

低温冷冻下颅脑热-力耦合分析*

陶 泽^{1,2}, 苏丽君^{1,2}, 刘少宝^{1,2}

(1. 南京航空航天大学 航空航天结构力学及控制全国重点实验室, 南京 210016;
2. 南京航空航天大学 多功能轻量化材料与结构工信部重点实验室, 南京 210016)

(我刊编委刘少宝来稿)

摘要: 虽然大脑是人体最重要的器官, 但其在低温冷冻过程中的热-力耦合机理仍不明晰. 该文考虑颅脑特殊形状、多孔弹性、脑脊液流动、颅骨约束以及冻胀效应, 建立脑组织低温冷冻热-力耦合模型, 通过分析冷冻过程中的温度场、相场和脑脊液冻胀产生的压力场, 发现在凝固过程中脑脊液温度保持不变, 而脑组织内部最大温差可达 20 K. 固-液相界面厚度约 0.3 mm, 推进速度约 0.09 mm/s. 冻胀产生的脑组织最大位移 (~0.12 mm) 发生在靠近头盖骨处. 固液界面处压力梯度高达 500 MPa/mm, 而固体和脑脊液内部压力几乎不变, 本研究可为人类大脑的低温冷冻保存策略及脑防护提供理论支撑.

关键词: 大脑; 脑脊液; 多孔弹性; 冻胀压力

中图分类号: O343 **文献标志码:** A **DOI:** 10.21656/1000-0887.450118

Thermo-Mechanical Analysis of Brain Tissue During Freezing

TAO Ze^{1,2}, SU Lijun^{1,2}, LIU Shaobao^{1,2}

(1. *State Key Laboratory of Mechanics and Control for Aerospace Structures, Nanjing University of Aeronautics and Astronautics, Nanjing 210016, P.R.China;*
2. *MIIT Key Laboratory of Multifunctional Lightweight Materials and Structures, Nanjing University of Aeronautics and Astronautics, Nanjing 210016, P.R.China*)

(Contributed by LIU Shaobao, M.AMM Editorial Board)

Abstract: Although the brain is the most important organ in the human body, its thermo-mechanical coupling mechanism during cryogenic freezing remains unclear. A thermo-mechanical model for the cryogenic freezing of brain tissue was established, considering the special shape of the skull and brain, the cerebrospinal fluid, the cranial constraints, and the frost-heave effects. Analyses of the temperature field, the phase field, and the pressure field caused by the frost heave of the cerebrospinal fluid during freezing show that, the temperature of the cerebrospinal fluid remains unchanged during coagulation, while the maximum temperature difference within the brain tissue could reach 20 K. The solid-liquid phase interface is about 0.3 mm thick, and the driving velocity is about 0.09 mm/s. The maximum displacement of the brain tissue due to freezing is about 0.12 mm near the skull, and the pressure gradient at the solid-liquid interface is as high as 500 MPa/mm, while the pressure in-

* 收稿日期: 2024-04-25; 修订日期: 2024-05-15

基金项目: 国家自然科学基金(12032010;11902155)

作者简介: 陶泽(1997—),男,博士(E-mail: ztao@nuaa.edu.cn);

苏丽君(1994—),女,博士(通讯作者. E-mail: ljsu@nuaa.edu.cn);

刘少宝(1988—),男,副研究员,博士,硕士生导师(通讯作者. E-mail: sbliu@nuaa.edu.cn).

引用格式: 陶泽, 苏丽君, 刘少宝. 低温冷冻下颅脑热-力耦合分析[J]. 应用数学和力学, 2024, 45(6): 710-718.

side the solid and the CSF keeps almost unchanged. This study provides a theoretical support for the human brain cryopreservation strategy and the brain protection.

Key words: brain tissue; cerebrospinal fluid; poro-elasticity; frost heaving pressure

0 引 言

在科学界,人类是否能够仿照玛士撒拉虫,通过降低新陈代谢而获得长达 2.6 亿年的寿命,依然是一个未解之谜。然而,从 4 万年前成功复活的完整冰冻线虫^[1]表明,生命在极端低温下似乎进入了一种休眠状态。目前,低温冷冻技术已被广泛运用于细胞、组织和器官的保存^[2-4],从而延长其离体保存时间,达到及时延续生命的作用。

