

电阻法测量红细胞流变特性的理论探讨*

文宗耀 曲 勤 赵玉衡 王鸿儒
(北京医科大学物理教研组 100083)

吴本价
(北京医科大学生物物理教研组)

陶祖莱
(中国科学院力学研究所)

摘 要

作者在以前研制成功的电导法测定红细胞变形性以及聚集——沉降仪器的基础上改进了测量仪器。从Fricke—Velick 悬浮液电导理论出发,对该仪器测得的结果进行了理论上的探讨,并证明所测得的 $\Delta Z/Z-\dot{\gamma}$ 曲线反映了红细胞在切变流场中由随机状态变为沿切变流场的取向与变形,并取得了理论与实验结果的一致,为电阻抗法测定红细胞流变特性奠定了理论基础。

引 言

红细胞流变特性研究是当前国内外血液流变学研究的中心课题,它对心血管疾病,肿瘤以及各种血液病的诊断,治疗进程的观察均具有极为重要的意义。国内外报导了许多测定红细胞流变特性的方法,其中也包括我们自行设计研制的电导法测量红细胞流变特性的仪器^[1,2]。本文在此基础上进一步改进了测量仪器,用四电极代替二环形铂金电极,对消除电极极化和毒化、降低仪器成本起了积极作用,电子学电路上也作了进一步改进。引入了相对阻抗变化率描写红细胞流变性,并以Fricke-Velick的悬浮液电导理论出发,引入变形因子,从理论上证明了 $\Delta Z/Z-\dot{\gamma}$ 曲线确实反映了红细胞在逐渐增加的切变流场中的取向与变形行为,作者利用各种血样模型完成了一系列实验,结果表明,理论与实验符合得相当好。

仪 器

如图1所示,该仪器主要部件是一个透明的有机玻璃制成的两同心旋转圆筒,内筒直径40.00mm,外筒直径40.80mm,两筒相距0.40mm。外筒固定,内筒旋转,在外筒内壁下四分之三处,装有四个环形银制电极,外侧两检测电极相距30.00mm,内侧两接收电极相距10.00mm。血样置于两转筒之间约1.5ml,当内筒旋转时,红细胞取向、变形引起的电阻抗(或

* 本课题受国家自然科学基金资助

电导)变化通过内侧两电极接收,经放大后,通过微机处理后打印出 $\Delta Z/Z_0 - \dot{\gamma}$ 和 $\Delta Z/Z_0 - t$ 曲线,它们分别从准静态及动态角度描述了红细胞取向与变形行为,本文将着重讨论前者,对于动态特性将另文讨论。

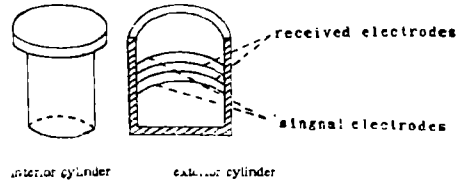


Fig.1 Principal figure of instrument with electrical impedance method.

血样制备

取新鲜兔静脉血,经肝素抗凝,再用 PBS (磷酸缓冲液,与血之比 10:1)清洗三次(3000×g,离心 15 分钟)后,再用 6% 右旋糖酐磷酸缓冲液(DS)作为悬浮介质,按下列要求配制血样:

A.用清洗后的红细胞与 DS 液分别配成血球压积 14%、23%、31%、45% 和 57% 的 5 种血样。

B.用清洗后的红细胞,悬浮于 PBS 液中,再加不同含量甲醛,使悬浮液中 甲醛浓度分别为 0%、0.1%、0.2% 与 0.25%,在 37℃ 下处理约半小时后,再用 PBS 清洗三次,与 DS 液配成血球压积 25% 的四种血样。

C.用清洗后的红细胞与含有 6%、10%、15% 及 20% 右旋糖酐(分子量 70000)不同浓度的 PBS 液配成四种血球压积为 25% 的血样。

上述所有血样各 6ml (每血样测 5 次取平均),测量在取血后两小时内完成。

结 果

1.通过微机控制,使内筒从静止状态开始逐渐加速,此时,两圆筒间红细胞经历的切应力为 $\eta\dot{\gamma}$,此处 $\dot{\gamma}$ 为切变率(0—800秒⁻¹), η 为悬浮介质粘度。仪器自动测得的阻抗相对变化率 $\Delta z/z_0$ 为 $\dot{\gamma}$ 的函数,即得到 $\Delta z/z_0 - \dot{\gamma}$ 曲线,此处, Z_0 为转筒静止时的电阻抗, $\Delta z = z - z_0$,将当切变率为 $\dot{\gamma}$ 时对应的电阻抗 z 与 z_0 之差(对于我们设计的仪器,此值为负值)。所得结果如图 2 所示。

