

论著 · 临床研究

超纯透析液对血液透析患者外周血炎性细胞因子及血管硬化水平的影响*

徐新伟¹, 尹芳¹, 赵战云², 李松^{2△}

(潍坊市人民医院:1. 肾内科;2. 血液净化科, 山东潍坊 261041)

摘要:目的 观察超纯透析液对血液透析患者外周血炎性细胞因子及血管硬化水平的影响。方法 选择该院收治的血液透析患者 96 例为研究对象,按照随机数字表法分为研究组与对照组各 48 例,两组均给予维持性血液透析治疗,对照组采用标准透析浓缩液,研究组采用超纯透析浓缩液,两组均持续治疗 6 个月。检测两组透析液中内毒素、细菌 DNA 片段水平,比较两组治疗前后外周血炎性细胞因子及血管硬化水平。结果 研究组透析液中 DNA 水平显著低于对照组($P < 0.05$),经细菌 16S-tRNA 引物扩增后电泳灰度值显著低于对照组($P < 0.05$)。研究组透析液中内毒素水平显著低于对照组($P < 0.05$)。治疗后,对照组外周血超敏 C-反应蛋白(hs-CRP)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)、白细胞介素-6(IL-6)水平较治疗前差异无统计学意义($P > 0.05$),研究组外周血 hs-CRP、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平均显著低于治疗前与对照组($P < 0.05$)。治疗后,对照组踝-臂脉搏传导速度(baPWV)、颈总动脉内-中膜厚度(CA-IMT)较治疗前差异无统计学意义($P > 0.05$),研究组 baPWV、CA-IMT 显著低于治疗前与对照组($P < 0.05$)。结论 超纯透析液可显著降低血液透析患者外周血炎性细胞因子水平,减轻血管硬化水平。

关键词:血液透析; 超纯透析液; 内毒素; 细菌 DNA 片段; 血管硬化; 炎性因子

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.05.013 中图法分类号:R446.1

文章编号:1673-4130(2019)05-0561-04 文献标识码:A

Influence of ultrapure dialysate on peripheral blood inflammatory cytokines and vascular sclerosis levels of hemodialysis patients*

XU Xinwei¹, YIN Fang¹, ZHAO Zhanyun², LI Song^{2△}

(1. Department of Urology; 2. Department of Blood Purification Section, WeiFang People's Hospital, Weifang, Shandong 261041, China)

Abstract: Objective To explore the influence of ultrapure dialysate on peripheral blood inflammatory cytokines and vascular sclerosis levels of hemodialysis patients. **Methods** Totally 96 cases of hemodialysis patients treated in our hospital were selected as the study objects, and were divided into study group and control group according to random number table method, 48 cases in each group. All the two groups were given maintenance hemodialysis treatment. The control group were given standard dialysis concentrate, and the study group were given ultrapure dialysis concentrate, all treated for 6 months. Endotoxin in dialysate, bacterial DNA fragment levels were detected, and peripheral blood inflammatory cytokines and vascular sclerosis levels were compared before and after treatment in the two groups. **Results** DNA concentration in the study group was lower than that in the control group ($P < 0.05$), and after amplification by bacterial 16S-tRNA primers, electrophoretic gray value was significantly lower than that of the control group ($P < 0.05$). The level of endotoxin in the dialysate of the study group was lower than that of the control group ($P < 0.05$). After treatment, there were no significant differences in peripheral blood high sensitive C reactive protein (hs-CRP), tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin-6 (IL-6) levels in the control group when compared with those before treatment ($P > 0.05$), and those in the study group were significant lower than those before treatment or in the control group when compared with those before treatment ($P < 0.05$). After treatment, there was no significant change in ankle brachial pulse conduction velocity (baPWV) and common carotid artery medial thickness (CA-IMT) in the control group when compared with those before treatment ($P > 0.05$),

* 基金项目:山东省潍坊市卫生局科研项目(市卫生计划 2009-020)。

作者简介:徐新伟,女,副主任医师,主要从事肾内科疾病研究。△ 通信作者, E-mail:13953659178@163.com。

本文引用格式:徐新伟,尹芳,赵战云,等.超纯透析液对血液透析患者外周血炎性细胞因子及血管硬化水平的影响[J].国际检验医学杂志,2019,40(5):561-564.

and baPWV and CA-IMT in the study group were significantly higher than those before treatment or in the control group ($P < 0.05$). **Conclusion** Ultrapure dialysate can significantly reduce peripheral inflammatory cytokine levels of hemodialysis patients, and reduce the level of vascular sclerosis.

