DOI:10.16016/j.1000-5404.2002.08.052
第24卷第8期 第三军医大学学报 Vol. 24, No. 8
982 2002年8月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Aug. 2002

论著

文章编号:1000-5404(2002)08-0982-02

儿童低温体外循环围术期内皮细胞凝血及纤溶活性变化

陈劲进,肖颖彬,刘 梅,彭 莉,胡 卫 (第三军医大学附属新桥医院心血管外科,重庆 400037)

提 要:目的 探讨儿童低温体外循环围术期内皮细胞凝血及纤溶活性变化。方法 选择20例先天性心脏病缺损患儿,于肝素化后体外循环前、转流30 min、开放主动脉5 min、停机、停机后4 h、术后第1日晨取静脉血测循环内皮细胞(CEC)数,同时用酶联免疫法测定血浆中血管性假血友病因子(vWF)浓度、组织型纤溶酶原激活剂(t-PA)及纤溶酶原激活剂抑制物-1(PAI-1)活性,并测定血不同时间的CEC数。结果 体外循环期间及体外循环结束后各时相点CEC数、vWF浓度均较体外循环前显著增加($P<0.05$);体外循环期间t-PA活性显著升高($P<0.05$),停机后t-PA活性逐渐下降,术后第1日t-PA活性与转流前无显著差别($P>0.05$);转流后PAI-1活性显著下降($P<0.05$),停机后PAI-1活性显著升高($P<0.05$)。结论 低温体外循环可致血管内皮细胞激活或损伤,并致凝血及纤溶功能紊乱。

关键词:体外循环;内皮细胞;凝血;纤溶
中图法分类号:R446.11;R726.541 文献标识码:A

Coagulation and fibrinolysis function changes of endothelial cells in pediatric cardiac operation with hypothermic cardiopulmonary bypass

CHEN Jin-jin, XIAO Ying-bin, LIU Mei, PENG Li, HU Wei (Department of Cardiovascular Surgery, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400037, China)

Abstract: **Objective** To investigate endothelial cells coagulation and fibrinolytic function changes in pediatric cardiac operation with hypothermic cardiopulmonary bypass (CPB). **Methods** Twenty children scheduled for cardiac operation with hypothermic CPB were included in the study. Blood samples were taken before CPB, 30 min after the start of CPB, 5 min after release of aortic crossclamp, at the end of CPB, 4 h after the end of CPB and on the morning of first postoperative day. von Willebrand Factor(vWF), tissue type plasminogen activator(t-PA) and plasminogen activator inhibitor-1(PAI-1) activity were measured by enzyme-linked immunosorbent assay method. Circulating endothelial cells (CEC) were counted. **Results** The level of CEC and vWF increased significantly during CPB and was remained higher than the basic values on the morning of the first postoperative day ($P<0.05$). t-PA activity rose significantly throughout CPB($P<0.05$) and returned to the baseline in the first postoperation day. PAI-1 activity fell during CPB and increased significantly postbypass($P<0.05$). **Conclusion** Endothelial cells are activated/injured during CPB with hypothermia and interferes blood coagulation and fibrinolysis function.

Key words: cardiopulmonary bypass; endothelial cell; coagulation; fibrinolysis

体外循环致血管内皮细胞激活或损伤引起人们越来越多的关注,血管内皮细胞激活或损伤是体外循环围术期所出现的各种并发症的病理过程的重要环节,其中包括凝血及纤溶功能失调,急性血管痉挛综合征,缺血再灌注损伤,全身炎性反应综合征(SIRS)等[1,2]。国内相关报道尚少。本研究主要对低温体外循环致血管内皮细胞激活或损伤及对凝血、纤溶活性的影响进行了临床初步研究,现报告如下。

1 资料和方法

1.1 临床资料

选择20例先天性心房、室间隔缺损患儿,男8例、女12例,年龄3~5岁,体重11~18 kg。均在低温体外循环下行房室间隔缺损修补术,所有患者无死亡及残余漏。

1.2 血样采集和测试指标

于肝素化后体外循环前、转流30 min、开放主动脉5 min、停机、停机后4 h、术后第1日晨6个时相点,采集3 ml静脉血供血循环内皮细胞(Circulating endothelial cell, CEC)计数,另分离静脉血浆贮于-22 ℃供测血管性假血友病因子(Von Willebrand factor, vWF)、组织型纤溶酶原激活剂(Tissue plasminogen activator, t-PA)活性、纤溶酶原激活剂抑制物-1(Plasminogen activator inhibitor-1, PAI-1)活性;同时测量各时相点红细胞压积。

