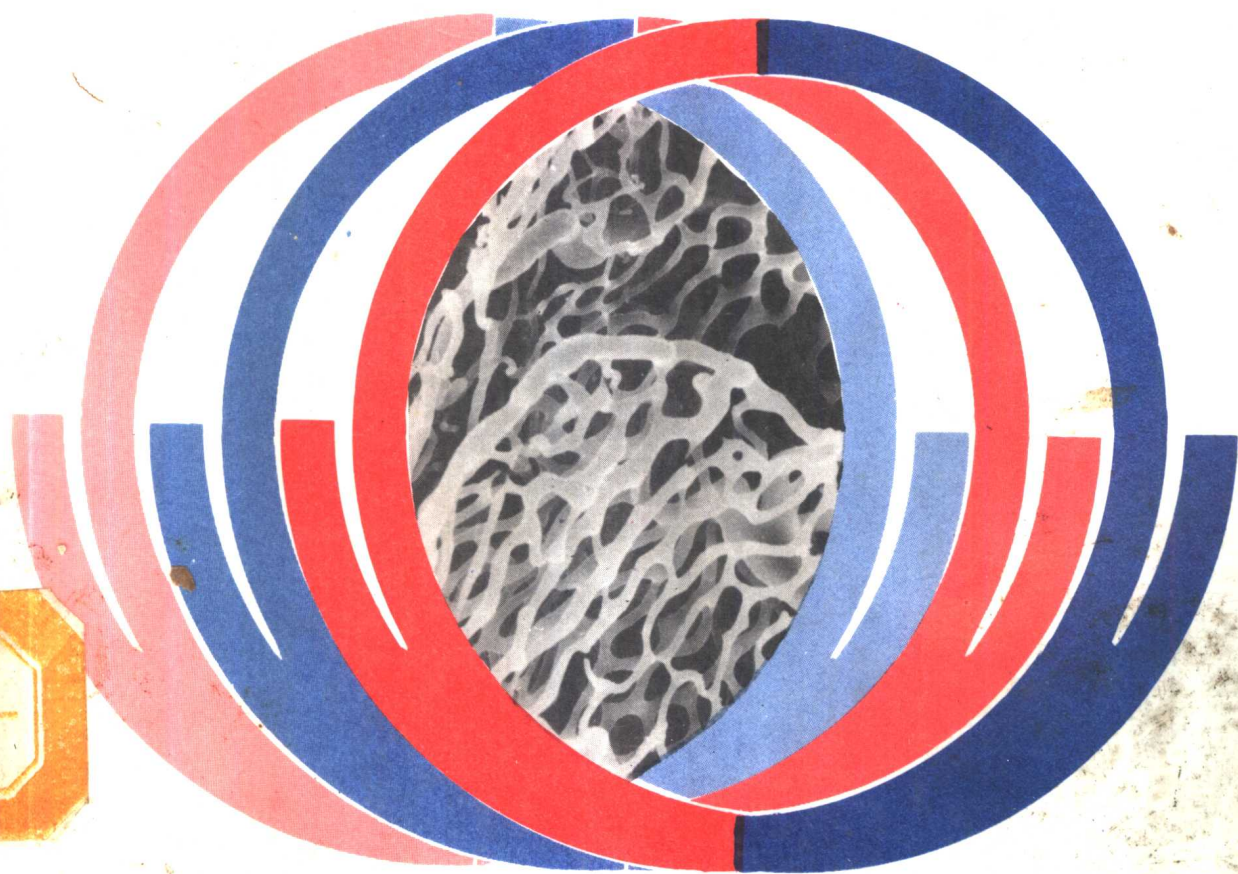


田 牛 主 编 原 子 能 出 版 社



微循环方法学

主编	田 牛		
编者	刘育英	刘凤英	孙 东
	方永鑫	柳大昌	赵振虎
	盛民立	何贤弟	朱洪逵

原 子 能 出 版 社

内 容 简 介

本书是一本有关微循环临床观察和实验研究的技术方法的专著，分总论和各论两部分。总论分五章，介绍有关微循环活体观察、形态学研究以及代谢研究等方面的技术方法。各论分临床观察部分和实验研究部分，分别介绍了甲皱、球结膜、可见体表粘膜、皮肤以及14个脏器、组织的活体微循环观察方法。书中既有具体技术方法的描述，又有对技术方法的综合评价性的介绍；既总结了作者们的经验，又吸取了国内外的先进经验，是一本内容比较丰富、条理清楚的参考书。

本书可供生物学、生理学和病理生理学的科技人员，临床各科医生，从事微循环研究的科技人员以及大专院校有关专业师生参考。

微 循 环 方 法 学

主 编 田 牛

责任编辑 鲍世宽

原子能出版社出版

(北京2108信箱)

