



**中国工程热物理学会**  
Chinese Society of Engineering Thermophysics

# 2023 年度传热传质学术年会 论文集

## 生物换热分册

中国工程热物理学会  
2023·北京

# 电磁场对牛肉冷冻参数影响试验研究

王宏宇 李双庆 李诚展 赵松松\*

(天津商业大学 农业农村部农产品低碳冷链重点实验室 天津商业大学冷冻冷藏技术教育部工程研究中心  
天津市制冷技术重点实验室, 天津市 300134 )

(E-mail: songsongzhao@tjcu.edu.cn)

**摘要:** 为了提高牛肉的贮藏工艺, 提升贮藏过程中牛肉的品质及营养成分的维持。本文通过搭建电磁场辅助冷冻试验台, 开展了不同磁场强度 (0 Gs、20 Gs、40 Gs、60 Gs、80 Gs 和 100 Gs) 与冷冻温度 (-6 °C、-10 °C、-14 °C 和 -18 °C) 对冷冻参数的影响研究。试验表明, 冷冻温度越高, 电磁场对牛肉过冷产生的效果更显著。在相同的冷冻温度下, 磁感应强度越大, 牛肉出现过冷现象的概率越大, 牛肉的冰成核温度越低, 过冷度越大。

**关键词:** 牛肉; 冷冻参数; 影响因素; 电磁场

## 0 前言

牛肉含有丰富的蛋白质及维生素等营养元素, 具有促进人体生长发育及提高抗病能力等优势。但由于牛肉在储藏过程中容易受到自身分解代谢及外部微生物感染的影响, 新鲜牛肉的长时间保存问题亟需解决<sup>[1]</sup>。

当前, 应用较广的牛肉贮藏方式主要为冷藏与冷冻 (冻结) 储藏<sup>[2,3]</sup>。但冷藏处理牛肉保质期时间有限, 不能让牛肉长时间保存, 而冷冻处理, 会对对结构产生破坏, 导致解冻后水分及营养物质流失, 降低了牛肉的品质与口感, 降低牛肉的经济价值。因此, 对牛肉贮藏而言, 寻求贮藏温度尽可能低但不发生结冰的贮藏方式是一种巨大的技术突破。过冷贮藏也称为超冰温贮藏 (supercooling storage), 将牛肉贮藏在冰点以下并保证牛肉不发生冻结的一种贮藏技术<sup>[4]</sup>。相对于冷藏与冰温贮藏, 牛肉的贮藏温度更低, 减缓了牛肉的新陈代谢与微生物的生长繁殖。且不需要解冻, 可较长时间保持牛肉的新鲜。但过冷状态是一种非稳态, 在贮藏过程中容易受到温度波动、机械震动等影响, 导致牛肉迅速冻结<sup>[6, 7]</sup>。为了使牛肉达到并维持过冷状态, 常用物理场辅助技术降低食品的过冷点 (冰成核点) 以保持非冻结状态, 例如电场和磁场等<sup>[5, 8-10]</sup>。

磁场辅助过冷技术是一种新兴技术, 磁场通过对水分子理化性质产生影响, 从而提高过冷保存的稳定性。Mok 等<sup>[11]</sup>利用脉冲电场 (PEF) 和振荡磁场 (OMF) 组合技术将鸡胸肉保持在 -7 °C 过冷状态 24 h, 纤维组织结构保持完整, 未观察到结冰现象。Lin 等<sup>[12]</sup>报道 MF 辅助过冷保存通过避免冻结损伤来保持牛肉的持水能力。

因此, 本文将磁场与超冰温贮藏技术进行结合, 针对不同冷冻温度, 进行不同磁感应强度影响牛肉过冷参数 (冰点温度、冰成核温度及相变时间等) 的研究, 探究在 -6 °C、-10 °C、-14 °C 及 -18 °C 冷冻温度下出现过冷现象的最佳磁场参数。

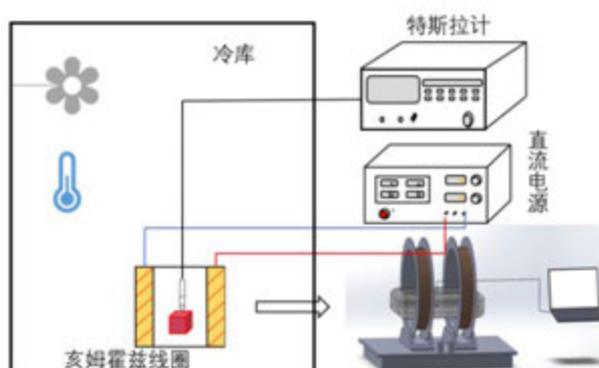
## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

牛肉: 新鲜牛后腿肉, 购买于天津市北辰区韩家墅海吉星农贸批发市场, 放入便携式冷藏箱 (4 - 8 °C) 内运回实验室。之后将新鲜后腿肉去除肥膘与筋膜, 切割成  $3 \times 3 \times 3 \text{ cm}^3$  块, 并用自封袋包装。将样品放置在牛肉放置箱内, 将温度传感器插入牛肉样品的几何中心, 通过调试冷库温度改变牛肉的降温工艺与温度波动。

### 1.2 仪器与设备

DP6010 直流稳压电源 深圳市迈斯泰克电子有限公司；PS-1HM372 亥姆霍兹线圈 湖南派生科技有限公司；PEX-045B 型数字特斯拉计 力田磁电科技有限公司；DAM3047N 温度采集模块 北京阿尔泰科技发展有限公司。



(a)



(b)

图 1 电磁场辅助冷冻冷藏试验台（其中，图 a 为电磁场辅助冷冻冷藏原理图；图 b 设备实物图）

Fig. 1 Electromagnetic field assisted freezing and cold storage test bench ( (a) Schematic diagram of electromagnetic field assisted freezing and cold storage; (b) Equipment physical diagram)

### 1.3 方法

通过设定冷库启停温度达到牛肉所需的冷冻温度（-18 °C、-14 °C、-10 °C、-6 °C），调节直流电源改变亥姆霍兹线圈的输入电压与电流，使用特斯拉计测量牛肉放置范围内的磁感应强度（20 Gs、40 Gs、60 Gs、80 Gs 和 100 Gs），其中，0 Gs 对照组为 CK 组。冷库内温度达到设定值后将样品放入线圈内，采用 DAM 3047N 温度采集模块与铂电阻 Pt 100 记录牛肉样品中心温度数据，时间间隔为 1 s。通过铂电阻 Pt 100 传感器记录牛肉样品冻结过程中的冰成核温度、冰点温度以及相变时间等冻结参数，探究在不同的冷冻环境温度下牛肉出现过冷现象的最佳磁场参数。

### 1.4 过冷参数

#### 1.4.1 成核温度

成核温度是指在冷却过程中，牛肉中的水分开始形成冰晶的温度。在成核温度以下，水分会以冰晶的形式在牛肉中形成，这会导致细胞结构的破裂，进而影响牛肉的口感、质地和保鲜品质。因此，成核温度是影响牛肉保鲜品质的重要因素。通过降低牛肉的成核温度，可

以延缓冰晶的形成，保持牛肉的口感和质地。

#### 1.4.2. 冰点

冰点是指物质从液态变为固态的温度。对于牛肉来说，冰点是一个相对固定的值，一般在 $-1^{\circ}\text{C}$ 左右。通常，当牛肉的温度降至冰点以下时，其中的水分会开始结冰。结冰会导致牛肉的组织结构发生变化，影响其保鲜品质。

#### 1.5 数据处理

采用 IBM SPSS 19.0 软件对数据进行差异性分析，采用 Origin 2021 软件进行数据处理与曲线绘制。

## 2、结果与分析

### 2.1 $-18^{\circ}\text{C}$ 温度下电磁场对牛肉冷冻参数的影响

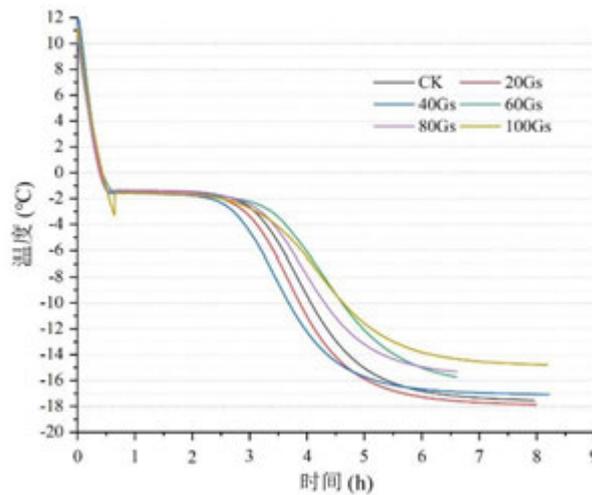


图 2  $-18^{\circ}\text{C}$ 下电磁场处理牛肉冻结曲线

Fig. 2 Freezing curve of fresh beef under electromagnetic field treatment at  $-18^{\circ}\text{C}$

由图 2 可知，磁场处理组与 CK 组（0 Gs）在贮藏第 1 天全部发生相变，其中 CK 组与 20 - 80 Gs 磁场处理组牛肉未出现过冷现象，样品的冰成核温度与冰点温度基本相同，约为  $-15^{\circ}\text{C}$ 。从贮藏第 4 天开始，各组牛肉样品的潜热释放热量低于冷库环境带来的冷量，导致牛肉中心温度出现快速下降。100 Gs 磁场处理组牛肉出现过冷现象，冰成核温度约为  $-3.3^{\circ}\text{C}$ ，过冷度为  $1.8^{\circ}\text{C}$ 。相较于其他磁场处理组与 CK 组，冰成核温度的降低导致 100 Gs 处理组牛肉样品延后了冷冻起始点的时间。

在  $-18^{\circ}\text{C}$  的冷冻环境下，0 - 100 Gs 磁场范围内对牛肉冷冻参数影响不大，并且 0Gs、20 Gs、40 Gs、60 Gs 和 80 Gs 磁感应强度并没有导致牛肉出现过冷现象，而 100 Gs 磁感应强度下牛肉出现了过冷现象。可能是因为磁感应强度小时，并不能引起牛肉在  $-18^{\circ}\text{C}$  的冷冻环境下过冷，即  $-18^{\circ}\text{C}$  环境温度下，低温对牛肉的过冷状态影响占据主要地位。

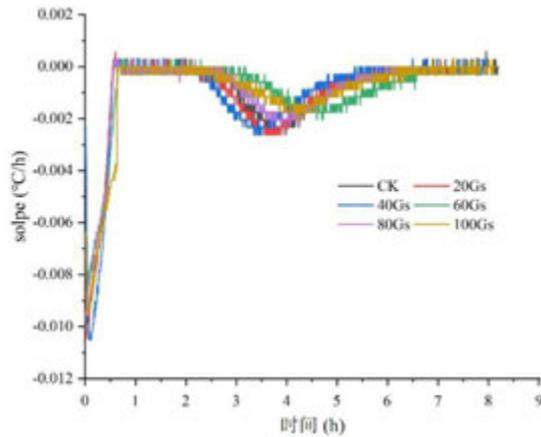


图 3 -18 °C下样本冻结斜率曲线

Fig. 3 Freezing slope curve of samples at -18 °C

牛肉的相变时间,定义为从成核到冻结终点之间的时间跨度,由牛肉冻结斜率曲线得出,如图 3 所示。在冻结平台期,斜率为 0,因为潜热释放,温度在初始冰点附近保持恒定。当斜率随着冷冻过程的进行由 0 降至极小值时,表明冰的形成开始减少,相变过程已经完成最大值,该点被定义为冻结的终点,表征凝固时释放的全部热量被提取的瞬间时刻<sup>[14-16]</sup>。

图 3 是由图 2 中样品温度对时间求一阶导数并与时间做曲线得出,可以看出,CK 组相变时间约为 3.25 h; 经过 20 Gs 磁场处理后,样品相变时间约为 3.18 h,缩短了 4.2 min (2.15 %); 经过 40 Gs 磁场处理后,样品相变时间约为 2.88 h,相较于 CK 组与 20 Gs 磁场处理组分别缩短了 22.2 min (11.38 %) 和 18 min (9.43 %),而 60 Gs、80 Gs 和 100 Gs 电磁场处理后,样品相变时间约为 3.94 h、3.33 h 和 3.53 h,与 CK 组相比分别增加了 21.2 %、2.5 % 和 8.6 %。出现这种情况的原因可能是较高的磁感应强度导致亥姆霍兹线圈发热量大,样品所处环境温度高于其他处理组与对照组,减小了牛肉与冷库环境的温差,降低了单位时间内牛肉与冷库环境的换热量,从而导致相变时间延长。

## 2.2 -14 °C温度下电磁场对牛肉冷冻参数的影响

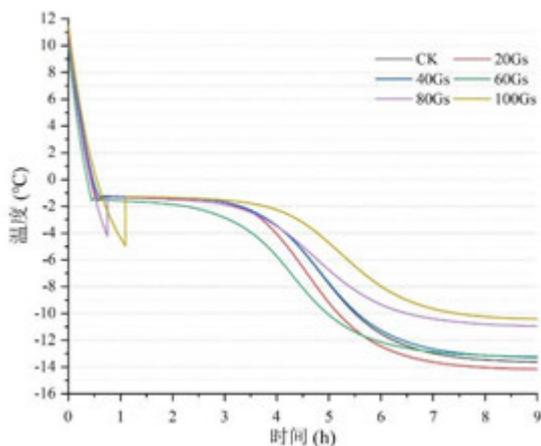


图 4 -14 °C电磁场处理下牛肉冻结曲线

Fig. 4 Beef freezing curve under electromagnetic field treatment at -14 °C

由图 4 可以看出,CK 组与 20 - 80 Gs 磁场处理组样品在第 1 天内发生相变,其中 CK

组与 20 - 60Gs 磁场处理组样品基本未出现过冷现象，冰成核温度与冰点温度约为-1.4 °C。-14 °C 冷冻环境下 80 Gs 磁场处理组样品出现过冷现象（-18 °C 冷冻环境下 80 Gs 磁场处理组样品未出现过冷现象），其冰成核温度约为-4.2 °C，过冷度为 2.8 °C，相较于-18 °C 的冷冻温度，100 Gs 磁场处理组样品过冷度提高了 1 °C。并且磁感应强度的减小，表明降低了牛肉出现过冷现象所需的能耗。

-14 °C 冷冻温度下 100 Gs 磁场处理组样品同样出现过冷，其冰成核温度约为-5.0 °C，过冷度为 3.6 °C，与-14 °C 冷冻环境下 80 Gs 处理组及-18 °C 冷冻环境下 100 Gs 处理组样品相比，过冷度分别提高了 0.8 °C 和 1.8 °C。过冷度的提高表明在该温度下样品相变的驱动力增大，在更低的温度下发生相变以形成细小冰晶。

与-18 °C 冷冻温度相比，冷冻温度的升高，导致磁场辅助牛肉冻结过程中样品出现过冷现象的概率增大，并且能够得到更大的过冷度。在此冷冻温度条件下，实现牛肉样品过冷的磁感应强度最低约为 80 Gs。

### 2.3 -10 °C 温度下电磁场对牛肉冷冻参数的影响

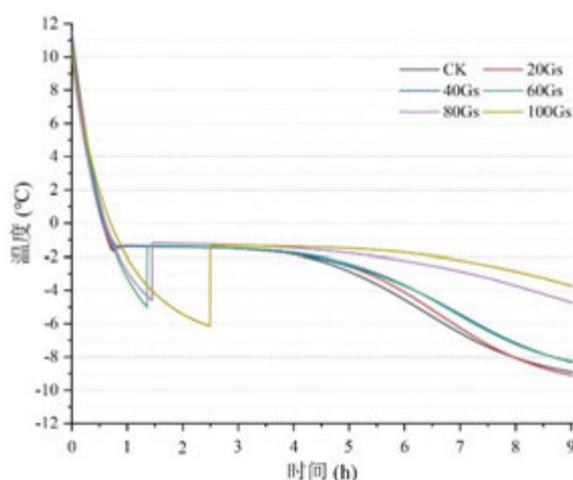


图 5 -10 °C 电磁场处理下牛肉冻结曲线

Fig. 5 Beef freezing curve under electromagnetic field treatment at -10 °C

由图 5 可以看出，随着磁感应强度增大，牛肉冰成核温度总体呈下降趋势。经过磁场处理后样品出现过冷现象的概率随着冷冻温度增高而增大，相较于-18 °C 和-14 °C 冷冻温度，-10 °C 冷冻温度下 60 Gs 磁场处理样品出现过冷现象。其中，100 Gs 磁场处理下牛肉样品在第 3 天发生相变，冰成核温度达到-6.1 °C，冰点温度并未出现显著差异，约为-1.3 °C，过冷度为 4.8 °C；80 Gs 与 60 Gs 磁场处理下牛肉样品在第 2 天发生相变，冰成核温度及冰点温度分别为-4.6 °C、1.2 °C 和-5.0 °C、-1.4 °C，过冷度分别为 3.4 °C 和 3.6 °C。然而样品中心温度达到-4 °C 时，CK、20 Gs、40 Gs、60 Gs、80 Gs 与 100 Gs 处理组所需时间分别为 5.65 h、5.91 h、6.14 h、6.14 h、8.2 h 以及 9 h 以上，100 Gs 与 80 Gs 磁场产生大量欧姆热，导致牛肉所处温度较高，不利于样品快速冻结。

在冷冻过程中，牛肉的温度逐渐降低，直到达到冰点以下。在这个过程中，牛肉中的水分逐渐凝固成冰晶体，这个过程被称为相变。低于 60 Gs 的磁场处理组样品均没有出现过冷，可能是因为冷冻温度较高，冷却速率比较缓慢，水分有充足的时间形成冰晶体，因此没有出现过冷现象。然而磁场依旧会影响牛肉中的水分子旋转与振动，并且影响牛肉（各向异性）中的异物核形成和生长，因此会影响水分子的相变行为，从而改变牛肉相变时间。

虽然，40 Gs 与 60 Gs 磁场处理组样品中心温度达到-4 °C 所需的时间相同，但与 40 Gs 处理组相比，60 Gs 磁场处理组能够获得更大的过冷度，即使 80 Gs 与 100 Gs 组样品过冷度

更大，但线圈发热严重，降至同样温度时所需能量更大，因此 60 Gs 磁感应强度对-10 °C 温度下冷冻牛肉来说是最佳磁场参数。

#### 2.4 -6 °C 温度下电磁场对牛肉冷冻参数的影响

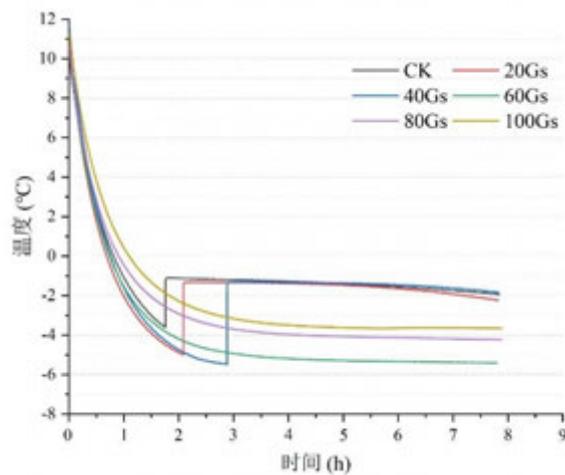


图 6 -6 °C 电磁场处理下牛肉冻结曲线

Fig. 6: Beef freezing curve under electromagnetic field treatment at -6 °C

由图 6 可以看出，随着磁感应强度增大，牛肉冰成核温度呈下降趋势。CK 组样品冰点温度约为-1.1 °C，冰成核温度约为-3.6 °C，过冷度为 2.5 °C；而 20 Gs 与 40 Gs 磁场处理组样品冰点温度约为-1.3 °C，冰成核温度分别约为-5 °C 与-5.5 °C，过冷度为 3.7 °C 与 4.2 °C，与 CK 组相比分别提高了 1.2 °C 与 1.7 °C。

60 Gs、80 Gs 与 100 Gs 磁场处理下，牛肉样品在短时间内维持了过冷状态，样品中心温度分别为-5.4 °C、-4.2 °C 和-3.7 °C，这表明在-6 °C 温度下冷冻时，较高强度磁场的使用，避免了水分子结晶对牛肉结构产生机械性损伤。因此在相对较高温度下（-6 °C 及以上）贮藏时可采用 60 Gs 及以上磁场强度，以提高牛肉过冷状态的稳定性。

#### 2.5 60 Gs 静磁场处理对不同冷冻温度下牛肉冷冻参数的影响

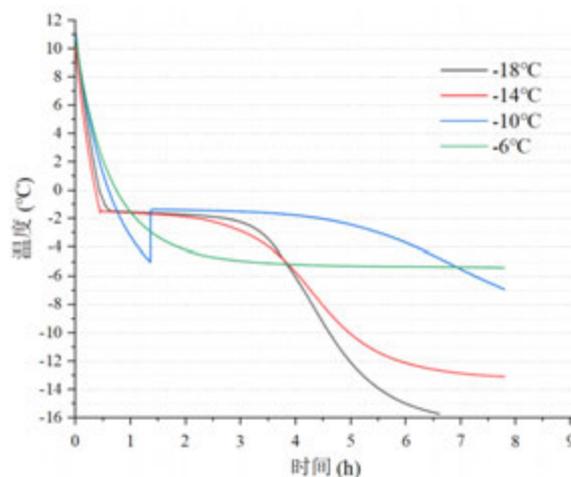


图 7 60 Gs 磁场处理样品在不同温度下的冷冻曲线

Fig. 7 Freezing curves of samples treated with the 60 Gs electromagnetic field at different temperatures

60 Gs 磁场处理样品在不同温度下冷冻曲线如图 7 所示，随着冷冻温度的提高，样品出现过冷现象的概率越大。当冷冻温度为-6 °C 时，样品处于过冷状态而未产生相变，此时样

品中心温度约为-5.4 °C，与冰点之差为 4.1 °C（CK 组样品过冷度为 2.5 °C），这表明 60 Gs 磁场的使用显著提高了过冷度，样品能够在更低温度下维持非冻结状态，进一步抑制了牛肉微生物的繁殖、脂质氧化与蛋白质变性等品质衰变行为<sup>[13]</sup>。

## 2.6 磁场辅助牛肉冻结特性分析

过冷贮藏能够保证牛肉在更低的温度下维持非冻结状态，延长牛肉的食用期。电磁场通过影响水分子的运动方式和相互作用，分子运动轨迹受到限制，不易凝结形成冰晶，从而抑制了冰晶的形成<sup>[13,17]</sup>。根据吉布斯自由能的定义，对于稳定的平衡系统，吉布斯自由能会趋向于最小值。在牛肉进行非冻结贮藏时，牛肉内部的水分可能处于过冷状态，即温度低于冰点但仍保持液态。在这种情况下，水分有可能发生相变，形成冰晶。相变过程中，液态水转化为固态冰，会伴随着吉布斯自由能的降低，因为冰的形成使系统的能量状态更加稳定。通过外加电磁场，可以改变牛肉内部水分的排列和运动方式，影响相变过程中的能量状态。电磁场可以提供额外的能量，促使液态水分子更容易转化为固态冰晶。因此，牛肉在外加电磁场辅助下，可能会更快地形成冰晶，使系统的吉布斯自由能降低。吉布斯自由能公式如下式所示：

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

其中， $\Delta G$  表示吉布斯自由能的变化 (J)， $\Delta H$  表示系统的焓变 (J)， $T$  表示温度 (K)， $\Delta S$  表示系统的熵变 (JK)。在相变过程中，如果焓变 ( $\Delta H$ ) 为负值，即相变释放能量，而熵变 ( $\Delta S$ ) 为正值，即相变增加系统的无序程度，那么吉布斯自由能 ( $\Delta G$ ) 将会降低，符合系统趋向稳定的趋势。

## 3、结论

本文研究了磁场辅助处理牛肉在不同温度下的冷冻的显著性差异发现，基于冷冻温度影响牛肉内部水分的结冰速率和方式，结合电磁场影响水分子相变的作用机理，开展-18 °C、-14 °C、-10 °C和-6 °C并结合不同磁感应强度电磁场处理影响牛肉过冷参数的试验研究。结果表明：随着冷冻温度的提高，电磁场对牛肉出现过冷状态的影响越大，在相同冷冻温度下，磁感应强度越大，牛肉出现过冷现象的概率越大，牛肉的冰成核温度越低，过冷度越大。在-6 °C冷冻温度下，虽然，40 Gs 磁场处理下过冷度最高，约为 4.1 °C；但是，经过 60 Gs、80Gs 及 100 Gs 磁场处理，牛肉维持了过冷状态，这表明较高磁感应强度能够在低温下维持牛肉的非冻结状态，避免结晶对牛肉产生机械性损伤，并且在更低温度下贮藏延缓了蛋白质的变性和脂质氧化程度，延长了牛肉的贮藏期。综合考虑牛肉过冷状态、能耗与亥姆霍兹线圈发热等问题，60 Gs 磁感应强度对牛肉出现并维持过冷状态的效果最好。

## 参考文献

- [1]梁雪婷. 中国牛肉进口研究 [D]; 上海财经大学, 2021.  
LIANG-Xue Ting China Beef Import Research [D] Shanghai University of Finance and Economics 2021
- [2]封晴霞, 王利强. 4°C冷藏牛肉的新鲜度检测及指标分析 [J]. 包装与食品机械, 2020, 38(06): 1-4+29.  
FENG-Qing Xia, WANG-Li Qiang.Freshness Test and Index Analysis of 4C Chilled Beef [J] Packaging and Food Machinery, 2020, 38(06): 1-4+29.
- [3]STONEHOUSE G G, EVANS J A. The use of supercooling for fresh foods: A review [J]. JOURNAL OF FOOD ENGINEERING, 2015, 148: 74-9.
- [4]付越. 果蔬食品过冷态储存技术研究进展 [J]. 食品安全导刊, 2021, (16): 21.  
FU-Yue Research progress in supercooled storage technology for fruits and vegetables [J] China Food Safety Magazine, 2021, (16): 21.
- [5]林珩迅. 静磁场辅助超冰温贮藏对牛肉品质的影响 [D]; 天津商业大学, 2021.  
LIN-Heng Xun Effect of Static Magnetic Field assisted ControlledSupercooling-point Storage on Quality of Beef [D]; Tianjin University of Commerce,2021

- [6]WANG L P, WANG F X, LU C, et al. Nucleation in supercooled water triggered by mechanical impact: Experimental and theoretical analyses [J]. JOURNAL OF ENERGY STORAGE, 2022, 52.
- [7]ZHAO Y, ZHANG X, XU X, et al. Research progress in nucleation and supercooling induced by phase change materials [J]. Journal of Energy Storage, 2020, 27(C).
- [8]谢菲菲. 电场辅助(超)冰温贮藏对生鲜肉品质的影响 [D]; 宁夏大学, 2022.  
XIE Fiefie.Effects of electric field-assisted ice-temperature/supercooling storage on the quality of fresh meat[D];Ningxia University,2022.
- [9]YOU Y S, HER J Y, SHAFEL T, et al. Supercooling preservation on quality of beef steak [J]. JOURNAL OF FOOD ENGINEERING, 2020, 274.
- [10]KANG T Y, LEE D Y, KO Y B, et al. Effects of pulsed electric field (PEF) and oscillating magnetic field (OMF) on supercooling preservation of beef at different fat levels [J]. INTERNATIONAL JOURNAL OF REFRIGERATION, 2022, 136: 36-45.
- [11]MOK J H, HER J-Y, KANG T, et al. Effects of pulsed electric field (PEF) and oscillating magnetic field (OMF) combination technology on the extension of supercooling for chicken breasts [J]. Journal of Food Engineering, 2017, 196.
- [12]HENGXUN L, XINGXING H, CHENGHAO L, et al. Static magnetic field-assisted supercooling preservation enhances water-holding capacity of beef during subzero storage [J]. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 2022, 80.
- [13]JHA P K, SADOT M, VINO S A, et al. A review on effect of DC voltage on crystallization process in food systems [J]. INNOVATIVE FOOD SCIENCE & EMERGING TECHNOLOGIES, 2017, 42: 204-19.
- [14]ZHANG L, YANG Z, DENG Q J. Effects of pulsed magnetic field on freezing kinetics and physical properties of water and cucumber tissue fluid [J]. JOURNAL OF FOOD ENGINEERING, 2021, 288.
- [15]RAHMAN M S, GUIZANI N, AL-KHASEIBI M, et al. Analysis of cooling curve to determine the end point of freezing [J]. FOOD HYDROCOLLOIDS, 2002, 16(6): 653-9.
- [16]OTERO L, RODRIGUEZ A C, SANZ P D. Effect of the frequency of weak oscillating magnetic fields on supercooling and freezing kinetics of pure water and 0.9% NaCl solutions [J]. JOURNAL OF FOOD ENGINEERING, 2020, 273.
- [17] 王建国, 张连旭, 刘高生. 磁场处理对水分子结构和  $\text{CaCO}_3$  成核影响实验及分析 [J]. 化工自动化及仪表, 2013, 40(04): 501-4+64.  
WANG Jian Guo,ZHANG Lian Xu,LIU Gao Sheng.Experiment and Analysis of Magnetic Field Treatment Impact on Water Molecular Structure and  $\text{CaCO}_3$  Nucleation [J].Control and Instruments in Chemical Industry2013, 40(04): 501-4+64.

# 集合淋巴管中肿瘤细胞的运动及壁面剪切应力分析

张西龙, 乐恺\*, 张欣欣

(北京科技大学能源与环境工程学院热能工程系, 北京 100083)

(13691351586, yuekai@ustb.edu.cn)

**摘要:** 癌细胞侵入淋巴管并在管内输运是恶性肿瘤发生转移的主要途径之一, 淋巴液流动所诱导的细胞表面剪切应力变化能够影响癌细胞的转移潜能。本文在考虑淋巴管自律运动及瓣膜作用情况下, 建立了集合淋巴管中癌细胞迁移的流固耦合模型, 通过数值模拟研究了癌细胞在管壁附近的运动和受力规律。结果表明, 细胞以往复运动的形式并伴随着细胞变形与翻转, 逐步前进并向淋巴管中心趋近。细胞距管壁越近, 其变形程度以及在整个过程中所受壁面剪切应力越大, 剪切应力最大值出现在细胞即将离开瓣膜区域时或在瓣膜区域反向运动时, 细胞处于  $60\%r$  ( $r$  为管半径) 时所受最大壁面剪切应力及其梯度分别约为处于中心轴线时的 3 和 10 倍。研究结果为进一步分析淋巴管中易于形成癌症转移的几何条件奠定了相关理论基础。

**关键词:** 淋巴输运, 淋巴瓣膜, 肿瘤细胞, 流固耦合

## 0 前言

大约 90% 的癌症相关死亡是由转移导致的<sup>[1]</sup>, 通过淋巴管转移到区域淋巴结是癌症进展过程中的关键一步<sup>[2]</sup>。肿瘤细胞的转移潜能可以被流动诱导的剪切力和周围的流动环境所调节。细胞在体内的代谢反应与它们所受到的剪应力大小和空间剪应力梯度有关。流体作用力已被证明影响细胞的活性<sup>[3, 4]</sup>, 这突出了血液和淋巴管中流体动力学的重要性。因此, 了解淋巴管中转移细胞的壁面剪切应力(WSS)变化特征对于评估和分析肿瘤细胞的转移潜能是至关重要的。

为了更好地了解流经这些复杂淋巴管的淋巴流动, 已经开发了许多计算模型, 包括结合实验数据求解微分方程的集总参数模型<sup>[5, 6]</sup>以及同时考虑到流体和固体成分的多维模型<sup>[7-10]</sup>。集总参数模型捕捉了淋巴管链中的淋巴管行为, 但无法捕捉淋巴瓣膜等淋巴成分在各种变化因素(如瓣膜长度或瓣膜机械性能)下的详细反应。因此, Kunert 等人<sup>[11]</sup>建立了淋巴管中淋巴流动的二维模型, 淋巴管的收缩受钙和一氧化氮浓度波动的调节。Rahbar 和 Moore<sup>[12]</sup>构建了可收缩淋巴管非瓣膜部分淋巴流动的三维模型, 验证了速度分布并量化了剪应力。最近, Wolf 等人<sup>[8]</sup>研究了带有弹性双叶瓣膜的轴对称蠕动脉管中的流体流动, 以模拟淋巴管中的流动, 并通过完全耦合的三维模拟研究了瓣膜和淋巴管特性对带瓣膜蠕动脉管泵送性能的影响。综上所述, 集合淋巴管中的淋巴输运受到多种因素的影响。淋巴管是可收缩的不均匀圆柱形管<sup>[13]</sup>, 这使得内部流场变得复杂, 特别是瓣膜处。

癌细胞在大小、形状和形态特征上也各不相同，且已经被证明比同一组织的正常细胞更容易变形<sup>[4]</sup>。当细胞在通道中以不同浓度悬浮运输时，它们所经历的流动诱导剪切为细胞位置、形状和细胞上局部流动分布的复杂函数。流体流动产生的机械力在转移潜能和增殖方面调节细胞的行为。然而，关于转移癌细胞在淋巴流动环境中的运动和剪切应力分布的研究却鲜有报道<sup>[15]</sup>。

本文针对集合淋巴管中癌细胞迁移问题，建立考虑柔性管壁、瓣膜、细胞及淋巴液流动的流固耦合模型，采用有限元方法进行精确求解以获得细胞的运动、变形与受力规律，通过分析细胞从非轴线位置运动的模拟结果，研究转移癌细胞周围的流体流动和相应的流体力对细胞迁移的影响，为进一步分析淋巴系统中易于形成癌症转移的流体动力学条件奠定了相关理论基础。

## 1 模型建立

### 1.1 物理模型

基于 Wilson 等<sup>[6]</sup>提出的理想淋巴管几何，本文建立了如图 1 所示的几何模型。淋巴管半径取  $r_0=100\mu\text{m}$ ，瓣膜之间的距离  $\lambda=15r_0$ ，假设管壁与瓣叶均为超弹性材料，在数值计算过程中，将模型分为淋巴、细胞、瓣叶和管壁 4 部分。初始时刻，瓣叶与细胞均处于无应力状态，上下瓣叶之间的距离为  $5\mu\text{m}$ ，细胞直径为  $30\mu\text{m}$ 。

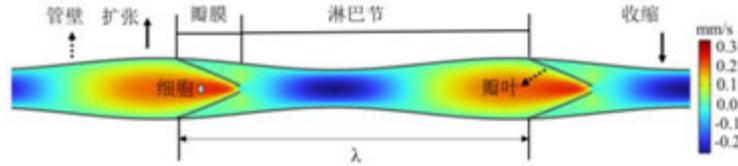


图 1 集合淋巴管模型

### 1.2 数学模型

假设淋巴为不可压缩牛顿流体，密度  $\rho$  为  $1.0\text{ g/cm}^3$ ，动力粘度  $\mu$  为  $1.5 \times 10^{-3}\text{ Pa}\cdot\text{s}$ <sup>[17]</sup>，不可压缩的 Navier-Stokes 方程被用作淋巴液流动的控制方程<sup>[15]</sup>：

$$\nabla \cdot \mathbf{U}_{fluid} = 0 \quad (1)$$

$$\rho \frac{\partial \mathbf{U}_{fluid}}{\partial t} + \rho (\mathbf{U}_{fluid} \cdot \nabla) \mathbf{U}_{fluid} = \nabla \left[ -p \mathbf{I} + \mu (\nabla \mathbf{U}_{fluid} + (\nabla \mathbf{U}_{fluid})^T) \right] + \mathbf{F} \quad (2)$$

其中， $\mathbf{U}_{fluid}$  为速度矢量， $\text{Re} = \rho u d / \mu \ll 1$ 。

固体(包括瓣叶与细胞膜)的位移  $\mathbf{u}_s$  由方程 (3) 描述：

$$\rho_s \frac{\partial^2 \mathbf{u}_s}{\partial t^2} = \nabla \cdot (\mathbf{F} \mathbf{S})^T + \mathbf{F}_V \quad (3)$$

其中， $\rho_s$  为瓣叶密度， $\mathbf{F}_V$  为体积力矢量， $\mathbf{F} = \mathbf{I} + \nabla \mathbf{u}_s$  为变形梯度， $\mathbf{S} = \mathbf{S}_{ext} + \partial W_s / \partial \boldsymbol{\varepsilon}$  为第二类 Piola-Kirchhoff 应力张量。使用 Neo-Hookean 材料模型描述瓣叶的材料特性，表达式如下：

$$W_s = \frac{G}{2} (\bar{I}_1 - 3) + \frac{\kappa}{2} (J - 1)^2 \quad (4)$$

其中,  $W_s$  为应变势能,  $G = 10\text{kPa}$  为初始剪切模量,  $\kappa = 2G(1+\nu_p)/[3(1-2\nu_p)]$  为初始体积模量, 且假定材料几乎不可压缩, 泊松比  $\nu_p = 0.49$ 。

转移性癌细胞被模拟为充满液体的胶囊, 最初是球形的, 周围环绕着无限薄的薄膜。细胞膜被认为是各向同性的粘弹性材料, 膜的粘弹性行为由 Kelvin-Voigt 模型描述, 在该模型中, 应力与弹性应变率的关系为  $\boldsymbol{\sigma} = G_p \boldsymbol{\varepsilon} + \eta d\boldsymbol{\varepsilon}/dt$ , 其中  $\boldsymbol{\sigma}$  为应力张量,  $\eta$  为膜的粘度,  $\boldsymbol{\varepsilon}$  为应变张量,  $G_p = E/2(1+\nu)$  为剪切模量,  $\nu = 0.45$  为泊松比,  $E$  为杨氏模量。

