

提高低压低氧环境下红细胞氧亲和力的策略及潜在药物

张宇轩^{1,2}, 钱庆元^{2,3}, 王芃², 李晓琳^{1,2}, 李茂星^{1,3,4*} (1.甘肃中医药大学药学院, 兰州 730000; 2.联勤保障部队第九四〇医院全军高原医学实验室, 兰州 730050; 3.兰州大学药学院, 兰州 730000; 4.军事科学院军事医学研究院辐射医学研究所, 北京 100850)

摘要: 目的 归纳和总结目前研究中能够在低压低氧环境下提高红细胞氧亲和力的策略及潜在的药物。方法 通过查阅CNKI数据库、Web of Science数据库及Pubmed数据库中有关低压低氧环境与红细胞氧亲和力关系的文献, 对其进行筛选、提取和归纳总结。结果 低压低氧环境下, 机体摄氧能力、氧气利用效率下降, 导致机体处于缺氧状态。提高红细胞氧亲和力可帮助机体适应与习服低压低氧环境, 且较多提高方式已在其他疾病中得到应用。结论 通过提高低压低氧环境下红细胞氧亲和力来提高氧气的利用率是目前预防高原低压低氧环境对人体损伤研究的起点与重点。

关键词: 低压; 低氧; 红细胞; 血红蛋白; 氧亲和力

中图分类号: R961; R599.9

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2023)16-2315-14

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.20223471

引用本文: 张宇轩, 钱庆元, 王芃, 等. 提高低压低氧环境下红细胞氧亲和力的策略及潜在药物[J]. 中国现代应用药学, 2023, 40(16): 2315-2328.

Strategies and Potential Drugs to Improve Erythrocyte Oxygen Affinity in Hypobaric and Hypoxic Environment

ZHANG Yuxuan^{1,2}, QIAN Qingyuan^{2,3}, WANG Peng², LI Xiaolin^{1,2}, LI Maoxing^{1,3,4*} (1.College of Pharmacy, Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China; 2.The PLA Highland Medical Laboratory, The 940th Hospital of Joint Logistic Support Force of Chinese People's Liberation Army, Lanzhou 730050, China; 3.College of Pharmacy, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China; 4.Institute of Radiation Medicine Sciences, Academy of Military Medical, Academy of Military Sciences, Beijing 100850, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To summarize the strategies and potential drugs that can improve the oxygen affinity of red blood cells in the hypobaric and hypoxic environment in the current research. **METHODS** The retrieved literatures were screened, extracted and summarized by referring to the literature on the relationship between hypobaric hypoxic environment and erythrocyte oxygen affinity in CNKI database, Web of Science database and Pubmed database. **RESULTS** Under the hypobaric and hypoxic environment, the body's oxygen uptake capacity and oxygen utilization efficiency decreased, resulting in the body being in a state of hypoxia. Improving the oxygen affinity of red blood cells could help the body adapt to and get used to the hypobaric and hypoxic environment, and many improvement methods had been applied in other diseases. **CONCLUSION** Improving the oxygen utilization rate of red blood cells by increasing the oxygen affinity of erythrocytes under hypobaric and hypoxia environment is the starting point and focus of the current research on preventing the damage of high altitude hypobaric and hypoxic environment to the human body.

KEYWORDS: hypobaric; hypoxia; erythrocyte; hemoglobin; oxygen affinity

高原环境具有低压、低氧及高辐射等特点。中国高原地区幅员辽阔, 许多低海拔地区人员因生活、工作等需要进入甚至长期停留在高海拔环境中, 时刻面临缺氧的危险。海拔高度与氧分压 $[p(O_2)]$ 呈负相关, 海拔每上升 1 000 m, 夏季的氧含量下降约 0.15%^[1]。进入高原后, 由于外界的低压低氧环境, 使得氧气在人体肺泡毛细血管处的被动扩散减弱, 机体所能摄取的氧气量下降。此外, 吸入体内的氧气并未全部被红细胞所“捕获”, 剩余的氧气会重新随着呼吸排出体外。最终导致

进入血液的氧气总量减少, 无法满足机体在低压低氧环境下的氧需求。人体在感知到自身处于这种氧供应不足的情况下, 会自发地对外界低压低氧环境做出适应, 具体表现为肺通气量增加、心输出量增加、肺部血管收缩以及红细胞(red blood cell, RBC)生成增多等^[2]。这些生理性变化在短时间的缺氧中可以保护机体不受缺氧造成的损伤, 但在长时间低压低氧中可能会导致高原肺水肿、高原肺动脉高压、高原脑水肿及高原红细胞增多症等高原疾病。

基金项目: 后勤科研项目(CLB21J036); 拔尖培育项目(2021yxky001)

作者简介: 张宇轩, 男, 硕士生

E-mail: sdfzg@qq.com

*通信作者: 李茂星, 男, 博士, 研究员, 博导

E-mail: limaox2020@aliyun.com

在高原低压低氧环境下,恢复机体的氧供应是缓解高原低压缺氧的根本措施^[3-4]。如上述的海拔高度与氧分压呈负相关,氧气每增加 1% 相当于海拔降低 300 m^[5]。因此,缓解人体高原低压缺氧症状的最有效方式是下送及供氧,即通过增加进入机体的氧气总量来满足机体的氧需求。这种方式“治标不治本”,只有增强机体主动“捕”氧能力才是从根本上缓解机体在低压低氧环境下缺氧症状的关键。作为机体运输氧气的主要载体,红细胞与其中的血红蛋白是结合与释放氧气的关键。通过调节红细胞与氧气的结合,可有效调节氧气在肺与其他组织中的分布,减少小动脉中过早的氧卸载,更彻底地耗尽呼吸氧气存储,以达到充分利用氧气的目的。Stein 等^[6]证实了在缺氧状态下,红细胞氧亲和力的增加是有益的。其他研究也显示在高海拔条件下,通过提高红细胞氧亲和力来弥补血液中氧饱和度的下降是更为有效的策略^[7-10]。

本文从缺氧发生的源头处着手,主要对目前研究中能够提高低压低氧环境下红细胞氧亲和力的策略及潜在药物进行总结,以期找到简便易用的习服低压低氧环境策略及潜在药物提供理论依据。

1 红细胞氧亲和力的结构基础与功能

红细胞与氧亲和力的结构基础是血红蛋白。血红蛋白主要存在于红细胞中,是红细胞运载氧气的重要结构基础。人类正常血红蛋白共有 6 种:胚胎型 Hb Gower I($\zeta_2\varepsilon_2$)、Hb Gower II($\alpha_2\varepsilon_2$)、Hb Portland($\zeta_2\gamma_2$)、胎儿型 HbF($\alpha_2\gamma_2$)和成人型 HbA1($\alpha_2\beta_2$)、HbA2($\alpha_2\delta_2$)。在胎儿发育早期,胚胎型血红蛋白转变为胎儿型血红蛋白;临近出生时,胎儿型血红蛋白进一步转变为成人型血红蛋白^[11-12]。健康成人体内主要含有的成人血红蛋白 A(hemoglobin A, HbA)是由 4 条球蛋白链(2 条 α 链,各由 141 个氨基酸组成;2 条 β 链,各由 146 个氨基酸组成)和 4 个血红素基团组成,每条球蛋白链结合 1 个血红素基团成为 1 个血红蛋白亚基,4 个血红蛋白亚基共同构成 1 个椭圆形的 HbA($\alpha_2\beta_2$)异四聚体^[13]。 α 链与 β 链分别折叠形成 7 个螺旋区段和 8 个螺旋区段,在折叠的多肽蛋白区段之间形成含有氨基酸残基的中心空腔,它的入口容纳带正电的 β 链基团,形成阴离子变构效应物的结合位点。血红素基团被包围在这个疏水

空腔中,疏水环境保护血红素基团上的铁免于氧化^[14]。血红素基团是一个含 Fe^{2+} 的原卟啉环,是 O_2 、一氧化碳(carbon monoxide, CO)或一氧化氮(nitrogen monoxide, NO)等配体的结合位点^[15]。血红素中的铁均连接在多肽链的组氨酸(histidine, His)残基上,具有轴向咪唑碱基的 5 配体,见图 1。血红素是 O_2 重要的结合位点^[16-17]。铁在二价状态时,与 O_2 可逆性结合(氧合血红蛋白、去氧血红蛋白);若铁氧化为三价状态, HbA 则转变为高铁血红蛋白,影响 HbA 的携氧功能^[17]。依据目前 MWC/Perutz 模型, HbA 作为一种典型的变构蛋白质,可以 2 种不同的形式存在:高氧亲和力的氧合血红蛋白,即松弛态(R 态)和低氧亲和力的去氧血红蛋白,即紧张态(T 态)^[18]。KNF 模型则假设配体与血红蛋白中一个亚单位的结合可以诱导其相邻亚单位三级结构的构象变化,而无需其结合配体^[19]。因此,血红蛋白中 4 个亚基与配体的结合是一个连续的过程,不仅有最终的 R、T 两态,还存在一系列中间态^[19-20]。

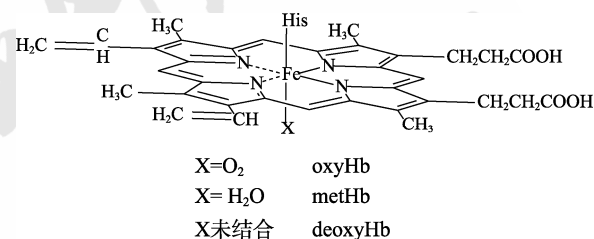


图 1 Hb 中血红素分子结构

Fig. 1 Molecular structure of heme in Hb

血红蛋白是氧气在血液中存在的重要物质载体,可随血液在不同组织中根据氧分压的变换实现携氧与卸氧。在氧分压较高的肺组织中,红细胞中的血红蛋白与从肺泡被动扩散进入的氧结合形成氧合血红蛋白^[21]。依据协同氧化效应,即第一个氧分子与血红蛋白的结合会促进其他氧分子与血红蛋白分子的结合,使得血红蛋白整体的氧亲和力增加,血红蛋白构象转变为 R 态^[22-23]。R 态血红蛋白对氧气的亲和力明显高于 T 态,并且与氧结合后使 R 态更稳定。在氧分压较低的组织中,细胞代谢产生的 H^+ 、 CO_2 、有机磷酸盐和氯化物(Cl^-)等恢复了血红蛋白在氧合过程中受损的氢键和盐桥,降低了血红蛋白和氧之间的亲和力,使氧合血红蛋白形成 T 态,并将 O_2 从红细胞中释放入血,供应组织的氧需求^[24]。

