

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2015.08.002

一种改良 ePTFE 人工硬脑膜的实验研究*

周峰 方晓东 应广宇 胡未伟 沈宏

(浙江大学医学院附属第二医院神经外科 浙江 杭州 310009)

摘要 目的:对一种 ePTFE 人工硬脑膜表面改性,将其外表面疏水特性进行改良,并观察其对兔硬脑膜缺损愈合的影响。**方法:**对一种 ePTFE 材料人工硬脑膜外表面进行光化学修饰,从而改变其对成纤维细胞吸附能力及促增殖能力。将表面改性后的人工硬脑膜和未改性人工硬脑膜修补兔硬脑膜缺损,观察其对术后 1 周、3 周伤口愈合及脑脊液漏、浸润成纤维细胞、纤维组织厚度等的影响。**结果:**未处理组 2 只术后早期出现皮下积液,处理组无术后皮下积液的发生($P=0.12$)。人工硬脑膜移植术后 1 周其外表面成纤维细胞数目表面改性组要明显多于未处理组($P<0.05$)。人工硬脑膜移植术后 3 周其外表面纤维组织厚度表面改性组和未处理组无明显差异($P>0.05$)。经过表面改性后的 ePTFE 人工硬脑膜其促进组织愈合能力要优于未改性组。**结论:**对 ePTFE 材料人工硬脑膜进行表面改性处理是一种可行有效的改良方法。

关键词:膨体聚四氟乙烯(ePTFE);人工;硬脑膜

中图分类号:Q81;Q95-3;R318.08 **文献标识码:**B **文章编号:**1673-6273(2015)08-1406-03

A Kind of Modified ePTFE Dura Mater: an Experimental Study*

ZHOU Feng, FANG Xiao-dong, YING Guang-yu, HU Wei-wei, SHEN Hong

(Department of Neurosurgery, Second Affiliated Hospital, School of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou, Zhejiang, 310009, China)

ABSTRACT Objective: To observe the influence of a kind of modified ePTFE artificial dura mater on the healing process of rabbit dura mater defect. **Methods:** A kind of ePTFE artificial dura mater was modified for its external surface by photo-activated chemical cross-linking. The surface modified (treatment group) and unmodified (control group) dura mater were transplanted to repair the defected dura mater in a rabbit model. The wound healing, cerebrospinal fluid leakage, infiltrated fibroblast cells and the thickness of fibrous tissue were observed in 1 week and 3 weeks after the transplantation. **Results:** Subcutaneous effusion occurred in 2 rabbits of control group and none in treatment group in 1 week after transplantation ($P=0.12$). The number of fibroblasts in the external surface of artificial dura mater 1 week after transplantation in the treatment group was significantly greater than control group ($P<0.05$). The thickness of fibrous tissues covering artificial dura mater 3 weeks after transplantation in the treatment group was similar to that in control group ($P>0.05$). The healing process of modified dura mater was better than the unmodified dura mater. **Conclusion:** The photo-activated chemical cross-linking for this ePTFE artificial dura mater is effective to improve the quality of artificial dura mater.

Key words: ePTFE; Artificial; Dura mater

Chinese Library Classification (CLC): Q81; Q95-3; R318.08 **Document code:** B

Article ID: 1673-6273(2015)08-1406-03

前言

近年来,颅底外科得到了很大的发展,但颅底肿瘤切除术后,常留有软组织、颅底骨和硬脑膜的缺损,有时剩余的颅内结构直接和呼吸或消化系统相通,术后脑脊液漏、颅内感染的发生率较高。因此处理复杂的颅底病变不仅要切除病灶,而且要重建颅底,这也是决定颅底手术成功的关键之一^[1-4]。Neligan^[5]认为"就病人的致残率和死亡率而言,颅底重建和切除肿瘤一样重要"。Urken^[6]认为"颅底重建比切除肿瘤更富于挑战性"。而硬脑膜的修复是重建的最关键一环,在颅底重建中,首先必须获得不漏水的硬膜封闭^[7]。在任何情况下,必须重建硬膜的完整性^[8],不充分的硬膜封闭是许多脑脊液(CSF)漏的直接原因

^[9]。Jackson^[10]指出硬脑膜缺损的大小决定了颅底重建的复杂程度。

硬脑膜的完整性对防止脑脊液漏、颅内感染、脑膨出、癫痫等具有重要意义。各种原因导致的硬脑膜缺损非常常见,据统计有 30% 的开颅手术病人需要硬脑膜修补,多见于下列情况:(1)肿瘤或创伤原因所致的硬脑膜缺失;(2)需要扩大硬膜腔容积时,如一些减压手术;(3)术中电凝烧灼等原因导致硬膜缘收缩以致不能直接缝合时;(4)硬膜的一些手术,如脑膜膨出等^[11]。目前常用的硬脑膜的替代材料有自体筋膜、异体或异种生物膜,以及人工合成、半合成的一些材料,但迄今为止仍然没有一种理想的硬脑膜替代材料为大家所公认^[12]。我国目前使用人工硬脑膜主要为进口材料,价格昂贵,亟需开发一种国产、价

