

红细胞变形性及其对输血的影响*

桂 林 综述,李代渝 审校(泸州医学院附属医院输血科,四川 泸州 646000)

【关键词】 红细胞变形性; 输血; 影响

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2012.09.037 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2012)09-1095-03

输血在临床上应用非常广泛,作为一种替代性治疗,可以补充血容量、改善微循环、增强组织携氧能力,是防止或治疗休克的主要方法,对患者治疗能否成功,保证患者安全有重要的意义。红细胞输注在现代临床输血中的研究和应用最多,是成分输血的主要组成部分。目前,临床应用的红细胞制品种类较多,国内最常用的是悬浮红细胞制品。但是在血液存储过程中,随着时间的延长,红细胞变形能力逐渐下降,会导致血液黏滞度增高,聚集性增加,加大血流阻力,阻碍血液循环,从而影响血流灌注。研究影响库存血红细胞变形性的影响因素,对安全输血及输血质量具有重要意义和临床价值。

1 红细胞的形态及变形性

红细胞是血液中最主要的成分,其生理功能主要是运输氧和二氧化碳。哺乳动物正常红细胞静态时其形状为双凹圆盘形,人的红细胞直径 $6\sim 9\ \mu\text{m}$,中央厚度 $1\ \mu\text{m}$,边缘厚度 $214\ \mu\text{m}$,表面积 $103\sim 163\ \mu\text{m}^2$,容积 $86\sim 90\ \mu\text{m}^3$ 。红细胞的这种形态特点有利于红细胞变形,这取决于红细胞具有较大的表面积(S)与体积(V)之比^[1]。在正常情况下,其表面积 $S/V>1.5$,这有利于红细胞经历多种变形而无需增加其表面积。当 S/V 等于 1.0,红细胞呈球形;当 S/V 等于 0.7,红细胞则呈椭圆形。后二者均会使得红细胞变形性下降^[2]。红细胞能够在外力的作用下,随着环境的改变而发身形状变化,通过比自身直径小的微血管的能力,就是红细胞的变形性。红细胞良好的变形性是影响血液循环的主要因素,是机体完成生理功能维持生命运动的基础^[3]。

2 影响红细胞变形能力的因素

2.1 红细胞的几何形状 前面已经叙述,红细胞的双凹圆盘形状是提高变形性的最好形态,其影响主要取决于细胞 S 与 V 之比,比值越大,变形能力越强,可在表面积不变或者甚微的变化,达到明显的变形^[4]。实验证明,在低张溶液,偏酸、偏碱或者低氧环境下,红细胞胞体膨胀近球形,其 S 和 V 比值低,红细胞的变形能力随之降低。

2.2 红细胞的黏弹性 红细胞的黏弹性主要受脂双层的组成与结构、膜骨架结构及其动态调节的影响。膜的脂质双层和骨架蛋白共同构成了红细胞膜,膜中的脂质主要包括磷脂、胆固醇和糖脂,膜双层具有流动性,膜的坦克履带运动、氧的扩散及膜上酶系统的活动可影响红细胞的变形性^[2]。膜骨架蛋白对脂双层起着支撑作用,其成分变化可与膜的其他成分发生作用改变膜流动性^[5]。

2.3 红细胞的内黏度 血红蛋白(Hb)是红细胞中的一种重要蛋白质,红细胞内主要成分系血红蛋白溶液,红细胞内黏度主要取决于血红蛋白的理化性质和血红蛋白浓度的影响。当红细胞溶解度降低,发生凝集或沉淀,在低氧或偏酸、偏碱环境

时,内黏度升高^[1]。红细胞的胞浆黏度较小,保证了红细胞有良好的变形性。当血红蛋白浓度增加时,会导致全血黏度,特别是高切变率下全血黏度升高,聚集性增强,加大血流阻力,阻碍血液循环^[6]。

2.4 温度对红细胞变形性的影响 加热常造成细胞变形性降低。有研究表明,在 $5\sim 37\ ^\circ\text{C}$ 这一范围内,红细胞的变形随温度的升高而升高^[7]。高于 $37\ ^\circ\text{C}$,红细胞变形性降低。温度升高,虽脂质液态增多,流动性加强,但膜蛋白的热变性所造成的损伤更大,抵消了脂质相变增大的流动性,导致变形性下降。在 $45\sim 80\ ^\circ\text{C}$,细胞膜的不可逆变化来自膜蛋白的不可逆变性而非脂质变化^[2]。烧伤可导致局部血管内的红细胞因高温影响而发生变化,细胞变形性减低^[8]。