细胞、组织和器官均可被视为由间质流体等液体与蛋白纤维网络等固体骨架构成的含液多孔材料。低温冷冻过程中,温度场、相场及压力场相互影响,导致生命体组织、器官功能受损,尤其是对大脑等重要器官的影响难以逆转^[5-7]。其中,细胞受损是瓶颈问题,主要是由于在快速降温过程中,细胞内外部的温度梯度引发细胞的结构和功能障碍^[2-3]。温度达到凝固点时,细胞内的水分子结晶扩张,产生机械性应力,导致细胞膜破裂和细胞器损伤^[4]。同时,冷冻过程中,细胞内外渗透压的差异促使细胞脱水 and 收缩,从而破坏细胞的结构^[5]。复温过程中,再结晶、渗透压和温度梯度也会导致细胞受损^[8-9]。就大组织器官而言,其内部存在多种细胞类型和结构排列,尤其是大脑包含多种类型神经元、胶质细胞,最易受到致死的冻伤^[10]。冷冻过程中,组织(器官)内部的部分区域由于液体覆盖和渗透不足,导致温度降低速度较慢,从而形成较大的温度梯度,造成冷冻的不均匀,进而影响其结构和功能^[11-12]。针对以上难点,人们试图通过改变冷冻方案来减少冷冻过程对细胞、组织和器官的损伤^[6-7],发现在超快速冷冻下(液氮),冰晶缺乏足够的时间进行有序排列,由此形成的非晶态具有结构松散、边缘形状不均匀的特点,不仅减少了对细胞膜和细胞器的机械性损伤,还可避免冰晶对细胞的穿刺^[13-14]。此外,冷冻保护剂(甘油、乙二醇,二甲基亚砷等)与水分子形成氢键或发生相互作用,从而可降低水的凝固点,抑制冰晶的形成^[6-7,15],而通过 3D 打印技术定制适宜大脑的冷冻空腔,则可避免因四周冻结速度差异引致的大脑变形^[16]。人们还发现,选取最佳冷却速率(isopentane in a dry ice bath, liquid nitrogen, freezer),可减少内外部温度差异,加快冷冻过程中冰锋的渗透,进而克服大体积下的冷冻不均匀性;采用该项技术,在冷冻体积为 150 cm³的猴子大脑时,成功避免了组织开裂^[17]。但是,国内外学者大多基于实验展开相关研究,缺乏相关理论指导。力学医学^[18-21]是近年来兴起的新学科领域,是指理解分子、细胞、组织、器官和个体对力学刺激的响应机制,采用力学测量、力学加载或干预力学转导等方法解决医学问题,从而产生新的医疗技术。因此,想要理解和进一步探索组织、器官的低温冷冻保存方案,建立其低温冷冻过程中的热-力耦合行为是关键。

大脑在低温冷冻过程中的热-力耦合行为十分复杂,外界环境降低首先会引起大脑温度场的改变,由此形成的温度梯度驱动其内的孔隙液体产生流动。随着温度进一步降低,大脑内部产生相变,且相场随时间而发展。此过程中,由于固-液密度差异,产生冻胀效应,进一步增加了研究的复杂性。鉴于阐明大脑在低温冷冻过程中的热-力耦合行为是理解其低温冷冻保存的关键,本研究考虑颅脑特殊形状、多孔弹性、脑脊液流动、颅骨约束和冻胀效应,建立颅脑低温冷冻热-力耦合模型,得到了颅脑冷冻过程中温度场、相场以及脑脊液冻胀产生的压力场的理论解,相关结果可为人类大脑的低温冷冻保存策略及脑防护提供理论支撑。

1 颅脑简化模型

被头盖骨包围并保护的脑组织位于颅腔内,呈现灰色和白色的交错分布。灰质主要分布于外围,形成大脑皮层,其表面布满褶皱和沟回(图 1(a))。白质则深藏于皮层下方,形成神经纤维束和胼胝体等结构。脑组织主要由神经细胞和胶质细胞构成,其内存在大量微小的间隙或空隙含液(如细胞间隙,血管间隙)。同时,脑室系统中的脑脊液环绕在脑组织周围,为其提供机械支撑、保护和营养。为便于后续理论分析,本文基于脑组织的位置、形状和脑脊液成分,建立被头盖骨包围的脑组织低温冷冻简化模型,如图 1(b)所示。将脑组织复杂的微结构及分布等效为半圆形含液多孔结构,半径为 R , 含液率为 θ_1 。假设脑组织各向同性,采用体积平

均法,可得其等效导热系数、热容、体积模量及剪切模量等材料参数.脑组织外围的约束(包括上方的头盖骨和下方的脊柱支撑)考虑为固支边界,在图1中用黑色线条表示.某一时刻,将初始温度为 T_i 的模型置于 T_e 的低温环境中,脑组织开始结冰.此过程中,脑脊液占比 θ_w 逐渐减少,固体占比 θ_i 逐渐增多,固液密度的差异引发体积膨胀,进而在头盖骨约束下增大颅脑内的压力.

