

体液流变学基础理论及其在 心血管肝胆系统中的研究

邓林红 吴云鹏 欧阳克清

(重庆大学生物工程中心)

【摘要】“体液流变基础理论及其在心血管、肝胆系统中的应用”是国家自然科学基金会“七五”期间重大项目。本文介绍了本项目在血液本构关系;红、白细胞流变特性及临床应用;凝血过程中的血液流变性质;血流动力及血细胞运动对内皮细胞生长影响;肝脏和胆道流变学等共7个方面取得的研究成果,全面加深了对体液流变特性与生理病理学关系的认识。大量数据的积累为体液本构关系的合理建立奠定了基础,一批先进而又适合国情需要的流变学检测仪器研制成功。结合分子生物学手段,对红细胞膜流变特性及体液电流变学研究等内容,在国际上已处于前沿位置。

一、引言

人体本身存在着大量的流变现象。所谓流变,即是指物质的流动与变形。不言而喻,生物流变学就是研究生物体特别是人体内可以观察到的流变现象,同时亦研究构成生物体物质的宏观与微观流变性质问题。

虽然,人们在古希腊时代就已认识到“一切在流,一切在变”的自然法则,但经典的理论则总是对流动与变形分而论之。这种理论在本世纪20年代对油漆、橡胶、食品等大量工业材料的研究中受到了严重挑战,因此美国科学家 Bingham 使得研究这种既包含有流动又包含有变形的复杂物质结构的知识成为一门独立的学科。它在大多数的工业领域都得到了广泛的应用。而生物流变学的概念则晚至本世纪40年代才提出来。但是由于生命现象的无比魅力,不仅吸引了大量的生理学家、生物学家和医学家,亦吸引了大量的数学家、力学家、电子学家等等,他们采用所掌握的最先进的测试技术手段,探索生物体特别是人体的运动与变形的规律,在近20年来已经并正在取得巨大的成功。事实上,生物流变学无论对探索生命的奥秘,或对于医学、生理学、宇航工程、保健工程、人工智能乃至农牧渔业、体育等诸多方面都具有相当重要的理论意义和实用价值。

二、国内外发展概况

40年代初,当以美国年轻学者 Copley 为首的一批人提出对人体复杂的生命过程和现象应以流变学的手段和研究方法去研究与解释,并创造出“Biorheology”(生物流变学)这个词时,由于传统理论的束缚,人们并未充分意识到其重要性。然而,到了50年代,有关生物流体的研究多了起来,特别是血液与体液的流变特性的测定分析得到迅猛的发展。70年代后期,

又将血液流变学推广为生物流变学。目前国际上出版有《生物流变学》刊物,有国际生物流变学学会,日本、法国、英国、西德、美国等十几个国家还成立了全国性生物流变学学会。

我国于1978年制定力学发展规划时,开始注意生物流变学的研究。翌年,在制定全国生物医学工程发展规划时,已制定了有关流变学、消化和呼吸系统及软组织流变学的发展计划。此后的十余年中,生物流变学研究与应用及人才培养等各方面得到了长足的发展,初步形成了以重庆、北京、上海等为中心,联结西南、华北、华东几大地区的研究网络。1989年法国南希的第七届国际生物流变学大会,我国学者报送论文总数居于第三,仅次于东道主法国和美国。对此,日本学者上智大学的藤井麻美子在《日本生物流变学杂志》上撰文称,中国生物流变学正在“大跃进”,并将成为世界第三大生物流变学强国。

在研究内容上,目前国内外研究最多的仍然是血液及其它体液的流变学。它对病理学、诊断学、药理学、人工脏器以及其它人造代用品的研制都有重要意义。

在研究方法上则以深入微观为目标,广泛结合多种学科知识,如生物化学、电动力学等来解释生物体的流变现象,并突出表现了以下4个特点;

1. 加强定量分析的基础研究;
2. 加强微观机理研究;
3. 综合应用现代测量实验系统和手段仪器;
4. 加强应用研究。

为使我国在生物流变学这一重大新兴领域紧跟国际步伐,并在某些方面取得突破性进展和走到领先的位置,1988年,国家自然科学基金会批准将“体液流变基础理论及其在心血管、肝胆系统中的应用研究”确立为重大项目。

本重大项目的研究内容是开展血液流变学及其在心血管系统方面的研究,为心血管系统疾病的预防诊断和治疗提供较全面的流变学手段。同时也立足于我国的原有基础,对肝胆系统流变学展开细致深入的研究,以期形成我国独具特点的研究领域。

