

文章编号: 1001-3806(2007)02-0156-04

一种红细胞光散射模型的研究

吴大建, 洪云, 卜敏, 王亚伟*
(江苏大学理学院, 镇江 212013)

摘要: 针对球形细胞模型理论与双凹圆盘状的红细胞在实际光散射法检测中的差异, 根据细胞的类别特征, 提出以扁椭球模型来模拟红细胞, 以 Rayleigh-Debye-Gans 近似理论为基础, 引入扁椭球的体极化率, 得到了扁椭球模型的散射光公式, 并进行数值模拟, 研究其光散射特性。结果表明, 扁椭球模型更精确地反映了红细胞光散射的真实情况, 同时其前向、侧向及后向光散射精细谱的呈现, 可以较容易地辨别病理状态的红细胞, 能够较好地提高医学检验及诊断的精度, 并可以应用于对红细胞的变形性研究。

关键词: 散射; 红细胞; 扁椭球; 形体因子
中图分类号: O436.2 **文献标识码:** A

A model for light scattering from red blood cells

WU Da-jian, HONG Yun, BU Min, WANG Ya-wei
(Faculty of Science, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China)

Abstract Considering the difference between the real blood cells and their spheroid model for the scattering detection of cells, a model was presented to calculate the light scattering properties of nucleated cells which were modeled by flat ellipsoid. The light scattering characteristics were derived from the Rayleigh-Debye-Gans approximation and the volume polarizability. Results show that the model is superior to ball model. The model can reflect the true configuration of the blood cells more accurately. In addition, the simultaneous detection of the light scattering intensities in the forward-scatter, lateral-scatter and back-scatter directions can help us to distinguish the different cell types from heterogeneous population of blood cells. It can be well used in cell classification and research of cell transfiguration.

Key words scattering; red blood cell; flat ellipsoid; body factor

引 言

血液检查是医学检验的最常规、最重要的项目之一。随着激光、高频传导、细胞化学、免疫化学和微机等高技术在医学领域的应用, 血液学的自动检验技术取得了很大的进展。特别是激光散射技术^[1], 由于其具有不破坏样品、快速、准确等优点, 被广泛地应用于血细胞的自动计数及分类中。而红细胞作为血液中的最主要的光散射物, 它的光散射的研究具有重要的价值。因此, 很多学者对红细胞的散射模型、变形性、各向异性、聚集等^[2~8]作了细致、周密的研究。现有的红细胞散射理论及应用多以均匀球、镀膜球等简单的规则球模型为主, 以 Mie 散射理论为判断的标准。但是, 成熟的正常红细胞实际上是双面凹的圆盘状, 均匀

球 Mie 散射理论并不能很好地反应其真实情况, STENK 和 SHEHERD 的研究^[9]已证实了这一点。所以, 对于现有的许多以球模型为基础的血液分析仪, 在测量结果上必然会产生一定的偏差, 对医学诊断的准确性产生一定的影响。作者提出建立一种椭球模型来代替球模型, 以修正的 Rayleigh-Debye-Gans (RDG) 近似理论^[10]为基础, 通过改进 RDG 的形状因子 $P(\theta)$, 来分析红细胞的散射光分布, 更加真实、精确、简便地反映了红细胞的真实情况。并且, 以形体因子 η ^[11, 12]表述扁椭球模型的形态, 形体因子的改变对应着细胞形态的变化, 实现对已变形的病变红细胞加以区分, 也可以很好的应用于红细胞的变形性的研究。

1 原 理

作者所提出的模型是基于 Rayleigh-Debye-Gans 近似 (或 Born 近似), 并且仅仅研究单一散射及弹性光散射的情况。

散射光的角强度由下式给出:

$$I(\theta) = I_0 \frac{i_1(\theta) + i_2(\theta)}{2k_0^2 R^2} \quad (1)$$

基金项目: 江苏省教育厅自然科学基金资助项目 (04KJ140017)