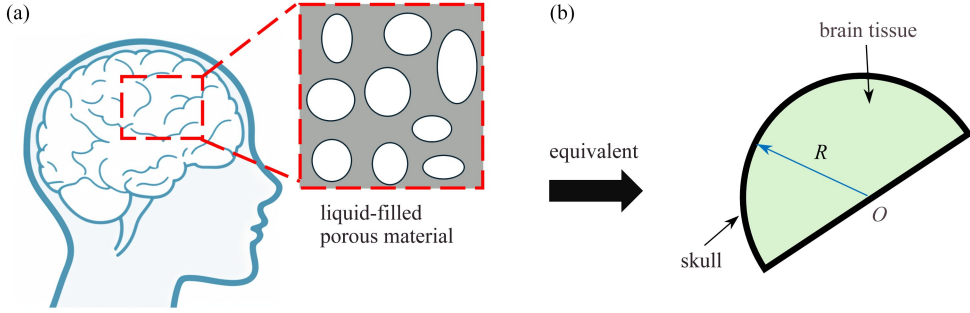


图1 颅脑简化模型

Fig. 1 Idealized modeling of the human brain

注 为了解释图中的颜色,读者可以参考本文的电子网页版本,后同.

1.1 控制方程

如图1所示,被头盖骨包围的脑组织温度场控制方程为

$$C(\theta) \frac{\partial T}{\partial t} = \lambda(\theta) \nabla^2 T + L\rho_i \frac{\partial \theta_i}{\partial t}, \quad (1)$$

式中, θ 为体积含量, T 为温度, L 为潜热, ρ 为密度, C 为热容, λ 为导热系数.在全文中,下标*i,w,m*分别代表冷冻形成的固体、脑脊液、基体. $\lambda(\theta)$ 为冷冻过程中的等效导热系数, $C(\theta)$ 为冷冻过程中的等效热容,二者均与此时的含液率相关,分别表示如下:

$$\lambda(\theta) = \lambda_w \theta_w + \lambda_i \theta_i + \lambda_m (1 - \theta_s), \quad (2)$$

$$C(\theta) = \theta_w \rho_w c_w + \theta_i \rho_i c_i + (1 - \theta_s) \rho_m c_m, \quad (3)$$

式中, c 为比热容, θ_s 为饱和含液率.

冷冻过程,脑脊液渗流的控制方程为

$$\frac{\partial \theta_w}{\partial t} + \frac{\rho_i}{\rho_w} \frac{\partial \theta_i}{\partial t} = \nabla(D(\theta_w) \nabla \theta_w + k(\theta_w)), \quad (4)$$

式中, k 为渗透系数, D 为扩散系数.

1.2 模型求解

低温冷冻过程中,温度场和渗流场的偏微分方程组(PDE)难以获得其理论解,故本文采用COMSOL Multiphysics 6.1的PDE建模求解.

以固液比 $B(T)$ 表示冷冻后形成的固体和脑脊液的体积比,以相对饱和度 S 表示脑脊液含量的变化,则

$$B(T) = \frac{\theta_i}{\theta_w} = \begin{cases} \frac{\theta_s - \theta_r}{\theta_r}, & T < -\Delta T, \\ \frac{\theta_s - \theta_r}{\theta_r} \frac{T_f - T}{\Delta T}, & -\Delta T < T < T_f, \\ 0, & T \geq T_f, \end{cases} \quad (5)$$

$$S = \frac{\theta_w - \theta_r}{\theta_s - \theta_r}, \quad (6)$$

式中, T_f 为凝固温度, θ_s 为饱和含液率, θ_r 为残余含液率.冷冻后,固体的含量 θ_i 及其对时间的偏导数 $\partial \theta_i / \partial t$ 可表示为

$$\theta_i = B(T) \theta_w = B(T) ((\theta_s - \theta_r) S + \theta_r), \quad (7)$$

$$\frac{\partial \theta_i}{\partial t} = (\theta_s - \theta_r) \left(S \frac{\partial B(T)}{\partial t} + B(T) \frac{\partial S}{\partial t} \right) + \theta_r \frac{\partial B(T)}{\partial t}. \quad (8)$$

由此,温度场控制方程转变为系数型偏微分方程形式,即

$$\left(C(\theta) - \frac{\partial B(T)}{\partial T} L \rho_i ((\theta_s - \theta_r) S + \theta_r) \right) \frac{\partial T}{\partial t} + \nabla \cdot (-\lambda(\theta) \nabla T) = L \rho_i (\theta_s - \theta_r) \left(B(T) \frac{\partial S}{\partial t} \right), \quad (9)$$

其中阻尼系数 d_a 、扩散系数 c 和源项 f 分别为

$$\begin{cases} d_a = C(\theta) - \frac{\partial B(T)}{\partial T} L \rho_i ((\theta_s - \theta_r) S + \theta_r), \\ c = \lambda(\theta), \\ f = L \rho_i (\theta_s - \theta_r) \left(B(T) \frac{\partial S}{\partial t} \right). \end{cases} \quad (10)$$

相应地,渗流场方程变为

$$\left(1 + \frac{\rho_i}{\rho_w} B(T) \right) \frac{\partial S}{\partial t} + \nabla \cdot (-D(S) \nabla S - k(S)) + \frac{\rho_i}{\rho_w} \frac{\partial B(T)}{\partial t} S = -\frac{\rho_i}{\rho_w} \left(\frac{\theta_r}{\theta_s - \theta_r} \frac{\partial B(T)}{\partial t} \right), \quad (11)$$