三、 体液流变特性研究的重要意义

生物体液流变特性是生物流变学的重要组成部分,对于医学中的诊断、治疗与预防等方面具有重要作用,因此研究生物体液的流变特性是十分重要的。

人体体液中最重要、亦是研究最深入、内容最丰富的是血液的流变特性。因为许多临床疾病都可使血液的流变特性发生变化,而后者又是引起血液微循环障碍、组织灌注不足、缺血、缺氧以及代谢障碍的原因。众所周知,心血管疾病(尤其是冠心病)与恶性肿瘤是威胁人类生命的两大元凶。数年来的研究表明:高血压、缺血性疾病甚至癌症,虽有诸方面的诱因,但其中尤以血液粘度的阈值最重要,一旦超过阈值,机体就处于危机之中。至于巨球蛋白血症及镰状红细胞贫血症,单纯测定血液的粘度就足以说明症状情况。可以不夸张地说:不论一些疾病或机能紊乱的起因如何,都要经过血液流变特性或其它体液流变特性的异常阶段。如支气管类、囊性纤维病等阻塞性疾患,粘液的粘度往往反常性增加,药物治疗在某种意义上乃是减少所分泌粘液的粘度,从而提高分泌过程中的廓清能力。而关节滑液在高、低频下表现出显著不同的流变特性的精巧变化,使人们不仅可将罹患的骨关节病按流变学特性更科学地分类,而且可以用滑液的流变特性来治疗某些骨关节病。此外,象关于子宫颈粘液和受精卵内质流变特性的

研究,不仅可以深化了解孕酮所致的流变特性在妊娠期的变化,而且在节育避孕方面也有一定的实用意义。对眼玻璃体的流变特性的研究,可为人工制造眼玻璃体提供科学依据。至于胆液和胃粘蛋白流变特性研究,可进一步认识消化过程的规律,并且对胆道结石、胆道炎症及胃溃疡痒病等外科和消化系统疾病的病理学、诊断学起到十分重要的作用。

研究体液流变特性的另一重要意义,在于它可以给某些疾病的发展提供预报性的资料。因为不少疾病在用常规的诊断方法诊断前,往往有一个“匿影藏形”的阶段。譬如,就对人类健康有很大威胁的闭塞性血管疾患而言,血液的流动、停滞及血栓的形成都可能在早期用测定流变学特性的方法测出来。现代生物医学检测技术的发展,提供了活体、离体或动物实验流变特性研究的广泛性。即使用最简单而又经济的粘度测定方法,也可能在大批人群中区分出血液粘度升高,红细胞异常或血栓表现粘度过高等不同病理患者,这对于预报病情发展有重要意义。

在治疗和预防方面,流变特性的研究具有指导意义。如可采用放血,降低血液粘度,采用降低纤维蛋白原水平的药物,降低红细胞、血小板的聚集性及对抗纤维蛋白的形成,进而采用肝素或其它抗凝剂,以减低红细胞的聚集程度并改善血液。在一定情形下,甚至可对抗(抑制)血液循环中癌细胞的留存。

体液流变特性研究的意义还见诸于药理学方面。譬如可对改变食谱、抗凝剂、抗脂药、血管舒张剂,可阻断剂,萘苄类药物、活血化瘀药物、排石利胆药物、止咳祛痰药物,以及中医辩证施治对于体液流变特性的影响及其疗效等做出评价。总之,体液流变研究正展现出对一个对生命科学特别是医学应用的良好前景。

四、研究进展

参加“体液流变基础理论及其在心血管、肝胆系统中的应用研究”项目的有重庆大学、中科院力学所、医学科学院血研所、中日友好医院等8个单位。项目内容主要有:血液本构关系理论及应用;凝血过程中血液流变性质;红、白细胞流变特性;血流动力及血细胞运动对内皮细胞生长影响;肝脏和胆道流变学等共7项研究。

经过两年多的努力,已取得如下几方面的进展。

1. 血液本构关系

对 Chien S, Thurston, Kaibara 等多种血液本构关系理论和实验装置进行了比较,以“Low shear 30”“HAAKE”等流变仪测定的结果为建立简明实用的血液本构关系积累了必要的数据库。对波在血液及软组织等粘弹性介质中的传输矩阵进行了深入分析,建立了基本传输模型。

研究了不同物理化学因素对血液本构关系的影响,得到了血液在横向电场中流动时的血液粘度变化规律,并对血液的电粘性特性作出了理论分析,完成了不同抗凝剂对血液粘弹性测定值的影响,为血液粘弹性测定规范化奠定了基础。还获得了纤维蛋白元含量等生化指标与血液粘弹性的关系。

