文章编号:1000-5404(2012)10-0971-03

论著

紫绀型先天性心脏病患儿血清铁及总铁结合力的变化及意义

张 永,肖颖彬 (400037 重庆,第三军医大学新桥医院全军心血管外科中心)

[摘要] **目的** 检测紫绀型先天性心脏病患儿血红蛋白、平均红细胞压积、血清铁、总铁结合力及心肌组织铁分布的改变,并探讨其意义。**方法** 入组2011年5-11月于新桥医院心外科行手术治疗的先天性心脏病患儿22例,其中男性14例,女性8例,紫绀型先天性心脏病患儿10例,非紫绀先天性心脏病患儿12例。以静脉血为标本,送本院检验科检验血红蛋白及平均红细胞压积,以亚铁嗪法检测血清铁及总铁结合力,以术中右室流出道心肌为标本,Perls-DAB法检测心肌组织中铁的分布。**结果** 与非紫绀组患儿相比,紫绀组先心病患儿血红蛋白含量及平均红细胞压积都明显升高($P<0.05$)。紫绀先天性心脏病患儿血清铁含量明显低于非紫绀患儿[(23.25±4.4)μmol/L *vs* (31.34±4.2) μmol/L, $P<0.01$],并伴有总铁结合力的增加[(69.59±5.8)μmol/L *vs* (52.67±9.2)μmol/L, $P<0.01$]。紫绀组患儿心肌组织中铁含量明显增加($P<0.01$),广泛分布于心肌中。**结论** 紫绀先天性心脏病患儿机体处于铁储备相对缺乏状态,而心肌组织内铁含量增加可能为心肌在缺氧环境下的代偿反应。

[关键词] 紫绀型先天性心脏病;血清铁;总铁结合力;慢性缺氧
[中图法分类号] R446.11;R556.304;R725.411 [文献标志码] A

Changes of serum iron and total iron-binding capacity of infants with cyanotic congenital heart disease

Zhang Yong, Xiao Yingbin (Department of Cardiovascular Surgery, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400037, China)

[**Abstract**] **Objective** To examine the levels of hemoglobin, mean corpuscular volume, serum iron and total iron-binding capacity and the distribution of iron in myocardium of infants with cyanotic congenital heart disease, and to explore the significance. **Methods** A total of 22 infants with cyanotic ($n=10$) and acyanotic ($n=12$) congenital heart disease admitted in our hospital from May 2011 to November 2011 were enrolled. Venous blood was collected for the determination of hemoglobin and mean corpuscular volume, and serum iron and total iron-binding capacity were detected by ferrozine method. The right ventricular myocardium collected during operation was prepared for the detection of iron distribution in myocardium by Perls-DAB. **Results** Compared with the infants with acyanotic congenital heart disease, the infants with cyanotic congenital heart disease had higher levels of hemoglobin ($P<0.05$), mean corpuscular volume ($P<0.05$) and total iron-binding capacity (69.59±5.8 *vs* 52.67±9.2 μmol/L, $P<0.01$), and a lower level of serum iron (23.25±4.4 *vs* 31.34±4.2 μmol/L, $P<0.01$). The myocardial iron content was significantly higher and the myocardial iron distribution was more extensive in the infants with cyanotic congenital heart disease than in the infants with acyanotic congenital heart disease ($P<0.01$). **Conclusion** Chronic hypoxia leads to a relative deficiency of iron storage in infants with cyanotic congenital heart disease, while the increase of iron content in myocardium may be an adaptive response of the heart to chronic hypoxia.

[**Key words**] cyanotic congenital heart disease; serum iron; total iron-binding capacity; chronic hypoxia

Corresponding author: Xiao Yingbin, Tel: 86-23-68755607; E-mail: xiaoyb@vip.sina.com

紫绀型先天性心脏病是由心脏任何水平的右向左分流引起的,可造成慢性的缺氧及紫绀,临床新生儿的发病率及死亡率很高[1]。在慢性缺氧状况下,机体可通过增加血红蛋白、肌红蛋白、细胞内线粒体的数量及加强糖酵解等多种代偿方式,以增加氧气的释放,并减低能量的消耗,重塑细胞的能量供求平衡,使心肌细胞能够最大限度地适应缺氧环境,维持细胞基本的生存和功能[2]。铁是肌红蛋白、细胞色素及线粒体电子传