其中阻尼系数 d_a 、扩散系数 c 、源项 f 、守恒通量 γ 和吸收系数 a 分别为

$$\begin{cases} d_a = 1 + \frac{\rho_i}{\rho_w} B(T), \\ c = D(S), \\ f = -\frac{\rho_i}{\rho_w} \left(\frac{\theta_r}{\theta_s - \theta_r} \frac{\partial B(T)}{\partial t} \right), \\ \gamma = -k(S), \\ a = \frac{\rho_i}{\rho_w} \left(\frac{\partial B(T)}{\partial t} \right). \end{cases} \quad (12)$$

结合 Van Genuchten (VG) 模型求解扩散系数,可得

$$D(\theta_w) = \frac{k(\theta_w)}{c(\theta_w)} I, \quad (13)$$

式中, I 为阻抗因子, $k(\theta_w)$ 为渗透系数, $c(\theta_w)$ 为比水容量,可由下式给出:

$$I = 10^{-10\theta_i}, \quad (14)$$

$$k(\theta_w) = k_s S^l (1 - (1 - S^{1/m})^m)^2, \quad (15)$$

$$c(\theta_w) = a_0 m (1 - m) (\theta_s - \theta_r) S^{1/m} (1 - S^{1/m})^m, \quad (16)$$

式中, m, l, a_0 均为 VG 模型参数.

冷冻过程中,鉴于固液密度相异,脑组织的应变 ε 为

$$\varepsilon = \left(\frac{\rho_w}{\rho_i} - 1 \right) \theta_s (S_0 - S). \quad (17)$$

均一化后,脑组织的体积模量 K 和剪切模量 G 分别为

$$K = K_w \theta_w + K_i \theta_i + K_m (1 - \theta_s), \quad (18)$$

$$G = G_w \theta_w + G_i \theta_i + G_m (1 - \theta_s). \quad (19)$$

1.3 边界条件

相对于温度场控制方程(式(9))、渗流场控制方程(式(11))以及应变场控制方程(式(17)),边界条件如下所示.脑组织整体的初始温度 T_i 为

$$T_i = 293 \text{ K}. \quad (20)$$

某一时刻,头盖骨外侧温度(包括底部)变为

$$T_e = 223 \text{ K}. \quad (21)$$

脑组织的初始含液率 S_0 为

$$S_0 = \theta_s. \quad (22)$$

脑组织上部被头盖骨约束,下部被脊柱约束,故其整体的外部位移(包括底部) u_R 为

$$u_R = 0. \quad (23)$$

2 结果与讨论

接下来,分别分析脑组织在低温冷冻过程中的温度场、固液界面(相场)和内部压力分布,计算所用物理参数如表1所示。

表1 脑组织物理参数取值
Table 1 Values of brain physical parameters

physical parameter	value range	reference value
size r_i, r_o		5 cm
thermal conductivity of matrix λ_m	grey matter 0.57 W/(m·K) ^[22]	0.53 W/(m·K)
	white matter 0.50 W/(m·K) ^[22]	
	brain tissue 0.66 W/(m·K) ^[23]	
	cerebrospinal fluid 0.62 W/(m·K) ^[22]	
thermal conductivity of water λ_w	plasma 0.63 W/(m·K) ^[22]	0.60 W/(m·K)
	blood 0.63 W/(m·K) ^[23]	
	water 0.59 W/(m·K) ^[24]	
thermal conductivity of ice λ_i	ice 2.1 W/(m·K) ^[25]	2.1 W/(m·K)
specific heat capacity of matrix c_m	grey matter 3.7 kJ/(kg·K) ^[22]	3.7 kJ/(kg·K)
	white matter 3.6 kJ/(kg·K) ^[22]	
specific heat capacity of water c_w	cerebrospinal fluid 4.2 kJ/(kg·K) ^[22]	4.2 kJ/(kg·K)
	blood 3.6 W/(m ³ ·K) ^[23]	
	water 4.2 kJ/(kg·K) ^[26]	
specific heat capacity of ice c_i	ice 2.1 kJ/(kg·K) ^[25]	2.1 kJ/(kg·K)
density of matrix ρ_m	grey matter 1 038 g/cm ³ ^[22]	1.038 g/cm ³
	white matter 1 039 g/cm ³ ^[22]	
density of water ρ_w	cerebrospinal fluid 1 007 kg/m ³ ^[22]	1 007 kg/m ³
	blood 1 050 kg/m ³ ^[23]	
density of ice ρ_i	ice 917 kg/m ³ ^[27]	900 kg/cm ³
Young's modulus of brain E_m	338.15 Pa ^[28]	338.15 Pa
Young's modulus of ice E_i	8 GPa ^[29]	8 GPa
bulk modulus of water K_w	2 GPa	2 GPa
Poisson's ratio of brain μ_m	0.3 ^[28]	0.3
phase transition temperature of water T_f	273 K ^[30]	273 K
latent heat of phase change L	334 kJ/kg ^[31]	334 kJ/kg
environment temperature T_e	253 K ^[32]	253 K
initial temperature T_i		293 K
saturation capacity θ_s	0.75~0.95 ^[6]	0.9