Key words: hemodialysis; ultrapure dialysate; endotoxin; bacterial DNA fragments; vascular sclerosis; inflammatory factors

血液透析是一种有效的肾脏替代疗法,可通过体外经透析器清除体内血液代谢废物及多余水分,并维持电解质及酸碱平衡,达到延长终末期肾衰竭患者存活期的目的^[1]。有研究指出,透析液中细菌代谢产物或 DNA 片段能以渗透或反超滤的方式经透析膜进入血液,并激活单核细胞,产生大量细胞因子,引发患者体内炎症反应,增加心血管不良事件发生率^[2-3]。为此,笔者用超纯透析液代替普通透析液对肾衰竭患者进行血液透析,观察其对血清炎性因子及血管硬化水平的影响,以期为此类患者的临床治疗提供参考依据,报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2015 年 12 月至 2016 年 11 月在本院血液透析中心进行维持性血液透析治疗的 96 例患者为研究对象,所有患者符合《慢性肾脏病及透析的临床实践指南》^[4]中尿毒症诊断标准。纳入标准:(1)年龄 18~70 岁;(2)行高通量血液透析 3 次/周,且持续时间 ≥ 3 个月;(3)经本院伦理委员会批准,患者自愿签署知情同意书。排除标准:(1)原发病为系统性红斑狼疮、血管炎等自身免疫病及肿瘤相关性肾病者;(2)合并严重心、肝、肺功能不全者;(3)近 1 个月有胃肠道疾病、急慢性感染、甲状腺疾病者;(4)近 6 个月服用激素或免疫抑制剂者;(5)妊娠或哺乳期妇女;(6)依从性差或有精神障碍无法配合治疗者;(7)临床资料不完整者。将 96 例血液透析患者按照随机数字表法分为研究组与对照组,每组 48 例。其中研究组男 25 例,女 23 例;年龄 23~68 岁,平均(51.37 \pm 6.49)岁;原发病:慢性肾小球炎者 17 例,慢性间质性肾炎者 11 例,多囊肾者 3 例,糖尿病肾病者 8 例,高血压肾损伤者 6 例,药物性肾损伤者 3 例;透析龄 6~87 个月,平均(41.26 \pm 7.53)个月。对照组男 27 例,女 21 例;年龄 19~67 岁,平均(50.84 \pm 7.16)岁;原发病:慢性肾小球炎者 16 例,慢性间质性肾炎者 13 例,多囊肾者 4 例,糖尿病肾病者 7 例,高血压肾损伤者 6 例,药物性肾损伤者 2 例;透析龄 6~87 个月,平均(41.26 \pm 7.53)个月。两组性别、年龄、原发病、透析龄等临床资料比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。

1.2 治疗方法 所有患者均持续给予常规治疗,包括服用降压药物、降糖药物、促红细胞生成素及铁剂治疗等。两组均给予维持性血液透析治疗,参考《慢性肾病及透析的临床实践指南》^[4],采用 4008S 型血液透析机经 FX60/FX 80 高通量血液透析器(德国

Fresenius 公司)进行血液透析治疗,3 次/周,每次 4 h,血流量为 250~300 mL/min,透析液流量为 800 mL/min,无出血倾向者以低分子肝素抗凝。对照组采用标准透析浓缩液(北京联合捷然生物科技有限公司),研究组采用超纯透析浓缩液(美国 Baxter 公司),两组均持续治疗 6 个月。

