

文章编号:1001-5132(2009)04-0573-04

小鼠血液阻抗频谱特性及其等效电路模型分析

王力, 陈林, 王琳, 赵伟红, 汤治元, 马青*

(宁波大学医学院, 浙江宁波 315211)

摘要: 在0.01~100 MHz频率范围, 使用Agilent 4294A阻抗分析仪测量了小鼠血液细胞交流阻抗, 通过Bode图、Nyquist图及Nichols图的数据以及等效电路模型曲线拟合分析, 建立了小鼠血液细胞阻抗频谱特性和等效电路模型参数。研究表明: (1)小鼠红细胞阻抗谱的幅模量和相位角具有频率依从性; (2)小鼠血液细胞阻抗频谱具有2个特征频率($F_{C1} = 2.8$ MHz, $F_{C2} = 4.2$ MHz); (3)小鼠血液整体细胞膜电容 $C_m = 120$ F·cm⁻¹, 细胞膜电阻率>10 MΩcm。

关键词: 血液细胞; 阻抗幅模量; 相位角; 阻抗谱; 等效电路模型

中图分类号: R318; Q64; Q461 **文献标识码:** A

细胞阻抗谱是指生物细胞的电阻性成分和电容性成分随外激励电场频率变化的阻抗响应频率谱, 也是研究生物细胞频率特性的新方法^[1]。到目前为止, 人们利用阻抗频率谱方法研究了人血液细胞^[2-4]、猪血液细胞^[5]、家兔红细胞^[6]等活细胞的阻抗特性。但是, 对于小鼠血液细胞阻抗谱特性研究报告尚未见报道。

笔者在0.01~100 MHz范围内, 采用阻抗分析仪测量了小鼠血液细胞阻抗谱, 通过Bode图、Nyquist图及Nichols图的数据分析, 以及采用RC等效电路模型对小鼠血液细胞阻抗谱进行了曲线拟合(Curve fitting)分析, 建立了模型参数。为进一步研究红细胞衰老的电生理机制以及红细胞镰状贫血、真性红细胞增多症的电生理特性研究, 提供了基础数据和研究方法, 具有重要的理论价值和临床应用意义。

1 材料与方法

1.1 血液采集

选取13只ICR小鼠(浙江省实验动物中心提供), 体重(30.4±4.3)g, 20%氨基甲酸乙酯腹腔麻醉(5 mL·kg⁻¹), 实验台固定, 开胸, 心脏采血, 肝素抗凝, 待阻抗测量。

1.2 血液细胞阻抗谱测量

阻抗谱测量由Agilent 4294A阻抗分析仪完成, 在0.01~110 MHz频率范围取126个频率点, 设定每个频率点自动循环扫描测量3次, 交流激励信号源电压500 mV, 电流20 mA。通过模量-相角(|Z|~ θ)模式获取阻抗谱的幅-频曲线、相-频曲线。测量池由透明的圆管有机玻璃和平行板电容器型Pt电极制成, 电极圆盘直径 $d = 8$ mm, 电极间距 $l = 7$ mm, 容积约0.4 mL。测量在(25±1) °C下进行。

收稿日期: 2009-05-08.

宁波大学学报(理工版)网址: <http://3xb.nbu.edu.cn>

基金项目: 浙江省自然科学基金(Y207698); 宁波市科技项目(2006C10016); 宁波市自然科学基金(2006A610040).

第一作者: 王力(1983-), 男, 江苏淮安人, 在读硕士研究生, 主要研究方向: 细胞电生理学. E-mail: wangli3553@yahoo.com.cn

*通讯作者: 马青(1962-), 男, 黑龙江佳木斯人, 教授, 主要研究方向: 细胞电生理学. E-mail: maqing@nbu.edu.cn

1.3 细胞比容测量

阻抗测量后的血液用毛细比容管(长度 75 mm, 外径 1.5 mm)通过虹吸作用吸入毛细比容管内, 利用 SH120 微量血液离心机, 12 000 r·min⁻¹ 离心 5 min, 测量血细胞悬浮原液柱(L)与红色红细胞柱(λ)的长度, 血细胞比容 $Hct = (\lambda/L) \times 100\%$. 测得血细胞比容 $Hct = 27.6\% \pm 6.0\%$ ($n = 13$).