流固耦合边界条件定义了固体上的流体载荷和固体位移对流体速度的影响, 可表示为  $\mathbf{U}_{fluid} = \mathbf{v}_s$ ,  $\mathbf{v}_s = \partial \mathbf{u}_s / \partial t$  和  $\boldsymbol{\sigma} \cdot \mathbf{n} = \boldsymbol{\Gamma} \cdot \mathbf{n}$ , 其中,  $\mathbf{v}_s$  是固体的速度,  $\mathbf{n}$  为流固界面的单位法向矢量,  $\boldsymbol{\Gamma}$  为流体施加在固体边界上的总压力, 其表达式为:

$$\boldsymbol{\Gamma} = -p\mathbf{I} + \mu \left( \nabla \mathbf{U}_{fluid} + (\nabla \mathbf{U}_{fluid})^T \right) \quad (5)$$

淋巴管两端为开放边界条件, 如式 (6); 淋巴管壁按式 (7) 做周期性运动<sup>[8]</sup>:

$$\left[ -p\mathbf{I} + \mu \left( \nabla \mathbf{U}_{fluid} + (\nabla \mathbf{U}_{fluid})^T \right) \right] \mathbf{n} = -f_0 \mathbf{n} \quad (6)$$

$$r_{vess}(x, t) = r_0 \left( 1 + \phi \sin \left( \frac{2\pi}{\lambda} (x - ct) \right) \right) \quad (7)$$

其中,  $r_0$  为淋巴管的平均半径,  $\phi$  为归一化收缩幅度,  $\lambda$  为收缩波长,  $c = \lambda/\tau$  为波速。

本文使用基于有限元方法的 COMSOL MultiPhysics 5.6 进行求解, 应用基于任意拉格朗日-欧拉(ALE)公式的移动网格模拟了管壁、瓣叶和细胞膜的运动。模拟中使用的时间步长算法为向后差分公式, 通过自动牛顿非线性方法实现全耦合, 使用 PARDISO 求解器求解控制方程。同时, 以细胞表面最大壁面剪切应力作为衡量指标, 进行了网格无关性验证, 网格水平由细化、较细化、超细化变化到极细化, 当由超细化增加到极细化时, 细胞表面最大壁面剪切应力的变化小于 1%, 因此最终选取超细化网格(网格数 469328)进行计算。此外, 为了避免瓣叶之间的距离过小时产生奇异以及瓣叶之间的接触造成流体域拓扑结构的改变, 在瓣叶边界上引入厚度为  $0.01\mu\text{m}$  的排斥区(由弹簧组成), 当瓣叶边界进入排斥区时, 它就会沿着边界的法线方向被推开<sup>[18]</sup>。

### 1.3 模型验证

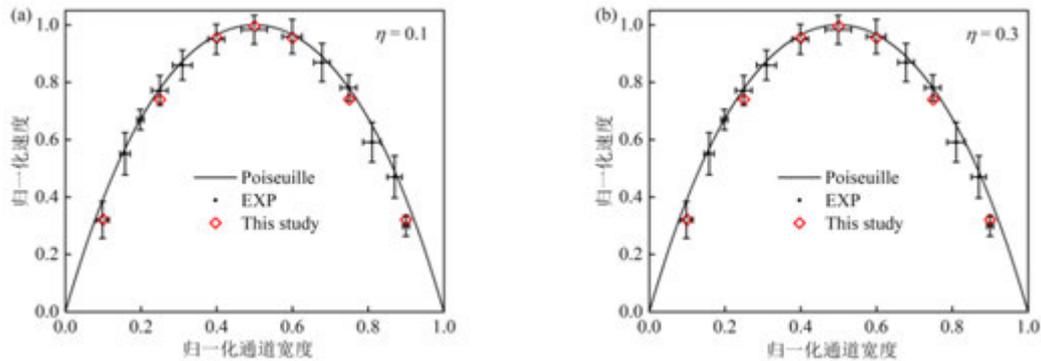


图2 模拟结果验证, 其中  $\eta =$  颗粒直径/通道宽度

为了验证模型的准确性，使用与文献中相同的参数模拟了淋巴流动条件下刚性大颗粒的行为，如图 2 (a) 和 (b) 所示。对于无扰动泊肃叶流中的颗粒运动，使用本文中的模型计算得到的颗粒速度分布与文献中的实验结果显示非常好的一致性，从而证明了所构建模型的有效性，可用于接下来的分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 细胞的运动与变形

图 3 所示为细胞处于不同径向位置时淋巴管收缩过程中一个周期内细胞变形与位置的映射关系，右边的色标表示淋巴液流速的轴向分量。细胞位于中心轴线时，其运动与变形如图 3(a)所示。可知，沿着淋巴管的中心轴线，细胞在往复运动中逐步前进。由于流场是关于管的轴线对称分布的，因此细胞在轴线的不同两侧的变形以及运动情况是相同的。当细胞从偏离中心轴线  $30\mu\text{m}$  的位置开始运动时，其运动状态如图 3(b)所示，细胞仍在往复运动中逐步前进，但与处于中心轴线时的情况不同的是，细胞在运动的过程中不但会在流场的作用下发生变形，还会伴随着翻滚的发生。在整个运动过程中细胞都是呈现顺时针翻滚的，这是因为细胞顶部承受的流场作用力高于底部受到的流场作用力，细胞在这种情况下会受到一个力矩的作用。当偏移距离为  $60\mu\text{m}$  时，细胞运动及变形情况如图 3(c)所示。细胞的运动和变形规律类似于偏离距离为  $30\mu\text{m}$  的情况。

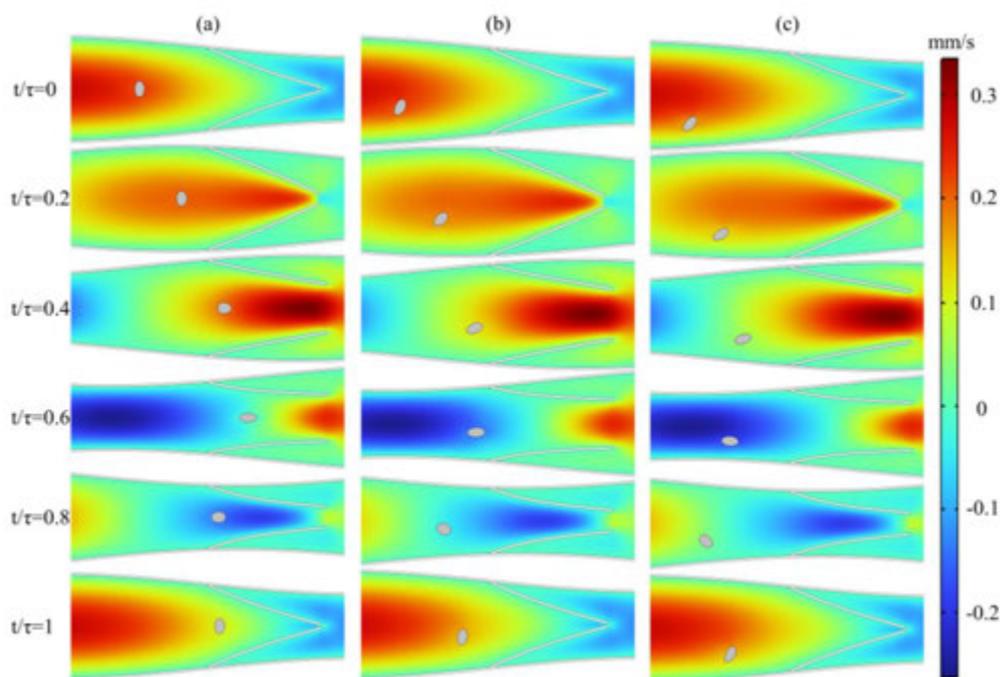


图 3 不同径向位置细胞的运动与变形 (a)细胞位于中心轴线; (b)细胞偏离中心轴线  $30\mu\text{m}$ ; (c)细胞偏离中心轴线  $60\mu\text{m}$

为了进一步研究细胞的运动与变形，计算了细胞质心的横、纵坐标随时间的变化，细胞的运动轨迹以及细胞圆度的变化，如图 4 所示。细胞水平方向的位置变化如图 4(a)所示，可知，随着偏移距离的减小，细胞正向运动水平速度增大，当细胞位于轴线位置

时，水平速度是最高的。这是因为在非瓣膜区域管内的流场分布为抛物线分布，越靠近轴线的位置流场正向速度越快，在细胞前后往复运动的过程中，正向移动的距离就越大。当细胞从非轴线位置开始运动时，不仅在水平方向上存在往复运动，在垂直方向上也存在，如图 4(b)所示。处于非瓣膜区域时，细胞在往复运动的过程中缓慢向中心轴线靠近；进入瓣膜区域后，快速向中心轴线趋近，在即将离开瓣膜区域时，最接近中心轴线。图 4(c)所示为细胞质心运动轨迹，对于从非轴线位置开始运动的细胞，在经过瓣膜后其位置仍然是非轴线位置。为了定量描述细胞的变形，计算了运动过程中细胞圆度的变化，如图 4(d)所示。由于偏移 30 $\mu\text{m}$  与偏移 60 $\mu\text{m}$  具有相似的运动过程，因此仅比较了偏移 60 $\mu\text{m}$  与在中心轴线运动的情况。当偏移距离增加时，细胞在流场作用下产生的变形要相对增加。这是因为细胞偏移距离越大，其上部 and 下部之间流场速度差越大，导致较大的变形，尤其是在瓣膜区域。

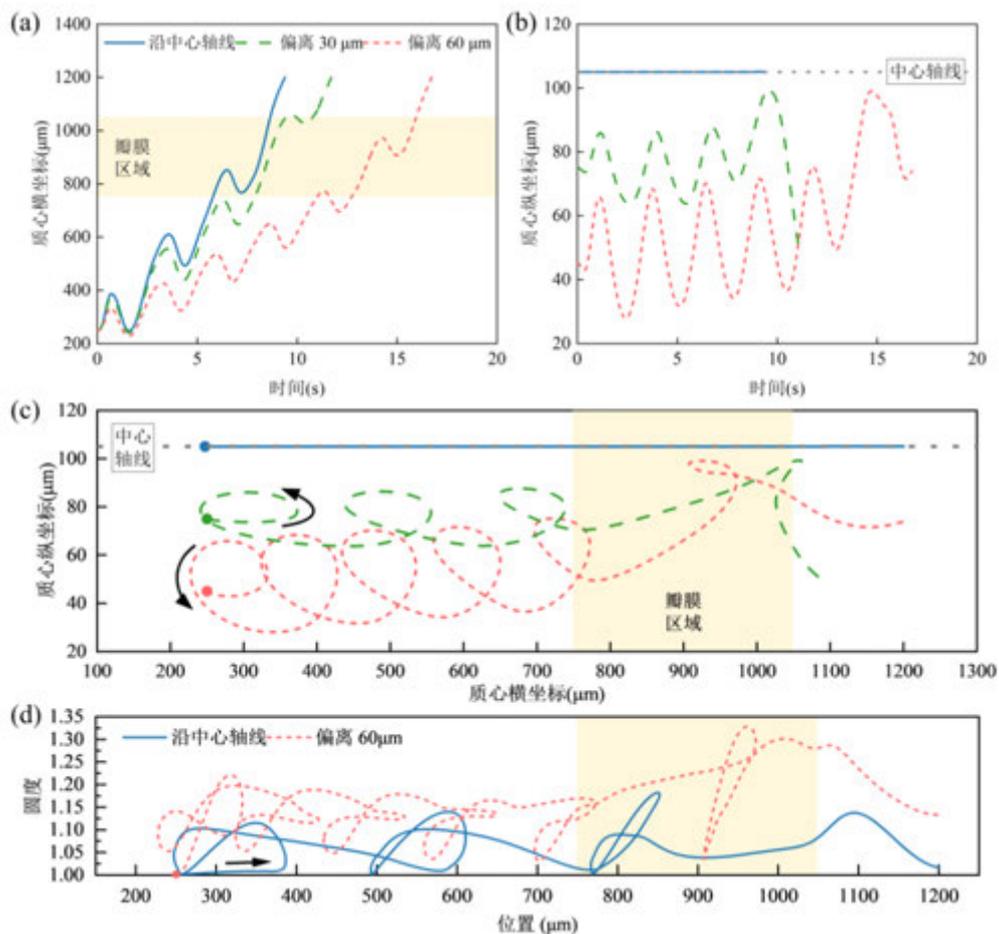


图 4 细胞的运动与变形 (a)细胞质心横坐标；(b)细胞质心纵坐标；(c)细胞质心运动轨迹；(d)细胞圆度的变化

## 2.2 细胞处于不同径向位置时壁面剪切应力的变化

图 5 所示为细胞从不同径向位置开始运动时，其所经历的最大壁面剪切应力( $WSS_{max}$ )

随细胞位置的变化。无论细胞偏离中心轴线与否，在整个运动过程中最大的  $WSS_{max}$  往往出现在瓣膜区域，如图 5 中  $t_1$ - $t_3$  时刻所对应的  $WSS_{max}$ 。当偏离中心轴线位置时， $WSS_{max}$  的最大值出现在即将离开瓣膜区域的时刻( $t_1$ 、 $t_2$ )，约为进入瓣膜区域之前的 2~2.5 倍；而当细胞位于中心轴线时， $WSS_{max}$  的最大值出现在细胞进入瓣膜区域后开始反向运动的时刻 ( $t_3$ )，约为进入瓣膜区域之前的 1.5 倍。前者是由于细胞在即将离开瓣膜区域时，瓣叶的限制使得细胞周围的流场流速大小变化很大（如图 5(c)中  $t_1$ 、 $t_2$  时刻对应的流速云图所示），导致较大的壁面剪切应力；后者细胞反向运动时，如图 5(c)中  $t_3$  时刻对应的流场云图所示，细胞位于流场正负流速交界处，速度变化较大，同样导致较大的壁面剪切应力。随着偏移距离的增加，细胞所经历的最大  $WSS_{max}$  增大，当偏移距离为  $60\mu m$  时，所对应的  $WSS_{max}$  的最大值约为未偏移时的 3 倍。

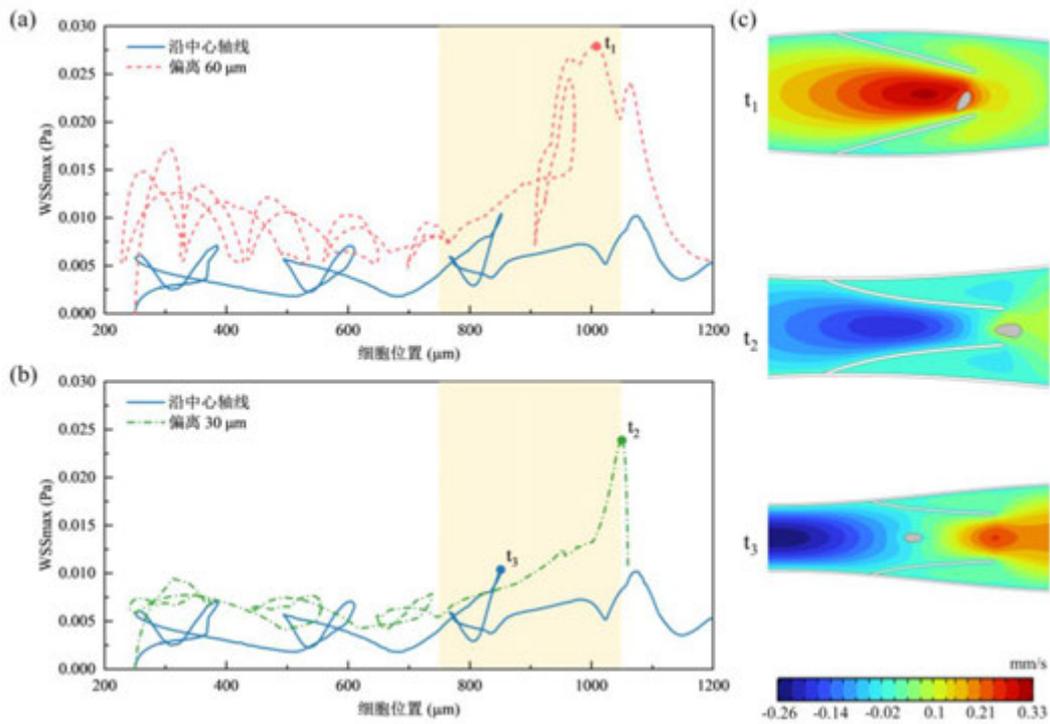


图 5 不同径向位置  $WSS_{max}$  随细胞位置的变化 (a) 偏离中心轴线  $60\mu m$  与中心轴线位置的比较; (b) 偏离中心轴线  $30\mu m$  与中心轴线位置的比较; (c)  $t_1$ 、 $t_2$ 、 $t_3$  时刻细胞周围流场云图

图 6 显示了  $WSS_{max}$  最大时  $WSS$  沿细胞周向的分布（逆时针），对应于图 5 中的  $t_1$ 、 $t_2$ 、 $t_3$  时刻，流场云图中的黑色与红色点表示起始位置。由于位于轴线位置的细胞周围的流场是关于管轴线对称的（如图 6(c)中  $t_3$  时刻对应的细胞周围流场云图所示），因此  $WSS$  沿细胞周向的分布也是对称的，这也导致了细胞仅存在变形，而没有发生旋转或翻滚。当细胞位于非轴线位置时， $WSS$  沿细胞周向的分布不再对称，这主要是由于瓣叶的约束导致的，靠近瓣叶的一侧速度变化较快，具有较大的  $WSS$ （如图 6(c)中  $t_1$ 、 $t_2$  时刻对应的细胞周围流场云图所示）。随着偏移距离的增加， $WSS$  的变化愈加明显，细胞位于中心轴线时，其所受剪切应力梯度的最大值为  $0.007Pa/\mu m$ ，偏离中心轴线时，其所受

剪切应力梯度的最大值分别增加至  $0.023\text{Pa}/\mu\text{m}$  (偏离  $30\mu\text{m}$ )、 $0.067\text{Pa}/\mu\text{m}$  (偏离  $60\mu\text{m}$ )，略高于心血管系统中与乳腺癌细胞凋亡相关的数值<sup>[19]</sup>，了解这些数值可为确定影响癌细胞转移潜能的 WSS 梯度的临界值提供参考。

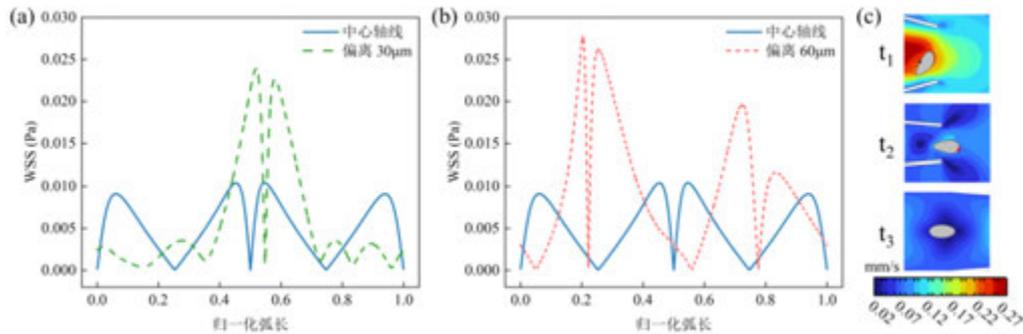


图 6  $WSS_{\max}$  最大时 WSS 沿细胞周向的分布 (a) 偏离  $30\mu\text{m}$ (对应于图 5 中  $t_2$  时刻)与中心轴线(对应于图 5 中  $t_3$  时刻)的比较; (b) 偏离  $60\mu\text{m}$ (对应于图 5 中  $t_1$  时刻)与在中心轴线时的比较; (c)  $t_1$ 、 $t_2$ 、 $t_3$  时刻细胞周围流场细节

### 3 结 论

本文结合有限元和拉格朗日-欧拉方法，针对淋巴管中不同径向位置癌细胞的迁移过程，建立了淋巴液与柔性管壁、细胞及瓣膜之间的流固耦合模型，着重研究了细胞从集合淋巴管不同径向位置运动时的迁移及变形规律以及在该过程中壁面剪切应力的变化。主要结论如下：

(1) 在淋巴流动环境中，细胞在往复运动中逐步前进。位于中心轴线时，细胞沿轴线往复运动；位于非轴线位置时，水平与顺直方向的往复运动同时存在，细胞在往复运动过程中逐渐趋近中心轴线，且随着偏移距离的增加，细胞前进的速度减小。

(2) 淋巴瓣膜对细胞所受 WSS 有显著影响。相较于进入瓣膜区域之前，进入瓣膜区域之后细胞所受最大  $WSS_{\max}$  约为前者的 1.5~2.5 倍。

(3) 不同径向位置对细胞所受 WSS 影响显著。随着偏移距离的增加，细胞所受最大  $WSS_{\max}$  增大，整个运动过程中  $WSS_{\max}$  的最大值出现在细胞在瓣膜区域反向运动时或即将离开瓣膜区域时；位于非轴线位置时，由于瓣叶的约束， $WSS_{\max}$  最大时细胞表面 WSS 的分布也呈现出非对称性。

### 参考文献

[1] Chaffer C. L., Weinberg R. A. A perspective on cancer cell metastasis[J]. Science, 2011, 331(6024): 1559-1564.

[2] Stacker S. A., Achen M. G., Jussila L. et al. Lymphangiogenesis and cancer metastasis[J]. Nature Reviews Cancer, 2002, 2(8): 573-583.

[3] Xin Y., Li K., Yang M. et al. Fluid shear stress induces EMT of circulating tumor cells via JNK signaling in favor of their survival during hematogenous dissemination[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(21): 8115.

- [4] Xin Y., Chen X., Tang X. et al. Mechanics and actomyosin-dependent survival/chemoresistance of suspended tumor cells in shear flow[J]. *Biophysical Journal*, 2019, 116(10): 1803-1814.
- [5] Reddy N. P., Krouskop T. A., Newell Jr P. H. A computer model of the lymphatic system[J]. *Computers in Biology and Medicine*, 1977, 7(3): 181-197.
- [6] Bertram C. D., Macaskill C., Moore J. E. Simulation of a chain of collapsible contracting lymphangions with progressive valve closure[J]. *Journal of Biomechanical Engineering*, 2011, 133(1).
- [7] Elich H., Barrett A., Shankar V. et al. Pump efficacy in a two-dimensional, fluid-structure interaction model of a chain of contracting lymphangions[J]. *Biomechanics and Modeling in Mechanobiology*, 2021, 20(5): 1941-1968.
- [8] Wolf K. T., Dixon J. B., Alexeev A. Fluid pumping of peristaltic vessel fitted with elastic valves[J]. *Journal of Fluid Mechanics*, 2021, 918.
- [9] 张乾毅, 韦华健, 李华兵. 基于晶格玻尔兹曼方法的多段淋巴管模型[J]. *物理学报*, 2021, 70(21): 7.
- [10] 赫铁男, 张乾毅, 韦华建等. 基于晶格玻尔兹曼方法研究不同出口压力条件下淋巴管内氮含量的变化及影响[J]. *物理学报*, 2020, 69(10): 110-117.
- [11] Kunert C., Baish J. W., Liao S. et al. Mechanobiological oscillators control lymph flow[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2015, 112(35): 10938-10943.
- [12] Rahbar E., Moore Jr J. E. A model of a radially expanding and contracting lymphangion[J]. *Journal of Biomechanics*, 2011, 44(6): 1001-1007.
- [13] Margaris K. N., Nepiyushchikh Z., Zawieja D. C. et al. Microparticle image velocimetry approach to flow measurements in isolated contracting lymphatic vessels[J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2016, 21(2): 025002.
- [14] Morley S. T., Walsh M. T., Newport D. T. Opportunities for studying the hydrodynamic context for breast cancer cell spread through lymph flow[J]. *Lymphatic Research and Biology*, 2017, 15(3): 204-219.
- [15] Morley S. T., Newport D. T., Walsh M. T. Towards the prediction of flow-induced shear stress distributions experienced by breast cancer cells in the lymphatics[J]. *Biomechanics and Modeling in Mechanobiology*, 2017, 16(6): 2051-2062.
- [16] Wilson J. T., van Loon R., Wang W. et al. Determining the combined effect of the lymphatic valve leaflets and sinus on resistance to forward flow[J]. *Journal of Biomechanics*, 2015, 48(13): 3584-3590.
- [17] Wilson J. T., Edgar L. T., Prabhakar S. et al. A fully coupled fluid-structure interaction model of the secondary lymphatic valve[J]. *Computer Methods in Biomechanics Biomedical Engineering*, 2018, 21(16): 813-823.
- [18] Han Y., Lin H., Ding M. et al. Flow-induced translocation of vesicles through a narrow pore[J]. *Soft Matter*, 2019, 15(16): 3307-3314.
- [19] Regmi S., Fu A., Luo K. Q. High shear stresses under exercise condition destroy circulating tumor cells in a microfluidic system[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7(1): 1-12.

# 磁热条件下分叉血管内的血流动力学分析

闫晓彤, 乐恺\*, 张欣欣

(北京科技大学能源与环境工程学院热能工程系, 北京 100083)  
(13691351586, yuekai@ustb.edu.cn)

**摘要:** 为了探究磁热共同作用对分叉血管血流特性的影响, 本文基于医学图像构建了人体左冠脉前降支血管三维模型, 采用数值模拟方法研究了磁热作用下正常血管和存在斑块的血管内血流特性。结果表明, 外加磁场能够改善前降支的血流紊乱现象, 当磁感应强度达到 150mT 时, 血流可恢复抛物线速度分布。随着磁感应强度增大, 分叉血管外侧的涡流强度会减弱, 血液平均流速和剪切力减小, 从而降低动脉粥样硬化风险。磁热作用下当热流密度增大 60%时, 斑块在主支和分支的情况下血液粘度和剪切力分别减小了 5.3%、12.5%和 4.6%、13.2%。研究结果可为磁热疗方案的设计与优化提供理论参考。

**关键词:** 磁热疗; 分叉血管; 动脉粥样硬化; 血流动力学; 温度场

## 0 前言

血液动力学特性在心血管疾病的形成和发展中起着关键的作用<sup>[1-6]</sup>。近年来, 磁热疗因其高效、微创和低副作用等优势在临床心血管疾病治疗领域得到了广泛关注<sup>[7,8]</sup>。在磁热疗作用下, 除了血液的理化特性及流动特性与血液-组织间的换热相互耦合影响<sup>[9]</sup>外, 血液作为生物磁流体, 其流动特性也会由于交变磁场的作用而发生改变, 进而对靶区组织的温度分布和治疗效果等产生影响<sup>[10-14]</sup>。因此, 研究磁热疗过程中血管内血液流动状态的变化规律, 对提高磁热疗疗效及制定预后措施具有重要意义。

血液中红细胞及血红蛋白等带电荷物质使其在磁场中呈现出的磁流体特性<sup>[15,16]</sup>, 在发展新兴临床治疗方法中极具应用潜力。已有研究通过理论计算和数值模拟方法确定了磁疗在改善血流动力学异常方面的作用<sup>[17-19]</sup>。而在磁热疗条件下, 分叉血管内的血液流动特性会受交变磁场参数以及生物组织中血管结构、血流速度和血液的理化性质等因素的影响, 从而改变组织与血液之间的传热情况, 因而比单一磁场或高温作用下的血流特性更为复杂。目前大多数已有研究局限于单一温度或磁场作用下的血流动力学特性, 而关于磁热共同作用下血流特性的变化规律及机制尚有待深入探讨。

本文基于人体真实结构建立了有无动脉粥样硬化斑块的分叉血管模型, 考虑血液的生物磁流体特性以及血液粘度的温度依赖性, 采用数值模拟方法研究了磁热条件下血管内的血流动力学特性。分析了交变磁场的磁感应强度、频率和边界热流对于正常情况和存在斑块的左冠脉前降支动脉血管内血液流速、压力、剪切力、血液粘度和温度等的影响规律。

## 1 模型与方法

### 1.1 几何模型

针对易发生动脉粥样硬化斑块的分叉血管, 本文基于医学 CT 图像 (图 1(a)) 数据,

对左冠脉前降支血管进行图像分割和表面重建，测量相关数据后逆向重构三维左冠脉前降支血管模型，血管尺寸如图 1(b)所示。具有动脉粥样硬化斑块的模型是在正常动脉几何模型的基础上根据相同的动脉狭窄程度而建立的，其中，主支处的斑块尺寸、位置依据 CT 图模型构建，如图 1(c)所示。

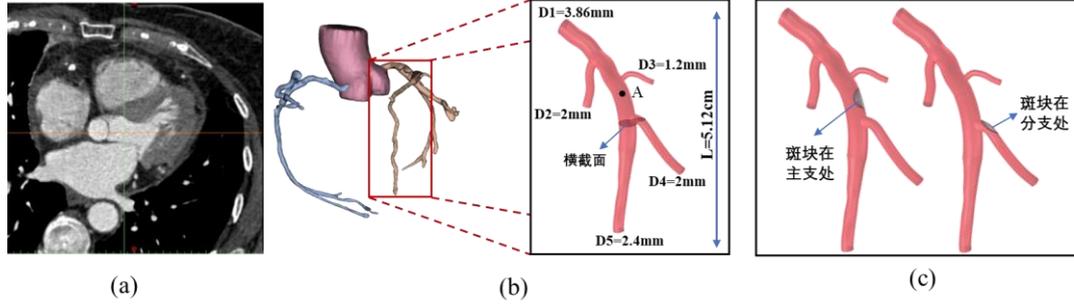


图 1 冠状动脉前降支血管的三维重构模型

(a) CT 扫描图像；(b) 无动脉粥样硬化斑块的血管模型；(c) 有动脉粥样硬化斑块的血管模型

## 1.2 数学模型

采用不可压缩流体的 Navier-Stokes 方程和能量方程作为左冠脉前降支血流和热传递的控制方程。血液被建模为不可压缩的非牛顿流体，本文采用修正的 Carreau-Yasuda 模型表示血液的粘性变化， $\mu$  血液粘度可表示为：

$$\mu = m \left[ 1 + (\lambda \dot{\gamma})^2 \right]^{(n-1)/2} \mu_{plasma}$$

$$\mu_{plasma} = 0.001 \times (0.751 + 2.95515 e^{-T/19.88257}) \quad (1)$$

其中， $\mu_{plasma}$  为血浆粘度，其随温度的变化采用 Elsner 等人<sup>[20]</sup>的实验数据拟合。 $m=7.154$ ， $n=0.780$ ， $\dot{\gamma}$  为剪切速率， $\lambda=0.110$  s 为时间常数<sup>[9]</sup>。血液在磁场作用下产生的磁场力与血液流速的数学关系满足麦克斯韦方程，外加磁场作用下基于 Navier-Stokes 方程的血液流动模型如下：

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} + \nabla \cdot (\rho \vec{V}) = 0 \quad (3)$$

$$\frac{\partial \rho \vec{V}}{\partial t} + \nabla \cdot (\rho \vec{V} \vec{V}) = -\nabla P + \nabla \cdot (\mu (\nabla \vec{V} + \nabla \vec{V}^T)) + \sigma B^2 \vec{V} \quad (4)$$

其中，血液密度  $\rho=1060$  kg/m<sup>3</sup>，电导率  $\sigma=2.54$  S/m， $\mu$  为血液动力粘度， $P$  为压力， $J$  为电流密度， $E$  为电场强度， $\vec{V}$  为速度矢量， $B$  为磁感应强度。在本文中，交变磁场的磁感应强度  $B=50、100、150、200$  mT，交变磁场的频率  $f=10、20、30、40、50$  kHz。血液流动过程中的能量方程为：

$$\rho C \left[ \frac{\partial T}{\partial t} + \vec{V} \cdot \nabla T \right] = \nabla \cdot [k \nabla T] \quad (5)$$

式中，血液比热容  $C=3600$  J/kgK，导热系数  $k=0.54$  kg/m·K， $T$  为血液的温度。入口血液温度  $T_{in}$  为 310.15 K，在斑块处施加均匀热流密度  $q=5000、6000、7000、8000$  W/m<sup>2</sup>，

除斑块外其他位置的血管壁温度  $T_w$  为 310.15 K。血管入口 D1 采用临床超声测量的真实血液流动速度  $v(t)$  作为入口边界条件<sup>[21,22]</sup> (如图 2(a)所示), 出口 D5 的相对压强为 0 Pa, 血管管壁施加无滑移边界条件, 心动周期为 1.0s。结果取自第 3 心动周期以消除周期依赖性, 周期之间的变化小于 1%。根据 Murray 定律<sup>[23,24]</sup>确定出口 D2、D3 和 D4 的边界条件。

### 1.3 模型验证

本文采用 COMSOL 软件进行模拟计算。为保证网格质量, 除采用四面体单元网格划分几何模型外, 对分叉结构处和边界层进行了网格细化, 如图 2(b)所示。模拟中使用的步长算法为向后差分公式, 使用 PARDISO 求解器求解控制方程, 时间步长为 0.001s。通过网格独立性验证, 网格划分选择为 441066 网格数 (图 2(c))。为了验证模拟结果的准确性, 建立了与文献<sup>[25]</sup>相同的物理模型对分叉血管结构的流动和传热进行了模拟。如图 2(d)所示, 模拟结果与文献中的结果吻合度非常好, 结果偏差小于 0.02%, 可证明本文模拟结果的准确性。

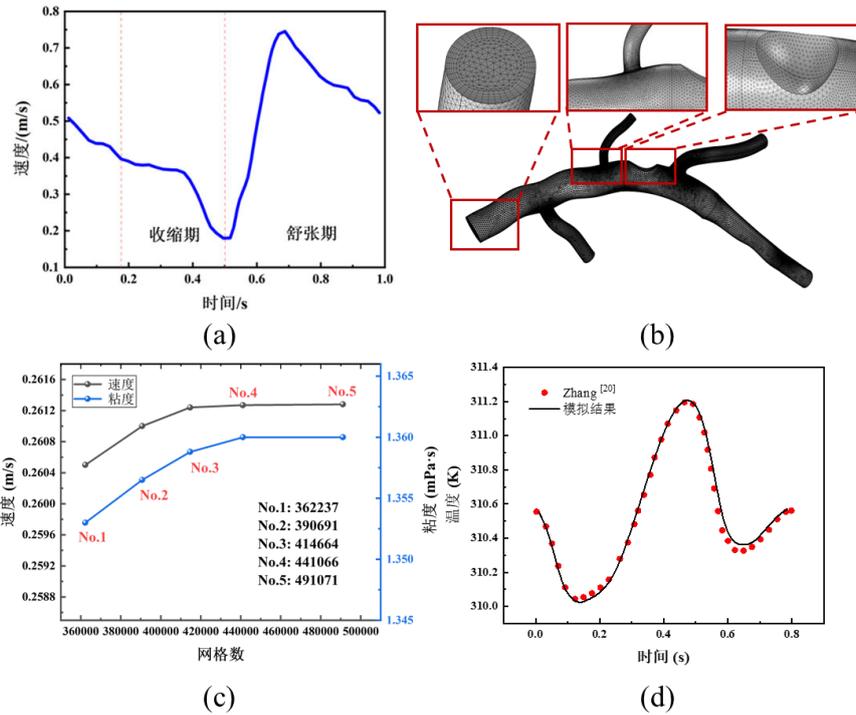


图 2 (a)前降支血管腔内血流入口边界条件; (b)网格生成和部分放大图; (c)网格独立性验证 (点 A); (d)与文献中的温度结果对比

## 2 结果及分析

### 2.1 不同交变磁场条件下的血流特性

本章节分析了仅有交变磁场情况下的血流特性。图 3 为交变磁场频率为 30kHz、场强为 200mT 条件下的一个心动周期中处于收缩期初期(0.1s)、收缩期速度最低时刻(0.5s)和舒张期速度峰值时刻(0.68s)的速度、压力、剪切力和流线分布。当血液流入分支血管时, 血液受流体惯性的影响流向分支血管的内侧壁上, 因此分叉处的血液流动呈现偏心

分布的现象,分叉血管内侧的速度和剪切力均高于外侧,且在舒张期速度峰值时刻(0.68s)这种现象更加明显,此时的流线也更加紊乱。这表明分叉血管的内侧更容易受到高速血液冲击而受损,从而导致血管病变的发生。压力随着入口脉动血流的波动而变化,速度更高时刻血压越大,且沿血管轴线方向压力逐渐减小,并在分叉脊处可以观察到明显的高压。

