

· 临床研究 ·

体外循环心脏瓣膜置换术对风湿性心脏病患者 T 淋巴细胞主要免疫表型的影响

岑光旅¹, 覃羽华^{2△}, 黄元鲁³, 韦巧松¹, 黄红珊¹, 许桂丹²

(1. 广西百色市人民医院麻醉科 533000; 2. 右江民族医学院附属医院检验科, 广西百色 533000; 3. 广西百色市人民医院心外科 533000)

摘要:目的 观察风湿性心脏病(RHD)患者在体外循环(ECC)心脏瓣膜置换术前后细胞免疫功能的变化。方法 用流式细胞仪检测 28 例 ECC 瓣膜置换术 RHD 患者(RHD 组, 其中单瓣组 15 例, 双瓣组 13 例)和 20 例非体外循环冠状动脉搭桥术患者(对照组)术前、术毕及术后第 1、3、5、8 天外周血 CD3⁺、CD3⁺/CD4⁺、CD3⁺/CD8⁺ T 细胞、NK 细胞(CD3⁻/CD16⁺56⁺)、CD3⁺CD4⁻CD8⁻ 双阴性 T 细胞的水平。结果 RHD 组患者与术前比较, 术后 CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺、NK 细胞计数明显降低($P < 0.05$), CD8⁺、CD3⁺CD4⁻CD8⁻ 计数明显升高($P < 0.05$)。双瓣组的上述指标波动明显大于单瓣组。与对照组比较, 术后 RHD 组患者的 CD3⁺、CD4⁺ 和 CD4⁺/CD8⁺ T 细胞计数明显下降($P < 0.05$), 而 CD8⁺ 和 CD3⁺CD4⁻CD8⁻ 计数明显升高($P < 0.05$)。对照组 NK 细胞在术前、术后无明显变化($P > 0.05$)。结论 ECC 瓣膜置换术可使 RHD 患者的细胞免疫功能受到明显的抑制。

关键词: 体外循环; 心脏瓣膜假体植入; 风湿性心脏病; 免疫, 细胞

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2011.35.023

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2011)35-3584-03

Influence of heart valve replacement with extracorporeal circulation on the major immune phenotypic of T lymphocytes in patients with rheumatic heart disease

Cen Guanglv¹, Qin Yuhua^{2△}, Huang Yuanlu³, Wei Qiaosong¹, Huang Hongshan¹, Xu Guidan²

(1. Department of Anesthesiology, Baise People's Hospital; 2. Department of Clinical Laboratory, Affiliated Hospital of Youjiang Medical University for Nationalities; 3. Department of Cardiac Surgery, Baise People's Hospital, Baise, Guangxi 533000, China)

Abstract: Objective To observe the changes of cellular immune function before and after heart valve replacement with extracorporeal circulation(ECC) in patients with rheumatic heart disease(RHD). **Methods** Flow cytometry was employed to detect lymphocytes in 28 patients with RHD accepted heart valve replacement with ECC (RHD group including 15 in single valve group and 13 in double valve group) and 20 patients (control group) accepted off-pump coronary artery bypass grafting. Levels of CD3⁺, CD3⁺/CD4⁺, CD3⁺/CD8⁺ T cells, NK cells (CD3⁻/CD16⁺56⁺) and CD3⁺CD4⁻CD8⁻ double negative T cells in peripheral blood before, and 1, 3, 5, 8 days after operation were detected. **Results** There was no statistically significant difference among each detection indexes before operation ($P > 0.05$). Compared with pre-operation, the counts of CD3⁺, CD4⁺, CD4⁺/CD8⁺ T cells and NK cells of patients were decreased markedly while those of CD8⁺ and CD3⁺CD4⁻CD8⁻ increased significantly after operation in RHD group ($P < 0.05$). Fluctuation of indexes above in double valve group was obviously greater than those in single valve group. Compared with control group, the counts of CD3⁺, CD4⁺ and CD4⁺/CD8⁺ T cells were also decreased while those of CD8⁺ and CD3⁺CD4⁻CD8⁻ were also increased significantly in RHD group after operation ($P < 0.05$). There was no significantly changes of NK cells between pre-operation and post-operation ($P > 0.05$). **Conclusion** Heart valve replacement with ECC can exert a significant inhibition to cellular immune function of patients with RHD.

