

血小板超微结构、功能及其临床应用

马复先 编

空军总医院

血小板超微结构、功能及 其临床应用

马复先 编

C0144613



目 录

- 第一章 血小板一般的超微结构与功能
- 第二章 血小板膜、微管、致密体的超微结构及生物学特征与临床联系
- 第三章 β 血小板球蛋白与临床
- 第四章 机体应激状态与血小板
- 第五章 缺血性脑血管病与血小板
- 第六章 血小板与冠心病
- 第七章 急性心肌梗塞与血小板
- 第八章 弥漫性血管内凝血与血小板
- 第九章 血小板在止血和血液凝固中的作用
- 第十章 血小板功能缺陷性疾病
- 第十一章 白血病时血小板结构和功能的改变
- 第十二章 前列腺素、血小板与临床联系
- 第十三章 抗血小板药物
- 附录：
 - 有关血小板功能检查法

第一章：血小板一般的超微结构与功能

血小板是无核的小细胞，它是由巨核细胞胞质脱落下来的有膜包裹的碎片，它们正常是由骨髓产生的，在光学显微镜下，血涂上的血小板呈卵圆形或盘状。近几年来，由于电子显微镜的广泛应用，对巨核细胞和血小板超微结构和表面形态学的观察，及其功能研究方面有新的进展，现仅就有关方面简述如下：

一、巨核细胞超微结构

根据其成熟程度和发育阶段不同可分为：原巨核细胞、幼巨核细胞和巨核细胞几个阶段，这些细胞主要超微结构特点是：

（一）原巨核细胞

早期原巨核细胞与原粒细胞相似，随着细胞发育，体积变大，直径约15微米左右，细胞呈圆形或卵圆形。

细胞核由圆形或椭圆形逐渐变长、变大，在细胞表面多处产生凹陷。核内异染色质凝聚比原粒细胞粗大，核仁较多，有时多达5—7个，常染色质丰富，多居核中心位置，核膜孔清楚。

细胞质内有丰富的核糖体，糙面内质网短而分散，线粒体小而丰富，大多数呈圆形。高尔基氏器发育良好。

在原巨核细胞后期，胞质内出现少量界膜的细胞质颗粒

粒，即血小板颗粒。

（二）幼巨核细胞

细胞体积逐渐增大，直径从15微米增至50微米甚至更大，细胞外形不规则，细胞表面平滑，仅有少量微绒毛。

细胞核巨大，有大小不等的分叶，异染色质在核周凝集增加，核仁从明显到不明显。

细胞质内有丰富的核糖体和糙面内质网，线粒体呈小圆形分散于细胞质中，高尔基氏器发育良好，分成几个区，可能参与血小板颗粒的形成。细胞质内糖原颗粒增多，常呈簇状分布。在幼巨核细胞质内还出现一种血小板分界膜系统（Demarcation membrane System 简称为DMS）。DMS是一种滑面内质网，它由细胞膜内陷形成，也有人把它看作滑面内质网。DMS开始局限于细胞的一个部位，随着细胞成熟，DMS不断增多，并扩展到整个细胞质，最后将形成血小板的胞质膜。此外，幼巨核细胞质内有时可见完整的血细胞和血小板。

（三）巨核细胞

巨核细胞体积大，直径可达100微米或以上，外形不规则。

细胞核形状不规则，可分很多叶，异染色质在核周明显凝聚，偶见核仁。

细胞质内有大量血小板分界膜系统（DMS），使整个细胞呈海绵状，血小板就是沿着DMS裂开而形成的，血小板的形成：由巨核细胞质内划出一定的区域，分界裂隙围绕着这一定的区域全部融合起来，并以单位膜将它包围起来，使它与巨核细胞的其余部份分离，成分一个血小板。因此，

