

Urszula M. MICHALCZUK, Agata PENCONEK, Arkadiusz MOSKAL

e-mail: agata.penconek@pw.edu.pl

Katedra Inżynierii Procesów Zintegrowanych, Wydział Inżynierii Chemicznej i Procesowej, Politechnika Warszawska, Warszawa

## Właściwości reologiczne wybranych płynów ustrojowych. Cz. I. Modele płynów biologicznych

### Wstęp

Funkcje poszczególnych płynów ustrojowych pełnione są m.in. dzięki ich odpowiednim właściwościom reologicznym. Właściwa lepkość śliny, łez, śluzu czy to nosowego czy oskrzelowego umożliwia wytworzenie warstwy filmu na powierzchni jamy ustnej, gałki ocznej, nosa i dróg oddechowych chroniącego przed wnikaniem patogenów. Odpowiednia lepkość płynu mózgowo-rdzeniowego zapewnia jego swobodny przepływ w komorach mózgowych osłaniając ośrodkowy układ nerwowy przed urazami mechanicznymi i umożliwiając szybkie wyrównanie zmian ciśnienia wewnątrzczaszkowego.

Płyny ustrojowe nieustannie poddawane są działaniu różnych czynników m.in. obecności cząstek egzogennych, które mogą wpływać na ich reologię. Cel badań było zatem przeanalizowanie, jaki efekt wywoła obecność cząstek środowiskowych na podstawowe właściwości reologiczne wybranych płynów ustrojowych.

### Badania doświadczalne

Do badań wybrano cztery płyny biologiczne: śluz nosowy/oskrzelowy, ślina, osocze i płyn mózgowo-rdzeniowy.

#### Śluz nosowy/oskrzelowy.

Śluz naturalny w ok. 93% składa się z wody, 5% stanowią lipidy, 1% białka, a pozostała część przypada na związki mineralne. Spośród białek aż 15% stanowią mucyny [Schenkels i in., 1995]. Lepkość pozorna śluzu nosowego/oskrzelowego mieści się w zakresie  $10^{-2}$ – $10^3$  mPa·s [Lai i in., 2009]. W literaturze znaleźć można przynajmniej kilka modeli sztucznego śluzu od bardzo bogatych w składniki [D'Angelo i in., 2015] po jedynie dwuskładnikowe [Sosnowski i in., 2009].

Ze względu na cel badań obejmujący charakterystykę reologiczną płynów zdecydowano się na wykorzystanie uproszczonego modelu [Sosnowski i in., 2009], w którym znalazła się jedynie mucyna typu II (*Sigma-Aldrich*) [20–200 g/l] odpowiedzialna za odpowiednią lepkość i gęstość roztworu oraz  $\text{NaN}_3$  (*POCh*) [0,01 g/l], jako substancja konserwująca. Składniki rozpuszczono w wodzie dejonizowanej, a następnie mieszano przez 2 h mieszadłem magnetycznym (500 rpm). Następnie ustawiono pH roztworu na poziomie 7,4 za pomocą HCl i NaOH. Tak przygotowany roztwór przechowywano w zamknięciu w temperaturze 4°C.

#### Ślina

Ślina w 99% składa się z wody, pozostałość stanowią białka (m.in. enzymy, przeciwciała, mucyny), elektrolity, cukry i związki azotowe [de Almeida i in., 2008]. Lepkość pozorna śliny mieści się w granicach 5–25 mPa·s [Christersson i in., 2000]. Na rynku dostępnych jest kilka substytutów śliny (np. *Mucinox* firmy *Medac GmbH*, czy *Saliva rex* firmy *PATER Laboratory*, a w literaturze można znaleźć przynajmniej dwa modele [Christersson i in., 2000] (tab. 1.).

Wstępne badania pokazały, że reologia modelu 2. jest bliższa reologii naturalnej śliny, ponadto model ten jest stabilniejszy w czasie dlatego wybrano go do dalszych badań. Składniki rozpuszczano w wodzie dejonizowanej, a następnie mieszano przez 2 h mieszadłem magnetycznym (500 rpm). Następnie ustawiono pH roztworu na poziomie 7,0 za pomocą HCl i NaOH. Próbkę przechowywano w zamknięciu w temperaturze 4°C.

