

文章编号: 1004-7220(2021)04-0638-08

新生儿与老年人红细胞物理特性对比实验

陆启迪^{1a}, 熊 璞², 孙奕扬^{3a}, 刘 洁^{1a}, 刘心悦^{1a}, 魏桥栋^{1a}, 徐士鑫^{3b}, 龚晓波^{1a,1b}

(1. 上海交通大学 a 工程力学系, b 海洋工程国家重点实验室, 上海 200240; 2. 上海交通大学医学院附属新华医院 普外科, 上海 200092; 3. 昆山杜克大学 a 数据科学系, b 数学系, 江苏 苏州 215316)

摘要:目的 通过比较新生儿与 80 岁以上老年人红细胞物理特性(细胞表面积、体积和剪切弹性模量)及与总胆固醇、糖化血红蛋白等生理生化参数的相关关系,分析不同年龄和生化参数对红细胞物理特性的影响。方法 采用微量吸管技术测量新生儿和 80 岁以上老年人的红细胞表面积、体积和剪切弹性模量,对数据进行统计分布分析、相关性分析和回归分析。结果 80 岁以上老年人红细胞体积、表面积、剪切弹性模量均值都比新生儿红细胞相应参数要小,同年龄组内个人样本间的红细胞力学参数均值相差不大。新生儿红细胞几何参数分布与老人相比更为集中,而剪切弹性模量分布比老年人红细胞的更分散。新生儿红细胞物理特性与总胆固醇和出生孕周相关性高;老年人红细胞物理特性与舒张压和糖化血红蛋白的相关性高。结论 新生儿与 80 岁以上老年人的红细胞物理特性有明显差异,影响不同年龄红细胞物理特性的生化指标也不同。

关键词:红细胞;微吸管;总胆固醇;糖化血红蛋白

中图分类号: R 318.01 文献标志码: A

DOI: 10.16156/j.1004-7220.2021.04.021

Comparative Experiment on Physical Properties of Red Blood Cells in Newborn Infants and Elderly People

LU Qidi^{1a}, XIONG Yin², SUN Yiyang^{3a}, LIU Jie^{1a}, LIU Xinyue^{1a}, WEI Qiaodong^{1a}, XU Shixin^{3b}, GONG Xiaobo^{1a,1b}

(1a. Department of Engineering Mechanics, 1b. State Key Laboratory of Ocean Engineering, School of Naval Architecture, Ocean and Civil Engineering, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China; 2. Department of General Surgery, Xinhua Hospital Affiliated to Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200092, China; 3a. Department of Data Science, 3b. Department of Mathematics, Kunshan Duke University, Suzhou 215316, Jiangsu, China)

Abstract: **Objective** By comparing the physical properties (cell area, volume and elastic modulus) of red blood cells (RBCs) between newborn infants and the elderly over 80 years old, and correlation with the physiological and biochemical parameters such as total cholesterol and glycosylated hemoglobin, the effects of different ages and biochemical parameters on RBC physical properties were analyzed. **Methods** The micropipette aspiration was used to measure the surface area, volume and elastic modulus of erythrocytes in newborn infants and the elderly over 80 years old, and the data were analyzed by statistical distribution analysis, correlation analysis and regression analysis. **Results** The mean values of RBC volume, surface area and elastic modulus in the elderly

收稿日期:2020-05-09; 修回日期:2020-07-31

基金项目:国家自然科学基金项目(11872040),国家重点研发计划政府间国际科技创新合作重点专项(2017YFE0117100)

通信作者:龚晓波,教授,博士生导师,E-mail: x.gong@sjtu.edu.cn

over 80 years old were smaller than those in newborn infants, and the mean values of RBC mechanical parameters in the same age group were not significantly different. The erythrocytes geometric parameter distribution of newborn infants was more concentrated than that of the elderly, while the elastic modulus distribution of newborn infants was more dispersed than that of the elderly. The mechanical properties of RBCs in newborn infants were highly correlated with the total cholesterol and gestational week; the mechanical properties of RBCs in the elderly were highly correlated with diastolic blood pressure and glycated hemoglobin.

Conclusions There are significant differences in physical properties of RBCs between newborn infants and the elderly over 80 years old, and the biochemical parameters that affect physical properties of RBCs at different ages are also different.