作者简介: 吴大建 (1979-), 男, 助教, 硕士, 主要从事物理学的教学工作。

* 通讯联系人。E-mail: zjywjw@public.zj.js.cn

收稿日期: 2006-01-16 收到修改稿日期: 2006-03-21

式中, $i_n(\theta) = |S_n(\theta)|^2$, θ 为探测角。对于散射光的振幅函数 $S_n(\theta)$, $n=1$ 时表示电场矢量垂直于散射面; $n=2$ 时表示电场矢量平行于散射面。 I_0 指入射光的强度, 微粒到观察点的距离用 R 表示, k_0 是指微粒外传播区域内的传播常数, $k_0 = 2\pi/\lambda_0$, 这里 λ_0 是入射光在真空中的波长。

散射光的振幅函数为:

$$\left. \begin{matrix} S_1(\theta) \\ S_2(\theta) \end{matrix} \right\} = k_0^3 \alpha(r) P(\theta) \begin{pmatrix} 1 \\ \cos\theta \end{pmatrix} \quad (2)$$

极化率 $\alpha(r)$, 形状因子^[2] $P(\theta)$ 则包含了细胞大小、形状和折射率 $[m(r)]$ 等信息:

$$P(\theta) = \frac{1}{v} \int_V [m^2(r) - 1] \exp\left[i2k_0 r \sin\left(\frac{\theta}{2}\right)\right] dv \quad (3)$$

$m(r)$ 与周围的介质的相对折射率。如果相对的折射率接近 1, 且变化较小、相移较小的情况下, 可以用发生区域代替内部, 同时 SHIMIZU^[10] 给出了微粒内电磁场的传播常数的修正, (3) 式中 k_0 用 $k_0 \cdot m(r)$ 替换, 可以用以求得大体积实体的光散射。

对于真实的红细胞采用扁椭圆模拟, 其数学表式为: $\frac{x^2}{a^2} + \frac{y^2}{a^2} + \frac{z^2}{b^2} = 1$ ($a > b$), 相对折射率为 m , 形体因子 $\eta = \frac{a}{b}$ (见图 1)。

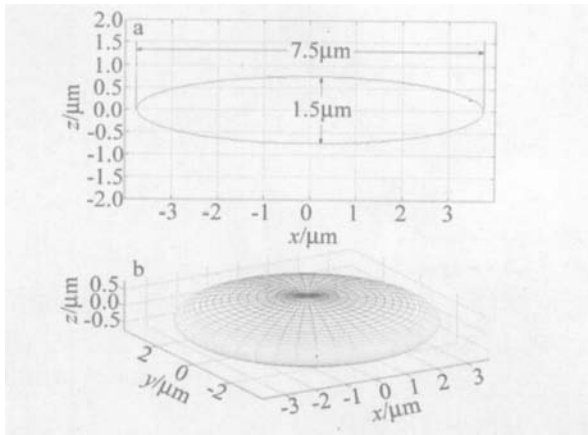


Fig 1 Flat ellipsoid model

当光线沿 z 方向正入射时, 引入扁椭球体的体积极化率^[13] 为: $M_z = \frac{(m^2 - 1)n_z}{1 + (m^2 - 1)n_z}$, 其中沿 z 轴方向的退

磁系数为: $n_z = \frac{1+e^2}{e^3} (e - \arctan e)$; 偏心率 $e =$

$\sqrt{\eta^2 - 1}$ 。当光线沿 x, y 方向正入射时, 扁椭球体的体极化率相同为: $M_x = M_y = \frac{(m^2 - 1)n}{1 + (m^2 - 1)n}$, 其中: $n = (1 - n_z)/2$ 。如果 $e \ll 1$, 则沿各轴向的 n 的值分别为: $n_z = \frac{1}{3} + \frac{2e^2}{15}$, $n_x = n_y = \frac{1}{3} - \frac{e^2}{15}$ 在这里首先考虑光线沿

z 轴正入射情况: 极化率 $\alpha = \frac{a^3}{\eta} M_z$ 。

令 $P'(\theta) = \alpha(r)P(\theta)$, 则:

$$P'(\theta) = \int_V \frac{3}{4\pi} M_z [m^2 - 1] \exp\left[i2k_0 m r \sin\left(\frac{\theta}{2}\right)\right] dv \quad (4)$$

$$P'(\theta) = 8 \int_0^a dz \int_0^{\sqrt{a^2 - \eta^2 z^2}} dy \int_0^{\sqrt{a^2 - y^2 - \eta^2 z^2}} \frac{3}{4\pi} \times \\ M_z [m^2 - 1] \exp\left[i2k_0 m r \sin\left(\frac{\theta}{2}\right)\right] \quad (5)$$

为了便于计算, (5) 式化为球坐标形式, 令 $x' = x, y' = y, z' = \eta z$ 则 $dx' = dx, dy' = dy, dz' = \eta dz$ 此时的积分限由椭圆变为球: $x'^2 + y'^2 + z'^2 = a^2$ 。

将上述结果代入 (5) 式得:

$$P'(\theta) = \frac{1}{\eta} \int_0^\pi d\varphi \int_0^\pi d\rho \int_0^a \frac{3}{4\pi} M_z [m^2 - 1] \times \\ \exp\left[i2k_0 m r \sqrt{1 + \left(\frac{1}{\eta^2} - \cos^2\varphi\right)} \cos^2\varphi \sin\left(\frac{\theta}{2}\right)\right] r^2 \sin\varphi dr \quad (6)$$

由于积分限是椭圆, 且被积函数比较复杂, 无法得到 (6) 式的精确的解析解表达式, 因此, 应用计算机软件对其进行数值模拟, 获得散射光的强度分布, 可以对不同的形体因子及折射率条件下的细胞模型进行分析。若 $\eta = 1$ 时, 可以得到 (6) 式的解析解表达式:

$$P(\theta) = 3 \left\{ \sin\left[2mk_0 \sin\left(\frac{\theta}{2}\right)b\right] - 2mk_0 \sin\left(\frac{\theta}{2}\right) \times \right. \\ \left. b \cos\left[2mk_0 \sin\left(\frac{\theta}{2}\right)b\right] \right\} \left[2mk_0 \sin\left(\frac{\theta}{2}\right)b\right]^3 \quad (7)$$

(7) 式与修正的 Rayleigh-Debye-Gans 近似的均匀球的结果一致^[10]。

2 各种不同情况红细胞光散射

生物细胞都是由细胞膜包绕而成, 在其内部的细胞质和电解质溶液中还包含了细胞核和其它细胞器。但是成熟的红细胞不含有细胞核或其它细胞器, 红细胞细胞膜的光学特性主要由脂类双分子层决定, 其厚度约 7nm, 折射率为 1.46 细胞质的折射率为 1.40。利用 Rayleigh-Gans 公式可以估算出在一般情况下细胞膜的贡献可以忽略。采用入射光为 HeNe 激光 (632.8nm), 选取悬浮介质的折射率为 1.345。由于血红蛋白的影响, 可以得到红细胞的相对折射率的范围为 1.04~1.05。

对于在医学检验领域中应用比较广泛的流式细胞仪, 如美国的 Techmicon H3 AHA、日本东亚公司的 Sysmex R-300 B、D 公司的 QBCII 等, 细胞在流动过程中, 在通过光敏区时的位置取向是不同的, 因而入射截面也不相同。在这里考虑两种极限情况: 入射光沿短轴方向正入射及入射光沿长轴方向正入射。选取于与

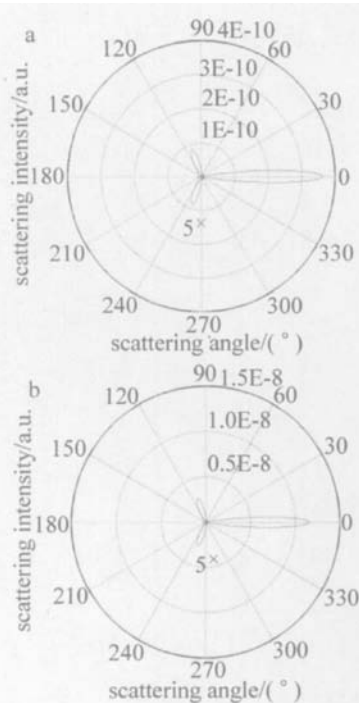


Fig 2 Scattered light distribution for incidence from x-axis and z-axis
a—x-axis is b—z-axis