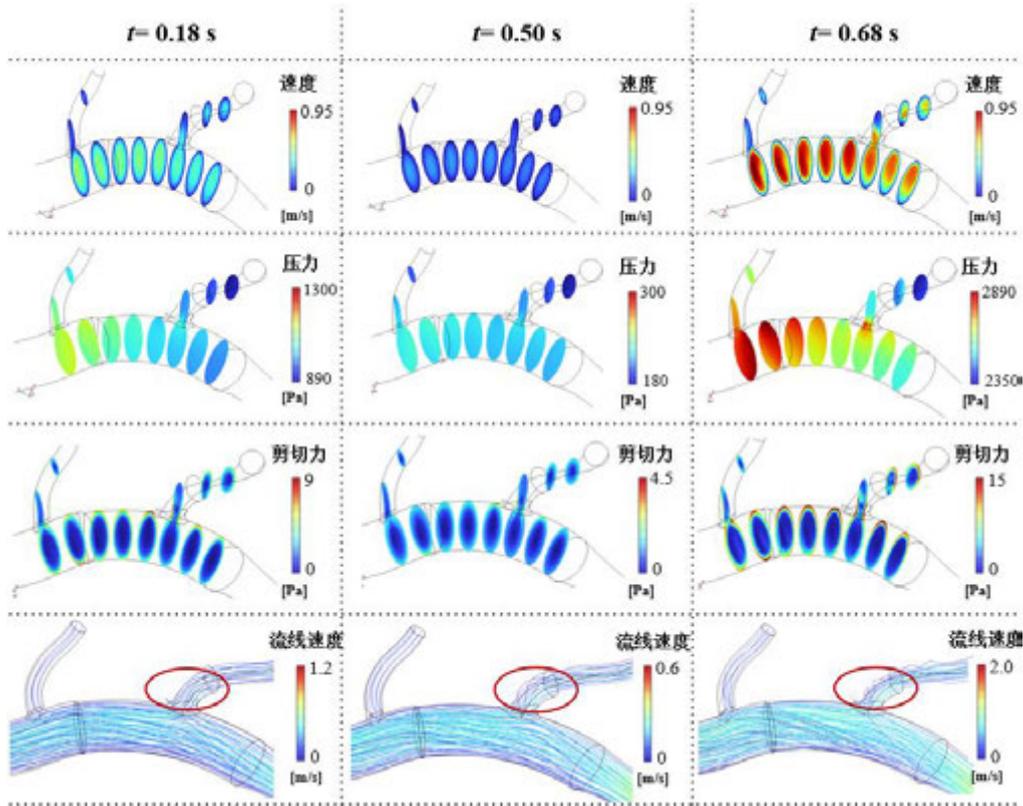


图 3 不同时刻的速度、压力、剪切力和流线分布

在交变磁场作用下,当频率为 30kHz,磁感应强度分别为 0、50、100、150、200mT 时,舒张期速度峰值时刻(0.68s)时刻的横截面(图 1(b))血流速度、压力和剪切力分布如图 4 所示。分支血管外侧区域的血液流速明显小于内侧的,且外侧还出现了一定程度的涡流。随着磁感应强度的增大,分叉血管内侧的血液流速及内外侧速度差均减小,且涡流程度逐渐减缓,这体现了施加磁场对于改善紊乱的血液流动状态有一定的积极影响。此外,分叉血管的前后侧均出现了更高的壁面剪切力,随着磁感应强度的增大,剪切力逐渐减缓且在分叉脊处观察到了更高的血压,这表明从入口至分叉处之间的压力损失和分叉处的剪切损伤均减小。剪切力是造成斑块形成或破损的重要因素,过高的剪切力会增强血小板的活化和聚集,可能导致动脉血管壁的不稳定甚至破裂<sup>[6]</sup>。因此外加交变磁场对于动脉粥样硬化的临床治疗具有重要的研究意义,增大磁场在一定程度上可以起到保护内皮细胞的作用,从而降低血管壁损伤的风险。表 2 列出了不同交变磁场频率条件下一个心动周期内的压降、速度和震荡剪切指数。震荡剪切指数作为评价脉动血流的重要参数,代表心动周期内血流方向的快速变化引起 WSS 的震荡大小,通常其值大于 0.3

时认为对血管内皮产生强烈的震荡剪切应力，可能促进白细胞的黏附和入侵，从而加速动脉粥样硬化斑块的形成和成熟。随着交变磁场频率的增大，平均速度减小而压降和震荡剪切指数均增大，是增大血管壁损伤风险的不利因素。

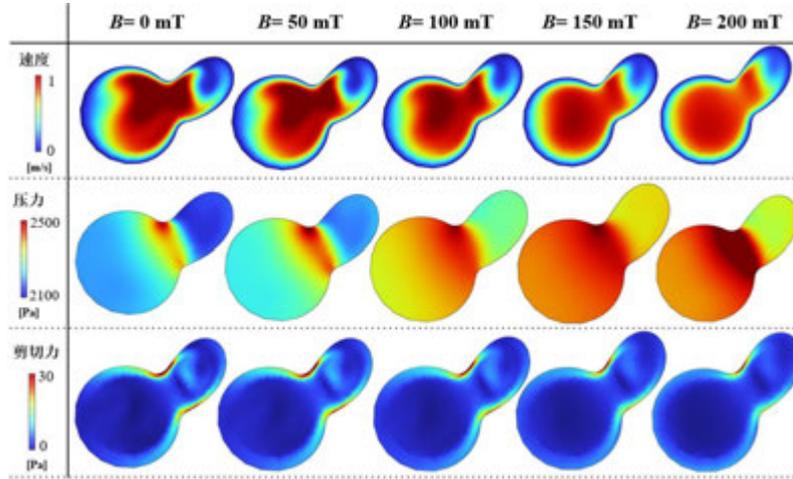


图4 不同磁感应强度下横截面的速度、压力和剪切力分布

表2 不同交变磁场频率下一个心动周期内的压降、速度和震荡剪切指数

	频率 $f=10\text{kHz}$	$f=20\text{kHz}$	$f=30\text{kHz}$	$f=40\text{kHz}$	$f=50\text{kHz}$
压降平均值(Pa)	1377.353	1377.512	1378.711	1379.380	1380.718
速度平均值(m/s)	0.53403	0.53341	0.53330	0.53271	0.53073
震荡剪切指数最大值	0.18335	0.20938	0.23876	0.25317	0.27833

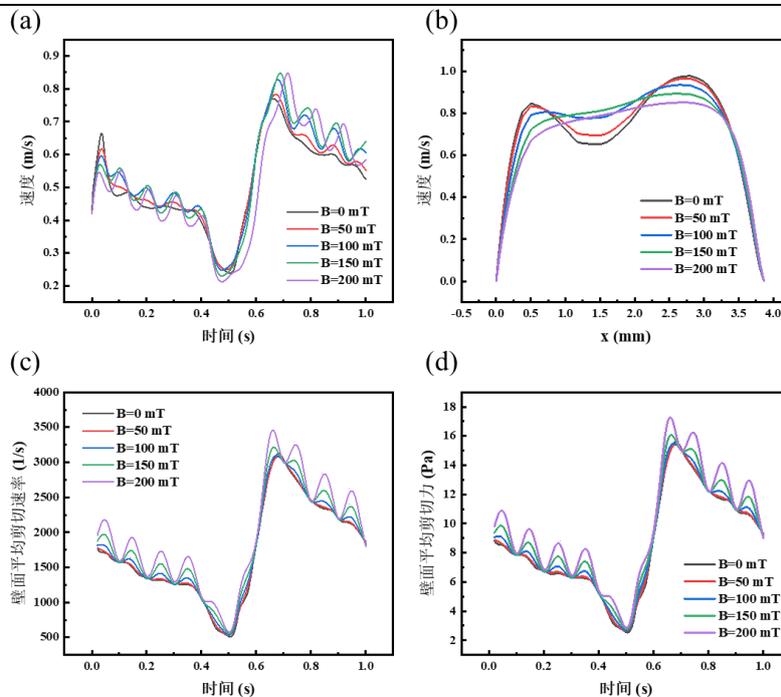


图5 交变磁场磁感应强度对速度、平均剪切速率和剪切力的影响。

(a) 血管腔内血流中心 A 点处速度随时间变化; (b) A 点所在截面沿径向上的速度分布; 壁面平均剪切速率(c)和剪切力(d)随时间的变化

图 5(a)和 5(b)显示了主支血管腔内中心处（图 1(b)中 A 点）的血液流速时间的变化和 0.68s 时刻 A 点所在截面的径向速度分布，血管壁面的平均剪切速率和剪切力随时间的变化如图 5(c)和 5(d)所示。交变磁场的施加会使管腔内中心处的血液流速、血管壁面的平均剪切速率和剪切力均会出现不同程度的波动，并且随着磁感应强度的增大，波动逐渐加剧。与无磁场的情况相比，磁感应强度为 50mT、100mT、150mT、200mT 的血液流速最大波动分别为 2.2%、9.3%、10.6%、13.7%；壁面平均剪切力为 0.2%、0.3%、4.8%、14.1%。然而外加磁场也会使由血管壁曲率增大引起的血流紊乱现象得到改善，当磁感应强度达到 150mT 时，血流恢复抛物线速度分布（图 5(b)）。这表明交变磁场强度越大，血流动力学参数在一个心动周期内的波动越剧烈，但沿径向方向上却更接近抛物线分布，因此在实际磁热治疗的过程中需要兼顾两者的影响，根据实际情况来选择合适的磁场参数。

## 2.2 不同热流密度下的血液动力学分析

本章节分析了磁热条件下不同边界热流对血液动力学参数的影响。当交变磁场场强为 200mT、频率为 30kHz 时，边界热流影响下的血液温度和壁面剪切力如图 6 所示。斑块前侧承受主支血管中低温血流的冲击，由于血液与血管壁之间的对流换热导致部分能量被血流带走，因此斑块前侧的温度低于斑块后侧，且随着边界热流密度的增大，该现象更为明显。值得注意的是，斑块在主支的情况下，斑块前侧因受血流冲击而承受更大的剪切力；而斑块在分支的情况下，由于斑块离分叉点很近，分支血管入口附近的血液呈偏心分布（如图 3 和图 4），血液受惯性影响流向斑块的中间位置因而此处剪切力更大。

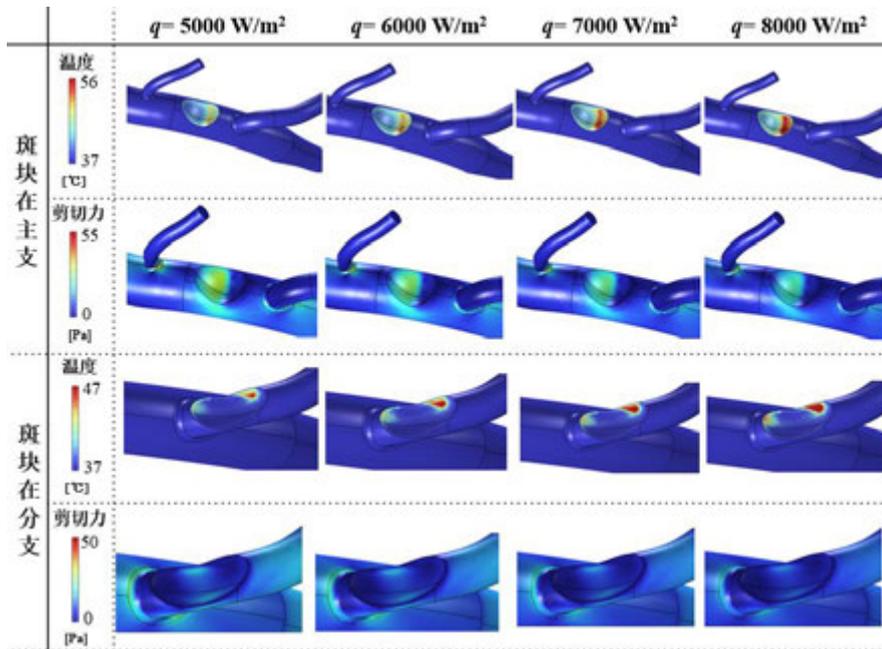


图 6 热流密度对温度和壁面剪切力的影响

图 7(a)和 7(b)分别显示了斑块在主支和分支两种情况在不同热流密度时斑块处的最高温和平均温度随时间的变化。在脉动血流的影响下, 0.68s 时血液流速最快, 被血流带走热量最多因此温度较低, 而 0.5s 时则相反。当热流密度增大 60% 时, 斑块在主支的情况下最高温升高了 17.7%, 而斑块在分支情况下为 19.3%。在热流密度相同时, 斑块在分支情况下斑块处的温度最大值高于斑块在主支的情况, 这是由于主支斑块中承受着更高流速的血液冲刷, 换热更为剧烈; 然而斑块在分支情况下的平均温度却小于斑块在主支的情况, 这是由于在血管狭窄程度及斑块表面曲率相同的情况下, 主支中斑块的表面积更大, 因而进入血管中的热量更多。

斑块在主支和斑块在分支两种情况下在不同热流密度时的斑块处平均粘度和壁面剪切力随时间的变化如图 7(c)和 7(d)所示。热流密度从  $5000\text{W}/\text{m}^2$  增大至  $8000\text{W}/\text{m}^2$  时, 斑块在主支情况下血液粘度和剪切力分别减小了为 5.3% 和 12.5%, 斑块在分支情况下为 4.6% 和 13.2%。剪切力在一个心动周期内的变化受脉动血流的影响较大, 波形与入口边界脉动速度波形相似, 受血液非牛顿流体特性的影响, 在剪切力最低的时刻(0.5s)观察到最大粘度。血液粘度除了受剪切速率影响外, 还具有温度依赖性, 在高温条件下血液粘度呈下降趋势, 这表明在本文中涉及的参数范围内, 与温度相比, 剪切速率对血液粘度降低的影响可能更大, 提示了在磁热疗过程中血管中的血流动力学特性不仅能影响治疗效果, 还会对血液自身的理化特性造成影响, 而该影响是否可逆需要进一步的实验证实。

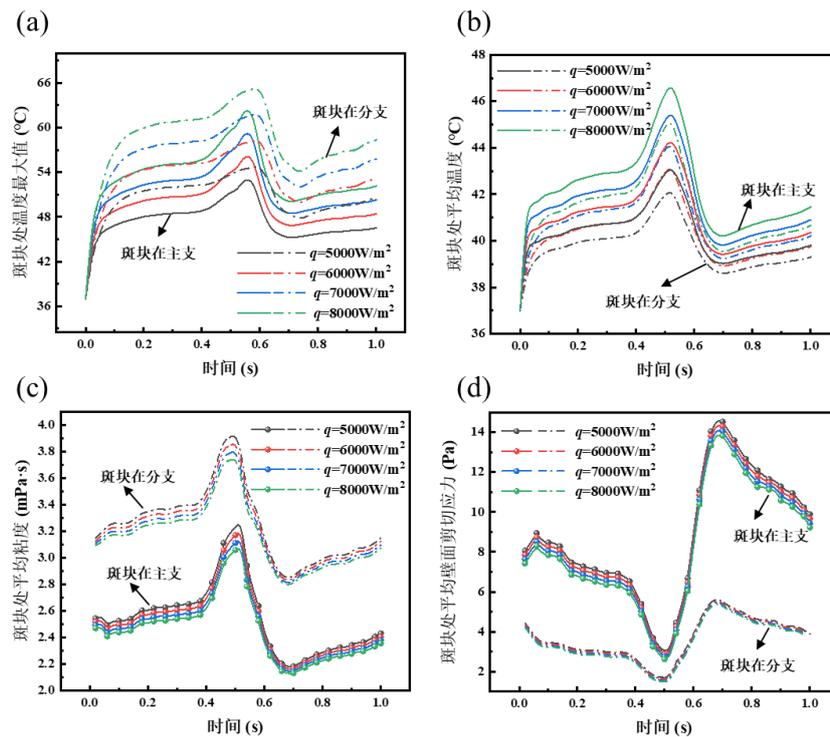


图 7 热流密度对斑块处温度、粘度和剪切力的影响: 斑块处的温度最大值(a)、平均温度(b)、粘度(c)和剪切力(d)随时间的变化。

(实线代表斑块在主支的情况, 虚线代表斑块在分支的情况。)

### 3 结论

本文采用数值模拟方法研究了磁热条件下不同斑块情况的分叉血管内血液动力学特性。分析了交变磁场磁感应强度、频率和热流密度对左冠脉前降支动脉血管内血液流速、压力、剪切力、血液粘度和温度的影响规律，研究结果可为优化磁热疗的治疗参数及制定预后措施提供理论依据。主要结论如下：

(1) 随着磁感应强度增大，分叉血管内外侧速度差距减小且涡流程度逐渐降低；分叉处前后侧的高壁面剪切力也逐渐减小。这表明施加磁场对于改善紊乱的血液流动状态、保护内皮细胞具有一定的积极意义。

(2) 外加交变磁场会使管腔内中心处的血液流速、血管壁面的平均剪切速率和剪切力随时间变化波动，但外加磁场会使由血管壁曲率增大引起的血流紊乱现象得到改善，因此在实际磁热治疗的过程中需要兼顾两者情况，根据实际情况来选择合适的磁热疗的磁场参数。

(3) 随着边界热流密度的增大，血液粘度和剪切力均逐渐减小。剪切力在一个心动周期内的变化受脉动血流的影响较大，波形与入口边界脉动速度波形相似，受血液非牛顿流体特性的影响，在剪切力最低的时刻粘度最大。

#### 参考文献

- [1] Chaichana T, Sun Z, Jewkes J. Computation of Hemodynamics in The Left Coronary Artery with Variable Angulations[J]. Journal of biomechanics, 2011, 44(10): 1869-1878.
- [2] Swillens A, Witte M, Nordgaard H, et al. Effect of The Degree of LAD Stenosis on "Competitive Flow" and Flow Field Characteristics in LIMA-to-LAD bypass Surgery[J]. Medical & Biological Engineering & Computing, 2012, 50(8): 839-849.
- [3] Tash O, Razavi S. Numerical Investigation of Pulsatile Blood Flow in a Bifurcation Model with a Non-Planar Branch: The Effect of Different Bifurcation Angles and Non-Planar Branch[J]. Bioimpacts, 2012, 2(4): 195-205.
- [4] Dong J, Sun Z, Inthavong K, et al. Fluid-Structure Interaction Analysis of Representative Left Coronary Artery Models with Different Angulations[C]. Computing in Cardiology, 2014.
- [5] Yan X, Yue K, Zhang X. Computation Prediction of the Therapeutic Effect of Metal Stent Implantation for Coronary Bifurcation[J]. The Fifth International Conference on Biological Information and Biomedical Engineering, 2021.
- [6] 王慧琴, 王思博, 刘亢丁, 等. 局部血液动力学对颈动脉粥样硬化斑块的影响[J]. 中风与神经疾病杂志, 2017, 34(07): 667-669.
- [7] 余海霞, 史欢欢, 赵凌云, 等. 磁热疗预防和治疗再狭窄研究进展[J]. 科技导报, 2010, 28(19): 113-117.
- [8] 许黄涛, 任伟, 潘永信. 纳米铁氧化物磁热疗相关机制研究进展[J]. 生物化学与生物物理进展, 2019, 46(04): 369-378.
- [9] Zhang X, Zheng L, Wang E, et al. Numerical Investigations of Temperature and Hemodynamics in Carotid Arteries With and Without Atherosclerotic Plaque During Open Surgery[J]. Journal of thermal biology, 2020, 91: 102622.

- [10] Wu H, Liu L, Ma M, et al. Modulation of Blood-Brain Tumor Barrier for Delivery of Magnetic Hyperthermia to Brain Cancer[J]. *Journal of Controlled Release*, 2023, 355: 248-258.
- [11] Gunakala S, Job V, Sakhamuri S, et al. Numerical Study of Blood Perfusion and Nanoparticle Transport in Prostate and Muscle Tumours During Intravenous Magnetic Hyperthermia[J]. *Alexandria Engineering Journal*, 2021, 60(1): 859-876.
- [12] 王珂, 张璐, 王永庆, 等. 磁热耦合下血管对温度场分布的影响[J]. *低温与超导*, 2022, 50(04): 25-30.
- [13] Astefanoaei I, Dumitru I, Chiriac H, et al. Controlling Temperature in Magnetic Hyperthermia With Low Curie Temperature Particles[J]. *Journal of Applied Physics*, 2014, 115(17).
- [14] Tang Y, Jin T, Flesch R. Numerical Temperature Analysis of Magnetic Hyperthermia Considering Nanoparticle Clustering and Blood Vessels[J]. *IEEE Transactions on Magnetics*, 2017, 53(10): 1-6.
- [15] Javadzadegan A, Moshfegh A, Afrouzi H H, et al. Magneto-hydrodynamic Blood Flow in Patients With Coronary Artery Disease[J]. *Computer Methods and Programs in Biomedicine*, 2018, 163: 111-122.
- [16] Higashi T, Yamagishi A, Takeuchi T, et al. Orientation of Erythrocytes in a Strong Static Magnetic Field[J]. *Blood*, 1993, 82(4): 1328-1334.
- [17] Haik Y, Pai V, Chen C-J. Apparent Viscosity of Human Blood in a High Static Magnetic Field[J]. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 2001, 225(1): 180-186.
- [18] Shah S, Mass F. Data Survey of Occupational Therapists in Queensland Part 1 — Demography[J]. *Australian Occupational Therapy Journal*, 1980, 27(4): 187-190.
- [19] Tao R, Huang K. Reducing Blood Viscosity With Magnetic Fields[J]. *Physical Review E*, 2011, 84(1): 011905.
- [20] Elsner R, Meiselman H J, Baskurt O K. Temperature-Viscosity Relations of Bowhead Whale Blood: a Possible Mechanism for Maintaining Cold Blood Flow[J]. *Marine mammal science*, 2004, 20(2): 339-344.
- [21] Abbasian M, Shams M, Valizadeh Z, et al. Effects of Different Non-Newtonian Models on Unsteady Blood Flow Hemodynamics in Patient-Specific Arterial Models With In-Vivo Validation[J]. *Comput Methods Programs Biomed*, 2020, 186: 105185.
- [22] 曹欣荣, 王婕, 王荣品, 等. 不同边界条件对主动脉血流仿真结果的影响[J]. *清华大学学报(自然科学版)*, 2014, 54(06): 700-705.
- [23] Rikhtegar F, Pacheco F, Wyss C, et al. Compound Ex Vivo and in Silico Method for Hemodynamic Analysis of Stented Arteries[J]. *PloS one*, 2013, 8(3): e58147.
- [24] Murray C D. The Physiological Principle of Minimum Work: I. The Vascular System and The Cost of Blood Volume[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1926, 12(3): 207-214.
- [25] Yan Z, Xie H. The Effect of a Bifurcation Structure on The Heat Transfer and Temperature

Distribution of Pulsatile Blood Flow[J]. International Journal of Heat & Mass Transfer, 2018, 118: 663-670.

# 屏气对人体肺部药物液滴沉积的影响

党航宇, 胥义\*

(上海理工大学生物系统热科学研究所, 上海 200082)

(Tel: 13917434302, Email: xuyi@usst.edu.cn)

**摘要:** 利用屏气改变呼吸模式有利于调控药物在肺呼吸道内部的沉降, 从而提升肺部给药的治疗效果。本文利用人体肺部 CT 图像三维重构得到的支气管模型, 采用数值仿真计算了屏气对人体肺部吸入药物液滴沉积特性的影响。结果表明真实支气管不规则的几何结构以及吸气流量是影响支气管内部流动以及药物液滴运输与沉积的关键因素。惯性撞击导致大液滴 ( $10\mu\text{m}$ ) 更倾向于沉降于支气管分叉口区域, 而小液滴 ( $1\mu\text{m}$ ) 则倾向于从出口逃逸进入支气管远端, 且增大吸气流量会强化液滴的沉积率。提高吸气时间可以使更多的液滴逃逸, 而屏气则可以在 9.5s 内将液滴悬浮率降低为初始时刻的 10%。这些结果可以深化屏气对肺部给药影响的认识, 并且进一步为肺部给药装置的优化提供指导。

**关键词:** 肺部给药; 颗粒沉积; 支气管; 传热传质; 数值模拟

## 0 前言

肺部给药即利用特定给药装置 (干粉吸入器或雾化器) 将药物通过呼吸道递送到肺部沉积, 从而治疗肺部疾病 (哮喘, 慢性阻塞性肺病, 肺动脉高压等) [1] 或者全身性疾病 (糖尿病, 精神疾病等) [2]。肺部给药具有药物使用相对剂量低、全身副作用发生率, 药物起效快等优势 [3,4], 因此近些年来得到了制药和医疗保健人员以及研究者越来越多的关注。

肺部给药的关键在于让尽可能多的药物颗粒精准到达呼吸道特定区域进行沉积并吸收。影响药物颗粒在肺部沉积的因素包括药物颗粒特性、呼吸道几何形状和呼吸模式 [5]。粒径和颗粒密度显著影响药物在呼吸道中的沉积机制 (惯性碰撞沉积、重力沉积和布朗扩散沉积), 是肺部药物制剂中最常见的考虑因素 [6]。研究表明 [6,7] 粒径大于  $5\mu\text{m}$  的颗粒大都以惯性碰撞的方式沉积在上呼吸道内 (鼻、咽、喉和气管), 并且湍流现象会强化惯性碰撞沉积; 直径在  $1\mu\text{m}$  至  $5\mu\text{m}$  之间的中等大小的药物颗粒在支气管内停留时间较长且速度很小, 此时颗粒将以重力沉积的方式沉积在中央和小气道; 直径小于  $1\mu\text{m}$  的小药物颗粒由于速度很小甚至趋近于  $0\text{m/s}$ , 将通过布朗运动的方式沉降在肺泡壁面上。另一方面, 由于肺支气管生理结构十分复杂, 其总横截面积随分支的增多而增大, 但个体分支直径减小, 量级从气管的厘米级到肺泡的微米级不等, 这种跨尺度的复杂几何结构导致其内部流动十分复杂, 从而影响到药物颗粒在肺部局部区域的不规则沉积 [8]。

\* 基金项目: 国家自然科学基金 (52076140)

最后，呼吸模式的差异同样会改变药物颗粒的沉积特性。例如，平均停留时间或潮气量的增加会增强药物在肺中的沉积，而气流的增加减少了药物颗粒平均停留时间，会导致药物颗粒的总沉积减少<sup>[8]</sup>。但是调研文献发现，针对呼吸模式尤其是屏气对药物颗粒沉积的研究较少，这对于揭示肺部药物颗粒沉积机制乃至肺部给药装置的研发十分不利。

在仅有的几项针对屏气的研究中，Darquenne 等<sup>[9]</sup>通过计算表明，在正常重力下屏气时间越长， $1\mu\text{m}$  颗粒的总体沉积量更大，但在微重力下则不然。同时，在这项研究中也很难观察到体内的区域沉积。Inthavong 等<sup>[10]</sup>首先进行了考虑屏气的数值模拟，但他们没有清楚地展示其对粒子沉积的影响。Lmai 等<sup>[11]</sup>的结果表明屏气可有效增加上呼吸道中 $5\mu\text{m}$  颗粒的沉积，在屏气 10s 后颗粒沉积分数增加到 5 倍以上，而对于  $1\mu\text{m}$  和  $10\mu\text{m}$  的颗粒效果则较差。Horváth 等<sup>[12]</sup>则研究了屏气对于患者吸入商业干粉气溶胶药物的影响，结果也证实所研究药物的肺剂量在 11s 秒屏气的情况下可以增加 3.26%-5.5%，在 20 秒屏气的情况下可以增加 7.53%-25%。需要注意的是，这些研究或者忽略了真实支气管不规则几何结构的影响，或者未考虑肺部给药装置释放的复杂的药物颗粒粒径分布的影响，因此均存在一定的局限性。

鉴于此，本文拟基于人体肺部 CT 图像三维重建得到真实的肺支气管模型。在此基础上，利用数值模拟研究屏气对人体吸入雾化药物液滴颗粒后在上呼吸道内沉积的影响。考虑不同吸气流量，吸气时间以及屏气时间对液滴颗粒的输运以及沉积的影响，从而获得最优化的屏气时间用于指导肺部给药装置的研发。

## 1 计算方法

### 1.1 几何模型构建

肺支气管的原始 CT 图像数据来源于肺图像联合采集数据库 LIDC-IDRI，数据集共包含 636 张  $512\times 512\text{px}$  的断层图像，像素尺寸为  $0.6895\text{mm}$ ，层距  $0.6\text{mm}$ 。经过肺支气管 CT 图像预处理、肺支气管阈值分割、初步三维重建和后处理等过程后，最终得到如图 1 所示的包含气管到第六级 (G0-6) 的上支气管模型。重建的支气管模型包含 18 个出口，所有远端气管均被人为加长以减轻边界条件的影响。在后续的计算中，重力方向为  $z$  轴的负方向，用于研究重力对肺部颗粒沉积的影响。

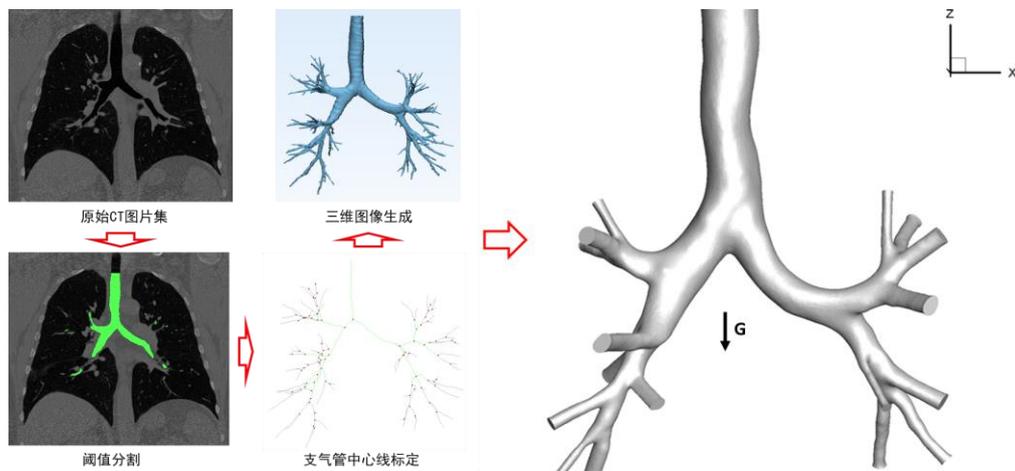


图 1 基于 CT 图像三维重建支气管模型

## 1.2 控制方程

### 1.2.1 支气管内部气相控制方程

支气管内的气体为不可压缩的单相牛顿流体，在任意拉格朗日欧拉网格中，不可压缩的 N-S 方程为<sup>[13]</sup>

$$\nabla \cdot u = 0 \quad (1)$$

$$\frac{\partial u}{\partial t} + u \cdot \nabla u = -\frac{1}{\rho} \nabla p + \mu \cdot \nabla^2 u \quad (2)$$

式中， $u$  是  $i$  方向的网格速度分量， $P$  和  $\nu$  和分别是气体的压力以及运动粘度， $t$  为时间。

### 1.2.2 支气管内部液滴运动方程

每一个球形、刚性和非旋转的液滴颗粒的运动可以通过求解牛顿方程来确定<sup>[14]</sup>：

$$m_p \frac{du_p}{dt} = F_D + F_G + F_B \quad (3)$$

式中， $m_p$  为液滴的质量， $u_p$  为液滴的速度， $F_D$  为曳力（惯性力）， $F_G$  为液滴受到的重力， $F_B$  是与布朗扩散有关的随时间变化的随机扩散力。其中曳力可以定义为

$$F_D = \frac{18\mu}{d_p \rho_p C_c} (u - u_p) \quad (4)$$

$C_c$  为滑移系数， $d_p$  和  $\rho_p$  分别为液滴的直径和密度。

$$F_g = \frac{g(\rho_p - \rho_g)}{\rho_p} \quad (5)$$

其中， $\rho_g$  为空气密度。

## 1.3 边界条件

人体在不同活动状态下的吸气流量以及吸气时间存在一定差异。根据文献<sup>[15]</sup>，人在平静呼吸、小负荷运动和剧烈运动时的呼吸流量分别为 15、30 和 60~90L/min。据此本文选择三种典型的吸气工况（如表 1 所示），用于研究屏气对液滴颗粒在肺支气管内沉积的影响。支气管入口为速度入口条件，出口则均为压力出口条件且表压均为 0Pa。同时假设支气管管壁刚性无滑移，也不考虑支气管呼吸过程中的弹性形变。

表 1 三种典型的吸气工况

工况	吸气流量 (L/min)	吸气时间 (S)	屏气时间 (S)
Case 1	30	0.5	9
Case 2	60	0.5	9
Case 3	60	1	9

假设液滴颗粒为球形，液滴密度为  $1000\text{kg/m}^3$ ，初始时刻液滴在入口截面均匀分布，且初速度为  $0\text{m/s}$ ，使液滴颗粒进入流场的速度与气流速度相同。液滴粒径符合 Rosin-Rammler (R-R)分布，最大、最小和平均粒径分别为  $10\mu\text{m}$ ， $1\mu\text{m}$  和  $2.3\mu\text{m}$ 。由于支气管内壁存在大量的纤毛和黏液，液滴颗粒接触到壁面即被粘附，因此壁面设置为“Trap”边界条件，即颗粒在接触到壁面后速度为  $0\text{m/s}$ 。此外，通过离散随机游走模型 (Discrete Random Walk Model, DRW) 考虑湍流效应对液滴颗粒运动的影响。同时为了简化计算，忽略液滴之间的相互作用，例如运动过程的聚并或者破碎等行为。

为了量化分析液滴在人体支气管内的沉积规律，引入了液滴颗粒沉积率 (Deposition Rate) 和液滴颗粒逃逸率 (Escape Rate)，定义为：

$$DR = \frac{N_d}{N_t} \quad (6)$$

$$ER = \frac{N_t - N_d}{N_t} \quad (7)$$

式中  $N_d$  代表在肺支气管内沉积的液滴颗粒总数， $N_t$  代表进入肺支气管内总的液滴颗粒物数。

#### 1.4 数值计算方法

采用 ICEM 20 进行网格划分并，由于支气管模型较复杂，很难采用结构化网格对其进行网格划分，故均采用非结构化四面体网格。同时进行边界层网格加密 (如图 2a 所示)，从而提高计算精度。为了保证计算模型网格划分的独立性，选取一系列数量的网格并在截线 a 位置对比其无量纲速度分布 (如图 2b 所示)。结果表明，420 万个网格已经可以满足计算精度要求。使用计算流体力学仿真软件 FLUENT 20 进行数值仿真计算。使用 Transition SST 模型求解湍流动能及其耗散方程，采用 PISO 算法处理压力与速度的耦合，压力插值采用标准(Standard)形式，对能量方程、湍动能方程和湍动能耗散率方程均采用一阶迎风格式。

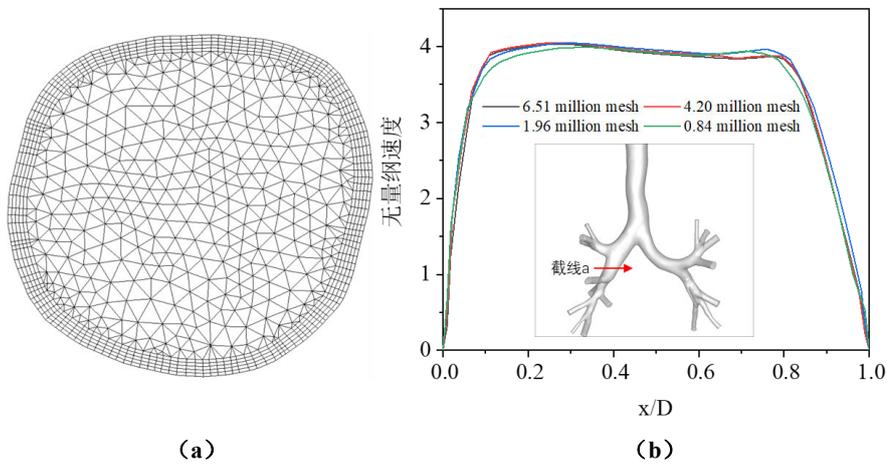


图 2 (a) 气管区域截面网格划分及边界层加密；(b) 网格独立性验证

### 1.5 模型验证

考虑到模型的特异性，很难针对液滴在模型内部的沉积特性与相关文献进行对比，且液滴的运动与沉积特性与气流特性密切相关，因此本文考虑 Phuong 等<sup>[16]</sup>利用 PIV 实验测量研究了三种恒定呼吸条件下(7.5、15 和 30 L/min)人体上呼吸道内的流动状态。随后，他们基于相同的模型进行了 CFD 模拟计算<sup>[17]</sup>。本文在与文献相同的吸入流量(30 L/min)条件下进行模型验证，并且计算中使用的湍流模型与 Phuong 等人相同。在气管区域的三个截面位置(截线 b-d)提取无量纲速度曲线，并与文献数据进行对比，如图 3 所示。从图 3 可以看出，模拟结果在数值范围和趋势上与文献吻合良好，表明利用该模型在后续计算液滴运输和沉积方面是可靠的。

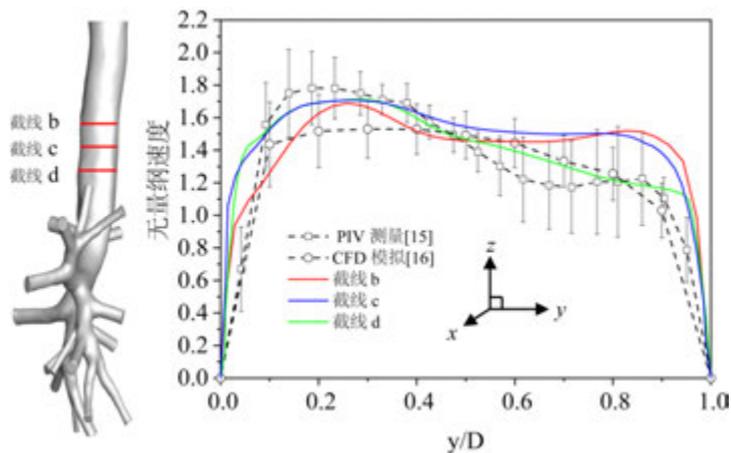


图 3 对比文献数据进行模型验证

## 2 结果与讨论

### 2.1 支气管内部气体流动特性

由于颗粒物输运与沉积高度依赖于肺支气管内的气流特征，因此首先需要对吸气过程中上支气管模型内的流动特性进行研究。在图 4 中分别对比了 case1 和 case2 两种工况下支气管内部的压力与速度分布。当吸气流量为 30L/min 时，整体压力较小，约为 7Pa 左右，且分布较为均匀。而当吸气流量增大到 60L/min 时，最大压力也增大到 25Pa 左右。而且在二分叉区域（红色箭头处）存在明显的高压区域，这主要是由于肺气管连续二分叉的结构特征导致父级气管段主流分流时对分叉口的连续冲击造成，同时可以发现吸气流量越大，这种冲击现象越明显。

观察图 4 中的速度分布可以发现，由于真实支气管不规则的几何结构，导致其内部的速度分布十分复杂。最大速度区域存在于右肺下叶支气管区域，且高速区域一般存在于支气管的中心区域而低速区域更偏向边界层区域。另外，尽管来自于气管的气流不断被二分为两股气流，但是由于子级支气管段同样也在逐渐减小，所以下级支气管区域气流主流速度相对于入口速度反而更大。此外，随着吸气流量逐渐增大，高速区域占比增大而低速区域则减小，尤其在二分叉区域更加明显。

