

血小板在血小板减少和血液病患者出血中的作用

普尔佩尼尔 戈莱别夫斯卡阿拉斯泰尔

临床生物化学和药理学系 丹麦 2300

【摘要】：本综述评估了血小板在血液病和血小板减少症患者出血风险中的作用。血小板在初级止血中起关键作用，并具有参与血管生成、组织修复、炎症和转移的非止血特性。此外，血小板保护发炎血管中的血管完整性。总体而言，出血风险取决于基础疾病，癌症患者和血小板计数 $<6-10 \times 10^9/L$ 的出血风险显著增加，而血小板计数与较高血小板计数的出血风险无关。其他因素可能会影响血小板特性，从而影响出血风险，例如药物、低血细胞比容、凝血系统损伤或功能失调的供体血小板的输注。对于患有白血病和免疫性血小板减少症的患者，血小板活化减少、血小板聚集或血小板生成（表现为网状血小板减少）与出血表型相关。然而，除了一些遗传性血小板疾病外，对不同血小板减少情况下血小板功能降低的原因的机制研究很少。血小板减少症中血小板功能主要研究为血小板成分的流式细胞术和生物标志物研究。这篇论文的一个重要信息是，出血风险评估必须针对特定患者群体进行调整，不能广泛应用于所有血小板减少症患者。

【关键词】：出血；肿瘤；血小板计数；血小板功能测试；血小板减少症

The role of platelets in bleeding in patients with thrombocytopenia and hematological disease

Poole Pernille, Golebiewska Alastair

Department of Clinical Biochemistry and Pharmacology Denmark 2300

Abstract: This review evaluates the role of platelets in bleeding risk among patients with hematological disease and thrombocytopenia. Platelets are pivotal in primary hemostasis, and possess non-hemostatic properties involved in angiogenesis, tissue repair, inflammation and metastasis. Also, platelets safeguard vascular integrity in inflamed vessels. Overall, bleeding risk depends on the underlying disease, and patients with cancer and platelet count $<6-10 \times 10^9/L$ have a markedly increased bleeding risk, while the platelet count does not correlate with bleeding risk at higher platelet counts. Other factors might affect platelet properties and thus bleeding risk, for example, drugs, low hematocrit, coagulation system impairments or transfusion of dysfunctional donor platelets. For patients with leukemia and immune thrombocytopenia, reduced platelet activation, platelet aggregation, or thrombopoiesis, reflected by the reduced presence of reticulated platelets, are associated with bleeding phenotype. However, mechanistic insight into the cause of reduced platelet function in different thrombocytopenic conditions is sparse, except for some inherited platelet disorders. Promising tools for platelet function studies in thrombocytopenia are flow cytometry and biomarker studies on platelet constituents. An important message from this current paper is that bleeding risk assessment must be tailored to specific patient populations and cannot be applied broadly to all patients with thrombocytopenia.

Keywords: Hemorrhage; Neoplasms; Platelet count; Platelet function tests; Thrombocytopenia

引言

自 1880 年代 Bizzozero 首次发现血小板以来，人们就知道血小板有助于血栓形成和止血。最近的证据表明，它们的功能超出了血栓的直接环境，血小板与许多旨在保护血管完整性的其他生理反应有关。另一方面，它们作为止血和炎症细胞的特性在某些条件下会导致疾病状态。血小板可以通过细胞内颗粒分泌的一系列生物活性物质相互“交流”，并与其他细胞“交流”。因此，患有血液病和血小板减少症的患者出血风险增加。为了避免出血，人们在预防策略上付出了很多努力，主要关注血小板计数作为血液系统癌症和血小板减少症患者输血的触发因素。然而，血小板计数并不是出血风险的唯一决定因素。因此，其他因素会导致出血风险。在这方面，血小板功能可能是相关的，因为受损的血小板功能会降低血小板的止血能力。

