

· 临床研究 ·

## 白细胞滤器对术中自体血回输后促炎-抗炎细胞因子的影响

徐涛, 王庚, 杨庆国, 李世忠  
(北京积水潭医院麻醉科 100035)

**摘要:**目的 观察白细胞滤器对髋关节置换术中自体血回输后促炎-抗炎细胞因子变化的影响。方法 选取全麻下髋关节置换术患者 30 例, 随机分为对照组(C 组)和白细胞滤器组(LDF 组)各 15 例。术中均使用自体血回吸收, 回输时 LDF 组使用白细胞滤器, 而 C 组不用, 分别在麻醉前( $T_1$ )、手术开始后 1 h( $T_2$ )、术毕( $T_3$ )、术后 1 h( $T_4$ )及术后 2 h( $T_5$ )抽取静脉血检测血清 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-8、IL-10 浓度。结果 两组  $T_2$  时 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  浓度高于  $T_1$  时( $P < 0.01$ ), 两组  $T_3$ 、 $T_4$ 、 $T_5$  时 IL-6、IL-8、IL-10 浓度高于  $T_1$  时( $P < 0.01$ ), LDF 组  $T_4$ 、 $T_5$  时 IL-10 浓度低于 C 组( $P < 0.05$ ), LDF 组  $T_4$ 、 $T_5$  时 IL-6、IL-8 浓度高于 C 组( $P < 0.01$ )。结论 白细胞滤器可以调节由于自体血回输所引发的免疫抑制反应。

关键词: 输血, 自体; 白细胞滤器; 细胞因子

doi: 10.3969/j.issn.1671-8348.2011.12.030

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2011)12-1209-03

## Effect of leukocyte depletion filter on pro-and anti-inflammatory cytokines after intraoperative autologous blood transfusion

Xu Tao, Wang Geng, Yang Qingguo, Li Shizhong

(Department of Anesthesiology, Beijing Jishuitan Hospital, Beijing 100035, China)

**Abstract: Objective** To observe the changes of pro-and anti-inflammatory cytokines in patients undergoing total hip replacement with intraoperative autologous blood transfusion. **Methods** Thirty patients undergoing total hip replacement by general anesthesia were randomly divided into 2 groups ( $n = 15$  each): control group (C), and leukocyte depletion filter (LDF). Intraoperative blood salvage was used in every patient, and leukocyte depletion filter was used in group LDF during autologous blood transfusion, but not in group C. The serum levels of TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8 and IL-10 were measured before anesthesia ( $T_1$ ), 1 hour after operation began ( $T_2$ ), in the time of operation over ( $T_3$ ), 1 hour after operation ( $T_4$ ) and 2 hour after operation ( $T_5$ ). **Results** The level of TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  at  $T_2$  was higher than  $T_1$  in two groups ( $P < 0.05$ ), and the level of IL-6, IL-8, IL-10 at  $T_3$ ,  $T_4$ ,  $T_5$  were higher than  $T_1$  in two groups ( $P < 0.01$ ), the level of IL-10 of group LDF was lower than group C at  $T_4$ ,  $T_5$  ( $P < 0.05$ ), then the level of IL-6 and IL-8 in group LDF was lower than in group C at  $T_4$ ,  $T_5$  ( $P < 0.01$ ). **Conclusion** Leukocyte depletion filter can modulate the immunosuppressive reaction from intraoperative autologous blood transfusion.

Key words: blood transfusion, autologous; leukocyte depletion filter; cytokine

自体血回输与异体输血相比可以减少过敏反应、传染病等并发症, 还可以节约血源, 对患者的免疫抑制也较轻, 但自体血液回吸收也存在免疫抑制问题, 与患者术后切口感染、不愈合等情况可能有关<sup>[1-3]</sup>。白细胞滤器可以有效滤除自体血液回吸收后的活化白细胞, 对患者术后由于自体血回输所引发的免疫抑制反应是否有调节作用则目前研究较少, 因此, 本研究观察在髋关节置换术中应用白细胞滤器对自体血回输后促炎-抗炎细胞因子变化的影响, 探讨白细胞滤器对自体血回输后免疫抑制的调节作用。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取择期行单侧髋关节置换术患者 30 例, 年龄 30~65 岁, 体质量 55~89 kg, ASA I~II, 术前检查无急慢性感染性疾病, 无免疫系统疾病, 3 个月内未异体输血。

