DOI:10.16016/j.1000-5404.1987.04.008

实验性失血性休克时血小板功能的变化

胡 森* 陆熙昶 胡德耀 范成国 刁友芳 侯淦泉

（野战外科研究所）

提 要 本实验从粘附、聚集和释放三方面系统观察了家兔失血性休克早期血小板功能的变化。结果表明：休克早期血小板功能显著增强。粘附率、聚集率、血5-羟色胺（5-HT）和血栓素B_2（TXB_2）水平显著升高。随休克时间延长，粘附和聚集逐渐抑制，而5-HT和TXB_2水平进行性升高。提示血小板释放的5-HT和TXA_2是参与失血性休克发展的重要体液因素。

关键词 失血性休克；兔；血小板功能；5-羟色胺；血栓素

血小板功能的变化是休克研究中的重要课题。但迄今为止，从粘附、聚集和释放三方面系统研究失血性休克血小板功能变化的报告甚少。因此，本研究的目的是观察家兔重度失血性休克时血小板粘附功能、聚集功能以及血中5-HT和TXB_2含量的变化，探讨血小板功能改变在失血性休克发展过程中的作用。

材料和方法

一、实验分组和准备

健康成年日本种系大耳兔66只，雄性，体重3.09±0.05kg。随机分成休克（n=36）和对照（n=30）两组。戊巴比妥钠30mg/kg静脉麻醉，气管切开插管。自颈外静脉和颈总动脉分别插入聚乙烯塑料管至右心房腔静脉入口处和左心室或主动脉根部。腔静脉管备采血用，主动脉管连接血压计，监测平均动脉血压（MAP）。休克组动物经颈总动脉快速放血，5～7min内使平均动脉血压下降到40mm Hg，观察3h后放血活杀。分别于放血前10min和放血后30、60、120和180 min抽血测定血小板功能（休克组和对照组各一半动物测定血小板粘附和聚集，另一半动物测定5-HT和TXB_2）。整个实验除用含肝素生理盐水（12.5u/ml）保持管道通畅外，不另给抗凝剂，且不予输血或输液。

二、血小板功能的测定

（一）血小板粘附：用玻璃珠柱法。使血液在20 s内均匀通过有刻度的玻璃珠柱（上海玻璃厂产品），计数通过前后的血小板数，按公式计算血小板粘附率。

$$\text{血小板粘附率}\ (\%) = \frac{A-B}{A} \times 100\%$$

A为通过玻璃珠柱前血小板数，B为通过后血小板数。重复试验：批内变异系数小于10%（n=3）。

（二）血小板聚集：用光电比浊法。采用PAM-2型PPP自动平衡血小板聚集仪测定[1]。测定条件，用0.1M磷酸缓冲液（pH7.4，渗透压300mOsm/kg H_2O），温度调控于37.0±0.1℃，富血小板血浆（PRP）中血小板数控制在25±2万/mm^3。聚集剂采用二磷酸腺苷（ADP），以磷酸缓冲液稀释，测定ADP终浓度为10μM时诱导的血小板5 min最大聚集百分率的变化。重复性：同一批血标本1h内测定4次，变异系数分别为5.2%，4.9%，3.8%和4.5%（n=5）。

（三）血小板释放：测定主动脉血清5-HT和腔静脉血浆TXB_2含量。

血清5-HT测定采用改良Curzon法[2]，在日本岛津RF-520型荧光分光光度计上测定。5-HT硫酸肌酐系瑞士进口分装。回收率为85.80±12.08%（X±SD）。

血浆TXB_2测定采用放射免疫法。血浆样品的收集提取，标准曲线制备和放免操作均按李振甲等方法[3]进行。（^3H）-TXB_2、TXB_2标准物和兔抗TXB_2血清均由解放军总医院中心实验室提供。

● 现在北京解放军304医院创伤外科中心研究室

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

最后在LKB-1217型自动液闪仪上计数，结果经Logit转换，计算每毫升血浆中TXB_2含量(pg/ml)。标准曲线r=0.99，标准TXB_2回收率（X±SD）为91.0±3.8%（n=4），同一批实验中测定两种浓度血浆样品，变异系数为6.9%和8.2%（n=4）。

