

围体外循环期血小板保护的研究进展*

魏海燕 史宏伟 张 媛

(南京医科大学附属南京第一医院 江苏 南京 210006)

摘要 在体外循环过程中,血小板可经各种途径被激活,导致 α -颗粒释放,发生粘附、聚集、收缩、释放等反应,导致术后血小板数量和质量的下降。通过在围体外循环期使用某些药物可对血小板进行功能性保护,而血小板分离技术可使血小板避免体外循环的打击,得到数量和功能的双重保护。本文将就体外循环期间血小板保护的研究进展作一综述。

关键词 体外循环;血小板保护;血小板分离技术

中图分类号 R331.143, R457 **文献标识码** A **文章编号** 1673-6273(2011)07-1391-03

The advance of platelet preservation during cardiopulmonary bypass*

WEI Hai-yan, SHI Hong-wei, ZHANG Yuan

(Affiliated Nanjing First Hospital, Nanjing Medical University, Nanjing 210006, China)

ABSTRACT: Platelets can release α -granules when activated by various kinds of factors and then proceed to adhesion, aggregation, contraction and releasing. Therefore, the quantities and qualities of platelets are decreased after cardiac operation. The function of platelets can be protected by some drugs used during cardiopulmonary bypass. Plateletpheresis can preserve the quantities and function of platelets by making some platelets avoid cardiopulmonary bypass. This review addresses the advance of platelet preservation during cardiopulmonary bypass.

Key words: cardiopulmonary bypass; platelet preservation; plateletpheresis

Chinese Library Classification: R331.143, R457 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2011)07-1391-03

前言

绝大部分心血管手术必须在体外循环(CPB)支持下进行,由于体外循环管道界面的生物非相容性、血气直接接触、血流切应力、肝素和鱼精蛋白的应用以及低温等原因,导致血小板数量、形态、代谢及功能都发生变化,并释放大量的生物活性物质,如血小板血栓蛋白、血栓素、肝素第IV因子等,这些物质可造成组织微血管栓塞和术后血小板功能下降。血小板数量急剧下降及功能低下是导致体外循环内直视手术后非外科出血的主要原因。CPB前提取富血小板血浆(platelet-rich plasma, PRP)可缓解上述不良后果。目前,通过自体血小板分离技术可将患者血液分离为PRP、贫血小板血浆(platelet-poor plasma, PPP)和浓缩红细胞三部分,其中浓缩红细胞和PPP可回输患者。而富血小板血浆一方面可在CPB肝素拮抗后回输患者,以减少CPB对血小板造成的破坏;另一方面,把PRP与钙离子及凝血酶混合,制备自体血小板胶(autologous platelet gel, APG)^[1], APG可用于术中止血、封闭伤口,促进伤口和胸骨的愈合。

1 体外循环对血小板的影响

1.1 血小板数量的减少

体外循环过程中,血小板数量下降是凝血系统紊乱的重要表现之一。CPB开始后10 min,血小板计数显著下降,至鱼精蛋

白中和肝素后降至最低点^[2],研究发现在转流停止时血小板数量减少到转流前值的34%,且崩解型血小板显著升高,随着转流时间延长,血小板受损程度加重。CPB停止后,血小板数量及功能均恢复缓慢。目前认为,导致血小板数量下降的主要原因有:(1)体外循环管道表面的生物非相容性;(2)血气直接接触;(3)血流切应力;(4)肝素及鱼精蛋白的应用;(5)低温;(6)血液稀释。由于以上因素的综合作用,导致血小板损伤及活化,沉积于巨大的异物表面及内脏器官内^[3]。

1.2 血小板功能的降低

CPB期间血小板聚集功能和粘附功能均下降,研究显示在CPB开始后10 min,二磷酸腺苷(ADP)诱导的血小板最大聚集率即下降,至CPB结束时达到最低点,血小板膜表面糖蛋白Ib (glucoprotein Ib, GPIb)分子数均较肝素化前下降,血小板表面GPIb被认为与血小板粘附功能密切相关。CPB时机体纤溶系统活性增强,组织及血浆纤溶酶增加,导致血小板膜蛋白水解脱落,其粘附功能受损^[2]。血小板功能障碍主要是由于其内部结构改变所致。血小板蕴含着丰富的 α 颗粒,当其受到刺激活化时,颗粒膜糖蛋白(CD62p)表达于血小板表面成为血小板活化的特异性分子标志物。因此,测定血小板CD62p的表达,可特异性地反映血小板活化和破坏程度。有研究提示^[4],CPB时从血小板中释放出的ADP减少并激活了脱粒血小板,以膜糖蛋白CD62p最为敏感。活化的血小板在CPB中半衰期很短,并且最

* 基金项目 南京市卫生局科技发展项目(YKK06066)

