

三类白细胞核孔筛滤试验的双参数模型*

邵金雨¹ 严宗毅² 庄逢源¹ 孙瑞娟¹

(吴望一推荐, 1995年9月18日收到, 1996年9月30日收到修改稿)

摘 要

白细胞核孔筛滤试验是估计白细胞变形性的主要方法之一。我们对这一试验的三类情形提出了生物流体力学模型, 这三类情形是: (i)自身重力过滤; (ii)恒压过滤; (iii)恒流量过滤。在以前的模型中, 细胞阻力被假定为一常数, 而在本文中, 我们考虑细胞阻力时, 同时顾及了驱动压力和白细胞个体变形性差异的影响。而且, 我们在Moessmer实验基础上, 对多形核粒性白细胞通过核孔的时间假定了一个概率分布函数。最后我们得到了以上三种情形的数值解, 第一种情形的解与实验结果的对比是令人满意的。文中的双参数, A 和 B , 代表了不同压力下白细胞变形性的不同。

关键词 白细胞 核孔筛滤 理论模型 血液流变学

一、引 言

当血细胞通过滤膜或毛细血管时, 他们表现出类似的性质^[1,2], 所以细胞悬浮液核孔筛滤实验已被广泛应用于血细胞流变学的研究。白细胞的流变性质在微循环、血流及其它生命过程中占有重要地位, 因此, 白细胞流变学在生物工程领域中已受到越来越多的重视, 研究白细胞的流变性质无论是在体还是离体都是很重要的。

白细胞的变形性是白细胞流变学的一个重要方面。白细胞核孔筛滤实验是估计白细胞变形性的主要方法之一, 其主要过程是: 让稀白细胞缓冲液流过核孔滤膜, 然后测量流量或驱动压随时间的变化, 并由此估计白细胞变形性的好坏。目前主要有三类筛滤实验方法: (i)自身重力过滤; (ii)恒流量过滤; (iii)恒压过滤。Skalak等人^[3], Niimi等人^[4]和严宗毅等^[5]分别于1983、1988和1989年提出了血细胞过滤的模型。在Skalak和严宗毅的工作中, 血细胞的变形性在过滤过程中被假定为不变, 并由一常数代表。虽然Niimi考虑了白细胞变形性在不同压力下的差异, 但其模型仍存在一些缺点, 因为即使在同样压力下不同白细胞的变形性也可能是不同的。在本文中, 我们在考虑白细胞对膜孔的阻力时, 同时考虑了驱动压和个体白细胞差异的影响。我们在Moessmer实验结果^[6]的基础上假定了一个白细胞过孔时间的概率分布函数, 然后求解相应于前述三种情形的方程组, 并对数值与实验结果加以对比。

* 国家自然科学基金资助项目。

¹ 日中友好临床医学研究所, 北京 100029。

² 北京大学力学系, 北京 100087。

二、理论模型

详细的实验步骤已由另文所述^[7]。简单地讲,如图1所示,白细胞悬浮液置于针管A中,C为充满PBS缓冲液的管,B为核孔滤膜,而D则为出口,实际上,D的顶端位置决定了缓冲液下降的零点。过滤过程被录制于录像带上,由此可以得到 h 随时间 t 变化的曲线。

实验所用核孔滤膜的孔直径为 $5\mu\text{m}$,膜厚 $10\mu\text{m}$,因而孔容积为 $196\mu\text{m}^3$ 。实验用细胞为从血液中分离出的多形核粒性白细胞(PMNS)。因为PMNS细胞的平均体积约为 $299\mu\text{m}^3$ ^[8],而且悬浮中的白细胞浓度, w ,很小,所以我们可以假设(参见图2):

- (i) 一个核孔不可能同时含有两个白细胞;
- (ii) 白细胞在被动状态下通过核孔;
- (iii) 细胞紧贴核孔壁,从而在这样的孔中细胞的平均速度和悬浮液相同;
- (iv) 白细胞在驱动压 P 下过孔时间的分布函数为 $f[t', P]$ ³⁾,它满足