Key words: extracorporeal circulation; heart valve prosthesis implantation; rheumatic heart disease; immunity, cellular

体外循环(extracorporeal circulation, ECC)对人体免疫功能具有破坏作用, 可导致免疫功能失调, 术后感染率增加。有研究表明, ECC 术后的并发症是机体免疫功能失调所致^[1-2]。为观察 ECC 瓣膜置换术对风湿性心脏病(RHD)患者机体细胞免疫功能的影响, 本文对 28 例 ECC 瓣膜置换术 RHD 患者术毕及术后第 1、3、5、8 天 T 淋巴细胞亚群及 NK 细胞表达水平进行了动态监测, 并与术前及 20 例非 ECC 冠状动脉搭桥术进行比较, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2009 年 2 月至 2010 年 4 月百色市人民医院住院的 RHD 患者 28 例, 均为首次行心脏瓣膜置换术患

者, 其中单瓣组 15 例, 年龄(43±5.2)岁; 双瓣组 13 例, 年龄(39±4.7)岁。另选 20 例冠心病患者为对照组, 年龄(50±8.2)岁, 实施非体外循环冠状动脉搭桥术。所选对象术前均无风湿活动等免疫系统疾病, 未使用免疫抑制剂等。详见表 1。

1.2 方法

1.2.1 麻醉和 ECC 方法 术前用药均为东莨菪碱 0.3 mg, 苯巴比妥钠 0.1 g 肌内注射, 所有患者采用 PHILIPS 监护仪持续监测心电图、心率、平均动脉压、血氧饱和度和体温, 并通过右颈内静脉监测中心静脉压。RHD 组 ECC 用 Stockert II 型 ECC 机及膜式氧合器, 采用浅低温(鼻咽温维持 28~32℃)和中度血液稀释(Hct 21%~26%), 转流量 2.2~2.8 L·(m²)⁻¹·min⁻¹,

△ 通讯作者, Tel:(0776)2839153; E-mail: qinyuhua@163.com。

表 1 各组患者一般资料比较

| 组别 | n | 体质量($\bar{x}\pm s$, kg) | 心功能 II 级 | 心功能 III 级 | 转流时间($\bar{x}\pm s$, min) | 输血量($\bar{x}\pm s$, mL) | 鼻咽温度(°C) |
|---------|----|---------------------------|----------|-----------|-----------------------------|---------------------------|----------|
| RHD 单瓣组 | 15 | 48.68±6.96 | 11 | 4 | 97.28±21.45 | 198.31±81.20 | 28~32 |
| RHD 双瓣组 | 13 | 50.09±9.12 | 9 | 4 | 145.63±27.21 | 373.65±118.48 | 28~32 |
| 对照组 | 20 | 49.34±5.71 | 17 | 3 | — | 303.37±57.49 | 34~36 |

—:此项无数据。

表 2 RHD 组与对照组各项指标检测值($\bar{x}\pm s$, %)

