

DOI: 10.3969/j.issn.0254-0150.2012.12.004

钛合金表面红细胞吸附特性 AFM 研究*

谢 雄 谭建平 刘云龙
(中南大学机电工程学院 湖南长沙 410083)

摘要: 采用原子力显微镜 (AFM) 观察吸附在钛合金基底上的红细胞表面形貌, 研究红细胞、钛合金与探针之间的微摩擦力, 对比分析红细胞表面和钛合金表面同探针之间的微摩擦力-距离关系曲线, 及红细胞破损前后的探针与红细胞的微摩擦力-距离关系曲线。结果表明: 在外力作用下, 红细胞不仅细胞表面形貌受影响, 而且其黏性增大, 摩擦力增大, 影响润滑效果; 因红细胞表面柔润粗糙, 且探针在活细胞表面所测得的微摩擦力为多种微观力的合力, 从而使红细胞表面的摩擦力较大。

关键词: 钛合金; 红细胞; 吸附特性; 原子力显微镜 (AFM)

中图分类号: TH117.1 文献标识码: A 文章编号: 0254-0150 (2012) 12-014-5

Study on Adsorptive Properties of Erythrocyte on Titanium Alloy Surface Based on AFM

Xie Xiong Tan Jianping Liu Yunlong

(School of Mechanical and Electrical Engineering, Central South University, Changsha Hunan 410083, China)

Abstract: The surface topography of erythrocyte adsorbed on the basement of titanium alloy was observed with an atomic force microscope (AFM), and the micro-friction between erythrocyte and titanium alloy with probe and the relation curves between erythrocyte and probe before or after erythrocyte damaged were analyzed. The results show that under external force, the surface morphology of red blood cell is affected, and its viscosity and friction are increased as well, so as to influence the lubrication effect. For the surface of erythrocyte is soft and rough, and the micro friction force measured by the probe on the surface of living cells are composition of micro forces, it results in the larger friction of the red blood cell surface.

Keywords: titanium alloy; erythrocyte; adsorptive properties; atomic force microscope (AFM)

在血泵 40 余年的发展中, 国内外众多学者对其润滑方式进行了探索和研究。Walowit 等^[1]对 CCF 的新一代血泵 IVAS 进行了研究, 并通过计算机模拟对轴承的结构参数进行了优化。该血泵转子轴承采用血液直接润滑。Malanoski 等^[2]对利用磁浮轴承的血泵进行了研究, 通过计算与试验表明, 当血液润滑膜厚度较大时, 轴承系统将不会引起振动, 此时旋转轴轴心稳定在磁载荷一侧, 并在此侧形成流体动压, 据此计算了径向滑动轴承在低剪切情况下保证低溶血的同时应具备的润滑膜厚度。此外, 文献 [3-4] 所研究的 Jarvik2000 钛合金血泵及文献 [5] 所研究的 BaylorGyr 系列离心泵均采用血液直接润滑。

为了研究血液润滑特性, 龚中良等^[6-8]建立了刚脆性血细胞模型, 并从理论上定性分析了血液通过不同最小间隙后的变化规律; 龙东平等^[9-11]在血液流变学的基础上, 探讨血液的各理化指标, 结合血液的特殊流变性, 利用线性黏弹性模型——Maxwell 流变模型来描述血液的宏观的非牛顿流体特征和血细胞的微观黏弹性特征。在此模型的基础上, 从微观和宏观 2 个方面对血液的润滑特性进行研究。

本文作者利用原子力显微镜 (AFM) 观察了吸附在钛合金和钛合金基底上的红细胞表面形貌, 对比分析钛合金和红细胞表面微摩擦力回路曲线及摩擦力-载荷关系曲线, 研究了红细胞与探针之间的微摩擦力, 在纳米范围内观察到了细胞膜表面微结构的变化, 对损伤红细胞膜的过程和机制进行了讨论。

1 实验部分

1.1 试样准备

清晨空腹安静状态下采集肘前静脉血 5~10 mL, 使用肝素或乙二胺四乙酸二钠 (EDTA) 抗凝, 肝素

* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (51075403; 50875266)。

收稿日期: 2012-06-20

通讯作者: 谭建平 (1963—), 男, 教授, 博士生导师, 从事现代机电液控制理论与技术研究。E-mail: jptan@163.com.

