

逆行自体血预充对儿童体外循环术后血液成分和肺功能的影响*

李牧,石泉,王伟,王洋,刘国华,郑民
(桂林医学院附属医院心胸外科,广西桂林 541001)

摘要:目的 探讨逆行自体血预充(RAP)对儿童体外循环术后血液成分和肺功能的影响。方法 将40例体外循环手术患儿分为RAP组($n=20$)和常规预充组(CP组, $n=20$),分别记录两组患儿的相关指标。结果 两组患儿术前各参数比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。在 T_2 、 T_3 时,RAP组较CP组的RBC计数明显升高($P<0.05$);在 T_3 时,RAP组较CP组的WBC计数明显升高($P<0.05$);在 T_2 、 T_3 时,RAP组较CP组的Hb及血细胞比容(HCT)明显升高($P<0.05$);与CP组比较,RAP组围术期的用量以及术后机械通气时间明显减少($P<0.05$);而两组的游离Hb、纤维蛋白原(Fib)、PLT及D-二聚体比较,差异均无统计学意义($P>0.05$);在 T_4 时,CP组较RAP组的IL-6和IL-8明显升高($P<0.05$), T_4 的炎症反应最强烈;在 T_2 、 T_3 、 T_4 时,RAP组较CP组的动态肺顺应性和氧合指数明显升高($P<0.05$),而肺泡-动脉血氧分压差明显降低($P<0.05$)。结论 RAP用于常规体外循环心脏直视手术可减少预充量,降低血液稀释程度,减少临床血用量,同时可以减轻体外循环术后血液有形成分的破坏并能减轻对肺功能的损伤。

关键词:体外循环;心脏病;逆行自体血预充;血液成分;肺功能

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.18.003

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2014)18-2264-04

Effect of retrograde autologous priming on blood components and pulmonary function in children after cardiopulmonary bypass*

Li Mu, Shi Quan, Wang Wei, Wang Yang, Liu Guohua, Zheng Min

(Department of Cardiothoracic Surgery, Affiliated Hospital of Guilin Medical College, Guilin, Guangxi 541001, China)

Abstract: Objective To study the effect of retrograde autologous priming(RAP) on blood components and pulmonary function in Children after cardiopulmonary bypass. Methods 40 children patients with cardiopulmonary bypass were randomized divided into the RAP group($n=20$) and the conventional priming group(CP group, $n=20$). The related indexes were recorded in two groups. Results There were no significant differences in the preoperative parameters between the two groups($P>0.05$). However, the RBC count was significantly higher at T_2 and T_3 in the RAP group compared with the CP group($P<0.05$); the WBC count was significantly higher at T_3 in the RAP group compared with the CP group($P<0.05$) and the levels of HCT and Hb at T_2 and T_3 in the RAP were significantly higher than those in the CP group($P<0.05$); the perioperative blood transfusion volume requirements and the mechanical ventilation time in the RAP group were significantly decreased compared with the CP group($P<0.05$); PLT, Fhb, Fib and D-dimer had no statistically significant differences between the two groups($P>0.05$). The levels of IL-6 and IL-8 at T_4 in the CP group were significantly increased compared with the RAP group($P<0.05$), the inflammatory reaction was strongest at T_4 . The levels of Cdyn and OI at T_2 , T_3 and T_4 in the RAP group was significantly increased compared with the CP group($P<0.05$), but $P_{(A-a)}O_2$ was significantly decreased($P<0.05$). Conclusion RAP used in the conventional extracorporeal circulation cardiac operation may reduce the priming volume, decrease the hemodilution degree and the amount of clinical blood transfusion, at the same time can alleviate the destroy of blood visible components and the damage of the pulmonary function.

