

EFFECTS OF MEDIA WITH DIFFERENT GLYCERIN CONCENTRATIONS ON THE DEFORMATION CAPACITY OF RABBIT RED BLOOD CELLS (*Oryctolagus cuniculus*) IN TEST TUBE

Nguyen Thi Hong Nhung*, Phan Thi Phuong Thanh, Nguyen Kim Trung

University of Medicine and Pharmacy at Ho Chi Minh City

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 18/8/2024 Revised: 06/02/2025 Published: 07/02/2025	In this study, we investigated the factors causing red blood cell storage damage including reduced red blood cell deformability and the percentage of red blood cell volume in the blood. To examine the reduction in red blood cell deformability, we calculated the percentage of abnormal red blood cells and the percentage of packed cell volume in the blood. The average abnormal red blood cell rate in rabbits at glycerin 37% was the lowest compared to the glycerin of 30%, 43% and 50% ($p < 0.05$). The average percentage of packed cell volume in glycerin 37% was 12.0 ± 2.6 , higher than that in glycerin 50% at 9.3 ± 3.9 ($p < 0.05$). Rabbit red blood cells in medium with glycerin 37% had the lowest percentage of abnormal red blood cells, the average percentage of packed cell volume in the blood was greater than 50% ($p < 0.05$). At high concentrations of glycerin (40%, 50%) there was an increase in red blood cell enlargement combined with a decrease in the percentage of packed cell volume in the blood, indicating hemolysis at these concentrations.
KEYWORDS Rabbit red blood cell Red blood cell storage Glycerin Red blood cell deformability The percentage of packed cell volume	

ẢNH HƯỞNG CỦA MÔI TRƯỜNG CÓ NỒNG ĐỘ GLYCERIN KHÁC NHAU ĐẾN KHẢ NĂNG BIẾN DẠNG CỦA TẾ BÀO HỒNG CẦU THỎ (*Oryctolagus cuniculus*) TRONG ống NGHIỆM

Nguyễn Thị Hồng Nhung*, Phan Thị Phương Thanh, Nguyễn Kim Trung

Trường Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 18/8/2024 Ngày hoàn thiện: 06/02/2025 Ngày đăng: 07/02/2025	Trong nghiên cứu này, chúng tôi tìm hiểu các yếu tố gây nên tổn thương lưu trữ hồng cầu bao gồm giảm sự biến dạng hồng cầu và tỷ lệ phần trăm thể tích hồng cầu trong máu. Để khảo sát sự giảm biến dạng hồng cầu, chúng tôi tính tỷ lệ phần trăm hồng cầu bất thường và tỷ lệ phần trăm thể tích hồng cầu trong máu. Trung bình tỷ lệ bất thường hồng cầu thỏ ở nồng độ glycerin 37% thấp nhất so với các nồng độ 30%, 43% và 50% ($p < 0,05$). Trung bình tỷ lệ phần trăm thể tích hồng cầu thỏ trong môi trường glycerin 37% là $12,0 \pm 2,6$ cao hơn so với hồng cầu trong môi trường glycerin 50% là $9,3 \pm 3,9$ ($p < 0,05$). Hồng cầu thỏ trong môi trường có nồng độ glycerin 37% có tỷ lệ hồng cầu bất thường thấp nhất, tỷ lệ phần trăm thể tích hồng cầu trong máu trung bình lớn hơn 50% ($p < 0,05$). Ở nồng độ glycerin cao (40%, 50%) xuất hiện hồng cầu bị phình to kết hợp với tỷ lệ phần trăm thể tích hồng cầu trong máu giảm chứng tỏ có tan máu ở những nồng độ này.
TỪ KHÓA Hồng cầu thỏ Bảo quản hồng cầu Glycerin Biến dạng hồng cầu Tỷ lệ phần trăm thể tích hồng cầu trong máu	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.10969>

