

## 心率变异性在反映心脏自主神经损伤和重构中的应用

许 亮 彭 屹\*

(中国医学科学院基础医学研究所, 中国协和医科大学基础医学院, 北京 100005)

**摘 要:** 缺血预适应和急性心肌梗死恢复期都会出现心脏自主神经的变化, 心率变异性(HRV)是无创测量自主神经活动的重要方法。研究自主神经的变化能为疾病机理和临床用药研究提供理论基础, 所以监测预适应和心梗后的 HRV 有着重要意义。本文综述了预适应和心梗恢复期在 HRV 上的体现, 并将 HRV 的变化与生理生化证据相联系, 分析了缺血预适应对自主神经的保护作用和心梗后用 HRV 检测自主神经恢复的可行性。同时还对心率变异性今后的研究方向做了展望。

**关键词:** 心率变异性; 自主神经; 缺血预适应; 心肌梗死; 神经再生

### Heart Rate Variability Assessment of Cardiac Autonomic Nerve Damage and Remodeling

XU Liang PENG Yi\*

(Institute of Basic Medical Science, Chinese Academy of Medicine, School of Basic Medicine, Peking Union Medical College, Beijing 100005)

**Abstract:** The activities of cardiac autonomic nerve change during ischemic preconditioning (IP) and healing myocardial infarction (MI). These changes can be non-invasively assessed by heart rate variability (HRV). Monitoring HRV in IP and post-MI cases is important for this kind of research on cardiac autonomic rhythms, it would provide theoretical basis for pathology and guidelines for clinical medication. In this review, HRV representations of IP and healing MI were reviewed, furthermore, the relation between HRV changes and physiological as well as biochemical evidences was introduced. We discussed the feasibility of employing HRV to analysis the neural protection effect of IP and the rehabilitation process of cardiac autonomic nerves after AMI. We also made a prospect view of further research on heart rate variability.

**Key words:** heart rate variability; autonomic nerves system; ischemic preconditioning; myocardial infarction; reinnervation

中图分类号 R318 文献标识码 A 文章编号 0258-8021(2007)04-0618-05

### 引言

心率变异性 (heart rate variability, HRV) 是一种公认的定量且无创地研究自主神经对心脏节律支配的有效工具。在二十世纪 80 年代, HRV 已经被证实可以作为预测急性心肌梗死 (acute myocardial infarction, AMI) 后死亡率的一个独立且高度相关的预测因子<sup>[1]</sup>。此后的大量研究关注了 HRV 和 AMI 预后之间的关系, 与此同时也有很多研究者开始转向恶性心血管事件之前危险期的 HRV 分析以及之后恢复期的 HRV 分析, 以期使 HRV 能用于心血管

疾病全病程的定量分析。

目前 HRV 的分析方法有时域分析、频域分析、时频分析以及非线性分析等方法<sup>[2]</sup>。最常用的有频域和时频分析。在频域中将 HRV 划分为四个成分, 超低频 (ULF)、极低频 (VLF)、低频 (LF) 和高频 (HF)。其中, HF 部分反映迷走神经紧张度, LF 部分反映交感神经紧张度 (也有部分研究者认为 LF 部分同时受交感和迷走的影响), 通常使用 LF/HF 的值来表示迷走-交感平衡性<sup>[3]</sup>。

细胞和分子生物学水平的研究虽然能揭示缺血预适应和梗死恢复期神经萌发的机理, 也是近年来

收稿日期: 2007-03-15

基金项目: 北京市自然科学基金 (3052015)。

\* 通讯作者。E-mail: pengyi@pumc.edu.cn

研究的热点,但是这种研究多是有创的,或是需要复杂的生化检测步骤,暂时无法用于疾病的实时监控。HRV 分析为监测自主神经在预适应和梗死后恢复期的活动提供了可能的途径。

## 1 HRV 对缺血预适应的反映

缺血预适应(ischemic preconditioning, IP)能减轻紧随 IP 后的心肌缺血所造成的损伤,主要体现在减少损伤面积、减轻缺血后心肌功能降低以及减少恶性心律失常事件等方面。然而,近年来的动物实验发现,缺血预适应对心脏的神经组织也有保护作用<sup>[4]</sup>。

