

脂肪血制备悬浮红细胞的质量研究

骆展鹏¹, 樊小蓉¹, 戴宝剑², 王娟娟¹, 欧阳熊妍^{1△} (1. 重庆市血液中心 400015; 重庆市合川区中心血站 401520)

【摘要】 目的 研究脂肪血制备的悬浮红细胞的质量变化。**方法** 按常规制备滤除白细胞悬浮红细胞的方法处理轻、中、重度脂肪血及正常血,检测其过滤前后红细胞渗透脆性,观察红细胞在储存期 K^+ 、 Na^+ 浓度、pH 值、游离血红蛋白浓度的变化。**结果** 中、重度组红细胞渗透脆性在过滤后明显增高,轻度组、正常组无明显变化。储存期中、重度组红细胞 K^+ 浓度、游离血红蛋白浓度明显高于轻度组和正常组 ($P < 0.05$)。 Na^+ 浓度、pH 值各组间比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。**结论** 对于轻度脂肪血可采用弃其血浆,利用红细胞,而对于中、重度脂肪血应该选择报废。

【关键词】 三酰甘油; 脂肪血; 悬浮红细胞

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2015.07.027 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2015)07-0942-03

Qualification of suspended red blood cells produced by lipid blood LUO Zhan-peng¹, FAN Xiao-rong¹, DAI Bao-jian², WANG Juan-juan¹, OUYANG Xiong-yan^{1△} (1. Chongqing Blood Center, Chongqing 400015, China; 2. Cental Blood Station of Hechuan, Chongqing 401520, China)

【Abstract】 Objective To explore the quality change of suspended leukocyte-reduced red blood cells (SLrRBCs) prepared from lipid blood and to provide experimental evidence to develop reasonable and effective methods to reduce the scrappage of lipid blood. **Methods** SLrRBCs were prepared from light, moderate and severe lipid blood by conventional method, and RBC osmotic fragility was detected before and after filtering. Then the changes of the concentrations of K^+ , Na^+ and free Hb and the pH values of different SLrRBCs were analyzed during storage period. **Results** RBC osmotic fragility of moderate and severe groups were increased, but no change was observed of light and normal groups. The concentrations of K^+ and free Hb of moderate and severe groups were higher than those of light and normal groups ($P < 0.05$), and there were no difference of the concentration of Na^+ and the pH value during storage period ($P > 0.05$). **Conclusion** RBC of light lipid blood could be utilized, but moderate and severe lipid blood should be scrapped.

【Key words】 triacylglycerol; lipid blood; suspended red blood cells

脂肪血即通常所说的乳糜血,其特点是血浆呈乳白色或混浊状。以往研究证明,脂肪血输入患者体内后,会引发不同程度的输血反应。目前由于我国国民生活水平提高,脂质代谢异常者逐年增加,全国各地血站每年脂肪血报废率逐年攀升^[1-2]。因此,有研究者将脂肪血去除血浆后制备成悬浮红细胞加以利用,以减少血源的浪费^[3-4]。但是红细胞作为血液中的主要成分,高浓度的脂肪可能会对其产生影响,这种去除脂肪血浆的红细胞在制备过程中是否受到损伤及能否被再次利用,尚未确定。因此,本文将初步探讨这种悬浮红细胞在制备及储存期间的质量变化。

1 资料与方法

1.1 一般资料 脂肪全血及正常全血均来自重庆市血液中心。

1.2 仪器与试剂 一次性使用去白细胞型血袋由山东威高集团提供;722 S 紫外可见分光光度计由深圳康立公司提供;AFT-500D 电解质分析仪由上海精密科学仪器公司提供;0.9% 氯化钠 (NaCl) 溶液购自重庆太极集团。

1.3 方法

1.3.1 三酰甘油 (TG) 浓度检测及分组 送重庆医科大学附属第二医院检验科检测 TG 浓度。依据美国国家胆固醇教育计划成人治疗小组第 3 次会议报告 (NCEP-ATPⅢ), 将脂肪全

血分为 3 组:轻度组 ($1.69 \text{ mmol/L} < \text{TG} < 2.25 \text{ mmol/L}$);中度组 ($2.25 \text{ mmol/L} \leq \text{TG} < 5.64 \text{ mmol/L}$);重度组 ($\text{TG} \geq 5.64 \text{ mmol/L}$)。另取正常全血作为正常组 ($\text{TG} \leq 1.69 \text{ mmol/L}$)。每组全血各取 10 U 用于后续试验。

1.3.2 滤除白细胞悬浮红细胞的制备及保存 将全血 (保存液:ACD-B) 于 24 h 内过滤。全血过滤后离心分离血浆,在浓缩红细胞中灌注红细胞保存液,最后保存于 $2 \sim 6 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 。每隔 7 天取样检测,直至第 35 天。