2.5 缺氧对红细胞变形性的影响 缺氧会使机体产生一系列影响。红细胞输注给机体组织提供一定的氧,缺氧会影响红细胞流变学特征,使红细胞不易通过原本能通过的微血管,引起血液黏度升高,从而影响充足的血液灌注^[9-10]。国内张钢等^[11]通过大鼠动物研究实验结果表明,缺氧对红细胞变形性影响机制可能在于:(1)红细胞内黏度受细胞平均浓度的影响。缺氧使血红蛋白浓度明显升高,导致红细胞内黏度增大,使红细胞刚性增加,变形性下降。(2)缺氧时机体代谢增强,能量消耗过多。细胞不能维护其正常功能,致使体内某些物质氧化产生自由基增多,而消除自由基的各种酶,如超氧化物歧化酶活性降低。(3)缺氧可能使红细胞表面负电荷减少,静电排斥力下降,致红细胞聚集性显著增大。(4)严重缺氧使红细胞膜的有氧代谢产生障碍,无氧酵解增强,三磷酸腺苷(ATP)生成明显减少,从而影响红细胞膜的流变性。(5)缺氧可能使循环中的白细胞变形性下降,扣压在微血管的白细胞活化可释放多种活性物质破坏红细胞变形性,使其变形能力下降。

2.6 钙离子对红细胞变形性的影响 在人体的各种组织细胞中,钙离子都发挥着重要的作用。研究 Ca^{2+} 所引起的一系列复杂的生物学变化,从而揭示钙对红细胞变形性的微观影响机制。正常情况下,人的红细胞通过钙泵($\text{Ca}^{2+}\text{-Mg}^{2+}$)ATP 酶使细胞内的 Ca^{2+} 保持在正常浓度。血液循环中产生的剪切应力,体内的一些化学物质和红细胞在衰老过程中的变化都可以使红细胞内的钙离子浓度增加。生化试验中,利用氧化钙和钙离子载体 A23187 处理可以使红细胞内钙浓度增加^[12-13]。 Ca^{2+} 引起红细胞变形能力下降的主要原因是:(1) Ca^{2+} 可引起红细胞膜骨架的结构和脂双层组分的改变,使膜脂流动性减小。(2) Gardos 效应。 Ca^{2+} 激活了红细胞膜上的 K^+ 通道,使 K^+ 和水外流,细胞脱水和血红蛋白聚集,使细胞内黏度增加。(3) Ca^{2+} 引起膜蛋白水解、聚集、交叉连接等结构改变,改变了红细胞膜的机械特性^[3]。国外最近实验研究表明, Ca^{2+} 内流

* 基金项目:四川省卫生厅科研课题川卫办发(2010)493 号(100296)。

增加的同时,使红细胞聚集性增加,而腺苷酸环化酶系统的刺激,会导致红细胞聚集性降低,变形性增加^[14-16]。钙离子对红细胞变形性的影响机制仍需大量的实验证明。

2.7 一氧化氮(NO)对红细胞变形性的影响 NO在生物体内作为一种反应性极强的自由基,具有广泛的生理作用,如松弛血管平滑肌,抑制血小板聚集,调节脑血流,介导细胞毒效应和免疫调节。NO本身半衰期极短,它主要由血管内皮细胞、血管平滑肌细胞、血小板、巨噬细胞等产生。NO由一氧化氮合酶(NOS)合成,它不需要ATP参与,因此不需要耗能量。目前发现NOS有3种形式:神经型(nNOS)、内皮型(eNOS)和诱导型(iNOS)^[17]。红细胞在生物体内可能承担NO的存储和运输,NO是脂溶性小分子物质,极易通过红细胞膜。红细胞含有丰富的血红蛋白。NO与红细胞内Hb中的 $\beta 93\text{Cys}$ 残基(Hb $\beta 93\text{Cys}$)结合形成SNO-Hb,Hb分子内NO能从Hb转移至Hb $\beta 93\text{Cys}$ 巯基,参与NO传递,调控血管舒缩功能,SNO-Hb对确保输血的安全性和疗效有重要意义^[18-19]。NO对血管张力和血液流量的调节强烈影响微循环中红细胞的变形性,其在输血医学领域的研究已成为近几年的热点,NO对红细胞输注存在着风险和利益的平衡问题^[20-21]。其调控作用和影响机制还有待进一步研究。