* Corresponding author. Email: nguyenthihongnhung@ump.edu.vn

1. Đặt vấn đề

Glycerin là một chất có tính thẩm thấu cao, hòa tan trong lipid và có thể đi qua màng tế bào bằng cách khuếch tán đơn giản, theo gradient nồng độ [1]. Trong một nghiên cứu trước đây, việc sử dụng công thức dựa trên glycerin bằng đường uống ở cừu cái gây ra sự gia tăng đáng kể nồng độ glycerin trong tuần hoàn (từ 14,19 đến 289,8 mg/dL) và độ thẩm thấu huyết tương (từ 0,316 đến 0,378 osmol/kg) [1]. Những thay đổi này có liên quan đến sự thay đổi đáng kể về chỉ số hồng cầu bao gồm thay đổi hình dạng (tăng thể tích hồng cầu và độ rộng phân bố). Bên cạnh đó, glycerin còn là chất bảo vệ lạnh hấp dẫn đối với hồng cầu vì nó tương đối không độc ở nồng độ cao và dễ dàng thấm vào tế bào ở 37°C [2]. Quá trình bổ sung glycerin vào hồng cầu đóng gói (glycerin hóa) được thực hiện bằng cách thêm glycerin với một nồng độ nhất định và sau đó để lạnh. Glycerol có thể đi qua màng tế bào và đi vào tế bào chất, sau đó nó sẽ tạo ra một môi trường siêu thẩm thấu để ngăn ngừa giải phóng chất lỏng ra khỏi tế bào. Một số nghiên cứu cho thấy rằng HC khi được bảo quản ở nhiệt độ từ 1-6°C với sự có mặt glycerin xuất hiện những “tổn thương lưu trữ” và điều này ít thấy khi bảo quản lạnh đông HC [1]. Hơn nữa, vấn đề tổn thương lưu trữ được xem xét đồng thời từ quan điểm hoàn toàn thực tế (kiểm soát chất lượng của các đơn vị hồng cầu đóng gói), tối ưu hóa quy trình lưu trữ... và quan điểm khoa học (xác định các cơ chế đằng sau hiện tượng này,...).

Trong thập kỷ hiện tại, số lượng công trình dành cho việc nghiên cứu những vấn đề tổn thương lưu trữ HC, trong đó nghiên cứu những thay đổi về khả năng biến dạng của hồng cầu trong quá trình bảo quản và xác định các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình này đã tăng lên đáng kể [3]-[5]. Vai trò sinh lý chính của tế bào HC là cung cấp oxy cho các mô. Để thực hiện nhiệm vụ này, một trong những đặc tính quan trọng của HC là khả năng biến dạng để thích nghi với các điều kiện dòng chảy trong lưu thông máu thay đổi động để giảm thiểu khả năng chống lại dòng chảy của chúng. Điều này đặc biệt quan trọng khi HC theo dòng chảy đi qua các mao mạch, vốn hẹp hơn so với hồng cầu. Giảm khả năng biến dạng (tăng độ cứng) dẫn đến suy giảm tưới máu và phân phối oxy đến các mô ngoại vi [6]. Do đó, giảm khả năng biến dạng HC đã được công nhận là một chỉ số nhạy cảm về chức năng của HC. Giảm khả năng biến dạng của HC là thước đo tiềm năng về khả năng sống của tế bào chịu những thay đổi về hình thái, cấu trúc và chức năng, đồng thời cung cấp những hiểu biết có giá trị về sinh lý, sinh học tế bào và sinh học trong điều kiện sinh lý bệnh. Có nhiều phương pháp và kỹ thuật hiện đại khác nhau đã được sử dụng để nghiên cứu khả năng biến dạng của HC có thể được tìm thấy [7]. Giảm khả năng biến dạng HC biểu hiện bằng sự biến đổi hình dạng tế bào, biến đổi màng tế bào hoặc sự biến đổi thành phần tế bào chất. Các quá trình trên có thể xảy ra do môi trường lưu giữ hồng cầu, các tình trạng bệnh lý khác nhau hoặc là một phần của quá trình lão hóa bình thường của HC (*in vitro* hoặc *in vivo*). Khi khả năng biến dạng giảm, HC có thể xuất hiện các hình thái bất thường như: tế bào gai, tế bào hình elip, tế bào sừng, tế bào hình cầu. Với các hình dạng thay đổi này, thể tích của HC có thể thay đổi hay không. Điều này có thể nhận biết được khi tính tỷ lệ phần trăm thể tích HC trong máu (packed cell volume, PCV hay giá trị hematocrit) vì giá trị PCV phụ thuộc vào số lượng và kích thước của HC [8].

Từ các nghiên cứu trước đây và trong điều kiện phòng thí nghiệm nhỏ với trang thiết bị đơn giản, chúng tôi hy vọng vẫn có thể nhận diện được những tổn thương lưu trữ HC trong môi trường glycerin ở 4°C bằng cách xác định sự thay đổi số lượng HC bình thường, khả năng biến dạng HC và tỷ lệ phần trăm thể tích HC trong máu. Trong đó, số lượng hồng cầu có thể được đại diện bằng nồng độ hồng cầu, hematocrit, hoặc thể tích khối hồng cầu [8].

2. Phương pháp nghiên cứu

Đây là loại nghiên cứu thử nghiệm. Trong nghiên cứu này, hồng cầu thỏ trong ống nghiệm có chất chống đông được bổ sung glycerin với các nồng độ khác nhau, sau đó HC được bảo quản lạnh ở 4°C theo thời gian. Sau đó các mẫu được đem đi đo một vài chỉ số HC.

