

## VISCOSIMETRIA CAPILAR EN EL ESTUDIO REOLOGICO DEL ESPUTO. HOMOGENEIZACION POR LAMINACION CAPILAR

L. A. OTEO OCHOA, A. RUIZ MATEO \*, S. ROMERO CANDEIRA y A. SUEIRO BENDITO

Servicio de Neumología (Dr. A. Sueiro Bendito). Centro Especial Ramón y Cajal. Madrid.

### Introducción

Los fluidos presentan desde el punto de vista dinámico, comportamientos diferenciales, que pueden ser reproducidos por modelos matemáticos, siendo el más simple el de los fluidos newtonianos. La secreción traqueobronquial forma parte de los cuerpos o sistemas reológicos complejos, con propiedades representativas de diversas categorías de fluidos (ver Apéndice).

Cuando en nuestro laboratorio comenzamos a utilizar la viscosimetría capilar para el estudio del esputo, representando el comportamiento reológico en función de tensión cortante ( $\tau$ ) y gradiente de velocidad ( $G$ ) (reograma), pudimos comprobar lo aleatorio de la morfología de las curvas obtenidas. Estas no presentaban rasgos diferenciales en relación con el carácter macroscópico del esputo (mucoso, purulento, etc.) y la reproducibilidad dentro de cada tipo era pobre. La falta de homogeneidad, al estar analizando fracciones de muestra estructuralmente no comparables, parecía en principio la responsable de estos resultados. Ello nos inclinó a buscar un proceder de homogeneización que nos permitiera obtener unas curvas definidas con caracteres reológicos potencialmente mensurables.

\* Ingeniero de Caminos. Centro de Estudios y Experimentación de Obras Públicas.

Recibido el día 24 de julio de 1980.

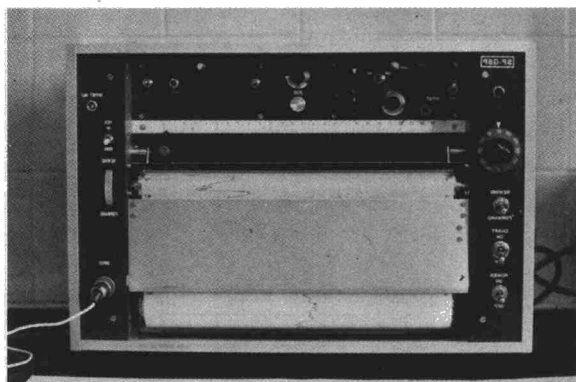


Figura 1a.

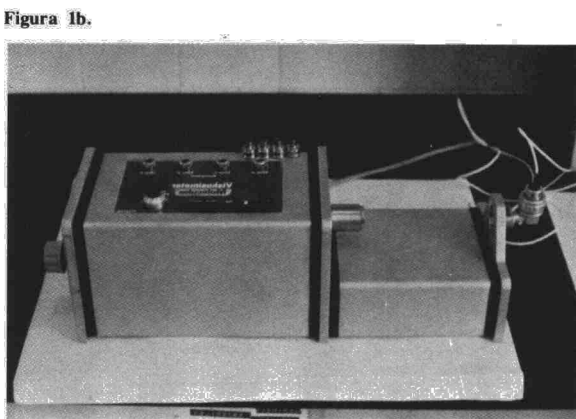


Figura 1b.

