

· 临床论著 ·

针药复合麻醉对心内直视手术患者
免疫功能变化的影响^{*}

R24 A

杨庆国¹ 杭燕南² 孙大金² 陈锡明³ 王祥瑞² 许灿然² 姚建玲²

摘要 目的:观察电针对体外循环心内直视手术患者免疫功能的影响,并对针药复合麻醉用于心内直视手术予以评价。方法:选择心房间隔缺损修补术患者 30 例,分全麻组(A组)、针麻组(B组)和全麻复合电针麻醉组(C组)。分别于麻醉前、转流前、停转流后 30min 和术后 24h 采集外周静脉血,测定自然杀伤细胞活性(NKCA)和细胞培养上清液中干扰素- γ (IFN- γ)、白细胞介素-2(IL-2)的水平。结果:NKCA 于转流前 A 组明显降低;B 组却明显升高,且明显高于 A 组和 C 组;C 组无明显变化。停转流后,3 组均明显下降,B 组明显低于 A 组。术后 24h,各组进一步降低,C 组明显高于 B 组。IFN- γ 和 IL-2 水平于停转流后 3 组均降低;术后 24h,各组进一步显著降低,但 C 组明显高于 B 组。结论:电针可增强 NKCA,但针麻不能改善体外循环引起的 NKCA、IL-2、IFN- γ 抑制,提示应激性免疫抑制作用具优势效应。全麻复合电针亦不能完全改善体外循环引起的 NKCA、IL-2、IFN- γ 抑制,但要优于单纯全麻和针麻,提示全麻复合电针对应激反应的良好控制可部分改善体外循环引起的免疫功能抑制。

关键词 电针 心内直视手术 自然杀伤细胞活性 干扰素- γ 白细胞介素-2

Effect of Acupuncture-Drug Compound Anesthesia on Alteration of Immune Function in Patients Undergoing Open-heart Surgery YANG Qing-guo, HANG Yan-nan, SUN Da-jin, et al *Department of Anesthesia, Beijing Jishuitan Hospital, Beijing (100035)*

Objective: To observe the effect of electro-acupuncture (EA) on alteration of immune function of patients undergoing open-heart surgery with cardiopulmonary bypass (CPB), and to appraise the value of acupuncture-drug compound anesthesia in the operation. **Methods:** Thirty patients undergoing atrial septal defect repairing operation were selected and divided into three groups, Group A was the general anesthesia group; Group B, the acupuncture anesthesia group and Group C, the general anesthesia plus EA group. Peripheral venous blood of patients was collected at different time points, i. e. before anesthesia, before CPB, 30 min and 24 hrs after CPB, to determine natural killer cells activity (NKCA), and the levels of interferon- γ (IFN- γ) and interleukin-2 (IL-2) in supernatant of cell culture were also tested. **Results:** NKCA was significantly lowered in Group A before CPB but increased in Group B, while no evident change was found in Group C, so the level of NKCA in Group B was significantly higher than in the other two groups. It lowered in all the three groups after CPB, especially evidently in Group B, so as to cause the NKCA level in Group B lower than that in Group A. The lowering further progressed, 24 hrs after CPB, NKCA in Group B was more reduced than that in Group C. Levels of IFN- γ and IL-2 lowered in all the three groups after CPB, and further lowered at time point of 24 hrs after CPB, but the parameters in Group C were significantly higher than those in Group B. **Conclusion:** EA could enhance NKCA, but acupuncture anesthesia couldn't inhibit the suppressive effect of CPB on NKCA, IL-2 and IFN- γ , suggesting that the immunosuppression induced by stress has a prior effect. General anesthesia plus EA yielded better effect than general anesthesia and acupuncture anesthesia, but it couldn't improve the immunosuppression completely, indicating that the compound anesthesia could partially improve the immunosuppression induced by

^{*}“九五”国家重点科技项目基金资助(No. 96-906-11-01)

1. 北京积水潭医院麻醉科(北京 100035); 2. 上海第二医科大学附属仁济医院麻醉科; 3. 上海儿童医学中心麻醉科

通讯作者:杨庆国, Tel: 13910504685, E-mail: yang_qingguo@hotmail.com

CPB.

