

文章编号: 0258-7025(2009)10-2614-05

红细胞的几种光学近似模型及其光信息分布特征

袁 润¹ 王亚伟² 蔡 兰¹

(¹ 江苏大学机械工程学院, 江苏 镇江 212013; ² 江苏大学理学院, 江苏 镇江 212013)

摘要 根据红细胞(RBC),最佳地选择了球、核式和盘式光学模型,应用光散射理论和光学虚拟仿真技术,分别研究了这3种模型下光散射幅值和相位的分布特征,发现红细胞的光散射全息信息,尤其是相位分布特征与真实细胞的形态密切相关,也就是说,由细胞的相位分布特征完全可以解析出其形态结构。因此,无需进行细胞的三维重建就可以直接由细胞的相位分布特征对细胞进行模式识别和分类检测。

关键词 全息; 光散射; 特征; 检测; 细胞

中图分类号 O436.2;O438.1 文献标识码 A doi: 10.3788/CJL20093610.2614

Several Optical Approximate Model and Light Message Distribution Characteristics of Red Blood Cells

Yuan Run¹ Wang Yawei² Cai Lan¹

(¹ School of Mechanical Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang, Jiangsu 212013, China)
² Faculty of Science, Jiangsu University, Zhenjiang, Jiangsu 212013, China)

Abstract Based on the characteristics of both amplitude distribution and phase distribution in cell's scattering, which is based on the optical characteristics of three models they are sphere; nuclear and disc-type models for red blood cells (RBC). Considering the actual optical characteristics of cells, the light scattering theory and optical virtual simulation technology are applied. The results show that the scattering hologram of cells, especially the phase distributing properties, is closely related with the cell morphology. In other words, the phase distributing properties can resolve the cell morphology. Therefore, the cells can be directly recognized and sorted by the phase distributing properties and can't need for patterns reconstruction of cells three-dimensional.

Key words holography; light scattering; characteristics; detection; cell

1 引 言

激光散射测量技术以其快速、简便、无破坏性、精确、重复性好等优点在细胞生物学领域中取得了巨大的发展和广泛的应用^[1~4]。现有的细胞光散射测量技术一般是以球系列模型为基础,以均匀介质中的均匀球体在平面单色光照射下求得严格数学解的米氏(Mie)散射理论为判断标准。但是,有核细胞是各向异性的(细胞质、细胞核),其形体特征又是多样的。对于病理状态下的细胞而言,由于功能受到损害极易发生形体上的变化。因此,简单的球体系列模型与米氏理论并不能精确地表示真实测量中的非球形细胞与病变细胞。所以,国内外专家学者对细胞模型开展了很多的研究^[5~14]。但是,对各种

模型下光学全息分布特征的研究相对很少,尤其是相位分布特征的研究。为此,本文基于对真实细胞光学特征的研究,最佳选择了球、核式和盘式模型,分别研究了该模型下光散射幅值分布和相位分布的特征,发现血细胞(RBC)的光散射全息信息特征与真实细胞的形态密切相关。

2 红细胞的几种近似模型

严格的光散射电磁场理论是利用光的波动性质,应用 Maxwell 方程对颗粒的散射求解,从而得到振幅函数和散射函数。但严格解法受许多限制,对于一些复杂问题,如相关散射、复散射、非球形颗粒等,至今尚难以给出精确的结果。米氏散射理论

收稿日期: 2008-09-08; 收到修改稿日期: 2008-11-17

基金项目: 江苏省六大人才高峰基金(06-E-059)和江苏省自然科学基金(BK2008230)资助课题。

作者简介: 袁 润(1965—),男,副教授,博士研究生,主要从事激光应用方面的研究。E-mail: yrun@ujs.edu.cn。

导师简介: 蔡 兰(1939—),女,教授,博士生导师,主要从事先进制造与激光应用方面的研究。

是对处于均匀介质中的各向同性均匀颗粒在单色平行光照射下的 Maxwell 方程边界条件的严格数学解,适用于一切均匀球形颗粒。但是当散射颗粒的线度远小于波长,即无因次参量 $\alpha \ll 1$ 及 $\alpha(m-1) \ll 1$ 时,米氏散射将过渡到 Rayleigh 散射;当散射颗粒的线度远大于波长时,米氏散射将过渡到衍射情况;当 $\alpha \rightarrow \infty$ 时,米氏解与几何光学有相同结果。因此,球形模型是红细胞的一种最为简单的模型。

