

平每升高 5 $\mu\text{mol/L}$,心脑血管疾病危险性就增加 40%,其机制与血管内皮损伤、血管平滑肌细胞增殖和迁移、促血小板凝集、增加纤维蛋白酶原生成等有关。而原发性甲减患者由于吸收不良等原因,存在高 Hcy 血症,Hp 感染时,Hcy 更高,脑梗死的发病风险增高。本文中 Hp 感染组的 NDS 明显高于 Hp 阴性组。

3.3 甲状腺功能减退患者心脑血管疾病发生率较正常人群高 2 倍,可能与高 Hcy 血症和高脂血症有关。当感染 Hp 后,发生脑梗死的风险进一步增加,因此,Hp 感染可能是原发性甲减患者发生脑梗死的主要危险因素,对于脑梗死患者,应加强甲功筛查,而对于原发性甲减患者应主要筛查 Hp 及血脂的干

预治疗,防止脑梗死的发生发展,改善脑梗死患者的预后。

参考文献

- 1 于亮,佟伟军. 幽门螺杆菌感染与脑梗死及其亚型关系的 Meta 分析[J]. 中国循证医学杂志, 2009, 9(5): 593-598.
- 2 Figura N, Di Cairano G, Lorè F, et al. The infection by helicobacter pylori strains expressing CagA is highly prevalent in women with autoimmune thyroid disorders[J]. J Physiol Pharmacol, 1999, 50(5): 817-826.
- 3 谌剑飞,王岳屏,严颂琴,等. 14C-UBT 法对胃肠及胃肠外疾病 Hp 感染诊断的临床价值[J]. 放射免疫学杂志, 2007, 20(6): 575-579.

[收稿日期 2013-01-18][本文编辑 刘京虹 吕文娟]

临床研究·论著

血小板-白细胞聚集体在全麻手术患者中的变化观察

王升, 李新刚, 赵继全

作者单位: 455000 河南, 安阳地区医院血液实验室

作者简介: 王升(1970-), 男, 大学本科, 医学学士, 副主任技师, 研究方向: 临床检验及教学。E-mail: adwsh@163.com

[摘要] 目的 观察全麻手术患者术后血小板-白细胞聚集体(PLA)的变化,探讨全麻手术患者深部静脉栓塞发生的机理。方法 对 112 例全麻手术患者分别于麻醉诱导前、手术结束后、术后 3 d 采集标本,利用流式术检测血小板-粒细胞聚集体(PNA)和血小板-单核细胞聚集体(PMA),观察 PNA 和 PMA 的变化。结果 112 例全麻手术患者麻醉诱导前 PNA 为 $(19.32 \pm 3.48)\%$, PMA 为 $(26.86 \pm 5.05)\%$; 手术结束后 PNA 为 $(19.48 \pm 3.20)\%$, PMA 为 $(31.86 \pm 5.31)\%$; 术后 3d PNA 为 $(21.85 \pm 2.84)\%$, PMA 为 $(77.69 \pm 5.72)\%$ 。麻醉诱导前的 PNA 和 PMA 与手术结束后、术后 3 d 比较差异均有统计学意义($P < 0.01$)。结论 全麻手术对患者 PNA 和 PMA 均有影响,尤其对 PMA 影响明显,因此 PNA 和 PMA 可以作为判断血小板活化程度和预防术后栓塞的敏感性观察指标。

[关键词] 血小板-白细胞聚集体; 全麻手术; 流式细胞术

[中图分类号] R 614.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2014)01-0033-04

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2014.01.12

Platelet-leukocyte aggregates in patients with surgery under general anesthesia WANG Sheng, LI Xin-gang, ZHAO Ji-quan. Department of Blood Laboratory, the Anyang Regional Hospital, Henan 455000, China

[Abstract] **Objective** To monitor the platelet-leukocyte aggregates(PLA) level in patients received surgery under general anesthesia and to explore the potential mechanism of deep vein thrombosis occurred in these patients.

Methods Blood samples were collected from 112 patients received surgery at the time: before the general anesthesia; immediately after the surgery, and 3 days after the surgery. Flow cytometry was used to measure the platelet-neutrophil aggregates(PNA) and platelet-monocyte aggregates(PMA). **Results** Before the general anesthesia: PNA

(19.32 ± 3.48)%, PMA(26.86 ± 5.05)% ;Immediately after the surgery: PNA(19.48 ± 3.20)%, PMA(31.86 ± 5.31)% ; Three days after the surgery: PNA(21.85 ± 2.84)%, PMA(77.69 ± 5.72)% ; Statistical analysis: the PNA and PMA level in patients immediately after the surgery and that in patients three days after surgery were higher than that patients before the general anesthesia($P < 0.01$). **Conclusion** The PNA and PMA level, especially, the PMA level in patients received surgery is affected by general anesthesia. PNA and PMA can be used as a sensitive biomarker to determine the degree of platelet activation and to predict the possible postoperative thrombosis.