巨核细胞胞质内具有同血小板相同的细胞器。

血小板似乎按以下方式被释放于窦状隙：巨核细胞的伪足行经内皮细胞的连接处伸入窦状隙腔内，并在血小板的特殊细胞器已经流入这些突起之后便分离出血小板进入血流。

二、血小板超微结构

在透射式电镜下，血小板超微结构可分为三个区即：

（一）外周区：在此区域内有被覆于血小板最外层的细胞质膜；此膜为三层结构的质膜，此膜显示ATP的活性。据报道膜的外致密层比其内致密层厚些；质膜被一层低密度的，厚约 $150\sim 200\text{\AA}$ 的“微毛状衣”覆盖。此外衣显然是由负电荷的粘性多糖，特别是唾液酸组成。在表面下陷形成衬以有微线毛衣的陷窝和部份互相交通的空泡或“小管”，它们与来自细胞外面的物质和溶液的吞噬作用或胞饮作用有关。

有与表面平行的粗 $200\sim 400\text{\AA}$ 的微管环，每一个微管由 $10\sim 14$ 根粗约 $35\text{\AA}$ 的亚丝组成。它们大概为血小板的形态提供结构上的支持。

（二）溶胶区：紧挨表面区，可见大量粗约 $50\text{\AA}$ 的微丝，此微丝可能由“血栓收缩蛋白”即一种肌动球蛋白样的收缩蛋白组成。此种血栓收缩蛋白已从血小板微丝丰富的动物分离出来。

（三）细胞器区：有人称此为颗粒区，在此区内有：

“a”颗粒：是血小板中最多的颗粒，这些颗粒呈中等致密度，外有包膜，没有致密的核样物质，内含有酸性磷酸酶、磷脂、5-羟色胺及其它胺类等，有人认为血小板5-

羟色胺含量与a颗粒的含量是平行的。

“r”颗粒：为小型小泡和小管。

“β”颗粒：实际上为小型线粒体。

“δ”颗粒：为含有铁蛋白的吞噬体。它们具有清亮的中心，往往没有明显的介膜。

“ε”颗粒为糖原颗粒。

牛眼样颗粒：外形和大小均与a—颗粒相似，但有一个高电子密度的核心，整个颗粒形似牛眼。核中心有酸性粘多糖，有时可见横纹结构。

致密颗粒：一般多呈圆形，较a—颗粒为小，电子密度很高，致密的基质与界膜间有一空隙，颗粒内含有5—羟色胺等。

Paris Constantinides 等将牛眼颗粒和致密颗粒归为a—颗粒之中；我们认为这些颗粒在高倍率放大下，超微结构并不完全相同，功能上也有区别，将此划分开来，对于研究血小板可能更有益。

一般来说正常情况下人类血小板的大小比较固定，多数为2—5微米，其中以3微米左右为多见。其形态并不完全一致，与血小板应日令不同，所在的部位和功能状态等因素有关，除此之外，血小板的形态还受环境条件如理、化因素等的影响。

血小板的超微结构反其功能，如果超微结构发生变化，必然影响到功能，因此研究血小板的超微结构，对于临床上某些疾病因探讨、诊断和治疗等方面有益。

常用实验动物与人类血小板的基本超微结构相似，但是在血液中所含数量、大小和形态并不完全相同。

三、在扫描电镜下血小板相：

人类血液经过抗凝剂处理，分离、提纯或用低分子右旋糖酐处理并分层等方法，可获得富血小板悬液，再将此悬液经干燥和镀膜后，可制成扫描电镜样品。在扫描电镜下，血小板呈多种形态，其中以球形和卵形为多见，表面凹凸不平，有皱襞或棘状突起，也有呈伪足状者，偶见树突形。多数电子密度比较一致。破坏形血小板电子密度降低，表面结构模糊不清，多呈球形。

我们在研究人类动脉粥样硬化内膜表面扫描电镜相时，在部份标本中查到血小板，这些血小板多粘附于斑块表面，彼此聚集成堆，堆中血小板多呈树突形，少部份呈球形或卵圆形，堆中心区的血小板结构模糊不清，周围区血小板比较完整。单个血小板多呈蜘蛛状粘附于斑块表面，也可见血小板相嵌于蛀虫状变部位中。

