

· 综 述 ·

急性创伤性凝血病的发病机制

刘海波 综述, 周发春 审校

(重庆医科大学附属第一医院急诊科 400016)

关键词: 创伤; 凝血病; 机制

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.18.042

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2014)18-2374-04

急性创伤性凝血病(acute traumatic coagulopathy, ATC)是由组织损伤和休克驱动的机体早期内源性凝血功能障碍过程,与多发伤患者的病死率增加和不良预后相关。损伤控制性复苏诊疗策略主要是针对创伤性出血患者相对较长的院前诊断治疗阶段。ATC的主要机制是严重创伤后内皮细胞活化产物蛋白 C 引起的快速抗凝和纤维蛋白溶解。持续失血、低体温、酸中毒和血液稀释可加重 ATC,并导致全身止血系统的紊乱。虽然目前血小板活化、纤溶酶原应用、内皮功能紊乱等与神经-激素路径之间的相互作用在 ATC 发病机制中所起的作用仍不明确,但上述的相互作用的研究有可能为 ATC 的治疗提供新的靶点。传统凝血试验(standard coagulation tests, SCT)检测在严重创伤性出血的早期诊疗中意义不大。血栓弹力图分析仪(thrombelastography, TEG)、旋转式血栓弹力测定法(rotational thrombelastometry/-graphy, ROTEM)等,可以快速地评估全血中凝血动力学,在创伤性出血的诊疗中比 SCT 更具有价值。

创伤性凝血障碍(truma-induced coagulopathy TIC)是机体遭受严重创伤后多因素的作用下的全身凝血系统功能障碍而导致机体不能维持正常止血功能的一种疾病。在严重创伤后的超急性期,凝血功能障碍是可以检测到的,这点支持了 ATC 是早期内源性过程的假说^[1]。ATC 是由组织创伤和低灌注驱动,其特征是全身抗凝及纤溶亢进^[2]。凝血功能是先天性免疫系统不可或缺的一部分,内皮细胞蛋白 C 的激活似乎是 ATC 的主要发病机制,也许是机体创伤后炎症反应的一部分^[3-5]。持续失血、静脉输注晶体液或红细胞等低凝血产物导致的血液稀释、酸血症、凝血因子消耗以及逐渐出现的低体温可导致凝血功能紊乱进一步加重,最终导致 TIC^[6]。

ATC 患者的病死率接近 50%,这类患者需要更多地输入血液制品,同时也增加了该病发病率。靶向输血治疗预后可能会有所改善,然而,由于对 ATC 发病机制的理解不够,因此最佳的治疗措施受到一定限制。本综述简要地总结了目前对 ATC 的主要机制及快速诊断方法在早期鉴别凝血病中的作用。

1 ATC 的临床特征

ATC 的特征为血凝块强度的功能性降低而凝血时间只发生较小变化^[7]。依靠 ROTEM,如果 5 min 内血凝块振幅小于 35 mm,就能够诊断 ATC,并且在预测是否有必要进行大量输血的价值上 ROTEM 可以与 TEG 相媲美^[8]。ATC 病情进展迅速,研究显示高达 25%~35%的患者在到达急诊室时就已经存在急性凝血功能障碍^[9-10]。失血导致的死亡占创伤患者早期病死率的 40%,如果同时合并有凝血病,其病死率将增加 4 倍,存活者的创伤出血发病率也会明显增高。一项超过

5 000 例患者的流行病学调查发现,以凝血酶原比例(PTr)1.2 为阈值定义 ATC 具有临床意义。当 PTr>1.2 时,患者病死率及对血液制品的需求逐渐增加,呈一定的线性关系,PTr/INR>1.5 过去通常用于作为凝血病诊断的阈值,研究证明此阈值并不能够检测出其中的 16%预后不良的患者。