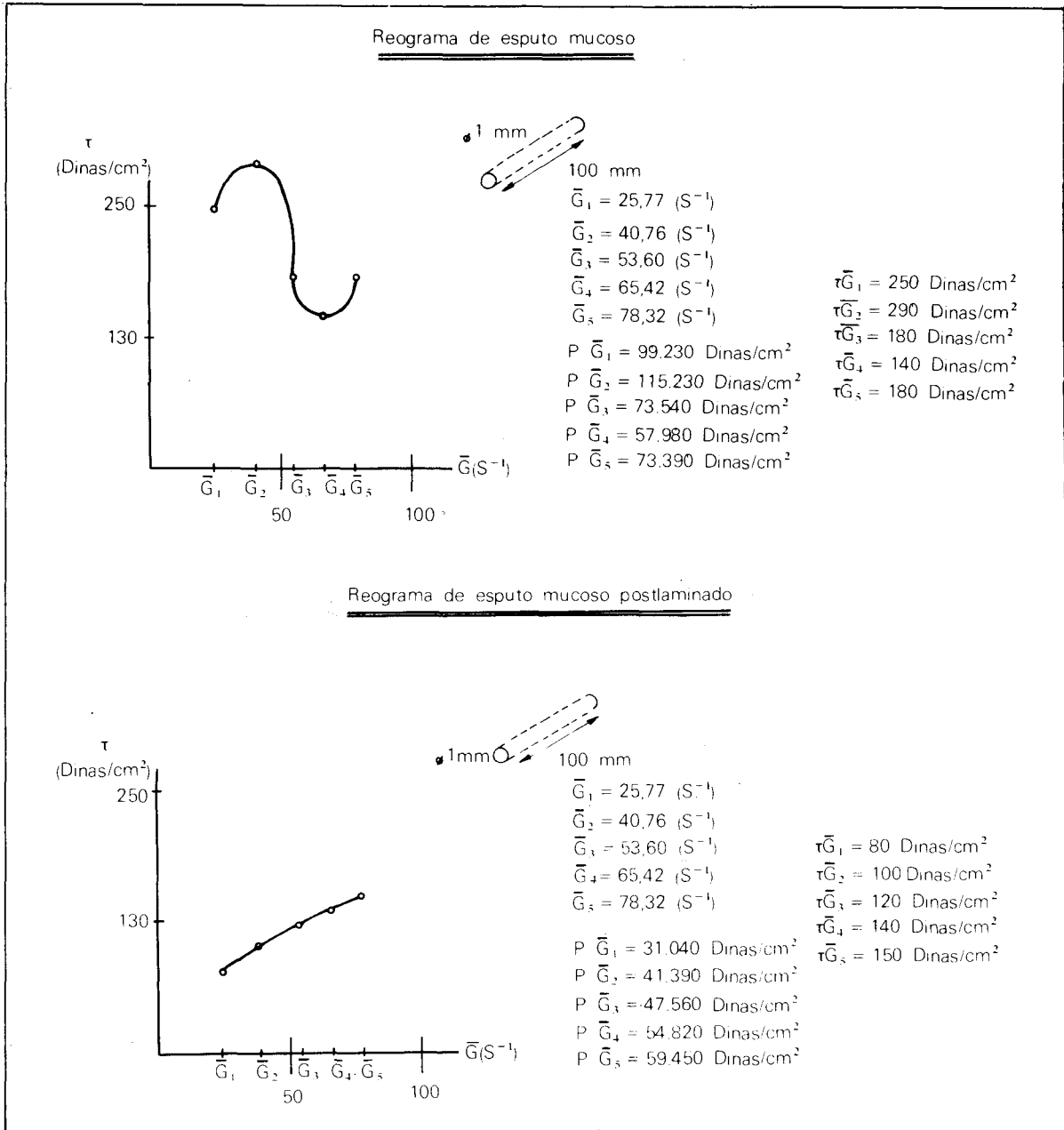


Figura 2.

La técnica seguida utilizando el material capilar del propio viscosímetro y los resultados del análisis de una muestra de diferentes tipos de esputo, son el motivo de la presente comunicación.

**Material y métodos**

Una muestra de diversos tipos de esputo, mucoso, purulento, mucopurulento y mucopurulento-hemático, fue seleccionada para posterior análisis. Con ayuda de fisioterapia, se recogió un volumen mínimo de 10 ml en el transcurso de las primeras horas de la mañana, procediendo de forma inmediata a su manipulación, utilizando el viscosímetro capilar

modelo Rheomatic-Viscosimeter Moleculex (figs. 1a, 1b). También se analizaron, con una finalidad comparativa, muestras de saliva y glicerina.

En el método, la estandarización seguida fue: diámetro capilar ( $\phi$ c) 1 mm; longitud del capilar 100 mm; temperatura ambiente 25° C; sensibilidad del integrador 5 mV; gradiente de velocidad ( $G$ ) variable y volumen de jeringa 10 ml.

Cada una de las muestras de esputo fue sometida, pre y posthomogeneización al siguiente procedimiento: vehiculización en régimen laminar, obteniendo para gradientes sucesivamente crecientes ( $G_1$  a  $G_5$ ) valores de integración correspondientes; tras transformar éstos a tensión cortante se representaron gráficamente los reogramas respectivos.

La técnica de homogeneización consistió en cinco procesos de laminación sucesivos utilizando  $G = 200 \text{ s}^{-1}$ . Esta

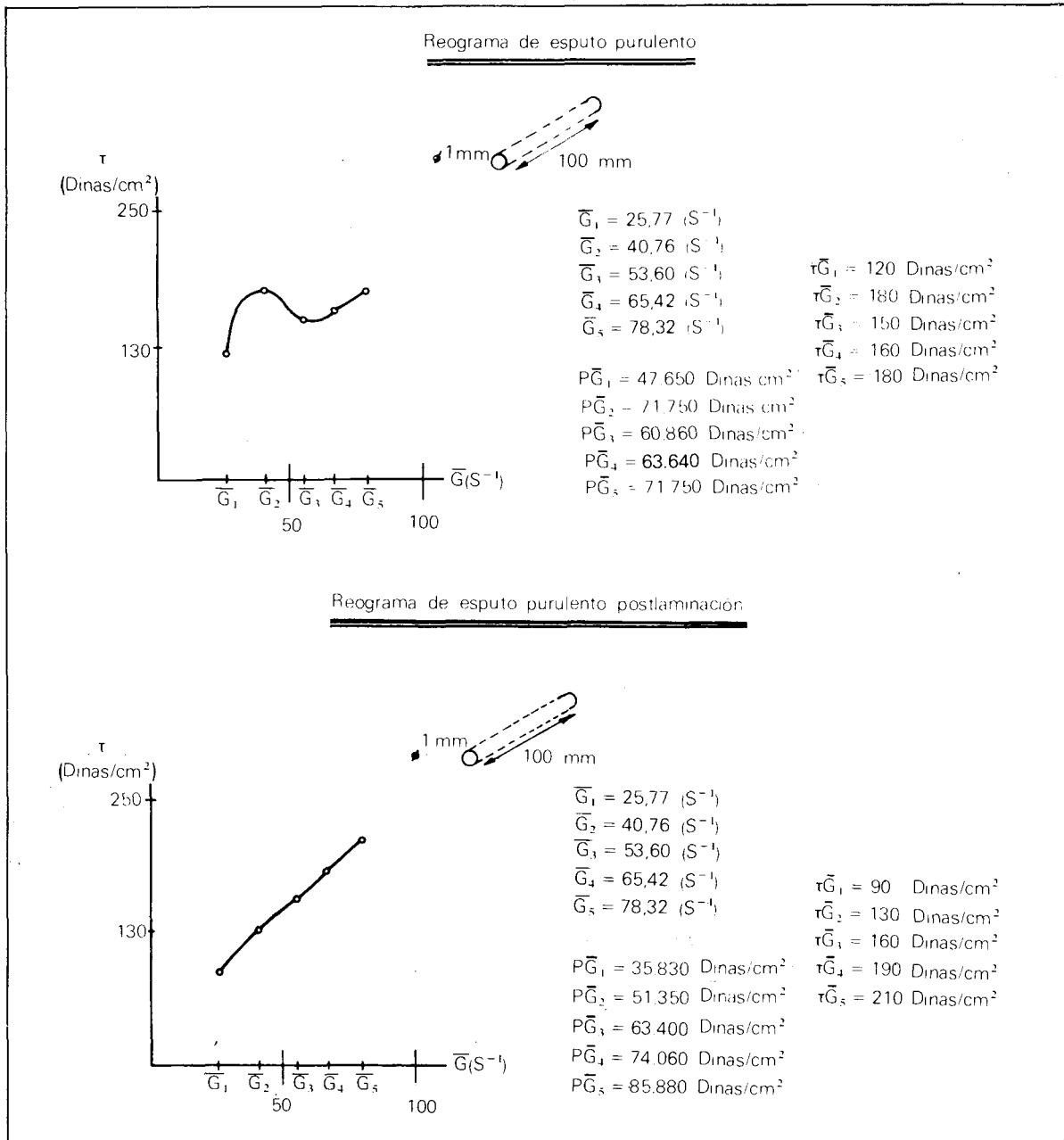
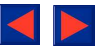