1.3 观察指标 (1)检测两组透析液中细菌 DNA 片段水平。从透析机入口旁路取透析液 10 mL,按照试剂盒(德国 QIAGEN 公司)说明书提取其中 DNA 片段,用核酸蛋白分析仪(美国 Applied Biosystems 公司)测定 DNA 水平。用 PCR 热循环仪(美国 Applied Biosystems 公司)扩增细菌 DNA 片段,引物序列见表 1。反应条件为:95 $^{\circ}$ C 预变性 10 min;95 $^{\circ}$ C 变性 15 s,60 $^{\circ}$ C 退火 60 s,共 40 个循环;PCR 产物电泳后用凝胶成像系统(美国 Thermo Fisher 公司)测定其灰度。见表 1。(2)检测两组透析液中内毒素水平。从透析机入口旁路取透析液 2 mL,用改良过氯酸新法预处理,显色基质法鲎试剂检测内毒素水平,具体操作参考试剂盒(福州新北生化工业有限公司)说明书。(3)检测两组外周血炎症性细胞因子水平。治疗前后,空腹抽取患者肘部静脉血 5 mL,离心分离血清,用酶联免疫法检测超敏 C-反应蛋白(hs-CRP)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)、白细胞介素-6(IL-6)水平,具体操作参考试剂盒(上海酶联生物科技有限公司)说明书。(4)评价两组血管硬化水平。治疗前后,使患者休息 5 min,取仰卧位,用动脉硬化检测仪(日本 Omron 公司)检测双侧踝-臂脉搏传导速度(baPWV),用彩色超声多普勒检查仪(德国 Siemens 公司)检测双侧颈总动脉内-中膜厚度(CA-IMT),二者均取双侧平均值进行统计分析。

表 1 细菌 DNA 片段引物序列

位置	16S-tRNA 序列(5'-3')
上游	AAG CAA CGC GAA GAA CCT TA
下游	CAC CGG CAG TCT CCT TAG AG

1.4 统计学处理 选择统计学软件 SPSS20.0 对本研究数据进行分析处理,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间或组内比较采用 t 检验;计数资料以率(%)表示,组间或组内比较采用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组透析液中 DNA 片段水平 研究组透析液

中 DNA 水平显著低于对照组 ($P < 0.05$), 经细菌 16S-tRNA 引物扩增后其 DNA 片段电泳灰度显著低于对照组 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 两组透析液中 DNA 片段水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	DNA 水平 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	DNA 片段灰度 ($\text{INT} \times \text{mm}^2$)
对照组	48	0.51 ± 0.06	926.45 ± 57.84
研究组	48	0.14 ± 0.03	453.16 ± 29.41
<i>t</i>		38.213	50.534
<i>P</i>		0.000	0.000

2.2 两组外周血内毒素水平 研究组透析液中内毒素水平显著低于对照组 ($P < 0.05$)。见表 3。

2.3 两组外周血炎性细胞因子水平 治疗前, 两组外周血 hs-CRP、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 治疗后, 对照组外周血 hs-CRP、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平较治疗前差异无统计学

意义 ($P > 0.05$), 研究组外周血 hs-CRP、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平均显著低于治疗前与对照组 ($P < 0.05$)。见表 4。

2.4 两组血管硬化水平比较 治疗前, 两组 baPWV、CA-IMT 水平比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 治疗后, 对照组 baPWV、CA-IMT 水平较治疗前差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 研究组 baPWV、CA-IMT 水平显著低于治疗前与对照组 ($P < 0.05$)。见表 5。

表 3 两组透析液中内毒素水平比较 ($\bar{x} \pm s$, EU/mL)

组别	<i>n</i>	内毒素
对照组	48	0.126 ± 0.023
研究组	48	0.018 ± 0.004
<i>t</i>		32.051
<i>P</i>		0.000

表 4 两组治疗前后外周血炎性细胞因子水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	hs-CRP (ng/mL)				TNF- α (pg/mL)			
		治疗前	治疗后	<i>t</i>	<i>P</i>	治疗前	治疗后	<i>t</i>	<i>P</i>
对照组	48	1.26 ± 0.27	1.23 ± 0.26	0.555	0.581	62.84 ± 7.43	61.38 ± 7.24	0.975	0.332
研究组	48	1.29 ± 0.31	0.85 ± 0.21	8.141	0.000	63.55 ± 7.62	49.66 ± 6.91	9.355	0.000
<i>t</i>		0.506	7.877			0.462	8.113		
<i>P</i>		0.614	0.000			0.645	0.000		

