

红细胞变形的动力学行为

陶祖莱

(中国科学院力学研究所 北京100080)

文宗曜 曹石 陈生 赵玉衡 李玉梅 王鸿儒
徐家骥 栗刚 俞桂芬 吴本玠

(北京医科大学)

摘要

用激光衍射仪测量了兔红细胞在PBS和PVP两种介质里的应力松弛过程。结果表明,红细胞在低粘介质(PBS)中的动力学行为和它在高粘介质(PVP)中的动力学响应有显著差异,除了等容变形和非等容变形以外,还有一个从定向到随机取向的变化过程。故在低粘介质中测得的红细胞应力松弛过程中变形指数(DI)随时间(t)的变化是由红细胞变形(DI)_d和红细胞取向(DI)_{or}两部分构成的。红细胞变形的特征时间(约10毫秒)比取向过程的特征时间(约50秒)小2~3个量级。这就使得我们有可能从测得的DI-t曲线中把(DI)_d和(DI)_{or}区分开来,从而获得关于红细胞动力学特性的更多的信息。这一点,在临床实践是很有意义的。

引言

红细胞(RBC)应力松弛过程的观测是研究它的粘弹性行为的一种重要方法。当我们用激光衍射仪观测RBC群体的流变学行为时,在某一恒定的切变率($\dot{\gamma} = \text{Const}$)下运行一段时间,突然令 $\dot{\gamma} = 0$ 时,可得RBC群体的变形指数DI随时间t的变化曲线,它反应了RBC群体的应力松弛过程*,与RBC个体的粘弹性是密切相关的。P.J.Michael等^[1]的实验表明,在高粘度的悬浮介质(PVP)中,RBC群体的动力学响应大体可分等容变形的非容变形两个阶段,其特征时间分别为1秒和 10^{-1} 秒的量级。然而,准静态实验的结果^[2,3]告诉我们,用激光衍射法测得的RBC群体的流变行为与悬浮介质的粘度有密切的关系。可以预料,RBC群体的动力学行为亦将与介质粘度密切相关。为了进一步澄清这个问题并认识其规律,我们选择粘度有显著差别的两种悬浮介质PBS($\eta = 0.8\text{cp}$)和PVP($\eta = 21\text{cp}$),在不同的切变率($\dot{\gamma} = 60, 499, 800\text{秒}^{-1}$)下进行了应力松弛实验,并作了初步分析。

材料和方法

1. 材料

取兔耳血静脉血5ml,肝素抗凝。离心分离得RBC后,用BPS溶液^[2]清洗三次,再按规定浓度(2×10^7 个/ml)分别与PBS溶液、PVP(15%, 21cp)溶液配制成悬浮液。RBC本身的处理分三种情形:(i)正常RBC,加牛血清(2g/l);(ii)用胰蛋白酶(1.5mg/ml)

本文于1990年7月18日收到

- 应力松弛的定义是当应变或应变率发生阶跃且保持恒定时应力随时间的变化,这种阶跃可正亦可负,这里用的是负阶跃,即 $\dot{\gamma} = \text{const}$ 变为 $\dot{\gamma} = 0$ 。

在30℃下处理半小时, 去掉RBC表面电荷; (iii)用浓度为0.0%的甲醛在37℃下处理半小时, 使RBC硬化。悬浮液 pH = 7.4, 等渗。

2. 方法

所用仪器为北京医科大学和北京地质仪器厂联合研制的激光衍射仪, 内筒旋转, 最高转速160周/分, Taylor数远低于其临界值, 频响5ms。根据文宗曜等^[3]准静态实验的结果, 用PBS作悬浮介质时, RBC群体中受剪切而变形的RBC数目明显地因切变率而异。 $\dot{\gamma}$ 从 10S^{-1} → 800S^{-1} , 变形RBC的百分比从10%增至52%, $\dot{\gamma} > 400\text{S}^{-1}$ 以后变形RBC比例变化不大。另一方面, 全血流变性质的研究^[4]告诉我们, $\dot{\gamma} > 50\text{S}^{-1}$ 以后, RBC的力学性质对全血流变行为的影响才占主导地位。因此, 我们选择三个切变率($\dot{\gamma} = 60, 400, 800\text{S}^{-1}$)进行应力松弛实验。在每一个切变率下稳定运行一段时间, 内筒突然停止转动, $\dot{\gamma} \rightarrow 0$, 观测DI-t曲线。每个试样测5次。实验温度为 $27 \pm 1^\circ\text{C}$ 。整个实验在取血后5小时内完成。