目前的文献表明，血小板功能受损可能与血小板减少症的出血有关；这种关系在血液病中得到了特别探索。然而，在解释现有文献时，重要的是要考虑使用了哪些方法来评估血小板特性和血小板功能，因为某些方法在血小板计数低的样本中无法产生可靠的结果。本综述的目的是评估血小板功能在血液病患者出血风险中的作用。

1 血液病出血

1962 年，Gaydos 等人研究了 92 名急性白血病患者，发现血小板计数下降会增加出血风险。其他人报告说，在 67% 的白血病例中，出血是导致死亡的一个重要原因。当时，正如 Duke 于 1910 年首次报道的那样，血小板输注被明确地证明可以治疗血小板减少症中的出血。血小板输注在 1960 年代和 70 年代变得广泛可用，血小板计数成为主要的输血触发因素。虽

然在伴有骨髓衰竭的血液系统癌症中出血很常见，但人们认为在血小板减少且血小板更新率高的情况下出血更为罕见。因此，在因血小板减少性紫癜（TTP）、肝素诱导的血小板减少症（HIT）和免疫性血小板减少症（ITP）而入院的患者中，出血率分别为14%、6%和12%。在这些情况下，当血小板通过加速凝血过程消耗时，血小板计数会下降；和血小板输注会增加血栓形成的风险和死亡率。然而，应该提到的是，已发表的研究对出血的定义不同，这可能会影响报告的血小板减少症出血发生率。此外，由于一些粘膜出血仍然是隐匿性的，因此正确记录出血是出了名的困难；此外，存在偏倚风险，因为患者对事件的回忆和复述是主观的。因此，非常需要出血登记方法的标准化的。

2 血小板计数

血小板计数用于监测血小板生成；它表现出很大的个体差异，但在健康个体中相对稳定，随着年龄的增长整体略有下降。血小板减少症在文献中的定义不一致，即血小板计数 $<100 \times 10^9/L$ 或 $<150 \times 10^9/L$ ，并且不能反映自然发生的年龄、性别和种族依赖性差异，血小板计数的参考下限为男性 $125 \times 10^9/L$ ，女性为 $150 \times 10^9/L$ ，存在种族差异。然而，一个共识小组将原发性ITP定义为在不可能与血小板减少相关的其他原因或疾病的情况下血小板计数 $<100 \times 10^9/L$ 。许多研究已证实血小板计数减少是出血危险因素。在一项针对再生障碍性贫血患者的研究中，当血小板计数 $<10 \times 10^9/L$ 时观察到自发性粪便失血，当血小板计数 $<5 \times 10^9/L$ 时自发性粪便失血显著增加。然而，血小板计数并不是血小板减少症出血风险的唯一决定因素。两项针对血液肿瘤癌症患者的大型研究一致发现，当血小板计数 $<80 \times 10^9/L$ 时，出血风险会增加，但没有明确的风险随血小板计数增加而降低的模式。即使严重的血小板减少本身也不等同于出血，因为在急性白血病患者中，血小板计数 $<1 \times 10^9/L$ 的患者中，仅31%的天数会观察到出血。因此，目前在血小板计数 $<10 \times 10^9/L$ 时进行预防性输血的做法会导致患者过度治疗。另一方面，非预防性血小板输注策略会增加大出血的总体风险，但对于接受自体移植的患者可能是安全的。因此，血小板计数以外的因素会导致血液病的出血风险。

3 血小板活化级联

在生理条件下，血小板在靠近血管壁的地方循环，但会受到健康内皮单层的过早激活的保护，后者为血栓形成提供天然“屏障”，同时也会受到抑制介质（如硝酸盐）的释放（来自完整内皮的氧化物和PGI₂）。当内皮层的连续性被破坏并且下面的内皮下基质暴露时，或者如果炎症扰乱了内皮，血小板就会被激活。血小板受体随后与胶原蛋白和血管性血友病因子等相互作用，后者捕获血小板并诱导激活信号。在损伤部位形成初始“血小板栓塞”后，凝血级联的参与导致纤维蛋白网形成，包裹并强化血栓。除了充当凝血因子的粘附位点（通过磷