1.4 等效电路模型与计算公式

图 1 为小鼠血液细胞 RC 等效电路模型, 其中: R_e 为细胞外电阻; C_m 为细胞膜电容; R_m 为细胞膜电阻; C_i 为细胞内电容; R_i 为细胞内电阻. 当外施交流电场作用血液细胞时, 此等效电路模型的复数阻抗 Z^* 随交变电场角频率 ω 变化的关系:

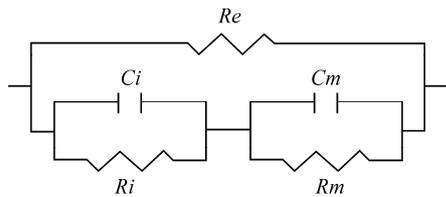


图 1 小鼠血液细胞 RC 等效电路模型

$$Z^* = \frac{1}{\frac{1}{R_e} + \frac{1}{\frac{1}{j\omega C_i + \frac{1}{R_i}} + \frac{1}{j\omega C_m + \frac{1}{R_m}}}} = Z' + jZ'' \quad (1)$$

$$Z' = \frac{R_e D(D+E)}{(D+E)^2 + G^2} \quad (2)$$

$$Z'' = \frac{-R_e DG}{(D+E)^2 + G^2} \quad (3)$$

其中: $j = \sqrt{-1}$; $\omega = 2\pi f$, f 为电场频率; $A = 1 + \omega^2 \cdot C_m^2 R_m^2$; $B = 1 + \omega^2 C_i^2 R_i^2$; $D = (AR_i + BR_m)^2 + \omega^2 (C_i R_i^2 \cdot A + C_m R_m^2 B)^2$; $E = ABR_e (AR_i + BR_m)$; $G = \omega ABR_e \cdot (C_i R_i^2 A + C_m R_m^2 B)$.

而曲线拟合及误差计算方法参见文献[6].

2 结果

2.1 小鼠血液细胞的幅频特性和相频特性曲线

13 只小鼠血液细胞的复阻抗幅模量 $|Z^*|$ 与

$\sqrt{Z'^2 + Z''^2}$ 与频率的关系曲线称为幅-频特性曲线(图 2(a)), 其复阻抗相位角 $\theta = \tan^{-1}(Z''/Z')$ 与频率的关系曲线称为相-频特性曲线(图 2(b)). 图 2 中的方框()为实测数据, 连续实线(—)为等效电路模型的理论拟合曲线.

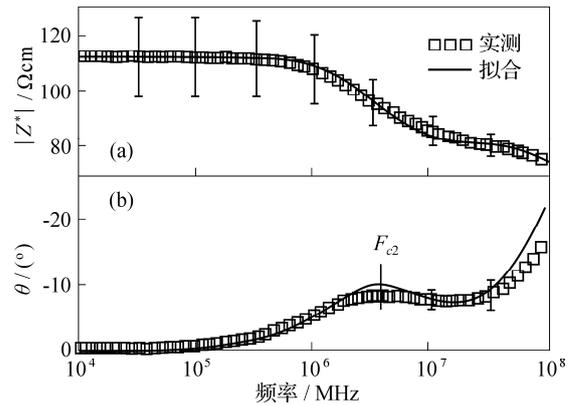


图 2 小鼠血液细胞 Bode 图

在图 2(a)中, 随横坐标电场频率 f 的增加, 纵坐标阻抗幅模 $|Z^*|$ 逐渐减小, 表现为: (1)在 $f < 1$ MHz 的频段为高阻抗(低导通), 反映细胞外液对电场的响应特点, 其数值分别小于小猪^[5]和家兔^[6]的血液细胞; (2)在 $f = 1 \sim 10$ MHz 的中频段, 阻抗幅值由高向低数值变化, 反映血液细胞膜的电容性弛豫性变化过程, 属于 β 色散; (3)在 $f > 10$ MHz 的高频段, 细胞膜的容抗减小呈现低阻抗(高导通)的现象, 电流穿过细胞膜流入细胞内.

在图 2(b)中, 随外加电场频率的增加, 相位角 θ 增加至峰值后逐渐减小至谷底, 再剧增形成高翘的曲线, 其主要特征: (1)在 $f < 0.1$ MHz 的频段, 相角接近为零; (2)在 0.1~10 MHz 频段, 曲线出现明显的弛豫现象, 其峰值对应的频率为特征频率 F_{C2} ; (3)在 $f > 10$ MHz 的高频段, 曲线表现翘尾现象, 主要反映细胞内的弛豫特性.

