

大鼠脊神经损伤后所支配骨骼肌及其运动终板的退变*

王瑜¹ 李兵¹ 肖传国^{1,2}

摘要 目的:研究大鼠脊神经运动根损伤后所支配的骨骼肌组织形态学变化,为临床提供理论基础。**方法:**选用SPF级成年雄性SD大鼠32只,随机分为2组:一组单纯切断左侧的L4脊神经前根,另一组同时切断左侧的L4和L5脊神经前根;以各大鼠的左侧为实验侧,右侧为自身对照侧,分别于手术后6周和4个月时测定双侧趾长伸肌的肌湿重和肌细胞截面积,并观察骨骼肌运动终板的形态。**结果:**术后6周:单纯L4神经根切断组和L4,5神经根切断组的实验侧肢体功能较正常对照侧均有明显损伤($P<0.01$),运动终板崩解变性。术后4个月:单纯L4神经根切断组的实验侧肢体功能接近正常($P>0.05$),再生运动终板结构接近正常;L4,5神经根切断组的实验侧肢体功能与对照侧相比,有极显著性差异($P<0.01$),运动终板完全消失。**结论:**单纯L4神经根切断近期可造成肢体功能损伤,但随时间推移,损害逐渐减轻,甚至消失;但若合并L5神经根损伤将造成肢体功能的永久性损害。

关键词 周围神经;失神经;骨骼肌;运动终板

中图分类号:R699,R49 文献标识码:A 文章编号:1001-1242(2006)-10-0871-03

The morphological investigation of partially denervated mouse muscle after lumbar nerve root injury/
WANG Yu, LI Bing, XIAO Chuanguo//Chinese Journal of Rehabilitation Medicine,2006,21(10):871—873

Abstract Objective:To study the influence of the single and combined section of L4,5 root on the hind limb function.**Method:**32 young adult male Sprague-Dawley rats were randomized into 2 groups:L4 denervated (L4) and L4,5 denervated (L4,5).Left L4 or L4,5 root transections produced partial denervation, the extensor digitorum longus (EDL) muscle on the right side was used as normal control.The EDL muscle wet weight,fiber cross-sectional area and motor endplate(MEP) were examined 6 week and 4 month following denervation(6 rats for each group).**Result:**In L4 groups,it does show a harmful influence on the hind limb at 6 weeks,but the damage to the hind limb got relieved gradually as postoperative time went on, and most of them recovered to normal at 4 months. In L4,5 groups, the hind limb function showed a persistent damage even at postoperative 4 months.**Conclusion:**Section of L4 root alone does show a harmful influence on the hind limb in the early stage, but it might recover to normal in the long run. But section of L4,5 root can cause an irrecoverable damage to the hind limb function.

Author's address Institute of Urology, Department of Urology, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science & Technology, Wuhan, 430022

Key words peripheral nerve;denervated muscles;motor endplate

脊髓损伤后大小便功能障碍是个世界性的难题。肖传国教授提出的人工建立“体神经-内脏神经反射弧”为解决这个难题提供了新的途径^[1]。将控制躯体神经的传出纤维与控制膀胱排尿功能的内脏神经传出支吻合,形成皮肤-脊髓中枢-膀胱反射回路,通过刺激相应皮区引起排尿,巧妙地解决了排尿功能障碍问题。该手术从1995年起在临床应用后取得了巨大成功,现已被国内外权威教科书采纳。

目前建立人工反射弧手术方法的安全性和有效性已通过大量的动物实验和临床应用被证实^[1-4]。然而该手术需要牺牲一根功能正常的下肢运动神经来再生支配膀胱、直肠,理论上这会对下肢正常的运动功能有一定影响^[2]。本实验旨在探讨切断一根正常脊神经运动根后对其所支配骨骼肌的影响,为临床提

供理论基础。

1 材料与方法

1.1 动物与分组

SPF级成年雄性Sprague-Dawley大鼠32只(华中科技大学同济医学院实验中心提供),体重180—200g,随机分为两组。①单纯L4神经根切断组:只切

*基金项目:科技部立项国家重点基础研究发展计划(973计划)课题(2003CB515304);国家自然科学基金资助项目(30500535)

1 华中科技大学同济医学院附属协和医院泌尿外科,武汉,430022

2 通讯作者:肖传国(华中科技大学同济医学院附属协和医院泌尿外科,武汉,430022)

作者简介:王瑜,男,博士研究生

收稿日期:2006-01-10

断左侧L4脊神经前根。②L4及L5神经根切断组：同时切断左侧L4和L5脊神经前根。每组各16只，分别于术后6周、术后4个月，各取8只取材。取材部位为双侧趾长伸肌，左下肢为实验侧，右下肢为正常对照侧。