生物细胞都是由细胞膜包裹而成,在其内部的细胞质和电解质溶液中还包含了细胞核和其他细胞器。但是成熟的红细胞不含有细胞核或其他细胞器,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 7 nm,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 He-Ne 激光(0.6328 μm),选取悬浮介质的折射率为 1.345,由于血红蛋白的影响,可以得到红细胞相

对折射率的范围为 1.04~1.05。因为红细胞的球形模型不能够表示细胞质的结构,所以产生了另一种核式椭球模型。对于真实的有核细胞采用两个同心旋转椭球模拟^[15],内椭球指细胞核,其数学表达式为: $\frac{x^2}{\eta^2 a^2} + \frac{y^2}{a^2} + \frac{z^2}{a^2} = 1$,细胞核的相对折射率为 m_a ;外椭球指细胞质,其数学表达式为: $\frac{x^2}{\eta^2 b^2} + \frac{y^2}{b^2} + \frac{z^2}{b^2} = 1$,细胞质的相对折射率为 m_b ; η 为细胞的形体因子。

考虑到真实血红细胞的形体是如图 1 所示的形体,上述两种模型对于真实红细胞的表征存在着较大的误差。因此,产生了盘形红细胞模型,即将 RBC 模型看成旋转对称体,其对称轴的双曲面彼此呈镜面对称,看成由下面的 4 个曲线叠加旋转而成,旋转曲线方程为^[16]

$$^1 h_{(x,y)} = \frac{cr^2}{1 + \sqrt{1 - (1-k)c^2 r^2}} - r - 0.8r^3, 0 < r \leq R; \tag{1}$$

$$^2 h_{(x,y)} = \frac{br^2}{1 + \sqrt{1 - (1-k)b^2 r^2}}, 0 < r \leq R_1; \tag{2}$$

$$^3 h_{(x,y)} = -\frac{cr^2}{1 + \sqrt{1 - (1-k)c^2 r^2}} + r + 0.8r^3, 0 < r \leq R; \tag{3}$$

$$^4 h_{(x,y)} = -\frac{br^2}{1 + \sqrt{1 - (1-k)b^2 r^2}}, 0 < r \leq R_1; \tag{4}$$

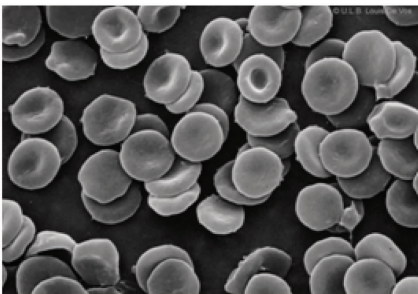


图 1 RBC 的形体电镜图

Fig. 1 Electron micrographs of RBC

式中 $c = \frac{1}{R}, b = \frac{1}{R_1}, r = \sqrt{x^2 + y^2}, R = 5 \mu\text{m}, R_1 = 0.8 \mu\text{m}, k$ 为系统内设的形体常数, h 为高度分布函数。由此得到 RBC 的双曲面对称体模型。

3 光散射下的幅值和光强分布

在球形模型下,根据 Rayleigh-Gans 散射理论,当入射光为自然光时,散射光强度按散射角 θ 的空

间分布为^[17]

$$I_{\perp} = \frac{8\pi^4 \alpha^6}{r^2 \lambda^4} \left(\frac{m^2 - 1}{m^2 + 2} \right)^2 I_0, \tag{5}$$

$$I_{//} = \frac{8\pi^4 \alpha^6}{r^2 \lambda^4} \left(\frac{m^2 - 1}{m^2 + 2} \right)^2 I_0 \cos^2 \theta, \tag{6}$$