持续的缺血会造成心肌和神经的损伤,但是交感神经对缺血的敏感性要大于心肌细胞,所以即使在可逆性缺血的患者中,也会存在交感神经支配不均一的情况<sup>[5, 6]</sup>。

Nakadate<sup>[6]</sup>等对初发 AMI 并成功接受了经皮冠状动脉腔内成形术(percutaneous transluminal coronary angioplasty, PTCA)治疗的患者进行了心脏单光子发射断层成像(single photon emission computed tomography, SPECT)成像,使用去甲肾上腺素(NE)的类似物<sup>123</sup>I-MIBG 显像交感神经对 NE 的吸收,并在一周内使用<sup>201</sup>Tl-chloride 显像血液正常灌注部分。结果表明,AMI 前未发生心绞痛组交感神经损伤区(表现为<sup>123</sup>I-MIBG 吸收的减少)要大于心肌损伤区(表现为<sup>201</sup>Tl-chloride 吸收减少),而 AMI 前有心绞痛组两者的面积相近,这表明交感神经受到了保护。此项研究结果以及动物实验结果也支持缺血预适应对神经组织具有保护作用<sup>[4]</sup>。

在此基础上,一些研究者使用线性或者非线性的 HRV 定量分析指标来衡量 IP 对心自主神经的保护作用。Moraru 等<sup>[7]</sup>使用低氧的方法对大鼠进行 IP 处理后,用窒息 5min 的方法造成心脏停搏而形成心肌缺血,然后使心肺复苏。在实验组(IP 组)和对照组的各时段平行对比中,RR 间期的均值没有显著差异,但是频域指标有显著差别。实验组的 LF 能量值在窒息后恢复期的升高明显快于对照组(120min 以后已恢复基线水平);而 LF/HF 的值在实验组的恢复也快于对照组(90min 后已恢复基线水平)。从另一个角度证明了 IP 可减弱缺血对心交感神经的损伤。

虽然 IP 对交感神经产生保护作用的机制尚不明确,但已有实验数据表明 IP 后自主神经的平衡性变化是和 IP 的保护作用相关联的。Airaksinen<sup>[8]</sup>等

对冠状动脉显著狭窄的患者使用了球囊阻塞法进行缺血预适应,HRV 时域和频域的分析结果表明第一次的阻塞能引起自主神经的剧烈反应,而在后继的阻塞中,这种反应大为减弱。此项研究由于可记录的信号长度过短,无法确切得出 LF 部分指标,只分析了 HF 部分,因此主要体现的是迷走神经的反应。Wu<sup>[9]</sup>等在冠状动脉旁路移植术(coronary artery bypass graft, CAGB)中使用了缺血预适应的方法,IP 组房颤和室性心动过速的发生率明显低于对照组。IP 组和对照组的 HRV 线性和非线性指标在术前均无显著差异,但是术后,IP 组的分形维数  $\alpha_1$  (short-term fractal scaling exponent)发生了明显的变化,这个非线性指标是与手术的预后相关的。IP 组术后保持了较对照组更高的  $\alpha_1$  值,说明 IP 组的心率变化更为规则。较高的分形维数  $\alpha_1$ <sup>[2]</sup>表明自主神经的过激活动(extreme activation)在 IP 组比对照组更少发生。此结果提示,IP 的保护作用可能部分源于 IP 后的缺血再灌注过程中,自主神经功能得到了保存,能够更为有效地控制心脏节律。

Seyfarth<sup>[4]</sup>等通过对大鼠离体心脏的实验表明,持续缺血将会造成交感神经末梢能量枯竭(energy starvation),并导致内源性去甲肾上腺素以非胞吐方式的大量释放(nonexocytotic release of NE)及局部积累。过度的 NE 聚集会诱发恶性心律失常及加速心肌损伤<sup>[10]</sup>。他们还发现,IP 可以减少在后继的持续缺血过程中 NE 的释放。

由此可以推测,可能是由于 IP 保存了交感神经从而减少了内源性 NE 的流失,使得自主神经的功能在缺血和缺血再灌注时不会发生剧烈的变化,并且使再灌注后自主神经的功能更易恢复。这种推论也可以在 IP 对 HRV 的影响的分析结果中得到证实。前述大部分的研究都表明,在 IP 后的缺血事件中 IP 组的 HRV 指标会得到比非 IP 组更快的恢复,或者更多地保存了心率的变异性。同时,交感神经对心肌的影响是由 NE 介导的,所以内源性 NE 流失的减少也可能是 IP 对心肌产生保护作用的机制之一。可以推测,交感神经得到保存,不仅是 IP 的结果,也是 IP 对心脏产生保护作用的一个原因。