标准红细胞一致的模型参数 ($m = 1.05$, $a = 7.5 \mu\text{m}$, $b = 1.5 \mu\text{m}$), 图 2 中分别给出了沿两方向入射的光散射图样, 图中为了便于观察, 将后向及侧向散射光放大了 5 倍。

从图中可以看出, 散射光的强度的变化是非常明显的, 而对于反映细胞内部的侧向及后向散射光的分布基本一致。在下面讨论中主要研究沿长轴入射情况。

对于一般血液病的病理状况下 m 的值很容易超出正常值的范围, 折射率的变化将对散射光产生较大的影响, 在下面的计算中, 选取 m 在正常值附近变化 ($1.03 \sim 1.07$)。从图 3 中可以看出, 折射率的变化不仅对前向光散射产生影响, 对反映内部信息的测向和后向光散射也有影响, 因而对于病理状况下的红细胞很容易从散射光的分布中区分出来。图 3d 是折射率变化的三维散射光分布图, 图中为了便于观察, 将散射光强度取 $\lg(I)$, 可以看出随着折射率的增加散射光强度将非线性增长。

在许多病理情况中红细胞的形体会发生改变, 即使在有些正常情况下红细胞也会产生变形, 红细胞的

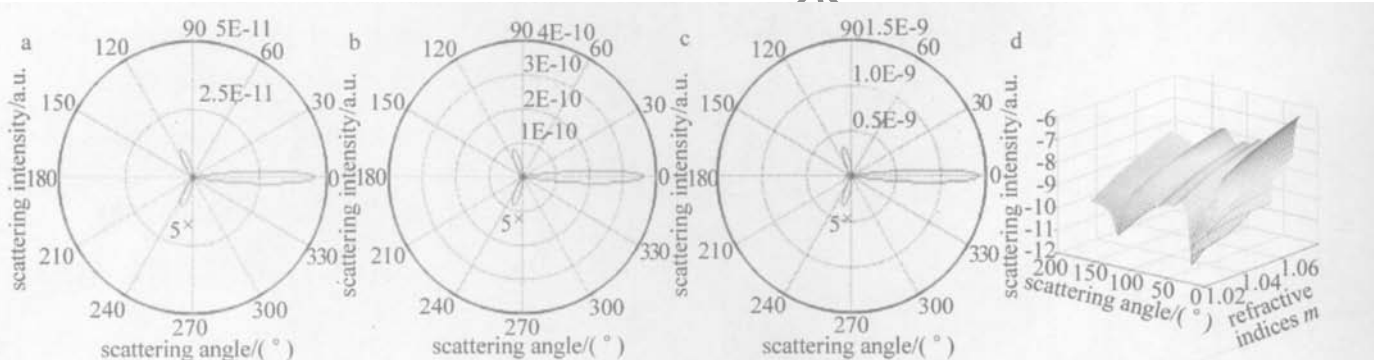


Fig 3 Scattering patterns for different refractive index
a— $m = 1.03$ b— $m = 1.05$ c— $m = 1.07$ d—3-D map for different refractive index

变形性是红细胞流变学的重要指标之一。应用形体因子 η 对红细胞的形体进行标定, 形体的改变对应着形体因子的变化, 形体的变化对散射光的影响非常的强烈 (见图 4), 前向散射光随着形体的变大逐渐向前向

集中, 是符合米氏效应的^[14], 后向及侧向散射光在形体的变化下的改变是很明显的。图 4d 显示随着形体因子的增加 (同样取 $\lg(I)$), 散射光极小值位置逐渐增多, 并向小角度偏移。

