doi:10.11659/jjssx.06E020064

·基础研究·

低温等离子兔鼓膜打孔后鼓膜病理学变化的研究

吕 萍,宋 伟,王亚婷,毕战胜 (大连市儿童医院耳鼻喉科,辽宁 大连 116012)

[摘 要] **目的** 探讨兔鼓膜穿刺和低温等离子打孔后鼓膜的愈合情况及病理学特点。**方法** 选取9只兔子,其右侧鼓膜行低温等离子打孔(观察组),左侧鼓膜行鼓膜穿刺(对照组),分别于术后0 d、1个月、3个月采集双侧鼓膜耳内镜下图像,留取鼓膜组织行光学显微镜病理检查,观察其病理变化。**结果** 耳内镜下:术后0 d,对照组穿刺点边缘不规整,可见出血,观察组打孔处边缘规整,无出血;术后1个月,对照组穿刺处已愈合,观察组穿孔点缩小,但未完全愈合;术后3个月,对照组和观察组鼓膜均已愈合,无明显瘢痕形成,穿刺愈合区域鼓膜无明显菲薄及内陷。病理结果:术后0 d,观察组鼓膜病理改变以组织结构破坏、上皮和黏膜排列紊乱、部分变性、大量炎性渗出为主,对照组可见鼓膜三层结构出现局部断裂,中间纤维层有渗出、排列疏松;术后1个月,观察组鼓膜成纤维细胞交错排列,鳞状上皮层内细胞疏松水肿,少许炎性渗出,其内有小毛细血管,对照组断裂处基本愈合,上皮层、纤维层及黏膜层结构排列有序;术后3个月,观察组成纤维细胞排列均匀,形态接近于正常鼓膜,对照组与其术后1个月病理特点相似。低温等离子打孔鼓膜愈合时间较鼓膜穿刺延长2个月以上。**结论** 低温等离子打孔术后0 d损伤较鼓膜穿刺重,远期愈合的鼓膜病理学特点与鼓膜穿刺术无明显差异,且愈合时间延长。

[关键词] 低温等离子;分泌性中耳炎;鼓膜;病理改变

[中图分类号] R361+.2 [文献标识码] A [收稿日期] 2020-06-15

Study on pathological changes of tympanic membrane in rabbits after low temperature plasma perforation

LYU Ping, SONG Wei, WANG Ya-ting, BI Zhan-sheng (Department of Otorhinolaryngology, Dalian Children's Hospital, Dalian Liaoning 116012, China)

Abstract: Objective To explore the healing and pathological characteristics of the tympanic membrane after tympanic membrane puncture and low temperature plasma perforation in rabbits. **Methods** Nine rabbits were selected, whose right tympanic membrane were perforated with low temperature plasma (the observation group), and the left tympanic membrane were subjected to tympanic membrane puncture (the control group). The ear endoscopic images of bilateral tympanic membrane were collected 0 day, 1 month and 3 months after the operation, and the tympanic membrane tissues were retained for pathological examination under optical microscope to observe the pathological changes. **Results** Under the ear endoscopy: immediately after the operation, the edge of the puncture point in the control group was irregular and bleeding was seen, and the edge of the puncture point in the observation group was regular without bleeding. At 1 month after the operation, the puncture site in the control group was healed, and the perforation point in the observation group was reduced but not completely healed. At 3 months after the operation, the tympanic membranes of the control group and the observation group had healed without obvious scar formation, and there was no obvious thinness and invagination in the puncture healing area. Pathological results: immediately after the operation, pathological changes of tympanic membrane in the observation group were mainly the tissue structure destruction, epithelial and mucosal arrangement disorder, partial degeneration, and massive inflammatory exudation. In the control group, there were three layers of tympanum structure with local rupture, and the middle fiber layer had exudation and loosely arranged. At 1 month after the operation, the tympanic membrane fibroblasts of the observation group were staggered, the cells in the squamous epithelial layer were loose and edematous, with a little inflammatory exudation, and small capillaries inside. In the control group, the fractures healed basically, and the structures of the upper cortex, fibrous layer and mucosal layer were arranged orderly. At 3 months after the operation, the fibroblasts in the observation group were evenly arranged and the morphology was close to the normal tympanic membrane, the pathological characteristics of the control group were similar to those 1 month after operation. The healing time of tympanic membrane with low temperature plasma perforation was longer than that of tympanic membrane puncture for more than 2 months. **Conclusion** The immediate damage of low temperature plasma perforation is more serious than that of tympanic membrane puncture, and the pathological characteristics of long term healing of tympanic membrane are not significantly different from that of tympanic membrane puncture, and the healing time is prolonged.

