DOI:10.16016/j.1000-5404.2001.12.033
第23卷第12期 第三军医大学学报 Vol. 23, No. 12
2001年12月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Dec. 2001

文章编号:1000-5404(2001)12-1455-02

论著

富含血小板血浆冰冻保存及保存效果的研究

刘玉英[1],欧阳锡林[2],刘景汉[2] ([1]广州军区武汉总医院输血科,武汉 430070;[2]解放军总医院输血科,北京 100853)

提 要:目的 研究不同因素对冰冻保存富含血小板血浆(Cryo-PRP)在血库批量制备的整个过程中的质量和特性的影响,优化建立Cryo-PRP的批量制备技术。方法 对冰冻PRP制备的整个过程中的产品包括献血者外周血、ACD抗凝全血、新鲜富含血小板血浆(FPRP)、5% DMSO富含血小板血浆(MPV)(DMSO-PRP)及-85 ℃冰冻保存2 d后37 ℃水浴解冻后的Cryo-PRP检测其血小板计数(PLT)、血小板平均体积(MPV)、血小板分布宽度(PDW)、pH、乳酸脱氢酶(LDH)和乳酸的变化。并进行细菌污染监测。结果 ① 制备PRP可以获得全血中70%的血小板;②与ACD全血相比FPRP血小板群体发生了改变。③冰冻/复温过程中部分血小板膜的完整性受到损害不可避免。④在新鲜冰冻血小板制作、保存到临床应用整个过程中血小板代谢不活跃,基本处于休眠状态,有利于其长期保存。⑤冰冻血小板内未见细菌污染和繁殖。结论 冰冻保存PRP能够长期、大量、有效、安全地保存大量宝贵血小板资源,解决目前血小板供不应求的局面。

关键词:深低温保存;冰冻富含血小板血浆;血液保存
中图法分类号:R457.1 文献标识码:A

Experimental study for platelet rich plasma collection and cryopreservation

LIU Yu-ying, OU YANG Xin-lin, LIU Jing-hang (Department of Blood Bank, Wuhan General Hospital of Guang Zhou Command, PLA, Wuhan 430070, China)

Abstract: Objective To optimize the batch preparating procedure for cryopreserved platelet rich plasma(Cryo-PRP), we study the effect of different factors on the quality of cryo-PRP during the whole course of cryo-PRP preparation in blood bank. **Method** Platelet count, platelet ? volume, platelet distributed width, pH, LDH, lactic acid, and bacteria contamination were detected during the whole course of cryopreservated platelet preparation. The whole course in order included whole blood collection, centrifugate for fresh platelet-rich plasma preparation, Dimethyl sulfoxide addition, frozen in -80 ℃ refrigeratory and thawed in 38 ℃ water bath. **Results** ① About seventy percents platelets of the whole blood could be separated into PRP. ②The platelet group in PRP is different from the platelet in whole blood. ③It is inevitable that the plasma membrane of platelet subsection will be injuried during frezon/thawed procedure. ④During the whole course the metabolism of platelets is resting, and it is propitious to long preservation. ⑤Bacteria contamination or reproduction was not detected. **Conclusion** The stack platelets wasted at beforetime can be long time, effective, and safely preserved by cryopreserved PRP now, and this resolution can meet the complexion that platelets supply falls short of demand.

Key word: cryopreservation; cryopreserved platelet rich plasma; blood preservation

由于冰冻保存的血小板具有良好的临床止血效果和可以根据需要大量长期库存的优点,血小板冰冻保存技术研究日益受到关注。本研究对冰冻保存富含血小板血浆(PRP)在血库批量制备的整个过程中其质量指标和特性作了初步研究。

1 方法

1.1 冰冻血小板制备

用四联采血袋采集健康献血者全血200 ml,酸性枸橼酸盐葡萄糖(ACD)抗凝,离心分离上层血浆取PRP,在洁净的环境中无菌操作,边摇边缓慢(>5 min)用一次性注射器和输液针加入超滤二甲基亚砜(DMSO),终浓度5%。盒装后直接放入-85 ℃冰箱保存。

1.2 监测指标

测定献血者外周血血小板计数(PLT)、血小板平均体积(MPV)和血小板分布宽度(PDW)。取ACD抗凝全血、新鲜富含血小板血浆(FPRP)、5% DMSO富含血小板血浆(DMSO-PRP)及-85 ℃冰冻保存2 d后,37 ℃水浴解冻后的Cryo-PRP标本,用血细胞计数仪测定PLT、PCV、PDW;同时测定pH、乳酸脱氢酶(LDH)和乳酸。并进行细菌污染监测。

2 结果

2.1 PLT、MPV、PDW的变化,见表1

表1 新鲜冰冻血小板制作过程中和保存后PLT、MPV、PDW的变化
Tab 1 Changes of PLT, MPV and PDW during cryo-PRP preparation

	ACD blood	FPRP	DMSO-PRP	Cryo-PRP
PLT(10^9/L)	135±41	225±54	198±50	214±53
MPV(fl)	76.7±1.13	5.08±0.78	4.43±0.7	5.85±0.95
PDW(%)	18.9±0.4	16.8±0.3	17.3±0.2	17.6±0.3

基金项目:国家自然科学基金资助项目(39970812)
作者简介:刘玉英(1952),女,山东海阳县人,副主任医师,主要从事输血方法方面的研究,发表论文12篇。电话:(027)87879797-78463
收稿日期:2001-05-11;修回日期:2001-11-16