Lấy máu và chuẩn bị mẫu

Các con thỏ được dùng trong thí nghiệm này là các con thỏ nhà (*Oryctolagus cuniculus*) được cung cấp bởi Viện Y Tế Công cộng Thành phố Hồ Chí Minh (TP.HCM). Các con thỏ này có độ tuổi từ 15-24 tháng tuổi, được nuôi trong chuồng gỗ (80 cm x 70 cm x 65 cm). Chúng tôi tiến hành lấy máu tại tĩnh mạch rìa tai hay động mạch nhĩ thất trung tâm [9]. Số lượng máu thỏ được lấy mỗi lần để thí nghiệm khoảng 1 lần/con/ngày, mỗi lần khoảng 1 ml. Tiêu chuẩn nhận vào: số lượng tế bào HC cho mỗi mẫu thí nghiệm phải đạt 5,46-7,94 ($\times 10^6/\mu\text{L}$) [8]. Mẫu máu được thu thập vào một ống có chất chống đông máu là EDTA. Các thông số huyết học được đánh giá tốt nhất trên một mẫu máu được lấy mới và không bị tan máu hoặc vón cục [9].

Quan sát sự biến đổi sự thay đổi khả năng biến dạng của HC

Chúng tôi tiến hành khảo sát phản ứng của HC theo thời gian (1-21 ngày) trong các môi trường có nồng độ glycerin (V/V) lần lượt là 30%, 37%, 43%, 50% và nhiệt độ thấp (4°C). Ở mỗi nồng độ, chúng tôi khảo sát sự thay đổi khả năng biến dạng của HC bằng cách xác định tỷ lệ phần trăm tế bào bất thường bằng phương pháp đếm tế bào và tỷ lệ phần trăm thể tích HC trong máu bằng cách đo thông số Hct. Các thí nghiệm được lặp lại 5 lần cho mỗi một nồng độ glycerin.

Thiết bị để ủ máu ở nhiệt độ 4°C là tủ lạnh Sharp SJ-16V-SL.

Phương pháp đếm tế bào HC trên kính hiển vi

Xác định tỷ lệ tế bào bất thường bằng cách đếm tổng số lượng HC và số lượng HC bất thường (tế bào gai, tế bào hình elip, tế bào sừng, tế bào hình cầu) có trong 1 mm^3 máu thỏ bằng buồng đếm HC Neubauer (Xuất xứ: Hirschmann). Các mẫu cần đếm được pha loãng sao cho trong mỗi ô nhỏ của buồng đếm có khoảng 5-10 tế bào.

Gọi A là số lượng tế bào đếm được trong 80 ô nhỏ

Số lượng tế bào trong 1 mm^3 máu thỏ được tính theo công thức: [10]

$$A \times 4000 \times \text{Độ pha loãng} / 5 \times 16$$

Tỷ lệ phần trăm HC bất thường = Số lượng HC bất thường/tổng số lượng tế bào HC $\times 100\%$

Kính hiển vi được sử dụng là kính hiển vi Olympus cx21

Phương pháp xác định tỷ lệ phần trăm thể tích HC trong máu (PCV)

Phương pháp xác định tỷ lệ phần trăm thể tích HC trong máu (PCV) hay Hematocrit (Hct) được xác định bằng cách dùng phương pháp đo thể tích hồng cầu (microhematocrit method). Thể tích khối hồng cầu là thể tích mà khối hồng cầu chiếm chỗ so với lượng máu toàn phần đã biết, khi máu được chống đông (EDTA) và dùng lực ly tâm (tốc độ 10.000 vòng/phút trong 5 phút) làm HC lắng xuống thành khối [8].

Ống nghiệm có chứa sẵn EDTA do Công ty Cổ phần vật tư Y Tế Hồng Thiện Mỹ cung cấp

Công thức tính PCV: [8]

PCV = chiều cao cột tế bào hồng cầu/chiều cao máu toàn phần $\times 100\%$

Thiết bị được sử dụng ở đây là máy ly tâm mao quản HERMLE.

