

# 高通量聚砜膜透析器 F60 对尿毒症晚期患者的治疗效果分析

汪艳宁<sup>1</sup> 张焕巧<sup>2\*</sup> 杨晓丹<sup>2</sup>, 陕西榆林 719000

<sup>1</sup>榆林市第二医院肾内科

<sup>2</sup>陕西省宝鸡市中心医院肾内科

**摘要** 目的:探讨高通量聚砜膜透析器 F60 对尿毒症晚期患者疗效及 Krüppel 样因子 2(KLF2)mRNA 表达的影响。方法:回顾性选择 2015 年 5 月至 2018 年 6 月宝鸡市中心医院血液净化中心行维持血液透析的尿毒症晚期患者 100 例,将其分为 2 组;实验组采用高通量聚砜膜透析器 F60,对照组采用聚砜膜透析器 F6,每组 50 例。测定 2 组患者透析前、后糖基化终末产物(AGEs)、血清各溶质浓度、KLF2 的 mRNA 表达情况以及腹膜间皮细胞衰老情况。结果:实验组患者透析后 AGEs、血清各溶质浓度及腹膜间皮细胞衰老率显著降低,而腹膜组织 KLF2 的 mRNA 表达显著增加,且实验组高于对照组( $P$  均  $< 0.05$ )。KLF2 的 mRNA 表达量与腹膜间皮细胞衰老呈负相关( $r = -0.789$ ,  $P = 0.021$ )。结论:尿毒症晚期患者采用高通量聚砜膜透析器 F60 较聚砜膜透析器 F6 的透析效果更佳,可能与其可提高 KLF2 的 mRNA 表达,降低腹膜间皮细胞衰老有关。

**关键词** 尿毒症晚期; 晚期糖基化终产物; 蛋白结合溶质; Krüppel-样因子 2; 腹膜间皮细胞; 功能障碍

中图分类号 R572.2 文献标识码 A DOI 10.11768/nkjwzzzz20210513

## Analysis of therapeutic effect of high throughput polysulfone membrane dialyzer F60 on advanced uremia patients

WANG Yan-ning<sup>1</sup>, ZHANG Huan-qiao<sup>2\*</sup>, YANG Xiao-dan<sup>2</sup>. <sup>1</sup>Department of Nephrology, Yulin No. 2 Hospital, Shanxi Yulin 719000, China; <sup>2</sup>Department of Nephrology, Baoji Central Hospital

Corresponding author: ZHANG Huan-qiao, E-mail: xiaopang201806@sina.com

**Abstract** Objective: To investigate the effect of high-throughput polysulfone membrane dialyzer F60 on the expression of Krüppel-like factor 2 mRNA in patients with advanced uremia. Methods: A total of 100 patients with advanced uremia in Nephrology Department of Baoji Central Hospital from May 2015 to June 2018 were selected and divided into experimental group (high flux polysulfone membrane dialyzer F60) and control group (polysulfone membrane dialyzer F6) ( $n = 50$  in each group). Advanced glycation end-products (AGEs), serum solute concentration, mRNA and protein expression of KLF2 and peritoneal mesenchymal cell aging were measured before and after treatment in the two groups. Results: AGEs, serum solute concentration and senescence rate of peritoneal mesenchymal cells were significantly decreased, while mRNA expression of KLF2 was significantly increased in the experimental group after dialysis, and the changes in the experimental group were significantly higher than those in the control group ( $P$  all  $< 0.05$ ). The mRNA expression levels of KLF2 were negatively correlated with the senescence of peritoneal mesenchymal cells ( $r = -0.789$ ,  $P = 0.021$ ). Conclusion: The dialysis effect of high flux polysulfone membrane dialyzer F60 in late uremia patients was better than that in polysulfone membrane dialyzer F6, which may be related to the increased mRNA expression of KLF2 and the decreased aging of peritoneal mesenchymal cells.

**Key words** Advanced uremia; Advanced glycation end-products; Protein binding solute; Krüppel-like factor 2; Peritoneal mesothelial cell; Dysfunction

尿毒症是指人体肾脏功能异常,无法将体内代谢废物及多余水分排出,从而引起身体毒害反应的病症<sup>[1,2]</sup>。现代医学认为尿毒症是因肾功能丧失而导致机体内部生化过程紊乱的综合病症<sup>[3]</sup>。目前治疗尿毒症晚期的临床方法主要为血液透析、腹膜透析及肾脏移植<sup>[4]</sup>。随着尿毒症疾病的进展,机体内的糖基化终末产物(advanced glycation end-pro-

ucts, AGEs)数量增加,与蛋白结合溶质共同作用,诱发腹膜间皮细胞功能发生障碍<sup>[5]</sup>。AGEs 与衰老密切相关,Krüppel-样因子 2(Krüppel-like transcription factor 2, KLF2)可参与血管张力、抗炎、抗血栓、血管形成及血管新生等过程,与衰老也有一定相关性<sup>[6]</sup>。本实验通过对 100 例尿毒症晚期患者采用高通量聚砜膜透析器 F60 与聚砜膜透析器 F6 透析后

