

## Влияние гематокрита на вязкость суспензии эритроцитов в капиллярном вискозиметре при малых размерах капилляров

А.Ф. ТОДРИН

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

## Hematocrit Effect on Viscosity of Erythrocyte Suspension in a Capillary Viscosimeter at Small Sizes of Capillaries

A.F. TODRIN

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

Представлены результаты экспериментальных исследований зависимости вязкости суспензий эритроцитов от гематокрита на капиллярном вискозиметре с капиллярами, имеющими форму плоских щелевых каналов с малой высотой щели. Показано, что при использовании капилляров с высотой щели менее 7 мкм зависимость вязкости от гематокрита имеет четко выраженный минимум при гематокрите 2,5÷5%. В то же время при использовании капилляров с высотой щели более 11 мкм зависимость вязкости от гематокрита имеет характер, близкий к линейному.

**Ключевые слова:** суспензия эритроцитов, гематокрит, щелевой капилляр, вязкость.

Наведено результати експериментальних досліджень залежності в'язкості суспензій еритроцитів від гематокриту на капиллярному вискозиметрі з капілярами, що мають форму плоских щілинних каналів з малою висотою щілини. Показано, що при використанні капілярів з висотою щілини менше ніж 7 мкм залежність в'язкості від гематокриту має чітко виражений мінімум при гематокриті 2,5÷5%. У той же час при використанні капілярів з висотою щілини більше 11 мкм залежність в'язкості від гематокриту має характер, близький до лінійного.

**Ключові слова:** суспензія еритроцитів, гематокрит, щілинний капіляр, в'язкість.

Results of experimental study of dependency of erythrocyte suspension viscosity on hematocrit using the capillary viscosimeter with capillaries in a form of flat slot channels of small slot height are presented. When using capillaries with a slot height less than 7 μm the viscosity dependency on hematocrit was shown to have a distinctly manifested minimum at 2.5÷5% hematocrit. At the same time if using capillaries with slot height more than 11 μm the dependency of viscosity on hematocrit is of the character, close to the linear one.

**Key-words:** erythrocyte suspension, hematocrit, slot capillary, viscosity.

Известно, что вязкость суспензии эритроцитов напрямую зависит от гематокрита суспензии [1], т.е. чем больше показатель гематокрита, тем выше вязкость. Однако это заключение базируется на исследованиях, которые проводились, в основном, на капиллярных вискозиметрах, размер капилляров которых намного превосходил размер эритроцита. В этих капиллярах эритроциты почти не подвергались механической деформации и, следовательно, жесткость мембраны слабо влияла на величину вязкости суспензии. В то же время в капиллярах, размер которых меньше размера клеток, например, в микрососудах кровеносной системы, эритроциты подвергаются механической деформации, что может существенно сказаться на кажущейся вязкости крови. Неудивительно, что в работах [3, 7] величина вязкости суспензии эритроцитов рассматривается как одна из характеристик деформируемости их мембран.

Мы провели исследования на капиллярах, имеющих форму плоских щелевых каналов,

It is of common knowledge that the viscosity of erythrocyte suspension directly depends on suspension hematocrit [1], i.e. the greater hematocrit index is, the higher viscosity is. However this conclusion is based on the researches, mainly performed with capillary viscosimeters, which capillary size considerably exceeded the erythrocyte size. In these capillaries the erythrocytes were hardly subjected to mechanical deformation and, consequently, the membrane tension did not significantly affect the suspension viscosity value. At the same time in capillaries, which size is less than that of cells, for example in microvessels of circulatory system, the erythrocytes undergo a mechanical deformation, that can affect in a considerable extent the apparent blood viscosity. No wonder that in the papers [3, 7] the viscosity value of erythrocytes' suspension is considered as one of the characteristics of deformation rate in their membranes.

We carried-out the researches in capillaries with a form of flat slot channels, which main characteristic size (slot height) was less than that for a cell.

