

纤维蛋白胶粘合修复周围神经损伤的实验研究

李宏生 李光昭 姚楚征 许翔聪 孙泽光 杨永熙

广东省汕头市第二人民医院烧伤整形科(汕头 515011)

【摘要】 目的 比较纤维蛋白胶粘合法与神经外膜缝合法修复周围神经损伤的效果。方法 将雄性 Wistar 大鼠 20 只随机分为两组,即粘合组和缝合组,每组 10 只。以大鼠左侧坐骨神经为修复神经模型进行实验。术后 8 周,各组取 8 只大鼠进行电生理、组织学检查,每组其余 2 只取标本做透射电镜观察。结果 术后 8 周粘合组神经纤维较缝合组平直,粘合组与缝合组比较,运动神经潜伏期延迟比、吻合口神经纤维通过比、有髓纤维截面积恢复比、肌湿重恢复比差别具有显著性意义(t 值分别为 2.32、2.43、2.39、2.36, P 值分别为 0.032、0.029、0.030、0.031)。结论 应用纤维蛋白胶粘合修复周围神经损伤是一种较为有效的神经接合方法。

【关键词】 周围神经 纤维蛋白胶 粘合法

中图分类号 R-332 文献标识:A 文章编号:1009-6604(2003)01-0082-03

An experimental study on injured peripheral nerves repaired by adhesion of fibrin glue Li Hongsheng, Li Guangzhao, Yao Chuzheng, et al. Department of Burn and Plastic Surgery, Shantou Second People's Hospital, Shantou 515011, China

【Abstract】 Objective To compare the effects of fibrin glue adhesion or epineurium suture on repairing injured peripheral nerves. **Methods** 20 male rats were randomly divided into two groups: group fibrin glue adhesion ($n=10$) and group suture ($n=10$). Left sciatic nerves of rats were made repaired nerves models. The nerves of 8 rats in each group underwent electrophysiological and histological examination at the 8th week postoperatively. The nerve specimens of other 2 rats in each group were examined under transmission electron microscope. **Results** Nerve fibers alignment in group adhesion was more regular than that of group suture at the 8th week after operation. There were significant differences in delayed ratio of latency of motor nerve, nerve fibers cross ratio, recovery ratio of sectional area of myelinated fibers and recovery ratio of muscle wet weight between the two groups ($t=2.32, P=0.032; t=2.43, P=0.029; t=2.39, P=0.030; t=2.36, P=0.031$). **Conclusions** Adhesion of fibrin glue for the repair of injured peripheral nerves is an effective method.

【Key words】 Peripheral nerve Fibrin glue Adhesion method

应用显微缝合技术修复损伤的周围神经是目前临床常用的方法,但由于缝线存在异物反应,常规显微修复会进一步损伤神经轴突,引起轴突组织错向生长,直接影响神经修复的效果^[1]。本实验是以神经外膜缝合法为对照,研究纤维蛋白胶粘合大鼠坐骨神经的应用效果。

材料与方法

一、实验动物及分组 健康雄性 Wistar 大鼠 20 只,体重 250g~300g,随机分为两组,即粘合组(实验组)和缝合组(对照组),每组 10 只,采用左侧坐骨神经为修复模型进行实验。

二、实验材料

1. 纤维蛋白胶(广州倍特公司生产),该粘合剂由适当比例的纤维蛋白原、凝血酶、第 XIII 因子、 Ca^{2+} 等组成。纤维蛋白原和凝血酶是从严格检疫的猪血中提纯,经灭菌、冻干制成,不含致热源,使用前用该产品配套的相应溶解液溶解纤维蛋白原和凝血酶,分别用配套的注射器抽好,安装在推液支架上,接上连接针座,再用一粗平针头套上连接针座备用。在离断神经修剪对位后,缓慢推动注射器支架,使混合液体均匀滴至神经吻合端凝集粘合。