1.2 手术方法及检测项目

腹腔注射10%水合氯醛(300mg/kg)麻醉后，背部脱毛，俯卧位背部消毒、铺巾，取腰背部正中切口，依次切开皮肤、皮下筋膜，钝性分离竖脊肌，显露L4和L5椎体，咬骨钳咬除L4、L5棘突和椎板，打开硬脊膜，暴露并仔细分离左侧L4、L5脊神经前根。按不同分组的要求，于欲切断的神经根内用1%普鲁卡因局封后，切除该神经根2mm一段。小心勿损伤各大鼠右侧脊神经。

1.3 检测项目

1.3.1 大体形态和功能观察：观察各组动物术后有无跛行，实验侧肢体有无毛发稀疏及足底溃疡等并发症发生。

1.3.2 肌肉湿重：完整取下各组大鼠双侧趾长伸肌，仔细除去其表面结缔组织后，采用瑞士产Mettler-Toledo AL104电子分析天平(分度值0.1mg)称量肌湿重。

1.3.3 肌细胞截面积：取两侧趾长伸肌中段肌腹最大处肌肉块，做10 μm 横切片，HE染色，光学显微镜下观察肌纤维形态，HMIAS高清晰度彩色医学图文分析系统进行测量趾长伸肌肌细胞截面积。

1.3.4 运动终板测定：从神经入肌处切取长10mm，直径4mm的肌肉条，放入4%含钙多聚甲醛溶液中固定24h，恒温冷冻箱作片厚15 μm 的纵切片，行Karnovsky-Roots乙酰胆碱酯酶染色^[5]，光学显微镜下观察运动终板的形态和着色。

1.4 统计学分析

所有实验数据用 $\bar{x}\pm s$ 表示，采用配对样本t检验进行统计学分析。

2 结果

2.1 单纯L4神经根切断组

2.1.1 大体外形观察：本组所有实验大鼠在术后1个月内均出现不同程度左后肢足下垂，踝跖屈，五趾

不能张开，双侧步态不协调，跛行。1个月以后跛行逐渐减轻，到3个月时外观已基本正常，双侧步态基本一致。实验侧肢体无毛发稀疏及足底溃疡等并发症发生。

2.1.2 肌肉湿重：术后6周，大鼠实验侧趾长伸肌的肌湿重较对照侧显著减轻($P<0.01$ ，见表1)。术后4个月，大鼠实验侧趾长伸肌的肌湿重与对照侧相比无显著性差异($P>0.05$ ，见表1)。

2.1.3 肌细胞截面积：术后6周，实验侧较对照侧肌纤维萎缩变细，肌束间结缔组织增生较轻；肌细胞截面积与对照侧相比有显著性差异($P<0.01$ ，见表1)。术后4个月，实验侧肢体肌细胞截面积与对照侧相比无显著性差异($P>0.05$ ，见表1)。

2.1.4 运动终板测定：术后6周，正常对照侧终板边缘清晰，终板乙酰胆碱酯酶染色较深；而实验侧终板边缘模糊，呈毛刺状，且终板乙酰胆碱酯酶染色较浅，甚至呈阴性，部分运动终板崩解变性，只有残迹可见。术后4个月，实验侧再生的终板着色深，AChE重新聚积，形态与着色接近正常，但与正常对照侧相比，着色较浅，单位面积内的数量减少(图1—3)。

2.2 L4及L5神经根切断组

2.2.1 大体外形观察：本组16只大鼠术后至术后4个月均有明显跛行，且实验侧后肢的毛发稀疏较为明显。其中5只大鼠自咬实验侧后肢。

2.2.2 肌肉湿重：术后6周，大鼠实验侧趾长伸肌的肌湿重较对照侧显著减轻($P<0.01$ ，见表1)。术后4个月，两侧肌湿重的差异仍有非常显著性差异($P<0.01$ ，见表1)。

2.2.3 肌细胞截面积：术后6周，实验侧肌细胞截面积较对照侧显著减小($P<0.01$ ，见表1)。术后4个月，两侧肌细胞截面积的差异仍有非常显著性差异($P<0.01$ ，见表1)。

2.2.4 运动终板测定：术后6周，正常对照侧终板边缘清晰，终板乙酰胆碱酯酶染色较深；而实验侧终板边缘模糊，呈毛刺状，乙酰胆碱酯酶染色较浅，甚至呈阴性，部分运动终板崩解变性，只有残迹可见。术后4个月，实验侧无再生终板检出(图4)。

表1 肌肉组织学检查结果

($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数	肌肉湿重(g)			t值	肌细胞截面积(μm^2)		
		实验侧	对照侧			实验侧	对照侧	t值
术后6周	L4切断组	8	0.0908±0.0145	0.1342±0.0119	6.776 ^①	19.42±1.25	24.65±1.65	6.341 ^①
	L4,5切断组	8	0.0883±0.0094	0.1395±0.0138	8.590 ^①	18.48±1.50	23.84±1.04	9.308 ^①
术后4个月	L4切断组	8	0.1264±0.0186	0.1418±0.0125	1.982 ^②	27.57±1.25	29.17±1.99	3.214 ^②
	L4,5切断组	8	0.0684±0.0072	0.1473±0.0079	31.09 ^①	24.48±1.63	30.15±1.68	7.980 ^①

