

连续性血液净化对脓毒症患者免疫及内皮细胞功能的影响

陈艳青 黄潇 刘晓立 田焕焕 吕冰洁 孔桂青 宁方玉 王涛 郝东

滨州医学院附属医院重症医学科, 山东滨州 256603

通信作者: 郝东, Email: sdbzzbh@163.com

【摘要】 目的 探讨连续性血液净化(CBP)对脓毒症患者免疫及内皮细胞功能的影响。方法 采用前瞻性研究方法,选择2019年3月至2020年10月滨州医学院附属医院重症医学科收治的年龄 ≥ 18 岁且符合脓毒症诊断标准的患者作为研究对象,按随机数字表法分为标准治疗组和CBP治疗组。两组患者均参照2016年脓毒症与脓毒性休克处理国际指南相关推荐给予初始液体复苏、控制感染源及应用抗菌药物等标准治疗;CBP治疗组在标准治疗的基础上给予连续性静脉-静脉血液滤过(CVVH),治疗剂量为 $25 \sim 30 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$,血流速为 $150 \sim 200 \text{ mL/min}$,每天20 h以上,连续治疗3 d。分别于治疗前及治疗1 d、3 d记录患者的血乳酸(Lac)、降钙素原(PCT)、淋巴细胞计数(LYM)、急性生理学与慢性健康状况评分II(APACHE II)和序贯器官衰竭评分(SOFA)等临床资料;取静脉血,采用酶联免疫吸附试验(ELISA)测定血清免疫功能相关指标[白细胞介素(IL-4、IL-7)、程序性死亡受体-1(PD-1)、程序性死亡配体-1(PD-L1)、 γ -干扰素(IFN- γ)]及内皮细胞损伤相关指标[可溶性血栓调节蛋白(sTM)、血管生成素-2(Ang-2)、血管性血友病因子(vWF)、硫酸乙酰肝素(HS)、多配体蛋白聚糖-1(SDC-1)]水平;同时记录两组患者重症监护病房(ICU)住院时间,并随访患者28 d转归。结果 最终入选标准治疗组患者20例,入选CBP治疗组患者19例;两组患者性别、年龄、感染部位差异均无统计学意义。标准治疗组ICU住院时间为 $(10 \pm 5) \text{ d}$;28 d死亡5例,存活15例。CBP治疗组ICU住院时间为 $(9 \pm 4) \text{ d}$;28 d死亡8例,存活11例。两组ICU住院时间和28 d死亡患者数差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)。两组患者治疗前及治疗1 d Lac、PCT、LYM、APACHE II、SOFA评分及免疫功能和内皮细胞损伤相关指标差异均无统计学意义。治疗3 d时, CBP治疗组患者Lac、PCT及APACHE II、SOFA评分均显著低于治疗前,同时IFN- γ 和IL-4等促炎与抗炎因子、PD-1和IL-7等免疫细胞凋亡相关指标及sTM、SDC-1、HS等内皮细胞损伤相关因子亦较治疗前明显改善,且上述指标的改善程度均较标准治疗组更明显,其中LYM明显高于标准治疗组($\times 10^9/\text{L}$: 1.3 ± 0.3 比 0.9 ± 0.4 , $P < 0.05$), IL-4、IFN- γ 、IFN- γ /IL-4比值、IL-7、PD-1、sTM、SDC-1、HS、Ang-2水平则均明显低于标准治疗组[IL-4(ng/L): $2.8(1.5, 3.2)$ 比 $3.3(2.7, 5.2)$, IFN- γ (ng/L): $6.3(5.4, 106.5)$ 比 $217.9(71.4, 517.1)$, IFN- γ /IL-4比值: $3.7(1.8, 70.3)$ 比 $59.1(18.3, 124.9)$, IL-7(ng/L): $4.6(3.2, 5.1)$ 比 $6.3(5.2, 8.0)$, PD-1($\mu\text{g/L}$): $0.04(0.03, 0.06)$ 比 $0.08(0.05, 0.12)$, sTM($\mu\text{g/L}$): $4.9(4.3, 7.4)$ 比 $8.7(6.0, 10.8)$, SDC-1($\mu\text{g/L}$): $0.6(0.3, 1.1)$ 比 $0.9(0.8, 2.5)$, HS(ng/L): $434.8(256.2, 805.0)$ 比 $887.9(620.1, 957.3)$, Ang-2(ng/L): $934.0(673.3, 1502.1)$ 比 $2233.9(1472.5, 3808.4)$],差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。结论 CBP治疗可以纠正患者的免疫抑制状态,降低多种内皮细胞损伤标志物水平,减少多糖包被的降解,但不能明显降低患者28 d死亡风险和缩短ICU住院时间。

【关键词】 脓毒症; 细胞因子; 内皮细胞; 多糖包被; 免疫调理

基金项目: 山东省高等学校科技计划项目(J12LL06)

临床试验注册: 中国临床试验注册中心, ChiCTR 2200057399

DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20220110-00037

Effect of continuous blood purification on immunity and endothelial cell function in patients with sepsis

Chen Yanqing, Huang Xiao, Liu Xiaoli, Tian Huanhuan, Lyu Bingjie, Kong Guiqing, Ning Fangyu, Wang Tao, Hao Dong

Department of Critical Care Medicine, Binzhou Medical University Hospital, Binzhou 256603, Shandong, China

