

综 述

冻干血浆在平战时的应用与研究进展

钟善传, 王 丽, 周 斌综述, 徐立风审校

【摘要】 大出血导致失血性休克是战创伤患者常见而严重的并发症, 战时有将近半数的伤员死于失血性休克, 院前(战场)急救给予血浆作为失血性休克患者的复苏液可降低死亡率。血浆能有效地恢复血管内容量和替代消耗的凝血因子, 保持生理 pH 值并保护血管内皮功能。与院前(战场)环境中给予的其他复苏液(如晶体或胶体液)不同, 血浆复苏的一个重要临床益处是维持平均血压所需的体积较少, 不易发生因血液稀释导致的凝血病变。目前临床常用的血浆包括新鲜冰冻血浆和普通冰冻血浆。在战场环境中, 需要一个质量可靠、易于携带和保存、即时能用的血浆产品, 这一直是一个相当大的挑战, 而冻干血浆正好具备这些优点。然而, 由于存在病毒传染风险等问题, 冻干血浆的发展经历了比较曲折的过程。文章主要对冻干血浆在平战时的应用历史与研究进展进行综述。

【关键词】 冻干血浆; 失血性休克; 液体复苏; 凝血因子

【中图分类号】 R457 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1672-271X(2022)03-0310-05

【DOI】 10.3969/j.issn.1672-271X.2022.03.019

Application and research progress of freeze dried plasma in peacetime and wartime

ZHONG Shan-chuan¹, WANG Li¹, ZHOU Bin² reviewing, XU Li-feng¹ checking

(1. Department of Pathology and Clinical Laboratory, 2. Intensive Care Unit, 96601 Army Hospital of PLA, Huangshan 245041, Anhui, China)

【Abstract】 Hemorrhagic shock caused by massive hemorrhage is a common and serious complication of war trauma patients. Nearly half of the wounded succumbed to hemorrhagic shock in the war, pre-hospital (battlefield) emergency, giving plasma as resuscitation fluid for patients with hemorrhagic shock can reduce mortality. Plasma can effectively restore intravascular volume and replace consumed coagulation factors, maintain physiological pH and protect vascular endothelial function. Unlike other resuscitation (such as crystalloid and colloid resuscitation) given in pre-hospital (battlefield) environment, a clinical benefit of plasma resuscitation is the fact that it requires less volume to maintain average blood pressure and is not prone to coagulation diseases caused by hemodilution. At present, the commonly used plasma includes fresh frozen plasma (FFP) and frozen plasma (FP). In the battlefield environment, we need a plasma product which is reliable quality, easy to carry and store, and can be used immediately. Freeze dried plasma (FDP) is a fine choice according to its advantages. However, due to the risk of virus infection, the development of FDP has experienced a tortuous process. This paper summarizes the application history and research progress of FDP in peacetime and wartime.

【Key words】 freeze dried plasma; hemorrhagic shock; fluid resuscitation; clotting factors

0 引 言

战创伤失血性休克的病理机制是由严重战创伤所致的机体有效循环血量不足、组织灌流减少而

出现器官功能障碍的一种综合征。患者出现低体温、酸中毒和凝血功能障碍被称为“致死三联征”, 快速恢复有效循环并打破“致死三联征”的威胁是提高战创伤患者救治成功率的关键。美军“战术作战伤员救护”(tactical combat casualty care, TCCC) 2014 版关于失血性休克患者的液体复苏提出了推荐的顺序, 从高到低依次为: 全血, 血浆: 红

作者单位: 245041 黄山, 解放军 96601 部队医院检验科(钟善传、王 丽、徐立风), 重症医学科(周 斌)