① $P<0.01$, ② $P>0.05$

图1 正常对照侧运动终板
边缘清晰,染色较深

图2 L4 切断后 6 周运动终板情况
($\times 400$) 终板边缘模糊,呈毛刺状,且终板乙酰胆碱酯酶染色较浅

 $\times 400$ **图3 L4 切断后 4 个月运动终板情况**
再生的终板着色深, AChE 重新聚积,形态与着色接近正常,与正常对照侧相比,着色较浅,终板小 $\times 400$ **图4 L4,5 切断后 6 周运动终板情况**
终板崩解变形边缘模糊,呈毛刺状,染色较浅
 $\times 400$

3 讨论

3.1 术式对所支配肌肉功能的影响

大鼠的趾长伸肌由L3、L4和L5三根脊神经共同支配,但以L4为主^[6]。实际上,大鼠下肢的主要肌肉与人类一样均由2根以上的脊神经共同支配^[7]。

在本实验中,L4神经切断组下肢跛行在1个月后逐渐减轻,3个月后基本正常;肌肉组织学结果提示:手术6周后,实验侧肌肉萎缩明显,运动终板变性提示下肢功能减缩;但4个月后实验侧肌湿重和肌细胞截面积和对照组相比无明显差异,并可观察到运动终板再生。这表明,仅单根脊神经损伤时,相邻神经根的纤维可在神经通路上发出侧枝或在靶组织内由神经末梢再生进行代偿,使之功能不发生损害或损伤很小。而当同时切断L4、L5神经,剩余的神经根不足以代偿或无法代偿时,所支配肌肉功能将呈现不可逆的损伤。

3.2 本实验结果的临床意义

在临幊上,人工体神经-内脏神经反射弧重建手术目前主要应用于截瘫和先天性脊椎裂脊膜膨出(spina bifida,SB)患者。截瘫患者因已存在严重瘫痪,手术前后下肢功能无明显变化。而许多脊椎裂脊膜膨出患者在术前虽无明显瘫痪,但也存在下肢运动神经功能不良^[8]。当我们牺牲一根功能正常的下肢运动神经来再生支配膀胱的神经时,如果患者支配同一块肌肉剩余的神经根功能正常,可代偿性再生重新支配部分失神经肌肉,则不会出现下肢功能障碍。而当患者剩余的神经根功能存在缺损,不足以代偿性再生,则将产生下肢功能障碍损伤。这与临幊观察结果是一致的。在术后系统随访2年以上的20例先天性脊椎裂脊膜膨出患儿中,有5例出现了下肢运动功能的部分损伤,症状较轻者(3例)出现相应肌肉萎缩,症状较重者(2例)则出现明显的足下垂,从而需要矫形鞋纠正^[2]。

本实验从动物实验方面证实:对于下肢运动神经正常患者,单纯切断一根脊神经,近期可能会造成肢体运动功能损伤,但随时间推移,损害逐渐减轻,甚至可消失,如果术后能辅以理疗、功能训练等康复治疗,相信其恢复速度可更快;但对于类似先天性脊椎裂脊膜膨出这类术前就存在有下肢运动神经功能不良的患者,再切断其一根正常的脊神经将有可能对肢体功能造成永久性的损害。因此,对于这类患者,如何在不影响取得膀胱控制这一主要目标的前提下,尽量减少脊神经切断后所支配肌肉的功能损伤将是下一步研究的重点。

参考文献

- Xiao CG, Godec CJ. A possible new reflex pathway for micturition after spinal cord injury [J]. Paraplegia, 1994, 32(5):300—307.
- Xiao CG, Du MX, Li B, et al. An artificial somatic-autonomic reflex pathway procedure for bladder control in children with spina bifida[J]. J Urol, 2005, 173(6):2112—2116.
- Xiao CG, Du MX, Dai C, et al. An artificial somatic-central nervous system-autonomic reflex pathway for controllable micturition after spinal cord injury: preliminary results in 15 patients[J]. J Urol, 2003, 170(4 Pt 1):1237—1241.
- Xiao CG, de Groat WC, Godec CJ, et al. "Skin-CNS-bladder" reflex pathway for micturition after spinal cord injury and its underlying mechanisms[J]. J Urol, 1999, 162(3 Pt 1):936—942.
- 杜卓民主编.实用组织学技术[M].第2版.北京:人民卫生出版社,1998.
- Cuppini R, Ambrogini P. Developmental changes in innervation of rat extensor digitorum longus muscle [J]. Mech Ageing Dev, 1996, 92(2-3):211—225.
- 卢祖能,曾庆杏,李承晏,等.实用肌电图学[M].第1版.北京:人民卫生出版社,2000.
- Mazur JM, Menelaus MB. Neurologic status of spina bifida patients and the orthopedic surgeon [J]. Clin Orthop Relat Res, 1991(264):54—64.