

连续血液净化对严重脓毒症的疗效及 T 淋巴细胞亚群影响*

伏晓琳, 杨云, 赵志林, 段颖, 谭辉, 张怡, 刘博, 李康, 杨琼, 牛静

(咸阳市中心医院, 陕西 咸阳 712000)

[摘要] 目的: 观察连续血液净化(CBP)治疗严重脓毒症疗效及对 T 淋巴细胞亚群影响。方法: 86 例严重脓毒症患者均分为观察组和对照组, 观察组给予 CBP 治疗, 对照组接受常规治疗, 分别于治疗前和治疗第 3 及 7 天时采用 Attune NxT 流式细胞仪测定 T 淋巴细胞亚群 CD3⁺T、CD4⁺T、CD8⁺T 百分比及 CD4⁺T/CD8⁺T 比值, 双抗体夹心酶联免疫分析法及免疫比浊法测定血清肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白介素-6 (IL-6) 及 C 反应蛋白 (CRP) 水平; 观察两组 ICU 住院时间、机械通气时间及 28 d 时死亡率。结果: 2 组患者治疗前 T 淋巴细胞亚群百分比比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 治疗第 3 及 7 天时 CD3⁺、CD4⁺ 百分比及 CD4⁺/CD8⁺ 比值均呈增高趋势, CD8⁺ 百分比呈下降趋势, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 观察组治疗第 3 及 7 天时 CD3⁺、CD4⁺ 百分比及 CD4⁺/CD8⁺ 比值均显著高于对照组, CD8⁺ 百分比显著低于对照组 ($P < 0.05$); 两组患者治疗前 IL-6、TNF- α 、CRP 水平比较无统计学意义 ($P > 0.05$), 治疗第 3 及 7 天时各炎症因子水平均呈下降趋势 ($P < 0.05$), 且观察组治疗第 3 及 7 天时上述各炎症因子水平均显著低于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 观察组 ICU 住院时间、机械通气时间及 28 d 死亡率显著低于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。结论: CBP 治疗严重脓毒症疗效确切, 能显著增强患者受抑制的免疫功能, 降低致炎介质, 改善预后。

[关键词] 连续血液净化; 严重脓毒症; T 淋巴细胞; 炎症因子; 免疫功能

[中图分类号] R459.7 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2018)04-0462-04

DOI: 10. 19367/j. cnki. 1000-2707. 2018. 04. 019

Efficacy of Continuous Blood Purification on Treatment of Severe Sepsis and Influence on T Lymphocyte Subsets

FU Xiaolin, YANG Yun, ZHAO Zhilin, DUAN Ying, TAN Hui, ZHANG Yi,

LIU Bo, LI Kang, YANG Qiong, NIU Jing

(Central Hospital of Xianyang, Xianyang 712000, Shaanxi, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effect of continuous blood purification (CBP) on severe sepsis and its influence on T lymphocyte subsets. **Methods:** 86 cases with severe sepsis were randomly divided into observation group and control group with equal number; the observation group received CBP treatment, the control group received routine treatment. Before treatment, and on the 3rd and 7th day after treatment adopting Attune NxT Flow cytometry to test proportion of CD3⁺T, CD4⁺T and CD8⁺T and ratio of CD4⁺T/CD8⁺T in T lymphocyte subsets. ABC-ELISA and Immunoturbidimetry were adopted to test levels of TNF- α , IL-6 and CRP. Observing ICU hospitalized time, mechanical ventilation time and mortality on 28th day of both groups. **Results:** Comparison of proportion of T lymphocyte subsets of both groups before treatment showed no statistical difference ($P > 0.05$); on the 3rd and 7th day after treatment, proportion of CD3⁺, CD4⁺ and ratio of CD4⁺/CD8⁺ showed an growing tendency, CD8⁺ percentage showed a decreasing trend, differences were statistically significant ($P < 0.05$);

*[基金项目] 陕西省自然科学基金项目(2012JM4011)

网络出版时间: 2018-04-24 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/52.1164.R.20180424.2120.025.html>

on 3rd and 7th day after treatment, the percentage of CD3⁺, CD4⁺ and CD4⁺/CD8⁺ ratio were obviously higher than that of control group, were increased ($P < 0.05$), the percentage of CD8⁺ was significantly lower than the control group ($P < 0.05$). IL-6, TNF- α and CRP level of both groups before treatment was not statistically significant ($P > 0.05$); 3 d and 7 d after treatment, the levels of inflammatory factors were decreased ($P < 0.05$); and 3 d and 7 d after treatment, inflammatory cytokine levels of the observation group were significantly lower than that of control group ($P < 0.05$). ICU hospitalized time, mechanical ventilation time and mortality on 28th day of observation group were obviously lower than that of control group, differences were statistically significant ($P < 0.05$).

