

重组血红蛋白对冠心病大鼠氧供需平衡的影响

窦清理 于湘友 顾亚楠 管源涵 郑宏

830054 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市, 新疆医科大学第一附属医院重症医学科(窦清理、于湘友、顾亚楠、管源涵); 麻醉科(郑宏)

通讯作者: 郑宏, Email: xyzhenghong@aliyun.com

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2016.12.011

【摘要】 目的 探讨两种重组血红蛋白(rHb1.1、rHb2.0)对冠心病(CHD)大鼠氧供需平衡的影响。**方法** 按随机数字表法将雄性 Wistar 大鼠分为正常对照组、CHD 模型组、人血清白蛋白(HSA)处理组、rHb1.1 处理组、rHb2.0 处理组, 每组 20 只。高脂饮食联合脑垂体后叶素注射构建大鼠 CHD 模型。制模成功后股动脉抽血使平均动脉压(MAP)降至 40 mmHg(1 mmHg=0.133 kPa), 随后各处理组予以 60 mL·kg⁻¹·h⁻¹ 的速率(20 mL/kg)分别输入 13.4% HSA、rHb1.1 和 rHb2.0 进行复苏治疗。计算制模前和末次注射垂体后叶素后 12 h 心电图 ST 段变化值, 记录给药 0、30、60、90 和 120 min 时 MAP、心率(HR)、肠系膜上动脉血流量(Q_{SMA})及动脉血气分析结果。实验末禁食 12 h, 取血用酶法测定血清总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)含量; 处死大鼠取心脏, 光镜下观察心脏组织病理学改变。**结果** 与正常对照组比较, 模型组制模前后心电图 ST 段变化值明显增大, TC、TG 明显升高。与模型组比较, rHb 两组可明显降低 ST 段变化值, 而 HSA 无此作用; rHb 的短期输入对血脂无显著影响, 但可减轻心肌组织病理学改变。与正常对照组比较, 模型组 MAP 明显降低, HR 明显加快, Q_{SMA} 减慢, pH 值、剩余碱(BE)、动脉血二氧化碳分压(PaCO₂)、HCO₃⁻ 明显下降。rHb1.1 组和 rHb2.0 组 MAP 较 HSA 组升高更明显, 且 rHb2.0 组给药 90 min 和 120 min 时 MAP 显著高于 rHb1.1 组(mmHg: 80.9±3.3 比 69.4±4.9, 79.2±4.0 比 69.1±3.7, 均 P<0.05); HSA、rHb1.1、rHb2.0 处理组给药 30 min HR 即降至正常, 明显低于模型组(次/min: 534±46、518±28、526±37 比 609±52, 均 P<0.05); rHb2.0 组给药 60、90、120 min 时 Q_{SMA} 较模型组明显增加(qv·mL⁻¹·min⁻¹: 5.6±0.4 比 3.9±0.6, 6.2±0.6 比 4.1±0.4, 6.9±0.7 比 4.0±0.3, 均 P<0.05), 而 HSA 组和 rHb1.1 组 Q_{SMA} 与模型组比较差异均无统计学意义。HSA 组给药后 pH 值、BE、PaCO₂ 均未恢复到正常水平; rHb1.1 组 pH、PaCO₂ 和 HCO₃⁻ 在给药后 60 min、BE 在给药后 90 min 恢复到正常水平; 而 rHb2.0 组各指标提前 30 min 即可恢复到正常水平。**结论** rHb 可显著升高 CHD 缺血损伤大鼠血压, 增加循环中的血流量, 降低心肌的氧需求, 还可快速、有效地纠正缺氧状态下的血液代谢性酸中毒, 且 rHb2.0 的效果优于 rHb1.1。

【关键词】 冠心病; 重组血红蛋白; 氧代谢平衡; 损伤, 缺血性

基金项目: 新疆维吾尔自治区科技计划项目(201533102)

Effects of recombinant hemoglobin on balance of oxygen supply and demand in coronary heart disease rats

Dou Qingli, Yu Xiangyou, Gu Ya'nan, Gu Yuanhan, Zheng Hong

Department of Intensive Care Unit, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, Xinjiang, China (Dou QL, Yu XY, Gu YN, Gu YH); Department of Anesthesiology, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, Xinjiang, China (Zheng H)