* 基金项目:浙江省科技厅钱江人才项目(2010R10)

作者简介:周峰(1973-),男,医学博士,副主任医师,主要研究方向:神经外科基础及临床研究,电话:0571-87784714,13666669106,

E-mail:zhoufengd@hotmail.com

(收稿日期:2014-08-11 接受日期:2014-09-03)

廉、高质量的硬脑膜替代材料。

膨体聚四氟乙烯 (expanded Polytetrafluoroethylene, ePTFE), 是一种人工合成高分子材料, 在临床应用广泛, 如疝气修补, 人工血管材料, 颌面整形材料等, 目前也有用于脑膜修补的人工脑膜, 但价格非常昂贵, 而且也存在一定缺点, 如缝针处容易漏水导致脑脊液漏, 以及外表面和周围组织愈合差等问题。本研究旨在对 ePTFE 材料的人工硬脑膜进行表面改性, 将其外表面疏水特性进行改良, 并观察其对人工硬脑膜移植后愈合的影响。

1 材料和方法

1.1 ePTFE 膜的表面改性

ePTFE 人工硬脑膜(美国戈尔公司), 其外表面采用光化学修饰法, 即在氨气环境下, 在一定的大气压下, 通过紫外光照射 ePTFE 膜表面, 改变其表面化学结构交联^[3]。表面经过改性的 ePTFE 膜, 其对成纤维细胞等的吸附能力和促增殖能力明显增强^[4]。

1.2 仪器

电动磨钻, 显微手术器械, 轮转式切片机(RM2135 型, LEICA 公司), 显微镜(BH2 型, OLYMPUS 公司)。

1.3 动物

浙江大学实验动物中心提供, 健康成年新西兰白兔 12 只, 体重 2,500-3,000 g。

1.4 硬脑膜缺损模型及修补的制作

用 2.5% 戊巴比妥钠 70 mg/kg 体重于兔耳缘静脉注射麻醉, 作额顶部头皮正中切口, 纵行切开头皮, 在手术显微镜下, 左、右顶部开颅, 磨钻各磨除一个约 1.5 cm × 1.5 cm 大小骨质缺损, 剪除直径 1.0 cm × 1.0 cm 大小硬脑膜, 注意不要损伤深面脑皮层。取表面改性修饰过的 ePTFE 膜及未处理的 ePTFE 膜各一片, 约 1.3 cm × 1.3 cm 大小, 分别覆盖在左、右硬脑膜缺损处。

1.5 术后管理

术后动物自然进食, 12 h 白天 / 黑夜循环照明, 室温控制 20.0 ± 0.5 °C, 分别于 1 周(6 只)、3 周(6 只)后处死动物取材观察。

1.6 术后观察

观察记录每一只实验动物术后有无脑部刺激症状, 行为及进食有无异常, 伤口愈合及有无脑脊液漏情况发生。

1.7 组织学观察

过量麻醉剂处死实验动物后, 沿原切口瘢痕切开头皮并牵开, 手术显微镜下检查硬脑膜移植体和其下的脑组织, 冠状切片, 切片厚度 4 μm。标本固定于 10% 福尔马林液中 48 h 石蜡包埋。先后给予二甲苯脱蜡, 梯度乙醇脱苯, 然后给予苏木素、伊红染色, 脱水, 透明, 中性树脂封片。

1.8 统计学方法

采用 SPSS10.0 软件进行统计学分析, 数据显示采用均值 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$)。皮下积液发生率组间比较采用卡方检验, 其余组间比较采用方差分析。P < 0.05 被认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大体实验结果

所有的实验兔无死亡, 无行为、进食异常。未见伤口感染、颅内感染及抽搐迹象。未处理组 2 只术后早期出现皮下积液, 处理组无术后皮下积液的发生 (P = 0.12)。尽管未达到统计学差异, 可能与样本量过少有关。

两组标本脑接触面和皮层均没有明显的粘连。

表 1 处理组和未处理组术后 1 周皮下积液的比较

Table 1 Comparison of subcutaneous effusion 1 week after transplantation

Group	Subcutaneous effusion	No effusion
Unmodified	2	4
Modified	0	6

注: 处理组和未处理组比较 P = 0.12。

Note: The comparison between control group and treatment group P = 0.12.