大量观察性研究发现 ATC 即凝血时间延长,可以作为多脏器衰竭、脓毒症并发症以及重症监护状态的独立预测指标^[11]。临床研究及基础实验研究表明,ATC 的发生与组织创伤的严重程度密切相关,在有组织低灌注(代谢性酸中毒)的情况下其关系更为明显^[12]。在对实验动物模型和临床患者的观察中发现,在大量晶体液复苏造成血液稀释效应之前,ATC 就已发生。此外,在体温高于 33 ℃的情况下患者凝血病就已经发生(低温低于 33 ℃时会损害合成纤维蛋白原,凝血酶的产生及血小板功能),说明 ATC 的发生与另一种机制有关。

ATC 是创伤院前治疗阶段(最初的几分钟到几小时内)TIC 发生的核心机制,而其他凝血障碍原因在全身 TIC 的进展过程中仅作为辅助因素起到一定的贡献作用。战争或恶劣环境导致现场滞留及转运时间的延长(>2 h)可能改变整个临床症状。休克时间延长、低体温以及容量消耗可能增加 ATC 的发生率,进而成为引起凝血障碍的独立因素。院前诊断和目标性容量复苏需要把这些因素考虑在内。由于院前处理与病程发展的病理机制密切相关,因而在创伤现场,那些不能在 30 min 内进行全面创伤治疗,需进行 RDCR 的患者需要一个更好的输血策略。

2 ATC 的发病机制

从细胞模型的止血作用认识血小板磷脂膜基本的重要性,血管内皮细胞是凝血因子汇集和裂解的平台,这些凝血因子在血管内皮损伤部位汇集和裂解达到平衡,形成稳定的血凝块附着。几乎没有证据表明组织损伤的隔离消耗凝血因子的机制与弥散性血管内凝血(DIC)类似^[13]。组织损伤启动促凝血物质暴露、凝集,例如,血管内皮细胞中的组织因子,但严重创伤患者在没有休克的情况下凝血功能障碍是非常罕见的。严重酸中毒(pH<7.1)好像是仅伴有轻度凝血时间延长的凝血功能紊乱产生的必要条件。酸血症对体内凝血的确切影响仍然不明,相对于组织低灌注和休克,临床上很难确定 pH 值的精确抑制作用。

当前输血策略,凝血障碍的创伤患者在凝血酶生成受损的前提下,使用高剂量的新鲜冰冻血浆(FFP)。然而,除凝血因子 V 以外的凝血因子损伤后保持在直接相,水平远高于实验显示延长凝血试验,例如,<30%的酶活性保持在直接相^[3,14]。此外,两个临床研究报道,伤后凝血酶生成实际上可能是增加的,这提示在 ATC 止血作用中的其他组成成分可能具有更重

要的机制^[15]。许多回顾性研究提出改进的结果早期使用高剂量的血浆,虽然血液与血浆的最佳比例还没有被定义。所以假想,早期的 FFP 的疗效可能不是简单地因为凝血因子的替换。初步数据已经强调了修复和恢复内皮多糖蛋白复合物作为一种可能的替代源的好处^[16]。

3 内源性抗凝和蛋白 C 途径

之前已经提出了 ATC 是由活化的蛋白 C 功能介导的^[17]。人和动物的研究证实了创伤性休克与早期蛋白 C 损耗、血栓调节蛋白的增加及凝血因子 V 的降低有关,提示在 ATC 中蛋白 C 的路径的激活^[3,18]。Johansson 等^[17]通过研究神经-激素轴证明了多糖蛋白复合物的降解与休克/组织低灌注有关。值得注意的是,凝血酶的生成、蛋白 C 的活化以及纤溶亢进都有可能被内皮细胞多糖-蛋白复合物降解触发。可以想象,组织低灌注可能启动“凝血酶开关”,从而导致纤维蛋白和活化蛋白 C(aPC)的产生。组织创伤后,在组织低灌注和大量凝血酶产生的情况下,血管内皮细胞表达血栓调节蛋白,并与凝血酶形成络合物,使之功能转为抗凝。凝血酶减少促进纤维蛋白原与凝血酶结合产物凝血酶调节蛋白活化物 PC 的裂解,进而抑制辅助因子 Va 和 VIIa。

