

联合桥接修复犬喉返神经缺损

柴丽萍¹, 苏振忠¹, 文卫平¹, 雷文斌¹, 冼志雄¹, 罗广裕²

(中山大学 1. 附属第一医院耳鼻咽喉科, 2. 肿瘤防治中心, 广东 广州 510080)

摘要: 【目的】探讨联合桥接修复喉返神经的可行性及特点。【方法】选用健康成年杂种犬 6 只, 切断左喉返神经 1 cm, 取同侧离体 1.2 cm 长胸锁乳突肌制成管形桥接, 将神经两断端置入桥接内, 显微缝合肌膜及神经鞘膜, 外包裹静脉封闭。术后分别于 1、3、6 个月观察声带活动度、喉内肌肌电图及桥接与喉内肌的组织学改变。【结果】①声带活动度: 术后 1 月声带固定, 术后 3 个月声带轻微活动, 6 个月声带内收良好, 外展较差。②肌电图: 喉内肌未记录到纤颤电位, 环杓侧肌、环杓后肌及甲杓肌的波幅分别恢复到对侧的 82%、60% 及 54%。③组织学: 再生神经自近心端通过桥接长入远端同源神经; 环杓侧肌无明显萎缩, 环杓后肌轻度萎缩, 横纹和纵纹结构保存且清晰; 声带萎缩不明显。【结论】联合桥接有助于喉返神经再生和喉功能恢复, 是临床值得探索的方法之一。

关键词: 声带麻痹; 桥接; 喉返神经; 神经再支配; 耳鼻咽喉外科学

中图分类号: R767

文献标识码: A

文章编号: 1000-257X(2002)06-0427-03

Repair of Recurrent Laryngeal Nerve Defect with Unite Bridge Connection on Mogrel CHAI Li-ping¹, SU Zhen-zhong¹, WEN Wei-ping¹, LEI Wen-bin¹, XIAN Zhi-xiong¹, LUO Guang-yu². (1. Department of Otolaryngology, First Affiliated Hospital, 2. Cancer Center, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China)

Abstract: 【Objective】To explore the feasibility and the feature of repair ment of recurrent laryngeal nerve with fresh bridge connection. 【Methods】Six healthy adult cross-breed dogs were studied. 1 cm of left recurrent laryngeal nerve was resected. The pipe bridge connection was made with 1.2 cm of dissociative sternocleidomastoid muscle on the same side. The two break tips of nerve were put into bridge connection. Then sarcolemma and nerve tunica vaginalis were sutured under microscope. Bridge connection was coated by vein. The mobility of the operative side of vocal cord, the evoked eletromyogram of the internal laryngeal muscle, the pathologic change of muscular bridge and musculi laryngis were observed 1, 3, 6 months after operation respectively. 【Results】① The mobility of vocal cord: The vocal cord was immobile 1 month, mild mobile 3 months, good adduction but poor abduction 6 months after operation. Atrophy of vocal cord was not seen. ② Eletromyogram: No fibrillation potential was recorded. The amplitude of wave on lateral cricoarytenoid muscle, posterior cricoarytenoid muscle and thyroarytaenoid muscle was recovered by 82%, 60% and 54% respectively. ③ The pathological results: Nerve regeneration grew from the proximal into the distal homogenous nerve through bridge connection. The atrophy of lateral cricoarytenoid muscle was not obvious and the atrophy of posterior cricoarytenoid muscle was mild with well-preserved horizontal stria and longitudinal stria. 【Conclusion】Bridge connection contributes to nerve regeneration and functional rehabilitation of recurrent laryngeal nerve. It's a new technology to be explored clinically.