Corresponding author: Hao Dong, Email: sdbzzbh@163.com

【Abstract】 Objective To explore the effect of continuous blood purification (CBP) on the immunity and endothelial cell function of patients with sepsis. **Methods** A prospective study was conducted. The patients aged ≥ 18 years old and meeting the diagnostic criteria of sepsis admitted to the department of critical care medicine of Binzhou Medical University Hospital from March 2019 to October 2020 were selected as the research subjects, and the patients were divided into standard treatment group and CBP treatment group according to random number table method. Both groups were given standard treatment including initial fluid resuscitation, infection source control and antibiotics according to the 2016 international guidelines for the management of sepsis and septic shock. CBP treatment group was additionally given continuous veno-venous hemofiltration (CVVH) at a dose of $25 \sim 30 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ and blood flow rate of $150 \sim 200 \text{ mL/min}$ for more than 20 hours a day for 3 days. The clinical data of patients including blood lactic acid

(Lac), procalcitonin (PCT), lymphocyte count (LYM), acute physiology and chronic health evaluation II (APACHE II) score, sequential organ failure assessment (SOFA) score were recorded before treatment and 1 day and 3 days after treatment. At the same time, the venous blood was collected, and the immune function related indexes [interleukins (IL-4, IL-7), programmed death receptor-1 (PD-1), programmed death ligand-1 (PD-L1), interferon- γ (IFN- γ)] and endothelial cell injury related markers [soluble thrombomodulin (sTM), angiotensin-2 (Ang-2), von Willebrand factor (vWF), heparan sulfate (HS), syndecan-1 (SDC-1)] levels in serum were determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The length of intensive care unit (ICU) stay of patients in the two groups was recorded, and the outcomes of patients in the two groups were followed up for 28 days. **Results** Finally, 20 patients were enrolled in the standard treatment group, and 19 patients were enrolled in the CBP treatment group. There were no significant differences in gender, age and infection site between the two groups. The length of ICU stay in the standard treatment group was (10 \pm 5) days, and 5 patients died and 15 patients survived after 28 days. The length of ICU stay in the CBP treatment group was (9 \pm 4) days, and 8 patients died and 11 patients survived after 28 days. There were no significant differences in the length of ICU stay and number of patients who died within 28 days between the two groups (both $P > 0.05$). There were no significant differences in the Lac, PCT, LYM, APACHE II score, SOFA score and immune function and endothelial cell injury related indexes before treatment and 1 day after treatment between the two groups. After 3 days of treatment, the Lac, PCT, APACHE II score and SOFA score of the CBP treatment group were significantly lower than those before treatment, and pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines such as IFN- γ and IL-4, apoptosis-related indicators such as PD-1 and IL-7, and endothelial injury related factors such as sTM, SDC-1 and HS were significantly improved compared with the pre-treatment, the improvement degree of the above indicators was more obvious than that of the standard treatment group, and LYM was significantly higher than that of the standard treatment group ($\times 10^9/L$: 1.3 \pm 0.3 vs. 0.9 \pm 0.4, $P < 0.05$), IL-4, IFN- γ , IFN- γ /IL-4 ratio, IL-7, PD-1, sTM, SDC-1, HS, and Ang-2 were significantly lower than those of the standard treatment group [IL-4 (ng/L): 2.8 (1.5, 3.2) vs. 3.3 (2.7, 5.2), IFN- γ (ng/L): 6.3 (5.4, 106.5) vs. 217.9 (71.4, 517.1), IFN- γ /IL-4 ratio: 3.7 (1.8, 70.3) vs. 59.1 (18.3, 124.9), IL-7 (ng/L): 4.6 (3.2, 5.1) vs. 6.3 (5.2, 8.0), PD-1 (μ g/L): 0.04 (0.03, 0.06) vs. 0.08 (0.05, 0.12), sTM (μ g/L): 4.9 (4.3, 7.4) vs. 8.7 (6.0, 10.8), SDC-1 (μ g/L): 0.6 (0.3, 1.1) vs. 0.9 (0.8, 2.5), HS (ng/L): 434.8 (256.2, 805.0) vs. 887.9 (620.1, 957.3), Ang-2 (ng/L): 934.0 (673.3, 1 502.1) vs. 2 233.9 (1 472.5, 3 808.4)], the differences were statistically significant (all $P < 0.05$). **Conclusion** CBP treatment can eliminate the patient's immunosuppressive state, reduce a variety of endothelial injury markers and the degradation of glycocalyx, but cannot decrease the 28-day death risk or shorten the length of ICU stay.