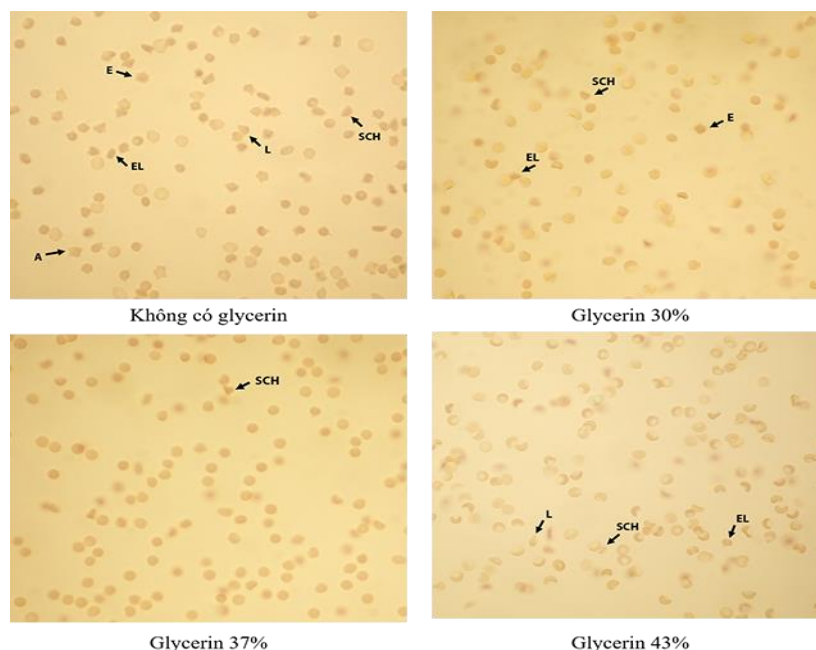
Xử lý số liệu thống kê

Sử dụng phần mềm R để xác định trung bình tỷ lệ HC bất thường và trung bình PCV theo các nồng độ glycerin. Dùng kiểm định T-test bất cặp so sánh trung bình tỷ lệ hồng cầu bất thường và PCV giữa các nồng độ. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Tỷ lệ phần trăm hồng cầu bất thường

Chúng tôi tiến hành đánh giá sơ bộ việc giảm khả năng biến dạng HC thỏ thông qua quan sát các hình thái HC thỏ xuất hiện khi máu thỏ được để trong môi trường không có glycerin và có glycerin. Trong nghiên cứu này, chúng tôi nhận thấy có sự khác biệt về hình thái tế bào khi ở môi trường không có glycerin và có glycerin với nồng độ glycerin là 37% và 43%.



Hình 1. Hình thái hồng cầu thô bình thường và biến dạng được quan sát ở kính hiển vi có độ phóng đại x40 (A- Tế bào gai; E- Tế bào da gai; EL- Tế bào hình elip; L- Tế bào nước mắt; SCH- Tế bào mảnh vụn)

Dựa theo [11], chúng tôi nhận thấy khi không bổ sung glycerin, tất cả HC thô đều có hình dạng bất thường với đầy đủ các dạng (Hình 1). Trong môi trường glycerin 30%, ít tế bào HC bình thường, không có tế bào dạng gai (A hoặc E) nhưng có xuất hiện nhiều tế bào dạng SCH. Trong môi trường glycerin 37%, đa số HC bình thường, chỉ có lác đác một vài tế bào dạng SCH. Ở môi trường glycerin 43%, đa số các HC bất thường nhưng không có tế bào gai và đặc biệt có xuất hiện những tế bào HC bị phình to (Hình 1). Ở môi trường glycerin 50% có kết quả tương tự như ở môi trường 43%. Bằng các quan sát hình thái bất thường của HC thô, chúng tôi có thể sơ bộ nhận thấy rằng ở nồng độ glycerin 37%, số lượng các loại HC biến dạng ở mức thấp nhất trong số 4 loại nồng độ glycerin.

Tuy nhiên trong nghiên cứu này, để khẳng định sự biến đổi hình thái HC khi ở nồng độ glycerin 37% là thấp nhất, chúng tôi tiến hành so sánh tỷ lệ hồng cầu thô bất thường và tỷ lệ phần trăm thể tích HC trong máu ở nồng độ glycerin 37% với các nồng độ glycerin 30%, glycerin 43%, glycerin 50% và giữa các nồng độ với nhau (Bảng 1 và Bảng 2). Mỗi một nồng độ glycerin, chúng tôi khảo sát theo 5 cột mốc thời gian (ngày thứ 1, 4, 7, 14, 21).

Bảng 1. So sánh tỷ lệ hồng cầu thô bất thường theo các nồng độ glycerin

Nồng độ	Số ngày đánh giá	Trung bình $\pm$ Độ lệch chuẩn	Nhỏ nhất - Lớn nhất	p*	KTC95%
Glycerin 37%	5	13,71 $\pm$ 7,52	4,29-23,42		4,37-23,05
Glycerin 30%	5	23,01 $\pm$ 11,73	9,94-37,41	0,023	8,44-37,57
Glycerin 43%	5	22,57 $\pm$ 13,13	8,76-39,6	0,038	6,26-38,87
Glycerin 50%	5	24,70 $\pm$ 13,25	11,73-42,38	0,020	8,23-41,17

Ghi chú: *Kiểm định T-test bất cặp so sánh trung bình tỉ lệ hồng cầu bất thường giữa các nồng độ 30%, 43%, 50% với 37%.

Trung bình tỉ lệ HC bất thường ở cả 5 ngày trong môi trường glycerin 37% là $13,7 \pm 7,5$ thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm thô dùng glycerin 30% (với tỉ lệ trung bình là $23,0 \pm 11,7$), $p < 0,05$.