| 组别 | 项目 | 术前 | 术毕 | 术后 1 天 | 术后 3 天 | 术后 5 天 | 术后 8 天 |
|---------|--|------------|--------------|----------------|-------------|--------------|-------------|
| RHD 单瓣组 | CD3 ⁺ | 62.42±6.22 | 53.53±6.01* | 49.86±5.18** | 58.29±6.07 | 61.94±5.44 | 63.02±6.10 |
| | CD4 ⁺ | 41.34±5.67 | 28.72±4.97** | 26.80±4.82** | 36.88±5.40* | 40.78±5.15 | 42.70±5.23 |
| | CD8 ⁺ | 21.81±4.37 | 22.98±3.99 | 23.96±4.96* | 21.99±4.82 | 21.83±4.20 | 21.04±4.74 |
| | NK 细胞 | 11.49±3.06 | 10.11±3.70 | 9.80±4.00* | 10.36±4.12 | 11.68±3.69 | 12.07±3.82 |
| | CD3 ⁺ CD4 ⁻ CD8 ⁻ | 2.47±0.31 | 3.09±0.37* | 3.17±0.48* | 3.74±0.50** | 2.69±0.40 | 2.51±0.32 |
| | CD4 ⁺ /CD8 ⁺ | 2.07±0.90 | 1.23±0.50** | 1.20±0.53** | 1.56±0.71* | 1.92±0.79 | 2.03±0.85 |
| RHD 双瓣组 | CD3 ⁺ | 61.92±5.85 | 54.75±5.13* | 46.30±4.90** | 55.35±5.60 | 59.04±6.02 | 62.10±6.16 |
| | CD4 ⁺ | 40.01±5.33 | 23.77±4.79** | 22.52±4.67**△△ | 34.02±4.90* | 39.16±5.03 | 39.49±5.20 |
| | CD8 ⁺ | 22.10±4.49 | 24.12±4.88 | 25.67±5.11* | 23.96±4.11 | 23.10±4.06 | 22.71±4.50 |
| | NK 细胞 | 12.25±3.97 | 9.25±3.57**△ | 8.82±3.90**△△ | 11.02±4.03* | 11.17±3.82 | 12.29±3.99 |
| | CD3 ⁺ CD4 ⁻ CD8 ⁻ | 2.53±0.40 | 3.29±0.45* | 3.58±0.55** | 4.15±1.01** | 3.53±0.50**△ | 3.31±0.42*△ |
| | CD4 ⁺ /CD8 ⁺ | 1.98±1.16 | 1.14±0.47** | 1.13±0.39** | 1.54±0.63* | 1.80±0.86 | 1.85±0.99 |
| 对照组 | CD3 ⁺ | 65.42±6.26 | 59.53±5.65 | 56.86±5.04* | 60.69±6.10 | 64.94±5.84 | 65.72±6.06 |
| | CD4 ⁺ | 43.34±5.37 | 35.72±4.57* | 34.90±4.95* | 38.88±5.40 | 42.89±5.15 | 43.20±5.23 |
| | CD8 ⁺ | 21.51±4.17 | 23.08±3.89*▲ | 21.92±4.43 | 21.89±4.52 | 1.63±4.22 | 21.22±4.38 |
| | NK 细胞 | 12.49±3.26 | 12.18±3.20 | 11.95±3.53 | 12.04±4.07 | 11.98±3.68 | 12.37±3.22 |
| | CD3 ⁺ CD4 ⁻ CD8 ⁻ | 3.27±0.40 | 4.28±0.46*▲ | 3.29±0.43 | 3.34±0.40 | 2.99±0.37 | 3.21±0.38 |
| | CD4 ⁺ /CD8 ⁺ | 2.37±0.91 | 1.78±0.68* | 1.83±0.61 | 1.94±0.72 | 2.32±0.69 | 2.43±0.67 |

*: $P<0.05$, **: $P<0.01$, 与同组术前相比较; △: $P<0.05$, △△: $P<0.01$, 与 RHD 单瓣组比较; ▲: $P<0.05$, 与 RHD 组比较。

维持平均动脉压在 50~70 mm Hg, 经升主动脉根部顺行灌注高钾冷血停搏液保护心肌, 术毕患者入重症监护室。

1.2.2 流式细胞仪检测方法 术前、术毕及术后第 1、3、5、8 天 8:00 采集外周静脉血 2 mL 于 EDTA 抗凝管中, 操作按说明书进行。采用美国 BD 公司 FACSCalibur 型流式细胞仪检测, 每管获取细胞 10 000 个。测定结果用 Cell Quest 软件分析。

1.3 统计学处理 所有资料采用 SPSS10.0 统计软件进行分析。计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 采用 t 检验, 以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 RHD 组 ECC 术后与术前比较 CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺ 和 NK 细胞术毕降低 ($P<0.05$), CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺ 在术毕至术后第 1 天显著降低 ($P<0.01$); CD8⁺ 术后 1 d 升高 ($P<0.05$); CD3⁺CD4⁻CD8⁻ 术后升高, 第 3 天达峰值 ($P<0.01$), 第 5 天单瓣组恢复, 双瓣组第 8 天仍偏高。

2.2 RHD 单瓣与双瓣两组相比较 数值的波动双瓣组明显大于单瓣组, 双瓣组 CD4⁺ 与 NK 细胞术后下降较单瓣组明显 ($P<0.01$); 双瓣组 NK 细胞于术后第 8 天才恢复; CD3⁺CD4⁻CD8⁻ 在术后比单瓣组高 ($P<0.05$)。

2.3 RHD 组与对照组检测值比较 术前各指标差异无统计学意义; OPCABG 术毕至术后第 3 天 CD3⁺、CD4⁺ 和 CD4⁺/CD8⁺ 有一定程度的降低, 但幅度比 RHD 组小, CD8⁺ 和 CD3⁺CD4⁻CD8⁻ 在术毕时轻度升高, 与 RHD 组比较, 差异有统计

