

腹部开放伤合并海水浸泡时出凝血的变化

岑坚 杨平地 沈建良 黄有章 姜涛 王大鹏 段蕴铀

【摘要】 目的 探讨实验犬腹部开放伤合并海水浸泡后高渗及低温对机体出凝血系统的影响。方法 20 只犬致腹部开放伤后被随机分为对照组(不经过海水浸泡)和海水浸泡组,每组 10 只。于致伤前(0 h)及致伤后 1.5(打捞出水时)、4、8 和 12 h 检测两组内皮素-1(ET-1)、血小板 α -颗粒膜蛋白 140(GMP-140)、凝血酶原时间(PT)、活化部分凝血活酶时间(APTT)、D-二聚体、凝血因子 I 等变化。结果 海水浸泡后 PT、APTT 明显延长,D-二聚体、GMP-140、ET-1 明显增加,凝血因子 I 活性明显降低(P 均 <0.05)。与对照组比较,海水浸泡组 ET-1、PT、APTT、D-二聚体及凝血因子 I 活性均有明显变化,差异有统计学意义(P 均 <0.05),而 GMP-140 与对照组比较差异则无统计学意义(P 均 >0.05)。结论 腹部开放伤合并海水浸泡后可损伤血管内皮细胞,活化血小板,抑制凝血因子活性,引起凝血功能障碍、血栓形成和纤溶系统激活。

【关键词】 海水浸泡; 低温; 高渗; 凝血; 创伤

Change in coagulation after open abdominal wound subjected to seawater immersion CEN Jian, YANG Ping-di, SHEN Jian-liang, HUANG You-zhang, JIANG Tao, WANG Da-peng, DUAN Yun-you. Navy General Hospital of PLA, Beijing 100037, China

【Abstract】 **Objective** To explore the effects of hyperosmotic fluid and low temperature on hemorrhage and coagulation system after immersion of dogs with open abdominal wounds in seawater. **Methods** Twenty healthy dogs were subjected to open abdominal injury, then dogs were randomized equally into two groups: the control group ($n=10$) (without seawater immersion) and seawater immersion group ($n=10$). The variables of prothrombin time (PT), partial thromboplastin time (APTT), D-dimer and factor I, granule membrane protein-140 (GMP-140), endothelin-1 (ET-1) were determined. **Results** PT and APTT were significantly prolonged. D-dimer, GMP-140, and ET-1 were increased, while factor I was decreased after the dog with open abdominal wound was immersed in seawater (all $P<0.05$). Compared with the variables of control group, PT, APTT, D-dimer and factor I, ET-1 in seawater immersion group had markedly changed (all $P<0.05$) except GMP-140 at different time points (all $P>0.05$). **Conclusion** Obvious vascular endothelial cell dysfunction, platelet activation, inhibition of coagulation factor activity, coagulopathy, and disorders in thrombosis and fibrolysis system activation occur after dogs with open abdominal wounds are immersed in seawater.

【Key words】 seawater immersion; low temperature; hyperosmosis; blood coagulation; trauma

机体在外伤后经海水浸泡,可形成一个较陆地外伤复杂的伤情,主要特点为伤者体温急剧下降,处于危险的低温状态;在原发外伤基础上,机体内环境也随之发生一系列变化,如血液的高钠、高氯、高渗透压状态,经常伴有严重的电解质平衡紊乱及酸碱失衡,由此引发的多器官功能衰竭均是致死性的。但腹部开放伤合并海水浸泡对机体出凝血方面的影响,目前国内外尚缺乏有关报道。本研究中主要通过腹部开放伤后海水浸泡动物模型,对其出凝血变化进行观察,为临床救治提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 人工海水:由海军总医院动物实验室提供海盐,采用国家海洋局第三研究所配方配制,其主要指

基金项目:海军总后勤部司令部科研计划项目(04-3304)

作者单位:100037 北京,解放军海军总医院血液科

作者简介:岑坚(1966-),男(汉族),浙江省人,医学硕士,主治医师,Email:cenj@yeah.net.