Figura 3.

técnica no fue empleada con la glicerina ni con la saliva de las que sólo se obtuvieron reogramas prehomogeneización.

**Resultados**

En las figuras 2, 3, 4 y 5 se representan los reogramas pre y postlaminación de los cuatro tipos de esputo. Los gradientes de velocidad utilizados se expresan en abscisas y corresponden a las diversas posiciones del potenciómetro, oscilando entre  $G_1 = 25,77 \text{ s}^{-1}$  y  $G_5 = 78,32 \text{ s}^{-1}$ . En ordenadas viene dada la tensión cortante en  $\text{dinas/cm}^2$ .

En el análisis prelaminación aparecen curvas de morfología compleja y pendientes variables. Tras el proceso de homogeneización se aprecian reogramas con cambios de pendiente prácticamente uniformes, dentro de una morfología próxima a la línea recta, aunque sin pasar por el origen. Se puede observar igualmente cómo decrece la pendiente de la recta trazada desde el origen a medida que aumenta el gradiente de velocidad.

Los reogramas de la saliva y glicerina se ilustran en las figuras 6 y 7. En el primero de ellos

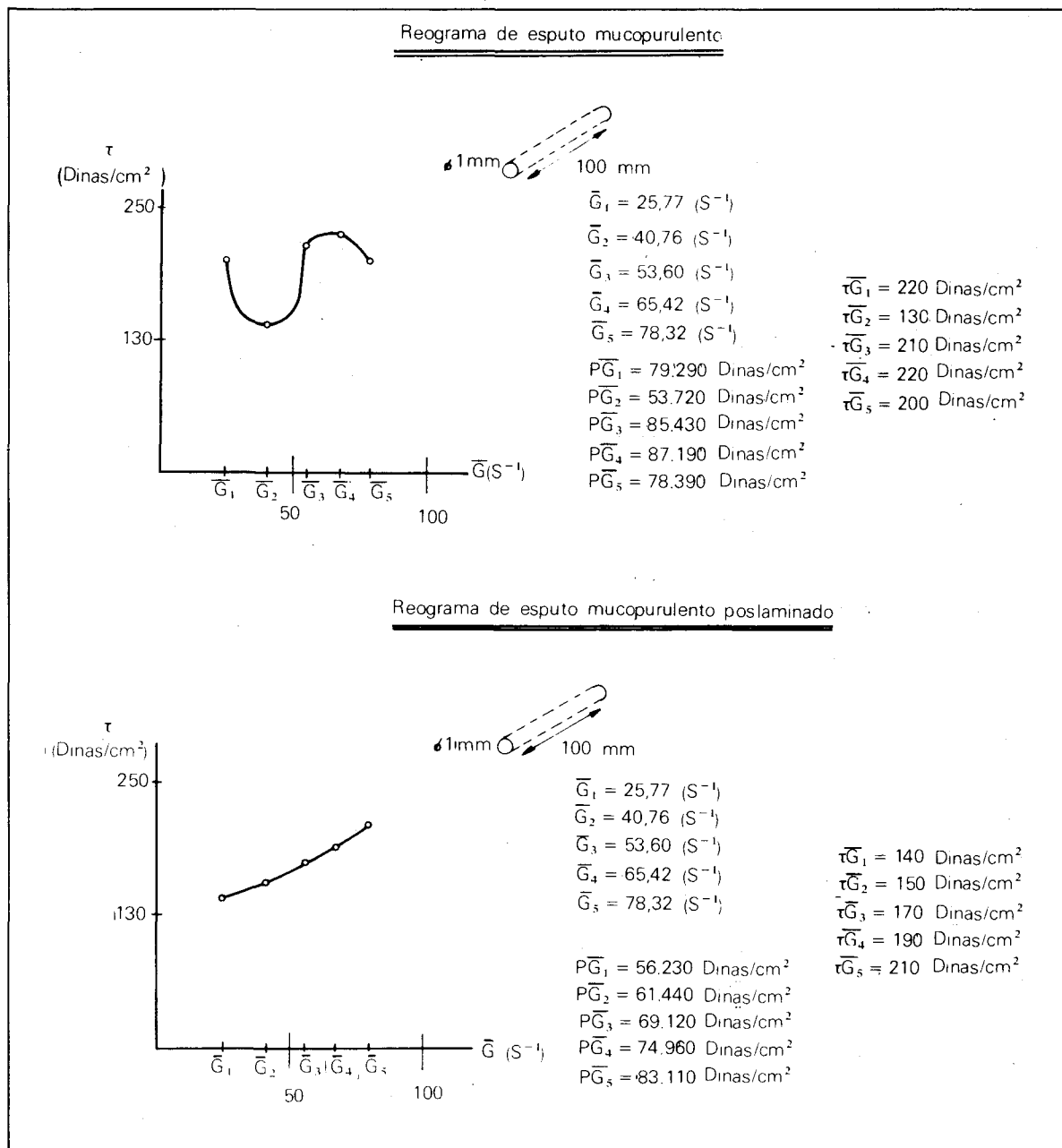


Figura 4.