**Адрес для корреспонденции:** Тодрин А.Ф., Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, ул. Переяславская, 23, г. Харьков, Украина 61015; тел.: +38 (057) 772-88-71, факс: +38 (057) 772-00-84, e-mail: cryo@online.kharkov.ua

**Address for correspondence:** Todrin A.F., Institute for Problems of Cryobiology & Cryomedicine of the Natl. Acad. Sci. of Ukraine, 23, Pereyaslavskaya str., Kharkov, Ukraine 61015; tel.: +38 (057) 7728871, fax: +38 (057) 7720084, e-mail: cryo@online.kharkov.ua

основной характеристический размер которых (высота щели) меньше размера клетки.

Цель работы – определение зависимости кажущейся вязкости суспензии эритроцитов от ее гематокрита в капиллярном вискозиметре с малыми размерами капилляров.

### 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. При проведении исследований эритроконцентрат разбавляли изотоническим физиологическим раствором до получения необходимого показателя гематокрита. Использовали кровь со сроками хранения от 2-х до 9 суток при 4°C.

Капилляры изготавливали из стальных инъекционных игл с внутренним диаметром 0,5-0,6 мм и толщиной стенки 0,1-0,18 мм. Иглы пережимали между 2-мя плоскими поверхностями при нормированной нагрузке для получения щели с заданной высотой.

Для определения размеров щели капилляры продували воздухом, находящемся в сверхкритических условиях, на специальном устройстве (при сверхкритических условиях скорость истечения воздуха через отверстие не изменяется с изменением давления). В процессе продувки измеряли начальное и конечное значения давления и время его падения при истечении воздуха через капилляр из емкости постоянного объема. Затем по модифицированному уравнению [4], определяли площадь проходного сечения отверстия:

$$S = \frac{V}{\tau \psi \eta \sqrt{kRT}} \ln \frac{p_i}{p_f}$$

где  $V$  – объем емкости;  $\tau$  – время истечения воздуха;  $\eta$  – коэффициент расхода отверстия, равный 0,82;  $k$  – показатель адиабаты для воздуха;  $R$  – газовая постоянная для воздуха;  $T$  – температура;  $p_i$  и  $p_f$  – начальное и конечное давления;  $\psi$  – коэффициент для сверхкритической области (постоянен и равен 0,68).

Зная площадь поперечного сечения отверстия  $S$  и форму щели, легко определить все ее размеры.

В работе использовали капилляры с шириной щели 0,8÷0,9 мм. Длина щели была одинакова для всех капилляров и равнялась 2 мм. Высота щели от 1,8 до 3,6 мкм была выбрана для того, чтобы гарантировать деформацию мембраны эритроцита, проходящего между стенками капилляра, поскольку расчет показывает, что, если эритроцит в потоке при высоких скоростях сдвига имеет форму

The work was aimed to determine the dependency of the erythrocytes' suspension apparent viscosity on its hematocrit in a capillary viscosimeter with small capillary sizes.

### Materials and methods

The erythrocytes, procured from healthy donors' venous blood were used in the experiments. For removing plasm, clots, leukocytes and other formed elements, blood was threefold washed-out in isotonic physiological solution (0.15M NaCl + 5 mM phosphate buffer) with pH 7.4. For research performance the erythroconcentrate was diluted with isotonic physiological solution up to the necessary hematocrit index obtaining. We used blood with storage terms from 2 to 9 days at 4°C.

Capillaries were manufactured from steel needles for injection with 0.5-0.6 mm internal diameter and 0.1-0.18 mm wall width. The needles were pinched between two flat surfaces under normalised load to obtain a slot with the specified height.

In order to determine the slot sizes the capillaries were blown through with the air, being under supercritical conditions using special device (under supercritical conditions the rate of air efflux through a hole does not change with change in the pressure). During blowing through we measured the values of initial and final pressures and the time of its fall during air efflux through a capillary out of the constant volume vessel. Then, according to the modified equation [4] we determined the passage area of a hole :

$$S = \frac{V}{\tau \psi \eta \sqrt{kRT}} \ln \frac{p_i}{p_f}$$

where  $V$  is the vessel volume;  $\tau$  is time of air efflux;  $\eta$  is a coefficient of the hole flow rate, equal to 0.82;  $k$  is adiabatic exponent for air;  $R$  is the gas constant for air;  $T$  is temperature;  $p_i$  and  $p_f$  are initial and final pressures;  $\psi$  is coefficient for supercritical range (it is constant and equals to 0.68).

