

基础研究

腰骶神经吻合对自主性神经原性膀胱
排尿功能影响的实验研究马虎升¹, 孙正义², 王栓科², 夏亚一², 张俊¹, 李志伟¹

(1 河南省洛阳正骨医院 471002 洛阳市; 2 兰州医学院骨科研究所 730030 甘肃省兰州市)

【摘要】目的:探讨通过腰骶神经吻合恢复或改善神经原性膀胱排尿功能的可行性。**方法:**10 只家犬手术前先行尿流动力学(包括膀胱容量、压力、顺应性)及肛门括约肌肌电图(EMG)测定,作为对照组数据。检测完后处死 2 只,取其 S1、S2 神经根,共 8 根作为对照组,行 HE 染色观察有髓和无髓神经纤维数量。其余 8 只犬为实验组,将 L4 与 S1、L5 与 S2 神经根分别端端吻合。术后 4 个月行尿流动力学测定,术后 7 个月再次行尿流动力学测定后处死动物,取 L4、L5 和 S1、S2 神经根吻合口段和骶神经干段行 HE 染色,观察有髓和无髓神经纤维数量。**结果:**术后 4 个月,实验组犬膀胱容量、顺应性和对照组比较明显增加($P<0.05$);膀胱压力、肛门括约肌 EMG 的电压明显降低($P<0.05$)。术后 7 个月,实验组犬膀胱压力和肛门括约肌 EMG 的电压和对照组比较无明显降低($P>0.05$);而膀胱容量和顺应性明显增加($P<0.05$)。神经根吻合口段及骶神经干段无髓神经纤维数量较对照组明显增多($P<0.05$),而有髓神经纤维数量明显减少($P<0.05$)。**结论:**用 L4、L5 和 S1、S2 神经根吻合的方法修复主要支配膀胱逼尿肌和尿道括约肌的 S1、S2 神经,可明显恢复或改善犬神经原性膀胱的排尿功能。

【关键词】 骶髓; 损伤; 神经原性膀胱; 尿流动力学; 犬

doi: 10.3969/j.issn.1004-406X.2009.11.15

中图分类号: R694 文献标识码: A 文章编号: 1004-406X(2009)-11-0859-04

Effect of lumbarsacral nerve root inosculation on the function of autonomous neurogenic bladder: an experimental study/MA Husheng, SUN Zhengyi, WANG Shuanke, et al//Chinese Journal of Spine and Spinal Cord, 2009, 19(11): 859-862

【Abstract】 Objective: To investigate the feasibility of lumbarsacral nerve inosculation on improvement of autonomous neurogenic bladder. **Method:** The urinary dynamics, including bladder volume, stress, strain and electromyography (EMG) of sphincter were undertaken in 10 domestic dogs as control prior to surgery. After that, 2 dogs were sacrificed and their S1, S2 nerve root were harvested and their inner myelin and demyelin neurofibers were quantified by HE stain as control, the another 8 animals were processed into test group by inosculation of L4, L5 lumbar nerve roots and S1, S2 sacral nerve roots, the urinary dynamics were performed at 4 and 7 month after operation respectively, after that, the animals were sacrificed, the myelin and demyelin neurofibers at anastomotic site were quantified thereafter. **Result:** 4 mouths after operation, animals in the test group showed distinct increasing of bladder volume and strain compared with the control ($P<0.05$), while the pressure of bladder and the EMG voltage of sphincter decreased distinctively ($P<0.05$). 7 mouths after operation, the pressure in bladder and the EMG voltage of sphincter showed no distinct decrease ($P>0.05$), while the bladder volume and strain increased remarkably ($P<0.05$), the demyelin neurofibers increased significantly ($P<0.05$), however the myelin neurofibers decreases distinctively ($P<0.05$). **Conclusion:** Inosculation of L4, L5 nerve roots and S1, S2 nerve roots can repair the urethra sphincter and bladder detrusor governed by S1, S2 nerve root, which can improve the autonomous neurogenic bladder due to injury to sacral cord and cone.

