

神经延长术修复周围神经缺损实验研究

莎茹拉 沈俊 张长青

【摘要】 目的 探讨神经延长术修复周围神经缺损疗效。**方法** 切除实验组家兔右侧大腿中段坐骨神经 20 mm 以建立神经缺损模型,用自制神经延长器逐渐延长坐骨神经断端,3周后行神经端-端缝合术。在对照组家兔右侧相同位置切除坐骨神经 20 mm 以建立神经缺损模型,将切取的神经 180° 翻转后进行回植,采用 8-0 丝线进行神经端-端缝合术。初次手术后 16 周,两组均进行运动神经传导速度、腓肠肌湿质量及再生有髓神经纤维数目、有髓神经纤维直径、神经纤维面积比例检测。**结果** 实验组运动神经传导速度、腓肠肌湿质量及再生有髓神经纤维数目、有髓神经纤维直径、神经纤维面积比例均优于对照组。**结论** 神经延长术可作为修复周围神经缺损的新方法,其有望取代自体神经移植术。

【关键词】 坐骨神经;周围神经缺损;神经延长;神经修复

DOI: 10.3969/j.issn.1673-7083.2017.02.011

Repairing peripheral nerve defects with gradual lengthening of nerve stumps Sharula, SHEN Jun, ZHANG Changqing. Department of Orthopaedics, the Sixth People's Hospital Affiliated to Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200233, China

【Abstract】 Objective To investigate the efficacy of a new technique to repair peripheral nerve defects with gradual lengthening of the nerve stumps. **Methods** A 20-mm-long nerve segment was resected from the rabbit sciatic nerve. Both nerve stumps were lengthened gradually by a customized nerve lengthening device. After 3 weeks, a direct end-to-end neurorrhaphy was performed. As a control, a 20-mm-long segment of sciatic nerve was removed in the right side, then reversed at 180°, and reimplanted between the nerve stumps using 8-0 sutures. At 16 weeks after the first operation, nerve regeneration was evaluated by motor nerve conduction velocity, muscle wet weight, total number of myelinated fibers, mean axonal diameter and percent neural tissue in both groups. **Results** The nerve lengthening group achieved significantly better results than the autografting group in terms of motor nerve conduction velocity, muscle wet weight, total number of myelinated fibers, mean axonal diameter and percent neural tissue. **Conclusion** The gradual nerve lengthening procedure can be used as an alternative to repair peripheral nerve defects.

【Key words】 Sciatic nerve; Peripheral nerve defect; Nerve elongation; Nerve repair

周围神经损伤一直是骨科领域常见损伤之一,神经缺损修复是研究热点^[1]。目前临床上治疗周围神经缺损应用较广且疗效较肯定的术式为自体神经移植术。然而,自体神经移植术有许多不尽如人意的缺点^[2]:①需牺牲自体正常神经,导致供区功能障碍(如感觉丧失、出现瘢痕,甚至可能引起痛性神经瘤);②再生神经需通过 2 处神经吻合口,不利于神经再生;③移植神经属于无血运组织,不利于神经再生,这在大段神经缺损中尤为明显;④供区神经直径(即粗细)及轴索分布很难与损伤段神经完全匹配,影响了轴索顺利再生;⑤自体神经来源有限,对于直径粗大的长段神经缺损或多发性神经缺损,自体神

经移植术并不适用。近年来虽然涌现了异体神经制品及人工神经导管等可替代自体神经进行移植的新型材料,但采用其进行移植均未达到自体神经移植的效果^[3],故自体神经移植术仍为目前神经损伤主要治疗方法。

为了能替代自体神经移植术,我们开发了一种可直接延长神经断端的外固定支架,通过该神经延长器可直接缓慢延长损伤神经断端本身,直至断端可直接缝合后,实施神经端-端缝合术,我们将其称之为神经延长法。在本研究中我们通过动物实验来证实此方法的可行性及对周围神经缺损的治疗效果。