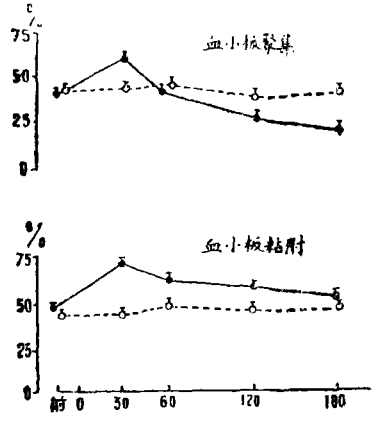
结　果

一、重度失血性休克模型的复制

休克组动物放血前MAP为100.2±2.9mmHg。休克过程中最大失血量为30.6±1.0ml/kg体重。开始失代偿性血压下降的平均时间为低血压后148 min（115～180min）。休克后180minMAP为33.5±1.4mmHg。休克过程中，休克组36只兔有5只死亡，死亡率为13.9%。

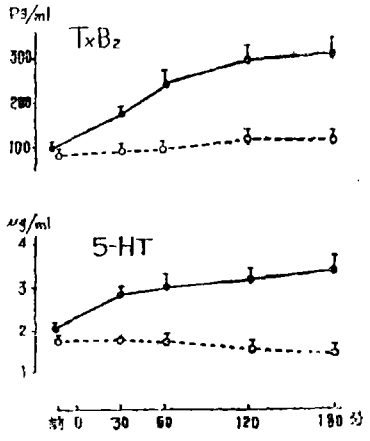
二、血小板功能的变化

休克30min血小板粘附率、聚集率、5-HT和TXB_2水平显著升高。与放血前相比，血小板粘附率增加52.9%（P<0.001），血小板聚集率增加56.8%（P<0.001），5-HT增加36.7%（P<0.01），TXB_2增加62.6%（P<0.01）。但随着休克时间的延长，粘附率和聚集率逐渐回降。粘附率下降较慢，于3 h恢复到放血前水平。聚集率则下降较快，1 h即已恢复到放血前水平，并继续降低，休克2 h和3 h分别比放血前减少29.9%（P<0.01）和46.4%（P<0.001）（图1）。而5-HT和TXB_2水平持续升高，休克3 h达到最高值，分别比放血前升高63.7%和195.3%（P均<0.001）（图2）。对照组粘附率、聚集率、5-HT和TXB_2水平在各相应时相无显著改变（P>0.50）（表1）。



休克组 •—•　　对照组 ○---○

图1　失血性休克血小板聚集率和粘附率的变化



休克组 •—•　　对照组 ○---○

图2　失血性休克TXB_2和5-HT的变化

讨　论

血小板功能的变化是休克时血细胞的主要变化之一。自从Swank[4]首次测定和报告失血性休克血小板粘附和聚集性改变后，休克时血小板功能的变化及其病理生理学意义已经受到广泛重视[5]。但从粘附、聚集和释放三方面观察并讨论血小板功能变化规律的报告甚少。本实验在家兔失血性休克模型的各个时相系统观察了血小板粘附率、聚集率和反映血小板释放功能的5-HT、TXB_2的动态变化。结果表明：休克早期血小板粘附率、聚集率和血5-HT、TXB_2水平均显著升高，随着休克时间延长，粘附和聚集逐渐抑制，而血5-HT和TXB_2水平则持续升高。

失血性休克时血小板功能改变的机理尚不十分清楚。通常认为休克时血小板功能增强可能是机体对失血的应激反应之一[5]。斋藤公男等[6]证明，狗在失血性休克低血压即

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.n

表1 失血性休克血小板功能的改变

	组别	例数	放血前	休克(min) 30	60	120	180	F值	
血小板粘附(%)	休克组	18	48.34±1.99	73.93±1.37***	62.89±1.28***	60.76±1.79**	53.74±8.34	36.7474	(P<0.001)
	对照组	15	43.32±2.38	42.08±2.03	46.20±327	44.92±3.79	46.71±269	0.3855	(P>0.05)
血小板聚集	休克组	18	38.4±1.3	60.2±1.7***	39.1±2.4	26.9±1.9**	20.6±1.3***	227.2238	(P<0.001)
	对照组	15	42.8±1.4	40.0±1.4	41.3±1.9	38.2±21	41.2±1.7	0.3775	(P>0.05)
五羟色胺(μg/ml)	休克组	12	2.101±0.176	2.873±0.226**	2.930±0.285**	3.264±0.228***	3.440±0.380***	17.7015	(P<0.001)
	对照组	7	1.857±0.140	1.850±0.007	1.801±0.123	1.628±0.102	1.593±0.088	1.8690	(P>0.05)
血栓素B_2	休克组	13	107±7	174±11**	248±27**	303±29***	316±36***	20.7764	(P<0.001)
	对照组	8	86±11	96±8	105±13	124±18	124±12	1.7461	(P>0.05)

