文章编号:1000-5404(2005)18-1877-03

论著

连续性血液净化治疗多器官功能衰竭对 Th1/Th2 影响的临床研究

彭侃夫,吴雄飞,赵洪雯,王军霞,吴 亿,王殿珍,赵笑兰 (第三军医大学西南医院全军泌尿外科中心肾科,重庆 400038)

提 要:目的 研究连续性血液净化治疗(CBP)对多器官功能衰竭患者循环 Th1/Th2 的影响。**方法** 36 例多器官功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS)患者行 CBP 治疗。采用中心静脉留置单针双腔导管建立血管通路,采用 Prisma 连续性血液净化系统、以及配套的 M60 管路和滤器 AN69(PAN 膜,2.0 cm^2)进行前稀释连续性静脉-静脉血液透析滤过(CVVHDF)。治疗前及治疗后 24,48,72 h 采血检测 Th1/Th2。**结果** 30 例患者肾功能均恢复正常。在 CBP 治疗开始后 24 h 血 Th1/Th2 比值逐渐上升,48 h 下降后有显著差异,72 h 接近正常。24 h 时与开始前比较,72 h 与 24 h 比较有非常显著性差异($P<0.01$)。**结论** CBP 治疗可能可改善细胞免疫功能。

关键词:MODS;连续性血液净化治疗;Th1/Th2
中图法分类号:R365;R459.9 **文献标识码**:A

Effects of continuous blood purification on cell immune function in MODS patients

PENG Kan-fu, WU Xiong-fei, ZHAO Hong-wen, WANG Jun-xia, WU Yi, WANG Dian-zhen, ZHAO Xiao-lan (Department of Kidney, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To study the effects of continuous blood purification on Th1/Th2 in MODS patients. **Methods** A total of 36 patients with multiple organ dysfunction syndrome (MODS) were treated with continuous blood purification(CBP). The vascular access established with two-lumen indwelling catheter in venae profundae or internal arteriovenous fistula, and Prisma(Hospal) system for continuous venovenous hemodiaftltration (CVVHDF), the Gambro AN69 dialyzers with polyacrylonitrile(PAN) membrane were used. Th1/Th2 in plasma was checked before CBP and on 24 h, 48 h, 72 h after CBP. Twenty healthy subjects were employed as control. **Results** The renal function of 30 patients was recovered. The plasma Th1/Th2 was increased progressively in 24 h after CBP, reached nearly normal at 72 h. There was significant difference in plasma TH1/Th2 at 24 h after CBP as compared with that before CBP, at 72 h as compared with that at 24 h ($P<0.01$). **Conclusion** Continuous blood purification may improve cell immune function.

Key words: continuous blood purification; MODS; T-helper lymphocyte

连续性肾脏替代治疗(continuous renal replacement therapy, CRRT)是近年来血液净化领域的重要进展。它不仅可用于治疗肾功能衰竭,而且已发展到了对多器官功能衰竭的抢救治疗,所以称之为连续性血液净化治疗(continuous blood purification, CBP)。我科已用 CBP 成功地抢救了数 10 例多器官功能障碍综合征患者。CBP 对多种炎性介质的清除已有较多文献报道,但对细胞免疫功能的影响目前国内外尚少有报道。T 辅助细胞(Th)根据功能不同可分为 Th1、Th2 两亚群,Th1 细胞分泌 γ 干扰素(INF-γ),促进细胞免疫;Th2 细胞分泌白介素-4(IL-4),促进体液免疫。Th1/Th2 平衡变化是体内炎症反应与抗炎反应免疫平衡变化的基础,与病人预后关系密切。本研究试图通过观察 Th1/Th2 平衡变化揭示 CBP 治疗与细胞免疫的关系。

1 资料与方法

1.1 临床资料

2002 年 6 月至 2004 年 12 月收集我院 36 例 MODS 患者,男 28 例,女 8 例,平均年龄(38±7.9)岁,MODS 伴 ARF 的 26 例,均接受 CBP 治疗。其原发病为:挤压综合征 8 例,药物中毒 8 例,肾移植术后 8 例,急性胰腺炎 7 例,先心病术后 2 例,外伤

