

# 低浓度吸氧对糖尿病大鼠血液流变学和视网膜渗漏的影响

何青, 谢茂松, 徐国兴

基金项目:福建省教育厅科技资助项目(No. JB09120);福建省科技平台建设资助项目(No. 2010Y2003)  
作者单位:(350005)中国福建省福州市,福建医科大学附属第一医院眼科 福建省眼科研究所  
作者简介:何青,副主任医师,研究方向:视网膜病。  
通讯作者:徐国兴,教授,博士研究生导师,研究方向:玻璃体视网膜病、晶状体病。zjfmuxg@pub5.fz.fj.cn  
收稿日期:2012-03-30 修回日期:2012-07-02

## Effect of low concentration of oxygen inhalation on diabetic rats' hemorheology and retinal leakage

Qing He, Mao-Song Xie, Guo-Xing Xu

**Foundation items:** Research Foundation of Department of Education of Fujian Province, China (No. JB09120); Research Foundation of Fujian Provincial Science and Technology Platform, China (No. 2010Y2003)

Department of Ophthalmology, the First Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou 350005, Fujian Province, China

**Correspondence to:** Guo-Xing Xu. Department of Ophthalmology, the First Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou 350005, Fujian Province, China. zjfmuxg@pub5.fz.fj.cn  
Received: 2012-03-30 Accepted: 2012-07-02

### Abstract

• **AIM:** To investigate the effect of low-concentration intermittent oxygen inhalation on diabetic rats' hemorheology and retinal leakage.

• **METHODS:** Healthy and clean male SD rats were randomly divided into three groups: control group, diabetes group, diabetes treated with oxygen inhalation group. The rats in the diabetes group and the diabetes treated with oxygen inhalation group were intraperitoneally injected streptozotocin (STZ). The rats in the control group were intraperitoneally injected citrate buffer. The rats in the diabetes treated with oxygen inhalation group inhaled 300 mL/L oxygen for 2 hours daily. Two months after modeling, the rats' hemorheological parameters were measured with blood rheometer. The rats' retinal Evans leakage was quantitatively measured and the integrity of the blood ocular barrier was analyzed using Evans blue as a tracer.

• **RESULTS:** The high shear viscosity of whole blood, middle shear viscosity of whole blood, low-shear viscosity of whole blood, relative index of high shear, relative index of low shear, high-shear reduced viscosity, low shear reduced viscosity, haematocrit, erythrocyte aggregation index, plasma viscosity, Casson viscosity

and K value of erythrocyte sedimentation rate equation of diabetes group were higher than those of control group and diabetes treated with oxygen inhalation group. The differences among three groups were statistically significant (all  $P < 0.05$ ). The plasma viscosity and the Casson viscosity of diabetes treated with oxygen inhalation group were similar to those of control group. The differences were not statistically significant (both  $P > 0.05$ ). The high shear viscosity of whole blood, middle shear viscosity of whole blood, low-shear viscosity of whole blood, relative index of high shear, relative index of low shear, high-shear reduced viscosity, low shear reduced viscosity, haematocrit, erythrocyte aggregation index and erythrocyte rigidity index of diabetes treated with oxygen inhalation group were lower than those of control group and diabetes group. The differences among three groups were statistically significant (all  $P < 0.05$ ). The retinal Evans leakage of diabetes group was higher than that of control group and diabetes treated with oxygen inhalation group. The retinal Evans leakage of diabetes treated with oxygen inhalation group was higher than that of control group, while was lower than that of diabetes group. The differences among three groups were statistically significant ( $P < 0.05$ ).

• **CONCLUSION:** Low-concentration intermittent oxygen inhalation can reduce diabetic rats' blood viscosity, increase diabetic rats' retinal blood supply and oxygen supply, and reduce diabetic rats' retinal leakage.

