

## 혈소판분반술이 공혈자의 혈소판 응집능에 미치는 영향\*

계명대학교 의과대학 임상병리학교실, 일반외과학교실\*\*

박현찬 · 전효진 · 전동석 · 김재룡 · 박상균\*\*

### = Abstract =

#### Effects of Plateletpheresis on Platelet Aggregation in Healthy Donors\*

Heon Chan Park, M.D., Hyo Jin Chun, M.D.,

Dong Seok Jeon, M.D., Jae Ryong Kim, M.D. Sang Kyun Park, M.D.\*\*

Department of Clinical Pathology, Department of General Surgery\*\*

Keimyung University College of Medicine, Taegu, Korea

In recent years, transfusion of platelets obtained from individual donors has increased markedly concurrent with the availability of cell separators. In order to evaluate the effects of plateletpheresis on the platelet function of 26 healthy donors, ADP-, epinephrine-, collagen-, and reistocetin-induced platelet aggregation before and after plateletpheresis were investigated by densitometric aggregometer.

Abnormal aggregation function was disclosed after plateletpheresis in 3 cases for ADP, 7 cases for epinephrine, and 1 case for collagen. In total 8 of 26 donors, aggregation function was changed to abnormal, of which 1 case recovered at 24 and 48 hours after plateletpheresis and in the other 1 case the abnormal function persisted. The remaining 6 cases were not have followed up.

D-dimer test was negative after plateletpheresis in all cases.

These data suggest that abnormal platelet function could occur after plateletpheresis in donors and might persist in some cases. The search for the causes and clinical implications is remained to be elucidated. (**Kor J Blood Transf 4(1) : 55-60, 1993**)

**Key Words :** Plateletpheresis, Platelet aggregation, Platelet donor, D-dimer

### 서 론

혈소판감소증의 치료를 위하여 혈소판 수혈이

\* 이 논문은 1992년도 계명대학교 동산의료원 특수과제 연구비로 이루어졌음.

\* 본 논문은 1993년 3월 20일 대한임상병리학회 영남 지회에서 구연되었음.

최근에 매우 증가하게 되었다. 이러한 혈소판 수혈의 요구가 증가함에 따라 좀 더 효과적으로 혈소판을 채취하기 위한 기술의 발달로 혈액성분 채혈기기(cell separator)가 개발되었다. 혈액성분 채혈기기의 개발은 환자에게 필요한 혈소판의 채취를 매우 용이하게 하였다.

혈소판 채취를 위해서는 반드시 공혈자를 필요로

하며 혈소판 채취를 위한 혈소판분반술은 공혈자에게 심한 합병증이 없어야 모든 공혈자가 안심하고 혈소판을 줄수 있을 것이다. 그러므로 혈소판분반술이 공혈자에 어떠한 영향을 미치는지에 대하여 많은 연구가 이루어져 왔다<sup>1-3)</sup>.

그러나 혈소판분반술은 공혈자의 혈액을 체외로 순환시키게 됨으로서 혈장성분뿐만 아니라 혈액세포들도 비정상적인 환경에 노출되며 되므로 혈액응고계에 이상을 초래할 수 있을 것으로 추측된다. 혈액응고에 관련된 가장 중요한 혈액세포는 혈소판으로서 혈소판의 손상은 체외순환후 공혈자에서 비정상적인 출혈의 원인중 주된 소견이 될수 있다.

저자들은 개심술시 체외순환에 의하여 혈소판의 기능장애가 초래되는 것이 밝혀져 있으나 체외순환이라는 점에서는 같은 원리인 혈소판분반술이 공혈자의 혈소판 기능에 미치는 영향에 대한 보고는 찾아 볼수 없어 이 연구를 시행하였다.

## 재료 및 방법

계명대학교 동산병원에서 시행한 혈소판분반술에 중 혈액관리법 시행규칙에서 정한 공혈자 선택기준에 적합한 26예를 대상으로 혈소판 분반술을 시행하였다. 혈소판분반술에 사용된 장비는 Haemonetics V50(Haemonetics사, 미국)이었다.

