

# 动态材料试验在网络形成系统中的生物学应用和临床应用

Larry V. McIntire

【美】 Rice 大学化工系

## 引言

肌体过程的流体力学是一个显然重要的课题。有许多流体，包括血液、淋巴液及浆液，必须沿管肌体的各种管道输送，近来已发表了许多以血液动力学和血液流变学为主题的述评，其中包括 Chidseith and Skolak (1975) 的一节。但对淋巴液和粘液研究得不充分。所有这些流体的流变性能，对这些流体的运行是非常重要的。有时这些材料性能的微小变化（例如精液的弹性）会引起肌体各部分输送能力的巨大改变（例如纤毛的输送）。由于循环的各部分中流体的流动和导管直径的神经控制之间的相互关系复杂，对这些流体的流变学研究当然不足以预测实际在体实验中的流动，但是为了能够进行流动计算，这种研究是必要的。也许更重要的是，对生物流体流变学的离体研究可以用来探求病理状态的根源，这些病理状态大大改变了流体的结构。因此，对这些流体的流变学知识，可以使人们了解疾病的生物化学和生物物理状态。此外，还可以预测使流体流变性能转变为正常所需的合理的药物治疗。

由于生物流变学和生物流体力学的领域太广阔，因此本述评将集中于用动态流变试验技术来描述在体条件下可以形成三维蛋白网络的两种重要流体。这些网络的形成大大改变了流体的流变学性能，把低粘度的几乎是牛顿流体的液体转变为粘弹性的凝胶体。这种转变对该材料此后的流体动力学经历来说，具有重要意义。所涉及的两个方面是凝固结构的形成以及粘液的粘弹性性能。虽然，初看起来，血浆和粘液好象完全不同，但是，当流体中所含的一些蛋白质被某些酶作用时，或者当物理-化学环境急剧改变时，二者都能形成网络结构。因而，研究这种结构形成所必需的流变学设备是相同的。为了这个目的，小幅振动试验是理想的，因为不致因进行测量而破坏网络结构（象用粘度测定法那样）。并且，可以用网络理论把所得到的材料性能（弹性模量和粘性模量）与基本的分子结构联系起来。

首先探讨凝固的流变学，包括对凝固生物化学和用于这些研究的流变学设备作简要的叙述。

## 凝固的基础知识

凝固实质上是蛋白质单体纤维蛋白的聚合和交联，蛋白质单体纤维蛋白是循环着的血液蛋白质，纤维蛋白原在蛋白水解酶的作用下形成的。“凝固级联”是血液中循环着的酶原的连续活化，最终使得纤维蛋白原转变为纤维蛋白 (Williams 1977)。“凝固级联”的酶，连同钙和纤维蛋白原，一起被称为凝固因子，并以罗马数字表示 (图 1)。由于异体表面接

触（因子XII的活化作用）而发生的凝固，是靠“内部的”系统进行的。如果凝固过程是由因子VII和组织活化剂激发的，“外部的”系统就起了作用。在因子X的活化作用之后，外部机制和内部机制便合而为一（图1）。术语“级联”是由观察到酶的活化作用连续出现而提出的（MacFarlane 1964）。在控制凝固级联时，反馈作用很重要。自动催化作用一旦形成，凝血酶便会起作用，并提高因子X的活化作用率。酶抑制剂也显著影响凝固率。循环系统中主要的抑制剂是抗凝血酶III和 $\alpha_2$ 巨球蛋白。抗凝血酶III是丝氨酸蛋白酶凝血酶（Abildgaard 1967）、因子X<sub>a</sub>（Yin, Wessler and Stoll 1973）、因子VII<sub>a</sub>（Koskenberg, McKenna and Rosenberg 1975）以及因子XII<sub>a</sub>（Stead, Kaplan and Rosenberg 1976）的一种抑制剂，而 $\alpha_2$ 巨球蛋白主要是一种凝血酶抑制剂（Abildgaard 1969）。

纤维蛋白的单体的循环的前身是纤维蛋白原，以分子量约340000的一个蛋白质。纤维蛋白原分子由A $\alpha$ 、B $\beta$ 和 $\gamma$ （分子量分别为34000、57000和48000）三对肽链构成（McDonagh et al 1972）。这些肽链由28—29个二硫桥（Henschen 1964）以及静电相互作用和氢键连所连接。在生理的PH值下，纤维蛋白原分子是直径22—23  $\mu$ m和迴旋半径11  $\mu$ m的小球（Hudry - Clergeon et al 1975, Koppel 1970）。这种构象主要是靠带负电的N末端二硫结和带正电的A $\alpha$ 、B $\beta$ 和 $\gamma$ 链的C末端之间的强静电吸引决定的。

