Aug . 2010

DOI:10.3724/SP.J.1238.2010.00442

犬的异源红细胞输血研究

贾杏林,丁维,李晓云,黄昊洋,陈铁桥,向建洲

(湖南农业大学 动物医学院,湖南 长沙 410128)

摘 要:用 α -半乳糖苷酶对猪血红细胞进行处理后,输入到犬的体内,观察输血前后犬的临床指标变化,并检测其血常规和尿常规指标.待犬的临床指标和尿常规、血常规指标都恢复正常后进行第 2 次输血,以探讨异源猪红细胞输给犬的可能性.结果表明,2 次输血均未引起明显的临床异常反应,提示猪红细胞用于犬异源输血存在可能性.

关键词:猪红细胞;犬;异源输血

中图分类号: S829.292; R457.1 文献标志码: A 文章编号: 1007-1032(2010)04-0442-03

Heterologous red blood cell transfusion of canine

JIA Xing-lin, DING Wei, LI Xiao-yun, HUANG Hao-yang, CHEN Tie-qiao, XIANG Jian-zhou (College of Veterinary, HNAU, Changsha 410128, China)

Abstract: The pig's erythrocytes treated with α -galactosidase enzymes were transfused into canine. The clinical indices of canine were observed before and after transfusion, and the blood and urine indicators were tested. Then the second transfusion was conducted after dog's urine and blood indicators returned to normal, to explore the possibility of heterologous transfusion. The results showed that the blood transfusion at two time did not result in abnormal clinical reaction. It is feasible that pig's red blood cell could be transfused to dogs.

Key words: erythrocytes of swine; canine; heterologous blood transfusion

在小动物临床医学中,输血疗法是很重要的一种治疗方法,但该方法在应用上受很多因素限制,如犬血型较多,血型鉴定和配血试验费时费力,输鲜血制品时难以找到相同血型的血源;血液有效储存期短,目前国内尚无储存血源供应;无成熟的血液安全检测方法,同种动物输血时易导致供血动物隐性疾病的传播^[1]等.笔者以猪红细胞作为异源动物血液的替代品,以犬为受血动物进行输血,旨在研究适合犬异源红细胞输血的方法,拓展输血疗法在兽医临床的应用.

1 材料和方法

1.1 供试动物

试验动物为 10~15 kg 临床健康猪 1 头 ,1.34 kg 健康幼犬 1 只(记为 I 号犬) ,1.12 、1.28 、1.54 kg 健康幼犬各 1 只、10.34 kg 成年犬 1 只 .

1.2 主要试剂与仪器

主要药品与试剂为肝素钠、无菌生理盐水、α-半乳糖苷酶、兽用溶血剂(V-28CFL 无氰溶血剂)、 兽用清洗液(V-28E E-Z 清洗液)、兽用稀释液(V-28D

收稿日期: 2010-04-08

基金项目:湖南省第一届大学生研究性学习和创新性项目(60030183705);湖南农业大学东方科技学院大学生研究性学习和创新性实验计划项目(DFCXY200906)

作者简介: 贾杏林(1970—),男,湖北天门人,博士,副教授,主要从事动物输血与血液病研究,jxl1709@yahoo.com.cn

稀释液)、兽用清洗液(V-28R 冲洗液). 肝素钠购自 上海生工生物工程技术服务有限公司,α-半乳糖苷 酶购自 Sigma 公司,其余均由深圳迈瑞医疗电子股 份有限公司生产.

主要仪器为 Uritest-150 型尿液分析仪、 BC-2008 Vet 血液分析仪、离心机、显微镜、离心 管、一次性注射器、一次性输液器等.

1.3 血液样本的处理

耳静脉采集猪血,肝素钠抗凝,加入α-半乳糖 苷酶处理^[2].分离红细胞后,用生理盐水稀释成全 血等体积的红细胞悬液,备用.

1.4 体外配血试验

取20 μL脱敏猪红细胞悬液和等体积犬全血混匀,室温放置15 min,肉眼和显微镜下观察红细胞凝集程度,无凝集反应则可进行输血.

1.5 犬的异源输血试验

给 5 只供试犬静脉输入 20%血量的猪红细胞 悬液,观察输血前、输血中和输血后的精神状态, 可视黏膜颜色,检测心跳、呼吸次数、尿液等临床 指标.

每天观察 I 号犬的精神状态、食欲、可视黏膜颜色,检测其粪便、体温、心跳数、呼吸等临床指标和尿液中的胆红素、尿胆原含量及血常规,直到各指标正常.

待各指标正常后,第 2 次静脉输入等量的猪红细胞悬液,并每天检测第 1 次输血时检测的各项指标。

2 结果与分析

2.1 体外配血试验结果

体外配血试验结果:红细胞无凝集反应和溶血 反应.

2.2 犬输血前后临床指标的变化

5 只犬在输血前临床指标正常;输血中精神稍沉郁,心跳和呼吸加快,可视黏膜颜色正常,其他临床指标正常;输血后 3~4 h 内临床指标恢复正常(表 1).

表 1 犬输血前后的临床指标

Table 1 Clinical index before and after blood transfusion

输血阶段	精神	可视黏膜	心跳	呼吸
输血前	无异常	无异常	正常	正常
输血中	稍沉郁	无异常	加快	加快
输血后	无异常	无异常	3~4 h 恢复正常	3~4 h 恢复正常

2.3 输血前后体温的变化

各项指标的检测时间:输血前记为 0 d,第 1、2 次输血时间分别记为 1、9 d.下同.