系统研究了红细胞沉降率(ESR)的电动力学与流变学问题。完成了垂直沉降管和倾斜沉降管内 ESR 与电学参数的相关规律,在国际上首次发现 ESR 的电致增强效应。并提出了 ESR 对血球比积(Hct)的依赖性方程,得到一种新的判定红细胞变形能力的方法。特别是对

SF₆₀(一种国际通用的永久性血液抗冻保鲜液)改变红细胞变形性的性质得到了量化的指标,为改进血液保存方法,解决全球性供血难题提供了理论依据。

继续大样本试验正常血液的粘弹性,测定了 350 例健康受试者红细胞比积、自然状态下血液粘弹性和其它血液流变参数,得到了性别、年龄对血液粘弹性和其它流变参数均有明显影响的结论。对动物模型,测定了正常与外伤大白鼠高 Hct 的红细胞(RBC)自体血浆悬浮液在 25℃、振幅 0.13rad,频率 1.00, 0.10, 0.01Hz 条件下正弦振荡的粘弹性。得到了悬浮液的弹性模量 G' , 损失模量 G'' 随振荡频率的变化规律;可以将粘弹性作为 RBC 变形性随病理改变的特征参数。

完成了三种不同型号的血液表观粘度快速测量仪,现已纳入国家“八五”攻关计划,并获得 1989 年全国发明银牌奖。还完成了管式粘弹仪的研制,经专家鉴定,其性能达到国外流变仪的水平,而价格仅为其 1/5—1/10。新鲜血液表观粘度测定系统和 YQ 液体弹性波活血化瘀仪也分别研制成功。上述成果都能在未来数年内产生大的经济效益。

2. 凝血过程中血液流变性质的研究与应用

已发现剪切对凝血影响的一般性规律,即凝血的流变学参数与剪切率的对数之间存在相关方程,得到了 $y = a + b \log D$ 的统计关系式。此处 y 为旋转式测定凝血的有关参数, D 为剪切率。不同种属的血样;这一相关的斜率有时差异很显著。

有关人血血栓弹力图的凝血与纤溶之间平衡的研究表明,在正常生理条件下,在凝血与纤溶的二维图上表现为一个平衡区,异常病理血样则位于此平衡区之外。

关于凝血因子对血液粘弹性影响,开展了纤维蛋白胶体化过程的活化能研究,采用旋转式测粘法,监测纤维蛋白交联早期阶段(数分钟之内)的切应力-时间曲线,依据 Arrhenius 公式,从 dn/dt (粘度上升率)随温度变化情况导出了生物化学反应的活化能。对于人纤维蛋白及大鼠血浆凝固的观测表明,这一活化能为 $10^3—10^4 \text{ cal/mol}$ 。

有关血小板聚集动力学的分析,得到了血小板聚集可分解为外源性,内源性及解离三个部分的结论。比较了 ADP 诱导的聚集与胶原诱导的聚集,并发现后者仅表现出内源性一项。分析表明,当上述三个部分处于一定关系时,双相血小板聚集可消失。

3. 红、白细胞流变特性

有关红细胞流变特性,完成了 Diamide 浓度与红细胞变形能力的相互关系,并掌握了造成这种膜蛋白交联模型的最佳条件。研究了膜蛋白交联程度改变对 RBC 膜表面电荷的影响。

建立了红细胞膜分离及膜蛋白电泳分析的方法,采用不连续胶,获得良好的膜蛋白各种区带分离效果。

完成了细胞电泳装置的改进,研究了细胞表面电荷与红细胞变形的关系,红细胞表面电荷密度越低,则红细胞变形能力越差,红细胞聚集越明显。还观察了不同年龄的红细胞表面电荷与红细胞变形性,随着老化,红细胞电泳迁移率下降,变形性降低。

完成了显微高速录像系统全部匹配工作,并在这一系统上进行体观测,得到了蛙蹼微血管中红细胞流态(频率为 200 幅/秒)和金黄色地鼠红细胞在毛细血管中的流态(频率为 500 幅/秒)。

研究了硬化红细胞对微循环灌注的影响,确定了造成硬化红细胞的条件与灌注实验条

件。获得了输注硬化红细胞与全身血压变化的关系。用电阻抗法测定红细胞聚集,得到了红细胞电阻抗变化与切变率的相关关系。观测了高脂血症状态下红细胞电泳迁移率的变化,并对显微电泳与激光散射红细胞电泳方法进行了比较,以及建立了滤筛法测红细胞变形方法等一系列研究。

关于白细胞流变性质,采用自体白细胞悬浮液压力差方法来测定白细胞流变性质的装置,改进了恒流或恒压装置只能测定一个切速条件下的流变性质,可直接求得滤过流量和压力的时间变化曲线——流变学图形。

