición de la viscosidad, y su aplicación clínica, es que a mayor "velocidad de deformación", la sangre llega a comportarse como un líquido newtoniano, alcanzando una viscosidad constante, a "velocidad de deformación" superiores a 100 sg^{-1} (vease b de la figura 2).

Otra característica del comportamiento no-newtoniano de la sangre, es que posee un "umbral de fluencia" -- (yield stress), (vease a) de la figura, que es la mínima "tensión de cizalladura" necesaria para producir -- cualquier "velocidad de deformación" o flujo. La "fuerza producida" tiene que ser rebasada al iniciar el movimiento de la sangre estacionada; y semejantemente, el movimiento de la sangre cesará, si la "tensión de cizalladura" cae por bajo de la "fuerza producida". Esto se puede apreciar en a) de la figura.

SCHMID-SCHÖNBEIN (1981) (70) que es un experto hemoreologista, indica que la sangre es un "líquido anómalo", cuya viscosidad no puede ser definida, ya que varía con las circunstancias circulatorias. Como la sangre es una dispersión de células en plasma, el coeficiente computado de la viscosidad aparente, depende primariamente de la viscosidad del plasma (la viscosidad relativa, es la viscosidad total de la sangre, dividida por la viscosidad del plasma)(DORMANDY) (1981) (68) y el efecto de las células suspendidas en él.

Además hay que contar con proteínas plasmáticas de alto peso molecular tales fibrinógeno y α_2 macroglobulinas, la agregación de los eritrocitos en "rouleaux" y en redes de "rouleaux", estas últimas circunstancias -- aumentan la viscosidad de la sangre total, y son reversibles, por el simple incremento de la "tensión de ciza

lladura" por ej. cuando pasan a vasos más grandes, y está en parte paliada por la deformabilidad de los hematíes, que no solamente por ello influyen favorablemente en la circulación de la sangre, sino que determinan su propia supervivencia.

B) OTROS FACTORES HEMORREOLOGICOS.

Es cierto, que "in vivo", hay otros factores que afectan a la reología sanguínea, tales diámetro y área de sección de los vasos, afilamiento de los mismos, curvaturas, división en ramas de los vasos (arterias, arteriolas, capilares verdaderos, venulas y venas); presión intravascular, gradiente de presión, diferentes tipos de microcirculación. Y en un esfuerzo por calibrar la magnitud de la longitud y diámetro de los vasos, y utilizando los datos existentes en la literatura, usando la ley de Poiseuille-Hagen y con la ayuda de un computador, SCHMID-SCHÖNBEIN (1981) (70) llegó a las siguientes conclusiones:

1) Bajo condiciones de presión arterial normal, -- hay un progresivo incremento en la "tensión de cizalladura" de las arterias (2.0 Pa) a través de las arteriolas (8.0 Pa) a los capilares (10.0 Pa), los cuales tienen la más alta "tensión de cizalladura" de todos los vasos.

2) Dependiendo del área total, de un corte transversal, hay una conspicua caída de la "tensión de cizalladura", actuando sobre las vénulas post-capilares --/ (0,2-0,5 Pa); valores que se aumentan de nuevo cuando la sangre fluye de las pequeñas venas a las grandes venas, para retornar al corazón.

3) En todos los vasos sanguíneos, la "tensión de cizalladura" es tan alta, puede ser asumido que la sangre exhibe muy baja viscosidad (1,2-3,0 m.Pa S); o de otra forma, gran fluidez.

4) Una caída local efectiva en la "tensión de cizalladura", afecta primero y principalmente, en una mayor cuantía, a las vénulas post-capilares. Se puede predecir, que aquí la sangre pierde su fluidez (que se ha comprobado en numerosas ocasiones en experiencias animales y en el hombre); la sangre es conducida desde un único estrecho "cuello de botella" capilar a una arteria de interconexión, que se va ampliando progresivamente, con limitados aportes de músculo liso vascular, y un gran área total de corte transversal.

La revisión de todos estos extremos, conduciría a conclusiones prematuras, de la invalidez de los métodos "in vitro" de la viscosidad, pero determinaciones realizadas "in vivo" confirman su validez. Así KURLAND y colab. (1968) (71) midieron la viscosidad de la sangre

en la arteria de la cola de la rata, y encontraron valores semejantes a los que daba el viscosímetro. MEISEL--MAN y colab. (1972) (72) con una técnica "quasi ex vivo" comprobaron el "efecto FAHREUS-LINDQVIST". Recientemente LIPOWSKI y ZWEIFACH (1974) (73) miden el flujo, diámetro y presión, corriente arriba y corriente abajo, y computaron una viscosidad aparente de 1 m. Pa. en capilares, 10 μ m a 30 mm/s, pero 20 m Pa. en el mismo capilar, cuando la velocidad se reducía a 0,2 mm/s; lo cual, confirma la existencia de que un marcado "efecto de FAHREUS-LINDQVIST" tiene lugar en los capilares, pero solo en -- presencia de elevadas "fuerzas de cizalladura".

Usando una técnica de microperfusión, La CELLE, --/ (1975) (74), ha comunicado la evidencia de una baja viscosidad aparente, en los capilares del músculo cremaster del ratón "in vivo".

C) DEFORMACION DE LOS ERITROCITOS, AGREGACION Y DESAGREGACION DE LOS MISMOS.

También influye el valor hematocrito; y cuando este se eleva, se incrementa la agrupación de los eritrocitos (y en experiencias animales, se puede predecir un incremento del movimiento rotacional de la membrana sobre el contenido o movimiento "Tank Tread", que en los humanos no se ha demostrado).

Cuando los eritrocitos se agregan, proporcionan a la sangre unas propiedades de "retículo"; y a unas inusuales cifras de volumen, hematocrito aproximado de 50%, toda la suspensión está "reticulada", y es resistente a la circulación.

En la circulación humana se muestran dos fases: -- agregados eritrocitarios y el plasma; y aquellos pueden repercutir sobre la circulación (SCHMID-SCHÖNBEIN).

- 1) Los agregados alcanzan de través los planos de cizalladura.
- 2) Ofreciendo más resistencia entre los planos de cizalladura.
- 3) Evaden estas fuerzas, como en el caso de emigración axial o alineación al eje circulatorio.
- 4) Impiden el movimiento o deslizamiento de la lámina fluida.

Además, en los capilares más estrechos que pueden estar obturados por grandes leucocitos o agregados plaquetarios, se añaden a ellos y actúan como microembolos en la microcirculación.

Así pues, dos relevantes circunstancias circulatorias tienen lugar en la sangre: deformación de los eritrocitos y agregación de los mismos.

El tiempo de deformación es de 0,06" o menos y la agregación-desagregación no es simétrica.

Los factores que influyen en la cuantía de la formación de agregados, son: eritrocitos y frecuencia de colisión con los agregados (que a su vez es función del hematocrito y de la "velocidad de deformación"), contenido iónico y macromolecular del plasma; y en menor cuantía, de la forma, características de la deformabilidad y carga de la superficie.

Por otro lado la desagregación, depende no tanto de la colisión de las partículas, como del "stress" o fuerza local sobre los agregados, al cambiar las condiciones de circulación y la "velocidad de deformación".

Se han estudiado en suspensiones de eritrocitos y sangre normal, el efecto de un brusco descenso de la "velocidad de cizalladura" de 460 s-1 (donde todos los eritrocitos están dispersos) a cero. La cuantía de agregación inicial es exponencial con un tiempo medio de -- aproximadamente 3,6" aunque la agregación completa, tenga lugar a 7-12 segundos. Cuando es disminuida de 460 s-1 a 7 s-1 la sangre normal muestra un tiempo de agregación total aproximadamente 5-7 segundos (COKELET) --/ (1980) (75).

Otro fenómeno reológico interesante de los eritro-

citosis es que son deformables; y su forma es el producto de múltiples fuerzas en equilibrio dinámico y depende - del entorno -plasma- en el que están inmersos, del propio estado metabólico de la célula, y de la duración de la vida media 100-120 días, en la que está sometido a - múltiples azares en su recorrido vital de 200 kilómetros por las vías sanguíneas en el cual tienen que pasar a - través de capilares y de estomas endoteliales de 0,5 a 1 micra, dimensiones que son 1/20 de su diámetro y 1/50 de su grosor (LESSIN y colab.) (1976) (76).

Los eritrocitos humanos tienen un diámetro aproximado de 7,5 μm . y los capilares nutricios, por los que tiene que pasar un diámetro de 3 a 5 μm .; por tanto, es obvio, que han de deformarse para la adecuada perfusión. KIESEWETTER y colab. (1981) (78) afirman "la fluidez de la sangre circulante en la microcirculación terminal, - depende críticamente de las peculiaridades micromecánicas de los eritrocitos".

Una de las características más sorprendentes de la deformabilidad de los eritrocitos es que tiene lugar a un volumen constante (deformación isocórica), aproximadamente 92 μ^3 y con un área superficial constante, aproximadamente 140 μ^2 (SKALAK y colab.) (1973) (77). La - proporción área superficial/volumen es relativamente - constante en sangre normal y la forma está caracterizada por un "índice esférico" ($4.84 \times 2/3$ volumen/área su

perficial).

La mayoría de los eritrocitos en los sujetos normales, están en forma de disco bicóncavo (salvo una escasa fracción de células senescentes pre-líticas, que son esféricas; las células jóvenes exhiben un relativo exceso de membrana, mientras que las senescentes tienen disminuida su relación superficie-volumen). Poseen un diámetro celular medio de $7,5\mu$, con un grosor de $2,5\mu$, y una concentración corpuscular de hemoglobina de 32%; su volumen corpuscular es de aproximadamente $90\mu^3$ y un área de superficie de $145\mu^2$.

La forma del eritrocito, no depende sólo de la "edad" sino del "sitio", puesto que su entorno, es un importante determinante, tanto dinámica como químicamente.

"In vitro" este disco bicóncavo tiene una notable capacidad de deformación cilíndrica en tubos capilares, hasta 1/10 de diámetro del eritrocito, sin hemolizarse. Bajo el microscopio de fase, se pueden apreciar "movimientos rápidos del eritrocito" ("red cell flicker"), que es un fenómeno asociado con los movimientos libres de las moléculas de hemoglobina, dentro de la célula roja.

"In vivo", el eritrocito en movimiento dentro de -

la circulación, atraviesa vasos de diferentes diámetros y a diferentes velocidades, exhibiendo una gran variedad de formas de transición dinámicas. El eritrocito - pasa la mayor parte de su vida dentro de canales capilares de microcirculación, y en ellos el eritrocito es el determinante primario reológico para el flujo de la sangre. La viscosidad de la sangre en los capilares, depende de la deformabilidad individual de los eritrocitos, en respuesta a la fuerza de cizalladura.

D) PLACA ATEROMATOSA Y FACTORES HEMORREOLOGICOS.

Cuando se inicia la lesión aterosclerótica, y quizá en su localización, influyan efectos dinámicos como -- quieren TEXON (1980) (79) y CARO (1982) (30); aunque en reciente revisión, este último autor, no puede comprobar que obligadamente la localización de las placas ateromatosas sea donde el impacto dinámico es mayor (bifurcaciones, curvaduras).

Pero una vez formada la placa ateromatosa, la estenosis que se inicia puede repercutir sobre la aparición de trombosis arterial, pues las tensiones y velocidades en el punto estrechado son muy altas y ello puede dar lugar a una pérdida de ATP por el eritrocito con un aumento de la agregación eritrocitaria (BORN) (1977) (80). Recientemente se ha encontrado que la adhesión de los eritrocitos a las células endoteliales (midiéndolos "in vi-

tro" por adherencia a células endoteliales vasculares cultivadas); se produce, tanto en sujetos normales como en diabéticos; y con la utilización de eritrocitos marcados con Cr^{81} , encuentran que los diabéticos presentaban una adhesión, significativamente más elevada, que la de los sujetos normales, también, en experiencias "in vitro" sobre plástico, y sobre fibroblastos, la adhesión de los eritrocitos del diabético era mucho mayor que la de los sujetos normales; la adición de fibrinógeno y de fibronectina plasmática purificada, a las muestras de sujetos normales y diabéticos, incrementaban grandemente su adhesividad.

La fibronectina es una glucoproteína de elevado peso molecular, que normalmente está en dos formas: en el compartimento extracelular (plasma, líquido cefalorraquídeo, líquido amniótico); y otra forma insoluble, en asociación con membranas basales, la superficie celular y en la matriz del tejido conectivo intersticial (más concretamente en los puntos de contacto de las células -adhesividad celular- y entre éstas y el soporte del tejido conectivo, sirviendo de punto de unión de ambas).

Los eritrocitos "lavados" de diabéticos, se adherían mucho más fuertemente a las células endoteliales cultivadas, que los de los sujetos normales. La cuantía de la adhesión, se correlacionaba con los niveles de hemoglobina A_1 (WAUTIER y colab.) (1981) (81).

La forma bicóncava del eritrocito varia en el torrente circulatorio por estar sujeto a múltiples interacciones, en las que se incluyen, la presencia de los --/ otros eritrocitos, leucocitos, plaquetas, proteínas del plasma, superficie de las células endoteliales, configuración de los canales vasculares, velocidad de la co--/ rriente y composición del medio iónico del entorno.

Por estudios microcinematograficos de la corriente sanguínea en vasos capilares pequeños y más grandes, se ha visto que el eritrocito tiende a adoptar una forma - de paracaídas o de bala (obús) con el punto central de la convexidad orientado en la dirección de la corriente, y en línea con el eje central del vaso. A velocidades - lentas se ve una agregación de los eritrocitos en los - capilares, y entonces adoptan una variedad irregular de formas elipsoides y hemiesfericas, y caminan en agregados de dos a una docena de células (BRÄNEMARK) (1971) - (82).

Dentro de los grandes vasos, la agregación se desha ce por el efecto de la cizalladura tenue que existe y - las células tienden a circular independientemente a gran velocidad.

Los eritrocitos que hacen contacto con la superfi- cie endotelial pueden mostrar también una deformidad -- temporal, que se denomina dacriocito o de lágrima, adhi

riendose momentaneamente a la superficie celular, y entonces estirandose hacia afuera deja una cola detrás de membrana y citoplasma. En condiciones patológicas en que se altera el canal vascular, esto puede influir sobre la dinámica de la alteración de la forma de los eritrocitos. En los vasos estenosados o atravesados por agregados de plaquetas o fibras de fibrina, o dendritas de plaquetas, se produce una fragmentación de eritrocitos a su paso, con pérdida de parte de la membrana y citoplasma, y los transforma en esquistocitos o esferocitos.

Debemos señalar aquí que el descubridor del microscopio, en su carta 65 a la Real Sociedad de Londres --/ (LEEUWENHOEK) (1974) (83), observó su propia sangre y con una notable "preciencia" señaló que "cuando estaba bastante enfermo los glóbulos de su sangre aparecían duros y rígidos, pero se hicieron más blandos y plegables a medida que su salud volvía a la normalidad". También observó que los eritrocitos adquirían una deformación elipsoidal a su paso a través de la microcirculación, pero que volvían a adquirir su forma original al llegar a los grandes vasos.

KROGH en 1922 (84) presentó una película en la Universidad de Yale, que se apreciaba la deformación de -- los hematíes al pasar a través de los vasos capilares. Estas alteraciones han sido confirmadas y registradas -- posteriormente con microcinematografía (BRANEMARK) (1971)

(82) y con microfotografía electrónica (BESSIS) (1973) (85).

La forma bicóncava del eritrocito, puede estar también influida por factores que alteren las características bioquímicas o biofísicas de la membrana o del contenido celular.

La membrana del eritrocito está integrada en un 55% de proteínas y en un 45% de lípidos.

En la fracción lipídica existe colesterol no esterificado y fosfolípidos, en una cuantía molecular casi igual (0.8 - 1.0) y algunos glicolípidos. Los distintos tipos de fosfolípidos están dispuestos asimetricamente en ambas capas de la membrana. La esfingomielina y la fosfatidilcolina (que son los dos fosfolípidos que contienen colina y representan entre el 50 y 60% del total) se encuentran en el exterior (del 75-80%). Y la fosfodietilanolamina y fosfotildiserina (31 80%) en la cara citoplasmática o interna de la membrana. Hay que señalar, que cada clase de fosfolípidos, no es un conjunto homogéneo, y así la fosfatidilcolina del eritrocito humano consiste en más de 20 especies de moléculas; y también que el movimiento flip-flop (entre las dos capas de la membrana) de las moléculas de la fosfatidilcolina está ausente en el eritrocito humano (ROELOFSON) (1978) (86).

La membrana contiene una importante cantidad de colesterol que ejerce un control significativo sobre la fluidez de los lípidos.

E) CONCEPTOS SOBRE LA MEMBRANA (ERITROCITOS).

Las diferentes investigaciones sobre la membrana - forjaron dos expresivas imágenes: una, un mar de lípidos con islas de proteínas; otra, una matriz proteica con lagos de lípidos; y ambas, sugieren la existencia de lípidos fluidos dentro de la membrana que forman un entorno a las proteínas; la mayoría de ellos, con la parte hidrofilica mirando al entorno acuoso y las porciones hidrofobicas dentro del núcleo de la bicapa. La interacción entre el colesterol y los fosfolípidos impone un cierto -- grado de inmovilidad a las porciones de las moléculas lipidas, que están más cerca de superficie de la membrana; pero a su vez, incrementan la libertad de movimiento de los más profundos, en el núcleo hidrofóbico de la membrana, y a estas interacciones se les ha denominado "estado fluido intermedio".

No hay todavía conceptos firmes del comportamiento de la bi-capa lipídica, que forma la membrana eritrocitaria, Mc. MILLAN (1983) (87) examina tres modelos aplicables:

1) La de que se trata de un "cristal líquido"; que en todos los sitios nos rodean y están aplicados a numerosos instrumentos, y que requieren un mínimo compromiso de fuerza para alterarse sorprendentemente la organización del material, modificando las propiedades ópticas de la sustancia. El secreto de los cristales líquidos, es la presencia en alguna medida, de un material que además tiene las características de un líquido (GENNES) (1974) (88).

2) Otro modelo, es la infrecuente sustancia llamada "película negra" (black film). Las películas negras son membranas bi-capas lipídicas formadas en un pequeño cilindro, con componentes orgánicos, que no necesitan estar derivados de lípidos vivos.

En condiciones apropiadas, se forma una delgada -- membrana ópticamente irreconocible ("black"), después de colocar en un agujero circular de un cilindro, una gota de una mezcla apropiada de lípidos. Esta membrana, resiste el movimiento del agua; así que puede ser aplicada, una presión a través de ella y medir su tensión superficial (TIEN) (1974) (89).

Característicamente estas "películas negras" tienen una baja tensión superficial de la bicapa (< 5 dinas/cm. o ergs/cm²). La tensión superficial es equivalente a la energía libre, requerida para agrandar la superfi--

cie. La tensión superficial de las membranas del eritrocito, ha sido medida recientemente por una técnica indirecta. Usando soluciones fisiológicas, que contienen dos polímeros con diferencias ligeras de tensión superficial, han detectado una tensión superficial externa extremadamente baja ($6,5 \times 10^{-4}$ dinas/cm) (SCHURCH y colab.) (1981) (90). La tensión superficial del agua es de 70 dinas/cm. Esta muy baja tensión superficial, está vinculada a la inusual flexibilidad de los eritrocitos. Es posible, que la interacción insulina-receptor podría afectar a la tensión superficial (energía libre), de todas las membranas celulares.

El tercer modelo de la conducta de una bicapa lipídica, nos lo da el "estudio de los liposomas"; que son unas vesículas con múltiples capas de fosfolípidos; y que se pueden hacer fácilmente (y se han utilizado para transportar medicamentos). Con ellos se han estudiado las transiciones termales de la membrana, su permeabilidad y su resistencia a la fusión. La fusión, es un proceso por el cual, dos bicapas se unen una a otra; tal como cuando una vesícula intracelular se une a la superficie interna de la membrana plasmática de las células B del páncreas, por ej. durante la liberación de la insulina. La fusión de las membranas ocurre sólo -- cuando la resistencia sublineal de la barrera que separa en ambas bicapas se rompe. La elevada resistencia, se debe a efectos locales ZWITTERSON, que se llaman --/

"fuerzas de hidratación". Estas fuerzas generan una presión hidrostática de 7×10^9 dinas/cm² (1.000 atmósferas) en la superficie de las bicapas, que desaparece muy rápidamente a un nivel de 50 Å. Esta presión, vinculada a una organización de agua cerca de la superficie, es sorprendentemente alterada por el calcio y magnesio; el efecto de estos cationes, está influenciado por la concentración local de fosfolípidos específicos; así la fosfatidiletanolamina favorece la fusión, si substituye a la fosfatidilcolina.

Asimismo, la interacción insulina-receptor podría afectar la distribución de fosfolípidos a la magnitud de la presión superficial.

F) COMPOSICION MEMBRANA ERITROCITICA.

La fracción proteica de la membrana eritrocitaria, (y en relación con las dificultades con los métodos de extracción, y también quizá con el papel que juegan en la arquitectura del mismo) se la ha dividido en: extrínsecas e intrínsecas.

Las extrínsecas o periféricas, son aquellas que son disociadas de la membrana con un tratamiento suave, utilizando agentes quelantes o soluciones salinas; el ejemplo, es la espectrina, que está libre de lípidos y de -- carbohidratos.

Las intrínsecas o integrales, son extraídas con un tratamiento con solventes orgánicos o detergentes, los cuales rompen los enlaces hidrofóbicos. Estas proteínas son insolubles, y tienden a estar asociadas con lípidos; el ejemplo de ellas es la glicoforina.

En las proteínas extrínsecas que representan el 40% de las proteínas de la membrana, se determinan por el uso de gel electroforético de SDS/poliacrilamida y tinción con azul brillante COOMASSIE; sus componentes se han estandarizado en bandas: 1, 2, 4, 5 y 6. La mayoría de las proteínas extrínsecas, está formada por la espectrina, que abarca las bandas 1 y 2 (PAINTER y colab.) (1975) (91). El componente 4 está por caracterizar. El componente o banda 5, corresponde a la actina (TILNEY y DETMERS) (1975) (92), que posiblemente juegue un papel en la deformidad del eritrocito. El componente o banda 6, es la forma monomérica del gliceraldehido-3-fosfato dehidrogenasa, que es un enzima que se incrementa en el "stress" metabólico.

La espectrina, que viene a ser el 20% de las proteínas de la membrana, se cree que consiste en dos grandes polipéptidos de peso molecular 230.000-250.000, con un polipéptido más pequeño, de peso molecular de 43.000. También han sido aislados los dímeros y tetrámeros de la espectrina purificada y estudiados. Tiene tendencia a formar polímeros, en presencia de cationes divalentes,

en especial Ca^{++} ; y esto se piensa que puede ser debido a la presencia de actina o a propiedades simil-actina del componente 5. Se sugiere que la espectrina está involucrada en la preservación de la forma del eritrocito, actuando con la actina en la superficie interna de la membrana -quizá como una red bidimensional-. Junto con la banda 4, actuaría como un citoesqueleto, que mantendría, no sólo la forma del eritrocito sino también su flexibilidad.

Las proteínas integrales, se considera que constituyen las propiedades estructurales de la membrana; y están asociadas con los lípidos y con el núcleo lipídico. Algunas tienen un final hidrofílico asociado con la superficie de la membrana y un final hidrofóbico asociado con la matriz lipídica. A otras proteínas, se considera que atraviesan la membrana con un centro hidrofóbico y un núcleo lípido y finales hidrófilos, los cuales hacen relieve fuera de las dos superficies. Estas proteínas contienen un 7% de hidratos de carbono de la membrana.

Algunas proteínas integrales, se pueden identificar por el gel electroforetico de SDS poliacrilamida tiñiendola con PAS, y con ello se revelan cuatro bandas, denominadas: PAS 1, 2, 3 y 4; los cuales, son cuatro sialoglicopéptidos, que comprenden la mayor parte del ácido siállico de la membrana. También hay en las proteínas in-

tegrales los componentes o bandas 3 y 7 (separados con la otra técnica citada), y que comprenden: acetilcolinesterasa y ATP-asa. Las dos bandas más importantes son: componente 3 (KNAUFF) (1979) (93) (que es la mayoría) y PAS-1; este último comprende la glicoforina A.

El componente o banda 3 incluye la proteína transporte, citochalasin B (cytochalasin B-binding protein) que es una hexosa (CZEH y colab.) (1980) (94).

La glicoforina A es una simple cadena de polipeptidos que comprende el 75% de los sialoglicopeptidos de la membrana, y su secuencia de aminoácidos ya es conocida. La mitad hidrocarbonada constituye el 60% del peso de la molécula y los hidrocarbonados unidos al péptido son 16 oligosacaridos, 15 tetrasacaridos, y uno como -- una gran entidad unido a un residuo de asparagina. La molécula contiene un segmento central de 22 aminoácidos -- todos los cuales son no-polares--, y esta sección se -- piensa que está dentro de la región interna hidrofóbica de la membrana, interactuando con los lípidos. La extremidad final de la molécula contiene un número de residuos hidrofóbicos, que están localizados en la superficie interna de la membrana, y pueden estar asociados con la espectrina. La glicoforina A atraviesa la membrana.

El componente menor PAS-3, parece ser un glicopeptido diferente de la glicoforina A, parece representar un

tipo de proteína integral que está embebida en la membrana pero que no la atraviesa. El componente PAS-4 parece estar derivado de la glicoforina, o del PAS-3.

La superficie externa de la membrana, contiene -- las glicoproteínas, que son responsables de la antigenicidad de más de un centenar de diferentes grupos sanguíneos. Los antígenos del grupo ABH están integrados en la membrana, mientras que los antígenos del grupo - LEWIS son absorbidos del plasma.

Además, la membrana del eritrocito maduro contiene aproximadamente unos centenares (más de 100) de receptores de insulina; que son moléculas glicoproteicas -- grandes, y puesto que la superficie es de 140 micrometros cuadrados, los receptores están separados uno de otro aproximadamente un micrometro o más; que es una sorprendente distancia, para que el complejo receptor-insulina pueda influir en los lípidos que integran la membrana (Mc MILLAN) (1983) (87).

Se ha demostrado que las proteínas del citoesqueleto controlan la difusión o movimiento lateral, y encuentra que tanto 2,3 DPG como ATP favorecen la solución de la espectrina; en tanto que la ADP la inhibe. FAIRBANKS y colab. (1980) (95) encuentran que los eritrocitos depleccionados de ATP pierden su forma bicóncava, antes.

