44-47

1997年7月 重庆大学学报 (自然科学版) Vol. 20, №. 4
第20卷第4期 Journal of Chongqing University (Natural Science Edition) Jul. 1997

生物大分子对电流场中红细胞沉降行为的影响*

The Influence of Macromolecules on Erythrocyte Sedimentation Behavior in Electric Field

R318.01
R446.113

谢玲玲 龙勉 刘延海 王红兵
Xie Lingling Long Mian Liu Yanhai Wang Hongbing

(重庆大学生物工程研究院,重庆,630044;第一作者28岁,女,硕士)

摘 要 利用自行研制的红细胞电场沉降实验系统,研究了竖直向上的直流恒流电流作用下红细胞在分别含分子量7万的葡聚糖及分子量5万的聚赖氨酸的生理盐水溶液中的沉降行为,得出红细胞在该电流作用下的沉降与这两种分子的电荷特性及质量浓度有关,在质量浓度 6×10^{-2} g/mL,分子量7万的葡聚糖生理盐水溶液中红细胞的聚集速度由于电流的作用显著加快。

关键词 红细胞;沉降;电场 生物大分子 葡聚糖

中国图书资料分类法分类号 R318.01

ABSTRACT In this paper, the relationship between erythrocyte sedimentation behavior and the type of macromolecules in suspension medium in an upward DC electric field of constant current is investigated. The results show: a) Erythrocyte sedimentation behavior is dependent on the electric characteristic and concentration of macromolecules; b) In Dextran 70 6×10^{-2} g/mL saline solution, erythrocytes aggregate more quickly in this type of eletric field.

KEYWORDS erythrocytes; sedimentation; electric fields

0 引 言

长期以来,由于红细胞沉降法能够反映红细胞聚集程度且方法简单,一直作为一种常规的检查患者健康状况的临床检验手段。但经进一步研究,发现红细胞沉降与多种因素有关,既有外界的因素(如环境温度、沉降管的倾斜度等),也有血样自身的因素(如血球压积、血浆蛋白的成分及质量浓度、pH值等)。为此,许多研究者将目光投向如何将血沉检查规范化,如Dintenfass尝试了将血球压积及血浆粘度对细细胞沉降率的影响进行修正[1]。但即使将外界环境及血球压积控制严格,得到的红细胞沉降率虽然能够更准确地反映红细胞聚集,但仍然

* 收文日期 1996-07-05
四川省青年科技基金资助项目

不能说明到底是何种因素引起了红细胞聚集及沉降。为了揭示红细胞沉降的机制，无疑应在更微观的领域里去探索。

近年来的研究成果显示：红细胞聚集行为与红细胞及周围介质中的较大分子的电荷密切相关。Jan 等人研究发现：带正电的聚赖氨酸引起红细胞聚集所需的最小浓度远低于呈电中性的葡聚糖[2,3]。聚赖氨酸及葡聚糖的 Zeta 电位尚未见报导，但由它们在直流电场中的表现可以判断其电性质。

由于直流电流场中，不同电性质的粒子表现出不同的迁移速度。当对红细胞施加一方向与重力方向相同的电场力时，可以从其沉降速度的变化上获得与红细胞膜电荷及悬浮介质有关的信息。众所周知，红细胞膜电荷及血浆蛋白的成分是与疾病密切相关的因素，这一研究将在临床医学上具有重要意义，而这方面的研究尚未见报导。由此，笔者分别考察了两种不同电性质的大分子的悬浮液中红细胞在电场力作用下的沉降行为，以期从中找出某些规律。

1　实验方法及实验样本

1.1　实验方法

利用动态记录红细胞沉降过程并拟合沉降曲线得出红细胞沉降过程参数的方法来考察红细胞的沉降行为。红细胞电场沉降实验系统由普通垂直式电泳仪改装而成[4]，红细胞及悬浮介质分界面高度随时间变化的信号经 CCD 转化为电信号输入微机进行存贮及数据处理，所用的沉降管为：长(150±2) mm，内径(2.50±0.05) mm 的玻璃圆管，温度控制在(23±2)℃，沉降管倾斜度小于 0.5°. 电源输出为(0.80±0.01) mA，方向沿沉降管向上的直流恒流电流。对照组为不加电流自然沉降的相同样本。

1.2　实验样本

样本有 5 个：含分子量 7 万葡聚糖(DX70)的质量浓度分别为 2×10^{-2} g/mL，4×10^{-2} g/mL，6×10^{-2} g/mL，牛血清白蛋白(BSA)为 2.5×10^{-3} g/mL 的红细胞生理盐水悬浮液及含分子量 5 万聚赖氨酸，(PDL50)的质量浓度分别为 25.5 μg/mL，45.5 μg/mL，BSA 为 2.5×10^{-3} g/mL 的红细胞生理盐水悬浮液，5 个样本的 pH 值均用磷酸盐缓冲对 K_2HPO_4/KH_2PO_4 调至 7.4，渗透压为 150 mmol，压积(Hct)为(45±1)%. 其中 DX70，BSA 及 PDL50 的质量浓度均为未加入红细胞的悬浮介质的质量浓度。

2　实验结果及讨论

实验结果见图 1，图 2.