Corresponding author: Zheng Hong, Email: xyzhenghong@aliyun.com

【Abstract】 Objective To discuss the influence of two recombinant hemoglobin (rHb1.1 and rHb2.0) and human serum albumin (HSA) on oxygen supply and demand balance in rat with coronary heart disease (CHD). **Methods** Male Wistar rats were randomly divided into normal control group, CHD model group, HSA treatment group, rHb1.1 treatment group and rHb2.0 treatment group, 20 rats in each group. Rat model of CHD was established by high fat diet combined with pituitrin injection. The mean arterial pressure (MAP) decreased to 40 mmHg (1 mmHg = 0.133 kPa) after femoral arterial blood was drawn from the femoral arteries, and the rats were resuscitated with 13.4% HSA, rHb1.1 and rHb2.0, respectively, at the rate of 60 mL·kg⁻¹·h⁻¹ (20 mL/kg). The changes of electrocardiogram (ECG) ST-segment were calculated before model reproduction and at 12 hours after the last time injection of pituitrin. MAP, heart rate (HR), superior mesenteric artery blood flow (Q_{SMA}) and arterial blood gas analysis were recorded at 0, 30, 60, 90 and 120 minutes after the administration. The blood was collected after 12-hour fasting, and serum total cholesterol (TC) and triglyceride (TG) were determined by enzymatic method. The pathological changes in cardiac tissue were observed with light microscope. **Results** Compared with the normal control group, the changes of ECG ST-segment and TC, TG of model group were significantly increased. Compared with the model group, rHb can significantly reduce the value of ST segment changes, and HSA has no such effect; rHb short-term infusion has no significant effect on blood lipids, but can reduce myocardial pathological changes. Compared with the normal control group, the MAP of the model group decreased significantly, the HR was increased, the Q_{SMA} was slowed down, the pH value, the residual alkali (BE),

the arterial carbon dioxide partial pressure (PaCO_2) and HCO_3^- were decreased significantly. MAP in rHb1.1 group and rHb2.0 group were significantly higher than those in HSA group. Values of MAP were significantly higher in rHb2.0 group than those in rHb1.1 group at 90 minutes and 120 minutes (mmHg: 80.9 ± 3.3 vs. 69.4 ± 4.9 , 79.2 ± 4.0 vs. 69.1 ± 3.7 , both $P < 0.05$). The HR of HSA, rHb1.1 and rHb2.0 decreased to normal in 30 minutes after administration, significantly lower than those in the model group (bpm: 534 ± 46 , 518 ± 28 , 526 ± 37 vs. 609 ± 52 , all $P < 0.05$). In the rHb2.0 group, the Q_{SMA} increased significantly at 60, 90 and 120 minutes compared with the model group ($\text{qv} \cdot \text{mL}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$: 5.6 ± 0.4 vs. 3.9 ± 0.6 , 6.2 ± 0.6 vs. 4.1 ± 0.4 , 6.9 ± 0.7 vs. 4.0 ± 0.3 , all $P < 0.05$), but there was no significant difference between the HSA group and the rHb1.1 group. The pH, BE, PaCO_2 did not return to the normal level after administration of HSA; pH, PaCO_2 and HCO_3^- in the rHb1.1 group returned to normal level at 60 minutes after administration, and BE returned to normal level at 90 minutes after administration. Each index in rHb2.0 group can restore to normal levels 30 minutes ahead of. **Conclusion** Recombinant hemoglobin can significantly improve the oxygen supply and demand balance of rats with CHD model, can quickly and effectively correct the hypoxic state of blood metabolic acidosis, and rHb2.0 has better effect than rHb1.1.

[Key words] Coronary heart disease; Recombinant hemoglobin; Oxygen supply and demand balance; Treatment

Fund program: The Xinjiang Uygur Autonomous Region Science and Technology Project (201533102)

冠心病(CHD)亦称缺血性心脏病,是由冠状动脉(冠脉)功能性改变(痉挛)或全身性动脉粥样硬化累及冠脉,导致管腔狭窄甚或堵塞以及冠脉痉挛性改变,引起冠脉供血相对不足,进而心肌缺血缺氧引发的心脏病^[1-2],其发病率、致残率和致死率均较高。CHD 患者围手术期用血量较大,而过度输血可增加 CHD 患者围手术期心脏不良事件发生率和病死率,以及经输血导致的血液传播性疾病、急性肺损伤(ALI)和免疫功能下降等并发症的发生率^[3-5]。因此,亟需具有携氧能力的胶体产品来替代传统的血液制品,以改善 CHD 患者的氧供需平衡。

重组血红蛋白(rHb)除具备通常胶体液的优点外,还具有与红细胞相似的携氧功能,可以增加组织氧供^[6]。与输血相比, rHb 具有相对高效和可靠的携氧功能,可以在一定程度上改善缺血缺氧组织和器官的血氧供需状态,且无使用血液制品在来源、血型不合、病毒交叉感染风险等方面的限制,因此在治疗领域具有较大的发展前景^[6-9]。本研究拟比较重组血红蛋白 rHb1.1 和 rHb2.0 与人血清白蛋白(HSA)对大鼠 CHD 缺血损伤的治疗效果,以期为临床治疗提供依据和新的途径。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组: 清洁级雄性 Wistar 大鼠 120 只,体重 300 ~ 350 g,由新疆医科大学动物实验中心提供,动物合格证号: XJZZQ(XK)200301。按随机数字表法分为正常对照组、CHD 模型组、HSA 处理组、rHb1.1 处理组、rHb2.0 处理组,每组 20 只。