Key words: vocal cord paralysis; bridge connection; recurrent laryngeal nerve; reinnervation; otorhinolaryngologic surgical procedure

临床上喉返神经的损伤常见于颈部外伤及手术, 特别是甲状腺手术。目前喉返神经修复的方法有神经原位及选择性吻合术、神经肌蒂移植术等。但以上修复方法, 均不能满意地恢复喉的内收或外展功能。近年来, 国内外学者进行了非神经材料修复周围神经缺损的实验, 骨骼肌桥连接神经缺损后, 再生的神经能通过肌桥到达靶器官获得成功^[1]。本实验用新鲜的骨骼肌联合静脉壁作为桥接, 使再生的神经纤维通过桥接定向生长、直达远端神经, 达到修复喉返神经及恢复喉功能的目的。

1 材料与方 法

1.1 实验动物

选用 8~15 kg 健康成年杂种犬 6 只, 雌雄不限, 由中山大学动物实验中心提供。

1.2 联合桥接制作

以 30 g/L 戊巴比妥钠 20~30 mg/kg 腹腔内麻醉, 在术侧胸锁乳突肌内缘, 沿肌纤维方向切取 1.2 cm×1.0 cm 肌条(连同肌膜), 显微镜下将肌条肌膜向内缝合制成一细管状, 管径拟修复神经

收稿日期: 2002-04-28

基金项目: 广东省卫生厅科研基金资助项目(19970132)

作者简介: 柴丽萍(1958-), 女, 贵州贵阳人, 副主任医师。

稍大,以备联合桥接用。

1.3 喉返神经连接

切断左侧喉返神经干,以右侧作正常对照(因各只犬麻醉深浅不同,采用同只犬的两侧喉返神经作对照)。于颈前气管左侧纵行切开,显露出食管沟中的左喉返神经干,平第3~4气管环间切除一段喉返神经造成1cm的缺损,将喉返神经的两断端略作游离,分别引入桥接管两端内约1mm,在显微镜下将肌膜与神经鞘膜作间断缝合,取长约1.5cm的大隐静脉壁包裹于桥接外并与神经鞘膜缝合固定,向桥接管腔内注入该动物新鲜血浆。

1.4 效果观察

术后分别于1、3、6个月在光纤喉镜下观察实验侧声带活动情况。术后6个月暴露左侧喉返神经,采用四川大学泰盟电子公司生产的PCI-410型生物信号采集处理系统,使用铂金丝电极,刺激桥接近端喉返神经干,记录电极刺入喉内肌,记录喉内肌诱发肌电图。然后处死动物,取桥接物、双侧喉内肌及声带、对侧喉返神经干切片进行组织学检查(髓鞘、HE染色),以观察神经生长情况。

2 结果

2.1 声带活动

术时光纤喉镜下见实验侧声带固定于旁中位;1个月实验侧声带振动,无明显活动;术后3个月实验侧声带有轻微活动,对照侧声带稍代偿,声门

闭合不全。6个月后实验侧声带明显活动,内收良好,外展稍差,声门闭合尚好。声带无明显萎缩。

2.2 肌电图检查

术时肌电图检查记录到纤颤电位,术后6个月,实验侧喉内肌均未记录到纤颤电位,实验侧喉内肌的诱发肌电图波幅有不同程度恢复,环杓侧肌、环杓后肌及甲杓肌分别达对照侧的82%、60%及54%。环杓侧肌、环杓后肌、甲杓肌动作电位时限分别较对照侧延长34.2%、为57.8%及62.7%(表1)。均数及配对资料比较分别采用 t 检验及 q 检验,从表中可看出,各喉内肌实验侧与对照侧时限及波幅比较差异有显著性($P < 0.01$);实验侧三肌两两间比较时限差异无显著性($P > 0.05$),I~II、I~III及II~III比较波幅差异均有显著性($P < 0.01$)。

2.3 组织学检查

取桥接物、环杓侧肌、环杓后肌等行病理学检查(髓鞘、HE染色),光镜下见桥接物内成片新生有髓神经纤维,喉返神经纤维自近心端通过桥接长入远端神经(图1),靠近远端新生神经纤维稍稀疏。在再生的神经纤维周围仍可见桥接物的肌肉纤维。比较双侧环杓侧肌及环杓后肌,实验侧环杓侧肌无明显萎缩(图2),环杓后肌稍萎缩,横纹和纵纹结构保存(图3)。在光镜下观察双侧声带结构无明显差异。

表1 双侧喉内肌诱发动作电位时限及波幅的比较

Table 1 Comparison of the time limit and amplitude of evoked action potential between both internal laryngeal muscles ($\bar{x} \pm s$)