• **KEYWORDS:** diabetes; oxygen; hemodynamics; blood retinal barrier

**Citation:** He Q, Xie MS, Xu GX. Effect of low concentration of oxygen inhalation on diabetic rats' hemorheology and retinal leakage. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2012;12(8):1452-1454

### 摘要

**目的:**探讨低浓度间断吸氧对糖尿病大鼠血液流变学和视网膜渗漏的影响。

**方法:**健康清洁级雄性SD大鼠随机分为3组:对照组、糖尿病组、糖尿病吸氧组。糖尿病组和糖尿病吸氧组大鼠腹腔内注射链脲佐菌素(STZ)。对照组注射柠檬酸盐缓冲液。糖尿病吸氧组大鼠每天吸入浓度为300 mL/L氧气2 h, 2 L/min。造模后2 mo采用血液流变仪测定大鼠血液流变学参数,采用Evans蓝作为示踪剂定量检测视网膜中Evans的含量,分析血-视网膜屏障的破坏程度。

**结果:**糖尿病组的全血高切黏度、全血中切黏度、全血低切黏度、高切相对指数、低切相对指数、高切还原黏度、低切还原黏度、红细胞压积、红细胞聚集指数、血浆黏度、卡松黏度和血沉方程K值均较对照组和糖尿病吸氧组高,差异具有统计学意义(均 $P < 0.05$ );糖尿病吸氧组的血浆黏

度和卡松黏度与对照相近,差异无统计学意义(均  $P > 0.05$ );糖尿病吸氧组的全血高切黏度、全血中切黏度、全血低切黏度、高切相对指数、低切相对指数、高切还原黏度、低切还原黏度、红细胞压积、红细胞聚焦指数、红细胞刚性指数均较对照组和糖尿病组降低,差异具有统计学意义(均  $P < 0.05$ )。糖尿病组视网膜 Evans 渗漏量较对照组和糖尿病吸氧组高,糖尿病吸氧组视网膜 Evans 渗漏量较对照组高,但较糖尿病组低,差异具有统计学意义(均  $P < 0.05$ )。

**结论:**低浓度间断吸氧可降低糖尿病大鼠血液黏度,增加视网膜血供和氧供,减少视网膜渗漏。

**关键词:**糖尿病;吸氧;血流动力学;血-视网膜屏障

DOI:10.3969/j.issn.1672-5123.2012.08.07

**引用:**何青,谢茂松,徐国兴.低浓度吸氧对糖尿病大鼠血液流变学和视网膜渗漏的影响.国际眼科杂志 2012;12(8):1452-1454

## 0 引言

糖尿病是继心血管和肿瘤之后的第三位“健康杀手”<sup>[1]</sup>。糖尿病视网膜病(diabetic retinopathy, DR)是糖尿病眼部最严重的并发症,是50岁以上人群的重要致盲性眼病<sup>[2,3]</sup>。缺血、缺氧是增殖型DR新生血管生成的主要诱因。增殖型DR是以新生血管形成为主要标志的一种异常增生性疾病,可引起视网膜水肿、甚至出血,严重影响患者的视功能<sup>[3,4]</sup>。本研究探讨低浓度间断吸氧对糖尿病大鼠血液流变学和视网膜渗漏的影响。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 健康清洁级雄性8周龄Sprague-Dawley(SD)大鼠60只,体质量约 $200 \pm 20$ g,购于上海斯莱克实验动物有限公司[许可证号:SCXK(沪)2007-0005],适应性喂养2wk,禁食不禁水空腹12h。链脲佐菌素(streptozotocin, STZ, Sigma公司,批号:S0130)溶于 $0.1 \text{ mol/L}$ ,  $\text{pH} = 4.4$ 的无菌柠檬酸盐缓冲液,配成 $10 \text{ g/L}$ 的溶液,用时配制。

## 1.2 方法

**1.2.1 糖尿病动物模型的建立** SD大鼠随机分为3组:对照组、糖尿病组、糖尿病吸氧组,称体质量、测血糖。糖尿病组和糖尿病吸氧组大鼠按 $65 \text{ mg/kg}$ 剂量,一次性ip STZ溶液。对照组注射同等剂量的柠檬酸盐缓冲液。72h后取尾血测血糖,血糖 $\geq 16.7 \text{ mol/L}$ 者为造模成功,每4wk测一次血糖及体质量。造模成功后,大鼠每日放入吸氧箱内2h,对照组和糖尿病组接入正常空气, $2 \text{ L/min}$ ;糖尿病吸氧组接入 $300 \text{ mL/L}$ 浓度氧气, $2 \text{ L/min}$ 。

