文章编号:1000-5404(2011)10-1061-04

论著

血液净化对脓毒性休克患者血清细胞因子及预后的影响

何盛琴,熊建琼,屈纪富,张 雷,王 涛,张永辉,张 彦,陈 琨 (400038 重庆,第三军医大学西南医院急救部)

【摘要】 目的 研究不同血液净化方式对脓毒性休克患者血清细胞因子水平及预后的影响,探讨血液净化对脓毒性休克患者的治疗作用。**方法** 将36例急性生理及慢性健康评分Ⅱ(APACHE Ⅱ评分)≥15分的脓毒性休克患者,采用随机数字表法分为对照组、连续性静脉-静脉血液滤过(continuous veno-venous hemofiltration,CVVH)组、血液灌流(hemoperfusion, HP)+连续性静脉-静脉血液滤过组(HP+CVVH),每组12例,分别进行常规治疗、常规治疗+CVVH治疗、常规治疗+HP+CVVH治疗。检测各组治疗后不同时相点血清TNF-α、IL-6、IL-10、HMGB-1浓度,并比较各组1~7 d全身性感染相关性器官功能衰竭评价(sepsis related organ failure assessment,SOFA)评分及28 d存活率的差别。**结果** 对照组及CVVH组TNF-α、IL-6、HMGB-1、IL-10在第1、3天各时相点浓度变化均无统计学意义($P>0.05$);HP+CVVH组中HP治疗2 h后的TNF-α、HMGB-1、IL-10均有明显下降,IL-6也有一定下降,其他时相点浓度变化均无统计学意义($P>0.05$)。与对照组相比,CVVH组从第4天起SOFA评分即明显降低($P<0.05$),HP+CVVH组第2天起SOFA评分即明显降低($P<0.05$);28 d存活率提高(对照组、CVVH组、HP+CVVH组分别为41.67%、58.33%、66.67%),且以HP+CVVH组更明显,但3组间无统计学意义。**结论** CVVH对脓毒性休克患者血清TNF-α、IL-6、HMGB-1、IL-10的水平无明显影响,HP能显著降低血清TNF-α、HMGB-1、IL-10浓度;CVVH及HP+CVVH治疗均能促进脓毒性休克患者器官功能恢复,且以HP+CVVH治疗效果更佳。

【关键词】 血液灌流;血液滤过;脓毒性休克;细胞因子;预后

【中图法分类号】 R631.4;R459.5;R365 **【文献标志码】** A

Influence of blood purification on serum cytokine levels and prognosis in patients with septic shock

He Shengqin, Xiong Jianqiong, Qu Jifu, Zhang Lei, Wang Tao, Zhang Yonghui, Zhang Yan, Chen Kun (Department of Emergency, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400038, China)

【Abstract】 Objective To investigate the influence of different blood purification methods on serum cytokine levels and prognosis in patients with septic shock, and to study the therapeutic effects of different blood purification methods on the patients. Methods Thirty-six septic shock patients with acute physiology and chronic health evaluation II (APACHEII) scores not smaller than 15 were randomly divided into a control group (C group), a continuous veno-venous hemofiltration group (CVVH group), and a hemoperfusion and continuous veno-venous hemofiltration group (HP+CVVH group). The C group underwent conventional therapy. The CVVH group underwent conventional therapy and CVVH therapy. The HP+CVVH group underwent conventional therapy, HP therapy, and CVVH therapy. The levels of serum cytokines including tumor necrosis factor-α (TNF-α), interleukin-6 (IL-6), interleukin-10 (IL-10), and high-mobility group box chromosomal protein-1 (HMGB-1) in each group were measured at different time points after treatment. The survival rates for 28 d and sepsis related organ failure assessment (SOFA) scores at 1 to 7 d of the three groups were compared. Results There was no significant change in the levels of serum TNF-α, IL-6, IL-10, and HMGB-1 at different time points in the first day and the third day in the C group and CVVH group ($P>0.05$). The levels of TNF-α, IL-10, and HMGB-1 significantly decreased 2 h after HP treatment in the HP+CVVH group, and the IL-6 level also decreased. There was no significant difference in the levels of TNF-α, IL-6, IL-10, and HMGB-1 at other times in the HP + CVVH group ($P>0.05$). Compared with the C group, SOFA score started to significantly decrease on the fourth day in the CVVH group ($P<0.05$) and on the second day in the HP+CVVH group

