

保存前白细胞滤除对红细胞悬液 质量和保存的影响

陈鑫 于洋 马春娅 关晓珍

冯倩 张晓娟 付丽辉 汪德清

(解放军总医院输血科,北京 100853)

摘要 为研究保存前白细胞滤除对于红细胞悬液质量的影响,用一次性使用去白细胞采血袋(规格 200 mL)采集健康无偿献血者全血 30 袋,采集后 6 h 内进行白细胞滤除。通过离心将全血制备为去白细胞红细胞悬液,4℃ 保存。收集过滤前后全血血样,分别检测过滤前后红细胞计数(RBC),白细胞计数(WBC),游离血红蛋白(FHb),乳酸脱氢酶(LDH), K^+ ,及全血容积分变化。计算红细胞回收率和白细胞去除率。取 10 袋在 4℃ 保存 35 d 后,检测 FHb,LDH 及 K^+ ,并与相同环境保存 35 d 后的未去白红细胞悬液进行比较。结果在保存前进行去白细胞滤除的红细胞悬液其白细胞残留量为 $(0.72 \pm 0.46) \times 10^6$ 个/U,白细胞去除率为 $(97.59 \pm 1.47)\%$,红细胞回收率 $(87.74 \pm 2.42)\%$ 。过滤前后全血的血样 FHb 指标统计学差异无显著性($P > 0.05$),滤后 LDH 明显低于滤前($P < 0.01$)。滤后 K^+ 则高于滤前($P < 0.01$)。保存 35 d 后,去白红细胞悬液 K^+ 与未去白组统计学差异无显著性($P > 0.05$),去白组 FHb 略高于未去白组($P < 0.05$),去白组 LDH 明显低于未去白组($P < 0.01$)。说明保存前白细胞滤除过程可能会对红细胞造成轻微损伤。但是,保存前白细胞滤除更有利于红细胞悬液的保存和输注安全,更适合临床尤其是白血病患者使用。

关键词 白细胞滤除 红细胞悬液保存 红细胞悬液质量

中图分类号 R457.1; **文献标志码** B

为了避免非溶血性发热反应(NHFR)、输血后移植物抗宿主病(TA—GVHD)和血小板输注耐受等输血反应,以及某些输血相关的病毒性疾病,国内已普遍使用去白细胞输血技术^[1]。但是目前白细胞去除所使用的去白细胞滤器多为床旁型(亦称血库型)。而这类滤器无法除去血液在保存过程中的白细胞代谢产物,如可溶性 HLA 抗体、细胞因子、补体和一些酶类等物质的。血液在贮存前滤除白细胞则可以有效避免上述物质引起的各种输血反应,提高输血质量^[2,3]。本研究旨在考察贮存前白细胞滤除对红细胞悬液质量及保存的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

一次性使用去白细胞采血袋(规格 200 mL, ACD—B 保养液)(上海康德莱药业有限公司生产),一次性使用塑料血袋(规格 200 mL, ACD—B 保养液)(上海康德莱药业有限公司生产),CZK—IA 型微电脑采液控制器(苏州医用仪器厂生产),CZK—Ⅲ型自动高频热合机(苏州医用仪器厂生产),Cryofuge 6000i 冷冻离心机(贺利氏仪器公司),Cell—CYN3700 全自动血细胞计数仪,日立 7600 全自动生化分析仪, Multiskan MK3 全自动酶标仪,OLYMPUS 显微镜,Nageotte 细胞计数板。

1.2 方法

1.2.1 采集、制备与保存

(1) 用一次性使用去白细胞采血袋采集健康无偿献血者全血 30 袋,采集后 6 h 内进行白细胞滤除,收集过滤前后全血血样。过滤后热合离断过滤器。用 Cryofuge 6000 i 冷冻离心机在 4℃ 3 500 r/min 离心 10 min,分离出血浆,制备为去白细胞红细胞悬液。将得到的于 4℃ 冰箱保存。其中 10 袋去白细胞红细胞悬液用于第二阶段实验需保存 35 d,其余血液正常供给临床用血。

