

(16) 96-102

出血性休克时血浆层的实验研究

R605.971

~~R544.64~~

R318.01

常晓年

(北京工业大学生物医学工程研究室, 100022)

张坚[✓] 修瑞娟

吴云鹏

(中国医学科学院微循环研究所, 100005) (重庆大学生物工程研究中心, 630044)

A

摘要 在对12只雄性大鼠提睾肌出血性休克微循环血流在体观察基础上, 用高倍显微闭路电视摄像系统和微循环数字图象处理(MCIP)技术, 实现了对微动脉血流中的边缘流血浆层在体条件下的动态测试, 并从血液流变学的角度跟踪研究了出血性休克的形成、发展、恢复各时期微动脉中缘流血浆层厚度随RBCs速度的发展机理。实验研究表明, 血浆层的厚度随血流速度的降低而减少, 当血浆层消失时, 血流并没有停止, 因此, 由于血浆层的发展超前于流速的发展, 血浆层的消失是造成微循环障碍的主要原因之一, 在休克的预后治疗中, 微动脉中的血浆层是一个重要的评价指标, 以此来监测血浆层的发展, 恢复血流紊乱中的血浆层是重要途径之一。

关键词 休克微循环, 血浆层, 血液流变学

分类号 R318

出血性

0 引言

随着显微电视摄像技术的出现, 在休克发展过程中的微血流的紊乱已越来越引起人们的重视^[1]。80年代初就有研究表明: 在正常快速流动的血流中, 红细胞趋向中心轴流区域, 被边缘血浆层与管壁隔开, 不会接近管壁漏出, 只有在血流停滞刚要产生之前——停滞的边缘状态, 血细胞才会因轴流紊乱而接近管壁^[2]。微血流紊乱这一病理现象的出现, 导致一系列微循环流变学异常, 如: 红细胞聚集、血细胞与内皮细胞的相互作用、血浆渗漏、血流“淤泥”化、DIC的产生等^[1]。因此, 研究休克微循环血流中边缘血浆层的发展和展复有重要的理论和临床价值。目前, 国内外对休克微循环中血浆层发展的定量研究尚未见报道, 本研究中, 我们采用高倍显微闭路电视摄像系统以及本实验室的MCIP技术, 在活体条件下观察大鼠提睾肌在出血性休克过程中微动脉血流流态的变化, 将微动脉中边缘血浆层作为描述血流紊乱的动力学指标, 跟踪研究休克微循环中血浆层厚度随RBCs流速的发展过程, 以探索出血性休克产生的动力学机理。

收稿日期: 1995-10-18

1 材料与方法

1.1 实验动物及制备模型的选择

12只雄性 Wistar 大鼠, 年龄 6~7 周, 体重 142~224 g, 由中国医学科学院动物中心提供。由于大鼠提睾肌极薄, 其各种管径的微血管, 在透射照明下成象清晰, 适用各种微循环参数的测定, 本研究选择提睾肌微循环建立出血性休克实验模型, 采用固定血压法(血压固定值为 5.33 kPa(40 mm Hg)), 建立出血性休克模型。采用 Beaz 报道的方法制备提睾肌微循环观察模型^[4]。主要研究提睾肌中微动脉中管径和流速的变化及血浆层的发展, 并进行定量分析。

1.2 生命维持及监测系统

用戊巴比妥钠腹腔注射(60 mg/kg), 麻醉后做颈动脉、股动脉插管, 以红外保温灯使动物肛温维持在 $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$, 颈动脉插管连接压力传感器并用 RM-6000 型生理记录仪记录血压波形、心率的变化, 以 Kreb's 液($30\sim 35\text{ }^{\circ}\text{C}$; $\text{pH}=7.2\sim 7.4$; $\text{PO}_2 4.44 \pm 0.64\text{ kPa}$) 连续灌流提睾肌表面, 经 30 min 对照期后, 经股动脉放血使血压下降到 5.33 kPa 的休克状态, 维持 30 min, 然后输入治疗液(706 溶液, 江苏, 常熟制药厂生产, 批号 86120424), 恢复 30 min, 实验连续跟踪监测 2 h, 每隔 30 min 取股动脉血在 ABL-3 型血气分析仪上测 PO_2 、 PCO_2 、Hb、pH 等指标, 以监测动物的呼吸状态。完成的提睾肌制备如图 1、图 2 所示。



图 1 大鼠提睾肌的制备模型(1600×)



图 2 大鼠提睾肌的制备模型(1600×)

