

文章编号: 1004-7220(2021)01-0022-08

# 磁热复温对玻璃化保存脐动脉力学特性的影响

董一霖<sup>1</sup>, 胥义<sup>1</sup>, 臧传宝<sup>2</sup>, 刘峰<sup>2</sup>

(1. 上海理工大学 生物系统热科学研究所, 上海 200093; 2. 银丰低温医学科技有限公司, 济南 250000)

**摘要:**目的 探究磁热复温对玻璃化保存的脐动脉组织形态以及生物力学特性的影响。方法 采用磁热方式对玻璃化保存的脐动脉进行复温,与传统水浴复温方式进行对比,分析溶液体系内的温度分布及热应力,并通过对脐动脉进行组织染色及力学测试评价复温效果。结果 与水浴复温相比,通过磁热复温产生的温度梯度和热应力较小,可以有效减小复温阶段热应力损伤,实现快速均匀的复温;磁热复温可以有效避免脐动脉出现断裂和微裂纹现象,并且复温后脐动脉细胞外基质、胶原纤维、弹性纤维以及肌纤维等结构分布均匀,可以较好地保存脐动脉的宏观和微观结构;采用水浴和磁热复温后的脐动脉均出现不同程度的硬化,其中后者弹性模量和极限应力与新鲜脐动脉无显著差异,具有相似的单向拉伸特性,表现出良好的弹性与韧性。结论 相比水浴复温,磁热复温方式可以有效减小复温阶段的损伤,保证脐动脉具有较好的宏观、微观结构和生物力学特性。研究结果为脐动脉等较大组织或器官的玻璃化保存提供重要依据。

**关键词:**脐动脉; 玻璃化保存; 磁热复温; 力学特性; 热应力

中图分类号: R 318.01 文献标志码: A

DOI: 10.16156/j.1004-7220.2021.01.004

## Effects of Magnetic Rewarming on Mechanical Properties of Vitrified Umbilical Artery

DONG Yilin<sup>1</sup>, XU Yi<sup>1</sup>, ZANG Chuanbao<sup>2</sup>, LIU Feng<sup>2</sup>

(1. Institute of Biothermal Science and Technology, University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai 200093, China; 2. Yin Feng Cryogenic Medical Technology Co., Ltd., Jinan 250000, China)

**Abstract: Objective** To study the effect of magnetic rewarming on the morphology and biomechanical properties of vitrified umbilical artery. **Methods** The vitrified umbilical artery was rewarmed by magnetothermal method and traditional water bath. The temperature distribution and stress in the solution system were analyzed, and the rewarming effect was evaluated by tissue staining and mechanical test. **Results** Compared with water bath rewarming, the temperature gradient and thermal stress generated by magnetic rewarming were smaller, which could effectively reduce the thermal stress damage during the rewarming stage and achieve rapid and uniform rewarming. Magnetic rewarming could effectively avoid umbilical artery fractures and micro-cracks. After rewarming, the extracellular matrix, collagen fibers, elastic fibers and muscle fibers of the umbilical artery were evenly distributed, which preserved the macro and micro structures of the umbilical artery. The umbilical artery showed different degrees of hardening after water bath and magnetic rewarming, but the elastic modulus and limit stress of the latter were not significantly different from those of fresh umbilical artery, and the latter had unidirectional stretching characteristics similar to that of fresh umbilical artery, showing good elasticity and

收稿日期: 2019-11-14; 修回日期: 2020-01-15

基金项目: 国家自然科学基金项目(51576132)

通信作者: 胥义, 教授, E-mail: xuyi@usst.edu.cn

toughness. **Conclusions** Compared with water bath rewarming, magnetothermal method can effectively reduce the damage of rewarming stage, ensure the macroscopic, microscopic structure integrity of umbilical artery and better biomechanical properties. The research findings provide important references for cryopreservation of large tissues or organs such as umbilical artery.

**Key words:** umbilical artery; vitrification preservation; magnetic rewarming; mechanical properties; thermal stress

脐动脉作为小口径同种异体血管移植的理想材料,可用于解决临床手术中小血管缺损等问题<sup>[1-4]</sup>。为提高供体脐动脉利用率,保证其长期有效的低温保存至关重要<sup>[5-7]</sup>。玻璃化保存是目前最有效的低温保存方法,不仅可以保持细胞的活性,还可以保持血管中胶原纤维和弹性纤维等结构的完整性<sup>[8-10]</sup>。然而复温阶段产生的热应力以及反玻璃化现象会对血管造成严重的不可逆损伤,故选择一种快速均匀的复温方式对于血管的玻璃化保存仍是一项挑战<sup>[11-12]</sup>。

目前,低温保存生物材料的复温方式有水浴、微波、激光和磁热等<sup>[13]</sup>。水浴利用传导或对流方式实现加热,但对于较大的组织或器官会产生较大的温度梯度和热应力<sup>[14]</sup>。微波方法容易受生物材料和环境的影响,很难实现在谐振腔内既快速又均匀地加热<sup>[13]</sup>。激光虽然可以实现快速的复温速率,但仅适用于加热较小的细胞悬液样品<sup>[15]</sup>。Etheridge等<sup>[16-17]</sup>提出磁纳米粒子配合交变磁场可以实现较大组织或器官快速均匀的复温,并且通过进一步实验发现,在磁场强度 20 kA/m、频率 370 kHz 条件下,1 mL 磁纳米粒子溶液(Fe 浓度为 10 mg/mL)升温速率可达 200 °C/min。Manuchehrabadi 等<sup>[18]</sup>的研究同样表明,磁热复温可以有效改善人真皮成纤维细胞、猪动脉和猪心脏瓣膜组织的生物活性。然而,磁热复温对于其他材料(例如脐动脉)生物活性的影响以及磁热复温参数的优化,还需进一步研究。