2. 缝合线采用国产 11/0 尼龙线(上海医用缝线厂生产)。

三、手术方法 1% 戊巴比妥钠腹腔注射麻醉(40mg/kg)。取左侧股后部纵行切口,切开皮肤,分离肌肉,由股后外侧肌间隙显露左侧坐骨神经,在坐骨神经距梨状肌出口 1.5cm 处用双面刀片切断坐骨神经,在手术显微镜下以神经表面血管为解剖标志对位。粘合组将纤维蛋白胶滴至吻合端,30 秒左右纤维蛋白胶凝固,即刻见粘合对位较佳(图 1A)。缝合组采用 11/0 尼龙线外膜缝合 4 针(图 1B)。术后肢体不固定。

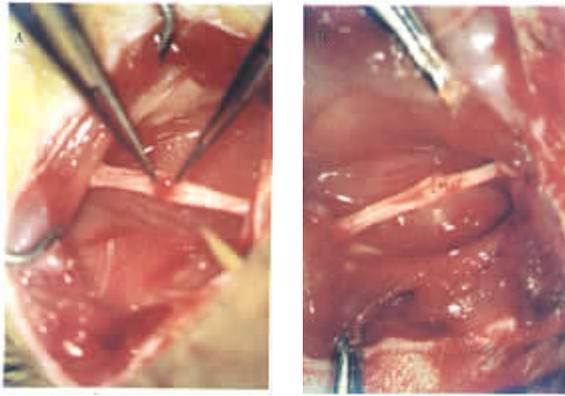
四、检测指标

1. 组织学观察 术后 8 周各组取 8 只大鼠进行电生理检测结束后,在神经吻合处取材,用 3/0 丝线缚住神经两端,拉直、固定于小木板上,置于 10% 中性福尔马林溶液内固定,用石蜡包埋,吻合口近、远段各 1cm 处做横切片,中段做纵切片,经 HE 和 Luxol fast blue 染色进行组织学观察和图像分析。其余每组 2 只大鼠迅速取吻合口远侧坐骨神经,立即投入 $-4^{\circ}C$, 2.5% 的戊二醛中固定 2 小时,然后从其中切取 $1mm^3$ 小块,用 1% 锇酸后固定,逐级酒精脱水, Epon 包埋,超薄切片经铅铀双染, Zeiss EM10C 透射电镜观察再生神经超微结构。

2. 神经电生理检查 术后 8 周各组取 8 只大鼠再次腹腔麻醉,显露双侧坐骨神经,用 Biolap 98 智能型生物信号显

示与处理系统(神经干动作电位的引导)进行电生理检测,测定实验动物两侧坐骨神经的潜伏期及诱发电位的幅值,计算出实验侧坐骨神经的潜伏期及诱发电位幅值占正常侧的百分比,即为实验侧坐骨神经运动神经潜伏期延迟比和幅值恢复比。

3. 有髓纤维密度测定 用同济图像分析系统,测定修复神经吻合口近端及远端的神经纤维密度,计算神经纤维的通过比。



A 粘蛋白胶粘合法 B 神经外膜缝合法

图1 手术显微镜下吻合大鼠坐骨神经($\times 8$)

4. 有髓纤维截面积 用同济图像分析系统,在放大400倍时分别测量吻合口近、远侧各1cm处有髓轴突的截面积,计算有髓纤维截面积恢复比。

5. 肌张力测定 在跟腱止点处将两侧腓肠肌切断并稍作游离,通过3/0丝线连接于肌张力换能器上,换能器输出导线与二道生理记录仪相连,刺激器为生理实验多用仪。调整牵张线的张力,使肌肉处于最适初长度状态,随即用超强电流15V,频率90Hz,波宽2ms的连续方波脉冲刺激坐骨神经3秒,记录两侧腓肠肌等长收缩时最大强直收缩张力,并计算出手术侧该指标的恢复比。