1.3 大鼠出血性休克血压的选择

在本实验选择的动物体重范围内, 休克期维持平均血压在 5.33 kPa 是非常重要的, 平均动脉压 $P \leq 4.67\text{ kPa}$ (35 mm Hg), 动物很快出现心律减慢而死亡, 当 $P \geq 6.00\text{ kPa}$ (45 mm Hg) 时, 血压逐渐回升而达不到休克的目的, 因此, 本实验的休克血压应维持在 $4.67\text{ kPa} \leq P \leq 6.00\text{ kPa}$ 范围内。图 3 给出了实验过程中平均血压的变化。

1.4 实验观察显微摄像记录系统数字图象处理系统

采用 OPTON-ACM 型 (OPTON 公司, 德国) 万用显微镜 (10× 物镜), 卤素灯透射照明 (12V、100W) 将 JVC BY-110E 型 (日本) 摄像机安装其上, 每一实验动物各期的录象, 用 NV-8200 VHS 型 (日本) 录相机记录在录相带上, 系统总放大倍数为 1600×. 再回放录相, 采用 MCIP 数字处理技术进行缘流“血浆层”和流速的动态测试, 实验测试系统如图 4 所示.

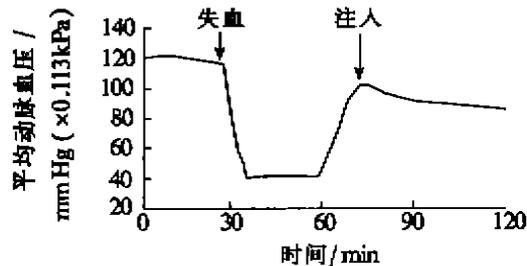


图 3 平均动脉压的变化 (恢复期注入 706 溶液, $P \leq 0.05$)

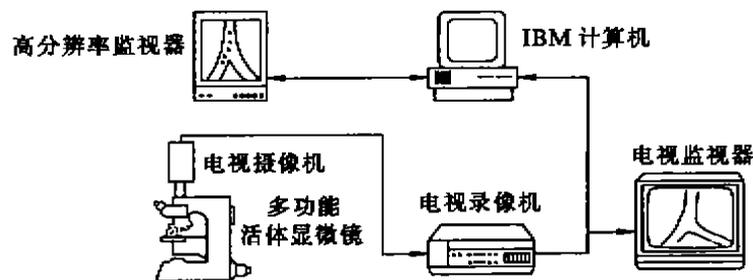


图 4 显微闭路电视图象处理系统

1.4.1 血管内径、细胞柱直径、血浆层厚度 (Δ) 测量

采用 MCIP 系统, 用微血管边缘自适应阈值识别和自跟踪检测技术, 进行管径、细胞柱直径、血浆层厚度的测量 (1 次 / min) 测量时通过调整自适应阈值的大小, 使图象处理系统自动识别管壁外缘、内缘和红细胞柱边缘, 从而实现它们的动态自动测量 (见图 5).

1.4.2 细胞的流速测试

采用 MCIP 系统中的飞点跟踪技术^[9], 以人机交互方式, 由计算机产生一系列飞点标志标记在红细胞上, 跟踪红细胞的流动, 测量轴流中心 RBCs 流速和轴流边缘 RBCs 流速 (见图 6). 测试间隔: 1 次 / min.

测试过程为: 正常期 → 失血期 → 休克期 → 注入期 → 恢复期.



图 5 管径测量照片(1600×)



图 6 流速测量图片(1600×)

2 实验结果

2.1 血管内径、细胞柱直径、血浆层厚度的变化

由大鼠提睾肌微动脉血流实验观察可以看出,在正常血流状态下,微动脉血流中,血细胞向轴集中,形成轴流流动,管壁边缘形成血浆层.随着休克的形成和发展,缘流血浆层随流速的降低而逐渐消失.此时血细胞聚集,轴流紊乱,血细胞趋近管壁与内皮细胞产生相互作用.注入治疗液(706溶液)后,血浆层随流速的逐渐增大而逐渐恢复.由图7可以看出,在失血过程中,管径收缩,且有明显的自律运动,实验表明:正常期管径平均值为: $D = 151.12 \pm 11.41 \mu\text{m} (X \pm S)$,休克期管径的平均值为: $350.00 \mu\text{m}$,正常期血浆层厚度的平均值为: $\Delta = 13.83 \pm 1.54 \mu\text{m}$,休克期 $\Delta \leq 0$ (见图8). $\Delta < 0$ 的意义是指:在休克时,平均管径减小,管壁的通透性增高,血浆渗出管壁,可以认为有负血浆层存在.图9给出了各期流态的变化图象.

