

Az eltérő morfológiai típusú Deiters sejtek elektrofiziológiai különbségei és szerepük a belső fülben

Szűcs Attila dr., Batta Tamás dr., Somodi Sándor dr.¹, Tóth Andrea dr., Szigeti Gyula dr.²,
Csernoch László dr.², Panyi György dr.¹, Sziklai István dr.

ÖSSZEFOGLALÁS: A hallás tulajdonképpeni receptor szerve a Corti szerv, melynek legfontosabb sejtjei a külső és a belső szőrsejtek. A belső szőrsejtek, melyek a Corti alagúttól medialisán helyezkednek el, a hallás tulajdonképpeni receptor sejtjei. A Corti alagúttól lateralisán elhelyezkedő sejtek a külső szőrsejtek, melyek a cochlea erősítő mechanizmusában játszanak szerepet. A külső szőrsejttel szoros kapcsolatban állnak a Deiters sejtek, azokhoz mind az apikális, mind a bazális pólusuknál kapcsolódnak. A külső szőrsejtek és a Deiters sejtek együtt hidalják át a bazálmembrán és a membrana tectoria közötti távolságot. A külső szőrsejtek nagysága a cochlea hosszában és a sorok között is eltérő, így a Deiters sejtek mérete is különböző. A külső szőrsejtek nemcsak morfológiai sajátágaikban, hanem funkciójukban, beidegzésükben is különböznek egymástól (4, 13, 14). Eddig a nemzetközi irodalomban a Deiters sejtek esetén csak morfológiai eltéréseket sikerült kimutatni, funkcionális különbségek nem ismertek. Állatkísérleteinkben tengerimalacból izolált Deiters sejtek morfológiai, funkcionális sajátosságait, és ezek kapcsolatát vizsgáltuk. A morfológiai különbségeken túl funkcionális eltéréseket is sikerült kimutatni melyek arra utalnak, hogy az eltérő elhelyezkedésű és morfológiájú Deiters sejtek eltérő mértékben járulnak hozzá a cochlearis micromechanikához és a K⁺ recirkulációs mechanizmushoz.

KULCSSZAVAK: Deiters sejt, kálium, patch-clamp

SUMMARY: Among the supporting cells, Deiters cells are in intimate contact with outer hair cells (OHCs) in the inner ear. In situ, the bodies of the OHCs are positioned between the bodies and ends of the phalangeal processes of the Deiters cells (8). The length of the OHCs, and therefore the length of the phalanx of the Deiters cells process depend on their position in the organ of Corti. Deiters cells increase in size from base to apex, and from the first to the more lateral third-row Deiters cells. Previous studies described a morphological diversity among Deiters cells, but there is no evidence that any functional difference among Deiters cells would exist. The contribution of the Deiters cells to the active mechanism of the cochlea is still not clear. Previous experiments showed the involvement of Deiters cells in the micromechanics of the organ of Corti (2). The aim of the present study was to examine a possible relationship between the characteristic features of the measured outward K⁺ current and the morphological features of Deiters cells. Deiters cells were separated into two groups in this study: those with corpulent body, which were attached to shorter OHCs, and others with lanky cell body supporting longer OHCs. Our data showed that lanky and corpulent cells have similar types of K⁺ channels. However, lanky cells have a larger current amplitude which is attributed to an increase in the magnitude of current component obeying faster inactivation kinetics. Deiters cells having different cell shapes and showing different K⁺ channel expression may contribute to the active mechanism of the cochlea to various degrees.

KEYWORDS: Deiters cell, outer hair cell, patch clamp, potassium

Bevezetés

A Corti szerv szerkezete és funkciója

A Corti szervben belül található az érzéksejtek. A Corti alagúttól befelé a belső, ettől laterálisán a külső

szőrsejtek. A külső szőrsejteket a Deiters-féle támasztósejtek határolják. A Deiters sejtek szoros kapcsolatban állnak a külső szőrsejttel (KSZ), ahhoz mind az apikális, mind a bazális pólusán csatlakoznak, úgynevezett „mikromechanikai egységet” alkotnak (8). A Deiters sejtek mérete mind apiko-bazálisán, mind a sorok között belülről kifelé nő. Feltételezések szerint a Deiters sejtek a külső szőrsejtek erősítő mechanizmusát segítik, amely mechanizmust főként az acetilkolin és a GABA befolyásolják, mint efferens neurotranszmitterek (4, 10, 11). Mások a Deiters sejteknek a belső fül elektrolit homeosztázisában játszott regulátor szerepét vetik fel (8). *Nenov és mtsai*

Közlésre érkezett: 2008.09.02.

Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum Általános Orvostudományi Kar
Fül-, Orr-, Gégészeti és Fej-, Nyaksebészeti Klinika
Cím: 4032 Debrecen, Nagyerdei krt. 98.
Telefon: (52) 414-763
E-mail: aszucs10@hotmail.com

kísérleteikben a Deiters sejteken mért áramgörbéket vizsgálták, melyek kifelé irányuló feszültségfüggő K^+ áramnak adódtak (8). A korábbi kísérletekben csak morfológiai eltéréseket sikerült kimutatni a Deiters sejtek között, funkcionális különbségeket nem sikerült detektálni (8).

Célunk a cochleában különböző helyen elhelyezkedő, eltérő morfológiai típusú Deiters sejteken mért, kifelé irányuló, feszültségfüggő K^+ áram összehasonlítása, esetleges funkcionális különbségek felderítése, valamint a sejtek belső fül K^+ recirkulációs mechanizmusban betöltött szerepének vizsgálata.

