论著

文章编号:1000-5404(2005)08-0770-03

腹腔镜直肠癌根治性切除术对中性粒细胞呼吸暴发功能的影响

吴劲松,刘宝华,刘 韧,张连阳,林 静 (第三军医大学大坪医院野战外科研究所普通外科,重庆 400042)

提 要:目的 探讨腹腔镜及开腹手术后,二者中性粒细胞呼吸暴发(respiratory burst)功能的变化,了解腹腔镜手术对中性粒细胞杀菌功能的影响。**方法** 选取"直肠恶性肿瘤"患者20例,随机分为两组各10例,腹腔镜组(Laparoscopy)行经腹腔镜直肠癌根治性切除术,开腹组(Open)行开腹直肠癌根治性切除术作为对照。于术前、术后即刻、术后24 h及72 h,抽取外周静脉血,行血常规检查,并分离中性粒细胞,经佛波酯(PMA)刺激后,用流式细胞仪检测呼吸暴发强度。**结果** 腹腔镜直肠癌根治性切除术后,患者白细胞总数及中性粒细胞升高幅度及呼吸暴发强度在术后24及72 h明显低于开腹直肠癌根治性切除术后($P<0.05$)。**结论** 腹腔镜直肠癌根治性切除术后,中性粒细胞杀菌功能低于开腹直肠癌根治性切除术后。

关键词:腹腔镜;直肠癌根治术;中性粒细胞;呼吸暴发

中图法分类号:R392.1;R656;R735.37 **文献标识码**:A

Effects of radical laparoscopic proctectomy for rectal carcinoma on neutrophil respiratory burst

WU Jin-song, LIU Bao-hua, ZHANG Lian-yang, LIN Jing (Department of General Surgery, Institute of Surgery Research, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400042, China)

Abstract: Objective To evaluate the effects of radical laparoscopic proctectomy for rectal cancer on neutrophil respiratory burst as compared with open proctectomy for rectal cancer. **Methods** Twenty patients scheduled for radical resection of rectal carcinoma were randomly assigned to undergo either a laparoscopic or conventional procedure. Heparinized peripheral blood samples were collected preoperatively, at 2 h, 24 h and 72 h after surgery and processed within 1 h. The total leucocyte and neutrophil count were evaluated. The PMA-stimulated neutrophil oxidative burst capacity was quantified by flow cytometry. **Results** An increase in overall peripheral leucocyte and neutrophil count following open and laparoscopic procedures was observed, but the former was more significant than the later ($P<0.05$). The neutrophil oxidative burst capacity was significantly lower at 24 and 72 h after laparoscopic procedures, but not open procedures ($P<0.01$). **Conclusion** Reduced respiratory burst activity after laparoscopic proctectomy for rectal cancer was associated with impaired ability to kill bacteria and increased susceptibility to infectious diseases.

Keywords: laparoscopy; radical proctectomy for rectal cancer; neutrophil; respiratory burst

腹腔镜手术近10多年来在外科领域得到了广泛的应用。腹腔镜手术较开腹手术给患者带来的好处已有较多的文献报道,如术后疼痛较轻、缩短住院时间、出现切口疝的可能性大为减小、对术后外观的改善、以及能使患者在更短时间内重返工作岗位[1]等。目前的研究表明[2],腹腔镜手术能较传统开腹手术更好的保留全身免疫功能,降低炎性反应所造成的损伤。中性粒细胞在防御感染的过程中起着核心的作用,而目前针对腹腔镜术后中性粒细胞功能变化的研究较少,本实验主要观察腹腔镜及开腹手术后,二者中性粒细胞呼吸暴发功能的变化,探讨腹腔镜手术对中性粒细胞呼吸暴发功能的影响。

1 材料与方法

1.1 临床资料

我们自2004年8~12月,选取在我院住院的直肠癌患者20例,其中男性12例,女性8例,年龄34~74岁,平均54岁。均

作者简介:吴劲松(1976-),男,重庆市人,硕士研究生,医师,主要从事腹腔镜对免疫功能的影响方面的研究,现在石家庄白求恩国际和平医院普通外科。电话:(0311)7978347,E-mail: wujs1995@yahoo.com

