

- after hospitalization for respiratory syncytial virus infection in infancy[J]. *Paediatr Respir Rev*, 2012, 13(2): S9-S15.
- [4] Tsukagoshi H, Ishioka T, Noda M, et al. Molecular epidemiology of respiratory viruses in virus-induced asthma[J]. *Front Microbiol*, 2013, 4(2): 278.
- [5] Sigurs N, Bjarnason R, Sigurbergsson F, et al. Respiratory syncytial virus bronchiolitis in infancy is an important risk factor for asthma and allergy at age 7[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2000, 161(5): 1501-1507.
- [6] Jackson DJ, Gangnon RE, Evans MD, et al. Wheezing rhinovirus illnesses in early life predict asthma development in high-risk children[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2008, 178(7): 667-672.
- [7] Kusel MM, de Klerk NH, Kebadze TA, et al. Early-life respiratory viral infections, atopic sensitization, and risk of subsequent development of persistent asthma[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2007, 119(5): 1105-1110.
- [8] Johnston SL, Pattemore PK, Sanderson G, et al. Community study of role of viral infections in exacerbations of asthma in 9-11 year old children[J]. *BMJ*, 1995, 310(6989): 1225-1229.
- [9] Heymann PW, Carper HT, Murphy DD, et al. Viral infections in relation to age, atopy, and season of admission among children hospitalized for wheezing[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2004, 114(2): 239-247.
- [10] Gavala ML, Bashir H, Gern JE. Virus/allergen interactions in asthma[J]. *Curr Allergy Asthma Rep*, 2013, 13(3): 298-307.
- [11] Holt PG, Strickland DH, Wikström ME, et al. Regulation of immunological homeostasis in the respiratory tract[J]. *Nat Rev Immunol*, 2008, 8(2): 142-152.
- [12] Grayson MH, Cheung D, Rohlfing MM, et al. Induction of high-affinity IgE receptor on lung dendritic cells during viral infection leads to mucous cell metaplasia[J]. *J Exp Med*, 2007, 204(11): 2759-2769.
- [13] Subrata LS, Bizzintino J, Mamessier E, et al. Interactions between innate antiviral and atopic immunoinflammatory pathways precipitate and sustain asthma exacerbations in children[J]. *J Immunol*, 2009, 183(4): 2793-2800.
- [14] Chang YJ, Kim HY, Albacker LA, et al. Innate lymphoid cells mediate influenza-induced airway hyper-reactivity independently of adaptive immunity[J]. *Nat Immunol*, 2011, 12(7): 631-638.
- [15] Kim EY, Battaille JT, Patel AC, et al. Persistent activation of an innate immune response translates respiratory viral infection into chronic lung disease[J]. *Nat Med*, 2008, 14(6): 633-640.
- [16] Holt PG, Sly PD. Viral infections and atopy in asthma pathogenesis: new rationales for asthma prevention and treatment[J]. *Nat Med*, 2012, 18(5): 726-735.
- [17] Irving K. Asthma and allergy: Complementing the IL-17 axis in asthma[J]. *Nat Rev Immunol*, 2010, 10(10): 676.
- [18] Lau C, Wang XM, Song LH, et al. Syk associates with clathrin and mediates phosphatidylinositol 3-kinase activation during human rhinovirus internalization[J]. *J Immunol*, 2008, 180(2): 870-880.
- [19] Proud D, Leigh R. Epithelial cells and airway diseases[J]. *Immunol Rev*, 2011, 242(1): 186-204.
- [20] Royce SG, Cheng V, Samuel CS, et al. The regulation of fibrosis in airway remodeling in asthma[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2012, 351(2): 167-175.
- [21] Hewson CA, Haas JJ, Bartlett NW, et al. Rhinovirus induces MUC5AC in a human infection model and in vitro via NF- κ B and EGFR pathways[J]. *Eur Respir J*, 2010, 36(6): 1425-1435.
- [22] Skevaki CL, Psarras S, Volonaki E, et al. Rhinovirus-induced basic fibroblast growth factor release mediates airway remodeling features[J]. *Clin Transl Allergy*, 2012, 2(1): 14.