【Key words】 Sacral medulla; Injure; Autonomous neurogenic bladder; Urinary dynamics; Dog

【Author's address】 Luoyang Orthopedic-Traumatological Hospital of Henan, Luoyang, 471002, China

T12 和 L1 椎体骨折脱位导致的膀胱功能障碍

第一作者简介: 男(1966-), 副主任医师, 医学硕士, 研究方向: 脊柱外科

电话: (0379)63546207 E-mail: xieyan1666@126.com

碍, 属于自主性神经原性膀胱^[1], 因其排尿中枢或者其传出支受损伤而产生尿潴留或者失禁, 对这类患者虽经康复训练, 也不可能建立起反射性膀胱, 只能通过增加腹压或者导尿方法来排尿, 是医

疗和护理的棘手问题。本实验是以 L4、L5 和 S1、S2 神经根吻合以期在相应的脊髓节段建立一种新的类似骶髓中枢,通过组织学观察和尿流动力学检查判断其恢复或改善膀胱排尿功能的疗效。

1 材料和方法

1.1 主要仪器

AO-820 旋转切片机(美国 AO 公司), OLYMPUS BH-2 型光学显微镜(日本), KONTRON ISBA 图像分析系统(德国), DASA 2100 型四导尿流动力学检测仪(北京莱博瑞医疗技术有限公司), 手术显微镜(上海精密仪器仪表有限公司)。

1.2 动物分组及模型制作

10 只家犬, 体型瘦长而高, 年龄 1.5~3 岁, 雌雄不分, 体重 13~15 kg。手术前先行尿流动力学检查, 测量膀胱容量、顺应性、压力、肛门括约肌的肌电图(electromyography, EMG)电压, 检测完后处死 2 只, 取其 S1、S2 神经根近端, 长 1.5 cm, 共 8 根, 制成横切片后行 HE 染色观察有髓和无髓神经纤维数量, 其观测结果作为对照组数据。其余 8 只犬作为实验组, 行 L4、L5 前后神经根近端与 S1、S2 前后神经根远端吻合(即 L4 与 S1、L5 与 S2 吻合), 术后 4 个月行尿流动力学测定, 术后 7 个月再次行尿流动力学测定后处死动物, 取 L4、L5 和 S1、S2 神经根吻合口段和骶神经干段, 长 1.5 cm, 制成横切片后行 HE 染色, 观察有髓和无髓神经纤维数量。

神经吻合方法: 以 2% 戊巴比妥钠溶液, 按 40 mg/kg 缓慢腹腔注射麻醉。麻醉完成后首先做术前尿流动力学测定, 检查完毕后 8 只犬取 L3~S3 棘突后正中切口, 长 10 cm, 切除 L3~S3 棘突、双侧椎板、小关节突, 暴露两侧 L4~S3 的神经根。在椎管内硬膜外靠近椎间孔处依次切断 L4、L5 前后神经根, 再将 S1、S2 前后神经根从其硬膜囊发出处切断。在椎管内硬膜外直接将 L4、L5 前后神经根近端与 S1、S2 前后神经根远端吻合。神经根吻合用 10-0 无创伤尼龙线, 在 10 倍手术显微镜下行神经根外膜间断缝合 4 针, 医用生物蛋白胶封闭吻合口部。在 S2 神经根起始部下 0.3 cm 处双重结扎硬膜囊, 并将其远端的硬膜囊和马尾神经切除 1.5 cm, 以排除残留马尾神经(包括 S3)对实验结果影响。术中神经根定位和前后神经根的

辨别依据 L7 比 S1 神经根明显粗大来判断。

1.3 观察指标

1.3.1 犬球海绵体肌、肛门括约肌反射 术后 4 个月及 7 个月时应用文献^[2]方法检测实验组犬的球海绵体肌及肛门括约肌反射, 观察犬的大小便失禁情况, 并记录小便次数。

1.3.2 尿流动力学测定 参考文献^[3]方法, 利用四导尿流动力学检测仪(DASA 2100 型)测量膀胱容量、顺应性、压力, 肛门括约肌的 EMG 电压, 记录术前、术后 4 个月及 7 个月时的数据。

1.3.3 神经根 HE 染色组织学观察 将获取的神经根标本均以 10% 福尔马林溶液固定, 制成横切片后行 HE 染色观察, 用图像分析系统对对照组和实验组标本中的有髓鞘和无髓鞘神经纤维数量(400 倍光学显微镜下, 个/高倍视野, 即个/HPF)进行计数统计。

1.4 统计学处理

所有数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 应用 SPSS 13.0 统计分析软件进行分析, 均进行成组 t 检验, $P < 0.05$ 为有显著性差异。

2 结果

术前和术后尿流动力学测定结果见表 1。术后 4 个月时, 实验组犬肛门括约肌的肌电活动消失, 球海绵体肌反射、肛门外括约肌反射消失, 小便完全性失禁, 约 10 次/h, 肛门括约肌极度松弛, 肛门口难以闭合。与术前比较, 实验组犬膀胱容量、顺应性明显增加, 而膀胱压力明显降低($P < 0.05$)。