本文通过磁热方式对玻璃化保存的脐动脉进行复温,并与传统水浴进行对比,分析溶液体系内的温度分布及热应力,探讨磁热复温对玻璃化保存的脐动脉组织形态以及生物力学特性的影响,为脐动脉等较大组织或器官的玻璃化保存提供重要依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 脐动脉制备

将新生儿脐带组织(20 cm 左右)在 4 °C 条件下

转运至实验室进行剥离,每根脐带可以分离出两根动脉,将其剪成 5 cm 小段,根据复温方式(复温速率以及温度分布)不同分成 4 组(新鲜组、无套管水浴复温组、套管水域复温组、磁热复温组),每组有 4 小段,分别用于染色分析、单向拉伸测试、应力松弛测试以及蠕变测试。

### 1.2 玻璃化溶液和磁纳米粒子加载与去除方法

水浴复温组低温保护剂(cryoprotective agent, CPA)为 VS55 溶液(3.1 mol/L 二甲基亚砷、3.1 mol/L 甲酰胺、2.2 mol/L 1,2-丙二醇和 Euro-Collins 溶液),水浴复温组 CPA 的加载与去除过程如图 1(a)所示。在 4 °C 条件下,将脐动脉依次在浓度为 12.5%、25%、50%、75% 和 100% 的 VS55 溶液中浸泡 15 min。CPA 的去除通过依次在浓度为 50%、25% 和 12.5% 的 VS55 溶液中浸泡 15 min,最后置于 4 °C PBS 溶液中,用于染色分析及生物力学测试。

磁热复温组 CPA 为含 4.6 mg/mL  $Fe_3O_4$  磁纳米粒子(magnetic nanoparticles, mNPs)的 VS55 溶液,磁热复温组 CPA 的加载与去除过程如图 1(b)所示。在 4 °C 条件下,将脐动脉依次在浓度为 12.5%、25%、50%、75% 和 100% 的 VS55 溶液中浸泡 15 min,最后在含 mNPs 的混合溶液中浸泡 15 min。CPA 与 mNPs 的去除通过分步浸泡在浓度为 50%、25%、12.5% 的 VS55 溶液 15 min,最后置于 4 °C 的 PBS 溶液中备用。

### 1.3 降温及复温方法

降温过程采用套管方式直接置于液氮中,平均降温速率为 18 °C/min(大于 VS55 的临界降温速率 2 °C/min)。复温过程分别采用无套管水浴复温、套管水浴复温以及磁热复温方式。无套管水浴复温方式将样品从液氮中取出并去除外层套管,快速置于 37 °C 水浴锅中进行复温。套管水浴复温方式是将样品从液氮中取出直接置于 37 °C 水浴锅中进行复温。磁热复温采用磁热疗效效应分析仪(DM100, Nanoscale Biomagnetic 公司,西班牙),将样品从液氮

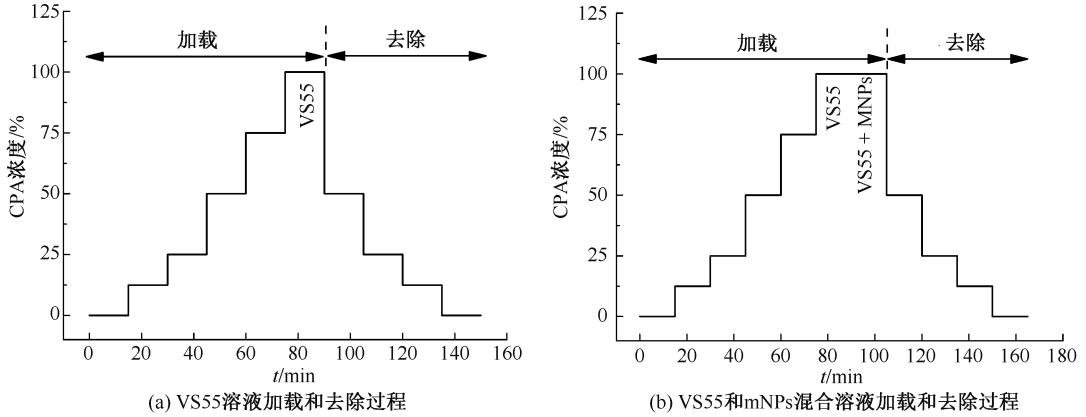


图1 VS55 溶液与 mNPs 加载与去除过程

Fig.1 Loading and removal process of VS55 solution and mNPs (a) Loading and removal process of VS55 solution, (b) Loading and removing process of VS55 and mNPs mixed solution

