

高胆固醇血症家兔红细胞在交、直流电场中的电泳行为

于小波 王 玲 景小棠 汪 钟

(中国医学科学院基础医学研究所, 北京 100730)

提 要

本文对高胆固醇血症家兔红细胞在交、直流电场中的电泳行为进行了多指标测定, 结果显示, 高脂组与正常组相比红细胞聚集能力增强, 变形能力及膜流动性下降, 表明高脂血症可能较易导致血栓形成。中药有效成分 8501 有对抗高脂引起的红细胞上述改变的作用, 提示 8501 可能对血栓和动脉粥样硬化斑块形成有防治作用。

关键词 高胆固醇血症, 8501 中药有效成分, 细胞电泳, 电介质电泳

细胞在直流电场中的运动称细胞电泳 (cell electrophoresis)^[1], 其速度与膜表面静电荷密度成正比^[1]。细胞在交流非均匀电场中成串、变形及自旋运动现象称电介质电泳 (dielectrophoresis)^[2]。此时细胞介电常数若大于周围介质, 则会在电极周围排列成串珠, 电极一定时间收集的串珠数乘以串珠平均长度称电介质电泳收集率 (dielectrophoresis collection rate 简称 DCR)^[2], 在某些外场频率下细胞产生自旋运动, 称细胞自旋共振 (cell spin resonance, 简称 CSR), CSR 达峰值时的频率称特征频率^[2,3], 同时细胞还受到外交流电场拉伸力作用, 拉伸力一定时, 细胞长度反映了其变形性^[4]。

1 材 料 和 方 法

1.1 动物及分组 雄性新西兰家兔 31 只, 体重 $2.5 \pm 0.5 \text{ kg}$ (解放军总医院提供), 随机分为三组, (1) 正常组: 喂基础饲料 [$150 \text{ g}/(\text{kg} \cdot \text{d})$], (2) 高脂组: 喂基础饲料加胆固醇 [$0.2 \text{ g}/(\text{kg} \cdot \text{d})$], (3) 给药组: 除喂同样量的基础饲料和胆固醇外, 同时喂 8501 粉剂 [$100 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$] (湖南省中医药研究院提供)。12 周后动物在清醒状态下颈动脉放血, 进行如下测定。

1.2 血清胆固醇测定 用乙醇抽提, 高铁-硫酸显色法测定^[5]。

1.3 红细胞电泳测定 血液用枸橼酸钠抗凝, 以细胞电泳仪 (上海医科大学制造) 在 25°C 下测定红细胞在自身血浆中的电泳时间^[6]。

1.4 红细胞电介质电泳测定

1.4.1 实验装置及样品处理: 本室自制的电介质电泳装置结构如下: 直径 4 mm 圆柱形观察腔, 深 1 mm , 内装顶对顶相距 $140 \mu\text{m}$, 直径 0.2 mm 铂丝作电极, 其间加 15 V(P-P) 交流电压, 在腔内形成交流非均匀电场。红细胞用生理盐水洗涤三遍, 以 10^7 个/ ml 浓度悬于 9% 等渗蔗糖液。该悬液加入观察腔, 盖以盖玻片, 置于目镜装有棋盘格的显微镜下在室温 (16°C) 条件测定。

1.4.2 DCR 测定: 红细胞悬于等渗蔗糖液后立即以一个棋盘格长度为 5, 测定 5 min 内形成的细胞串珠平均串长及串数。 $\text{DCR} = \text{平均串长} \times \text{串数}$ 。

1.4.3 红细胞变形性测定: 样品加入观察腔后 5 min 测定红细胞的长度。

1.4.4 红细胞几个频率值测定: 外电场频率调至 1MHz, 待形成稳定的细胞串珠后缓慢增加外场频率, 细胞串珠长度开始缩短时的频率为 F_a ; 继续增加外场频率, 细胞开始作自旋运动的频率为 F_b ; 自旋细胞数目及细胞自旋速度均达最高时的频率为 F_c ; 所有细胞停止自旋时的频率为 F_d 。

