

苯中毒性再生障碍性贫血患者外周血网织血小板水平观察

姚荣欣¹, 陈慧², 高宝辉², 朱传新³, 林颖¹, 倪莉², 吴凌云¹, 金栗铭¹

(1. 温州医学院附属第二医院血液内科, 浙江温州 325027; 2. 温州医学院附属第二医院检验科, 浙江温州 325027; 3. 温州市疾病控制中心, 浙江温州 325027)

摘要: 目的 探讨苯中毒性再生障碍性贫血 (BPAA) 患者外周血网织血小板 (RPs) 的变化规律。方法 采用流式细胞仪技术测定 47 例 BPAA 患者外周血 RPs 的比例和绝对值, 观察 RPs 在 BPAA 中的变化规律, 并与 30 例健康对照组进行比较。结果 苯中毒性急性再生障碍性贫血 (ABPAA) 患者外周血中 RPs 百分率及绝对计数均低于正常对照组 ($P < 0.05$); 苯中毒性慢性再生障碍性贫血 (CBPAA) 患者外周血中 RPs 百分率与正常对照组差异无显著性 ($P > 0.05$), 而 RPs 绝对计数低于正常对照组, 差异有显著意义 ($P < 0.05$)。CBPAA 和 ABPAA 组之间 RPs 百分率及绝对计数差异有显著性 ($P < 0.05$)。RPs 绝对计数与 BPC 计数间呈正相关 ($r = 0.74$)。治疗有效的患者在外周血象开始好转前, 首先出现 RPs% 上升。22 例 ABPAA 患者按疗效分成治疗有效组和治疗无效组, 治疗有效组患者的 RPs% 及 RPs 绝对计数均明显高于治疗无效组, 差异有显著意义 ($P < 0.05$)。结论 在 BPAA 患者中, RPs% 及 RPs 绝对计数的水平间接地反映了苯对骨髓的损害程度, 并可作为预测其疗效的有用指标。

关键词: 苯; 贫血; 再生障碍性; 流式细胞仪; 网织血小板

中图分类号: R556.5; R595 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2004)02-0074-03

Observation on the levels of peripheral reticuloplatelets in aplastic anemia patients caused by benzene poisoning

YAO Rong-xin¹, CHEN Hui², GAO Bao-hui², ZHU Chuan-xin³, LIN Ying¹, NI Li², WU Lingyun¹, JIN Li-ming¹

(1. Department of Hematology, The Second Affiliated Hospital of Wenzhou Medical College, Wenzhou 325027, China; 2. Department of Laboratory Medicine, The Second Affiliated Hospital of Wenzhou Medical College, Wenzhou 325027, China; 3. Wenzhou Municipal Center of Disease Control, Wenzhou 325027, China)

Abstract: **Objective** To study the change regularity of the peripheral reticuloplatelets (RPs) in the aplastic anemia patients caused by benzene poisoning (BPAA). **Method** The percentage and absolute count of RPs in peripheral blood were detected by flow cytometer in 47 BPAA patients and 30 normal controls. **Result** The patients with acute aplastic anemia (ABPAA) had much lower percentage and absolute count of RPs compared with controls and the patients with chronic aplastic anemia by benzene poisoning (CBPAA); there was no difference in percentage of RPs compared with the patients with CBPAA patients and the controls ($P > 0.05$), but the absolute count of RPs in CBPAA patients was lower than that of controls ($P < 0.05$). The absolute count of RPs had a positive correlation with BPC ($r = 0.74$); before improvement of BPC of peripheral blood in the effective patients to treatment, the percentage of RPs already showed increased; there were significantly higher percentage and absolute counts of RPs in effective ABPAA patients than that of ineffective patients ($P < 0.05$). **Conclusion** The percentage and absolute counts of RPs could indirectly reflect damage degree of bone marrow by benzene, and might be a helpful index for predicting the effect of therapy.

Key Words: Benzene; Anemia; Aplastic; Flowcytometer; Reticuloplatelets

网织血小板 (RPs) 是新近生成并释放入外周血的血小板, 胞浆内含丰富的 RNA^[1]。外周血中 RPs 的比例和绝对计数能反应骨髓中巨核细胞产生血小板的状况。我们用流式细胞仪测定苯中毒性再生障碍性贫血 (BPAA) 患者外周血中 RPs 的比例和绝对计数, 探讨 RPs 在 BPAA 患者外周血中的变化规律, 并观察 RPs 是否可作为判断其疗效及预后的有用指标。