(2) 用一次性使用塑料血袋采集健康无偿献血者全血 10 袋,制备为非去白的对照组悬浮红细胞,采集及制备方法同(1)。将得到的红细胞悬液于 4℃ 冰箱保存。

1.2.2 检测方法

称取过滤前后血液重量,计算体积变化。采用 Cell—CYN3700 全自动血细胞计数仪分别检测过滤前后血样的红细胞计数(RBC),以及过滤前的白细胞计数(WBC)。滤后残留白细胞计数采用 Nageotte 白细胞计数板人工计数。过滤前后 Fhb 采用邻甲联苯胺法检测。用日立 7600 全自动生化仪检测过滤前后,及保存 35 d 后的过滤组与未过滤的对照组血样中 LDH,K⁺。

1.3 结果计算

红细胞回收率 = [(滤后 Hb × 滤后体积)/(滤前 Hb × 滤前体积)] × 100%。

白细胞去除率 = [(滤后 WBC × 滤后体积)/(滤前 WBC × 滤前体积)] × 100%。

1.4 数据处理

应用 CHISS 智高统计软件,进行统计分析。数值均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组数据比较采用 t 检验。

2 结果

(1) 经过白细胞滤除后的全血,红细胞回收率为 $(87.74 \pm 2.42)\%$,白细胞残留量为 $(0.72 \pm 0.46) \times 10^6$ 个/U,白细胞去除率达到 $(97.59 \pm 1.47)\%$;在保存前进行去白细胞滤除的红细胞悬

液 Fhb 含量为 (72.88 ± 43.86) mg/L,保存 35 d 后 Fhb 为 (224.48 ± 61.24) mg/L。

(2) 过滤前后全血的血样 Fhb 指标统计学差异无显著性($P > 0.05$),滤后 LDH 明显低于滤前($P < 0.01$),滤后 K⁺ 则高于滤前($P < 0.01$)(见表 1)。

(3) 保存 35 d 后,去白组红细胞悬液 Fhb 略高于未去白组($P < 0.05$),去白组 LDH 明显低于未去白组($P < 0.01$),去白组红细胞悬液 K⁺ 与未去白组 K⁺ 统计学差异无显著性($P > 0.05$)(见表 2)。

表 1 滤除白细胞前后 Fhb、LDH、K⁺ 的变化

项目	滤前均数	滤后均数	t 值	P 值
Fhb(mg/L)	72.71 ± 46.07	72.88 ± 43.86	0.036	0.971 3
LDH(μ/L)	147.53 ± 35.83	118.46 ± 22.01	4.64	0.000 1
K ⁺ (mmol/L)	3.51 ± 0.20	3.58 ± 0.19	3.792	0.000 7

表 2 保 35 天后去白组与未去白组 Fhb、LDH、K⁺ 的值的对比

项目	未去白组	去白组	t 值	P 值
Fhb(mg/L)	163.49 ± 65.74	224.48 ± 61.24	2.298	0.039
LDH(u/L)	726.71 ± 122.28	141.38 ± 9.81	12.34	0.0002
K ⁺ (mmol/L)	26.13 ± 1.75	27.06 ± 1.19	2.718	0.053

3 讨论

去白细胞输血能够有效预防输血相关移植物抗宿主病(TA—GVHD)、输血后非溶血性发热反应(FNHTRs)、HLA 同种免疫反应发生,减少输血相关病毒感染的机会^[4]。目前国家规定(YY 0329—2002 标准)200 mL 全血过滤后残余白细胞应 $\leq 2.5 \times 10^6$ 个/U,红细胞回收率 $> 85\%$,Fhb < 530 mg/L。本实验中,我们采取贮存前滤除白细胞,过滤后的全血均达到或超过国家标准。研究证实,白细胞含量 $< 5 \times 10^6$ 个/U 即能有效地防止非溶血性发热反应的发生^[5]。因此,由保存前滤除白细胞的全血所制备的血液成分可以满足临床对于去白细胞输血的需求。