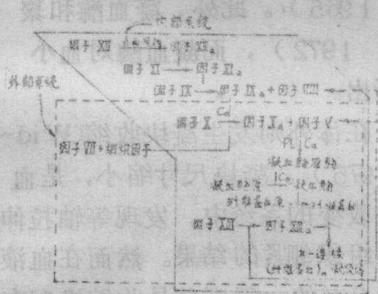


图1 血液凝固的级联系统。无箭头的实线表示催化作用。实线箭头表示基质或反应物转变为生成物。有箭头的虚线表示因子VII和V的作用被凝血酶所强化。Ca为钙，PL为磷脂

纤维蛋白是用凝血酶通过纤维蛋白肽A和B（A $\alpha$ 和B $\beta$ 链的带负电的N末端）的分裂而转化为纤维蛋白的（Blomback et al 1966）。由于C末端和N末端点之间不再有静电相互作用，所以分子伸展而形成“压扁了的”T字形状（图2）。这时，这些纤维蛋白单体靠静电结合成纤维蛋白凝胶，它由T字形分子线性排列而成（Pouit, Hudry - Clergeon and Suscillon 1973）。

因子XIII是凝血酶活化了的转酰氨基酶，它促使纤维蛋白的 $\alpha$ 链和 $\gamma$ 链之间 $\epsilon$ -( $\gamma$ -谷氨酸)赖氨酸键的形成从而得到 $\alpha$ 聚合物和 $\gamma$ 二聚物（Chen and Doolittle 1970, McKee, Mattock and Hill 1970, Kanaide and Shainoff 1975）。每个纤维蛋白单体形成六个共价交联的整体（

Pisano et al 1972）。这些交联的形成，产生一种机械强度大大提高了的凝体，不溶于破坏氢键连和电荷相互作用的物质。

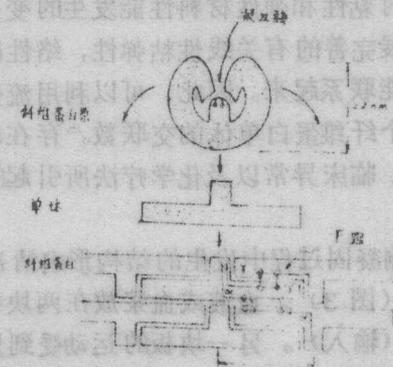


图2 纤维蛋白原和纤维蛋白交联的酶促聚合。纤维蛋白肽A和B的解离，降低了C末端和N末端的相互作用。随着有关形成线性纤维蛋白阵列（氢和静电键连以及疏水（的相互作用）和交联（共价键连）的一些位置暴露后结构的改变。

一般用钙螯合剂，如枸橼酸，乙二胺四乙酸 (EDTA) 或乙二醇双乙胺醚--N,N-四乙酸 (EDTA)，在体外进行抗凝。因为在凝固级联中，钙是一种必要的辅因子，所以这种二价阳离子的螯合防止了凝固因子的活化。

肝素双番豆素是体内抗凝治疗的主要药物。肝素大大提高抗凝血酶Ⅲ的活力 (Stead, Kaplan and Rosenberg 1976)，而番豆素抗凝剂则通过肝脏抑制与维生素有关的凝结对因子的产生 (Hemker, Vetkamp and Loeliger 1968)。

血小板是圆盘形的血细胞，平均体积为  $5-7.5 \mu m^3$ 。人的全血中，血小板浓度的正常范围是  $1.5 \times 10^5-4.0 \times 10^5$  血小板/ $mm^3$ 。当血管损坏时，内皮下组织 (类似于胶原) 便暴露出来。由于这种胶原状材料的出现，也由于损坏了的细胞释放出腺苷二磷酸 (ADP) 血小板便附着在这种材料的表面。由于其它一些血小板的聚集，血小板栓在开始粘附之后继续增长。在循环中，这种止血功能受血液流动的影响。血液流动产生血管壁剪切应力，把聚物从破伤部位除掉 (Baumgartner 1973)。

除了形成止血栓 (血小板聚集) 之外，血小板也直接与凝固级联相互作用 (Niewiarowski et al 1968)。因子Ⅺ和Ⅻ的活化作用会被血小板增强，而因子Ⅻ则防止钝化作用 (Schiffman, Rapaport and Chong 1937)。同样，富磷脂的血小板膜对因子的活化作用所起的影响可能象催化剂的表面 (Silver 1965)。此外，凝血酶和聚合着的纤维蛋白引起血小板聚集 (Niewiarowski et al 1972)，而凝血酶对血小板的作用则能引起含有血清素和其他化合物的血小板颗粒析出。