脂酰丝氨酸（PS）的表面暴露），血小板本身也是这些因子（例如因子V和XIII）和其他成分的重要来源以调节凝血功能，例如聚磷酸盐和凝血酶原。

4 为什么血液病患者会出现血小板功能受损？

对于某些遗传性血小板疾病，分子缺陷与表型之间存在明确的关联。在遗传性血小板疾病中，特定的基因突变会导致血小板成分发生变化；其中一些与出血风险增加有关。例如，在NBEAL2突变的病例中观察到血小板 α 颗粒缺失，其特征是轻度至中度出血表型。其他类型的血小板减少症患者可能会出现血小板功能受损，这主要是在急性髓性白血病（AML）和ITP患者中进行的研究，但对这些获得性血小板功能缺陷的机制的了解很少。血小板功能缺陷是否主要由与基础疾病相关的机制引入仍有待确定。然而，其他血液成分如药物、凝血缺陷、红细胞变化和血小板输注也可能损害血小板减少症中的血小板功能。例如，高达45%的血小板减少症入院患者接受抗血小板或抗凝治疗。此外，其他因素会影响血小板的整体止血能力并增加出血风险。凝血系统的损伤会降低凝血酶的生成潜力，从而减少体内血小板活化的刺激，而纤维蛋白溶解的诱导会降低凝块强度。可以推测，von Willebrand因子的代偿性升高在一定程度上可以弥补血小板功能缺陷。红细胞影响体外血小板聚集能力。虽然缺乏研究，但重要的是要记住，在选择血小板功能测试时，血小板基质会影响测试结果。血液的流变学特性对于限制体内出血很重要，但没有用任何可用的方法进行评估。为了执行止血功能，血小板必须靠近血管壁放置。在流动过程中，红细胞导致血小板边缘化，从而增加作用部位的血小板浓度。因此，低血细胞比容是血小板减少症出血的危险因素。血小板减少症患者可能会接受血小板输注，很明显，体外血小板功能在储存用于输注的浓缩血小板期间会下降。因此，人们关注血小板浓缩物的血小板功能变化是否会影响血小板减少症患者的出血风险。不幸的是，没有模型可以准确预测供体和患者血小板之间的相互作用或输注血小板的止血作用。最近的一项研究发现，输注的血小板不会从血流中清除，这取决于体外的血小板功能。由于血小板减少症期间血小板聚集试验的方法学局限性，这一领域仍有待充分研究，但它对于解释最近对血小板减少症出血的研究非常重要。

5 血小板减少症和血液病患者血小板功能的当前方法学和临床研究

5.1 血小板指数

血小板大小，例如平均血小板体积（MPV），可能反映了血小板的功能特性，因为大血小板在体外表现出比小血小板更高的血小板聚集能力。1982年的一项研究提出，低MPV可识别血液病患者的出血。然而，血小板大小测量的方法学局限性限制了它们的使用，并且较新的研究无法表明MPV是出血风险标志物。未成熟的血小板可能比老血小板更具止血活性。由

于未成熟、新释放的血小板富含 mRNA，因此可以通过荧光标记来识别它们。未成熟血小板分数（IPF，未成熟血小板的百分比）取决于血小板减少的原因。高 IPF 表明血小板生成增加，这在外周血小板消耗或破坏的情况下可见，例如 ITP 或 TTP。在骨髓衰竭中，IPF 较低，升高可能预示血小板恢复，例如，在造血祖细胞移植后。低 IPF 与 ITP 中的出血表型相关；但仅当血小板计数低时。最近的一项研究发现，尽管血小板计数相似，但发生严重出血的 ITP 患者的绝对未成熟血小板数量低于没有发生严重出血的患者。在患有血液学癌症且血小板计数 $\leq 50 \times 10^9/L$ 的患者中，未成熟血小板绝对值较低与第二天的出血有关，而 IPF 在另一项研究中并未识别癌症和血小板减少症患者的出血风险。