作者简介:彭侃夫(1967-),男,湖南省临湘市人,博士研究生,副主任医师,主要从事尿毒症患者心血管并发症的防治,慢性移植肾病的防治,多器官功能衰竭的救治等领域方面的研究,现在济南军区总医院血液净化科,发表论文 20 余篇。电话:(0531)8216578
通讯作者:吴雄飞,电话:(023)68754188
收稿日期:2005-04-01;修回日期:2005-07-30

3 例。CBP 治疗前 BUN(25.8 ± 7.9) mmol/L,血肌酐(SCr)(669.8 ± 112.2) μmol/L。门诊查体健康对照组 20 例。

1.2 CBP 方法

使用设备:PRISMA TM 机器(Hospal)以及配套的 M60 管路和滤器 AN69 (PAN 膜,膜面积 1.4 cm^2)。治疗模式:连续性静脉血液透析滤过(continuous venovenous hemodiafiltration,CVVHDF)。透析液、置换液配制及使用方式:透析液由 Fresenous4008S 型血透机 on-1ine 产生;置换液采用 Port 配方配制后加入 3 L 袋,加温后前稀释法输入 40 次,后稀释法输入 11 次,流量为 1.5 ~ 2.0 L/h,5% $NaHCO_3$ 另路同步匀速输入。血管通路及抗凝方式:颈内静脉穿刺置管 30 例,股静脉穿刺置管 6 例,使用 Arrow 16G 单针双腔导管。肝素化法 24 例(首剂 16 ~ 20 mg,4 ~ 6 mg/h 维持);无肝素法 12 例。无肝素法首先采用含肝素5 000 U 的等渗盐水预冲滤器及体外循环管路,浸泡 10 min,CBP 前用等渗盐水充分冲洗,期间如发生静脉压高,可以无菌生理盐水 200 ml 冲洗滤器,同时关闭血液通路,适当增加超滤量,去除额外冲洗液。术中监测:所有病例至少每小时记录生命体征 1 次;动态观察血压。每只血滤器床边连续治疗 24 h更换,最长患者治疗 216 h,平均治疗(72 ± 28.5)h。超滤量根据全天治疗量和生理需要量而设定。

1.3 实验室检查

健康对照组查体时,患者 CBP 治疗前、后 24、48、72 h 时,从动脉端取血 4 ml 备检,取血时关闭置换液循环 5 min 以上。

主要试剂:①Thl/Th2 细胞所需试剂:抗人 IFN-γ 和 IL-4 单克隆抗体(美国 R&D 公司),生物素链霉卵白蛋白/碱性磷酸酶试剂盒(美国 Lab Vision 公司),多聚甲醛、皂素、佛波酯(PMA)、离子酶素(ionomycin)、莫能菌素(monensin)均为美国 Sigma 公司产品,淋巴细胞分离液(d = 1.077,上海第一生化制品厂),RPM 1640 培养液(美国 Gibco 公司)。②IL-2、IFN-γ、IL-4、IL-10 的检测试剂:细胞因子检测盒系美国 Genzyme 公司产品(深圳晶美生物工程有限公司提供),按说明书操作。③PM 1640 培养液:含 10% 的小牛血清、双抗。④植物血凝素(PHA):广州医药工业研究所产品。

Thl/Th2 的检测:参照叶丽姬等[1]的 E1ispot 方法。

1.4 统计学处理

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 10.0 统计软件行 t 检验和相关分析。

2 结果

2.1 治疗转归

36 例患者平均治疗(72 ± 26)h,同时积极对症综合治疗 30 例存活且肾功能恢复,停止 CBP 治疗时,尿量为(1 985.0 ± 372.3)ml/d,BUN 为(12.7 ± 5.4)mmol/L,SCr(240.5 ± 38.6)μmol/L,出院时均脱离肾脏替代治疗,肾功能均恢复正常。6 例主要死于呼吸功能衰竭。