血小板与聚合着的纤维蛋白相互作用，并附着于其上，在体外则发生凝块收缩 (Widmer and Moake 1976; Niewiarowski et al 1975)。凝块尺寸缩小，是血小板收缩和纤维蛋白链长度缩短的结果。在凝块体积不允许改变的系统中，发现等轴拉伸或凝块动态弹性模量的增大，是由于血小板收缩而造成网络组织绷紧的结果。然而在血液流动的情况下，血小板并非在纤维蛋白网络内到处都是均匀分布的，很可能是收缩机制在止血过程中仍起重要作用。在体内，血小板-纤维蛋白基质的绷紧多半起闭合伤口的作用而凝块缩小尺寸则防止血管阻塞。

**利用流变学研究凝固** 当血液中形成纤维蛋白凝块时，富血小板血浆或贫血小板血浆的材料性能发生巨大变化。血浆由基本上是牛顿粘性流体转变成凝胶样的材料，具有弹性固体的很多性能。这些材料性能的变化，已成为通常用于临床血液学很多定性凝固试验的根据。近来，随着定量测量动态材料性能的流变学技术灵敏度的改进，已有可能观测凝块结构形成时粘性和弹性材料性能发生的变化。测量具体材料的性能极其重要，因为这样就可以应用发展完善的有关线性粘弹性，络性能的理论。这些理论把网络的分子结构和所测得的流变性能联系起来。因此，可以利用流变学的数据来得到生物化学上极为重要的信息，例如形成每个纤维蛋白单体的交联数。存在着用这些新数据去定量地探讨下列问题的潜力，由于机械力、临床异常以及化学疗法所引起的网络形成的动力学的改变和血小板功能的改变。

为了观测凝固过程中发生的结构形成情况，大多数研究使用了动态材料试验技术。原理上很简单 (图 3)。血液或血浆放在两块平行板 (或其他压板结构) 之间，其中一块板作小幅振动 (输入)。另一块板的运动受到监测 (输出)，并且计算输入和输出的相位差和振幅比。应用线弹性理论，可以算出累积 (即弹性) 模量  $G'$  及耗损 (即粘性) 模量  $G''$

为了观测凝固过程中发生的结构形成情况，大多数研究使用了动态材料试验技术。原理上很简单（图3）。血液或血浆放在两块平行板（或其他压板结构）之间，其中一块板作小幅振动（输入）。另一块板的运动受到监测（输出），并且计算输入和输出的相位差和振幅比。应用线弹性理论，可以算出累积（即弹性）模量 $G'$ 及耗损（即粘性）模量 $G''$ （Walters and Kemp 1968）。由于在整个采集数据期间，化学反应很微弱，所以试验频率必须高到足以改变材料的性能。通常用于这些测量的三种机械是Weissenberg流变性测定仪、流体流变仪和粘粘弹记录器。用正常再钙化的血浆试样所得到的典型数据示于图4。零时是再钙化的瞬间。对于富血小板血浆（PRP）试样，模量急剧上升，在与纤维仪时间很好关联的一个初始延迟之后，它经过一个极大值后，随时间下降（或衰减）。PRP的最高弹性模量，比具有相同纤维蛋白原浓度的无血小板系统中的峰值模量大一个数量级以上。

血小板提高凝块刚度的方式是不确定的。血小板含有少量纤维蛋白原（PRP含 $\sim 5 \text{ mg} / 100 \text{ mg}$ ），但这对于最大模量提高一个数量级来说无疑是不足以计及的。它们含有磷脂（血小板因子 $\text{III}$ ）和其他参与凝固机制的成分。血小板可以成为集中聚合作用能力的场所，这种聚合作用能力可以形成具有最佳分子结构（即较大的有效交联密度）的最终凝块。也许血小板的表面性能通过控制纤维蛋白的聚合而起到提高凝块强度的作用（Walsh 1974）。

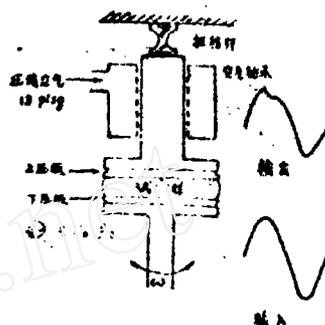


图3 动态试验中应用的Weissenberg流变性测定仪和流体流变仪的典型压板结构示意图。可以在微处理机中用软件程序（Weissenberg）或用硬线回路板进行数据处理。当与稀蛋白质溶液打过交道时，因为在输出信号中出现噪声，数字的过滤或和交叉关系的分析就非常重要



图4 用无血小板血浆（PFP）或富血小板血浆（PRP）形成凝块时得到的弹性模量（ $G'$ ）和粘性模量（ $G''$ ）的典型数据。时间零是枸橼酸钠血浆试样再钙化的瞬间。迟后时间（ $t_0$ ）是由于应当在纤维蛋白单体开始聚合之前出现的反应级联所造成

