

失神经支配后线粒体变化与面肌功能康复的实验研究

任重 白伟良 石阳

【摘要】 目的 探讨不同程度面神经失神经支配后口轮匝肌线粒体结构、琥珀酸脱氢酶(SDH)的变化与面肌功能恢复的关系。**方法** 制造颞骨内面神经麻痹模型,分为面神经压榨 5 s 组、15 s 组、30 s 组,再分为观察 15 d 组、30 d 组。应用神经电图测试 5 s 组、15 s 组、30 s 组的平均阈值差值。SDH 染色后,透射电镜观察各 15 d 组、30 d 组口轮匝肌线粒体结构和 SDH 阳性反应产物的变化。**结果** 面神经压榨 5 s 组的平均神经兴奋传导抑制时间为 (35.2 ± 16.8) min; 15 s 组瞬目反射恢复正常需 (47.0 ± 15.0) d; 30 s 组半年内未恢复。15 s 15 d 组线粒体嵴断裂,SDH 阳性反应颗粒减少; 30 d 组基本恢复正常。30 s 15 d 组线粒体空泡变性,SDH 颗粒明显减少; 30 d 组的线粒体结构和 SDH 颗粒有轻度恢复。**结论** 面神经受损伤时间越长,失神经支配程度越重,线粒体病变也越重,面肌功能恢复越难,应早期行面神经减压术。

【关键词】 面神经麻痹; 失神经支配; 线粒体; 神经电图

An experimental study of functional recovery of facial muscles with respect to the changes of mitochondria after denervation in rats REN Zhong*, BAI Weiliang, SHI Yang. * Department of Otolaryngology, The First Clinical College, Chinese Medical University, Shenyang 110001, China

【Abstract】 Objective To explore the relationship between the functional recovery of facial muscles and the changes of the mitochondria structure and succinate dehydrogenase (SDH) of oris muscles after different degree of denervation. **Methods** Models of facial paralysis were created by pinching the facial nerve for 5s, 15s and 30s, respectively in 72 rats, and then observe them in 15 and 30 days. Eletroneurogram (ENG) was used to measure the average threshold differences among the facial muscles of the rats in the three groups. The oris muscle mitochondria structures and their SDH positive products were observed with transmitting electron microscope. **Results** It was noted that the average nerve excitement inhibition time was 35.2 ± 16.8 min after pinching the facial nerve for 5s. Recovery of blink reflex took a average of 47 ± 15 days for the rats in 15s group, and it failed to recover within 6 months in the 30s group. Electron microscopic studies revealed broken mitochondria crista and decreased SDH positive reaction granules in rats of 15s after 15 days, but they recovered basically after 30 days. Bubble degeneration and decreased SDH granules could be found in rats of 30s group after 15 days, and they were slightly recovered 30 days later. **Conclusion** The longer time the facial nerve is injured and the more serious the degree of denervation was sustained, the changes of the mitochondria including the changes of SDH would be more serious and more difficult to recover; the facial nerve injury should be managed as early as possible.

【Key words】 Facial paralysis; Denervation; Mitochondria; Electroneurography

面神经受到不同程度损伤失神经支配后,面肌及其支配神经的机能和组织学都将随着时间的不同而发生不同程度的病理变化,同时也影响面肌功能的恢复。琥珀酸脱氢酶(succinate dehydrogenase, SDH)参与三羧酸循环,是生物体内氧化呼吸链中最重要的酶之一,主要分布在线粒体上,是线粒体的标志酶。线粒体参与运动肌能量代谢,是肌功能单位。本文制作不同失神经支配程度的颞骨内面神经麻痹模型,应用神经电图(ENG)、酶细胞化学透射电镜(简称:电镜)等方法

观察了口轮匝肌线粒体能量代谢、结构及肌细胞的病理学变化。同时探讨其机能学、组织学改变对面肌功能恢复的影响。

材料与方法

一、实验动物

450 ~ 720 g 左右的白色豚鼠,去掉死亡余下 72 只。其中压榨 5 s 组 16 只,11 只行机能学测试,15 d 组 5 只行电镜观察。15 s 组 27 只,10 只行机能学测试,面神经损伤后 15 d 电镜观察 8 只,30 d 电镜观察 9 只。30 s 组 29 只,10 只行机能学测试,15 d 电镜观察 8 只,30 d 电镜观察 11 只。非实验侧为正常电镜观察对