Key words electroacupuncture, open-heart surgery, natural killer cell activity, interferon- γ , interleukin-2

早已证明,大手术可引起广泛的生理和免疫学改变。心内直视手术(open-heart surgery, OHS)后,免疫功能抑制非常明显,自然杀伤细胞活性(natural killer cell activity, NKCA)、外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC)释放的白细胞介素-2(IL-2)和干扰素- γ (IFN- γ)降低^[1,2]。上述变化可能与术后感染等并发症密切相关。一些学者经多年的研究证明,针刺对免疫功能有调理作用,可增强 NKCA 和 IFN- γ 、IL-2 的分泌^[3,4]。目前,在针刺条件下 OHS 患者的免疫功能变化尚未见报道。本研究旨在观察全麻、针麻、全麻复合电针麻醉条件下 NKCA、IFN- γ 、IL-2 的改变,从免疫学角度对针药复合麻醉用于 OHS 予以评价。

临床资料

选择心房间隔缺损修补术患者 30 例,按美国麻醉医师协会体格状况分级为 I ~ II 级,术前血生化和凝血功能检查正常,无明显感染、恶性病变、内分泌及免疫系统疾病,按试验设计方法分 3 组,即全麻组(A 组)、针麻组(B 组)和全麻复合电针麻醉组(C 组)。其中 A 组 10 例,男 3 例,女 7 例;年龄 19~55 岁,平均(31.80 ± 11.50)岁;体重(51.65 ± 7.04)kg;手术时间(57.00 ± 25.33)min。B 组 10 例,男 3 例,女 7 例;其中 1 例患者因针麻失败而被剔除;年龄 19~43 岁,平均(25.00 ± 4.51)岁;体重(49.14 ± 4.89)kg;手术时间(51.71 ± 7.36)min。C 组 10 例,男 4 例,女 6 例;年龄 23~48 岁,平均(31.25 ± 7.61)岁;体重(52.25 ± 6.87)kg;手术时间(54.00 ± 13.61)min。3 组资料比较,差异无显著性($P > 0.05$)。

方 法

1 麻醉方法

1.1 A 组 (1)术前用药:术前肌肉注射苯巴比妥钠 0.06~0.1g,哌替啶 40~50mg,东莨菪碱 0.2~0.3mg;(2)麻醉诱导:咪达唑仑 0.05mg/kg,异丙酚 0.5~1mg/kg,芬太尼 4~6 μ g/kg,维库溴铵 0.1mg/kg,气管内插管;(3)麻醉维持:芬太尼、维库溴铵的追加剂量分别为 2 μ g/kg 和 0.05mg/kg,麻醉深度不足时可补充吸入地氟醚或静脉推注氟哌利多。

1.2 B 组 (1)术前用药同全麻组;(2)麻醉实施依据许灿然等^[5]的针麻 OHS 规范化方法进行。针

刺穴位取双侧内关、列缺和云门,进针后接 G6805 型针麻仪(上海医疗器械八厂生产)通电刺激,选连续脉冲电刺激,波宽 0.5~2.0ms 双相尖波,频率 3~4Hz,强度根据患者感觉和手术步骤加以调节,电针诱导 20min 后开始手术。体外循环(cardiopulmonary bypass, CPB)肝素化时,留针但停止电刺激,待鱼精蛋白中和后恢复电刺激;(3)辅助措施:切皮前 10min 静脉推注氟哌利多 50 μ g/kg、芬太尼 1 μ g/kg。切皮前和缝皮时用 0.25%利多卡因(含 1/40 万 U 肾上腺素)局部浸润,总量为 1~2mg/kg。电锯胸骨及关闭胸骨时酌情追加芬太尼。

1.3 C 组 电针诱导 20min 后,行全麻诱导,气管内插管。全麻方法同 A 组,电针刺激方法同 B 组。3 组患者分别于麻醉前、转流前、停转流后 30min、术后 24h 无菌采集外周静脉血 10ml,测定以下指标。

2 观察项目及检测方法

2.1 NKCA 测定 采用乳酸脱氢酶释放法,即:

(1)效应细胞制备:用淋巴细胞分层液分离 PBMC,吸出分离界面中的 PBMC 层,磷酸盐缓冲液洗涤两次,用含 15% 新生牛血清的 RPMI-1640 培养液悬浮,计数后调整浓度至 1×10^7 /ml。(2)靶细胞制备:取经 24h 培养的 K562 细胞,用完全 RPMI-1640 培养液洗涤 3 次,重悬后计数,调整细胞浓度至 1×10^5 /ml。(3)效-靶细胞作用:将效应细胞和靶细胞各 100 μ l(效/靶 = 100:1)加入 48 孔细胞培养板,每份标本设 3 复孔,同时设靶细胞自然释放对照孔和最大释放对照孔(100 μ l 靶细胞加 100 μ l 的 1% NP-40 液),低速离心 1000r/min,2min 后置 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 温箱中孵育 2h。(4)酶促反应:取出培养板,吸取各孔上清 100 μ l 加于另一培养板孔中,置 37 $^{\circ}$ C 预温 10min,每孔加入新鲜置备的底物溶液 100 μ l,室温避光反应 10~15min,每孔加入 1mol/L 柠檬酸终止液 30 μ l,终止酶促反应。用酶联检测仪在 570nm 波长下读取各孔 OD 值,并计算 NKCA。

