

Caracterización de membranas hemodialíticas por microscopía de fuerza atómica

Ma. Cristina Acosta García^a, Nikola Batina^a, Martha Franco^b, Héctor Pérez Gravas^b, Mario Alberto Ramírez^c y Miguel Cadena Méndez^c

a) Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, Departamento de Química, Laboratorio de Nanotecnología e Ingeniería Molecular, México D.F., MÉXICO.

b) Instituto Nacional de Cardiología Dr. Ignacio Chávez, Unidad de Hemodiálisis del Departamento de Nefrología, México D.F., MÉXICO

c) Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, Departamento de Ingeniería Eléctrica, Centro de Investigación en Instrumentación e Imagenología Médica, México D.F., MÉXICO.

Abstract— Recent development in the bio-medical engineering and use of the new type of nano-materials, requires different and rather more sophisticated analytical tools. The Atomic Force Microscopy (AFM) is one of the most sophisticated tools very often used for the surface morphology characterization. The pore size characterization and distribution on the surface of the dialysis (renal) membrane is of a special importance for qualitative and quantity evaluation of the hemodialyzer quality. In the present study, AFM has been used to characterize the surface pores of a hollow-fiber dialysis membrane (polysulfone). The inner and outer side of the fiber dialysis membrane, were subject of investigation (imaging). In order to understand the process of the hemodialyzer deactivations, membranes previously used in hospitals after a single use, 10th and 23rd times of use, were analyzed by AFM. The obtained AFM images revealed significant differences in the quality and characteristics of the surface conditions of the hemodialysis membranes, on the nanometric level. This study also clearly shows that AFM could be a powerful tool for evaluation of the hemodialysis membrane conditions.

Palabras claves— Hemodiálisis, membrana, AFM.

I. INTRODUCCIÓN

En México, el número de personas afectadas por alguna enfermedad renal, corresponde al 1% de la población, de los cuales 20,000 pacientes se encuentran en fase terminal y requieren de un trasplante o terapia que permita reemplazar las funciones del órgano dañado.

Dentro de las terapias existentes para sustituir la función renal se encuentran la diálisis por peritoneo y la hemodiálisis, siendo esta última la que presenta mayores ventajas debido a que los pacientes nefrópatas solo requieren tratamientos dos o tres veces por semana para eliminar los tóxicos derivados del metabolismo y para controlar la retención de líquidos en el cuerpo [1].

Los problemas a resolver dentro de la hemodiálisis son: (a) disminución del tiempo de tratamiento, el cual tiene una duración promedio de 3.5 horas, (b) aumentar la tasa de

depuración de los tóxicos (Urea, Creatinina y Fosfatos en equilibrio con el HCO_3^-), y (c) disminuir la reacción inmunológica por incompatibilidad biológica del tratamiento mismo [1-2]. El común denominador en todos estos problemas se encuentra en la anatomía y fisiología de la membrana artificial que se encuentra en el “cartucho hemodialítico”. Razón por la cual, se requieren mayores estudios que permitan caracterizar de manera integral las propiedades funcionales de las membranas. A este respecto, los estudios microscópicos hasta ahora realizados muestran parcialmente la estructura de la membrana de polisulfona [3], sin lograr aun, imágenes cuantitativas que permitan valorar la funcionalidad y el posible deterioro que sufre por efecto de la reutilización del cartucho.

Una tecnología que está siendo ampliamente utilizada para la caracterización de membranas tanto biológicas como sintéticas, es la microscopía de fuerza atómica (AFM) [4]. Esta técnica, permite el estudio de materiales a escala nanométrica y a últimas fechas, su aplicación representa grandes avances en el desarrollo y caracterización de nuevos materiales. Sin embargo, su aplicación en este campo se ha centrado en la medida y distribución de tamaños de poro, morfología, densidad superficial, y rugosidad entre otras [5-6].

En el presente trabajo, se muestra el estudio mediante AFM de la superficie interior y exterior de la membrana de un hemodializador, en donde se analizaron diferentes fibras de membranas de polisulfona, tomadas de cartuchos de uso múltiple con el objetivo de observar el daño gradual y las posibles razones del deterioro funcional.