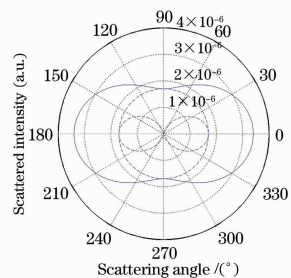


图 2 球形模型下的瑞利散射分布

Fig. 2 Rayleigh scattering distribution under spherical model

式中 I_0 和 λ 分别为入射光的强度和波长, m 为介质的折射率, r 为散射颗粒到观察点间的距离, θ 为散

射角, α 为无量纲参量 ($\alpha = 2\pi a/\lambda$), a 为颗粒半径, 则其散射光强分布为

$$I(\theta) = \frac{8\pi^4 \alpha^6}{r^2 \lambda^4} \left(\frac{m^2 - 1}{m^2 + 2} \right)^2 I_0 (1 + \cos^2 \theta). \quad (7)$$

$$P'(\theta) = \eta \int_0^\pi d\varphi \int_0^{2\pi} d\rho \int_0^a \alpha_a' |m_a^2 - 1| \exp \left[i2k_0 m_a r \sqrt{1 + (\eta^2 - 1) \cos^2(\rho) \sin^2(\varphi)} \sin\left(\frac{\theta}{2}\right) \right] r^2 \sin(\varphi) dr + \eta \int_0^\pi d\varphi \int_0^{2\pi} d\rho \int_0^b \alpha_b' |m_b^2 - 1| \exp \left[i2k_0 m_b r \sqrt{1 + (\eta^2 - 1) \cos^2(\rho) \sin^2(\varphi)} \sin\left(\frac{\theta}{2}\right) \right] r^2 \sin(\varphi) dr. \quad (8)$$

选择入射光波长为 $0.6328 \mu\text{m}$, 取生理盐水悬浮介质的折射率为 1.345 , 应用计算机软件对(8)式

其散射图形如图 2 所示, 呈对称腰子形。

在核式椭球模型下, 根据双椭球核式模型 CEM (Central Ellipse Model) 理论, 有散射光强分布为^[18]

进行数值模拟, 计算各种不同结构、大小、折射率的 CEM 的散射光强分布如图 3 所示。

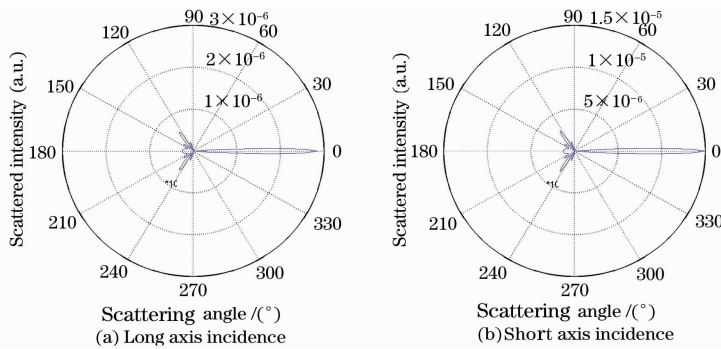


图 3 核式椭球模型两方向入射情况下的散射光分布

Fig. 3 Scattering distribution under nuclear-ellipsoid model of the two incidence direction