1.3.3 红细胞渗透脆性检测 按照《全国临床检验操作规程》(第 3 版)中“红细胞孵育渗透脆性试验”操作^[5]。NaCl 溶液浓度梯度见表 1。以溶血百分率为纵坐标,NaCl 浓度为横坐标作溶血曲线图,即为红细胞盐水渗透脆性曲线。在曲线上,50% 溶血的 NaCl 浓度为红细胞中间脆性 (MCF)。

1.3.4 K^+ 、 Na^+ 浓度检测 按照《全国临床检验操作规程》(第 3 版)中“离子选择电极法”操作^[3]。

1.3.5 pH 值检测 按照《全国临床检验操作规程》(第 3 版)中“电极法”操作^[3]。

1.3.6 游离血红蛋白检测 按照《全国临床检验操作规程》(第 3 版)中“邻-联甲苯胺”法操作^[3]。

1.4 统计学处理 采用 SPSS13.0 软件包进行统计学处理,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组结果之间比较采用两独立样本均

数的 t 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

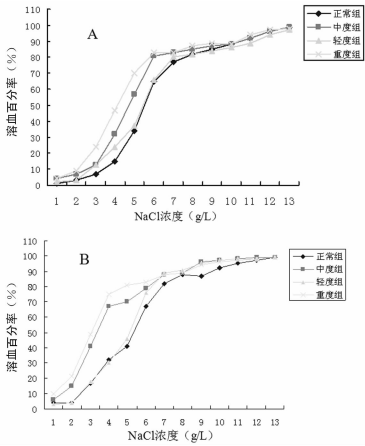
表 1 NaCl 溶液浓度梯度

项目	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
9 g/L NaCl(mL)	4.25	3.75	3.50	3.25	3.00	2.75	2.50	2.25	2.00	1.75	1.50	1.00	0.50
蒸馏水(mL)	0.75	1.25	1.50	1.75	2.00	2.25	2.50	2.75	3.00	3.25	3.50	4.00	4.50
NaCl(g/L)	8.5	7.5	7.0	6.5	6.0	5.5	5.0	4.5	4.0	3.5	3.0	2.0	1.0

2 结 果

2.1 各组全血 TG 浓度水平 轻度组、中度组、重度组和正常组的 TG 水平分别为:(1.88±0.12)、(3.74±0.78)、(6.80±0.71)、(1.00±0.40) mmol/L。各组全血均满足 NCEP-ATP III 文件对高三酰甘油血症的界定,可用于后续试验。

2.2 过滤前后红细胞渗透脆性 红细胞盐水渗透脆性曲线,见图 1。过滤前重度组、中度组 MCF 在第 4~5 管之间(NaCl 浓度为 6.0~6.5 g/L);轻度组、正常组 MCF 在第 5~6 管之间(NaCl 浓度为 5.5~6.0 g/L)。过滤后轻度组、正常组在第 5~6 管(NaCl 浓度为 5.5~6.0 g/L),较过滤前未见明显改变,重度组、中度组 MCF 在第 3~4 管之间(NaCl 浓度为 6.5~7.0 g/L)红细胞渗透脆性较过滤前明显增加。



注:A 为过滤前,B 为过滤后。

图 1 红细胞渗透曲线

2.3 红细胞储存期间质量变化

2.3.1 K^+ 、 Na^+ 浓度 红细胞储存期 K^+ 浓度见表 3。重度

组、中度组 K^+ 浓度较正常组明显增高($P<0.05$),轻度组与正常组相比无明显变化($P>0.05$)。储存期 Na^+ 浓度见表 4,重度组、中度组、轻度组与正常组比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。在整个储存期间, K^+ 浓度随保存时间的延长,呈上升趋势,而 Na^+ 浓度则呈下降趋势。

2.3.2 pH 值 在整个储存期,pH 值随保存时间的延长而降低,但重度组、中度组、轻度组与正常组比较差异均无统计学意义($P>0.05$),见表 5。

表 3 红细胞储存期间 K^+ 浓度 (mmol/L, $\bar{x}\pm s$)

组别	0 d	7 d	14 d	21 d	28 d	35 d
正常组	1.3±0.3	8.6±1.0	15.0±3.7	19.1±2.8	23.9±3.4	29.4±4.8
轻度组	1.3±0.6	9.2±1.2	15.5±1.1	23.4±2.3	30.6±3.6	30.4±3.6
中度组	3.1±0.3	14.8±1.3*	23.6±2.6*	31.3±4.0*	39.7±6.0*	42.4±7.1*
重度组	4.2±0.1	16.1±0.8*	25.6±0.9*	34.5±0.9*	39.4±2.1*	45.5±4.8*

