

临床研究

DOI: 10.13406/j.cnki.cyxh.002145

连续流动离心式高量减除血小板治疗对患者凝血功能指标的影响

吴远军¹, 吴勇², 李惠森², 陈宝婵², 刘艳², 梁美琪², 吴月勤², 梁思远²

(1. 东莞市妇幼保健院输血科, 东莞 523120; 2. 中山大学附属东华医院输血科, 东莞 523110)

【摘要】目的:探讨连续流动离心式血液成分分离机高量减除血小板治疗对血小板增多症患者综合性凝血指标及血浆纤维蛋白原浓度的影响。**方法:**采用 COBE Spectra 连续流动离心式血液成分分离机 ELP 或 MNC 程序, 以 ACD-A 配方血液保存液为抗凝剂, 对血小板增多症患者实施减除血小板治疗, 每次治疗设置处理血量为 2.5~3.0 倍总血容量(total blood volume, TBV), 采集血小板悬液容量为 20%~25%TBV, 对 21 例患者共进行 32 次减除血小板治疗, 观察血小板减除效果及治疗前、后凝血指标和血浆纤维蛋白原浓度的差异。**结果:**单次治疗运行时间(212.53 ± 41.54) min, 处理血量($8\,812.63 \pm 2\,087.15$) mL, 采集血小板悬液容量(798.84 ± 190.77) mL; 治疗前、后患者循环血液血小板计数(platelet count, Plt)分别为($1\,426.46 \pm 530.23$) $\times 10^9$ 个/L、(778.83 ± 247.25) $\times 10^9$ 个/L($t=10.808$, $P=0.000$), 凝血酶原时间(prothrombin time, PT)分别为(12.82 ± 1.53) s、(13.28 ± 1.51) s($t=3.921$, $P=0.000$), 活化部分凝血活酶时间(activated partial thromboplastin time, aPTT)分别为 35.75 (29.43, 37.55) s、35.40 (31.20, 38.20) s($Z=3.021$, $P=0.003$), 凝血酶时间(thrombin time, TT)分别为(17.46 ± 1.30) s、(17.88 ± 1.41) s($t=2.783$, $P=0.009$), 纤维蛋白原浓度(fibrinogen concentration, Fbg)分别为(2.96 ± 1.18) g/L、(2.81 ± 1.11) g/L($t=3.433$, $P=0.002$)。 **结论:**采用连续流动离心式血液成分分离机对血小板增多症患者实施高量减除血小板治疗, 可显著降低患者体内血小板负荷; 对患者 PT、aPTT、TT、Fbg 的影响在机体正常代偿范围内。

【关键词】血液成分分离机; 血小板增多症; 血小板单采; 凝血**【中图分类号】**R457.1; R733.71**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2018-07-05

Effects of high-volume platelet-lowering therapy on patients' coagulation indices using a continuous-flow cell separator

Wu Yuanjun¹, Wu Yong², Li Huisen², Chen Baochan², Liu Yan², Liang Meiqi², Wu Yueqin², Liang Siyuan²

(1. Department of Blood Transfusion, Dongguan Maternal and Child Health Care Hospital;