Key words: red blood cells (RBCs); micropipette aspiration; total cholesterol; glycated hemoglobin

红细胞(red blood cells, RBCs)变形能力是影响细胞生存和运动的关键因素^[1-2]。RBCs的物理特性参数主要包括细胞几何特性(尺寸、体积表面积)和细胞膜剪切弹性模量^[3-7]。长期以来,RBCs物理特性在细胞力学与人体疾病的相关研究中持续受到关注,但将RBCs物理参数分布特性作为人体健康或疾病治疗的生物物理指标的相关研究还鲜有报道。

Brown等^[8]研究发现,糖尿病人RBCs比健康人更肿胀。Igor等^[9]针对脾脏模型的研究表明,RBCs面积体积比在它们通过脾脏的内皮缝隙中起到重要作用。Fiona等^[10]针对疟疾血细胞疾病RBCs的变形性研究显示,病变RBCs膜剪切弹性模量增大,变形能力降低。Kushang等^[11]根据RBCs体积的分布宽度(red cell distribution width, RDW)与死亡率预期相关性,分析RBCs体积分布特性与老人年龄的关联。这些针对RBCs变形能力的研究,主要面向疾病中的血液流动特性解析,而RBCs物理特性与年龄和身体质量指数(body mass index, BMI)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、糖化血红蛋白(glycosylated hemoglobin HbA1c, HbA1c)、血压等生理生化指标的关联性尚不清晰。

RBCs变形性的测量方法有很多^[12-15]。光镊法以附着在细胞上的微珠作为手柄,通过激光束施加到细胞上,引起变形大小来评价细胞软硬^[16-17];微流控方法在显微镜下观察记录RBCs通过微通道时的变形表征细胞的变形能力^[18];激光衍射法是一种利用激光穿过不同旋转速度RBCs悬浮液产生衍射图像的技术,RBCs变形能力由长轴短轴比来描述^[19]。在上述细胞变形能力测量中,许多研究采用

球形细胞假设,通过比较细胞在流场中的长宽比或者RBCs体积分布宽度等,表达细胞变形能力,但是这些参数本身受细胞形态、大小、剪切弹性模量以及细胞内血红蛋白黏度的影响,难以成为独立的细胞生物物理指标。为探索RBCs自身物理特性作为生理和病理生物物理指标的可能行,本文采用RBCs体积、面积、细胞剪切弹性模量作为参数,因为这些指标是每一个细胞所具有的独立特性。

微吸管吮吸技术作为单细胞物理特性测量的传统方法,最早由Mitchison等^[20]于1954年在测量海胆卵的弹性性质时引入。Rand等^[21]于1964年用它测量RBCs膜的物理特性。微吸管法测量RBCs膜的力学性虽然比较耗时,工作量大,但该方法可以稳定测量单细胞细胞膜剪切弹性模量,并对应获得该细胞的几何特性,正是本文进行RBCs物理特性定量分析的优选方案。

本文使用微吸管技术测量RBCs表面积、体积和剪切弹性模量;采用统计学方法研究新生婴儿和80岁以上老年人RBCs表面积、体积、面积体积比和剪切弹性模量的分布与变化规律;采用数据统计和线性回归分析RBCs物理特性参数和人体生化指标的相关性,以深入了解RBCs物理特性与年龄和生化指数的关系,为循环系统相关疾病的临床诊断和治疗技术发展提供细胞力学支撑。

1 材料和方法

1.1 材料

2018年8月~2019年12月,于上海交通大学附属新华医院采集初生婴儿和80岁以上老年人血液样本。采用EDTA采血管采血3 mL,样本置于冰

盒中 4 ℃ 条件下 2 h 内运抵实验室开始进行物理特性测量。取 5 μL 血液,加入 10 mL 含有 11% 牛血清白蛋白(BSA)的磷酸盐缓冲溶液(PBS)中,稀释血液 2 000 倍,作为测量样本。共计测量新生儿脐带血 17 例(平均孕周 40.8 周),80 岁以上健康老年人血(平均年龄 85.4 岁)9 例。每例人体血样测量 60 个以上 RBCs,每例测试血样样本的生化数据和物理特性均为采血当日完成,每例血液从采取到检测结束贮存时间小于 12 h。

影响 RBCs 物理特性分布的因素有很多,本文目前还处于以 RBCs 物理特性为生物物理指标的探索阶段。为简化研究中涉及的影响因素,招募健康人群作为志愿者。本文选取人体生理年龄的两个极端,按年龄将志愿者分为初生婴儿和老人,忽略个体差异而比较群体间差异,共计测量 848 个新生儿和 481 个健康老人 RBCs。本研究获得的血液样本均已得到患者和婴儿家长的知情同意,并签署知情同意书。研究通过伦理委员会评估,取得上海交通大学医学院附属新华医院医学伦理委员会的同意。

