



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108398371 A

(43)申请公布日 2018.08.14

(21)申请号 201810133773.5

(22)申请日 2018.02.09

(71)申请人 浙江大学

地址 310058 浙江省杭州市西湖区余杭塘
路866号

(72)发明人 阮晓东 陈霄 勾哲 付新

(74)专利代理机构 杭州求是专利事务有限公
司 33200

代理人 邱启旺

(51)Int.Cl.

G01N 15/14(2006.01)

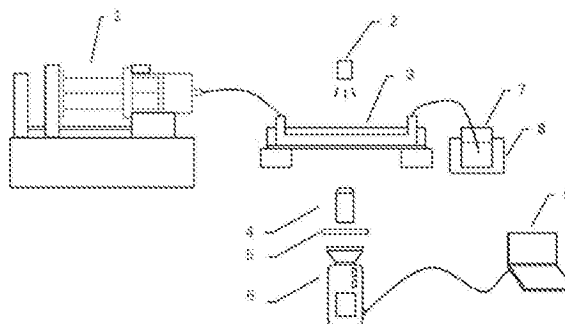
权利要求书1页 说明书5页 附图1页

(54)发明名称

一种血细胞剪应力流变观测装置及血细胞
剪应力流变规律的分析和流变过程的再现方法

(57)摘要

本发明公开了一种血细胞剪应力流变观测装置及血细胞剪应力流变规律的分析和流变过程的再现方法,该装置包括注射泵、冷光源、平行平板腔、倒置生物显微镜、转接口、高速摄像机、储液池、温控器、计算机,所述注射泵的出口与平行平板腔的入口相连通,平行平板腔的出口与储液池相连通,冷光源布置在平行平板腔的上方,平行平板腔置于所述倒置生物显微镜的载物台上,倒置生物显微镜通过转接口安装在高速摄像机上,高速摄像机与计算机相连,储液池设置在温控器中。计算机对拍摄的图像通过血细胞形变参数与流动参数的提取算法、血细胞剪切流变规律的分析算法和血细胞2维图像的3维重建算法,实现血细胞剪应力流变规律的分析和流变过程的再现。



1. 一种血细胞剪应力流变观测装置,其特征在于,包括注射泵、冷光源、平行平板腔、倒置生物显微镜、转接口、高速摄像机、储液池、温控器、计算机等,所述注射泵的出口与平行平板腔的入口相连通,平行平板腔的出口与储液池相连通,冷光源布置在平行平板腔的上方,平行平板腔置于所述倒置生物显微镜的载物台上,倒置生物显微镜通过转接口安装在高速摄像机上,高速摄像机与计算机相连,储液池设置在温控器中。

2. 根据权利要求1所述的一种血细胞剪应力流变观测装置,其特征在于,所述温控器控制的温度范围为0到60摄氏度之间。

3. 根据权利要求2所述的一种血细胞剪应力流变观测装置,其特征在于,所述倒置生物显微镜通过转接口安装在高速摄像机上进行剪切过程的定焦与变焦拍摄。

4. 一种血细胞剪应力流变规律的分析 and 流变过程的再现方法,其特征在于,该方法在权利要求1所述的装置中实现,具体包括如下步骤:

步骤1:在储液池中注入血细胞溶液,调节温控器的温度;

步骤2:通过注射泵负压驱动血细胞溶液到平行平板腔中,血细胞溶液经过平行平板腔后进入注射泵的注射管中;

步骤3:在注射泵驱动血细胞溶液的过程中,打开冷光源和高速摄像机,高速摄像机对流经平行平板腔的血细胞溶液进行实时拍摄,将拍摄到的图像传递给计算机;

步骤4:计算机对拍摄的图像通过血细胞形变参数与流动参数的提取算法、血细胞剪切流变规律的分析算法和血细胞2维图像的3维重建算法,实现血细胞剪应力流变规律的分析 and 流变过程的再现。

5. 根据权利要求4所述的再现方法,其特征在于,所述血细胞形变参数与流动参数的提取算法对由定焦条件下获得视频图像进行处理,包括噪声和背景的去除、聚焦细胞的分割、细胞的追踪、比例尺的计算以及细胞形态参数与流动参数的提取与计算。

6. 根据权利要求5所述的再现方法,其特征在于,所述血细胞剪切流变规律的分析算法对由所述血细胞形变参数与流动参数的提取算法获得的形态参数和流动参数进行分析,获得不同剪应力大小和剪切时间下细胞的形态变化规律。