2.8 影响红细胞变形性的其他因素 (1)pH值降低。pH降低使红细胞膜的弹性降低,使变形能力降低。(2)血细胞浓度。主要是红细胞浓度增加,细胞之间局部剪变率增大,红细胞变形程度及随流向取向的程度也增加。(3)生物因素。在人和动物出现脓毒症时,革兰阴性细菌产生的大量内毒素,可使红细胞变形性下降。机制之一是通过自由基而起作用,此时自由基的产生是多形核白细胞中的尼克酰胺腺嘌呤(核苷酸磷酸盐氧化酶)经补体成分C3a诱导的结果。其他可能的机制是低氧、低pH、细胞内黏度改变及膜表面蛋白质特性改变。另外,在感染了疟原虫的红细胞中,由于红细胞内寄生物不断生长,将引起S/V减小,变形性下降。(4)自由基。正常时自由基的产生和清除维持动态平衡,保证生理功能的稳定。如果自由基不能被及时清除或产生过多,则会因为自由基的强氧化性使红细胞膜的脂质发生过氧化,使膜上的不饱和脂肪酸减少,流动性下降,自由基也可以使血红蛋白变性,形成Heinz小体沉积于红细胞膜内侧,使红细胞膜脆性增加,变形性下降。自由基还可作用到红细胞膜的钙离子泵,使钙泵失活,细胞内钙离子增多,变形性降低^[2]。(5)药物因素。麻醉手术期间,由于药物的影响,导致外周微循环收缩,使用库存血可加重微循环障碍和酸碱平衡紊乱。临床应用中,丁咯地尔^[22]、天麻素^[23]等药物可降低血液黏度,增加红细胞变形性,改善微循环。

3 红细胞变形能力对血液输注的影响

人体的各个细胞、组织、器官只有在血液循环正常灌流下才能进行物质交换,维持机体的新陈代谢和基本的生命活动,而血液循环的正常灌流必须依赖于微循环中血管的组织、形态、生理功能和血液流变特性等方面的正常^[3]。血液存储期间,各种血液成分质量下降:红细胞变形性降低、聚集性增高、黏弹性下降、血黏度增加^[24]。这是由于血液离体后,失去神经系统和体液调节,在存储过程中会发生生物化学和生理学改变,血细胞活动规律受到破坏,生存功能降低,寿命逐渐缩短,输注后使人体组织氧利用降低,从而影响血液循环灌注效能^[25]。

国内外大量实验研究表明,保存在ACD保养液中的血液,在保存24h后红细胞变形性即可出现改变,这是由于膜ATP

会发生消耗,影响细胞膜脂质特性的变化,导致细胞膜黏弹性的下降。红细胞于4℃存放2周以上就会发生明显的质量受损,血液红细胞变形性降低,细胞通过毛细血管时容易遭到破坏,影响微循环,从而影响输注效果^[26]。围麻醉手术期间患者、微循环障碍患者输血应尽量选用新鲜血,以保证组织灌注。血液存储3周后,其红细胞变形性会显著性降低,鉴于此,血液最好在2周内使用,3~7d的血液为最佳。

值得注意的是,近年来大量实验研究表明,临床输血存在着风险和效益的利弊争议,同种异体输血可能会危害到受血者。危重患者输注红细胞制剂,可能不会改善微循环,提高组织耗氧,还有可能进一步加重患者病情^[27]。因此,临床医生应该认识到临床输血的利弊,合理选择有效的输注方案。

综上所述,红细胞变形性受多方面因素的影响,这些因素不是单一发生的,任一因素的改变都会引发红细胞多方面的改变,从而影响红细胞变形性。近年来,研究血液保存期间对库存血液流变特性的影响越来越受到人们的重视,红细胞只有在良好的变形能力下才能顺利输注给患者,保证输血的安全性和有效性。尽管红细胞变形性因素及对输血的影响已有大量实验研究,但其详细机制尚待进一步证明。