表 1 汇总了由红细胞沉降曲线拟合的流变参数。其中，EMSR 为红细胞最大沉降速度；EATI 为红细胞聚集时间指数；ESR 为临床魏氏法血沉值；$EMSR_e$ 表示电场组的最大沉降速度；$EMSR_0$ 表示相应对照组的最大沉降速度。

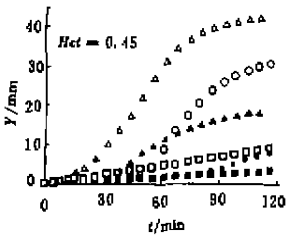

图 1 电流作用下的红细胞在含 DX70 的生理盐水溶液中的沉降过程

● 对照组(DX70 6×10^{-2} g/mL);
○ 电场组(DX70 6×10^{-2} g/mL);
▲ 对照组(DX70 4×10^{-2} g/mL;
△ 电场组(DX70 4×10^{-2} g/mL);
■ 对照组(DX70 2×10^{-2} g/mL;
□ 电场组(DX70 2×10^{-2} g/mL).

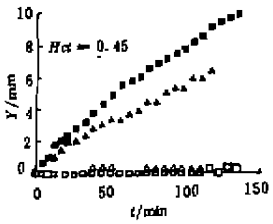

图 2 电流作用下红细胞在含 PDL50 的生理盐水溶液中的沉降过程

□ 对照组(PDL50 25.5 μg/mL);
■ 电场组(PDX50 25.5 μg/mL);
△ 对照组(PDL50 45.5 μg/mL);
▲ 电场组(PDX50 45.5 μg/mL).

表 1 红细胞沉降曲线的拟合参数值

编号	实验组	DX70/PDL50 (g/mL)	EATI (min)	EMSR (mm/min)	ESR (mm/h)	EMSR-EMSRo (mm/min)
1	对照组	DX70 6×10^{-2}	72.03	0.175	1.40	0.475
	电场组		48.14	0.650	7.10	
2	对照组	DX70 4×10^{-2}	28.15	0.340	10.87	0.450
	电场组		20.20	0.790	29.74	
3	对照组	DX70 2×10^{-2}		0.026	1.60	0.053
	电场组			0.079	4.80	
4	对照组	PDX50 2.55×10^{-2}		0.005	0.30	0.106
	电场组			0.110	5.70	
5	对照组	PDX50 4.55×10^{-2}		0.005	0.30	0.075
	电场组			0.080	3.70	

由图 1 和表 1 可见,在含 DX70 6×10^{-2} g/mL 的悬浮介质中红细胞聚集的进程由于直流恒流电场的作用而显著加快,其 EATI 值缩短了 25 min 左右。含 DX70 的生理盐水溶液中,电场组红细胞沉降过程随 DX70 质量浓度的变化趋势与对照组相同,均在 DX70 质量浓

度为 2×10^{-2} g/mL 时红细胞沉降速度最低，沉降曲线为直线，DX70 质量浓度为 4×10^{-2} g/mL 时红细胞沉降速度最快，DX70 质量浓度为 6×10^{-2} g/mL 时红细胞沉降速度介于两者之间，在后两种悬浮介质中的红细胞沉降曲线均为 S 形曲线。

为准确把握相同电流对不同悬浮液中红细胞沉降速度绝对值的影响，将含各个质量浓度 DX70 的样本的电场组 EMSR 与无电场作用对照组 EMSR 相减（见表 1 中数据），可见，EMSRe-EMSRo 随 DX70 质量浓度升高而增加，含 DX70 4×10^{-2} g/mL 和 6×10^{-2} g/mL 的样本较含 DX70 2×10^{-2} g/mL 的样本高 9 倍左右。根据 Jan 等人的文献[2,3]及作者本人在显微镜下的观察，含 DX70 2×10^{-2} g/mL 的样本红细胞聚集程度明显低于含 DX70 4×10^{-2} g/mL 和 6×10^{-2} g/mL 的样本，因此作者推测 EMSRe-MESRo 的大小可能与红细胞聚集程度有关。

当悬浮介质中用呈正电的 PDL50 替换 DX70 后，红细胞沉降出现了与前面实验不同的现象：1）对照组的样本中红细胞几乎无沉降，电场组样本中红细胞沉降过程为速度逐渐降低的指数形曲线。2）含 PDL50 25.5 μg/mL 的样本的 EMSRe-EMSRo 远低于含 DX70 4×10^{-2} g/mL 或 6×10^{-2} g/mL 样本。将含 PDL50 25..5 μg/mL 的样本涂片观察，可发现确实存在红细胞聚集。因而可以推测，前一种结果可能是由于红细胞与 PDL50 带不同的电荷，在电场力作用下向着不同电极移动，引起红细胞聚集体出现轻度解聚所致。而后一种结果可能是由于 PDL50 呈正电，其所桥连的红细胞聚集体总体负电荷较中性的 DX70 桥接的聚集体少，因而在电场力作用下迁移速度较低。

由以上实验结果可见，直流恒流电流场中，在不同电性质的生物分子悬浮液中红细胞的沉降呈现出较强的特异性。以上结果对解决临床常规血沉法特异性较差的缺憾可能会有一定帮助。

参 考 文 献

1　翁维良，廖福龙，吴云鹏 等．血液流变学研究方法及其应用．北京：科学出版社，1989. 82～85

2　Jan K M, Chien S. Role of surface electric charge in red blood cell interaction. J Gen Physiol, 1973, 61: 638～654

3　Chien S, Jan K M. Red cell aggregation by macromolecules: roles of surface adsorption and electrostatic repulsion. New York: J Supramolecular structure Alan R Liss Inc, 1973. 385～409

4　Long Mian, Yoshiharu Toyama, Toshiaki Dobashi, et al. Effect of electric field on erythrocyte sedimentation rate: enhencement in saline solution. Biorheology, 1990, 27, 241～246