

# 用电导法研究红细胞聚集-沉降现象\*

文宗曜 陶祖莱\*\* 马维原  
徐家鸽\*\*\* 赵玉衡 王鸿儒

(北京医科大学物理教研室,北京 100083)

## 摘 要

本文建立了一种测量红细胞聚集-沉降现象的电导法,并对所得的结果进行了理论分析,给出了描写红细胞聚集-沉降现象的 $I-t$ 函数半经验公式,首次引入了描写红细胞聚集-沉降现象的聚集指数 $f_a(t)$ 、沉降因子 $H(t)$ 以及它们与时间的函数关系。

**关键词:** 红细胞, 聚集, 聚集指数, 电导法

在血液流变学中,红细胞的聚集-沉降现象是近年来十分活跃的研究课题。Chien<sup>[1]</sup>提出了解释红细胞沉降理论的基础; Oka<sup>[2]</sup>, Abe等<sup>[3]</sup>提出了描写红细胞沉降理论公式; Perelson等<sup>[4]</sup>利用统计力学方法证明了平均缙钱状聚集体大小随细胞间吸附能的增加而增加; Skalak<sup>[5]</sup>建立了完善的缙线状形成与解聚的动力学理论; Evans等<sup>[6]</sup>对大分子与其相关的红细胞聚集体的亲合作了定量研究; Caspar-Rosas等<sup>[7]</sup>提出了用光学方法探测红细胞聚集方法及定量描述方程。

借助于对红细胞聚集-沉降过程机理的认识,建立动力学模型,可以定量解释红细胞的聚集-沉降现象,从而提供人们对疾病中血浆蛋白与红细胞膜异常性的一种廉价诊断方法。

本文提出了用电导法探测红细胞聚集-沉降现象,并对上述现象进行了初步理论探讨。

## 一、仪 器

测量红细胞聚集-沉降过程所引起的红细胞悬浮液电导随时间变化的 $I-t$ 曲线,采用北京医科大学物理教研室自行研制的红细胞聚集-沉降自动测试仪来完成。如图1所示,将待测血样置于缝宽1.5mm的两有机玻璃同心圆筒之间。内筒直径5cm,并装有4个环形电极,构成电导仪的4电极。外侧一对电极(a, d)提供交变电信号,通过内侧一对电极(b, c)探测此环形电极间,因红细胞聚集-沉降过程所引起的电导变化。每次测量之前,通过与外筒相通的注射器往复抽动,以达到破坏已形成的红细胞缙钱状聚集体,从而测得红细胞重新聚集-沉降

本文1990年7月9日收到,1991年5月11日收到修改稿。

\* 国家自然科学基金资助项目。

\*\* 中国科学院力学研究所,北京 100080。

\*\*\* 北京医科大学生物物理教研室,北京 100083。

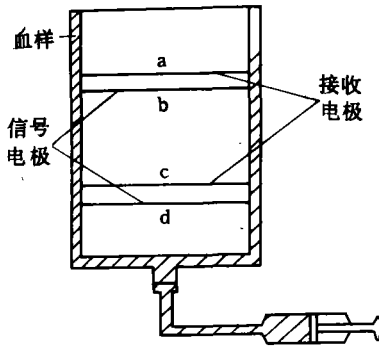


图1 红细胞聚集-沉降自动测试仪原理图  
(a, d——外测电极, b, c——内测电极)

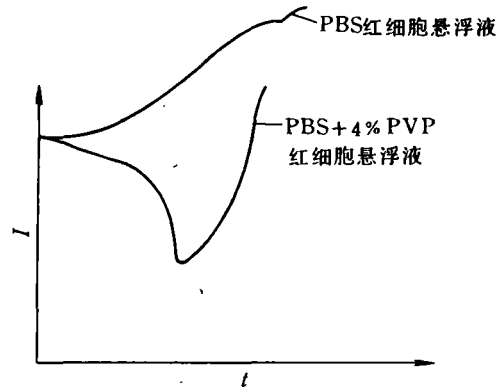


图2 PVP (4%) + PBS 红细胞悬浮液(有细胞聚集)以及 PBS 红细胞悬浮液的  $I-t$  曲线(无细胞聚集)