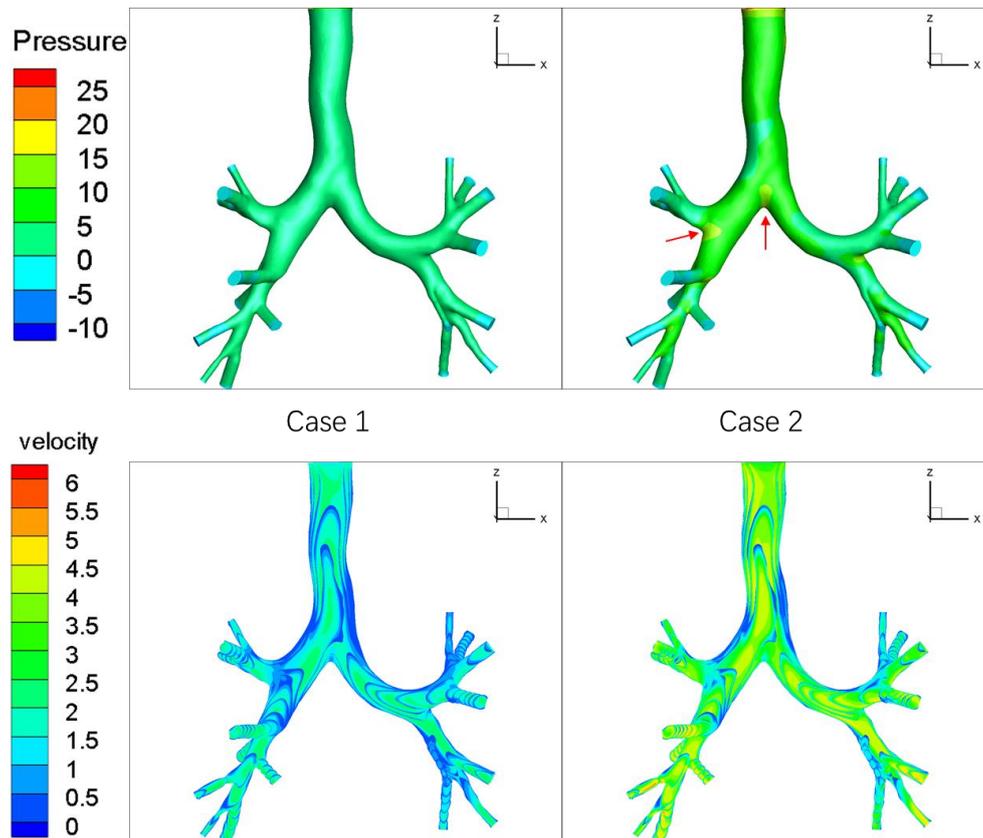


图 4 不同工况下支气管内部压力与速度分布 (T=0.25s)

图 5 对比了 case1 和 case2 两种工况下支气管内部的流线分布。从整体上看，在靠近入口的气管区域，流线基本平行分布，随后在分叉口区域分成 2 股进入下一级支气管。另外，受支气管不规则的几何结构以及弯管曲率的影响，流线在不同区域的稀疏分布以

及弯曲程度并不相同。在气管分叉口区域（I）可以看到，由于气管存在弯曲，导致流线发生交叉与环绕，表明该区域的气流存在二次流（回流和绕流）。同时，随着吸气流量从 30L/min 增大到 60L/min，该区域的二次流明显增强。而在靠近左肺下叶的分叉口区域（II）以及右肺上叶的分叉口区域（III），吸气流量的增大不仅强化了该区域的二次流现象，也进一步影响了主流向支气管不同区域分配的比例。

综合考虑支气管内部不同工况下的流动分布，可以发现真实支气管不规则的几何结构以及吸气流量是影响其内部流动的重要因素。前者导致支气管内部速度与压力以及二次流呈现非常复杂的分布状态，而后的增大则会进一步加剧支气管内部的湍流状态，两者的综合作用进一步导致支气管内部的液滴运动与沉积变得更加复杂。

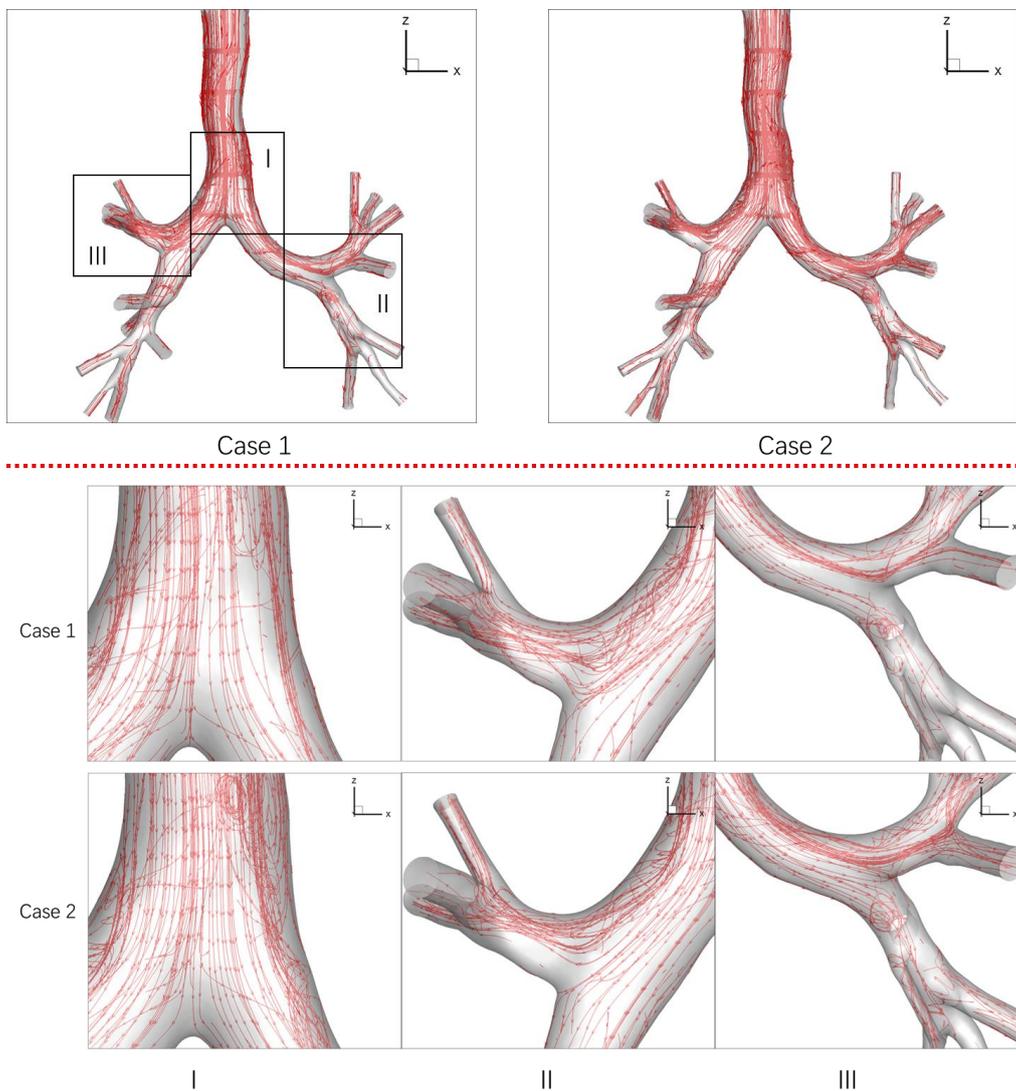


图 5 支气管内部流线分布

## 2.2 支气管内部颗粒沉积特性

---

图 6 所示为三种工况下液滴颗粒在支气管内部随时间变化的沉积分布示意图。根据图 4 的分析可以知道在分叉口存在主流的冲击效应，而图 5 则表明分叉口区域容易出现二次流现象。另一方面，较大的液滴颗粒主要以惯性碰撞的形式沉积，而较小的液滴颗粒则更多受重力以及布朗扩散的影响沉积，它们在支气管内存在时间更长，因此更倾向于从支气管出口逃逸。因此在图 6 中可以发现，液滴颗粒更倾向于沉积在支气管分叉口区域，只有很少部分的液滴到达支气管出口区域，且沉积的基本是粒径比较大的液滴（ $10\mu\text{m}$ ），小粒径液滴（ $1\mu\text{m}$ ）沉积占比较少。

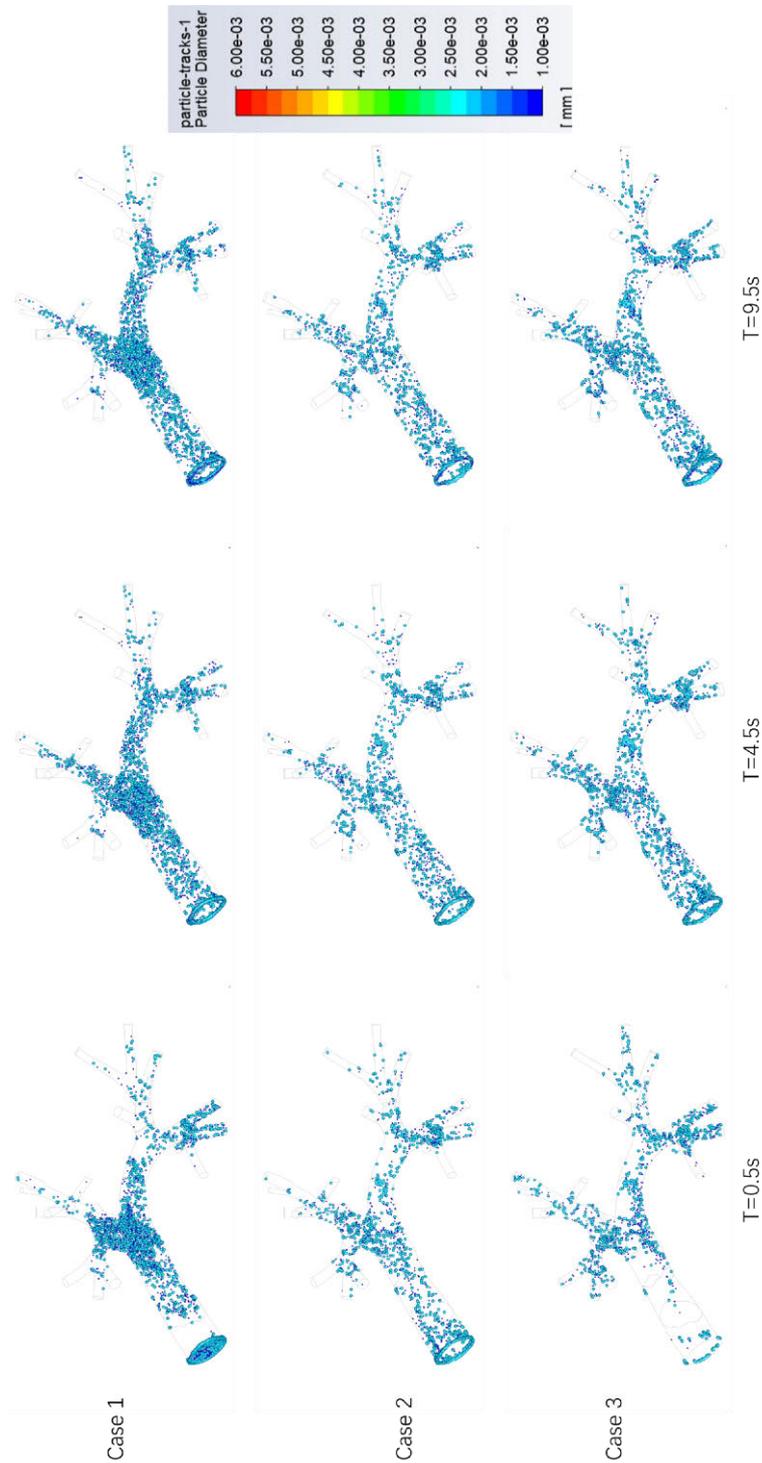


图 6 不同工况液滴颗粒在支气管内部随时间变化的沉积分布

另一方面，由于增大吸气流量可以强化支气管内部的湍流效应或者二次流现象，并进一步增强液滴的惯性碰撞现象，从而增强大液滴在支气管内部的沉积。但是需要注意

的是，由于 case1 和 case2 的吸气时间较短，而 case2 和 case3 仅仅改变了吸气时间，并不会改变支气管内部的流动特性，因此在  $T=9.5s$  时两者的瞬时沉积分布差别并不明显。

### 2.3 吸气对支气管内部颗粒沉积的影响

为了进一步量化和分析不同工况下支气管内部液滴的状态分布，计算得到瞬时液滴不同状态百分比如图 7 所示。从图中可以直观看出大部分液滴均沉积在上支气管区域，只有少量液滴可以通过支气管出口逃逸进入支气管远端，同时更少的液滴会悬浮在支气管内部。另一方面，可以发现当吸气流量为  $30L/min$  时， $T=0.5s$  液滴沉积率约为 40%，而增大吸气流量为  $60 L/min$  时，液滴沉积率可以增大到 55%左右，表明增大吸气流量确实可以提高液滴在支气管内部的沉积。此外，增大吸气流量可以将  $T=0.5s$  时的液滴悬浮率从约 20%降低到小于 10%。最后，当吸气结束以后，由于此时支气管内部气体处于静止状态，因此液滴将主要依靠重力进行沉积。少部分液滴颗粒将依靠惯性继续运动，越大的颗粒能够运动的距离越短，越容易沉积在支气管壁面上。随着时间的推移，将有更少的小液滴 ( $1\mu m$ ) 由于重力原因沉积在支气管远端或者通过出口逃逸。图 7 表明，屏气时约有 10%的液滴悬浮于支气管内且随着屏气时间的延长而缓慢降低。

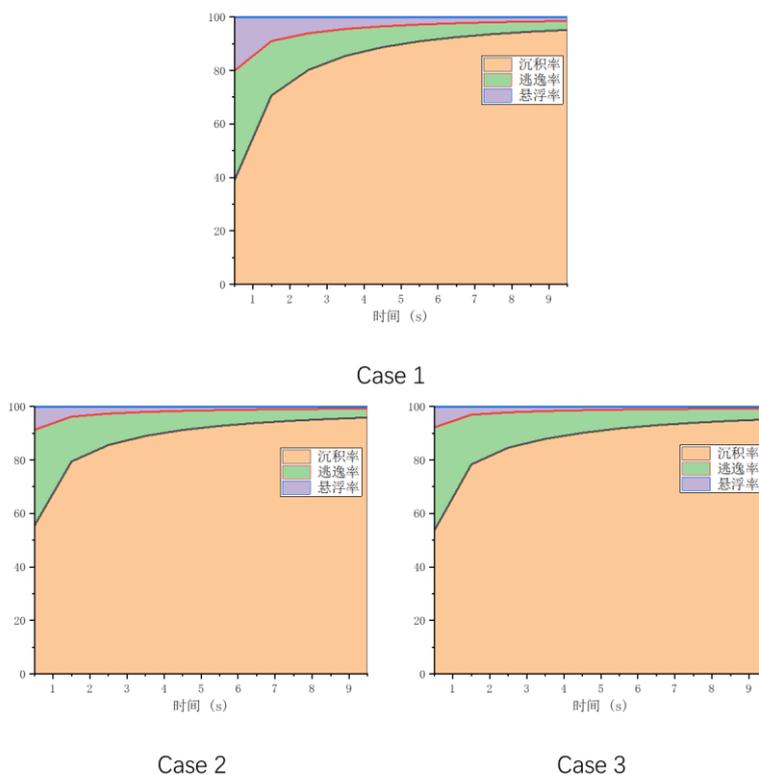


图 7 支气管内部不同状态液滴颗粒随时间变化分布

为了探究吸气时间对液滴状态的影响并确定最佳的屏气时间，在图 8 中对比了三种工况下液滴颗粒的沉积率、逃逸率以及悬浮率。从图中可以发现，当吸气时间从 1s 增加到 1.5s 以后，case3 的逃逸率相比 case2 有一定程度的提升，即增大吸气时间会导致更多

的液滴进入支气管远端，因此 case3 的沉积率和悬浮率相比 case2 均稍微减小。因此在肺部给药时，如果药物靶向位置在肺的远端区域（肺泡），可以延长吸气时间从而提升给药效果。此外，从图中可以看到对于哪些进入上支气管的液滴颗粒，屏气可以有效使悬浮在支气管内的液滴快速沉降。在  $T=9.5s$  时，吸气流量为  $30/60L/min$  时的液滴悬浮率均已降为初始时刻 ( $T=0.5s$ ) 的 10% 左右。综合考虑沉积效果以及人体能够屏气的极限，我们认为 6S 左右为最佳的屏气时间。

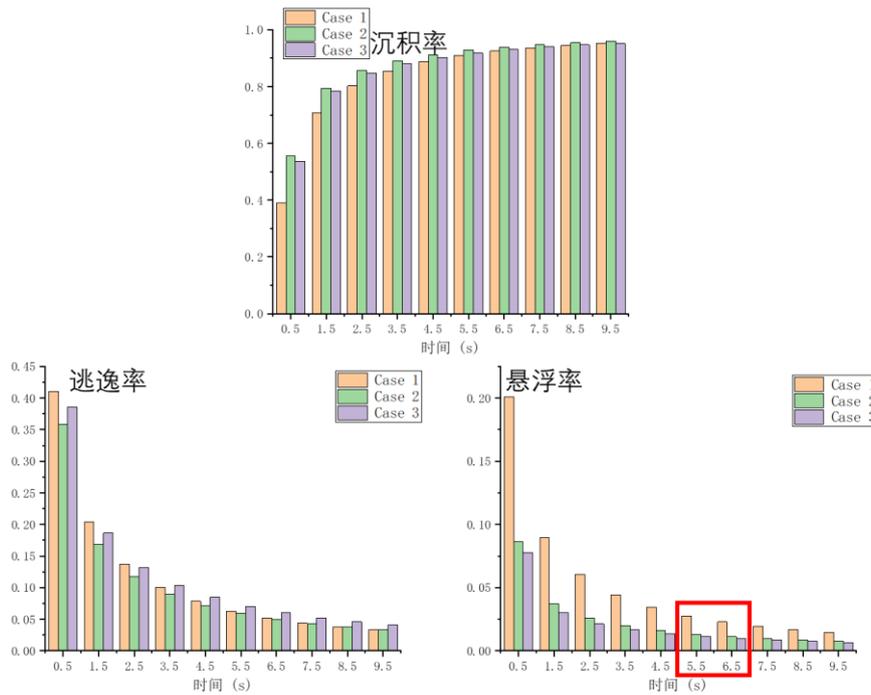


图 8 不同工况下支气管内部的液滴颗粒状态随时间变化的分布

### 3 结论

本文基于 CT 图像三维重构得到的支气管模型，借助数值模拟的方法研究了屏气对人体肺部吸入药物液滴后沉积效果的影响。得出以下结论：（1）真实支气管不规则的几何结构以及吸气流量是影响支气管内部流动的关键因素，并进一步影响药物液滴的输运与沉降。（2）支气管连续二分叉特性以及惯性撞击机制导致大液滴更倾向于沉降于支气管分叉口区域，且增大吸气流量会强化液滴的沉降。（3）屏气可以有效将悬浮在支气管内部的液滴通过重力作用沉降在支气管壁面上，并能够在 9.5s 内将悬浮率降低为初始时刻的 10%。这些结果可以深化屏气对肺部给药强化效果的认识，并为之后肺部给药装置的优化提供指导。需要注意的是，本文在进行液滴运动与沉积计算时并没有考虑液滴之间的相互作用（聚并/破碎），因此在后续研究中可以考虑进行耦合计算，从而提高计算的精确度。

### 参考文献

- 
- [1] Stein S W, Thiel C G. The history of therapeutic aerosols: a chronological review[J]. *Journal of aerosol medicine and pulmonary drug delivery*, 2017, 30(1): 20-41.
- [2] Hickey A J. Back to the future: inhaled drug products[J]. *Journal of pharmaceutical sciences*, 2013, 102(4): 1165-1172.
- [3] Labiris N R, Dolovich M B. Pulmonary drug delivery. Part I: physiological factors affecting therapeutic effectiveness of aerosolized medications[J]. *British journal of clinical pharmacology*, 2003, 56(6): 588-599.
- [4] Newman S. The background to pulmonary drug delivery in man[J]. *Respiratory Drug Delivery: Essential Theory and Practice*, 2009: 1-28.
- [5] Martin A R, Moore C P, Finlay W H. Models of deposition, pharmacokinetics, and intersubject variability in respiratory drug delivery[J]. *Expert opinion on drug delivery*, 2018, 15(12): 1175-1188.
- [6] Zuo Y Y, Uspal W E, Wei T. Airborne Transmission of COVID-19: Aerosol Dispersion, Lung Deposition, and Virus-Receptor Interactions[J]. *ACS Nano*, 2020.
- [7] Kumar H, Tawhai M H, Hoffman E A, et al. The effects of geometry on airflow in the acinar region of the human lung[J]. *Journal of Biomechanics*, 2009, 42(11): 1635-1642.
- [8] Rangaraj N, Pailla S R, Sampathi S. Insight into pulmonary drug delivery: Mechanism of drug deposition to device characterization and regulatory requirements[J]. *Pulmonary Pharmacology & Therapeutics*, 2019, 54: 1-21.
- [9] Darquenne C, Paiva M, Prisk G K. Effect of gravity on aerosol dispersion and deposition in the human lung after periods of breath holding[J]. *Journal of Applied Physiology*, 2000, 89(5): 1787-1792.
- [10] Inthavong K, Choi L-T, Tu J, et al. Micron particle deposition in a tracheobronchial airway model under different breathing conditions[J]. *Medical engineering & physics*, 2010, 32(10): 1198-1212.
- [11] Imai Y, Miki T, Ishikawa T, et al. Deposition of micrometer particles in pulmonary airways during inhalation and breath holding[J]. *Journal of Biomechanics*, 2012, 45(10): 1809-1815.
- [12] Horváth A, Balásházy I, Tomisa G, et al. Significance of breath-hold time in dry powder aerosol drug therapy of COPD patients[J]. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2017, 104: 145-149.
- [13] Sera T, Kuninaga H, Fukasaku K, et al. The Effectiveness of An Averaged Airway Model in Predicting the Airflow and Particle Transport Through the Airway[J]. *J Aerosol Med Pulm Drug Deliv*, 2019, 32(5): 278-292.
- [14] Ahookhosh K, Saidi M, Aminfar H, et al. Dry powder inhaler aerosol deposition in a model of tracheobronchial airways: Validating CFD predictions with in vitro data[J]. *Int J Pharm*, 2020, 587: 119599.
- [15] Koullapis P G, Nicolaou L, Kassinos S C. In silico assessment of mouth-throat effects on

---

regional deposition in the upper tracheobronchial airways[J]. *Journal of Aerosol Science*, 2018, 117: 164-188.

[16] Phuong N L, Ito K. Investigation of flow pattern in upper human airway including oral and nasal inhalation by PIV and CFD[J]. *Building and Environment*, 2015, 94: 504-515.

[17] Phuong N L, Yamashita M, Yoo S-J, et al. Prediction of convective heat transfer coefficient of human upper and lower airway surfaces in steady and unsteady breathing conditions[J]. *Building and Environment*, 2016, 100: 172-185.

# 基于 NSGA-II 算法的斑块适形消融新方法

王红英<sup>1</sup>, 赵诗庆<sup>2</sup>, 邹金成<sup>3</sup>, 张爱丽<sup>\*4</sup>

上海交通大学生物医学工程学院, 上海 203000

Tel:18918689986, Email: zhangaili@sjtu.edu.cn

**摘要:** 内皮损伤及继发的平滑肌细胞增殖是诱发血管再狭窄的重要原因。在保护内皮层的同时对增生平滑肌细胞进行热消融治疗, 有望获得更好的治疗效果, 然而斑块形状不规则且各异。为实现对不规则斑块的适形加热, 我们提出了一种基于多电极阵列以及 NSGA-II 算法的消融新方法, 设计了相应的硬件系统, 通过数值计算和 NSGA-II, 调节电极电压  $V_1 \sim V_{12}$ , 冷却温度和流速  $T_f, V_f$ , 使内膜保护率、消融效率和斑块覆盖率最大。最后设计仿体加热实验验证了该新方法的有效性。

**关键词:** 动脉粥样硬化斑块, 适形消融, 多电极, NSGA-II

## 0 前言

心血管疾病是危害我国人民健康的关键疾病之一, 其中动脉粥样硬化性心血管疾病是占心血管疾病死亡的 61%[1]。低密度脂蛋白胆固醇通过受损的内皮屏障, 与内膜的蛋白聚糖形成复合物而沉积, 继发的平滑肌细胞的增殖迁移和炎症反应会导致动脉血管腔狭窄, 最终导致冠状动脉疾病和脑血管疾病[2]。斑块形态在不同患者和不同病变部位以及疾病进展的不同阶段存在差异[3]。实现对不同形态斑块的精确适形消融对于实现动脉长期通畅和尽量避免再狭窄至关重要。传统上, 优化可扩展[4]和顺应性电极配置设计[5]以及规划单针电极的多次放置策略是实现肿瘤适形覆盖的射频消融可行方法[6], 适用于具有对称肿瘤形态或需要长时间治疗的肿瘤。结合当前血管成形术的特点, 需要在尽可能短的时间 (1-2min) 消融不规则的斑块。

因此, 基于之前跨越式加热的研究[7], 我们提出了一种方法, 基于自制的射频发生器, 能同时独立控制的 12 个通道, 每个通道有 7 种可选工作状态, 采用多电极消融和导管内循环冷却剂的对流冷却相结合, 在短时间内 (约 1 分钟) 实现动脉粥样硬化斑块的适形消融。为了进一步确定最优参数, 包括各工作电极的电压、冷却剂的流速和温度, 我们采用了 NSGA II (非支配排序遗传算法) [8]来实现最大化斑块消融同时最小化非斑块区域的热损伤, 特别是内膜区域。

## 1 研究方法

### 1.1 射频多电极热消融系统

MCMV (multi-channel and multi-voltage) 射频多电极热消融系统治疗系统 (图 1c) 包括一台计算机、一个高采样频率的数据采集卡 (USB3102A, 阿尔泰, 中国北京)、一个自制的 460kHz 射频信号发生器、一个可调速泵 (DC40D-2480A, 中科电机)、一个可

调温度的低温恒温器（DC-6506，上海恒平）和一个表面覆盖电极的球囊导管组成。计算机通过 DAQ 调控可调速泵和射频发生器的输出信号。其中，460kHz 射频信号发生器有 12 个可独立控制的通道，每个通道的信号有 7 种可选择状态，分别是  $0, 0.2V_m, 0.4V_m, 0.6V_m, 0.8V_m, V_m$  以及未接入电路。

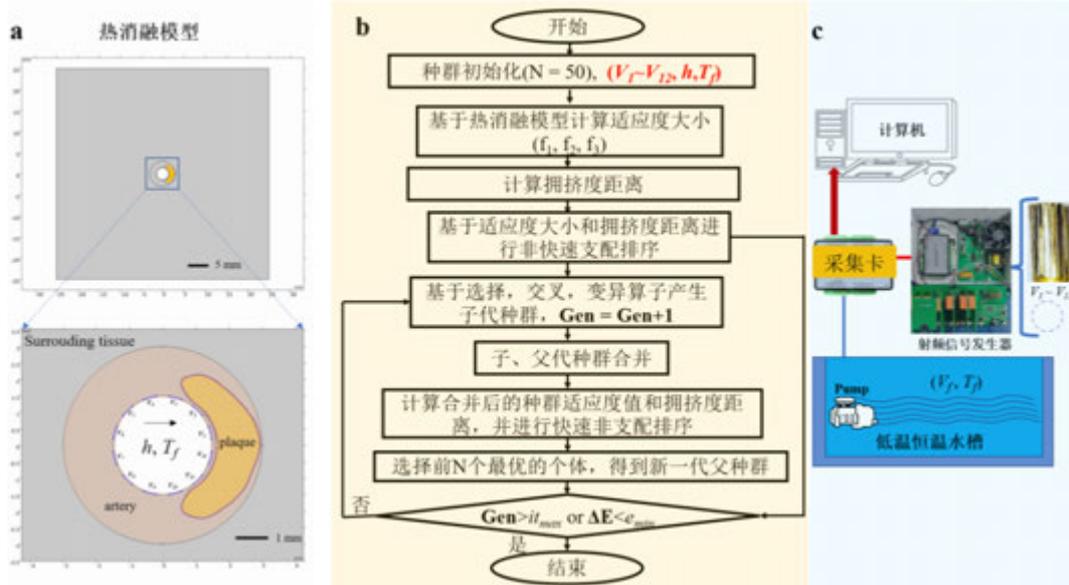


图 1 基于多电极和 NSGA-II 实现斑块变形消融的概念图。(a)多电极的热消融模型，(b) NSGA-II 流程图，(c) 射频治疗系统。

## 1.2 热消融模型

如图 1a 所示，采用一个圆环来模拟球囊导管（壁厚： $0.05\text{mm}$ ，内径： $2.9\text{mm}$ ），导管外表面均匀等距分布着一圈电极（ $V_1 \sim V_{12}$ ），血管壁及增生的斑块和周围组织位于电极的外部，冷却介质在导管内流动以降低紧靠电极的血管内膜区域的温度。使用准静态电场控制方程（1）和热传导方程（2）来描述上述射频消融血管斑块的问题。

$$\nabla \cdot (\sigma \nabla V) = 0 \quad (1)$$

$$\rho c \frac{\partial T}{\partial t} = \nabla \cdot (k \nabla T) + \sigma (\nabla V)^2 \quad (2)$$

$\sigma$  为组织电导率（ $\text{S/m}$ ）， $V$  为电势（ $\text{V}$ ）， $\rho, c, k$  分别为密度（ $\text{kg/m}^3$ ）、比热容（ $\text{J}/(\text{kg} \cdot \text{K})$ ）和热导率（ $\text{W}/(\text{m} \cdot \text{K})$ ）。12 个电极分布在导管的外表面上，并分别施加电压  $V_1 \sim V_{12}$ 。与导管接触的表面以及外部组织的外表面是电绝缘条件。

## 1.3 NSGA-II 算法

为确定对任一给定斑块的最佳治疗参数，选择带有精英策略的快速非支配排序的遗传算法 NSGA-II，因为它对于非线性优化问题具有好的全局优化的性能。具体的，用  $L_1 \sim L_{12}$  表示 12 个电极上电压的级别选择， $V_m$  表示最大电压值，对应的 12 个电极上的电压如公式（3）表示。

$$V_i = 0.2 \times V_m L_i, i = 1, 2, \dots, 12 \quad (3)$$

设置最大输出电压为 40V，间隔 0.5V，冷却水温度为 0.5°C~36.5°C，间隔 0.5°C，流速为 0.8m/s~10.8m/s，间隔 0.2m/s。对于每个个体的适应度的计算，定义了如下三个指标：内膜保护率 IP、消融效率 AE 和斑块覆盖率 CA，具体定义如下：

$$CA = \frac{A \cap P_t}{P_t} \quad AE = \frac{A \cap P_t}{A} \quad IP = \frac{I - A \cap I}{I}$$

$P_t$  和  $I$  分别表示斑块面积，内膜区域， $A$  表示消融区域。具体的如图 1b 所示的流程图。其中交叉概率和变异概率分别为 0.8 和 0.05。初始种群数量为 50，最大迭代次数为 32。

#### 1.4 仿体加热实验

为进一步验证上述方法的有效性，设计仿生物组织的体模加热实验，37°C 水浴模拟在体的恒温环境，将利用 NSGA-II 得到的最优治疗参数输入到多电极射频治疗系统，加热 1min，利用仿生物组织的体模加热变性会产生凝固性坏死的变白区域，变性温度与细胞致死温度接近[9, 10]，为 58°C。具体实验装置如图 2b 所示。

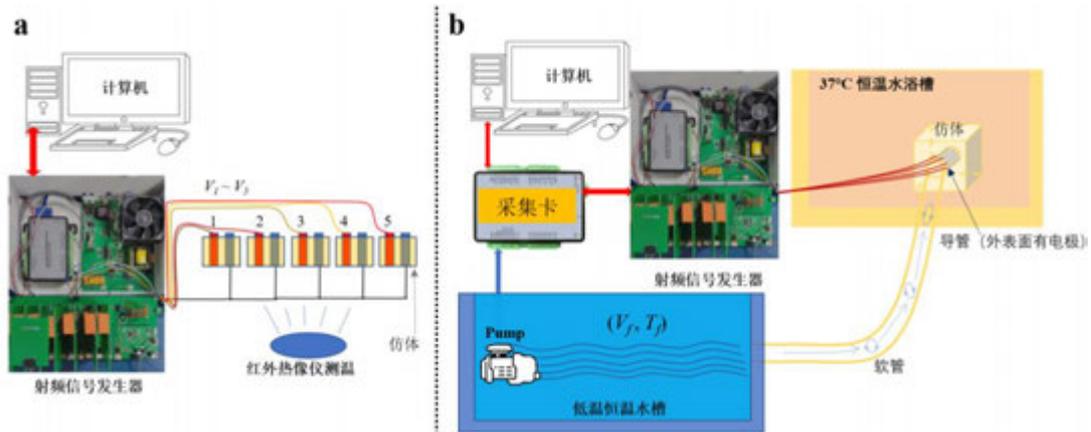


图 2 仿体加热实验图，(a) 用于验证射频系统功能的实验装置，(b) 用于验证算法的实验装置。

## 2 研究结果

### 2.1 MCMV 系统验证和热消融模型验证

#### 2.1.1 MCMV 系统验证

为测试 MCMV 系统同时输出 5 种不同大小电压的能力，设计了如图 2a 所示的仿生物组织的体模加热实验，实验结果如图 3 所示，可同时观察到 5 种不同的效果。此外，为量化测量系统输出误差，通过示波器 (Keysight DSOX4024A) 测量了不同最大电压设定值，测量电压与理论值的结果如表 1 所示，除最大电压设定为 5V 时，实际测量值与理论计算值的相对误差小于 10%。

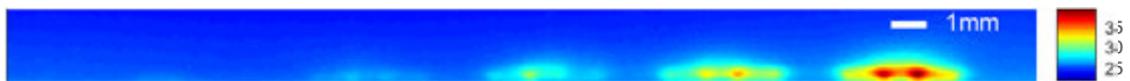


图 3 仿体加热 1s 后的结果， $V_m=15V$ 。

表 1 不同最大电压设定值  $V_{mset}$  的测量值以及与理论值的相对误差

Level	$V_{mset} = 5V$	$V_{mset} = 10V$	$V_{mset} = 15V$	$V_{mset} = 20V$	$V_{mset} = 25V$	$V_{mset} = 30V$	$V_{mset} = 35V$	$V_{mset} = 40V$
0	0/0 (0%)	0/0 (0%)	0/0 (0%)	0/0 (0%)	0/0 (0%)	0/0 (0%)	0/0 (0%)	0/0 (0%)
1	0.89/1 <sup>[1]</sup> (11.0%)	1.84/2 (8.0%)	2.81/3 (6.3%)	3.8/4 (5.0%)	4.75/5 (5%)	5.67/6 (5.5%)	6.64/7 (5.1%)	7.61/8 (4.9%)
2	1.76/2 (12.0%)	3.7/4 (7.5%)	5.62/6 (6.3%)	7.54/8 (5.8%)	9.46/10 (5.4%)	11.37/12 (5.3%)	13.29/14 (5.1%)	15.22/16 (4.9%)
3	2.65/3 (11.7%)	5.54/6 (7.7%)	8.45/9 (6.1%)	11.3/12 (5.8%)	14.22/15 (5.2%)	17.1/18 (5.0%)	19.95/21 (5.0%)	22.82/24 (4.9%)
4	3.54/4 (11.5%)	7.4/8 (7.5%)	11.24/12 (6.3%)	15.1/16 (5.6%)	19/20 (5.0%)	22.8/24 (5.0%)	26.63/28 (4.9%)	30.4/32 (5.0%)
5	4.6/5 (8.0%)	9.6/10 (4.0%)	14.6/15 (2.7%)	19.6/20 (2.0%)	24.6/25 (1.6%)	29.6/30 (1.3%)	34.6/35 (1.3%)	39.6/40 (1.1%)

### 2.1.2 热消融模型验证

如图 4 所示，为仿生物组织的体模加热实验验证模型的结果。T1\_exp, T2\_exp, T3\_exp, T1\_sim, T2\_sim 和 T3\_sim 表示实验和数值模型中 T1、T2 和 T3 点的温度。T1、T2 和 T3 位于距离导管外表面电极 1.59mm、2.78mm 和 3.88mm 的位置。

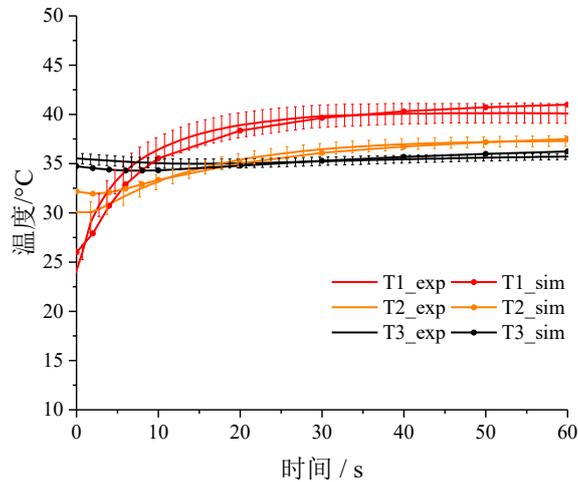


图 4 热消融模型验证图

### 2.2 不同形态斑块的消融结果

基于文献中给定的斑块形状以及厚度等范围[11-15]，对斑块厚度和周向弧度进行扫描得到如下 15 种斑块（图 5 中黄色区域），为尽可能保护内膜，同时消融血管斑块，我们定义，当内膜保护率超过 90%时，内膜保护率 IP、消融效率 AE 和斑块覆盖率 CA 的权重设置为 1: 1: 1，反之，当内膜保护率低于 90%时，提高内膜保护率 IP 为 1.1，最