Keywords: low temperature plasma; secretory otitis media; tympanic membrane; pathological changes

分泌性中耳炎是一种耳鼻喉科的常见疾病,其中儿童发病率较高,约90%的学龄前儿童曾被诊断出分泌性中耳炎至少1次,平均每年4次[1]。目前临床上治疗分泌性中耳炎的手术方法很多,有鼓膜穿刺术、鼓

[基金项目] 大连市医学科学研究计划项目(1711066)

[通信作者] 宋 伟,E-mail:dr.songwei@163.com

膜置管术、激光打孔术等。近些年,由于低温等离子技术的普及,已有部分学者将低温等离子打孔术应用于临床,并取得了良好的效果[2]。但对于低温等离子打孔术对鼓膜的损伤程度、损伤后愈合过程中病理学特点、鼓膜愈合时间等,目前国内外均未见确切报道。本研究从病理学角度研究低温等离子鼓膜打孔术后鼓膜的变化特点,以期为临床低温等离子鼓膜打孔提供形态学和病理学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

选取普通级兔子 9 只,雌雄不限,体质量 2.2 ~ 2.8 kg,由大连大学实验动物中心提供并饲养,合格证编号:SYXK(辽)2018-0005;饲养条件:12 小时光照/黑暗周期、通风良好、温度(20 ± 5)℃、湿度与大气一致。经耳内镜检查鼓膜完整、除外中耳炎(鼓室内无积液)。

1.2 方法

每只兔子右侧鼓膜设为观察组,行低温等离子打孔术;左侧鼓膜设为对照组,行常规鼓膜穿刺术。将 9 只兔子标记为 1 ~9 号,1 ~3 号、4 ~6 号、7 ~9 号分别于术后 0 d、1 个月、3 个月进行全身麻醉。麻醉方法:耳缘静脉注射 10% 水合氯醛麻醉(4 mg/kg),耳内镜下分别于鼓膜前下象限行穿刺或者低温等离子打孔,孔径大小 2 mm,采用美国 ArthroCare System 系统,刀头选择 EIC4855-01,操作时输出功率调整为 3 档。麻醉成功后采集双侧鼓膜耳内镜下图像,随后处死兔子,参照王武庆等[3]的方法留取鼓膜标本,光学显微镜病理检查观察各阶段鼓膜损伤特点、不同愈合时间阶段病理学特点。

