

肺内液黏度和表面张力测量的临床意义与测量方法

刘远洋¹, 陈正龙^{2*}, 宋元林³, 黄湘岳¹, 张春元¹, 胡兆燕^{2*}(1. 上海理工大学 医疗器械与食品学院, 上海 200093; 2. 上海健康医学院 医疗器械学院, 上海 201318;
3. 复旦大学附属中山医院 呼吸科, 上海 200032)

摘要:肺内液主要指由气道黏液和肺泡内表面衬里液所形成的一连续液体薄层,对于维持肺的健康至关重要。介绍肺内液流变学特性在维持气道稳定性、保证肺正常的屏障与清除功能、避免呼吸机相关性肺损伤和新生儿呼吸窘迫综合征表面活性剂替代治疗等方面的临床意义,同时总结 Langmuir-Wilhelmy 天平法、捕获气泡法、毛细管黏度计和旋转黏度计等液体表面张力和黏度测量的经典方法,以及粒子追踪微流变仪、轴对称液滴边缘形状分析等新技术,比较这些方法的优缺点,为临床研究肺内液流变学特性辅助肺疾病的诊断和治疗提供重要参考。

关键词:气道黏液;黏度;表面张力;流变学;呼吸机相关性肺损伤

中图分类号: R 318.01 文献标志码: A

DOI: 10.16156/j.1004-7220.2020.03.017

Clinical Significance and Method of Measuring Lung Fluid Viscosity and Surface Tension

LIU Yuanyang¹, CHEN Zhenglong^{2*}, SONG Yuanlin³, HUANG Xiangyue¹, ZHANG Chunyuan¹, HU Zhaoyan^{2*}

(1. School of Medical Instrument and Food Engineering, University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai 200093, China; 2. School of Medical Instrument, Shanghai University of Medicine and Health Sciences, Shanghai 201318, China; 3. Department of Respiration, Zhongshan Hospital Affiliated to Fudan University, Shanghai 200032, China)

Abstract: Pulmonary fluid refers to a thin and continuous liquid layer mainly consisting of airway mucus and lining liquid on the inner surface of alveoli, which is essential for maintaining a healthy lung. The clinical significance of rheological properties of pulmonary fluid in airway stability, pulmonary barrier and clearance functions, ventilator induced lung injury and surfactant replacement therapy in infant respiratory distress syndrome was introduced in this paper. Furthermore, a variety of classical methods for measuring surface tension and liquid viscosity, such as Langmuir-Wilhelmy balance, captive bubble method, glass capillary viscometer and rotational viscometer, and emerging techniques (e.g. particle tracking microrheometer and axisymmetric drop shape analysis) were reviewed, and their advantages and drawbacks were also compared, in order to provide an important reference for the assisted diagnosis and treatment of lung diseases in clinical practice.

Key words: airway mucus; viscosity; surface tension; rheology; ventilator-induced lung injury

收稿日期:2019-03-18; 修回日期:2019-04-22

基金项目:国家自然科学基金项目(81770075),上海市教育委员会科研创新项目(15ZZ111)

通信作者:胡兆燕,副教授,E-mail:huzy@sumhs.edu.cn;陈正龙,副教授,E-mail:chenzl@sumhs.edu.cn

* 为共同通信作者

人体气道被黏液层所覆盖,厚度为 $2 \sim 10 \mu\text{m}$ 。黏液是一种凝胶状的糖基化黏蛋白聚合物,它具有复杂的流变性质,如剪切稀化、黏弹性、黏合性等^[1]。正常黏液含有 97% 水和 3% 固体(黏蛋白、非黏蛋白、盐、脂质和细胞碎片)^[2-3]。在不同的气道表面,黏液的特性也存在差异:在 15、16 级以前,主要是由凝胶层和纤周层组成,黏液分子量和黏度较大;在 15、16 级以后,产生黏蛋白的杯状细胞较少,黏液分子量和黏度较小。这些生理性变化使得气道衬里从近端非牛顿、黏性的双层流体过渡到深部含有一定浓度表面活性物质的单层牛顿流体。表面活性物质由 II 型上皮细胞合成并分泌到肺泡腔中,主要存在于远端气道和肺泡内,通过降低气液界面的表面张力来减少呼吸做功,同时还具有稳定气道,防止肺水肿的出现等功能。表面活性物质由 85% 磷脂、5% 中性脂质和 10% 特异性蛋白质组成。