纵观之前所述,在 IP 后交感神经和迷走神经相对平衡性的数据上,HRV 指标中的 LF/HF 比值所反映的现象和生理观测并不完全一致,且一些交感迷走的相对兴奋性的研究得出了相互矛盾的结果<sup>[7, 8]</sup>。部分原因是由于人体 IP 数据主要靠 PTCA 和心绞痛获得,而 PTCA 之前和之后都需要使用药

物辅助治疗,其中的抗心律失常药物会影响自主神经平衡性;而以非持续心绞痛发生作为一过性缺血的标志,并据此认为发生了IP,也存在诸如IP持续时间、部位和程度不一致等很多因素而影响分析效果。这些问题的解决还需要进一步的研究。

## 2 HRV对自主神经萌发、再生的反映

MI发生后,会造成梗死区域的去神经支配,由于交感神经对缺血的敏感性,其损伤范围通常要大于心肌损伤范围<sup>[5]</sup>。目前为止,有很多研究关注了MI后HRV的变化和MI预后之间的关系<sup>[11, 12]</sup>,这些研究均认为MI后亚急性期HRV时域指标<sup>[13]</sup>或者频域指标的降低<sup>[14]</sup>提示了不良预后。大部分此类研究只对患者进行一次HRV记录分析,然后随访其长期生存率和再发MI几率,这类研究没有着眼HRV在MI后恢复期的演变。针对MI患者恢复期多次记录HRV以研究其恢复情况的研究相对较少。

MI恢复期的心肌重构并由此产生的影响<sup>[15]</sup>是一个已被熟知的现象,但MI后神经重构和萌发、再生及其对预后的影响直到二十世纪末才被关注。Cao<sup>[16]</sup>提出MI后交感神经的萌发和猝死之间存在联系,使用免疫细胞化学染色(immunocytochemical staining)的方法观察到了狗心肌梗死模型中梗死区周边组织的交感神经再生,并认为交感神经过度再生是室性心动过速、室颤和猝死的诱因之一。

MI后交感神经的再生得到了临床检测结果的支持。Hartikainen J<sup>[17]</sup>使用<sup>123</sup>I-MIBG和<sup>201</sup>Tl-chloride成像,在MI患者发病后3个月和12个月观察到了梗死周边区域的交感神经再生,但是未见梗死区域的再生。

这些病理上的变化在HRV监测中得到了印证。

Ortak等<sup>[18]</sup>记录了首次发生MI的患者发病后10天和12个月的心电,研究MI后HRV时域指标的恢复情况。发现发病12个月后,SDNN(RR间期标准差)、SDNNi(SDNN的均值)和SDANN(平均RR间期的标准差)较MI发生初期有显著性提高,表明心率变异性水平得到了恢复。

Lampert R<sup>[19]</sup>在其研究中,发现作为对照组(使用安慰剂)的MI患者HRV时域指标pNN50(爱丁堡指数)和rMSSD(相邻RR间期之差的均方根值)及频域指标HF在MI后6周内得到了恢复,并表现为LF/HF较发病初期显著降低。与之类似,Spinnler MT<sup>[20]</sup>也记录到了MI患者发病后7天、4个月、12个月和30个月HRV频域指标绝对数值的上升,并观

察到了LF的相对降低和HF的相对升高。Lombardi F<sup>[21]</sup>使用了MI后2周和12个月的HRV频域指标,并特别关注了迷走-交感的相对紧张度。MI发生2周时频域指标的普遍降低,但是LF的归一化能量表现为升高,提示MI恢复的初期交感兴奋,迷走-交感兴奋表现为交感占主导地位。在12个月后,这种反常的平衡得到了恢复。

Bigger<sup>[22]</sup>研究了CAPS(Cardiac Arrhythmia Pilot Study)中使用安慰剂组的MI患者,随访急性期后6天至60天(均值为25天,做为基线HRV)、3个月、6个月、9个月和12个月的HRV变化。四个频域指标(ULF,VLF,LF和HF)在MI后3个月时和基线水平相比有了显著提高,而MI后3个月、6个月和12个月的指标之间则没有显著性差别。这些患者的HRV指标虽然得到了恢复,但仍低于同龄正常人群。

