

# 体外循环期间循环巨核细胞的变化及意义

肖大伟, 黄晓聪, 郑育举, 黄杰雄

(汕头大学医学院第一附属医院心胸外科, 广东 汕头 515041)

**摘要:** 【目的】研究比较正常循环时及体外循环手术期间循环中巨核细胞的变化, 说明其生理学及临床意义。【方法】观察测定 10 例正常循环及体外循环手术期间肺前、后血的循环巨核细胞数目及形态, 为循环巨核细胞释放出血小板的机制提供生理学证据。【结果】①正常循环时中心静脉血巨核细胞总数量高于周围动脉血巨核细胞总数量( $P < 0.01$ ), 4-型巨核细胞数量差别更显著( $P < 0.001$ )。②在体外循环期间, 中心静脉血及周围动脉血巨核细胞总数量和 4-型巨核细胞数量均明显升高( $P < 0.01$ )。【结论】正常循环时肺部作为过滤器作用清除 4-型巨核细胞, 体外循环期时巨核细胞未经肺循环而出现循环巨核细胞(特别是 4-型巨核细胞)升高, 可能是导致体外循环脑微栓塞的原因之一。

**关键词:** 体外循环/外科学; 巨核细胞/细胞学; 微栓塞/病理学

中图分类号: R331.3 文献标识码: A 文章编号: 1000-257X(2002)05-0391-03

**The Changes and Meaning of Circulating Megakaryocytes During Cardiopulmonary Bypass** XIAO Da-wei, HUANG Xiaocong, ZHENG Yu-ju, HUANG Jie-xiong. (Department of Cardiothoracic Surgery, The First Affiliated Hospital of Shantou University Medical College, Shantou 515041, China)

**Abstract:** 【Objective】To study the changes of circulating megakaryocytes (MK) on normal circulation and cardiopulmonary bypass (CPB), and its physiological and clinical meaning. 【Methods】Observed and measured the sizes and morphosis of circulating MK both before lungs and after lungs in 10 persons normal circulation and during CPB, in order to provide the physiological evidence on mechanism of platelets release from circulating MK. 【Results】①The total central venous MK levels were higher than that in peripheral arteries during normal circulation ( $P < 0.01$ ), and the differences were more significant in type 4 MK ( $P < 0.001$ ). ②The total MK and type 4 MK levels in both central veins and peripheral arteries rose significantly during CPB ( $P < 0.01$ ). 【Conclusion】The lungs act as a filter for removing type 4 MK from normal circulation. This physiological effect is lost during CPB. The increase in MK (particularly type 4 MK) levels may be contributed to the development of neurological microemboli seen in some patients after CPB.

**Key words:** cardiopulmonary bypass/surgery; megakaryocyte; microembolus

巨核细胞-血小板的生成包括骨髓造血干细胞在血小板生成素和 Interleukin (IL-1, IL-3, IL-6, IL-11)等细胞因子作用下, 增殖、分化成巨核细胞, 并进一步成熟释放出血小板<sup>[1]</sup>; 但巨核细胞怎样释放出血小板, 其机制不是很清楚。本研究测定 10 例心脏手术病人正常循环时及体外循环手术期间肺循环前、后(即静脉和动脉血)的循环巨核细胞变化, 为循环巨核细胞释放出血小板的机制提供生理学证据, 并探讨其意义。现报告如下:

## 1 资料与方法

### 1.1 临床资料

1.1.1 一般情况 选择无血液系统及神经系统疾病的常规心脏体外循环手术 10 例, 男 7 例, 女 3 例, 年龄 6~40 岁, 平均 21.6 岁, 体质量 10~51 kg, 平均 35.6 kg。所患疾病: 先天性心脏病房间隔

缺损 1 例, 室间隔缺损 2 例, 法乐四联症 2 例, 风湿性二尖瓣膜病 4 例, 风湿性二尖瓣膜、主动脉瓣膜病 1 例。

1.1.2 手术方法 所有手术均在体外循环下直视进行, 体外循环转机 25~97 min, 平均 48.6 min, 主动脉阻断 20~64 min, 平均阻断 35.1 min, 低温 27.2~30℃, 平均 28.8℃。心肌保护由主动脉根部灌注冷停跳液。分别行房间隔缺损、室间隔缺损修补术, 法乐四联症矫治术, 风湿性二尖瓣膜置换术 4 例, 双瓣膜置换术 1 例。

