

· 实验研究 ·

兔实验性上颌窦炎窦口扩大术后黏膜病理及超微结构变化

Pathologic and ultrastructure changes of mucosa in rabbit's maxillary sinusitis after ostia enlarged operation

刘 锋^{1*}, 周水森¹, 张速勤¹, 许 月²

(1. 第二军医大学长海医院耳鼻咽喉科, 上海 200433; 2. 长海医院实验诊断科)

[摘要] 目的: 探讨窦口扩大术对实验性上颌窦炎黏膜病变的影响。方法: 将用窦口堵塞加注入肺炎链球菌的手段制成慢性上颌窦炎 6 周模型的 20 只新西兰大白兔(雌雄不拘, 体质量 2.5~3.5 kg), 根据窦口扩大术后不同时间(术后 0、4、6、8 周)分成相应组别($n=5$), 用光镜、扫描电镜、透射电镜观察上颌窦黏膜病理变化。结果: 窦口扩大术后病变的上颌窦黏膜随时间延长, 黏膜上皮层和固有层均有不同程度的恢复。时间越长, 恢复的组织越接近正常组织结构。结论: 窦口扩大术后实验性上颌窦炎病变黏膜可部分恢复正常。

[关键词] 上颌窦炎; 窦口扩大术; 上颌窦黏膜

[中图分类号] R 765.42 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 0258-879X(2004)09-1035-02

* 急、慢性鼻窦炎导致鼻窦黏膜结构和功能改变和破坏。而鼻窦黏膜结构和功能能否恢复正常是判断鼻窦炎是否治愈的重要指标。Forsgren 等^[1]研究表明, 慢性鼻窦炎中一旦解除窦口鼻道复合体处阻塞, 窦腔内氧分压升高, 窦腔黏膜是可以恢复的。本研究通过对比实验性上颌窦炎炎症中和窦口扩大术后黏膜的病理变化, 来探讨黏膜恢复的可能机制。

1 材料和方法

1.1 实验动物和模型的制备 20 只体健的两性新西兰大白兔(海军医学研究所实验动物中心提供), 体质量 2.5~3.5 kg, 用窦口堵塞加注入肺炎链球菌的方法制成慢性上颌窦炎 6 周的模型。

1.2 手术方法 20% 乌拉坦 5 ml/kg 腹腔内注射, 全麻后, 将兔仰卧位固定于操作台上, 术区备皮, 常规消毒铺巾。切口处注入少许含肾上腺素的 1% 利多卡因。旁开中线约 1 cm 纵形切开上颌窦前壁皮肤, 分离皮下及骨膜, 剥离子探到上颌窦前壁裂隙后, 洞凿钳将前壁开口扩大, 利用体视放大镜或鼻窦内镜观察上颌窦内情况。将窦口四周黏膜用耳科手术刀搔刮制成新鲜创面, 取邻近筋膜将窦口封闭。如要扩大窦口, 可以沿窦口向前或向后扩大。缝合皮肤, 缝合处术后涂金霉素软膏 3 d, 全身不使用抗生素。

1.3 病理及超微结构检查 将上述动物按行上颌窦窦口扩大术后即刻(炎症 6 周时)、4、6、8 周分成 4 组, 每组 5 只。按实验设计, 再次打开上颌窦前壁取相同部位的黏膜行普通病理切片、扫描电镜和透射电镜检查。

2 结果

炎症 6 周时, 光镜下可见纤毛上皮融合、脱落, 基底细胞排列不规则。黏膜下层、固有层纤维组织增生明显, 固有层腺体部分被破坏, 有大量淋巴细胞、单核细胞、浆细胞浸润(图 1A)。扫描电镜下可见部分纤毛上皮细胞剥脱, 纤毛大多脱落, 微纤毛增加, 剩余纤毛簇状聚集, 相互粘连、倒伏及断裂。透射电镜下可见上皮细胞排列紊乱, 细胞间隙扩大, 细胞表