对于交感神经再生的机制目前尚不明确,可能是由于MI后受损局部神经生长因子(nerve growth factor, NGF)释放增加和生长相关蛋白(growth associated factor, GAP43)表达增多,导致一系列级联反应,使得神经营养物质增多并逆向运输至星状神经节,触发了神经节水平更广泛范围的心交感神经生长。这种生长主要发生在非梗死区,梗死部分的再生可能由于缺少血供而受限。这种再生在MI发生3天后就能显著观察到,并持续到1周后<sup>[23]</sup>。也有报道梗死周边区域在MI发生3小时后就开始萌发,但是萌发的末梢如果不能与目标细胞构成突触连接将会退化<sup>[24]</sup>。

原位心脏移植术(Orthotopic heart transplantation, HTx)导致心脏所有自主神经全部离断。有确切的影像学证据显示,移植后心交感神经是可以再生的<sup>[25]</sup>。这个过程相对MI后神经萌发而言非常缓慢,通常在1年之后才能观察到神经再生现象。HRV的研究结果也证实了这一点,HTx者的LF部分在术后3至15年的恢复过程中表现出缓慢的回升,而HF部分仍然在较低的水平<sup>[26]</sup>。从另一个角度说明交感神经在术后可以再生,只是这种再生是有限且缓慢的,能恢复到的水平也远低于正常。

目前国内外尚没有大量研究分析梗死或原位心脏移植后神经再生的生化指标和HRV指标的直接相关性。但是从病理学上神经萌发的时间和相关神经生长因子表达增多的时间来看,MI后HRV指标的恢复以及梗死后短期内LF占主导地位的现象是

与神经的再生或重构有着紧密联系的。同时不难注意到,神经生长因子等的表达增多集中在 MI 后数日至数周内,而 LF 的恢复则相对滞后,提示心自主神经组织上的再生和功能上的恢复可能是不同步的。

### 3 展望

目前,HRV 在时域、频域和时频联合分析的方法上已经趋向于成熟,并且出现了很多非线性分析方法试图更好地描述心自主神经间复杂的相互作用。在数据获取上,影响 HRV 测量的因素很多,需要严格控制测量条件(如患者体位、呼吸频率、环境温度等)。在缺血性心脏病方面,目前多使用单次测量判断预后,因此有些指标的预测能力存在争议,需要大量的随访多次数据测量。

HRV 中的线性和非线性指标描述了自主神经活动的不同方面,各有其优缺点。而目前 IP 后自主神经变化的研究使用非线性指标的数量很少,所以在这方面的研究还需要更大量的数据并探寻对反映自主神经平衡性更具特异性的线性或非线性指标。

对 MI 后自主神经恢复的研究有着重要的临床意义。交感神经的再生和 NGF 的升高具有双重效应。外源性的 NGF 具有有益的一面,它能保护交感神经,在短时缺血再灌注后减少神经顿抑<sup>[27]</sup>,交感神经的再生对改善移植后心功能和血流动力学也是有益的<sup>[28]</sup>;但是 NGF 的过度升高也是有害的,例如在狗 MI 模型中外源性 NGF 注射增加了猝死率和自发性室性心动过速<sup>[16]</sup>。如何定量评估自主神经在 MI 后恢复期的再生,如何将这种再生保持在一个有利的范围内,如何平衡这种矛盾的利弊关系,还需要进行大量的基础和临床研究。

心率变异性分析在基础研究和临床应用上是一种有用的无创测量方法,用于评价心自主神经的张力。它在缺血性心脏病的预后上已被广泛应用,而在研究心脏自主神经受损及恢复方面有着巨大的潜力。HRV 能反映缺血预适应和急性心肌梗死后自主神经在控制心率能力上的变化,是观测缺血预适应、缺血、心肌梗死及梗死后恢复整个病程中自主神经变化的一个具有强大潜力的定量指标,配合相应的影像学 and 生化检测,就能更进一步分析自主神经在结构、数量上的重构以及在功能上的重构,应该加以深入研究。