Tab.1. Skład sztucznej śliny na podstawie dwóch modeli

Składnik	Stężenie (g/l)	
	Model 1	Model 2
KCl ( <i>Sigma-Aldrich</i> )	1,2	-
NaCl ( <i>Sigma-Aldrich</i> )	0,9	-
Chlorki benzalkoniowe ( <i>Sigma-Aldrich</i> )	-	0,02
EDTA ( <i>Sigma Aldrich</i> )	-	0,5
NaF ( <i>Chempur</i> )	0,2	0,0042
$\text{KH}_2\text{PO}_4$ ( <i>Chempur</i> )	0,35	-
Ksylitol ( <i>Sigma Aldrich</i> )	30	20
Metyloparaben ( <i>Sigma-Aldrich</i> )	-	1
Sól sodowa karboksymetylocelulozy ( <i>Sigma-Aldrich</i> )	5	-
Mucyna typu II ( <i>Sigma-Aldrich</i> )	-	35

#### Płyn mózgowo-rdzeniowy

Płyn mózgowo-rdzeniowy (PMR) w 99% składa się z wody, resztę stanowią związki mineralne, cukry oraz białka (z czego aż 67% białek stanowią albuminy) [Schenkels i in., 1995]. PMR jako prześącz z osocza ma skład zbliżony do niego, zawiera jednak mniej sodu czy potasu, a więcej magnezu i glukozy. Lepkość PMR waha się od 0,7 do 1 mPa·s [Bloomfield i in., 1998].

Modele sztucznego PMR pod względem składu nie różnią się istotnie od naturalnego płynu. W badaniach wykorzystano procedurę przygotowania sztucznego PMR komercyjnie dostępnego na rynku [ALZET, 2016]. Do jego sporządzenia wykorzystano  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  firmy *Chempur* (0,163 g/l), KCl firmy *Sigma-Aldrich* (0,224 g/l), NaCl firmy *Sigma-Aldrich* (8,66 g/l),  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  firmy *Chempur* (0,206 g/l) oraz  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  firmy *POCh* (0,135 g/l).

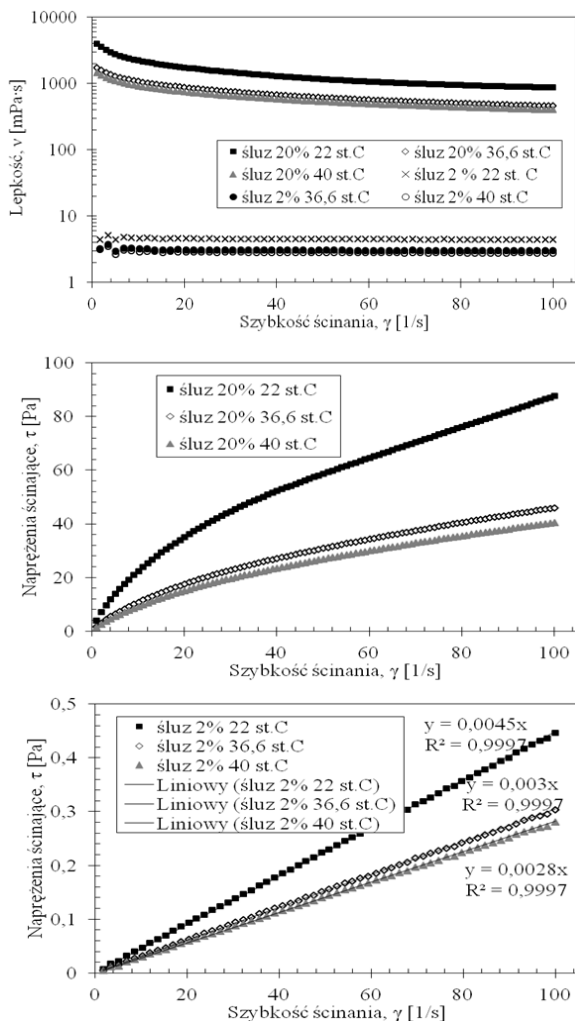
Przygotowano jednocześnie dwa wodne (woda dejonizowana) roztwory: roztwór soli oraz roztwór buforowy  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ . Po przygotowaniu roztworów mieszano je przez 2 h mieszadłem magnetycznym (500 rpm). Następnie roztwory połączono i wyrównano pH przy użyciu HCl oraz NaOH do poziomu 7,0.