7. 根据权利要求6所述的再现方法,其特征在于,所述血细胞2维图像的3维重建算法对由在变焦条件下获得的视频图像进行处理。

8. 根据权利要求7所述的再现方法,其特征在于,所述血细胞2维图像的3维重建算法具体如下:

对于具有恒定折射率的厚透明物体来说,其成像的对比度C可根据以下离焦公式获得:

$$C(\vec{\rho}) = \frac{I(\vec{\rho}) - I_0}{I_0} = \Delta n [\Delta f - h(\vec{\rho})] \nabla^2 h(\vec{\rho}) \quad (1)$$

其中 $\vec{\rho}$ 为物平面的坐标(x,y)对应的向量, $I(\vec{\rho})$ 为(x,y)处的图像亮度, I_0 为背景亮度, Δn 为透明物体与浸没介质的折射率差值, Δf 为离焦量, $h(\vec{\rho})$ 为透明物体的厚度轮廓;因此,当血细胞被高速摄像机捕捉时,通过控制离焦量实现血细胞在不同焦平面的扫描,再通过血细胞2维图像的3维重建算法对图像的对比度进行提取,利用公式(1)进行细胞厚度轮廓的计算,实现细胞的3维重建。

一种血细胞剪应力流变观测装置及血细胞剪应力流变规律的分析 和流变过程的再现方法

技术领域

[0001] 本发明涉及血液流变测量技术领域,尤其涉及一种血细胞剪应力流变观测装置及血细胞剪应力流变规律的分析 and 流变过程的再现方法。

背景技术

[0002] 随着研究和应用的不断发展,机械循环辅助装置已成为心血管疾病的重要临床治疗手段。尽管如此,中长期机械循环辅助装置的血液机械损伤问题仍是一个悬而未决的难题,成为其在临床应用推广上的最大阻碍。因此,设计血液机械损伤研究方法及装置,研究血液机械损伤机理,对机械循环辅助装置的设计及优化具有重要意义。

[0003] 在机械循环辅助装置中,非生理性流场产生的高剪应力造成血红细胞的变形及破化是血液机械损伤的主要原因,通过细胞剪切装置研究血细胞的剪应力形变状况是研究血液机械损伤的重要手段。根据剪应力产生方式的差异,可将目前的血细胞剪切研究方法分为采用库特流型和泊肃叶流型剪切装置两大类。

[0004] 基于库特流原理的剪切方法主要采用锥板型剪切装置和环形剪切装置。锥板型剪切装置主要由锥形转子和板形定子组成,当锥形转子旋转时,在被试血液中产生均匀的速度梯度,从而形成均匀的剪应力。为了保证间隙内均匀的剪切流场,转子转速不能过高,可实现的最大剪应力低于10Pa,因此,锥板型剪切装置无法模拟血细胞剪切损伤研究所需的高剪应力流场。环形库特流剪切装置利用两个同轴圆柱的相对转动,在其间的环形剪切间隙内产生剪应力流。相比锥板型剪切装置,环形剪切装置可实现高剪应力、短作用时间的血液剪切实验。但此类装置结构复杂,影响实验结果的不可控因素较多,目前的各个不同装置间的结构和实验条件不尽相同,获得的实验数据存在较大差异,无法给出可信度高的实验结果。另外,库特流型剪切装置结构复杂,造价昂贵,并且实现细胞变形过程的直接观测困难。

[0005] 基于泊肃叶流原理的剪切方法主要采用基于硅微通道的剪切装置和基于平行平板腔的剪切装置。基于硅微通道的剪切装置采用微机电系统加工技术,在硅片上刻蚀平行微通道。其加工工艺限制微通道的尺寸为微米级,一般用于模拟毛细血管对红细胞产生的近生理性的微小剪切流场,通过检测红细胞通过通道的时间来反应红细胞的变形性。由于加工工艺的限制,此类剪切装置不适合产生高剪应力流场。基于平行平板腔的剪切装置,其基本原理是利用流动的培养液对附着于培养基质上的细胞产生一定的剪应力,以研究离体细胞力学行为,特别是细胞黏附特性和形态变化规律。目前此类装置一般用于模拟血管内皮细胞、成骨细胞的生理性剪切环境,与红细胞在非生理流场下的剪切环境相去甚远。泊肃叶流型剪切装置一般体积较小,结构简单,便于在显微镜载物平台上实时观察、显示和记录,在研究流体剪应力对细胞的作用影响方面应用甚广。

[0006] 迄今为止,尚没有一种既采用结构简单的剪切装置,又能满足血液剪切损伤实验需求,同时还能实时可视化观测细胞剪切流变特性,从而获得可信度高的血液剪切损伤模