Eszközök és módszerek

Deiters sejt izolálás

Kísérleteinket pigmentált tengerimalacokon (150–300 g) végeztük. Nembutallal történt túlaltatás után a tengerimalacokat dekapitáltuk. A temporális csontot – mely tartalmazta a bullát – eltávolítottuk. A cochleat Hank extracelluláris oldatba helyeztük. A Hank oldat tartalma mM-ban: 142 NaCl, 4 KCl, 2 $CaCl_2$ és 1 $MgCl_2$ (Sigma, St. Louis, Mo). Az oldat pH-ját 7,4-re, míg ozmolaritását 320 mOsm-ra állítottuk be. A Corti szerv preparálását és a sejtek emésztését ezen oldatban végeztük el. A preparálás után a sejteket IV-es típusú collagenáz oldatban emésztettük (5 perc, 1 mg/ml; Sigma). A Deiters sejtek kiválasztásánál a sejt és a sejtnyúlvány alakja, valamint a sejtmag elhelyezkedése játszott szerepet. A mérések során különálló és összekapcsolódott külső szőrsejteket és Deiters sejteket is felhasználtunk.

Kísérleteinkhez két preparátumot készítettünk. Az első preparátumhoz a cochlea apikális két csavarulatán elhelyezkedő, míg a második preparátumhoz a bazális csavarulaton levő sejteket használtuk fel.

Ionáramok mérése

Méréseinket a patch-clamp technika teljes-sejt (whole-cell) konfigurációjában végeztük. Méréseinkhez Axopatch 200 és 200A patch-clamp erősítőket használtunk feszültség-zár üzemmódban.

A sejteket minden esetben igyekeztünk a sejtest területén megfogni. Extracelluláris oldatként Hank's oldatot használtunk. Az intracelluláris oldat összetétele (mM ban): 140 KCl, 2 $MgCl_2$, 5 HEPES volt. Oldataink ozmolaritását 320 mOsm-ra, míg pH-ját 7,4-re állítottuk be. Az általunk használt pipetták ellenállása 6–8 MOhm volt. A nyugalmi potenciált -70 mV-nak választottuk.

A depolarizáló négyszögimpulzusok amplitúdóját -120 mV-tól $+100$ mV-ig változtattuk 10 mV-os lépésként. A kálium áram aktivációja és inaktív-

ciójának vizsgálata céljából 10 s-ig tartó 50 mV-os depolarizáló négyszögimpulzust használtunk. Az áram kémiai szeparálása céljából 4-AP, TEA, Charybdotoxint (ChTx) és Margatoxint (MgTx) használtunk.

Eredmények

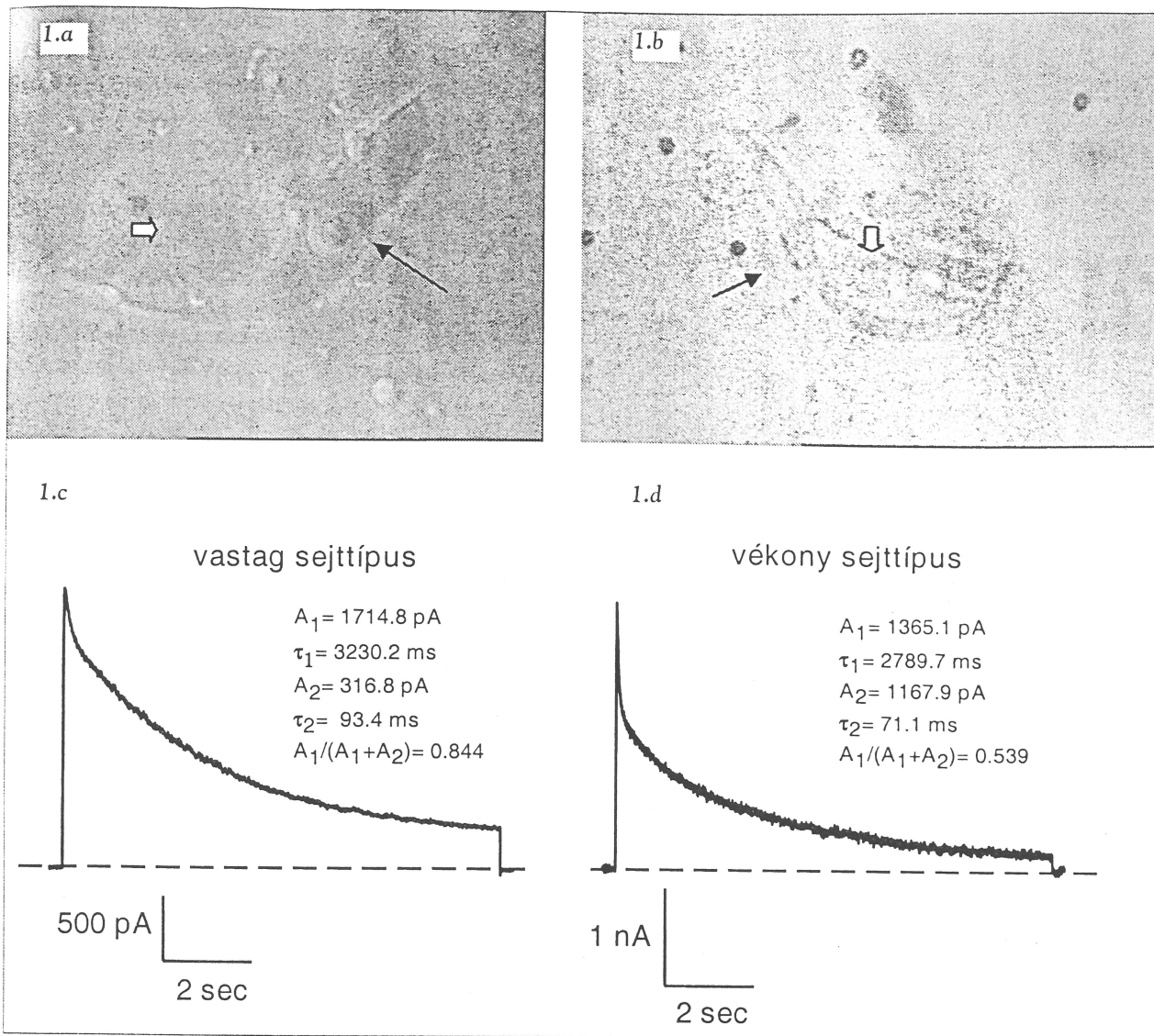
A K^+ áramok karakterisztikája morfológiailag különböző Deiters sejteken