If knowing the  $S$  cross-section area of a hole and a slot shape it is easy to determine all its parameters.

In the work we used the capillaries with a slot width of 0.8÷0.9 mm. Slot length was the similar for all capillaries and was equal to 2 mm. The slot height from 1.8 to 3.6  $\mu\text{m}$  was chosen to ensure the erythrocyte membrane deformation, which passed through capillary walls, since the calculation showed that if erythrocyte in a flow under high shift rates was of ellipsoid shape, its small axis was equal to 3.65  $\mu\text{m}$  for erythrocyte with an average size at the absence of membrane extension. To compare we used the capillaries with slot height of 6.5÷6.9 and 11.3÷14  $\mu\text{m}$ .

Experiments were done using the device described in the paper [4].

эллипсоида, то его малая ось равна 3,65 мкм для эритроцита среднего размера при отсутствии растяжения мембраны. Для сравнения использовали капилляры с размерами (высотой) щели 6,5÷6,9 и 11,3÷14 мкм.

Эксперименты проводили с помощью устройства, описанного в [5].

### Результаты и обсуждение

Из [2] известно, что при измерении вязкости жидкости капиллярными вискозиметрами кажущееся значение вязкости уменьшается с уменьшением размера капилляра при постоянном расходе жидкости через капилляр. Поэтому для оценки влияния размера капилляра как такового на вязкость жидкости были проведены исследования зависимости вязкости воды от размеров щелевого капилляра, чтобы в последующем, используя эти данные, получить значения вязкостей суспензий.

В ходе экспериментов измеряли перепад давления  $\Delta P$  на капилляре и объемный расход жидкости или клеточной суспензии через капилляр  $Q$ . Вязкость определяли по формуле [6]:

$$\mu = \frac{\Delta P b h^3}{12 Q L}$$

где  $b$  – ширина щелевого канала;  $h$  – высота канала;  $L$  – длина канала.

На рис. 1 приведена измеренная зависимость вязкости воды от размеров щелевого капилляра при 20°C. Данная температура была выбрана потому, что при ней вязкость воды равна 1,004 сП и, следовательно, величина вязкости исследуемых суспензий, отнесенная к вязкости воды при данном конкретном размере капилляра, практически равна величине вязкости, выраженной в сантипуазах.

Представленные на рис. 1 данные хорошо описываются квадратичной параболой:

$$\mu = 2,99187 \cdot 10^{-3} \cdot h^2 + 5,18129 \cdot 10^{-4} \cdot h + 2,61292 \cdot 10^{-3},$$

где  $h$  – высота щели, мкм.

На рис.2 приведен график зависимости кажущейся вязкости суспензии эритроцитов от показателя гематокрита при разных размерах капилляров и различных сроках хранения крови.

Как видно из кривых (рис.2), размер капилляра оказывает большее влияние на кажущуюся вязкость суспензии (уменьшает ее значение при уменьшении размера капилляра), чем срок хранения крови (при увеличении которого вязкость должна возрастать из-за повышения жесткости мембран эритроцитов).

Особенностью приведенных на рис. 2 кривых является наличие на них ярко выраженного минимума вязкости, что очень сложно объяснить

### Results and discussion

It is known from the paper [2] that when measuring the fluid viscosity by means of capillary viscosimeters the viscosity apparent value reduces with a decrease in capillary size at a constant fluid consumption through a capillary. Therefore for estimating the capillary size effect itself on fluid viscosity we studied the dependency of water viscosity on the slot capillary sizes to obtain in future the values for suspension viscosity using these data.