术后 7 个月时实验组犬膀胱的功能得到部分恢复, 犬小便表现为不完全性失禁, 约 5 次/h, 犬球海绵体肌、肛门括约肌反射出现, 但很弱。术后 7 个月时实验组膀胱容量、顺应性、压力较术后 4 个月有所恢复, 肛门括约肌的 EMG 电压可以测到, 但较术前仍然低(表 1, 图 1)。

HE 染色切片上, 对照组的神经纤维呈束状整齐排列, 髓鞘和轴突清晰可见, 有髓鞘神经纤维数量多, 而无髓鞘神经纤维数量少, 神经束之间组织间隔薄(图 2)。术后 7 个月时实验组吻合口段的神经纤维排列紊乱, 数量明显减少, 有髓鞘神经纤维数量少, 无髓鞘神经纤维数量多, 神经束不明显, 有大量增殖的雪旺氏细胞聚集成团(图 3); 骶神经干段的神经纤维排列比较整齐, 数量较对照

组明显减少,有髓鞘神经纤维数量少,无髓鞘神经纤维数量多,雪旺氏细胞无明显增殖(图 4)。

对照组无髓鞘神经纤维 197 ± 29 根/HPF,有髓鞘神经纤维 483 ± 31 根/HPF; 实验组无髓鞘神经纤维 410 ± 35 根/HPF,有髓鞘神经纤维 158 ± 29 根/

表 1 术前、术后 4 个月及术后 7 个月尿流动力学测定结果

	术前	术后 4 个月	术后 7 个月
膀胱容量(ml)	140.3±9.3	244.0±19.5 ^①	170.0±18.7 ^①
压力(cmH ₂ O)	39.0±2.6	18.0±2.7 ^①	36.0±1.9 ^②
顺应性(ml/cmH ₂ O)	3.6±0.4	13.8±2.3 ^①	4.7±0.7 ^①
肌电图电压(mV)	129.7±6.5	0	78.6±40.9 ^②

注:与术前比较^① $P < 0.05$,^② $P > 0.05$

HPF。两组比较均有显著性差异($P < 0.05$)。

3 讨论

3.1 腰骶神经吻合治疗神经源性膀胱的可行性

S1、S2 神经根自硬脊膜囊发出到达膀胱壁的

距离是 8~9cm,按照神经纤维再生速度为 1mm/d 计算,再加上再生神经纤维通过吻合口所需的时间,理论上推算最早出现的膀胱反射应在手术后 4 个月左右^[3-5]。本研究中实验组犬术后 4 个月因膀胱失去了双侧盆神经和阴部神经的支配导致肛门括约肌的肌电活动消失,球海绵体肌反射、肛门外括约肌反射消失;术后因膀胱失神经支配无力收缩导致膀胱容量、顺应性明显增加,而膀胱压力明显降低。术后 7 个月膀胱神经支配部分恢复,膀胱容量、顺应性、压力较术后 4 个月有所恢复;膀胱压力测定接近正常,但是容量、顺应性较术前虽有了明显增加,但仍存在差异,说明膀胱壁的牵张感受器对张力变化不敏感,再生的感觉神经纤维较再生的运动神经纤维的质和量差,速度慢,这一实验结果同 Sundin 等^[6]观察到的结果相吻合。根据观察到的膀胱充盈贮尿期和排尿期的肛门括约肌的肌电活动图提示,当膀胱容量、压力升高到某一程度时,括约肌的肌电活动减弱,说明尿道括约