后基于归一化的值选择最优的治疗参数。

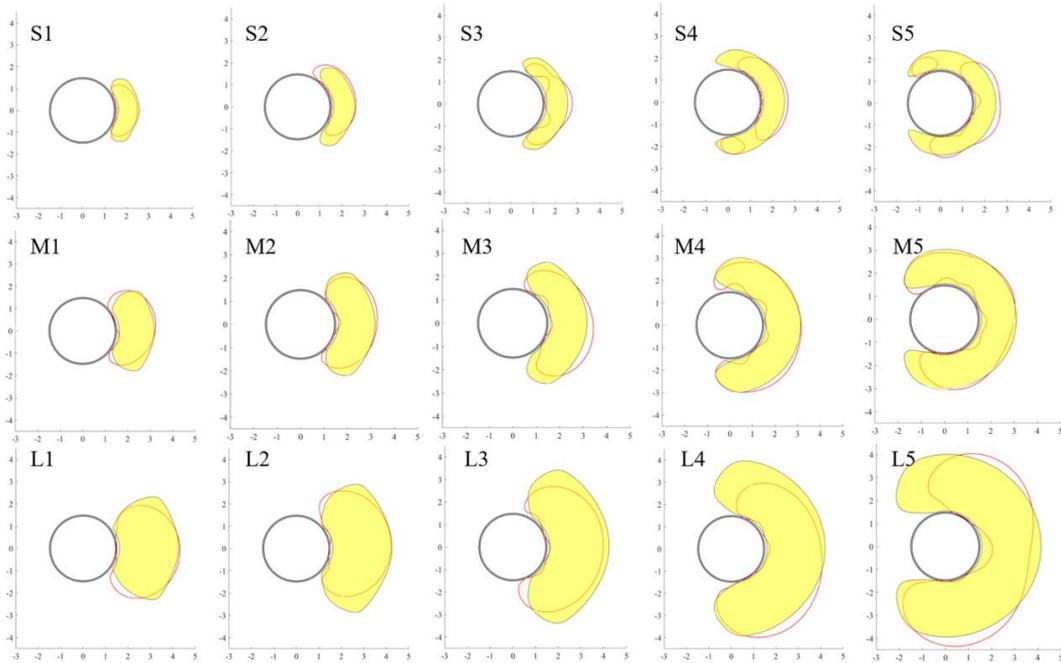


图 5 15 种厚度和弧度不同斑块的优化结果，红色线为理论计算的消融区域。

表 2 15 种厚度和弧度不同斑块的内膜保护率 IP、消融效率 AE 和斑块覆盖率 CA

斑块	内膜保护率(IP) %	消融效率(AE) %	消融覆盖率(CA) %
S1	89.89%	95.42%	89.84%
S2	94.92%	85.47%	86.43%
S3	98.00%	90.81%	73.43%
S4	88.03%	89.48%	72.93%
S5	89.08%	84.58%	69.91%
M1	87.93%	90.58%	91.71%
M2	85.06%	94.14%	91.50%
M3	95.77%	88.29%	85.12%
M4	99.67%	94.24%	92.91%
M5	84.77%	97.48%	86.59%
L1	90.62%	94.23%	91.25%
L2	92.68%	97.74%	84.56%
L3	94.20%	96.03%	78.25%
L4	88.37%	94.41%	78.87%
L5	85.77%	91.85%	80.79%
均值	90.98%	92.32%	83.61%

进一步考虑斑块的周向厚度的不均匀性，我们生成了三种厚度分布不规则的斑块形

状，具体地如图 6 所示。

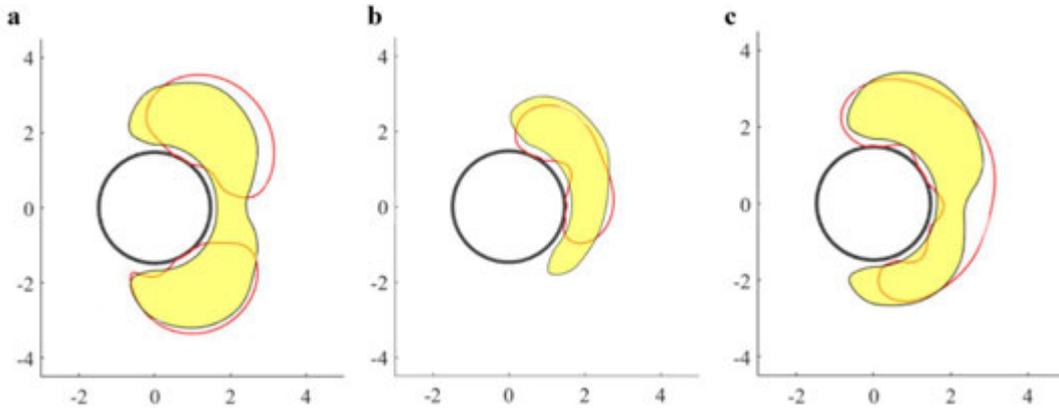


图 6 三种不规则斑块的优化结果，红色线为理论计算的消融区域。

表 3 三种不规则斑块的内膜保护率 IP、消融效率 AE 和斑块覆盖率 CA

斑块	内膜保护率(IP) %	消融效率(AE) %	消融覆盖率(CA) %
a	85.75%	82.62%	84.21%
b	90.76%	89.82%	75.49%
c	87.31%	82.49%	87.45%
均值	87.94%	84.98%	82.38%

进一步考虑斑块中不同的脂质含量，对于脂质含量为 0%，25%，50%，75%，100% 的情况如图 7 所示。

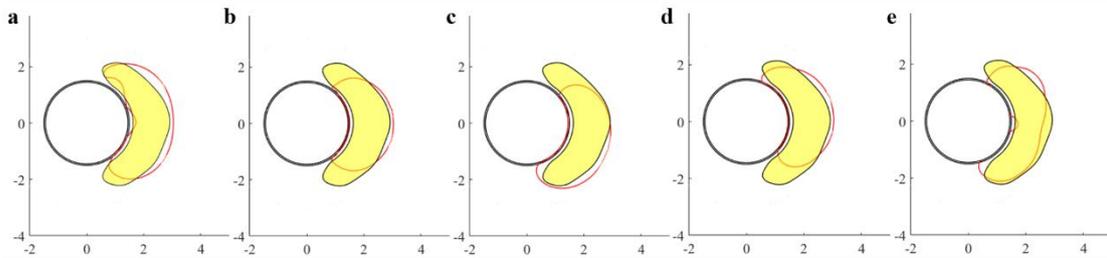


图 7 不同脂质含量时斑块的优化结果，红色线为理论计算的消融区域。

表 4 不同脂质含量时内膜保护率 IP、消融效率 AE 和斑块覆盖率 CA

脂质含量	内膜保护率(IP) %	消融效率(AE) %	消融覆盖率(CA) %
0%	88.63%	83.28%	90.00%
25%	71.22%	91.40%	75.62%
50%	67.45%	84.95%	81.38%
75%	68.70%	88.81%	80.38%
100%	66.67%	91.27%	84.86%
均值	72.53%	87.94%	82.45%

### 2.3 仿体加热实验验证结果

本文使用两种斑块形状验证了上述方法，如图 8 所示。一个斑块的最大厚度为 1.58mm，角度为 155°。另一个斑块的最大厚度为 1.00mm，角度为 92°。橙红色圆表示血管管腔。黄色曲线所包围的区域表示斑块，即期望的消融区域，而白色区域是实际的消融区域。可看出白色区域大致与斑块匹配，但内膜区域仍然存在部分过消融。

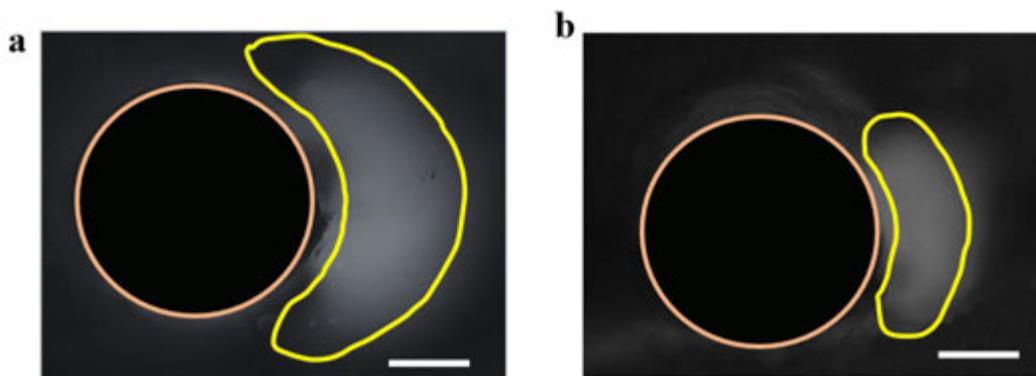


图 8 仿体加热实验验证方法有效性。比例尺，1cm。

### 3 讨论分析

在本研究中，我们开发了一种基于 MCMV（多通道和多电压）射频系统的穿透适形加热方法。该射频系统可以通过 12 个独立可控通道同时输出七个电压级别。对于厚度范围在 0.73mm~2.69mm、弧度范围在 92°~292° 的斑块，平均内膜保护率  $IP_{mean}$ 、消融效率率  $AE_{mean}$  和覆盖消融率  $CA_{mean}$  分别为 90.98%、92.32% 和 83.61%。然而，含有脂肪的斑块的内膜保护率  $IP$  显著降低，约为 72.53%。这是由于脂肪对射频电流传输的阻抗造成的。为了进一步验证该方法，我们设计了仿体加热实验，实验结果显示消融区域与斑块形态大体相匹配。

本研究仍存在一些局限性。首先，由于缺乏关于斑块形态的临床数据，本研究中的各种斑块形状是根据文献中参考的斑块厚度、内膜厚度和弧度范围进行随机生成的。此外，为简化正向计算模型、缩短计算时间和减少计算成本，使用了二维有限元模型来模拟多个电极的组织加热。未来，开发更快速的三维多电极有限元计算方法或整合机器学习方法以减少计算成本，提高计算效率，将有助于将该方法的适用性扩展到临床领域。

### 4 结论

本研究基于多电极和 NSGA-II 开发了一种穿透性适形加热方法。多电极连接到自制的 MCMV（多通道和多电压）射频系统，通过 12 个独立可控通道同时输出七个电压级别。理论上，对于厚度范围在 0.73mm~2.69mm、弧度范围在 92°~292° 的纤维性斑块，平均内膜保护率  $IP_{mean}$ 、消融效率率  $AE_{mean}$  和覆盖消融率  $CA_{mean}$  分别为 90.98%、92.32% 和 83.61%。仿体加热实验显示消融区域与斑块形态基本相匹配。进一步的研究中，将会在离体或活体动物动脉实验中验证改方法的有效性。

### 参考文献

- [1] "中国心血管健康与疾病报告 2022," *National Center for Cardiovascular Diseases*,

China, 2022. 中国协和医科大学出版社.

- [2] C. Weber and H. Noels, "Atherosclerosis: current pathogenesis and therapeutic options," *Nat Med*, vol. 17, no. 11, pp. 1410-22, Nov 7 2011, doi: 10.1038/nm.2538.
- [3] H. C. Stary *et al.*, "A definition of initial, fatty streak, and intermediate lesions of atherosclerosis: A report from the committee on vascular lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association," *Arteriosclerosis and Thrombosis*, vol. 14, no. 5, pp. 840-856, 1994 1994, doi: 10.1161/01.Atv.14.5.840.
- [4] Z. Wang, H. Luo, S. Coleman, and A. Cuschieri, "Bicomponent Conformal Electrode for Radiofrequency Sequential Ablation and Circumferential Separation of Large Tumors in Solid Organs: Development and In Vitro Evaluation," *IEEE Trans Biomed Eng*, vol. 64, no. 3, pp. 699-705, Mar 2017, doi: 10.1109/TBME.2016.2573043.
- [5] B. Hanks, M. Frecker, and M. Moyer, "Optimization of an Endoscopic Radiofrequency Ablation Electrode," *Journal of Medical Devices*, vol. 12, no. 3, 2018, doi: 10.1115/1.4040184.
- [6] P. Yu, T. Fu, C. Wu, Y. Jiang, and J. Yang, "Automatic radiofrequency ablation planning for liver tumors," presented at the 2021 the 3rd International Conference on Intelligent Medicine and Health, 2021.
- [7] S. Zhao *et al.*, "A new radiofrequency balloon angioplasty device for atherosclerosis treatment," *Biomed Eng Online*, vol. 19, no. 1, p. 44, Jun 10 2020, doi: 10.1186/s12938-020-00790-3.
- [8] K. Deb, A. Pratap, S. Agarwal, and T. Meyarivan, "A fast and elitist multiobjective genetic algorithm: NSGA-II," *Ieee Transactions on Evolutionary Computation*, vol. 6, no. 2, pp. 182-197, Apr 2002, Art no. Pii s 1089-778x(02)04101-2, doi: 10.1109/4235.996017.
- [9] C. Brasselet *et al.*, "Effect of local heating on restenosis and in-stent neointimal hyperplasia in the atherosclerotic rabbit model: a dose-ranging study," *Eur Heart J*, vol. 29, no. 3, pp. 402-12, Feb 2008, doi: 10.1093/eurheartj/ehm596.
- [10] C. Lafon *et al.*, "Gel phantom for use in high-intensity focused ultrasound dosimetry," *Ultrasound in Medicine & Biology*, vol. 31, no. 10, pp. 1383-1389, 2005, doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2005.06.004.
- [11] I. Wendelhag, O. Wiklund, and J. Wikstrand, "Atherosclerotic changes in the femoral and carotid arteries in familial hypercholesterolemia. Ultrasonographic assessment of intima-media thickness and plaque occurrence," *Arteriosclerosis and thrombosis : a journal of vascular biology*, vol. 13, no. 10, pp. 1404-11, 1993 1993, doi: 10.1161/01.Atv.13.10.1404.
- [12] E. de Groot *et al.*, "Measurement of carotid intima-media thickness to assess progression and regression of atherosclerosis," *Nat Clin Pract Cardiovasc Med*, vol. 5, no. 5, pp. 280-8, May 2008, doi: 10.1038/ncpcardio1163.
- [13] E. R. Mohler, 3rd, A. A. Sibley, S. M. Schultz, L. Zhang, and C. M. Sehgal,

"High-frequency ultrasound for evaluation of intimal thickness," *J Am Soc Echocardiogr*, vol. 22, no. 10, pp. 1129-33, Oct 2009, doi: 10.1016/j.echo.2009.06.021.

- [14] P. Doradla *et al.*, "Biomechanical Stress Profiling of Coronary Atherosclerosis: Identifying a Multifactorial Metric to Evaluate Plaque Rupture Risk," *JACC Cardiovasc Imaging*, vol. 13, no. 3, pp. 804-816, Mar 2020, doi: 10.1016/j.jcmg.2019.01.033.
- [15] A. Milzi *et al.*, "Coronary plaque composition influences biomechanical stress and predicts plaque rupture in a morpho-mechanic OCT analysis," *Elife*, vol. 10, May 11 2021, doi: 10.7554/eLife.64020.

# 动脉粥样硬化斑块射频消融温度预测仿真研究

舒爽, 胥义\*

(上海理工大学生物系统热科学研究所, 上海 200082)

(Tel: 13917434302, Email: xuyi@usst.edu.cn)

**摘要:** 本文建立了动脉粥样硬化斑块射频消融的有限元仿真模型, 分析了不同电极参数设置下的电场、能量沉积 (SAR)、温度场分布, 并借助 Arrhenius 模型定量描述了热损伤效果, 计算了热损伤体积。得到以下结论: 射频的 SAR 主要集中在斑块的纤维帽, 电极间距越大 SAR 分散在双电极周围的趋势越明显。受表面冷却作用热量被大量带走, 最高温度点位于脂质池中, 避免了纤维帽的热损伤。电极电压越大间距越小, 越容易造成正常组织温度过高而造成损伤, 电压越小间距越大, 射频能量不集中, 越容易达不到消融效果。

**关键词:** 动脉粥样硬化, 射频消融, 有限元模拟, 再狭窄, 热损伤预测

## 0 前言

动脉粥样硬化是一种最常见的心血管疾病, 常见于大、中型动脉中, 是心血管疾病和中风的主要原因<sup>[1]</sup>。其发病机理尚不明确, 普遍认为是由于吸烟、高血压等条件下造成的血管内皮损伤而引发炎症反应, 最终导致动脉壁变硬和管腔狭窄。目前治疗手段主要有三种, 分别是: 药物治疗、外科血管旁路移植术、经皮腔内血管成形术 (PTA)<sup>[2-5]</sup>。但是药物治疗靶向差、效果低, 外科旁路移植术难度大、风险高, PTA 方法受应力影响容易引起腔内再狭窄化。

最近一种新的治疗策略被提出, 通过射频结合球囊装置可以选择性的杀伤斑块, 并且不对正常组织造成损伤, 从而避免再狭窄化的问题。研究表明, 射频球囊血管成形术可以有效消融动脉粥样硬化斑块, 打开闭塞的血管, 融合剥离的血管介质<sup>[6]</sup>。然而, 由于目前的热技术不可避免地使内皮细胞过热, 再狭窄仍然存在<sup>[7, 8]</sup>。血管斑块的表面是由一层非常薄的纤维帽包裹, 厚度大概在 0.02-0.4mm 左右<sup>[9]</sup>。纤维帽是由富含胶原的基质和内皮细胞覆盖的平滑肌细胞组成<sup>[10]</sup>, 射频加热过程能量集中在表面导致纤维帽被损伤, 损伤引发炎症反应, 包括巨噬细胞和淋巴细胞聚集。在此过程平滑肌细胞激活并增殖, 脂质沉积和结缔组织增生, 导致动脉粥样硬化和再狭窄。

基于此, 有研究考虑在射频电极与斑块接触表面施加冷对流, 以防止斑块纤维帽上的内皮细胞过热损伤进而引发炎症反应并造成狭窄化<sup>[11]</sup>。由于此方案要求既保证达到合适的消融深度, 又要保证内皮细胞不受破坏, 实现选择性消融斑块的效果, 因此温度场的分布和监测至关重要。

\* 国家自然科学基金 (52076140)

本研究建立了射频消融结合冷对流的有限元仿真模型，分析了不同电极参数设置下的电场、SAR、温度场分布，并借助 Arrhenius 模型定量描述了热损伤效果，计算了热损伤体积。这将为后续动脉粥样硬化斑块的射频消融治疗提供理论指导。

## 1 计算方法

### 1.1 几何模型

如图一 A, B 所示的几何结构模仿了真实的髂动脉粥样硬化，并且假定沿轴向面对称。髂动脉（CIA）管腔半径(不包含斑块)为  $R_{lum}=4\text{mm}$ ，血管内膜、中膜、外膜的厚度分别为  $T_{in}=0.15\text{mm}$ 、 $T_{med}=0.46\text{mm}$ 、 $T_{adv}=0.44\text{mm}$ 。血管总长度设置为  $L=30\text{mm}$ ，斑块长度为  $l=15\text{mm}$ 。纤维帽肩半径为  $R_{fc}=8.13\text{mm}$ ，纤维帽厚度为  $T_{fc}=0.2\text{mm}$ ，脂质核心最大厚度为  $T_{lc}=5\text{mm}$ 。正负双电极作为射频加热源被采用，长约为  $4\text{mm}$ ，宽为  $1.5\text{mm}$ ，双电极间距设置了  $W=2、3、4\text{mm}$ 。

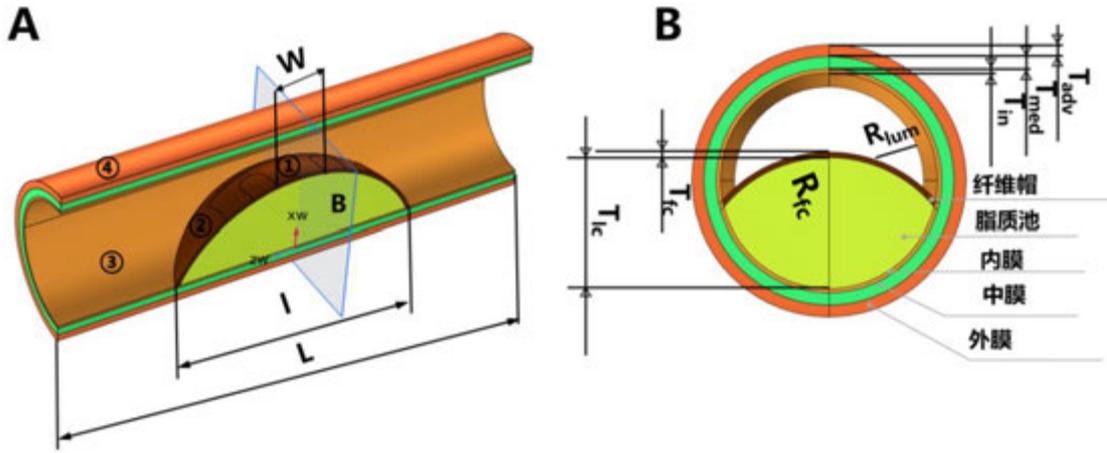


图 1 动脉粥样硬化斑块的几何模型

### 1.2 控制方程及边界条件

#### 1.2.1 电学模型

在本研究中，首先要求解的是电学模型，确定所应用的电场对温度分布的贡献，然后是热学模型。对于所使用的  $460\text{KHz}$  低频 RF，Maxwell's 方程可以简化成 Laplace's 方程：

$$\nabla(\sigma \cdot \nabla\phi) = 0 \quad (1)$$

其中， $\sigma$  是组织内电导率 ( $\text{S}\cdot\text{m}^{-1}$ )， $\phi$  是组织内电势 ( $\text{V}$ )。

对于电学边界条件我们考虑：1) 在上述双电极工况中，其中一个电极电势设置为  $35、40、45\text{V}$ ，另一个电极设置为  $0\text{V}$ ；2) 除去双电极和斑块接触区域外，其他内表面区域均为电绝缘，即电流密度的法向分量为  $0$ ；

在髂动脉中，单位体积内的能量沉积率  $Q_e$  可以用如下方程计算：

$$Q_e = \sigma E^2 \quad (2)$$

其中， $E$  代表电场矢量 ( $\text{V}\cdot\text{m}^{-1}$ )。随后电场模型和传热模型耦合，通过将  $Q_e$  作为内热源项带入传热方程中去。

#### 1.2.2 生物传热模型

温度分布通求解热电耦合的传热控制方程获得，方程（3）如下：

$$\rho c \frac{\partial T}{\partial \tau} = \nabla \cdot (k \nabla T) + Q_e \quad (3)$$

$\rho$  代表组织密度 ( $\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$ ) , $c$  是比热 ( $\text{J}\cdot\text{kg}^{-1}\text{K}^{-1}$ ) ,  $T$  是温度 (K),  $\tau$  是时间 (s) , $k$  是导热系数 ( $\text{W}\cdot\text{m}^{-1}\text{K}^{-1}$ )。

热边界条件我们考虑了两个主要方面：1) 射频导管和斑块接触区域施加了对流边界条件，模拟冷却水对内皮细胞的冷却保护。2) 另外血管腔内的血流效应（除射频导管和斑块接触区域）也会带走部分热量，不能忽视。接触区域①代表冷却对流区域，由公式（4）表示。②③表面代表血流对流边界，由公式（5）表示。

$$\textcircled{1} \quad q_1 = h_1(T_s - T_{ext}) \quad (4)$$

$$\textcircled{2}\textcircled{3} \quad q_2 = h_2(T_w - T_b) \quad (5)$$

$$\textcircled{4} \quad q_3 = 0 \quad (6)$$

$h_1$ 和 $h_2$ 代表着表面对流换热系数， $h_1 = 1200 (\text{W}\cdot\text{m}^{-2}\text{K}^{-1})$  [11]、 $h_2 = 20 (\text{W}\cdot\text{m}^{-2}\text{K}^{-1})$  [12]。  $T_s$ 和 $T_w$ 分别是导管和斑块接触区域的温度和血管内膜壁面温度， $T_{ext}$ 和 $T_b$ 分别是冷却水温度和血液温度， $T_{ext} = 20^\circ\text{C}$ 、 $T_b = 37^\circ\text{C}$ 。为模拟整个传热过程，初始温度设为  $37^\circ\text{C}$ ，血管外表面设为绝热，加热持续时间为 100s。上述模型中所需的材料属性包括：血管壁和纤维层  $\sigma_1$ 、 $k_1$ 、 $\rho_1$ 、 $c_1$ ；斑块脂质池  $\sigma_2$ 、 $k_2$ 、 $\rho_2$ 、 $c_2$ ，分别见表格 1。

### 1.2.3 生物热损伤模型

RF 加热致使斑块发生不可逆热消融，本研究引入了 Arrhenius 模型来定量描述斑块热消融效果。Arrhenius 模型考虑了组织温度和热消融时间的累积效应，描述了生物组织的细胞活性与温度和暴露时间的指数关系，具体表达式如下[13]：

$$\Omega(\tau) = \ln \left\{ \frac{C(0)}{C(\tau)} \right\} = \int_0^\tau A e^{\frac{-E_a}{RT(\tau)}} dt \quad (7)$$

$$\alpha(\tau) = 1 - e^{-\Omega(\tau)} \quad (8)$$

其中 $\Omega(\tau)$ 代表组织坏死程度， $C(0)$ 表示未加热前生物组织未受损细胞的比例， $C(\tau)$ 表示  $\tau$ 时刻组织中未受损细胞的比例。热损伤系数 $\alpha(\tau)$ 表示受损细胞所占比例。 $\tau$ 为加热时间，单位为 s,  $A$  为频率因子，单位为 $(\text{s}^{-1})$ ， $E_a$ 为不可逆反应的活化能，单位为 $(\text{J}\cdot\text{mol}^{-1})$ ， $R$ 为通用气体常数， $R = 8.314 (\text{J}\cdot\text{mol}^{-1}\text{K}^{-1})$ ， $T(\tau)$ 为 $\tau$ 时刻的绝对温度 (K)。假设动脉粥样硬化斑块热损伤的参数  $A$  和  $E_a$  分别为  $1.823 \times 10^{51} (\text{s}^{-1})$ 、 $3.27 \times 10^5 (\text{J}\cdot\text{mol}^{-1})$  [14]，血管壁的  $A$  和  $E_a$  分别为  $5.6 \times 10^{63} (\text{s}^{-1})$ 、 $4.0 \times 10^5 (\text{J}\cdot\text{mol}^{-1})$  [15]。当热损伤  $\Omega$  达到临界值 4 时，经过持续加热，生物组织内 98.2%的细胞发生坏死，并开始产生不可逆的损伤。热损伤体积可通过方程（9）计算：

$$V = \iiint_{\Omega} dV (\Omega \geq 4) \quad (9)$$

### 1.3 网格无关性验证

仿真采用了不同的计算网格数以进行网格无关性验证。如图 2A,当网格数大于  $12 \times 10^4$  时计算域内最大温度值趋于平稳。为平衡计算效率和准确性，最终选择了  $12 \times 10^4$  的网格数进行计算，如图 2B。

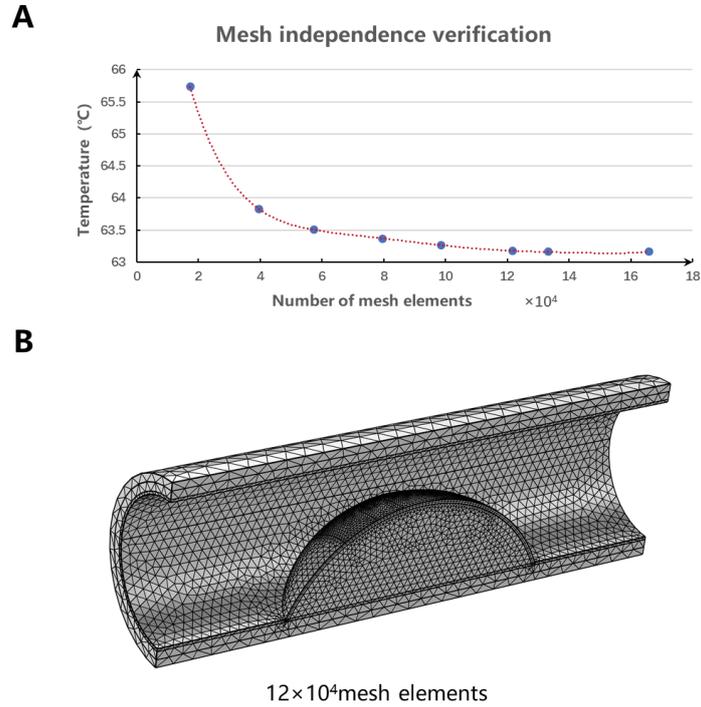


图 2 (A) 网格无关性验证 (B) 模型采用的网格( $12 \times 10^4$  个网格单元)

表格 1 材料属性

	导热系数 $k$ ( $\text{W}/(\text{m} \cdot \text{K})$ )	密度 $\rho$ ( $\text{kg}/\text{m}^3$ )	热容 $c$ ( $\text{J}/(\text{kg} \cdot \text{K})$ )	电导率 $\sigma$ ( $\text{S}/\text{m}$ )
血管壁和纤维帽	0.48	1102	3400	0.5
脂质池	0.22	916	2300	0.09

## 2 结果与讨论

### 2.1 电场和 SAR 分布

图 3 所示为电极电压在 40V 下, 电极间距分别为 2、3、4mm 的电场和 SAR 分布。可以发现, 电场强度主要集中在两贴片之间以及贴片周围区域, 贴片内部几乎不存在电场强度。随着电极间距增大, 场强集中在贴片四周, 电极之间场强变小, 场强呈现两极分布。从 SAR 分布图上看, 能量沉积主要分布在纤维帽层, 脂质层能量沉积要小很多, 主要原因是脂质层比纤维层的电导率小很多。另外, 间距越小 SAR 更集中, 当间距增大到 4mm 时 SAR 主要分布在双电极周围呈现更分散。

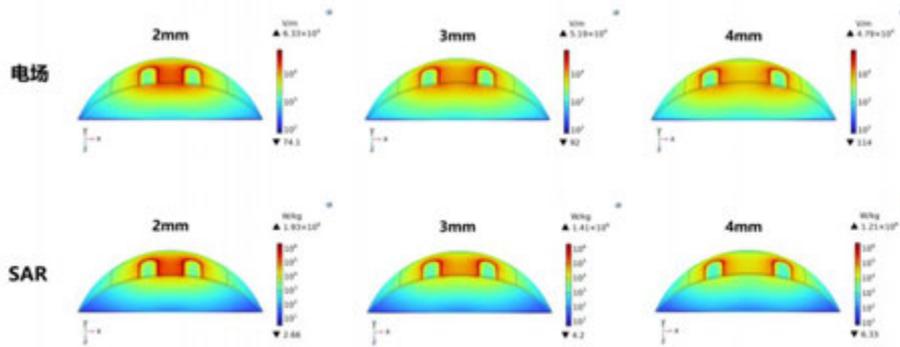
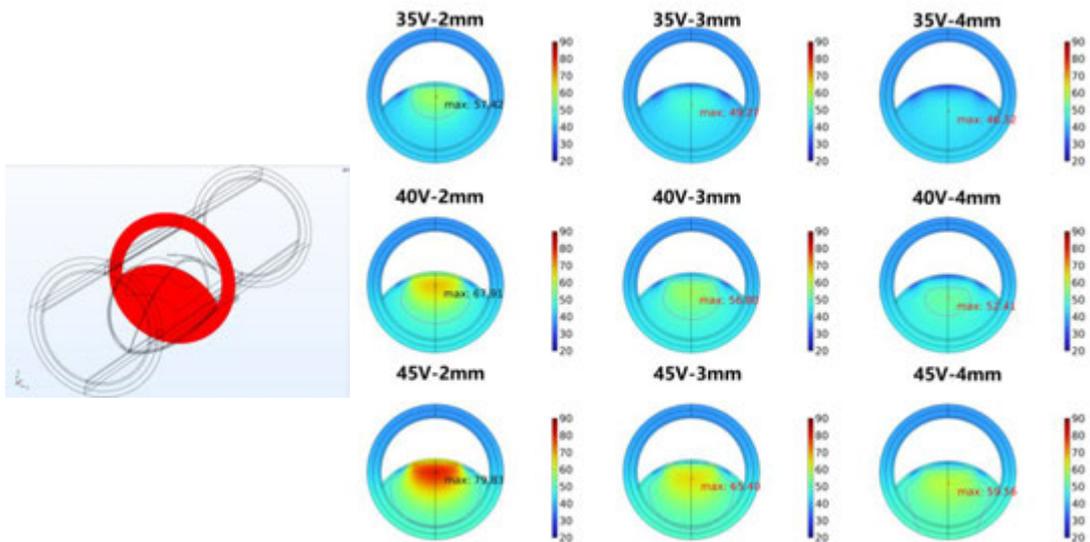


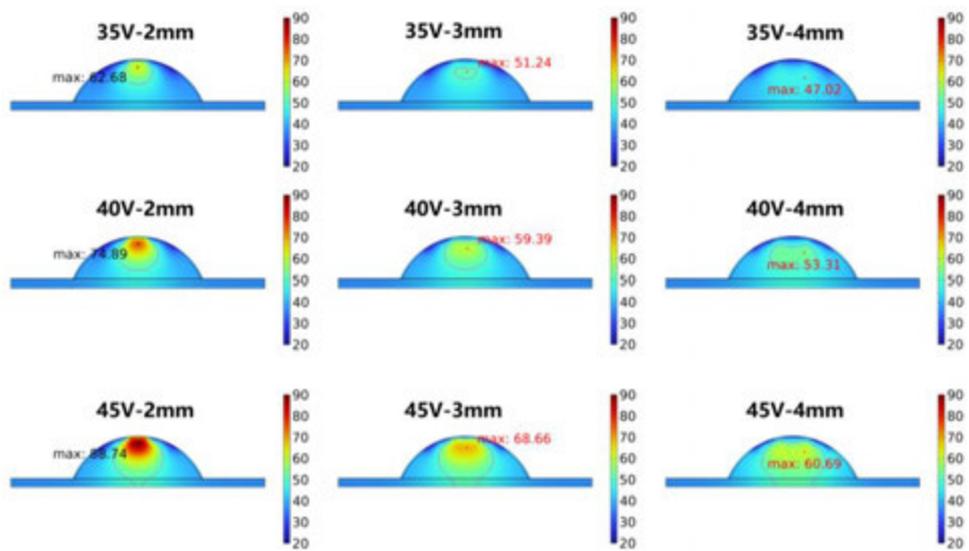
图3 40V 下间距为2、3、4mm 电场和 SAR 分布

## 2.2 温度及热损伤分布

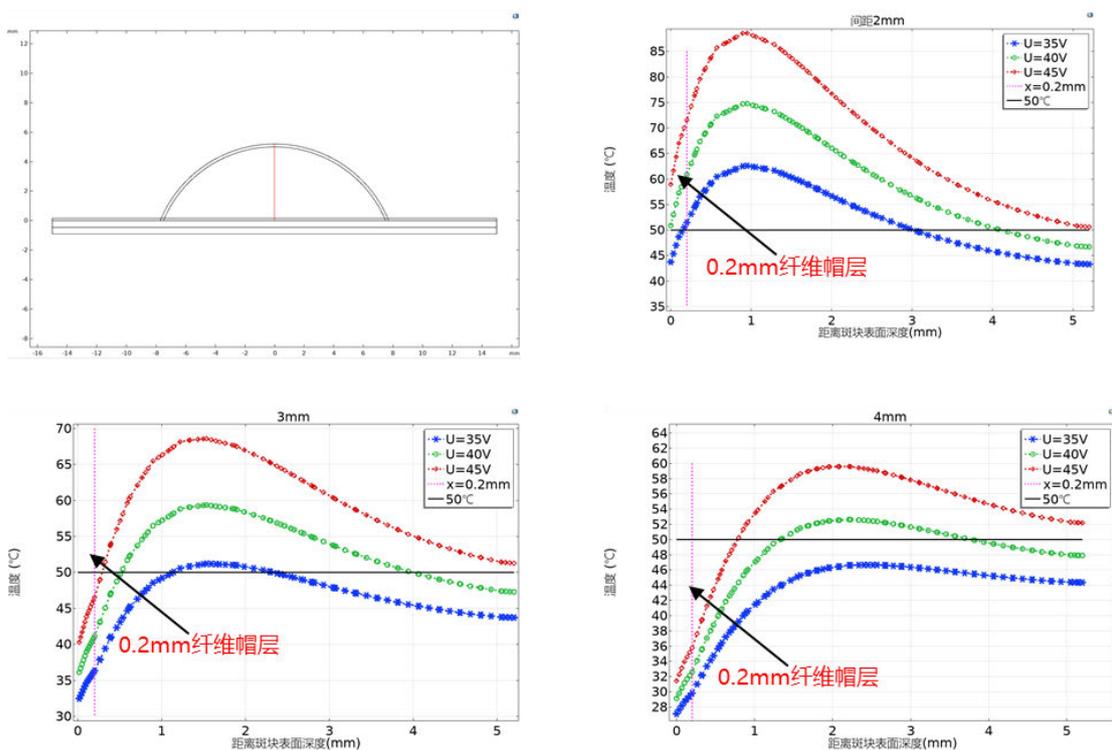
在实际进行射频消融时，由于斑块的纤维帽以及周围正常血管壁受热损伤后可能引发炎症反应进而造成斑块的再狭窄化，需要时刻关注温度场在血管斑块中的分布。探究了在不同电压和电极间距下加热 100s 后的温度分布，如图 4 (a)、(b)所示。电压为 35V 时几乎没有任何消融效果，间距为 3、4mm 时脂肪层几乎看不到 50°C 等温线，2mm 间距下的 50°C 温区范围很小。电压为 45V 时，50°C 温区超出了脂质层，扩展到了纤维层和内膜层，会对正常组织造成不可逆损伤；电压为 40V 时，仅仅 2mm 间隔会造成高温扩散到纤维帽，3、4mm 间隔有良好的消融效果，但 3mm 间隔的消融区域更大。



(a)



(b)



(c)

