

# 国产新型血液灌流器清除蛋白结合类毒素的临床疗效研究

张豫 刘园园 肖观清 邵咏红 梅长林 孔耀中

**【摘要】** 目的 研究国产新型血液灌流器 MG150 对蛋白结合类毒素晚期糖基化终产物 (advanced glycation end products, AGEs) 和硫酸吲哚酚 (indoxyl sulfate, IS) 的清除效果。方法 选择上海长征医院和佛山市第一人民医院长期血液透析 (hemodialysis, HD) 患者共 88 例, 根据南方医科大学统计研究室提供随机化数据表分配, 使用二阶段交叉实验对照研究方法, 选用广泛使用的健帆 HA130 灌流器作为对照, A 组患者先使用 HA130 血液灌流 (hemoperfusion, HP) + HD 串联治疗一次, 中间经过洗脱期 1 周, 再使用 MG150 HP 串联治疗一次; B 组患者先使用 MG150 HP + HD 串联治疗一次, 洗脱期后 1 周再使用 HA130 HP + HD 串联治疗。分别在 2 次治疗前后检测血清 AGEs 和 IS 浓度, 并记录不良事件发生情况, 观察比较新型血液灌流器对蛋白结合类毒素的清除效果及安全性。结果 ① 2 个医院各入组 44 例患者; A 组 ( $n=44$ ) 和 B 组 ( $n=44$ ) 两组患者治疗前除了 AGEs [ $(285.77 \pm 107.03)$  ng/L 比  $(456.89 \pm 129.10)$  ng/L] 和 C 反应蛋白 (C-reactive protein, CRP) [ $(2.67 \pm 2.58)$  mg/L 比  $(6.38 \pm 8.83)$  mg/L] 差异有统计学意义 ( $P$  均  $<0.01$ ), 其他基线资料如性别、年龄、体质量、收缩压、舒张压、尿素清除指数 (Kt/V)、 $\beta_2$  微球蛋白 ( $\beta_2$ -microglobulin,  $\beta_2$ -MG)、IS、血红蛋白 (hemoglobin, Hb)、白蛋白 (albumin, Alb) 和肿瘤坏死因子  $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ) 的比较差异均无统计学意义。② MG150 和 HA130 HP 联合 HD 治疗 2 h 后血 AGEs 下降率分别 26.0% 为 4.7%, 差异有统计学意义 ( $F=14.323$ ,  $P<0.01$ ); IS 的下降率分别为 51.7% 和 9.6%, 差异有统计学意义 ( $F=117.247$ ,  $P<0.01$ );  $\beta_2$ -MG 下降率分别 14.9%、2.7%, 差异有统计学意义 ( $F=45.190$ ,  $P<0.01$ )。③ 共 7 例发生轻度不良事件, 在 2 种灌流器治疗过程中发生的概率差异无统计学意义。结论 使用国产新型血液灌流器 MG150 HP 联合 HD 治疗能够有效清除蛋白结合类毒素, 疗效安全确切, 值得临床推广应用。

**【关键词】** 终末期肾脏疾病; 血液灌流; 血液透析; 晚期糖基化终产物; 硫酸吲哚酚

**A clinic study of removing protein-bound toxins by using a noval hemoperfusion apparatus** ZHANG

Yu\*, LIU Yuan-yuan, XIAO Guan-qing, SHAO Yong-hong, MEI Chang-lin, KONG Yao-zhong.

\* Department of Nephrology, The Foshan First People's Hospital, Foshan 528000, China

Corresponding author: KONG Yao-zhong, E-mail: kyzhong@fsyyy.com

**【Abstract】 Objective** To study the effect of the novel hemoperfusion apparatus on removing protein-bound toxins, such as advanced glycation end products (AGEs) and indoxyl sulfate (IS). **Methods** Eighty-eight patients undergoing maintenance hemodialysis (HD) from The Foshan First People's Hospital and Shanghai Changzhen Hospital were randomly divided into two groups. Patients in group A received HA130 (the commonly used perfusion apparatus) HP + HD, followed by the combined MG150 HP + HD treatment once, and those in group B were first treated with MG150 HP + HD and then received the HA130 HP + HD treatment. The serum AGEs, IS and  $\beta_2$ -microglobulin were detected before and after treatment. The effectiveness and safety of the MG150 apparatus on removing protein-bound toxins were observed. **Results** Forty-four patients were included in each hospital. There was no signifi-