[Key words] Sepsis; Cytokine; Endothelium; Glycocalyx; Immunomodulator

Fund program: Science and Technology Research Program for Colleges and Universities in Shandong Province (J12LL06)

Trial Registration: Chinese Clinical Trial Registry, ChiCTR 2200057399

DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20220110-00037

脓毒症是宿主对感染反应失调而引起的危及生命的器官功能障碍^[1]。脓毒症具有较高的发病率及病死率,目前仍然是威胁患者生命的重要原因之一。据不完全统计,在过去 10 年中,每年每 10 万住院治疗人群中就有 437 例脓毒症患者、270 例严重脓毒症患者;在此基础上,脓毒症患者的住院病死率达到 17%,而重症脓毒症患者的病死率甚至达到 26%^[2]。在脓毒症病理生理过程中存在着内皮细胞与白细胞之间复杂的相互作用^[3]。Chousterman 等^[4]报道,内皮细胞在被炎症反应损伤的同时,因内皮屏障破坏,同时造成了通透性的改变,也在一定程度上放大和加重了炎症反应。基于免疫功能紊乱及内皮细胞功能损伤是导致脓毒症患者死亡的主要原因,如何积极纠正紊乱的免疫功能和减少或修复内皮细胞损伤成为改善此类患者预后的关键。

连续性血液净化 (continuous blood purification, CBP) 作为一种不仅可以维持血流动力学稳定、清除

代谢废物,还可以通过弥散、对流和(或)吸附的方式去除部分炎症介质和(或)细菌毒素,而且有利于改善患者免疫状态的治疗方式,近年来也被尝试应用于脓毒症/脓毒性休克患者的治疗。近 10 年来,虽然 CBP 被广泛应用于脓毒症患者的治疗,但其改善免疫状态的机制仍有多种假说,确切的机制仍需进一步探讨。因此,本研究旨在探讨 CBP 对脓毒症患者免疫及内皮细胞功能的影响,并进一步分析其可能的作用机制。

1 资料与方法

1.1 研究对象及纳入排除标准:采用前瞻性研究方法,选择 2019 年 3 月至 2020 年 10 月山东省滨州医学院附属医院重症医学科收治的脓毒症患者作为研究对象。

1.1.1 纳入标准:①符合 2016 年国际脓毒症/脓毒性休克诊断标准^[5-6];②年龄 \geq 18 岁。

1.1.2 排除标准:①长期服用免疫抑制剂或免疫功

能低下的患者；② 处于各种疾病终末期或不可恢复的临终状态患者；③ 在入重症监护病房 (intensive care unit, ICU) 前已接受过 CBP 治疗的患者；④ 合并急性肾损伤的患者；⑤ 孕妇、哺乳期妇女、智力或精神严重障碍患者；⑥ 已入选其他研究的患者。

1.1.3 剔除标准：① 资料不完整的患者；② ICU 住院时间 < 5 d 的患者。

1.2 伦理学：本研究符合医学研究伦理学标准，获得滨州医学院附属医院科研伦理委员会的批准 (审批号：2018-034-01)，并在中国临床试验注册中心进行注册 (注册号：ChiCTR 2200057399)，所有检测和治疗均获得患者或者其直系家属的知情同意。

1.3 研究方法

1.3.1 病例分组：将入选患者按随机数字表法分为标准治疗组及 CBP 治疗组。

1.3.2 治疗方法：两组患者均参照 2016 年脓毒症与脓毒性休克处理国际指南^[7]的相关推荐，给予初始液体复苏、控制感染源及应用抗菌药物等标准治疗；CBP 治疗组在标准治疗的基础上给予 CBP 治疗。患者经股静脉穿刺建立临时血管通路，并选用美国爱德华生命科学有限公司生产的型号为 Aquarius 的血液净化仪、美国 MEDIVATORS 公司生产的型号为 HF1200 的血液滤过器及意大利海默医疗股份有限公司生产的型号为 Aqualine 的血液滤过管路，进行连续性静脉-静脉血液滤过 (continuous veno-venous hemofiltration, CVVH)，每隔 12 h 更换 1 次血滤器。置换液为碳酸盐，治疗剂量为 25 ~ 30 mL · kg⁻¹ · h⁻¹，血流速为 150 ~ 200 mL/min，每天 20 h 以上，连续治疗 3 d 后，结合患者实际情况决定是否继续应用 CBP 及其应用时间。评估患者出血风险，根据患者自身情况应用肝素或枸橼酸抗凝。

1.3.3 资料收集：收集患者的性别、年龄和感染部位等基本资料；记录患者治疗前及治疗 1 d、3 d 急性生理学与慢性健康状况评分 II (acute physiology and chronic health evaluation II, APACHE II)、序贯器官衰竭评分 (sequential organ failure assessment, SOFA)、降钙素原 (procalcitonin, PCT)、血乳酸 (lactic acid, Lac) 及淋巴细胞计数 (lymphocyte count, LYM)；同时记录患者的 ICU 住院时间，并记录患者 28 d 转归的随访结果。

1.3.4 检测指标及方法：分别于治疗前及治疗 1 d、3 d 取入选患者静脉血 5 mL，静置 2 h 后离心 15 min 取上清液，置于 -70 °C 保存备用。采用酶联免疫吸附

试验 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 检测血清免疫功能相关指标 [白细胞介素 (interleukins, IL-4、IL-7)、程序性死亡受体-1 (programmed death receptor-1, PD-1)、程序性死亡配体-1 (programmed death ligand-1, PD-L1)、γ-干扰素 (interferon-γ, IFN-γ)] 以及内皮细胞损伤相关指标 [可溶性血栓调节蛋白 (soluble thrombomodulin, sTM)、血管生成素-2 (angiopoietin-2, Ang-2)、血管性血友病因子 (von Willebrand factor, vWF)、硫酸乙酰肝素 (heparan sulfate, HS)、多配体蛋白聚糖-1 (syndecan-1, SDC-1)] 水平，并计算 IFN-γ/IL-4 比值。严格按照 ELISA 试剂盒说明书操作，所有试剂盒均购自武汉云克隆科技股份有限公司。