1 材料与方法

1.1 神经延长器设计原理

根据家兔的解剖学特点,自行设计神经延长器,其原理与临床上常用的外固定支架相似(图 1)。神

经延长器通过2枚自制克氏针固定在家兔股骨上,2根固定于延长器上的金属导管穿过皮肤,神经断端固定于带有牵拉线的套环上,牵拉线穿过金属导管固定于延长器可滑动模块上,移动体外滑动模块可直接牵拉神经断端。术后第1日开始每日牵拉神经近端和远端各1 mm。

1.2 实验动物

雄性家兔12只,体质量2.7~3.3 kg,13周龄。随机分成实验组(神经延长组)和对照组(自体神经移植组),每组各6只。

1.3 手术方法

对实验组家兔先用戊巴比妥(50 mg/kg)静脉注射麻醉,麻醉成功后备皮,将家兔侧卧固定在手术台上。于家兔右腿股二头肌与内收肌之间显露坐骨

神经,切除大腿中段坐骨神经20 mm以建立神经缺损模型。暴露右侧股骨,股骨中段固定2枚自制克氏针,在克氏针上安装神经延长器。于神经2个断端分别套入合适大小的神经套环,用4-0丝线将神经断端固定于神经套环内。套环两边对称固定3-0牵拉线,牵拉线通过自制的金属导管固定于自制神经延长器可滑动模块上。神经断端之间距离设置为最初的20 mm,使其维持原始张力。可吸收线缝合肌肉,4-0丝线关闭伤口(图2)。术后第1日开始右侧坐骨神经近端和远端牵拉延长,速度为1 mm/d,共延长3周。术后每日更换伤口上的敷料,并注意观察伤口有无感染迹象。3周后再次手术,打开原伤口,游离坐骨神经断端,将神经断端带环一同切除,采用8-0丝线进行神经端-端缝合术。