过程的电信号变化。所测得的结果经微机处理后自动打印出  $I-t$  曲线。

该仪器灵敏度高、重复性较好、能准确反映红细胞的降集-沉降现象。图2分别给出了4%的PVP(聚乙烯吡咯烷酮)+PBS(磷酸缓冲液)的红细胞悬浮液(压积8%)与相同压积的PBS红细胞悬浮液的  $I-t$  曲线,前者因PVP大分子桥连作用而产生的红细胞聚集-沉降现象,而后者并无聚集现象,因而两曲线明显不同。

## 二、方 法

1. 取新鲜肝素化抗凝兔血,用PBS缓冲液清洗3次,在  $3000 \times g$  下离心10min,分离出红细胞,再按3ml红细胞加75mu的唾液酸酶,分成等量3份,放入  $37^\circ\text{C}$  恒温水浴中分别孵育0.5h,1.5h。然后,将每一血样用PBS缓冲液清洗3次,最后悬浮于PBS+3%Dex70(浓度3%,分子量70000的右旋糖酐)的缓冲液中,3份血样皆配成8%的血球压积(各6ml)。

2. 取上述新鲜肝素化兔血,将清洗后的红细胞分成  $3 \times 6\text{ml}$ ,每份分别加入50mu,75mu和100mu的唾液酸酶,在  $37^\circ\text{C}$  恒温水浴内孵育1h后,再用PBS缓冲液清洗3次后,配成血球压积8%的PBS+3%Dex70红细胞悬浮液。

3. 按上述相同方法,配成1份水未经唾液酸酶处理的对照血样。

4. 对上述所有血样(共7份)用红细胞聚集-沉降自动测试仪测其电导随时间变化曲线  $I-t$ 。

5. 对上述各血样用电泳仪测其电泳率。

## 三、结 果

1. 表1给出了相同剂量(75mu)的唾液酸酶,不同处理时间与相同处理时间(1h),不同剂量唾液酸酶处理的红细胞的电泳率。由表中不难看出,唾液酸酶处理时间越长,电泳率越低,即红细胞表面电荷密度越小,反之亦然。

表1 不同剂量唾液酸酶、不同处理时间的红细胞的电泳率

	75mu 唾液酸酶作用时间			作用 1h 的唾液酸酶剂量			对照
	0.5h	1h	1.5h	50mu	75mu	100mu	
电泳率( $\mu\text{m}/\text{s}/\text{v}/\text{cm}$ )	$0.43 \pm 0.01$	$0.38 \pm 0.05$	$0.31 \pm 0.05$	$0.45 \pm 0.03$	$0.38 \pm 0.03$	$0.36 \pm 0.01$	$0.53 \pm 0.02$

2. 图3给出了75mu唾液酸酶处理不同时间的红细胞 PBS+3%Dex70 红细胞悬浮液的  $I-t$  曲线,不难发现,作用时间越长  $I_{\min}$  极小值越低.

