DOI:10.16016/j.1000-5404.201911150

GBT440 对鼠血液氧结合特性的影响以及抗缺氧效果

魏 铭[1],黄 缄[2],崔 宇[2],苏文婷[3],李晓栩[2],官立彬[2],沈 宜[1,4] 400016 重庆,重庆医科大学:基础医学院干细胞与组织工程研究室病理生理学教研室[1],实验教学管理中心[4];400038 重庆,陆军军医大学(第三军医大学):高原军事医学系高原生理学与病理学教研室,全军高原医学重点实验室,特殊环境医学教育部重点实验室[2],第一附属医院全军病理学研究所[3]

[摘要] **目的** 观察血红蛋白变构剂 Voxelotor(GBT440)对血液携氧特性的影响及其抗缺氧作用。**方法** 将不同浓度 GBT440 与小鼠全血在 37 ℃孵育 1 h,通过血氧分析仪绘制氧解离曲线(oxygen dissociation curves, ODCs)并计算 P50,且通过分别添加酸、碱改变样本 pH 值,检测 ODCs 的变化。将 24 只 SD 雄性大鼠按随机数表法分为常氧对照、常氧用药、缺氧对照、缺氧用药组($n=6$)。对照组和用药组大鼠分别以 0、100 mg/kg GBT440 灌胃,1 h 后将常氧组和缺氧组大鼠分别置于 21%O_2 和 10%O_2 的密闭小室中;6 h 后取所有大鼠腹主动脉血,进行血气检测。另将 C57 雄性小鼠同以上的分组和实验处理,取材前 1.5 h 腹腔注射缺氧探针派诺硝唑,用免疫组织化学方法检测小鼠肝、肾、脑组织的缺氧程度。**结果** 随着与血液孵育的 GBT440 浓度的增加,ODCs 呈剂量依赖性左移,P50 降低($P<0.05$),加酸后 ODCs 右移,加碱后 ODCs 左移。未使用 GBT440 时,与常氧组相比,缺氧组动脉氧分压[$p(O_2)$]、动脉血氧饱和度(SpO_2)均显著降低($P<0.05$),肝、肾、脑组织缺氧程度明显加重;使用 GBT440 后,上述变化得以改善,与缺氧对照组相比,缺氧用药组 $p(O_2)$ 增加了 21.35%;SpO_2 增加了 8.14%($P<0.05$),肝、肾、脑组织缺氧程度明显减轻。**结论** GBT440 能提高血液的携氧能力,改善组织的缺氧程度,有望成为一种有效的抗缺氧药物。

[关键词] GBT440;缺氧;血红蛋白;氧亲和力

[中图法分类号] R331.141; R364.4; R965 [文献标志码] A

Effect of GBT440 on oxygen-carrying characteristics and its anti-hypoxia effect in hypoxia animal model

WEI Ming[1], HUANG Jian[2], CUI Yu[2], SU Wenting[3], LI Xiaoxu[2], GUAN Libin[2], SHEN Yi[1,4] [1]Laboratory of Stem Cell and Tissue Engineering & Department of Pathophysiology, College of Basic Medical Sciences, [4]Experimental Teaching Management Center, Chongqing Medical University, Chongqing, 400016; [2]Department of High Altitude Physiology and High Altitude Biology, Key Laboratory of High Altitude Medicine of PLA, Key Laboratory of Extreme Environmental Medicine of Ministry Education, Faculty of High Altitude Military Medicine, [3]Institute of Pathology, First Affiliated Hospital, Army Medical University(Third Military Medical University), Chongqing, 400038, China

[**Abstract**] **Objective** To study the effect of hemoglobin allosteric agent Voxelotor(GBT440) on oxygen-carrying characteristics of blood and its anti-hypoxia effect. **Methods** Whole arterial blood of mice were incubated with different concentrations of GBT440 at 37 ℃ for 1 h, then hemoglobin oxygen dissociation curves(ODCs) were detected by Hemox Analyzer and the P50 was calculated. After the pH value of blood samples changed by adding acid and alkali, the changes of ODCs were detected. SD rats were randomly divided into normoxia control group, normoxia treatment group, hypoxia control group and hypoxia treatment group($n=6$). The rats in the control group and the treatment group were given 0 and 100 mg/kg GBT440

[基金项目] 军队医学科技青年培育计划(20QNPY002);全军后勤科研重点项目(BWS17J031);全军后勤科研重大项目(AWS14L005)

