

耳廓软骨天然生物支架材料的制备及初步研究

王彦君 *孔维佳 毕胜斌

华中科技大学同济医学院附属协和医院耳鼻咽喉科(武汉 430022)

【摘要】目的 探讨制备兔耳廓天然软骨细胞外基质材料的新方法,制备适用于组织工程应用的天然生物支架材料。方法 采用多步骤去污剂—酶处理技术抽提兔耳廓软骨细胞制备天然软骨细胞外基质(Nature Extracellular Matrix, NECM),对NECM行HE染色、澳新蓝染色、维多利亚蓝染色、Van Gieson染色并进行组织学及扫描电镜观察;以灰家兔NECM为支架材料和新西兰大白兔耳廓软骨细胞为种子细胞进行体外培养,倒置显微镜下观察其亲水性和对细胞的吸附力,并通过四氮唑盐比色法(MTT Assay)观察NECM对软骨细胞的增殖作用。结果 通过HE染色、蛋白多糖、胶原及弹力纤维特染、扫描电镜观察分析证实经过多步骤去污剂—酶法抽提软骨细胞制备的天然生物支架材料里,不含细胞及细胞器成分,仅含有不溶解的胶原、弹性蛋白和蛋白多糖,亦即NECM;体外培养实验发现,兔耳廓软骨细胞易进入脱细胞异体软骨基质结构裸露的空穴,且生长旺盛,组织学检查证实兔耳廓软骨NECM上裸露的骨陷窝已部分被软骨细胞占据。MTT Assay检测证实NECM对软骨细胞增殖有促进作用。结论 本实验制备的NECM脱细胞彻底、细胞外基质成分保留较完整,并具有促进细胞粘附、增殖和分化生长的作用,是一种较为理想的天然生物支架材料。

【关键词】天然细胞外基质;组织工程;兔;体外细胞培养;四氮唑盐比色法

The manufacture of NECM of rabbit auricle cartilage and the study of cell culture with allogenic NECM of rabbit

WANG Yan-jun, KONG Wei-jia*, BI Sheng-bin

Department of Otolaryngology, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022

*Corresponding author: KONG Wei-jia, Email: weijiak@public.wh.hb.cn

【Abstract】Objective To develop a novel manufacturing method of nature cartilaginous extracellular matrix scaffold materials using rabbit auricle cartilage and prepare a kind of scaffolds for tissue engineering. Methods Apply multistep detergent and enzymatic extraction process to extract cells of auricle cartilage of rabbit to get nature extracellular matrix (NECM) and the obtained products were stained with HE, victoria blue, alcian blue, and Van Gieson, then observed by optical microscope. Unstained NECM and cartilages of rabbits was observed by scanning electron microscope. With NECM of grey rabbit as scaffold, we cultivated the auricle cartilage cells of New Zealand white rabbits in vitro. The hydrophilia and absorption of the cells were observed with inverted microscope. The cell proliferation on NECM was detected by MTT assay. Result By using HE staining and proteoglycan-, collagen-, and elastic fibrin-specific staining and scanning electron microscopy, we demonstrated that the multistep detergent and enzymatic extraction process could extract cartilage cells, leaving behind a nature extracellular matrix (NECM) scaffold, which was composed of indissoluble collagen, elastic fibrin and proteoglycan. The cultured auricle chondrocytes of rabbits in vitro were easy to enter cartilage lacuna of allogenic NECM and grew well. The evidence of histology confirmed that the cartilage lacunas of

本课题受国家杰出青年科学基金(39925035)及国家自然科学基金(39670781、30070809)资助

作者简介:王彦君 男 医学博士。研究方向 组织工程学。Email: ent-xh@163.com

*通讯作者:孔维佳,主任医师,教授。Email: weijiak@public.wh.hb.cn

allogenic NECM of rabbit auricle cartilage were partly occupied by cartilage cells. MTT assay results showed NECM could promote the proliferation of cartilage cells. Conclusion A complete cell-free NECM can be manufactured by above technique, keeping intact extracellular matrix with the potential for promoting cell attachment, proliferation, growth and differentiation. Altogether, the results suggest that it is an ideal nature extracellular matrix scaffold materials.