疾病状态下,肺内液黏度和表面张力会发生改变。如哮喘、支气管炎、慢性阻塞性肺病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)和囊性纤维化(cystic fibrosis, CF)等多种气道炎性疾病均伴有气道黏液黏弹性的显著升高^[3]。Levy 等^[4]研究发现,支气管炎或 CF 患者气道黏液黏度跨越两个以上数量级的范围($0.16 \sim 60 \text{ Pa}\cdot\text{s}$)。在呼吸窘迫综合征(acute respiratory distress syndrome, ARDS)患者肺部由于富含蛋白质的肺泡水肿液,抑制或破坏表面活性剂的正常功能,导致肺内液表面张力升高。Guido 等^[5]利用捕获气泡法测量婴儿上气道黏液表面张力,结果表明,在 33 周妊娠的婴儿样品中,表面张力值超过 40 mN/m 占比为 91%,而随着妊娠周期增加,这一比例明显减少。

1 肺内液流变学测量的临床意义

肺内液黏度和表面张力等流变学性质对维持正常的肺功能有着重要的影响。黏液流变学性质的改变影响着气道稳定性、肺的防御屏障和黏液纤毛清除等生理功能,同时在避免呼吸机相关性肺损伤以及新生儿呼吸窘迫综合征(infant respiratory distress syndrome, IRDS)表面活性剂替代治疗上具有重要意义。

1.1 维持气道的稳定性

由 Laplace 公式可知:若保持表面张力不变,则

肺泡压力随着半径减小而增大,这将导致小肺泡内的气体压缩至与之联通的大肺泡中(见图 1);最终会使大肺泡过度膨胀而破裂,而小肺泡趋于塌陷。

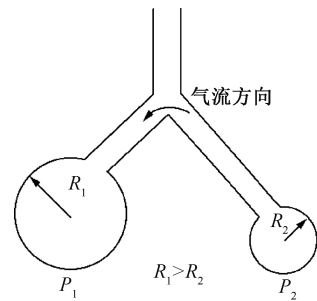


图 1 肺泡表面张力的作用

Fig.1 Effects of surface tension in alveoli

实际上,由于肺泡内衬液表面活性物质的存在,使表面张力随着肺泡表面积改变呈动态变化。Halpern 等^[6]研究证明,表面张力是表面活性物质浓度的递减函数,随着肺泡半径减小,表面活性物质分子更紧密地堆积,从而降低表面张力,削减了较小肺泡排空成较大肺泡的趋势。

肺水肿和 IRDS 等肺部疾病可能导致小气道或肺泡关闭。气道关闭主要由半月形气液界面的形成和顺应性塌陷导致,一般发生在小气道。一方面,由于半月形气液界面的形成,不稳定的衬里液导致气道阻塞;另一方面,随着气道顺应性塌陷,气道壁黏合在一起进而导致了气道关闭。Kamm 等^[7]通过实验观察认为,顺应性塌陷很大程度上取决于表面张力对气道壁压力负荷的大小。由于气道被压缩,气液界面的曲率增大会使表面张力变大,进而导致施加在气道壁上的负荷增加,最终影响气道壁的顺应性。

1.2 影响肺的屏障与清除功能

由黏液和纤毛两部分组成的气道黏液纤毛清除系统对肺的保护至关重要。黏液部分由上层的凝胶层和下层的纤周层构成。凝胶层含有丰富的黏蛋白和脂质等,呈高黏度的非牛顿液体。纤周层由浆细胞分泌,具有低黏度的特点,为纤毛提供有效的润滑^[8]。

黏液纤毛清除系统作为肺的天然防御屏障,通过纤毛的摆动使黏液不断运向上呼吸道,清除吸入的颗粒、病原体以及可能损害肺部的溶解性化学物质^[9]。黏液纤毛清除功能取决于纤毛及黏液两方

