

DOI:10.11798/j.issn.1007-1520.202423005

· 论著 ·

靶肌肉注射胶质细胞源性神经营养因子 对面神经损伤修复的作用

倪萍, 费静, 肖阳, 段坤岭, 宋雪城, 廖娜, 李雷激

(西南医科大学附属医院耳鼻咽喉头颈外科, 四川 泸州 646000)

摘要: **目的** 通过靶肌肉注射胶质细胞源性神经营养因子(GDNF), 观察其对面神经压榨损伤后大鼠功能恢复、神经形态学及GDNF在中枢面神经元中表达的影响, 探讨经靶肌肉注射GDNF治疗周围性面瘫的可行性及作用机理。**方法** SD大鼠随机分为假手术组(只暴露右侧面神经主干)、模型组(面神经主干压榨)、实验对照组(面神经主干压榨+颊肌注射生理盐水)和实验组(面神经主干压榨+颊肌注射GDNF), 通过颊肌电生理、面瘫症状评分观察大鼠的神经功能恢复, Masson染色观察颊肌纤维形态学变化、甲苯胺蓝染色观察面神经形态学变化、Western Blot检测面神经元中GDNF的表达。**结果** ①大鼠面瘫症状评分: 假手术组无面瘫表现, 评分为0分, 造模后各组大鼠均出现周围性面瘫表现, 评分均为5分; 术后第28天, 实验组大鼠面瘫症状已基本完全恢复, 模型组及实验对照组较前有不同程度改善但未完全恢复, 评分均>3分; ②颊肌电生理: 各组造模后与假手术组相比, 峰潜伏期有不同程度延长、最大振幅有不同程度下降; 随着时间的推移, 实验组峰潜伏期较模型组及实验对照组明显缩短($P<0.05$), 最大振幅较其明显上升($P<0.05$); ③甲苯胺蓝染色: 模型组、实验对照组、实验组术后均出现神经纤维形态不规则, 外膜不连续不清晰, 轴突数量减少。术后第28天, 实验组面神经形态与假手术无明显差异, 较模型组及实验对照组有明显恢复; ④Masson染色: 各组造模后肌纤维数量减少, 肌肉组织占比面积减少; 实验组肌纤维形态较模型组及实验对照组恢复快, 至术后第28天, 肌纤维形态接近正常($P<0.05$); ⑤Western Bolt检测: 各组造模后中枢面神经元组织GDNF的蛋白表达下降, 观察期内逐渐增强; 与模型组及实验对照组相比, 术后各时间点, 实验组中枢面神经元组织GDNF的蛋白表达显著增强($P<0.01$)。**结论** 靶肌肉注射GDNF可作为改善周围神经损伤的有效给药方式之一, 促进神经纤维修复、靶肌肉功能的恢复及中枢神经系统对周围损伤神经的修复。

关键词: 周围性面瘫; 胶质细胞源性神经营养因子; 电生理; 面神经损伤; 面神经元

中图分类号: R764

Effects of target intramuscular injection of glial cell-derived neurotrophic factor on the repair of crushed facial nerve injury

NI Ping, FEI Jing, XIAO Yang, DUAN Kunling, SONG Xuecheng, LIAO Na, LI Leiji

(Department of Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery, Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou 646000, China)

Abstract: **Objective** To observe effects of glial cell-derived neurotrophic factor (GDNF) target muscle injection on functional recovery, neuromorphology and GDNF expression in central facial neurons in rats after crushed facial nerve injury, so as to investigate the feasibility and mechanism of action of GDNF target muscle injection in the treatment of peripheral facial paralysis. **Methods** SD rats were randomly divided into sham-operated group (right facial nerve trunk exposed only), model group (facial nerve trunk pressed), experimental control group (facial nerve trunk pressed + buccal muscle injected with saline) and experimental group (facial nerve trunk pressed + buccal muscle injected with GDNF). The neurological recovery of rats was observed by buccal muscle electrophysiology, animal facial palsy score, morphological changes of buccal muscle fibers by Masson staining, morphological changes of facial nerve by toluidine blue