2 红细胞在低压低氧环境下的适应与习服

血液中固定的氧分压 [partial pressure of oxygen, $p(\text{O}_2)$] 下, 每单位体积血液输送到组织的 O_2 量取决于每单位体积的红细胞数量以及血红蛋白含量。平原人群从较低海拔地区快速进入高原低压低氧环境后, 缺氧条件会抑制 HIF- α 的降解, 从而促进促红细胞生成素等基因的转录激活, 显著增加红细胞和血红蛋白水平, 红细胞比容(hematocrit, Hct)随之增加^[25]。正常状态下, 适当增加 Hct 可提高血液携氧的能力, 从而改善缺氧状态, 维持机体稳态; 但长时间暴露于低压低氧环境下, Hct 的上升将增加人群罹患心血管疾病等风险^[26]。考虑到实际应用, 通过增加红细胞和血红蛋白含量来习服低压低氧环境难以长期广泛应用。寻找适应高原低压低氧环境的方法或许可以从已习服高原环境的人或动物身上得到启发^[27-28]。

相较于平原世居人群, 三大高原世居人群中的藏族世居人群拥有更高的最大摄氧量、更大的通气量、更快速的低氧通气反应、更大的肺容量和较低的高原病发病率, 表明其对低压低氧环境具有更好的适应能力^[29-30]。有研究显示, 安第斯世居人群习服低压低氧环境是通过增加红细胞与血红蛋白的量实现; 而藏族世居人群则不仅以增加红细胞和血红蛋白量来增大携氧能力, 在相似的血氧饱和度(arterial oxygen saturation, SaO_2)水平下, 藏族世居人群的红细胞与血红蛋白含量甚至接近平原世居人群^[31-32]。提示藏族世居人群可通过提高 Hb- O_2 亲和力, 增加 O_2 在肺部的结合, 从而提高血氧水平以达到适应低压低氧环境的目的。吴天一、Xu 等^[30,33-37]通过对比高原藏、汉族之间的基因遗传差异, 认为这种优越的适应能力很可能是天生的, 建立在遗传和基因水平上。世代居住在喜马拉雅山下以登山能力而闻名的夏尔巴人, 其对高原低压低氧环境则更具有非同寻常的耐受能力^[38]。相比起流动性更高的人类, 高原世居动物定居高原的时间远久于人类, 且动物间更易于近亲繁殖, 每一代的繁殖时间更短, 从而受到遗传因素影响的可能更大^[39]。因此, 高海拔鸟类及高原世居生物在低压低氧环境中的适应则更为彻底。如在研究高原鼯鼠、高原鼠兔、高原鹿鼠、藏绵羊及牦牛等动物与其平原近亲之间对低压低氧环境适应的差异时发现, 提高红细胞与氧气的亲和力从而提高机体在低压低氧条件

下摄取氧气的的能力, 对于适应低压低氧环境尤为重要^[40-44]。

3 影响红细胞氧亲和力的因素

血红蛋白氧解离曲线(oxygen dissociation curve, ODC)中的半饱和氧分压(P_{50})可直观反应红细胞氧亲和力, 即在 37°C 、 $\text{pH}7.4$ 及 $\text{P}(\text{O}_2)$ 为 40 mmHg 时血红蛋白与氧的饱和为总体的一半($\text{SaO}_2\ 50\%$)时的 $\text{P}(\text{O}_2)$ 称为 P_{50} ^[45]。红细胞氧亲和力是 Hb- O_2 亲和力的外在表现。增加 Hb- O_2 亲和力, 红细胞易于结合氧, 将使 P_{50} 减小、ODC 左移; 或减少 Hb- O_2 亲和力, 红细胞易于释放氧, 将使 P_{50} 增大、ODC 右移^[14]。红细胞氧亲和力较大程度上受到血红蛋白的分子结构控制, 而影响血红蛋白的分子结构主要的因素有血红蛋白种类、变构效应因子等。

3.1 高氧亲和力血红蛋白种类

根据外界环境的不同, 为了适应生长发育和应对运动需求, 人体存在几种特殊的高氧亲和力血红蛋白。

3.1.1 胎儿型血红蛋白 HbF 可帮助胎儿适应子宫缺氧条件, 其氧亲和力略高于成人血红蛋白, 因为其结合 2,3-二磷酸甘油酸(2,3-bisphosphoglycerate, 2,3-BPG)的强度较低; 同时能提高从胎盘膜上的母体血红蛋白中摄取 O_2 的能力。遗传性 HbF 增多症(hereditary persistence of fetal hemoglobin, HPFH)患者的 HbF 表达水平较高, 但无明显不良后果, 红细胞各项指标均处于正常范围^[46]。目前对 HbF 在低压低氧方面的研究多集中于基因表达差异方面^[37,47-48]。在世居高原藏族人群中 54.5% HbF 电泳阳性, 久居高原汉族人群中 27.3% HbF 电泳阳性, 世居平原汉族人群中 14.3% HbF 电泳阳性^[48]。发现在缺氧暴露期间和缺氧暴露后, 循环 HbF 与在高海拔停留之前分析的对照细胞相比有中度增加。在健康成年人中, 暴露于高海拔缺氧可诱导 HbF 在高于正常条件下的水平上生成^[49]。表明适应低压低氧环境也可从增加体内高氧亲和力的 HbF 占比入手。

3.1.2 变异血红蛋白 高原的高辐射环境有利于提高基因的突变率。许多研究发现人类珠蛋白 α 和 β 链发生变种, 使它们的氧亲和能力大幅度改变, 个别点位突变会改变血红蛋白分子内某些亚基间的作用力^[15,50]。例如, 有研究发现 Hb Abruzzo 是一种高氧亲和力血红蛋白变种, 其 β 珠蛋白上

143 位的氨基酸由 His 突变为精氨酸(Arg)^[51]。这种在 Hb 与 2,3-BPG 结合的位点发生突变可导致 O₂ 亲和力增高^[52]。这可能有利于血红蛋白在高原低压低氧环境下与氧气的结合^[53]。

3.2 血红蛋白变构效应因子

血红蛋白变构效应因子能够调节血红素与 O₂ 的结合,从而影响 Hb-O₂ 亲和力,调节 Hb 结合和释放 O₂ 的能力。Hb-O₂ 亲和力主要受到 CO₂、H⁺/pH、有机磷酸盐和氯化物等变构效应因子的影响。所有变构效应因子在特定位点(蛋白质分子部分中的氨基酸残基)的结合降低了血红素中亚铁原子的氧亲和力。变构效应因子都与 Hb-O₂ 亲和力负相关,直接促进组织中的氧释放。人类和哺乳动物血红蛋白对高海拔低氧的细胞水平适应性改变主要是由于红细胞 2,3-二磷酸甘油酸(2,3-bisphosphoglycerate, 2,3-BPG)和 pH 水平的变化,而其他因子如 ATP、Cl⁻、Mg²⁺和红细胞体积等对改变的贡献较少。

3.2.1 CO₂、H⁺/pH 与波尔效应 波尔效应是指由 CO₂ 和 H⁺引起 pH 降低使氧在组织中释放的现象,见图 2,包括 pH 值 6.3 到 7.9 的碱性波尔效应和 pH 值 6.3 升至 5.7 的酸性波尔效应。这种效应对于血红蛋白在较高 pH 值下于肺中装载 O₂ 并将其输送到组织中的能力非常重要^[54]。当红细胞流经循环末梢组织时,由末梢组织代谢产生的大量 CO₂ 扩散到红细胞中生成 HCO₃⁻和 H⁺,其中 HCO₃⁻经带 3 蛋白(Band 3 protein, Band 3)与胞外 Cl⁻交换,在胞内形成 HCl,降低胞内 pH,氧解离曲线右移, P50 升高, Hb-O₂ 亲和力降低;当红细胞流经肺部时,由于肺部的低 p(CO₂), H⁺和 HCO₃⁻在碳酸酐酶的作用下向生成 H₂O 和 CO₂ 方向进行,胞外 HCO₃⁻在 Band 3 蛋白的转运下与胞内 Cl⁻交换,从而进入红细胞,消耗红细胞内的 H⁺,氧解离曲线左移, P50 降低, Hb-O₂ 亲和力增加^[55]。

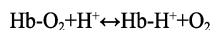


图 2 波尔效应示意图

Fig. 2 Schematic diagram of the Bohr effect

此外,随着 pH 值的升高或降低,人血红蛋白四聚体的粒径减小,并解聚成二聚体结构,并且血红蛋白的二级结构也从有序性较高的 α-螺旋转变成无序的无规卷曲,使血红蛋白的功能减弱^[56]。

