

文章编号:1005-6947(2007)08-0817-03

· 简要论著 ·

微波行部分脾切除术后细菌感染对 PCNA 表达的影响

鞠新华¹, 姜伟国², 张宇¹, 李承彬³, 夏振龙¹

(1. 中国医科大学附属盛京医院 肝胆外科, 辽宁 沈阳 110004; 2. 中国医科大学附属盛京医院 病理科, 辽宁 沈阳 110004; 3. 大连理工大学电子工程系, 辽宁 大连 116024)

摘要:为评价脾部分切除手术对脾抗感染和组织修复功能的影响,笔者采用微波行兔脾部分切除手术后1个月静脉注射肺炎双球菌观察动物及脾增殖细胞核抗原(PCNA)表达。结果显示微波行脾部分切除手术组与假手术对照组注射肺炎双球菌48h内均无死亡。术后1个月两组脾脏重量比较差异无显著性($P>0.05$)。脾小体淋巴滤泡PCNA阳性表达计数,微波行脾部分切除手术组明显高于假手术组($P<0.05$)。脾血窦PCNA阳性表达计数两组间无显著性差异($P>0.05$)。提示微波行保脾手术能较好保留残存脾抗感染和增殖功能,是一种具有临床实用价值的治疗方法。

[中国普通外科杂志, 2007, 16(8): 817-819]

关键词:脾切除术; 增殖细胞核抗原(PCNA); 微波固化; 兔; 肺炎双球菌

中图分类号: R 657.6

文献标识码: B

脾切除术是临床有效的治疗方法之一^[1]。由于脾切除手术有较高的并发症和病死率^[2],特别是逐渐认识到脾脏对机体的重要功能,因此,采用保脾手术受到人们的重视^[3]。目前微波行保脾手术仍较少见^[4]。笔者通过微波行兔脾部分切除术后注射肺炎双球菌检测脾增殖细胞核抗原(PCNA)表达,探讨脾部分切除手术对脾抗感染和组织修复功能的影响。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 动物与分组 健康日本大耳白兔18只,体重2100g~2700g,雌雄不分,动物由中国医科大学附属盛京医院动物实验中心提供,并负责饲养。随机分为2组:(1)假手术组(SG),6只;(2)实验组,采用微波行脾部分切除手术(WG),12只。

1.1.2 试剂、菌株和仪器 PCNA单克隆抗体购自北京中山生物公司,免疫组化SP、DAB试剂盒购自福建迈新公司。肺炎双球菌为临床分离株,

由本院检验科提供。微波止血机WGZ-2型为大连理工大学电子工程系研制,微波频率为2450MHz,采用植入天线,每次作用时间为20~30s。

1.2 实验模型和检测方法

1.2.1 动物实验模型制备 手术前夜晚开始禁食水。20%乌拉坦(5mL/kg体重)腹腔内注射麻醉。手术区剃毛,皮肤无菌消毒,术中使用无菌操作技术。选择腹部正中切口。实验组显露腹腔后结扎、离断拟切除侧脾韧带与血管,位脾中下极约1/3处行微波固化,于凝固带中间切除部分脾脏。其保留端固化处用大网膜覆盖。假手术组切开腹壁及腹膜后,再分别缝合腹壁各层组织。两组动物术后连续3d肌肉注射青霉素40万U/d1次。

1.2.2 实验及检测方法 手术1个月后,制备 5×10^7 肺炎双球菌悬浮液0.1mL/kg自兔耳静脉注入,观察48h后将动物处死。切取兔的脾脏标本,测定重量。常规经福尔马林固定,石蜡包埋,连续切片厚5 μ m。PCNA检测采用S-P法。常规切片脱蜡至水,单克隆抗体进行抗原修复,过氧化物孵育和山羊免疫血清孵育后,滴加PCNA一抗,再分别加相应的二抗,滴加SP复合物,经DAB显色后用苏木素稍衬染、脱水、透明、封片。

收稿日期:2005-10-31; 修订日期:2006-11-18。

作者简介:鞠新华,男,辽宁大连人,中国医科大学附属盛京医院副教授,主要从事肝胆脾外科方面的研究。

通讯作者:鞠新华 E-mail:juxinhuae@163.com

用 PBS 代替 PCNA 单克隆抗体染色作空白对照。PCNA 染色阳性表达计分标准: 每例切片在高倍视野 ($\times 400$) 分别观察脾小体和脾窦 5 个视野, 计数每一视野 100 个细胞中 PCNA 阳性表达。然后取平均值作为每份标本脾小体和脾窦的 PCNA 阳性计数。

