

·论著·

先天性心脏病肺高压肺血管功能与结构的改变

李筠,周爱卿

(上海第二医科大学附属上海儿童医学中心心内科,上海 200127)

[摘要] 目的 通过对先天性心脏病肺动脉高压(肺高压)患者血浆中血栓素 $B_2/6$ -酮-前列环素 F_{1a} ($TXB_2/6$ -K-PGF $_{1a}$), Von Willebrand 因子(VWF:Ag), 组织纤溶酶原激活物(tPA)测定及形态学改变(光、电镜改变)的研究,结合血液动力学,以探讨肺高压的发生机制。方法 分别采用放免分析、免疫扩散电泳法、发色底物分析法测定 $TXB_2/6$ -K-PGF $_{1a}$, VWF:Ag, tPA 及对肺活检组织行光、电镜检查及 VWF:Ag 免疫过氧化酶染色。根据肺血管阻力(PVR)将病例分为3组(组 PVR < 3.5 wood's 单位; 组 PVR $3.5 \sim 5$ wood's 单位; 组 PVR > 5 wood's)。结果 肺高压组中 $TXB_2/6$ -K-PGF $_{1a}$, VWF:Ag 明显上升,不同程度肺高压组中存在显著性差异($P < 0.05$),且血浆中 VWF:Ag 与 PVR, 肺小动脉阻力(PAR)成直线正相关($r = 0.89, 0.82$),而 tPA 无明显改变。随着肺高压的发展变化,肺血管内皮内的粗面内质网,微管微丝增生活跃,内膜下有大量弹力蛋白,且有纤维组织明显增生; VWF:Ag 免疫过氧化酶染色随病理改变的严重而加深,同时肺血管病理改变的严重程度与临床生理检测到的肺高压的严重程度是一致的。结论 肺血管功能、结构改变可能是先天性心脏病肺高压发生的关键因素,本研究为药物干预性防治肺高压的发生提供了一定的理论依据。

[关键词] 肺动脉高压;肺血管阻力;组织纤溶酶原激活物;Von Willebrand 因子;血栓素 $B_2/6$ -酮-前列环素 F_{1a} ;儿童

[中图分类号] R541.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2001)03-0212-03

Functional and Structural Changes in Patients with Pulmonary Hypertension Secondary to Congenital Heart Disease

LI Yun, ZHOU Ai-Qing

Department of Cardiology, Xinhua Hospital, Shanghai Children's Medical Center Affiliated to Shanghai Second Medical University, Shanghai 200127, China

Abstract: **Objective** To investigate possible mechanisms resulting in pulmonary hypertension (PH) in patients with congenital heart disease (CHD). **Methods** Thromboxane $B_2/6$ -keto-Prostaglandin F_{1a} ($TXB_2/6$ -K-PGF $_{1a}$), Von Willebrand factor (VWF: Ag) and tissue plasminogen activator (tPA) plasma levels were measured. Changes in pulmonary vascular endothelial cells were assessed with light and electron microscopy. Ninety-nine children with CHD were divided into 3 groups according to pulmonary vascular resistance (PVR) (Group 1: PVR < 3.5 wood's unit; Group 2: PVR $3.5 \sim 5$ wood's unit; Group 3: PVR > 5 wood's unit). **Results** $TXB_2/6$ -K-PGF $_{1a}$ and VWF:Ag increased significantly in PH, and varied in different PH groups ($P < 0.05$). There was a positive association between PVR and VWF: Ag ($r = 0.89, P < 0.05$) and between pulmonary artery resistance (PAR) and VWF: Ag ($r = 0.82, P < 0.05$). The levels of tPA in PH did not differ from normal. With the progressive changes on the light microscopy, the increases in the volume density of rough endoplasmic reticulum and microfilament bundles on the transmission electron microscopy were more significant and the immunostain for VWF: Ag was more intense. **Conclusions** The functional and structural changes of endothelial cells are important in the pathogenesis of PH secondary to CHD. The experiments provide a theoretical basis for the modification of PH secondary to CHD with drug therapy.