面纤毛大量脱落, 粗细不均, 有短纤毛出现; 细胞内线粒体减少、肿胀, 出现空泡。横断面观纤毛膨胀, 胞质膨出。纤毛微管结构紊乱, 出现复合纤毛(图 1B)。

术后 4 周时光镜下可见黏膜下层、固有层可见纤维组织和炎细胞浸润, 黏膜上皮见基底细胞增生活跃。扫描电镜下可见细胞间隙变致密, 鳞状上皮向黏膜上皮化生, 微绒毛增生明显, 可见少量纤毛增生。透射电镜下可见上皮细胞排列渐整齐, 细胞间隙变致密, 细胞表面纤毛出现增多; 细胞内线粒体仍少, 空泡减少(图 1C)。术后 6 周时, 光镜下可见黏膜下层、固有层可见纤维组织和炎细胞浸润, 固有层腺体部分恢复; 黏膜上皮见基底细胞增生活跃, 假复层柱状上皮增生, 可见岛状纤毛上皮(图 1D)。扫描电镜下可见微绒毛增生明显, 纤毛数量不同程度增多, 排列整齐、粗细较均匀。透射电镜下可见上皮细胞表面纤毛及微绒毛增加, 纤毛排列整齐, 粗细均匀, 胞质内线粒体增加, 空泡减少。术后 8 周时光镜下可见黏膜上皮层基本恢复常态, 基底细胞层完整, 假复层柱状上皮增生, 纤毛上皮所占比例大, 但形态仍有异常。黏膜下层恢复, 固有层腺体增生明显。扫描电镜下可见黏膜上皮细胞排列整齐, 纤毛数量进一步增多, 排列整齐、粗细均匀(图 1E)。透射电镜下可见上皮细胞表面纤毛及微绒毛增加, 纤毛排列整齐, 粗细均匀, 胞质内线粒体增加。

3 讨论

Forsgren 等^[2]认为兔实验性上颌窦炎适合研究术后上颌窦黏膜的再生。上颌窦黏膜如被切除, 术后 1 个月再生的黏膜接近正常, 但固有层的腺体数量减少, 有大量纤维化和血管。其研究表明术后 4~8 周上颌窦黏膜可获得神经再支配。临床实践也证明了通过鼻窦内镜手术, 改善了鼻窦的通气、引流条件, 病变的黏膜可以恢复或接近正常^[3]。

* [作者简介] 刘 锋(1963-)男(汉族), 博士, 副教授, 副主任医师
E-mail: doctor_fliu@hotmail.com

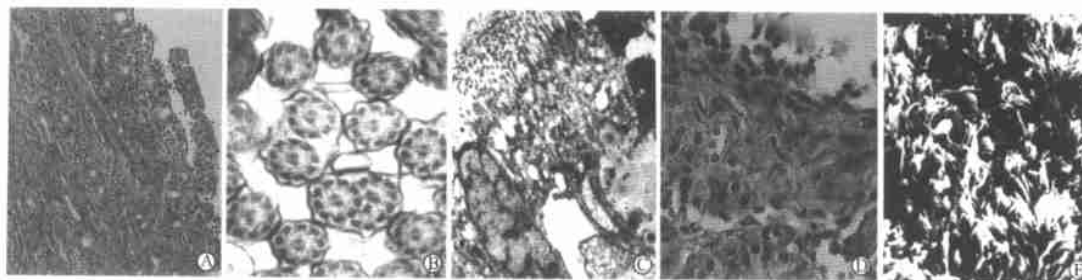


图 1 兔实验性上颌窦炎窦口扩大术后黏膜病理及超微结构的变化

A: 实验性上颌窦炎 6 周(H-E, × 100); B: 实验性上颌窦炎 6 周, 可见纤毛相互粘连(TEM, × 3 000);
C: 窦口扩大术后 4 周(TEM, × 3 000); D: 窦口扩大术后 6 周(H-E, × 400); E: 窦口扩大术后 8 周(SEM, × 1 000)

