

家兔迟发性面瘫模型建立及药物干预研究*

吴政海 洪文瑶 管宏新 郑学胜 王旭辉 李心远 李世亭[△]

(上海交通大学医学院附属新华医院神经外科 上海交通大学颅神经疾病诊治中心 上海 200092)

摘要 目的:优化迟发性面瘫的建模方法,并对药物的神经保护作用进行观察。方法:家兔 48 只共 96 侧面神经,分 A、B、C、D 4 个实验组,以一侧面神经进行实验处理,另一侧为自身对照。A 组:直视下钳夹损伤桥池段面神经;B 组:直视下向桥小脑角注射动脉血,以诱导血管痉挛;C 组:处理因素=A 组+B 组;D 组:在 C 组基础上,应用药物(强的松+丹参+维生素 B1+维生素 B12)干预。观察家兔面瘫,并做面神经病理切片,比较各组间迟发性面瘫发生率、面瘫持续时间及预后。结果:面瘫发生情况:A 组 6 只家兔(6/11, 54.5%)出现迟发性面瘫,平均面瘫持续时间为 13.2 天。B 组有 2 只(2/12, 16.7%)出现迟发性面瘫,平均持续 8 天。C 组 6 只(6/12, 50%)家兔出现迟发性面瘫,平均持续 14.3 天。D 组 4 只(4/12, 33.33%)出现迟发性面瘫,平均持续 6 天。所有自身对照侧均无面瘫发生。病理:各组均见神经纤维水肿;A、C 两组呈高度水肿改变,神经束周围结构紊乱;B 组见神经内血管细小,而水肿较 A、C 两组轻微;D 组呈轻度水肿改变。结论:C 组出现迟发性面瘫几率高,是较好的模型,联合应用强的松、丹参、维生素 B1、维生素 B12 虽不能防止迟发性面瘫发生,但可使迟发性面瘫病程明显缩短。

关键词 迟发性面瘫 模型 药物防治

中图分类号:Q95-3 R745.12 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2011)11-2113-04

Rabbit Model of Delayed Facial Paralysis and Drug Intervention*

WU Zheng-hai, HONG Wen-yao, GUAN Hong-xin, ZHENG Xue-sheng, WANG Xu-hui, LI Xin-yuan, LI Shi-ting[△]

(Department of Neurosurgery, Xinhua Hospital AND cranial nerves Treatment Center, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200092, China)

ABSTRACT Objective: Optimization of modeling of delayed facial paralysis. The neuroprotective effect of several drugs were observed.

Methods: Forty-eight rabbits were assigned to A, B, C, D 4 experimental groups, with one side of the facial nerve to the experimental treatment, and the other side of self-control. A: The cisternal section of the facial nerve was injured by clamp. B: Injection of arterial blood to the cerebellopontine angle to induce vasospasm. C: treatment factor = group A + group B. D group: C group plus the application of drug (prednisone + SM + vitamin B1 + vitamin B12) intervention. The rabbit facial paralysis was observed. And facial nerve biopsy was done. The incidence of delayed facial paralysis, duration and prognosis were compared. **Results:** The incidence of facial paralysis: in group A 6 rabbits (6 / 11, 54.5%) had delayed facial paralysis; the average duration of facial paralysis was 13.2 days. In group B, 2 (2 / 12, 16.7%) had delayed facial paralysis, the average duration was 8 days. In group C 6 (6 / 12, 50%) had delayed facial paralysis, and the average duration was 14.3 days. In group D 4 (4 / 12, 33.33%) had delayed facial paralysis, the average duration was 6 days. There was no facial paralysis in all self-control sides. Pathology: Nerve fiber edema was seen in each group; groups A, C showed a high degree of edema, with nerve bundles around the structural disorder; group B showed small blood vessels within the nerve, and mild edema compared with groups A, C; group D showed a slight edema change. **Conclusion:** Group C had higher risk of delayed facial paralysis, so it is a better model. Combination of prednisone, Salvia, vitamin B1, vitamin B12, although not able to prevent the occurrence of delayed facial paralysis, but the duration of the delayed facial paralysis was significantly shortened.