基金项目: 泸州市科技计划项目(2021-SYF-30)。

第一作者简介: 倪萍, 女, 硕士, 住院医师。

通信作者: 李雷激, Email: lileiji0301@163.com

staining and GDNF expression in facial neurons by Western Blot. **Results** ①Immediately after modelling surgery, SD rats of the sham-operated group showed no facial paralysis with scores of 0, while peripheral facial paralysis appeared in those of the other groups with average scores of 5. Twenty-eight days after surgery, the rats in the experimental group had basically recovered from facial paralysis while those in the model and control groups had improved to different degrees but not fully recovered from facial palsy, with scores of more than 3. ②Buccal muscle electrophysiology revealed that the peak latency was prolonged to different degrees and the maximum amplitude decreased to different degrees in each group compared with the sham-operated group. The peak latency was significantly shortened ($P < 0.05$) and the maximum amplitude increased ($P < 0.05$) over time in the experimental group compared with the model group and the experimental control group. ③Toluidine blue staining showed irregular nerve fiber morphology, discontinuous and unclear outer membrane and reduced number of axons after surgery in the model group, the experimental control group and the experimental group. Twenty-eight days after surgery, the facial nerve morphology of the experimental group was not significantly different from that of the sham-operated group, and was significantly recovered compared with the model group and the experimental control group. ④Masson staining demonstrated decreased number of muscle fibers and areas occupied by muscle tissue in each group after modelling. The morphology of muscle fibers in the experimental group recovered faster than those of the model group and the experimental control group, and were close to normal by 28 days postoperatively ($P < 0.05$). ⑤Western Blot showed decreased expression of GDNF protein in central facial neurons of each group after modelling, and gradual increased expression during the observation period. Compared with the model group and the experimental control group, the protein expression of GDNF was significantly enhanced in the experimental group at each time point after surgery ($P < 0.01$). **Conclusion** Target muscle injection of GDNF can be used as one of the effective modes of administration to improve peripheral nerve injury, promote nerve fibre repair, recover target muscle function and repair of injured peripheral nerves by central nervous system.

Keywords: Peripheral facial palsy; Glial cell-derived neurotrophic factor; Electrophysiology; Facial nerve injury; Facial motoneurons

周围面神经损伤后,患者会出现皱额、闭眼、鼓腮、表情、味觉等各方面的障碍,不仅对患者生理,更对其心理造成严重影响。目前周围神经损伤后再生与修复的方法较多,包括药物治疗、基因疗法、手术疗法,辅以理疗、按摩、针灸等。近年来研究表明,在受损神经局部持续应用外源性神经营养因子,可加快促进神经的修复^[1]。

神经营养因子是一类由靶器官、靶组织合成的多肽类物质^[2],大致分为细胞活性因子和神经营养素两大家族,神经营养素家族包括神经生长因子(nerve growth factor, NGF)、脑源性神经生长因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)、神经营养素-3(neurotrophin-3, NT-3)和胶质细胞源性神经营养因子(glial cell-derived neurotrophic factor, GDNF)等^[3]。研究表明,GDNF无论对发育还是成熟的运动神经元、受损亦或是正常的运动神经元均有明显的神经营养效应,是神经营养因子家族中作用最强的^[4]。韩久卉等^[5]研究表明,经靶肌肉注射生长因子可以促进周围神经损伤的再生及修复,故经靶肌肉注射药物为研究周围神经损伤修复的有效给药方式之一。通过外源持续性给予GDNF能否促进受损周围面神经的修复,还需要进一步研究。

本研究在建立 Sprague-Dawley (SD) 大鼠右侧面神经主干压榨损伤模型的基础上,通过外源性 GDNF 持续靶肌肉注射,初步探讨经靶肌肉注射 GDNF 在周围性面神经损伤修复中的作用及可行性,同时探讨经外周应用 GDNF 是否可通过影响中枢 GDNF 的表达参与周围性面神经的损伤修复过程。

1 材料和方法

1.1 实验动物及分组

由西南医科大学动物实验中心提供 64 只健康雄性 SD 大鼠(2 月龄, 200 ~ 250 g/只), 于湿度 (55 ± 5) %、温度 22 ~ 24 °C、12 h 明暗交替、定时通风的普通级动物饲养房、采用专用动物饲料喂养, 自由进食及饮水, 术前均禁饮禁食 8 h, 整个实验过程由一人负责。将其随机分为 4 个组: 假手术组(16 只)、模型组(16 只)、实验对照组(16 只)、实验组(16 只)。实验动物合格证号: SYXK(川)2020 - 073, 实验操作经西南医科大学伦理协会批准, 按照《实验动物管理条例》实施。

1.2 建立面神经损伤模型

SD 大鼠经 10% 水合氯醛(3 mL/kg)腹腔麻醉

满意后,常规消毒铺巾,于耳廓后缘行一长约3 cm弧形切口,止血钳钝性分离皮下软组织,将腮腺翻开后暴露及分离其后上方深面的面神经主干至出茎乳孔处^[6],分离出面神经主干约5 mm后(图1A),用12.5 cm弯头微血管钳于距离血管钳尾1 cm处满扣压榨面神经主干持续10 min,保证每次损伤面神经的宽度相同(约1 mm)。逐层缝合皮肤后消毒。假手术组大鼠只切开皮肤,暴露右侧面神经主干,不予以任何损伤。