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No. 39670779)

作者单位:110001 沈阳,中国医科大学第一临床学院耳鼻喉科(任重、石阳);中国医科大学第二临床学院耳鼻喉科(白伟良)

照组,观察只数与实验组相同,为避免对面神经损伤不做面神经显露处置。

二、ENG 阈值测试

戊巴比妥每公斤 30 mg 腹腔内注射麻醉后,仰卧位固定,再用 0.5% 利多卡因局部追加麻醉。在手术显微镜下切开颞骨骨泡,用钻石钻磨开显露面神经的水平段和垂直段。在压榨面神经部位中枢侧大约 2 mm 处,置 200 μm 直径的钨制双极刺激电极,固定电压刺激装置(SANEI 3F36),以 0.1 ms 脉冲宽度的矩形波的最小反应阈值(简称阈值)单发刺激面神经,将直径 200 μm 的双极钨针电极直接刺入口轮匝肌,导出的动作电位通过增幅仪(SANEI 180)、平均加算装置(SANEI 7S06)及 X-Y 记录仪描记。分别记录压榨面神经前后阈值。在镫骨肌支下段部位,用微型持针器(Inamli Restfrei 制),压榨露出的面神经干。持针器尖端压强 $7.84 \times 10^6 \text{ Pa}$,压榨幅宽 1.0 mm,压榨持续 5 s 组,每隔 5 min 记录 1 次,记录恢复到压榨前阈值的时间为 15 s 和 30 s 组,通过角膜刺激引起的瞬目反射测试面肌功能恢复时间。

三、酶细胞化学电镜标本制备

动物麻醉后,迅速取下口轮匝肌置入 4℃ 的 Holt's 液内 8 ~ 12 h。取部分肌肉、不固定,用振动切片机(Laser, USA)制备 50 μm 厚的非冰冻切片,将切片置入按小川方法^[1]配制的 SDH 孵育液内冰浴 3 h,水洗后按常规电镜标本制作方法,超薄切片经醋酸铀染色 30 min,电镜 80 kV 下观察。

四、统计学处理

所有数据均以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用 SPSS 10.0 软件包中的 F 检验, $P < 0.01$ 为差

异具有显著性意义。

结 果

一、神经兴奋传导抑制时间

所测各组压榨面神经前后反应阈值差值(表 1),压榨持续时间越长,反应阈值差值越大,组间比较差异显著($F = 461.560, P < 0.0001$)。压榨 5 s 组平均神经兴奋传导抑制时间为 $(39.3 \pm 19.7) \text{ min}$; 15 s 组瞬目反射检查恢复正常需要 $(51 \pm 21) \text{ d}$; 30 s 组经半年观察瞬目反射无 1 只恢复到正常,但是 6 只已经有轻度瞬目反射表现。

表 1 各实验组间豚鼠面神经压榨前后阈值差比较($V, \bar{x} \pm s$)

组 别	例数	阈值差值
5s 组	11	0.4427 ± 0.0424
15s 组	10	12.1738 ± 1.5318
30s 组	10	15.7200 ± 1.5359

二、电镜观察

正常对照组,SDH 阳性反应产物为高电子密度颗粒,定位线粒体内、外膜上以及内外膜间腔内(图 1); 5 s 组压榨后第 15 d 取 5 只豚鼠实验侧和对照侧的口轮匝肌观察。两侧线粒体结构和 SDH 阳性反应颗粒及肌纤维结构均呈正常状态; 15 s 15 d 组的线粒体大多数表现为嵴断裂或部分消失,空泡变性不明显,酶颗粒轻度减少(图 2),肌纤维 Z 带扭曲,呈轻度病理改变。30 d 组的线粒体结构、SDH 酶反应颗粒及肌纤维结构已基本恢复正常; 30 s 15 d 组的线粒体可见空泡变性,嵴断裂,SDH 阳性反应颗粒明显减少(图 3),肌纤维 Z 带和 Z 带间变窄,Z 带稍不清楚; 30 d 组的线粒体结构、SDH 活性及肌纤维结构有轻度恢复。