(收稿日期:2014-11-04)

• 综述 •

氧化型低密度脂蛋白促动脉硬化机制 *

张谦^{1,2},李培华¹,岳文峰¹,冯文利³综述,阿拉坦高勒^{4△}审校

(1. 巴彦淖尔市医院检验科,内蒙古 015000;2. 内蒙古医科大学药学院,内蒙古呼和浩特 010110;

3. 中国医学科学院北京协和医学院血液学研究所实验血液学国家重点实验室,天津 300020;

4. 内蒙古大学生命科学院,内蒙古呼和浩特 010021)

关键词: 氧化型低密度脂蛋白; 溶血磷脂酰胆碱; 溶血磷脂酸; 动脉粥样硬化**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2015.03.041**文献标识码:**A**文章编号:**1673-4130(2015)03-0382-04

动脉粥样硬化(As)是一种复杂的炎症性疾病,主要症状为动脉壁增厚变硬,失去弹性及管腔狭小等。其伴随的病理特征主要为动脉某些部位内膜下脂质沉积,伴有平滑肌细胞和纤维基质成分的增殖,并逐步发展形成动脉硬化斑块。研究发现低密度脂蛋白(LDL),尤其是氧化型低密度脂蛋白(ox-LDL)在As的发病形成过程中起着重要作用。

1 ox-LDL 及其脂质成分

1.1 ox-LDL 动脉斑块的生成源于脂蛋白通过脂蛋白脂肪酶(LPL)向动脉壁的黏附,单核细胞向内皮细胞黏附,这一过

程由趋化因子和细胞因子所介导,单核细胞进入内皮下间隙吸收LDL特别是ox-LDL后转变成巨噬细胞,这些巨噬细胞被困在动脉壁形成脂质丰富的核心,细胞因子吸引中性粒细胞,然后又进入内皮下空间,平滑肌细胞保护动脉硬化斑块,但是此过程会被金属蛋白酶所阻断^[1]。在多种细胞类型中,如单核细胞、平滑肌细胞、血小板中存在低密度脂蛋白受体(LDLR)、低密度脂蛋白受体相关蛋白(LRP-1)和清道夫受体。这些受体在动脉硬化病变中发挥着关键的作用。在LDLR缺陷小鼠中,低剂量蛋白酶抑制剂可以发挥抗炎和抗氧化作用,从而减

* 基金项目:高等学校博士学科点专项科研基金项目(20091501110001);国家自然基金资助项目(31160184)。作者简介:张谦,男,检验技师,主要从事细胞信号转导的相关研究。△ 通讯作者,E-mail:zhang2005qian2006@126.com。

轻动脉粥样硬化病变的发展^[2]。

LDL 如何被修饰曾一度存在争议。起初认为 LDL 是受内皮细胞修饰, 破损或死亡的内皮细胞释放蛋白和一些复合物会黏附于 LDL, 随着 LDL 及其黏附物积累增加, 其可以被巨噬细胞受体所识别, 巨噬细胞吸收 LDL 成为 ox-LDL^[3]; 另一个假说则认为: 死亡的内皮细胞释放各种酶修饰 LDL, 使其能够被巨噬细胞所识别, 但是这个假说被体外实验所否定^[4]; 氧化性的变化是转化 LDL 成为细胞毒性形式的必要因素, 使用低 Cu²⁺ 和其他过渡金属的 DMEM 培养基培养内皮细胞, 在加入 Cu²⁺ 后, 内皮细胞的修饰作用得以恢复, 但是此修饰作用会被之后加入的 EDTA、维生素 E 或低浓度的全血清所阻断。至此, 内皮细胞修饰 LDL 的观点为氧化反应修饰 LDL 的观点所取代^[3]。参与低密度脂蛋白氧化的主要酶是 NADPH 氧化酶和过氧化物酶^[4]。

