

# 大鼠面神经支配的口轮匝肌及腓肠肌 对罗库溴铵敏感性的比较

周汝元<sup>1</sup> 吴淦桐<sup>2</sup> 王浩<sup>2</sup> 李绍清<sup>1</sup> 陈莲华<sup>1Δ</sup>

(<sup>1</sup>复旦大学附属耳鼻喉科医院麻醉科 上海 200031; <sup>2</sup>复旦大学上海医学院功能实验室 上海 200032)

**【摘要】 目的** 比较非去极化肌松药罗库溴铵对大鼠面神经支配的口轮匝肌及体神经支配的腓肠肌的诱发肌电位(EEMG)的抑制程度。**方法** 制作10例大鼠右侧面神经主干压榨伤模型,取正常和损伤侧口轮匝肌及正常腓肠肌离体肌条分为3组,分别记录电刺激法诱发的肌张力振幅;观察梯度浓度罗库溴铵作用下,3组肌条的肌张力振幅变化程度,以肌张力振幅抑制百分比(MTAI%)表示EEMG抑制程度。**结果** 3组肌条的MTAI%均随罗库溴铵浓度升高而呈剂量依赖性地增加;在不同浓度罗库溴铵水平下,腓肠肌的MTAI%均大于口轮匝肌的MTAI%( $P<0.05$ );而正常和损伤侧口轮匝肌的MTAI%比较没有显著的统计学意义。**结论** 面神经支配的口轮匝肌对非去极化肌松药罗库溴铵的敏感性明显低于肢体神经支配的腓肠肌,而这种差异没有表现在正常和损伤面神经支配的肌肉间。

**【关键词】** 罗库溴铵; 神经肌接头; 口轮匝肌; 腓肠肌

**【中图分类号】** R 614.1 **【文献标志码】** A

## The comparisons for the sensitivity to rocuronium among facial nerve dominated orbicularis oris muscle and gastrocnemius muscle in rats

ZHOU Ru-yuan<sup>1</sup>, WU Gan-tong<sup>2</sup>, WANG Hao<sup>2</sup>, LI Shao-qing<sup>1</sup>, CHEN Lian-hua<sup>1Δ</sup>

(<sup>1</sup>Department of Anesthesiology, Eye Ear Nose & Throat Hospital, Fudan University, Shanghai 200031, China;

<sup>2</sup>Functional Lab, Shanghai Medical College, Fudan University, Shanghai 200032, China)

**【Abstract】 Objective** To compare the inhibitory effect of non-depolarizing muscle relaxant rocuronium on evoked electromyogram(EEMG) for isolated normal or injured facial nerve dominated orbicularis oris or gastrocnemius muscle in rats. **Methods** The right facial nerve injury was induced by the method of trunk crushing. The normal and injured side orbicularis oris and normal gastrocnemius muscle strips were isolated and perfused. The electric stimulation evoked muscular tension amplitude (MTA) was recorded. The changes of MTA from the three groups of strips under different concentrations of rocuronium were observed and expressed by the percentage of muscular tension amplitude inhibition (MTAI%). **Results** Increased MTAI% of the three groups of strips was detected after rocuronium incubation in a dose-dependent manner. Under different concentration of rocuronium, the MTAI% of the gastrocnemius was higher than the MTAI% of orbicularis oris muscle ( $P<0.05$ ). But no statistically significant difference was found between normal or injured facial nerve dominated orbicularis oris. **Conclusions** Facial nerve dominated orbicularis oris is less sensitive to rocuronium than the gastrocnemius. There is no difference in the sensitivity to rocuronium between normal and injured facial nerve dominated orbicularis oris.

