

高血糖对红细胞理化性质及免疫功能影响的研究进展*

张紫薇 周晓芳 郭建荣

【摘要】 由于红细胞没有线粒体,其能量供应完全依赖于葡萄糖酵解,但高血糖状态可使血红蛋白糖化,产生氧化应激对细胞组分造成损伤。本文系统回顾糖尿病状态下红细胞的变化,分析糖尿病对红细胞理化性质及免疫功能的影响,以期对糖尿病患者的临床治疗提供参考。

【关键词】 糖尿病 红细胞 理化性质 免疫功能

【中图分类号】 R587.2 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-2587(2021)05-0677-04

据资料显示,2017年全球范围内18岁以上成年人的糖尿病患病率为8.4%,预计到2045年将上升至9.9%,其中发病率在65岁~70岁时达到顶峰,而中国人口结构老龄化的问题日益加重,临床上合并糖尿病的患者势必增多^[1]。红细胞作为人体内占比最大的血细胞,承担着运输O₂、增强吞噬功能、免疫黏附及抗感染的职责,而红细胞的变形性是保障其功能正常发挥的重要条件。研究显示,红细胞变形性会随疾病严重程度的增加而降低,“不良”代谢状态下的糖尿病患者的红细胞变形能力明显减弱^[2],这预示着糖尿病患者体内高血糖水平会影响红细胞的功能,进而加重患者体内的微循环障碍。

1 高血糖对红细胞理化性质的改变

1.1 糖化血红蛋白:糖化血红蛋白(haemoglobin A1c, HbA1c)是葡萄糖和血红蛋白间通过非酶促糖基化作用发生的不可逆反应的产物,它取决于血糖水平、糖尿病病程和红细胞寿命^[3]。目前临床上多采用2010年由世界卫生组织提出的HbA1c≥6.5%作为糖尿病的诊断标准,血糖和HbA1c间的显著正相关现已被广泛接受^[4],当平均血糖升高2 mmol/L时,HbA1c升高1%。2型糖尿病患者胰岛β细胞分泌功能与HbA1c水平及病程呈负相关,相对于病程,患者胰岛β细胞分泌功能受HbA1c水平的影响更大^[5]。随着血糖的升高,高血糖症会导致血红蛋白和葡萄糖间的非酶蛋白糖基化增加,从而增加HbA1c水平。另一方面,高血糖症会使红细胞寿命缩短,从而减少血红蛋白和葡萄糖间糖基

化的反应时间,导致HbA1c产生减少。因此,红细胞寿命缩短这一因素可能导致最终的HbA1c水平低于预测值,进而影响病情的诊治^[6]。

1.2 能量代谢:糖酵解是红细胞内ATP生成的唯一代谢途径,受到己糖激酶、磷酸果糖激酶、丙酮酸激酶催化反应的严格控制,且这些步骤具有不可逆性^[7]。2型糖尿病患者红细胞中主要的糖酵解酶活性发生了显著变化,其中己糖激酶活性显著增加,使得细胞内6-磷酸葡萄糖浓度升高,但磷酸果糖激酶活性显著降低导致糖酵解过程受到抑制^[8-9],影响ATP的合成,损害2型糖尿病患者的红细胞变形能力。同时,2型糖尿病患者红细胞中的乳酸脱氢酶活性随着动力学性质的改变而增加,有助于将丙酮酸转化为乳酸,从而导致乳酸性酸中毒,这也是糖尿病的突出临床表现之一^[10]。另外,由于体内血氧张力降低而导致的红细胞释放ATP能力受损、腺嘌呤和鸟嘌呤核苷酸去磷酸化的增加均表明2型糖尿病患者体内能量代谢障碍较为严重^[11-12]。

1.3 红细胞形态:与正常红细胞相比,糖尿病患者的红细胞有凹陷深度、直径、高度和变形指数等形态的变化,轴比、刚度、粘着力、聚集和刚度指数均增加^[13]。糖尿病患者的红细胞具有细长的外形以及更光滑的细胞膜,其胞膜延伸形成的突起可围绕纤维蛋白自发扭曲^[14]。见图1。