1.4 统计学分析：使用 SPSS 19.0 软件对数据进行统计分析。先对计量资料进行正态性检验，符合正态分布的计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示，不符合正态分布的计量资料以中位数 (四分位数) [$M(Q_L, Q_U)$] 表示。符合正态分布及方差齐性的计量资料组间比较采用独立样本 *t* 检验，不符合正态分布的计量资料组间比较采用 Mann-Whitney *U* 检验；计数资料的组间比较采用 χ^2 检验。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 入组患者的基本信息 (表 1)：最终入选标准治疗组患者共 20 例，其中男性 11 例、女性 9 例，年龄 (66 ± 10) 岁；入选 CBP 治疗组患者共 19 例，其中男性 13 例、女性 6 例，年龄 (58 ± 19) 岁。两组患者性别、年龄、感染部位、ICU 住院时间和 28 d 病死率差异均无统计学意义 (均 *P* > 0.05)。

表 1 不同治疗方案两组脓毒症患者一般情况及预后指标比较

组别	例数 (例)	性别 (例)		年龄 (岁, $\bar{x} \pm s$)	ICU 住院时间 (d, $\bar{x} \pm s$)
		男性	女性		
标准治疗组	20	11	9	66 ± 10	10 ± 5
CBP 治疗组	19	13	6	58 ± 19	9 ± 4
χ^2/t 值		0.742		1.707	1.010
<i>P</i> 值		0.389		0.096	0.318

组别	例数 (例)	感染部位 (例)				28 d 死亡 (例)
		肺部	腹腔	胆系	其他	
标准治疗组	20	4	4	6	6	5
CBP 治疗组	19	3	5	9	2	8
χ^2 值		2.809				1.283
<i>P</i> 值		0.455				0.257

注：两组患者均参照 2016 年脓毒症与脓毒性休克处理国际指南标准治疗，连续性血液净化 (CBP) 治疗组在标准治疗的基础上给予连续性静脉-静脉血液滤过 (CVVH)；ICU 为重症监护病房

2.2 两组患者治疗前后临床指标及病情严重程度评分比较(表2):两组患者治疗前及治疗1 d Lac、PCT及APACHE II、SOFA评分差异均无统计学意义(均 $P>0.05$);治疗3 d时,CBP治疗组患者Lac、PCT及APACHE II、SOFA评分均较治疗前明显降低(均 $P<0.05$),且降低幅度较标准治疗组更为明显,其中Lac明显低于标准治疗组($P<0.05$)。

表2 不同治疗方案两组脓毒症患者治疗前后不同时间点临床指标及病情严重程度评分的变化比较 [$M(Q_L, Q_U)$]

组别	时间	例数(例)	Lac(mmol/L)	PCT(μ g/L)
标准治疗组	治疗前	20	2.0(1.1, 3.7)	10.5(1.4, 71.8)
	治疗1 d	20	1.1(0.7, 1.9)	3.3(0.9, 36.0)
	治疗3 d	20	1.3(1.0, 1.7) ^a	1.6(0.5, 14.0) ^a
CBP治疗组	治疗前	19	1.9(1.2, 6.9)	13.0(1.9, 66.0)
	治疗1 d	19	1.0(0.7, 1.9)	5.5(0.7, 17.0)
	治疗3 d	19	0.7(0.6, 1.0) ^{ab}	2.1(0.5, 10.6) ^a

组别	时间	例数(例)	APACHE II(分)	SOFA(分)
标准治疗组	治疗前	20	16.5(10.3, 21.8)	6.5(5.0, 9.8)
	治疗1 d	20	11.0(6.0, 15.0)	6.0(3.0, 8.0)
	治疗3 d	20	10.5(5.3, 13.0) ^a	4.0(3.0, 7.8)
CBP治疗组	治疗前	19	13.0(8.0, 24.0)	7.0(4.0, 13.0)
	治疗1 d	19	8.5(3.0, 16.0)	5.0(3.0, 9.0)
	治疗3 d	19	5.0(2.5, 10.5) ^a	3.0(2.0, 7.0) ^a

注:两组患者均参照2016年脓毒症与脓毒性休克处理国际指南标准治疗,连续性血液净化(CBP)治疗组在标准治疗的基础上给予连续性静脉-静脉血液滤过(CVVH);Lac为血乳酸,PCT为降钙素原,APACHE II为急性生理学及慢性健康状况评分II,SOFA为序贯器官衰竭评分;与本组治疗前比较,^a $P<0.05$;与标准治疗组同期比较,^b $P<0.05$

2.3 两组患者治疗前后免疫功能相关指标变化比较(表3):两组患者治疗前及治疗1 d免疫功能相关指标差异均无统计学意义(均 $P>0.05$)。治疗3 d时,CBP治疗组LYM明显高于治疗前($P<0.05$),升高幅度较标准治疗组更明显,且显著高于标准治疗组($P<0.05$);CBP治疗组IL-4、IFN- γ 、IFN- γ /IL-4比值、IL-7、PD-1、PD-L1均较治疗前降低,其中IL-4、IFN- γ 、IL-7、PD-1差异有统计学意义(均 $P<0.05$),降低幅度亦较标准治疗组更明显,且IL-4、IFN- γ 、IFN- γ /IL-4比值、IL-7、PD-1均明显低于标准治疗组(均 $P<0.05$)。

