

· 专家述评 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2019.01.001

冰冻血液产品临床使用安全性探讨

赵树铭^{1,2}

(1. 陆军军医大学第一附属医院输血科/中国人民解放军重庆血站, 重庆 400038;

2. 贵黔国际总医院/贵州妇女儿童国际医院输血科, 贵阳 550018)

【摘要】 血液是保障临床救治的特殊药品,但保存期有限。人们试图采用低温冰冻保存技术延长血液保存期。对全血进行冰冻保存效果不理想,对红细胞采用甘油进行冰冻保存获得成功并被广泛使用,血浆可直接进行冻存,对血小板和干细胞采用二甲亚砷冰冻保存已取得成功,冰冻血小板已被成功用于军队医疗机构的紧急救治,冰冻干细胞已被临床广泛接受,但二甲亚砷的毒性作用也限制了冰冻血小板在我国的使用。本文探讨了血液成分产品进行冰冻保存的质量及临床应用安全性。

【关键词】 冰冻红细胞;冰冻血小板;甘油;二甲亚砷;输血安全

【中图分类号】 R826.2+6

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-8348(2019)01-0001-05



赵树铭

血液及其成分在临床救治中具有非常重要的作用,但由于血液及成分的保存期限限制,导致其在临床的应用受限。针对各种类型血液产品的特性,人们试图研究和开发具有长期保存效果的方法,其中低温或冰冻保存血液产品是该领域研究的热点。特别是

战争和紧急创伤救治的需要,冰冻血液产品研发取得了很快的发展。红细胞采用甘油作为冰冻保护剂,已经得到广泛应用;血浆可直接进行冻存;外周血造血干细胞采用二甲亚砷(DMSO)作为保护剂,已经得到广泛应用;冰冻血小板也引起人们浓厚兴趣,但还未开发成功和得到广泛应用。因此,对冰冻血液产品的研发重点是血小板。近年来,临床对血小板的需求逐年增加。血小板主要用于血小板减少症和血小板功能异常患者的输注,通常是对出血性疾病进行预防性输注和对活动性出血患者进行治疗性输注^[1-3]。一般来说,常规保存的血小板[(22±2)℃]比冷藏血小板具有较好的输注疗效。但因为常规保存的血小板的保存期较短(仅 5 d),常导致临床血小板的后勤保障困难^[4]。另外,常规保存也增加了细菌污染的风险。

因此,人们对冷藏和冰冻保存血小板的研发兴趣很大,希望开发易保存,且有效期长的替代产品用于出血性疾病的急救救治,特别是运输不便的偏远地区、农村社区或军事行动等特殊需要^[1-4]。

1 冰冻血液产品的种类

早在上世纪初,人们对全血加入细胞保护剂如羧乙基淀粉进行冰冻,并采用液氮控速进行降温保存,但效果较差,这种方式未能成功开展^[1]。人们转而对血液成分进行冰冻保存研究。在 1950 年,采用干冰和乙醇于-80℃用甘油冰冻保存红细胞获得成功。人们关注军队和应急情况下冰冻血液产品的应用。军队医疗机构对冰冻血液产品的最大考虑因素是,冰冻血液产品的后勤保障、运输、冰冻保存剂的类型及毒性作用、悬浮介质等。冰冻保存器也是一个重要的考虑因素。美国海军血液研究所(NBRL)对冷藏血液产品进行了多种评价,包括:冰冻保存方法、冰冻处理前保存温度和时效、冰冻保护剂、采用或未采用液氮控制速度的程序、冰冻状态下的温度和保存时间、融化方法、冰冻保存容器、冰冻剂的去除、混悬介质、冻融复苏后保存的温度和时间、输注前的相容性试验等。

红细胞已经成功采用 40%(W/V)甘油保存于-80℃或 20%甘油保存于液氮中,或保存于-150℃气态的液氮中。甘油是一种良好的细胞冷藏保护剂,甘油在经过冻融洗涤后的浓度低于 1%时是一种无毒的冷藏保护剂^[1,5]。