[Key words] Platelet-leukocyte aggregates(PLA); Surgery under general anesthesia; Flow cytometry

在临床工作中经常发现有些全麻手术患者发生深部静脉血栓(deep vein thrombosis, DVT),对患者常造成致病性的损害。血小板活化是血栓形成和动脉粥样硬化的主要机制。研究^[1,2]表明活化的血小板与白细胞黏附形成血小板-白细胞聚集体(platelet-leukocyte aggregates, PLA)是血小板活化的敏感指标。因此,我们采用流式细胞术检测了112例全麻手术患者术前、术后血小板-粒细胞聚集体(platelet-neutrophil aggregates, PNA)和血小板-单核细胞聚集体(platelet monocyte aggregates, PMA)的变化,探讨全麻手术患者DVT发生的机理,现报告如下。

1 对象与方法

1.1 研究对象 选择2009-04~2011-12我院行丙泊酚复合舒芬太尼全麻手术患者112例,其中男52例,女60例,年龄20~78岁,平均年龄55.8岁。其中外科肿瘤患者46例(胃癌19例,结肠癌27例),骨科骨折患者及关节置换患者38例,妇科患者28例(乳腺癌11例,子宫肌瘤7例,宫颈癌10例)。手术时间90~180 min。

1.2 主要仪器及试剂 鼠抗人CD45-pc5、CD41-FITC和IgG1-FITC均由美国beckman coulter公司提供,溶血素为自配甲酸溶血素,流式细胞仪为Coulter EPICS XL(Beckman coulter公司),EDTA-K₂抗凝管为山东奥赛特公司提供。

1.3 标本采集 分别于病人手术麻醉诱导前、手术结束及手术后3 d采集EDTA-K₂抗凝标本进行PLA检测。

1.4 实验方法 在两支流式试管中均加入5 μl鼠抗人CD45-pc5后,其中一支试管加入10 μl鼠IgG1-FITC作为同型对照管,另一支试管加入10 μl鼠抗人CD41-FITC作为测试管,分别加入50 μl EDTA抗凝全血,混匀,室温避光孵育20 min后,用甲酸溶血素溶血,加入1 ml PBS缓冲液混匀,2 500 r/min离心5 min,去上清液,然后加入500~1 000 μl PBS缓冲液混匀后置流式细胞仪上进行检测。

1.5 流式分析 利用CD45和SS散射光参数,可

以将外周血细胞分为中性粒细胞、淋巴细胞和单核细胞三群(见图1)。以同型对照管分别设定PNA和PMA阴性细胞界限,CD41抗原也称为血小板gp II b,是一种血小板上的特异性膜糖蛋白标记,如果白细胞上显示有CD41,称为白细胞PLA,以百分比表示,可以用单参数图或散点图显示PNA和PMA的表达(见图2~5)。