【Key words】 Nature extracellular matrix (NECM); Tissue engineering; Rabbit; Cell culture in vitro; MTT assay

目前国内外科学家们主要致力于探索利用人工合成生物材料,如:聚乳酸(Polylactic acid, PLA)、聚羟基乙酸(Polyglycolic acid, PGA)及二者的共聚物,以及羟基磷灰石来构建组织或器官。科学家们已经生产出人工骨、软骨^[1-3]、皮肤^[4]、肌腱^[5]、血管^[6]。特别是Cao等^[7]在生物材料塑型、细胞-生物材料复合物的体外培养,以及植入方法和技术上进行了研究改进;在裸鼠体内形成了具有皮肤覆盖的人耳廓形态软骨。但长期应用后发现高分子生物材料,主要存在以下几个问题:亲水性不够,对细胞粘附性较弱;

降解产物偏酸性,不利于细胞生长;有一定免疫原性,但临床应用人工合成的高分子生物材料易引起组织的炎性反应、排斥反应及相容性问题;人工合成的高分子生物材料有一定的致癌作用;PGA、PLA及二者的共聚物价格昂贵,主要靠进口,较大程度上制约了国内组织工程学的发展^[8-10];以上问题使得人工合成的高分子生物材料向临床应用的转化受到较大影响。为了寻求一种更适于组织工程应用的生物支架材料。我们初步探讨了用动物耳廓软骨进行多步骤的去污剂-酶处理技术制备NECM。并对其进行组织学观察,体外细胞培养研究以及细胞增殖试验,探讨其作为组织工程细胞培养支架材料的可行性。

1 材料与方法

1.1 实验动物

新西兰大白兔、杂种灰家兔均购自华中科技大学同济医学院动物中心。

1.2 主要试剂

苯甲基黄酰氟,曲拉通 X-100(tritonX-100),噻唑蓝(MTT),二甲基亚砷,胎牛血清,型胶原酶,胰蛋白酶, DNase I 酶和 RNase A 酶,低糖 DMEM 培养液,透明质酸酶。

1.3 脱细胞兔耳廓软骨基质支架的制备方法

步骤如下:将兔耳廓在无菌状态下剥去皮肤及软骨膜,新鲜软骨用 PBS 液洗三遍,清洗后的新

鲜软骨在含蛋白酶阻断剂的 tris 低渗缓冲液中,4℃下浸泡并不断搅拌 24h; 1%tritonX-100、蛋白酶阻断剂、tris 缓冲液,抽提 24h; D-Hanks 生理盐溶液彻底清洗 24h; DNase I、RNase A 在 37℃下消化 2~3 小时,并不断搅拌。再次用 1%tritonX-100 抽提 24h; 所有样本用 D-Hanks 生理盐溶液 4℃下彻底清洗 24~48h。无菌 PBS 液中保存备用。

1.4 兔耳廓软骨细胞的分离制备

软骨细胞的分离方法详见司徒镇强等^[11]的细胞培养方法学的兔软骨细胞分离方法。

1.5 组织学观察

将新鲜兔耳廓软骨及处理软骨(NECM)行石蜡包埋切片分别做 HE 染色、澳新蓝染色、维多利亚蓝染色、Van Gieson 染色并行光镜观察。

1.6 扫描电镜观察

将兔耳廓新鲜软骨及 NECM 分别作电镜扫描观察,对比处理前后的差异。

1.7 兔耳廓软骨细胞复合 NECM 的体外培养

将 NECM 浸泡于 75%乙醇中 1h,用蒸馏水清洗 3 遍,每遍 5min,然后用无菌纱布吸干水分,放入 24 孔培养板。原代培养的细胞传代至第二代以 1×10^6 个细胞/ml 加入 24 孔培养板中,加入 DMEM (含 20%FBS)进行培养,每周换液 2 次。

