



971135 ( 頁)

公開

密件、不公開

執行機關(計畫)識別碼：010201a123

## 行政院農業委員會九十七年度科技計畫研究報告

計畫名稱：丹參抽取物改善糖尿病血液流變參數異常化之機制與應用 (2/2) (第4年/全程4年)

(英文名稱) **Salvia miltiorrhiza bunge extract on the application and mechanism of improving diabetes-induced hemorheological abnormalities (2/2)**

計畫編號：97農科-1.2.1-科-a1(23)

全程計畫期間：94年1月1日至97年12月31日

本年計畫期間：97年1月1日至97年12月31日

計畫主持人：劉得任

執行機關：私立台北醫學大學

## 丹參抽取物改善糖尿病血液流變參數異常化之機制與應用(2/2)

劉得任博士

台北醫學大學生醫材所教授

### 壹、摘要

第一期研究主要目標為“評估丹參是否可改善血液流變性質並探討其可能之機制”，實驗技術是利用血液流變平台，動物模式則是採用自然老化 24 月大之天筑鼠給予進行口服丹參粗萃取物 (150mg/Kg/day) 28 天並量測其口服丹參粗萃取物前後之血液流變參數變化。實驗結果分為兩部份，一為水抽取物部份(主成份為丹參素)另一則為有機相(主成份為丹參酮)萃取部份。在水抽取物部份，實驗結果顯示丹參粗抽取物對老化老鼠之血液生化參數 (紅血球數目、血球體積大小、血比容濃度、血色素高低、纖維蛋白濃度大小...等等) 並無明顯改變；然對於血液流變參數確有明顯改善之效果。就血液黏度部份，實驗結果顯示：無論高、中、低剪切率流場，老化老鼠之血液黏度都有明顯下降，血液黏彈性也有明顯改善效果。紅血球變形部份，實驗結果顯示無論高、中、低剪切率流場，老化老鼠之紅血球變形都有明顯提高。至於紅血球聚集部份，我們發現老化老鼠之紅血球聚集有明顯減少。血液攜氧部份，實驗結果顯示血液之攜氧能力提高，這些都說明丹參對老化老鼠異常血液流變參數是有良好之改善效果。至於機轉部份，我們認為是起於丹參素抗氧化特性，由於丹參素具有很強之抗氧化特性，大大降低紅血球膜氧化 (實驗結果顯示 MDA 下降)，因而提升紅血球變形能力，進而改善血液黏度，增加血液攜氧能力。在有機抽取物部份，實驗結果顯示丹參粗抽取物對老化老鼠之血液生化參數 (紅血球數目、血球體積大小、血比容濃度、血色素高低...等等) 仍無明顯改變；然值得注意的是血漿纖維蛋白濃度明顯降低(水抽取物部份並無此功效)，在血液流變參數部份仍有很明顯改善之效果。就血液黏度部份，實驗結果顯示無論高、中、低剪切率流場，老化老鼠之血液黏度也都有明顯下降，血液黏彈性也有明顯改善效果。紅血球變形部份，實驗結果顯示在高剪切率流場老化老鼠之紅血球變形會明顯提高，至於紅血球聚集部份，我們發現老化老鼠之紅血球聚集有非常明顯減少。至於血液攜氧部份，實驗結果也顯示血液之攜氧能力提高，這也說明丹參有機相抽取物部份對老化老鼠異常血液流變參數是有良好之改善效果。至於機轉部份我們認為與水抽取部份有些不同，我們認為主因是起於丹參酮降低血漿中纖維蛋白濃度，因而大大降低紅血球錢串聚集效果，進而降低血液黏度血液黏彈性，增加血液流動以及血液攜氧能力。