1.2 溶血磷脂酰胆碱(LPC) LPC 是 ox-LDL 的主要组成部分, 在未氧化的 LDL 中, LPC 仅占卵磷脂(PC)总含量的 1%~5%。但在 LDL 氧化过程中, 有 40%~50% 的 PC 由磷脂酶 A2(PLA2)催化转化为 LPC。LPC 是致动脉粥样硬化脂蛋白中一种重要的磷脂组成成分^[5]。体内 LPC 主要有两条生成路径: (1) 卵磷脂胆固醇酰基转移酶(LCAT)可以催化 PC 产生 LPC; (2) 磷脂酶 A2(PLA2)也可水解 PC 生成 LPC。PLA2 分为两个类型: 分泌性磷脂酶 A2(sPLA2)和脂蛋白相关磷脂酶 A2(Lp-PLA2)。目前为止, Lp-PLA2 在动脉粥样硬化过程中的生物学作用仍具有争议, 但现在有优势证据表明 Lp-PLA2 在炎症介质产生溶血卵磷脂和氧化非酯化脂肪酸, 这对促 As 病变和坏死核心的形成起到重要作用, 从而导致更多的易损斑块生成^[6]。此外, Lp-PLA2 在 LPC、氧化脂肪酸产生、氧化磷脂降解中起着关键作用, 因此认为它可能还具有一定的抗动脉硬化效应。最新研究表明, 用高胆固醇饮食喂养光学透明斑马鱼幼体, 氧化磷脂和 LPC 的水平明显升高^[7]。LPC 可激活多种信号途径, 如: 蛋白激酶 C(PKC)、细胞外信号调控激酶、酪氨酸蛋白激酶、Ca²⁺ 等。研究表明, 在多种细胞中, G2A 作为 LPC 的受体通过 G_{q/11}、G_{12/13} 激活 Rho 信号通路, 促进 T 细胞和巨噬细胞的迁移; 通过 G_{q/11}、G_{12/13} 激活磷脂酶 C(PLC)、Ca²⁺、cAMP 或 Rho 信号通路, 促进肌动蛋白重排。LPC 在血管壁在氧化应激反应下还可促进人脐静脉内皮细胞(HUVEC)的凋亡^[8]。在人动脉粥样硬化斑块中, 局部 LPC 浓度升高可能是一个促进血管细胞钙化的因素^[9]。

1.3 溶血磷脂酸(LPA) LPA 又称 1-脂酰-甘油-3-磷酸酯, 它是细胞膜在磷脂合成期间产生的小分子脂质。每毫克 LDL 大约含有 0.4 nmol LPA, 大约是高密度脂蛋白(HDL)中含量的四倍。积聚于 As 斑块中的 LPA 是初级血小板活化的脂质成分^[10]。体内 LPA 可由多种路径生成: 血小板衍生生长因子(PDGF)可刺激成纤维细胞、脑细胞和妇科肿瘤细胞产生 LPA; 血小板在凝血酶的刺激下激活生成 LPA。适度氧化或微弱氧化的 LDL 是 LPA 产生的另一个来源。已经证明在静态成纤维细胞中, 磷脂酶 D(PLD)水解 LPC 可产生 LPA; PLC 切割磷脂-4,5-二磷酸(PIP2)产生三磷酸肌醇(IP3)和甘油二酯(DAG), DAG 在 DAG 激酶的作用下产生磷脂酸(PA), PA 链上一个酰基被 PLA2 切割产生 LPA, 后两个反应是可逆的, LPA 又可在溶血磷脂酸酰基转移酶(LPAAT)作用下生成 PA。但研究表明, 血浆 LPC 的水平可受饮食供给的调节, LPA 通过 LPC 水解产生这个模型受到争议^[11]。LPA 执行其生物学功能是通过 G 蛋白偶联受体 LPA(1)-LPA(6), 会导致

