

• 质控与标规 •

游离血红蛋白指标在悬浮红细胞质量控制中的应用

刘海波

(淮安市中心血站, 江苏淮安 223001)

摘要:目的 建立保存期末游离血红蛋白含量内部标准, 加强悬浮红细胞的质量控制。方法 使用邻-甲联苯胺法对保存 0 d 和 35 d 的 36 例悬浮红细胞上清液中的游离血红蛋白进行浓度测定。结果 悬浮红细胞 0 d 和 35 d 游离血红蛋白浓度分别为 (110.8 ± 14.2) mg/L 和 (558.3 ± 94.5) mg/L, 两者差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。冬季和夏季悬浮红细胞 35 d 游离血红蛋白分别为 (464.9 ± 50.1) mg/L 和 (651.1 ± 66.0) mg/L, 两者差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。结论 建立悬浮红细胞游离血红蛋白含量的站内指标, 将完善血站对该类血液制品的质量控制。

关键词: 血红蛋白; 悬浮红细胞; 质量控制

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2012.21.037

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2012)21-2639-01

游离血红蛋白作为红细胞制品溶血性监测指标, 在全血和冰冻红细胞的质量控制中得到广泛的应用。近年来, 随着成分输血的推广, 悬浮红细胞已成为最主要的临床血液制品, 但与其相对应的游离血红蛋白浓度尚无明确标准。为此, 笔者对甘露醇-腺嘌呤-磷酸盐红细胞保存添加剂 (MAP 方), 悬浮红细胞不同保存期游离血红蛋白浓度进行了检测和分析, 初步制定该类血制品保存期末溶血性指标的内部标准, 现报告如下。

1 材料与方法

1.1 材料 从 2011 年 6 月至 2012 年 4 月, 在不同季节随机抽取 36 袋 CPDA 方新鲜全血, 离心后移去大部分血浆, 加入 MAP 方红细胞添加剂, 制备成悬浮红细胞。每份制备后立即混匀并倒取 1 管作为保存前期标本; 保存至 35 d 用相同手法倒取 1 管作为保存末期标本。

1.2 仪器与试剂 低温大容量离心机为德国贺利氏 Cryofuge 6000i; 722 光栅分光光度计由上海第三分析仪器厂生产, 均经定期强检合格。邻-甲联苯胺试剂按照参考文献[1]购买市售品自配。血红蛋白标准液来自上海伊华医学科技有限责任公司。

1.3 方法 游离血红蛋白浓度测定采用邻-甲联苯胺法, 利用血红蛋白中亚铁血红素在过氧化氢参与下能够催化邻-甲联苯胺显色的原理, 具体操作见参考文献[1]。

1.4 统计学处理 通过游离血红蛋白实测浓度计算每组数据的 $\bar{x} \pm s$, 并采用 t 检验进行分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

经检测, 悬浮红细胞保存前期 (1 d) 游离血红蛋白浓度为 (110.8 ± 14.2) mg/L; 保存末期 (35 d) 游离血红蛋白浓度达到 (558.3 ± 94.5) mg/L, 两组数值差异有统计学意义 ($t = 28.1$, $P < 0.01$)。冬季 (1、2、12 月) 保存期末游离血红蛋白浓度为 (464.9 ± 50.1) mg/L; 夏季 (6、7、8 月) 保存期末游离血红蛋白浓度达到 (651.1 ± 66.0) mg/L, 两组数值差异有统计学意义 ($t = 6.89$, $P < 0.01$)。

3 讨论

无论在全血或悬液中, 红细胞经过 35 d 的保存都会产生一定程度的破坏, 其机理是由于红细胞膜上的脂蛋白和脂质随时间延长而逐渐丧失, 红细胞内钾离子降低, 钠、钙离子升高, 导致细胞变形能力减低, 渗透脆性增加, 易受到温度波动及外界作用的影响, 造成血红蛋白逸出^[2]。另外, 红细胞悬液在制备过程中要移除大部分血浆, 而血浆是红细胞行使功能的基