1.3 统计学分析

数据以均值 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 各组间对比采用 t 检验。 $P < 0.05$ 为统计学差异有显著性。

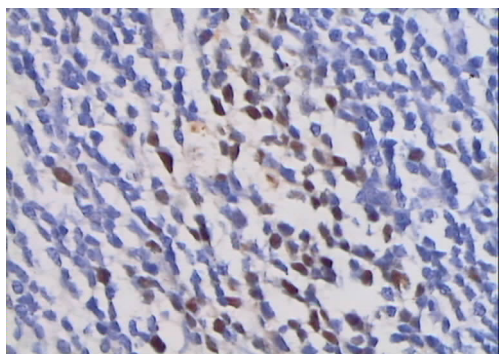
2 结果

2.1 动物观察和组织学

微波行脾部分切除手术组 (WG) 与假手术组 (SG) 经兔耳静脉注射肺炎双球菌悬浮液, 观察 48 h 内两组动物均无死亡。微波行脾部分切除手术残留脾脏, 颜色及血运良好, 断端被网膜包裹。坏死组织基本吸收, 为纤维结缔组织代替。镜下显示脾脏断面组织机化。实验组和对照组术后 1 个月脾脏重量分别为 2.043 g 和 2.051 g, 差异无显著性 ($P > 0.05$)。

2.2 PCNA 阳性表达

实验组和对照组 PCNA 阳性细胞呈棕黄色染色, 主要分布于脾小体淋巴滤泡中心细胞核内 (附图), 部分位于脾血窦细胞核。脾小体淋巴滤泡 PCNA 阳性表达计数实验组和对照组分别为 55.4 ± 11.29 和 9.9 ± 7.36 , 两组间差异有显著性 ($P < 0.05$); 脾血窦 PCNA 阳性表达计数分别为 14.0 ± 8.57 和 0, 差异无显著性 ($P > 0.05$)。



附图 兔脾小体淋巴滤泡中心细胞核 PCNA 阳性表达 ($\times 400$)

3 讨论

脾切除后暴发性感染 (Overwhelming post-splenectomy infection, OPSI) 是切脾手术的一种严重并发症^[5], 如不及时治疗常导致死亡。E1-Alfy^[6]随

访 318 例脾切除患者 17 年间 OPSI 发生率为 5.7%, 病死率为 1.0%。致病菌主要为肺炎双球菌^[7]。脾脏是人体最重要的免疫和抗感染器官之一。随着人们对脾脏功能的深入研究, 为了更好预防 OPSI, 保脾手术有逐渐替代脾切除术的趋势。微波固化通过微波能量转化为热能, 局部组织的温度可达 60℃ 以上。蛋白质凝固性坏死使毛细血管形成血栓, 明显减少了术中和术后脾断面的出血。本实验检测微波保脾术后经静脉注射肺炎双球菌悬浮液脾组织 PCNA 表达意义与影响。

PCNA 是一种酸性非组蛋白核蛋白, 分子量为 33 ~ 36 kDa, 是进入细胞周期、分裂增生及 DNA 复制所必须的蛋白。PCNA 在静止期含量最低, G1 期开始增加, S 期达到高峰。仅在增殖细胞合成表达, 是一种较好判断细胞增生状态的标记物。增殖状况和免疫器官细胞成分的改变是调节免疫功能的关键, 是免疫反应的间接证明。PCNA 的表达能够反映 DNA 合成和细胞增殖的活性。脾脏 PCNA 高表达反映脾细胞的高增殖状态。Phan^[8]报道在烧伤后 3 ~ 21 d 检测发现, PCNA 阳性表达增加而脾脏的细胞增殖活性升高。脾损伤后增殖反应的增强最可能出现巨嗜细胞和粒细胞的数量变化^[9]。也有报道在损伤鼠脾模型中脾巨嗜细胞细胞活素产生能力增加。当静脉注射脂多糖脾巨噬细胞和起源巨嗜细胞数目增加 7 倍^[10]。本实验结果显示, 手术 1 个月后注射肺炎双球菌 48 h 内, 实验组和对照组均无动物死亡。一般认为, 脾脏在抵御侵入血流的肺炎双球菌引起的致死性败血症至关重要。脾脏切除 1/3 不会引起脾脏功能的减低。本组微波行脾部分切除后 1 个月残留脾重量与对照组无显著性差异, 表明脾部分切除可以引起代偿性脾脏增殖。为了评价微波行保脾手术脾脏的增殖活性, 本文检测微波行脾部分切除术后 1 个月 PCNA 表达显示, PCNA 的阳性表达主要集中在脾小体淋巴滤泡中心核, 部分位于血窦细胞核。脾淋巴滤泡 PCNA 阳性表达计数实验组明显高于对照组, 两组间有显著性差异。而脾血窦 PCNA 阳性表达两组间无显著性差异。脾脏的增殖反应在抗感染和免疫中发挥着重要的作用。虽然微波固化对残留脾有一定的损伤, 细菌感染仍可出现 PCNA 的增殖反应, 但这种损伤是暂时的, 通过脾淋巴滤泡 PCNA 的增殖反应可以逐渐修复。以上结果显示, 微波行保脾手术能较好保留脾脏抗感染和增殖的修复功能, 是一种在临床上有应用价值的治疗方法。