II. METODOLOGÍA DESARROLLADA

A. Preparación de la muestra

Se realizaron biopsias de la membrana de polisulfona de tres diferentes cartuchos hemodialíticos con 1, 10 y 23 reusos; de pacientes controlados en el programa de trasplante renal del Instituto Nacional de Cardiología, de la

ciudad de México D.F. Se tomaron muestras de las fibras de polisulfona de cada uno de los cartuchos hemodialíticos, los cuales previamente fueron lavados, y almacenados en una solución de formaldehído. Todo el procedimiento de extracción y preparación de las muestras se realizó en un área limpia, utilizando una campana de flujo laminar (ver Figura 1). Se tomaron fibras de polisulfona de cada cartucho, se colocaron en cajas Petri, se secaron a temperatura ambiente por 72 hrs, en un área estéril, libre de partículas, con la finalidad de eliminar los restos de formaldehído. Se montaron intactas en un disco porta muestras para AFM, para posteriormente observar su morfología y topografía de la superficie de la membrana externa (ver figura 2), otras fibras se cortaron longitudinalmente, con la finalidad de exponer la parte interna de la membrana (figura 3) y visualizar sus características. Las muestras preparadas se almacenaron en una zona aséptica para después ser sometidas a la técnica de visualización por AFM.



Fig. 1. Extracción de las muestras. a) Apertura del cartucho hemodialítico de polisulfona, b) corte de las fibras de membrana de polisulfona.

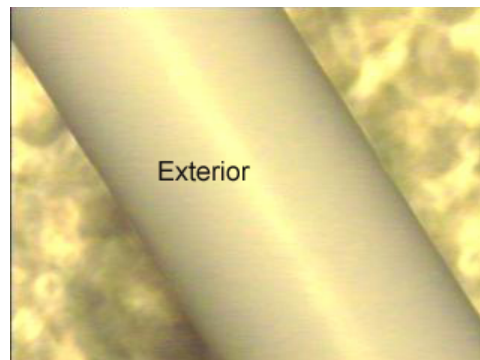


Fig. 2. Imagen de la vista de la superficie externa de una fibra de membrana de polisulfona (Tamaño de imagen: 540 x 400µm).

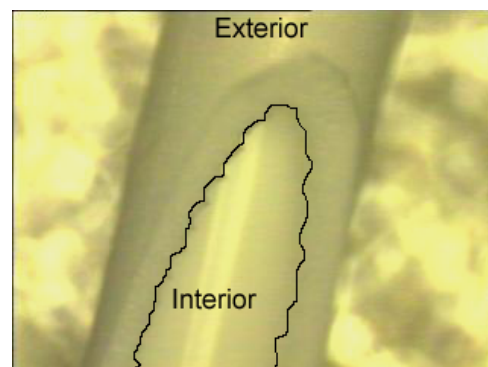


Fig. 3. Imagen de la vista de superficie interna de una fibra de membrana de polisulfona (Tamaño de imagen: 540 x 400µm).

B. Técnica de visualización por AFM de las membranas de hemodiálisis

Los estudios por AFM se realizaron en modo oscilatorio (*tapping mode*), se visualizó el interior y exterior de las fibras de la membrana de polisulfona, usando un microscopio de fuerza atómica, Nanoscope III (Digital Instruments, CA, U.S.A). Se observó la morfología de la superficie de las fibras de polisulfona tomadas de cada cartucho con 1, 10 y 23 reusos. La visualización, fue realizada en una atmósfera de aire (condiciones *ex-situ*), a temperatura ambiente (20°C).

III. RESULTADOS

Se obtuvieron imágenes de altura (topografía) de AFM, en modo oscilatorio, de las diferentes muestras. La imagen de la Figura 4 corresponde al filtro de un sólo uso y se observa la parte externa de la membrana, donde se identifican poros de una micra de diámetro y otros de diámetros variado (rango: 100 nm-2000 nm). En la figura 5,

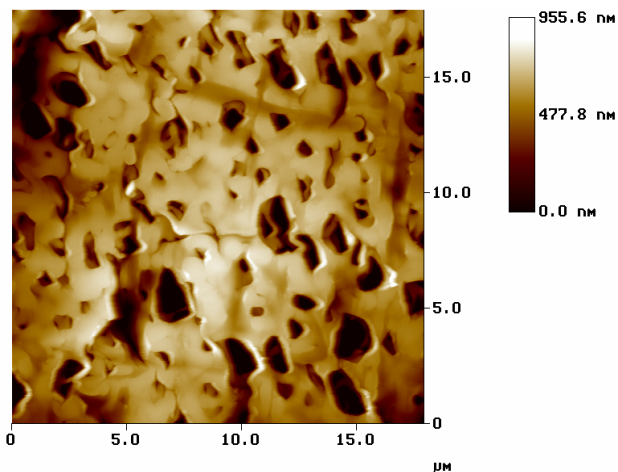


Fig. 4. Imagen de altura de AFM de la superficie exterior de una fibra de membrana de polisulfona. Corresponde al dializador con un reuso. Tamaño de la imagen: 17.95 μm x 17.95 μm .

