

R.6536

T 350

UNIVERSIDAD DE SEVILLA  
SECRETARIA GENERAL

Queda registrada esta Tesis Doctoral  
al folio 234 número 12 del libro  
correspondiente.

Sevilla, 22 ENE. 1988

El Jefe del Negociado de Tesis,

*F. Laffille*

FACULTAD DE FARMACIA

DISEÑO DE UN SISTEMA EXPERIMENTAL DE HEMOFILTRACION  
"IN VITRO". APLICACION AL ESTUDIO METODOLOGICO DE  
LA CINETICA DE EXCRECCION DE FARMACOS Y BIOMOLECULAS  
POR



*orténica*

Manuel Valera Mackay

UNIVERSIDAD DE SEVILLA  
Depositado en el Departamento Farmacia  
de la FACULTAD DE FARMACIA  
de esta Universidad desde el día - -88  
hasta el día 9-II-88  
Sevilla de  
EL DIRECTOR DE de 19

UNIVERSIDAD DE SEVILLA

1988

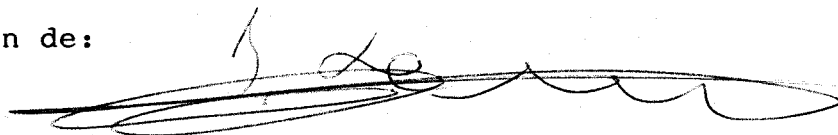
M E M O R I A

presentada en la Facultad de Farmacia de la Universidad de Sevilla, para aspirar al Grado de Doctor en Farmacia, por Manuel Valera/Mackay.



Fdo.: Manuel Valera Mac-kay

El presente trabajo ha sido realizado bajo la dirección de:



Dr. Joaquín Herrera Carranza  
Profesor Titular de Universidad  
Facultad de Farmacia  
Universidad de Sevilla

UNIVERSIDAD DE SEVILLA  
FACULTAD DE FARMACIA  
BIBLIOTECA

El presente trabajo ha sido realizado en los laboratorios del Departamento de Farmacia Galénica de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Sevilla, durante los cursos académicos 1985/86 y 1986/87.

Deseo expresar mi agradecimiento:

Al Prof. Claudio Faulí Trillo, por acogerme en el Departamento de Farmacia Galénica de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Sevilla del cual fue su Director.

Al Dr. Joaquín Herrera Carranza por su dirección y ayuda en el desarrollo de este trabajo.

A la Dra. Maria de los Angeles Guerrero Ris-  
cos, Nefróloga del Hospital Universitario de Sevilla,  
por el abundante material bibliográfico suministrado.

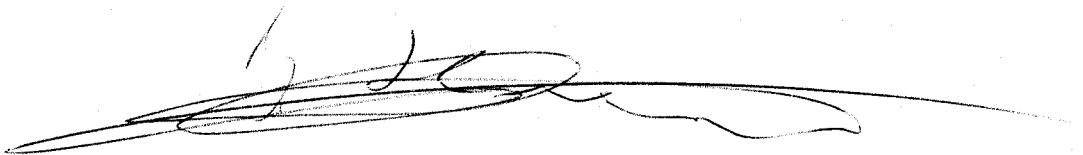
A todos los compañeros del Departamento.

A las casas comerciales GAMBRO y BEHRING que desinteresadamente han proporcionado numerosos materiales y reactivos para la realización de las pruebas experimentales.

JOAQUIN HERRERA CARRANZA, Profesor Titular de Universidad,

CERTIFICO: que la presente Memoria titulada "DISEÑO DE UN SISTEMA EXPERIMENTAL DE HEMOFILTRACION "IN VITRO". APLICACION AL ESTUDIO METODOLOGICO DE LA CINETICA DE EXCRECCION DE FARMACOS Y BIOMOLECULAS", que presenta el licenciado en Farmacia por la Universidad de Sevilla, MANUEL VALERA MACKAY, para aspirar al Grado de Doctor, ha sido realizado en el Departamento de Farmacia Galénica bajo mi dirección, reuniendo los requisitos necesarios para este tipo de trabajos.

Y para que conste, expido el presente certificado en la ciudad de Sevilla a diez y ocho de Enero de 1988.

A large, stylized handwritten signature in black ink, likely belonging to Joaquín Herrera Carranza, the author of the certificate. The signature is fluid and spans across the width of the page.

## S U M A R I O

- I. INTRODUCCION
- II. MATERIAL Y METODOS
- III. RESULTADOS
- IV. GRAFICAS Y TABLAS
- V. DISCUSION DE LOS RESULTADOS
- VI. CONCLUSIONES
- VII. BIBLIOGRAFIA

## INDICE

I.-	INTRODUCCION: .....	1
	- Estudios de los principios que intervienen en la HF .....	10
	- Estudio de los principios Físicos .....	11
	- Principios Físico-químicos .....	22
	- Eficiencia excretora de un hemofiltro. Parámetros para el control de la cinética de excrección .....	31
	- Objetivos del presente trabajo .....	38
II.-	MATERIAL Y METODOS: .....	41
	- Estudio del sistema de hemofiltración .....	43
	- Componentes del sistema y funcionamiento .....	43
	- Descripción del funcionamiento global del sistema .....	50
	- Metodología para la consecución de los objetivos del trabajo .....	54
	- Procedimiento del cebado del sistema ..	55
	- Calibrado de la bomba peristáltica ....	56
	- Medida de los volúmenes de cada componente del sistema .....	57
	- Técnica de dilución empleada en el sistema .....	57

- Metodías utilizadas para la obtención de los parámetros hemodinámicos y cinéticos de las soluciones que se han hemofiltrado .....	59
- Metodía para la obtención de los datos cinéticos de excrección.....	65
- Protocolo para la obtención de los datos de la tablas III a V del apartado de Resultados .....	68
- Cebado del sistema en la 1ª solución ensayada .....	69
- Protocolo para la obtención de las tomas de muestras expuestas en la Tabla V .....	70
- Protocolo para la obtención de los datos de la tablas VII a IX del apartado de Resultado .....	70
- Protocolos de las tomas de muestras para los datos hemodinámicos y cinéticos de la 2ª situación experimental .....	72
- Protocolo para la obtención de los da-	



tos expuestos en las tablas XII a XIV del apartado de Resultados .....	73
- Protocolo para la obtención de los da- tos de la IV y última situación experi- mental de hemofiltración, expuesta en la Tabla XVIII .....	74
- Reactivos y aparatos usados para prepa- rar las situaciones ensayadas en el sis- tema de hemofiltración y realizar los - métodos de cuantificación analíticos .....	76
III.- RESULTADOS: .....	86
- Descripción de las tablas y gráficas re- ferentes a la 1ª situación experimental.....	90
- Descripción de las tablas y gráficas re- ferentes a la 2ª situación experimental ....	95
- Descripción de las tablas y gráficas re- ferente a la 3ª situación experimental .....	104
- Descripción de las tablas y gráficas re- ferente a la 4ª situación experimental .....	105
IV.- GRAFICAS, FIGURAS Y TABLAS:.....	108
- Tablas I,II,II-a,II-b yIIc del apartado Material y <del>Métodos</del> .....	109

- Tablas III, IV, V y VI con los datos de la situación experimental primera .....	115
- Tablas VII, VIII, IX, X y XI con los datos de la situación experimental - segunda .....	121
- Tablas XII, XIII, XIV, XV y XVI con los datos de la situación experimen-- tal tercera .....	128
- Tabla XVIII, con los datos de la si-- tuación experimental cuarta .....	136
- Figuras y Gráficas .....	140
V.- DISCUSION DE LOS RESULTADOS .....	157
VI.- CONCLUSIONES .....	183
VII.- BIBLIOGRAFIA .....	187

## I. INTRODUCCION

## INTRODUCCION

La instauración de un cuadro de insuficiencia renal crónica (I R C) en el organismo humano, da lugar a una serie de desequilibrios fisiológicos de naturaleza muy variada y extensamente estudiados en nefrología.

Normalmente, estos desequilibrios se manifiestan por la acumulación de excesos de sustancias exógenas y endógenas en la sangre y por la formación de grandes edemas en los tejidos, llegándose a una serie de estados patológicos que deben ser convenientemente corregidos. Esto se realiza aplicando un conjunto de terapéuticas renales sustitutivas mediante la utilización de los órganos artificiales de excreción renal.

Haciendo una breve reseña histórica, sobre estos órganos, debe comenzarse por referir los trabajos realizados por el químico inglés Thomas Ghraam que, en 1.864, describió las propiedades separativas de las

membranas semipermeables sobre las soluciones de coloides y cristaloides (1). Años más tarde, en 1.912. J. Abel y Col construyeron lo que se puede considerar el primer riñón artificial de la historia de la Medicina. Este aparato, se trataba de un sencillo sistema formado por unos conductos de celofán por los que se perfundía la sangre urémica de un perro nefroctomizado lográndose depurarla (2).

Estas experiencias no suscitaron mayor interés hasta que el médico holandés Whilen J. Kolff, construyese un nuevo sistema renal con el que, en 1.943, se dializó al primer paciente humano de la historia (3).

A partir de esta fecha, se inició la auténtica trayectoria evolutiva de los sistemas renales artificiales, ideándose una serie de órganos artificiales, cada vez con mejores prestaciones para realizar estos tratamientos.

En la actualidad existen numerosos tipos de dializadores y hemofiltros, desde los llamados de bobina hasta los modernos sistemas de placas y de fibra hueca, cuya diferencia fundamental estriba en la forma de ubicar la membrana en su interior.

Desde que Kolff diseñó su primer riñón artificial hasta nuestros días las investigaciones sobre estos órganos han evolucionado intensamente, describiéndose nuevas técnicas y nuevos órganos de depuración renal, entre las que hay que destacar las de hemofiltración (H.F.), de gran interés y aplicación en el campo de la Nefrología actual e implantada junto con la hemodiálisis (H.D.), en el campo del tratamiento de la I.R.C., desde la década de los setenta (4, 5).

De forma general la H.F. se diferencia de la H.D. en dos aspectos fundamentales: el referente al tipo de membrana utilizada y el relativo al principio físico-químico que las rige.

Las membranas usadas en H.F. se caracterizan

por tener coeficientes de permeabilidad hidráulica y de transferencia de masa mayores que los de las utilizadas en H.D., por lo que en ellas los procesos ultrafiltrativos y convectivos son más intensos que los difusivos de la H.D. (6), sobre todo, para las llamadas "moléculas medias" (7), conocidas en Nefrología como aquellas que tienen P.M. comprendido entre 300 y 5.000 daltons.

Otro parámetro relacionado con el tipo de membrana es su "cutt off" o PMNL (Peso Molecular Nominal Límite) el cual alcanza valores superiores en las membranas de H.F. que en las de H.D., por lo que las toxinas urémicas de P.M. medio (moléculas medias) se depuran más intensamente en aquéllas que en éstas (8). No obstante, las utilizadas en H.D. ofrecen mejores aclaramientos para las pequeñas moléculas del tipo urea, creatinina o ácido úrico, que son depuradas intensamente por difusión.

En cuanto a los principios físico-químicos

ya se ha visto que la H.F. se rige por procesos convectivos, consecuentes a la ultrafiltración, y la H.D. por los de tipo difusivo, conducidos por un gradiente de concentraciones, rigiéndose por la primera ley de Fick para la transferencia de masa por difusión.

Por tanto, la H.F. puede definirse como un procedimiento de depuración extrarrenal que se basa en la utilización de ultrafiltración de alto caudal, a través de una membrana de elevada permeabilidad y alto coeficiente de transferencia de masa para solutos de alto peso molecular (9).

Ya se ha referido lo reciente de la historia de la H.F. puesto que, aunque la idea de la ultrafiltración se aplicó por primera vez en una serie de experimentos realizados para depurar la sangre de animales urémicos (10, 11) hasta 1.967 no se utiliza en el hombre, llegándose entre otras a la conclusión de que es la forma de depuración extrarrenal más parecida a la filtración glomerular renal humana (12).



Esta técnica ha recibido un gran impulso desde la década de los ochenta, pudiéndose comprobar, entre otras características, su capacidad para controlar los equilibrios hidroeelctricos, y permitiendo obtener una buena estabilidad cardiovascular en los enfermos tratados con ella (13).

Las características de las membranas deben ser tales que ofrezcan coeficientes de permeabilidad hidrúlica y retentividad molecular semejantes a las de la membrana basal del glomérulo humano (14), por lo que los ultrafiltrados obtenidos con ellas deben contener poco o ningún microsoluta del tipo de las proteínas humanas y, por supuesto, ningún elemento celular sanguíneo.

Los aclaramientos obtenidos en estas membranas, cuando los sistemas en que trabajan funcionan en condiciones normales, arrojan cifras análogas para moléculas de P.M. alto del tipo de la inulina (P.M. 5.200), que para las de bajo P.M. del tipo creatinina

(P.M. 113), lo mismo que ocurre con el riñón humano cuyo aclaramiento para estas moléculas es del orden de unos 100 ml/min (15).

La H.F., al extraer una cantidad determinada de agua plasmática del paciente urémico, debe reponerla mediante la infusión de un líquido de dilución con características definidas, con lo que se mantiene el volumen plasmático constante, simulándose un proceso análogo a la reabsorción tubular.

Los sistemas de H.F. están formados, además de por un hemofiltro por una serie de conductos (líneas arteriales y venosas), monitores (de presión, de flujo..., etc.), y recipientes, que les dan su operatividad y permiten entre otras funciones sacar y meter líquidos, volumétricamente controlados mediante oportunos balances de volumen.

La infusión de éstos puede hacerse según dos métodos básicos: el de pre-dilución caracterizado porque el líquido de dilución se introduce en el sistema

mezclándolo con la sangre antes de entrarla en el hemofiltro, diluyéndola y haciéndola más fluida, lo que facilita su perfusión, o el de postdilución, en que esta operación se realiza a la salida del mismo (16).

La aplicación de la H.F. en enfermos renales, que han sido sometidos a H.D., les evita sintomatologías colaterales adversas como las producidas por las neuropatías asociadas con la acumulación de excesos de moléculas medias, o la aparición de los llamados "calambres postdialíticos", que se dan al perseguir el "peso seco", o los cuadros de hipotensión (17).

Existen numerosos variantes de esta técnica depurativa, que van desde la H.F. propiamente dicha, hasta las técnicas de filtración del plasma humano (plasmaféresis). Entre ellas se citan: la H.D.F. (hemodiafiltración), en la que se da un proceso mixto de diálisis y hemofiltración, la CAVH (hemofiltración continua arteriovenosa), técnica cuya peculiaridad consiste en que el gradiente de presión hidráulica, nece-

saria para la ultrafiltración, es suministrado por el propio corazón, que a su vez bombea la sangre (18); la SCUF (ultrafiltración lenta continua) de aplicación a enfermos con sobrecargas hídricas (19), etc.

Para el diseño del aparato de HF de este trabajo se han elegido características operativas análogas a las que se usan en la técnica CAVH, ya que al ser éste un proceso de hemofiltración bajo presiones y condiciones suaves, permite controlar mejor los parámetros experimentales de hemofiltración. Y además, con ella se puede obtener información a cerca de la excrección de fármacos y biomoléculas, lo que constituye una potencial y amplia area de estudio, que hasta la fecha se ha desarrollado escasa e incompletamente (20, 21, 22).

#### Estudio de los principios que intervienen en la H.F.

Pueden establecerse en dos grandes grupos: uno relativo a los de naturaleza puramente física (reológicos, dinámicos, ... etc.), y otros de tipo físico-químico (transferencia de masas convectivas, difusivas ... etc.).

Estudio de los principios Físicos.

Se consideran aquí los de tipo reológicos y todos aquellos parámetros relacionados con ellos: viscosidades ( $\mu$ ), gradientes de velocidades de cizallamiento ( $\dot{\gamma}$ ), gradientes de las fuerzas de cizallamiento ( $\tau$ ), presiones actuantes en el sistema..., etc.

La reología de la sangre humana constituye un amplio campo de investigación, extensamente estudiado, existiendo numerosos trabajos sobre ella (23 - 25), donde se revelan sus características de fluidos no newtoniano semejante a los fluidos plásticos tipo Casson (26), y con características próximas a los tipo Bingham.

Los fluidos newtonianos, no elásticos, rigen su comportamiento frente a las fuerzas de cizallamiento por la ley de Newton para las viscosidades, lo que puede expresarse por:

$$\frac{F}{A} = \mu \cdot \frac{v}{h}; \text{ ecc. (1).}$$

o bien, de forma más general:

$$\tau = -\mu \frac{dv}{dy} = -\mu \cdot \gamma \quad ; \text{ecc. (2).}$$

$\tau$  es la fuerza de cizallamiento en dinas/cm<sup>2</sup> cuando trabajamos en el sistema C.G.S.,  $\gamma$ , es el gradiente de velocidad en la dirección YY', y se expresa en -seg<sup>-1</sup>, y  $\mu$  un coeficiente de proporcionalidad que representa la viscosidad cinemática del líquido o fluido.

Los fluidos, que no siguen esta ley, se llaman no newtonianos o plásticos, en ellos cuando cesan las fuerzas de cizallamiento, continúan los procesos de deformación. Para ellos, y más concretamente, para explicar el comportamiento de la reología de las tintas de imprenta, Casson desarrolló la siguiente ecuación:

$$\tau^{1/2} = \tau_0^{1/2} + S^{1/2} \quad ; \text{ecc. (3).}$$

Debe considerarse que la sangre tiene un comportamiento distinto, según sea la velocidad de flujo que se le imponga. A bajas velocidades, se comporta como un fluido plástico análogo al Casson (27), mientras que a las que normalmente discurren por los sis-

temas extrarrenales es de tipo newtoniano y la ecc. (3) se transforma en:

$$\zeta = S^2 \cdot \gamma ; \text{ ecc. (4).}$$

S es el parámetro de Casson que, elevado al cuadrado, equivale a la viscosidad de la sangre. Esta ecuación se cumple para gradientes de velocidades del orden de  $\gamma > 100 \text{ seg.}^{-1}$  (28) caso de la mayoría de los circuitos sanguíneos extracorpóreos. Por lo tanto, cuando la sangre se perfunde por estos órganos, se puede considerar de características newtonianas, lo que llevan consigo ventajosas simplificaciones a la hora de realizar cálculos y proyectar hipótesis.

Existen fórmulas empíricas para expresar el valor de la viscosidad de la sangre en función del hematocrito (H)(29), como la dada por:

$$\mu (H) = 1,2 + 3,173 (H - 0,1) - 1,8478 (H - 0,1)^2 + 15208 (H - 0,1)^3 ; \text{ ecc. (5).}$$

En ella H es el valor del hematocrito.

La viscosidad de la sangre está también muy

influenciada por el tamaño del diámetro de los capilares por los que se perfunde, si éstos disminuyen mucho también lo hace su viscosidad. Este fenómeno fue descrito por Fahraeus y Lindqvist (30), y se expresa mediante la ecuación:

$$\mu(r) = \frac{U(R)}{\left(1 + \frac{d}{r}\right)^2} ; \text{ ecc. (6)}$$

Donde  $r$  es el radio del capilar,  $d$  el diámetro medio de los hematíes y  $U(R)$  la viscosidad de la sangre en un tubo de radio  $R$ , tal que  $R \gg r$ ; cumpliéndose  $\mu(r) < \mu(R)$ .

Otro parámetro reológico de interés, que define las características de laminaridad del perfundido, es el número de Reynolds ( $Re$ ); este se trata de un número adimensional dado por la ecuación:

$$Re = \frac{\rho \cdot v \cdot d}{\mu} ; \text{ ecc. (7)}$$

En ella  $\rho$  y  $\mu$ , representan a la densidad y



la viscosidad respectivamente,  $d$  el diámetro del conducto y  $v$  a la velocidad media de perfusión.

Si los términos de la ecuación (7) se expresan en unidades coherentes, se obtiene un valor tal que si es inferior a 2.000 se dice que la reología del sistema es laminar.

La velocidad media a la que la sangre perfunde por los capilares de estos sistemas se calcula por la expresión (26), dada por:

$$\bar{v} = \frac{v_{BI}}{n \cdot \pi \cdot r^2} ; \quad \text{ecc. (8)}$$

Donde,  $v_{BI}$  es la velocidad o flujo a la entrada del hemofiltro,  $n$  el número de capilares y  $r$  su radio interno;  $n$  y  $r$  son datos suministrados por el fabricante especificados en la ficha técnica del hemofiltro.

Si  $v_{BI}$  se expresa en ml/seg. y  $r$  en cm., la velocidad media en los capilares ( $\bar{v}$ ) se obtiene en/

ml/seg.

Igualmente pueden establecerse fórmulas para cuantificar la velocidad de cizallamiento ( $\gamma_w$ ) y/ la fuerza de cizallamiento ( $\tau_w$ ) (26), según:

$$\gamma_w = \frac{4 \bar{v}}{r} = \frac{8 \cdot \bar{v}}{d} ; \text{ ecc. (9)}$$

$$\tau_w = \mu \cdot \gamma_w ; \text{ ecc. (10).}$$

r y d son el radio y el diámetro de los capilares respectivamente.

En el estudio de las presiones que actúan sobre el hemofiltro deben distinguirse dos tipos: las causadas por el rozamiento de la sangre al pasar por el hemofiltro, definidas como pérdidas de carga o caídas de presión por rozamientos, y las que directamente generan el proceso de ultrafiltración, llamadas presiones transmembrana (T.P.M.), que resultan de las sumas algebraicas de otras varias.

Las pérdidas de capa por rozamiento se calculan aplicando al hemofiltro la ley de Hegen Poiseuille (31) de finida por la ecuación (11):

$$AP_R = \frac{8 \mu \cdot L \cdot v_{BI}}{n \cdot \pi \cdot r^4} = \frac{128 \cdot \mu \cdot L \cdot v_{BI}}{n \cdot \pi \cdot d^4} ; \text{ecc. (11)}$$

Donde L es la longitud de las fibras capilares, normalmente expresada en centímetro; r y d son el radio y diámetro de los capilares,  $\mu$  la viscosidad de la sangre y  $v_{BI}$  la velocidad de perfundido a la entrada del hemofiltro. Esta ecuación, muestra una 'intima analogía en la ley de Ohm generalizada de la electrocinética, intuyéndose que  $AP_R$  es equivalente a la diferencia de potencial eléctrico (AV),  $v_{BI}$  a la intensidad de corriente y por tanto, la resistencia del hemofiltro debe ser la definida por:

$$R = \frac{8 L}{n r^4} ; \text{ecc. (12)}$$

Cuando los términos de la ecuación (11) se expresan en el sistema C.G.S. y  $\mu$  en poises, las pér-

didadas de carga por rozamiento se obtienen en dinas/cm<sup>2</sup> o bien, si este resultado se multiplica por el factor de conversión:  $f = 760 / 1,013 \cdot 10^6$ , su valor resulta en m.m. de Hg, que es como suelen cuantificarse estas presiones en la práctica.

La presión transmembrana (TPM) equivale a la suma algebraica de todas las que actúan sobre la membrana del sistema de HF (22), las cuales son:  $P_I$  (presión a la entrada del hemofiltro),  $P_O$  (presión a la salida del mismo),  $P_{onc}$ . (presión oncótica) generada por las proteínas sanguíneas y  $P_F$  (presiones en la cámara de ultrafiltración).

Si no existen fuerzas externas actuantes sobre el sistema debe cumplirse el principio de conservación de la energía, estableciéndose:

$$AP_I = AP_O + AP_R ; \text{ ecc. (14)}$$

Es decir, los incrementos de presiones a la entrada del hemofiltro deben ser igual a los de la salida más

las pérdidas de carga por rozamiento.

Haciendo un balance de presiones incluyendo la oncótica y las de la cámara de ultrafiltración, se puede escribir:

$$TPM = \frac{P_I + P_O}{2} - P_{onc} + P_F ; \text{ecc. (15)}$$

La presión oncótica ( $P_{onc}$ ), es una presión negativa, pues se opone al proceso de ultrafiltración y su valor para una solución protéica dada (33), en mm de Hg, se calcula mediante expresión:

$$P_{onc} = 2,1 \cdot C + 0,16 \cdot C^2 + 0,009 \cdot C^3 ; \text{ecc. (16)}$$

Donde C es la concentración de las proteínas totales en gr/dl.

Las presiones en la cámara de ultrafiltrado (PF) son debidas normalmente a un vacío de tipo neumático o hidráulico y favorecen el proceso de ultrafiltración, como es el caso de la presión ejercida por

la columna de drenado de agua de la cámara de ultrafiltración (34), cuyo valor puede calcularse por la expresión:

$$AP_F = 0,74 \cdot Ah \cdot \rho_{H_2O}, \text{ ecc. (17)}$$

Si la altura de la columna de agua (Ah) se expresa en centímetros, la presión ( $AP_F$ ) se obtiene por la fórmula (17) en mm. de Hg.

Respecto a los flujos de líquidos en el hemofiltro hay que diferenciar los perfundidos por él y los ultrafiltrados. Los primeros varían en intensidad según se consideren a la entrada o salida del hemofiltro, representándose por  $v_{H1}$  y  $v_{B0}$ , respectivamente, - los segundos vienen defluidos por la velocidad de salida del ultrafiltrado de su cámara.

La relación entre la velocidad de filtración ( $v_F$ ) y la de perfusión a la entrada del hemofiltro, se conoce como fracción de filtración (FF).

Los flujos de líquidos en el hemofiltro deben cumplir las leyes de conservación (31), es decir debe darse:

$$\rho \cdot \bar{v} \cdot A = \text{cte.}; \text{ ecc (17)}$$

lo que en términos de velocidades de perfusión y filtración, se expresa como:

$$v_{BI} = v_{Bo} + v_F ; \text{ ecc. (18).}$$

Por lo que la fracción de filtración puede escribirse:

$$FF(\%) = \frac{v_F}{v_{BI}} \times 100 = \frac{v_F}{v_{Bo} + v_F} \times 100 ; \text{ ecc(19)}$$

En un riñón humano sano, este parámetro tiene un valor aproximado del 20% (14), lo que equivale a decir que por cada 100 ml, de sangre perfundida por las nefronas 20 ml. se ultrafiltran con formación de orina.

Si se aplica un balance de masas a disolucio-

nes de macrosolutos del tipo de las proteínas o a suspensiones de elementos no filtrables (elementos formes de la sangre), pueden deducirse relaciones matemáticas que, en función de las concentraciones a la entrada y salida del hemofiltro, definirán las fracciones de filtración del mismo. Por tanto, estas pueden obtenerse estudiando las concentraciones de proteínas plasmáticas o las tasas de hematocrito (35), a la entrada y salida del hemofiltro.

#### Principios Físico-químicos

En la HF pura se da el proceso físico-químico de la transferencia de masa por convención, consecuente al de la ultrafiltración, es decir, que depende directamente de él. Por ello, la ultrafiltración debe considerarse como el proceso central de la HF, el cual viene definido por la intensidad con que discurre, ésto es por su velocidad de filtración ( $v_F$ ) y por los factores de que depende.

La velocidad de filtración representa la tasa



volumétrica de líquido ultrafiltrado por la unidad de tiempo (8) y se expresa por:

$$v_F = L_p (A_p + \Delta \pi) ; \text{ ecc (21)}$$

Donde  $L_p$  es el coeficiente de permeabilidad hidráulica de la membrana,  $A_p$  es el gradiente de presiones hidráulicas y  $\Delta \pi$  el de presiones osmóticas.

Cuando la velocidad de filtración se cuantifica en relación con la unidad area efectiva de la membrana ( $A$ ), se obtiene la velocidad de flujo por unidad de area ( $J_F$ ), expresada por:

$$J_F = \frac{v_F}{A} = \frac{L_p (A_p + \Delta \pi)}{A} ; \text{ ecc. (22).}$$

El coeficiente  $L_p$  es una característica propia de la membrana y depende de su naturaleza química. Este define la capacidad que tiene una membrana para permear (36) agua.

Normalmente, las membranas utilizadas en H.F.

tienen un coeficiente  $L_p$  bastante mayor que las utilizadas en H.D., obteniéndose con ellas mayores tasas de ultrafiltrado. Así, membranas del tipo Polisulfona (P.S.), Poliacrilometilo (P.A.N.), Poliamida (P.A.) o Acetato de Celulosa (A.C.), dan valores de ultrafiltrado por unidad de tiempo muy superiores a las usadas en H.D. del tipo Cupofan (polímero de celofán tratado en solución cúprica amoniaca) (17,37).

En la práctica de la H.F. el gradiente de presión hidráulica a la salida del hemofiltro se obtiene obturando por pinzado su conducto de salida de (línea venosa) y su valor suele expresarse en mm. de Hg.

Las fuerzas que se aplican a la membrana pueden ser también de naturaleza osmótica, cuando se generan por un gradiente de actividades de solutos a cada lado de la misma, cuantificándose en este caso en miliosmoles/litro, (milimoles de partículas activas por litro), que pueden convertirse en mm. de Hg. multiplicando aquellos por el factor de conversión 19. (8).

La masa de un soluto que se transfiere convectivamente en la H.F. se calcula multiplicando la velocidad de filtración por su concentración en el filtrado (8) según la ecuación:

$$N = \frac{dC}{dt} = v_F \cdot C_F ; \text{ ecc. (23)}$$

La concentración en el filtrado ( $C_p$ ) se relaciona con la que hay a la entrada del hemofiltro por la expresión:

$$S = \frac{C_F}{C_{WI}} ; \text{ ecc (24)}$$

S es el coeficiente de Criba, "Sieving" o coeficiente de transmitancia (8). (Se puede llamar de las tres formas). Como se deduce de la ecc. (24) este coeficiente define la relación de concentraciones de un soluto determinado en un momento dado a ambos lados de la membrana, o lo que es igual, entre el filtrado y el perfundido a su entrada en el hemofiltro.

Recíproco de este, es el coeficiente de Rechazo (R), expresado por:

$$R = 1 - S \quad ; \quad \text{ecc. (25).}$$

De la observación de las ecc. 24 y 25 se deduce, que en condiciones de equilibrio dinámico, la expresión porcentual del coeficiente Sieving debe coincidir con la del tanto por ciento de unión a proteínas plasmáticas, o, recíprocamente, al referirse a R, el % de moléculas no unidas a proteínas.

El coeficiente "Sieving", definido por la ecc. (24), no tiene en cuenta las variaciones de concentración que sufre el perfundido a medida que discurre por las fibras capilares, por lo que Colton y Henderson han propuesto una expresión más exacta (35):

$$S = \frac{2 \cdot C_F}{C_{WI} + C_{Wo}} \quad ; \quad \text{ecc. (26).}$$

$C_{WI}$  y  $C_{Wo}$  son las concentraciones en agua plasmática

a la entrada y salida del hemofiltro, respectivamente y  $C_F$  la concentración en el hemofiltrado.

Otras expresiones de mayor exactitud, aunque más complejas, se obtienen al tener en cuenta la capa límite de proteínas, depositada en la membrana que da lugar al fenómeno de polarización de la concentración e influye en la tasa de ultrafiltrado.