对兔慢性鼻炎行自然开口扩大术后见黏膜下层, 固有层炎细胞浸润减轻, 纤维组织降解, 固有层腺体逐步增生, 黏膜上皮之基底细胞增生活跃, Westrin 等^[4]认为基底细胞层被痊愈过程所激活, 基底膜上一层完整的基底细胞在 5 d 内即能促进上皮完全再生。上颌窦黏膜多能的基底细胞可转化为杯状细胞, 它的出现意味着分泌作用的成熟, 表明相对康复。本实验术后 8 周黏膜上皮层基本恢复常态, 表现为基底细胞层完整, 纤毛上皮所占比例扩大, 黏膜下层恢复, 固有层腺体大部恢复。从实验性上颌窦炎手术前后黏膜病理的变化中可以看出, 一旦解除了窦口堵塞, 将有利于窦腔分泌物的排出, 减轻炎症反应, 使病变的窦黏膜能够逐步恢复正常形态。

[参考文献]

[1] Forsgren K, Westrin KM, Fukami M, et al. Effects of surgery

on mucosal pathologic changes following experimental sinusitis in rabbit[J]. *Ann Otol Rhinol Laryngol*, 1998, 107(2): 155-163

[2] Forsgren K, Jung YG, Stiern P, et al. Regeneration of nerve fibers in the maxillary sinus mucosa after experimental surgery. An immunocytochemical double-labelling study in the rabbit[J]. *Acta Otolaryngol*, 1999, 119(4): 486-491.

[3] 贺广湘, 孙红, 曾庆善, 等. 慢性鼻炎鼻窦内窥镜手术前后鼻黏膜观察[J]. *中华耳鼻咽喉科杂志*, 2001, 36(5): 326-329.

[4] Westrin KM, Stiern P, Carlsoo B, et al. Mucosal fine structure in experimental sinusitis[J]. *Ann Otol Rhinol Laryngol*, 1993, 102(8 Pt 1): 639-645.

[收稿日期] 2004-01-05

[修回日期] 2004-04-29

[本文编辑] 沈志宏, 曹静

· 实验研究 ·

改良 PCR-RFLP 法测定异质性线粒体基因的相对含量

Modified PCR-RFLP determination of relative content of heterogenous mitochondrial gene

龙建纲, 王洁, 缪明永, 王学敏* (第二军医大学基础医学部生物化学与分子生物学教研室, 上海 200433)

[摘要] 目的: 改进 PCR-RFLP 法, 确认线粒体异质性基因并测定异质性线粒体基因的相对含量。方法: 依据先期实验中克隆测序得到的 ECV 304 细胞中线粒体基因(D-LOOP 区)多态性位点, 采用两轮 PCR 法, 以第 1 轮 PCR 胶回收产物为模板, 作第 2 轮 PCR, 并在第 2 轮 PCR 中引入限制性内切酶位点, 酶切产物行琼脂糖电泳, 测定异质性线粒体基因的相对含量。结果: ECV 304 细胞中存在 513A/G 异质性, 二者比例约为 1:3。结论: 确证 ECV 304 细胞中含有 513A/G 异质性碱基, 改良 PCR-RFLP 法测定异质性线粒体基因相对含量较为简单可靠, 适用于异质性线粒体基因的研究。

[关键词] 线粒体; 基因; 异质性; PCR-RFLP

[中图分类号] Q 781

[文献标识码] B

[文章编号] 0258-879X(2004)09-1036-02

* 线粒体基因是相对独立于核基因组的遗传物质, 在细胞特别是发生线粒体病变的细胞中往往存在线粒体基因异质性现象。测定异质性线粒体基因的相对含量对于了解线粒体基因功能及病理诊断具有一定的意义。目前检测发生线粒体异质性程度常用 PCR-RFLP 法、3 端特异引物 PCR 法及实时 PCR 等方法^[1,2]。由于线粒体基因内普遍存在重复性片段, 导致上述方法特异性较低, 结果不易判定。本课题组在研

究线粒体基因 D-LOOP 区过程中, 通过克隆测序, 发现在 ECV 304 细胞线粒体基因 513 碱基存在 A/G 多态性, 用传统 PCR-RFLP 法、3 端特异引物法无法测定异质性基因的

* [基金项目] 国家自然科学基金(30171030).

[作者简介] 龙建纲(1974-), 男(汉族), 博士生

E-mail: longjiangang@snnu.edu.cn

* Corresponding author. E-mail: wang-xucm@hotmail.com