

连续静脉—静脉血液滤过对脓毒症急性肾损伤 中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白的影响

戴新贵*, 郭伟, 李琼, 邝代斌, 黎艳晖, 蔡业平

(郴州市第一人民医院重症医学科, 湖南郴州 423000)

摘要: **目的** 探讨连续静脉—静脉血液滤过(CVVH)是否影响脓毒症急性肾损伤(SAKI)患者的血浆中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(pNGAL)水平。 **方法** 42例需行CVVH的SAKI患者,测定CVVH前(T0)、CVVH开始后2h(T2)、4h(T4)、8h(T8)、12h(T12)留取动脉端、静脉端、超滤液标本的NGAL水平。根据质量守恒定律计算中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(NGAL)质量转移率(Mtr)、质量吸附率(Mad)、血浆清除率(PC)、筛选系数(SC)。 **结果** CVVH过程中,动脉端和静脉端的pNGAL水平未发生明显改变($P>0.05$),而超滤液中NGAL逐渐下降($P=0.013$)。Mtr、Mad和PC未发生明显变化($P>0.05$)。随CVVH时间延长,SC逐渐下降($P=0.007$)。 **结论** CVVH清除pNGAL的能力有限。因此,临床在行CVVH过程中使用pNGAL评估肾功能进展时可不考虑CVVH的影响。

关键词: 急性肾损伤; 连续静脉—静脉血液滤过; 中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白; 脓毒症
中图分类号:R692 文献标识码:A

Impact of continuous venovenous hemofiltration on the plasma level of neutrophil gelatinase-associated lipocalin in patients with septic acute kidney injury

DAI Xingui, GUO Wei, LI Qiong, et al

(Department of Critical Care Medicine, the First Peoples' Hospital of Chenzhou,
Chenzhou, Hunan 423000, China)

Abstract: **Objective** To evaluate whether continuous venovenous hemofiltration (CVVH) affect the plasma level of neutrophil gelatinase-associated lipocalin (pNGAL) in patients with sepsis-acute kidney injury (SAKI). **Methods** A total of 42 patients with sepsis-induced AKI undergoing CVVH were screened. NGAL was measured in the prefilter and postfilter blood as well as in the ultrafiltrate at the beginning of continuous renal replacement therapy (CRRT) (T0) and 2 h (T2h), 4 h (T4h), 8 h (T8h), and 12 h (T12h) after the setup of CRRT. The mass conservation principle was used for calculating the mass transfer, plasma clearance, and sieving coefficient. **Results** The levels of NGAL at the inlet and outlet did not change following the initiation of CVVH ($P>0.05$), whereas in the ultrafiltrate, the concentrations decreased significantly ($P=0.013$). The total mass removal rate, total mass adsorption rate, and plasma clearance remained unchanged over time ($P>0.05$), and the sieving coefficient decreased significantly ($P=0.007$). **Conclusions** The impact of CVVH on pNGAL in patients with sepsis-induced AKI is limited. Therefore, it does not need to be taken into account when pNGAL is used for evaluating renal progression in patients with septic AKI undergoing CVVH.

Key words: acute kidney injury; continuous venovenous hemofiltration; neutrophil gelatinase-associated lipocalin; sepsis

收稿日期:2016-11-21;修回日期:2017-01-28

基金项目:国家自然科学基金(81601708),湘南学院科研课题(2015XB45)资助。

* 通讯作者, E-mail: dyce@2008.sina.com.

急性肾损伤(acute kidney injury, AKI)是重症监护病房(intensive care units, ICU)常见的威胁患者生命的并发症,其高发病率和高病死率已得到全球重症医学领域的重视。据统计,大约近半的AKI是

由脓毒症所导致的^[1-3]。AKI 的早期诊断和肾功能恢复的早期判断是困扰临床医生的两大难题:一方面,肌酐被认为是反应肾功能较延迟的指标,不能准确反应肾小球清除率(glomerular filtration rate, GFR)^[4-6];另一方面,尿量>500 mL/天可作为停止血液净化较公认的指标,然而因利尿剂的使用,该指标在临床判定中存在局限^[7]。因此,寻找在 AKI 诊断和血液净化过程中仍可准确反应肾功能状态的指标具有重要意义。