1.2 微吸管测量

使用自主搭建的微吸管吮吸系统,主要包括压力系统、显微操作系统、微吸管、CCD 显微镜拍摄系统(见图 1)。

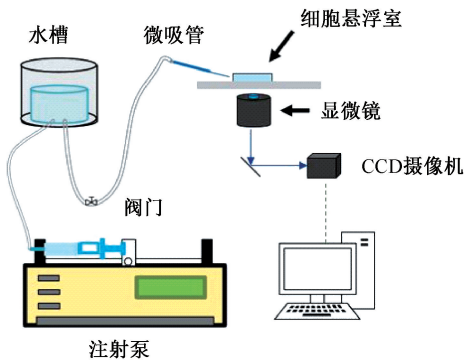


图 1 红细胞物理特性测量微吸管系统

Fig.1 System of the micropipette for measuring mechanical properties of red blood cells

本文建立的 RBCs 物理特性测量微吸管系统中,压力系统由横截面积 2.1 cm²、总长 20 cm 的容器提供负压,最大负压 2 kPa,压力变化由注射泵推

动注射器吸取储水器中的水实现,吸取速度 1 mL/min,液面下降速率为 80 μm/s,压力改变速率 0.777 Pa/s。微吸管直径范围为 1.5~2.1 μm。微吸管使用拉针仪(Sutter 公司,美国)将外径 1 mm 内径 580 μm 玻璃管(Sutter 公司,美国)拉成在 1.5~2.1 μm 内径段变化较为平缓的玻璃微管,之后使用显微熔断仪(Narishige 公司,日本)将玻璃微管在 1.8 μm 左右断成管口较为平整的玻璃微吸管,确保在直径 5 倍长度内,直径变化小于直径 3%。通过针管直接将 PBS 注入微吸管内,微吸管尖端用配好的 1% BSA 的 PBS 浸润减少细胞与微吸管的黏附,将制备好的微吸管连接到装置中。使用移液管将样本放入载玻片上,连接计算机程序。记录 RBCs 形状,调节压力,RBCs 吸入微吸管部分。注射泵打开,液面下降,控制压力,RBCs 进入微吸管。RBCs 在微吸管中长度随时间变化不可见时,停止记录,关停注射泵。

1.3 数据处理及分析

用微吸管法测量 RBCs 几何性质参考 Linderkamp 等^[22]的研究,细胞表面积和体积的计算公式如下:

$$S = \pi \left(LD_p + D_s^2 - \frac{D_p}{4} \right) \quad (1)$$

$$V = \frac{\pi}{24} (6LD_p^2 + 4D_s^3 - D_p^2) \quad (2)$$

式中: D_p 为移液管直径; D_s 为外部直径; L 为移液管中最终吸入的细胞投影长度[见图 2(a)]。

RBCs 膜剪切弹性模量计算基于 Chien^[23]提出的线性模型理论得出:

$$\frac{\Delta p \cdot L_p}{E} = 2.45 \frac{\Delta L_p}{R_p} \quad (3)$$

$$\frac{L_p}{R_p} > 1$$

式中: p 为吮吸压强; R_p 为玻璃微吸管内半径; L_p 为细胞吸入微吸管长度[见图 2(b)]。

使用 Image J 软件处理图像测量得到 D_s 、 L 、 D_p 、 L_p 和 R_p 。通过测量一段时间内 L_p 和 p 的数据进行线性拟合,选取斜率作为 $\Delta L_p/\Delta p$ 代入式(3)计算 RBCs 剪切弹性模量^[24]。

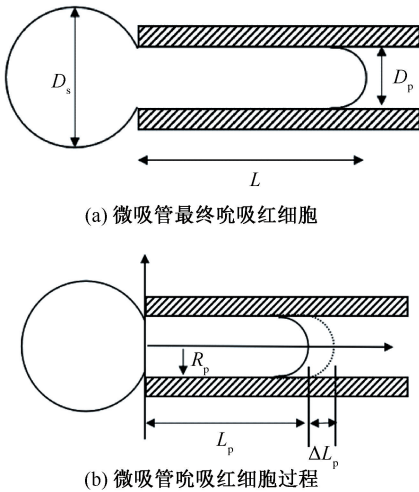


图2 微吸管测量红细胞几何示意图

Fig.2 Geometrical diagram for red blood cells measured by micropipette (a) Micropipette sucking red blood cells, (b) Process for micropipette aspiration of red blood cells