3.2.2 2,3-BPG 2,3-BPG 产生在红细胞中,属于

糖酵解中的一个独特的支路(Rapoport-Luebering 支路, R-L 支路)。2,3-BPG 水平的主要决定因素是二磷酸甘油酸变位酶(bisphosphoglycerate mutase, BPGM),该酶催化 1,3-二磷酸甘油酸(1,3-bisphosphoglycerate, 1,3-BPG)转变为 2,3-BPG,见图 3^[57]。在缺氧条件下红细胞糖酵解增加,使 R-L 支路中 2,3-BPG 的合成水平上升。2,3-BPG 中 2 个带负电的磷酸基团与血红蛋白 2 条 β 链上带正电荷的赖氨酸(Lysine, Lys)、Arg 形成离子键,恰好填满血红蛋白原本的空隙,使血红蛋白稳定为 T 构象,降低 Hb-O₂ 亲和力, P50 上升、ODC 向右移动,向红细胞外释出 O₂ 分子^[20]。有学者指出,缺氧状态下 2,3-BPG 的产生是通过红细胞 ADORA2B 增加细胞外的腺苷信号传导使 AMPK 和 BPGM 连续激活实现的^[58]。并且 2,3-BPG 作为一种不能透出红细胞的有机酸,高浓度 2,3-BPG 的存在使红细胞内 pH 下降,加强 Bohr 效应,进一步使血氧亲和力降低,利于实现红细胞在循环末梢的卸氧^[59]。循环末梢中较高的 p(CO₂)会形成碱中毒,刺激几种糖酵解酶,也有利于 2,3-BPG 的形成;而酸中毒会抑制 2,3-BPG 的形成^[60]。此外, Band 3 蛋白也可通过调节 2,3-BPG 与血红蛋白的结合来改变氧亲和力。Band 3 蛋白是红细胞膜中最丰富的蛋白质,又被称为阴离子交换蛋白,作为负责 Cl⁻与 HCO₃⁻交换的主要通道蛋白,是机体完成气体运输功能的主要蛋白^[61-62]。2,3-BPG 与 Band 3 蛋白胞质侧 N 端的 11 个氨基酸残基竞争结合脱氧血红蛋白的中央疏水孔穴,从而增加 Hb-O₂ 亲和力^[63]。此外杨俊杰等^[64]证明了 Band 3 蛋白参与糖酵解途径,且红细胞的糖酵解能力受 Band 3 蛋白影响。

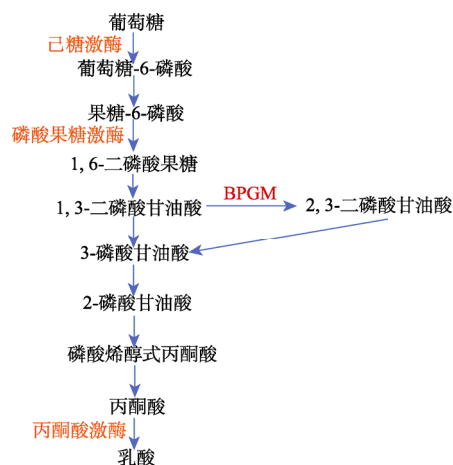


图 3 红细胞糖酵解途径

Fig. 3 Glycolytic pathway of red blood cells

3.3 其他影响红细胞氧亲和力的因素

缺氧条件下 Hb-O₂ 亲和力的增加也可在不改变有机磷酸盐浓度的情况下发生。如红细胞体积、体温、性别、年龄、磁场及气压等因素都可影响红细胞氧亲和力。在对早期动物化石的分析中发现,脊椎动物最古老的抗缺氧反应似乎是红细胞体积的增加,这使得七鳃鳗等拥有了较高的 Hb-O₂ 亲和力^[65]。有数据表明人类的红细胞体积变化同样会影响 Hb-O₂ 亲和力^[66]。温度是血红蛋白功能的重要变构因素,大多数情况下,血氧浓度是在 37 °C 环境中测量的。温度降低时, Hb-O₂ 亲和力升高,氧解离曲线左移^[67]。Woyke 等^[68]指出在缺氧状况下,体温降低会潜在地增加 Hb-O₂ 亲和力。同时年龄、性别对 P50 的影响也有统计学意义^[69]。还有研究指出外加磁场可以直接增强红细胞本身的活性、增大红细胞体积以提高携氧能力,从而提高携氧量^[70-71]。此外,压力可增加红细胞的氧亲和力,有研究显示,在没有四聚体体积变化的珠蛋白血红素铁原子上,血红蛋白与 O₂ 的结合对压力较为敏感,压力对 Hb-O₂ 亲和力的影响独立于变构效应因子的影响^[72]。

4 有助于提高低压低氧环境下红细胞氧亲和力的药物及机制

红细胞氧亲和力是 Hb-O₂ 亲和力的外在表现。根据现有的证据,哺乳动物中 Hb-O₂ 亲和力与海拔高度之间的关系并不确定^[73]。不过可以确定的是,虽然降低 Hb-O₂ 亲和力可以促进 O₂ 其他组织中的释放,但是在严重的缺氧条件下,血液 PO₂ 的显著下降会抵消 Hb-O₂ 亲和力降低的效果。相反,提高机体 Hb-O₂ 亲和力的优势是能使机体在严重的缺氧条件下结合更多 O₂,且在消耗氧气较多的组织细胞处,波尔效应可降低 Hb-O₂ 亲和力,使 O₂ 从血红蛋白分子上释放^[74]。因此,提高低压低氧环境下红细胞氧亲和力是可行的,其主要可以从改变血红蛋白构象、减少 2,3-BPG 在血红蛋白中的相对浓度、增加高氧亲和力氧载体等方式入手。

4.1 改变血红蛋白构象

血红蛋白中的血红素乙烯基几何结构的微小变化可能会导致血红蛋白之间分子活性和配体亲和力产生差异^[75]。血红蛋白分子表面存在一些活性氨基酸残基如 Lys、半胱氨酸(cysteine, Cys)等。血红蛋白 β 链的第 93 位 Cys-93(β)是血红蛋白结构中重要的氨基酸残基,与血红蛋白功能有关,其

中的巯基起着关键作用。有学者指出, Cys-93(β)上的巯基被修饰后呈现出较弱的波尔效应,认为对该巯基修饰会导致用于维持 T 构象和 R 构象之间相互转换的能量发生转换,氧亲和力升高^[76]。此外,由于血红蛋白在 R 态构象下对氧气的亲和力明显高于 T 态构象,因此可以通过调节血红蛋白的蛋白结构,减少或阻碍血红蛋白变构效应因子与血红蛋白的结合,使其稳定于 R 态,从而提高 Hb-O₂ 亲和力。目前的研究中,较多药物可发挥改变血红蛋白构象的作用。见表 1。

4.1.1 5-羟甲基-2-糠醛 (5-hydroxymethyl-2-furfural, 5-HMF) 5-HMF 主要来源于含碳水化合物的食物中氨基酸和还原糖发生美拉德反应以及糖的受热分解^[77]。2 个 5-HMF 分子在 R 态下以对称的方式与血红蛋白 α 裂口处 N 端的 α Valine-1 形成高亲和力亚胺血红蛋白加合物,稳定 R 态血红蛋白以增加 Hb-O₂ 亲和力^[78]。李明明等^[79]首次证明用 5-HMF(100 mg·kg⁻¹)预处理可以显著增加小鼠在模拟海拔 9 500 m 下的生存时间和存活率。官立彬等^[80]研究发现,给予大鼠 5-HMF (50 mg·kg⁻¹)可使大鼠在模拟海拔 5 000 m 低压舱暴露 24 h 后的游泳运动力竭时间、空间记忆能力、血气分析指数[p(CO₂)、p(O₂)、S_aO₂及 HCO₃⁻]等较模型组显著升高,氧平衡曲线左移、P50 显著降低,提示 5-HMF 可增强 Hb-O₂ 亲和力,改善机体的耐缺氧能力。Lucas 等^[81]的研究也证实 5-HMF 增加 Hb-O₂ 亲和力,提高肺中的血氧浓度,并提升了缺氧期间 O₂ 在全身的输送。另有研究证实,5-HMF 增加 Hb-O₂ 亲和力将有利于严重缺氧时的血液流变学^[82]。此外,5-HMF 可与具有微弱增加 Hb-O₂ 亲和力的 α -酮戊二酸(α -ketoglutarate, α KG)合用。与单独使用 5-HMF 相比,5-HMF 和 α KG 的组合更好地保留了 ODC 的 S 形,且对女性的影响更明显^[83]。

4.1.2 NO NO 是一种不稳定的气体信号分子,具有高度亲脂性,可通过自由扩散进入并穿过生物膜。NO 在心血管、神经、免疫等系统中发挥重要作用^[84-85]。NO 可对包括血红蛋白分子在内超过 1 000 种蛋白的结构、活性进行修饰。有学者^[86]给小鼠在缺氧前吸入 30 min 20 mL·m³(按体积计)的 NO,并在 1 h 缺氧期间(6% O₂)继续吸入 20 mL·m³ NO,可提高 SCD 小鼠在缺氧环境下的存活率,推测 NO 引起血红蛋白亚硝基化,稳定

HbS 的血红素基团结构,并防止聚合,使其处于 R 态。苏文婷等^[87]研究发现,外源性通入不同浓度 NO(0, 100, 200 mL·m⁻³)使小鼠离体红细胞氧解离曲线逐渐左移、P50 逐渐降低;吸入不同浓度 NO(5, 10, 20 mL·m⁻³)使小鼠在缺氧状态(5% O₂)下的血氧饱和度、存活时间及存活率升高。

4.1.3 TD-1、TD-3 TD-1 与血红蛋白的结合稳定了血红蛋白的 R 态。与 5-HFM、NEM 相比,通过高通量筛选得出的 TD-1 能更大程度上诱导人 Hb-O₂ 亲和力增加^[88]。在 TD-1 的 8 个单体单元(MU)与 2,3-BPG 结合位点中,2 个 MU 位于血红蛋白表面,与 Cys93(β)形成二硫键,破坏 T 态的稳定性,稳定 R 态;另外 2 个 MU 与 2 个 Cys112(β)残基位于中央水腔;剩余的 MU 分子位于血红蛋白四聚体的中央水腔内,与排列在水腔中的氨基酸残基非共价相互作用。这些结构有助于将所有血红蛋白亚单位连接在一起,稳定 R 态并限制其转换到 T 态所需的亚单位旋转^[88-89]。TD-3 与 HbA 的 Cys93(β)形成二硫键,从而抑制 Asp94(β)和 His146(β)之间的盐桥形成,降低了波尔效应并增加了 Hb-O₂ 的亲和力,且在动物实验中表明给小鼠静脉注射 TD-3 (100 mg·kg⁻¹)可增加其 Hb 的氧合度^[90]。