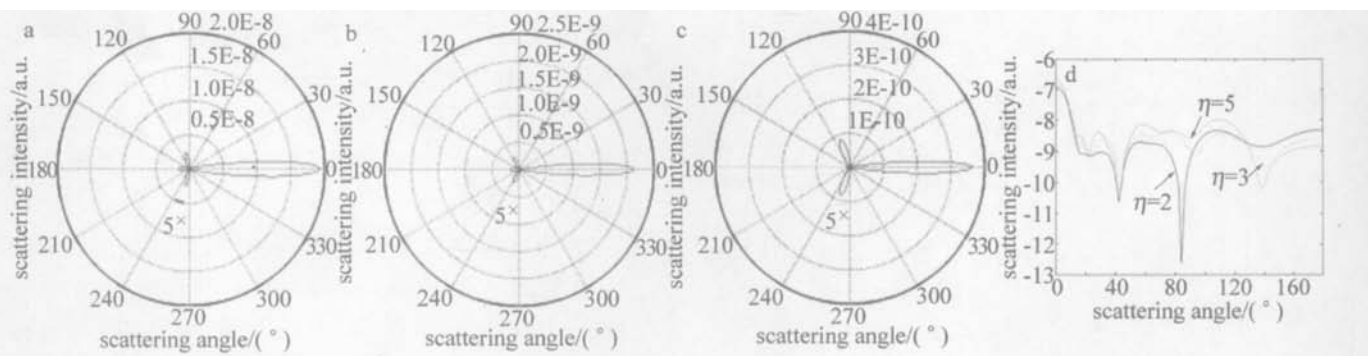


Fig 4 Scattering patterns for different body factors
a— $\eta = 1.5$ b— $\eta = 3$ c— $\eta = 5$ d—comparative map

3 结 论

提出的扁椭球模型代替通常所用的球模型来研究红细胞的光散射,以修正的 Rayleigh-Debye-Gans 近似理论为基础,引入扁椭球的体极化率,得到了扁椭球的散射光公式,并引用计算机软件对其进行数值模拟,研究了各种不同的情况下的散射光分布。理论研究结果表明:(1)扁模型在近似到球体问题时与修正的 Rayleigh-Debye-Gans 近似理论时完全一致;(2)红细胞在通过光敏区时的位置取向将对散射光产生较大的影响;(3)对于不同的形体因子的红细胞模型,前向散射完全符合米氏效应;后向及侧向散射光也有明显的变化,随着形体因子的增加,散射光极小值位置逐渐增多,并向小角度偏移;(4)对于不同折射率的红细胞模型,相同形体散射光分布基本不变,强度将随着折射率的增加非线性增长。

扁椭球模型更加反映了红细胞的实际情况,能得到更精确的测量结果;通过选择不同的的大小的形体因子可以很好地对病变的变形红细胞进行区分,同时也可以应用于对细胞的变形性研究上。可以较好地应用于现代医学检验仪器,提高检验精度,进而提高诊断的正确性。

参 考 文 献

- [1] CRAM L S, MARTIN J C, STENKAMP J A *et al* New flow cytometric capabilities at the national flow cytometry resource [J]. *Proc IEEE*, 1992, 80(6): 912~917.
- [2] SLOOT P M A, FIGDOR C G. Elastic light scattering from nucleated blood cells rapid numerical analysis [J]. *Appl Opt*, 1986, 25(9): 3559~3565.
- [3] YAN D P, LIU F, WANG Zh D *et al* Real time visualization and quantitative measurement of rocket exhausted plumes field [J]. *Laser Technology*, 1996, 20(6): 332~334(in Chinese).
- [4] GAN X M, YOU H H, WANG Zh D *et al* Display and quantitative measurement of simulated exhaust flow field by Moiré deflectometry [J]. *Laser Technology*, 1999, 23(2): 65~67(in Chinese).
- [5] KAUFMAN M. Moiré deflectometry: a ray deflection approach to optical testing [J]. *Opt Engng*, 1985, 24(6): 944~960.
- [6] POSNER J D, DUNN-RANKIN D. Temperature field measurements of small nonpremixed flames with use of an Abel inversion of holographic interferograms [J]. *Appl Opt*, 2003, 42(6): 952~959.
- [7] STRICKER J. Analysis of 3-D phase objects by Moiré deflectometry [J]. *Appl Opt*, 1984, 23(20): 3657~3659.
- [8] FARBS G W, BYER R L. Three-dimensional beam-deflection optical