国防科工委印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行·新华书店经售

☆

开本787×1092¹/₁₆·印张10.625·字数258千字

1987年5月北京第一版·1987年5月北京第一次印刷

印数1—2200·统一书号：15175·828

定价：2.35元

序

微循环学是研究直接参与细胞、组织物质交换的体液循环动态的一门边缘学科。它是生命科学的一个分支，是研究生物学、基础医学和临床医学的重要手段之一。

微循环研究方法是研究微循环的手段。几十年来，生物学、医学、物理学、工程学等学科都为建立微循环研究方法做出了贡献。本书作者的实验室，十几年来，在微循环研究工作中，从实际条件出发，建立和健全了一套微循环的实验方法，并不断有所改进。现将主要的实验方法汇编成书，贡献给读者，为我国从事微循环基础与临床研究的人员和广大医务工作者提供一本有用的方法学参考书，相信它将对推动微循环学的研究起到一定的作用。

军事医学科学院

涂通今

1985年10月9日

序

微循环是适应基础医学和临床各科疾病(伤)防、诊、治的需要发展起来的新兴边缘学科。近年来微循环在临床和基础医学方面的应用和意义日益受到人们的重视。

微循环的功能、形态和代谢的完整是维持人体器官正常功能所不可缺少的条件,通过微循环的研究便于进一步了解人体各脏器的特殊功能,认识疾病的发病机理,有利于疾病防诊治的研究。研究观察直接参与组织细胞物质交换的微循环变化规律对于有关医学专业,特别是临床各科具有重要意义。研究微循环所获得的信息中有些是其它方法不能得到的,这些信息对于分析病情、辅助诊断、配合治疗以及对疾病的预测都具有重要的价值。因此,微循环的研究工作近年来为国内、外医务工作者和基础研究工作者所关注,但广大研究人员面临的主要困难是手段不够统一,渴望能有一本使研究方法标准化,便于普及,并使基础研究与临床工作紧密结合的指导性书籍。

《微循环方法学》的作者根据多年的工作经验,同时参考国内、外的有关著作,系统地介绍了微循环临床观察和研究各个脏器微循环变化的方法,相信它能满足广大科研和医务工作者对这类技术的需要,有利于微循环学科的发展。希望从事临床工作和基础医学研究的同行们共同努力,推广微循环研究技术,提高微循环理论,促进医学的发展,为四化建设做出贡献。

解放军总医院

刘轩亭

1985年10月

前 言

科学工作的进展很大程度取决于技术方法。如显微镜的出现和改进,促进了细胞学的发展;放射性同位素的发现和应用,促进了核医学的发展。微循环学的发展所以晚于一般循环学,就是由于观察、测量微循环的形态、功能、代谢的技术方法开发较晚,发展不快,普及不够的缘故。

近年来,由于微循环的活体观察、形态研究、代谢测量及流变学测试等技术方法的出现和改进,促进了微循环学的发展。微循环在临床上的推广应用的深入发展,又要求微循环的临床观察技术和实验研究方法进一步提高、定型和推广。推广应用比较先进又统一定型的技术方法,可以提高观察研究的准确性、精密度和可比性,有助于微循环研究的进一步提高和推广。目前国内以及国外微循环研究在技术方法上尚未定型;观察指标尚不统一,各家材料的可比性不高,影响微循环事业的发展。

我们从1970年起系统从事微循环的研究工作,既从事微循环的实验研究,又进行微循环的临床观察。在微循环的技术方法方面,我们改进并建立了一些观察微血管管径、长度、密度、结构等形态学方法,及一些观察脏器血液、血细胞流动、通透性等功能学方法;近几年来又应用了有关微血管代谢方面的研究方法。我们的工作是有限的,但为了促进微循环技术方法在临床各科的应用和实验研究,在同道们的鼓励和支持下,经集体努力,在统一计划下,分头总结多年来的经验并参考国内外有关文献,写出《微循环方法学》一书,供从事微循环的临床观察和实验研究的工作者以及大专院校师生参考。

全书分总论和各论两大部分,总论分五章,除微循环概论外,介绍了9项活体微循环观察技术,9项形态学研究方法,5项有关微血管代谢及流变学技术,同时介绍了微循环技术的质量控制。总论中所讨论的技术方法是从事微循环研究的工作者,不论是临床工作或实验研究的工作者都需要了解、掌握的技术和知识。各论中专门介绍了甲皱、球结膜及其他可见体表粘膜和皮肤微循环的观察方法,供临床应用。同时又介绍了14个脏器、部位活体微循环的观察方法和骨髓容积脉波描记技术,供实验研究参考。

在这样一个较新的领域,很难写出一本完美的著作。书中错误不当之处主要是主编的责任。我们愿意听取同道们的批评、指教,以便进一步改进。

田 牛

1985. 10.