2. Department of Blood Transfusion, Affiliated Donghua Hospital, Sun Yat-sen University)

【Abstract】Objective: To explore the effects of high-volume platelet-lowering therapy on the comprehensive coagulation indices and fibrinogen concentration of patients with thrombocytosis using a continuous-flow cell separator (CFCS). **Methods:** Patients with thrombocytosis underwent a platelet-lowering therapy administered by the ELP/MNC program of a COBE Spectra CFCS using ACD-A as an anticoagulant. A total of 32 platelet-lowering treatments were performed for 21 patients with the treated blood volume for each treatment set as 2.5 to 3.0 times the total blood volume (TBV) and the collected platelet suspension volume as 20% to 25% of TBV. The effect of platelet-lowering therapy and the changes in coagulation indices and fibrinogen concentration after treatment were evaluated. **Results:** A single treatment had a run time of (212.53 ± 41.54) minutes with a treated blood volume of ($8\,812.63 \pm 2\,087.15$) mL and a collected platelet suspension volume of (798.84 ± 190.77) mL. The patients' coagulation indices in circulating blood before and after treatment were as follows: platelet count: (1426.46 ± 530.23) $\times 10^9$ cells/L vs. (778.83 ± 247.25) $\times 10^9$ cells/L ($t=10.808$, $P=0.000$), prothrombin time (PT): (12.82 ± 1.53) s vs. (13.28 ± 1.51) s ($t=3.921$, $P=0.000$), activated partial thromboplastin time (aPTT): 35.75 (29.43, 37.55) s vs. 35.40 (31.20, 38.20) s ($Z=3.021$, $P=0.003$), thrombin time (TT): (17.46 ± 1.30) s vs. (17.88 ± 1.41) s ($t=2.783$, $P=0.009$), fibrinogen concentration (Fbg): (2.96 ± 1.18) g/L vs. (2.81 ± 1.11) g/L ($t=3.433$, $P=0.002$). **Conclusion:** High-volume platelet-lowering therapy using a CFCS can significantly reduce the platelet load within the body of patients with thrombocytosis, and

its effects on PT, aPTT, TT, and Fbg are within the normal range of body compensation.

【Key words】blood component separator; thrombocytosis; platelet-pheresis; blood coagulation

作者介绍: 吴远军, Email: wuyuanjun199@163.com,

研究方向: 临床输血及细胞生物治疗。

优先出版: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20190510.1517.054.html>

(2019-05-13)

有症状的血小板增多症是美国单采协会 (American Society for Apheresis, ASFA) 推荐的治疗性单采 (therapeutic apheresis, TA) 的 II 类适应证^[1], 对发生血栓和出血风险高的患者需采用血液成分分离机实施减除血小板治疗, 以迅速减轻患者体内的血小板负荷, 预防血栓及出血等相关并发症的发生。减除血小板治疗时须建立体外循环, 使用抗凝剂, 并有一定量的血浆随同采集的血小板悬液被丢失, 由此是否会对患者凝血功能产生不利影响罕见报道。本课题组自 2008 年 8 月至 2017 年 12 月, 采用 COBE Spectra 连续流动离心式血液成分分离机对 21 例血小板增多症患者共实施了 32 次高量减除血小板治疗 (每次治疗处理血量为 2.5~3.0 倍 TBV, 采集血小板悬液容量为 20%~25%TBV), 现将高量减除血小板治疗对反映患者内、外源性凝血活性的综合性凝血指标及纤维蛋白原浓度 (fibrinogen concentration, Fbg) 的影响情况报告如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料

2008 年 8 月至 2017 年 12 月在中山大学附属东华医院接受减除血小板治疗的血小板增多症患者 21 例 (纳入标准: $Plt \geq 1\,000 \times 10^9$ 个/L, 心肺功能正常; 排除标准: 有心肺功能障碍者), 男 10 例, 女 11 例, 年龄 16~82 (47.53 ± 22.65) 岁, 其中原发性血小板增多症 14 例, 慢性粒细胞白血病继发性血小板增多症 5 例, 骨髓增生异常综合征继发性血小板增多症 2 例; 由 COBE Spectra 连续流动离心式血液成分分离机微电脑根据患者性别、身高、体质量自动计算的患者 TBV 为 $2\,912 \sim 5\,153$ ($3\,830.91 \pm 602.79$) mL。

1.2 方法

1.2.1 主要设备及材料 普通心电监护仪 (深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司), COBE Spectra 连续流动离心式血液成分分离机及其一次性使用血小板采集管路或白细胞采集管路 (美国 Gambro. BCT 公司), STKS 血细胞分析仪 (美国 Beckman-Coulter 公司), CS-2000i 全自动凝血分析仪 (日本希森美康株式会社), ACD-A 配方血液保存液 (含枸橼酸钠 22.0 g/L、枸橼酸 8.0 g/L、葡萄糖 24.5 g/L) [费森尤斯卡比 (广州) 医疗用品有限公司], 10% 葡萄糖酸钙注射液, 0.9% NaCl 注射液。

