

• 经验交流 •

外周血干细胞移植中标本放置时间对 CD34⁺ 细胞及单个核细胞计数结果的影响

宋建新, 沙 玲

(云南省第一人民医院检验科血液病诊断室, 云南昆明 650032)

摘要:目的 探讨标本放置温度及时间对外周血 CD34⁺ 细胞及单个核细胞(MNC)计数结果的影响。方法 抽取 10 例健康供者或自体外周血干细胞(APBSCT)移者经粒细胞集落刺激因子(G-CSF)动员第 5 天 EDTA-K₂ 抗凝静脉血,各分装 2 管,分别在室温和 4 ℃条件下保存,对每份外周血标本分别于 0、1、2、4、6、8、10、12、24 h 计数 MNC 和 CD34⁺ 细胞。结果 室温放置的标本中,MNC 和 CD34⁺ 细胞计数随着标本放置时间的延长而逐渐减低,放置到 8 h 时,CD34⁺ 细胞计数和 0 h 相比差异有统计学意义($t=5.04, P<0.05$);放置到 12 h 时,MNC 计数和 0 h 相比差异有统计学意义($t=3.68, P<0.05$)。4 ℃条件下,标本放置到 24 h,MNC 和 CD34⁺ 细胞计数结果和 0 h 相比差异均无统计学意义(t 分别为 0.50、1.24, $P>0.05$)。结论 为确保检测结果的准确性,室温放置的标本 CD34⁺ 细胞计数应在采血后 8 h 内完成,MNC 计数可在采血后 10 h 内完成,外周血标本最好放置于 4 ℃条件下保存。

关键词:外周血干细胞移植; 温度; 时间; CD34⁺ 细胞; 单个核细胞

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.21.062

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2014)21-2987-02

目前外周血干细胞移植(PBSCT)已被广泛应用于多种恶性血液系统疾病、实体肿瘤、遗传性疾病的治疗。CD34⁺ 细胞和外周血中单个核细胞(MNC)计数在决定造血干细胞的最佳采集时机、评判采集效果以及预测移植成功率中起着重要作用。目前检测 MNC 及 CD34⁺ 细胞计数常用定量的方法,对标本处理要求严格。目前关于外周血及骨髓标本放置时间对细胞膜表面抗原标记影响的报道较多^[1-3],而对外周血干细胞移植中标本放置时间对 CD34⁺ 细胞及单个核细胞计数结果的影响的研究鲜见报道^[4-5]。本文对这一影响因素进行分析,报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2012 年 3 月至 2013 年 11 月在本院接受外周血干细胞动员采集者 10 例。男 6 例,女 4 例,年龄 12~46 岁,中位年龄 32 岁,其中慢性粒细胞白血病(慢性期)2 例,急性 B 淋巴细胞白血病 3 例,急性髓系白血病 5 例(M1 型 1 例、M4 型 3 例、M5 型 1 例,均为第 1 次完全缓解),诊断及疗效标准见参考文献[1]。

1.2 方法

1.2.1 干细胞的动员 健康供者单独应用粒细胞集落刺激因子(G-CSF, KIRIN 公司产品)7.5 g·kg⁻¹·d⁻¹,每天分 2 次皮下注射,采集细胞当天将 G-CSF 改为采集前 3 h 一次注射。自体动员采用化疗联合 G-CSF 方案。

1.2.2 标本采集 采集患者次日清晨外周血 6.0 mL(EDTA-K₂ 抗凝),各分装 2 管,分别于室温(20~24 ℃)及 4 ℃保存,

分别于抽血后 0、1、2、4、6、8、10、12、24 h 检测血常规(白细胞计数)及 CD34⁺ 细胞计数及外周血涂片。

1.2.3 标本检测 白细胞计数采用 Sysmex XE-5000 血细胞分析仪测定。CD34⁺ 细胞计数检测采用 Beckman Coulter FC500 流式细胞仪,根据血液治疗和移植工程国际组织(ISHAGE)法标准操作^[2]。外周血 CD34⁺ 细胞计数($\times 10^6/L$)=白细胞计数 \times CD34⁺百分比 $\times 1000$ 。MNC 计数,每个时间段外周血涂片,瑞特-吉姆萨染色,油镜下计数 200 个有核细胞,计算 MNC 占全部有核细胞比例。MNC 计数($\times 10^6/L$)=白细胞计数 \times MNC 占全部有核细胞的百分比 $\times 10$ 。