目 录

前言

总论

第一章 微循环概论	1
§ 1 基本概念	1
§ 2 功能	2
§ 3 形态	2
§ 4 动态	4
§ 5 微血管的通透性	6
第二章 活体微循环观察方法	8
§ 1 活体微循环观察用显微镜和光源	8
§ 2 微血管管径及血管密度的测量	15
§ 3 微循环血流速度测定	20
§ 4 脏器、组织血流量测量	24
§ 5 微血管内血流状态观察	27
§ 6 微血管压力测定	32
§ 7 微血管通透性测定方法	35
§ 8 容积脉波描记方法	39
§ 9 显微摄影技术	44
第三章 微血管形态学观察方法	52
§ 1 微血管墨汁灌注透明标本制作方法	52
§ 2 微血管铸型技术	57
§ 3 塑料铸型标本离子镀膜技术	61
第四章 微血管代谢及流变学指标研究方法	63
§ 1 微血管内皮细胞培养技术	63
§ 2 血栓素B ₂ 和6酮-前列腺素F ₁ α的放射免疫分析方法	67
§ 3 微血管的组织化学检查	75
§ 4 脉络膜血管分离染色方法	81
§ 5 血液粘度及红细胞电泳的测定方法	85
第五章 微循环观察和研究方法的应用及其影响因素	90
§ 1 微循环技术的质量控制	90
§ 2 麻醉对微循环的影响	95
各论	
第六章 临床微循环观察方法	99
§ 1 甲皱微循环的检查方法	99
§ 2 球结膜微循环观察方法	104

§. 3 可见粘膜及皮肤微循环观察方法.....	107
第七章 脏器活体微循环观察方法.....	113
§ 1 小鼠耳廓微循环观察方法.....	113
§ 2 肠系膜微循环观察方法.....	117
§ 3 颊囊微循环观察方法.....	120
§ 4 提睾肌微循环观察方法.....	123
§ 5 透明窗微循环观察方法.....	127
§ 6 骨髓微循环观察方法.....	134
§ 7 骨髓容积脉波的描记方法.....	138
§ 8 小肠绒毛微循环观察方法.....	141
§ 9 肝脏微循环观察方法.....	143
§ 10 肾脏微循环观察方法.....	147
§ 11 肺微循环观察方法.....	149
§ 12 脾脏微循环观察方法.....	153
§ 13 胰腺微循环观察方法.....	156
§ 14 淋巴结微循环观察方法.....	159
§ 15 软脑膜微循环观察方法.....	161

总 论

第一章 微循环概论

§1 基 本 概 念

微循环是直接参与细胞、组织物质交换的体液（血液、淋巴液、组织液）循环。单细胞生物和开放性循环的低级动物，其细胞、组织可以直接和外界或血淋巴进行物质交换，因而没有我们现在所理解的微循环。动物进化至脊椎动物，开放性循环分化为闭锁性循环，血管壁分隔血液和组织、淋巴管壁分隔淋巴液和组织、使之不能直接接触。此时组织、细胞的物质交换只有通过血管壁、淋巴管壁才能完成。大动脉、小动脉、大静脉、小静脉及小淋巴管管壁，一般物质都不能通过。在循环系统中只有细动脉、毛细血管、细静脉、毛细淋巴管壁便于物质通过，适于向组织、细胞提供氧及其他营养物质、输出“产品”和废物，进行物质交换。因此就血液循环系统来说，只有细动脉、毛细血管、细静脉（统称微血管）、毛细淋巴管属于微循环的范畴〔田牛，1980〕。

讨论微循环必然涉及四个方面：①血液、淋巴液及组织液的理化性质、生物学及流变学特性；②微血管、毛细淋巴管的分布、构型、结构及其功能、调节；③微血管、毛细淋巴管周围组织（如组织嗜碱细胞、网状细胞、成纤维细胞、各种纤维、基质）的结构、功能和代谢；④微血管前的心脏，大、小动脉，微血管后的大、小静脉的功能结构等。上述四方面功能、结构、代谢的完整是保证正常微循环的条件，其中任何一方面的异常都会相互影响，导致微循环障碍。因此把微循环只理解为血液循环，只观察甲皱、球结膜等可见部位的血液流动动态是不全面的。

微循环所研究的主要内容：①研究在微血管内、毛细淋巴管内、细胞、组织间隙内的血液、淋巴液、组织液流动的一般规律，管壁和体液的相互关系；②研究脏器微循环的特点，以及它和脏器特殊功能、代谢的关系；③研究炎症、水肿、出血、过敏、休克、肿瘤、烧伤、冻伤、放射损伤等基本病理过程中微循环改变的规律及其在发病中的意义；④研究各种疾病、外伤时微循环的改变及其在诊断疾病、分析病情方面的意义；⑤研究微循环改变对确定治疗方针，选择救治措施中的意义；⑥研究微循环在发掘和发展祖国医药学方面的作用。因此把微循环观察只限于疾病的诊断，以能否作为疾病诊断的特异指标来评价微循环的意义是片面的。微循环研究的目的在于从一个侧面阐明生命现象，认识脏器功能，结构的特点，了解发病机制，客观地监测和分析病情，广开治疗思路，提高疗效，为防病治病服务〔田牛，1980；

Kaley, 1980; 东健彦, 1979; Чернух, 1975; Kefalides, 1980]。

(田 牛)

