

不同悬浮介质对激光衍射法测得的 变形指数—渗透压曲线的影响

文宗曜 曹实 赵玉衡 李玉梅 王鸿儒 刘淑华
(北京医科大学物理教研组)

徐家鸽 栗刚 于桂芬 吴本玠
(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

本文用PBS和PVP两种介质作为激光衍射仪的悬浮介质,系统地观测了悬浮介质物化性能不同对红细胞变形指数(DI)—渗透压曲线的影响,发现:

1. 在不同悬浮介质中的变形指数—渗透压曲线有显著差别,在高渗区这种差别更明显。
2. 同一红细胞试样,在相同高渗压下,在不同的悬浮介质中进行交叉实验表明、PBS悬浮介质能使得红细胞变形性得到恢复,而PVP悬浮介质却使得红细胞变形性显著降低。
3. 在高渗情况下,首次观察到红细胞变形性随时间变化,一开始DI增大,约3小时后趋于稳定,无论PBS还是PVP其趋势皆相似。

引 言

我们已经知道红细胞变形性降低时,其生存期明显缩短,而这种红细胞变形性的改变可能是由于表面积/体积(S/V)比减小,或因红细胞内粘度增加所造成。

采用激光衍射仪测量在恒定切变率下,连续改变悬浮介质渗透压,测其红细胞变形性,由于有广阔的渗透压变化区域,因而所测得的变形指数—渗透压曲线,因不同疾病而与正常情况形成鲜明差异。

Clark等^{[1][2]}在高粘介质中对上述问题进行了研究,由于用激光衍射法测得的RBC(红细胞)变形指数(DI)与悬浮介质粘度有关^{[3][4][5]},故我们考查了低粘度的PBS及高粘度的右旋糖酐作为悬浮介质,对激光衍射法测得的变形指数—渗透压曲线的影响进行了系统的实验研究。

血样制备

新鲜兔耳静脉血5ml,肝素抗凝,用PBS清洗三次,取PBS悬浮介质及右旋糖酐(15%)

本文于1990年4月25日收到

悬浮介质各50毫升,配成血球浓度 $2 \times 10^7/\text{ml}$ 的红细胞悬液。

另配血球浓度为 $2 \times 10^7/\text{ml}$ 的PBS及PVP高渗红细胞悬浮液60ml,渗透压分别为(800mOsm/kg, 488mOsm/kg)作为研究高渗下红细胞变形性随时间变化用。

配制血球压积为8%的高渗红细胞PBS悬浮液(715mOsm/kg, PH=7.4)30ml,作为用核孔过滤法测高渗下红细胞变形性随时间变化用。

所有血样在室温 $27 \pm 1^\circ\text{C}$ 下5小时内完成。

方法与步骤

1.用激光衍射仪在 800s^{-1} 切变率下,渗透压在110—500mOsm/kg范围内测量右旋糖酐红细胞悬浮液的渗透压曲线。

2.用激光衍射仪,在 800s^{-1} 切变率下,渗透压在140—800mOsm/kg范围内,测量PBS红细胞悬浮液的渗透压曲线。

3.用激光衍射仪,每20分钟测量一次488mOsm/kg的右旋糖酐红细胞悬浮液,及715mOsm/kg的PBS红细胞悬浮液的DI— $\dot{\gamma}$ 曲线,共5小时。

4.用核孔过滤法每20分钟测一次高渗PBS(715mOsm/kg)红细胞变形性。

5.用倒置显微镜分别拍摄10分钟后以及1小时后PBS与右旋糖酐红细胞悬浮液在上述高渗情况下的红细胞照片。

6.交换悬浮介质实验:将高渗(480mOsm/kg)PBS红细胞悬浮液离心后,将红细胞放入同样渗透压的PVP中,用激光衍射仪测其红细胞变形性DI— $\dot{\gamma}$ 。再将高渗右旋糖酐(480mOsm/kg)红细胞悬浮液离心后的红细胞用同样渗透压的PBS中清洗三次后再放入该PBS悬浮介质中用激光衍射仪测其红细胞变形性(DI— $\dot{\gamma}$)。

结 果

1.图1分别给出了以右旋糖酐,PBS作为悬浮介质,用激光衍射仪测得的渗透压曲线,其虚线表明2小时后所测得的渗透压曲线,从图中可见,对于右旋糖酐所测得的曲线与其他作者^[1]所得的曲线大致相同,但以PBS作为悬浮介质所测得的渗透压曲线在低渗区无极小值,而高渗区DI值下降缓慢,即渗透压曲线较宽。图中表明2小时后等参与低渗区DI变化不大,而高渗区DI变化较为明显。

2.图2给出了高渗情况下,PBS(715mOsm/kg)与右旋糖酐(488mOsm/kg)红细胞悬浮液中,在 800s^{-1} 切变率下变形指数DI随时间变化情况,从图中可见,DI随时间明显增