作者简介:赵树铭(1965—),教授,主任医师,医学博士,博士研究生导师,原工作于陆军军医大学第一附属医院(1983—2018),现工作于贵黔国际总医院,主要从事血液安全与临床输血研究。现担任重庆市医学会输血学专委会主任委员、中华医学会临床输血分会委员、中国医师协会输血科医师分会常务委员。担任《重庆医学》《中国输血杂志》《第三军医大学学报》《检验医学与临床》《临床血液学杂志》《局解手术学杂志》等杂志编委,《Transfusion Medicine》等杂志审稿人。承担国家自然科学基金面上项目(2013年:81270649;2015年:81570167)、获军队“十一五”重大项目子课题、重庆市科委重大项目等多项科研课题;获得军队医疗成果二等奖 1 项、军队科技进步三等奖 4 项;获国家发明专利 3 项;发表论文 100 多篇,其中 SCI 8 篇。

血小板可采用 5% DMSO 冰冻保存,冰冻在液氮和可控速度的冰冻容器内,可在液氮的气态环境中保存 3 年,或采用 6% DMSO 于 -80°C 冰箱可达至少 2 年。也有采用 5% DMSO 保存于液氮的气态环境下而未去除 DMSO,也有在输注前经过离心去除上清 DMSO。血小板也可采用 6% DMSO 冰冻保存于 -80°C ,融化、洗涤、悬浮于血浆中再进行输注。美国食品药品监督管理局(FDA)已经评审过有 NBRL 提交的采用 6% DMSO 于 -80°C 冰冻保存血小板的方案,输注前融化、洗涤和重悬于血浆中,输注给正常志愿者、稳定的血小板减少症患者及有体外循环的外科手术患者^[6]。世界卫生组织(WHO)也推荐对有需求的自身输注血小板的患者,可采用冰冻保存方式提供自身血小板。另外,还有采用海藻糖作为血小板的冰冻保存剂的研究报道^[7]。

外周血造血干细胞采用 10% DMSO 和(或)羟乙基淀粉或人血清蛋白进行 $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 液氮降温保存于液氮的气态或液态下;或者采用 10% DMSO,有或无羟乙基淀粉,人血清蛋白或血浆,保存于 -80°C 冰箱中。NBRL 改进了两种血小板和单个核细胞的 DMSO 保存技术方案。采用改良的方案,DMSO 处理的血小板和 DMSO 处理的外周血造血干细胞在细胞负载 DMSO 完成后的冰冻前,经离心去除上清液(包含多余的 DMSO),可浓缩血液成分产品,冰冻保存后融化产品可用 0.9% 氯化钠进行复苏,以减少输注前的洗涤过程^[6]。

血浆冰冻则不需要冷冻保存剂。血浆从抗凝血液[采用枸橼酸盐-磷酸盐-葡萄糖溶液(CPD)抗凝剂]中分离出来,直接保存于 -20°C 至少 1 年或 -80°C 达 14 年,且可达到能够接受的因子 V 和 VIII 及纤维蛋白原水平。

2 冰冻血液产品的影响因素

2.1 温度 冰冻血液产品的最主要应用是军事和急救用途。维持冰冻血液产品的温度,采用深低温冰箱可保持温度达 -80°C 和 -135°C 。也可采用液氮 -196°C 保存方式。40%甘油冰冻保存的红细胞、6% DMSO 冰冻保存的血小板及新鲜冰冻血浆均可采用 -80°C 干冰形式进行运输^[1-4]。