1.8 体外培养细胞的形态学观察和组织学分析

每天观察细胞生长情况,并选取照相。取出体外培养第 10 天的软骨基质支架+细胞复合物做常规 HE 染色观察细胞生长情况。

1.9 MTT 实验检测支架对软骨细胞增殖的影响

按 DMEM 培养液与 NECM 之比为 10ml/cm² 加入 DMEM 培养液 (含 20%FBS),于 37℃下静置 24h 制备浸提液,将其一半稀释成浓度为 50%。取第一代生长良好的兔软骨细胞,稀释成 1×10^4 个细胞/ml,接种于三块 96 孔板上,每组 5 孔,每孔 100 μ l, 5% CO₂ 培养箱中饱和湿度 37℃下培养 24h,弃原培养液,空白对照(A 组)加新配制的含 20% FBS 的 DMEM 100 μ l,实验组分别加 50%(B 组)和 100%

(C组)的样品浸出液,置 5% CO₂ 培养箱中 37 继续培养,于 2、4、7d 各取出一块培养样板,每孔加入 5mg/ml 的 MTT 20 μ l,继续培养 4h,然后倒出培养液,再加 100 μ l 二甲基亚砜,振荡 10 分钟,酶联免疫检测仪上以 490nm 波长测吸收值。

2 结果

2.1 新鲜软骨和处理软骨的组织学及光镜观察

组织切片光镜观察兔耳廓 NECM 组织 HE 染色,显示一个完整的结缔组织基质,呈现粉红色,无

软骨膜、细胞或细胞器。软骨囊已消失只剩下嗜酸性的框架(图 1);而新鲜兔耳廓软骨,软骨细胞在软骨囊内清晰可见,细胞为嗜碱性(图 2)。兔耳廓 NECM 支架 VG 染色、维多利亚兰染色、澳新兰染色显示胶原纤维均匀分布于细胞基质中,弹力纤维主要集中在软骨陷凹周围,其他位置分布较少,蛋白多糖在软骨陷凹周围较集中,基质中也有少量分布,与兔耳廓新鲜软骨的三种特殊染色显示的胶原纤维、弹力纤维及蛋白多糖在分布、位置、数量上基本一致(图 3-8)。