Key words: Delayed facial paralysis; Model; Drug prevention and treatment

Chinese Library Classification(CLC): Q95-3 ,R745.12 **Document code:** A

Article ID:1673-6273(2011)11-2113-04

面肌痉挛(hemifacial spasm, HFS)作为一种常见的面神经功能亢进性疾病,面神经根被血管压迫已被视为最常见的原因^[1-5]。目前微血管减压术(microvascular decompression, MVD)作为面肌痉挛治疗的首选措施,已经取得了满意的治疗结果^[6]。迟发性面瘫(delayed facial palsy, DFP)就是 MVD 术后众多并发症之一,是 MVD 术后短期内出现的同侧周围性面瘫^[7],常于 MVD 术后 3~30 天内发生,其发生原因目前尚不明确。在临床实际工作中,术后迟发性面瘫在完全康复之前这段漫长的时间内给医务人员及患者带来极大的困惑。有关迟发性面瘫的病因目前有以下四种假说:①血管痉挛造成面神经局部微循环障碍^[8];

②迟发的面神经水肿致使其在面神经管中受压^[9-11];③潜伏的水痘-带状疱疹病毒被激活造成膝状神经节炎^[12];④减压材料损伤面神经出脑干区。根据血管痉挛及面神经水肿假说,我们用不同方法建立迟发性面瘫的动物模型,并予以药物干预,观察面神经功能变化,以选择迟发性面瘫发生率高的建模方法,并对药物的作用进行初步观察,以期为临床上微血管减压术后迟发性面瘫的防治研究提供理论基础。

1 材料和方法

1.1 动物

* 基金项目:上海市科委基金(074119630)

作者简介:吴政海,硕士研究生,电话:13564704389, E-Mail: xhangjiangnan@126.com

△通讯作者:李世亭,主任医师,电话:021-25078001, E-Mail: lshing66@163.com

(收稿日期:2011-03-15 接受日期:2011-04-10)

家兔 48 只,体重 2kg~3kg,3 月龄,雄性。由上海交通大学医学院附属新华医院动物实验中心提供,在普通级饲养条件下饲养。

1.2 方法

1.2.1 麻醉 家兔用速眠新肌注+水合氯醛腹腔注射复合麻醉。(速眠新注射液 0.3~0.5ml/kg,平均 0.4ml/kg;10%水合氯醛溶液 3~3.5ml/kg,平均 3.25ml/kg)。在实验过程中,根据动物状态适当追加麻醉药物剂量,保证家兔始终处于麻醉状态(即呼吸、心跳平缓,四肢肌肉完全松弛,角膜反射消失,瞳孔缩小,耳钳夹无反应)。

1.2.2 模型的建立

1.2.2.1 A 组家兔桥池段面神经损伤水肿模型的建立 家兔 12 只。于动物后枕部,以两耳中点连线为中心,约偏术侧 0.5cm 作一纵行长约 3cm 皮肤切口,逐层切开皮肤、肌层,直达颅骨,电磨钻开骨窗直径约 1.5cm 大小,外侧完全打开"小脑侧叶"上方颅骨(家兔小脑半球外侧有一凸起小叶脑组织,与小脑相连,我们称之为"小脑侧叶",其所在的颅骨凹陷我们称之为"小脑侧叶窝"),上界达横窦与乙状窦夹角,下界完全暴露"小脑侧叶"与小脑半球之间骨桥的下缘,内界达骨桥内侧约 0.3cm,完整切除"小脑侧叶",咬开"小脑侧叶"与小脑半球之间的骨桥,电凝乙状窦,轻轻牵开小脑半球,于小脑侧叶窝口下方即见到桥池段面神经。用显微无齿镊夹住面神经,使其直径缩小 1/2 至 2/3,维持 10 秒钟^[13,14],常规关颅。