Korábbi kísérleteinkben a Deiters sejteken mért kifelé irányuló áramot elektrofiziológiai és farmakológiai módszerekkel vizsgáltuk. A mért áram feszültségfüggő, kifelé irányuló K^+ áramnak adódott, melynek kialakulásáért két csatorna populáció volt felelős. A mérések során a vizsgált áramkarakteristikák alapján a Deiters sejteket két csoportba tudtuk sorolni.

A sejt izolálása során különálló és külső szőrsejthez (KSZ) kapcsolódó Deiters sejteket kaptunk. A $+50$ mV-os depolarizáció során mért áramamplitúdók lényegesen magasabbak voltak a külső szőrsejtekhez kapcsolódó Deiters sejtek esetén, mint a különálló sejteknél (az átlagos csúcsáramok $5,4 \pm 0,5$ nA ($n=40$) illetve $3,5 \pm 0,4$ nA ($n=37$) voltak; $p=0,0068$). Mivel gap junction összeköttetések kapcsolhatják össze a Deiters és a külső szőrsejteket, lehetséges, hogy a mért teljes sejt áramok a két sejt áramának összegét jelentik. Ebben az esetben a KSZ-hez kapcsolt Deiters sejt membránjának kapacitása magasabb lenne, mint az izolált Deiters sejté. A kísérletesen meghatározott Deiters sejt kapacitás $35,91 \pm 2,02$ pF ($n=29$) volt KSZ-hez kapcsolt, és $35,25 \pm 2,35$ pF ($n=25$) volt izolált Deiters sejtek esetén, amely értékek nem különböztek szignifikánsan egymástól ($p=0,83$).

Morfológiai különbségeket sikerült kimutatni a preparált Deiters sejtek között. Azon sejtek, amelyek rövidebb KSZ-hez kapcsolódtak nagyobb sejtesttel és rövidebb falangeális nyúlvánnyal rendelkeztek, míg azok, amelyek hosszabb KSZ-hez kapcsolódtak vékonyabb sejtesttel és hosszabb falangeális nyúlványuk volt. Az előzőket vastag, az utóbbiakat vékony típusú sejteknek neveztük el (1. ábra a és b). Ezen morfológiai tulajdonságok alapján a sejteket két morfológiai típusba soroltuk. Tekintettel arra, hogy a KSZ-ek mérete apikobazálisan és a sorok között is eltérő, az ezekhez kapcsolódó különböző morfológiájú Deiters sejtek elhelyezkedése is eltérő a cochleában.

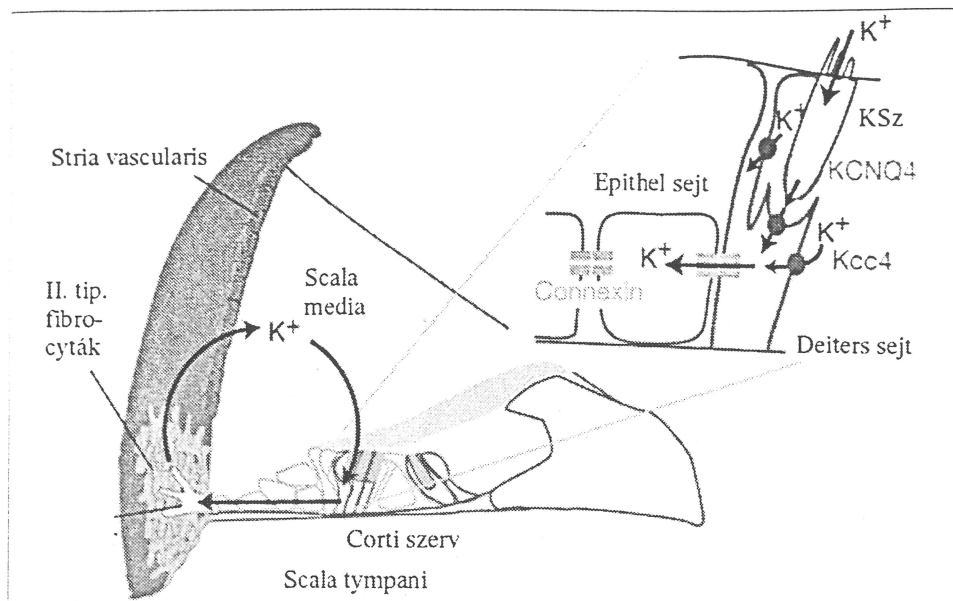
A vastag típusú sejtekre $+70$ mV-on meghatározott csúcsáramok $3,7 \pm 0,5$ nA ($n=29$), míg a vékony típusú sejtekre $5,2 \pm 0,6$ ($n=36$) nA-nak adódtak. Nem találtunk különbséget a két sejt típus membrán kapacitásában (vékony típusú sejtek: $37,36 \pm 2,64$ pF