[通信作者] 沈 宜,E-mail:shenyicq@163.com

respectively by gavage. In 1 h later, the normoxia group and the hypoxia group were respectively placed in closed chambers containing 21% O_2 and 10%O_2, and their abdominal aortic blood samples were collected for blood-gas test in another 6 h. The male C57 mice were divided into groups and treated as above. The hypoxyprobe was injected intraperitoneally at 1.5 h before the sampling, and the hypoxia level of the liver, kidney and brain tissues of the mice were detected by immunohistochemistry. **Results** With the increase concentrations of GBT440, ODCs were shifted to the left in a dose-dependent manner and P50 were significantly decreased($P<0.05$). In the present of GBT440, adding acid induced ODCs right-shift, while adding alkali resulted in it left-shift. In the absence of GBT440, $p(O_2)$ and SpO_2 in the hypoxic group were significantly reduced when compared with the normal group($P<0.05$), and the hypoxic conditions in the liver, kidney and brain tissues were significantly severer. In the presence of GBT440, these indicators were improved in the hypoxia+GBT440 group than the hypoxia group, $p(O_2)$ was increased by 21.35% and SpO_2 by 8.14%($P<0.05$), and the hypoxic conditions in above organs were obviously ameliorated. **Conclusion** GBT440 can improve the oxygen carrying capacity of blood and the hypoxic conditions in tissues, and is expected to be an effective anti-hypoxia drug.

[**Key words**] hypoxia; GBT440; hemoglobin; oxygen affinity

Supported by the Youth Training Plan of Military Medical Science and Technology(20QNPY002), the Key Project of Logistics Research of PLA(BWS17J031), and the Major Project of Logistics Research of PLA(AWS14L005). Corresponding author: SHEN Yi, E-mail: shenyicq@163.com

缺氧是多种疾病发生发展的病理基础,因缺氧导致的组织器官损伤会直接威胁人的生命安全。临床上虽然已有借助氧气瓶、呼吸机等改善组织氧供应的措施,但是这些措施需要相应的设备,不便于携带或常规配置。对外界氧含量降低(如高空作业和高原缺氧)或有外呼吸功能障碍(如肺源性心脏病和慢性阻塞性肺疾病等)的情况下,这些措施并不高效实用。在人体中,红细胞中的血红蛋白(hemoglobin,Hb)是维持血液和组织中足够 O_2 水平的关键蛋白质。Hb 独特的分子变构效应使其具有高效装卸 O_2 的功能特性[1]。调节 Hb 与 O_2 结合(Hb-O_2)亲和力和波尔效应这两种特性可直接且快速地提高肺部从外界摄取 O_2、在组织卸载 O_2 的能力,改善组织缺氧损伤[2]。因此,基于 Hb 提高血液携氧能力、增强组织氧供是较为经济、方便、快速、有效的抗缺氧措施。一种新型的血红蛋白变构剂——GTB440,能与 Hb 的 α 链 N 端缬氨酸共价可逆地结合,增加 Hb 的氧亲和力,稳定氧合 Hb 状态,目前主要用于镰刀型贫血病的治疗研究,并取得显著性成就[3-4]。然而,利用 GBT440 上调 Hb-O_2 亲和力是否能改善缺氧性疾病有待探索。本研究探讨 GBT440 对血液携氧特性的影响及其抗缺氧效果。

1 材料与方法

1.1 实验材料和仪器

主要仪器:常压常氧和常压缺氧装置(实验室制),气体浓度检测仪(深圳普利通科技有限公司),智能控氧仪 ZKY2(浙江建德通达电子控制设备厂),HEMOX-ANALYZER 血氧分析仪(美国 TCS Scientific 公司),血气分析仪及血气分析试剂盒(美国 IRMA 公司),pH 值测量仪(德国 Satorius 公司),GBT440($C_{19}H_{19}N_3O_3$,美国全球血液公司),缺氧探针(美国 Hypoxyprobe 公司)。

实验动物:30 只 8~10 周龄 C57 雄性小鼠,体质量(20±2)g;24 只 6~7 周龄 SD 雄性大鼠,体质量(200±10)g,均由陆军军医大学实验动物中心提供。