Mediante complejos razonamientos matemáticos(33) se llega a la expresión:

$$S = \frac{\ln \left( 1 - \frac{C_F}{C_{WI}} \cdot \frac{v_F}{v_{WI}} \right)}{\ln \left( 1 - \frac{C_F}{C_{WI}} \right)}; \text{ ecc. (27).}$$

En ella  $v_F/v_{WI}$  es la fracción de filtración,  $C_F$  y  $C_{WI}$  son las concentraciones en el filtrado y a la entrada del hemofiltro (38).

En las ecuaciones 24, 26 y 27 pueden observarse términos de concentraciones referidos a agua plas-

mática y en la 27, además, términos de velocidad de filtración referidas a esta agua; como la sangre es un líquido complejo, normalmente definido como una suspensión de corpúsculos en una disolución acuosa proteica, resulta necesario definir los términos de concentración y volúmenes referidos a agua plasmática, plasma o sangre total, dependiendo en cada caso del tipo de muestras estudiadas.

Las relaciones entre ellas se establecen teniendo en cuenta que el volumen ocupado por la sangre total o completa ( $v_B$ ) es mayor que el ocupado por el plasma ( $v_p$ ) y ésta mayor que el ocupado por el agua plasmática ( $v_W$ ), (16), es decir:

$$v_B > v_p > v_W \quad ; \text{ expresión (28)}$$

Las relaciones entre ellos son:

$$v_p = (1-H) \cdot v_B \quad ; \text{ ecc. (29).}$$

$$v_W = (1-\phi) \cdot v_p \quad ; \text{ ecc. (30).}$$

Combinando las ecuaciones 29 y 30; se obtiene:

$$v_W = (1 - H) (1 - \phi) \cdot v_B ; \text{ ecc. (31).}$$

En ellas H, es el hematocrito, expresado en tanto por uno y  $\phi$  es el protocrito (38) (volumen ocupado por las proteínas), también en tanto por uno, que puede calcularse en función de la concentración de proteínas plasmáticas mediante la ecuación:

$$\phi = 0,0107 \cdot C ; \text{ ecc. (32)}$$

C es la concentración en proteínas plasmáticas gr/dl.

El factor de conversión entre los volúmenes  $v_B$  y  $v_W$  es

$$\theta = (1 - H) (1 - \phi) ; \text{ ecc. (33)}$$

Las concentraciones de un soluto dado en sangre total ( $C_p$ ) y agua plasmática ( $C_w$ ) cumplen la desigualdad (33):

$$C_B < C_p < C_w ; \text{ expresión (34)}$$

y se relacionan por:

$$C_p = (1 - H + K) \cdot C_B ; \text{ ecc. (35)}$$

$$C_w = (1 - \phi) \cdot C_p ; \text{ ecc. (36).}$$

Combinando 35 y 36:

$$C_w = (1 - \phi) (1 - H + HK) \cdot C_B ; \text{ ecc. (37)}$$

K es el coeficiente de reparto, de una sustancia dada, entre el hematíe y el plasma, su valor oscila entre cero y uno, tal que:  $0 \leq K \leq 1$

Cuando  $K = 0$ , la sustancia está exclusivamente disuelta en el plasma, si vale 1 su concentración es igual en plasma que dentro del hematíes.

Estos coeficientes, que pueden calcularse empíricamente o tomarse de tablas específicas (39), tienen gran repercusión sobre los aclaramientos y los datos cinéticos de excreción.

Algunos valores promedios conocidos de él



son:

K (urea) = 0,86; K (creatinina) = 0,73; K (ácido úrico) = 0,54; K (aminoácidos nitrogenados) = 1,54; K (glucosa) = 0.95.

De la ecuación (37) puede deducirse el factor que relaciona las concentraciones en sangre total ( $C_B$ ), y en agua plasmática ( $C_W$ ), el cuál viene representado por  $\beta$ ; y se define como:

$$\beta = (1 - \phi) (1 - H + HK) ; \text{ecc. (37)}$$

Eficiencia excretora de un hemofiltro. Parámetros para el control de la cinética de excreción.

La capacidad excretora de un sistema de H.F. se define en función de un conjunto de parámetros específicos, entre los que se estudian: aclaramientos (cl) constantes de eliminación (Re), fracciones de aclaramientos ( $\delta$ ), fracción máxima de aclaramiento ( $\delta_{\text{max}}$ ), eficacia (E) y tanto por ciento de error en

los balances de masas (MBE). (40)

Para calcular el aclaramiento, puede aplicarse un balance de masa al sistema de hemofiltración, y de él deducimos que su valor puede expresarse como la relación entre la masa intercambiada por el hemofiltro por unidad de tiempo y la concentración del perfundido a la entrada del mismo (41), es decir:

$$Cl = \left( \frac{M_I - M_O}{t} \right) C_I ; \text{ ecc. (39).}$$

Expresando  $M_I$  y  $M_O$  en función de las concentraciones respectivas y de las velocidades de flujo a la entrada y salida del hemofiltro (42), se obtiene una expresión del tipo:

$$v_{BI} \cdot C_{BI} - v_{Bo} \cdot C_{Bo} = C_B \cdot Cl_B ; \text{ ecc. (40).}$$

Donde  $Cl_B$ , representa el aclaramiento de sangre total.

Esta ecuación es de aplicación válida a cualquier sistema de excreción renal, ya se trate de un

sistema de hemofiltración, de hemodiálisis, o de tipo mixto (hemodiafiltración).

Si el proceso que se estudia discurre según una hemofiltración pura (sin diálisis), el aclaramiento de sangre total se da por la ecuación:

$$Cl_B \cdot C_{BI} = \frac{M_I - M_O}{t} = v_F \cdot C_F ; \text{ ecc. (41).}$$

Por tanto este aclaramiento puede definirse en función de las concentraciones en el filtrado ( $C_F$ ) a la entrada del hemofiltro ( $C_{RI}$ ) y de la velocidad de ultrafiltración ( $v_F$ ), es decir (37):

$$Cl_B = v_F \frac{C_F}{C_{BI}} ; \text{ ecc. (42).}$$

De las relaciones entre sangre total y agua plasmática, ecuación (37), se obtiene que:

$$C_{BI} = C_{WI} \cdot \beta ; \text{ ecc. (43).}$$

Esta expresión sustituida en 42, nos da:

$$Cl_B = v_F \cdot \frac{C_F}{C_{WI}} \cdot \frac{1}{\beta} ; \text{ ecc. (44)}$$

Como el cociente  $\frac{C_F}{C_{WI}}$  es por definición el coeficiente "Sieving", expresado en la ecc. (24), sustituyendo en la ecc. 44, nos conduce a:

$$Cl_B = v_F \cdot S \cdot \frac{1}{B} = \frac{Cl_W}{\beta} ; \text{ ecc. (45).}$$

Es decir, el aclaramiento de sangre total ( $Cl_B$ ), es / igual al de agua plasmática ( $Cl_W$ ), dividido por el coeficiente B, cuyo valor puede oscilar entre:  $0 \leq B \leq 1$ , debiéndose cumplir que  $Cl_B > Cl_W$ , y en general que:

$$Cl_B > Cl_P > Cl_W$$

Es decir, los aclaramientos calculados en sangre total son mayores que los calculados en plasma y estos que los calculados en agua plasmática (8).

Otro parámetro de la cinética de excreción es la fracción de aclaramiento de sangre total ( $\delta$ ) (37), que se define como la relación entre la masa que se filtra y la que entra en el hemofiltro en un momento dado, es decir:

$$\delta = \frac{C_F \cdot v_F}{C_{BI} \cdot v_{BI}} \times 100 = \frac{Cl_{BI}}{v_{BI}} \times 100 ; \text{ecc. (46)}$$

$\delta$  es un parámetro adimensional y suele expresarse en %. Relacionado con él se define otro que es la fracción máxima de aclaramientos (37), obtenida al expresar los términos de la ecc. (46) en función de sus equivalencias en agua plasmática según:

$$\delta_{\max} = \frac{C_F}{C_{WI}} \cdot \frac{v_F}{v_{WI}} \cdot \frac{\theta}{B} = S \cdot \frac{v_F}{v_{WI}} \cdot \frac{\theta}{B} ; \text{ecc. (47)}.$$

Cuando el coeficiente "Sieving", es igual a la unidad, como ocurre en las moléculas de pequeño volumen molecular no unidades a proteínas, y  $\theta$  y  $\beta$  se sustituyen por sus valores (ver ecuaciones, 33 y 37) queda la expres-

sión:

$$\delta_{\max} = FF / \left( 1 - \frac{H \cdot K}{(1-H)} \right); \text{ ecc. (49).}$$

Si el coeficiente K es igual a cero caso de la inulina de PM 5200 y no unida a proteínas, la fracción máxima de aclaramientos en las membranas de H.F. es:  $d_{\max} = FF$ , es decir:

$$\delta_{\max} = \frac{C_F}{C_{WI}}; \text{ ecc. (50).}$$

Esta expresión guarda íntima analogía con la que define la dialisancia máxima en un sistema de H.D. (43)

El cociente  $d/d_{\max}$ , define la eficacia del proceso hemofiltrativo (E) en %.

Por último el parámetro MBE (error en el cálculo de los balances de masa), que se suele utilizar para los estudios "in vivo", determina si los cálculos cinéticas realizadas durante el proceso de HF, son/

aceptables o no, lo que se cuantifica por:

$$\text{MBE (\%)} = \frac{2 (M_F - M_{BI} - M_{Bo})}{M_F - M_{BI} - M_{Bo}} \times 100 ; \text{ecc. (50).}$$

En los estudios cinéticos "in vivo", el valor estimado para él no debe exceder el 5% (40).

Objetivos del presente trabajo:

De los antecedentes y estudios expuestos en la introducción, se deduce la importancia que tienen los estudios metodológicos de los fenómenos relacionados con la excreción de fármacos y biomoléculas a través de los sistemas renales artificiales.

Por ello, uno de los objetivos básicos del presente trabajo es la aplicación de los principios físicos y físico-químicos estudiados al cálculo de los parámetros hemodinámicos y cinéticos que, directa o indirectamente, afectan a la intensidad de dicho proceso de excreción. Para esto, se van a ensayar cuatro soluciones de salicilatos, de distinta composición, perfundiéndolas por un hemofiltro de características estandarizadas.

Para lograr ésto, ha sido necesario diseñar un sistema experimental de hemofiltración "in vitro" que acoplado al hemofiltro le de funcionalidad y le permita obtener dichos cálculos, constituyendo otro



de los objetivos fundamentales de esta Tesis.

Se ha planteado un desarrollo experimental en distintas secuencias de hemofiltración, cada una de ellas establecidas bajo condiciones de equilibrio dinámico o "Steady-State". Operando de esta forma se van a estudiar las variaciones de los parámetros hemodinámicos  $v_F$ ,  $FF$  y  $L_p$ , descritos en esta introducción, y las cinéticas de la excreción definidas por las concentraciones a la entrada y salida del perfundido y en el ultrafiltrado ( $C_I$ ,  $C_O$ ,  $C_F$ ) y los coeficientes "Sieving", aclaramientos ( $cl$ ) y parámetros derivados de él, como son las constantes cinéticas de eliminación  $k_e$ , las fracciones de aclaramientos ( $\delta$ ), las fracciones máximas de aclaramientos ( $\delta_{max.}$ ) y las eficiencias del proceso ( $\delta/\delta_{max}$ ).

Las cuatro soluciones de salicilatos sometidas a estudio están compuestas de la siguiente manera:

1ª.- Solución acuosa de salicilato sódico en solución salina fisiológica al 0,9% y tampón de fosfatos

pH = 7,4 (lo que abreviamos, en adelante, como SSF 0,9% (P) 7,4).

2ª.- Solución de Salicilato sódico en albúmina humana al 2% y SSF al 0,9% (P) 7,4

3ª.- Solución de salicilato sódico en albúmina humana 4% y hematocrito del 13%, en SSF al 0,9% P 7,4.

4ª.- Solución SSF al 0,9%, P 7,4. Sin salicilatos.

Las tres primeras soluciones tienen aproximadamente la misma tasa de salicilatos, diferenciando únicamente en su contenido en albúmina humana y en que una lleva sangre humana al 13% (la 3ª) y otra no la lleva (la 2ª).

## II. MATERIAL Y METODOS

## MATERIAL Y METODOS

El estudio de este apartado se aborda dividiéndolo en dos grandes secciones: Una donde se describe todo lo relativo a los materiales y métodos usados para el diseño del sistema de hemofiltración experimental y la otra donde se estudian los reactivos y los métodos analíticos utilizados en este trabajo.

Dentro del primer grupo se establece un desglose en los siguientes apartados: a) Componentes del sistema y funcionamiento, b) Metodología seguida para la consecución de los objetivos trazados, c) Protocolos experimentales para la obtención de los datos de las tablas expuestas en el apartado de Resultados.

En la segunda sección, como se ha dicho, se describen todos los reactivos y compuestos químicos utilizados para preparar las soluciones que se van a estudiar, así como los métodos analíticos que permitirán su cuantificación.

## Estudio del sistema de hemofiltración

### Componentes del sistema y funcionamiento

Siguiendo el esquema del aparato experimental de HF, representado en la Figura 1 del presente trabajo, en el centro de la misma se puede distinguir el dibujo de un componente rotulado con las siglas HF, que corresponde al hemofiltro del sistema. Este, que se identifica con el tipo comercial FH 101, de la casa GAM-BRO , es un hemofiltro con membrana de fibra capilar hueca de Poliamida (P.A.), polimero sintético de elevado coeficiente de permeabilidad hidraulica (Lp) y de alta porosidad, ésto es, con alto "cutt off" o PMNL, del orden de 20.000 daltons (44). Un esquema representado su estructura interna, se ha dibujado en la Figura 2 de este trabajo, en el que se distingue: una boca o conducto de entrada designada por BI, (de las siglas inglesas "In blood", entrada de sangre) provista de una conexión estándar, tipo "luer"; desde ella se perfunde la sangre o solución a estudiar, al hemofiltro, atravesando sus fibras capilares (zona rayada del esquema) y llegando a medida que se ultrafiltra, a la

salida, representada por las siglas  $B_o$  (blood out). La zona no rayada de la figura representa la cámara de ultrafiltración, que una vez que se llena de drena por su salida superior, boca F, mientras que su salida inferior permanece cerrada.

En la Figura 2 (b), se expone una fotocopia de la ficha técnica de este hemofiltro. En ella se especifican un conjunto de datos referentes a sus características estructurales y de funcionamiento, tales como area efectiva de la membrana, número de capilares, longitud, etc..., dadas por la firma que lo fabrica.

Continuando con la descripción de la Fig. 1 debajo del hemofiltro (HF), se sitúa un componente rotulado con las siglas B.P. y que representa a la bomba peristáltica, usada para perfundir las soluciones estudiadas por el hemofiltro. Esta, de las llamadas "tipo de mesa", está provista de dos rodillas giratorias con mecanismo de regulación de presión.

En el panel frontal de la bomba se distingue

un galvanómetro de aguja, graduado en escala adimensional, de cero a cien, con el que se calibra la bomba construyendo una gráfica que representa los valores de la escala (E), frente a las velocidades de perfusión de líquidos, designadas con las siglas  $v_{BI}$  (Fig. 3).

Este tipo de bomba, es de uso frecuente en los sistemas renales artificiales y más comunmente en los sistemas de H.D. provistos con dializadores de bobina y baño líquido de diálisis (45).

Siguiendo la descripción de la Fig. 1, debajo en la bomba peristáltica (B.P.) se representa un matraz de mezcla rotulado con las siglas MM; este es tipo boca ancha y de 500 ml. de capacidad, y en su interior se dispone una "mosca magnética", que sirve para homogenizar su contenido.

Atravesando el tapón de goma que cierra su boca, se observan varias líneas que corresponde a los distintos conductos del sistema. Entre ellas, y del interior del matraz, sale una línea de trazo rojo, que

representa al conducto designado como "línea arterial" del sistema, a través del que va a circular la sangre o la disolución a estudiar, introduciéndola en el hemofiltro. En medio de esta línea, existe un ensanchamiento de goma elástica que corresponde al "segmento de bomba", ubicado en el cabezal de la bomba peristáltica (B.P.). Más adelante, y antes de entrar en el hemofiltro, se distingue un pequeño receptáculo en cuyo interior hay un taponcito de goma, mediante el que, gracias a una jeringa de insulina  $C_{BI}$  pinchada en él, se pueden extraer muestras de las soluciones contenidas en el sistema, para poder realizar los estudios de cinética de excreción.

Una vez que la sangre se ha perfundido por el hemofiltro, sigue circulando en el sistema por otro conducto de Polivinilo, semejante al de la línea arterial, representado en la Fig. 1 con trazo azul y que se conoce como "línea venosa". En ella se distingue también, un taponcito para la captación de muestras, análogo al que tenía de línea arterial, en él se pincha otra jeringa de insulina, con la que se toma la muestra



a la salida del hemofiltro y se representa por las siglas  $C_{BO}$ . Seguidamente, existe un ensanchamiento, llamado "trampa cazaburbujas" (T.C.) cuya misión es purgar el aire del sistema; en este receptáculo, existen también unas bocas de entrada para infusiones, de tipo "luer", y una salida o conducto que permite conectar con un manómetro de presión tipo mecánico. Esto, nos permite calcular la presión a la salida del hemofiltro ( $\bar{p}_0$ ), conocida como presión de la corriente (45, 46), y que realmente es una medida entre los valores máximos y mínimos observando experimentalmente debido al propio pulso que genera el cabezal de doble rodillo de la bomba peristáltica (B.P.).

Una vez que el líquido ha pasado la trampa caza burbujas (T.C.) llega a un recipiente graduado, diseñado mediante acoplamiento de una jeringa de plástico de 20 ml. en posición invertida, y rotulada con las siglas  $V_{BO}$ . En su cono de salida se acopla una pequeña llave de plástico de tres vías, designada por la letra A. Cuando ésta se sitúa en su posición  $A_1$  la salida de la jeringa queda cerrada, de tal forma, que

si se dispara un cronómetro simultáneamente y se registra el tiempo  $t_{B_0}$ , en segundos, tardado en llenar un volumen determinado de la misma, se obtiene el valor de la velocidad de perfusión a la salida del hemofiltro ( $V_{B_0}$ ). Concluida esta operación, la llave se vuelve a la posición  $A_2$  con lo que el líquido del sistema vuelve a recircular libremente al matraz MM, cerrándose el bucle constituido por el circuito del perfundido (línea arterial-hemofiltrado-línea venosa-matraz de mezcla).

En la misma porción, y mediante una jeringa rotulada como  $L_D$ , se puede inyectar el líquido de dilución que se infunde para mantener constante el volumen de la hemofiltración.

Prosiguiendo con el estudio de la cámara de ultrafiltración, se distingue una boca (F) situada en la parte superior de la misma, que le permite drenar el líquido ultrafiltrado a través de otro conducto de plástico (línea de filtración pintada en negro en la figura) en la que existe un taponcito para tomas de

muestras, análogo a los descritos en las líneas arteriales, mediante una jeringa de insulina rotulada como  $C_F$ . Seguidamente queda distinguirse, una llave de tres vías idéntica a la A, rotulada como llave B; si ésta se encuentra en posición B, el líquido ultrafiltrado pasa a la jeringa invertida  $V_F$ , de características/idénticas a la  $V_{B_0}$ , en cuyo cono C, similar a la A, y la B y que si está cerrada, permite, de igual forma que se hizo para determinar la velocidad  $v_{B_0}$ , calcular la velocidad de ultrafiltración ( $V_F$ ).

Debajo de la llave C, se coloca un matraz Erlenmeyer de 250 ml., en el que se recogen las fracciones de filtración que van obteniéndose; lo que en un momento dado, permite realizar balance, de líquidos y masa en el sistema.

Cuando la llave B, se orienta a la posición  $B_2$ , el ultrafiltrado drena de la cámara de ultrafiltración al matraz de mezcla (MM), y se cierra, el circuito de filtración (formado por el bucle, línea de filtración, matraz de mezcla y cámara de filtración).

Por último y observando la Fig. 1, se pueden apreciar tres componentes idénticos en el sistema rotulados con las siglas F.B. que representan tres filtros de bacterias que, además de permitir el trabajo en condiciones estériles, acceden la entrada de aire en el aparato, impidiendo que pueda explotar, dada la condición de estanqueidad impuesta por sus tapones y cierres.

A continuación se describen los componentes usados en el sistema:

- Bomba peristáltica de doble cabezal, marca Travenol<sup>R</sup>
- Conjunto estéril de líneas arteriales y venosas para aparatos de H.D y H.F. Marca Travenol<sup>R</sup>
- Juegos de jeringas esteriles de plástico de 20 ml y de insulina, marca Ico<sup>R</sup>.
- Filtros de aire marca MILIPORE.
- Llaves estériles de plástico, de tres vías, marca Influx<sup>R</sup>.
- Hemofiltro, F.H. 101 marca GAMBRO<sup>R</sup>.

#### Descripción del funcionamiento global del sistema.

Una vez que se ha cebado el sistema con una

solución determinada, se procede a describir la metódica y líneas generales de su puesta a punto y funcionamiento.

En primer lugar, deben establecerse las condiciones de la velocidad de perfusión a la entrada del hemofiltro ( $v_{BI}$ ), así como la presión transmembrana (TPM), a la que va a trabajar el sistema.

La velocidad de entrada en el hemofiltro/ ( $v_{BI}$ ) se fija en función del número de vueltas por minutos que da al cabezal de la bomba peristáltica (B.P.) (vease más adelante el procedimiento de calibración de dicha bomba, en el apartado de "metodología para la consecución de los objetivos de la introducción").

La presión transmembrana (TPM), se calcula en función de la presión media obtenida a la salida del hemofiltro ( $\bar{P}_O$ ), y se controla regulándola mediante una pinza de Mohr (P.M.), instalada a la salida de la trampa cozeburbujas (T.C), monotrizándose mediante el manómetro mecánico de tipo reloj (Ma).

Una vez fijado los dos parámetros ( $v_{BI}$  y TPM), se pasa a realizar el proceso de la hemofiltración, en las cuatro soluciones que van a estudiarse, estableciéndose, para cada una de ellas, un conjunto de cinco secuencias o pasos, que van a repetirse cíclicamente cada 12 minutos, según una serie de pasos previamente establecidos.

Cada secuencia se desarrolla de la siguiente forma: 1º) se dispara un cronómetro para controlar el tiempo total y parcial, de hemofiltración de cada solución. Seguidamente, mediante otro cronómetro se mide el tiempo  $A_{tf}$ , que tarda el hemofiltro en llenar la jeringa  $V_F$  de 20 ml., para lo que se cierran convenientemente las llaves B y C, la primera en su posición  $B_1$  y la segunda cerrando la salida de esta jeringa. Una vez que se ha anotado el tiempo, se vierte su contenido al matraz colector de ultrafiltraciones ( $M_F$ ), volviendo la llave B a su posición original  $B_2$  y restableciéndose al bucle del circuito de filtración. 2º) Mediante otra jeringa  $L_D$  (ver Fig. 1) se introduce un volumen de líquido de dilución igual al extraído por

ultrafiltración, para lo que la llave A se pone en posición  $A_2$ . 3º) Se espera un tiempo de unos 6 minutos, suficiente para que se homogenice la mezcla y 4º) se extraen tres muestras simultáneas con las jeringas  $C_I$ ,  $C_O$  y  $C_F$ , y se mide la velocidad del perfundido a la salida del hemofiltro ( $v_{Bo}$ ), para lo que se utiliza la llave A en posición  $A_2$  y de la misma forma que se hizo con  $v_F$ , se determina el tiempo  $At_{Bo}$ .

Por último, y visualizando, en el cronómetro de control general, el tiempo transcurrido, se espera que llegue a los 12 minutos, aproximadamente, en este instante, procedemos a repetir la secuencia empezando por el paso 1º), esto es, repitiendo la medida de la velocidad de filtración ( $v_F$ ) en este momento.

Después de realizar las cinco secuencias/ (aproximadamente a la hora de empezar el proceso) se da por terminada la experimentación con la solución en estudio, anotándose los datos determinados para su posterior análisis.

Bajo las mismas condiciones de velocidad a la entrada del hemofiltro ( $v_{BI}$ ) y de presión transmembrana (TPM), se repite el proceso de hemofiltración para las distintas soluciones propuestas en el apartado de objetivos del trabajo.

Metodología para la consecución de los objetivos de trabajo:

Una vez que se han montado todos los componentes del sistema, antes de comenzar la hemofiltración, debe procederse al cebado del mismo, para lo que se perfunde una solución, que va a servir para preparar las demás utilizadas en este trabajo.

Esta solución, descrita en los objetivos del trabajo, está compuesta por ClNa. al 0'9% en agua destilada, con tampón fosfato, pH= 7,4 y se representa por las siglas:

S.S.F. al 0'9% (P) 7,4.

La fórmula utilizada para la preparación del tampón (P) es:



PO<sub>4</sub> H<sub>2</sub> K ..... 1,179 mg.  
PO<sub>4</sub> HNa . 1<sub>2</sub> H<sub>2</sub>O ..... 10,841 mg.  
Agua destilada c.s.p. .... 1 litro.

Procedimiento de cebado del sistema:

Se ponen unos 300 ml de la solución base anteriormente descrita en el matraz de mezcla del sistema (MM), se acciona la bomba peristáltica para que suministre una velocidad  $v_{BI}$  aproximada de 150 ml/min, y mediante la pinza de Mohr (P.M.), se pone una presión media a la salida del dializador ( $\bar{P}_O$ ) de unos 50 mm. de Hg., se observa como se va llenando la cámara de ultrafiltración, hasta que rebose por su salida (F) cerrándose el bucle de la línea de filtración. Se espera a que se purgue el aire a través de la trampa cazaburbujas (T.C.) y a partir de este momento el sistema está cebado. A continuación, se pueden ir introduciendo las soluciones de estudio en el sistema por medio de la llave A, en posición A<sub>1</sub>.

Antes de la operación de cebado, se procede

a calibrar la bomba peristáltica y medir los volúmenes de cada componente del sistema (cámaras de perfundido, cámaras de ultrafiltrado y líneas arteriales y venosas).

Calibrado de la bomba peristáltica:

Se disponen 500 ml. de agua destilada en un matraz, en el que se introduce el extremo de un segmento de línea arterial acoplada a la bomba, el otro extremo se situa, de forma que su salida vaya drenando, dentro de una probeta de 250 ml. Mediante un cronómetro se determinan los tiempos que tarda la bomba en llenar los 250 ml. y se anotan. Esta operación se hace para distintas velocidades de perfusión, en función de su escala de graduada centesimalmente.

En estas condiciones se obtienen los datos anotados en la Tabla I de este apartado, y la representación gráfica de los valores de la escala (E) frente a las velocidades de perfusión ( $v_{BI}$ ) se hace en la Fig. 3 de este apartado, al pie de la cual se escribe su ecuación y coeficiente de correlación (r).

Medida de los volúmenes de cada componente del sistema.

Accionando manualmente el cabezal de la bomba peristáltica, mediante la manivela que tiene acoplada a este fin, se perfunde el agua destilada, contenida en un matraz previamente tarado y pesado, de tal forma que vaya llenando los segmentos arteriales y venosos (conectados entre ellos, sin el hemofiltro) y, por diferencia, se calcula el volumen de agua que ocupa cada tramo. Después de anotar estos datos, se conecta el hemofiltro y se perfunde agua desde el matraz hasta cebar el sistema. Por diferencia de pesada se determina el volumen total de líquido contenido en el hemofiltro. Si a continuación, se resta del volumen total el volumen de la cámara de ultrafiltrado (dato suministrado por el fabricante en la ficha técnica del hemofiltro) se obtiene el volumen de la cámara de ultrafiltrado.

Técnica de dilución empleada en el sistema:

En hemofiltración pueden usarse dos técnicas básicas de dilución: una, en que el líquido de dilución

(L.D.) se infunde en la sangre, antes de pasarla por el hemofiltro, conocida como técnica de pre-dilución; y otra en que dicho líquido se mezcla con la sangre una vez que ha pasado por el hemofiltro, conocida como técnica de post-dilución. (Veáse Fig. 4)

En este trabajo se utiliza la técnica de la predilución, para lo que se procede inyectando el líquido de dilución en el matraz de mezcla (MM) antes de perfundir por el hemofiltro.

La técnica de pre-dilución, es la de uso más frecuente en la práctica nefrológica, pues al fludificar la sangre, evita que se produzcan numerosos accidentes, como los debidos a la hemólisis causadas por altas concentraciones sanguíneas del perfundido (elevados valores de hematocrito). (16,47).

Por último y para concluir esta sección, relativa al estudio del sistema de HF, se adjuntan tres fotos tomadas en distintos pasos de los estudios de investigación sobre este sistema (Veáse Fig. 6).

Metódicas utilizadas para la obtención de los parámetros hemodinámicos y cinéticos de las soluciones que se han hemofiltrado.

En este apartado se detallan los métodos seguidos para la obtención de las fracciones de filtración (FF), las presiones transmembrana (TPM) y los coeficientes de permeabilidad hidráulica de la membrana ( $L_p$ ) para las distintas soluciones y situaciones experimentales de hemofiltración realizadas en este trabajo.

Las fracciones de filtración (FF), se calculan de cada una de las cinco secuencias experimentales de hemofiltración y para cada una de las soluciones perfundidas durante las cuatro situaciones experimentales de que consta este trabajo.

Para su determinación, se utilizan los valores experimentales de las velocidades de filtración ( $v_F$ ) y de perfundido a su entrada en el hemofiltro ( $v_{RI}$ ) en cada secuencia de filtración.

Estos valores, expuestos en las correspondientes tablas de datos hemodinámicos, del apartado de resultados, se aplican a la ecuación 19 de la introducción, dada por:

$$FF (\%) = \frac{v_F}{v_{Bo} + v_F} \times 100 ; \text{ ecc. (19).}$$

Los coeficientes de permeabilidad hidráulica de la membrana ( $L_p$ ), se calculan, para las diversas soluciones perfundidas en las distintas situaciones experimentales, aplicando la ecuación 21 de la introducción, dada por:

$$L_p = \frac{\bar{v}_F}{A \cdot \text{TPM}} ; \text{ ecc. (21).}$$

En ella, A es el area efectiva de la membrana (expresada en  $m^2$ ), la cual está especificada en su ficha técnica, que viene adjuntada con las figuras de este apartado.

$\bar{v}_F$ , es la velocidad media de hemofiltración obtenida experimentalmente, para cada solución perfundida. Sus valores experimentales y coeficientes de variación se especifican al pie de las correspondientes tablas de datos hemodinámicos.

La presión transmembrana (TPM), se calcula mediante la ecuación 15 de la introducción, y viene dada por:

$$\text{TPM} = \bar{P}_O + \frac{A P_R}{2} + P_F - \text{Ponc.}; \text{ecc. (15).}$$

El primer sumando de esta expresión  $\bar{P}_O$ , representa a la presión media, determinada experimentalmente a la salida del hemofiltro. Sus valores experimentales se especifican en las tablas del apartado de resultados en cada secuencia de hemofiltración, así como su valor medio y coeficiente de variación.