During experiments we measured the  $P$  pressure fall on a capillary and a volume consumption of fluid or cell suspension through a capillary  $Q$ . The viscosity was determined by the formulae [6]:

$$\mu = \frac{\Delta P b h^3}{12 Q L}$$

where  $b$  is the slot channel width;  $h$  is the height of channel;  $L$  is the channel length.

The Fig. 1 shows the measured dependency of water viscosity on sizes of slot capillary at 20°C. This temperature was selected because the water viscosity was equal to 1.004 cP at it and, consequently, the viscosity value in studied suspensions, related to water viscosity at the specific capillary size was practically equal to the viscosity value, expressed in centipoises.

The data presented in the Fig.1 are well described by the square parabola:

$$\mu = 2.99187 \cdot 10^{-3} \cdot h^2 + 5.18129 \cdot 10^{-4} \cdot h + 2.61292 \cdot 10^{-3},$$

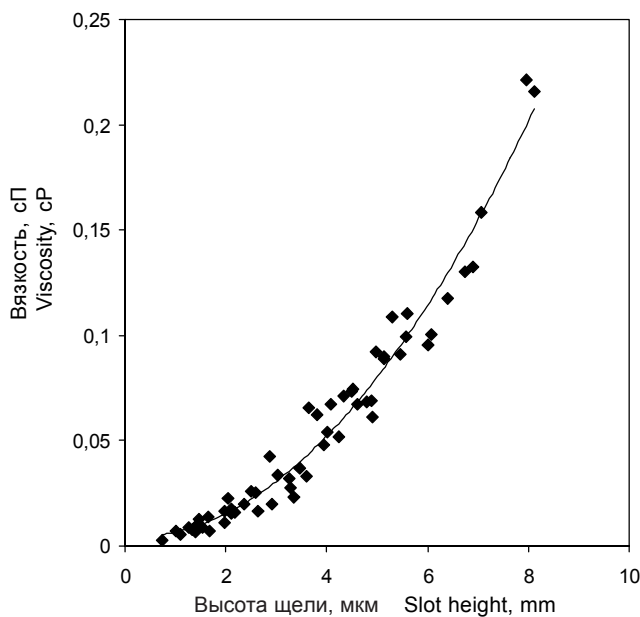
where  $h$  is slot height,  $\mu\text{m}$ .

Fig.2 shows the diagramme of dependency for erythrocyte apparent viscosity on hematocrit index at various sizes of capillaries and different storage terms of blood.

The curves (Fig. 2) demonstrate the capillary size causes stronger effect on the apparent viscosity of suspension (reduces its value at a decrease in capillary size), than the term of blood storage (with increase of which the viscosity should augment due to an increase in erythrocyte membrane tension).

The peculiarity of curves shown in the Fig. 2 is the presence on them a strongly manifested viscosity minimum, that is very difficult to explain from the point of view of existing notions about cell suspension flux in capillaries. One assumed, that this effect could be in some way related to mechanical deformation in erythrocytes, but the experiments in bigger capillaries (6.5÷6.9  $\mu\text{m}$ , curve 4), where cell should not undergo a direct mechanical deformation, demonstrated the presence of viscosity minimum as well.

In all curves after exceeding the certain hematocrit value the viscosity begins to increase. This can be explained by the strengthening of effect on the viscosity of intercellular interaction with an increase of cell concentration in suspension.