1.2 氧解离曲线绘制及波尔效应检测

新鲜健康成年 C57 雄性小鼠全血,乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝,用不同浓度的 GBT440(0、50、100、200、300 μmol/L,溶于二甲基亚砜且终浓度<2%),在 37 ℃恒温箱孵育 1 h,配制氧解离曲线(oxygen dissociation curves, ODCs)检测样本(3 mL PBS,30 μL 孵育后的血样本,12 μL 22%胎牛血清,20 μL 10%聚二甲基硅氧烷,轻荡混匀),用 Hemox-Analyzer 血氧分析仪分析 ODCs 检测样本,按照操作说明调试仪器,通入纯 N_2,在 37 ℃绘制 ODCs,计算 P50(血氧饱和度为 50%时的氧分压)。重复上述步骤,在 pH 仪的监测下分别用 1 mmol/L HCl 和 1 mmol/L NaOH 调定 ODCs 检测样本的 pH 值(7.10、7.40、7.70),得到不同 pH 值影响下的 ODCs 及相应 P50,计算酸碱敏感值(sensitive index, SI),$SI=(P50_{7.10}-P50_{7.70})/P50_{7.40}\times100\%$($P50_{7.10}$、$P50_{7.40}$、$P50_{7.70}$ 分别代表 ODC 检测样本 pH=7.10、7.40、7.70 时相应的 P50),即波尔效应强弱指标[5]。

1.3 血气检测

实验室自制常压常氧、常压缺氧装置,控氧仪监测

并控制装置内 O_2 浓度,密闭的缺氧装置通入纯氮气(N_2),使装置内 O_2 浓度降低到 10%,常压装置内 O_2 浓度为 21%。将 24 只 SD 雄性大鼠,按随机数表法分为常氧对照组(NC,0 mg/kg GBT440),常氧用药组(NG,100 mg/kg GBT440),缺氧对照组(HC,0 mg/kg GBT440),缺氧用药组(HG,100 mg/kg GBT440)(n=6)。实验前 1 d 下午 6 点后所有大鼠禁食,实验当天用药组通过灌胃的方式给予 GBT440,对照组灌以相应溶剂。1 h 后常氧组和缺氧组大鼠分别放置在已提前调好 O_2 浓度的常氧装置和缺氧装置内。6 h 后在装置内取材,大鼠麻醉完全后,剖腹并分离腹主动脉,用已排尽空气、肝素钠湿润过的注射器抽取 0.5 mL 动脉血,针头用橡皮隔绝空气,快速注入血气分析试剂盒中,插入血气分析仪检测,仪器检测相应指标,同时保留部分抗凝动脉血进行 ODCs 检测,ODCs 的检测是用 GBT440 给动物灌胃后,再取动物新鲜全血,按照上述方法配制 ODCs 检测样本,用血氧分析仪同上述方法绘制 ODCs。ODCs 检测均重复 3 次,P50 取平均值。

1.4 免疫组织化学检测缺氧探针

16 只雄性 C57 小鼠,按随机数字表法分为 NC、NG、HC、HG 4 个组(n=4),同方法 1.3 给药和常氧缺氧处理。取材前 1.5 h,所有小鼠腹腔注入 60 mg/kg 缺氧探针派诺硝唑(pimonidazole hydrochloride,一种新型乏氧细胞标记物,其原理是利用还原硝基有选择性结合乏氧细胞的能力而形成的一种从细胞水平测定缺氧程度技术)。麻醉小鼠后剖开胸腔和腹腔,暴露心脏、肝脏和肾脏,剪开右心房放出血液,用灌注泵从心尖处先后给小鼠全身缓慢地灌注生理盐水和 4%多聚甲醛,直到全身板直僵硬,皮肤和肝肾脏苍白,取出小鼠大脑,肝脏左叶和完整左肾,放入 4%多聚甲醛固定 24 h 后修整组织,取脑组织和肾组织冠状面中部厚 5 mm 的切块,肝组织呈 1 cm×1 cm×0.5 cm 切块,石蜡包埋切片后做免疫组织化学检测,一抗以 FITC-抗派诺硝唑探针小鼠 IgG 单克隆抗体孵育,二抗以 HRP-兔抗 FITC IgG 多克隆抗体孵育。在显微镜下,40 倍镜下观察肝实质细胞和肾皮质细胞,运用 Image Pro Plus 6.0 软件拍照分析,在全镜扫描仪下,20 倍镜下观察脑冠状面,用 OLYMPIS VS-ASW 2.9 软件进行分析。

1.5 统计学处理

采用 SPSS19.0 统计软件,实验数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,P50 及 SI 采用单因素方差分析,体内实验结果均采用双因素方差分析,且用最小显著差异法 LSD 进行均数之间差异显著性检验,发生率用 χ^2 检验。检验水准 α=0.05。