El segundo sumando  $P_R$ , representa a las pérdidas de carga por rozamiento y se calcula a partir de la ecuación 11 de la introducción dada por:

$$P_R = \frac{128 \cdot u \cdot L \cdot \bar{v}_{BI}}{n \cdot \pi \cdot d^4} ; \text{ ecc. (11)}$$

En ella  $L$ ,  $u$  y  $d$  representan respectivamente: longitud, número de fibras y diámetro de las mismas, son datos obtenidos de la ficha técnica del hemofiltro.

El valor  $\bar{v}_{BI}$ , es la velocidad media a que entra el perfundido en el hemofiltro y puede calcularse teórica o prácticamente. Su cálculo teórico, se hace en función de la recta de calibración, de la bomba peristáltica, representada en la Fig. 3 de este apartado, el cálculo práctico se realiza a partir de la ecuación 19 de la introducción, dado por:

$$\bar{v}_{BI} = \bar{v}_{Bo} + \bar{v}_F ; \text{ ecc. (19).}$$

Donde  $v_{Bo}$  y  $v_F$  son las velocidades que tiene el perfundido a la salida del hemofiltro ( $v_{Bo}$ ) y a la salida de la cámara de ultrafiltración ( $v_F$ ).

Otros factores de la ecuación 11, son las



viscosidades ( $\mu$ ) de cada solución hemofiltrada. Estas, se han determinado a una temperatura media experimental de 27º C. (temperatura ambiente del laboratorio).

Las determinaciones de viscosidad se han hecho mediante un viscosímetro de Ostwald nº 50 de la serie ASTM para cálculos de viscosidades cinemáticas comprendidas entre 0,8 a 4 centipoises (48).

Una vez calculada las pérdidas de carga  $AP_R$ , se introducen sus valores en la ecuación 15, en ella el siguiente sumando a estimar, es el correspondiente a las presiones oncóticas de las soluciones perfundidas que contienen albúmina (soluciones segunda y tercera de este trabajo).

Las presiones oncóticas, que se han calculado a partir de la ecuación 16 de la introducción, son presiones negativas, es decir, van contra el proceso de ultrafiltración, y se definen por:

$$P_{onc} = 2,1 \cdot C + 0,16 \cdot C^2 + 0,009 \cdot C^3; \text{ ecc. (16).}$$

C es la concentración de la albúmina humana en cada disolución (su valor es de 2,1 gr.% para la solución 2ª y 4,1 gr.% para la 3ª). La presión que se obtiene se expresa en mm. de Hg.

El último sumando, que se observa en la ecuación 15, es la presión positiva producida por el vacío generado en la cámara de ultrafiltración y debido a la columna de agua ultrafiltrada que drena desde el compartimiento de ultrafiltración al matraz de mezcla, cuantificándola mediante la ecuación 17 de la introducción, según:

$$AP_F = 0,74 \cdot \Delta h ; \text{ ecc. (17)}$$

$\Delta h_{H_2O}$ , es la altura de la columna de agua expresada en centímetros con lo que  $AP_F$ , se obtiene en mm. de Hg.

$\Delta h_{H_2O}$ , en el aparato diseñado se establece en 13 cms., valor constante para todos los procesos de hemofiltración realizadas en este estudio.

En la tabla 19 del apartado de resultados se exponen los valores obtenidos por las metódicas - aplicadas para los cálculos de las viscosidades ( $\mu$ ), las pérdidas de carga por rozamiento ( $AP_R$ ), las presiones transmembranas (TPM), y los coeficientes de permeabilidad hidráulica ( $L_p$ ) para cada solución perfundida por el hemofiltro.

Metódica para la obtención de los datos de las cinéticas de excreción.

En las tablas del apartado de resultados se indican los valores de las concentraciones obtenidas para las muestras de las distintas soluciones estudiadas a la entrada y salida del hemofiltro, y a la salida de la cámara de filtración ( $C_{BI}$ ,  $C_{Bo}$  y  $C_F$ , respectivamente).

Estas muestras, se obtienen al final de cada secuencia de filtración, tal y como se expuso al describir el procedimiento operativo desarrollado para dichas secuencias; esto es, extrayéndolas, simultánea-

mente, mediante tres jeringas de insulina rotuladas como  $C_{BI}$ ,  $C_{Bo}$ , y  $C_F$ .

Los pequeños volúmenes de muestra (aproximadamente 0,5 ml. por jeringa) se depositan en los respectivos tubos de ensayo, rotulados con el número, tipo de muestra y secuencia de filtración a que pertenecen. Posteriormente, y mediante los métodos analíticos correspondientes, se calculan sus concentraciones para someterlos a los estudios cinéticos.

A partir de los datos así calculados, y mediante las ecuaciones 24, 26 y 27 de la introducción, se obtienen los valores de los distintos coeficientes "sieving".

Para calcular los aclaramientos de una determinada molécula en el sistema de hemofiltración, se aplica la ecuación 42 de la introducción expresada por:

$$Cl = v_F \cdot \frac{C_F}{C_I} ; \text{ecc. (42)}$$

En ella se sustituyen los valores correspondientes a las velocidades de filtración ( $v_F$ ) y a las concentraciones de las moléculas en estudio, en el ultrafiltrado ( $C_F$ ) y a la entrada del hemofiltro ( $C_I$ ).

Según sea el tipo de disolución en la que se van a determinar estos parámetros ( $v_F$ ,  $C_F$ , y  $C_I$ ), se obtienen distintos valores para los aclaramientos, éste es: aclaramientos de agua plasmática ( $Cl_w$ ) en caso de utilizar los datos de la disolución 1ª (solución acuosa de salicilatos en SSF al 0,9% (P) 7,4 con albúmina humana al 2%); y aclaramientos de sangre total ( $Cl_B$ ) (en caso de utilizar la solución 3ª de salicilatos con albúmina humana al 4% y hematies al 13%).

Los demás parámetros, derivados del aclaramiento, se obtienen aplicando los correspondientes datos experimentales a las ecuaciones correspondientes; así, utilizando la ecuación 46 de la introducción se obtiene las fracciones de aclaramiento ( $d$ ), utilizando la 47, se obtienen las fracciones máximas de aclaramiento ( $d_{max}$ ) y utilizando la 50, la eficiencia del

proceso (E).

A continuación se pasa a describir el protocolo seguido para obtener los datos de cada una de las tablas con los datos hemodinámicos y cinéticos expuestos en el apartado de resultados.

Protocolo para la obtención de los datos de las tablas III a V del apartado de resultados:

Estas tablas contienen los resultados relativos a los parámetros determinados en la 1ª disolución ensayada.

Se siguen protocolos para realizar la obtención de los datos experimentales: uno relativo a la descripción del cebado del sistema y la introducción de las soluciones y otro referente a las tomas de muestras para realizar los estudios cinéticos.

Cebado del sistema en la 1ª solución ensayada (disolución acuosa de salicilatos en SSF al 0,9% tampón P 7,4)

Se ponen 290 ml. de SSF al 0,9%, P 7,4, en el matraz de mezcla se ceba el sistema graduando la bomba peristáltica en  $v_{BI} = 154$  ml/min. (poner la escala graduada de la misma  $E = 35$ ), se genera una presión venosa media de  $\bar{P}_O = 50$  mm de Hg, y se observa si el ultrafiltrado drena uniformemente, reciclándose el matraz de mezcla (MM), en este momento, por la llave A, en posición  $A_2$ , se inyectan 75 mg de salicilato, mediante 10 ml. de una solución compuesta por 876 mg de salicilato sódico por 100 ml. de la solución base (SSF 0,9% P 7,4); pasados unos seis minutos, tiempo en que la solución resultante tarda en reciclarse unas tres veces, se toman muestras de ultrafiltrado y perfundido para comprobar si el sistema está en fase de "Stady-state" o equilibrio estacionario (lo que sucederá si  $C_F = C_I$ ).

Protocolo para la obtención de las tomas de muestras expuestas en la Tabla V para realizar los estudios cinéticos.

Las tomas de muestra se realizan de la misma forma descrita anteriormente al definir las secuencias de filtración, poniéndolas en sus correspondientes tubos de ensayo, convenientemente rotulados y numerados para su posterior análisis.

Protocolo para la obtención de los datos de las tablas VII a IX del aparato de resultados:

En estas tablas se reflejan los resultados obtenidos al perfundir la solución 2ª (disolución de salicilatos con albúmina al 2%) por el hemofiltro.

Una vez que hemos realizado el proceso de hemofiltración con la solución 1ª (solución acuosa de salicilatos), se vacía el sistema de hemofiltración y se tira la solución, procediendo al lavado del mismo mediante la solución base (SSF al 0,9% (P) 7,4), hasta



que el líquido de lavado dé negativa la reacción de salicilatos. A continuación, se añaden unos 270 ml. de la solución base y se ceba el sistema, graduando la bomba peristáltica en  $v_{BI} = 154$  ml/min. y pinzando la línea venosa para obtener una presión media a la salida del hemofiltro ( $\bar{P}_O$ ) de unos 50 mm. de Hg.; se observa si el ultrafiltrado drena uniformemente al matraz de mezcla (MM) y se procede a inyectar 4 gramos de albúmina humana (equivalentes a 20 ml. de la solución al 20% en hiposalina marca Behring<sup>R</sup>) se esperan unos seis minutos para alcanzar el "Stady-state", y se inyectan 60 mg. de salicilato, introduciendo por la llave A del sistema 10 ml. de una disolución de 700 mg de salicilato sódico en 100 ml. de solución base. Se esperan unos 18 min. para alcanzar el equilibrio estacionario entre salicilato-albúmina y salicilato-ultrafiltrado y se procede a realizar las tomas de muestras para los datos hemodinámicos y cinéticos expuestos en las Tablas VII y IX.

Protocolos de las tomas de muestras para los datos hemodinámicos y cinéticos: de la 2ª situación experimental

En esta 2ª situación experimental se ha variado algo el protocolo de toma de muestras en relación a la 1ª, ya que se va a extraer doble volumen de ultrafiltrado para que la cinética de excreción de salicilatos se acelere y se pueda seguir mejor.

Cada secuencia de filtración está dividida en dos partes a y b, en cada una de ellas se extrae aproximadamente 20 ml. de ultrafiltrado lo que suman en total de 40 ml., que son convenientemente sustituidos por líquidos de dilución, que para estas experimentaciones es la misma solución base (SSF al 0,9% P 7,4).

Por lo demás, se procede de igual forma que como se describió en el protocolo anterior, y las muestras para las cinéticas de excreción ( $C_I$ ,  $C_O$ ,  $c_F$ ) se extraen al final de cada secuencia de filtración, analizando a partir de ellas las concentraciones de albúmina y salicilatos, con las que se construye la Tabla IX.

Protocolo para la obtención de los datos expuestos en las Tablas XII a XIV del apartado de resultados.

Los resultados de estas tablas se refieren al proceso de hemofiltración realizado en la 3ª solución ensayada, (dis. de salicilatos en SSF 0,9%, P 7,4 y albúmina al 4%, Ht $\Omega$ . = 13%).

De igual forma que se hizo con la solución 2ª, antes de empezar la hemofiltración en esta tercera solución, se va a vaciar el sistema y se va a lavar con la solución acuosa base (SSF al 0,9% P 7,4), hasta que el líquido de lavado dé reacción negativa para la prueba de salicilatos. En este momento, se ceba el sistema con 200 ml., de solución base y se imponen las condiciones de flujo a la entrada del hemofiltro ( $v_{BI} = 154$  ml./min.) y de presión venosa ( $\bar{P}_O = 50$  mm. Hg.). Cuando el sistema está cebado y la solución base se recircula uniformemente, se inyecta la sangre que va a utilizarse a través de la llave A en posición A<sub>2</sub>. En este caso el volúmen inyectado es de 50 ml. de sangre del propio experimentador (grupo A, Rh+ y Ht $\Omega$  = 52%),

a la que, previamente citratada y centrifugada, se le extrae el plasma sobrenadante sea transparente y en estas condiciones, mediante una jeringa estéril se inyecta, por la llave A, al sistema.

Se espera unos 6 minutos para lograr el - "Steady-state" y se inyectan unos 40 ml. de albúmina al 20% (8 gramos aproximadamente), por la llave A en posición A<sub>2</sub>. Nuevamente se espera unos 6 minutos y se inyectan 10 ml. de una solución de 700 mg. de salicilato sódico por 100 ml. de solución base, equivalente a 60 mg., de salicilato. Se espera que la solución resultanterecircule unos 18 minutos y se procede a la extracción de muestras de igual forma que se hizo con la solución segunda.

Protocolo para la obtención de los datos de la cuarta y última situación experimental de hemofiltración, expuesta en la Tabla XVIII.

Una vez que se han extraído las muestras de la 3ª disolución ensayada, se deja el sistema recircu-

lando en circuito cerrado con la línea de ultrafiltrado drenando al matraz de mezcla, durante unas 3 horas, al cabo de este tiempo se tira su contenido y se lava con la solución base hasta reacción negativa de salicilatos, en ese momento se ceba el sistema con la solución base y se ponen las condiciones de flujo de las hemofiltraciones anteriores, ésto es  $v_{BI} = 154$  ml/min. y  $\bar{P}_O = 50$  mm. de Hg.

En esta ocasión el sistema se ceba con 300 ml. de la solución base, sin salicilatos, pues lo que se quiere estudiar en esta situación es solo los parámetros hemodinámicos después de haber perfundido de soluciones de albúminas y sangre.

Una vez cebado y recirculando uniformemente se obtiene las muestras expuestas en la Tabla XVIII para los estudios hemodinámicos.

Reactivos y aparatos usados para preparar las soluciones ensayadas en el sistema de hemofiltración y realizar los métodos de cuantificación analíticos.

Se distinguen dos grupos de reactivos y soluciones empleadas en la realización de este trabajo: los utilizados en la preparación de las soluciones ensayadas perfundizadas por el sistema de hemofiltración y los utilizados en la preparación de los reactivos analíticos.

Los compuestos y soluciones utilizadas para realizar los ensayos experimentales han sido:

Solución base salina fisiológica con tampón fosfato  $\text{pH} = 7,4.$ ; compuesto por: solución salina fisiológica de  $\text{clNa}$  al 0,9%, estéril y Apirógena (de la casa Grifols<sup>R</sup>), en la que se ha disuelto, en la proporción correspondiente, una mezcla de fosfatos monopotásico ( $\text{Po}_4 \text{H K}$ ) y disódico ( $\text{Po}_4 \text{H Na}_2 \text{ 1/2 H}_2\text{O}$ ) para obtener la solución tampón de fosfatos.

Las soluciones de albúmina humana en la solución base, se han preparado disolviendo en esta los correspondientes volúmenes de una solución de albúmina al 20% en hiposalina de la casa Behring.

Suspensión de hematíes al 13% en solución base: se han preparado a partir de la 50 ml. de la sangre del experimentador (A, Rh+, y Ht<sup>o</sup> = 52%), tratada de la forma descrita en los anteriores protocolos. Soluciones de salicilato sódico obtenidas disolviendo salicilato sódico (C<sub>7</sub> H<sub>5</sub> O<sub>3</sub> Na) en solución base en las proporciones definidas en los correspondientes/ protocolos ya descritos.

Los reactivos y disoluciones empleadas para los métodos analíticos han sido: Reactivo de Natelson (49) compuesto por: Nitrato férrico y ácido nítrico concentrado ( $\rho = 1.39$  gr./ml.) disueltos en agua destilada.

Reactivo para determinar la albúmina, por el método del Verde Bromo Cresol (BCG) (50).

Reactivo de la cian-meta-hemoglobina (reactivo de Darbkin (51) para determinar la hemoglobina.

Todos los reactivos usados para la preparación de las soluciones ensayadas son de pureza y calidad de "reactivos para análisis" de la casa Merck.

La fórmula utilizada para la obtención del tampón P PH = 7,4, se ha descrito anteriormente en este apartado, dentro del epígrafe "metodología" y está tomado de una monografía Merck sobre tampones (52).

El reactivo de Nalelson se ha preparado de la siguiente forma: Se disuelven 3,393 gramos de  $\text{NO}_3 \text{ H}$  concentrado (P = 1,39 gr/ml) en 500 ml, de agua en un matraz aforado, se añaden 5 gramos de Nitrato Férrico y se agitan hasta disolución total, se pasa la solución resultante a un frasco color topacio y se guarda en lugar oscuro.

Con este reactivo se construye una recta de calibración a 520 mm, para lo que se ha usado un espec-



trofotómetro Varican con 2 nm, de paso de banda.

Para obtener los datos de la Tabla II-A y la Fig. 7-a, con la gráfica de la recta y su ecuación de regresión, se ha seguido la siguiente metódica: Se ponen 0,25 ml. de muestra a ensayar y 1 ml. de reactivo y se mide el color violeta resultante en una microcubeta.

La correlación de este método analítico es muy buena y sigue la ley de Beer.

Para la albúmina se ha usado el método del reactivo Verde de bromo cresol (BGC) (reactivo preparado por la casa Q.C.A., y se mide a 630 nm en el espectrofotómetro Varican de 2 nm, de paso de banda). Para su cuantificación se ponen 0,02 ml de muestra y 5 ml. de reactivo y se deja 30 min. a temperatura ambiente antes de medirlo.

Los datos experimentales de la recta de calibración de este método se recogen en la Tabla II-b de

este apartado, y en la Fig 7-b de este mismo apartado se representa la recta de calibración con su ecuación de regresión), observándose que sigue perfectamente la ley de Beer.

Por último, para la cuantificación de la hemoglobina, se ha usado el método de la cianmetahemoglobina (método de Darbkin) para lo que se ha usado el reactivo preparado de la casa Boehringer y se ha construido su recta de calibración a 546 mm., midiéndose en el espectrofotómetro Varican (con 2 nm, de paso de banda), según la siguiente metódica: se toman 0,02 ml. de suspensión de sangre y se ponen en 5 ml. del reactivo, determinándose, seguidamente, su extinción.

Los datos obtenidos se expresan en las Tablas II-C de este apartado y la gráfica correspondiente, con su ecuación de correlación, se muestra en la Fig. 7c de este apartado, observándose que sigue perfectamente la ley de Beer.

Para la preparación de las soluciones y las

tomas de muestras y reactivos se ha usado un juego de pipetas automáticas de arrastre, con pistones de teflón de la casa Boehringer con rangos volumétricos respectivos de 0 a 50 ul (para pequeños volúmenes de muestra) de 0 a 250 ul (para medianos volúmenes de muestra) y de 0 a 2,5 ml, (para dosificación de reactivos).

Por último, y para concluir este apartado, se van a referir algunos de los trabajos consultados que, de alguna forma, tienen relación con el diseño y puesta a punto del sistema experimental descrito en este apartado.

De su lectura se deducen, como se verá detalladamente en el apartado de Discusión, dos tipos de enfoques en su contenido. Así, mientras que unos se relacionan con cuestiones e hipótesis relativas al fenómeno de la excrección de moléculas a través de estos sistemas experimentales, otros lo hacen con diseños de estos sistemas "in vitro".

Desde que Wolf diseñó su primer riñón artifi-

cial hasta nuestros días, se han sucedido una serie de estudios de investigación que se han desarrollado paralelamente a los de carácter tecnológico o terapéutico. De tal forma, que a partir de la década de los cincuenta se nota una creciente inquietud investigadora en este campo, según lo demuestran los trabajos de investigación y tecnología, y como se ha visto en la Introducción de esta Tesis.

A este tipo de trabajos y época pertenecen estudios sobre modernos diseños en ingeniería de dializadores (53), estudios de la cinética de excrección a través de un dializador (54), los que desarrollan estudios comparativos entre situaciones clínicas y de laboratorio (55), o los que se interesan por los problemas metodológicos de la cinética de excrección "in vitro" (56).

Actualmente las firmas productoras de estos organos artificiales tienen en cuenta estos estudios, y adjuntan en las fichas técnicas de los mismos, junto a otros parámetros y variables los aclaramientos "in

vivo" e "in vitro" para ellos (57).

En cuanto a los estudios "in vitro", hay que destacar que han sido y son motivo de numerosas controversias, como se discutiran ampliamente en el próximo apartado, debiendo, según algunos autores extrapolarlos a "in vivo" con cautela. Por este motivo, se encuentran trabajos que establecen ciertos coeficientes, mediante los que se relacionan con situaciones "in vivo" (58,59).

Otros autores, sin embargo expresan la capacidad de poder sacar conclusiones de estas situaciones "in vitro" para lo que tienen en cuenta la constante de eliminación  $k_e$  del hemofiltro (60); en otros estudios realizados con la técnica CAVH (hemofiltración continua arterio venosa), donde se estudian los coeficientes - "sieving", se manifiesta una cierta reserva a la hora de aceptar los aclaramientos "in vitro", arguyendo la ausencia de proteínas, cuando las soluciones empleadas en estos estudios, son de tipo acuoso (61).

La otra vertiente relativa al los trabajos

"in vitro", es la relacionada con los estudios existentes sobre diseños de sistemas experimentales. En este área, no existen muchas referencias en la literatura específica, si bien para el presente trabajo se han analizado una serie de estudios en los que se exponen distintos tipos y funcionamientos de estos sistemas, de los que se han obtenido datos e ideas para la realización experimental del presente sistema.

A este tipo de trabajos pertenecen unos en los que se realiza un diseño experimental para estudio de coeficiente de transmitancia ("sieving") en membranas de Cuprofán<sup>R</sup> y Poliacrinolitrilo (RP 69), en el que el ultrafiltrado se recircula en bucle cerrado (62). Otro trabajo, en que se estudia la permeabilidad de la membrana de Polisulfona a pirógenos, diseña un sistema de ultrafiltración, también en bucle cerrado en su circuito de ultrafiltrado (63). Otros trabajos que estudian la reducción del coeficiente de permeabilidad hidráulica, con la formación de un gel de proteínas sobre la membrana, utilizan un sistema de hemofiltración de tipo secuencial y características parecidas a los anteriores.

También se ha tenido en cuenta para el diseño del sistema experimental las monografías que ciertas firmas comerciales tienen sobre sistemas patentados de CAVH de control mecánico (65).

A parte de estos trabajos, se ha tenido en cuenta la experiencia obtenida durante el desarrollo de otros sistemas experimentales "in vitro", anteriores a este, diseñados para estudios cinéticos en hemodiálisis (66-69). De igual forma, se han considerado otros estudios también de situaciones "in vitro", pero con diseños de sistemas experimentales de hemofiltración continua (70), es decir, en los que el líquido de filtración, se infunde en el sistema simultáneamente y a medida que se produce el líquido ultrafiltrado.

### III. RESULTADOS



## RESULTADOS

En la introducción de este trabajo, se ha puesto de manifiesto que los objetivos del mismo, se van a centrar en dos puntos fundamentales: uno, relacionado en el diseño de un sistema experimental de hemofiltración para estudios "in vitro", y otro con la aplicación del mismo al estudio metodológico de la cinética de excreción de fármacos y biomoléculas.

La consecuencia del primer objetivo se logra y pone de manifiesto al comprobar su funcionalidad/ para lograr la consecución de los estudios cinéticos, como se discutirá ampliamente en el próximo apartado.

En cuanto al desarrollo de los estudios cinéticos, se hace posible mediante la aplicación de un conjunto de datos experimentales que seguidamente se van a expresar en este apartado.

Las tablas de este apartado están agrupadas en cuatro secciones, cada una correspondientes a las

cuatro situaciones experimentales que se describen en este trabajo.

Estas cuatro situaciones experimentales, expuestas en los objetivos de la introducción y en el apartado de material y métodos, corresponden a cuatro sesiones de hemofiltración, en que se ensayan las cuatro soluciones que se estudian.

Dichas situaciones se diferencian entre ellas sólo en el tipo de solución perfundida, ya que, por lo demás, son situaciones que transcurren en iguales condiciones de perfusión (igual velocidad del perfundido a la entrada del hemofiltro ( $v_{BI}$ ) e igual presión venosa a la salida del hemofiltro ( $\bar{P}_O$ )).

En la primera situación experimental, se perfunde una solución acuosa de salicilatos (de 27 mg/dl en SSF al 0,9% tampón (P) 7,4); en la segunda, una solución de salicilatos de, aproximadamente, la misma concentración, (en la misma solución acuosa con 2 grs% de albúmina humana; en la tercera una solución de sali-

cilatos de concentración aproximadamente igual (24mg/dl) en la solución acuosa anterior, con albúmina humana al 4% y hematocrito del 13%; en la cuarta y última se perfunde la solución acuosa sola sin salicilatos.

Los datos experimentales obtenidos de estas cuatro soluciones, se exponen en cuatro tipos de tablas (1): tablas para datos hemodinámicos donde se expresa velocidad de filtración ( $v_F$ ), velocidad del perfundido a la entrada y salida del hemofiltro ( $v_I$ ) y ( $v_O$ ), y fracciones de filtración (FF) etc. Tablas con datos experimentales para el cálculo de la presión venosa media ( $\bar{P}_O$ ); tablas para los datos de la cinética de excreción (concentración del perfundido a la entrada y salida del hemofiltro ( $C_I$  y  $C_O$ ), a la salida del hemofiltrado ( $C_F$ ), coeficientes "Sieving" ( $S_1$ ,  $S_2$  y  $S_3$ )); y tablas para el estudio de las eficiencias del proceso de hemofiltración (aclaramientos (cl) y parámetros derivados: fracción de aclaramientos (d), fracción máxima de aclaramientos ( $d_{max}$ ) y eficiencia (E).

Descripción de las tablas y gráficas referentes a la primera situación experimental

Para la realización de esta primera situación experimental de hemofiltración, se perfunde una solución acuosa de salicilatos y con los distintos datos obtenidos se elaboran cuatro tablas numeradas desde la III a la VI y cinco figuras reseñadas como figuras 8 (a, b, c,) y 9 (a y b).

En la primera tabla de esta situación experimental (Tabla III), se describen los datos farmacocinéticos de la perfusión de la primera solución anteriormente descrita. Esta, como las demás tablas presentadas en este apartado, son de doble entrada, expresándose en cinco columnas verticales el número de secuencia de hemofiltración (cinco en total) y en las columnas horizontales, los distintos parámetros que van a estudiarse. Estos, pueden agruparse en parámetros básicos y derivados, que son los que realmente nos interesan para los estudios hemodinámicos de la H.F.

Entre estos parámetros se citan: el volúmen de filtrado en cada secuencia de filtración ( $v_F$ ), el volúmen de perfundido, a la salida del hemofiltro ( $v_{W_o}$ ), para medir la velocidad de salida del perfundido y los correspondientes incrementos de tiempo  $\Delta t_{tF}$  y  $\Delta t_{t_o}$ , / empleadas en obtener estos volúmenes.

Entre los parámetros derivados vamos a obtener la velocidad de ultrafiltración ( $v_F$ ), la velocidad de perfusión a la salida del hemofiltro ( $v_{W_o}$ ), la velocidad del perfundido a la entrada del mismo ( $v_{W_I}$ ), y las fracciones de filtración (FF). Todos ellos se obtienen, en función de los citados anteriormente como básicos, y a partir de las correspondientes ecuaciones indicadas en el apartado de material y métodos.

Si se observan estos valores en dicha tabla, se encuentra que el volúmen de filtración  $V_F$ , es constante, e igual al 20 ml, ya que lo que interesa en cada secuencia es la medida del tiempo ( $\Delta t_{tF}$ ) que se tarda en obtenerlo. Por lo mismo  $v_{W_o}$  es constante (10 ml.)

Los tiempos  $A_{tF}$  e  $A_{to}$  también se mantienen constantes y en general puede observarse una cierta constancia en los datos de esta Tabla.

Relativas a ella son las gráficas representadas en la figura 8 (a, b, y c) que corresponden a las variaciones de  $v_F$ ,  $v_{W0}$ , y FF, frente a los tiempos totales de cada secuencia de hemofiltración  $t_s$ . Cada secuencia dura aproximadamente 12 min. y su significado se explicó en el apartado anterior.

En la siguiente Tabla (la nº IV), se representan los valores estimados de la presión venosa a la salida del hemofiltro en cuales se han determinado al final de cada secuencia de filtración. Sus valores muestran una cierta fluctuación, como se refleja en el coeficiente de variación expuesto junto a su valor medio y desviación estándar, al pie de la tabla.

En la Tabla V, se representan los valores de las concentraciones a la entrada ( $C_I$ ) a la salida ( $C_O$ ) y es el filtrado ( $C_F$ ), determinados simultáneamen-

te, tal y como se expresó en el apartado de material y métodos. También se adjunta en esta Tabla los valores de los tres tipos de coeficientes "Sieving" ( $S_1, S_2, S_3$ ) para cada una de las secuencias de hemofiltración. Puede observarse el decrecimiento de estos valores a medida que discurre el proceso hemofiltrativo, esto es, a medida que pasan y aumenta los tiempos de filtración ( $EAt_F$ ), lo que se refleja en la Fig. 9 a, donde se representan los valores de  $\ln C_I$  (logaritmo neperiano de concentración de la línea arterial a la entrada del hemofiltro), frente a los tiempos de filtración, deduciéndose su descenso con el tiempo, según la ecuación obtenida mediante tratamiento estadístico de regresión de los datos experimentales (71). Esta ecuación se representa al pie de la citada figura, y su coeficiente de correlación  $r = 0,987736$ , refleja la buena aproximación de los datos experimentales a la ecuación monoexponencial (72)

Contrariamente a lo que ocurre con las concentraciones, los coeficientes "Sieving" expresados en esta Tabla se mantienen con cierta constancia a lo

largo del proceso de hemofiltración, y en general un valor próximo a la unidad. Sus valores medios, desviación estándar y coeficientes de variación se expresan al pie de dicha Tabla.

En la última Tabla de esta primera situación experimental (tabla VI) se exponen los valores de los parámetros de control de las eficiencias excretoras del proceso de hemofiltración, o sea, los valores de los aclaramientos (Cl) y los parámetros derivados de él; fracción de aclaramientos ( $\delta$ ), fracción máxima de aclaramientos ( $\delta_{\max}$ ) y eficiencia del proceso (E).

Si se observa estos valores, se deduce la constancia de los aclaramientos en las distintas secuencias de hemofiltración (alrededor de 130 ml/min), así como la de los demás parámetros reseñados.

Al pie de la Tabla se expresan los valores medios y desviación estándar y coeficientes de variación para cada uno de ellos. En la Fig. 9-b se representan los valores de dichos aclaramientos frente a



tiempos de filtración.

Descripción de las Tablas y gráficas referentes a la segunda situación experimental

Como se dijo al principio de este apartado esta situación experimental se refiere al proceso de hemofiltración de la segunda solución que se estudia en este trabajo (disolución de salicilatos con albúmina al 2%), perfundida en las mismas condiciones de flujo a la entrada del hemofiltro ( $v_{OI}$ ) y con análogas presiones a aplicados a la línea venosa ( $\bar{P}_O$ ).

En relación con esta segunda situación experimental se han elaborado cinco tablas (de la VII a la XI), y cinco figuras, con los datos experimentales.