§ 2 功 能

微循环的基本功能是保证组织、细胞的物质交换。这里需要三个最基本的条件:①血液、组织液、淋巴液的流动。不流动则无从进行交换。保持血管内的压差,维持血管的紧张性,进行适宜的舒缩反应,适度的节律性运动,维持正常的血液、淋巴液、组织液的流变性,血管周围组织结构、功能、代谢的完整等是影响血液、组织液、淋巴液流动的一些因素。局部组织内血含量、血流量以及血流速度等直接影响物质交换。观察测量这一类指标可以了解体液的流动动态。②微血管壁、毛细淋巴管壁对交换物质的通透性。管壁不能通透则无从进行物质交换,利用各种方法测量观察微血管对不同物质的通透性,有助于了解物质交换的速度。交换速度对组织细胞的物质交换有很大影响。③微血管的数量和管径。这两个指标可以推算交换面积。因此观察、测量管径或流速等是必需的,但单一指标不能全面反映微循环功能状态的。

微循环不同程度地参与脏器特殊功能的完成。如肾脏循环直接参与尿的排泄,即离开肾小球微血管的血液循环则不能完成过滤功能,没有肾曲管周围微血管的血液循环则不能完成尿的吸收、浓缩以及分泌功能。肺微循环直接参与肺的气体交换。肝微循环直接参与肝的物质代谢功能。这一些脏器的血管内容量和血流量都比较大。脑、睾丸的微循环则主要保证脑、睾丸组织的营养,其血管内容量比较小,说明交换面积较小。但其血流速度快,血流量较大。据目前了解,还没有证据表明脑微循环和睾丸微循环直接参与脑和睾丸特殊功能的完成。但文献报道脑微血管内皮细胞内的酶和肌肉微血管内皮细胞内的酶不同。说明微循环与脏器的功能、代谢有密切关系。

(田 牛)

§ 3 形 态

3.1 一 般 形 态

微循环的各区段在形态和结构方面是不同的。毛细血管是最细的联络成网的血管。管径一般为 $5 \sim 15 \mu\text{m}$ 。管壁由内皮细胞、基底膜及外周细胞突起构成。细静脉的管径为 $15 \sim 50 \mu\text{m}$,由毛细血管汇集而成。它一般和细动脉并行,管壁由内皮细胞、基膜、一层不典型的平滑肌细胞构成。细动脉一般多和细静脉并行,管径一般为并行细静脉的 $1/3 \sim 1/2$ 。管壁由内皮细胞、基膜、一层平滑肌细胞构成。管壁有连续完整的内弹力板、多层平滑肌细胞的血管,一般不属于微血管范畴,而是小动脉或小静脉。甲皱是临床微循环的常用观察部位,甲皱管祥是毛细血管。乳头下静脉丛是细静脉。甲皱观察一般是看不到细动脉。甲皱管祥的粗细与细动脉有关,但不能以甲皱管祥的粗细作为细动脉舒张与收缩的直接证据。

3.2 构 型

微血管的立体形态即其分布、排列样式称为构型。在进化过程中,脏器微血管和其实质

细胞结构形成密切协调、高度适应的立体结构,单就微血管论就是微血管的构型,极而言之体内没有微血管构型完全相同的二种脏器,但为了便于研究,脏器微血管构型可以归纳为六类(图 1-1)。

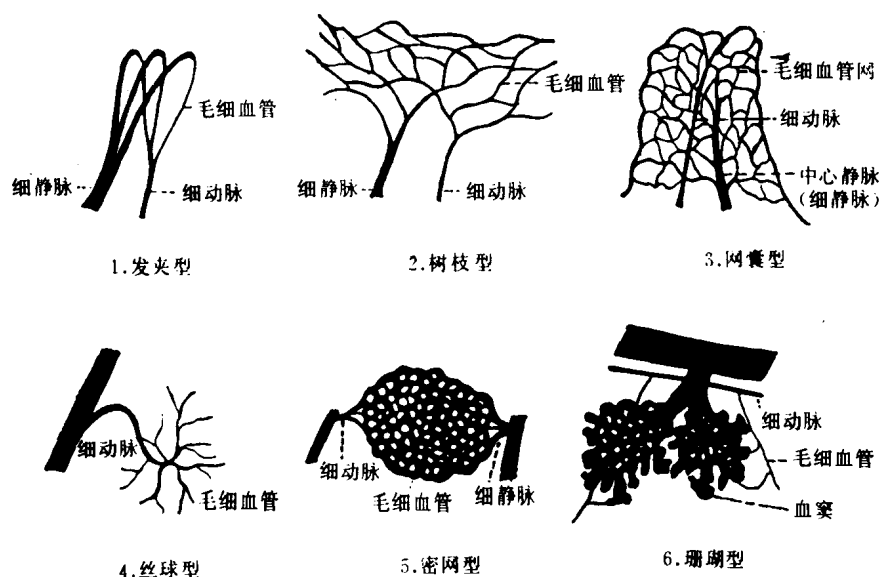


图 1-1 微血管的六种构型

1. 发夹型

由一个细动脉分出数个毛细血管,每个毛细血管在途中急剧回转,管径变粗,形成毛细血管的输出端,汇合注入细静脉。发夹型是最简单的微血管构型。皮肤(甲皱)、口唇粘膜、齿龈粘膜等体表,可见粘膜部位的微血管都是发夹型。这种构型除保证局部物质交换外,适于体温调节。