表1 使用微吸管法测量全体新生婴儿、老年人红细胞变形参数

Tab.1 Deformation parameters of red blood cells from all newborn infants and the elderly measured by micropipette

参数	新生婴儿	老年人
总数/个	848	481
表面积/ μm^2	152.0 \pm 18.6(49.1~210.9)	141.7 \pm 14.68(43.8~211.5)
体积/ μm^3	133.0 \pm 25.6(20.2~241.5)	123.9 \pm 19.91(16.9~247)
表面积体积比/(μm^{-1})	1.157 \pm 0.127(0.87~2.43)	1.152 \pm 0.077(0.85~2.59)
剪切弹性模量/($\mu\text{N}\cdot\text{m}^{-1}$)	6.4 \pm 2.7(0.31~16.5)	5.95 \pm 2.6(0.21~13.84)

为了更详细显示不同年龄段 RBCs 物理特性分布和分布差异,对比 848 个新生婴儿和 481 个 80 岁以上老人 RBCs 面积、体积、面积体积比以及剪切弹性模量分布,可见人体血样中的 RBCs 面积、体积和面积体积比符合正态分布,RBCs 剪切弹性模量更接近 Gamma 分布,新生儿 RBCs 几何参数分布较老年人更为集中;新生儿 RBCs 剪切弹性模量分布比老年人更分散(见图 3)。

2.2 RBCs 物理特性与生理生化指标相关性

选取每例血样 RBCs 表面积、体积、面积体积比和剪切弹性模量的均值和标准差作为每例样本的 RBCs 物理特性参数,将每例样本的物理特性参数与医院提供的对应样本生化指标(年龄、BMI、总胆固醇、糖化血红蛋白、血压)做相关性分析。图 4 (a)、(b)分别为新生婴儿 RBCs 物理特性(表面积、体积、面积体积比和剪切弹性模量的均值和标准差)与生化指标(出生孕周、BMI、总胆固醇、糖化血

2 结果

2.1 细胞力学参数测量结果及分布特征

为探索 RBCs 自身物理特性作为生理和病理生物物理指标的可能行,本文采用的指标为 RBCs 体积、面积、剪切弹性模量,这些指标是每一个细胞所具有的独立特性。目前为了测量 RBCs 的准确值,微吸管是低效却相对准确的唯一方法,尽管每例血样选取 60 个细胞,通过 SPSS 统计分析,这个数量已经能够粗略显示细胞物理特性分布的主要特征。

由新生婴儿和 80 岁以上老年人 RBCs 表面积、体积、表面积体积比和剪切弹性模量的均值分布方差以及最大、最小值可知,新生婴儿 RBCs 表面积、体积、表面积体积比和剪切弹性模量均值以及分布方差均大于 80 岁以上老年人 RBCs(见表 1)。

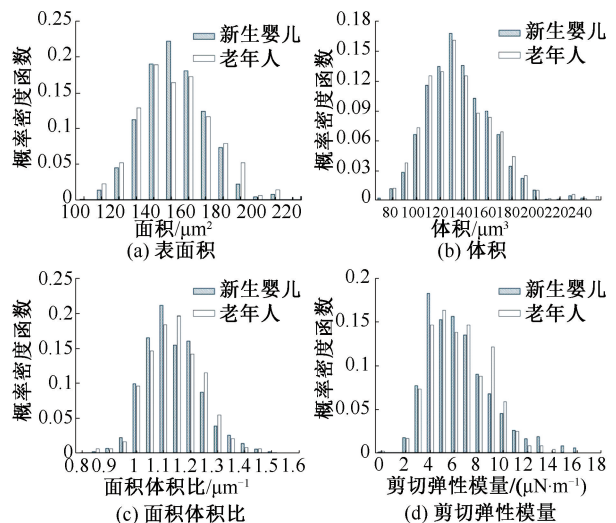


图3 新生婴儿与老年人红细胞力学参数分布对比

Fig.3 Comparison of mechanical parameter distributions of red blood cells in newborn infants and the elderly