续表 4 两组治疗前后外周血炎性细胞因子水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	IL-1 β (pg/mL)				IL-6 (pg/mL)			
		治疗前	治疗后	<i>t</i>	<i>P</i>	治疗前	治疗后	<i>t</i>	<i>P</i>
对照组	48	57.85 ± 7.06	58.44 ± 7.35	0.401	0.689	31.55 ± 4.38	32.61 ± 4.59	1.158	0.250
研究组	48	57.26 ± 6.79	43.27 ± 5.61	11.005	0.000	31.06 ± 4.42	25.67 ± 3.87	6.356	0.000
<i>t</i>		0.417	11.367			0.546	8.009		
<i>P</i>		0.677	0.000			0.587	0.000		

表 5 两组治疗前后 baPWV、CA-IMT 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	baPWV (m/s)				CA-IMT (mm)			
		治疗前	治疗后	<i>t</i>	<i>P</i>	治疗前	治疗后	<i>t</i>	<i>P</i>
对照组	48	21.36 ± 4.27	21.76 ± 4.35	0.455	0.650	1.18 ± 0.17	1.15 ± 0.18	0.839	0.403
研究组	48	21.59 ± 4.18	19.15 ± 4.02	2.915	0.004	1.16 ± 0.19	1.07 ± 0.14	2.642	0.010
<i>t</i>		0.267	3.053			0.543	2.431		
<i>P</i>		0.790	0.003			0.588	0.017		

3 讨论

研究表明, 血液透析患者体内存在一定程度的微炎症状态, 其原因尚不明确, 可能与患者本身病情有关, 由于肾脏功能不断降低, 机体对促炎细胞因子的清除率逐渐降低, 代谢性酸中毒、氧化应激等并发症发生概率增高, 肌酐、 β_2 微球蛋白 (β_2 -MG) 等毒素水

平升高, 从而促进体内炎症发展^[5]。此外, 有学者指出^[6-7], 在血液透析过程中血细胞接触生物相容性不佳的透析膜, 或者透析液中污染的细菌成分进入血液循环, 均会刺激机体免疫系统, 诱发体内微炎症状态。相关研究表明, 血液透析患者炎症状态主要体现为外周血炎性细胞因子水平升高, 其中 hs-CRP 是一种急

性应激蛋白,在机体受到感染、缺血、外伤等炎症损伤后其水平迅速增高,与脂蛋白结合可激活补体系统,促进炎症介质释放^[8]。TNF- α 是一种促炎因子,可活化血管内皮细胞,提高单核细胞及中性粒细胞的附着能力,诱导趋化因子的合成及释放,激活一系列炎症级联反应。IL-1 β 是一种趋化因子,可促进炎性细胞因子向局部募集,加重体内炎性反应。IL-6 是一种前炎症因子,可引起机体凝血、补体、激肽、纤溶等多系统效应,导致患者体温调节、体液调节发生改变,影响正常生理功能^[9]。相关研究指出^[10-11],升高的 CRP、IL-6 等细胞因子可参与动脉粥样硬化的产生和发展,提高动脉硬化水平,增加心血管不良事件的发生率,威胁患者生命安全。

郭东花等^[12]用超纯透析液代替普通透析液对糖尿病肾病患者进行为期 6 个月的血液透析,结果显示,患者血红蛋白、清蛋白水平明显升高,而 β 2-MG 水平显著降低,表示超纯透析液可显著改善患者营养状态。魏媛媛等^[13]观察了超纯透析液对维持性血液透析患者炎症状态及生活质量的影响,结果发现,超纯透析液不仅能降低 IL-1 β 、IL-1Ra、TNF- α 等炎症因子水平,还能提高在精力、精神健康、心理健康等方面的评分,效果显著。由此可见,超纯透析液有助于改善患者身体状况,提高患者生活质量,原因可能与超纯透析液的成分有关,如美国医疗器械促进协会规定^[14],透析液中细菌含量 $\leq 1\ 000$ FU/mL,内毒素含量 ≤ 0.25 EU/mL,而超纯透析液则分别为 < 0.1 CFU/mL、0.03 EU/mL。本研究选择超纯透析液对尿毒症患者进行血液透析,结果显示,研究组透析液中细菌 DNA 水平显著低于对照组,经细菌 16S-tRNA 引物扩增后电泳灰度值显著低于对照组,研究组透析液中所含细菌 DNA 片段及内毒素水平显著低于标准透析液。观察两组治疗前后外周血炎症因子水平及动脉硬化水平,发现研究组外周血 hs-CRP、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平显著低于对照组,baPWV、CA-IMT 显著低于对照组,提示超纯透析液可显著改善患者微炎症状态,降低动脉硬化水平,与袁志娟等^[15]的研究结果相似,推测低水平的内毒素含量可降低透析液对炎症细胞因子的诱导作用,从而减轻炎性反应,降低炎性细胞因子对血管的损伤。