标:渗透浓度($1\ 250.00 \pm 11.52$)mmol/L, pH 值 8.2, 钠离子浓度(630.00 ± 5.33)mmol/L, 钾离子浓度(10.88 ± 0.68)mmol/L, 氯离子浓度(658.80 ± 5.25)mmol/L。海水温度 19~21 °C, 实验室平均温度 25 °C。

1.2 动物分组及模型制备:成年杂种犬 20 只,雌雄不拘,体重 15~20 kg。按随机数字表法分为对照组($n=10$)和海水浸泡组($n=10$)。动物于术前禁食 12 h,采用氯胺酮(20 mg/kg)+速眠新(0.1 mg/kg)肌肉注射麻醉,术中以氯胺酮+速眠新注射液维持麻醉。经左颈总动脉、颈静脉插入双腔管,导管连接至多导生理记录仪监测并用于采集血标本。继续剔除腹部体毛,取剑突下正中切口至腹腔,长 6 cm。海水浸泡组将实验犬置于犬固定架上,于人工海水中持续浸泡 1.5 h 后缓慢平稳打捞出水,排干腹腔海水并缝合腹部伤口后进一步观察。对照组致伤方法同海水浸泡组,但致伤后不经过海水浸泡,直接置于

25 ℃ 的室内进行观察至实验结束。

1.3 监测指标:分别于致伤前(0 h)以及致伤后 1.5(打捞出水时)、4、8 和 12 h 观察两组动物的内皮素-1(ET-1)、血小板 α-颗粒膜蛋白(GMP-140)、凝血酶原时间(PT)、活化部分凝血活酶时间(APTT)、D-二聚体、凝血因子Ⅱ等指标。

1.4 统计学处理:数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间差异比较采用 *t* 检验, *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ET-1(表 1):海水浸泡组和对照组致伤后不同时间点 ET-1 较致伤前(0 h)明显增加(对照组 4 h 时除外);致伤后同一时间点海水浸泡组的 ET-1 较对照组明显增加,差异有统计学意义(*P* 均 < 0.05)。

2.2 GMP-140(表 2):海水浸泡组和对照组致伤后不同时间点 GMP-140 较致伤前(0 h)明显增加,差异有统计学意义(*P* 均 < 0.05),但两组 GMP-140 在致伤后同一时间点比较差异无统计学意义。

2.3 PT、APTT、D-二聚体(表 3):海水浸泡组致伤后 PT、APTT 均较致伤前(0 h)明显延长(*P* 均 <

0.05),而对照组致伤后不同时间点 PT、APTT 与致伤前(0 h)比较无明显变化或延长(*P* 均 > 0.05);除致伤后 8 h 外,其他时间点海水浸泡组的 PT、APTT 均较对照组明显延长,差异有统计学意义(*P* 均 < 0.05)。海水浸泡组和对照组致伤后不同时间点 D-二聚体均明显高于致伤前(0 h),差异均有统计学意义(*P* 均 < 0.05);致伤后同一时间点海水浸泡组的 D-二聚体均较对照组明显升高,差异亦有统计学意义(*P* 均 < 0.05)。

2.4 凝血因子Ⅱ(表 4):在两组都可以观察到,随着受伤时间的延长,凝血因子Ⅱ活性呈明显下降趋势(*P* 均 < 0.05)。除致伤后 1.5 h 外,其他时间点海水浸泡组的凝血因子Ⅱ活性均较对照组明显降低,差异均有统计学意义(*P* 均 < 0.05)。

3 讨论

外伤后经海水浸泡所致海水浸泡伤的伤情变化有以下特点:合并严重低温;血液出现由高钠、高氯引发的血浆高渗状态,以及严重的水、电解质平衡紊乱,伴有代谢性及呼吸性酸中毒;出现凝血障碍和微血栓形成^[1-2]。

表 1 两组动物不同时间点 ET-1 的变化($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	致伤前(0 h)	致伤后 1.5 h	致伤后 4 h	致伤后 8 h	致伤后 12 h
对照组	10	14.54±5.17	19.31±8.62 ^a	16.92±10.21	18.57±9.08 ^a	21.31±13.88 ^a
海水浸泡组	10	15.38±9.61	36.15±11.37 ^{ab}	38.96±16.80 ^{ab}	27.18±13.19 ^{ab}	31.83±15.35 ^{ab}