1.3 CEC分离及计数

采用percoll密度梯度离心法[3],在光学显微镜下计数,单位:Cell/0.9 μl,其循环内皮细胞鉴定采用间接免疫荧光法标记Ⅷ-Ag。CEC形态特征:镜下见CEC体积较大,大多数为不规则多边形细胞,核隐约可见或无细胞核。vWF抗体标记后的细胞胞质中有棕褐色颗粒,表示为CEC。

1.4 vWF浓度测定

采用双抗体夹心固相酶免疫实验,定量测定人血浆中的vWF的水平。单位IU/μl。在美国基因公司的V-max酶标仪进行测定。

1.5 t-PA及PAI-1活性测定

均采用发色底物法。尽快低温分离血浆,取100 μl血浆加入100 μl酸化液供测t-PA,单位:IU/ml。取100 μl血浆测PAI-1。操作按试剂盒进行,单位:AU/ml。

体外循环期间血液稀释对所测定值的影响用以下公式校正:

校正值=实测值×转流前血细胞压积/取样时红细胞压积

作者简介:陈劲进(1970-),男,湖北省荆门市人,博士研究生,主治医师,讲师,主要从事体外循环病理生理方面的研究。电话:(023)68755796

收稿日期:2001-09-18;修回日期:2002-02-10

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

1.6　统计学处理

结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 用数理统计程序包 SPRM 进行单因素方差分析。

2　结果

体外循环围术期各时相点 CEC 数(Cell/0.9 μl)、vWF 浓度(IU/l)、t-PA(IU/ml)及 PAI-1 (AU/ml), 见表 1。

表 1　各时相点血液 CEC 数、vWF 浓度、t-PA 及 PAI-1 水平(Unit)($n=20$, $\bar{x} \pm s$)

Tab 1　Blood levels of CEC, vWF, t-PA and PAI-1 before, during and after CPB($n=20$, $\bar{x} \pm s$)

	Before CPB	30 min on CPB	5 min after release of X-clamp	End of CPB	4 h after end of CPB	Morning of 1st postoperative day
CEC (Cell/0.9 μl)	4.37±0.81	11.8±1.07 *	12.94±1.16 *	13.95±1.65 *	11.50±1.07 *	12.54±1.12 *
vWF (U/μl)	0.22±0.01	0.54±0.02 *	0.49±0.02 *	0.60±0.07 *	1.12±0.05 *	1.38±0.12 *
t-PA (IU/ml)	1.09±0.28	5.57±1.65	7.00±1.58 *	6.62±1.68 *	1.02±0.47	0.80±0.30
PAI-1 (AU/ml)	9.45±2.25	4.28±1.49 *	4.43±1.08 *	5.35±1.27 *	12.44±3.08 *	15.36±1.59 *

CPB: cardiopulmonary bypass; X-clamp: aortic cross-clamp; *: $P<0.05$ *vs* before CPB

体外循环期间各时相点 CEC 数较体外循环前显著增加($P<0.05$), 停机后各时相点 CEC 数与体外循环期间无显著差异($P>0.05$), 但仍较体外循环前显著升高($P<0.05$)。体外循环期间各时相点 vWF 浓度较体外循环前均显著升高($P<0.05$), 停机后各时相点 vWF 浓度较体外循环期间显著升高($P<0.05$)。

体外循环期间 t-PA 活性显著升高($P<0.05$), 停机后 t-PA 活性逐渐下降, 停机后 4 h 及术后第 1 天 t-PA 活性与转流前无显著差别($P>0.05$)。

转流后 PAI-1 活性下降($P<0.05$), 转流后 30 min 降为最低值, 停机后 PAI-1 活性显著升高($P<0.05$), 术后第 1 天 PAI-1 活性达最高值。

3　讨论

血管内皮细胞不仅是调节血管通透性的屏障, 而且还具有其它多种复杂和活跃的生物学功能。低温体外循环中缺血再灌注损伤、内毒素血症、外科创伤、血液中成分与体外循环管道接触等过程均可激发体液及细胞旁路, 引致全身炎性反应综合征(SIRS), 临床上表现为低血压、播散性血管内凝血(DIC)、组织水肿、无菌性发热甚至多脏器功能衰竭(MOF), 而这一过程许多是由内皮细胞的激活或损伤所介导[4]。我们对低温体外循环围术期血浆中 CEC 数、vWF 浓度、t-PA 及 PAI-1 活性的动态变化进行观察, 结果表明体外循环期间及体外循环后早期血浆中血中 CEC 数及 vWF 浓度较体外循环前显著增高($P<0.05$); 转流期间 t-PA 活性显著升高($P<0.05$), 停机后 t-PA 活性逐渐下降, 停机后 4 h 及术后第 1 天 t-PA 活性与转流前无显著差别($P>0.05$); 转流后 PAI-1 活性下降($P<0.05$), 停机后 PAI-1 活性显著升高($P<0.05$)。提示低温体外循环可导致儿童血管内皮细胞激活或损伤, 并致凝血及纤溶功能紊乱。