Para completar la revisión del eritrocito y diabetes mellitus, indicaremos que éste, que alberga la hemoglobina glicosilada A_{1c} en mayor cuantía que normalmente, cuando metabólicamente están descompensados, y de la que se ha sugerido está formada por la interacción de la hemoglobina con glucosa-6-fosfato en el interior del eritrocito (HANEY y BUNN) (1978) (96); se han estudiado los intermediarios metabólicos de los eritrocitos de un grupo de diabéticos y de un grupo de sujetos normales por TEGOS y BEUTLER (1980) (97), y encuentran una significativa elevación de los niveles de glucosa-6-fosfato y fructosa-6-fosfato, que se correlacionaban con los niveles de glucemia y niveles de 2.3. DPG. El eritrocito humano es altamente permeable a la glucosa, y la hexokinasa que cataliza la primera reacción de la vía glicolítica, se la considera que está altamente saturada a concentraciones normales de glucemia; y por tanto el K_m de hexokinasa para la glucosa es mucho más bajo que los niveles normales de glucemia; por tanto no es razonable pensar que la hiperglucemia produjera elevados niveles de glucosa-6-fosfato en el eritrocito, pero en el eritrocito del diabético se encuentra elevada; y como para que esto se produzca la glucosa debería ejercer un efecto inhibitor sobre algún paso de la vía metabólica glicolítica, y no se ha encontrado ningún aumento del metabolito intermediario, que indicase dónde se había detenido la reacción; piensan que es una acción directa de la glucosa sobre la hexoki

nasa, sugiriendo que la activa o disminuye la inhibi--
ción de la reacción.

HIPOTESIS DE TRABAJO.

Sabemos, que es una realidad la esperada complicación vascular del diabético, incluso en aquellos que - han utilizado más o menos correctamente la insulina; y también en aquellos diabéticos no insulín-dependientes, tratados con medicamentos liberadores de la misma: no sabemos si en un futuro, cuando se pueda imitar artificialmente al páncreas, en la cuantía y en la oportunidad de liberación de la insulina, durante toda la vida, con "bombas" portátiles con sensores de glucemia incorporados, podremos evitarlo; aunque podemos anticipar la respuesta negativa, pues el "descubrimiento" de la diabetes siempre es tardío -salvo precoces estudios epidemiológicos para detectarla, en toda la población, desde la más temprana edad, y continuadamente durante toda la vida-; y la afectación de los vasos, es una situación-- respuesta a un trastorno metabólico reiteradamente sostenido -incluso es anterior a la detección química del mismo-, deficientemente detectable y difícilmente modi-

ficable; lo cual ha hecho, que la atención de los clínicos se traslade del "continente" vascular, al "contenido" del mismo, con el fin de detectarlos, comprenderlos, valorarlos en la evolución e intentar paliarlos, con un esfuerzo por modificarlos, o simplemente aportar datos a una faceta del tan complejo problema.

En consideraciones anteriores, y en la "obscuridad" que reina en la patogenia de la arterioesclerosis, la hipotesis lípida, asigna un papel al colesterol sanguíneo; y en especial a una parte de él, el colesterol de las lipoproteínas LDL, y que la diabetes mellitus es una de las afecciones que se valoran en su multifactorial patogenia; y como estas lesiones inducen estenosis vasculares donde la hemodinamia ha de estar modificada, será interesante considerar al mismo tiempo que aquella, las circunstancias reológicas de la viscosidad sanguínea y de la deformabilidad de los eritrocitos, en un grupo de diabéticos insulín-dependientes; ya que en nuestra revisión no hemos encontrado ninguna alusión positiva o negativa sobre una posible correlación.

MATERIAL Y METODOS.

MATERIAL.

I. Propositus.

1) Pacientes: Se han estudiado 35 sujetos (21 Varones, 14 Hembras) afectos de Diabetes Mellitus Tipo I, - tratados ambulatoriamente en las Consultas Externas del Servicio de Endocrinología de la II Cátedra de Patología y Clínica Médicas (Prof. Aznar) de la Facultad de Medicina; cuya edad estaba comprendida entre los 15 y los 68 años ($39,2 \pm 17,6$ años).

2) Normales: Se han considerado normales 25 sujetos no fumadores o en su defecto de menos de diez cigarrillos por día (13 Varones, 12 Hembras) sin enfermedad o padecimiento alguno, su edad oscilaba entre los 18 y los 65 años ($38 \pm 15,8$ años). Ninguno de ellos, poseía sobrepeso (Índice de Masa Corporal entre los valores normales).

II. Reactivos.

4 Aminofenazona 1 mmol/l.
 Cloruro de Amonio 0,16 mol/l.
 Cloruro de Magnesio 3 mol/l.
 Colesterolesterasa \geq 0,1 U/ml.
 Colesteroloxidasa \geq 0,14 U/ml.
 Detergente 0,2%
 Diaforasa \geq 0,4 U/ml.
 3,4-Diclorofenol 5 mmol/l
 Esterasa \geq 0,9 U/ml.
 Eter poliglicólico de alcohol graso 0,48%
 Fenol 5 mmol/l.
 Tampón Fosfato ph 7,9 200 mmol/l.
 Acido fosfotúngstico 4,8 g/dl.
 Gliceroldeshidrogenasa \geq 6 U/ml.
 Tampón glicilglicina pH 8.1 0,1 mol/l.
 Lipasa \geq 90 U/ml.
 MTT \geq 0,27 mg/ml.
 N.A.D. \geq 1,1 mg/ml.
 Peroxidasa \geq 0,12 U/ml.

III. Aparatos.

Aparato para medir la filtrabilidad sanguínea según diseño de Reid y Dormandy.

Centrífuga de microhematocrito Orto.

Centrífuga Janetzki K-26

Congelador.

Cronómetro.

Espectrofotómetro Cecil Instruments CE 373.

Filtros Nucleopore.

Ordenador Olivetti. P 6060

Pipeta automática Eppendorf Varipette 4710.

Portafiltros.

Viscosímetro cono-plato Wells Brookfield tipo LVT.

IV. Material fungible.

Agujas.

Cubetas de espectrofotómetro.

Jeringas.

Jeringuillas de Insulina.

Pipetas de vidrio.

Pipetas Pasteur.

Puntas de plástico para pipeta automática.

Tubos de ensayo de plástico.

Tubos de ensayo de vidrio.

Tubos Vacutainer con EDTA 3K líquido Becton Dickinson.

V. Material de escritorio diverso.

METODOS.

I. REVISION DE METODOS.

La importancia clínica de la viscosidad sanguínea y de la deformabilidad de los eritrocitos es grande, y aunque las alteraciones de esta última sería sinónimo de hiperviscosidad; creemos, que deben expresar dos facetas hemoreológicas diferentes; un gran físico con --/ gran experiencia en el problema, SIRS (1981) (98), afirma que "todavía no hay una explicación física cuantitativa, de cómo la deformabilidad de un eritrocito, disminuya la viscosidad de la sangre a elevada "velocidad de deformación".

La sangre que es un líquido no-newtoniano, su viscosidad aparente es una función de la "velocidad de deformación"; a cuantía por bajo de $c.1 \text{ s}^{-1}$, los eritrocitos interactúan para producir "rouleaux", y la presencia de estas estructuras de eritrocitos agregados, induce una elevada viscosidad. Cuando la "velocidad de -

deformación" se acentúa, las estructuras de agregados - de eritrocitos, se deshacen y se produce una suspensión de eritrocitos individuales. El cambio, está asociado - con una caída progresiva de la viscosidad aparente; y - la suspensión de eritrocitos se comporta como un líquido newtoniano. La viscosidad aparente de la sangre alcanza a elevada "velocidad de deformación" un valor asintótico de c. 5 m.Pa.

Para poderla valorar, habría que endurecer los eritrocitos por ej. con diamida, y entonces seguirían la ley de Newton, y someterlos a elevada "velocidad de deformación", pero en estas circunstancias, la viscosidad es mucho más elevada, que las de las células normales - (CHIEN y colab.) (1967) (99), por otra parte, está la observación de WHITEMORE (1968) (100) que encuentra que a un hematocrito de 30%, la viscosidad de los eritrocitos endurecidos, es muy similar a esferas rígidas; y -- que a un hematocrito superior a 60%, la suspensión tiene la consistencia de un sólido.

La diferencia de la viscosidad a elevada "velocidad de deformación", es debida a la deformabilidad de los -- eritrocitos, e indirectamente se podría obtener una información de la flexibilidad de los eritrocitos a elevada "velocidad de deformación" y a partir de un hematocrito determinado (BARBENEL) (1981) (101).

La viscosidad de una suspensión de partículas esféricas, rígidas, de igual tamaño, fue calculada por --/ EINSTEIN (1906), el cual demostró que a pequeño volú-- men de concentración ($c \approx 0,1$) la proporción de la -- viscosidad (η) de la suspensión, a la suspensión del -- líquido que los albergaba (η_0) era dada por la fórmu-- la:

$$\eta r = 1 + 2,5 c$$

TAYLOR en 1932, extendió el estudio a una suspensión de gotas líquidas esféricas, que tenían una viscosidad interna η_1 , en un líquido, y calculó que la proporción -- de la viscosidad, podría ser:

$$\eta r = 1 + c T$$

en donde T sería:

$$T = \frac{\eta_0 + 2,5}{\eta_0 + \eta_i} = (p + 0,4) (p + 1)$$

donde $p = \eta_l / \eta_p$

DINTENFASS en 1975 (102), lo aplicó a la sangre, con un valor hematocrito determinado (H), y relacionaba la vis-- cosidad de la sangre total (η_b), la viscosidad del plas-- ma (η_p) y la viscosidad interna del eritrocito (η_i) -- en la fórmula:

$$\eta_r = (1 - HT)^{-2,5}$$

donde η_r es la viscosidad relativa; H el hematocrito y T el factor de TAYLOR (que anteriormente vimos era igual $(p + 0,4) (p + 1)$), donde $p = \eta_i / \eta_p$; y SIRS, para minimizar los errores, revierte la anterior fórmula y da:

$$\eta_r = 1 + KCT$$

C es el volumen de la fase dispersa

$K = 2,5$ para esferas.

Esta ecuación es válida, cuando $c = 0,01$ ó menos; lo cual es equivalente a un hematocrito de 1%.

Los resultados, muestran una buena correlación entre la medición de la flexibilidad de los eritrocitos, usando la proporción de empaquetamiento de éstos, obtenida a 200-600 g en una centrífuga, y $K T_c$, estimados de la medida de la viscosidad de sangre total y del plasma. La aplicabilidad de la técnica tiene sus limitaciones; y para obviarlas, SIRS introduce un factor, que tiene en cuenta la forma del eritrocito, y es de 2.3; que es similar al valor de $5/2$ obtenido trabajando con esferas.

Relaciona la viscosidad interna η_i del eritrocito con la cuantía del fibrinógeno 250-400 mlgr/dl; y encuentra, que en el suero, los resultados están por encima de los valores de viscosidad de la hemoglobina; lo cual su-

giere, que la membrana aporta una significativa contribución a la deformabilidad o flexibilidad de los eritrocitos.

En la práctica, y con fines clínicos, -no para estudios físicos-, se utilizan los viscosímetros.

- a) Viscosímetros de WELLS-BROOKFIELD.
- b) Viscosímetros de CONTRAVES, más sensible que el anterior, pero su uso no se ha prodigado.
- c) Otros viscosímetros más sofisticados, tales: --/
Rheo-goniometro de WEISSENBERG; Rheometro de --/
DEER; BIOVISCO, semejante al viscosímetro de CON
TRAVES.

El que nosotros hemos utilizado, es el viscosímetro de WELLS-BROOKFIELD (descrito en 1961 por WELLS y colab.), que mide la viscosidad de la sangre total, en una gama - ("range") de "velocidad de deformación" (shear rate) -- constante. Es un viscosímetro rotacional, en el que la muestra es "cizallada" entre dos superficies de diferente complejidad, y que se mueven una en relación a la otra. Una superficie, es estática, y la otra puede rotar a diferentes velocidades, que son equivalentes a diferentes y concretas magnitudes de "velocidad de deformación". Por una correcta geometría, toda la muestra de la sangre, está expuesta a una "velocidad de deformación" concreta. La cizalladura (stress) ejercida en una u otra superficie -

por la "velocidad de deformación" se registra, y puede ser inscrita.

El viscosímetro WELLS-BROOKFIELD tiene una configuración cono-sobre-plato (cone-on-plate), y se puede -- apreciar en la figura 3.

$$\begin{aligned} \text{"Velocidad de deformación"} &= \frac{2 \text{ N}}{60} = 3.83 \text{ N s}^{-1} \\ \text{(shear rate)} & \quad \frac{\text{SIN } \theta}{} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{"Tensión de cizalladura"} &= \frac{T}{r^3} = \frac{T}{28.8} \text{ dinas cm}^2. \\ \text{(shear stress)} & \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Viscosidad} &= \frac{\text{"tensión de cizalladura"}}{\text{"velocidad de deformación"}} = \frac{\text{shear stress}}{\text{shear rate}} == \\ & == \frac{T}{110 \text{ N}} = \text{poise.} \end{aligned}$$

y el "modus faciendi" lo comentaremos en el apartado de - técnicas utilizadas.

TECNICAS PARA EL ESTUDIO DE LA DEFORMABILIDAD DE LOS ERITROCITOS.

Con ellas se intenta mensurar los cambios de forma - del eritrocito sometido a fuerzas externas.

La naturaleza de la respuesta de los eritrocitos a - las fuerzas aplicadas, depende de tres factores (BARBENEL) (1981) (101).

VISCOSIMETRO

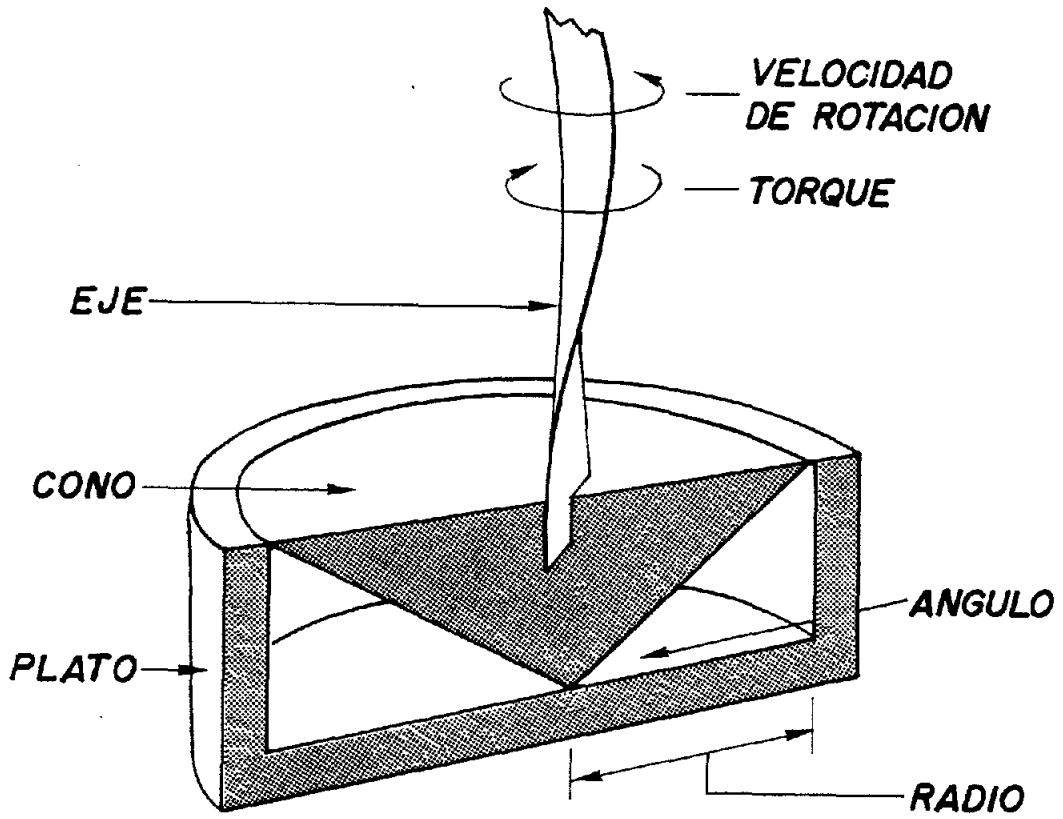


Figura 3.-

1) De la forma del eritrocito en reposo; en el --
cual, existe una gran proporción entre área superficial/
volumen.

2) De las propiedades mecánicas de la membrana; -
que en las áreas deformadas, está fuertemente influida
por las fuerzas necesarias para producir la deformación.

Las propiedades no-lineal carga-deformidad de la -
membrana van a controlar también, la forma que va a --/
adoptar el eritrocito.

3) El contenido del eritrocito; que es una solución
o suspensión de hemoglobina, que tiene normalmente una -
baja viscosidad, pero mensurable.

Las modificaciones de estas determinantes, pueden -
producir alteraciones de la deformidad; y una muy conoci
da, por ej. es la hemoglobina anormal en la anemia "sic-
kle-cell"; alteraciones de la permeabilidad de la membra
na, que pueden conducir a aumentos de volumen y en cier-
to modo a la esfericidad, y este cambio induce una dismi
nución de la relación óptima área superficial/volumen, -
que incrementa la rigidez y la resistencia a ser doblado
el eritrocito. Además la disminución del contenido de --
hemoglobina, puede alterar la viscosidad del contenido.

Los métodos directos, consistieron en intentos de -

observaciones directas "in vivo" con el microscopio y - con bajos valores de hematocrito (GOLDSMITH) (1968) --/ (103) (SCHMID-SCHÖNBEIN) (1969) (104); y encontraron - que cuando la corriente es lenta, y pequeña la "velocidad de deformación" (shear rate) los eritrocitos giran o rotan; pero cuando la "velocidad de deformación" es - mas elevada, los eritrocitos viajan con el eje mayor - orientado y casi alineado en la dirección de la corriente; y se aprecia, que la membrana celular parece estar en constante rotación con el contenido de las células, el llamado "tank treading". A mayor "velocidad de deformación", se aprecia que el eritrocito adopta una forma elipsoidal.

Para obtener una mayor "tensión de cizalladura" -- (shear stress), se puede incrementar artificialmente la viscosidad del medio de suspensión, con dextrano o con Ficoll; y en estas circunstancias, los eritrocitos suspendidos en estos medios de elevada viscosidad, presentan una deformidad mayor y una menor rotación, que la que presentaban a tensión de cizalladura semejante.

Un hecho interesante resaltado por FISHER y colab. (1978) (105), es que para producir una elongación es - más importante la viscosidad del medio de suspensión - que la "velocidad de deformación".

GOLDSMITH (1971) (106) asimismo demostró, que la

concentración de eritrocitos, produce un efecto semejante: incremento de la deformabilidad.

Los métodos indirectos, se realizan "in vitro", -- tienen un fundamento diferente, y por tanto, los resultados no son intercambiables. Así tenemos:

a) Métodos de centrifugación.

El comportamiento de los eritrocitos normales y endurecidos, también muestran diferencias de su conducta, cuando son "empaquetados por una fuerza centrífuga". Los eritrocitos normales son "empaquetados", en una más alta concentración, que lo hacen los eritrocitos endurecidos (CHIEN) (1975) (107).

Esta técnica, ha sido usada por SIRS (1970) (108), para valorar la deformabilidad de los hematíes al aplicarles una fuerza centrífuga de cuantía constante, de -- 200 g., y se mide la cuantía de empaquetamiento de la -- columna de eritrocitos, y se la relaciona con la columna inicial; a esto lo denomina "índice de deformabilidad".

La cuantía de empaquetamiento, está controlada por varios factores: magnitud de la fuerza centrifugadora, - hematocrito y la diferencia de densidad entre los eritrocitos y el plasma, además de la propia flexibilidad del eritrocito; y aunque SIRS (1981) (98) señale que la pre-

sencia de "rouleaux" no tiene efectos con hematocrito superior a 35%; por el contrario, KIESEWETTER y colab. (1981) (109) (1981) (110) creen que la velocidad de empaquetamiento, está determinada principalmente por la extensión de los agregados de eritrocitos.

b) Métodos de microfiltración.

Los más utilizados en la clínica, y nosotros así lo hemos hecho. Son simples y dan resultados altamente reproducibles; DRUMOND y colab. (111) encuentran un coeficiente de variación de 3,7% y REID y colab. (1976) (112) uno de 4,4%. Lo obtenido, es un valor comparativo, de apreciación de la deformabilidad eritrocitaria; y no -- son técnicas valederas para obtener datos absolutos.

En ellos, la sangre total o suspensiones de eritrocitos, se filtran a través de membrana o microtamices, - que contienen pequeños poros; aun cuando no hay acuerdo sobre el diámetro óptimo de los poros de las membranas, el límite más bajo, ha sido marcado por CHIEN y colab. - (1971) (113) los cuales demostraron que los eritrocitos podían pasar sin dañarse, a través de poros con un diámetro de $3 \mu\text{m}^3$, al pasar el eritrocito por ellos, se deforma; ya que su diámetro es de $7,5 \mu\text{m}$.

El gradiente de presión, requerido para dirigir la sangre a través de los microfiltros, puede ser obtenido

por la aplicación de una presión elevada (LESSIN y colab) (1977) (114); o por una presión reducida (GREGERSON y - colab.) (1967) (115); o simplemente, por la presión hidrostática, generada por la columna de sangre sometida a filtración (TEITEL) (1977) (116).

Y claro es, se han de utilizar siempre las mismas circunstancias: presión, volumen de suspensión filtrada, número de células filtradas, cuantía de la corriente, entre otros. Asimismo la naturaleza de la membrana filtrante (Nucleopore, Millipore, tamices revestidos de polvos metálicos, trozos de vasos capilares); y también la dimensión de los poros o canales (diámetro y longitud) de la membrana filtrante, y que varían de unos métodos a otros.

La medida de la filtrabilidad que varía de unas técnicas a otras, se valora como deformabilidad del eritrocito; y es el tiempo requerido para filtrar un volumen de sangre conocido (REID y colab.) (1976) (112); la --/ cuantía de filtración (TEITEL) (1977) (116), y otros -- más complejos, por ejemplo el área del eritrocito sometido a la curva presión-tiempo.

De las objeciones que se le han puesto una es la de usar una "velocidad de deformación" o presión demasiado elevada. Otra objeción, quizá más fundamental, ha sido la de la utilización de la sangre total, y en ella -

los leucocitos y las plaquetas, que son menos deformables, pueden actuar de tapón del poro, en una gran cantidad de ellos, y consecuentemente la deformabilidad del eritrocito, deducido de la filtración tiempo-dependiente, estará alterada.

Por tanto pues, la deformabilidad del eritrocito, obtenida por filtración, es un valor integrado; determinado por todas las células que pasan a través del filtro; y puede estar afectado por otros factores, por ej. el contenido de hemoglobina que está incrementado en el hematíe viejo (USAMI y colab.) (1971) (117), el cual puede esperarse que tenga una viscosidad interna más elevada, y por consiguiente una más reducida deformabilidad.

Parece ser, que el único método exento de estas críticas, es el de TEITEL y MUSSLER (1979) (118) que utilizan el "Screening Filtometer Large-Scabe", es un aparato automatizado que realiza una "polimicroviscosimetría" (TEITEL y colab.) (1979) (119), y está basado en la monitorización automática continua, de la cuantía decreciente de filtración, de suspensiones concentradas de eritrocitos, a través de membranas de filtros con poros mayores que las dimensiones de las células, en donde la única presión que dirige la corriente, está generada por su propio peso; y realiza la inscripción en una curva, que denomina "curva de filtración".

c) Medidas de la rigidez de la membrana del eritrocito.

O sea, el cambio de la forma del eritrocito sometido a fuerzas externas.

La membrana del eritrocito parece ser resistente a un incremento de su área superficial, siempre que éste no exceda de c.3.5%; ya que si se rebasa, se produce hemolisis (EVANS) (1973) (120).

La resistencia de la membrana a ser doblada, no ha sido medida directamente, y los resultados de las experiencias realizadas, dependen de la resistencia que opone a la extensión y de la resistencia que opone a ser doblado o deformado (flexibilidad).

La rigidez flexural dependerá del cubo del grosor de la membrana; mientras que la rigidez a la extensión, dependerá sólo del grosor. Es razonable pensar, que las membranas finas, serán altamente sensibles comparadas con su rigidez externa.

Además de lo anterior, HOCHMUCH y colab. (1978) -- (121), demostraron que la membrana del eritrocito, como la mayoría de los materiales biológicos, no es perfectamente elástica, sino que muestra una significativa conducta visco-elástica.

Se inició, con medidas indirectas por KATCHALSKY y colab. (1960) (122) produciendo esferas eritrocíticas - con soluciones hipertónicas; más fructífera ha sido la técnica de RAND y BURTON (elastimetría) que se basa en el uso de una micropipeta de diámetro inferior a los -- eritrocitos y con la cual se succiona parte de la membrana del eritrocito dentro de ella y esto se observa con un microscopio de contraste de fase. La deformabilidad, se evalúa por la presión negativa; necesaria para producir una deformación "standard" hacia el interior de la micropipeta.

Los resultados de estas experiencias, analizados - desde los puntos de vista geométrico y mecánico por FUNG y TONG (1968) (123) se concretan en una fórmula, la cual es el producto de la rigidez de membrana y grosor, y -- los valores obtenidos oscilan entre 10^{-5} a 10^{-4} N/ m. - La esferificación y la micropipeta, producen un estira- miento de la membrana celular y un incremento en el área superficial.

La ventaja principal de esta técnica, es que permite la distensión por separado de los elementos de dife- rente morfología, dentro de una población de eritrocitos de distinto comportamiento mecánico y además, eliminar los leucocitos y plaquetas.

Es de gran laboriosidad técnica, y hay que poseer

un equipamiento, que no siempre está a nuestra disposición.

Otro método, puesto en marcha por KIESEWETTER y colab. (1981) (109), es un aparato el llamado "Rigidómetro de eritrocitos" en el cual existe una membrana de poliuretano con un canal único de $3-5\ \mu\text{m}$. de diámetro y $20\ \mu\text{m}$. de longitud, localizado en el centro geométrico, el cual separa dos partes de la cámara de medida. La fuerza de presión aplicada, es tan diminuta como de $0.1\ \text{Pa}$, producida por una corriente de viento, y medida exactamente, por el ajuste de un manómetro al aire líquido. La cámara de medida, está montada sobre un microscopio LEITZ MPU-2. La luz utilizada para la medida, es enfocada, sobre el plano del poro de medida. Si un eritrocito pasa a través del poro, la intensidad de la luz disminuye. Las señales resultantes, del paso sucesivo de eritrocitos, se registran continuamente, con un oscilógrafo de rayos catódicos.