第二期研究主要目標為評估 40%純度之丹酚酸 B 以及 20%純度之丹參素應用於異常血液流變之糖尿病鼠，以評估其異常血液流變參數之改善情形。實驗設計也分成兩大部分：一為丹酚酸 B 以及丹參素”預防”糖尿病鼠之血液流變參數異常化之可行性評估；另一則為”改善”糖尿病鼠異常血液流變參數之可行性評估。就預防部份，我們將給予十週齡之糖尿病鼠(已罹患糖尿病二週)分別服用丹酚酸 B 以及丹參素，評估服用丹酚酸 B 以及丹參素之糖尿病鼠其血液流變參數是否仍會有異常化之現象發生，以確實評估丹酚酸 B 以及丹參素是否具有”預防”之效果。第二系統我們將給予十八週齡之糖尿病鼠(已罹患糖尿病第八週)分別服用丹酚酸 B 以及丹參素 28 天，評估服用丹酚酸 B 以及丹參素之糖尿病鼠其異常之血液流變參數是否有改善之效果，藉以評估丹酚酸 B 以及丹參素是否具有”改善”之效果。實驗結果顯示無論是 40%純度之丹酚酸 B 或者 20%純度之丹參素在”預防”糖尿病鼠之血液流變參數異常化之可行性或者是”改善”糖尿病鼠異常血液流變參數之可行性部分都具有很正面之效果。

## 貳、初步成果

### 一、已發表之 SCI 國際期刊

1. Wen-Chi Hou, Hsin-Sheng Tsay, Hong-Jen Liang, Tzung-Yan Lee, Guei-Jane Wang, Der-Zen Liu (correspondence) (2007) "Improving Abnormal Hemorheological Parameters in Aging Guinea Pigs by Water-Soluble Extracts of *Salvia miltionrhiza* Bunge" *Journal of Ethnopharmacology*. Vol 111, P483-489.(SCI)
2. Sun-Lung Tsai, Fat-Moon Suk, Chun-I Wang, Der-Zen Liu, Wen-Chi Hou, Pei-Jung Lin, Ling-Fang Hung, Yu-Chih Liang (2007) "Anti-tumor potential of 15,16-dihydrotanshinone I against breast adenocarcinoma through inducing G1 arrest and apoptosis" *Biochemical pharmacology* (in press) (SCI)

### 二、已完成技轉之產業技術平台

1. 技轉公司: 科達製藥股份有限公司
2. 技轉期程: 96/8 ~ 105/7 為期 10 年
3. 技轉金: 新台幣 30 萬元整

## 參、簡介

血液流變(動)照字面上之意義，顧名思意是指血液流體於血管流場流動之流體性質，它是一門結合物理、工程學、生理之醫學工程學，也就是利用物理力學的方法討論血液在血管的流變問題，其研究內容非常廣泛。A.L.Copley [1] 就曾對血液流變學做過廣義闡述，他認為“血液流變學”是同時在宏觀以及微觀之水平上，研究血液的細胞成分和血漿的變形以及流動特性，更廣及探討與血液直接接觸的血管結構的流變特性。因此，血液流變學首先要研究全血的流變特性。眾所週知，我們可以把血液看成是一種懸浮液系統。其成分大部分是紅血球(細胞)以及少量的白血球(細胞)和血小板，它們都懸浮在血漿中，事實上，血漿也是極複雜的高分子化合物溶液，內容物包括白蛋白、球蛋白以及纖維蛋白原等溶解在稀鹽溶液中，當然，血漿還有少量的其它物質存在。因此可想而知，全血液的流變特性是非常複雜。其次，在微觀研究上，血液流變學也研究血球細胞之流變特性，尤其是紅血球細胞的流變特性，白血球細胞和血小板的流變特性都以有相當為數不少的研究 [2-5]。另外，血液循環的流變性，微血管網中血液流動特徵，白血球如何分佈在流動著的微血管血流中，此外，血液流變學在更微觀上則包括研究微血管外間隙中組織液和淋巴液以及淋巴管的流變性，這都被已被收錄為廣義之“血周圍流變學”(Parahem Hemorheology) 的概念。目前就國際血液流變學會分類，血液流變學大可分為五大類：

1. 宏觀血液流變學 (Macroscopic Hemorheology)：是把血液看作連續介質流體，研究全血液在各種不同剪切率(Shear rate) 下之血液表現黏度、血漿黏度、血液密度以及血液流動過程在血管壁上所呈現之剪應力(Shear force)
2. 細胞血液流變學 (Cell Hemorheology)：從細胞觀點研究血液流變特性。包括紅血球的變形、紅血球型態和大小、紅血球表面電荷、紅血球密度、以及白血球的流變特性、血小板的聚集性等等。
3. 分子血液流變學 (Molecular Hemorheology)：從分子觀點研究血液成分的流變特性。例如研究鈣離子與紅血球細胞膜糖蛋白之間的相互作用、各成份血漿蛋白對血漿黏度的影響、纖維蛋白原或其它血漿蛋白對紅血球聚集的影響。

