

· 临床经验 ·

心肺转流对小儿血小板膜糖蛋白的影响

隋波, 李茂源, 谢厚云, 马玉恒, 孙潮涌, 田雷, 王维

(第二炮兵总医院麻醉科, 北京 100088)

[中图分类号] R654.1 [文献标识码] D [文章编号] 1008-8830(2006)03-0247-02

血小板膜糖蛋白的表达变化是反映血小板激活程度分子水平的敏感而特异的指标^[1], 血小板灭活是婴幼儿先天性心脏病体外循环心肺转流(CPB)手术中和手术后出血的重要因素^[2]。在CPB中循环血小板有功能和结构改变^[3], 血小板被激活, 血小板膜糖蛋白Ib的表达减少。小儿CPB时循环血量相对较少, 因此, 血小板活性和膜受体的灭活相对较多。本研究应用流式细胞术(Fcy)检测CPB对小儿血小板膜受体的影响。

1 资料与方法

1.1 研究对象

40例先天性心脏病室间隔缺损修补术的患儿分为4组: 0~6月组、7~12月组、1~3岁组和4~6岁组, 每组10例。在7个时间点抽取全血血样。①全麻插管后手术前(基线值); ②用肝素后CPB前; ③CPB 10 min; ④CPB 30 min; ⑤CPB结束; ⑥手术结束; ⑦手术后6 h。检测血小板粘附受体膜糖蛋白Ib的表面密度和血小板激活程度(P-选择素)。

1.2 抗体标记方法

用3种荧光标记单克隆抗体: 藻红蛋白(PE)结合单克隆抗体CD₆₂(PE-抗-CD₆₂)专用于P-选择素; 荧光异氰酸盐(FITC)标记单克隆抗体CD_{42b}(FITC-抗-CD_{42b})直接抗冯威勒布兰因子在血小板膜糖蛋白Ib的氨基末端区; PerCP调节单克隆抗体CD₆₁(PerCP-抗-CD₆₁)再结合糖蛋白IIIa, 糖蛋白IIIb-IIIa复合物的共用亚单位在正常和激活的血小板表达。荧光单克隆抗体均由法国国际免疫公司提供。

1.3 流式细胞学技术

血样标本固定在1%多聚甲醛中4℃保持2 h, 用含0.1%叠氮钠的磷酸缓冲液冲洗3次, 然后每种样

本50 μL加入标准浓度的FITCC-抗-CD_{42b}, PE-抗-CD₆₂和PerCP-抗-CD₆₁中20 min, 并用1 mL细胞液置于三色Fcy检测。流式细胞免疫学技术按文献^[4]的方法进行。流式细胞仪为美国产FACScan型。

1.4 麻醉方法及CPB情况

均用气管内插管静吸复合麻醉, 术前用药为1岁以下只用东莨菪碱0.01 mg/kg肌肉注射, 1岁以上用东莨菪碱0.01 mg/kg、哌替啶1 mg/kg、异丙嗪0.5 mg/kg肌肉注射, 均为术前30 min。麻醉诱导用药为芬太尼10~20 μg/kg、哌库溴铵0.1 mg/kg, 1岁以上适当加用安定0.3~0.5 mg/kg静脉注射, 麻醉维持用药为芬太尼、哌库溴铵适量追加。CPB使用Stockert II型心肺机, <10 kg者预充白蛋白5~20g, >10 kg者预充血浆。CPB时间45±12 min, 预冲液中肝素量0.02 mg/mL, 体内3 mg/kg, CPB结束时以硫酸鱼精蛋白中和肝素, CPB期间激活全血凝血时间为480~600 s。

1.5 统计学处理

用方差分析检验, 所测标本均以百分数表示, 全麻插管后手术前基线样本平均荧光值为100%, 其他值用百分数与其对照。

2 结果

4组除了年龄、体重资料不同外, 红细胞压积(Hct)、血小板计数(Plt)在CPB前后的变化均无统计学差异。

2.1 血小板P-选择素的变化

1~3岁组和4~6岁组P-选择素阳性血小板的百分数明显增加($P<0.01$), 峰值在CPB结束时。而0~6月组在CPB任何时间P-选择素阳性血小板的百分数都无明显增加。7~12月组在CPB结束时P-选

[收稿日期] 2005-10-12; [修回日期] 2006-01-12

[作者简介] 隋波, 男, 硕士, 主任医师。主攻方向: 婴幼儿心脏手术的麻醉。

表1 CPB期间P-选择素阳性血小板的百分数的变化 ($\bar{x} \pm s$)

组别	基线值	肝素化后	CPB10 min	CPB30 min	CPB 结束	手术结束	手术后 6 h
0~6 月组	2 ± 1.2	4 ± 1.1	5 ± 1.4	6 ± 2.3	4 ± 1.8	3 ± 1.6	3 ± 1.2
7~12 月组	2 ± 1.4	4 ± 1.3	8 ± 1.6	10 ± 2.5	14 ± 2.4 ^a	9 ± 1.8	6 ± 1.6
1~3 岁组	2 ± 1.3	4 ± 1.4	16 ± 3.8 ^{a,b}	19 ± 4.8 ^{a,b}	25 ± 4.5 ^{a,b}	14 ± 3.8 ^{a,b}	9 ± 2.4
4~6 岁组	2 ± 1.4	5 ± 1.4	17 ± 4.6 ^{a,b}	22 ± 3.5 ^{a,b}	25 ± 5.4 ^{a,b}	16 ± 4.7 ^{a,b}	9 ± 2.7

a 与同组基线值比较 $P < 0.05$; b 与 0~6 月组相同时间点比较 $P < 0.05$

表2 CPB期间血小板膜糖蛋白Ib表达的变化 ($\bar{x} \pm s$)