**【Key words】** rocuronium; neuromuscular junction; orbicularis oris; gastrocnemius

术中面神经诱发肌电位(facial evoked electromyography, FEEMG)监测有助于外科医生识别面神经的走行,减少面神经损伤的发生率<sup>[1,2]</sup>,这一过程依赖于正常的神经肌接头电生理信号传递功能。肌松药作为全身麻醉的必要成分,其作用机制恰恰是阻断了神经肌接头的信号传递,因此理论上在 FEEMG 监测时应避免使用肌松药,但在无肌松下过深的麻醉不利于血流动力学稳定且难以确保制动。早在 1978 年 Wymore 在全麻患者中观察到拇收肌对右旋筒箭毒碱的敏感性比呼吸肌大得多<sup>[3]</sup>,为部分外周神经肌接头阻滞技术提供了基础。部分外周神经肌接头阻滞(partial neuromuscular blockade, PNMB)技术能在肢体肌肉制动的同时保留面肌的反应性,因而被认为是这类手术较好的选择,这一结果与国内外文献相符合<sup>[4,5]</sup>,该技术的理论基础在于面肌和四肢骨骼肌对肌松药的敏感性可能存在差异,但是导致这种差异性的机制尚不明确。一种推测认为:膈肌、喉部肌群和面部肌群距主动脉近,血液供应量比远离主动脉的拇收肌丰富,因此肌松药可能起效更快,另一种推测认为可能与神经肌接头部位受体分布有关<sup>[6]</sup>。我们既往的临床研究发现即使四肢骨骼肌已达 100% 神经肌接头阻滞(neuromuscular blockade, NMB)时,仍有一部分患者可以记录到面神经复合动作电位反应,从而支持了这种敏感性差异的假说<sup>[7,8]</sup>,但这种差异的量化关系尚不明确。本实验目的是:在离体实验水平,观察非去极化肌松药罗库溴铵对大鼠正常面神经、受损面神经支配的肌肉(口轮匝肌)和腓神经支配的肌肉(腓肠肌)的诱发肌电位(evoked electromyography, EEMG)反应的抑制程度,分析 3 种神经肌接头对肌松药的敏感性差异,为部分神经肌阻滞技术应用于面神经监测提供理论依据。

## 材料和方法

**实验动物与试剂** 成年 SD 大鼠(复旦大学实验动物中心,清洁级),体重 180~220 g,雌雄兼用,标准饲养。试剂:罗库溴铵粉剂(欧加农公司,荷兰),实验开始前 10 min 稀释到所需浓度。

**急性面神经损伤模型制备** SD 大鼠 10 只,采用氯胺酮 20 mg/kg 加安定 20 mg/kg 腹腔注射麻醉,常规消毒后,暴露右侧面神经主干,用文氏止血钳压榨面神经主干,夹闭一扣长度 2 mm,夹闭时间 30 s,然后缝合创口,左侧为正常对照<sup>[9,10]</sup>。术毕见以角膜刺激引起的瞬目反射消失,可作为面神经损伤的临床表现。取正常侧和损伤侧的面神经制备光镜和电镜检查标本,用于光镜观察的标本收集于

4%多聚甲醛液中,常规行 HE 染色,光学显微镜下观察摄片;电镜标本用 2.5%戊二醛、磷酸缓冲液固定,脱水浸透固化后,LKB-1 型超薄切片机切片,3%醋酸铀-枸橼酸铅双染色,PHILIPS CM-120 透射电镜观察摄片。

**离体肌条制备与肌张力测定** 术后 10 d 用戊巴比妥钠(30 mg/kg)腹腔注射麻醉大鼠,显露出咬肌表面面神经上下颊支,采用自体对照法,分别取正常侧和损伤侧面神经支配的口轮匝肌和腓神经支配的腓肠肌,肌肉标本带神经,剪成沿肌纤维方向 1.5~2.0 cm,肌纤维横轴方向 2 cm 的肌条,置于含 kreb's 营养液(NaCl 135; KCl 5; CaCl<sub>2</sub> 2; NaHCO<sub>3</sub> 15; Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1; MgSO<sub>4</sub> 1; 葡萄糖 11; 单位:mmol/L)的恒温浴槽内,95% O<sub>2</sub> 加 5% CO<sub>2</sub> 通气灌注,恒温 37℃,pH 保持在 7.3 左右<sup>[11]</sup>。

