

• 临床检验研究论著 •

贮存红细胞中一氧化氮浓度的变化与输注效果的研究*

朱 奕,伍昌林[△],李 岚,党鑫堂

(广东省深圳市第二人民医院输血科 518000)

摘 要:目的 分析贮存红细胞中一氧化氮浓度的改变与临床输注效果的关系,为进一步提高输血的安全性和有效性提供依据。**方法** 535 份红细胞悬液保存期分别为:2 d 40 份,7 d 120 份,14 d 235 份,28 d 105 份,34 d 35 份;分别输注给 266 位珠蛋白生成障碍性贫血患者,并分析输注的有效率。采用一氧化氮荧光探针技术检测不同保存期贮存红细胞中一氧化氮浓度,并比较临床输注效果。**结果** 随着红细胞制剂贮存期延长,一氧化氮水平有持续下降的趋势($P<0.01$);红细胞制剂输注有效率也随之下降($\chi^2=17.41, P<0.01$),差异有统计学意义。**结论** 随着保存期的延长,贮存红细胞悬液中一氧化氮浓度明显下降,直接影响临床输注有效率。

关键词:一氧化氮; 红细胞; 血液成分输血; 血液保存

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.14.004 文献标识码:A 文章编号:1673-4130(2012)14-1673-02

Relationship between the concentration of nitric oxide in stored red blood cells and effect of transfusion*

Zhu Yi, Wu Changlin[△], Li Lan, Dang Xintang

(Department of Blood Transfusion, the Second People's Hospital of Shenzhen, Shenzhen, Guangdong 518000, China)

Abstract: **Objective** To analyze the relationship between the concentrations of nitric oxide(NO) in stored red blood cells and the transfusion effect. **Methods** The storage life of 535 cases of red blood cells suspension liquid respectively were 2 days of 40, 7 days of 120, 14 days of 235, 28 days of 105 and 34 days of 35, which were respectively transfused to 266 patients, and the effectiveness of blood transfusion was analyzed. The concentrations of NO in different shelf storages of red blood cells were assayed by NO fluorescence probe, and the clinical effect of blood transfusion was compared. **Results** With the increment of the shelf life of red blood cells, the concentrations of NO continued to decline($P<0.01$) and the efficiency of transfusion also reduced($\chi^2=17.41, P<0.01$). **Conclusion** With the extension of shelf life, the concentration of nitric oxide in stored red blood cells might decrease significantly, which could directly impact on clinical transfusion efficient.

Key words: nitric oxide; erythrocytes; blood component transfusion; blood preservation

一氧化氮具有强大的松弛血管平滑肌的作用,能扩张微小血管,有利于红细胞对组织供氧。一氧化氮还有助于保持红细胞的变形能力,使细胞可轻易通过狭窄的血管通道。因此,了解贮存红细胞中一氧化氮浓度的变化是非常必要的。笔者对本科室库存的红细胞悬液进行一氧化氮检测,分析探讨不同贮存时间点一氧化氮的浓度变化,并跟踪每份血液的输注效果,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料 共 535 袋红细胞悬液(2 个单位/袋)由市血液中心提供,分别用于 266 位患者(均为珠蛋白生成障碍性贫血患者)。535 份红细胞悬液保存期:2 d 40 份,7 d 120 份,14 d 235 份,28 d 105 份,34 d 35 份。

1.2 方法 红细胞内一氧化氮检测采用一氧化氮荧光探针(DAF-FM DA)技术,试剂盒购自江苏碧云天生物技术研究,严格按试剂盒说明书操作。用 BECKMAN COULTER 流式细胞仪检测荧光强度。

1.3 红细胞输注效果评价 输红细胞制剂后 24 h 内复查血红蛋白(Hb),并与输血前相比较,如果 Hb 浓度没有升高到预期值,并排除继续失血、血液被稀释等原因,且临床未见溶血性输血反应体征后,视为红细胞无效输注。输红细胞制剂后, Hb 浓度升高预期值按八省市无效输血协作组提出的试行标准判断^[1]:Hb 升高预期值(g/L)=供者 Hb(g/L)×输入量(L)×