se utilizaron gradientes de velocidad de hasta  $112,6 \text{ s}^{-1}$  ( $G_7$ ), y su morfología era una línea recta que no pasaba por el origen. Para la glicerina, el gráfico obtenido es el de una línea recta que pasa por el origen y en este caso, la pendiente de la recta es constante para cualquier variación de  $G$ .

#### Discusión

Los reogramas obtenidos de muestras de esputo utilizando el viscosímetro capilar, ponen de

manifiesto el carácter heterogéneo de la secreción traqueobronquial independiente de las características macroscópicas, presentando morfologías irregulares con pendientes de diverso signo que hacen cualquier intento de análisis complejo y probablemente inútil. Ocasionalmente pueden encontrarse muestras de esputo cuyo reograma basal (prehomogeneización) se comporta como fluido parcialmente homogéneo. Este comportamiento ha sido observado por nosotros en material ajeno al trabajo que constituye esta comunicación (fig. 8), y podría expli-

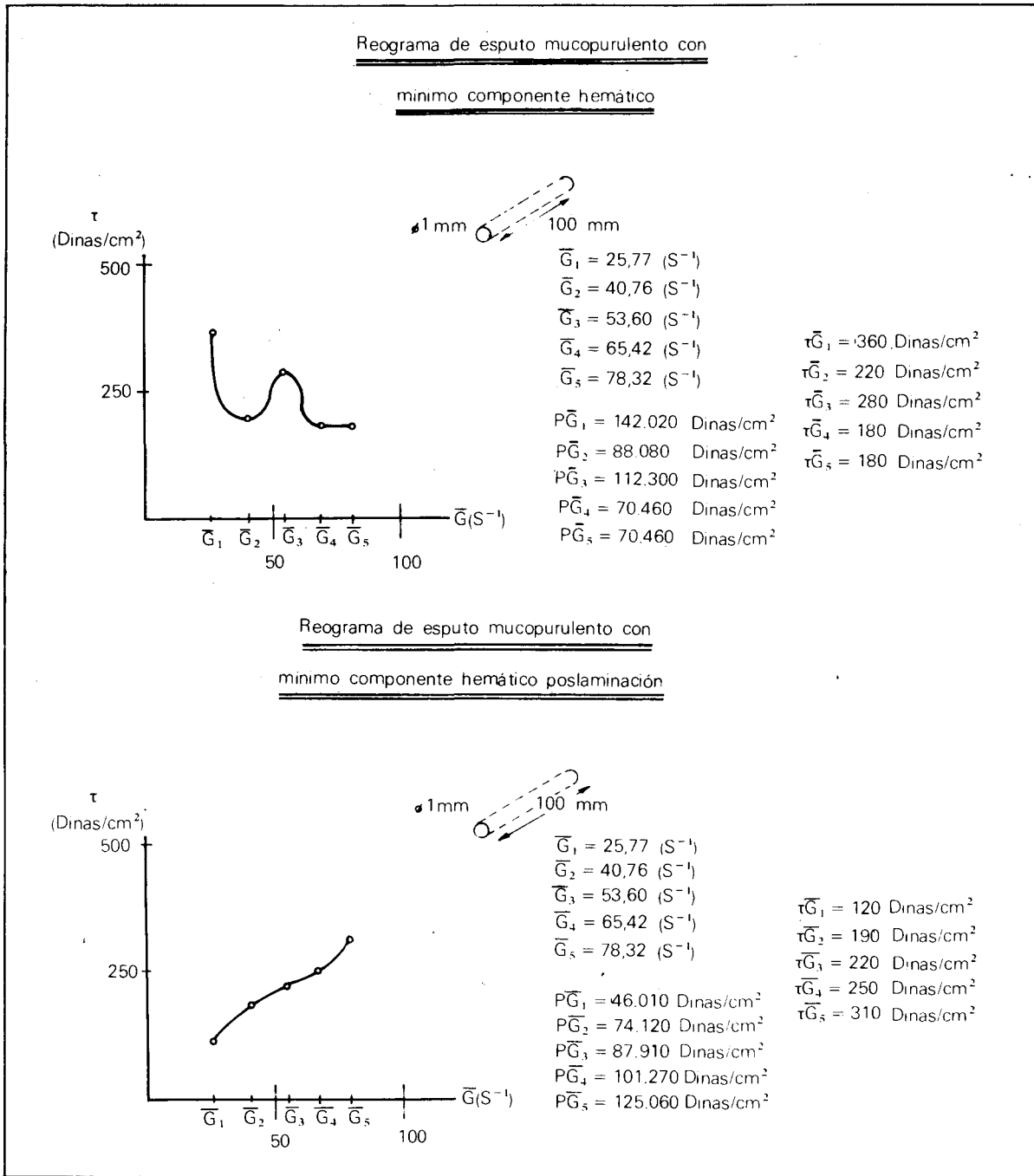


Figura 5.

carse por un contenido acuoso abundante que condicionara una menor filancia.