1.2 动物模型制备及干预方法: 参考张文立等^[10]的方法建立 CHD 心肌缺血大鼠模型。每天给予高脂饲料(2% 胆固醇、10% 猪油、0.2% 丙基硫氧嘧啶、0.5% 胆酸钠、87.3% 基础饲料,由新疆医科大学动

物实验中心加工提供),连续喂养 6 周;间隔 24 h 腹腔注射垂体后叶素 $30 \mu\text{g}/\text{kg}$,连续 3 次。正常对照组大鼠正常喂养;注射等量生理盐水。于末次注射垂体后叶素后 12 h,20% 乌拉坦腹腔注射麻醉大鼠,连接 BL-420E+ 生物机能实验系统,记录 II 导联心电图。模型制备成功后腹腔注射乌拉坦麻醉大鼠,用加热垫和红外线灯保持肛温(37.0 ± 0.2) $^{\circ}\text{C}$;气管切开机机械通气,呼气末二氧化碳分压($P_{\text{ET}}\text{CO}_2$) 在 35 ~ 45 mmHg (1 mmHg=0.133 kPa);右颈内静脉持续输入氯胺酮 $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 维持麻醉。右颈内动脉置管连接 BL-420E+ 生物机能实验系统连续监测平均动脉压(MAP)和心率(HR);股动脉、股静脉置管,腹部正中切开,显微镜下经盲肠静脉分支置入直径 0.8 mm 聚乙烯导管至肠系膜上静脉(SMV),肠系膜上动脉(SMA)放置超声流量探头测定肠系膜上动脉血流量(Q_{SMA})。操作完成后稳定 30 min,抽取股动脉血 $1.0 \text{ mL}/\text{min}$,使 MAP 降至 40 mmHg 后,以 $60 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 的速率($20 \text{ mL}/\text{kg}$)分别输入 13.4% HSA 以及胶体渗透压相同的 rHb1.1 和 rHb2.0 进行复苏治疗(HSA 由武汉禾元生物科技有限公司提供, rHb1.1 和 rHb2.0 购自美国 Baxter 公司),治疗过程中保持呼吸参数不变。实验中输入乳酸林格液 $20 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 补充代谢所需及损失量。

1.3 观察指标: 实验过程中连续监测 MAP、HR、 Q_{SMA} ;给药 0、30、60、90、120 min 时取动脉和 SMV 血测血气值。实验末禁食 12 h,麻醉状态下取血并分离血清,用酶法测定血清中总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)含量;开胸取左心室心肌组织,4% 多聚甲醛溶液固定后切片,苏木素-伊红(HE)染色,光镜下观察心脏组织病理学改变。

1.4 统计学分析: 使用 SPSS 19.0 软件处理数据,计

量数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两样本均数比较用方差分析;计数资料用 χ^2 检验; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组心电图 ST 段变化值比较(表 1):模型组心电图 ST 段变化值显著高于正常对照组($P < 0.01$)。与模型组比较, rHb 处理两组心电图 ST 段变化值显著降低(均 $P < 0.05$);但两种 rHb 处理组间差异无统计学意义, HSA 处理组与模型组比较差异也无统计学意义(均 $P > 0.05$)。

2.2 各组血清 TC、TG 比较(表 1):模型组血清 TC 和 TG 含量显著高于正常对照组(均 $P < 0.01$)。各处理组血清 TC 和 TG 含量与模型组比较差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)。

2.3 各组血流动力学变化比较(表 2):与模型组比较, HSA 组给药后 30 min 可明显升高 MAP,但随时间延长, HSA 逐渐失去效用;而 rHb 两组给药 120 min 后仍具有升高 MAP 的效应,且 rHb2.0 较 rHb1.1 的升压效果更显著(均 $P < 0.05$)。3 个处理组给药后 30 min 即可使 HR 降至正常。rHb2.0 组给药 60 min 后 Q_{SMA} 明显高于模型组(均 $P < 0.05$);而 HSA 和 rHb1.1 对 Q_{SMA} 无明显影响(均 $P > 0.05$)。

2.4 各组动脉血气分析指标变化比较(表 3): HSA 组给药后 120 min 内, pH 值、剩余碱(BE)、动脉血

表 1 rHb 对 CHD 缺血损伤大鼠心电图 ST 段变化值及血清 TC、TG 含量的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数 (只)	ST 段 变化值(mV)	TC (mmol/L)	TG (mmol/L)
正常对照组	20	0.21 ± 0.02	1.98 ± 0.12	0.72 ± 0.09
CHD 模型组	20	0.31 ± 0.04 ^a	3.92 ± 0.38 ^a	1.77 ± 0.09 ^a
HSA 处理组	20	0.29 ± 0.04 ^a	3.64 ± 0.22 ^a	1.55 ± 0.15 ^a
rHb1.1 处理组	20	0.19 ± 0.06 ^{bc}	3.19 ± 0.15 ^a	1.66 ± 0.20 ^a
rHb2.0 处理组	20	0.20 ± 0.04 ^{bc}	3.22 ± 0.26 ^a	1.71 ± 0.13 ^a