6. 肌湿重测定 迅速取双侧腓肠肌,20℃用精确度0.0001克电子分析天平称重,计算出手术侧腓肠肌湿重的恢复比。

五、统计学处理 本实验数据采用相对数进行统计学比较,用'比'来表示,可以排除一些条件、个体和人为的差异,能比较确切反映神经再生的情况。数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用t检验进行统计学分析。

结 果

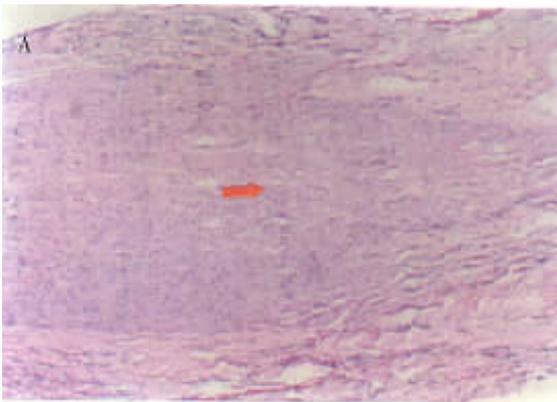
一、组织学观察 术后8周,纵向切片见粘合组轴突扭曲较轻,瘢痕形成较少(图2A);缝合组轴突扭曲较明显,呈盘旋状,瘢痕形成较多(图2B)。透射电镜观察,术后8周粘合组再生神经中有髓神经纤维排列整齐,髓鞘结构基本正常,轴突内神经微丝和微管及线粒体结构重新出现(图3A);缝合组再生神经中有髓神经纤维较疏散,髓鞘厚薄不一致,轴突内神经微丝、微管结构模糊,可见空泡样变性(图3B)。

二、坐骨神经电生理检查及其它指标检测结果见表1。从表1可见,粘合组与缝合组比较,运动神经潜伏期延迟比、吻合口神经纤维通过比、有髓纤维截面积恢复比和肌湿重恢复比差别具有显著性意义($P < 0.05$),表明坐骨神经粘合组比缝合组有不同程度的改善,而两组运动神经波幅恢复比、肌张力恢复比差别无显著性意义($P > 0.05$)。

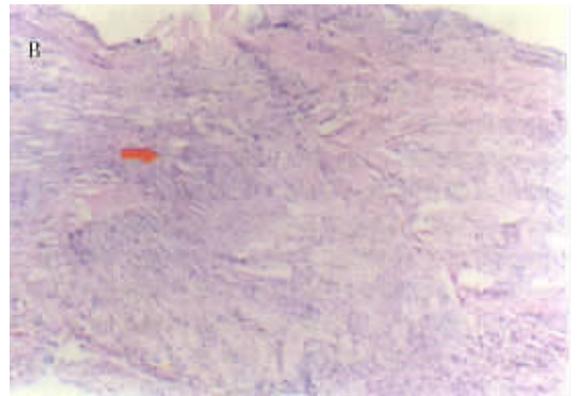
讨 论

神经断端获得正确的轴向对位是神经修复的关键之一。尽管目前采用显微外科技术进行神经外膜和束膜缝合,仍然存在着许多并发症,一般认为束膜缝合法除神经束配对排列良好外,还有神经断面密接性好,缝合处稳定可靠的优点,但此法需作束间解剖,可能损伤神经断端的血供,也可能造成神经束的错接,轴突组织错向生长。外膜缝合法相对较为简单方便,但神经束配对差,即使在手术显微镜下配好对、对好位,仅仅缝合疏松的外膜组织,仍可造成神经束的叠加、扭曲、叉开、甚至穿出外膜。缝线留在神经束膜或外膜上可造成异物反应、结缔组织增生,不利于神经纤维的再生,常规显微修复进一步损伤神经轴突,直接影响神经修复的效果。