【基金项目】 第三军医大学西南医院院管课题(2008XG19)

【通信作者】 熊建琼,电话:(023)68754107,E-mail:xiongflying@163.com

($P<0.05$). The survival rates for 28 d increased in the three groups (41.67% *vs* 58.33% *vs* 66.67%), especially in the HP + CVVH group, without statistical significance among the three groups. **Conclusion** There is no significant influence of CVVH on the levels of serum TNF-α, IL-6, IL-10, and HMGB-1. HP significantly lowers the levels of serum TNF-α, IL-10, and HMGB-1. Both CVVH therapy and HP + CVVH therapy, especially HP + CVVH therapy, can promote the functional rehabilitation of organs in patients with septic shock.

[Key words] hemoperfusion; continuous venous-venous hemofiltration; septic shock; cytokine; prognosis

Supported by the Foundation of Southwest Hospital of Third Military Medicat University. Corresponding author: Xiong Jianqiong, Tel: 86-23-68754107, E-mail: xiongflying@163.com

吸附是连续性静脉-静脉血液滤过(continuous veno-venous hemofiltration, CVVH)清除炎症介质的主要方式[1],但其持续性受到透析膜快速饱和的限制[2-4]。本研究通过随机、对照方式,在传统的CVVH技术中合并应用吸附剂:血液灌流(hemoperfusion HP)+连续性静脉-静脉血液滤过(HP+CVVH)来增加脓毒症相关介质清除,以比较不同血液净化方式对脓毒性休克患者血清细胞因子水平和预后的影响,探讨血液净化对脓毒性休克患者的治疗作用。

1 资料与方法

1.1 纳入标准

年龄>18岁,明确诊断为脓毒性休克(诊断标准参照2001年美国危重病医学会等在联席会议上的定义[5]),治疗时间>24 h,APACHEⅡ评分≥15分,无血液净化治疗的绝对禁忌,患者或家属同意。

1.2 排除标准

年龄<18岁,明确诊断为脓毒性休克后治疗时间<24 h,APACHEⅡ评分<15分,合并有严重出血倾向的血液系统疾病者,重度贫血(血红蛋白≤60 g/L)未纠正者,严重心功能不全或严重心律失常不能耐受体外循环者,肾性肾功能衰竭者,患者或家属不同意。

1.3 一般资料

2009年9月至2010年8月在西南医院急救部ICU住院治疗的符合要求的36例脓毒性休克患者,男性20例,女性16例,年龄23~92岁。包括重症肺炎18例,腹腔感染11例,泌尿系感染2例,皮肤软组织感染2例,关节腔内感染1例,血源性感染1例,急性化脓性胆管炎术后1例。患者均达到脓毒性休克诊断标准。

1.4 分组及治疗

36例患者经随机数字表法分为对照组、CVVH组、HP+CVVH组,每组12例。各组患者性别、年龄、APACHEⅡ评分均无统计学意义。对照组给予常规抗感染、病灶处理及器官功能支持治疗;CVVH组:在常规治疗的基础上,第1、3天各进行1次CVVH治疗,每次治疗24 h;HP+CVVH组:在常规治疗的基础上,第1、3天各行HP治疗2 h后继续行CVVH治疗22 h。CVVH或HP+CVVH治疗已2次、患者自动终止治疗或死亡时,终止CVVH或HP+CVVH治疗。

1.5 血液净化方法

血液通路采用股静脉穿刺置管,树脂灌流器为丽珠医用生物材料公司生产的HA330-I,血液灌流机为重庆山外山科技有限公司的SWS-2000血液灌流机,CVVH机器为瑞士金宝的PRISMA机器。滤膜为AN69磺化聚丙烯腈膜,置换液为碳酸氢盐置换液,抗凝剂为低分子肝素;血流量150~180 ml/min,置换液流量2 000 ml/h。