面的协同作用,纤毛结构及其功能的改变和黏液性质及其数量的改变都会对黏液纤毛清除功能产生影响。例如,在慢性支气管炎患者的小气道内,因为杯状细胞增生导致纤毛细胞减少,气道分泌液黏度增加,纤毛结构异常^[10];CF患者表现为分泌腺功能紊乱,分泌腺增生,黏液黏度增加,影响黏液正常的流变特性。患者纤毛结构异常或黏液流变学特性改变,结果都会使黏液纤毛清除机制减弱。

1.3 避免呼吸机相关性肺损伤

机械通气对于呼吸衰竭、麻醉或肺移植患者的支持必不可少,但使用不当会导致呼吸机相关性肺损伤(ventilator-induced lung injury, VILI)^[11]。VILI是机械通气期间作用于肺组织结构的各种机械力之间相互作用的结果^[12]。Perlman等^[13]利用共聚焦显微镜实时地观察机械通气时离体灌注大鼠肺泡变形的微力学机制。在保持肺泡内空气压力不变的情况下,他们将液体注入相邻两肺泡中的一个肺泡,由于液体的注入使肺泡内形成新月形气液界面,肺泡隔的曲率发生变化,进而改变肺泡隔两侧的压力差。结果表明,即使在肺泡容积为功能残气量的情况下,充满空气的肺泡也会向相邻的充满液体的肺泡凸出。Chen等^[14]研究证明,出现这一现象的原因是充满液体的肺泡表面张力远大于充满空气的肺泡表面张力,进而影响到肺泡扩张的模式。

实验和理论计算证明,与气道开放相关的4个可能造成损伤的周期性应力分量(剪切应力、压力、剪切应力梯度、压力梯度)中,压力梯度是造成细胞损伤的主导因素^[15-16]。Chen等^[17]利用胶带撕裂模型,估计对急性肺损伤或者ARDS患者进行机械通气时肺泡重复开放过程中伴随的机械应力大小;结果表明,在肺泡内液表面张力和黏度出现病理性增加的情况下,剪切应力和压力梯度可能增加几个数量级,足以造成肺上皮细胞的损伤甚至脱落。

1.4 表面活性剂替代治疗

表面活性剂替代治疗主要用于预防或治疗ARDS,特别是对IRDS的治疗。新生儿出生时正常的表面活性剂磷脂含量约为100 mg/kg,但在早产儿中,其含量通常会降至25 mg/kg以下^[18]。预防或治疗ARDS主要是通过开发功能性表面活性剂来减少表面张力,从而降低呼吸机的使用时间,最小化呼吸机相关性肺损伤^[5]。产后递送外源性表面

活性剂可以显著降低肺泡液的表面张力,使婴儿能够以较低的肺膨胀压力开始呼吸^[19]。在表面活性剂替代治疗期间,液体表面活性剂混合物通过气管导管喷射到气管中时,它会在气道树中形成向远端传播的液体塞。随着液体塞在气道壁上沉积形成薄膜,液体体积逐渐减小。当液体塞到达气道的分叉点时,将会发生分裂^[19]。Levy等^[4]提出了液体塞在分叉点的分裂模型,并定义进入分叉点后气道分支的液体体积比为分裂比,其大小取决于液体塞的速度、分叉角、液体表面张力、黏度和密度、气道几何形状、液体塞初始体积等。对液体黏度和表面张力的测量,有利于选择适合的分裂比和驱动压力,从而将表面活性剂液体塞均匀地输送到整个气道树。

2 肺液体黏度的测量方法

适用于肺液体黏度测量的经典方法有毛细管法、旋转黏度计等。近年来出现的磁性微流变仪、粒子追踪微流变仪等新技术,由于其所需样品量小、测量范围广等突出的特点,在肺内液黏度测量上有着广阔的应用前景。