2.2 冰冻保护剂 红细胞可采用甘油,血小板和外周血造血干细胞可采用 DMSO 进行冰冻保存,血浆无需保护剂直接冰冻保存。血小板和外周血造血干细胞等还可采用海藻糖或海藻糖加磷酸盐进行冰冻保存^[7-8]。美国成功研发了采用 40%(W/V)甘油在 -80°C 冰冻保存红细胞的方法;后来开发了低浓度 20%甘油在 -150°C 气态的液氮环境下保存红细胞。最方便的 40%甘油冰冻保存红细胞在 -80°C 环境

($-90\sim-65^{\circ}\text{C}$)可达 37 年,脱甘油后保存在 4°C 24 h,都可以达到体外质量良好。脱甘油洗涤处理的目的是使红细胞产品中甘油残留量低于 1%,以避免和预防发生溶血^[1]。

DMSO 是血小板和外周血造血干细胞最好的冰冻保存剂。冰冻血小板采用 5% DMSO 以 $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 速度降温冰冻保存在液氮的气态环境下可达 3 年,质量稳定可靠。外周血造血干细胞则可采用 10% DMSO 结合自身血浆保存在 -70°C 或 -80°C 冰箱 24 h 后再保存在液氮中可达 15 年。

除 DMSO 可作为血小板的冰冻保护剂之外,还有其他一些制剂也可作为冷冻保护剂,如二甲基乙酰胺(DMAC)^[1]。DMAC 可作为血小板的冰冻保护剂,加入葡萄糖则可促进这种保护剂对血小板的冻存效果,但这一方法未得到广泛认可。

2.3 冰冻保存时降温速率 冰冻保存红细胞、血小板及外周血造血干细胞从室温(22°C)到 -40°C 可通过合适的降温程序以最佳的 $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 达到最少损伤血液产品的方式。更为简便和常用的方法是,冰冻保存 40%(W/V)甘油的红细胞、6% DMSO 的血小板、10% DMSO 的外周血干细胞及无需保存剂的血浆,将 PVC 塑料袋置于聚酯塑料袋中,放置于 -80°C 冰箱的硬纸板盒内^[1]。

2.4 冰冻保存的时效 冷冻保护剂的浓度及保存温度都影响冰冻状态的保存时效。红细胞经 40%(W/V)甘油保存于 -80°C ($-90\sim-65^{\circ}\text{C}$)可达 37 年。血小板经 6% DMSO 保存于 -80°C ($-90\sim-65^{\circ}\text{C}$)可达 2 年。外周血造血干细胞经 10% DMSO 保存于 -80°C ($-90\sim-65^{\circ}\text{C}$)可达 1.5 年。血浆冻存于 -80°C ($-90\sim-65^{\circ}\text{C}$)可达 14 年^[1]。

2.5 破袋率 据报道^[1],4 996 袋甘油化冰冻保存于 PVC 塑料袋并置于硬纸壳外包的红细胞经 -80°C 保存 14~18 年后破袋率约为 2.5%。633 袋冰冻保存于 -80°C 的红细胞保存 14 年后,并使用干冰运输,破袋率为 6.7%。

2.6 冰冻血液产品的复融 冰冻血液产品可以在 42°C 或 36°C 水浴中置于隔离袋中进行复融,不宜直接接触水。冰冻血液产品从聚酯塑料袋中取出时应小心放入水浴中。

2.7 冰冻血液产品的复苏后处理程序 用甘油和 DMSO 冰冻的血液产品必须在输注前经过过去除甘油和 DMSO 的复融处理。甘油是一种细胞内冻存保护剂,可产生一种渗透效应,其从红细胞以较慢的进入和移出速率,需要反复洗涤以达到复融后甘油浓度低于 1%的要求。对于采用 DMSO 冻存的血小板和外周血造血干细胞因在冻存前进行了离心去除上清液