2.2 MODS 患者 Th1/Th2 的变化

MODS 患者及健康对照组 Th1/Th2 检测结果见表 1。MODS 患者与健康对照组相比,Th2 细胞明显增加,而 Th1 细胞则显著降低($P < 0.01$),Th1/Th2 比值均显著性降低($P < 0.01$)。CBP 治疗后 24 h 后 Th2 细胞下降,Th1 细胞则上升,但差异无显著性($P > 0.05$);治疗 48 h 后则 Th2 明显下降,Th1 明显上升,与 MODS 治疗前比较有显著差异($P < 0.01$);72 h 后 Th2 继续下降,Th1 继续上升,Th1/Th2 接近正常对照组。

表 1 MODS 患者及健康对照组 Th1/Th2 检测($\bar{x} \pm s$, %)

Tab 1 Th1/Th2 between MODS patients and controls ($\bar{x} \pm s$, %)

Group	n	Th1	Th2	Th1/Th2
Control	20	12.0 ± 1.7	4.6 ± 0.8	1.82 ± 0.26
Before CBP	36	8.7 ± 0.65 *	15.7 ± 1.76 *	0.62 ± 0.06 *
After CBP				
24 h		9.5 ± 0.74	14.5 ± 1.58	0.73 ± 0.07
48 h		11.4 ± 1.62 **	7.6 ± 0.57 **	1.48 ± 0.23 **
72 h		11.7 ± 1.78	5.7 ± 0.86	1.78 ± 0.35

*: $P < 0.01$, *vs* control; **: $P < 0.01$, *vs* before CBP

3 讨论

多器官功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome,MODS)的发生与创伤、休克、持续高代谢状态、再灌注损伤、内毒素血症等因素有关。但无论什么诱发因素,引起器官衰竭的介质系统却是相同或相似的[2]。不仅宿主被入侵的细菌或损伤组织的产物直接损害,而且与它们反应后所产生的细胞因子及其它介质更是与导致 MODS 直接相关。这些细胞因子相互间存在着复杂的网络联系,既相互激发,又相互制约,从而引起一系列连锁反应。在严重感染或创伤状态下,机体正常机制失灵,有害因子大量释放,同时巨噬细胞抗原递呈功能受损,机体难以对入侵微生物发生免疫反应,如此形成恶性循环,使炎症反应不断加剧,组织损伤继续发展,最终形成 MODS。

随着急救医学的快速发展和肾脏替代治疗技术的广泛应用,特别是单一的肾脏替代治疗已发展到了今天的生命器官的替代治疗,MODS 患者早期进行连续性血液净化治疗已明显降低了死亡率。CBP 治疗时血流动力学状态稳定,使低血压,甚至休克患者进行血液净化治疗成为可能。它能在任何时间内调控水及溶质清除参数,较快和较全面地纠正水、电解质和酸碱平衡紊乱状态。并能有效地清除应激产生的炎性介质,如 TNF-α、IL-1、IL-6、IL-8 以及前列腺素、白三烯、活性氧自由基、血小板活化因子(PAF)和 NO 等[3,4]。另外,CBP 也使静脉高价营养成为可能。MODS 患者早期表现为前炎症反应,即 SIRS,出现低血压、其背后隐藏着复杂的病理生理机制[5,6]:内皮细胞功能发生障碍,血管通透性增加、血浆渗出,血小板淤滞、微循环障碍,使血流分布发生异常甚至缺血,进一步有可能发生再灌注损伤和产生热休克蛋白。血管扩张和收缩机制失调,使血管持续扩张,加重血管渗出和血流分布异常。最终将导致严重休克,重要器官的血供进一步减少,如