参考文献

- [1] 史瑞英,周宏研.红细胞变形性与原发性高血压[J].微循环学杂志,2004,14(3):77-79.
- [2] 向甄,杨继庆,文峻.红细胞变形性的影响因素及测量方法[J].中国医学物理学杂志,2006,23(6):423-426.
- [3] 林琳,陶春,蒋慧,等.红细胞变形性及其对微循环的影响[J].内蒙古医学杂志,2008,40(12):1484-1487.
- [4] Riquelme B,Foresto P,D'Arrigo M,et al. Laser diffraction technique:clinical applications to vascular pathologies[J]. Clin Hemorheol Microcirc,2006,35(1-2):277-281.
- [5] 许锋,胡林,肖文波,等.血液流变学中影响红细胞变形性的因素分析[J].贵州大学学报:自然科学版,2004,21(3):279-281.
- [6] Uyuklu M,Meiselman HJ,Baskurt OK. Effect of hemoglobin oxygenation level on red blood cell deformability and aggregation parameters[J]. Clin Hemorheol Microcirc,2009,41(3):179-188.
- [7] Singh M,Stoltz JF. Influence of temperature variation from 5℃ to 37℃ on aggregation and deformability of erythrocytes[J]. Clin Hemorheol Microcirc,2002,26(1):1-7.
- [8] Jagger J,Ellis CG,Sibbald WJ. Measurement temperature plays a pivotal role in the distribution of erythrocyte deformability after LPS[J]. Biorheology,2001,38(5-6):439-448.
- [9] Frenzel T,Westphal-Varghese B,Westphal M. Role of storage time of red blood cells on microcirculation and tissue oxygenation in critically ill patients[J]. Curr Opin Anaesthesiol,2009,22(2):275-280.
- [10] 高慧娟,李新毅.红细胞变形性与缺血性脑损伤的研究进展[J].中西医结合心脑血管病杂志,2006,4(1):64-65.
- [11] 张钢,高钰琪,张璐.缺氧对大鼠血液流变学特性的影响[J].重庆医学,2006,35(17):1574-1576.

[12] Friederichs E, Farley RA, Meiselman HJ. Influence of calcium permeabilization and membrane-attached hemoglobin on erythrocyte deformability[J]. Am J Hemato, 1992, 41: 170-177.

[13] Friederichs E, Meiselman HJ. Effects of calcium permeabilization on RBC rheologic behavior[J]. Biorheology, 1994, 31: 207-215.

[14] Muravyov AV, Tikhomirova IA. Crosstalk between adenyl cyclase signaling pathway and Ca^{2+} regulatory mechanism under red blood cell microrheological changes[J]. Clin Hemorheol Microcirc, 2010, 45(2-4): 337-345.

[15] Dyrda A, Cytlak U, Ciurazkiewicz A. Local membrane deformations activate Ca^{2+} -dependent K^{+} and anionic currents in intact human red blood cells[J]. PLoS One, 2010, 5(2): e447.

[16] Li K, Zhao L, Geng G. Increased calcium deposits and decreased Ca^{2+} -ATPase in erythrocytes of ascitic broiler chickens[J]. Res Vet Sci, 2011, 90(3): 468-473.

[17] 严建新, 陈霞. 患者输血前后血液一氧化氮水平变化[J]. 中国实验诊断学, 2008, 12(1): 69-70.

[18] Doctor A, Platt R, Sheram ML, et al. Hemoglobin conformation couples erythrocyte S-nitrosothiol content to O_2 gradients [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2005, 102(16): 5709-5714.

[19] 张长虹, 周俊, 庞力. 一氧化氮在贮存红细胞中的重要意义[J]. 中国实验血液学杂志, 2009, 17(3): 831-834.

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

[21] Horn P, Cortese-Krott MM. Nitric oxide influences red blood cell velocity independently of changes in the vascular tone[J]. Free Radic Res, 2011, 45(6): 653-661.