血小板聚集, 从而释放血小板衍生生长因子, 这种正反馈调节机制引起血管平滑肌细胞(VSMC)的持续增长。作为 LDL 中一个主要生物活性脂质, 激活内皮细胞分泌多种炎症多肽和蛋白。

LPA 通过 G 蛋白偶联受体 LPA(1)-LPA(6)执行其生物学功能。通过其受体, LPA 会导致血小板聚集, 从而释放 PDGF。这种正反馈调节机制引起血管平滑肌细胞(VSMC)的持续增长。LPA 作为 LDL 中一个主要生物活性脂质, 可以激活内皮细胞分泌多种炎症多肽和蛋白, 由于 ox-LDL 促进 LPA 的产生, 因此在动脉硬化组织中 LPA 的含量是正常组织的 13 倍。Bot 等^[10]等研究了在 LDL 受体基因敲除的小鼠在动脉硬化病变中 LPA 的平衡调节酶。从动脉硬化斑块中提取脂质和 RNA, 酶法和液相色谱质谱分析显示: LPC 和 LPA 含量升高, LPA 生成酶细胞质磷脂酶 A(2) (cPLA(2)IVA) 和不依赖于钙离子的磷脂酶 A(2) [iPLA(2)VIA] 增多, LPA 水解 α 酶酰基转移酶减少。因此, 酶法干预抑制 LPA 的产生可能会作为一种潜在的治疗动脉硬化的方法。

1.4 磷脂氧化产物 氧化磷脂(PL)在心血管疾病发生发展中具有的潜在作用。由于脂蛋白(a) [(Lp(a)] 易于结合氧化磷脂^[12], 因此心血管疾病的发生发展也与 Lp(a) 密切相关。在氧化修饰 LDL 时, 其中脂质也可被修饰。磷脂在体内诸如脂氧合酶的催化下, 并经随后的酶或非酶的过程形成一系列氧化产物, 如过氧化物、羟基类、酮类和醛类化合物。磷脂氧化产物中含有羰基的醛类、酮类化合物可与 LDL 受体发生反应, 阻断 LDL 在体内的正常代谢, 从而加速动脉硬化^[13]。

2 ox-LDL 促动脉硬化机制

2.1 诱导血管内皮细胞损伤 动脉硬化伴随着一系列内皮细胞功能的改变: 黏附分子(ICAM-1/VCAM-1)、P-选择素和单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)表达上调; 钙离子依赖性磷脂酶 A2 的活化, COX-2 上调和花生四烯酸释放; NO 和内皮细胞衍生舒张因子(EDHF)介导的血管舒张减少; 内皮细胞凋亡增加等。LPC 激活 caspase-3 产生过氧化物会诱导 HUVECs 的凋亡^[8]。氧化磷脂可诱导单核-内皮细胞的相互作用, 促进内皮细胞黏附分子表达, 致使单核细胞穿越进入内皮下间隙, 并将单核细胞分化为巨噬细胞。本研究室在前期研究中发现, 用致动脉硬化的饮食喂养雪兔, 实验组血浆 LPC 含量明显增加。

LPC 促进血管内皮细胞黏附分子(VCAM-1)和细胞间黏附分子(ICAM-1)的表达是通过与细胞膜上的特定受体发挥生物学效应。Kabarowski^[14] 报道在单核细胞或巨噬细胞膜上表达一种孤儿 G 蛋白偶联受体 2(G2A), LPC 以高度亲和力同其结合发挥作用; G2A 介导 LPC 对巨噬细胞和 T 淋巴细胞的趋化作用。与正常小鼠相比, 敲除 G2A 的小鼠可以显著抑制 LPC 对炎症细胞的趋化作用, 逆转粥样硬化病变。在内皮细胞中, G 蛋白偶联受体 4(GPR4)也是一个 LPC 潜在的 G 蛋白家族偶联受体。有研究表明, LPC 诱导的内皮细胞机能障碍是由 GPR4 介导的, 这表明 GPR4 可能在 LPC 诱导的炎症反应中起到重要作用。LPC 也可抑制或激活 MAPK, 如 p42/44 和 p38 和 PKC。总之, LPC 在血管系统的多种细胞中都起到重要的作用。