建立了超净无菌工作台,可用以进行白细胞分离工作。由于白细胞中粒细胞对循环影响较大,在提纯粒细胞时,为减少粒细胞损伤,采用全血一次分离,活性较高,收获率较大。得到了粒细胞流变学图形测试结果。

4. 血流动力及血细胞运动对内皮细胞生长影响

该内容在国际上是最前沿的课题,技术条件要求高,难度大。我们项目组建立了具有国际先进水平的实验系统,其中包括恒流式显微流动试验台,实现了 $0.05\text{--}6.00\text{ml/h}$ 连续无级调速,连续运行1周,温控精度(净化条件下)为 0.5°C ,系统误差 $<5\%$ 。装置不同类型实验段(目前有5类13种)后可以提供:

- (1) 不同压力(平均)水平下的标准剪切流场和驻点型流场;
- (2) 不同压力、不同几何条件下加分叉流场;(N)局单旋涡加剪切流场。

不仅可用来研究血流动力(多种流型)与血管内皮细胞(EC)的相互作用,还可用于研究流体应力对各种细胞功能的影响,这对于生物工程具有基础意义。目前国内、外尚未见有同类装置。并在显微流动台上,用RBC稀悬浮液离体培养成功了单层血管内皮细胞(EC),考察了RBC剪切流变行为及剪应力对EC花生四烯酸代谢的影响。进行了大血管模型弯曲、分枝(三大类型)、窦素P位流型及剪应力分布的实验研究,完成了微重力条件下细胞培养器和新型分离技术中生物流体力学问题及流动应力对细胞结构功能影响的概念研究。

对于临床冠心病的血液流变特性研究,完成了症状性(心绞痛或急性心肌梗塞)和无症状性心肌缺血的发作期和静止期的血液流变学特性(表观粘度、流动曲线的特点、屈服应力、储存模量和损失模量)的研究。其中冠心病经冠状动脉造影纪实者16例,取得了冠心病血液流变学特征因素:血球压积、纤维蛋白原、免疫球蛋白和血脂的关系,首次提出以血液流变特性分型和治疗无症状性心肌缺血,取得初步效果。

5. 肝脏血液流变基础

完成了肝动脉树血管灌铸成型研究,得到了以环氧树脂材料作为血管填充剂的较为理想的配方,它的机械强度高、化学稳定性好、收缩率低、操作方便。采用T-31环氧树脂固化剂后,更为安全无毒。此材料和浇铸方法已成功地用于冠状动脉、肝脏动脉和胆道造型中。还对光学投影仪加以改造,在原设备基础上,增加了QG863型长光栅位移传感器,使可用于各种微小铸型的测量。

对动物肝脏血管应力-应变关系的研究,得到了肝脏血管,特别是肝动脉血管压力和变形的关系。本实验方案在国内国际均属首创。现已从9只狗的实验中,得到较完整的图片资料。经实验,对于肝动脉的形态,血管和肝组织材料的本构关系有了定量了解。在此基础上,对肝动脉血管的力学模型进行了理论分析并在均质粘弹性假设的基础上获得了理论解释。完

成了门静脉供血不足时对肝脏组织和功能影响的研究, 改进了用于肝胆流变学试验的生物软组织实验台, 对软组织主要流变学参数——力、位移、时间实现了自动采集和处理。此项成果在国内属首例。

6. 胆道流变学研究

在对胆囊胆汁粘弹性研究中, 把胆囊胆汁简化成大分子溶液“弹簧半球”模型, 在振荡剪切流动中复粘度随角频率的变化规律与 Maxwell 模型相近, 采用集中参数值, 提出了改进型 Maxwell 四参数模型, 以阻尼单元和弹簧单元串联组成 Maxwell 模型。比较病理胆囊胆汁实验曲线与改进型 Maxwell 模型, 得到了满意的粘弹性拟合曲线。