Location	t_{limit}/ms			$V_{Amplitude}/\mu V$		
	Experiment side	Contrast side	P value	Experiment side	Contrast side	P value
I. Thyroarytaenoid	10.9 ± 1.2	6.7 ± 0.9	< 0.01	192 ± 41	353 ± 35	< 0.01
II. Posterior cricoarytenoid	11.2 ± 1.4	7.2 ± 1.5	< 0.01	338 ± 30	560 ± 82	< 0.01
III. Lateral cricoarytenoid	11.0 ± 1.4	8.2 ± 1.0	< 0.01	264 ± 38	322 ± 45	< 0.01
P value	> 0.05			< 0.01 ¹⁾		

Multiple comparisons(q -TEST): for I ~ II, $P < 0.01$; for I ~ III, $P < 0.01$; for II ~ III, $P < 0.01$

3 讨论

喉返神经缺损的修复,至今尚未找到理想的解决方法。目前临床应用较多的神经肌蒂移植,能促进喉神经肌肉功能的恢复,但因移植肌蒂太大易出现纤维化形成疤痕,肌蒂太小又不能植入神经的末梢全部和运动终板,需作多点移植^[2]。同时,还存

在外伤或术野疤痕形成时取材困难及再生轴突在肌肉间行走距离有限,神经难以完全再生等缺陷。近年来许多学者进行了非神经材料修复喉返神经缺损的实验,有血管、几丁质管、变性骨骼肌、血管植入变性骨骼肌等。由于相同功能性质的神经纤维之间、运动与感觉神经之间及不同靶组织对再生神经均存在特异性趋化作用。离断的神经远端雪

旺氏细胞分泌的神经营养因子(NTF)、神经轴索生长因子(NPF)及细胞外基质成分(matrix)能形成有效的浓度梯度,使近端同源神经纤维能在管腔内自由再生并与远端同源神经纤维形成功能对接,而达到特异性定向再生^[3~6]。Cuadros^[7]和 MacKinnon^[8]提出,一个理想的神经缺损修复的移植体,应具有以下特点:①符合神经再生的生理环境要求,为再生神经提供良好的通过环境,防止瘢痕形成。②能有效引导再生神经的定向生长,防止神经瘤形成。③临床取材丰富,无后遗症。④神经再生完全,功能恢复良好。

骨骼肌组织由排列有序的肌纤维组成,具有基底膜管基质的功用,再生的神经纤维及轴突通过它直达远端神经^[9],同时具有 Cuadros 和 MacKinnon 提出的功能,而倍受关注。带蒂桥接具有良好的营养和微环境,但如果损伤严重或周围组织瘢痕形成,制约了桥接的取材;另一方面虽不乏血供,但由于肌细胞的存在,增大了轴索再生过程的阻力,同时在肌间隙中穿行的再生轴索也没有利用到基底膜的作用^[10]。变性桥接的肌膜管架为再生纤维提供了一个低阻力的定向生长通道,但变性的同时亦失去血供,难以为神经的再生提供一个良好的微环境。1990 张爱华等^[11]在大白鼠上成功进行了血管植入变性桥接的研究,解决了变性桥接的供血和带蒂桥接的高阻力问题,但受伤严重或疤痕形成,影响植入血管的取材及吻合,且操作繁杂,技巧要求较高。

本实验利用游离新鲜骨骼肌制成管形,管内为肌膜,管外用静脉包裹,作为神经再生的桥接,有以下特点:①桥接内无肌纤维的阻碍。②可造成一个封闭的微环境,向静脉内注入血浆后,有助于粘附固定桥接物。③新鲜桥接活的肌膜有类似神经基底膜的作用。④联合桥接可防止静脉壁的塌陷,避免与周围组织粘连。本实验光镜下见喉返神经纤维自近心端通过桥接长入远端神经(图1),在再生的神经纤维周围仍存活有肌肉纤维,说明桥接有血供存在,对神经的再生起到营养支持作用。纤颤电位是骨骼肌失神经支配的一种自发电位,只有当神经再支配时或肌纤维萎缩结缔化时才消失^[12]。本实验双侧声带结构无明显差异,实验侧环杓侧肌无明显萎缩(图2),环杓后肌轻度萎缩(图3),横纹和纵纹结构保存;实验侧喉内肌均未记录到纤颤电位,说明喉内肌已有神经再支配存在。波幅和时限