质, 它不仅含有维持红细胞渗透压的血浆蛋白, 还有各类营养物质、电解质、血气以及调节物质等^[3], 外环境的改变, 必然会对红细胞的保存产生不利影响。同时, 分浆过程中少数红细胞受挤压、变形甚至破裂释放血红蛋白, 也会导致红细胞悬液中的游离血红蛋白浓度增高。虽然 MAP 方悬液添加剂比 CP-DA 方全血保存液增加了具有缓解红细胞溶血并加固细胞膜作用的甘露醇^[2], 使其在不影响细胞代谢的条件下, 降低溶血率, 弥补悬浮红细胞在制备过程中的损失, 但两种效应显然无法相抵, 多项研究表明, 悬浮红细胞的溶血指标要远高于同期储存全血^[4-6]。过高的游离血红蛋白可引起急性肾功能衰竭等严重副作用^[7], 目前国标对 CPDA 方全血和冰冻解冻去甘油红细胞保存期末游离血红蛋白的含量明确要求必须小于或等于 720 mg/L 和小于或等于 1 000 mg/L, 但对悬浮红细胞的溶血指标尚无规定, 只要求从外观上用肉眼观察无溶血即可, 存在很大的主观性。按照欧盟的标准, 悬浮红细胞在保存期末的溶血率应小于 0.8%^[8], 从中可以计算出游离血红蛋白含量应小于或等于 1 220 mg/L。本次试验数据为 (558.3 ± 94.5) mg/L, 由于样本基数偏小, 在参考国内外相关标准和试验数据的基础上, 笔者将悬浮红细胞制品保存期末游离血红蛋白的内部标准暂定为小于或等于 1 000 mg/L, 当然, 这一指标在今后的工作中还将作进一步修正。

游离血红蛋白检测作为回顾性溶血指标可以持续反映和改进悬浮红细胞的制备工艺。国内输血领域目前尚无规范的血液制备工艺标准, 各地加工悬浮红细胞的方法也不尽相同。如果在制备中过于注重血浆的移除, 一味加大离心力和离心时间, 则必然会增加红细胞的损伤, 甚至使保存期末游离血红蛋白升高甚至超出全血和冰冻红细胞的质量标准^[4,9]。本血站经长期实践, 现采用 $2\ 520 \times g$ 、4℃、15 min 的离心方法。本次实验中, 笔者对该法制备悬浮红细胞的检测数据进行比对分析, 结果显示保存前期游离血红蛋白为 (110.8 ± 14.2) mg/L、保存期末为 (558.3 ± 94.5) mg/L, 均低于有关研究 $5\ 000 \times g$ 、 $6\ 000 \times g$ 条件组数值^[4], 但与 $800 \times g$ 组的数据尚有差距。当然离心力过低虽能将溶血指标控制在较低的水平, 但同时也会造成红细胞与血浆界面分层不清, 残留血浆较多, 最终导致悬浮红细胞整体性能难以达标^[10]。因此, 如何将离心力、离心时间调整至最佳模式, 在短时间内既取得良好的分离效果, 又最大程度减少红细胞的损失, 笔者将在下一步工作中利用悬浮红细胞中游离血红蛋白含量等相关指标作进一步探索。

本次试验同时对冬、夏两季悬浮红细胞 (下转第 2667 页)

生物学特点和功能已被人们认识和阐明,被视为肿瘤的一种敏感性指标,一旦发生癌变,伴随着肿瘤细胞的急剧增殖,TK1 的活性和含量都会显著升高,可超过正常水平的 2~100 倍^[3-5],因此 TK1 被认为是肿瘤标记酶,而且是一极具生命潜力的肿瘤标记物,其在肿瘤发生和发展过程中水平的变化,已成为前列腺癌早期诊断研究的 1 个新课题。TK 在病理状态下 95% 以上表现为 TK1 活性,TK1 是细胞周期依赖性标志物,在健康组织的细胞外液或血浆中不能检测到 TK 活性,在正常人细胞中,血清总 TK 活性含量极低,只是在细胞过度增生的情况下,才出现较高的水平。有研究表明,高水平的 TK1 主要出现在胎儿组织或成人组织的增殖细胞中,如再生的肝脏、脾脏、胸水和骨髓以及胎儿的脂肪组织^[6]。另外,在一些增生性疾病如恶性肿瘤以及某些病毒感染等患者的血清和癌症细胞中 TK1 活性也很高。TK1 与细胞分裂密切相关,TK1 活力增加会引起细胞 DNA 合成速度提高,在增殖细胞的 G1 和 S 期交界处开始升高,直至 S 期达到高峰,在肿瘤细胞中这种高 TK1 水平从 S 晚期可持续到 M 早期,其浓度将伴随着肿瘤细胞的急剧增殖而升高。本研究结果显示,前列腺癌患者 TK1 水平显著高于前列腺增生组和健康组($P<0.01$);而前列腺增生组和健康组之间 TK1 水平差异无统计学意义,与上述研究一致,由此可见 TK1 在患者血清中呈高表达是前列腺癌重要特征之一,TK1 检测在前列腺癌诊断中的应用具有重要的临床价值,但目前必须结合 HE 切片及正常组织形态学以及肿瘤病理学,不能完全依靠 TK1 水平去诊断前列腺癌。虽然 TK1 可以出现

