

添加丙氨酰谷氨酰胺血液保存液 对储存血液红细胞影响的实验研究^{*}

李大鹏^a, 吕春雷^b, 王凤娇^a, 任红^c, 郑文哲^b

(解放军88医院 a. 中心实验室; b. 医务处; c. 输血科, 山东泰安 271000)

摘要:目的 探讨添加丙氨酰谷氨酰胺的血液保存液对储存血液红细胞的影响。方法 选取无菌试管20只均分为试验组(A)和对照组(B), A组1~10管中分别加入丙氨酰谷氨酰胺稀释液0.756 ml及血液保存液Ⅲ0.42 ml, B组1~10管分别加入血液保存液Ⅲ0.42 ml; 选取同性别无偿献血人员10例, 采集末抗凝静脉血, 分别对应加入A、B两组1~10试管中各3 ml, 4~6℃冰箱保存; 采血后第10、21、35天分别检测A、B两组血浆游离血红蛋白(FHB)含量, 并予以统计分析。结果 不同检测时间A组FHB分别为13.687±3.490, 24.677±11.510, 48.081±16.412 mg/L, B组FHB分别为31.319±13.949, 47.753±22.231, 71.346±23.342 mg/L, 各检测时间之间FHB含量差异均有统计学显著性意义($P<0.05$); 相同检测时间A、B两组间FHB含量差异均有统计学显著性意义($P<0.05$), A组均显著低于B组。结论 储存血液随保存时间延长, 血浆FHB含量显著升高, 添加丙氨酰谷氨酰胺血液保存液Ⅲ对储存红细胞具有显著保护作用, 对红细胞膜保护作用优于血液保存液Ⅲ, 可显著降低红细胞溶血及血浆FHB含量, 提高储存血液质量及输注效果。

关键词:血液; 输血; 血液保存液; 抗凝剂; 丙氨酰谷氨酰胺; 游离血红蛋白

中图分类号: R531.3; R381 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414(2016)06-108-04

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2016.06.031

Effect of Alanine-Glutamine in Blood Preservation Solution on the Storage of Red Blood Cells

LI Da-peng^a, LÜ Chun-lei^b, WANG Feng-jiao^a, REN Hong^c, ZHENG Wen-zhe^b

(a. Centrality Laboratory; b. Medical Service;

c. Department of Blood Transfusion, the 88th Hospital of PLA, Shandong Taian 271000, China)

Abstract: **Objective** To study the influence of alanine-glutamine in blood preservation solution on the storage of red blood cells. **Methods** Twenty sterile tubes were divided into two groups: experimental group and control group ($n=10$). The 0.42 ml blood preservation solution III was added into each tube in both groups. Additionally, the 0.756 ml alanine-glutamine solution was further added into each tube of experimental group. The 3 ml of venous blood from clinical donors was preserved in each tube of both groups at 4~6℃. The FHB (Free hemoglobin) in the plasma of each tube was detected after 10, 21 and 35 days for analysis. **Results** The amount of FHB in experimental group and control group were respectively (13.687±3.490 vs 31.319±13.949) mg/L, (24.677±11.510 vs 47.753±22.231) mg/L and (48.081±16.412 vs 71.346±23.342) mg/L respectively after 10, 21 and 35 days. The results between groups at each point were significantly different ($P<0.05$), which was lower in the experimental group than that of control group ($P<0.05$). **Conclusion** The amount of FHB in the plasma of storage increased with time. The alanine-glutamine in preservation solution III was proven to have protective effect on the red blood cells of storage, and had protective effect excel blood preservation solution III in erythrocyte membrane. The FHB and hemolysis were ameliorated and it thus improved the quality of blood storage and infusion effect.

Keywords: blood; blood transfusion; blood preservation liquid; anticoagulant; alanine-glutamine; free hemoglobin

储存血液随保存期延长, 因红细胞生存条件变化及代谢废物产生, 以及部分保存红细胞寿命缩短及损伤增加等因素, 对红细胞代谢、功能等造成不同程度影响, 临床输注血液可能发生受血者血 K^+ 升高、非溶血性输血反应等^[1~3]。笔者选择在血液保存液Ⅲ中添加丙氨酰谷氨酰胺方式, 结合采集血