在20世纪40年代,Yong和Medavar等采用纤维蛋白原凝集的方法粘合神经,但未被广泛应用,主要原因在于粘合力不强,动物实验效果不理想。随着纤维蛋白原纯化技术的改进和纤维蛋白胶制备技术的提高,纤维蛋白胶粘合神经又逐渐受到重视。

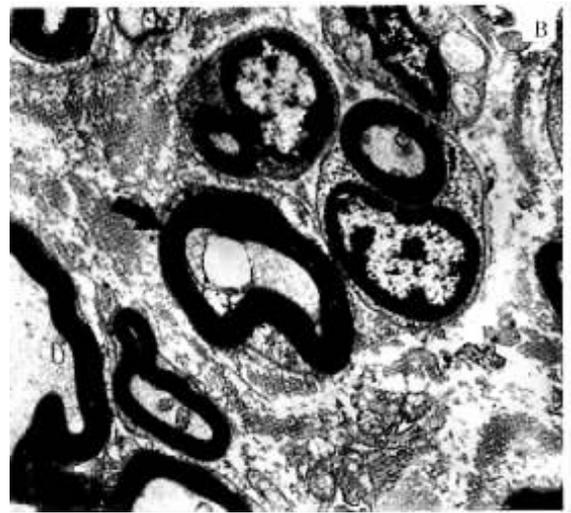
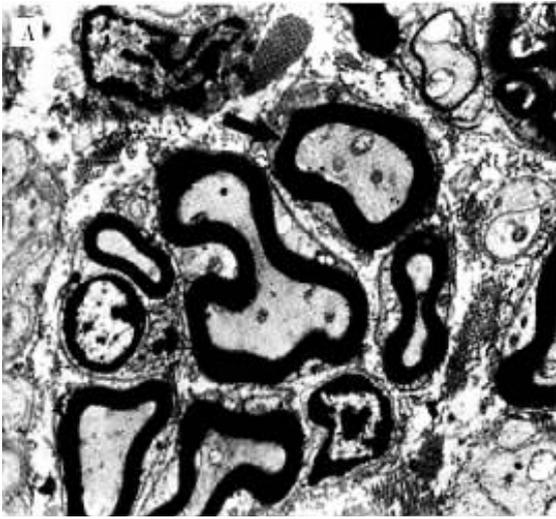


A 粘合组轴突扭曲较轻,瘢痕形成较少。



B 缝合组轴突扭曲较明显,呈盘旋状,瘢痕形成较多。

图2 术后8周大鼠坐骨神经纵向切片(HE $\times 40$)



A 粘合组再生神经中有髓神经纤维排列整齐,髓鞘结构基本正常,轴突内神经微丝和微管及线粒体结构重新出现。

B 缝合组再生神经中有髓神经纤维疏松,髓鞘厚薄不一致,轴突内神经微丝和微管结构模糊,可见空泡样变性。

图3 术后8周透射电镜观察(×6300)

表1 粘合组与缝合组坐骨神经生理及其它指标检测结果($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	运动神经 潜伏期延迟比	运动神经 波幅恢复比	吻合口神经 纤维通过比	有髓纤维截 面积恢复比	肌张力 恢复比	肌湿重 恢复比
粘合组	1.18 ± 0.19	0.35 ± 0.12	0.42 ± 0.10	0.62 ± 0.01	0.78 ± 0.12	0.65 ± 0.02
缝合组	1.54 ± 0.24	0.28 ± 0.11	0.27 ± 0.08	0.52 ± 0.02	0.71 ± 0.15	0.63 ± 0.01
t 值	2.32	0.47	2.43	2.39	1.76	2.36
p 值	0.032	0.651	0.029	0.030	0.098	0.031