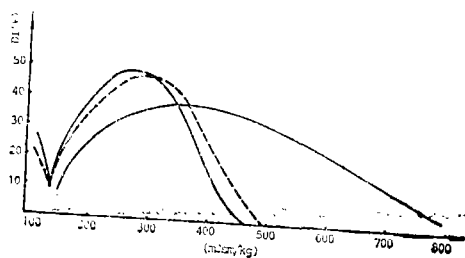


图1. PBS与右旋糖酐作为悬浮介质的渗透压曲线,虚线表示2小时后所测得的渗透压曲线,由图可见高渗区DI随时间明显增大

大，而在最初 1 小时变化较为明显。

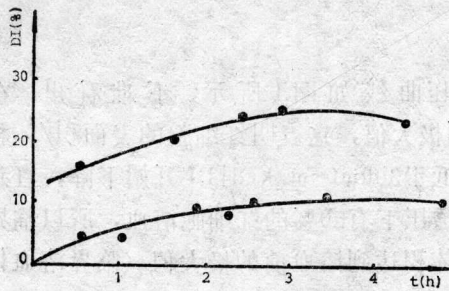


图 2 在高渗 PBS (715mOsm/kg), 右旋糖酐 (488mOsm/kg) DI (800s⁻¹) 随时间变化曲线

3. 图 3 A、B 分别给出了对应于 PBS 715mOsm/kg、右旋糖酐 488mOsm/kg (此图略) 在最初 5 分钟后, 与 1 小时后的显微镜照片。

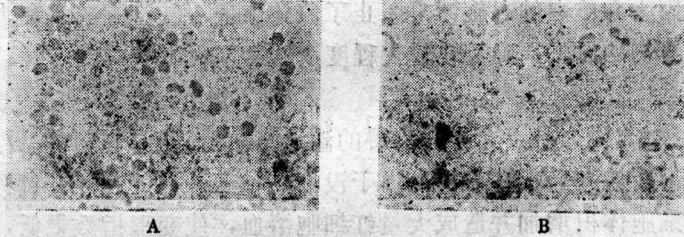


图 3 AB 分别为 PBS (715mOsm/kg) 5 分钟与 1 小时后的显微镜照片

4. 图 4 给出了用核孔过滤后所测得对应于 PBS 高渗悬浮介质 (800mOsm/kg) 过滤指数随时间的变化, 现随时间增加红细胞变形性增加与激光衍射仪所测结果一致。

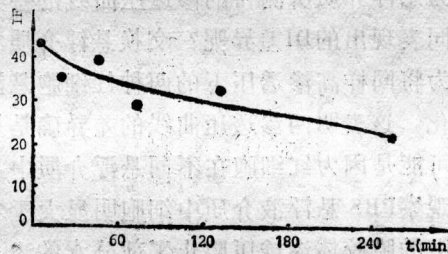


图 4 PBS 高渗红细胞悬浮液 (800mOsm/kg) IF—t 曲线

5. 图 5 给出了交换悬浮介质实验结果, 由图中可见, 原来变形性较好的 PBS 悬浮介质中的红细胞换用右旋糖酐作为悬浮介质测量时, 其变形性较差, 而原来变形性较差的右旋糖酐悬浮介质中的红细胞换用 PBS 作为悬浮介质测量时其变形性较好, 这说明在原有的两种悬浮介质中, 红细胞变形性因悬浮介质不同而有差异。

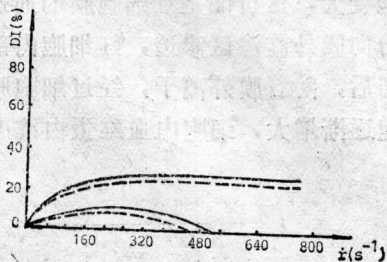


图 5 实线分别为 PBS 与右旋糖酐悬浮介质的激光衍射仪测得的 DI— $\dot{\gamma}$ 曲线, 虚线为交换实验所得结果, 两种血样的渗透压皆为 480mOsm/kg

讨 论

1. 用高粘度右旋糖酐作为悬浮介质测得的渗透压曲线如图1所示, 不难看出, 在300mOsm/kg附近红细胞的变形性最好, 即DI达到极大值, 这表明红细胞的表面积/体积(S/V)处于最大平衡状态。而当悬浮介质渗透压低于300mOsm/kg时DI开始下降, 直到140mOsm/kg附近DI达到极小值; 这表明, 在该渗透压下有50%的红细胞溶血, 所以临界渗透压提供了S/V信息, DI极小值表明平均红细胞体积达到溶血前的极大值(临界溶血体积), 此时的红血球接近球形。必须注意, DI极小值并不为零, 这是因为血样中的红细胞的非均质性引起, 在低于DI极小值时的渗透压下, DI又增大, 这是由于过低的渗透压引起引起红细胞肿胀破坏了细胞膜的渗透压屏障, 使细胞内含物有所丢失, 因此称此时为溶血是不确切的, 因为介质中的右旋糖酐阻止了胶体渗透压红细胞溶解和大量血红蛋白的丢失。然而少量内含物的漏失, 确又在较大程度上恢复了白细胞的变形性, 因而DI有所增大。