$$\int_0^{\infty} f[t', P] dt' = 1 \quad (2.1)$$

其平均值 t_m 为

$$t_m = \int_0^{\infty} t' f[t', P] dt' \quad (2.2)$$

这里 t_m 的物理意义即为所有白细胞的平均过孔时间(在分布 $f[t', P]$ 的假设下)。

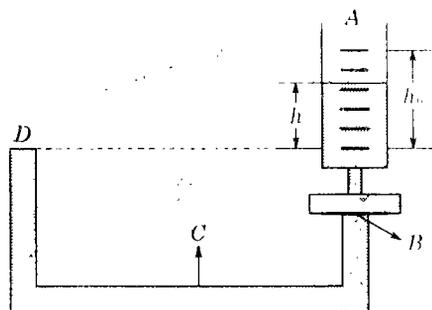


图1 实验装置简图

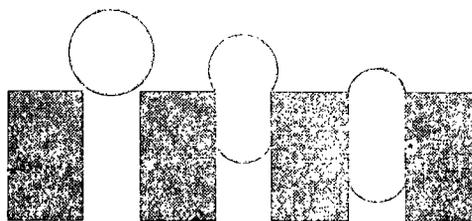


图2 假设的白细胞过孔过程

- (v) t_m 与驱动压 P 的关系为^[4]

$$t_m = \frac{A}{P^2} + \frac{B}{P} \quad (2.3)$$

其中 A 和 B 为常数。

按照这个假设,相对阻力(即细胞阻力与缓冲液阻力之比)与 $B + \frac{A}{P}$ 成正比,而在前述的其它模型中, $A=0$ 。但是在较低的压力下,细胞过孔时间显然加长,这样更多的受体与核孔壁粘附,从而增加阻力,上面公式中的 A 即代表了这种效应。

Moessmer实验结果的轮廓与 $\alpha=2$ 时 Γ 分布函数的形状非常相似,所以我们假设

3) 本文中方括号内表达式均为自变量。

$$f[t', P] = \Gamma[2, \beta] = \beta^2 t' \exp[-\beta t'] \quad (2.4)$$

其中 $\beta = \beta[P]$, $t' > 0$

由方程(2.2)和(2.4)我们可以得到

$$t_m = \frac{2}{\beta} \quad (2.5)$$

β 可以用A和B表示成为

$$\beta = \frac{2}{A/P^2 + B/P} \quad (2.6)$$

虽然在Moessmer的实验中 $d = 8\mu\text{m}$, $P = 4\text{cm H}_2\text{O}$,而在我们的实验中 $d = 5\mu\text{m}$, $P = 0.842\text{cm H}_2\text{O}$,我们可以合理地假设二者的分布函数仅是对应于不同的 β 值而已。

现在在上面所述假设的基础上我们来建立三类情形所满足的方程:

(i) 自身重力过滤

我们把所有核孔分为两类:一类仅含有悬浮液,另一类同时含有悬浮液和白细胞。假设在时刻 t ,第一类孔的个数为 N ,通过滤膜的总流量为 Q ,驱动压为 P 。显然 $P = \rho gh$ 。

Q 是白细胞与悬浮液流量之和,故我们有

$$\begin{aligned} Q &= \int_0^\infty \frac{V_w + V_h}{t'} (N_0 - N) f[t', P] dt' + \frac{NP}{r_0} \\ &= \beta (N_0 - N) (V_w + V_h) + \frac{NP}{r_0} \end{aligned} \quad (2.7)$$

其中 N_0 为总核孔数,

V_w 为白细胞平均体积,

V_h 为核孔体积,

$a = \frac{d}{2}$ 为核孔半径,

$r_0 = \frac{8\mu l}{\pi a^4} + \frac{3\mu}{a^3}$ 为悬浮液对核孔阻力,

μ 为缓冲液粘度。

按照 N 的变化率=单位时间内离孔白细胞数-单位时间内到孔白细胞数,我们可得

$$\frac{dN}{dt} = \int_0^t WQ[t-t'] f[t', P[t-t']] dt' - WQ \quad (2.8)$$

按照 Q 的定义

$$\frac{dP}{dt} = -\frac{\rho g Q}{S} \quad (2.9)$$

其中 S 为图1中A的截面积,

ρ 为悬浮液密度,

g 为重力加速度,

初始条件为

$$\text{当 } t=0 \text{ 时, } P = \rho gh_0, \quad Q = \frac{\rho gh_0 N_0}{r_0}, \quad N = N_0 \quad (2.10)$$