Otros métodos, consisten en medir la deformidad de un eritrocito puesto sobre una superficie de cristal, al ser elongado por una "tensión de cizalladura", vehiculada por una corriente de líquido sobre las células (HOEBER y HOCHMUTH) (1970) (124). Y, la elongación se produce sin incremento del área superficial. BESSIS y MOHONDAS en 1977 (125) utilizan un patrón de difracción, obtenido por el paso de un rayo de luz monocromática producido por laser, sobre finas películas de sangre.

II. TECNICAS UTILIZADAS.

A) TECNICA DE MEDICION DE LA VISCOSIDAD SANGUINEA.

1) Hemos utilizado un viscosímetro tipo conoplato marca Wells-Brookfield, modelo LVT con angulo de cono de $0,8^\circ$ (fig. 4).

2) La muestra de sangre es recogida en tubos Vacutainer que contienen EDTA_{K_3} líquido, (BECTON DICKINSON) ($0,38 \text{ mol/l.}$) manteniendose a temperatura ambiente, realizandose la medición en un máximo de 4 horas a 37° C.

"Modus faciendi":

Se deposita 1 ml. de la muestra de sangre en el plato del viscosímetro, que previamente ha sido calibrado.

Se inicia la medición a la velocidad de deformación de 225 sg^{-1} hasta que la muestra se ha distribuido homogéneamente y estabilizado (previo un tiempo de termostatación). Momento en el cual, la aguja deja de oscilar. Posteriormente, se aumenta la velocidad de deformación a 450 sg^{-1} , para ulteriormente ir descendiendo a las siguientes velocidades: 225, 90, 45 sg^{-1} ; y en cada una de estas circunstancias, se toman las lecturas correspondientes.

Las lecturas obtenidas son analizadas en un Ordena-

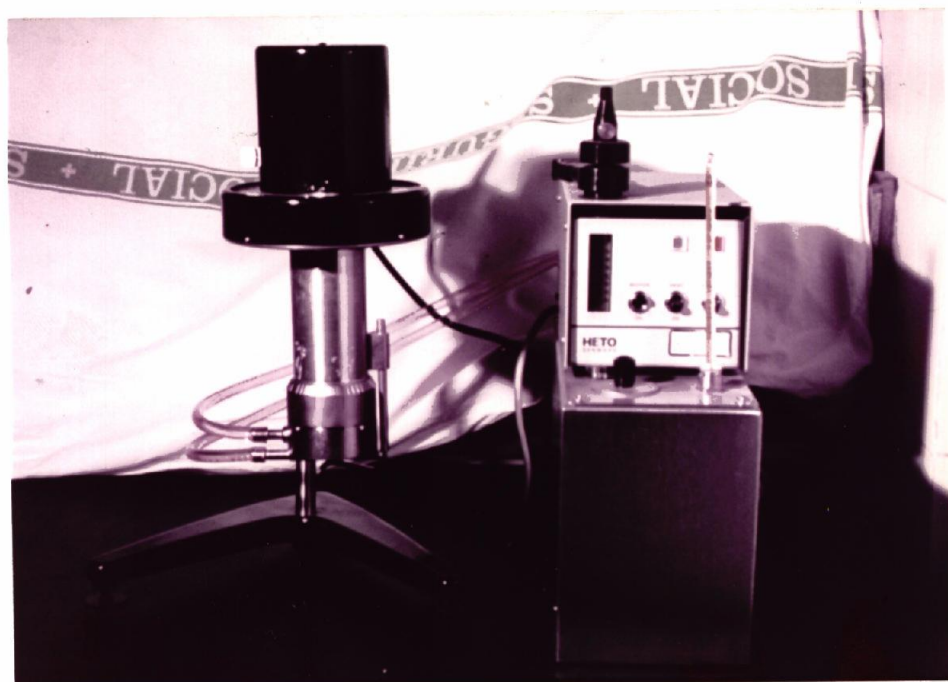


Figura 4.-

dor Olivetti según un programa realizado por el Servicio de Bioestadística del Hospital Universitario de Sevilla, el cual nos da los siguientes resultados:

1) Viscosidad sanguínea a las diferentes velocidades de deformación aplicadas.

2) η_c o viscosidad de CASSON.

3) y τ_0
$$\sqrt{\tau} = \sqrt{\tau_0} + \sqrt{\eta_c} \sqrt{\gamma}$$

Hemos utilizado el modelo de CASSON

porque es el que mejor se ajusta al comportamiento reológico de la sangre, y así el valor denominado η_c nos da la viscosidad de la sangre a altas velocidades de deformación.

B) TECNICA DE FILTRACION SANGUINEA DE REID Y DORMANDY.

Según normas standard del Grupo Nacional de Filtración, consistentes en:

- 1) Extracción de la muestra sanguínea y recepción de ésta en tubos de EDTA K_3 líquido (BECTON DICKINSON) (0,38 mol./l).
- 2) Conservación de muestra a temperatura ambiente.
- 3) Realización de la medición de la filtrabilidad sanguínea, entre 60-90 minutos post-extracción.
- 4) Utilización del mismo lote de filtros para el es


```

0010 DIM R(10),P(10),T(10),S(10)
0020 PRINT
0030 PRINT
0040 PRINT
0050 PRINT "HEMATOLOGIA. J.H. AZNAR"
0060 PRINT "-----"
0070 PRINT
0080 LET N=4
0090 LET H(1)=450
0100 LET H(2)=225
0110 LET H(3)=90
0120 LET H(4)=45
0130 LET R(1)=SQR(H(1))
0140 LET R(2)=SQR(H(2))
0150 LET R(3)=SQR(H(3))
0160 LET R(4)=SQR(H(4))
0170 FOR I=1 TO N STEP 1
0180 INPUT P(I)
0190 NEXT I
0200 FOR I=1 TO N STEP 1
0210 LET T(I)=P(I)*673.7/100
0220 LET S(I)=3*T(I)/(2*PI*2.409^3)
0230 PRINT "P(";I;")=";P(I);"S(";I;")=";S(I);"SR-2(";I;")=";H(I);"T(";I;")=";T(I)
)
0240 LET U(I)=S(I)*100/R(I)^2
0250 PRINT "VISCOSIDAD (";I;")=";U(I)
0260 PRINT
0270 PRINT
0280 LET S(I)=SQR(S(I))
0290 NEXT I
0300 PRINT
0310 PRINT "-----"
0320 LET A=B=C=D=E=0
0330 FOR I=1 TO N STEP 1
0340 LET A=A+S(I)
0350 LET R=R+S(I)^2
0360 LET C=C+R(I)
0370 LET D=D+R(I)^2
0380 LET E=E+S(I)*R(I)
0390 NEXT I
0400 LET Y=B-A^2/N
0410 LET X=D-C^2/N
0420 LET Z=E-C*A/N
0430 LET F=Z/X
0440 LET G=A/N-F*C/N
0450 PRINT "RECTA DE REGRESION: RAIZ-SS=";G;"+";F;"RAIZ-SR"
0460 PRINT
0470 PRINT "T0=";G^2;" VC=";F^2
0480 PRINT
0490 PRINT "COEF. CORRELACION=";Z/SQR(X*Y)
0500 PRINT "-----"
0510 PRINT
0520 PRINT "CALCULO DE VISCOSIDADES POR LA RECTA DE REGRESION"
0530 PRINT
0540 INPUT J
0550 LET R=SQR(J)
0560 LET S=G+F*R
0570 LET S=S^2
0580 LET U=S*100/J
0590 PRINT "VISCOSIDAD (REGRESION) VALOR R=";J;" U=";U
0600 GOTO 540
0610 END

```

tudio (54J8A32).

- 5) El sistema de filtración lo podemos ver en la -
figura 5 y 5 bis.

En este sistema se intenta hacer pasar 1 ml. de san
gre total, recogida en las condiciones anteriormente ex-
puestas, a través de un filtro de policarbonato NUCLEOPO
RE (Lote 54J8A32) con poros de 5 μ m. de diámetro y 10 μ m.
de longitud, utilizando un gradiente de presión de 20 cm.
de H₂O.

Cada medición se realiza por triplicado.

Los resultados son expresados: 1) tiempo de filtra-
ción (TF = sg) necesarios para hacer pasar toda la mues-
tra de sangre por el filtro; o

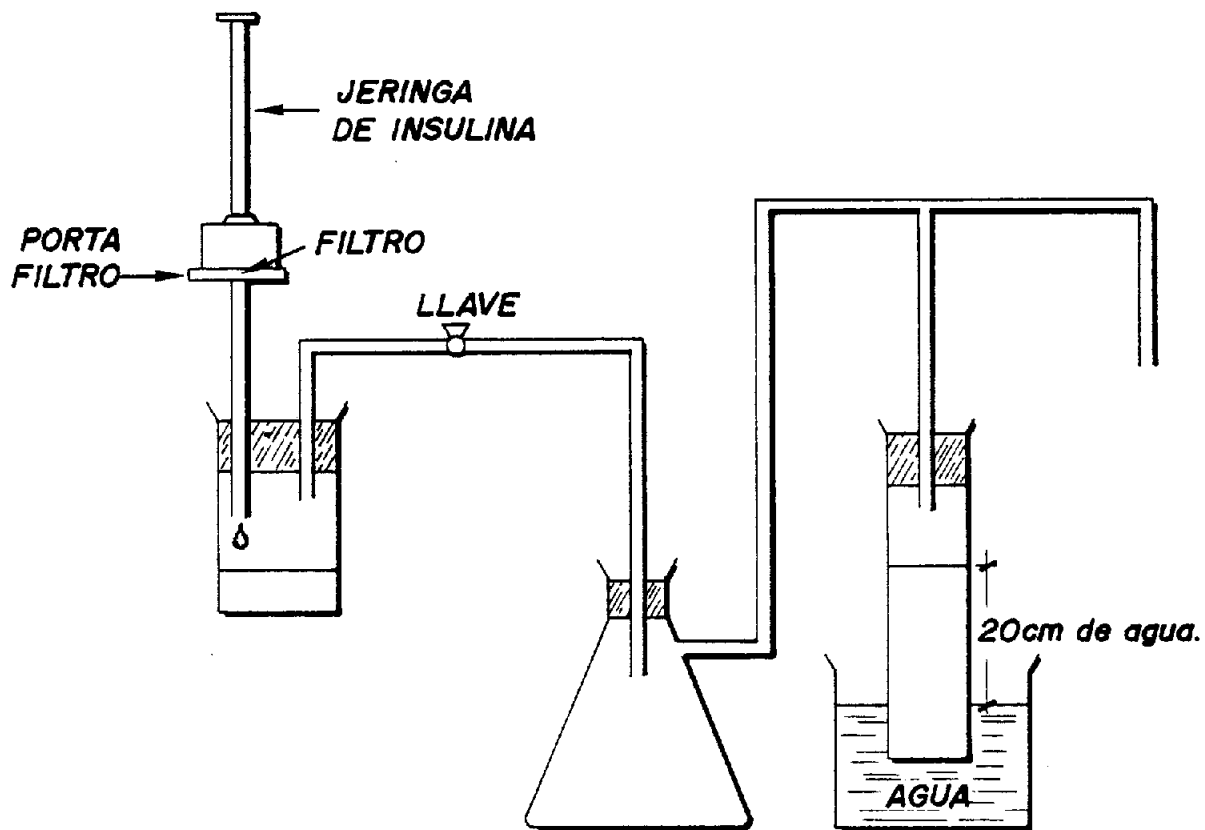
2) débito de filtración sanguínea (DFS = $\frac{1000}{T}$ μ l/sg)
(microlitros/sg), o

3) débito de filtración sanguínea corregido

$$(DFS_c = \frac{1000}{T} \times \frac{\text{Hematocrito}}{100})$$

C) PROCEDIMIENTOS DE LABORATORIO.

Todos los individuos sometidos a este estudio, tanto
controles como diabéticos, se les extrajo una muestra de



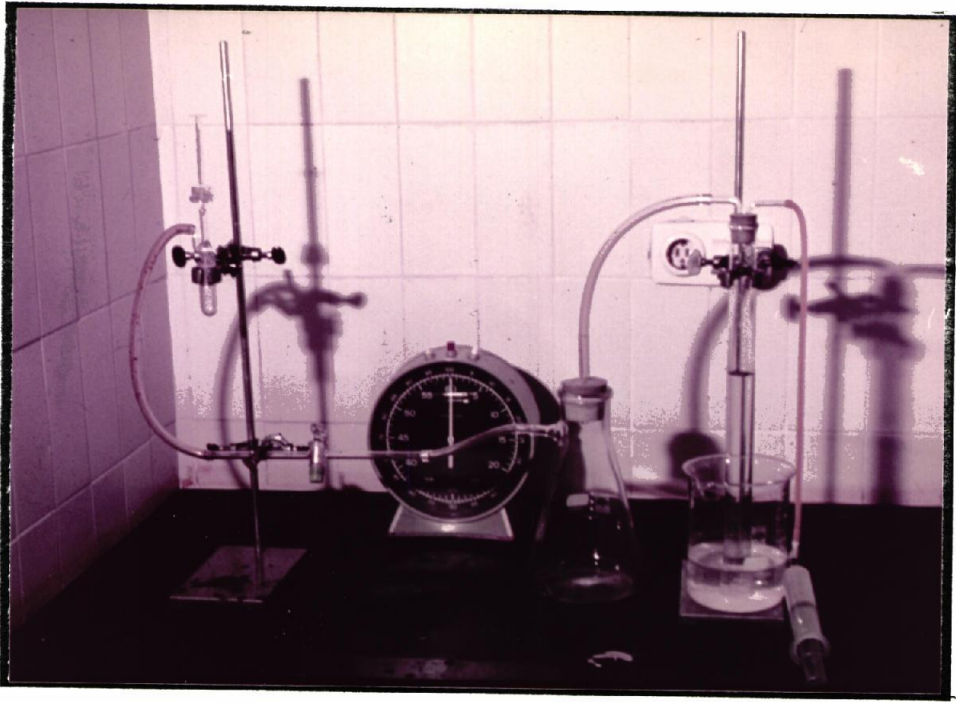


Figura 5.-

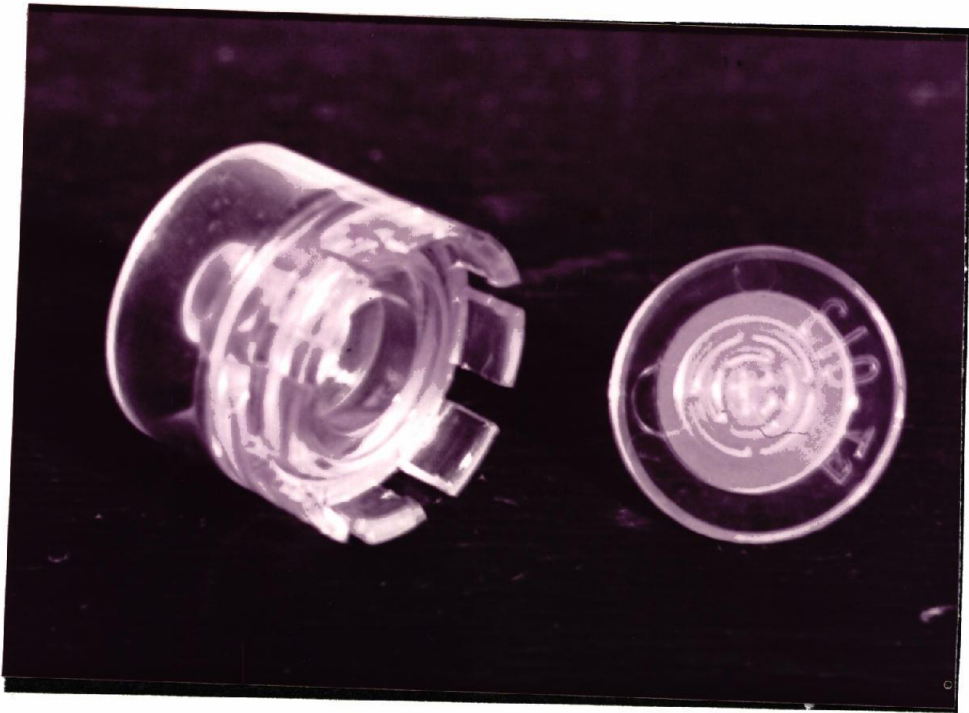


Figura 5 bis.-

sangre venosa tras 9 horas como mínimo de ayuno, de la que se separó plasma. Los individuos no modificaron sus dietas ni costumbres en los días previos al estudio.

En las muestras de determinaron los siguientes valores: Glucemia, Colesterol total, Triglicéridos y Colesterol de las lipoproteínas de alta densidad (HDL_c), de las lipoproteínas de baja densidad (LDL_c) y de las lipoproteínas de muy baja densidad ($VLDL_c$).

Las técnicas utilizadas son:

1) Glucemia. Método GOD-Period usando reactivo del Test-Combination Glucosa Boehringer Mannheim GmbH.

2) Colesterol total. Método CHOP-PAP. ROSCHLAU y colab. (1974) (126) que es un método enzimático utilizando reactivos Monotest colesterol Boehringer Mannheim GmbH.

3) Triglicéridos. Determinación enzimática después de hidrólisis enzimática. WAHLEFELD (1974) (127) usando reactivos Test-Combination Triglicéridos completamente enzimático (Grasa neutra) Boehringer Mannheim GmbH.

4) Colesterol de las lipoproteínas de alta densidad (HDL_c). La adición de ácido fosfotúngstico e iones de magnesio en el suero da lugar a la precipitación de los quilomicrones, $VLDL - LDL$, según el método de BERNSTEIN

y colab. (1970) (128), reactivos Test-Combination Colesterol HDL Boehringer Mannheim GmbH; el sobrenadante de la centrifugación contiene las HDL, cuya concentración en colesterol es determinada por el método CHOP-PAP. --/
ROSCHLAU y colab. (1974) (126).

RESULTADOS.

I. CARACTERISTICAS DE LOS GRUPOS.

El Grupo I compuesto de 12 hombres y 13 mujeres - eran sujetos normales, no padecían enfermedad alguna, no eran obesos (según BMI < 25 en hombres y BMI < 27 en mujeres) y con una edad comprendida entre 18 y 65 años, media de $38,04 \pm 15,8$ años. Ninguno de ellos tenía anemia, estando su hematocrito comprendido entre 37-49% - ($\bar{x} = 42.6 \pm 3.4\%$).

El Grupo II, eran pacientes afectados de Diabetes Mellitus tipo I en tratamiento ambulatorio, de ellos - 21 eran hombres y 14 mujeres, su edad estaba comprendida entre 15 y 68 años ($\bar{x} = 39.9 \pm 17.4$ años). Eran obesos (hombres BMI > 25 y mujeres BMI > 27) el 31,4% de los estudiados (4 hombres y 7 mujeres).

Sus hematocritos estaban comprendidos entre 37 y - 52% ($\bar{x} = 44.7 \pm 4\%$).

La duración de su enfermedad (Diabetes Mellitus), desde el momento del diagnóstico hasta la realización de este estudio, estaba comprendida entre los 0,4 y los 20 años; con una media de 10.6 ± 6.1 años.

Todos estos datos se encuentran recogidos en el Cuadro I.

Al comparar ambos grupos no hallamos diferencia estadísticamente significativa en la edad, por lo que son grupos comparables.

El valor hematocrito era superior en los pacientes diabéticos en relación con los sujetos normales, siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$) (fig. 6).

II. ESTADO DE CONTROL DE LOS DIABÉTICOS.

A todos los pacientes de este estudio, se les determinó la glucemia basal (G) y se calculó la media de las glucemias basales de las tres últimas visitas (\bar{G}). Según ambas, los pacientes diabéticos fueron clasificados atendiendo a su grado de control en:

-- Bien controlados: aquellos pacientes que en ninguna de sus glucemias basales fuera superior a 150 mg/dl.

<u>Nº</u>	<u>SEXO</u>	<u>EDAD</u>	<u>BMI</u>	<u>G</u>	<u>G</u>	<u>D</u>
1	V	68	25,2	220	145	20
2	V	50	17,3	240	215	14
3	V	59	25,2	90	195	17
4	V	38	20,1	100	104	7
5	V	15	18,2	150	185	1
6	V	52	27,3	175	165	15
7	V	59	24,8	190	145	19
8	V	65	23,2	220	270	20
9	H	44	29,1	100	120	11
10	H	67	30,6	275	350	7
11	H	56	34,6	260	220	14
12	H	57	28,4	225	200	6
13	H	15	21,1	220	270	4
14	H	64	26,9	230	210	20
15	H	54	31,1	110	135	13
16	V	42	21,6	240	172	10
17	V	47	25,3	100	120	19
18	V	18	19,4	150	170	7
19	V	15	20,5	140	233	0,4
20	V	38	20,1	200	187	8
21	H	38	22,7	200	177	11
22	H	16	22,4	130	225	5
23	V	15	19,8	240	273	2
24	V	27	21	130	160	14
25	H	29	22,4	170	200	16
26	V	34	21,4	290	257	17

<u>Nº</u>	<u>SEXO</u>	<u>EDAD</u>	<u>BMI</u>	<u>G</u>	<u>\bar{G}</u>	<u>D</u>	
27	V	40	19	290	252	2	
28	V	15	18,4	-	-	10	
29	H	24	23	120	190	11	
30	V	16	21,6	300	320	10	
31	V	41	21,3	250	320	1,5	
32	V	40	24,7	80	110	11	
33	H	57	29,7	180	190	20	
34	H	56	29,7	180	270	5	
35	H	25	23,3	80	153	3	
\bar{x} =		39,9	26,8	4,2	184,6	203,2	10,6
SD =		17,4	21,7	2,8	65	61,3	6,1

S = sexo

E = edad (años)

BMI = índice.

G = Glucemia (mg/dl).

\bar{G} = Glucemia media de las tres últimas visitas (mg/dl).

D = Duración diabetes (años).

Cuadro I.- Característica del Grupo II (Diabetes Mellitus Tipo I).

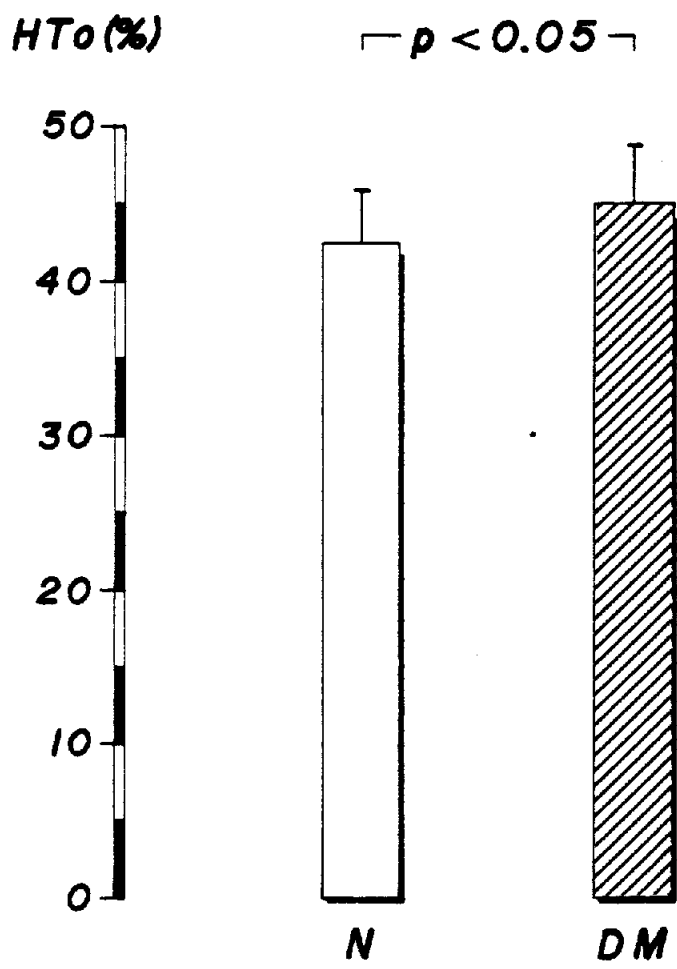


Figura 6.-

-- Regular controlados: aquellos cuyos valores de glucemia basal fueron superiores a 150 mg/dl e inferiores a 250 mg/dl.

-- Mal controlados: aquellos cuyos valores de glucemia superaban los 250 mg/dl.

De este modo hallamos que solamente 7 sujetos (20%) estaban bien controlados, 18 (51,4%) tenían un regular control y 10 (28,6%) estaban mal controlados (Cuadro II).

III. ESTUDIO DE LA FILTRABILIDAD SANGUINEA.

A los 25 sujetos normales se les determinó la filtrabilidad sanguínea según la técnica de Reid y Dormandy siguiendo las normas de estandarización del Grupo Nacional Español de Filtrabilidad Eritrocitaria.

Los resultados obtenidos, muestran unos tiempos de filtración (T.F.) comprendidos entre 15 y 23 segundos - ($\bar{x} = 19 \pm 2,4$ sg); expresando estos resultados como Débito de Filtración Sanguíneo (D.F.S.) obtuvimos unos valores entre 43,5 y 68 l/sg ($\bar{x} = 53,8 \pm 7,2$ μ l/sg).

El Débito de Filtración Sanguíneo Corregido (D.F. - S._c) de este grupo variaba entre 18,6 y 25,3 U.I. ($\bar{x} = 22,6 \pm 2,8$ U.I.). (Cuadro III).

	<u>NUMERO</u>	<u>PORCENTAJE</u>
Bien controlados		
(Glucemia 150 mg/dl)	7	20%
Regular controlados		
(Glucemia 150-250 mg/dl)	18	51,4%
Mal controlados		
(Glucemia 250 mg/dl)	10	28,6%
	<hr/>	
TOTAL	35	100%
	<hr/>	

Cuadro II.- Estado de control de los pacientes diabéticos.

<u>No</u>	<u>T.F.</u>	<u>DFS_c</u>	<u>DFS</u>
1	19	21,15	52,7
2	20	23,2	50,1
3	17,3	24,5	58
4	19,3	23,3	52,6
5	15	25,3	68
6	23	20,4	43,5
7	21,3	21,6	46,9
8	20,3	21,1	49,3
9	21,7	18,6	46,2
10	20,7	18,8	49,6
11	20	19,1	51,4
12	21,7	22,5	46,3
13	19,7	22,2	51,1
14	19,3	23,8	52,1
15	15,7	29,2	63,9
16	18	21,7	55,7
17	17,3	24,5	58
18	21	21,8	47,7
19	17,3	24,7	58
20	14,7	29	69,6
21	21	18,6	47,7
22	18,7	20,4	53,7
23	15	25	66,9
24	17,3	22,7	58
25	21,3	22,6	47

<u>No</u>		<u>T.F.</u>	<u>DFS_c</u>	<u>DFS</u>
\bar{x}	=	19	22,6	53,8
SD	=	2,4	2,8	7,2
n	=	25	25	25

Cuadro III.- Estudio de la filtrabilidad sanguinea en sujetos normales.