组别	基线值	肝素化后	CPB10 min	CPB30 min	CPB 结束	手术结束	手术后 6 h
0~6 月组	100	98 ± 3.4	96 ± 4.7	93 ± 5.6	85 ± 5.9 ^a	83 ± 5.7 ^a	81 ± 5.5 ^a
7~12 月组	102	99 ± 2.6	94 ± 4.5	89 ± 5.7	80 ± 6.3 ^a	78 ± 5.4 ^a	75 ± 6.5 ^a
1~3 岁组	104	98 ± 3.7	90 ± 5.6	79 ± 7.2 ^a	71 ± 6.8 ^a	65 ± 6.5 ^{a,b}	64 ± 7.6 ^{a,b}
4~6 岁组	104	98 ± 4.9	87 ± 5.9	78 ± 6.7 ^a	70 ± 7.5 ^a	64 ± 7.7 ^{a,b}	65 ± 6.6 ^{a,b}

a 与同组基线值比较 $P < 0.05$; b 与 0~6 月组、7~12 月组相同时间点比较 $P < 0.05$

择素阳性血小板的百分数明显增加($P < 0.05$),但在其他时间点无明显变化。见表1。

2.2 血小板膜糖蛋白Ib的变化

4组血小板膜糖蛋白Ib在血小板表面表达的百分数在CPB中和CPB后都有所下降,但1~3岁组和4~6岁组下降的程度比0~6月组和7~12月组更大($P < 0.05$),7~12月组下降的程度比0~6月组大,但两组比较无统计学差异。1~3岁组和4~6岁组比较也无统计学差异。见表2。

3 讨论

1~3岁组和4~6岁组在CPB中P-选择素阳性血小板明显增加,而0~6月组不增加,7~12月组只在CPB结束时P-选择素阳性血小板明显增加,表明婴幼儿时期CPB对P-选择素阳性血小板的反应性有年龄递增趋势,从无反应到反应明显的年龄缓冲阶段为7~12月。CPB其间血小板膜糖蛋白Ib表达的变化表明0~6月组和7~12月组虽然有影响,但比1~3岁组和4~6岁组影响要轻。

在CPB期间,血液与体外循环径路的化学合成物表面广泛接触、术野吸引、补体系统、纤维蛋白溶解都可能在一定范围内损伤血小板。体内血小板灭活有几种类型,包括与脱粒有关的血小板P-选择素的表达和血小板表面膜糖蛋白Ib的表达^[5,6]。有报道^[7]称新生儿和婴儿心脏手术CPB循环中极少的血容量和相对大的化学合成物表面区域接触,使得血小板的灭活相对较多,呈年龄相关性。新生儿和婴儿的血小板有着特殊的形态学特征易影响血小板的功能,新生儿和婴儿期的血小板有更少的伪足,更少的糖原,更少的微管结构和更少的 α -颗粒,因而确定血小板经

历一种年龄依赖成熟过程^[8]。

在CPB中血小板P-选择素的增加和膜糖蛋白Ib的减少是血小板活性形成的条件,本研究显示0~6月组和7~12月组的血小板对激动剂呈现明显的低反应性,也就是说活性更小或者说活性不明显。在手术中和手术后更易有出血倾向。

总之,与1~3岁组、4~6岁组的血小板比较,在CPB中0~6月组和7~12月组的血小板具有明显的低反应性,显示CPB引起的血小板P-选择素表达的缺乏和膜糖蛋白Ib表达的下降较少。提示新生儿和婴儿期血小板对不同的刺激具有内在的低反应性。

[参 考 文 献]

[1] Maquelin KN, Berckmans RJ, Nieuwland R, Schaap MC, ten Have K, Eijssman L, *et al.* Disappearance of glycoprotein Ib from the platelet surface in pericardial blood during cardiopulmonary bypass [J]. Thorac Cardiovasc Surg, 1998, 115(5): 1160-1165.

[2] Ferraris VA, Ferraris SP, Singh A, Fuhr W, Koppel D, McKenna D, *et al.* The platelet thrombin receptor and postoperative bleeding [J]. Ann Thorac Surg, 1998, 65(2): 352-358.

[3] Guay J, Ruest P, Lortie L. Cardiopulmonary bypass induces significant platelet activation in children undergoing open-heart surgery [J]. Eur J Anaesthesiol, 2004, 21(12): 953-956.

[4] 隋波, 尹格平, 马永德, 李训美. 体外循环期间血小板膜糖蛋白的定量研究及临床意义[J]. 中华麻醉学杂志, 1999, 19(2): 93-94.

[5] 隋波, 尹格平, 李训美, 仲焰, 高成杰. 抑肽酶对血小板膜糖蛋白功能影响的实验研究[J]. 中华麻醉学杂志, 2000, 20(11): 676-677.

[6] 隋波, 李茂源. 肝素、鱼精蛋白对血小板膜糖蛋白影响的实验研究[J]. 解放军医学杂志, 2003, 28(1): 79-80.

[7] Parolari A, Guarnieri D, Alamanni F, Toscano T, Tantalò V, Ghelri T, *et al.* Platelet function and anesthetics in cardiac surgery: an in vitro and ex vivo study[J]. Anesth Analg, 1999, 89(1): 26-31.

[8] 隋波, 尹格平, 李训美, 宁吉顺. 婴幼儿体外循环期间血小板反应性的变化[J]. 中华麻醉学杂志, 2002, 22(9): 566-567.

(本文编辑:吉耕中)