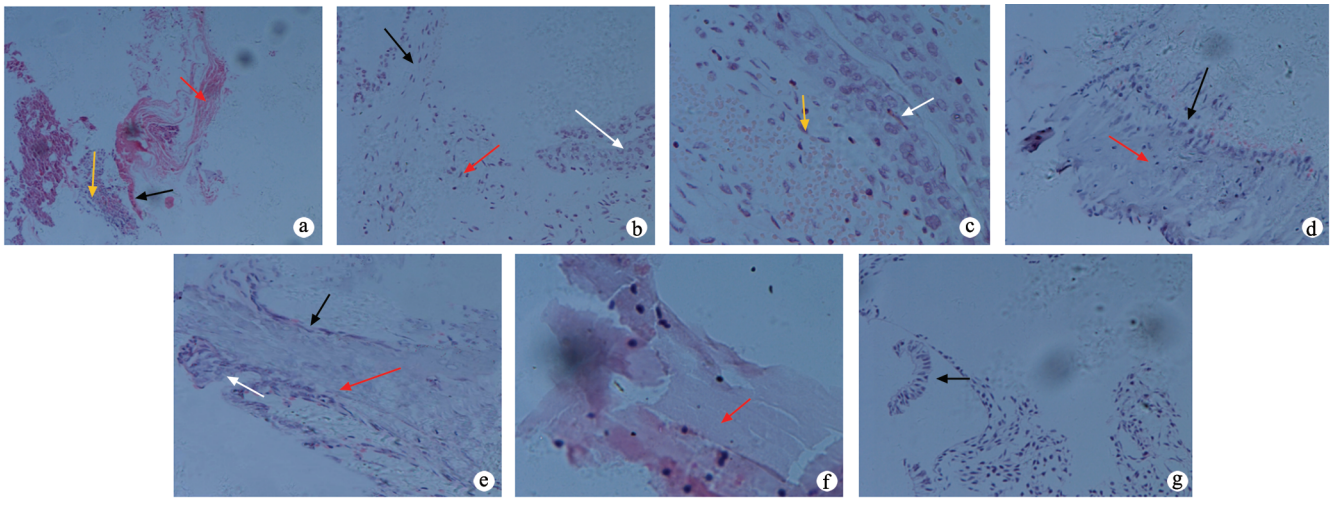
2 结果

2.1 耳内镜下影像结果

术后 0 d,对照组穿刺点边缘不规整,可见出血;观察组打孔处边缘规整,无出血。术后 1 个月,对照组穿刺处已愈合,不见穿刺点;观察组穿孔点缩小,但未完全愈合。术后 3 个月,观察组和对照组鼓膜均愈合,无明显瘢痕形成,穿刺愈合区域鼓膜无明显菲薄及内陷。

2.2 显微病理结果

术后 0 d,观察组可见鼓膜三层结构,分别为内层扁平上皮、中间层弹力纤维和外层复层鳞状上皮,但外层结构出现部分破坏及变性,大量炎性液体渗出,中间层结构疏松变性,黏膜上皮纤毛破坏明显(图 1a);对照组可见鼓膜三层结构出现局部断裂,中间纤维层有渗出、排列疏松(图 1b)。术后 1 个月,观察组可见鳞状上皮层内细胞疏松水肿、渗出,其内有小毛细血管(图 1c),中间弹力纤维层结构生长方向不规律,交错排列,不致密(图 1d);对照组断裂处基本愈合,上皮层、纤维层及黏膜层结构排列有序(图 1e)。术后 3 个月,观察组可见中间弹力纤维层排列方向一致(图 1f),光镜显示鼓室内黏膜上皮愈合,可见类纤毛组织,排列规则,提示鼓室内黏膜形态功能完全恢复,鼓膜三层组织形态较完整(图 1g),为完全愈合的病理特点;对照组与其术后 1 个月病理特点相似。



a:观察组术后 0 d 黏膜(HE ×100,红色箭头所指为部分变性纤维层,黑色箭头所指为黏膜上皮,黄色箭头所指为大量炎性液体渗出);b:对照组术后 0 d 鼓膜(HE ×200,白色箭头所指为鳞状上皮,黑色箭头所指为黏膜层,红色箭头所指为纤维层);c:观察组术后 1 个月鳞状上皮层(HE ×400,白色箭头所指为复层鳞状上皮,黄色箭头所指为血管内皮细胞,其内所指为红细胞);d:观察组术后 1 个月中间弹力纤维层(HE ×200,红色箭头所指为纤维层,黑色箭头所指为黏膜上皮);e:对照组术后 1 个月黏膜(HE ×200,白色箭头所指为鳞状上皮,黑色箭头所指为黏膜层,红色箭头所指为纤维层);f:观察组术后 3 个月中间弹力纤维层(HE ×400,红色箭头所指为纤维层);g:观察组术后 3 个月黏膜(HE ×200,黑色箭头所指为类纤毛组织)