2.2 IFN- γ 、IL-2 测定 采用酶联免疫吸附法。取 24 孔细胞培养板,每个样品设 2 个复孔,每孔加 1×10^7 /ml 的 PBMC 悬液 100 μ l、完全 RPMI-1640 培养液 900 μ l、植物血凝素(PHA)-P 100 μ g,混匀,置 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 条件下培养 48h。吸出培养上清,2 000r/min 离心 20min,收集上清, -70 $^{\circ}$ C 冻存。分别用 IL-2 和 IFN- γ 酶联免疫吸附分析试剂盒(深圳晶美生物工程

有限公司)测定上述冻存上清液中的 IL-2 和 IFN- γ 水平。

3 统计学方法 应用 SPSS 10.0 统计学软件,组内及组间均数的比较采用 One-way ANOVA 的子集 Least significant difference 法(方差具有齐性时采用)和 Tamhanes T2 法(方差不具有齐性时采用)。

结 果

1 NKCA 的变化 见表 1。麻醉前, NKCA 各组间差异无显著性($P=0.368$)。与麻醉前比较, 转流前, A 组明显降低($P<0.05$); B 组显著升高($P<0.01$), 且明显高于 A 组($P<0.01$)和 C 组($P<0.01$); C 组无明显变化($P=0.997$)。停转流后 30min 3 组均明显下降(均 $P<0.01$), 且 B 组明显低于 A 组($P<0.05$)。术后 24h, 各组进一步降低(均 $P<0.01$), C 组明显高于 B 组($P<0.05$)。

2 PHA-P 刺激的 PBMC 培养上清液中 IFN- γ 的变化 见表 1。麻醉前, IFN- γ 水平各组间差异无显著性($P=0.368$)。与麻醉前比较, 转流前各组差异也无显著性。停转流后 30min, 3 组均降低, 但仅 A 组差异有显著性($P<0.05$)。术后 24h, 各组进一步降低, A 组和 B 组差异均有显著性(均 $P<0.01$), C 组差异无显著性($P>0.05$), 但 C 组明显高于 A 组和 B 组(均 $P<0.01$)。

3 PHA-P 刺激的 PBMC 培养上清液中 IL-2 的变化 见表 1。麻醉前, IL-2 水平各组间差异无显著性($P>0.05$)。与麻醉前比较, 转流前和停转流后 30min 均无明显变化。术后 24h, 各组均显著下降(均 $P<0.01$), 但 C 组明显高于 B 组($P<0.05$)。

讨 论

自然杀伤(NK)细胞的主要功能是清除病毒或细

菌感染的细胞及肿瘤细胞, 反映机体非特异性免疫功能水平。IL-2 主要由 Th₁ 细胞产生, 是免疫上调因子, 可刺激 T 和 B 细胞增殖, 刺激活性 T 细胞分泌 IFN- γ 等, 增强细胞毒 T 细胞和 NKCA。IFN- γ 主要由活化的 T 细胞和 NK 细胞产生, 有增强 NKCA 作用。可见, IL-2、IFN- γ 和 NK 细胞之间是一个相互调节的网络, NKCA 强弱和 IL-2、IFN- γ 的分泌水平反映了免疫功能状态。手术患者, 尤其是 OHS 患者的免疫功能术后往往表现为抑制。Nguyen DM 等^[1]发现 OHS 后第 1 天和第 3 天 NKCA 分别由 CPB 前的 $(36.1 \pm 2.6)\%$ 降至 $(20.3 \pm 2.6)\%$ 和 $(19.0 \pm 3.0)\%$ 。Naldini A 等^[2,6]观察到 IL-2 和 IFN- γ 在 CPB 结束时和术后 24h 均降低。本研究 A 组所得结果与上述报道大致相符。