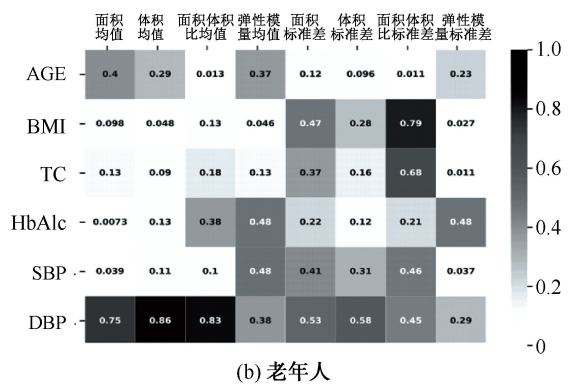
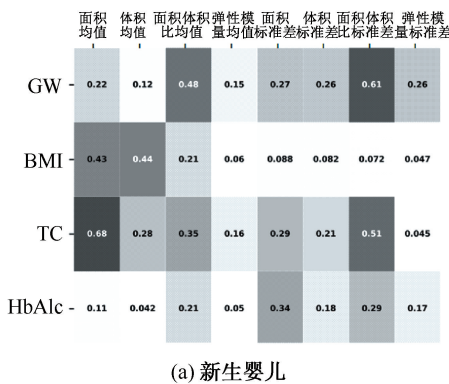
(a) Surface area, (b) Volume, (c) Area-volume ratio, (d) Elastic modulus

红蛋白)以及 80 岁以上老人 RBCs 物理特性(表面积、体积、面积体积比和剪切弹性模量的均值和标准差)与生化指标(年龄、BMI、总胆固醇、糖化血红蛋白、血压)的分析结果。由出生孕周、年龄、BMI、总胆固醇(TC)、糖化血红蛋白(HbA1c)和血压这 6 项生化指标与 RBCs 物理特性间的两两相关性,得出两个变量间相关程度的相关系数(r)。结果表明:

(1) 新生儿 RBCs 表面积均值与总胆固醇相关性显著($r=0.68$),而其标准差与糖化血红蛋白相关性较为显著;RBCs 体积均值与 BMI 较相关,其标

准差分布与选取的 6 项生理生化指标不明显相关;RBCs 面积体积比均值与出生孕周相关性明显,其标准差与出生孕周和总胆固醇相关;新生儿 RBCs 剪切弹性模量分布与所有生理生化指标均相关性较低[见图 4(a)]。

(2) 80 岁以上老年人 RBCs 的表面积、体积和面积体积比均与舒张压显著相关($r>0.7$),3 项指标的标准差与舒张压和 BMI 相关性较显著;RBCs 剪切弹性模量与收缩压和糖化血红蛋白相关[见图 4(b)]。



GW-出生孕周, BMI-身体质量指数, TC-总胆固醇, HbA1c-糖化血红蛋白, SBP-收缩压, DBP-舒张压

图 4 新生儿与老年人红细胞力学参数与生化指标数据相关性

Fig.4 Correlation between mechanical parameters of red blood cells and biochemical data in newborn infants and the elderly (a) Newborn infants, (b) The elderly

由图 4 可得相关性较高的两两参数,通过对所有相关性较高两个参数的散点图分析,将所有的相关性较高的两两参数进行线性回归分析,进一步研究人体的生化指标与 RBCs 物理特性的相关性较显著的几组参数。结果显示:

(1) 影响新生儿和老年人 RBCs 体积和面积主要生化指标不同。婴儿出生时孕周越大, RBCs 面积体积比越大;总胆固醇越大, RBCs 表面积均值越大。

(2) 80 岁以上老年人的舒张压越大, RBCs 表面积和体积的均值越大, RBCs 面积体积比的均值越小。

(3) 虽然新生儿 RBCs 膜剪切弹性模量与生理生化指标相关性低,老年人的细胞剪切弹性模量均值与糖化血红蛋白相关性明显。糖化血红蛋白值越高,细胞剪切弹性模量越大,表明细胞越硬(见

图 5)。

RBCs 变形能力与 RBCs 的年龄有关,是衡量和估测人体健康和疾病的重要指标^[25-26]。本实验初步研究了新生儿和老年人两个不同年龄人群 RBCs 物理特性和影响 RBCs 变形性的生化因素。结果显示新生儿与老年人 RBCs 变形能力存在差异,新生儿和老年人的力学参数分布符合正态分布或 Gamma 分布,新生儿 RBCs 物理特性参数比老年人的高,新生儿 RBCs 几何参数分布比老年人更集中,而剪切弹性模量分布比老年人 RBCs 的剪切弹性模量分布更分散。在目前的研究中,老年人 RBCs 几何参数与收缩压显著相关,新生儿的几何参数与出生孕周和总胆固醇相关;老年人 RBCs 的剪切弹性模量与糖化血红蛋白相关,而新生儿的剪切弹性模量和这些指标的相关性则不明显。