TF = Tiempo de filtración.

DFS_c = Débito de filtración sanguinea corregido.

DFS = Débito de filtración sanguinea.

Al grupo 2 (pacientes afectados de Diabetes Mellitus tipo I) se les realizó la misma determinación con igual metodología que al grupo de normales. Aquel grupo mostraba unos tiempos de filtración que oscilaban entre -- 16,7 y 53 segundos ($\bar{x} = 27,5 \pm 7,2$ sg) (Cuadro IV).

El Débito de Filtración Sanguínea (D.F.S.) variaba entre 19,1 y 60,9 l/sg. situándose la media en $39,4 \pm / 10,1 \mu\text{l/sg.}$

Al calcular el D.F.S._c obtuvimos unos resultados comprendidos entre 8,8 y 32,9 U.I. siendo su media de $17,4 \pm 4,4$ U.I.

Comparando ambos grupos observamos que el T.F. de los pacientes afectados de Diabetes Mellitus, era mayor que el obtenido en el grupo de normales. Tras el análisis estadístico, comprobamos que esta diferencia era estadísticamente significativa ($p < 0,001$). Así mismo, pudimos constatar que tanto el D.F.S. como el D.F.S._c son menores en los pacientes diabéticos que en los sujetos normales. Esta diferencia es estadísticamente significativa ($p < 0,001$) en ambos casos (Figuras 7, 8 y 9).

No hemos constatado, diferencia estadísticamente significativa entre los distintos valores de filtrabilidad sanguínea, cuando a los pacientes diabéticos se les separaba según su grado de control.

<u>No</u>	<u>T.F.</u>	<u>DFS_c</u>	<u>DFS</u>
1	40,7	12,8	24,7
2	32,3	14,8	31
3	32,7	11,3	30,6
4	27,6	17,8	36,2
5	26,7	17,7	37,7
6	53	8,8	19,1
7	25	17,2	40,1
8	28,7	16,6	35,2
9	18	21,1	56,9
10	35	11,7	28,6
11	24,3	19,8	41,3
12	24,7	17,8	40,7
13	24,7	20	40,8
14	24,3	16,9	41,3
15	26,3	15,2	38,0
16	47	9	21,6
17	23	18,3	43,5
18	16,7	25	60,9
19	19	23,7	52,7
20	24	20,8	41,7
21	17	32,9	65,9
22	24,7	18,3	40,7
23	23,7	19,9	56,8
24	31	16,1	32,3
25	21	21,8	49,5
26	30,7	13,7	32,8

<u>No</u>	<u>T.F.</u>	<u>DFS_c</u>	<u>DFS</u>
27	33,3	12,9	30
28	28	17,5	35,8
29	25	19,1	40,5
30	26,3	16,4	38,2
31	26	16,3	38,7
32	30,3	17,5	33
33	25,3	14,7	39,7
34	25	17,7	40,3
35	23,7	18,4	42,7
\bar{x} =	27,5	17,4	39,4
SD =	7,2	4,4	10,1
n =	35	35	35

Cuadro IV.- Estudio de filtrabilidad sanguinea en pacientes diabeticos Tipo I. TF, DFS_c y DFS.

TF (seg)

$p < 0.001$

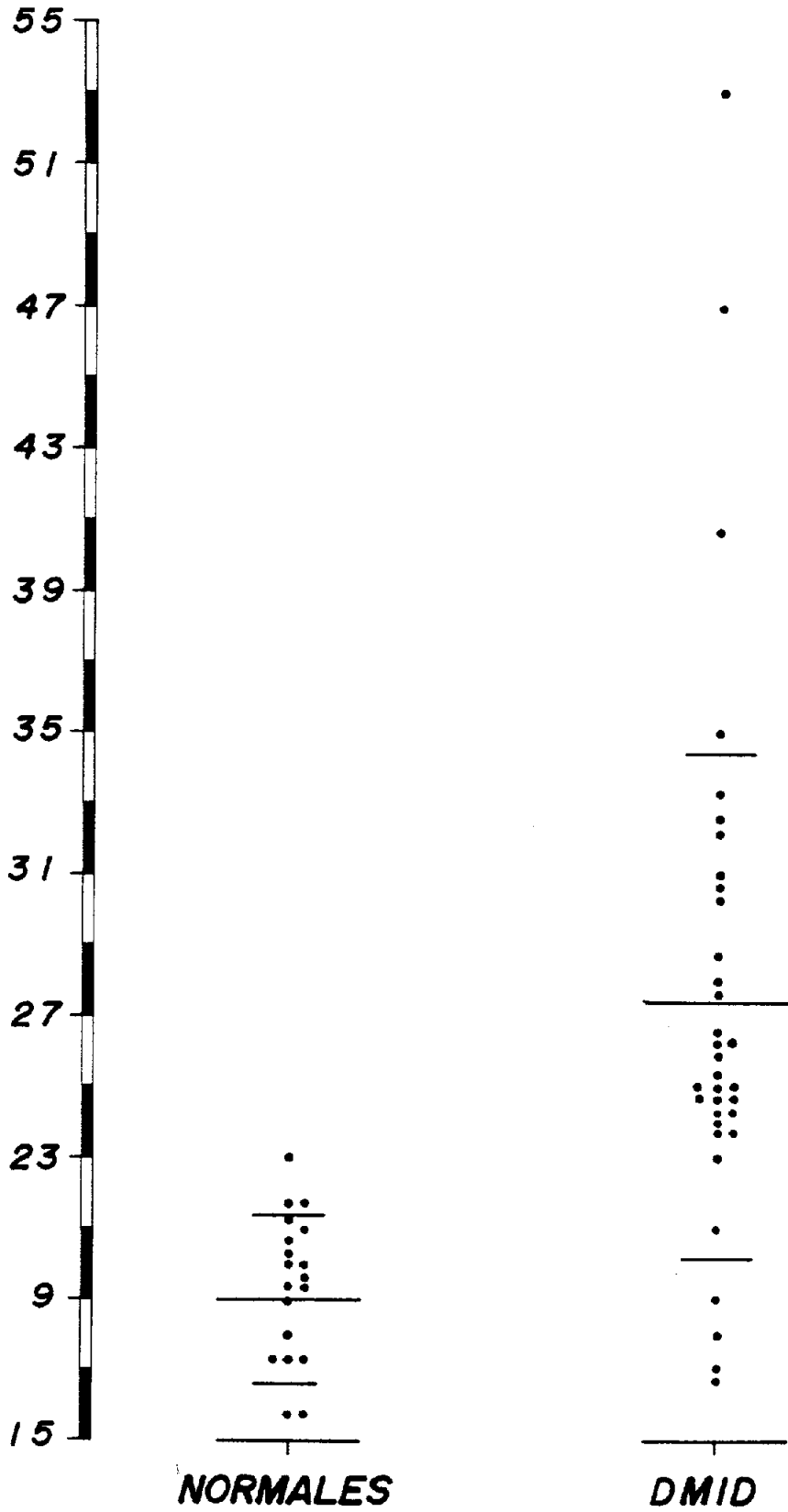


Figura 7.-

IV. ESTUDIO DE LA VISCOSIDAD SANGUINEA.

El viscosímetro cono-plato Well-Brookfield modelo LVT, permite la medición de la viscosidad a ocho velocidades de deformación distintas, pero según Dolz (comunicación personal) y nuestra propia experiencia, este aparato no permite mediciones fiables a velocidades inferiores a 45 sg^{-1} dada su escasa sensibilidad a estos niveles cuando se estudian fluidos de escasa viscosidad como es el caso que nos ocupa. Es por lo tanto, este el motivo por el cual en este estudio solo se reflejen los valores obtenidos a 450, 225, 90 y 45 sg^{-1} .

Las cifras obtenidas por el viscosímetro a las cuatro velocidades de deformación anteriormente citadas, - eran llevadas al ordenador y mediante un programa creado se obtenían los valores de viscosidad a dichas velocidades de deformación; posteriormente y mediante el mismo programa, aplicar a los valores el modelo matemático de Casson. Estos resultados se muestran en los cuadros V, VI, VII y VIII y su representación gráfica en la figura 10.

Puede apreciarse como los valores medios obtenidos en los sujetos normales a las diferentes velocidades de deformación, ($5,9 \pm 1$; $5,1 \pm 0,8$; $4,4 \pm 0,6$ y $4 \pm 0,4$ centipoise) son similares a los obtenidos en los pacientes diabéticos ($5,8 \pm 0,9$; $5,2 \pm 0,6$; $4,4 \pm 0,4$ y $4 \pm 0,4$ cps);

<u>No</u>	<u>η_{45}</u>	<u>η_{90}</u>	<u>η_{225}</u>	<u>η_{450}</u>
1	5,9	5,2	4,6	4,3
2	5,9	5,4	4,4	4,0
3	4,8	4,2	3,8	3,6
4	6,5	5,5	4,7	4,3
5	6,2	5,6	4,4	3,9
6	6,4	5,6	4,5	4,1
7	7,2	6,4	5,3	4,6
8	7,4	5,9	4,8	4,4
9	6,4	4,9	4,1	3,7
10	4,7	4,1	3,6	3,4
11	4,8	4,1	3,6	3,3
12	6,9	6,0	4,9	4,4
13	5,2	4,5	4,0	3,7
14	5,2	4,6	4,1	3,8
15	7,9	6,5	5,4	4,5
16	4,6	4,1	3,0	3,6
17	7,7	6,9	5,6	4,7
18	5,6	4,9	4,3	4,0
19	5,5	4,8	4,3	4,0
20	5,3	4,6	4,1	3,8
21	5,6	4,8	4,2	3,9
22	4,7	4,1	3,6	3,4
23	4,9	4,1	3,6	3,3
24	7,1	5,4	4,4	4,0
25	6,4	5,7	4,8	4,5

<u>No</u>	<u>η_{45}</u>	<u>η_{90}</u>	<u>η_{225}</u>	<u>η_{450}</u>
$\bar{x} =$	5,9	5,1	4,4	4,0
SD =	1,0	0,8	0,8	0,4
=	25	25	25	25

Cuadro V.- Estudio de la viscosidad sanguinea a distintas velocidades de deformación (sg^{-1}).

<u>No</u>	<u>η_c</u>	<u>r</u>	<u>z_0</u>
1	3,6	0,9998	0,13
2	3,23	0,9997	0,29
3	3,06	0,9998	0,09
4	3,44	0,9999	0,22
5	3,10	0,9997	0,24
6	3,15	0,9998	0,29
7	3,52	0,9991	0,34
8	3,29	0,9999	0,35
9	2,69	0,9998	0,33
10	2,93	0,9997	0,09
11	2,74	0,9995	0,13
12	3,45	0,9998	0,29
13	3,13	0,9999	0,12
14	3,29	0,9998	0,10
15	3,30	0,9994	0,49
16	3,18	0,9998	0,06
17	3,55	0,9980	0,42
18	3,38	0,9999	0,13
19	3,38	0,9998	0,12
20	3,24	0,9998	0,11
21	3,23	0,9998	0,14
22	2,93	0,9997	0,09
23	2,73	0,9999	0,14
24	2,90	0,9995	0,38
25	3,75	0,9998	0,17

<u>No</u>	<u>η_c</u>	—	<u>ζ_o</u>
x =	3,21		0,21
SD =	0,28		0,12
=	25		25

Cuadro VI.- Aplicación del modelo de CASSON en los sujetos normales.

<u>No</u>	<u>η_{45}</u>	<u>η_{90}</u>	<u>η_{225}</u>	<u>η_{450}</u>
1	8,2	6,8	5,8	5,5
2	5,6	4,6	4,5	3,7
3	4,8	4,4	4,1	3,9
4	6,4	5,7	4,6	3,8
5	4,9	4,0	3,8	3,6
6	6,4	5,4	4,2	3,6
7	5,1	4,8	4,3	4,1
8	5,4	5,2	4,2	3,9
9	4	3,8	3,6	3,5
10	6,8	5,4	4,7	4,4
11	5,9	5,5	4,5	4,2
12	4,9	4,7	4,1	3,8
13	6,6	5,6	4,7	4,4
14	4,9	4,7	3,9	3,6
15	5,9	5,6	4,6	4,3
16	6,6	5,4	4,4	4,1
17	7,9	6,6	5,3	4,8
18	5,4	4,9	4,1	3,8
19	5,9	5,2	4,2	4,1
20	6,4	5,6	4,6	4,1
21	5,6	5,0	4,1	3,7
22	6,4	5,7	4,6	4,0
23	5,9	5,5	4,5	4,2
24	6,1	5,6	4,6	4,2
25	4,6	4,5	3,6	3,4
26	6,9	5,9	4,7	3,7

<u>Nº</u>	<u>η_{45}</u>	<u>η_{90}</u>	<u>η_{225}</u>	<u>η_{450}</u>
27	5,9	5,5	4,5	4,2
28	5,9	5,6	4,6	4,5
29	4,6	4,3	3,5	3,3
30	5,4	4,9	3,9	3,7
31	5,6	5,4	4,5	4,2
32	6,9	6,2	5,2	5
33	5,9	4,9	4	3,3
34	6,6	6,2	5	4,8
35	5,9	5,6	4,6	4,5
$\bar{x} =$	5,81	5,28	4,40	4,04
SD =	0,94	0,65	0,48	0,48
n =	35	35	35	35

Cuadro VII.-- Estudio de la viscosidad sanguinea en los pacientes diabeticos Tipo I.

= viscosidad a distintas velocidades de deformación.

<u>No</u>	<u>η_c</u>	<u>τ_o</u>	<u>r</u>
1	3,96	0,38	0,9991
2	3,25	0,11	0,9933
3	3,56	0,04	0,9987
4	2,83	0,4	0,9980
5	2,95	0,15	0,9979
6	2,52	0,45	0,9994
7	3,70	0,05	0,9991
8	3,20	0,18	0,9993
9	3,30	0,013	0,9999
10	3,88	0,18	0,9994
11	3,44	0,17	0,9997
12	3,31	0,09	0,9997
13	3,56	0,21	0,9999
14	2,97	0,14	0,9993
15	3,63	0,15	0,9987
16	3,20	0,27	0,9996
17	3,56	0,40	0,9999
18	3,12	0,16	0,9996
19	3,13	0,21	0,9998
20	3,16	0,29	0,9997
21	2,93	0,22	0,9998
22	3,03	0,34	0,9992
23	3,43	0,18	0,9996
24	3,35	0,22	0,9996
25	2,81	0,12	0,9993
26	2,60	0,56	0,9973

<u>No</u>	<u>η_c</u>	<u>τ_o</u>	<u>r</u>
27	3,46	0,17	0,9996
28	3,61	0,15	0,9994
29	2,68	0,14	0,9993
30	2,94	0,18	0,9997
31	3,75	0,17	0,9998
32	4,13	0,17	0,9997
33	2,33	0,40	0,9990
34	3,90	0,18	0,9996
35	3,79	0,12	0,9995
\bar{x} =	3,28	0,21	
SD =	0,43	0,12	
n =	35	35	

Cuadro VIII.- Aplicación del modelo de CASSON en los pacientes diabéticos.

c = Viscosidad de Casson.

n = Ajuste del modelo.

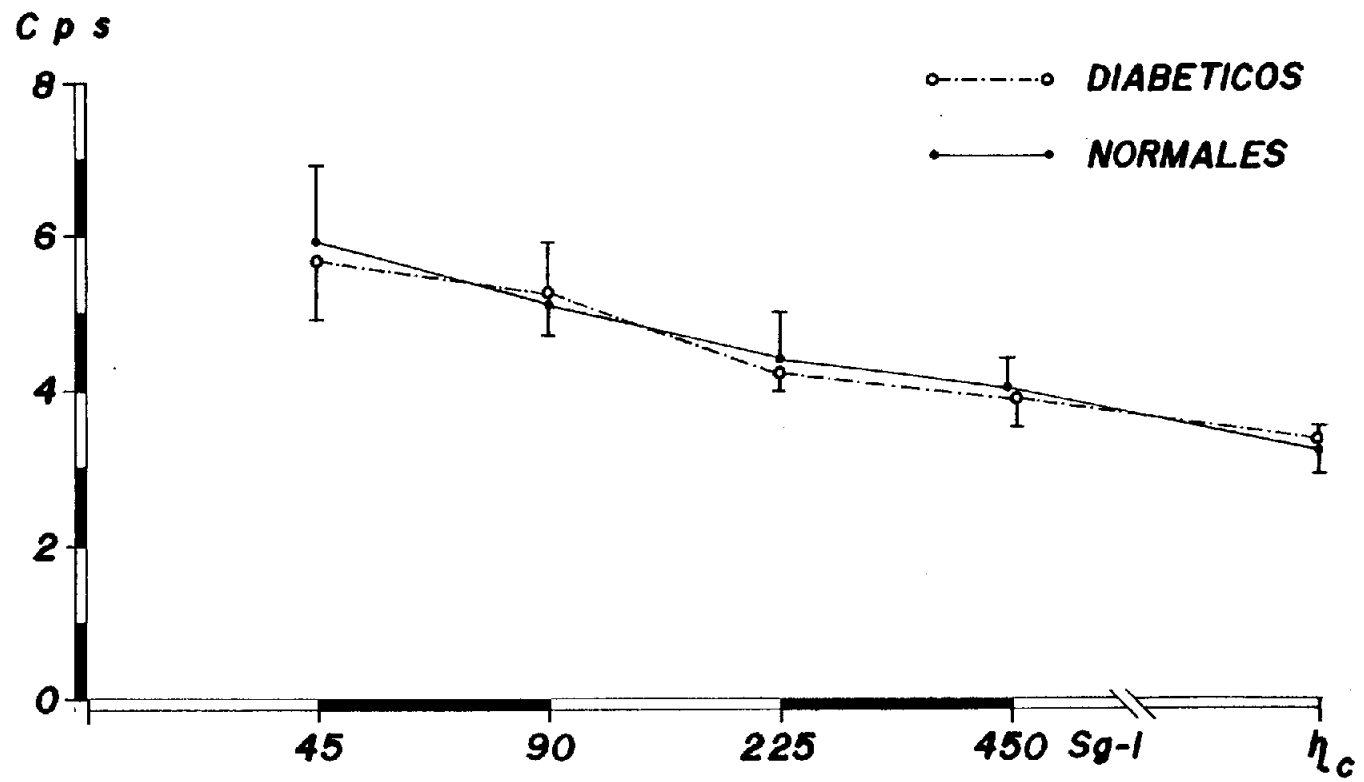


Figura 10.-

sin que exista diferencia estadísticamente significativa a ninguna de las velocidades estudiadas.

Lo mismo sucede al estudiar la viscosidad de Casson (η_c), sujetos normales $3,21 \pm 0,28$ cps, pacientes diabéticos $3,28 \pm 0,43$ cps; no siendo esta diferencia estadísticamente significativa.

Tampoco apreciamos diferencia estadísticamente significativa cuando se agrupan los pacientes diabéticos según su grado de control, entre sí y entre los sujetos normales.

V. ESTUDIO DE LOS LIPIDOS PLASMATICOS.

Una vez obtenidos por centrifugación el plasma de las muestras de sangre, se determinaron los niveles de Colesterol Total, Triglicéridos, HDL_c y LDL_c (lipoproteínas de alta y baja densidad, respectivamente) según la técnica descrita anteriormente en el capítulo de Material y Métodos.

Los niveles de Colesterol Total, en nuestros pacientes diabéticos ($\bar{x} = 172,2 \pm 45,3$ mg/dl) eran inferiores a los de los sujetos normales ($\bar{x} = 199,9 \pm 33,3$ mg/dl), siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,005$) (Figura 11).

COLESTEROL

mg/dl

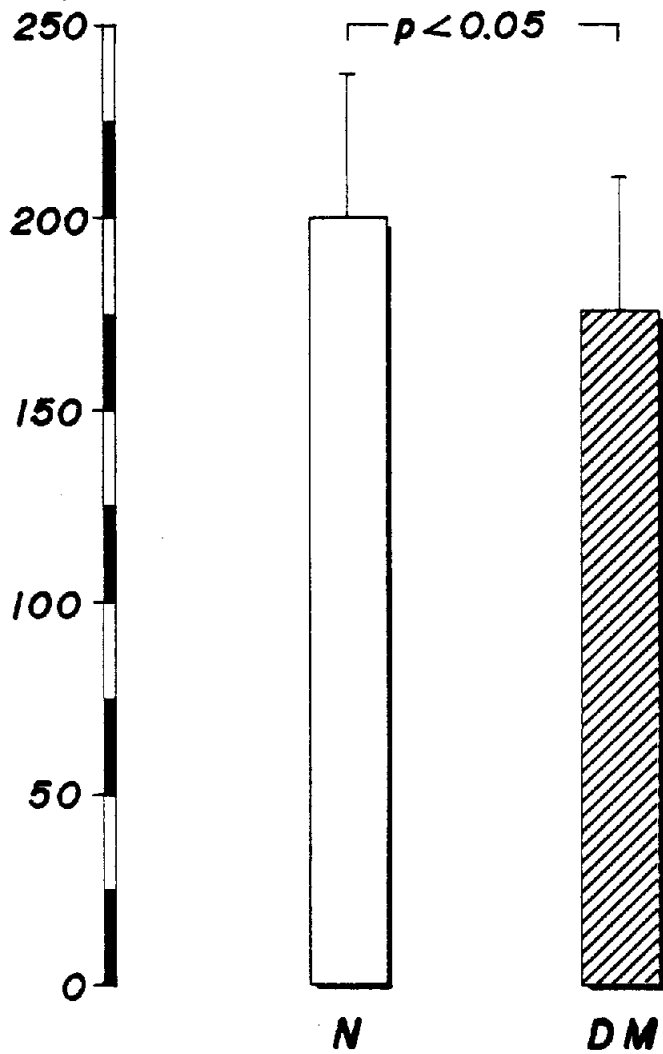


Figura 11.-

Por el contrario los pacientes diabéticos mostraban unos niveles plasmáticos de Triglicéridos ($\bar{x} = 132,4 \pm 71,7$ mg/dl) superiores a los de los sujetos normales ($\bar{x} = 93,6 \pm 54,5$ mg/dl), esta diferencia era estadísticamente significativa ($p < 0,05$) (Figura 12).

El Colesterol transportado por las lipoproteínas de alta densidad (HDL_c), en el grupo de sujetos normales mostraba unos valores entre 35 y 68 mg/dl, con una media de $53,5 \pm 7,9$ mg/dl; superiores a los obtenidos en el grupo de pacientes diabéticos, cuyos valores oscilaban entre 22 y 67 mg/dl ($\bar{x} = 41,8 \pm 11,9$ mg/dl) siendo estadísticamente significativa la diferencia ($p < 0,001$) (Figura 13).

No hemos obtenido diferencia alguna en los valores de HDL_c , al separar los pacientes diabéticos según el grado de control.

Los niveles de Colesterol transportado por las lipoproteínas de baja densidad (LDL_c), no muestran diferencias significativas estadísticamente entre el grupo de sujetos normales ($\bar{x} = 123,8 \pm 38,1$ mg/dl) y el grupo de diabéticos ($\bar{x} = 108 \pm 42,7$ mg/dl).

Tampoco se objetivó diferencia estadísticamente significativa en el cociente HDL_c/LDL_c , entre los pacientes diabéticos ($\bar{x} = 0,44 \pm 0,21$) y los sujetos normales ($\bar{x} =$

TRIGLICERIDOS
mg/dl

— $p < 0.05$ —

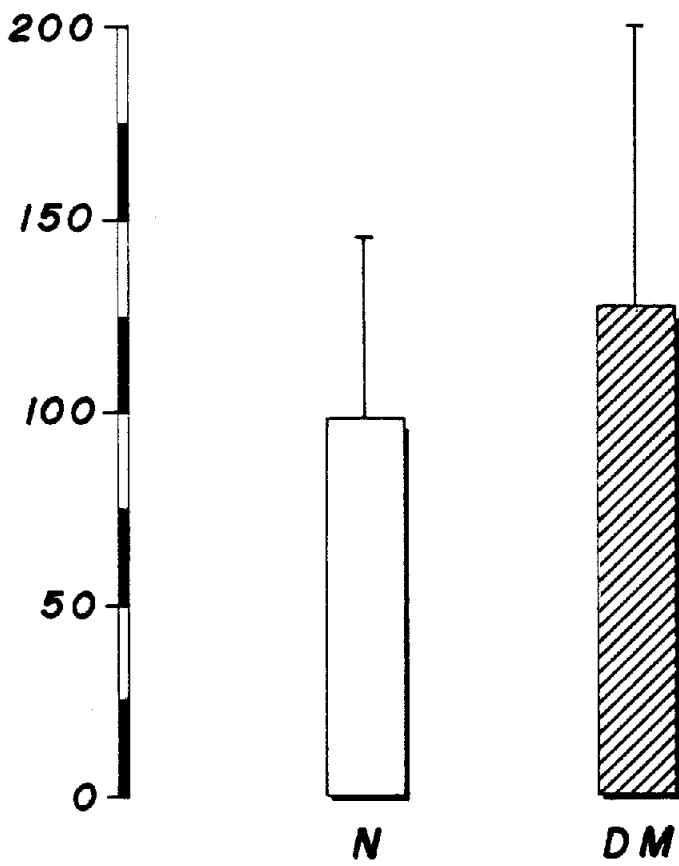


Figura 12.-

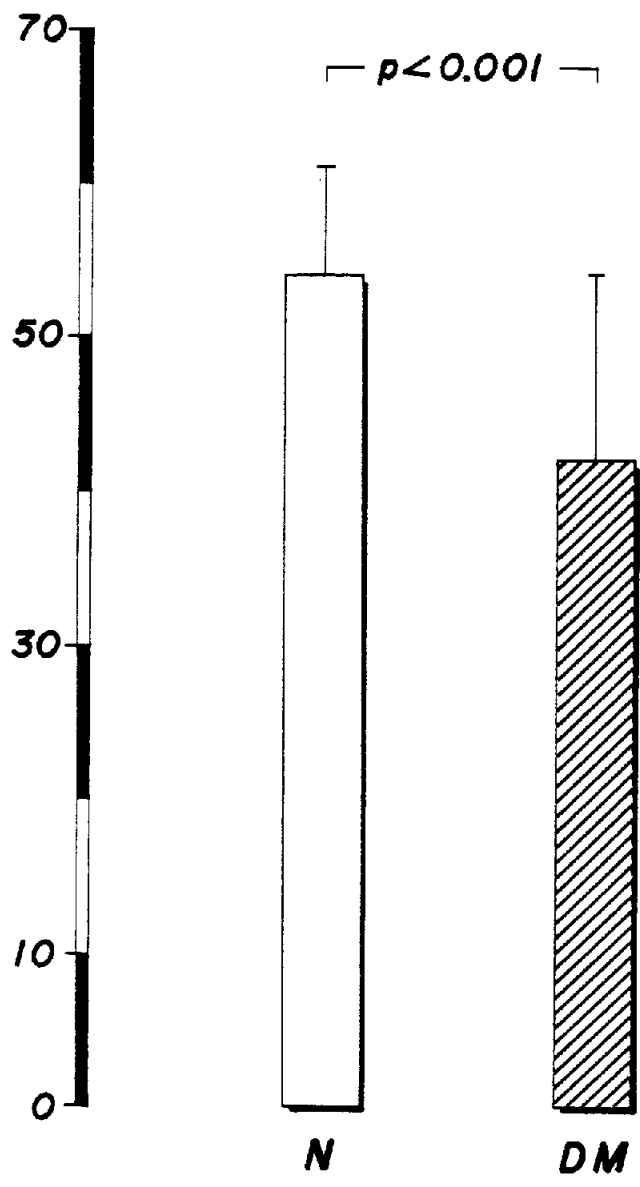


Figura 13.-

0,43 ± 0,1).