1.2.2.2 B 组家兔面神经滋养血管痉挛模型的建立 家兔 12 只。按家兔桥池段面神经损伤水肿模型的建立方法进颅找到面神经,并向面神经喷注家兔自身动脉血约 0.1ml,凝结后常规关颅。

1.2.2.3 C 组家兔面神经损伤水肿并血管痉挛模型的建立 家兔 12 只。方法为 A 组、B 组结合。

1.2.2.4 D 组 家兔 12 只。在 C 组模型建立方法的基础上,每只应用药物丹参 1/2 片+强的松 1/2 片 (2.5mg)+维生素 B₁ 片 1/4 片(2.5mg)+维生素 B₁₂ 片 1/2 片(12.5μg)碾磨成粉混合,分成三等份,每天三次,每次一份与饲料混匀,于术后当天至 1 月食用干预。

1.2.2.5 对照组 分别为 A、B、C、D 组非实验侧面神经。

1.2.3 评价

1.2.3.1 面瘫的观察 天观察有无面瘫发生。观察指标 眨眼反射、触须运动^[15,16]。眨眼反射的诱发是用 5ml 注射器 5 号针头距离兔眼 3cm 滴水 1-2 滴来进行刺激,比较双侧眨眼反射的速度和幅度进行评分。0 分:双侧正常且对称;1 分:延缓或减弱;2 分:消失。触须运动的观察是通过比较双侧触须拂动的程度进

行评分,0 分:双侧拂动正常且对称;1 分:触须拂动减弱;2 分:触须拂动消失。将 2 项指标的评分相加进行面瘫的鉴定和评价,0~1 分为无面瘫,2~3 分为不完全面瘫,4 分为完全性面瘫。

1.2.3.2 病理评价 模型建立后 2 周各组分分别取 2 只家兔进行病理学检查。观察有无水肿、血管痉挛及神经组织破坏等

1.2.3.3 统计分析方法 件采用 SAS 软件包,面瘫发生率比较用 χ^2 检验,面瘫持续时间比较用单因素方差分析。

2 结果

(1)面瘫及全身状况观察 :A 组有 7 只出现面瘫。其中 6 只于术后第 3、5、6、7、8 天出现,均为不完全面瘫,5 只评分 2 分,术侧球结膜无充血,无口角漏食漏水,生存状况可,面瘫持续至术后第 22、19、18、16、14 天完全恢复;1 只于术后第 3 天出现,评分 3 分,术侧球结膜稍充血,无明显口角漏食漏水现象,生活状况尚可,持续至术后第 26 天完全恢复,面瘫持续时间分别为 3、9、11、13、17、23 天。1 只于术后 24 小时内出现面瘫,评分 4 分,术侧球结膜明显充血,进食进水明显从术侧口角漏出,生存状况差,持续 6 天后死亡。其余 5 只未出现面瘫表现,生存状况良好。对照组无面瘫发生。A 组与其对照组面瘫发生率相比差异有显著性($P=0.0062<0.05$)。B 组 12 只家兔中 2 只于术后第 2、3 天出现面瘫,评分 2 分,球结膜无充血,无口角漏食漏水,生存状况可,至术后第 10、11 天恢复。面瘫持续时间均为 8 天。另 10 只家兔均无面瘫出现,生存状况良好。对照侧无面瘫发生。B 组与对照组面瘫发生率相比差异无显著性($P=0.2391>0.05$)。C 组 12 只实验家兔中 6 只于术后第 3、5、6、6、7、8 天出现面瘫,均为不完全面瘫。其中 4 只评分 2 分,球结膜无充血,无口角漏食漏水,生存状况可,面瘫分别持续至术后第 21、18、16、16 天完全恢复,2 只评分 3 分,术侧球结膜稍充血,无明显口角漏食漏水现象,生存状况尚可,面瘫分别持续至术后第 27、23 天完全恢复;面瘫持续时间分别为 8、9、12、15、18、24 天。其余 6 只家兔无面瘫发生,生存状况良好。对照侧无面瘫发生。C 组与对照组面瘫发生率相比差异有显著性($P=0.0069<0.05$)。D 组 12 只实验家兔中 4 只出现面瘫,于术后 5、6、6、7 天出现,均为不完全面瘫,均评分 2 分,球结膜无充血,无口角漏食漏水,生存状况可,面瘫分别持续至第 11、12、12、13 天完全恢复。面瘫持续时间均为 6 天。另 8 只无面瘫发生,生存状况良好。对照侧无面瘫发生。D 组与对照组面瘫发生率相比差异有显著性($P=0.0466<0.05$)(各组迟发性面瘫比较如表 1)。D 组与 C 组面瘫发生率相比差异无显著性($P=0.2332>0.05$),面瘫持续时间相比差异具有显著性($P=0.0266<0.05$) (如表 2)。

