

## Зависимость напряжения сдвига от гематокрита при протекании суспензии эритроцитов через узкие плоские каналы

UDC 612.117.2

A.F. TODRIN\*, V.V. USACHOV, E.V. TIMOFEEVA

## Dependence of Shift Tension on Hematocrit During Erythrocyte Suspension Flowing Through Narrow Channels

Приведены результаты работы по исследованию напряжения сдвига при протекании суспензии эритроцитов через узкие плоские каналы. Получена зависимость напряжения сдвига от показателя гематокрита и показана возможность приведения величины напряжения сдвига при измеренной величине гематокрита к напряжению сдвига при заданном гематокрите суспензии.

**Ключевые слова:** суспензия эритроцитов, гематокрит, щелевой капилляр, напряжение сдвига.

Наведено результати роботи по дослідженню напруги зсуву при протіканні суспензії еритроцитів крізь вузькі плоскі канали. Отримано залежність напруги зсуву від показника гематокриту і показано можливість приведення величини напруги зсуву при величині гематокриту, що була виміряна, до напруги зсуву при заданому гематокриті суспензії.

**Ключові слова:** суспензія еритроцитів, гематокрит, щілинний капіляр, напруга зсуву.

The paper covers the research results on shift tension during flowing of erythrocyte suspension through narrow flat channels. The dependency of shift tension on the hematocrit was obtained and there was shown the possibility to reduce the tension value at measured hematocrit value to the shift tension with the set hematocrit of suspension.

**Key-words:** erythrocyte suspension, hematocrit, slit capillary, shift tension.

Известно, что при увеличении сроков хранения крови в условиях гипотермии возрастает жесткость мембран эритроцитов [3], что вызывает рост модулей сдвига их мембран. На данный момент существует очень небольшое количество данных по определению модулей упругости мембран эритроцитов, подвергавшихся замораживанию. Поэтому для криобиологии является важным разработка методов исследования жесткости мембран клеток.

Продавливание суспензии клеток через узкие каналы – один из методов определения модуля сдвига мембран эритроцитов. При этом силой, деформирующей клетку в канале, является напряжение сдвига, возникающее в результате течения суспензии относительно стенок канала. Напряжение сдвига – это функция перепада давления по длине канала, а перепад давления изменяется с изменением гематокрита суспензии эритроцитов для поддержания постоянной скорости течения суспензии. Поэтому, если определять модуль сдвига при протекании суспензии клеток одной и той же крови, находящихся в одинаковых условиях, но при различных гематокритах, будут получены разные величины модуля сдвига.

Вязкость суспензии эритроцитов увеличивается с ростом показателя гематокрита суспензии [1].

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

\* Автор, которому необходимо направлять корреспонденцию: ул. Переяславская, 23, г. Харьков, Украина 61015; тел.: +38 (057) 373-38-71, факс: +38 (057) 373-30-84, электронная почта: todrin@mail.ru

Prolongation of terms for blood storage under hypothermic conditions is known to cause the increase of erythrocyte membrane rigidity [3], leading to a raise of membrane shift module. There are only few data on determination of membrane elasticity modules in erythrocytes after freeze-thawing. Hence the elaboration of methods for investigation of cell membrane rigidity is of great importance for cryobiology.

Pressing of cell suspension through narrow channels is one of the methods of finding the membrane shift module of erythrocytes. In this case the force deforming a cell in channel is the shift tension, resulting from flowing of the suspension regarding channel walls. Shift tension is the function of pressure gradient along the channel length and pressure differential will be changing with alteration of erythrocyte suspension hematocrit to keep constant rate of suspension flowing. Therefore when determining the shift module during flowing the cell suspension of the same blood under similar conditions but with various hematocrit values there will be obtained different ones for shift module.

Erythrocyte suspension viscosity increases with the rise in suspension hematocrit index [1]. However there was reported [2] that during flowing of the erythrocyte suspension through narrow flat channel the dimension

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

\* To whom correspondence should be addressed: 23, Pereyaslavskaya str., Kharkov, Ukraine 61015; tel.: +380 57 373 3871, fax: +380 57 373 3084, e-mail: todrin@mail.ru

Однако в работе [2] было показано, что при протекании суспензии эритроцитов через узкий плоский канал, размер (высота) которого меньше или сравнима с размером клетки, зависимость вязкости от гематокрита имеет ярко выраженный минимум в диапазоне 2,5÷5%.