注: rHb 为重组血红蛋白, CHD 为冠心病, TC 为总胆固醇, TG 为甘油三酯, HSA 为人血清白蛋白;与正常对照组比较, ^a $P < 0.01$, ^b $P < 0.05$;与 CHD 模型组比较, ^c $P < 0.05$

二氧化碳分压($PaCO_2$)均未恢复到正常水平,且与模型组比较差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)。rHb1.1 组 pH、 $PaCO_2$ 和 HCO_3^- 在给药后 60 min、BE 在给药后 90 min 均恢复到正常水平,而 rHb2.0 组 pH、 $PaCO_2$ 和 HCO_3^- 在给药后 30 min、BE 在给药后 60 min 即可恢复到正常水平。说明 rHb 较 HSA 可以更好、更早地纠正血液代谢性酸中毒,并使 pH 值、 $PaCO_2$ 和 HCO_3^- 恢复到正常水平。

2.5 心肌病理学改变(图 1):正常对照组心肌细胞结构正常,无炎性细胞浸润。模型组和 HSA 处理组心肌细胞改变,有炎性细胞浸润,心肌纤维排列不齐,部分心肌纤维萎缩或变性,局部可见空泡样改变。rHb 处理两组心肌组织病理改变较模型组有所减轻,心肌细胞间隙变小,心肌纤维排列有序,炎性细胞减少。

表 2 rHb 对 CHD 缺血损伤大鼠给药前后血流动力学指标变化的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数 (只)	MAP (mmHg)				
		0 min	30 min	60 min	90 min	120 min
正常对照组	20	60.1 ± 5.1				
CHD 模型组	20	40.2 ± 4.2 ^a	62.2 ± 2.2 ^e	68.1 ± 3.0 ^e	64.2 ± 1.2 ^e	60.2 ± 3.7 ^e
HSA 处理组	20	40.3 ± 5.1 ^a	78.3 ± 4.7 ^{abe}	68.7 ± 4.9 ^e	61.5 ± 4.7 ^e	61.8 ± 3.6 ^e
rHb1.1 处理组	20	40.9 ± 4.8 ^a	88.4 ± 4.0 ^{abce}	79.9 ± 6.0 ^{abce}	69.4 ± 4.9 ^e	69.1 ± 3.7 ^{be}
rHb2.0 处理组	20	40.3 ± 3.7 ^a	70.1 ± 2.9 ^{abde}	77.1 ± 3.9 ^{abe}	80.9 ± 3.3 ^{abcde}	79.2 ± 4.0 ^{abcde}
组别	动物数 (只)	HR (次/min)				
		0 min	30 min	60 min	90 min	120 min
正常对照组	20	520 ± 42				
CHD 模型组	20	612 ± 44 ^a	609 ± 52 ^a	623 ± 18 ^a	407 ± 27 ^{ae}	398 ± 24 ^{ae}
HSA 处理组	20	620 ± 42 ^a	534 ± 46 ^{be}	527 ± 46 ^{be}	532 ± 29 ^{be}	545 ± 38 ^{be}
rHb1.1 处理组	20	619 ± 33 ^a	518 ± 28 ^{be}	522 ± 39 ^{be}	515 ± 50 ^{be}	512 ± 23 ^{be}
rHb2.0 处理组	20	623 ± 18 ^a	526 ± 37 ^{be}	531 ± 42 ^{be}	524 ± 38 ^{be}	504 ± 53 ^{be}
组别	动物数 (只)	Q_{SMA} ($qv \cdot mL^{-1} \cdot min^{-1}$)				
		0 min	30 min	60 min	90 min	120 min
正常对照组	20	3.2 ± 0.5				
CHD 模型组	20	3.1 ± 0.5	3.3 ± 0.2	3.9 ± 0.6	4.1 ± 0.4 ^{ae}	4.0 ± 0.3 ^e
HSA 处理组	20	3.1 ± 0.4	4.1 ± 0.5 ^{ae}	4.3 ± 0.4 ^{ae}	4.4 ± 0.4 ^{ae}	4.6 ± 0.4 ^{ae}
rHb1.1 处理组	20	3.2 ± 0.2	3.2 ± 0.4 ^c	4.1 ± 0.5 ^{ae}	3.3 ± 0.3 ^c	3.7 ± 0.4 ^c
rHb2.0 处理组	20	3.2 ± 0.2	3.9 ± 0.2	5.6 ± 0.4 ^{abcde}	6.2 ± 0.6 ^{abcde}	6.9 ± 0.7 ^{abcde}