90%/患者体质量(kg)/0.085(L/kg)。

1.4 统计学处理 采用统计学软件 SPSS16.0,样本均数比较采用 *t* 检验,样本率的比较采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

535 份红细胞悬液检测一氧化氮浓度,见表 1。排除继续失血、血液被稀释且临床未见溶血性输血反应体征病例后,输注红细胞悬液份数为保存期 2 d 40 份,7 d 101 份,14 d 218 份,28 d 98 份,34 d 29 份。合计有效 486 份。说明 RBC 内一氧化氮水平随着贮存期延长有持续下降的趋势。红细胞制剂输注有效率也随贮存期延长而下降, $\chi^2=17.41, P<0.01$, 差异有统计学意义。

表 1 不同保存期红细胞悬液中一氧化氮浓度及与输注有效率比较

红细胞制剂 保存期(d)	一氧化氮 检测病例(n)	一氧化氮 (μmol/L)	有效病例 (n)	RBC 输注 有效[n(%)]
2 ^①	40	6.51±3.24	40	40(100.00)
7 ^②	120	5.12±2.15	101	91(90.10)
14 ^③	235	3.51±5.03	218	187(85.78)

* 基金项目:广东省深圳市科技计划项目(201103113)。 [△] 通讯作者, E-mail: wuchlin@126.com。

续表 1 不同保存期红细胞悬液中一氧化氮浓度及与输注有效率比较

红细胞制剂 保存期(d)	一氧化氮 检测病例(n)	一氧化氮 ($\mu\text{mol/L}$)	有效病例 (n)	RBC 输注 有效[n(%)]
28 ^④	105	2.01±6.54	98	76(77.55)
34 ^⑤	35	0.89±4.32	29	21(72.41)
合计	535	—	486	415(85.39)

—:无数据。从上至下两两分别进行 t 检验, $t_{①②}=3.245, P<0.01; t_{②③}=3.521, P<0.01; t_{③④}=3.263, P<0.01; t_{④⑤}=3.197, P<0.01$, 差异有统计学意义。

3 讨 论

输血作为目前仍不可替代的一种治疗手段, 保证其安全、有效是输血医学永恒的课题。传统的输血风险主要指免疫排斥、感染及传播疾病等方面, 但近年大量研究表明, 除免疫原因以外, 输血效果不佳还可能是随着储存期的延长、血液形态学和生化学的改变所产生的不良反应造成的。在储存期间, 受条件限制, 血液多种成分尤其是红细胞的生理功能受损, 细胞膜的流动性和通透性发生改变, 红细胞变形性降低, 聚集性增加, 细胞弹性下降使细胞变硬^[2-3], 影响微循环的有效灌注和器官供氧, 进而影响输血效果。

一氧化氮被认为是体内最重要的信号分子, 对机体健康至关重要, 存在于心血管系统、神经系统乃至全身。众所周知, 红细胞的主要功能是运输氧气和二氧化碳, 现在认为呼吸循环是一氧化氮/氧气二氧化碳的三气体系统。红细胞不仅运输氧气和二氧化碳, 还运输一氧化氮, 而且其生理性血管效应依赖于血红蛋白的作用。最新研究结果显示, 长期保存的血液制品中一氧化氮缺乏, 而只有当一氧化氮介导血管扩张, 红细胞才能将氧气顺利输送到机体组织^[4-5]。血库中的血液自从采集之后就会发生一系列的生理改变, 红细胞的形态发生改变, 细胞灵活性降低; 氧结合调节分子减少, 红细胞氧亲和性的降低和流变学及粘连性的改变可能加重局部缺血。本文研究已经发现红细胞的储存时间越长, 细胞内一氧化氮浓度越低, 输注有效率也越低, 且差异有统计学意义($P<0.01$)。