2.2 组织学结果

术后 1 周的人工硬脑膜外表面浸润细胞成分以梭形的成纤维细胞、圆形的单核细胞为主(见图 A, B); 而术后 3 周以成熟的成纤维细胞为主, 周围有薄层纤维组织形成(见图 C, D), 和周围的骨组织粘连。

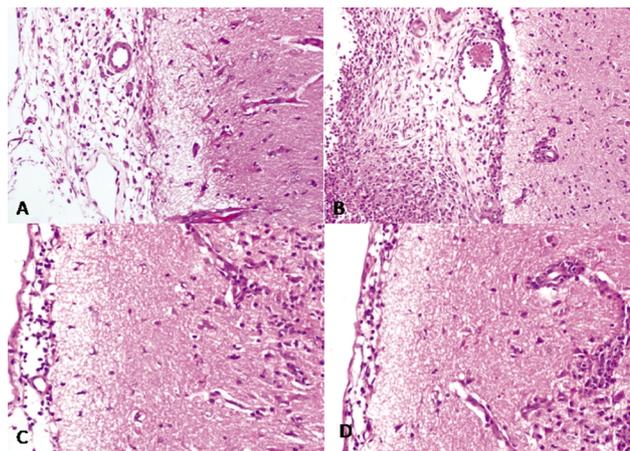


图 1 术后 1 周及 3 周人工硬脑膜组织的 HE 染色结果 (× 100)

Fig. 1 HE staining of the artificial dura mater 1 and 3 weeks after transplantation (× 100)

注: A: 术后 1 周末处理组; B: 术后 1 周处理组; C: 术后 3 周末处理组; D: 术后 3 周处理组。

Note: A: Control group 1 week post-operation; B: Treatment group 1 week post-operation; C: control group 3 weeks post-operation; D: Treatment group 3 weeks post-operation.

人工硬脑膜移植术后 1 周:

人工硬脑膜移植术后 1 周其外表面成纤维细胞数目表面改性组要明显多于未处理组(见图 A, B) (P < 0.05)。

人工硬脑膜移植术后 3 周:

移植人工硬脑膜外表面纤维组织厚度表面改性组和未处理组无明显差异(见图 C, D) (P > 0.05)。

3 讨论

尽管人们寻找合适的硬脑膜替代物已经超过 100 年, 有

表 2 移植术后 1 周人工硬脑膜外表面成纤维细胞数目(个 / 高倍视野, $\bar{x} \pm s$)

Table 2 The number of fibroblasts in the external surface of artificial dura mater 1 week after transplantation($\bar{x} \pm s$)

Group	Cell count
Unmodified	218.4± 38.9
Modified	301.3± 50.2*

注:* 与未处理组比较, P<0.05。

Note: *P<0.05, compared with control group.

表 3 移植术后 3 周人工硬脑膜外表面纤维组织厚度($\bar{x} \pm s$)

Table 3 The thickness of fibrous tissues covering artificial dura mater 3 weeks after transplantation($\bar{x} \pm s$)

Group	Thickness of fibrous tissues(μm)
Unmodified	195.4± 29.8
Modified	176.3± 49.6*

注:* 与未处理组比较, P>0.05。

Note: * P>0.05, compared with control group.

50 种以上的材料曾经使用过, 但迄今为止仍然没有一种理想的硬脑膜替代材料为大家所公认^[15]。我国目前使用人工硬脑膜主要为进口材料, 价格昂贵, 仍有容易漏水导致脑脊液漏, 以及外表面和周围组织愈合差等很多缺点。目前亟需开发一种国产、价廉、高质量的硬脑膜替代材料。硬脑膜和深筋膜的主要成分相似, 以胶原纤维为主, 还有少量的弹性纤维, 细胞成分则主要是成纤维细胞, 成纤维细胞能合成分泌胶原蛋白, 生成胶原纤维等成分^[16]。成纤维细胞是创伤修复过程中最主要的功能细胞, 它的生物学行为是创口愈合质量的基础与关键^[12]。有研究发现硬脑膜创口的愈合过程就是创伤的硬膜缘及其相邻组织所诱导的成纤维细胞增生、新生血管长入及结缔组织纤维形成的过程^[17]。而合成的有机材料往往促进成纤维细胞增生能力明显差于自体筋膜及胶原类材料。成纤维细胞是创伤修复过程中最主要的功能细胞, 其功能是伤口愈合的基础与关键, 目前认为创伤修复是修复细胞和细胞外基质之间相互作用的复杂动态过程^[18]。