1.3 药剂干预

实验组造模当天起持续经同侧颊肌注射GDNF至实验结束(0.5 $\mu\text{g}/\text{d}$);实验对照组造模当天即向同侧颊肌注射同等量生理盐水;假手术组及模型组不做任何药剂干预。

1.4 大鼠面神经功能评估

1.4.1 电生理实验 术后第3、7、14、28天,采用肌电图法行面神经电生理检测:分离右侧面神经主干,将记录电极插入同侧颊肌内约5 mm,刺激电极置于面神经主干压榨处靠近心端的表面(图1B)。调节刺激参数为刺激强度3 mA的脉冲方波。间断释放刺激,诱发复合肌肉动作电位(M波),记录M波的峰潜伏期及最大波幅。

1.4.2 动物面瘫症状评分 术后第3、7、14、28天,采用Simone10分法评价各组SD大鼠面瘫症状:瞬目反射、胡须运动及鼻尖位置^[7]。分数越高,提示面瘫程度越重,总分 ≥ 3 分,存在面瘫;总分 < 3 分,面瘫有恢复;总分为0分,则认为完全恢复^[8]。

1.5 面神经甲苯胺蓝染色

各组各时间点随机挑选4只大鼠,10%水合氯醛(3 mL/kg)麻醉后,经心灌注4%PFA预固定,完整切取压榨损伤段面神经主干,4%PFA体外固定24~48 h,先后经自来水冲洗、乙醇梯度脱水、二甲苯透明、蜡块包埋。面神经主干横切连续切片(5 μm)制片。石蜡切片脱蜡,水洗,甲苯胺蓝染色30~40 min,快速水洗、乙醇脱水、二甲苯透明,中性树胶封片,光学显微镜下观察,细胞图像分析系统进行图像分析。

1.6 颊肌Masson染色

取材同甲苯胺蓝染色。石蜡切片脱蜡,水洗,Masson三色染色试剂盒(北京索莱宝科技有限公司)按说明书方法进行染色,中性树胶封片。采用Image-Pro Plus 6.0图像分析系统采集并观察肌肉组织的形态情况,计算肌肉组织表达面积百分比。

1.7 Western Blot检测

各组各时间段随机挑选4只大鼠过量麻醉处死,横断颈椎,咬骨钳咬除颅骨的顶盖和颞骨,于冰台上去除小脑和四叠体,保留菱形区域的脑干组织(即面神经元所在组织), $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存。将组织匀浆、离心30 min,取上清液即为所需蛋白液。BCA法测蛋白浓度,各孔加入100 μg 蛋白样品电泳,转膜、封闭,加入兔抗大鼠GDNF单克隆抗体(1:1 000)、兔抗 $\beta\text{-actin}$ 多克隆抗体(1:100 000) $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜。TBST洗膜3次,二抗孵育1 h,TBST洗膜3次,ECL显色,用Gelpro凝胶成像分析软件测定条带的灰度值,并计算目的蛋白和内参 $\beta\text{-actin}$ 的IOD比值,反映目的蛋白的表达水平。

1.8 统计学分析

采用SPSS 17.0统计软件先进行各组方差齐性检验,方差齐,则采用单因素方差分析(ANOVA)和 t 检验;方差不齐,则采用非参数检验。所有数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠面瘫症状评分结果

术后各时间点,假手术组大鼠均无面瘫表现,评分均为0分。术后第3天,模型组、实验对照组及实验组3组大鼠均出现右侧眼睑不能闭合、胡须无自主活动、鼻尖偏向健侧的面瘫表现,评分均为5分。术后第14天,实验组大鼠面瘫症状明显改善,总分 < 3 分,至术后第28天,实验组大鼠面瘫症状基本恢复(其中2只评分为0)。术后第14天及术后第28天,模型组及实验对照组面瘫症状较前有改善,但总评分仍 > 3 分。见表1、图1C。

2.2 颊肌电生理结果

术后各时间点,假手术组颊肌诱发电位峰潜伏期及最大振幅无明显变化。假手术组右侧颊肌诱发电位波形为正常波形表现;与假手术组比较,模型组、实验对照组、实验组术后第3天潜伏期延长、波峰下降,随后有不同程度的恢复。模型建立后,模型组、实验对照组及实验组3组大鼠颊肌诱发电位峰潜伏期明显延长,最大振幅明显降低,随之均有不同程度的恢复。其中,模型组和实验对照组恢复趋势基本一致,比较无明显差异($P > 0.05$),而实验组颊肌诱发电位峰潜伏期及最大振幅在各时间点均较其余两组有明显改善,差异均具有统计学意义($P < 0.05$)。见表2、3及图2。