将肌条分别置于含 kreb's 营养液的恒温浴槽中,一端固定于 L 型钩上,另一端连线系于张力换能器上,使用 SMUP-PC 型生物信号处理系统转换数据并放大信号,静息 30 min,稳定后记录肌张力的基础值。以刺激电极刺激肌条近端神经,采用 8 V 超强电压刺激,刺激方式为频率 2 Hz,波宽 0.2 ms 的成串超强矩形波,每串持续时间为 2 s,串间距离为 5 s,记录电极为同心圆针电极,插入肌条的肌腹,记录电刺激诱发的肌张力振幅(muscular tension amplitude, MTP)。

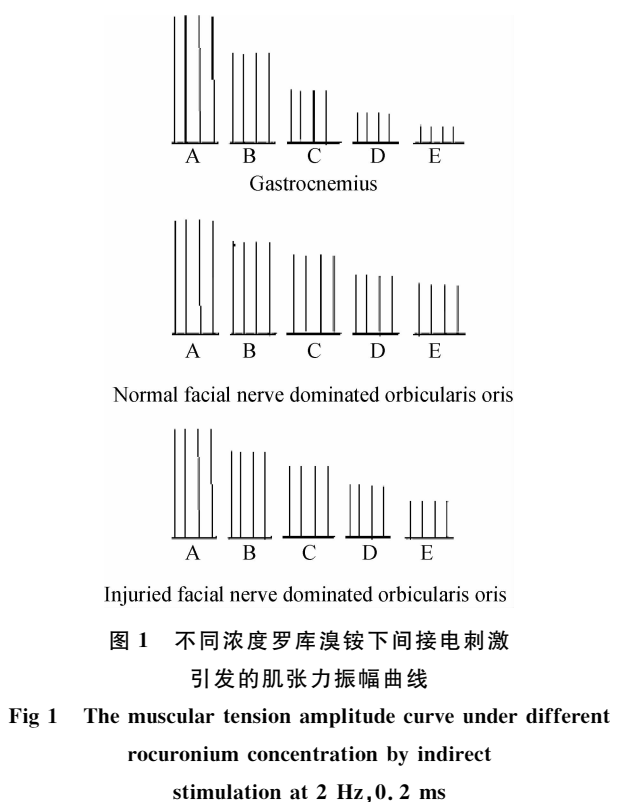
**罗库溴铵对 EEMG 抑制程度的观察** 采用自体对照法,分别在浴槽中加入相应浓度的罗库溴铵溶液,观察不同浓度罗库溴铵作用下,每个肌条的 MTP 变化。分为正常面神经支配口轮匝肌、损伤面神经支配的口轮匝肌及腓肠肌 3 组,每组 10 例。罗库溴铵浓度分别为 2.5、5、7.5 和 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ (相当于大鼠 0.5 $\times$ ED<sub>95</sub>、1 $\times$ ED<sub>95</sub>、2 $\times$ ED<sub>95</sub>、4 $\times$ ED<sub>95</sub>的罗库溴铵血药浓度),采用累积剂量法,每个浓度下孵化 15 min,记录 MTP。

**统计学处理** 采用配伍组方差分析方法,通过 SPSS 11.5 软件进行统计学处理, $P<0.05$  认为差异有统计学意义。

## 结 果

### 3 种神经肌接头对罗库溴铵敏感性差异的比较

采用 8V 超强电压,频率 2 Hz,波宽 0.2 ms 的成串矩形波刺激,随着罗库溴铵浓度增加,3 组肌条的肌张力振幅值都降低,而腓肠肌组降低更明显(图 1);以肌张力振幅抑制百分比(the percentage of muscular tension amplitude inhibition, MTAI%)表



A: No rocuronium incubation; B-E: The muscular tension amplitude curve under 2.5 μg/mL, 5 μg/mL, 7.5 μg/mL and 10 μg/mL concentrations of rocuronium respectively

示 EEMG 抑制程度,  $MTAI\% = (\text{用药前 MTA} - \text{用药后 MTA}) / \text{用药前 MTA} \times 100\%$ 。以  $MTAI\%$  为