表 1 四组模型出现面瘫数比较

Table 1 Comparison of facial paralysis numbers in the four groups

评价指标 Evaluation index	A 组(11 只) Group A (11)		B 组(12 只) Group B (12)		C 组(12 只) Group C (12)		D 组(12 只) Group D (12)	
	实验组 Experimental group		实验组 Experimental group		实验组 Experimental group		实验组 Experimental group	
	对照组 Control group		对照组 Control group		对照组 Control group		对照组 Control group	
出现面瘫数 Appear facial paralysis number(n)	6	0	2	0	6	0	4	0
P 值 Prob	0.0062		0.2391		0.0069		0.0466	

表 2 C D 两组面瘫持续时间比较
Table 2 Comparison of facial paralysis durations between Group C and D

评价指标	C 组(12 只)	D 组(12 只)	P 值
Evaluation index	Group C 12	Group D 12	Prob
出现面瘫数(只)	6	4	0.2332
平均面瘫持续时间(天)	14.333± 6.0222	6± 0 0.0266	
Average duration of paralysis(d)			

(2)病理结果 模型建立后 2 周各组分别取 2 只家兔进行病理学检查。在面神经损伤组 ,髓鞘肿胀明显 ,部分轴索缺失 ;在面神经滋养血管痉挛组 ,神经纤维排列欠整齐 ,部分髓鞘肿胀 ,束间血管细小 ,在面神经损伤并滋养血管痉挛组 ,神经束排

列紊乱 ,髓鞘肿胀 ,轴索部分缺失 ,大量结缔组织增生 ,束间血管内见血栓形成 ;在用药干预组 ,神经束排列整齐 ,髓鞘稍肿胀。(如图 1)