2.1 温度场

脑组织温度场整体呈半圆形分布,外部温度逐渐降低,且向内逐渐降低(图2(a)).温度中心 O 点距离底 0.002 4 m.随时间推移, O 点的温度逐渐降低,约 40 s 达到凝固温度,并在此后的时间段内保持稳定,形成凝固中的平台期:外部液体冷却后释放的潜热被周围低温环境吸收,导致 O 点温度始终保持在凝固点附近. b 点位于沿 y 方向的分点,其温度略低于 O 点,且未观察到明显的平台期.凝固完成后(约 60 s),由于冰的导热系数远大于水(相差四倍),且潜热已完全释放,3 个观测点之间几乎不存在温度梯度.然而,凝固过程中

(耗时约 40 s),脑组织内部的最大温差约为 20 K(图 2(b)).温度梯度主要集中在已凝固的部分,呈左右对称分布,而尚未冻结区域的温度始终保持在凝固点.

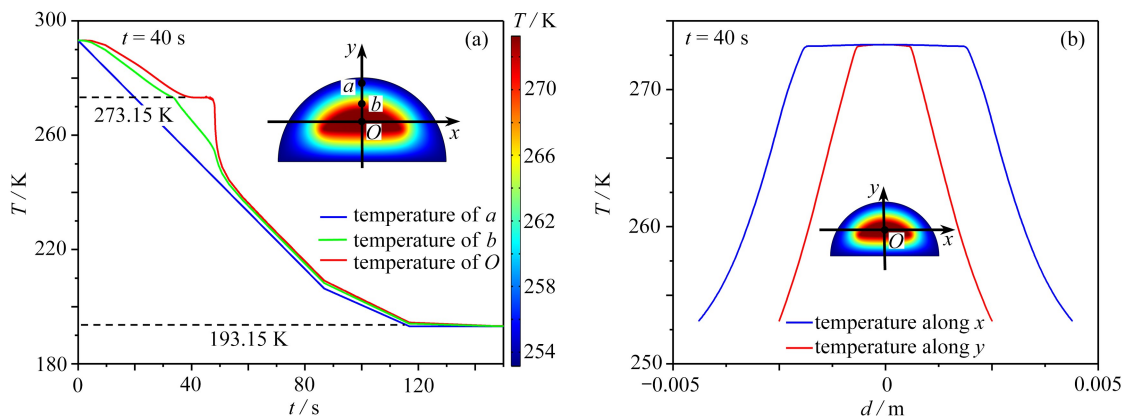


图 2 脑组织低温冷冻过程中的温度分布

Fig. 2 Temperature distributions in the brain tissue during freezing

2.2 相场

冷冻过程中,相对饱和度 S 是衡量脑组织内脑脊液体积分数变化的重要参数.图 3(a) 给出相对饱和度在通过温度中心 O 水平直线上的分布.冷冻初始,脑组织内部尚未开始发生冷冻,故其相对饱和度 S 为 1.随着冷冻的进行,相对饱和度逐渐减少,且存在明显的分界线.外部的冰层内几乎不存在液体,而内部脑脊液区域的相对饱和度基本相同.我们提取了分界线,即相界面,如图 3(b) 所示.考虑到模型的左右对称性,仅展示通过温度中心 O 水平直线右半部分的相界面移动过程.约 25 s 时,冰层刚开始形成,介于固液之间的区域约为 0.000 4 m;30 s 时,固液混合区域的大小无明显改变,且基本呈线性相关,以半圆形截面恒定速度向内推进.在总计 20 s 内,相界面移动了 0.001 8 m,冷冻速度为 0.09 mm/s.