对各种胆道疾患的病理标本的流变学测定, 发现了在切变率 $< 15s^{-1}$ 为非牛顿流体, 切变率 $> 20s^{-1}$ 为牛顿流体的病理胆汁流动规律。建立了胆固醇、粘蛋白、磷脂、胆红素、甘胆酸等化学成分与其表观粘度之间的回归方程, 完成了对各类胆囊切除和胆道探查 T 管引流术患者表观粘度、粘蛋白含量、胆汁干重、胆汁中的细胞数、24 小时胆汁引流量等参数之间的观测和相互关系分析。表观粘度测定有较大的临床价值, 可作为胆道炎症程度的判别指标和利胆药物的疗效观察指标。运用有限变形理论分析, 得到了肝外胆管壁的应力分布和应变能函数, 肝外胆管在循环加载和卸载过程中表现出的滞后小, 不同部分的胆管其径向应力分布情况非常相似。高压时 (60mmHg) 周向应力和轴向应力在管内壁处远大于外壁处的值, 此时周向应力常比轴向应力大; 在生理压力范围 ($< 30mmHg$), 周向和轴向应力在管壁上分布较均匀, 一般是内壁处的周向和轴向应力小于管外壁处的值, 轴向常大于周向。从 oddi 括约肌沿胆总管、肝总管、肝管方向往肝内前进, 胆管的弹性模量越来越小, 胆囊管的弹性模量比胆总管和肝总管的小, 而和肝管的很相近。把胆囊简化成上部为圆锥体下部为球壳相切而成的形状, 导出了二维本构方程。用该方程对胆囊作拟弹性受力及变形分析, 得出胆囊受力过程中不同方向的位移公式。通过测试不同疾病的人体胆囊建立的本构关系, 并通过参数对照和组织比较, 发现人体胆囊的力学性能与其组织结构关系极大。

根据治疗胆囊结石症的体外震破碎石——振动排石方法的设想, 研究了体外振动对于胆囊结石碎块的排石效应。理论分析和模型试验结果显示, 结石碎块经在体外振动和胆囊排放胆汁的共同作用下, 才能顺利地由胆囊经胆囊管排至胆总管, 且振动的作用最为重要。

五、未来的展望

1. 继续大样本实验, 对不同切变率程式, 不同测定系统、不同人群分组所得结果作统计对比。完成抗凝剂影响实验和结果分析。尽快制定粘弹性测量的合理规范。继续寻求不同激励方式及响应间的理论联系, 积累数据, 为本构关系的确立奠定基础。

完成新鲜血液测定系统的研制, 做新鲜血液流变性测定。

推出可供临床使用的表观粘度函数快测系统, 并在医院推广。

2. 深入研究凝血因子与剪切关系, 完成血小板聚集动力学方程的推导。

3. 继续观察在红细胞-SH 反应基团处理与其它氧化剂处理后, 不同程度的膜蛋白交联和超氧自由基对红细胞变形、表面电荷、聚集性及膜流动性的影响, 以便进行综合分析。

探讨急性脑血栓和动脉硬化病人的红细胞流变参数变化规律。

继续进行在玻璃毛细管中红细胞流态分析实验, 与心血管病人红细胞变形性用药前后的

比较观测。

4. 完成粒细胞和淋巴细胞流变图分析及正常值测试: 找出白细胞依赖于切速的变形能力的数学函数关系和流变曲线拟合, 找出变形参数, 并应用于临床测试。研究 PH 值, Ca^{2+} 等对白细胞变形运动的影响。

用电子自旋标记顺磁共振技术研究白细胞(粒细胞)膜的流动性。

5. 各种因素对 EC 生化功能的影响等。

6. 肝脏动脉树分级规律研究和计算机处理。

7. 继续体外振动排石方法研究。

BASIC RESEARCH ON THEORY OF TISSUE FLUID RHEOLOGY AND ITS APPLICATIONS TO CARDIOVASCULAR AND HEPATOBILIARY SYSTEMS

Deng Linhong Wu Yunpeng

(Chongqing University)

Abstract

Basic research on theory of tissue fluid rheology and its applications to cardiovascular and hepatobiliary systems started in 1988, which is one of the grand projects organized and financed by NSFC. Scientists from Chongqing University, Institute of Mechanics of Academy Sinica, Chinese Traditional Medicine Institute of CTM Academy, Blood Research Institute of the Medical Academy of China, the China-Japan Friendship Hospital, the Third Military Medical University, West China Medical University, Chongqing Medical University join in the group of research. Professor Wu Yunpeng of Chongqing University is the director.

With the cooperation and effort of all the members in nearly three years, a series of important progresses have been made in the following fields: Constitutional relationship of blood and its clinical significance; RBC and WBC rheology; Haemarheological properties during coagulation process; influence of haemodynamics and blood cell movement on endothelial cells; hepatobiliary rheology etc.. They deepened and broadened the knowledge of relationship between tissue fluid rheological properties and physiopathology. Vast amounts of data have been accumulated to base a more reseanable constitutional equations. Several kinds of rheological instruments which are advanced and appropriate to our country's situation have been successfully turned out. Investigations of rheological properties on erythrocyte membrane combining with molecular biology, electrical rheology of tissue fluids etc.. Standing on the international frontiers have been interested worldly.