**1.2 麻醉方法** 30 例患者均采用静脉诱导, 静吸复合麻醉。具体方法: 入室后监测心电图及脉搏血氧饱和度, 桡动脉有创血压测压, 开放静脉通路后, 快速静脉诱导(咪达唑仑 0.04 mg/kg, 芬太尼 4  $\mu$ g/kg, 异丙酚 2 mg/kg, 维库溴铵 0.1 mg/kg), 经气管插管后, 联接麻醉呼吸机(Zeus, 德国), 机控正压通气, 呼吸频率 12 次/分, I:E=1:2, 潮气量 8~10 mL/kg, 呼气末二氧化碳分压( $P_{ET}CO_2$ )维持在 35~45 mm Hg, 术中以七氟烷(采用闭环呼吸回路模式, 七氟烷呼气

末浓度控制于 1.0~1.2 MAC)持续吸入和异丙酚 6~8  $\mu$ g·kg<sup>-1</sup>·h<sup>-1</sup>持续静脉泵入, 芬太尼间断静脉注射维持麻醉深度。术中补液以乳酸钠林格氏液和万纹交替输注补充血容量, 晶体: 胶体=(1~1.5):1, 记录麻醉时间、手术时间、出血量, 术中及术后 2 h 内不输异体血。

**1.3 自体血回输** 手术开始后, 应用 Cell Saver 5<sup>+</sup> 型自体血回吸收机(Haemonetics, 美国), 将手术野出血和止血用纱布充分洗涤后的洗涤液与抗凝液(0.9% 氯化钠生理盐水加入 25 000 U 肝素)混合后吸入储血器中, 抗凝液与回吸收液容积比为 1:5, 负压吸引控制于一 150 mm Hg 左右, 回吸收血经滤过、离心分离、洗涤、浓缩后将回收血储存于输血袋中, 手术结束前回输患者体内。

**1.4 实验分组及标本采集** 将 30 例患者随机分为白细胞滤器组(LDF 组)与对照组(C 组)各 15 例, 两组麻醉方法和自体血回吸收方法均完全相同, LDF 组仅在自体血回输时串联 SQ40SK 型白细胞滤器(PALL, 美国)输注, 而 C 组不用白细胞滤器直接输注。30 例患者均于麻醉前( $T_1$ )、手术开始后 1 h( $T_2$ )、手术结束时( $T_3$ )、术后 1 h( $T_4$ )及术后 2 h( $T_5$ )抽取静脉血 5 mL, 经离心分离血清后冻存待检。

**1.5 检测指标** 用酶联免疫吸附实验(ELISA, 试剂盒均购自武汉博士德生物技术公司)检测血清 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-8、

表 1 两组患者术中一般情况比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	年龄(岁)	体质量(kg)	麻醉时间 (min)	手术时间 (min)	术中补液量 (mL)	术中出血量 (mL)	自体血回输量 (mL)
LDF 组	15	55±10	66±8	162±23	151±38	2 190±308	661±169	385±98
C 组	15	52±9	69±8	165±19	157±32	2 334±295	633±148	407±89

表 2 两组患者血清 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-8、IL-10 浓度变化比较( $\bar{x} \pm s$ , pg/mL)