近年来一系列研究表明, 同种异体红细胞输注可能危害受

血者。特别值得注意的是, 在临床随机实验中大剂量输血同限制输血比较, 前者能够增加输血相关疾病发病率 20% 左右。血库中一氧化氮的大量流失, 血管不能扩张, 红细胞在血管中堆积, 机体组织就会缺氧, 接受输血的患者心脏病复发、心力衰竭、中风甚至死亡的概率较高。对于临床医师来说, 认识到红细胞输注的有限好处或者潜在危险, 有利于他们制定具有针对性和限制性的红细胞输注方案^[6-7]。

一氧化氮含量与贮存红细胞的生理活性密切相关。如何控制血库中一氧化氮的流失以及怎样补充一氧化氮, 提高红细胞运输氧气的能力, 这尚待进一步研究。在输血的同时补充一氧化氮, 已经在动物实验中取得成功^[4]。但能否应用到人体, 一氧化氮补充量的控制及方法等, 还需进一步临床实验。

参考文献

[1] 吕运来, 负中桥, 兰炯采, 等. 红细胞无效输注回顾性初探[J]. 中国输血杂志, 2007, 20(3): 220-221.

[2] Bonaventura J. Clinical implications of the loss of vasoactive nitric oxide during red blood cell storage[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2007, 104(49): 19165-19166.

[3] Koch CG, Li L, Duncan AI, et al. Transfusion in coronary artery bypass grafting is associated with reduced longterm survival[J]. Ann Thorac Surg, 2006, 81(5): 1650-1657.

[4] Reynolds JD, Ahearn GS, Angelo M, et al. S-nitrosohemoglobin deficiency: a mechanism for loss of physiological activity in banked blood[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2007, 104(43): 17058-17062.

[5] Bennett-Guerrero E, Veldman TH, Doctor A, et al. Evolution of adverse changes in stored RBCs[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2007, 104(43): 17063-17068.

[6] Kor DJ, Van Buskirk CM, Gajic O. Red blood cell storage lesion [J]. Bosn J Basic Med Sci, 2009, 9(Suppl 1): 21-27.

[7] Hu W, Jin R, Zhang J, et al. The critical roles of platelet activation and reduced NO bioavailability in fatal pulmonary arterial hypertension in a murine hemolysis model[J]. Blood, 2010, 116(9): 1613-1622.

(收稿日期: 2012-01-10)

(上接第 1672 页)

[2] Fainardi E, Castellazzi M, Seraceni S, et al. Under the microscope: focus on chlamydia pneumoniae infection and multiple sclerosis [J]. Curr Neurovasc Res, 2008, 5(1): 60-70.

[3] Bennedsen M, Berthelsen L, Lind I, et al. Performance of three microimmuno fluorescence assays for detection of chlamydia pneumoniae immunoglobulin M, G, and A antibodies[J]. Clin Diagn Lab Immunol, 2002, 9(4): 833-839.

[4] 颜子颖, 王海林. 精编分子生物学实验指南[M]. 北京: 科学出版社, 1998: 1.

[5] Sambrook J, Russell D. 分子克隆实验指南[M]. 黄培堂, 译. 3 版. 北京: 科学出版社, 2002: 1.

[6] Luo J, Liu G, Zhong Y, et al. Characterization of hypothetical proteins Cpn0146, 0147, 0284 & 0285 that are predicted to be in the

Chlamydia pneumoniae inclusion membrane[J]. BMC Microbiol, 2007, 7: 38.

[7] Hong LC, Zhou Z, Zhan H, et al. Serodiagnosis of Chlamydia pneumoniae infection using three inclusion membrane proteins [J]. J Clin Lab Anal, 2010, 24(1): 55-61.

[8] Dutta S, Lalitha PV, Ware LA, et al. Purification, characterization, and Immunogenicity of the refolded ectodomain of the Plasmodium falciparum apical membrane antigen 1 expressed in Escherichia coli[J]. Infect Immun, 2002, 70(6): 3101-3110.

[9] Gribskov M, Burgess RR. Overexpression and purification of the sigma subunit of E. coli RNA polymerase[J]. Gene, 1983, 26: 109.

(收稿日期: 2011-12-30)