La primera Tabla de esta situación es la número VII, y en ella se desarrollan, al igual que se hizo en la Tabla III, los mismos parámetros básicos ( $V_F$ ,  $V_{PO}$ ,  $t_F$ ,  $t_O$ ) y derivados ( $V_F$ ,  $V_{PO}$ ,  $V_{PI}$ , FF), con la única diferencia de que ahora estas medidas se rea-

lizan en una solución protéica por lo que los suíndices de los volúmenes y velocidades a la salida del hemofiltro, se especifican con las siglas P O (P para indicar su naturaleza de disolución protéica), a diferencia de los subíndices usados en la Tabla nº III W<sub>0</sub> (W para indicar la naturaleza acuosa de aquellas soluciones).

Además de esta diferencia, en esta Tabla se distingue que las secuencias de hemofiltración se dividen en dos partes o subsecuencias, ello sin otro fin que el de extraer en cada una de ellas mayor volumen de filtrado y acelerar la cinética de excrección de los salicilatos, ya que de otra forma, dada la menor concentración libre de este fármaco en esta solución, se excretaría muy lentamente.

Los tiempos de filtración empleados en cada secuencia son la suma de los dos tiempos ( $t_a$  y  $t_b$ ). A excepción de estas observaciones, la Tabla está construída con los mismos criterios que se hizo para la número III.

Los volúmenes de filtración son siempre de 20 ml, excepto en las secuencias 2-b, 3-b, y 5-b en las que por razones prácticas se han establecido en 19ml, de la misma forma que se observa para los volúmenes de disolución plasmática medidas a la salida del hemofiltro  $V_{PO}$  en las secuencias 3ª y 4ª.

Estudiando los datos de esta Tabla puede verse como disminuyen las velocidades de filtración, a medida que transcurre los tiempos empleados en ella ( $\Sigma \Delta t_F$ ); igualmente se observa cómo aumentan las velocidades del perfundido a la salida del hemofiltro ( $v_{PO}$ ), a medida que transcurren las secuencias de hemofiltración, y de la misma forma se observa la disminución de las fracciones de filtración (FF).

En la continuación de la Tabla VII, se expresan los datos de los valores medios, desviación estándar y los coeficientes de variación (C.V.) para  $v_F$ ,  $v_{PO}$ , y FF frente a los tiempos empleados en cada secuencia de filtración (unos 12 minutos por secuencia). Al pie de cada uno de ellos se ha escrito las correspondientes

ecuaciones de regresión obtenidas con los datos experimentales, observándose que la ecuación para la  $v_{p_0}$  tiene pendiente positiva y las de  $v_F$  y FF son negativas.

En la Tabla VIII, se expone las distintas presiones venosas a la salida del hemofiltro, igual que se hizo en la Tabla IV de la anterior situación experimental.

En la Tabla IX se recogen los datos de las concentraciones a la entrada y salida del hemofiltro y en el líquido filtrado ( $C_{PI}$ ,  $C_{PO}$ ,  $C_F$ ), para la albúmina. En función de estos datos y mediante la ecuación:

$$FF = 1 - \frac{C_{PO}}{C_{PI}} \times 100, ; \text{ ecc. (51)}$$

obtenida mediante un simple balance de masas, se calculan las fracciones de filtración y el coeficiente "Sieving" ( $S_1$ ). Las fracciones de filtración así calculadas son algo menor que las obtenidas a partir de los datos hemodinámicos de la Tabla VII, aunque muy semejantes, y el coeficiente "Sieving", es cero en las cinco se-

cuencias de hemofiltración. Al pie de esta Tabla se expresan los valores medios, desviación estándar y coeficiente de variación, para las concentraciones a la entrada y salida del hemofiltro y para las fracciones de filtración (FF).

La Tabla X, recoge los datos de la cinética de excreción de los salicilatos y los coeficientes "Sie ving" estimados para las cinco secuencias de hemofiltración ( $S_1, S_2, S_3$ ). Puede observarse la disminución de las concentraciones  $C_I, C_O$  y  $C_F$ , a medida que discurren las secuencias de filtración. En la parte inferior de la tabla se expresan los valores medios, desviación estándar y los coeficientes de variación, para dichos coeficientes.

En la segunda Tabla (la número XI) se muestran los datos referentes a la eficiencia del proceso hemofiltrativo, durante esta segunda situación experimental. En ella puede observarse cómo disminuyen los aclaramientos ( $Cl$ ) y los parámetros derivados ( $\delta$  y  $\delta_{max}$ ) a medida que discurren las secuencias de hemofiltración,

mientras que las eficiencias (E) se mantienen constantes y alrededor del 100%.

Como en las otras tablas al pie de la misma se expresan los valores medios, la desviación estándar y el coeficiente de variación de cada uno de estos parámetros.

En la Fig. 11-a de este apartado, se representa la variación de las concentraciones del perfundido a la entrada del hemofiltro frente a los tiempos de filtración. Debajo de la gráfica se escribe la ecuación de regresión calculada y su correspondiente coeficiente de regresión.

En la Fig. 11-b, se representa la variación de los aclaramientos frente a los tiempos de filtración. Igual que en la figura anterior se expresa sus ecuaciones y coeficientes de represión al pie de las mismas.

Descripción de las tablas y gráficas correspondientes  
a la tercera situación

Esta situación, que discurre al igual que las anteriores bajo semejante condición de velocidad de perfusión ( $v_{BI}$ ) y presión a la salida del hemofiltro ( $\bar{P}_O$ ), se diferencia de las anteriores (situación 1ª y 2ª) en que la solución de salicilatos perfundida lleva también albúmina humana al 4% y sangre con un hematocrito del 13%.

Las tablas descritas en ella están comprendidas entre las XII a XVII, de este apartado, ambas inclusive y las gráficas corresponden a las figuras 12 (a, b y c) y 13 (a y b).

La Tabla XII describe los datos hemodinámicos de esta situación y tiene la misma estructuración y desarrollo que la Tabla VII de la situación experimental, anteriormente descrita. En ella se observa que los volúmenes de perfusión a la salida del hemofiltro  $V_{Bo}$  están ahora referidas a la sangre total, de ahí

el subíndice empleado (B=Blood).

Estudiando sus datos, puede observarse: cómo disminuye la velocidad de filtración con el tiempo ( $v_F$ ). Cómo aumenta la velocidad del perfundido a la salida  $v_{Bo}$  y como se mantiene constante la velocidad a la entrada ( $v_{BI}$ ). Las fracciones de filtración (FF) paralelamente a las velocidades de filtración, también disminuyen con el tiempo.

En la continuación de la Tabla (página siguiente) se pueden observar los valores medios, las desviaciones estándar y los coeficientes de variación para la velocidad de filtración ( $v_F$ ), la velocidad del perfundido a la entrada y salida del hemofiltro ( $v_{Bo}$  y  $v_{BI}$ ), y las fracciones de filtración (FF).

En las figuras 12-a, 12-b y 12-c, se representan las ecuaciones de regresión para  $v_F$ ,  $v_{BI}$ , y FF, frente a los tiempos de las secuencias de filtración ( $At_s$ ). Al pie de las mismas se escriben sus respectivas ecuaciones y coeficientes de regresión.



En la siguiente tabla (Tabla XIII), se exponen los valores medios de las presiones a la salida del hemofiltro (presión venosa  $\bar{P}_O$ ), debajo de la tabla se escribe el valor medio de éste, su desviación estándar y su coeficiente de variación.

En la Tabla XIV se expresan los datos de la cinética de excreción de la albúmina a su paso por el hemofiltro ( $C_I$ ,  $C_O$ ,  $C_F$ ), así como las fracciones de filtración calculadas a partir de estos datos y el coeficiente "Sieving", en este caso, igual que en la Tabla IX, de la anterior situación, igual a cero.

Debajo de la Tabla se representan los valores medios, desviación estándar y coeficiente de variación, para la concentración a la entrada ( $C_I$ ), a la salida ( $C_O$ ), y la fracción de filtración (FF).

La Tabla XV, se estructura de forma análoga a la anterior y en ella se miden las concentraciones de hemoglobina a la entrada y salida del hemofiltro ( $Hb_I$  y  $Hb_O$ ), y en el ultrafiltrado ( $Hb_F$ ), igual que

en la tabla anterior se determina el valor del coeficiente "Sieving", cuyo valor es cero, y los valores de las fracciones de filtración (FF), calculadas en función de las concentraciones de hemoglobina a la entrada y salida del hemofiltro.

Al pie de la tabla se expresan los valores medios, desviaciones estándar y coeficientes de variación para los parámetros  $Hb_I$ ,  $Hb_O$ , y FF.

En la siguiente tabla (Tabla XVI) se exponen los datos de la cinética de excreción de los salicilatos, es decir, las concentraciones de éstos a la entrada y salida del hemofiltro y en el ultrafiltrado ( $C_{PI}$ ,  $C_{PO}$  y FF). Los subíndices P se refieren a que las determinaciones se han realizado en plasma, previa separación de los hematíes por centrifugado. De igual forma que se hizo en las tablas análogas a las otras situaciones de hemofiltración, se expresan sus tres coeficientes "Sieving" y al pie de la tabla sus valores medios, desviación estándar y coeficientes de variación.

En conjunto, en esta Tabla se contempla una disminución de concentraciones y coeficientes con el transcurso de las secuencias de hemofiltración.

La Tabla XVII, se refiere a las eficiencias excretoras de la hemofiltración en esta situación experimental, observándose en ella una disminución de todos los parámetros, relativos a los aclaramientos, a medida que discurren las secuencias. Debajo de ella, como siempre, se expresan los valores medios, las desviaciones estándar y los coeficientes de variación.

En las figuras 13-a y 13-b, se representan las variaciones de la concentración a la entrada ( $C_{PI}$ ), frente a los tiempos de hemofiltración ( $At_F$ ), y las variaciones de los aclaramientos ( $Cl_B$ ), frente a estos mismos tiempos.

Tablas y graficas pertenecientes a la cuarta situación experimental.

Durante este periodo de hemofiltración se

perfunde sólo solución acuosa SSF al 0,9% con tampón (P) 7,4, bajo las mismas condiciones de velocidad de perfusión a la entrada del hemofiltro  $v_{BI}$  y presión en la salida venosa ( $\bar{P}_O$ ), que en las situaciones experimentales anteriores.

Esta situación está descrita en una única tabla, (Tabla XVIII), con los datos hemodinámicos del proceso hemofiltrativo y tres figuras representadas (14-a, 14-b, y 14-c).

La Tabla está realizada bajo los mismos criterios con los cuales se confeccionó la Tabla nº III, para la primera situación experimental de hemofiltración. En ella puede observarse, al igual que en aquélla, la constancia de sus parámetros, cuyos valores medios, coeficientes de desviación estándar y coeficientes de variación se expresan en la página siguiente a ésta como continuación de la misma.

Las gráficas 14-a, 14-b y 14-c, representan los valores de la velocidad de filtración ( $v_F$ ), la ve-

locidad del perfundido a la salida del hemofiltro y las fracciones de filtración, frente a los tiempos de las distintas secuencias, obserándose en general su constancia.

Por último, la Tabla XIX, representa las variaciones que han sufrido los coeficientes de permeabilidad hidráulica ( $L_p$ ), las viscosidades, las pérdidas de carga por rozamiento ( $P_R$ ) y la presión transmembrana (TPM) en las cuatro situaciones experimentales de hemofiltración realizadas en este trabajo.

En las figuras 15-a y 15-b, se representa mediante un tratamiento estadístico adecuado (73), en unos diagramas de barras, las variaciones que han sufrido los aclaramientos y las velocidades de filtración a lo largo de las cuatro situaciones experimentales de hemofiltración.

IV. GRAFICAS, FIGURAS Y TABLAS

TABLAS I., II, IIa, IIb y IIc  
DEL APARTADO MATERIAL Y METODOS

TABLA IDATOS EXPERIMENTALES PARA LA CALIBRACION DE LA  
BOMBA PERISTALTICA (B.P.)

E. (Adimensional)	v (ml/min)
20.0	76.2
40.0	177.6
60.0	265.5
80.0	365.0
90.0	406.0

E : Escala adimensional de 0 a 100 de la B.P.

$v_B$  : Velocidad de flujo volumétrico



TABLA II

VOLUMENES ESTIMADOS PARA CADA COMPONENTE DEL SISTEMA  
EXPERIMENTAL DE HEMOFILTRACION

COMPONENTE	VOLUMEN EN ml
$V_F$	102.0
$V_C$	56.0
$V_{LA}$	36.0
$V_{LV}$	17.0
$V_{MM}$	80.0
$V_I$	291.0

- $V_F$  = Volumen de la cámara de ultrafiltrado  
 $V_C$  = Volumen de cebado de las fibras capilares  
 $V_{LA}$  = Volumen del segmento de línea arterial  
 $V_{LV}$  = Volumen del segmento de línea venosa  
 $V_{MM}$  = Volumen del matraz de mezcla

TABLA II-A

RECTA DE CALIBRACION PARA DETERMINACION DE SALICILATOS  
POR EL METODO DE NATELSON

DISOLUCIONES DE LA SOLUCION PATRON	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16
CONCENTRACION (C) (mg/dl)	50.000	25.000	12.5000	6.250	3.125
EXTINCION (E) (520nm)	0.822	0.414	0.215	0.102	0.052

Ecuación de la recta de regresión:

$$C_x = - 0.187 + 60.94 \cdot E$$

Coefficiente de Correlación:  $r = 0.99991316$

TABLA II-B

RECTA DE CALIBRACION PARA DETERMINACION DE LA ALBUMINA  
POR EL METODO VERDE BRONO CRESOL (G C B)

DISOLUCIONES DE LA SOLUCION PATRON	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16
CONCENTRACION (C) (gr/dl)	6.00	3.00	1.50	1.25	0.63
EXTINCION (E) (630nm)	0.706	0.358	0.172	0.145	0.078

Ecuación de la recta de regresión:

$$C = - 5.31 \times 10^{-4} + 8.49 \cdot E$$

$$r = 0.999877$$

TABLA II-C

RECTA DE CALIBRACION PARA LA DETERMINACION DE HEMOGLOBINA  
POR EL METODO DARBKIN

DISOLUCIONES DE LA SOLUCION PATRON	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16
CONCENTRACION (C) (mg/dl)	20.0	10.0	5.0	2.5	1.25
EXTINCION (E) (546mn)	0.473	0.235	0.119	0.062	0.031

Ecuación de la recta de regresión:

$$C_x = - 0.072 + 42.5 \cdot E$$

Coefficiente de correlación  $\Upsilon = 0.9999736$

TABLAS III, IV, V y VI CON LOS DATOS DE LA SITUACION  
EXPERIMENTAL PRIMERA

(Perfusión de solución acuosa de salicilato en SSF  
al 0.9 % en tampón (P) pH 7.4)

TABLA III

DATOS HIDRODINAMICOS OBTENIDOS PARA LA PERFUSION DE LA  
SOLUCION ACUOSA DE SALICILATO POR EL HEMOFILTRO

SECUENCIA DE FILTRACION	1a	2a	3a	4a	5a
$V_F$ (ml)	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0
$t_F$ (seg)	9.3	9.2	9.3	9.4	9.3
$V_F$ (ml/min)	129.0	130.4	129.0	127.7	129.0
$V_{WO}$ (ml)	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
$t_0$ (seg)	20.0	21.2	20.8	22.0	21.0
$V_{WO}$ (ml/min)	30.0	28.3	28.8	27.3	28.6
$V_{WI}$ (ml/min)	159.0	158.7	157.8	155.0	157.6
FF (%)	81.1	82.2	81.7	82.6	81.9
$\Sigma \Delta t_f$ (seg)	9.3	18.5	27.8	37.2	46.5

CONTINUACION DE LA TABLA III

$$\bar{v}_F = 129.0 \pm 0.85 \text{ (ml/min)} ; \text{ C.V.} = 0.70\%$$

$$\bar{v}_{WO} = 28.6 \pm 0.87 \text{ (ml/min)} ; \text{ C.V.} = 3.00\%$$

$$\bar{v}_{WI} = 157.6 \pm 1.41 \text{ (ml/min)} ; \text{ C.V.} = 0.90\%$$

$$\bar{F}\bar{F} = 81.86 \pm 0.45 \text{ (\%)} ; \text{ C.V.} = 0.55\%$$

TABLA IV

VALORES MEDIOS EXPERIMENTALES ESTIMADOS PARA LA PRESION  
VENOSA VENOSA A LA SALIDA DEL HEMOFILTRO

SECUENCIA DE FILTRACION	1a	2a	3a	4a	5a
Po (en mm de Hg)	50	45	50	55	45

$$\bar{P}_O = 49 \pm 3.7 ; \text{C.V.} = 7.6\%$$

$\bar{P}_O$  = Presión venosa media medida a la salida del hemo-  
filtro en la trampa caza burbujas (T.C.)



TABLA V

DATOS CINETICOS OBTENIDOS PARA LA EXCRECCION DE LA SOLUCION  
ACUOSA DE SALICILATO POR EL HEMOFILTRO

SECUENCIA DE FILTRACION	1a	2a	3a	4a	5a
$C_I$ (mg/dl)	26.2	22.6	20.0	18.4	16.8
$C_O$ (mg/dl)	27.1	23.5	21.2	19.3	17.3
$C_F$ (mg/dl)	26.2	23.7	20.8	19.1	17.0
$S_1$ (Adimensional)	1.00	1.04	1.04	1.04	1.01
$S_2$ (Adimensional)	0.98	1.03	1.01	1.01	1.00
$S_3$ (Adimensional)	1.00	1.12	1.12	1.12	1.03

$$\bar{S}_1 = 1.024 \pm 0.021 ; \text{C.V.} = 2.0\%$$

$$\bar{S}_2 = 1.01 \pm 0.02 ; \text{C.V.} = 1.6\%$$

$$\bar{S}_3 = 1.074 \pm 0.06 ; \text{C.V.} = 5.5\%$$

TABLA VI

CALCULOS DE ACLARAMIENTOS (Cl), FRACCION DE ACLARAMIENTOS  
( $\delta$ ), FRACCION MAXIMA DE ACLARAMIENTO ( $\delta$  máx), Y EFICIENCIAS  
(E), OBTENIDOS PARA LA PERFUSION DE LA SOLUCION  
ACUOSA DE SALICILATO

SECUENCIA DE FILTRACION	1a	2a	3a	4a	5a
Cl (ml/min)	129.0	135.6	132.2	132.8	130.3
$\delta$ (%) (Adimensional)	79.9	86.2	85.0	85.6	82.8
$\delta$ máx (%) (Adimensional)	81.1	82.2	81.7	82.4	81.9
$E = \frac{\delta}{\delta \text{ máx}}$ ; %	98.5	105.7	104.0	103.8	101.1

$$\bar{Cl} = 132.4 \pm 2.4 \text{ (ml/min)} ; \text{C.V.} = 1.8\%$$

$$\bar{\delta} = 83.9 \pm 2.3 \text{ (\%)} ; \text{C.V.} = 2.7\%$$

$$\bar{\delta}_{\text{máx}} = 81.9 \pm 0.5 \text{ (\%)} ; \text{C.V.} = 5.5\%$$

$$\bar{E} = 102.6 \pm 2.5 \text{ (\%)} ; \text{C.V.} = 2.5\%$$

TABLAS VII, VIII, IX, X Y X CON LOS DATOS DE LA  
SITUACION EXPERIMENTAL SEGUNDA

TABLA VII

DATOS HEMODINAMICOS OBTENIDOS DURANTE LA PERFUSION DE LA  
SOLUCION DE SALICILATO EN ALBUMINA HUMANA AL 2%DA  
EN S.S.F. TAMPON (P) 7.4

SECUENCIA DE FILTRACION	1a		2a		3a		4a		5a	
	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
$V_F$ (ml)	20.0	20.0	20.0	19.0	20.0	19.0	20.0	21.0	20.0	19.0
$t_F$ (seg)	33.4	33.7	35.3	33.7	36.6	35.6	38.7	41.0	40.3	38.0
$v_F$ (ml/min)	36.0	35.6	34.0	33.8	32.8	32.0	31.0	30.7	29.8	30.0
$v_{po}$ (ml)	20.0		20.0		19.0		21.0		20.0	
$t_o$ (seg)	10.2		9.9		9.3		10.2		9.7	
$v_{po}$ (ml/min)	118.0		121.0		122.0		123.0		124.0	
$v_{PI}$ (ml/min)	153.8		154.9		154.4		153.9		153.9	
FF (%)	23.3		21.9		21.0		20.0		19.4	
$\Sigma t_F$ (seg)	67.1		136.1		208.3		288.0		366.3	

CONTINUACION DE LA TABLA VII

$$\bar{v}_f = 32.57 \pm 2.12 \text{ (ml/min)} ; \text{C.V.} = 6.5\%$$

$$\bar{v}_{po} = 121.60 \pm 2.10 \text{ (ml/min)} ; \text{C.V.} = 1.7\%$$

$$\bar{v}_{pI} = 154.2 \pm 0.42 \text{ (ml/min)} ; \text{C.V.} = 0.3\%$$

$$\bar{FF} = 21.12 \pm 1.38 (\%) ; \text{C.V.} = 6.6\%$$

TABLA VIII

VALORES MEDIOS EXPERIMENTALES DE LA PRESION VENOSA  
A LA SALIDA DEL HEMOFILTRO

SECUENCIA DE FILTRACION	1ª	2ª	3ª	4ª	5ª
$\bar{P}_O$ (en mm de Hg)	50	45	55	55	50

$$\bar{P}_O = 50 \pm 3.5 ; \text{C.V.} = 7.1 \%$$

$\bar{P}_O$  = Presión venosa media medida a la salida del hemo-filtro en la trampa caza burbujas (T.C.)

TABLA IX

DATOS DE LA CINETICA DE EXCRECCION DE LA ALBUMINA  
CORRESPONDIENTE A LA PERFUSION DE LA SOLUCION DE  
SALICILATOS EN ALBUMINA HUMANA AL 2%

SECUENCIA DE FILTRACION	1a	2a	3a	4a	5a
$C_I$ (g/dl)	1.81	1.82	1.83	1.83	1.85
$C_O$ (g/dl)	2.32	2.33	2.29	2.30	2.28
$C_F$ (g/dl)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
FF (%) (Adimensional)	22.00	21.90	20.10	20.40	19.00
S (Adimensional)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

$$\bar{C}_I = 1.83 \pm 0.01 \text{ (mg/dl)} ; \text{C.V.} = 0.7 \%$$

$$\bar{C}_O = 2.32 \pm 0.03 \text{ (mg/dl)} ; \text{C.V.} = 1.3 \%$$

$$\bar{FF} = 20.70 \pm 1.10 \text{ (\%)} ; \text{C.V.} = 5.3 \%$$

TABLA X

DATOS DE LA CINETICA DE EXCRECCION DE LOS SALICILATOS  
OBTENIDOS DURANTE LA PERFUSION DE LA SOLUCION  
DE SALICILATOS EN ALBUMINA AL 2%

SECUENCIA DE FILTRACION	1a	2a	3a	4a	5a
$C_I$ (mg/dl)	23.8	22.6	21.0	19.7	18.6
$C_O$ (mg/dl)	28.0	24.4	22.6	20.9	19.8
$C_F$ (mg/dl)	9.8	8.3	7.10	6.20	5.30
$S_1$ (Adimensional)	0.41	0.37	0.34	0.315	0.28
$S_2$ (Adimensional)	0.380	0.35	0.33	0.305	0.28
$S_3$ (Adimensional)	0.380	0.34	0.31	0.290	0.26

$$\bar{S}_1 = 0.344 \pm 0.04 ; \text{C.V.} = 12.6\%$$

$$\bar{S}_2 = 0.33 \pm 0.03 ; \text{C.V.} = 10.5\%$$

$$\bar{S}_3 = 0.316 \pm 0.04 ; \text{C.V.} = 13.6\%$$



TABLA XI

CALCULOS DE ACLARAMIENTOS (Cl), FRACCIONES DE ACLARAMIENTOS  
( ), FRACCION MAXIMA DE ACLARAMIENTO ( máx), Y  
EFICIENCIAS (E), OBTENIDOS DURANTE LA PERFUSION DE LA SOLUCION  
DE SALICILATOS EN ALBUMINA HUMANA AL 2%

SECUENCIA DE FILTRACION	1a	2a	3a	4a	5a
Cl (ml/min)	14.7	12.5	11.0	10.9	8.5
$\delta$ (%) (Adimensional)	9.6	8.0	7.1	6.3	5.5
$\delta_{\text{máx}}$ (%) (Adimensional)	9.6	8.1	7.1	6.3	5.4
$E = \frac{\delta}{\delta_{\text{máx}}} ; \%$	100.0	98.7	100.0	100.0	101.3

$$\bar{Cl} = 11.52 \pm 2.04 \text{ (ml/min)} ; \text{ C.V.} = 17.7 \%$$

$$\bar{\delta} = 7.3 \pm 1.42 \text{ (\%)} ; \text{ C.V.} = 19.4 \%$$

$$\bar{\delta}_{\text{Máx}} = 7.6 \pm 1.52 \text{ (\%)} ; \text{ C.V.} = 20.1 \%$$

$$\bar{E} = 100 \pm 0.82 \text{ (\%)} ; \text{ C.V.} = 0.08\%$$

TABLAS XII, XIII, XIV, XV y XVI CON LOS DATOS DE LA  
SITUACION EXPERIMENTAL TERCERA

TABLA XII

DATOS HEMODINAMICOS OBTENIDOS DURANTE LA PERFUSION  
DE LA SOLUCION DE SALICILATO EN ALBUMINA HUMANA  
AL 4% Y HEMATOCRITO DEL 13% EN S.S.F. TAMPON P 7.4

SECUENCIA DE FILTRACION	1a		2a		3a		4a		5a	
	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
$V_F$ (ml)	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0
$t_F$ (ml)	54.5	57.1	58.2	60.6	61.2	61.8	64.5	65.2	66.7	68.9
$v_F$ (ml/min)	22.0	21.0	20.6	19.8	19.6	19.4	18.6	18.4	18.0	17.4
$v_{BO}$ (ml/min)	20.0		20.0		20.0		20.0		20.0	
$BO$ (seg)	9.2		9.1		9.0		8.9		8.7	
$v_{BO}$ (ml/min)	130.0		132.0		133.0		135.0		138.0	
$v_{BI}$ (ml/min)	151.5		152.2		152.5		153.5		155.7	
$FF = \frac{v_F}{v_{BO} v_F} (\%)$	14.2		13.3		12.8		12.1		11.4	
$\Sigma \Delta t_F$ (seg)	111.6		230.4		353.4		483.1		618.7	

CONTINUACION DE LA TABLA XII

$$\bar{v}_F = 19.48 \pm 1.36 ; \text{C.V.} = 7.0\%$$

$$\bar{v}_{WO} = 133.6 \pm 2.73 ; \text{C.V.} = 2.0\%$$

$$\bar{v}_{WI} = 153.0 \pm 1.49 ; \text{C.V.} = 1.0\%$$

$$\bar{FF} = 12.76 \pm 0.96 ; \text{C.V.} = 7.6\%$$

TABLA XIII

VALORES MEDIOS EXPERIMENTALES DE LA PRESION  
VENOSA A LA SALIDA DEL HEMOFILTRO

SECUENCIA DE FILTRACION	1ª	2ª	3ª	4ª	5ª
$\bar{P}_o$ (en mm de Hg)	45	50	55	55	60

$$\bar{P}_o = 53 \pm 5.1 ; \text{C.V.} = 9.6 \%$$

$\bar{P}_o$  = Presión venosa media medida a la salida del hemo-filtro en la trampa caza burbujas (T.C.)