中取出并置于交变磁场区域, 磁场频率为 764.8 kHz, 磁场强度为 3  $\mu$ T。

#### 1.4 组织形态学观察

脐动脉的组织学观察主要从宏观观察和染色分析两个方面进行。宏观角度观察脐动脉的形态、色泽、弹性、韧性和完整程度。染色分析先将脐动脉固定于中性福尔马林液中, 再经过水洗、脱水、透明、浸蜡、包埋及切片处理, 最后制片(HE 染色、Masson 染色、Weigert 染色), 通过光学显微镜观察脐动脉细胞、细胞外基质、胶原纤维以及弹性纤维的形态变化。

#### 1.5 生物力学测试

生物力学测试均在动态热机械分析仪(DMA Q800, TA 公司, 美国)上完成。首先将脐动脉剪成长约 1.5 cm 小段, 用游标卡尺测量其特征尺寸(长度、宽度、厚度), 并固定在仪器的夹具上进行预调处理<sup>[19]</sup>。再根据不同的工作模式设定实验参数进行测试, 且每组测试做 3 次平行。

**单向拉伸测试:** 控制仪器以 0.2 N/min 速率拉伸脐动脉直至断裂, 实验中记录试件的应变、拉应力等参数随时间的变化。

**应力松弛测试:** 控制仪器以 50%/min 速率拉伸脐动脉至 50% 应变, 并保持 50% 恒定应变 20 min, 实验过程中记录试样所受应力等参数随时间的变化。假设试样所受的初始应力  $\sigma_0$ , 保持恒定应变经过时间  $t$  后, 试样所受的应力变为  $\sigma_t$ , 则脐动脉的应力松弛率为:

$$\eta = [(\sigma_0 - \sigma_t) / \sigma_0] \times 100\% \quad (1)$$

**蠕变测试:** 控制仪器以 0.4 N/min 速率拉伸脐动脉至 0.4 N 应力, 恒定应力 20 min, 实验过程中记录试样应变等参数随时间的变化。假设试样的初始应变为  $\varepsilon_0$ , 保持恒定应力  $t$  时间后, 试样的应变变为  $\varepsilon_t$ , 则脐动脉的蠕变率为:

$$\zeta = [(\varepsilon_t - \varepsilon_0) / \varepsilon_0] \times 100\% \quad (2)$$

#### 1.6 统计学处理

实验数据以均数  $\pm$  标准差表示。每两组间采用 Duncan ( $D$ ) 检验进行分析,  $P < 0.05$  表示差异具有显著性,  $P < 0.01$  表示差异具有高度显著性。

## 2 实验结果

### 2.1 不同复温方式对脐动脉组织形态的影响

通过不同方式进行复温的脐动脉具有与新鲜组脐动脉相似的形状色泽, 均呈光滑乳白色, 外径为 1.8~2.5 mm, 壁厚为 0.8~1.2 mm, 宏观结构无明显变化, 并且具有良好的弹性和韧性。采用无套管水浴复温组脐动脉均出现明显的断裂情况 ( $n=8$ , 断裂率 100%), 而采用套管水浴复温组(断裂率 12.5%)以及磁热复温组(断裂率 12.5%)脐动脉的断裂情况明显减少。

新鲜组脐动脉中细胞排列紧密整齐, 细胞外基质分布均匀, 胶原纤维、弹力纤维等及肌纤维结构排列均匀, 无紊乱现象[见图 2(a)]; 而无套管水浴复温组脐动脉外周出现微裂纹, 细胞外基质、胶原纤维、弹性纤维以及肌纤维分布稍有不均[见图 2(b)]。套管