凝块收缩的现象是血小板和纤维蛋白相互作用的体现，这已被广泛地研究过了。图4中的数据表明，当血小板存在时 $G'_{\text{max}}$ 增大。对这种情况的一种合理的解释涉及凝块的

收缩, 即血小板和纤维蛋白的相互作用是一种力学过程(就流变性能而论), 而不是化学过程。其证据已由 de Gaetano, Bottechia and Vermeylen (1973) 报告过了。在他们的研究中, 用血栓弹力描记术(thromboelastography) 来研究凝块形成过程中凝块收缩的变化。结果似乎表明, 凝块收缩越大, 凝块强度也越大, 并且这两种过程是与时间的变化一致的。以前有关聚合物的研究表明, 模量的增大可以作为拉伸应变的结果而得到, 表面看来这好象是由于网络重新取向所致(Nielsen 1962)。当网络不是牢固地附着于表面上时, 在血小板存在的情况下, 产生凝块收缩。在流变性测定中, 凝块仍然附着于压板表面。因此, 在整个网络中不是出现收缩, 而是发生了应变(三维的)。于是我们认为, 在PRP的情况下, 动态振动与发生了应变的状态(即“绷紧网络”的状态)不符合; 而在无血小板血浆(PFP)的情况下, 动态振动与未发生应变的状态(即“松弛网络”的状态)不符合。可以根据凝块收缩数据来估算含有血小板的凝块的“有效”应变值。Kuhnke and Brilla (1964) 把凝块收缩值定为血小板浓度的函数。他们指出, 凝块收缩的长度  $L$  (cm) 是代表收缩量的值。例如, 如果原始长度是  $10\text{cm}$ , 则剩余长度是  $(10-L)$ 。如果纤维的长度重新伸展到原长, 应变就是  $L/(10-L)$ 。对他们的数据的解释表明, 在一个含有  $320000$  血小板/ $\text{mm}^3$  的完全形成的凝块中, 应变或伸长率约为 4。在一个含有  $125000$  血小板/ $\text{cm}^3$  的凝块中, 有效应变估计是 1。根据公认的工程学原理, 应变为 1 代表纤维初始长度的 2 倍。因而, 在凝块收缩过程中应变很大, 并且是造成血小板时剪切模量有惊人影响的主要原因。

在PRP中, 模量达到最大值之后的下降也可能与存在内部应变现象有关。典型的情况是, 粘弹性材料在常应变状态下表现出应力松弛, 即与时间相关的模量  $G(t)$  为

$$\sigma(t) = \gamma G(t)$$

式中  $\sigma(t)$  是由于常应变  $\gamma$  引起的与时间相关的应力。这种松弛可能是纤维蛋白丝的真实粘弹性性能造成的, 或者(更可能)是血小板收缩作用的松弛或疲劳, 以便允许网络回复到它的原始状态。最大模量的下降, 也可能是溶解纤维蛋白的活力随着纤维蛋白凝块遭受破坏的结果。然而, 模量出现下降的初期(约在再钙化后 30 分钟)表明, 纤维蛋白溶解并不是一个重要因子。比值  $G''/G'$  给出了输入能量衰变到凝块中能量的弹性储存这种粘性耗损的重要性的估算。

提纯的纤维蛋白原—凝血系统的研究 Kaibara and Fukada (1970, 1971, 1973a, b, 1976, 1977) 进行了由提纯的纤维蛋白原形成的纤维蛋白凝胶的流变学的广泛研究。他们研究了纤维蛋白原浓度和凝血浓度、温度, 以及离子强度对凝胶的平行性能和结构形成的动力学的影响。Roberts, Lorand and Mockros (1973) 以及 Mockros, Roberts and Lorand (1974) 用提纯的纤维蛋白原系统观察了因子 XIII 的活力对凝块流变性能的影响, 此外研究了离子强度和纤维蛋白原浓度对动态储存模量和损耗模量的变化。Roberts et al. (1974) 和 Gerth, Roberts and Ferry (1974) 研究了引起和不引起因子 XIII 交联两种情况下纤维蛋白凝块中的应变性能和流体渗透现象。

无血小板血浆 (PFP) 临床上更感兴趣的是 PFP 系统的性能(血浆由血液经过高速离心作用除去所有有形成分而制出), 这里有全部原始的凝血因子, 并且可以研究蛋白质而不是纤维蛋白原的变化。Clever et al (1975a) 把自体因子 II 的抑制作用与呈现因子 II 低活力的病人身上的血浆作了比较, 发现凝块形成时的交联异常极其相似【应用十二烷基硫酸钠 (SDS) 聚丙烯酰胺凝胶电泳】, 并发现有相同的最低平均弹性模量。这