1.2.2 血管通道 根据患者血管条件, 本组 21 例患者 32 次治疗中, 采血通道采用外周静脉留置针 4 次、外周动脉留置针 23 次、深静脉置管 5 次; 回输通道采用外周静脉留置针 30 次、深静脉置管 2 次。

1.2.3 运行程序 采用 COBE Spectra 连续流动离心式血液成分分离机 ELP 程序 (血小板采集管路) 减除血小板治疗 9 次, MNC 程序 (白细胞采集管路) 减除血小板治疗 23 次。

1.2.4 血液运转速度 通过 COBE Spectra 血液成分分离机微电脑显示屏输入患者性别、身高、体质量、血细胞比容 (hematocrit, Hct) 值后, 微电脑自动计算减除血小板治疗的血液运转速度, 再根据患者的血管通道条件及患者的不良反应情况调整血液运转速度为 (28~56) mL/min, 平均血液运转速度为 (41.63 ± 7.18) mL/min。

1.2.5 抗凝剂输入速度 采用 ACD-A 配方血液保存液作为减除血小板治疗过程的抗凝剂, 输入速度为 (0.8~1.2) mL/(min·L)TBV, 血液运转速度: 抗凝剂输入速度为 (8~10):1。

1.2.6 血小板悬液采集速度 (3.83 ± 1.00) mL/min。

1.2.7 运行目标值 设置减除血小板治疗处理血量为患者 TBV 的 2.5~3.0 倍, 采集血小板悬液容量为患者 TBV 的 20%~25% 作为运行目标值, 只要不发生严重不良反应均按此目标值运行, 直到运行至终值后结束。

1.2.8 治疗过程的监护 减除血小板治疗开始后至治疗结束后 1 h 持续心电监护, 观察患者的心率、血压、血氧饱和度等指标。

1.2.9 采集效果及凝血功能的监测 减除血小板治疗前当日及治疗结束后 3 h 分别采集患者外周静脉 EDTA·K2 抗凝血标本检测血常规, 枸橼酸钠抗凝血标本检测凝血酶原时间 (prothrombin time, PT)、活化部分凝血活酶时间 (activated partial thromboplastin time, aPTT)、凝血酶时间 (thrombin time, TT) 和 Fbg。

1.2.10 采集效果评价指标及其定义 减除血小板总数 (10^9 个) = 采集的血小板悬液中 $Plt (10^9$ 个/L) × 血小板悬液容量 (L); 血小板减除值 (10^9 个/L) = 减除血小板总数 (10^9 个)/TBV (L); 血小板减除率 (%) = 减除血小板总数 (10^9 个)/[治疗前患者 $Plt (10^9$ 个/L) × TBV (L)] × 100%。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 19.0 统计软件录入数据并进行统计分析。对符合正态分布的计量资料用均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间统计学差异采用配对 *t* 检验; 对不符合正态分布的计量资料用中位数 (四分位数间距) 即 $M(Q_1, Q_3)$ 表示, 组间统计学差异采用配对比较的符号秩和检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 高量减除血小板治疗运行参数终值

本研究单次高量减除血小板治疗运行时间 128~328 (212.53 ± 41.54) min, 处理血量 4 576~13 178 ($8\,812.63 \pm 2\,087.15$) mL, ACD-A 配方血液保存液用量 501~1 818 (957.00 ($844.50, 1\,113.50$)) mL, 采集患者血小板悬液容量 368~1 251 (798.84 ± 190.77) mL。

2.2 高量减除血小板治疗过程患者的液体输入量

32 次高量减除血小板治疗过程中液体总输入量 (ACD-A 配方血液保存液用量及回洗时额外输入的 0.9% NaCl 注射液的量, 不包括治疗过程中患者饮食及常规治疗所摄入的液体量) 为 1 220.00 (1 107.50, 1 376.50) mL, 比采集出血小板悬液的容量多 395.00 (323.00, 550.50) mL, 多输入液体量与患者 TBV 的比值为 $(11.66 \pm 4.55)\%$ 。