혈소판분반술 시행 직전과 직후에 혈액을 채취하여 자동혈액분석장비인 TECHNICON H-1 System(Technicon사, 미국)을 이용하여 혈색소, 백혈구수, 혈소판 수 및 백혈구 감별 계산을 하였고, D-dimer검사는 RAPIDIA-D dimer(Fujirebio사, 일본)시약으로 실시하였으며, 혈소판응집능검사는 PAP-4(Bio/Data사, 미국)를 이용하여 adenosine diphosphate(ADP), epinephrine, collagen, 및 ristocetin등의 agonist에 대하여 시행하였다. 혈소판응집능은 응집%가 60% 이상을 정상으로 판정하였다.

혈소판분반술은 #603 bowl과 ACD용액(녹십자와공)을 사용하여 6cycle을 환자가 소아인 경우는 5cycle(6예), 공혈자의 hematocrit가 48이상인 경우는 7cycle(3예)을 시행하였다.

결과에 대한 유의성검정은 paired t-test에 의하여 분석하였다.

## 결 과

혈소판분반술을 시행한 26예의 공혈자는 모두 남자였으며 나이는 16세부터 37세까지였다.

혈소판분반술시행전의 평균 혈색소는  $15.0 \pm 0.8$  g/dl, 평균 백혈구수는  $6022 \pm 999$ /uL, 및 평균 혈소판 수는  $241050 \pm 42762$ /uL였다.

혈소판분반술시행 직후의 평균혈색소는  $14.4 \pm 1.1$  g/dl로서 시행전에 비해 4% 감소되었으며, 평균 백혈구수는  $5695 \pm 947$ /uL로 시행전에 비해 5% 감소되었고, 그리고 평균 혈수판 수는  $194300 \pm 31377$ /uL로 19% 감소되었다(Table 1).

혈소판분반술직후의 D-dimer검사에서는 모두 음성을 나타내었다.

혈소판분반술 직전의 혈소판응집능검사에서 ADP에 대하여 비정상인 공혈자가 5예(19%)이었으며 epinephrine에 비정상인 공혈자가 5예(19%) 있었으며 ADP 및 epinephrine에 함께 비정상을 나타낸 공혈자는 4예(15%)이었다. Collagen에는 모두 정상을 나타내었으며 ristocetin에 비정상을 나타낸 경우가 3예(12%)이었다. Ristocetin에 비정상을 나타낸 3예는 다른 agonist에 대해서는 모두 정상이었다. 그리고 혈소판분반술직후의 혈소판응집능검사에서 ADP에 대해 비정상을 나타낸 경우가 8예(31%)이었으며 이중 3예는 혈소판분반술 후에 비정상 소견을 보였다.

Table 1. Hematologic changes of donors

Parameters	Pre	Post	P
Hb(g/dl)	$15.0 \pm 0.8$	$14.4 \pm 1.1$	0.0000
WBC(/uL)	$6022 \pm 999$	$5695 \pm 947$	0.0000
Platelet(/uL)	$241050 \pm 42762$	$194300 \pm 31377$	0.0000
Differential count			
Neutrophil(%)	$56.2 \pm 7.7$	$57.7 \pm 6.7$	0.0558
Lymphocyte(%)	$32.3 \pm 5.7$	$30.3 \pm 5.4$	0.0215
Monocyte(%)	$4.2 \pm 1.3$	$5.1 \pm 1.3$	0.0008
Eosinophil(%)	$2.5 \pm 2.3$	$2.6 \pm 2.3$	0.5376
Basophil(%)	$1.2 \pm 0.8$	$1.0 \pm 0.2$	0.5021
LUC*(%)	$3.6 \pm 1.1$	$3.3 \pm 0.7$	0.1475

Values are expressed as mean  $\pm$  SD

\* : Large unstained cell

**Table 2.** Platelet aggregation percentage of donors appearing abnormal findings

Donor No.	Pre				Post			
	ADP	Epinephrine	Collagen	Ristocetin	ADP	Epinephrine	Collagen	Ristocetin
1	80	73	75	32	84	79	71	28
2	30	6	67	76	38	10	65	71
3	78	81	91	48	90	83	69	91
4	42	5	89	75	55	3	75	70
5	54	8	91	72	36	4	74	79
6	26	6	74	78	38	14	89	100
7	60	6	73	75	54	8	87	79
8	71	80	83	80	78	5	88	80
9	44	75	74	93	42	36	73	84
10*	76	70	74	58	61	13	86	80
11	74	67	77	90	74	16	87	87
12	69	88	70	92	16	16	51	94
13	68	78	87	96	58	22	80	76
14**	83	74	77	87	81	25	79	98

\*;persisted abnormal function, \*\*;recovered at 24 hours.