注: rHb 为重组血红蛋白, CHD 为冠心病, HSA 为人血清白蛋白, MAP 为平均动脉压, HR 为心率, Q_{SMA} 为肠系膜上动脉血流量;与正常对照组比较, ^a $P < 0.05$;与 CHD 模型组比较, ^b $P < 0.05$;与 HSA 处理组比较, ^c $P < 0.05$;与 rHb1.1 处理组比较, ^d $P < 0.05$;与本组给药前(0 min)比较, ^e $P < 0.05$;1 mmHg=0.133 kPa;空白代表无此项

表 3 rHb 对 CHD 缺血损伤大鼠给药前后动脉血气指标变化的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数 (只)	pH 值					BE (nmol/L)				
		0 min	30 min	60 min	90 min	120 min	0 min	30 min	60 min	90 min	120 min
正常对照组	20	7.36 ± 0.02					2.8 ± 0.5				
CHD 模型组	20	7.22 ± 0.03 ^a	7.20 ± 0.01 ^a	7.22 ± 0.02 ^a	7.24 ± 0.01 ^a	7.22 ± 0.02 ^a	-13.1 ± 2.0 ^a	-9.2 ± 1.7 ^a	-8.4 ± 2.6 ^{ad}	-6.5 ± 2.1 ^{ad}	-4.0 ± 1.0 ^{ad}
HSA 处理组	20	7.24 ± 0.03 ^a	7.15 ± 0.01 ^a	7.19 ± 0.02 ^a	7.20 ± 0.01 ^a	7.22 ± 0.02 ^a	-13.4 ± 2.2 ^a	-9.5 ± 1.9 ^a	-8.7 ± 2.4 ^{ad}	-6.7 ± 2.2 ^{ad}	-4.3 ± 1.1 ^{ad}
rHb1.1 处理组	20	7.21 ± 0.02 ^a	7.25 ± 0.02 ^{ac}	7.30 ± 0.02 ^c	7.35 ± 0.02 ^{bcd}	7.38 ± 0.02 ^{bcd}	-12.8 ± 3.1 ^a	-5.4 ± 0.8 ^{ad}	-4.3 ± 1.7 ^{abd}	1.0 ± 0.3 ^{abd}	1.7 ± 1.1 ^{bd}
rHb2.0 处理组	20	7.23 ± 0.03 ^a	7.29 ± 0.01 ^{ac}	7.32 ± 0.02 ^c	7.34 ± 0.01 ^{cd}	7.35 ± 0.01 ^{bcd}	-13.2 ± 2.5 ^a	-4.0 ± 1.0 ^{ad}	1.3 ± 0.6 ^{abcd}	2.2 ± 0.7 ^{bd}	2.4 ± 0.7 ^{bd}

组别	动物数 (只)	PaCO ₂ (nmol/L)					HCO ₃ ⁻ (nmol/L)				
		0 min	30 min	60 min	90 min	120 min	0 min	30 min	60 min	90 min	120 min
正常对照组	20	40.5 ± 1.9					23.1 ± 0.2				
CHD 模型组	20	31.0 ± 1.4 ^a	52.8 ± 2.4 ^{ad}	51.2 ± 1.0 ^{ad}	47.9 ± 2.3 ^{ad}	49.0 ± 19.0 ^{ad}	12.5 ± 0.7 ^a	18.9 ± 1.2 ^{ad}	21.1 ± 1.1 ^d	22.3 ± 0.9 ^d	23.1 ± 0.7 ^d
HSA 处理组	20	30.9 ± 1.7 ^a	52.1 ± 2.0 ^{ad}	50.4 ± 1.2 ^{ad}	49.9 ± 2.6 ^{ad}	50.1 ± 1.6 ^{ad}	12.8 ± 0.5 ^a	19.8 ± 1.4 ^d	20.1 ± 0.9 ^d	21.9 ± 0.8 ^d	22.7 ± 0.6 ^d
rHb1.1 处理组	20	31.1 ± 1.4 ^a	51.2 ± 1.2 ^{ad}	47.6 ± 2.1 ^d	42.1 ± 1.6 ^{cd}	37.8 ± 2.1 ^{bc}	13.2 ± 0.8 ^a	22.1 ± 0.8 ^d	23.5 ± 1.3 ^d	24.7 ± 1.5 ^d	24.1 ± 1.5 ^d
rHb2.0 处理组	20	30.6 ± 2.3 ^a	53.9 ± 2.2 ^{ad}	49.8 ± 2.3 ^{ad}	44.5 ± 2.4 ^{cd}	43.6 ± 2.9 ^{bcd}	13.4 ± 1.5 ^a	24.1 ± 1.7 ^{bcd}	24.6 ± 1.2 ^{cd}	25.4 ± 0.5 ^{bcd}	25.6 ± 1.9 ^d