2. 树枝型

微血管排列呈树枝状,管径较细,互相间距离较大。球结膜、肠系膜、肌肉、大脑、食道、膀胱粘膜的微血管都属树枝型。这种构型主要是保证局部的物质交换。

3. 网囊型

毛细血管缠络呈密网状,管径较细,网眼较小,细动脉,细静脉居中,毛细血管网围绕周围,形成囊状。小肠粘膜绒毛、甲状腺滤泡的微血管是网囊型。这种构型的特点是,细动脉、细静脉所属的毛细血管表面积特大,适于发挥吸收、分泌的功能。

4. 丝球型

微血管排列如菜花状或互相缠络呈丝球状。丝球的境界清楚,微血管疏密程度不等。细动脉或其分枝多由一侧进入丝球体,微血管管径因脏器而粗细不等。肾小球、脾小体、淋巴结初级和次级小体以及胰腺的胰岛的微血管都属丝球型。这种构型最适于过滤和分泌。

5. 密网型

毛细血管管径粗,缠络紧密,形如密网。细动脉和细静脉分布于两侧。肺脏、肝脏的微血管是密网型。密网型微血管表面积特大,毛细血管缠络紧密,细动脉、细静脉分布于两侧,血液弥漫性流动。这种构型最适于大量气体和物质交换。

6. 珊瑚型

集合毛细血管、细静脉部分膨大迂曲，互相缠络，毛细血管、细动脉数量少，静脉系统的容积明显大于毛细血管、动脉系统的容积。骨髓的红髓和脾脏髓质的微血管属于这种构型。珊瑚型微血管构型与贮血、造血及血细胞的破坏功能相适应。

六种构型远不能概括全身所有微血管的立体形态分布；同一构型内各脏器间差别很大；同一脏器不同部位，如小肠绒毛和肌层，皮肤乳头层和汗腺周围，其微血管构型完全不同。

一个脏器的微血管构型，只是在脏器分化成熟时才形成的。随脏器功能状态的不同，微血管构型状态也有相应的变化，如骨髓的血窦，淋巴结次级小体的微血管和脏器的其他组织都随该脏器功能的亢进和减退而发生变化。

从图1-2可以看出，不同微血管构型的脏器，其血管容量和实质细胞容量的比例是不同的。

3.3 血 含 量

脏器血含量是指血管内血容量和出至血管外血液量之和。在没有出血的情况，脏器血含量就代表血管内血液量。利用 ^{99m}Tc 体内红细胞标记的方法测定了小鼠13个脏器血含量（图1-2）。

肺是气体交换的器官，脾过滤并储存血液，血管容量大。肝是体内最大的代谢器官，垂体是重要中枢性内分泌器官，骨髓是造血器官，它们血管内含量十分庞大。其次为小肠、肾上腺、胰腺和结肠，血管内含量不大。这都和脏器的特殊功能相适应。淋巴结主要是淋巴的过滤器官，淋巴窦占去很大空间，故其血管内容量较小。脑是中枢神经器官，睾丸是生成精子和男性激素的器官，其功能在维持个体生命和种属延续方面都十分重要，在器官中更多的空间要让给神经组织和上皮组织，血管内容量在13个脏器中属于最小的一类。

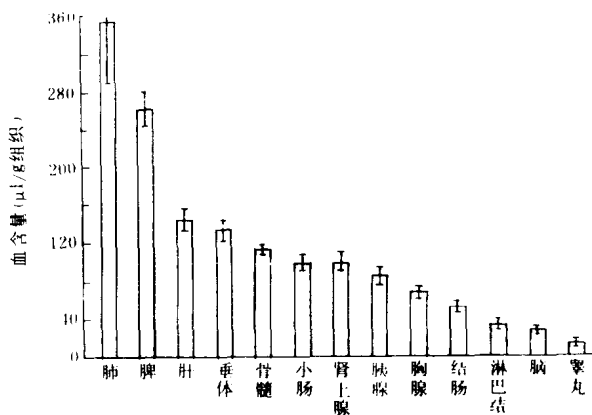


图1-2 正常小鼠脏器血含量

(田 牛)