水浴复温组脐动脉同样出现细胞外基质、胶原纤维、弹力纤维及肌纤维排列紊乱的情况,并且出现明显的分层现象[见图 2(c)];而磁热复温组脐动

脉的微观结构与新鲜组较为相似,细胞及细胞外基质分布均匀,胶原纤维、弹力纤维以及肌纤维等结构排列均匀,且无分层现象[见图 2(d)]。

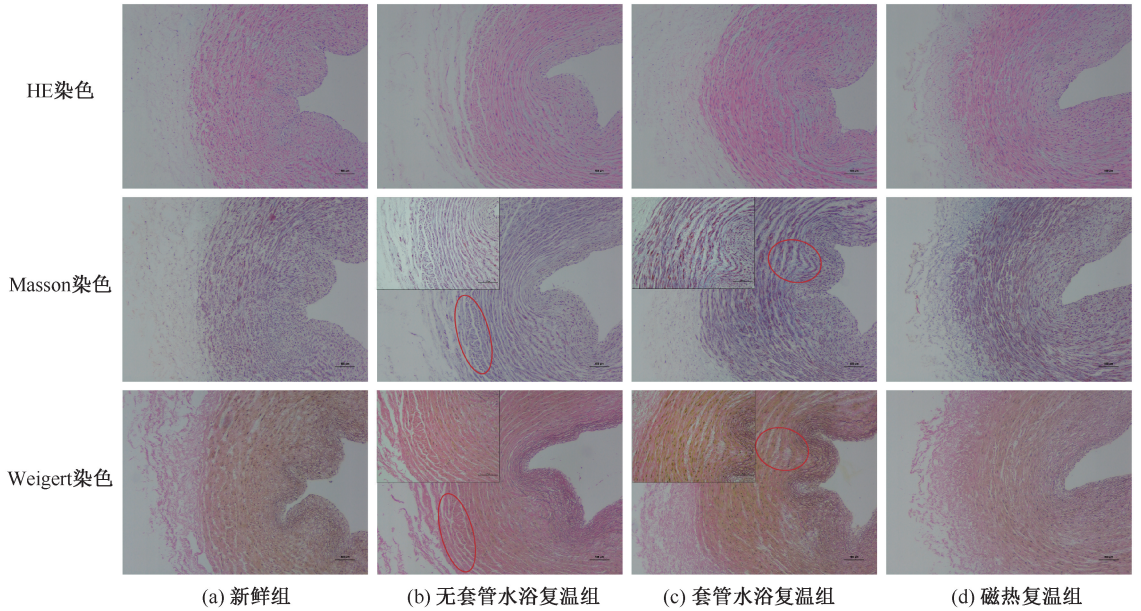


图 2 不同方式复温脐动脉 HE 染色、Masson 染色和 Weigert 染色

Fig.2 HE staining, Masson staining and Weigert staining of rewarming umbilical artery by different methods (a) Control group, (b) Water bath warming without drivepipe, (c) Water bath warming with drivepipe, (d) Magnetic warming

## 2.2 不同复温方式对脐动脉力学特性的影响

**2.2.1 不同复温方式对脐动脉单向拉伸特性的影响** 如图 3 所示,与新鲜组脐动脉弹性模量 $[ (0.93 \pm 0.04) \text{ MPa} ]$ 相比,无套管水浴复温组脐动脉弹性模量 $[ (0.67 \pm 0.24) \text{ MPa} ]$ 显著降低 $(P < 0.05)$ ,而磁热复温组脐动脉弹性模量 $[ (0.96 \pm 0.04) \text{ MPa} ]$ 显著高于无套管水浴复温组脐动脉 $(P < 0.05)$ ,并且与新鲜组脐动脉无显著差异 $(P > 0.05)$ 。采用不同方式

复温脐动脉的极限应力与新鲜组脐动脉 $[ (0.25 \pm 0.02) \text{ MPa} ]$ 相比,均无显著差异 $(P > 0.05)$ 。

**2.2.2 不同复温方式对脐动脉应力松弛特性的影响** 根据黏弹性材料的准线性理论<sup>[19]</sup>,通过试样某一时刻所受的应力 $\sigma$ 与初始应力 $\sigma_0$ 比值得到归一化实验值 $G_{\text{实}}$ ,对其进行函数拟合得到归一化应力松弛函数 $G(t)$ ,根据其随时间变化规律,设:

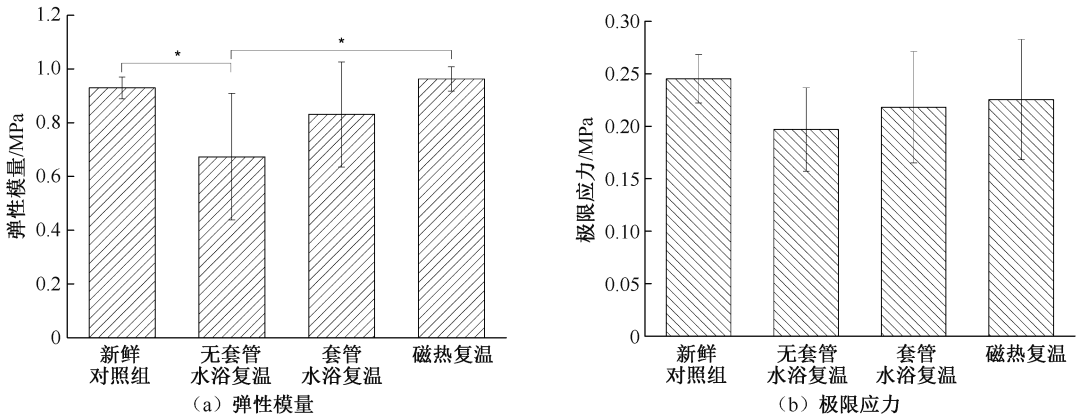


图 3 单向拉伸测试 (\*  $P < 0.05$ )

Fig.3 Unidirectional tensile test (a) Elastic modulus, (b) Ultimate stress

$$G(t) = \begin{cases} 1, & t = 0 \\ a \ln t + b, & t > 0 \end{cases} \quad (3)$$

新鲜组以及不同方式复温组脐动脉的归一化应力松弛曲线如图4(a)所示,并对归一化应力松弛曲线进行函数拟合,得到相应的系数 $a$ 与 $b$ (见表1)。结果表明,采用不同方式复温以及新鲜的脐动脉都表现出不同程度应力松弛特性,并且采

表1 归一化应力松弛拟合函数相关系数

Tab.1 Correlation coefficient of normalized stress relaxation fitting function

相关系数	新鲜对照组	无套管水浴复温	套管水浴复温	磁热复温
$a$	$-0.106 0 \pm 0.020 0^a$	$-0.061 4 \pm 0.011 7^b$	$-0.078 8 \pm 0.012 4^b$	$-0.075 8 \pm 0.012 5^b$
$b$	$0.467 4 \pm 0.107 3^b$	$0.860 5 \pm 0.027 9^a$	$0.812 2 \pm 0.051 8^a$	$0.789 6 \pm 0.054 2^a$