通信作者: 徐立风, E-mail: xulifeng6@163.com

细胞:血小板(1:1:1),血浆:红细胞(1:1),单独使用血浆或者红细胞,羟乙基淀粉,晶体液^[1]。可看出血液和血液制品是液体复苏的首选。另外,损伤控制性复苏(damage control resuscitation, DCR)临床实践指南提出,血浆、血小板和悬浮红细胞的使用比例为 1:1:1 时,可重现新鲜全血的效果。在某些情况下,血浆可被用作活动性出血患者的主要复苏液^[2]。新鲜冰冻血浆(fresh frozen plasma, FFP)和普通冰冻血浆(frozen plasma, FP)是目前临床应用最多的血浆制品,冰冻血浆需要冷链运输,并且在使用前需要专用的融浆机解冻(约 30 min),解冻后在冷藏的条件下保存期仅为 5 d^[3]。因此,冰冻血浆的使用受到冷链运输、存贮和融浆机等条件设备的限制,不利于它在战场环境下的应用。冻干血浆(freeze dried plasma, FDP)由于其独特的优势成为研究的热点,FDP 是指采集单个献血者的血浆或由多个不同血型献血者的血浆按照一定比例混合后,经过病毒灭活和冷冻干燥制成的固态粉末状血液成分制品。FDP 的主要成分与新鲜冰冻血浆基本相同,能够有效增加循环血量、改善凝血功能、维持血管胶体渗透压及血管内皮功能^[4]。本文就 FDP 在平战时的应用历史与研究进展作一综述。

1 FDP 在平战时的研究应用历史及进展

1.1 早期的 FDP 从 1918 年开始就有医师和科学家对人体血浆的各种性质进行研究。美国人 Max Strumia 博士于 1927 年开始了一些最早期的血浆研究,并进行了将血浆转化为无菌粉末的实验。他发明了一种小型设备,能够将液态血浆冷冻并在真空下进行干燥,在 1940 年的美国医学会(AMA)会议上介绍了他的发明成果^[5]。1940 年 7 月,当英国大量伤员需要输血,英国军方领导人呼吁美国红十字会将血浆直接运送到伦敦,由于远距离冷冻保存和运输都很困难,FDP 的研发工作迅速展开。1941 年 9 月,美国国家血液替代品委员会批准将 FDP 输注作为新的治疗方法,FDP 使用蒸馏水重构,并且其包装设计可很方便地应用于战场环境^[6]。据统计,在二战期间,美国红十字会采集了超过 1300 万单位的血液,其中超过 1200 万单位用于制备血浆,制备 FDP 超过 600 万单位^[5]。另外,英国生产 FDP 超过

50 万单位,瑞典生产 FDP 约 17 万单位^[7]。因此,第二次世界大战也通常被称为“血浆战争”^[5]。法国军队血液研究所早期 FDP 的生产从 1949 年持续到 1984 年,在中印战争期间向法军提供了近 4 万个单位^[8]。

我国也进行了早期 FDP 的研究和生产。1951 年,为适应抗美援朝战争的需要,军事医学科学院生化系研究并制备了 FDP。20 世纪 60、70 年代,FDP 的生产委托给了国家卫生部的六大生物制品所和中国医学科学院输血医学研究所^[4]。研究者对早期 FDP 的保存方法、临床应用以及乙肝病毒传播风险等进行了报道^[9]。

由于早期的 FDP 未经病毒灭活去除处理,存在传播肝炎和艾滋病等疾病的风险,在随后的一段时间内 FDP 的研究与应用曾一度停滞。

1.2 1990 年后的 FDP 由于存在病毒传播的风险以及液体复苏研究的兴起,对血浆及 FDP 的研究和应用在 20 世纪 70、80 年代明显下降。当时业内普遍认为失血性休克的原因就是血容量的丢失,因此主张大量补液,通过补充一定比例的晶体液和胶体液,使机体循环血容量和血压尽可能地维持在正常水平^[10]。然而,充分补液后救治成功率并不高,患者反而因为严重肺部并发症而死亡,后来提出了“限制性液体复苏”的概念^[1,11]。20 世纪 90 年代,随着病毒灭活技术的快速发展,FDP 再次成为战创伤救治的研究热点。与晶体和胶体复苏液相比,血浆治疗有几个显著的优点,包括减少晶体输注避免稀释性凝血病,改善内皮功能,保持生理 pH 值,以及血管内容量维持等^[12]。

