

血液灌流用内毒素吸附剂的研究进展

张 波 何建川

一、内毒素及内毒素血症

内毒素(endotoxin)是革兰阴性(G^-)细菌的细胞外壁溶解后释放出的脂多糖(LPS)^[1]。细菌释放出大量内毒素至血液可引发内毒素血症。内毒素血症进入血液后引起一系列反应,最终导致器官坏死、不可逆休克和死亡,目前临床上尚无有效的治疗方法^[2]。

二、内毒素血症的治疗现状

近些年,国内外学者试图利用抗生素、抗内毒素抗体及中医药等方法去治疗内毒素血症,但由于种种原因,都未能达到令人满意的效果^[3,4]。而血液净化法则能较有效地清除血液中的内毒素。血液净化法包括血液透析、血浆置换、血液灌流等技术。血液透析对于 LPS 引起的大量炎性因子的作用较小;血浆置换技术对内毒素及其他有害物的清除效果比血液透析要好,但其成本较高;而血液灌流能够有效地清除部分内毒素^[5]。Gunnelt 等研究表明大孔树脂 Amberlite XAD-7 吸附 TNF 在动物实验中取得了良好的效果^[6]。

三、内毒素吸附剂的研究进展

1. 以壳聚糖为载体的吸附剂:甲壳素是自然界中含量丰富的天然多糖,壳聚糖是甲壳素乙酰化的产物,由氨基-D-葡萄糖和 N-乙酰基-D-葡萄糖胺单体通过 $\beta-1,4$ -糖苷键连接形成,是多糖类化合物中唯一的碱性多糖,具有无毒、无味、生物可降解和生物相容性等特性,在食品、日月化工、造纸、生物医药等领域有着广泛的应用^[7-9]。王慧彦等^[10]采用在溶液中带正电荷且具有疏水性的二乙烯基胺类作为配体,以含氨基的交联壳聚糖为载体,利用醛基与氨基进行 Schiff 碱反应引入乙烯胺类配体,合成一系列吸附剂并进行了相应的吸附实验,结果表明该类吸

附剂对内毒素有很高的吸附量及清除率,并且随着配体上带正电性的氨基和疏水性的乙基数目的增多,内毒素分子和吸附剂配体之间的静电作用和疏水作用增强,从而导致配体的吸附量明显增大。

2. 膜吸附剂:选择合适的膜,将对生物高分子有特异性和选择性的基团连接到膜的表面及孔壁,从而制备一种新型的色谱介质,称为膜色谱介质或膜吸附剂。膜色谱法即是膜吸附剂连接配基,当料液流过膜的时候,目标分子与膜吸附剂表面或膜孔内基团特异性结合,而杂质透过膜孔流出^[11]。陈兆安等作了利用膜吸附剂清除内毒素的研究^[12],采用二乙酸纤维素酯(CA)与聚乙烯基亚胺(PEI)共混制备微孔滤膜,利用聚乙烯基亚胺对内毒素的亲合作用吸附水溶液中的内毒素,并考察了内毒素的不同分散形态(单分子、缔合胶束及聚集体)对质量传递和去除效果的影响,结果表明,以 CA 与 PEI 共混或共混交联制备的高度孔连通性、孔隙分布均匀的微孔滤膜,膜上的 PEI 可以有效地吸附水溶液中的细菌内毒素。

3. 以聚乙烯基咪唑为配基的吸附剂:张媛媛等^[13]考虑到组氨酸对内毒素的吸附主要依靠分子中带正电荷的咪唑基的作用,而聚乙烯基咪唑(PVI)是一种含咪唑基的无毒的水溶性聚合物,故通过自由基接枝聚合反应制备以聚乙烯基咪唑为高分子配基的内毒素亲和吸附剂,并利用红外光谱法、热重分析法等研究了 PVI 在硅胶上的接枝率与吸附剂对内毒素吸附性能的关系,及吸附时间、内毒素浓度、递质 pH 值参数等对吸附性能的影响,结果表明,PVI 在吸附剂中的含量对内毒素的吸附率影响很大,当 PVI 的接枝率为 2.5% 左右时,吸附剂对内毒素的去除率最大;在离子强度小于 1mol/L 和 pH = 7 的中性条件下,PVI 吸附剂对内毒素具有最佳的吸附性能。

