

· 诊断技术介绍 ·

微孔滤过法测定红细胞变形性 在糖尿病研究中的应用

北京协和医院中医科 梁晓春 郭赛珊 祝湛予

研究红细胞的变形性是血液流变学检查的重要内容之一。近年来用微孔滤过法测定红细胞的变形性已开始在国内应用。糖尿病患者血液流变学的异常已被许多学者所证实,红细胞变形性的减低在糖尿病及其并发症中的病理意义已引起人们广泛的重视,下面就有关情况介绍如下。

一、红细胞变形性的病理生理意义

红细胞变形能力的正常与否,对血流、血液粘度均有很大的影响。当血液在大血管内流动时,红细胞在高剪切应力作用下发生变形和取向,使细胞膜围绕细胞内容物呈坦克履带式缓慢运动,使红细胞有效体积减小,血液粘度下降,从而降低血液外周阻力,使组织器官得到有效的灌注,当红细胞变形性下降时,僵硬的红细胞增多,使高剪切应力下的全血粘度明显增加⁽¹⁾。由于僵硬的红细胞不能改变形状,难以通过小于自身直径的微血管,造成微循环阻力增大或微小血管堵塞,血液有效灌注不足,从而导致一系列病理生理方面的改变。影响红细胞变形性的主要因素有:(1)红细胞膜流变学特性,主要由细胞分子的结构和代谢状况所决定。(2)红细胞的几何状态,即红细胞表面积与体积之比,若比值缩小,则红细胞变形能力减低。(3)红细胞的内粘度,主要取决于血红蛋白的浓度和其理化性质。正常红细胞内粘度为8 mpa·s,当血红蛋白浓度升高时,红细胞内粘度升高使红细胞变形性下降⁽²⁾。红细胞变形性是影响血液粘滞性和流动性的重要因素,是微循环有效灌注的重要保证。因此,对于红细胞变形性的研究很有实用价值。

二、微孔滤过测定法

测定红细胞变形性的方法多种多样,较为广泛采用的是微孔滤过法。50年代初 Teitel 就用微孔滤纸测定红细胞的可塑性,以此了解红细胞通过毛细血管和脾窦的能力。60年代 Gregersen 和 Chien 等首先采用核孔滤膜测定红细胞的变形能力^(3,4)。由于核孔滤膜具有孔径一致、密度均匀、微孔与膜表面垂直等优点,因此,目前国内研究一般都采用这种滤膜。

微孔滤过法是以红细胞通过滤膜所需要的时间或

通过滤膜的压—流量关系作为其变形能力的度量,即记录一定量的红细胞悬浮液通过一定孔径的微孔滤膜的时间,或记录使红细胞悬浮液以一定的速度通过滤膜所需要的压力。以此来代表红细胞变形性。由于本实验开展时间不长,各实验室实验条件不一致,操作方法有所不同,所以目前尚无统一的正常值,都是以本实验室所测定的正常人作为正常对照值。当红细胞变形能力下降时,红细胞较难通过小于自身直径的微孔,造成微孔部分堵塞,使其通过滤膜的时间延长或在一定速度下通过滤膜所需要的压力增大(实验研究采用3~5 μm孔径的滤膜),以此来反映红细胞变形能力下降。

三、糖尿病患者红细胞可滤过性的变化

红细胞的变形性在糖尿病患者尤其是依赖胰岛素型糖尿病和合并症较多的重症糖尿病患者中减低已引起人们的注意。Ditzle 1970 年用 Millipore filters 观察,发现糖尿病患者在酮症酸中毒时红细胞变形性下降,并认为是由于酮症酸中毒使红细胞脱水所致⁽⁵⁾。有人认为红细胞变形性的减低与糖尿病患者糖化血红蛋白的含量增高有关⁽⁶⁾。Hanss 1983 年观察到糖尿病患者的红细胞变形性差,依赖胰岛素型与非依赖胰岛素型(分别100例、119例)糖尿病患者相比也有显著差别,但与有无血管并发症无关,与血糖、胆固醇、甘油三酯、糖化血红蛋白也无关⁽⁷⁾。Barnes 则认为糖尿病患者红细胞变形性减低在并发广泛的血管病变时更为显著。北京协和医院张之南等用核孔滤膜负压装置观察26例糖尿病患者的红细胞变形性与35例正常人相比明显降低,眼底血管并发症愈重,其变形能力也愈差⁽⁸⁾。我们用同样的方法观察了68例糖尿病血瘀证患者,其红细胞变形性减低与正常人相比,差别非常显著。用活血化瘀法治疗后,其红细胞变形性有所改善。

红细胞变形性的异常在糖尿病及糖尿病微血管病的发生机理中的意义尚未得到阐明。有人推测,糖尿病导致红细胞变形性下降,僵硬的红细胞必然导致毛细血管的损伤而引起微血管病,这一观点尚待证实。临床研究发现,未控制好的Ⅰ型糖尿病患者的红