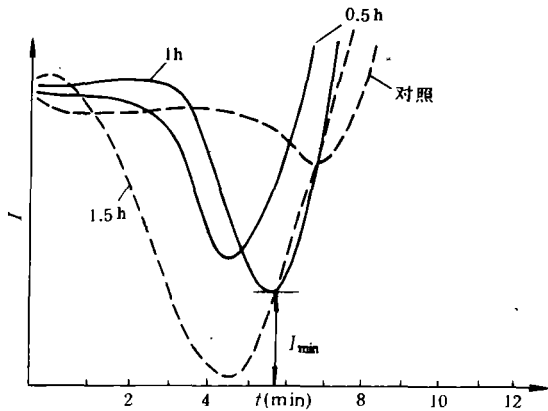


图3 用每3ml全血加75mu唾液酸酶分别作用0.5h, 1h及1.5h的血样所测得的  $I-t$  曲线

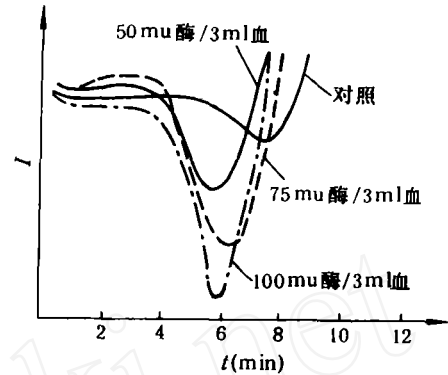


图4 分别对每3ml全血加50mu,75mu以及100mu唾液酸酶作用1h的血样所测得的  $I-t$  曲线

3. 图4给出了用不同剂量(50mu, 75mu和100mu)唾液酸酶处理的血样的  $I-t$  曲线,由图中可见,作用剂量越大,  $I_{\min}$  越小,相反也成立.

4. 由表1、图3和图4可见对照组电泳率最大,即红细胞表面电荷密度最大,  $I-t$  曲线的  $I_{\min}$  值最大.

## 四、讨 论

### 1. 结果分析

(1)由表1与图3可见,75mu唾液酸酶处理的血样,作用时间越长,对红细胞膜上的唾液酸除去越多,Zeta 电位减小得越多,表面电荷密度越小,亦即使红细胞膜间的桥连作用增强,红细胞的聚集作用加剧.由于形成大小均匀的较大的缙钱状红细胞的球状聚集体<sup>[8]</sup>,使悬浮液中导电的离子通道减小,从而使测得的电导值降得更低,即  $I-t$  曲线的  $I_{\min}$  值降得更低,曲线变化陡峭.

(2)由表1与图4可知,用不同剂量唾液酸酶处理1h的各血样中,由于不同剂量唾液酸酶不同程度地去掉细胞膜上的唾液酸,因而降低了Zeta 电位,使细胞膜表面电荷密度有不同程度降低,从而削弱了红细胞间静电斥力作用,故悬浮介质中大分子桥连作用有不同程度增强,即红细胞聚集作用随唾液酸酶作用剂量的增加,使得反映血样中红细胞聚集的  $I-t$  曲线变得陡峭,  $I_{\min}$  值变更低.

(3)前述各曲线的极小值  $I_{\min}$  虽然各有差异,但一旦经过极小值后,其电导值立刻迅速增加,聚集越强者,  $I$  增加越快,即聚集体越大,沉降速度越快.这一事实与 Thomas 等<sup>[8]</sup>对红细胞聚集-沉集机理研究所得的结论一致.即红细胞悬浮液中,红细胞沉降分两步进行,首先,红细胞连接成缙钱状实体,然后,这些实体逐渐形成大小均匀的球状体,仅当这些均匀球状实体形成后才发生沉降.我们用电导法所测得的  $I-t$  曲线正好反映了上述红细胞聚集-沉降过程.而  $I_{\min}$  值正是聚集与沉降过程的分界点.

## 2. 理论分析

红细胞的聚集-沉降是两个不同的又有联系的生物物理过程,所以  $I-t$  曲线实际上是从电的流变学角度描写这两过程,下面我们将分别进行讨论.

### (1) 聚集过程

红细胞悬浮液在红细胞聚集的前期,其电导值通常变化甚小,故可取  $t=0$  时刻的电导值为  $I_{S0}$ ,随着聚集过程进行,红细胞逐渐形成缙钱状实体,从而使得红细胞悬浮液内离子通道变窄,即所测得的电导值随之减小,实验表明由于聚集过程引起的电导值可用如下规律描述:

$$(I_{S0} - I_{\min}) \exp\left[-\frac{1}{\tau} (t_{\min} - t)\right] = I_m \exp\left[-\frac{1}{\tau} (t_{\min} - t)\right], \quad (10)$$