4. 以氨基酸为配基的吸附剂:由于氨基酸的无毒性及血液相容性,近几年对以氨基酸作为配基的内毒素吸附剂研究较多,侯光辉等^[14,15]采用琼脂凝胶作为载体,氨基酸为配体,合成了血液灌流用内毒素吸附剂,并研究了吸附剂用量、吸附时间、交联、配体等

基金项目:四川省教育厅重点项目(10ZA078);南充市科技局应用技术研究及开发资金项目(2010SF04)

作者单位:637000 南充,川北医学院基础医学院

通讯作者:张波,副教授,硕士,电子邮箱:zhbKJC@nsmc.edu.cn

因素对吸附效果的影响,结果表明,在同一起始浓度下,单位质量吸附剂的吸附量随着吸附剂总量增加而逐渐下降,清除率则上升;15min 之前,吸附量随时间的逐步增加呈线性增加,在 15min 时,吸附剂吸附量最大,15min 后吸附量有所下降;凝胶发生交联后的热稳定性有所提高;碱性氨基酸配体如赖氨酸与琼脂合成内毒素吸附剂后,可有效地清除血液中的内毒素水平,最大清除率可达 73.6%,且吸附剂具有良好的血液相容性。而方晖等^[16]以球形纤维素为载体,重点研究了 8 种氨基酸和聚赖氨酸为配基的吸附剂,并从氨基酸的等电点、氨基酸的极性等角度研究了不同氨基酸吸附剂的吸附性能,结果表明,静电作用力是影响吸附性能的主要因素,而疏水作用力在一定程度上可提高吸附性能;实验的氨基酸中以精氨酸和赖氨酸作为配基的吸附剂具有较好的吸附能力。

5. 以多黏菌素 B(PMB)为配基的吸附剂:PMB 结构中含有 10 个氨基酸组成的环形结构,其中 5 个含有阳离子的氨基残基,一个分子 PMB 黏附一个脂质 A 区域,可使内毒素周期性分支的膜样或带样结构变成碎片或完全失活,故国内外许多学者采用固定化多黏菌素 B 作为吸附剂^[17]。李苑等^[18]研究了固定有 PMB 短肽的聚苯乙烯微球对血浆中细菌内毒素的吸附性能,讨论了灌流速度、灌流时间等不同吸附条件对吸附性能的影响,并用固定有 PMB 短肽的聚苯乙烯微球对动物模型进行了血液灌流实验,观察该吸附剂血液灌流清除内毒素的效果,结果表明,采用固定有 PMB 的聚苯乙烯微球能够有效地清除血液中的内毒素,且该吸附剂具有良好的血液相容性。

四、展 望

综上所述,用以清除内毒素的各种吸附剂中,膜吸附剂能以不同的机制较有效地清除多分散体系中的内毒素,但存在高分子溶质、脂溶性好或与蛋白质结合的毒物透析和滤过清除率差等缺陷;聚乙烯基咪唑和多黏菌素 B 由于分子中含有带正电荷的特殊结构,故能特异性的吸附血液中的内毒素,但聚乙烯基咪唑对人体具有一定的不良反应,代谢排泄对人体会产生负担,而 PMB 一旦从载体上脱落,会对病人的肾脏产生不良反应;壳聚糖和氨基酸具有无毒、无味、生物可降解及较好地血液相容性,故利用以壳聚糖作为载体的氨基酸吸附剂能较好地清除血液中的内毒素,若能处理好亲和吸附剂在人体内的稳定性和重复使