4.普通血液流變學 (Common Hemorheology): 研究宏觀血液流變學、細胞血液流變學和分子血液流變學之間的相互關係。

5.臨床血液流變學 (Clinical Hemorheology): 就是將血液流變學應用於臨床、研究血管—血液器官的功能紊亂、病理狀態和疾病過程等的臨床表現以及這些疾病的診斷、治療和預防。從以上的簡述說明,我們粗略可知血液流變學之定義,同時也大約可知血液流變學與臨床檢驗、臨床疾病或保健食品有些許之關聯性。

事實上,血液流動維持著生命,而人體的正常生理功能及防禦功能也必須要有正常的血液流動狀態,唯有這樣,才能保證臟器組織能夠得到正常的血流灌注並及時供給新鮮氧氣與營養物質,以及排出代謝產物,使組織有一個穩定的內循環環境。一般正常的血液流動狀態,除與心臟、血管結構功能密切有關外,還取決於血液本身的流變性質。如果血液流變性質發生異常,則直接影響到組織的血液灌注、當組織缺水、缺氧、代謝失調、功能障礙,將導致生理出現一系列嚴重的傷害。從國內外的研究不難發現,造成人們死亡和致殘率最多的心、腦血管疾病都與血液流變有很大之相關性[6-10]。從很多之臨床證明,無論動脈硬化、心肌梗塞或腦血管病變等都伴有明顯之血液流變性質的異常[11-15],此外,惡性腫瘤對癌細胞的轉移也有文獻認為與血液流動有著密切關係[16]。此外,也已有文獻報導當在某些心血管疾病出現明顯症狀前,往往一種或數種會導致血液黏度上升因素已有明顯改變[17,18]。因此,血液流變因素的檢查或預防保健將非常有利於早期潛在的疾病(預防醫學)。此外,其它如糖尿病、老年痴呆等都伴隨著有血液流變性質的異常化現象[19-21]。

目前有些學者以從改善血液流變狀態之角度來尋找藥物與其它有效措施,以期能提高療效,控制疾病的發展。在這方面事實上已有很多科學證實,例如 Pentoxifyllin 藥物對於治療動脈硬化性下肢血管疾病有很好的療效[22-24],  $\alpha$ -tocopherol 對治療糖尿病患微循環改善之療效[25]。更進一步,科學家更繼續深

入探索能特異地吸附在紅血球細胞、以及內皮細胞表面，對這些細胞膜的電雙層結構以直接影響，改變紅血球膜的表面電位、電荷甚至膜間電位曲線，藉此改善由於紅血球細胞聚集引起的血液黏度增加，以及抑制血小板的黏附聚集所引起抗血栓形成的效果，因此，血液流變學的研究對於病理學、病理生理學、診斷學、藥物學、預防醫學都有非常重要意義。另外，一些常見的循環疾病，如：高血壓(hypertension)、心臟血管疾病(cardiovascular diseases)、糖尿病(diabetes mellitus)的視網膜病變(retinopathy)及神經病變(neuropathy).....等等，過去都已被證實與血液在血管中流動不順暢有直接或間接的關係；血流的不順暢不僅是由於血管本身的構造功能發生改變(粥狀動脈硬化)而且與血液本身流變性質有關，亦即受全血黏度、血漿黏度、紅血球的聚集及紅血球的變形度等血液流變參數的影響。因此，血液流變目前在醫學臨床上的應用有其重要的地位。針對糖尿病患血液流變參數異常，早在 1955 年，Ditzel 就發現糖尿病患小動脈紅血球的聚集現象，有逐漸增加的趨勢[26]，之後便有許多學者投入糖尿病患血液動力學參數的研究。1966 年，Howell et al 發現糖尿病患血液黏度明顯高於正常人，且血漿蛋白質成份發生改變，認為兩者之間有密切的關係[27]；1977 年，Dintenfass 發現糖尿病患之 Hct 較正常人低的趨勢，並有較高的紅血球硬度(rigidity; Tk) [28]；1978 年，McMillan et al 提出糖尿病患紅血球變形度降低，使血液阻力增加[29]。近年來有關糖尿病患血液動力學上的研究也很多，如：Wang et al 發現，糖尿病患血液動力學參數有不正常的變化，其中包括血液、血漿黏度過高，紅血球 Tk 值異常，指間部位的血液流速降低等，可能導致糖尿病患微循環病變[30]；Wolf et al 開始利用眼底鏡和影像螢光血管攝影，發現糖尿病患視網膜血液流速降低[31]。綜合而言，糖尿病患的血液黏度及紅血球的變形度均異於正常人，亦即血液流動阻力較正常人為大，又糖尿病患者常伴隨一些上述所列之微血管病變，所以學者們認為糖尿病患血液動力學參數的異常，可能導致微血管的血流速率降低，因此使得供應給組織間的氧氣與養份不足，可能是造成微血管病變惡化的主要原因之一。