Todos estos resultados se encuentran recogidos en los cuadros IX y X.

VI. ANALISIS DE CORRELACIONES ENTRE LAS VARIABLES ESTUDIADAS.

La filtrabilidad sanguínea (T.F., DFS y DFS_c) no se correlaciona con las características antropométricas (edad, B.M.I.) estudiadas, tanto en los sujetos normales como en los pacientes diabéticos objeto de este trabajo.

No hemos encontrado tampoco correlación valorable estadísticamente entre la filtrabilidad y viscosidad sanguíneas, tanto en el grupo de diabéticos como en el grupo de normales.

Así mismo no existe correlación entre el grado de control de la diabetes mellitus (G y \bar{G}) y la filtrabilidad y viscosidad sanguíneas.

En los sujetos normales, se ha comprobado una correlación entre el valor hematocrito y los siguientes parámetros de filtrabilidad sanguínea estudiados: tiempo de filtración (TF) ($r = 0.56$ $p < 0.01$ $n = 21$) y el débito de filtración sanguíneo (DFS) ($r = -0.52$ $p < 0,02$ --

<u>Nº</u>	<u>C_T</u>	<u>TG</u>	<u>HDL_c</u>	<u>LDL_c</u>	<u>HDL_c/LDL_c</u>
1	205	46	58	138	0,42
2	199	59	65	122	0,53
3	191	65	52	126	0,41
4	184	86	53	114	0,47
5	161	51	46	105	0,44
6	167	114	41	103	0,40
7	195	43	54	132	0,41
8	150	55	35	104	0,34
9	166	41	43	115	0,37
10	201	126	54	122	0,44
11	251	91	60	173	0,35
12	168	275	50	63	0,79
13	246	89	60	168	0,36
14	237	99	59	158	0,37
15	251	125	68	158	0,43
16	222	96	54	149	0,36
17	192	55	52	129	0,40
18	149	89	48	83	0,58
19	191	51	52	159	0,33
20	228	148	58	140	0,41
21	243	162	61	150	0,41
\bar{x}	= 199,9	93,6	53,5	123,8	0,43
SD	= 33,3	54,5	7,9	38,1	0,1
	= 21	21	21	21	21

Cuadro IX.- Sujetos normales. Lípidos plasmáticos (mg/dl).

C_T = Colesterol total. TG = Triglicéridos.

HDL_c = Colesterol de lipoproteínas de alta densidad. LDL_c = C. de lipopr. de baja dens.

<u>Nº</u>	<u>C_T</u>	<u>TG</u>	<u>HDL_c</u>	<u>LDL_c</u>	<u>HDL_c/LDL_c</u>
1	232	203	33	159	0,20
2	155	79	67	72	0,93
3	193	152	35	126	0,28
4	213	62	58	143	0,40
5	155	71	43	98	0,44
6	135	177	36	63	0,57
7	174	177	46	92	0,50
8	155	71	59	81	0,73
9	193	354	29	93	0,31
10	271	248	35	186	0,19
11	193	310	33	98	0,34
12	135	142	41	66	0,62
13	174	159	39	103	0,38
14	155	106	65	69	0,94
15	174	88	46	110	0,42
16	311	179	42	233	0,18
17	121	140	22	71	0,31
18	123	48	28	85	0,33
19	109	74	35	59	0,59
20	136	61	28	122	0,23
21	171	79	56	99	0,56
22	147	80	51	80	0,64
23	142	115	37	82	0,45
24	171	125	32	114	0,28
25	128	62	36	80	0,45
26	230	150	33	190	0,17

<u>Nº</u>	<u>C_T</u>	<u>TG</u>	<u>HDL_c</u>	<u>LDL_c</u>	<u>HDL_c/LDL_c</u>
27	196	100	54	141	0,38
28	136	105	42	86	0,49
29	215	155	33	175	0,19
30	145	128	38	99	0,38
31	150	105	64	73	0,88
\bar{x} =	172,2	132,4	41,8	108	0,44
SD =	45,3	71,7	11,9	42,7	0,21
=	31	31	31	31	31

Cuadro X.- Pacientes con Diabetes Mellitus Tipo I. Lípidos plasmáticos (mg/dl).

C_T = Colesterol Total.

TG = Triglicéricos.

HDL_c = Colesterol de lipoproteínas de alta - densidad.

LDL_c = Colesterol de lipoproteínas de baja - densidad.

n = 25) (Figuras 14 y 15).

En los pacientes diabéticos la filtrabilidad sanguínea se correlaciona con el colesterol total, así el tiempo de filtración (T.F.) ($r = 0.45$ $p < 0,01$ $n = 31$) y con el débito de filtración sanguíneo corregido (D.F.S._c) -- ($r = 0.42$ $p < 0.01$ $n = 31$); como puede apreciarse en las figuras 16 y 17.

De los parámetros utilizados para estudiar la viscosidad sanguínea (η_{45} , η_{90} , η_{225} , η_{450} y η_c), hemos encontrado una correlación entre η_c y el valor hematocrito en sujetos normales ($r = 0.70$ $p < 0,001$ $n = 25$) (Figura 18).

TF (sg)

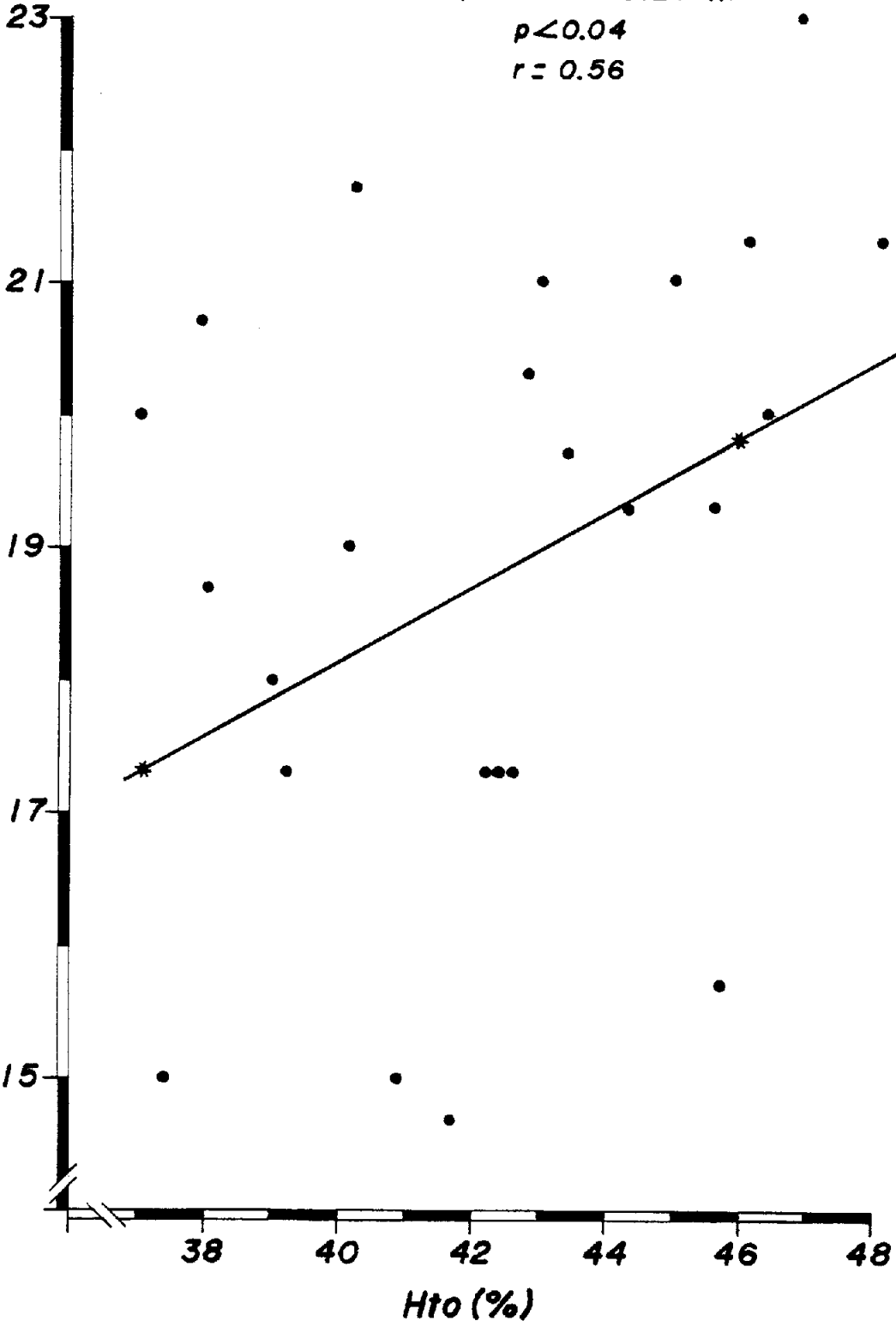
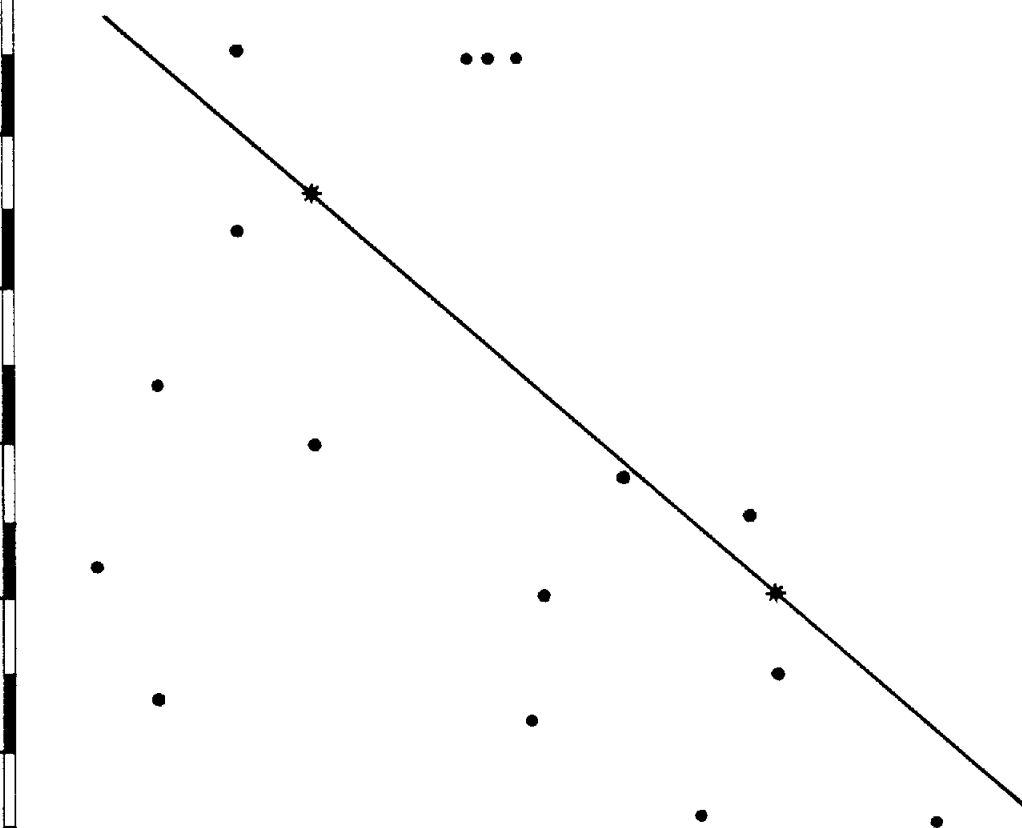


Figura 14.-

DFS ($\mu\text{l}/\text{sg}$)

67
65
63
61
59
57
55
53
51
49
47
45
43

$DFS = 90.1 - 0.85 Ht0$
 $p < 0.04$
 $r = 0.52$



38 40 42 44 46 48 Ht0%

Figura 15.-

TF (sg)

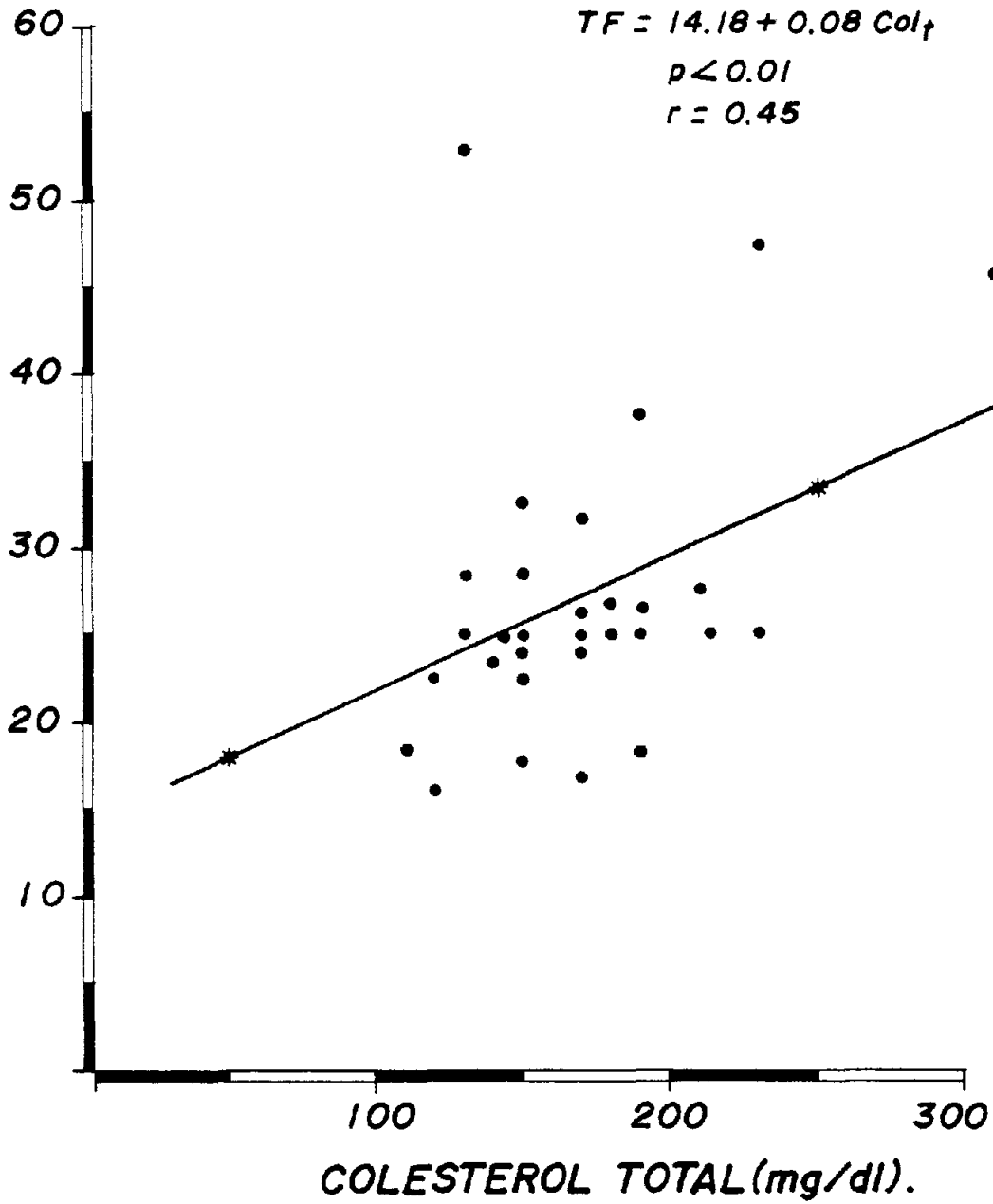


Figura 16.-

DFSc (UI)

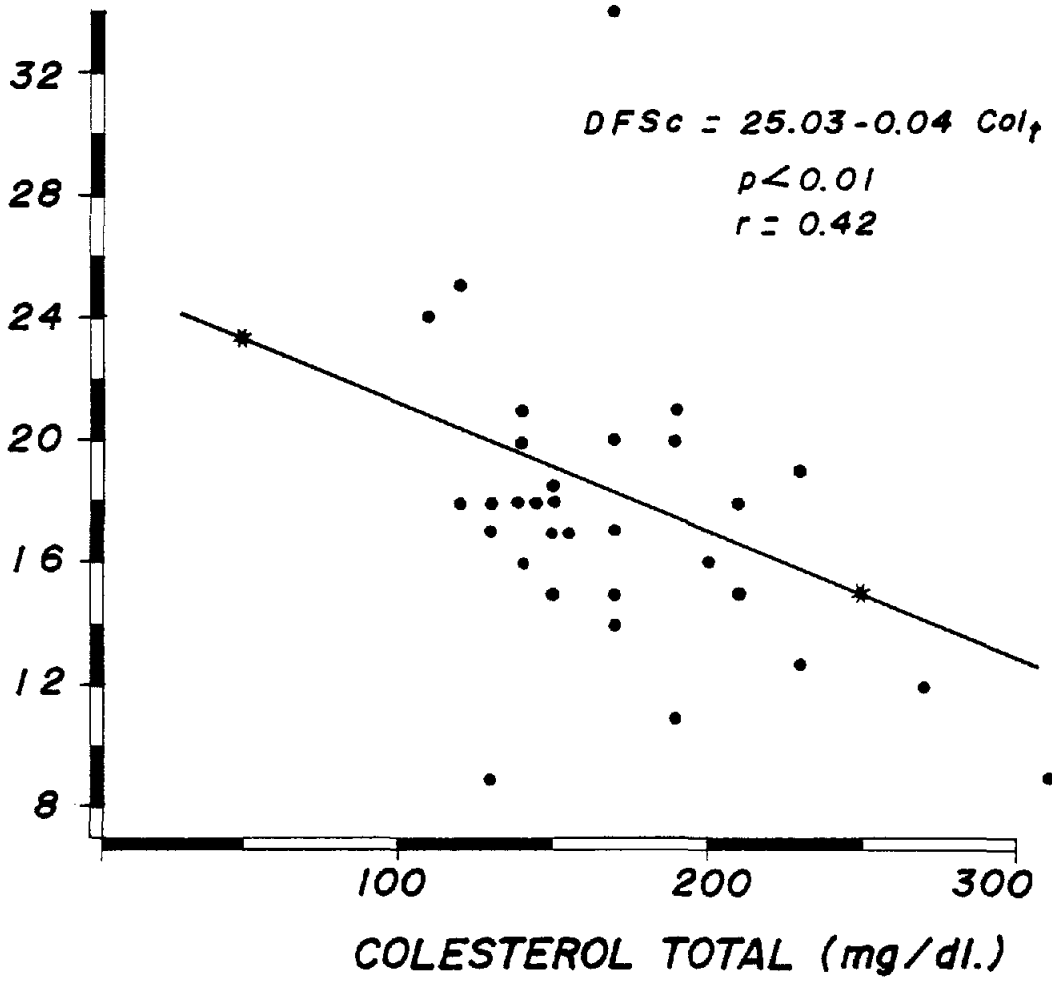


Figura 17.-

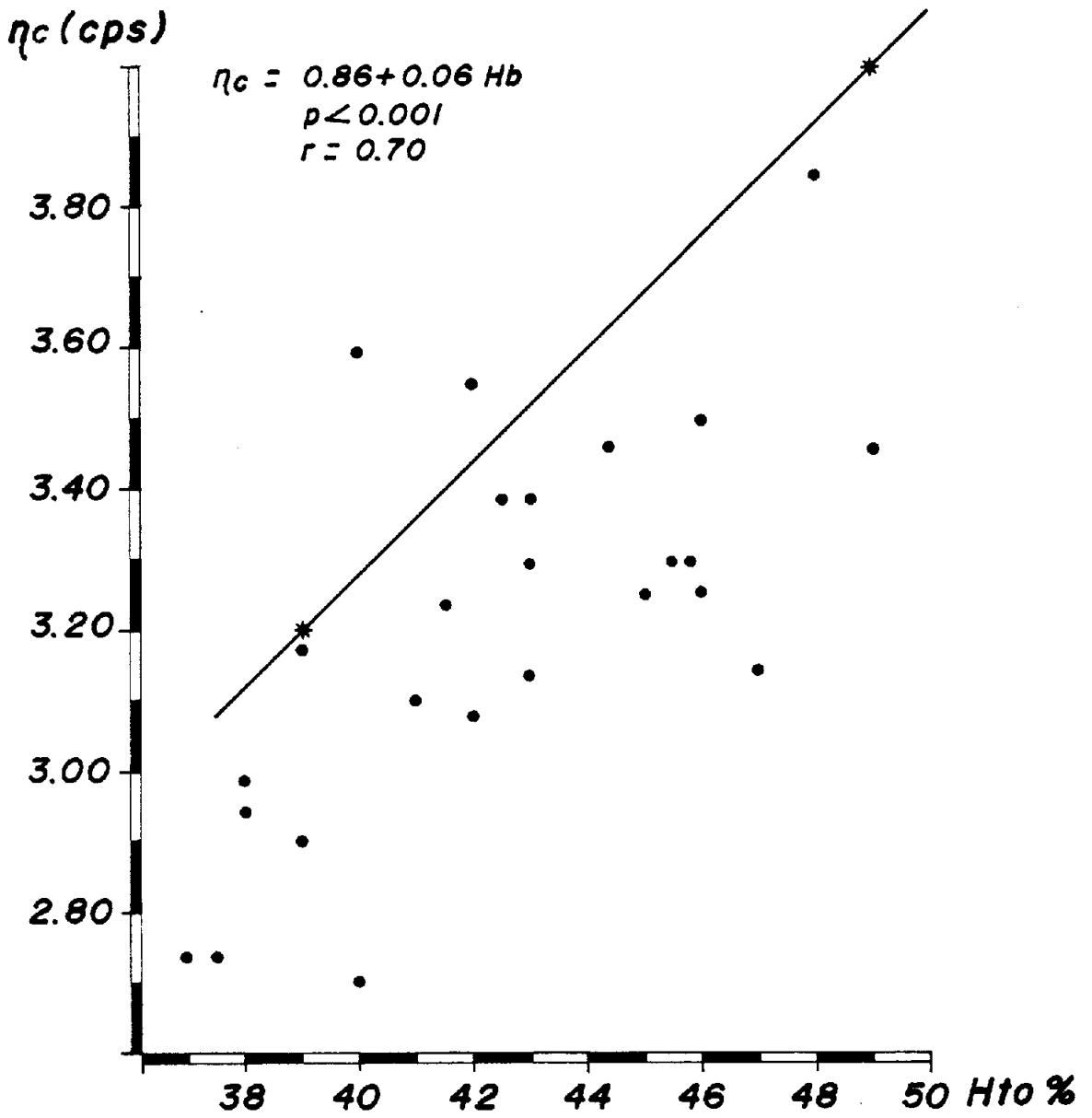


Figura 18.-

DISCUSSION.

I- DEFORMABILIDAD

FUNG y colab. (1966) (129) han elaborado las reglas que gobiernan la deformabilidad de los eritrocitos; y han demostrado que el eritrocito puede ser considerado como una membrana (cáscara flexible) parcialmente llena de un líquido viscoso incompresible (solución de hemoglobina); siendo el llenado parcial una consecuencia importante de su forma bicóncava, que permite la deformación de la célula en una infinita variedad de formas, sin cambios de volumen ni de área superficial (deformación isocórica). La deformabilidad puede entonces estar limitada por la viscosidad del contenido celular o por incremento de la tensión de la membrana. La deformación en forma de obús del eritrocito en los capilares estrechos, es el resultado de fuerzas de cizalladura actuando sobre la célula en diferentes direcciones. La capacidad de deformación se reduce en condiciones de hiperosmolaridad.

Para CHIEN (1975) (107) la deformabilidad intrínseca del eritrocito está determinada por tres factores: - las propiedades viscoelásticas de la membrana, la viscosidad de la hemoglobina intraeritrocitaria (viscosidad interna), y la geometría del eritrocito.

El estudio de la filtrabilidad sanguínea que hemos realizado, mediante la valoración del T.F., D.F.S. y -- D.F.S._c, ha mostrado una menor filtrabilidad en los pacientes afectados de una Diabetes Mellitus Tipo I que en los sujetos normales. Esta menor filtrabilidad parece estar más influenciada por los niveles de Colesterol -- Total Plasmático, que por el valor hematocrito. Esta menor filtrabilidad de los diabeticos, fue ya anteriormente detectada por unos trabajos previos nuestros (AZNAR MARTIN y colab.) (1982) (130).

JUHAN y colab. (1982) (131) utilizando la misma -- técnica que nosotros (técnica de hemofiltración de REID) encuentran que el tiempo de filtración está más alargado que en los sujetos normales, y que volvía a la normalidad, después de someter al diabetico a la acción continuada de la insulina, administrada con un páncreas artificial durante 24 horas. Además encuentran que la filtrabilidad de los eritrocitos normales, disminuye cuando se les incubaba en plasma de diabeticos insulín-dependientes no controlados; pero es normal en plasma de diabeticos insulín-dependientes controlados con insulina median

te pancreas artificial o en plasma de diabeticos insu--
lin-dependientes incontrolados, a los cuales añaden in-
sulina "in vitro"; sugieren que esta última, tendría una
acción directa sobre la deformabilidad de los eritroci--
tos (hecho puesto en duda por Mc. MILLAN (1983) (87), ya
que al estar los receptores de insulina distanciados más
de un micrometro en la superficie del eritrocito, el com-
plejo insulina-receptor, poco puede influir en la forma
del eritrocito) si bien hablan en su favor los trabajos
de BRYSZEWSKA y LEIKO (1983) (132), Le DEVEHAT y LEMOINE
(1981) (133) encuentran reducida la deformabilidad de --
los eritrocitos en dos grupos de diabéticos; y era mayor
en aquellos que presentaban una microangiopatía progresi-
va; y la filtrabilidad la correlacionan con un nivel re-
ducido de ATP, e indican que el estado metabólico del --
eritrocito en el diabético, es similar al de una pobla--
ción de eritrocitos viejos.