用性等问题,该吸附剂具有光明的临床应用前景。

参考文献

- 1 Morrison DC, Ulevitsch RJ. the effect of bacterial endotoxin on host-mediation systems mechanisms. *Am J Pathol*, 1978, 93(2): 527
- 2 DEITCH E A, MA WJ, MA L, *et al.* Endotoxin - induced bacterial translocation; a study of mechanism[J]. *Surgery*, 1989, 106:292 - 300
- 3 Axtelle T, Pribble J. IC14, a CD14 specific monoclonal antibody, is a potential treatment for patients with severe sepsis[J]. *J Endotoxin Res*, 2001, 7(4): 310
- 4 刘松, 殷凯生, 王祥, 等. 丹参对内毒素性肺损伤的保护性作用及其机理研究[J]. *急诊医学*, 1998, 7(3): 153
- 5 Chandy T, Rao G H. Evaluation of heparin immobilized chitosam - PEG microbeads for charcoal encapsulation and endotoxin removal[J]. *Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol*, 2000, 28(1): 65 - 77
- 6 Gunnelt CA, Chu Y, Heistod DD, *et al.* Vascular effects of LPS in mice deficient in expression of the gene for inducible nitric oxide synthase[J]. *Am J Physiol*, 1998, 275(2): H416 - 421
- 7 张静, 张政朴, 宋瑜, 等. 染料壳聚糖微球的制备及其对牛血清白蛋白(BSA)吸附性能的研究[J]. *高等学校化学学报*, 2005, 26(12): 2363 - 2368
- 8 王晓军, 范代娣, 任妍君. 壳聚糖金属螯合亲和吸附剂的制备[J]. *西北大学学报(自然科学版)*, 2009, 39(4): 595 - 598
- 9 沈少飞, 叶盛权, 吴晖, 等. 壳聚糖衍生物对苯胺、亚硝酸盐氮吸附性能的研究[J]. *现代食品科技*, 2010, 26(7): 684 - 687
- 10 王慧彦, 侯光辉, 俞玫, 等. 以壳聚糖为载体的内毒素吸附剂[J]. *高等学校化学学报*, 2005, 26(4): 680 - 682
- 11 张玉忠, 肖长发. 膜色谱技术的进展[J]. *天津工业大学学报*, 2004, 23(4): 94 - 97
- 12 陈兆安, 邓麦村, 叶震, 等. 膜吸附剂去除内毒素的传质研究[J]. *化工进展*, 2003, 22: 199 - 201
- 13 张媛媛, 周康, 平郑骅. 以聚乙烯基咪唑为配基的内毒素亲和吸附剂的研究[J]. *高等学校化学学报*, 2007, 28(7): 1371 - 1376
- 14 侯光辉, 王慧彦, 刘涛, 等. 以氨基酸为配体的血液灌流用内毒素吸附剂的制备及性能研究[J]. *高等学校化学学报*, 2005, 26(7): 1277 - 1280
- 15 刘涛, 侯光辉, 俞玫, 等. 以赖氨酸为配基的内毒素吸附剂的研究[J]. *高等学校化学学报*, 2004, 25(12): 2284 - 2286
- 16 方晖, 魏佼, 俞耀庭. 亲和吸附剂对细菌内毒素吸附性能的研究[J]. *高等学校化学学报*, 2004, 25(6): 1056 - 1059
- 17 LEE S Y, CHOI J I, HAN K, *et al.* Removal of endotoxin during purification of poly(3 - hydroxybutyrate) from gramnegative bacteria[J]. *Applied Environmental Microbiology*, 1999, 65(6): 2762 - 2764
- 18 李苑, 王翔, 熊兴良, 等. 固定多粘菌素 B 的新型吸附剂对血液中细菌内毒素吸附性能的实验研究[J]. *生物医学工程学杂志*, 2006, 23(4): 832 - 835

(收稿: 2010 - 12 - 07)