1.6 观察指标

患者入组时的APACHEⅡ评分、第1~7天的SOFA评分及28 d存活率。血浆细胞因子水平的测定:对照组及CVVH组于治疗第1、3天的0、6、12、24 h,HP+CVVH组于治疗第1、3天的0、2、8、14、24 h,分别抽股静脉血3 ml,以2 000 r/min离心10 min,取上清于EP管中,-70 ℃冰箱冻存。ELISA法检测血清TNF-α、IL-6、IL-10、HMGB-1浓度(试剂盒为上海西唐生物科技有限公司生产)。

1.7 统计学方法

采用SPSS 13.0统计软件,计量资料以$\bar{x}\pm s$表示,行单因素方差分析;计数资料用χ^2检验。

2 结果

2.1 3组患者28 d存活率比较

CVVH组28 d存活率(58.33%)较对照组(41.67%)提高,HP+CVVH组28 d存活率(66.67%)较对照组及CVVH组提高,但差异均无统计学意义($P>0.05$)。

2.2 3组SOFA评分的变化

3组患者第1~7天SOFA评分均呈下降趋势。与对照组相比,CVVH组从第4天起SOFA评分即明显降低($P<0.05$);HP+CVVH组第2天起SOFA评分即明显降低($P<0.05$),见表1。

表1 3组脓毒性休克患者第1~7天SOFA评分($n=12$, $\bar{x}\pm s$)

组别	1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d
对照组	11.58±2.50	12.67±3.94	11.91±4.20	11.45±4.8	11.36±6.00	10.50±6.06	9.59±6.70
CVVH组	13.00±2.92	11.08±4.10	9.00±5.14	6.60±3.78[a]	5.00±4.14[a]	5.10±4.98[a]	4.70±4.85[a]
HP+CVVH组	12.75±2.99	8.58±3.75[a]	6.92±4.52	4.18±4.05[a]	2.80±3.12[a]	2.80±3.43[a]	2.50±3.21

a: $P<0.05$,与对照组相应时相点比较

2.3 血清细胞因子的变化

对照组内及CVVH组内各时相点之间的TNF-α、IL-6、HMGB-1、IL-10水平均无明显差异($P>0.05$);HP+CVVH组治疗2 h后(即HP治疗后),各细胞因子水平较HP治疗前均下降,其中HMGB-1、TNF-α在第1、3天均显著下降($P<0.05$),IL-10在第3天显著下降($P<0.05$)。

CVVH组各时相点的IL-6、HMGB-1、IL-10、TNF-α水平与对照组相应时间点比较均无统计学差异($P>0.05$)。HP+CVVH组第1、3天0、8、14、24 h各时相点TNF-α、IL-6、IL-10与对照组相应时间点比较,无显著差异($P>0.05$)。HMGB-1在第3天8、14 h显著低于对照组第3天6、12 h($P=0.007$、$P=0.014$)。与CVVH组相应时间点比较,HP+CVVH组IL-6水平在第1、3天各时相点无显著差异;HMGB-1水平在第3天8、14 h显著降低($P=0.047$);IL-10水平在第3天8 h显著降低($P=0.043$);TNF-α在第1、3天8 h均显著降低($P=0.044$,$P=0.031$)。见表2、3。

表2 3组患者第1天各时相点细胞因子浓度($\bar{x}\pm s$)

组别		TNF-α(pg/ml)	IL-6(pg/ml)	IL-10(pg/ml)	HMGB-1(ng/ml)
对照组	0 h	346.09±111.25	142.14±70.29	103.09±37.01	113.18±41.17
	6 h	326.86±113.89	141.81±71.83	107.33±47.37	105.90±44.15
	12 h	312.37±100.11	139.73±60.92	103.33±41.32	115.31±54.53
	24 h	301.29±90.35	137.73±69.08	102.60±41.35	114.13±50.75
CVVH组	0 h	343.18±09.92	143.55±66.14	111.43±47.60	110.20±41.32
	6 h	352.27±114.91	149.94±62.06	106.86±43.42	111.29±38.81
	12 h	318.27±83.97	139.47±52.72	115.95±42.83	107.15±44.99
	24 h	210.19±65.63	144.92±60.74	114.51±44.43	107.99±37.44
HP+CVVH组	0 h	353.90±119.94	144.28±67.42	104.03±44.22	109.42±39.73
	2 h	245.98±117.42[a]	105.92±37.48	74.33±32.95	73.23±38.32[a]
	8 h	273.83±115.01[b]	125.61±36.19	77.55±24.60	88.88±43.53
	14 h	191.51±104.67	127.94±48.43	89.55±34.10	92.57±39.77
	24 h	301.33±91.79	132.55±51.80	112.68±50.58	99.72±39.88