大量的研究证据显示脓毒症相关的进行肾损伤(sepsis-associated AKI, SAKI)具有与其他类型 AKI (如缺血再灌注)不同的发病机制,而且,关于判定这一独特 AKI 诊断和预后的分子标志物研究是目前该领域研究的热点^[8-9]。和其他研究相同的是,前期研究发现中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(neutrophil gelatinase-associated lipocalin, NGAL)可作为 SAKI 诊断和判定预后较好的指标^[10-13]。然而,NGAL 分子量为 25 kDa,意味着连续静脉-静脉血液滤过(continuous venovenous hemofiltration, CVVH)可能清除血浆(plasma NGAL, pNGAL)含量。但最近 Schilder 的研究^[14]表示 CVVH 对 SAKI 患者 pNGAL 的清除能力有限,另一个小样本研究(n=3)^[15]也得出了同样的结论,但在 AKI 中的影响力尚未可知。本文旨在探讨 CVVH 对 SAKI 患者 pNGAL 的清除能力,明确 pNGAL 是否可作为 CVVH 过程中反应肾功能状态的指标。

1 资料与方法

1.1 研究对象 来源于 2014 年 8 月~2015 年 12 月郴州市第一人民医院重症医学科需要 CVVH 的(年龄>18 岁)SAKI 患者 42 例,男 28 例,女 14 例,年龄 53.2 ± 17.3 岁。AKI 诊断标准参考 2012 年 KIGDO 标准^[16],脓毒症诊断参考 2001 年 sepsis 1.0 标准^[17]。排除标准:(1)终末期肾病患者;(2)肾移植术后患者;(3)肿瘤患者;(4)免疫性疾病患者;(5)使用大剂量激素的患者。所有病例经患者或家属知情同意并签署知情同意书。该研究经医院伦理委员会批准实施,并在美国国立卫生研究院临床注册中心注册(注册编号:NCT02536027)。

1.2 数据收集 收集所有入选患者的基本资料(年龄、性别、原发病、基础疾病等)和 CVVH 开始前的白细胞计数(white blood cell, WBC)、C 反应蛋白

(C-reactive protein, CRP)、降钙素原(procalcitonin, PCT)和评估患者疾病严重程度的序贯多器官功能障碍评分(sequential organ failure assessment, SOFA)和急性生理和慢性健康评分 II (acute physiology and chronic health evaluation II, APACHE II)所需的临床资料。

1.3 一般资料 48 例患者纳入本研究,其中最终 6 例被排除(3 例因严重凝血功能障碍未接受抗凝策略;1 例具有活动性出血;1 例因家属中途要求退出;1 例在 CVVH 过程中死亡)。34 例患者使用股静脉,8 例患者使用颈内静脉。最终 18 例患者死亡,病死率为 42.9%。存活患者在 CVVH 前的 pNGAL 水平明显低于死亡患者 [1 112 (323 - 1 869) ng/mL VS 772 (121 - 1 548) ng/mL, $P = 0.033$]。基本资料和 CVVH 前的资料见表 1。

表 1 入选患者的临床资料(n=42)

临床资料	SAKI 患者
年龄(岁)	53.2 ± 17.3
男性(例,%)	28 (66.7)
原发病(例,%)	
腹腔感染	18 (42.9)
肺部感染	12 (28.6)
创伤感染	10 (23.8)
泌尿系统感染	2 (4.8)
基础疾病(例,%)	
高血压	16 (38.1)
糖尿病	10 (23.8)
COPD	8 (19.0)
冠心病	6 (14.3)
MAP (mm Hg)	67.2 ± 32.5
PaO ₂ /FiO ₂	192 (131~352)
SOFA	10 ± 3
APACHE II	18 (14~21)
WBC (×10 ⁹ /L)	14.5 (11.3~18.9)
Hct (%)	25.0 ± 5.3
PLT (×10 ⁹ /L)	98 (46~219)
CRP (mg/dL)	146.7 (53.3~189.9)
PCT (ng/mL)	13.21 (3.02~38.81)
SCr (μmol/L)	242 (189~367)
BUN (mmol/L)	12.3 ± 8.4
纤维蛋白原 (g/L)	5.9 ± 3.2
白蛋白 (g/L)	28 ± 7.5
乳酸 (mmol/L)	5.4 (2.2~7.6)