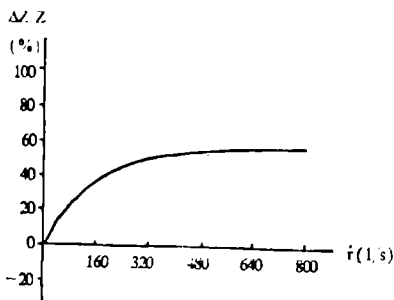


Fig.2 $\Delta Z/Z_0 - \dot{\gamma}$ curve for RBC suspension (H=25%).

2.对血样 A 中各血样测得如图 3 所示结果,由图可见,血球压积 H 越高,曲线变化率及最大值也越大。

3.对血样 B 中各血样(即正常血、分别用不同甲醛浓度 0.1%、0.2% 及 0.25% 处理的血样,血球压积 25%,右旋糖酐浓度 6% 的悬浮介质)所测得的 $\Delta z/z_0 - \dot{\gamma}$ 曲线如图 4 所示。由图中可见,不同浓度处理的红细胞所引起的变形性的差异,可以从 $\Delta z/z_0 - \dot{\gamma}$ 曲线中各曲线间的变化率与最大值的差异中反映出来,即甲醛浓度越大,红细胞变形性越差,曲线变化率越小,最大值也越小。

4.作 C 血样中各血样的 $\Delta Z/Z_0 - \dot{\gamma}$ 曲线,如图 5 所示、从图中不难发现,相同血球压积,不同悬浮介质浓度(即不同粘度)的血样中,相同切变率下,红细胞所受的切应力不同。特别值得注意的是,随着悬浮介质粘度的增加,曲线经过最大值后 $\Delta Z/Z_0$ 开始随 $\dot{\gamma}$ 增加而减小,并向左侧移动,即粘度越高,最大值($\Delta Z/Z_0$)...对应的 $\dot{\gamma}$...越小, $\Delta Z/Z_0$ 随

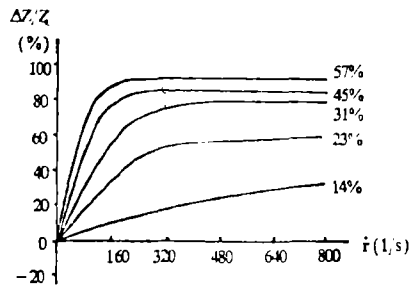


Fig.3 $\Delta Z/Z_0$ — $\dot{\gamma}$ curves for RBC suspension of different hematocrits (6% dextran)

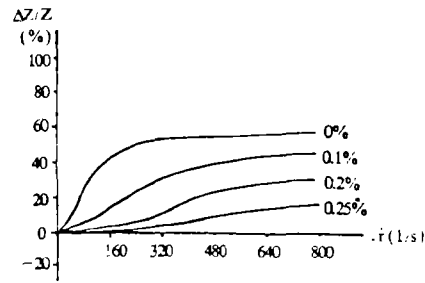


Fig.4 $\Delta Z/Z_0$ — $\dot{\gamma}$ curves for RBC suspension treated with formalin of different concentrations.

切变率 ($\dot{\gamma} > \dot{\gamma}_{max}$) 的降低越快。

讨论

1.通常, 由于悬浮液的电阻抗张量是对称的, 所以测得的阻抗可用三个主阻抗来表征。设大小均匀的红细胞(近似认为椭球形), 当外加电场与红细胞三个主轴之一的方向一致时, 如将红细胞看成不导电粒子, 由Fricke^[3]理论知, 对于稀释等同非导电的红细胞(在外加电场频率变化不太高情况下) 悬浮液的电阻抗可表为

$$Z_i = Z_0 [1 + Hf_i / (1 - H)] \quad i = 1, 2, 3 \quad (1)$$

式中 Z_i 为悬浮介质阻抗, H 为血球压积, f_i 为仅决定于红细胞外形的形状因子, 它定义为

$$f_i = \frac{1}{3} \sum_{i=1}^3 \frac{2}{2 - abcL_i} \quad (2)$$

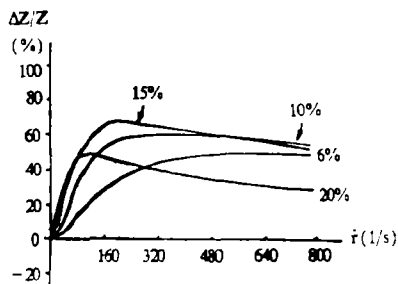


Fig.5 $\Delta Z/Z_0$ — $\dot{\gamma}$ curves for RBC suspension of dextran of different concentrations.