§4 动 态

血液和组织、细胞的物质交换，必须以血液不间断的流动为前提。血液能在血管内流动，除心脏的有节奏地搏动外，还需要血管的收缩和舒张。

4.1 紧 张 性

由于微血管壁细胞（平滑肌细胞、外周细胞、内皮细胞）和纤维的作用，微血管对一定的内压能保持一定的管径，这一现象称为紧张性。在病态时管壁丧失紧张性，陷于麻痹性舒

张状态，此时易出现血流缓慢、血球血浆分离或血流停滞。

4.2 收缩和舒张

细动脉和细静脉的管壁平滑肌，具有主动收缩和舒张的能力，这是比较一致的看法。毛细血管壁无平滑肌细胞，是否能主动收缩，认识尚不完全一致，最近关于内皮细胞的运动已有多方面的证据，毛细血管的收缩能力已基本肯定。

4.3 运动性

血管自发地出现周期的管径变化或流速变化，其周期与心跳、呼吸无关，这种现象称做血管运动性。血管运动性以细动脉最为明显，细静脉、毛细血管亦可出现。血管运动性是血管功能紧张状态的一种指标。血管紧张度极度低下或高度紧张收缩状态时，血管运动性减弱或消失。

4.4 血 压

在闭锁管道内压差是液体流动的基础，血管内血液是由压高处向压低处流动。微循环范畴内细动脉的收缩压一般是70mmHg，舒张压是30mmHg，分枝毛细血管血压一般约为30mmHg，集合毛细血管压约为15mmHg，细静脉血压约为13mmHg。上述压差保证了微循环，即血液由细动脉向细静脉不间断地流动，凡是血流停滞都不是正常现象。

4.5 层 流

小动、静脉，细动、静脉近管壁处阻力较大，血液流速较慢，血浆多沿管壁流动（缘流）。愈近血管中轴，阻力渐小，流速增大，血细胞多集中于轴心附近流动（轴流），这种现象称为层流。正常微循环白细胞、红细胞都在细动脉、细静脉轴心处呈线条状流动，看不到白细胞贴壁和红细胞散乱聚集的现象。

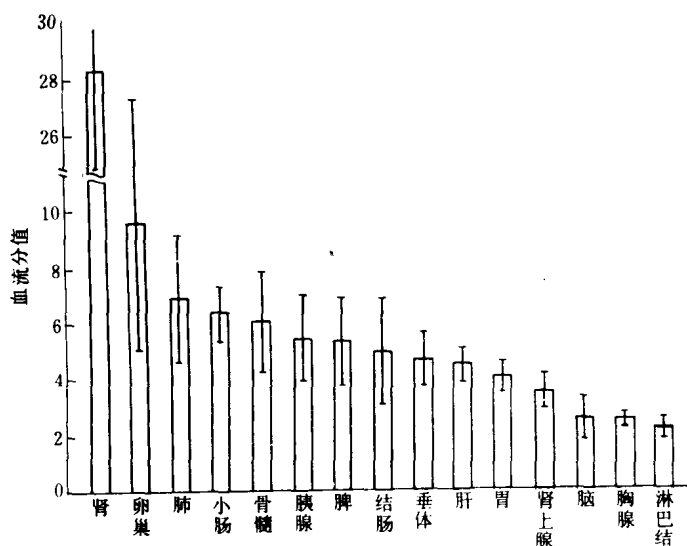


图 1-3 正常大鼠器官血流分值

对血流量（图 1-3）。

1. 肾（单位重量）的血流分值最大，这与肾的过滤功能有关。

4.6 流 速

微循环系统各部位的血液流速是不同的，由于测定方法不同各家的结果也不尽相同，作为参考数据则主动脉的血液速度是400~800mm/s，腔静脉是150~300mm/s，细动脉为1.7mm/s，毛细血管为0.4mm/s，细静脉为0.9mm/s。

4.7 血 流 量

利用^{99m}Tc标记的巨聚蛋白白测量上海种小鼠15个脏器的相

2. 卵巢的血流分值较高,同时其变动较大,这与性成熟小鼠排卵有关。小肠、骨髓、胰腺、脾、结肠、垂体、胃和肾上腺的血流分值界于7~3之间,即每克组织的血流量属于中等水平。

3. 肺支气管动脉系统和肝动脉系统的血流分值分别约为7、5,也属于中等水平。但肺的主要供血是肺动脉系统,肝主要供血是门脉,故肺、肝每单位重量的全部血流分值要远远高于上述测量值。

4. 脑、胸腺、淋巴结单位重量的血流分值在15个脏器中属于最低的一类,这三个脏器的毛细血管前即动脉系统的血管容量较小。

(田 牛)

§ 5 微血管的通透性

微血管通透性是血液成分通过微血管壁出到血管外的现象。它直接关系到组织细胞和血液进行物质交换。讨论微血管通透性应该包括组织和血液之间的屏障——即内皮细胞、基底膜、外周细胞及平滑肌细胞对物质的通透问题。基底膜、外周细胞和平滑肌细胞的功能已在前面讨论。这里主要从微细结构角度讨论内皮细胞的通透性。

5.1 通过内皮细胞

1. 窗

内皮细胞胞体局部有直径为20~100nm的小孔,腔侧面有糖皮构成的薄膜被覆,封锁小孔如同小窗,只见于毛细血管,故称有窗毛细血管。凡是小于窗的物质较易通过小窗,故这类毛细血管的通透性较高。如肠粘膜、内分泌腺(睾丸除外),肾丝球体毛细血管。