图4 加热 100s 后, 不同电压和电极间距下的温度分布: (a) 截面 1 (b) 沿着血管中心轴截面 (c) 二维截线  $X=0$

如图 4 (c) 所示, 可以发现最高温度点均位于脂质池, 这主要归因于表面冷却作用带走了大量沉积在纤维帽表面的热量, 从而避免了纤维帽的热损伤。40V 电压电极间距 3mm 下可以保证纤维层和正常血管壁的温度不超过 50°C。我们顺势提取了热损伤分布和体积, 如图 5 和表格 2 所示。图 5 中最内层部分为发生了不可逆热损伤的区域, 再往外一层为 50°C 等温线, 从图中可以看到 40V、3mm 电极参数下可以达到最好的消融效果, 45V、3mm 下纤维层及血管壁发生了热损伤, 而 35V、3mm 下的消融区域非常小。40V、3mm 下的热损伤体积为 28.642mm<sup>3</sup>, 其余电极参数下消融区域超出脂质池范围或者消融区域过小, 均未达到理想的消融效果。

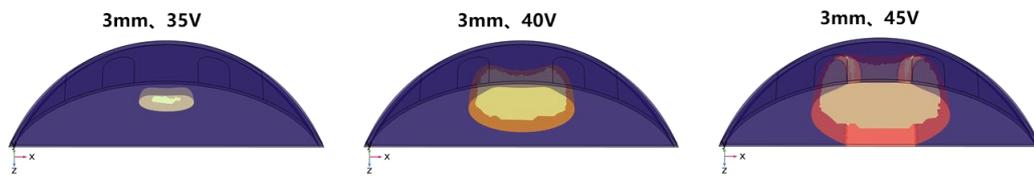


图 5 热损伤分布图

表格 2 热损伤体积

热损伤体积/mm <sup>3</sup>	35V	40V	45V
2mm	18.594	43.459	74.146
3mm	0.56939	28.642	68.761
4mm	0	6.9414	58.777

### 3 结论

本文建立了动脉粥样硬化斑块射频消融的电学及传热模型, 借助有限元仿真工具 COMSOL 研究了不同电极参数下的热消融效果。得出以下结论: (1) 射频的能量 SAR 主要集中在斑块的纤维帽, 并且电极间距越大 SAR 分散在双电极周围的趋势越明显。

(2) 受表面冷却作用热量被大量带走, 最高温度点位于脂质池中, 避免了纤维帽的热损伤。(3) 电极电压越大间距越小, 越容易造成正常组织温度过高而造成损伤, 电压越小间距越大, 射频能量不集中, 越容易达不到消融效果。这些结果可以深化了解动脉粥样硬化斑块射频能量沉积和传热过程, 并可以为之后的优化消融效果提供指导。

### 参考文献

- [1] BJORKEGREN J L M, LUSIS A J. Atherosclerosis: Recent developments [J]. Cell, 2022, 185(10): 1630-45.
- [2] BHARGAVA B, KARTHIKEYAN G, ABIZAID A S, et al. New approaches to preventing restenosis [J]. Bmj-British Medical Journal, 2003, 327(7409): 274-9.
- [3] OVERTOOM T T C, VIJVERBERG P L, VAN ES H W, et al. Treatment of Ureteropelvic Junction Obstruction Using a Detachable Inflatable Stent: Initial Experience [J]. American

- Journal of Roentgenology, 2009, 192(4): 1103-6.
- [4] MEIER B. Restenosis after coronary angioplasty: review of the literature [J]. European heart journal, 1988, 9 Suppl C: 1-6.
  - [5] YANG X, MANNINEN H, SOIMAKALLIO S. Re: Histological analysis of atherectomy specimens: an opportunity neglected to guide therapy preventing restenosis [J]. Cardiovascular and interventional radiology, 1995, 18(2): 135-6.
  - [6] LEE B I, BECKER G J, WALLER B F, et al. Thermal compression and molding of atherosclerotic vascular tissue with use of radiofrequency energy: implications for radiofrequency balloon angioplasty [J]. Journal of the American College of Cardiology, 1989, 13(5): 1167-75.
  - [7] YAMASHITA K, SATAKE S, OHIRA H, et al. Radiofrequency thermal balloon coronary angioplasty: a new device for successful percutaneous transluminal coronary angioplasty [J]. Journal of the American College of Cardiology, 1994, 23(2): 336-40.
  - [8] STEINKAMP H J, WISSGOTT C, RADEMAKER J, et al. Short (1-10 cm) superficial femoral artery occlusions: Results of treatment with excimer laser angioplasty [J]. Cardiovascular and Interventional Radiology, 2002, 25(5): 388-96.
  - [9] POLZER S, POLISENSKA A, NOVAK K, et al. Moderate thickness of lipid core in shoulder region of atherosclerotic plaque determines vulnerable plaque - A parametric study [J]. Medical Engineering & Physics, 2019, 69: 140-6.
  - [10] VERGALLO R, CREA F. Atherosclerotic Plaque Healing [J]. New England Journal of Medicine, 2020, 383(9): 846-57.
  - [11] ZHAO S, ZOU J, ZHANG A, et al. A New RF Heating Strategy for Thermal Treatment of Atherosclerosis [J]. Ieee Transactions on Biomedical Engineering, 2019, 66(9): 2663-70.
  - [12] AMARE R, HODNELAND E, ROBERTS J A, et al. Modeling a 3-D multiscale blood-flow and heat-transfer framework for realistic vascular systems [J]. Scientific Reports, 2022, 12(1): 14610.
  - [13] TANG Y-D, ZOU J, FLESCH R C C, et al. Effect of injection strategy for nanofluid transport on thermal damage behavior inside biological tissue during magnetic hyperthermia [J]. International Communications in Heat and Mass Transfer, 2022, 133.
  - [14] ZANG L, ZHOU Y, KANG J, et al. Effect of the Combination of Different Electrode Spacings and Power on Bipolar Radiofrequency Fat Dissolution: A Computational and Experimental Study [J]. Lasers in Surgery and Medicine, 2020, 52(10): 1020-31.
  - [15] AGAH R, PEARCE J A, WELCH A J, et al. Rate process model for arterial tissue thermal damage: implications on vessel photocoagulation [J]. Lasers in surgery and medicine, 1994, 15(2): 176-84.

# 激光诱导热疗过程中生物组织温度场无损重构

吉亚兰, 王广军\*, 陈泽弘, 陈红  
(重庆大学能源与动力工程学院, 重庆 400044)  
(Tel: -023-65103512, Email: wangguangjun@cqu.edu.cn)

**摘要:** 激光诱导热疗(LITT)是一种微创式肿瘤治疗手段, 获取生物组织瞬态温度场是研究 LITT 的关键。本文针对 LITT 过程中生物组织瞬态温度场无损重构问题, 采用阶跃响应函数作为温度预测模型, 建立了一种模型预测反演方法, 利用组织表面的温度测量信息, 通过滚动优化反演组织表面的激光强度, 进一步, 利用反演得到的激光强度作为输入求解生物传热方程实现生物组织瞬态温度场的无损重构。通过数值试验, 研究了激光辐照形式和测量误差对重构结果的影响。

**关键词:** 传热反问题; 肿瘤热疗; 温度场重构; 模型预测

## 0 前言

热疗是一种微创式肿瘤治疗手段, 由于其副作用小、治疗效果好、与其他临床手段兼容性好等优点, 因而受到广泛的关注<sup>[1-3]</sup>。肿瘤热疗是利用外加物理能量激励生物组织产生热效应, 从而实现体内肿瘤的热消融<sup>[4]</sup>。常见的外加热源包括有微波、激光、超声等, 其中激光具有良好的方向性、相关性和单色性, 可以实现良好的定向加热治疗<sup>[5]</sup>。因此, 激光诱导肿瘤热疗是一种很有前景的替代传统手术治疗肿瘤的方法<sup>[4, 6]</sup>。

肿瘤热疗过程对组织温度场的要求十分严格, 通常需要将肿瘤组织温度升高到凝固温度 43°C 以上以杀死癌细胞, 同时保持周围健康组织的正常温度不高于 41°C<sup>[7]</sup>。因此, 在激光诱导热疗过程中, 实时地监测生物组织内部瞬态温度场对于肿瘤热疗至关重要。

对于生物组织内部温度场, 无法通过直接测量的方式全部获得, 而组织表面的温度容易测量得到, 因而可以基于表面温度测量信息和传热模型, 利用传热学反问题方法重构得到生物组织的瞬态温度分布, 从而实现组织内部温度场的无损重构。

传热学反问题 (IHTP) 是指利用传热系统的其它已知条件, 根据系统能够观测到的部分信息, 反演系统的内部特征或热边界条件<sup>[8]</sup>。近年来, IHTP 广泛应用于生物组织温度场的重构<sup>[9-13]</sup>。Yang 等<sup>[11]</sup>采用共轭梯度法重构了激光诱导肿瘤热疗过程中组织表面的激光入射强度, 进而对组织内部温度和热损伤区域进行预测。Lee 等<sup>[12]</sup>利用组织内部温度作为测量信息, 采用共轭梯度法对生物组织表面不同形式的热流进行了重建。Sun 等<sup>[13]</sup>采用分散模糊推理方法重构了激光诱导肿瘤热疗过程中组织表面空间分布的激光强度和组织内部温度场。在上述重构过程中, 需要求解目标函数梯度分布或反复推演传热

过程正反问题，计算过程复杂且耗时较长。

本文建立了一种模型预测反演方法对肿瘤热疗过程中生物组织温度场进行重构。首先基于阶跃响应函数建立测量点的温度预测模型。然后，在预测模型的基础上建立一种模型预测反演方法，利用组织表面的温度测量信息，通过滚动优化反演组织表面的激光强度，进一步，利用反演得到的激光强度作为输入求解生物传热方程，实现生物组织瞬态温度场的无损重构。

## 1 生物组织传热系统

考虑一个二维生物组织中的激光诱导肿瘤热疗问题。红外激光诱导肿瘤热疗物理模型如图 1。

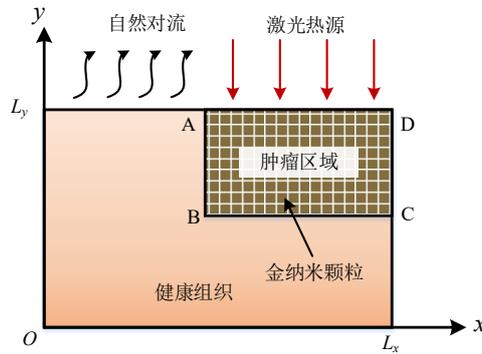


图 1 简化的激光诱导肿瘤热疗物理模型

激光辐照下生物组织温度场  $T(x, y, t)$  采用 Pennes 传热方程表示<sup>[14]</sup>:

$$\rho c_p \frac{\partial T(x, y, t)}{\partial t} = \lambda \nabla^2 T(x, y, t) + Q_b + Q_m + Q_{\text{laser}} \quad 0 < x < L_x, \quad 0 < y < L_y \quad (1)$$

式中， $\rho$ 、 $c_p$  和  $\lambda$  分别为生物组织密度、定压比热容和导热系数； $t$  表示时间； $Q_b$ 、 $Q_m$  和  $Q_{\text{laser}}$  分别为由于血液流动、生物体新陈代谢和吸收激光能量产生的热量。

血液流动引起的换热量  $Q_b$ :

$$Q_b = w_b \rho_b c_{p,b} (T_b - T(x, y, t)) \quad 0 < x < L_x, \quad 0 < y < L_y \quad (2)$$

式(2)中的  $w_b$  为血液灌注率， $T_b$  为血液温度。

在激光诱导热疗过程中，肿瘤区域注射金属纳米颗粒溶液可以提高局部区域对激光的吸收作用。基于 Beer-Lambert 定律，在激光诱导的纳米颗粒辅助肿瘤热疗过程中生物组织吸收外部激光产生的热量为<sup>[15]</sup>:

$$Q_{\text{laser}}(y, t) = \mu_a I(t) \exp(-(\mu_a + \mu_s)y) \quad 0 < y < L_y \quad (3)$$

式中， $I$  表示激光强度， $\mu_a$  和  $\mu_s$  分别表示组织的吸收系数和散射系数。

生物组织传热的初始值和边界条件为:

$$T(x, y, 0) = T_0(x, y) \quad 0 < x < L_x, \quad 0 < y < L_y \quad (4)$$

$$-\lambda \frac{\partial T(x, y, t)}{\partial y} = I(t) - h(T(x, y, t) - T_a) \quad 0 < x < L_x, y = L_y \quad (5)$$

$$T(x, y, t) = T_c \quad x = 0, 0 < y < L_y \quad (6)$$

$$T(x, y, t) = T_c \quad 0 < x < L_x, y = 0 \quad (7)$$

$$-\lambda \frac{\partial T(x, y, t)}{\partial x} = 0 \quad x = L_x, 0 < y < L_y \quad (8)$$

式中,  $T_0$  表示初始温度,  $h$  表示对流换热系数,  $T_a$  表示环境温度,  $T_c$  表示人体内部温度。

## 2 生物传热过程模型预测反演方法

### 2.1 生物组织传热过程预测模型

#### 2.1.1 阶跃响应预测模型

对于上述的生物传热系统, 给定时间步长  $\Delta t$ , 定义在当前时刻  $t_k$  激光强度  $I$  对温度场  $T(x, y, t)$  的  $N$  步预测向量  $\mathbf{T}_{N|k}^{\text{pre}}(x, y)$ :

$$\mathbf{T}_{N|k}^{\text{pre}}(x, y) = [T^{\text{pre}}(x, y, t_{k+1}), T^{\text{pre}}(x, y, t_{k+2}), \dots, T^{\text{pre}}(x, y, t_{k+N})]^T$$

其下标  $N|k$  表示在  $t_k$  时刻对未来  $N$  个时刻的温度预测;  $t_{k+n} = t_k + n \cdot \Delta t$ ,  $n \in \{1, 2, \dots, N\}$ 。

根据叠加原理<sup>[16]</sup>, 建立生物组织温度场阶跃响应预测模型:

$$\mathbf{T}_{N|k}^{\text{pre}}(x, y) = \bar{\mathbf{T}}_{N|k}^{\text{pre}}(x, y) + \mathbf{A}(x, y) \cdot \Delta \mathbf{I}_k \quad (9)$$

在式(10)中,  $\bar{\mathbf{T}}_{N|k}^{\text{pre}}(x, y)$  为温度场的零输入响应向量, 即未受  $\Delta I(t_k), \Delta I(t_{k+1}), \dots, \Delta I(t_{k+N-1})$  作用的温度预测向量;  $\Delta \mathbf{I}_k$  为激光功率  $I$  的  $N$  步时序增量向量;  $\mathbf{A}(x, y)$  为单位阶跃响应系数矩阵:

$$\bar{\mathbf{T}}_{N|k}^{\text{pre}}(x, y) = [\bar{T}^{\text{pre}}(x, y, t_{k+1}), \bar{T}^{\text{pre}}(x, y, t_{k+2}), \dots, \bar{T}^{\text{pre}}(x, y, t_{k+N})]^T, ,$$

$$\Delta \mathbf{I}_k = [\Delta I(t_k), \Delta I(t_{k+1}), \dots, \Delta I(t_{k+N-1})]^T,$$

$$\mathbf{A}(x, y) = \begin{bmatrix} \phi(x, y, t_1) & 0 & \dots & 0 & 0 \\ \phi(x, y, t_2) & \phi(x, y, t_1) & \ddots & 0 & 0 \\ \vdots & \vdots & \ddots & \ddots & \vdots \\ \phi(x, y, t_{N-1}) & \phi(x, y, t_{N-2}) & \dots & \phi(x, y, t_1) & 0 \\ \phi(x, y, t_N) & \phi(x, y, t_{N-1}) & \dots & \phi(x, y, t_2) & \phi(x, y, t_1) \end{bmatrix},$$

其中的  $\phi(x, y, t) = \partial T(x, y, t) / \partial I(t)$ , 为系统温度场的单位阶跃响应函数。

#### 2.1.2 阶跃响应函数模型

为确定式(9)中的单位阶跃响应矩阵  $\mathbf{A}(x, y)$ , 将方程组(1)-(8)对输入  $I(t)$  求导, 阶跃响应函数  $\phi(x, y, t)$  满足下列的阶跃响应方程:

$$\rho c_p \frac{\partial \phi(x, y, t)}{\partial t} = \lambda \nabla^2 \phi(x, y, t) + \frac{\partial Q_b}{\partial I} + \frac{\partial Q_{\text{laser}}}{\partial I} \quad 0 < x < L_x, \quad 0 < y < L_y \quad (1-a)$$

$$\frac{\partial Q_b}{\partial I} = w_b \rho_b c_{p,b} \phi(x, y, t) \quad 0 < x < L_x, \quad 0 < y < L_y \quad (2-a)$$

$$\frac{\partial Q_{\text{laser}}(y, t)}{\partial I(t)} = \mu_a \exp(-(\mu_a + \mu_s)y) \quad 0 < y < L_y \quad (3-a)$$

$$\phi(x, y, t_{k-1}) = 0 \quad 0 < x < L_x, \quad 0 < y < L_y \quad (4-a)$$

$$-\lambda \frac{\partial \phi(x, y, t)}{\partial y} = 1 - h\phi(x, y, t) \quad 0 < x < L_x, \quad y = L_y \quad (5-a)$$

$$\phi(x, y, t) = 0 \quad x = 0, \quad 0 < y < L_y \quad (6-a)$$

$$\phi(x, y, t) = 0 \quad 0 < x < L_x, \quad y = 0 \quad (7-a)$$

$$-\lambda \frac{\partial \phi(x, y, t)}{\partial x} = 0 \quad x = L_x, \quad 0 < y < L_y \quad (8-a)$$

由方程组(1-a)-(8-a)可知，系统的阶跃响应函数  $\phi(x, y, t)$  与温度场  $T(x, y, t)$  和输入热源  $I(t)$  无关，因此可以在反演前进行离线计算。这里采用有限元法解方程组(1-a)-(8-a)获得阶跃响应函数  $\phi(x, y, t)$  的离散值，进而确定传热系统的阶跃响应矩阵  $A(x, y)$ 。

### 2.1.3 阶跃响应预测模型验证

将阶跃响应模型的预测温度响应与文献中的预测温度响应进行对比，对阶跃响应模型进行验证。生物组织物性参数与文献[17]设置相同。根据文献[17]的试验条件，入射激光强度分别为  $I_0 = 5000 \text{ W/m}^2$  和  $I_0 = 10000 \text{ W/m}^2$ 。组织的初始温度，血液温度，人体温度和环境温度分别设置为  $T_0 = 35 \text{ }^\circ\text{C}$ ， $T_b = T_c = 37 \text{ }^\circ\text{C}$  和  $T_a = 25 \text{ }^\circ\text{C}$ ，对流换热系数为  $h = 5 \text{ W/(m}^2 \cdot \text{ }^\circ\text{C)}$ 。

阶跃响应模型的预测温度响应与文献[11]中的预测温度响应对比如图 3。从图中可以看出，阶跃响应模型的预测温度响应与文献中的吻合良好，证明了本文建立的阶跃响应预测模型的可靠性。

## 2.2 基于生物传热过程预测模型的反演方案

### 2.2.1 反问题优化性能指标

对于每一个时刻  $t_k$ ，需要确定从该时刻起的  $N$  个输入增量  $\Delta I_k, \Delta I_{k+1}, \dots, \Delta I_{k+N-1}$  使系统在其作用下，测点  $m$  处在未来  $N$  个时刻的温度预测值  $\mathbf{T}_{N|k}^{\text{pre}}$  尽可能地接近其温度测量值  $\mathbf{T}_{N|k}^{\text{mea}}$ 。对应的优化性能指标为：

$$\min J(\Delta \mathbf{I}_k) = \left( \mathbf{T}_{N|k}^{\text{mea}}(x_m, y_m) - \mathbf{T}_{N|k}^{\text{pre}}(x_m, y_m) \right)^T \left( \mathbf{T}_{N|k}^{\text{mea}}(x_m, y_m) - \mathbf{T}_{N|k}^{\text{pre}}(x_m, y_m) \right) + \alpha \Delta \mathbf{I}_k^T \Delta \mathbf{I}_k \quad (10)$$

式中， $\mathbf{T}_{N|k}^{\text{mea}}(x_m, y_m) = [T^{\text{mea}}(x_m, y_m, t_{k+1}), T^{\text{mea}}(x_m, y_m, t_{k+2}), \dots, T^{\text{mea}}(x_m, y_m, t_{k+N})]^T$ ，是测点处

的测量温度时序向量； $\alpha$  是正则化参数。

### 2.2.2 滚动优化反演

利用上述建立的生物组织传热过程温度预测模型和优化性能指标，对激光强度  $I(t)$  进行滚动优化反演。

将式(9)代入式(10)，对入射激光强度时序向量  $\Delta I_k$  求导，并令  $dJ(\Delta I_k)/d\Delta I_k = 0$ ，得到入射激光强度时序向量  $\Delta I_k$  的最优估计值：

$$\Delta I_k = \left[ \left( A(x_m, y_m)^T A(x_m, y_m) + \alpha \Psi \right)^{-1} A(x_m, y_m)^T \left( T_{N|k}^{\text{mea}}(x_m, y_m) - \bar{T}_{N|k}^{\text{pre}}(x_m, y_m) \right) \right] \quad (11)$$

式中  $\Psi$  为  $N$  阶单位矩阵。

在当前时刻  $t_k$ ，根据式(11)反演即时激光强度增量  $\Delta I_k$ 。到下一时刻，按同样的优化方法求得  $\Delta I_{k+1}$ ，此所谓“滚动优化”的策略。由式(11)可知， $t_k$  时刻的入射激光强度  $\Delta I_k$  的最优值为：

$$\Delta I_k = \Phi \left[ \left( A(x_m, y_m)^T A(x_m, y_m) + \alpha \Psi \right)^{-1} A(x_m, y_m)^T \left( T_{N|k}^{\text{mea}}(x_m, y_m) - \bar{T}_{N|k}^{\text{pre}}(x_m, y_m) \right) \right] \quad (12)$$

其中  $\Phi = [1, 0, \dots, 0]$ 。

上述的系统测量温度预测模型和激光强度滚动优化反演方案相结合，构成了生物组织传热过程的模型预测反演方法。

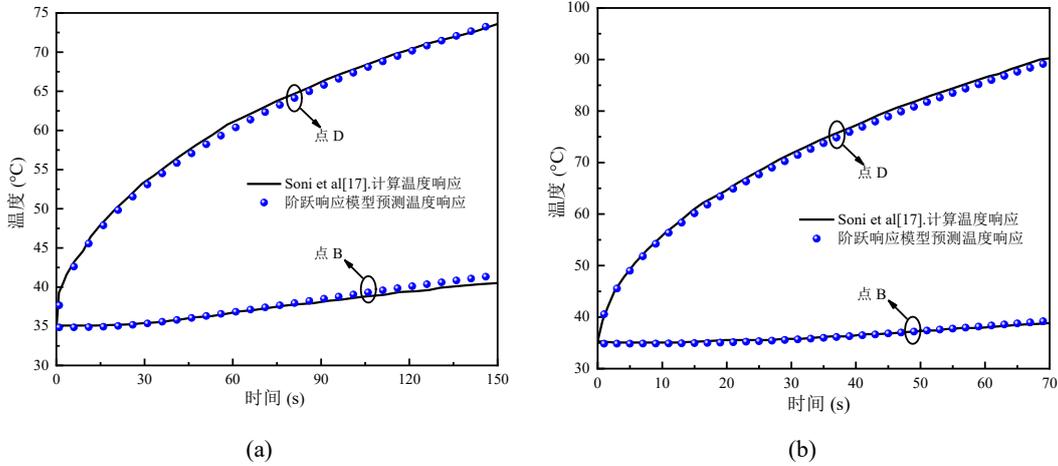


图2 生物传热系统的阶跃响应模型验证：(a) 激光强度  $I_0 = 5000 \text{ W/m}^2$ ，(b) 激光功率  $I_0 = 10000 \text{ W/m}^2$

### 2.3 模型预测反演方法的计算流程

模型预测反演方法按下列流程反演入射激光强度  $I(t)$  和重构温度场  $T(x, y, t)$ ：

步骤 1：根据生物组织传热基本方程建立阶跃响应函数模型，构造激光辐照生物组织传热阶跃响应函数模型并离线确定阶跃响应矩阵  $A(x, y)$ ；

步骤 2：对当前时刻  $t_k$ ，根据式(9)，建立测点处温度的阶跃响应预测模型；

步骤 3：利用测量温度时序向量  $T_{N|k}^{\text{mea}}$  和预测温度时序向量  $T_{N|k}^{\text{pre}}$ ，根据式(11)通过滚动优化获得  $I(t)$  的时序增量向量  $\Delta I_k$ ；

步骤 4: 利用  $I(t)$  的时序增量向量  $\Delta I_k$ , 通过式(12)获得当前时刻  $t_k$  的入射激光强度增量  $\Delta I_k$ ;

步骤 5: 利用  $t_k$  时刻的入射激光强度  $\Delta I_k$ , 根据式(9)对测点  $m$  处的温度进行预测, 获得  $[t_{k+1}, t_{k+N+1}]$  时间区间内测点  $m$  处的预测温度时序向量  $T_{N|k+1}^{\text{pre}}$ , 取  $t_k = t_{k+1}$ , 返回步骤 2。

### 3 数值试验结果及讨论

#### 3.1 数值试验条件

生物组织传热模型如图 1 所示, 组织结构参数  $L_x = 0.02 \text{ m}$  和  $L_y = 0.01 \text{ m}$ , 肿瘤组织的结构参数  $L_{AD} = 0.01 \text{ m}$  和  $L_{AB} = 0.005 \text{ m}$ 。生物组织的物性参数见文献[4], 组织的初始温度, 人体温度和环境温度分别为  $T_0 = 35 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $T_b = T_c = 37 \text{ }^\circ\text{C}$  和  $T_a = 25 \text{ }^\circ\text{C}$ ; 对流换热系数  $h = 5 \text{ W}/(\text{m}^2 \cdot \text{ }^\circ\text{C})$ 。通过做网格无关性试验, 取离散网格数为  $S = 12596$ , 时间步长为  $0.1 \text{ s}$ 。测点布置在图 1 所示的 D 点。

假定组织表面激光辐照形式分别为以下的三种形式:

$$\text{Case 1:} \quad I(t) = 5000 \text{ W}/\text{m}^2 \quad 0 \text{ s} \leq t \leq 60 \text{ s} \quad (13)$$

$$\text{Case 2:} \quad I(t) = 6000 \cdot \exp(-0.01t) \text{ W}/\text{m}^2 \quad 0 \text{ s} \leq t \leq 60 \text{ s} \quad (14)$$

$$\text{Case 3:} \quad I(t) = \begin{cases} 2000 \text{ W}/\text{m}^2 & 0 \text{ s} \leq t < 10 \text{ s} \\ 6000 \text{ W}/\text{m}^2 & 10 \text{ s} \leq t < 30 \text{ s} \\ 3000 \text{ W}/\text{m}^2 & 30 \text{ s} \leq t \leq 60 \text{ s} \end{cases} \quad (15)$$

在实际工程中, 测量误差是不可避免的。引入随机标准差来研究重构结果的可靠性。具有随机误差的测量结果表示为:

$$T_{s,\text{mea}}^k = T_{s,\text{exa}}^k + \omega\sigma \quad (16)$$

式中,  $T_{s,\text{mea}}^k$  为空间点  $s$  在  $k$  时刻的测量结果;  $T_{s,\text{exa}}^k$  为空间点  $s$  在  $k$  时刻的精确值。 $\omega$  为区间  $[-2.576, 2.576]$  内服从标准正态分布的一组随机数;  $\sigma$  为温度测量误差的标准差。

为了评估重构结果的准确性, 引入重构结果的均方根误差  $\xi$  和平均相对误差  $\eta$ :

$$\xi = \sqrt{\frac{1}{K \times S - 1} \sum_{k=1}^K \sum_{s=1}^S (T_{s,\text{rec}}^k - T_{s,\text{exa}}^k)^2} \quad (17)$$

$$\eta = \xi / \sqrt{\frac{1}{K \times S - 1} \sum_{k=1}^K \sum_{s=1}^S (T_{s,\text{exa}}^k)^2} \times 100\% \quad (18)$$

式中,  $K$  为仿真时域;  $T_{s,\text{rec}}^k$  为空间点  $s$  在  $k$  时刻的重构结果。

#### 3.2 激光辐照形式对重构结果的影响

在热疗过程中, 提高生物组织内部局部区域的温度均匀性, 降低正常组织热损伤是肿瘤热疗的关键。选取恰当的激光辐照形式, 可使肿瘤区域温度更均匀化, 达到理想的

生物组织温度分布，有效降低热疗过程中对正常组织的热损伤<sup>[10, 18]</sup>。

分别取入射激光强度  $I$  为式(13)-(15)的三种形式，研究激光辐照形式对重构结果的影响。

激光强度的重构结果如图 3。不同激光辐照形式下的温度场重构结果如图 4~图 6。表 2 给出了不同激光辐照形式下的温度场重构误差。

从结果可以看出，模型预测反演方法具有普适性，可以很好的重构不同形式激光辐照下生物组织内部温度场。

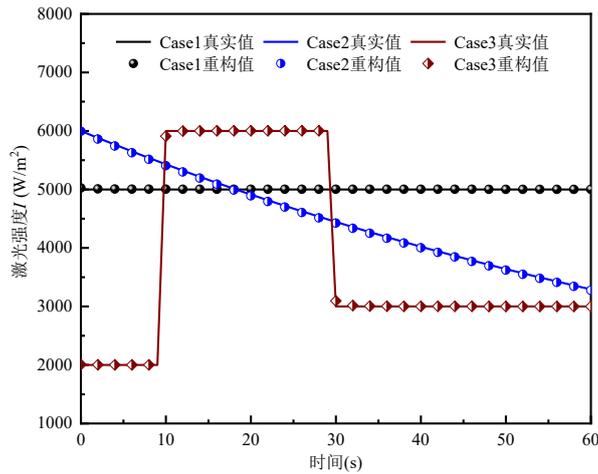


图 3 激光强度  $I$  的重构结果

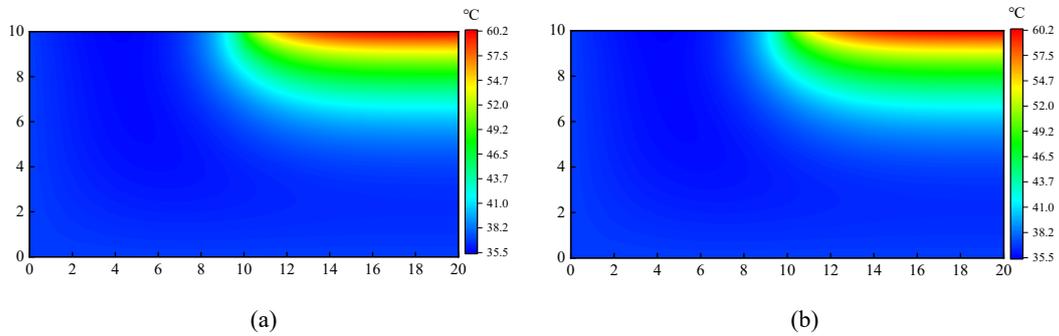


图 4 激光辐照形式为 Case 1,  $t = 60$  s 时的温度场重构结果: (a) 精确温度场; (b) 重构温度场

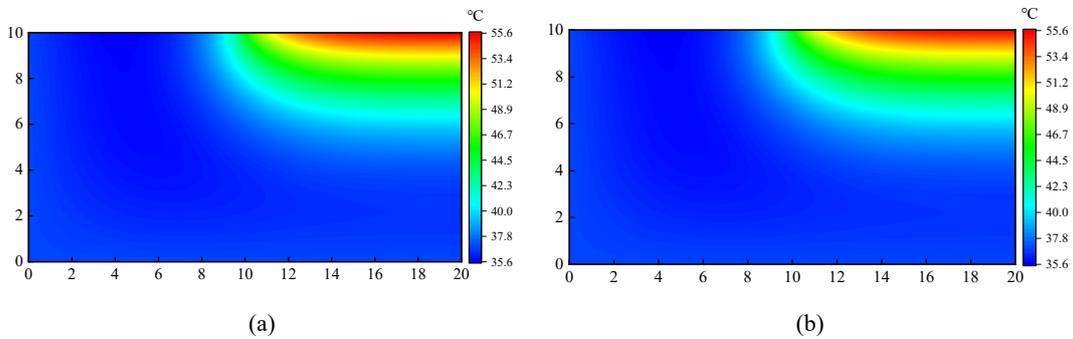


图 5 激光辐照形式为 Case 2,  $t = 60$  s 时的温度场重构结果: (a) 精确温度场; (b) 重构温度场

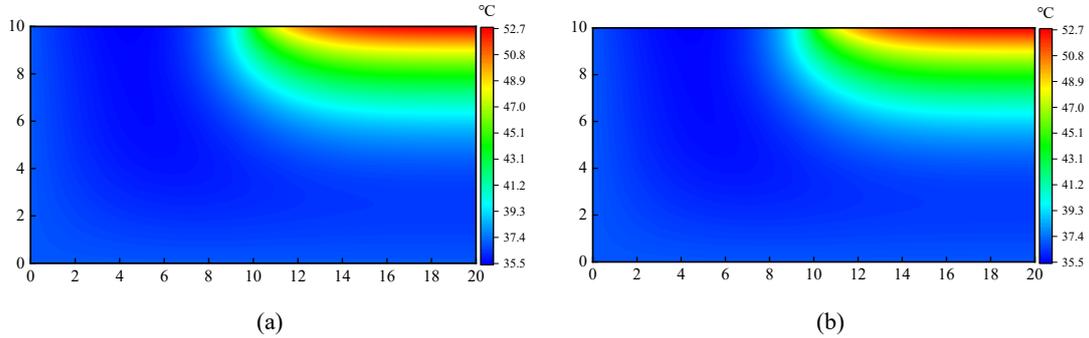


图 6 激光辐照形式为 Case 3,  $t = 60$  s 时的温度场重构结果: (a) 精确温度场; (b) 重构温度场

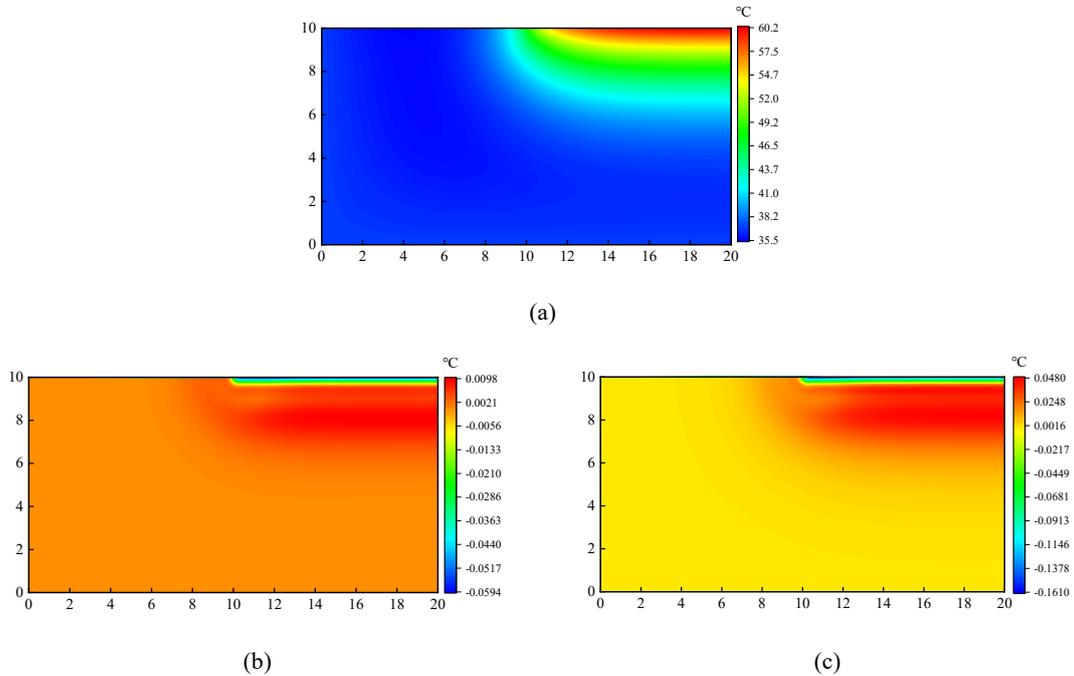
表 2 不同激光辐照形式下的温度场重构误差

激光辐照形式	温度场重构均方根误差 [°C]	温度场重构平均相对误差 [%]
Case 1	0.0033	0.0089
Case 2	0.0177	0.0476
Case 3	0.0402	0.1088

### 3.3 测量误差对重构结果的影响

取激光辐照形式为 Case 1, 分别取测量误差  $\sigma = 0.1$ ,  $\sigma = 0.3$ ,  $\sigma = 0.5$  和  $\sigma = 1.0$ , 讨论测量误差对温度场重构结果的影响。

图 7 展示了  $t = 60$  s 时精确温度场和不同测量误差  $\sigma$  下的重构温度场与精确温度场之间的绝对偏差分布。表 3 展示了不同测量误差下的温度场重构误差。



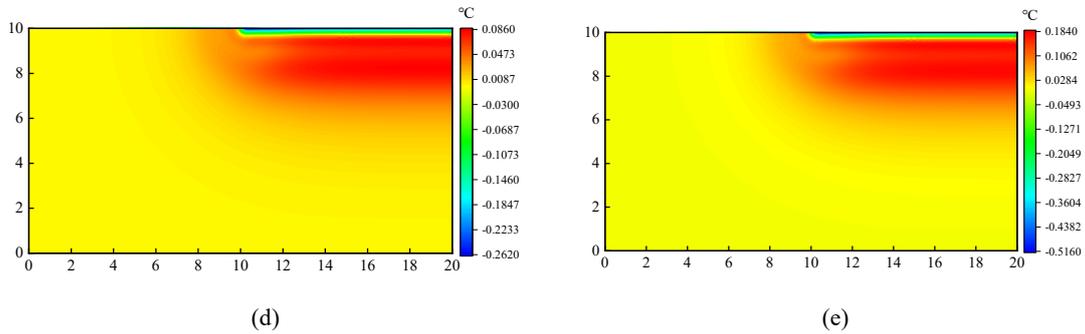


图 7 精确温度场及不同测量误差 $\sigma$ 下的重构温度场与精确温度场之间的绝对偏差分布 ( $t = 60$  s): (a) 精确温度场; (b)  $\sigma = 0.1$ ; (c)  $\sigma = 0.3$ ; (d)  $\sigma = 0.5$ ; (e)  $\sigma = 1.0$

表 3 不同测量误差下的温度场重构误差

测量误差 [ $^{\circ}\text{C}$ ]	温度场重构均方根误差 [ $^{\circ}\text{C}$ ]	温度场重构平均相对误差 [%]
$\sigma = 0.1$	0.0090	0.0241
$\sigma = 0.3$	0.0282	0.0756
$\sigma = 0.5$	0.0477	0.1278
$\sigma = 1.0$	0.0964	0.2584

从结果可以看出,随着测量误差增加,温度场重构误差增大。当测量误差增加至 $\sigma = 1.0$   $^{\circ}\text{C}$ 时,温度场重构的均方根误差和平均相对误差分别为 0.0964  $^{\circ}\text{C}$ 和 0.2584%,说明了模型预测反演方法对测量误差不敏感,在测量误差较大的情况下,仍能很好的重构激光辐照下的生物组织内部温度场。

#### 4 结论

本文针对 LITT 过程中生物组织瞬态温度场无损重构问题,采用阶跃响应函数作为温度预测模型,建立了一种模型预测反演方法,利用组织表面的温度测量信息,通过滚动优化反演组织表面的激光强度,进一步,利用反演得到的激光强度作为输入求解生物传热方程,实现生物组织瞬态温度场的无损重构。

通过对不同形式激光辐照下的生物组织温度场的重构,说明了模型预测反演方法具有普适性,可以很好的重构不同形式激光辐照下的生物组织温度场。

另外,讨论了测量误差对温度场重构结果的影响,阐明了模型预测反演方法对测量误差不敏感,在测量误差较大的情况下,仍能很好的重构生物组织温度场。

#### 参考文献

- [1] Gheflati B, Naghavi N. Computational study of nanoparticle assisted hyperthermia in tumors embedded with large blood vessels. *International Journal of Heat and Mass Transfer*, 2020 151: 119415.
- [2] Ren Y., Chen Q., Li H., et al. Passive control of temperature distribution in cancerous tissue during photothermal therapy using optical phase change nanomaterials. *International Journal of Thermal Sciences*, 2021, 161: 106754.