由图 1 可见 ,第 1 次输血后 ,犬的体温先升高 , 第 2 天下降 ,但均在正常范围内 ; 第 2 次输血后 , 犬的体温也先升高 , 第 4 天恢复正常 .

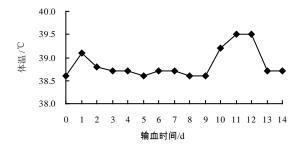


图 1 犬输血前后的体温

Fig.1 Temperature of dog before and after blood transfusion

2.4 输血前后血常规指标的变化

由表 2 可知,第 1、2 次输血后的红细胞数目、 血红蛋白含量均先增加,然后下降.

表 2 输血前后的红细胞数目和血红蛋白含量
Table 2 Number of erythrocyte and hemoglobin of dog before and after blood transfusion

***	ci biood transitasion	
时间/d	红细胞数/(×10 ⁹ · L ⁻¹)	血红蛋白含量/(g· L ⁻¹)
0	4.31	296
1	4.53	308
2	4.76	314
3	4.81	319
4	4.65	312
5	4.56	301
6	4.57	299
7	4.57	294
8	4.51	298
9	4.51	296
10	4.79	311
11	4.88	322
12	4.82	319
13	4.64	312
14	4.31	298

2.5 输血前后尿常规指标的变化

从图 2、图 3 可见,胆红素、尿胆原的含量变化在第 1 次输血后的持续时间比第 2 次的长,胆红素和尿胆原含量第 1 次输血后分别于 8、9 d 恢复到正常水平;第 2 次输血后均为 5 d 恢复到正常水平,输血后尿液中存在一定量的蛋白质(图 4).

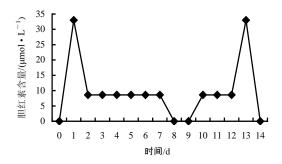


图 2 犬输血前后尿中胆红素的含量

Fig.2 Contents of bilirubin of dog before and after blood transfusion

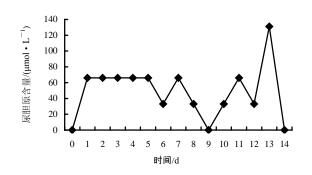


图 3 犬输血前后尿中尿胆原的含量

Fig.3 Contents of urobilinogen of dog before and after blood transfusion

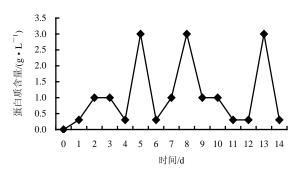


图 4 犬输血前后尿中蛋白质的含量

Fig.4 Contents of urprotein of dog before and after blood transfusion

3 结论与讨论

本研究结果表明,对犬进行2次猪异源红细胞 输血后均没有出现明显的输血反应,提示这种异源 输血方法在兽医临床上有一定的研究、推广价值.该方面研究国内、外尚未见报道.异源输血速度不能过快,否则可能引起输血反应.

猪是目前异种移植较好的供体^[3].猪血作为异源输血的血源,具有取血方便、价格低廉、来源广泛等特点.研究^[4]表明,猪红细胞表面存在两类异种抗原,即 α -半乳糖抗原和非 α -半乳糖抗原,前者是主要异种抗原,它表达在除人和旧大陆猴外的所有哺乳动物体内.一般情况下,犬多次输血容易发生较强烈的输血反应^[1],但在本试验中,2次输入修饰处理的猪红细胞并没有发生明显的输血反应,表明处理后消除了红细胞表面的 α -半乳糖抗原.由于红细胞没有细胞器,这些被消除的反应无法重建^[5],因而减弱了异源输血时的输血反应,无法重建^[5],因而减弱了异源输血时的输血反应,无法重建^[5],因而减弱了异源输血时的输血反应,无法重建^[5],因而减弱了异源输血时的输血反应,在一定量的蛋白质。如何解决这两个问题还有待研究。唐香山^[6]等利用酿酒酵母细胞系进行了 α -半乳糖苷酶的表达,这将为本研究提供经济的试验材料。

参考文献:

- [1] 梁永春,尚文博,赵战峰.犬猫的临床输血疗法[J].动物医学进展,2008,29(6):113-115.
- [2] 王捷熙,高新,白燕,等.猪血人源化改造——酶解 清除猪红细胞α-Gal抗原[J].科学通报,2003,48(2): 174-176.
- [3] 王捷熙,章扬培.猪红细胞血型抗原修饰异种输血的研究进展[J].中国实验血液学杂志,2002,10(3):273-276.
- [4] 常宏宇,檀英霞,张成林,等.去除α-Gal抗原的猪红细胞输入猕猴体内的初步研究[J].中国输血杂志, 2008,21(2):110-113.
- [5] 檀英霞,李素波,王捷熙,等. 牛、猪红细胞表面异种抗原改造的比较[J]. 中国实验血液学杂志, 2005, 13(5): 878-882.
- [6] 唐香山 ,张学文,章怀云,等 . 酵母α-半乳糖苷酶组成型表达基因的重组构建及转化[J] . 湖南农业大学学报:自然科学版,2004,30(6):503-505 .

责任编辑:王赛群 英文编辑:罗文翠