1.4 磷脂酰丝氨酸:由于氧化应激抑制了细胞膜的运动,导致高血糖状态下红细胞膜磷脂的不对称,膜脂质过氧化、流动性减弱、表面磷脂酰丝氨酸外翻增多,最终易被单核-巨噬细胞系统清除。细胞表面的磷脂酰丝氨酸外露,通常被认为是参与吞噬作用(“eat-me”信号)的第一步。相对于老化而言,糖基化显著增强了红细胞膜磷脂酰丝氨酸的外翻作用^[15]。

1.5 CD47:红细胞膜蛋白CD47的表达在衰老条件下受到调节,其构象变化可能代表参与红细胞吞噬的另一个“eat-me”信号。在糖化红细胞的膜上,CD47的整体表达量不变,但其构象发生了改变,表明糖化红细胞向吞噬细胞提供了潜在的“eat-me”信号。与正常红细胞相比,糖化红细胞溶血半衰期(HT50)降低了71%,抗自由基诱导溶血的能力显著下降,表明糖基化可导致红细胞膜的氧化损伤从而引起红细胞脆性增加^[16]。

1.6 微囊泡:微囊泡(microvesicles, MVs)是多种类型

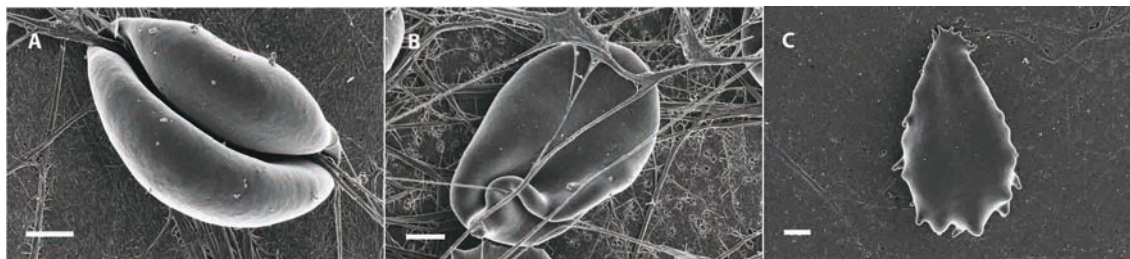
DOI: 10.3969/j.issn.1671-2587.2021.05.029

*本课题受国家自然科学基金面上项目(No. 81671919)、上海市浦东新区卫生系统重点学科群建设项目(No. PWZxq2017-10)资助

作者单位:200135 海军军医大学附属公利医院(张紫薇,周晓芳,郭建荣)

作者简介:张紫薇(1995-),女,安徽芜湖人,在读硕士,主要从事围术期输血与血液保护研究,(E-mail)zwzhang0618@163.com。

通信作者:郭建荣,男,博士后,教授,主任医师,博士生导师,主要从事围术期输血与血液保护研究,(E-mail)jianrguo@126.com。



(A) 具有非常光滑膜的红细胞，其缠绕在纤维蛋白周围 (B) 红细胞显示出外形延长的超微结构 (C) 红细胞显示出光滑的细胞膜

图1 扫描电子显微镜下糖尿病患者的红细胞形态^[14]

的细胞损伤或凋亡后从细胞胞体脱落到细胞外空间的小囊泡，其名称取自它们最初来源的细胞，如内皮细胞微囊泡 (EMVs)、红细胞衍生微囊泡 (ErMV) 和血小板衍生微囊泡 (PMVs)^[17,18]。EMVs 与内皮功能障碍有关，PMVs 与血小板活化有关，ErMV 与血栓形成和稳定性有关。胰岛素抵抗增加了细胞外囊泡的分泌，胰岛素信号传导蛋白的水平在具有高水平胰岛素抵抗和 β 细胞功能障碍患者的细胞外囊泡中被改变，MV 优先被白细胞内化致使炎症信号通路激活，白细胞参与红细胞活性、氧化应激及免疫调控相关的功能也随之改变^[19]。ErMV 的分泌与 HbA1c 水平无关，而是与空腹血糖水平呈正相关。此外，MV 不仅是高血糖症在 2 型糖尿病中增加血栓形成倾向的新机制，还是血栓形成的早期标志物^[20]。