内皮细胞缺失及脱落是其损伤的重要形态变化。近年来, 在各种损伤情况下出现血管内皮细胞脱落的报道逐渐增多, 主要检测方法是 CEC 计数。由于分离技术的改进, 人们认为 CEC 的检测是目前在活体惟一可以连续而直接反映血管内皮细胞损伤的指示物[5]。本实验结果表明体外循环过程中 CEC 数较体外循环前明显升高($P<0.05$)。提示体外循环能导致血管内皮细胞激活或损伤。

vWF 是由血管内皮细胞、巨核细胞合成的, 其中内皮细胞是血浆 vWF 的主要来源。血中 vWF 水平可以反应血管内皮细胞激活或损伤的程度[6]。vWF 释放增加, 促进血小板与受损血管壁的粘附, 引起血小板的聚集, 血小板聚集后可以释放其包含的 α-颗粒及致密颗粒, 其中包括凝血酶、二磷酸腺苷等, 这些血管活性物质可以进一步激活及促使其它血小板聚集, 引起血小板的大量消耗[1], 使术后产生出血倾向。

血管内皮细胞激活或损伤后, 不仅引起了凝血功能失调, 而且引起纤溶功能紊乱。内皮细胞参与了纤溶功能的调节。内皮细胞不仅合成多种纤溶成分, 而且还提供了纤溶成分相互作用的场所[7]。血液中纤溶活性的调节可能主要取决于内皮细胞分泌的 t-PA/PAI-1 的相对比例。

体外循环激活或损伤血管内皮细胞后, 导致纤溶功能紊乱。本实验可以看出, 体外循环围手术期纤溶状态的变化可分为两个阶段: 第一阶段, 体外循环开始后由于 t-PA 释放增加导致纤溶亢进; 第二阶段, 体外循环结束后, 由于 PAI-1 释放增加, 纤溶过度状态逐渐转向纤溶抑制状态, 可能出现血栓栓塞倾向。由于个体差异巨大, t-PA、PAI-1 的释放因人而异, 导致体外循环后有些病人表现出血倾向, 而另一些病人可导致栓塞[8]。

减轻体外循环对血管内皮细胞的损伤可减轻上述各种不良反应, 有助于体外循环后患者的康复。对体外循环致血管内皮细胞激活或损伤的机理有待于进一步研究。

参考文献:

[1] Boyle E M Jr, Verrier E D, Spiess B D. Endothelial cell injury in cardiovascular surgery: the procoagulant response[J]. Ann Thorac Surg, 1996, 62(5): 1 549—1 557.

[2] Boyle E M Jr, Morgan E N, Kovacich J C, *et al*. Microvascular responses to cardiopulmonary bypass[J]. J Cardiothorac Vasc Anesth, 1999, 13(4 Suppl 1): 30—35.

[3] 杨映波, 王正国, 朱佩芳, 等. 一种分离循环内皮细胞的新方法[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 1994, 8(1): 29.

[4] Mojcik C F, Levy J H. Aprotinin and the systemic inflammatory response after cardiopulmonary bypass[J]. Ann Thorac Surg, 2001, 71(2): 745—754.

[5] Takahasi H, Harker L A. Measurement of human endothelial cells in whole blood[J]. Thromb Res, 1983, 31(1): 1—12.

[6] Blann A D, Farrell A, Picton A, *et al*. Relationship between endothelial cell markers and arterial stenosis in peripheral and carotid artery disease[J]. Thromb Res, 2000, 97(4): 209—216.

[7] Lijnen H R, Collen D. Endothelium in hemostasis and thrombosis[J]. Prog Cardiovasc Dis, 1997, 39(4): 343—350.

[8] Chandler W L, Fitch J C, Wall M H, *et al*. Individual variations in the fibrinolytic response during and after cardiopulmonary bypass[J]. Thromb Haemost, 1995, 74(5): 1 293—1 297.

(编辑　谢义霞)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net