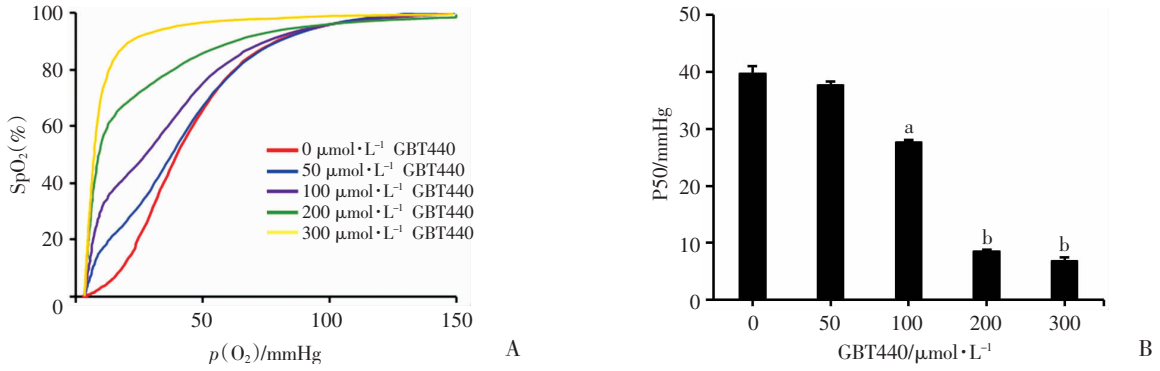
2 结果

2.1 GBT440 对 Hb-O_2 亲和力的影响

为了明确 GBT440 对 Hb 与 O_2 亲和力的影响,用不同浓度 GBT440 孵育小鼠全血后得到的 ODCs,结果发现:随着药物浓度的增加(0、50、100、200、300 μmol/L),ODCs 逐渐左移,P50 降低(P<0.05,图 1),分别为(40.20±0.31)、(38.16±1.42)、(27.42±2.40)、(8.72±1.16)、(7.02±1.19) mmHg。与未用药组(0 μmol/L 组)对比,50 μmol/L 组无统计学差异(P>0.05),100、200、300 μmol/L 组有统计学差异(P<0.05)。

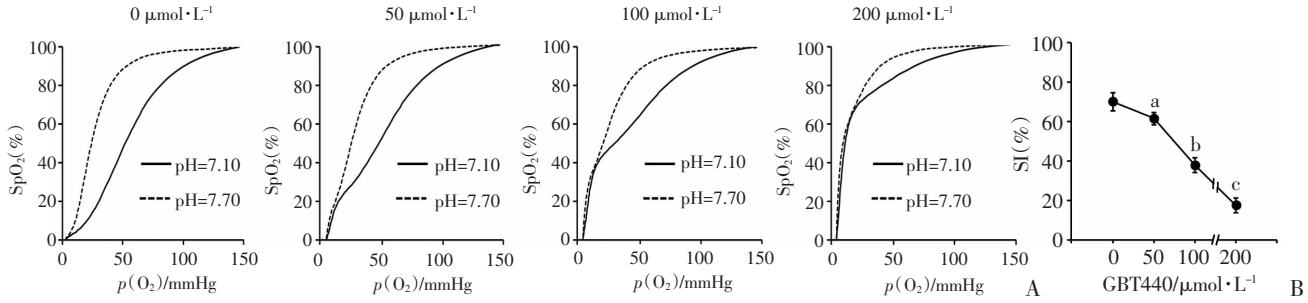
2.2 GBT440 对波尔效应的影响

为了探讨 GBT440 是否会影响 Hb 对 O_2 的释放,检测酸碱条件下 ODCs 的变化,结果见图 2。不同浓度 GBT440 孵育后的血样本,在酸性条件下(pH=7.10),ODCs 均右移,在碱性条件下(pH=7.70),ODCs 均左移,即均存在波尔效应。但是不同 GBT440 浓度条件下 ODCs 移动的幅度不同,酸碱敏感指数 SI 随着药物浓度的增加逐渐降低(P<0.01)。



A:不同浓度 GBT440 孵育全血后的氧离曲线;B:不同浓度 GBT440 孵育全血后 P50 统计 a:P<0.01,与 0 μmol/L 比较;b:P<0.01,与 100 μmol/L 比较

图 1 GBT440 对体外小鼠血液氧离曲线及 P50 的影响



A：在酸碱条件下不同浓度 GBT440 孵育全血后的氧离曲线；B：不同浓度 GBT440 孵育全血后的酸碱敏感值(SI)
a：$P<0.01$，与 0 μmol/L 比较；b：$P<0.01$，与 50 μmol/L 比较；c：$P<0.01$，与 100 μmol/L 比较