4.1.4 Voxelotor(GBT440)、GBT1118 Voxelotor 是一种变构 Hb-O₂ 亲和力调节剂,与血红蛋白的 α 链具有高亲和力,且能够特异性的可逆结合,将其稳定在 R 态(Oxy-Hb 态)。Stewart 等^[91]给 8 名健康受试者每日摄入 900 mg Voxelotor,分别在给药前(第 1 天)和后(第 15 天)进行低氧(12.5%O₂)和常氧(21%O₂)最大递增运动试验,发现药理上增加血红蛋白对氧的亲和力可提高缺氧时的 SaO₂,而不影响运动能力。魏铭等^[74,92]研究发现 GBT440 明显改善了组织的缺氧程度,提高了急性“严重”缺氧条件下动物的生存能力及急性“中度”缺氧条件下动物的作业能力。其在增加 Hb-O₂ 亲和力的同时,虽然抑制但保留了一定程度的波尔效应,使得红细胞卸氧的能力增强或不变,而缺氧时血液的捕氧能力增强。GBT1118 是 Voxelotor 的结构类似物,具有相似的药理作用。有研究表明,GBT1118 也可以使全血的 P50 显著降低^[93]。在不依赖于慢性治疗引起的血液学改变的情况下,GBT1118 显著改善了机体对缺氧的耐受性^[94]。

4.1.5 香草醛的吡啶基衍生物(包括 INN-312 和 INN-298) 这些化合物与血红蛋白 α-亚基的 N 端

形成席夫碱加合物,以限制 R 态血红蛋白构象转换为 T 态血红蛋白构象,使 OEC 曲线左移, P50 值降低, Hb-O₂ 亲和力增加^[95-96]。

4.1.6 双(3,5-二溴水杨基)富马酸酯[Bis(3,5-dibromosalicyl) fumarate] 它可通过将血红蛋白 β1 链上的 Lys82 与 β2 链上的 Lys82 交联,封锁血红蛋白与 2,3-BPG 的结合位点,使 Hb-O₂ 亲和力增加^[97]。

4.1.7 阿司匹林(aspirin, ASA) ASA 已被证明可以乙酰化白蛋白特定区域中 Lys 残基上水杨酸盐结合位点,因此血红蛋白上也可能存在有类似的水杨酸盐结合位点。Klotz 等^[98]使用 ASA 孵育红细胞和溶血物后,发现其氧亲和力显著增加,认为是血红蛋白 NH₂ 末端缬氨酸乙酰化的结果。但 De Furia 等^[99]在用 ASA 对血红蛋白进行相同程度的乙酰化后并未观测到氧亲和力的改变;大鼠每天灌胃或腹腔内长期注射 ASA 后,血液的氧亲和力也没有发生改变,推测前者的实验中氧亲和力增加是孵育过程中红细胞内 2,3-BPG 耗尽导致的。目前阿司匹林在提高红细胞氧亲和力方面的研究尚不明确,需进一步研究。

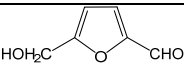
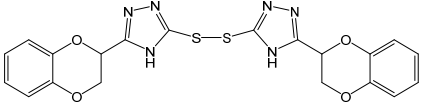
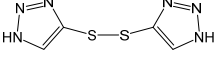
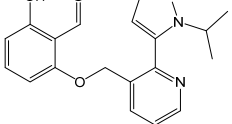
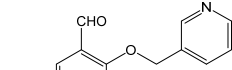
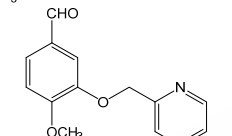
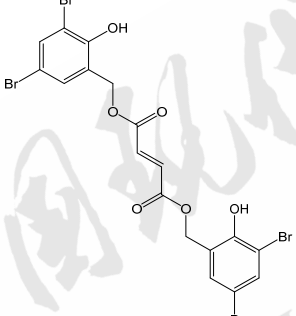
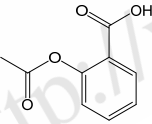
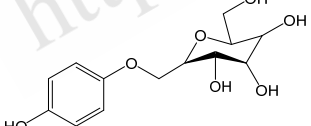
4.1.8 红景天苷 红景天苷是传统抗缺氧中药红景天中主要活性成分之一,具有抗疲劳、抗缺氧以及抗肿瘤等作用^[100-101]。既往有关红景天苷抗缺氧研究较多注重于红景天苷的抗炎、抗凋亡、改善微循环等药理作用。有研究利用循环伏安法测得红景天苷作用后的血红蛋白负极峰电流显著增加,且随着红景天苷的增加,复极峰电流也相应增加,证明红景天苷可以增强体外 Hb-O₂ 亲和力,并且在氧浓度较低时可发挥更有效作用,但该研究未见血红素基团的结构改变^[102]。贾守宁等^[103]发现红景天苷可以降低高原红细胞增多症(high altitude polycythemia, HAPC)大鼠的红细胞数量,调控红细胞膜脂质中热休克蛋白 27 等 8 个蛋白的表达,改善红细胞膜的功能和细胞代谢活动,进而缓解 HAPC 的相关症状。尽管如此,关于红景天苷在极低氧分压条件下的作用是否存在仍需进一步研究。

4.2 减少 2,3-BPG 在血红蛋白中的相对浓度

红细胞的糖酵解支路是 2,3-BPG 的主要生成途径。通过限制这一支路上游的各种酶(HK、PFK、BPGM 等),可下调红细胞产生 2,3-BPG 的水平^[104]。但糖酵解作为成熟红细胞主要的产能方

表 1 具有改变血红蛋白构象功能的化合物

Tab. 1 Compounds with the function of changing the conformation of hemoglobin

化合物名称	结构式	相关作用机制
5-羟甲基-2-糠醛		2 个 5-HMF 分子在与血红蛋白形成高亲和力和亚胺加合物, 使血红蛋白稳定于 R 态, 增加 Hb-O ₂ 亲和力
一氧化氮		NO 引起血红蛋白亚硝基化, 稳定血红素基团结构, 并防止聚合, 使其处于 R 态, 增加 Hb-O ₂ 亲和力
TD-1		TD-1 将所有血红蛋白亚单位连接在一起, 稳定 R 态并限制其转换到 T 态所需的亚单位旋转
TD-3		TD-3 与 HbA 的 Cys93(β)形成二硫键, 从而抑制 Asp94(β)和 His146(β)之间的盐桥形成, 降低了玻尔效应并增加了 Hb-O ₂ 的亲和力
Voxelotor		Voxelotor 与血红蛋白的 α 链具有高亲和力, 可特异性的可逆结合, 将其稳定在 R 态, 增加 Hb-O ₂ 亲和力
GBT1118	—	GBT1118 是 Voxelotor 的结构类似物, 将血红蛋白稳定在 R 态, 增加 Hb-O ₂ 亲和力
INN-312		INN-312 与血红蛋白 α-亚基的 N 端形成加合物, 以限制 R 态血红蛋白向 T 态转变, 增加 Hb-O ₂ 亲和力
INN-298		INN-298 与血红蛋白 α-亚基的 N 端形成加合物, 以限制 R 态血红蛋白向 T 态转变, 增加 Hb-O ₂ 亲和力
双(3,5-二溴水杨基)富马酸酯		可将血红蛋白 β1 链上的 Lys82 与 β2 链上的 Lys82 交联, 封锁血红蛋白与 2,3-BPG 的结合位点, 增加 Hb-O ₂ 亲和力
阿司匹林		阿司匹林乙酰化血红蛋白 N 端缬氨酸水杨酸盐结合位点, 使 Hb-O ₂ 亲和力增加
红景天苷		红景天苷可使红细胞膜中热休克蛋白 27 等 8 个蛋白表达发生变化, 改善红细胞功能

式, 在限制 HK、PFK 等酶活性的同时会减少红细胞从糖酵解中获得的能量。因此, 只能通过限制糖酵解支路上 BPGM 的活性减少 2,3-BPG 的产生。BPGM 作为红细胞内 2,3-BPG 生成的关键酶, 可通过阻碍 BPGM 将 1,3-BPG 转变为 2,3-BPG, 抑制红细胞糖酵解支路, 减少 2,3-BPG 在血红蛋白中的相对含量, 从而提高红细胞氧亲和力。BPGM 作为蛋白酶的一种, 上述的任何改变都可能会导

致红细胞中 BPGM 功能丧失。Xu 等^[105]研究发现, 诱导的 BPGM^{L166P} 突变体可模拟人类 BPGM 缺乏症, 特点是在出现 1,3-BPG 积累的同时, 几乎没有 2,3-BPG 的产生, 氧从血红蛋白解离的速率降低, 以及相对应 P50 的降低。

4.2.1 硫化氢(hydrogen sulfide, H₂S) 作为继 CO、NO 后的又一种气体信号分子, 在常氧条件下 H₂S 可抑制血红蛋白从细胞浆向细胞膜的转运,

促进 BPGM 锚定在细胞膜上,从而阻止 2,3-BPG 水平的升高。在缺氧过程中, H₂S 水平的降低促进血红蛋白锚定在细胞膜上, BPGM 从细胞膜释放到胞浆中,最终导致红细胞中 2,3-BPG 的合成增加^[106]。因此可以在缺氧状态下,外源性补充 H₂S,可以阻止 2,3-BPG 水平的增加,提高 Hb-O₂ 亲和力。但直接使用 H₂S 对细胞损害较大,可使用其成熟供体如 GYY4137^[107]等或可内源性释放 H₂S 的天然化合物如大蒜辣素^[108-109]等。

4.2.2 芦丁、白杨素 这类黄酮类化合物均与 BPGM 的活性位点具有良好的结合力。Muhammad 等^[110]采用计算机计算和体外试验方法,发现芦丁能通过螯合脱氧血红蛋白和 BPGM,来减少 2,3-BPG 的生成,从而增加血红蛋白对氧的亲和力。白杨素也通过同样的方法得到了相似的结论^[111]。见表 2。

表 2 具有减少 2,3-BPG 相对含量功能的化合物
Tab 2 Compounds with the function of reducing the relative content of 2,3-BPG