- [3] Sun S., Ji Y., Chang Z., et al. Application of stochastic particle swarm optimization algorithm for noninvasive determination of temperature-dependent thermal properties of biological tissue. *Heat Transfer Research*, 2022, 53: 45-60.
- [4] Ren Y T, Qi H, Chen Q, et al. Thermal dosage investigation for optimal temperature distribution in gold nanoparticle enhanced photothermal therapy. *International Journal of Heat and Mass Transfer*, 2017, 106: 212-221.
- [5] Zhao F. Z., Qi H., Yao G., et al. Efficient optical parameter mapping based on time-domain radiative transfer equation combined with parallel programming. *Optics Express*, 2020, 28(1): 270-287.
- [6] Paul A., Narasimhan A., Kahlen F.J., et al. Temperature evolution in tissues embedded with large blood vessels during photo-thermal heating. *Journal of Thermal Biology*, 2014, 41: 77-87.
- [7] Mohammadpour M., Firoozabadi B. Numerical study of the effect of vascular bed on heat transfer during high intensity focused ultrasound (HIFU) ablation of the liver tumor. *Journal of Thermal Biology*, 2019, 86: 102431.
- [8] 李雁浩. 传热过程的模型预测反演方法及应用[D]. 重庆大学, 2017.
- [9] Li Y H, Zeng D P, Tan J W. Reconstruction of thermal field in target tissue during the therapy of high intensity focused ultrasound. *International Communications in Heat and Mass Transfer*, 2019, 108: 104325.
- [10] Liu L., Liu C., Zhu Q., et al. Inversion of spatio-temporal distribution heat flux and reconstruction of transient temperature field of three-layered skin tissue during hyperthermia. *Journal of Thermal Biology*, 2023, 103515.
- [11] Yang Y C, Lee H L, Chang W J, et al. An inverse problem in estimating the laser irradiance and thermal damage in laser-irradiated biological tissue with a dual-phase-lag model. *Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineering*, 2017, 20(4): 446-456.
- [12] Lee H L, Lai T H, Chen W L, et al. An inverse hyperbolic heat conduction problem in estimating surface heat flux of a living skin tissue. *Applied Mathematical Modelling*, 2013, 37(5): 2630-2643.
- [13] Sun S. C., Ji Y. L., Chang Z. H., et al. Reconstruction of surface laser power and internal temperature of biological tissue during laser-induced thermal therapy. *Numerical Heat Transfer, Part A: Application*, 2023, 83(5): 558-571.
- [14] Andreozzi A., Brunese L., Iasiello M., et al. Modeling heat transfer in tumors: a review of thermal therapies. *Annals of Biomedical Engineering*, 2018, 47(3): 676-693.
- [15] Welch A. The thermal response of laser irradiated tissue. *IEEE Journal of Quantum Electronics*, 1984, 20: 1471-1481.
- [16] Camacho E.F., Bordons C. *Model Predictive Control*. Springer-Verlag, London, 2007.
- [17] Soni S., Tyagi H., Taylor R.A., et al. Investigation on nanoparticle distribution for thermal ablation of a tumour subjected to nanoparticle assisted thermal therapy. *Journal of Thermal Biology*, 2014, 43: 70-80.
- [18] Dombrovsky L.A., Timchenko V., Jackson M., et al. A combined transient thermal model for laser hyperthermia of tumors with embedded gold nanoshells. *International Journal of Heat and Mass Transfer*, 2011, 54: 5459-5469.

# 可生物降解氧化镁纳米颗粒用于低温保存 缓解低温氧化损伤与机械损伤

汪晓红<sup>a,b</sup>, 饶伟<sup>a,b,\*</sup>

<sup>a</sup> 液态金属与低温生物医学研究中心, 低温生物医学工程学北京市重点实验室, 中国科学院理化技术研究所, 北京 100190

<sup>b</sup> 中国科学院大学未来技术学院, 北京 100049

(Email: weirao@mail.ipc.ac.cn)

**摘要:** 冷冻保存过程细胞的常见损伤有低温引起的冰晶机械损伤或氧化应激损伤, 通常以分别添加抗冻保护剂或者抗氧化剂进行保护, 缺乏可高效且同时减少这两类损伤的研究。本文利用绿色安全、可生物降解的氧化镁材料作为抑制细胞低温和氧化损伤的保护材料, 从生物和热物理两方面验证了氧化镁纳米颗粒具有的抗氧化和强化传热作用, 有助于减缓细胞冻存过程中氧化损伤和机械损伤, 提高细胞无 DMSO 低温保存效率。本项工作有望为氧化镁材料在低温保存领域的研究提供新的思路。

**关键词:** 氧化镁; 生物降解; 抗氧化; 冰晶生长; 低温保存

## 0 前言

低温保存是保存珍贵生物样品资源(生物大分子、细胞、组织、器官等)最有效的方式, 有利于保护生物多样性, 支持各种生物医学应用。Arrhenius 模型证明低温下细胞代谢会减慢或停止, 从而延长贮藏时间<sup>[1]</sup>, 并且储存时间随着温度的降低而增加, 例如, 在低温(约 4 °C)下, 储存时间为数小时或数天, 在深低温(-80 至-196 °C)下, 储存时间为数月至数年。然而, 低温保存的标本与正常的生理状态相距甚远, 不可避免地会引起生化变化和保存细胞的损伤<sup>[2]</sup>。了解伤害的来源, 进行有效的预防和保护是至关重要的。

损伤可能是由于冷冻和复温过程中的相变(如细胞内和细胞外水分结晶), 或在分子水平上状态、活动和功能的重大变化, 最终导致细胞损伤甚至死亡。冰晶损伤主要由双因素假说来解释, 即冷却速度会导致渗透损伤或机械损伤。为了避免冰晶对生物标本的破坏, 常用的方法包括添加冷冻保护剂(CPA)和改变冷却速率。另一方面, 低温保存可能通过产生大量活性氧(ROS)诱导氧化应激<sup>[3]</sup>。低温保存过程中的氧化应激可直接引起细胞损伤, 诱导细胞凋亡。例如, 活性氧可以激活核因子(NF- $\kappa$ B), 导致细胞凋亡<sup>[4,5]</sup>, 它通过作用于线粒体介导细胞凋亡。活性氧也可通过激活 P53 诱导细胞凋亡, 或激活 SAPK 通路介导细胞凋亡等途径引起 DNA 损伤<sup>[6]</sup>。为了减少氧化应激的逆转作用, 抗氧化剂已被广泛应用于低温保存<sup>[7]</sup>, 如过氧化歧化酶、维生素 E、维生素 C、谷胱甘肽、硫辛酸、甜菜碱、抗坏血酸等<sup>[8-11]</sup>。

以往的方法研究了各种抗氧化剂作为冷冻保护剂的添加剂。它们对抗氧化和提高保

存效果有有益的作用，但抗氧化剂是如何与细胞作用还未有明确的解释。此外，在材料方面，所使用的酶促类（如过氧化物歧化酶）和非酶促抗氧化剂（如维生素 C、抗坏血酸、谷胱甘肽等）均为结构复杂的有机大分子。因此，需要探索更简单、更安全的分子，并进一步解释与细胞的相互作用模式。众所周知，氧化镁具有生物相容性和可生物降解性。它是人体必需元素，可调节神经系统、肌肉、钙吸收等功能<sup>[12]</sup>。同时，氧化镁具有表面吸附作用，可作为缓释递送剂使用<sup>[13]</sup>。它还在肿瘤治疗（生物降解）和冷冻治疗（高导热性）中发挥作用<sup>[14,15]</sup>。氧化镁应用最广泛的领域之一是抗菌材料<sup>[16]</sup>。其机制被认为是 Mg 离子释放引起的细胞酶失活或线粒体呼吸功能障碍，进一步增加 ROS 释放水平，从而威胁细菌活性<sup>[17-19]</sup>。然而，氧化镁的作用似乎与剂量有关<sup>[20]</sup>。例如，Harvey 等人研究了 MgO 颗粒对雌性 Wistar 大鼠的急性口服毒性，发现相对高浓度（1000 mg/kg）下才可产生明显毒性<sup>[21]</sup>。此外，在抗菌研究中，也证明了氧化镁只有在较高浓度（> 1mg/mL）下才能发挥显著的杀菌作用<sup>[19]</sup>。反之，低浓度的氧化镁颗粒影响不大。这些研究侧重于高剂量氧化镁的治疗效果，而低剂量氧化镁的效果尚未得到研究。

本文将具有生物安全性的氧化镁纳米材料作为无机抗氧化剂和缓解冰晶生长的保护剂用于无 DMSO 低温保存。实验结果验证了氧化镁材料的生物相容性与可降解性，通过细胞预先孵育摄取纳米颗粒的方式进行细胞抗氧化主动调控，证明了低剂量下氧化镁在低温保存过程中在生物和热物理两方面的保护作用，更进一步地，也展示了氧化镁与细胞的相互作用。本研究结果有望为低温保存过程中的新材料应用、应激损伤的处理提供新的思路。

## 1 实验材料与方法

### 1.1 材料

材料所有试剂均为分析级，接收到的样品使用，无需进一步纯化。氢氧化钠（NaOH）、六水氯化镁（MgCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O）、十六烷基三甲基溴化铵（CTAB）。所有溶液和试剂的配制均采用超纯水。

### 1.2 氧化镁制备与表征

MgO 颗粒采用以下方法合成：将 1.5 g CTAB 和 1.6 g MgCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O 的混合物溶解在 40 mL 纯水中搅拌 1h，制成透明凝胶。然后将 0.2 M NaOH 溶液 80 mL 滴入所得凝胶中，在 40 °C 下剧烈搅拌 4h，形成白色悬浮液。将获得的悬浮液转移到 200 mL 内衬聚四氟乙烯的不锈钢高压灭菌器中，在 180 °C 下保持 24h。之后，收集白色沉淀物，用纯水洗涤后在 60 °C 下干燥过夜，最后在 450 °C 下煅烧 3h。MgO@PVP 通过机械搅拌得到：0.1%wt PVP（Mw: 8000）加入 30mL MgO 溶液中，搅拌 30min。然后用纯水清洗后干燥。

利用扫描电镜（HITACHI S4800, HITACHI Limited, Japan）和透射电镜（TEM, HT7700, HITACHI Limited, Japan）在 120 kV 的加速电压下对所制备的纳米颗粒进行形貌观察。通过扫描电镜图像测量纳米 MgO 颗粒的平均直径、厚度和长度。采用 Zetasizer Nano（ZEN3600）对其粒径分布进行分析

### 1.3 细胞培养

3T3 细胞在 Dulbecco's modified Eagle's 培养基（DMEM）中培养，所有细胞培养基

中添加 10% (v/v) 胎牛血清 (FBS)、100 units/mL 青霉素和 100 ug/mL 链霉素。所有细胞在 5% CO<sub>2</sub> 培养箱 (Thermo Scientific) 中 37 °C 培养。

#### 1.4 活性氧生成测定

ROS 生成试验分别利用 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 和温度两种刺激进行。首先, 用不同浓度的 MgO@PVPNPs (0 ug/mL、100 ug/mL、200 ug/mL 和 400 ug/mL) 处理细胞 3 h, 然后用不同浓度的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 溶液共培养细胞 30 min, 在 PBS 缓冲液中洗涤 3 次, 用含 10 μM DCFH-DA 的培养基在 37 °C 下暗处孵育 15min。随后, 使用荧光显微镜进行观察。冷却产生的活性氧则是通过在不同温度下 (20 °C, 4 °C, -20 °C) 培养获得的。

#### 1.5 胞内毒性与生物降解测试

为了量化 MgO 的细胞毒性, 将细胞以 5000 个细胞/孔的密度接种在 96 孔板中。孵育 24 小时后, 用 PBS 洗涤细胞 2 次。然后, 在孔中加入不同浓度、体积为 100 μL 的 MgO NPs 培养液, 孵育 12、24、48 h, 平行研究未处理的新鲜细胞。培养一定时间后, 除去含 MgO 的培养基, 用 PBS 洗涤细胞 2 次。然后用 CCK-8 试剂检测细胞活力。

通过测定细胞内镁离子的含量 (ICP: 电感耦合等离子体发射光谱法) 来测定氧化镁颗粒的降解情况。不同剂量的 MgO@PVPNPs 孵育不同时间 (0h、3h、6h、9h) 后用 PBS 洗涤细胞 2 次, 加入 RIPA 细胞裂解。用超滤离心管 (3k MW, 0.5 mL) 过滤细胞悬液, 在 14000 g、4 °C 下离心 20 分钟后, 进一步进行 ICP 检测。

#### 1.6 细胞冷冻保存

进行冷冻保存前, 将贴壁的 3T3 细胞在 70-80% 的生长密度下消化收集, 在 30mm 培养皿中以 1×10<sup>6</sup> 个/mL 的密度重悬。孵育 12 h 细胞贴壁后, 将细胞与不同浓度的 MgO/PVP 颗粒孵育 3 h, 随后 PBS 清洗。冷冻保存时, 细胞消化离心后, 在 1 mL 含 0.75 M 1,2-乙二醇的预冷玻璃化液中 4 °C 下平衡 5 分钟。之后用含 1.5 M 1,2-乙二醇和 0.1 M 蔗糖的玻璃化液在 4 °C 下平衡 5 min。样品在 -20 °C 下保存 30min 后, 放入 -80 °C 的冰箱中保存 24 h, 然后投入液氮中。复温时, 将冷冻保存的样品置于 37 °C 水浴中, 轻轻摇匀约 1 min, 再将细胞悬液样品从冷冻管中转移到含有 0.75 M 1,2- EG 和 0.05 M 蔗糖的离心管中 5 min, 之后将细胞重悬于培养基中进行后续实验。

#### 1.7 细胞冷冻后活率与增殖

使用 Calcein-AM/PI (AM/PI) 染色试剂盒 (Solarbio BioTech Inc., China) 评估 3T3 细胞冷冻保存后的即时活力。染色后的细胞悬液在 37 °C 下孵育 15 分钟。使用 10 倍物镜的荧光显微镜 (LSM710, 蔡司, 德国) 拍摄荧光图像。Calcein-AM 染色的活细胞为绿色, EB 染色的死细胞为红色。每个样本至少随机选择 3 个区域。为了量化细胞附着效率, 在 96 孔板的每孔中接种 1.5×10<sup>4</sup> 新鲜和冷冻保存的 3T3 细胞。孵育 24 小时后, 使用 CCK-8 试剂在 37 °C 下孵育 4 小时后, 测量 450 nm 吸光度。附着效率定义为冷冻保存样品中细胞相对于新鲜样品中的细胞的百分比。

#### 1.8 细胞内纳米颗粒摄取

为了观察细胞摄取, 将 3T3 细胞以 10× 10<sup>5</sup> 个细胞的密度接种于玻璃培养皿中。孵育过夜后, 细胞在含有 0.1 mg/mL MgO@PVP/CY5 纳米颗粒 (红色荧光) 的新鲜培养基中培养 0、3、6 和 9 小时。用 PBS 冲洗细胞 3 次, DAPI (细胞核, 蓝色荧光) 染色 15

分钟。染色后,在共聚焦/双光子/荧光寿命成像显微镜下(Nikon-ARsiMP-LSM-Kit-Legend Elite-USX)扫描细胞内荧光。

## 1.9 数据分析方法

所有实验均进行3次重复实验。所有数值均以平均标准差表示。通过单因素方差分析(ANOVA)和 Tukey 多重比较检验来确定不同组之间的显著差异。以  $P < 0.05$  为标准判定差异具有统计学意义。

## 2 结果与讨论

### 2.1 MgO@PVP 纳米颗粒的制备与表征

所制备的氧化镁前驱体是参照以往文献<sup>[22]</sup>所述方法制备的六边形片状纳米颗粒(图 1a)。图 1a 为透射电子显微镜表征的形貌,平均大小约 200 nm(图 1c, d)。为了改善分散性,进一步对氧化镁纳米片进行了 PVP 包裹。由于包裹方式采用搅拌混合,薄结构纳米片在机械搅拌过程中成为不规则的更小的纳米片(图 1e)。由于剪切力不均匀,最终得到的纳米片尺寸分布范围较宽(图 1f)。

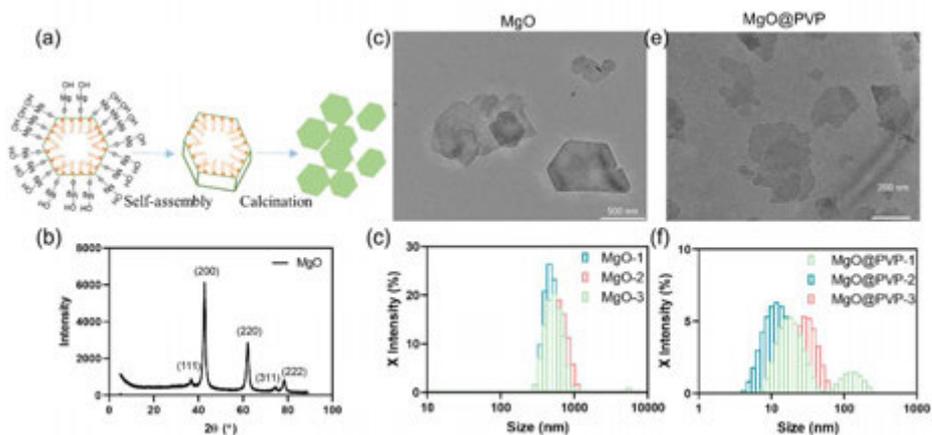


图 1 氧化镁纳米颗粒的制备及微观表征。(a) 氧化镁颗粒制备过程。(b) 制备的氧化镁 XRD 结果图。(c-d) 片状氧化镁颗粒的 TEM 显微图像及尺寸分布;(e-f) MgO@PVP 颗粒的 TEM 和尺寸分布。

Figure 1. The preparation process and microscopic characterization of magnesium oxide nanoparticles. (a) The preparation process of MgO. (b) The XRD result of MgO. (c-d) Transmission electron (TEM), scanning electron microscopy (SEM) and size distribution of sheet magnesium oxide particles; (e-f) Transmission electron (TEM), scanning electron microscopy (SEM), and size distribution of PVP coated MgO particles.

### 2.2 MgO@PVP 纳米颗粒的生物相容与可降解性

首先验证了 MgO@PVP 具有生物相容性和生物降解性。不同浓度的纳米颗粒与成纤维细胞共培养 48 小时后,细胞活力无显著差异(图 2a)。这表明,低剂量氧化镁纳米颗粒具有生物安全性。

通过检测降解后的 PH 与细胞内的镁离子含量显示生物降解。由于氧化镁纳米颗粒会在溶液中逐渐成为碱性氢氧化物,并最终水解成镁离子,最终溶液的 PH 值会发生变化<sup>[23]</sup>。因此,将 0.1 mg/mL 氧化镁颗粒与不同 PH 值的缓冲液共培养,检测 PH 的变化。

结果表明，随着纳米颗粒的水解，溶液 PH 在 5 小时内逐渐升高，然后保持不变，证明 5 小时内氧化镁已被完全水解。通过 ICP 定量分析不同摄取时间的细胞内镁离子浓度，证明了在细胞内的生物降解性。细胞内提取检测到的镁离子浓度随着 Mgo@PVP 纳米颗粒初始浓度的增加而增加（0.05~0.5 mg/mL）。镁离子的浓度在摄取 6 小时后达到峰值，不同浓度氧化镁颗粒降解的模式基本相同（图 2c）。

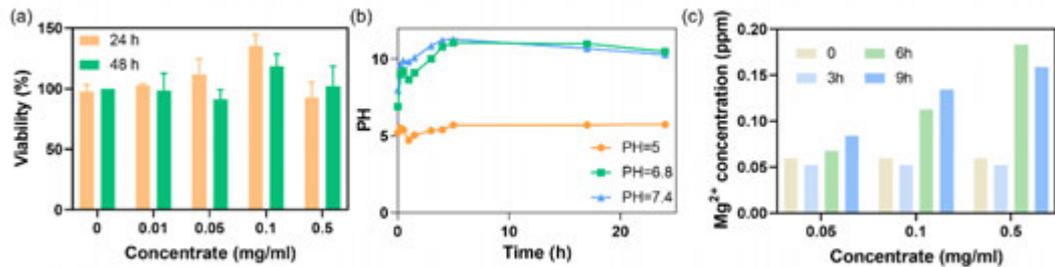


图 2 生物相容性和可生物降解性。(a) 不同浓度 MgO/PVP 纳米颗粒 (0.01、0.05、0.1、0.5 mg/mL) 孵育 6、12、24、48 h 后 3T3 细胞的活力。(b) 不同浓度纳米颗粒在不同 PH 的缓冲溶液中培养不同时间 (0、3、6、9h) 的 PH 变化。(c) 镁离子浓度的变化。

Figure 2. Biocompatibility and biodegradable properties. Cytotoxicity of the PLM NPs. (a) 3T3 cells viability after incubation with different concentrations of MgO@PVP NPs (0.01, 0.05, 0.1, and 0.5 mg/ml) for 6, 12, 24, and 48 h. (b) The PH changes of nanoparticles cultured in different buffers for different times. (c) The changes in magnesium ion concentration were detected after the nanoparticles (0.05, 0.1, and 0.5 mg/ml) were cultured in cells at different times (0, 3, 6, and 9h).

### 2.3 MgO@PVP 纳米颗粒的抗氧化性

随后，进一步研究了 MgO@PVP 纳米颗粒的抗氧化性能。首先，过氧化氢被用作氧化刺激来检测细胞中 ROS 的产生。加入不同浓度的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 水溶液，与细胞共培养半小时后，加入 ROS 荧光探针，以荧光强度显示 ROS 的产生量。增加 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 浓度后，细胞产生的 ROS 明显增加，而加入氧化镁颗粒后，荧光强度下降（图 3f）。进一步研究了低温条件下 ROS 的氧化应激反应，结果表明在低温刺激下细胞内产生 ROS [24,25]。细胞在 -20 °C 下放置半小时后，由于低温胁迫，细胞产生大量 ROS（图 3f）。添加氧化镁颗粒后，ROS 水平明显受到抑制。而在 4 °C 时，细胞未检测到大量 ROS，可能时由于与纳米颗粒共培养时间较短(半小时)，添加纳米颗粒前后无显著差异。

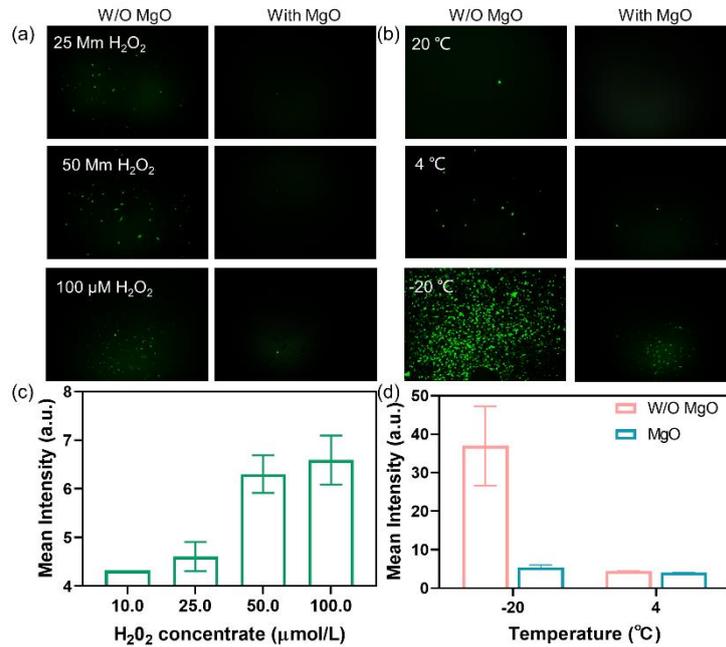


图3 抗氧化性质。(a) 添加 MgO@PVP 纳米颗粒前后 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 刺激细胞的 ROS 荧光探针强度。不同浓度的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (25 μM、50 μM 和 100 μM) 刺激细胞发生氧化应激。(b) 添加 MgO@PVP 前后，低温条件下 (20、4、-20 °C) 刺激细胞的 ROS 荧光探针强度。(c) 平均荧光强度定量统计。

Figure 3. Antioxidant property. (a) ROS fluorescence probe intensity of cells stimulated by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> before and after adding MgO@PVP NPs. Different concentrations of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (25, 50, and 100 μM) stimulate cells to produce oxidative stress. (b) ROS fluorescence probe intensity of cells stimulated by low temperatures (20, 4, and -20 °C) before and after adding MgO@PVP NPs. (c) Statistical results of mean fluorescence intensity of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and (d) temperature stimulus.

#### 2.4 MgO@PVP 纳米颗粒抑制冰晶生长

除了探究 MgO@PVP 纳米颗粒的生物学抗氧化能力，对于其在冷冻过程的热物理强化能力也进一步进行了研究。首先，对不同含量的纳米颗粒的 PBS 悬浊液进行了热导率测试，结果显示随纳米颗粒浓度的增加，溶液整体的热导率逐步提升 (图 4a)。随后，由于氧化镁颗粒外包裹的 PVP 高分子材料具有一定的水分子吸附作用，因此具有抑制冰晶生长的作用。同时可以看出，包裹在氧化镁颗粒外的浓度越高，其抑制冰晶生长的作用越明显，抑制效果与 10%DMSO 作用相近 (图 4b)，因此随后的细胞实验使用的材料均为抑制作用最好的添加 5 mg/mL PVP 浓度的 MgO@PVP。并且，单独添加 PVP 的溶液冰晶生长速度仍然高于氧化镁与 PVP 的复合颗粒 (图 4c)。以上结果说明，氧化镁颗粒在冷冻过程中具有一定的强化传热和抑制冰晶生长的能力，有助于减缓细胞受冰晶的机械损伤。

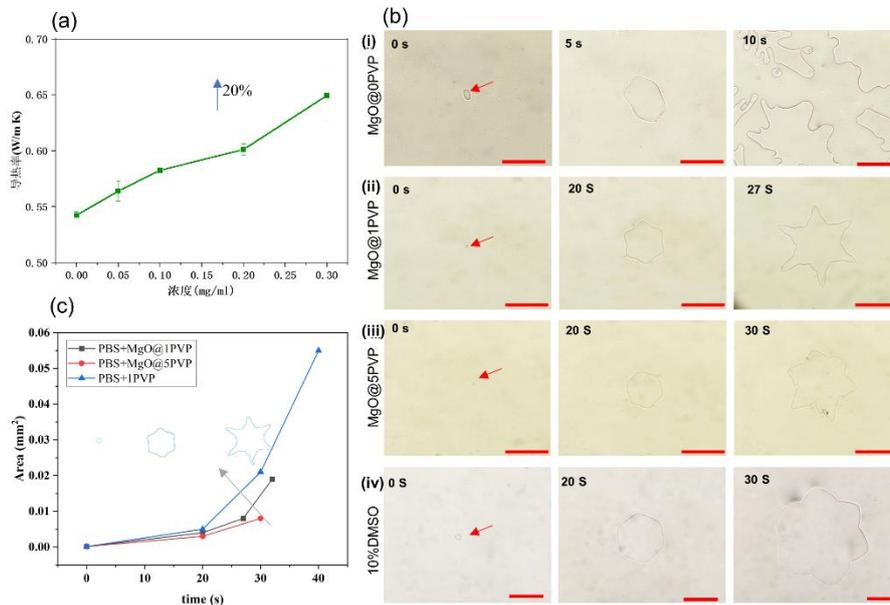


图4 氧化镁颗粒对导热率及冰晶生长影响。(a) 不同浓度氧化镁纳米颗粒的导热率；(b) 冷台下 MgO@PVP 表面包裹不同浓度的 PVP 后的冰晶生长图像，0PVP，1PVP，5PVP 分别代表制备时加入的 PVP 浓度为 0，1，5mg/mL。(c) 0.1 mg/mL 浓度的 MgO@PVP 纳米颗粒（具有不同浓度 PVP 包裹）与 0.1 mg/mL PVP 溶液的冰晶生长面积定量统计对比。比例尺为 100  $\mu\text{m}$ 。

Figure 4. MgO@PVP nanoparticle's impact on the thermal conductivity and ice crystal growth. (a) Thermal conductivity of different concentrations of MgO@PVP. (b) The ice crystal growth with different concentrations of MgO@PVP images, 0PVP, 1 PVP, 5PVP represent the concentration of PVP while preparing is 0, 1, 5 mg/mL (c) Quantitative statistical comparison were performed for the ice crystal area of 0.1 mg/mL MgO@PVP nanoparticles (with different concentration of PVP), and 0.1 mg/mL PVP solution. Scale bar: 100  $\mu\text{m}$ .

## 2.5 MgO@PVP 纳米颗粒在细胞内摄取行为

最后，为了探索氧化镁纳米颗粒与细胞之间的相互作用，我们进一步利用共聚焦激光扫描显微镜（CLSM）观察细胞摄取行为。因为氧化镁粒子本身不具有明显的荧光效应，将 CY5 用于纳米颗粒的表面标记，用于检测 3T3 细胞对 MgO@PVP 的摄取量。从图中可以看出，随着培养时间的增加，细胞摄取的颗粒逐渐增加。摄取 3h 后，少量细胞周围出现纳米颗粒的红色荧光，6h 后开始出现在细胞质中。最后，当时间延长至 9h 时，细胞质中检测到大量纳米颗粒。

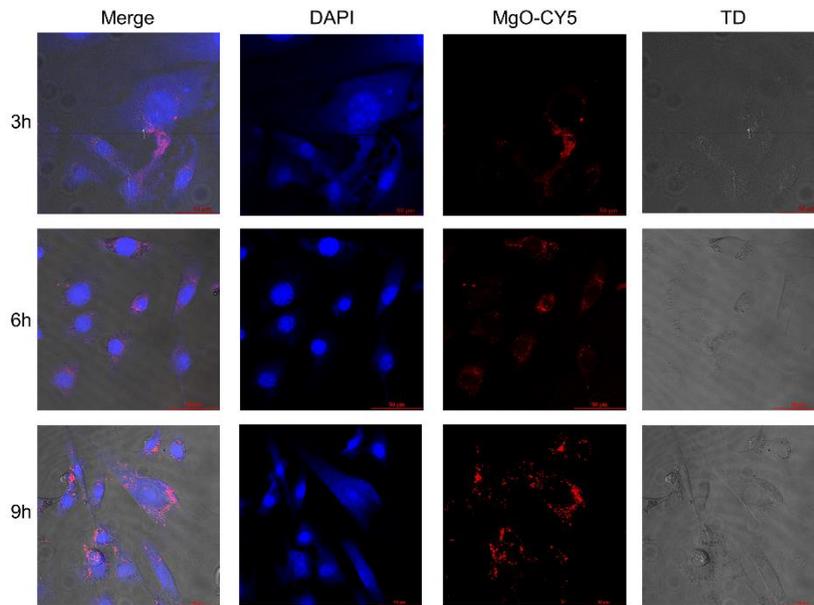


图 5 细胞对纳米颗粒的摄取。MgO@PVP NPs 处理 3T3 细胞的 CLSM 图像，蓝色和红色荧光分别表示细胞核和 MgO@PVP NPs。比例尺为 10 $\mu$ m。

Figure 5. Cell uptake of nanoparticles. CLSM images of 3T3 cells treated with MgO@PVP NPs, the blue and red color fluorescence indicate the cell nucleus and MgO@PVP NPs, respectively. The scale bars are 10  $\mu$ m.

## 2.6 MgO@PVP 纳米颗粒的低温保存效果

进一步使用氧化镁颗粒保存细胞证明了其提高细胞保存活力的能力。我们使用不含 DMSO 的慢速冷冻方法保存细胞（图 6a），并证明在冷冻保存程序之前早期摄取氧化镁纳米颗粒可以提高解冻后的细胞活力。采用传统的 DMSO 保存方法（10% DMSO 和 60% 胎牛血清）作为对照组，我们尝试添加不同浓度的氧化镁纳米颗粒供细胞摄入。结果表明，最适浓度为 0.01 mg/mL，在此浓度下细胞活力显著提高（图 6b, c）。然而，进一步增加浓度后，细胞保存效果并没有改善。这可能是由于增加药物剂量的不良影响，这与前面提到的需要大剂量才能产生抗菌作用相呼应。

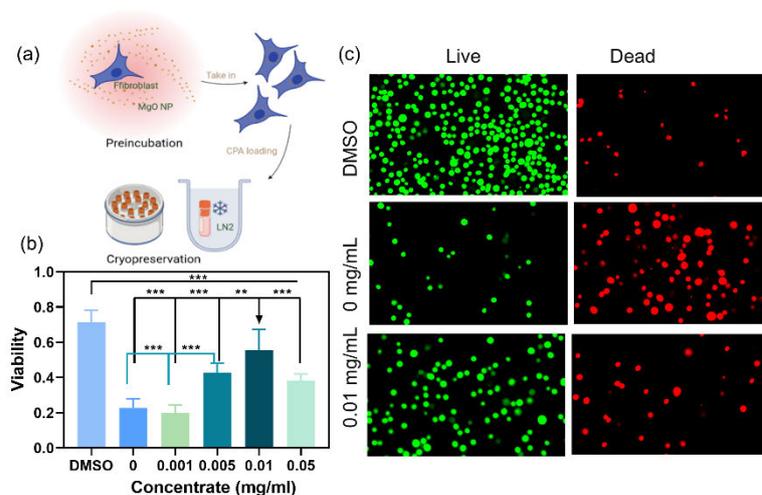


图 6 3T3 细胞的低温保存。MgO@PVP NPs 预孵育冷冻保存后 3T3 细胞的活力。(a) 低温保存和复温过程示意图。(b) 用不同浓度的 MgO@PVP NPs 慢速冷冻保存后，细胞活力定量检测。(c) 用不同浓度的 MgO@PVP 颗粒慢速冷冻后活（绿色）、死（红色）细胞的荧光显微示意图。

Figure 6. Cryopreservation and viability of 3T3 cells after cryopreservation with the preincubation of MgO/PVP NPs. (a) Schematic diagram of cooling and rewarming process. (b) Immediate quantitative cell viability after cryopreservation by slow freezing with different concentrations of MgO/PVP NPs. (c) Fluorescence micrographs of live (green) and dead (red) 3T3 cells after slow freezing with different concentrations of MgO@PVP.

### 3 结 论

氧化镁可作为一种理想的、安全的低温保存添加材料，从生物学和热物理两方面的发挥良好的抗氧化性与强化传热作用。实验验证了氧化镁在低剂量 ( $< 1\text{mg}/\text{mL}$ ) 下细胞共培养的生物安全性后，进一步研究了氧化镁材料在细胞中的摄取及降解行为。结果表明，氧化镁冷冻保存方法简便、有效，在保存过程中具有抗氧化作用，复苏后可在短时间内降解代谢。对于冷冻过程中的传热问题，我们也通过氧化镁颗粒对溶液的热导率提高和冰晶生长抑制作用，验证了其在细胞冷冻过程中的积极作用。

对于细胞低温保存，除了常见的低温机械损伤，还应重视氧化应激损伤。低温刺激下细胞发生氧化应激，产生 ROS 等有害物质。通过主动调节来提高细胞的抗氧化能力可能是一种有效的措施。通过提前共培养摄取抗氧化颗粒，可以改变细胞的调控途径，减轻细胞在低温胁迫后的应激反应，提高细胞的保存率，可作为一种细胞保存的新思路。

### 参考文献

- [1] DOU Mengjia, LU Chennan, RAO Wei. Bioinspired materials and technology for advanced cryopreservation [J]. Trends in Biotechnology, 2021, 40.
- [2] BORCHERS A., PIELER T. Programming pluripotent precursor cells derived from *Xenopus* embryos to

generate specific tissues and organs [J]. *Genes (Basel)*, 2010, 1(3): 413-26.