纵坐标,肌松药剂量为横坐标,分别得出 3 组肌肉的肌张力振幅抑制百分比与肌松药的量-效曲线,3 组肌条的  $MTAI\%$  均随罗库溴铵浓度升高而呈剂量依赖性地增加,罗库溴铵在 2.5、5、7.5 和 10 μg/mL 各浓度水平,腓肠肌的  $MTAI\%$  均显著高于口轮匝肌的  $MTAI\%$  (图 2,  $n = 10, P < 0.05$ ); 损伤侧口轮匝肌的 MTA 基础值明显低于正常侧口轮匝肌,罗库溴铵各浓度下的 MTA 绝对值也明显低于正常侧,但  $MTAI\%$  未显示出统计学意义上的差异 (表 1,  $n = 10, P > 0.05$ )。

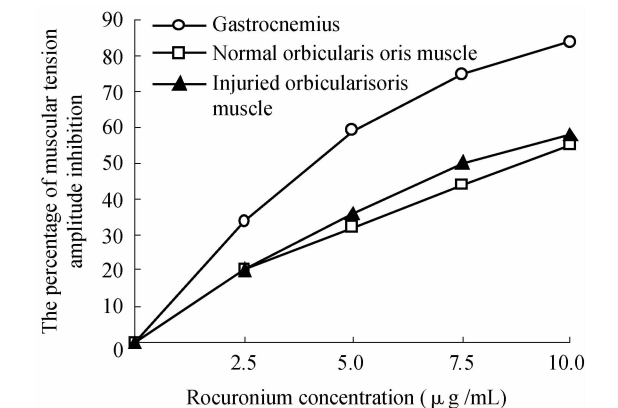


图 2 3 种肌肉肌张力振幅抑制百分比 (MTAI%) 与罗库溴铵的量-效关系

Fig 2 The dose-response relationship between the percentage of muscular tension amplitude inhibition (MTAI%) and rocuronium concentration

表 1 罗库溴铵各浓度水平正常侧和损伤侧面神经支配的口轮匝肌 MTA 及 MTAI% 比较

Tab 1 The comparisons of MTA and MTAI% between normal and injured facial nerve dominated orbicularis oris under different concentrations of rocuronium (n = 10)

Group		0	2.5 μg/mL	5 μg/mL	7.5 μg/mL	10 μg/mL
I normal facial nerve dominated orbicularis oris	MTA(mV)	1.86 ± 0.59 <sup>(1)a</sup>				
	MTAI%	0	0.20 ± 0.12 <sup>(2)</sup>	0.32 ± 0.11 <sup>(2)</sup>	0.44 ± 0.09 <sup>(2)</sup>	0.55 ± 0.10 <sup>(2)</sup>
II injured facial nerve dominated orbicularis oris	MTA(mV)	1.35 ± 0.45 <sup>(1)a</sup>				
	MTAI%	0	0.20 ± 0.08 <sup>(2)</sup>	0.36 ± 0.11 <sup>(2)</sup>	0.50 ± 0.09 <sup>(2)</sup>	0.58 ± 0.08 <sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup>  $P < 0.01$ , MTA Group II compared with group I; <sup>(2)</sup>  $P > 0.05$ , MTAI% group II compared with group I. \* The SD value was high because the facial nerve injured model was not for quantitative analysis on injury level

面神经损伤模型的病理学检查 光镜及电镜下观察,正常对照组髓鞘完整,轴突染色均匀,损伤侧面神经组织可见脱髓鞘和轴突变性,雪旺细胞变形,神经细胞空泡样变性,符合神经损伤的病理学特征(图 3、4)。

讨论

我们在既往的临床研究中将 PNMB 技术应用于需行面神经监测的中耳手术,发现 PNMB 在满足

制动的同时,也保持了面神经 EEMG 良好的反应性和可重复性<sup>[12]</sup>;我们又证实面神经 EEMG 的反应性与外周 NMB 之间存在直线相关关系,刺激阈值与 NMB 呈正相关,反应振幅与 NMB 呈负相关,并且即使四肢骨骼肌已达 100% NMB 时,仍有一部分患者可以记录到面神经 EEMG 反应,提示面肌和四肢骨骼肌对肌松药的反应敏感性存在差异<sup>[13]</sup>。本实验作为既往临床研究的延续,在离体实验水平,使用电刺激诱发的肌张力振幅描记法,定量分析面神经支配的肌肉(口轮匝肌)和肢体神经支配的肌肉