化合物名称	结构式	相关作用机制
硫化氢		H ₂ S 可抑制血红蛋白从细胞浆向细胞膜的转运,促进 BPGM 锚定在细胞膜上,从而阻止 2,3-BPG 水平的升高
芦丁		螯合脱氧血红蛋白和 BPGM,从而减少 2,3-BPG 的生成
白杨素		螯合脱氧血红蛋白和 BPGM,从而减少 2,3-BPG 的生成

4.3 使用高氧亲和力氧载体

血红蛋白氧载体(hemoglobin-based oxygen carriers, HBOCs)是以人源或动物源性血红蛋白为基础,通过化学修饰(偶联、交联、吸附)及微囊封装(脂质体、聚合物)等方式制备获得的能降低游离血红蛋白毒副作用的携氧剂^[112]。有学者认为高 P50 的 HBOCs 制品容易引发高血压等不良反应,而低 P50 的 HBOCs 制品能提高微循环中氧的供

应,改善缺血部位的血流,因此主张研发低 P50 的 HBOCs 制品。理论上,当机体处在低压低氧环境时,低 P50 的 HBOCs 可在机体内以不改变血红蛋白构象、不影响变构效应因子、不升高红细胞含量为前提,帮助机体摄取更多氧气。HBOCs 根据氧亲和力可大致分为高 P50 制品及低 P50 制品两类。HBOCs 制品具有产业化生产、无需血型配型、保存时间长以及易于运输等优势,是目前国内外主攻的方向^[113]。

4.3.1 Hemospan(MP4 或 MalPEGHb) Hemospan 是通过马来酰亚胺活化的聚乙二醇(Maleimide-PEG)直接与 Hb 中的反应性 Cys 硫醇聚合,或在硫醇化后与 Hb 表面 Lys 基团上进行位点特异性聚合而制备的^[114-115]。Hemospan 可以延长血管内滞留时间、增加氧亲和力^[116]。Cooper 等^[117]在此基础上设计了不良反应更小的单磺-聚乙二醇(Mono-Sulfone-PEG)偶联的血红蛋白。

4.3.2 戊二醛多聚血红蛋白 吴宝平等^[118]研究发现,猪源血红蛋白在生理 pH 条件下氧亲和力较高,大致与 HbA 与 O₂ 的亲和力相似,且戊二醛多聚血红蛋白可通过调节聚合物分子量大小,从而调节材料的氧亲和力,其氧亲和力与聚合物分子量呈正相关,但该聚合产物的缺点是会导致血红蛋白的自氧化性能增加。

4.3.3 HbA-HSAm HbA-HSAm 是由外围的人血清白蛋白(human serum albumin, HSA)包裹中心的 HbA 组成的核-壳簇结构。这一结构可以通过改变 HbA 中心的构象状态来调节与氧的亲合能力。通过异双功能交联剂 SMCC 分别与 HbA 上 Lys 的反应性氨基、Cys-93(β)的硫醇基团结合,使这一结构显示出高氧亲和力^[119]。

4.3.4 右旋糖酐交联的牛血红蛋白(dextran cross-linked bovine hemoglobin, Dex-bHb) bHb 与人血红蛋白同源,是研究活性小分子与生物大分子作用的模型。章俊^[113]研究发现 2 种 Dex40-bHb 制品(4-PDS+及 4-PDS-)的 P50 分别为 4.5, 10.2 mmHg,说明 Dex-bHb 的 Hb-O₂ 亲和力升高,具有更好的携氧能力。其主要是通过 4,4'-二硫代二吡啶(4-PDS)可逆保护 Cys-93(β)的硫醇基团,增强血红蛋白四聚体的稳定性,降低 bHb 自氧化率^[120]。

4.3.5 其他 其他具有较高氧亲和力的 HBOCs 还有:辛二酸二琥珀酰亚胺酯交联的血红蛋白^[121]、

聚丁二烯-聚乙二醇聚合物囊泡封装的牛血红蛋白(其氧亲和力与人红细胞相当)^[122]、脂质体包裹的血红蛋白^[123]、脂质体包封的四聚血红蛋白分散体^[124]等。

4.4 增加胎儿型血红蛋白的含量

正常健康成年人体内含有少量 HbF，作为高氧亲和力的血红蛋白类型，适当提高 HbF 在人体中的含量有助于机体对低压低氧环境中的氧气进行充分利用，这一点在前文中藏族世居人群的低压低氧适应中可以得到印证。但到目前为止，有关 HbF 的研究较多聚焦于使用 HbF 诱导剂升高体内 HbF 水平，治疗 β -地中海贫血等疾病，而在适应与习服低压低氧环境方面鲜有报道。作为提高低压低氧环境下红细胞氧亲和力的潜在策略及药物，在未来还需更多的实际治疗研究，下文总结了目前临床中常见的 HbF 诱导剂，见表 3。

表 3 具有 HbF 诱导剂功能的化合物
Tab. 3 Compounds with HbF inducer function

化合物名称	结构式	相关作用机制
羟基脲		羟基脲通过“募集”保留 γ -珠蛋白链合成程序的红系干细胞群进行增殖和分化，增加患者体内 γ -珠蛋白基因表达，提高体内 HbF 含量
沙利度胺		沙利度胺通过上调源于 β -珠蛋白基因突变的红系祖细胞中 GATA-1 和 EKLF 的表达，诱导 γ -珠蛋白基因表达 HbF
来那度胺		来那度胺通过减缓红细胞的成熟，增加未成熟红细胞的增殖，并调节了血红蛋白的转录，从而有效地诱导 HbF 产生
波马度胺		来那度胺通过减缓红细胞的成熟，增加未成熟红细胞的增殖，并调节了血红蛋白的转录，从而有效地诱导 HbF 产生

4.4.1 羟基脲(hydroxyurea, HU) 作为唯一被美国和欧洲批准使用的 HbF 诱导剂，较多应用在治疗 β -地中海贫血、镰状细胞病等疾病中，可通过多种途径安全有效地提高 Hb 和 HbF 水平^[125]。HU 主要通过“募集”保留 γ -珠蛋白链合成程序的红系干细胞群进行增殖和分化，增加患者体内 γ -珠蛋白基因表达，提高体内 HbF 含量^[126]。

4.4.2 沙利度胺、来那度胺(lenalidomide, CC-5013)和波马度胺(pomalidomide, CC-4047) 沙利度胺是一种合成的谷氨酸衍生物，是 HbF 诱导剂的一

种。其对中间型 β -地中海贫血的疗效确切，不良反应较少，价格低廉，主要通过上调源于 β -珠蛋白基因突变的造血干细胞(HSCs)红系祖细胞中 GATA-1 和 EKLF 的表达，诱导 γ -珠蛋白基因表达 HbF。陈江明等^[127]证实， β -地中海贫血患者在接受沙利度胺治疗后，平均 HbF 水平从治疗前的 $(35.67\pm 26.82)\%$ 增加到 $(75.67\pm 14.64)\%$ 。此外还有来那度胺和波马度胺，有学者发现这 2 种化合物均可通过减缓红细胞的成熟，增加未成熟红细胞的增殖，并调节血红蛋白的转录，从而有效地诱导 HbF 产生^[128]。

除骨髓移植及基因编辑技术外，其他的 HbF 诱导剂还有西罗莫司、苄丝肼、IMR-687 和白藜芦醇等^[129-131]。

5 存在的问题及展望

高原低压低氧环境引起的氧化应激、炎症等反应会对脑、心、肺、肝等部位造成损伤，进而导致各种高原疾病。目前的高原缺氧损伤防治较多集中在缺氧发生后的损伤修复上，如下送、高压氧舱、吸氧等供氧方法的使用；尼莫地平、西地那非、地塞米松、复方丹参滴丸、利舒康胶囊、丹红注射液等药物的应用^[132-133]。这些方式虽然能够有效缓解、治疗高原损伤，但高原损伤的发生会较大程度影响高原作业效率，危害高原作业人员生命健康安全。且由于药物在体内的生物转化是耗氧过程，低氧条件会影响药物在体内的 ADME 过程，并最终导致药物代谢动力学特征发生改变，影响高原地区的合理用药^[134]。另一个高原缺氧损伤防治的研究则针对缺氧发生前的高原预习服方向。目前针对平原人的高原适应较多通过阶梯习服、预习服和间歇性低氧训练等方式增加机体对连续长时间缺氧的习服能力。但在进入高原的这一过程中，人体会通过多种生理改变来对抗高原低压低氧环境导致的氧供应量不足，包括上调血红蛋白和红细胞水平，长时间存在过多的血红蛋白和红细胞会导致血液流变学发生改变。因此有必要探索如提高红细胞氧亲和力等增加机体摄氧能力的方式。

增加红细胞氧亲和力是高原世居生物长期以来进化获得的能力，这一方式可上调人体在低压低氧环境中肺泡毛细血管处红细胞对氧气的摄取与利用水平，具有较好的应用前景。但在实际应用中还存在如下不容忽视的问题：①提高红细胞

氧亲和力,在增强其捕氧及载氧能力的同时会降低其卸氧能力,尽管玻尔效应有助于降低低氧分压组织中红细胞氧亲和力,但目前尚不清楚这种补偿效应是否能应对当前研究中因载氧能力增加而引起的不良反应;②由于红细胞内含有大量的血红蛋白和氧,血红蛋白容易发生自氧化,从而产生大量活性氧,因此红细胞比其他组织细胞更容易遭受氧化应激损伤;③低压低氧环境会对机体的生理和药动学产生影响,上述思路尤其是目前研究中尚未应用在适应与习服高原环境的策略及药物,是否会按照预期产生效果还犹未可知。因此,如何在提高低压低氧环境下红细胞氧亲和力的同时解决以上问题是今后防治低压低氧环境损伤相关研究的重点。