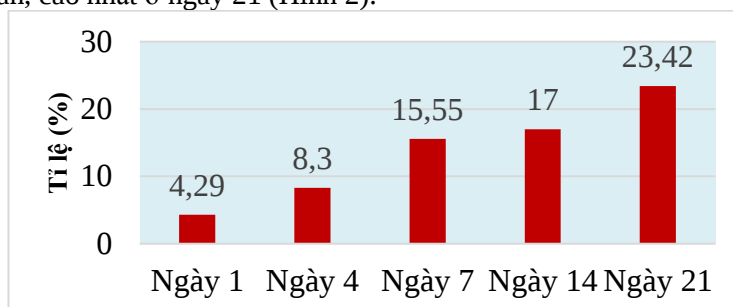
Trung bình tỉ lệ HC bất thường ở cả 5 ngày trong môi trường glycerin 37% là $13,7 \pm 7,5$ thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm thô dùng glycerin 43% (với tỉ lệ trung bình là $22,6 \pm 13,1$),

$p < 0,05$. Trung bình tỉ lệ HC bất thường ở 5 ngày của HC trong môi trường glycerin 37% là $13,7 \pm 7,5$ thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm thờ dùng glycerin 50% (với tỉ lệ trung bình là $24,7 \pm 5,9$), $p < 0,05$.

Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa tỉ lệ HC bất thường trung bình ở 5 ngày trong môi trường glycerin 30% với môi trường glycerin 43%, $p > 0,05$. Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa tỉ lệ HC bất thường trung bình ở 5 ngày trong môi trường glycerin 30% với môi trường glycerin 50%, $p > 0,05$. Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa tỉ lệ HC bất thường trung bình ở 5 ngày trong môi trường glycerin 43% với môi trường glycerin 50%, $p > 0,05$.

Kết quả tại bảng 1 cho thấy trung bình tỉ lệ bất thường hồng cầu thờ ở nồng độ glycerin 37% thấp nhất so với các nồng độ 30%, 43% và 50%. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

Tuy nhiên, trong môi trường có bổ sung glycerin 37%, tỉ lệ hồng cầu thờ bất thường có sự gia tăng theo thời gian, cao nhất ở ngày 21 (Hình 2).



Hình 2. Tỉ lệ hồng cầu thờ bất thường theo các ngày ở nồng độ glycerin 37%

Sự giảm khả năng biến dạng của HC đồng nghĩa với sự thay đổi hình dạng tế bào. Tính biến dạng của hồng cầu chủ yếu bị ảnh hưởng bởi cơ học và các yếu tố hình học của tế bào như diện tích và thể tích bề mặt tế bào, độ đàn hồi và độ nhớt của màng tế bào, thể tích và độ nhớt của bào tương [3]. Hơn nữa, đây còn có thể là một phần của quá trình lão hóa hồng cầu bình thường (*in vitro* hoặc *in vivo*) [3]. Một nghiên cứu đã sử dụng glycerin trong bảo quản lạnh HC (-10 đến -60°C) với hai loại nồng độ: glycerin thấp (nồng độ từ 15–20%), glycerin cao (nồng độ từ 40%–50%) [12]. Trong nghiên cứu này, chúng tôi cũng sử dụng glycerin là chất để bảo quản HC ở -4°C với 4 nồng độ lần lượt là 30%, 37%, 43% và 50% để xem xét phản ứng của HC theo thời gian. Các mốc thời gian trong nghiên cứu này là ngày 1, 4, 7, 14, 21 tương tự như các mốc thời gian trong nghiên cứu về số lượng tế bào và đặc tính tế bào của các tế bào hồng cầu suy giảm như thế nào trong thời gian lưu trữ [13].

Trước khi cho tiếp xúc với glycerin, HC thờ được quan sát dưới kính hiển vi (KHV) quang học để đảm bảo là HC bình thường, có hình đĩa lõm hai mặt. Do vậy, những hình dạng HC khác xuất hiện được xem là HC bất thường hay HC giảm khả năng biến dạng.

Ban đầu chúng tôi quan sát và ghi nhận hình thái HC thờ khi máu không có glycerin được để 4°C trong 1 ngày thì thấy HC có đầy đủ các kiểu biến dạng. Khi bổ sung glycerin với các nồng độ khác nhau, chúng tôi nhận thấy rằng ở tất cả các nồng độ glycerin không có xuất hiện tế bào dạng gai. Điều này cũng đúng với nhận định của một vài nghiên cứu cho thấy glycerin được sử dụng để bảo vệ các tế bào hồng cầu khỏi bị hư hại, bằng cách chống lại sự mất nước của tế bào và duy trì áp lực thẩm thấu [14]. Glycerin cũng làm giảm điểm đóng băng của hệ thống, điều này có thể giúp giảm thiểu sự rò rỉ các thành phần bên trong tế bào ra ngoại bào [14]. Tiếp tục quan sát, chúng tôi nhận thấy rằng ở nồng độ glycerin 37%, tỷ lệ HC bất thường là thấp nhất ($p < 0,05$). Điều này cũng trùng khớp với hình dạng của HC thờ mà chúng tôi quan sát được trong môi trường glycerin 37% là bình thường nhất; còn ở các nồng độ cao như glycerin 43% và glycerin 50%, bên cạnh có nhiều tế bào bất thường còn xuất hiện những HC bị phình to. Một nghiên cứu phản ứng của HC cửu khi tiếp xúc với glycerin cho thấy rằng độ thẩm thấu của môi trường tăng tỷ lệ thuận với nồng độ glycerin. Do đó, khi nồng độ glycerin môi trường tăng cao, glycerin đi