的处理,复苏后则不需要进行冻融洗涤。

3 冰冻血液产品的质量和功能

3.1 冰冻红细胞 红细胞采用 20% 甘油在液氮中冻存于 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ 气态环境下,需要经过血库用离心机进行一系列洗涤过程以去除甘油,方可用于自身红细胞、稀有血型的红细胞及特殊红细胞的冻存。美军更是在多种情况下采用低离子介质的 40% (W/V) 甘油 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冻存红细胞。对于采用 20% 或 40% (W/V) 甘油冻存的红细胞,都需要高渗和等渗溶液进行去甘油处理,以使甘油残留量小于 1%^[1]。可采用手工离心方法进行,也可采用全自动的解冻、去甘油洗涤的细胞处理机,如美国的 ACP215 等,国内已有类似产品。国内多数医疗机构采用手工洗涤去甘油的方式制备冰冻解冻去甘油的红细胞,也有部分医疗机构采用全自动机器进行制备。

3.2 冰冻血小板 2004 年 FDA 曾出台一份血小板评价新标准的征求意见稿,试图对血小板新产品提出替代的评价方法。FDA 提议将血小板产品的回收率和存活率均定为 66%。人血小板如果采用冷藏或冰冻保存技术,一些体外检测指标,如血小板计数、流式细胞术测定标志物、血小板聚集率、血栓弹力图 (TEG) 等检测,可用于评价这些产品的特性和功能。依靠这些检测指标,可以对冰冻血小板产品用于人类志愿者和患者进行判断。

对血小板采用 6% DMSO 在 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冻存 2 年,评价复苏洗涤后体外血小板回收率、血小板聚集率、血小板血栓烷产生、血小板低渗休克反应及无菌状态进行检测。自体人血小板采用 6% DMSO 冻存于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$,然后再保存 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、融化、洗涤、再悬浮于自体血浆中,相当于自体人常规血小板保存于 $22\text{ }^{\circ}\text{C}$ 5 d 时的体外回收率和生存期,但具有更强的止血功能。采用 6% DMSO $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冻存 2 年的异基因血小板,经融化、洗涤和再悬浮于血浆后具有大约新鲜异体血小板的 75% 回收率和输注给血小板低下症患者体内的 50% 回收率^[1]。

采用自体新鲜液态血小板或冰冻洗涤血小板在狒狒体内进行输注试验表明^[1],冰冻洗涤血小板与保存在 $22\text{ }^{\circ}\text{C}$ 5 d 的血小板相比,仅有轻度提升体内回收率的效果,但止血功能更加良好,可有效减少因阿司匹林诱导的出血时间延长和在出血部位产生血栓烷。异基因冻存的洗涤血小板比异基因常规血小板具有较低的输注后存活率,但是在围术期对非手术性血液丢失及红细胞和新鲜冰冻血浆的输注需求都有减少,这意味着具有较好的止血效果。

经 DMSO 冰冻的血小板的促凝血活力可通过因子 V 和 X 的聚集和血小板膜联蛋白 V (Annexin V) 结

合力进行评价。Annexin V 结合力与磷脂酰丝氨酸暴露可用于评价血小板及血小板微粒的促凝血活性。血小板及血小板来源的微粒的磷脂酰丝氨酸通过提供因子 Va 和因子 Xa 的裂解位点,参与后续的凝血瀑布系统。Annexin V 与磷脂酰丝氨酸的结合也证实血小板及血小板微粒的凋亡,导致被组织巨噬细胞快速清除。这也是低温保存血小板被活化后在体内快速清除的原因^[1]。

在以前的研究中,采用 6% DMSO $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存人和狒狒血小板,经融化、洗涤后再悬浮于血浆中,发现血小板膜糖蛋白 Ib (GPIb) 正常和 GPIb 减少两类血小板。在狒狒中,自体 GPIb 正常的血小板数与输注后 1~2 h 回收率为 48% 和血小板存活时间 6 d 之间呈相关性。聚集了促凝血因子 V 的 GPIb 减少型血小板和 GPIb 减少的因子 V 阳性血小板被快速从循环中清除。相似地,冻干复苏的自体狒狒血小板比新鲜血小板被发现聚集更多的促凝血因子 V,而且体内存活不超过 15 min。