[通信作者] 肖颖彬,电话:(023)68755607;E-mail:xiaoyb@vip.sina.com

递链中辅基的重要组成成分,是机体不可缺少的必要元素,主要参与心肌细胞对氧气的转运和利用[3]。

近来临床研究发现,使用铁剂治疗慢性心衰患者时,可明显改善患者主观及客观症状、心功能以及生活质量,但并未纠正患者的贫血。这表明铁可能通过改善心肌功能,从而改善心功能[4]。同时,在成人紫绀型先天性心脏病的研究中发现,患者机体处于一种血液黏滞度上升,铁储存缺乏的状态,甚至出现缺铁性贫血,并通过铁剂治疗后,可改善患者的临床症状[5]。本研究将通过检测紫绀先天性心脏病患儿血红蛋白含量,红细胞压积,血清铁及总铁结合力,明确在慢性缺氧的患儿机体中是否伴随铁代谢及相关血液学的改变,并尝试观察紫绀患儿心肌中铁含量的变化,为临床探索有效治疗手段提供依据。

1 资料与方法

1.1 资料

本研究入组患者为2011年5-11月于本科行手术治疗的先天性心脏病患儿22例,其中男性14例,女性8例。纳入标准为:非紫绀组,平均血氧饱和度>95%,且四肢血氧饱和度差异≤2%,临床诊断为室间隔缺损合并右室流出道狭窄;紫绀组,平均血氧饱和度<85%且四肢血氧饱和度差异≤2%,临床诊断为法洛四联症。排除标准:输血及大量出血史、其他心脏畸形及其他系统病变。纳入非紫绀组12例,紫绀组10例,平均年龄13.2(13.2±4.3)个月,术前心脏彩超提示平均射血分数为62.3(62.3±2.9)%。患儿详细临床资料见表1。

表1 紫绀组与非紫绀组先心病患儿术前血氧饱和度及射血分数

组别	临床诊断	男/女(例)	手术时月龄($\bar{x}\pm s$,月)	术前血氧饱和度[($\bar{x}\pm s$)%]	射血分数[($\bar{x}\pm s$)%]
非紫绀组	室间隔缺损+右室流出道狭窄	7/5	15.3±3.9	98.2±1.2	63.1±4.1
紫绀组	法洛四联症	7/3	11.5±4.1	78.9±3.7	61.8±2.6

1.2 方法

1.2.1 标本采集 患儿入院后于次日清晨抽静脉脉血4 ml作为标本,置于乙二胺四盐(EDTA-K2)试管中送检验科测定血红蛋白及平均红细胞压积。另抽4 ml静脉血置于促凝剂试管中,以测定血清铁及总铁结合力。于手术中切除右室流出道心肌组织作为标本,立即放入液氮中冻存,用于Perls-DAB法检测心肌细胞中铁的分布。

1.2.2 血清铁及总铁结合力测定 按照试剂盒说明书,取全血2 ml,离心3 000 r/min,10 min。取60 μl血清加入预先配置好的铁显色液,即为血清铁待测液。另取200 μl血清与200 μl铁标准液混合,室温静置10 min。加入20 mg碳酸镁,室温静置10 min,3 000 r/min离心,10 min。取上清60 μl加入预先配置好的铁显色液,即为总铁结合力待测液。将血清铁待测液及总铁结合力待测液,于562 nm读取溶液吸光度值。根据铁标准液的浓度计算相应数值。

1.2.3 Perls-DAB法检测心肌细胞中铁的分布 心肌组织冰冻切片,常规厚度20 μm。根据文献[6]报道方法,并结合冰冻切片特点,切片复温后浸入3%过氧化氢的甲醇溶液,30 min后,行普鲁士蓝染色30 min,最后在镜下观察DAB染色以防背景过深。阴性对照不行普鲁士蓝染色。封片后显微镜下观察心肌细胞内铁的分布。

1.3 统计学分析

所有数据采用统计软件SPSS 13.0分析,数值均采用$\bar{x}\pm s$表示,紫绀组与非紫绀组比较采用t检验。

2 结果

2.1 患儿血红蛋白及红细胞压积测定

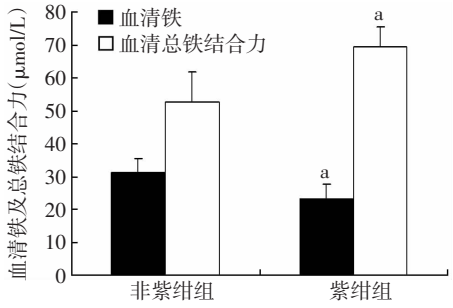
测定结果表明,虽然两组患儿血红蛋白及红细胞压积都基本处于正常范围内,但组间差异较大。与非紫绀组相比,紫绀组先心病患儿血红蛋白含量明显升高[(166.7±22.1)g/L *vs* (125.6±11.9)g/L, $P<0.05$]。除此之外,紫绀先心病患儿平均红细胞压积明显高于非紫绀组[(52.4±8.8)% *vs* (37.7±3.1)%, $P<0.05$]。