2.4 两组患者治疗前后内皮细胞损伤相关指标变化比较(表4):两组患者治疗前及治疗1 d内皮细胞损伤相关指标差异均无统计学意义(均 $P>0.05$)。治疗3 d时,CBP治疗组患者sTM、vWF、SDC-1、HS、Ang-2均较治疗前显著降低(均 $P<0.05$),降低幅度较标准治疗组更明显,且sTM、SDC-1、HS、Ang-2水平均明显低于标准治疗组(均 $P<0.05$)。

3 讨论

脓毒症是感染性疾病致死的主要原因之一。在过去的30年中,尽管早期积极干预治疗可降低脓毒症患者的早期病死率,但脓症患者ICU病死率仍为25.8%,住院病死率仍为35.3%,明显高于ICU其他患者^[8]。近年来对脓毒症的认识和治疗不断进步,

表3 不同治疗方案两组脓毒症患者治疗前后不同时间点免疫功能相关指标变化比较

组别	时间	例数(例)	LYM($\times 10^9/L, \bar{x} \pm s$)	IL-4 [ng/L, $M(Q_L, Q_U)$]	IFN- γ [ng/L, $M(Q_L, Q_U)$]	IFN- γ /IL-4 比值 [$M(Q_L, Q_U)$]	IL-7 [ng/L, $M(Q_L, Q_U)$]	PD-1 [μ g/L, $M(Q_L, Q_U)$]	PD-L1 [μ g/L, $M(Q_L, Q_U)$]
标准治疗组	治疗前	20	0.6 \pm 0.4	3.5(3.5, 4.0)	106.1(72.4, 377.0)	45.6(24.8, 90.0)	5.1(4.6, 5.6)	0.08(0.06, 0.13)	0.65(0.37, 1.68)
	治疗1 d	20	0.8 \pm 0.5	3.5(1.5, 3.5)	225.7(80.3, 494.0)	93.8(23.2, 149.0)	5.4(4.6, 6.0)	0.09(0.06, 0.20)	0.48(0.25, 1.61)
	治疗3 d	20	0.9 \pm 0.4 ^a	3.3(2.7, 5.2)	217.9(71.4, 517.1)	59.1(18.3, 124.9)	6.3(5.2, 8.0)	0.08(0.05, 0.12)	0.48(0.31, 0.87)
CBP治疗组	治疗前	19	0.9 \pm 0.6	3.8(3.5, 6.9)	72.6(8.6, 1226.4)	19.9(2.7, 162.5)	5.6(4.8, 7.1)	0.09(0.06, 0.16)	0.71(0.19, 2.07)
	治疗1 d	19	0.9 \pm 0.4	3.5(3.5, 3.8)	48.0(5.7, 638.5)	13.9(2.6, 141.3)	5.1(4.9, 5.7)	0.06(0.05, 0.09)	0.58(0.26, 1.01)
	治疗3 d	19	1.3 \pm 0.3 ^{ab}	2.8(1.5, 3.2) ^{ab}	6.3(5.4, 106.5) ^{ab}	3.7(1.8, 70.3) ^b	4.6(3.2, 5.1) ^{ab}	0.04(0.03, 0.06) ^{ab}	0.21(0.13, 0.70)

注:两组患者均参照2016年脓毒症与脓毒性休克处理国际指南标准治疗,连续性血液净化(CBP)治疗组在标准治疗的基础上给予连续性静脉-静脉血液滤过(CVVH);LYM为淋巴细胞计数,IL-4为白细胞介素-4,IFN- γ 为 γ -干扰素,IL-7为白细胞介素-7,PD-1为程序性死亡受体-1,PD-L1为程序性死亡配体-1;与本组治疗前比较,^a $P<0.05$;与标准治疗组同期比较,^b $P<0.05$

表4 不同治疗方案两组脓毒症患者治疗前后不同时间点内皮细胞损伤相关指标变化比较 [$M(Q_L, Q_U)$]

组别	时间	例数(例)	sTM(μ g/L)	vWF(μ g/L)	SDC-1(μ g/L)	HS(ng/L)	Ang-2(ng/L,)
标准治疗组	治疗前	20	8.7(6.4, 21.3)	29.0(13.3, 55.6)	1.3(0.9, 3.1)	1152.0(868.3, 1919.2)	1832.3(979.5, 2986.1)
	治疗1 d	20	9.1(7.1, 11.5)	16.5(11.0, 21.8)	1.4(0.7, 1.8)	1138.2(750.7, 1284.9)	3021.7(1698.3, 4690.9)
	治疗3 d	20	8.7(6.0, 10.8)	16.5(11.8, 44.5)	0.9(0.8, 2.5)	887.9(620.1, 957.3) ^a	2233.9(1472.5, 3808.4)
CBP治疗组	治疗前	19	8.2(5.6, 21.4)	24.4(16.6, 74.0)	1.6(0.7, 14.1)	1221.8(585.9, 1652.3)	1498.1(939.8, 2528.3)
	治疗1 d	19	6.1(5.4, 8.1)	16.1(10.1, 44.4)	1.4(0.5, 2.1)	940.1(536.8, 1457.5)	1899.4(1034.4, 2157.8)
	治疗3 d	19	4.9(4.3, 7.4) ^{ab}	10.5(6.4, 26.0) ^a	0.6(0.3, 1.1) ^{ab}	434.8(256.2, 805.0) ^{ab}	934.0(673.3, 1502.1) ^{ab}