#### Osocze

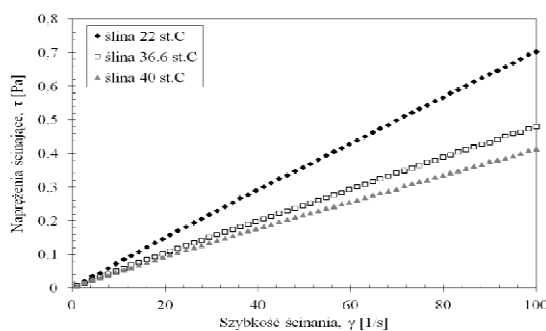
Osocze w 92% składa się z wody, 7% stanowią białka, pozostała część przypada na związki mineralne, cukry i tłuszcze [Schenkels i in., 1995]. Lepkość osocza mieści się w granicach 1–2 mPa·s. Opisanie w literaturze modele sztucznego osocza [Tas, 2000; Guo i in., 2015] pod względem składu nie różnią się istotnie w porównaniu z naturalnym osoczem, natomiast różnią się jedynie użytymi stężeniami składników. W badaniach posłużono się modelem *Tasa* [2000] o następujących proporcjach składników:  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  firmy *Chempur* (0,305 g/l), KCl firmy *Sigma-Aldrich* (0,373 g/l), NaCl firmy *Sigma-Aldrich* (6,547 g/l),  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  firmy *Chempur* (0,368 g/l),  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  firmy *POCh* (0,071 g/l), Tris firmy *Sigma-Aldrich* (6,057 g/l),  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  firmy *Alchem* (0,241 g/l),  $\text{NaHCO}_3$  firmy *Chempur* (2,268 g/l). Składniki rozpuszczono w wodzie dejonizowanej, przed dodaniem dwuwodnego chlorku wapnia do roztworu wprowadzono 1,5 ml 1M HCl, aby zapobiec zmętnieniu. pH roztworu skorygowano do poziomu 7,4 używając HCl oraz NaOH. Roztwór przechowywano w zamknięciu w temperaturze 4°C.

### Wyniki i dyskusja

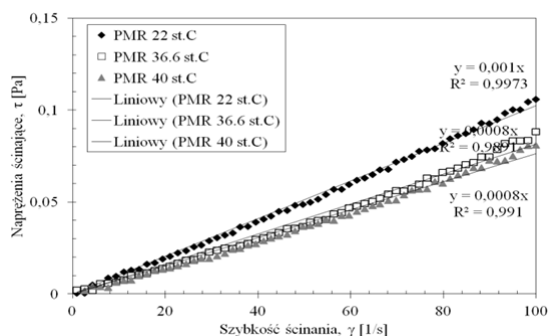
Dla wszystkich modelowych płynów ustrojowych wyznaczono podstawowe parametry reologiczne: krzywe płynięcia oraz zależności



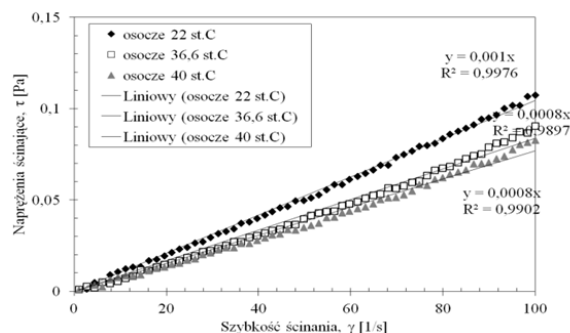
Rys. 1. Zależność lepkości śluzu w funkcji szybkości ścinania oraz krzywe płynięcia.



Rys. 2. Krzywe płynięcia modelowej śliny



Rys. 3. Krzywa płynięcia modelowego PMR



Rys. 4. Krzywe płynięcia dla modelu osocza

lepkości od naprężeń ścinających. Badania wykonano na reometrze oscylacyjnym MCR102 (Anton Paar, Austria) wyposażonym w układ Peltiera w układzie płytka-płytko, w temperaturach: 22, 36,6 i 40°.