\* 通信作者:张焕巧, E-mail: xiaopang201806@sina.com, 陕西省宝鸡市渭滨区姜谭路 8 号

的 AGEs、血清各溶质浓度、KLF2 的 mRNA 表达情况及腹膜间皮细胞衰老情况进行分析,探讨其疗效机制。

## 资料与方法

**一般资料** 回顾性选择 2015 年 5 月至 2018 年 6 月年宝鸡市中心医院血液净化中心行维持血液透析的尿毒症晚期的患者 100 例,其中男性 53 例,女性 47 例。根据随机数字表法,将所有患者随机分为实验组和对照组,每组 50 例。实验组男性 26 例,女性 24 例,平均年龄( $55.34 \pm 3.58$ )岁,平均透析时间( $39.7 \pm 16.9$ )个月,原发性肾病:慢性肾小球肾炎 26 例,药物性肾损伤 5 例,良性小动脉肾硬化 16 例,多囊肾 3 例。对照组男性 27 例,女性 23 例,平均年龄( $54.2 \pm 4.4$ )岁,平均透析时间( $37.8 \pm 16.4$ )个月,原发性肾病:慢性肾小球肾炎 24 例,药物性肾损伤 5 例,良性小动脉肾硬化 20 例,多囊肾 1 例。2 组患者基本资料比较,差异无统计学意义( $P$  均  $> 0.05$ ),具有可比性。

**纳入与排除标准** 纳入标准:所有患者均符合 2002 年美国肾脏病预后质量/慢性肾脏疾病定义标准<sup>[7]</sup>;透析龄不低于 3 个月且病情稳定。排除近 1 个月内有严重急、慢性感染、活动性肝炎、心力衰竭、不稳定型心绞痛患者。本研究经医院伦理委员会批准,所有患者均知情并签署同意书。

**方法** 实验组患者采用高通量聚砜膜透析器 F60(德国费森尤斯集团)透析,对照组患者采用聚砜膜透析器 F6(德国费森尤斯集团)透析,2 组均使用 Fresenius 4008S 透析机,透析液流量为 500 mL/min,血流速度为 250 mL/min,每周透析 2~3 次,每次透析 4~4.5 h,其中 F60 平均复用 10 次,F6 平均复用 6 次。血液透析滤过采用后置换,流量为 80~120 mL/min,置换液总量为 19~32 L。参照《慢性肾脏病及透析的临床实践指南》<sup>[7]</sup>方法:2 组患者均于清晨空腹状态下,肘静脉采集入选患者透析前、后 1 d 血液样本,不进行抗凝,于室温 3 500 转/min 离心 20 min,取血清于  $-80^{\circ}\text{C}$  超低温冰箱中冷冻保存。

1. 透析前、后 AGEs 比较:采用荧光法测定 AGEs,取血清 0.2 mL,用生理盐水稀释至 2 mL,以 F97XP 荧光分光光度计(上海棱光技术有限公司)于 370 nm 波长下测上清荧光强度,其中发射波长为 440 nm,狭缝 5 nm;采用 Lowry 法测定稀释液中 AGEs 蛋白含量,AGEs 含量以毫克蛋白中相对荧光强度表示(AU/mg)。

2. 透析前、后血清溶质浓度变化比较:采用 AU5800 自动生化分析仪(美国贝克曼库尔特公司)检测患者血清及透析废液中尿素氮(BUN)含量;采用 UltiMate 3000 高效液相色谱(美国赛默飞公司)串联质谱法(high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry, HPLC-MS)检测血清、透析废液及提取液中马尿酸(hippuric acid, HA)、硫酸对甲酚(para-cresol sulphate, PCS)、硫酸吲哚酚(indoxyl sulfate, IS)以及 3-羧基-4-甲基-5-丙基-2-咪喃丙酸(CMPF)的浓度。

3. 透析后不同时间腹膜组织 KLF2 的 mRNA 表达:2 组患者分别在透析后 6、9、12 个月时取同一时间点患者透析 4 h 后的透出液,在 1 000 转/min 下离心 5 min 后将细胞碎屑去除,将 0.4  $\mu\text{m}$  滤过除菌后的透出液于  $-70^{\circ}\text{C}$  下保存待用。