1. ábra. A Deiters sejtek morfológiája és a káliumcsatorna-expresszió közötti összefüggés. (a és b) Különböző morfológiai típusú Deiters sejtek. A fekete nyilak a Deiters sejtekre, míg a fehér nyilak a Deiters sejtekhez kapcsolódó külső szőrsejtekre mutatnak. Az a panel egy rövid nyúlvánnyal rendelkező vastag Deiters sejtet mutat, melyhez rövid külső szőrsejt kapcsolódik. A b panelen egy hosszú nyúlvánnyal rendelkező vékony sejt látható, melyhez hosszú típusú külső szőrsejt kapcsolódik. (c és d) A vastag (c) és vékony (d) sejtípusra jellemző teljes-sejt áramok. A sejteket -70 mV -os tartófeszültségről 10 másodperc időtartamra $+50 \text{ mV}$ -ra depolarizáltuk. Az egymást követő teszimpulzusok között 60 másodperc telt el. Az áramgörbék leszálló szárát két exponenciális tagot tartalmazó függvényvel illetve a kapott eredményeket az ábrán láthatjuk. A lassan inaktiválódó komponens súlyfaktora $0,844$ a vastag, míg $0,539$ a vékony sejt esetén.

($n=19$); vastag típusú sejtek: $33,13 \pm 2,11$ ($n=25$), $p=0,136$), de a sejt kapacitásra normált áramamplitúdók statisztikailag különböztek egymástól. Az áramsűrűség szignifikánsan magasabb volt a vékony sejttestű Deiters sejtekben ($188,11 \pm 23,14 \text{ pA/pF}$ ($n=19$)), mint a vastag típusú sejtekben ($114,23 \pm 17,23 \text{ pA/pF}$ ($n=25$)) ($p=0,012$). A 10 s -ig tartó $+50 \text{ mV}$ -os depolarizáló impulzusok alatt mért áramgörbék alakja is eltérő volt a két morfológiai típus között (1. ábra c és d). Az inaktiváció sebessége kisebb volt a vastag sejtek esetében, ami azonban nem tükröződött az inaktivációs időállandókban. Az

inaktivációs időállandók a következők voltak: $\tau_1 = 2718 \pm 117 \text{ ms}$ ($n=27$), $\tau_2 = 190 \pm 28 \text{ ms}$ ($n=25$) a vastag típusú sejt esetén, és $\tau_1 = 2669 \pm 120 \text{ ms}$ ($n=36$), $\tau_2 = 136 \pm 17 \text{ ms}$ ($n=35$) a vékony típusú sejteknél. Nem találtuk szignifikánsnak a különbséget sem τ_1 értékek ($p=0,78$), sem a τ_2 értékek ($p=0,09$) esetén. A vastag sejttesttel rendelkező sejteknek a vékony sejtekénél lassabb inaktivációs kinetikája a lassú komponens nagyobb súlyarányának volt köszönhető. A lassú komponens súlyaránya ($A_1/(A_1 + A_2)$) $0,736 \pm 0,033$ volt a vastag sejteknél ($n=27$) és $0,522 \pm 0,023$ a vékony sejteknél ($n=36$). Ezzel meg-



2. ábra. A K^+ recirkuláció mechanizmusa

Mechanikai stimuláció (hang) hatására a KSZ-ből K^+ áramlik ki a sejtek közötti térbe, mely ion a K^+ -Cl-kotranszporter segítségével bekerül a Deiters sejtbe. A gap junction csatornák feszültség-függő kapuzása a Deiters és más támasztó sejtekben asszimmetrikus K^+ fluxusokat hozhat létre, melynek hatására a K^+ a stria vascularisba kerül, melyből később az endolymphába szekretálódik. Az ábrán szereplő rövidítések a következők: Kcc4: K^+ -Cl-kotranszporter, KCNQ4: gap junction csatornák.

egyezően a két áramkomponens sejtkapacitásra normált áramamplitúdója azt mutatta, hogy a lassú komponens esetén ez megegyezett a két sejtípus esetén (vékony: $85,65 \pm 11,98$ pA/pF ($n=19$); vastag: $69,88 \pm 10,05$ pA/pF ($n=23$), $p=0,316$), míg a gyors komponens esetén szignifikáns különbséget találtunk a vastag és vékony sejtek között (vékony: $74,61 \pm 10,07$ pA/pF ($n=19$); vastag: $25,83 \pm 6,20$ pA/pF ($n=23$) ($p=0,0002$)).

Megbeszélés

A Deiters sejtek szerepe a cochleáris mikromechanikában és a belső fül elektrolit homeosztázisában még nem tisztázott. Célunk a sejtek morfológiája és áramkarakteristikája közötti esetleges kapcsolat, valamint a Deiters sejtek cochleában betöltött szerepének vizsgálata.