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

2.2 LDH、乳酸和pH的变化,见表2

表2 新鲜冰冻血小板制作过程中和保存LDH、乳酸和pH的变化

Tab 2 Changes of LDH, lactic acid contents and pH value during cryo-PRP preparation

	ACD blood	FPRP	DMSO-PRP	Cryo-PRP
LDH(U/L)	111±17	111±20	106±16	128±20
DC(mmol/L)	1.13±0.25	1.15±0.29	1.10±0.23	1.13±0.20
pH	7.4±0.05	7.34±0.08	7.33±0.06	7.34±0.06

2.3 细菌培养

15份新鲜冰冻血浆在制作过程中各阶段细菌培养均为阴性。

3 讨论

由于,在22 ℃保存液体血小板保存期短(3~5 d),无法对大量的血小板进行保存;另一方面,随着医学技术的发展,临床血小板需求量急剧增加,使得血小板经常供不应求。血小板的延长保存可以解决医院血库通常遇到的很多问题,同时可以节约宝贵的血液资源。也只有延长保存才能适应战时血液长期大量储备的卫勤急需。由于冰冻血小板具有良好的临床止血效果和可以根据需要大量长期库存的优点[1~4],不但解决临床血小板短缺的难题[5],而且为解决血小板有效保存开辟了新途径。

3.1 ACD全血采集制备PRP血小板各项指标变化

与ACD全血相比,我们所获得的FPRP平均容量约为40%,浓度升高为1.75倍,平均得率为70%。与ACD全血相比FPRP血小板MPV明显变小。表明通过离心后得到的FPRP血小板群体可能发生了改变,由于体积较大的血小板亚群留在浓缩红细胞内的比例较高所致。同时PDW变窄,也说明PRP血小板亚群发生改变,体积较大的血小板亚群减少后,血小板更趋于均一。血小板亚群,及其亚群之间相关特性的不同对保存血小板的影响有待进一步研究。

3.2 加入5%DMSO后,血小板各项指标变化

DMSO-PRP,血小板计数略有下降,而MPV也下降。在制备血小板的过程中,常会在血小板离体后短时间内发生聚集。但是这种解释与其MPV变小明显不一致。其具体原因未明。

血小板细胞内LDH明显高于血浆内LDH浓度,而加入DMSO后血浆LDH无明显变化说明血小板膜未出现明显损害,依然保持完好。

3.3 -85 ℃冰冻保存后复温血小板各项指标变化

此时血小板计数与DMSO-PRP比较,有所升高,而与FPRP比较无显著差异。提示冰冻保存后,血小板回收率高,并可能有碎片产生。MPV和PDW较冰冻前升高,这可能与部分血小板在经过降温/复温冰冻保存损害[6~7],不能维持碟形变为球形血小板后体积变大有关,这种现象已通过电镜观察得到证实。-85 ℃冰冻保存后复温的血小板血浆中LDH升高。说明部分血小板膜的完整性在冰冻保存进程中受到损害,血小板内高浓度的LDH漏入血浆中。

在新鲜冰冻血小板制作、保存到临床应用整个过程中,血小板血浆pH和乳酸都无显著变化,说明冰冻保存血小板代谢不活跃,基本处于休眠状态。因此,冰冻PRP不但可以长期保存,而且产生的代谢产物和生物活性因子较少,笔者认为可以减少输血副作用,提高输血疗效,其具体效果有待进一步证实。

在国外如澳大利亚每年机采血小板用量只占全年总血小板用量的5%左右,而我国绝大部分使用的血小板是机采血小板,其主要原因是我国目前多数血站还不能有效分离保存无偿献血者200 ml全血内的血小板。我国每年采集约400~600万人份的全血,其中的血小板成分没有分离保存下来,而是留在红细胞中自然死亡了。本研究建立优化了PRP的制备和冰冻保存方法,是储备我国目前血液采集条件下每天浪费掉的大量的血小板宝贵资源的重要措施之一。笔者就血小板采集、离心、分离、添加DMSO、-85 ℃冻存及2 d后复温待用的全过程对冰冻保存PRP的各项质量指标的影响进行了研究表明,冰冻保存PRP能够长期、大量、有效、安全地保存我国每年浪费掉的大量宝贵血小板资源,解决我国目前血小板供不应求的局面。本研究也为下一步改进血小板批量冰冻保存技术、提高冰冻血小板质量打下基础。

参考文献:

[1] Khuri S F, Healey N, MacGregor H, *et al*. Comparison of the effects of transfusions of cryopreserved and liquid-preserved platelets on hemostasis and blood loss after cardiopulmonary bypass[J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 1999, 117(1): 172-183.

[2] 刘景汉,王青梅,李茨芬,等.血小板低温保存实验与临床应用研究[J].解放军医学杂志,1998,23(4):293-294.

[3] 刘景汉,欧阳锡林,王青梅,等.低温保存血小板在临床外科应用研究[J].中国输血杂志.2001,14(3):139.

[4] Daly P A. 冰冻保存三年多的血小板输注成功[J].国外医学:输血及血液学分册,1981,4(1):43-45.

[5] 刘景汉.二甲基亚砜冷冻保存血小板[J].解放军医学杂志,1989,14(2):106-108.

[6] 昌 其,肖颖彬,刘 梅,等.抑肽酶对儿童体外循环致血小板激活的保护作用[J].第三军医大学学报,1999,21(6):451-453.

[7] 成小玲,尤忠义,林武存,等.22 ℃和-80 ℃保存血小板磷脂的改变[J].第三军医大学学报,2000,22(3):252,256

(编辑 张大春)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net