4. 取宝鸡市中心医院进行腹腔镜外科手术非尿毒症且非腹膜炎捐赠者的正常大网膜组织,将其剪成小块,用胰酶消化 5~10 min,在 2 000 转/min 下离心 5 min,之后加入含 5 mmol/L D-葡萄糖及 10% 胎牛血清的 M199 培养基,接种后置于  $37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$  培养基中进行培养,培养后分别加入实验组与对照组患者透析后 6、9、12 个月时的透出液,每组设置 3 个平行孔,用培养液与透出液混合培养 48 h 后,建立 PCR 扩增体系,通过实时荧光定量 PCR 仪(美国赛默飞公司)检测 KLF2 的 mRNA 相对表达量。

5. 腹膜间皮细胞衰老情况比较:与腹膜组织培养方法相同,在透析后 6、9、12 个月时采用  $\beta$ -半乳糖苷酶染色法检测腹膜间皮的细胞衰老情况。将 1 mL  $\beta$ -半乳糖苷酶染色固定液加入到细胞培养液中,然后每孔加入 1 mL 细胞染液,于  $37^{\circ}\text{C}$  下培养过夜,普通光学显微镜下观察并计数,计算透析后不同时间点腹膜间皮细胞的衰老百分率。

**统计学分析** 采用 SPSS 20.0 统计学软件进行分析,计量资料以( $\bar{x} \pm s$ )表示,采用单因素方差分析进行组间数据分析,Pearson 相关性分析法分析 KLF2 的 mRNA 表达量与腹膜间皮细胞衰老的相关性,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 结果

**透析前、后 AGEs 比较** 透析前,2 组患者 AGEs 比较,差异无统计学意义( $P$  均  $> 0.05$ ),透析 6、9 和 12 个月后,实验组 AGEs 显著低于对照组( $P$  均  $< 0.01$ ),见表 1。

透析前、后血清各溶质浓度变化比较 透析前, 2组患者血清各溶质浓度变化比较, 差异无统计学意义( $P$ 均 $>0.05$ ), 透析后2组血清各溶质浓度显著降低, 且实验组显著低于对照组( $P$ 均 $<0.001$ ), 见表2。

透析后腹膜组织 KLF2 的 mRNA 表达 随着治疗时间的延长, 2组患者腹膜组织 KLF2 的 mRNA 表达明显增高, 且同时间点实验组明显高于对照组( $P$ 均 $<0.05$ ), 见表3。

腹膜间皮细胞的衰老情况比较 与对照组相比, 实验组患者腹膜间皮细胞中衰老细胞占比明显较低( $P < 0.05$ ), 见表4。

KLF2 的 mRNA 表达量与腹膜组织细胞衰老的相关性 KLF2 的 mRNA 表达量与腹膜间皮细胞衰老呈负相关( $r = -0.789, P = 0.021$ )。

### 讨论

尿毒症晚期 AGEs 和蛋白结合溶质与 KLF2 诱导腹膜间皮细胞功能障碍存在密切的相关性<sup>[8]</sup>,

KLF2 是细胞活性的重要调节因子, 因此, 该因子 mRNA 表达的测定为后续分析腹膜间皮细胞衰老情况奠定了基础。尿毒症晚期患者的腹膜间皮细胞功能障碍水平可反应出患者机体代谢功能状态以及病情严重程度, 同时在治疗时对患者 KLF2 表达量进行不间断的检测, 可对病情发展及术后治疗提供科学的理论依据<sup>[9]</sup>。

本研究结果表明, 患者透析前后 AGEs、血清各溶质浓度、KLF2 的 mRNA 表达情况以及腹膜间皮细胞衰老之间均存在显著差异。另外, 实验组患者透析后 AGEs、血清各溶质浓度以及腹膜间皮细胞衰老率均显著降低, 而 KLF2 的 mRNA 表达均显著增加, 且实验组变化程度高于对照组( $P$ 均 $<0.05$ )。KLF2 的 mRNA 表达量均与腹膜间皮细胞衰老呈负相关, 有研究表明, 人脐静脉内皮细胞过表达 KLF2 后, 会使醌脱氢酶 1、HO-1 及过氧化氢酶等抗氧化基因表达上调, 其靶基因均为 Nrf2, KLF2 可通过促进 Nrf2 的和定位, 激活其功能, 从而增强 Nrf 2 介导的抗氧化作用, 抑制衰老<sup>[10]</sup>; 而人体内的 AGEs 蛋