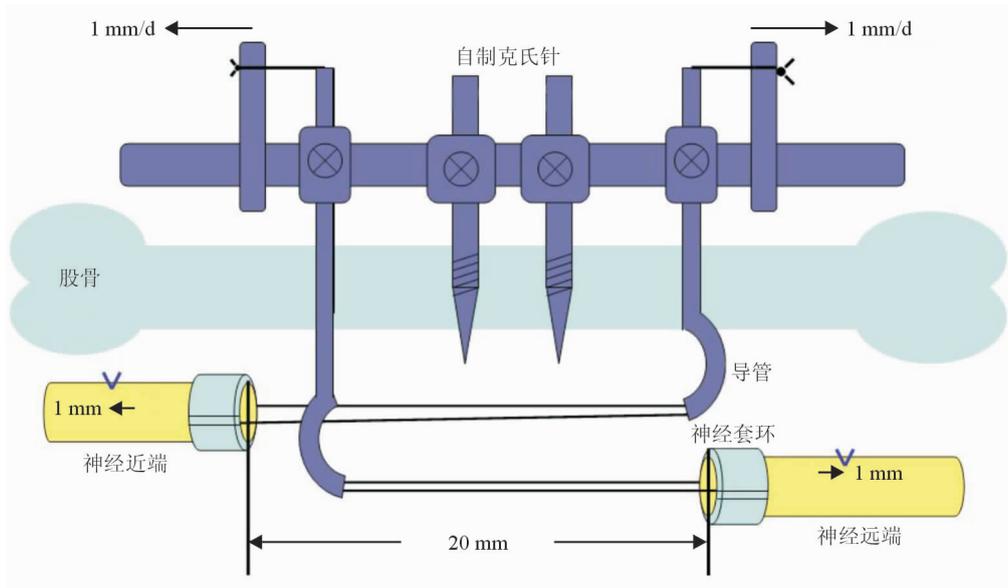


图1 自制神经延长器示意图

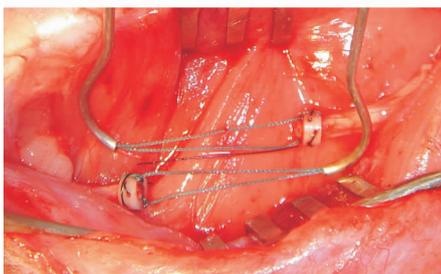


图2 实验组神经断端安装神经延长器

在对照组家兔右侧相同位置切除坐骨神经20 mm以建立神经缺损模型,将切取的神经180°翻转后进行回植,采用8-0丝线进行神经端-端缝合术。

1.4 观察指标

实验过程中进行动物大体观察。初次手术后3

周,实验组打开原伤口,观察右侧坐骨神经断端延长情况,并测量右侧坐骨神经断端重叠长度。初次手术后16周,手术暴露实验组和对照组左右两侧坐骨神经,观察评估神经再生情况:①电生理检测两侧坐骨神经传导功能(记录坐骨神经吻合口远近端相同电刺激后产生的复合肌肉动作电位),计算运动神经传导速度;②测量右侧坐骨神经所支配腓肠肌湿质量(周围神经缺损后其所支配肌肉会发生萎缩,神经再生后该萎缩肌肉逐步恢复正常,计算肌肉质量可评估相应神经再生情况);③对经甲苯胺蓝染色的再生神经进行组织学分析(再生有髓神经数目、有髓神经纤维直径和神经纤维面积比例)。为减少动物之间的个体差异,实验数据同时进行右侧/左侧(即患侧/健侧)百分比分析。

1.5 统计学方法

所有数据以平均值±标准差表示。运动神经传导速度、复合肌肉动作电位幅度、腓肠肌湿质量及再生有髓神经数目、有髓神经纤维直径、神经纤维面积比例进行t检验分析。P<0.05认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大体观察

初次手术后3周,肉眼可见实验组被延长的坐骨神经外观无明显异常;实验组被延长的坐骨神经断端重叠距离为(14.2±0.9)mm(图3)。实验组及对照组均未出现感染。

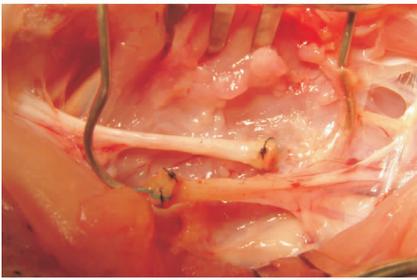


图3 经3周神经延长,神经断端重叠

2.2 神经再生情况

2.2.1 电生理检测

实验组与对照组右侧运动神经传导速度差异有统计学意义(P<0.05),实验组运动神经传导速度明显优于对照组;实验组与对照组右侧神经远端刺激动作电位幅度差异无统计学意义(P>0.05)(表1~3)。

表1 两组运动神经传导速度比较

组别	右侧/m·s ⁻¹	左侧/m·s ⁻¹	右侧/左侧
实验组	39.98±1.84	83.68±3.66	47.79%±1.46%*
对照组	27.68±1.81	81.50±5.14	34.06%±2.74%

注:*表示与对照组相比,P<0.05

表2 两组神经近端刺激动作电位幅度比较

组别	右侧/mV	左侧/mV	右侧/左侧
实验组	4.98±0.96	7.98±0.66	62.20%±9.01%**
对照组	4.14±0.56	6.07±0.92	60.93%±10.95%

注:**表示与对照组相比,P>0.05

表3 两组神经远端刺激动作电位幅度比较

组别	右侧/mV	左侧/mV	右侧/左侧
实验组	4.91±0.98	8.26±0.95	59.25%±2.75%**
对照组	4.17±0.76	7.88±1.66	54.00%±10.99%