El carácter heterogéneo habría que achacarlo al diferente contenido acuoso de las fracciones de muestra y a la presencia de macroagregados en el seno de una compleja y variable estructura fibrilar glucoproteica<sup>1-6</sup>.

Mediante el proceder de laminaciones repetidas por nosotros empleado, no sólo se consiguieron reogramas con características de homo-

geneidad, sino que se puso de manifiesto el carácter no newtoniano de la secreción bronquial<sup>7</sup>, propiedad física que había quedado previamente enmascarada por su conducta primariamente heterogénea. Así puede observarse cómo la viscosidad decrece de forma progresiva y uniforme al ir incrementando los gradientes de velocidad. Este comportamiento del esputo ha sido comunicado con anterioridad en la literatura utilizando otro tipo de viscosímetros<sup>8-13</sup>



L. A. OTEO OCHOA Y COLS.—VISCOSIMETRIA CAPILAR EN EL ESTUDIO REOLOGICO DEL ESPUTO. HOMOGENEIZACION POR LAMINACION CAPILAR

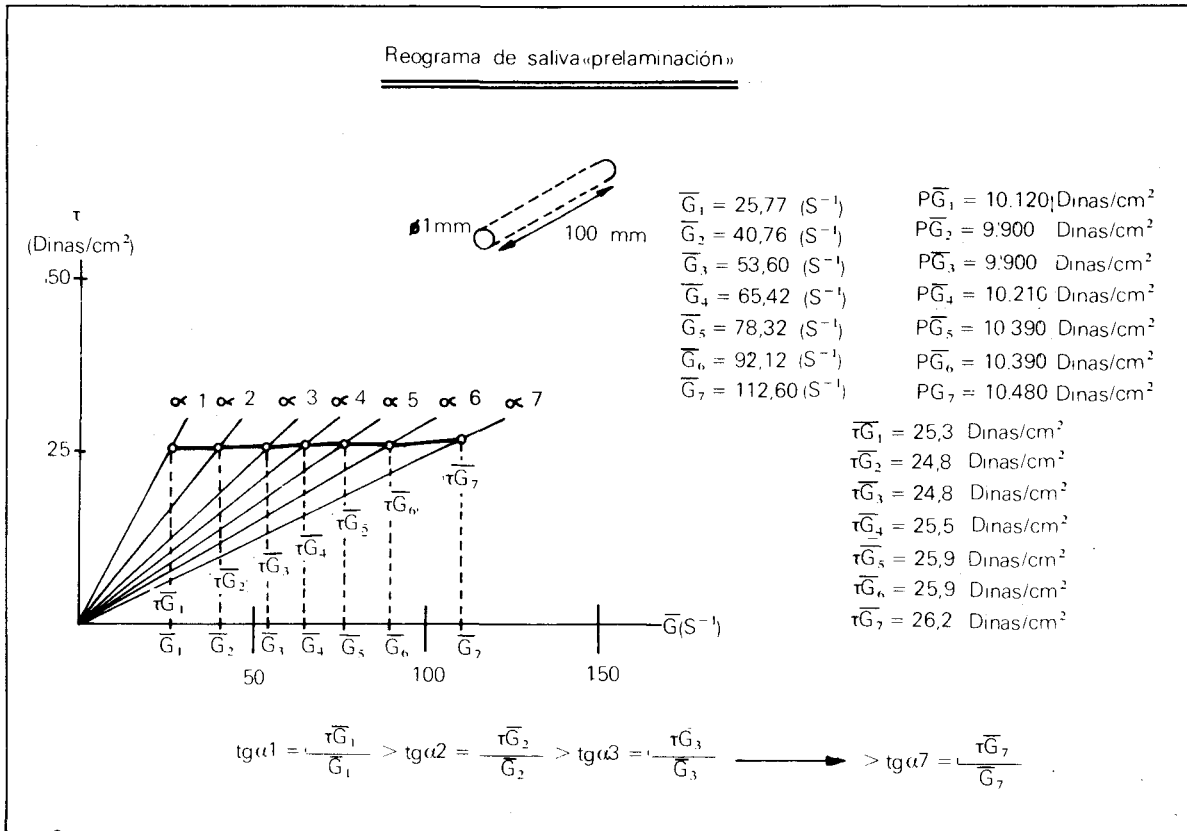
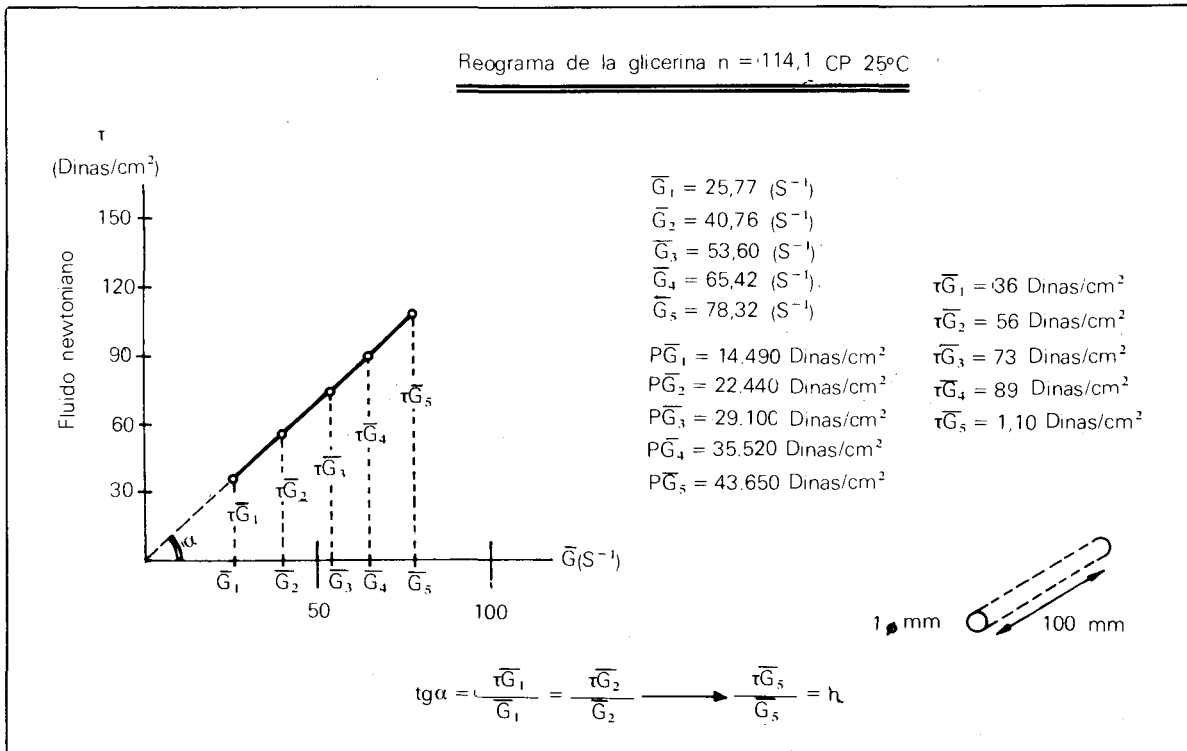


