

犬移植生物型硬脑膜补片实验研究

常洪波 潘腾飞 高 铭 卢旺盛 崔 凯 王 鹏 张剑宁

【关键词】 颅脑手术;人工硬脑膜;家犬  
【文章编号】 1009-153X(2016)05-0317-02      【文献标志码】 B      【中国图书资料分类号】 R 651.1<sup>+</sup>1

牛心包主要由胶原纤维、弹性纤维、糖胺聚糖、蛋白聚糖和组织细胞成分组成,经去细胞处理后,主要成分为I型胶原蛋白,经特殊处理后其临床应用广泛。乐普(北京)医疗器械股份有限公司提供的实验组样品以牛心包为基材,经环氧固定、除抗原、组织材料诱导改性等处理后制成。我们通过动物体内对照实验,评价了材料的安全性和有效性以及这种新型人工硬脑膜补片的植入转归过程。

1 材料及方法

1.1 实验动物与分组 实验动物为健康普通成年家犬10只,雌雄不限,体重12 kg左右,由海军总医院实验动物中心提供。每只犬植入两片硬脑膜补片,实验组植入左脑,对照组植入右脑。将犬分为术后1个月组(植入期限为1个月,每组1只)、3个月组(植入期限为3个月,每组2只)、6个月组(植入期限为6个月,每组2只)。

1.2 主要实验器材及试剂 实验组样品由乐普(北京)医疗器械股份有限公司提供,产品外观见图1A。对照组样品采用已上市某品牌人工脑膜产品,其以猪的膜组织为原料,经环氧化物固定制成,产品外观见图1B。两种硬脑膜补片力学性能强,可承受缝合。两种硬脑膜替代物性能评价分别采用拉伸强度及顶破强度测定硬度,湿性材料与干燥材料重量差值测定含水量。高速磨钻购自上海博纳医疗器械有限公司,手术器械及双极电凝为德国蛇牌产品。

1.3 手术处理方法 采用氯胺酮和速眠新Ⅱ肌肉注射全麻,于中线旁1 cm形成两个4 cm×3 cm骨瓣。骨窗内剪出1.0 cm×1.5 cm椭圆形硬脑膜缺损。将实验组或对照组硬脑膜替代物修剪为相应形状,光面朝内贴附于脑表面,边缘重叠约0.3 cm左右间断缝合。实验组植入家犬左脑,对照组植入右脑。手

术结束后普通饮食饲养。至实验观察终点时,对实验动物执行无痛安乐死并将硬脑膜替代物及其周围组织进行取材。

1.4 术后动物观察 实验动物术后饲养,常观察有无中枢神经损伤引起的运动障碍、进食和饮水情况、大小便性状、精神状态以及日常活动等;通过术中肉眼大体解剖评价有无脑脊液漏、粘连、感染、脑积水和出血等并发症。

1.5 HE染色 染色后,光学显微镜下观察实验组与对照组的手术周围组织反应情况,评价内容包括炎症反应、纤维囊腔形成、排异反应、血管化水平等。

2 结果

2.1 两种硬脑膜替代物性能评价 实验组和对照组硬脑膜替代物的操作性能评价见表1。对照组硬脑膜补片硬度高于实验组;但实验组补片含水量高于对照组,而且实验组硬脑膜补片与脑组织的贴附性优于对照组。

表1 两种硬脑膜替代物手术操作性能评价		
产品性能	实验组	对照组
是否能承受缝合	是	是
含水量	高	较高
硬度	中	高
方便裁剪	好	好
与脑组织的贴附性	好	可接受

2.2 实验犬术后养殖期内基本状况 实验动物围手术期无死亡,术后1~3 d恢复正常饮食。所有实验犬取材时体重略有增加,无术后感染及神经系统损伤,无癫痫发生。

2.3 术后解剖情况 植入期满取材时,两组犬头皮均愈合良好,无脓肿,无皮下积液,取材可见颅骨瓣与头骨之间的缝隙已经为纤维瘢痕组织所替代,可见硬脑膜替代物已经与犬自身脑膜融合长入,完整封闭硬脑膜缺损,植入物及周边宿主硬脑膜形态连续,覆盖紧密。两组均与大脑有轻度粘连,但能从脑表面轻易剥离开(图2)。

2.4 HE染色结果 硬脑膜补片植入1个月,两种材料形态保持完整,补片表层可见成纤维细胞,偶见淋巴细胞,表现出轻微炎症反应。对照组补片内未见细胞长入,实验组补片内可

doi:10.13798/j.issn.1009-153X.2016.05.022  
作者单位:100048 北京,海军总医院神经外科研究所(常洪波、卢旺盛、王 鹏、张剑宁);102200 北京,乐普(北京)医疗器械股份有限公司(潘腾飞、崔 凯);100010 北京,北京军区总医院附属八一儿童医院(高 铭)  
通讯作者:张剑宁,E-mail:changhongbo2000@gmail.com

见少量成纤维细胞长入。硬脑膜替代物植入3个月,与补片接触的颅骨和软脑膜组织生长良好,无坏死。实验组硬脑膜补片表层未见淋巴细胞,补片内部可见成纤维细胞进入(图3A);对照组硬脑膜补片内部未见宿主细胞进入,补片与周围组织间有一条轻微蓝染痕迹,为钙盐,表现出轻微小灶钙化,偶见淋巴细胞,表现出轻度炎症反应(图3B)。两种硬脑膜补片均无纤维囊腔包裹,生物相容性均良好。硬脑膜补片植入6个月,两组均未见明显炎症反应。实验组病理切片显示硬脑膜替代物约有20%已经被宿主细胞所“蚕食”降解,原来的硬脑膜替代物被分隔为一条条“碎片”,有被新生结缔组织替代的趋势。实验组硬脑膜补片表层已经被宿主细胞逐步取代(图3C)。对照组6个月植入期内硬脑膜补片未见降解,且补片内无成纤维细胞的进入,其形态保持完整,仅表层可见少量成纤维细胞(图3D)。