TABLA XIV

DATOS DE LA CINETICA DE EXCRECCION DE ALBUMINA  
OBTENIDOS DURANTE LA PERFUSION DE LA SOLUCION DE SALICILATOS  
EN ALBUMINA HUMANA AL 4% Y Hto. 13%  
EN S.S.F., TAMPON (P) 7.4

SECUENCIA DE FILTRACION	1a	2a	3a	4a	5a
$C_I$ (gr/dl)	3.80	3.90	3.80	3.75	3.90
$C_O$ (gr/dl)	4.40	4.50	4.35	4.30	4.40
$C_F$ (gr/dl)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
FF (Adimensional)	13.6	13.3	12.6	12.8	11.4
S (Adimensional)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

$$\bar{C}_I = 3.83 \pm 0.06 \text{ (gr/dl)} ; \text{ C.V.}=1.7\%$$

$$\bar{C}_O = 4.35 \pm 0.07 \text{ (gr/dl)} ; \text{ C.V.}=1.5\%$$

$$\bar{FF} = 12.7 \pm 0.8 \text{ (\%)} ; \text{ C.V.}=5.9\%$$

TABLA XV

DATOS CINETICOS DE LAS CONCENTRACIONES DE HEMOGLOBINA  
(Hb) A LA ENTRADA Y SALIDA DEL HEMOFILTRO, OBTENIDOS  
DURANTE LA PERFUSION DE LA SOLUCION DE SALICILATOS EN ALBUMINA  
HHUMANA AL 4% Y Hto. 13% EN S.S.F. TAMPON (P) 7.4

SECUENCIA DE FILTRACION	1a	2a	3a	4a	5a
Hb <sub>I</sub> (gr/dl)	4.0	4.0	4.1	4.0	4.1
Hb <sub>O</sub> (gr/dl)	4.7	4.6	4.7	4.5	4.6
Hb <sub>F</sub> (gr/dl)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S (Adimensional)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
FF (Adimensional)	14.9	13.0	12.8	11.1	10.9

$$\bar{Hb}_I = 4.04 \pm 0.05 \text{ (gr/dl)} ; \text{ C.V.} = 1.2 \%$$

$$\bar{Hb}_O = 4.62 \pm 0.08 \text{ (gr/dl)} ; \text{ C.V.} = 1.6\%$$

$$\bar{FF} = 12.5 \pm 1.5 \text{ (\%)} ; \text{ C.V.} = 11.6\%$$

TABLA XVII

CALCULOS DE LOS ACLARAMIENTOS ( $Cl_p$  y  $Cl_B$ ), FRACCION DE  
 ACLARAMIENTO ( $\delta$ ), FRACCION MAXIMA DEL ACLARAMIENTO,  
 EFICIENCIAS (E), OBTENIDOS MEDIANTE LA PERFUSION DE LA  
 SOLUCION DE SALICILATO EN ALBUMINA AL 4% Y Hto. = 13%

SECUENCIA DE FILTRACION	1a	2a	3a	4a	5a
$Cl_p$ (ml/min)	4.52	4.04	3.80	3.52	3.40
$Cl_B$ (ml/min)	5.70	4.20	3.94	3.70	3.50
$\bar{\delta}_B$ (%) (Adimensional)	3.7	2.7	2.6	2.4	2.3
$\delta_B$ máx (%) (Adimensional)	12.3	12.4	11.4	11.6	10.3
$E = \frac{\delta_B}{\delta_B^{\text{máx}}}$ (%)	30.0	21.0	22.8	20.7	22.3

$$\bar{Cl}_p = 3.86 \pm 0.4 \text{ (ml/min)} ; \text{C.V.} = 10.4 \%$$

$$\bar{Cl}_B = 4.21 \pm 0.8 \text{ (ml/min)} ; \text{C.V.} = 18.6 \%$$

$$\bar{\delta}_B = 2.75 \pm 0.9 \text{ (\%)} ; \text{C.V.} = 18.7 \%$$

$$\bar{\delta}_B^{\text{máx}} = 11.6 \pm 0.8 \text{ (\%)} ; \text{C.V.} = 6.5 \%$$

$$\bar{E} = 19.36 \pm 9.2 \text{ (\%)} ; \text{C.V.} = 47 \%$$



TABLA XVIII CON LOS DATOS DE LA  
SITUACION EXPERIMENTAL CUARTA

TABLA XVIII

DATOS HIDRODINAMICOS OBTENIDOS DURANTE LA PERFUSION  
DE UNA SOLUCION S.S.F. AL 0.9% TAMPON (P) 7.4  
DESPUES DE HABER MODIFICADO SOLUCIONES DE ALBUMINA

SECUENCIA DE FILTRACION	1ª	2ª	3ª	4ª	5ª
$V_F$ (ml)	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0
$t_F$ (seg)	37.0	38.1	36.8	34.0	35.3
$v_F$ (ml/min)	32.4	31.5	32.6.	33.0	32.0
$V_{WO}$ (ml)	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0
$t_o$ (seg)	10.0	9.7	10.1	9.9	9.8
$v_{WO}$ (ml/min)	120	123.7	118.0	121.0	123.0
$v_{WI}$ (ml/min)	152.4	155.2	150.6	154.0	155.0
FF (%) (Adimensional)	23.6	20.3	21.6	21.4	20.6

CONTINUACION DE LA TABLA XVIII

$$\bar{v}_F = 32.3 \pm 0.51 \text{ (ml/min)} ; \text{C.V.} = 1.6\%$$

$$\bar{v}_{WO} = 121.1 \pm 2.1 \text{ (ml/min)} ; \text{C.V.} = 1.7\%$$

$$\bar{v}_{WI} = 153.44 \text{ (ml/min)}$$

$$\bar{F}\bar{F} = 21.5 \pm 1.16 (\%) ; \text{C.V.} = 5.4\%$$

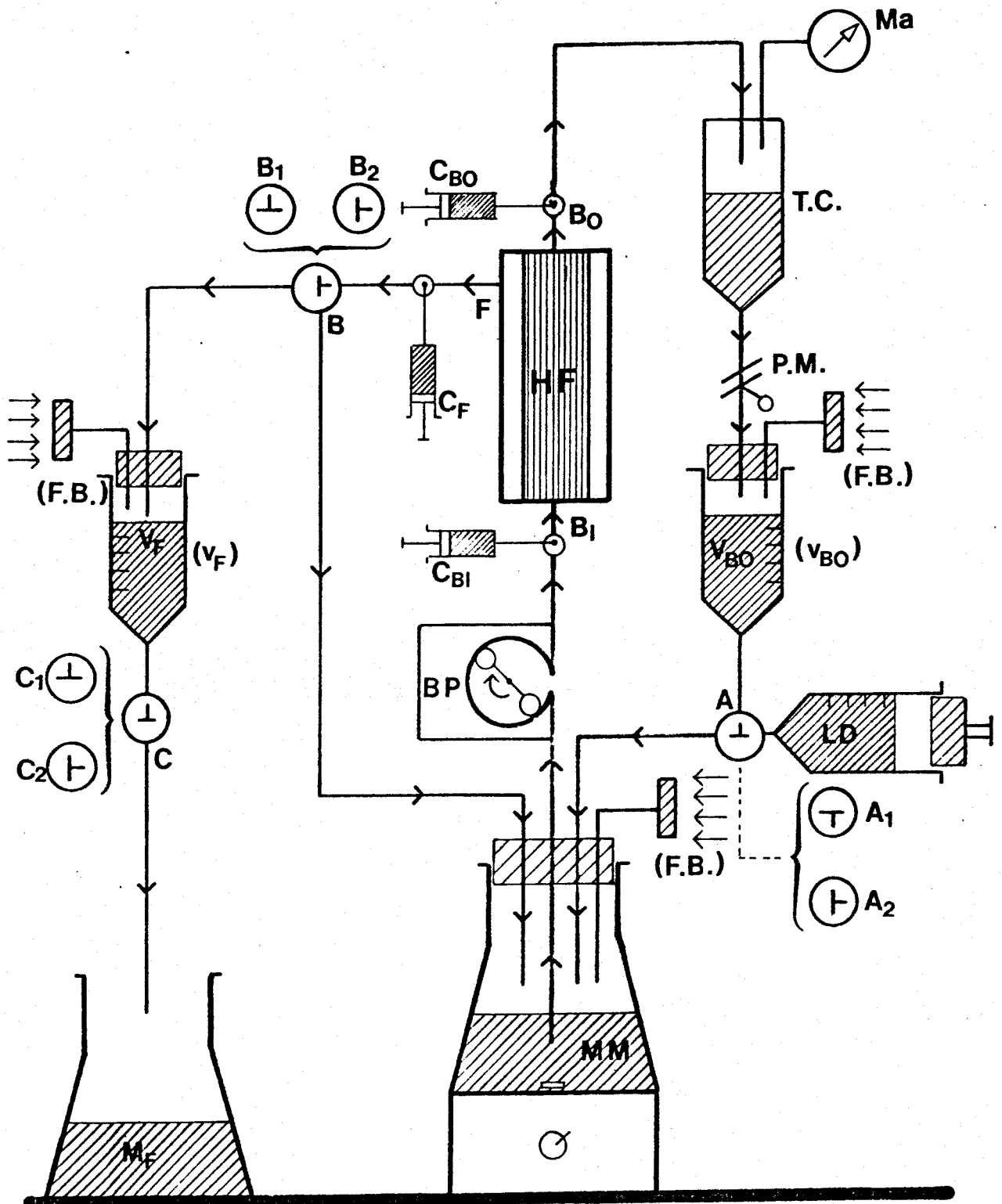
TABLA XIX

VALORES ESTIMADOS DE LAS VISCOSIDADES ( $\mu$ ), LAS PERDIDAS DE CARGAS ( $\Delta P_R$ ), LAS PRESIONES TRANSMEMBRANA ( $T\bar{P}M$ ) Y LOS COEFICIENTES DE PERMEABILIDAD HIDRAULICA, EN LAS CUATRO SOLUCIONES ESTUDIADAS EN ESTE TRABAJO

Parámetros	$\mu$ (poises) a 27 $^{\circ}$ C	$\Delta P_R$ (mm de Hg)	$T\bar{P}M$ (mm de Hg)	$L_p$ ml / m <sup>2</sup> . min .mm Hg
Solución 1 <sup>a</sup>	0,98.10 <sup>-2</sup>	12.1	64.4	3.08
Solución 2 <sup>a</sup>	1,05.10 <sup>-2</sup>	13.0	63.1	0.820
Solución 3 <sup>a</sup>	2,54.10 <sup>-2</sup>	30.3	65,8	0,456
Solución 4 <sup>a</sup>	0,96.10 <sup>-2</sup>	11.9	66.3	0.750

FIGURAS Y GRAFICAS

FIGURA 1



SISTEMA EXPERIMENTAL DE HEMOFILTRACION

FIGURA 2

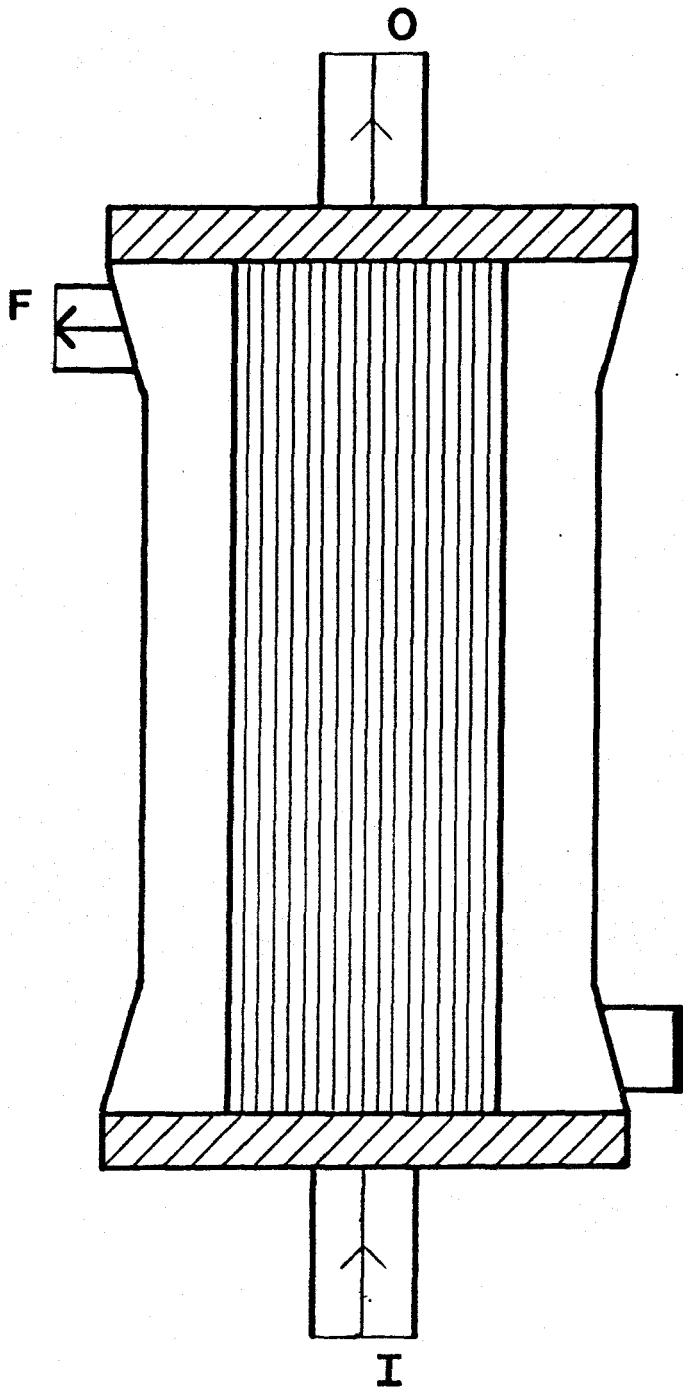
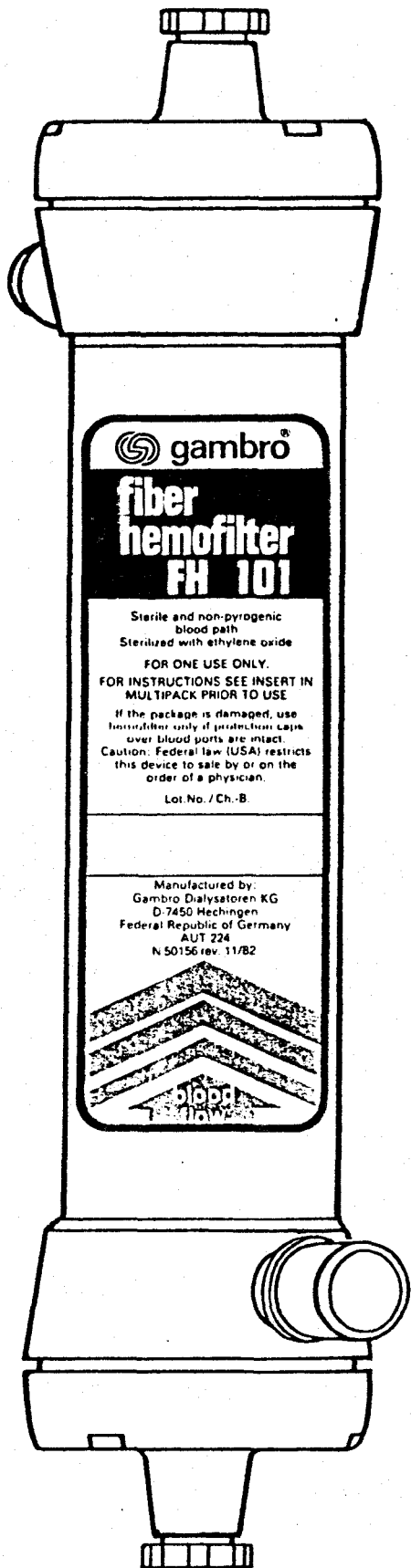




FIGURA 2a

## Technical data

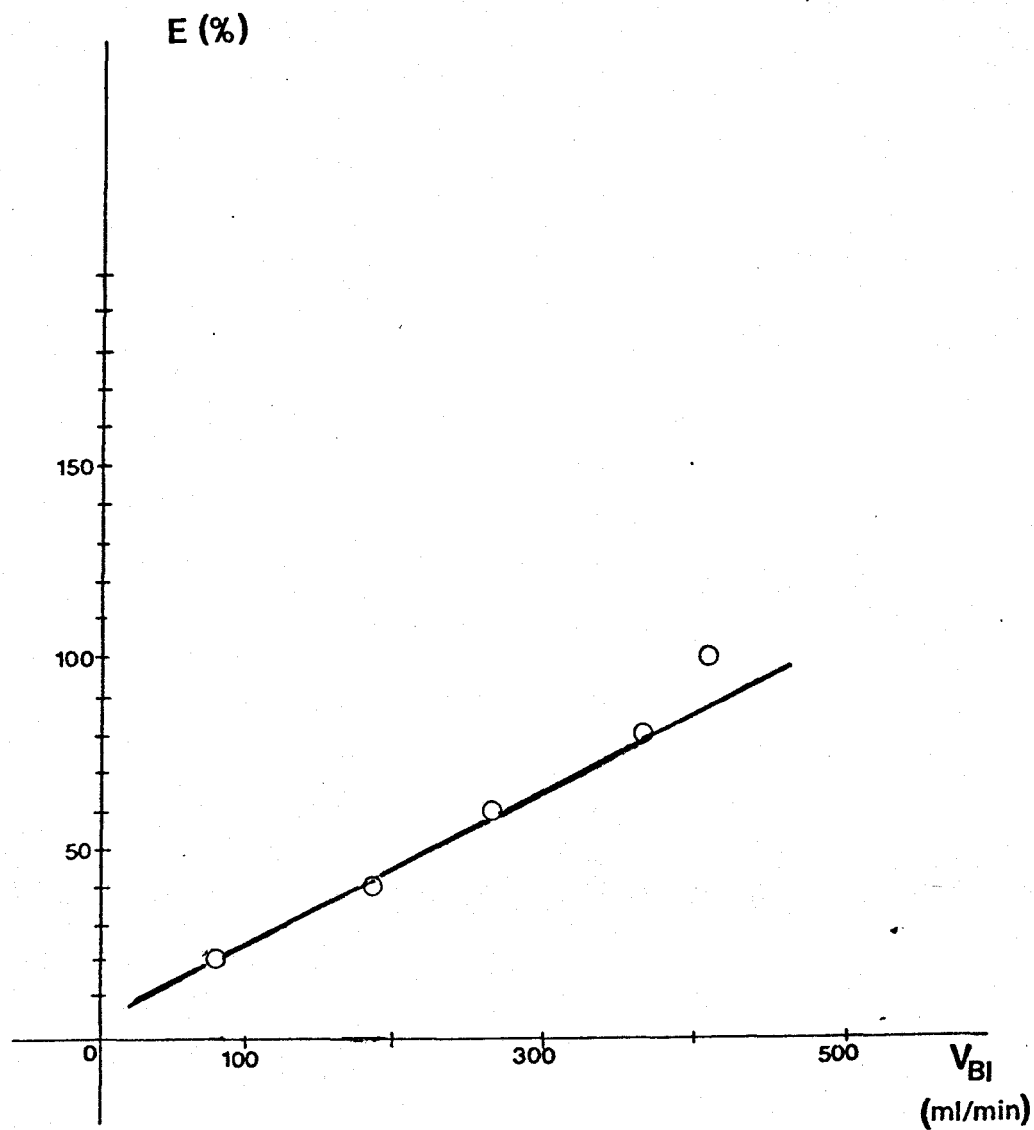


Membrane	Asymmetric polyamide hollow fiber
Effective membrane area	0.65 m <sup>2</sup>
Fiber internal diameter (dry and wet)	220 μm
Number of fibers	5200
Effective length of fibers	18 cm
Weight	185 g
Material	Styrene-acrylonitrile (SAN) Polycarbonate (PC) Polyurethane (PU) Silicone rubber (SIR) Polyamide membrane (PA) Polyamide support net (PA)
Priming Volume (non-compliant)	52 ml
Max. transmembrane pressure (TMP)	600 mm Hg
Flow resistance	100 mm Hg bovine blood of hematocrit 25% protein content 70 g/l at Q <sub>B</sub> = 300 ml/min, TMP = 500 mm Hg and 37°C (in vitro)
Sterilizing agent	Ethylene oxide
Recommended storage conditions	below +30°C (+86°F)
Packaging	16 pcs./case
Warning	Gambro Fiber Hemofilters have a high filtration capability and should be used with extreme caution!

For performance data, see reverse side.



FIGURA 3



RECTA DE CALIBRACION DE LA BOMBA PERISTALTICA

$$E = 1,567 + 0,217 \times V_{BI}$$

$$r = 0,099876$$

FIGURA 4

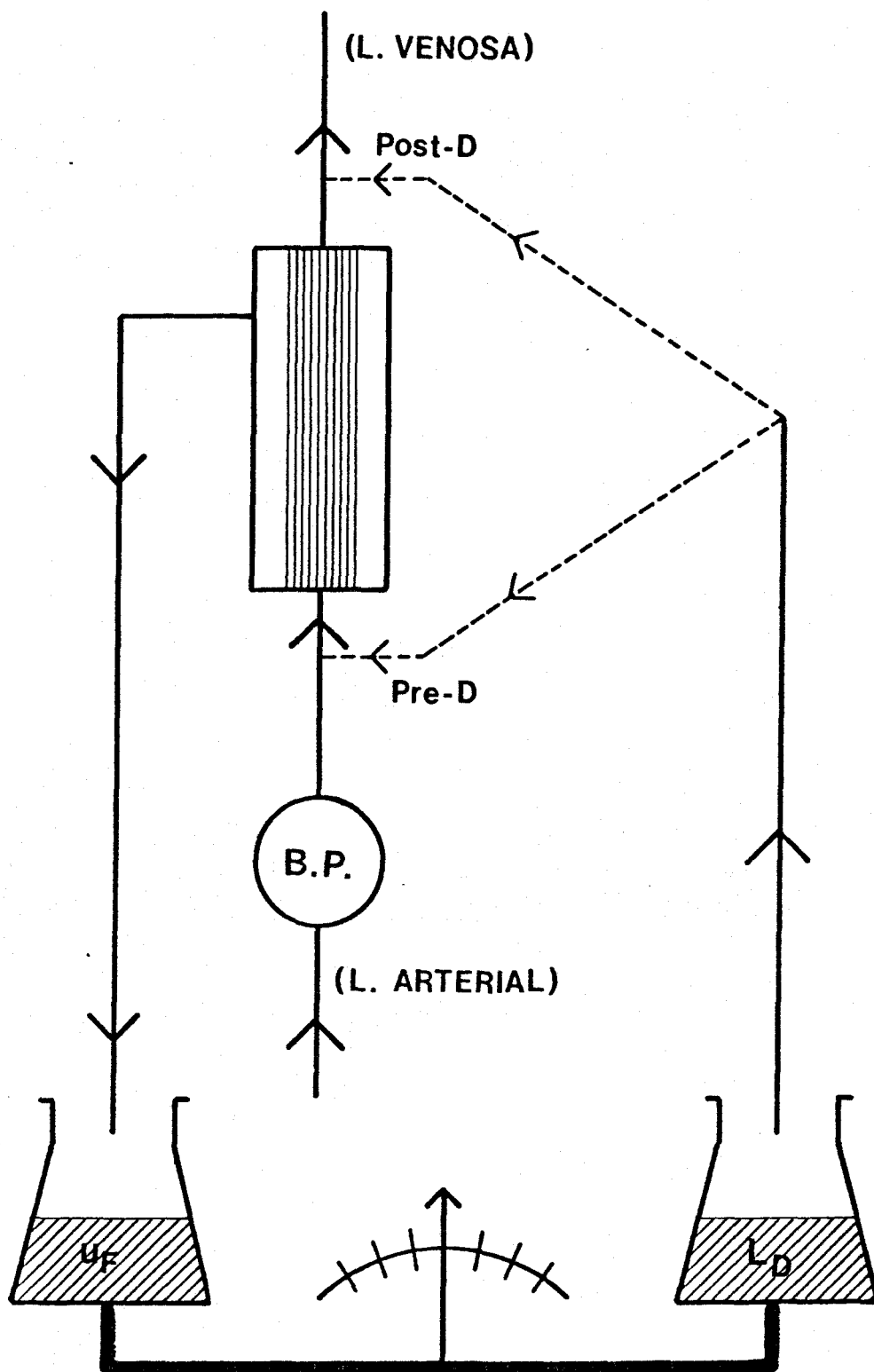
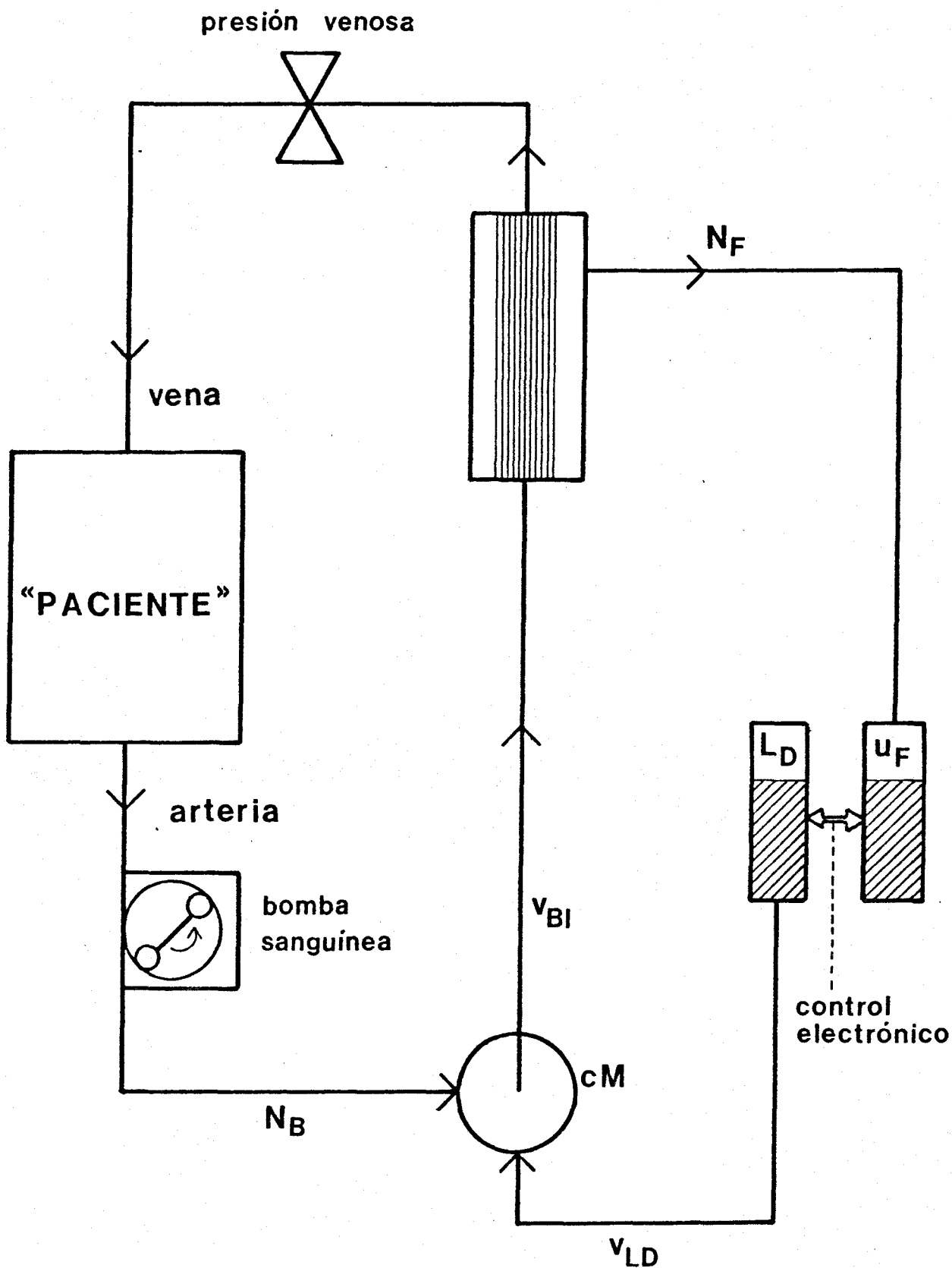


FIGURA 5



ESQUEMA DE UN SISTEMA DE HEMOFILTRACION "IN VIVO"

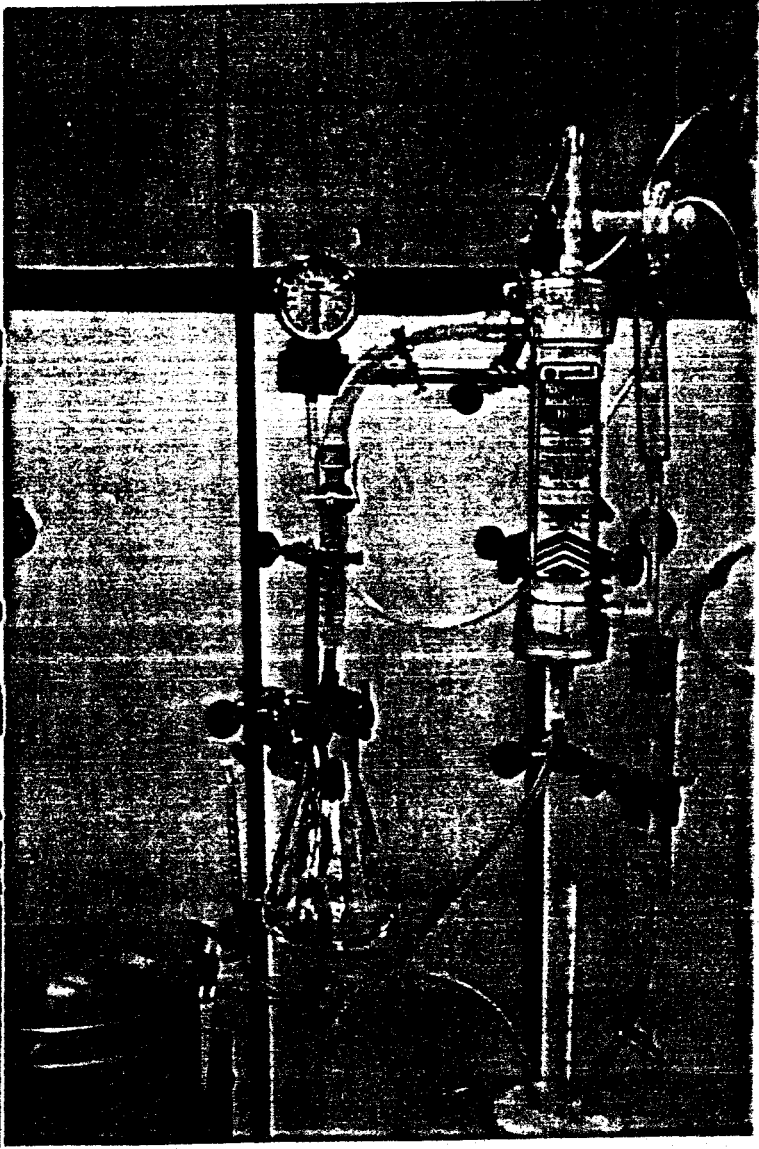
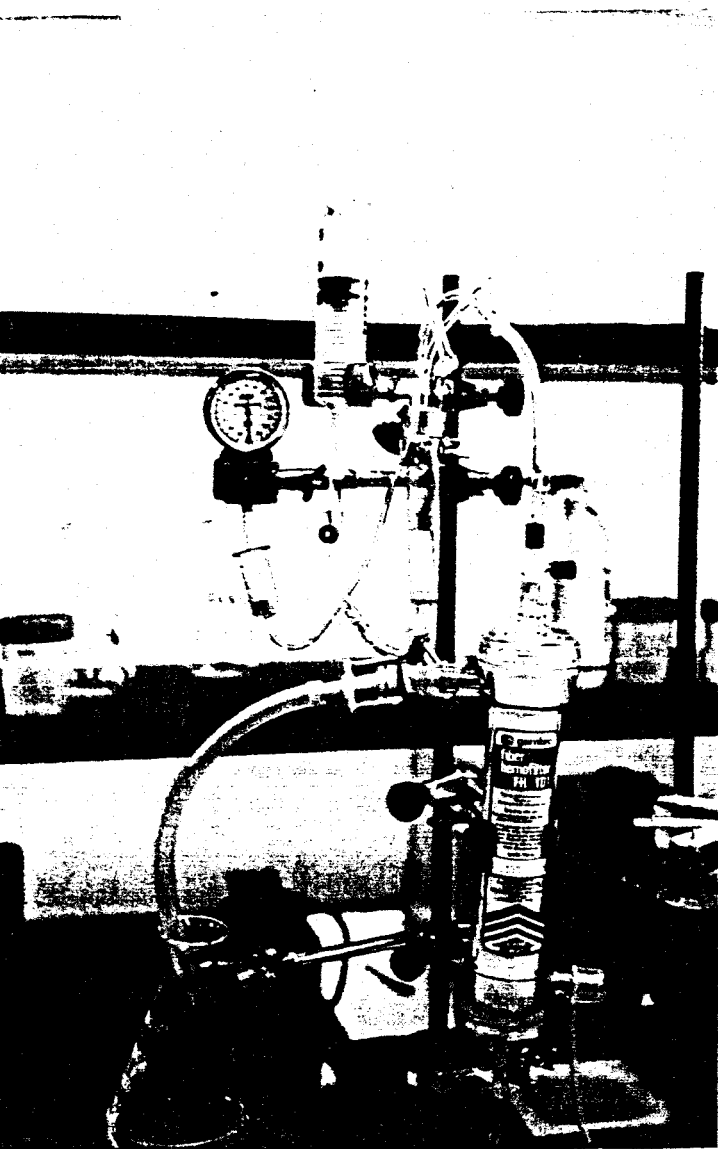
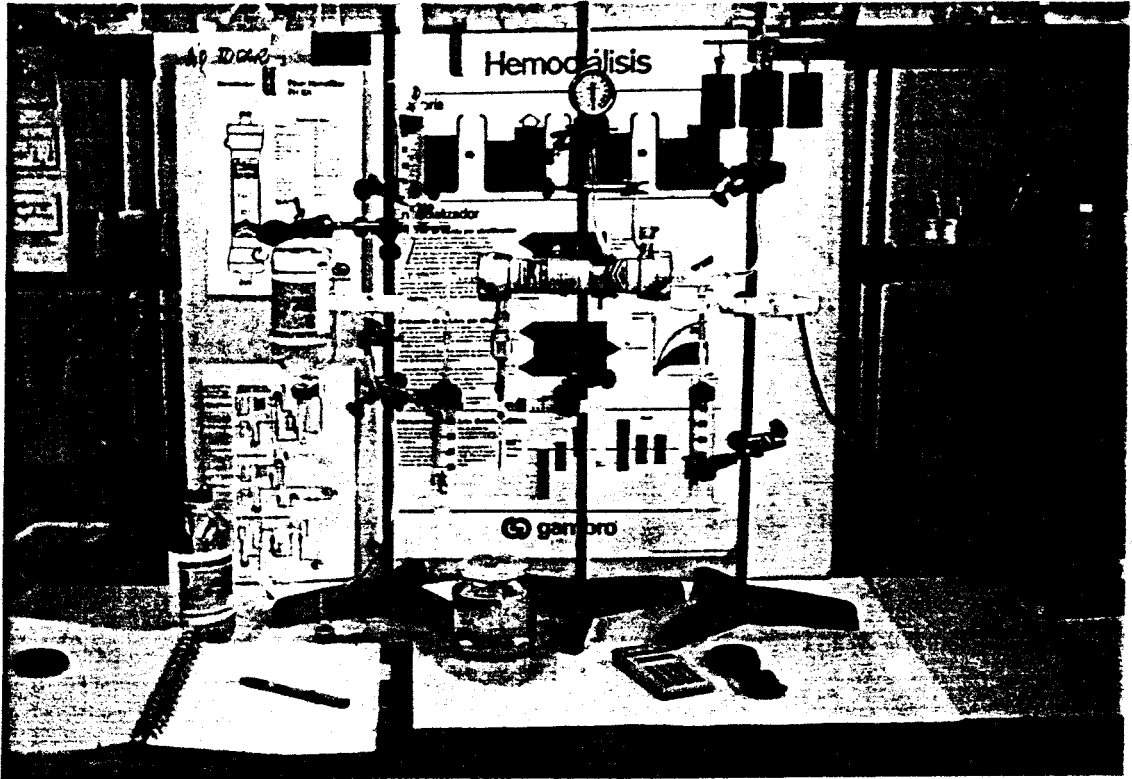