此处,

$$L_1 = \int_0^\infty \frac{d\lambda}{(a^2 + \lambda)^{3/2} (b^2 + \lambda)^{1/2} (c^2 + \lambda)^{1/2}} \quad (2a)$$

$$L_2 = \int_0^\infty \frac{d\lambda}{(a^2 + \lambda)^{1/2} (b^2 + \lambda)^{3/2} (c^2 + \lambda)^{1/2}} \quad (2b)$$

$$L_3 = \int_0^\infty \frac{d\lambda}{(a^2 + \lambda)^{1/2} (b^2 + \lambda)^{1/2} (c^2 + \lambda)^{3/2}} \quad (2c)$$

式中, $a, b,$ 和 c 为椭球三主轴, λ 为积分区域。

相对于电场方向, 当红细胞随机取向时, 其悬浮液的电阻抗值 Z 为^[4]

$$Z = \sum_{i=1}^3 \frac{Z_i \cos^2 \theta_i}{\sum_{i=1}^3 \cos^2 \theta_i} \quad (3)$$

式中, $\cos \theta_i$ 为外电场方向与红细胞第 i 个主轴之间的方向余弦。对于未受切应力作用的红细胞 $Z_1 \approx Z_3$ (相当于椭球中两主轴相等), 注意到 $\sum_{i=1}^3 \cos^2 \theta_i = 1$, 因而, 此时红细胞悬浮

液的电阻值应为

$$Z = Z_0 [1 + H(f_2 - 1)] / (1 - H) + H / (1 - H) \cdot Z_0 (f_1 - f_2) \overline{\cos^2 \theta_i} \quad (4)$$

$$\text{或} \quad \overline{\cos^2 \theta_i} = \frac{(Z/Z_0 - 1)(1 - H) / H - f_2}{f_1 - f_2} \quad (4a)$$

式中, Z_0 为悬浮介质电阻抗, 值 $\overline{\cos^2 \theta_i}$, 表示在相对于三个测量方向的红细胞对称轴的方向, 平均余弦平方, 由于 $\sum_{i=1}^3 \overline{\cos^2 \theta_{i,a}} = 1$, (4a), 可得^[4]

$$\sum_{i=1}^3 \frac{[Z_i/Z_0 - 1](1 - H)}{H} = f_1 + 2f_2 = 3f_r \quad (5)$$

式中 Z_i 为相对于长轴 a 方向悬浮液电阻抗, f_r 为主轴随机取向的形状因子。

由测得的 Z , Velick 和 Gorin^[5] 已根据 Fricke 理论通过 (1), (2), (2a), (2b), (2c) 和 (5) 式算出 f_1 、 f_2 及随机取向的形状因子 f_r 并已列表, 例如我们引入于下列表中不同轴比和不同外加电场方向的形状因子。

The shape factors of ellipsoids of various axis rations and applied field orientations:

axis rations	f_r	f_2	f_1	models
1:1:1	1.500	1.500	1.500	sphere
3:3:1	1.781	1.220	2.714	oblate spheroid
4:2:1	1.684	1.402	2.526	ellipsoid
4:4:1	1.901	1.174	3.356	oblate spheroid
5:3:1	1.855	1.264	3.180	ellipsoid
6:2:1	1.776	1.446	2.714	ellipsoid
5:5:1	2.195	1.143	4.000	oblate spheroid
6:4:1	2.054	1.198	3.860	ellipsoid
7:3:1	1.973	1.283	3.560	ellipsoid

note: f_r : orientation of random

f_2 : Long axis perpendicular to external field, intermediate axis parallel to external field

f_1 : Long axis perpendicular to external field, short axis parallel to external field

当红细胞悬浮液置于电阻抗仪的两圆筒之间而内筒旋转时 (仪器环形电极之间电场方向垂直于红细胞长轴), 则红细胞产生变形, 形状因子随切应力 $\tau(\eta\dot{\gamma})$ 变化, 此时的形状因子 f_1, f_2 应称为变形因子, 因此, 对应于表中三种形状因子, 此时可分别为 $f_r(\eta\dot{\gamma}), F_1(\eta\dot{\gamma})$ 和 $F_2(\eta\dot{\gamma})$, 因而我们可通过红细胞悬浮液的电阻变化来测定红细胞在切变流场中取向和变形。