在本研究，我們不是強調治療糖尿病，而是要想辦法改善或預防糖尿病患之異

常血液流變參數。目前對於糖尿病的治療，大多是利用控制血液中血糖濃度的方式，但是經過一段長時間的控制之後，多數的患者，仍然會發生微小動脈病變，或是視網膜和腎臟微血管病變的合併症，嚴重者會導致眼睛失明及造成慢性腎衰竭，而且這些血管疾病尚無法根治。所以，目前臨床除了傳統療法之外，已開始結合血液動力療法 (hemorheological therapy)，使用藥物針對其異常的血液流變性質加以改善，以期能減少這些血管疾病的發生，並減慢其惡化程度。

## 肆、實驗方法

### 一、糖尿病鼠實驗動物模式之建立

1. 鼠種：Wistar Rat(male)

2. 週齡：8 Weeks

3. 體重：438±15.8 克

4. 誘導藥物：Nicotinamide(180 mg/kg)、Streptozotocin(50 mg/kg)

一週後測其空腹血糖值，大於 200mg/dl 但不超過 300mg/dl，即視為第二型糖尿病老鼠。

### 二、實驗藥物

1. Pentoxifylline (PTX) (純度 100%)

2. 丹酚酸 B (純度 90%)

3. 芝麻素(純度 95%)

### 三、實驗設計

實驗設計分成甲乙兩組，分別為 40%純度之丹酚酸 B 以及 20%純度之丹參素複

方就預防異常血液流變效果評估以及丹酚酸 B 與芝麻素複方改善異常血液流變效果評估

(甲) 40%純度之丹酚酸 B 以及 20%純度之丹參素複方預防(異常血液流變)效果評估

糖尿病老鼠 Wistar Rat (male)      正常老鼠 Wistar Rat (male)