注:<sup>a,b</sup>表示 Duncan's 新复极差法中的显著性。

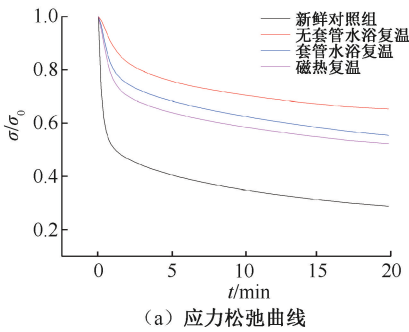
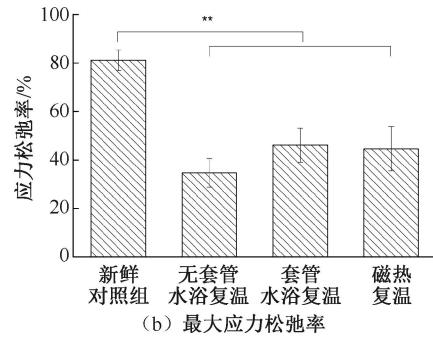


图4 应力松弛测试 (\*\* $P < 0.01$ )

Fig.4 Stress relaxation test (a) Stress relaxation curve, (b) Maximum stress relaxation rate

用不同方式复温的脐动脉应力松弛曲线的相关系数 $a$ 和 $b$ 与新鲜组相比,均存在显著性差异( $P < 0.05$ )。

不同方式复温组以及新鲜组脐动脉应力松弛20 min的最大松弛率如图4(b)所示。与新鲜组脐动脉相比,采用不同方式复温的脐动脉最大应力松弛率均极显著减小( $P < 0.01$ )。



2.2.3 不同复温方式对脐动脉蠕变特性的影响 通过试样某一时刻的应变 $\varepsilon$ 与试样初始应变 $\varepsilon_0$ 的比值得到归一化实验值 $J_{实}$ ,对其进行函数拟合得到归一化蠕变函数 $J(t)$ ,根据其随时间变化规律,设:

$$J(t) = \begin{cases} 1, & t = 0 \\ c + d e^{-t}, & t > 0 \end{cases} \quad (4)$$

新鲜组及不同方式复温组脐动脉的归一化蠕变曲线如图5(a)所示,通过对归一化蠕变曲线进行函数拟合,得到相应的系数 $c$ 与 $d$ (见表2)。结果表明,采用不同方式复温以及新鲜脐动脉都表现出不同程度的蠕变特性,无套管水浴复温组和套管水浴复温组脐动脉归一化蠕变曲线的相关系数 $c$ 、 $d$ 与新鲜组脐动脉相比,存在显著性差异;而磁热复温组脐动脉归一化蠕变曲线的相关系数 $c$ 、 $d$ 与新鲜组脐动脉相比,均无显著性差异( $P > 0.05$ )。

不同方式复温组以及新鲜组脐动脉蠕变测试

20 min最大蠕变率如图5(b)所示,与新鲜组脐动脉相比,通过不同方式复温的脐动脉的最大蠕变率均无显著性差异( $P > 0.05$ )。

### 2.3 复温过程热应力分析

不同方式复温1 mL VS55 溶液体系( $r = 0.5$  cm)边缘与中心的温度曲线如图6(a)~(c)所示,其体系内所产生的热应力为:

$$\sigma = g \cdot \left( \frac{E\beta\Delta T}{1-\nu} \right) \quad (5)$$

式中: $g$ 为几何常数(圆柱体 $g = 0.5$ ); $E$ 为弹性模量( $E \approx 1$  GPa); $\beta$ 为线膨胀系数(本研究中在 $-165.3 \sim 19.4$  °C温区, $\beta = 1.51 \times 10^{-4} + 10.62 \times 10^{-7} T$ ); $\nu$ 为泊松比<sup>[20]</sup>( $\nu \approx 0.2$ ); $\Delta T$ 为溶液体系边缘与中心的温度差,即 $\Delta T = T_{边缘} - T_{中心}$ 。

溶液体系内温度差 $\Delta T$ 以及热应力 $\sigma$ 与温度的关系曲线如图6(e)~(f)所示,无套管水浴复温组 $\Delta T$ 及 $\sigma$ 先增大后减小,并在 $-150 \sim -80$  °C温区达