作者简介 魏海燕(1975-),男,硕士,主治医师,主要研究方向 血液保护

电话 025-52271030, Email: wei_hy@163.com

(收稿日期 2010-08-31 接受日期 2010-09-28)

先从循环中清除,迅速灭活。实验发现血液经 CPB 后,CD62p 的阳性表达率及平均荧光强度 (MFI) 在各时段间均有显著增高,术后 24h 逐渐恢复到术前水平。不仅如此,CPB 期间血小板聚集功能也下降,肝素化后血小板最大聚集率(PAGM)开始下降,至转流结束肝素中和后达到最低点。说明 CPB 有促使血小板的活化和一定程度的损害作用^[5]。

1.3 血小板变化对机体的影响

有人认为血小板粘附聚集障碍是导致 CPB 术后非外科出血的主要原因^[6]。最近研究发现,CPB 期间血小板激活后还释放可溶性 CD40 配体(Scd40L),促进血栓形成和炎症反应。此外,血小板表面 α_2 肾上腺素能受体明显减少,导致血小板聚集功能下降。血小板的这些变化参与了术后出血及并发症的发生^[7]。血小板激活过程中合成和释放的物质主要有血小板活化因子 (platelet activating factor, PAF)、5-羟色胺、三磷酸腺苷(ATP)、二磷酸腺苷(ADP)、血小板 IV 因子、 β -凝球蛋白、多种酸性水解酶和血栓素 A₂(TXA₂)等,参与多种病理生理过程。

2 围体外循环期血小板的保护

2.1 药物对血小板的保护

抑肽酶在 CPB 中保护血小板功能得到多数学者的共识,抑肽酶对 CPB 期间血小板聚集功能及粘附功能有明显的保护作用,对 CPB 所引起的小血小板超微结构的损伤也有明显的抑制作用。抑肽酶可减少 CPB 引起的小血小板 GPIb,GP II b-IIIa 受体的表达,提示抑肽酶可影响活化的血小板 GPGPIb,GP II b-IIIa 受体的功能。活化血小板纤维蛋白原结合位点的下调可能为抑肽酶的直接作用引起,因此血小板活性物质的释放反应将会相应减弱,使血小板保持相对稳定状态^[8]。另外,抑肽酶能明显抑制 PAF 引起的导致机体损伤的炎症反应,且呈剂量依赖关系^[9]。对于常温 CPB (35-36℃) 引起的小血小板功能障碍,高剂量的抑肽酶也有较好的保护作用。

乌司他丁(UTI)是从人尿中提取的一种新型广谱蛋白酶抑制剂,对纤溶酶、胰蛋白酶等多种酶有抑制作用。UTI 保护血小板的作用机制为:(1)抑制纤溶酶,进而抑制 CPB 期间纤溶系统的激活以及血小板的活化,减少血小板 GPIb 和纤维蛋白原的降解,维持血小板形态的完整,保护其粘附、聚集等功能;(2)改善血小板花生四烯酸代谢,减少 CPB 期间 TXB₂的产生,维持 TXB₂/6-Keto-PGF₁₀ 的平衡,对抑制血小板释放活性物质、维护血小板正常聚集功能、维护血管正常舒缩功能以及维护内皮细胞完整性具有重要意义^[10]。目前对 UTI 的应用剂量与应用方法还存在争议^[11]。有研究表明,大剂量(12000 U/kg)、分两次给药的方法,可产生较好的保护血小板功能及稳定纤溶系统的作用^[12],但该剂量是否是最适宜的用药剂量,有待于今后进一步研究。

有证据表明,氨甲环酸与乌司他丁一样具有血小板保护作用,而且保护作用相差很小^[13]。氨甲环酸是一种氨基酸类化合物,主要通过阻断纤维蛋白原、纤维蛋白与血小板受体上的赖氨酸部位结合而对纤溶酶产生竞争性抑制作用,还可通过减少纤溶酶对血小板上膜糖蛋白受体的降解作用而保护血小板功能。

2.2 富血小板血浆 (Platelet-Rich Plasma, PRP)