Key words: extracorporeal circulation; heart disease; retrograde autologous priming; blood components; pulmonary function

逆行自体血液预充(retrograde autologous priming, RAP)是指通过减少预充量来达到少输血或者不输血的目的,但此项技术多应用于成人体外循环,在儿童中研究较少^[1-2]。本研究将探讨RAP技术对儿童心内直视手术体外循环的影响,并予以初步评价。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择本院2011年2月至2012年2月先天性心脏病患儿40例。男28例,女12例,年龄4.5~16岁,平均9.5岁。体质量15~35 kg,平均26.5 kg。诊断:房间隔缺损13例,室间隔缺损19例,右室双腔心4例,三房心和房室管畸

形各2例。患儿术前心功能(NYHA分类)均为II~III级。术前无肝、肾功能不良,无贫血或凝血功能障碍等血液系统疾病,无肿瘤或免疫系统性疾病,患儿均为首次心脏手术。将40例患儿分为两组,RAP组20例,常规预充组(CP组)20例,均经医院伦理委员会批准,备案,并与患儿家属签订知情同意书。两组患儿年龄、身高、体质量比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。

1.2 方法

1.2.1 预充方法 两组患儿体外循环期间均使用Stockert的S-5型机人工心肺机和Dideco Lilliput 901(D901)膜肺。常规

* 基金项目:广西壮族自治区卫生厅自筹经费科研课题(Z2011199)。 作者简介:李牧(1973—),硕士,主治医师,主要从事心胸外科方面的研究。

连接体外循环管道,使用羟乙基淀粉 1 000 mL 预充体外循环管道,排净整个管路内气体,全身肝素化后维持 ACT 大于 480 s。置入升主动脉和上、下腔静脉插管,RAP 组于体外循环开始前用自体血置换出部分预充,平均耗时 2~3 min,整个操作过程中严密监控血流动力学变化,维持动脉收缩压大于 70 mm Hg,必要时可以考虑使用升压药物来维持血压稳定。如果自体血预充过程中出现血压不稳定,即使使用了升压药物效果也不理想,就必须立即终止自体血预充。CP 不进行自体血预充。

1.2.2 血制品的使用与管理 体外循环术中血细胞比容(HCT)<25%以及体外循环停机后 HCT<30%,予以输一个单位的 RBC 悬液,于每次输血前、后再次复查 HCT 水平并重新复核输血标准,如果患儿入住 ICU 后引流量多,或化验凝血酶原时间大于或等于基础值的 1.5 倍时输入适量的新鲜冰冻血浆,术后 PLT 数量小于 40×10^9 时输入适量 PLT。

1.2.3 监测指标

1.2.3.1 基本测定资料 记录患者的身高、体质量、年龄,记录体外循环的时间、升主动脉阻断时间、围术期用量以及术后胸管引流量。

1.2.3.2 标本的采集与测定 (1)血液方面的检测:分别于体外循环开始 10 min(T_1)、30 min(T_2),体外循环结束精蛋白中和后 10 min(T_3),术后 1 h(T_4),抽取静脉血进行 RBC、WBC、PLT、HCT、Hb、游离血红蛋白(FHb)、纤维蛋白原(Fib)和 D-二聚体(D-dimer)水平测定。(2)肺功能指标的检测:分别于术前(T_1)、停机(T_2)、术毕(T_3)、术后 1 h(T_4)4 个时间点采桡动脉血用血气分析仪进行血气分析,麻醉剂上读取潮气量、气道峰压,根据公式计算出动态肺顺应性(Cdyn)、肺泡-动脉血氧分压差 $[P_{(A-a)}O_2]$ 、氧合指数(OI)。(3)炎症介质的测定:分别于术前(T_1)、转机 30 min(T_2)、停机(T_3)、术毕(T_4)、术后 24 h(T_5)、术后 72 h(T_6)采集静脉血 4 mL,立即在 4 ℃、5 000 r/min 分离血清,置于一 80 ℃低温冰箱保存,以备测定 IL-6、IL-8。

1.3 统计学处理 应用 SPSS13.0 统计学软件进行统计学处理,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用独立样本 *t* 检验,组内各组比较采用方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况比较 RAP 组机械通气时间明显少于 CP 组($P < 0.05$);围术期用量 RAP 组也明显的少于 CP 组($P < 0.05$),见表 1。

2.2 炎症介质的变化情况 两组患儿在 T_3 时,IL-8、IL-6 持

续升高,最高值出现在 T_4 时,以后又逐渐回落,到 T_6 时基本接近正常。CP 组以及 PAP 组在时间点 T_3 、 T_4 、 T_5 与 T_1 比较,差异有统计学意义($P < 0.05$);在 T_4 时 RAP 组与 CP 组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 2。