實驗分成 A、B、C、D、E 五組

A 9 週齡糖尿病老鼠(已罹患糖尿病 1 週)服用一般飼料 28 日

B 9 週齡糖尿病老鼠(已罹患糖尿病 1 週)服用一般飼料+PTX 5mg/Kg 鼠體重服用 28 日

C 9 週齡糖尿病老鼠(已罹患糖尿病 1 週)服用一般飼料+ (20mg 丹酚酸 B 與 30mg 20%純度之丹參素)複方 /Kg 鼠體重 服用 28 日

D 9 週齡糖尿病老鼠(已罹患糖尿病 1 週)服用一般飼料+ (30mg 丹酚酸 B 與 40mg 20%純度之丹參素)複方/Kg 鼠體重 服用 28 日

E 9 週齡糖尿病老鼠(已罹患糖尿病 1 週)服用一般飼料+ (50mg 丹酚酸 B 與 50mg 20%純度之丹參素)複方/Kg 鼠體重 服用 28 日

(乙) 40%純度之丹酚酸 B 以及 20%純度之丹參素複方改善(異常血液流變)效果評估

實驗分成 A、B、C、D、E 五組

A 14 週齡糖尿病老鼠(已罹患糖尿病 1 週) 服用一般飼料 28 日

B 14 週齡糖尿病老鼠(已罹患糖尿病 1 週) 服用一般飼料+PTX 5mg/Kg 鼠體重 服用 28 日

C 14 週齡糖尿病老鼠(已罹患糖尿病 1 週)服用一般飼料+ (20mg 丹酚酸 B 與 30mg 20%純度之丹參素)複方 /Kg 鼠體重 服用 28 日



D 14週齡糖尿病老鼠(已罹患糖尿病1週)服用一般飼料+(30mg丹酚酸B與40mg 20%純度之丹參素)複方/Kg 鼠體重 服用 28 日

E 14週齡糖尿病老鼠(已罹患糖尿病1週)服用一般飼料+(50mg丹酚酸B與50mg 20%純度之丹參素)複方/Kg 鼠體重 服用 28 日

## 伍、實驗結果

(甲) 40%純度之丹酚酸B 以及 20%純度之丹參素複方預防(異常血液流變)效果評估

血液流變 參數	A mean±SD n=12	B mean±SD n=12	C mean±SD n=12	D mean±SD n=12	E mean±SD n=12
Glucose (mg/dl)	256±24 <sup>a</sup>	263±37 <sup>a</sup>	256±33 <sup>a</sup>	252±34 <sup>a</sup>	244±51 <sup>a</sup>
$\eta$ plasma (cp)	1.64±0.02 <sup>a</sup>	1.64±0.03 <sup>a</sup>	1.63±0.04 <sup>a</sup>	1.62±0.05 <sup>a</sup>	1.62±0.06 <sup>a</sup>
$\eta$ blood(cp) $\gamma = 600 \text{ s}^{-1}$	4.32±0.22 <sup>a</sup>	3.28±0.24 <sup>b</sup>	4.22±0.44 <sup>a</sup>	3.88±0.32 <sup>c</sup>	3.39±0.28 <sup>b</sup>
$\eta$ blood(cp) $\gamma = 300 \text{ s}^{-1}$	5.96±0.36 <sup>a</sup>	4.62±0.58 <sup>b</sup>	5.74±0.65 <sup>a</sup>	5.26±0.35 <sup>c</sup>	4.88±0.45 <sup>b</sup>
$\eta$ blood(cp) $\gamma = 10 \text{ s}^{-1}$	19.8±0.95 <sup>a</sup>	15.6±1.29 <sup>b</sup>	19.6±1.93 <sup>a</sup>	17.9±1.34 <sup>c</sup>	16.6±1.67 <sup>b</sup>
RBC AI	1.44± 0.32 <sup>a</sup>	0.58±0.31 <sup>b</sup>	1.46±0.46 <sup>a</sup>	1.18±0.42 <sup>c</sup>	0.76±0.27 <sup>bc</sup>
RBC DI $\gamma = 800 \text{ s}^{-1}$	0.26±0.003 <sup>a</sup>	0.37±0.004 <sup>b</sup>	0.27±0.005 <sup>a</sup>	0.31±0.008 <sup>c</sup>	0.34±0.006 <sup>bc</sup>