细胞可滤过性是降低的,血小板聚集性是增高的,经用胰岛素控制满意后,在24小时内两者都可以恢复正常。若把正常人的红细胞置入没有控制好的I型糖尿病患者血浆中孵育30分钟后,红细胞变形性减低,而置入经胰岛素注射后控制满意的糖尿病患者的血浆中,则红细胞变形性正常⁽⁹⁾。说明血浆胰岛素水平的正常与否是影响糖尿病患者红细胞变形性的因素之一。还有人发现糖尿病患者红细胞内的山梨醇浓度是增高的。研究者把正常红细胞放到50mmol/L葡萄糖缓冲液中,2小时后发现红细胞内山梨醇浓度从1~5mmol/L增加到>100mmol/L⁽¹⁰⁾。用醛糖还原酶抑制山梨醇代谢后,使红细胞变形性转为正常。表明高血糖促使红细胞内山梨醇的聚集,有降低红细胞变形性的作用。由于红细胞自身不能合成脂质,膜脂质的更新主要靠与血浆中的脂质进行交换,因此,红细胞膜脂质的结构很大程度上受血浆成分的影响。糖尿病患者大部分有脂代谢的紊乱,血浆游离胆固醇水平增高,使红细胞膜上的胆固醇含量增高,胆固醇与磷脂的比值升高^(11, 12),影响了膜的面积、形态和膜脂质的流动。因此,有人认为红细胞变形性的减低主要由红细胞膜的结构和组成成分来控制。红细胞能够保持正常的双凹圆盘状,必须有足够的ATP。在体外37℃下红细胞保温24小时后,ATP减少,使红细胞呈锯齿状⁽⁸⁾。有文献报道,糖尿病患者红细胞膜上Na⁺/K⁺ATP酶活性降低,此酶活性的高低又取决于胰岛素水平。用胰岛素控制满意的糖尿病患者,此酶的活性可以恢复正常⁽¹³⁾。

四、结语与评价

体内的血液流变学的异常变化较为复杂,红细胞变形性又受到许多生物化学、生物物理因素的影响。红细胞是全血的一部分,随血液的其它成分一起流动,研究全血的可滤过性更接近体内的实际情况,但易受到白细胞、血浆纤维蛋白原、血小板等因素的影响。研究红细胞悬浮液可以除去以上因素的干扰,但测定方法还不够精确,有时容易被少量没有被除掉的白细胞、聚集的血小板阻塞滤孔而影响结果的判断。对于能否用微孔滤过法测定红细胞的滤过性,作为反映红细胞变形性的实验方法,尚有不同的看法,也有相反的报道^(14, 15)。但多数人认为只要严格控制各种实验条件,重复测定的变异系数可控制在5%以下及5~10%之间^(8, 16)。并且本测定法所需设备及操作方法均较简单,故可作为了解血液流变学的和观察中医中药治疗前后血液流变学异常的观察指标之一。此外,还要结合检查其它有关的指标,以便

全面反映体内血液流变学的变化。

参 考 文 献

1. Schmid-Schöbein H, et al. Influence deformability of human red-cells upon blood viscosity. *Circ Res* 1969; 25:131.
2. Monhandas N, et al. Analysis of factors regulating erythrocyte deformation. *J Clin Invest* 1980; 66:565.
3. Grogersen MI, et al. Flow characteristics of human erythrocyte through polycarbonate. *Science* 1967; 157:825.
4. Chien S, et al. Blood viscosity influence of erythrocyte deformation. *Science* 1967; 157:827.
5. Ditzel J. Microcirculatory approaches to current therapeutic problems. Basel Karger 1970:123.
6. Boudart D, et al. Déformabilité érythrocytaire et hémoglobine glycosylées chez le diabétique. *La Nouv Pr Méd* 1981; 10:910.
7. Hanes M, et al. Erythrocyte deformability and diabetes. *Clin Hemorheol* 1983; 3:383.
8. 张之南,等.急性脑血管病及糖尿病患者红细胞可滤过性的初步观察. *中华内科杂志* 1986; 9:513.
9. Juhan I, et al. Abnormalities of erythrocyte deformability and platelet aggregation in insulin independent diabetics corrected by insulin in vivo and in vitro. *Lancet* 1982; 1:535.
10. Bareford D, et al. Effects of hyperglycaemia and sorbitol accumulation on erythrocyte deformability in diabetes mellitus. *J Clin Pathol* 1986; 39:722.
11. Otsuji S, et al. Erythrocyte membrane microviscosity in diabetes. *Horm Metab Res* 1981; 11:97.
12. Juhan-Vague I, et al. Abnormalities of erythrocyte membrane lipids in insulin-dependent diabetics are improved by short term strict control of diabetes. *Clin Hemorheol* 1984; 4:455.
13. Juhan-Vague I, et al. Rapid Modifications of biophysical and biochemical parameters of red blood cell membrane from insulin dependent diabetics after insulin administration. *Lin Wochenschr* 1986; 64:1046.
14. Stuart J, et al. Filtration of washed erythrocytes in atherosclerosis and diabetes mellitus. *Clin Hemorheol* 1983; 3:23.
15. Stone PCW, et al. Rheological study of density gradient fractionated erythrocytes in diabetes. *Clin Hemorheol* 1986; 6:337.
16. Buchan C. Evaluation and modification of whole blood filtration in the measurement of erythrocyte deformation in pregnancy and the newborn. *Brit J Hematol* 1980; 45:9.