液储存过程中监测游离血红蛋白(free hemoglobin, FHB)变化, 探讨其对红细胞及储存血液质量的影响, 现报告如下。

1 材料与方法

1.1 研究对象 选择参与采供血机构无偿献血人员10例, 均为男性, 年龄不限, 符合献血条件, 采集

^{*} 基金项目: 军队“十二五”后勤科研计划项目(课题编号: CWS11J297)。

作者简介: 李大鹏(1964—), 男, 本科, 副主任技师, 研究方向: 医学检验, Tel: 13583848186, E-mail: lidapeng1964@126.com。

通讯作者: 吕春雷, 男, 主任医师, Tel: 15505486678, E-mail: 15653808901@163.com。

未抗凝静脉血。

1.2 仪器与试剂 测定 FHB 主要仪器包括 722 型光栅分光光度计(上海第三分析仪器厂,检测波长 510 nm,1 cm 光径比色杯)、5415R 台式冷冻小型离心机、5810R 台式冷冻高速离心机(德国 Eppendorf 公司)等。FHB 测定试剂盒购自南京建成生物工程研究所。

1.3 血液保存液配制 选取临床使用丙氨酸谷氨酰胺注射液(四川科伦,50 ml:10 g)加入 0.9 g/dl 氯化钠注射液 50 ml 稀释,选取采供血机构常规使用一次性使用塑料血袋中血液保存液Ⅲ[四川南格尔公司,生产批号 150123,药品批准文号(国药准字 H20045509)],其配方主要为枸橼酸钠、枸橼酸、无水葡萄糖等。丙氨酸谷氨酰胺稀释液与血液保存液Ⅲ按 1.8:1 比例混合均匀配成实验组血液保存液,对照组血液保存液为血液保存液Ⅲ。

1.4 实验方案 选取无菌试管 20 只均分为 A、B 组。A 组为实验组,1~10 管中均分别加入丙氨酸谷氨酰胺稀释液 0.756 ml 及血液保存液Ⅲ 0.42 ml;B 组为对照组,1~10 管均分别加入血液保存液Ⅲ 0.42 ml。

按照一次性使用塑料血袋血液保存液采集全血要求,分别采集 10 例献血者未抗凝静脉血,对应加入 A、B 两组 1~10 试管中各 3 ml,充分摇匀后放置到 4~6℃冰箱保存。

1.5 指标测定 血液采集后第 10,21,35 天分别检测 A、B 两组 FHB 含量。FHB 测定采用分化比色法,严格按试剂盒操作说明书要求进行实验操作,510 nm 波长测各管吸光度 A,检测范围为 0~200 mg/L。

1.6 统计学分析 检验数据以均数±标准差(\bar{x} ±s)表示。选择 SPSS13.0 统计学软件进行数据处理,组内比较采用配对 *t* 检验, $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果 采血后第 10,21,35 天分别检测 A、B 两组 FHB 含量,数据按检测时间分组为 T_1, T_2, T_3 , 共 $AT_1, AT_2, AT_3, BT_1, BT_2, BT_3$ 6 组,各组基本统计量见表 1。由相同检测时间同样本 A、B 两组检测值取得配对样本数据,配对 *t* 检验结果见表 2。其中 $AT_1-BT_1, AT_2-BT_2, AT_3-BT_3$ 组总体均数均不为 0(P 值均 <0.05),各组间差异均有统计学意义($P<0.05$)。

实验数据资料为重复测量资料(时间因素和组别因素),对数据进行球型检验,取得 ϵ 校正系数进行数据校正(Greenhouse-Geisser 法),检验结果见表 3;对重复效应和交互效应进行方差分析(*F* 检验),结果表明各检测时间之间差异具有统计学意

义($F=68.031, P<0.001$),检测组间差异有统计学意义($F=21.422, P<0.05$),时间与组别因素之间无显著交互作用($F=1.924, P=0.194>0.05$)。LSD 法进行各检测时间之间多重比较,结果见表 4。表明各检测时间之间 FHB 含量差异均具有统计学意义($P<0.05$),相同检测时间 A、B 两组间差异均有统计学意义($P<0.05$),组间 FHB 含量 A 组均显著低于 B 组。

在 $\alpha=0.05$ 置信水平下,各检测时间之间 FHB 含量均存在显著性差异,相同检测时间组间 FHB 含量均存在显著性差异,A 组均显著低于 B 组。