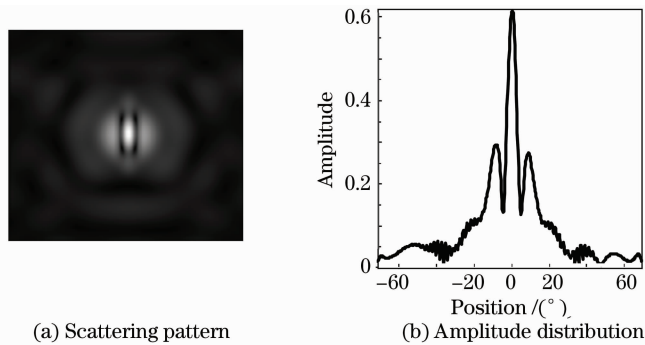


图 4 0° 入射下的散射分布

Fig. 4 Scattering distribution under incidence angle of 0°

应用 Maxwell 方程, 无法求得上述 RBC 双曲面对称体模型(盘式模型)下的解析解。为了能够了解该模型下的光散射信息分布特征, 应用 VirtualLabTM 光学虚拟仿真技术, 得到该模型条件下的 RBC 光散射结果^[19]。取波长 $\lambda = 488 \text{ nm}$ 的激光为光源, Gauss 波, 散射区光斑为 $S = 66 \mu\text{m} \times 22 \mu\text{m}$ 呈椭圆分布, 取入射角为 0° 情况下得到其 RBC 散射强度图样、散射幅值分布曲线分别如图 4(a), (b) 所示。

4 光散射下的光相位分布

相位是全息光学中的一个重要信息。应用

VirtualLabTM 的虚拟相位仿真技术, 基于上述血红细胞的 3 种光学模型, 进行虚拟仿真实验, 得到了所对应的相位分布, 如图 5 所示。

图 5 直接显示了平面光波通过细胞模型后近场的相位分布。该相位的显示直接由软件应用光界面传输理论所产生, 而并非是利用干涉方法。通过产生干涉条纹分布来间接显示相位的变化。因此, 对于图谱的定性解释可以直接采用在 2π 周期内, 光程差与相位变化量呈正比的关系来进行说明。从图 5 可以看出, 中部相位变化量增大。对此, 可以把所有

的细胞模型先看作是介质为水的球,对该球形模型有图 5(a)的相位分布。对于核式模型,由于中部有了一个折射率大的核,所以在中部将产生更大的光程差,也即产生更大的相位差,因此中部相位变化量

增大,从图 5(b)可以明显看出此特征。对于更接近于真实红细胞的盘形光学模型,同样的虚拟仿真方法可以得到其细胞在平面波和高斯波照射下的光散射相位分布,如图 6 所示。

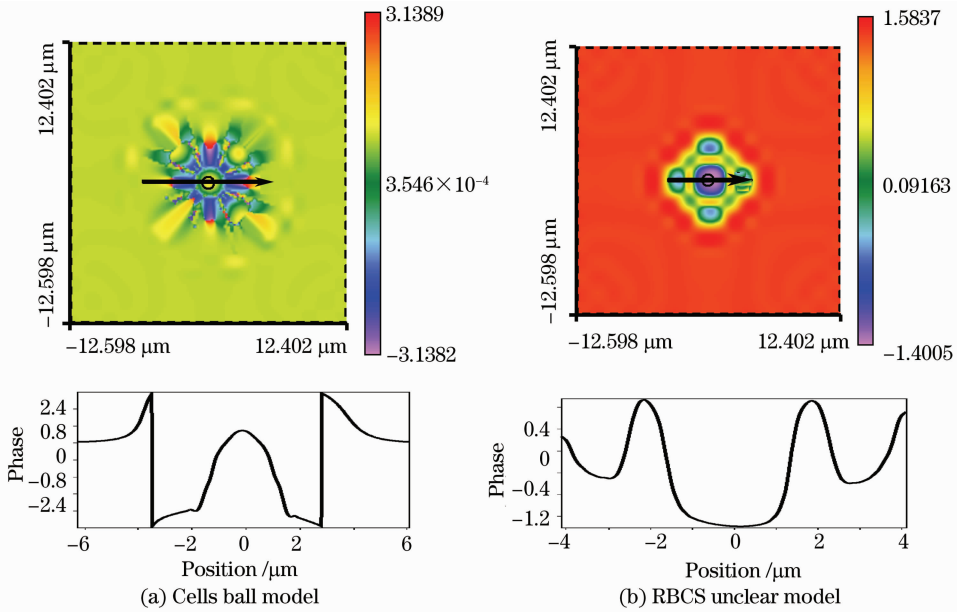


图 5 细胞球形模型(a)和红细胞核式模型(b)的相位分布

Fig. 5 Phase distribution of cell ball model (a) and RBC's in unclear model (b)