1 对象与方法

1.1 病例来源

47 例 BPAA 患者均为我院 2000 年 9 月 ~ 2003 年 7 月的住院病人, 男 29 例, 女 18 例, 平均年龄 28.3 岁, 均为皮鞋制作工人; 其中苯中毒性慢性再生障碍性贫血 (CBPAA) 25 例, 苯中毒性急性再生障碍性贫血 (ABPAA) 22 例, 苯接触时间 3 个月 ~ 2 年 9 个月, 平均 13.5 月。苯接触方式: 30 例患者主要是使用以纯苯为溶剂的氯丁胶作为粘合剂, 苯通过呼吸道接触, 车间空气中苯浓度为 238 ~ 1456 mg/m³; 17 例患者主要为双手直接浸泡于含苯溶液 (香蕉水) 中。

收稿日期: 2003-09-10; 修回日期: 2003-12-24

基金项目: 浙江省教委科研基金资助项目 (编号 20020443)

作者简介: 姚荣欣 (1962-), 男, 浙江临海市人, 副主任医师, 主要从事临床血液学工作。

参照 GBZ68—2002《职业性苯中毒诊断标准》^[2], 诊断为慢性重度苯中毒。再生障碍性贫血诊断及分型标准符合文献^[3]。正常对照组 30 名, 均为本院体检健康学生, 其中男 18 例, 女 12 例, 平均年龄 22.5 岁。

1.2 治疗方法

CBPAA 患者以安雄 $120\text{mg} \cdot \text{d}^{-1}$ 为主要治疗药物, 结合左旋咪唑, 硝酸一叶秋碱; ABPAA 患者采用环孢菌素 (CsA, 温州瑞邦大药厂生产), 口服 $3 \sim 6\text{mg} \cdot (\text{kg} \cdot \text{d})^{-1}$, 维持血清血药浓度 $200 \sim 400\text{ng} \cdot \text{ml}^{-1}$, 安雄 $120\text{mg} \cdot \text{d}^{-1}$; 7 例并用 G-CSF $200 \sim 300\mu\text{g} \cdot \text{d}^{-1}$, 皮下注射, 同时给予成分输血及抗感染等支持治疗。定期进行血常规及骨髓涂片检查, 疗效标准按基本治愈、缓解、明显进步、无效判断^[3]。25 例 CBPAA 患者基本治愈 12 例, 缓解 5 例, 明显进步 3 例, 无效 5 例; 22 例 ABPAA 患者基本治愈 13 例, 缓解 1 例, 明显进步 1 例, 7 例无效患者均死亡 (颅内出血 4 例, 严重感染 2 例, DIC 1 例)。

1.3 实验方法

网织血小板检测: 按 Richards^[4] 方法并加以改进, 采静脉血 2ml, 用 109mmol/L 枸橼酸钠抗凝, 制备富浆血小板 (PRP), 取 PRP $30\mu\text{l}$ 加 CD42b-PE $10\mu\text{l}$ 避光标记 15 min 后, 加 1 ml 噻唑橙 (TO) 混匀, 室温 (22°C) 避光孵育 1 h, 同时另取一份加入 PBS 液作为空白对照。以流式细胞仪 (EPICS XL 型, Coulter 公司) 及配套软件测定荧光强度, 吸收光谱为 488nm , 激发光谱为 530nm , 测得直方图, 首先根据前向散射光和侧向散射 (FSC/SSC) 对数坐标图设定血小板门, 将血小板与白细胞、红细胞及碎片分开, 并用 CD42b 单抗确认门内血小板比例。按空白对照设置标尺, 使 TO 阳性血小板为 0.3%, 同一标尺用于 TO 染色的病例标本, 结果以网织血小板百分率 (RP%) 表示。以 RP% 与血小板计数相乘, 得 RPs 绝对值。

1.4 统计学方法

所有数据均采用 $\bar{x}$ 表示, 结果用 SPSS11.0 统计软件, 两均数间比较采用 t 检验。

2 结果

2.1 各组间 RPs 水平的比较

ABPAA 患者外周血中 RPs 百分率及绝对计数均低于正常对照组 ($P < 0.05$); CBPAA 患者外周血中 RPs 百分率与正常对照组差异无显著性 ($P > 0.05$), 而 RPs 绝对计数低于正常对照组, 差异有显著意义 ($P < 0.05$)。CBPAA 和 ABPAA 组之间 RPs 百分率及绝对计数差异有显著性 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 BPAA 各组间 RPs 水平的比较 ($\bar{x}$)

组别	n	BPC ($\times 10^9$)	RPs%	RPs 绝对计数 ($\times 10^9$)
正常对照组	30	169.13	7.72	13.34
ABPAA	22	12.50	4.43 ^{▲☆}	0.55 ^{▲☆}
CBPAA	25	54.92	6.94	3.80 [▲]