a:$P<0.05$,与同组HP+CVVH治疗前(0 h)比较;b:$P<0.05$,与CVVH组相应时间点比较

表3 3组患者第3天各时相点细胞因子浓度($\bar{x}\pm s$)

组别		TNF-α(pg/ml)	IL-6(pg/ml)	IL-10(pg/ml)	HMGB-1(ng/ml)
对照组	0 h	305.44±96.40	141.21±81.31	106.10±37.00	117.52±51.20
	6 h	304.31±83.22	139.25±80.93	107.66±42.36	116.10±48.93
	12 h	271.17±69.50	124.32±79.45	105.03±40.95	112.55±51.50
	24 h	273.61±80.52	137.77±89.36	103.05±38.03	111.87±48.73
CVVH组	0 h	329.49±75.06	138.75±60.74	103.68±49.73	108.78±42.89
	6 h	340.30±74.93	140.99±63.10	113.27±38.84	103.76±32.46
	12 h	304.92±67.06	135.30±53.83	111.75±37.54	104.87±43.45
	24 h	288.76±92.48	131.86±69.15	115.69±37.65	99.89±38.41
HP+CVVH组	0 h	310.38±99.18	122.81±60.64	105.44±32.43	92.60±35.36
	2 h	223.83±90.04[a]	86.78±40.55	69.57±18.73[a]	48.60±27.15[a]
	8 h	254.23±81.61[b]	112.15±39.27	80.42±13.64[b]	69.12±29.11[bc]
	14 h	288.74±84.42	105.92±37.48	100.86±24.46	67.48±28.24[bc]
	24 h	292.33±85.70	86.78±40.55	122.67±34.67	83.62±35.27

a:$P<0.05$,与同组治疗前(0 h)比较;b:$P<0.05$,与CVVH组相应时间点比较;c:$P<0.05$,与对照组相应时间点比较

3 讨论

脓毒性休克是脓毒症发生、发展过程中的并发症,其发病机制极其复杂,常由多种因素参与。目前多数学者认为失控的免疫炎症反应可能是其最重要的发病机制[6-7]。在脓毒性休克发生、发展过程中,体内出现大量作用广泛而复杂的细胞因子,它们之间相互作用形成许多正反馈环导致"瀑布效应"[8],使细胞因子过度产生,促进宿主的炎症反应过程,从而引起组织损伤和器官功能障碍。鉴于脓毒性休克与各种细胞因子和炎症介质的释放失控有关,把这些因子从血液中清除出去不失为可行的治疗措施。

近年来已有不少学者采用CVVH血液净化技术治疗脓毒症和脓毒性休克,取得了一定的疗效[9-10]。但有研究显示CVVH不能有效、持续地改变血浆中细胞因子的水平,许多炎症因子的相对分子质量都超出了透析膜的截留相对分子质量,临床上难以达到有效清除的效果。大量研究显示,吸附是CVVH清除炎症介质的主要方式,但其持续性受到透析膜快速饱和的限制[2-4]。血液灌流是临床上常用的血液净化方法之一。近年来有个别研究者将其用于治疗脓毒症和多脏器功能障碍综合征。2006年Tsuchida等[11]报道使用Lixelle柱进行HP治疗脓毒症患者,能使血中TNF-α、IL-6、IL-10、IL-1Ra明显下降,并使患者血压上升,脱离休克状态。2009年毛慧娟等[12]使用HA330-I型血液灌流器行配对血浆滤过吸附(CPFA)治疗多脏器功能障碍综合征,明显降低了患者血清TNF-α、IL-6等细胞因子水平。由于CPFA需血浆分离器,其在临床上的运用受到一定的限制。本研究采用血液灌流+血液滤过治疗脓毒性休克患者,观察其对血清细胞因子水平及患者预后的影响,进一步探讨血液灌流联合血液滤过对脓毒性休克患者的治疗作用。