学意义 ($P<0.05$), 但术后 1 d 即恢复, NK 细胞术后无明显变化。见表 2。

3 讨 论

对 RHD 患者实施 ECC 瓣膜置换术时, 非生理性灌注、低温、血液稀释等多种因素影响, 致使机体免疫细胞和细胞因子的数量改变, 细胞免疫功能受到了广泛的影响, 诱发了术后炎症反应和免疫抑制^[3-5]。研究中证实, RHD 患者组 CD3⁺ 总数有所下降, CD4⁺ T 细胞的分化与增殖受到抑制, 细菌感染时, 宿主抗细胞毒和防御应答减弱, 易引发感染。CD8⁺ T 细胞升高, 特异性杀伤靶细胞, 发挥了抗感染生物学作用。CD3⁺ 和 CD4⁺ 的明显降低, 使 CD4⁺/CD8⁺ 的比值也随之降低, 与有关报道一致^[6-9], 说明 RHD 患者在行 ECC 时免疫调节功能受到了抑制^[10-11]。本观察中 NK 细胞在 ECC 术后 1 d 明显降低, 双瓣组则从术毕开始降低, 术后 1 d 降至低谷, 致使 IFN- γ 等细胞因子释放减少, 机体早期抗感染能力及免疫调节功能减弱。RHD 组术后第 3 天 CD3⁺CD4⁻CD8⁻ 水平升高达峰值, 第 8 天单瓣组基本降至术前水平, 但双瓣组术毕开始至术后 8 d 均处于高水平, 可能原因是双瓣置换术转流时间较长, 输血量较多, 血液中免疫活性成分破坏, 机体产生持续应激反应, 为维持免疫稳定, 该亚群细胞能诱导 CD8⁺ 等靶细胞的凋亡, 从而发挥抑制性负调节作用。对于双瓣组 CD3⁺CD4⁻CD8⁻ 的变化规律有待进一步探讨。研究还发现, RHD 患者在 ECC 中免疫细胞存在先降低后回升的趋势, 显示了机体免疫功能受损及损后修复的过程, 与胡金川等^[12]报道一致。

对照组在手术中细胞免疫功能受到了一些影响,可能是全麻药物的作用和手术部位伤害性刺激向中枢传导引起的手术应激反应,但并未发生明显的受抑制现象。与之相比,施行 ECC 的 RHD 组在细胞免疫功能上受到了抑制,特别对于双瓣组的影响更为明显。ECC 时血液长时间接触体外转流装置,机器各部分的阻力以及心内负压吸引等均可大量破坏 T 淋巴细胞;手术失血量和血液有形成分破坏较多,使细胞功能衰退,免疫功能降低;ECC 中低温可加剧手术过程中免疫细胞和免疫活性物质的损害,对患者术后恢复有一定的影响^[13]。本组 RHD 患者 ECC 中采用了浅低温技术,严格控制输血量,缩短 ECC 时间,减轻了机体免疫系统的变化,减少神经系统并发症^[14-15],使术后无感染。有报道应用西咪替丁可减轻 ECC 对细胞因子的干扰,减少手术应激,降低术后感染率^[16],故在围术期强化术后 5 d 内预防感染的综合性措施十分重要。

综上所述,ECC 可使 RHD 患者的细胞免疫功能受到明显的抑制,机体处于暂时的免疫抑制状态。通过了解 ECC 中 T 淋巴细胞水平的变化规律,可探索较好的方法,以减轻细胞免疫功能的损害,维持免疫系统的自稳以及防止术后感染。

参考文献:

- [1] 郭巍,邹承伟,王安彪,等. 西咪替丁对体外循环手术患者免疫功能的保护作用[J]. 中国胸心血管外科临床杂志, 2007, 14 (2): 97-100.
- [2] 张克强. 重症心脏瓣膜病围手术期处理[J]. 河北医药, 2005, 27(3): 186-187.
- [3] 刘美明,于建华,吴树明. 体外循环对机体免疫功能的损害及其防治研究[J]. 中国综合临床, 2007, 23 (2): 153-156.
- [4] Franke A, Lante W, Kurig E, et al. Hyporesponsiveness of T cell subsets after cardiac surgery: a product of altered cell function or merely a result of absolute cell count changes in peripheral blood[J]. Eur J Cardiothorac Surg, 2006, 30(1): 64-71.
- [5] Szabo SJ, Kim ST, Costa GL, et al. A novel transcription factor, T-bet, directs Th1 lineage commitment[J]. Cell,

2000, 100(6): 655-669.