这样,方程(2.7), (2.8), (2.9), (2.10)构成一个完整的初值问题。求解之我们就可

以得到数值过滤曲线。

令 $t_{0m} = t_m |_{t=0}$, $t'' = t - t'$, 用 t_{0m} , $\rho g h_0$, N_0 和 $\frac{\rho g h_0 N}{r_0}$ 作为时间, P , N 和 Q 的无量纲化因子, 我们可把方程 (2.7), (2.8), (2.9), (2.10) 无量纲化 (为简便计, 无量纲量仍用原符号表示):

$$Q = C_1(1 - N) + NP \quad (2.11)$$

$$\frac{dN}{dt} = C_2 \left(t_{0m}^2 \int_0^t Q \beta^2 (t - t'') \exp[-\beta t_{0m}(t - t'')] dt'' - Q \right) \quad (2.12)$$

$$\frac{dP}{dt} = C_3 Q \quad (2.13)$$

$$t=0 \text{ 时: } P=1, Q=1, N=1 \quad (2.14)$$

其中

$$C_1 = \frac{\beta r_0 (V_w + V_h)}{\rho g h_0},$$

$$C_2 = \frac{\rho g h_0 t_{0m} W}{r_0},$$

$$C_3 = -\frac{\rho g N_0 t_{0m}}{r_0 S}.$$

应当指出的是在方程 (2.12) 中, $\beta = \beta[t'']$, $Q = Q[t'']$.

(ii) 恒压过滤

从方程 (2.11) 和 (2.12) 的推导过程中我们不难看出它们仍适用于这一类情形, 由于 P 是常数, 所以只有 (2.11) 和 (2.12) 求解 N 和 Q 即可. 相应的初条件为 $N|_{t=0} = 1$ 和 $Q|_{t=0} = 1$.

(iii) 恒流量过滤

在本情形中 Q 是常数, 故我们只须用 (2.11) 和 (2.12) 求解 N 和 P 即可, 初条件为 $N|_{t=0} = 1$ 和 $Q|_{t=0} = 1$.

三、求解方法

解本问题的主要困难是方程 (2.12) 中的积分项, 对此我们采用如下处理方法: 将整个下降过程分为 n 段, 各段时间长度为 Δt_i ($i = 1, 2, \dots, n$), 分点为 $t_0, t_1, t_2, \dots, t_n$ (此时 $h=0$). 只要 Δt_i 充分小, 那么在每个 Δt_i 上我们可对 P , Q 和 N 作线性近似, 即

当 $t_{i-1} \leq t_i$ ($i \neq n$) 或 $t_{n-1} \leq t \leq t_n$ 时:

$$X(t) = X_{i-1} + (X_i - X_{i-1}) \frac{t - t_{i-1}}{\Delta t_i} \quad (3.1)$$

其中 X 代表 P , 或 Q , 或 N .

这样在每个小区间上, 方程组可以化成一关于 P_i, Q_i 和 N_i 的非线性代数方程组. 已知 $t=0$ 时 $P=Q=N=1$, 我们可以依次求得 $t=t_1, t_2, \dots, t_n$ 各个时刻的 P, Q 和 N 的值.

当 $W=0$ 时, 方程是有准确解的 (有量纲形式):

$$N = N_0, P = \rho gh_0 \exp\left[\frac{-\rho g N_0 t_0 m t}{r_0 S}\right], Q = \frac{N_0 P}{r_0} \tag{3.2}$$

按照方程(3.2), 只有当 $t \rightarrow \infty$ 时, $P \rightarrow 0$, 故我们不能用 $P=0$ 作为数值计算的终点. 实际上, 在实验中我们测量数据时, 发现如果 $P < 0.01$, 那么液面与零点距离已小于 0.08mm , 这已超出人眼分辨能力. 因此, 我们用 $P=0.01$ (即 $\frac{\rho gh_0}{100}$) 作为数值计算的终点. 从方程(3.2)中我们也可以算出纯缓冲液全部通过滤膜的时间, 即 36.9 秒.

四、结果与讨论

在数值计算过程中, 我们采用了如下参数: $N_0 = 3.2 \times 10^5$, $d = 5\mu\text{m}$, $V_h = 196.25\mu\text{m}^3$, $V_w = 299\mu\text{m}^3$, $\rho = 1\text{g/cm}^3$, $g = 980\text{cm/s}^2$, $W = 10^8/\text{cm}^3$, $r_0 = 8.4390 \times 10^9 \text{dyn}\cdot\text{s/cm}$, $h_0 = 0.842\text{cm}$, $\mu = 1\text{cp}$.

(i) 自身重力过滤.

$W=0$ 时, 纯缓冲液通过核孔的时间 t_b 的数值与实验结果存在差异, 这主要是因为膜孔直径误差, 厚度误差等造成的^[9]. 所以在比较分析结果时, 我们用 t/t_b 作为时间参数, 用以抵销核孔对实验结果的影响.