抗凝用量为每毫升全血 20 ~ 30 IU, EDTA 用量为每毫升全血 3.4 ~ 4.8 mmol。将血均匀地涂到新解理的云母表面制成血涂片, 室温风干, 准备实验。

1.2 实验方法

利用 CSPM5000 型原子力显微镜 在室温时对样品进行表面形貌和摩擦特性测试, 观察吸附于钛合金表面的红细胞形貌, 并检测其摩擦力 (横向力)。实验时湿度控制在 75% 左右, 采用接触模式, 所用针尖

为 CSPM5000 型 AFM 自带针尖 (Contact Al) 探针, 扫描频率为 1.0 Hz, 扫描面积 (范围) 为 20 μm^2 左右, 扫描角为 90°。

2 实验结果及讨论

2.1 细胞表面形貌

图 1, 2 示出了利用 CSPM5000 型原子力显微镜 观察的红细胞膜二维表面形貌和红细胞二维表面形貌。

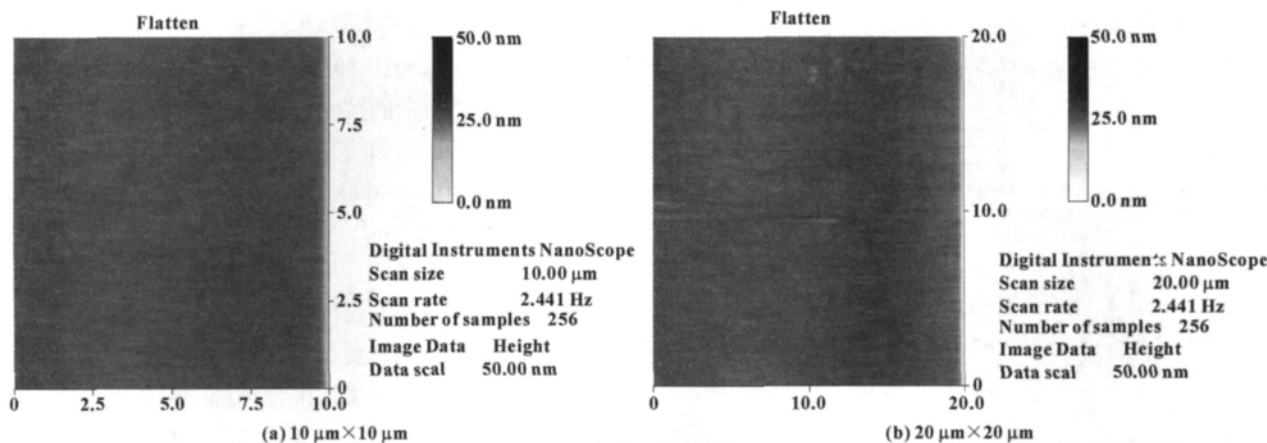


图 1 红细胞膜的二维表面形貌

Fig 1 Two-dimensional surface morphology of erythrocyte membrane

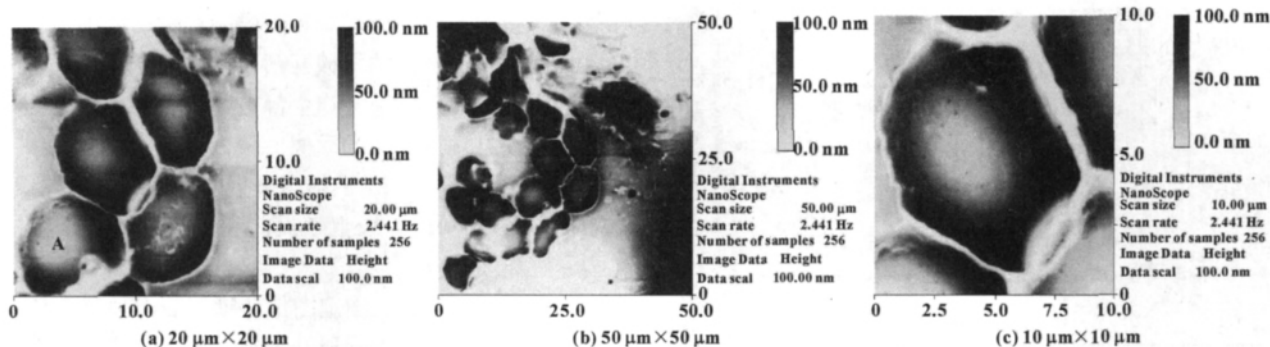