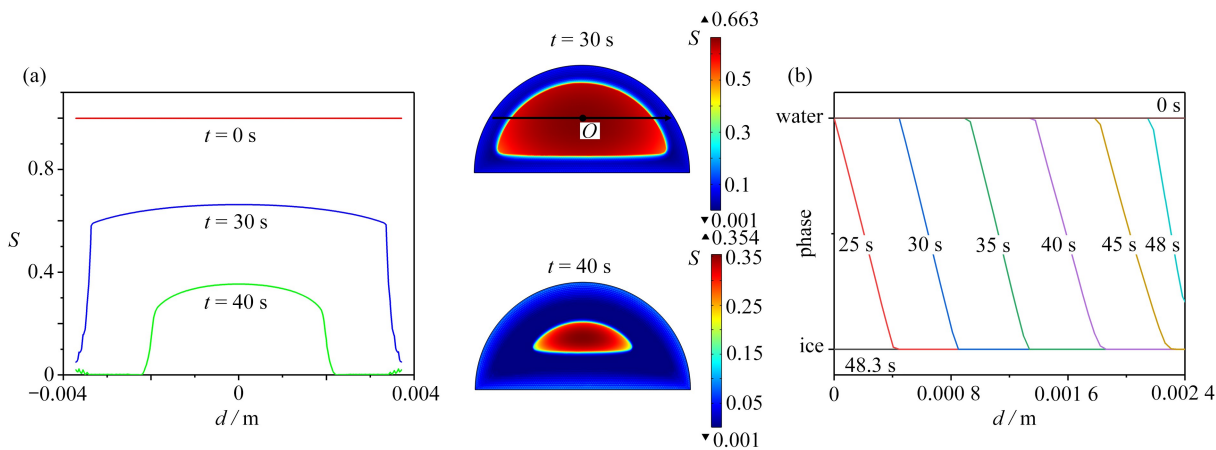


图 3 脑组织低温冷冻过程中的相场

Fig. 3 The phase field in the brain tissue during freezing

2.3 冻胀压力

在冷冻过程中,由于固体的密度小于液体,所以冷冻后体积会膨胀约 11.1%,引起脑组织内部的位移(图 4).开始凝固时,左右两侧的曲率远小于中间圆弧区域,所以形成了压力集中,位移场较大(图 4(a)).由于头盖骨的约束,最外侧的位移始终为零,而考虑到位移的左右对称性,中间的位移同样为零.由此,整体位移场由外而内,呈现先增大后减小的趋势(图 4(c)、4(d)).而上下边界的不对称,导致位移最大的位置并未形成闭环(图 4(e)).直至完全凝固时(图 4(f)),最大位移出现在上下两测,且靠近头盖骨位置,约为 0.12 mm.

冷冻过程中,脑组织左右两边区域的曲率逐步减小,导致压力较大,其余冰层压力近乎一致,如图 5(a) 所示.随着凝固的进行,冰的体积分数逐渐增大,导致体积膨胀,冰层压力进一步增大(图 5(b)).在固液混合

区域,压力逐渐减小,而在内部未冻结脑脊液处的压力恒定,导致固液界面处的压力梯度高达 500 MPa/mm 。由于冰层的体积模量大于水的体积模量(约3倍),故需更大的压力压缩冰层,导致冰层内部的压力较大。与此相反,在固液混合区域,随着固体体积分数的减小,通过均一化获得的等效体积模量相应减小,故仅需较小的压力便可满足凝固膨胀的体积。