Se ha señalado una estrecha relación entre el nivel
de ATP eritrocitario y la capacidad de deformación. WEED
y colab. (1969) (134) proponen que la deplección de ATP
impide al eritrocito su capacidad de deformarse, por no
poder mantener el bajo contenido de Ca^{++} ; y que un incre-
mento en la acumulación intracelular de Ca^{++} , disminuía
la deformabilidad por inducir una alteración sol-a-gel de
la membrana (MEISELMAN y colab.) (1978) (135) y CLARK y -
colab. (1981) (136) estudian la rigidez de la membrana en
eritrocitos depleccionados de ATP y en eritrocitos carga-

dos de Ca^{++} ; y comprueban una deformabilidad normal en los eritrocitos depleccionados de ATP; la acumulación de Ca^{++} en los eritrocitos, induce una pérdida masiva - de iones y agua, y esta deshidratación induce un incremento de la viscosidad intracelular con pérdida total - de la capacidad de deformación del eritrocito.

DIAMANTOPOULOS y colab. (1981) (137) encuentran un significativo descenso de la deformabilidad en diabéticos con retinopatía, comparados con los normales así como con los que no la presentan.

PAULSEN y KOURY (1976) (138) demostraron que los - espectros ("ghosts") de eritrocitos retenían hemoglobina glicosilada, y sugerían que la unión a la membrana - de la misma, podría inducir una reducción de la deforma- bilidad de los eritrocitos. Investigaciones posteriores no lo han confirmado, así BOUDART y colab. (1983) (139) no encuentran relación entre el tiempo de filtración y la concentración de hemoglobina A_1 ; estos autores separan cromatográficamente HbA_{1a+b} , HbA_{1c} y Hb A_0 y miden su viscosidad; y encuentran que es diferente, las hemo- globinas glicosiladas muestran una viscosidad 2,5 veces mayor que las no glicosiladas y sugieren que quizás contribuyan a un aumento de la viscosidad interna del eri- trocito, pero que no se traduce en ninguna alteración - de su capacidad de filtración por poros de 5 micras.

BIDET y colab. (1981) (140) no encuentran ninguna correlación entre la disminución de la filtrabilidad -- eritrocitaria, hemoglobina A_{1c} y alfa 2 microglobulina.

DELOBEL y colab. (1981) (141) encuentran que el -- tiempo de filtración de los diabéticos, es mucho mayor que en los normales (en un grupo de 50 diabeticos y 32 controles), la diferencia era significativa en las muje res de 50 años; pero esta diferencia en el tiempo de fil tración, desaparecía cuando se lavaban los eritrocitos.

Por otro lado La CELLE (1980) (142) utilizando mi-- cropipetas de 2,8 micras de diámetro inferior y aspira-- ción de la membrana de eritrocitos intactos, no encuen-- tra disminución en la deformabilidad de los eritrocitos del diabético, ni tampoco halla diferencias en la rela-- jación posterior del eritrocito, respecto de los norma-- les. Tampoco SEWCHAND y colab. (1979) (143) obtienen di-- ferencias entre los normales y diabéticos con retinopatía proliferativa.

RAND y colab. (1981) (144) miden el tiempo de filtra-- ción de suspensiones de eritrocitos lavados y diluidos, a través de poros de 3 micras. Las cifras de filtración eran semejantes entre los controles y diabéticos que no fumaban; y estaban alargados en diabéticos fumadores. -- Así mismo, estaban también alargados en los sujetos fuma-- dores. No existiendo correlación entre la viscosidad to--

tal de la sangre, del plasma, afinidad del oxígeno, hemoglobina glicosilada, 2,3 DPG y carboxihemoglobina.

STUART y colab. (1983) (145) utilizando una técnica de filtración con presión positiva con filtro Nucleo-pore de 5 micras en arterioescleróticos, normales y diabéticos; utilizando eritrocitos lavados, no encuentran retraso de la filtración ni hay diferencias significativas entre los grupos; y lo atribuyen, a que al lavar -- los eritrocitos se elimina la supuesta hiperproteïnemia. Otro factor, que puede retardar la filtración, es el incremento del número de leucocitos, que debe corregirse ajustando las muestras a unas cifras "standard" de leucocitos de $7,5 \times 10^9/l$.

SIRS y colab (1981) (146) atribuyen la disminución de la deformabilidad comprobada, a una elevación de la viscosidad del plasma; pero esta última no es debida a una elevación del fibrinógeno; tampoco encuentran que la deformabilidad de los eritrocitos, estuviera relacionada con la existencia previa de complicaciones tales -- como retinopatía o enfermedades cardiovasculares.

NORTON y colab. (1981) (147) han comprobado que el tiempo de filtración es exquisitamente sensible a cambios en la proporción área de superficie/volumen, y se eleva con las concentraciones intracelulares de hemoglobina; y al encontrar RAND y colab. (1981) (148) que en --

los diabéticos no hay diferencias con los normales, suponen que sus membranas eritrocitarias son plegables y que su citoplasma no es hiperviscoso.

BABA y colab. (1979) (149) marcan la parte hidrocarbónica de la membrana con DPH y con técnicas de despolarización fluorescente, comparan la microviscosidad de eritrocitos normales y de diabéticos; y encuentran significativamente elevados los niveles de la microviscosidad de la membrana del diabético, no existiendo diferencia entre hombres y mujeres, ni se correlaciona con la edad del diabético, duración de la diabetes, Colesterol del plasma, proporción Colesterol/fosfolípidos y actividad acyltransferasa Lecitina/Colesterol, tampoco encuentran diferencia de la microviscosidad entre diabéticos con y sin retinopatía; y era significativamente más diferente, en aquellos diabéticos cuya glucemia era menor de 140 mg. en ayunas, de los que la glucemia era mayor de 140 mg. en ayunas; y parece relacionarse la reducida deformabilidad del eritrocito de los diabéticos con el control actual metabólico de los mismos. Y aunque la microviscosidad con esta técnica, es una viscosidad tridimensional del interior hidrocarbonado de la membrana, y no es equivalente a la viscosidad de la membrana; según EVANS y colab. (1978) (150) puede haber cierta relación entre estas dos medidas.

DINTENFASS (1971) (151), (1976) (152), (1977) (153)

ÿ (1977) (154) encuentra una mayor rigidez de los eritrocitos del diabético, pero lo hace indirectamente calculando el término "Tk" de la ecuación de la viscosidad de la sangre de DINTENFASS; esto es, obteniendo el término "HTk" que es igual a $(\eta_r^{0,4} - 1 / \eta_{r0,4})$; en el cual H es el hematocrito dado como fracción de volumen, y η_r es la viscosidad relativa de la sangre (esto es, la viscosidad de la sangre medida a una velocidad de cizallamiento de 180 seg^{-1} y dividido por la viscosidad del plasma)

$$\eta_r = (1 - TKH)^{-2,3}$$

$$\eta_r^{0,4} = 1 - TKH$$

$$TKH = 1 - 1/\eta_r^{0,4}$$

encuentra que en la retinopatía diabética había una asociación con el incremento de la viscosidad de la sangre lo cual no sucedía en la retinopatía no diabética.

El término "Tk" aporta una medida de la rigidez de los eritrocitos y es independiente del hematocrito.

Por supuesto, que la disminuida deformabilidad eritrocitaria no es patrimonio exclusivo de los diabéticos, sino que también se ha revelado en otras circunstancias patológicas tales como los relacionados por DORMANDY -- (1981) (155):

Grupo A.- Causa conocida/reconocida de anomalía
hematológica.

Forma: Esferocitosis.

Macrocitosis.

Otras.

Membrana: Edad.

Anticuerpos.

Cuerpos de HEINZ.

Contenido: Hemoglobina anormal.

Talasemia.

Lesión de almacenamiento.

Anormalidades enzimáticas.

Parásitos.

Grupo B.- Enfermedades no hematológicas de causa -
incierta.

Agudas: Accidentes cerebro-vasculares.

Infarto de miocardio.

Después del acto quirúrgico.

Tromboflebitis.

Crónicas: Enfermedad arterial periférica.

Diabetes Mellitus.

Contracepción oral.

Tabaco.

Fenómeno de RAYNAUD.

Enfermedad arterial coronaria.

Así mismo se ha comprobado en diabéticos la tendencia a agruparse los eritrocitos "in vitro", van HERINGEN (1973) (156), así como "in vivo" DITZEL y MOINAT (1959) (4) DITZEL y colab. (1960) (5).

Mc. MILLAN y colab. (1981) (157) desarrollan una nueva técnica que les permite observar directamente los eritrocitos en suspensiones diluidas; y aprecian que forman unos "dobletes" ("doublets") después de depositarlos encima de un porta. La formación de "dobletes" consiste en la elevación y subsiguiente aposición de una célula sobre otra; y este fenómeno lo siguen y registran con cintas de video, durante 20 minutos. Encuentran que los eritrocitos de la mitad de un grupo de 30 diabéticos, forman menos de 3 "dobletes"; mientras que los no diabéticos formaban en el mismo tiempo, hasta 13 "dobletes"; y no hay correlación entre la cuantía de formación de "dobletes" y la glucemia basal, ni con el tipo de diabetes, tratamiento y/o no existencia de complicaciones microvasculares, no influye la edad ni el sexo, ni la duración de la diabetes.

Los eritrocitos que participan en la formación del "doblete", cambian de forma cuando uno asciende y se desliza sobre el otro. Este mismo movimiento está impedido por la gravedad y por la resistencia de sus membranas a ser doblados; según ellos la reducida formación de "dobletes", es debida a una aumentada resistencia de la mem

brana celular a un rápido doblamiento, más que a una verdadera rigidez de la membrana.

El alargamiento del tiempo de filtración o disminuida "deformabilidad" de los diabéticos, según los hallazgos propios y la revisión de las aportaciones ajenas, es un hecho que existe. No guarda ninguna relación con la gravedad de la diabetes, nivel actual de la glucemia --como expresión del grado de descompensación metabólica-- ni con la cuantía de la insulina que se le administra, existencia o no de complicaciones micro y/o macrovasculares. Como esta anomalía desaparece cuando se lavan los eritrocitos o después de la plasmaféresis (en el fenómeno de RAYNAUD); sugiere que la causa del alargamiento del tiempo de filtración o disminuida "deformabilidad" de los eritrocitos, reside en el plasma; y aun cuando se supone es debido a una hipotética hiperproteïnemia, no se ha podido concretar ni la cuantía, ni la calidad de la proteína implicada, ya que no se ha encontrado aumento de fibrinógeno ni de ninguna fracción globulínica.

Hemos de añadir en estos comentarios, que la filtración sanguínea es una técnica relativamente sencilla de poco costoso aparataje, y por tanto, asequible a cualquier laboratorio, que nos provee de los medios para evidenciar esta circunstancia, presente en los diabéticos: alargamiento del tiempo de filtración o disminuida "deformabilidad" eritrocitaria; cuyo determinismo todavía está por

señalar, pero que es un dato más a tener en cuenta en la complicada patología diabética. Claro es, que el tiempo de filtración, no sólo hace entrar en la cuenta a los eritrocitos, sino que influyen en él, también otros factores que se deben considerar a la hora de valorarlo, tales como el valor hematocrito, número de leucocitos, colesterol, fibrinogeno y viscosidad del plasma (MARCEL) (1981) (158).

II - VISCOSIDAD

Nosotros simultáneamente a la medición del tiempo de filtración sanguínea, hemos determinado la viscosidad de la sangre total.

Las cifras obtenidas en un grupo de 25 sujetos normales, no fumadores, sin enfermedad aparente son: $\eta_{45} = 5,9 \pm 1$, $\eta_{90} = 5,1 \pm 0,8$, $\eta_{225} = 4,4 \pm 0,4$ y $\eta_{450} = 4,0 \pm 0,4$ cps; $\eta_c = 3,21 \pm 0,28$ cps. Las cifras obtenidas en el grupo de 31 pacientes insulin-dependientes con un regular control metabólico han sido: $\eta_{45} = 5,8 \pm 0,9$, $\eta_{90} = 5,2 \pm 0,6$, $\eta_{225} = 4,4 \pm 0,4$, $\eta_{450} = 4,0 \pm 0,4$ cps; $\eta_c = 3,28 \pm 0,43$ cps.

Algunos autores desde hace pocos años vienen comprobando que la viscosidad de la sangre total y del plasma están elevadas en el diabetico, y así SKOVORG (1974) (159), Mc. MILLAN (1976) (160) lo confirman en aquellos en que se evidencia microangiopatía. Aunque estas alteraciones se pueden detectar al poco tiempo de desarrollar-

se la intolerancia hidrocarbonada, no parecen incrementarse con la duración de la misma (SKOVORG) (1974) (159) (Mc. MILLAN) (1976) (160).

En una clásica comunicación DINTENFASS y DAVIS -- (1977) (153) en un grupo de 65 diabéticos tipo I en distintos grados de severidad de su enfermedad; clasifican^{do}los en:

- 1) Sin complicaciones vasculares.
- 2) Con discreta retinopatía (microaneurismas solamente).
- 3) Retinopatía con hemorragia, exudados, insuficiencia renal y enfermedad arterial periférica o isquemia cardíaca severa.

Y químicamente por la glucemia basal, los deslindan en otros tres grupos:

- 1) Menos de 180 mg/dl.
- 2) Entre 180 y 245 mg/dl.
- 3) Por encima de 250 mg/dl.

Y les determinan proteínas, colesterol, glucemia, viscosidad plasmática y de sangre total, agregación eritrocitaria y viscosidad de trombos artificiales, fragilidad capilar; encontrando significativas diferencias entre estos subgrupos en viscosidad plasmática, fibrinógeno, y formación de trombos artificiales. Encuentran una correlación entre agregación eritrocitaria y glucemia en to--

dos los pacientes con una significatividad de $p < 0,05$. Las correlaciones en los subgrupos no son significativas, pero la comparación de las líneas de regresión de los diferentes subgrupos, muestran numerosas diferencias. Así, por ejemplo, regresiones lineales para la presión capilar, como una función de la viscosidad del plasma, muestran una significatividad de $p < 0,05$ y $p < 0,01$ para diferencias entre gravedad clínica 1 y 2, y 1 y 3 respectivamente; la presión capilar es función de la agregación de eritrocitos y muestra una significatividad de $p < 0,01$ y $p < 0,05$ para diferencias entre los grados de severidad clínica 1 y 2, y 2 y 3 respectivamente; la agregación de células rojas como función de la glucemia, muestra una significativa diferencia ($p < 0,05$) entre grados 1 y 2 de severidad clínica.

Al comparar las regresiones lineales de la fragilidad capilar como función de la viscosidad del plasma, viscosidad aparente de los trombos artificiales y rigidez eritrocitaria (esto último calculado como el término "Tk" de la ecuación de DINTENFASS, 1971) (154), según el grado de afectación clínica, encuentran una significativa diferencia de las inclinaciones de la regresión lineal.

Estos estudios, indican una relación entre las anomalías capilares y factores hemorreológicos; sin embargo, esta relación llega a ser visible sólo al subdi

vidir el grupo de pacientes en baja, media y severa diabetes; las tres líneas de regresión tienden a formar una curva convexa, en la cual, el máximum (apex) corresponde a un mediano grado de gravedad; y se preguntan por qué se forma este patrón tipo-máximo y por qué en las diabetes clínicamente más severas, hay una regresión de la pendiente; encuentran una asociación significativa entre la agregación de los eritrocitos y el nivel de la glucemia; y entre la agregación eritrocitaria y la proporción albumina/fibrinógeno. El signo de estas dos correlaciones es opuesto, un incremento del nivel de la glucemia se correlaciona con un incremento en la agregación de los eritrocitos, mientras que una disminución (por bajo de los valores normales) de albumina/fibrinógeno conduce también a un incremento de la agregación de los eritrocitos.

Estos hallazgos no concuerdan con nuestros resultados, pues no hemos encontrado un incremento de la viscosidad sanguínea, y tampoco hemos encontrado que la viscosidad sanguínea se relacionase con la glucemia basal existente, ni con la duración de la enfermedad, edad, ni grado de obesidad de los enfermos, hechos ya señalados por SKOVORG (1974) (159) y SCHMID-SCHÖNBEIN y VOLGER (1976) (161).

RAND y colab. (1981) (144) encuentran un discreto incremento de la viscosidad total en los diabeticos; y -

lo que es más interesante, mayor incremento de la viscosidad en los eritrocitos lavados y suspendidos en "buffer"; y por tanto es un dato contradictorio a la hipótesis de que el incremento de la viscosidad era debido al incremento de las proteínas plasmáticas anormales.

Es interesante, la comunicación de ELDER y KENNEDY (1981) (162) que obtienen una elevada viscosidad del plasma en la Diabetes Mellitus, y no encuentran correlación entre la viscosidad y el grado de glicosilación no enzimática de las proteínas plasmáticas, después de incubar el plasma diabético durante 6 días con glucosa -- 26,3 mM. El nivel de proteínas glicosiladas no enzimáticamente se incrementó en un 40%, pero no se modificó la viscosidad del plasma.

SIRS y colab. (1981) (146) aun cuando encuentran incremento de la viscosidad del plasma, no pueden relacionarlo con su contenido en fibrinógeno. Cuando se practica una plasmaféresis se induce un descenso de la viscosidad total de la sangre en sujetos con enfermedad coronaria y periférica (KILPATRICK y colab.) (1979) (163) en un 83 y 30% respectivamente en la velocidad de cizallamiento más baja y en la más elevada; y un descenso de la viscosidad del plasma entre el 21 y 59% ; el fibrinógeno se reduce en un 59%; el Colesterol en un 66% y los triglicéridos en un 40%. Los triglicéridos vuelven rápidamente a la normalidad mientras todavía la viscosidad es-

tá reducida, lo cual sugiere que su papel en ella no es importante.

A la vista de nuestros resultados, podemos también confirmar que en los diabéticos tipo I la viscosidad -- sanguínea no está influenciada por los niveles plasmáticos de triglicéridos.

Aunque LEONHART y colab. (1977) (164) demuestran - que "in vitro" las lipoproteínas de muy baja densidad - (VLDL) y las lipoproteínas de baja densidad (LDL) pueden jugar un papel importante.

Un hecho interesante, en relación a este problema, es el trabajo de DODDS y colab. (1979) (165) que tratan a ocho pacientes con síndrome de RAYNAUD, con plasmaféresis una vez por semana; y tras cuatro semanas de tratamiento encuentran una significativa disminución de la viscosidad, hallando también que se mejora notablemente la deformabilidad de los eritrocitos; encontrando una - mejoría sintomática de su alteración circulatoria, y -- una mejoría objetiva tras medición con técnica Doppler. La plasmaféresis no indujo una disminución del fibrinógeno, y piensan que esta mejoría en la viscosidad y deformabilidad del eritrocito y su repercusión circulatoria sean debidas a la retirada por la plasmaféresis de algún factor anormal.

La no alteración de la viscosidad sanguínea en nuestros pacientes diabéticos y la disminución de la filtrabilidad sanguínea no guardan relación alguna; son parámetros independientes.

En primera instancia porque la filtración sanguínea, es una medida global de un grupo de factores heterogeneos (eritrocitos --viejos y jóvenes-- agregación de eritrocitos, número de leucocitos, de plaquetas, hematocrito, y demás componentes del plasma); y aunque en la viscosidad total de la sangre influyen los mismos factores, pero no en el mismo grado de efectividad (no es lo mismo el paso de células por un poro, que la resistencia a la cizalladura). Esto revela la existencia de una anomalía sanguínea en el diabético, una más dentro del complejo metabólico bioquímico, que se produce en esta situación, pero no parece guardar ninguna proporcionalidad, sino que estas técnicas sirven para ponerla en evidencia. Además, - ni una ni otra determinación, corren parejas con la profundidad del trastorno metabólico ni con la duración del mismo.

La influencia de la deformabilidad de los eritrocitos normales humanos sobre la viscosidad de la sangre ha sido muy bien estudiado por SCHMID-SCHÖNBEIN y colab. --/ (1969) (166) bajo diferentes condiciones experimentales: viscosimetría de eritrocitos concentrados por centrifugación; filtración de eritrocitos en suspensión a través de

filtros Millipore de 5 micras y otros filtros, viscosidad de eritrocitos endurecidos, y estudio microscópico y fotomicrográfico de los eritrocitos, sometidos a la acción de un viscosímetro cono-plato transparente ("reoscopio"). Comprueban que en presencia de eritrocitos altamente deformables, la sangre muestra una comparativa baja viscosidad a elevadas velocidades de cizallamiento. A velocidades de cizallamiento de 50 sg^{-1} , donde las células son disgregadas en células individuales, no son deformadas y se observa un movimiento de rotación, del eritrocito, como la cinta de tracción de un tanque. La deformación rotacional de los eritrocitos, reduce ampliamente la viscosidad de la sangre por varios mecanismos, y el más importante es probablemente la participación del contenido celular en la corriente, y la consecuente reducción de la disipación de la energía friccional entre los planos laminares de cizallamiento; otro factor, es que los eritrocitos sitúan su eje mayor, paralelamente a la dirección de la corriente, y como todas las células adoptan una transición semejante se reduce la incidencia de colisiones, y si se producen, el impacto es mínimo.

La sangre presenta una característica reológica y es una inusual baja viscosidad a elevadas velocidades de cizallamiento y a hematocrito por encima del 35%; es curioso que suspensiones concentradas de partículas sólidas no biológicas, o incluso de suspensiones de gotas

de semejantes dimensiones, son más viscosas que la sangre en varios puntos de magnitud (GOLDSMITH) (1968) --/ (167).

Por tanto, la viscosidad de la sangre, líquido no--newtoniano, está basada en diferentes mecanismos. La baja viscosidad a velocidades de cizallamiento altas, es una consecuencia de la deformabilidad de los eritrociti--tos, rotación de la membrana y fluidez celular. Cuando -esta fluidez está reducida o abolida, la viscosidad de la sangre a elevadas velocidades de cizallamiento y hema--tocríto normal, está marcadamente elevada.

Cuando se disminuye la velocidad de cizallamiento, tiene lugar una menor deformación del eritrocito y a velocidades de cizallamiento por debajo de 50 sg^{-1} , los --eritrocitos se acumulan en "pilas de monedas" con una mayor reducción de la cuantía de cizallamiento, estos "rou--leaux" forman una estructura secundaria que incrementa -en gran medida la viscosidad de la sangre cerca del esta--sis, y es también la responsable del umbral de fluencia de la sangre.

III - LIPIDOS

El Colesterol del suero, tanto libre como esterifi--cado, se distribuye igualmente en las lipoproteínas, así en las HDL entre el 20-45%, en las LDL en el 50-70% y en las VLDL tan sólo en 5-10%.

Las alteraciones en los lípidos plasmáticos detectadas en nuestros pacientes diabéticos son: elevados niveles de triglicéridos, normales niveles de HDL_c y LDL_c y disminuidos niveles de Colesterol Total.

Este perfil lipídico podría, quizás, explicar la no alteración de la viscosidad sanguínea a altas velocidades de deformación, que hemos apreciado en dicho grupo.

El Colesterol y fosfolípidos del plasma interactúan fuertemente con los eritrocitos y las plaquetas, pues no contienen el aparato enzimático necesario para la síntesis o esterificación del colesterol o síntesis de los fosfolípidos. La esfingomielina y lecitina, que forman más del 90% de los fosfolípidos, se intercambian lentamente con sus contrapartidas en la membrana del eritrocito; de ahí que la composición de los fosfolípidos y ácidos grasos de los eritrocitos tiende a ser semejante a la del plasma.

Los trabajos de COOPER (1977) (168), (1978) (169) y (1968) (170), señalan que en el movimiento del Colesterol entre las lipoproteínas plasmáticas y membranas eritrocitarias están involucrados dos tipos de intercambios difusivos:

1º) Intercambio de simple equilibrio, en el cual una molécula de Colesterol de la membrana entra en el el

plasma y una molécula de Colesterol del plasma, entra en la membrana. Este proceso tiene una duración de dos horas.

2º) Este tipo de intercambio de Colesterol, involucra una participación del Colesterol con el "pool" intercambiabile, esto es, la proporción de Colesterol en las lipoproteínas y en las membranas. El Colesterol no es soluble en agua y no forma micelas o liposomas, en las lipoproteínas y membranas, está solubilizado por los lípidos polares, tales como los fosfolípidos. Entonces la participación del Colesterol entre membrana y las lipoproteínas, está determinada por la cantidad relativa de Colesterol a la de los fosfolípidos (proporción molar Colesterol/fosfolípidos) dentro de cada compartimento. El tiempo medio de partición es entre 8 y 10 horas (mucho más largo que el intercambio-equilibrio antes citado).

En los eritrocitos, el 98% del Colesterol no está esterificado y se localiza exclusivamente en la membrana. (el eritrocito viejo contiene menos colesterol que el joven y también de fosfolípidos, su relación molar no se modifica).

Una característica notable, es la capacidad de intercambio de Colesterol entre el plasma y el eritrocito, y aunque su cuantía varía en diferentes experiencias, el

tiempo medio de equilibrio es de dos horas. En el hombre el Colesterol eritrocitario se puede intercambiar "in vitro" con el Colesterol de las HDL y LDL; en el caso del Colesterol de las LDL puede unirse hidrofóticamente a la membrana y este intercambio es independiente de la temperatura. Es interesante consignar que cuando los eritrocitos humanos son depleccionados de Colesterol por incubación y luego puestos en contacto con Colesterol C^{14} , los eritrocitos no se rellenan pero se puede apreciar algún intercambio. Sin embargo, si las lipoproteinas son desprovistas de Colesterol y se pone en presencia de eritrocitos, las lipoproteinas se rellenan a expensas del colesterol de los eritrocitos. En cuanto al Colesterol de las HDL, también se ha comunicado que existe algún intercambio con los eritrocitos.

La adición de colesterol a los fosfolípidos incrementa la fluidez de los lípidos de la membrana. Esta a su vez también está influenciada por el número de enlaces dobles insaturados dentro de las cadenas acyl de los fosfolípidos; cuanto más tienen, la fluidez es mayor.