A vizsgált Deiters sejtek nem képeztek homogén populációt. A sejtek egyik csoportja különálló volt, a másik csoport külső szőrsejthez kapcsolódott. A két csoporthoz tartozó sejtek áram amplitúdói között különbséget találtunk. A kapott eredményeknek két lehetséges magyarázata van. Az első magyarázat szerint a kapcsolt sejtek esetén mind a két sejt (Deiters sejt és külső szőrsejt) áramát együtt mértük. Ez a lehetőség az alapján zárható ki, hogy a kísérletesen meghatározott sejtkapacitás azonos volt a különálló és a

kapcsolt sejtekre. A KSZ-hez kapcsolt sejteken tehát vagy nagyobb K^+ csatorna sűrűség, vagy az egyedi csatornák vezetőképességének növekedése okozza a nagyobb áramamplitúdót. A Deiters sejtek a KSZ-el szoros kapcsolatban állnak a belső fülben, a sejtek között intercelluláris jelátvitel révén (pl glutamát) (7) növekedhet a K^+ konduktancia. Ez a feltevés további kísérletes igazolást igényel.

Korábbi tanulmányok szerint a Deiters sejtek morfológiája és a sejt alakja függ a sejtekhez kapcsolt KSZ méretétől és ezen keresztül a Corti szervben elfoglalt helyétől (8, 9, 12). A

Deiters sejtek mérete apiko-bazálisan és a sorok között is eltér egymástól (11). A tanulmányunkban a sejteket két csoportra osztottuk: vastag sejttestű Deiters sejtek, melyek rövid KSZ-hez kapcsolódnak és vékony típusú sejtek, melyek hosszú KSZ-hez kapcsolódnak. Az áram mérési adatok alapján a vékony és a vastag típusú sejtek felszínén ugyanazok a K^+ csatornák találhatóak. A két csoport között nem volt különbség a mért két fázisú áramgörbe inaktivációs időállandói között (1. ábra), ugyanakkor a vékony sejteken nagyobb áramamplitúdót mértünk, mely a gyorsan inaktiválódó áramkomponens nagyobb abszolút expressziójának következménye. Ennek megfelelően az áramkomponensek aránya eltérő volt a két morfológiai csoport között, ennek funkcionális jelentőségét azonban még nem ismerjük.

Más tanulmányokban is találtak eltéréseket a különböző helyzetű Deiters sejtek fehérje expressziója között. Nakazawa és mtsai (9) az ugróegér cochlea bazális kanyarulatáról nyert Deiters sejtekben nem tudtak kimutatni aktint és vimentint. Mások a glutamát/aszpartát transzporter vizsgálata során a tengermalac apikális csavarulatain elhelyezkedő sejtekben nagyobb expressziót találtak, mint a bazális sejtekben (6). Más szerkezetbeli különbségekben, mint például a mikrotubulusok és mitokondriumok számában is találtak eltéréseket (12). Korábban számos ta-

nulmányban felvetették a Deiters sejtek szerepét a cochlearis mikromechanikában. A sejtek afferens innervációval rendelkeznek (3, 5), feszültségfüggő K^+ áram mérhető a membránjukon (10), és aktív mozgás figyelhető meg a sejtek nyúlványán (1). Elképzelhető, hogy a Deiters sejtek a falangeális nyúlvány merevségének megváltozása által finom hangoló szerepet tölt be a cochleáris erősítő mechanizmusban. Másrészt a feszültség kapuzott K^+ csatornák szerepe főként a depolarizáló hatások során kialakuló membránpotenciál változás helyreállításában van. A támasztósejtek és ezek közül a Deiters sejtek egyik legfontosabb szerepe a belső fül K^+ recirkuláció szabályozásában van (2. ábra). Mechanikai stimuláció (hang) hatására a KSZ-ből K^+ áramlik ki, mely ion a K^+ -Cl⁻-kotranszporter Kcc4 segítségével bekerül a Deiters sejtbe (2). Ezen csatornákat kódoló GJB2 gén 35 delG pontmutációja idegi típusú halláscsökkenést okoz (15). A gap junction csatornák feszültségfüggő kapuzása Deiters és más támasztó sejtekben aszimmetrikus K^+ fluxusokat hozhat létre (16). Ezen membránpotenciál függő mechanizmust a tanulmányunkban vizsgált különböző morfológiájú Deiters sejteken mért különböző K^+ konduktanciák eltérő mértékben befolyásolhatják.

Köszönetnyilvánítás

Munkánk a DE OEC Mecénatura Grant 15/2005, az OTKA T 049151, K 63743, valamint az ETT 250/2003 támogatásával készült.