2.1 毛细管黏度计

毛细管黏度计也称为管型黏度计,常见的是U形玻璃管黏度计。U形玻璃管一个臂中有精确的窄孔(毛细管),在毛细管的上部是测量球,测量球的上下部分存在两个校准标记;另一个臂的下端有一个储液球。在使用中,液体被吸入测量球中,然后液体向下流过毛细管进入储液器。液体在两个标记之间通过的时间是黏度(η)的量度^[20]。毛细管黏度计的原理是基于Poiseuille定律^[21]:

$$\eta = \frac{\pi r^4 \Delta p t}{8LV_t} \quad (1)$$

式中: r 为毛细管半径; t 为液体流经毛细管的时间; L 为毛细管长度; V_t 为 t 时间内液体所流过的体积; Δp 为液体上下液面的压力差。

毛细管黏度计使用方便,但它受剪切速率限制(一次只能测量对应一个剪切速率的黏度),并不适合肺液体或者黏液等非牛顿液体黏度的测量。

2.2 旋转黏度计

旋转黏度计分为两种基本类型:一种为同轴圆柱体型,另一种为圆锥-平板型。圆柱黏度计的主要

缺点是所需样品量较大,如商业化的 Wells-Brookfield 圆柱黏度计^[22],尽管其使用了专门设计的小样本适配器,但仍需要 2~16 mL 样本量。因此,临床试验中很少使用圆筒黏度计来测量肺液体黏度。

锥板型黏度计主要包括一个平板和一个圆锥,圆锥的锥角一般在 $0.8^\circ \sim 3^\circ$,近似于平板,圆锥紧贴平板放置,两者间留有微小的间隙。测试时,少量被测液体(一般只需要 0.5~2.0 mL)放置在锥与板形成的狭窄间隙内。基于测得的扭矩(剪切应力)和角速度(剪切速率),被测液体的黏度可表示为:

$$\eta = \frac{3M \sin \theta}{2\pi r^3 \omega} \quad (2)$$

式中: M 为扭矩; θ 为锥角; r 为圆锥体的半径; ω 为角速度。

锥板式黏度计已被广泛应用于肺液体流变学特性的测量。Baldry 等^[23]使用锥板式黏度计测量的结果表明,在不同剪切速率下,使用相同痰液样本可以获得相似结果。同样,King 等^[24]使用锥板式黏度计研究小牛肺表面活性剂水扩散物的体积剪切黏度。结果表明,肺表面活性剂表现出复杂的非牛顿流体特性,低剪切速率下具有较高的黏度。

2.3 磁性微流变仪

磁性微流变仪主要用于小样品量液体黏度的测量,故十分适合对呼吸道黏液流变特性进行分析^[25]。在显微镜载物台上放置底部透明的容器,里面盛放待测液体并放入小钢球(直径 $50 \sim 150 \mu\text{m}$)。通过调节电磁场梯度振荡使球体发生位移,并用高分辨率视频显微镜监测小球轨迹,借助小球位移与磁力的关系曲线确定黏液的黏度^[26]。

磁性微流变仪的主要优点是所需的样品体积小,仅需 $2 \sim 5 \mu\text{L}$ 。然而,磁性微流变仪也存在某些缺点,如样本量非常小而导致快速脱水的危险,可能影响黏液流变性质。King 等^[25]研究认为,磁性微流变仪的精度可能低于其他流变装置,这使得它可能更适合研究药物干预或疾病对黏液流变学的影响。

2.4 粒子追踪微流变仪

粒子追踪微流变仪可用于刻画复杂流体的线性黏弹特性,具有类似传统体积流变学测量的精度,同时测量所需的样品量可小至皮升到微升数量

级^[27]。实验装置主要包括光源、胶体探针、光学显微镜、快速 COMS 相机和专门软件等^[28]。

在低黏性流体中加入胶体探针,通过快速 COMS 相机获得流体中胶体探针的布朗热运动视频。然后使用专门软件对胶体探针的质心位置进行逐帧匹配,以识别每个粒子并生成其轨迹,依据胶体探针轨迹进一步计算单个粒子的均方位移(mean squared displacements, MSD)。对 MSD 进行分析可以得出流体的线性黏度随时间或频率的函数,进而计算出待测液的黏度。

Dawson 等^[29]利用多粒子追踪技术测量了囊性纤维化患者痰液在微米尺度上的有效黏度,结果发现 CF 痰液微观黏度比宏观黏度低 1 个数量级,表明 CF 患者痰液黏弹性的增强与粒子传输微观不均一性的增加相关。但基于粒子追踪表征黏液微观黏度时,可能由于胶体探针与黏液间的黏附作用使得测量值高于实际值。

