

脐静脉血流动力学模拟及装置设计

尹宗智¹ 陈素华² 艾继辉² 吴健康³

摘要 目的 脐静脉内的血流动力学环境对胎儿的生长发育起至关重要的作用,体外研究脐静脉的生物功能需要可以同时模拟脐静脉内流体切应力和静脉压力的实验装置。方法 利用双层平行平板模型进行结构优化,模拟脐静脉流体切应力;利用密闭储液罐模拟静脉压力。结果 通过力学模拟效果计算发现,该装置可以有效模拟脐静脉内的流体切应力及静脉压力。结论 该实验装置达到了初步模拟脐静脉内血流动力学性环境的目的,可用于体外研究脐静脉内皮细胞的生物力学特性变化。

关键词 脐静脉;血流动力学;流体切应力;静脉压力

中图分类号 R-331

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2014)05-0595-04

人脐静脉壁细胞主要受流体切应力和静脉压力两种类型力的影响,在多种力的协同作用下细胞发生各种生物反应^[1]。体外研究时,为观察静脉壁细胞在受力条件下的生物反应,需要有能同时施加流体切应力和压力的实验装置。经典的细胞力学实验装置均只能模拟流体切应力,忽略了压力对细胞的影响^[2]。为此,该研究依照脐静脉内的血流动力学特点,设计了一种可同时模拟脐静脉内流体切应力和静脉压力的实验装置,达到初步模拟脐静脉血流动力学状态的目的。

1 实验装置结构设计

1.1 流体切应力模拟 切应力模拟部分通过经典的双层平行平板装置实现。细胞生长在图1中的细胞生长区域,当细胞培养液从底板进液口通过液体通道从底板出液口流出时,培养液的流动对底板细胞生长区域的细胞产生流体切应力。所需的流体切

应力可以通过进入液体通道的培养液流量来控制。见图1。

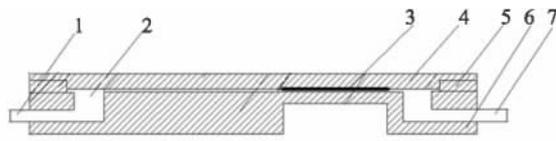


图1 双层平行平板装置

1:底板进液口;2:液体通道;3:细胞培养区域;4:盖板;5:密封圈;6:底板;7:底板出液口

双层平行平板装置由盖板、底板和两者之间的密封圈组成。盖板由盖板平板和盖板平台两层平板构成,盖板平台位于盖板平板的底部中央区域,长度、宽度均小于盖板平板,在盖板平板两长边的近边缘处各均匀分布有定位螺丝孔。见图2。密封圈由一与盖板平板长度宽度均相同、厚度略大于盖板平台的硅胶垫构成,密封圈中央设有一空心区域,其与盖板重叠后盖板平台恰好可以从中央空心区域突出。见图3。底板由一长方体底板平板构成,在其左右两端分别设置有进液口和出液口,通入底板平板内部;在底板平板上靠近进液口端设有流入缓冲槽并向底板平板的上部开口,其底部平面在底板平板内部与底板进液口的底部位于同一高度,流入缓冲槽长边与底板平板窄边平行,长度与盖板平台的宽度相同;在底板平板近出液口端设有流出缓冲槽;在底板平板上靠近流出缓冲槽一端接近底板平板中央处有一透光区,该透光区为一长方体槽,位于底板平板底部并向上凹陷。见图4。盖板、密封圈、底板三层自上而下对齐叠放,通过定位压紧螺丝经各定位螺丝孔将三层结构固定在一起,盖板平台底部平面与底板平板上平面之间构成的长方体空腔即为液体通道。

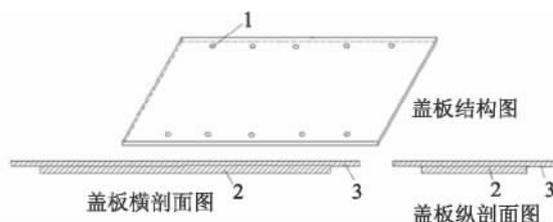


图2 盖板示意图

1:定位压紧螺丝孔;2:盖板平台;3:盖板平板

2014-02-17 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:81300514);国家自然科学基金青年科学基金培养计划(编号:2012KJ04)