Figura 6.

Figura 7.



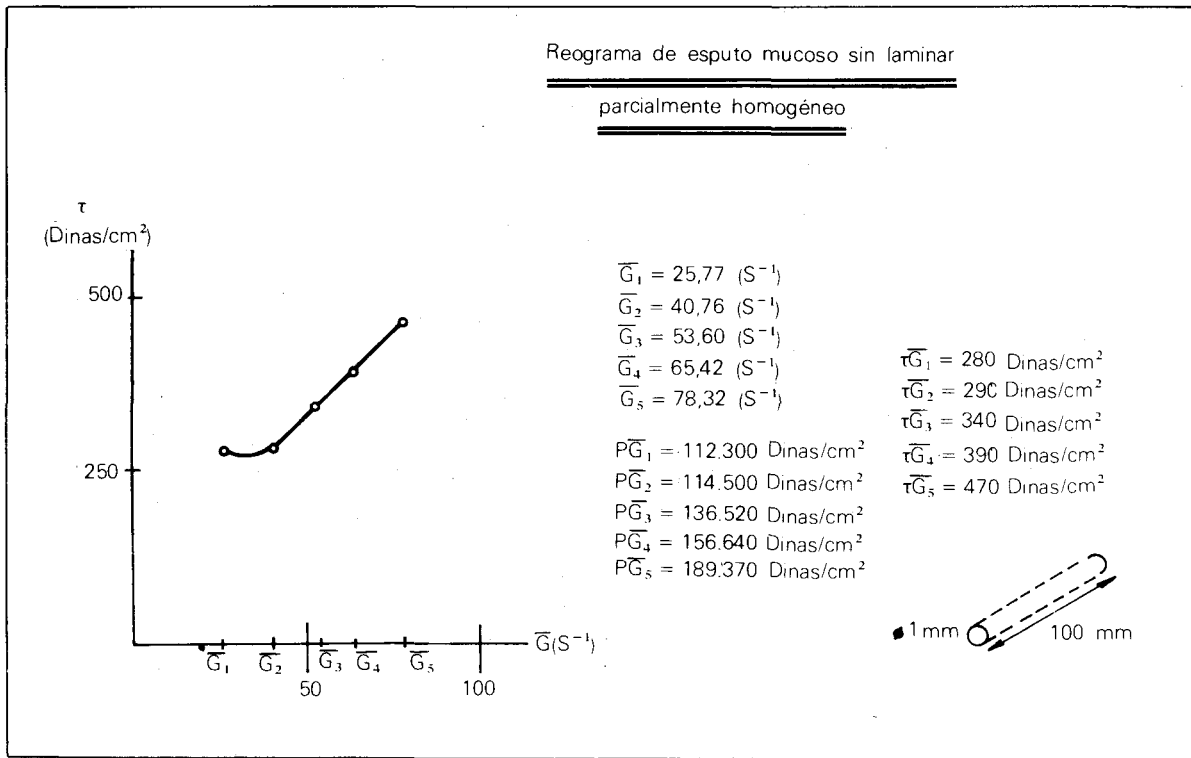


Figura 8.

Aunque la homogeneización permite el análisis reológico de la muestra, conlleva modificaciones parciales e irreversibles de la estructura fibrilar del esputo<sup>14</sup>, con posible pérdida de caracteres específicos. Este hecho habrá que tenerlo en cuenta en estudios comparativos que utilicen ésta o similares técnicas.