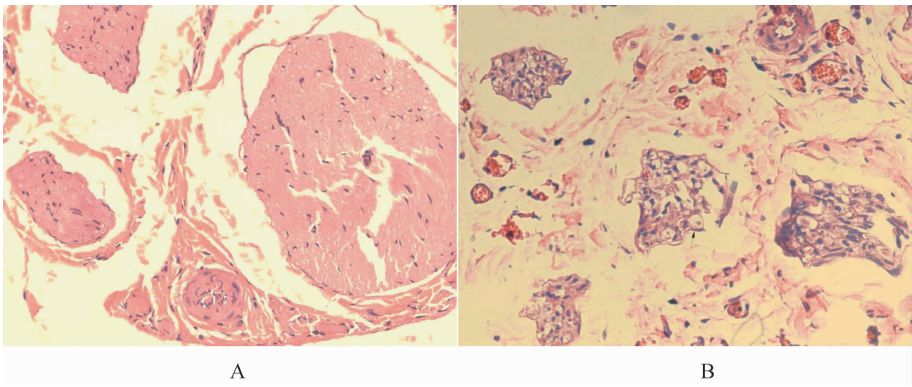


图 3 光镜下面神经组织病理学检查(HE 染色,10×20)

Fig 3 The pathologic examination for normal and injured facial nerve tissues by HE staining under oil immersion objective(10×20)

A: Normal facial nerve; B: Facial nerve injury with vacuolar degeneration in Schwann Cells, morphological changing in myelin sheath, RBC gathering in myelin sheath gap and interspersed neural stem fibre fracture

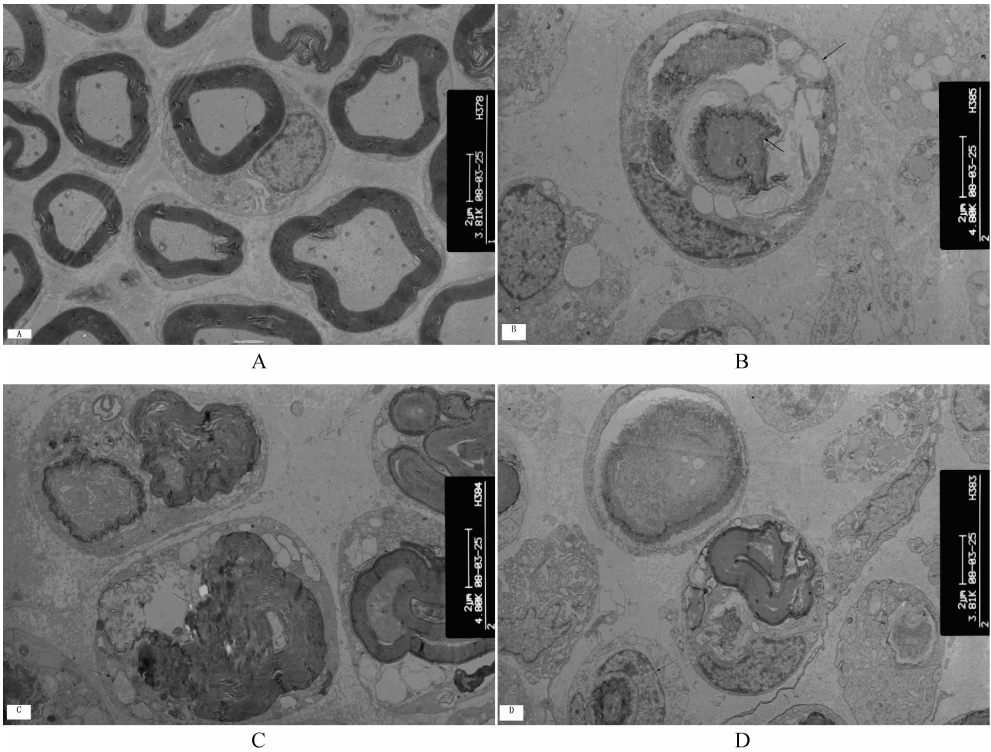


图 4 透射电镜下面神经组织病理学检查(×4 000)