Key words: Pulmonary hypertension (PH); Pulmonary vascular resistance (PVR); Tissue plasminogen activator

(tPA); Von Willebrand factor (VWF:Ag); Thromboxane B₂/6-keto-Prostaglandin F_{1a} (TXB₂/6-k-PGF_{1a}); Child

肺动脉高压(肺高压)是先天性心脏病(先心病)最常见的并发症,它直接影响患者的预后,但发病机理尚未完全明确。本文旨在通过对肺高压时期肺血管内皮功能及结构改变的研究,以探讨肺高压的发生机理。

1 对象和方法

1.1 对象

左向右分流先心病 89 例,其中室间隔缺损 56 例、房间隔缺损 12 例、动脉导管未闭 12 例、复合畸形 9 例,年龄 8 月至 10 岁,平均年龄 3.6 岁。肺血管阻力(PVR)能较好地综合反映肺动脉高压的程度,所以将根据心导管检查结果计算所得的肺血管阻力分为 3 组: 组 PVR 3.5 wood's 单位 50 例为正常组; 组 PVR 3.5 ~ 5 wood's 单位 19 例; 组 PVR > 5 wood's 单位 20 例,上述所有病例均行血浆中 Von Willebrand 因子 (Von Willebrand factor, VWF:Ag), 组织纤溶酶原激活物 (tissue plasminogen activator, tPA), 血栓素 A₂/前列环素 (thromboxane A₂/Prostacyclin, TXA₂/PGI₂) 的稳定代谢产物血栓素 B₂/6-酮-前列环素 F_{1a} (Thromboxane B₂/6-keto-prostaglandin, TXB₂/6-k-PGF_{1a}) 的检测;同时经心导

管证实的不同程度肺高压 10 例,年龄 8 月至 6 岁,平均年龄 3.5 岁,术中行右肺中叶肺活检,作肺形态学的光、电镜检查及 VWF:Ag 免疫过氧化酶染色。

1.2 方法

分别采用放免分析法、免疫扩散电泳法、发色底物分析法测定血浆中的 TXB₂/6-K-PGF_{1a}, VWF:Ag, tPA 的含量;对肺活检标本行 Heath-Edward 染色, VWF:Ag 免疫过氧化酶染色及透射电镜检查。

1.3 统计方法

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,不同组别间的比较均经方差齐性检验后行两样本均数间的 $t(t')$ 检验, VWF:Ag 检测结果行回归分析。

2 结果

2.1 VWF:Ag, TXB₂/6-K-PGF_{1a}, tPA 与肺高压

结果显示肺高压组中 VWF:Ag, TXB₂/6-K-PGF_{1a} 明显高于正常组,不同程度肺高压组间存在显著差异 ($P < 0.05$), tPA 在肺高压组中无显著改变。(见表 1);同时血浆中 VWF:Ag 与 PVR, 肺小动脉阻力 (PAR) 成直线正相关,相关系数分别为 0.89, 0.82 ($P < 0.05$)。

表 1 各组 VWF:Ag, TXB₂/6-K-PGF_{1a}, tPA 结果

Table 1 Results of VWF:Ag, TXB₂/6-K-PGF_{1a} and tPA in different groups

组别	n	VWF:Ag (%)	TXB ₂ /6-K-PGF _{1a}	tPA (Au/ml)
	50	86.9 ± 11.5	3.5 ± 2.7	3.0 ± 1.4
	19	118.0 ± 15.3 ^a	10.7 ± 8.5 ^a	2.5 ± 1.3
	20	146.9 ± 28.3 ^{a,b}	36.7 ± 23.1 ^{a,b}	2.4 ± 1.7