Epinephrine에 대해 비정상을 나타낸 경우는 12 예(46%)이었으며 직전에 정상이었다가 직후에 비정상으로 된 경우가 7예(27%)이었다. Collagen에 대해서는 비정상을 나타낸 경우가 1예(4%)로 시행전에 정상이었던 공혈자이다. Ristocetin에 대해서는 비정상을 나타낸 경우가 1예(4%)이었으며 이 공혈자는 시행직전에도 비정상이었다. 그러나 시행전에 비정상이었던 3예중 2예에서는 시행직후 정상으로 되었다(Table 2).

혈소판분반술직전에 정상에서 실시직후에 비정상으로 바뀌었던 8예(31%)의 공혈자중에서 10번 공혈자는 24시간과 72시간 경과후의 검사에서도 정상으로 환원되지 않았으며, 14번 공혈자는 24시간과 48시간 경과후의 검사에서 정상으로 되었다. 나머지 6예는 공혈자의 사정으로 경과를 관찰할 수 없었다.

## 고 찰

체외순환기술은 개심술, 혈액투석, 그리고 혈액성분채취등에 이용되어 의학의 발전에 크게 이바지하여 앞으로 더욱 많이 이용하게 될 것이다. 그러나 체외순환은 혈액이 항상 합성물질에

접촉하도록 되어 있어 여기에 따르는 문제점들도 발견되고 있다. 그중에서 중요하게 작용하는 한 요인은 혈소판의 수적감소나 응집능의 소실에 의한 출혈성 경향이 나타날 수 있다는 것이다.<sup>4-7)</sup>

혈소판은 혈액이 합성물질의 표면에 접촉후 1분내에 부착되기 때문에 이러한 현상이 나타난다.<sup>8-9)</sup> 이때 피브리노겐은 혈소판의 부착과 응집에 필수적인 보조인자로 작용하며 혈소판막은 혈소판 1개에 약 55000피브리노겐 수용체들을 가지고 있다. 그러나 이들막의 수용체들은 피브리노겐이 결합하기 전에 노출되어 있어야만하며, 피브리노겐 수용체들을 노출하기 위해서 혈소판은 체내에서 활성화되어 있어야 하거나 체외에서 chymotrypsin으로 활성되거나 digest되어야만 한다.<sup>10-14)</sup> 그리고 피브리노겐의  $\beta$  chain 중 carboxyl-terminal이 혈소판응고에 필수적인것으로 밝혀졌다.<sup>15)</sup>

체외순환에서 혈소판의 초기 활성화의 기전은 불확실하나 체외순환으로 인하여 혈소판의 응집능장애가 초래되는 것이 증명되었으며 이 기전은 혈소판막 수용체의 상실로 인할 것으로 추측하고 있다.<sup>11,16-17)</sup> 저자들은 혈소판 분반술시 혈액응집능의 검사에서 혈소판 응집매체(agonist)인 ADP에 대하여 혈소판 분반술직전에 비해 직후에 비정상으로

된 경우가 12%에서, epinephrine에 대해서는 27%, collagen에 대하여는 4%에서 나타났다. 혈소판 분반술에 의해서 혈소판응집능의 저하를 나타낼 수 있는 기전들은 여러가지로 추측 할 수 있다.

혈소판분반술시 항응고제로는 ACD액의 성분중에 포함된 trisodium citrate의 항응고작용은 혈액의 칼슘이온과 작용으로 나타난다. 칼슘은 혈소판응집능검사에서 혈소판 풍부혈장에 적당량 있어야만 혈소판 응집이 강화된다. 그러므로 항응고액이 칼슘을 과도하게 결합하면 혈소판응집능검사에 이상을 초래할 수 있다.