Conclusions: CBP is effective in the treatment of severe sepsis, which can significantly enhance the suppressed immune function, remove the inflammatory mediators and improve the prognosis.

[**Key words**] continuous blood purification; severe sepsis; T lymphocytes; inflammatory factors; immune function

脓毒症 (Sepsis) 是机体应对感染时引起的一种全身炎症反应,属于临床急危重患者(如烧伤、创伤、感染、休克等)严重并发症之一,若处理不及时,易引起多器官功能衰竭综合症或脓毒症休克,病死亡率达 50%,是 ICU 患者死亡的重要病因^[1]。严重脓毒症患者体内伴有过度炎症反应,机体处于免疫抑制状态,故调节炎症因子、诱导免疫平衡是治疗关键,而连续血液净化(CBP)治疗有重建免疫稳态、诱导器官功能尽快恢复的作用,但其机制尚未清晰^[2],本研究采用 CBP 治疗严重脓毒症,并观察治疗后患者 T 淋巴细胞亚群和炎症因子水平变化。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2014 年 9 月 ~ 2016 年 9 月严重脓毒症患者 86 例,按照随机数表法均分为观察组和对照组,观察组男 27 例、女 16 例,23 ~ 65 岁、平均(42.26 ± 11.12)岁,慢性健康状况评分(APACHEII)为(19.01 ± 4.52)分;原发病有化脓性胆管炎 1 例、腹腔感染 5 例、复合外伤 14 例、烧伤 3 例、肺部感染 16 例、急性胰腺炎 2 例、盆腔脓肿 2 例。对照组男 29 例、女 14 例,22 ~ 64 岁、平均(41.87 ± 10.72)岁,APACHEII 评分为(18.91 ± 6.02)分;原发病:化脓性胆管炎 2 例、腹腔感染 4 例、复合外伤 13 例、烧伤 4 例、肺部感染 18 例、急性胰腺炎 1 例、盆腔脓肿 1 例。两组患者的性别、年龄、原发病等一般信息比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。纳入标准:(1)符合 2007 年中华医学会急诊医学分会危重病专家委员会制定的脓毒症诊断标准^[3],均

为急性起病、伴有低氧血症、X 线胸片提示双肺存在浸润阴影、PCWP ≤ 18 mmHg、未发现心源性肺水肿,呼吸频数或窘迫 > 28 次/min、PaO₂/FiO₂ ≤ 300 mmHg,伴有急性呼吸窘迫综合征时 PaO₂/FiO₂ ≤ 200 mmHg;(2)伴有组织低灌注或器官功能障碍;(3)对本研究知情且签署同意书。排除标准:(1)长期接受免疫抑制剂治疗或存在严重肝功能不全及免疫系统、循环系统疾病;(2)伴有恶性肿瘤等慢性消耗性疾病;(3)不可复苏临终状态;(4)急性严重颅脑损伤,GCS 评分在 5 分以下;(5)孕产妇及哺乳期妇女。

1.2 治疗方法

参考《中国严重脓毒症/脓毒性休克治疗指南(2014)》^[4],对照组接受常规治疗,包括消化、呼吸、循环、泌尿、免疫等机体系统功能支持及抗感染治疗。观察组在此基础上予以 CBP 治疗,治疗前行股静脉或颈内静脉留置双腔血滤用静脉导管(美国 ARROW 公司生产),采用连续静脉-静脉血液滤过(CVVH)模式治疗,应用 DX-10 型全自动血液净化机(济南华航科技有限公司)、美国 PALL swinney 13 mm 膜滤器及配套管路,每间隔 24 h 更换 1 次滤器。血液流量维持 100 ~ 200 mL/min,肝素首剂为 20 ~ 30 U/kg,持续量 750 ~ 1 500 U/h。选取南京军区总院置换液配方,持续治疗 3d 及以上,每天维持 8 ~ 24 h。