2. 为了描写红细胞在切变流场中电阻抗值变化率与其转向、变形的关系, 为此, 我们引入下面无因次相对变化率作为仪器测量值

$$\frac{Z(\eta\dot{\gamma}) - Z_0}{Z_0} = \frac{\Delta Z(\eta\dot{\gamma})}{Z_0} \quad (6)$$

式中, Z_0 为转筒静止时, 两接收环形电极间红细胞悬浮液电阻抗 $\Delta Z(\eta\dot{\gamma})$ 为切变率 $\dot{\gamma}$ 时的电阻抗 Z 与 Z_0 之差, 此时 Z_0 可表为

$$Z_0 = Z_0 [1 + Hf_r / (1 - H)] \quad (7)$$

将 (4), (7) 式代入 (6) 式经简化后得

$$\Delta Z(\eta\dot{\gamma}) / Z_0 = \frac{F_2(\eta\dot{\gamma}) + [F_1(\eta\dot{\gamma}) - F_2(\eta\dot{\gamma})] \overline{\cos^2 \theta_1(\eta\dot{\gamma})} - f_r}{(1/H) + (f_r - 1)} \quad (8)$$

式中, f_r 为血样静止时红细胞随机取向因子, 由于对于所测血样 f_r 恒定 (例如, 对于一般哺乳类动物, 红细胞轴比近似为 4:4:1, 由上面表知: $f_r = 1.901$), 故 $\Delta Z(\eta\dot{\gamma}) / Z_0$ 仅与 $F_1(\eta\dot{\gamma})$, $F_2(\eta\dot{\gamma})$ 和 $\overline{\cos^2 \theta_1(\eta\dot{\gamma})}$ 有关, 因此我们仪器所测得的价值确实反应了红细胞在切变流场中取向与变形。

由 (8) 式可见, 血球压积 H 越大, 该式等号右端分母越小, $\Delta Z(\eta\dot{\gamma}) / Z_0$ 信号负值贡献越大。下面再分两种情况进行讨论:

(1) 当 η 较小时

当悬浮介质粘度 η 较小时 (通常情况下小于 4CP), 切变流场对红细胞作用力所产生的变形不大时, (8) 式近似变为

$$\Delta Z(\eta\dot{\gamma}) / Z_0 = \{F_2(0) + [F_1(0) - F_2(0)] \overline{\cos^2 \theta_1(\eta\dot{\gamma})} - f_r\} \frac{1}{(1/H) + (f_r - 1)} \quad (9)$$

考虑到当 $\dot{\gamma} = 0$ 时, $\Delta Z(\eta\dot{\gamma}) / Z_0 = 0$ 及在低粘度切变场中, 红细胞可能发生滚动, 因而不能认为 θ_1 与流场方向完全一致 ($\theta_1 = \frac{\pi}{2}$, 令其平均 $\overline{(\theta_1(\eta\dot{\gamma}))} = \theta_e$ 。为了满足上述条件, 故

$\overline{(\theta_1(\eta\dot{\gamma}))}$ 可以表为

$$\overline{\theta_1(\eta\dot{\gamma})} = \arccos \left[\sqrt{\frac{f_r - F_2(0)}{F_1(0) - F_2(0)}} \right] \cdot e^{-A\dot{\gamma}} + \theta_e e^{-\frac{1}{B\dot{\gamma}}} \quad (10)$$

如设红细胞轴比为 4:4:1, 由上述表查得 $(F_1(0), F_2(0))$ 和 f_r 以及 (10) 式, 不难求得, 当 $\dot{\gamma} = 0$, 则 $\overline{\cos^2 \theta_1} = 0.33$, 即可知 $\theta_1 = 54^\circ 50'$ 。同样, 对于轴比 3:3:1 的红细胞, $\dot{\gamma} = 0$ 所算的 θ_1 也为 $54^\circ 50'$, 这与 Dellimore 等^[4] 的理论和结果一致。