- [6] 叶凤青,林辉. 体外循环对机体细胞免疫功能影响的研究进展[J]. 广西医学, 2007, 29(4): 531-532.
- [7] 洗磊,陈铭伍,雷宾峰,等. 心脏停跳和不停跳体外循环手术对机体细胞免疫的影响[J]. 中国体外循环杂志, 2008, 6(4): 204-206.
- [8] 刘延芹,杨永辉. 体外循环对婴幼儿先天性心脏病单个核免疫细胞功能的影响[J]. 河北医药, 2006, 28(7): 577.
- [9] Sano T, Morita S, Tominaga R, et al. Adaptive immunity is severely impaired by open-heart surgery[J]. Jpn J Thorac Cardiovasc Surg, 2002, 50(5): 201-205.
- [10] 倪海峰,张颖彬. 体外循环对 T 淋巴细胞细胞免疫功能的影响[J]. 中国胸心血管外科临床杂志, 2008, 15(2): 104-107.
- [11] 徐洪军,徐永根,严向明,等. 体外循环心内直视手术对小儿 T 淋巴细胞免疫功能的影响[J]. 江苏医药, 2004, 30 (2): 146.
- [12] 胡金川,田亚平,李佳春,等. 体外循环手术对红细胞 CD35、CD59 及 T 淋巴细胞免疫的影响[J]. 中国体外循环杂志, 2008, 6(4): 210-212.
- [13] Lehle K, Preuner JG, Vogt A, et al. Endothelial cell dysfunction after coronary artery bypass grafting with extracorporeal circulation in patients with type 2 diabetes mellitus[J]. Eur J Cardiothorac Surg, 2007, 32(4): 611-616.
- [14] 唐令凤,杨康,张玉霞,等. 深低温停循环在心血管手术中的应用[J]. 重庆医学, 2004, 33(12): 1763-1764.
- [15] 丁凯,周华富,覃家锦,等. 60 岁以上瓣膜病患者的瓣膜置换术 65 例临床分析[J]. 重庆医学, 2010, 39(13): 1687-1688.
- [16] Tayama E, Hayashida N, Fukunaga S, et al. High-dose cimetidine reduces proinflammatory reaction after cardiac surgery with cardiopulmonary bypass [J]. Ann Thorac Surg, 2001, 72(6): 1945-1949.

(收稿日期: 2011-03-09 修回日期: 2011-08-12)

(上接第 3583 页)

- [5] Parenti A, Leo G, Porzionato A, et al. Expression of survivin, p53, and caspase 3 in Barrett's esophagus carcinogenesis[J]. Hum Pathol, 2006, 37(1): 16-22.
- [6] Mita AC, Mita MM, Nawrocki ST, et al. Survivin: key regulator of mitosis and apoptosis and novel target for cancer therapeutics[J]. Clin Cancer Res, 2008, 14 (16): 5000-5005.
- [7] 刘集鸿,李旭艳,钟选芳,等. 实时荧光定量聚合酶链反应检测大肠癌生存素基因[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31 (7): 634-438.
- [8] Moriai R, Asanuma K, Kobayashi D, et al. Quantitative analysis of the anti-apoptotic gene survivin expression in malignant haematopoietic cells[J]. Anticancer Res, 2001, 21(1B): 595-600.

- [9] Mehes G, Witt A, Kubista E, et al. Circulating breast cancer cells are frequently apoptotic[J]. Am J Pathol, 2001, 159(1): 17-20.
- [10] Yie SM, Lou B, Ye SR, et al. Detection of survivin-expressing circulating cancer cells (CCCs) in peripheral blood of patients with gastric and colorectal cancer reveals high risks of relapse[J]. Ann Surg Oncol, 2008, 15 (11): 3073-3082.
- [11] Yie SM, Luo B, Ye NY, et al. Detection of Survivin-expressing circulating cancer cells in the peripheral blood of breast cancer patients by a RT-PCR ELISA[J]. Clin Exp Metastasis, 2006; 23(5/6): 279-89.

(收稿日期: 2011-03-09 修回日期: 2011-07-15)