注:**表示与对照组相比,P>0.05

2.2.2 腓肠肌湿质量比较

实验组与对照组右侧坐骨神经所支配腓肠肌湿质量差异有统计学意义(P<0.05),实验组腓肠肌湿质量明显大于对照组(表4)。

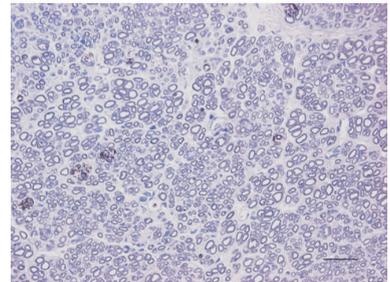
2.2.3 组织学分析

实验组和对照组右侧坐骨神经距腓肠肌10mm处组织横断面甲苯胺蓝染色情况见图4、5。实验组与对照组右侧再生坐骨神经有髓神经数目、有髓神经纤维直径及神经纤维面积比例差异有统计学意义(P<0.05),实验组均明显优于对照组(表5)。

表4 两组腓肠肌湿质量比较

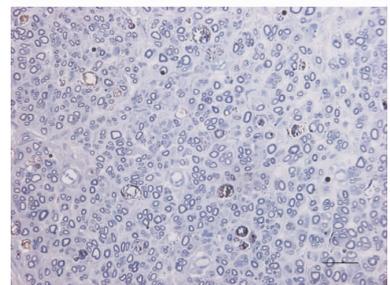
组别	右侧/g	左侧/g	右侧/左侧
实验组	12.55±0.65	20.61±1.55	60.95%±3.02%*
对照组	10.32±0.77	20.91±4.03	49.69%±3.09%

注:*表示与对照组相比,P<0.05



注:图中标尺长度为50μm

图4 实验组坐骨神经甲苯胺蓝染色



注:图中标尺长度为50μm

图5 对照组坐骨神经甲苯胺蓝染色

表5 两组再生坐骨神经组织学分析

组别	有髓神经纤维	有髓神经纤维	神经纤维面积
	数目	直径/μm	比例
实验组	14 075.00±3834.70	2.41±0.91	24.30%±2.65%
对照组	9145.38±10.70	1.79±0.17	16.89%±4.87%
P值	0.012	0.028	0.011

3 讨论

3.1 周围神经修复方法

目前临床治疗周围神经缺损的金标准仍是自体神经移植术,但如前文所述,其存在诸多缺点。因

此,同种异体神经移植术应运而生,但由于异体移植段可发生坏死或出现瘢痕,从而影响神经再生,其在临床上并不能取代自体神经移植术。

近20年国内外人工软骨、人工骨、人工肌腱等的研究成绩显著,故针对周围神经缺损,应用组织工程学原理及技术方法研制人工神经成为研究热点。起初最广泛用于周围神经架桥实验研究的是硅胶管,但由于其不可吸收性、慢性异物纤维化和慢性神经嵌压等问题,临床应用受到限制。目前用于人工神经研究的可降解材料有聚羟基乙酸(PGA)管、聚乳酸(PLA)管及其与聚己内酯的共聚物等。但由于神经趋化性距离有限,神经功能恢复较差,该方法目前仍无法替代自体神经移植术^[4-6]。

受整形外科皮下组织扩张器用于皮肤、皮下组织扩张术的启发,神经扩张概念引起了学者们的兴趣。正常神经纤维束机械生物力学特性决定其能抵抗一定的张力牵拉,有较高的可塑性。但扩张器用于神经扩张时,其作用力在中央部与神经长轴平行,而在边缘部成角,故不能均匀地延长神经,且扩张器本身对神经有压迫作用,因此神经功能恢复较差,不适用于临床应用^[7-9]。

Ilizarov教授采用外固定支架进行肢体缓慢延长术时,神经也出现相当程度的延长,且能维持正常功能。我们认为,周围神经与骨组织及血管等软组织一样可耐受逐渐延长,因此开发了神经延长术。此术式有别于上述利用组织扩张器的延长法,它对神经的延长是直线延长,不会压迫神经。