里存在着这样一种可能,即用流变方法来探讨低活力因子,如因子VIII(抗血友病因子)或因子XII[Christmas因子(即抗血友病因子B——译者)]所引起的结构形成的动力学变化。

**富血小板血浆 (PRP)** PRP中结构形成的流变学,可以用来估算临床上重要的血小板-纤维蛋白相互作用。PRP是用血液经低速离心作用而得到的,其中除去了红细胞,但在上层中留下了大量血小板。Glover et al (1975b)定量地测出了正常血小板对凝块流变性能的影响,同时还观察了一些病理学上血小板异常的影响。在通过人造器官,如心-肺旁通管或肾透析器时,血小板聚集和血栓形成是一个严峻的临床问题。离体研究中考察剪应力对血小板-纤维蛋白相互作用的影响表明,在这些人造器官中出现应力,就会提高凝块形成率,引起血小板聚集,并且降低应力出现后形成的凝块的机械强度( $G'$ ) (Glover et al 1974, 1977)。这些离体研究的结果,一般说来与做为对比的增加血栓形成(血小板聚集)的临床观察是一致的,并且来自(降低凝块机械强度的)血管部位的出血问题仍是严重的。

流变学的研究在探讨血小板-纤维蛋白相互作用方面也会有很大价值,从而间接地在了解血小板收缩的生物化学问题方面也会有很大价值。Kuntamukkula et al (1978a)应用动态材料试验结合生物化学分析,研究了内部血小板环腺苷酸(cAMP)对血小板收缩性的影响。此外,Kuntamukkula et al (1978b)曾提出用这些流变学技术来监测药物治疗(例如癌的化疗)对血小板可能的有害影响。

Cohen and DeVries (1973)及Cohen et al (1975)使用了完全不同的装置来研究PRP凝块。在这个装置中,一个预制的圆柱形富血小板凝块等轴地固定在两个夹子之间,测量了由于血小板收缩引起的纤维蛋白网络等轴绷紧所产生的拉伸力。他们用这种方法估算了每个血小板产生的收缩力。

**抗凝固和凝块裂解的研究** 对于大多数大尺寸外科处置来说,肝素抗凝固是惯常的措施。这里,在为防止血栓和凝块形成的抗凝固与由于过量的肝素引起内部渗血这二者之间,需要仔细的权衡。目前没有真正的好方法来监测体内肝素的含量,而大多数粗糙的凝固试验没有足够的资料去正确指导肝素用量(或抗肝素-精蛋白的需要量)。在两篇有趣的文章中,Overholser et al (1975, 1976)提出用流变学技术研究肝素对血液凝固的影响。根据动力学分析和平衡模量数据,他们断定这种技术很可能是目前所能得到的最好的方法。

一旦凝块已经形成(例如血栓静脉炎),纤维蛋白网络的化学裂解是一种可行的临床疗法。这种疗法是通过直接利用纤维蛋白溶酶或尿激酶(破坏纤维蛋白原或纤维蛋白凝块两种酶),或者通过提供一种对纤维蛋白溶酶(纤维蛋白溶酶原)激发循环酶原的药物来进行的。用于后一种目的的大多数普通的药物是链球菌激酶。此外,流变学技术不但可以用来探索凝块结构的形成,还可用于探索凝块结构的溶解。Kirkpatrick, McIntire and Mlake (1978)指出,对于共价交联的凝块,链球菌激酶凝块的溶解比对于非共价交联的凝块的溶解度低得多。流变学技术在这里也有可能作为一种药物治疗监测技术,以提供有关结构溶解的动力学信息。

**凝固流变学的定量模拟** 凝固级联由13个以上的因子和辅因子组成,它们导致纤维蛋白聚合的各种相互作用还没有充分阐明。因此,目前还不可能有把所有这些单独反应和流变学数据联系起来的详细动力学模型。

为了回答这个问题,大多数模型是以测量凝块团参数的储存模量或损耗模量为基础,得

出一些形状比较简单的方程。通常这些方程实质上是经验性的，并且仅仅对一部分凝血过程适用。必须注意，只有PPP的凝固或是去掉了凝血酶-纤维蛋白原的系统才能充分地模拟。血小板的存在引起妨碍使用这些简单模型的复杂性。