注: rHb 为重组血红蛋白, CHD 为冠心病, HSA 为人血清白蛋白; 与正常对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与 CHD 模型组比较, ^b $P < 0.05$; 与 HSA 处理组比较, ^c $P < 0.05$; 与本组给药前 (0 min) 比较, ^d $P < 0.05$; 空白代表无此项

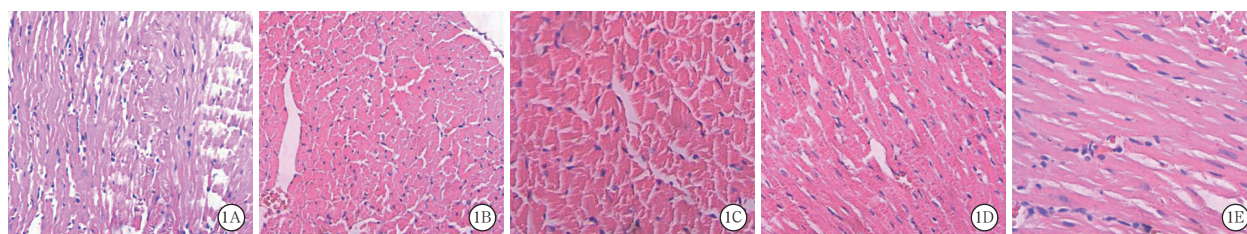


图 1 光镜下观察各组大鼠心肌细胞病理学改变 正常对照组 (A) 心肌细胞排列紧密, 胞质着色均匀, 细胞核呈长椭圆形, 位于心肌纤维中央, 心肌纤维呈束状分布, 排列有序, 无炎性细胞浸润; 冠心病缺血损伤模型组 (B) 和人血清白蛋白 (HSA) 处理组 (C) 心肌细胞肥大、排列紊乱, 胞质着色不均匀, 细胞核肿胀变形, 炎性细胞浸润, 心肌细胞间隙增宽、结缔组织增多, 心肌纤维排列不齐, 部分心肌纤维萎缩或变性, 局部可见空泡样改变; 重组血红蛋白 (rHb1.1、rHb2.0) 处理组 (D、E) 心肌细胞间隙变小, 心肌纤维排列有序, 炎性细胞减少 HE 高倍放大

3 讨论

rHb 是第一种进入临床试验的血红蛋白携氧载体, 其维持组织代谢的效果为血液的 2 倍, 且对于血液流变学有良好的影响, 不论在高或低剪切速率下均可有效降低血液黏度, 其效果优于血浆和经乙基淀粉; rHb 还具有血管活性作用、快速可逆地提高 MAP, 对伴有低血压的患者可产生有益影响^[11]。故本研究旨在观察 rHb 对 CHD 大鼠氧供需的影响, 为 CHD 患者血红蛋白替代品的临床应用提供新思路。

目前有关氧供需平衡的研究主要致力于对肝、肠局部组织器官氧合情况的探讨, 胃黏膜 pH 值 (pHi)、肝静脉血氧饱和度等指标能准确反映机体对血氧的供需状态。而全身氧供需平衡的维持以及氧供需异常的纠正应从降低氧消耗量和增加氧供应两方面考虑; 临床上可通过机械通气、镇静及控制体温等方式来降低氧需要量, 而氧供应的增加需要从增加心排血指数、血红蛋白含量及动脉血氧饱和度等方面入手^[12-14]。CHD 患者存在心脏供血与供氧缺陷, 临床上一般采用抗凝、抗血小板及溶栓类、降脂类等药物、中医治疗和手术介入治疗^[15-17]。赵晓东等^[18]研究发现, 在烧伤后休克复苏中, 应用血浆

代用品血安定可恢复患者的血流量, 增加心排血量, 维持血流动力学稳定, 减少缺血、缺氧性损害。临床上对大量失血后应用液体治疗的主要目的就是增加组织的血液流量和氧供应量。

但是鉴于血液制品本身的缺陷, 基因重组技术生产的 rHb 具有无限提供、可避免免疫交叉反应、无病原微生物污染、特性可控等特点, 目前已经成为血液替代品研究的热门^[9, 19-21]。rHb 可以通过增加现有血液的携氧能力、升高血压、降低 HR 来缓解和减少心肌对氧的需求、减小心脏负荷, 提高心肌耐缺氧的能力, 并减轻极端条件下心肌细胞的损伤。本研究结果也显示, rHb 处理两组给药 30 min 即可明显升高 MAP、使 HR 降至正常、并逐渐恢复 Q_{SMA}, 且 rHb2.0 的作用由于 rHb1.1; 另外, rHb 处理两组心肌组织病理改变也较模型组有所减轻, 表明 rHb 具有保护心肌的作用。

结合目前常用监测手段, 本研究以肠局部组织器官的氧合情况作为反映个体对血氧供需状态的指标。本研究中通过对颈动脉和 SMV 血进行的血气分析发现, 给予 rHb 处理可以有效恢复循环中的血容量, 降低血液循环阻力, 且 rHb 维持的时间