3.2 神经延长术可能原理

周围神经修复是一项复杂的生物过程。周围神经切断后远段神经发生溃变,神经元胞体也出现损伤反应。研究^[10-11]显示,神经断端能抵抗一定的张力牵拉,不光是因为神经有一定的弹性,而是一定的张力牵拉可促进神经再生。缓慢牵拉神经近侧断端可促进轴索发芽,而缓慢牵拉神经远侧断端可促进许旺细胞增殖。远段神经许旺细胞吞噬溃变的轴突碎片及解体的髓鞘后,数量明显增加,在神经膜管内排列成实心细胞索(Bungner带),近段神经纤维生长出一些枝芽(发芽),沿着Bungner带生长。许旺细胞在促进周围神经再生中不仅起接触引导作用,更重要的是起着神经营养性、趋化性作用。许旺细胞分泌神经生长因子(NGF)、脑源性神经营养因子(BDNF)等神经营养及趋化因子,诱导、刺激和调控轴突再生和髓鞘形成,利于轴突成熟和神经再支

配^[12-13]。许旺细胞膜表面还可表达神经细胞黏附分子(N-CAM)等多种黏附因子,引导轴索再生^[14-15]。有研究^[16]表明,轴突生长锥上I型受体不断地与远处许旺细胞膜上NGF结合,加上生长锥与局部基底膜、许旺细胞表面其他粘连分子互相作用,引导着生长锥向前生长。通过牵拉神经断端可促进许旺细胞增殖,从而加强许旺细胞本身及其分泌的神经营养因子、神经黏附因子对再生轴索的趋化作用和接触引导作用,进一步促进轴突再生。延长神经还可促进新生血管再生,从而加大微血管灌注,使再生轴索有良好的血供,有助于神经再生。

3.3 神经延长术优缺点

与自体神经移植术相比,神经延长术的优点在于:①不需要牺牲自身正常神经(供体神经),不引发神经供区并发症;②再生轴索只需通过1处吻合口,有利于神经再生;③缓慢延长神经断端过程中伴行的血管也会同步再生爬行至再生神经组织中,有利于神经再生;④再生神经为损伤神经的延续,故不存在神经粗细及轴索分布不匹配的问题;⑤由于不受自体神经来源的限制,可修复长段直径粗大的神经缺损或多发性神经缺损。然而,对长段神经缺损进行延长往往需要较长时间,这必将给患者带来较重的负担及增加感染发生率,而且相较于自体神经移植术,神经延长术需进行二次手术(延长结束后的吻合术),故神经延长术适应证的制定有待进一步探讨。

本实验以自体神经移植术为对照组,与神经延长术进行比较,结果表明使用我们自制的神经延长器在无麻醉条件下可逐渐延长2个神经断端,从而成功修复家兔坐骨神经20mm缺损,且实验组运动神经传导速度、腓肠肌湿质量及再生有髓神经纤维数目、有髓神经纤维直径、神经纤维面积比例均优于对照组,而两组复合肌肉动作电位幅度无统计学差异。

3.4 待解决的问题

本实验以1mm/d的速度缓慢延长周围神经,并未发现神经功能受损,即在一定范围内缓慢持续牵拉延长对周围神经并无明显损害,周围神经这一特点也使神经延长术成为可能。但目前尚未明确的问题还有很多,例如神经延长术能修复多长范围的周围神经缺损及其极限是多少,神经延长术治疗长段神经缺损的效果是否优于自体神经移植术,神经延长过程中是否存有疼痛,神经延长过程中神经再

生原理等, 这些问题将在我们今后的研究中继续探讨。

综上所述, 对于适当长度的神经缺损, 神经延长术无论在功能学上还是在组织学上均优于自体神经移植术。临床上神经延长术有望取代自体神经移植术成为修复神经缺损的新方法, 这对于今后周围神经缺损治疗无疑是重大突破。