2.3 面神经主干甲苯胺蓝染色结果

光镜下假手术组面神经主干有髓神经纤维形态正常,排列有序,分布均匀,神经外膜结构完整,而模型组、实验对照组、实验组术后均出现面神经主干有髓神经纤维形态不规则,外膜不连续不清晰,排列稀疏不均,染色变浅,轴突数量减少,随着时间的推移,上述病理变化有不同程度的恢复。术后第 28 天,实验组面神经形态与假手术无明显差异,较模型组及实验对照组有明显恢复。见图 3。

2.4 颊肌 Masson 染色结果

假手术组颊肌纤维直径粗大,排列整齐紧密,染色清晰均匀,肌纤维间结缔组织少。模型组及实验对照组术后肌纤维组织随着时间的推移恢复均较差,分

布稀疏,直径细小,肌纤维数量较少,肌肉组织占比面积减少,二者间无明显差异($P>0.05$);实验组肌纤维组织随时间推移恢复良好,至术后第 28 天,形态上已接近假手术组,肌纤维密度大,排列紧密,直径较为粗大,肌肉组织占比面积明显增加,与其余两组相比差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 4、图 4。

2.5 面神经元组织 Western Bolt 检测结果

术后各时间点假手术组面神经元组织的 GDNF 蛋白表达无明显变化。术后第 3 天,实验组、模型组及实验对照组的 GDNF 蛋白表达均明显下降,随之逐渐增加,但在术后各时间点,实验组 GDNF 的蛋白表达均较模型组及实验对照组明显增加,差异具有统计学意义($P<0.01$)。见表 5、图 5。

表 1 各组大鼠术后面瘫症状评分 (分, $\bar{x}\pm s$)

组别	例数	术后第 3 天	术后第 7 天	术后第 14 天	术后第 28 天	P
假手术组	4	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	
模型组	4	5.00±0.00	5.00±0.00	4.50±0.58	4.25±0.50	>0.05 [#]
实验对照组	4	5.00±0.00	5.00±0.00	4.50±0.58	4.00±0.00	>0.05 [#]
实验组	4	5.00±0.00	3.75±0.50	2.25±0.50	0.25±0.50	<0.05 [*]

注:[#]P 为模型组及实验对照组比较,^{*}P 为实验组与模型组及实验对照组比较。下同。

表 2 术后各时间点各组大鼠右侧颊肌诱发电位峰潜伏期比较 (ms, $\bar{x}\pm s$)

组别	例数	术后第 3 天	术后第 7 天	术后第 14 天	术后第 28 天	P
假手术组	4	24.78±0.64	24.95±0.35	25.31±0.26	25.55±0.36	
模型组	4	49.92±1.05	47.58±0.55	41.43±0.82	35.58±0.52	>0.05 [#]
实验对照组	4	50.24±0.66	47.80±0.80	40.33±1.09	35.36±1.20	>0.05 [#]
实验组	4	48.28±0.83	42.87±0.60	35.49±0.66	26.37±0.87	<0.05 [*]

表 3 术后各时间点各组大鼠右侧颊肌诱发电位最大振幅比较 (mV, $\bar{x}\pm s$)

组别	例数	术后第 3 天	术后第 7 天	术后第 14 天	术后第 28 天	P
假手术组	4	28.72±0.43	28.95±0.43	29.09±0.45	29.50±0.43	
模型组	4	4.20±0.13	5.02±0.28	7.26±0.61	10.45±1.45	>0.05 [#]
实验对照组	4	4.60±0.19	5.34±0.40	7.56±0.83	11.90±0.46	>0.05 [#]
实验组	4	5.76±0.16	8.24±0.54	11.57±0.63	23.96±1.07	<0.05 [*]

表 4 术后各时间点各组大鼠右侧颊肌肌肉组织面积占比 (% , $\bar{x}\pm s$)

组别	例数	术后第 3 天	术后第 7 天	术后第 14 天	术后第 28 天	P
假手术组	4	22.74±0.29	23.47±0.30	21.78±1.17	22.57±1.47	
模型组	4	10.69±0.41	11.81±0.46	13.06±0.55	15.13±0.42	>0.05 [#]
实验对照组	4	11.47±0.76	12.14±0.93	13.35±1.06	15.25±0.69	>0.05 [#]
实验组	4	14.16±0.41	15.63±0.75	19.77±0.64	24.18±0.36	<0.05 [*]

表 5 各组各时间点面神经元中 GDNF 相对表达量 (平均光密度值, $\bar{x}\pm s,n=4$)

术后时间	假手术组	模型组	实验对照组	实验组	P
第 3 天	1.000±0.000	0.486±0.006	0.442±0.015	0.644±0.026	<0.01
第 7 天	1.000±0.000	0.517±0.006	0.491±0.004	0.745±0.021	<0.01
第 14 天	1.000±0.000	0.564±0.009	0.596±0.037	0.940±0.019	<0.01
第 28 天	1.000±0.000	0.724±0.013	0.733±0.021	1.179±0.008	<0.01