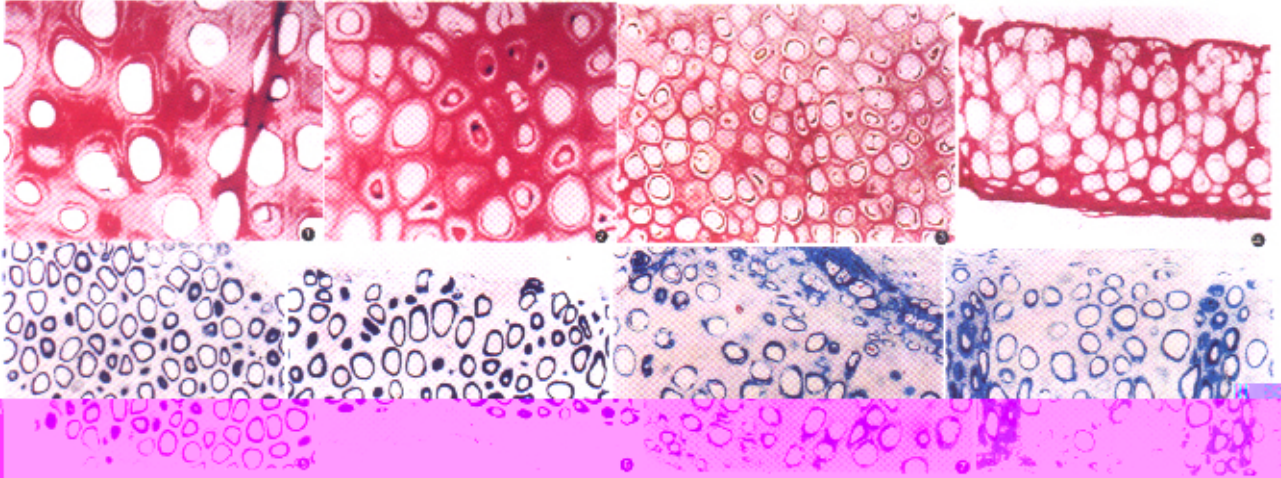


图 1 兔耳廓 NECM,软骨细胞已完全去除仅剩嗜酸性的框架结构。(HE 200 \times)。图 2 兔耳廓新鲜软骨可见软骨细胞在软骨囊内,细胞核为嗜碱性。(HE 200 \times)。图 3 兔耳廓软骨,VG 染色显示胶原纤维均匀分布于细胞基质中。(VG 100 \times)。图 4 兔耳廓软骨 NECM,VG 染色显示胶原纤维均匀分布于细胞基质中(VG 100 \times)。图 5 兔耳廓新鲜软骨,维多利亚兰染色显示弹力纤维主要分布于软骨陷凹周围的基质中,其它位置分布较少。(100 \times)。图 6 兔耳廓软骨 NECM,维多利亚兰染色显示弹力纤维主要分布于软骨陷凹周围的基质中,其它位置分布较少,与新鲜软骨分布基本一致(100 \times)。图 7 兔耳廓新鲜软骨,澳新兰染色,显示蛋白多糖均匀分布于基质中(100 \times)。图 8 兔耳廓软骨 NECM 澳新兰染色,显示蛋白多糖均匀分布于基质中,与新鲜软骨分布基本一致(100 \times)。

2.2 新鲜软骨与 NECM 扫描电镜观察

兔新鲜软骨扫描电镜显示:软骨陷凹内软骨细胞呈圆形,细胞大小不一(图 9)。兔 NECM 扫描电镜显示骨陷窝呈蜂窝状,未见残余细胞核、细胞器

或脂质膜,残余的空穴高低不平,既增大了支架的表面积又有利于细胞吸附(图 10)。

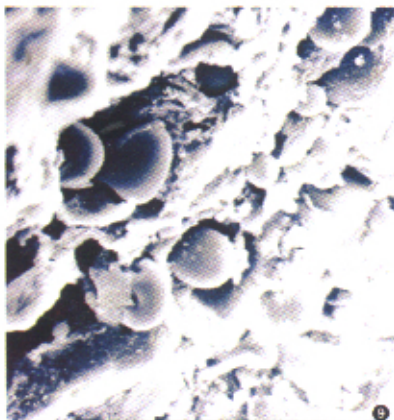


图 9 兔耳廓新鲜软骨电镜扫描见软骨陷凹内有大量软骨细胞(1000 \times)

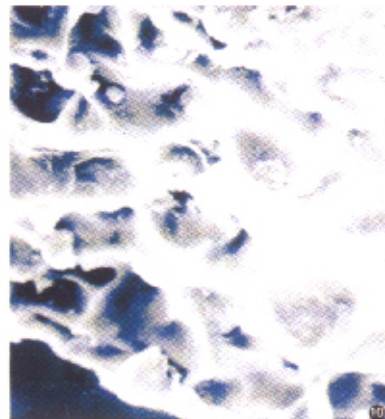


图 10 兔耳廓软骨 NECM 电镜扫描见骨陷凹内光滑,已无软骨细胞,残余的空穴高低不平,既增大了支架的表面积又有利于细胞吸附(1000 \times)

2.3 倒置显微镜下观察软骨脱细胞基质与体外培养软骨细胞形态

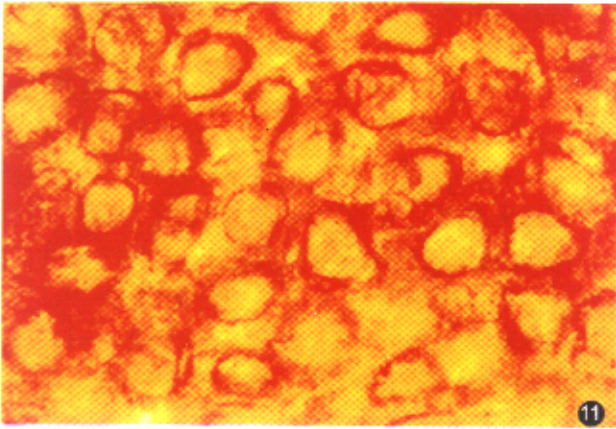


图 11 灰兔 NECM + 软骨细胞体外培养 3 天, 软骨细胞呈大而亮的圆形(100×)