LPA 通过活化小 G 蛋白 A-丝苏氨酸蛋白激酶(RhoA-Rho)信号通路引起细胞肌动蛋白重组和细胞骨架改变, 导致内皮细胞渗透性增加。LDL 在内皮下间隙中沉积, 之后被氧化成 ox-LDL, 从而引起内皮细胞的损伤。LPA 通过 Gi 蛋白信号通路刺激主动脉内皮细胞(HAEC)表达 VCAM-1, 促进

HAE与单核细胞、中性粒细胞的黏附。

2.2 促进血管平滑肌细胞迁移和增殖 Komachi等^[5]研究发现LPA及其受体LPA1介导LDL的促细胞增殖和迁移作用,而LPA的这种促细胞增殖作用被一种G_{i/o}蛋白的特异性抑制剂百日咳毒素(PTX)所抑制。这表明LPA是通过PTX敏感型G_{i/o}蛋白偶联的LPA受体起刺激DNA合成的作用。LPA1受体经特异性的siRNA处理后,LPA和LDL引起的DNA合成应答被抑制。存在于ox-LDL中高浓度的LPC作为ox-LDL作用的媒介物,也能够刺激血管平滑肌细胞增殖。本研究室在前期构建的雪兔模型中发现,实验组雪兔(高脂饲料饲养)主动脉内出现肉眼可见的动脉硬化斑块,并采用定磷法等实验技术发现实验组雪兔血浆中的LPC的水平明显降低,用试剂盒测定血浆中能使LPC分解为LPA的磷脂酶D的活性,发现实验组雪兔血浆的磷脂酶D的活性明显提高,同时,用LPA受体抑制剂处理细胞可以抑制LPC的促细胞增殖作用。此外,血管平滑肌细胞中的一种酶(Autotaxin,具有磷脂酶D活性)大量表达,并且能催化LPC水解为LPA。由此可推断,LPC与血管平滑肌细胞接触时,很有可能其中的一部分转化为LPA后再通过LPA受体介导下游的一系列信号途径来刺激血管平滑肌细胞的增殖与迁移。

2.3 促进泡沫细胞的形成 泡沫细胞的形成是As早期的变化。浸润到血管内皮下间隙的LDL,受氧化修饰后形成ox-LDL。一方面ox-LDL能促进单核细胞向血管内皮下聚集,促进胆固醇流入巨噬细胞,抑制巨噬细胞胆固醇外流;另一方面ox-LDL则通过清道夫受体进入巨噬细胞等内,通过分化等一系列作用最终导致泡沫细胞的形成。巨噬细胞吞噬ox-LDL后,由于ox-LDL的细胞毒作用,可刺激巨噬细胞分泌一种特定的巨噬细胞集落刺激因子(M-CSF)。M-CSF负责介导巨噬细胞的激活、分泌、增殖、聚集、退化,并进一步转变为泡沫细胞;同时M-CSF还能诱导巨噬细胞表面清道夫受体的表达,使ox-LDL摄取增多,导致动脉硬化的进一步发生。LPC可减少内皮下硫酸乙酰肝素蛋白多糖(HSPG),增加单核细胞向内皮下基质聚集,使血管壁上单核细胞滞留增加,继而增加它们转变为负载脂质的泡沫细胞的机会。