多年研究证明针灸人体某些腧穴, 如足三里、内关、合谷等可提高机体免疫功能^[3,7,8]。电针足三里等穴位可使 NKCA 增强, IL-2、IFN- γ 分泌增加^[3,9,10]。本研究观察到 3 组患者转流后 NKCA 均明显下降, 术后 24h 进一步降低, 且 B 组降低更明显。但这并不表明针刺没有调节 NKCA 作用, 因本研究同时也观察到 B 组于转流前 NCKA 明显增强, 且明显高于 A 组和 C 组。提示在无 CPB 条件下, 即应激反应不强烈时针刺的提高 NKCA 作用是显著的, 当经过 CPB 后针刺的调节 NKCA 作用被强烈的应激性免疫抑制作用所掩盖。我们既往的研究已经证明针麻或全麻对 OHS 患者的应激反应无明显抑制作用^[11,12], 升高的 β -内啡肽、促肾上腺皮质激素、皮质醇等对免疫功能可产生明显抑制作用^[13,14], 而全麻复合电针能够很好地抑制应激反应, 从而减少免疫抑制, 这可能是本研究中观察到术后 24h C 组 NKCA、IL-2、IFN- γ 水平略高于 A 组和 B 组的原因。但是, C 组的免疫抑制并没有因为其对应激反应的良好控制而完全改善, 提示还存在其他免疫

表 1 各组 NKCA 和细胞培养上清液中 IFN- γ 、IL-2 的变化比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数		NKCA(%)	IFN- γ (ng/L)	IL-2(ng/L)
A	10	麻醉前	42.85 $\pm$ 4.51	2273 $\pm$ 773	315 $\pm$ 29
		转流前	38.45 $\pm$ 4.01 * $\Delta\Delta$	2358 $\pm$ 810	322 $\pm$ 18
		停转流后 30min	24.15 $\pm$ 4.47 ** Δ	1485 $\pm$ 561 *	310 $\pm$ 19
		术后 24h	8.55 $\pm$ 4.78 **	989 $\pm$ 421 ** $\blacktriangle$	187 $\pm$ 48 **
B	9	麻醉前	40.47 $\pm$ 2.95	2133 $\pm$ 962	307 $\pm$ 22
		转流前	51.66 $\pm$ 1.09 **	2087 $\pm$ 817	310 $\pm$ 22
		停转流后 30min	19.92 $\pm$ 3.57 **	1558 $\pm$ 423	293 $\pm$ 45
		术后 24h	5.76 $\pm$ 2.19 **	1114 $\pm$ 414 **	161 $\pm$ 57 **
C	10	麻醉前	41.69 $\pm$ 3.01	2402 $\pm$ 735	320 $\pm$ 25
		转流前	41.08 $\pm$ 2.28 $\Delta\Delta$	2298 $\pm$ 939	311 $\pm$ 18
		停转流后 30min	23.35 $\pm$ 4.83 **	1867 $\pm$ 774	317 $\pm$ 18
		术后 24h	9.74 $\pm$ 2.22 ** Δ	1760 $\pm$ 609 $\Delta\Delta$	229 $\pm$ 60 ** Δ

注:与本组麻醉前比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$;与 B 组同期比较, $\Delta P<0.05$, $\Delta\Delta P<0.01$;与 C 组同期比较, $\blacktriangle P<0.01$

抑制因素。

针刺调节免疫功能的机制尚不十分清楚,现普遍认为与针刺激活内源性阿片系统有关。赵续民等^[15]外周应用长效阿片受体阻断药纳屈酮,可阻断电针提高 T 淋巴细胞转化率和 IL-2 含量的效应。Yu Y 等^[4]针刺鼠的足三里穴可提高脾脏中 NKCA 和 β -内啡肽、IFN- γ 水平,如果用鼠的 IFN- γ 单克隆抗体作针刺前预处理,则可消除针刺的增强 NKCA 效应;如果用阿片受体拮抗药纳洛酮作针刺前预处理,则可降低 IFN- γ 的升高水平和 NKCA 的增强效应。提示内源性阿片肽在针刺调节免疫功能的机制中起重要作用。