### 1.2 实验方法

1.2.1 血样本的采集 ①手术前(正常循环时): 分别在上腔静脉和周围动脉取血 3 mL, 肝素抗凝。②体外循环时: 分别采集体外循环转机期间(转机 20~50 min, 平均 31.6 min), 体外循环停机后 120~180 min(平均 145 min)的上腔静脉和周围动脉

收稿日期: 2002-05-21

基金项目: 广东省医学科学研究基金资助项目(A2000439)

作者简介: 肖大伟(1961-), 男, 广东汕头人, 学士, 副主任医师。

血 3 mL, 肝素抗凝。

1.2.2 巨核细胞分离 取上述血 3 mL 用带过滤膜(孔径为 5 micro pore diameter)注射器过滤,并用生理盐水冲洗。取出滤膜后用 10 g/L 甲醛固定。

1.2.3 巨核细胞染色 将附着于过滤膜上巨核细胞使用免疫组化方法和 CD61 单克隆抗体鉴别呈阳性反应的巨核细胞,并经苏木素套染,镜下观察计数。

1.2.4 计数及统计处理 将巨核细胞按其细胞核的大小分为 1~4 型,记录巨核细胞总数及胞浆丰富的 4-型巨核细胞数量。动脉和静脉血巨核细胞计数结果的比较采用配对 *t* 检验。多组间均数比较采用随机区组设计资料的方差分析,如总的有差异,再做两两多重比较。

## 2 结果

### 2.1 巨核细胞计数

10 例巨核细胞计数平均值见表 1;静脉血和周围动脉血的巨核细胞总数见图 1;静脉血和周围动脉血的 4-型巨核细胞计数见图 2。

表 1 10 例巨核细胞计数平均值

Table 1 The megakaryocytes(MK) mean counts for 10 cases ( $\bar{x} \pm s$  cell/mL)

Groups	Cases	Total MK	4-type MK
Pre-CPB	venous 10	9.8±4.8 <sup>1)</sup>	3.8±1.5 <sup>2)</sup>
	arterial 10	7.8±4.5	0.4±0.3
On-CPB	venous 10	35.3±10.8 <sup>3)</sup>	18.3±13.3 <sup>4)</sup>
	arterial 10	37.4±19.8 <sup>5)</sup>	19.4±14.3 <sup>6)</sup>
Post-CPB	venous 10	24.1±4.9	7.5±3.4
	arterial 10	15.2±6.9	1.2±0.4

Note: (I) Pairing *t*-test between venous and arterial and in pre-CPB group: 1)  $t=3.562, P<0.01$  for total MK; 2)  $t=4.870, P<0.001$  for 4-type MK. (II) Homoscedasticity test (Bartlett) among 3 groups:  $\chi^2=1.689, P<0.05$  for total MK in venous;  $\chi^2=3.910, P<0.05$  for total MK in arterial;  $\chi^2=7.311, P<0.05$  for 4-type MK in venous and  $\chi^2=9.213, P<0.05$  for 4-type MK in arterial. (III) Analysis of variance among 3 groups:  $F=30.010, P<0.05$  for total MK in venous;  $F=35.123, P<0.05$  for total MK in arterial  $F=20.541, P<0.05$  for 4-type MK in venous and  $F=24.624, P<0.05$  for 4-type MK in arterial. (IV) Multiple comparisons after ANOVA between pre-CPB and on-CPB: 3)  $P<0.001$  for total MK in venous; 4)  $P<0.001$  for 4-type MK in venous; 5)  $P<0.001$  for total MK in arterial; 6)  $P<0.001$  for 4-type MK in arterial

### 2.2 正常循环时巨核细胞数量及形态

10 例病人正常循环时中心静脉血的巨核细胞总数(9.8±4.8)/mL 高于周围动脉血的巨核细胞

总数量(7.8±4.5)/mL ( $P<0.01$ )。正常循环时周围动脉血 4-型巨核细胞数量非常低。中心静脉血 4-型巨核细胞数(3.8±1.5)/mL 明显高于周围动脉血的 4-型巨核细胞计数(0.4±0.3)/mL ( $P<0.001$ )。