不能迅速恢复内稳态，将发生器官功能障碍进而导致功能衰竭。本研究提示对 MODS 患者早期进行 CBP 治疗可提高存活率。

Th1 类细胞以分泌干扰素-γ（IFN-γ）等促炎细胞因子为主，Th2 类细胞以分泌白介素-4（TL-4）等抗炎细胞因子为主[7]，两者的平衡实际上反映了促炎和抗炎的平衡。所以，本研究选用体内 Th1/Th2 比值，观察 MODS 患者炎症反应变化及 CBP 治疗对其影响。MODS 患者与健康对照组相比，Th2 细胞明显增加，而 Th1 细胞则显著降低（$P<0.01$）；Th1/Th2 比值均显著性降低（$P<0.01$）；提示 MODS 发生是存在 Th1/Th2 失衡，Th1 向 Th2 漂移。CBP 治疗 24 h 后 Th2 细胞下降，Th1 细胞则上升，但差异无显著性（$P>0.05$）。治疗 48 h 则 Th2 明显下降，Th1 明显上升，与 MODS 治疗前比较有显著差异（$P<0.01$）。72 h 后 Th2 继续下降，Th1 继续上升接近正常对照组。结果提示：CBP 治疗能改善 MODS 患者 Th1/Th2 之失衡，使细胞免疫功能得到部分恢复。而且治疗 24 h 时改善不明显，说明连续性治疗的重要性。以笔者的经验，连续治疗 72 h 以上效果明显。从结果中也可看出，72 h 时 Th1/Th2 几乎接近正常对照组。48 h 与 72 h 无显著差异，说明持续到 48 h 是关键。血滤器按说明可以 72 h 更换，笔者认为从经济角度和疗效考虑，24 h 更换一个较为实际。其改善免疫功能的可能机制：通过滤过和吸附，清除血浆中存在的可溶性炎性介质，如细胞因子（TNF-α、IL-10、IL-6、IL-8 等）、次级炎性介质（PAF 等）、补体成分（如 D 因子、C3a、C5a）等。尤其是近来研究发现，高通透性滤过膜能提高抗炎/促炎性细胞因子的比例，对下调机体的炎症反应可能是有利的，起到治疗 SIRS、阻止最终发生 MODS 的作用[8]。通过检测 Th1/Th2 的平衡变化，尽早发现 MODS 的发生，特别是对重症胰腺炎、挤压综合征、各种大手术后，积极早期应用 CBP 治疗，可能是防治 MODS 的重要方向。

参考文献：

[1] 叶丽姬，王前奔，赵武述. 活化条件对细胞内免疫染色 IFNγ 和 IL-4 法检测人外周血 Th1 和 Th2 细胞的影响[J]. 中国免疫学杂志，1999，15(6)：276－277.

[2] Bone R C. Toward a theory regarding the pathogenesis of the systemic inflammatory response syndrome：what we do and do not know about cytokine regulation[J]. Crit Care Med，1996，24(1)：163－172.

[3] Breen D，Bihari D. Acute renal failure as a part of multiple organ failure：the slippery slope of critical illness[J]. Kidney Int Suppl，1998，66：S25－S33.

[4] Angele M K，Knoferl M W，Ayala A，*et al*. Testosterone and estrogen differently effect Th1 and Th2 cytokine release following trauma-haemorrhage[J]. Cytokine，2001，16(1)：22－30.

[5] Bone R C. Immunologic dissonance：a continuing evolution in our understanding of the systemic inflammatory response syndrome(SIRS) and the multiple organ dysfunction syndrome(MODS)[J]. Ann Intern Med，1996，125(8)：680－687.

[6] Koch T. Origin and mediators involved in sepsis and the systemic inflammatory response syndrome[J]. Kidney Int Suppl，1998，64：S66－S69.

[7] Iwasaka H，Noguchi T. Th1/Th2 balance in systemic inflammatory response syndrome (SIRS) [J]. Nippon Rinsho，2004，62(12)：2237－2243.

[8] 蓝光明，付庆华，林爱玲. 连续性血液净化对严重创伤后应激反应的影响[J]. 中国危重病急救医学，2004，16(2)：106－108.

（编辑　汪勤俭）

参考文献类型及标识

根据 GB 3469 规定，以单字母方式标识以下各种参考文献类型：

参考文献类型	专著	论文集	报纸文章	期刊文章	学位论文	报告	标准	专利
文献类型标识	M	C	N	J	D	R	S	P

对于专著、论文集中的析出文献，其文献类型标识建议采用单字母“A”；对于其他未说明的文献类型，建议采用单字母“Z”。

对于数据库（database）、计算机程序（computer program）及电子公告（electronic bulletin board）等电子文献类型的参考文献，建议以下列双字母作为标识：

电子参考文献类型	数据库	计算机程序	电子公告
电子文献类型标识	DB	CP	EB

本刊编辑部