式中  $t < t_{\min}$ ,  $I_{S0} - I_{\min} = I_m$  表示红细胞悬浮液从  $t=0$  算起电导减小的最大值,  $t_{\min}$  为电导值降到最小所经历的时间,  $\tau$  为聚集时间常数. 由此可见  $t=0$  时  $I_{S0}$  开始以  $I_{S0} - I_m \exp\left(-\frac{1}{\tau} t_{\min}\right) \doteq I_{S0}$  的电导值减小,随着时间增加  $I$  逐渐减小,直到  $t=t_{\min}$  时,  $I$  减至  $I_{S0} - I_{\min}$ . 故  $t$  时刻因聚集引起的离子通道减小而降低的电导应为

$$I(t) = I_{S0} - (I_{S0} - I_{\min}) \exp\left[\frac{-1}{\tau} (t_{\min} - t)\right]. \quad (2)$$

将上式无因次化,则得

$$1 - I(t)/I_{S0} = (1 - I_{\min}/I_{S0}) \exp\left[\frac{-1}{\tau} (t_{\min} - t)\right]. \quad (3)$$

上式表明,红细胞聚集过程引起的电导的相对减小率,以指数规律逐渐增加,直至红细胞聚集体形成均匀球状体,开始沉降为止.

图 5 给出了按公式(3)算出的  $I-t$  曲线的聚集段(虚线)与实际测得的  $I-t$  曲线. 由图中可见,两曲线符合得相当好,对曲线上 100 个点进行相关运算,其相关系数超过 90% ( $p$  值小于 0.01).

### (2) 聚集指数

Fricke<sup>[9]</sup> 从电动力学原理推导出,椭球粒子的悬浮液中,电导值  $I_S$  的大小可以表为

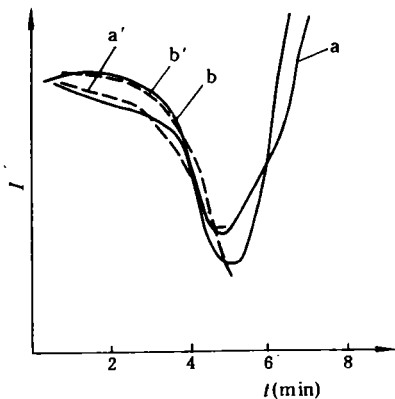


图 5 理论  $I-t$  (虚线) 与实验  $I-t$  (实线) 曲线比较  
(a, b 曲线分别为正常与唾液酸酶处理红细胞悬浮液)

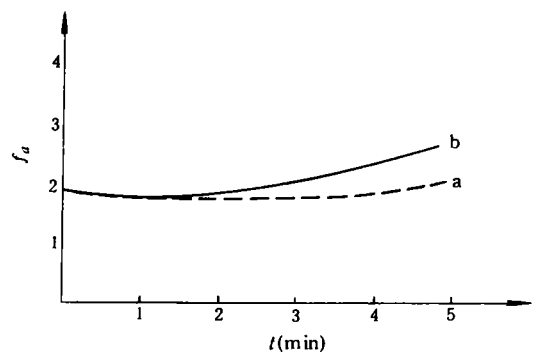


图 6 图 5a, b 曲线对应的  $f_a-t$  曲线

$$I_s = I_0 + \frac{\rho/3}{1-\rho} \sum_{\alpha=a,b,c} \frac{2(I_p - I_s)}{2 + \alpha bc L_\alpha (I_p/I_0 - 1)}, \quad (4)$$

式中,  $I_s, I_0, I_p$  分别表示悬浮液、悬浮介质、粒子电导值,  $\rho$  为粒子所占体积百分数,  $a, b$  和  $c$  表示椭球粒子轴长,  $L_a, L_b$  和  $L_c$  为  $a, b$  和  $c$  的函数, 分别定义为

$$L_a = \int_0^\infty \frac{d\lambda}{(a^2 + \lambda)^{3/2} (b^2 + \lambda)^{1/2} (c^2 + \lambda)^{1/2}}, \quad L_b = \int_0^\infty \frac{d\lambda}{(b^2 + \lambda)^{3/2} (c^2 + \lambda)^{1/2} (a^2 + \lambda)^{1/2}},$$

$$L_c = \int_0^\infty \frac{d\lambda}{(c^2 + \lambda)^{3/2} (a^2 + \lambda)^{1/2} (b^2 + \lambda)^{1/2}}.$$