Цель работы – определение зависимости напряжения сдвига от гематокрита.

### Материалы и методы

В экспериментах использовали эритроциты, полученные из венозной крови здоровых доноров. Для удаления плазмы, сгустков, лейкоцитов и других форменных элементов кровь трехкратно отмывали в изотоническом физиологическом растворе (0,15 M NaCl + 5 mM фосфатного буфера) с рН 7,4. Для проведения исследований эритроконцентрат разбавляли изотоническим физиологическим раствором до получения необходимого показателя гематокрита. Кровь использовали со сроками хранения от 2 до 9 суток при 4°C.

Суспензию эритроцитов продавливали через плоские щелевые каналы с высотой 1,8÷3,6 мкм. Ширина канала составляла 0,8÷0,9 мм. Длина канала для всех капилляров равнялась 2 мм. Такие размеры плоского канала получают при передавливании стальных инъекционных игл с внутренним диаметром 0,5÷0,6 мм (внешний диаметр 0,8÷0,9 мм). Способ определения размеров канала подробно описан в [2]. Указанная высота канала была выбрана для того, чтобы гарантировать деформацию мембраны эритроцита, проходящего между стенками канала, поскольку расчет показывает, если эритроцит в потоке при высоких скоростях сдвига имеет форму эллипсоида, то его малая ось равна 3,65 мкм для эритроцита среднего размера при отсутствии растяжения мембраны. Для сравнения использовали каналы высотой 6,5÷6,9 и 11,3÷14 мкм.

Все эксперименты проводили при температуре 25°C. При этой температуре, согласно данным литературы [4], модуль сдвига мембран эритроцитов является наименьшим.

### Результаты и обсуждение

Нами были проведены эксперименты по определению напряжения сдвига при протекании суспензии эритроцитов через узкий плоский канал (щелевой капилляр) в зависимости от показателя гематокрита суспензии.

На рис. 1 представлена зависимость напряжений сдвига от показателя гематокрита суспензий эритроцитов при различных сроках хранения и разных размерах капилляров. У большинства кривых наблюдается минимальное значение напряжения сдвига в районе значений гематокрита

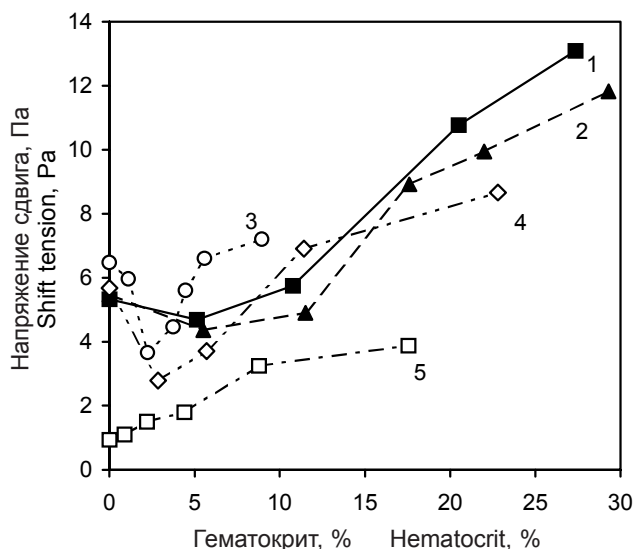
(height) of which was less or comparable with that for a cell, the dependence of viscosity on hematocrit had a vividly manifested minimum (2.5÷5%).

The research aim was to find-out the dependence of shift tension on hematocrit.

### Materials and methods

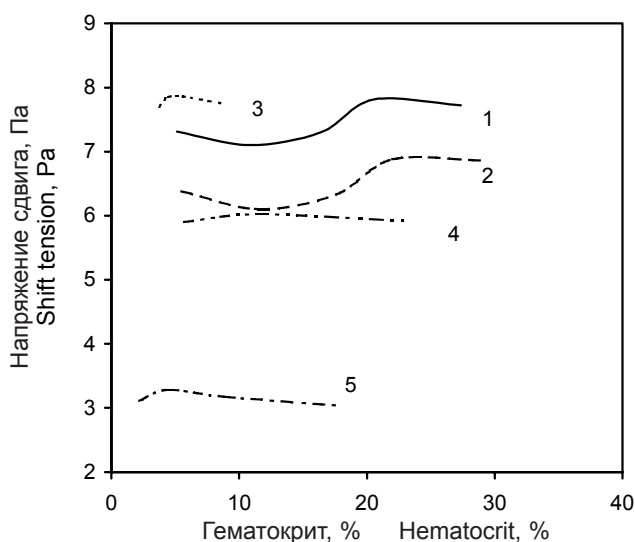
In the experiments there were used erythrocytes obtained from venous blood of healthy donors. To remove plasma, clots, leukocytes and other form elements the blood was thrice washed-out with isotonic physiological solution (0.15 M NaCl+5 mM phosphate buffer) with pH 7.4. To perform studies the erythrocyte concentrate was diluted with isotonic solution up to obtaining a necessary index of hematocrit. There was used the blood with storage terms from 2 to 9 days at 4°C.