头一批方程组之一是Scott - Blair and Burnett (1963, 1968) 提出的，他们提出凝固的初始阶段和后来阶段的模型分别为

$$G^* = G_{\infty} \exp(-t/\tau)$$

$$G^{**} = A \left( \frac{1}{t} - \frac{1}{t'} \right)$$

式中 $G_{\infty}$ 是完全凝固了的试样的刚度， $A$ ， $t'$ 和 $\tau$ 是由拟合实验数据确定的常数，此外，

$$G^* = [(G')^2 + (G'')^2]^{1/2}$$

它对应于复数剪切模量的大小，是由U形管液计和血栓弹力图得出的。

在模拟储存模量和损耗模量的产生时，Kaibara and Fukada 曾提出如下两个模型：

$$G = \alpha t^{\beta}, \quad G = G_{\infty} (1 - e^{-kt})$$

式中 $G$ 是 $G'$ 或 $G''$ ； $G_{\infty}$ 是最大的 $G'$ 或 $G''$ ； $t$ ， $\alpha$ 和 $\beta$ 是经验常数。这些方程都只拟合 $G$ 随时间变化的数据的一部分，因此，要求用几组参数来模拟全部凝固过程。

假定 $G'$ 与纤维蛋白网络交联密度成比例，Kaibara and Fukada (1973b) 用方程

$$dG'/dt = k(G'_{\infty} - G')^n$$

来表示 $G'$ 的变化率，式中 $k$ 是常数， $n$ 是反应级数。这种方法类似于Mussatti and Macosko (1972) 的方法，后者把模量与交联密度联系起来，并且把交联形成率与形成交联的数目联系起来。Kaibara 也把一个纤维蛋白网络的形成模拟成由两个同步的一级反应产生的。

Glover et al (1977) 把现有的交联的思想引进他们的模型中，并且依赖于酶的程度得到方程

$$dN/dt = k(N_{\infty} - N)^a (t - t_0)^c$$

式中 $N$ 是形成交联的数目， $N_{\infty}$ 是可能达到的交联的数目， $a$ ， $c$ ， $k$ 及 $t_0$ 是常数。复数模量的大小 $|G^*|$ 由方程

$$|G^*| = k N^b - |G_0|$$

与 $N$ 相联系，式中 $|G_0|$ 是未凝固血浆在 $t_0$ 时的复数模量的大小。在只有很小百分比的交联形成的区域中， $(t - t_0)$ 的值很小，模量由

$$G_f = k_2 (t - t_0)^{k_3}$$

描述，式中 $k_2$ 和 $k_3$ 是常数， $G_f$ 是归一化后的多余模量：

$$G_f = (|G^*| - |G_0|) / |G_0|$$

Overholser et al (1976) 建立了一个类似的“化学流变学”模型，用以估计肝素的抗凝固作用。

平衡结构的模拟 可以应用来自有关膨胀的交联橡胶的线性粘弹性理论的模型。研究网络的平衡结构。最早的网络理论之一是橡胶的弹性理论 (Treloar 1967)。这个理论表明, 平衡剪切模量  $G_e$  直接由公式  $G_e = RT\lambda$

与交联密度  $\lambda$  相联系, 式中  $T$  为绝对温度,  $R$  为气体常数,  $\lambda$  为交联密度 (克分子交联 /  $cm^3$ )。Mooney 导出交联网络中动态储存模量  $G'$  和  $G_e$  之间的关系 (例如, 见 Ferry 1970)

$$G' = \lambda RT \left( 1 + \frac{\sum \omega^2 \tau_p^2}{1 + \omega^2 \tau_p^2} \right)$$

因而,  $G'$  的低频极限值 (当  $\omega \rightarrow 0$  时) 必然是  $G_e$  ( $\tau_p$  代表粘弹性网络的特征“松弛时间”)。在低频区域内 ( $\sim 1 \text{ Hz}$ ), 取自凝块的数据表明, 直到  $\omega < 10^2 \text{ Hz}$ , 平衡  $G$  的测量值基本上都与频率无关。因而, 我们得到测得的  $G'$  值很接近  $G_e$ 。如果以橡胶弹性理论为基础的模型至少可以粗略地用于纤维蛋白网络, 则对  $G'$  的那些测量值就可以用来估计 PFP 凝块中平衡交联的密度。

应用 Glover et al (1975a) 的数据, 并利用  $300 \text{ mg} / 100 \text{ ml}$  的生理纤维蛋白原浓度, 我们可以容易地计算出交联密度。如果假定纤维蛋白原的分子量是 330000, 则密度  $\rho$  可以转换成每个纤维蛋白分子的交联。计算得出 3.2 交联 / 纤维蛋白分子。这非常接近 Pisano et al (1971) 所测定的值, 他们用正常人的血浆凝块的生物化学分析, 测得每个纤维蛋白分子有 5—6 交联。如果假定三维  $\alpha$  聚合物是最初的强度支承网络, 则流变学测量将与生物化学分析精确地相一致, 因为通常认为在纤维蛋白中, 每个  $\alpha$  二聚物有 3—4 个交联。