Fig 4 The pathologic examination for facial nerve tissues under transmission electron microscopy(×4 000)

A: Normal facial nerve, myelin sheath is complete, normal Schwann Cell; B: Vacuolar degeneration can be seen ; C: Myelin sheath is incomplete, vacuolar degeneration can be seen; D: Axon Staining is uneven, Schwann Cells morphologically change

(腓肠肌)对非去极化肌松药(罗库溴铵)的敏感性差异。结果证实在等效浓度罗库溴铵作用下,离体灌注的腓肠肌肌张力振幅受抑制程度明显大于口轮匝肌,从而为临床实践经验提供了理论依据。临床上使用 4 个成串刺激(train of four stimulation, TOF)刺激尺神经,以诱发的拇内收肌肌颤搐变化来间接反应神经肌肉阻滞程度,所以 TOF 值实际上代表的是肢体神经支配的骨骼肌的肌松程度,也就是外周神经阻滞程度,而不能直接反映面神经阻滞程度。

因此,本实验结果的临床意义在于,可根据目标肌松程度的 TOF 值,推测面神经的神经肌接头阻滞程度,从而确保麻醉所需的外周肌松与面神经监测所需条件之间的平衡。而以 MTAI%为纵坐标,肌松药剂量为横坐标得出的量-效曲线,可以指导满足不同部位不同肌松要求的临床麻醉方案,确定合适的肌松程度。若单纯为面神经定位,保证手术中面神经的识别和保护,可以使用合适剂量的肌松剂,若根据刺激阈值判断预后,根据所作量效曲线尽量降

低肌松程度。

根据 FEEMG 的临床应用经验,术前面神经功能受损者,包括有面瘫症状和无症状但神经电图检查显示一定程度的神经变性者,在相同的监测条件下,与面神经功能正常者相比,其 FEEMG 反应基础值减小,监测的灵敏度也下降,肌松药在这类患者中的使用更需谨慎。本实验在离体水平观察了损伤与正常面神经支配的口轮匝肌对罗库溴铵反应的敏感性,结果表明:损伤侧口轮匝肌肌张力振幅基础值较正常侧低,但等效浓度罗库溴铵下肌张力振幅抑制程度与正常侧比较无显著性差异,这一结论似乎与临床经验不相符。本实验面神经损伤诱发部位在神经主干,根据光镜和电镜的病理检查结果,损伤侧呈现脱髓鞘和轴突变性,符合神经损伤病理学特征,大鼠呈现角膜刺激引起的瞬目反射消失的体征也符合面神经损伤的表现,因此模型的建立是可信的。由于本实验采用的是急性损伤模型,而离体灌注的肌条上所带神经为末梢神经,电刺激末梢神经时神经轴突囊泡储存的神经递质释放在短期内是否受到神经主干损伤的影响尚待进一步研究认证;此外整体动物的 EEMG 反应可能受到多种神经体液因素的调节,与离体实验结果的差异尚需探讨。损伤侧口轮匝肌肌张力振幅基础值较正常侧低,与临床上面神经麻痹患者 FEEMG 反应基础值减小相符合,反映损伤侧口轮匝肌 FEEMG 监测灵敏度减小,但损伤与正常面神经支配的口轮匝肌对罗库溴铵敏感性无明显差异。由于本实验面神经损伤模型为定性损伤,而不能精确模拟损伤程度,所以损伤侧肌张力振幅基础值数值波动较大。

Ibebunjo 等<sup>[14,15]</sup>观察了在同等剂量肌松药作用下,咬肌、甲杓肌、膈肌、腹直肌、胫骨前肌和比目鱼肌六组肌肉的诱发肌电位,发现肌松药的起效和维持时间与肌纤维构成无关,与单位横截面积(cross-sectional area, CSA)上的乙酰胆碱受体(acetylcholine receptors, AChR)数目,即 AChR/CSA 有关,认为 AChR/CSA 可以从组织学上预见不同肌肉对非去极化肌松药的敏感性。因此,从神经肌接头突触水平探讨面神经支配的肌肉和肢体神经支配的肌肉对肌松药敏感性差异的机制是一个值得进一步研究的问题。