▲与正常对照组比较 $P < 0.01$; ☆ABPAA 与 CBPAA 比较 $P < 0.05$; 与正常对照组比较 $P > 0.05$

2.2 相关因素分析

经分析发现, 47 例患者 RPs 绝对计数与 BPC 计数间呈正相关 ($r = 0.74$), $P < 0.001$ 。

2.3 RPs 与疗效的关系

22 例 ABPAA 患者按疗效分成治疗有效组 (基本治愈、缓解、明显进步) 和治疗无效组, 两组患者在治疗前外周血象中的血红蛋白、白细胞、血小板、中性粒细胞、网织红细胞、骨髓象及单用 CsA 与 CsA 加 G-CSF 相比, 差异均无显著性, 但治疗有效组患者治疗前的 RPs% 及 RPs 绝对计数均明显高于治疗无效组, 差异有显著意义 ($P < 0.05$), 见表 2。其中 18 例患者在治疗过程中每周一次动态观察 RPs 的变化, 发现 13 例治疗有效患者在外周血象开始好转前, 首先出现 RPs% 上升, 而 5 例治疗无效的患者在治疗过程中 RPs% 一直未见上升。

表 2 ABPAA 患者 RPs 与疗效的关系 ($\bar{x}$)

组别	n	RPs%	RPs ($\times 10^9/L$)
治疗有效组	15	4.96 [*]	0.61 [*]
治疗无效组	7	3.30	0.41

* 与治疗无效组相比 $P < 0.05$

3 讨论

网织血小板是新生的血小板, 含有丰富的 RNA, 外周血 RPs 水平被认为是反映体内血小板生成能力的指标, 在临床上可作为判断血小板生成能力极有价值的指标。90 年代以来, 许多学者探索使用流式细胞仪检测 RPs, 以探讨在各种血小板减少性疾病中 RPs 的变化规律, 认为 RPs 值对于区别因消耗引起的巨核细胞增加性或骨髓抑制引起的巨核细胞减少性血小板减少症有很强的阳性预测价值^[5]。

BPAA 是由于苯及其代谢产物对骨髓造血干细胞及造血微环境造成损害, 导致骨髓造血功能衰竭的疾病。BPAA 患者外周血血小板及骨髓巨核细胞明显减少。外周血网织血小板水平反映了骨髓巨核细胞产生血小板的能力, 间接地反映了骨髓的损伤抑制程度。我们的研究发现, 在 BPAA 患者中, CBPAA 和 ABPAA 患者外周血 RPs 绝对计数均明显低于正常对照组, CBPAA 患者 RPs% 水平与正常对照组差异无显

著性, ABPAA 患者 $RP_s\%$ 水平明显低于正常对照组, 差异有显著意义 ($P < 0.05$)。这一变化反映了 CBPAA 和 ABPAA 患者的骨髓中巨核细胞均明显减少, 血小板的产生能力明显下降; 在 CBPAA 患者的骨髓中, 巨核细胞的减少不如 ABPAA 患者显著, 再加上其外周血血小板计数减少, 导致其 RP_s 相对值无明显变化。我们分析所有 47 例患者发现 RP_s 绝对计数与 BPC 计数之间呈正相关 ($r = 0.74$), $P < 0.001$ 。上述事实表明, RP_s 绝对计数的高低能比较直接地反映骨髓巨核细胞产生血小板的能力, 同时也间接地反映了苯对骨髓的损伤抑制程度。

22 例 ABPAA 患者按疗效分成治疗有效组和治疗无效组, 两组患者外周血象、骨髓象及单用 CsA 与 CsA 加 G-CSF 相比, 差异均无显著性; 治疗有效组患者的 $RP_s\%$ 及 RP_s 绝对计数均明显高于治疗无效组, 差异有显著意义, 推测可能是由于 $RP_s\%$ 及 RP_s 绝对计数较高的患者, 相对来说, 苯对骨髓的损害较轻, 骨髓尚保留有一定的造血能力, 因而对于治疗的反应较好。在 22 例 ABPAA 患者的治疗过程中, 对其中 18 例进行了 RP_s 的动态观察, 发现在治疗有效的患者中, 在外周血象开始好转之前首先出现 $RP_s\%$ 的上升, 继之出现血小板上升, 然后相继出现白细胞、血

红蛋白的上升, 此现象表明 RP_s 能比较敏感地反映骨髓造血能力的恢复, 较早地预示疗效的出现; 13 例基本治愈患者, 在血小板及骨髓造血功能恢复正常后, $RP_s\%$ 及 RP_s 绝对计数也恢复正常, 而未治愈者则变化不明显。