3 肺液体表面张力的测量方法

早在 1929 年,Neergaard 等^[30]观察到充满液体或空气的肺表现出不同的回缩力,并首次将这种差异归因于表面张力。John Clements 最早引入 Langmuir-Wilhelmy 天平对肺液体的表面张力进行定量测量,并进一步对表面活性物质成分及作用开展深入地研究。此外,适宜肺液体表面张力的测量方法还有脉动气泡法、捕获气泡法和悬滴法等。

3.1 Langmuir-Wilhelmy 天平法

Langmuir-Wilhelmy 天平法装置主要由 Langmuir 槽和 Wilhelmy 板组成。如图 2 所示,测量时测试液置于 Langmuir 槽中,并将小部分 Wilhelmy 板浸入液体中得出表面张力:

$$F_{\text{测量}} = W_{\text{板}} + l\gamma \cos \theta \quad (3)$$

式中: $F_{\text{测量}}$ 为传感器测量的力; $W_{\text{板}}$ 为 Wilhelmy 板的自重; l 为 Wilhelmy 板与待测液体接触面周长; γ 为表面张力; θ 为 Wilhelmy 板与待测液体的接触角(计算时一般取 $\theta=0$)。

Langmuir-Wilhelmy 天平法最初由 Clements 用于肺表面活性物质研究的开创性工作中^[31]。该方法所需液体样本量较大,同时由于实际测量中蛋白质附着在 Wilhelmy 板上,可导致接触角发生变化,

产生测量误差^[32]。另外,槽形系统导致膜泄漏(表面活性分子从水/空气界面扩散到周围固体)的问题也不容忽视,Goerke等^[33]研究证明,14%膜泄漏在Langmuir槽壁上。

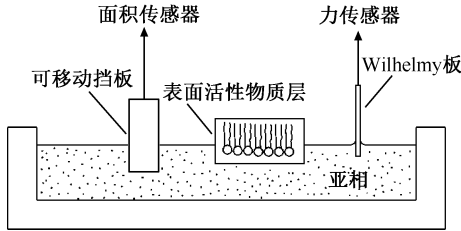


图2 Langmuir-Wilhelmy天平法装置示意图

Fig.2 Schematic diagram of Langmuir-Wilhelmy balance

3.2 脉动气泡法

脉动气泡法测量装置如图3所示。待测试液置于小体积的样品室中,样品室通过垂直毛细管与环境空气连通。脉动器活塞的运动在腔室中产生负压,导致空气被吸入毛细管形成气泡。当活塞来回移动时,气泡会产生脉动,从而模拟呼吸动力学。通过脉动器的预设程序改变气泡半径 R ,并且由压力传感器记录气泡周围的压力,根据拉普拉斯定律 $\Delta p = 2\gamma/R$ 计算表面张力^[32]。

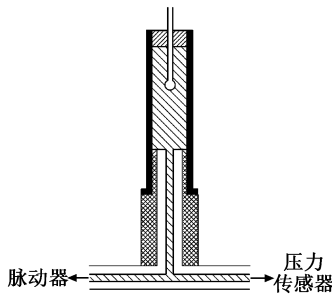


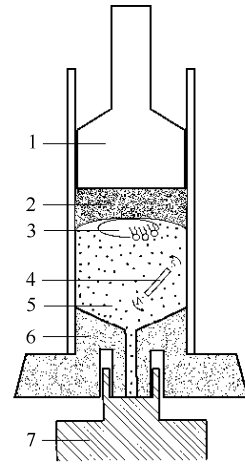
图3 脉动气泡法

Fig.3 Pulsating bubble surfactometer

脉动气泡法表面张力计已被广泛用于天然表面活性剂或肺表面活性剂相关的化合物的研究。其可以通过设定脉动率与呼吸率相同,从而模拟呼吸动力学。测试时间较短,一般在5 min内。但它也存在一些缺点,当待测液表面分子最大程度的压缩在一起时,气泡不再保持球形,故基于球形气泡的假设来计算表面张力会带来较大的误差。另外,与Langmuir-Wilhelmy天平法一样,膜表面泄漏的问题仍然存在。