结果和讨论

图—1和图—2分别给出了正常RBC和用胰蛋白酶处理后的RBC在PBS和PVP中测得的

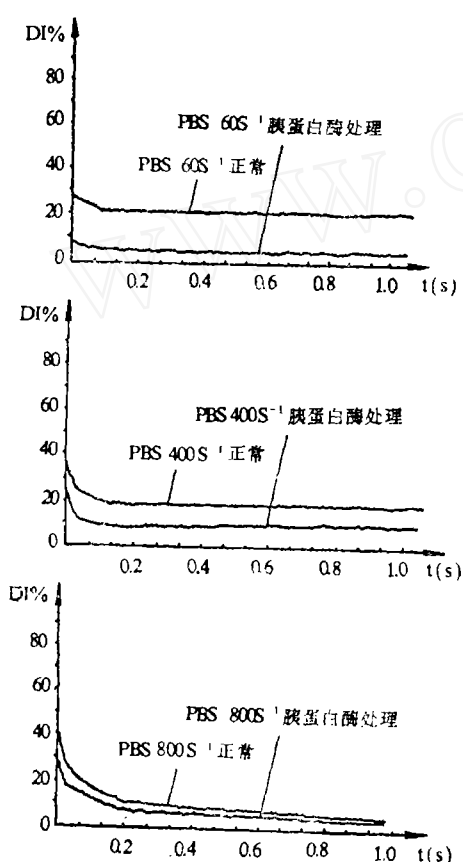


Fig 1
Relaxation courses of normal RBC and RBC treated by trypsin suspended in PBS, corresponding to the initial shear rate 60S^{-1} , 400S^{-1} and 800S^{-1} respectively.

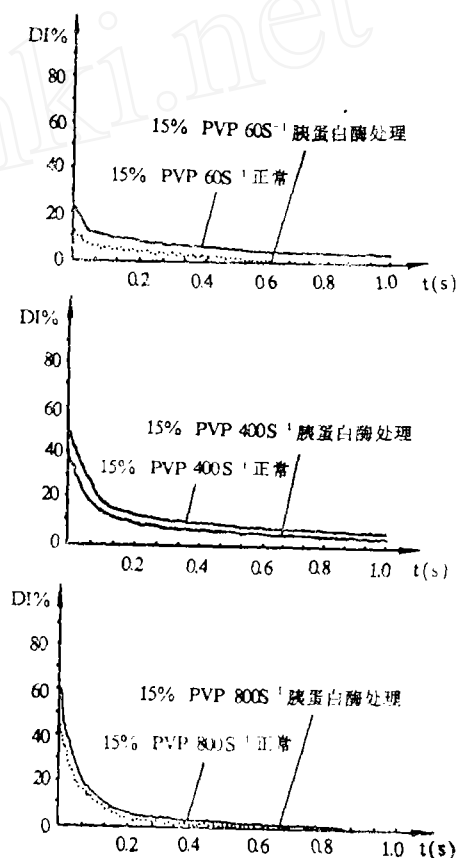


Fig 2.
Relaxation courses of normal RBC and RBC treated by trypsin suspended in PVP, corresponding to the initial shear rate 60S^{-1} , 400S^{-1} and 800S^{-1} respectively.

DI-t松弛曲线, 初始切变率分别为 $60S^{-1}$ 、 $400S^{-1}$ 和 $800S^{-1}$ 。用0.04%甲醛处理的RBC的浮液的应力松弛过程在中、高初始切变率($400S^{-1}$ 和 $800S^{-1}$)下和用胰蛋白酶处理的RBC的悬浮液相似。比较图-1和图-2, 不难看出, 无论是常正红细胞还是用胰蛋白酶处理过的红细胞, 其群体动力学行为明显地受悬浮介质流变性质(主要是粘度)的影响, 这主要表现为: (i) RBC在低粘的PBS中应力松弛过程要比在高粘的PVP溶液中缓慢的多。在PVP溶液中, RBC变形指数DI大约在1秒钟左右衰减为零; 而在PBS溶液中, DI(t)的松弛过程可以持续50秒以上, 图-3即为为一个例证(初始应变率为 $400S^{-1}$), 尽管在同一初始应变率下, RBC在PVP中所受的剪应力是它在PBS溶液中的23.6倍; (ii) 与Michael等人的实验结果相似, 在PVP溶液中RBC群体的松弛过程大体可分两个阶段; 而在PBS溶液里, DI(t)松弛过程需分三个阶段, 有质的不同。为清楚地说明这一点, 图-4绘出了 $\dot{\gamma} = 800S^{-1}$ 时, 不同悬浮介质中RBC的DI-t曲线。它们可以用以下经验关系来描述:

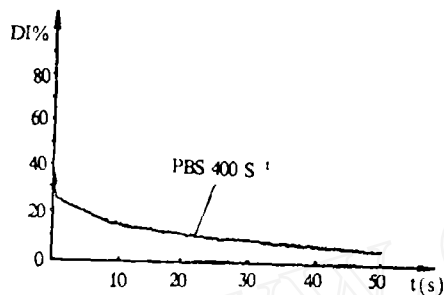


Fig. 3 The relaxation course of normal RBC suspended in PBS with initial shear rate $400S^{-1}$ within 50 sec.

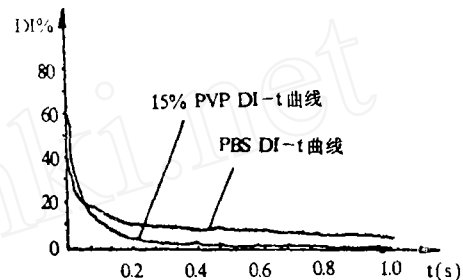


Fig. 4 Comparisons of DI-t curves of normal RBS suspended in PBS and in PVP, with the initial shear rate $800S^{-1}$

对于PBS:

$$(DI)_0 \cdot \exp(-\alpha t) \quad 0 < t < t_0 \tag{1}$$

$$DI(t) = (DI)_0 \cdot \exp(-\beta t) \quad t_0 < t < t_1$$

$$(DI)_0 \cdot \exp(-\xi t) \quad t > t_1$$

对于PVP:

$$DI(t) = (DI)_0 \cdot \exp(-\alpha t) \quad 0 < t < t_0 \tag{2}$$

$$(DI)_0 \cdot \exp(-\beta t) \quad t > t_0$$

方程(1)和(2)反映了不同的动力学过程。在一定的切变率下, RBC群体受恒定的切应力作用而发生变形, 同时以一定的取向概型(概率分布类型)而作整体的运动。RBC变形又有非等容变形和等容变形之别。在一定的切应力作用下、在一定的悬浮介质里, RBC群体中非等容变形和等容变形的比例是一定。当 $\dot{\gamma}(t)$ 突然变为零时, 本来作非等容变形的红细胞首先恢复(因为它的膜的内应力远大于等容变形的RBC)。方程(1)(2)中 t_0 为非等容收缩特征时间, 相应的时间常数为 α ; 等容变形RBC由于其初始膜应力很小, 故应力松弛过程中恢复的较慢, 方程(1)里 t_1 为等容变形松弛特征时间, 与之相应的时间常数为 β 。另一方面, 由于 $\dot{\gamma}(t) \rightarrow 0$, 相应于初始切变率的特定的RBC取向分布概型亦将因应力松弛而趋于随机。用激光衍射法测的RBC群体的变形指数本身包含RBC取向概型的信息, 故应力松弛过程中DI(t)的变化, 也包含RBC取向松弛的(由定向

→完全随机)的分量。方程(1)里 t_2 表征RBC群体由取向有序变为无序的特征时间, ζ 则为相应的时间常数。显然, RBC群体取向概型在应力松弛时的无序化过程与周围悬浮介质的流变特性(比如说粘度)有密切关系, 图-3和方程(1)、(2)表明, 由于PVP的粘度很高, 应力松弛时RBC取向无序化过程大体上和等容变形松弛过程同时完成。而在低粘度的PBS溶液里, RBC群体取向无序化的过程要比等容松弛时间尺度大的多。图-5给出了 $\dot{\gamma} = 800\text{S}^{-1}$ 时, PBS溶液中RBC群体在应力松弛过程中观测到的非等容变形和等容变形的电镜观察结果。

