维普资讯 http://www.cqvip.com

115~116

维生素A缺乏大鼠红细胞的扫描电镜观察*

儿童医院儿保教研室 翟 平 李廷玉 黎海芪 郑惠连

提 要 采用扫描电镜检查维生素A缺乏(VAD)的大鼠外周血红细胞形态，结果发现其红细胞呈现大小不均，并伴有大量棘形红细胞、泪滴形红细胞、纺锤形红细胞等异常形态出现，提示VAD可以引起红细胞形态异常，可能是VAD引起贫血的机理之一。

关键词 维生素A缺乏;红细胞形态;扫描电镜检查
中图分类号 Q562;Q-336

R591.402

VAD可引起贫血，但其机理仍不十分清楚，Staab曾经发现，VAD时红细胞(RBC)内^{59}Fe的聚集明显减少，提示VAD时铁不能正常地被RBC摄取，可能RBC膜存在某种变化[1]。我们以往的研究证实VAD时红系祖细胞增殖分化障碍，RBC膜蛋白合成受到影响，因此RBC形态可能有变化，为此我们用扫描电镜观察VAD大鼠的外周血RBC形态，现报道如下：

1 材料与方法

1.1 动物模型制作

采用断乳期21～23dWistar大鼠，雄性，体重40±5g，由重庆医科大学实验动物中心提供。随机分组，对照组和缺乏组各12只。

VAD大鼠模型复制：按文献[2]复制，饲料基础配方为：鸡蛋蛋白20%，豆油5%，葡萄糖6.8%，混合无机盐6.8%、混合维生素0.25%，对照组给VitA 6500 IU/kg饲料，VAD组不给VitA，喂至第六周时对照组及VAD组大鼠被断头取血查血清VitA，取对照组5只，VAD组6只作扫描电镜检查RBC形态，喂养过程中取大鼠尾血作血清VitA及外周血血液学分析。

1.2 实验方法

1.2.1 血清VitA(SVA)：采用反相高效液相色谱分析法(HPLC)测定，色谱仪为美国Waters公司产品，VitA标准品购于Sigma公司。

1.2.2 血红蛋白(Hb)，RBC数，血球压积(Hct)：采用日本Sysmex F-800型自动血液分析仪测定。

1.2.3 红细胞扫描电镜检查：大鼠断头立即取血加入PBS缓冲液中，离心(1000 r/min,10min)，去WBC层，用戊二醛及锇酸双固定，酒精梯度脱水，临界点干燥，喷金。用KYKY—1000B型，25KV扫描电镜观察。

2 结果与讨论

2.1 血清VitA与VAD的临床表现

对照组喂至第6周时血清VitA为1.42±0.45μmol/L(n=10)，VAD组VitA为0.38±0.15μmol/L(n=8)，VAD组大鼠临床上出现明显的皮毛粗糙无光、角膜溃疡、生长障碍，与其它文献报道一致[3]。提示VAD模型复制成功。

2.2 外周血血液学分析(表1)

在VAD 6周中，血清VitA进行性下降，但外周血象RBC数、Hb及Hct在整个过程中与对照组比较无统计学差异，一直呈增高趋势。一般认为是由于断乳期大鼠生长快速使肝贮备的VitA迅速耗竭，VitA水平急剧下降，VAD对肾功能的损害来不及代偿，导致水代谢失衡，血容积下降，血液浓缩[9]，因而

* 本课题获国家自然科学基金资助(39100143)

维普资讯 http://www.cqvip.com

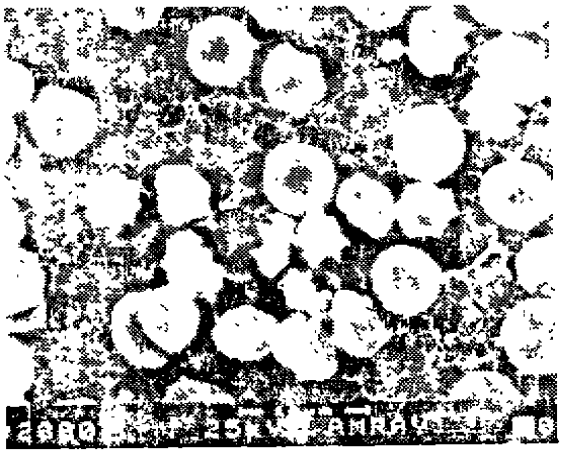


图1 VAD组大鼠RBC扫描电镜下形态，图中可见大量棘形RBC，放大倍数×200



图2 对照组大鼠RBC扫描电镜下形态 图中RBC大小均匀，呈双凹圆盘状，放大倍数×2640

出现红系造血祖细胞损害与外周血象不贫血的矛盾现象[3]。

2.3 大鼠RBC扫描电镜检查结果(图1、2)

扫描电镜检查发现对照组异常RBC少于2%，VAD的大鼠外围血异常RBC增多，达15～60%，二者出现明显差异。VAD组RBC呈现大小不均，并伴有泪滴形、纺锤形、球形等异常形态RBC，与文献报道一致[5]。但出现大量棘形RBC未见报道。

红细胞膜由各占约50%的膜脂质和膜蛋白组成，膜蛋白构成网络状红细胞膜骨架，使RBC呈特征性圆盘状结构，并对保持RBC正常的变形能力起着至关重要的作用[4]。Mohandas等人认为脂质不对称性是维持RBC形态的基础，如脂质双层某一层发生变化都会使RBC变形，他用溶血胆碱磷脂(LPC)插入到(RBC膜)脂双层的外层，结果RBC变成了棘状[6]。我们从前的研究发现大鼠VAD引起RBC膜带3蛋白含量下降(本室待发表资料)，而带3蛋白与RBC膜上脂质有密切关系。RBC膜脂质种类最丰富的胆固醇可引起膜蛋白包括带3蛋白发生直立移位，引起带3蛋白聚集[7][8]。因此我们推测棘形RBC可能与VAD引起RBC膜带3蛋白减少而影响脂质不对称性改变有关。上述VAD时大鼠异常RBC形态及数量的出现提示VAD对RBC生长有明显影响，可能是VAD引起贫血的机理之一。

表1 对照组与VAD组的VitA及外周血血液学分析

	2w		4w		6w	
	Control ($n=9$)	VAD ($n=9$)	Contrd ($n=8$)	VAD ($n=12$)	Control ($n=8$)	VAD ($n=8$)
SVA(μmol/L)	2.08±0.35[a]	1.31±0.29[b]	1.24±0.34[a]	0.69±0.03[b]	1.42±0.45[a]	0.38±0.15[b]
Hct	0.38±0.03	0.39±0.02	0.39±0.02	0.39±0.04	0.42±0.03	0.43±0.04
RBC($\times10^{12}$/L)	5.83±0.65	6.06±0.53	6.22±0.57	6.079±0.78	6.58±0.58	6.91±0.55
Hb(g/L)	115.33±10.81	119.33±8.11	127.87±10.37	134.41±9.78	141.00±5.60	150.50±15.80

注：a、b具有统计学差别($P<0.05$，t检验)。

(下转第106页)