

DOI:10.3724/SP.J.1008.2009.00249

性别差异对脓毒症大鼠血小板活化的影响

胡进宇, 李金宝, 邓小明*

第二军医大学长海医院麻醉科, 上海 200433

[摘要] **目的:**探讨性别差异对脓毒症大鼠血小板活化的影响。**方法:**40只健康SD大鼠(雌雄各半)随机分为4组($n=10$):雄性假手术组、雌性假手术组、雌性脓毒症组、雄性脓毒症组。后两组盲肠结扎穿孔(CLP)法制作脓毒症动物模型,假手术组不行盲肠结扎穿孔。术后24h留取大鼠血液标本,行血小板计数检测,采用ELISA方法检测 β 血小板球蛋白(β -TG)表达情况,采用放射免疫测定法检测大鼠血清雌二醇(E2)含量。**结果:**脓毒症雌、雄性大鼠血小板计数均下降,但雌性大鼠明显高于雄性($P<0.01$)。脓毒症雌、雄性大鼠血清 β -TG表达均升高,但是雌性大鼠表达量明显低于雄性大鼠($P<0.01$)。雌、雄性脓毒症大鼠全血血小板计数与相应性别大鼠E2水平显著正相关,血清 β -TG水平与相应性别大鼠E2水平显著负相关($P<0.05$)。**结论:**脓毒症的血小板活化存在性别差异,内源性雌激素可能介导了对雌性脓毒症大鼠血小板的保护作用。

[关键词] 血小板;脓毒症;性别因素;雌激素类

[中图分类号] R 631 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2009)03-0249-03

Gender difference in activation of platelets in septic rats

HU Jin-yu, LI Jin-bao, DENG Xiao-ming*

Department of Anaesthesiology, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

[ABSTRACT] **Objective:** To investigate the influence of gender difference on the activation of platelets in septic rats. **Methods:** Totally 20 female and 20 male SD rats were randomly divided into four groups: male sham-operated group, female sham-operated group, female septic group, and male septic group, with each group containing 10 rats. Sepsis model in the last two groups was produced by cecal ligation and puncture (CLP); rats in the sham-operated group received no CLP. The rats were sacrificed 24 hours after surgery; the blood samples were collected for blood routine test; and the serum β -TG levels were detected by ELISA assay. Serum estrogen (E2) levels were detected by radioimmunoassay. **Results:** The blood platelet counts were decreased in both septic rats of both genders; the count in female rats was significantly higher than in the male rats ($P<0.01$). The serum β -TG levels were increased in septic rats of both genders; the level in the female rats was significantly lower than that in the male rats ($P<0.01$). The blood platelets count in female or male septic rats was significantly positive correlation with the level of serum estrogen and the β -TG expression in female or male septic rats was significantly negative correlation with the level of serum estrogen ($P<0.05$). **Conclusion:** There is a gender difference in the activation of platelets in septic rats, and the endogenous estrogen may have protective effect on the platelets of female septic rats.

[KEY WORDS] blood platelets; sepsis; gender factors; estrogens

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2009, 30(3): 249-251]

几乎所有脓毒症患者均存在凝血系统活化^[1],并可促进脓毒症的发展,而血小板在炎症和凝血之间复杂的相互影响中发挥重要的中介作用^[2-3]。雄性脓毒症个体死亡率(或病死率)明显高于雌性个体^[4-5]。这可能与雄性个体血浆中抗炎细胞因子白细胞介素10(IL-10)浓度明显低于雌性个体有关^[6],但确切机制尚未明确。本研究以盲肠结扎穿孔(CLP)法制作脓毒症大鼠模型,观察性别差异对脓

毒症状态下血小板活化的影响,进一步从血小板活化的角度研究发生此现象的病理机制,探讨内源性雌激素对脓毒症大鼠血小板的保护作用,为脓毒症的防治提供新策略。

1 材料和方法

1.1 主要材料及试剂 β -血小板球蛋白(β -TG)酶联免疫(ELISA)试剂盒购自 Adlitteram 公司。雌二

[收稿日期] 2008-08-06 **[接受日期]** 2008-11-21

[作者简介] 胡进宇, 博士生. E-mail: hujy11@163.com

* 通讯作者(Corresponding author). Tel: 021-81873484, E-mail: xmdeng@anesthesia.org.cn