注:GDNF(胶质细胞源性神经营养因子)。下同。

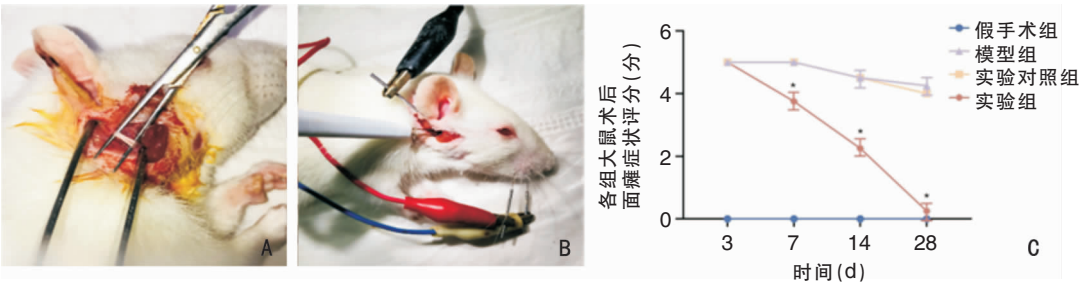


图 1 面神经损伤模型的建立及动物面瘫症状评估 A:术中面神经主干的暴露;B:面神经电生理方法;C:各组大鼠术后面瘫症状评分,手术第 7 天之后,模型组与实验对照组比较无明显差异,而实验组分别与模型组及实验对照组比较,均有显著差异 (* $P<0.05$)

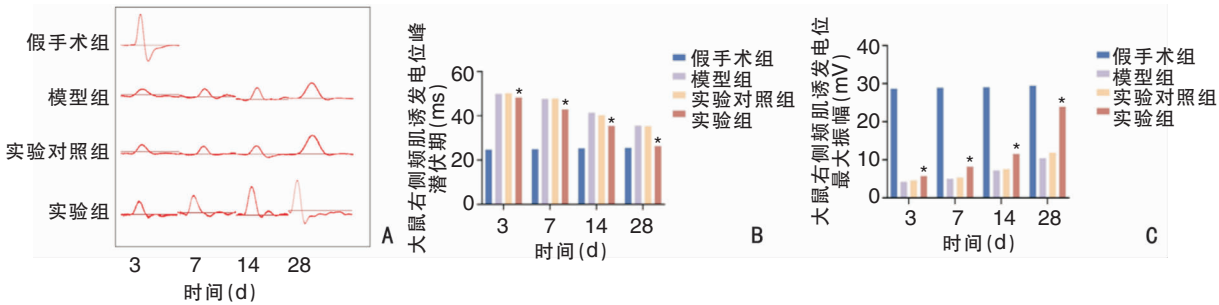


图 2 术后各时间点各组颊肌诱发电位波形图及潜伏期、最大振幅比较 A:各组大鼠在各时间点的典型颊肌诱发电位波形图;B:各组颊肌诱发电位潜伏期比较;C:各组颊肌诱发电位最大振幅比较

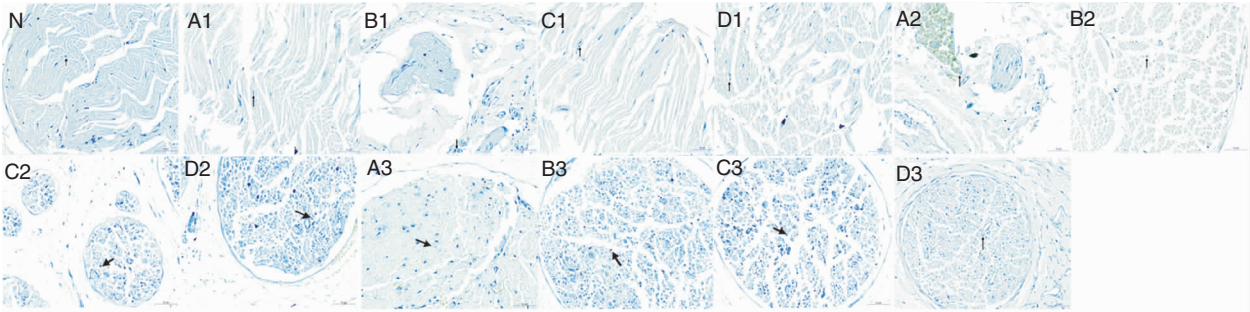


图 3 面神经主干甲苯胺蓝染色结果 ($\times 400$) 注:N 表示假手术组,A1 ~ D1、A2 ~ D2、A3 ~ D3 分别表示术后第 3、7、14、28 天的模型组、实验对照组和实验组,箭头指示轴突。