型的研究方法。

[0007] 机械循环辅助装置中血细胞的剪切损伤是导致并发症—溶血的主要原因,已成为此类医疗装置在临床推广使用上最大的桎梏。因此,研究和观测血细胞剪应力形变规律具有重要的临床和基础研究意义。

发明内容

[0008] 为解决上述问题,本发明提供一种血细胞剪应力流变观测装置及血细胞剪应力流变规律的分析及流变过程的再现方法,不仅操作简单,而且可实时观测宽剪应力范围内血细胞的流变情况,获得血细胞的剪切流变规律。

[0009] 本发明解决技术问题所采用的技术方案如下:一种血细胞剪应力流变观测装置,包括注射泵、冷光源、平行平板腔、倒置生物显微镜、转接口、高速摄像机、储液池、温控器、计算机,所述注射泵的出口与平行平板腔的入口相连通,平行平板腔的出口与储液池相连通,冷光源布置在平行平板腔的上方,平行平板腔置于所述倒置生物显微镜的载物台上,倒置生物显微镜通过转接口安装在高速摄像机上,高速摄像机与计算机相连,储液池设置在温控器中。

[0010] 进一步的,所述温控器控制的温度范围为0到60摄氏度之间。

[0011] 进一步的,所述倒置生物显微镜通过转接口安装在高速摄像机上进行剪切过程的定焦与变焦拍摄。

[0012] 本发明的另一目的是一种血细胞剪应力流变规律的分析及流变过程的再现方法,该方法在上述的装置中实现,具体包括如下步骤:

[0013] 步骤1:在储液池中注入血细胞溶液,调节温控器的温度;

[0014] 步骤2:通过注射泵负压驱动血细胞溶液到平行平板腔中,血细胞溶液经过平行平板腔后进入注射泵的注射管中;

[0015] 步骤3:在注射泵驱动血细胞溶液的过程中,打开冷光源和高速摄像机,高速摄像机对流经平行平板腔的血细胞溶液进行实时拍摄,将拍摄到的图像传递给计算机;

[0016] 步骤4:计算机对拍摄的图像通过血细胞形变参数与流动参数的提取算法、血细胞剪切流变规律的分析算法和血细胞2维图像的3维重建算法,实现血细胞剪应力流变规律的分析及流变过程的再现。

[0017] 进一步的,所述血细胞形变参数与流动参数的提取算法对由定焦条件下获得视频图像进行处理,包括噪声和背景的去、聚焦细胞的分割、细胞的追踪、比例尺的计算以及细胞形态参数与流动参数的提取与计算。

[0018] 进一步的,所述血细胞剪切流变规律的分析算法对由所述血细胞形变参数与流动参数的提取算法获得的形态参数和流动参数进行分析,获得不同剪应力大小和剪切时间下细胞的形态变化规律。

[0019] 进一步的,所述血细胞2维图像的3维重建算法对由在变焦条件下获得的视频图像进行处理。

[0020] 进一步的,所述血细胞2维图像的3维重建算法具体如下:

[0021] 对于具有恒定折射率的厚透明物体来说,其成像的对比度C可根据以下离焦公式获得:

$$[0022] \quad C(\vec{\rho}) = \frac{I(\vec{\rho}) - I_0}{I_0} = \Delta n [\Delta f - h(\vec{\rho})] \nabla^2 h(\vec{\rho}) \quad (1)$$

[0023] 其中 $\vec{\rho}$ 为物平面的坐标 (x, y) 对应的向量, $I(\vec{\rho})$ 为 (x, y) 处的图像亮度, I_0 为背景亮度, Δn 为透明物体与浸没介质的折射率差值, Δf 为离焦量, $h(\vec{\rho})$ 为透明物体的厚度轮廓; 因此, 当血细胞被高速摄像机捕捉时, 通过控制离焦量实现血细胞在不同焦平面的扫描, 再通过血细胞2维图像的3维重建算法对图像的对比度进行提取, 利用公式 (1) 进行细胞厚度轮廓的计算, 实现细胞的3维重建。