作者单位:¹安徽医科大学第一附属医院妇产科,合肥 230022

²华中科技大学同济医学院附属同济医院妇产科,武汉 430030

³华中科技大学力学系,武汉 430030

作者简介:尹宗智,男,博士,医师,责任作者,E-mail: ahyzzh@hotmail.com

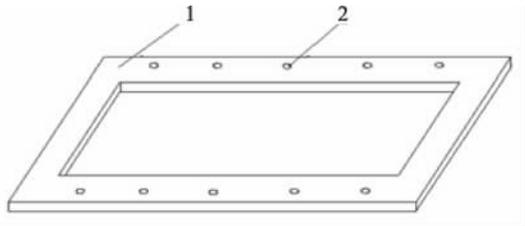


图3 密封圈示意图

1:硅胶垫;2:定位压紧螺丝孔

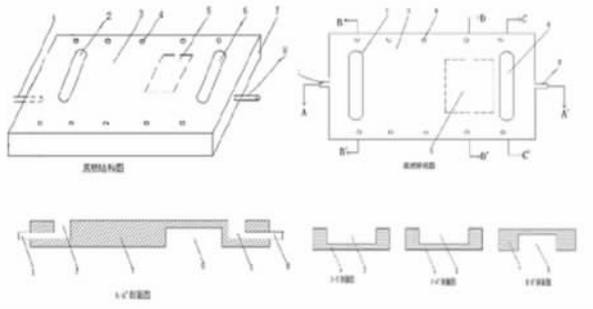


图4 底板示意图

1:底板进口;2:流入缓冲槽;3:底板平台;4:定位压紧螺丝;5:透光区(细胞生长区域);6:流出缓冲槽;7:底板;8:底板出口

1.2 静脉压力模拟 静脉压力模拟部分通过向密闭的储液缸内液体上部施加压力,该气压传递至双层平行平板装置内生长的细胞上,对细胞施加等量的压力。通过控制储液缸中密闭气体的气压达到静脉压力的模拟效果。见图5。

储液缸为一密闭空腔结构。空腔结构主体为储液槽,其侧面下部设有储液缸进口和出液口,顶部设有加气口及气压表。通过加气口向储液缸中加入含5% CO₂ 的空气,加气同时通过气压表控制储液缸内部气压。

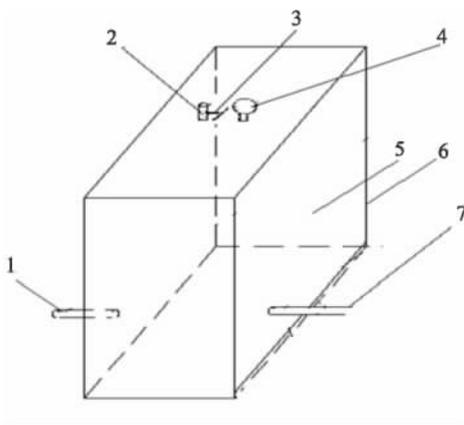


图5 储液缸示意图

1:储液缸进口;2:加气口;3:气阀;4:气压表;5:储液槽;6:储液缸;7:储液缸出口(连接底板进口)

1.3 脐静脉血流动力学实验装置 将静脉压力模拟部分、切应力模拟部分组装,并通过医用橡胶管经蠕动泵连接形成一个密闭的循环系统。见图6。通过蠕动泵调节进入双层平行平板装置中的液体流量控制切应力大小,通过储液缸上部的加气口及气压表控制压力大小,对细胞培养区域中生长的细胞同时施加流体切应力和静脉压力,达到初步模拟脐静脉血流动力学状态的目的。