2. 泡饮

血管内皮细胞在腔侧面,基底膜侧面以及侧面的细胞膜有小凹陷,直径60~70nm,开口闭合,深入胞浆内,形成小泡,输至对侧和细胞膜融合,开口放出小泡内物质。这是参与大分子、小分子物质大量运输的一种方式,它已被用铁蛋白,脂蛋白颗粒等方法证实。

不同脏器、组织的血管或同一血管的不同部位,内皮细胞饮泡数量相差很大,脑毛细血管内皮细胞饮泡很少,而肌组织毛细血管内皮细胞则较多。

3. 贯穿内皮细胞的小孔道

小饮泡互相融合形成小管的现象,在低等脊椎动物较常见,哺乳动物偶可看到,在物质传输上可能不起大的作用。

4. 吞饮

内皮细胞的边缘部伸出细长突起,反转包绕血液成分,突起先端再与内皮融合形成大空泡,向基底膜侧移动,空泡和基底膜融合,开口放出内容物。目前关于这种物质输送究竟起多大作用尚不明确。

5. 通过细胞膜、胞浆

在微细结构上看不出这种输送方式的形态。这种运送方式只限于低分子微细物质,其具体机制尚不清楚。脂溶性物质可能通过膜的脂质部分,水溶性物质可能通过膜的蛋白质部分。这可能是物质通透的主要形式。

5.2 通过细胞间

1. 洞隙

内皮细胞间有150nm以上的洞隙,除血细胞外,其他成分可自由通过,和实质细胞接触,故其通透性大。肝窦、骨髓血窦都属于这种通透方式。在病变时,内皮细胞间的连接结构破坏亦可出现这种洞隙,物质可以自由通过。

2. 内皮细胞间

内皮细胞间一般都为紧密连接。通过这种紧密连接很不容易,大鼠股骨动脉内皮细胞可通过比过氧化物酶(分子量44000)小的物质,而脑动脉内皮细胞间紧密连接经冰冻刻蚀证明比大动脉内皮细胞紧密连接还要牢固。

5.3 脏器间的差别

微血管的通透性脏器间有明显差别。同一血管对不同物质(分子量、溶解性、电荷)的通透性也不尽相同。

我们利用伊文思蓝定量测定方法测定大鼠大脑、骨髓和小肠的微血管通透性,骨髓的通透性最高 $20.33 \pm 0.82 \mu\text{g}/\text{mg}$,小肠微血管次之,为 $8.20 \pm 0.06 \mu\text{g}/\text{mg}$,小脑、大脑微血管的通透性最低,分别为 $0.73 \pm 0.6 \mu\text{g}/\text{mg}$ 和 $0.49 \pm 0.07 \mu\text{g}/\text{mg}$ 。

利用 ^{125}I 白蛋白测定11个脏器微血管的通透分值(图1-4)。11个脏器微血管通透性的不同,表示脏器功能代谢及微血管结构存在差别。

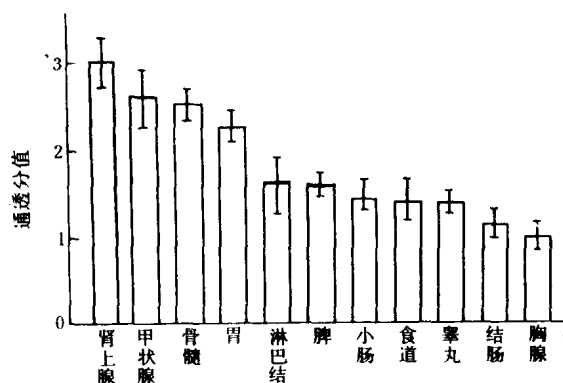


图1-4 正常小鼠脏器微血管通透分值

(田 牛)

第二章 活体微循环观察方法

活体微循环观察方法是在适当照明条件下,借助显微镜直接观察血流动态的一类研究方法。在微循环学的创立和发展中,活体微循环观察方法发挥了重大作用。显微镜下可以直接观察微血管的收缩和舒张,自发性节律运动(运动性),血流速度,红细胞及白细胞的流动动态、渗出以及出血过程等。这些都是用其他方法所不能获得的信息。活体微循环观察方法的应用、推广和提高,是同微循环研究发展紧密相连的。可以认为活体微循环观察方法是微循环研究的最重要、最基本的技术之一。每一位从事微循环研究的工作人员都应该了解、熟悉和掌握活体微循环的观察方法。

活体微循环观察方法,因所观察的脏器、组织不同而有差别,具体方法必须结合脏器、组织进行描述。这里将活体微循环观察的共同性技术方法分几个专题介绍。由于专题的性质、内容不同,叙述的方式也有区别。微循环观察用显微镜、光源,血流状态的观察,显微摄影技术等具体问题,采取直接描述的方式进行介绍,以便具体应用。微血管管径、密度、流速、流量、压力和通透性的测量等专题,既概述有关技术方法的进展、原理,又重点地介绍实际可行的具体方法。这样既能从现实条件出发开展工作,又能开阔思路,开拓一些新的技术。