从病因学观点来看,CPB 造成的凝血功能紊乱是多因素的。但是,导致 CPB 后凝血功能紊乱的主要原因是血小板功能不全。因此,可在 CPB 前抽取患者的新鲜全血分离提取血小板,在 CPB 后重新输入,以确保血小板不与 CPB 过程中的异物和不正常体液接触。具体方法:在 CPB 前将患者的血液抽出,机械分离出血小板,保留储存,待 CPB 肝素拮抗后输入。美国输血委员会建议心脏手术前富血小板成人采集量可达 $240 \times 10^9/L$ 。适应证为患者血源奇缺、术前低血红蛋白、深低温 CPB;禁忌证为血流动力学不稳定、血小板数量小于 $50 \times 10^9/L$ 、低血容量、低蛋白血症($<60g/L$)、凝血功能紊乱、感染、有血栓性疾病、急诊手术。Christenson 对血管旁路移植患者采用血小板分离(platelet sequestration, PSQ)方法,在 CPB 前 3 次分离循环采集全身 20% 的血小板 [浓度 $(592 \sim 906) \times 10^9/L$],CPB 后输入。其操作简单,无副作用,60 例患者中仅 1 例不能耐受。结果发现,患者的胸腔引流量和库血输入量明显减少,人工呼吸时间缩短^[14],Tomar 等通过血小板分离置换法 (plateletpheresis) 也使心脏手术的输库血量减少了 50%^[15],若联合使用小剂量的抑肽酶,对于长时间 CPB 的心脏手术也能起到减少输血的效果^[16]。通过血小板分离技术 (harvest technology) 制备的 PRP,其血小板含量是 $450 \times 10^5 \sim 1714 \times 10^5/L$,用酶联免疫吸附法测定,与全血相比,转移生长因子- β (transforming growth factor beta, TGF- β) 提高了 7 倍,血小板源生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF) 提高了 30 倍,内皮生长因子(epithelial growth factor, EGF)提高了 10 倍^[17]。这些生物活性分子能够刺激成纤维细胞(fibroblasts)、平滑肌细胞(smooth muscle cells)和成骨细胞(osteoblastic cells)的增殖,并能吸引多种细胞成分参与损伤组织的修复和对抗感染^[18],其中 PDGF 和 TGF 在组织的修复和愈合过程中起关键的作用^[19]。

2.3 自体血小板胶

血小板胶的制备始于 20 世纪 90 年代初,是血液成分分离的副产品。当浓缩血小板与钙及凝血酶混合时,即快速生产一种粘性的凝固物--血小板胶(platelet gel, PG),因血小板来自患者本人,故又称自体血小板胶 (autologous platelet gel, APG)。

血小板胶的功能与血小板的生理及激活后释放多种生长因子的特性密切相关。激活的血小板具有粘附、聚集和释放等生理特性,不但在止血和凝血过程中发挥重要作用,而且能够促进伤口愈合。APG 的止血机制是模拟人体自身凝血反应最后阶段,当各种成分混合后,凝血酶将纤维蛋白原水解成纤维蛋白单体,并在 XIII 因子、 Ca^{2+} 的作用下,聚集成稳定的纤维蛋白多聚体,从而在外科手术中产生生物止血、封闭组织创面的作用,纤维蛋白网提供基质和间皮趋化活性物质,纤维母细胞长入,新生毛细血管形成,肉芽组织生成,促进创伤愈合。把 PRP 和钙离子和凝血酶喷洒在手术创面,其钙离子和凝血酶将纤维蛋白原激活,转化为纤维蛋白,使纤维蛋白较链形成稳定的凝固物,达到止血的效果^[19]。因此,APG 即使是对凝血功能障碍、凝血因子缺乏和遗传性凝血功能障碍的患者亦可达到有效的止血效果。另外,APG 还有抗感染的作用,Cohen^[20]对 28 例志愿者做了随机双盲对照实验的结果显示,血小板激活后释放的

PDGF 可有效对抗感染,效果优于抗生素。

3 结论

综上所述,CPB 对机体的血小板影响很大,造成血小板数量减少和功能降低,导致术后凝血功能障碍。抑肽酶、乌司他丁、氨甲环酸等药物可抑制 CPB 期间纤溶系统的激活,使血小板保持相对稳定的状态。而近来兴起的利用血小板分离技术制备自体的 PRP 和 APG 是更为有效的血小板保护方法。但是,对于术前长期服用阿司匹林等抗凝药物的患者,APG 难以发挥其止血效能,其机制可能是这些药物抑制了血小板的功能;此外,PRP 中纤维蛋白原的浓度过高,形成 APG 后将会阻碍血小板中生长因子与受体的结合,抑制血小板胶功能的发挥^[21]。因此,制备 APG、PRP 中最佳纤维蛋白原浓度及最佳血小板的数量,值得进一步探讨。

参考文献(References)