图 2　不同浓度 GBT440 对小鼠红细胞波尔效应的影响

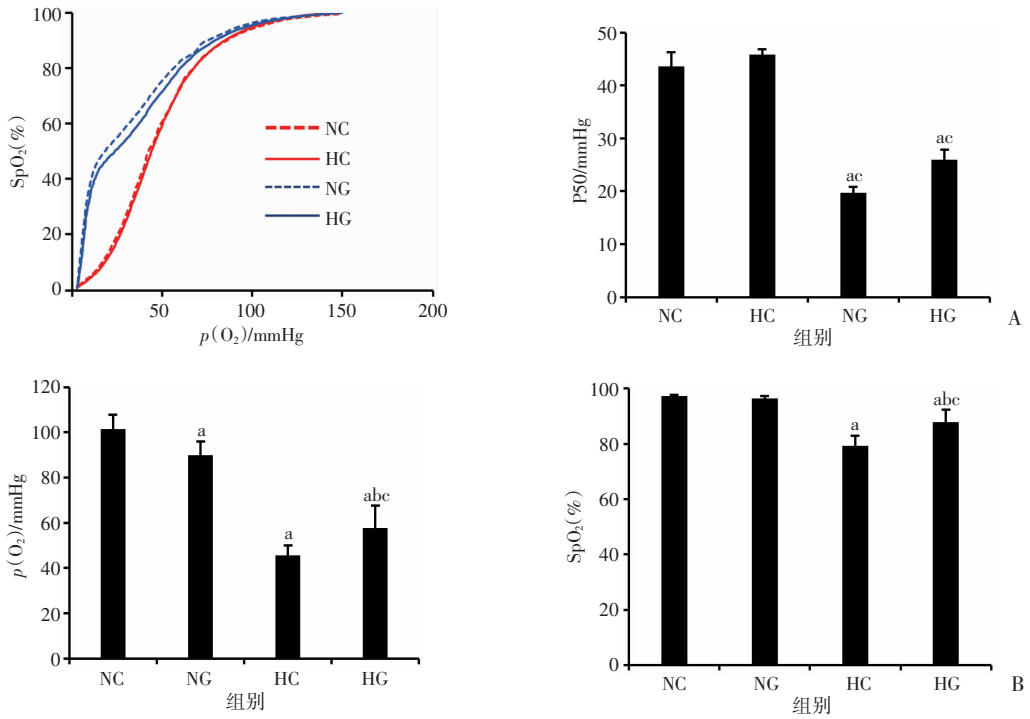
2.3　GBT440 对血液携氧能力的影响

对比 NC 和 HC 组，NG 和 HG 组血液 ODCs 明显左移，P50 值显著性下降($P<0.05$)。对比 NG 组，HG 组血液的 ODCs 左移的幅度变小，但 P50 值无统计学差异($P>0.05$，图 3A)。

为了明确 GBT440 是否能改善血液携氧特性，检测常氧和缺氧条件下的动脉血氧参数，结果见图 3B，以 NC 组的各项指标为基准值作对比，HC 组和 HG 组的氧分压[$p(O_2)$]，血氧饱和度(SpO_2)显著下降($P<0.05$)，HG 组 $p(O_2)$、SpO_2 相对 HC 组显著提高($P<0.05$，图 3B)。双因素方差分析发现缺氧和用药两个因素存在显著的交互作用($P<0.01$)。

2.4　GBT440 对酸碱平衡的影响

为了探讨 GBT440 是否能够改善缺氧的严重程度，分析 HC 和 HG 组每个样本发生代偿之外的代谢性酸中毒，该酸中毒程度反映了组织的缺氧严重程度。对比 NC 组，HC 组和 HG 组的二氧化碳分压[$p(CO_2)$]，碱剩余(BE)，碳酸氢根离子(HCO_3^-)显著降低($P<0.01$，表 1)，初步判定 HC 组和 HG 组存在呼吸性碱中毒。根据预计代偿公式[6]：$\Delta[HCO_3^-]=0.2\times\Delta PCO_2\pm2.5$(“Δ”表示改变值)，进一步计算大鼠代偿之外的代谢性酸中毒，对比 HC 组，HG 组中 6 只大鼠此部分的代谢性酸中毒发生率显著降低($P<0.01$)，分别为 66.67%、16.67%。



A：GBT440 对常氧和缺氧大鼠氧离曲线及 P50 的影响；B：GBT440 对血氧参数 $p(O_2)$、SpO_2 的影响
a：$P<0.01$，与 NC 组比较；b：$P<0.01$，与 NG 组比较；c：$P<0.01$，与 HC 组比较

图 3　GBT440 对血液携氧能力的影响

表 1　GBT440 作用下常氧和缺氧 SD 大鼠血气指标($n=6,\bar{x}\pm s$)