3.3 捕获气泡法

为了避免膜泄漏的出现,Schürch等^[34]引入了一种防泄漏的捕获气泡法表面张力计。在捕获气泡法装置中(见图4),待测液体充满样品室,样品室顶部镀有一亲水性琼脂糖凝胶,从底部进样口引入的气泡在浮力作用下上升并紧靠琼脂糖凝胶层,同时气泡和凝胶层之间由于液体样品薄层的阻隔,故不会黏附于凝胶层之上^[35]。气泡的体积通过改变样品室中的压力来控制。随着气泡体积减小,表面积减小,气泡表面张力下降。气泡形状随表面张力的变化而变化,从球形到椭圆形。对于初始直径大于5 mm气泡,当表面张力趋于0时,气泡呈薄圆盘状。测量时,通过推动活塞改变样品室的压力来控制气泡体积,并用视频记录气泡体积变化^[32]。最后从视频图像中测得气泡的高度和直径,利用Malcolm等^[36]提出的方法计算气液界面的表面张力、气泡体积和表面积。



1-活塞;2-1%琼脂糖凝胶;3-液体在气液界面上的气泡;4-搅拌器;5-样品室;6-带进样口的不锈钢底座;7-压紧塞

图4 捕获气泡法表面张力计

Fig.4 Captive bubble surfactometer

捕获气泡法最大的优点在于避免了膜泄漏,同时由于不需要穿透界面测量压力差,该方法能再现原位实验中膜的各种特性,适宜于研究肺表面活性剂各成分的作用。但捕获气泡法的精度取决于气泡高度和直径测量的误差。

3.4 悬滴法

Jyoti等^[37]使用轴对称液滴形状分析法

(axisymmetric drop shape analysis, ADSA) 研究单层压缩速率对表面张力-表面积等温线形状的影响。悬滴法(见图 5)可认为是 ADSA 的雏形,其通过 Laplace 方程应用于液滴轮廓来确定悬垂液滴的表面张力和接触角,悬滴法实质上是滴外形法的一种。滴外形法的基本原理是:当液滴在管口形成时,液滴形状与表面张力存在一定的关系^[38]。悬滴法测量表面张力可由下列公式计算:

$$\gamma = \Delta\rho g D_E^2 / H \quad (4)$$

式中: $\Delta\rho$ 为两相密度差; g 为重力加速度; D_E 为悬滴最大直径; H 为形状修正系数(可由 D_E 和 D_S 的值查表得出)。

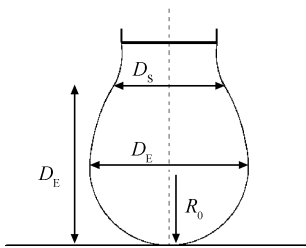


图 5 悬滴法

Fig.5 Pendant drop method

悬滴法主要优点是所需样本量少,且适用于一些高温测定或样品有反应活性等实验困难的场合。随着光学技术和数字化图像处理技术的发展,悬滴法在肺液体表面张力测量方面有着广阔的应用前景。

4 结论

本文主要讨论肺内液黏度和表面张力测量的临床意义及测量方法。包括哮喘、慢性阻塞性肺病、慢性支气管炎、急性 ARDS 和肺炎等在内的诸多肺疾病,常伴有肺内液流变学特性的显著改变,从而影响肺正常的生理功能。例如,ARDS 患者肺泡内水肿液的存在破坏了肺表面活性物质正常的生理机能,从而导致肺泡表面张力增加,使得小气道和肺泡坍塌,出现肺通气的不均一性,肺内液黏度和表面张力增加,有可能导致机械通气时肺组织的过度拉伸损伤和剪切损伤。在 ARDS 表面活性剂替代治疗中,外源性表面活性物质能否均匀地输送到远端气道树,与液体的黏度和表面张力密切相关。