Erythrocyte suspension was pressed through flat slit channels with a channel height of 1.8÷3.6 μm. Channel width made 0.8÷0.9 mm. Channel length was similar for all capillaries and made 2 mm. These dimensions of flat channel are set when clamping steel injection needles with inner diameter of 0.5-0.6 mm (outer one was 0.8-0.9 mm). The way to determine channel sizes is reported in details in the paper [2]. The mentioned height of the channel was selected in order to guarantee the deformation of erythrocyte membrane, passing between the channel walls, because the calculation shows that if erythrocyte



**Рис. 1.** Зависимость напряжения сдвига от гематокрита: 1 – высота щели 3,4÷3,6 мкм; 3 суток хранения крови; 2 – высота щели 2,5÷2,6 мкм; 4 суток хранения крови; 3 – высота щели 1,8÷1,9 мкм; 8 суток хранения крови; 4 – высота щели 6,47÷6,9 мкм; 2 суток хранения крови; 5 – высота щели 11,3÷14 мкм; 9 суток хранения.

**Fig. 1.** Dependence of shift tension on hematocrit: 1 – slit height 3.4÷3.6 μm; 3 days of blood storage; 2 – slit height 2.5÷2.6 μm; 4 days of blood storage; 3 – slit height 1.8÷1.9 μm; 8 days of blood storage; 4 – slit height 6.47÷6.9 μm; 3 days of blood storage; 5 – slit height 11.3÷14 μm; 9 days of blood storage.



**Рис. 2.** Зависимость приведенного напряжения сдвига от гематокрита. (Обозначения те же, что и на рис. 1).

**Fig. 2.** Dependence of reduced shift tension on hematocrit: (legends are the same as in Fig. 1).

2,5÷5%. Исключение составляет только кривая 5, которая показывает результаты экспериментов на капиллярах относительно больших размеров.

Представленные кривые аппроксимировались с помощью различных функций, принимая за точку отсчета значение минимума на каждой кривой. Оказалось, что лучшие результаты дает аппроксимация с помощью степенной функции вида  $Y = AX^B$ .

Установлено, что напряжение сдвига для суспензий с различным гематокритом можно привести к напряжению сдвига  $\tau_0$  при гематокрите  $H_0$  с помощью следующего соотношения:

$$\tau_0 = \tau_i (H_0/H_i)^{0.4956},$$

где  $\tau_i$  – напряжение сдвига при измеренном показателе гематокрита  $H_i$ .

На рис. 2 представлены зависимости напряжения сдвига, приведенные к показателю гематокрита  $H_0=10\%$ . Данное значение гематокрита выбрано потому, что при нем величина напряжения сдвига становится примерно равной значению напряжения сдвига для суспендирующей среды (физиологического раствора) при малых размерах капилляров.

Как видно из рис. 2, отклонение напряжений сдвига от среднего значения не превышает 5% при указанном выше способе приведения напряжений сдвига, полученных для различных гематокритов, к напряжению сдвига при гематокрите 10%.

Опыт показывает, что если разводить эритроконцентрат, например, в пропорции 1:8, то будет получена суспензия с гематокритом 9÷11%. Чтобы не доводить гематокрит до заданной величины и

within a stream at high shift rates is of ellipsoid shape then its small axis is equal to 3.65  $\mu\text{m}$  for erythrocyte of an average size if membrane extension is absent. For comparison there were used the channel with the height of 6.5÷6.9 and 11.3÷14  $\mu\text{m}$ .

All experiments were performed at 25°C. At this temperature according to the reports [4] the shift module of erythrocyte membranes is the least.

### Results and discussion

We have carried-out the experiments on the determining of shift tension during flowing of erythrocyte suspension via narrow flat channel (slit capillary) depending on the index of suspension hematocrit.