2 结 果

三组动物血清胆固醇含量 对照组:

$42.39 \pm 7.82 \text{ mg/100ml}$, 给药组: $156.98 \pm 126.27 \text{ mg/100ml}$, 高脂组: $353.83 \pm 168.65 \text{ mg/100ml}$ 。高脂组与对照组比, 差异非常显著 ($P < 0.01$); 给药组与高脂组比血清胆固醇明显降低 ($P < 0.01$)。

三组动物红细胞电泳时间、DCR 及变形长度 表 1 表明, 高脂组与正常组比较, 红细胞电泳时间延长, 变形长度下降。给药组与正常组比较, 此两项指标无显著变化。三组动物红细胞 DCR 无显著差异。

表 1 不同组动物红细胞的电泳时间、DCR 及变形长度
Tab. 1 The Electrophoresis Time, DCR and Deformation Length of RBC in different groups of rabbits

动物组 Groups	电泳时间 Time(s) $\bar{x} \pm \text{SD}$	电泳收集率 DCR $\bar{x} \pm \text{SD}$	变形长度 Length(μm) $\bar{x} \pm \text{SD}$
对照组 Control ($n = 11$)	38.4 ± 8.0	252 ± 22	16.8 ± 3.2
高脂+8501 组 High Lipid + 8501 ($n = 10$)	$36.3 \pm 7.5^{1)}$	$278 \pm 34^{1)}$	$16.0 \pm 2.4^{1)}$
高脂组 High Lipid ($n = 10$)	$47.0 \pm 7.4^{2), 4)}$	$295 \pm 18^{3), 4)}$	$12.4 \pm 2.4^{3), 5)}$

1) $P > 0.05$, 与对照组比; $P > 0.05$, vs Control; 2) $P < 0.05$, 与对照组比; $P < 0.05$ vs Control; 3) $P > 0.05$, 与高脂+8501 组比; $P > 0.05$, vs High Lipid + 8501; 4) $P < 0.05$, 与高脂+8501 组比; $P < 0.05$, vs High Lipid + 8501; 5) $P < 0.01$, 与高脂+8501 组比。 $P < 0.01$, vs High Lipid + 8501。

表 2 不同组动物红细胞的四个频率值
Tab. 2 Four frequencies of RBC in the different groups of the rabbits

动物组 Groups	$F_a(\text{MHz}) \bar{x} \pm \text{SD}$	$F_b(\text{MHz}) \bar{x} \pm \text{SD}$	$F_c(\text{MHz}) \bar{x} \pm \text{SD}$	$F_d(\text{MHz}) \bar{x} \pm \text{SD}$
对照组 Control ($n = 11$)	6.0 ± 3.4	17.1 ± 3.1	26.3 ± 2.1	33.8 ± 2.7
高脂+8501 组 High Lipid + 8501 ($n = 10$)	$4.6 \pm 2.3^{1)}$	$19.7 \pm 5.2^{1)}$	$25.2 \pm 4.4^{1)}$	$34.5 \pm 1.6^{1)}$
高脂组 High Lipid ($n = 10$)	$3.0 \pm 0.6^{3), 4)}$	$12.8 \pm 2.4^{3), 5)}$	$20.7 \pm 2.8^{3), 4)}$	$29.5 \pm 5.9^{3), 4)}$

1) $P > 0.05$, 与对照组比; $P > 0.05$, vs Control; 2) $P < 0.05$, 与对照组比; $P < 0.05$, vs Control; 3) $P < 0.01$, 与对照组比; $P < 0.01$, vs Control; 4) $P < 0.05$, 与高脂+8501 组比; $P < 0.05$, vs High Lipid + 8501; 5) $P < 0.01$, 与高脂+8501 组比。 $P < 0.01$, vs High Lipid + 8501。

三组动物红细胞四个频率值 表 2 表明, 高脂组与正常组比较, 红细胞 F_a, F_b, F_c, F_d 值均明显降低; 给药组与正常组比较, 则均无明显变化。