注: a 与 组比较, $P < 0.05$; b 与 组比较, $P < 0.05$

2.2 肺高压与光、电镜改变及 VWF:Ag 免疫过氧化酶染色

2.2.1 光镜结果 10 例肺高压病理改变按 Heath-Edward 分类, 级改变(间质肥厚) 3 例, 级改变(内膜增生) 5 例, 级改变(内膜纤维化) 2 例,同时肺血管病理改变的严重程度与临床生理检测到的肺高压的严重程度是一致的。

2.2.2 电镜结果 透射电镜下, 级者其肺血管内皮细胞内粗面内质网增多肥大、微管微丝增多、内膜下弹力蛋白增多、肌纤维增生活跃;而病理改变级改变者无此明显改变。(见图 2, 4, 封)

2.2.3 VWF:Ag 免疫过氧化酶染色 随着按 Heath-Edward 分类病理改变的进展,可见 VWF:Ag 免疫过氧化酶染色 级基本正常, 级明显加深,且着色带增宽,内膜下也有部分着色。(见图 1, 3, 封)

3 讨论

正常肺血管内皮细胞表面光滑,并能产生大量的 ADP 酶类,防止血小板粘附,同时能产生 α_2 巨球蛋白等,所以具有良好的屏障及抗凝作用。此外,肺

血管内皮细胞能产生大量调节血管张力的物质,维持血管以较低的张力。我们认为左向右分流型先心病患者中,由于血液动力学的改变,局部切应力的增高,可存在肺血管内皮功能、结构的改变,我们在透射电镜下所见肺高压中肺血管内皮细胞内粗面内质网及微管微丝增多及 Rabinovitch^[1]报道的在扫描电镜下肺血管内膜粗糙,形如“绳缆状”改变说明了肺高压中肺血管内皮功能结构改变的存在,而这些异常又有利于血液有形成分如血小板、白细胞的粘附,而血小板、白细胞均含丰富的花生四烯酸代谢所必需的环氧化酶、脂质过氧化酶等关键酶,从而产生大量的血栓素 A₂,白三烯等,进而产生自由基,自由基与细胞膜的不饱和脂肪酸发生反应,导致细胞膜成分的损伤,使肺血管内皮细胞进一步受损。目前已经明确 VWF:Ag, tPA, 血栓调节蛋白(Thrombomodulin, TM)的改变是血管内皮受损的3个重要指标^[2],而 TXA₂/PGI₂的改变可间接反映血管内皮受损的情况^[3]。本实验通过对肺高压组中 TXA₂/PGI₂ 稳定代谢产物 TXB₂/6-k-PGF_{1a}的研究,显示肺高压组中 TXA₂/PGI₂, VWF:Ag 明显增高,且 VWF:Ag 过氧化酶染色明显加深,所以,我们认为在先心病肺高压的发生机理中存在着血管内皮受损,且内皮-血小板的相互作用可能是肺高压发生的关键。左向右分流先心病患者中,由于血液动力学的改变,使局部血小板数目增多及滞留时间延长,引起血小板激活而产生爆破式反应,导致血管壁缺氧,在肾上腺素,5-羟色胺等的作用下,引起内皮收缩致内皮受损,释放出 VWF:Ag,血小板通过血小板膜糖蛋白 GPIIb-VWF-内皮下纤维主要途径粘附于内皮下组成成分,导致血小板合成、释放促血管收缩物质内皮素、TXA₂ 等增多,而舒张因子 PGI₂ 等减少,同时肺血管对内皮依赖的舒张因子反应性低下,导致血管收缩使肺动脉压力增高^[4]。同时我们的研究显示不同程度肺高压组间 TXB₂/6-k-PGF_{1a}, VWF:Ag 存在显著差异, Rabinovitch 也提出不同程度肺高压间内皮细胞在电镜下的渐进性改变,我们认为这些改变与血管壁的顺应性有关。血液动力学改变产生的湍流可引起数百赫兹的高频振荡,可产生内皮受损的足够能量,但是正常压力或压力轻度增高者不至引起或只引起轻微的血管内皮受损,因为管壁柔软能随搏动而运动,此时切应力与振动次数的平方根成反比,而在明显肺高压时,血管壁的