本实验中,去白细胞红细胞悬液保存 35 d 后,去白组红细胞悬液中 Fhb 略高于未去白组($P < 0.05$),所以保存前白细胞滤除可能会对红细胞悬

液的保存造成一定损害,但仍然符合国家全血保存后上清游离血红蛋白的标准。

有学者认为由于细胞中的 LDH 和 K^+ 含量比血浆中高数十甚至上百倍,在红细胞保存期间随着红细胞的破坏,红细胞中的大量 LDH 以及 K^+ 将被释放入血,因此 LDH 和 K^+ 的含量可以反映红细胞保存状态^[2,6]。因此,我们在实验设计中安排了 FHb, LDH 和 K^+ 三项指标来检验保存前滤除白细胞对红细胞悬液保存的影响。但是在本实验中,在 35 d 保存期末,去白组红细胞悬液中 LDH 明显低于未去白组($P < 0.01$),而去白组红细胞悬液中 K^+ 与未去白组之间并没有明显差异性($P > 0.05$),去白组红细胞悬液中 FHb 仅略高于未去白组($P < 0.05$)。保存前白细胞滤除对红细胞保存过程中 FHb 和 K^+ 变化的影响并不显著,但可以显著降低 LDH 的增长。可见悬浮红细胞保存过程中 LDH 与 K^+ 、FHb 的增长并非同步,该结果与相关研究结果一致^[6]。这里去白组红细胞悬液中 LDH 明显低于未去白组的现象,我们认为可能更多的源于未去白组中白细胞破坏所释放的,而非完全来自于红细胞。有报道称在白血病患者血液中的 LDH 的含量明显高于正常人,可见白细胞数与 LDH 含量之间关系密切。

上述报道^[7,8]均提倡将 LDH 作为白血病病情诊断及缓解与复发判断的指标,而白血病患者又时常需要输血治疗。若给予非保存前去白红细胞,则悬浮红细胞中的 LDH 势必对患者体内的 LDH 水平的监测,产生较大干扰,所以对于白血病患者保存前去白血液将更适合。未去白的血液在保存期间白细胞还可自发产生和积聚炎性细胞因子 IL—1、IL—6、IL—8 和 TNF α ,非溶血性发热性输血反应可能与此有关^[9]。而这些细胞因子一旦产生就难以在去除,但在血液保存前进行过白细胞过滤,绝大部分的白细胞被去除,则可以在根本上减少以上细胞因子的产生和积聚,进而减少输血反应的发生。

此外,如血液在保存一定时间后再做去白处理,则必须做滤器连接。而这属于开放性操作,有增加细菌污染的可能。而血液保存前去白,则可以使用带有滤器的一次性使用去白细胞采血袋。此类采血袋由于厂家已经统一联接和灭菌消毒好过滤器和血袋,血袋与过滤器为一个统一的密闭体,可以减少一次开放性操作,使制品更安全,且减少了工作量和差错风险。

综上,保存前白细胞滤除的悬浮红细胞质量符合国家标准,可以用于安全输血。保存前滤除白细胞过程可能会对红细胞造成轻微的损伤,但保存前白细胞滤除更有利于红细胞悬液的保存和输注安全,更适合临床尤其是白血病患者应用。

参 考 文 献

- 1 姚芳芳,孙启俊,邹元国.超细玻璃纤维膜白细胞过滤器的研究.中国输血杂志,2000;13(3):168—170
- 2 陈孔陶,赵 茹,杨素琴,等.联袋过滤器滤除白细胞效果比较.中国输血杂志,2007;20(2):139—140
- 3 Stack G, Baril L, Napychank P, *et al.* Cytokine generation in store, white cell-reduced, and bacterially contaminated units of red cells. Transfusion, 1995; 35(3):199—203
- 4 刘景汉,韩 玮,董 军.输注去白细胞血液对提高医疗质量的作用.中国医师杂志,2004;6(1):39—40
- 5 Federowice I, Barratt B B, Andersen J W, *et al.* Characterization of reaction after transfusion of cellular blood component that are white cell reduced before storage. Trasfusion,1996;36(1):21—28
- 6 王海宝,刘景汉,林子林,等.保存前去除白细胞对浓缩红细胞保存质量影响研究.中国实验血液学研究,2003;11(6):650—653
- 7 薛红梅,陆益龙,余先球,等.慢性粒细胞白血病患者血清乳酸脱氢酶、 α -羟丁酸脱氢酶、碱性磷酸酶水平变化的临床意义.江苏大学学报(医学版),2008;18(1):38—39
- 8 李 玲.急性白血病患者乳酸脱氢酶水平变化及临床价值.社区医学杂志,2008;6(13):20
- 9 王同显,吴振军,杜 滨,等.添加剂红细胞保存期间炎性细胞因子水平动态观察.中国输血杂志,2001;12(14):343—345