由 (9)、(10) 式可知 $\Delta Z(\eta\dot{\gamma}) / Z_0$ 随切变率 $\dot{\gamma}$ 增加, (9) 式等号右边 $[F_1(0) - F_2(0)] \overline{\cos^2 \theta_1(\eta\dot{\gamma})}$ 逐渐减少, 亦即 $\Delta Z(\eta\dot{\gamma}) / Z_0$ 由零变为负值, 当 $\theta_1(\eta\dot{\gamma})$ 达到 θ_e 时, $\Delta Z(\eta\dot{\gamma}) / Z_0$ 达到负最大值 (我们仪器所测得的 $\Delta Z(\eta\dot{\gamma}) / Z_0$ 为阻抗减小值, 因此 $\Delta Z / Z_0$ — $\dot{\gamma}$ 曲线相当于 $\Delta I / I_0$ — $\dot{\gamma}$, 即电导随切变率变化曲线) 以后近似不变。这一结果与图 5 中低粘度 (6% 右旋糖酐) 悬浮介质所测得的结果一致。当然, (9) 式中此时的 “ $F_1(0)$ ” 以及 “ $F_2(0)$ ” 实际上也随 $\dot{\gamma}$ 有少许变化。由此可见, 在低 η 时, $\Delta Z(\eta\dot{\gamma}) / Z_0$ 除了反映红细胞少许变形外, 主要是描写红细胞在切变流场中, 由随机取向到大致与流场方向一致的取向过程。即变形因子由 $f_r \rightarrow F_2(\eta\dot{\gamma})$, $\Delta Z(\eta\dot{\gamma}) / Z_0$ (近似) $\rightarrow \frac{F_2(\eta\dot{\gamma}) - f_r}{1/H + (f_r - 1)}$ 最大幅值的过程 (在 η 小

时, 由表知 $f_r > F_2(\eta\dot{\gamma})$, 故表现为 $\Delta Z(\eta\dot{\gamma})/Z_0$ 负的最大值, 或电导值达到最大值)

(2) η 较大时

当 η 较大 (通常, $\eta > 15\text{CP}$) 时, 仪器内筒逐渐加速后, 切变流场产生的切应力足以使 $F_1(\eta\dot{\gamma})$ 和 $F_2(\eta\dot{\gamma})$ 发生较大的变化, 而且红细胞长轴迅速转向与流场方向基本一致, 即

$\theta_1 = \frac{\pi}{2}$ 。考虑到 $\dot{\gamma} = 0$ 时 $\Delta Z(\eta\dot{\gamma})/Z_0 = 0$ 应等于零, 故此时的相对阻抗变化率为:

$$\Delta Z(\eta\dot{\gamma})/Z_0 = \{F_2(\eta\dot{\gamma}) + [F_1(\eta\dot{\gamma}) - F_2(\eta\dot{\gamma}) \cos^2\theta_1(\eta\dot{\gamma}) - f_r] \cdot \frac{1}{(1/H) + (f_r - 1)}\} \quad (11)$$

与上述讨论相同, 可求得 θ_1 应为

$$\theta_1(\eta\dot{\gamma}) = \arccos \left[\sqrt{\frac{f_r - F_2(0)}{F_1(0) - F_2(0)}} \right] \cdot e^{-A\dot{\gamma}} + \theta_{1e} e^{-\frac{1}{B\dot{\gamma}}} \quad (12)$$

由以上两式可知, 随 $\dot{\gamma}$ 的增加 $\Delta Z(\eta\dot{\gamma})/Z_0$ 开始由零减为负值, 又因为对于较小的 $\dot{\gamma}$, $F_2(\eta\dot{\gamma})$ 的增加远小于 $[F_1(\eta\dot{\gamma}) - F_2(\eta\dot{\gamma})] \cos^2\theta_1(\eta\dot{\gamma})$ 的减小 (因 $\theta_1 = \pi/2$), 因而 $\Delta Z(\eta\dot{\gamma})/Z_0$ 的负值很快上升到近似 $(F_2(\eta\dot{\gamma}) - f_r) \cdot \frac{1}{(1/H) + (f_r - 1)}$, 当 $\dot{\gamma}$ 进一步增加, 切应力增加, 即轴比增加, $F_2(\eta\dot{\gamma})$ 进一步增加, 故 $[F_2(\eta\dot{\gamma}) - f_r]$ 经最大负值后开始减小, 使得 $\Delta Z(\eta\dot{\gamma})/Z_0$ 变化规律如图 5 中 20% 右旋糖酐的悬浮介质的 $\Delta Z/Z_0 - \dot{\gamma}$ 曲线。当 $\dot{\gamma} > \dot{\gamma}_{\dots}$ 后, $\Delta Z(\eta\dot{\gamma})/Z_0$ 的变化规律可表为

$$\Delta Z(\eta\dot{\gamma})/Z_0 = [F_2(\eta\dot{\gamma}) - f_r] \cdot \frac{1}{(1/H) + (f_r - 1)} \quad \dot{\gamma} > \dot{\gamma}_{\dots}$$