综观国内外有关活体微循环观察方法的文献,可以发现活体微循环观察方法在技术上还存在三个问题。

1. 缺少直接观察或显示组织液在组织间隙中流动的技术方法,以致人们不能很好地研究组织液的流动动态。

2. 没有可供实际应用的观察淋巴管中淋巴液流动动态的方法,以致人们对脏器、组织中淋巴循环动态的认识不清。

3. 对微血管管径、管内血液流速虽能进行比较精确的测量,但国外仪器价格比较昂贵,国内尚无定型产品,影响工作的开展。

上述问题随着我国科学技术的发展,会逐渐得到解决。

(田 牛)

§1 活体微循环观察用显微镜和光源

微循环是直接参与组织细胞物质交换的血液、组织液和淋巴液的循环动态。单就血管而言,它是循环系统最末梢的血管通道,其管径小,用肉眼不能看清,因此微循环研究必须借助显微镜、光源等工具,才能进行观察。

1.1 微循环观察用显微镜

显微镜是微循环观察的主要工具,人们借助显微镜的放大作用,能够看清一些肉眼不易看清的物质,以帮助人们对研究对象的认识。有关显微镜的光学放大原理和结构已有专门的论述,在这里我们着重介绍微循环显微镜。

微循环显微镜与普通光学显微镜大致相同，但由于其观察对象不同，对显微镜的要求有其特殊之处。

一般生物显微镜可以用于微循环观察，但是受到一些限制。在进行甲皱微循环或一些需要落射光照明观察的动物实验，显微镜底座下的光源不能使用，必须另加光源。由于一般生物显微镜的物镜在设计时 为达到一定的数值孔径，工作距离都较短，而且物镜直径较大，落射光不易照射到视野中心，因而光线不足，落射光角度变小时，清晰度就受到影响。

观察菲薄组织时需要透射光照明，由于动物需放置在观察板上进行适当固定，再放到显微镜载物台上，这样标本观察点离聚光镜距离较远，聚光镜的聚焦点一般在1.5mm左右。因此透射光的强度减小。对一些较厚的组织，用高倍镜观察、照相等，光强明显不足。

一般物镜焦深小，焦深是指物镜对切片某一点准焦时，在这上面和下面有一小段距离视野是清楚的，这一小段距离即为焦深。物镜的焦深与照明光的波长、介质的折射率和物镜的数值孔径等有关。

此外，生物显微镜的物镜采用等值焦距，即用某物镜对标本准焦后，换用其他倍数物镜时焦点基本相同，或只需调节微调即可准焦，因此，载物台与物镜的可变距离较小，不适宜做动物微循环观察。

用于活体微循环观察的显微镜有解剖显微镜、体视显微镜（图2-1）、生物显微镜和微循环显微镜等。各种显微镜有各自的特点（表2-1）。

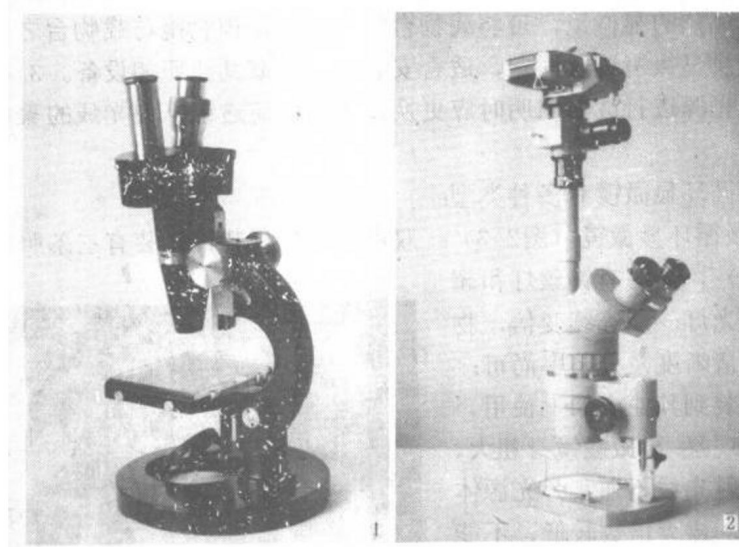


图2-1 1.解剖显微镜 2.体视显微镜（带照相装置）

解剖显微镜和体视显微镜工作距离长约3~9cm，图象清晰。由于是双筒双光路，图象立体感强，可作为活体微循环观察，但倍数低，不能进行高倍观察。使用时可选用带照相装置的显微镜。

普通生物显微镜用于活体微循环观察，需要进行一些改装，可作为多种动物的微循环观察，装上照相机或摄象机，可进行显微摄影或改装成显微电视（图2-2），使用不同物镜，其放大倍数可由几十倍到上千倍。