采用冷冻断裂办法处理血凝块样品，用扫描电镜分层观察，可见血块中心部位血小板数量最多，多数结构模糊不清，但可辨认为血小板。也有结构完整者，血块表面部位血小板数量仅次于中心部位，其余部位比较少见，血小板掺杂于红细胞之间，与红细胞粘连在一起。上述现象见于新鲜血凝块，在陈旧的血块中几乎找不到完整的血小板。

将作血小板粘附和聚集试验的样品，经镀膜处理后，在扫描电镜下，可找到血小板球形、树突形、过渡形、展平形、破坏形和聚集堆。这些血小板的电子密度并不一致，以球形血小板电子密度为最高，破坏形最低。聚集堆中血小板的电子密度也有区别：边缘区血小板电子密度较高，中心区的血小板则较低，说明中心区血小板可能有肿胀和释放反应。

在不同的血小板稀释液中，血小板的扫描电镜相也不一致，含EDTA、硫酸镁和AgaSe—LafOnt血小板稀释液等，多数血小板形态接近正常血液中的形态。而含有尿素的稀释液如许汝和氏改良法等，血小板的电子密度普遍降低，结构疏松，体积增大，且破坏形较多见，临床上用此种稀释液所作的血小板计数，其正常值比前者要低，可能与此有关。含尿素的稀释液对红白细胞的破坏较强，故使背景清晰便于观察血小板，在正常情况下，采用本法应该说是比较理想的方法，由于它可使血小板肿大，因此，在某些血小板功能缺陷的病例就不一定适合了，在临床上可见到这样的情况即，病人的血小板计数非常低，有的甚至每立方毫米数在1万以下，而临床上病人却见不到明显的出血现象，这一方面可能这些血小板的质量完好和病人血管弹性良好等，但也可能病人血小板实际数字并不这么低。因此，应用扫描电镜研究血小板形态学，不仅对某些疾病病因研究和诊断有意义，而且对于血小板计数方法学研究和质控有益。

四、血小板的功能

随着细胞化学、酶学、同位素标记和血液动力等方面研究进展，及其在血小板方面的应用，近几年来，对于血小板功能研究有新进展。

血小板具有多种功能，这些功能的改变多数可从其超微形态变化表现出来，也就是说，血小板超微结构改变，功能也必然发生变化。血小板功能受多种内外因素影响，有复杂的理化反应过程。现就几个方面简述如下：

（一）血小板具有保持血管内皮完整性的功能；

血小板具有保持血管内皮完整性的提法已经有相当长时间了，近几年来，由于电镜技术和同位素示踪应用，对此问题的认识比较深入。

在临床上经常可见到；当病人血小板减少时，往往毛细血管脆性增加，经治疗后血小板回升至正常值时，毛细血管脆性又可下降至正常状态。影响毛细血管脆性增加原因是多方面的，但是血小板的量和质的变化，是其中重要因素之一。

有不少学者对此进行了研究，认为不仅是由于血小板有粘附功能，而且是由于血小板能插进血管内皮之间的间隙，似能与内皮细胞的胞浆相融合的缘故。

在扫描电镜下，于血管内膜表面的嵴与嵴之间，有时可查到血小板的相嵌相。在透射电镜观察血管超微结构，也可见到类似现象，从我们的研究中也得到证实。

（二）血小板的粘附功能

早在1959年Bounameaux和1962年Hugues就已经指出血小板具有粘附于血管内皮下组织的作用，而且是通过胶原的作用而实现的。

当内皮和血管壁都正常时，由于；正常的血小板和正常的内皮都带负电荷，因而彼此排斥；正常的内皮表面光滑；血小板在正常情况下倾向于移近血流的中轴，在没有扰乱“层流”的情况下，造成比较无细胞的周围区域等，故血小板不易粘附于血管内膜表面。