1.4 CVVH 设计 CVVH 仪器采用 4008S 血滤仪(费森尤斯,德国),双腔导管采用 12~14F 导管,透析膜采用费森尤斯 AV600S。CVVH 设置为:血流速度 180~220 mL/min;置换液速度为 1 800~

2 000 mL/h。抗凝采用肝素的局部肝素化, 给予 400~1 000 IU/h 的肝素初始剂量, 并根据临床调整肝素使用量, 静脉端使用 100 IU : 1 的鱼精蛋白。

1.5 NGLA 测定 获取在 CVVH 前(T_0)、CVVH 开始后 2 h(T_2)、4 h(T_4)、8 h(T_8)、12 h(T_{12}) 的动脉端、静脉端和超滤液标本。采用 NGAL 酶联免疫吸附试验试剂盒测定 (Lipocalin2/NGAL Duoset, DY1757, R&D Systems, UK), 有效范围为 20~3 000 ng/mL。

1.6 计算方式 根据质量守恒定律, NGAL 总质量移除率 (total mass removal rate, MTr)、质量吸附率 (mass adsorption rate, Mad)、筛选系数 (sieving coefficient, SC)、血浆清除率 (plasma clearance, PC) 的计算如下^[12] :

$$\begin{aligned} Q_i &= Q_b \times (1 - Hct) & Q_o &= Q_i \\ M_i &= Q_i \times C_i & M_o &= Q_o \times C_o \\ M_{uf} &= Q_{uf} \times C_{uf} & M_{tr} &= M_i - M_o \\ M_{ad} &= M_{tr} - M_{uf} & PC &= M_{tr}/C_i \\ SC &= 2 \times C_{uf}/(C + C_o) \end{aligned}$$

说明: C_i : 动脉端血浆浓度 (ng/mL); C_o : 静脉端血浆浓度 (ng/mL); C_{uf} : 超滤液溶度 (ng/mL); Q_b : 动脉端血流速度 (mL/min); Q_i : 动脉端血浆速度 (mL/min); Q_o : 静脉端血流速度 (mL/min); Q_{uf} : 超滤液速度 (mL/min); M_i : 动脉端质量 (ng/min); M_o : 静脉端质量 (ng/min); M_{uf} : 超滤液质量 (ng/min); M_{tr} : 总质量移除率 (ng/min); M_{ad} : 质量吸附率 (ng/min)。

1.7 统计学分析 计量资料正态分布者采用均数±标准差表示; 非正态者采用四分位数 (25%, 75%) 表示。采用 Kruskal-Wallis 检验比较各时间点变化。计数资料采用 n (%) 表示。所有数据使用

IBM SPSS 19.0, $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结 果

CVVH 过程中, 动脉端和静脉端 pNGAL 水平无明显下降 ($P > 0.05$), 而超滤液中逐渐下降 ($P = 0.013$), 见图 1。Mtr、Mad 和 PC 未发生明显变化 ($P > 0.05$)。随 CVVH 时间延长, SC 逐渐下降 ($P = 0.007$), 见表 2, 图 2。

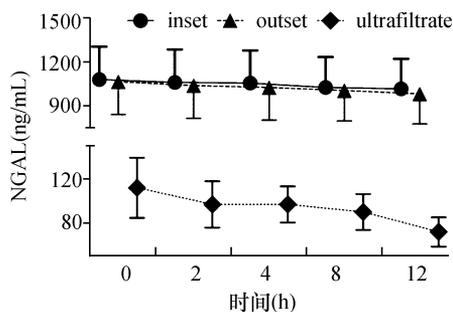


图 1 SAKI 患者在 CVVH 过程中动脉端 (inlet)、静脉端 (outlet) 和超滤液 (ultrafiltrate) 中 pNGAL 随时间变化规律