注:两组患者均参照2016年脓毒症与脓毒性休克处理国际指南标准治疗,连续性血液净化(CBP)治疗组在标准治疗的基础上给予连续性静脉-静脉血液滤过(CVVH);sTM为可溶性血栓调节蛋白,vWF为血管性血友病因子,SDC-1为多配体蛋白聚糖-1,HS为硫酸乙酰肝素,Ang-2为血管生成素-2;与本组治疗前比较,^a $P<0.05$;与标准治疗组同期比较,^b $P<0.05$

而且脓毒症相关诊疗指南也在不断更新。2016年提出的 Sepsis-3 不再以全身炎症反应综合征 (systemic inflammatory response syndrome, SIRS) 为诊断依据, 而是强调宿主对感染反应失调和器官功能障碍。不仅是对定义和概念的更新, 对脓毒症的病理生理机制及诊疗思维也在不断更新。随着对脓毒症认识的不断深入, PCT 等可用于判断患者病情及预后的生物标志物逐渐涌现^[9-10], 同时出现的还有拮抗相应标志物及阻断相关通路的免疫调理治疗理念。

脓毒症的发病过程中存在着促炎因子与抗炎因子失衡, 无论是早期大量炎症因子释放, 还是后期抗炎因子过度反应导致的免疫抑制状态, 都体现了机体的免疫功能紊乱。脓毒症早期的“细胞因子风暴”也不仅是促炎因子, 同时还有抗炎因子的大量释放。已经有研究证实, 脓毒症患者体内 IFN- γ 、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、IL-17、IL-4 等多种促炎因子及抗炎因子升高, 且与病情严重程度及病死率相关^[11], 因此可以清除上述细胞因子的免疫调理治疗引起了关注, 提出了“脓毒症精准免疫治疗”^[12]。脓毒症患者体内存在淋巴细胞及树突状细胞凋亡 (程序性细胞死亡), 而免疫细胞凋亡在脓毒症患者免疫抑制形成中具有不可忽视的作用^[13]。PD-1 通常表达于抗原呈递细胞、T 淋巴细胞、B 淋巴细胞等细胞表面, 其配体可以通过与免疫细胞表面的 PD-1 结合介导免疫抑制^[14]。

CBP 作为 ICU 危重疾病的救治手段之一, 凭借其吸附、对流、弥散的功效, 也被广泛应用于脓毒症的救治。Riché 等^[15]发现, 脓毒性休克患者继发的低炎症反应或免疫抑制状态会持续相当长时间, 而 PD-1 和 PD-L1 介导的淋巴细胞凋亡是脓毒症患者免疫抑制的重要环节。还有研究表明, 脓毒症患者的免疫抑制可表现为持续性 LYM 减少, 且 LYM 可作为判断脓毒症预后的重要标志物^[16]; 同样, 髓源性抑制细胞 (myeloid-derived suppressor cell, MDSC) 介导的免疫抑制亦是脓毒症患者发生免疫抑制的重要组成部分^[17]。为了探讨 CBP 对脓毒症患者免疫功能是否有影响及有何影响, 本研究动态监测了患者治疗前后 IL-4、IFN- γ 、IL-4/IFN- γ 比值、IL-7、PD-1、PD-L1 及 LYM 的变化, 结果显示, 在标准治疗基础上给予 CBP 治疗 3 d, 患者上述促炎因子及抗炎因子均明显低于标准治疗组, LYM 明显高于标准治疗组, 表明加用 CBP 治疗对患者更有益; 通过比较两组患者 Lac、PCT 与 APACHE II、SOFA 评分等

临床常用指标进一步发现, CBP 治疗组患者改善情况明显优于标准治疗组。因此, 结合 CBP 治疗可更显著地降低脓毒症患者 IFN- γ 、PCT、IL-4 等促炎与抗炎细胞因子水平, 并改善 APACHE II、SOFA 评分; 此外, CBP 治疗组患者淋巴细胞凋亡相关指标降低程度较标准治疗组更明显, LYM 升高也更显著, 故认为 CBP 治疗可改善脓毒症患者的免疫抑制状态, 对炎症免疫反应具有更好的调理作用。

在脓毒症发生发展中不仅存在上述免疫功能紊乱, 而且还存在较明显的内皮细胞损伤和功能障碍。研究证实, 脓毒症发生发展过程中, 内皮细胞在病原体等多种因素影响下释放和表达多种细胞因子、趋化因子及促凝因子, 引起毛细血管渗漏、血管收缩性改变、微血管血栓形成, 进一步导致多器官功能障碍甚至死亡, 而内皮细胞功能障碍与促炎因子和抗炎因子释放相互影响^[18-19]。因此, 改善内皮细胞功能是脓毒症患者治疗的新方向。尽管意识到内皮细胞的重要意义, 但目前对脓毒症的治疗依然停留在调节促炎及抗炎反应, 对于改善内皮细胞功能障碍的相关治疗研究较少。研究表明, 减少 Ang-2 表达可以抑制细胞间黏附分子-1 (intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1) 表达, 降低血管通透性, 改善脓毒症患者预后^[20]。田杨等^[21]发现, ICAM-1 升高与脓毒症患者病情严重程度相关; CBP 可降低脓毒症患者 ICAM-1 和 vWF 等内皮细胞损伤相关标志物, 保护内皮细胞, 改善预后^[22]。本研究也显示, CBP 治疗组患者血清 sTM、vWF、Ang-2 均较标准治疗组降低更明显, 说明 CBP 治疗可改善内皮细胞损伤。