检测指标	组别	n	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	T <sub>4</sub>	T <sub>5</sub>
TNF- $\alpha$	LDF 组	15	32.15±8.21	65.77±12.06**	45.78±9.25	35.55±7.61	34.79±7.96
	C 组	15	33.96±7.97	64.92±12.54**	44.79±9.11	34.86±7.75	34.98±7.21
IL-1 $\beta$	LDF 组	15	37.08±8.12	71.26±11.09**	47.28±9.92	39.05±7.92	38.24±6.97
	C 组	15	36.96±8.01	72.45±11.35**	46.37±9.27	38.56±9.28	39.01±6.55
IL-6	LDF 组	15	55.32±10.05	61.75±12.07	110.66±25.34*	155.77±39.22*#	196.91±41.23*#
	C 组	15	56.17±10.34	62.06±11.97	112.56±27.06*	132.45±38.63*	157.02±40.19*
IL-8	LDF 组	15	60.26±11.72	65.37±12.31	125.61±27.04*	179.31±44.03*#	206.55±45.22*#
	C 组	15	60.35±12.03	67.94±13.02	128.93±30.12*	155.87±37.28*	176.41±38.29*
IL-10	LDF 组	15	32.22±8.76	38.46±8.25	85.24±22.37*	100.28±25.03* $\Delta$	128.25±28.31* $\Delta$
	C 组	15	31.98±7.95	39.15±8.31	82.29±23.52*	132.72±29.06*	149.28±39.75*

\*:  $P < 0.01$ , \*\*:  $P < 0.05$ ; 与 T<sub>1</sub> 时比较; #:  $P < 0.01$ ,  $\Delta$ :  $P < 0.05$ , 与 C 组同时间点比较。

IL-10 浓度(pg/mL), 操作步骤按产品使用说明书进行, 敏感度小于 0.5 pg/mL。

**1.6 统计学处理** 所得计量资料均以  $\bar{x} \pm s$  表示, 采用 SPSS12.0 统计软件进行统计分析, 组内比较采用配对  $t$  检验, 组间比较采用方差分析。

## 2 结 果

两组患者术中一般情况(年龄、体质量、手术与麻醉时间、术中出血量及自体血回输量、补液量)比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ), 见表 1。两组 T<sub>2</sub> 时 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  浓度高于 T<sub>1</sub> 时( $P < 0.05$ ), 两组 T<sub>3</sub>、T<sub>4</sub>、T<sub>5</sub> 时 IL-6、IL-8、IL-10 浓度高于 T<sub>1</sub> 时( $P < 0.01$ ), LDF 组 T<sub>4</sub>、T<sub>5</sub> 时 IL-10 浓度低于 C 组( $P < 0.05$ ), LDF 组 T<sub>4</sub>、T<sub>5</sub> 时 IL-6、IL-8 浓度高于 C 组时( $P < 0.01$ ), 见表 2。

## 3 讨 论

术中自体血液回吸收可以节约血源, 减少异体输血所造成的过敏反应, 肝炎、艾滋病病毒感染等并发症, 所以, 近年来在临床上广泛应用, 特别对于术中出血较多的骨科大手术(如髋关节置换术等)有明显的临床意义<sup>[4-5]</sup>。但近年来有研究表明, 自体输血与异体输血相比, 同样对患者机体免疫系统具有免疫抑制作用, 可表现为回吸收红细胞免疫功能与术前相比受到一定程度的免疫抑制<sup>[6-7]</sup>, 自然杀伤(NK)细胞功能降低<sup>[8]</sup>, 另外, 回吸收血中除浓缩的红细胞外还含有一定数量的白细胞, 这些白细胞为经过自体血回吸收机后被激活的白细胞, 可以分泌大量的炎性细胞因子, 回输患者体内后对术后免疫功能状态可能会造成一定影响<sup>[9-11]</sup>, 现在解决方法之一是回输自体血时应用白细胞滤器滤除白细胞, 以尽量消除一些与其相关的不良反应, 但白细胞滤器应用后对患者免疫功能是否有调节作用则研究较少。

手术创伤所引起的免疫反应较为复杂, 有研究表明白细胞

活化释放大量细胞因子参与炎症反应是一个主要变化过程, 细胞因子按其功能可以分为促炎细胞因子(主要是 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-8)和抗炎细胞因子(主要是 IL-10), 在炎症反应中它们主要来自单核巨噬细胞, 可以相互作用, 调理多种效应细胞(如中性粒细胞)参与炎症反应, 促进伤口愈合, 术后一定量的促炎细胞因子分泌增加是正常免疫反应的需要<sup>[12]</sup>。