参 考 文 献

- [1] Yuksel F, Ulkur E, Baloglu H, et al. Nerve regeneration through a healthy peripheral nerve trunk as a nerve conduit; a preliminary study of a new concept in peripheral nerve surgery[J]. *Microsurgery*, 2002, 22(4):138-143.
- [2] Wolford LM, Rodrigues DB. Autogenous grafts/allografts/conduits for bridging peripheral trigeminal nerve gaps[J]. *Atlas Oral Maxillofac Surg Clin North Am*, 2011, 19(1):91-107.
- [3] Ulkur E, Yuksel F, Acikel C, et al. Comparison of functional results of nerve graft, vein graft, and vein filled with muscle graft in end-to-side neurorrhaphy [J]. *Microsurgery*, 2003, 23(1):40-48.
- [4] Fatemi MJ, Foroutan KS, Ashtiani AK, et al. Comparison of divided sciatic nerve growth within dermis, venous and nerve graft conduit in rat[J]. *J Res Med Sci*, 2010, 15(4):208-213.
- [5] Ichihara S, Inada Y, Nakada A, et al. Development of new nerve guide tube for repair of long nerve defects[J]. *Tissue Eng Part C Methods*, 2009, 15(3):387-402.
- [6] Lu MC, Huang YT, Lin JH, et al. Evaluation of a multi-layer microbraided polylactic acid fiber-reinforced conduit for peripheral nerve regeneration[J]. *J Mater Sci Mater Med*, 2009, 20(5):1175-1180.
- [7] Arnaoutoglou CM, Sakellariou A, Vekris M, et al. Maximum intraoperative elongation of the rat sciatic nerve with tissue expander: functional, neurophysiological, and histological assessment[J]. *Microsurgery*, 2006, 26(4):253-261.
- [8] Baoguo J, Shibata M, Matsuzaki H, et al. Proximal nerve elongation vs nerve grafting in repairing segmental nerve defects in rabbits[J]. *Microsurgery*, 2004, 24(3):213-217.
- [9] Matsuzaki H, Shibata M, Jiang B, et al. Distal nerve elongation vs nerve grafting in repairing segmental nerve defects in rabbits[J]. *Microsurgery*, 2004, 24(3):207-212.
- [10] Nishiura Y, Yamada Y, Hara Y, et al. Gradual stretching of the proximal nerve stump induces the growth of regenerating sprouts in rats[J]. *J Orthop Res*, 2006, 24(12):2246-2253.
- [11] Yamada Y, Nishiura Y, Hara Y, et al. Repair of peripheral nerve defect by direct gradual lengthening of the distal nerve stump in rats; cellular reaction[J]. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg*, 2009, 43(6):297-304.
- [12] Lotfi P, Romero-Ortega MI. Control of neural interfacing in peripheral nerves through regenerative molecular guidance [J]. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc*, 2011, 2011:4633-4636.
- [13] Zhang YG, Huang JH, Hu XY, et al. Omentum-wrapped scaffold with longitudinally oriented micro-channels promotes axonal regeneration and motor functional recovery in rats[J]. *PLoS One*, 2011, 6(12):e29184.
- [14] Lavdas AA, Papastefanaki F, Thomaidou D, et al. Cell adhesion molecules in gene and cell therapy approaches for nervous system repair[J]. *Curr Gene Ther*, 2011, 11(2):90-100.
- [15] Saito H, Kanje M, Dahlin LB. Crossed over repair of the femoral sensory and motor branches influences N-CAM[J]. *Neuroreport*, 2010, 21(12):841-845.
- [16] Camara-Lemarroy CR, Guzman-de la Garza FJ, Fernandez-Garza NE. Molecular inflammatory mediators in peripheral nerve degeneration and regeneration [J]. *Neuroimmunomodulation*, 2010, 17(5):314-324.

(收稿:2016-09-06;修回:2016-10-12)

(本文编辑:翁洁敏)