在因子 II 没有活力 (缺乏或受抑制) 的情况下, 凝块的形成表现出  $G'$  值与具有相同纤维蛋白原浓度的正常凝块相比, 大约降为后者的  $1/3$ 。这就意味着在凝块中交联密度下降了  $2/3$ 。Pisano et al (1972) 应用生物化学分析, 发现在他们的因子 II 缺乏的病人中有稍大的下降。这不完全出乎意料, 因为未交联的聚合纤维蛋白凝胶有一个虽然小但不等于零的弹性模量。

通过适当的标定, 上述方法可能提供一种测定纤维蛋白凝块中交联密度的技术, 这在研究因子 II 的异常或纤维蛋白交联的抑制剂方面将是有益的。流变学技术已很好建立起来并且适当注意一下就完全可以重复。可以容易地测出交联抑制剂的数目和类型的改变对交联密度的影响。应用交联网络理论, 可以定量地估计各纤维蛋白丝之间共价交联数的实际变化。

用橡胶弹性理论粗略地近似模拟交联的纤维蛋白网络, 无疑是最好的。该理论要求交联之间的纤维蛋白丝做自由扩散运动—在纤维蛋白结构中则肯定是不可能的。无疑需要有一个更加现实的蛋白质网络结构理论, 在今后几年中, 蛋白质网络结构理应成为一个活跃的研究领域。

粘液是一种物质,它对肌体内与空气接触的大多数潮湿表面起润滑剂和湿润剂的作用,虽然平常对这种流体并不当一回事,但是粘液流变学方面的改变,能引起密布于支气管壁的纤毛的流体力学,以及肺的功能都发生惊人的变化。因此,研究粘液流变学,也许更重要的是用流变学技术研究粘液蛋白结构的病理改变,可能是一个非常重要的研究领域。

**呼吸病的病理粘液** 许多呼吸疾病中产生大量稠的胶状粘液。由于粘液-纤毛系统的输送机能受到妨碍,这些粘液产生阻塞,加剧感染,最终可以导致肺组织形成瘢痕。人们曾用很大的努力去确定诸如哮喘、支气管扩张、癌肿纤维变性以及慢性支气管炎等疾病中病理粘液的化学依据。然而,对粘液粘弹性的细致的测量表明,在这些疾病的每一种病中都有很大范围的变化,没有唯一的特征值(Heggs et al 1974)。

**粘液中的蛋白质** 交联成一种展开的凝胶网络的粘蛋白糖蛋白,看来可以说明粘液的粘弹性性能(Gibbons 1969, Liti and Khan 1974, 1976)。交联是通过次生键和共价二硫键产生的(Meyer 1976, Roberts 1976, Sheffner 1963)。从由痰中析出被认为是束缚在糖蛋白上的少量蛋白质开始(Gibbons and Roberts 1963),可以看出蛋白质是影响糖蛋白交联的因素(Gibbons 1969)。

粘液中交联蛋白质的来源并未定量地鉴定过,可是粘液凝胶中的各种蛋白质不管是可溶状态的还是非共价束缚状态的,都已经鉴定过了。在未掺杂唾液的支气管分泌物中,在可溶状态下,鉴定过了乳酰肝褐质、白蛋白、 $\alpha_2$  糖蛋白、免疫球蛋白A(Masson et al 1966)以及血管舒缓素(Geynez-Nieux et al 1967)。而且,痰中的15种无血浆蛋白质已经被描述过(Ryley 1972)。大量这种蛋白质是包围着糖蛋白的可溶含水环境的一部分。它容易清洗掉。然而,发现其中某些蛋白质紧紧地束缚在糖蛋白上,并且看来它们是引起聚合成分子量大于 $10^6$ 的超分子结构的媒介。Lewis(1976)认为交联蛋白质是作为粘液小球膜蛋白质产生的,并且因为它形成不可溶的络合物而难以测定。

**糖蛋白的交联** 由于在痰中与糖蛋白形成坚实的非共价络合物,Roberts(1976)用免疫学方法鉴别了乳酰肝褐质和血清蛋白质,白蛋白和免疫球蛋白A。蛋白质不但被次生键而且被二硫键束缚在糖蛋白上。巯基试剂降低离体粘液的粘弹性(Sheffner 1963),并且降低用高盐(Creeth et al 1977)或尿素(Roberts 1976)从粘液中析出的糖蛋白的分子量。用巯基试剂处理过的分子量 $>10^6$ 的提纯糖蛋白,分子量下降到原来的 $1/6$ ,即 $1.8 \times 10^6$ ,看起来变得更加均匀,并且释放出少量分子量约 $10^5$ 的蛋白质(Creeth et al 1977)。在这种蛋白质中,巯基和酸性氨基酸的含量要比伴生的糖蛋白中的高。

Roberts(1976)指出,在呼吸的痰中,糖蛋白由“裸露的肽”共价地结合起来。他证明在一些试样中,裸露的肽与糖蛋白形成一个连续的肽链,而裸露的肽由被二硫桥连接的分开的链所组成。这些聚合体易被胰凝乳蛋白酶裂解。