本研究结果显示, 在麻醉前、术中及术毕两组促炎与抗炎细胞因子的变化大体一致, 说明患者一般情况(年龄、体质量、麻醉与手术时间、术中出血量、术中输液量)及手术方式对细胞因子的影响差异无统计学意义。其中, TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  是术中变化最早的细胞因子, 大量研究表明它们是炎症反应“启动因子”, 它们分泌增加可以进一步激活 IL-6、IL-8 分泌增加, 而后者是与手术创伤有关的主要炎症反应因子, 可以促进中性粒细胞等参与消除伤口细菌、促进愈合等免疫反应过程<sup>[13]</sup>, 本研究结果与此类似。两组术中均进行了自体血回输, 回输红细胞于术毕回输患者体内, 术后 1、2 h IL-10 分泌量均增加了, 但 LDF 组 IL-10 浓度较 C 组低, 而相应 IL-6 和 IL-8 浓度较 C 组高。IL-10 是机体中主要的抗炎细胞因子, IL-6、IL-8 分泌增多可以促使 IL-10 分泌增加, 而 IL-10 分泌增加可以抑制 IL-6、IL-8 的分泌, IL-10 分泌量增加可以抑制中性粒细胞、淋巴细胞的活性, 减轻炎症反应。有研究表明术后 IL-10 分泌增多提示发生了免疫抑制, 并且与免疫抑制程度呈正相关<sup>[14-15]</sup>。分析 LDF 组与 C 组术后促炎-抗炎细胞因子分泌浓度的差异, 可能与以下原因有关: 术中自体血回输后, 在自体血回吸收机中经过过滤、离心分离、洗涤等过程, 白细胞受到外环境剧烈刺激而产生免疫抑制, 而自体血回吸收机在离心分离红细胞过程中可以去除大部分白细胞, 但仍会有部分白细胞残留而进入储血袋中回输患者体内, 这部分白细胞由于免疫抑制可以表现为 IL-10 分泌增加, 从而抑制 IL-6、IL-8 的分泌。白细胞滤器的种类很

多,白细胞滤除率几乎都在 90%以上。本研究中所用白细胞滤器为美国 PALL 公司新一代 SQ40SK 型滤器,其由聚脂无纺布制成的 40  $\mu\text{m}$  超微滤过孔径可以有效滤除脂肪滴、骨质碎屑、白细胞,以及白细胞与血小板形成的微血栓等物质,净化回输红细胞质量<sup>[16-17]</sup>,所以,LDF 组加用白细胞滤器后,几乎彻底阻挡白细胞再次进入患者机体,减少了免疫抑制因子 IL-10 分泌,而相应提高了 IL-6 和 IL-8 的含量,减轻了术后免疫抑制程度。

#### 参考文献:

[1] 邓梅英,陈宇,王锦恒,等. 6 036 例输血患者不规则抗体检测临床观察[J]. 重庆医学,2010,39(7):839-840.

[2] 张东,赵砚丽,刘新平,等. 患者术中回收血与麻醉前外周血红细胞携氧及供氧能力和生存能力的比较[J]. 中华麻醉学杂志,2008,28(1):57-58.

[3] 杜彦茹,张东,赵砚丽. 术中自体血液回收对红细胞 pH 值和电解质的影响[J]. 中国全科医学,2007,10(24):2049-2051.

[4] 李艳萍,王旭东,钟亮. 术中回收自体输血的应用[J]. 国外医学麻醉学与复苏学分册,2001,22(2):197-198.

[5] 孙艳红,王俊科,刘海梅. 自体血回输及异体输血前后患者血浆 IL-2 及 IL-6 的变化[J]. 临床麻醉学杂志,2002,18(4):195-198.

[6] Abe H, Ikebuchi K, Shimbo M, et al. Hypotensive reactions with a white cell-reduction filter: activation of kallikrein-kinin cascade in a patient[J]. Transfusion,1998,38(7):411-416.

[7] Webb D, altenbern C, Tritt C, et al. Pulmonary implications of filtering various mediators of morbidity found in salvaged blood[J]. J Extra-corp Technol,1998,30(1):108-112.