表 1 各组血浆 FHB 检测值(mg/L)

| 组别 | 均数 | 标准差 |
|--------|--------|--------|
| AT_1 | 13.687 | 3.490 |
| AT_2 | 24.677 | 11.510 |
| AT_3 | 48.081 | 16.412 |
| BT_1 | 31.319 | 13.949 |
| BT_2 | 47.753 | 22.231 |
| BT_3 | 71.346 | 23.342 |

表 2 各组 FHB 配对 *t* 检验结果

| 组别 | 均数 | 标准差 | <i>t</i> | <i>P</i> |
|-------------|---------|--------|----------|----------|
| AT_1-BT_1 | -17.632 | 11.835 | -4.711 | 0.001 |
| AT_2-BT_2 | -23.076 | 15.080 | -4.839 | 0.001 |
| AT_3-BT_3 | -23.265 | 19.384 | -3.795 | 0.004 |

注:各组间差异均有统计学意义($P<0.05$)。

表 3 球型检验结果

| 受试效应 | Mauchly's W | Approx. χ^2 | <i>P</i> | ϵ |
|-----------|-------------|------------------|----------|------------|
| 组别因素 | 1.000 | 0.000 | 0.000 | 1.000 |
| 时间因素 | 0.909 | 0.766 | 0.682 | 0.916 |
| 组别因素*时间因素 | 0.385 | 7.630 | 0.022 | 0.619 |

表 4 不同检测时间之间 LSD 多重比较结果

| 组别 1 | 组别 2 | 均值差 | 标准误 | <i>P</i> | 95%置信区间 | |
|-------|-------|---------|-------|----------|---------|---------|
| | | | | | 下限 | 上限 |
| T_1 | T_2 | -13.712 | 3.139 | 0.002 | -20.813 | -6.611 |
| | T_3 | -37.210 | 3.657 | <0.001 | -45.483 | -28.938 |
| T_2 | T_3 | -23.498 | 2.830 | <0.001 | -29.900 | -17.097 |

注:各检测时间之间 FHB 含量差异均具有统计学意义($P<0.05$);相同检测时间 A、B 两组间差异均有统计学意义($P<0.05$)。

3 讨论 血液离开机体循环,受到储存及保养条件限制会发生“保存损伤”,其各种功能指标会发生

改变,能保持稳定的细胞内、外环境,则红细胞能存活且维持正常生理功能^[4]。血液保存液是影响血液储存的主要因素,科学、合理改良现有血液保存液,不断提高储存血液质量及临床输注效果,已成为现阶段重要研究课题^[5~8]。

红细胞随保存时间延长,其膜上脂蛋白和脂质逐渐丧失,细胞内钾离子降低及钠、钙离子升高,致细胞变形能力减低及渗透脆性增加,受到外界因素影响会发生溶血致血红蛋白逸出,致血浆 FHB 含量不断升高,影响红细胞携氧能力及输血效果。FHB 含量是反映红细胞膜稳定性及代谢程度的主要标志,也是检测红细胞溶血的主要指标,在储存血液含量变化可体现血液保存液对红细胞膜稳定性的影响,也是判断全血质量和安全输注的重要指标^[5,9]。

丙氨酰谷氨酰胺是肠外营养的组成部分,适用于分解代谢和高代谢状况等患者,以及对急性肺损伤患者的保护等^[10],在血液中可迅速分解为丙氨酸和谷氨酰胺(Glutamine Gln),谷氨酰胺可减少和对抗自由基对机体组织器官的损伤,提高血浆中谷胱甘肽水平及机体抗氧化水平,其被酶解产生 NH_4^+ 可增加红细胞膜的流动性及对机械压的抗性^[11]。

本文实验数据表明:各检测时间之间 FHB 含量均存在显著性差异,同一检测时间组间 FHB 含量均存在显著性差异,A 组均显著低于 B 组,表明储存血液随保存时间延长,各种因素导致红细胞溶血率上升,造成血红蛋白逸出使 FHB 含量显著升高,FHB 含量与保存时间呈正相关关系;同时,相同时间检测血浆 FHB 含量 A 组均显著低于 B 组,表明添加丙氨酰谷氨酰胺血液保存液Ⅲ可显著降低红细胞溶血率,对红细胞膜保护作用优于血液保存液Ⅲ,对红细胞具有显著保护作用,可增加红细胞膜流动性及降低外界因素造成红细胞膜破裂溶血,减少因红细胞生存条件变化等因素对红细胞造成的影响,提高储存血液质量及输注效果。