2.2 小鼠血液细胞的阻抗复平面图

图 3 是小鼠血液细胞的复阻抗的实部 Z' 与虚部 Z'' 的关系曲线, 称为 Nyquist 图. 曲线轨迹表现在: 从低频到中频形成圆弧, 在高频形成翘尾现象. 圆弧最高点对应频率为第一特征频率 $F_{C1} = 2.8$ MHz, F_{C1} 是细胞外相与细胞膜相的界面对交流电场产生

的频率响应特性.

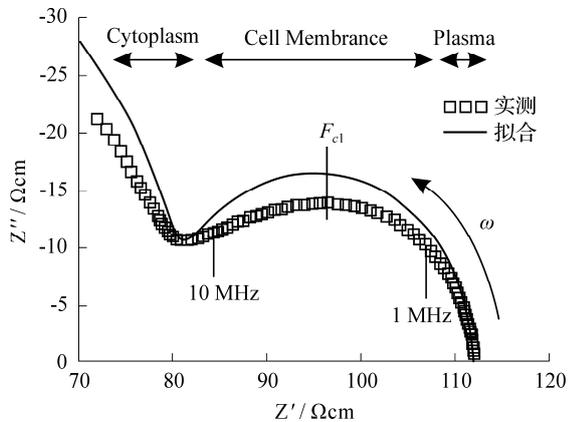


图 3 小鼠血液细胞阻抗复平面图

2.3 小鼠血液细胞的 Nichols 图

图 4 为小鼠血液细胞阻抗幅模量对数 $\log |Z^*|$ 与相角(弧度单位)之间的关系曲线, 称为 Nichols 图. 它的曲线形状与 Nyquist 图(图 3)相似: 低中频形成圆弧, 在高频形成翘尾曲线. 圆弧最高点的对应频率为第二特征频率 $F_{c2} = 4.2$ MHz, F_{c2} 是细胞膜相与细胞内相的界面对交流电场产生的频率响应特性.

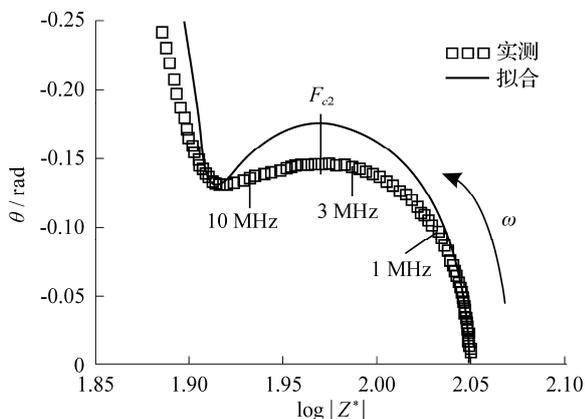


图 4 小鼠血液细胞的 Nichols 图

2.4 小鼠血液细胞阻抗谱的等效电路拟合结果与曲线拟合误差

表 1 列示小鼠血液细胞阻抗谱的等效电路拟合数据, 并利用此数据参数对 Bode 图、Nyquist 图和 Nichols 图进行曲线拟合, 计算出其拟合误差, 详见表 2.

3 讨论

血液细胞属于不均匀的电介质体系, 细胞膜将细胞外液与细胞质分开, 构成具有不同导电性能的细胞外液相 - 细胞膜相 - 细胞质相的三相两界面(血浆 - 细胞膜界面、细胞膜 - 细胞质界面)结构. 当外加电场作用于细胞时, 界面限制电荷的转移导致电荷积累, 在电性不相同的两介质间发生了界面极化现象, 称为 Maxwell-Wagner 效应, 此效应在交流电磁场作用于生物细胞时普遍存在. 由于血液细胞不具有产生动作电位的能力, 不产生主动响应故称不可兴奋细胞^[7]. 频域阻抗技术为非兴奋细胞的被动电特性研究提供了技术手段, 通过血液细胞阻抗谱可以确定血液细胞的膜电容和膜电阻, 以及反映血液细胞对交流电场的频率响应特性的中心特征频率等电生理学参数, 为细胞电生理学开辟了一个崭新的频域特性研究领域.