### 参考文献

- [1] Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology[J]. *Circulation*, 1996, **93**:1043-1065.
- [2] Perkiomaki JS, Makikallio TH, Huikuri HV. Fractal and complexity measures of heart rate variability[J]. *Clin Exp Hypertens*, 2005, **27**:149-158.
- [3] Hojgaard MV, Holstein-Rathlou NH, Agner E, *et al.* Dynamics of spectral components of heart rate variability during changes in autonomic balance[J]. *Am J Physiol*, 1998, **275**:H213-H219.
- [4] Seyfarth M, Richardt G, Miznyak A, *et al.* Transient ischemia reduces norepinephrine release during sustained ischemia. Neural preconditioning in isolated rat heart[J]. *Circ Res*, 1996, **78**:573-580.
- [5] Luisi AJ Jr, Fallavollita JA, Suzuki G, *et al.* Spatial inhomogeneity of sympathetic nerve function in hibernating myocardium [J]. *Circulation*, 2002, **106**:779-781.
- [6] Nakadate T, Nozawa T, Matsuki A, *et al.* Brief episode of myocardial ischemia before prolonged ischemia attenuates cardiac sympathetic nerve injury[J]. *Circ J*, 2006, **70**:919-925.
- [7] Moraru L, Tong S, Malhotra A, *et al.* Investigation of the effects of ischemic preconditioning on the HRV response to transient global ischemia using linear and nonlinear methods[J]. *Med Eng Phys*, 2005, **27**:465-473.
- [8] Airaksinen KE, Ylitalo KV, Peuhkurinen KJ, *et al.* Heart rate variability during repeated arterial occlusion in coronary angioplasty [J]. *Am J Cardiol*, 1995, **75**:877-881.
- [9] Wu ZK, Vikman S, Laurikka J, *et al.* Nonlinear heart rate variability in CABG patients and the preconditioning effect[J]. *Eur J Cardiothorac Surg*, 2005, **28**:109-113.
- [10] Kurz T, Offner B, Schrieck J, *et al.* Nonexocytotic noradrenaline release and ventricular fibrillation in ischemic rat hearts[J]. *Naunyn Schmiedeberg Arch Pharmacol*, 1995, **352**:491-496.
- [11] Camm AJ, Pratt CM, Schwartz PJ, *et al.* Mortality in patients after a recent myocardial infarction: a randomized, placebo-controlled trial of azimilide using heart rate variability for risk stratification[J]. *Circulation*, 2004, **109**:990-996.
- [12] Carpeggiani C, L'Abbate A, Landi P, *et al.* Early assessment of heart rate variability is predictive of in-hospital death and major complications after acute myocardial infarction[J]. *Int J Cardiol*, 2004, **96**:361-368.
- [13] Balanescu S, Corlan AD, Dorobantu M, *et al.* Prognostic value of heart rate variability after acute myocardial infarction[J]. *Med Sci Monit*, 2004, **10**:CR307-CR315.
- [14] Bigger JT Jr, Fleiss JL, Steinman RC, *et al.* Frequency domain measures of heart period variability and mortality after myocardial infarction[J]. *Circulation*, 1992, **85**:164-171.
- [15] Pfeffer MA, Braunwald E. Ventricular remodeling after myocardial infarction. Experimental observations and clinical implications[J]. *Circulation*, 1990, **81**:1161-1172.

[16] Cao JM, Chen LS, KenKnight BH, *et al.* Nerve sprouting and sudden cardiac death[J]. *Circ Res*, 2000,**86**:816 - 821.

[17] Hartikainen J, Kuikka J, Mantysaari M, *et al.* Sympathetic reinnervation after acute myocardial infarction[J]. *Am J Cardiol*, 1996,**77**:5 - 9.

[18] Ortak J, Weitz G, Wiegand UK, *et al.* Changes in heart rate, heart rate variability, and heart rate turbulence during evolving reperfused myocardial infarction[J]. *Pacing Clin Electrophysiol*, 2005,**28** Suppl 1:S227 - S232.

[19] Lampert R, Ickovics JR, Viscoli CJ, *et al.* Effects of propranolol on recovery of heart rate variability following acute myocardial infarction and relation to outcome in the Beta-Blocker Heart Attack Trial[J]. *Am J Cardiol*, 2003,**91**:137 - 142.