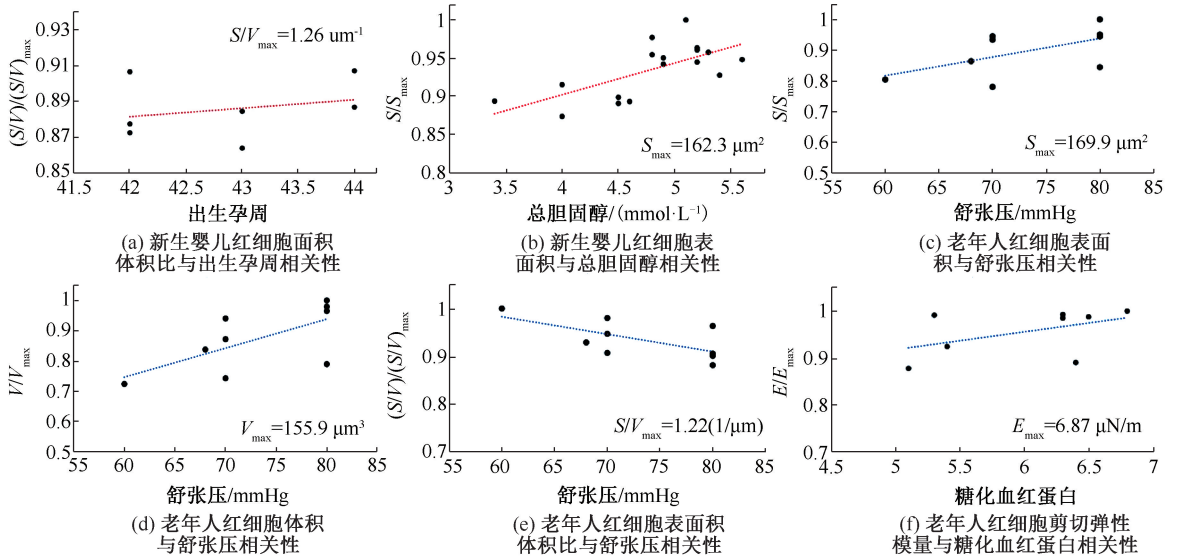


图5 红细胞力学参数与生化数据回归分析(1 mmHg=133.323 Pa)

Fig.5 Regression analysis on mechanical parameters and biochemical data of red blood cells (a) Correlation of RBC area volume ratio and the gestational week in newborn infants, (b) Correlation of RBC area and total cholesterol in newborn infants, (c) Correlation of RBC area and diastolic blood pressure in the elderly, (d) Correlation of RBC volume and diastolic blood pressure in the elderly, (e) Correlation of RBC area-volume ratio and diastolic pressure in the elderly. (f) Correlation of RBC elastic modulus and glycosylated hemoglobin in the elderly

3 讨论

本文研究表明,新生婴儿与80岁以上老年人的RBCs物理特性有明显差异,影响不同年龄的RBCs物理特性的生化指标也不同。影响RBCs形态和物理特性的因素有很多,而志愿者自身疾病使得细胞物理特性分布更为复杂。本研究目前还处于以RBCs特性为生物物理指标的探索阶段。为了简化研究中涉及的影响因素,本文招募的志愿者都是健康人群,血液生化数据在体检过程中获得,每一位志愿者的血液样本均为单独获得、单独测量。本文发现,即使年龄相同的志愿者,个体间RBCs的物理特性分布也不相同。作为同类型研究的初始尝试,本文选取人体生理年龄的两个极端,按年龄将志愿者分为新生婴儿和老人,在分析个体差异的同时,还进行了忽略个体差异而比较群体间差异的工作。

婴儿RBCs的表面积和体积显著大于80岁以上老人的RBCs(大于7%),但婴儿RBCs的面积体积比与老人RBCs的相差不大(小于0.4%)。RBCs相对其他血细胞较高的面积体积比是影响RBCs通过狭窄毛细血管和脾脏狭缝的重要力学因素^[27-28],

虽然新生儿RBCs表面积和体积较大,但面积体积比相近,表明婴儿和80岁以上老人的RBCs尽管力学参数均值不同,但是具有相似的变形能力。这与Linderkamp等^[29-31]通过流变仪和黏度对新生儿和成人RBCs的相似变形性的发现一致。

高血压是心脑血管疾病的主要危险因素,研究发现,高血压患者RBCs分布宽度较高^[32-33]。本文发现,80岁以上老人舒张压与RBCs的体积显著相关,RBCs体积随着舒张压的变大而增大。同时,舒张压与RBCs表面积和面积体积比显著相关。这一结果显示,RBCs几何特性具有做为高血压诊断的细胞力学指标的可能性。