图 1 不同愈合阶段病理学特点

3 讨论

分泌性中耳炎以听力减退、耳闷、耳痛、耳鸣等为主要临床表现,在儿童中发病率高,是儿童听力下降或致聋的重要原因之一,由于早期症状不明显,加上患儿往往不善表达,极易因漏诊错过早期治疗的最佳时期[4-5]。对于以中耳积液、胶耳、鼓室粘连为原因的传导性耳聋,在药物治疗无效的情况下,早期进行手术干预是彻底治愈的有效方法。以往对分泌性中耳炎采取的手术治疗多为鼓膜穿刺术或鼓膜置管术。康一等[5]研究报道鼓膜穿刺术的有效率为93.75%,其方法虽简单,但穿刺部位较早愈合,鼓室开放的时间较短,不能彻底解除中耳负压和引流,中耳腔会再次积液,易导致复发,复发率为22.6%[6-7]。有研究显示鼓膜置管的总有效率为91.84%[8],虽然鼓膜置管可以较长时间维持中耳通气和引流,并促进咽鼓管功能的恢复[9],但并发症较多,包括永久性鼓膜穿孔、出血、术后耳溢、鼓膜萎缩、鼓膜硬化、胆脂瘤和化脓性中耳炎[10],也易引起继发感染,并且管腔常被堵塞,置管有脱出或落入鼓室内的可能[11]。在长期的临床随访研究中,通过耳内镜检查发现,接受鼓膜置管治疗的鼓膜有13.9%~31.2%的可能发生局灶性萎缩。也有研究报道鼓膜置管后穿孔的鼓膜基本都能愈合,但因为受到挤压导致鼓膜很薄,只有表皮层和黏膜层,缺乏中间纤维层[12]。因此临床上急需一种新的手术方式来治疗分泌性中耳炎,要求在保证总有效率基本相同的情况下,既能延长鼓膜愈合时间,又能使愈合后的鼓膜形态及功能不受影响,且能同时减少并发症和复发率。王昭迪等[2]的研究发现低温等离子鼓膜打孔术的总有效率为92.9%,与鼓膜穿刺和鼓膜置管的有效率基本相似。低温等离子鼓膜打孔术是在较低的温度下(40~70 ℃)以"微创"的方式扩大鼓膜穿孔,其优点是术中无出血,穿刺位置及创面损伤范围精确可控,打孔处鼓膜经等离子裂解汽化变得平整圆滑,可以延长鼓膜伤口愈合所需的时间,打孔直径1~2 mm,利于中耳通气和引流,并能够促进咽鼓管功能的恢复。鼓膜及中耳黏膜反应轻微,能有效防止中耳结构损伤,避免置管滑落埋入鼓室、脱管、异物反应肉芽增生等弊端[13]。

本研究选取兔鼓膜作为研究对象,是因为根据病理检查所见,正常兔鼓膜组织结构和人类相近[14]。本研究发现,在术后0 d因鼓膜穿刺术为锐性损伤,其鼓膜边缘不规整且有出血;而低温等离子打孔为热损伤,能够使微血管的断裂端凝结,具有更好的止血效果,鼓膜边缘规整、无出血。术后1个月,对照组穿刺处已愈合,而观察组穿孔点缩小,但未完全愈合,打孔周围无卷曲的复层鳞状上皮及黏膜上皮。术后3个月,观察组打孔处鼓膜愈合,愈合鼓膜无明显瘢痕形成,愈合穿孔较正常鼓膜无明显菲薄、内陷。说明低温等离子鼓膜打孔术的愈合时间较鼓膜穿刺术长。伤口愈合通常包括止血、炎症反应、组织形成和组织重塑这几个阶段。本研究发现术后0 d观察组可见鼓膜三层结构被破坏,大量炎性液体渗出,中间层结构疏松变性,而对照组三层结构部分断裂,但中间纤维层排列疏松,说明在损伤程度上低温等离子鼓膜打孔术后0 d损伤较鼓膜穿刺重。术后1个月观察组可见鳞状上皮层内细胞疏松水肿、渗出,其内有小毛细血管,说明组织正在自我修复,而观察组中间弹力纤维层由术后1个月结构生长方向不规律、交错排列、不致密到术后3个月中间弹力纤维层排列方向一致,说明组织在重塑。术后3个月观察组鼓膜三层组织形态较完整,鼓室内黏膜上皮愈合,可见类纤毛组织,排列规则。整个低温等离子鼓膜打孔的愈合过程也与相关报道一致:最先愈合的是鳞状上皮角质层和渗出物,然后上皮将角质层和渗出物作为支架封闭穿孔,接着才是纤维结缔组织,最后是黏膜层[15-16]。

综上所述,在损伤程度上低温等离子鼓膜打孔即时损伤较鼓膜穿刺重,鼓膜愈合时间延长,且愈合后其病理学特点与正常鼓膜基本接近。本实验从病理学角度研究低温等离子打孔后鼓膜的变化特点,为临床低温等离子鼓膜打孔治疗分泌性中耳炎提供病理学依据,推动该技术的临床应用。

[参考文献]

[1] Rosenfeld RM, Shin JJ, Schwartz SR, et al. Clinical practice guideline: otitis media with effusion (update)[J]. Otolaryngol Head Neck Surg, 2016, 154(1 Suppl): S1-S41. doi: 10.1177/0194599815623467.