(乙) 40%純度之丹酚酸B 以及 20%純度之丹參素複方改善(異常血液流變)效果評估

血液流變 參數	A mean±SD n=12	B mean±SD n=12	C mean±SD n=12	D mean±SD n=12	E mean±SD n=12
Glucose (mg/dl)	236±22 <sup>a</sup>	244±42 <sup>a</sup>	252±27 <sup>a</sup>	262±31 <sup>a</sup>	252±42 <sup>a</sup>
$\eta$ plasma (cp)	1.63±0.02 <sup>a</sup>	1.63±0.03 <sup>a</sup>	1.63±0.04 <sup>a</sup>	1.62±0.04 <sup>a</sup>	1.62±0.05 <sup>a</sup>
$\eta$ blood(cp) $\gamma = 600 \text{ s}^{-1}$	4.28±0.24 <sup>a</sup>	3.22±0.26 <sup>b</sup>	4.25±0.38 <sup>a</sup>	3.81±0.35 <sup>c</sup>	3.32±0.25 <sup>b</sup>
$\eta$ blood(cp) $\gamma = 300 \text{ s}^{-1}$	5.78±0.23 <sup>a</sup>	4.45±0.51 <sup>b</sup>	5.64±0.38 <sup>a</sup>	5.11±0.36 <sup>c</sup>	4.68±0.42 <sup>b</sup>
$\eta$ blood(cp) $\gamma = 10 \text{ s}^{-1}$	18.2±0.65 <sup>a</sup>	14.2±0.88 <sup>b</sup>	18.6±0.76 <sup>a</sup>	16.9±1.22 <sup>c</sup>	15.6±0.65 <sup>b</sup>
RBC AI	1.38± 0.34 <sup>a</sup>	0.56±0.32 <sup>b</sup>	1.36±0.44 <sup>a</sup>	1.06±0.32 <sup>c</sup>	0.66±0.28 <sup>bc</sup>
RBC DI $\gamma = 800 \text{ s}^{-1}$	0.27±0.003 <sup>a</sup>	0.36±0.004 <sup>b</sup>	0.25±0.006 <sup>a</sup>	0.32±0.004 <sup>c</sup>	0.34±0.005 <sup>bc</sup>

## 陸、結論

利用糖尿病鼠高血糖所誘使異常血液流變參數模式評估 40%純度之丹酚酸 B 以及 20%純度之丹參素複方就預防以及改善效果之評估。實驗結果顯示無論是服用低劑量(C 組)、中劑量(D 組)或高劑量之(E 組)糖尿病鼠，無論在就預防糖尿病鼠產生異常血液流變或者改善糖尿病鼠之異常血液流變都具有一定之效果，包括：降低全血黏度、降低紅血球聚集能力以及提升紅血球之變形能力。

## 柒、參考資料

1. Copley, A. L. and King, R. G. (1972). 'Viscous resistance of thromboid (thrombus-like) surface layers in systems of plasma proteins including fibrinogen.' *Thrombosis Research* 1,1-18

2. Vichinsky EP “ Current issues with blood transfusions in sickle cell disease. *Seminars in Hematology*. 38:14-22, 2001 Jan.
3. Li Z. Wang H. Li J. Zhang Gand Gao C.” Basic and clinical study on the antithrombotic mechanism of glycosaminoglycan extracted from sea cucumber” *Chinese Medical Journal*. 113(8):706-11, 2000
4. Rossler A. Berrouschot J. Barthel H. Hesse S. Koster J. Schneider D.”Potential of rheopheresis for the treatment of acute ischemic stroke when initiated between 6 and 12 hours” *Therapeutic Apheresis*. 4(5):358-62, 2000
5. Lowe GD” Etiopathogenesis of cardiovascular disease: hemostasis, thrombosis, and vascular medicine. *Annals of Periodontology*. 3(1):121-6, 1998 Jul
6. Lip PL. Blann AD. Jones AF. And Lip GY.” Abnormalities in haemorheological factors and lipoprotein (a) in retinal vascular occlusion: implications for increased vascular risk.” *Eye*. 12 ( Pt 2):245-51, 1998.
7. Remky A. Arend O. Jung F. Kiesewetter H. Reim M.and Wolf S.” Haemorheology in patients with branch retinal vein occlusion with and without risk factors” *Graefes Archive for Clinical & Experimental Ophthalmology*. 234 Suppl 1:S8-12, 1996
8. van den Berkmortel FW.and Wollersheim H.”.The effect of smoking and of smoking cessation on pathophysiological mechanisms of cardiovascular diseases” *Nederlands Tijdschrift voor Geneeskunde*. 140(34):1712-6, 1996
9. Chin K. Ohi M. Kita H. Noguchi T. Otsuka N. Tsuboi T. Mishima M. Kuno K.” “ffects of NCPAP therapy on fibrinogen levels in obstructive sleep apnea syndrome.Source” *American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine*. 153:1972-6, 1996 Jun.
10. Copley, A. L. ,Huang, C. R. and King, R. G.( 1973 ).’Rheogoniometric studies of whole human blood at shear rates from 1000 to 0.0009sec<sup>-1</sup>.Part I - Experimental findings.’ *Biorheology* 10,17-22.
11. Copley, A. L., King , R. G., Chien , S., Usami , S., Skalag, R. and Huang , C. R. ( 1975 ) .’Microscopic observations of viscoelasticity of human blood in Steady

and oscillatory flow. ' *Biorheology* 12,257-263.