然而，当血管壁因机械性创伤时、炎症或许多其它因素而受损伤时内皮由于损伤及内皮细胞脱落或内皮细胞之间的连接打开而发生破口。这种破口可立即吸引血小板在管壁粘附。

为什么血管破口能吸引血小板粘附呢？现已证明了血管内皮细胞层下的基底膜、结缔组织、弹性蛋白等都有促进血小板粘附的作用，其中以结缔组织中的胶原作用最强，在正常情况下，血小板从未与这些物质相遇，一旦内皮受损，这些物质的暴露，必然吸引血小板粘附。同时，由于内皮受损，上皮下的物质造成了一个粗糙表面，此表面必然造成漏流面扰乱正常的层流，因此使血小板直向血管内皮。同时破口使内皮表面局部的负电荷消失或变换为正电荷。另外，细胞内的各种化学物质，特别是ADP由受损伤的细胞部份漏入血流等原因，吸引血小板在血管壁粘附。

血小板粘附于胶原的机制是胶原上的不完全性杂多糖氨基酸基团（作为受体）与血小板膜上的葡萄糖基转移酶相结合，形成一种酶——受体复合物。

影响血小板粘附功能的因素除上述者外，还有：①内皮下组织的分子结构；② Ca^{+} 离子；③VW因子；④血浆蛋白，特别是纤维蛋白元；⑤血液粘度和速度等。血小板的形态与粘附直接有关如树实形血小板容易粘附，而圆形血小板则不易，血小板无力症病人圆形血小板显著增加，甚至可超过正常值几十倍，因此，血小板无力症的出血原因，除了血小板功能常染色体遗传缺陷外，形态学的变化是其原因之一，然而形态与功能缺陷也是密切相关的。

（三）血小板的聚集功能

血小板与血小板之间能粘附在一起的功能称为聚集。在正常血循环中，血小板之间很少发生聚集，但在体内或体外，有许多物质可使血小板聚集，这些物质称为血小板聚集诱导剂。

1、血小板聚集诱导剂；

血小板聚集诱导剂很多，一般来说，这些诱导剂在一定的浓度和条件下，它们兼有使血小板形态改变和分泌（释放反应）的作用，举例如下表；

血小板聚集和分泌诱导剂表

聚集诱导剂	形态改变	致密体分泌	α 颗粒分泌
ADP0.1微克分子	+	—	—
ADP0.5微克分子	+	+	—
ADP>1.0微克分子	+	+	+
肾上腺素	—	+	—
去甲肾上腺素	—?	+	—
5-羟色胺	+	±	—
加压素	+	+	—
凝血酶	+	+	+
胰旦白酶	+	+	+
胶原	+	+	+
蛇毒	+	+	+
乳胶颗粒	+	+	+
抗原抗体复合物	+	+	+
PGG ₂ PGH ₂ TXA ₂	+	+	+
内毒素	+	+	+
脂肪酸	+	+	+

血小板聚集诱导剂还不止上述这些，在此就不一一列述了。其中ADP是最重要的生理性血小板聚集诱导剂，也是在体外研究血小板聚集功能的常用诱导剂。

在体外若在富含血小板的血浆混悬中加入ADP，使其最

后浓度达0.3微克分子，则在血小板聚集记录仪上只见一个聚集波，这种聚集波称为初发聚集波，此时血小板的形态发生改变，这种血小板聚集是可逆的，形态改变也是可逆的。若将ADP的浓度加到0.5微克分子，则在初发聚集后，当血小板开始解聚时，产生第二个聚集波，血小板进一步发生不可回逆性聚集，这一波称为次发聚集波，若进一步增加ADP的浓度，超过1微克分子，则血小板的聚集波不是双相性，而是不可回逆性的单相波形。血小板次发聚集的原因是血小板第一次聚集时，将血小板内的ADP释放出来，致使血小板进一步聚集。用本法可进行抗血小板聚集药物和血小板聚集诱导剂的研究或筛选工作。

当机体处于应激状态时，无论是人或实验动物，均可在血循环中出现血小板聚集堆增加，在正常情况下，此种聚集性增加是很短暂的，由于血液流动，血小板聚集堆可迅速回复至正常范围，血小板形态也可恢复常态。在某些病理情况下，可发生第二相聚集反应。

