

流式细胞术检测 CD 11b 在 PTCA 手术前后的临床应用

厦门大学附属中山医院临床检验中心(厦门 361005)

刘莉莉 张忠英 陈亮 陆程翔*

摘要 目的: 探讨冠心病(CHD)患者经皮冠状动脉腔内成形术(PTCA)、冠状动脉造影(CA)手术前及术后中性粒细胞(PMN)和单核细胞CD 11b 表达变化及临床意义。方法: 选择66例CHD患者, 其中41例行PTCA手术, 25例行CA手术, 23例健康体检者为研究对象。采用流式细胞仪检测健康体检者及CHD患者PTCA和CA手术前3d、手术当天、术后30min、术后1d、术后3d外周血PMN和单核细胞表面CD 11b的表达。结果: CHD患者外周血PMN和单核细胞CD 11b平均荧光强度(MFI)较正常对照组明显升高, 差异具有显著性($P < 0.05$)。PTCA手术后PMN和单核细胞CD 11b MFI明显升高, 与手术前3d和手术当天CD 11b含量具有显著性差异($P < 0.05$)。单核细胞CD 11b MFI在手术后1d较手术后30min高表达, 差异具有显著性($P < 0.05$)。施行CA前后CHD患者外周血PMN和单核细胞CD 11b的表达没有显著性变化($P > 0.05$)。结论: PMN和单核细胞表面CD 11b含量评价选择平均荧光强度比选择百分率更能反映CD 11b的变化。CHD患者PTCA术后确有炎症反应发生, CD 11b表达可作为PTCA后炎症反应发生有临床应用价值的指标。

关键词 血管成形术, 经腔, 经皮冠状动脉 流式细胞术 巨噬细胞 1 抗原

Clinical application of CD 11b determination by flow cytometry before and after PTCA and CA

The center of laboratory of Xiamen Zhongshan Hospital(Xiamen 361005)

Liu Lili Zhang Zhongying Chen Liang et al

ABSTRACT Objective: To investigate changes in the expression of CD 11b on neutrophils and monocytes before and after PTCA and CA in patients with coronary heart disease (CHD). Methods: Forty-one patient underwent percutaneous coronary angioplasty (PTCA). Twenty-five patients underwent coronary angiographic (CA). Twenty-three people were healthy as control. Peripheral venous blood samples were obtained at intraday, 30min, 24h and 72h before and after PTCA and CA. Flow-cytometric methods were used to measure CD 11b on neutrophils and monocytes. Results: The levels of CD 11b on neutrophils and monocytes were significantly higher in UA patients with CHD compared to controls ($P < 0.05$). At 72 hours after PTCA, the levels of CD 11b on neutrophils and monocytes were significantly higher than at 72 hours before and intraday PTCA ($P < 0.05$). High levels of the monocyte receptor CD 11b were noted in patients 24h after PTCA compared to 30min after PTCA ($P < 0.05$). There is no differences of CD 11b on neutrophils and monocytes before and after CA in patients with CHD ($P > 0.05$). Conclusion: The mean intensity of fluorescence is better than percentage to evaluate the content of CD 11b on neutrophils and monocyte. PTCA triggers leukocytes activation in circulation. CD 11b can reflect the acute inflammatory activity arises which arises after PTCA.

KEY WORDS Angioplasty, transluminal, percutaneous coronary Flow cytometry
Macrophage-1 antigen

厦大学生命科学院细胞生物学与肿瘤细胞工程教育部重点实验室

* 福建省厦门大学附属中山医院急诊科

CD 11b 是白细胞粘附分子, 介导白细胞向内皮细胞的移行及粘附, 引起组织损伤和炎症反应。目前炎症反应在冠状动脉粥样硬化的发生、发展

中的机制越来越引起大家重视。本研究通过检测冠心病(Coronary heart disease, CHD)患者经皮冠状动脉腔内成形术(Percutaneous coronary angioplasty, PTCA)前后不同时间中性粒细胞(Polymorphism neutrophil, PMN)和单核细胞CD 11b 表达的变化,探讨CD 11b 在CHD 的诊疗价值。