在增殖的细胞和肿瘤细胞中,并与肿瘤细胞增殖速度成正相关,但在其他情况中也可能升高,如妊娠期妇女、献血员等,这是细胞增殖的结果^[7]。

参考文献

- [1] 赵延凯,董学舟. 前列腺增生及前列腺癌的诊断鉴别[M]. 四川: 四川大学出版社,2008:331-334.
- [2] Zhang F, Li H, Pendleton AR, et al. Thymidine kinase 1 immunoassay: a potential marker for breast cancer[J]. Cancer Detect Prev, 2001, 25(1): 8-15.
- [3] Zhang J, Jia Q, Zou S, et al. Thymidine kinase 1: a proliferation-marker for determining prognosis and monitoring the surgical outcome of primary bladder carcinoma patients[J]. Oncol Rep, 2006, 15(2): 455-461.
- [4] 张立东. 泌尿生殖系统病理学的进展[J]. 病理学研究杂志, 2007, 20(4): 605.
- [5] 沈祈年, 朱小凡. 血清胸苷激酶检测在前列腺癌鉴别诊断中的价值[J]. 临床外科学杂志, 2008, 17(5): 273-275.
- [6] 郭林, 卢仁泉. 胃癌患者血清胸苷激酶检测的临床意义[J]. 检验医学, 2008, 23(3): 271-273.
- [7] 行藁, 周晓军. 前列腺癌活检的病理诊断[J]. 病理诊断学杂志, 2009, 15(9): 257-260.

(收稿日期: 2012-06-09)

(上接第 2639 页)

中游离血红蛋白含量进行了分析,发现冬、夏两季保存期末的游离血红蛋白浓度出现明显差异。这提示我们应注意完整的血液冷链控制,保证血液从采集、制备、运输、发放到使用的整个过程处于规定的温度范围内。尤其在夏季,应特别注意尽量缩短血液制品在外暴露时间,血液采集完毕应立刻置 2~6℃ 冰箱冷藏,并对室温加以关注和控制。血液运输过程中应将温度控制在 1~10℃。血液储存期间,应保持冷藏温度的稳定,尽量减少冰箱开关次数,同时在血液收取、整理、清点、转移以及发放等过程中注意轻拿轻放,避免动作粗暴。另外,作为血制品冷链最后一环的医疗机构,也应同样加强对储血设备的温度控制,减少暴露时间,避免溶血现象的发生。血站的质量管理部门还应加强对血液制品中游离血红蛋白浓度等指标的监测,通过反馈及时维护和保证冷链的完整。

合理使用悬浮红细胞制品,不仅能充分发挥其保存时效长,浓度纯度高,治疗效果好,抗凝保存液、细胞碎屑及“保存性损害产物”含量少等优点,还能节约宝贵的血液资源。笔者认为应尽快制定悬浮红细胞保存期末游离血红蛋白的通用标准,同时统一悬浮红细胞制备的操作规程。作为血站的检验工作者,还将在今后的实验研究中,参照国内外学者在相关血液制品 PH 值、 K^+ 、 Na^+ 浓度等指标监控方面的一些做法^[11-12],进一步摸索和完善各种血液制品的监测体系,更加有力的保障临床用血的有效和安全。

参考文献

- [1] 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 北京: 中华人民共和国卫生部医政司, 2006: 164.

- [2] 王培华. 输血技术学[M]. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 60-67.
- [3] 邱艳, 杨海平, 查祎, 等. 人血浆对红细胞保存的影响[J]. 中国实验血液学杂志, 2005, 13(4): 692-697.
- [4] 陶涛. SAGM 悬浮红细胞中游离血红蛋白含量测定与分析[J]. 临床输血与检验, 2003, 5(4): 286.
- [5] 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, 2007, 20(6): 506-507.
- [6] 田桂敏, 王艳清, 张松英, 等. 悬浮红细胞与全血在不同时间段溶血率的比较研究[J]. 中国输血杂志, 2010, 23(4): 291-292.
- [7] 赵绥民. 溶血性输血反应的诊断与治疗[J]. 中国输血杂志, 2000, 13(2): 133-137.
- [8] The Council of Europe and the European Commission. Guide to the preparation use and quality assurance of blood Components-11th edition[S]. The Council of Europe and the European Commission, 2005.
- [9] Sowemimo-Coker SO. Red blood cell hemolysis during processing[J]. Transfus Med Rev, 2002, 16(1): 46-60.
- [10] 戴庆昭, 李进才, 陈骥, 等. 不同离心条件对悬浮红细胞比容影响的研究[J]. 中国输血杂志, 2009, 22(2): 132-133.
- [11] 黎美君, 樊小蓉, 舒勤, 等. 建立悬浮红细胞类成分血内控标准的探讨[J]. 中国输血杂志, 2009, 22(7): 599-601.
- [12] Reece WO, Trampel DW, Koehler KJ. Effects of storage time and temperature after blood sampling from turkeys on plasma concentrations of potassium, sodium, and chloride[J]. Poult Sci, 2006, 85(6): 1095-1097.

(收稿日期: 2012-05-12)