5.2 全球测试

尝试使用全球全血测试来模拟体内止血过程在理论上是有益的。在整体测定中，血小板或多或少地被间接激活，这取决于多个止血过程的相互作用。粘弹性方法是全球性的方法，在监测急性危重出血方面取得了进展。它有助于在急性危重出血期间及时和适当地使用输血。在其他参数中，测量凝块强度，该参数取决于血小板计数。使用粘弹性方法的低凝块强度确定了各种原因导致的严重血小板减少症和 ITP 患者的出血表型。尽管这些方法可能对血小板功能缺陷不太敏感，但 Estcourt 等人发现在调整血小板计数后，粘弹性方法的结果可预测血液癌症和血小板减少症患者的出血。其他当前可用的全局测试对血小板减少样本没有用处。血小板功能 Analyzer-100®（PFA-100®, Siemens Healthcare Diagnostics GmbH, Marburg, Germany）不适用于血小板计数样本。

5.3 血小板聚集

采用光透射聚集法（LTA）的血小板聚集测试仍然是血小板功能测试的金标准，并已被广泛使用。然而，重要的是要知道该方法需要血小板计数至少为 $150 \times 10^9/L$ 。然而，LTA 和 PFA-100® 确定了 ITP 和正常血小板计数患者的出血表型。Lumiaggregometry 是经典光传输聚集仪的扩展，可能比 LTA 对低血小板计数时血小板功能降低更敏感，但缺乏对血小板减少症出血风险的研究。Multiplate® 分析仪（Roche Diagnostics GmbH, 曼海姆, 德国）是一种阻抗聚集仪，用于评估全血中的血小板聚集。从技术上讲，该方法可用于血小板计数严重降低的样本，但其结果在血小板计数方面显著降低。

5.4 流式细胞术

重要的是，使用流式细胞仪研究血小板功能的证据越来越多。通过流式细胞术分别表征每个细胞，因此无论患者的血小板计数如何，流式细胞术都适用。该方法已广泛用于研究表面受体的表达水平，并提供有关未刺激和刺激样本中血小板活化水平的信息。血小板活化标记物 P-选择素是一种 α -颗粒-膜整

合受体，在血小板活化后被整合到细胞表面。血小板表面颗粒素（CD63）表达代表致密颗粒释放，活化的 GPIIb/IIIa 受体或与受体结合的纤维蛋白原的表达是血小板聚集能力的量度。当血小板在体外用激动剂刺激时，血小板反应性或活化能力被报告为这些血小板活化标志物表达的变化。Annexin V 的评估已被用作研究细胞凋亡的工具。最近，有人进一步提出，与血小板计数无关的血小板粘附和血小板聚集也可以用流式细胞仪测量。

流式细胞术已被确定为遗传性血小板疾病调查的一部分，其中一些与出血风险有关。ITP 和阳性出血表型患者具有更高水平的自发血小板活化（未刺激样本中的血小板活化），根据较低的 P-选择素表达和低活化 GPIIb/血小板刺激后 IIIa 的表达比 ITP 患者无出血。ITP 中的血小板功能随时间变化是一致的，并且与并发和随后的出血严重程度相关。一致地，具有出血表型的 ITP 患者显示流式细胞术血小板聚集减少。然而，最近的一项研究表明，用于提高血小板计数的药物艾曲波帕对 ITP 患者的血小板功能影响很小。总体而言，ITP 血小板减少患者的血小板活化能力高于 AML。对于患有 AML 或骨髓增生异常综合征的血小板减少症患者，血小板活化能力低于健康个体，并且血小板活化减少与出血之间存在关联。在一项研究中，通过流式细胞术保留的血小板聚集反应确定了所有无出血表型的患者。相比之下，其他人发现出血的 AML 患者的刺激样本中活化的纤维蛋白原受体（GPIIb/IIIa）水平和 P-选择素水平高于没有出血的患者。较低的血小板活化能力（刺激样本中低 P-选择素表达）与血液癌症患者的出血评分相关，其中大多数患者存在血小板减少症。因此，流式细胞术被证明可用于研究血小板功能与血小板减少症出血之间的关系，以及获得有关血小板在疾病中的作用的更详细知识。它对于研究血小板在血管完整性方面的扩展止血特性也可能很有价值。然而，该方法没有标准化，并且方案通常执行起来很费力，这限制了它们的适用性，尤其是在紧急情况下。方案通常也针对特定条件，这意味着该测试并不普遍适合作为生物标志物。