注:与本组 0 h 时比较,^a*P* < 0.05;与对照组同期比较,^b*P* < 0.05

表 2 两组动物不同时间点 GMP-140 的变化($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	致伤前(0 h)	致伤后 1.5 h	致伤后 4 h	致伤后 8 h	致伤后 12 h
对照组	10	10.32±2.18	15.52±2.77 ^a	14.60±3.19 ^a	15.07±4.31 ^a	13.81±3.98 ^a
海水浸泡组	10	9.83±1.91	16.24±3.94 ^a	15.38±2.80 ^a	14.22±3.29 ^a	14.93±4.53 ^a

注:与本组 0 h 时比较,^a*P* < 0.05

表 3 两组动物不同时间点 PT、APTT、D-二聚体的变化($\bar{x} \pm s$)

指标	组别	动物数	致伤前(0 h)	致伤后 1.5 h	致伤后 4 h	致伤后 8 h	致伤后 12 h
PT(s)	对照组	10	7.61±0.52	7.58±0.65	7.32±0.83	8.26±0.68	8.57±1.30
	海水浸泡组	10	7.45±0.64	10.58±1.34 ^{ab}	11.12±0.71 ^{ab}	10.53±0.98 ^a	12.38±2.30 ^{ab}
APTT(s)	对照组	10	26.82±11.26	29.91±15.36	27.08±10.88	31.10±17.59	32.45±16.75
	海水浸泡组	10	28.13±12.18	43.76±18.12 ^{ab}	53.79±36.38 ^{ab}	63.10±42.05 ^{ab}	58.24±35.28 ^{ab}
D-二聚体(mg/L)	对照组	10	0.41±0.18	0.62±0.31 ^a	0.75±0.41 ^a	0.83±0.45 ^a	0.95±0.37 ^a
	海水浸泡组	10	0.38±0.20	0.95±0.48 ^{ab}	1.24±0.35 ^{ab}	1.38±0.52 ^{ab}	1.44±0.49 ^{ab}

注:与本组 0 h 时比较,^a*P* < 0.05;与对照组同期比较,^b*P* < 0.05

表 4 两组动物不同时间点凝血因子Ⅱ活性的变化($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	致伤前(0 h)	致伤后 1.5 h	致伤后 4 h	致伤后 8 h	致伤后 12 h
对照组	10	(220.5±42.7)%	(212.3±35.6)%	(201.9±34.2)%	(175.5±38.0)% ^a	(153.3±25.8)% ^a
海水浸泡组	10	(214.3±39.1)%	(171.3±31.8)% ^a	(85.9±26.8)% ^{ab}	(76.5±28.1)% ^{ab}	(44.3±12.3)% ^{ab}

注:与本组 0 h 时比较,^a*P* < 0.05;与对照组同期比较,^b*P* < 0.05

机械因素、应激因子、内毒素和炎症因子等可损伤内皮细胞,促使内皮细胞分泌 ET-1^[3]。创伤后海水浸泡对内皮细胞的损伤有加重效应:首先创伤合并海水浸泡后,低温和高渗的海水沿血管破裂处进入,使细胞内脱水,细胞内溶质浓度和渗透压也相应增高^[4]。细胞内外的高渗状态可能从内、外两侧损伤细胞膜,使膜表面蛋白质的水分脱失,蛋白质变性。同时碱性、低温环境也有可能致膜表面酶的活性下降或丧失,从而造成细胞膜通透性增高,大量金属离子和水分进入胞内,最终引起细胞肿胀。血管内皮细胞的损伤则表现为细胞间规则纵行的皱裂变浅并且紊乱^[5]。其次海水中的细菌侵入并导致炎症介质的释放,这些炎症介质的最初靶细胞是内皮细胞。另外海水浸泡可导致严重的代谢性酸中毒,酸中毒的代谢产物,如酮体、乳酸等,对内皮细胞有损伤作用。这些因素都导致了海水浸泡伤动物内皮细胞的损伤要比单纯的创伤严重,而且我们观察到在海水浸泡的早期 ET-1 最高,说明刚脱离海水时内皮细胞的损伤最严重。