Han 등<sup>18)</sup>은 citrate에 의한 칼슘의 결합은 pH의 존적이며, 시간경과에 따라 혈장 pH가 증가할 때 칼슘결합이 증가된다고 하였다. 이것은 0.1M citrate용액의 혈장에서 ADP에 대한 응집능검사시 20분경과후에 약 85, 그리고 110분 경과후에 약 70%였던것이 0.129M citrate에서는 20분 경과후에 약 80%, 그리고 110분 경과후에 약 40%의 응집을 나타내었다. 그러므로 저자들의 혈소판 분반술 후 응고능의 저하는 혈소판 분반술에서 사용되는 citrate와 혈소판 분반술 시행시간이 약 2시간 소요되는데 따른 시간적 변화에 의해 pH의 변화가 요인이 될 수 있을 것으로 추측된다.

막형산화기가 포함된 체외순환에서 순환되는 혈소판은 epinephrine, ADP, collagen 및 thrombin에 대한 응집능이 소실되고 low-affinity platelet factor 4(LA PF4) 및  $\alpha$  과립에 저장된 혈소판 특이단백질등이 혈소판내에서 감소되어 혈장에서 점차 증가하며, 개심술시 체외순환동안에 혈소판 수와 기능은 감소하고 혈소판수는 혈액희석으로 인한 원인이 크며, 합성물질 표면에 혈소판 부착과, 혈소판의 간, 비장 및 폐등에 sequestration은 혈소판수에 거의 영향을 미치지 않는다고 하였다<sup>19-20)</sup> 또한 scanning EM으로 체외순환 합성물질 표면에 혈소판 유착이 나타나는것을 증명하였으며 TEM으로 이질적인 혈소판 형태를 관찰했다<sup>9, 19, 23, -24)</sup>. 이러한 체외순환의 원리는 혈소판분반술과 비슷하므로 혈소판분반술시 혈소판의 합성물질표면에 노출되는 것은 혈소판응집능의 감소의 또 다른요인이 될 수 있을 것으로 생각된다.

재순환되는 혈액의 혈소판은 혈액이 최초로 합성물질과 접촉시에 보이는 혈소판활성화의 정도만큼 활성화 되지 못하며, LA-PF4를 유출시키지 않고 thromboxane B<sub>2</sub>를 합성하지 않으므로  $\alpha$  과립

내의 물질들과 thromboxane B<sub>2</sub>치는 혈소판이 비가역적으로 응집이 일어났다는것을 암시하는 수치까지 도달하지는 않는다.<sup>25-30)</sup> 따라서 혈소판분반술시 6번 정도 반복하는 혈소판분리과정중 최초 분리과정에서는 혈소판의 활성화로 혈소판응집능의 감소가 일어날 수 있으나, 이후의 과정에서는 혈소판기능에 크게 영향을 미치지 않을 것이라고 추측할 수 있으므로 혈소판분반술로 채취된 혈소판기능은 크게 문제 되지 않을 것으로 생각된다.

혈소판분반술에 따르는 혈색소, 백혈구수 및 혈소판수의 변동에 대해서 보고된 것을 살펴보면 정화령 등<sup>1)</sup>은 혈소판분반술후 각각 12%, 10.6%, 및 34.4%의 감소를, 신보문 등<sup>2)</sup>은 각각 11.0%, 13.0% 및 32.3%의 감소를 나타낸다고 하였다. 저자들의 경우에는 각각 4%, 5% 및 19%의 감소를 보였다. 이러한 차이는 공혈자들의 분반술 전의 혈색소, 백혈구수 및 혈소판 수의 차이, 혈액분반술의 시행방법 및 검사방법의 차이 등때문일 것으로 생각된다.

혈소판 응고검사에 영향을 미치는 요인은 다양하여 가검물 채취방법 및 사용된 항응고제의 종류, 혈소판 풍부 혈장을 얻기 위한 원심분리기의 종류와 원심시 혈액세포 특히 적혈구의 혼입등 뿐만 아니라 혈소판 풍부혈장에서 혈소판농도, 가검물 채취후 검사까지의 시간, pH, 온도, 검사시 사용되는 stir-bar크기, 혈장내의 성분, 검사시 운동과 정신적스트레스, 여러가지 약물(특히 아스파린), 알코올, 및 흡연등도 검사결과에 많은 영향을 미친다.<sup>31-33)</sup> 저자들은 이러한 검사방법에 따르는 다양한 영향인자들을 일정하게 하여 동일한 상태로 검사를 시행하여 혈소판분반술 전후의 결과를 비교하였으므로 검사방법에 의한 오류는 없을 것으로 판단된다.