图 2 红细胞的二维表面形貌

Fig 2 Two-dimensional surface morphology of erythrocyte

在图 2 (a) 中红细胞 A 上选择 20 μm^2 的范围进行扫描, 观察细胞表面的局部细微结构, 结果如图 2 (c) 所示, 可以看出, 红细胞表面柔润光滑, 表面上有些细小的凸起。关于细胞表面的微凸起, 有研究认为是细胞表面的小节瘤^[12], 也有认为红细胞膜表面的凸起是红细胞膜蛋白、结合蛋白或者其他电解质分子在细胞膜表面上的堆积, 或是细胞膜上功能性的通道或者细胞镶嵌的内衬膜骨架^[13]。细胞膜主要是由多种蛋白质、脂类和糖类组成, 其中蛋白质约占

50%, 主要有膜血影蛋白 (Spectrin)、肌动蛋白 (Actin)、锚蛋白 (Ankyrin) 等; 脂类约占 42%, 主要有磷脂、胆固醇和糖脂等, 其分子排列成 4 ~ 5 nm 厚双分子层, 即脂双层膜结构, 球蛋白分子部分镶嵌于脂双层内, 部分突出于脂双层表面, 这些球蛋白分子可在脂双层上移动。结合细胞膜的结构特征可推测这些微小的凸起是红细胞膜蛋白中的表面蛋白和结合蛋白, 这些均匀分布的微小凸起, 高度不超过 10 nm, 使得红细胞表面略显粗糙。