DOI:10.3969/j.issn.1671-2390.2017.06.005

基金项目:2012 年广东省科技计划项目 [粤科规划字 (2012) 145 号-4]; 2013 年佛山市科技创新专项资金项目 (No. 2013AG10008)

作者单位:528000 广东省佛山市第一人民医院肾内科 (张豫, 刘园园, 肖观清, 邵咏红, 孔耀中); 200003 上海, 上海长征医院肾内科 (梅长林)

通信作者:孔耀中, E-mail: kyzhong@fsyyy.com

cant difference in sex, age, body weight, blood pressure, Kt/V, serum levels of hemoglobin, albumin,  $\beta_2$ -microglobulin ( $\beta_2$ -MG), IS and tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), except AGEs ( $285.77 \pm 107.03$  vs.  $456.89 \pm 129.10$  ng/L,  $P < 0.01$ ) and C-reactive protein (CRP) ( $2.67 \pm 2.58$  vs.  $6.38 \pm 8.83$  mg/L,  $P < 0.01$ ) between the two groups at the beginning of the treatment. Patients treated with HP + HD had higher levels of AGEs and IS. Meanwhile, patients treated with the combined HP + HD with the MG150 apparatus exhibited significantly lower levels of serum AGEs and IS than HA130. There were 7 cases of slight adverse events. **Conclusions** The novel hemoperfusion apparatus MG150 combined with HD can effectively remove the protein-bound uremic toxins, and it is deserved to be promoted and used clinically.

**【Key words】** End stage renal disease; Hemoperfusion; Hemodialysis; Advanced glycation end products; Indoxyl sulfate

血液灌流(hemoperfusion, HP)是用于中毒治疗的常见方法,我们前期研究发现血液灌流联合血液透析(hemodialysis, HD)能够部分清除血清中的中大分子和蛋白结合类毒素<sup>[1]</sup>,例如晚期糖基化终产物(advanced glycation end products, AGEs)和硫酸吲哚酚(indoxyl sulfate, IS),可以弥补普通血液透析治疗的不足之处。但目前市场上进口血液灌流器价格昂贵,国产灌流器种类较少,对蛋白结合毒素的清除疗效缺乏确切数据,为此我们将前期研究中使用的新型血液灌流器 MG150 和市面上普遍使用的珠海健帆 HA130 灌流器对蛋白结合类毒素的清除效果进行对比观察,明确国产血液灌流器的清除疗效,为临床应用提供依据,也为国产血液净化材料的发展提供临床数据支持。

## 资料与方法

### 一、研究对象

分别选择上海长征医院血液净化中心维持性血液透析患者 44 例,佛山市第一人民医院血液净化中心维持性血液透析患者 44 例。88 例受试者中男性占 62.5% (55/88); 平均年龄 ( $54.1 \pm 10.9$ ) 岁; 体质量 37 ~ 70 kg, 平均 ( $55.3 \pm 8.1$ ) kg; 透析时间 6 ~ 62 个月, 平均透析时间 ( $29.4 \pm 19.8$ ) 个月。入选标准: 患者病情稳定, 18 岁 < 年龄 < 80 岁; 透析时间 12 个月以上, 每周规律透析 3 次, 尿素清除指数 (Kt/V) 大于 1.2, 无感染、急性心力衰竭、肝病、肿瘤等。本研究通过上海长征医院伦理委员会和佛山市第一人民医院伦理委员会批准。所有患者均签署知情同意书, 自愿参加该研究。

### 二、方法

1. 分组及治疗 本文为随机、开放、二阶段交叉对照研究, 由南方医科大学统计研究室提供随机化数据表将 88 例患者随机分为 2 组, A 组 44 例先采

用 HA130 灌流器(珠海健帆, 中国)做 HP + HD, 经过 1 周洗脱期后再采用 MG150 灌流器(佛山市博新生物科技有限公司, 中国)做 HP + HD; B 组 44 例, 先采用 MG150 做 HP + HD, 经过 1 周洗脱期后再采用 HA130 做 HP + HD, 见图 1。每次治疗先行 HP + HD 2 h, 血流量 150 ml/min, 后取下灌流器, 血流量调至 200 ~ 250 ml/min 继续 HD 治疗到 4 h。透析器: 聚砜膜透析器 F6(费森尤斯, 德国), 有效表面积 1.3 m<sup>2</sup>、超滤系数 13。使用碳酸氢盐透析液, 透析液流量为 500 ml/min。肝素首剂 0.5 ~ 0.8 mg/kg, 追加 8 ~ 10 mg/h。每次治疗前和治疗 2 h 取下灌流器后抽血留取标本。