Fig. 1 shows the dependence of shift tensions on erythrocyte suspension hematocrit at various storage terms and different capillary sizes. For the majority of curves there is observed minimal value of shift tension in the area of hematocrit ones of 2.5÷5%.

The only exception is the curve 5 which demonstrates the results of experiments in capillaries with the sizes more than 11 mm. Presented curves are approximated using different functions assuming as a starting point the value of minimum for each curve. The best results occurred to be presented by approximation of power function of  $Y = AX^B$  type.

It has been established that shift tension for suspensions with various hematocrit values may lead to shift tension  $\tau_0$  at  $H_0$  hematocrit using the following ratio:

$$\tau_0 = \tau_i (H_0/H_i)^{0.4956},$$

where  $\tau_i$  – shift tension at measured index of hematocrit.

Fig. 2 demonstrates the dependences of shift tension reduced to the hematocrit index  $H_0 = 10\%$ . This hematocrit value is chosen because its value of shift tension is getting nearly equal to the one of shift tension for suspending medium (physiological solution) at small sizes of capillaries.

Fig. 2 shows that using such way of reducing the shift tension the obtained for various values of hematocrit to the shift tension at hematocrit 10% deviation of shift tensions from mean value does not exceed 5%.

The experience demonstrates that if to dilute erythroconcentrate, for example, in 1:8 ratio then the suspension with 9÷11% hematocrit will be obtained. In order not to approach hematocrit to the set value and do not carry out additional measurements one may use the mentioned above dependence for reducing shift module to the set value of hematocrit, that will provide slight deviation of shift module value. Resulted dependence is recommended to be applied within the

не проводить его дополнительные измерения можно воспользоваться указанной выше зависимостью для приведения модуля сдвига к заданной величине гематокрита, что даст очень незначительное отклонение величины модуля сдвига. Полученную зависимость рекомендуется применять в диапазоне величин гематокрита 5÷30% для размеров каналов, указанных выше.

### Выводы

Таким образом при сравнении изменения напряжения сдвига с зависимостью изменения вязкости от гематокрита при малых размерах капилляра можно увидеть, что вязкость изменяется аналогично изменению напряжения сдвига. Применение полученной выше зависимости позволит определять не только значения напряжения сдвига, но и вязкости суспензии эритроцитов для требуемой величины гематокрита.

### Литература

1. *Лайтфут Э.* Явления переноса в живых системах.– М.: Мир, 1977.– 520 с.
2. *Тодрин А.Ф.* Влияние гематокрита на вязкость суспензии эритроцитов в капиллярном вискозиметре при малых размерах капилляров // Пробл. криобиологии.– 2005.– №1.– С. 14-19.
3. *Card R.T., Mahandas N., Perkin H.A., Shohet S.B.* Deformability of stored red blood cells. Relationship to degree of packing // *Transfusion.*– 1982.– Vol. 22, N2.– P. 96-101.
4. *Williamson J.R., Shanahan M.O., Hochmuth P.H.* The influence of temperature on red cell deformability // *Blood.*– 1975.– Vol. 40, N4.– P. 611-624.

*Поступила 07.07.2005*

range of hematocrit values 5÷30% for the sizes of channels mentioned above.

### Conclusions

Thus if to compare the diagrams of dependence of shift tension (Fig. 2) with the data of viscosity changes on hematocrit [2] under small capillary sizes one can see that the viscosity alters in the same way as the change in shift tension. This helps to conclude that application of obtained dependence mentioned above will enable of determining not only the values of shift tension but also viscosity of erythrocyte suspension for a certain hematocrit value not reducing the latter to the value set.

### References

1. *Lightfoot E.N.* Transport phenomena in living system.– Moscow: Mir, 1977.– 520 p.
2. *Todrin A.F.* Hematocrit effect on viscosity of erythrocyte suspension in a capillary viscosimeter at small size of capillaries hypometabolism in rats and hamsters // *Problems of cryobiology.* – 2005, N1.– P. 14-19.
3. *Card R.T., Mahandas N., Perkin H.A., Shohet S.B.* Deformability of stored red blood cells. Relationship to degree of packing // *Transfusion.*– 1982.– Vol. 22, N 2.– P. 96-101.
4. *Williamson J.R., Shanahan M.O., Hochmuth P.H.* The influence of temperature on red cell deformability // *Blood.* – 1975.– Vol. 40, N4.– P. 611-624.

*Accepted in 07.07.2005*