血液的阻抗特点随着频域的改变会发生变化, 通过 Bode 图、Nyquist 图和 Nichols 图的数据分析以及等效电路的理论, 可以很好地表现出其频谱特性. 当交流电场作用于血液时, 在血浆 - 细胞膜界面处产生电荷极化现象, 如 Nyquist 图中表现为

表 1 小鼠血液细胞阻抗谱的等效电路拟合参数

模型元件参数	$Re/\Omega\text{cm}$	$Cm/(\text{pF}\cdot\text{cm}^{-1})$	$Rm/\text{M}\Omega\text{cm}$	$Ci/(\text{pF}\text{cm}^{-1})$	$Ri/\Omega\text{cm}$
拟合数值	112	120	100	6.2	272.5

表 2 小鼠血液细胞阻抗谱的等效电路曲线拟合误差

误差参数	实部误差	虚部误差	幅值误差	相位角(角度)误差	幅值对数误差	相位角(弧度)误差
符号	$R(Z)$	$R(Z'')$	$R(Z^*)$	$R(\theta_{\text{degree}})$	$R(\log Z^*)$	$R(\theta_{\text{radian}})$
误差数值	2.44	4.44	2.67	3.21	2.61	3.21

圆弧状,其最高点反映出弛豫的中心特征频率即第一特征频率 F_{C1} ;而在细胞膜-细胞质界面处产生第二个极化的弛豫过程,如 Nichols 图圆弧曲线最高处频率点表征此界面的中心特征频率即第二特征频率 F_{C2} . 中心特征频率(F_{C1} 、 F_{C2})是血液细胞对交流电磁场响应的标志性参数,是频域阻抗测量技术的特色性指标,也是细胞频域电生理特性的重要指标,具有重要的生理学意义和学术价值. 笔者采用的 RC 等效电路模型可以建立血液细胞各相(细胞外相、细胞膜相、细胞内相)的电阻、电容的电学参数,为进一步研究红细胞衰老的电生理机制以及红细胞镰状贫血、真性红细胞增多症的电生理特性研究奠定基础.

参考文献:

- [1] 翟琳,王力,沈腾越,等. 家兔全血细胞复阻抗谱的实验研究[J]. 医学研究杂志, 2008, 37(11):57-59.
- [2] 付峰,臧益民,董秀珍,等. 血液复阻抗频率特性的测量[J]. 心功能杂志, 1999, 11(2):80-82.
- [3] 黄华,胡茂清,陈槐卿,等. 血液电频率谱特性测量[J]. 生物医学工程学杂志, 2005, 22(2): 275-279.
- [4] Chang Z, Pop G A M, Meijer G C M. A comparison of two- and four-electrode techniques to characterize blood impedance for the frequency range of 100 Hz to 100 MHz [J]. IEEE T Biomed Eng 2008, 55(3):1 247-1 249.
- [5] 张国鹏,董秀珍,尤富生,等. 小猪血液的多频电阻抗特性及其等效电路模型的研究[J]. 航天医学与医学工程, 2006, 19(1):50-52.
- [6] 马青,洲崎敏伸. 家兔红细胞阻抗谱的实验和等效电路拟合研究[J]. 中国生物医学工程学报, 2006, 25(5): 566-570.
- [7] 朱大年. 生理学[M]. 7版. 北京: 人民卫生出版社, 2008.
- [8] Ackmann J J, Seitz M A, Dawson C A, et al. Specific impedance of canine blood[J]. Annals of Biomedical Engineering, 1996, 24(suppl.1):58-66.

Analysis on Impedance Spectral Characteristic and Equivalent Circuit Model of Mouse Blood

WANG Li, CHEN Lin, WANG Lin, ZHAO Wei-hong, TANG Zhi-yuan, MA Qing*

(Medical School, Ningbo University, Ningbo 315211, China)

Abstract: The AC impedances of mouse blood cells are measured with the Agilent 4294A impedance analyzer at frequency range of 0.01~100 MHz, then its spectral characteristic and equivalent circuit model parameters are determined by the Bode plot, the Nyquist plot and the Nichols plot. The results show that: (1)The impedance amplitude and phase angle of mouse blood cell are frequency-dependent; (2)The impedance spectrum of mouse blood cell have two characteristic frequencies ($F_{C1}=2.8$ MHz, $F_{C2}=4.2$ MHz); (3)The whole blood cell membrane capacitance $C_m=120$ F·cm⁻¹, and cell membrane resistivity is found to be more than 10 MΩcm.

Key words: blood cell; impedance amplitude; phase angle; impedance spectroscopy; equivalent circuit model

CLC number: R318; Q64; Q461 **Document code:** A

(责任编辑 章践立)