4 结 论

用超纯透析液治疗血液透析患者,有助于降低血液透析患者外周血炎性细胞因子及动脉硬化水平,效果肯定。但本研究仍存在一定局限性,如入选病例数较少,随访时间尚短,未对治疗中患者心血管事件发生情况进行统计分析,故今后尚需增加样本数量及观察项目,延长观察时间做进一步研究。

参考文献

- [1] 张晓华,李静,王利华.近 5 年维持性血液透析患者的流行病学调查分析[J].中国血液净化,2015,14(11):698-702.
- [2] 焦春红,高丽,周洁,等.超纯透析对维持性血液透析患者炎症状态及营养状况的影响[J].山东医药,2013,53(4):20-23.
- [3] EL-KORAIE A F, NAGA Y S, SAARAN A M, et al. Endotoxins and inflammation in hemodialysis patients[J]. Hemodial Int, 2013, 17(3):359-365.
- [4] (美)NKF-K/DOQI 工作组原,王海燕,王梅主译.慢性肾脏病及透析的临床实践指南[M].北京:人民卫生出版社,2003:176.
- [5] 许树根,沈淑琼,李彩凤,等.高通量透析改善老年血液透析患者微炎症状态的临床研究[J].中国中西医结合肾病杂志,2013,14(6):510-512.
- [6] VELLOSO M S, OTONI A, DE PAULA SABINO A, et al. Peritoneal dialysis and inflammation[J]. Clin Chim Acta, 2014, 430(5):109-114.
- [7] ISVORANU I, PERIDE I, RADULESCU D, et al. Inflammatory effects of dialysis solutions on peritoneal membrane in peritoneal dialysis patients[J]. Revista de Chimie, 2015, 66(9):1316-1320.
- [8] MALEKMAKAN L, MALEKMAKAN A, SAYADI M, et al. Association of high-sensitive C-reactive protein and dialysis adequacy with uremic pruritus[J]. Saudi J Kidney Dis Transpl, 2015, 26(5):890-895.
- [9] 张琴,凌凯,范亚平.维持性血液透析抑郁患者血清 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 的改变及其临床意义[J].中国血液净化,2013,12(4):203-206.
- [10] 曾庆范,卢红.急性脑梗死患者颈动脉粥样硬化斑块与 IL-6 及 CRP 的关系[J].中国实用神经疾病杂志,2016, 19(7):17-19.
- [11] 宋三兵.MPV 联合 hs-CRP、IL-6 预测非再灌注急性心肌梗死患者发生 MACE 的临床价值[D].乌鲁木齐:新疆医科大学,2016.
- [12] 郭东花,李红梅,吴华.超纯透析液对糖尿病血液透析患者的影响[J].中国血液净化,2016,15(10):531-535.
- [13] 魏媛媛,王鹏,程艳娇,等.应用超纯透析液对维持性血液透析患者炎症状态及生活质量的影响[J].临床内科杂志,2016,33(2):111-113.
- [14] Association for the Advancement of Medical Instrumentation. Quality of dialysis fluid for hemodialysis and related therapies: ANSI/AAMI/ISO 11663:2009[S]. AAMI: Arlington, VA, 2010.
- [15] 袁志娟,程志强.非糖尿病维持性血液透析患者甲状腺水平情况及其与颈动脉硬化的相关性分析[J].中国医药导报,2016,13(4):56-59.