2.2 细胞表面微摩擦力

采用 CSPM5000 型原子力显微镜在钛合金表面测试其摩擦力以及在红细胞表面测试其微摩擦力回路曲线,结果如图 3,4 所示。

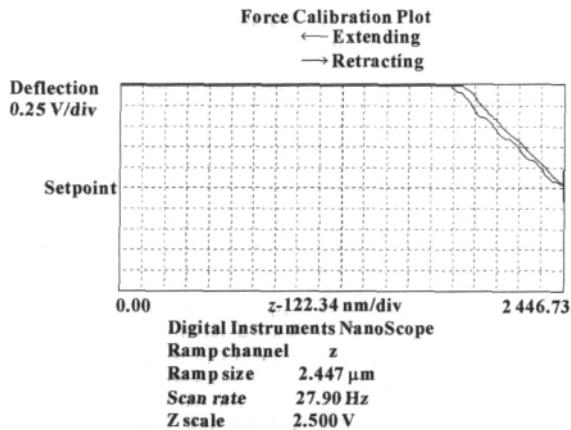


图 3 探针与钛合金的力-距离曲线

Fig 3 Force-range curve between probe and titanium alloy

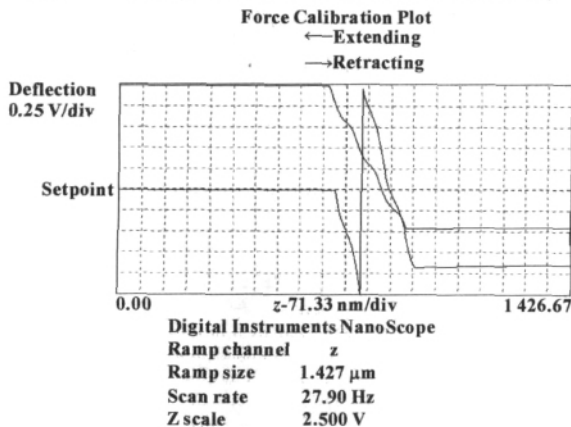


图 4 探针与红细胞的力-距离曲线

Fig 4 Force-range curve between probe and erythrocyte

图 3 中,因钛合金表面具有原子级平整度,探针与钛合金表面的微摩擦力变化平缓,没有大的起伏。从图 4 可看出,探针与血细胞之间的摩擦力与硅片表面的摩擦力相比起伏大很多,这是因为红细胞本身形状不像钛合金表面那样具有原子级的光滑平面,红细胞表面呈两面凹的圆碟状,且十分柔软。通过红细胞表面形貌可以看出,红细胞表面均布着微小凸起。表面柔软使得探针接触红细胞时红细胞极易变形,表面布满的微小凸起使红细胞表面变得粗糙导致所测摩擦值起伏大。

图 3 为图 1 所示的硅片表面的微摩擦力回路曲线,摩擦力回路曲线是探针在扫描区域的中心水平线上由左向右扫描(图 3 中上面的曲线)和由右向左扫描(下面的曲线)所得到的摩擦力的信号。根据 AFM 的工作原理,摩擦力的大小等于探针在同一位置扫描时,往返两个相反方向的信号之差值,也就是图 3 中上下两条曲线的差值。硅片的力大小为:

$$F_g = kx$$

式中: $k = 0.3 \text{ N/m}$, 为力学常数; x 为距离, $x = 0.25 \text{ V/div} \times 0.05 \text{ 格} = 0.0125 \text{ nm}$ 。

$$\text{则 } F_g = 0.3 \text{ N/m} \times 0.0125 \text{ nm} = 0.00375 \text{ nN}$$

根据图 4 所示的探针在所对应的红细胞表面所测得的微摩擦力回路曲线,红细胞的力大小为:

$$F_h = kx = 0.3 \text{ N/m} \times 1.25 \text{ nm} = 0.375 \text{ nN}$$

其中, $x = 0.25 \text{ V/div} \times 5 \text{ 格} = 1.25 \text{ nm}$ 。

在微纳米尺度下,材料表面的摩擦力除受几何形貌影响之外,材料表面的物理、化学状态也是控制摩擦学行为和过程的重要因素,材料表面的电子和原子结构、表面特性、环境污染物等都会对微摩擦力造成影响。实验中利用原子力显微镜中的探针在活细胞表面所测得的微摩擦力为多种微观力的合力。这些微观力主要包括^[14]: 红细胞表面吸附一定量的水和血浆,这使得探针和细胞膜之间存在较大的毛细管力,毛细管力与吸附膜的表面形貌和表面能有关;红细胞膜的表面柔软粗糙造成的机械互锁而产生的摩擦力;红细胞表面有一定的电荷会产生静电力。多种微观力的共同作用使红细胞表面的摩擦力较大。

图 5,6 分别示出了细胞破损前和后红细胞图像。图 7,8 分别示出了细胞破损前和后探针与红细胞的力-距离曲线。

由图 5 可知,红细胞图像清晰,表面平整,细胞轮廓光滑,没有发生变形和变性。根据图 7,细胞破损前血液的力为:

$$F_{b1} = kx = 0.3 \text{ N/m} \times 0.928 \text{ nm} = 0.278 \text{ nN}$$

其中, $x = 0.1 \text{ V/div} \times 9.28 \text{ 格} = 0.928 \text{ nm}$ 。

根据图 8,细胞破损后血液的力为:

$$F_{b2} = kx = 0.3 \text{ N/m} \times 1.04 \text{ nm} = 0.312 \text{ nN}$$

其中, $x = 0.1 \text{ V/div} \times 10.36 \text{ 格} = 1.04 \text{ nm}$ 。

可见,细胞破损后,AFM 探针与细胞表面的相互作用力发生了很大的变化。说明细胞变形后,细胞的摩擦力增加。

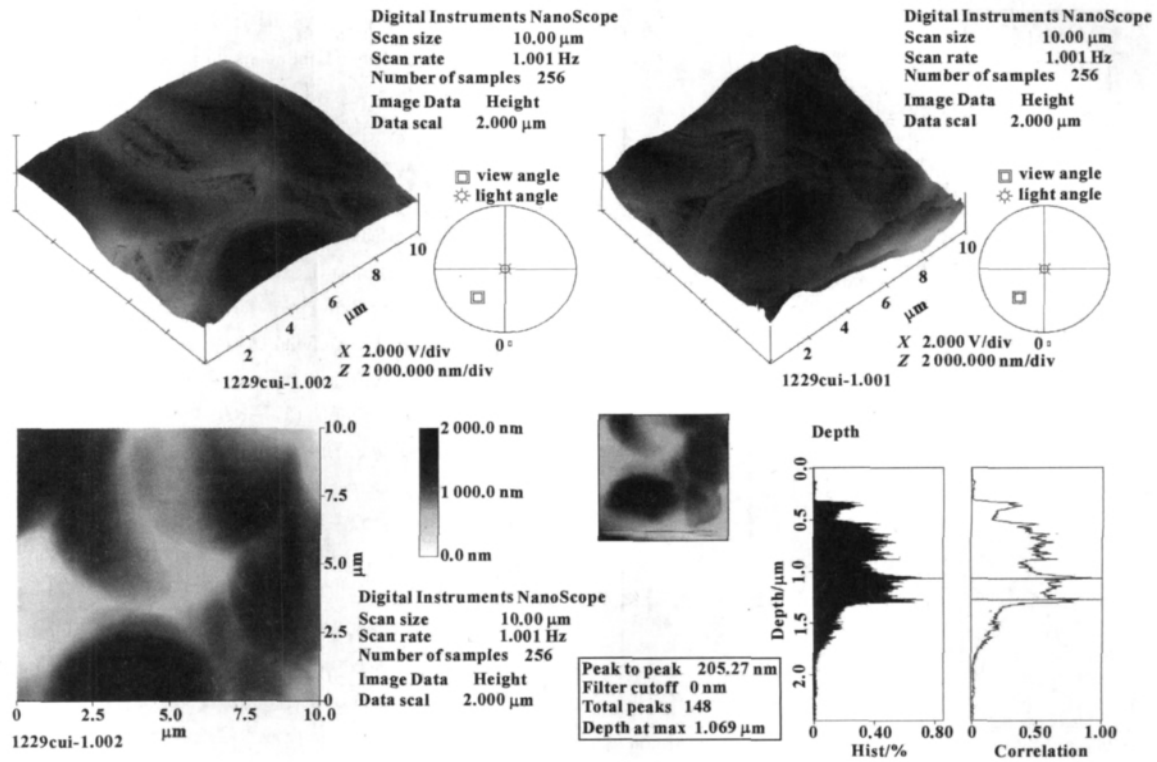


图 5 细胞破损前红细胞图像
Fig 5 Images of erythrocyte before damaged

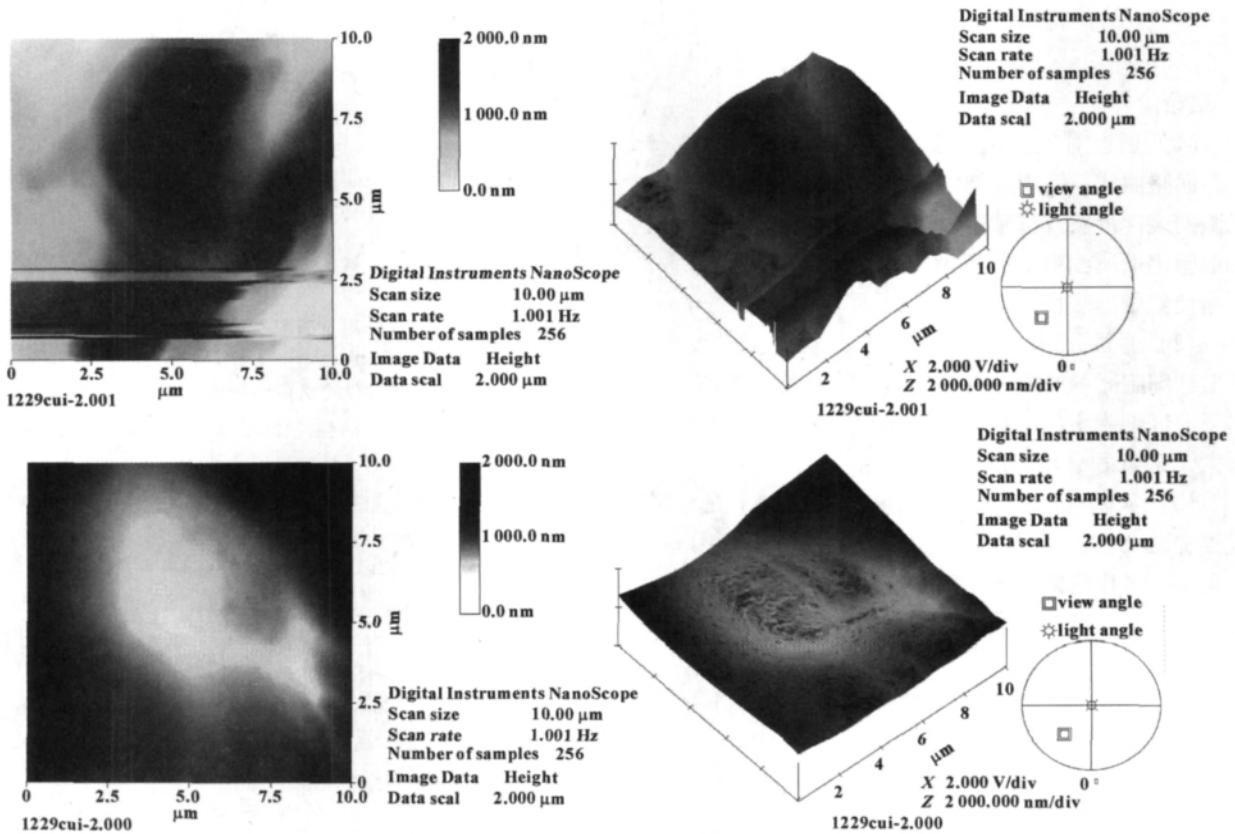


图 6 细胞破损后红细胞图像
Fig 6 Images of erythrocyte after damaged

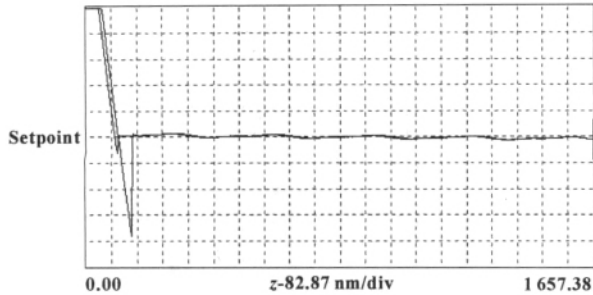