2 糖毒性对红细胞的损害

2.1 红细胞膜：高血糖通过对膜的直接作用影响红细胞流变学，包括脂质膜双层组成和微粘度的改变以及膜 Na⁺-K⁺-ATP 酶功能的变化。糖尿病患者红细胞膜的脂肪酸模式发生改变，如含有更高水平的饱和脂肪酸、更低水平的不饱和脂肪酸和更低浓度的 ω-3 脂肪酸。与正常红细胞相比，在糖尿病患者红细胞中观察到较低水平的磷脂酰胆碱和磷脂酰乙醇胺，以及较高水平的鞘磷脂和胆固醇，由此可见糖尿病患者红细胞膜的脂质组成产生显著改变。这些变化均可通过干扰红细胞向组织输送 O₂ 而参与糖尿病微血管并发症的发生^[21]。而作为维持细胞内外离子动态平衡的关键酶 Na⁺-K⁺-ATP 酶，则可通过调节细胞体积影响红细胞的变形性^[22]。

2.2 红细胞变形性：糖尿病患者红细胞膜的变形性显著低于正常红细胞。值得注意的是，糖尿病患者红细胞的细胞质中升高的 HbA1c 水平和降低的细胞变形性间存在明显的相关性。红细胞血红蛋白和膜蛋白缓慢不可逆的糖化损害了红细胞的变形性^[23]，研究发现 HbA1c 水平高于 9.05% 后，红细胞变形能力显著降低^[24]。

2.3 红细胞寿命：与正常红细胞相比，糖尿病患者红细胞寿命显著缩短，且红细胞寿命与空腹血糖水平呈负相关^[25]。细胞外氧化环境可能是 2 型糖尿病患者红细胞 caspase-3 活化的原因，有研究将 caspase-3 的激活设想为一种新的机制，该机制通过损害红细胞的形状和功能，与其他途径一起导致 2 型糖尿病患者红细胞寿命缩短，并使患者的部分血液流变学参数出现异常^[26]。人红细胞肌酸 (erythrocyte

creatine, EC) 含量会随着红细胞的老化而降低，EC 含量是反映平均红细胞寿命的指标。与正常红细胞相比，2 型糖尿病患者高 EC 水平红细胞的比例明显增加。同时，女性患者高 EC 水平红细胞的比例显著高于男性，表明女性红细胞对高血糖造成的损伤更为敏感^[27]。

2.4 红细胞携氧功能：血红蛋白是红细胞在血液循环中运输 O₂ 和 CO₂ 的主要载体，糖尿病患者体内存在高氧化应激水平，酸碱代谢失衡可使红细胞血红蛋白结构改变以及红细胞内 2,3-DPG 浓度降低，从而影响血红蛋白的携氧和释氧能力，造成机体组织器官氧供不足，加重内环境紊乱^[28-29]。与正常红细胞相比，糖尿病患者红细胞中精氨酸酶 I 的表达增强，促进生成活性氧，而活性氧反之上调红细胞精氨酸酶 I 的表达，进一步刺激活性氧生成，最终形成内皮功能障碍^[30]。在血管收缩引起组织灌注减少的情况下，红细胞变形性降低，全血粘度增加，使得红细胞难以通过微细血管并易聚集成团造成阻塞，进一步影响其携氧功能，进而产生恶性循环^[31-33]。

3 糖尿病对红细胞免疫调节功能的影响

3.1 携带抗原：在毛细血管中，红细胞与毛细血管壁的摩擦使红细胞产生电荷，当血液中的细菌靠近红细胞，电荷的相互作用将细菌吸引并固定在红细胞表面，同时血红蛋白释放 O₂ 氧化杀死细菌，死亡的细菌失去电荷，吸引力变弱脱落入血浆。若细菌能抵抗氧化作用，它将沿红细胞表面滑动，并在高速流动的血液中被困于红细胞凹面形成的“口袋”里。与正常红细胞相比，糖尿病患者红细胞体积减小，凹陷深度减小，表面粗糙程度降低，其与毛细血管壁之间摩擦产生的电荷减少，吸引细菌并固定在其表面的能力减弱，致使其携带细菌、病毒等抗原的功能减低^[34]。