近年来的研究发现，血小板膜上花生四烯酸向前列腺素代谢过程中的产物——前列腺素内过氧化物（ PGG_2 和 PGH_2 ）及血栓素内环 A_2 （ TXA_2 ）是现知血小板最强的聚集诱导剂，后者比前二者更强， TXA_2 还有使血管收缩的作用。这些物质的产生是由于血小板在各种诱导剂（如凝血酶和胶原等）的作用下，膜上的磷脂酶 A_2 被激活，花生四烯从磷脂上释放出来，而产生一系列反应的中间产物和代谢产物。

2 血小板聚集的机制

各种血小板聚集诱导剂是怎样使血小板聚集的？现在尚不完全清楚，但知与CAMP及CGMP系统有密切关系，凡可

使血小板中CAMP增高的物质，如 α 肾上腺素能阻滞剂、 β 肾上腺素能兴奋剂、PGE、PGD₂、前列环素、腺甙、咖啡因、茶碱、潘生丁等，都可抑制血小板聚集，凡可使血小板中CAMP减少的物质如ADP、凝血酶、肾上腺素、胶原等，都可使血小板聚集。使血小板中CAMP增高的机制可以是兴奋腺甙酸环化酶或抑制破坏CAMP的磷酸二酯酶。使血小板中CAMP减少的机制可以是抑制环化酶或兴奋磷酸二酯酶。T×A₂是目前所知的最强的血小板聚集诱导剂，它对腺甙酸环化酶有明显抑制作用，使CAMP减少，前列环素（PGI₂）对此酶有明显的兴奋作用，可使CAMP增高。现将影响血小板CAMP含量的物质及其作用环节列表如下：

影响血小板CAMP含量的物质及其作用环节表

影响物质	CAMP	环化酶	磷酸二酯酶
α 肾上腺素能阻滞剂	↑	↑	
β 肾上腺素能兴奋剂	↑	↑	0
α 肾上腺素能兴奋剂	↓	↓	↑
5-羟色胺	↓?	↓	
凝血酶	↓	↓	↑
ADP	↓		↑
胶原	↓	↓	↑
菸酸	↓?		↑
PGE ₂ (低浓度) PGG ₂			
PGI ₂ TXA ₂	↓	↓	
PGE ₁ PGD ₂ PGI ₂	↑	↑	0
咖啡因，茶碱	↑		↓
罂粟碱	↑		↓
潘生丁	↑		↓
腺甙	↑	↑	

注：↑增高或增强 ↓减少或抑制 0 = 无作用

相反，有些物质可以兴奋鸟苷酸环化酶，使三磷酸鸟苷酸转变为cGMP，而cGMP有使血小板聚集作用。ADP、凝血酶、胶原可使血小板聚集的机制是这些物质除了可使cAMP减少外，还可兴奋鸟苷酸环化酶使cGMP增高的缘故。

（四）血小板的分泌功能

血小板的分泌功能也就是释放反应，血小板在诱导剂的刺激下，血小板能将细胞器（主要是致密体和 α 颗粒）中的生物活性物质释放出血小板外，此种功能称血小板的分泌功能或释放反应。

一般来说，血小板的释放反应是继血小板的粘附和聚集而发生的，故凡是血小板聚集的物质，在一定的浓度和条件下，都可引起血小板的分泌。

1、释放的生物活性物质

血小板的释放反应可分为二个时相：①释放反应I或初发释放反应；②释放反应II或次发释放反应。这两个时相之间是瞬息的变化，难以用准确的时间来计算。

①释放反应I：

发生在血小板的初发聚集反应，放出致密体内的生物活性物质，其中有5-羟色胺、ADP、ATP、儿茶酚胺、非代谢性腺嘌呤核苷酸、焦磷、 Ca^{++} 等，在此释放反应中所释放的ADP，可使血小板进一步发生次发聚集。