**1.2.2 血流动力学检测** 造模后2mo,每组各取10只, $4 \text{ mL/kg}$ 水合氯醛麻醉,腹主动脉采血 $5 \text{ mL}$ 于肝素锂抗凝管,采用血液流变仪(SA 7000型,北京赛科希德科技发展有限公司)测定全血高切黏度、全血中切黏度、全血低切黏度、高切相对指数、低切相对指数、高切还原黏度、低切还原黏度、红细胞压积、红细胞聚焦指数、红细胞变形指数、红细胞刚性指数、血浆黏度、卡松黏度。

**1.2.3 血-视网膜屏障的破坏程度检测** 造模后2mo,每组各取10只,采用Evans蓝作为示踪剂定量检测视网膜中Evans的含量,分析血-视网膜屏障的破坏程度。Evans蓝定量检测血-眼屏障破坏方法参照Xu等<sup>[5]</sup>报道的方法。鼠尾静脉注射Evans蓝( $45 \text{ mg/kg}$ )。经股动脉抽血离心取上清检测血浆中Evans蓝浓度;2h后经左心室灌注

$10 \text{ g/L}$ 多聚甲醛柠檬酸盐缓冲液,灌注后剥出眼球速冻;冰冻状态下在赤道部切开眼球;眼后节显微镜下分离后部视网膜,放入预先称重的EP管内;真空干燥器中干燥5h, $60^\circ \text{C}$ ,称重,计算视网膜干重;每管加入 $120 \mu \text{L}$ 甲酰胺,萃取房水和视网膜中的Evans蓝;萃取液离心后取上清液 $100 \mu \text{L}$ 采用紫外-可见分光光度计(Model Du-640, Beckman, Fullerton, CA)检测Evans蓝浓度(采用双波检测,Evans蓝吸收峰 $620 \text{ nm}$ ,吸收谷 $740 \text{ nm}$ ,  $\text{OD} = \text{OD}_{620 \text{ nm}} - \text{OD}_{740 \text{ nm}}$ ),通过标准曲线计算上清液中Evans蓝浓度。

统计学分析:所有实验数据以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,采用SPSS 15.0统计软件进行单因素方差分析。以 $P < 0.05$ 作为差别有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 各组大鼠血液流变学变化** 血液流变学发现糖尿病组的全血高切黏度、全血中切黏度、全血低切黏度、高切相对指数、低切相对指数、高切还原黏度、低切还原黏度、红细胞压积、红细胞聚焦指数、血浆黏度、卡松黏度和血沉方程K值均较对照组和糖尿病吸氧组高,差异具有统计学意义(均  $P < 0.05$ );糖尿病吸氧组的全血高切黏度、全血中切黏度、全血低切黏度、高切相对指数、低切相对指数、高切还原黏度、低切还原黏度、红细胞压积、红细胞聚焦指数、红细胞刚性指数均较对照组和糖尿病组降低,差异具有统计学意义(均  $P < 0.05$ ,表1)。

**2.2 各组大鼠血-视网膜屏障的破坏程度** 糖尿病组视网膜Evans渗漏量( $11.85 \pm 0.63$ )较对照组( $5.29 \pm 0.28$ )和糖尿病吸氧组( $7.15 \pm 0.46$ )高,糖尿病吸氧组视网膜Evans渗漏量较对照组高,但较糖尿病组低,差异具有统计学意义( $F = 506.025, P < 0.01$ )。

## 3 讨论

DR是重要致盲性眼病。糖尿病患者发生失明的危险性是非糖尿病患者的4倍,糖尿病起病后5a便可发生DR,15a后约有50%的患者发生DR,25a后有80%~90%的患者发生DR<sup>[1]</sup>。增殖型DR是以新生血管形成为主要标志的一种异常增生性疾病,是促血管生长因子和抑制血管生长因子相互协调、共同作用的结果。缺血、缺氧是增殖型DR新生血管生成的主要诱因<sup>[4,6]</sup>。