根据本文实验数据,在经典血液保存液Ⅲ中按比例添加丙氨酰谷氨酰胺,对红细胞膜保护作用优于血液保存液Ⅲ,可对红细胞产生十分显著的保护作用,能显著降低红细胞溶血及血浆 FHB 含量,提高储存血液质量及临床输注效果,并提高受血者免疫功能和血红蛋白含量,对危重病患者具有降低感染率等显著治疗作用^[11],充分体现其在血液采集、血液保存及临床输血工作中的良好价值^[12]。

参考文献:

[1] 张永,黎红平,李慈梅. 盐酸小檗碱对血浆游离血红蛋白的影响[J]. 现代医院,2012,12(8):77-78.

Zhang Y, Li HP, Li CM. The affect of berberine hydrochloride on plasma free hemoglobin[J]. Modern Hospital,2012,12(8):77-78.

[2] 王九兵,王永维. 红细胞悬液辐照前后在不同贮存期游离血红蛋白含量的比较[J]. 医学理论与实践,2012,25(14):1756-1758.

Wang JB, Wang YW. The comparison of free hemoglobin content of different storage period for red blood cell irradiation[J]. J Med Theor & Prac,2012,25(14):1756-1758.

[3] 袁志军. 大量输血前后血清钾的变化和输血后高钾血症发生的影响因素[J]. 中国实用医药,2014,9(15):79-80.

Yuan ZJ. Influence factors on the change of serum potassium for a large number of blood transfusion before and after and the hyperkalemia occurred after blood transfusion[J]. China Piac Med,2014,9(15):79-80.

[4] 王勇,欧阳孟林. 洗涤式自体血回输中不同温度洗涤液对人红细胞形态结构的影响[J]. 中国现代医生,2014,52(14):31-33.

Wang Y, Ouyang ML. Effect of different temperature scrubbing solution on red blood cell morphological structure[J]. China Modern Doctor,2014,52(14):31-33.

[5] 冯倩,刘奕,王彦,等. 不同保存期内全血质量变化的研究[J]. 科学技术与工程,2013,13(13):3691-3694,3709.

Feng Q, Liu Y, Wang Y, et al. Study on the quality changes of the whole blood during storage time[J]. Science Technology and Engineering,2013,13(13):3691-3694,3709.

[6] 张微,徐国美,刘青宁. 不同配方洗涤液对浓缩血小板的洗涤效果研究[J]. 中国输血杂志,2010,23(11):944-946.

Zhang W, Xu GM, Liu QN. Research on the washing effect for different for mulations of concentrated platelet washing liquid[J]. Chinese Journal of Blood Transfusion,2010,23(11):944-946.

[7] 陈云庆. 血液保存液Ⅱ在高危出血患者血液透析封管中的应用体会[J]. 吉林医学,2011,32(32):6773-6774.

Chen YQ. Application experience on the blood preservation solution Ⅱ in patients at high risk of bleeding for the sealing tube of blood dialysis[J]. Jilin Medical Journal,2011,32(32):6773-6774.

[8] 黄小辉,胡炜华. 术前预存自体血液联合术中血液稀释在外科手术中的应用[J]. 南昌大学学报(医学版),2011,51(9):64-67.

Huang XH, Hu WH. Combined application of predeposited autotransfusion and intraoperative hemodilution in surgical operation[J]. Journal of Nanchang University(Medical Science),2011,51(9):64-67.