2.2 患儿血清铁及总铁结合力测定

使用亚铁嗪法检测血清铁及总铁结合力,与非紫绀组相比,紫绀组患儿血清铁明显下降($P<0.01$),总铁结合力增加($P<0.01$)(图1)。

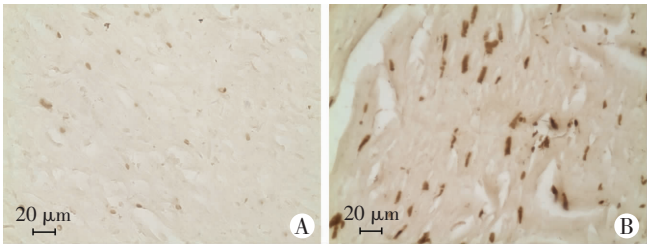
2.3 Perls-DAB法检测心肌中铁的分布

心肌内铁染色呈棕色颗粒,主要散在分布于细胞内。非紫绀组患儿心肌可见少量阳性颗粒、颜色浅淡(图2A)。紫绀组患儿心肌可见大小不等的阳性颗粒明显增多(图2B),与非紫绀组相比相差显著($P<0.01$)。



a:$P<0.01$,与非紫绀组比较

图1 2组先天性心脏病患儿血清铁及总铁结合力比较



A:非紫绀组;B:紫绀组

图2 Perls-DAB法检测2组先天性心脏病患儿心肌细胞中铁的分布

3 讨论

法洛四联症是一种常见的紫绀型先天性心脏病,除先天畸形引起的心脏负荷增加外,血液的低氧合状态也引起患儿全身系统的慢性缺氧[7]。铁与细胞对

氧气的感知密切相关,作为血红蛋白、肌红蛋白、细胞色素及线粒体电子传递链中辅基的重要组成成分,铁对于氧气的转运是必不可少的,且缺铁可减少氧气向组织和细胞扩散,引起细胞低氧。铁与氧气的消耗都可能通过影响线粒体电子传递链,使 ATP 的生成减少,并且可能引发相同的信号通路[9]。

在低氧环境中,有很多参与铁稳态的基因表达发生变化,其中很多基因为低氧诱导因子(hypoxia-inducible factors, HIFs)的直接靶点[9]。而 HIFs 的活性也受到细胞内铁调控,铁作为脯氨酸羟化酶(prolyl hydroxylases, PHDs)的关键辅基,参与调节 HIFs-pVHL 途径的降解[8,10]。

为了适应慢性缺氧,机体可继发地出现了血红蛋白及红细胞增加,从而加剧了机体的铁消耗,引起铁储备下降。在成人紫绀先天性心脏病的研究中发现,伴随红细胞的增加,造成血液黏滞度升高,而铁的持续消耗引起了机体的缺铁性贫血[11-12]。而其相关的深入研究,尤其在幼儿的紫绀先天性心脏病研究中少见报道。因此,研究紫绀先天性心脏病患儿的机体铁储存变化,并观察心肌细胞中的铁含量改变,为我们理解心肌对慢性缺氧的适应提供了新的思路。

本试验中,通过检测患儿血红蛋白含量及红细胞压积,可以观察到,虽然患儿血红蛋白及红细胞压积基本处于正常范围内,但紫绀先天性心脏病患儿血红蛋白含量及平均红细胞压积明显高于非紫绀先天性心脏病患儿。同时,血清铁检测发现,紫绀先天性心脏病患儿的血清铁含量明显低于非紫绀患儿,并伴有总铁结合力的增加。这些提示,紫绀先天性心脏病患儿处于相对铁缺乏的状态,铁可能被用于合成血红蛋白及红细胞数量以增加血液的携氧能力[13]。而在心肌组织铁染色中,我们观察到紫绀先天性心脏病患儿心肌中铁颗粒明显多于非紫绀患儿。我们推测,与非紫绀先天性心脏病患儿相比,在紫绀先天性心脏病患儿体内,一方面血红蛋白的合成需要更多的铁,同时铁也被心肌组织大量摄取。