3 讨 论

前期研究发现 pNGAL 可作为 SAKI 诊断的新一代生物标志物^[11], 但在研究中排除了需行血液净化的患者, 因此 CVVH 对 pNGAL 的清除能力尚不可知。本研究揭示了 CVVH 对 SAKI 患者 pNGAL 水平的影响: CVVH 清除血 pNGAL 的能力较低, 与其他类型的 AKI 结果相似^[14, 15], 尽管脓毒症和非脓毒症导致的 AKI 患者 pNGAL 含量明显不同^[18]。

与本文研究结果不同的是, Donadio 等^[19]最近

表 2 SAKI 患者在 CVVH 过程中 pNGAL 各计算指标随时间变化规律

	T_0	T_2	T_4	T_8	T_{12}
C_i (ng/mL)	879 (733~1 466)	850 (685~1 525)	859 (688~1 496)	847 (689~1 417)	844 (694~1 405)
C_o (ng/mL)	867 (697~1 451)	845 (703~1 332)	890 (661~1 416)	834 (689~1 326)	819 (646~1 415)
C_{uf} (ng/mL)	32.2 (26.7~40.8)	30.3 (23.6~34.9)	27.7 (24.1~31.9)	26.1 (21.2~30.1)	24.0 (20.1~28.0)
M_i (μ g/min)	107 (94~183)	104 (97~194)	105 (89~197)	105 (91~182)	110 (88~180)
M_o (μ g/min)	104 (92~181)	107 (88~170)	109 (85~182)	107 (89~170)	109 (85~172)
M_{uf} (ng/min)	2 189 (1 330~2 748)	1 807 (1 181~3 363)	1 888 (1 309~2 312)	2 048 (1 129~3 693)	1 397 (1 018~3 471)
M_{tr} (ng/min)	1 430 (239~4 914)	1 502 (-2 500~4 801)	3 240 (593~5 544)	3 024 (-82~5 360)	4 620 (2 540~6 687)
M_{ad} (ng/min)	-313(-2 576~3 470)	-1 369 (-5 611~-1 682)	1 651 (-1 494~3 308)	354 (-2 195~3 201)	2 216 (507~5 104)
SC	0.21 (0.17~0.26)	0.19 (0.16~0.22)	0.17 (0.15~0.21)	0.16 (0.13~0.20)	0.16 (0.12~0.18)
PC	2.05 (0.39~3.57)	1.45 (-3.15~4.28)	3.74 (0.73~6.09)	3.56 (-0.45~5.80)	4.57 (1.85~8.94)