En el análisis de la saliva, dado su carácter homogéneo basal, no fue preciso ningún tipo de manipulación para que apareciera de forma primaria un comportamiento de fluido no newtoniano.

Comparativamente en el caso de la glicerina, aparecieron los caracteres propios de los fluidos homogéneos y newtonianos, objetivándose cómo la viscosidad representada por la pendiente de la recta es siempre constante e independiente del gradiente de velocidad.

**Apéndice**

La mayor parte de los fluidos cumplen la propiedad de que al aumentar la tensión cortante ( $\tau$ ), se incrementa también la velocidad con que unas capas de fluido se desplazan con respecto a otras, es decir, aumenta el gradiente de velocidad ( $G$ ) (fig. 9).

Newton supuso que existía una relación de proporcionalidad entre estas dos magnitudes y a su coeficiente le llamó viscosidad ( $\eta$ ), que siempre es constante para este tipo de fluidos llamados newtonianos<sup>15</sup>. De forma genérica, los fluidos cuyo comportamiento no responde a este esquema simple se llaman fluidos no newtonianos, de los cuales existen diversas categorías( tabla I).

En ellos, el cociente  $\tau/G$  no es constante y sólo define una viscosidad aparente ( $\eta_a$ ) dependiente del valor de  $G$ ,  $t$  o  $\gamma$  según la categoría del fluido. Así, por ejemplo, la mayoría de los fluidos puramente viscosos no newtonianos puede representarse mediante la siguiente Ley Potencial<sup>15</sup>:

$$\tau = K \cdot G^n$$

Si calculamos la viscosidad aparente para este tipo de fluidos resulta:

$$\eta_a = \frac{\tau}{G} = \frac{K \cdot G^n}{G} = K \cdot G^{n-1}$$

**TABLA I**  
**Categorías de fluidos**

Categoría I:	Fluidos puramente viscosos. Responden a una ecuación del tipo: $\bar{\tau} = f(\bar{G})$ Los más frecuentes son los fluidos newtonianos: $\bar{\tau} = \eta \bar{G}$
Categoría II:	Fluidos tixotrópicos. Su comportamiento depende del tiempo: $\bar{\tau} = f(\bar{G}, t)$
Categoría III:	Sistemas viscoelásticos. Su conducta depende del grado de deformación: $\bar{\tau} = f(\bar{G}, \gamma)$
Categoría IV:	Sistemas reológicos complejos. Combinan las propiedades anteriores: $\bar{\tau} = f(\bar{G}, t, \gamma)$

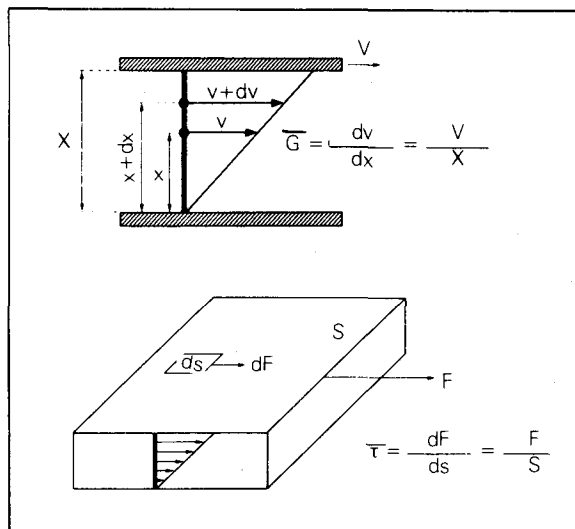


Figura 9.

Así, como decíamos, se objetiva que  $\eta_a$  depende de  $G$ , excepto en el caso  $n = 1$  que corresponde a los fluidos newtonianos.

Si representáramos gráficamente en abscisas y ordenadas  $G$  y  $\tau$  respectivamente, los fluidos newtonianos quedarían definidos por una línea recta que pasaría por el origen, mientras que en el caso de los fluidos no newtonianos su expresión sería bien una línea recta que no pasara por el origen o una curva. La  $\eta_a$  de cualquier punto de la línea vendría dada por la pendiente de la recta que uniera el origen con dicho punto.

Los fluidos de moléculas complejas (elevado peso molecular) presentan la propiedad de que la  $\eta_a$  decrece al aumentar  $G$ , pudiendo dicha modificación llegar a ser permanente.

Los fluidos tixotrópicos recuperan parcial o totalmente alguna de sus propiedades al paso de tiempos variables. Si un fluido no newtoniano tixotrópico se somete a gradientes de velocidad sucesivamente crecientes, obtendremos una serie de viscosidades aparentes mayores que las obtenidas cuando a continuación se apliquen a la misma muestra gradientes similares a los anteriores pero decrecientes. De esta forma obtendríamos la *Curva de Histéresis*. Este fenómeno quedaría explicado por los cambios en la matriz del fluido que conlleva cualquier técnica de manipulación y que serán objeto de trabajos posteriores.

Existen varios procedimientos para medir la viscosidad de los fluidos, uno de ellos es mediante el uso de capilares *Viscosimetría capilar*, siendo éste el que habitualmente estamos utilizando. En esencia, el método consiste en hacer pasar una muestra de fluido a través de la luz de un capilar para poder establecer un régimen de circulación laminar. En estas condiciones se verifica:

$$\tau = \frac{d\Delta p}{4l} \quad ; \quad G = \frac{8v}{d} \text{ siendo}$$

$\tau$  = Tensión cortante o tangencial a la pared del capilar (dinas/cm<sup>2</sup>).