长于 HSA, 考虑与 rHb 具有降低血液黏度作用, 增加肠道血液灌注, 从而显著增加 SMV 血容量有关, 且 rHb2.0 对 SMV 血容量的增加优于 rHb1.1, 这与 Buehler 等^[22]的研究结果一致。

本研究通过比较 rHb1.1、rHb2.0、HSA 3 种补液成分对 CHD 大鼠氧供需平衡的影响, 结果显示, rHb 可快速、有效地纠正血液代谢性酸中毒, rHb1.1 与 rHb2.0 作用相当。相比而言, 由于 HSA 容易透过毛细血管进入到组织间隙中并引起组织水肿, 阻碍了 O₂ 和 CO₂ 以及其他代谢产物的运输, 故不能有效纠正血液酸中毒的状态。但在临床试验中包括一些其他的血液替代品均会出现一些严重的毒副作用, 例如血管收缩、心肌梗死, 甚至死亡等。而 rHb1.1、rHb2.0 经过基因重组技术改造大大降低了对一氧化氮(NO)的结合能力, 减少了因体内 NO 浓度降低而引发的循环和消化系统等不良反应, 其调控血流量和携氧能力与 HSA 相似或者性能还表现得更强。因此, 作为一种极具前景的血液制品的替代品, rHb 亟待基因工程上下游技术的进步来增强其携氧能力及减少不良反应。