糖化血红蛋白HbA1c是评价血糖总体控制的标准,也是诊断糖尿病和指导治疗的重要指标^[34]。Babu等^[35]研究已证明,高血糖与RBCs的变形性有关。本文对80岁以上老人RBCs物理特性和HbA1c相关性研究发现,当老年人HbA1c增高,RBCs剪切弹性模量也会增大。RBCs分布宽度为临床医生提供了有关血液中RBCs体积大小变化的信息。Magr等^[36]研究证明,RBCs分布宽度与糖尿病相关的并发症有关,而本文并未发现RBCs体积

分布与HbA1c相关,这也可能是研究的样本选取的是健康人群和样本量相对较小的原因,有待于高通量方法进一步验证。

本文研究的主要局限在于相对较小的血液样本量和较少的每例样本RBCs测量数量。样本选取了人体生理年龄的两个极端,在新生婴儿和80岁以上老人的对比分析中忽略个体差异而比较群体间差异,但研究结果为将来大通量微流控芯片测量细胞力学参数实验提供了细胞力学数据支持。

参考文献:

- [1] CANHAM PB, POTTER RF, WOO D, *et al.* Geometric accommodation between the dimensions of erythrocytes and the calibre of heart and muscle capillaries in the rat [J]. *J Physiol*, 1984, 347: 697-712.
- [2] 陈维毅.2016~2018年中国生物力学研究进展[J]. *医用生物力学*, 2018, 33(6): 477-482.
CHEN WY. Advances in biomechanics in China during the year 2016-2018 [J]. *J Med Biomech*, 2018, 33(6): 477-482.
- [3] BABU N, SINGH M. Influence of hyperglycemia on aggregation, deformability and shape parameters of erythrocytes [J]. *Clin Hemorheol Micro*, 2004, 31: 273-280.
- [4] VAGUE P, JUHAN I. Red cell deformability, platelet aggregation, and insulin action [J]. *Diabetes*, 1983, 32(2): 88-91.
- [5] MOHANDAS N, CLARK MR, JACOBS MS, *et al.* Ektacytometric analysis of factors regulating red cell deformability [J]. *Blood Cells*, 1980, 6(3): 329-334.
- [6] BASKURT OK, MEISELMAN HJ. Blood rheology and hemodynamics [J]. *Semin Thromb Hemost*, 2003, 29: 435-450.
- [7] LANOTTE L, MAUER J, MENDEZ S, *et al.* Red cells' dynamic morphologies govern blood shear thinning under microcirculatory flow conditions [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016, 113(47): 13289-13294.
- [8] BROWN CD, GHALI HS, ZHAO Z, *et al.* Association of reduced red blood cell deformability and diabetic nephropathy [J]. *Kidney Int*, 2005, 67(1):295-300.
- [9] IGOR VP, PENG ZL, MING D, *et al.* Biomechanics of red blood cells in human spleen and consequences for physiology and disease [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2017, 114(22): 4521-4522.
- [10] GLENISTER FK, COPPEL RL, COWMAN AF, *et al.* Contribution of parasite proteins to altered mechanical properties of malaria-infected red blood cells [J]. *Blood*, 2002, 99(3): 1060-1063.
- [11] PATEL KV, FERRUCCI L, ERSHLER WB, *et al.* Red blood cell distribution width and the risk of death in middle-aged and older adults [J]. *Arch Intern Med*, 2009, 169(5): 515-523.
- [12] BESSIS M, MOHANDAS N. Red cell deformability, importance of its measurement in clinical medicine [J]. *Schweiz Med Wschr*, 1975, 105(47): 1568-1570.
- [13] JEONG JH, SUGII Y, MINAMIYAMA, M, *et al.* Measurement of RBC deformation and velocity in capillaries *in vivo* [J]. *Microvasc Res*, 2006, 71(3): 212-217.
- [14] MOCK DM, DEMET N, KYOSSEVA SV, *et al.* Development, validation, and potential applications of biotinylated red blood cells for posttransfusion kinetics and other physiological studies; Evidenced-based analysis and recommendations [J]. *Transfusion*, 2018, 58(8): 2068-2081.
- [15] 苏皓然, 赵萍, 邓小燕, 等. 微流体器官芯片研究进展[J]. *医用生物力学*, 2019, 34(3): 320-326.
SU HR, ZHAO P, DENG XY, *et al.* The research progress of microfluidic organ-on-chips [J]. *J Med Biomech*, 2019, 34(3): 320-326.
- [16] ZHU R, AVSIEVICH T, POPOV A, *et al.* Influence of interaction time on the red blood cell (dis) aggregation dynamics *in vitro* studied by optical tweezers [C] // *Proceeding of SPIE 11075, Novel Biophotonics Techniques and Applications*. USA: SPIE, 2019
- [17] 高卓. 浅析光学镊子在测控技术上的应用[J]. *电脑迷*, 2018(12): 232.
- [18] SELVAN R, PARTHASARATHI P, IYENGAR SS, *et al.* Estimation of membrane bending modulus of stiffness tuned human red blood cells from micropore filtration studies [J]. *PLoS One*, 2019, 14(12): e0226640.
- [19] JOHNSON RM. Ektacytometry of red blood cells [J]. *Method Enzymol*, 1989, 173: 35-54.
- [20] MICTHISON JM, SWANN MM. The mechanical properties of the cell surface II. The unfertilized sea-urchin egg [J]. *J Exp Biol*, 1954, 31(3): 461-472.
- [21] RAND RP, BURTON AC. Mechanical properties of the red cell membrane; I. Membrane stiffness and intracellular pressure [J]. *Biophys J*, 1964, 4(2): 115-135.
- [22] LINDERKAMP O, WU PYK, MEISELMAN HJ. Geometry of neonatal and adult red blood cells [J]. *Pediatr Res*, 1983, 17(4): 250-253.
- [23] CHIEN S, SUNG KLP, SKALAK R, *et al.* Retical and experimental studies on viscoelastic properties erythrocyte-membrane [J]. *Biophysical J*, 1978, 24(2): 463-487.
- [24] HOCHMUTH RM. Micropipette aspiration of living cells