顺应性降低,血管壁对切应力改变敏感,可引起明显的血管内皮受损及血小板粘附、聚集、释放功能的进一步活跃,同时可直接或间接引起内皮依赖的生长因子、血小板依赖的生长因子的释放,使正常处于“休眠状态”的平滑肌细胞处于开放状态,导致无肌细胞动脉的肌化或肌层的肥厚^[5],引起肺高压的发展;既可引起进一步的血管内皮受损,这与本研究 TXB₂/6-k-PGF_{1a}, VWF:Ag 的改变与肺高压程度有关是一致的。此外,本研究显示肺高压中 tPA 无明显改变, Penny^[6]也报道了肺血管阻力增高时 tPA-VWF:Ag 改变呈分离的现象,这可能由于血液动力学改变特异性引起 VWF:Ag 的释放,也可能是血管内皮释放 tPA 后,可迅速反应性引起肺血管或血小板释放组织纤溶酶原激活物抑制物(tissue plasminogen activator inhibitor, PAI),从而形成 tPA-PAI 复合物,使我们无法测得其改变。

总之,在先心病肺高压的发生过程中存在明显的血管内皮受损,内皮功能结构的改变可能是先心病肺高压发生的关键因素,同时本研究为临床药物干预性防治肺高压的发生提供了一定的理论依据。

[参 考 文 献]

- [1] Rabinovitch M, Bothwell T, Hayakawa BN, et al. Pulmonary artery endothelial abnormalities in patients with congenital heart defects and pulmonary hypertension: a correlation of light with scanning electron microscopy and transmission electron microscopy [J]. Lab Invest, 1986, 55(2): 632-653.
- [2] 王鸿利. 血栓前状态实验诊断的评价 [J]. 中华血液学杂志, 1991, 12(9): 480-481.
- [3] Adatia I, Barrow SE, Stratton PD, et al. Thromboxane A₂ and prostacyclin biosynthesis in children and adolescents with pulmonary vascular disease [J]. Circulation, 1993, 88(5): 2117-2122.
- [4] Lerman A, Hildebrand FL, Aarhus LL, et al. Endothelin has biological actions at pathophysiological concentrations [J]. Circulation, 1991, 83(5): 1808-1814.
- [5] Vender RL, Clemmons DR, Kwocck L, et al. Reduced oxygen tension induces pulmonary endothelium to release a pulmonary smooth muscle cell mitogens [J]. Am Rev Respir Dis, 1987, 135(3): 622-627.
- [6] Penny WF, Weinstein M, Salzman EW, et al. Correlation of circulating von Willebrand factor levels with cardiovascular hemodynamics [J]. Circulation, 1991, 83(5): 1630-1636.

(本文编辑:曹励之)

先天性心脏病肺高压肺血管功能与结构的改变

(见正文 212 页)

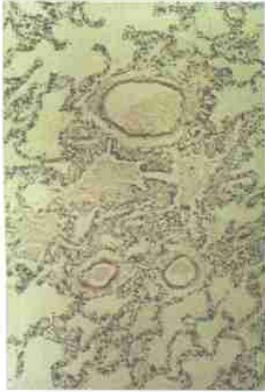


图1 病理I级改变。光镜下vwf:Ag免疫过氧化酶染色(×33)

Figure 1 VWF immunostain for pulmonary endothelium in Grade I



图2 病理I级改变。透射电镜下肺血管内皮细胞(×8000)

Figure 2 Pulmonary vascular endothelial cell in Grain I (Beath-Edward classification) under transmission microscopy