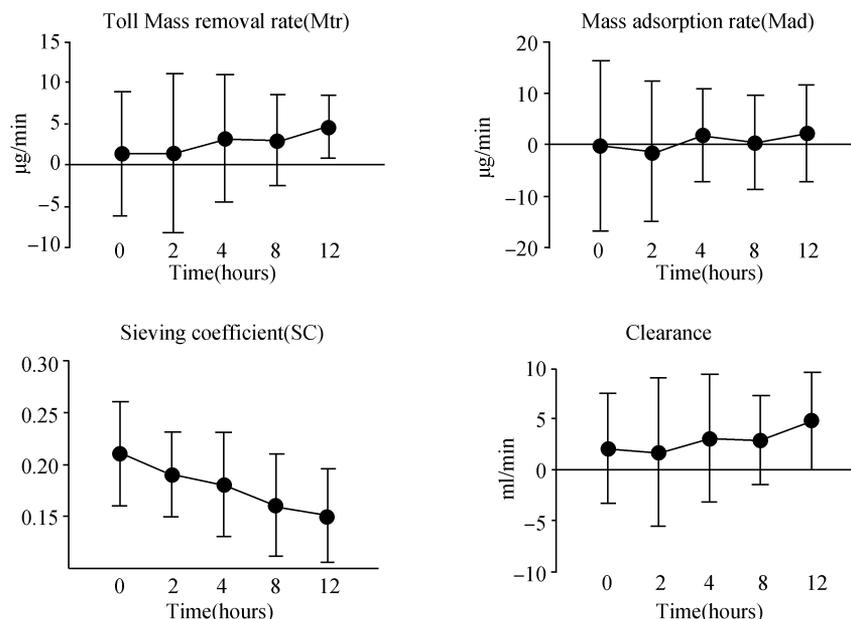


图2 SAKI患者在CVVH过程中pNGAL质量转移率(Mtr)、质量吸附率(Mad)、筛系数(SC)、血浆清除率(Clearance)随时间变化规律

报道了透析技术和透析膜可能会影响CVVH对pNGAL的清除率。在Donadio的研究中,使用低流量(F8;费森尤斯,德国)并不清除pNGAL(下降约 $9.1 \pm 24.4\%$, $P < 0.05$),而使用高流量时,清除率明显下降明显(N190 FH,日本;三醋酸纤维膜,表面积 1.9 m^2 ;超滤率 $8474 \text{ mL/h per } 100 \text{ mm Hg}$) ($P < 0.0001$),而且他们发现使用聚亚苯基膜(表面积 2.0 m^2 ,贝尔克,意大利)、以 $6800 \text{ mL/h per } 100 \text{ mm Hg}$ 或者丙烯晴膜(表面积 2.15 m^2 ,金宝,瑞典)、 $6500 \text{ mL/h per } 100 \text{ mm Hg}$ 以行血液透析滤过的清除率较高流量透析高($52.1 \pm 26.7\%$ vs $26.6 \pm 26.1\%$, $P = 0.053$)。本文使用的是聚砜膜(AV600s,德国;表面积 1.35 m^2 ;超滤率 $4000 \text{ mL/h per } 100 \text{ mm Hg}$),可能pNGAL清除有限的原因。临床工作中,考虑到不同CRRT机器、滤过膜和血液净化方式,结果可能还需分别对待。比如,使用AN69膜(M100 set;百特,德国;表面积 0.9 m^2)对pNGAL的清除率可能会比高流量透析膜低,这些均需进一步验证。

研究的主要缺陷就是为在研究过程中考虑抗凝对pNGAL的影响,因为凝血功能异常可能参与脓毒症的病理生理过程。但有其他研究已经证实抗凝方式并不影响AKI患者pNGAL在CVVH过程中的含量^[20]。

该研究使用了目前使用较普遍的仪器、滤过膜和血液净化方式,因此该研究的结果对临床工作具

有重要的指导意义:在使用pNGAL诊断SAKI和CVVH过程中肾功能恢复的指标时,可不过多考虑血液净化对pNGAL的影响。但使用高流量和特殊仪器、滤过膜时仍需特别对待。

参考文献:

- [1] Hoste EA, Lameire NH, Vanholder RC, et al. Acute renal failure in patients with sepsis in a surgical ICU: predictive factors, incidence, comorbidity, and outcome [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2003, 14(4): 1022-1030.
- [2] Uchino S, Kellum JA, Bellomo R, et al. Acute renal failure in critically ill patients: a multinational, multicenter study [J]. *JAMA*, 2005, 294(7): 813-818.
- [3] 彭正良, 卿国忠, 陆煜, 等. 血清PCT、CRP水平对脓毒症的诊断及预后评估的价值[J]. *中南医学科学杂志*, 2015, 43(1): 59-62.
- [4] Shemesh O, Golbetz H, Kriss JP, et al. Limitations of creatinine as a filtration marker in glomerulopathic patients [J]. *Kidney Int*, 1985, 28(5): 830-838.
- [5] Stevens LA, Coresh J, Greene T, et al. Assessing kidney function-measured and estimated glomerular filtration rate [J]. *N Engl J Med*, 2006, 354(23): 2473-2483.
- [6] 陈继英, 唐东兴. 常用血液净化方式对维持性血液透析患者残余肾功能的影响[J]. *中南医学科学杂志*, 2014, 42(2): 178-180.
- [7] Uchino S, Bellomo R, Morimatsu H, et al. Discontinuation of continuous renal replacement therapy: a post hoc