REFERENCES

- [1] SHI P J, CHEN Y Q, MA H, et al. Further research on the factors contributing to oxygen concentration over the Qinghai-Tibet Plateau[J]. Chin Sci Bull(科学通报), 2021, 66(31): 4028-4035.
- [2] JOHNSON N J, LUKS A M. High-altitude medicine[J]. Med Clin North Am, 2016, 100(2): 357-369.
- [3] CUI J H, CUI Y, WU P F, et al. Oxygen therapy modality for people ascending to 5 070 meter altitude[J]. Med J Natl Defending Forces Northwest China(西北国防医学杂志), 2015, 36(5): 311-314.
- [4] CUI J H, CUI Y, ZHANG J C, et al. Field study of prevention of oxygen therapy from hypoxic injury in migrators at 3700 m high altitude above sea level[J]. Med J Natl Defending Forces Southwest China(西南国防医药), 2014, 24(11): 1234-1237.
- [5] WEST J B. Commuting to high altitude: Value of oxygen enrichment of room air[J]. High Alt Med Biol, 2002, 3(2): 223-235.
- [6] STEIN J C, ELLSWORTH M L. Capillary oxygen transport during severe hypoxia: Role of hemoglobin oxygen affinity[J]. J Appl Physiol (1985), 1993, 75(4): 1601-1607.
- [7] SAMAJA M, DI PRAMPERO P E, CERRETELLI P. The role of 2, 3-DPG in the oxygen transport at altitude[J]. Respir Physiol, 1986, 64(2): 191-202.
- [8] SAMAJA M, CRESPI T, GUAZZI M, et al. Oxygen transport in blood at high altitude: Role of the hemoglobin-oxygen affinity and impact of the phenomena related to hemoglobin allostery and red cell function[J]. Eur J Appl Physiol, 2003, 90(3/4): 351-359.
- [9] SAMAJA M, TERRANEO L. Impact of hemoglobin concentration and affinity for oxygen on tissue oxygenation: The case of hemoglobin-based oxygen carriers[J]. Artif Organs, 2012, 36(2): 210-215.
- [10] ZHU X J, GUAN Y Y, LEI F M. Hemoglobins and high-altitude adaptive evolution in vertebrates[J]. Sci Sin Vitae(中国科学: 生命科学), 2016, 46(1): 84-102.
- [11] PALSTRA R J, DE LAAT W, GROSVELD F. Beta-globin regulation and long-range interactions[J]. Adv Genet, 2008(61): 107-142.
- [12] YANG Y X, HAN B S, WANG Y C, et al. Advances in *HBSIL-MYB* gene region in hereditary hemoglobin diseases[J]. Chin Bull Life Sci(生命科学), 2022, 34(5): 581-589.
- [13] ALAN N, SCHECHTER, . Hemoglobin research and the origins of molecular medicine[J]. Blood, 2008, 112(10): 3927-3938.
- [14] MAIRBÄURL H, WEBER R E. Oxygen transport by hemoglobin[J]. Compr Physiol, 2012, 2(2): 1463-1489.
- [15] AHMED M H, GHATGE M S, SAFO M K. Hemoglobin: Structure, function and allostery[J]. Subcell Biochem, 2020(94): 345-382.
- [16] KAKAR S, HOFFMAN F G, STORZ J F, et al. Structure and reactivity of hexacoordinate hemoglobins[J]. Biophys Chem, 2010, 152(1/2/3): 1-14.
- [17] GELL D A. Structure and function of haemoglobins[J]. Blood Cells Mol Dis, 2018(70): 13-42.
- [18] YONETANI T, LABERGE M. Protein dynamics explain the allosteric behaviors of hemoglobin[J]. Biochim Biophys Acta, 2008, 1784(9): 1146-1158.
- [19] KOSHLAND D E Jr, NÉMETHY G, FILMER D. Comparison of experimental binding data and theoretical models in proteins containing subunits[J]. Biochemistry, 1966, 5(1): 365-385.
- [20] YUAN Y, TAM M F, SIMPLACEANU V, et al. New look at hemoglobin allostery[J]. Chem Rev, 2015, 115(4): 1702-1724.
- [21] WAGNER P D. The physiological basis of pulmonary gas exchange: Implications for clinical interpretation of arterial blood gases[J]. Eur Respir J, 2015, 45(1): 227-243.
- [22] EATON W A, HENRY E R, HOFRICHTER J, et al. Evolution of allosteric models for hemoglobin[J]. IUBMB Life, 2007, 59(8/9): 586-599.
- [23] CUI Q, KARPLUS M. Allostery and cooperativity revisited[J]. Protein Sci, 2008, 17(8): 1295-1307.
- [24] LI X, LI W B, FENG S L, et al. Research progress on mechanism in adaptation of hemoglobin to plateau hypoxia[J]. J Zhejiang Univ Med Sci(浙江大学学报: 医学版), 2019, 48(6): 674-681.
- [25] LEE F S, PERCY M J. The HIF pathway and erythrocytosis[J]. Annu Rev Pathol, 2011(6): 165-192.
- [26] PARATI G, AGOSTONI P, BASNYAT B, et al. Clinical recommendations for high altitude exposure of individuals with pre-existing cardiovascular conditions: A joint statement by the European Society of Cardiology, the Council on Hypertension of the European Society of Cardiology, the European Society of Hypertension, the International Society of Mountain Medicine, the Italian Society of Hypertension and the Italian Society of Mountain Medicine[J]. Eur Heart J, 2018, 39(17): 1546-1554.
- [27] ZHANG Q, GUAN L B, BAI Z C, et al. Research progress of hemoglobin and acclimatization at high altitude[J]. Chongqing Med(重庆医学), 2014, 43(6): 753-755, 757.
- [28] SIMONSON T S, YANG Y Z, HUFF C D, et al. Genetic evidence for high-altitude adaptation in Tibet[J]. Science, 2010, 329(5987): 72-75.
- [29] WU T Y, LI S P, WARD M P. Tibetans at extreme altitude[J]. Wilderness Environ Med, 2005, 16(1): 47-54.

- [30] WU T Y, KAYSER B. High altitude adaptation in Tibetans[J]. High Alt Med Biol, 2006, 7(3): 193-208.
- [31] 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, 2018, 23(5): 309-313.
- [32] LIU J, LI X W, ZHAO L, et al. Effect of low pressure and hypoxia environment at high altitude on oxygen carrying and releasing of red blood cells[J]. Chin J Blood Transfus(中国输血杂志), 2017, 30(8): 872-873.
- [33] BUROKER N E, NING X H, ZHOU Z N, et al. EPAS1 and EGLN1 associations with high altitude sickness in Han and Tibetan Chinese at the Qinghai-Tibetan Plateau[J]. Blood Cells Mol Dis, 2012, 49(2): 67-73.
- [34] BUROKER N E, NING X H, ZHOU Z N, et al. VEGFA SNPs and transcriptional factor binding sites associated with high altitude sickness in Han and Tibetan Chinese at the Qinghai-Tibetan Plateau[J]. J Physiol Sci, 2013, 63(3): 183-193.
- [35] XU J, YANG Y Z, TANG F, et al. EPAS1 gene polymorphisms are associated with high altitude polycythemia in tibetans at the Qinghai-Tibetan Plateau[J]. Wilderness Environ Med, 2015, 26(3): 288-294.
- [36] XU J, YANG Y Z, TANG F, et al. CYP17A1 and CYP2E1 variants associated with high altitude polycythemia in Tibetans at the Qinghai-Tibetan Plateau[J]. Gene, 2015, 566(2): 257-263.
- [37] YI X, LIANG Y, HUERTA-SANCHEZ E, et al. Sequencing of 50 human exomes reveals adaptation to high altitude[J]. Science, 2010, 329(5987): 75-78.
- [38] BHANDARI S, CAVALLERI G L. Population history and altitude-related adaptation in the Sherpa[J]. Front Physiol, 2019(10): 1116.
- [39] ROBERT M, WINSLOW, . The role of hemoglobin oxygen affinity in oxygen transport at high altitude[J]. Respir Physiol Neurobiol, 2007, 158(2/3): 121-127.
- [40] ZHANG X Z, GUO S C, DOU Y R. Progresses of hypoxia adaptation on plateau zokor[J]. Life Sci Res(生命科学研究), 2015, 19(6): 554-558.
- [41] SHE H R, GE R L, CHEN Q H, et al. Investigation of 2, 3-diphosphoglyceric acid in rbc of pika at altitude[J]. J High Alt Med(高原医学杂志), 1997, 7(1): 38-40.
- [42] BIRGITTE, JENSEN, . Bohr effect and temperature sensitivity of hemoglobins from highland and lowland Deer mice[J]. Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol, 2016(195): 10-14.
- [43] ZHU L, LI G, KONG X Y, et al. The association of genes hemoglobin and EPAS1 with hypoxia adaptation in the Tibetan sheep[J]. J Yunnan Agric Univ Nat Sci(云南农业大学学报: 自然科学), 2020, 35(3): 436-442, 518.
- [44] JIANG Y T, GOU X, LI M L, et al. Physiological characteristics of blood and research progress on hypoxia candidate genes in plateau nation and animals[J]. China Animal Husb Vet Med(中国畜牧兽医), 2012, 39(10): 149-153.
- [45] SEVERINGHAUS J W. Simple, accurate equations for human blood O₂ dissociation computations[J]. J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol, 1979, 46(3): 599-602.
- [46] PATEL S, DEHURY S, PUROHIT P, et al. Inheritance of hereditary persistence of fetal haemoglobin (HPFH) in a family of Western Odisha, India[J]. J Clin Diagn Res, 2015, 9(9): OD09-OD10.
- [47] ROTHHAMMER F, FUENTES-GUAJARDO M, CHAKRABORTY R, et al. Neonatal variables, altitude of residence and *Aymara ancestry* in Northern Chile[J]. PLoS One, 2015, 10(4): e0121834.
- [48] LI C Y, LI X W, XIAO J, et al. Study on the expression of hypoxic adaptation-related genes and screening of rapid adaptation of hypoxic population at high altitude[J]. J Clin Transfus Lab Med(临床输血与检验), 2021, 23(5): 564-569.
- [49] RISSO A, FABBRO D, DAMANTE G, et al. Expression of fetal hemoglobin in adult humans exposed to high altitude hypoxia[J]. Blood Cells Mol Dis, 2012, 48(3): 147-153.
- [50] INDRÁK K, DIVOKÁ M, POSPÍŠILOVÁ D, et al. Hemoglobinopathies[J]. Vnitr Lek, 2018, 64(5): 476-487.
- [51] ZHAO W, WILSON J B, WEBBER B B, et al. A second observation of Hb Abruzzo[alpha 2 beta 2(143)(H21)His----Arg] in an Italian family[J]. Hemoglobin, 1990, 14(4): 463-466.
- [52] BONAVENTURA C, BONAVENTURA J, AMICONI G, et al. Hemoglobin Abruzzo (beta143 (H21) His replaced by Arg). Consequences of altering the 2, 3-diphosphoglycerate binding site[J]. J Biol Chem, 1975, 250(16): 6273-6277.
- [53] STEMBRIDGE M, WILLIAMS A M, GASHO C, et al. The overlooked significance of plasma volume for successful adaptation to high altitude in Sherpa and Andean natives[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2019, 116(33): 16177-16179.
- [54] MALTE H, LYKKEBOE G, WANG T. The magnitude of the Bohr effect profoundly influences the shape and position of the blood oxygen equilibrium curve[J]. Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol, 2021(254): 110880.
- [55] BENNER A, PATEL A K, SINGH K, et al. Physiology, Bohr Effect[M]. StatPearls, Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, StatPearls Publishing LLC., 2022.
- [56] WU Z J, KANG L L, HUANG B T, et al. Effect of pH value on the structure and function of human hemoglobin in vitro[J]. Acta Biophys Sin(生物物理学报), 2009, 25(S1): 334-335.
- [57] OSLUND R C, SU X Y, HAUGBRO M, et al. Bisphosphoglycerate mutase controls serine pathway flux via 3-phosphoglycerate[J]. Nat Chem Biol, 2017, 13(10): 1081-1087.
- [58] LIU H, ZHANG Y J, WU H Y, et al. Beneficial role of erythrocyte adenosine A2B receptor-mediated AMP-activated protein kinase activation in high-altitude hypoxia[J]. Circulation, 2016, 134(5): 405-421.
- [59] MACDONALD R. Red cell 2, 3-diphosphoglycerate and oxygen affinity[J]. Anaesthesia, 1977, 32(6): 544-553.
- [60] RIERA M, SÁNCHEZ J, RAMA R, et al. Changes in haemoglobin oxygen affinity and erythrocytic 2, 3-BPG in ethanol-treated rats[J]. Gen Pharmacol, 1990, 21(3): 291-293.
- [61] REMIGANTE A, MORABITO R, MARINO A. Band 3 protein function and oxidative stress in erythrocytes[J]. J Cell Physiol, 2021, 236(9): 6225-6234.
- [62] SEGA M F, CHU H Y, CHRISTIAN J A, et al. Fluorescence assay of the interaction between hemoglobin and the