vào tế bào HC gây ra hiện tượng hút nước làm xuất hiện một số HC bị phình. Điều này làm cho mật độ tế bào giảm, tỷ lệ HC bất thường tăng ở nồng độ glycerin 40% và glycerin 50%. Mặc dù ở nồng độ glycerin 37% có tỷ lệ HC bất thường là thấp nhất nhưng theo thời gian lưu trữ tỷ lệ HC bất thường tăng lên. Điều này cũng phù hợp với một số lượng lớn các nghiên cứu được công bố, bất kể phương pháp đo nào, việc lưu trữ HC đều làm giảm độ biến dạng trong ống nghiệm [6].

3.2. Tỷ lệ phần trăm thể tích hồng cầu trong máu

Khi ở nồng độ glycerin 37%, tỷ lệ HC bất thường là thấp nhất so với các nồng độ còn lại. Điều này đặt ra câu hỏi là liệu rằng sự xuất hiện các hình dạng bất thường có liên quan gì đến tỷ lệ phần trăm thể tích HC trong máu không. Để giải thích đầy đủ nhất về sự thay đổi của hồng cầu cần phải phối hợp thêm các thông số khác của huyết đồ như PCV hay Hematocrit [8]. Do đó, chúng tôi tiến hành xác định thêm chỉ số PCV của máu thử theo các nồng độ glycerin và thời gian.

Bảng 2. Giá trị PCV ở máu thử theo các nồng độ glycerin (Đơn vị:%)

Nồng độ	Số ngày đánh giá	Trung bình $\pm$ Độ lệch chuẩn	Nhỏ nhất - Lớn nhất
Glycerin 30%	5	$10,87 \pm 4,08$	6,28-15,04
Glycerin 37%	5	$12,05 \pm 2,65$	8,93-14,91
Glycerin 43%	5	$10,5 \pm 4,02$	6-14,99
Glycerin 50%	5	$9,29 \pm 3,86$	5,51-14,88

Trung bình PCV của máu thử ở các lần đo trong môi trường Glycerin 30% là $10,9 \pm 4,1$ thấp hơn so với nhóm thử dùng Glycerin 37% là $12,0 \pm 2,6$. Tuy nhiên, sự khác biệt chưa có ý nghĩa về mặt thống kê ($p > 0,05$).

Trung bình PCV của máu thử ở các lần đo trong môi trường Glycerin 30% là $10,9 \pm 4,1$ cao hơn so với nhóm thử dùng Glycerin 43% là $10,5 \pm 4,0$. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Trung bình PCV của máu thử ở các lần đo trong môi trường Glycerin 30% là $10,9 \pm 4,1$ cao hơn so với nhóm thử dùng Glycerin 50% là $9,3 \pm 3,9$. Tuy nhiên, sự khác biệt chưa có ý nghĩa về mặt thống kê ($p > 0,05$).

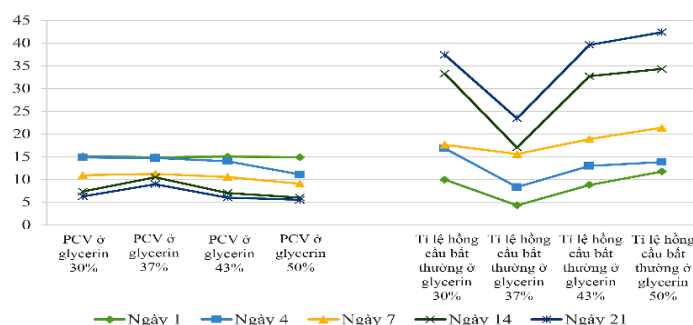
Trung bình PCV của máu thử ở các lần đo trong môi trường Glycerin 37% là $12,0 \pm 2,6$ cao hơn so với nhóm thử dùng Glycerin 43% là $10,5 \pm 4,0$. Tuy nhiên, sự khác biệt chưa có ý nghĩa về mặt thống kê ($p > 0,05$).