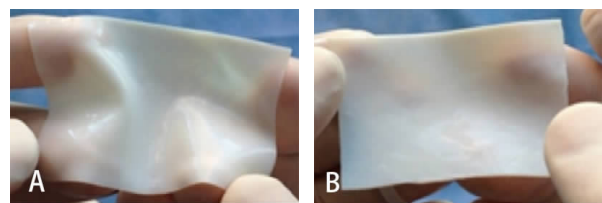


图1 实验组及对照组人工硬脑膜补片肉眼观察  
a. 实验组硬脑膜补片;b. 对照组硬脑膜补片

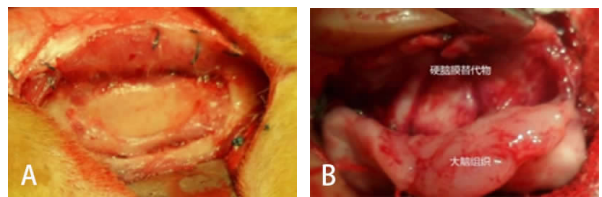


图2 植入期满3个月两组硬脑膜补片大体解剖情况  
a. 对照组骨瓣与周围组织呈瘢痕愈合;b. 实验组硬脑膜替代物与大脑轻度粘连

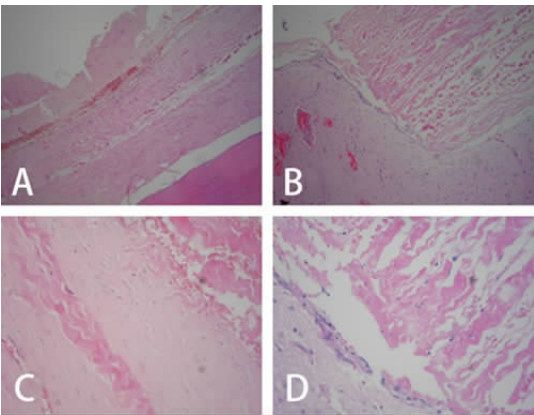


图3 两组标本的HE染色结果  
a. 实验组植入3个月(×100);b. 对照组植入3个月(×100);  
c. 实验组植入6个月(×400);d. 对照组植入6个月(×400)

3 讨论

目前,硬脑膜修补材料有4类:自体组织修补材料、同种异体材料、异种生物材料和人工合成材料。同种异体硬脑膜材料来源不便,容易使人感染易感病毒,已不再采用。人工合成高分子硬脑膜修补材料如聚乳酸、聚羟乙酸等也有应用,但其生物相容性较差,目前应用较好的为Neuro-Patch神经补片,由聚氨甲酸乙酯制成,呈多微孔、绒状非编织材料,可使纤维细胞长入利于组织修复,但其贴附性差、价格昂贵、不能降解吸收且有增加术后血肿及感染风险。基于上述材料的缺陷,目前人们将目光转向动物源性的胶原基材料。主要以国外进口产品为主,如脑膜卫士、百得塞、DuraGenTM等。近几年,出现国产产品佰仁思及脑膜建。生物型硬脑膜补片早期采用戊二醛作为交联剂,其在较多方面优于高分子合成材料,但有残留毒性,可持续释放戊二醛,虽毒性较低,但持续时间长,与材料的植入寿命相当且残留毒性在纤维结缔组织形成囊壁后阻碍细胞向植入组织的长入,难以代谢及进一步同化植入组织。

我们实验组硬脑膜补片采用新型环氧交联剂对组织进行交联固定,经体内家犬动物试验验证,此材料生物相容性良好。材料植入家犬3个月,硬脑膜补片与宿主硬脑膜良好的融合长入,完整封闭大脑。HE染色可见补片内部有成纤维细胞长入。植入6个月,硬脑膜补片表层约有20%被宿主组织所“蚕食”,原来的硬脑膜替代物被分隔为一个一个“碎片”,碎片之间伴有新生结缔组织,从而形成了由原植入物胶原纤维与新生结缔组织交织在一起的“过渡态”结构,实验组硬脑膜补片有最终被宿主硬脑膜所替代的趋势。由于新生硬脑膜结缔组织与原生硬模组织微观结构相同,硬脑膜的降解与再生保持同步,因而硬脑膜补片在整个转归过程中能够始终保持其基本的机械性能。由于此生物材料的降解产物都是可被机体吸收利用的氨基酸和多肽物质,交界处没有观察到明显的炎症反应和囊壁形成。

本研究实验组硬脑膜补片储存于生理盐水中保存,从包装袋中取出后可直接使用,无需润湿,利于手术操作;另外生物材料经交联固定后,机械性能佳,补片能够保持规则的外形和硬度,较对照组的补片柔软性更好,有利于贴合大脑,且其含水量高于对照组,能够提高材料的生物相容性,防止补片与大脑间的粘连。人工硬脑膜产品仍有较多需要解决的问题:免疫排斥反应、与周围组织粘连、感染、出血、脑脊液漏、癫痫及其他一些因素。同时也在不断完善,有报道其可以处理成持续缓慢释放去甲万古霉素的硬脑膜修复材料以预防感染。随着组织工程、基因工程技术的发展,利用自体细胞和支架完成硬脑膜缺损的修复将是未来方向。

(2014-01-16收稿,2014-03-05修回)