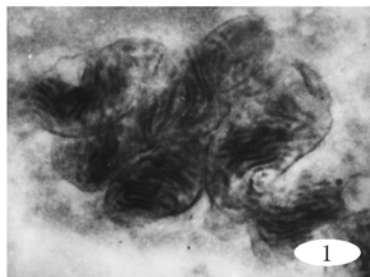


图 1 正常对照组线粒体结构
($\times 36\,000$)

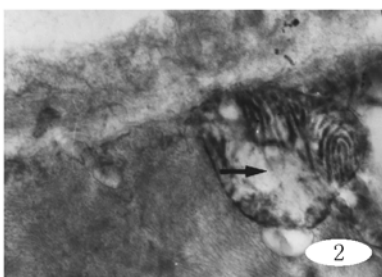


图 2 15 s 15 d 组线粒体结构轻度变化
($\times 40\,000$)

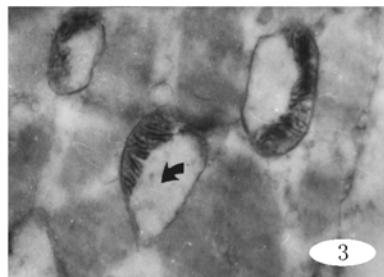


图 3 30 s 15 d 组线粒体结构重度变性
($\times 36\,000$)

讨 论

面神经因某种原因失神经支配后,面神经与面肌间失去了正常的支配关系,导致肌纤维呈病理性改变,能量代谢降低,各种生理功能也低下。本实验从酶细胞化学角度对面神经不同失神经支配程度后的口轮匝肌线粒体 SDH 进行定量和结构变化的观察和分析。

已报道过压榨 5 s 组、15 s 组、30 s 组及各不同经过时期面神经纤维的病理变化程度^[2]。面肌的损伤程度,取决于神经纤维的病理变化程度,其面肌线粒体的病理变化及其标志酶(SDH)的变化更为敏感。因为面肌收缩所需能量绝大多数来源于三羧酸循环和呼吸链完全氧化。而上述过程都是在细胞内“动力工厂”线粒体内进行的。SDH 催化三羧酸循环中琥珀酸与延

胡索酸之间的反应,并且是琥珀酸氧化呼吸链中最重要的酶之一。它主要存在于线粒体中,分布在线粒体内外膜上及内外膜间隙内,是线粒体的标志酶^[3]。通过对 SDH 电镜观察可以同时了解肌纤维的有氧代谢能力,供能水平以及线粒体超微结构的变化。

本实验电镜观察可以看出压榨 5 s 口轮匝肌线粒体结构和 SDH 阳性反应颗粒均呈现正常状态。机能学实验表明在极短时间内神经兴奋性已恢复到正常,可以推测与临床上最常见的生理性传导阻滞所引起的可逆性面瘫近似。一时性生理性传导阻滞,不引起肌组织产生病理变化,面神经传导阻滞一旦被解除,即可恢复正常肌功能。因此,在临床上不是所有颅骨外伤性面瘫都需要行面神经减压手术治疗。只要电诊断失神经支配阴性、轻度面瘫,面肌功能都能在短期内自然恢复。

压榨面神经持续 15 s 组,虽然在压榨后 15 d 口轮匝肌线粒体出现轻度结构变性,SDH 阳性反映颗粒减少。但是在 30 d 时线粒体不仅结构恢复正常,SDH 酶反应颗粒也恢复正常状态,同时肌纤维结构也恢复正常。瞬目反射在 50 d 左右恢复到正常。此组虽然面肌功能恢复较慢,但是支配肌病变程度较轻,是可逆性面瘫。在临床上的表现,是由于面神经受到面神经骨管骨折错位的瞬间压迫损伤而致面瘫,不是持续性骨折部位骨错位陷没性持续性压迫面神经,而是面神经受压榨损伤时间较短,面神经受损伤程度较轻,没有造成支配肌严重损伤变性。另外,在临床上也见到过相当于骨折部位的面神经水平段骨管自然缺损,没有骨折部位压迫面神经所见^[4]。此组病变不需要解除骨折部位压迫面神经的面神经减压手术治疗,虽然面神经受损伤后出现水肿现象,但是比较轻,一般在损伤初期行大剂量激素治疗可减轻面神经水肿,起到药物性面神经减压作用。合用维生素 B 族、改善微循环的药物及理疗,大部分病例可在 3 个月之内面肌功能都能恢复到正常水平^[5]。