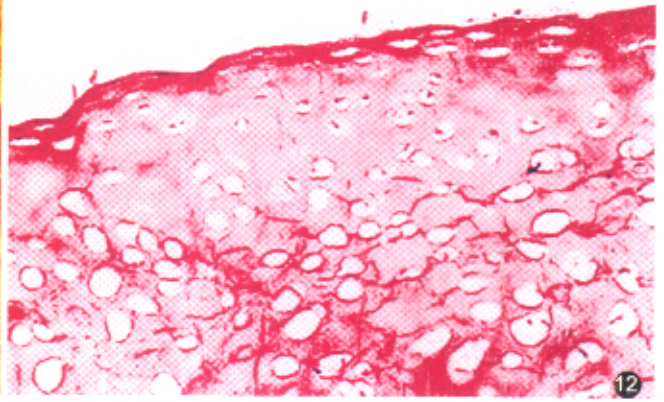


图 12 灰兔 NECM + 软骨细胞体外培养 10 天, 组织学切片显示部分软骨陷凹为软骨细胞所占据(100×)

镜下可见脱细胞软骨基质呈不规则、边缘模糊的蜂巢样结构, 基质呈均质的细颗粒状。种植软骨细胞后, 软骨细胞形态为轮廓清晰的圆形, 与支架材料易于区分。培养第 3 天时就见有许多软骨细胞占据软骨陷窝, 使得被占据的软骨陷窝由边缘模糊变得边缘清晰, 未被占据的骨陷窝仍呈模糊状态(图 11)。

2.4 软骨脱细胞基质复合软骨细胞体外培养组织学观察

经 HE 染色后, 脱细胞软骨基质呈粉红色, 生长入的细胞核也呈粉红色(图 12)。前面已证实兔耳廓 NECM 只有一个完整的结缔组织基质, 呈现粉红色, 无软骨膜、细胞或细胞器, 软骨囊已消失只剩下嗜酸性的框架, 复合培养后发现的细胞核无疑是新长入的软骨细胞, 说明该支架材料是有利于细胞在其上生长、增殖的。

2.5 MTT 实验检测支架对软骨细胞增殖的影响

体外细胞毒性实验结果见表 1, 实验结果显示实验 B、C 组的软骨细胞相对增值率均大于 1。采用美国 SPSS11.0 统计软件包进行数据处理, 组间的比较采用 t 检验。统计学分析示 A 组 2 日吸光值与 C

组 2 日吸光值相比有显著性差异, A 组 4、7 日吸光值与 B、C 组 4、7 日吸光值相比有显著性差异, 说明两实验组对软骨细胞不但无抑制作用, 而且还均有促进细胞增殖作用。

3 讨论

3.1 软骨细胞外基质生物支架材料的制备

在用组织工程方法构建组织和修复组织的过程中, 三维空间生物支架材料为细胞吸附、增殖、分化提供了足够的空间和细胞进行物质交换的场所。人工合成高分子生物材料以聚羟基乙酸(PGA)、聚乳酸(PLA)及二者的共聚体为代表, 其存在的问题如前所述。天然生物材料以胶原、纤维蛋白、糖胺多糖及明胶研究较多。其突出优点是无抗原性, 生物相容性好, 与细胞外基质结构相似, 利于细胞的粘附、运动、增殖和分化。然而由于其强度低、降解太快, 在作为细胞支架培养时, 往往提前塌陷而达不到诱导新组织的目的。本研究探讨应用多步骤去污剂-酶法抽提技术制备的 NECM 生物支架。通过组织学光镜检查、扫描电镜分析证实, 我们得到的 NECM 不含细胞及细胞器成分, 仅含不溶解的胶原、弹性蛋白、