La dinámica de los lípidos de la membrana, varía en zonas especializadas (por ejemplo se sabe que quizás complejos lípido-proteico o de lípidos anulares, rodean enzimas y receptores). Aun incluso en cada parte de la bicapa lipídica, aislada del eritrocito y reconstruida, se encuentra que aniones anfipáticos pueden ejercer un

efecto diferente dentro de la membrana por localizarse en la capa interna que cuando se localizan en la capa externa.

Debemos añadir, que la relación entre el Colesterol del plasma y los eritrocitos puede ser anormal en condiciones patológicas. Hemos comentado que en un amplio margen de niveles de Colesterol sérico normales, la incubación de eritrocitos en ellos, no produce cambios en el colesterol de los mismos; pero si los eritrocitos están sobrecargados de Colesterol, pueden transferir su exceso al plasma; así cuando eritrocitos normales depleccionados de Colesterol por previa incubación, son introducidos e incubados en suero normal, la pérdida de Colesterol se acompaña de una reducción del área superficial de los eritrocitos. Pero en plasma -- que contiene exceso de Colesterol, laxamente unido a las lipoproteínas o en presencia de plasma con exceso de sales biliares que inhiben la lecitin-Colesterol acyltransferasa (LCAT) (por ejemplo ictericia obstructiva), el Colesterol es arrastrado al interior de los eritrocitos con incremento de su área superficial y -- aparecen células con espolones ("spur"), como en las afecciones hepáticas; también aparecen en la deficiencia congénita de LCAT, en cuya circunstancia existe -- una disminución marcada de LCAT, y con ella una ausencia o decremento de ester de colesterol en el plasma, lipemia, elevación de la cantidad de colesterol total

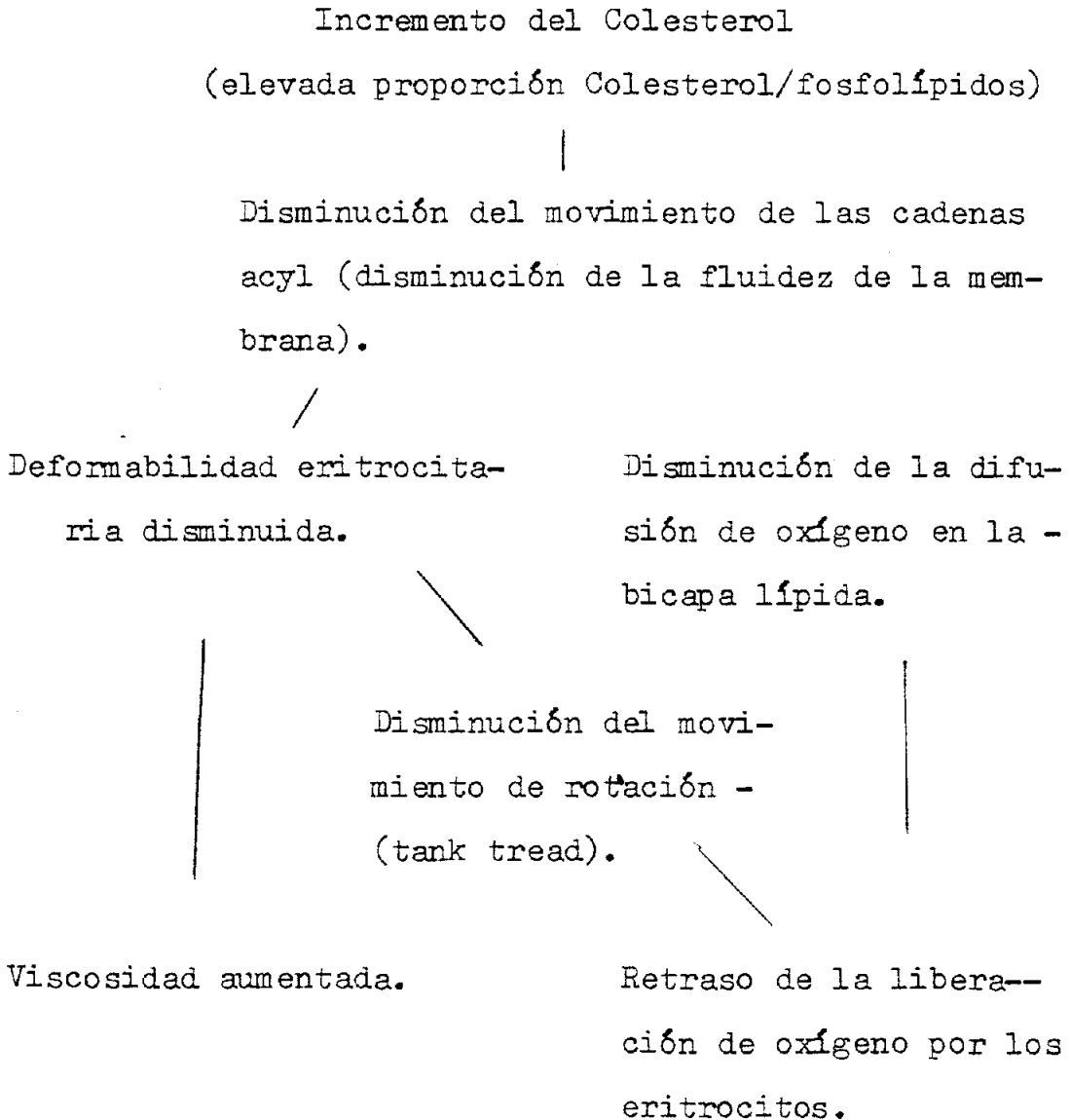
y un aumento relativo de lecitina y descenso de la liso lecitina en el plasma.

Con estudios de difracción de rayos X de la bicapa lipídica extraída de los eritrocitos, se ha sugerido, - que el Colesterol está situado en dicha capa con parte de su núcleo esteroide entre las terminaciones polares de los lípidos, y el resto, localizado en la región hidrofóbica de la cola; más tarde, se ha incorporado la - noción, de que el Colesterol está en racimos, dentro de la bicapa lipídica y separado de las proteínas. La cola hidrocarbonada que es líquida a 37° C, implica la presencia de un "continuum" liquido en el interior de la membrana, y que la presencia del Colesterol podría restringir estas areas fluidas.

SHIGA y MAEDA (1980) (171) y (1982) (172) en estudios "in vitro" con eritrocitos humanos, modifican el - contenido de la membrana sin alterar la forma, ni el volúmen, ni modificando el H^+ intracelular, ni el 2.3 DPG ni el adenilato, ni alterar el contenido de fosfolípidos, y encuentran, que los eritrocitos cargados de Colesterol, presentan las siguientes alteraciones funcionales:

- a) Disminución de la deformabilidad.
- b) Discreto aumento de la viscosidad, medido con un viscosimetro cono-plato, y
- c) Retrasada liberación de oxígeno de los eritrocitos.

Y estos cambios funcionales de la membrana del eritrocito, inducidos por el Colesterol, pueden interactuar así:



I.- El incremento del Colesterol de la membrana, disminuye el movimiento de las cadenas acyl de los fosfolípidos; y esto es más intenso en ciertas regiones, probablemente por el incremento de interacciones hidrofóbicas entre las cadenas acyl y el esqueleto del colesterol

(STOCKTON y SMITH) (1976) (173); y consecuentemente la fluidez de la membrana disminuye (OLDFIELD y colab.) - (1978) (174).

II.- La disminuida deformabilidad encontrada debe ser explicada por la disminuida fluidez de la membrana, lo que también ocasiona una disminución del movimiento rotacional, ya que la forma del eritrocito y su viscosidad intracelular están inalteradas.

III.- Encuentran una elevación de la viscosidad a elevadas velocidades de cizallamiento.

IV.- También un enlentecimiento de la liberación de oxígeno que se correlaciona con la disminución de la fluidez de la membrana; y además, el coeficiente de difusión del oxígeno se reduce, a medida que se incrementa la fracción de Colesterol (FISCHKOFFS y VANDERKOOI) (1975) (175); (NICHOLSON y ROUGHTON) (1951) (176).

En resumen, el incremento del Colesterol de la membrana induce un descenso en la deformabilidad (aproximadamente un 10%), un discreto aumento de la viscosidad, un retraso de la liberación de oxígeno (aproximadamente del 10%).

Los datos de nuestro estudio, no coinciden con lo anteriormente expuesto, porque tal vez, en el presente

trabajo "in vivo", no están tan alterados los niveles de Colesterol membranario.

CONCLUSIONES.

1) Los pacientes con Diabetes Mellitus -- Tipo I, objeto de este trabajo, presentaban como grupo una edad similar, al grupo de normales con el cual se les comparó; si bien presentaban una obesidad en el --/ 31,4% de ellos.

2) Estos pacientes que se trataban ambulatoriamente, no presentaban un buen control de su Diabetes Mellitus; sólo el 20% presentaba unos valores de glucemia basal y media de las glucemias basales inferiores a 150 mg/dl.

3) La filtrabilidad sanguínea de los pacientes diabéticos tipo I era inferior a la que se pudo detectar en nuestro grupo de sujetos normales. Así el tiempo de filtración fue en los diabéticos de $27,5 \pm 7,2$ sg. y en los normales de $19 \pm 2,4$ sg.; el Débito de Filtración Sanguínea (DFS) $39,4 \pm 10,1 \mu\text{l}/\text{sg}$ y $53,8 \pm 7,2 \mu\text{l}/$

sg. respectivamente; y el Débito de Filtración Sanguínea corregido (DFS_c) $17,4 \pm 4,4$ U.I. en diabéticos y $22,6 \pm 2,8$ U.I. en los sujetos normales.

4) La viscosidad sanguínea es similar y sin diferencia estadísticamente significativa, entre los pacientes diabéticos y los sujetos normales. La viscosidad sanguínea obtenida a diferentes velocidades de deformación ($\eta_{45}, \eta_{90}, \eta_{225}, \eta_{450}$) en los diabéticos era: $5,8 \pm 0,9$; $5,2 \pm 0,6$; $4,4 \pm 0,4$ y $4,0 \pm 0,4$ cps y en los normales $5,9 \pm 1$; $5,1 \pm 0,8$; $4,4 \pm 0,6$ y $4,0 \pm 0,4$ cps. La viscosidad de Casson (η_c) tampoco era estadísticamente diferente entre ambos grupos: $3,21 \pm 0,28$ cps en sujetos normales y $3,28 \pm 0,43$ cps en los pacientes diabéticos.

5) El patrón lipídico de nuestros pacientes diabéticos mostraba un Colesterol total inferior ($172,2 \pm 45,3$ mg/dl) al grupo de normales ($199,9 \pm 33,3$ mg/dl). Por el contrario los niveles de triglicéridos eran más elevados en este grupo ($132,2 \pm 71,7$ mg/dl) que en los sujetos normales ($93,6 \pm 54,4$ mg/dl).

No existía diferencia entre ambos grupos en el Colesterol de las lipoproteínas de alta (HDL_c) y baja densidad (LDL_c).

6) El análisis de las correlaciones entre todas las variables estudiadas, solo mostraba una corre-

lación entre el hematocrito y la filtrabilidad sanguínea por un lado, y el valor hematocrito y viscosidad de Casson por otro, sobre todo en los sujetos normales.

En los pacientes diabéticos el tiempo de filtración y el débito de filtración sanguínea corregido se correlaciona con los niveles de Colesterol total.

8) Así pues, la filtrabilidad y viscosidad sanguíneas en los sujetos normales se van a ver influenciadas por el valor hematocrito.

9) En la filtrabilidad sanguínea de los pacientes diabéticos, los niveles de Colesterol total -- juegan un mayor papel que el valor hematocrito; no influyendo para nada en la viscosidad sanguínea de estos.

10) Todas estas alteraciones detectadas -- son independientes del grado de control y duración de la Diabetes Mellitus.

RESUMEN.

En la fisiopatología de las complicaciones de la --
Diabetes Mellitus se han visto involucrados varios fac-
tores. Desde hace varios años se está investigando sobre
las alteraciones del flujo sanguíneo, que ocurren en los
diabéticos; siendo la hemorreología la ciencia que se en
carga de estudiar dichos fenómenos.

Desde un punto de vista hemorreológico se han des--
crito varios hechos relacionados con la Diabetes Melli--
tus: alteraciones de la viscosidad plasmática y sangui--
nea, descenso de la deformabilidad eritrocitaria, entre
otros.

Dado que todavía, no están bien asentados estos --/
hallazgos ni sus causas; es la razón que nos llevó a --
plantearnos el estudio de las posibles interrrrelaciones
entre las alteraciones del patrón lipídico y las posi--
bles alteraciones de la homeostasis hemorreológica.

Para ello, hemos estudiado un grupo de 31 pacientes

afectos de Diabetes Mellitus Tipo I y un grupo de 25 su jetos normales. A todos ellos se les estudió la viscosidad sanguínea, la filtrabilidad sanguínea, y el patrón - plasmático lipídico.

En el estudio de la viscosidad sanguínea; se valora ron la viscosidad sanguínea a diferentes velocidades de deformación (45, 90, 225 y 450 sg^{-1}) y la viscosidad de Casson. En el estudio de la filtrabilidad sanguínea, se midió el tiempo de filtración y a partir de este se calcularon el débito de filtración sanguínea y el débito de filtración sanguíneo corregido.

Para valorar el patrón plasmático lipídico se deter minaron los niveles de colesterol total, triglicéridos y el colesterol de las lipoproteínas de alta densidad (HDL_c) y baja densidad (LDL_c).

Los pacientes diabéticos presentaban una disminuida filtrabilidad sanguínea, puesta de manifiesto por un ma-- yor tiempo de filtración y menores débitos de filtración sanguíneos (DFS y DFS_c).

Esta disminución en la filtrabilidad sanguínea de - los pacientes diabéticos parece estar más influenciada - por los niveles de colesterol total que por el valor he- matocrito.

No influenciándose por los niveles de triglicéridos, HDL_c y LDL_c.

No se ha podido detectar alteraciones en los pacientes diabéticos en el estudio de viscosidad sanguínea. No influenciándose por los niveles plasmáticos de lípidos - ni por el valor hematocrito.

Todas estas alteraciones detectadas eran independientes del grado de control y duración de la Diabetes Mellitus.

BIBLIOGRAFIA.

- 1.- BANTING, F.G., BEST, C.H., COLLIP, J.B., CAMPBELL, W.R. y FLETCHER, A.A. "Pancreatic extracts in the treatment of diabetes mellitus". Canadian Med. Assoc. J. 12-141-146 (1922).
- 2.- RASKIN, P. "Diabetic Regulation and its Relationship to Microangiopathy". Metabolism. 27- 235-252 - (1978).
- 3.- DITZEL, J., WHITE, P. y DUCKERS, J. "Changes in -- the pattern of the smaller blood vessels in the bulbar conjunctiva in children of diabetic mothers. A preliminary report". Diabetes 3- 99-106 (1954).
- 4.- DITZEL, J. y MOINAT, P. "Changes in serum proteins, lipoproteins and protein-bound carbohydrates in relation to pathologic alterations in the microcirculation of diabetic subjects". J. Lab. Clin. Med. 54- 843-859 (1959).

- 5.- DITZEL, J., BEAVEN, D.W. y RENOLD, A.E. "Early vascular changes in diabetes mellitus". Metabolism 9-400-407 (1960).
- 6.- WEIL, A.J. "Das verhalten der kleinsten Gefasse beim Diabetes Mellitus". Klin. Wochenschr. 3- 2093-2094 (1924).
- 7.- NOORDEN, C. van e ISAAC, S. "Die Zuckerkrankheit -- und ihre Behandlung". Berlin-Springer (1927) pag. - 279.
- 8.- LANDAU, J. y DAVIS, E. "The small blood vessels of the conjunctiva and nailbed in diabetes mellitus". - Lancet 2- 731-734 (1960).
- 9.- CHAZAN, B.I., BALODIMOS, M.C., LAVINE, R.L. y KONCZ L. "Capillaries of the nailfold of the toe in diabetes mellitus". Microvas. Res. 2- 504-507 (1970).
- 10.- HAGENDALE, E., STEEN, B., y SVANBORG, A. "Blood flow subcutaneous fat tissue in patients with diabetes - mellitus". Acta Med. Scand. 187- 49-53 (1970).
- 11.- CHRISTENSEN, N.J. "A reversible vascular abnormality associated with diabetes ketosis". J. Endocrinol. 47-539-548 (1970).

- 12.- KOHNER, E.M., HAMILTON, A.M., SAUNDERS, S.J., SUTCLIFFE, B.A., BULPITT, C.J. "The arterial blood flow in diabetes". *Diabetologia* 11- 27-33 (1975).
- 13.- MELIN, H. "An atrophic circumscribed skin lesion in the lower extremities diabetics". *Acta Med. --/ Scand.* (Suppl). 423-9-73 (1964).
- 14.- SIPERSTEIN, M.J., UNGER, R.H. y MADISON, L.L. "Studies of muscle capillary basement membranes in normal subjects, diabetic and prediabetic patients". *J. Clin. Investig.* 47- 1973-1999 (1968).
- 15.- WARREN, S., Le COMPTE, P.M., LEGG, M.A. "The Pathology of Diabetes Mellitus". Lea and Febiger. Philadelphia.(1966)pag. 231.
- 16.- BLOODWORTH, J.M.B. jr., ENGERMAN, R.L. y POWERS, K. L. "Experimental diabetic microangiopathy. I. Basement membrane statistics in the dog". *Diabetes* 18- 455-458 (1969).
- 17.- LAZAROW, A. y SPIEDEL, E. "The chemical composition of the glomerular basement membrane and its relationship to the production of diabetic complications". En "Small Blood vessel involvement in Diabetes Mellitus". Ed. Siperstein M.D., Colwell, A.R. y Meyer, K. pag. 127. Washington D.C. American Institute of Biological Sciences (1964).

- 18.- VRACKO, R. "Skeletal muscle capillaries in diabetics. A quantitative analysis". *Circulation*. 41--271-283 (1970).
- 19.- BEISSWENGER, P.J. y SPIRO, R.G. "Human glomerular basement membrane. Chemical alteration in diabetes mellitus". *Science* 168- 596-598, (1970).
- 20.- SPIRO, R.G. y SPIRO, M.J. "Effect of diabetes on the biosynthesis of the renal glomerular basement membrane: Studies on the glucosyltransferase". *Diabetes* 20- 641-648 (1971).
- 21.- SPIRO, R.G. "Search for a biochemical basis of diabetic microangiopathy". *Diabetologia* 12- 1-14 (1976)
- 22.- KHALIFA, A. y COHEN, M.P. "Glomerular procollagen lysylhydroxylase activity in streptozotocin diabetes". *Biochim. Biophys. Acta* 386- 332-339 (1975).
- 23.- VEGA VAZQUEZ, J.M., MORALES, S., ARJONA RUEDA, I., HOLGADO SILVA, C. y AZNAR REIG, A. "Permeabilidad capilar en diabéticos insulín-dependientes". *Rev. Clínica Española* 152- 267-270 (1979).
- 24.- MILLER, B.F., KEYES, F.P. y CURRERI, P.W. "Increase of serum-glucoronidase activity in human diabetes mellitus". *J.A.M.A.* 195- 127-120 (1966).

- 25.- BELFIORI, F., NAPOLI, E. y Lo VECCHIO, L. "Serum N-acetyl-b-glucosaminidase activity in diabetic patients". Diabetes 21- 1168-1172, (1972).
- 26.- GABBAY, K.H. "The sorbitol pathway and the complications of diabetes". N. Engl. J. Med. 288- 831-836 (1973).
- 27.- WARD, J.D. "The polyol pathway in the neuropathy of early diabetes". En: "Vascular and Neurological Changes en early Diabetes" pag. 425. Ed. Camerini-Davalos R.A. y Cole H.S. Academic Press. New York,(1973.)
- 28.- GREENE, D.A., DE JESUS, P.U. y WINEGRAD, A.I. --/ "Effects of insulin and dietary myoinositol on impaired peripheral motor nerve conduction velocity in acute streptozotocin diabetes". J. Clin. Investig. 55- 1326-1336 (1975).
- 29.- ROTH, D.M., REIBEL, D.K., y LEFER, A.M. "Vascular Responsiveness and Eicosanoid Production in diabetic rats". Diabetologia 24-373-376 (1983).
- 30.- OWEN, M.P. y CARRIER, G.O. "Alteration in vascular smooth muscle sensitivity to vasoconstrictor agents by streptozotocin induced diabetes". Proc. West. - Pharmacol, Soc. 22- 363-366 (1979).

- 31.- CARO, C.G. "Arterial fluid mechanics and Atherosclerosis". *Clinical Hemorheology*. 2- 131-136 (1982)
- 32.- BENDITT, E.P. "El origen de la aterosclerosis". *Investigación y Ciencia (español)* nº 7- 56-67, - (1977).
- 33.- TAUBER, J.P., CHENG, J. y GOSPODAROWICZ, D. --/ "Effect of high and low density Lipoproteins on Proliferation of cultured Bovine Vascular Endothelial cells". *J. Clin. Invest.* 65- 606-708 (1980).
- 34.- GOLDSTEIN, J.L. y BROWN, M.S. "The low-density lipoprotein pathway and its relation to atherosclerosis". *Ann. Rev. Biochem.* 46- 897-930 (1977).
- 35.- SANTE, R.J., WILLIS, P.W. y FAJANS, S.S. "Atherosclerosis in diabetes mellitus correlations with serum lipids levels adiposity and serum insulin levels". *Arch. Intern. Med.* 130- 833-843 (1972).
- 36.- GARCIA, M.J., McNAMARA, P.M., GORDON, T. y KANNELL W.B. "Morbidity and mortality in diabetes in the Framingham population. Sixteen year follow-up study". *Diabetes* 23- 105-111 (1974).
- 37.- CHANCE, G.W., ALBUTT, E.C., EDKINS, S.M. "Serum lipids and lipoproteins in untreated diabetic chil

- dren". Lancet 1- 1126-1128 (1969).
- 38.- BILLIMORIA, J.D., ISAACS, A.J. y MELKI, K.A. "A - lipid and lipoprotein profile of treated and un-- treated diabetics". Ann. Clin. Biochem. 13- 315-- 321, (1976).
- 39.- EISENBERG, S. "Lipoprotein Interconversion: The -- origin and intravascular metabolism of high densi- ty lipoproteins". pag. 12-19. En: "Lipoproteins Me- tabolism and Therapy of Lipid Disorders". Intern. Symposium. Florence April 16-17, (1982) Ed. Crepal- di, G., Greten, H., Schetter, G. y Baggio, G. Ex-- cerpta Medica. Amsterdam, (1982).
- 40.- BREWER, H.B.jr., SCHAEFFER, E.J., GREGG, R.E., OS- BORNE, J.C. jr., y ZECH, L.A. "Human plasma lipo-- proteins". pag. 2-11. En: "Lipoprotein Metabolism and Therapy of Lipid Disorders". International Sym- posium, Florence 16-17 April, (1982) Ed. Crepaldi, G., Greten, H., Schettler, G. y Baggio, G. Excerpta Medica. Amsterdam (1982).
- 41.- GORDON, T., CASTELLI, W.P., HJORTLAND, M.C., KANNEL W.B., y DAWBER, T.R. "High density lipoproteins as a protective factor against coronary heart diseade": Framingham Study". Am. J. Med. 62- 707-714 (1977).

- 42.- OM F. GANDA. "Lipid disorders and diabetes". pag. 317-326. En: "Clinical Diabetes Mellitus". Ed. Kozak G.P. Saunders W.B. Co. Philadelphia (1982).
- 43.- GRIES, F.A. "Trastornos de lipoproteinas y diabetes mellitus". Diabetes News 1-2-5 (1983).
- 44.- HAYES, T.M. "Plasma lipoproteins in adult diabetes". Clin. Endocrinol 1- 247-251 (1972).
- 45.- BRUNZELL, J.D., HAZZARD, W.K., MOTULSKI, A.G. y BIERMAN, E.L. "Evidence for diabetes mellitus and genetic forms of hypertriglyceridemia as independent entities". Metabolism 24- 1115-1121 (1975).
- 46.- SAUDEK, C.D. y EDER, H.A. "Lipid Metabolism in Diabetes mellitus". Am. J. Med. 66- 843-852 (1979).
- 47.- BLIX, G. "Studies on diabetic lipemia". Acta Med. Scand 64- 142-146 (1926).
- 48.- STOUT, R.W. "Diabetes and atherosclerosis. The role of insulin". Diabetologia 16- 141-150 (1979).
- 49.- COLWELL, J.A., LOPEZ-VIRELLA, M. y HALUSHKA, P.V. "Pathogenesis of atherosclerosis in Diabetes Mellitus". Diabetes Care 4- 121-133 (1981).

- 50.- BIERMAN, E.L. "Atherosclerosis and lipoproteins in diabetes mellitus". En: "Diabetes" pags. 580-585. Ed. W.K. Waldhausl. Excerpta Medica. Amsterdam. -- (1979).
- 51.- NIKKILA, E.A. y HORMILLA, P. "Serum lipids and lipoproteins in insulin-treated diabetes". Diabetes 27- 1078-1084 (1978).
- 52.- EDER, H.A., FEDER, A. y GIDER, L.I. "Lipoproteins and lipoprotein subclasses in diabetes mellitus" - En: "Diabetes" pags. 600-604. Ed. W.K. Waldhausl. - Excerpta Medica. Amsterdam (1979).
- 53.- ASH, H.J. y SAILER, S. "Lipoprotein patterns diet, sulphonyl-urea and insulin treated diabetics". Diabetologia 20- 118-122 (1981).
- 54.- LOPEZ-VIRELLA, M. F., STONE, P.G., COLWELL, J.A. -- "Serum high density lipoprotein in diabetic patients" Diabetologia 13- 285-291 (1977).
- 55.- ELKELES, R.S., WU, J. y HAMBLEY, J. "Haemoglobin A_{1c} blood glucose, and high density lipoprotein cholesterol in insulin requiring diabetics". Lancet II- 547-548 (1978).
- 56.- CALVERT, E.D., GRAHAM, J.J., MANNIK, T., WISE, P.H.