- [9] GAO Sh M, LAN X F, LIU Y *et al* A analysis of Ar⁺ laser induced erythrocyte fluorescence spectra with various wavelengths [J]. *Laser Technology*, 2004, 28(3): 315~318(in Chinese).
- [10] YANG Y, ZHANG Zh X, YANG X H *et al* Blood cell counting and classification by nonflowing laser light scattering method [J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2004, 9(5): 995~1001.
- [11] HE J P, KARLSSON A, SWARTING J *et al* Light scattering by multiple red blood cells [J]. *Journal of the Optical Society of America A (Optics, Image Science and Vision)*, 2004, 21(10): 1953~1961.
- [12] BORDI F, CAMETTI C, di BIASIO A *et al* Quasielastic light scattering from large anisotropic particles application to the red blood cells [J]. *Bioelectrochemistry*, 2000, 52(2): 213~221.
- [13] LOPATON V V, PRICZHEV A V. Multiple light scattering by suspensions of erythrocytes in geometrical optics approximation [J]. *Proc SPIE*, 2002, 4749: 267~274.
- [14] TSIPOPOULOS S V, SELLOUNTOS E J, POLYZOS D *et al* Light scattering by aggregated red blood cells [J]. *Appl Opt*, 2002, 41(7): 1408~1417.
- [15] SEUNKE J M, SHEPHERD A P. Comparison of Mie theory and light scattering of red blood cells [J]. *Appl Opt*, 1988, 19(1): 4027~4033.
- [16] SHIMIZU K. Modification of the Rayleigh-Debye approximation [J]. *JOSA*, 1983, 73(4): 504~507.
- [17] WANG Y W, HE A Zh, LU X L. Probability characterization method of arbitrary particles distribution and its measurement [J]. *Acta Optica Sinica*, 2002, 22(3): 363~367(in Chinese).
- [18] WANG Y W, WU D J. Dynamical characteristics of the shape influence factor in scattering field and improvement of perturbation equation [J]. *Acta Optica Sinica*, 2003, 23(10): 1261~1265(in Chinese).
- [19] JAHODA J D, LANDAU L D, M KHA FOR CH LIFSCITZ E. Electrodynamics of continuous medium [M]. Beijing: People's Education Press, 1978. 29~60(in Chinese).
- [20] WANG N N. Application of laser measuring technology in particle size [M]. Beijing: Atomic Energy Press, 2000. 138~140(in Chinese).
- [21] tomography of a supersonic jet [J]. *Appl Opt*, 1988, 27(24): 5202~5212.
- [22] YAN D P, LIU F, WANG Zh D *et al* Moiré tomography by ART [J]. *SPIE*, 1996, 2861: 146~150.
- [23] ZHU D Zh. Laser metrology for thermal physics [M]. Beijing: Science Press, 1990. 4~12(in Chinese).
- [24] YAO H B, HE A Zh. Improvement of the reconstruction algorithm of optical computerized tomography [J]. *Acta Optica Sinica*, 2004, 24(2): 158~161(in Chinese).
- [25] YAO H B, HE A Zh, WU Y Ch *et al* Three-dimensional tomography of incomplete data with fusion of virtual and real experiments [J]. *Acta Optica Sinica*, 2005, 25(4): 479~484(in Chinese).
- [26] WAN X, HE X D, GAO Y Q. A novel limited-view tomography algorithm based on maximum entropy and its application [J]. *Acta Optica Sinica*, 2003, 23(12): 1433~1438(in Chinese).

(上接第 155 页)