资料和方法

1 临床资料 选择 2005 年 1 月 1 日至 2006 年 4 月 1 日在厦门大学附属中山医院心内科住院行 PTCA 和 冠 状 动 脉 造 影 (Coronary angiographic, CA)的CHD 患者 66 例,其中PTCA 组 41 例,男 34 例,女 7 例,年龄 42~ 89 岁,平均 64.71 ± 11.11 岁。CA 组 25 例,男 17 例,女 8 例,年龄 44~ 85 岁,平均 69.32 ± 10.21 岁。门诊健康体检者 23 例为正常对照组,男 15 例,女 8 例,年龄 44~ 85 岁,平均 69.32 ± 10.21 岁。排除肿瘤、感染、全身免疫性疾病、严重肝、肾疾病、内分泌疾病、血液系统疾病及服用免疫抑制剂者。

2 方 法

2.1 手术方法 PTCA 和 CA 手术按常规进行。患者术前禁食,经术前准备,在局部麻醉下。股动脉穿刺,进行 CA 或 PTCA 术。

2.2 取血方法 采集正常对照组清晨空腹血 2ml, PTCA 组和 CA 组分别于手术前 3d、手术

当天、术后 30min、术后 1d、术后 3d 采集患者空腹静脉血 2ml 置 EDTA -3K 抗凝管,混匀,立即检测。

2.3 实验方法 取 100ul 上述抗凝血于 2 支 12 × 75mm 的试管中,分别加入 5ul 美国 CALTAG 公司 PE 标记的鼠抗人 CD 11b 单克隆抗体和 10ul 鼠 IgG1-PE 阴性对照,充分混匀,室温 (18~ 25)避光孵育 15 min。采用美国贝克曼库尔特公司 Q-Prep 自动溶血仪溶血。取 0.01ml / IPBS 缓冲液 3ml 洗涤 2 次, 1ml PBS 缓冲液重悬上机检测。采用美国贝克曼公司流式细胞仪 (Elite XL4)检测 5 000 个 PMN 和单核细胞 CD 11b 的百分率和平均荧光强度 (MFI)。

3 统计学处理 采用 SPSS10.0 软件,计量数据以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,多组间均数比较采用方差分析 (ANOVA) 和两两比较 (LSD 法)。非参数分析采用秩和检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 PTCA 手术前后 CD 11b 含量的变化 PTCA 手术前后各时间段外周血 PMN 和单核细胞 CD 11b MFI 均显著高于对照组 ($P < 0.05$), 术后 1d CD 11b MFI 较手术前 3d 和手术当天明显升高 ($P < 0.05$), 单核细胞术后 1d CD 11b 的 MFI 较术后 30min 明显升高。见表 1。

表 1 冠心病患者 PTCA 手术前后 PMN 和单核细胞 CD 11b 表达的变化 ($\bar{x} \pm s$)

分组	PMN CD 11b 含量 (%)	PMN CD 11b 平均荧光强度 (MFI)	单核细胞 CD 11b 含量 (%)	单核细胞 CD 11b 平均荧光强度 (MFI)
术前 3d	99.32 ± 1.618	24.15 ± 23.48*#	99.36 ± 1.041	35.06 ± 14.79*#
手术当天	97.39 ± 12.77	24.59 ± 25.09*#	97.37 ± 2.267	35.31 ± 14.75*#
术后 30min	99.30 ± 1.134	27.33 ± 33.19*	96.86 ± 4.721	33.65 ± 20.83*#
术后 1d	99.64 ± 0.853	40.63 ± 28.55*	98.75 ± 1.473	50.61 ± 21.63*
术后 3d	99.80 ± 0.200	35.60 ± 25.88*	98.28 ± 2.042	47.77 ± 21.60*
正常对照组	99.32 ± 1.229	7.783 ± 2.844	88.93 ± 5.428	4.425 ± 1.611*

注:与正常对照组比较 * $P < 0.05$,与术后 1d 比较# $P < 0.05$

2 CA 术前后 CD 11b 含量的变化 CA 手术前后 CD 11b 较正常对照组显著升高 ($P < 0.05$)。手术前后不同时间段的 CD 11b 表达无显著变化 ($P > 0.05$), 见表 2。

讨 论

炎症反应在冠状动脉粥样硬化斑块的形成发展中的作用越来越受到人们重视。炎症反应中白

细胞向血管内皮的粘附过程需要粘附分子参与。与冠状动脉粥样硬化形成有密切关系的细胞粘附分子主要有三类,即选择素家族、整合素家族、免疫球蛋白超家族^[1]。CD 11b 属于粘附分子成员中 β 整合素亚家族成员,可与多种配体相互作用,在细胞间粘附和炎症反应中发挥重要生物学作用。

运用流式细胞仪检测白细胞 CD 11b 既简便

表2 冠心病患者冠脉造影前后PMN 和单核细胞CD 11b 表达的变化($\bar{x} \pm s$)