目前,只有一些小型研究支持 ATC 的“蛋白 C 学说”。最近通过测量一组 300 例创伤患者血中 aPC 水平,为“蛋白 C 学说”提供了进一步有力证据^[4]。研究证明,血液中 aPC 水平越高,血凝块强度则越差,病死率越高,血量需求更大,但是凝血时间变化不大。相比 V 和 VII 因子,不接受 aPC-介导的裂解的蛋白酶(因子 II、VII、IX、X)均保持在正常水平的活动。为确定蛋白 C 通路的潜在重要性,研究者在创伤出血的小鼠模型中用单克隆抗体阻断 aPC 抗凝血功能或从基因水平抑制 aPC 通路,ATC 发生率减少^[18]。这一过程可以在一定程度上解释促凝治疗在一些严重创伤患者中导致 aPC 水平增加、反常性抗凝作用及效果有限的潜在机制(例如,大剂量的血浆、活化的凝血因子 VIIa)^[11]。新鲜冰冻血浆除了可以补充凝血因子外,可能还有其他更重要的作用,即对多糖-蛋白复合物修复,而多糖-蛋白复合物能够改善创伤出血患者的预后在实验模型上已经得到了证明^[16]。这些研究结果表明活化蛋白 C 是 ATC 的一个关键机制,并且为创伤出血的诊疗提供了一个新的方向。

4 纤维蛋白原及纤溶

正常的止血是依赖于血纤维蛋白原作为底物形成凝块的过程,但是对于充分止血有很大的争议^[11]。无论是实验室研究还是众多临床回顾性研究都证实 ATC 中纤维蛋白原的水平都是迅速下降的,虽然没有达到历史公认的需补充纤维蛋白原的阈值水平($<0.8 \sim 1.0 \mu\text{g/L}$)。纤维蛋白原耗竭可见于大量输血的患者,并且与不良预后相关。此外,在损伤控制性复苏过程中,尽管予以不断提高血浆/血小板输注比例,纤维蛋白原水平并不能予以完全纠正至正常水平^[17-18]。全血黏弹凝血试验(ROTEM、TEG)已经证实,补充纤维蛋白原能够纠正凝血功能障碍^[11]。额外补充了纤维蛋白原的患者比没有补充纤维蛋白原的患者预后更佳,这一点提示了纤维蛋白原在 ATC 发病机制及治疗中发挥着重要作用。

纤维蛋白原丢失的确切机制仍有待阐明,原因是因子 V 是唯一一达到临界水平($<30\%$)的凝血因子,并且病理研究结果提示 DIC 在创伤患者中是非常少见的^[13]。严重酸中毒、严重的低温($<32^\circ\text{C}$)以及血液稀释已经被证明可以降低纤维蛋白原,尽管在创伤性凝血病的急性期阶段(即 ATC 阶段)这些因素是意义不大的。在严重颅脑创伤的研究中已经证明过度的

纤维蛋白原降解、血凝块的增大与不良预后有关^[19-21]。凝血的激活解除了多条裂解途径的抑制,纤维蛋白原降解可能是 ATC 纤维蛋白原水平降低的一种原因。

纤溶亢进出现在大部分严重创伤患者中,是 ATC 的一个关键组分^[22]。虽然在创伤后早期纤维蛋白溶解的实验室指标已严重升高,但由于诊断工具(ROTEM、TEG)的灵敏度较低,纤溶亢进的诊断还是有一定限制的。休克、组织缺氧、循环中儿茶酚胺和血管内皮损伤都是纤溶的强效激活剂,但是其激活的确切机制仍不清楚。目前研究已证明在创伤休克患者血液中纤维蛋白溶酶原激活物抑制剂-1(PAI-1)有减少而组织纤溶酶原活性有提高^[2]。过度的蛋白 C 的活化会损耗 PAI-1,结果是导致纤溶活性被抑制,从而进一步影响 ATC 病理生理机制中的 PC 途径。