因此,开展肺内液流变学特性的临床研究,特

别是肺液体黏度和表面张力的测定对于许多肺部疾病的诊断和治疗具有重要的参考价值。锥板黏度计和磁性微流变仪所需样品体积在几微升到几毫升的数量级,因此非常适合于肺内液黏度的测量;新近出现的粒子追踪微流变仪技术,常用来研究气道黏液黏度变化对纳米颗粒药物传输性能的影响。在肺液体表面张力的测量方面,Langmuir-Wilhelmy 天平法和脉动气泡法在早期肺泡表面张力的测定方面作出了重要的贡献,但该方法存在严重的膜泄漏问题,故不能很好地再现原位肺表面活性剂膜的特点;后来发展的捕获气泡法很好地克服了膜泄漏这一问题,可用于肺泡内表面活性剂各成分作用的研究。悬滴法所需样品量小,结合新近出现的轴对称液滴边缘形状分析(axisymmetric drop shape analysis-profile, ADSA-P)算法和快速发展的数据采集及图像处理技术,在未来肺液体表面张力的测量方面有着极为广阔的应用前景。

参考文献:

- [1] PUCHELLE E, ZAHM JM, QUEMADA D. Rheological properties controlling mucociliary frequency and respiratory mucus transport [J]. *Biorheology*, 1987, 24(6): 557-563.
- [2] FAHY JV, DICKEY BF. Airway mucus function and dysfunction [J]. *New Engl J Med*, 2010, 363(23): 2233-2247.
- [3] WIDDICOMBE JH, WINE JJ. Airway gland structure and function [J]. *Physiol Rev*, 2015, 95(4): 1241-1319.
- [4] LEVY R, HILL DB, FOREST MG, et al. Pulmonary fluid flow challenges for experimental and mathematical modeling [J]. *Integr Comp Biol*, 2014, 54(6): 985-1000.
- [5] GUIDO S, GABI W, ROMY L, et al. Surface tension of airway aspirates withdrawn during neonatal resuscitation reflects lung maturity [J]. *Pediatr Pulm*, 2014, 49(8): 751-756.
- [6] HALPERN D, FUJIOKA H, TAKAYAMA S, et al. Liquid and surfactant delivery into pulmonary airways [J]. *Resp Physiol Neurobi*, 2008, 163(1-3): 222-231.
- [7] KAMM RD, SCHROTER RC. Is airway closure caused by a liquid film instability? [J]. *Respir Physiol*, 1989, 75(2): 141-156.
- [8] HUCKABY JT, LAI SK. PEGylation for enhancing nanoparticle diffusion in mucus [J]. *Adv Drug Deliver Rev*, 2017, 124: 125-139.
- [9] HUANG BK, CHOMA MA. Microscale imaging of cilia-driven fluid flow [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2015, 72(6): 1095-1113.