[2] 王昭迪,李占珍,李金海,等. 耳内镜下低温等离子鼓膜打孔术治疗成人分泌性中耳炎的疗效观察[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2018, 32(7): 554-556. doi: 10.13201/j.issn.1001-1781.2018.07.020.

[3] 王武庆,王正敏,田 洁. 鼓膜上皮干细胞的分布和培养[J]. 中华耳鼻咽喉科杂志, 2004, 39(12): 712-716. doi: 10.3760/j.issn: 1673-0860.2004.12.003.

[4] 陈文欣,付 勇. 腺样体肥大在儿童分泌性中耳炎发病机制中的作用研究进展[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2018, 32(17): 1359-1362. doi: 10.13201/j.issn.1001-1781.2018.17.017.

[5] 康 一,谈晓文,朱丽烨,等. 鼓膜穿刺和鼓膜激光打孔术及鼓膜置管术在治疗儿童分泌性中耳炎中的疗效比较[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2018, 32(22): 1723-1727. doi: 10.13201/j.issn.1001-1781.2018.22.010.

[6] 王红梅,李连贺,谭福宪,等. 鼓膜穿刺、CO_2 激光鼓膜打孔联合腺样体肥大切除治疗儿童分泌性中耳炎疗效观察[J]. 听力学及言语疾病杂志, 2017, 25(3): 318-319. doi: 10.3969/j.issn.1006-7299.2017.03.025.

doi:10.11659/jjssx.06E020028

·基础研究·

不同造模方法对金黄地鼠颈动脉粥样硬化的影响

刘 辉,佟 超,曾德圣,陈日辉,刘顶成 (中南大学湘雅医学院附属海口医院放射介入科,海南 海口 570203)

[摘 要] **目的** 建立改良新型金黄地鼠颈动脉粥样硬化模型,探讨高血脂、高血糖、剪切应力异常对动脉粥样硬化的影响。**方法** 雄性叙利亚金黄地鼠100只,随机分为对照组(N组)、高血脂组(L组)、高血糖组(G组)、高血脂+高血糖组(L+G组)及高血脂+颈动脉结扎组(L+L组),每组20只。其中N组喂食普通饲料;L组喂食高脂饲料;G组一次性腹腔注射链脲佐菌素(STZ,40 mg/kg),普通饲料喂养;L+G组喂养高脂饲料4周后一次性腹腔注射STZ(40 mg/kg);L+L组采用高脂饲料喂养4周后结扎左侧颈内动脉和颈外动脉,保留枕动脉。造模后第10周、第20周每组各取10只金黄地鼠先行下腔静脉置管,抽取血液检测各组血糖及脂质代谢水平;再采用数字乳腺机行双侧颈总动脉血管造影检查,观察双侧颈总动脉血管形态变化;最后处死金黄地鼠,切取主动脉弓及双侧颈总动脉,固定包埋后HE染色观察动脉粥样硬化斑块情况。**结果** 血生化分析表明第10周、第20周,L组、L+G组、L+L组金黄地鼠总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白(LDL)、高密度脂蛋白(HDL)含量均高于N组和G组($P<0.05$),其中L+G组变化最为显著,同时伴有三酰甘油(TG)含量高于其他组($P<0.05$);G组、L+G组金黄地鼠血糖含量明显高于N组、L组、L+L组($P<0.05$);L+G组胰岛素含量高于其他组($P<0.05$),L组与N组胰岛素含量均明显上升,但仅在第10周时2组比较差异有统计学意义($P<0.05$)。第20周时,血管造影未见明确血管狭窄或闭塞;仅L+L组双侧颈总动脉血管直径比较,差异有统计学意义($P<0.05$),其他组双侧比较差异无统计学意义($P>0.05$)。与N组比较,L组、L+G组、G组双侧颈总动脉血管直径较小($P<0.05$);而L+L组与其他组比较,左侧颈总动脉血管直径较小,右侧颈总动脉血管直径较大。病理HE染色表明N组双侧颈总动脉未见粥样硬化,L组、G组双侧颈总动脉粥样硬化表现轻微,L+G组、L+L组的金黄地鼠颈总动脉出现明显动脉粥样硬化。**结论** 高血脂联合高血糖或高血脂联合颈动脉结扎均可加速金黄地鼠颈动脉粥样硬化模型的建立。