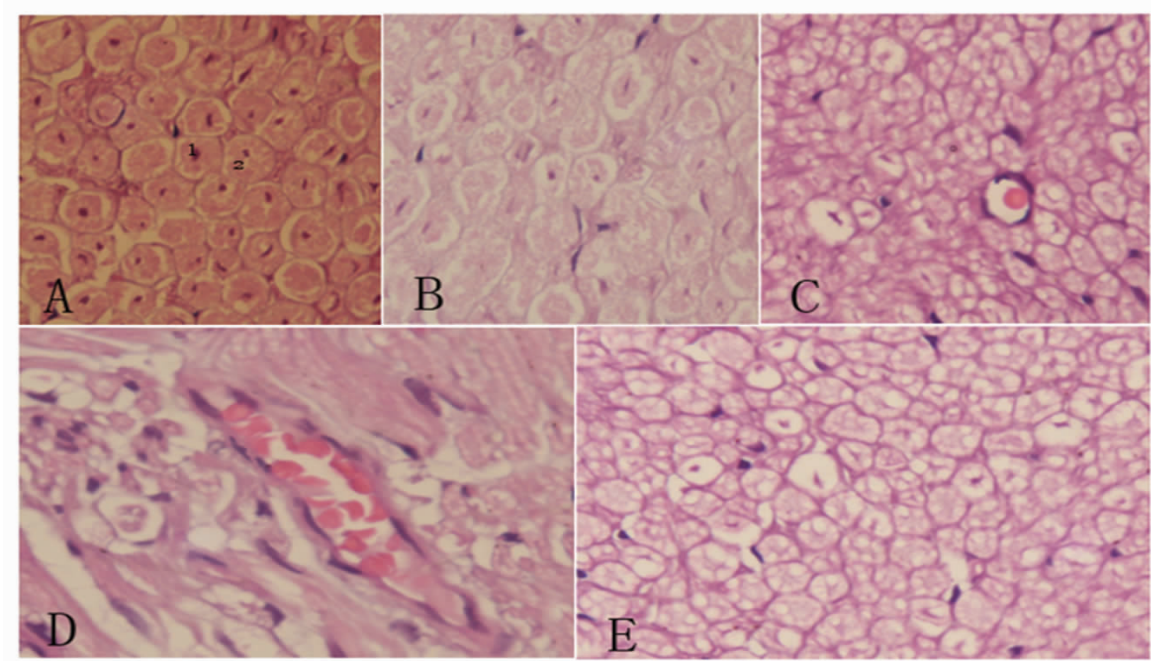


图 1 各组模型建立后 2 周病理切片

Fig.1 Pathology in each group 2 weeks after modeling

- A 正常 横断面见神经束排列整齐 ,大小一致 ,中间轴索深染(1) ,轴索外周髓鞘淡染(2)Normal section。The nerve bundles were arranged in neat rows and at the same size, the axons were stained obviously (1), The myelins were lightly stained (2).
- B 神经损伤 髓鞘肿胀明显 ,部分轴索缺失 Nerve injured, Myelin were edema and some axonal lost.
- C 注血 + 神经损伤 神经束排列紊乱 ,髓鞘肿胀 ,轴索部分缺失 ,大量结缔组织增生 ,束间血管内见血栓形成 Blood injected and nerve injured, nerve bundles were disordered, Myelin were edema and some axonal lost and a large number of connective tissue proliferation, thrombosis were seen in vascular bundles.
- D 注血 神经束排列欠整齐 ,部分髓鞘肿胀 ,束间血管细小(4) Blood injected, nerve bundles were less neatly arranged, part of the myelin were edema, vascular bundle was small(4).
- E 注血 + 神经损伤 + 药物 神经束排列整齐 ,髓鞘稍肿胀 Blood injected, nerve injured and drugs interventional, nerve bundles were neatly arranged, Myelin were lightly edema

3 讨论

迟发性面瘫是应用微血管减压术治疗颅神经亢进性功能障碍性疾病后出现的同侧周围性面瘫 ,是微血管减压术常见的并发症之一。目前迟发性面瘫的具体病因尚未完全清楚 ,有以下四个假说 :①血管痉挛造成面神经局部微循环障碍 ;②迟发的面神经水肿致使其在面神经管中受压 ;③潜伏的水痘 - 带状疱疹被激活造成膝状神经节炎 ;④减压材料损伤面神经出髓区。由于病因不清 ,治疗都是经验性的。有报道说不论面瘫程度及有无特殊治疗 ,面瘫均能获得良好的恢复 [17-20]。Franco-Vidal

V, Nguyen DQ, Guerin J, Darrouzet V.[8]等报道 348 例前庭神经鞘瘤手术 ,8 例患者术后出现迟发性面瘫 ,平均发生时间为术后 8.75 天 ,应用阿昔洛韦及甲基强的松龙治疗 ,平均痊愈时间为 40.4 天 ,并且在其中 3 例患者术后 2 周血清学检测到单纯疱疹病毒(HSV)抗体及带状疱疹病毒(VZV)抗体升高 ,认为迟发性面瘫与潜伏的 HSV 和 VZV 激活有关。国内也有很多种植 HSV 病毒致面瘫发生的动物模型的报道 [15,16,21,22]。随着外科显微技术的日益进步与减压材料的日益完善 ,减压材料损伤面神经出脑干区可能性也越来越小。陈兵、王正敏等 [13]研究证明面神经高位损伤后 ,3 天后神经内压即较正常组明显升高 ,1 周后达