通讯作者:刘宝华,电话:(023)68757248

收稿日期:2005-02-14;修回日期:2005-04-03

经结肠镜检查及病理活检诊断为“直肠恶性肿瘤”。排除有以下情况者：①直肠癌合并其他脏器转移；②直大肠癌引起肠梗阻，行急诊手术者；③合并糖尿病、乙型肝炎、肝脏功能不全、严重心肺疾病等；④半月内曾服用甾体或非甾体类消炎药、免疫抑制类药物的；⑤治疗期间输过血的患者；⑥术前行放疗或化疗者；⑦直肠恶性肿瘤复发行两次手术，或既往有大肠手术史者；⑧行直肠癌姑息性切除术的。

1.2　方法

1.2.1　手术方法　　将 20 例患者按随机数字表法分为两组，每组 10 例。腹腔镜组(laparoscopy)行经腹腔镜直肠癌根治性切除术，开腹组(open)行开腹直肠癌根治性切除术作为对照。

1.2.2　标本采集　　腹腔镜组及开腹组均于手术前、后即刻、术后 24、72 h 抽取外周静脉血 5 ml，给予 3.8% 柠檬酸钠抗凝。

腹腔镜组及开腹组均于手术前、术后即刻、术后 24、72 h 抽取外周静脉血行血常规检查，记录白细胞总数及中性粒细胞总数。

1.2.3　中性粒细胞分离、纯化方法　　应用 HISTOPAQUE-1119 与 1077 细胞分离液(Sigma)。首先在离心管中加入 1119，然后缓缓加入 1077，再缓缓加入血液，互相之间形成清晰的液面。700 × g 离心 30 min，液体分为 6 层，红细胞位于离心管的最底部，粒细胞位于 1119 和 1077 之间，单个核细胞在 1077 和血浆中间。回收中性粒细胞洗涤 3 次，用于以后的实验。用氯化胺溶血剂溶解红细胞，调细胞数为 1×10^6/ml。

1.2.4　中性粒细胞呼吸暴发检测方法　　参照文献[3]取 80 μl PMN 悬液加 20 μl DHR 123(10 μmol/L)，37 ℃孵育 5 min。加 PMA(500 nmol/L)2 μl 刺激 10 min。流式细胞仪单通道检测 10 000个细胞。激发波长 488 nm，发射波长 510 ~ 550 nm，记录荧光强度。

1.3　统计学处理

所得数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示，采用 SPSS 10.0 统计软件，行双因素方差分析，对各组呼吸暴发自身对照采用单因素方差分析。

2　结果

2.1　白细胞及中性粒细胞总数的变化

患者术后白细胞总数较术前明显增高，腹腔镜组各时相点增高幅度明显低于开腹组($P < 0.05$)，特别是术后 24、72 h 更是显著低于开腹组($P < 0.01$)(表 1)。腹腔镜组各时相点中性粒细胞总数增高幅度亦较开腹组低($P < 0.05$)，术后 24、72 h 明显低于开腹组($P < 0.01$)，见表 2。

表 1　腹腔镜直肠癌根治性切除术对白细胞总数的影响($n = 10$, $\bar{x} \pm s$, 1×10^6/ml)

Tab 1　Changes of white blood cell count after radical laparoscopic and open proctectomy for rectal carcinoma($n = 10$, $\bar{x} \pm s$, 1×10^6/ml)

Group	Preoperation	Postoperation		
		Immediately	24 h	72 h
Open	6.27 ± 1.201	10.82 ± 0.569	15.13 ± 0.835	10.53 ± 0.563
Laparoscopy	5.72 ± 0.821	9.97 ± 0.730*	13.29 ± 1.013**	7.84 ± 0.656**

*：$P < 0.05$，**：$P < 0.01$，*vs* Open

表 2　腹腔镜直肠癌根治性切除术对中性粒细胞总数的影响($n = 10$, $\bar{x} \pm s$, 1×10^6/ml)

Tab 2　Changes of neutrophil count after radical laparoscopic and open proctectomy for rectal carcinoma ($n = 10$, $\bar{x} \pm s$, 1×10^6/ml)

Group	Preoperation	Postoperation		
		Immediately	24 h	72 h
Open	3.598 ± 0.252	9.047 ± 0.337	13.996 ± 0.266	7.683 ± 0.195
Laparoscopy	3.397 ± 0.152	8.014 ± 0.296*	11.854 ± 0.378**	5.633 ± 0.187**