本研究中的患者入组时均进行APACHEⅡ评分和SOFA评分。APACHEⅡ评分是目前国际上应用最广泛且较权威的一种评分方法,临床证实APACHEⅡ分值与ICU患者病死率密切相关,对病死率的预测有较好的准确度,对病情严重程度的评价也有一定的分辨率。孟新科等[13]认为,APACHEⅡ评分<15分时,CBP治疗组及非治疗组患者均无死亡,医疗花费也无显著性差异。故本研究所选患者APACHEⅡ评分均≥15分。APACHEⅡ评分参数取患者入院后24 h内各项生理参数的最差值,能较好地反应患者未经特殊处理时的病情状况,但不能反应升压药、呼吸机通气等特殊治疗对评分的影响。故本研究中仅第1天入组时采用了APACHEⅡ,第2~7天因已对患者进行了积极抢救处理,采用的是SOFA评分。SOFA包括了呼吸、心血管、肾脏、血液、肝脏、中枢神经的功能,评分强调早期,动态监测,以观察患者器官功能变化。可用于早期、动态观察患者的病情变化,排除了治疗对评分的影响,能较好地评价患者的预后。

本研究中血清细胞因子在CVVH治疗过程中有

一定波动，CVVH 治疗 24 h 前后，血清 TNF-α、IL-6、HMGB-1 水平有所下降，IL-10 水平有所上升，但均无统计学意义。分析原因有：①半透膜的吸附作用在2～4 h 即饱和，本实验是在 CVVH 6 h 后才第 1 次抽血检测，超过吸附高峰时间；②本实验入院患者行 CVVH 治疗时均处于疾病进展期，炎症介质继续被激活释放；③炎症介质自身稳定性、蛋白结合特性的影响；④血液中炎症介质与组织间存在交换，且炎症介质在不同组织的浓度不同，故血清中炎症介质水平并不能反映它们在局部的真正水平；⑤一些重症感染者处于免疫抑制状态，其外周血炎症介质水平并不高；⑥样本数量较少。但研究[14]表明，CVVH 的疗效与清除炎症介质的效率无关，其对脓毒症的作用机制并非是一种简单的清除作用，而是同时具有调节机体内稳态的功能。本研究也显示与对照组相比，CVVH 并不能有效降低血清 TNF-α、IL-6、IL-10、HMGB-1 水平，但 CVVH 组患者 SOFA 评分在治疗的第 4 天起即有显著降低（$P<0.05$），28 d 存活率由 41.67% 提高到 58.33%。表明 CVVH 虽不能降低脓毒性休克患者血清细胞因子水平，但可加速各器官功能的改善，提高患者 28 d 存活率。

HA330-I 型血液灌流器的吸附剂是苯乙烯/二乙烯聚合而成的大孔中性树脂。本研究结果显示 HA330-I 型血液灌流器能明显清除血清 TNF-α、IL-10、HMGB-1，对 IL-6 也有一定的清除作用；与对照组相比，HP + CVVH 组患者 SOFA 评分在治疗的第 2 天起即有显著降低（$P<0.05$），较 CVVH 组提前了 2 d；28 d 存活率由 41.67% 提高到 66.67%，较 CVVH 组提高了 8.34%。表明 HP + CVVH 治疗既能有效清除脓毒性休克患者血清细胞因子水平，又比单一 CVVH 治疗能更快的改善器官功能，提高患者 28 d 存活率。血液灌流仅能短时间内降低血清炎症介质水平，其治疗机制可能有：①可显著降低影响器官功能的细胞因子与介质的峰值浓度，起到“消峰”作用，有助于机体恢复免疫平衡状态；②因血液中炎性介质被清除，组织或组织间隙的介质也可被继发地清除，当减少到某个关键点（门槛点）时，一些免疫反应的旁路被完全关闭，炎症瀑布被阻断。HP 与 CVVH 联合序贯进行，可有效清除体内细胞因子和炎症介质，清除 ETX、尿素和过多水分，纠正电解质和酸碱平衡紊乱，维持水、电解质、酸碱平衡和内环境稳定，改善微循环功能，有助于阻断炎症瀑布、恢复机体免疫平衡状态，达到抑制 SIRS 发展、纠正 MODS 的目的[15-16]。