本研究作者根据目前常用的各种硬脑膜替代材料的特性及其优缺点, 结合以往的工作基础, 对现有的 ePTFE 有机材料人工硬脑膜进行表面改性, 改变其表面疏水特性, 其促成纤维细胞积聚能力明显增强, 从而促进创面愈合。本研究发现表面改性后的 ePTFE 人工硬脑膜, 术后早期(1 周)可以趋化更多成纤维细胞浸润创面, 促进硬脑膜创伤愈合, 及与周围结缔组织粘连, 从而可能减少术后早期脑脊液漏及皮下积液等并发症的发生率。3 周后移植筋膜均以成熟的成纤维细胞为主, 周围有薄层纤维结缔组织形成; 并且结缔组织纤维的厚度在表面改性组和未处理组并无明显差异, 说明经过较长时间的组织重塑, 最终表面改性组和未处理组人工硬脑膜均达到了良好的组织愈合, 而且没有在局部形成明显增厚的纤维疤痕。本课题的研究为开发新型人工硬脑膜提供了新的研究思路。

参 考 文 献(References)

[1] Llorente JL, Lopez F, Camporro D, et al. Outcomes following

microvascular free tissue transfer in reconstructing skull base defects [J]. *J Neurol Surg B Skull Base*, 2013, 74(5): 324-330

[2] Thankker JS, Fernandes R. Evaluation of reconstructive techniques for anterior and middle skull base defects following tumor ablation [J]. *J Oral Maxillofac Surg*, 2014, 72(1): 198-204

[3] Meier JC, Bleier BS. Anteriorly based pedicled flaps for skull base reconstruction[J]. *Adv Otorhinolaryngol*, 2013,74(1): 6470

[4] Ting JY, Metson R. Free graft techniques in skull base reconstruction [J]. *Adv Otorhinolaryngol*, 2013, 74(1): 33-41

[5] Eloy JA, Choudhry OJ, Christiano LD, et al. Double flap technique for reconstruction of anterior skull base defects after craniofacial tumor resection: technical note [J]. *Int Forum Allergy Rhinol*, 2013, 3(5): 425-430

[6] Inman J, Ducic Y. Intracranial free tissue transfer for massive cerebrospinal fluid leaks of the anterior cranial fossa [J]. *J Oral Maxillofac Surg*, 2012, 70(5): 1114-1118

[7] Bull WJ, Vandevender D, Cimino VG, et al. Reconstruction of defects of the cranial base[J]. *Techniques in Neurosurgery*, 2003, 9(2): 106-112

[8] Zanation AM, Snyderman CH, Carrau RL, et al. Minimally invasive endoscopic pericrainal flap: a new method for endonasal skull base reconstruction[J]. *Laryngoscope*, 2009, 119(1): 13-18

[9] Minemura H, Kawamata M, Perioperative management of skull base tumor surgery[J]. *Masui*, 2014, 63(5): 534-541

[10] Schmalbach CE, Webb DE, Weitzel EK. Anterior skull base reconstruction: a review of current techniques [J]. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg*, 2010, 18(4): 238-243

[11] Mello LR, Feltrin LT, Fontes Neto PT, et al. Duraplasty with biosynthetic cellulose: an experimental study [J]. *J Neurosurg*, 1997, 86(1): 143-150

[12] Caroli E, Rocchi G, Salvati M. Duraplasty: Our Current Experience [J]. *Surg Neurol*, 2004, 61(1): 55-59

[13] Heitz J, Svorcik V, Bacakova L, et al. Cell adhesion on polytetrafluoroethylene modified by UV -irradiation in an ammonia atmosphere[J]. *J Biomed Mater Res A*, 2003, 67(1): 130-137

[14] Gumpenberger T, Heitz J, Bauerle D, et al. Adhesion and proliferation of human endothelial cells on photochemically modified polytetrafluoroethylene[J]. *Biomaterials*, 2003, 24(28): 5139-5144

[15] 成令忠.组织学(第四版)[M]. 北京:人民卫生出版社, 1994: 30-31

[16] Cheng Ling-zhong. *Tissue (the Fourth Edition)* [M]. Beijing: The People's Press, 1994: 30-31

[17] Vinas FC, Ferris D, Kupsyky WG. Evaluation of expanded polytetrafluoroethylene (ePTFE) versus polydioxanone (PDS) for the repair of dura mater defects[J]. *Neurol Res*, 1999, 21(3): 262-268

[18] Schick B, Wolf G, Romeike BFM, et al. Dural cell culture: a new approach to study duraplasty [J]. *Cells Tissues Organs*, 2003, 173(3): 129-137

[18] 杨力,郭树忠.成纤维细胞与创伤修复的生物学过程[J].*中国临床康复*,2002,6(4): 470-474

Yang Li, Guo Shu-zhong. The biological process of fibroblasts and traumatic repair[J]. *Chinese Clinical Rehabilitation*, 2002, 6(4): 470-474