顶峰,为正常组的4~5倍,随着时间延续,至第3、4周面神经内压缓慢下降,直至接近正常。本研究A、C、D组均出现迟发性面瘫,而且均于模型建立后3~8天内出现,持续时间为6~24天,可说明面瘫与迟发性面神经水肿有明确关系。B组出现2例迟发性面瘫,病理也有水肿出现,不排除与模型建立过程中面神经受到轻微损伤导致水肿引起症状有关的可能性,不能肯定桥池段面神经滋养血管痉挛是否为迟发性面瘫的原因。D组迟发性面瘫发生率较C组无明显差异,但持续时间两组相比较有明显差异($P=0.0266<0.05$),且D组面瘫症状较轻微,几乎不影响家兔生存质量,可说明丹参、强的松、维生素B₁、维生素B₁₂等药物联合应用虽不能阻止迟发性面瘫发生,但对迟发性面瘫的恢复有一定的治疗作用,同时也进一步说明迟发性面瘫与迟发性桥池段面神经水肿有关。

4 结论

(1)面神经损伤水肿模型出现迟发性面瘫几率高,是相对理想的模型;桥池段面神经水肿是迟发性面瘫发生的因素之一。(2)迟发性面瘫是否与面神经滋养血管痉挛有关尚无足够的理论依据。(3)丹参、强的松、维生素B₁、维生素B₁₂联合应用虽然不能阻止迟发性面瘫的发生,但可使迟发性面瘫病程明显缩短。建议临床可使用此药物联合方案或类似方案以促进迟发性面瘫的恢复。

参考文献(References)

- [1] Jannetta PJ, Abbasy M, Maroon JC, Ramos FM, Albin MS. Etiology and definitive microsurgical treatment of hemifacial spasm. Operative techniques and results in 47 patients [J]. Neurosurg, 1977,47: 321-328
- [2] Shiting Li, et al. (2010) Re-operation for persistent hemifacial spasm after microvascular decompression with the aid of intraoperative monitoring of abnormal muscle response [J]. Acta Neurochir, 2010, DOI 10.1007/s00701-010-0837-9
- [3] Matsushima T, Inoue T, Fukui M. Arteries in contact with the cisternal portion of the facial nerve in autopsy cases: Microsurgical anatomy for neurovascular decompression surgery of hemifacial spasm [J]. Surg Neurol, 1990,34:87-93
- [4] Huang CI, Chen IH, Lee LS. (1992) Microvascular decompression for hemifacial spasm: analyses of operative findings and results in 310 patients[J]. Neurosurgery, 1992, 30:53-57
- [5] Illingworth RD, Porter DG, Jakubowski J. (1996) Hemifacial spasm: a prospective long-term follow-up of 83 cases treated by microvascular decompression at two neurosurgical centres in the United Kingdom[J]. Neurol Neurosurg Psychiatry, 1996, 60:72-77
- [6] Lovely TJ. Efficacy and complications of microvascular decompression a review [J]. Neurosurgery Quarterly, 1998,8(2):92-106
- [7] 倪兵,朱宏伟,李勇杰,等.面肌痉挛显微血管减压术后迟发性面瘫[J].立体定向和功能神经外科杂志,2008,21(3):13-15
Ni Bing, Zhu Hongwei, Li Yongjie, et al. (2008) Delayed facial paralysis after microvascular decompression for hemifacial spasm [J]. Chinese Journal of Stereotactic and Functional Neurosurgery, 2008,21(3):13-15
- [8] Scheller C, Staruss, C, Fahlbusch R, Romst Cook J. (2004) Delayed facial nerve paresis following acoustic neuroma resection and post-operative vasoactive treatment[J]. Zentralbl Neurochir, 2004, 65: 103-107
- [9] Franco-Vidal V, Nguyen DQ, Guerin J, Darrouzet V. (2004) Delayed

facial paralysis after vestibular schwannoma surgery: role of herpesvirus reactivation-our experience in eight cases [J]. Otolaryngology & Neurology, 2004, 25: 805-810