3 讨 论

本文用细胞电泳及电介质电泳研究红细胞

膜及表面的性质。已知细胞电泳技术在膜表面电荷研究中已广泛应用^[4]。电介质电泳技术近年来在国外刚刚开始用于生物材料的导电及介电性质, 微观结构和运动等方面的研究中^[2-4]。在国内还未见有关报道。因而我们采用这种新技术探讨正常、高胆固醇血症及喂饲高胆固醇加中药有效成分 8501 的新西兰家兔红细胞有

关特性。

本文表明, 高脂组红细胞电泳时间较正常组增长, 说明其表面负电荷减少, 细胞间静电斥力减少, 聚集能力增强, 因而可能较易导致血栓形成^[1,7]。虽然高脂组与正常组红细胞 DCR 无显著差异, 即其介电及导电性无显著差异^[2]。但高脂组红细胞变形能力下降, 致使其通过毛细血管的阻力增加, 因而较易导致微循环不良^[7]。

本文还表明: 高脂组红细胞与正常组相比几个频率值均降低, 其中 F_0 降低提示其 DCR 谱高频响应下降, F_b, F_c, F_d 降低提示其 CSR 谱峰向低频移动, 特别应指出 F_0 为特征频率, 在本实验频率范围内对应红细胞膜镶嵌蛋白分子水平扩散运动引起的特征峰频率, 其值与膜脂微粘度呈负相关关系^[3]。高脂组红细胞 F_0 值降低, 说明其膜脂微粘度上升, 流动性下降, 这也是导致红细胞变形性下降的原因^[7]。

综上所述, 给家兔喂饲高胆固醇后其红细胞聚集能力增强, 变形能力下降, 膜流动性下

降。这些变化可能导致血栓形成, 促使动脉粥样硬化发生、发展。而同时喂饲 8501 的家兔, 其红细胞的上述变化均呈不同程度的抑制。根据 8501 有降低血清胆固醇的作用^[4], 看来 8501 可能对血栓形成和动脉粥样硬化具有防治效果, 值得进一步进行临床研究。

8501 由湖南省中医药研究院张璧姿教授、刘法锦同志提供, 谨致谢意。

参 考 文 献

- 1 Pretlow T G II, Pretlow TP. *Int Rev Cytol*. 1979; 61:85
- 2 Pohl H A. In: Catsimopoulos N ed. *Methods of cell separation*, Vol. 1, New York and London: Plenum Press. 1980: 67-169
- 3 Kell D B, Harris CM. *J Bioelect*, 1985; 4(2):317
- 4 Chang S, Takashima S, Asakura T. *J Bioelect*, 1985; 4 (2): 301
- 5 汪钟, 胡艳华, 安岩等. 中国医学科学院学报, 1988; 10 (5):325
- 6 Bone S. *J Bioelect*, 1985; 4 (2):389
- 7 冈小天(日). 生物流变学, 第二版, 科学出版社, 1988: 94-123

THE ERYTHROCYTE ELECTROPHORESISES OF RABBITS WITH HYPERCHOLESTEROLEMIA IN AN AC AND A DC ELECTRIC FIELDS

Yu Xiaobo Wang Ling Jing Xiaotang Wang Zhong

(Institute of Basic Medical Sciences, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing, 100730)

ABSTRACT

The cell electrophoresis and dielectrophoresis of the erythrocytes in rabbits with hypercholesterolemia were measured. The results indicated that the aggregation of these erythrocytes was increased, while their deformation and membrane fluidity were decreased compared with the control. It suggests that the hypercholesterolemia may be one of the reasons which causes the thrombosis. The results also showed that 8501 (the effective principle of the chinese herb) could regulate above changes of the erythrocytes, which implied that 8501 may have benefit in preventing and treating thrombosis and atherosclerosis.

Key words hypercholesterolemia, 8501 (the effective principle of the chinese herb), cell electrophoresis, dielectrophoresis