Irodalomjegyzék

1. Bobbin R.P.: ATP-induced movement of the stalks of isolated cochlear Deiters' cells. *Neuroreport* 12, 2923-2926, 2001.
2. Bohnke F, Arnold W.: Nonlinear mechanics of the organ of Corti caused by Deiters cells. *Ieee Transactions on Biomedical Engineering* 45, 1227-1233, 1998.
3. Burgess B.J., Adams J.C., Nadol J.B.: Morphologic evidence for innervation of Deiters' and Hensen's cells in the guinea pig. *Hearing Research* 108, 74-82, 1997.
4. Dallos P, He D.Z.Z., Lin X., Sziklai I., Mehta S., Evans B.N.: Acetylcholine, outer hair cell electromotility and cochlear amplifier. *J Neurosci* 17, 2212-2226, 1997.
5. Fechner F.P., Nadol J.B. JR., Burgess B.J., Brown M.C.: Innervation of supporting cells in the apical turns of the guinea pig cochlea is from type II afferent fibers. *J Comp Neurol* 429, 289-298, 2001.
6. Furness D.N., Hulme J.A., Lawton D.M., Hackney C.M.: Distribution of the glutamate/aspartate transporter GLAST in relation to the afferent synapses of outer hair cells in the guinea pig cochlea. *Jaro* 3, 234-247, 2002.
7. Kataoka Y., Ohmori H.: Of known neurotransmitters, glutamate is the most likely to be released from chick cochlear hair cells. *J Neurophysiol* 76, 1870-1879, 1996.
8. Laffon E., Angelini E.: On the Deiters cell contribution to the micromechanics of the organ of Corti. *Hear Res* 99, 106-9, 1996.
9. Nakazawa K., Schulte B.A., Spicer S.S.: The Rosette Complex in Gerbil Deiters Cells Contains Gamma-Actin. *Hear Res* 89, 121-129, 1995.
10. Nenov A.P., Chen C., Bobbin R.P.: Outward rectifying potassium currents are the dominant voltage activated currents present in Deiters' cells. *Hear Res* 123, 168-182, 1998.
11. Slepceky N.B.: Supporting cells with filaments. In: Dallos P, Popper A.N., Fay R.R. (eds) *The Cochlea*. Springer-Verlag, pp 65-70, 1996.
12. Spicer S.S., Schulte B.A.: Differences along the place-frequency map in the structure of supporting cells in the gerbil cochlea. *Hear Res* 79, 161-177, 1994.
13. Sziklai I., He D.Z.Z., Dallos P.: Effect of acetylcholine and GABA on the transfer function of electromotility in isolated outer hair cells. *Hear Res* 95, 87-99, 1996.
14. Sziklai I., Szönyi M., Dallos P.: Phosphorylation mediates the influence of acetylcholine upon outer hair cell electromotility. *Acta Otolaryngol* 121, 153-156, 2001.
15. Tóth T., Kárpka S., Sziklai I., Blin N., Zinner H.P., Pfister M.: Phenotype of patients showing hearing impairment based on the 35delG mutation in the connexin 26 gene. *HNO* 51, 400-4, 2003.
16. Zhao H.B.: Directional rectification of gap junctional voltage gating between deiters cells in the inner ear of guinea pig. *Neurosci Lett* 296, 105-8, 2000.

ZUSAMMENFASSUNG: Das eigentliche Rezeptor-Organ des Gehörs ist das Cortische Organ, dessen wichtigste Zellen-elemente die äußeren und inneren Haarzellen sind. Die inneren Haarzellen, die sich medial vom Corti-Tunnel befinden, sind die eigentlichen Rezeptorzellen des Hörens. Die lateral vom Tunnel lokalisierten äußeren Haarzellen spielen eine Rolle im Verstärkermechanismus der Cochlea, sie stehen in engem Kontakt mit den Deiters-Zellen, sowohl an deren apikalem als auch basalem Pol. Die äußeren Haarzellen und die Deiterszellen überbrücken gemeinsam den Abstand zwischen Basalmembran und Membrana tectoria. Die Größe der äußeren Haarzellen ist im Verlauf der Cochlea, und auch zwischen den Reihen unterschiedlich, demzufolge sind auch die Deiters-Zellen nicht gleichgroß. Die äußeren Haarzellen unterscheiden sich voneinander nicht nur in ihren morphologischen Eigenschaften, sondern auch in ihrer Funktion (4, 13, 14). In der internationalen Fachliteratur gelang für die Deiters-Zellen bisher nur der Nachweis der morphologischen Abweichungen, funktionelle Unterschiede waren nicht bekannt. In unseren Tierversuchen untersuchten wir aus Meerschweinchen isolierte Deiters-Zellen auf ihre morphologischen und funktionellen Eigenschaften und auf deren Zusammenhang. Über die morphologischen Eigenschaften hinaus gelang auch der Nachweis funktioneller Unterschiede: dass die in Lokalisation und Morphologie abweichenden Deiters Zellen in unterschiedlichem Maße zur cochlearen Mikromechanik und zum Rezirkulationsmechanismus der Kaliumionen beitragen.

SCHLÜSSELWÖRTER: Deiters-Zelle, Kalium, patch-clamp

Gége izom reinnerváció ideg-izom lebennyel állatkísérletes modellen

Tóth Andrea dr., Szűcs Attila dr., Harasztosi Csaba dr.¹, Matesz Klára dr.²,
Pucskó Klára dr.², Mikó Irén dr.³, Csernoch László dr.¹, Sziklai István dr.

ÖSSZEFOGLALÁS: A szerzők az ideg-izom lebény technika alkalmazásának lehetőségét vizsgálták musculus cricoarytenoideus posterior (m. CAP) szelektív reinnervációjára. 5 keverék kutyában a bal oldali nervus laryngeus recurrens (NLR) átmetszése után ansa cervicalis- m sternohyoideus (m.SH) lebényt készítették, azt a bal oldali CAP izomra varrták. 3 kutyán csak denervációs műtét történt. Egy év elteltével videolaryngoscopus, EMG, és szövettani vizsgálatokat végeztek.

A videolaryngoscopus felvételek egyértelműen igazolták az ideg-izom lebény által reinnervált CAP izom működését. Ezt támasztották alá az EMG leleteken látott kiváltott polifázisos potenciálok megjelenése. Immunhisztokémiai reakcióval (antineurofilament antitest+biotin) neurofilamentumokat és motoros véglemezeket lehetett látni mind az 5 állat esetén mindkét oldalon.

Az ideg-izom lebény technika alkalmazása lehetővé teheti az arytenoidectomia és a laterofixáció elkerülését egy vagy kétoldali gégebénulások esetén. Ezáltal mind az életminőség, mind a hangminőség javulása érhető el.