表 1 32 次减除血小板治疗前、后患者外周血液血小板计数及凝血功能检测结果比较

组别	Plt (10^9 个/L)	PT (s)	aPTT (s)	TT (s)	Fbg (g/L)
治疗前	1426.46 ± 530.23	12.82 ± 1.53	35.75 (29.43, 37.55)	17.46 ± 1.30	2.96 ± 1.18
治疗后	778.83 ± 247.25	13.28 ± 1.51	35.40 (31.20, 38.20)	17.88 ± 1.41	2.81 ± 1.11
t/Z 值	10.808	3.921	3.021 ^a	2.783	3.433
P 值	0.000	0.000	0.003	0.009	0.002

注:a,Z 值

2.3 减除血小板总数、血小板减除值及血小板减除率

32 次高量减除血小板治疗所采集的血小板悬液中,Plt 为 (1 085.00~10 956)[4 486.50(3 058.50,5 279.50)] × 10^9 个/L; 根据每次采集的血小板悬液容量及其 Plt 计算,单次治疗减除血小板总数为 (1 033.03~9 071.57)[3 455.50(2 288.68, 4 226.71)] × 10^9 个,血小板减除值为 (214.50~1 989.82) [(976.74 ± 485.86)] × 10^9 个/L,血小板减除率为 (23.01~129.99) (67.91 ± 23.62)%。

2.4 减除血小板治疗前、后患者外周血 Plt 及凝血功能比较

高量减除血小板治疗前、后患者循环血液 Plt 分别为 (1 426.46 ± 530.23) × 10^9 个/L、(778.83 ± 247.25) × 10^9 个/L ($t=10.808, P=0.000$),PT 分别为 (12.82 ± 1.53) s、(13.28 ± 1.51) s ($t=3.921, P=0.000$),aPTT 分别为 35.75(29.43, 37.55) s、35.40 (31.20, 38.20) s ($Z=3.021, P=0.003$),TT 分别为 (17.46 ± 1.30) s、(17.88 ± 1.41) s ($t=2.783, P=0.009$),Fbg 分别为 (2.96 ± 1.18) g/L、(2.81 ± 1.11) g/L ($t=3.433, P=0.002$),见表 1。

3 讨 论

严重的血小板增多症临床常表现有出血倾向及血栓形成、脾脏肿大等,甚至发生致命性的血栓事件,还可能发生严重出血事件^[2]。随着血液成分分离机的普及,减除血小板治疗已广泛应用于降低血小板增多症患者的血小板负荷,但采用血液成分分离机进行血小板减除治疗时每次应采集血小板悬液的容量还没有统一的标准;减除血小板治疗时须建立体外循环,使用抗凝剂,并有一定量的血浆随同采集的血小板悬液被丢失,由此是否会对患者凝血功能产生不利影响及其影响程度目前仍未见相关研究。现有文献报道,单次减除血小板治疗采集的血小板悬液容量一般不超过 600 mL,刘艳春等^[3]采用 COBE Spectra 血液成分分离机对原发性血小板增多症患者实施减除血小板治疗,每次治疗运转血量 2 500~4 000 mL,每次采集血小板悬液 205~325 mL,一次治疗降低 Plt 仅为 (225~410) × 10^9 个/L,平均仅降低 340 × 10^9 个/L,对许多患者需要进行多次血小板单采治疗才可将其循环血液中的 Plt 值降