**Рис. 1.** Зависимость вязкости воды от высоты щели капилляра.

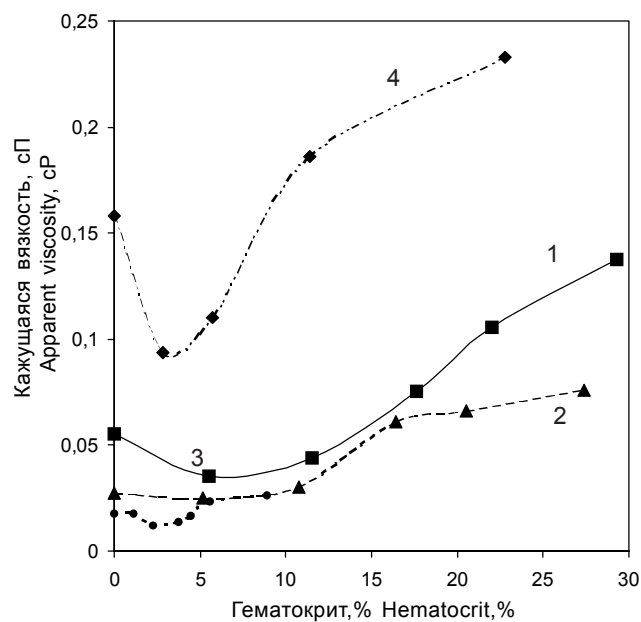
**Fig. 1.** Dependency of water viscosity on capillary slot height.

с точки зрения существующих представлений о течении клеточных суспензий в капиллярах. Предполагалось, что данный эффект может быть как-то связан с механической деформацией эритроцитов, однако эксперименты на более крупных капиллярах (6,5÷6,9 мкм, кривая 4), в которых клетка не должна подвергаться прямой (непосредственной) механической деформации, также показали наличие минимума вязкости.

На всех кривых после превышения определенной величины гематокрита вязкость начинает возрастать. Это можно объяснить усилением влияния на вязкость межклеточного взаимодействия с ростом концентрации клеток в суспензии.

На рис. 3 показаны зависимости приведенной вязкости суспензий эритроцитов от гематокрита, которые получены путем деления значений вязкости, представленных на рис. 2, на значение вязкости воды при соответствующем размере щелевого капилляра (см. рис. 1) и умножения на 1,004 сП (вязкость воды при 20°C). Здесь видно, что вязкость суспензии эритроцитов зависит (как это и должно быть) от срока хранения крови, т. е. от жесткости мембран эритроцитов, и увеличивается при более длительных сроках хранения. Минимум вязкости остается также ярко выраженным.

Для контроля нами были проведены эксперименты с использованием капилляров, размер щели которых находился в пределах 11,3-14 мкм и сроками хранения крови 9 сут.



**Рис. 2.** Зависимость кажущейся вязкости суспензии эритроцитов от гематокрита и высоты щели капилляров, мкм: 1 – 3,4÷3,6 (3 сут хранения крови); 2 – 2,5÷2,6 (4 сут); 3 – 1,8÷1,9 мкм (8 сут); 4 – 6,47÷6,9 мкм (2 сут).

**Fig. 2.** Dependency of apparent viscosity of erythrocyte suspension on hematocrit and capillary slot height,  $\mu\text{m}$ : 1 – 3.4÷3.6 (3 days of blood storage); 2 – 2.5÷2.6 (4 days); 3 – 1.8÷1.9 (8 days); 4 – 6.47÷6.9 (2 days).

The Fig. 3 presents the dependencies of shown viscosity of erythrocyte suspension on hematocrit, obtained by dividing viscosity values, presented in the Fig. 2, by the value for water viscosity under corresponding size of slot capillary (see the Fig. 1) and by multiplying by 1.004 cP (water viscosity at 20°C). The viscosity of erythrocyte suspension is seen to depend (as it should be) on the blood storage term, i.e. on erythrocyte membrane tension and increases under more prolonged storage terms. The viscosity minimum remains strongly manifested as well.

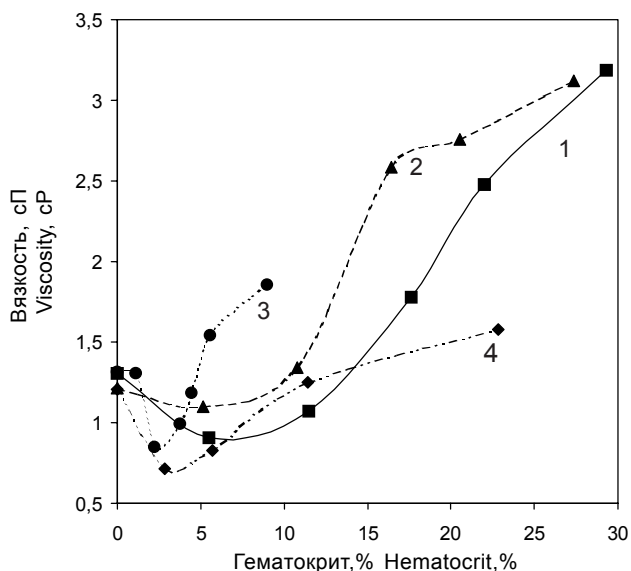
For the control we performed the experiments with usage of capillaries, which slot size was within the limits of 11.3-14  $\mu\text{m}$  and blood storage terms of 9 days.