3.2 清除循环免疫复合物：血液系统中 90% 以上的补体受体 1 (complement receptor 1, CR1) 位于红细胞表面，循环中免疫复合物主要由红细胞 CR1 携带并交给肝脾网状内皮系统中的巨噬细胞加以清除。糖尿病患者红细胞膜 CR1 受到损害和消耗，C3b 受体结合花环率 (RBC-C3bRR) 降低以及红细胞免疫复合物结合花环率 (RBC-ICR) 升高，表明糖尿病患者红细胞清除循环免疫复合物能力下降。体内免疫复合物无法及时清除而沉积在毛细血管系统可引起炎症和栓塞，这也是糖尿病并发症发生的基础。且随着空腹血糖水平 (fasting plasma glucose, FPG) 的升高，RBC-C3bRR 改变程度较 RBC-ICR 明显，说明 FPG 的变化对红细胞免疫黏附能力的影

响更显著^[35]。

3.3 T细胞依赖反应: T淋巴细胞在机体特异性免疫应答过程中起关键作用, CD4⁺T细胞主要参与体液免疫, 可诱导B淋巴细胞的活化与增殖, 并促进CD8⁺T细胞发育成熟。CD8⁺T细胞主要参与细胞免疫, 受抗原刺激后可转化为细胞毒性T细胞引起靶细胞裂解死亡。糖尿病患者体内CD3⁺T细胞总数、CD4⁺T细胞数量、CD4⁺/CD8⁺细胞比值及RBC-C3bRR均明显下降, 而糖尿病患者RBC-C3bRR与CD3⁺、CD4⁺T细胞的数量呈正相关, 表明红细胞免疫粘附功能的受损可影响T细胞的数量, 导致机体自身免疫调节功能紊乱^[36]。

3.4 促吞噬作用: 与其他细胞相比, 吞噬细胞和多形核细胞识别吞噬红细胞携带的循环免疫复合物的速度更快, 红细胞也可显著增强吞噬细胞吞噬C3b-循环免疫复合物的功能, 而其自身不会受到损伤^[37]。糖尿病患者红细胞膜上的CR1功能受损, 将C3b-循环免疫复合物中的C3b降解为iC3b的能力下降, 使得粒细胞及单核细胞等吞噬细胞上CR3与iC3b的结合速率受到影响。且糖尿病患者红细胞超氧化物歧化酶活性降低, 消除吞噬细胞在吞噬过程中受到过氧化物氧化的功能随之下降, 导致吞噬细胞功能受损, 因此糖尿病患者红细胞的促吞噬作用减弱^[38]。