20 世纪 90 年代初,德国红十字会血液服务中心(GRCS-W)使用有机溶剂/表面活性剂(S/D)病毒灭活方法制备 FDP,这是一种混合血浆,截至 2007 年该产品的使用量超过 30 万单位,没有出现病毒传播的报道。2007 年,该产品改进到由病原体检测后的单供体 FDP(LyoPlas),血浆在捐献后先冷冻保存 4 个月以上,在检测人类免疫缺陷病毒(HIV)、甲型肝炎病毒(HAV)、乙型肝炎病毒(HBV)、丙型肝炎病毒(HCV)和 PVB-19 病毒等阴性后方可应用于 FDP 的制备。该产品具有血型特异性,需同型输注,可以预防与大容量相关的肺

病毒感染风险,并被批准用于民用。LyoPlas 自 2007 年推出到 2013 年,共制备使用了 23 万多个单位,其安全性与新鲜冰冻血浆相当^[13]。

法国军事血库于 1994 年恢复了 FLYP 的生产并批准应用于海外军事行动,从 1994 年到 2010 年,该产品质量提到不断的提升,具有许多优点,包括室温下 2 年的保质期,无血型特异性(血浆不含抗 A 和抗 B 抗体),6 min 内即可快速复溶重建,低病原体传播风险等^[14]。2011 年,法国医疗产品卫生安全局(Agency for Sanitary Safety of Health Products, ANSM)批准在无法获得融化血浆的特殊环境或紧急条件下,FLYP 可用于民用^[8]。

南非国家生物制品研究所自 1996 年开始生产 FDP,这是一种多供体(可多达 1500 人)混合的、S/D 处理的、无血型特异性的民用 FDP,在南非及其周围几个邻国使用。该产品具有良好的安全记录,但严重的蛋白 S 缺乏症是 Bioplasma FDP 的使用禁忌症^[15]。

1.3 FDP 新产品的研发进展 近年来,多个国家开展了 FDP 的研发工作。美国有多款 FDP 产品正在研发中,2008 年,HemCon 生物技术公司根据美国陆军的合同开始研发一款 FDP,该方法是使用病原体筛查后的新鲜冰冻血浆生产的单供体 FDP。由于商业原因,该研究于 2013 年结束。Entegriion 公司自 2008 年开始在美军项目支持下开发一种混合的 S/D 喷雾干燥血浆,该项目的目标是到 2020 年底获得 FDA 批准。Vascular Solutions 公司 2014 年开始根据美军研究项目开发 FDP,该项目计划在 2021 年底完成产品的 FDA 批准^[16]。截至目前笔者没有找到这些项目是否获批的资料,从最近的相关文献来看,美国还没有自己研制的经 FDA 批准的 FDP 产品,FDA 仅批准法国 FLYP 应用于紧急军事环境下^[17]。

我国目前尚无新型 FDP 产品,并且由于其特殊性无法从国际公司获得。近年来,国内相关科研单位开展了血浆冻干工艺和冻干设备以及 FDP 新产品的研究,通过研究 FDP 通用性关键技术、改进冻干工艺和设备、建立病毒灭活去除平台和改进病毒灭活方法等,将有望获得具有血型通用性、良好的病毒安全性、均一性且血浆蛋白活性保持在较高

水平的产品^[18-21]。

2 FDP 凝血参数的变化及对伤病员的治疗效果

2.1 FDP 制备过程对凝血参数的影响 在血浆冷冻干燥过程中,可能会导致某些凝血因子的活性降低。Bux 等^[22]通过比较起始新鲜冰冻血浆和 LyoPlas 产品,研究了 FDP 止血参数的变化。结果表明,冻干过程导致凝血参数的变化大多数小于 10%,因子 vWF 活性损失最显著(约 25%),其余参数变化均保持在可接受范围内(20%以下)。对 FLYP 的研究也获得了类似的结果,经补骨脂素处理后的混合血浆冷冻干燥后,除因子 V 下降 25%外,其余所有因子的变化范围均在 20%以内,大部分因子变化小于 10%。另外,病毒灭活过程对凝血因子的活性也会产生影响。S/D 处理法和补骨脂素联合紫外线法是常用的 FDP 病毒灭活方法,这两种方法对因子水平有不同的影响。S/D 处理后因子 vWF 活性下降 24%,因子 V 下降 37%,蛋白 S 下降 44%, α -2 抗血浆蛋白下降 79%,其他因子的降低程度较低。补骨脂素联合紫外线法处理后因子 VII 降低 23%,因子 VIII 降低 27%,纤维蛋白原降低 28%,而其他因子变化较小^[23]。令人欣慰的是,在病毒灭活和冷冻干燥的过程对凝血因子活性的影响似乎小于它们两个的叠加。例如,补骨脂素联合紫外线法处理后因子 VIII 的活性保留率为 73%,冷冻干燥的保留率为 80%,而研究报道 FLYP 中因子 VIII 的活性保留为 62%~70%,高于预测的 58%(73% \times 80%)^[22]。