分 组	PMNCD 11b 含量(%)	PMNCD 11b 平均荧 光强度(MFI)	单核细胞 CD 11b 含量(%)	单核细胞CD 11b 平 均荧光强度(MFI)
术前3d	99.71 ± 0.3089	23.39 ± 16.41*	99.38 ± 1.130	44.82 ± 20.88*
手术当天	99.42 ± 1.445	23.08 ± 18.42*	97.51 ± 2.926	39.41 ± 29.63*
术后30min	99.69 ± 0.6203	21.15 ± 16.31*	96.23 ± 2.148	39.03 ± 26.06*
术后1d	99.75 ± 0.3886	26.86 ± 21.75*	99.10 ± 1.273	58.35 ± 32.31*
术后3d	99.90 ± 0.1000	22.40 ± 14.37*	95.90 ± 5.798	55.70 ± 53.45*
正常对照组	99.32 ± 1.229	7.783 ± 2.844	88.93 ± 5.428	4.425 ± 1.611*

注:与正常对照组比较 * $P < 0.05$ 。

又快捷。结果描述方式有两种,一是表达CD 11b 细胞的百分率,二是平均荧光强度(MFI)。本研究同时检测CHD 患者外周血PMN 和单核细胞CD 11b 的百分比和MFI,发现MFI比百分比数据更能反映细胞表面CD 11b 含量的变化。

PTCA 已广泛用于治疗闭塞性冠状动脉疾病,由于手术中、术后存在急性血管闭塞和慢性再狭窄而影响其疗效。PTCA 后的一系列病理生理机制尚未完全阐明,其中白细胞跨内皮细胞迁移至血管壁间隙,此过程是组织损伤和炎症反应的重要步骤,粘附分子介导了此过程。白细胞粘附激活的发生机制不十分清楚,可能与下列因素有关:补体因素参与。已经证明高胆固醇血症和动脉粥样硬化脂质能够激活补体系统,促进白细胞和血小板在内皮细胞上聚集粘附,导致内皮细胞损伤,引起生长因子释放及单核细胞浸润,促进平滑肌细胞增生。组织缺血缺氧。有报道低氧可刺激血小板激活因子(Platelet activation factor, PAF)的合成,使CD 11b/CD 18 表达上调而促使PMN 和内皮细胞粘附增加。血管内皮损伤,可使IL-1, TNF, PAF 等细胞因子合成释放增加,PMN 表面细胞间粘附分子-1(Intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1)、血小板膜上P 选择素等表达上调,从而使PMN、血小板和血管内皮粘附增加。本研究分析CHD 患者外周血PMN 和单核细胞粘附分子CD 11b 的表达,结果较正常对照组显著升高($P < 0.05$)。CHD 患者PTCA 术后1dPMN 和单核细胞CD 11b 的MFI较术前显著升高($P < 0.05$)。术后1d 达高峰,术后3d 逐渐下调,与文献报道相似^[2,3]。表明PTCA 可刺激急性炎症反应,白细胞表面表达的粘附分子,介导白细胞与内皮细胞粘附,导致炎症反应的发生。PMN 被激活后与血管内皮的粘附性增加,浸润心

肌,堵塞微循环。单核细胞的激活可能导致内皮表面的粘附性增加且向内皮下跨膜转移,导致组织因子浓度增加,增加血管栓塞性闭塞和局部血管收缩的危险^[1]。

冠脉造影是冠心病诊断和血运重建术前重要的检查手段。实验结果反映CA 组手术前后PMN 和单核细胞CD 11b 表达无显著性差异。与文献报道一致^[4]。影响PTCA 手术疗效的主要因素是术后再狭窄。有研究报道PTCA 术后再狭窄与持续6 个月的炎症和免疫活动相关^[5]。CD 11a 和CD 11b 在再狭窄中扮演重要作用^[6]。本研究发现术后第3 天PMN 和单核细胞CD 11b 表达逐渐下调,但仍显著高于正常对照组。说明术后3d 仍存在炎症活动。何时恢复正常水平有待进一步随访研究。

PTCA 后发生的炎症反应将影响CHD 患者康复,有研究认为PMN 和内皮细胞表面粘附分子可能在再狭窄中有一定的作用^[7]。通过检测外周血PMN 和单核细胞CD 11b 的表达情况可以反映PTCA 后炎症状态,及时采取预防冠脉再狭窄的治疗措施对于提高CHD 患者术后的生活质量具有重要意义。