KULCSSZAVAK: EMG, ideg-izom lebény technika, szelektív reinnerváció

SUMMARY: The authors test the application of the nerve-muscle pedicle (NMP) technique for selective reinnervation of previously denervated posterior cricoarytenoid (PCA) muscle.

The left recurrent laryngeal nerve (RLN) was severed in five mongrel dogs and an ansa cervicalis-sternohyoid muscle pedicle was sutured to the left PCA muscle. Three dogs underwent a sham operation. Videolaryngoscopy was performed, and electromyographic data were collected after one year in average. Finally histological analysis of the NMP was performed. The video records demonstrated the return of mobility of the PCA muscle reinnervated by a NMP. EMG data as to show evoked polyphasic potentials showed also evidence of reinnervation of the PCA muscle. With immunohistochemical reaction (antineurofilament antibody+biotin) we could demonstrate neurofilaments and motor endplates in both sides in all five animals. The NMP technique could eliminate the need for arytenoidectomy and laterofixation in patients with unilateral or bilateral vocal fold paralysis. The quality of life and voice may be improved.

KEYWORDS: electromyography, nerve-muscle pedicle technique, selective reinnervation

Bevezetés

A NLR bénulásnak számos oka lehet (iatrogén, baleset, vírusos infekció), és ezekben az esetekben leghatékonyabb terápiás lehetőségként szerepelhet a gége reinnervációja. A sikeres reinnerváció által a normál fonáció és megfelelően tág légút válna biztosíthatóvá. Számos reinnervációs technikáról számoltak már be, beleértve a direkt anasztomózist (15, 22), ideg graft alkalmazását (17) (n.phrenicus, ansa cervicalis), és az ideg-izom lebény technikát (6). Korábban a klinikai gyakorlatban az ideg anasztomózist választották leggyakrabban, mivel a bénult izom meg-

Közlésre érkezett: 2008.09.10.

Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi
Centrum Általános Orvostudományi Kar
Fül-, Orr-, Gégészeti és Fej-, Nyaksebészeti Klinika
Cím: 4032, Debrecen, Nagyerdei krt. 98
Telefon: (52) 414 763
E-mail: tot121@hotmail.com

felelő tömegét és tenzióját biztosítja, azonban a remobilizáció minimális (21).

Korábbi kísérletek alapján ideg-izom lebény technikával már kétoldali gégebénulás esetén is sikeres reinnerváció érhető el (24). A m.SH-ből képzett ideg-izom lebény alkalmazása az azonos oldali CT, TA és CAP izmok esetén ajánlott (2,6). Beszámolnak még a n. phrenicus által innervált omohyoideus izom lebény alkalmazásáról CAP izom bénulásánál (4).

A direkt anasztomózis vagy ideg graft alkalmazása az abduktor és adduktor izmok non-szelektív reinnervációjához vezet, ennek megfelelően koordinálatlan, szinkinetikus hangszalagmozgást eredményeznek (20). A ideg-izom lebény technika előnye a szelektív reinnerváció és a különböző belső gégeizmok megfelelő mozgásának helyreállítása lehet. Ideg-izom lebény technika a professzionális hanghasználó betegek (énekes, színész, tanár) és kétoldali bénulás esetén válhat ajánlottá és megfelelő terápiává.

Tucker (24), Crumley (4), Broniatowski (2), Ma-

niglia és munkatársai (14) kísérleteikben különböző ideg-izom lebenyekkel végezték a különböző gége izmok reinnervációját.

Tanulmányunk során az NMP technika által elért reinnerváció eredményességét vizsgáltuk a CAP izom esetében, tekintettel arra, hogy ezzel a módszerrel mind az izom megfelelő tömege és tenziója biztosítható, emellett várhatóan remobilizáció érhető el. Korábbi tanulmányok szerint a NLR átmetszését követően 8 héttel a CAP fibrotizálódott, ami azt feltételeznél, hogy reinnerváció a bénulás után ennyi idővel már eredménytelen (8). Ellentmondásos ezzel más szerzők tapasztalata, miszerint reinnerváció 6–9 hónappal a denervációt követően sikeresen kivitelezhető (13).

Anyag és módszer

Minden kísérlet a Debreceni Egyetem Állatkísérleti Egyesület engedélyével történt.

Sebészi technika: A műtétet 8 keverék kutyán végeztük (4 hím, 4 nőstény, 12–23 kg). Mindegyik kutya az anaesthesia során premedikációként atropin (0,04 mg/kg, sc.), ezt követően ketamint (10 mg/kg, im. vagy iv.) és xylasinet (2%, 1 mg/kg im. vagy iv.) kapott a spontán respiráció biztosítása céljából. Műtét utáni fájdalomcsillapítás allobarbitál és aminophenazon injekcióval történt. 5 kutyán az ideg-izom lebeny technikát alkalmaztuk. További 3 kutya esetén kontroll céljából álműtétet végeztünk, a NLR-t átvágtuk, egy szakaszát eltávolítottuk, így denervációs modellként szerepeltek.

Direkt laryngoscopiát végeztünk minden műtét előtt, mellyel a megfelelő gége anatómiát ellenőriztük.