醇(E2)放射免疫检测试剂盒由 Sigma 公司提供。

1.2 实验分组及处理 健康 SD 大鼠 40 只,雌雄各半,体质量 180~220 g,购自第二军医大学实验动物中心。大鼠随机分为 4 组(每组 $n=10$):雄性假手术组、雌性假手术组、雌性脓毒症组、雄性脓毒症组。后两组采用盲肠结扎穿孔(CLP)法制备脓毒症大鼠模型;乙醚吸入麻醉下行无菌开腹手术,距盲肠末端 1/3 处用 7-0 丝线结扎盲肠,用 18G 针头在被结扎盲肠上对穿 1 次,按生理位置还纳肠管。术毕逐层关腹,并于腹壁皮下注射林格液 50 ml/kg 进行抗休克处理。假手术组行同样步骤,但不行盲肠结扎穿孔。术后自由进食、进水。术后 24 h 于麻醉状态下无菌经颈总动脉抽血 5 ml,部分留取血清于 -70°C 保存待测。

1.3 各指标的检测 利用全自动血细胞计数仪检测各组动物全血血小板计数。将血清标本于室温下利用 β -TG ELISA 检测试剂盒检测各组动物血清中 β -TG 含量。利用放射免疫(双抗)测定方法检测各组动物血清中 E2 含量。

1.4 统计学处理 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 11.0 统计处理软件进行 t 检验及相关性分析, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 全血血小板计数测定 雌、雄性假手术组大鼠全血血小板计数差异无统计学意义;CLP 术后 24 h,雄性脓毒症组大鼠全血血小板计数显著低于雌性脓毒症组($P < 0.01$,表 1)。

表 1 各组大鼠血小板计数、血清 β -TG 及 E2 含量
Tab 1 Levels of PLT, β -TG, and E2 in each group

Group	$(n=10, \bar{x} \pm s)$	
	PLT ($\times 10^9/\text{L}$)	β -TG $\rho_{\text{B}}/(\text{ng} \cdot \text{ml}^{-1})$
Male sham-operated	484 \pm 36	4.66 \pm 1.28
Female sham-operated	512 \pm 41	3.98 \pm 0.97
Female septic	327 \pm 40 **	30.35 \pm 4.61 **
Male septic	265 \pm 68	36.71 \pm 5.53

** $P < 0.01$ vs male septic group

2.2 血清 β -TG 含量测定 雌、雄性假手术组大鼠血清中 β -TG 含量差异无统计学意义;CLP 术后 24 h,雄性脓毒症组大鼠血清中 β -TG 含量显著高于雌性脓毒症组($P < 0.01$,表 1)。

2.3 血清 E2 含量测定 雌、雄性假手术组大鼠血清中 E2 含量分别为(5.88 \pm 1.09) ng/L 和(0.95 \pm 0.30) ng/L,CLP 术后 24 h,雌、雄性脓毒症组大鼠血清中 E2 含量与各组假手术组差异有统计学意义

(6.39 \pm 1.30、1.10 \pm 0.25; $P < 0.01$)。

2.4 E2 水平与全血血小板计数及血清 β -TG 的相关性 雌、雄性大鼠全血血小板计数与相应性别大鼠 E2 水平显著正相关,血清 β -TG 水平与相应性别大鼠 E2 水平显著负相关($P < 0.05$,表 2)。

表 2 雌、雄性大鼠血小板计数及 β -TG 表达与血浆中雌二醇(E2)含量相关分析

Tab 2 Correlation of blood platelet counts and β -TG expression with serum E2 levels in male and female rats

Group	r value	P value
Female(PLT/E2)	0.912	0.015
Male(PLT/E2)	0.915	0.014
Female(β -TG/E2)	-0.892	0.017
Male(β -TG/E2)	-0.867	0.028