在慢性低氧的情况下,机体血红蛋白及肌红蛋白的合成都会增加。虽然红细胞生成需要大量的铁,但是肌细胞摄取铁的能力仍会增加以满足自身肌红蛋白的合成。但在短时间的高原环境中,研究发现人体骨骼肌中的铁含量及相关摄铁分子表达下降,分析其原因,推测为在短时间的低氧环境中,机体中的铁主要用于红细胞的生成,引起机体铁储备的下降,从而造成肌肉组织摄铁的减少[14]。

在临床研究中,心衰患者接受铁剂治疗,纠正其机体铁缺乏,可明显改善患者的临床症状[4]。在一项随机双盲研究中,以静脉铁剂治疗伴有铁缺乏的心衰患者从第4周开始,患者自身感受及心功能评估便开始改善,并持续至研究结束。而患者预后的改善与是否伴有贫血并无联系[15]。这表明,铁的作用不仅仅是纠正心衰患者的贫血,更倾向于辅助肌肉的功能,继而改善患者心功能。

本研究表明,紫绀型先天性心脏病患儿,在慢性缺氧状态,出现的机体的铁储存相对缺乏的状态,除大量合成红细胞以有能力携带更多的氧气外,心肌也摄取更多的铁以满足自身代谢的需要及肌红蛋白的合成。

参考文献:

[1] Kornosky J L, Salihu H M. Getting to the heart of the matter: epidemiology of cyanotic heart defects[J]. Pediatr Cardiol, 2008, 29(3): 484-497.
[2] Boutilier R G, St-Pierre J. Surviving hypoxia without really dying[J]. Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol, 2000, 126(4): 481-490.
[3] Andrews N C. Molecular control of iron metabolism[J]. Best Pract Res Clin Haematol, 2005, 18(2): 159-169.
[4] Kociol R D, Newby L K. Ferric carboxymaltose improved symptoms and quality of life in patients with chronic heart failure and iron deficiency[J]. Ann Intern Med, 2010, 152(8): JC4-JC5.
[5] Oechslin E. Hematological management of cyanotic adult with congential heart disease[J]. Int J Cardiol, 2004, 97(Suppl 1): 109-115.
[6] Sohal R S, Wennberg-Kirch E, Jaiswal K, *et al*. Effect of age and caloric restriction on bleomycin-chelatable and nonheme iron in different tissues of C57BL/6 mice[J]. Free Radic Biol Med, 1999, 27(3/4): 287-293.
[7] Driscoll D J. Evaluation of the cyanotic newborn[J]. Pediatr Clin North Am, 1990, 37(1): 1-23.
[8] Chepelev N L, Willmore W G. Regulation of iron pathways in response to hypoxia[J]. Free Radic Biol Med, 2011, 50(6): 645-666.
[9] Mole D R. Iron homeostasis and its interaction with prolyl hydroxylases[J]. Antioxid Redox Signal, 2010, 12(4): 445-458.
[10] Yee-Koh M, Spivak-Kroizman T R, Powis G. HIF-1 regulation: not so easy come, easy go[J]. Trends Biochem Sci, 2008, 33(11): 526-534.
[11] Broberg C S, Bax B E, Okonko D O, *et al*. Blood viscosity and its relationship to iron deficiency, symptoms, and exercise capacity in adults with cyanotic congenital heart disease[J]. J Am Coll Cardiol, 2006, 48(2): 356-365.
[12] DeFilippis A P, Law K, Curtin S, *et al*. Blood is thicker than water: the management of hyperviscosity in adults with cyanotic heart disease[J]. Cardiol Rev, 2007, 15(1): 31-34.
[13] Piperno A, Galimberti S, Mariani R, *et al*. Modulation of hepcidin production during hypoxia-induced erythropoiesis in humans *in vivo*: data from the HIGHCARE project[J]. Blood, 2011, 117(10): 2953-2959.
[14] Robach P, Cairo G, Gelfi C, *et al*. Strong iron demand during hypoxia-induced erythropoiesis is associated with down-regulation of iron-related proteins and myoglobin in human skeletal muscle[J]. Blood, 2007, 109(11): 4724-4731.
[15] Anker S D, Comin-Colet J, Filippatos G, *et al*. Ferric carboxymaltose in patients with heart failure and iron deficiency[J]. N Engl J Med, 2009, 361(25): 2436-2448.

(**收稿**:2011-12-30;**修回**:2012-02-11)
(编辑 栾 嘉)