**Model śluzu** wytworzony w laboratorium wykazywał właściwości płynu rozrzedzanego ścinaniem przy stężeniu mucyn na poziomie 20% mas. Śluz o stężeniu mucyn 2% mas. wykazuje właściwości płynu newtonowskiego. Na rys. 1. przedstawiono kolejno krzywe zmian lepkości w funkcji szybkości ścinania oraz krzywe płynięcia dla dwóch zawartości mucyn w śluzie.

**Model śliny** wytworzony w laboratorium wykazywał nieznaczne tendencje płynu rozrzedzanego ścinaniem, co jest zgodne z danymi literaturowymi, jednak kształt krzywych płynięcia (Rys. 2) wskazuje, że wciąż jest to płyn newtonowski. Wyznaczone wartości lepkości pozornej wyrażone w mPa·s w zakresie szybkości ścinania 1÷100 1/s mały od wartości 7,81 do 7,03 w temp. 22°C, 5,54÷4,81 w temp. 36,6°C oraz 5,05÷4,13 w temp. 40°C.

**Model płynu mózgowo-rdzeniowego** wytworzony w laboratorium oraz osocza wykazuje właściwości płynu newtonowskiego, co jest zgodne z danymi literaturowymi. Wartości lepkości dynamicznej PMR wyrażonej w mPa·s dla wynoszą odpowiednio 1,00±0,05 w temperaturze 22°C, 0,77±0,08 (36,6°C) oraz 0,73±0,07 (40°C), a dla osocza, również wyrażone w mPa·s wynoszą 1,01±0,09 (22°C), 0,79±0,09 (36,6°C) oraz 0,74±0,05 (40°C). Na rys. 3 i 4 przedstawiono krzywe płynięcia dla modelu PMR i osocza.

#### LITERATURA

ALZET, 2016 Preparation of artificial CSF (2.10.2016) [http://www.alzet.com/products/guide\\_to\\_use/cfs\\_preparation](http://www.alzet.com/products/guide_to_use/cfs_preparation)

Christersson CE., Lindh L., Arnebrant T., (2000). Film-forming properties and viscosities of saliva substitutes and human whole saliva. *Eur J Oral Sci.*, 108(5), 418-425.

de Almeida P del V, Grégio AM., Machado MA., de Lima AA., Azevedo LR., (2009). Saliva composition and functions: a comprehensive review. *J Contemp Dent Pract.*, 9(3), 72-80.

D'Angelo I, Casciaro B., Miro A., Quaglia F., Mangoni M. L., Ungaro F., (2015). Overcoming barriers in pseudomonas aeruginosa lung infections: Engineered nanoparticles for local delivery of a cationic antimicrobial peptide. *Coll Surf B: Biointerfaces.*, 7314, 717-725.

Guo Y., Lan J., Zhang C., Cao M., Cai Q., Yang X., (2015). Mineralization on polylactide/gelatin composite nanofibers using simulated body fluid containing amino acid. *App. Surf. Sci.* 249, 538-548.

Lai SK., Wang YY., Wirtz D., Hanes J., (2009). Micro- and macrorheology of mucus. *Adv Drug Deliv Rev.*, 61(2), 86-100.

Schenkels LC., Veerman EC., Nieuw Amerongen AV., (1995). Biochemical composition of human saliva in relation to other mucosal fluids. *Crit Rev Oral Biol Med.*, 6(2), 161-175.

Sosnowski T. R., Gradoń L., Odiomek M., (2013). Funkcjonalny nośnik dla leków inhalacyjnych- wytwarzanie, właściwości, skuteczność. *Inż. Ap. Chem.*, 5, 453-454

Tas AC., (2000). Synthesis of biomimetic Ca-hydroxyapatite powders at 37°C in synthetic body fluids. *Biomaterials* 21(14), 1429-1238.

**Badania sfinansowano ze środków Narodowego Centrum Nauki w ramach grantu nr 2015/19/B/ST8/00599.**

**Autorzy pragną podziękować Pani inż. Marcie Wojtczuk oraz Pani inż. Agnieszce Sienkiewicz za wykonanie części badań eksperymentalnych prezentowanych w artykule.**