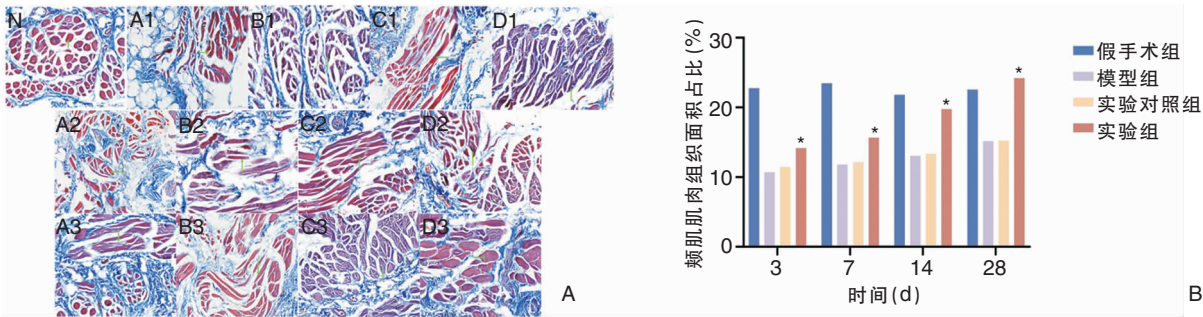


图 4 颊肌纤维 Masson 染色及术后各时间点大鼠颊肌肌肉组织面积占比较 ($\times 400$) A:颊肌纤维 Masson 染色 N 表示假手术组,A1 ~ D1、A2 ~ D2、A3 ~ D3 分别表示术后第 3、7、14、28 天的模型组、实验对照组和实验组,箭头指示肌纤维;B:术后各时间点假手术组肌肉组织面积占比无明显改变;与实验组比较,模型组及实验对照组肌肉组织占比面积均明显减少,随着时间的推移恢复均较差;实验组肌肉组织占比面积随时间推移逐渐增加,至术后第 28 天,已基本恢复正常,肌组织占比面积明显增加 注:* 表示实验组与模型组及实验对照组对比($P<0.05$)。

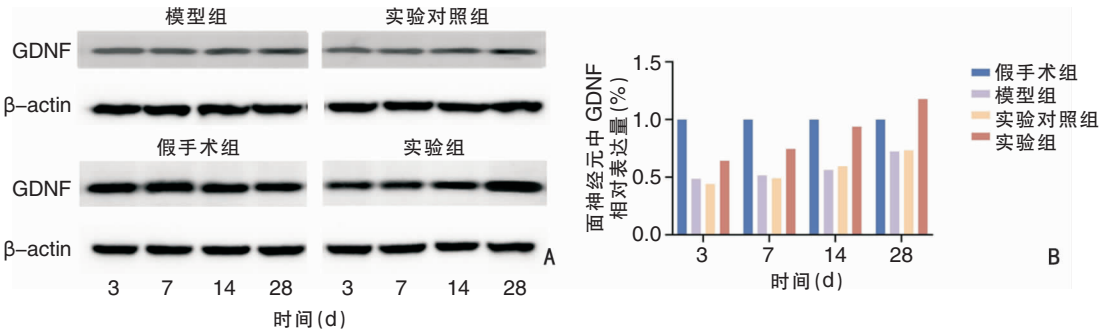


图 5 各组各时间点面神经元组织中 GDNF 的蛋白表达比较 A: 各组各时间点 Western Blot GDNF 蛋白条带变化; B: 术后各组大鼠各时间点 GDNF 相对表达量结果比较

3 讨论

面神经属于周围神经系统,周围神经损伤后,如何迅速、有效地重建神经与靶肌肉的联系,使靶肌肉充分获得神经再支配是靶肌肉功能恢复的关键因素。失神经支配的肌肉功能恢复取决于神经对运动单位的再支配数量。为防止出现肌萎缩^[9],再生神经至少需要恢复 30% 的运动单位才能支配所有失神经肌肉并起到神经营养作用。Sunderland^[10]将周围神经损伤分为 5 度,神经压榨已被证明可以产生一致的 Sunderland II 度损伤^[11-12],即轴突断裂,位于损伤远端,功能恢复是完全的。

周围面神经损伤后,受损神经轴突会激活施万细胞合成释放大量神经营养因子及黏附分子,在受损轴突周围形成一个神经再生微环境^[13-14],通过趋化、引导细胞迁移、分裂和增殖作用维持受损神经元的存活,并促进受损神经的修复,进一步实现靶肌肉的重新支配。动物行为学观察发现术后随时间推移,各组大鼠右侧面瘫症状均有所改善,实验组大鼠面瘫的恢复较模型组及实验对照组早且效果明显。由于靶组织从失神经支配到恢复需要一个漫长的过程^[15],因而经靶组织注射 GDNF 可以大大缩短这一过程,从而促进了受损神经的修复及与靶组织的重新联系和支配。