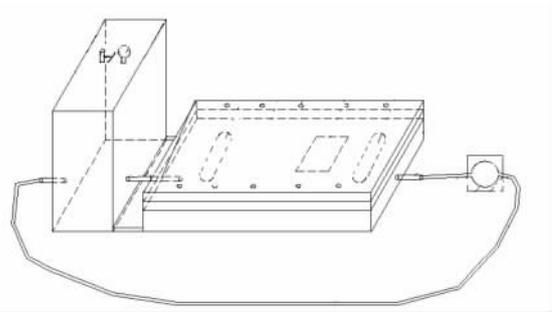


图6 脐静脉血流动力学实验装置

2 力学模拟效果的验证

2.1 流体切应力模拟效果 应用流体力学计算软件 Flunet 6.3 对双层平行平板液体通道中细胞培养液流过时各处所受的切应力进行分析。下图分别显示的为流量 $Q = 7.0 \text{ ml/s}$ 和 $Q = 13.0 \text{ ml/s}$ 时液体通道中各处所受的切应力。本装置所设计的细胞培养区域在切应力调节过程中的受力始终稳定,切应力模拟效果好。见图7。

2.2 静脉压力模拟效果 根据流体运动的能量原理(伯努利方程),储液缸自由面和液体通道细胞处的流体能量有如下的关系:

$$z_0 + \frac{p_0}{\rho g} + \frac{\mu_0^2}{2g} = z + \frac{p}{\rho g} + \frac{\mu^2}{2g} + \left(\lambda \frac{L}{h} + \zeta\right) \frac{\mu^2}{2g}$$

这里 z 表示位置高度 ρ 为液体密度 g 为重力加速度 p 为液体压强 μ 为液体流动速度 λ 为沿程能量损失系数 ζ 为局部量损失系数。右边最后一项 $\left(\lambda \frac{L}{h} + \zeta\right) \frac{\mu^2}{2g}$ 表示从储液缸自由面到细胞处的能量损失,与速度相关。通常情况下,自由面和液体通道的液体速度很小($\mu_0 = 0 \mu < 1$),两个位置的高度差($z_0 - z$)也很小,所以细胞生长区域处的压强和储液缸自由面压强几乎相等,或稍小($p \approx p_0$)。只要控制储液缸自由面的压强 p_0 (气压表读数)就可以估算细胞所受的压强 p 。

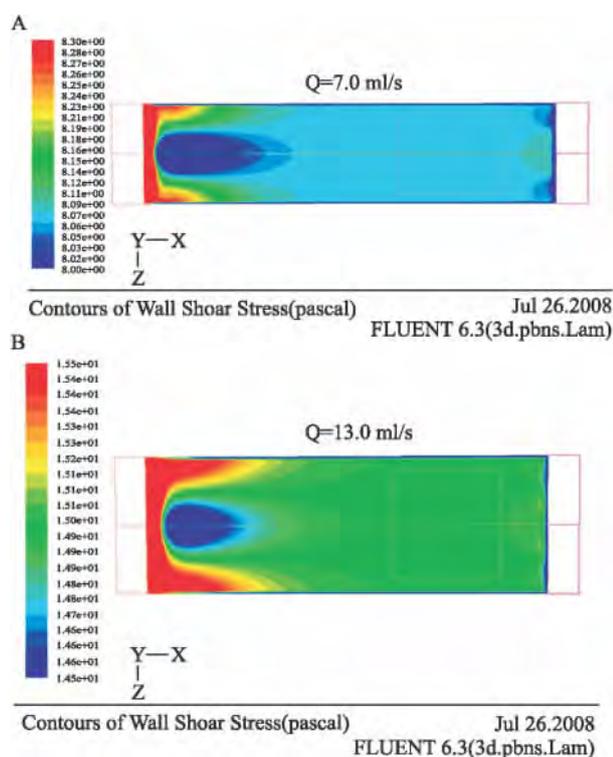


图7 受力分布图

A: 液体流量为 7.0 ml/s 时液体通道中各部位所受流体切应力的分布; B: 液体流量为 13.0 ml/s 时液体通道中各部位所受流体切应力的分布

3 讨论

胎盘和脐带是胎儿赖以生存和生长发育的重要器官。胎盘具有物质交换功能, 脐带血管具有物质运输及分泌调节功能。脐带血管的物质运输和分泌调节功能与脐带血管内的血流状态密切相关。母体血液性质的改变(如血液黏度的变化等)、胎儿代谢产生的生物活性物质以及胎盘内血管阻力的改变等因素均可导致脐带血管内血流状态发生改变, 影响脐带血管的物质运输以及管壁细胞的生物学功能^[3]。