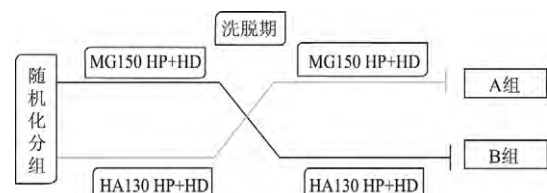


图 1 二阶段交叉设计模式图

2. 观察指标及检测方法 血清 AGEs 和 IS 分别采用酶联免疫吸附试验 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) 和高效液相色谱法检测, AGEs 和 IS 下降率, 计算公式为: 溶质下降率 = (治疗开始时溶质的浓度 - 治疗 2 h 溶质的浓度) / 治疗开始时溶质的浓度  $\times 100\%$ ; C 反应蛋白 (C-reactin protein, CRP)、 $\beta_2$  微球蛋白 ( $\beta_2$ -microglobulin,  $\beta_2$ -MG) 采用荧光定量法检查; 肿瘤坏死因子  $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ) 采用 ELISA 法检测; 血红蛋白 (hemoglobin, Hb)、血白蛋白 (blood albumin, Alb) 采用比色法和溴甲酚绿法。

### 三、统计学处理

统计学处理由南方医科大学统计研究室完成。应用 SPSS 13.0 统计软件进行分析, 计量资料采用均

数 ± 标准差表示 2 组比较采用两样本 *t* 检验, 计数资料的比较采用  $\chi^2$  检验。对 2 种产品治疗后下降率的比较采用二阶段交叉设计方差分析,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 结 果

### 一、一般资料

2 组患者治疗前除了 AGEs 和 CRP 差异有统计学意义 ( $P = 0.01$ ), 其他基线资料如性别、年龄、体质量、收缩压、舒张压、Kt/V、 $\beta_2$ -MG、IS、Hb、Alb 和 TNF- $\alpha$  进行比较, 差异均无统计学意义 ( $P$  均  $> 0.05$ )。(表 1)

表 1 两组患者临床基本资料比较

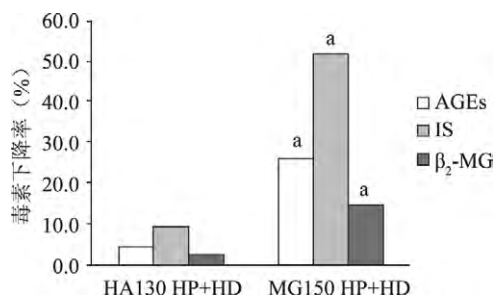
项目	A 组(44 例)	B 组(44 例)	<i>P</i> 值
男/女	27/17	28/16	0.782
年龄(岁)	54.2 ± 10.9	54.8 ± 11.0	0.861
体质量(kg)	54.23 ± 8.29	54.45 ± 7.70	0.623
心率(次/min)	76.67 ± 8.30	77.80 ± 7.33	0.499
收缩压(mmHg)	145.06 ± 22.72	134.39 ± 28.53	0.059
舒张压(mmHg)	85.29 ± 10.42	79.35 ± 13.83	0.053
Kt/V	1.39 ± 0.45	1.47 ± 0.52	0.089
$\beta_2$ -MG(mg/L)	39.56 ± 12.32	41.09 ± 10.79	0.213
IS( $\mu$ g/ml)	45.11 ± 5.91	58.04 ± 11.18	0.051
AGEs (ng/L)	285.77 ± 107.03	456.89 ± 229.10	0.001
Hb(g/L)	109.75 ± 17.50	107.48 ± 16.40	0.257
Alb(g/L)	41.28 ± 3.46	40.83 ± 2.79	0.131
CRP(mg/L)	2.67 ± 2.58	6.38 ± 8.83	0.001
TNF- $\alpha$ (ng/L)	19.23 ± 8.40	15.41 ± 5.83	0.138

### 二、不同灌流器治疗前后 AGEs、IS 及 $\beta_2$ -MG 下降率的比较

经统计比较 2 组患者洗脱期后, 第 2 次灌流治疗前毒素水平与第 1 次灌流治疗前的基线水平没有显著性差异, 故将 A 组和 B 组患者数据按照不同灌流器治疗方式合并后进行分析, 结果如下: 患者 MG150 HP + HD 治疗 2 h 后血 AGEs 的下降率为 26.0%, HA130 HP + HD 治疗 2 h 后 AGEs 下降率为 4.7%, 差异有统计学意义 ( $F = 14.323, P < 0.001$ ); 2 组患者 MG150 HP + HD 治疗 2 h 后 IS 的下降率为 51.7%, HA130 HP + HD 治疗 2 h 后, IS 下降率为 9.6%, 差异有统计学意义 ( $F = 117.247, P < 0.01$ ); 2 组患者 MG150 HP + HD 治疗 2 h 后血  $\beta_2$ -MG 下降率为 14.9%, HA130 HP + HD 治疗 2 h 后血  $\beta_2$ -MG 下降率为 2.7%, 差异有统计学意义 ( $F = 45.190, P < 0.01$ )。(图 2)