本研究中 CVVH 组、HP + CVVH 组的 28 d 存活率较对照组虽有提高，但 3 组间差异无统计学意义，考虑与样本数量较小有关，需扩大样本量进一步研究。本研究表明，血液灌流能明显低脓毒性休克患者血清 TNF-α、IL-10、HMGB-1 水平；将血液灌流与 CVVH 联合应用，充分发挥二者的协同作用，既可以清除炎症介质，又能够缓慢超滤水分，维持机体内环境稳定，调节机体内稳态，有利于器官功能的恢复，加速了患者病情的好转。

参考文献：

[1] 余晨，刘志红，陈朝红，等. 连续性血液净化对血浆细胞因子水平的影响及其清除机制[J]. 肾脏病与透析肾移植杂志，2004，13(5)：404－407，413.

[2] 谢红浪，季大玺，龚德华，等. 连续性肾脏替代治疗对外周血细胞因子的影响[J]. 肾脏病与透析肾移植杂志，1999，8(3)：217－219，303－304.

[3] Lonnemann G，Bechstein M，Linnenweber S，*et al*. Tumor necrosis factor-alpha during continuous high-flux hemodialysis in sepsis with acute renal failure[J]. Kidney Int Suppl，1999，(72)：S84－S87.

[4] De-Vriese A S，Colardyn F A，Philippe J J，*et al*. Cytokine removal during continuous hemofiltration in septic patients[J]. J Am Soc Nephrol，1999，10(4)：846－853.

[5] Levy M M，Fink M P，Marshall J C，*et al*. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference[J]. Crit Care Med，2003，31(4)：1250－1256.

[6] 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 Inter Med，1996，125(8)：680－687.

[7] 邱海波，周绍霞，杨毅，等. 多器官功能障碍综合征的死亡危险因素分析及临床对策[J]. 中华急诊医学杂志，2001，10(1)：13－16.

[8] Lenz A，Franklin G A，Cheadle W G. Systemic inflammation after trauma[J]. Injury，2007，38(12)：1336－1345.

[9] 周洪文，甘华，杜晓刚，等. 连续性血液滤过对多脏器功能衰竭患者血清诱导的血管内皮细胞凋亡及内质网应激的影响[J]. 第三军医大学学报，2010，3(8)：805－809.

[10] 沈贤，沈淑蓉，王永刚，等. 高容量血液滤过防治猪多脏器功能障碍综合征过程中 TNF2α 和 HMGB1 的变化[J]. 郑州大学学报：医学版，2008，43(3)：543－545.

[11] Tsuchida K，Yoshimura R，Nakatani T，*et al*. Blood purification for critical illness：cytokines adsorption therapy[J]. Ther Apher Dial，2006，10(1)：25－31.

[12] 毛慧娟，余姝，张波，等. 配对血浆滤过吸附治疗多脏器功能障碍综合征对血清细胞因子水平影响的研究[J]. 中国血液净化，2009，8(2)：70－75.

[13] 孟新科，郑晓英，吴华雄，等. 急性生理学与慢性健康状况Ⅱ评分在连续性血液净化治疗多器官功能障碍综合征中的应用[J]. 中国危重病急救医学，2005，17(5)：313－314.

[14] 黎磊石，季大玺. 连续性血液净化[M]. 南京：东南大学出版社，2004：24－30.

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

[16] 王晓雯，关英慧，迟红丽，等. 血液灌流联合 CVVH 治疗在 MODS 中的治疗作用[J]. 吉林医学，2009，30(6)：496－498.

（收稿 2011-01-21 修回 2011-03-07）

（编辑 王 红）