$G$  = Gradiente de velocidad (s<sup>-1</sup>).

$d$  = Diámetro del capilar (mm).

$\Delta p$  = Diferencia de presión entre los extremos del capilar (dinas/cm<sup>2</sup>).

$l$  = Longitud del capilar (mm).

$v$  = Velocidad media del fluido (mm/seg).

Midiendo estas magnitudes se puede calcular la relación entre  $\tau$  y  $G$ , es decir, se puede medir la viscosidad de las muestras.

En el proceder práctico la muestra se vehiculiza de forma continua a través del capilar, a una velocidad constante, midiendo la diferencia de presión que existe entre el punto de inyección y la presión al otro extremo del capilar.

Este incremento de presión es transformado a tensión cortante.

La velocidad media de avance del fluido a través del capilar, puede conocerse en función de la posición del potenciómetro, ya que éste regula la velocidad del motor de empuje al mando móvil de la jeringa.

## Resumen

El esputo es un fluido heterogéneo, y este carácter primario dificulta el análisis de los reogramas realizados sobre muestras previamente no tratadas. La técnica seguida en nuestro laboratorio para el estudio reológico del esputo, utilizando un viscosímetro capilar, y el proceder de homogeneización empleado son detalladamente descritos. En diferentes tipos de esputo se comprobó cómo la homogeneización, mediante vehiculización capilar repetida, permitía un análisis más sencillo de la morfología de los reogramas y ponía al descubierto el carácter de fluido no newtoniano de la secreción traqueo-bronquial. Con una finalidad comparativa se analizaron muestras de saliva y glicerina.

## Summary

CAPILLARY VISCOSIMETRY IN THE RHEOLOGIC TREATED BY A STUDY OF SPUTUM. HOMOGENIZATION BY CAPILLARY LAMINATION

Sputum is a heterogenous fluid, and this primary characteristic makes the analysis of rheograms, for samples that are not treated previously, difficult. The authors describe in detail the technique used in their laboratory for the rheologic study of sputum, using a capillary viscosimeter as well as the procedure of homogenization. It was verified, in various types of sputum, that homogenization, by means of repeated capillary vehiculization, permitted a less complicated analysis of the morphology of rheograms and showed the non-Newtonian character of the fluid of the tracheobronchial secretion. For purposes of comparison the authors analyzed samples of saliva and glycerin.

## BIBLIOGRAFIA

1. GIBBONS, R. A. y ROBERTS, G. P.: Some aspects of the structure of macromolecular constituents of epithelial mucus. *Ann. N. York. Acad. Scien.*, 106: 218, 1963.
2. HAVEZ, R. POUSSEL, P., DEGAND, P. y BISSERTE, G.: Etude des structures fibrillaires de la sécrétion bronchique humaine. *Clinica Chimica Acta*, 17: 281, 1967.
3. KENT, P. W.: Chemical aspects of trachea glycoproteins. *Respiratory tract mucus. Ciba Foundation Symposium* 1978.



4. PUCHELLE, E., ZAMM, J. M. y HAVEZ, R.: Données biochimiques et rhéologiques dans l'expectoration. III. Relation des protéines et mucines bronchiques avec les propriétés rhéologiques. *Bull. Physiopath. resp.*, 9: 237, 1973.
5. JONES, R.: The glycopeptides of secretory cells in airway epithelium. Respiratory tract mucus. *Ciba Foundation Symposium*, 1978.
6. SADOUL, P. PUCHELLE, E. y GIRARD, F.: Criteria for evaluating mucus functions and their disorders in chronic bronchitis. Respiratory tract mucus. *Ciba Foundation Symposium* 1978.
7. WHITE, J. C. y ELMES, P. C.: Some rheological properties of bronchial mucus and mucoprotein. Flow Properties of Blood and other Biological Systems. (Ed. by A.L. COPLEY and G. Stainsby), pp. 259. Pergamon Press, Oxford, 1960.
8. GOLDFARB, H. y BUCHBERG, A. A.: The rheology of human respiratory tract mucus and its relationship to ciliary activity. *Clin Res.*, 12: 291, 1964.
9. JENNIFER, M., STURGESS, A. J., PALFREY, M. y REID, L.: The viscosity of bronchial secretion. *Clinical Science*, 38: 145, 1970.
10. LIEBERMAN, I.: Measurements of sputum viscosity in a cone-plate viscometer. I. Characteristics of sputum viscosity. *Am. Rev. respir. Dis.*, 97: 654, 1968.
11. CHARMAN, I. y REID, L.: Sputum viscosity in chronic bronchitis, bronchiectasias, asthma and cystic fibrosis. *Biorheology*, 9: 185, 1972.
12. PALMER, F. N. V., BALLAMTYNE, D., DIAMANT, M. L. y HAMILTON, W. F. D.: The rheology of bronchitic sputum. *Brit. J. Dis. Chest.*, 64: 185, 1970.
13. STURGESS, J., PALFREY, A. J. y REID, L.: Rheological properties of sputum. *Rheol. Acta*, 10: 36, 1971.
14. PUCHELLE, E.; PHAM, Q. T., CARAUX, G. y ZAHM, J. M.: Etat rhéologique des sécrétions bronchiques chez les bronchiteux chronique. *Bull. Physiopath. resp.*, 9: 143, 1973.
15. STREETER, V. L.: Handbook of fluid dynamics. ED. Mc Graw-Hill. pp. 7. New York, 1961.