2.2 FDP 的保存及对凝血参数的影响 报道认为 FDP 蛋白在室温下至少稳定 2 年,利用海藻糖可提高 FDP 的储存稳定性^[8, 24]。马平等^[25]对不同储存条件下 FDP 中凝血因子活性的研究表明,室温和 25℃条件下保存半年后,凝血因子 II、V、VIII、IX、XI 仍能保持在 80%以上。最近的研究表明,4℃和 25℃条件下保存 2 年后,PT 上升 2%和 10%,APTT 上升 4%和 20%,因子 V 下降 21%和 30%,因子 VIII 下降 15%和 28%,纤维蛋白原浓度下降 8%和 19%。研究者还对血浆的 pH 值进行了检测,发现-20℃冷冻保存 2 年的新鲜冰冻血浆 PH 值从 7.35 上升到 7.75,而 FDP 在 4℃和 25℃条件下保存 2 年后 pH 值仍能保持在正常生理范围(7.29 和 7.45)^[26]。

另一项研究显示,FDP 在 4 ℃ 保存 12 个月后,纤维蛋白原和因子 V 略有下降;25 ℃ 保存 12 个月后,纤维蛋白原和因子 V 含量均显著降低,INR 显著升高。在 40 ℃ 保存 12 个月后,PT、APTT、纤维蛋白原、蛋白 S 及因子 V、Ⅷ、vWF 均显著降低,INR 显著升高,且这些参数大部分都超出了实验室标准范围。因此,应当尽量避免在 40 ℃ 以上的高温条件下保存^[27]。另外一些研究也得出类似的结果^[13,28-29]。

2.3 FDP 对伤病员的治疗效果 有多项研究对战伤伤员和平时创伤患者大出血后 FDP 治疗的死亡率进行了研究,结果显示 30 d 死亡率在 10%~26%^[14, 30-32]。其中有一项研究为随机对照试验(RCT),以普通冰冻血浆治疗作为对照组,结果表明,使用 FDP 和普通冰冻血浆的两组治疗方案之间的患者 30 d 全因死亡率无统计学差异^[30]。在 FDP 治疗后凝血功能方面,Garrigue 等^[31]研究表明,在治疗后 45 min,FDP 治疗组的患者血浆纤维蛋白原、凝血因子 II、因子 V 水平显著高于普通冰冻血浆治疗组,而 PT 显著低于普通冰冻血浆治疗组。Shlaifer 等^[32]报道 FDP 治疗组伤员的 INR 要低于复方乳酸钠溶液治疗组。Nguyen 等^[33]报道 FDP 治疗组患者的纤维蛋白原水平在 3 h 和 24 h 与冰冻血浆治疗组均无显著差异。另外,有研究者对 FDP 治疗前后伤员的凝血功能进行了对比,结果显示,与治疗前相比,FDP 治疗后 PT 显著降低^[14]。总的来说,对创伤后大出血伤病员进行 FDP 治疗能显著改善患者的凝血功能,其效果要优于或相当于普通冰冻血浆。在不良反应方面,大部分伤病员对 FDP 无明显不良反应。有少部分病人(4.6%,5/109)发生输注困难,表现为无法输注或输注极缓;个别患者(0.9%,1/109)在输注冰冻血浆后出现寒颤症状^[30]。另有少量患者(1.4%,4/269)皮肤出现可自行消退的一过性红斑^[8]。在保护血管内皮方面,FDP 与新鲜冰冻血浆具有同样的效果,可促进创伤相关糖萼损伤的再生,减轻血管内皮损伤,恢复血管内皮细胞连接的完整性和通透性,最终改善内皮细胞功能,进而减轻炎症,减轻失血性休克和创伤引起的器官损伤^[34-35]。