总之,本研究结果提示手术应激性免疫抑制作用强于针麻的免疫调理作用。全麻复合电针麻醉对应激反应的良好控制可部分改善 CPB 引起的免疫功能抑制。

参 考 文 献

- 1 Nguyen DM, Mulder DS, Shennib H. Effect of cardiopulmonary bypass on circulating lymphocyte function. *Ann Thorac Surg* 1992;53:611—616.
- 2 Naldini A, Borrelli E, Cesari S, et al. In vitro cytokine production and T-cell proliferation in patients undergoing cardiopulmonary bypass. *Cytokine* 1995;7:920:165—170.
- 3 Yu Y, Kasahara T, Sato T, et al. Enhancement of splenic interferon-gamma, interleukin-2, and NK cytotoxicity by S36 acupoint acupuncture in F344 rats. *Japanese Journal of Physiology* 1997;47(2):173—178.
- 4 Yu Y, Kasahara T, Sato T, et al. Role of endogenous interferon-gamma on the enhancement of splenic NK cell activity by electroacupuncture stimulation in mice. *J Neuroimmunol* 1998;90(2):176—186.
- 5 许灿然,孙大金,姚建玲,等.针麻体外循环心内直视术规范化的研究. *中国针灸* 1991;11(4):24—27.
- 6 Naldini A, Borrelli E, Carraro F, et al. Interleukin 10 production in patients undergoing cardiopulmonary bypass: evidence of inhibition of Th-1-type responses. *Cytokine* 1999;11(1):74—79.
- 7 吴 滨,周容兴,周鸣生,等.针刺治疗对恶性肿瘤患者细胞免疫调节的影响. *针刺研究* 1995;20(3):67—71.
- 8 Cheng XD, Wu GC, He QZ, et al. Effect of continued electroacupuncture on induction of interleukin-2 production of spleen lymphocytes from the injured rats. *Acupunct Electrother Res* 1997;22(1):1—8.
- 9 马振亚,王益民,范青生.针刺对肾虚动物 IL-2-IFN-NKC 免疫调节网的影响. *针刺研究* 1992;17(2):139—142.
- 10 吴 滨,周容兴,周鸣生,等.针刺对恶性肿瘤患者外周血白介素-2 含量及自然杀伤细胞活性的影响. *中国中西医结合杂志* 1994;14(9):537—539.
- 11 Yang Qingguo, Hang Yannan, Sun Dajin, et al. Effects of electroacupuncture on plasma catecholamine and angiotensin II in open heart surgical patients undergoing cardiopulmonary bypass. *World J Acup Mox* 2001;11(1):5—8.
- 12 杨庆国,杭燕南,孙大金,等.针药复合麻醉对心内直视手术患者下丘脑-垂体-肾上腺皮质轴反应和糖代谢的影响. *中国中西医结合杂志* 2001;21(10):729—731.
- 13 Shavit Y, Terman GW, Martin RC, et al. Stress, opioid peptides, the immune system and cancer. *Journal of Immunology* 1985;135:834s—837s.
- 14 刘文琴,赵续民,赵建础,等.肾上腺皮质系统在电针调节免疫反应中的作用. *针刺研究* 1996;21(2):71.
- 15 赵续民,刘文琴,赵建础,等.纳屈酮对电针调节整体免疫反应的影响. *针刺研究* 1995;20(4):39.

(收稿:2003-05-07 修回:2003-09-03)

第二次国际中西医结合肿瘤学术会议征文通知

根据中国中西医结合学会 2004 年学术活动计划安排,中国中西医结合学会肿瘤专业委员会定于 2004 年 9 月在广州召开第二次国际中西医结合肿瘤学术会议,现将有关征文事宜通知如下。

征文内容:(1)就新世纪国际中医、中西医结合肿瘤研究及发展方向进行相关论证;(2)中西医结合、中医药防治肿瘤实验研究、临床研究;(3)中西医结合、中医防治肿瘤疗效评价、新方法、新药物及新进展;(4)中西医结合、中医防治肿瘤放、化疗反应研究;(5)其他中西医结合、中医防治肿瘤有效单方、验方、单药研究等。

征文要求:(1)来稿应实事求是,科学性强,并附单位介绍信或单位盖章。(2)寄全文(4 000 字以内)1 份,摘要(800 字)1 份,摘要应用目的、方法、结果、结论顺序表达,无摘要者恕不录用,附软盘一张;(3)来稿务必写清作者姓名、单位、邮政编码,字迹工整,请自留底稿,来稿一律不退;(4)截稿日期:2004 年 6 月 31 日(以邮戳为准)。

征文送交地点:510120 广州市大德路 111 号,广东省中医院徐凯收,或 E-mail: xukaiguangngzhou@263.net。也可寄 100053 北京市宣武区北线阁 5 号,中国中医研究院广安门医院肿瘤科花宝金收,信封上请注明“肿瘤会议征文”,或 E-mail: huahaojin@sohu.com。