FIGURA 7

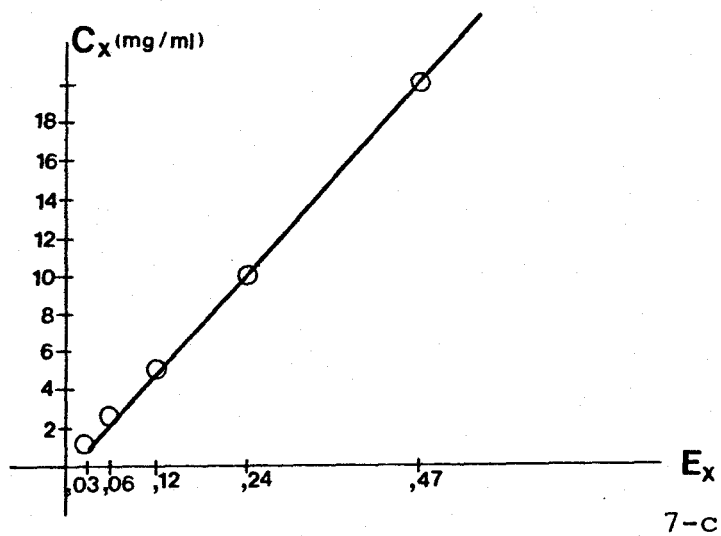
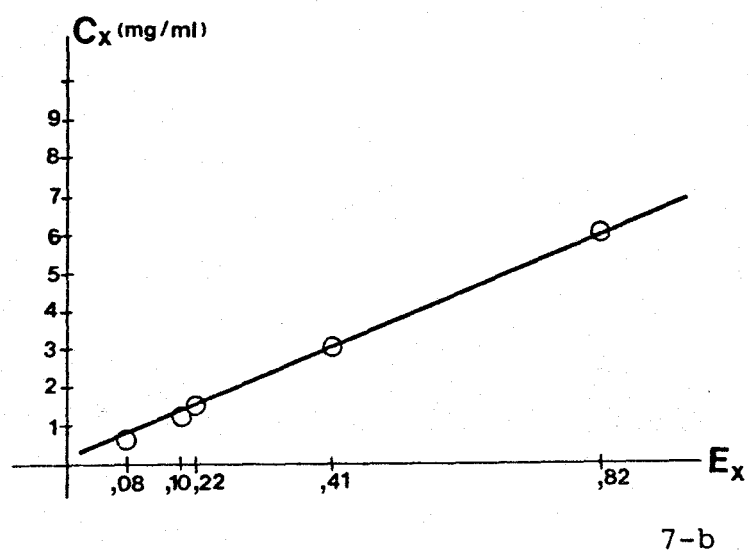
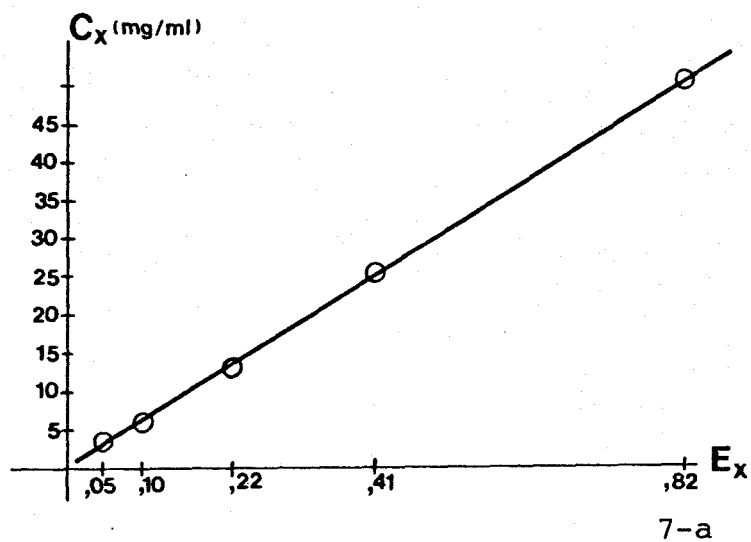
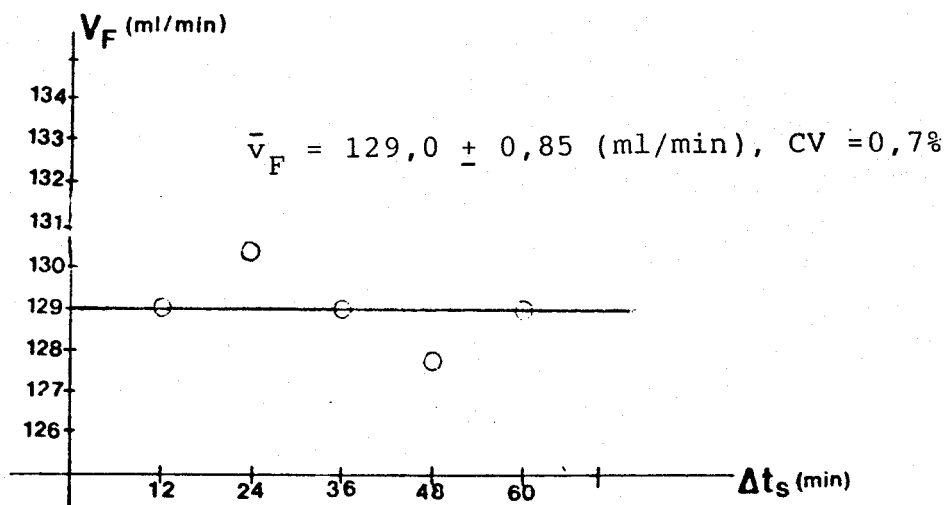
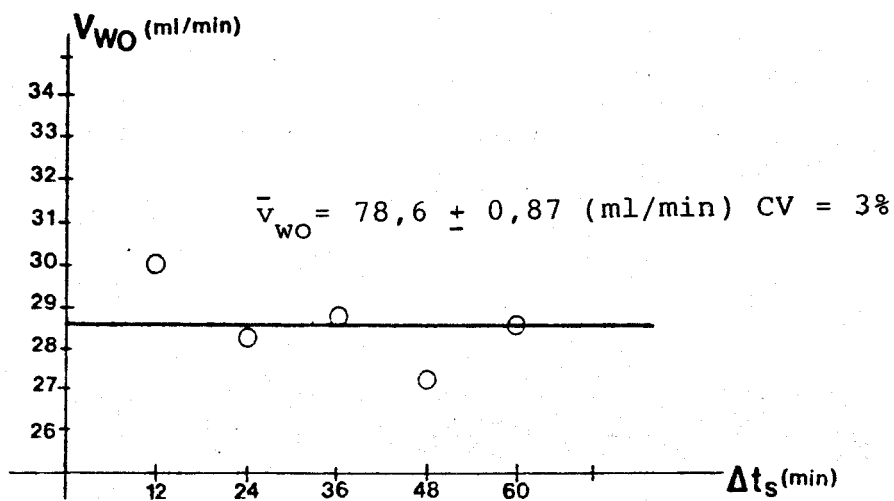


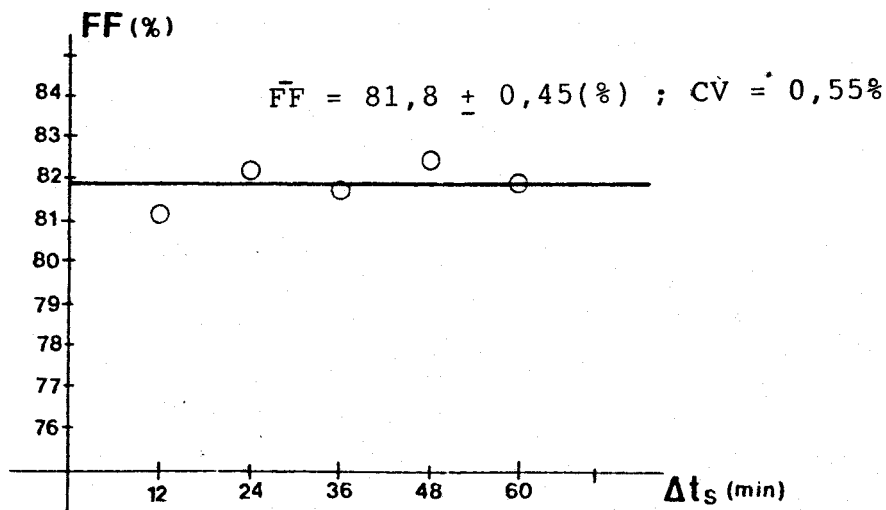
FIGURA 8



8-a



8-b



8-c

FIGURA 9

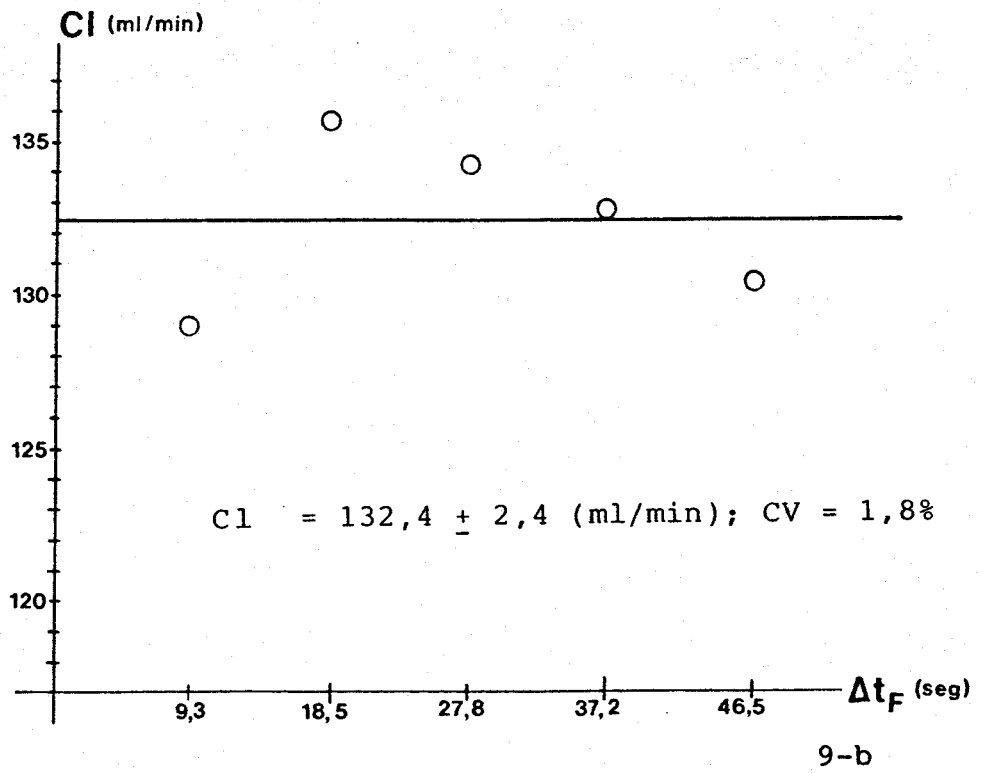
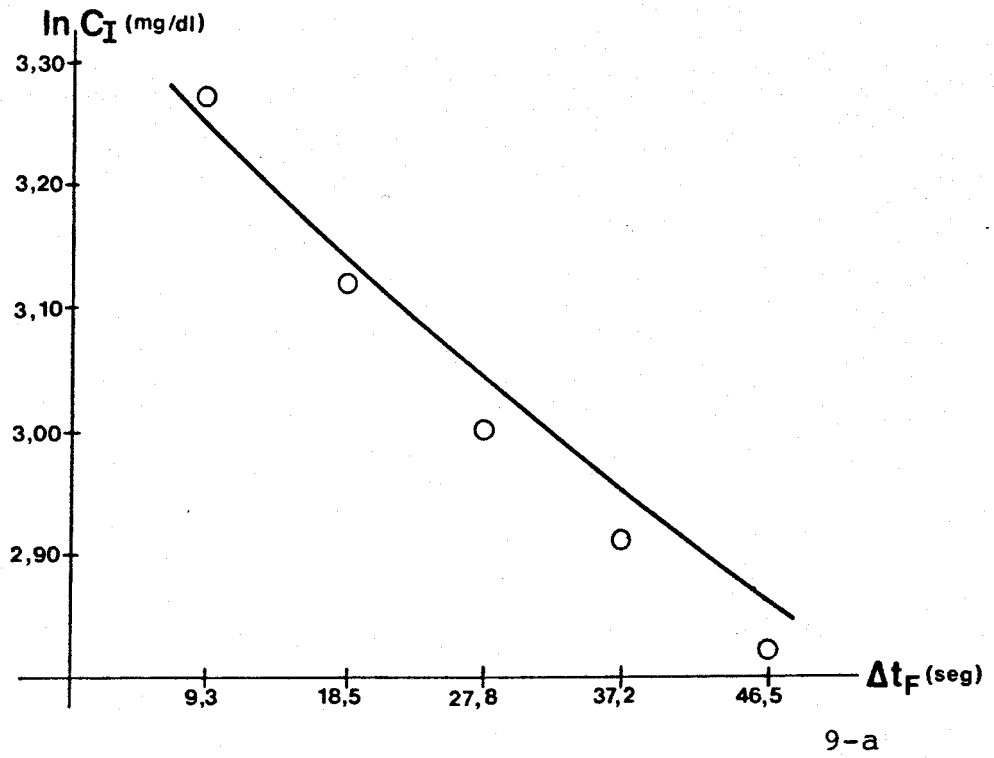
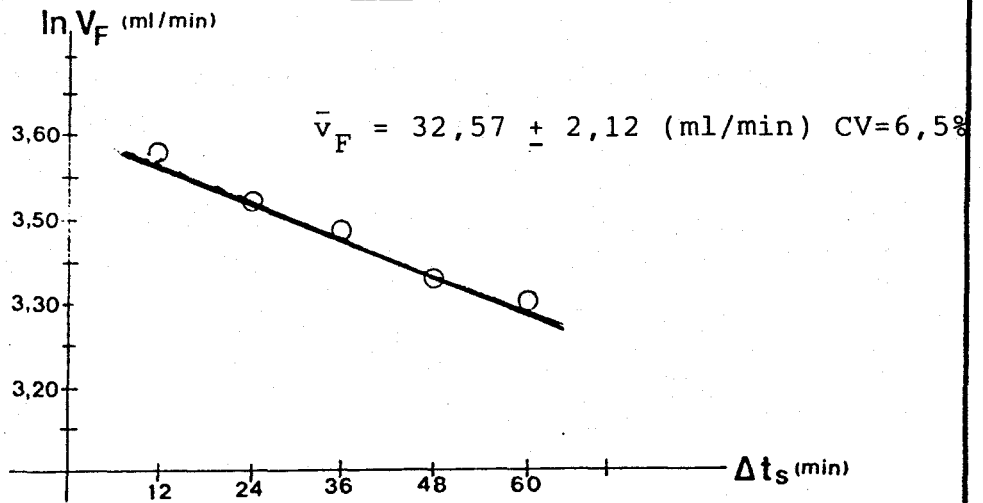
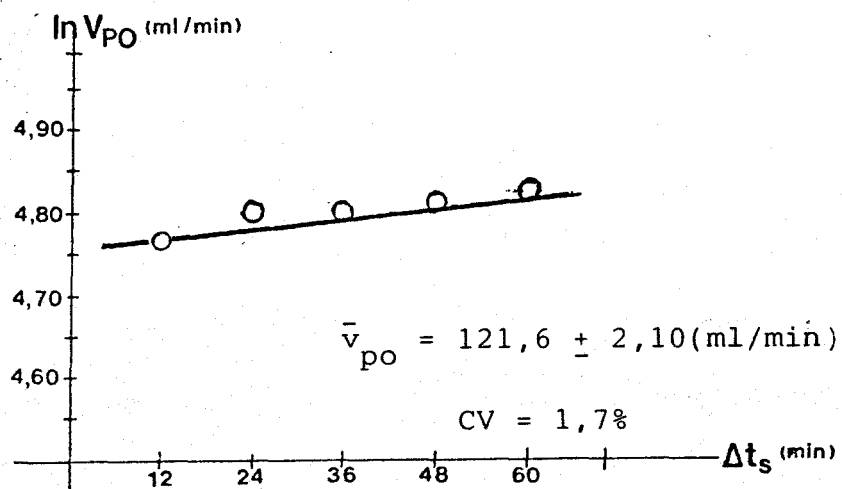


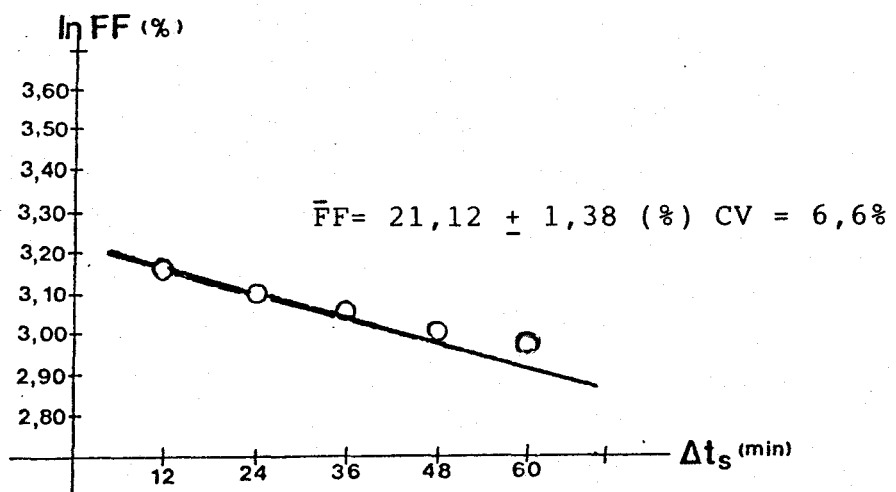
FIGURA 10



10-a



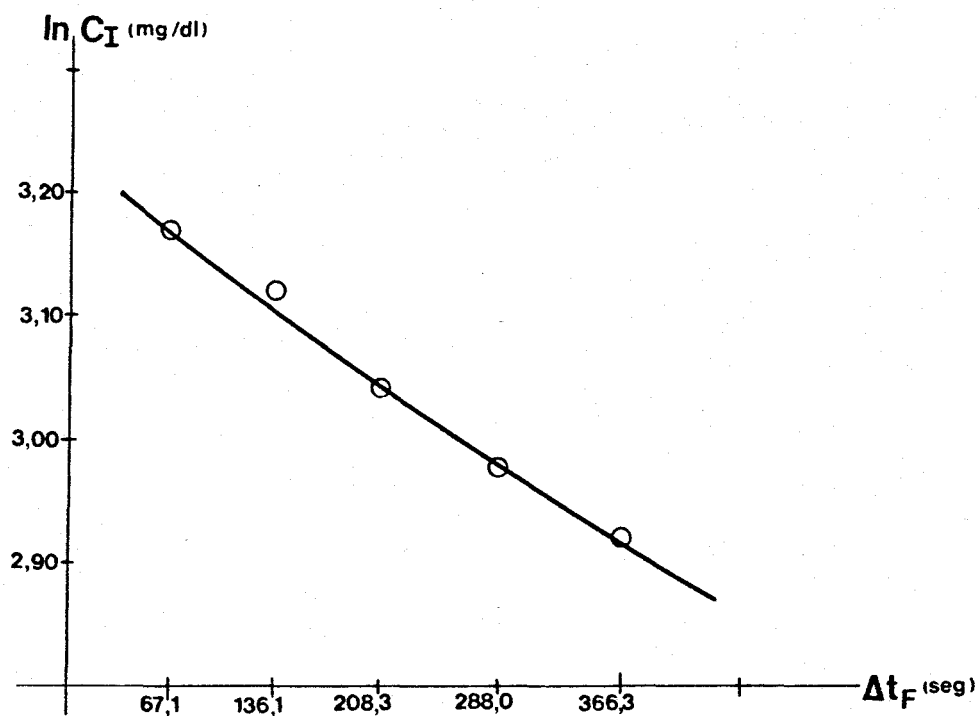
10-b



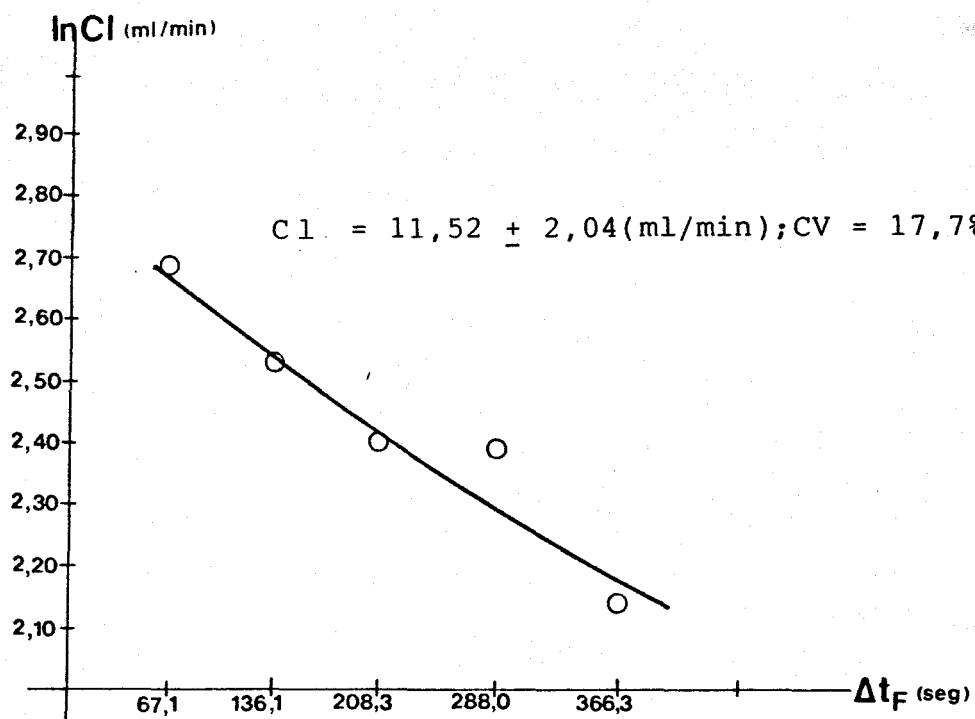
10-c



FIGURA 11



11-a



11-b

FIGURA 12

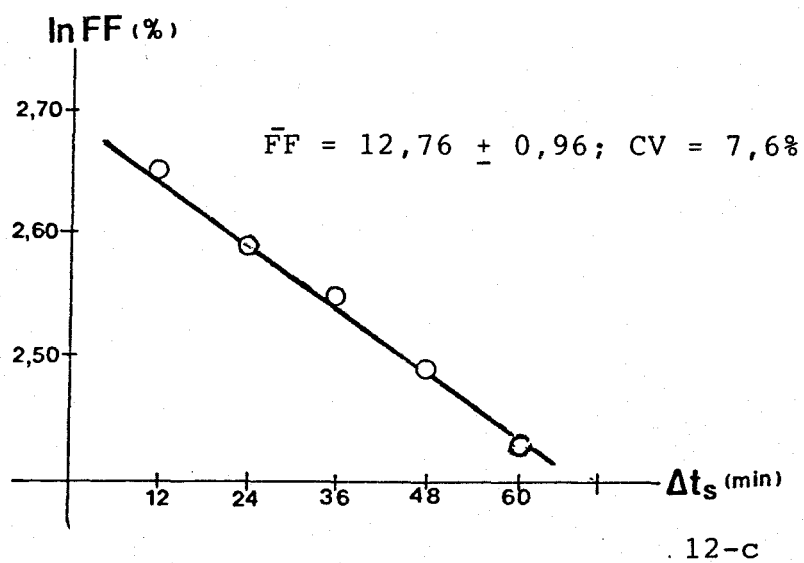
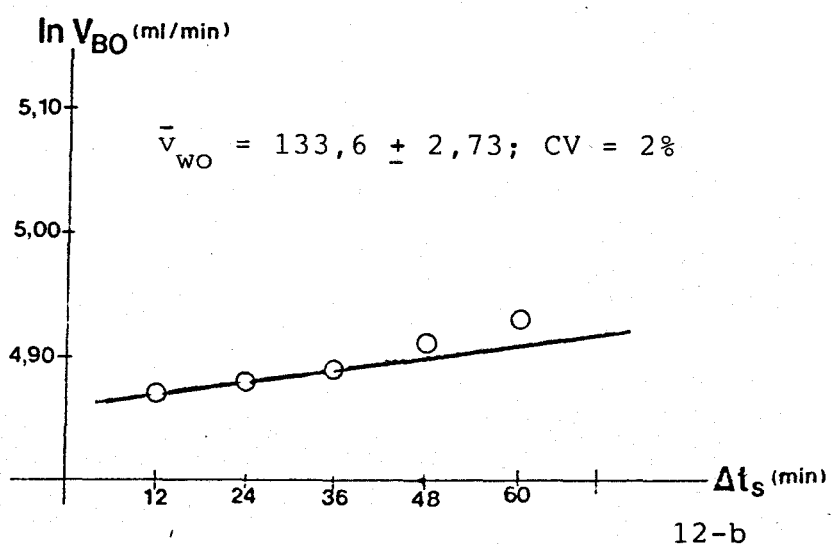
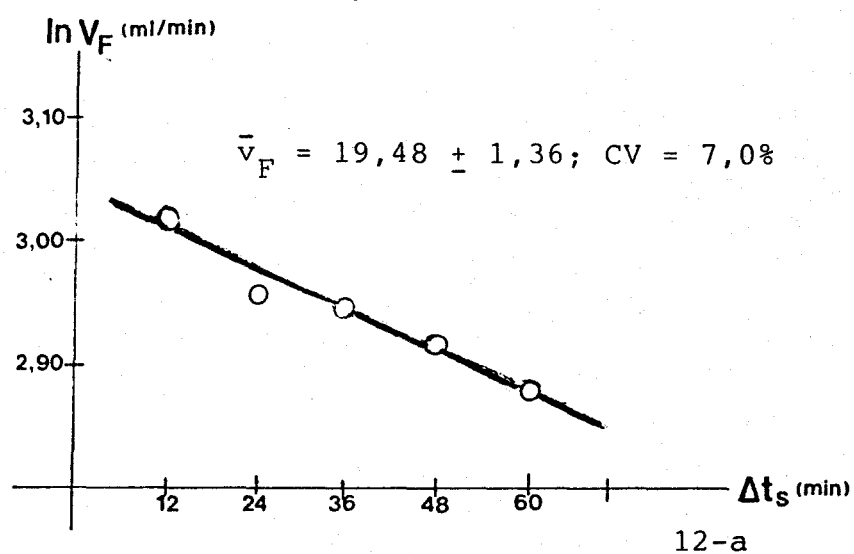