表1 2组患者透析前、后 AGEs 比较(AU × 10<sup>-3</sup>/mg,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	例	透析前	透析6个月	透析9个月	透析12个月
实验组	50	369.26 ± 43.49	333.54 ± 41.09	315.68 ± 32.98	298.09 ± 43.56
对照组	50	411.47 ± 52.11	429.18 ± 39.11	411.09 ± 45.79	387.56 ± 44.14
<i>t</i>		1.098	2.443	2.219	3.251
<i>P</i>		0.064	0.001	0.002	0.004

表2 2组患者透析前、后血清各溶质浓度变化比较

指标	实验组( $n=50$ )		对照组( $n=50$ )		<i>t</i>	<i>P</i>
	透析前	透析后1d	透析前	透析后1d		
BUN(mmol/L)	24.76 ± 3.89	3.48 ± 1.09*	25.89 ± 3.33	7.89 ± 1.09*	20.229	<0.001
HA(mg/L)	31.39 ± 3.45	10.37 ± 1.44	32.25 ± 3.56	13.38 ± 4.42	4.579	<0.001
PCS(mg/L)	28.56 ± 3.45	15.64 ± 3.09	29.05 ± 6.75	18.09 ± 4.59	3.131	0.002
IS(mg/L)	30.33 ± 4.59	15.98 ± 5.23	31.50 ± 4.05	19.08 ± 2.13	3.882	<0.001
CMPF(mg/L)	21.45 ± 3.30	12.39 ± 3.06	23.61 ± 4.09	16.87 ± 3.99	6.300	<0.001

表3 2组透析后腹膜组织 KLF2 的 mRNA 表达( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例	透析6个月	透析9个月	透析12个月	<i>F</i>	<i>P</i>
实验组	50	3.08 ± 0.25	4.56 ± 0.39	5.12 ± 0.78	12.149	0.008
对照组	50	1.57 ± 0.10	2.78 ± 0.25	3.25 ± 0.41	28.101	0.001
<i>t</i>		9.713	6.655	3.676	-	-
<i>P</i>		<0.001	0.001	0.014	-	-

表4 2组腹膜间皮细胞衰老情况比较(% ,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	例	透析6个月	透析9个月	透析12个月
实验组	50	73.09 ± 4.49	65.09 ± 5.57	48.31 ± 7.70
对照组	50	79.55 ± 2.90	70.85 ± 6.79	57.67 ± 6.63
<i>t</i>		3.547	2.568	1.112
<i>P</i>		0.001	0.002	0.004

- chemia-reperfusion injury through regulating serpin3 by targeting miR-137[J]. *Int J Cardiol*,2020,306(1):9.
- 5 Zhao L,Guo Z,Wang P, et al. Proteomics of epicardial adipose tissue in patients with heart failure[J]. *J Cell Mol Med*,2020,24(1):511-520.
  - 6 中华医学会心血管病学分会,中华心血管病杂志编辑委员会. 急性ST段抬高型心肌梗死诊断和治疗指南[J]. *中华心血管病杂志*,2015,43(5):380-393.
  - 7 杨树涵,陈红伟,刘艳宾,等. 可溶性生长刺激表达因子2对急性心肌梗死患者近期临床预后的预测价值[J]. *中国动脉硬化杂志*,2019,34(9):783-786.
  - 8 Park J,Masaki T,Mezaki Y, et al. Alpha-1 antichymotrypsin is involved in astrocyte injury in concert with arginine-vasopressin during the development of acute hepatic encephalopathy [J]. *PLoS One*, 2017,12(12): e0189346.
  - 9 Sánchez-Navarro A,González-Soria I,Caldino-Bohn R, et al. An integrative view of serpins in health and disease;the contribution of SerpinA3[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*,2021,320(1):C106-C118.
  - 10 di Salvo TG, Yang KC, Brittain E, et al. Right ventricular myocardial biomarkers in human heart failure[J]. *J Card Fail*,2015,21(5):398-411.
  - 11 Uysal P,Uzun H. Relationship between circulating serpin3g, matrix metalloproteinase-9 and Tissue Inhibitor of Metalloproteinase-1 and -2 with chronic obstructive pulmonary disease severity [J]. *Biomolecules*,2019,9(2):62.
  - 12 Sánchez-Navarro A, Mejía-Vilet JM, Pérez-Villalva R, et al. SerpinA3 in the early recognition of acute kidney injury to chronic kidney disease (CKD) transition in the rat and its potentiality in the recognition of patients with CKD[J]. *Sci Rep*,2019,9(1):10350.
  - 13 Sorokin V, Woo CC. Role of Serpin3 in vascular biology[J]. *Int J Cardiol*,2020,304(1):154-155.
  - 14 Zhou ML, Chen FS, Mao H. Clinical significance and role of up-regulation of SERPINA3 expression in endometrial cancer[J]. *World J Clin Cases*,2019,7(15):1996-2002.
  - 15 Cheow ESH, Cheng WC, Yap T, et al. Myocardial injury is distinguished from stable angina by a set of candidate plasma biomarkers identified using iTRAQ/MRM-Based approach [J]. *J Proteome Res*, 2018,17(1):499-515.
  - 16 Poudel I, Tejpal C, Rashid H, et al. Major adverse cardiovascular events: an inevitable outcome of ST-elevation myocardial infarction? A literature review[J]. *Cureus*,2019,11(7):e5280.
  - 17 Yang S, Chen L, Sun S, et al. Glycoproteins identified from heart failure and treatment models[J]. *Proteomics*,2015,15(2-3):567-579.
  - 18 刘海洋,于海侠,武丽珠,等. 血清可溶性ST2水平变化在心脏骤停心肺复苏成功患者中的临床意义[J]. *内科急危重症杂志*, 2019,25(6):489-490.