图3所示为一数值曲线与正常白细胞实验结果的对比. 计算时所采用 A 和 B 的值为 $A = 10^5 \text{dyn}^2\cdot\text{s/cm}^4$, $B = 10^4 \text{dyn}\cdot\text{s/cm}^2$. 虽然理论曲线与实验点时间仍存在差异, 但数值解基本反映了 P 随时间 t 变化的趋势.

对本情形我们变化不同的 A 和 B 值进行了很多数值实验, 让纯缓冲液过滤曲线与没有变形能力的白细胞悬浮液之间充满数值曲线. 每组实验数据共有16个点, 因而我们可以找到一条数值曲线, 它离这16个点最近. 为此我们定义: 使下面这个表正式的值最小的数值曲线即为对应于一组实验数据的数值解.

$$\sqrt{\sum_{i=1}^{16} (P_i^e - P_i^a)^2}$$

其中 P_i^e 和 P_i^a 分别为实验值和理论曲线上的对应值.

找到实验数据对应理论解, 也就找到了它所对应的 A 和 B 值. 15组正常 PMNS的统计结果为

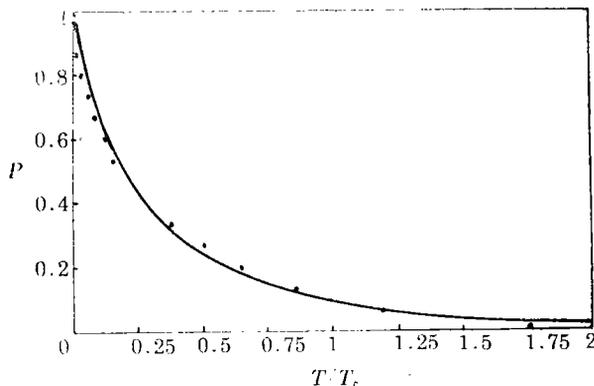


图3. 情形(i)数值计算曲线与实验结果比较(实线为理论曲线, 点为实验值),

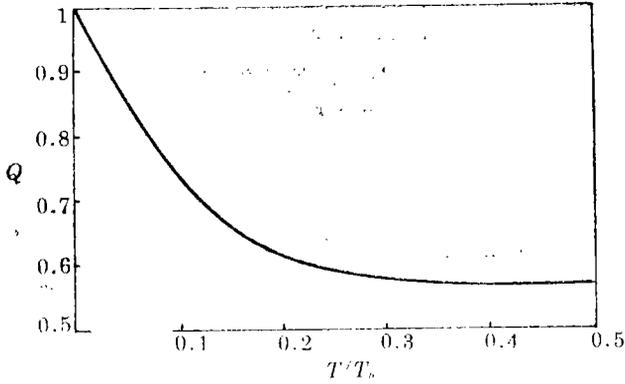


图4 情形(ii)数值过滤曲线

$$A = (9.56 \pm 3.72) \times 10^4 \text{ dyn}^2 \cdot \text{s/cm}^4, \quad B = (1.73 \pm 0.48) \times 10^4 \text{ dyn} \cdot \text{s/cm}^2$$

对一例癌症病人的计算表明 A 和 B 远远偏离正常范围： $A = 3.1 \times 10^5 \text{ dyn}^2 \cdot \text{s/cm}^4$ ， $B = 2.9 \times 10^4 \text{ dyn} \cdot \text{s/cm}^2$

(ii) 常压过滤。

本情形的数值解示于图4($A = 10^5 \text{ dyn}^2 \cdot \text{s/cm}^4$ ， $B = 10^4 \text{ dyn} \cdot \text{s/cm}^2$ ， $P = \rho g h_0$)。随着时间的增长， Q 和 N 趋于常数，意味着单位时间内到孔与离孔的白细胞数趋于平衡。如果白细胞变形性不同，那么过滤最后所达到的定常状态也不同，相应的 A 和 B 的值也不同。

(iii) 常流量过滤

图5所示为 $A = 10^5 \text{ dyn} \cdot \text{s/cm}^4$ ， $B = 10^4 \text{ dyn} \cdot \text{s/cm}^2$ 及 $Q = \rho g h_0 N_0 / r_0$ 时数值计算的结果。在本情形中，时间增加时， P 和 N 趋于常数，数值曲线与Chien等的实验曲线表现出一致的趋势。虽然数值解与我们的理解不矛盾，但它们仍须进一步的证实。