3 讨论

血小板在止血中有重要作用,但是有越来越多的证据表明其参与诱导炎症和抵抗感染,其在脓毒症的发生、发展过程也发挥重要作用^[7]。Mavrommatis 等^[8]研究发现,创伤和全身感染患者普遍存在凝血系统紊乱,在病情严重的脓毒症患者中血小板减少是明确的危险因素,并且脓毒症病情的严重性和血小板计数的下降程度相关。本实验从临床上脓毒症患者预后存在性别差异的现象入手,从血小板活化的角度探讨性别差异对脓毒症大鼠血小板计数和 β -TG 表达的影响,为脓毒症时凝血系统紊乱的防治提供新的思路。

β -TG 是由 4 个肽链组成的碱性蛋白质,是血小板 α 颗粒中所含的特异蛋白质,也是血小板释放的特异蛋白。当血小板被某些生物活性物质激活时,大量 β -TG 从血小板内释放到血小板外,故它可称为血小板活化的标志物。本研究结果表明,雌、雄性假手术组大鼠血小板均有 β -TG 的微弱表达,两组比较差异无显著性;在 CLP 术后 24 h 雌、雄性大鼠体内该指标均增高,但雌性较雄性明显偏低($P < 0.01$)。脓毒症雌、雄性大鼠血小板计数都下降,但雌性大鼠明显高于雄性($P < 0.01$)。结合进一步的相关分析表明,雌、雄性大鼠血小板活化程度与雌激素水平呈负相关,说明内源性雌激素可能通过抑制血小板的活化,从而介导了对雌性脓毒症大鼠血小板的保护作用。但是雌激素抑制血小板活化的具体机制尚有待进一步研究。

Knöferl 等研究^[9]表明,雌激素在缺血再灌注损伤过程中可以保护机体的免疫功能,而且注射外源性雌激素可以改善雄性个体的免疫抑制状态;高浓度的雌激素能消除活性自由基的毒性作用,增加有益因子

的水平,降低有害因子(TNF- α 、IL-6 等)的水平,减轻炎症反应对机体的损害;也有研究^[10]表明雌激素对脓毒症大鼠的肝脏和肠道功能具有明显的保护作用。

本研究结果表明,雌雄性脓毒症大鼠血小板活化存在明显差异,内源性雌激素可能通过抑制血小板的活化来抑制脓毒症的发展。结合本实验结果我们认为,可将雌激素用于脓毒症以作为保护血小板等重要组织细胞免受或减轻内毒素损伤的干预措施。本研究初步探讨了性别差异及内源性雌激素对脓毒症大鼠血小板活化的影响,提示可以进一步研究雌激素与脓毒症时血小板活化的关系,为临床治疗脓毒症提供一条新的研究思路。

[参考文献]

[1] Nimah M,Brilli R J. Coagulation dysfunction in sepsis and multiple organ system failure[J]. Crit Care Clin,2003,19:441-458.
 [2] Levi M. Platelets at a crossroad of pathogenic pathways in sepsis[J]. J Thromb Haemost,2004,2:2094-2095.
 [3] Levi M, van der Poll T, Büller H R. Bidirectional relation between inflammation and coagulation[J]. Circulation, 2004, 109:2698-2704.