图 7 破损前探针与红细胞的力-距离曲线

Fig 7 Force - range curve between probe and erythrocyte before damaged

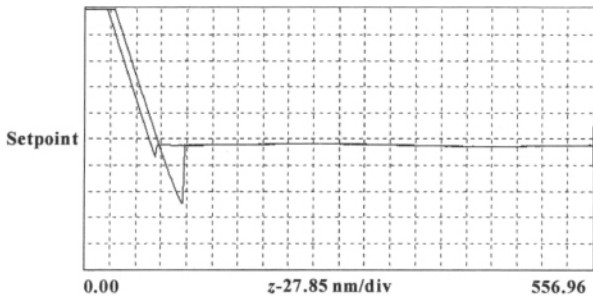


图 8 破损后探针与红细胞的力-距离曲线

Fig 8 Force - range curve between probe and erythrocyte after damaged

3 结论

(1) 通过对比红细胞表面和钛合金表面的微摩擦力回路曲线,发现红细胞表面微摩擦力的大小与红细胞的表面形貌及红细胞表面吸附物有关,且探针在活细胞表面所测得的微摩擦力为多种微观力的合力,从而使红细胞表面的摩擦力较大。

(2) 通过分析红细胞破损前后的微摩擦力大小,得出红细胞间的摩擦力与其表面形貌有关,在外力作用下,红细胞不仅细胞表面形貌受影响,而且其黏性增大,摩擦力增大,影响润滑效果。