参考文献

- [1] 田乃亮,陈绍良,马玉玲,等.中性粒细胞和单核细胞CD 11b/CD 18 在冠心病中的意义.临床荟萃, 2004, 19(13): 736
- [2] Murphy RT, Foley JB, Crean P, et al. Reciprocal activation of leukocyte-endothelial adhesion molecules in acute coronary syndromes. Int J CardioI, 2003, 90(2-3): 247
- [3] 梁春,吴宗贵,黄佐,等.经皮冠状动脉腔内成形术对冠心病患者外周血白细胞膜表面粘附分子表达的影响.中国循环杂志, 1999, 14(5): 281
- [4] 王海燕,李虎,贾国良,等.冠状动脉内支架安置

- 术对细胞粘附分子 CD11b 水平的影响 心脏杂志, 2001, 13(4): 249
- [5] Navarro-Lopez F, Francino A, Serra A, *et al* Late T-lymphocyte and monocyte activation in coronary restenosis Evidence for a persistent inflammatory/immune mechanism. *Rev Esp Cardiol*, 2003, 56(5): 465
- [6] Rahimi K, Maerz HK, Zotz RJ, *et al* Pre-procedural expression of Mac-1 and LFA-1 on leukocytes for prediction of late restenosis and their possible correlation with advanced coronary artery disease *Cytometry B Clin Cytom*, 2003, 53(1): 63
- [7] Carlos V, Serrano Jr, Roberto RG, *et al* Platelet and leukocyte adhesion and activation in unstable angina and post-PTCA. *International Journal of Cardiology*, 2005, 99(3): 423
- (收稿: 2006-06-17)

不同麻醉方法对老年高血压患者循环功能及苏醒的影响

武警工程学院医院麻醉科(西安 710086) 夏勇军 白永峰 张丽娟 赵洁

摘要 目的: 比较两种不同麻醉方法对老年高血压患者循环功能及苏醒的影响。方法: 选择择期上腹部手术老年高血压患者 60 例, ASA II~III 级, 随机分为全麻组(A 组)和浅全麻联合硬膜外麻醉组(B 组), 每组 30 例。诱导前硬膜外给药 2% 利多卡因 5ml, 再行全麻诱导。全麻用药两组相同。分别记录诱导前(T₁)、插管时(T₂)、插管后 5min(T₃)、术中探查(T₄)、拔管时(T₅)、拔管后 5min(T₆) 6 个时间点的 SBP、DBP、HR 以及术后患者呼吸功能恢复情况和苏醒时间。结果: A 组在 T₂、T₄、T₅ 时 SBP、DBP、HR 均高于 B 组 ($P < 0.05$), 全麻用药量 B 组明显少于 A 组 ($P < 0.05$), B 组患者的术毕苏醒时间明显快于 A 组 ($P < 0.05$)。结论: 在老年高血压患者上腹部手术中, 通过浅全麻联合硬膜外麻醉方法可维持血液动力学稳定, 减轻应激反应, 加快患者苏醒时间。

关键词 高血压 麻醉药, 全身 麻醉药, 硬膜外 血流动力学

The effects of different anesthetic techniques on circulatory function and recovery in the older hypertensive patients

Department of Anesthesia, Armed Police Forces Engineering College Hospital
(Xi'an 710086) Xia Yongjun Bai Yongfeng Zhang Lijuan *et al*

ABSTRACT Objective: To compare the effects of different anesthetic techniques on circulatory function and recovery in the older hypertensive patients. Methods: Sixty older hypertensive patients, ASA grade II~III, undergoing surgery were divided randomly into general anesthesia group (group A) and combined general anesthesia with epidural block group (group B) with 30 cases in each. 5 ml lidocaine was added after induction. The general anesthesia drugs of both groups were similar in induction and maintenance. SBP, DBP, HR were recorded. Result: In group A, SBP, DBP and HR were increased at T₂, T₄, T₅ compared with group B ($P < 0.05$). The amount of propofol used was significantly less in group B than that in group A ($P < 0.05$). The recovery was faster in group B than that in group A ($P < 0.05$). Conclusion: The depth of general anesthesia combined with epidural block in the older hypertensive patients is feasible with an advantage of keeping hemodynamics stable.

KEY WORDS Hypertension Anesthetics, general Anesthesia, epidural Hemodynamics

老年高血压患者是临床常见手术人群, 围麻醉期维持血压平稳对这类患者的安全十分重要, 由于牵拉反应, 单纯全麻或硬膜外麻醉难以完成上腹部手术, 采用全麻联合硬膜外麻醉的方法可