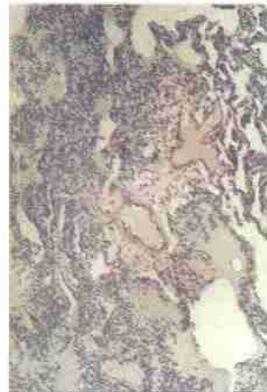


图3 病理III级改变。光镜下vwf:Ag免疫过氧化酶染色,染色带明显加深(×33)

Figure 3 VWF immunostain for pulmonary endothelium in Grade III



图4 病理III级改变。透射电镜下肺血管内皮细胞内可见大量分支的未见内质网,纵管微然(×8000)

Figure 4 The change of pulmonary vascular endothelial cell in Grade III under transmission microscopy

高浓度氧对早产鼠肺一氧化氮合酶表达的影响

(见正文 232 页)

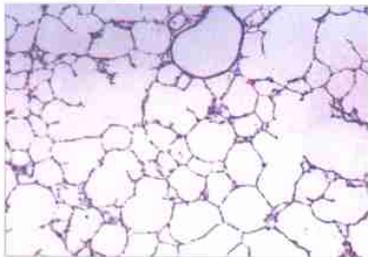


图1 正常空气组(3 d)肺组织形态学表现

Figure 1 Light morphometry of normal lung in air group (day 3)

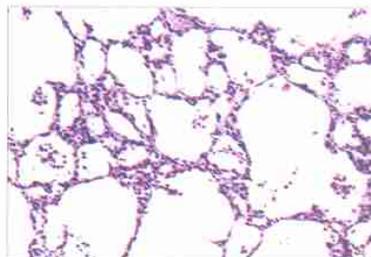


图2 高氧组(3 d)肺组织病理学表现

Figure 2 Light morphometry of lung exposed to hyperoxia (day 3)

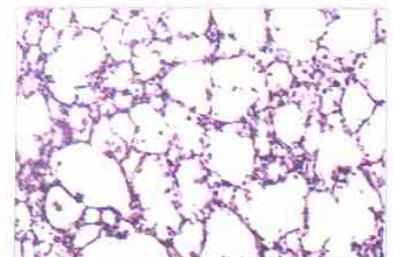


图3 高氧组(7 d)肺组织病理学表现

Figure 3 Light morphometry of lung exposed to hyperoxia (day 7)

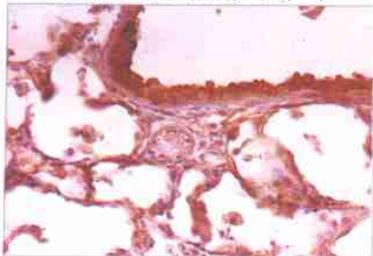


图4 iNOS在高氧组(7 d)炎症细胞、上皮细胞的表达

Figure 4 iNOS expression of inflammatory and epithelial cells in lung exposed to hyperoxia (day 7)

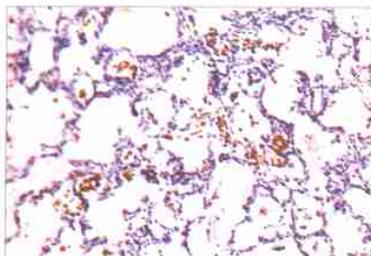


图5 iNOS在高氧组(3 d)肺泡炎症细胞的强阳性染色

Figure 5 Strong immunostaining for iNOS in alveolar inflammatory cells in lung exposed to hyperoxia (day 3)

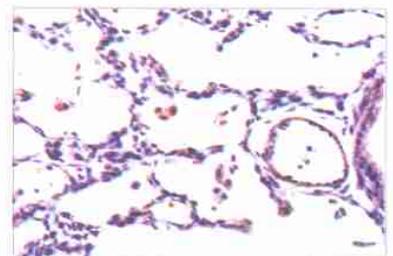


图6 eNOS在高氧组(7 d)内皮细胞、巨噬细胞的表达

Figure 6 eNOS expression of endothelial cells and macrophage in lung exposed to hyperoxia (day 7)