②释放反应II：

发生在血小板的次发聚集反应，放出 α 颗粒中的内含

物，其中有酸性水解酶类、纤维旦白原， K^+ 、血管通透因子、吸引白细胞因子、 β 血小板球旦白，血小板第4因子（PF-4）及PF-3也被释放出来。尚有一些生物活性物质如腺甙酸激酶、组织旦白酶、胶原酶、促平滑肌生长因子、抗血浆素、抗尿激酶等在血小板释放反应的何相释放出来，目前尚不清楚。

2、在释放反应过程中血小板的形态改变：

血小板的释放反应通过以下步骤：

①血小板胞质中出现明显的微丝，边缘微管系统收缩。

②血小板的细胞器主要是颗粒成分，集中到中央部位。

③血小板的致密体， α 颗粒与开放小管系统的膜相接触，并相融合。

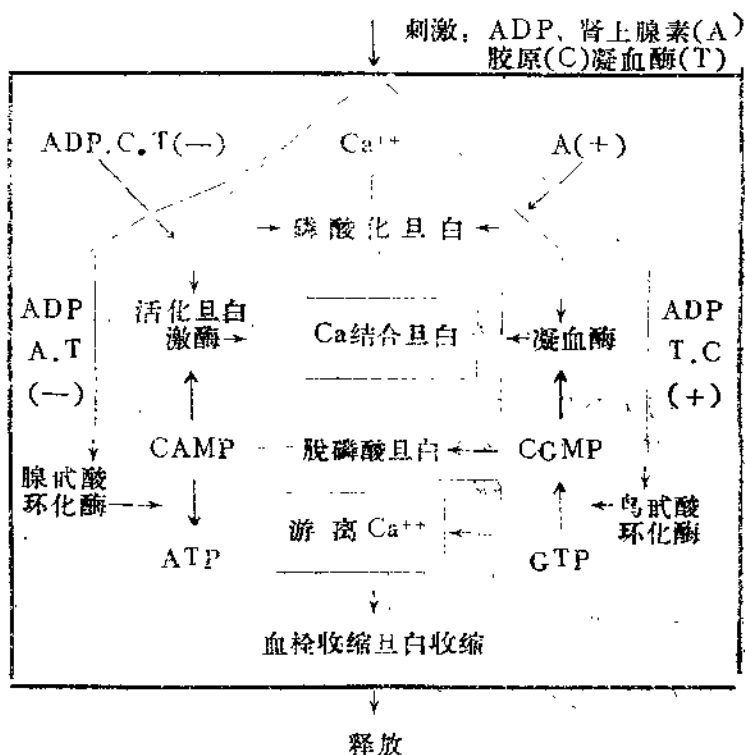
④生物活性物质通过开放小管系统被释放出血小板外。

血小板释放反应后，在电镜下找不到或很少颗粒状结构，胞质中出现大量空泡，但线粒体仍保留下来。

3、血小板释放反应机制

前已述及，ADP、肾上腺素、凝血酶、胶原通过血小板上的受体抑制腺甙酸环化酶，使血小板中的CAMP减少，CAMP的作用是使不活动的旦白激酶活化，活化的旦白激酶可使无磷酸的旦白上的丝氨酸或亮氨酸磷酸化，形成磷酸化旦白。CAMP减少时，脱磷酸旦白不能磷酸化。此外，ADP、胶原和凝血酶对不活动的旦白激酶的活化还有抑制作用，这样使脱磷酸旦白更不能磷酸化。相反，ADP、凝血酶、胶原

对鸟苷酸环化酶有兴奋作用，故可使血小板中CGMP增高，CGMP使磷酸酶作用于磷酸化蛋白，使脱去磷酸，并游离 Ca^{++} 离子， Ca^{++} 通过原肌凝蛋白——肌钙蛋白使血栓收缩蛋白收缩，血小板乃发生释放反应。肾上腺素有直接兴奋磷酸酶的作用，故也可使血小板发生释放反应。现将血小板聚集和释放反应机制列图如下：



血小板聚集和释放反应的机制图解