4 展望 作为糖尿病慢性并发症的重要病理生理基础, 微循环障碍在糖尿病胰岛素抵抗期便已存在, 微循环功能的异常参与了整个糖尿病的发展过程^[39]。糖尿病患者内环境的改变, 损害了红细胞的形态、结构与功能, 加重了糖尿病患者体内缺血缺氧的微循环状态。研究糖尿病对红细胞理化性质及免疫功能的影响对糖尿病的机制研究与临床治疗具有一定的指导意义。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] CHO N H, SHAW J E, KARURANGA S, et al. IDF Diabetes Atlas: Global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2018, 138: 271-281.
- [2] SZABLEWSKI L, SULIMA A. The structural and functional changes of blood cells and molecular components in diabetes mellitus[J]. *Biol Chem*, 2017, 398(4): 411-423.
- [3] SAUDEK C D, DERR R L, KALYANI R R. Assessing glycemia in diabetes using self-monitoring blood glucose and hemoglobin A1c[J]. *JAMA*, 2006, 295(14): 1688-1697.
- [4] ZHANG D D, TANG X, JIN D Y, et al. Prevalence of diabetes in Chinese adults: a Meta-analysis[J]. *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi*, 2018, 39(6): 852-857.
- [5] 何银辉, 徐海燕, 付麒, 等. 糖化血红蛋白和病程对2型糖尿病胰岛β细胞功能的影响[J]. *南方医科大学学报*, 2019, 39(9): 1003-1008.
- [6] CHU H W, MA Y J, HUANG Z H. A pilot study: effect of erythrocyte lifespan determined by a modified carbon monoxide breath test on glycosylated hemoglobin interpretation[J]. *J Breath Res*, 2020, 14(2): 027101.
- [7] TANNER L B, GOGLIA A G, WEI M H, et al. Four key steps control glycolytic flux in mammalian cells[J]. *Cell Syst*, 2018, 7(1): 49-62.e8.
- [8] MALI A V, BHISE S S, HEGDE M V, et al. Altered erythrocyte glycolytic enzyme activities in type-II diabetes[J]. *Indian J Clin Biochem*, 2016, 31(3): 321-325.
- [9] BHISE S, RAO J, HEGDE M, et al. Type 2 diabetes differentially affects the substrate saturation kinetic attributes of erythrocyte hexokinase and phosphofructokinase[J]. *FEBS Lett*, 2020, 594(2): 240-250.
- [10] MALI A V, BHISE S S, KATYARE S S, et al. Altered kinetics properties of erythrocyte lactate dehydrogenase in type II diabetic patients and its implications for lactic acidosis[J]. *Indian J Clin Biochem*, 2018, 33(1): 38-45.
- [11] RICHARDS J P, YOSTEN G L C, KOLAR G R, et al. Low O₂-induced ATP release from erythrocytes of humans with type 2 diabetes is restored by physiological ratios of C-peptide and insulin[J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2014, 307(7): R862-R868.
- [12] DUDZINSKA W. Purine nucleotides and their metabolites in patients with type 1 and 2 diabetes mellitus[J]. *J BiSE*, 2014, 7(1): 38-44.
- [13] LOYOLA-LEYVA A, LOYOLA-RODRÍGUEZ J P, ATZORI M, et al. Morphological changes in erythrocytes of people with type 2 diabetes mellitus evaluated with atomic force microscopy: a brief review[J]. *Micron*, 2018, 105: 11-17.
- [14] BUYS A V, VAN ROOY M J, SOMA P, et al. Changes in red blood cell membrane structure in type 2 diabetes: a scanning electron and atomic force microscopy study[J]. *Cardiovasc Diabetol*, 2013, 12: 25.
- [15] KEMPE-TEUFEL D S, BISSINGER R, QADRI S M, et al. Cellular markers of eryptosis are altered in type 2 diabetes[J]. *Clin Chem Lab Med*, 2018, 56(7): e177-e180.
- [16] CATAN A, TURPIN C, DIOTEL N, et al. Aging and glycation promote erythrocyte phagocytosis by human endothelial cells: Potential impact in atherothrombosis under diabetic conditions[J]. *Atherosclerosis*, 2019, 291: 87-98.