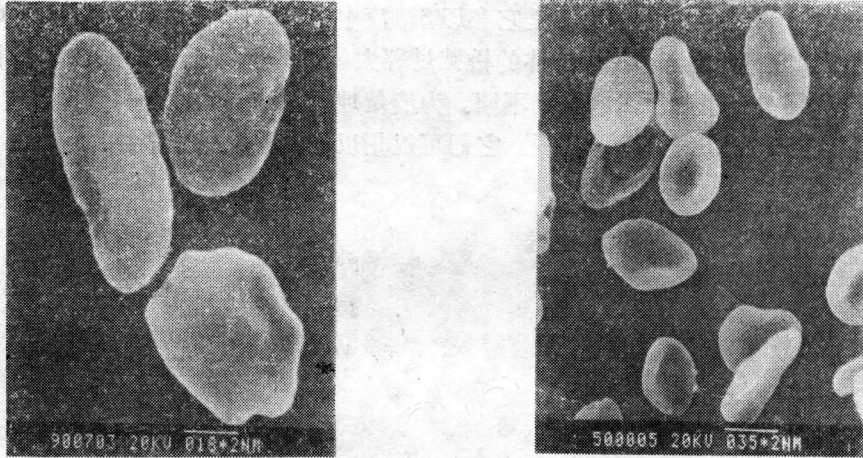


Fig 5 Photos of normal RBCs suspended in PBS during relaxation with the initial shear rate 800S^{-1} . (a) non-isochoric deformation (b) isochoric deformation.

为了进一步探讨应力松弛过程中RBC群体的动力学行为, 下表列出了不同初始切变率下, PBS和PVP中正常RBC群体应力松弛过程中, 非等容变形、等容变形和RBC群体取向随机化的特征时间, 以及它们对于测得变形指数DI的贡献(%). 由此可见: (i) 在同一初始切变率下, 由于其相反的初始切应力的巨大差异(PVP中RBC所受切应力为同一切变率下PBS中RBC的23.8倍), 不同悬浮介质时所得的DI-t松弛曲线的物理含义是很不一样的。比如, $\dot{\gamma} = 60\text{S}^{-1}$ 时, 用PBS所得DI-t曲线中RBC取向无序代占主导地位, 而用PVP

表 1 正常RBC在PBS和PVP中的动力学响应

悬浮介质	切变率 (S^{-1})	非等容变形		等容变形		RBC取向无序化	
		对DI的贡献 (%)	t_0 (s)	对DI的贡献 (%)	t_1 (s)	对DI的贡献 (%)	t_2 (s)
PBS	800	33.6	0.05	41.9	0.15	14.5	~50
	400	7.3	0.03	39.2	0.12	53.5	~50
	60	0	/	8.0	0.10	92.0	~50
PVP	800	71.0	0.09	29.0	0.80	0	~ t_1
	400	58.0	0.10	42.0	1.00	0	~ t_1
	60	48.0	0.06	52.0	0.80	0	~ t_1

所得的DI-t曲线主要反映RBC的变形恢复; (ii) 不同的悬浮介质中、不同的初始切变率下, 尽管红细非等容变形和等容变形对测得变形指数的贡献差异很大, 但红细胞非等容

变形和等容变形的时间尺度在量级上是一样的, $t_0 \sim 0.1s$, 而 $t_1 \sim 1s$ 。由此可见, 用激光衍射法测得的 $DI-t$ 弛松曲线的非等容变形和等容变形的特征时间 (t_0 和 t_1), 以及与之相应的时间常数 (α 和 β) 表征了红细胞的流变特性, 与初始应变率无关, 且有可能可以不计悬浮介质粘度的影响 (至少在量级上不会错); (iii) 在低粘悬浮介质中, 应力松弛时 RBC 群体取向无序化过程对测得 DI 的贡献是不可忽略的, 初始切变率越低, $(DI)_{\infty}$ 所占的百分比越高, 切变率 $\sim \mathcal{O}(10^1 s^{-1})$ 时, $(DI)_{\infty}$ 在测得 DI 中占主导地位。另一方面, 在这种情况下, RBC 取向无序化过程的特征时间比非等容变形、等容变形的特征时间大得多, 约为 $10^2 s$ 的量级, 分别为 t_0 和 t_1 的 1000 倍和 100 倍。因此, 我们有可能应用不同的物理过程的时间尺度的显著差别, 把有关 RBC 群体取向的信息从测得变形指数 $DI(t)$ 中提取出来, 并将它和变形的恢复 $(DI)_{\infty}$ 加以区分^[5] 这样就有可能获得有关红细变流变特性的更多的信息。这在临床上可能是很有意义的。