海水浸泡伤患者在伤后最早表现为受损的血管管壁收缩,致使血流减慢,同时,血小板被活化,血小板的黏附性和凝固活性增加。GMP-140 为血小板内的 α -颗粒膜糖蛋白,血小板静止时,GMP-140 存在于 α -颗粒膜上,血小板活化后, α -颗粒膜迅速与质膜融合,GMP-140 表达于细胞膜表面,继而部分脱落于血浆中,所以血浆中 GMP-140 的变化可以间接反映血小板的活化程度^[6]。我们观察到海水浸泡组和对照组致伤后 GMP-140 水平较致伤前明显升高,提示致伤后局部组织的内皮下胶原暴露激活血小板,促进 GMP-140 的表达。由于海水浸泡所致的血管内皮损伤要比对照组严重,血小板活化更为激烈,我们观察到海水浸泡组的 GMP-140 水平明显高于对照组,GMP-140 水平增高提示有血小板的活化和血栓的形成倾向。

同时我们还观察到,动物创伤并海水浸泡后 PT、APTT 较不经过海水浸泡者明显延长,原因可

能为低温可抑制血小板的活性,降低凝血因子的酶动力学活性,直接抑制内源和外源途径凝血^[7]。实验犬伤后的 PT、APTT 明显延长,早期可能与低温抑制凝血因子的活性有关,后期因血栓形成,大量凝血因子被消耗,其缺乏进一步加重。凝血因子 II (凝血酶原)是由肝脏合成维生素 K 依赖性因子,当激活时被水解掉 2 个碎片(F1+2)而形成的凝血酶,凝血因子 II 进行性降低的可能机制为经过较长时间凝血激活,造成凝血因子消耗增加。D-二聚体是交联纤维蛋白的特异性降解产物,血浆中含量明显增高意味着深静脉处已有血栓形成,如持续增高表明体内持续存在出血—凝血—血栓形成—纤溶的病理过程,病理检查也证实有静脉微血栓形成^[8]。

综上所述,外伤合并海水浸泡对各个器官功能都有影响,在血液系统出凝血方面以凝血功能障碍、血栓形成和纤溶系统激活为主要表现。

参考文献

- [1] 虞积耀,赖西南.海战伤合并海水浸泡伤的伤情特点及救治技术研究进展[J].解放军医学杂志,2004,29(12):1017-1019.
- [2] 李辉,虞积耀,鹿尔驯,等.胸部开放伤后海水浸泡对实验犬肝功能及形态学的影响[J].中国危重病急救医学,2001,13(4):213-215.
- [3] 闫红,赖西南,葛衡江.弹烧复合伤合并海水浸泡对血管内皮细胞止血功能的影响[J].第三军医大学学报,2004,26(3):189-192.
- [4] Doronin Iu G, Grigor'ev V V. Light optical and electron microscopic changes in striated muscle tissue under the effects of sea water and thymogen in experimental animals [J]. Biull Eksp Biol Med, 1992, 113(1): 94-96.
- [5] 赖西南,黄宏,吴国萍,等.海水浸泡火器伤失活肌组织的外科判定标准[J].中华航海医学杂志,2000,7(1):33-35.
- [6] Stenberg P E, McEver R P, Shuman M A, et al. A platelet alpha-granule membrane protein (GMP-140) is expressed on the plasma membrane after activation [J]. J Cell Biol, 1985, 101(3): 880-886.
- [7] 于丁宁,李辉.低体温的危害及治疗[J].国外医学外科学分册,2004,31(5):258-261.
- [8] 王育红,虞积耀,段蕴植,等.犬腹部开放伤合并人工海水浸泡后重要器官的病理变化[J].创伤外科杂志,2004,6(1):34-37.

(收稿日期:2007-11-02 修回日期:2008-02-20)
(本文编辑:李银平)

欢迎订阅 2008 年《中国危重病急救医学》杂志
 中华医学会和天津市天和医院主办,国家级核心期刊
 全国各地邮局订阅,邮发代号:6-58,定价:每期 8.6 元,全年 103.2 元
 刊社地址:天津市和平区睦南道 122 号天和医院内 邮编:300050 电话:022-23042150