[4] Schröder J, Kahlke V, Staubach K H, Zabel P, Stüber F. Gender differences in human sepsis[J]. Arch Surg,1998,133:1200-1205.
 [5] Raju R, Chaudry I H. Sex steroids/receptor antagonist: their use as adjuncts after trauma-hemorrhage for improving immune/cardiovascular responses and for decreasing mortality from subsequent sepsis[J]. Anesth Analg,2008,107:159-166.
 [6] Asai K, Hiki N, Mimura Y, Ogawa T, Unou K, Kaminishi M. Gender differences in cytokine secretion by human peripheral blood mononuclear cells: role of estrogen in modulating LPS-induced cytokine secretion in an *ex vivo* septic model[J]. Shock,2001,16:340-343.
 [7] von Hundelshausen P, Weber C. Platelets as immune cells: bridging inflammation and cardiovascular disease[J]. Circ Res, 2007,100:27-40.
 [8] Mavrommatis A C, Theodoridis T, Orfanidou A, Roussos C, Christopoulou-Kokkinou V, Zakyntinos S. Coagulation system and platelets are fully activated in uncomplicated sepsis [J]. Crit Care Med,2000,28:451-457.
 [9] Knöferl M W, Diodato M D, Angele M K, Ayala A, Cioffi W G, Bland K I, et al. Do female sex steroids adversely or beneficially affect the depressed immune responses in males after trauma-hemorrhage[J]? Arch Surg,2000, 135: 425-433.
 [10] Sener G, Arbak S, Kurtaran P, Gedik N, Ye ğen B C. Estrogen protects the liver and intestines against sepsis-induced injury in rats[J]. J Surg Res,2005,128:70-78.

[本文编辑] 贾泽军

• 读者 作者 编者 •

中草药名称中文、拉丁文及英文对照表(十五)

汉语拼音名	中文名	拉丁名	英文名
Luodishenggen	落地生根	<i>Herba Bryophylli Pinnati</i>	Air-Plant Herb
Luofumu	萝芙木	<i>Radix Rauwolfiae</i>	Devilpepper Root /Java Devilpepper Root
Luohanguo	罗汉果	<i>Fructus Siraitiae Grosvenorii</i>	Grosvener Siraitia
Luohansong	罗汉松	<i>Semen Podocarpi Macrophylli</i>	Kusamaki Seed
Luohuazizhu	裸花紫珠	<i>Folium Callicarpae Nudiflorae</i>	Nakedflower Beautyberry Leaf
Luole	罗勒	<i>Herba Ocimi</i>	Sweet Basil Herb
Luoshiteng	络石藤	<i>Caulis Trachelospermi</i>	Chinese Starjasmine Stem
Luoxinfu	落新妇	<i>Rhizoma Astilbes Chinensis</i>	Chinese Astilbe
Lurong	鹿茸	<i>Cornu Cervi Pantotrichum</i>	Hairy Antler
Lushuige	雾水葛	<i>Herba Pouzolziae Zeylanicae</i>	Sri Lanka Pouzolzia Herb
Luxiancao	鹿衔草	<i>Herba Pyrolae</i>	Chinese Pyrola Herb
Luying	陆英	<i>Herba Sambuci Chinensis</i>	Chinese Elder Herb
Mabao	马宝	<i>Calculus Equi</i>	Horse Bezoar
Mabaoer	马包儿	<i>Herba Zehneriae Indicae</i>	Indian Zehneria Herb
Mabiancao	马鞭草	<i>Herba Verbenae</i>	European Verbena
Mabo	马勃	<i>Lasiosphaera seu Calvatia</i>	Puff-ball
Machixian	马齿苋	<i>Herba Portulacae</i>	Parslane Herb
Madouling	马兜铃	<i>Fructus Aristolochiae</i>	Dutchmanspipe Fruit
Mahuang	麻黄	<i>Herba Ephedrae</i>	Ephedra Herb
Maidong	麦冬	<i>Radix Ophiopogonis</i>	Dwarf Lilyturf Tuber
Maifanshi	麦饭石	<i>Maifanitum</i>	Maifanite
Maijiao	麦角	<i>Ergota</i>	Ergot
Maimateng	买麻藤	<i>Caulis Gneti</i>	Common Jointfir Stem
Maiya	麦芽	<i>Fructus Hordei Germinatus</i>	Malt
Malan	马蓝	<i>Rhizoma et Radix Baphicacanthi Cusiae</i>	Common Baphicacanthus Rhizome & Root
Malan	马兰	<i>Herba Kalimeridis</i>	Indian Kalimeris Herb
Malinzi	马蔺子	<i>Semen Iridis Chinensis</i>	Chinese Iris Seed