(F1)[A]A001 术后3 d 王新堂 CD41-CD45. LMD;FL4 LOG/S S LIN

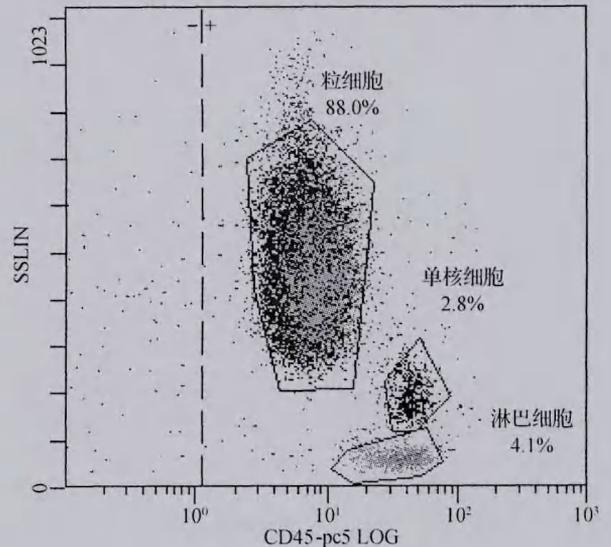


图1 外周血细胞分群

(F1)[A AND 粒细胞]A001 术后3 d 王新堂 CD41-CD45. LMD;FL1 LOG

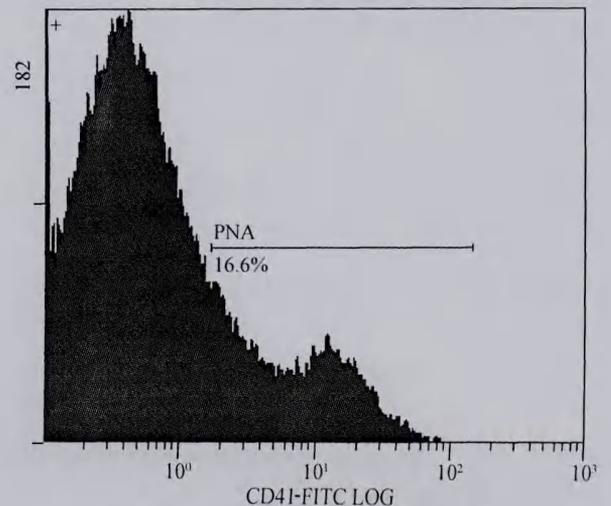


图2 血小板-粒细胞聚集体单参数图

(F1)[A AND 粒细胞]A001 术后 3 d 王新堂 CD41-CD45. LMD;FL1 LOG/FL4 L

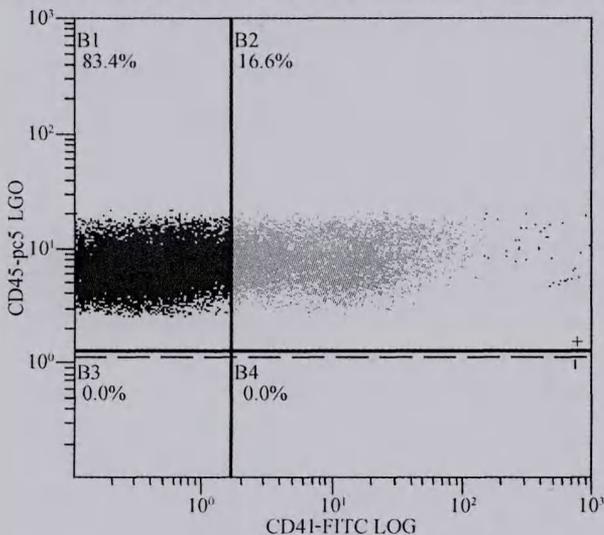


图 3 血小板-粒细胞聚集体散点图

(F1)[A AND 单核细胞]A001 术后 3 d 王新堂 CD41-CD45. LMD;FL1 LOG

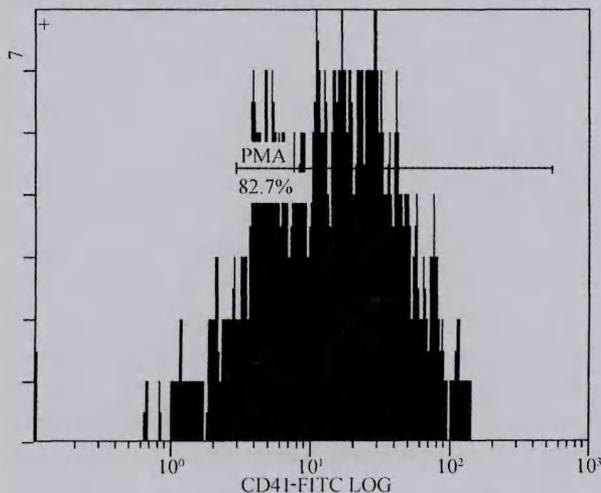


图 4 血小板-单核细胞聚集体单参数图

(F1)[A AND 粒细胞]A001 术后 3 d 王新堂 CD41-CD45. LMD;FL1 LOG/FL4 L

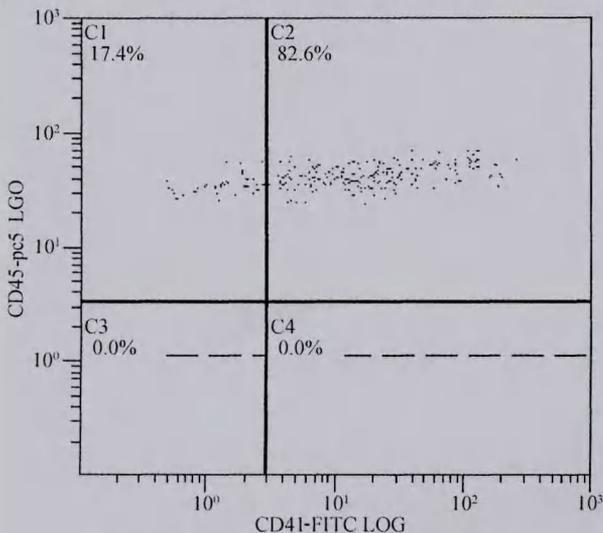


图 5 血小板-单核细胞聚集体散点图

1.6 统计学方法 应用 SPSS19.0 统计软件进行分析,计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,采用重复测量数据单因素方差分析,不同时间测量数据两两比较用 SNK-*q* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