[8] 蔡诚毅,马武华,沙雪帆,等. 川芎嗪在自体血回输对 NK 细胞功能的影响[J]. 中国临床实用医学,2009,3(2):78-79.

[9] Sandoval S, Alrawi S, Samee M, et al. A cytokine analysis of the effect of cell saver on blood in coronary bypass surgery[J]. Heart Surg Forum,2001,4(11):113-117.

[10] 张玉美,顾卫东,沈丽娜,等. 术中自体血回收对红细胞免疫功能及其免疫受体的影响[J]. 国际麻醉学与复苏学杂志,2008,29(3):307-309.

[11] Helen WT, Armstrong MA. Cytokine blance and immune suppressive changes at cardiac surgery[J]. Br J Anaesthesia,1995,75(3):724-733.

[12] 孙艳红,王俊科,傅文. 全麻手术中自体血液回输和异体输血患者 T 淋巴细胞及其亚群改变的比较[J]. 中华麻醉学杂志,2000,20(5):721-723.

[13] 何文一,覃数,张冬颖. 白细胞介素 8 与冠状动脉病变程度的关系[J]. 重庆医学,2010,39(1):31-33.

[14] Tietz M. Immune responsiveness in orthopedic surgery patients after transfusion of autologous or allergenic blood[J]. Transfusion,1995,35(5):378-383.

[15] 伍虹飞,李水清,王军. 自体血液回输对脊柱手术患者术后 IL-6、IFN- $\gamma$  和 TNF- $\alpha$  的影响[J]. 中华微创外科杂志,2008,8(9):837-840.

[16] MH Cross. Cell salvage and leucodepletion[J]. Perfusion,2001,16(1):61-66.

[17] 金明珠,万年青,刘丽丹,等. 白细胞滤器滤除血液中白细胞的时效性及临床意义[J]. 临床血液学杂志:输血与检验版,2007,4(6):121-123.

(收稿日期:2010-10-16 修回日期:2010-11-17)

(上接第 1208 页)

少原因[J]. 当代医学,2006,8(5):78-80.

[6] Norberg B, Nilsson TK. Platelet clumping in Ph-negative myeloproliferative syndromes[J]. Acta Med Scand,1987,222:459-464.

[7] 柳光芬. 两种血液分析仪血小板测定结果比较[J]. 重庆医学,2009,38(16):2059-2060.

[8] 钟伟萍,姜艳丽,宋丽妍. 血细胞分析时假性血小板减少的原因及处理[J]. 医学检验与临床,2008,5(2):131-132.

[9] 刑辉,郭学霖. 光学法血小板计数在血小板计数中的应用评估[J]. 现代医学检验杂志,2007,3(22):70-71.

[10] 马春芳,王剑超,陈雪静. 利用血液分析仪警示信息筛查 EDTA 依赖性假性血小板减少症[J]. 临床检验杂志,2010,28(3):181-183.

[11] 姚新洁,张长庚,严香菊,等. 乙二胺四乙酸盐依赖性血小板假性减少症与获得性自身免疫的关系[J]. 临床血液学杂志,2009,22(12):151-153.

[12] Dabadie M, Valli N, Jacobin MJ, et al. Characterisation, cloning and sequencing of a conformation-dependent monoclonal antibody to the alpha-2b bera3 integrin; interest for use in thrombus detection[J]. Platelets,2001,12:395-405.

[13] 熊立凡,刘成玉. 临床检验基础[M]. 4 版. 北京:人民卫生出版社,2007:67-69.

[14] 李水红,钟步云. 血细胞分析仪测定血小板结果偏低的原因及纠正方法[J]. 临床检验杂志,2001,19(2):112-113.

[15] Bragagni G, Bianconcini G, Brogna R, et al. Pseudot hrombocytopenia; clinical comment on 37 cases [J]. Minerva MED,2001,92(1):13-15.

[16] 吕国全,顾耀松,罗燕玲. 影响血细胞分析仪检测血小板的特点分析[J]. 临床工程,2009,24(8):118-119.

(收稿日期:2010-10-19 修回日期:2010-11-17)