Trung bình PCV của máu thử ở các lần đo trong môi trường Glycerin 37% là $12,0 \pm 2,6$ cao hơn so với nhóm thử dùng Glycerin 50% là $9,3 \pm 3,9$. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Trung bình PCV của máu thử ở các lần đo trong môi trường Glycerin 43% là $10,5 \pm 4,0$ cao hơn so với nhóm thử dùng Glycerin 50% là $9,3 \pm 3,9$. Tuy nhiên, sự khác biệt chưa có ý nghĩa về mặt thống kê ($p > 0,05$).

Phối hợp các thay đổi về tỷ lệ tế bào HC bất thường với PCV (Hình 3), chúng tôi nhận thấy:

Ở mỗi nồng độ, PCV giảm dần và tỉ lệ hồng cầu bất thường tăng theo thời gian. Ở ngày thứ nhất, PCV của cả 3 nồng độ không có biến động nhiều. PCV thấp nhất ở glycerin 50% ở ngày thứ 21. PCV ở glycerin 37% cao nhất ở khoảng thời gian từ ngày 14 đến ngày 21.



Hình 3. Trung bình PCV và tỉ lệ hồng cầu bất thường theo các nồng độ ở 5 ngày theo dõi

Hình thái tế bào, cùng với tỷ lệ bề mặt hoặc thể tích, độ đàn hồi của màng và độ nhớt tế bào chất, phải được coi là những yếu tố chính ảnh hưởng đến phản ứng của hồng cầu trước các lực biến dạng [6]. Hầu hết các đặc điểm này thay đổi ở giai đoạn này hay giai đoạn khác trong quá trình bảo quản lạnh HC, làm tăng độ cứng của tế bào. Trong số các yếu tố chính ảnh hưởng đến sự biến dạng của HC cùng với điều kiện phòng thí nghiệm của mình, chúng tôi cũng muốn tìm hiểu mối quan hệ nhân quả giữa thể tích HC trong quá trình bảo quản với khả năng biến dạng của HC. Một số nghiên cứu cũng đã kết luận rằng thời gian bảo quản hồng cầu đông lạnh có ảnh hưởng đến giá trị chỉ số hồng cầu [6]. Chỉ số HC bao gồm thể tích hồng cầu trung bình (mean corpuscular volume, MCV), huyết sắc tố trung bình (mean corpuscular hemoglobin, MCH) và nồng độ huyết sắc tố trung bình (mean corpuscular hemoglobin concentration, MCHC). Tuy nhiên, các chỉ số này có thể được tính toán nếu biết các giá trị của huyết sắc tố, hematocrit (thể tích tế bào đông gói) và số lượng hồng cầu [8]. Trong điều kiện phòng thí nghiệm của nghiên cứu này, chúng tôi khảo sát tỷ lệ phần trăm thể tích HC trong máu là PCV thay cho hematocrit vì giá trị về cơ bản là hai giá trị này tương đương nhưng được bắt nguồn bằng các phương pháp khác nhau [8]. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy rằng PCV trung bình ở nồng độ glycerin 30% và glycerin 43% có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Trong khi đó, PCV trung bình ở nồng độ glycerin 37% cao hơn có ý nghĩa thống kê so với PCV trung bình ở nồng độ Glycerin 50%. Điều này cũng đúng với một nghiên cứu cho rằng ở các nồng độ glycerin 35%, 40% và 45% (nồng độ cao) có ảnh hưởng đến giá trị MCV [14]. Vì công thức tính Hct là: $Hct = (MCV \times \text{nồng độ tế bào HC})/10$ nên PCV cũng khác biệt ở các nồng độ glycerin cao. Bên cạnh đó, ở glycerin 50% xuất hiện các tế bào HC phình to, chứng tỏ sự xâm nhập của glycerin vào hồng cầu và gây ra hiện tượng hút nước dẫn đến gây tan máu [12]. Điều này cũng trùng khớp với nghiên cứu trước đây cho rằng glycerin có thể gây ra sự tan máu ở động vật có vú. Do đó, giá trị PCV trung bình ở nồng độ glycerin 50% thấp nhất trong các nồng độ khảo sát và thấp hơn ở nồng độ glycerin 37%. Hình 3 cho thấy PCV trung bình ở nồng độ glycerin 37% là cao nhất, PCV trung bình ở các nồng độ giảm dần theo thời gian. Đặc biệt ở thời gian dài (từ ngày 14), nồng độ glycerin 37% có PCV cao hơn các nồng độ glycerin khác và sau đó giảm dần. Kết quả này cũng trùng khớp một số nghiên cứu cho rằng tổn thương hồng cầu do quá trình bảo quản gây ra trở nên rõ ràng hơn vào đầu tuần bảo quản thứ 2 [6]. Hơn nữa, thiệt hại này được ghi nhận là tăng dần khi thời gian bảo quản ngày càng tăng [6]. Đặc biệt, có sự suy giảm đáng chú ý về khả năng biến dạng của HC bắt đầu sau khi kết thúc tuần bảo quản thứ 2. Như vậy có thể thấy rằng, trong quá trình bảo quản HC bằng glycerin, khả năng biến dạng của HC giảm do xuất hiện các hình dạng HC bất thường. Trong số các hình dạng bất thường này, sự xuất hiện các HC phình to ở các nồng độ glycerin cao có ý nghĩa làm giảm PCV. Các kết quả trên cho thấy khả năng biến dạng của tế bào có thể được coi là một dấu ấn sinh học tiềm năng khi đánh giá chất lượng của các đơn vị HC [1].