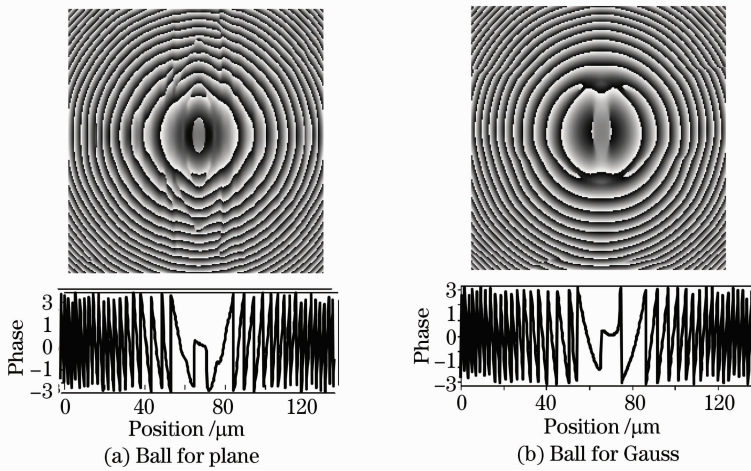


图 6 盘形细胞模型下的相位分布

Fig. 6 Phase distribution for tray model

5 结 论

细胞的相位分布与细胞的大小、形态及结构完全有关。由细胞的相位分布完全可以解析出细胞的形态结构,因此无需进行细胞的三维重建就可以直接由细胞的相位分布特征对细胞进行模式识别和分检。随着电子数字光全息信息处理技术的发展,计算机数字处理速度的不断提高,应用细胞光散射幅值、相位分布进行细胞分检的技术研究必将成为一

种必然,而传统的应用光散射理论进行细胞模式识别和分检的技术将成为一种补充技术。关于由细胞相位分布来定量解析出细胞的形态结构的方法有待进一步的研究。

参 考 文 献

1 Pan Yongqiang, Wu Zhensen, Hang Lingxia. Optical thin films interfaces roughness cross-correlated properties and light scattering[J]. *Chinese J. Lasers*, 2008, **35**(6): 916~920