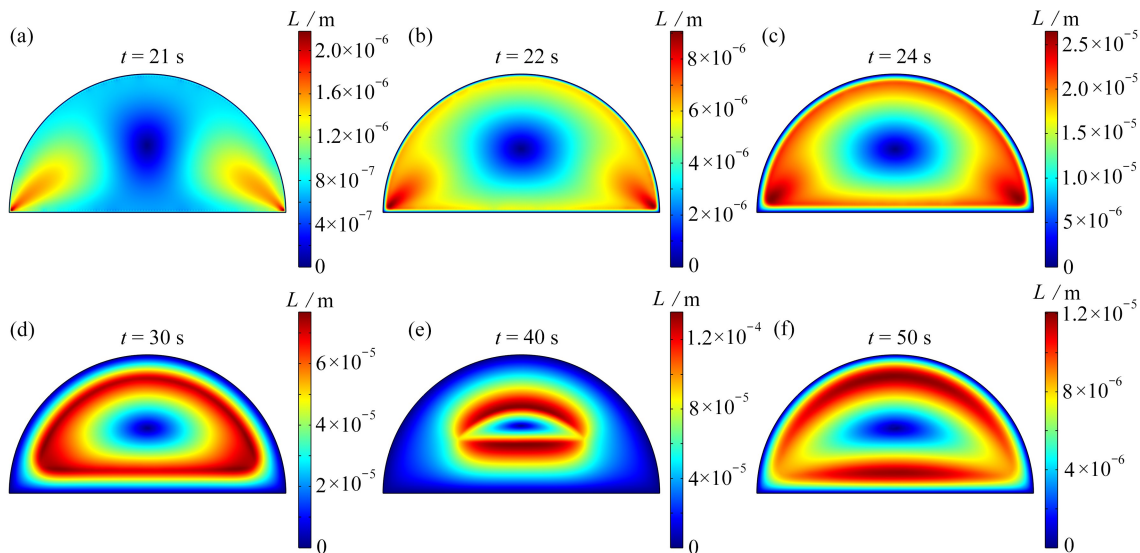


图4 脑组织冷冻中的位移场

Fig. 4 The displacement field in the brain tissue during freezing

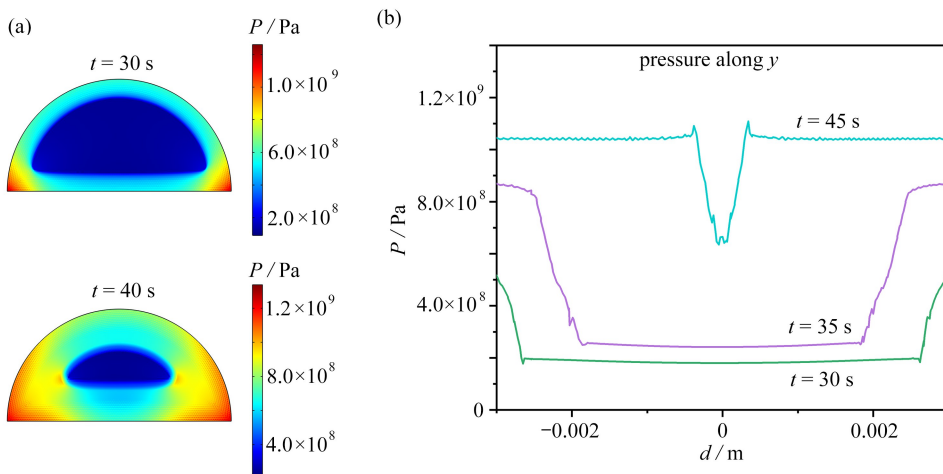


图5 脑组织低温冷冻过程中的压力分布

Fig. 5 The pressure distribution in the brain tissue during freezing

3 结 论

作为人体最重要的器官,大脑在低温冷冻下的力学行为尤为重要。本文忽略了脑组织复杂的微结构和功能,将脑组织简化为含液多孔结构,由此建立了大脑低温冷冻下的热-力耦合模型。通过对温度场、相场及压力场的分析,发现脑组织内部的最大温差为 20 K ,凝固速度为 0.09 mm/s ,持续约 30 s 。脑组织体积冻胀产生的最大位移在接近头盖骨处,且压力在固液界面处降低。

本文结果可为人类大脑的低温冷冻保存策略及脑防护提供理论支撑。后续研究需系统考虑脑组织的分布(左脑、右脑及小脑)、脑表面褶皱和沟回、突触连接和神经元的完整性等因素的影响,并开展相关实验研究验证理论预测结果。

致谢 本文作者衷心感谢航空航天结构力学及控制全国重点实验室青年学生项目(MCAS-S-0124K01)对本文的资助。

参考文献(References):

- [1] ONODY R N. *Criptobiose: um Vermeressuscitadepois de 46.000 Anos*[M]. São Carlos: Universidade de São Paulo, 2023.
- [2] MORRIS G J, ACTON E, MURRAY B J, et al. Freezing injury: the special case of the sperm cell[J]. *Cryobiology*, 2012, **64**(2): 71-80.
- [3] JANG T H, PARK S C, YANG J H, et al. Cryopreservation and its clinical applications[J]. *Integrative Medicine Research*, 2017, **6**(1): 12-18.
- [4] KARLSSON J O, TONER M. Long-term storage of tissues by cryopreservation: critical issues[J]. *Biomaterials*, 1996, **17**(3): 243-256.
- [5] ZHANG M, LI F, DIAO X, et al. Moisture migration, microstructure damage and protein structure changes in porcine longissimus muscle as influenced by multiple freeze-thaw cycles[J]. *Meat Science*, 2017, **133**: 10-18.
- [6] KUMARASAMI R, VERMA R, PANDURANGAN K, et al. A technology platform for standardized cryoprotection and freezing of large-volume brain tissues for high-resolution histology[J]. *Frontiers in Neuroanatomy*, 2023, **17**: 1292655.
- [7] CONAWAY R M. Method for preservation and storage of viable biological materials at cryogenic temperatures [P]. 1987-08-25.
- [8] HUNT C J. Technical considerations in the freezing, low-temperature storage and thawing of stem cells for cellular therapies[J]. *Transfusion Medicine and Hemotherapy*, 2019, **46**(3): 134-150.
- [9] KUMAR R, MOHANARAO G J, ATREJA A S K. Freeze-thaw induced genotoxicity in buffalo (*bubalus bubalis*) spermatozoa in relation to total antioxidant status[J]. *Molecular Biology Reports*, 2011, **38**: 1499-1506.
- [10] LEE R E, ALLENSPACH A L, COLLINS S D. Ultrastructural effects of lethal freezing on brain, muscle and Malpighian tubules from freeze-tolerant larvae of the gall fly, *Eurostasolidaginis*[J]. *Journal of Insect Physiology*, 1997, **43**(1): 39-45.
- [11] PEGG D E. The relevance of ice crystal formation for the cryopreservation of tissues and organs[J]. *Cryobiology*, 2010, **60**(3): S36-S44.
- [12] KLOCKE S, BÜNDGEN N, KÖSTER F, et al. Slow-freezing versus vitrification for human ovarian tissue cryopreservation[J]. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, 2015, **291**: 419-426.
- [13] NICOLAS G. Advantages of fast-freeze fixation followed by freeze-substitution for the preservation of cell integrity[J]. *Journal of Electron Microscopy Technique*, 1991, **18**(4): 395-405.
- [14] DE GRAAF I, VAN DER VOORT D, et al. Increased post-thaw viability and phase I and II biotransformation activity in cryopreserved rat liver slices after improvement of a fast-freezing method[J]. *Drug Metabolism and Disposition*, 2000, **28**(9): 1100-1106.
- [15] HUNT C J. Cryopreservation: vitrification and controlled rate cooling[J]. *Methods in Molecular Biology*, 2017, **1590**: 41-77.
- [16] PINSKIY V, TOLPYGO A S, JONES J, et al. A low-cost technique to cryo-protect and freeze rodent brains, precisely aligned to stereotaxic coordinates for whole-brain cryosectioning[J]. *Journal of Neuroscience Methods*, 2013, **218**(2): 206-213.
- [17] ROSENE D L, ROY N J, DAVIS B J. A cryoprotection method that facilitates cutting frozen sections of whole monkey brains for histological and histochemical processing without freezing artifact[J]. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, 1986, **34**(10): 1301-1315.
- [18] CHOWDHURY F, HUANG B, WANG N. Cytoskeletal prestress: the cellular hallmark in mechanobiology and mechanomedicine[J]. *Cytoskeleton*, 2021, **78**(6): 249-276.
- [19] ZHANG J, REINHART-KING C A. Targeting tissue stiffness in metastasis: mechanomedicine improves cancer therapy[J]. *Cancer Cell*, 2020, **37**(6): 754-755.