- cytoplasmic domain of erythrocyte membrane band 3[J]. *Blood Cells Mol Dis*, 2015, 55(3): 266-271.
- [63] GUAN L B, YANG C Z, LI X X, et al. Research progress on the regulation of human band 3 protein on oxygen carrying process of red blood cells[J]. *Med J Natl Defending Forces Southwest China(西南国防医药)*, 2015, 25(4): 449-451.
- [64] YANG J J, ZHAO D Q, ZHANG W Y, et al. Study on recovery of erythrocyte function in one-time exhaustive swimming rats by ginseng polysaccharide[J]. *Chin Tradit Herb Drugs(中草药)*, 2019, 50(23): 5778-5784.
- [65] NIKINMAA M. Haemoglobin function in vertebrates: Evolutionary changes in cellular regulation in hypoxia[J]. *Respir Physiol*, 2001, 128(3): 317-329.
- [66] BELLINGHAM A J, DETTER J C, LENFANT C. Regulatory mechanisms of hemoglobin oxygen affinity in acidosis and alkalosis[J]. *J Clin Invest*, 1971, 50(3): 700-706.
- [67] LI Q H, MA H Y, ZHANG Y Y, et al. Study on oxidation stability and oxygen affinity of hemoglobin during storage[J]. *Artif Organs*, 2018, 42(12): 1185-1195.
- [68] WOYKE S, BRUGGER H, STRÖHLE M, et al. Effects of carbon dioxide and temperature on the oxygen-hemoglobin dissociation curve of human blood: Implications for avalanche victims[J]. *Front Med (Lausanne)*, 2021(8): 808025.
- [69] BALCEREK B, STEINACH M, LICHTI J, et al. A broad diversity in oxygen affinity to haemoglobin[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 16920.
- [70] YUAN X C, ZHANG B, MENG Z Y, et al. Mechanism of magnetic field promoting oxygen utilization in organism and its medical application[J]. *Trans China Electrotech Soc(电工技术学报)*, 2021, 36(4): 676-684.
- [71] SAKHNINI L, KHUZAIE R. Magnetic behavior of human erythrocytes at different hemoglobin states[J]. *Eur Biophys J*, 2001, 30(6): 467-470.
- [72] REEVES R B, MORIN R A. Pressure increases oxygen affinity of whole blood and erythrocyte suspensions[J]. *J Appl Physiol* (1985), 1986, 61(2): 486-494.
- [73] STORZ J F. Hemoglobin-oxygen affinity in high-altitude vertebrates: Is there evidence for an adaptive trend?[J]. *J Exp Biol*, 2016, 219(Pt 20): 3190-3203.
- [74] WEI M. Effect of increasing oxygen affinity of hb on blood oxygen carrying characteristics and anti-hypoxia[D]. Chongqing: Chongqing Medical University, 2020.
- [75] DYBAS J, BOKAMPER M J, MARZEC K M, et al. Probing the structure-function relationship of hemoglobin in living human red blood cells[J]. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, 2020(239): 118530.
- [76] PERUTZ M F. The chloride effect in human hemoglobin: A new kind of allosteric mechanism[J]. *Experientia*, 1995, 51(3): 197-198.
- [77] ZHAO L, ZHOU C Q, ZHU W Q, et al. Progress in the biological safety and activity of 5-Hydroxymethylfurfural[J]. *Sci Technol Food Ind(食品工业科技)*, 2016, 37(11): 372-377.
- [78] ABDULMALIK O, SAFO M K, CHEN Q K, et al. 5-hydroxymethyl-2-furfural modifies intracellular sickle haemoglobin and inhibits sickling of red blood cells[J]. *Br J Haematol*, 2005, 128(4): 552-561.
- [79] LI M M, WU L Y, ZHAO T, et al. The protective role of 5-hydroxymethyl-2-furfural (5-HMF) against acute hypobaric hypoxia[J]. *Cell Stress Chaperones*, 2011, 16(5): 529-537.
- [80] GUAN L B, LI X X, LI J S, et al. Effect of 5-HMF on hemoglobin-oxygen affinity, swimming endurance and spatial memory ability of rats in high altitude simulated environment[J]. *J Third Mil Med Univ(第三军医大学学报)*, 2015, 37(15): 1561-1565.
- [81] LUCAS A, AO-IEONG E S Y, WILLIAMS A T, et al. Increased hemoglobin oxygen affinity with 5-hydroxymethylfurfural supports cardiac function during severe hypoxia[J]. *Front Physiol*, 2019(10): 1350.
- [82] YALCIN O, CABRALES P. Increased hemoglobin O₂ affinity protects during acute hypoxia[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2012, 303(3): H271-H281.
- [83] WOYKE S, MAIR N, ORTNER A, et al. Dose- and sex-dependent changes in hemoglobin oxygen affinity by the micronutrient 5-hydroxymethylfurfural and α -ketoglutaric acid[J]. *Nutrients*, 2021, 13(10): 3448.
- [84] LIU C Y, YANG G P, HU Y B, et al. Study progress of nitric oxide chemical function mechanism in organisms[J]. *Period Ocean Univ China(中国海洋大学学报: 自然科学版)*, 2008, 38(4): 614-618.
- [85] WU J B, HUANG Z J, ZHANG Y H. Research and reflections on the nitric oxide-donating cardio-cerebrovascular drugs[J]. *J China Pharm Univ(中国药科大学学报)*, 2021, 52(2): 129-143.
- [86] MARTINEZ-RUIZ R, MONTERO-HUERTA P, HROMI J, et al. Inhaled nitric oxide improves survival rates during hypoxia in a sickle cell (SAD) mouse model[J]. *Anesthesiology*, 2001, 94(6): 1113-1118.
- [87] SU W T, CUI Y, LI X X, et al. Effect of inhaled nitric oxide on oxygen-carrying capacity of red blood cells and hypoxia tolerance in mice[J]. *J Third Mil Med Univ(第三军医大学学报)*, 2019, 41(12): 1131-1135.
- [88] NAKAGAWA A, LUI F E, WASSAF D, et al. Identification of a small molecule that increases hemoglobin oxygen affinity and reduces SS erythrocyte sickling[J]. *ACS Chem Biol*, 2014, 9(10): 2318-2325.
- [89] WALDER J A, WALDER R Y, ARNONE A. Development of antisickling compounds that chemically modify hemoglobin S specifically within the 2, 3-diphosphoglycerate binding site[J]. *J Mol Biol*, 1980, 141(2): 195-216.
- [90] NAKAGAWA A, FERRARI M, SCHLEIFER G, et al. A triazole disulfide compound increases the affinity of hemoglobin for oxygen and reduces the sickling of human sickle cells[J]. *Mol Pharm*, 2018, 15(5): 1954-1963.
- [91] STEWART G M, CROSS T J, JOYNER M J, et al. Impact of pharmacologically left shifting the oxygen-hemoglobin dissociation curve on arterial blood gases and pulmonary gas exchange during maximal exercise in hypoxia [J]. *High Alt Med Biol*, 2021, 22(3): 249-262.
- [92] WEI M, HUANG J, CUI Y, et al. Effect of GBT440 on oxygen-carrying characteristics and its anti-hypoxia effect in hypoxia animal model[J]. *J Third Mil Med Univ(第三军医大学学报)*, 2020, 42(9): 923-928.
- [93] AL BALUSHI H, DUFU K, REES D C, et al. The effect of the