Velick 等<sup>[10]</sup> 将 Fricke 结果推广到哺乳动物的红细胞考虑到频率不太高的电场内红细胞不导电, 即  $I_p$  近似为零, 令(4)式中  $\rho = H$  (血球压积),

$$1/3 \sum_{\alpha=a,b,c} \frac{2}{\alpha + \alpha bc L_\alpha} = f, \quad (5)$$

经简化后(4)式变为

$$I_s = \frac{I_0}{1 + \frac{Hf}{1-H}}$$

式中,  $f$  为决定于椭球轴长比的形状因子, 上式表明, 红细胞悬浮液中的电导, 除了决定于血球压积和悬浮介质电导外, 还决定于形状因子. 将此理论应用于红细胞悬浮液的聚集-沉降现象, 不难理解, 红细胞聚集过程引起的电导变化是来自红细胞缙钱状体, 以及后期均匀大小聚集体的形成过程. 在此过程中, 电导变化决定于因红细胞聚集过程引起的形状因子  $f$  的变化, 此时我们称它为聚集因子, 表示为  $f_a$ , 注意到  $I_s$  应改写为  $I(t)$ , 则方程(4)变为

$$I(t) = \frac{I_0}{1 + \frac{Hf_a}{1-H}} \quad (5')$$

或

$$f_a(t) = \frac{1-H}{H} (I_0/I(t) - 1). \quad (6)$$

由此可见, 如已知  $I(t)$ , 则不难求得  $f_a(t)$  随时间变化规律, 将(2)式代入(6)式得

$$f_a(t) = \frac{1-H}{H} \left\{ \frac{I_0}{I_{s0} \left[ 1 - \left( 1 - \frac{I_{\min}}{I_{s0}} \right) \exp\{-1/\tau(t_{\min} - t)\} \right]} - 1 \right\}, \quad (7)$$

由于  $I_{s0}, I_0, I_{\min}$  与  $H$  皆可实验测得, 因而不难求得  $f_a-t$  曲线. 图6给出了正常红细胞悬浮液的  $f_a-t$  曲线, 由图可知, 随着聚集过程进行,  $f_a$  逐渐增加, 当  $t=0$  时  $f_a=1.927$ , 此值与 Velick 等<sup>[10]</sup> 所得的红细胞悬浮液中, 红细胞轴长比 4:4:1 (相当于正常圆盘形红细胞轴长比) 的  $f (=1.901)$  基本相符. 当  $t=t_{\min}$  时,  $f_a=2.729$ , 即聚集过程完成 (形成大小均匀球状聚集体). 图中还给出了唾液酸酶处理后的  $f_a-t$  曲线, 它与正常对照血样相比, 存在明显差异. 由此可见, 聚集因子  $f_a(t)$  确实反映了红细胞聚集现象.

## (3) 沉降过程

当红细胞聚集过程完成后,已形成均匀球状体的红细胞聚集体立刻开始沉降. 此时的电导  $I$  的初值  $I_{\min}$  根据(5)'式

$$I_{\min} = I_0 / (1 + H f_a(t_{\min}) / (1 - H)) = I_0 / (1 - f_a(t_{\min}) (1 - \frac{1}{1-H})), \quad (8)$$

式中,  $f_a(t_{\min})$  为  $t = t_{\min}$  的聚集指数,  $H$  为此时刻的血球压积. 当两接收信号环形电极红细胞聚集体开始沉降后,  $H$  开始减小, 最终变为零, 即  $I = I_0$ . 设  $H$  按指数规律减小, 即

$$H(t) = H(t_{\min}) \exp[-k(t - t_{\min})] \quad (t > t_{\min}). \quad (9)$$

由于  $H(t)$  决定了沉降过程  $I$  的变化, 故此时的  $H(t)$  称为沉降因子, 故(8)式变为

$$I = \frac{I_0}{1 - f_a(t_{\min}) (1 - \frac{1}{1 - H(t_{\min}) \exp[-k(t - t_{\min})]})}, \quad (10)$$