- y YEATES, R.A. "Effects of therapy on plasma high-density lipoprotein cholesterol in diabetes mellitus". *Lancet* II- 66-68 (1978).
- 57.- DUNN, F., PIETRA, A. y RASKIN, P. "Plasma lipid -- and lipoprotein levels with continuous subcutaneous Insulin infusion in Type I Diabetes mellitus". *Ann. Intern. Med.* 95- 426-431 (1981).
- 58.- BLUM, C.B., LEVY, R.L., EISENBERG, S., HALL, M., - GOEBEL, R.H. y BERMAN, M. "High density lipoprotein metabolism in Man". *J. Clin. Invest.* 60- 795-807 - (1977).
- 59.- CARLSON, L.A., OLSSON, A.G. y BALLANTYNE, D. "On - the rise in low density and high density lipopro-- teins in response to the treatment og hypertriglyce ridemia in type IV and type hiperlipoproteinemia". *Atherosclerosis* 26- 603-609 (1977).
- 60.- BELFRAGE, P., BERG, B., HAGERSTRAND, I., NILSSON-ERI LE, P., TORNQVIST, H. y WIEBE, T. "Alterations of - lipid metabolism in healthy volunteers during long-term ethanol intake". *Eur. J. Clin. Invest.* 7- 127- 131 (1977).
- 61.- HENRIKSEN, T., EVENSEN, S.A. y CARLENDE, R.B. "Inju ry to human endothelial cells in culture induced by

- low density lipoproteins". Scand. J. Clin. Lab. Invest. 39- 361-368 (1979).
- 62.- HENRIKSEN, T., EVENSEN, S.A. y CARLENDER, R.B. "Injury to cultured endothelial cells induced by low density lipoproteins: protection by high density - lipoproteins". Scand. J. Clin. Lab. Invest. 39-369-375 (1979).
- 63.- MILLS, G.L. y TAYLAUR, C.E. "The distribution and - composition of serum lipoprotein in eighteen". Comp. Biochem. Physiol. B. Comp. Biochem. 40- 489-501 --/ (1971).
- 64.- TSANG, R.C., GLUECK, C.J., FALLAT, B. y MELLIES, M. "Neonatal Familial Hypercholesterolemia". Am. J. - Dis. Child. 129- 83-91 (1975).
- 65.- JOLY, M. "Relations entre l'hemorheologie et la -- rheologie fundamental". Proc. Iert. International - Conference on Hemorheologie. Reykjavic. Islandia -- (1966) pags. 41-53. Ed. A.L. Copley. Pergamon Press (1967) London.
- 66.- COPLEY, D.L. "Rheological problems in biology". Proc. International Congress on Rheology. Ed. J.M. Burgess North-Holland Publ. Co., Amsterdam (1979).

- 67.- FAHREUS, R. y LINQVIST, R. "Viscosity of blood in narrow capillary tubes". Am. J. Physiol. 96- 562 (1931).
- 68.- DORMANDY, J.A. "Measurement of whole-blood viscosity". En: "Clinical aspects of Blood Viscosity and Cell Deformability". Ed. G.D.O. Lowe, J.C. Barbender y C.D. Forbes. pag. 67-77. Springer-Verlag. -- Berlin, (1981).
- 69.- HESS, W. "Gehort das Blut dem allgemeinen strömungsgesetz der Flüssigkeiten?. Arch. Ges. Physiol. 162-187 (1915).
- 70.- SCHMID-SCHÖNBEIN, H. "Interaction of vasomotion and Blood Rheology in Haemodynamics". pag. 49. En: "Clinical Aspects of Blood Viscosity and Cell Deformability". Ed. G.D.O. Lowe, J.C. Barbender, J.C. y C.P. Forbes. Springer-Verlag. Berlin. (1981).
- 71.- KURLAND, G.S., CHARM, S.E., BROWN, S. y TOUSIGNANT, P. "Comparison of blood flow in a living vessel and in glass tubes". En: Hemorheology". Ed. A.L. Copley pag. 600-615. Pergamon Press. Oxford (1968).
- 72.- MEISELMAN, H.J., FRASHER, W.G. jr., y WAYLAND, H. - "In vivo rheology of the dog blood after infusions of low molecular weight dextran or saline" Microvas. Res. 4- 399-412 (1972).

- 73.- LIPOWSKI, H.H. y ZWEIFACH, B.W. "Network analysis of microcirculation of cat mesentery". *Microvasc. Res.* 7- 73-83 (1974).
- 74.- LA CELLE, P.I. "Pathology erythrocytes in capillary microcirculation". *Blood Cells.* I- 269-284 (1975).
- 75.- COKELET, G.R. "Rheology and Hemodinamics". *Ann. Rev. Physiol.* 42- 311-324 (1980).
- 76.- LESSIN, L., KLUG, P.P. y JENSEN, W.N. "Clinical Implications of Red Cell Shape". *Adv. in Internal Medicine.* 21- 451-496 (1976).
- 77.- SKALAK, R., TOZERREN, A., ZARDA, R.P. y CHIEN, S.- "Strain energy function of red blood cell membranes". *Biophys J.* 13- 245-264 (1973).
- 78.- KIESEWETTER, H., SCHMID-SCHÖNBEIN, H., SEIFFGE, D. y TEITEL, P. "Problems of Measurement of Red Cell Deformability". Pag. 3. En: "Clinical Aspects of Blood -- Viscosity and Cell Deformability". Ed. G.D.O. Lowe, J.C. Barbenel y C.D. Forbes. Springer-Verlag. Berlin. (1981).
- 79.- TEXON, M. "Hemodynamics basis of atherosclerosis". - Mc. Graw-Hill. New York (1980).

- 80.- BORN, G.V.R. "Fluid-mechanican and biochemical in-
teractions in hemostasis". Brit. Med. Bull. 33--
193-197 (1977).
- 81.- WAUTIER, J.L., COLIN PATON, R., WAUTIER, R.M.P., -
PINTIGNY, D., ABADIE, E., PASSA, PH. y CAEN, J.P.
"Increased adhesion of Erythrocytes to Endothelial
cells in Diabetes Mellitus and its Relation to vas-
cular Complications". New. Engl. J. Med. 305- 237-
242 (1981).
- 82.- BRANEMARK, P.I. "Intravascular anatomy of blood cells
in man". Karger-Basel. New York (1971).
- 83.- LEEUWENHOECK, A. En: "Microcirculation. Benchmark -
Papers in Human Physiology". Pag. 35. Ed. M.P. Wie-
deman, Dowden, Hutchison and Ross, Inc. Stroudsburg.
(1974).
- 84.- KROGH, A. "The Anatomy and Physiology of Capilla--
ries". Yale University Press. New Haven (1929).
- 85.- BESSIS, M. "Living blood cells and their ultrastruc-
ture". Springer-Verlag Berlin. (1973).
- 86.- ROELOFSON, B. "The lipids of the red cell membrane
compositional, structural and functional aspects".
The Metabolism of red cell. Academic Press. New --
York, 216-221 (1978).

- 87.- Mc. MILLAN, D.E. "Insulin, Diabetes and the cell - Membrane: An hypothesis". *Diabetologia* 24- 308-310 (1983).
- 88.- GENNES, P.E. "The Physics of liquid crystals". Clarendon Press. Oxford (1974).
- 89.- TIEN, H.T. "Bilayer Lipid membranes: theory and practice". Marcel Dekker. New York (1974).
- 90.- SCHURCH, S., GERSON, D.F. y Mc. IVER, D.J.L. "Determination of cell/medium interfacial tensions from angles in aqueous polymer systems". *Biochim. Biophys. Acta.* 640- 557-571 (1981).
- 91.- PAINTER, R., SHEETZ, M. y SINGER, S.J. "Detection - and ultrastructural localization of human smooth muscle. Myosin-like molecules in human non-muscle cells by specific antibodies". *Proc. Natl. Acad. Sci.* 72- 1319-1330 (1975).
- 92.- TILNEY, G. y DEIMERS, P. "Actin in erythrocyte ghost and its association with spectrin; evidence for a nonfilamentous form of these two molecules in situ". *J. Cell. Biol.* 66- 508-520 (1975).
- 93.- KNAUFF, P.A. "Erythrocyte anion exchange and the Band 3 protein: Transport kinetics and molecular structure". Ed. F. Bronner y R.A. Kleinzelle. En: -

- "Currents topics in membrane and transport". Pags-249-363. Academic Press. New York (1979).
- 94.- CZECH, M.P., MASAGUE, J., PILCH, P.F., y CARTER--SU, C., "Structural features of the insulin effector system: relation to hexose transport activation" Ann. N.Y. Acad. Sci. 359- 282-291 (1980).
- 95.- FAIRBANKS, G., PATEL, V.P. y DINO, J.E. "Biochemie de la deformation ATP- dependante de la membrane - du globule rouge". En: "Symposium International Sur Le Filtrabilité et la Deformabilité Erythrocytaire" Pag. 47-48. Göteborg 11-12-13. (1980).
- 96.- HANEY, D.N. y BUNN, H.F. "Glycosilation of Hemoglobin in vitro: affinity labeling of hemoglobin by glucose-6-phosphate". Proc. Natl. Acad. Sci. 3-73 --/ (1978).
- 97.- TEGOS, G. y BEUTLER, E. "Red cell glycolitic intermediates in Diabetes Mellitus". J. Lab. Clin. Med. 96- 85-89 (1980).
- 98.- SIRS, J.A. "Erythrocyte Flexibility and Whole-blood viscosity". En: "Clinical Aspects of Blood viscosity cell deformability" Pags. 9-18. Ed. G.D.O. Lowe, J.C. Barbenel y C.D. Forbes. Springer-Verlag. Berlin (1981).

- 99.- CHIEN, S., USAMI, S. DALLENBACK, R.J. y GREGERSON, M. "Blood Viscosity". Science 157- 823-831 (1967).
- 100.- WHITEMORE, R.L. "Rheology of the circulation". Pergamon Press. Oxford (1968).
- 101.- BARBENEL, J.C. The Measurement of Red Blood Cell Deformability". En: "Clinical Aspects of Blood Viscosity and Cell Deformability". Ed. G.D.O. Lowe, J.C. - Barbenel y C.D. Forbes. Springer-Verlag. Berlin. -- (1981).
- 102.- DINTENFASS, L. "Internal viscosity of the red cell - problems associated with definition of plasma viscosity and effective volume of red cells in the blood viscosity equation". Biorheology. 12- 253-356 (1975).
- 103.- GOLDSMITH, H.L. The microrheology of red blood cell suspensions". J. Gen. Physiol. 52- 5-27 (1968).
- 104.- SCHMID-SCHONBEIN, H. y WELLS, L. "Fluid drop-like - transition of erythrocytes under shear". Science -- 165- 280-291 (1969).
- 105.- FISHER, T.M. y STOHR, M., SCHMID-SCHONBEIN, H. "Red blood cell (RBC) microrheology". En: Biorheology, - Anche E. Symposium. nº 82-74-38-45 (1978).

- 106.- GOLDSMITH, H.L. "Deformation of Human red cells in tube flow". *Biorheology* 7- 235-242 (1971).
- 107.- CHIEN, S. "Biophysical behaviour of red cells in suspension". En: "Red Blood Cells" II, pag. 103-133 Ed. D.M. Surgenor. Academic Press. New York (1975).
- 108.- SIRS, J.A. "Automatic recording of the rate of packing of erythrocytes in blood by a centrifuge". -- *Phys. Med. Biol.* 15- 9-14 (1970).
- 109.- KIESEWETTER, H., SCHMID-SCHONBEIN, H., SEIFFGE, D. y TEITEL, P. "Problems of Measurement of Red Cell - Deformability". Pag. 3. En: "Clinical Aspects of -- Blood Viscosity and Cell Deformability". Pags. 1-18. Ed. G.D.O. Lowe, J.C. Barbenel, y C.D. Forbes. --/ Springer-Verlag. Berlin. (1981).
- 110.- KIESEWETTER, H., MUSSLER, K., TEITEL, P., DAUER, V. SCHMID-SCHONBEIN, H. y SPOHR, R. "New Methods for - Red Cell Deformability Measurement". Pags. 19-26. - "Clinical Aspects of Blood Viscosity and Red Cell Deformability". Ed. G.D.O. Lowe, J.C. Barbenel y C.D. Forbes. Springer-Verlag. Berlin. (1981).
- 111.- DRUMMOND, M.M., LOVE, G.D.O., BELCH, J.J.F., BARBENEL, J.C. y FORBES, D.C. "An assessment of red cell deformability using a simple filtration method". --

- (En prensa). J. Clin. Pathol. cit. por Barbenel - (101).
- 112.- REID, H.L., BARNES, A., LOCK, P.J. y DORMANDY, T. L. "A simple method of measuring erythrocyte deformability". J. Clin. Pathol. 29- 855-858 (1976).
- 113.- CHIEN, S., LUSE, S.A. y BRYANT, C.A. "Haemolysis - during filtration through micropores. A scanning - electron microscope and haemorheologic correlation". Microvas. Res. 3- 183-202 (1971).
- 114.- LESSING, L.E., KURANTSIN-MILLS, J. y WEEM, S.H.B. "Deformability of normal and sickle erythrocyte in a pressure-flow filtration system". Blood Cells. 3- 241-262 (1977).
- 115.- GREGERSON, M.I., BRYANT, C.A., HAMMERLE, W.E., USAMI, S. y CHIEN, S. "Flow characteristics of human - erythrocytes through polycarbonate sieve". Science. 157- 825-827 (1967).
- 116.- TEITEL, P. "Basics principles of the "filtrability test" and analysis of erythrocyte flow behaviour". Blood Cells 3- 55-70 (1977).
- 117.- USAMI, S., CHIEN, S., GREGERSEN, M.I. "Viscosimetry behaviour of young and aged erythrocytes". En:

- "Hemorheology". Pags. 266-270. Ed. A.L. Copley. - Pergamon Press. Oxford (1971).
- 118.- TEITEL, P. y MUSSLER, K., "A new automatic instrument to investigate the rheological behaviour of red cells". Thromb. Haemost. 42- 105 (1979).
- 119.- TEITEL, P., MUSSLER, K., HOYNCK, V., NEUMANN, F.J. y RIEGER, H. "Automatized rheological measurement for the routine haematological laboratory, II A new instrument for screening of red cell rigidity". Microvas. Res. 17-174 (1979).
- 120.- EVANS, E.A. "New membrane concept applied to the analysis of shear and micropipette deformed red blood cells". Biophys. J. 13- 941-954 (1973).
- 121.- HOCHMUCH, R.M., WORTHY, P.R., SMITH, S. y EVANS, E. A. "Viscosity of red cell membrane". En: "Biorheology". Alchee Symposium nº 182-74-1-31. Ed. C.R. - Huang y A.L. Copley (1978).
- 122.- KATCHALSKY, A., KEDAMA, D., KLIBANSKY, C. y DE VRIES, A. "Rheological considerations of haemolyzing red blood cells". En: Flow properties of blood and other biological systems". pags. 155-169. Ed. A. L. Copley y S. Stainsby. Pergamon Press. Oxford. - (1960).

- 123.- FUNG, Y.C. y TONG, P. "Theory of sphering of red blood cells". Biophys. 58- 175-198 (1968).
- 124.- HOEBER, T.W. y HOCHMUTH, R.M., "Measurement of red blood cell modules of elasticity by in vitro and model cell experiments". Trans. ASME, Se D 92-604-625 (1970).
- 125.- BESSIS, M. y MOHANDAS, M. "Diffractometric method for measurement of celular deformability". Blood Cells 1- 307-327 (1975).
- 126.- ROSCHLAU, P., BERNT, E., GRUBER, W. "Enzymatische Bestimmung das Gesamtkolesterins in serum". Z. Klin. Chem. Klin. Biochem. 12. 403-408 (1974).
- 127.- WAHLEFELD, A.W. "Triglycerides determination after enzymatic hydrolisis. En: "Methods of enzymatic analysis". Ed. Bergmeyes H.V. Verlag Chemie -- Weinheim and Academic. Press. New York. 1831-1844 (1974).
- 128.- BERSTEIN, M., SCHOLNICK, H.R. and MORFIN, R. "Rapid Method for the isolation of lipoproteins from human serum by precipitation with polyanions". Journal of Lipid Research. 11- 583-595 (1970).
- 129.- FUNG, Y.C. "Theoretical considerations of the elas

ticity of red cells and small blood vessels". Fed. Proc. 25- 1761 (1966).

- 130.- AZNAR MARTIN, J.M., AZNAR MARTIN, A., CONSTANTINO BERMEJO, M. "Blood filterability in Diabetes Mellitus Type I: Influence of various factors". VII International Congress on Thrombosis (1982) (Abstract).
- 131.- JUHAN, I., VAGUE, P.G., BUONOCORE, M., MOULIN, J.O. JOUVE, R. y VIALETES, B. "Abnormalities of erythrocyte deformability and platelet aggregation in insulin-dependent diabetics corrected by insulin in vivo and in vitro". Landet 1- 535537 (1982).
- 132.- BRYZIEWSKA, M. y LEYKO, W. "Effect of insulin on human Erythrocyte membrane Fluidity in Diabetes Mellitus". Diabetologia 24- 311-312 (1983).
- 133.- LE DEVEHAT, C., LEMOINE, A., CIRETTE, B. y RAMET, M. "Red cell 2,3-diphosphoglycerate, adenosine triphosphate and filterability in diabetics with and without macroangiopathy". Clinical Hemorheology. 1- 299 (1981) (Abstract).
- 134.- WEED, R.I.P., LA CELLE, P.L., y MERRILL, E.W. "Metabolic dependence of red cell deformability". J. Clin. Invest. 48- 795-809 (1969).

- 135.- MEISELMAN, H.J., EVANS, E.A. y HOCHMUTH, R.M. --
 "Membrane mechanical properties of ATP-depleted human erythrocytes". Blood 52- 499-504 (1978).
- 136.- CLARK, M.R., MOHANDAS, N., FEO, C., JACOBS, M.S. y SHOHEET, S.B. "Separate Mechanism of deformability Loss in ATP-Depleted and Ca-loaded Erythrocytes". J. Clin. Invest. 67- 531-539 (1981).
- 137.- DIAMANTOPOULOS, E.J., RAPTIS, S., KARAIKOS, K., LIRAS, K. y MOULOPOULOS, S. "Whole filtration rate as a reflection of red cell deformability in diabetic microangiopathy". 2nd European Conference on Clinical Hemorheology. Clinical Hemorheology 1- 466 (1981) (Abstract).
- 138.- PAULSEN, E.P. y KOORY, M. "Hemoglobin A_{1c} levels in insulin-dependent and independent Diabetes Mellitus". Diabetes 55- 890-896 (1976).
- 139.- BOUDART, D., AZANNE, P., LEFEVRE, J. y LUCAS, J.C. "Is the increase in glycosylated Hemoglobin (HbA_{1c}) responsible for the Erythrocyte deformability decrease in diabetics?. Clinical Hemorheology 3- 37-44, - (1983).
- 140.- BIDEET, J.M., GILBERT, M., DASTOGUE, B. y MOINADES, S. "Red blood cell filterability hemoglobin A_{1c} y K₂ macroglobulin". 2nd European Conference on Clinical

Hemorheology. Clinical Hemorheology 1- 455 (1981)
(Abstract).

- 141.- DELOBEL, J., HERVE, M.A., IARU, T. y DUBREUIL, A.
"Filtrability in Diabetes Mellitus". 2nd European
Conference on Clinical Hemorheology. Clinical He-
morheology 1- 465 (1981) (Abstract).
- 142.- LA CELLE, P.L. "Behavior of abnormal erythrocytes
in capillaries". En: Erythrocyte Mechanics and ~~Blood~~
Blood Flow". pags. 195-209. Ed. C.R. Cokelet, H.J.
Meiselman y M. Debroocks. New York, Alan R. Liss
(1980).
- 143.- SEWCHAND, L.W., DIDDIE, K.R., y MEISELMAN, H.J. --
"Shear deformation of red cells from patients with
proliferative diabetic retinopathy". Microvas. Res.
17-6 150 (1979).
- 144.- RAND, P.W., NORTON, J.M., BAKER, N.D., RICHARDS, A.
L., LACOMBE, E.H. y PIRONE, L.A. "Effects of diabe
tes mellitus on red cells properties". Clinical --
Hemorheology 1- 373-384 (1981).
- 145.- STUART, J., KENNY, M.W., AUKLAND, A.J., NEUMANN, U.
SHAPIRO, L.M. y COVE, D.H. "Filtration of washet Ery
throcytes in atherosclerosis and diabetes mellitus".
Clinical Hemorheology 3- 23-30 (1983).

- 146.- SIRS, J.A., BORODA, C. y RAMPLING, M.W. "Rheological factors in Diabetes". 2nd European Conference on Clinical Hemorheology. Clinical Hemorheology 1- 585 - (1981) (Abstract).
- 147.- NORTON, J.M., BARKE, N.D. y RAND, P.W. "Effect of cell geometry internal viscosity and pH on erythrocyte filterability". Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 166-449-456 (1981).
- 148.- RAND, R.P. "Interacting phospholipid bilayers: Measured forces and induced structural changes". Ann. Rev. Biophys. Bioeng. 10- 277-314 (1981).
- 149.- BABA, Y., KAI, M., KAMADA, T. SETOYAMA, S. y OTSUJI, S. "Higher levels of erythrocyte membrane microviscosity in diabetes". Diabetes 28- 1138-1140 (1979).
- 150.- EVANS, E.A. y HOCHMUTH, R.M. "Mechanochemical properties of membranes". Curr. Top. Membranes Transport. 10- 1-64 (1978).
- 151.- DINTENFASS, L. "Blood microrheology, viscosity factors in blood flow, ischemic and thrombosis". Butterworth. London. (1971).
- 152.- DINTENFASS, L. "Rheology of blood in diagnostic and preventive medicine". Butterworth. London. (1976).

- 153.- DINTENFASS, L. y DAVIS, E. "Blood viscosity factors and capillary abnormalities in diabetes mellitus". Adv. Microcir. 7- 96-109 (1977).
- 154.- DINTENFASS, L. "Blood viscosity factor in severe nondiabetic and diabetic retinopathy". Biorheology 14- 151-157 (1977).
- 155.- DORMANDY, J.A. "Reduced red cell deformability". - Pags. 45-48. En: "Symposium on Recent Developments in Microcirculation Research". April (1981). Ed. E. Davis y G.A. Marcel. Excerpta Medica. Amsterdam - (1981).
- 156.- HAERINGEN, N.J., DOOSTERHUIS, J.A., TERPSTRA, J. y GLASIUS, E. "Erythrocyte aggregation in relation to diabetes retinopathy". Diabetologia 9- 2024 (1973).
- 157.- Mc. MILLAN, D.E., UTTERBACH, N.G., SPARK, L.L. y BRAMWELL, P.E. "Impaired erythrocyte doublet formation in diabetes" Diabetologia 21- 575-578 (1981).
- 158.- MARCEL, G.A. "Pharmacological improvement of altered red cell deformability". Pag. 4-14. En: Symposium on Recents Developments in Microcirculation - Research". April (1981). Ed. E. Davis y G.A. Marcel. Excerpta Medica. Amsterdam (1981).
- 159.- SKOVORG, F. "Blood viscosity in normal and diabe--

tics subjects: A clinical Hemorheological study".
Pag. 57. Copenhagen: FADL'S Forlag (1974).

- 160.- Mc. MILLAN, D.E. "Plasma protein changes, Blood - viscosity and diabetic microangiopathy". Diabetes 25 (Suppl). 858-864 (1976).
- 161.- SCHMID-SCHONBEIN, H. y VOLGER, E. "Red-cell aggregation and red cell deformability in diabetes. --/ Diabetes 25. 897-907 (1976).
- 162.- ELDER, E. y KENNEDY, L. "Plasma viscosity, glycosylated haemoglobin and non-enzymatically glycosyled proteins in diabetics". 2nd European Conference on Clinical Hemorheology. Clinical Hemorheology 1-47. (1981) (Abstract.).
- 163.- KILPATRICK, D., FLEMING, J., CLYNE, C. y THOMPSON, G.R. "Reduction of blood viscosity following plasma exchange". Atherosclerosis 32- 301-306 (1979).
- 164.- LEONHART, H., ARNTZ, H.R. y KLEMENTO, H. "Studies of plasma viscosity in primary hyperlipoproteinaemia". Atherosclerosis 28- 29-40 (1977).
- 165.- DODDS, A.J., O'REILLY, M.J.G., YATES, C.J.P., CATTON, L.T., FLUTE, P.T., DORMANDY, J.A. "Haemorheological response to plasma exchange in Raynaud's -- syndrome". Brit. Med. J. 11- 1186-1187 (1979).

- 166.- SCHMID-SCHONBEIN, H., WELLS, R. y GOLDSTONE, J. -
"Influence of deformability of human red cells upon blood viscosity". Circulation Res. 25- 131-143 (1969).
- 167.- GOLDSMITH, H.L. "Microrheology of red blood cell - suspensions". J. Gen. Physiol. 52-55 (1968).
- 168.- COOPER, R.A. "Abnormalities of cell-membrane fluidity in the pathogenesis of disease". N. Engl. J. Med. 297- 371-377 (1977).
- 169.- COOPER, R.A., LESLIE, M.H., FISCHKOFT, S., SHINITZKY, M. y SHATTIL, S.J. "Factors influencing the lipid composition and fluidity of red cell membrane in vitro: Production of red cells possessing more than two cholesterol for phospholipids". Biochemistry 17- 327-331 (1978).
- 170.- COOPER, R.A. y JANDLE, J.H. "Bile salts and cholesterol in the pathogenesis of target cells in obstructive jaundice". J. Clin. Invest. 47- 809-822 - (1968).
- 171.- SHIGA, T. y MAEDA, N. "Influence of membrane fluidity on Erythrocyte functions". Biorheology 17- -- 485-499 (1980).

- 172.- SHIGA, T., MAEDAN, SUDA, T., KON, K., SEKIYA, M. -
"Influences of cholesterol on red cell deformability". Clinical Hemorheology 2- 77-83 (1982).
- 173.- STOCKTON, G.W., SMITH, I.C.P. "A deuterium nuclear magnetic resonance study of the condensing effect of cholesterol on egg phosphatidylcholine bilayer - membrane I. Perdeuterated fatty acid probe". Chem. Phys. Lipids. 17- 251-263 (1976).
- 174.- OLDFIELD, E., MEADOWS, M., RICE, D. y JACOBS, R. -
"Spectroscopic studies of specifically deuterium labeled membrane system. Nuclear magnetic resonance investigation of the effect of cholesterol in model systems". Biochemistry 17- 2727-2740 (1978).
- 175.- FISCHKOFF, S., y VANDERKOOI, J.M. "Oxygen diffusion in biological and artificial membranes determined by fluorescent pyrene". J. Gen. Physiol. 65- 633-676 (1975).
- 176.- NICHOLSON, P. y ROUGHTON, F.J.W. "A theoretical study of the influence of diffusion and chemical reaction velocity on the rate of exchange of oxygen between the red cell blood corpuscle and surrounding fluid". Proc. Roy. Soc. B. 138- 241-264 (1951).