112 例全麻手术患者麻醉诱导前 PNA 为 (19.32 ± 3.48)%, PMA 为 (26.86 ± 5.05)%; 手术结束后 PNA 为 (19.48 ± 3.20)%, PMA 为 (31.86 ± 5.31)%; 术后 3d PNA 为 (21.85 ± 2.84)%, PMA 为 (77.69 ± 5.72)%。麻醉诱导前的 PNA 和 PMA 与手术结束后、术后 3 d 比较差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。见表 1。

表 1 112 例全麻手术患者不同时点 PNA 和 PMA 检测结果比较 [$(\bar{x} \pm s)$ %]

时间	PNA	PMA
麻醉诱导前	19.32 ± 3.48	26.86 ± 5.05
手术结束后	19.48 ± 3.32 *	31.86 ± 5.31 #
术后 3 d	21.85 ± 2.84 **	77.69 ± 5.72 ##
<i>F</i>	7317.98	21936.13
<i>P</i>	0.000	0.000

注:与麻醉诱导前 PNA 比较, * $P < 0.01$; ** 与麻醉诱导前 PNA 比较, $P < 0.01$; # 与麻醉诱导前 PMA 比较, $P < 0.01$; ## 与麻醉诱导前 PMA 比较, $P < 0.01$

3 讨论

3.1 我们在临床工作中发现,有些手术患者术前血常规检查均正常,但是麻醉后有隐匿性血栓存在,术中常发现有血栓形成。特别是在全麻的状态下,发现病人突然出现血栓形成的现象,而且毫无征兆。有文献报道^[3],血栓栓塞是术后重要的并发症之一。近 30 年来,术后肺栓塞的死亡率明显上升。据美国 1986 年的文献报道^[4],此类并发症在各科手术均有累及。骨科手术时,其 DVT 的发生率达 45% ~ 70%,其中 3% 可引起致命的肺栓塞。在妇科手术中为 7% ~ 45%,平均 19%^[5]。血小板是血栓的主要成分之一,而血小板活化是血栓形成的基础^[6],血栓的发生机制甚为复杂,已有资料表明^[7,8],血栓的发生与血液抗凝及纤溶系统失衡有较大的关系,与血小板的活化状态更为密切。在以往血小板活化的检测中,主要是检测血小板膜糖蛋白 CD62p 和 CD63 的表达变化。近年来,有些学者^[9,10]研究了 PLA 作为评价血小板活化的指标。

3.2 血小板-白细胞聚集体发生的机制是血小板和白细胞分别活化后,其表面的黏附分子增加,黏附分子通过配体相互结合和(或)通过纤维蛋白原在黏附分子之间的桥接作用形成 PLA。血小板活化后,

血小板膜表面的 P-选择素和糖蛋白(GP) II b/III a 的表达增加。P-选择素即 CD62p 是一种跨膜糖蛋白,主要存在于活化血小板的 α 颗粒和内皮细胞的 weibel-palade 小体(WPB)中,伴随着血小板活化,P-选择素迅速定位于活化血小板的表面。P-选择素糖蛋白受体-1(PSGL-1)也是一种跨膜糖蛋白,其作为 P-选择素的结合配体,几乎表达于所有白细胞的表面。体内外实验已经证实,PSGL-1 是唯一与 P-选择素具有高亲和力的配体,且抗 PSGL-1 单克隆抗体可以完全阻断白细胞与表达 P-选择素细胞的黏附^[10]。活化血小板可以通过表面的 P-选择素和白细胞表面的 PSGL-1 结合形成 PLA。此外白细胞表面黏附受体 Mac-1(CD11b/CD18)和血小板表面的 GP II b/III a 分别与纤维蛋白原形成桥接作用,从而也形成 PLA^[9],形成的 PLA 主要是血小板-粒细胞聚集体和血小板-单核细胞聚集体。因此,PLA 尤其是 PMA 可以作为评价血小板活化的指标。Michelson 等^[1,9]研究表明,PMA 在评价血小板活化方面与 P-选择素相比,是一种更加敏感的指标。