表 1 体外细胞毒性实验结果

组别	2 日吸光值		4 日吸光值		7 日吸光值	
	$\bar{x} \pm S$	RGR	$\bar{x} \pm S$	RGR	$\bar{x} \pm S$	RGR
A 组	0.130 ± 0.005, 9	1	0.252 ± 0.002, 9	1	0.390 ± 0.011, 8	1
B 组	0.134 ± 0.004, 6	1.035	0.268 ± 0.012, 3	1.07	0.452 ± 0.025, 2	1.16
C 组	0.141 ± 0.003, 8	1.086	0.367 ± 0.091, 8	1.46	0.599 ± 0.011, 0	1.54

注: 1) A 组 2 日吸光值与 C 组 2 日吸光值相比有显著性差异; A 组 4 日吸光值与 B、C 组 4 日吸光值相比有显著性差异; A 组 7 日吸光值与 B、C 组 7 日吸光值相比有显著性差异。 2) 相对增值率(Relative Growth Rate, RGR) = (实验组吸光值 / 对照组吸光值) × 100%

蛋白多糖的软骨细胞外基质材料,它保留了软骨的强度,而且组织形态学观察证实在我们制备的NECM中蛋白多糖(proteoglycan)、胶原(collagen)、弹力蛋白(elastin)成分在分布位置及数量上与新鲜软骨的基本相同。这说明在制备NECM的过程中仅仅去除了细胞和细胞器等抗原成分,而细胞外基质成分没有破坏。结果表明,应用去污剂-酶法抽提技术可获得天然的NECM生物支架。

3.2 软骨细胞外基质生物支架的生物特征

早期研究认为ECM只起支持、保护细胞和维持渗透压的作用,近年来的研究表明,将ECM成分视为惰性支持物的观点有其局限性。ECM是维持细胞正常生存、分化和运动的外环境,现代研究认为ECM是个“信息”丰富的环境,并且软骨细胞与ECM的相互作用调节了许多生物学过程,这包括了细胞的粘附、生长、分化及生存。这是因为ECM包含着Arg-Gly-Asp (RGD)序列,它们可与整合素 α_4 、 α_5 、 α_8 、 α_{11b} 或 α_v 亚单位结合。层粘连蛋白和胶原也包含RGD序列,但在通常情况下它们是隐蔽的和难以接触的。这些ECM成份可被层粘连蛋白结合受体如: α_3 、 α_6 或 α_7 亚单位所识别,或被胶原蛋白结合受体,如: α_1 、 α_2 、 α_{10} 或 α_{11} 亚单位^[12]所识别,胶原蛋白分子上的配体可与整合素受体 α_1 、 α_2 、 α_{10} 、 α_{11} 、 α_1 及 α_8 发生特异性结合^[13],从而介导细胞粘附,并激活信号传导通路,对细胞迁移、增殖、分化起重要作用。近期研究发现^[14]软骨细胞表面表达几种整合素受体,可与纤维蛋白结合素的 α_5 、 α_1 型、 α_2 型胶原的 α_1 、 α_2 、 α_{10} 、 α_1 层粘连蛋白的 α_6 、 α_1 以及波基结合素(识别凋亡细胞的物质)和骨桥蛋白 α_v 、 α_3 相结合。通过ECM与细胞骨架的联结。整合素可能是重要的机械刺激转换器,整合素通过刺激细胞内信号可影响软骨细胞基因表达和调节软骨细胞功能。在本实验中我们尝试了自制NECM支架材料与软骨细胞进行体外培养的观察,研究结果发现自制NECM支架材料能够很好的吸附软骨细胞,证明支架有较好的亲水性;MTT实验检测支架对软骨细胞增殖的影响,结果发现NECM对软骨细胞生长无抑制作用,相反具有促进细胞增殖的作用,随后我们在组织相容性实验^[15]及动物耳廓修复实验^[16]中均取得满意结果。本实验结果支持上述观点。