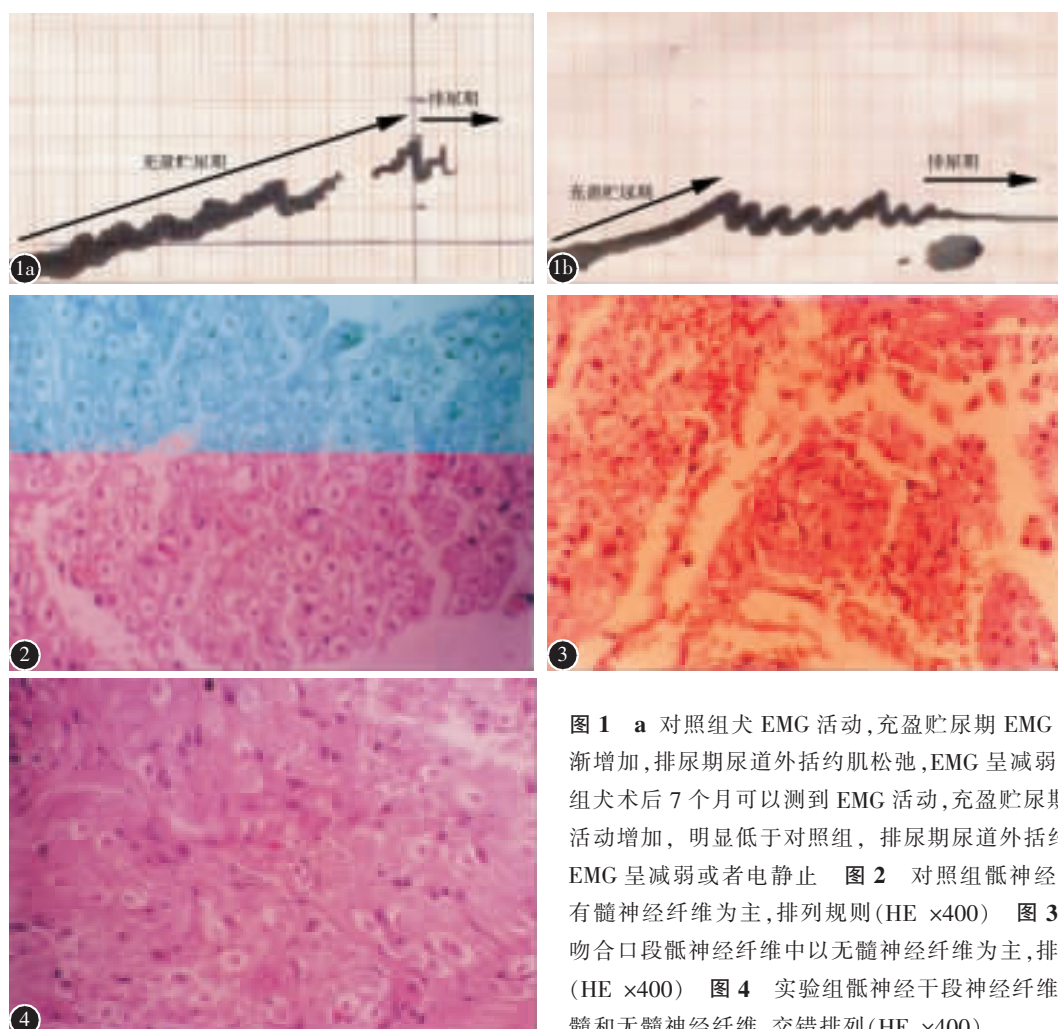


图 1 a 对照组犬 EMG 活动,充盈贮尿期 EMG 电活动逐渐增加,排尿期尿道外括约肌松弛,EMG 呈减弱 b 实验组犬术后 7 个月可以测到 EMG 活动,充盈贮尿期 EMG 电活动增加,明显低于对照组,排尿期尿道外括约肌松弛,EMG 呈减弱或者电静止 图 2 对照组骶神经纤维中以有髓神经纤维为主,排列规则(HE $\times 400$) 图 3 实验组吻合口段骶神经纤维中以无髓神经纤维为主,排列不规则(HE $\times 400$) 图 4 实验组骶神经干段神经纤维中可见有髓和无髓神经纤维,交错排列(HE $\times 400$)

肌松弛,膀胱逼尿肌和尿道括约肌具有一定程度的同步协调性变化,排尿功能得到一定程度的恢复改善。

对照组和实验组 HE 染色结果说明越过吻合口再生的骶神经纤维数量比正常骶神经纤维数量明显减少,成分有明显变化,但是仍有较多的神经纤维通过吻合口,向膀胱方向生长。实现了躯体神经代替原植物神经重新支配失神经支配的膀胱壁内神经节和膀胱平滑肌^[6]。Xiao 等^[7]和刘智等^[4]曾经对腰骶神经吻合后的动物,分别在盆神经壁上和膀胱壁上注射辣根过氧化物酶(HRP),利用 HRP 示踪技术均在相应的脊髓节段内观察到了阳性标记物。证明了躯体神经可以代替副交感神经重新支配膀胱,而且也说明神经传导通路是完整的。因此,应用 L4、L5 和 S1、S2 神经根吻合的方法修复主要支配膀胱逼尿肌和尿道括约肌的 S1、S2 神经,以恢复改善不同类型的骶髓圆锥、马尾神经完全性损伤所致的自主性神经源性膀胱的排尿功能是可行的。