[0024] 借由上述方案, 本发明具有以下优点: 本发明通过注射泵负压驱动血细胞溶液流经平行平板腔, 为血细胞提供剪应力使之产生变形, 通过倒置生物显微镜和高速摄像机对血细胞流变过程进行图像的捕捉。系统结构简单, 操作方便, 而且实时观测容易。该装置通过倒置生物显微镜和高速摄像机不仅可以在定焦条件下实现单个血细胞形态的动态变化过程的直接观测, 以及通过群体细胞的流动过程的观测, 获得剪切间隙的流场特征, 还可以在变焦条件下实现变形细胞的变焦扫描, 结合图像处理技术实现变形血细胞的3维重建。其次, 该装置的简单结构保证了剪切间隙内除了剪应力外无其他干扰因素对血细胞的形变产生主要影响, 因此具有剪切场均匀、精度高、可靠性高等优点。另外, 细胞所受剪应力大小和剪切时间都可精确控制和调节。最后, 结合图像处理技术可实现血细胞流变参数的有效提取以及流变过程的直观再现, 该方法是一种十分有效可靠的血细胞剪应力流变研究方法。

附图说明

[0025] 图1是本发明一种血细胞剪应力流变研究方法示意图;

[0026] 其中: 1-直线注射泵, 2-冷光源, 3-平行平板腔, 4-倒置生物显微镜, 5-显微镜与高速摄像机转接口, 6-高速摄像机, 7-储液池, 8-温控器, 9-计算机。

具体实施方式

[0027] 下面结合附图和实施例, 对本发明的具体实施方式作进一步详细描述。

[0028] 实施例: 如图1所示, 一种血细胞剪应力流变观测装置, 包括注射泵1、冷光源2、平行平板腔3、倒置生物显微镜4、转接口5、高速摄像机6、储液池7、温控器8、计算机9, 所述注射泵1用于控制具有一定黏度的血细胞溶液的流速, 其出口与平行平板腔3的入口相连通, 平行平板腔3的出口与储液池7相连通, 冷光源2布置在平行平板腔3的上方, 平行平板腔3置于所述倒置生物显微镜4的载物台上, 倒置生物显微镜4通过转接口5安装在高速摄像机6上, 高速摄像机6与计算机9相连, 储液池7设置在温控器8中, 由温控器8来调节血细胞溶液的温度, 所述温控器8控制的温度范围为0到60摄氏度之间。

[0029] 所述平行平板腔由上下两块平行平板组成具有狭窄间隙的通道, 间隙的长度和宽度远远大于间隙的高度, 以形成稳定的、高均匀度的剪切流场, 并使流体的速度分布在空间上仅依赖于其距离平行平板的高度。血细胞溶液通过所述通道时受到剪应力的作用发生形态变化, 其过程由高速摄像机捕捉拍摄。通过控制血细胞溶液的黏度、流速和剪切间隙的高度, 可实现剪应力大小的调节, 通过控制显微观测区域在通道上相对于入口的位置, 可实现细胞受剪应力作用时间的调节, 从而获得多组不同剪应力、不同剪切时间下血细胞的流变

情况。

[0030] 冷光源2布置在平行平板腔3的一侧,为细胞的透射显微观测提供足够照度和均匀度的光照。所述平行平板腔3置于所述倒置生物显微镜4的载物台上,通过更换不同倍率的物镜,可分别实现单个细胞的剪切变形情况观测和群体细胞的流动情况观测;通过对显微镜焦距的控制,可分别实现变形血细胞的定焦和变焦扫描观测。所述高速摄像机6与所述倒置生物显微镜4通过转接口5连接,对由物镜观测到的高速运动中的细胞进行图像捕捉。拍摄的图像送入计算机中进行图像处理。

[0031] 高速摄像机6所记录的图像信息存储到计算机后,结合图像处理技术,对视频图像进行处理。通过血细胞形变参数与流动参数的提取算法和所述血细胞剪切流变规律的分析算法,对定焦视频图像进行噪声和背景的去除、聚焦细胞的分割、细胞的追踪、比例尺的计算以及细胞形态参数与流动参数的提取与计算,获得不同剪应力大小和剪切时间下细胞的流变规律。通过所述血细胞2维图像的3维重建算法对变焦视频图像进行血细胞流变形态的再现。

[0032] 本发明还提供基于上述装置的一种血细胞剪应力流变规律的分析 and 流变过程的再现方法,具体包括如下步骤:

[0033] 步骤1:在储液池7中注入血细胞溶液,调节温控器8的温度;

[0034] 步骤2:通过注射泵1负压驱动血细胞溶液到平行平板腔3中,血细胞溶液进过平行平板腔3后流入注射泵1中的注射管中;

[0035] 步骤3:在注射泵1驱动血细胞溶液的过程中,打开冷光源2和高速摄像机6,高速摄像机6流经平行平板腔3的血细胞溶液进行实时拍摄,将拍摄到的图像传递给计算机;

[0036] 步骤4:计算机对拍摄的图像通过血细胞形变参数与流动参数的提取算法、血细胞剪切流变规律的分析算法和血细胞2维图像的3维重建算法,实现血细胞剪应力流变规律的分析 and 流变过程的再现。