组别	pH	$p(CO_2)$/mmHg	BE/mmol·L^{-1}	HCO_3^-/mmol·L^{-1}
NC	7.38±0.04	33.58±3.05	−4.72±2.12	19.50±1.72
NG	7.35±0.04	35.42±3.88	−5.40±1.79	19.47±1.78
HC	7.37±0.03	26.35±1.20^{a}	−8.62±2.05^{a}	15.03±1.70^{a}
HG	7.37±0.05	22.63±4.20^{ab}	−10.07 ±2.07^{ab}	16.22±1.00^{ab}

a: $P<0.05$,与 NC 组比较;b: $P<0.01$,与 NG 组比较

2.5　GBT440 对缺氧小鼠脑、肝、肾组织缺氧程度的影响

为了明确 GBT440 是否能改善重要组织的缺氧程度,我们利用缺氧探针派诺硝唑,通过免疫组织化学的方法来检测肝、肾、脑组织的缺氧程度,结果发现(图 4):对比 NC 组,HC 组脑组织、肝实质细胞和肾皮质细胞的染色程度加深。在使用 GBT440 后,上述变化明显减轻:和 HC 组相比,HG 组脑组织(尤其是大脑前额叶)、肝实质细胞和肾皮质细胞的染色程度降低,但是和 NG 组相比,着色仍然较深。

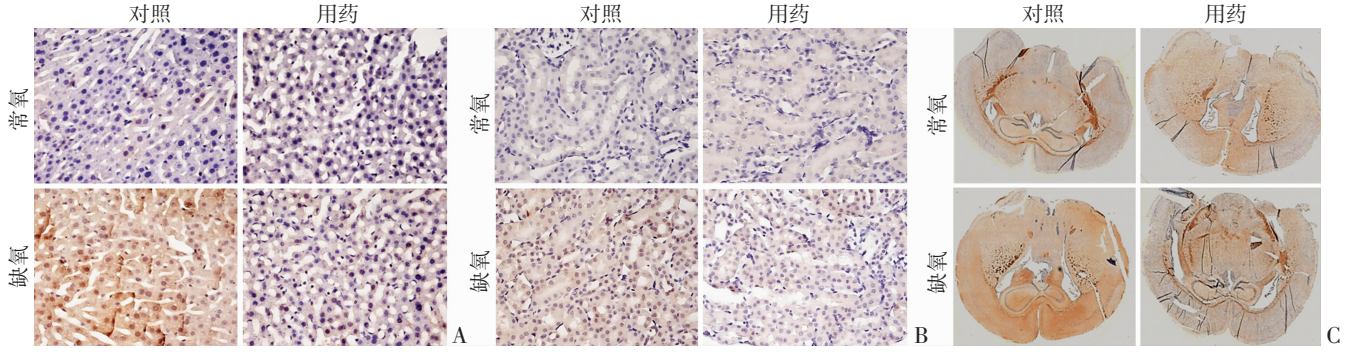
3　讨论

GBT440 是一种新型的 Hb 变构剂,其吡唑取代基能与 Hb 分子中一个 α 链的 N 端缬氨酸残基结合,稳定了 Hb 分子的 R 态,导致 Hb-O_2 亲和力增加。GBT440 还与 Hb 的第 2 个 α 链的 131 位丝氨酸形成氢键,阻止了 Hb 四聚体与其它 GBT440 分子结合。因此,一个 Hb 四聚体只能同一个 GBT440 分子结合(以 1∶1的化学计量与 Hb 结合),相比 5-HMF、Tucarasol、BW12C 这 3 种 Hb 变构剂(以 2∶1的化学计量与 Hb 结合),GBT440 能更加有效地提高 Hb-O_2 的亲和力[3,7]。而我们的体外实验结果显示随着 GBT440 浓度的增加,ODCs 逐渐左移,P50 降低,表明 GBT440 能有效使 Hb-O_2 亲和力增加。

在外界环境 O_2 分压降低时,O_2 分子从肺泡弥散到红细胞的驱动力降低,引起血氧含量降低。此时,增加 Hb-O_2 亲和力有利于 Hb 在肺泡毛细血管处结合更多的 O_2。在常氧条件下,GBT440 提高 Hb-O_2 亲和力后,在动脉血中释放的 O_2 减少。$p(O_2)$指物理溶解在血液中的氧所产生的张力,因此 $p(O_2)$降低,但是此时的 Hb 携 O_2 量已经高饱和(SpO_2>97%),仍处于氧离曲线的平坦部分,以至于 GBT440 作用常氧大鼠后不会引起 SpO_2 的明显改变;但是在缺氧条件下,利用 GBT440 提高 Hb-O_2 亲和力后,动脉血液中的 $p(O_2)$和 SpO_2 均显著提高,组织毛细血管和周围组织液的氧分压梯度(动静脉氧分压差)增加,促使 O_2 分子向组织细胞的扩散。