3.3 NECM制备中软骨基质生物活性的保护

我们在制备NECM中采用了蛋白酶阻断剂,防

止细胞裂解释放的大量蛋白水解酶对软骨基质对水解作用,保护了软骨基质成分的数量及活性,尽可能不损伤软骨基质成分。使软骨基质生物活性得以保护。

应用多步骤去污剂-酶抽提技术制备的NECM具有如下特点:良好的生物相容性:该天然生物支架材料无毒性且有利于种子细胞粘附、迁移、增殖、分化。良好的材料-细胞界面:该材料能提供良好的材料细胞作用界面,利于细胞粘附、分化、生长。与自体移植相比,可减少病人痛苦,不会给病人带来新的创伤。与异体移植相比,可明显降低慢性炎症和排斥反应。与人工合成材料相比,由于它更具有相似于生物体的生理环境,因而较高分子人工合成材料有更好的生物相容性,是一种较为理想的天然生物支架材料。

综上所述,我们相信随着对NECM制备方法的进一步探讨,NECM将有可能应用于组织工程技术中。

参 考 文 献

- 1 Weng Y, Cao Y, Silva CA, et al. Tissue-engineered composites of bone and cartilage for mandible condylar reconstruction. *J Oral Maxillofac Surg*, 2001, 59: 185-190.
- 2 Ripamonti U, Ramoshebi LN, Matsaba T, et al. Bone induction by BMPs/OPs and related family members in primates. *J Bone Joint Surg Am*, 2001, 83-A Suppl 1(Pt 2): S116-127.
- 3 LeBaron RG, Athanasiou KA. Ex vivo synthesis of articular cartilage. *Biomaterials*, 2000, 21: 2575-2587.
- 4 Prenosil JE, Villeneuve PE. Automated production of cultured epidermal autografts and sub-confluent epidermal autografts in a computer controlled bioreactor. *Biotechnol Bioeng*, 1998, 59: 679-683.
- 5 曲彦隆,杨志明,解慧琪,等.组织工程化肌腱对T淋巴细胞亚群及其受体的影响. *中国修复重建外科杂志*, 2001, 15: 113-117.
- 6 Bowlin GL, Rittgers SE. Electrostatic endothelial cell transplantation within small-diameter (<6 mm) vascular prostheses: a prototype apparatus and procedure. *Cell Transplant*, 1997, 6: 631-637.
- 7 Cao YL, Vacanti JP, Paige KT, et al. Transplantation of chondrocytes utilizing a polymer-cell construct to produce tissue-engineered cartilage in the shape of a human ear. *Plast Reconstr Surg*, 1997, 100: 297-302.
- 8 夏万尧,曹谊林,商庆新,等.壳聚糖作为组织工程软骨支架材料的实验研究. *中华显微外科杂志*, 2002, 25: 34-37.
- 9 Peppas HA, Lanser R. New challenge in biomaterials. *Science*, 1994, 263: 1715-1720.
- 10 王伟,主编.整形外科学.杭州:浙江科学技术出版社,1999. 365.
- 11 司徒镇强,吴正军.细胞培养.北京:世界图书出版社,1996. 109-110.
- 12 van der Flier A, Sonnenberg A. Function and interactions of integrins. *Cell tissue Res*, 2001, 305: 285-298.

- 13 Plow EF, Hass TA, Zhang L, et al. Ligand binding to integrins. *J Bio Chem*, 2000, 275: 21785-21788.
- 14 Loesser RF. Chondrocyte integrin expression and function. *Biorheology*, 2000, 37: 109-116.
- 15 王彦君, 孔维佳, 毕胜斌. 自制天然软骨细胞外基质支架材料

- 的生物相容性研究. *临床耳鼻咽喉科杂志* 2004, 18: 363-366.
- 16 王彦君, 孔维佳, 毕胜斌. 自制NECM修复兔耳廓软骨缺损的实验研究. *中华耳科学杂志*, 2004, 2: 48-53.