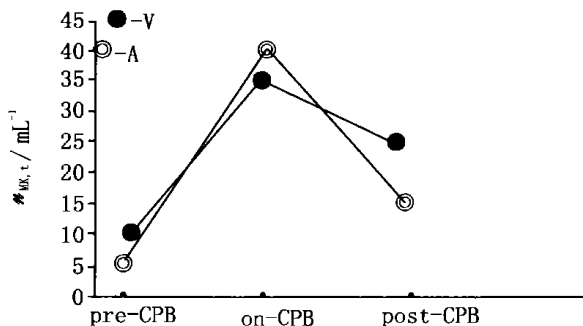


图 1 静脉血和周围动脉血的巨核细胞总数

Fig. 1 Total megakaryocytes counts for venous and arterial circulation at different stages (n=10)

$n_{MK,t}$ : the numbers of total megakaryocytes

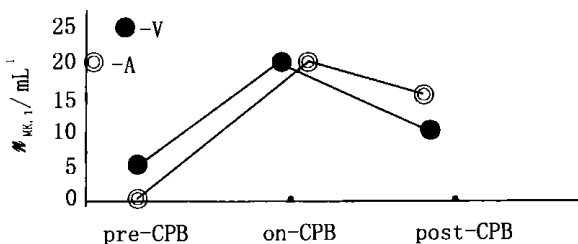


图 2 静脉血和周围动脉血的 4-型巨核细胞计数

Fig. 2 Type-4 megakaryocytes counts for venous and arterial circulation at different stages (n=10)

$n_{MK,4}$ : the numbers of type of type-4 megakaryocytes

### 2.3 体外循环期间、体外循环后的巨核细胞总数

10 例病人体外循环者中心静脉血巨核细胞总数由术前的(9.8±4.8)/mL 上升至体外循环中的(35.3±10.8)/mL, 平均升高(25.5±8.8)/mL ( $P<0.001$ )。周围动脉血的巨核细胞总数由术前的(7.6±4.5)/mL 上升至体外循环中的(37.4±19.8)/mL, 平均升高(29.9±19.5)/mL ( $P<0.001$ )。巨核细胞的增加持续到体外循环停机后 120~180 min(平均 145 min), 中心静脉血巨核细胞计数(24.1±4.9)/mL, 周围动脉血巨核细胞计数(15.2±6.9)/mL。体外循环结束之后, 循环巨核细胞很快又下降。

### 2.4 体外循环期间、体外循环后 4-型巨核细胞

10 例病人体外循环之前、期间和之后 4-型巨核细胞改变, 中心静脉血 4-型巨核细胞计数由术前的(3.8±1.5)/mL 上升至体外循环中的(18.3±

13.3)/mL, 平均升高(14.5 ± 6.7)/mL ( $P < 0.001$ )。周围动脉血4型巨核细胞计数从手术前的(0.4 ± 0.3)/mL, 上升至体外循环中的(19.4 ± 14.3)/mL, 平均升高(19.1 ± 11.3)/mL ( $P < 0.001$ )。这样, 尽管术前中心静脉血4型巨核细胞计数总是高于周围动脉血4型巨核细胞计数, 但体外循环时中心静脉血4型巨核细胞计数与周围动脉血4型巨核细胞计数接近。

### 3 讨论

本实验显示, 肺循环前、后(即动脉和静脉)循环巨核细胞计数有所差别, 即静脉血巨核细胞高于动脉血。这结果支持 Hansen 等<sup>[2]</sup>认为肺动-静脉巨核细胞阶差与肺血管系统相关的观点。提示在正常循环时, 肺部可清除大的巨核细胞, 特别是4型巨核细胞。心脏手术体外循环期间, 由于没有肺循环参与, 测定体外循环过程中巨核细胞的变化, 可以看到动脉及静脉血循环巨核细胞数量明显升高。出现血循环巨核细胞计数升高有下列可能: 骨髓生成、释放巨核细胞增加, 但由于本实验所出现的时间很短, 仅约体外循环期间2h左右, 所以这种因素的影响不大。也有学者指出手术后(非体外循环手术)会出现循环血最大巨核细胞水平前有一个72h的滞缓期, 并且在观察了胸骨切开骨髓破坏和心脏切开吸引物后也不能解释循环巨核细胞数量升高的原因<sup>[1,3]</sup>。