Hb-O_2 亲和力增高使得 Hb 结合的 O_2 不易释放给组织细胞使用,但是,O_2 释放还会受到波尔效应(pH/CO_2 对 Hb-O_2 亲和力的影响)的影响[8]。因此,我们模拟体内的酸碱环境,波尔效应检测发现在酸性条件下 GBT440 作用后的 ODCs 依然会明显右移。在缺氧时,组织细胞的无氧酵解增强,产生大量的乳酸等酸性代谢产物,降低血液 pH 值。代谢终产物 CO_2 也可以降低血液的 pH 值,还可以直接与 Hb 分子结合降低 Hb-O_2 亲和力,使 ODCs 右移。另外,在机体缺氧时红细胞内 2,3-二磷酸甘油酸(2,3-diphosphoglyceric acid,2,3-DPG)、磷酸盐等增多,也促使 ODCs 右移。因此,在组织细胞中存在多种因素使 ODCs 右移,降低 Hb-O_2 亲和力,从而避免因 GBT440 引起的 Hb-O_2 亲和力增高而造成的 O_2 释放障碍。另外,缺氧时 GBT440 增加动脉 SpO_2 的同时,也增加了动脉 $p(O_2)$,说明结合在高亲和力 Hb 的 O_2 释放到血浆中的量也增加,这一结果也证明了结合了 GBT440 的 Hb 依然会释放氧到血浆中。

组织缺氧程度越重,代谢性酸中毒的可能性越大,因此代谢性酸中毒发生率可以反映缺氧严重程度。缺氧组血液中 $p(CO_2)$降低,说明存在呼吸性碱中毒。因为在急性缺氧条件下,机体吸入低浓度的 O_2,动脉血 $p(O_2)$、SpO_2 降低,直接刺激颈动脉体,促使呼吸加深加快,CO_2 呼出增多,导致 $p(CO_2)$降低,血浆中 H_2CO_3 降低,机体代偿性 HCO_3^- 减少。另一方面,机体缺氧导致组织细胞无氧酵解增强,乳酸等酸性产物增多,引起代谢性酸中毒。代谢性酸中毒时 H^+增多,也可以中和



A:肝实质细胞(×40);B:肾皮质细胞(×40);C:大脑矢状面(×20)

图 4　免疫组织化学显示 GBT440 对缺氧小鼠肝、肾、脑组织缺氧程度的影响

一部分 HCO_3^-,导致 HCO_3^- 进一步降低[6,9-10]。因此,我们通过呼吸性碱中毒预计代偿公式来计算缺氧时代谢性酸中毒的发生率,实验结果表明 GBT440 显著降低了缺氧时代谢性酸中毒的发生率,说明 GBT440 能降低缺氧的严重程度。另外,缺氧探针的结果更加直接表明 GBT440 能显著减轻肝、肾、脑组织的缺氧程度。

GBT440 能显著改善组织的缺氧程度,除了与其增强红细胞在肺部抓取更多的氧有关外,也从侧面说明结合了 GBT440 的 Hb 能顺利释放氧。在比较严重的缺氧环境下,怎么从外环境获取更多的 O_2 是首要解决的问题,GBT440 提高 Hb-O_2 亲和力后有助于 Hb 在肺部从外界环境获取更多的 O_2,维持较高的 $p(O_2)$。而且,在脑、肌肉组织中酸性代谢产物、2,3-DPG 等增多,使 Hb-O_2 亲和力降低,可以减轻因 GBT440 引起 Hb-O_2 亲和力增高而造成的 O_2 释放困难。从鱼类到鸟类和哺乳动物,存在耐缺氧物种的 Hb-O_2 亲和力高于不耐缺氧物种的现象。如飞越喜马拉雅山、耐缺氧能力极强的斑头雁,通过基因突变使其具有很高的 Hb-O2 亲和力[11]。YALCIN 等[12]通过 5-HMF 控制大鼠的 Hb-O_2 亲和力,发现在急性重度缺氧条件下,P50 的减少是有益的。我国研究者发现[13]对比平原汉族人,世代居住在高原低氧环境的藏族人群和已对高原习服的汉族人群有较强的耐缺氧能力,其 P50 值均显著降低。因此提高 Hb-O_2 亲和力有助于提高机体的耐缺氧能力。