3 结 语

早期血浆输注对于提高创伤性大出血患者的

生存率非常重要,在战场或偏远的平民环境中,难以在受伤后迅速将患者转移到医院,院前(战场)输注 FDP 是最好的选择。随着血浆冻干工艺和冻干设备的不断改进,以及制备过程中生物大分子的活性保留和病毒灭活方法等研究的不断深入,FDP 在战时和平时都将得到更为广泛的应用。本文总结了 FDP 的应用历史与研究进展,为今后的进一步研究和应用提供一定的参考依据。

【参考文献】

- [1] 赵鹏跃,刘逸尘,许晓蕾,等.创伤失血性休克早期液体复苏研究进展[J].解放军医学院学报,2019,40(10):985-987,991.
- [2] 陈珂炫,王炳军,秦书理,等.美军液体复苏指南的修订过程与启示[J].人民军医,2019,62(8):716-718,737.
- [3] 王亚杰,杜春红.新鲜冰冻血浆的应用进展[J].中国输血杂志,2017,30(1):99-104.
- [4] 赵 雄,章 纳,马玉媛,等.冻干血浆与人血白蛋白在战创伤休克救治中的应用[J].军事医学,2015,39(3):216-219.
- [5] Schmidt PJ. The plasma wars: a history[J]. Transfusion, 2012, 52(Suppl 1): 2S-4S.
- [6] Stetten D. The Blood Plasma for Great Britain Project[J]. Bull N Y Acad Med, 1941, 17(1): 27-38.
- [7] Moore SB. A brief history of the early years of blood transfusion at the Mayo Clinic: the first blood bank in the United States (1935) [J]. Transfus Med Rev, 2005, 19(3): 241-245.
- [8] Sailliol A, Martinaud C, Cap AP, et al. The evolving role of lyophilized plasma in remote damage control resuscitation in the French Armed Forces Health Service[J]. Transfusion, 2013, 53(Suppl 1): 65S-71S.
- [9] 阎善信,黄一兵,柳云清,等.冻干血浆、全血、白蛋白乙型肝炎病毒污染状态的监测[J].中国输血杂志,1989(1):12-13.
- [10] Falk JL, Rackow EC, Weil MH. Colloid and crystalloid fluid resuscitation[J]. Acute Care, 1983, 10(2): 59-94.
- [11] 孙宝迪,刘红梅,聂时南.限制性液体复苏在创伤失血性休克中的进展[J].东南国防医药,2012,195(2):145-148.
- [12] Feuerstein SJ, Skovmand K, Moller AM, et al. Freeze-dried plasma in major haemorrhage: a systematic review [J]. Vox Sang, 2020, 115(4): 263-274.
- [13] Bux J, Dickhorner D, Scheel E. Quality of freeze-dried (lyophilized) quarantined single-donor plasma[J]. Transfusion, 2013, 53(12): 3203-3209.
- [14] Martinaud C, Ausset S, Deshayes AV, et al. Use of freeze-dried plasma in French intensive care unit in Afghanistan[J]. J Trauma, 2011, 71(6): 1761-1764.