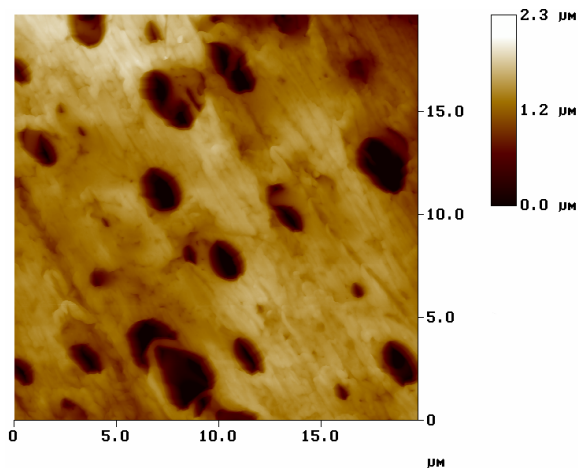


Fig. 6. Imagen del exterior de una fibra de membrana de polisulfona, con 23 reusos. Tamaño de la imagen: 19.73 μm x 19.73 μm .

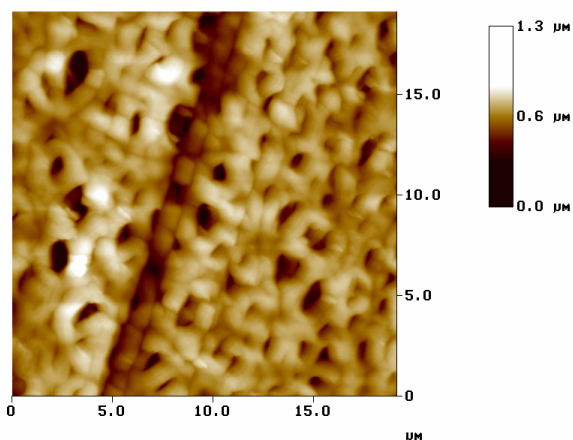


Fig. 5. Imagen de altura de AFM del exterior de una fibra de membrana de polisulfona, con 10 reusos. Tamaño de la imagen: 19.73 μm x 19.73 μm .

podemos observar la superficie exterior de la fibra de la membrana de polisulfona con 10 reusos, donde el tamaño de los poros varía entre 1-2 μm , salta a primera vista que la distribución, forma y número de poros varía con respecto a la de 1 reuso. En la superficie de la fibra de membrana de polisulfona, correspondiente al hemodializador con 23 reusos (figura 6), se aprecia una diferencia notable en su topografía y morfología, nótese como el número de poros (densidad) se ve disminuido, y el tamaño de estos varía en el rango de 700nm- 2.5 μm . Además en la superficie se aprecia el depósito de material, la caracterización de éste, esta en proceso. Sin embargo, las imágenes de AFM claramente muestran que hay un deterioro de la membrana con el incremento de la utilización de los hemodializadores.

El resultado de la visualización por AFM del interior de las fibras de membrana de polisulfona, muestra una diferencia muy grande al exterior de la membrana. El tamaño de poros es en el rango de pocos nanómetros (8-12 nm). La superficie es muy lisa, con una baja rugosidad, a nivel nanométrico (ver figura 7). Después de un uso prolongado se observa la aparición de grietas más pronunciadas en la superficie de las muestras. Con un número mayor de reusos, el daño es más visible, tal y como lo podemos observar en las figuras 8-9, donde se presenta el lado interno de la membrana de polisulfona, y corresponde a la membrana de un filtro con 23 veces de reuso (figura 9), donde se observan más grietas y algunas nuevas estructuras adheridas a la superficie interna de la membrana.

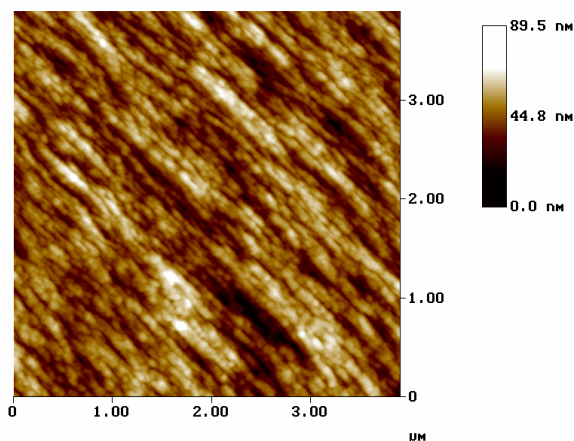


Fig. 7. Interior de una fibra de membrana de polisulfona, con 1 reusos. Tamaño de la imagen: 3.91 μm x 3.91 μm .