以上现象提示, 在 BPAA 患者中, $RP_s\%$ 及 RP_s 绝对计数的水平间接地反映了苯对骨髓的损害程度, 并可作为预测疗效的有用指标。至于 $RP_s\%$ 及 RP_s 绝对计数水平对于区别慢性重度苯中毒急、慢性再生障碍性贫血的界限, 尚有待积累更多的病例观察。

参考文献:

- [1] Peteres SM, Brennan SA, Rinder HM, et al. Reticulated platelet values in normal and thrombocytopenic neonates [J]. J Pediatr 1996; 129: 269-274.
- [2] GBZ68-2002, 职业性苯中毒诊断标准 [S].
- [3] 张之南. 血液病诊断及疗效标准 [M]. 天津: 天津科学技术出版社, 1998: 33.
- [4] Richards EM, Baglin T P. Quantitation of reticulated platelets: methodology and clinical application [J]. Br J Haematol 1995; 91: 445-451.
- [5] Kienast J, Schmitz G. Flow cytometric analysis of thiazole orange uptake by platelets: a diagnostic aid in the evaluation of thrombocytopenic disorders [J]. Blood 1990; 75 (1): 116-121.

中西医结合治疗急性一氧化碳中毒致迟发性脑病 3 例报告

韩晓玲, 姜锋杰, 李国丽

(潍坊市人民医院 山东 潍坊 261041)

1 临床资料

3 例患者中男性 1 例, 女性 2 例; 晚间室内燃煤取暖所致 2 例, 煤气管道泄漏所致 1 例。3 例患者均为急性重度一氧化碳中毒, 昏迷 6~12 h 后被他人发现, 急送医院抢救, 行高压氧治疗后渐苏醒, 意识正常。经过 5~17 d 后又突然出现表情淡漠, 反应迟钝, 记忆力障碍, 大小便失禁, 生活不能自理, 肢体活动欠灵活。3 例患者既往身体健康, 无高血压病史及其他明显的诱发因素。颅脑 CT 示: 脱髓鞘病变。

治疗方法与转归: 入院后采用紫外线量子血氧疗法, 每次血量 200 ml, 隔日 1 次。中药应用神特核心口服液 (我院协定处方) 50 ml, 每日 2 次, 主要由丹参、川芎、红花等组成, 每毫升含生药 1.3 g。同时使用能量合剂等对症支持治疗。3 例患者全部治愈, 随访半年无迟发症及其他并发症。

2 典型病例

患者, 女, 50 岁, 农民, 因昏迷 12 h 于 1993 年 2 月 20 日入院。患者于发病前夜在室内燃煤取暖入睡, 次日被他人发现昏迷不醒而急送当地医院。查体: T 36.4 °C, P 86 次/min, R 19 次/min, BP 150/100 mmHg (20/13 kPa)。患者呈昏迷状态,

皮肤呈樱红色, 双侧瞳孔缩小, 光反射迟钝, 腱反射减弱。实验室检查: 血碳氧血红蛋白含量大于 40%。诊断: 急性重度一氧化碳中毒。经高压氧治疗, 14 h 后意识转清, 住院 10 余天痊愈出院。患者出院后生活正常。于病后 16 d 突然出现四肢活动不灵, 大小便失禁, 意识不清而再次入院。查体: 患者意识恍惚, 反应迟钝, 表情淡漠; 四肢肌力减弱, 为 II~IV 级, 以上肢及四肢远端为著; 肌张力不高, 腱反射亢进, 双侧巴氏征阳性。颅脑 CT 示: 双侧脑室略扩张, 周围白质密度低, 脑白质疏松, 提示脱髓鞘病变。诊断: 急性一氧化碳中毒致迟发性脑病。给予血氧疗法、神特核心口服液、能量合剂等治疗, 病情渐好转, 意识清, 四肢活动自如, 记忆力明显改善, 大小便正常, 无阳性体征。复查头颅 CT 无异常发现。住院 45 d 痊愈出院。

3 讨论

急性一氧化碳中毒致迟发性脑病是由大脑广泛脱髓鞘及苍白球软化所致, 其临床表现属中医的气血经络淤滞不通。我们采用量子血氧疗法可大大增强红细胞的氧合, 改善微循环, 能迅速改善大脑的缺氧状态。中药神特核心口服液能活血化瘀, 通络开窍。实验结果证明: 丹参、川芎、红花能改善微循环, 改善组织供血、供氧及防止组织结构及功能受损, 具有明显保护组织细胞的作用。两者配合, 发生协同作用, 提高血氧含量, 促进大脑的血液循环, 有利于大脑的功能恢复, 且疗效稳定巩固。

(收稿日期: 2003-08-15; 修回日期: 2003-11-06)