FIGURA 13

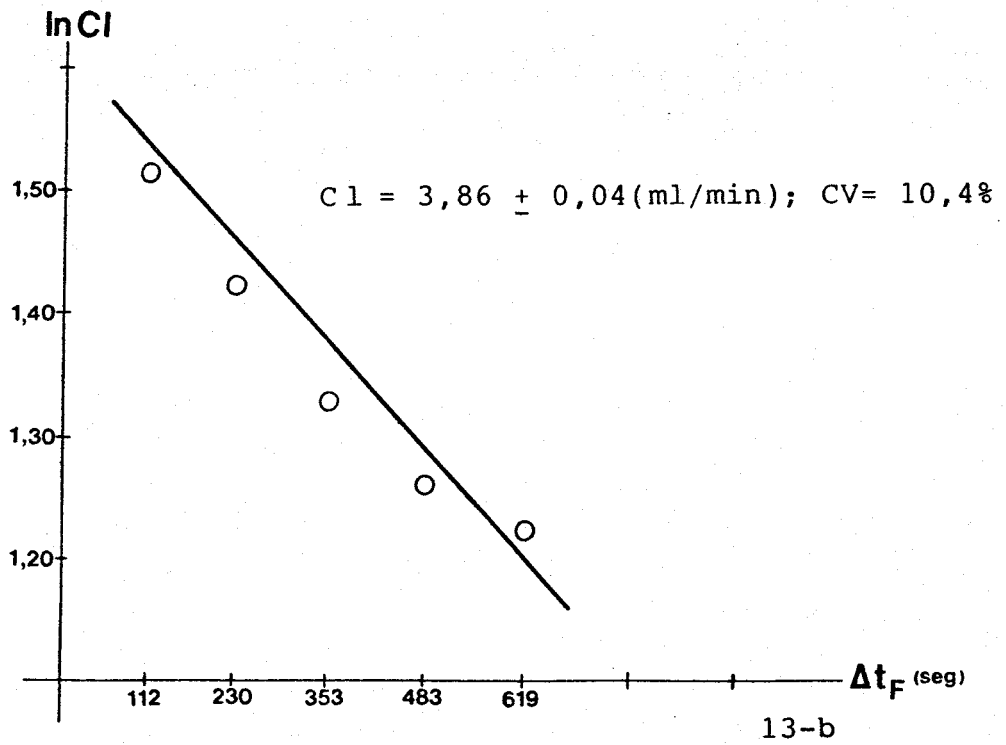
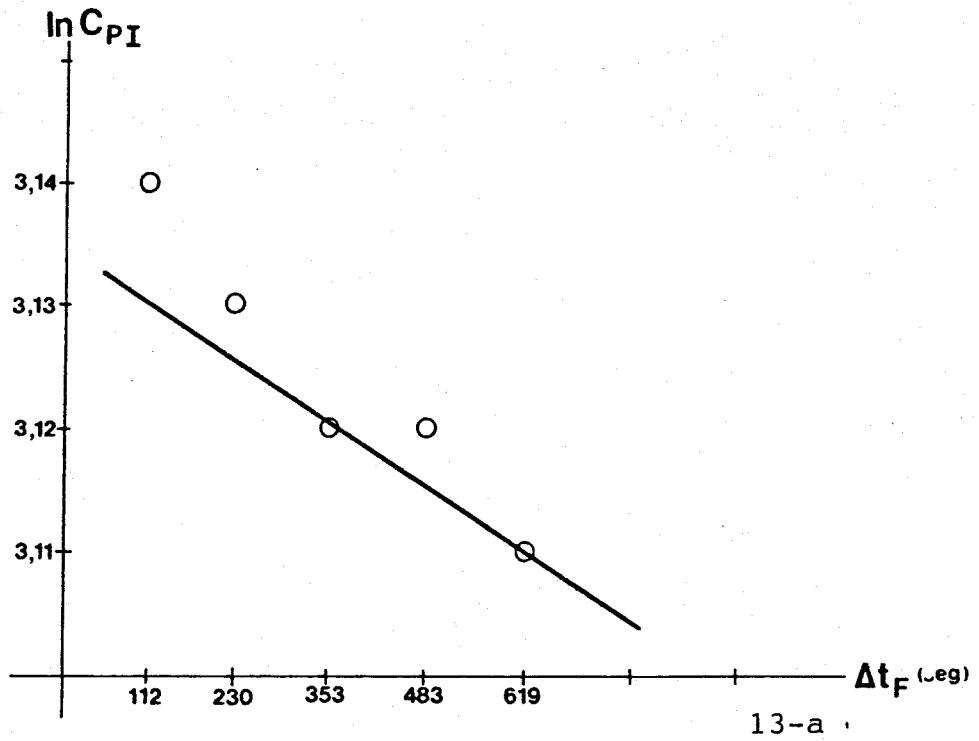


FIGURA 14

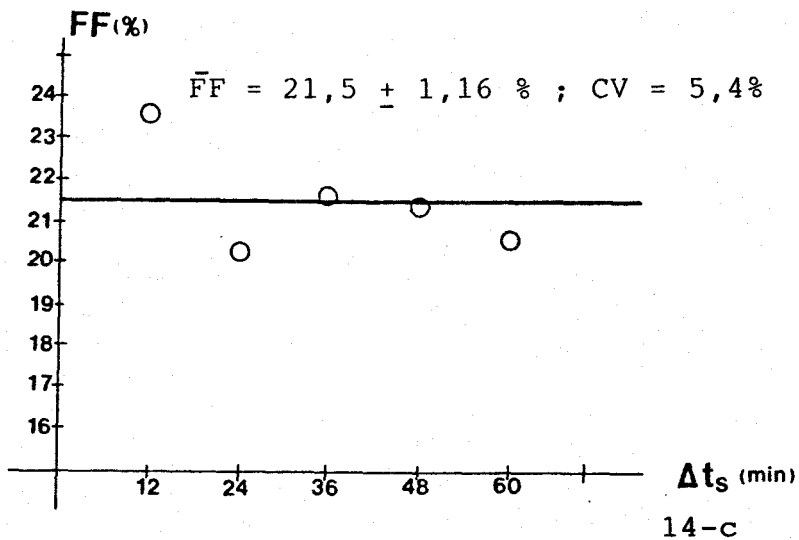
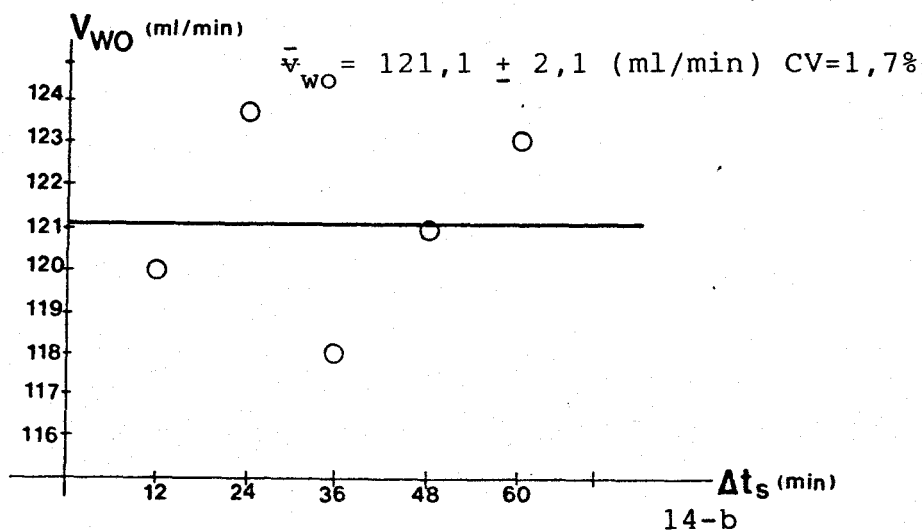
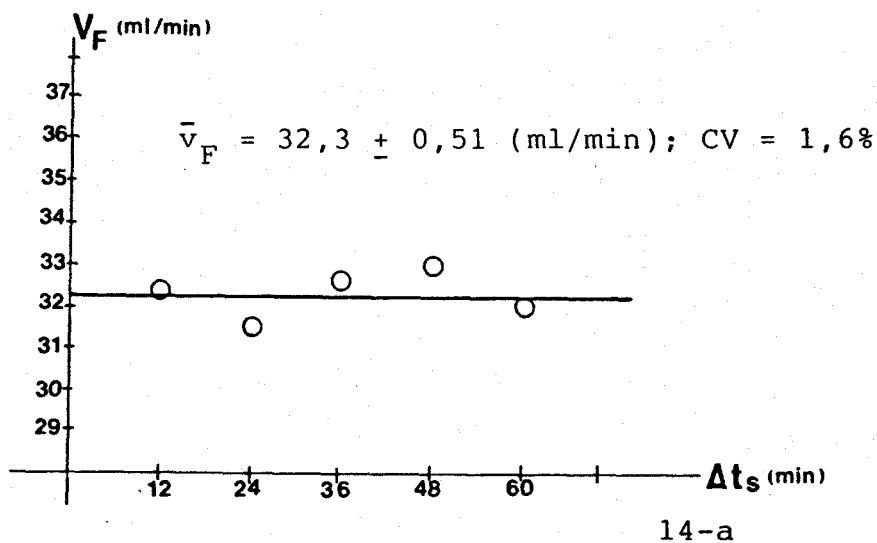
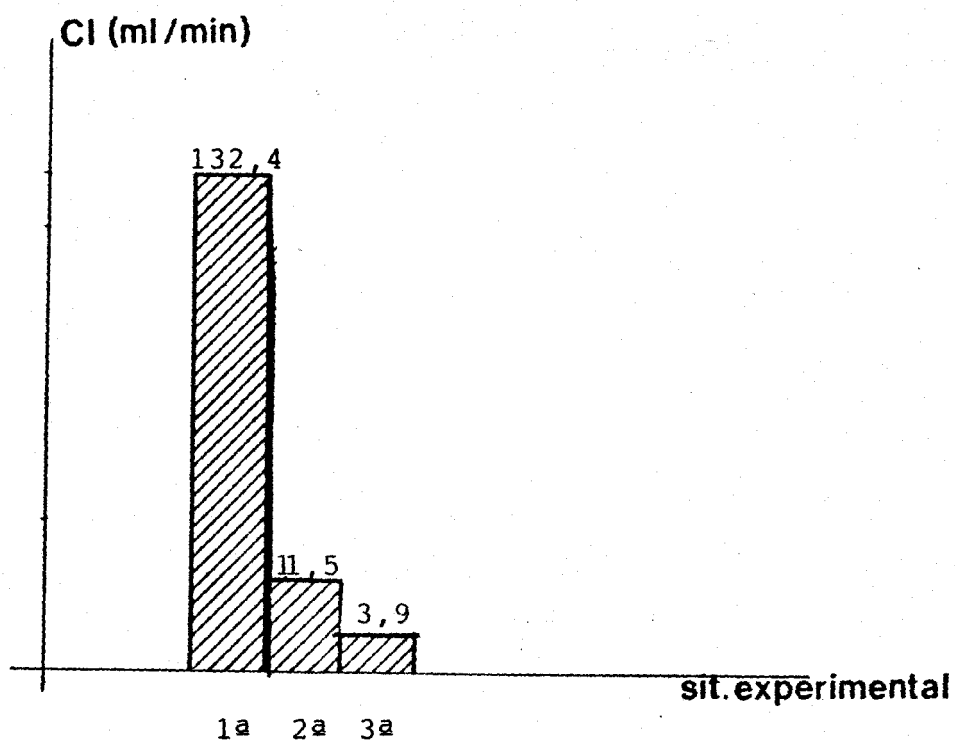
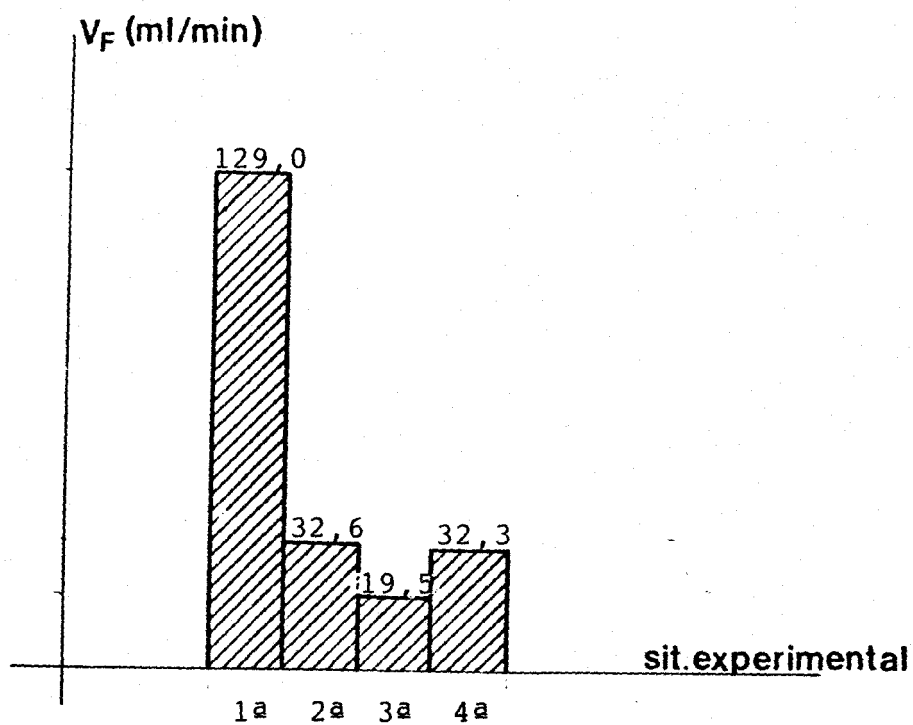


FIGURA 15



## V. DISCUSION DE LOS RESULTADOS

### DISCUSION DE LOS RESULTADOS

El desarrollo de este apartado se va a realizar en función de la doble vertiente de estudio observada en la estructura de la presente Tesis. Esto es, por un lado se van a analizar los puntos relativos al funcionamiento del sistema experimental y por otro, se van a discutir los resultados obtenidos con él, así como las distintas variables hemodinámicas y cinéticas derivadas de ellos, que afectan al proceso de hemofiltración estudiado.

Aunque, en un principio, el conjunto de los parámetros es utilizado para realizar el desarrollo y el estudio de ambas vertientes parezcan dispares y sin conexión aparente, no ocurre así, pues en realidad están muy relacionados, como se verá posteriormente, debido a lo que se van a discutir simultáneamente.

Partiendo de los datos cinéticos de excrec-

ción, obtenidos para las distintas soluciones perfundidas, se pueden calcular fácilmente sus constantes de eliminación a través del hemofiltro, bajo las condiciones determinadas de funcionamiento que se hayan establecido, y mediante ellas puede determinarse el tanto por ciento de la dosis perdida en el ultrafiltrado. De esta forma, se establece una auténtica pauta de dosificación en los enfermos insuficientes renales sometidos a hemofiltración, lo que constituye uno de los principales fines hacia los que se dirige el presente trabajo de investigación, y que se discutirá al final de este apartado.

Para desarrollar el diseño del presente sistema experimental, se ha tenido en cuenta el estudio de sus parámetros más importantes, de igual forma que se refleja en los primeros trabajos específicos de hemofiltración, realizados en bancos de prueba (74-75) y en estudios "in vivo" en animales y hombres (76-77). Entre estos parámetros se destacan principalmente tres ; esto es: La velocidad que lleva la sangre o solución perfundida a la entrada del hemofiltro ( $v_{BI}$ )



y la presión neta actuante sobre su membrana (TPM) o bien, la presión venosa a la salida del hemofiltro ( $P_o$ ).

La velocidad de perfusión a la entrada del hemofiltro ( $v_{BI}$ ) puede establecerse en función de los datos experimentales obtenidos con el sistema diseñado, a partir de la velocidad del perfundido a la salida del mismo ( $v_{BO}$ ) y la velocidad de ultrafiltración ( $v_F$ ), ya que como se expuso en la ecuación 17 de la Introducción y según el Principio de Continuidad, debe cumplirse que:

$$v_{BI} = v_{BO} + v_F$$

Este cálculo empírico, puede comprobarse que coincide con el determinado a partir de la ecuación de regresión (expuesta al pie de la Fig. 3), en la que se define la velocidad de perfusión de la bomba peristáltica en función de su número de revoluciones. Esta ecuación se obtiene mediante los datos experimentales recogidos en la Tabla I del apartado Material y Métodos.

La velocidad  $v_{BI}$  y la presión venosa  $P_o$  a la salida del hemofiltro, se han mantenido prácticamente constantes durante el desarrollo de las cuatro situaciones experimentales de hemofiltración, establecidas en este estudio, con el fin de permitir realizar análisis comparativos entre las cuatro soluciones perfundidas, tanto a nivel hemodinámico como de cinética de excrección.

Estos parámetros se estudian en los protocolos experimentales del sistema de hemofiltración, donde se definen las secuencias de ultrafiltración (cinco - en total), mediante las que puede controlarse el proceso paso a paso y secuencialmente. En estas secuencias se va extrayendo líquido ultrafiltrado y se re- pone mediante un volumen igual de líquido de dilución, manteniendo constante el volumen experimental, pues como se expuso en la Introducción, la hemofiltración es un proceso ultrafiltrativo a volumen constante.

De esta forma puede seguirse mediante el sistema expuesto manualmente y paso a paso el proceso

hemofiltrativo, que debido al establecimiento de secuencias se realiza escalonadamente, ofreciendo datos viables de dicho proceso. Respecto al líquido de dilución y su reposición en los sistemas de hemofiltración, lo ideal sería no tener que reponerlo, y en este sentido, existen modernas investigaciones que contemplan esta posibilidad, con lo que la terapéutica hemofiltrativa sería aún más semejante al funcionamiento del riñón humano. (76-77).

En relación con estas observaciones, debe hacerse notar que el sistema en estudio, puede hacerse funcionar de esta forma, con solo mantener su línea ultrafiltrado-matriz de mezcla, en bucle cerrado, intercalando en ella un sistema de regeneración de ultrafiltrado, para extracción de los compuestos que vayan excretándose (78).

En cuanto a las composiciones de las cuatro soluciones ensayadas, debe hacerse notar que difieren principalmente en su contenido en albúmina y sangre, siendo su concentración en salicilatos (en la 1ª, 2ª

y 3ª) prácticamente la misma. Así, mientras la 1ª está exenta de albúmina, ya que es una solución acuosa de salicilatos, la 2ª tiene albúmina en un 2,1%, la 3ª en 4,1% y además tiene hematíes en un 13% (Hto = 13%), y la 4ª es solo una solución acuosa, sin ninguno de estos componentes, de tal forma que sirve de testigo, o punto de referencia, para comprobar la evolución final que sufren los datos hemodinámicos post-hemofiltrativos.

Estas diferencias de composición influyen notablemente en los resultados obtenidos al analizar el proceso de hemofiltración, como se desprende de los datos obtenidos de la parte experimental de este trabajo. A este respecto, existen estudios realizados con soluciones simples de proteínas (79-80) y con soluciones complejas de proteínas (81-83), que contemplan y estudian estas observaciones, haciendo notar las variaciones que sufre la velocidad de ultrafiltración a medida que se perfunde una solución proteica, formándose una capa de proteínas sobre la membrana del hemofiltro.

Al establecer constantes la velocidad  $v_{BI}$  y la presión  $P_0$ , en el sistema experimental de hemofiltración, se obtienen distintos valores para la velocidad de filtración  $v_F$ , según el tipo de disolución ensayada. Estos valores vienen expuestos en las Tablas III, VII, XII y XVIII de datos hemodinámicos de cada situación experimental, arrojando los valores medios: 129,0; 32,6; 19,5 y 32,5 ml/min, para las perfusiones de la 1ª, 2ª, 3ª y 4ª soluciones experimentales respectivamente, lo que refleja que a medida que cambia la composición de la disolución estudiada, se produce un descenso del valor de la velocidad de filtración ( $v_F$ ), siendo ésta máxima para la 1ª solución perfundida y disminuyendo notablemente en la 2ª y 3ª. El valor de la 4ª, aún siendo de tipo acuoso como la 1ª, es inferior a ella debido a que cuando esta solución se ensaya, ya han transcurrido la 2ª y 3ª situaciones experimentales, creándose una capa o gel de proteína sobre la membrana. (Veáse Fig. 15).

Los aclaramientos de cada una de estas disoluciones para los salicilatos ensayados, están en in-

tima dependencia con la velocidad de filtración, ya que ambas se relacionan mediante la ecuación 42 de la Introducción. Así dentro de una misma situación de hemofiltración se detecta un descenso de sus valores a medida que transcurre el tiempo de perfusión de las soluciones, y de igual forma, aunque en menor intensidad una disminución de los valores de los coeficientes "sieving". Estas observaciones, que anteriormente han sido estudiadas en trabajos existentes sobre esta materia (84-85), se comprueban y ponen de manifiesto al estudiar las correspondientes Tablas experimentales de este trabajo, que contienen los datos de las eficiencias excretoras de cada situación experimental; donde se ponen de manifiesto estos fenómenos, y más concretamente, en las soluciones 2ª y 3ª, debido a que durante su perfusión se ha formado la capa o gel de proteínas, al depositarse sobre la membrana del hemofiltro, creando una especie de "segunda membrana", (86), debido al fenómeno de polarización de la concentración (8), que justifica dicho descenso al ir discutiendo el tiempo de recirculación de la 2ª y 3ª solución experimental. (veáanse figuras 8, 10, 12 y 14 pa-

ra las variaciones de  $v_F$  y 9, 11, 13 para las de los aclaramientos (cl).

Por este mismo razonamiento se explica el descenso que sufren los coeficientes de permeabilidad hidráulica de la membrana ( $L_p$ ), a medida que se pasa de una situación experimental a otra, ya que a igualdad de presión y área efectiva y según la ecc. 22, estos coeficientes dependen directamente de ella o viceversa. De esta forma se obtiene para las diversas soluciones ensayadas los valores: 3,08; 0,82; 0,456 y 0,75 ml/min.  $m^2$  mm Hg. para la 1ª, 2ª 3ª y 4ª soluciones experimentales estudiadas, y de igual forma que se comentó con la  $v_F$ , el fuerte descenso que sufre este coeficiente desde la 1ª a la 3ª solución, es debido al fenómeno de polarización de la concentración de proteínas que sufre la membrana. El valor 0,75 obtenido para la 4ª disolución, pone de manifiesto, al igual que ocurre con su velocidad de filtración  $v_F$ , la creación de la ya mencionada capa de proteínas sobre la membrana, durante todo el tiempo empleado en el transcurso de las anteriores situacio-

nes experimentales. (Véase Tabla XIX).

La membrana de Poliamida usada en el hemofiltro utilizado en este trabajo tiene un "cutt off" relativamente bajo, de unos 20.000 daltons como se refirió en el apartado de Material y Métodos (44), existiendo, no obstante, otras membranas que se utilizan en hemofiltración y que tienen "cutt off" inferiores como revelan trabajos existentes, en los que se exponen valores de los coeficientes "sieving", del orden de 0,87 y hasta 0,76 para la inulina (PM 5200 daltons). De todas formas este tipo de membrana no es frecuente en los hemofiltros, ya que normalmente estos órganos que utilizan tienen altos "cutt off", como es el caso de la Polisulfona, que deja pasar algo de albúmina, aunque esta deplección no llegue a tener la intensidad que se observa en el caso de la Dialisis Peritoneal, en la que existen grandes pérdidas de proteínas por el peritoneo (89).

Pasando al análisis de las presiones utilizadas durante este estudio, se encuentra que estas se



han fijado en función de un valor aproximado  $P_0 = 50$  mm de Hg (valor medio determinado entre los máximos y mínimos que produce el propio pulso generado por el cabezal de la bomba peristáltica, como se comentó en el apartado Material y Métodos (45). Los demás valores de los parámetros reológicos estudiados en las distintas situaciones experimentales se exponen en la Tabla XIX, en ella se observa la variación de las viscosidades estimadas para cada una de las soluciones ensayadas, cuyo valor aumenta a medida que lo hace su concentración en albúmina y en hematies, lo que repercute en los aumentos de pérdidas de carga ( $AP_R$ ), - que se han determinado mediante la ecuación 11 de la Introducción, y que son ostensiblemente mayores en la 3ª y 2ª solución que en la 1ª y 4ª. De igual forma puede observarse en dicha Tabla, que los valores de la presión transmembrana (TPM) se mantienen constantes, a pesar de los aumentos observados en las pérdidas de carga debido a que dicha presión se contrarresta con la producida por la presión negativa debida a las tasas de albúmina de cada solución (presión on-cótica, calculada mediante la ecuación 16 de la Intro-

ducción.

Otro factor que influye sobre esta TPM, es la presión que existe en la cámara de ultrafiltración, que en el presente estudio está definida por la presión de succión negativa que genera la columna de agua ultrafiltrada, según la expresión de la ecuación 17 de la Introducción. A veces, estas presiones son de consideración, pudiendo incluso dirigir la ultrafiltración de un sistema de hemofiltración funcionando según la técnica de hemofiltración continua arteriovenosa (CAVH), como ponen de manifiesto los trabajos de Lauer, Kaplan y Golper sobre esta técnica, en la que el proceso hemofiltrativo es conducido por el vacío creado por dicha columna de agua, desde la cámara de ultrafiltración hasta el recipiente colector de ultrafiltrado (34,35,91,92).

Para realizar el proceso de la dilución de la sangre, o de la solución perfundida, se ha adoptado el método de la predilución (17), descrito en otros apartados y con notables ventajas sobre el de post-

dilución(47), debido a la fluidificación y consiguiente disminución de viscosidad que sufre la sangre mediante aquella. Por tanto la postdilución, constituye un método con ciertas restricciones impuestas por el contenido eritrocitario que tenga el perfundido y que debe de ser inferior a un hematocrito del 45% (93).

En cuanto a las condiciones de trabajo anteriormente comentadas, hay que reseñar que la TPM media impuesta al sistema se ha fijado en unos 60 mm de Hg, debido a que este estudio se ha desarrollado bajo condiciones análogas a las utilizadas en la técnica CAVH (hemofiltración continua arterio venosa), como se comentó en el apartado de Material y Métodos, la cual está asistida, normalmente, por un suave gradiente de presión, generado entre la vena y la arteria del paciente, de la forma descrita en los trabajos de Kaplan y Golper sobre esta materia (21, 35, 94).

Las distintas concentraciones de albúmina de las soluciones perfundidas reflejan, además de los datos reológicos a que afectan, su íntima relación con la intensidad de excrección, de la fracción libre de

fármacos, no unidos a proteínas, a través del líquido ultrafiltrado. Sobre este punto existen una serie de trabajos donde se estudia la importancia de la cuantificación de la unión de los fármacos a las proteínas plasmáticas y su repercusión sobre la fracción libre excretada (95-97). De esta forma, la segunda disolución ensayada en esta experimentación, dado que tiene un contenido hipoalbuminémico, ofrece aclaramientos más elevados que en la 3ª disolución, para los salicilatos, lo que es debido a la mayor fracción libre de estos fármacos en la 2ª que en la 3ª solución ensayada.

Además de estas situaciones donde se simulan estudios con bajas concentraciones protéicas existen otras de tipo fisiopatológico, que de alguna forma ocasionan aumentos de las fracciones libres de fármacos, por lo que pueden aumentar notablemente sus deplecciones a través del líquido ultrafiltrado, existiendo numerosos e interesantes trabajos entre los que se han seleccionado los que relacionan enfermedades y unión a proteínas (98) y otros en los que se

interrelacionan enfermedades renales e influencia de las mismas sobre los ligandos endógenos que actúan sobre sus fracciones no unidas a proteínas y eliminadas por estos órganos artificiales (58, 59, 60, 61, 99, 100). A partir de estas observaciones puede contemplarse la posibilidad de usar el presente sistema experimental para realizar estudios cinéticos de excreción "in vitro", estableciéndose protocolos en que pueden simularse situaciones patológicas, mediante la adición de ciertas biomoléculas; por ejemplo, simulación en estados hiperbilirrubinémicos.

Al establecer los tiempos de las secuencias de filtración, además de tener en cuenta las consideraciones reológicas de la experimentación, se han considerado los tiempos de la cinética de unión de los salicilatos a las proteínas, que normalmente son muy pequeños, por tratarse de uniones de alta afinidad entre estas moléculas. Por tanto, al tratarse de uniones muy rápidas (101), los tiempos propuestos para dichas secuencias son suficientes para alcanzar los "Steady-state" o equilibrios dinámicos, en ellas, lo

que permite obtener muestras representativas del proceso en estudio; constituyendo una condición que debe observarse en estos trabajos (22).

Por tanto si se representa las concentraciones obtenidas en las distintas secuencias de hemofiltración frente a los tiempos empleados en las mismas, en un sistema semilogaritmico (veánse Tablas X y XIV, con los datos de estas concentraciones) se obtiene una recta cuya pendiente en valor absoluto, expresa la constante de eliminación del sistema para el fármaco en estudio ( $K_e$ ), (veánse gráficas de las Fig. 11-a y 13-a). Al pie de las mismas, se expresa su ecuación de regresión y coeficiente de correlación respectivo que reflejan la adaptación del proceso al tipo cinético monoexponencial, en las condiciones de trabajo que se han venido desarrollando.

En la Tabla V y Fig. 9-a, se reflejan estas mismas observaciones para la disolución 1ª, estudiada durante la 1ª situación experimental. Esta disolución, que no contiene proteínas, se hemofiltró a mucho mejor

velocidad que la 2ª y 3ª, ofreciendo mayor valor para los aclaramientos, que son constantes en todo el proceso (Fig. 9-b) y además, son iguales a la velocidad de filtración  $v_F$ , ya que el coeficiente "sieving" de los salicilatos en solución acuosa es igual a la unidad, y según la ecuación 42 de la Introducción se cumple esta igualdad.

Otro parámetro importante de la cinética de excreción son los coeficientes "sieving" ( $S_1$ ,  $S_2$ ,  $S_3$ ) obtenidos en función de las expresiones, que para las mismas se han expuesto en la Introducción de este trabajo (veánse ecuaciones 24, 26 y 27). Según sea el tipo de estudio a los que se vayan a aplicar estos coeficientes puede elegirse uno u otro, teniendo en cuenta que el que ofrece mayor precisión es el  $S_3$ , definido en la ecuación 27, aunque en conjunto sus valores son muy semejantes, pudiéndose establecer una buena correlación entre ellos, como se demuestra en trabajos sobre esta materia en que se representa el coeficiente  $S_1$  (ecuación 24) frente al  $S_2$  (ecuación 26), para un conjunto de distintos fármacos, con distinto grado de

unión a proteínas plasmáticas, para los que se obtiene una recta que pasa por el origen de coordenadas y con coeficiente de correlación muy elevado (102). De todas formas para los estudios "in vivo", el uso del coeficiente  $S_1$  de sencilla expresión matemática, es suficiente para estos estudios.

Debido a que los coeficientes "sieving" representan una relación entre las concentraciones de una molécula en un momento dado y a ambos lados de la membrana, no dependen de las variaciones que pueda sufrir la velocidad con que se perfunde la sangre o solución en estudio ( $v_{BI}$ ) (103). aunque las ligeras variaciones de estos durante el proceso de hemofiltración, están relacionadas con el fenómeno de polarización de la concentración de proteínas y la consecuente formación de la capa de proteínas sobre la membrana. De esta forma, al estudiar los valores medios de estos coeficientes, para los salicilatos en las soluciones 2ª y 3ª, expuestas en las Tablas V, IX y XVI, se deduce a través de sus coeficientes de variación, que sus valores fluctúan más en la 2ª que en la 3ª solución



ensayada, debido entre otros factores al tipo de unión dosisdependiente de este fármaco con la albúmina.

El estudio de estos coeficientes en macromoléculas del tipo de albúmina o hemoglobina, arroja el valor 0, lo que es debido a que sus altos pesos moleculares le confieren diámetros efectivos muy elevados, lo que constituye el principal factor limitante del proceso de excrección de moléculas a través de membranas de hemofiltración, cuyo estudio se contempla en un conjunto de trabajos específicos sobre esta materia (104-107). Este valor 0, implica que la molécula, no aparece en el ultrafiltrado, debido a lo que es posible establecer a partir de las concentraciones de estos compuestos, a la entrada y salida del hemofiltro, las fracciones de filtración del proceso (FF)-(35), según ecuaciones, fácilmente deducibles a partir de balances de masa, establecidos en el hemofiltro (41,42), a partir de los que se obtiene la expresión referida en la ecuación 51 del apartado de Resultados. Los resultados obtenidos mediante esta ecuación guardan buena correlación con los datos obtenidos a partir

de la ecuación 19 de la Introducción, relativa a los parámetros hemodinámicos. De esta forma los valores obtenidos para la 2ª situación experimental, a partir de las concentraciones de albúmina ofrecen el valor de 20,7% (veáse Tabla IX), que concuerda totalmente con el calculado a partir de los datos hemodinámicos (ecuación 19), dando el valor expuesto en la Tabla VII.

Para la 3ª situación experimental, se han calculado estas fracciones a partir de las concentraciones de albúmina, dando el valor de 12,7% (Veáse Tabla XIV), y de hemoglobina dando un valor de 12,5% (Véase Tabla XV) ambos muy semejantes entre sí y el valor de terminado a partir de los datos hemodinámicos (12,76%, veáse Tabla XII).