神经轴突的连续性中断,神经纤维会丧失信息传导和支配能力,通过电生理检测可间接反映靶组织功能上的失神经改变。外周神经损伤后,神经元方向神经冲动不能传导至末梢靶细胞,外周神经营养因子不能逆行运输至中枢,神经轴突双向运输作用受阻,靶组织功能减弱,合成的 GDNF 减少并且不能经轴突逆行运输至中枢面神经元,故 Western Bolt 结果提示外周面神经损伤后,面神经元中 GDNF 表

达下降。随着神经轴突的缓慢恢复,实验组峰潜伏期及最大振幅较模型组及实验对照组明显恢复,实现了对颊肌的再支配作用,表明 GDNF 可以促进神经轴突损伤的修复,与靶组织逐渐重新建立连接。同时神经轴突对靶组织的营养支持作用逐渐恢复,靶组织功能恢复,合成的 GDNF 经轴突运输至中枢面神经元,故各组 GDNF 表达量均逐渐增多,而实验组面神经元中 GDNF 的表达明显增强,表明经外周靶组织持续补充的 GDNF 逆行至中枢,发挥着保护神经元的作用。

神经细胞作为一个整体,其功能的恢复涉及到神经元胞体、轴突和神经末梢 3 部分。研究表明,GDNF 是目前克隆到的诸多神经营养因子中作用最强的运动神经元营养因子^[16],但随着去神经支配时间的延长,GDNF 的表达会丢失,主要由于施万细胞的衰老和它们不能分泌 GDNF^[17]。经外源性应用 GDNF 可以保护大鼠神经损伤后运动神经元的存活,这种作用在早期更为明显,故早期、持续应用 GDNF 对于神经损伤后的修复有效^[18]。

目前应用神经营养因子治疗周围神经损伤的给药途径主要有:局部给药、靶肌肉注射、腹腔注射、损伤部位植入微渗泵缓释、利用转基因技术植入表达神经营养因子的细胞等。一次性给药难以保证药物的持续作用,腹腔注射涉及到患者的耐受性问题^[19]。将神经营养因子持续在受损神经局部释放,可以更好地促进神经再生。目前有两种方法,一种是将 GDNF 复合至可吸收的神经导管或微球内^[20]。另一种是把转染目的基因的细胞移植在损伤的部位^[21]。基因疗法目前已经成为各个领域的研究热点,但存在许多亟待解决的问题,如操作难度大、免疫排斥的危险等^[22]。本研究通过经外周靶肌肉注射 GDNF,操作简单、可重复。经靶肌肉注射的 GDNF 一部分吸收入血,部分 GDNF 未被吸收而滞留于

局部,提高了靶肌肉 GDNF 浓度的水平,一方面在一定距离内发挥吸引作用而引导轴突的生长方向^[23-24],另一方面残存的神经末梢从靶肌肉中摄取 GDNF 并通过逆行轴浆运输至中枢面神经元,发挥保护神经元^[25]、防止神经元凋亡和促进神经元修复的作用。本研究结果提示该给药方式可以促进周围面神经损伤的修复,促进神经纤维对靶肌肉的再支配,从而改善靶肌肉的功能,但可持续给药的方式需要进一步探究,比如给药的最佳浓度、最佳剂量仍需我们进一步的研究。

参考文献:

- [1] Bengur FB, Stoy C, Binko MA, et al. Facial nerve repair: bioengineering approaches in preclinical models[J]. *Tissue Eng Part B Rev*,2022,28(2):364-378.
- [2] 胡荣城,曹鹏俐. 神经营养因子与面神经再生的研究进展[J]. *中国医药指南*,2016,14(12):30-32.
- [3] El Ouamari Y, Van den Bos J, Willekens B, et al. Neurotrophic factors as regenerative therapy for neurodegenerative diseases: Current status, challenges and future perspectives[J]. *Int J Mol Sci*, 2023,24(4):3866.
- [4] Tong SY, Wang RW, Li Q, et al. Serum glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) a potential biomarker of executive function in Parkinson's disease[J]. *Front Neurosci*,2023,17:1136499.
- [5] 韩久卉,张经歧,张英泽,等. 靶肌肉注射睫状神经营养因子促进周围神经再生的功能评价[J]. *中国修复重建外科杂志*,2000,14(2):87-89.
- [6] 李慧,庄跃宏,彭小伟,等. 腮腺手术中面神经主干定位的新方法[J]. *中国耳鼻咽喉颅底外科杂志*,2018,24(2):119-122.
- [7] Tang H, Feng S, Chen J, et al. Effects of electroacupuncture on facial nerve function and HSV-1DNA quantity in HSV-1 induced facial nerve palsy mice[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*,2014,2014:1-7.
- [8] Takahashi H, Hitsumoto Y, Honda N, et al. Mouse model of Bell's palsy induced by reactivation of herpes simplex virus type 1[J]. *Neuropathol Exp Neurol*,2001,60(6):621-627.
- [9] Wang ML, Rivlin M, Graham JG, et al. Peripheral nerve injury, scarring, and recovery[J]. *Connect Tissue Res*,2019,60(1):3-9.
- [10] Sunderland S. Rate of regeneration I: sensory nerve fiber and II: motor fiber[J]. *Arch Neurol Psychiatry*,1947,58:1-14.
- [11] Varejao AS, Cabrita AM, Meek MF, et al. Functional and morphological assessment of a standardized rat sciatic nerve crush injury with a non-serrated clump[J]. *Neurotrauma*, 2004,21(11):1652-1670.
- [12] Bridge P, Ball DJ, Mackinnon SE, et al. Nerve crush injuries -A model for axonotmesis[J]. *Exp Neurol*,1994, 127(2):284-290.
- [13] Coleman MP, Höke A. Programmed axon degeneration: from mouse to mechanism to medicine[J]. *Nat Rev Neurosci*,2020,21(4):183-196.
- [14] 张松,黄英如,石一峰,等. 内源性神经营养因子促进冷冻保存大鼠坐骨神经异体移植后神经再生的作用[J]. *中国康复理论与实践*,2020,26(4):407-422.
- [15] 马宏敏,王锦玲,黄维国,等. 实验性面神经损伤后的神经再生速度[J]. *中国耳鼻咽喉颅底外科杂志*,2000,6(1):17-19.
- [16] Oppenheim RW, Houenou LJ, John JE, et al. Developing motor neurons rescued from programmed and axotomy-induced cell death by GDNF[J]. *Nature*,1995,375(6512):344-346.
- [17] Höke A, Gordon T, Zochodne DW, et al. A decline in glial cell-line-derived neurotrophic factor expression is associated with impaired regeneration after long-term Schwann cell denervation[J]. *Exp Neurol*,2002,173(1):77-85.
- [18] 冯明萌,江斌,郑志达,等. 不同时间修复周围神经损伤后给予 GDNF 治疗作用的比较[J]. *中国伤残医学*,2014,22(9):159-161.
- [19] Chen J, Chu YF, Chen JM, et al. Synergistic effects of NGF, CNTF and GDNF on functional recovery following sciatic nerve injury in rats[J]. *Adv Med Sci*, 2010,55(1):32-42.
- [20] Carvalho CR, Chang W, Silva-Correia J, et al. Engineering silk fibroin-based nerve conduit with neurotrophic factors for proximal protection after peripheral nerve injury[J]. *Adv Health Mater*, 2021,10(2):e2000753.
- [21] 李江,徐斌,张军,等. 利用慢病毒载体构建 GDNF 基因修饰神经干细胞的实验研究[J]. *现代医学*,2021,49(11):1255-1261.
- [22] Bittner GD, Bushman JS, Ghergherehchi CL, et al. Typical and atypical properties of peripheral nerve allografts enable novel strategies to repair segmental-loss injuries[J]. *J Neuroinflammation*, 2022,19(1):60.
- [23] Cintron-Colon AF, Almeida-Alves G, VanGyseghem JM, et al. GDNF to the rescue: GDNF delivery effects on motor neurons and nerves, and muscle re-innervation after peripheral nerve injuries[J]. *Neural Regen Res*,2022,17(4):748-753.
- [24] Deng LX, Liu NK, Wen RN, et al. Laminin-coated multifilament entubulation, combined with Schwann cells and glial cell line-derived neurotrophic factor, promotes unidirectional axonal regeneration in a rat model of thoracic spinal cord hemisection[J]. *Neural Regen Res*,2021,16(1):186-191.
- [25] 薛冰,席花蕾,姚丽红,等. 神经营养素对牙髓干细胞神经向分化的影响[J]. *口腔医学*,2022,42(9):846-850.

(收稿日期:2023-01-06)

本文引用格式:倪萍,费静,肖阳,等. 靶肌肉注射胶质细胞源性神经营养因子对面神经损伤修复的作用[J]. *中国耳鼻咽喉颅底外科杂志*,2024,30(1):77-83. DOI:10.11798/j.issn.1007-1520.202423005

Cite this article as:NI Ping, FEI Jing, XIAO Yang, et al. Effects of target intramuscular injection of glial cell-derived neurotrophic factor on the repair of crushed facial nerve injury[J]. *Chin J Otorhinolaryngol Skull Base Surg*, 2024,30(1):77-83. DOI:10.11798/j.issn.1007-1520.202423005