As it the diagramme shows (Fig. 4) the dependency of viscosity on hematocrit when applying capillaries with greater slot size has the character close to a linear one, i.e. at such capillary sizes the viscosity constantly augments with hematocrit increase.

Indirect confirmation of accuracy in our measurements is the fact, that the viscosity values for NaCl isotonic solution (when hematocrit is 0) are with in a narrow range for all capillary sizes (1.255±0.055 cP) used in the experiments.

## Conclusions

The performed research shows that the application of very small capillaries for viscosity determination results in the depreciation of real viscosity value for



**Рис. 3.** Зависимость приведенной вязкости суспензии эритроцитов от гематокрита. Обозначения те же, что и на рис. 2.

**Fig. 3.** Dependency of mentioned viscosity of erythrocyte suspension on hematocrit. (The same symbols as in the Fig. 2).

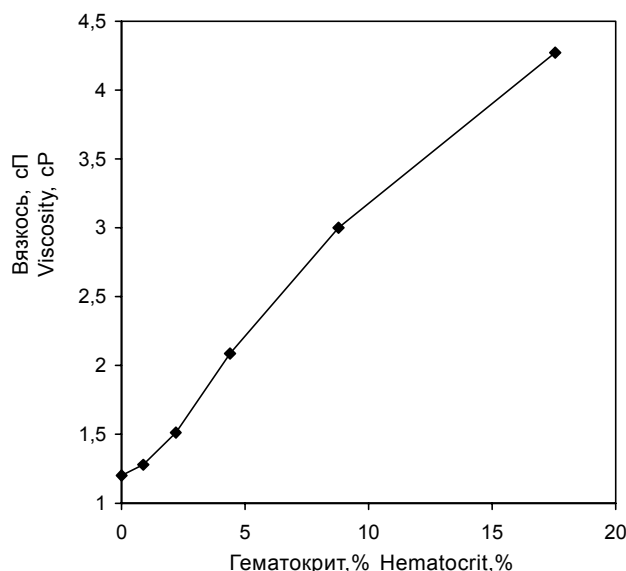
Как видно из графика (рис. 4), зависимость приведенной вязкости от гематокрита при применении капилляров с большим размером щели имеет характер, близкий к линейному, т.е. при таких размерах капилляров вязкость постоянно возрастает с ростом гематокрита.

Косвенным подтверждением точности наших измерений является то обстоятельство, что значения вязкости изотонического раствора NaCl (когда гематокрит равен нулю) лежат в узком диапазоне ( $1,255 \pm 0,055$  сП) для всех размеров капилляров, использовавшихся в экспериментах.

### Выводы

Из проведенных исследований видно, что применение очень мелких капилляров для определения вязкости приводит к занижению реальной величины вязкости как для чистых жидкостей, так и для суспензий клеток. Вязкость суспензии эритроцитов при использовании мелких капилляров при малых гематокритах может быть даже меньше, чем вязкость суспендирующей среды. Природа этого явления пока не ясна, однако очевидно, что оно непосредственно связано с размером капилляра. Можно предположить, что в системе микроциркуляции, где динамический гематокрит может сильно отличаться от гематокрита крови в большом объеме, вязкость крови заметно понижается.