通过采用花生四烯酸和腺苷二磷酸刺激血小板产生血栓烷 A2 的研究,冰冻血小板比液态血小板产生血栓烷 A2 更多,累计的因子 V 也比常规血小板更多。冰冻血小板较强的促凝活性和血栓烷 A2 产生的增加,在患者身上就体现在输注后增加止血效果,减少了非手术血液丢失和对异体红细胞和新鲜冰冻血浆的输注需求。大量研究已表明,冰冻血小板的增加的体内止血功能与其促凝血活力及产生血栓烷的能力呈相关性。

对采用 DMSO 是否冰冻前进行洗涤去除上清液的血小板进行分析,发现冰冻前去除 DMSO 方法的冻融后血小板回收率为 94% 和血小板微粒产生达 7%,而冰冻前未去除 DMSO 上清液的老式方法的血小板回收率为 69% 和微粒产生达 15%。目前采用改进的冰冻前去除 DMSO 的方法,DMSO 低温保存人血小板的操作要求用 250 mL 0.9% 氯化钠-0.2% 葡萄糖-40 mg% 无机磷酸盐溶液 (pH 5.0) 洗涤去除 DMSO。洗涤的血小板再离心去除上清液后,再悬浮于 50 mL 全血保养液 (ACD) 血浆中。由于 DMSO 的加入及血小板的洗涤均是在开放状态下进行的,因此洗涤后的血小板要求在室温下无需振摇保存不超过 6 h。国内大多采用 5%~6% DMSO 冻存血小板,复苏后直接输注的方式,也具有较好的止血效果。

海藻糖作为一种优良的细胞低温保护剂可望用于血小板的低温保存。研究表明海藻糖冻存血小板显示出与新鲜血小板相似的凝血酶刺激的凝集反应,可保护血小板的结构和功能,包括完整的浆膜结构、代谢活性和对凝血酶的刺激反应。海藻糖作为人体

内本身存在的一种多糖,无毒,有望开发为血小板的冰冻保护剂^[7-8]。

4 冰冻血液产品的临床应用

4.1 冰冻红细胞 一般民营医院不使用冰冻红细胞产品。预期手术和预期未来用红细胞的自体红细胞受者可采用冰冻保存技术。稀有血型红细胞也可以被冰冻保存,可用于自身或异基因红细胞输注。另外,同种异基因冻存洗涤红细胞也推荐给免疫球蛋白 A 缺乏症的患者。如采用加甘油和去甘油过程为“开放”式系统,冰冻保存的红细胞因只有 24 h 的复苏冻融后的保存时间。现在采用全自动细胞处理仪,可使去甘油的红细胞保存在 4℃ 达 2 周,可使冰冻的 O 型红细胞得到广泛应用,冻存 O 型红细胞可作为一种通用型的血液储备特别是对军事行动具有重大意义。国内采用手工方法可制备冰冻-解冻后洗涤的红细胞,也有全自动细胞处理仪研制成功,将极大地推动冰冻红细胞在稀有血型的血液、自身保存血液,以及特殊情况和军事行动等血液保障工作。

总之,冰冻保存技术可以用于储备大量的稀有血型红细胞及愿意选择储存红细胞的志愿者。冰冻保存技术还可以用于隔离保存通用型红细胞至少 6 个月,以便对献血者进行再次传染性指标检测,从而确保更有效降低窗口期的风险^[1-3]。