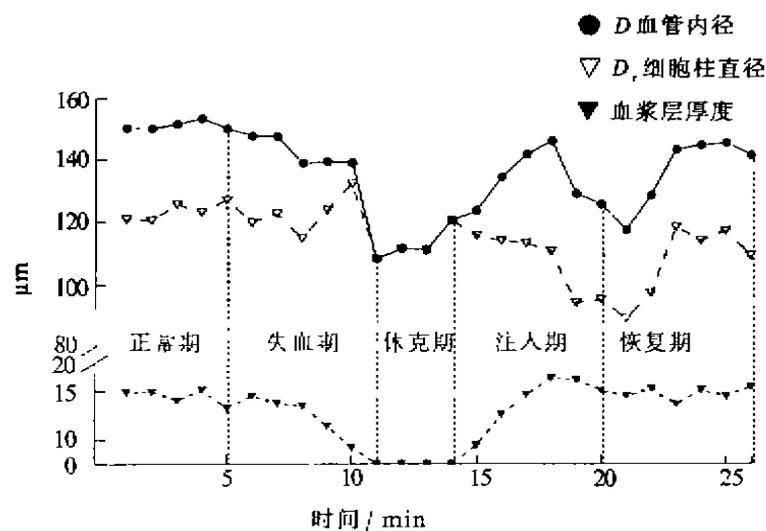


图 7 血管内径、细胞柱直径、血浆层厚度各期变化的实验曲线

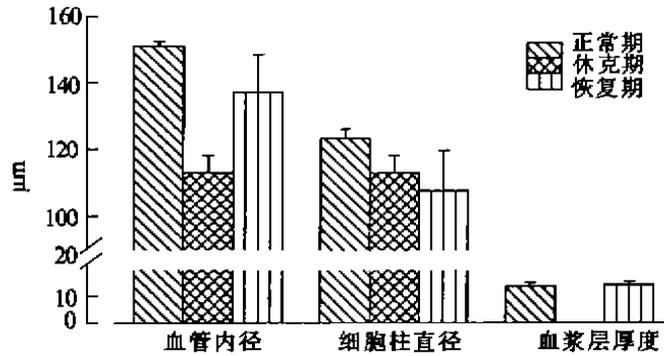


图8 血管内径和血浆层厚度各期变化的平均值(12只 Wistar大鼠)



图9 活体条件下各期微动脉血流的实拍图片(放大倍数:1600×)

2.2 红细胞(RBCs)流速的变化

由实验观察和跟踪测试可以看出,随着休克的产生和发展,流速不断降低,大鼠提举肌微动脉的正常血流为 $V_z = 1630 \pm 44.72 \mu\text{m/s}$ ($\bar{X} \pm S$), $V_c = 520.00 \pm 44.72 \mu\text{m/s}$, 当休克产生,流动缓慢,血细胞和血浆的流动分离,血细胞聚集,血流“淤泥”化,但值得注意的是,我们的实验表明,休克期血浆层消失($\Delta=0$)时,血流没有停滞($V_z \neq 0$),血细胞靠近管壁,受壁面剪切力和细胞膜静电引力的作用,沿内皮滚动,导致细胞膜损伤,此时,血细胞的平均流速为: $V_z = 350.00 \pm 57.74 \mu\text{m/s}$ (见图10).

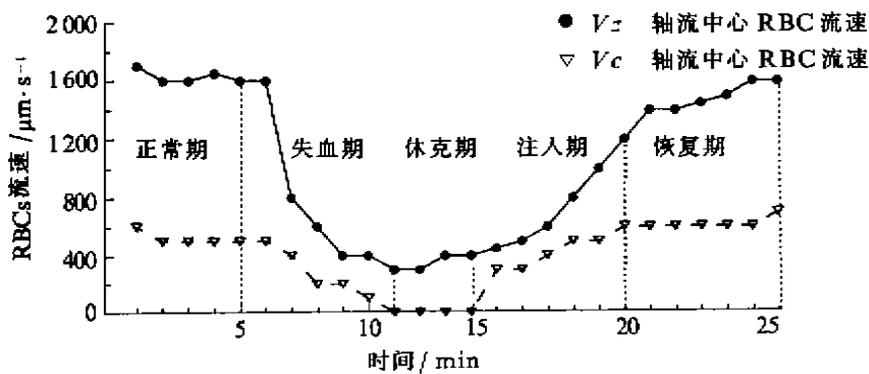


图10 RBC流速变化实验曲线

3 分析与讨论

本实验从微循环流变学的基本观点出发, 是国内外首次在活体条件下对微动脉中血浆层的存在的意义和发展的病理机制(以出血性休克为例)进行了定性和定量探索性研究, 通过 MCIP 技术对微动脉中血浆层和流通的变化进行了连续跟踪研究, 由此, 给出以下几点讨论:

1. 每一生物在正常生理状态下微动脉中有一常值随管径自律运动波动的血浆层, 在正常血流状态下, 微动脉中血浆层的存在, 隔离了血细胞与内皮细胞的相互作用, 血浆层作为血细胞和内皮细胞之间的润滑层, 防止血细胞膜和内皮细胞膜受到损伤, 维持毛细血管中正常的微循环血流灌注, 所以微动脉中的血浆层(Δ)是一个重要的微循环参数. 实验表明, 微动脉中的血浆层随流速的增加而增加, 当 HCT 不变时, 血浆层趋于定值, 反之, 血浆层随流速的降低而减少.

2. 休克产生和发展的过程中, 流速逐渐降低, 出现轴流紊乱, 在休克发展的 30 min 内, 缘流血浆层消失(或血浆层为 0), 在通常情况下, 当血浆层消失时($\Delta=0$), 流速并没有减至零值, 通过实验观察, 我们认为: 轴流紊乱, $\Delta=0$, 是休克发生早期的血流动力学信息, 注意到这一微循环流变学指标是非常重要的, 因为血浆层消失, 血细胞与内皮细胞之间产生相互作用, 而休克时细胞膜的变形能力下降, 引起内皮细胞损伤, 激活凝血因子, 导致 DIC 发生, 以致于休克难以恢复.

3. 由于休克的发生和发展, 血浆层的消失, 导致一系列微循环流变学异常, 低血流下的 RBC 聚集, 低血流下的二相流动, 细胞的沿壁运动, 细胞膜的变形性降低, 血细胞与内皮细胞的相互作用, 小静脉中 WBC 在内皮细胞上的粘附血浆层与 DIC 的关系, 血浆层厚度与自律运动的关系等微循环流变学问题有待于深入研究.

参 考 文 献

- 1 田牛. 微循环方法学. 北京: 原子能出版社. 1993. 8~11
- 2 修瑞娟. 微循环障碍的几个重要环节. 当代中国的微循环研究. 北京: 国际文化出版公司, 1987. 99~106
- 3 赵克森. 休克微循环与细胞流变学的变化. 中国病理生理学报. 1985. 1(2): 47
- 4 Beaz S. An Open Eremaster Muscle Preparation for the Study of Blood Vessels Byin Vivo Microscopy. Microvascular Res. 1973. 5: 384~394
- 5 应晓优. 微循环图象处理 I. 微循环图象处理系统的研制. [学位论文]. 北京: 协和医科大学, 1988

The Experimental Research on Cell-Free Plasma Layer of Microcirculation of the Rat in Shock

Chang Xiaonian

(Institute of Biomedical Engineering, Beijing Polytechnic University, 100022)

Zhang Jian Xiu Ruijuan

(Institute of Microcirculation Peking Union Medical College,
Chinese Academy of Medical Sciences, 100005)

Wu Yunpeng

(Bioengineering Center, Chongqing University, 630044)

Abstract On observing the microcirculation blood flow of 12 rats suffering from cremaster muscle hemorrhagic shock in vivo, the test for dynamic determination of edge cell-free plasma layer in arteriolar blood flow in vivo is conducted using the high magnifying microscope video image system and through microcirculatory digital imageprocessor (MCIP) techniques. The expansible mechanism of the cell-free plasma layer of rat in hemorrhagic shock is studied by tracking in accordance with hemorrheology. The experiment studies indicate that the plasma layer thickness decreases while lowering RBCs velocity, and the blood flow doesn't stagnate when the plasma layer disappeared. The experiment shows the decreasing speed of the plasma layer thickness is greater than that of RBCs velocity, It indicates that one of the major factors that effects upon the microcirculatory disorder is the gradual disappearing performance of cell-free plasma layer. The thickness of the cell-free plasma layer in microvessels will be one of the important clinical parameters for reference in outcome treatment with patients recovered from shock; monitoring the expanse of cell-free plasma layer is of great help to turn the plasma layer to normal when the blood flow is disordered.

Keywords shock microcirculation, plasma layer, hemorrheology