1.3 观察指标

观察两组 ICU 住院时间、机械通气时间及 28 d 死亡率,并分别于治疗前及治疗第 3 和 7 天时(CBP 治疗终止 10 min)采集患者空腹静脉血,乙二胺四乙酸抗凝,将离心血浆置入 -4 °C 冰箱冷冻保存。采用 Attune NxT 流式细胞仪(赛默飞世尔

科技有限公司)测定外周血 T 淋巴细胞亚群 CD3⁺T、CD4⁺T、CD8⁺T 百分比及 CD4⁺T/CD8⁺T 比值;采用双抗体夹心酶联免疫分析法及免疫比浊法(试剂盒均由上海西唐生物科技有限公司提供)测定血清肿瘤坏死因子-α(TNF-α)、白介素-6(IL-6)及 C 反应蛋白(CRP)水平。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 19.0 处理数据,计数资料用百分率(%)表示,组间对比行χ²检验;计量资料用($\bar{x} \pm s$)表示,组间对比行 t 值检验,P < 0.05 时为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 临床转归与预后

观察组 ICU 住院时间、机械通气时间分别为(9.13 ± 3.05) d、(5.54 ± 3.47) d,对照组依次为

(11.69 ± 4.92) d、(8.05 ± 5.28) d,两组对比差异均有统计学意义(t = 2.899, t = 2.605, P = 0.005, P = 0.011)。83 例患者治疗 7 d 后中有 22 例死亡,其中观察组 6 例(13.95%),对照组 16 例(37.21%),两组 28 d 死亡率比较,差异有统计学意义(χ² = 6.108, P = 0.013)。

2.2 T 淋巴细胞亚群

两组治疗前 T 淋巴细胞亚群百分比比较,差异无统计学意义(P > 0.05),治疗第 3 和 7 天时 CD3⁺、CD4⁺百分比及 CD4⁺/CD8⁺比值均呈增高趋势,差异有统计学意义(P < 0.05),CD8⁺百分比呈下降趋势,差异有统计学意义(P < 0.05),且观察组治疗第 3 和 7 天时 CD3⁺、CD4⁺百分比及 CD4⁺/CD8⁺比值均显著高于对照组,CD8⁺百分比显著低于对照组,差异有统计学意义(P < 0.05)。见表 1。

表 1 两组 CBP 患者不同时点 T 淋巴细胞亚群变化($\bar{x} \pm s$)
Tab. 1 Change of T lymphocyte subsets of both groups at different time points

指标	时点	观察组	对照组	t	P
CD3 ⁺ (%)	治疗前	42.01 ± 5.01	42.13 ± 5.06 ⁽¹⁾⁽²⁾	0.111	0.912
	治疗第 3 天	63.02 ± 4.24 ⁽¹⁾	51.23 ± 6.12	10.384	0.000
	治疗第 7 天	68.12 ± 5.16 ⁽¹⁾⁽²⁾	57.47 ± 4.28 ⁽¹⁾⁽²⁾	10.417	0.000
CD4 ⁺ (%)	治疗前	24.25 ± 6.72	25.08 ± 5.89	0.609	0.544
	治疗第 3 天	30.32 ± 2.68 ⁽¹⁾⁽²⁾	27.74 ± 1.76 ⁽¹⁾	5.277	0.000
	治疗第 7 天	33.10 ± 4.22 ⁽¹⁾⁽²⁾	29.05 ± 2.57 ⁽¹⁾⁽²⁾	5.375	0.000
CD8 ⁺ (%)	治疗前	29.06 ± 2.75	29.34 ± 2.28	0.514	0.609
	治疗第 3 天	26.04 ± 3.18 ⁽¹⁾⁽²⁾	27.94 ± 3.42 ⁽¹⁾	2.668	0.009
	治疗第 7 天	23.78 ± 2.97 ⁽¹⁾⁽²⁾	24.98 ± 2.07 ⁽¹⁾⁽²⁾	2.174	0.033
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	治疗前	1.02 ± 0.72	1.09 ± 0.61	0.486	0.628
	治疗第 3 天	1.56 ± 0.64 ⁽¹⁾	1.32 ± 0.22 ⁽¹⁾	2.325	0.023
	治疗第 7 天	1.79 ± 0.58 ⁽¹⁾⁽²⁾	1.53 ± 0.48 ⁽¹⁾⁽²⁾	2.265	0.026