最近的一项大型的多中心 CRASH-2 实验已明确证明抗纤溶药物如氨甲环酸(TXA)能减少创伤性出血患者择期手术中出血量并且能提高近期生存率^[23]。亚组分析表明,TXA 对创伤性休克(收缩压水平 75 mm Hg)最有效,可能是因为这类组别的患者纤溶活性最大。创伤性出血的作用机理尚不清楚,在创伤出血的早期阶段直观早期的应用 TXA 可以抑制纤维蛋白溶解^[24-25],有利于血凝块形成,减少输血需求。TXA 可以激活抗炎路径,理论上能调节严重创伤出血患者的免疫应答,从而理论上减少炎症反应的并发症。

5 血小板功能障碍

血小板活化和纤维蛋白生成是相互依存的过程。在 ATC 患者中,血小板功能障碍在很大程度上是未知的,但是在严重创伤的患者时非常明显的。理论上,急性创伤性凝血功能障碍合并休克及低体温等通过中断的激活和黏附途径共同造成血小板功能异常,但是迄今为止,在创伤患者中针对血小板功能异常只有非常有限的机制研究。

大量红细胞悬液、新鲜冰冻下降以及其他液体输入可能会引起稀释性血小板减少症。然而,在创伤出血的早期阶段,血小板通常会保持一定的水平,不至于引起临床意义上的凝血功能障碍^[15]。血小板输注可能不是纠正 ATC 及 TIC 所必需的,因为即使在血小板显著减少的情况下,补充纤维蛋白原就能明显改善血凝块的强度。此外,在一项利用 ROTEM 和输血算法来指导 ATC 患者目标导向性输血的试验中,大约 1/3 的创伤出血患者仅仅输注了纤维蛋白原和凝血酶原复合物而没有输注血小板就取得了较好的疗效^[26]。然而,输注正常功能的血小板还是有其他好处,例如可以有利于血管内皮细胞的修复和一定程度上有利于控制炎症反应和感染等并发症。

严重创伤结果增加了血小板的激活,加快了血小板的聚集和黏附。在生存者与死亡者之间,作为衡量血小板功能障碍的指标,血小板聚集能力差别不大,但是血小板计数存在着显著的差异。最具挑战性的问题仍然是研究这些血小板如何积极参与损伤部位的血栓形成。因此,这些血小板的采样和分析是否能反应血小板的功能仍有待观察。

6 早期识别创伤性凝血病的快速诊断方法

由于诊断结果延误后凝血筛查反应的有效性,对大量输血的预测力差以及无法量化血凝块的形成及其强度,因此实验室凝血筛查对创伤出血患者的治疗价值有限^[11]。之前所定义的 ATC,主要指通过 ROTEM 法在 5 min 内检测到的血凝块强度下降,并伴随轻度的 PT 和 APTT 的变化。这些凝血试验是以贫血小板的血浆为标本的来评估凝血酶原时间,且上述实验是基于止血细胞模型,因此,凝血实验测量值反映的实际意义值

得怀疑。延迟输血增加死亡的风险以及输血量,可想而知,凝血试验仅仅是一种能够反映损伤的严重程度、代谢功能障碍或与组织损伤相关炎症的指标。

在过去 10 余年,ROTEM 和 TEG 技术被应用来快速诊断 ATC 得到了快速的发展。可以利用全血通过全凝血功能试验来评估 ATC 患者的凝血动态,并且发现 ATC 外伤患者具有其标志性的凝血弹性动态^[7]。能在 5~10 min 内通过监测全血中血凝块强度来预测是否需合理、准确的进行大量输血策略。ROTEM 和 TEG 技术的检出率高达 71%,远高于通过传统测量(PTr>1.2)43%的检出率。一些小型研究已经提出 ROTEM 可用于创伤患者的目标导向性治疗,但是这些观点仍有待验证,目前需要更多大型的、多中心的研究来确定 ROTEM 和 TEG 是否能够提高患者的预后。这些全血检测试验的最重要的一个优点是对纤溶亢进的监测,但是由于裂解痕迹只在极度亢进情况下才表现明显,所以限制了检测的灵敏度^[10]。全血检测试验是反应凝血因子和凝血酶生成的较好指标,并且可能成为新的止血金标准,特别是在多病因导致的凝血功能障碍的急性期,比如 TIC。