4.2 冰冻血小板 FDA 在 1988 年认可 DMSO 作为人血小板的冰冻保护剂。NBRL 后来改进减少了冻融洗涤步骤,简化了冰冻保存过程。制备冰冻血小板复苏后溶于 0.9% 氯化钠溶液中仅需要 15 min^[1-3]。冰冻血小板因含有活化的血小板及因保存而产生的血小板源性微粒,对出血患者具有明显的止血作用,更有利于创伤患者的止血使用。活化的冰冻血小板在体内易被很快清除,这可能是血小板作为预防性输注的一大缺陷,但可作为出血性创伤患者的紧急救治。冰冻血小板在创伤患者的早期凝血功能障碍性出血期即可使用,这些活化的血小板和微粒可早于促血栓形成期就从血液循环中消失,由于高浓度的血小板与发生血栓栓塞事件密切相关,因此这相对于常规保存的血小板在体内较长存活还是一个优点^[9]。

4.3 冰冻血液产品 荷兰军队将-80℃冰冻保存红细胞、血浆和血小板结合常规的悬浮红细胞制剂用于海外军队医疗机构的创伤救治。冰冻血液可救治武装冲突时发生的战创伤患者,不需要再进行战地血液采集。这些结果还可对平时边远地区的血液供应提供经验^[3]。荷兰军方在海外采用一种统一的供者冰冻血液产品,以补充液态血液产品。所有融化(洗涤)的冰冻血液产品均符合国际相关规定与指南。-80℃冰冻保存的红细胞、血浆和血小板在融化后均

可使用,可减少运输和取缔移动血库。所有血液产品在冰冻前均进行了滤白处理和全面的病原体检测,所有血小板均在融化后 6 h 内使用,所有血型检测均无差错,少数液态库存的红细胞用于输注,血浆均从 AB 型男性采集,所有这些均减少了输血反应发生的风险。新鲜冰冻血液产品与常规血液产品相比至少是等效的,而且更为安全。

5 冰冻血液产品输注的不良反

对红细胞和血小板开发有效的低温保存技术,以维持体外最大的生物活力,结合冰冻血浆的应用,可为临床提供一种通用的血液库存策略。但由于冰冻保存血液产品有些需要添加冻存保护剂,应注意其不良反应。

5.1 冰冻红细胞 冰冻红细胞复苏后需要反复洗涤以去除甘油,使甘油残留量低于 1%,即可预防发生溶血。荷兰军队的经验表明,冰冻血液供应和大剂量输血是安全有效的,输血反应发生率及死亡率低。冰冻红细胞现在已经被普遍接受,荷兰、美国等军队均已广泛使用^[1-3]。

5.2 冰冻血小板 冰冻血小板和外周血造血干细胞使用的冰冻保护剂最主要的是 DMSO。据认为,DMSO 是一种渗透性保护剂,能够降低细胞冰点,减少冰晶的形成,减轻自由基对细胞损害,改变生物膜对电解质、药物、毒物和代谢产物的通透性。但研究表明,DMSO 存在一定的毒性作用,与蛋白质疏水基团发生作用,导致蛋白质变性,具有血管毒性和肝肾毒性。最为常见的不良反应为恶心、呕吐、皮疹及在皮肤和呼出的气体中发出大蒜、洋葱味。DMSO 可代谢成二甲基硫醚和二甲基砷,其可能的不良反应是升高血中的二甲基硫醚水平,导致一种血源性口臭症状。对于临床患者,采用非干预的观察,欧洲多家移植中心对自体干细胞移植的骨髓瘤和淋巴瘤患者采用 DMSO 冻存干细胞发生的不良反应进行分析,提出应更好地对 DMSO 保存干细胞进行标准化,减少患者 DMSO 的摄入量,以减少移植者的不良反应和死亡率^[10]。研究发现 DMSO 不宜用作化疗药的溶剂,因其会与化疗药发生反应,从而抑制它们的毒性作用和杀伤作用。DMSO 可通过调理 3 种 DNA 甲基转移酶的转录本及改变基因组的甲基化谱系,进而影响小鼠胚胎体的表观基因组,造成鼠干细胞的一种未受控制的分化。因此,国外已有对干细胞移植时采用去除 DMSO 的洗涤方式来减少可能的 DMSO 毒性作用。