⁽¹⁾与治疗前比较,P < 0.05;⁽²⁾与治疗第 3 天比较,P < 0.05

2.3 血清 IL-6、TNF-α 及 CRP

两组治疗前 IL-6、TNF-α、CRP 水平比较,差异无统计学意义(P > 0.05);两组治疗第 3 及 7 天各

炎症因子水平均呈下降趋势,且观察组治疗后第 3、7 天时上述各指标均显著低于对照组,差异有统计学意义(P < 0.05)。见表 2。

表 2 两组 CBP 患者不同时点炎症因子变化($\bar{x} \pm s$)
Tab. 2 Inflammatory factor change of both groups at different time points

指标	时点	观察组	对照组	t	P
IL-6(ng/L)	治疗前	192.43 ± 33.31	191.02 ± 34.03	0.194	0.847
	治疗第 3 天	152.34 ± 21.68 ⁽¹⁾	176.23 ± 22.69 ⁽¹⁾	4.992	0.000
	治疗第 7 天	110.76 ± 22.37 ⁽¹⁾⁽²⁾	149.89 ± 23.46 ⁽¹⁾⁽²⁾	7.916	0.000
TNF-α(ng/L)	治疗前	152.52 ± 37.34	153.02 ± 38.01	0.062	0.951
	治疗第 3 天	124.45 ± 27.45 ⁽¹⁾	139.34 ± 31.58 ⁽¹⁾	2.333	0.022
	治疗第 7 天	94.36 ± 21.47 ⁽¹⁾⁽²⁾	122.68 ± 23.36 ⁽¹⁾⁽²⁾	5.853	0.000
CRP(mg/L)	治疗前	117.98 ± 23.86	117.12 ± 24.03	0.167	0.868
	治疗第 3 天	99.05 ± 18.47 ⁽¹⁾	113.67 ± 22.64 ⁽¹⁾	3.281	0.001
	治疗第 7 天	92.76 ± 12.46 ⁽¹⁾⁽²⁾	110.89 ± 18.93 ⁽¹⁾⁽²⁾	5.246	0.000

⁽¹⁾与治疗前比较,P < 0.05;⁽²⁾与治疗第 3 天比较,P < 0.05

3 讨论

脓毒症发病率较高,每年以 1.5% 的速度递增^[5-6]。有关报道称机体早期过度免疫反应及后期免疫耐受与患者预后密切相关,脓毒症患者早期免疫抑制明显,经早期免疫激活能有效增强患者受抑制的免疫功能,改善患者预后^[7-8]。本研究结果表明,观察组 ICU 住院时间、机械通气时间及 28 d 死亡率显著低于对照组,表明 CBP 治疗严重脓毒症较常规治疗疗效更为确切。常规治疗主要包括保护脏器功能、抗感染、稳定内环境、支持治疗等。有报道称常规治疗病程长,病死率高,达 50.00%,本文研究发现对照组 28 d 死亡率为 37.21%,充分证实这一论点^[9]。早期 CBP 疗法与传统治疗相比血流动力学更加稳定,能有效缓解氮质血症、保持电解质酸碱平衡及营养供给、稳定机体内环境,并能减少血管活性药物的使用,降低脓毒症患者死亡率,此研究发现观察组经 CBP 治疗后 28 d 死亡率为 13.95%,充分证实 CBP 治疗严重脓毒症疗效显著。此外,本研究发现观察组治疗后 3 d、7 d 时 T 淋巴细胞亚群百分比均显著高于对照组,且各炎症因子均显著低于对照组,充分表明 CBP 治疗严重脓毒症能有效增强患者受抑制的免疫功能,除去致炎介质,改善患者预后。究其根源,脓毒症患者会出现免疫失衡、T 淋巴细胞凋亡情况,在不同细胞因子作用下 CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺ 细胞分化为不同的效应 T 细胞,形成促炎细胞因子,进而分泌出抗炎介质^[10]。CBP 治疗主要经滤过及吸附机制除去炎性介质,缓解炎症介质对免疫细胞功能的抑制,进而阻断病程发展至免疫抑制;并能改善淋巴细胞异常凋亡,调节单核细胞分泌功能,增强其抗原递呈能力,维持患者机体内 Th1/Th2 比例平衡,促使炎症与抗炎呈平衡状态,稳定机体内环境。此外,CBP 能有效改善患者凝血功能,促使内皮细胞功能快速恢复,调节组织氧合及心肺功能,保持机体免疫系统稳定,桂海波等^[11]报道也证实了这一点。李军等^[12]通过对 54 例严重脓毒症患者进行研究,发现 CBP 治疗对 T 淋巴细胞亚群具有重要影响,证实早期 CBP 治疗可降低 Treg%,提高患者机体细胞免疫,缓解病情严重程度,进而改善患者预后。岑仲然等^[13]也表示 CBP 能增强严重脓毒症患者细胞免疫功能,促进器官功能恢复并最终改善预后。但因本研究样本量选取较少,可能存在抽