2.3 体外循环期间血液有形成分的变化情况 (1)组间比较:RAP 组 RBC 及 Hb 以及 HCT 水平在 T_2 、 T_3 高于 CP 组($P < 0.05$);WBC 在 T_3 高于 CP 组($P < 0.05$);PLT、FHb、Fib 和 D-dimer 水平在各时间点测定值两组间比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。(2)组内比较:RBC 两组在 T_2 有不同程度下降,其中 CP 组体外循环中下降明显($P < 0.05$), T_3 时有所回升,但 RAP 组 T_4 时与 T_1 时计数差异无统计学意义($P > 0.05$),CP 组低于 T_1 时水平($P < 0.05$)。WBC 随体外循环时间延长逐渐升高。两组 PLT 在 T_2 、 T_3 、 T_4 均比 T_1 明显降低($P < 0.05$)。两组患儿 HCT 在 T_2 均下降($P < 0.05$),随后的各时间点有所回升,两组患儿 T_4 与 T_1 比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。FHb 水平两组患儿在 T_3 均比 T_1 显著升高($P < 0.05$)。Fib 水平随时间延长而逐渐升高,但均低于 T_1 时水平($P < 0.05$)。D-dimer 随体外循环时间延长而逐渐升高,其中 CP 组内 T_4 时水平比 T_1 时显著升高($P < 0.05$),同时点 RAP 组与 T_1 比较差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 3。

表 1 两组患儿临床观察资料($\bar{x} \pm s, n=20$)

临床资料	CP 组	RAP 组
体外循环时间(min)	57.8±18.5	57.4±18.9
升主动脉阻断时间(min)	36.8±15.5	37.4±11.9
机械通气时间(min)	205.8±71.3	120.4±39.2 [#]
围术期用量(U)	4.1±0.3	2.2±0.2 [#]

[#] $P < 0.05$,与 CP 组比较。

2.4 两组患儿肺功能指标的变化情况 以 T_1 为基础值,两组患儿 Cdyn 和 OI 在 $T_1 \sim T_4$ 逐渐降低,在 T_4 点达最低值,而 $P_{(A-a)}O_2$,逐渐升高,在 T_4 点达最高值,这与 T_4 时机体炎症反应最强烈相一致,RAP 组在 T_2 、 T_3 、 T_4 Cdyn、OI 和 $P_{(A-a)}O_2$ 与 CP 组比较差异有统计学意义($P < 0.05$);CP 组 OI 值以及 $P_{(A-a)}O_2$ 值中 T_2 、 T_3 、 T_4 与 T_1 比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),而 RAP 组中 Cdyn 和 $P_{(A-a)}O_2$ 在 T_3 、 T_4 与 T_1 比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),OI 只有 T_4 与 T_1 比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 4。

表 2 两组患儿不同时间点 IL-8、IL-6 水平比较($\bar{x} \pm s, n=20$)

指标	组别	T_1	T_2	T_3	T_4	T_5	T_6
IL-6	CP 组	42.3±4.1	45.5±3.3	50.5±7.6*	66.2±21.3*	51.6±15.8*	46.6±5.8
	RAP 组	38.1±3.5	42.9±4.7	49.3±6.2*	58.8±8.8* [#]	46.1±7.4*	40.1±5.4
IL-8	CP 组	82.3±19.9	86.3±14.1	106.5±13.3*	118.2±18.5*	94.7±13.6*	87.1±12.7
	RAP 组	71.3±15.2	78.2±16.1	89.3±14.7*	93.5±17.8* [#]	87.5±15.5*	72.1±14.4

*: $P < 0.05$,各组内与 T_1 比较;#: $P < 0.05$,与 CP 组同时间点比较。

表 3 两组患儿不同时间点血液有形成分比较($\bar{x} \pm s, n=20$)

项目	组别	T_1	T_2	T_3	T_4
RBC($\times 10^{12}/L$)	CP 组	3.76±0.85	2.15±0.32*	2.47±0.41*	3.29±0.61*
	RAP 组	3.95±0.85	3.07±1.21 [#] *	3.18±0.70 [#] *	3.61±0.55

续表 3 两组患儿不同时间点血液有形成分比较($\bar{x}\pm s, n=20$)