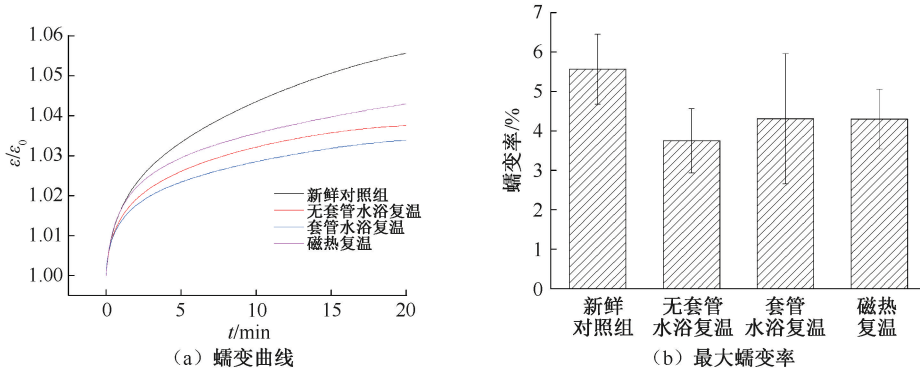


图5 蠕变测试

Fig.5 Creep test (a) Creep curve, (b) Maximum creep rate

表2 归一化蠕变拟合函数相关系数

Tab.2 Correlation coefficient of normalized creep fitting function

相关系数	新鲜对照组	无套管水浴复温	套管水浴复温	磁热复温
$c$	$1.0436 \pm 0.0068^a$	$1.0318 \pm 0.0064^a$	$1.0284 \pm 0.0044^b$	$1.0356 \pm 0.0073^a$
$d$	$-0.05908 \pm 0.0092^a$	$-0.0395 \pm 0.0074^b$	$-0.0339 \pm 0.0056^b$	$-0.0438 \pm 0.0070^a$

注: <sup>a,b</sup>表示 Duncan's 新复极差法中的显著性。

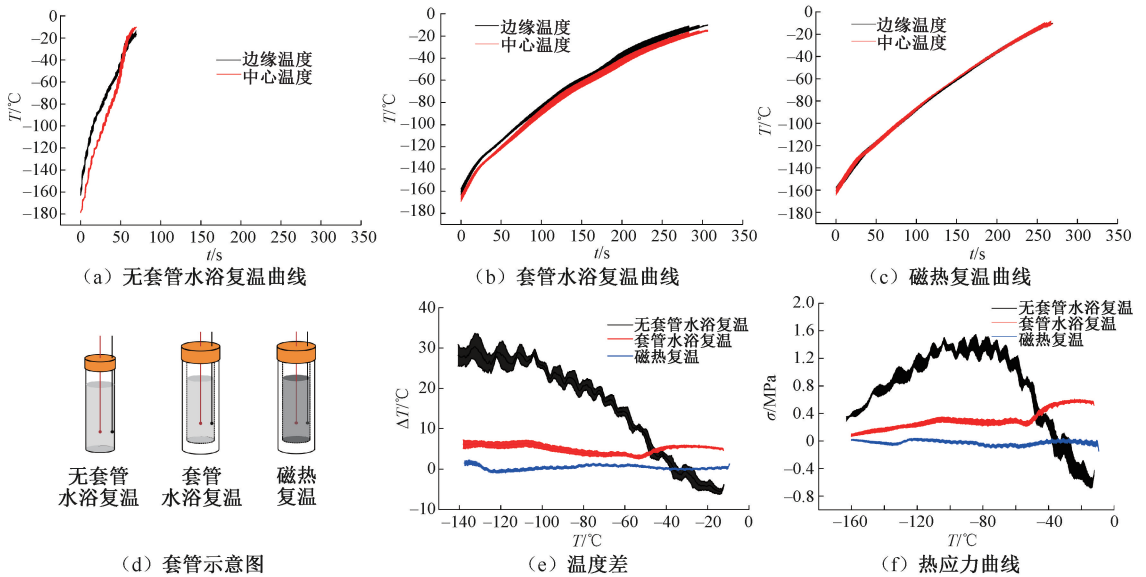


图6 热应力分析

Fig.6 Thermal stress analysis (a) Temperature curve of water bath warming without drivepipe, (b) Temperature curve of water bath warming with drivepipe, (c) Temperature curve of magnetic warming, (d) Schematic diagram of drivepipe, (e) Temperature difference, (f) Thermal stress curve

到最大,而磁热复温组  $\Delta T$  及  $\sigma$  在复温过程中均无明显变化,并显著小于水浴复温组  $\Delta T$  和  $\sigma$ 。复温阶段溶液体系内最大温度差  $\Delta T_{\max}$  与最大热应力  $\sigma_{\max}$  如表3所示,可以发现采用磁热复温在复温阶段  $\Delta T_{\max}$  与  $\sigma_{\max}$  显著小于无套管水浴复温和套管水浴复温组 ( $P < 0.01$ )。

表3 复温阶段溶液体系最大温度差与最大热应力

Tab.3 Maximum temperature difference and maximum thermal stress of solution system during rewarming phase

参数	无套管水浴复温	套管水浴复温	磁热复温
$\Delta T_{\max} / ^\circ\text{C}$	$32.342 \pm 0.967^a$	$6.756 \pm 1.272^b$	$1.117 \pm 0.649^c$
$\sigma_{\max} / \text{MPa}$	$1.453 \pm 0.047^a$	$0.585 \pm 0.016^b$	$0.026 \pm 0.016^c$