压榨 30 s 15 d 组口轮匝肌线粒体结构和肌纤维呈现重度病理改变,SDH 酶活性严重减弱。但是 30 s 30 d 组线粒体结构和酶活性有所恢复,肌功能也有所好转。尽管此组面神经和面肌的病变严重,在临

床上也不属于神经断裂的病理改变。我们为颅骨外伤性面瘫行面神经减压术 160 多例中,未见到 1 例是神经断裂病变。早期行面神经减压术后,绝大部分病例的肌功能在半年之内达到临床康复标准(面肌功能达到 90% 以上)^[4]。本实验组面神经纤维中,有大部分髓鞘和轴突同时损伤病变,但是也见到有正常神经纤维存在^[2]。这种混合性病理改变提示,虽然电诊断为重度失神经支配、面肌功能评定为重度面瘫、ENG 显示变性大于 90%。只要早期行面神经减压术,解除面神经绞扼性损伤,大部分只要有髓鞘存在,就能分泌神经营养因子和神经生长因子,诱导神经再生^[6,7],恢复神经功能,进而使失去功能的肌纤维接受运动神经元供给的神经营养,不断的恢复肌功能而达到康复。综上所述,面神经受压榨损伤持续的时间越长,面神经和支配肌受损伤程度越重,预后越不良,肌功能恢复所需时间越长,也越难达到正常康复水平。因此,重度面神经失神经支配、重度面瘫的颅骨外伤性面瘫,还是应早期行面神经减压手术,有利于面肌功能康复。

参 考 文 献

- 1 小川和郎,中根一穗,主编.钟慈声,主译.酶组织细胞化学技术.上海:上海医科大学出版社,1989. 23-81.
- 2 任重,王琰.不同程度失神经支配面瘫预后的实验探讨.中华物理医学杂志,1998,20:65-67.
- 3 武内忠男,小川和郎,主编.朱逢春,主译.新酶组织化学.北京:人民卫生出版社,1983. 62-66.
- 4 任重,杨怀安,闫艾惠,等.92 例颅骨外伤性面瘫的预后分析.中国医科大学学报,1993,22:371-374.
- 5 多田雄一郎,稻村博雄,甲州秀浩他.ステロイド大量療法とアシクロビル并用ステロイド大量療法の比較検討. Japan Society of Facial Nerve Research, 1999, 19:119-121.
- 6 Apfel SC, Arezzo JC, Moran M, et al. Survival effect of ciliary neurotrophic factor(CNF) on chick embryonic motoneurons in culture :comparison with other neurotrophic factors and cytokines. J Neurosci, 1990, 10: 3507-3515.
- 7 Sendtner M, Stockli KA, Thoenen H. Synthesis and localization of ciliary neurotrophic factor in the sciatic nerve of the adult rat after lesion and during regeneration. J Cell Biol, 1992, 118:139-148.

(收稿日期:2001-11-07)

(本文编辑:刘雅丽)

《腰椎间盘突出症康复与预防》出版

由杨少华副教授等编写的《腰椎间盘突出症康复与预防》一书已由广西师范大学出版社出版。该书共七章:第一章解剖学;第二章病理过程;第三章流行病学;第四章临床表现;第五章临床评定;第六章康复治疗(包括手术后的康复问题、术后并发症的康复);第七章预防(其中包括正常人腰椎间盘突出症的预防、腰椎间盘突出症患者再发的预防、腰椎间盘突出症卧位医疗保健图解)。有理论而又通俗,可供医务人员在工作中参考,同时为广大腰椎间盘突出症患者提供治病和防病知识及指导。

全书共 18 万字,32 开本,定价 12.00 元。欲购者请与广西桂林医学院附属医院康复科联系。电话:(0773)2823719。邮购者另汇邮资 2.00 元。汇款请寄:广西桂林市乐群路 15 号杨少华收。邮编:541001。