项目	组别	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄
WBC($\times 10^9/L$)	CP 组	6.76 \pm 2.60	4.91 \pm 2.13	8.12 \pm 4.50*	11.54 \pm 5.60*
	RAP 组	6.35 \pm 2.10	5.25 \pm 1.90	11.59 \pm 3.86#*	13.98 \pm 4.90*
PLT($\times 10^9/L$)	CP 组	181.30 \pm 57.20	105.00 \pm 46.60*	102.40 \pm 41.20*	135.00 \pm 63.40*
	RAP 组	182.10 \pm 51.60	123.10 \pm 37.20*	125.30 \pm 43.60*	136.00 \pm 51.30*
HCT(L/L)	CP 组	0.38 \pm 0.41	0.22 \pm 0.37*	0.26 \pm 0.31*	0.36 \pm 0.18
	RAP 组	0.37 \pm 0.52	0.24 \pm 0.46#*	0.28 \pm 0.52#*	0.35 \pm 0.46
Hb(g/L)	CP 组	116.20 \pm 13.20	65.9 \pm 7.60*	84.40 \pm 11.50*	104.30 \pm 15.20*
	RAP 组	115.30 \pm 21.40	83.40 \pm 13.10#*	95.20 \pm 16.40#*	108.10 \pm 12.40
FHb(g/L)	CP 组	0.11 \pm 0.15	0.28 \pm 0.21	0.45 \pm 0.28*	0.39 \pm 0.34
	RAP 组	0.14 \pm 0.25	—	0.71 \pm 0.46*	—
Fib(g/L)	CP 组	2.10 \pm 0.51	1.40 \pm 0.30*	1.50 \pm 0.40*	1.70 \pm 0.60*
	RAP 组	2.10 \pm 0.60	1.20 \pm 0.30*	1.50 \pm 0.10*	1.60 \pm 0.50*
D-dimer(Ug/L)	CP 组	103.10 \pm 65.60	75.80 \pm 41.20	128.20 \pm 75.10	175.60 \pm 97.20*
	RAP 组	165.10 \pm 155.20	141.30 \pm 101.20	198.10 \pm 159.60	195.40 \pm 160.30

: $P < 0.05$, 与 CP 组相同时间点比较; * : $P < 0.05$, 各组内与 T₁ 比较。— : 此项无数据。

表 4 两组患儿不同时间点的肺功能指标的变化($\bar{x}\pm s, n=20$)

指标	组别	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄
Cdyn	CP 组	21.0 \pm 11.0	18.0 \pm 10.0	14.0 \pm 10.0#	10.0 \pm 11.0#
	RAP 组	22.0 \pm 10.0	20.0 \pm 13.0*	19.0 \pm 14.0*#	17.0 \pm 15.0*#
P _{(A-a)O₂}	CP 组	85.0 \pm 21.0	106.0 \pm 40.0#	120.0 \pm 22.0#	131.0 \pm 27.0#
	RAP 组	86.0 \pm 22.0	91.0 \pm 21.0*	101.0 \pm 22.0*#	109.0 \pm 26.0*#
OI	CP 组	415.3 \pm 48.7	259.6 \pm 45.5#	245.7 \pm 26.1#	239.6 \pm 34.9#
	RAP 组	409.1 \pm 45.2	378.3 \pm 51.4*	365.4 \pm 46.3*	360.5 \pm 24.2*#

* : $P < 0.05$, 与 CP 组比较; # : $P < 0.05$, 各组内与 T₁ 相比较。

3 讨 论

目前,绝大部分心脏手术都会借助体外循环技术来完成手术治疗,体外循环由于需要常规术前预充,所以血液就会得到不同程度的稀释,血液一定程度的稀释可以降低外周循环阻力,改善微循环,但过度稀释就会导致组织缺氧,引起肝、肾以及肺功能的损害;一般认为,血液 HCT 不低于 20%,即可向组织细胞提供足够的氧供^[3]。维持较高的 Hb 水平是保证组织供氧的必备条件,尤其是对已具生理损害的的心脏手术患者,这样就需要术中以及术后输注大量库血来纠正血液稀释对脏器功能造成的损害。但库存血随着储存时间的延长,血中钾离子水平、乳酸、炎症介质、缓激肽和补体水平不断增加,导致婴幼儿术后微循环和心肺功能损害^[4]。目前我国绝大多数城市都存在用血紧张、血源紧缺的情况,严重地影响了心脏手术的开展,而血荒短期内不可能得到根本的解决,因此临床上怎样减少用血尤其是心脏病手术患者用血就显的尤其重要。RAP 技术就是在这样的环境下应运而生。