在 ODCs 的上段,$p(O_2)$ 的变化并不能引起 SpO_2 明显的变化。在轻度缺氧时 $p(O_2)$ 仍然维持在较高的水平,因此氧亲和力的变化对 SpO_2 的影响并不明显,所以 GBT440 对轻度缺氧并无明显的效果。相反,降低 Hb-O_2 亲和力的变构剂可能有较好的效果,因为此类变构剂有助于 O_2 的释放[2]。但是在重度缺氧时,$p(O_2)$ 的变化较明显,SpO_2 的变化在 ODCs 的陡段,因此 GBT440 增加 Hb-O_2 亲和力有助于形成较高的 SpO_2,而组织中的酸性环境可以促使 O_2 的释放。在高海拔地区,Hb-O_2 亲和力高的鹿鼠在严重缺氧条件下具有更高的耐缺氧能力,而在低海拔地区,Hb-O_2 亲和力较低的鹿鼠具有更好的表现[14]。因此对于较严重缺氧的情况,例如高原、高空作业、剧烈运动,GBT440 有望成为一种提高作业能力,预防低氧损伤的有效药物。

参考文献:

[1] GELL D A. Structure and function of haemoglobins[J]. Blood Cells Mol Dis, 2018, 70: 13-42. DOI: 10.1016/j.bcmd.2017.10.006.

[2] SRINIVASAN A J, MORKANE C, MARTIN D S, *et al*. Should modulation of p50 be a therapeutic target in the critically ill? [J]. Expert Rev Hematol, 2017, 10(5): 449-458. DOI: 10.1080/17474086.2017.1313699.

[3] FERRONE F A. GBT440 increases haemoglobin oxygen affinity, reduces sickling and prolongs RBC half-life in a murine model of sickle cell disease[J]. Br J Haematol, 2016, 174(4): 499-500. DOI: 10.1111/bjh.14212.

[4] DUFU K, LEHERE-GRAIWER J, RAMOS E, *et al*. GBT440 inhibits sickling of sickle cell trait blood under *in vitro* conditions mimicking strenuous exercise[J]. Hematol Rep, 2016, 8(3): 6637. DOI: 10.4081/hr.2016.6637.

[5] YUAN Y, TAM M F, SIMPLACEANU V, *et al*. New look at hemoglobin allostery[J]. Chem Rev, 2015, 115(4): 1702-1724. DOI: 10.1021/cr500495x.

[6] SEIFETR J L, CHANG H Y. Disorders of acid-base balance: new perspectives[J]. Kidney Dis(Basel), 2017, 2(4): 170-186. DOI: 10.1159/000453028.

[7] HUTCHALEELAHA A, PATEL M, WASHINGTON C, *et al*. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of voxelotor (GBT440) in healthy adults and patients with sickle cell disease[J]. Br J Clin Pharmacol, 2019, 85(6): 1290-1302. DOI:10.1111/bcp.13896.

[8] ZHENG G, SCHAEFER M, KARPLUS M. Hemoglobin Bohr effects: atomic origin of the histidine residue contributions[J]. Biochemistry, 2013, 52(47): 8539-8555. DOI: 10.1021/bi401126z.

[9] HOCHRAINER M, FUNK G C. Interpretation of acid-base disorders[J]. Med Klin Intensivmed Notfmed, 2019, 114(8): 765-776. DOI:10.1007/s00063-019-00621-x.

[10] SPITAL A. Physiological approach to assessment of acid-base disturbances[J]. N Engl J Med, 2015, 372(2): 193. DOI: 10.1056/NEJMc1413880.

[11] JENDROS A, MALTE H, OVERGAARD C B, *et al*. Allosteric mechanisms underlying the adaptive increase in hemoglobin-oxygen affinity of the bar-headed goose[J]. J Exp Biol, 2018, 221(Pt 18): jeb185470. DOI: 10.1242/jeb.185470.

[12] YALCIN O, CABRALES P. Increased hemoglobin O_2 affinity protects during acute hypoxia[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2012, 303(3): H271-H281. DOI: 10.1152/ajpheart.00078.2012.

[13] LI C, LI X, LIU J, *et al*. Investigation of the differences between the Tibetan and Han populations in the hemoglobin-oxygen affinity of red blood cells and in the adaptation to high-altitude environments[J]. Hematology(Amsterdam, Netherlands), 2018, 23(5): 309-313. DOI: 10.1080/10245332.2017.1396046.

[14] STORZ J F. Hemoglobin-oxygen affinity in high-altitudevertebrates: is there evidence for an adaptive trend? [J]. J Exp Biol, 2016, 219(20): 3190-3203. DOI: 10.1242/jeb.127134.

(**收稿**:2019-11-18;**修回**:2020-02-05)

(编辑 郭建秀)