显然, RBC 在 PBS 中的取向(松弛)过程取决于 RBC 和悬浮介质的相互作用, 因此和介质粘度有密切关系。但不仅仅为此。图 1 表明, 当 $\dot{\gamma} = 60 s^{-1}$ 时, 正常 RBC 和用胰蛋白酶处理以后剥夺(或减少)了表面电荷以后的 RBC 的 $DI-t$ 曲线很不一样, 不仅变形性降低, 而且 $(DI)_{\infty}$ 亦显著不同, 仅为正常 RBC $(DI)_{\infty}$ 的 $1/4$ 左右。不仅如此, 在 $\dot{\gamma} = 60 s^{-1}$ 时, 用胰蛋白酶处理的 RBC 的松弛过程和用 0.04% 甲醛对 RBC 作固化处理后所测得 $DI-t$ 曲线也有显著的区别, 固化 RBC 的 $(DI)_{\infty}$ 约为用胰蛋白酶处理后的 RBC 的 2 倍。这一结果表明, 红细胞表面电荷的多少不仅影响红细胞的变形性, 而且还改变 RBC 与周围介质的相互作用, 从而改变 RBC 本身在介质中的运动。在较低的初始切变率(比如说, $\dot{\gamma} \sim \mathcal{O}(10^2 s^{-1})$) 测得的 RBC-RBS 悬浮液的应力松弛曲线中 $(DI)_{\infty}$ 的值有可能提供这方面的信息。

参 考 文 献

- [1] Michael, P.J., et al, *Biorheology*, Suppl, 29i, 1984
- [2] Bitbol, M.: *Biophys. J.*, 49, 1055, 1986.
- [3] Wen, Z., et al: Effects of the Viscosify of suspending medium on ektacytometric measurement. Proceedings of the first Far Eastern Congress of Biomedical Eng. 1990.
- [4] 陶祖莱: 生物流体力学, 科学出版社, 北京, 1984.
- [5] Chen, S. et al: Deformation and orientation: How can we get more information from ektacytometry? Proceedings of the first Far Eastern Congress of Bomedical Eng. 1990.

DYNAMIC BEHAVIORS OF EKTACYTOMETRIC DEFORMATION INDEX OF ERYTHROCYTES IN DIFFERENT BUFFERS

Tao Zu Lai* Wen Zong-Yao, Cao Shi, Chan Shen, Zhao Yu-Heng, Li Yu-Mei,
Wang Hong-Ru, Xu Jia-Ling**, Li Gong**, Yu Gui-Fen**, Wu Ben-Jie**

(Medical Physics Lab., Beijing Medical University* Institute of Mechanics,
Academia Sinica ** Biophysics Lab., Beijing Medical University)

ABSTRACT

Using ektacytometric, we obtained relaxation curves of rabbit's erythrocytes

本研究受国家自然科学基金资助

suspended in PBS and PVP respectively. Typical results are shown in fig.1. They could be fitted by experience formulas as follows:

$$(DI)_0 \exp(-\alpha t) \quad 0 \leq t \leq t_1$$

For PVP: $DI(t) =$

$$(DI)_0 \exp(-\beta t) \quad t > t_1$$

and for PBS:

$$(DI)_0 \exp(-\alpha_1 t) \quad 0 \leq t \leq t_0$$

$$DI(t) = (DI)_0 \exp(-\alpha_2 t) \quad t_0 \leq t \leq t_1$$

$$(DI)_0 \exp(-\beta t) \quad t > t_1$$

where $(DI)_0$ is the initial value of DI , t_0 , t_1 and t_2 are characteristic time of non-isochoric deformation, isochoric deformation and orientation of erythrocyte respectively. And α_1 , α_2 , β are time constant corresponding to t_0 , $(t_1 - t_0)$ and t_1 .

Our experimental results show that:

1. The deformation characteristic time of erythrocyte is in order of 10^{-1} sec, while the orientation characteristic time of erythrocyte is in order of 50 sec. The later is about several hundred times of the former. This feature provide a criteria to distinguish the contribution of orientation to measured DI from that of deformation. Based on this feature a new way to measuring the rheological properties of erythrocyte more reasonably is developed.

2. Form the point of view of dynamic behaviors of erythrocyte, the suspending medium with low viscosity (such as PBS) seems to be better than those medium with high viscosity (such as PVP). The former would be more sensitive than the later.

Acknowledgement: This research was supported by the National Science Foundation of China