海藻糖作为一种优良的细胞低温保护剂可望用于血小板的低温保存。研究表明海藻糖冻存血小板显示出与新鲜血小板相似的凝血酶刺激的凝集反应,可保护血小板的结构和功能,包括完整的浆膜结构、

代谢活性和对凝血酶的刺激反应。海藻糖无毒,且作为人体内本身存在的一种多糖,有望开发为血小板的冰冻保护剂。

国内多家报道采用 DMSO 冻存血小板,并应用于临床患者的救治,特别是外科出血者,起到了良好的治疗作用;有些并未在冰冻前去除多余的 DMSO,对临床应用的潜在风险还需进行大样本和多中心的临床试验。因此,笔者认为,在未取得科学严谨的试验数据之前,对冰冻血小板的深入研究还需进一步加强,对其临床应用还应更为小心谨慎,期望在不远的将来能开发出良好的冰冻甚至是冻干血小板类产品以方便临床使用。

6 结 语

冰冻血液产品的研发取得了很大的成功。红细胞采用甘油作为冰冻保护剂,安全有效;血浆可直接进行冻存;外周血造血干细胞采用 DMSO 作为保护剂,已经得到广泛应用;血小板采用 DMSO 作为冰冻保护剂,是目前认为最好的方法,但因 DMSO 还存在一定毒副作用,对临床适应证还应进行多中心临床观察,对冰冻血小板的临床广泛应用还应小心谨慎。

参考文献

- [1] VALERI C R, RAGNO G. Cryopreservation of human blood products[J]. *Transfus Apher Sci*, 2006, 34(3): 271-287.
- [2] LELKENS C C, KONING J G, DE KORT B, et al. Experiences with frozen blood products in the netherlands military[J]. *Transfus Apher Sci*, 2006, 34(3): 289-298.
- [3] NOORMAN F, VAN DONGEN T T, PLAT M J, et al. Transfusion: $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ frozen blood products are safe and effective in military casualty care[J]. *PLoS One*, 2016, 11(12): e0168401.
- [4] 周虹,王全立,詹林盛,等. 血液安全与保障——军事医学科学院输血研究进展[J]. *中国科学(生命科学)*, 2011, 41(10): 832-837.
- [5] VALERI C R, SREY R, TILAHUN D, et al. The in vitro quality of red blood cells frozen with 40 percent (wt/vol) glycerol at $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 14 years, deglycerolized with the Haemonetics ACP 215, and stored at $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ in additive solution-1 or additive solution-3 for up to 3 weeks[J]. *Transfusion*, 2004, 44(7): 990-995.
- [6] VALERI C R, SREY R, LANE J P, et al. Effect of WBC reduction and storage temperature on PLTS from with 6 percent DMSO for as long as 3 years[J]. *Transfusion*, 2003, 43(8): 1162-1167.
- [7] NTAI A, LA SPADA A, DE BLASIO P, et al. Trehalose to cryopreserve human pluripotent stem cells[J]. *Stem Cell Res*, 2018, 31(8): 102-112.
- [8] WANG X, LI J, SHI R H, et al. Quality assessment of platelets stored in a modified platelet additive solution with trehalose at low temperature ($10\text{ }^{\circ}\text{C}$) and in vivo effects on rabbit model of thrombocytopenia[J]. *Platelets*, 2015, 26(1): 72-79.
- [9] LOZANO M, CID J, ESCOLAR G. In vitro evaluation of the haemostatic capacity of cryopreserved platelets and platelet substitutes[J]. *ISBT Science Series*, 2016, 12(1): 227-232.
- [10] MORRIS C, DE WREEDE L, SCHOLTEN M, et al. Should the standard dimethyl sulfoxide concentration be reduced? Results of a European group for blood and marrow transplantation prospective noninterventional study on usage and side effects of dimethyl sulfoxide[J]. *Transfusion*, 2014, 54(10): 2514-2522.

(收稿日期:2018-11-18 修回日期:2018-12-01)