本研究发现糖尿病组的全血高切黏度、全血中切黏度、全血低切黏度均较对照组和糖尿病吸氧组高。全血黏度是血液总体(包含血细胞和血浆)流动性的指标。全血黏度增高表示血液黏滞性增加,流动性降低。由高到低不同切变速度下的全血黏度,用以大致反映血液在体内不同粗细、不同压差的血管中的流动性。糖尿病组的全血高切黏度、全血中切黏度、全血低切黏度都升高说明糖尿病时血液黏度增加,在大、中、小血管中流动性都下降了,这减少了全身包括视网膜微循环的血供,降低血液的输氧能力,引起局部缺血、缺氧。高切全血黏度是指血液在高切变速度下流动时所表现的流动性大小。高切全血黏度增高的直接原因依次是:血细胞(主要是红细胞)浓度增加;血浆黏度增加;红细胞刚性增加(即变形能力降低)。低切全血黏度是指血液在低切变速度下流动时所表现的流动性大小。低切全血黏度增高的直接原因依次是:血细胞浓度增加,血浆黏度增加,红细胞聚集性增加<sup>[7-9]</sup>。糖尿病组红细胞压积较正常组和吸氧组升高,这可能是糖尿病

表1 低浓度吸氧大鼠血液流变学指标的变化

	对照组	糖尿病组	糖尿病吸氧组	F	P
全血高切黏度 (mPa/s)	3.75±0.08	4.10±0.09	3.33±0.11	157.215	<0.01
全血中切黏度 (mPa/s)	4.66±0.10	5.02±0.12	4.03±0.11	210.351	<0.01
全血低切黏度 (mPa/s)	21.06±1.04	23.80±1.07	14.88±1.36	153.798	<0.01
高切相对指数	3.27±0.27	3.36±0.17	2.78±0.31	14.446	<0.01
低切相对指数	18.1±1.2	19.4±1.2	13.4±1.3	65.167	<0.01
高切还原黏度	5.57±0.18	5.82±0.25	4.94±0.32	29.517	<0.01
低切还原黏度	44.1±1.5	45.9±1.1	32.5±1.3	288.233	<0.01
红细胞压积 (L/L)	0.47±0.01	0.49±0.01	0.44±0.01	161.832	<0.01
红细胞聚焦指数	6.31±0.33	5.92±0.20	4.92±0.32	59.797	<0.01
红细胞变形指数	0.8±0.01	0.8±0.01	0.8±0.03	1.000	0.381
红细胞刚性指数	4.67±0.08	4.69±0.10	3.85±0.10	243.247	<0.01
血浆黏度 (mPa/s)	1.16±0.06	1.24±0.06	1.18±0.06	5.193	0.012
卡松黏度	2.88±0.08	3.15±0.10	2.62±0.16	47.766	<0.01
血沉方程 K 值	4.44±0.24	4.79±0.30	3.75±0.33	32.065	<0.01

时局部组织缺血、缺氧引起机体代偿性增加血液中红细胞浓度,以增加血液的供氧能力。糖尿病组全血还原黏度(高切和低切)都升高。全血还原黏度是去除血细胞浓度后的全血黏度,它反映血浆黏度和血细胞本身性质对血液流动性的影响。全血高切还原黏度增高的直接原因是血浆黏度增加或红细胞刚性增高(变形能力降低)。全血低切还原黏度增高的直接原因是血浆黏度增加,或红细胞聚集性增加<sup>[7-9]</sup>。糖尿病组的全血相对黏度(高切和低切)都升高。全血相对黏度是指去除血浆黏度这个影响因素后的全血黏度,它反映血细胞浓度和血细胞本身性质对血液流动性的影响。全血高切相对黏度增加的直接原因是血细胞浓度增加,或红细胞刚性增高(变形能力降低)。全血低切相对黏度增加的直接原因是血细胞浓度增加,或红细胞聚集性增加。糖尿病组血浆黏度较对照组和糖尿病吸氧组高。血浆黏度增加的直接原因是血浆纤维蛋白原或大分子球蛋白增加,或血脂显著增加<sup>[7-9]</sup>。此外,糖尿病组红细胞的聚焦指数较对照组和糖尿病吸氧组高,说明糖尿病时红细胞容易凝聚。本研究糖尿病大鼠的血流动力学结果与既往研究糖尿病小鼠、糖尿病大鼠以及糖尿病患者的结果相似<sup>[7-9]</sup>。因此,糖尿病时,机体代谢增高使耗氧量增加,但血浆黏度增高,红细胞浓度增加,红细胞变形能力下降,聚集能力增强。这都使全血黏度增高,使视网膜血液流速减慢,视网膜血流量减少<sup>[10-12]</sup>。视网膜血流量减少引起视网膜缺血缺氧,引起视网膜新生血管,视网膜 Evans 蓝渗漏量增加。