3.3 围手术期 DVT 形成与手术操作血管损伤和血液成分改变有一定的关系,同时麻醉方式对 DVT 也有一定的影响,全麻手术可增加血小板的活化程度^[11]。我们在实验中也发现,全麻手术后患者的血小板活化程度确实是增强的。麻醉诱导前与术后 3 d 均有显著性的变化。手术结束后患者的 PMA 与手术诱导前相比有显著性变化,术后 3 d PMA 变化更大。这也证实了 Michelson 的观点,PMA 是评价血小板活化较为敏感的指标。本组 112 例患者手术麻醉诱导前 PMA 为(26.86 ± 5.05)%,比文献^[1,12]报道的正常人 PMA 的结果为 4% ~ 14% 明显偏高,这可能与我们观察的对象多数为肿瘤或骨折患者,且平均年龄偏大有关。这几种情况均是高凝状态的因素。关于标本抗凝剂的选择,据有关文献报道^[13],K₂EDTA 抗凝全血中的 PMA 在不同的温度和不同的放置时间下,没有显著性的变化。故我们选择了 K₂EDTA 作为抗凝剂。

总之,全麻手术患者 PLA 的变化与 DVT 的发生有密切关系。利用流式细胞术检测患者的 PNA 和 PMA,尤其是 PMA,对监测全麻手术患者的血小板活化状态,预防术后栓塞的发生,指导临床用药均具有重要意义。

参考文献

- 1 Michelson AD, Barnard MR, Krueger LA, et al. Circulating monocyte-platelet aggregates are a more sensitive marker of in vivo platelet activation than platelet surface P-selectin: studies in baboons, human coronary intervention, and human acute myocardial infarction [J]. *Circulation*, 2001, 104(13): 1533 - 1537.
- 2 Ritter LS, Stempel KM, Coull BM, et al. Leukocyte-platelet aggregates in rat peripheral blood after ischemic stroke and reperfusion [J]. *Biol Res Nurs*, 2005, 6(4): 281 - 288.
- 3 史琳, 刘怀琼. 手术麻醉与血栓形成的病理生理 [J]. *国外医学·麻醉学与复苏分册*, 1991, (2): 92 - 96.
- 4 Prevention of venous thrombosis and pulmonary embolism. NIH Consensus Development [J]. *JAMA*, 1986, 256(6): 744 - 749.
- 5 Reilly DT. Prophylactic methods against thromboembolism [J]. *Acta Chir Scand Suppl*, 1989, 550: 115 - 118.
- 6 陈灏珠, 林果为. 实用内科学 [M]. 第 13 版. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 2609 - 2611.
- 7 杨景文, 张培华, 林杰. 下肢深静脉血栓溶栓治疗机制的研究 [J]. *中华血液学杂志*, 1992, 13(9): 450.
- 8 邵慧珍, 王鸿利, 杨景文, 等. 深静脉血栓形成发病机理的探讨 [J]. *中国实验血液学杂志*, 1993, 1(1): 65.
- 9 McGregor L, Martin J, McGregor JL. Platelet-leukocyte aggregates and derived microparticles in inflammation, vascular remodelling and thrombosis [J]. *Front Biosci*, 2006, 11: 830 - 837.
- 10 曾宪录, 王晓光, 高艳光, 等. PSGL-1——一种介导白细胞粘附的重要分子 [J]. *分子科学学报*, 2002, 18(2): 84 - 89.
- 11 王雁娟, 骆英, 李小雯, 等. 不同麻醉方法对老年患者髋关节置换术中血小板膜糖蛋白的影响 [J]. *中华麻醉学杂志*, 2003, 23(2): 132 - 133.
- 12 Furman MI, Barnard MR, Krueger LA, et al. Circulating monocyte-platelet aggregates are an early marker of acute myocardial infarction [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2001, 38(4): 1002 - 1006.
- 13 王俊宏, 秦光明, 张松照, 等. 流式细胞术检测血小板-单核细胞聚集的影响因素 [J]. *中华检验医学杂志*, 2005, 28(12): 1288 - 1291.

[收稿日期 2013-07-03][本文编辑 宋卓孙 蓝斯琪]

书写文稿摘要、关键词和作者简介的要求

根据国家新闻出版署发出的(1999)17号文件精神,入编正式期刊要执行《中国学术期刊(光盘版)检索与评价数据规范》,为此,来稿中请书写摘要、关键词和作者简介。论著摘要采用结构式摘要,内容包括目的、方法、结果、结论,“四要素”连排,不分段。其它文体可采用报道指示性摘要。摘要均用第三人称写法。关键词尽可能选用《医学索引》(Index Medicus)的医学主题词表(MeSH)中的词语。重点文稿还须增加英文摘要及关键词。作者简介包括姓名、出生年、性别、学历、学位、职称、研究方向(任选)等。