- [1] Landesberg R, Roy M, Glickman RS. Quantification of growth factor levels using a simplified method of platelet-rich plasma gel preparation[J]. J Oral Maxillofac Surg, 2000,58(3):297-300
- [2] 钱希明,李中学,刘兰萍等.体外循环对血小板的影响.第一军医大学学报[J]. 2001,21(9):655-65
Qian Xi-ming, Li Zhong-xue, Liu Lan-ping, et al. Effect of cardiopulmonary by-pass on blood platelets- an observation in dogs[J]. J First Military Medical University, 2001;21(9):655-656
- [3] Christer M, Sten B, Lena M, et al. Increased pulmonary platelet sequestration due to infusion of cold saline during extracorporeal circulation [J]. Nephron, 1993,65:449-52
- [4] Mazer D, Hornstein A, Feedman J. Platelet activation in warm and cold heart surgery[J]. Ann Thorac Surg, 1995,59:1481-1486
- [5] 金秀国,方国安,刘波等.体外循环对血小板功能的影响[J]. 临床检验杂志,2005,23(4):298-299
Jin Xiu-guo, Fang Guo-an, Liu Bo, et al. Effect of cardiopulmonary by-pass on platelet function[J]. J Clin Lab Sci, 2005,23(4):298-299
- [6] Langford EJ, Parfitt, de-Belder AJ, et al. A study of platelet activation during human cardiopulmonary bypass and the effect of S-nitrosoglutathione[J]. Thromb Haemost, 1997,78 (6):1516-29
- [7] Stogermuller B, Stark J, Willschke H, et al. The effect of hydroxyethyl starch 200kD on platelet function [J]. Anesth Analg, 2000,91 (4): 823-827
- [8] 仲焰,隋波,尹格平等.抑肽酶对血小板膜糖蛋白功能的影响[J]. 临床麻醉学杂志,2001,17(12):671-673
Zhong Yan, Sui Bo, Yin Ge-ping, et al. Effects of aprotinin on platelet membrane glycoprotein function [J]. J Clin Anesth, 2001,17 (12): 671-673
- [9] Asimakopoulos G, Taylor KM, Haskard DO, et al. Inhibition of neutrophil L-selectin shedding: a potential anti-inflammatory effect of aprotinin[J]. Perfusion, 2000,15(6):495-499
- [10] Zaitzu M, Hamasaki Y, Tashiro K, et al. Ulinastatin, an elastase inhibitor, inhibits the increased mRNA expression of prostaglandin H2 synthase-type2 in Kawasaki disease [J]. J Infect Dis, 2000,181 (3): 1101-1109
- [11] Flaujac C, Pouard P, Boutouyrie P, et al. Platelet dysfunction after normothermic cardiopulmonary bypass in children: Effect of high-dose aprotinin[J]. Thromb Haemost, 2007,98(2): 259-481
- [12] 于金贵,帅训军,周广利等.乌司他丁对心内直视手术围体外循环期血液纤溶系统和血小板功能的作用 [J]. 中华麻醉学杂志,2003, 23(10):727-730
Yu Jin-gui, Shuai Xun-jun, Zhou Guang-li, et al. The effect of ulinastatin on blood fibrinolytic system and platelet function during cardiopulmonary bypass[J]. J Chinese Anesth, 2003, 23(10):727-730
- [13] 金秀国,方国安,刘波等.乌司他丁和氨甲环酸在体外循环中对血小板的影响[J]. 中国药学杂志,2005,40,(13):993-995
Jin Xiu-guo, Fang Guo-an, Liu Bo, et al. Effects of ulinastatin and tranexamic acid on platelet during cardiopulmonary bypass[J]. Chinese Pharmaceutical J, 2005,40,(13):993-995
- [14] Christenson JT, Reuse J, Badel P, et al. Autologous platelet sequestration in patients undergoing coronary artery bypass grafting[J]. Eur J Cardiothorac Surg, 1996,10(12):1083-1089
- [15] Tomar AS, Tempe DK, Banerjee A, et al. Preoperative autologous plateletpheresis in patients undergoing open heart surgery [J]. Ann Card Anaesth, 2003, 6(6): 136-142
- [16] Al-Rashidi F, Bhat M, Pierre L, et al. Acute plateletpheresis and aprotinin reduces the need for blood transfusion following Ross operation [J]. Interact Cardiovasc Thorac Surg, 2007,6(5):618-22
- [17] Kevy SV, Jacobson MS. Comparison of methods for point of care preparation of autologous platelet gel [J]. J Extra Corpor Technol, 2004,36(1):28-35
- [18] Gruber R, Varga F, Fischer MB, et al. Platelets stimulate proliferation of bone cells: involvement of platelet-derived growth factor, microparticles and membranes [J]. Clin Oral Implants Res, 2002,13(5): 529-535
- [19] Cordeiro MF. Beyond Mitomycin: TGF-beta and wound healing[J]. Prog Retin Eye Res, 2002,21(1):75-89
- [20] Cohen MA, Eaglstein WH. Recombinant human platelet-derived growth factor gel speeds healing of acute full-thickness punch biopsy wounds[J]. J Am Acad Dermatol, 2001,45(6):857-862
- [21] Whitman DH, Berry RL, Green DM. Platelet gel: an autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery[J]. J Oral Maxillofac Surg, 1997,55(11):1294-1299