The Effect of Leukocyte-depleted before Blood Preservation on Blood Quality and RBC Preservation

CHEN Xin, YU Yang, MA Chun-ya, GUAN Xiao-zhen, FENG Qian,
ZHANG Xiao-juan, FU Li-hui, WANG De-qing

(Department of Blood Transfusion, PLA General Hospital, Beijing 100853, P. R. China)

[Abstract] For study the effect of leukocyte-depleted before blood preservation on blood quality, whole blood 30 bags is collected from healthy donors by using single-used leukocyte-depleted blood taking bags (size 200 mL), depleted leukocytes in 6 hours, and centrifuged to remove plasma, prepared the whole blood into RBC suspension. Then preserved in 4°C. Blood samples are collected from the whole blood which before and after leukocyte-depleted, detected the counting of RBC and WBC, free hemoglobin (Fhb), lactate dehydrogenase (LDH), K^+ and the volume; calculated erythrocyte recovery and leukocyte removal efficiency. 10 bags in 4°C for 35 days are preserved, then calculated Fhb, LDH and K^+ , and compared with RBC suspension which had not depleted leukocyte and had preserved 35 days in same conditions. It is resulted that erythrocyte recovery = $(87.74 \pm 2.42)\%$, leukocyte removal efficiency = $(97.59 \pm 1.47)\%$. There was no significant different of Fhb between before and after leukocyte-depleted ($P > 0.05$). After leukocyte-depleted LDH has significantly decreased ($P < 0.01$), but K^+ has significantly increased ($P < 0.01$). After 35 days' preserved, There was no significant different of K^+ between leukocyte-depleted RBC and RBC suspension. Fhb of leukocyte-depleted RBC were slightly higher than control cohorts ($P < 0.05$), and LDH were significantly lower than control cohorts ($P < 0.01$). It is concluded that maybe process of leukocyte-depleted before blood preservation shall slightly scathes the RBC. But it is beneficial to RBC preservation and transfusion safety, and more suitable for clinical use especially patient who suffer from leukemia.

[Key words] Leukocyte-depleted RBC suspension preservation RBC suspension quality

(上接第 1946 页)

Synthesis, Crystal Structure, Fluorescent Property and Dissociation Equilibrium Constant of 1-(carboxymethyl)-1,3-benzimidazol-3-ium-3-acetate

SHENG DAN Miao-tian, WU Xiao-lian, HUANG Ling*

(College of Pharmaceutical and Chemical Engineering, Taizhou University, Zhejiang 317000, P. R. China)

[Abstract] The title compound 1-(carboxymethyl)-1,3-benzimidazol-3-ium-3-acetate (1) were synthesized from benzimidazole and chloroacetic acid. Single crystals of (1) was obtained in existence of $Al(OH)_3$ by hydrothermal method. Its structure was determined by X-ray diffraction method. Its spectral properties and the equilibrium dissociation constant (K_a) were studied by fluorescence spectra and potentiometric titration, respectively. Compound (1) belongs to orthorhombic crystal system, $I4_1/a$ space group, $Mr = 522.47$, $a = 18.3086(9)$, $b = 18.3086(9)$, $c = 14.1915(14)$, $z = 8$, $D_c = 1.422 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-3}$, $F(000) = 2192$, the final deviation factor $R = 0.0578$, $wR_2 = 0.1799$.

[Key words] 1-(carboxymethyl)-1,3-benzimidazol-3-ium-3-acetate synthesis crystal structure dissociation equilibrium constant