1.3 统计学处理 采用 SPSS12.0 统计软件包进行统计学分析,计量资料均数比较采用 t 检验, $\bar{x}\pm s$ 表示, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 标本室温放置不同时间对 MNC 和 CD34⁺ 细胞计数结果的影响 MNC 和 CD34⁺ 细胞计数随着标本放置时间的延长而逐渐减低,放置到 8 h 时,CD34⁺ 细胞计数和 0 h 相比差异有统计学意义($t=5.04, P<0.05$),放置到 10 h 时,MNC 计数和 0 h 相比差异有统计学意义($t=3.68, P<0.05$),见表 1。

2.2 标本在 4 ℃下放置不同时间对 MNC 和 CD34⁺ 细胞计数结果的影响 MNC 和 CD34⁺ 细胞计数随着标本放置时间的延长而逐渐减低,放置标本到 24 h 时和 0 h 相比 MNC 和 CD34⁺ 细胞计数结果差异无统计学意义(t 分别为 0.50、1.24, $P>0.05$),见表 2。

表 1 标本室温放置不同时间对 MNC 和 CD34⁺ 细胞计数结果的影响($\times 10^6/L, \bar{x}\pm s$)

指标	0 h	1 h	2 h	4 h	6 h	8 h	10 h	12 h
MNC 计数	48.73 \pm 7.51	48.70 \pm 7.51	48.14 \pm 7.49	47.81 \pm 7.44	46.78 \pm 7.61	45.87 \pm 7.68	36.26 \pm 7.63*	31.26 \pm 7.17
CD34 ⁺ 计数	56.69 \pm 5.96	56.63 \pm 5.99	56.52 \pm 6.09	56.11 \pm 6.18	54.92 \pm 5.99	42.80 \pm 6.37*	34.99 \pm 5.37	25.45 \pm 5.28

*: $P<0.05$, 与 0 h 相比。

表 2 标本在 4 ℃下放置不同时间对 MNC 和 CD34⁺ 细胞计数结果的影响($\times 10^6/L, \bar{x}\pm s$)

指标	0 h	1 h	2 h	4 h	6 h	8 h	10 h	12 h	24 h
MNC 计数	48.73 \pm 7.51	48.70 \pm 7.51	48.53 \pm 7.52	48.36 \pm 7.58	48.25 \pm 7.55	48.16 \pm 7.54	48.02 \pm 7.34	47.80 \pm 7.45	47.08 \pm 7.36
CD34 ⁺ 计数	56.69 \pm 5.96	56.64 \pm 5.60	56.32 \pm 6.09	56.24 \pm 6.11	56.25 \pm 6.02	56.19 \pm 5.97	56.08 \pm 6.01	55.72 \pm 6.18	52.42 \pm 9.17

3 讨 论

在外周造血干细胞移植动员过程中,外周血 MNC 和 CD34⁺ 细胞计数的监测对决定造血干细胞的采集时机、是否继续使用生长因子刺激、评判采集效果以及监测移植后患者体内的造血干细胞数具有重要意义。但由于受医院设备条件和地理等因素的限制,采样送检与上机检测时间往往不能紧密衔接,标本保存温度和时间会影响检测结果。

Gutensohn 等^[6]曾就保存温度对标本的影响进行过研究,发现外周血采集物在室温条件下保存超过 24 h 后,CD34⁺ 细胞数下降约 1/4;而在 4 ℃ 条件下保存的标本,CD34⁺ 细胞计数没有明显下降。本组测定结果显示,EDTA-K₂ 抗凝的 CD34⁺ 细胞随着标本放置时间的延长而逐渐减低,放置到 8 h 时,CD34⁺ 细胞计数和 0 h 相比有显著差异($P < 0.05$),与文献^[6]报道的结果不太一致。这是否与标本类型,还是抗体及荧光素不同有关还有待于进一步研究。标本在 4 ℃ 条件下放置到 24 h 和 0 h 相比 CD34⁺ 细胞计数结果差异均无统计学意义($P > 0.05$),这和文献^[6]报道的结果一致。

外周血 MNC 计数在温度放置到 10 h 时,与 0 h 相比结果差异有统计学意义($P < 0.05$)。这主要是随着标本放置的时间不断延长,细胞发生崩解蜕变,白细胞计数受到影响及外周血涂片细胞形态发生变化有关。4 ℃ 下放置标本到 24 h 时和 0 h 相比 MNC 计数结果差异无统计学意义($P > 0.05$)。故笔者建议 EDTA-K₂ 抗凝的全血标本在室温温度保存进行