- [15] van Marle AC, Joubert J, Meiring SM. Comparison of ADAMTS13 and Von Willebrand factor levels and activities, and plasminogen levels, in plasma products currently available for the treatment of thrombotic thrombocytopenic purpura in South Africa [J]. *Transfus Apher Sci*, 2019, 58(1): 72-78.
- [16] Kozar RA, Pusateri AE, Given MB, *et al*. Dried plasma: state of the science and recent developments[J]. *PLoS One*, 2016, 56 (Suppl 2): S128-S139.
- [17] Meledeo MA, Peltier GC, McIntosh CS, *et al*. Coagulation function of never frozen liquid plasma stored for 40 days[J]. *Transfusion*, 2021, 61(Suppl 1): S111-S118.
- [18] 马玉媛,赵雄,贾俊婷,等.冻干血浆的应用现状及新产品研究[A].中国输血协会.中国输血协会第八届输血大会论文专辑[C].中国输血协会:中国输血杂志,2016:1.
- [19] 宋晓燕,白晓菲,刘宝林,等.血浆冻干技术研究进展[J].低温与超导,2019,47(8):52-58.
- [20] 尹惠琼,王蕊,朱凤宣,等.血液制品病毒灭活/去除技术平台的建立与应用[J].军事医学,2015,39(3):165-168.
- [21] 樊斌,朱立国,汪德清.病毒灭活冷冻干燥血浆制备工艺及应用研究进展[J].中国实验血液学杂志,2021,29(5):1658-1661.
- [22] Martinaud C, Civadier C, Ausset S, *et al*. In vitro hemostatic properties of French lyophilized plasma [J]. *Anesthesiology*, 2012, 117(2): 339-346.
- [23] Rock G. A comparison of methods of pathogen inactivation of FFP [J]. *Vox Sang*, 2011, 100(2): 169-178.
- [24] Brogna R, Oldenhof H, Sieme H, *et al*. Increasing storage stability of freeze-dried plasma using trehalose[J]. *PLoS One*, 2020, 15(6): e0234502.
- [25] 马平,周锡鹏,张艳宇,等.病毒灭活冻干血浆的研制.中国制冷学会第六专业委员会.第五届全国低温生物医学及器械学术大会会议论文集[C].中国制冷学会第六专业委员会:中国制冷学会,2006:3.
- [26] Flaumenhaft EJ, Khat T, Marschner S. Retention of Coagulation Factors and Storage of Freeze-Dried Plasma[J]. *Mil Med*, 2021, 186(Suppl 1): 400-407.
- [27] Zur M, Glassberg E, Gorenbein P, *et al*. Freeze-dried plasma stability under prehospital field conditions [J]. *Transfusion*, 2019, 59(11): 3485-3490.
- [28] Dufresne J, Hoang T, Ajambo J, *et al*. Freeze-dried plasma proteins are stable at room temperature for at least 1 year[J]. *Clin Proteomics*, 2017, 14: 35.
- [29] Hubbard A, Bevan S, Matejtschuk P. Impact of residual moisture and formulation on Factor VIII and Factor V recovery in lyophilized plasma reference materials[J]. *Anal Bioanal Chem*, 2007, 387(7): 2503-2507.
- [30] Huebner BR, Moore EE, Moore HB, *et al*. Freeze-dried plasma enhances clot formation and inhibits fibrinolysis in the presence of tissue plasminogen activator similar to pooled liquid plasma [J]. *Transfusion*, 2017, 57(8): 2007-2015.
- [31] Garrigue D, Godier A, Glacet A, *et al*. French lyophilized plasma versus fresh frozen plasma for the initial management of trauma-induced coagulopathy: a randomized open-label trial[J]. *J Thromb Haemost*, 2018, 16(3): 481-489.
- [32] Shlaifer A, Siman-Tov M, Radomislensky I, *et al*. The impact of prehospital administration of freeze-dried plasma on casualty outcome[J]. *J Trauma Acute Care Surg*, 2019, 86(1): 108-115.
- [33] Nguyen C, Bordes J, Cungi PJ, *et al*. Use of French lyophilized plasma transfusion in severe trauma patients is associated with an early plasma transfusion and early transfusion ratio improvement [J]. *J Trauma Acute Care Surg*, 2018, 84(5): 780-785.
- [34] Shlaifer A, Siman-Tov M, Radomislensky I, *et al*. Prehospital administration of freeze-dried plasma, is it the solution for trauma casualties? [J] *J Trauma Acute Care Surg*, 2017, 83(4): 675-682.
- [35] Spoerke N, Zink K, Cho SD, *et al*. Lyophilized plasma for resuscitation in a swine model of severe injury[J]. *Arch Surg*, 2009, 144(9): 829-834.

(收稿日期:2021-12-23; 修回日期:2022-02-21)

(责任编辑:刘玉巧; 英文编辑:吕铿烽)