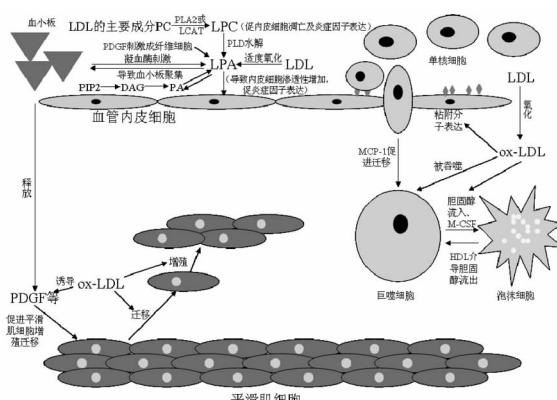


图1 ox-LDL促动脉硬化机制

2.4 促炎症反应 ox-LDL中的某些脂类小分子,如LPC和LPA可以作为信号分子与细胞受体结合后激活基因的表达,生成VCAM-1、ICAM-1、单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)、巨噬细胞集落刺激因子(M-CSF)、PAF、白细胞介素-1(IL-1)等多种促炎症的细胞因子。VCAM-1、ICAM-1引起内皮细胞机能障碍和血小板聚集^[15]。MCP-1促进单核细胞向内皮细胞迁移,使之进入内皮下层并与内皮细胞结合。M-CSF则促进单

核细胞向巨噬细胞转化,成熟的巨噬细胞又可氧化LDL产生ox-LDL,形成恶性循环。IL-1和PAF则间接地促进血管平滑肌细胞的增殖,从而加速As的炎症反应。见图1。

综上所述,ox-LDL及其所含生理活性脂质LPC、LPA等与心血管、免疫和神经系统、炎症、动脉硬化和癌症的发生发展关系密切,它们激活多种类型的G蛋白偶联受体,调节细胞离子的动态平衡,促进细胞骨架重排,促进细胞增殖和存活、迁移和黏附。因此,进一步深入地研究ox-LDL及其所含生理活性脂质对动脉粥样硬化的影响,抑制LDL在体内的氧化修饰过程,促进HDL介导的胆固醇逆向运输^[16],酶法干预抑制LPC、LPA的产生,拮抗LPC、LPA与As相关的受体及其信号通路,提高HDL-C水平^[17],以及一些天然抗氧化剂和草药的使用可能会导致生产氧化LDL的抑制,并可能减少动脉粥样硬化的发展和进展^[18]。对防治动脉粥样硬化性心脑血管疾病具有重要的意义。

参考文献

- [1] Tomkin GH. Atherosclerosis, diabetes and lipoproteins[J]. Expert Rev Cardiovasc Ther, 2010, 8(7): 1015-1029.
- [2] Wilck N, Fechner M, Dreger H, et al. Attenuation of early atherosclerosis in low-density lipoprotein receptor-deficient mice by proteasome inhibition[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2012, 32(6): 1418-1426.
- [3] Steinberg D, Witztum JL. Oxidized low-density lipoprotein and atherosclerosis[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2010, 30(12): 2311-2316.
- [4] Peluso I, Morabito G, Urban L, et al. Oxidative stress in atherosclerosis development: the central role of LDL and oxidative burst [J]. Endocr Metab Immune Disord Drug Targets, 2012, 12(4): 351-360.
- [5] Komachi M, Damirin A, Malchinkhuu E, et al. Signaling pathways involved in DNA synthesis and migration in response to lysophosphatidic acid and low-density lipoprotein in coronary artery smooth muscle cells[J]. Vascul Pharmacol, 2009, 50(5/6): 178-184.
- [6] Chauffe RJ, Wilensky RL, Mohler ER 3rd. Recent developments with lipoprotein-associated phospholipase A2 inhibitors [J]. Curr Atheroscler Rep, 2010, 12(1): 43-47.
- [7] Fang L, Harkewicz R, Hartvigsen K, et al. Oxidized cholestry esters and phospholipids in zebrafish larvae fed a high cholesterol diet: macrophage binding and activation[J]. J Biol Chem, 2010, 285(42): 32343-32351.
- [8] Park S, Kim JA, Choi S, et al. Superoxide is a potential culprit of caspase-3 dependent endothelial cell death induced by lysophosphatidylcholine[J]. J Physiol Pharmacol, 2010, 61(4): 375-381.
- [9] Vickers KC, Castro-Chavez F, Morrisett JD. Lysophosphatidylcholine induces osteogenic gene expression and phenotype in vascular smooth muscle cells [J]. Atherosclerosis, 2010, 211(1): 122-129.
- [10] Bot M, Bot I, Lopez-Vales R, et al. Atherosclerotic lesion progression changes lysophosphatidic acid homeostasis to favor its accumulation [J]. Am J Pathol, 2010, 176(6): 3073-3084.
- [11] Block RC, Duff R, Lawrence P, et al. The effects of EPA, DHA, and aspirin ingestion on plasma lysophospholipids and autotaxin [J]. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids, 2010, 82(2/3): 87-95.
- [12] Yoshida H. Front line of oxidized lipoproteins: role of oxidized