如图1所示, 以PBS作为悬浮介质所测得的渗透压曲线, 与右旋糖酐悬浮介质所测得的渗透压曲线相比, 有明显差异, 在低渗区由于没有高粘度悬浮介质(右旋糖酐)那样阻止红细胞的溶解, 故细胞体积增加并造成大量红细胞溶血, 使变形指数很低, 而且不再增大。在高渗区PBS悬浮介质中红细胞与同样渗透压的高粘度悬浮介质相比, 回渗入细胞的水份较多(见讨论3), 细胞内液丢失水份较少, 因而细胞内粘度增加不大, 故变形性比高粘度悬浮介质中红细胞的变形性好。即使得高渗区渗透压曲线缓慢降低。

2. 以PBS和右旋糖酐作为悬浮介质所测得的渗透压曲线的差异所反映的确是变形性的差异或是只因其悬浮介质不同表现出的DI差异呢? 交换悬浮介质实验表明, 在PBS悬浮介质中红细胞的变形性好, 因为将同样高渗透压下的两种红细胞悬浮液内的红细胞悬浮介质互换后其变形性发生明显变化, 这表明两渗透压曲线的差异确是反映因悬浮介质不同引起的红细胞变形性的差异。这可能是因为红细胞在不同悬浮介质中, 细胞膜对水的渗透程度不同引起的。从显微镜下, 观察PBS悬浮液介质中细胞明显大于右旋糖酐中红细胞, 这可能是因为高粘度的右旋糖酐中的膜胶体渗透压阻止了部分水的渗入细胞。

3. 作者首次发现(如图1、2和4所示)用PBS和右旋糖酐所测得的渗透曲线高渗区的DI随时间增加明显增大, 而等渗与低渗区在较长时间内变化不大。图2给出的在高渗透压下, 在两种悬浮介质中, 800s^{-1} 切变率的DI随时间变化曲线, 从图中可见在最初一小时内, 红细胞变形性增大较快, 以后缓慢增大, 高渗条件下, 红细胞变形性的增加可能与此条件下红细胞的膜的特性有关, 图3A、B的显微镜照片看出PBS与右旋糖酐中5分钟后与1小时后的红细胞外形的差异, 不难发现1小时后的红细胞变大, 这可能是红细胞膜的通透平衡过程。在红细胞刚进入高渗悬浮液中后, 细胞内水份向膜外高渗区渗透, 红细胞内部水份减少, 血红蛋白浓度增大, 粘度增加。经过一段时间后, 随着膜外离子, 经过细胞膜进入细胞内, 又带入了部分水分子进入细胞, 因而红细胞逐渐增大, 细胞内血红蛋白浓度有所降低, 因而红细胞变形性随时间又有所增加。

本研究由国家自然科学基金资助

参 考 文 献

- (1) Cark M.R. et al Blood.61 1981, 899
- (2) Brenda P. et al Biochimica et Biophysica,1982, 691, 211
- (3) 文宗耀等中国生物医学工程第四届学术讨论会, 1990年
- (4) Morris D.R. et al Biochimica et Biophysica, 1979, 550, 288
- (5) 文宗耀等: 中国生物医学工程第四届学术讨论会.1990年

THE INFLUENCE OF PBS SUSPENDING MEDIUM ON EKTACYTOMETER OSMOSCAN CURVE

Wen Zongyao Cao Shi Zhao Yuheng Li Yumei Wang Hongru Liu Shuhua
(*Medical physlos department of Beijing Medical University*)

Xu Jinling Li Gomg Yu Guifen Wu Benjie
(*Biophysics department of Beijing Medical University*)

Tao ZuLal
(*Institute of Maohanics, Academica Sinica*)

ABSTRACT

Ektacytometer osmoscan curve desorbing erythrocyte deformability index (DI) in relation to Inoresing osmolality of the suspending buffer were studied and osmoscan curve for PBS suspending medium has been obtained for the first time. The authers found that different influences of high viscosity suspending medium (PBS) on Ektacytometer osmoscan curve exist. However, erythrocyte de-formabillity in both high osmotio suspending media increases with the time. The results read as follows:

1. Ektacytometer osmoscan curve for PBS suspending medium is different from that for dextran, no minimum DI exists in low osmotic range of Ektacytometer osmoscan curve, namely, the DI doesn't increase with decrease of osmotic pressure.

2. DI in high osmotio pressure range of Ektaoytometer osmoscan curve for PBS suspending medium decreases slowly i.e. Ektacytometer curve in high osmotio range becomes broader than that for dextran suspending medium.

3. Ektacytometric measurements interchanging for PBS suspending medium and dextran suspending medium testified that crythrooyte deformabiliy in PBS suspending medium is better than that in dextran suspending medium in the high osmotic pressure.