7 总 结

ATC 是一种由组织损伤和全身低灌注引起的内源性凝血功能障碍。蛋白 C 活化物以及随后出现的抗凝作用、纤溶亢进以及纤维蛋白原消耗是 ATC 的主要机制。其他公认导致创伤性凝血病的原因如体温、酸中毒、外源性血液稀释凝血加剧了创伤患者低凝状态,最终导致全身性 TIC。创伤患者的纤维蛋白原代谢、血小板功能障碍以及内皮多糖蛋白复合物的作用机理仍需要进一步阐明,但它们仍可能是 ATC 复杂多因子发病机制之一。深入挖掘 ATC 与 TIC 之间的关系,进一步了解长时间院前凝血障碍的主要机制,可能会改变 RDCR 治疗策略。ROTEM 和 TEG 等床旁快速检测仪提高了 ATC 的诊断速度,但是如果优化创伤出血的早期治疗,进一步充分的研究了解 ATC 的病理生理是很有必要的。

参考文献:

- [1] Brohi K, Cohen MJ, Davenport RA. Acute coagulopathy of trauma: mechanism, identification and effect[J]. *Curr Opin Crit Care*, 2007, 13(6): 680-685.
- [2] Brohi K, Cohen MJ, Ganter MT, et al. Acute coagulopathy of trauma: hypoperfusion induces systemic anticoagulation and hyperfibrinolysis[J]. *J Trauma*, 2008, 64(5): 1211-1217.
- [3] Floccard B, Rugeri L, Faure A, et al. Early coagulopathy in trauma patients: an on-scene and hospital admission study[J]. *Injury*, 2012, 43(1): 26-32.
- [4] Davenport R, Rourke C, Manson J, et al. Activated Protein C is a principal mediator of acute traumatic coagulopathy. Abstract(oral) presentation[J]. *Int Soc Throm Haemost*, 2011.
- [5] Cohen MJ, Call M, Nelson M, et al. Critical role of activated protein C in early coagulopathy and later organ failure, infection and death in trauma patients[J]. *Ann Surg* 2012, 255(2): 379-385.
- [6] Hess JR, Brohi K, Dutton RP, et al. The coagulopathy of trauma: a review of mechanisms[J]. *J Trauma*, 2008, 65(4): 748-754.
- [7] Davenport R, Manson J, De'Ath H, et al. Functional definition and characterization of acute traumatic coagulopathy[J]. *Crit Care Med*, 2011, 39: 2652-2658.
- [8] Holcomb JB, Minei KM, Scerbo ML, et al. Admission rapid thrombelastography can replace conventional coagulation tests in the emergency department: experience with 1974 consecutive trauma patients[J]. *Ann Surg*, 2012, 256(3): 476-486.
- [9] Maegele M, Lefering R, Yucel N, et al. BouillonB & DG APGTS. Early coagulopathy in multiple injury: An analysis from the German Trauma Registry on 8724 patients[J]. *Injury-International Journal of the Care of the Injured*, 2007, 38(8): 298-304.
- [10] MacLeod JB, Lynn M, McKenney MG, et al. Early coagulopathy predicts mortality in trauma[J]. *J Trauma*, 2003, 55(1): 39-44.
- [11] Davenport R, Khan S. Management of major trauma haemorrhage: treatment priorities and controversies[J]. *Br J Haematol*, 2011, 155(5): 537-548.
- [12] Frith D, Goslings JC, Gaarder C, et al. Definition and drivers of acute traumatic coagulopathy: clinical and experimental investigations[J]. *J Thromb Haemost*, 2010, 8(25): 1919-1925.
- [13] Rizoli S, Nascimento BJr, Key N, et al. Disseminated intravascular coagulopathy in the first 24 hours after trauma: the association between ISTH score and anatomic pathologic evidence[J]. *J Trauma*, 2011, 71(5 Suppl 1): S441-447.
- [14] Rizoli SB, Scarpelini S, Callum J, et al. Clotting factor deficiency in early trauma-associated coagulopathy [J]. *J Trauma*, 2011, 71(5 suppl 1): S427-434.
- [15] Frith D, Davenport R, Brohi K. Acute traumatic coagulopathy[J]. *Curr Opin Anaesthesiol*, 2012, 25(2): 229-234.
- [16] Kozar RA, Peng Z, Zhang R, et al. Plasma restoration of endothelial glycocalyx in a rodent model of hemorrhagic shock[J]. *Anesth Analg*, 2011, 112(6): 1289-1295.
- [17] Brohi K, Cohen MJ, Ganter MT, et al. Acute traumatic coagulopathy: initiated by hypoperfusion: modulated through the protein C pathway? [J] *Ann Surg*, 2007, 245(5): 812-818.
- [18] Chesebro BB, Rahn P, Carles M, et al. Increase in activated protein C mediates acute traumatic coagulopathy in mice[J]. *Shock*, 2009, 32(6): 659-665.
- [19] Johansson PI, Stensballe J, Rasmussen LS, et al. A high admission syndecan-1 level, a marker of endothelial glycocalyx degradation, is associated with inflammation, protein C depletion, fibrinolysis, and increased mortality in trauma patients[J]. *Ann Surg*, 2011, 254(2): 194-200.
- [20] Rourke C, Curry N, Khan S, et al. Fibrinogen levels during trauma hemorrhage, response to replacement therapy, and association with patient outcomes[J]. *J Thromb Haemost*, 2012, 10(7): 1342-1351.
- [21] Kushimoto S, Shibata Y, Yamamoto Y. Implications of fibrinogenolysis in patients with closed head injury[J]. *J*