结论:面神经支配的口轮匝肌对非去极化肌松药罗库溴铵的敏感性低于肢体神经支配的腓肠肌,而这种差异没有表现在正常和损伤面神经支配的肌肉间。本实验结果有助于临床上根据外周 NMB 程

度判断面神经肌接头的传导性,从而指导临床麻醉所需肌松和面神经监测所需条件之间的平衡。

## 参 考 文 献

- [1] Goldbrunner RH, Schlake HP, Milewski C, et al. Quantitative parameters of intraoperative electromyography predict facial nerve outcomes for vestibular schwannoma surgery [J]. *Neurosurgery*, 2000, 46: 1 140 - 1 148.
- [2] 王正敏. 耳神经外科手术中神经监测[J]. 中国耳鼻咽喉头颈外科, 2004, 11(3): 137 - 138.
- [3] Wymore ML, Eisele JH. Differential effects of d-tubocurarine on inspiratory muscle and two peripheral muscle groups in anesthetized man [J]. *Anesthesiology*, 1978, 48(5): 360 - 362.
- [4] Kizilay A, Aladag I, Cokkeser Y, et al. Effects of partial neuromuscular blockade on facial nerve monitorization in otologic surgery [J]. *Acta Otolaryngol*, 2003, 123: 321 - 324.
- [5] 冷同嘉, 赵毅, 张炳熙, 等. 本可松对中耳-乳突手术面神经监测的影响[J]. 临床耳鼻咽喉科杂志, 1999, 13(11): 490 - 492.
- [6] Igarashi M, Iwasaki H. Mechanism of the differential sensitivity in the rat adductor and abductor laryngeal muscles to a non-depolarizing neuromuscular blocker [J]. *British Journal of Anaesthesia*, 1995, 75: 339 - 343.
- [7] Hemmerling TM, Schmidt J, Hanusa C, et al. Simultaneous determination of neuromuscular block at the larynx, diaphragm, adductor pollicis, orbicularis oculi and corrugator supercilii muscles [J]. *Br J Anaesth*, 2000, 85: 856 - 860.
- [8] 冉建, 欧阳葆怡. 罗库溴铵对眼轮匝肌和拇收肌临床药效学比较[J]. 现代临床医学生物工程杂志, 2006, 12(6): 478 - 480.
- [9] 单增强, 王小标, 赵莉, 等. 大鼠面神经颅外段的解剖及其应用[J]. 解剖学杂志, 2005, 28(1): 82 - 83.
- [10] 蔡志刚, 俞光岩, 马大权, 等. 家兔创伤性面神经损失的神经电图研究[J]. 现代口腔医学杂志, 1999, 13(1): 4 - 7.
- [11] Serra CSM, Oliveira AC. Cisatracurium: myographical and electrophysiological studies in the isolated rat muscle [J]. *Fundam Clin Pharmacol*, 2006, 20: 291 - 298.
- [12] 徐静, 蔡一榕, 陈莲华, 等. 鼓室成形术病人面神经诱发肌电位反应与神经肌肉阻滞程度间的相关性[J]. 中华麻醉学杂志, 2008, 28(11): 965 - 968.
- [13] 孟秀丽, 王军, 张利萍. 阿曲库铵对耳外科手术面神经监测的影响[J]. 中国微创外科杂志, 2006, 02: 137 - 141.
- [14] Ibebunjo C, Srikant CB, Donati F. Duration of succinylcholine and vecuronium blockade but not potency correlates with the ratio of endplate size to fibre size in seven muscles in the goat [J]. *Can J Anaesth*, 1996, 43(5 Pt 1): 485 - 494.
- [15] Ibebunjo C, Srikant CB, Donati F. Morphological correlates of the differential responses of muscles to vecuronium [J]. *Br J Anaesth*, 1999, 83(2): 284 - 291.

(收稿日期: 2008 - 06 - 30; 编辑: 张秀峰)