或

$$F_2(\eta\dot{\gamma}) = [(1/H) + (f_r - 1)] \Delta Z/Z_0 + f_r = C \cdot \frac{\Delta Z}{Z_0} + f_r \quad (13)$$

式中, 压积一定时 C 为常数。由上式可见 $\Delta Z/Z_0$ 与 F_2 成线性规律变化。如果已测得 $\Delta Z/Z_0 - \dot{\gamma}$, 并已知 H, f_r (查表, 如对轴比为 4:4:1 的红细胞, $f_r = 1.921$), 则不难通过 (13) 式求得 $\dot{\gamma} > \dot{\gamma}_{\dots}$ 的所有 F_2 值, 即求得 $F_2(\eta\dot{\gamma}) - \dot{\gamma}$ ($\dot{\gamma} > \dot{\gamma}_{\dots}$) 曲线。以上事实充分证明了当 $\dot{\gamma} > \dot{\gamma}_{\dots}$ 之后, $\Delta Z/Z_0$ 完全描写了红细胞变形性。值得注意的是, 由于 η 较大, 所以即使对于较小的 $\dot{\gamma}$, $F_2(\eta\dot{\gamma})$ 仍有较大的增加, 使得此时的值 $(F_2(\eta\dot{\gamma}) - f_r)$ η 较小时有较小的负值, 因而 $(\Delta Z/Z_0)_{\dots}$ 反而减小, 如图 5 所示。

3. 当我们用不同浓度甲醛处理红细胞后, 因而红细胞变形性发生不同程度化, 即相同切应力作用的切变流场中, 引起红细胞不同程度的 $F_1(\eta\dot{\gamma})$, $F_2(\eta\dot{\gamma})$ 和 $\cos\theta_1(\eta\dot{\gamma})$ 改变, 故和得到不同 $\Delta Z/Z_0 - \dot{\gamma}$ 曲线。处理红细胞的甲醛浓度越大, $\dot{\gamma}$ 增加时引起的 $F_1(\eta\dot{\gamma})$, $F_2(\eta\dot{\gamma}) \cos\theta_1(\eta\dot{\gamma})$ 变化越小, 即 $\Delta Z/Z_0 - \dot{\gamma}$ 变化率与 $(\Delta Z/Z_0)_{\dots}$ 越小, 这与图 4 所测得的结果一致。

结 论

综合上述讨论,用我们研制的电阻抗法红细胞流变特性自动测试仪,可定量描述红细胞在切变流场中的转向与变形行为。当悬浮介质粘度较小时($\eta < 4\text{cp}$),以描写红细胞在切变流场中取向为主;当粘度较大时($\eta > 15\text{cp}$),低于 $\dot{\gamma}_{\dots}$ 区域以描写红细胞取向特性为主,高于 $\dot{\gamma}_{\dots}$ 区域以描写红细胞变形性为主。

参 考 文 献

- (1) 文宗曜等, *Clinical Hemorheology (U.S.A)*. Vol.8, 1988, 205—212
- (2) 文宗曜等, *中国科学(B辑)*, (9), 1991, 937—943
- (3) Fricke H. et al.; *Phs.Rev.*24, 1924, 575—587
- (4) Dellimore J. et al.; *Jappl.Phys.*44, 1973, 5599—5603
- (5) Velick.S., et al.; *J.Gen.Physiol.*23, 1940, 733—771

THEORETICAL RESEARCH ON MEASUREMENT OF RBC RHEOLOGY BEHAVIOUR WITH IMPEDANCE METHOD

Wen Zongyao Qu Qin Zhao Yuheng Wang Hongru *Wu Benjie *Tao Zulai

(*Beijing Medical University Physics department*)

*(*Beijing Medical University Biophysics department*)

**(*Institute of Mechanics, Science Academy of china*)

ABSTRACT

Based on electrical conductivity method developed by the authors for the measurement of RBC deformability, the prototype of the instrument has been improved by replacing two ring platinum with four silver ring electrodes. By means of Fricke-Velick's electrical conductivity, theory of RBC suspension, the results obtained from experiments were discussed theoretically and showed that $\Delta Z/Z_0 - \dot{\gamma}$ curve reflects RBC orientation process from random to the direction and deformability in shear flow field. Theoretical results consist with experiments well and provide a theoretical basis for the measurement of RBC rheology behaviour with impedance method.

本文于1991年6月3日收到