注: * $P<0.05$,与正常组比较。

2.3.3 游离血红蛋白浓度变化 储存期红细胞游离血红蛋白浓度,见表 6。各组游离血红蛋白浓度随保存时间的延长而上升,重度组、中度组与正常组比较,明显增高($P<0.05$),轻度组与正常组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

表 4 红细胞储存期间 Na^+ 浓度 (mmol/L, $\bar{x}\pm s$)

组别	0 d	7 d	14 d	21 d	28 d	35 d
正常组	109±1	104±1	100±1	97±2	94±3	85±1
轻度组	106±3	104±2	100±2	99±4	97±4	94±3
中度组	104±2	100±2	98±3	95±4	93±3	90±4
重度组	101±1	98±2	95±2	92±3	88±1	88±2

表 5 红细胞储存期间 pH 值 ($\bar{x}\pm s$)

组别	0 d	7 d	14 d	21 d	28 d	35 d
正常组	6.73±0.02	6.65±0.04	6.65±0.05	6.57±0.03	6.51±0.02	6.45±0.05
轻度组	6.77±0.04	6.69±0.06	6.63±0.04	6.53±0.4	6.50±0.07	6.49±0.08
中度组	6.77±0.05	6.71±0.04	6.62±0.04	6.56±0.05	6.52±0.05	6.52±0.03
重度组	6.80±0.10	6.69±0.04	6.62±0.04	6.57±0.06	6.56±0.03	6.49±0.04

表 6 红细胞储存期间游离血红蛋白浓度 (g/L, $\bar{x}\pm s$)

组别	0 d	7 d	14 d	21 d	28 d	35 d
正常组	0.11±0.03	0.16±0.04	0.26±0.09	0.42±0.12	0.56±0.18	0.80±0.12
轻度组	0.16±0.08	0.39±0.33	0.58±0.50	0.65±0.58	0.90±0.79	1.32±1.07
中度组	0.82±0.29*	0.97±0.25*	1.08±0.46*	1.37±0.44*	1.64±0.45*	2.57±0.53*
重度组	1.03±0.72*	1.04±0.37*	1.2±0.57*	1.51±0.67*	1.87±0.84*	3.42±1.15*

注: * $P<0.05$,与正常组比较。

3 讨 论

随着非溶血性输血反应日益受到重视,临床广泛应用滤除白细胞的悬浮红细胞。在滤除白细胞的过程中,滤器对脂肪血中红细胞的影响,以及红细胞在储存期的质量,均有待考证。因此,本研究初步探讨了由脂肪血制备而成的滤除白细胞的悬浮红细胞的质量变化,从而为制订合理、有效的降低脂肪血报废率的方法提供实验依据。

目前,血站成分制备人员主要根据肉眼观察血浆外观浑浊程度来判断是否为脂血。已知血浆中 TG 浓度越高,血浆外观越浑浊。因此本研究以 TG 作为筛选脂血的主要指标。为了探讨过滤过程是否对红细胞膜产生影响,首先检测了红细胞渗透脆性。红细胞渗透脆性反映了红细胞在低渗条件下的抵抗力,常作为红细胞膜损伤的指标之一。在脂血过滤后,中、重度组脂血红细胞渗透脆性明显增加,而轻度组、正常组红细胞渗透脆性未见明显变化,提示中、重度组脂血在通过微孔滤膜时,红细胞膜易受到损伤。这与文献报道的高浓度 TG 对红细胞刚性影响较大的结论相一致^[6-7]。另外,王现伟等^[8]在高脂血症大鼠动物模型的研究中也发现了大鼠红细胞在通过微孔膜时,红细胞膜受到严重损伤。深入研究其机制发现,高浓度 TG 能够破坏红细胞骨架完整性,降低红细胞骨架蛋白 F-actin,从而破坏红细胞结构基础,使红细胞变形能力降低,导致红细胞在通过微孔膜时受到挤压损伤。因此,中、重度脂肪血在制备滤除白细胞的悬浮红细胞过程中,红细胞质量受到影响。通过研究红细胞储存期质量变化发现,中、重度组红细胞 K⁺ 浓度虽然在保存第 0 天与轻度组、正常组差异无统计学意义($P>0.05$),但是从保存第 7 天至保存第 35 天,均明显高于轻度组和正常组($P<0.05$),这可能是由于中、重度组红细胞膜受到损伤后,细胞内 K⁺ 外溢程度高于轻度组、正常组所致。检测其游离血红蛋白浓度发现,在保存第 0 天中、重度组游离血红蛋白浓度已经明显高于轻度组、正常组($P<0.05$),且随着保存时间的延长,升高趋势越明显,尤其是在保存末期(第 28~35 天)出现了急剧升高,提示中、重度组红细胞溶血较轻度组、正常组严重。此外,肉眼观察各组红细胞上清液,在保存第 0 天,轻度组、正常组上清液无色透明,而中、重度组上清液呈微红色;至保存第 35 天,轻度组、正常组上清液仅呈微红色,而中、重度组上清液呈明显红色且微浑。这进一步揭示在保存期间中、重度组红细胞寿命较轻度组、正常组大为缩短。在整