• 经验交流 •

CD34⁺ 细胞计数时,应在 8 h 内完成检测,MNC 计数检测可在 10 h 内完成;4 ℃ 保存的标本,可在 24 h 内完成检测。

参考文献

- [1] 曹鲁宁,张玲珍,仲人前,等. 流式细胞仪检测人白细胞抗原-B27 的影响因素[J]. 检验医学,2007,22(3):233-234.
- [2] 张爱梅,翟志敏,徐修才,等. 标本放置时间及年龄对 CD4⁺、CD25⁺ 调节性 T 细胞的影响[J]. 免疫学杂志,2007,23(1):62-65.
- [3] 宋建新,朱红艳,蒋雅先,等. 骨髓标本放置时间对流式细胞术白血病免疫分型检测结果的影响[J]. 国际检验医学杂志,2011,32(3):421-422.
- [4] 张之南,沈悌. 血液病诊断与疗效标准[M]. 3 版. 北京:科学出版社,2007.
- [5] Sutherland D R, Anderson L, Keeney M, et al. The ISHAGE guidelines for CD34⁺ cell determination by flow cytometry. International Society of Hematotherapy and Graft Engineering[J]. J Hematother,1996,5(3):213-216.
- [6] Gutensohn K, Hummel K, Sputtek A, et al. Storage of peripheral blood stem cell samples alters flow cytometric CD34⁺ results[J]. Beitr Infusionsther Transfusionsmed,1995,33:170-174.

(收稿日期:2014-04-22)

中老年高血压患者颈动脉硬化与尿酸水平的关系

闫怀芝

(孟津县人民医院检验科,河南洛阳 471100)

摘要:目的 探讨老年高血压患者颈动脉硬化和尿酸(UA)水平之间的联系。方法 抽取 2012 年 1 月至 2013 年 12 月该院收治高血压中老年患者 50 例作为研究组,并随机抽取血压正常中老年 50 例作为对照组,并对两组 UA 进行检查分析。结果 研究组 UA 明显高于对照组($P < 0.05$),且研究组血压越高其 UA 就会越高。结论 患者 UA 的增高是造成颈动脉硬化的不利因素。

关键词:高血压; 颈动脉硬化; 尿酸

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.21.063

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2014)21-2988-02

随着人们生活水平的提高,膳食结构存在明显变化,导致高血压人群持续增多,从而引发尿酸(UA)超标人群呈现上涨的趋势。高血压患者基本以老年人居多,相关数据显示,UA 与高血压颈动脉硬化存在明显联系^[1]。因此,本研究抽取 2012 年 1 月至 2012 年 12 月本院收治的高血压颈动脉硬化中老年患者 50 例作为研究组,同时抽取血压正常中老年 50 例作为对照组,并对两组 UA 进行检测分析,分析高血压颈动脉硬化与 UA 之间的联系。详细报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 抽取 2012 年 1 月至 2013 年 12 月本院收治的高血压颈动脉硬化患者 50 例作为研究组,同时抽取血压正常人群 50 例作为对照组。研究组中男 26 例,女 24 例,年龄 48~69 岁,平均年龄 50.5 岁;对照组男 25 例,女 25 例,年龄 50~70 岁,平均年龄 56.8 岁;研究组高血压一级 15 例,二级 16 例,三级 19 例。两组均给予超声检查,检查标准参照高血压疾病诊断指南进行分级。排除其他并发症疾病,如肺水肿、痛风、癌症、肿瘤、免疫系统疾病等。两组患者年龄、性别、体质

指数差异无统计学意义($P > 0.05$)。

1.2 方法 两组患者均给予颈动脉与内膜厚度检测:使用 HP SONOS 5500 多普彩色仪器进行检测,使用颈动脉斑块与内部中膜厚度进行标准评定^[2]。患者进行检查前期,禁食 12 h,空腹采血,采用日立 7600 自动分析仪对其三酰甘油(TG)、胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、UA 等进行检测,采用 BD 生产的流式细胞仪对肿瘤因子与白细胞介素进行检测,严格按照设备说明书进行操作。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 15.0 统计学软件进行分析,计量资料采用 t 检验进行分析, $\bar{x} \pm s$ 表示,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 基本临床数据分析 两组患者血糖、TG、血压、胆固醇等对比,差异无统计学意义($P > 0.05$)。研究组高血压患者与对照组 UA 对比显示,高血压患者 UA 数据明显比正常人群高,且差异具有统计学意义($P < 0.05$)。