至相对安全的水平。

近年来,本研究组在提高治疗性血液成分单采的采集效率及其“非治疗目的血液成分丢失”对患者的影响方面进行了探索。先前的研究表明,通过提高减除白细胞治疗时的处理血量及采集白细胞悬液容量(单次治疗处理血量为 2.5~3.0 倍 TBV,采集白细胞悬液容量为 20%~25%TBV),可在维持患者循环血容量相对稳定的前提下,提高采集白细胞的效率,而“非治疗目的血液成分丢失”对患者的影响是在患者代偿范围内的,其中对 PT、aPTT、TT 无显著性影响,对 Fbg 的影响在机体维持正常凝血功能的代偿范围内^[4-8]。基于高量减除白细胞治疗的研究成果,本研究对 21 例血小板增多症患者共实施了 32 次高量减除血小板治疗(减除血小板治疗处理血量及采集血小板悬液容量同高量减除白细胞治疗的处理血量及采集白细胞悬液的容量),单次治疗减除血小板总数达 3 455.50 (2 288.68, 4 226.71) × 10^9 个,血小板减除值为 (976.74 ± 485.86) × 10^9 个/L,血小板减除率为 (67.91 ± 23.62)%。与刘艳春等^[3]的研究对比,本研究采用高量减除血小板治疗显著提高了采集效率,对血小板增高症患者平均给予 1.5 次治疗即可将血小板计数降至相对安全的预期水平,节约了医疗费用。高量减除血小板治疗前、后,反映患者内、外源性凝血活性的综合性凝血指标 PT、aPTT、TT 值及 Fbg 虽均有统计学差异,但 PT、aPTT、TT 值及 Fbg 均维持在正常止血功能代偿范围内,治疗后患者均未出现出血的临床表现。

参与机体生理性凝血过程的凝血因子主要是在肝脏或内皮细胞合成,对于肝脏功能未明显受损的血小板增多症患者,维持生理性凝血功能的主要凝血因子活性不会受到明显影响^[9-11]。高量减除血小板治疗单次采集的血小板悬液容量为患者 TBV 的 20%~25%,实际丢失血浆容量应该在患者总血浆容量 40%以内,不足以导致凝血因子活性低于代偿水平而出血。减除血小板治疗过程中使用的 ACD-A 血

液保存液中主要抗凝成分枸橼酸盐,通过螯合血液中的二价阳离子钙以达到抗凝作用,输入人体的枸橼酸盐在富含线粒体的组织(如肝、骨骼肌和肾脏)中被快速代谢为碳酸氢盐,通过肾脏排出^[12-14]。对于肝、肾功能正常的患者,以 1.0 mL/(min·L)TBV 的速度输入 ACD-A 血液保存液,其中的枸橼酸盐会被快速代谢,因抗凝剂导致的凝血障碍可快速恢复。

治疗性单采过程中“非治疗目的血液成分丢失”量与治疗性单采量呈正相关,增加减除血小板治疗的采集量在提高采集效率的同时也相应增加了血浆的丢失。对肝脏功能未明显受损、凝血功能正常的小血小板增多症患者,高量减除血小板治疗虽不会导致患者发生出血风险,但若患者肝脏功能已受损或凝血功能已有明显异常,实施高量减除血小板治疗则可能导致患者出血风险。因此,在减除血小板治疗前当日检测患者的凝血功能指标是必要的,检测项目包括 PT、aPTT、TT 值及 Fbg 等,血栓弹力图(thrombelastography, TEG)试验的 R 值和 K 值也可反映患者凝血因子和纤维蛋白原的活性^[15-16],减除血小板治疗过程中可监测这些凝血指标,并维持 Fbg 不低于 1.0 g/L,PT、aPTT 在生物参考值 1.5 倍以内,或血栓弹力图试验的 R 值在 10 min 以内、K 值在 3 min 以内,以避免高量减除血小板治疗“非治疗目的血液成分的丢失”导致的出血风险。

虽然本研究高量减除血小板治疗单次采集血小板悬液容量达(798.84 ± 190.77) mL,但由于治疗过程中使用 ACD-A 配方血液保存液的量和回洗过程额外输入 0.9%NaCl 注射液量合计比采集出血小板悬液的容量多 395.00(323.00,550.50) mL[相当于 TBV 的(11.66 ± 4.55)%]。尽管本研究对象中最高年龄达 82 岁,仍可保持其循环血容量的稳定。持续心电监护显示,32 次治疗过程中患者血压、心率、血氧饱和度等指标较治疗前均未出现显著变化。然而,由于本研究对象中的高龄病例数很少,且没有涵盖有心肺功能障碍的病例,高量单采血液成分治疗是否适合高龄及有心肺功能障碍的患者还需要更大样本病例的临床研究证实。因此,高量减除血小板治疗过程给予持续心电监护是必要的,治疗过程中若患者出现明显的心率增快、血压下降或血氧饱和度降低等循环血液动力学异常情况,须减慢治疗速度,并予对症处理,必要时需终止治疗程序。