样误差,有待今后开展多中前瞻性研究深化论证,进一步探究 CBP 在严重脓毒症治疗中的应用价值。

综上,CBP 治疗严重脓毒症能增强患者受抑制的免疫功能,改善预后,值得临床大力推广。

4 参考文献

- [1] 周瑞祥,翁方中,戴伟,等.严重脓毒症早期应用连续性血液净化的时机及其器官保护作用:一项随机双盲对照研究[J].中华危重病急救医学,2016,28(3):241-245.
- [2] 亢宏山,白艳,刘淑红,等.严重脓毒症并发急性肾损伤的诊治进展[J].中国中西医结合急救杂志,2015,22(4):445-448.
- [3] 中华医学会急诊医学分会危重病专业委员会.脓毒症的定义、诊断标准、中医证候诊断要点及说明(草案)[J].中华急诊医学杂志,2007,16(8):797-798.
- [4] 中华医学会重症医学分会.中国严重脓毒症/脓毒性休克治疗指南(2014)[J].中华内科杂志,2015,54(6):401-426.
- [5] 刘广明.连续性血液净化联合低分子肝素对严重脓毒症患者炎症因子的清除及肾脏保护作用[J].实用临床医药杂志,2015,19(3):44-46.
- [6] 张任,李正东,曾艳.血液净化方式和时机对防治脓毒症致急性肾损伤临床效果的影响[J].医学综述,2016,22(2):374-376.
- [7] 周先平,沈黎明.血必净联合连续血液净化对严重脓毒症患者心肌保护作用[J].实用临床医药杂志,2015,19(11):128-129.
- [8] 温前宽,李彦,杨建萍,等.严重脓毒症患者炎症因子的动态变化及预后意义[J].中华急诊医学杂志,2015,24(7):779-783.
- [9] 张晨美,朱益飞,ZhangChenmei 等.连续血液净化在儿童严重脓毒症中的应用[J].中华实用儿科临床杂志,2015,30(6):412-415.
- [10] 张人菁,朱璇,周原,等.Toll 样受体及 T 淋巴细胞亚群与脓毒症的关系分析[J].中华医院感染学杂志,2016,26(22):5090-5092.
- [11] 桂海波,杜晓刚,陈雪梅.T 淋巴细胞凋亡在脓毒症患者免疫抑制和预后中的作用[J].重庆医科大学学报,2016,41(7):738-746.
- [12] 李军,张锋利,吐尔滚·艾沙,等.血液净化对脓毒症患者凝血功能及免疫功能的影响[J].中国免疫学杂志,2016,32(11):1661-1666.
- [13] 岑仲然,李志樑,唐颖,等.血液净化对热稀释法测量脓毒性休克患者血流动力学参数准确性的影响[J].中华危重病急救医学,2015,27(5):398-400.

(2018-01-08 收稿,2018-03-30 修回)

中文编辑:刘平;英文编辑:赵毅