Neurotrauma, 2003, 20(4): 357-363.

- [22] Raza I, Davenport R, Rourke C, et al. Activation of fibrinolysis in trauma patients without functional lysis on thromboelastometry[J]. J Thromb Haemost, 2012.
- [23] Shakur H, Roberts I, Bautista R, et al. Effects of tranexamic acid on death, vascular occlusive events, and blood transfusion in trauma patients with significant haemorrhage (CRASH-2): a randomised, placebo-controlled trial [J]. Lancet, 2010, 376(9734): 23-32.
- [24] Jimenez JJ, Iribarren JL, Lorente L, et al. Tranexamic acid attenuates inflammatory response in cardiopulmonary bypass surgery through blockade of fibrinolysis: a case con-

trol study followed by a randomized double-blind controlled trial[J]. Crit Care, 2007, 11(6): R117.

- [25] Kutcher ME, Redick BJ, McCreery RC, et al. Characterization of platelet dysfunction after trauma[J]. J Trauma Acute Care Surg, 2012, 73(1): 13-19.
- [26] Schochl H, Nienaber U, Hofer G, et al. Goal-directed coagulation management of major trauma patients using thromboelastometry (ROTEM)-guided administration of fibrinogen concentrate and prothrombin complex concentrate[J]. Crit Care, 2010, 14(2): R55.

(收稿日期: 2013-12-08 修回日期: 2014-02-22)

· 综 述 ·

MRI 对比剂在细胞示踪中的研究进展

侯军霞 综述, 曾维政[△] 审校

(中国人民解放军成都军区总医院消化内科, 成都 610083)