内皮细胞在脓毒症病程中具有关键作用, 而多糖包被作为内皮细胞屏障的重要组成部分, 也成为近年研究的热点。研究表明, 多糖包被通过减少炎症因子释放、免疫细胞趋化黏附及微血栓形成, 避免了内皮细胞损伤相关的器官功能障碍^[23]。当多糖包被在金属蛋白酶和脂多糖等作用下被损伤时, 脓毒症患者体内的 SDC-1、HS、透明质酸 (hyaluronic acid, HA) 等成分可被检测到, 且与病情严重程度及预后相关^[24-26]。还有研究表明, TNF- α 及 Ang-2 均可通过一定方式促进多糖包被的降解^[27-28], 可见促炎和抗炎细胞因子与内皮细胞功能之间是互相影响的。液体复苏是纠正脓毒症患者低灌注的有效治疗手段, 但是近 5 年来发现, 大量的液体复苏会对血管内皮产生不利影响, 与脓毒症时多糖包被损伤程度相关。Hippensteel 等^[29]研究发现, 脓毒症患者 HS

降解明显高于非感染患者,同时多糖包被的降解程度可预测病死率;该研究者还发现,脓毒症患者液体复苏过程中静脉输血量与多糖包被降解程度独立相关。同样, Saoraya 等^[30]通过检测患者不同时间点 SDC-1 水平发现,该指标与液体需求量、脓毒症严重程度、器官功能障碍和病死率相关。脓毒症液体过负荷与急性肾损伤(acute kidney injury, AKI)也密切相关^[31]。基于多糖包被在内皮细胞功能中的重要作用及其与脓毒症患者的治疗和病死率相关,因此本研究检测了两组患者外周血中多糖包被 SDC-1、HS 这两种成分,评估治疗前后多糖包被降解情况,并探讨其可能的机制。结果显示, CBP 治疗组患者治疗 3 d 时血清 SDC-1、HS 等多糖包被成分均较治疗前显著减少,且明显低于标准治疗组,表明 CBP 治疗可一定程度改善脓毒症患者多糖包被损伤。

综上所述,本研究从免疫功能、包括多糖包被在内的内皮细胞功能等方面,动态比较了加用 CBP 与仅用标准治疗对脓毒症患者的效果,从不同角度证实 CBP 治疗对于脓毒症患者具有更有利的免疫调理及改善内皮细胞功能的作用。两组患者 28 d 死亡患者数差异无统计学意义,可能与样本量相对较少有关,仍需开展更大样本量的研究进一步评估疗效。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Cecconi M, Evans L, Levy M, et al. Sepsis and septic shock [J]. *Lancet*, 2018, 392 (10141): 75–87. DOI: 10.1016/S0140-6736(18)30696-2.
- [2] Fleischmann C, Scherag A, Adhikari NK, et al. Assessment of global incidence and mortality of hospital-treated sepsis. Current estimates and limitations [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2016, 193 (3): 259–272. DOI: 10.1164/rccm.201504-0781OC.
- [3] Ince C, Mayeux PR, Nguyen T, et al. The endothelium in sepsis [J]. *Shock*, 2016, 45 (3): 259–270. DOI: 10.1097/SHK.0000000000000473.
- [4] Chousterman BG, Swirski FK, Weber GF. Cytokine storm and sepsis disease pathogenesis [J]. *Semin Immunopathol*, 2017, 39 (5): 517–528. DOI: 10.1007/s00281-017-0639-8.
- [5] Shankar-Hari M, Phillips GS, Levy ML, et al. Developing a new definition and assessing new clinical criteria for septic shock: for the third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3) [J]. *JAMA*, 2016, 315 (8): 775–787. DOI: 10.1001/jama.2016.0289.
- [6] Seymour CW, Liu VX, Iwashyna TJ, et al. Assessment of clinical criteria for sepsis: for the third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3) [J]. *JAMA*, 2016, 315 (8): 762–774. DOI: 10.1001/jama.2016.0288.
- [7] Rhodes A, Evans LE, Alhazzani W, et al. Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock: 2016 [J]. *Intensive Care Med*, 2017, 43 (3): 304–377. DOI: 10.1007/s00134-017-4683-6.
- [8] Vincent JL, Marshall JC, Namendys-Silva SA, et al. Assessment of the worldwide burden of critical illness: the intensive care over nations (ICON) audit [J]. *Lancet Respir Med*, 2014, 2 (5): 380–386. DOI: 10.1016/S2213-2600(14)70061-X.
- [9] 闫圣涛, 练睿, 孙力超, 等. 降钙素原和危重症评分在腹腔感染脓毒症病原学诊断及预后评估中的价值 [J]. *中华危重病急救医学*, 2021, 33 (7): 792–797. DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-