Кроме того, можно с уверенностью говорить, что при измерении вязкости капиллярными вискозиметрами с основным характеристическим



**Рис. 4.** Зависимость приведенной вязкости суспензии эритроцитов от гематокрита при больших размерах капилляров.

**Fig. 4.** Dependency of mentioned viscosity of erythrocyte suspension on hematocrit at big sizes of capillaries.

both pure fluids and cell suspensions as well. The viscosity of erythrocyte suspension when using small capillaries at low hematocrits can be even less, than the viscosity of suspending medium. The nature of this phenomenon is not clear yet, but evidently it is directly related to the capillary size. We can suggest, that in microcirculation system, where dynamical hematocrit can differ from blood hematocrit in a big volume, the blood viscosity notably decreases.

In addition, we can certainly state that when measuring the viscosity with capillary viscosimeters with the main characteristic size of capillary less than  $11 \mu\text{m}$  the viscosity value does not serve as an index for cell deformation rate, because at small hematocrits it can be lower than the viscosity of suspending medium. The same concerns a relative viscosity as well. This casts some doubt on the application of different indices of deformation rate, proposed in many works, taking into account the viscosity or rate of suspension flux, especially when using millipore filters.

### References

1. Caro C., Pedley T., Schroter R., Seed W. The mechanics of blood circulation.— Moscow: Mir, 1981.— 624 p.
2. Lighthill E. Transport phenomena and living systems.— Moscow: Mir, 1977.— 520 p.
3. Levitov V.A., Regirer S.A., Shadrina N.Kh. Blood rheology.— Moscow: Meditsina, 1982.— 272 p.
4. Technical thermodynamics / Edited by V.I. Krutoj.— Moscow: Vysshaya shkola, 1981.— 439 p.
5. Patent N 23596A Ukraine, ICI G01N33/49, G01N27/100. Way for determining of cell deformation rate and the device for its

размером капилляра меньше 11 мкм величина вязкости не служит показателем деформируемости клеток, так как, при малых гаматокритах она может быть ниже вязкости суспендирующей среды. То же самое относится и к относительной вязкости. Это ставит под сомнение применение различных индексов деформируемости, предлагаемых во многих работах, учитывающих вязкость или скорость протекания суспензий, особенно при использовании мелкопористых фильтров.

### Литература

1. Каро К., Педли Т., Шротер Р., Сид У. Механика кровообращения. – М.: Мир, 1981. – 624 с.
2. Лайтфут Э. Явления переноса в живых системах. – М.: Мир, 1977. – 520 с.
3. Левтов В.А., Регирер С.А., Шадрин Н.Х. Реология крови. – М.: Медицина, 1982. – 272 с.
4. Техническая термодинамика / Под. ред. В.И. Крутого – М.: Высш. школа, 1981. – 439 с.
5. Пат. № 23596А України, МКІ G01N33/49, G01N27/100. Спосіб визначення деформованості клітин та пристрій для його здійснення / О.І. Осецький, О.Ф. Тодрін. Заявлено 26.05.97. Опубл. 31.08.98. Бюл. №4. – С. 3.1.256.
6. Chan T., Jafrin M.Y., Seshardi V., McKay C. Flow of red blood cell suspensions through narrow two-dimensional channels // Biorheology. – 1982. – Vol. 19, N1-2. – P. 253-267.
7. Halpern D., Secomb T.V. The squeezing of red blood cells through capillaries with near-minimal diameters // J. Fluid Mech. – 1989. – Vol.203, N1-2. – P. 381-400.

Поступила 05.11.2004

- realisation / A.I. Osetsky, A.F. Todrin. Applied 26.05.97. Published 11.08.98. Bull. N4. – P.3.1.256.
6. Chan T., Jafrin M.Y., Seshardi V., McKay C. Flow of red blood cell suspensions through narrow two-dimensional channels // Biorheology. – 1982. – Vol.19. – N1-2. – P. 253-267.
  7. Halpern D., Secomb T.V. The squeezing of red blood cells through capillaries with near-minimal diameters // J. Fluid. Mech. – 1989. – Vol. 203. – N2. – P. 381-400.

Accepted in 05.11.2004