注: <sup>a-c</sup>表示 Duncan's 新复极差法中的显著性。

### 3 讨论

Pegg 等<sup>[12]</sup>研究发现,在血管低温保存过程中致命损伤主要发生在复温阶段 $-150\sim-100\text{ }^{\circ}\text{C}$ 温区,其中采用快速复温的方式有75%血管出现断裂情况,而降低复温速率并控制在 $50\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 以内可以有效防止血管断裂情况。本研究中,无套管水浴复温由于冻存管与 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴直接接触进行快速对流换热,在 $-150\sim-100\text{ }^{\circ}\text{C}$ 温区无套管水浴复温组中心处平均升温速率为 $138.6\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ,明显大于套管水浴复温组( $38.2\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ )以及磁热复温组( $42.2\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ )的升温速率。采用无套管水浴复温虽然可以实现较快的复温速率,但会在体系内产生较大的温度梯度和热应力。当超过脐动脉所能承受的极限应力时,就会出现微裂纹及断裂情况<sup>[21]</sup>。实验中无套管水浴复温组脐动脉断裂率为100%并存在微裂纹现象,并且细胞外基质、胶原纤维、弹性纤维以及肌纤维等结构分布不均。而套管水浴复温由于冻存管与水浴之间存在一层空气层,溶液体系进行缓慢对流换热,故复温速率明显减小,可以减少脐动脉出现微裂纹及断裂现象。但体系内仍存在一定程度的温度梯度及热应力,并在复温阶段由于反玻璃化现象有冰晶生成,导致血管内部出现细胞外基质、胶原纤维、弹性纤维以及肌纤维等排列紊乱,出现明显的分层现象<sup>[14]</sup>。而磁热复温通过mNPs在交变磁场中实现快速均匀复温,故产生的温度梯度及热应力显著小于无套管水浴复温组和套管水浴复温组( $P<0.01$ ),可以减小由于温度分布不均而产生的热应力损伤<sup>[22]</sup>,有效地避免脐动脉出现断裂(断裂率12.5%)和微裂纹现象,并且脐动脉细胞外基质、胶原纤维、弹性纤维以及肌纤维等结构分布均匀。

力学特性是血管低温保存的重要评价指标,对于后期临床应用也有重要意义,而血管的力学性能主要取决于胶原纤维、弹性纤维以及平滑肌的性质、含量及空间结构。在低应力范围内承载应力的主要是弹性纤维和平滑肌,高应力范围内承载应力的主要是胶原纤维<sup>[23]</sup>。无套管水浴复温组脐动脉弹性模量显著小于新鲜组( $P<0.05$ ),而磁热复温组脐动脉的弹性模量显著高于无套管水浴复温组脐动脉( $P<0.05$ ),并且与新鲜组脐动脉无显著差异( $P>0.05$ ),可以较好地保存弹性纤维和平滑肌等结

构。而采用不同方式复温的脐动脉极限应力与新鲜组脐动脉均无显著差异( $P>0.05$ ),均可以较好地保存胶原纤维结构,这与染色结果相似。与新鲜脐动脉相比,采用不同方式复温的脐动脉最大应力松弛率和蠕变率均有所减小,归一化应力松弛和蠕变拟合函数的相关系数也表现出一定差异,充分说明通过不同方式复温后的脐动脉会有不同程度的硬化,这与先前研究结果相一致<sup>[24-27]</sup>。

综合以上分析,无套管水浴复温虽然可以实现较快的复温,但会产生较大的温度梯度及热应力,导致脐动脉出现断裂及微裂纹现象,并且细胞外基质、胶原纤维、弹性纤维以及肌纤维等结构分布不均,表现出较差的力学特性。而采用磁热复温和套管水浴复温可以有效减小复温过程中的温度梯度和热应力,避免脐动脉出现断裂及微裂纹现象,并且复温后脐动脉表现出相对较好的力学特性。但通过套管水浴复温后的脐动脉仍会出现细胞外基质、胶原纤维、弹性纤维以及肌纤维等排列紊乱,出现明显的分层现象。

### 4 结论

本文通过磁热方式对玻璃化保存的脐动脉进行复温,并与传统水浴复温进行对比,分析溶液体系内的温度分布及热应力,探讨对脐动脉组织形态以及生物力学特性的影响,得出以下结论:

(1) 与水浴复温相比,通过磁热复温产生的温度梯度和热应力较小,可以有效减小复温过程热应力损伤,实现快速均匀的复温;

(2) 磁热复温可以有效避免脐动脉出现断裂和微裂纹现象,并且复温后脐动脉细胞外基质、胶原纤维、弹性纤维以及肌纤维等结构分布均匀,较好地保存脐动脉的宏观和微观结构;

(3) 采用不同方式复温的脐动脉均出现不同程度的硬化,但磁热复温组脐动脉的弹性模量和极限应力与新鲜脐动脉相比无显著差异( $P>0.05$ ),具有相似的单向拉伸特性,表现出良好的弹性与韧性。

本文初步研究了磁热复温对玻璃化保存脐动脉组织形态与力学特性的影响。结果表明,与水浴复温相比,磁热复温可以有效保存脐动脉宏观与微观结构,并保持相对较好的生物力学特性。今后还可以从mNPs特性(浓度、粒径、均匀性)等角度进