[20] Spinnler MT, Lombardi F, Moretti C, *et al.* Evidence of functional alterations in sympathetic activity after myocardial infarction[J]. *Eur Heart J*, 1993,**14**:1334 - 1343.

[21] Lombardi F, Sandrone G, Pernpruner S, *et al.* Heart rate variability as an index of sympathovagal interaction after acute myocardial infarction[J]. *Am J Cardiol*, 1987,**60**:1239 - 1245.

[22] Bigger JT Jr, Fleiss JL, Rolnitzky LM, *et al.* Time course of recovery of heart period variability after myocardial infarction[J]. *J Am Coll Cardiol*, 1991,**18**:1643 - 1649.

[23] Verrier RL, Kwaku KF. Frayed nerves in myocardial infarction: the importance of rewiring. *Circ Res*[J]. 2004,**95**:5 - 6.

[24] Oh YS, Jong AY, Kim DT, *et al.* Spatial distribution of nerve sprouting after myocardial infarction in mice[J]. *Heart Rhythm*, 2006,**3**:728 - 736.

[25] Bengel FM, Ueberfuhr P, Ziegler SI, *et al.* Serial assessment of sympathetic reinnervation after orthotopic heart transplantation. A longitudinal study using PET and C-11 hydroxyephedrine [J]. *Circulation*, 1999,**99**:1866 - 1871.

[26] Ueberfuhr P, Frey AW, Ziegler S, *et al.* Sympathetic reinnervation of sinus node and left ventricle after heart transplantation in humans: regional differences assessed by heart rate variability and positron emission tomography[J]. *J Heart Lung Transplant*, 2000,**19**:317 - 323.

[27] Abe T, Morgan DA, Gutterman DD. Protective role of nerve growth factor against postischemic dysfunction of sympathetic coronary innervation[J]. *Circulation*, 1997,**95**:213 - 220.

[28] Schwaiblmair M, von Scheidt W, Ueberfuhr P, *et al.* Functional significance of cardiac reinnervation in heart transplant recipients [J]. *J Heart Lung Transplant*, 1999,**18**:838 - 845.

(上接第 611 页)

表 2 四种止血材料的体内止血效果比较  
Tab.2 *In vivo* haemostatic effect comparson of 4 haemostatic materials

指标	普通纱布	胶原海绵	可溶性止血纱布	生物纸
止血时间(s)	116.5 ± 23.45	115.1 ± 19.02	89.8 ± 12.58	68.1 ± 7.76
出血量(g)	0.46 ± 0.08	0.39 ± 0.08	0.26 ± 0.05	0.12 ± 0.03

3 结论

生物纸是一种新型的可降解生物材料,具有肯定的止血作用。在分子水平上生物纸能增强纤维蛋白原的凝固性,缩短凝血酶时间;在大体水平上生物纸对组织表面具有较强的粘附性,压迫创面止血,吸收血液中的水份使血液粘稠,促进凝血,达到缩短止血时间和减少出血量的作用。比目前市售胶原海绵和可溶性止血纱布具有更好的止血作用。

参考文献

[1] Tomizawa Y. Clinical benefits and risk analysis of topical hemostats: a review[J]. *J Artif Organs*, 2005, **8**(3): 137 - 142.

[2] Wang Chunren, Zhang Qing, Xi Tingfei. Biocompatibility and haemostatic effect investigation of a newly developed biodegradable biopaper with haemostatic and anti-adhesive activity[A]. In: Pro 7th World Biomaterials Congress[C]. Sydney: Australian Society for Biomaterials Inc., 2004. 17 - 21.

[3] Aziz O, Athanasiou T, Darzi A. Haemostasis using a ready-to-use collagen sponge coated with activated thrombin and fibrinogen[J]. *Surg Technol Int*, 2005, **14**:35 - 40.

[4] 孙玉山, 刘欣, 王玥. 生物功能性医用材料止血功能的研究报告[J]. *产业用纺织品*, 2000, **18**(23):28 - 32.

[5] 武继民, 苗明山, 关静. 胶原海绵止血效果的动物实验研究[J]. *军事医学科学院院刊*, 2001, **25**(4):277 - 279.

[6] 付海洋. 猪源性医疗器械中内源性逆转录病毒的检测方法研究及白蛋白生物胶的研制[D]. 北京: 中国药品生物制品检定所, 2005.