### 三、不良事件情况

患者在 2 种灌流器治疗过程中共发生 7 次轻度



注: 2 组治疗方式比较,  $^a P < 0.05$

图 2 不同治疗方式治疗 2 h 后毒素下降率的比较

不良事件 3 次为一过性血小板减少, 未特殊处理, 下次治疗前复查恢复正常 4 次为透析过程中低血压, 给予降低血流速, 补充葡萄糖等治疗都能恢复并完成治疗, 2 种灌流器治疗过程中无严重不良事件, 轻度不良事件的发生率无明显差异。

## 讨 论

心血管疾病 (cardiovascular disease, CVD) 是终末期肾脏疾病患者死亡的主要原因, 近年来越来越多的研究发现, 除了传统的吸烟、高龄、高血压、糖尿病等危险因素, 尿毒症相关的因素中毒素的沉积是导致血管钙化和动脉硬化的重要原因<sup>[2-3]</sup>。普通的血液透析虽然能够有效地清除部分小分子毒素和多余的水分, 让患者生命延续, 但对于蛋白结合类毒素和中大分子毒素清除作用确很有限, 而这类蛋白结合类毒素正是参与 CVD 事件的重要因素, 近几年研究比较热门的 AGEs 和 IS 是这类毒素的代表, 体内外研究发现其在激活氧化应激, 诱导内皮细胞损伤, 促进血管平滑肌细胞钙化、抑制新生血管形成及延长心肌细胞动作电位时间, 诱发心律失常等方面有关键作用<sup>[4-7]</sup>。因此迫切需要提高这类毒素的清除率, 减少 CVD 发生率, 改善终末期肾脏疾病患者的长期预后。

HP 是一种利用吸附的方法清除体内外源性或内源性物质、药物及毒物等的一种血液净化方式, 最常应用于中毒患者的治疗, 吸附材料主要有活性炭、多糖、离子交换树脂、大孔吸附树脂以及免疫吸附剂等<sup>[8]</sup>。活性炭具有吸附量大、吸附速率快的优势, 用于解毒, 但其机械强度不高, 血液相容性差, 需要包被, 疏水不规则表面的存在, 在灌流过程中会影响血液中的有形成分, 造成溶血和血小板黏附<sup>[9]</sup>。多糖是天然的高分子物质, 具有良好的生物相容性, 对中分子物质具有较好的吸附性, 但部分改性后的多糖具有毒性, 所以目前临床应用有限<sup>[10]</sup>, 离子交换

树脂是一种具有离子交换功能的高分子材料,分为阳离子和阴离子 2 种交换树脂。其具有交换容量大、交换速度快的优点,但阴/阳离子进行离子交换时会产生  $\text{OH}^-/\text{H}^+$ ,会严重影响血液离子平衡和 pH 值<sup>[11]</sup>。免疫吸附剂生物相容性好,但具有高度的特异性,制备困难<sup>[12]</sup>。

由于上述吸附材料的特性,均不适合用于维持性血液透析患者的长期治疗。MG150 和 HA130 灌流器吸附材料均为大孔吸附树脂(聚苯乙烯-二乙烯苯大孔吸附树脂),是一种具有大孔结构的高分子共聚体,其本身分子间范德华力作用或形成氢键,物理、化学稳定性高,所带有的吸附性和活性炭类似,具有良好的生物相容性。这种特性让其成为目前国内灌流器的首选吸附材料,在系统性红斑狼疮患者中应用,发现它可以清除炎症因子,改善患者的临床症状,并且血小板、白细胞、红细胞等血液中的有形成分没有明显影响<sup>[13]</sup>;我们前期用 MG350 的临床研究也发现其对 AGEs 和炎症因子有明显清除作用,对补体、肝功能、凝血功能、血小板等没有明显影响,因此这类吸附材料的灌流器在长期透析患者使用中安全有效。