*：$P < 0.05$，**：$P < 0.01$，*vs* Open

2.2　中性粒细胞呼吸暴发的变化

在术后即刻，腹腔镜组中性粒细胞呼吸暴发强度与开腹组无显著性差异($P > 0.05$)，而术后 24、72 h 呼吸暴发强度则明显低于开腹组($P < 0.01$)(表 3)。

表 3　腹腔镜直肠癌根治性切除术对中性粒细胞呼吸暴发强度的影响($n = 10$, $\bar{x} \pm s$)

Tab 3　Changes of neutrophil oxidative burst capacity after radical laparoscopic and open proctectomy for rectal carcinoma ($n = 10$, $\bar{x} \pm s$)

Group	Preoperation	Postoperation		
		Immediately	24 h	72 h
Open	118.421 ± 8.320	117.501 ± 10.112	134.164 ± 7.415	127.047 ± 6.323
Laparoscopy	125.588 ± 4.306	108.265 ± 4.609	104.267 ± 4.294*	100.745 ± 5.578*

*：$P < 0.01$，*vs* Open

3　讨论

腹腔镜技术的应用是近 10 多年来外科领域的一个里程碑式的进展。自 1989 年 Mouret 进行首例腹腔镜胆囊切除术以来，此项技术很快得到了迅猛的发展，被广泛应用于外科的各个领域。1991 年腹腔镜被应用于大肠外科，如大肠的非癌性疾病，例如炎性疾病、良性肿瘤、憩室、慢传输性便秘等[4]。而后开始使用于早期或晚期癌肿的切除。腹腔镜手术在恶性肿瘤的治疗中，其手术切除范围和在彻底性上与开腹手术并无显著性差异。Lord、Milsom 等[5,6]的研究认为腹腔镜下大肠癌的切除是彻底的。

中性粒细胞是人体抵御外来微生物入侵的第一道防线，是固有性免疫系统中重要的效应细胞。它可借助 Fc 受体及补体受体通过吞噬、脱颗粒、抗体介导的细胞依赖的细胞毒作用(ADCC)发挥其杀伤功能。在激活状态下，中性粒细胞还能产生大量的超氧阴离子和活性氧(reactive oxygen species，ROS)，这些分子具有很高的反应性，可以与细菌的细胞膜、核酸分子及蛋白质发生氧化还原反应，造成微生物的损伤和死亡[7]。此外，ROS 还可上调一些细胞因子及粘附分子如 TNF-α、IL-1、ICAM-1 的表达水平，放大炎症效应。由于该过程中性粒细胞的耗氧量激增，可达正常消耗量的

2~20倍,因此又称该反应为呼吸暴发[8]。

Mealy等[9]的研究表明,开腹手术后,白细胞总数及中性粒细胞均会显著增高,而且增高幅度明显高于腹腔镜手术。本实验的结果亦显示,腹腔镜直肠癌根治性切除术后,白细胞总数及中性粒细胞增高幅度在术后各时相点均显著低于开腹直肠癌根治行切除术后($P<0.05$),而且在术后72 h,腹腔镜组白细胞总数及中性粒细胞均恢复到术前的正常水平,而开腹组仍明显高于术前水平。造成这一现象的原因主要是开腹手术过程中,对机体的刺激和创伤明显大于腹腔镜手术。

Johnston[10]认为中性粒细胞呼吸暴发功能的抑制会导致杀菌功能减弱,从而伴随感染性疾病发生的可能性增加。本实验中,在腹腔镜术后,中性粒细胞呼吸暴发强度均低于术前,其中术后24、72 h仍明显低于术前($P<0.01$),而开腹手术后,中性粒细胞呼吸暴发的强度与术前相比轻度增高。因此,腹腔镜术后,尽管ROS上调TNF-α、IL-1、ICAM-1等炎性因子表达水平的效应减弱,有助于减轻术后炎性损伤,但是中性粒细胞杀菌功能明显低于开腹手术后,导致术后感染的可能性增加。中性粒细胞呼吸暴发强度在腹腔镜术后减弱的原因可能有:①腹腔镜手术的切口小,手术过程中对腹腔内脏器的刺激轻,所以术后患者全身反应小;②目前腹腔镜手术多以CO_2作为气腹介质,术中长时间的腹腔内高CO_2浓度,使通过腹腔内吸收了超过正常水平的CO_2,导致外周血CO_2分压增高,氧分压下降,而中性粒细胞呼吸暴发过程中需要正常消耗量的2~20倍的O_2,所以呼吸暴发强度较术前及开腹手术后减弱。