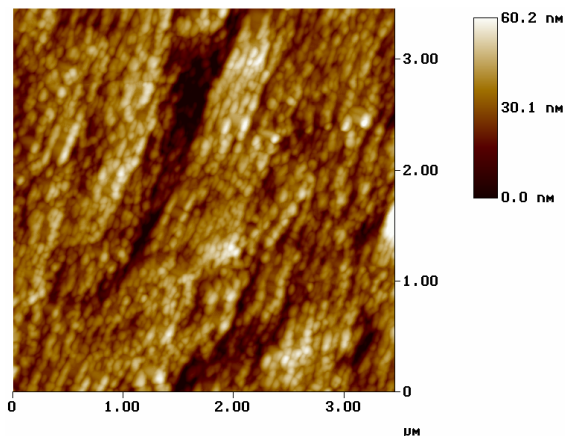


Fig. 8. Interior de una fibra de membrana de polisulfona, con 10 reusos. Tamaño de la imagen: 3.46 μm x 3.46 μm.

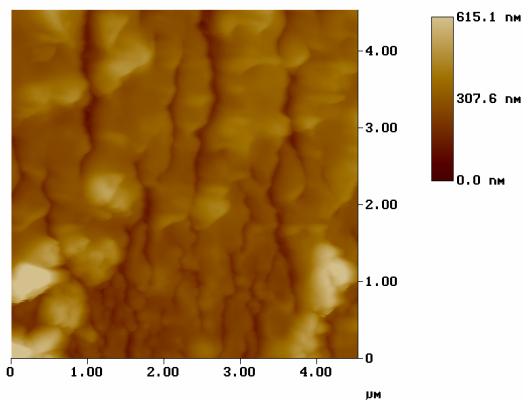


Fig. 9. Imagen de altura de AFM del interior de una fibra de membrana de polisulfona, con 23 reusos. Tamaño de la imagen: 4.54 μm x 4.54 μm.

IV. CONCLUSIONES

Los resultados muestran evidencia del grado de deterioro cuantificable que sufre la membrana de polisulfona por los múltiples usos de un mismo cartucho. Claramente AFM es una herramienta y una técnica que tiene un gran potencial para ser aplicada en este tipo de estudios, en particular para el monitoreo, daño y cambios de las características de poros

a nivel nanométrico. AFM nos muestra diferentes procesos en el daño de la superficie, al interior y exterior de la membrana de polisulfona del hemodializador.

En resumen, esperamos que estas imágenes con alta resolución, ofrezcan una nueva oportunidad para caracterizar y definir mecanismos de daño, y que a través de estos se logre desarrollar un nuevo método para optimizar el reuso y control de calidad de los cartuchos, para que en forma general se incremente la calidad de un tratamiento hemodialítico.

RECONOCIMIENTOS

Agradecemos la beca de estudios de doctorado al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT).

REFERENCIAS

1. Kjellstrand CM, Brennan PT (1996) Acute renal failure, in Replacement of renal function by dialysis, edited by Jacobs C, Kjellstrand CM, Koch KM, Winchester JF, 4th ed, Dordrecht, Kluwer Academic Publisher, 821-862.
2. Agishi T: Functional classification of hemodialyzer and hemofilter, and disease state of their application (1994). J Jpn Soc Dial Ther 27: 331-333.
3. Humes HD, Fissell WH and Tiranathanagul. (2006) The future of hemodialysis membranes. *Kidney International*. 69, 1115-1119 DOI: 10.1038/sj.ki.5000204.
4. Binnig G, Quate C.F. and Gerber C. (1986) Atomic Force Microscope. *Physical Review Letters* 56, 930-933.
5. Masayo Hayama, Fukashi Corri and Kiyotaka Sakai (2002) AFM observation of small surface pores of hollow-fiber dialysis membrane using highly sharpened probe. *J. Membrane Science* 197 (1-2): 243-249.
6. C.Y.Feng, K.C. Khulbe, G.Chowdhury, T.Matsuura and V.C. Sapkal (2001) Structural and performance study of microporous polyetherimide hollow fiber membranes made by solvent-spinning method, *J. Membr. Sci.*, 189: 193-203.

Autor: Miguel Cadena Méndez
 Instituto: Universidad Autónoma Metropolitana
 Dirección: Av. San Rafael Atlixco No. 186 Col. Vicentina, Delegación Iztapalapa.
 C.P.: 09340
 Ciudad: México, D.F.
 País: México
 E-mail: miguelcadenam@hotmail.com