- [10] QI M, ZHOU J, ZHANG X, *et al.* Effect of Xiaoqinglong decoction on mucus hypersecretion in the airways and cilia function in a murine model of asthma [J]. *J Tradit Chin Med Sci*, 2017, 4(3): 290-296.
- [11] BATES JH, SMITH BJ, ALLEN GB. Computational models of ventilator induced lung injury and surfactant dysfunction [J]. *Drug Discov Today Dis Models*, 2015, 15: 17-22.
- [12] SILVA PL, NEGRINI D, MACÊDO ROCCO PR. Mechanisms of ventilator-induced lung injury in healthy lungs [J]. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol*, 2015, 29(3): 301-313.
- [13] PERLMAN CE, BHATTACHARYA J. Alveolar expansion imaged by optical sectioning microscopy [J]. *J Appl Physiol*, 2007, 103(3): 1037-1044.
- [14] CHEN ZL, CHEN YZ, HU ZY. A micromechanical model for estimating alveolar wall strain in mechanically ventilated edematous lungs [J]. *J Appl Physiol*, 2014, 117(6): 586-592.
- [15] BILEK AM, DEE KC, GAVER DP. Mechanisms of surface-tension-induced epithelial cell damage in a model of pulmonary airway reopening [J]. *J Appl Physiol*, 2003, 94(2): 770-783.
- [16] KAY SS, BILEK AM, DEE KC. Pressure gradient, not exposure duration, determines the extent of epithelial cell damage in a model of pulmonary airway reopening [J]. *J Appl Physiol*, 2004, 97(1): 269-276.
- [17] CHEN ZL, SONG YL, HU ZY, *et al.* An estimation of mechanical stress on alveolar walls during repetitive alveolar reopening and closure [J]. *J Appl Physiol*, 2015, 119(3): 190-201.
- [18] HALLIDAY HL. Lung diseases: Surfactant replacement therapy [M]. Milan: Springer, 2012.
- [19] FILOCHE M, TAI CF, GROTBORG JB. Three-dimensional model of surfactant replacement therapy [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2015, 112(30): 9287-9292.
- [20] HUDSON SD, PRASAD S, PATHAK JA, *et al.* A microliter capillary rheometer for characterization of protein solutions [J]. *J Pharm Sci*, 2015, 104(2): 678-685.
- [21] 高桂丽, 李大勇, 石德全. 液体黏度测定方法及装置研究现状与发展趋势简述[J]. *化工自动化及仪表*, 2006, 33(2): 65-70.
- [22] SØRENSEN L, BENTZEN TR, SKOV KT. Development of low-cost rotational rheometer [J]. *Water Sci Technol*, 2015, 71(5): 685-690.
- [23] BALDRY PE, JOSSE SE. The measurement of sputum viscosity [J]. *Am Rev Respir Dis*, 1968, 98(3): 392-398.
- [24] KING D M, WANG Z, KENDIG J W, *et al.* Concentration-dependent, temperature-dependent non-Newtonian viscosity of lung surfactant dispersions [J]. *Chem Phys Lipids*, 2001, 112(1): 11-19.
- [25] KING M, MACKLEM PT. Rheological properties of microliter quantities of normal mucus [J]. *J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol*, 1977, 42(6): 797-802.
- [26] OTA S, KITAGUCHI R, TAKEDA R, *et al.* Rotation of magnetization derived from brownian relaxation in magnetic fluids of different viscosity evaluated by dynamic hysteresis measurements over a wide frequency range [J]. *Nanomaterials*, 2016, 6(9): 170-195.
- [27] CHU K, MOJAHED D, FERNANDEZ C, *et al.* Particle-tracking microrheology using micro-optical coherence tomography [J]. *Biophys J*, 2016, 111(5): 1053-1063.
- [28] WAIGH TA. Advances in the microrheology of complex fluids [J]. *Rep Prog Phys*, 2016, 79(7): 74601-74663.
- [29] DAWSON M, WIRTZ D, HANES J. Enhanced viscoelasticity of human cystic fibrotic sputum correlates with increasing microheterogeneity in particle transport [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(50): 50393-50401.
- [30] HALLIDAY HL. Surfactants: Past, present and future [J]. *J Perinatol*, 2008, 28(5): S47-S56.
- [31] CLEMENTS JA. Surface tension of lung extracts [J]. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1957, 95(1): 170-172.
- [32] CHEN P, KWOK DY, PROKOP RM, *et al.* Axisymmetric drop shape analysis (ADSA) and its applications [J]. *Adv Colloid Interface Sci*, 2016, 238(98): 62-87.
- [33] GOERKE J, GONZALES J. Temperature dependence of dipalmitoyl phosphatidylcholine monolayer stability [J]. *J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol*, 1981, 51(5): 1108-1114.
- [34] SCHOEL WM, SCHÜRCH S, GOERKE J. The captive bubble method for the evaluation of pulmonary surfactant: Surface tension, area, and volume calculations [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1994, 1200(3): 281-290.
- [35] DAVID S, DIMITRI V, MARTIN JDC, *et al.* Modeling nanoparticle-alveolar epithelial cell interactions under breathing conditions using captive bubble surfactometry [J]. *Langmuir*, 2014, 30(17): 4924-4932.
- [36] MALCOLM JD, ELLIOTT CD. Interfacial tension from height and diameter of a single sessile drop or captive bubble [J]. *Can J Chem Eng*, 2010, 58(2): 151-153.
- [37] JYOTI A, PROKOP RM, LI J, *et al.* An investigation of the compression rate dependence on the surface pressure-surface area isotherm for a dipalmitoyl phosphatidylcholine monolayer at the air/water interface [J]. *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp*, 1996, 116(1): 173-180.
- [38] BERRY JD, NEESON MJ, DAGASTINE RR, *et al.* Measurement of surface and interfacial tension using pendant drop tensiometry [J]. *J Colloid Interface Sci*, 2015, 454: 226-237.