- 20200909-00621.
- [10] 周国亮, 黄晓娜. 血清降钙素原在新生儿感染性疾病诊断中的应用 [J]. *实用检验医师杂志*, 2021, 13 (3): 137–139. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2021.03.003.
- [11] Vucic J, Vucic M, Stankovic T, et al. Potential role of IFN- γ and IL-5 in sepsis prediction of preterm neonates [J]. *Open Med (Wars)*, 2021, 16 (1): 139–145. DOI: 10.1515/med-2021-0206.
- [12] 胡荣华, 郑颜磊, 程飞, 等. 脓毒症精准免疫治疗的新进展 [J]. *中国中西医结合急救杂志*, 2019, 26 (4): 504–506. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2019.04.036.
- [13] Patil NK, Bohannon JK, Sherwood ER. Immunotherapy: a promising approach to reverse sepsis-induced immunosuppression [J]. *Pharmacol Res*, 2016, 111: 688–702. DOI: 10.1016/j.phrs.2016.07.019.
- [14] Qin WT, Hu LP, Zhang XL, et al. The diverse function of PD-1/PD-L pathway beyond cancer [J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 2298. DOI: 10.3389/fimmu.2019.02298.
- [15] Riché F, Chousterman BG, Valleur P, et al. Protracted immune disorders at one year after ICU discharge in patients with septic shock [J]. *Crit Care*, 2018, 22 (1): 42. DOI: 10.1186/s13054-017-1934-4.
- [16] Drewry AM, Fuller BM, Skrupky LP, et al. The presence of hypothermia within 24 hours of sepsis diagnosis predicts persistent lymphopenia [J]. *Crit Care Med*, 2015, 43 (6): 1165–1169. DOI: 10.1097/CCM.0000000000000940.
- [17] 彭岳康, 徐继前, 贺亚俊, 等. 髓源性抑制细胞导致脓毒症免疫抑制的研究进展 [J]. *中华危重病急救医学*, 2022, 34 (6): 666–669. DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20210930-01432.
- [18] He WX, Xiao K, Fang M, et al. Immune cell number, phenotype, and function in the elderly with sepsis [J]. *Aging Dis*, 2021, 12 (1): 277–296. DOI: 10.14336/AD.2020.0627.
- [19] Joffe J, Hellman J, Ince C, et al. Endothelial responses in sepsis [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2020, 202 (3): 361–370. DOI: 10.1164/rccm.201910-1911TR.
- [20] Stiehl T, Thamm K, Kaufmann J, et al. Lung-targeted RNA interference against angiopoietin-2 ameliorates multiple organ dysfunction and death in sepsis [J]. *Crit Care Med*, 2014, 42 (10): e654–e662. DOI: 10.1097/CCM.0000000000000524.
- [21] 田杨, 朱翠平, 洪婕, 等. E 选择素、细胞间黏附分子-1 和白细胞介素-6 在脓毒症中的变化及意义 [J]. *中国小儿急救医学*, 2015, 22 (9): 595–598. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4912.2015.09.001.
- [22] 韩沙沙, 孙婷, 李志, 等. 连续性血液净化治疗对严重脓毒症患者内皮细胞功能的影响 [J]. *中华危重病急救医学*, 2011, 23 (2): 81–84. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2011.02.006.
- [23] 陈铭铭, 马晓春. 脓毒症与内皮细胞损伤: 多糖包被的作用值得关注 [J]. *中华内科杂志*, 2020, 59 (6): 418–420. DOI: 10.3760/cma.j.cn112138-20190905-00609.
- [24] Iba T, Levy JH. Derangement of the endothelial glycocalyx in sepsis [J]. *J Thromb Haemost*, 2019, 17 (2): 283–294. DOI: 10.1111/jth.14371.
- [25] Dogné S, Flamion B. Endothelial glycocalyx impairment in disease: focus on hyaluronan shedding [J]. *Am J Pathol*, 2020, 190 (4): 768–780. DOI: 10.1016/j.ajpath.2019.11.016.
- [26] Holzmann MS, Winkler MS, Strunden MS, et al. Syndecan-1 as a biomarker for sepsis survival after major abdominal surgery [J]. *Biomark Med*, 2018, 12 (2): 119–127. DOI: 10.2217/bmm-2017-0231.
- [27] Schmidt EP, Yang YM, Janssen WJ, et al. The pulmonary endothelial glycocalyx regulates neutrophil adhesion and lung injury during experimental sepsis [J]. *Nat Med*, 2012, 18 (8): 1217–1223. DOI: 10.1038/nm.2843.
- [28] Lukasz A, Hillgruber C, Oberleithner H, et al. Endothelial glycocalyx breakdown is mediated by angiopoietin-2 [J]. *Cardiovasc Res*, 2017, 113 (6): 671–680. DOI: 10.1093/cvr/cvx023.
- [29] Hippensteel JA, Uchimido R, Tyler PD, et al. Intravenous fluid resuscitation is associated with septic endothelial glycocalyx degradation [J]. *Crit Care*, 2019, 23 (1): 259. DOI: 10.1186/s13054-019-2534-2.
- [30] Saoraya J, Wongsamita L, Srisawat N, et al. Plasma syndecan-1 is associated with fluid requirements and clinical outcomes in emergency department patients with sepsis [J]. *Am J Emerg Med*, 2021, 42: 83–89. DOI: 10.1016/j.ajem.2021.01.019.
- [31] 杨晓玲, 原娇娇, 袁琪茜, 等. 脓毒症液体过负荷与急性肾损伤 [J]. *中国中西医结合急救杂志*, 2021, 28 (1): 119–121. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2020.01.030.

(收稿日期: 2022-01-10)