参考文献:

- [1] 薛卫,陈学敏,孙冬林,等.腹腔镜脾切除对难治性ITP治疗的应用价值[J].中国临床医学,2005,12(6):1041-1042.
- [2] 李劲东,王志明,吕新生,等.全脾切除术后近期并发症分析[J].中国普通外科杂志,2005,14(4):300-302.
- [3] 霍景山,陈积圣.肝硬化门静脉高压症手术时保留病理性脾的可行性研究进展[J].中国普通外科杂志,2005,14(6)451-453.
- [4] 光岡晋太郎,阪上賢一,常光洋輔,他.マイクロ波凝固疗法が有効であった腹部损伤(肝损伤、脾损伤)有效の2例[J].临床外科,2002,57(4):515-518.
- [5] Waghorn DJ. Overwhelming infection in asplenic patients: current best practice preventive measures are not being followed[J]. J Clin Pathol, 2001, 54(3):214-218.
- [6] El-Alfy MS, El-Sayed MH. Overwhelming postsplenectomy infection: is quality of patient knowledge enough for prevention? [J]. Hematol J, 2004, 5(1):77-80.
- [7] Chanet V, Lesens O, Laurichesse H, et al. Prevention and infection in adults patients with hypo-splenism [J]. Med Mal Infect, 2004, 34(11):493-498.
- [8] Phan HH, Cho K, Nelson HA, et al. Downregulation of NF-kappaB activity associated with alteration in proliferative response in the spleen burn injury [J]. Shock, 2005, 23(1):73-79.
- [9] Muskhelishvili L, Latendresse JR, Kodell RL, et al. Evaluation of cell proliferation in rat tissues with BrdU, PCNA, Ki-67 (MIB-5) immunohistochemistry and in situ hybridization for histone mRNA [J]. J Histochem Cytochem, 2003, 51(12):1681-1688.
- [10] Asakura E, Yamauchi T, Umemura A, et al. Intravenously administered macrophage colony-stimulating factor (M-CSF) specifically acts on the spleen, resulting in the increasing and activating spleen macrophages for cytokine production in mice [J]. Immunopharmacology, 1997, 37(1):7-14.

欢迎订阅 2008 年《中国组织工程研究与临床康复》

(原《中国临床康复》)杂志

《中国组织工程研究与临床康复》(原《中国临床康复》)杂志 2007 年更名,仍是美国《化学文摘》(CA)、荷兰《医学文摘库/医学文摘》(EM)、俄罗斯全俄科学技术信息研究所数据库(VINITI)、波兰《哥伯尼索引》(IC)、美国《剑桥科学文摘》(CA)、中国科技论文统计源期刊、中国中文(临床医学类)核心期刊、中国科学引文数据库等收录期刊。

本刊 2005 年发表的文章,被美国《化学文摘》单篇收录率 >50%,居中国区期刊第 1 位,居国际排名第 57 位。作者在本刊发稿可有较大机会实现单篇文章被国际数据库收录的愿望,不仅体现了该篇稿件的学术价值,同时在作者晋升、评聘、课题评奖中会起到重要的作用。2008 年本刊为周刊,每周二出版,出版重点为生物材料、骨科生物材料、口腔科生物材料、组织构建、骨科植入体、脊柱植入体、人工假体、人工器官、干细胞及细胞工程、器官/组织/细胞移植、心/脑/外周血管及腔内血管植入物、康复工程、生物工程等组织工程方面的研究。

欢迎上述研究原著及综述稿件以中文或英文形式投稿。

本刊出版周期:一般稿件修回后 6 个月出版,“绿色特快通道”承诺修回稿件 3 个月内出版。

通联方式:

咨询电邮:zgckfzd@126.com; 电话:024-23389106; 024-23384352; 传真:024-23388105。

投稿电邮 kf23385083@sina.com; kf22838105@sina.com。

国内订阅邮发代号:8-584, 本社订阅:辽宁省沈阳 1200 邮政信箱 邮编:110004, 定价:12 元/册。

更多信息详见:www.zgckf.com。