脐带血管由一条管腔较大的静脉和两条管腔较小的动脉组成, 脐静脉管腔内壁最外层的细胞为脐静脉内皮细胞。研究^[4]表明脐静脉内皮细胞能够分泌多种生物活性物质, 与胎儿在子宫内的生长发育密切相关。且脐静脉内皮细胞的生物学功能与脐静脉内的血流动力学状态密切相关。

脐静脉内血液在循环流动的过程中, 主要产生两类力^[5-6]: 一是流体切应力, 是指循环血液顺着血流方向作用于血管壁单位面积的力; 另一类为循环血液对管壁单位面积的侧压力, 即血压。这两种力

均会随着脐静脉内血流状态的变化而改变, 同时力的变化也会导致血流状态的改变以及内皮细胞受力的变化, 最终导致内皮细胞生物特性的改变^[7-9]。

本实验装置从流体切应力和静脉压力两方面同时模拟, 更符合人脐静脉内的血流动力学状态。装置中流体切应力模拟部分所采用的为 Frangos et al^[10]在 1985 年提出的双层平行平板装置, 对这种经典的双层平行平板装置结构进行了优化, 使得力学模拟更精确、使用更方便。主要进行 3 点改进: ① 利用流体力学技术对双层平行平板液体通道中的流体切应力进行精确分析, 选择切应力最稳定区域作为细胞培养区域, 而不是将细胞种植于整个平行平板通道内壁, 避免液体入口和出口端附近细胞受力不稳定。② 盖板采用了底部突出平台结构, 通过具有弹性的密封圈与平台的高度差获得形成液体通道所需的微米级高度。这一设计对液体通道的高度可灵活调控, 密封性好, 液体通道的高度准确、操作成本低。经典实验装置在获得液体通道所需的微米级高度时, 加工精度要求极高, 造价高昂。③ 底板下底面与细胞培养区域对应的位置设置透光区。实验过程中利用显微镜观察细胞时的透光度增加, 提高观测效果。

本文所述的脐静脉血流动力学实验装置从流体切应力和静脉压力两方面对脐静脉内的血流动力学环境进行体外模拟, 适用于体外研究脐静脉内皮细胞的生物力学功能变化, 为血液流变学异常导致的各种产科疾病的发病机制研究提供了良好的体外实验模型。

参考文献

- [1] Song J W, Munn L L. Fluid forces control endothelial sprouting [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108(37):15342-7.
- [2] Voyvodic P L, Min D, Baker A B. A multichannel dampened flow system for studies on shear stress-mediated mechanotransduction [J]. *Lab Chip*, 2012, 12(18):3322-30.
- [3] James J L, Whitley G S, Cartwright J E. Shear stress and spiral artery remodelling: the effects of low shear stress on trophoblast-induced endothelial cell apoptosis [J]. *Cardiovasc Res*, 2011, 90(1):130-9.
- [4] Nikmanesh M, Shi Z D, Tarbell J M. Heparan sulfate proteoglycan mediates shear stress-induced endothelial gene expression in mouse embryonic stem cell-derived endothelial cells [J]. *Biotechnol Bioeng*, 2012, 109(2):583-94.
- [5] Estrada R, Giridharan G A, Nguyen M D, et al. Endothelial cell culture model for replication of physiological profiles of pressure, flow, stretch, and shear stress *in vitro* [J]. *Anal Chem*, 2011, 83(8):3170-7.