3.2 存在的问题及操作中注意事项

可是为什么修复了 S1、S2 神经根后,膀胱排尿功能恢复改善还不尽人意,结合以前的研究^[8]我们认为可能有以下原因:(1)S1~S3 低级排尿中枢的神经元内在的独特联系是在动物长期进化和发育过程中形成的结果^[9],因此 L4、5 脊髓节段不可能在短期内建立起这种微妙的完善的神经元内在联系。(2)由组织学和乙酰胆碱脂酶组织化学方法观察到,腰神经和骶神经的截面积、神经束(运动束、感觉束、混合束)的功能组合,以及运动神经纤维的数量等各项数值相差悬殊;再加上神经吻合时难以达到同功能束神经纤维吻合,使许多再生神经通道迷失,通过吻合口的神经纤维数量明显减少^[2,10]。(3)躯体运动神经纤维只有一种成分,一般是比较粗的有髓鞘神经纤维,所释放递质单纯,自低级中枢到骨骼肌只有一个神经元传递。而内脏运动神经纤维有交感和副交感,节前纤维是薄髓的细纤维,节后纤维是无髓的细纤维,所释放递质目前已经证实多种多样,自低级中枢发出后需要在周围内脏神经节交换神经元,由节内神经元发出节后神经纤维到达效应器^[11]。因此神经吻合后,即便神经纤维顺利长到内脏神经节,但是由

于腰神经所释放的递质单一,使许多再生的神经突触传递失效,使很多节后神经丧失功能。(4)内脏感觉神经纤维较躯体感觉神经纤维数量少,痛域较高,传入途径分散,一般随同舌咽、迷走、交感和盆内脏神经等传入低级中枢^[11]。因此单纯吻合 L4、L5 和 S1、S2 神经的前根,感觉功能恢复远不如运动功能恢复得快而好。(5)神经吻合口有大量增生雪旺氏细胞,疤痕结缔组织,使局部微循环和供氧减少,使神经纤维网坏死、细胞膜破裂、溶酶体释放,检查时动物处于麻醉状态等许多因素,这些都会影响到膀胱神经修复和功能改善。(6)虽然按照理论上推算神经纤维再生速度为 1mm/d,神经吻合口至靶肌肉的距离,肌肉运动终板萎缩,均可影响膀胱功能恢复^[12]。

4 参考文献

1. 吴阶平,马永江.实用泌尿外科学[M].第2版.北京:人民军医出版社,1991.358-394.
2. 周荣祥.膀胱外科[M].第2版.北京:人民卫生出版社,1996.27-32,233-261,262-265.
3. 徐祖予.脊髓损伤的尿流动力学检查[J].中国脊柱脊髓杂志,1993,3(5):231-236.
4. 刘智,胥少汀.修复马尾神经恢复膀胱功能的实验观察[J].中华外科杂志,1995,33(12):719-722.
5. 马军,吴乃庆,曹晓建,等.应用 T11~L1 神经根修复 S2、S3 神经根的可行性[J].中国脊柱脊髓杂志,2003,13(11):678-680.
6. Sundin T.Reinnervation of the urinary bladder:an experimental study in cats[J].Scan J Urol,1972,17(3):3-7.
7. Xiao CG,Godec CJ.A possible new reflex pathway for micturition after spinal cord injury [J].Paraplegia,1994,32 (5):300-309.
8. 马虎升,孙正义,王颢.腰骶神经吻合后影响膀胱神经修复的因素[J].中国脊柱脊髓杂志,2001,11(1):52-54.
9. 何寿.农畜生理学原理[M].第2版.北京:农业出版社,1990.332-337,397-402.
10. 刘文宽.用胸-骶神经根桥接治疗截瘫性大小便失禁的新术式[J].中国临床解剖学杂志,1992,10(3):31-33.
11. 郑恩竟.人体解剖学[M].第2版.北京:人民卫生出版社,1985.332-341.
12. 孙天胜,刘智,刘树清,等.腰椎骨折脱位患者马尾神经修复的临床观察[J].中国脊柱脊髓杂志,2003,13(6):325-327.

(收稿日期:2009-05-11 修回日期:2009-08-13)

(英文编审 蒋欣)

(本文编辑 彭向峰)