体外循环期间, 循环巨核细胞计数明显升高, 可以认为: 体外循环期间由于巨核细胞未经过肺循环的清除, 而出现循环巨核细胞的升高。体外循环之后, 恢复了肺循环, 肺部可清除大的巨核细胞, 循环巨核细胞计数很快又下降。Martin 等<sup>[4]</sup>认为: 循环巨核细胞在肺小血管内, 巨核细胞的大胞浆分裂成小的碎片, 在毛细血管的挤压下形成循环血小板。Wilde<sup>[1]</sup>的研究也支持循环巨核细胞在肺中被破坏损耗。由实验结果可以看出: ①正常循环时中心静脉血巨核细胞总数高于周围动脉血巨核细胞计数( $P < 0.01$ )。中心静脉血4型巨核细胞计数明显高于周围动脉血4型巨核细胞计数( $P < 0.001$ )。②在体外循环中, 中心静脉血及周围动脉血巨核细胞总数和4型巨核细胞计数均升高。而周围动脉血巨核细胞总数和4型巨核细胞计数升高更明显, 而且这种情况延续到体外循环以后约120~180min。这些结果支持: 体外循环中由于巨

核细胞未经过肺循环, 而出现循环巨核细胞计数增高, 巨核细胞(特别是4型巨核细胞)在肺循环中未被破坏损耗, 而正常循环时静脉血巨核细胞比动脉血高(4型巨核细胞更明显), 从而推断正常循环时循环巨核细胞可能在肺中被破坏、损耗并释放出血小板。

另外, 我们也注意到: 心脏体外循环手术后, 有部分病人出现神经系统并发症, 其发生率国内报道为1.4%~2.3%, 国外报道为25%~46%<sup>[5,6]</sup>。国内报道发生率偏低, 可能是一些短暂精神、神经症状被忽视。那些无定位的体征或症状, 一般被认为是脑缺氧或微栓塞引起, 但是缺乏可靠依据。正常肺循环中, 小动脉腔约100~120 $\mu\text{m}$ , 细动脉腔约20~25 $\mu\text{m}$ , 毛细血管网约10~12 $\mu\text{m}$ <sup>[7]</sup>, 环巨核细胞约20~80 $\mu\text{m}$ , 每分钟约有4000个巨核细胞流经大循环进入肺组织<sup>[8]</sup>。在正常循环时, 肺部可作为一个过滤器清除大的巨核细胞, 特别是4型巨核细胞。本实验结果证实, 体外循环过程中动脉及静脉血循环巨核细胞计数明显升高, 特别是胞浆较丰富的4型细胞的增加, 可能成为体外循环后脑微栓塞的原因之一。其次, 体外循环过程中动脉血循环巨核细胞也可能有阻塞外周小动脉及毛细血管的潜在后果。怎样改进心脏手术体外循环的技术过程, 预防体外循环手术后微栓塞, 是一个有益的研究。

#### 参考文献:

- [1] Wilde N T, Burgess R, Keenan D J M, *et al.* The effect of cardiopulmonary bypass on circulating megakaryocytes [J]. *Br J Haematol*, 1997, 98(2): 322.
- [2] Hansen M, Tiggaaard, Pedersen N, *et al.* Circulating megakaryocytes in blood from the antecubital vein in healthy adult humans [J]. *Scand J Haematol*, 1978, 20(2): 371.
- [3] Breslow A, Kaufman R M, Lawsky A R, *et al.* The effect of surgery on the concentration of circulating megakaryocytes and platelets [J]. *Blood*, 1968, 32(3): 393.
- [4] Martin J, Skater D N, Tronbridge E A. Abnormal intrapulmonary platelet production: a possible cause of vascular and lung disease [J]. *Lancet*, 1983, 9(6): 793.
- [5] 张 茁, 毕 齐, 贺建华, 等. 心脏手术后神经系统并发症研究 [J]. *中华胸心血管外科杂志*, 1999, 15(2): 90.
- [6] 靳丽华, 郗建卫, 司安家. 体外循环术后癫痫 [J]. *临床神经病学杂志*, 1998, 11(5): 294.
- [7] 田牛著. *微循环* [M]. 北京: 北京科学出版社, 1980. 144.
- [8] 陈杰文. *血液分子细胞生物学* [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1993. 368~369.

(编辑 张敏瑞)