体外循环中血液稀释和非搏动性灌注,导致重要脏器间的血流重新分布,部分脏器血流相对不足,处于相对缺血缺氧的低灌注状态,体外循环的运转过程会对血液产生以下几方面影响:血液接触到大量的异物表面,完全改变了正常血液循环的内环境,以及机械挤压、负压吸引、温度的变化等造成 RBC 破

坏。本文体外循环中 RBC 以及 Hb、HCT 在两组患儿 T₂ 和 T₃ 时均有明显降低,RAP 组与 CP 组相比,差异有统计学意义($P < 0.05$),T₄ 时 RAP 组以及 CP 组中 RBC、Hb、HCT 水平同 T₁ 比较,差异无统计学意义($P < 0.05$),但 CP 组 RBC 仍明显低于 T₁ 时水平($P < 0.05$)。RAP 后 HCT 以及 Hb 都得到了提升,杨璟等^[5]的研究显示,RAP 可有效降低血液稀释,明显提高术中 HCT 水平,可减少术中及术后输血量,减少库血的使用。而赵岩岩等^[6]研究结果也表明,RAP 可减少体外循环预充量,减少异体血用量,对血液有形成分无显著损伤。T₄ RAP 组的 HCT 低于 CP 组,是由于常规预充手术后输注库血所致。通常 Hb 存在于 RBC 中,两组中血浆 FHb 均明显的升高,当 RBC 被大量破坏时,Hb 释放,导致血浆 FHb 升高,其水平增高,常是血管内溶血的标志。FHb 在正常人体中水平是一定的,若其水平超出了正常范围,出于人体的保护机制,必须排除多余的 Hb,于是出现了 Hb 尿症。尿中 Hb 排出较多,阻塞肾小管,严重者可以导致急性肾功能衰竭。两组 FHb 水平在 T₃ 较 T₁ 均有不同程度的升高($P < 0.05$),但两组间比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。Hb 水平的升高表明体外循环对 RBC 的破坏,但没有证据显示 RAP 组较 CP 组对 RBC 的破坏更大。在体外循环初期,由于血液稀释以及 WBC 黏附,WBC 数目相对减少,因为血液与体外循环管道的接触,于体外循环

开始 1 h 后可激活全身炎症反应,释放大量的中性粒细胞等炎症细胞。本研究中,WBC 计数在两组 T_2 时计数均有减低,但在 T_3 以及 T_4 均有明显升高($P < 0.05$),但两组比较仅在 T_3 时有差别, T_4 组未见明显差别。最终的结果还不能说明 RAP 全身炎症反应较 CP 组严重,体外循环中 PLT 计数明显减少。PLT 与异物表面发生可逆性的 PLT 聚集,在体外循环一开始就可表现 PLT 数量明显减少。随后,PLT 聚集在肝脏及其他脏器的微血管床内,在体外循环后逐渐回升。体外循环回路内血液与异物表面接触,触发接触途径激活,增加 Fib 的消耗,导致纤维蛋白沉积^[7]。血液稀释也可引起不同程度的凝血-纤溶系统的激活,导致继发性纤溶亢进产生凝血酶,促使 Fib 转变为纤维蛋白。D-dimer 是纤维蛋白的降解产物,是继发纤溶亢进的重要指标^[8-9]。本研究中 PLT 与 Fib、D-dimer 水平均遵循前述体外循环期间的先下降后上升的变化趋势,而体外循环中存在纤溶系统的激活,纤维蛋白降解产物(FDP)增高,从而会影响正常的凝血功能,其中 D-dimer 随手术时间延长明显增加,但两组在各检测点组间比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。RAP 组术后引流量较 CP 组明显减少,差异有统计学意义($P < 0.05$),这从另外一个侧面可能也说明 RAP 在一定程度上抑制了凝血-纤溶系统的激活,这有待于今后进一步的研究。体外循环中有许多因素造成 PLT 损害,包括体外循环管道、血气直接接触、血流的剪切力、肝素、鱼精蛋白及其复合物、泵管的机械挤压作用、各种麻醉药物以及体外循环转流时间长短等。本研究中观察到体外循环术后的 PLT 计数较术前明显减少,表明体外循环手术对患者的 PLT 有较大的影响,目前只是观察到 PLT 数目下降,但功能是否下降还不能明确,需要进一步检测其他相关指标。