[0037] 进一步的技术方案是,所述血细胞形变参数与流动参数的提取算法对由定焦条件下获得视频图像进行处理,包括噪声和背景的去除、聚焦细胞的分割、细胞的追踪、比例尺的计算以及细胞形态参数与流动参数的提取与计算。

[0038] 进一步的技术方案是,所述血细胞剪切流变规律的分析算法对由所述血细胞形变参数与流动参数的提取算法获得的形态参数和流动参数进行分析,获得不同剪应力大小和剪切时间下细胞的形态变化规律。

[0039] 进一步的技术方案是,所述血细胞2维图像的3维重建算法对由在变焦条件下获得的视频图像进行处理,具体如下:

[0040] 对于具有恒定折射率的厚透明物体来说,其成像的对比度C可根据以下离焦公式获得:

$$[0041] \quad C(\vec{\rho}) = \frac{I(\vec{\rho}) - I_0}{I_0} = \Delta n [\Delta f - h(\vec{\rho})] \nabla^2 h(\vec{\rho}) \quad (1)$$

[0042] 其中 $\vec{\rho}$ 为物平面的坐标 (x, y) 对应的向量, $I(\vec{\rho})$ 为 (x, y) 处的图像亮度, I_0 为背景亮度, Δn 为透明物体与浸没介质的折射率差值, Δf 为离焦量, $h(\vec{\rho})$ 为透明物体的厚度轮廓;因此,当血细胞被高速摄像机6捕捉时,通过控制离焦量实现血细胞在不同焦平面的扫描,再通过血细胞2维图像的3维重建算法对图像的对比度进行提取,利用公式 (1) 进行细胞厚

度轮廓的计算,实现细胞的3维重建。

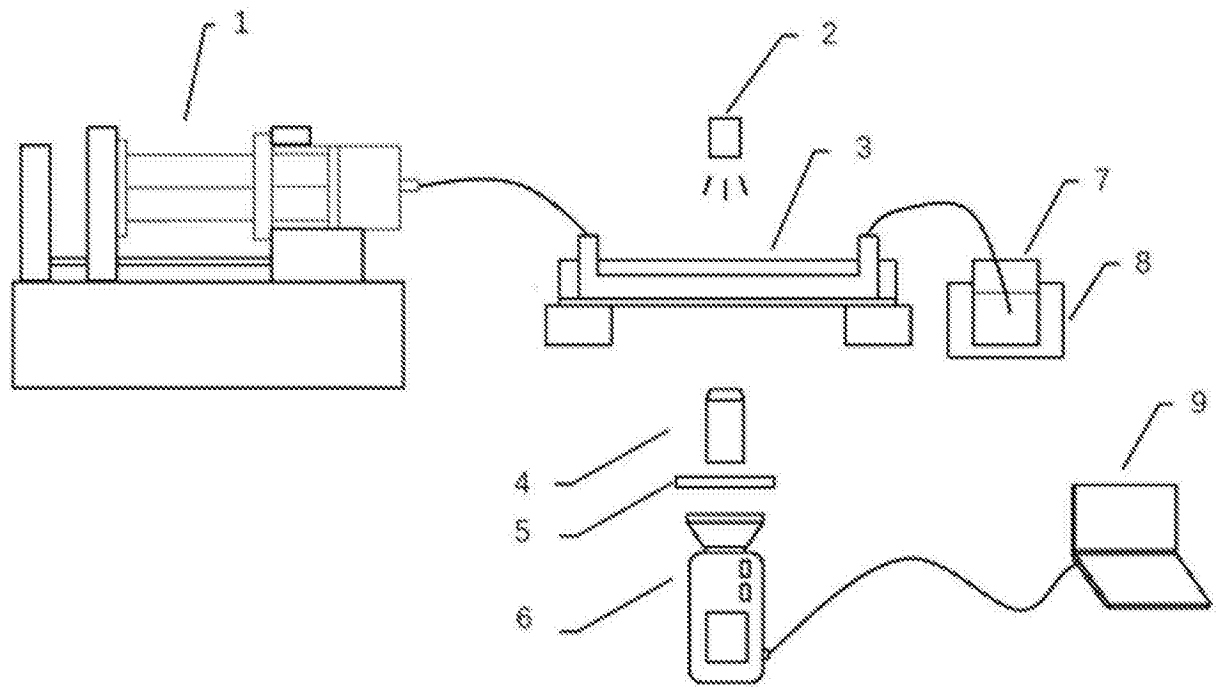


图1