本研究发现糖尿病吸氧组血浆黏度和卡松黏度与对照组相近。糖尿病吸氧组红细胞压积较对照组和糖尿病组降低。糖尿病吸氧组的全血高切、全血中切、全血低切、高切相对指数、低切相对指数、高切还原黏度、低切还原黏度、红细胞聚焦指数、红细胞刚性指数均较对照组和糖尿病组降低。这说明糖尿病吸氧后,不仅血浆黏度下降,接近正常,而且全身氧供增加,血液中红细胞的浓度减少,红细胞变形能力增强,聚集能力下降。这使血液的黏度下降,使视网膜血液流速加快,增加视网膜血流量和氧供,减少糖尿病引起视网膜缺血缺氧,减少视网膜的新生血管,使视网膜 Evans 蓝渗漏量降低。

综上所述,DR 是以新生血管生成为主要标志的一种严重致盲眼病,缺血缺氧是 DR 新生血管形成的主要诱因。吸氧可降低血液黏度,增加视网膜血流量,增加视网膜血供和氧供,有望从根本上治疗缺血、缺氧诱发的视网膜新生血管,这将为 DR 的防治提供一种新途径。

参考文献

- 1 Chen L, Magliano DJ, Zimmet PZ. The worldwide epidemiology of type 2 diabetes mellitus—present and future perspectives. *Nat Rev Endocrinol* 2011;8(4):228-236
- 2 Rani PK, Raman R, Gella L, et al. Prevalence of Visual Impairment and Associated Risk Factors in Subjects with Type II Diabetes Mellitus: Sankara Nethralaya Diabetic Retinopathy Epidemiology and Molecular Genetics Study (SN - DREAMS, Report 16). *Middle East Afr J Ophthalmol* 2012;19(1):129-134
- 3 Benedict KF, Coffin GS, Barrett EJ, et al. Hemodynamic systems analysis of capillary network remodeling during the progression of type 2 diabetes. *Microcirculation* 2011;18(1):63-73
- 4 Gariano RF, Gardner TW. Retinal angiogenesis in development and disease. *Nature* 2005;438(7070):960-966
- 5 Xu Q, Qaum T, Adamis AP. Sensitive blood-retinal barrier breakdown quantitation using Evans blue. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001;42(3):789-794
- 6 单俊杰,袁志兰,曹国平. 血清中 VEGF 和 bFGF 水平与糖尿病视网膜病变关系的临床研究. *国际眼科杂志* 2011;11(12):2097-2098
- 7 Yadav AS, Harris NR. Effect of tempol on diabetes-induced decreases in retinal blood flow in the mouse. *Curr Eye Res* 2011;36(5):456-461
- 8 Cesaretti ML, Ginoza M, Ribeiro AB, et al. Systemic hemodynamic and left ventricular function of diabetic-induced hypertensive rats. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2010;54(9):842-851
- 9 Andersen CA. Noninvasive assessment of lower - extremity hemodynamics in individuals with diabetes mellitus. *J Am Podiatr Med Assoc* 2010;100(5):406-411
- 10 Nagaoka T, Sato E, Takahashi A, et al. Impaired retinal circulation in patients with type 2 diabetes mellitus; retinal laser Doppler velocimetry study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51(12):6729-6734
- 11 Baydar S, Adapinar B, Kebapci N, et al. Colour Doppler ultrasound evaluation of orbital vessels in diabetic retinopathy. *Australas Radiol* 2007;51(3):230-235
- 12 兰海鹰,穆塔里甫·吾布里哈斯木,陈雪艺. 糖尿病患者球后血管血流动力学变化分析. *国际眼科杂志* 2009;9(1):80-82