参 考 文 献

- [1] Schwartz J, Padmanabhan A, Aqui N, et al. Guidelines on the use of therapeutic apheresis in clinical practice—evidence-based approach from the writing committee of the American Society for Apheresis: the seventh special issue[J]. J Clin Apher, 2016, 31(3): 149–162.
- [2] Falchi L, Bose P, Newberry KJ, et al. Approach to patients with essential thrombocythaemia and very high platelet counts: what is the evidence for treatment?[J]. Br J Haematol, 2017, 176(3): 352–364.
- [3] 刘艳春, 柴铁, 果丽实, 等. 血小板去除术联合药物治疗原发性血小板增多症临床观察[J]. 临床内科杂志, 2005, 22(11): 787.
- [4] 吴远军, 吴勇, 李惠森, 等. 高量减除白细胞治疗对患者血红蛋白水平及血小板计数的影响[J]. 国际输血及血液学杂志, 2014, 37(6): 516–519.
- [5] 吴远军, 吴勇, 陈宝婵, 等. 连续流动离心式血液成分分离机高量减除白细胞治疗对白血病患者凝血功能的影响[J]. 白血病·淋巴瘤, 2014, 23(12): 725–728.
- [6] 吴勇, 吴远军, 李惠森, 等. 连续流动离心式血液成分分离机高量减除白细胞治疗的采集效果评价[J]. 中国输血杂志, 2015, 28(1): 45–48.
- [7] 刘兴玲, 吴远军, 吴勇, 等. 连续流动离心式血液成分单采减除白细胞治疗的护理[J]. 实用医学杂志, 2016, 32(4): 665–667.
- [8] 刘兴玲, 吴远军, 吴勇, 等. 高白细胞性急性与慢性髓系白血病患者减除白细胞治疗的采集效果比较[J]. 白血病·淋巴瘤, 2016, 25(8): 488–491.
- [9] Heinz S, Braspenning J. Measurement of blood coagulation factor synthesis in cultures of human hepatocytes[J]. Methods Mol Biol, 2015, 1250: 309–316.
- [10] Lenting PJ, Denis CV, Christophe OD. Emicizumab, a bispecific antibody recognizing coagulation factors IX and X: how does it actually compare to factor VIII?[J]. Blood, 2017, 130(23): 2463–2468.
- [11] Zelaya H, Rothmeier AS, Ruf W. Tissue factor at the crossroad of coagulation and cell signaling[J]. J Thromb Haemost, 2018, 16(10): 1941–1952.
- [12] Schneider AG, Journois D, Rimmelé T. Complications of regional citrate anticoagulation: accumulation or overload?[J]. Crit Care, 2017, 21(1): 281.
- [13] D'Alessandro A, Nemkov T, Yoshida T, et al. Citrate metabolism in red blood cells stored in additive solution-3[J]. Transfusion, 2017, 57(2): 325–336.
- [14] Ren JG, Seth P, Ye H, et al. Citrate suppresses tumor growth in multiple models through inhibition of glycolysis, the tricarboxylic acid cycle and the IGF-1R pathway[J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 4537.
- [15] 简长春, 陈诚, 戴演演, 等. 血栓弹力图评价关节置换术围手术期凝血功能改变[J]. 重庆医科大学学报, 2015, 40(5): 770–773.
- [16] Kim SY, Gu JY, Yoo HJ. Benefits of thromboelastography and thrombin generation assay for bleeding prediction in patients with thrombocytopenia or hematologic malignancies[J]. Ann Lab Med, 2017, 37(6): 484–493.

(责任编辑: 冉明会)