- [J]. *J Biomech*, 2000, 33(1): 15-22.
- [25] LI JH, LUO JF, JIANG Y, *et al.* Red blood cell lifespan shortening in patients with early-stage chronic kidney disease [J]. *Kidney Blood Pressure Res*, 2019, 44(5):1-8.
- [26] ZHANG HD, MA YJ, LIU QF, *et al.* Human erythrocyte lifespan measured by Levitt's CO breath test with newly developed automatic instrument [J]. *J Breath Res*, 2018, 12(3): 036003.
- [27] CELINE R, MAGALIE F, AMEL B, *et al.* Impact of surface-area-to-volume ratio, internal viscosity and membrane viscoelasticity on red blood cell deformability measured in isotonic condition [J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 6771.
- [28] ROUSSEL C, MONNIER S, DUSSIOT M, *et al.* Fluorescence exclusion: A simple method to assess projected surface, volume and morphology of red blood cells stored in blood bank [J]. *Front Med*, 2018, 5(164): 1-9.
- [29] LINDERKAMP O, WU PYK, MEISELMAN HJ, *et al.* Geometry of neonatal and adult red blood cells [J]. *Pediatric Res*, 1983, 17(4): 250-253.
- [30] LINDERKAMP O, WU PYK, MEISELMAN HJ. Deformability of density separated red blood cells in normal newborn infants and adults [J]. *Pediatr Res*, 1982, 16(11): 964-968.
- [31] LINDERKAMP O, MEISELMAN HJ, WU PYK, *et al.* Blood and plasma viscosity and optimal hematocrit in the normal newborn infant [J]. *Clin Hemorheol Microcirc*, 2016, 1(5-6): 575-584.
- [32] 周亚群, 丁存涛, 孙希鹏, 等. 原发性高血压患者红细胞分布宽度、中性粒细胞/淋巴细胞比值与内皮功能关系的研究 [J]. *首都医科大学学报*, 2018, 39(2): 292-298.
- [33] LUKAS D, TATSIANA S, ROBERTO S, *et al.* On the effects of reactive oxygen species and nitric oxide on red blood cell deformability [J]. *Front Physiol*, 2018, 9: 332-346.
- [34] HUANG Z, LIU Y, MAOY, *et al.* Relationship between glycated 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.
- [35] BABU N, SINGH M. Influence of hyperglycemia on aggregation, deformability and shape parameters of erythrocytes [J]. *Clin Hemorheol Microcirc*, 2004, 31: 273-280.
- [36] MAGRI CJ, FAVA S. Red blood cell distribution width and diabetes-associated complications [J]. *Diabetes Metab Syndr*, 2014, 8(1): 13-17.