- [3] ODANI Mine, KOMATSU Yasuhiko, OKA Syuichi, et al. Screening of genes that respond to cryopreservation stress using yeast DNA microarray [J]. *Cryobiology*, 2003, 47(2): 155-64.
- [4] ELMORE Susan. Apoptosis: A Review of Programmed Cell Death [J]. *Toxicologic Pathology*, 2007, 35(4): 495-516.
- [5] BISSOYI A., NAYAK Bismita, PRAMANIK K., et al. Targeting Cryopreservation-Induced Cell Death: A Review [J]. *Biopreservation and Biobanking*, 2014, 12(1): 23-34.
- [6] KIM S. K., YOUM H. W., LEE J. R., et al. Chapter 4 Role of Antioxidants and Antifreeze Proteins in Cryopreservation/Vitrification [J]. *Methods Mol Biol*, 2017, 1568(45-63).
- [7] VALKO M., RHODES C. J., MONCOL J., et al. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer [J]. *Chemico-Biological Interactions*, 2006, 160(1): 1-40.
- [8] MELO M. A. P., OSKAM I. C., CELESTINO J. J. H., et al. Adding Ascorbic Acid to Vitrification and IVC Medium Influences Preantral Follicle Morphology, but Not Viability [J]. *Reproduction in Domestic Animals*, 2011, 46(4): 742-5.
- [9] MATÉS JosÉ M., PÉREZ-GÓMEZ Cristina, DE CASTRO Ignacio Núñez. Antioxidant enzymes and human diseases [J]. *Clinical Biochemistry*, 1999, 32(8): 595-603.
- [10] MCCALL Mark R., FREI Balz. Can antioxidant vitamins materially reduce oxidative damage in humans? [J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 1999, 26(7): 1034-53.
- [11] CHEN Guan-qun, REN Li, ZHANG Di, et al. Glutathione improves survival of cryopreserved embryogenic calli of *Agapanthus praecox* subsp. *orientalis* [J]. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2016, 38(10): 250.
- [12] CHOW Ernest H. H., STROBRIDGE Fiona C., FRIŠČIĆ Tomislav. Mechanochemistry of magnesium oxide revisited: facile derivatisation of pharmaceuticals using coordination and supramolecular chemistry [J]. *Chemical Communications*, 2010, 46(34): 6368-70.
- [13] ELIAZ Rom E., KOST Joseph. Characterization of a polymeric PLGA-injectable implant delivery system for the controlled release of proteins [J]. *Journal of Biomedical Materials Research*, 2000, 50(3): 388-96.
- [14] SHAO Y. L., LEO H. L., CHUA K. J. Studying of the thermal performance of a hybrid cryo-RFA treatment of a solid tumor [J]. *International Journal of Heat and Mass Transfer*, 2018, 122(410-20).
- [15] HOU Y., SUN Z., RAO W., et al. Nanoparticle-mediated cryosurgery for tumor therapy [J]. *Nanomedicine*, 2018, 14(2): 493-506.
- [16] PILARSKA Agnieszka A., KLAPISZEWSKI Łukasz, JESIONOWSKI Teofil. Recent development in the synthesis, modification and application of Mg(OH)<sub>2</sub> and MgO: A review [J]. *Powder Technology*, 2017, 319(373-407).
- [17] HE Yiping, INGUDAM Shakuntala, REED Sue, et al. Study on the mechanism of antibacterial action of magnesium oxide nanoparticles against foodborne pathogens [J]. *Journal of Nanobiotechnology*, 2016, 14(1): 54.
- [18] JIN Tony, HE Yiping. Antibacterial activities of magnesium oxide (MgO) nanoparticles against foodborne pathogens [J]. *Journal of Nanoparticle Research*, 2011, 13(12): 6877-85.

- [19] NGUYEN Nhu- Y. Thi, GRELLING Nathaniel, WETTELAND Cheyann Lee, et al. Antimicrobial Activities and Mechanisms of Magnesium Oxide Nanoparticles (nMgO) against Pathogenic Bacteria, Yeasts, and Biofilms [J]. *Scientific Reports*, 2018, 8(1): 16260.
- [20] KRISHNAMOORTHY Karthikeyan, MOON Jeong Yong, HYUN Ho Bong, et al. Mechanistic investigation on the toxicity of MgO nanoparticles toward cancer cells [J]. *Journal of Materials Chemistry*, 2012, 22(47): 24610.
- [21] HARVEY James, FLEETWOOD Andrew, OGILVIE Ron, et al. Management of organic impurities in small molecule medicinal products: Deriving safe limits for use in early development [J]. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 2017, 84(116-23).
- [22] NGA N. K., HONG P. T., LAM T. D., et al. A facile synthesis of nanostructured magnesium oxide particles for enhanced adsorption performance in reactive blue 19 removal [J]. *J Colloid Interface Sci*, 2013, 398(210-6).
- [23] QU Xiaoyan, LIU Zhengqing, LI Na, et al. Biodegradable biocompatible MgO/Eu nanodrug with Acid-Base conversion capacity for targeted lung cancer therapy [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2022, 446(136323).
- [24] BORTOLIN Rafael Calixto, GASPAROTTO Juciano, VARGAS Amanda Rodrigues, et al. Effects of Freeze-Thaw and Storage on Enzymatic Activities, Protein Oxidative Damage, and Immunocontent of the Blood, Liver, and Brain of Rats [J]. *Biopreservation and Biobanking*, 2016, 15(3): 182-90.
- [25] LEN Jia Soon, KOH Wen Shuo Darius, TAN Shi-Xiong. The roles of reactive oxygen species and antioxidants in cryopreservation [J]. *Bioscience Reports*, 2019, 39(8): BSR20191601.

# 载有低温保护剂的冻存管浸入液氮时气液界面特性研究

郭宁, 胥义\*

(上海理工大学生物系统热科学研究所, 上海 200093)

(Tel: 13917434302, Email: xuyi@usst.edu.cn)

**摘要:** 本文研究了载有不同浓度低温保护剂的聚丙烯冻存管在液氮快速降温过程中的沸腾传热现象, 借助高速摄像和图像处理技术揭示了气液界面特性。结果显示冻存管在液氮中仅持续了 1s 的膜态沸腾和更久的核沸腾状态, 此时, 影响冻存管降温速率的主要因素是其低导热率而不是气膜层。而管内部保护剂浓度不影响沸腾状态, 但其热物性影响由管壁向内达到热平衡的时间。同时, 稳定的气膜层厚度均在 0-4 mm 范围内呈现周期性的波动, 与连续波浪状气膜层相一致。本研究结果可以对后续降温工艺的优化提供参考。

**关键词:** 低温保存; 气液界面行为; 沸腾传热; 玻璃化

## 0 前言

目前, 低温保存技术已经广泛应用于器官<sup>[1]</sup>、组织<sup>[2]</sup>、细胞<sup>[3]</sup>和微生物<sup>[4]</sup>等诸多生物样本的长期保存。其中低温保护剂和降温速率是影响样本存活的两个关键因素, 领域内关于开发低毒有效的低温保护剂、优化降复温方法的研究得到越来越多关注<sup>[5]</sup>。为避免慢速冷冻带来的冰晶损伤, 玻璃化冷冻保存已被证明是替代传统慢速冷冻技术的一种有前途的方法, 其在生物活性材料的保存方面具有很大的潜力<sup>[6]</sup>。通常, 实现玻璃化保存需要超快速的降温速率或足够高浓度的低温保护剂。但保护剂浓度过高往往会给生物样本带来毒性损伤, 因此, 了解低温保护剂在液氮淬火中发生的沸腾换热行为对于优化降温速率是非常必要的。

随着生物样本库的快速发展, 已有很多商业化的保存容器载体投入到实际应用中, 例如, 麦管、石英毛细管、cryotop、冻存管等<sup>[7]</sup>。对于组织等较大样本的冷冻保存, 通常将样本封装在聚丙烯冻存管内, 然后迅速浸入液氮保存。此时, 根据壁面过热度的不同, 容器表面会经历四个过程: 膜态沸腾、过渡沸腾、核态沸腾和自然对流。对于膜态沸腾 (Leidenfrost 效应), 巨大的温差导致液氮快速蒸发在样品表面形成稳定的蒸汽膜, 这使得热量主要通过氮气传递, 阻碍实现玻璃化<sup>[8, 9]</sup>。因此, 最小热流密度通常发生在 Leidenfrost 温度点。当壁面温度降至最低膜态沸腾温度以下时, 气膜层发生坍塌, 蒸发的氮气开始以气泡形式产生, 并在压力和浮力作用下迅速上升。此时, 由于液固间歇性接触, 对流换热得到增强, 热流密度达到最大值, 降温速率远快于膜态沸腾阶段。已有研究考虑使用膜沸腾和核沸腾的两阶段传热系数来建立传热模型, 从而更好地预测了冻存管中的温度<sup>[10, 11]</sup>。Jagga 和 Vanapalli<sup>[12]</sup>基于完美热接触假设 (PTCA), 开发了一个考

\* 国家自然科学基金 (52076140)

考虑一维传热的近似分析模型，以预测聚丙烯小瓶内的温度变化。但目前仍未有直接的图像证据表明低温保存过程中究竟发生了怎样的沸腾行为。瓶壁作为液氮和生物材料之间的热界面，探索和分析其在液氮快速降温中气液界面行为对温度预测、容器开发和降温工艺的优化至关重要。

基于此，本文搭建了液氮淬火可视化实验系统，通过高速摄像和温度采集系统获得了低温保护剂液氮快速降温中的沸腾状态和降温曲线，借助图像分析技术揭示了其气液界面行为，定量分析了气膜厚度变化规律，为后续低温保存中传热模型的建立和优化提供依据。

## 1 实验设备与方法

### 1.1 实验系统简介

为研究载有不同浓度保护剂的冻存管在液氮淬火中的气膜消涨现象和沸腾传热特性，首先搭建了低温淬冷沸腾实验系统，实物图和示意图如图 1 (a) 和 (b) 所示。系统主要由可视化液氮池箱、样品快速下降系统、高速摄像图像采集系统、温度数据测量系统等主要部分组成。温度数据采集系统与高速摄像图像采集系统同步进行，以实现冻存管表面的气膜消涨变化和沸腾换热规律的同步观测。

图 1 (c) 和 (d) 为聚丙烯冻存管的实物图和示意图，其中温度测点 T1 和 T2 分别固定在容器的内侧壁和中心处，温度采集间隔 0.1s，误差 $\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 。8.4M VS55 由 3.1M 甲酰胺、3.1M 二甲基亚砷(DMSO)、2.2M 丙二醇和 Euro Collins 溶液组成。其中 6.3M VS55 溶液以双蒸水和 VS55 溶液 1: 3 稀释混合，4.2M VS55 溶液以双蒸水和 VS55 溶液 1: 1 稀释混合，2.1M VS55 溶液以双蒸水和 VS55 溶液 3: 1 稀释混合。

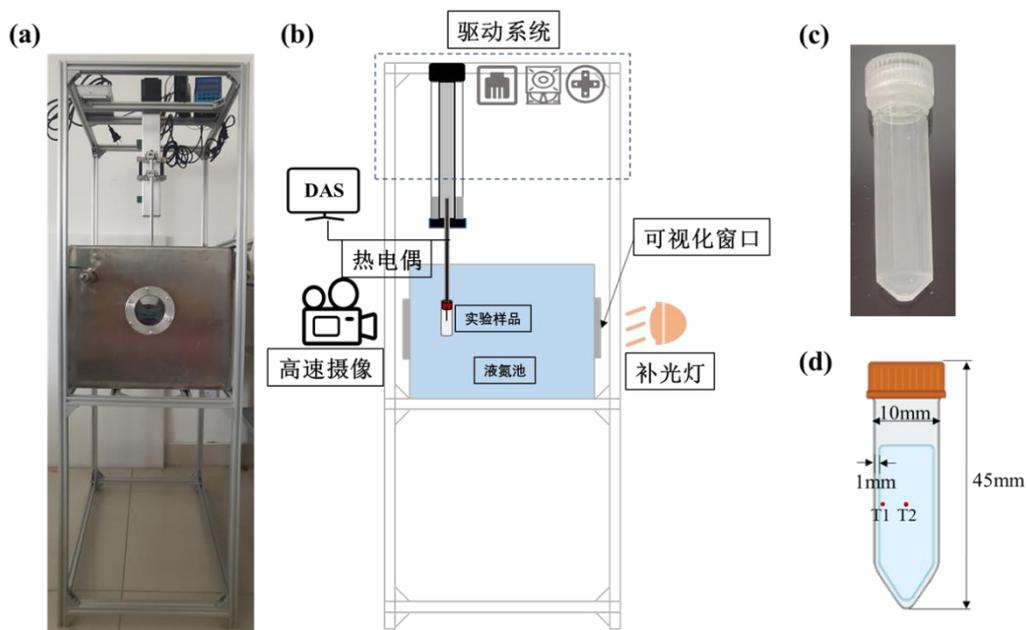


图 1 实验设备实物图与示意图

### 1.2 图像处理方法

高速摄像机以 500 帧/秒的速度记录了含有不同保护剂的冻存管液氮淬火过程中的

沸腾状态。为获取图像的定量参数，例如汽膜厚度，图像处理框架如图 2 所示。原始图像首先被转换为灰度图像，再进行图像二值化。图像去噪处理后，检测并填充图像中的空心区域，然后确定待处理的图像区域。最后，通过边缘检测获得气膜的边缘和无气膜的冻存管边缘。比较两个边缘来获得全域空气膜厚度信息。将获得的气膜厚度每 50 个取平均值，对比载有不同浓度保护剂在液氮淬火时稳定气膜的变化规律。

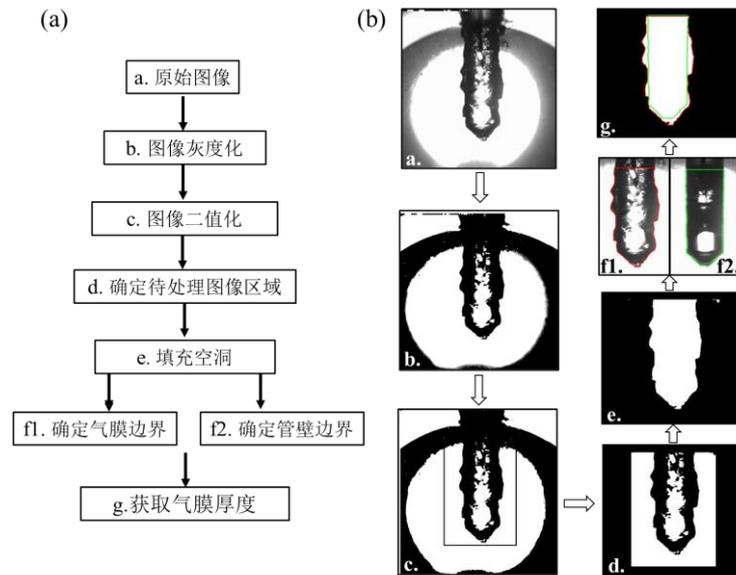


图 2 气膜图像处理方法。(a) 图像处理步骤；(b) 图像处理效果示意；

### 1.3 传热分析模型

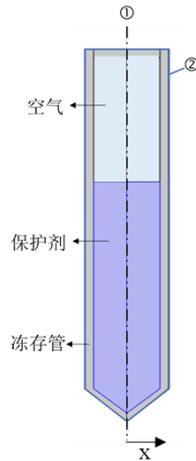


图 3 冻存管模型示意图

在 COMSOL Multiphysics 中建立冻存管模型进行模拟计算，获取冻存管样品的温度分布，所涉及的样品的热物性参数如表 1 所示<sup>[10, 13]</sup>。冻存管模型示意图如图 3 所示，实验样品在冷却过程中的传热可以用一个简化的传热方程来描述：

$$\frac{1}{r} \frac{\partial}{\partial r} \left( kr \frac{\partial T}{\partial r} \right) = \rho C_p \frac{\partial T}{\partial t} \quad \text{式 (1)}$$

其轴对称边界①条件为:

$$\frac{\partial T(r=0, t_i)}{\partial r} = 0 \quad \text{式 (2)}$$

其冻存管外表面对流边界②条件为:

$$k \frac{\partial T}{\partial n} = h(T_{wall} - T_{sat}) = q \quad \text{式 (3)}$$

其中  $T$  为温度,  $t$  为时间,  $\rho$  为密度,  $C_p$  为比热,  $k$  为热导率.  $n$  为外表面法线方向,  $h$  为冷却过程中的对流换热系数,  $T_{sat}$  为液氮温度 ( $-196\text{ }^\circ\text{C}$ ), 样品初始温度为  $25\text{ }^\circ\text{C}$ .  $q$  为核沸腾热通量, 可在 COMSOL 中设置, 其采用 Rohsenow 模型经验方程如下式 (4) 所示. 其中比热  $C_{p,l}$ 、粘度  $\mu_l$ 、密度  $\rho_l$ 、热导率  $k_l$ 、蒸发潜热  $L_v$ 、表面张力  $\sigma$  和  $T_{sat}$  是液氮的材料性质, 普朗特数指数  $C_{sf}$ 、液体组合因子  $s$  是取决于冻存管材料聚丙烯的经验常数. 当  $C_{sf}$  取 0.06,  $s$  取 1.7 时, 其降温曲线与实验采集的温度拟合较好, 此时可获得  $T_{wall}$ .

$$q = -\mu_l L_v \left( \frac{g(\rho_l - \rho_v)}{\sigma} \right)^{1/2} \left[ \frac{C_{p,l}(T_{wall} - T_{sat})}{\left( \frac{C_{p,l}\mu_l}{k_l} \right)^s C_{sf} L_v} \right]^3 \quad \text{式 (4)}$$

表格 1 样品材料的热物性参数

材料	密度 $\rho[\text{kg/m}^3]$	比热容 $C_p [\text{J}/(\text{kg}\cdot\text{K})]$	热导率 $k [\text{W}/(\text{m}\cdot\text{K})]$
冻存管	900	1680	0.22
Vs55 溶液	1060.6	3168.8	0.3525

## 2 结果与分析

### 2.1 低温保护剂液氮淬冷沸腾过程可视化结果

载有低温保护剂的冻存管在液氮淬火的气液界面可视化图像如图 4 所示. 载有不同浓度低温保护剂的冻存管浸入液氮淬火初期均观察到了稳定的气膜层. 此时, 由于冻存管与液氮之间存在巨大的温差, 液氮快速蒸发形成气膜层覆盖在小管表面, 阻碍了快速降温. 但值得注意的是, 稳定的气膜持续的时间非常短暂, 大约 1s 左右就开始进入过渡沸腾. 过渡沸腾从冻存管底部产生气泡开始, 淬火前沿逐渐上移, 直到气膜层全部坍塌. 这种气膜坍塌模式被称为传播型坍塌, 主要是由于底部气膜局部崩塌沿换热面传播, 剧烈的扰动促进了气膜整体崩塌<sup>[14]</sup>. 核沸腾阶段开始后, 随着表面温度快速下降, 大而密

集的气泡不断上升，随后气泡频率和尺寸逐渐减小。同时，图 4 (c) 和 (d) 可以观察到 4.2M 和 2.1M VS55 在冻存管底部开始结晶，直到相变过程结束（视野变黑）。而对于 6.3M 和 8.4M VS55 来说，观察到透明的区域为其玻璃化状态，黑色区域则为热应力造成的断裂。在 6.3M VS55 中除了断裂也观察到了局部的成核情况。除此之外，在高浓度保护剂降温过程中观察到了由于温度梯度、材料体积以及材料黏度随温度改变而导致的表面形变<sup>[15]</sup>。

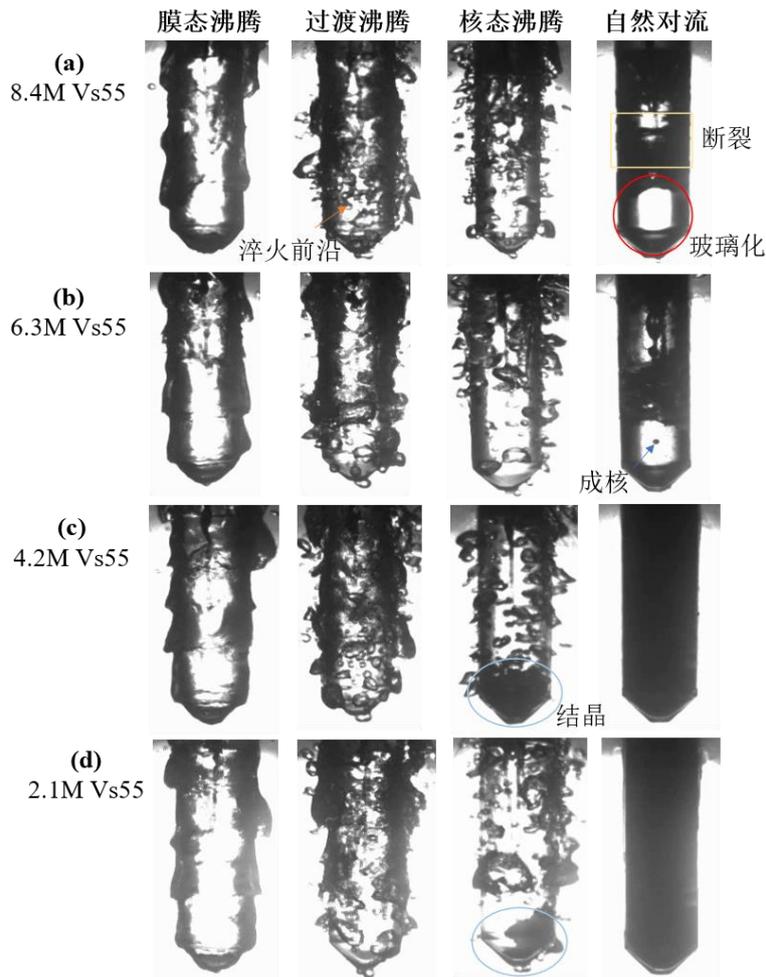


图 4 载有不同浓度保护剂冻存管在液氮淬火中气液界面可视化图像。(a) 8.4M VS55 (b) 4.2M VS55 (c) 6.3M VS55 (d) 2.1M VS55

本研究基于高速图像的信息统计了管内壁温度达到 $-195^{\circ}\text{C}$ 时，膜态沸腾、过渡沸腾、核态沸腾和自然对流所持续的时间占比，如图 5 所示。结果表明膜态沸腾和过渡沸腾共持续了不到 5%，主要的换热过程发生在核态沸腾和自然对流阶段。研究发现保护剂的浓度不会影响液氮淬冷过程的沸腾状态转变，这也意味着内部溶液的结晶放热对 Leidenfrost 温度点无显著影响<sup>[16]</sup>。因此需要进一步考虑冻存管材料本身的性质在液氮淬冷过程发挥的作用，这对于未来优化冻存容器提供了方向。

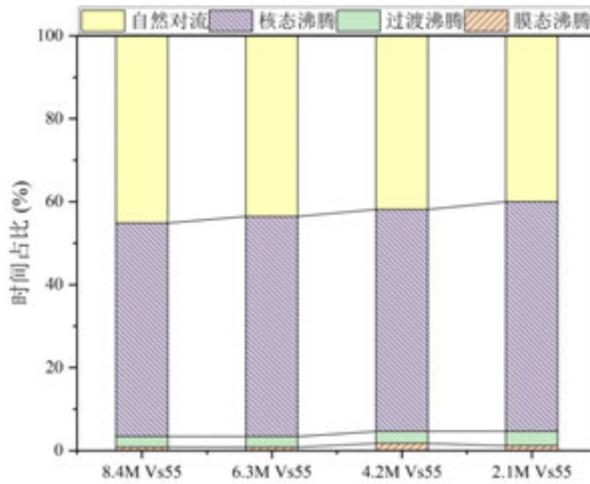


图 5 不同浓度保护剂降温过程中不同沸腾状态的持续时间占比统计

## 2.2 膜沸腾阶段汽膜厚度分析

尽管上述结果表明冻存管表面稳定气膜的持续时间较短，但本文仍对这一现象进行定量分析得到气膜层的厚度变化规律，如图 6 所示。首先气膜厚度均在 0-4mm 范围内呈现周期性的波动变化，与高速图像观察到的连续波浪状气膜形态相一致。这是由于液氮与蒸发的氮气层之间存在相对流速，流体动力学不稳定导致了波浪状气液界面<sup>[17]</sup>。除此之外，稳定气膜第 1s 的厚度波动更均匀，第 2s 的气膜波动增大，开始出现更厚的气膜层。因此，通过获取每 50 个气膜厚度的平均值，对比不同浓度保护剂在膜沸腾阶段的气膜变化规律如图 7 所示。气膜厚度随着表面过冷度的降低出现轻微增大的趋势，这与将要进入到过渡沸腾的剧烈扰动有关。同时，不同保护剂之间的气膜厚度重合度较高，并未展示出由于冻存管内部物质的不同导致的膜沸腾差异。气膜厚度的定量分析表明载有不同浓度保护剂液氮淬冷初期经历了相似的对流换热边界。低温保存中快速降温过程关于 Leidenfrost 现象的传热影响需要重新考虑，这对于更好的建立实验-模拟传热模型具有指导意义。

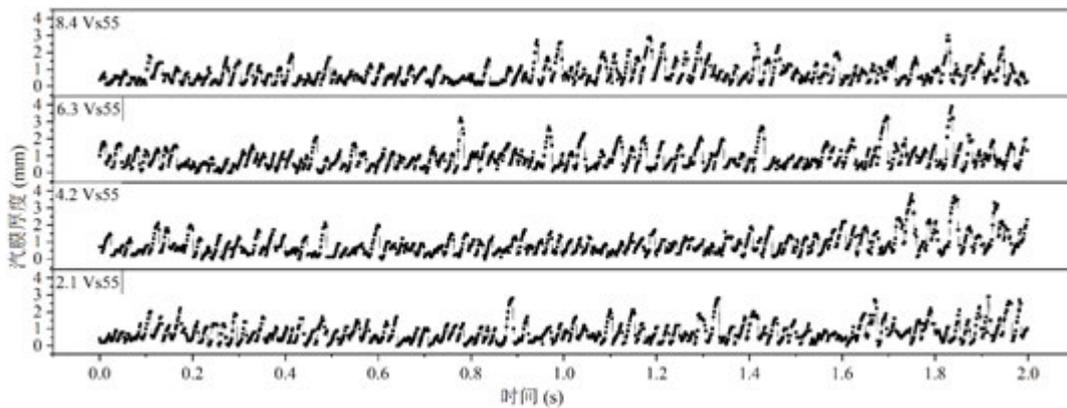


图 6 不同浓度保护剂液氮淬冷中稳定气膜的厚度变化规律

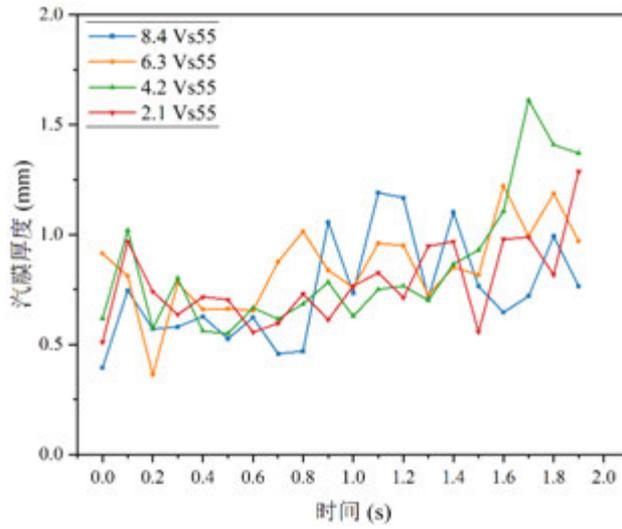


图 7 稳定气膜平均厚度对比

### 2.3 不同保护剂液氮淬冷过程传热特性分析

图 8 展示了载有不同浓度保护剂的冻存管在液氮淬冷时内壁和中心的降温曲线。从图 8 (a) 中可以观察到两种降温趋势，4.2M 和 2.1M VS55 的降温曲线中出现由于结晶放热造成的缓慢降温。相变结束后，不同浓度保护剂固相的热物性参数对降温曲线产生主要影响，8.4M 和 6.3M VS55 达到热平衡的时间更久，这与图 8 (c) 中心温度的降温

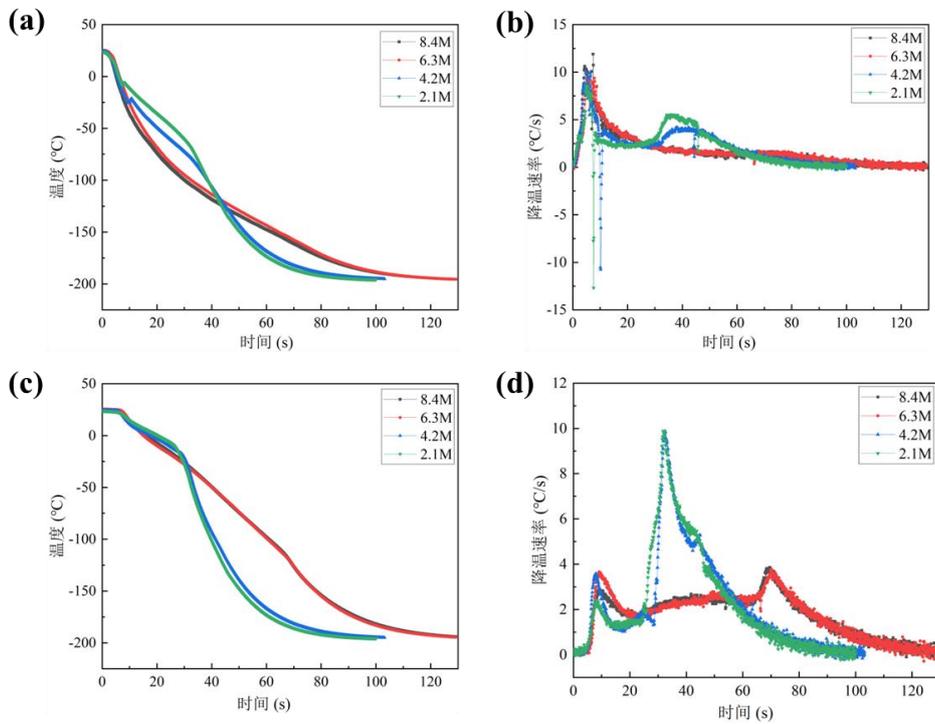


图 3 不同浓度保护剂内壁和中心位置降温曲线和降温速率。(a) 内壁降温曲线 (b) 内壁降温速率 (c) 中心降温曲线 (d) 中心降温速率

表现一致。不同保护剂在冻存管浸入液氮时达到最快的降温速率，随后降温速率逐渐降低，如图 8 (b) 所示，这与图 4 中观察的可视化图像保持一致。尽管气膜层持续的时间非常短暂，但由于聚丙烯的低热扩散率，冷却过程也没有得到增强。

基于图 4 中聚丙烯冻存管主要经历的核沸腾和自然对流现象，根据 Rohsenow's correlation 计算了的热通量和对流换热系数如图 8 所示。淬冷初期即达到最大热通量  $106.16\text{kW/m}^2$ ，对流换热系数  $516.98\text{W}/(\text{m}^2\text{K})$ ，这与已有研究所使用的  $550\text{W}/(\text{m}^2\text{K})$  和  $245\text{W}/(\text{m}^2\text{K})$  相一致<sup>[10, 11]</sup>。同时，COMSOL 模拟的温度曲线与实验测量温度曲线一致性较好。其残差平方和 ( $RSS = \sum (T_{\text{exp}} - T_{\text{cal}})^2$ ) 约  $4 \times 10^4$ 。这为建立低温保存中快速降温的传热模型，预测其温度分布提供了基础。

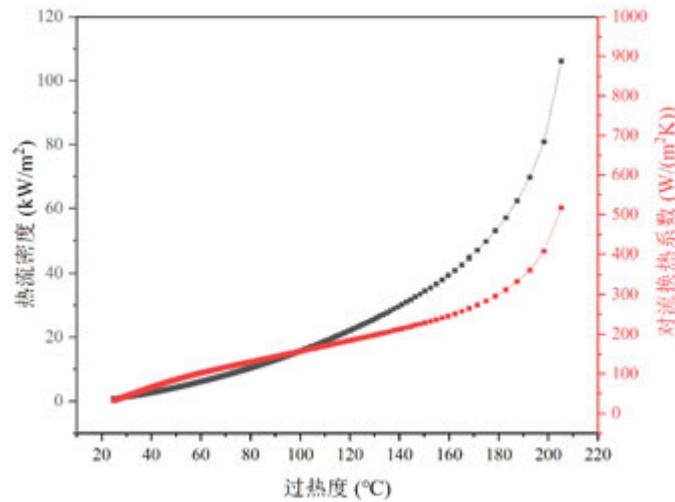


图 4 8.4M VS55 降温过程的热通量和对流换热系数

### 3 结论

本文搭建了液氮淬火可视化实验系统，通过高速摄像和热电偶获得了载有不同浓度保护剂的聚丙烯冻存管在液氮淬火中气液界面行为和降温曲线。主要结论如下所示：(1) 载有保护剂的冻存管液氮快速降温过程中会经历持续 1s 左右的稳定膜沸腾阶段和更长的核态沸腾阶段。(2) 冻存管内部保护剂的浓度，即不同相变过程，对沸腾状态转变和 Leidenfrost 温度无主要影响，而冻存管材料则对气液界面行为和传热特性产生重要影响。

(3) 稳定气膜阶段的气膜厚度信号与气膜波浪状行为一致，均呈现周期性变化，且不受保护剂浓度的影响。(4) 不同浓度低温保护剂影响内部的传热过程，高浓度的保护剂往往需要更久的降温过程。这些结果可以更直观的了解低温保存过程中发生的传热现象，为后续更好的优化降温工艺和开发冻存容器提供参考。

#### 参考文献

- [1] Zhan T, Liu K, Yang J, et al. Fe3O4 Nanoparticles with Carboxylic Acid Functionality for Improving the Structural Integrity of Whole Vitrified Rat Kidneys [J]. ACS Applied Nano Materials, 2021, 4(12): 13552-61.

- [2] Cao M, Xu Y, Dong Y. Improving Mechanical Properties of Vitrified Umbilical Arteries with Magnetic Warming [J]. *Fluid Dynamics and Materials Processing*, 2021, 17(1): 123-39.
- [3] Yao X, Matosevic S. Cryopreservation of NK and T Cells Without DMSO for Adoptive Cell-Based Immunotherapy [J]. *BioDrugs*, 2021, 35(5): 529-45.
- [4] Guo N, Song Y, Yan J, et al. The Effect of Cryopreservation on the Survival of *Nocardia farcinica* and *Yersinia pestis* vaccine strains [J]. *Biopreservation and Biobanking*, 2022,
- [5] 胥义, 郭宁, 杨国梁, et al. 生物样本库建设中的低温生物学 [J]. *中国科学: 生命科学*, 2023, 53(7): 1021-34.
- [6] He X, Park E Y, Fowler A, et al. Vitrification by ultra-fast cooling at a low concentration of cryoprotectants in a quartz micro-capillary: a study using murine embryonic stem cells [J]. *Cryobiology*, 2008, 56(3): 223-32.
- [7] 张洪, 赵国旭, 刘艺, et al. 最小体积玻璃化冻存技术在生物医学领域的进展和应用 [J]. *中国科学: 生命科学*, 2019, 49(01): 41-58.
- [8] Smakulski P, Ishimoto J, Pietrowicz S. The cooling performance of the micro-solid nitrogen spray technique on the cryopreservation vitrification process: A qualitative study [J]. *Int J Heat Mass Transfer*, 2022, 184(122253).
- [9] Zhang Y, Zhao G, Chapal Hossain S M, et al. Modeling and experimental studies of enhanced cooling by medical gauze for cell cryopreservation by vitrification [J]. *Int J Heat Mass Transfer*, 2017, 114(1-7).
- [10] Jiang Z, Zhao G, Hossain S M C, et al. Coupled experimental-modeling analyses of heat transfer in ex-vivo VS55-perfused porcine hepatic tissue being plunged in liquid nitrogen for vitreous cryopreservation [J]. *Int J Heat Mass Transfer*, 2017, 106(970-9).
- [11] Wang T, Zhao G, Tang H, et al. Determination of convective heat transfer coefficient at the outer surface of a cryovial being plunged into liquid nitrogen [J]. *CryoLetters*, 2015, 36(4): 285-8.
- [12] Jagga S, Vanapalli S. Cool-down time of a polypropylene vial quenched in liquid nitrogen [J]. *International Communications in Heat and Mass Transfer*, 2020, 118(104821).
- [13] Feng H, Xu Y, Yang T. Study on leidenfrost effect of cryoprotectant droplets on liquid nitrogen with IR imaging technology and non-isothermal crystallization kinetics model [J]. *Int J Heat Mass Transfer*, 2018, 127(413-21).
- [14] Lee C Y, Chun T H, In W K. Effect of change in surface condition induced by oxidation on transient pool boiling heat transfer of vertical stainless steel and copper rodlets [J]. *Int J Heat Mass Transfer*, 2014, 79(397-407).
- [15] Rabin Y. Mathematical modeling of surface deformation during vitrification [J]. *Cryobiology*, 2021, 102(34-41).
- [16] Fu B-R, Ho Y-H, Ho M-X, et al. Quenching characteristics of a continuously-heated rod in natural sea water [J]. *Int J Heat Mass Transfer*, 2016, 95(206-13).
- [17] Bui T, Dhir V. Film boiling heat transfer on an isothermal vertical surface [J]. 1985,