本次研究使用 MG150 和 HA130 灌流器观察结果显示,这两种国产血液灌流器在清除蛋白结合类毒素方面有一定的作用,尤其是 MG150 对 AGEs、IS 及  $\beta_2$ -MG 有明显清除作用,这可能与其装载的吸附材料容量较多及 8~12 nm 孔径设计与  $\beta_2$ -MG 的直径 4 nm 更接近 3:1 的关系有关,这样既有利于短时间达到吸附平衡,又可以集中增加对这类分子量大小毒素的吸附量。单次灌流清除的蛋白结合类毒素已经高于报道的血液透析滤过(HDF)和在线血液透析滤过(online-HDF)的治疗<sup>[14-15]</sup>,本研究中 2 种灌流器在应用过程中均没有严重不良事件发生,目前很多血液透析中心使用每周 1 次 HP+HD 联合治疗的方式,帮助患者清除中大分子毒素及蛋白结合类毒素,这对于机器设备及水质条件不高的基层血液净化中心非常实用,这 2 种灌流器也成为临床使用较广泛的灌流器,临床应用安全,本结果为国产血液灌流器的临床的应用提供了有力的数据支持和理论依据。为提高透析患者生活质量、减少心血管疾病的发生、改善远期预后提供了新的治疗途径。

## 参 考 文 献

- [1] Zhang Yu, Mei Chang-lin, Rong Shu, et al. Effect of the combination of hemodialysis and hemoperfusion on clearing advanced glycation end products: a prospective, randomized, two-stage crossover trial in patients under maintenance hemodialysis [J]. *Blood Purif*, 2015, 40(2): 127-132.
- [2] Mills KT, Chen J, Yang W, et al. Sodium Excretion and the risk of cardiovascular disease in patients with chronic kidney disease [J]. *JAMA*, 2016, 315(20): 2200-2210.
- [3] Vanholder R, Schepers E, Pletinck A, et al. the uremic toxicity of indoxyl sulfate and p-cresyl sulfate: a systematic review [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2014, 25(9): 1897-1907.
- [4] Cao XS, Chen J, Zou JZ, et al. Association of indoxyl sulfate with heart failure among patients on hemodialysis [J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2015, 10(1): 111-119.
- [5] Ito S, Yoshida M. Protein-bound uremic toxins: new culprits of cardiovascular events in chronic kidney disease patients [J]. *Toxins*, 2014, 6(2): 665-678.
- [6] Hung SC, Kuo KL, Huang HL, et al. Indoxyl sulfate suppresses endothelial progenitor cell-mediated neovascularization [J]. *Kidney Int*, 2016, 89(3): 574-585.
- [7] Dou L, Burtey S. The harmful effect of indoxyl sulfate on neovascularization in chronic kidney disease [J]. *Kidney Int*, 2016, 89(3): 532-534.
- [8] 吴迪,李涛,田帅帅,等.血液灌流吸附剂血液相容性研究进展[J].*国际生物医学工程杂志*,2014,37(3):179-182.
- [9] 褚沛,张字明,高亚莉,等.我国急性中毒临床救治现状和发展[J].*临床急诊杂志*,2013,14(10):455-458.
- [10] 陈钟,戴新征.壳聚糖及其纳米粒子在组织工程中的应用[J].*国际生物医学工程杂志*,2006,29(1):48-52.
- [11] Nakamura T, Kawagoe Y, Matsuda T, et al. Effects of polymyxin B-immobilized fiber hemoperfusion on amino acid imbalance in septic encephalopathy [J]. *Blood Purif*, 2003, 21(4-5): 282-286.
- [12] 李湛勇,史林启.免疫吸附剂的研究及在血液净化中的应用[J].*离子交换与吸附*,1997,13(6):620-627.
- [13] 孙燕玲,刘敏,赵昊宇,等.HA280树脂血液灌流治疗系统性红斑狼疮 30 例临床观察[J].*中外健康文摘*,2012,9(33):232-233.
- [14] Esquivias-Motta E, Martin-Malo A, Buendia P, et al. Hemodiafiltration with endogenous reinfusion improved microinflammation and endothelial damage compared with online-hemodiafiltration: a hypothesis generating study [J]. *Artifi Organs*, 2017, 41(1): 88-98.
- [15] Riccio E, Cataldi M, Minco M, et al. Evidence that p-cresol and IL-6 are adsorbed by the HFR cartridge: towards a new strategy to decrease systemic inflammation in dialyzed patients [J]. *PLoS One*, 2014, 9: e95811-e95811.

(收稿日期:2017-02-15 修回日期:2017-06-09)