(2020-12-14 收稿 2021-07-20 修回)

(上接第411页)

白修饰是老年性疾病的介导因素,有研究发现<sup>[11]</sup>,其可作为测试机体老化进程的时钟,随着年龄的增长,AGEs在体内的积聚增多,会导致人体内的血管壁硬度增加,KLF2可结合eNOS基因的启动子,增强其转录活性。eNOS在内皮细胞中有软化血管作用,KLF2通过以上作用,来延缓患者的血管硬化,从而延缓衰老。因此,尿毒症患者采用高通量聚砜膜透析器F60较聚砜膜透析器F6的透析效果更佳,可能与其可提高KLF2的mRNA表达,降低腹膜间皮细胞衰老有关,临床上KLF2有望作为尿毒症患者新的治疗靶点,探讨尿毒症新的治疗方向。

#### 参考文献

- 1 李玉金,祁德贤,张晓丽. 血液灌流联合血液透析对尿毒症患者炎症因子、血清成纤维细胞因子-23及肱动脉血流介导的血管舒张功能的影响[J]. *内科急危重症杂志*,2019,25(3):237-239.
- 2 任红旗,冀德华. 尿毒症肌少症的发病机制和治疗[J]. *肾脏病与透析肾移植杂志*,2015,24(2):87-91.
- 3 孙嘉康. 尿毒清颗粒联合血液透析应用于尿毒症患者对其营养改善及肾功能保护作用研究[J]. *中国中西医结合肾病杂志*,2017,18(12):1105-1107.
- 4 杨枫,钟晓容,林贞明,等. 不同腹膜透析模式对尿毒症大鼠残余肾功能的影响[J]. *内科急危重症杂志*,2018,24(4):324-327.
- 5 翟英,李向东,李毅,等. 高通量透析对糖尿病肾脏疾病患者糖基化终产物及微炎症的影响[J]. *临床肾脏病杂志*,2018,18(7):409-412.
- 6 荆堂堂,胡俊秀,倪晋泽,等. Krüppel样转录因子2的表达调控[J]. *医学综述*,2019,25(21):4174-4179.
- 7 美国 NKF-K/DOQI 工作组. 慢性肾脏病及透析的临床实践指南 II [M]. 北京:人民卫生出版社,2005:31-33.
- 8 Chen WC, Lin HH, Tang MJ. Matrix-Stiffness-Regulated inverse expression of Krüppel-Like factor 5 and Krüppel-like factor 4 in the pathogenesis of renal fibrosis[J]. *Am J Pathol*,2015,185(9):2468-2481.
- 9 Slater SC, Rammath RD, Uttridge K, et al. Chronic exposure to laminar shear stress induces Krüppel-like factor 2 in glomerular endothelial cells and modulates interactions with co-cultured podocytes[J]. *Int J Biochem Cell Biol*,2012,44(9):1482-1490.
- 10 荆堂堂,倪晋泽,赵玉菲,等. Krüppel样转录因子2的功能[J]. *暨南大学学报(自然科学与医学版)*,2018,39(5):11-19.
- 11 程冕,严金华,阮磊,等. 晚期糖基化终末产物对内皮细胞衰老及内皮屏障功能的影响[J]. *中华老年医学杂志*,2019,38(4):362-366.

(2020-01-09 收稿 2020-07-24 修回)