由于  $f_a(t_{\min})$ ,  $I_0$  与  $H(t_{\min})$  皆已知, 由实验测得  $I-t$  曲线, 再通过(10)式可求得  $k$  值, 从而求得沉降因子  $H(t)$ . 由(2), (10)式算得的  $I-t$  曲线(虚线)与实验曲线(实线)如图 7 所示, 两者符合得较好.

值得注意的是, 我们用电导法所测得的  $I-t$  红细胞聚集-沉降曲线与 Misiaszek 等<sup>[11]</sup> 用

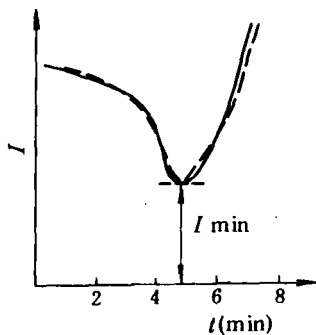


图 7 根据公式(2)与(10)算出的曲线(虚线)与实验曲线比较

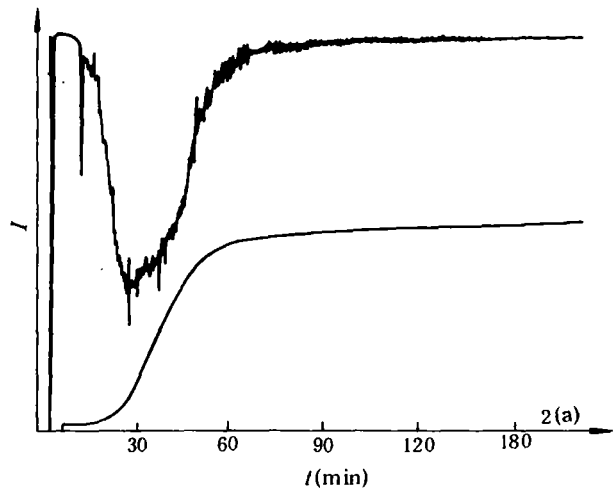


图 8 用光学法测得  $I$ (光强)- $t$ (时间)红细胞沉降过程

光学法测得的光强度  $I(t)$  随时间变化的  $I-t$  血沉曲线基本相似(图 8), 只不过他们仅讨论了曲线后半部分的血沉过程. 与我们测得的电导随时间变化的  $I-t$  曲线相比, 不难发现, 该曲线的前半部分记录了红细胞聚集过程引起的光强度变化. 由图 8 可见, 光学法的信噪比, 较电导法小, 即前者干扰较大.

## 参 考 文 献

- [ 1 ] Chien, S., *Microvascular Res.*, **5**(1973), 155—166.  
[ 2 ] Oka, S., *Biorheology*, **22**(1985), 315—321.  
[ 3 ] Abe, K. et al., *ibid.*, **23**(1986), 17—23.  
[ 4 ] Perason, A. et al., *Biophys. J.*, **37**(1982), 515.  
[ 5 ] Skalak, R., *Biorheology*, **21**(1984), 463—476.  
[ 6 ] Evans, E. et al., *Biophys. J.*, **34**(1981), 145—149.  
[ 7 ] Gaspar-Rosas, A. et al., *Biorheology*, **25**(1988), 471—487.  
[ 8 ] Thomas, L. F., *Blood*, **70**(1987), 1572—1576.  
[ 9 ] Fricke, M., *Physic Rev.*, **24**(1924), 575.  
[ 10 ] Velick, S. et al., *J. Gen. Physiol.*, **23**(1940), 753—771.  
[ 11 ] Misiaszek, R. et al., *Biorheology*, **14**(1977), 145—149.

www.cnki.net