一步优化,从而实现更快速均匀的复温,为更大尺寸组织或器官的玻璃化保存提供重要依据。

### 参考文献:

- [ 1 ] DA-CROCE L, GAMBARINI-PAIVA GHR, ANGELO PC, *et al.* Comparison of vitrification and slow cooling for umbilical tissues [J]. *Cell Tissue Bank*, 2013, 14(1): 65-76.
- [ 2 ] GUI L, MUTO A, CHAN SA, *et al.* Development of decellularized human umbilical arteries as small-diameter vascular grafts [J]. *Tissue Eng*, 2009, 15(9): 2665-2676.
- [ 3 ] IRINA A, TIMUR F, GENNADY S. Umbilical cord tissue cryopreservation: A short review [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2018, 9(1): 236.
- [ 4 ] 张春运, 高福平. 脐动脉移植研究进展[J]. *职业与健康*, 2010, 26(24): 3030-3032.
- [ 5 ] CHLUPÁČ J, FILOVÁ E, BACÁKOVÁ L. Blood vessel replacement: 50 years of development and tissue engineering paradigms in vascular surgery [J]. *Physiol Res*, 2009, 58(2): 119-139.
- [ 6 ] BROCKBANK KGM, SONG YC. Morphological analyses of ice-free and frozen cryopreserved heart valve explants [J]. *J Heart Valve Dis*, 2004, 13(2): 297-301.
- [ 7 ] FAHY GM, WOWK B, WU J, *et al.* Improved vitrification solutions based on the predictability of vitrification solution toxicity [J]. *Cryobiology*, 2004, 48(1): 22-35.
- [ 8 ] SONG YC, KHIRABADI BS, LIGHTFOOT F, *et al.* Vitreous cryopreservation maintains the function of vascular grafts [J]. *Nat Biotechnol*, 2000, 18(3): 296-299.
- [ 9 ] BAICU S, TAYLOR MJ, CHEN Z, *et al.* Cryopreservation of carotid artery segments via vitrification subject to marginal thermal conditions: Correlation of freezing visualization with functional recovery [J]. *Cryobiology*, 2008, 57(1): 1-8.
- [ 10 ] 华泽钊. 低温生物医学技术[M]. 北京: 科学出版社, 1994.
- [ 11 ] MALLIS P, GONTIKA I, POULOGIANNPOULOS T, *et al.* Evaluation of decellularization in umbilical cord artery [J]. *Transpl Proc*, 2014, 46(9): 3232-3239.
- [ 12 ] PEGG DE, WUSTEMAN MC, BOYLAN S. Fractures in cryopreserved elastic arteries [J]. *Cryobiology*, 1997, 34(2): 183-192.
- [ 13 ] 张换成, 胥义. 深低温保存生物材料快速复温方法的研究进展[J]. *中国医学物理学杂志*, 2015, 32(1): 144-148.
- [ 14 ] KLEINHANS FW, SEKI S, MAZUR P. Simple, inexpensive attainment and measurement of very high cooling and warming rates [J]. *Cryobiology*, 2010, 61(2): 231-233.
- [ 15 ] KLEINHANS FW, JIN B, PAREDES E, *et al.* Ultra rapid warming of cryo samples using an IR laser pulse [J]. *Cryobiology*, 2013, 67(3): 424.
- [ 16 ] ETHERIDGE ML, BISCHOF JC. Optimizing magnetic nanoparticle based thermal therapies within the physical limits of heating [J]. *Ann Biomed Eng*, 2013, 41(1): 78-88.
- [ 17 ] ETHERIDGE ML, XU Y, CHOI J, *et al.* Radiofrequency heating of magnetic nanoparticle cryoprotectant solutions for improved cryopreservation protocols [J]. *Cryobiology*, 2013, 67(3): 398-399.
- [ 18 ] MANUCHEHRABADI N, GAO Z, ZHANG J, *et al.* Improved tissue cryopreservation using inductive heating of magnetic nanoparticles [J]. *Sci Transl Med*, 2017, 9(379): 1-10.
- [ 19 ] 冯元桢. 生物力学[M]. 北京: 北京科学出版社, 1983.
- [ 20 ] RIOS JLJ, RABIN Y. Thermal expansion of blood vessels in low cryogenic temperatures, Part II: Vitrification with VS55, DP6, and 7.05 M DMSO [J]. *Cryobiology*, 2006, 52(2): 284-294.
- [ 21 ] STEIF PS, PALASTRO MC, RABIN Y. The effect of temperature gradients on stress development during cryopreservation via vitrification [J]. *Cell Preserv Technol*, 2007, 5(2): 104-115.
- [ 22 ] ETHERIDGE ML, XU Y, ROTT L, *et al.* RF heating of magnetic nanoparticles improves the thawing of cryopreserved biomaterials [J]. *Technology*, 2014, 2(3): 229-242.
- [ 23 ] 魏民, 张伯勋, 刘郑生, 等. 玻璃化法和低温冷冻法保存兔股动脉的形态结构及力学性能比较[J]. *中国组织工程研究*, 2008, 12(40): 7875-7878.
- [ 24 ] VENKATASUBRAMANIAN RT, GRASSL ED, BAROCAS VH, *et al.* Effects of freezing and cryopreservation on the mechanical properties of arteries [J]. *Ann Biomed Eng*, 2006, 34(5): 823-832.
- [ 25 ] ETHERIDGE ML, XU Y, ROTT L, *et al.* RF heating of magnetic nanoparticles improves the thawing of cryopreserved biomaterials [J]. *Technology*, 2014, 2(3): 229-242.
- [ 26 ] FITZPATRICK JC, CLARK PM, CAPALDI FM. Effect of decellularization protocol on the mechanical behavior of porcine descending aorta [J]. *Int J Biomater*, 2010, 620503.
- [ 27 ] TUAN-MU HY, YU CH, HU JJ. On the decellularization of fresh or frozen human umbilical arteries: Implications for small-diameter tissue engineered vascular grafts [J]. *Ann Biomed Eng*, 2014, 42(6): 1305-1318.