- [9] 刘海波. 游离血红蛋白指标在悬浮红细胞质量控制中的应用[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(21): 2639, 2667.
Liu HB. Application on the free hemoglobin target in quality control of suspended red blood cells[J]. Int J Lab Med, 2012, 33(21): 2639, 2667.
- [10] 崔莹, 吴春雪, 杨龙, 等. 丙氨酰谷氨酰胺对急性肺损伤患者的保护作用及其机制初探[J]. 临床荟萃, 2012, 27(4): 298-300, 303.
Cui Y, Wu CX, Yang L, et al. Studies on protection effect and mechanism of analyl-glutamine during acute lung injury[J]. Clinical Focus, 2012, 27(4): 298-300, 303.
- [11] 郭永军, 孔媛媛, 关永东, 等. 外源性补充谷氨酰胺对危重病患者的影响[J]. 中华全科医学, 2012, 10(1): 49, 97.
Guo YJ, Kong YY, Guan YD, et al. Effects of ectrin-sic glutamine on patients with critical illness[J]. Chinese Journal of General Practice, 2012, 10(1): 49, 97.
- [12] 魏超, 庄远, 汪德清. 红细胞保存时间与功能变化的研究进展[J]. 中国输血杂志, 2013, 26(11): 1152-1155.
Wei C, Zhuang Y, Wang DQ. The research prgress on the save time and function change of red blood cells[J]. Chin J Blood Transfusion, 2013, 26(11): 1152-1155.
- 收稿日期: 2016-04-07 修回日期: 2016-08-23
-
- (上接 107 页)
- [6] Antunes VV, Veronese FJ, Morales JV. Diagnostic accuracy of the protein/creatinine ratio in urine samples to estimate 24 h proteinuria in patients with primary glomerulopathies: a longitudinal study[J]. Nephrol Dial Transplant, 2008, 23(7): 2242-2246.
- [7] Mc Taggart MP, Newall RG, Hirst JA, et al. Diagnostic accuracy of point of care tests for detecting albuminuria: a systematic review and meta-analysis[J]. Ann Intern Med, 2014, 160(8): 550-557.
- [8] Koeda Y, Tanaka F, Segawa T, et al. Comparison between urine albumin to creatinine ratio and urine protein dipstick testing for prevalence and ability to predict the risk for chronic kidney disease in the general population (Iwate-KENCO study): a prospective community-based cohort study[J]. BMC Nephrol, 2016, 17(1): 46-53.
- [9] Fisher H, Hsu CY, Vittinghoff E, et al. Comparison of associations of urine protein-creatinine ratio versus albumin-creatinine ratio with complications of CKD: a cross-sectional analysis[J]. Am J Kidney Dis, 2013, 62(6): 1102-1108.
- [10] 刘青艳, 李海霞, 李志艳, 等. 尿蛋白试纸条定性 with 尿清蛋白/肌酐比值的相关性分析[J]. 临床检验杂志, 2015, 33(6): 423-426.
Liu QY, Li HX, Li ZY, et al. Correlation between dipstick test for proteinuria and urine albumin-creatinine ratio[J]. Chinese Journal of Clinical Laboratory Science, 2015, 33(6): 423-426.
- [11] 陈宾, 谈春荣, 赵旭宏, 等. 国产尿液干化学试纸法检测尿微量清蛋白的可靠性评价[J]. 现代检验医学杂志, 2011, 26(3): 151-152, 154.
Chen B, Tan CR, Zhao XH, et al. Evaluation of the reliability of a native urine dry chemistry test paper method to detect urine microalbumin[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2011, 26(3): 151-152, 154.
- [12] Naresh CN, Hayen A, Craig JC, et al. Day to day variability in spot urine albumin-creatinine ratio measurements[J]. Am J Kidney Dis, 2013, 62(6): 1095-1101.
- [13] Naresh CN, Hayen A, Craig JC, et al. Day-to-day variability in spot urine protein-creatinine ratio measurements[J]. Am J Kidney Dis, 2012, 60(4): 561-566.
- [14] Mattix HJ, Hsu C, Shaykevich S, et al. Use of the albumin/creatinine ratio to detect microalbuminuria: implications of sex and race[J]. J Am Soc Nephrol, 2002, 13(4): 1034-1039.
- [15] Kim SM, Lee CH, Lee JP, et al. The association between albumin to creatinine ratio and total protein to creatinine ratio in patients with chronic kidney disease[J]. Clin Nephrol, 2012, 78(5): 346-352.
- [16] Atkins RC, Briganti EM, Zimmet PZ, et al. Association between albuminuria and proteinuria in the general population: the Aus Diab Study[J]. Nephrol Dial Transplant, 2003, 18(10): 2170-2174.
- [17] 郭玮, 潘柏申. 尿清蛋白检测标准化进展及实验室应注意的问题[J]. 中华检验医学杂志, 2015, 38(9): 577-579.
Guo W, Pan BS. Highlight on clinical application and standardization of urinary albumin[J]. Chin J Lab Med, 2015, 38(9): 577-579.
- 收稿日期: 2016-09-07 修回日期: 2016-11-04