- [10] Menovsky T, Van Overbeeke JM, Graham MD. (1999) On the mechanism of transient postoperative deficit of cranial nerve [J]. Surg Neurol, 1999, 51: 223-222
- [11] Gianoli GJ, Kartush JM. (1996) Delayed facial palsy after acoustic neuroma resection: the role of viral reactivation [J]. Am J Otol, 1996, 17: 625-629
- [12] Furukawa K, Sakoh M, Kumon Y, Teraoka M, Ohta S, Ohue S, Hatoh N, Ohnishi T. (2003) Delayed facial palsy after microvascular decompression for hemifacial spasm due to reactivation of varicella-zoster virus[J]. No Shinkei Geka, 2003,31: 899-902
- [13] 陈兵,王正敏.面神经损伤后面神经内压的变化[J].中华耳鼻咽喉科杂志,1998,33(6):335-340
Chen Bing, Wang Zhengmin. (1998) Changes in endoneurial fluid pressure in the crushed facial nerve [J]. Chin J Otorhinolaryngol, 1998,33(6):337-340
- [14] 陈兵,王德辉,王正敏.面神经内压与面神经 Wallerian 变性[J].上海医科大学学报,2000,27(5):339-342
Chen Bing, Wang De-hui, Wang Zheng-min. (2000) Endoneurial fluid pressure and the Wallerian Degeneration of Facial Nerve[J]. Shanghai Med Univ, 2000,27(5):339-342
- [15] Hirotaka Takahashi, MD, Yasuo Hitsumoto, MD, PHD, et al. Mouse Model of Bell's Palsy Induced by Reactivation of Herpes Simplex Virus Type 1 [J]. Journal of Neuropathology and Experimental Neurology, 2001, 60(6): 621-627
- [16] 刘稳,高志强.不同造模方法的病毒性面神经麻痹动物模型比较[J].临床耳鼻咽喉头颈外科杂志,2007,21(4):169-171
Liu Wen, Gao Zhiqiang. Comparative study of several methods for producing experimental animal model of viral facial palsy [J]. J Clin Otorhinolaryngol Head Neck Surg(China), 2007,21(4):169-171
- [17] D. J. Rhee, D. S. Kong, K. Park, and J. A. Lee, et al. Frequency and prognosis of delayed facial palsy after microvascular decompression for hemifacial spasm[J]. Acta Neurochir (Wien), 2006, 148: 839-843
- [18] Lovely TJ, Getch CC, Jannetta PJ. Delayed facial weakness after microvascular decompression of cranial nerve VII [J]. Surg Neurol, 1998,50(5):449-452
- [19] Bharat Guthikonda, MD, et al. (2010) Delayed Facial Palsy After the Anterior Petrosal Approach: Case Report and Review of the Literature [J]. Neurosurgery, 2010, 66:E845-E846
- [20] James Anderson, M.D. et al. (1991) Delayed Facial Nerve Palsy after Temporal Lobectomy for Epilepsy: Report of Four Cases and Discussion of Possible Mechanisms[J]. Neurosurgery, 28(3):453-456
- [21] 刘稳,高志强.单纯疱疹病毒性面神经炎的动物模型[J].中华耳鼻咽喉头颈外科杂志,2006,41(1):17-21
Liu Wen, Gao Zhi-qiang, et al. (2007) Animal model of facial neuritis induced by herpes simplex virus[J]. Chinese Journal of Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery, 2007,41(1):17-21
- [22] 江涛,王海波,等.小鼠单纯疱疹病毒性面瘫的预防和复发模型的建立[J].中华耳鼻咽喉头颈外科杂志,2007,42(9):683-686
Jiang Tao, Wang Hai-bo, et al. (2007) Prevention of facial nerve paralysis induced by herpes simplex virus type 1 (HSV-1) in mouse and establishment of a relapse model induced by reactivation of latent HSV-1 [J]. Chinese Journal of Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery, 2007, 42(9):683-686