[22] 孙伟, 刘颖芳, 孙跃, 等. 丁咯地尔的临床应用[J]. 社区医学杂志, 2007, 5(24): 18-20.

[23] 沈慧, 王文利. 天麻素对高血压的影响[J]. 中国民间疗法, 2007, 15(4): 24-25.

[24] Chin-Yee IH, Gray-Statchuk L, Milkovich S, et al. Transfusion of stored red blood cells adhere in the rat microvasculature[J]. Transfusion, 2009, 49(11): 2304-2310.

[25] Tinmouth A, Fergusson D, Yee IC, et al. Clinical consequences of red cell storage in the critically ill[J]. Transfusion, 2006, 46(11): 2014-2027.

[26] Henkelman S, Dijkstra-Tiekstra MJ, de Wildt-Eggen J, et al. Is red blood cell rheology preserved during routine blood bank storage [J]. Transfusion, 2010, 50(4): 941-948.

[27] Marik PE, Corwin HL. Efficacy of red blood cell transfusion in the critically ill: a systematic review of the literature[J]. Crit Care Med, 2008, 36(9): 2667-2674.

(收稿日期: 2011-12-08)

苯丙氨酸羟化酶基因突变研究进展

杨树法, 赵娟 综述, 王琳琳 审校(首都医科大学附属北京妇产医院北京妇幼保健院 100026)

【关键词】 苯丙氨酸羟化酶; 苯丙酮尿症; 基因; 突变
DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2012. 09. 038 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2012)09-1097-03

苯丙氨酸羟化酶(PAH)是由苯丙氨酸羟化酶基因编码, 通过将苯丙氨酸转化为酪氨酸, 参与苯丙氨酸的代谢, 该酶主要存在于肝脏中。PAH 基因突变导致 PAH 活性几乎缺失时, 该酶不能将苯丙氨酸转化为酪氨酸, 血液中苯丙氨酸含量升高, 导致高苯丙氨酸血症(HPA), 苯丙氨酸随尿液排出, 尿液具有特殊的鼠尿气味, 因此而得名为苯丙酮尿症(PKU)。PAH 基因突变导致的 PKU 为常染色体隐性遗传, 截至 2011 年 11 月在国际 PAH 数据库(www. pahdb. mcgill. ca)已经发现 564 种突变, 对这些突变进行系统分析, 是进行产前诊断、降低 PKU 患儿出生率、提高人口出生素质的分子遗传学基础。

1 PAH 基因结构特点

PAH 基因最初由 Woo 等^[1]发现, 该基因定位于染色体 12q23. 2^[2], 所在区域的长度大约为 1. 5 mb, 该区域包含 PAH 基因以及其他 5 个基因^[3]。PAH 基因组^[2]由 171 266 个碱基组成, 翻译起始点上游的 5'端非编码区大约有 27 kb, 下游 3'端非编码区包含大约 64. 5 kb。PAH 基因是断裂基因, 由 13 个外显子和 12 个内含子组成, 转录形成仅仅包含外显子的长度为 1 353 bp 的编码序列, 翻译形成含有 451 个氨基酸的苯丙氨酸羟化酶单体。以翻译起始密码子(ATG)的腺苷酸作为+1, 基因组 DNA、cDNA、内含子、外显子的位置见表 1^[2]。

表 1 PAH 内含子、外显子在基因组 DNA、cDNA 对应位置表

外显子	cDNA	基因组 DNA	内含子	基因组 DNA
1	1~60	1~60	1	61~4 232
2	61~168	4 233~4 340	2	4 341~22 214
3	169~352	22 215~22 398	3	22 399~39 585
4	353~441	39 586~39 674	4	39 675~50 549
5	442~509	50 550~50 617	5	50 618~61 889
6	510~706	61 890~62 086	6	62 087~64 271
7	707~842	64 272~64 407	7	64 408~65 465
8	843~912	65 466~65 535	8	65 536~70 272
9	913~969	70 273~70 329	9	70 330~72 792
10	970~1 065	72 793~72 888	10	72 889~73 444
11	1 066~1 199	73 445~73 578	11	73 579~76 708
12	1 200~1 315	76 709~76 824	12	76 825~78 005
13	1 316~1 359	78 006~78 049	—	—

注: —表示无数据