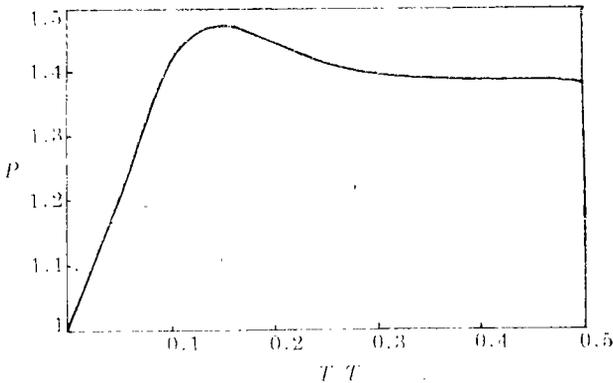


图5 情形(iii)数值过滤曲线

五、结束语

本文正确考虑了白细胞个体之间以及在不同滤压下变形能力的差异，在这一点上本文优于原来提出的任何一种模型。对本模型稍作改动即可用于分析其它细胞过滤实验。理论与实验结果的比较证明我们的模型对情形(i)而言是可靠的。但情形(ii)和(iii)数值结果的正确性

仍有待于实验的证实,

参 考 文 献

- [1] G. R. Cokelet, Dynamics of erythrocyte motion in filtration tests and in vivo flow *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, **156**(41) (1981), 77-82.
- [2] H. W. Reihart and S. Chien, The time course of filtration test as a model for microvascular plugging by white cells and hardened red cells, *Microvasc. Res.*, **34** (1987), 1-12.
- [3] R. Skalak, T. Impelluso, E. A. Schmalzer and S. Chien, Theoretical modeling of filtration of blood cell suspension, *Biorheology*, **20** (1983), 41-56.
- [4] H. Niimi, S. J. Gao and S. Yamaguchi, A continuum theory of blood cells filtration at low flow rates, *Biorheology*, **25** (1988), 743-761.
- [5] 严宗毅、董立奇、钱民全、翁维良、王怡, 用核孔滤膜在等负压条件下研究红细胞变形能力的理论分析, *中国生物医学工程学报*, **8**(2), (1989), 86-95.
- [6] G. Moessmer and H. J. Meiselman, A new micropore filtration approach to the analysis of white cell rheology, *Biorheology*, **27** (1990), 829-848.
- [7] R. J. Sun Y. Dong, Q. Cheng and F. Y. Zhuang, Experimental study on the deformability of PMNs, *Proceedings of Beijing Satellite Symposium of the Eight International Congress of Biorheology*, (1992), 266-269.
- [8] H. P. Ting-Beall, D. Needham and R. M. Hochmuth, Volume and osmotic properties of human neutrophils, *Blood*, **81** (1993), 2774-2780.
- [9] S. Chien, E. A. Schmalzer, M. M. L. Lee, T. Impelluso and R. Skalak, Role of white blood cells in filtration of blood cell suspension, *Biorheology*, **20** (1983), 11-27.

A Two-Parameter Model for Three Types of Unclepore Filtration of Leukocytes

Shao Jinyu

(*Biorheology Department, Research Institute, China-Japan Friendship Hospital, Beijing 100029, P. R. China*)

Yan Zongyi

(*Peking University, Beijing 100871, P. R. China*)

Zhuang Fengyuan Sun Ruijuan

(*Biorheology Department, Research Institute, China-Japan Friendship Hospital, Beijing 100029, P. R. China*)

Abstract

Micropore filtration of leukocytes is one of the main methods for evaluating

leukocytes' deformability. Here a biofluid mechanical model was proposed for three cases:(i) filtration under gravity; (ii)constant pressure filtration; (iii) constant flow rate filtration in previous models, constant blood cell resistance was assumed. In this paper, when evaluating the filter resistance to leukocytes, not only the effect of the change in the driving pressure but also the difference in the deformability of individual leukocytes are taken into consideration. Moreover based on Moessmer's experimental results, a probability distribution function for the transit time of polymorphonuclear cells (PMNn) through the filter is assumed. Finally, numerical curves are obtained for the above three types of filtration and the comparison between the theoretical and experimental results of PMNs for case (i) turns out to be satisfactory. The two parameters in the model, A and B represent leukocytes' deformability under low and high pressures respectively.

Key words leukocytes, nuclepore filtration, theoretical model, hemorheology