条件培养基培养神经干细胞的体外实验研究

宋旆文 徐 鹏 尤 涛 董福龙 章仁杰 申才良

摘要 目的 观察骨髓间充质干细胞(BMSCs)条件培养基对神经干细胞(NSCs)分化的影响。方法 提取第3代大鼠BMSCs条件培养基,浓缩后加到NSCs培养基中,对所培养的NSCs进行形态学观察和免疫化学染色法鉴定。结果 在加入大鼠BMSCs条件培养基的实验组,24 h内见悬浮生长的NSCs球开始贴壁生长。至第3天,所有悬浮细胞球基本贴壁生长,大量细胞从中爬出,伸出突起。第7天时,伸出细胞交织成网。对贴壁分化后的NSCs进行免疫化学染色,其表达神经元和胶质细胞的特异性蛋白。而未加入条件培养基的对照组,NSCs仍呈悬浮生长,未见大量细胞贴壁生长及分化。结论 在完全去除BMSCs细胞的情况下,含有大鼠BMSCs分泌的细胞因子的条件培养基对NSCs的贴壁分化

有显著的促进作用。

关键词 间充质干细胞;神经干细胞;分化;条件培养基

中图分类号 R 363

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2014)05-0598-05

神经干细胞(neural stem cells, NSCs)是来源于神经组织的未成熟细胞,能够在体内分化为神经元、少突胶质细胞和星形胶质细胞,替代原来受损的神经细胞,从而促进脊髓损伤后功能的恢复^[1]。骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)则属于成体干细胞的一种,具有多向分化的潜能,在特定的条件下能够分化成为成骨、脂肪、神经、内皮祖细胞等。在大量细胞移植治疗脊髓损伤的实验研究中,BMSCs因具有的抑制炎症反应和细胞的凋亡、促进轴突和血管再生等而被广泛应用^[2]。然而,BMSCs的移植也有着许多不利的方

2014-02-24 接收

作者单位:安徽医科大学第一附属医院骨科,合肥 230022

作者简介:宋旆文,男,硕士研究生;

申才良,男,教授,主任医师,硕士生导师,责任作者,E-mail:shencailiang1616@163.com

- [6] Sayed Razavi M, Shirani E. Development of a general method for designing microvascular networks using distribution of wall shear stress[J]. *J Biomech*, 2013, 46(13):2303-9.
- [7] Sun L L, Zhang L, Meng X L, et al. Effects of fluid shear stress on the expression of Omi/HtrA2 in human umbilical vein endothelial cells[J]. *Mol Med Rep*, 2013, 7(1):110-4.
- [8] Vozzi F, Bianchi F, Ahluwalia A, et al. Hydrostatic pressure and shear stress affect endothelin-1 and nitric oxide release by endothe-

lial cells in bioreactors [J]. *Biotechnol J*, 2014 9(1):146-54.

- [9] Dolan J M, Meng H, Sim F J, et al. Differential gene expression by endothelial cells under positive and negative streamwise gradients of high wall shear stress[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2013, 305(8):C854-66.
- [10] Frangos J A, Eskin S G, McIntire L V, et al. Flow effects on prostacyclin production by cultured human endothelial cells [J]. *Science*, 1985 227(4693):1477-9.

Simulate the hemodynamic environment of umbilical vein to design a device

Yin Zongzhi¹, Chen Suhua², Ai Jihui², et al

(¹Dept of Obstetrics and Gynecology, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022; ²Dept of Obstetrics and Gynecology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030)

Abstract Objective The hemodynamic environment of umbilical vein have the crucial role in fetal growth and development. A device can simulate the umbilical vein venous pressure and fluid shear stress experiment at the same time is needed in in vitro study of biological function of umbilical vein. **Methods** Parallel plate model was used for structural optimization to simulate the fluid shear stress of umbilical vein. An airtight storage tank was used to simulate venous pressure. **Results** Mechanics calculation found that the device could effectively simulate the fluid shear stress and venous pressure exactly as in the umbilical vein. **Conclusion** The device can be used to study the biomechanical characteristics of the umbilical vein endothelial cells *in vitro* under dynamic environment.

Key words umbilical vein; hemodynamic; fluid shear stress; venous pressure