个储存期间 Na⁺ 浓度、pH 值各组均呈现下降的趋势,但各组间无明显差异,与吕秋霜等^[9]在对全血、悬浮红细胞保存过程质量研究中所观察到的结果一致。

综上所述,尽管目前国家标准对滤除白细胞的悬浮红细胞的各项生化指标尚无明确规定^[10],但是这种生理功能受到影响的红细胞输注到患者体内后,势必会对患者造成一定的影响。因此,对于轻度脂肪血可采用弃其血浆,利用红细胞,从而达到降低报废率的目的;而对于中、重度脂肪血应该选择全血报废。

参考文献

[1] 金志坚,陈铭娟,姜淑美,等.无偿献血者重度脂肪血调查分析[J].中国输血杂志,2005,17(5):358-358.

[2] 艾新芳,方大治.脂血报废的原因分析及对策[J].中国卫生质量管理,2006,12(5):64-65.

[3] 赵林园,赵树华,朱琳.一种提高脂肪血临床利用率的脂肪血分离方法[J].中国输血杂志,2006,18(5):399.

[4] 谢玉萍,曾常爱.吉安市脂肪血报废的原因分析及利用[J].井冈山医学学报,2007,13(6):54.

[5] 叶应妩,王毓三,申子瑜.全国临床检验操作规程[M].3版.南京:东南大学出版社,2006.

[6] 王梅,耿庆信,刘国梁.血清甘油三酯及胆固醇对血液黏度和红细胞流变性的影响[J].山东医药,2005,45(16):43-44.

[7] 杨菲,贾芳,许进.2 型糖尿病大鼠血清甘油三酯,红细胞聚集性动态变化及其相关性[J].山东医药,2007,47(5):24-25.

[8] 王现伟,胡林,许锋林,等.激光生物学技术研究高脂血症大鼠红细胞变形能力改变及其机制[J].激光生物学报,2007,16(2):148-151.

[9] 吕秋霜,任芙蓉,刘长利.4 种红细胞制剂在保存过程中的质量观察[J].中国输血杂志,2008,20(6):506-507.

[10] 周静宇.全血及成分血质量要求(GB18469-2012)实施探讨[J].临床血液学杂志:输血与检验,2013,26(8):572-573.

(收稿日期:2014-09-15 修回日期:2014-12-19)

(上接第 941 页)

别与人工智能,2011,24(5):700-706.

[2] 王仲楚,方克灶,苏缪广,等.16 层螺旋 CT 诊断肺内结节临床分析[J].医学影像学杂志,2013,23(4):627-628.

[3] 单立群,胡坚,李明东,等.胸腔镜在肺部微小结节诊治中的应用[J].中国肺癌杂志,2013,16(7):369-372.

[4] Sengur A. Multiclass least-squares support vector machines for analog modulation classification[J]. Exp System Applica,2009,36(3):6681-6685.

[5] 史华莉,孙琼芳,涂蓉,等. CT 三维重建技术对肺内孤立性结节的诊断价值[J].中华临床医师杂志:电子版,2014,8(5):88-93.

[6] 张梦龙,孙峰,王雅莹,等.数字合成体层成像和 X 线数字摄影在肺内结节探测中敏感度的比较[J].医学影像学杂

志,2013,23(4):597-600.

[7] 向林峰,文石兵,夏发明.原发周围型肺内孤立小结节的微创诊治[J].临床肺科杂志,2011,16(6):961.

[8] Gangeh MJ, Sørensen L, Shaker SB, et al. A texton-based approach for the classification of lung parenchyma in CT images[J]. Med Image Comput Comput Assist Interven, 2010,13(3):595-602.

[9] 张文玉,黄勇,申洪明,等.肺癌患者肺内小结节良恶性的 CT 诊断价值[J].临床放射学杂志,2011,30(11):1604-1608.

[10] 颜志红,于武江,万云飞. CT 扫描对诊断肺癌肺内转移的临床意义[J].实用医学影像杂志,2011,12(2):79-81.

(收稿日期:2014-10-15 修回日期:2014-12-20)