5.5 血小板含量

最后，值得注意的是，血小板可以通过离心或凝胶过滤从全血中分离出来。这允许评估血小板裂解物中的血小板成分。它已被用于研究颗粒释放，并可用于评估其他血小板成分，如生长因子和免疫介质，是否会影响血小板减少症的出血风险。虽然动物研究指出了血小板成分与出血的相关性，但缺乏血小板减少症的人体临床研究。特别是，有关颗粒成分的信息对于了解炎症部位的出血可能很重要。因此，存在几种血小板功能测试，但是，大多数方法在血小板减少症中受到限制，因为结果受低血小板计数的影响。流式细胞术似乎特别有希望提供新的出血风险标志物。潜在地，可以通过对血小板组成和血小板粘附的研究来建立其他相关的生物标志物。

6 结论

血小板减少症患者的血小板功能各不相同，可能会识别出血风险。除了一些遗传性血小板疾病外，对血小板功能降低的原因的机制了解很少。对于血小板减少症中血小板功能的研究，

流式细胞术是一种很有前途的工具，而血小板成分和血小板粘附的评估可能是相关的。当前论文的一个重要信息是，出血风险的确定必须针对特定患者群体进行调整，不能广泛应用于所有血小板减少症患者。在这方面，例如，用于预测血小板输注效果的可靠体外模型会有所帮助。

参考文献:

- [1] Golebiewska EM, Poole AW. Platelet secretion: from haemostasis to wound healing and beyond. *Blood Rev* 2015;29:153 – 62.
- [2] Estcourt LJ, Stanworth SJ, Murphy MF. Platelet transfusions for patients with haematological malignancies: who needs them? *Br J Haematol* 2011;154:425 – 40.
- [3] Slichter SJ, Kaufman RM, Assmann SF, McCullough J, Triulzi DJ, Strauss RG, et al. Dose of prophylactic platelet transfusions and prevention of hemorrhage. *N Engl J Med* 2010;362:600 – 13.
- [4] Uhl L, Assmann SF, Hamza TH, Harrison RW, Gernsheimer T, Slichter SJ. Laboratory predictors of bleeding, and effect of platelet and RBC transfusions on bleeding outcomes, in the PLADO Trial. *Blood* 2017;130:1247 – 58.
- [5] Heddle NM, Cook RJ, Sigouin C, Slichter SJ, Murphy M, Rebulla P, et al. A descriptive analysis of international transfusion practice and bleeding outcomes in patients with acute leukemia. *Transfusion* 2006;46:903 – 11.
- [6] Vinholt PJ, Frederiksen H, Hvas AM, Sprogø U, Nielsen C. Measurement of platelet aggregation, independently of patient platelet count: a flow-cytometric approach. *J Thromb Haemost* 2017;15:1191 – 202.
- [7] van Bladel ER, Laarhoven AG, van der Heijden LB, Heitink-Polle KM, Porcelijn L, van der Schoot CE, et al. Functional platelet defects in children with severe chronic ITP as tested with 2 novel assays applicable for low platelet counts. *Blood* 2014;123:1556 – 63.
- [8] Frelinger 3rd AL, Grace RF, Gerrits AJ, Berny-Lang MA, Brown T, Carmichael SL, et al. Platelet function tests, independent of platelet count, are associated with bleeding severity in ITP. *Blood* 2015;126:873 – 9.
- [9] Estcourt LJ, Stanworth SJ, Harrison P, Powter G, McClure M, Murphy MF, et al. Prospective observational cohort study of the association between thromboelastometry, coagulation and platelet parameters and bleeding in patients with haematological malignancies – The ATHENA study. *Br J Haematol* 2014;166:581 – 91.