- antisickling compound GBT1118 on the permeability of red blood cells from patients with sickle cell anemia[J]. *Physiol Rep*, 2019, 7(6): e14027.
- [94] DUFU K, WILLIAMS A T, MULLER C R, et al. Increased hemoglobin affinity for oxygen with GBT1118 improves hypoxia tolerance in sickle cell mice[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2021, 321(2): H400-H411.
- [95] NNAMANI I N, JOSHI G S, DANSO-DANQUAH R, et al. Pyridyl derivatives of benzaldehyde as potential antisickling agents[J]. *Chem Biodivers*, 2008, 5(9): 1762-1769.
- [96] ABDULMALIK O, GHATGE M S, MUSAYEV F N, et al. Crystallographic analysis of human hemoglobin elucidates the structural basis of the potent and dual antisickling activity of pyridyl derivatives of vanillin[J]. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr*, 2011, 67(Pt 11): 920-928.
- [97] CHATTERJEE R, IWAI Y, WALDER R Y, et al. Structural features required for the reactivity and intracellular transport of bis(3, 5-dibromosalicyl)fumarate and related anti-sickling compounds that modify hemoglobin S at the 2, 3-diphosphoglycerate binding site[J]. *J Biol Chem*, 1984, 259(23): 14863-14873.
- [98] KLOTZ I M, TAM J W. Acetylation of sickle cell hemoglobin by aspirin[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1973, 70(5): 1313-1315.
- [99] DE FURIA F G, CERAMI A, BUNN H F, et al. The effect of aspirin on sickling and oxygen affinity of erythrocytes[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1973, 70(12): 3707-3710.
- [100] 王笑妍, 李玫, 沈志纲, 等. 红景天苷药理作用研究进展[J]. *中成药*, 2022, 44(12): 3932-3935.
- [101] ZHANG K X, ZHU M X. Research progress of role of erythropoietin in the protective mechanism of cerebral ischemia and related traditional Chinese medicine intervention[J]. *Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学)*, 2020, 37(11): 1397-1401.
- [102] YANG R W, GAO G, LIU T, et al. Enhanced ability of hemoglobin to carry oxygen by salidroside[J]. *Electrochem Commun*, 2007, 9(1): 94-96.
- [103] JIA S N, ZHANG Q G, MA C H, et al. Proteomics analysis of erythrocyte membrane in rats with high altitude polycythemia before and after intervention with salidroside[J]. *China J Chin Mater Med(中国中药杂志)*, 2020, 45(19): 4719-4724.
- [104] GUO Q W, LI W B, ZHANG R X, et al. The effect of increasing 2, 3-BPG level on tissue oxygen supply and its drugs research progress[J]. *Chin J Hosp Pharm(中国医院药学杂志)*, 2022, 42(4): 450-454.
- [105] XU G Y, VAN BRUGGEN R, GUALTIERI C O, et al. Bisphosphoglycerate mutase deficiency protects against cerebral malaria and severe malaria-induced anemia[J]. *Cell Rep*, 2020, 32(12): 108170.
- [106] WANG G, HUANG Y, ZHANG N N, et al. Hydrogen sulfide is a regulator of hemoglobin oxygen-carrying capacity via controlling 2, 3-BPG production in erythrocytes[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021(2021): 8877691.
- [107] WEI C Y, WANG H Z, WANG Z Y, et al. Advance on anticancer activities of H₂S donor derivatives[J]. *Chem Reag(化学试剂)*, 2021, 43(11): 1518-1526.
- [108] MA X H, XIAO W J, LI J F, et al. Study on the interaction of allicin with different types of protein by synchronous fluorescence[J]. *Chem Res Appl(化学研究与应用)*, 2020, 32(7): 1161-1169.
- [109] BENAVIDES G A, SQUADRITO G L, MILLS R W, et al. Hydrogen sulfide mediates the vasoactivity of garlic[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007, 104(46): 17977-17982.
- [110] MUHAMMAD A, WAZIRI A D, FORCADOS G E, et al. Sickling-suppressive effects of chrysin may be associated with sequestration of deoxy-haemoglobin, 2, 3-bisphosphoglycerate mutase, alteration of redox homeostasis and functional chemistry of sickle erythrocytes[J]. *Hum Exp Toxicol*, 2020, 39(4): 537-546.
- [111] ALIYU, MUHAMMAD, . Sickling-preventive effects of rutin is associated with modulation of deoxygenated haemoglobin, 2, 3-bisphosphoglycerate mutase, redox status and alteration of functional chemistry in sickle erythrocytes[J]. *Heliyon*, 2019, 5(6): e01905.
- [112] LI D, HAN Y X, YANG F. Research and application progress of hemoglobin oxygen carrier[J]. *Mater China(中国材料进展)*, 2022, 41(5): 338-344.
- [113] 章俊. 新型右旋糖酐交联对牛血红蛋白稳定性和供氧功能的作用研究[D]. 北京: 军事科学院, 2019.
- [114] VANDEGRIFF K D, MALAVALLI A, MKRTCHYAN G M, et al. Sites of modification of hemospan, a poly(ethylene glycol)-modified human hemoglobin for use as an oxygen therapeutic[J]. *Bioconjug Chem*, 2008, 19(11): 2163-2170.
- [115] SVERGUN D I, EKSTRÖM F, VANDEGRIFF K D, et al. Solution structure of poly(ethylene) glycol-conjugated hemoglobin revealed by small-angle X-ray scattering: Implications for a new oxygen therapeutic[J]. *Biophys J*, 2008, 94(1): 173-181.
- [116] VANDEGRIFF K D, WINSLOW R M. Hemospan: Design principles for a new class of oxygen therapeutic[J]. *Artif Organs*, 2009, 33(2): 133-138.
- [117] COOPER C E, BIRD M, SHENG X B, et al. Stability of maleimide-PEG and mono-sulfone-PEG conjugation to a novel engineered cysteine in the human hemoglobin alpha subunit[J]. *Front Chem*, 2021(9): 707797.
- [118] WU B P, WANG F, LUO C, et al. A study on porcine hemoglobin and glutaraldehyde-polymerized porcine hemoglobin as hemoglobin-based oxygen carriers[J]. *J Northwest Univ Nat Sci Ed(西北大学学报: 自然科学版)*, 2008, 38(4): 613-616.
- [119] KIMURA T, SHINOHARA R, BÖTTCHER C, et al. Core-shell clusters of human haemoglobin A and human serum albumin: Artificial O₂-carriers having various O₂-affinities[J]. *J Mater Chem B*, 2015, 3(30): 6157-6164.
- [120] ZHANG J, WANG Y, ZHANG S, et al. *In vitro* and *in vivo* investigation of the novel Dex-bHb as oxygen carriers[J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2018, 46(sup3): S133-S137.
- [121] LU X L, ZHENG C Y, XU Y H, et al. Preparation of red blood cell substitute by cross-linking hemoglobin with diethyl succinimide ester[J]. *Sci China Serc(中国科学: C 辑: 生命科学)*, 2004, 34(4): 350-359.
- [122] ARIFIN D R, PALMER A F. Polymersome encapsulated hemoglobin: A novel type of oxygen carrier[J]. *Biomacromolecules*, 2005, 6(4): 2172-2181.

- [123] KAWAGUCHI A T, TAMAKI T. Artificial oxygen carrier improves fatigue resistance in slow muscle but not in fast muscle in a rat *in situ* model[J]. Artif Organs, 2020, 44(1): 72-80.
- [124] ARIFIN D R, PALMER A F. Determination of size distribution and encapsulation efficiency of liposome-encapsulated hemoglobin blood substitutes using asymmetric flow field-flow fractionation coupled with multi-angle static light scattering[J]. Biotechnol Prog, 2003, 19(6): 1798-1811.
- [125] LI L, SUN Z Q. Reaserch advances on induction of fetal hemoglobin (HbF) by drugs in the treatment of β -thalassemia—Review[J]. J Exp Hematol(中国实验血液学杂志), 2020, 28(4): 1424-1428.
- [126] HUANG L, YAO H X. Curative effects of hydroxyurea on the patients with β -thalassaemia intermedia[J]. J Exp Hematol(中国实验血液学杂志), 2016, 24(3): 806-809.
- [127] CHEN J M, ZHU W J, CAI N, et al. Thalidomide induces haematologic responses in patients with β -thalassaemia[J]. Eur J Haematol, 2017, 99(5): 437-441.
- [128] MOUTOUH-DE PARSEVAL L A, VERHELLE D, GLEZER E, et al. Pomalidomide and lenalidomide regulate erythropoiesis and fetal hemoglobin production in human CD34+ cells[J]. J Clin Invest, 2008, 118(1): 248-258.
- [129] HAMED E M, MEABED M H, ALY U F, et al. Recent progress in gene therapy and other targeted therapeutic approaches for beta thalassemia[J]. Curr Drug Targets, 2019, 20(16): 1603-1623.
- [130] LANGER A L, ESRICK E B. β -Thalassemia: Evolving treatment options beyond transfusion and iron chelation[J]. Hematology Am Soc Hematol Educ Program, 2021, 2021(1): 600-606.
- [131] LI L, SUN Z Q. Reaserch advances on induction of fetal hemoglobin (HbF) by drugs in the treatment of β -thalassemia: review[J]. Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi, 2020, 28(4): 1424-1428.
- [132] LI X, LI X F, PU X M, et al. Advance in prevention and treatment of high-altitude hypoxia with traditional Chinese medicine[J]. Mod Tradit Chin Med Mater Med World Sci Technol(世界科学技术-中医药现代化), 2021, 23(12): 4669-4677.
- [133] WANG W G, YANG Z Q, LI X L, et al. Research progress of anti-hypoxic Chinese medicine[J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2022, 34(2): 344-357.
- [134] ZHANG J L, LI X Y. A review of drug metabolism under hypoxia environment at high altitude[J]. Acta Pharm Sin(药学报), 2015, 50(9): 1073-1079.

收稿日期: 2022-10-09

(本文责编: 陈怡心)