均可反映所测神经的数量和同步兴奋的程度,波幅越大参与执行功能的神经和肌肉的总量就越多;同步化兴奋的程度越低,波幅越小,时限越宽^[12]。根据本实验的结果,从环杓侧肌、环杓后肌到甲杓肌,肌电图波幅从高到低,时限却越来越长,观察实验侧声带运动内收良好、而外展较差,说明神经再支配的效果是环杓侧肌最好,其次是环杓后肌、甲杓肌。实验侧动作电位时限比健侧延长、振幅低于正常,符合神经损伤恢复后肌电图时限延长、波幅降低的一般规律:随着时间延长,其神经纤维的数量增多及直径增粗,功能的恢复会进一步改善。本实验结果说明喉返神经通过联合桥接生长,其内收及外展功能都同时得到不同程度的恢复,提示再生的神经纤维实现了同源束的功能对接。

(本文图1~3见插页3。Fig. 1~3 shown in back coloured page 3)

参考文献:

- [1] 郑桂芬,魏侃. 骨骼肌桥接周围神经缺损的研究现状[J]. 解剖学进展, 1997, 3(2): 154.
- [2] Crumley R L. Update: ansa cervicalis to recurrent laryngeal nerve anastomosis for unilateral laryngeal paralysis[J]. Laryngoscope, 1991, 101(4): 384.
- [3] 赵庆,卢世璧,商鉴,等. 周围神经再生趋化性的研究进展[J]. 中华外科杂志, 1988, 26(8): 451.
- [4] Doolabh V B, Heart M C, Mackinnon S E, et al. The role of conduits in nerve repair: a review[J]. Rev Neurosci, 1996, 7(1): 47.
- [5] Aronson O S, Guiding I P, Tonge D A, et al. Oriented growth of regenerating axons in axolotl forelimbs is consistent with guidance by diffusible factors from distal nerve stumps[J]. Neuroscience, 1995, 66(1): 201.
- [6] 谢富康,郑敏. 坐骨神经源性因子对培养中成年青蛙背根节神经元的作用[J]. 中山医科大学学报, 2000, 21(2): 92.
- [7] Cuadros C L, Granatir C E. Nerve regeneration through a synthetic microporous tube (Expanded Poly tetrafluoroethylene): Experimented study in the sciatic nerve of the rat[J]. Microsurgery, 1987, 8(2): 41.
- [8] MacKinnon S E, Dellon A L, Hunter D A, et al. Nerve regeneration through a pseudosynovial sheath in a primate model[J]. Plast Reconstr Surg, 1985, 75(6): 833.
- [9] Mountain R E, Glasby M A, Sharp J F, et al. A morphological comparison of interposed freeze-thawed skeletal muscle autografts and interposed nerve autografts in the repair of the rat facial nerve[J]. Chin Otolaryngol, 1993, 18(3): 171.
- [10] 翁文杰,陈亮. 静脉、带蒂骨骼肌和变性骨骼桥接神经缺损的实验研究[J]. 苏州医学院学报, 1996, 16(6): 1062.
- [11] 张爱华,朱家恺. 血管植入变性骨骼肌修复神经缺损实验研究[J]. 中华显微外科杂志, 1990, 13(1): 25.
- [12] 卢祖能,曾庆杏,李承晏,等. 实用肌电图学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2000: 206.