12. Margulies L.J." Ocular manifestations of cardiovascular and hematologic disorders. *Current Opinion in Ophthalmology*. 6(6):97-103, 1995.
13. J.Ditzel: The nature of intravascular erythrocyte aggregation in disease with particular reference to diabetes millitus. *Acta Med.Scand*. 152:372-378,1955.
14. S.L.Howell, K.W.Taylor: Blood-viscosity in diabetic patients. *Lancet I* : 129-131,1966.
15. D.E.McMillan, N.G.Utterback, J.L.Puma, S.Barbara: Reduced erythrocyte deformability in diabetes. *Diabetes* 27:895-901,1978.
16. E.Ferrari,M.Fioravanti, A.L.Patti, C.Viola and S.B.Solerte: Effects of long-term treatment(4 years) with pentoxifylline on haemorheological changes and vascular complications in diabetic patients. *Pharmatherapeutica* 5: 26-39,1987.
17. M.Rendell, O.Bamisedum: Skin blood flow and current perception in pentoxifylline-treated diabetic neuropathy. *Angiology-The Journal of Vacular Diseases* : 843-851, 1992.
18. E.A.Schmaizer, R.Skalak, S.Usami, M.Vayo and S.Chien: Influence of red cell coventration and filtration of blood cell suspensions. *Biorheology* 20: 29-40, 1983.
- 19.G.D.O.Lowe: *Clinical blood rheology*, volume I . 1988, CRC Press,Inc.
20. F.Ch.Mokken, M.Kedaria. Ch.P.Henny, M.R.Hardeman, and A.W.Gelb: The clinical importance of erythrocyte deformability a hemorrheological parameter. *Ann. Hematol*. 64:113-122, 1992.
21. International Committee for Standardization in Haematology: Cuideline for panel on blood rheology. *Clin. Hemorheology* 6: 439-453, 1986.
22. A.Ward, S.P.Clissold: Pentoxifylline, a review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and its therapeutic efficacy. *Drugs* 34: 50-97, 1987.

23. A.R.de Salama, I.Salama Benarroch, C.Bregni: Pentoxifylline action on blood viscosity of biabetic patients with retinopathy. Rev. Port. Hemorreol. 3:41-48, 1989.
24. D.Seiffge and H.Kiesewetter: Effect of pentoxifylline on single red cell deformability. Klin.Wochenschr 59: 1271-1272, 1981.
25. T. W. Chung, J. J. Hua Yu, D. Z. Liu, (1998)"Reducing Lipid Peroxidation Stress of Erythrocyte Membrane by dl- $\alpha$ -Tocopherol Nicotinate Plays an Important Role in Improve Blood Rheological Propertiesin Type 2Diabetic Patients with Retinopath", Diabetic Medicine, Vol 15 p269-276.
26. J.Ditzel"The nature of intravascular erythrocyte aggregation in disease with particular reference to diabetes mellitus". Acta. Med. Scand. 152: 372-378 ,1955
27. S.L.Howell, K.w.Taylor"Blood viscosity in diabetic patients". Lancet I :129-131,1966
28. L.Dintenfass"Blood viscosity , hyperviscosity and hyperviscoemia"1985,MTP PRESS LIMITED
29. D.E.McMillan , N.G.Utterback , J.L.Puma , S.Barbara"Reduced erythrocyte defomability in diabetes" Diabetes 27: 895-901,1978.
30. B.Wang, L.Wang, C.Deng, Y.Huang, X.xie, and N.Tang"Abnormalities of hemorheology and nailfold microcirculation on in diabetes without retinopathy". Clin. Hemorheology 11: 243-249,1991
- 31.B.Bertram, S.Wolf, O.Arend, K.Schulte, T.W.Pesch, F.Jung, H.Kiesewetter, M.Reim"Blood rheology and retinopathy in adult type I diabetes mellitus". Clin Hemorheology 2:437-448,1991.