参考文献

- [1] 姬尚义, 沈宗林. 缺血性心脏病 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 31.
Ji SY, Shen ZL. Ischemic heart disease [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2005: 31.
- [2] 石玉澍, 张鸿修. 冠心病 [M]. 天津: 天津科学技术出版社, 1986: 28.
Shi YS, Zhang HX. Coronary heart disease [M]. Tianjin: Tianjin Science and Technology Publishing House, 1986: 28.
- [3] Ferraris VA, Ferraris SP, Saha SP, et al. Perioperative blood transfusion and blood conservation in cardiac surgery: the Society of Thoracic Surgeons and The Society of Cardiovascular Anesthesiologists clinical practice guideline [J]. Ann Thorac Surg, 2007, 83 (5 Suppl): S27-86. DOI: 10.1016/j.athoracsurg.2007.02.099.
- [4] Hajjar LA, Vincent JL, Galas FR, et al. Transfusion requirements after cardiac surgery: the TRACS randomized controlled trial [J]. JAMA, 2010, 304 (14): 1559-1567. DOI: 10.1001/jama.2010.1446.
- [5] 陈会欣, 王顺. 输血不良反应对输血疗效的影响 [J]. 中国输血杂志, 2015, 28 (8): 969-971. DOI: 10.13303/j.cjbt.issn.1004-549x.2015.08.045.
Chen HX, Wang S. The effect of blood transfusion adverse reaction on blood transfusion [J]. Chin J Blood Transfus, 2015, 28 (8): 969-971. DOI: 10.13303/j.cjbt.issn.1004-549x.2015.08.045.
- [6] Sakai H, Masada Y, Horinouchi H, et al. Hemoglobin-vesicles suspended in recombinant human serum albumin for resuscitation from hemorrhagic shock in anesthetized rats [J]. Crit Care Med, 2004, 32 (2): 539-545. DOI: 10.1097/01.CCM.0000109774.99665.22.
- [7] Raat NJ. Effects of recombinant-hemoglobin solutions rHb2.0 and rHb1.1 on blood pressure, intestinal blood flow, and gut oxygenation in a rat model of hemorrhagic shock [J]. J Lab Clin Med, 2005, 146 (5): 304-305. DOI: 10.1016/j.lab.2005.07.011.
- [8] Loeb AL, McIntosh LJ, Raj NR, et al. Resuscitation after hemorrhage using recombinant human hemoglobin (rHb1.1) in rats: effects on nitric oxide and prostanoid systems [J]. Crit Care Med, 1998, 26 (6): 1071-1080.
- [9] Hermann J, Corso C, Messmer KF. Resuscitation with recombinant hemoglobin rHb2.0 in a rodent model of hemorrhagic shock [J]. Anesthesiology, 2007, 107 (2): 273-280. DOI: 10.1097/01.anes.0000270756.11669.64.
- [10] 张文立, 赵淑明, 李昌, 等. 益气化痰祛瘀方对冠心病模型大鼠 PAI-1、t-PA 表达的影响 [J]. 中国老年学杂志, 2011, 31 (2): 256-258.
Zhang WL, Zhao SM, Li C, et al. Effects of Prescription Yiqi Huatan Quyu on the PAI-1, t-PA expression of coronary heart disease rats [J]. Chin J Gerontol, 2011, 31 (2): 256-258.
- [11] 李津荣. 重组血红蛋白的生物化学性能研究 [J]. 生物医学工程与临床, 1999, 3 (1): 45.
Li JR. Study on the biological properties of recombinant hemoglobin [J]. Biomed Eng Clin Med, 1999, 3 (1): 45.
- [12] 黄仁强, 戴崑, 史继新. 脑氧代谢指标在颅脑损伤继发性脑缺血判定中的研究进展 [J]. 中国微侵袭神经外科杂志, 2009, 14 (7): 333-336.
Huang RQ, Dai W, Shi JX. Advances in cerebral oxygen metabolic markers in the determination of secondary cerebral ischemia following craniocerebral injury [J]. CMINS, 2009, 14 (7): 333-336.
- [13] 赵双彪, 尹刚, 宁晔, 等. 限制性液体复苏在创伤出血性休克中的应用价值 [J]. 中国医药, 2007, 2 (4): 222-223. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4777.2007.04.015.
Zhao SB, Yin G, Ning H, et al. Study of limited fluid resuscitation in the treatment of hemorrhagic traumatic shock [J]. China Med, 2007, 2 (4): 222-223. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4777.2007.04.015.
- [14] 于天华, 张丽荣, 庞晓川. 手术患者输注全血和红细胞的悬液的对分析 [J]. 中国实验诊断学, 2006, 10 (9): 1020-1021. DOI: 10.3969/j.issn.1007-4287.2006.09.031.
Yu TH, Zhang LR, Pang XC. Comparative analysis of patients of operation transfusing whole blood and erythrocyte suspending [J]. Chin J Lab Diagn, 2006, 10 (9): 1020-1021. DOI: 10.3969/j.issn.1007-4287.2006.09.031.
- [15] 丁邦晗, 陈方, 张敏州, 等. 冠心病介入治疗后冠状动脉再狭窄的中医证候特点——附 33 例病例资料分析 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2004, 11 (2): 110-111. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2004.02.005.
Ding BY, Chen F, Zhang MZ, et al. Characteristic of traditional Chinese medicine syndrome-type of restenosis in cases of coronary heart disease received percutaneous coronary intervention: 33 cases analysis [J]. Chin J TCM WM Crit Care, 2004, 11 (2): 110-111. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2004.02.005.
- [16] 冷永群, 李雪松, 涂婉华, 等. 痰浊内阻型冠心病的心率变异性分析以及与混沌理论的相关性研究 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2010, 17 (6): 340-342. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2010.06.007.
Leng YQ, Li XS, Tu WH, et al. A study on relativity between heart rate variability of cases with phlegm blocking type coronary heart disease and chaos theory [J]. Chin J TCM WM Crit Care, 2010, 17 (6): 340-342. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2010.06.007.
- [17] Schlichtig R, Kramer DJ, Pinsky MR. Flow redistribution during progressive hemorrhage is a determinant of critical O₂ delivery [J]. J Appl Physiol (1985), 1991, 70 (1): 169-178.
- [18] 赵晓东, 党伟, 何忠杰, 等. 血浆代用品血定安应用于烧伤休克复苏的临床研究 [J]. 中华危重病急救医学, 2003, 15 (5): 265-267. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2003.05.003.
Zhao XD, Dang W, He ZJ, et al. Clinical study of plasma substitute (Gelofusion) on fluid resuscitation in patients with burned shock [J]. Chin Crit Care Med, 2003, 15 (5): 265-267. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2003.05.003.
- [19] Resta TC, Walker BR, Eichinger MR, et al. Rate of NO scavenging alters effects of recombinant hemoglobin solutions on pulmonary vasoreactivity [J]. J Appl Physiol (1985), 2002, 93 (4): 1327-1336. DOI: 10.1152/jappphysiol.00175.2002.
- [20] Raat NJ, Liu JF, Doyle MP, et al. Effects of recombinant-hemoglobin solutions rHb2.0 and rHb1.1 on blood pressure, intestinal blood flow, and gut oxygenation in a rat model of hemorrhagic shock [J]. J Lab Clin Med, 2005, 145 (1): 21-32. DOI: 10.1016/j.lab.2004.05.017.
- [21] 刘金峰, 李文志, 李德辉, 等. 重组血红蛋白对大鼠失血性休克的治疗效果 [J]. 中华麻醉学杂志, 2003, 23 (6): 439-442. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1416.2003.06.010.
Liu JF, Li WZ, Li DH, et al. Therapeutic effects of recombinant hemoglobin in rats with hemorrhagic shock [J]. Chin J Anesthesiol, 2003, 23 (6): 439-442. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1416.2003.06.010.
- [22] Buehler PW, Mehendale S, Wang H, et al. Resuscitative effects of polyoxymethylated α - α -cross-linked hemoglobin following severe hemorrhage in the rat [J]. Free Radic Biol Med, 2000, 29 (8): 764-774.

(收稿日期: 2016-06-23)

(本文编辑: 保健媛, 李银平)