关键词: 核磁共振成像; 对比剂; 细胞示踪

doi: 10.3969/j.issn.1671-8348.2014.18.043

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2014)18-2377-04

细胞治疗是近年来医学研究的热点,并展现了极好的前景,广泛应用于心血管疾病、神经系统疾病、糖尿病、肝病、肿瘤等领域。移植细胞在体内的迁移、分布、增殖及分化等因素直接关系到治疗能否成功,因此,非侵入性的细胞示踪技术成为焦点。目前常用的体内细胞示踪技术包括核素成像、光学成像和核磁共振成像技术。核素成像技术通过核素(如¹⁸F、^{99m}Tc、¹¹¹IN等)标记细胞,用PET/SPECT方法可以进行动态监测,敏感度及特异度高,但具有空间分辨率低、标记物存在辐射、半衰期短等缺点。光学成像技术则是通过生物发光剂和内源性荧光报告基因或是外源性探针来检测分子和生化进程的无创技术,具有高敏感性、无电离辐射、可量化及费用相对较低等优点,但是空间分辨率低、光源在生物体内易发生散射、有背景光干扰。核磁共振成像(magnetic resonance image, MRI)技术是利用体内固有的原子核(氢质子),在外加磁场的作用下产生共振现象,将获得的电信号经过计算机处理后,重建出人体某一层面的图像的诊断技术,由于空间分辨率高、敏感度强,无电离辐射、广泛应用于临床等特点,受到众多研究者的青睐。现将MRI对比剂在细胞示踪中的研究进展做一综述。

1 氧化铁颗粒

氧化铁通过缩短自旋-自旋弛豫时间/横向弛豫时间(T₂),产生负性对比效应,在T₂W₁和T₂*W₁上显示为低或无信号。为了增加氧化铁颗粒的稳定性和可溶性,降低对细胞功能的影响,用于细胞标记的氧化铁颗粒通常是由右旋糖酐、聚乙二醇(PEG)或聚苯乙烯等包裹Fe²⁺和Fe³⁺的氧化物的核构成^[1]。按照颗粒直径的大小,氧化铁颗粒可以分为:超顺磁氧化铁颗粒(superparamagnetic iron oxide, SPIO, 直径50~200 nm),超小超顺磁氧化铁(ultra small superpara-magnetic iron oxide, USPIO, 直径35 nm)和微米顺磁氧化铁纳米粒子(monocrystalline iron oxide nanocompound, MPIO, 直径约1

μm)^[1]。其中MPIO含铁量最高,是最敏感的对对比剂,但因其由聚苯乙烯包被而成,不能被生物降解,长期存留在体内的影响未知,因此限制了MPIO在动物研究及临床中的应用^[2]。

迄今为止,SPIO是惟一被批准用于临床的对对比剂。因其可被肝、脾、骨髓、淋巴结中的巨噬细胞吞噬而显影,早在1996年美国FDA就批准SPIO用于临床作为特异性的肝脏对比剂使用。SPIO具有生物降解性,被细胞代谢后可进入正常血浆铁池与血红蛋白结合或参与其他代谢过程^[3]。通常用于MRI细胞示踪的SPIO量约为10 pg/细胞,有研究表明,该剂量对细胞没有表现出明显的不良反应,并且细胞内铁的代谢较慢,但较高浓度的铁(>20 pg)对细胞具有毒性作用,因为游离铁离子在细胞内产生羟自由基可致细胞DNA变性^[4-6]。

在健康志愿者大腿皮下注射结核杆菌诱导皮肤炎症,并将SPIO标记后的外周血单核细胞静脉输注到志愿者体内,MRI可观察到SPIO标记细胞迁移到炎症皮肤,且皮肤活检证实了普鲁士蓝染色阳性细胞存在^[7]。SPIO标记间充质干细胞后移植到多发性硬化症和脊髓侧索硬化症患者的鞘膜腔及脑室内,应用MRI观察细胞的迁移和分化,未发现与SPIO标记有关的病理改变,表明SPIO用于临床是安全可行的^[1]。

SPIO及细胞表面均带负电荷,不易通过胞吞或胞饮作用进入非吞噬细胞体内,为增加细胞标记效率,目前最常用的方法是将SPIO颗粒包被上多聚阳离子从而使促SPIO与细胞膜结合,促进吞噬。常用的转染试剂有多聚赖氨酸、鱼精蛋白硫酸酯、阳离子脂质体等,通过简单的孵育即可以标记细胞^[1]。其他标记方法有电穿孔和超声脉冲等。

尽管如此,SPIO作为MRI细胞示踪剂仍有一些局限性:(1)敏感度相对较低;(2)随着移植细胞迅速分裂,SPIO浓度会被稀释;(3)标记细胞死亡后被吞噬细胞或其他细胞吞噬,出现假阳性;(4)由于出血灶内含有含铁血黄素,与标记细胞不易