纤维蛋白胶粘合神经的原理是模拟生理性凝血过程的最后阶段,纤维蛋白原在凝血酶作用下形成纤维蛋白单体,纤维蛋白单体相互之间通过氢键结合成松散的不稳定的纤维蛋白凝块。凝血酶进一步激活第 XIII 因子,使第 XIIIa 与 Ca^{2+} 共同作用于单体纤维蛋白凝块,通过肽键交叉连接而形成牢固的纤维蛋白凝块。第 XIIIa 有放大作用,即第 XIIIa 可进一步激活第 XIII 因子。

实验资料证实,纤维蛋白胶产品中纤维蛋白原的含量对胶的抗张强度或粘合强度至关重要,随着纤维蛋白原浓度增加,其粘合强度和切应力强度成正比增加^[2]。

粘合剂修复神经损伤常用的方法:1.断端间滴注法,2.硅胶管内粘合法,3.缝线缝合联合粘合剂封闭法。我们在实验中先将离断神经对位,然后采用纤维蛋白胶滴到对合神经断端处进行粘合,这种方法操作较为简便,纤维蛋白胶凝固后可在神经对合处形成一个凝胶环,这个凝胶环的形成不会影响神经再生的过程,而且会起到再生室作用。即便粘合过程中凝胶渗入吻合端,亦不会影响神经的生长^[3]。

纤维蛋白胶粘合修复周围神经损伤有以下优点:1.避免发生由缝线引起组织反应。2.操作简便,易于掌握,大大缩短手术时间,不需要特殊设备,术中不损伤神经的内部结构,吻合的神经对位理想。3.某些特定部位的神经修复,例如骨性管道阻挡及一些难以显露的手术区域,应用纤维蛋白胶粘合非常方便。4.不受手术区干湿条件的限制。

纤维蛋白胶在使用中所引起的不良反应:对于用牛凝血酶的纤维蛋白胶,牛凝血酶在人体内产生相应抗体,牛凝血酶抗体可与人凝血酶产生交叉免疫反应,由于阻碍抗凝血酶 III 对凝血酶的抑制作用,促进血栓形成。大多数制造商制备的牛凝血酶混有牛凝血因子 V,牛凝血因子 V 在人体内产生

相应抗体,在人体内牛凝血因子 V 抗体与人凝血因子 V 产生交叉免疫反应,产生的免疫复合物可以从血液循环中清除掉,由此导致人凝血因子 V 缺乏,可引起出血倾向^[4]。由于纤维蛋白胶的主要成分为异体蛋白,高敏患者或重复应用可能发生过敏反应。

纤维蛋白胶是一种低抗原性的生物大分子材料,具有良好的组织相容性,无毒性、无刺激性,有止血、粘合、防止组织粘连^[5]、封闭组织缺损、促进组织生长和修复作用^[6],使用后几周内可降解被组织吸收。

实验证实纤维蛋白胶可以用来粘合修复周围神经干的断裂伤,是一种较为有效的神经接合方法。目前国内已能生产纤维蛋白胶,故有推广应用的可能性。

参考文献

- Berger A, Shen Z, Hiermer R. Peripheral nerve surgery: Current achievements and future directions. *Chin J Hand Surg*, 2000, 16: 11 - 12.
- Saltz R, Sierra D, Feldman D, et al. Experimental and clinical applications of fibrin glue. *Plastic Reconstr Surg*, 1991, 88: 1005 - 1015.
- Narakas A. The use of fibrin glue in repair of peripheral nerves. *Orthopedic Clinics North America*, 1988, 19: 187.
- 李征. 纤维蛋白胶的作用原理和临床应用及不良反应. *华西药学杂志*, 1999, 14: 35 - 36.
- Boris WJ, Gu J, McGrath LB. Effectiveness of fibrin glue in the reduction of postoperative intrapericardial adhesion. *J Invest Surg*, 1996, 9: 327 - 333.
- Martinowitz U, William DS. Fibrin tissue adhesives. *Thromb Haemost*, 1997, 78: 661 - 666.

(2002 - 03 - 13 收稿)

(2002 - 09 - 16 修回)