## 요약

혈소판분반술에 의한 혈소판응집능의 변화를 검토하기 위하여 26예의 공혈자를 대상으로 혈소판분반술 전후에 혈소판응집능검사 등을 실시하였다.

혈소판 분반술후 혈색소는 4%, 백혈구수는 5%, 및 혈소판 수는 19% 감소하였다. 혈소판분반술후 D-dimer는 모두 음성을 나타내어 fibrinolysis는 일어나지 않는 것으로 판단된다.

혈소판응집능검사에서 혈소판분반술후에 비정상

으로 된 경우는 총 8예(31%)로 ADP에 대한 경우 3예(12%), epinephrine에 대해서는 7예(27%), collagen에 대해서는 1예 (4%), ristocetin에 대해서는 비정상으로 된 경우는 없었다. 이들중 추적 검사를 시행한 2예중 1예에는 72시간후에도 정상으로 환원되지 않았으며, 다른 1예는 24시간후에 정상적으로 환원되었다.

이상의 성적에서 혈소판분반술은 공혈자의 혈소판응집능검사에서 이상을 초래할 수 있으며 일부에서 비가역적인 반응을 보였으므로 이러한 변화에 대한 원인추구와 그 임상적 의의에 대하여 연구 검토가 있어야 할 것으로 생각된다.

### 참 고 문 헌

1. 정화령, 권오현, 김현옥, 이삼열:세 기기에 의한 혈소판 반출법과 공혈자에 미치는 영향 비교. 대한임상병리학회지 9:227-232, 1989
2. 신보문, 황유성, 박명희, 조한익, 김상인 : Hemonetics V50를 이용한 Plateletpheresis 경험. 임상병리와 정도관리 9:301-305, 1987
3. Mintz PD : Comparison of plateletpheresis with two continuous-flow cell separators using indentical donors. Transfusion 25:330-333, 1985
4. Hathaway WE : Bleeding disorders due to platelet dysfunction. Am J Dis Child 121:127-134, 1991
5. Addonizio VP, Colman RW : Platelets and extracorporeal circulation. Biomaterials 3:9-15, 1982
6. Mohr R,Golan M, Martionwitz U,Martinowitz U, Rosner E,Goor DA, Ramot B:Effect of cardiae operation on platelets. J Thorac Cardiovasc Surg 92:434-441, 1986
7. Kalter RD, Saul CM, Wetstein L,Soriano C, Reiss RF : Cardiopulmonary bypass: Associated hemostatic abnormalities. J Thorac Cardiovasc Surg 77:427-435, 1979
8. Dutton RC, Edmunds LH : Measurement of emboli in extracorporeal perfusion systems. J Thora Cardiovasc Surg 65:523-530, 1973
9. Baier RE, Dutton RC:Initial events and interactions of blood with a foreign surface. J Biomed Mat 3:191-206, 1969
10. Packham MA, EvansF, Glynn MF, Mustard JF: The effect of plasma proteins on the interaction of platelets with glass surfaces. J Lab Clin Med 73: 686-697, 1969
11. Musial J, Niewiarowski S, Hershock D, Morinelli TA, Colman RW,Edmunds LH:Loss of fibrinogen receptors from the platelet surface during simulated extracorporeal circulation. J lab Clin Med 105:514-522, 1985
12. Marguerie GA,Plow EF, Edgington TS:Human platelets possess an inducible and saturable receptor specific for fibrinogen. J Biol Chem. 254: 53-57, 1979
13. Bennet JA, Vilair G:Exposure of platelet fibrinogen receptor by ADP and epinephrine. J Clin Invest 64:1393-1401, 1979
14. Kornecki E, Niewiarowski S, Morinelli TA, Kloczewiak M:Effects of chymotrypsin and adenosine diphosphate on the exposure of fibrinogen receptors on normal human and Glanzmann's thrombasthenic platelets. J Biol Chem 256:5696-5701, 1981
15. Farrell DH, Thiagarajan P, Chung DW, Davie EV:Role of fibrinogen and r chain sites in platelet aggregation. Proc Natl Acad Sci 89:10729-10732, 1992
16. Ylikorkala O, Saarela E, Viinikka L:Increased prostacyclin and thromboxane, production in man during cardiopulmonary bypass. J Thorac Cardiovasc Surgery 82:145-247, 1981
17. Wachtfogel YT, Musial J, Jenkin B, Niewiarowski S,Edmunds LH,Colman RW: Platelet alpha2 adrenergic receptors during simulated extracorporeal circulation. J Lab Clin Med 105:601-607, 1985
18. Han P, Ardlie NG:The influence of pH, temperature, and calcium on platelet aggregation: Maintenance of environment pH and platelet function for in vitro studies in plasma. Br J Haematol 26: 373-389, 1974
19. Hennessey VLJ, Hicks RE, Niewiarowski S, Edmunds LH, Colman RW:Effects of surface area and composition on the function of human platelets during extracorporeal circulation. Am J