- [20] 季葆华. 生命系统中的力化耦合定量机制与力医学路径初探[J]. 医用生物力学, 2023, **38**(3): 433-450. (JI Baohua. Mechano-chemical coupling in living organisms and possible road map of mechanomedicine [J]. *Journal of Medical Biomechanics*, 2023, **38**(3): 433-450. (in Chinese))
- [21] 郭卉, 贺昱昇, 刘梦洁, 等. 肿瘤力医学[J]. 中华肿瘤杂志, 2024, **46**(6): 536-548. (GUO Hui, HE Yusheng, LIU Mengjie, et al. Tumor mechanomedicine [J]. *Chinese Journal of Oncology*, 2024, **46**(6): 536-548. (in Chinese))
- [22] SCHOONEVELDT G, TREFNÁ H D, PERSSON M, et al. Hyperthermia treatment planning including convective flow in cerebrospinal fluid for brain tumour hyperthermia treatment using a novel dedicated paediatric brain applicator[J]. *Cancers*, 2019, **11**(8): 1183.
- [23] PONDER E. The coefficient of thermal conductivity of blood and of various tissues[J]. *The Journal of General Physiology*, 1962, **45**(3): 545-551.
- [24] KELL G, WHALLEY E. Reanalysis of the density of liquid water in the range 0~150 °C and 0~1 kbar[J]. *The Journal of Chemical Physics*, 1975, **62**(9): 3496-3503.
- [25] MYERS T, LOW J. An approximate mathematical model for solidification of a flowing liquid in a microchannel [J]. *Microfluidics and Nanofluidics*, 2011, **11**: 417-428.
- [26] MANYA J J, ANTAL JR M J, KINOSHITA C K, et al. Specific heat capacity of pure water at 4. 0 MPa between 298. 15 and 465. 65 K[J]. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 2011, **50**(10): 6470-6484.
- [27] PUSTOGVAR A, KULYAKHTIN A. Sea ice density measurements. Methods and uncertainties[J]. *Cold Regions Science and Technology*, 2016, **131**: 46-52.
- [28] SU L, WANG M, YIN J, et al. Distinguishing poroelasticity and viscoelasticity of brain tissue with time scale [J]. *Acta Biomaterialia*, 2023, **155**: 423-435.
- [29] GOW A J, UEDA H T, GOVONI J W, et al. Temperature and structure dependence of the flexural strength and modulus of freshwater model ice: CRREL Rept 88-6[R]. 1988.
- [30] WAN X, LIU E, QIU E. Study on ice nucleation temperature and water freezing in saline soils[J]. *Permafrost and Periglacial Processes*, 2021, **32**(1): 119-138.
- [31] JAIN A, MIGLANI A, HUANG Y, et al. Ice formation modes during flow freezing in a small cylindrical channel [J]. *International Journal of Heat and Mass Transfer*, 2019, **128**: 836-848.
- [32] SCHÄFER A T, KAUFMANN J D. What happens in freezing bodies? Experimental study of histological tissue change caused by freezing injuries[J]. *Forensic Science International*, 1999, **102**(2/3): 149-158.