- 潘永强,吴振森,杭凌侠. 光学薄膜界面粗糙度互相关特性与光散射[J]. 中国激光, 2008, **35**(6): 916~920
- 2 Wang Yunhua, Guo Lixin, Wu Zhensen. Light scattering of plane wave/Gaussian beam from two adjacent objects [J]. *Acta Optica Sinica*, 2007, **27**(9): 1711~1718
王运华,郭立新,吴振森. 两个相邻目标对平面波、高斯波束的光散射[J]. 光学学报, 2007, **27**(9): 1711~1718
- 3 Zhao Weijiang, Su Liping, Ren Deming *et al.*. Measurement on the angular scattering properties of wake bubbles [J]. *Chinese J. Lasers*, 2008, **35**(5): 744~747
赵卫疆,苏丽萍,任德明等. 尾流气泡激光散射的测量[J]. 中国激光, 2008, **35**(5): 744~747
- 4 Xia Hui, Huang Shengxiang, Li Hongjian. Measuring the quality of milk using low-coherence dynamic light scattering[J]. *Chinese J. Lasers*, 2008, **35**(1): 102~105
夏辉,黄生祥,李宏建. 应用低相干动态光散射检测乳制品品质[J]. 中国激光, 2008, **35**(1): 102~105
- 5 Gorden Videen, Dev R. Prabhu, Melvin Davies *et al.*. Light scattering fluctuations of a soft spherical particle containing an inclusion[J]. *Appl. Opt.*, 2001, **40**(24): 4054~4057
- 6 Annika M. K. Enejder, Johannes Swartling, Prakasa Aruna *et al.*. Influence of cell shape and aggregate formation on the optical properties of flowing whole blood [J]. *Appl. Opt.*, 2003, **42**(7): 1384~1394
- 7 F. Michael Kahnert, Jakob J. Stamnes, Knut Stamnes. Can simple particle shapes be used to model scalar optical properties of an ensemble of wavelength-sized particles with complex shapes? [J]. *J. Opt. Soc. Am. A*, 2002, **19**(3): 521~531
- 8 Richard A. Flynn, Bing Shao, Mirianas Chachisvilis *et al.*. Two-beam optical traps: refractive index and size measurements of microscale objects[J]. *Biomedical Microdevices*, 2005, **7**(2): 93~97
- 9 Matthew Bartlett, George Huang, Lyndon Larcom *et al.*. Measurement of particle size distribution in mammalian cells in vitro by use of polarized light spectroscopy[J]. *Appl. Opt.*, 2004, **43**(6): 1296~1307
- 10 Piotr H. Pawlowski, Beata Burzynska, Piotr Zielenkiewicz. Theoretical model of reticulocyte to erythrocyte shape transformation [J]. *Journal of Theoretical Biology*, 2006, **243**(1): 24~38
- 11 Andrei E. Lugovtsov, Alexander V. Priezhev, Sergei Yu. Nikitin. Light scattering by arbitrarily oriented optically soft spheroidal particles; Calculation in geometric optics approximation [J]. *Journal of Quantitative Spectroscopy & Radiative Transfer*, 2007, **106**(1): 285~296
- 12 Jun Q. Lu, Ping Yang, Xin-Hua Hu. Simulations of light scattering from a biconcave red blood cell using the finite-difference time-domain method [J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2005, **10**(2): 1~10
- 13 Stoyan Tanev, Wenbo Sun, Richard Zhang *et al.*. Simulation tools solve light-scattering problems from biological cells [J]. *Laser Focus World*, 2004, **40**(1): 67~70
- 14 Jeffery D. Densmore, Todd J. Urbatsch, Thomas M. Evans *et al.*. A hybrid transport-diffusion method for Monte Carlo radiative-transfer simulations [J]. *Journal of Computational Physics*, 2007, **222**(2): 485~503
- 15 Wang Yawei, Cai Lan, Wu Dajian. Influencing upon light scattering for variety of cell's body and cytoplasm's thickness in measurement of their size distribution [J]. *Chinese J. Lasers.*, 2005, **24**(10): 1300~1304
王亚伟,蔡兰,吴大建. 细胞形体和胞质厚度变化对光散射法测量细胞大小分布的影响 [J]. 中国激光, 2005, **24**(10): 1300~1304
- 16 Wang Yawei, Han Guangcai, Liu Ying *et al.*. Light scattering virtual simulation of red blood cell under double curve symmetrical model [J]. *Chinese J. Lasers*, 2007, **34**(12): 1676~1681
王亚伟,韩广才,刘莹等. 双曲面对称体红细胞模型的光散射虚拟仿真 [J]. 中国激光, 2007, **34**(12): 1676~1681
- 17 Wu Dajian, Wang Yawei, Han Guangcai. Model for elastic light scattering from nucleated cells [J]. *Acta Optica Sinica*, 2005, **25**(12): 1670~1675
吴大建,王亚伟,韩广才. 有核细胞的弹性光散射模型 [J]. 光学学报, 2005, **25**(12): 1670~1675
- 18 Wang Yawei, Cui Qingyi, Bu Min *et al.*. Light-scattering distribution and MCEM model of shape-cells [J]. *J. Applied Optics*, 2007, **28**(1): 115~120
王亚伟,崔青义,卜敏等. 形体细胞的 MCEM 模型及其光散射分布特征 [J]. 应用光学, 2007, **28**(1): 115~120
- 19 Wang Yawei, Han Guangcai, Liu Ying *et al.*. Simulation study on phase distribution of blood cells by virtual imitation [J]. *Chinese J. Lasers*, 2009, **36**(6): 1595~1600
王亚伟,韩广才,刘莹等. 血液细胞相位分布特征的虚拟仿真研究 [J]. 中国激光, 2009, **36**(6): 1595~1600