- analysis of a prospective multicenter observational study [J]. *Crit Care Med*, 2009, 37(9):2576-2582.
- [8] Zarbock A, Gomez H, Kellum JA. Sepsis-induced acute kidney injury revisited: pathophysiology, prevention and future therapies [J]. *Curr Opin Crit Care*, 2014, 20(6):588-595.
- [9] Gomez H, Ince C, De Backer D, et al. A unified theory of sepsis-induced acute kidney injury: inflammation, micro-circulatory dysfunction, bioenergetics, and the tubular cell adaptation to injury [J]. *Shock*, 2014, 41(1):3-11.
- [10] Kim H, Hur M, Cruz DN, et al. Plasma neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a biomarker for acute kidney injury in critically ill patients with suspected sepsis [J]. *Clin Biochem*, 2013, 46(15):1414-1418.
- [11] Dai X, Zeng Z, Fu C, et al. Diagnostic value of neutrophil gelatinase-associated lipocalin, cystatin C, and soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 in critically ill patients with sepsis-associated acute kidney injury [J]. *Crit Care*, 2015, 19(1):R223.
- [12] Camou F, Oger S, Paroissin C, et al. Plasma Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin (NGAL) predicts acute kidney injury in septic shock at ICU admission [J]. *Ann Fr Anesth Reanim*, 2013, 32(3):157-164.
- [13] Srisawat N, Murugan R, Lee M, et al. Plasma neutrophil gelatinase-associated lipocalin predicts recovery from acute kidney injury following community-acquired pneumonia [J]. *Kidney Int*, 2011, 80(5):545-552.
- [14] Schilder L, Nurmohamed SA, ter Wee PM, et al. The plasma level and biomarker value of neutrophil gelatinase-associated lipocalin in critically ill patients with acute kidney injury are not affected by continuous venovenous hemofiltration and anticoagulation applied [J]. *Crit Care*, 2014, 18(2):R78.
- [15] de Geus HR, Betjes MG, Bakker J. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin clearance during veno-venous continuous renal replacement therapy in critically ill patients [J]. *Intensive Care Med*, 2010, 36(12):2156-2157.
- [16] Palevsky PM, Liu KD, Brophy PD, et al. KDOQI US commentary on the 2012 KDIGO clinical practice guideline for acute kidney injury [J]. *Am J Kidney Dis*, 2013, 61(5):649-672.
- [17] Levy MM, Fink MP, Marshall JC, et al. 2001 SCCM/ES-ICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference [J]. *Crit Care Med*, 2003, 31(4):1250-1256.
- [18] Vanmassenhove J, Glorieux G, Lameire N, et al. Influence of severity of illness on neutrophil gelatinase-associated lipocalin performance as a marker of acute kidney injury: a prospective cohort study of patients with sepsis [J]. *BMC Nephrol*, 2015, 16(1):18.
- [19] Donadio C. Dialysis with high-flux membranes significantly affects plasma levels of neutrophil gelatinase-associated lipocalin [J]. *Crit Care*, 2016, 20(1):20.
- [20] Simmons J, Pittet JF. The coagulopathy of acute sepsis [J]. *Curr Opin Anaesthesiol*, 2015, 28(2):227-236.

(本文编辑:蒋湘莲)

(上接第 139 页)

- [11] Luo C, Zhang YL, Luo W, et al. Differential effects of general anesthetics on anxiety-like behavior in formalin-induced pain: involvement of ERK activation in the anterior cingulate cortex [J]. *Psychopharmacology (Berl)*, 2015, 232(24):4433-4444.
- [12] Dai R P, Li C Q, Zhang J W, et al. Biphasic activation of extracellular signal-regulated kinase in anterior cingulate cortex distinctly regulates the development of pain-related anxiety and mechanical hypersensitivity in rats after incision [J]. *Anesthesiology*, 2011, 115(3):604-613.
- [13] Wang Z, Bradesi S, Maarek J M, et al. Regional brain activation in conscious, unrestrained rats in response to noxious visceral stimulation [J]. *Pain*, 2008, 138(1):233-243.
- [14] Sinniger V, Porcher C, Mouchet P, et al. c-fos and CRF receptor gene transcription in the brain of acetic acid-induced somato-visceral pain in rats [J]. *Pain*, 2004, 110(3):738-750.
- [15] Saunderson EA, Spiers H, Mifsud KR, et al. Stress-induced gene expression and behavior are controlled by DNA methylation and methyl donor availability in the dentate gyrus [J]. *Proc Nat Acad Sci USA*, 2016, 113(17):4830-4835.

(本文编辑:蒋湘莲)