双因素方差分析(仅列出处理组间F值，以下同)；对照组各值系与休克组相对应时相测得，以下同。*系与放血前值相比。*P<0.05；**P<0.01；***P<0.001；未标出者P>0.05。

刻，血小板聚集功能即已显著增强，提示失血可使血小板活化 (Platlet activating)。血小板活化可能与下列因素有关，即失血后血管收缩，血流改变，脾脏释放出高反应性幼稚型血小板以及血中儿茶酚胺、ADP、5-HT、TXA_2 等血小板功能诱导剂浓度显著升高等。休克早期，血小板粘附和聚集是可逆的，表现为粘附和聚集的迅速恢复。休克晚期，内皮细胞损伤，胶原暴露，释放Ca^{++}和凝血酶，使血小板粘附于血管壁，发生不可逆聚集，最后形成微血栓。血小板粘附和聚集后可释放多种生物活性物质。其中以5-HT和TXA_2同休克的关系最为密切。5-HT和70年代中期发现的TXA_2主要由血小板释放，此外也可由腹腔内脏和血管壁产生。它们都能强烈收缩血管（尤其是肺血管）和细支气管，并能促进血小板聚集和白细胞粘附。感染性休克中，已证明5-HT和TXA_2与休克早期的肺动脉高压、呼吸功能不全以及压力性肺水肿形成有关，是促进休克发展的重要体液因素[7-9]。而在失血性休克，对5-HT的报道不尽相同。TXA_2的变化及对肺的影响则未见系统报道。本实验结果表明，随着休克发展，5-HT和TXB_2水平持续升高，提示5-HT和TXA_2参与失血性休克的发展过程，可能是引起DIC和呼吸功能不全导致不可逆休克的重要体液因素。最近Bitterman等报告在猫失血性休克模型上使用TXA_2受体拮抗剂取得了良好的治疗效果就是有力的佐证[10]。

随着休克时间延长，一度增强的血小板粘附和聚集逐渐抑制，其机理不很清楚。可能与随着休克发展而出现的血小板内代谢抑制、能量耗竭、酸中毒加重以及血中PGI_2和FDP等抑制物增多有关。随休克发展，血小板粘附和聚集逐渐抑制，而5-HT和TXB_2水平持续升高的实验结果提示，在失血性休克的发展过程中，血小板释放的5-HT和

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n

TXA_2等血管活性物质比血小板粘附和聚集功能的改变具有更重要的意义。

参 考 文 献

1. 忻伟钧，等。一种改进的自动平衡血小板聚集仪。中华物理医学杂志 1983；12：227
2. Cuzon G, et al. Rapid for the determination of 5-hydroxytryptamine and 5-hydroxyin doleacetic acid in small regions of rat brain. Brit J Pharmacol 1970; 39:653
3. 李振甲，等。血浆血栓素B_2放射免疫分析法。解放军医学杂志 1985；10：35
4. Swank RL. Adhesiveness of platelets and leukocytes during acute exsanguination. Am J Physiol 1962;202:261
5. 奥秋晟・斉藤公男。ショックとmicroaggregation。临床麻醉 1980；4:1253
6. 奥秋・他。出血性ショックにおける血小板凝集能に関する研究（第一报）。麻醉 1977；26:287
7. Almqvist PM, et al. Treatment of experimental canine endotoxin shock with ibuprofen, a cyclooxygenase inhibitor. Circ Shock 1984;13:227
8. Yellin SA, et al. Prostacyclin and thromboxane A in septic shock: Species differences. Circ Shock 1986;20:291
9. Huval WV, et al. Role of serotonin in patients with acute respiratory failure. Ann Surg 1984;200:166
10. Bitterman H, et al. Beneficial actions of thromboxane Receptor antagonism in hemorrhagic shock. Circ Shock 1986;20:1

Platelet Function Changes in Experimental Hemorrhagic Shock

Hu Sen, et al (Research Institute of Surgery, Third Military Medical College)

The effects of hemorrhagic shock on the platelet functions in non-heparinized rabbits were studied. It was found that the platelet adhesiveness and aggregation and the pasma level of serum serotonin and thromboxane B_2 significantly increased in the early period of hemorrhagic shock. Thereafter, as the shock was progressing, the platelet adhesiveness and aggregation were gradually inhibited while plasma level of serotonin and thromboxane B_2 increased further and reached the peak in the 3rd hour after the onset of shock.

The results indicated that the release of vasoactive substances such as serotonin and thromboxane after the activation of platelets seems to play a more important role than platelet adhesion and aggregation in the pathogenesis of hemorrhagic shock.

Key words: Hemorrhagic shock; Platelet functions; Thromboxane; Serotonin; Rabbit

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.n