(3) 从微观细胞力学的角度出发探讨了在润滑过程中血细胞的吸附特性和微观力学行为,从微摩擦的角度探讨血液的吸附机制,以便建立血液润滑的微观模型,为改进血液润滑效果,提高润滑效率,减少血细胞受损做准备。

参考文献

- 【1】 Walowit J ,Malanowski S B ,Horvath D ,et al. The analysis ,design and testing of a blood lubricated hydrodynamic journal bearing [J]. ASAIO J ,1997 43(5) :556 - 559.
- 【2】 Malanowski S B ,Belowski H ,Horvath D ,et al. Stable blood lubricated hydrodynamic journal bearing with magnetically suspended impeller [J]. ASAIO J ,1998 44(5) :737 - 740.
- 【3】 Francis D ,Pagan I. Continuous flow rotary left ventricular assist devices with 3rd generation design [R]. Seminars in Thoracic and Cardiovascular Surgery 2008 20(3) :255 - 263.
- 【4】 Ranjit J. Current axial flow devices: the heart mate II and Jarvik 2000 left ventricular assist devices [R]. Seminars in Thoracic and Cardiovascular Surgery 2008 20(3) :264 - 272.
- 【5】 Minato N ,Sakuma I ,Sasaki T ,et al. A sealless centrifugal pump (Baylor Gyro Pump) for application to long term circulatory support [J]. Artificial Organs ,1993 17(1) :36 - 42.
- 【6】 龚中良 ,云忠 ,谭建平. 基于血液润滑性能的研究 [J]. 润滑与密封 2005 30(6) :157 - 160.
Gong Zhongliang ,Yun Zhong ,Tan Jianping. Researching on the lubricant properties of blood [J]. Lubrication Engineering , 2005 30(6) :157 - 160.
- 【7】 龚中良 ,谭建平. 高切稳态载荷条件下人体血液润滑模型与仿真 [J]. 润滑与密封 2006 31(8) :72 - 74.
Gong Zhongliang ,Tan Jianping. Research on the lubricant model of human blood under steady load and high shear rate [J]. Lubrication Engineering 2006 31(8) :72 - 74.
- 【8】 龚中良 ,谭建平. 人体血液机械承载性能的试验研究 [J]. 机械科学与技术 2006 31(11) :1261 - 1263.
Gong Zhongliang ,Tan Jianping. Experimental study of the load capacity of human blood [J]. Mechanical Science and Technology 2006 31(11) :1261 - 1263.
- 【9】 龙东平 ,谭建平 ,吴士旭. 血浆润滑性能的试验研究 [J]. 润滑与密封 2007 32(3) :125 - 127.
Long Dongping ,Tan Jianping ,Wu Shixu. Research on experiments of the lubricant properties of blood plasma [J]. Lubrication Engineering 2007 32(3) :125 - 127.
- 【10】 龙东平 ,谭建平. 人工器官中的摩擦学问题 [J]. 机械科学与技术 2008 27(2) :198 - 206.
Long Dongping ,Tan Jianping. A review of the tribological problems in artificial organs [J]. Mechanical Science and Technology 2008 27(2) :198 - 206.
- 【11】 龙东平 ,谭建平. 影响血液润滑性能的主要因素分析 [J]. 润滑与密封 2007 32(10) :128 - 131.
Long Dongping ,Tan Jianping. The analysis on the main factors effecting on blood lubricating properties [J]. Lubrication Engineering 2007 32(10) :128 - 131.
- 【12】 Lavallo P ,Senger B ,Schaaf P ,et al. Adhesion of red blood cells to solid surfaces: experimental results and modeling [J]. Clinical Hemorheology ,1996 16(1) :38 - 42.
- 【13】 Yamashina S ,Katsumata O. Structural analysis of red blood cell membrane with an atomic force microscope [J]. J Elect Microsc 2000 49(3) :445 - 451.
- 【14】 M 谢尔格 ,S 戈尔博. 微/纳米生物摩擦学: 大自然的选择 [M]. 李健 ,杨膺 ,顾卡丽 ,等译. 北京: 机械工业出版社 , 2004.