[关键词] 高血脂;高血糖;剪切应力;颈动脉粥样硬化;金黄地鼠
[中图分类号] R332 [文献标识码] A [收稿日期] 2020-06-08

Effects of different modeling methods on carotid atherosclerosis in golden hamsters

LIU Hui, TONG Chao, ZENG De-sheng, CHEN Ri-hui, LIU Ding-cheng (Radiology Intervention Department, Haikou Hospital Affiliated to Xiangya Medical College of Central South University, Haikou Hainan 570203, China)

Abstract: Objective A modified model of carotid atherosclerosis in golden hamsters is established to explore the effects of hyperlipidemia, hyperglycemia, and abnormal shear stress on atherosclerosis. **Methods** A total of 100 male Syrian golden hamsters were randomly

[基金项目] 2018年海南省自然科学基金面上项目(818MS135)
[通信作者] 刘顶成,E-mail:huihui25808@163.com

[7] 栗子芳,易世江,王文华,等.鼓膜穿刺或鼓膜置管联合腺样体切除术治疗儿童分泌性中耳炎的疗效分析[J].临床耳鼻咽喉头颈外科杂志,2018,32(5):383-385. doi:10.13201/j.issn.1001-1781.2018.05.016.

[8] Hao J, Chen M, Liu B, et al. Compare two surgical interventions for otitis media with effusion in young children[J]. Eur Arch Otorhinolaryngol, 2019,276(8):2125-2131. doi:10.1007/s00405-019-05421-9.

[9] Ciuman RR. Middle ear drainage and ventilation: indications, complications and their treatment[J]. Laryngorhinootologie, 2016,95(3):171-177. doi:10.1055/s-0042-101604.

[10] Zong SM, Wen YY, Guan YX, et al. Efficacy of laser myringotomy compared with incisional myringotomy for the treatment of otitis media with effusion in pediatric patients: a systematic review[J]. Int J Pediatr Otorhinolarngol, 2019,123:181-186. doi:10.1016/j.ijporl.2019.05.014.

[11] 唐旭兰,周慧群,殷善开,等.CO_2激光鼓膜造孔术治疗分泌性中耳炎的近期疗效观察[J].听力学及言语疾病杂志,2010,18(5):499-500. doi:10.3969/j.issn.1006-7299.2010.05.029.

[12] Oktay MF, Paparella MM, Tansuker HD, et al. Histopathology of tympanic membranes from patients withventilation tubes[J]. Auris Nasus Larynx, 2018,45(3):427-432. doi:10.1016/j.anl.2017.07.017.

[13] 王丽红,张建新,袁 超,等.低温等离子手术治疗分泌性中耳炎的临床研究[J].中华耳科学杂志,2015,13(2):312-315. doi:10.3969/j.issn.1672-2922.2015.02.028.

[14] 陈 松,廖晓红,储智勇,等.高速空气加压致兔鼓膜损伤的病理学研究[J].中华航海医学与高气压医学杂志,2018,25(4):240-243. doi:10.3760/cma.j.issn.1009-6906.2018.04.007.

[15] Santa Maria PL, Redmond SL, Atlas MD, et al. The role of epidermal growth factor in the healing tympanic membrane following perforation in rats[J]. J Mol Histol, 2010,41(6):309-314. doi:10.1007/s10735-010-9287-1.

[16] 张天宇,SHEN Steve,杨 琳.颗粒酶B在慢性鼓膜穿孔炎症损伤修复中的应用[J].中国眼耳鼻喉科杂志,2016,16(1):7-9. doi:10.14166/j.issn.1671-2420.2016.01.003.

(编辑:贺绍梅)