4. Kết luận

HC thọ khi tiếp xúc với nồng độ glycerin 37% ở 4°C có tỷ lệ HC bất thường thấp nhất ($p < 0,05$), tỷ lệ phần trăm thể tích HC trung bình trong máu lớn hơn 50% ($p < 0,05$). Ở nồng độ glycerin cao (40%, 50%) xuất hiện HC bị phình to kết hợp với PCV giảm chứng tỏ có tan máu ở những nồng độ này.

Lời cảm ơn

Nhóm nghiên cứu chân thành cảm ơn Đại Học Y Dược TP.HCM đã tài trợ toàn bộ chi phí cho nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] V. Pasciu, F. D. Sotgiu, C. Porcu, and F. Berlinguer, "Effect of media with different glycerol concentrations on sheep red blood cells' viability in vitro," *Animals*, vol. 11, no. 6, pp. 1-12, 2021.

-
- [2] V. Pallotta, G. V. D'Amici, A. D'Alessandro, R. Rossetti, and L. Zolla, "Red blood cell processing for cryopreservation: from fresh blood to deglycerolization," *Elsevier*, vol. 48, no. 4, pp. 226-232, 2012.
- [3] N. Geekiyanage, E. Sauret, S. Saha, R. Flower, and Y. T. Gu, "Modelling of Red Blood Cell Morphological and Deformability Changes during In Vitro Storage," *Applied sciences*, vol. 10, no. 9, pp. 1-27, 2020.
- [4] B. W. Gabrio, D. M. Donohue, and C. A. Finch, "Erythrocyte preservation.V. relationship between chemical changes and viability of stored," *The Journal of Clinical Investigation*, vol. 34, no. 10, pp. 1509-1512, 1955.
- [5] T. Yoshida, M. Prudent, and A. D'Alessandro, "Red blood cell storage lesion: causes and potential clinical consequences," *Blood transfusion*, vol. 17, no. 1, pp. 27-52, 2019.
- [6] G. Barshtein, I. Pajic-Lijakovic, and A. Gural, "Deformability of stored red blood cells," *Frontier in physiology*, vol. 12, pp. 1-13, 2021.
- [7] M. Chmurska-Gasowska, B. Bojarski, and L. Szała, "Haematological changes in rabbits (*Oryctolagus cuniculus* f. *domesticus*) in the course of pregnancy," *Animal Reproduction*, vol. 18, no. 2, pp. 1-8, 2021.
- [8] I. M. Washington and G. V. Hoosier, "Clinical Biochemistry and Hematology," in *The laboratory rabbit, guinea pig, hamster, and other rodents*. Seattle, Elsevier, 2011, pp. 91-93.
- [9] D. M. Moore, K. Zimmerman, and S. A. Smith, "Hematological Assessment in Pet Rabbits: Blood Sample Collection and Blood Cell Identification," *The veterinary clinics of North America Exotic animal practice*, vol. 18, no. 1, pp. 9-19, 2015.
- [10] S. Batra, "Total red blood cell (RBC) count using hemacytometer/Neubauer's chamber (Microdilution & Macro dilution method)," in *Hematology Practicals. Paramedics World*, 2020. [Online]. Available: <https://paramedicsworld.com/category/hematology-practicals/>. [Accessed May 24, 2023].
- [11] J. Ford, "Red blood cell morphology," *International Journal of Laboratory Hematology*, vol. 35, no. 3, pp. 351-357, 2012.
- [12] S. C. Rogers, L. B. Dosier, T. J. McMahon, H. Zhu, D. Timm, H. Zhang *et al.*, "Red blood cell phenotype fidelity following glycerol cryopreservation optimized for research purposes," *PLOS ONE*, vol. 13, no. 12, pp. 1-21, 2018.
- [13] W.-W. Tuo, D. Wang, W.-J. Liang, and Y.-X. Huang, "How Cell Number and Cellular Properties of Blood-Banked Red Blood Cells of Different Cell Ages Decline during Storage," *PLOS ONE*, vol. 9, no. 8, pp. 1-8, 2014.
- [14] S. N. U. Wutsqo, B. Nurhayati, D. Nurhayati, and N. Marlina, "The effect of storage time and variations of glycerol concentration in frozen packed red cell on erythrocyte indices values," in *Proceeding of the 5th international conference on interprofessional health collaboration and community empowerment*, Cimahi, 2022, pp. 114-120.