- lipoproteins in atherogenesis and cardiovascular disease risk [J]. Rinsho Byori, 2010, 58(6): 622-630.
- [13] Feige E, Mendel I, George J, et al. Modified phospholipids as anti-inflammatory compounds [J]. Curr Opin Lipidol, 2010, 21(6): 525-529.
- [14] Kabarowski J H. G2A and LPC: regulatory functions in immunity [J]. Prostaglandins Other Lipid Mediat, 2009, 89(3/4): 73-81.
- [15] Bercher M, Hanson B, van Staden C, et al. Agonists of the orphan human G2A receptor identified from inducible G2A expression and beta-lactamase reporter screen [J]. Assay Drug Dev

· 综述 ·

一氧化氮对红细胞保存质量影响及临床输血研究进展

张警丹, 王红, 钟锐, 黄晓倩, 贺曾, 闫东, 韩玎玎 综述, 刘嘉馨[△] 审校
(中国医学科学院北京协和医学院输血研究所, 四川成都 610052)

关键词: 一氧化氮; 红细胞保存; 临床输血

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2015.03.042

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2015)03-0385-03

从 1818 年第一次成功输血开始, 输血已成为挽救危重患者的不可缺少的治疗手段, 输血的安全性和有效性成为输血研究永恒不变的主题。随着保存时间的延长, 红细胞(RBC)会发生保存损伤^[1-2] 和细胞老化, 尽管保存期内血液符合相关标准要求, 但输注库血时还是会引起输血效果不佳甚至不良临床反应^[3-4]。除此之外, 已有研究表明输注 RBC 效果不佳还可能与库血中 NO 的缺失有关^[5-7]。近年来, NO 改善 RBC 保存质量和在临床输血的研究关注者也较多, 本文将主要从这两个方面进行相关综述。

1 NO 的特性及改善 RBC 保存质量研究

1.1 NO 的生理特性 NO 是一种非常不稳定的生物自由基^[8], 分子小, 结构简单, 常温下为气体, 微溶于水, 易溶于脂肪, 极易透过细胞膜而扩散进入靶细胞, 体内 NO 主要由存在于血管内皮细胞膜的内皮型一氧化氮合成酶(eNOS)合成^[9]。NO 产生于 L-精氨酸末端, 反应需要 eNOS 的催化, 反应式为: L-精氨酸 + NADPH(还原型辅酶 II) + O₂ → 瓜氨酸 + NO + NADP⁺(辅酶)。NO 生物半衰期 3~5 s, 在体内循环能以 S-亚硝基硫醇(RSNO)的形式存在, 以此来解释 NO 所产生的全身效应^[10]。RBC 能够储存 NO, 成为运输 NO 至远处组织发挥作用的不可缺少的工具^[11]。

1.2 保存过程中 RBC 内 NO 含量变化 2007 年, 有学者报道了血液随着保存时间 RBC 内 NO 含量会发生变化^[3]。有研究发现 RBC 内 NO 的主要结合形式为亚硝基血红蛋白(SNO-Hb), SNO-Hb 含量在 RBC 离体后开始快速而持续减少, 储存 RBC 扩张血管的能力也持续下降, 同时也初步证实 NO 对 RBC 的功能、形态和黏弹性都有保护调节的作用^[8]; 另一项由库血引发的血管调节的抑制作用与储存 RBC 中 NO 的缺失有关, 但是可以通过补充外源性的 NO 来提高 SNO-Hb 的含量来提高输血效率^[12]。这两项研究运用相同的方法(水银耦合光解的化学发光法)来测定 RBC 内 SNO-Hb 含量, 虽然文献^[8]试验对象是悬浮红细胞, 文献^[12]则是全血, 但两者的实验结果综合来看仍然是一致的。国内则由于技术原因, 并没有能

Technol, 2009, 7(2): 133-142.