体外循环中许多非生物的因素,如血液与体外循环管道的直接接触、创伤、低温、缺血再灌注损伤、体外循环时间等,可引起炎症因子的释放而促发全身炎症反应^[10],对心脏、肺脏、肾脏等重要脏器造成损伤,有时甚至是不可逆的,是患者术后死亡的主要原因。在整个病理生理过程中,激活并释放的促炎性细胞因子起到重要作用。在体外循环中起作用的细胞因子,其中 TNF- α 和 IL-6 以及 IL-8 的数值可直接反映体外循环后全身炎症反应综合征的严重程度。Liebold 等^[11] 研究显示,体外循环中心肌产生释放促炎性细胞因子 TNF- α 、IL-6、IL-8,而肺脏消耗这些促炎性细胞因子,降低 IL-8 的水平和弹性蛋白酶的活性可以促进术后肺功能的恢复^[12-13]。IL-6、IL-8,可以间接反映肺脏损伤的程度。本研究中 IL-6 以及 IL-8 在 T_2 以及 T_3 开始升高,到 T_4 达到峰值,后数值逐渐回落,到 T_6 基本接近术前的水平,达峰值时 RAP 组的值较 CP 组的值低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。故作者认为 T_4 是全身炎症反应最严重的时期,检测数据表明,RAP 可能会减少促炎性细胞因子的释放,从而减轻术后全身炎症反应,减轻机体损伤^[14]。由于体外循环可以激活补体系统,激活后释放出过敏毒素 C3a 和 C5a 能刺激肥大细胞释放组胺,使平滑肌收缩以及血管通透性增加,同时还可以释放一系列炎症介质如氧自由基、溶酶体酶和花生四烯酸代谢产物。这些物质作用于肺血管内皮及基底膜组织,使肺泡的正常代谢出现紊乱,出现肺泡水肿、肺不张及肺内动静脉分流等病理改变,而大量 WBC 于肺内聚集促发导致急性肺损伤的强烈炎症反应。本研究中,两组患儿在 4 个时间点检测 Cdyn、 $P_{(A-a)}O_2$ 和 OI,发现在 CP 组 T_4 时 $P_{(A-a)}O_2$ 最高,

而 Cdyn 和 OI 最低,在 T_4 时间点肺损伤较重,这也与上面提到的 T_4 是炎症反应最强烈的时期相符。Cdyn、 $P_{(A-a)}O_2$ 和 OI 检测中,CP 组中 T_1 与 T_2 、 T_3 及 T_4 相比差异有统计学意义($P < 0.05$),在 RAP 组差异无统计学意义($P > 0.05$),但两组在 T_4 时间点的比较差异有统计学意义($P < 0.05$),从以上数据可以看出,RAP 组肺损伤的程度较 CP 组轻,RAP 组可以减轻炎症反应。RAP 组术后呼吸机辅助时间少于 CP 组,而这可以提示间接提示肺损伤程度的不同^[15],但具体肺损伤到什么程度,还需要进一步检测相关的炎症介质的水平来确定。

综上所述,RAP 用于常规体外循环心脏直视手术可减少预充量,降低血液稀释程度,减少异体血用量,同时可以减轻体外循环术后血液有形成分的破坏并能减轻对肺功能的损伤。

参考文献:

- [1] Merkle F, Boettcher W, Schulz F, et al. Perfusion technique for nonhaemic Cardiopulmonary bypass prime in neonates and infants under 6kg body weight[J]. *Perfusion*, 2004, 19(4): 229-237.
- [2] 郑理玲, 谢纳新, 廖崇先. 自体血预充技术对血液保护作用的研究[J]. *中国心血管病研究杂志*, 2006, 4(4): 260-262.
- [3] Kotani Y, Honjo O. Single center experience with a low volume priming cardiopulmonary bypass circuit for preventing blood transfusion in infants and small children[J]. *ASAIO J*, 2009, 55(3): 296-299.
- [4] Golab HD, Bogers JJ. Small, smaller, smallest. Steps towards bloodless neonatal and infant cardiopulmonary bypass[J]. *Perfusion*, 2009, 24(4): 239-242.
- [5] 杨璟, 何美玲, 赵岩岩, 等. 自体血逆行预充在体外循环中应用的探讨[J]. *中国体外循环杂志*, 2010, 8(2): 83-85.
- [6] 赵岩岩, 杨璟, 董培青. 自体血逆行预充对体外循环期间血液有形成分影响的观察[J]. *中国体外循环杂志*, 2010, 8(2): 86-89.
- [7] Hussaini BE, Treanor PR, Healey NA, et al. Evaluation of blood components exposed to coated arterial filters in extracorporeal circuits[J]. *Perfusion*, 2009, 24(5): 317-323.
- [8] Sakamoto T, Asou T, Takeda Y, et al. Coagulation and fibrinolysis system in pediatric cardiopulmonary bypass[J]. *Kyobu Geka*, 2006, 59(13): 1163-1170.
- [9] 杨齐名, 吴立生, 郑智君, 等. 骨折患者凝血功能与 D-二聚体的测定结果[J]. *血栓与止血学*, 2003, 9(4): 162-163.
- [10] 王丽红, 周守静, 王炫. 氨甲环酸对先天性心脏病患儿术后血和抑制炎症反应的随机对照研究[J]. *中国循证儿科杂志*, 2011, 6(6): 420-424.
- [11] Liebold A, Keyl L, Birnbaum DE, et al. The heart produces, but lungs consume proinflammatory cytokines following cardiopulmonary bypass[J]. *J Cardiothorac Surg*, 1999, 15(3): 340-345.
- [12] Yamashita N, Hoshida S, Otsu K, et al. The involvement of cytokines in the second window of ischemic preconditioning[J]. *Br J pharmacol*, 2000, 131(3): 415-422. (下转第 2271 页)

相互作用,并引起细胞的无限增殖和恶性转化,是主要的致癌基因^[13]。研究中发现 E6/E7 mRNA 表达多存在于所有宫颈癌及 93.7% 大于或等于 CIN II 的病例中(HPV-DNA 阳性),E6/E7 mRNA 的表达在多重感染病例中较单一感染病例更显著(61.2% vs. 38.8%, $P < 0.05$),无论在高度病变还是在低度病变中,多重感染病例较单一感染病例更易检测到 E6/E7 mRNA 表达,且若一个样本为多重感染(双重、三重或四重感染),那么多重感染中的任何一个亚型表达 E6/E7 mRNA 的概率较单一感染高,该结果与国外一些研究的结果是一致的^[14-15]。以往的工作中十分重视 HPV16、18 的检测和治疗,但从本研究结果看,不仅应着重检测本地区常见的 HPV 基因型,且 HPV45 感染尤其是合并其他多个高危亚型的多重感染应引起重视,有条件的地区可以进行高危型 HPV E6/E7 mRNA 检测,这对于高危型 HPV 致病力的评估、在宫颈病变进展过程的预测及患者的个体化诊治均具有重要的临床意义。虽然石蜡包埋组织固定、包埋技术及蜡块保存时间等因素可能会对组织中的 RNA 水平有一定影响,石蜡包埋组织中 RNA 的提取和 PCR 扩增比较困难,影响因素颇多,且目前本研究尚未能做到 mRNA 的绝对定量,但从另一个角度也可说明档存石蜡包埋组织无论对于临床还是科研来说均不失为一个很好的研究素材,几种基因型同时感染固然增加了 E6/E7 mRNA 的检出率,但也反映了多个 HPV 亚型之间可能具有某种协同效应,而此种协同效应的机制和明确究竟是哪一种基因型造成了细胞的损伤,还需要进一步研究来加以明确。

参考文献:

- [1] Münger K, Baldwin A, Edwards KM, et al. Mechanisms of human papillomavirus-induced oncogenesis [J]. *J virol*, 2004, 78(21):11451-11460.
- [2] Adebamowo CA, Akarolo-Anthony S. Cancer in Africa: opportunities for collaborative research and training [J]. *Afr J Med Med Sci*, 2009, 38(2):5-13.
- [3] Lindh M, Gorander S, Andersson E, et al. Realtime Taqman PCR targeting 14 human papilloma virus types [J]. *J Clin Virol*, 2007, 40(4):321-324.
- [4] Hovland S, Muller S, Skomedal H. E6/E7 mRNA expression analysis: A test for the objective assessment of cervical adenocarcinoma in clinical prognostic procedure [J]. *Int J Oncol*, 2010, 36(6):1533-1539.
- [5] 杨赞平, 杨双双, 张莉萍. 重庆地区妇女高危型 HPV 感染现状及年龄的分层分布 [J]. *重庆医学*, 2013, 42(3):249-254.
- [6] 党裔武, 叶健, 陈罡, 等. 宫颈上皮内瘤变组织中人类乳头状瘤病毒分型检测的意义 [J]. *中国现代医学杂志*, 2011, 21(23):2870-2873.
- [7] Li N, Franceschi S, Howell-Jones R, et al. Human papillomavirus type distribution in 30,848 invasive cervical cancers worldwide: variation by geographical region, histological type and year of publication [J]. *Int J Cancer*, 2011, 128(4):927-935.
- [8] Sjoeborg KD, Trope A, Lie AK, et al. HPV genotype distribution according to severity of cervical neoplasia [J]. *Gynecol Oncol*, 2010, 118(1):29-34.
- [9] Andersson E, Krrberg C, Rdberg T, et al. Type-dependent E6/E7 mRNA expression of single and multiple high-risk human papillomavirus infections in cervical neoplasia [J]. *J Clin Virol*, 2012, 54(1):61-65.
- [10] Lee SA, Kang D, Seo SS, et al. Multiple HPV infection in cervical cancer screened by HPV DNA chip [J]. *Cancer Lett*, 2003, 198(2):187-192.
- [11] Herrero R, Hildesheim A, Bratti C, et al. Population-based study of human papillomavirus infection and cervical neoplasia in rural Costa Rica [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2000, 92(6):464-474.
- [12] Bosch FX, Lorincz A, Muoz N, et al. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer [J]. *J Clin Pathol*, 2002, 55(4):244-265.
- [13] Keegan H, Mc Inerney J, Pilkington L, et al. Comparison of HPV detection technologies: hybrid capture 2, PreTect™ HPV-Proofer and analysis of HPV DNA viral load in HPV16, HPV 18 and HPV33E6/E7 mRNA positive specimens [J]. *Virol Methods*, 2009, 155(1):61-66.
- [14] Chaturvedi AK, Katki HA, Hildesheim A, et al. Human papillomavirus infection with multiple types: pattern of coinfection and risk of cervical disease [J]. *J Infect Dis* 2011, 203(7):910-920.
- [15] Spinillo A, Dal Bello B, Gardella B, et al. Multiple human papillomavirus infection and high grade cervical intraepithelial neoplasia among women with cytological diagnosis of atypical squamous cells of undetermined significance or low grade squamous intraepithelial lesions [J]. *Gynecol Oncol*, 2009, 113(1):115-119.

(收稿日期:2013-12-27 修回日期:2014-02-22)

(上接第 2267 页)

- [13] Yellon DM, Dana A. The preconditioning phenomenon: a tool for the scientist or a clinical reality [J]. *Circ Res*, 2000, 87(7):543-5501.
- [14] Graham EM, Atz AM, Gillis J. Differential effects of aprotinin and tranexamic acid on outcomes and cytokine profiles in neo-nates undergoing cardiac surgery [J]. *J*

Thorac Cardiovasc Surg, 2012, 143(5):1069-1076.

- [15] 赵宇东, 李晓峰, 李仲志, 等. 逆行自体血预充和改良超滤在儿童体外循环中的应用 [J]. *中国循环杂志*, 2008, 23(1):47-49.

(收稿日期:2013-12-08 修回日期:2014-02-03)