(收稿日期 2005-6-30)

· 技术与方法 ·

鼻内镜下电动切吸器切除增殖腺残体治疗渗出性中耳炎

宋文 朱旭 孙玉英

辽宁省鞍山市中心医院耳鼻咽喉科(鞍山 114001)

我院自 2001 年 1 月- 2005 年 1 月先后对 16 例因腺样体残体导致的小儿渗出性中耳炎患者在鼻内镜下以电动切吸器切除对咽鼓管内口阻塞的腺样体残体, 共治愈 28 耳, 随访半年, 效果满意, 报告如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料

患儿共 16 例 28 耳。其中男 10 例 18 耳, 女 6 例 10 耳, 年龄 4- 15 岁, 平均 9 岁, 腺样体切除术后渗出性中耳炎病程 5- 36 个月, 平均 14 个月。所有入选病例均需符合 (1) 全部病例均有腺样体肥大史经手术切除, 术前鼻内镜检查, 腺样体残体阻塞咽鼓管内口, 同侧耳有鼓室积液, 患有顽固的渗出性中耳炎, 并经 3 个月以上药物治疗无效; (2) 声导抗检查, 显示 B 型鼓室导抗图 24 耳, C 型 4 耳, 28 耳镫骨肌反射消失, 传导性聋; (3) Valsalva 法或 Politzer 法吹张示咽鼓管通畅, 咽鼓管通气后鼓室内积液暂时减少或消失, 听力改善, 但不久积液重现; (4) 鼻咽侧位片示鼻咽部软组织增厚, 气道狭窄。

1.2 手术方法

手术器械为德国 Storz 鼻内镜及 Hummer(电动切吸器), 患儿仰卧位, 口腔气管内插管全身麻醉后, 鼻腔以肾上腺素盐水棉片收缩粘膜, 置入 0° 或 30° 鼻内镜经一侧后鼻孔看清腺样体, 同侧鼻腔置入电动切吸器, 开口对准腺样体, 由外下向内上准确完整切吸净腺样体, 创面用含凝血酶的油纱条压迫止血 5min, 然后用鼻内镜显示鼓膜标志, 行鼓膜穿刺抽吸。

2 结果

16 例手术经过顺利, 出血少, 无并发症发生。术后 2 周复查鼻咽部光滑, 无腺样体残留, 听力及咽鼓管功能恢复正常, 2 例术后 7d 渗出性中耳炎复发, 经 2 次穿刺抽吸治愈。随访

半年以上无复发。术前与术后声导抗检查声顺图情况见表 1。

表 1 28 耳术前与术后鼓室导抗图显示情况(耳数)

	B 型	C 型	A 型
手术前	24	4	0
手术后	0	3	25

3 讨论

减少出血和对咽鼓管等组织的损伤是腺样体切除术原则之一。腺样体与咽壁之间无组织包膜, 传统手术刮除腺样体不彻底^[1]。腺样体手术后渗出性中耳炎发生原因可能为残余腺样体组织继续增生或为手术不彻底, 影响咽鼓管口引流所致。近年来随着电动切吸器在鼻内镜手术中的应用, 对腺样体的完整切除取得较好效果^[2]。由于该器械能边吸血边切除组织, 术野清楚, 确认咽鼓管圆枕结构后, 切割钻头开口始终保持向内方向, 抵住腺样体, 分层推进, 即使是鼻咽侧壁咽鼓管口周围肥大的腺样体组织, 亦能切除干净而不至于损伤正常组织。电动切吸器操作简单, 特别有利于咽鼓管口周围肥大腺样体或术后腺样体残体手术。术后在鼻内镜直视下用含凝血酶的纱条压迫手术创面, 数分钟即可彻底止血。值得强调的是, 该术式只是传统术式的补充, 并不是所有腺样体都需要采用该术式, 对于腺样体切除术后顽固性、渗出性中耳炎患者, 考虑到系腺样体残体导致咽鼓管口阻塞, 用该术式取得了较好的疗效。

参 考 文 献

- 1 黄选兆. 耳鼻咽喉科学. 北京: 人民卫生出版社, 1995. 79.
- 2 Yanagisawa E, Weaver EM. Endoscopic adenoidectomy with the microdebrider. *Ear Nose Throat J*, 1997, 76: 72-74.

作者简介: 宋文, 女, 副主任医师, 在职硕士研究生。

(收稿日期 2005-6-13)