- Physiol* 232:622-628, 1977
20. Salzman EW: *Measurement of platelet adhesiveness.* *J Lab Clin Med* 62:724-735, 1963
  21. Edmunds LH, Ellison N, Colman RW, Niewiarowski S, Rao AK, Addonizio VP, Stephenson LN, Edie RN: *Platelet function during open heart surgery: Comparison to the membrane and bubble oxygenators.* *J Thorac Cardiovasc Surg* 83:805-812, 1982
  22. Hope AF, Heyns AD, Lotter MG: *Kinetics and sites of sequestration of indium 111-labeled human platelets during cardiopulmonary bypass.* *J Thorac Cardiovasc Surg* 81:880-886, 1981
  23. Addonizio VPJ, Strauss JF III, Colman RW, Edmunds LH: *Effect of prostaglandin E, on platelet loss during in-vivo and in-vitro extracorporeal circulation with a bubble oxygenator.* *J Thorac Cardiovasc Surg* 77:119-126, 1979
  24. Salzman EW, Linden J, Brier D, Merrill EW: *Surface-induced platelet adhesion, aggregation and release.* *Ann NY Acad Sci* 283:114-127, 1977
  25. Addonizio VPJ, Macarak EJ, Nicolaou KC, Edmunds LH, Colman RW: *Effects of prostacyclin and albumin on platelet loss during in vitro stimulation of extracorporeal circulation.* *Blood* 53:1033-1042, 1979
  26. Addonizio VP, Smith JB, Strauss JF III, Colman RW, Edmunds LH: *Thromboxane synthesis and platelet secretion during cardiopulmonary bypass with bubble oxygenator.* *J Thorac Cardiovasc Surg* 79:91-96, 1980
  27. Addonizio VP, Smith JB, Strauss JF III, Colman RW, Edmunds LH: *Thromboxane synthesis and platelet protein release during simulated extracorporeal circulation.* *Blood* 54:371-376, 1979
  28. Aren C, Feddersen K, Radegran K: *Effects of prostacyclin infusion on platelet activation and postoperative blood loss in coronary bypass.* *Ann Thorac Surg* 36:49-54, 1983
  29. Ditter H, Heinrich D, Matthias FR, Sellmann-Richter R, Wagner WL, Hehrlein FW: *Effects of prostacyclin during cardiopulmonary bypass in man on plasma levels of beta-thromboglobulin, platelet factor 4, thromboxane B2,  $\beta$ -keto-prostaglandin F1-alpha and heparin.* *Thromb Res* 32:393-408, 1983
  30. Zilla P, Fasol R, Groscurth P, Klepetko W, Reichenspurner H, Wolner E: *Blood platelets in cardiopulmonary bypass operations.* *J Thorac Cardiovasc Surg* 97:379-388, 1989
  31. Fitzgerald GA, Oates JA, Nowak J: *Cigarette smoking and hemostatic function.* *Am Heart J* 115:267-271, 1988
  32. Nowak J, Murray JJ, Oates JA, Fitzgerald GA: *Biochemical evidence of a chronic abnormality in platelet and vascular function in healthy individuals who smoke cigarettes.* *Circulation* 76:6-14, 1987
  33. Newhouse P, Clark C: *The variability of platelet aggregation.* In: Triplett DA, eds. *Platelet Function.* Chicago, American Society of Clinical Pathologists, 1978, pp.63-107