- [17] SHANTSILA E, KAMPHUISEN P W, LIP G Y. Circulating microparticles in cardiovascular disease: implications for atherogenesis and atherothrombosis [J]. *J Thromb Haemost*, 2010, 8(11): 2358-2368.
- [18] LEKAKIS J, ABRAHAM P, BALBARINI A, et al. Methods for evaluating endothelial function: a position statement from the European Society of Cardiology Working Group on Peripheral Circulation [J]. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil*, 2011, 18(6): 775-789.
- [19] FREEMAN D W, NOREN HOOTEN N, EITAN E, et al. Altered extracellular vesicle concentration, cargo, and function in diabetes [J]. *Diabetes*, 2018, 67(11): 2377-2388.
- [20] GKALIAGKOUSI E, NIKOLAIDOU B, GAVRIILAKI E, et al. Increased erythrocyte- and platelet-derived microvesicles in newly diagnosed type 2 diabetes mellitus [J]. *Diabetes Vasc Dis Res*, 2019, 16(5): 458-465.
- [21] KOSTARA C, BAIRAKTARI E, ELISAF M, et al. NMR-based lipidomic analysis of red blood cells membranes in type 2 diabetes [J]. *Diabetes*, 2018, 67(Supplement 1): 485-P.
- [22] RADOSINSKA J, VRBJAR N. The role of red blood cell deformability and Na, K-ATPase function in selected risk factors of cardiovascular diseases in humans: focus on hypertension, diabetes mellitus and hypercholesterolemia [J]. *Physiol Res*, 2016, 65(Suppl 1): S43-S54.
- [23] LEE S, PARK H, KIM K, et al. Refractive index tomograms and dynamic membrane fluctuations of red blood cells from patients with diabetes mellitus [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 1039.
- [24] LI Q, YANG L Z. Hemoglobin a1c level higher than 9.05% causes a significant impairment of erythrocyte deformability in diabetes mellitus [J]. *Acta Endocrinol (Buchar)*, 2018, 14(1): 66-75.
- [25] HUANG Z, LIU Y, MAO Y, et al. Relationship between glycosylated haemoglobin concentration and erythrocyte survival in type 2 diabetes mellitus determined by a modified carbon monoxide breath test [J]. *J Breath Res*, 2018, 12(2): 026004.
- [26] MAELLARO E, LEONCINI S, MORETTI D, et al. Erythrocyte caspase-3 activation and oxidative imbalance in erythrocytes and in plasma of type 2 diabetic patients [J]. *Acta Diabetol*, 2013, 50(4): 489-495.
- [27] KOGA M, INADA S, IJIMA H, et al. Shortened mean erythrocyte age in female patients with type 2 diabetes mellitus [J]. *J Clin Lab Anal*, 2019, 33(2): e22681.
- [28] GOODARZI M, MOOSAVI-MOVAHEDI A A, HABIBI-REZAEI M, et al. Hemoglobin fructation promotes heme degradation through the generation of endogenous reactive oxygen species [J]. *Spectrochimica Acta A: Mol Biomol Spectrosc*, 2014, 130: 561-567.
- [29] TILLMANN W, MERTEN A, LAKOMEK M, et al. Flexibility of erythrocytes in juvenile diabetes mellitus [J]. *Blut*, 1981, 43(2): 125-128.
- [30] ZHOU Z, MAHDI A, TRATSIKOVICH Y, et al. Erythrocytes from patients with type 2 diabetes induce endothelial dysfunction via arginase I [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2018, 72(7): 769-780.
- [31] PERNOW J, MAHDI A, YANG J N, et al. Red blood cell dysfunction: a new player in cardiovascular disease [J]. *Cardiovasc Res*, 2019, 115(11): 1596-1605.
- [32] YANG J, ZHENG X, MAHDI A, et al. Red blood cells in type 2 diabetes impair cardiac post-ischemic recovery through an arginase-dependent modulation of nitric oxide synthase and reactive oxygen species [J]. *JACC Basic Transl Sci*, 2018, 3(4): 450-463.
- [33] SHAZI A, LINGAM SC, AHMAD A A. A study on excess permittivity on diabetic human erythrocytes using computer aided dielectrodynamics technique [J]. *Int J Sci Env*, 2015, 4: 864-869.
- [34] MINASYAN H. Mechanisms and pathways for the clearance of bacteria from blood circulation in health and disease [J]. *Pathophysiology*, 2016, 23(2): 61-66.
- [35] 董晓蕾, 阮萍, 雍军光, 等. 空腹血糖水平对2型糖尿病患者红细胞变形和免疫功能的影响 [J]. *中国糖尿病杂志*, 2015, 23(9): 827-831.
- [36] 孟东, 陈樱, 靳建鸣, 等. 2型糖尿病患者红细胞CR1与T淋巴细胞亚群动态观察及相关性分析 [J]. *天津医科大学学报*, 2002, 8(1): 94-96.
- [37] GARVEY J S. Immunity and the red blood-cell [J]. *Lancet*, 1982, 1(8265): 223.
- [38] 徐瑛, 郭峰, 叶天星. 红细胞增强中性粒细胞吞噬作用及红细胞过氧化物歧化酶的临床意义 [J]. *上海医学*, 1990, 13(6): 346-348.
- [39] 孙子林, 李全忠, 崔巍, 等. 糖尿病微循环障碍临床用药专家共识 [J]. *中国医学前沿杂志(电子版)*, 2017, 9(2): 34-41.

(收稿日期: 2020-11-10)

(本文编辑: 董文茜)