- [16] Adameova A, Xu YJ, Duhamel TA, et al. Anti-atherosclerotic molecules targeting oxidative stress and inflammation [J]. Curr Pharm Des, 2009, 15(27): 3094-3107.
- [17] Barter P. HDL-C: role as a risk modifier [J]. Atheroscler Suppl, 2011, 12(3): 267-270.
- [18] Ahmadvand H, Bagheri S, Khosroabegi A, et al. Effects of olive leaves extract on LDL oxidation induced-CuSO(4) in vitro [J]. Pak J Pharm Sci. 2012, 25(3): 571-575.

(收稿日期: 2014-10-25)

够准确测定 RBC 内 SNO-Hb 的方法, 多采用的是测定血浆内硝基离子或亚硝基硫醇的方法, 这两种检测方式并不能准确反映 RBC 内 SNO-Hb 的含量^[13-14]。有研究报道, 通过添加汞离子使得 NO 从 Hb 结合 NO 的形态释放出来从而测得总 NO 减去血浆内 NO 定义为结合 NO, 但仍然利用的是测试硝基离子的方法, 只能为胞内 NO 含量的测定提供相对值, 并不能准确表示 SNO-Hb 的含量^[15]。因而国内学者仍然需要探索更准确的测定方法来检测 RBC 内 SNO-Hb 的含量, 更好地为添加 NO 改善 RBC 保存质量确定量效关系。

1.3 NO 与 RBC 变形性的关系 2002 年, Kucukatay 等^[16] 通过向比容为 40% 的洗涤 RBC 内加入不同的 NO 试剂来探索其在维持 RBC 变形性方面的作用。该课题组发现加入 NO 抑制剂对 RBC 变形性均有明显抑制作用, 而添加 NO 供体(硝普钠)则显著改善 RBC 变形性, 其最佳浓度为 10~6 mol/L。由此可见, NO 对 RBC 的变形性有十分重要的作用。与其结果不太相同的是, Kuwai 等^[17] 通过抽取正常的兔子(对照组)和喂食高胆固醇食物的兔子(实验组)的洗涤 RBC 来检测其变形性, 在急性孵育半小时后, 发现在对照组中添加 NO 供体(NOC5)对 RBC 变形性均没有改善作用, 而加入 NO 抑制剂 RBC 的变形性均明显降低, 同时加入抑制剂的同时再加入 NO 供体等物质, 则会明显改善其变形性; 而实验组中直接加入 NO 供体发现 RBC 变形性有明显改善作用。由此可见, 损害的 RBC 变形性可能与 NO 途径有关, 外源性补充 NO 可能会重塑其变形性。2013 年, Barodka 等^[18] 探究 NO 供体硝普钠(SNP)对钙离子沉积的 RBC 中的变形性有明显的改善作用, 并且推测其机制是 RBC 内的 NO 干预一些特异性的细胞膜表面的硫醇或者氧化的二硫化物从而来抑制 Ca²⁺ 进入细胞内这一方式来改善 RBC 的变形性。2014 年, Rey 等^[19] 发现恶性疟原虫引发的低精氨酸血症的患者 RBC 可能抑制 NO 的产生进而抑制其变形性, 而加入 NO 前体或者 NO 产物后明显改善其变形性。从上述研究可以发现, 目前业界对 NO 介入 RBC 其变形性的改善目前有两种结果: NO 干预后对 RBC 变形性均有明显改善作用; 或者 NO 只对损害 RBC 变形性有明显改善