在已经提出的一个模型结构中,二硫键固定在一个交联蛋白质上,它由次生键与糖蛋白单位连接(Degand et al 1973, Gibbons 1969, Havez et al 1973)。在另一个模型中分子间的二硫键连接糖蛋白肽链,而这些较大的大分子可以通过次生键连再聚合(Meyer et al 1973, Masson 1973)。Creeth et al(1977)的数据支持第一种模型,他们指出其中有一种连接的肽。Roberts(1976)的数据则认为,在不同的粘液试样中,两类键连都不同程度的存在着。

蛋白质含量和粘液粘弹性的相互关系 发现非共价束连的蛋白质在粘液中从几个方面紧紧地与粘蛋白相结合, 它们的数目可以调节粘液的物理性能。若干研究者报告了粘液的蛋白质含量与粘弹性性能之间重要的定性相互关系。然而, 具体的蛋白质辅因子对粘液粘弹性的影响还没有定量地计算出来。

子宫颈粘液的非粘蛋白蛋白质数量, 在动情期和月经周期都有变化, 并且可以调节粘液的物理性能 (Masson 1973)。据报道, 胎粪性肠梗阻病人的胎粪中有过量的白蛋白和其他血清蛋白 (Schachter and Dixon 1965), 这使胎粪有硬橡皮那样的坚实度。胆管纤维变性病人的十二指肠流体的白蛋白数量显著高于正常的数量 (Knauff and Adams 1968), 这使十二指肠流体的粘度高于正常的粘度。

Heggs et al (1974) 论证了痰在低剪切率时弹性与粘性之间的相互关系。即使在较高的剪切率下, 在哮喘和支气管扩张患者的痰中, 这种相互关系也是明显的, 而在囊肿纤维变性和慢性支气管炎患者的痰中就不明显。由于在囊肿纤维变性和慢性支气管炎中出现粘液腺肥大 (Reid 1954), 他们断定这些痰的粘液成分比正常的高些。由于哮喘和支气管扩张并不必然与腺肥大有关 (Reid 1960), 他们断定, 血清成分的增加会阻碍这些痰中的凝胶基体发生力学上的破裂。Bornstein et al (1978) 论证了痰中粘弹性与其二硫键的含量之间的相互关系。这种相互关系仅仅在具有高固体浓度的粘液中才是显著的, 在慢性支气管炎急性加剧期就出现这种情况。List et al (1978) 论证了加浓度 5—20 mg/ml 的血清白蛋白到猫胃粘蛋白中, 粘度的提高与白蛋白浓度成比例。这种影响对于 pH 值、离子强度以及二价离子螯合作用等改变时的敏感性, 向人们提示, 相互作用不是由于共价键连, 而是由于氢键或疏水的键连所引起的。

## 结 论

流体流变性能的改变会对肌体器官中局部流体力学有惊人的影响。凝块或血小板栓会塞入循环系统的小血管而阻塞住局部的血液流动。这会导致局部组织坏死。如果该血管布满致命器官部分, 就会导致死亡。粘液的弹性和粘性的变化大大改变肺里的输送过程。弄清导致这些流变变化的生物化学和生物物理过程, 是发展化学处置方法来防止这些变化发生的关键性的首要步骤。上述血浆凝固和粘液流变学两个系统中, 三维蛋白质网络结构的形成, 引起材料的弹性与粘性的深刻变化。人们对在凝固过程中发生的有序的分子形成的步骤已有相当好的了解, 然而有关粘液网络形成中的蛋白质的产生和性质的研究却才刚刚开始。动态材料试验对探索结构形成系统提供了一个不可缺少的手段, 因为这种试验不会干扰组装好了的网络。力传感技术近来有很大的改进, 即使在很稀的蛋白质系统中, 也可以直接观察结构形成的动力学。这将使研究者可以用各别的提纯蛋白质试样来进行工作, 从而可以详细观察特殊的分子变化对网络形成的影响。有可能应用这些流变学技术来指导和控制药物治疗。这些流变学知识连同把这些流变性能与基本的分子结构联系起来理论一起, 可以确定用其他方法很难得到的对基础生物化学有重要意义的诸参数 (如交联密度等)。

最后, 虽然生物流变学是一个很古老的领域, 但是, 根据对网络形成的生物流体流变学微据作定量的解释, 在流体力学和生物化学两个方面提供人们感兴趣的情报, 将是一个有前途的领域。

## 参 考 文 献 (略)

译自: McIntire, L. V. (1980). Dynamic materials testing, Biological and clinical applications in network-forming systems. Ann. Rev. Fluid Mech. 12: 159-179

(孟珊译 董务民校)

91