(编辑 刘清海)

联合桥接修复犬喉返神经缺损 (正文见第 427 页)

Repair of Recurrent Laryngeal Nerve Defect with Unite Bridge Connection on Mogrel (Text in page 427)

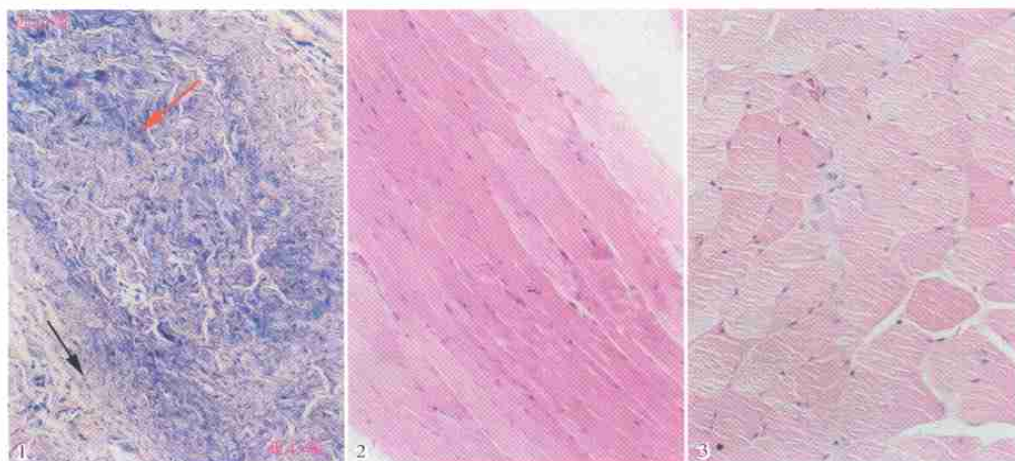


图 1 桥接物切片

图 2 实验侧环杓侧肌切片

图 3 实验侧环杓后肌切片

Fig. 1 Section of implant of bridge connection (myelin staining $\times 40$)

There were plenty of myelin sheath nerve fibers (red arrow) in implant bridge connection (black arrow)

Fig. 2 Section of lateral cricoarytenoid of experiment side (HE $\times 100$)

The atrophy of lateral cricoarytenoid was not obvious

Fig. 3 Section of posterior cricoarytenoid of experiment side (HE $\times 100$)

The atrophy of posterior cricoarytenoid was mild with well-preserved horizontal stria and longitudinal stria

人类神经干细胞的长期培养和传代 (正文见第 430 页)

The Long-Term Culture and Passaging of Human Neural Stem Cells (Text in page 430)

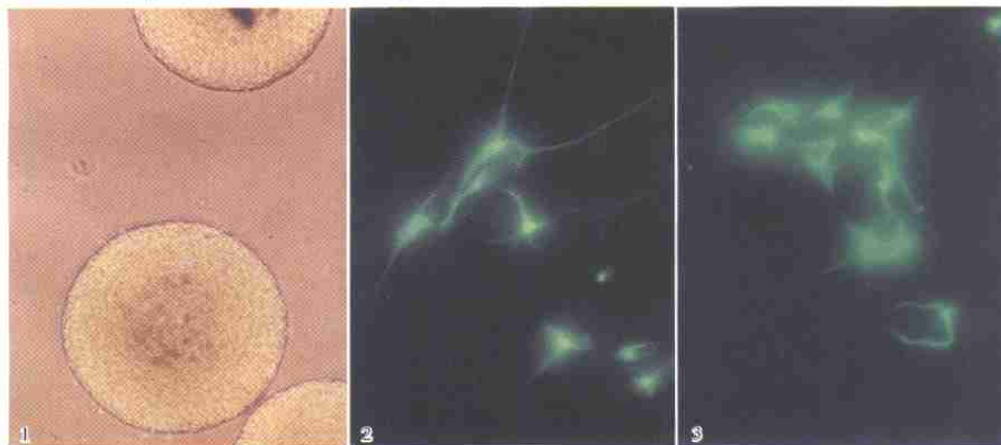


图 1 原代培养形成的神经球

图 2 神经干细胞表达波形蛋白

图 3 神经干细胞表达 Musashil

Fig. 1 Neurospheres in primary culture

Inverted microscopy, $100 \times$

Fig. 2 Neural stem cells expressed vimentin

After 3 months *in vitro* culture, fluorescent microscopy, $200 \times$

Fig. 3 Neural stem cells expressed Musashil

After 3 months *in vitro* culture, fluorescent microscopy, $200 \times$