A la hora de elegir el fármaco que se ha utilizado para realizar los presentes estudios farmacocinéticos de excrección "in vitro", se ha optado por los salicilatos, entre otras varias consideraciones, además de por sus propiedades antipiréticas, antiin-

flamatorias, analgésicas y como antiagregantes plaquetarios, y de uso frecuente en enfermos con insuficiencia renal, además por tener la particularidad de poseer cinética de unión a proteínas tipo dosisdependiente (108-110), lo que hace que, a la hora de eliminarse a través de un determinado órgano, su concentración libre, dependa en todo momento de esta propiedad. De esta forma, al disminuir la tasa libre aumenta su unión a proteínas plasmáticas, y por ello disminuyen sus aclaramientos.

Por otra parte este tipo de cinética también influyen en los coeficientes "sieving" que muestran las disoluciones de estos fármacos, ya que aunque en otros fármacos estos se mantienen constantes, aquí no lo hacen debido a esta característica.

La farmacocinética de los salicilatos está extensamente estudiada en numerosos trabajos (110-112), entre los que se incluyen revisiones que estudian sus aclaramientos a través de sistemas de hemodiálisis aplicados a casos de intoxicaciones agudas

(112), en esta misma línea de investigación, el autor de este mismo trabajo, ha realizado estudios de excrección de salicilatos, a partir de disoluciones con niveles tóxicos de estos fármacos, en un sistema experimental de hemofiltración (70), que como se comentó al final del apartado de Material y Métodos, se diseñó como un sistema de ultrafiltración continua y no secuencial caso del aquí presentado.

Opuestamente al caso de los salicilatos, en los fármacos que no existe esa cinética de eliminación, sus aclaramientos solo dependen de la velocidad de filtración y del grado de unión a proteínas, sobre este último punto, existen trabajos muy interesantes que reflejan la influencia de ese tanto por ciento sobre los aclaramientos obtenidos (58, 59, - 113, 114), siendo la eliminación por este tipo de cinética la forma más frecuente por la que se elimina la mayoría de los fármacos a través de un órgano de excrección natural o artificial.

En relación con la controversia existente

respecto a la validez de los estudios "in vitro" y su capacidad de ser extrapolados a situaciones "in vivo", hay autores que subrayan la validez de estos estudios, considerándolos muy útiles sobre todo si se realizan con cautela (60); es decir, cuando se tienen en cuenta los datos inherentes a la patología de un paciente determinado, esto es, su función renal residual, sus otras vías de excrección extrarrenales, .. etc, es posible a partir de las constantes de eliminación obtenidas "in vitro" para un órgano artificial, determinar el aclaramiento total que sufre el fármaco en situación "in vivo", esto es con el paciente. Así pues, se puede escribir una expresión del tipo:

Aclaramiento total = Aclaramiento renal residual +  
 + Aclaramiento de vías extrarrenales + Aclaramiento  
 del organo artificial calculado "in vitro".

La cuantificación de la cantidad excretada por el hemofiltro, en función del tiempo de hemofiltración ( $T_{HF}$ ) se establece mediante una ecuación del tipo:

$$M = (1 - e^{-K_e A t_{HF}}) \times 100$$

Donde  $M$  representa a la cantidad en tanto por ciento del fármaco excretada por el hemofiltro,  $K_e$  es la constante de eliminación del fármaco a través del órgano artificial, en las condiciones de trabajo que se hayan establecido y  $\Delta t_{HF}$ , es el tiempo en que se ha estado realizando la ultrafiltración.

Maher y otros autores mantienen la posibilidad de proyectar estos estudios "in vitro" a situaciones "in vivo" (58, 59, 115). De esta forma pueden establecerse dosis suplementarias/ a suministrar al paciente insuficiente renal, después de realizar tratamientos con órganos artificiales de excrección renal (116, 117), sin tener que recurrir al uso de ábacos y nomogramas elaborados empíricamente, y de uso muy frecuente en la dosificación de enfermos renales sometidos a terapéuticas con órganos artificiales de excrección (118-120), los cuales debido a que son simplemente aproximados, a veces ofrecen datos erróneos sobre dicha dosificación.

Mediante el sistema expuesto, se ha podido

calcular los aclaramientos medios del sistema experimental "in vitro", para las distintas situaciones ensayadas, y a partir de los mismos y mediante la aplicación de la ecuación general de los aclaramientos, en función del volumen de distribución, expresada según:  $Cl = K_e \times V_d$ , puede determinarse la constante de eliminación de este sistema, ya que el volumen de distribución del mismo se ha determinado experimentalmente, siendo su valor de unos 200 ml como se refleja en la Tabla II del Apartado Material y Métodos. Esta constante es de valor muy pequeño, debido a que, como se ha señalado varias veces, el sistema ha funcionado bajo las variables operativas que se siguen en la técnica hemofiltrativa CAVH (21, 34, 35) desarrollada a lo largo de las experimentaciones de este trabajo.

VI. CONCLUSIONES



### CONCLUSIONES

Se pasa, por último, a exponer las conclusiones obtenidas después de desarrollar los estudios experimentales realizados en esta Tesis:

1ª.- Se diseña y expone un sistema experimental de hemofiltración para estudios "in vitro" que, como de muestran los resultados con él obtenidos, posee completa funcionalidad.

2ª.- El diseño realizado, se ha desarrollado de tal forma que permite seguir el proceso de hemofiltración secuencialmente y de forma manual.

3ª.- Consecuente con la anterior conclusión, es posible controlar el proceso hemofiltrativo paso a paso, gracias a las secuencias de hemofiltración establecidas.

4ª.- Al perfundir soluciones con distinta composición en albúmina y hematíes, se pone de manifiesto

su influencia sobre la velocidad de filtración ( $v_F$ ), las fracciones de filtración (FF), las viscosidades ( $\mu$ ), las presiones transmembranas (TPM) y los coeficientes de permeabilidad hidráulica.

5a.- Como consecuencia de la anterior conclusión, se manifiesta un descenso patente de las velocidades de filtración ( $v_F$ ), a medida que aumentan las concentraciones de albúmina y hematíes en dichas soluciones, y consecuentemente, disminuyen los aclaramientos para el fármaco estudiado, en las condiciones de hemofiltración establecidas.

6a.- A partir del presente diseño experimental, pueden determinarse las constantes farmacocinéticas de eliminación, a través de un hemofiltro y en condiciones "in vitro", para un determinado fármaco.

7a.- En función de dicha constante se establecen las cantidades de las fracciones libres, no unidas a proteínas, que se pierden en el líquido ultrafiltrado durante el tratamiento de hemofiltración, en enfer-

mos insuficientes renales sometidos a ella .

8ª.- Dada la capacidad del presente sistema para controlar los principales parámetros de la hemofiltración ( $v_F$ , TPM, "sieving"... etc.), es posible desarrollar con él numerosos estudios farmacocinéticos de eliminación.

9ª.- Dada la simplicidad del diseño y su relativo bajo costo, se contempla la posibilidad de aplicarlo a estudios didácticos incluidos en un programa específico, a nivel Universitario, de Farmacocinética experimental.

## VII. BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Graham T : Liquid diffusion applied to Analysis. Proc. R. Soc. Lond. 1860-62; 11: 243-47.
- 2.- Drukker W : Hemodiálisis: Revisión histórica. En: Sustitución de la función renal por diálisis. 1ª ed. Barcelona: Ed. JIMS, S.A., 1981; 31-61.
- 3.- Kolff W J : First Clinical experience with the artificial Kidney. Ann Intern. Med. 1965; 62: 608-12.
- 4.- Henderson L W : Hemofiltration. Kidney Int. 1978; 13: S 145-49.
- 5.- Kopp K F : Hemofiltration. Nephron. 1978; 20: 65-74.
- 6.- Henderson LW; Silverstein ME; Ford CA; Lysaght MJ: Clinical response to maintenance hemodiafiltration. Kidney. Int. 1975; 10: S58-63.
- 7.- Quellhorst E; Rieger J; Doht B et al: Treatment of chronic uremia by an ultrafiltration Kidney. First Clinical experience. Proc Eur. Dial Transplant. Assoc. 1977; 14: 136-43.

- 8.- Henderson LW : Ultrafiltración. En: Sustitución de la función renal por diálisis. Dirigido por von Drukker W, Parsons FM, Maher JF. 1ª ed. Barcelona: Ed. JIMS S.A., 1981: 119-37.
- 9.- Henderson LW; Besarab A; Michaels A et al: Blood purification by ultrafiltration and fluid replacement (diafiltration). Trans Amer. Soc. Art. Intern. Org. 1967; 13: 216-22.
- 10.- Brull L : Realization de l'ultrafiltration in vivo. Comt. Rend. Soc. Biol. 1928; 99: 1605-1607.
- 11.- Brull L : L'ultrafiltration in vivo. Compt. Rend. Soc. Biol. 1928; 99: 1607-1608.
- 12.- Man NK, Funck-Brentano JL : Hemofiltration an alternative method for treatment of end stage renal failure. In: Hamburger J, ed. Advances in Nephrology. Vol VII. Chicago: Year Book Medical Publishers, 1978: 293-307.
- 13.- Minetti L, Hemofiltration: Present status and prospects. International Meeting on Hemofiltration. Parma. Italy, 1982.
- 14.- Brenner B.M, Ichikawa I, Deen W: Glomerular Filtration. In: Brenner B.M, Rector FC Jr eds.: The Kid-

- ney. Philadelphia: N.B. Saunders, 1982: 289-327.
- 15.- Bergström J y Fürst P.; Toxinas urémicas. En sustitución de la función renal por diálisis. Dirigido por von Drukker W, Parsons FM, Maher JF. 1ª ed. Barcelona: ed. JIMS S.A., 1981: 307-41.
- 16.- Henderson LW: Solute kinetics and fluid removal in hemofiltration. *The Int. Journal of Artificial Organs*. 1983; 6: 58-61.
- 17.- Schaefer K, Dietrich VH, Claes A et al.: Chronic hemofiltration. A critical Evaluation of a new method for the treatment of Blood. *Artificial Organs*. 1978; 2: 386-394.
- 18.- 3. Silverstein ME, Ford CA, Lysaght MJ, et al:/ Treatment of severe fluid overload by ultrafiltration. *N Engl J Med*. 1974; 291: 747-751.
- 19.- Paganini EP, O'Hara P, Nakamoto S: Slow continuous ultrafiltration in hemodialysis resistant oliguric acute renal failure patients. *Trans Am Soc Artif Intern Organs*, 1984; 30: 173-177.
- 20.- Ossenkopple GJ, van der Muellen J, Bronsveld W, et al: Continuous arteriovenous hemofiltration as an adjunctive therapy for septic shock. *Crit Care*

- Med. 985; 13: 102-104.
- 21.- Kaplan AA. Longnecker RE, Folkert VW: Letters. Continuous hemofiltration. *Ann Intern Med.* 1984; 101: 145-147.
  - 22.- Golper TA. Pulliam J. Bennett WM: Removal of therapeutic drugs by continuous arteriovenous hemofiltration. *Arch Intern Med.* 1985; 145: 1651-1652.
  - 23.- Cokelet G R: The rheology of human blood, measurement near and at zero shear rate. *Trans. Soc. / Rheol.* 1963; 7: 303-317.
  - 24.- Burman J.O., Forslind E., Groth C.G. et al.: Structural rheological properties of blood plasma. - *Bibl. Anat.* 1965; 7: 399-403.
  - 25.- Merrill e.W.; Cokelet G.C.; Britten A. et al.: Non Newtonian rheology of human blood. Effect of fibrinogen deduced by "subtraction". *Circ. Res./* 1963; 13: 48-55.
  - 26.- Casson NA: Flow equation for pigment oil suspensions of the printing ink type. In: CC Mill editor: *Rheology of disperse systems* New York: Pergamon Press, 1929: 84-104.
  - 27.- Merrill E.W., Benis A.M., Gilliland E.R. et al:



- Pressure flow relations of human blood in hollow fibers at low flow rates. *J. Appl. physiol.* 1967; 20: 954-967.
- 28.- Larcen A; Stoltz F; Gaillard S.: La viscosité sanguine. Mesure et applications (Syndromes d'hyperviscosité et d'hypoviscosité). *La Nouvelle Presse Medicale.* 1981; 10: 1441-1415.
- 29.- Diem K., Lentner C.: *Tables Document Geigy*, 7. Ausgabe (Thieme, Stuttgart). 1975.
- 30.- Fahraeus R. and Lindqvist T.: Viscosity of blood in narrow capillary tubes. *Amer. J. Physiol.* 1931; 96: 562-568.
- 31.- Colton CK and Lowrie EG: Hemodialysis: Physical principles and technical considerations. In: Brenner BM, Rector FC Jr eds.: *The Kidney* 2th ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1982: 2425-89.
- 32.- Hoenich N.A., Frost T.H., Kerr D.N: Dializadores. en sustitución de la función renal por diálisis: Dirigido por von Drukker W, Parsons FM, Maher JF. 1ª Ed. Barcelona: Ed. JIMNS S.A., 1981: 71-111.
- 33.- Adair G.S., The thermodynamic analysis of the observed osmotic pressure of protein salts in solu-

- tions of finite concentrations. Proc. R. Soc. A. 1929; 126: 16-22.
- 34.- Lauer A; Saccaggi A; Ronco C, et al: Continuous arteriovenous hemofiltration in the critically ill patient: Clinical use and operational characteristics. Ann Intern Med. 1983; 99: 455-460.
- 35.- Golper T.A., Continuous Arteriovenous hemofiltration in acute renal failure. American Journal of Kidney Diseases. 1985; 6: 373-86.
- 36.- Jungers P; Zingraff J; Man NK et al: Lo esencial de la hemodiálisis. Barcelona: Editorial Marban, 1976, 72
- 37.- Donald J. Lyman: Membranas. En: Sustitución de la función renal por diálisis: Dirigido por von Drukker W, Parsons FM, Maher JF. 1ª Ed. Barcelona: Ed. JIMS S.A., 1981: 61-71.
- 38.- Colton C.K., Henderson L.W., Ford C.F. lysaght MJ: Kinetics of hemodiafiltration. I. In vitro transport characteristics of a hallow fiber blood ultrafilter. J. Lab. Clin. Med. 1975; 85: 355-371.
- 39.- Colton C.K., Smith K.A., Merrill E.W. et al.: Diffusion of organic solutes in stagnant plasma and

- red cell suspensions. Chem. Eng. Prog. Symp. Ser nº 66. 1970; 99: 85-100.
- 40.- Henderson LW, Colton CK and Ford CA: Kinetics of hemodiafiltration II. Clinical characterization of a new blood cleansing modality. J. Lab. Clin. Med. 1975; 85: 372-91.
- 41.- Sargent JA, Goth FA: Principios y biofísica de la diálisis. En: Sustitución de la función renal por diálisis: Dirigido por von Drukker W, Parsons FM, Maher JF. 1ª Ed. Barcelona: Ed. JIMS S.A., 1981: 31-61.
- 42.- Sprenger et al.: Kinetic modeling of hemodialysis, hemofiltration and hemodiafiltration. Kidney Int. 1983; 24: 143-151.
- 43.- Sweeney MJ and Galletti PM: A practical point of reference for evaluation of mass transfer capacity of hemodialyzers. Trans Amer Soc Artif Int Org. 1964; 10: 3-10.
- 44.- von Herrath D, Schaefer K, Hufler M et al: Complications of hemofiltration. Int. J. Artif. Organs. 1983; 6: 49-52.
- 45.- Shaldon S y Larsson LA: Monitores de hemodiálisis

- y control. En: Sustitución de la función renal por diálisis. Dirigido por von Drukker W, Parsons FM, Maher JF. 1ª ed. Barcelona: ed. JIMS S.A., 1981: 235-53.
- 46.- Almaraz Jimenez y col.: La insuficiencia renal y su tratamiento con Diálisis. Palex S.A. Barcelona.
- 47.- HENDERSON LW: Pre vs. post dilution hemofiltration. clin Nephool. 1979; 11: 120-124.
- 48.- Shotton E and Ridgway: Physical pharmaceutics. Oxford: Clarendon Press. 1974: 56-75.
- 49.- Natelson, S.: Microtechniques of clinical chemistry for the Routine Laboratory. 2nd. ed. Springfield Ill., Charles C Thomas, 1961, 372.
- 50.- Rodkey, FL.: Direct Spectrophotometric determination of albumin in human serum. Clin. chem. 1965; 11: 478-487.
- 51.- Davidsohn I, Nelson DA: Sangre. En: Todd Sanford. Diagnóstico clínico por el laboratorio. Dirigido por Davidsohn I. y Henry JB. 6ª ed. Barcelona: ed. Salvat, 1978: 109-13.
- 52.- Monografía sobre soluciones tampón. Merck, Darmstadt, Germany.

- 53.- Leonard EF and Bluemle LW Jr. Paper presented to Meeting of Division of Engineering in medicine: Desing of an artificial kidney; The New York Academy of Science, Washinton, Dc, April, 1959.
- 54.- Wolf AV, Remp D, Kicey J and Currie G: Artificial kidney funtion: kinetics of hemodialysis, J. Clin. invest. 1951; 30: 1062-1070.
- 55.- Meyer, R, Straffon, R.A, Rees, S B et al: A laboratory and clinical evaluation of The Kolf Coil Kidney. J. Lab. and Clin. Med. 1958; 51: 715-23.
- 56.- Maher J.F, Schreiner GE: Methodologic problems associated with in vitro measurements of dialysance. Trans Am Soc Artif Intern organs 1959; 5: 120-124.
- 57.- Gambro Lumdia evaluations "Ab Gambro technical information". Ab. Gambro Lund. Sweden.
- 58.- Maher JF: Principles of Dialysis and Dialysis of Drugs. Am. J. Med. 1977; 62: 475-81.
- 59.- Maher J.F: Aspectos farmacológicos del tratamiento de la diálisis regular. En: Sustitución de la función renal por diálisis: Dirigido por von Drukker W, Parsons FM, Maher JF. 1ª Ed. Barcelona: Ed./ JIMS S.A., 1981: 341-91.

- 60.- Culter RE, Christopher TG, Forrey AW et al: Modification of drug therapy in chronic dialysis patients. *Kidney int.* 1975: S16-22.
- 61.- Gulyassy PF, Depner TA: Impaired binding of drugs and endogenous ligands in renal disease. *Am J Kidney Dis.* 1983; 2: 578-601.
- 62.- Green DM, Antwiler GD, Moncrief JW et al.: Measurement of the transmittance coefficient spectrum of en prophan and RP 69 membranes: Applications to middle molecule removal via ultrafiltration. 1976; 22: 627-36.
- 63.- Klinkman H, Falkenhagen D, Smollich BP: Investigation of the Permeability of Highly permeable polysulfone Membranes for Pyrogens. In: Berlyne GM and Giovanetti S. eds.: Contributions to Nephrology. Highly permeable Membranes. Basel: Kager, 1985; 46: 174-83.
- 64.- Bosch T, Schmidt B, Samtleben W and Gurland HJ. In: Effect of Protein Adsorption on Diffusive and Convective Transport Through Polysulfone Membranes. In: Berlyne GM and Giovanetti S eds.: Contributions to Nephrology. Highly permeable Membranes.

- Basel: Kager 1985; 46: 14-22.
- 65.- Mechanical balancing system for automatic fluid exchange in CAVH. Gambro Lundia. Sweden, 1983.
- 66.- Valera Mackay, M.: Aclaramiento "in vitro" de Nettlemicina en un riñón artificial. Tesina de Licenciatura. Facultad de Farmacia. Sevilla, 1985.
- 67.- Valera Mackay, M., Herrera Carranza J, Fanlí Trillo C: Adaptación de un dializador al estudio de los aclaramientos de biomoléculas I. Técnicas de laboratorio. 1986; 9: 342-48.
- 68.- Valera Mackay M, Herrera Carranza J, fanlú Trillo C: Adapatación de un dializador al estudio de los aclaramientos de biomoléculas II. Técnicas de laboratorio. 1986; 10: 326-31.
- 69.- Valera Mackay M, Herrera carranza J, Buenestado Romero C, Faulí Trillo C: Adaptación de un dializador para el estudio experimental de las características de filtración y aclaramiento de los medicamentos. Comunicación presentada en el XXXI Congreso nacional de Farmacia Hospitalaria. 1986. Zaragoza.
- 70.- Valera Mackay M, Buenestado Romero C, de los Santos

Lobo F, Herrera Carranza J: Hemofiltración diseño de un sistema experimental para el estudio de excrección de fármacos. Comunicación presentada en el XXXII Congreso de Farmacia Hospitalaria. 1987. Salamanca.

- 71.- Casio Program Library. Programas de cálculo para la calculadora científica Casio FX-502P.
- 72.- Murray R, Spiegel Ph D: Estadística: Teoría y problemas. Mexico: Mac Graw-Hill. 1986, 73.
- 73.- Pardell H, Cobo E, Canele J: Manual de Bioestadística. Barcelona: Ed. Masson, 1986, 38.
- 74.- Bixler HJ, Nelson LM, Bluemle LW Jr.: The development of a diafiltration for blood purification. Trans Amer Soc Artif Intern Org. 1968; 14: 99-107.
- 75.- Bixler HJ, Nelson L.M. Besarab A: The diaphon hemodiafilter: an alternative to dialysis for extracorporeal blood purification. Chem. Eng. Prog./ Symp Ser 1968; 64: 90-103.
- 76.- Henderson LW, Ford C, Colton CK et al: Uremic blood cleansing by ultrafiltration using a hollow fiber ultrafilter. Trans Amer Soc Artif Intern Org, 1970; 16: 107-112.



- 77.- Hamilton R, Ford C, Colton C, et al: Blood cleansing by diafiltration in uremic dog and man. Trans Amer Soc. Intern Org, 1971; 17: 259-265.
- 78.- Dorson WVjr, Markovitz M, Pizziconi VB, et al: Molecular separation as an artificial kidney technique. Trans Amer Soc Artif Intern Org. 1970; 16: 127-133.
- 79.- Brown CE and Kramer NC: Factors in membrane design and selection as a step toward a wearable artificial kidney. trans Amer Soc Artif Intern Org. 1968; 14: 36-41.
- 80.- Brown CE, Tulin MP, and Van Dyke P: On the gelling of high molecular weight impermeable solutes during ultrafiltration. Chem Eng Prog Symp Ser. 1971; 67: 174-180.
- 81.- Kozinski AA and Lightfoot EN: Ultrafiltration of proteins in stagnation flow. Am Inst Chem Eng. - 1971; 17: 81-85.
- 82.- Kozinski AA and Lightfoot EN: Protein ultrafiltration: a general example of boundary layer filtration. Am Inst Chem Eng. 1972; 18: 1030-1040.
- 83.- Dorson WJ jr, Pizziconi VB, and Allen JM: Transfer

- of chemical species through a protein gel. Trans. Amer Soc Artif Intern Org. 1971; 17: 287-292.
- 84.- Fillippi RP and Goldsmith RL: Application and theory of membrane processes for biological and other macromolecular solutions. In: Flinn JE, editor. Membrane Science and Technology New York: Plenum Publishing Corporation. 1970, 47-97.
- 85.- Blatt WF, Dravid A, Michaels AS, et al: Solute polarization and cake formation in membrane ultrafiltration: causes, consequences, and control techniques. In: Flinn JE editor. Membrane Science and Technology New York: Plenum Corporation, 1970; 47-97.
- 86.- Kohnle W, Sprenger K, Spohn B, Franz HE: Hemodiafiltration using readily available equipment: J.Dial. 1979; 3: 27-39.
- 87.- Okazaki M, Yoshida F: ultrafiltration of blood. Ann. Biomed. Eng. 1976; 4: 138-50.
- 88.- Dorson WV jr., Markovitz M, Pizziconi VB, et al: Molecular separation as an artificial kidney technique. Trans Amer Soc Artif Intern Org. 1970; 16: 127-133.

- 89.- Dorson WV jr., Pizziconi VB, Voorhees ME, et al: Initial trials of a molecular separation artificial kidney. Trans Amer Soc Artif Intern Org. 1973; 19: 109-118.
- 90.- Berlyne JM, Jones JH, Hewitt V et al: Protein loss in peritoneal dialysis. Lancet. 1964; 1: 738-41.
- 91.- Kaplan AA, Longnecker RE, Folkert VW: Suction assisted CAVH. Trans. Am. Soc. Artif. Intern. Organs. 1983; 29: 408-12.
- 92.- Golper TA, Kaplan AA, Narasimhan N et al: TPM generated by filtrate line suction maneuvers and predilution fluid replacement cluring in vitro CAVHF. Int. J. Artif. Organs 1987; 10: 41-6.
- 93.- Henderson LW, Sanfelippo ML, Beans E. "On line" preparation of sterile pyrogen-free electrolyte solution. Trans Am Soc Artif Intern Organs. 1978; 24: 465-7.
- 94.- Kramer P, Kaufhold G, Grone HJ, et al: Management of anuric intensive-care patients with arteriovenous hemofiltration. Int J Artif Organs. 1980; 3: 225-30.
- 95.- Reidenberg MM: The binding of drugs to plasma pro-

- teins and the interpretation of measurements of plasma concentrations of drugs in patients with poor renal function. Am J Med 1977; 62: 466-470.
- 96.- Tillement JP, Lhoste F, Giudicelli JF: Diseases and drug protein binding. Clin Pharmacokinet 1978; 3: 144-154.
- 97.- Reidenberg MM: The binding of drugs to plasma proteins and the interpretation of measurements of plasma concentrations of drugs in patients with poor renal function. The Am J of medicine 1977; 62: 466-470.
- 98.- Rowland M: Plasma protein binding and therapeutic drug monitoring. Therapeutic Drug Monitoring 1980; 2: 29-37.
- 99.- Reidenberg MM and Afrime M. Influence of disease on binding of drug to plasma proteins Ann Ny Acad Sci 1973; 226: 115-126.
- 100.- Keller F, Wilms H, Schultze G, et al: Effect of plasma protein binding, volume of distribution and molecular weight on the fraction of drugs eliminated by hemodialysis. Clin Nephrol 1983; 19: 201-205.
- 101.- Wagner JG: Tratado de Farmacocinética. Barcelona. Ed. Reverté S.A. 1975, pag 28.

- 102.- Golper TA, Wedel SK, Kaplan AA, et al: Drug removal during CAVH: teory and clinical observations. Int. J Artif Organs 1985; 8: 307-12.
- 103.- Frigon RP, Leypoldt JK, Alford MF. et al.: Hemofilter solute sieving in not governed by dynamically polarized protein. Ibid. 1984; 486-490.
- 104.- Klein E., Holland FF, Eberle K.: Rejection of solutes by hemofiltration membranes. ASAIO J. 1978; 1: 15-23.
- 105.- Rockel A., Gilge U., Liewald A. et al.: Elimination of low molecular weight proteins during hemofiltration. Artif. Organs 1982; 6: 307-311.
- 106.- Michaels AS.: Analysis and prediction of sieving curves for ultrafiltration membranes: a universal correlation? Separation Sci. and Tech. 1980; 15: 1305-1322.
- 107.- Feldhoff P., Tunham T., Klein E.: Effect of plasma proteins on the sieving spectra of hemofilters. Artif. Organs. 1984; 8: 186-192.
- 108.- Borga O, Odar-Cederlof I, Rivgberger et al.: Protein binding of salicylate in uremic and normal plasma. Clin. Pharmacol. and Ther. 1976; 464-75.

- 109.- Ekstrand R, Alvan G and Borga O: Concentration Dependent Plasma Protein Binding of Salicylate in Rheumatoid Patients. Clin Pharmacokinetics, 1971; 4: 137-43.
- 110.- Fernández Lastra C, Mariño EL, Dominguez Gil A: Farmacocinética de Salicilatos. Far. Clin 1986; vol 3, Supl: 13-35.
- 111.- Me Arthur, JN; Dawkins, P.D.; Smith, M.J.: The binding of indomethacin, Salicylate and phenobarbitone to human blood in vitro. J. Pharm. Pharmacol. 1971; 23: 32-36.
- 112.- Winchester J.F., Gelfand M.C., Knepshield J.H. and Schreiner: Dialysis and hemoperfusion of poisons and drugs update Trans Am soc Artif Intern Organs: 1977; 23: 762-842.
- 113.- Gibaldi M, Levy G, Mc Namara PJ: effect of plasma protein and tissue binding on the biologic half-life of drugs. clin Pharmacol Ther 1978; 24: 1-4.
- 114.- Levy G. Effect of plasma protein binding on renal clearance of drug. J. Pharm Sci 1980; 69: 482-483.
- 115.- Bennett WM, Aronoff GR, Morrison G et al: Drug

- Prescribing in Renal Failure: Dosing Guidelines for Adults. Am J of Kidney Dis. 1983; 3: 155-88.
- 116.- Keller F, offerman G, Hartmut L: Supplementary dose after hemodialysis. Nephron 1982; 30: 220-227.
- 117.- Gibson TP and Nelson H.A: Drug kinetics and artificial kidneys. Clin Pharmacokin. 1977; 2: 403-426.
- 118.- Legrain M, Suc JM, Duran D y col: Manual de Nefrología 1ª Ed. Barcelona: Ed. Toray Masson SA, 1978: 343-347.
- 119.- Bochner F., Carruthers G., Kampmann y Steiner J. en Manual de farmacología clínica. Barcelona; Ed. Salvat 1986: 31-41.
- 120.- Ritschel W., Graphic Approach to Clinical Pharmacokinetic. Barcelona; Ed. Prous Publishers, 1984: 6-7.

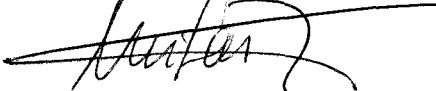
# UNIVERSIDAD DE SEVILLA

Reunido el Tribunal integrado por los abajo firmantes en el día de la fecha, para juzgar la Tesis Doctoral de D. MANUEL VALERA MAC-KAY

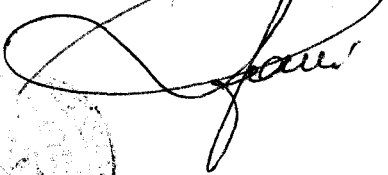
titulada "Diseño de un sistema experimental de Hemofiltración in vitro. Aplicación al estudio metodológico de la cinética de excreción de fármacos y biomoléculas" acordó otorgarle la calificación de Apto "Cum Laude"

Sevilla, 14 de Febrero 1988

El Vocal,



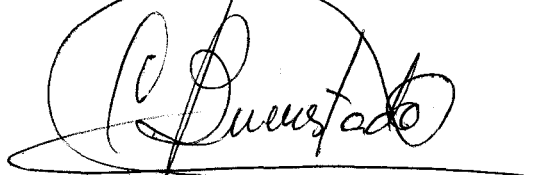
El Presidente



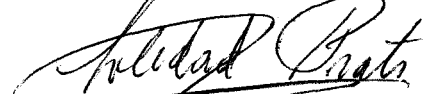
El Vocal,



El Secretario,



El Vocal,



El Doctorado,