Targarona等[11]报道,开腹手术后,约2%~7%的患者出现感染性并发症。腹腔镜手术由于其自身的优势,如小切口、对机体干扰小、创伤小等,发生感染的可能性要小于开腹手术。但是由于腹腔镜手术对中性粒细胞呼吸暴发功能的抑制、术后白细胞及中性粒细胞总数低于开腹手术后,患者自身抗感染能力若于行开腹手术的患者,所以我们认为,腹腔镜手术后,有力的抗感染治疗是必须的。

参考文献:

[1] Chang L, Sinanan M N. Infections after laparoscopy[J]. Curr Treat Opti Infect Dis, 2002, 4(5): 389-393.

[2] Holub Z. Impact of laparoscopic surgery on immune function[J]. Clin Exp Obstet Gynecol, 2002, 29(2): 77-81.

[3] Smith J A, Werdemann M J. Further characterization of the neutrophil oxidative burst by flow cytometry[J]. J Immonol Methods, 1993, 162(2): 261-268.

[4] 梁建华, 谢玲瑛, 何 超, 等. 大肠癌的腹腔镜外科进展[J]. 国外医学肿瘤学分册, 2003, 30(3): 228-230.

[5] Lord S A, Larach S W, Ferrara A, *et al*. Laparoscopic resections for colorectal carcinoma. A three-year experience[J]. Dis Colon Rectum, 1996, 39(2): 148-154.

[6] Milsom J W, Bohm B, Hammerhofer K A, *et al*. A prospective, randomized trial comparing laparoscopic versus conventional techniques in colorectal cancer surgery: a preliminary report[J]. J Am Coll Surg, 1998, 187(1): 46-55.

[7] WitkoSarsat V, Rieu P, Descamps2Latscha B, *et al*. Neutrophils: molecules, functions and pathophysiological aspects[J]. Lab Invest, 2000, 80(5): 617-653.

[8] 邢宇坤, 张 伟. 中性粒细胞呼吸爆发的产生机制及其炎症效应[J]. 基础医学与临床, 2004, 24(1): 1-6.

[9] Mealy K, Gallagher H, Barry M, *et al*. Physiological and metabolic response to open and laparoscopic cholecystectomy[J]. Br J Surg, 1992, 79(10): 1061-1064.

[10] Johnston R B Jr. Clinical aspects of chronic granulomatous disease[J]. Curr Opin Hematol, 2001, 8(1): 17-22.

[11] Targarona E M, Garau J, MunozRamos C, *et al*. Singledose antibiotic prophylaxis in patients at high risk for infection in biliary surgery: a prospective and randomized study comparing cefonicid with mezlocillin[J]. Surgery, 1990, 107(3): 327-334.

(编辑 薛国文)

(上接769页)

2 治疗及预后

治疗上目前尚无特别有效的方法,主要采用肾上腺皮质激素和免疫抑制剂[3]。对有孤立的骨髓瘤行手术切除、放疗及化疗。皮质激素短期疗效肯定,国外推荐泼尼松剂量是30~60 mg/d,但停药和减量后易复发。本组患者泼尼松用量为15~60 mg/d,治疗过程中病情均有不同程度反复,因此,关于药物治疗的疗程长短尚需进一步探索。也有1例报道造血干细胞移植对该综合征有效[4],但尚无远期疗效和大样本病例观察。该综合征的生存期为6个月至7年,平均33个月。

关键词:POEMS;综合征;多系统损害

中图法分类号:R442.8 文献标识码:B

参考文献:

[1] Nakanishi T, Sobue I, Toyokura Y, *et al*. The Crow-Fukase syndrome: a study of 102 cases in Japan[J]. Neurology, 1984, 34(6): 712-720.

[2] Belec L, Mohamed A S, Authier F J, *et al*. Human herpesvirus 8 infection in patients with POEMS syndrome-associated multicentric Castleman's disease[J]. Blood, 1999, 93(11): 3643-3653.

[3] Hashiguchi T, Arimura K, Matsumuto K, *et al*. Highly concentrated vascular endothelial growth factor in platelets in Crow-Fukase syndrome[J]. Muscle Nerve, 2000, 23(7): 1051-1056.

[4] 王跃怡, 谢淑君. 自体外周血造血干细胞移植治疗POEMS综合征1例报告[J]. 首都医科大学学报, 2004, 24(3): 344-345.

(编辑 刘洪娥)