Nyakon ejtett középvonali metszést követően a külső gégeizmokat két oldalra kampóztuk, feltártuk a m. SH-t és az ansa cervicalis-t, valamint baloldalon azonosítottuk a NLR-t. A NLR-t átvágtuk a CT ízületől 2,5 cm távolságra és 2–3 cm-es részt rezeáltunk, kiküszöbölve ezzel a spontán reinnervációt (18). Az ideg-izom lebeny kialakítása ezen az oldalon az ansa cervicalis sternohyoideus izomba lépő ágából történt izomlebennyel, melyet mobilizáltuk. A géget hosszanti tengelye körül 90°-kal rotáltuk, az ansa cervicalis-SH izom lebenyt három csomós öltéssel a bal oldali CAP izomhoz öltöttük 5.0 Prolene-t használva (monofilament, Etichon). Sebzés két rétegben Vicryl-lel (monofilament) történt.

Három kutya (6–8. kutya) esetén csak denervációs műtét történt. A jobb oldali gégefelet denerváltuk az azonos oldali NLR átvágásával és 2–3 cm-es szakasz eltávolításával. Mindkét véget elektromosan kauterizáltuk. Egy év múlva az 5 kutyán videolaryngoscopiát, majd műtéti feltárást és EMG vizsgálatot

végeztünk. Lokalizáltuk az ideg-izom lebenyt, melyet elektromosan stimuláltuk, közben 0° endoscopot (Karl-Storz) használva közvetlenül monitoroztuk a hangszalagkitéréseket. Kontroll kutyákon hasonló beavatkozást végeztünk 6 hónappal a denervációt követően (19).

Gége abdukción funkcionális kiértékelése

Videolaryngoscopia: 0° Karl-Storz endoscop alkalmazásával transzorálisan. Elektromos stimuláció mellett videofelvételt készítettünk a hangszalagmozgásokról. A reinnervált bal oldali CAP izom mobilitását összehasonlítottuk az ép oldallal.

EMG: Egyszer használatos koncentrikus tűelektrodót (26G) közvetlenül a CAP izomba szúrtuk a gége 90°-os rotációja után. A reinnerváló ansa cervicalis elektromos stimulációját idegstimulátorral végeztük (Ministim) 0,1–1 ms hosszúságú négyszög impulzusokkal. EMG aktivitás digitális oscilloscop (Agilem) segítségével történt, melyhez egy házilag készített erősítőt (150–180x, 20 Hz-es felüláteresztő, 10 kHz-es aluláteresztő) és egy személyi számítógépet csatlakoztattunk.

Szövetteni vizsgálat: Az eltávolított CAP izom fixálása 4%-os foszfát pufferált paraformaldehid oldatban (pH 7,4) történt, paraffinba ágyazás után 6–7 µm vastagságú metszet készítése rutin hematoxilín-eosin (HE) festés céljából, valamint immunhisztokémiai vizsgálatra. Az utóbbi esetben ezeket a szövetblokkokat 10% és 20%-os szacharózba merítettük és fagyasztó mikrotommal 50 µm-es vastagságú metszeteket készítettünk. A felülészó metszeteket 5%-os szarvasmarha szérum albuminnal kezeltük és monoklonális antineurofilamentum 200-zal (Sigma, hígítás 1:200) inkubáltuk 24 órán át 4 °C-on (11). Inkubációt követően a metszeteket 2 órára biotinylált egér elleni IgG-vel (hígítás 1:500) kezeltük, majd inkubáltuk 1 órán át avidin-biotinylált peroxid komplex-szel (Vector). Immunreakció láthatóvá tétele diaminobenzidine kromatogén reakciójával történt.

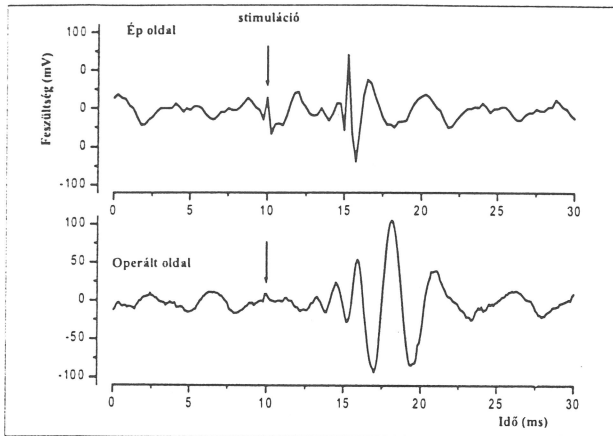
Histomorfometria: A HE metszeteken történt az izomrostok keresztmetszetének körberajzolása Reichert mikroszkóp és kamera lucida segítségével 40×-es nagyítás mellett. 200–200 rostátmérőt hasonlítottunk össze a reinnervált, denervált és ép izmok esetén.

Statisztikai összehasonlítás Student *t*-próbával történt ($p=0,05$). Mindegyik esetben meghatároztuk a standard deviációt (SD), az adatokat a 2. táblázatban foglaltuk össze.

Hangszalagkitérések mértékének összefoglaló adatai

	Ép oldal	Operált oldal
Kitérések (cm)		
Kutya 1	1,466	1,083
Kutya 2	1,450	0,983
Kutya 3	1,450	0,966
Kutya 4	1,383	0,966
Átlag	1,437	0,999
SD	0,037	0,056
Mérések száma	4	4

A táblázatban négy kutya esetén mért ép és reinnervált oldal hangszalag kitéréseit foglaltuk össze. Látható, hogy a középvonaltól mért kitérés elektromos stimuláció mellett az operált oldalon is megfigyelhető. A kapott kitérések kisebb mértéke abból adódik, hogy a műtét során csak a cricoarytenoideus posterior izom reinnervációja történt.



1. ábra. Tüelektroddal elvezetett elektromos aktivitás az ép és reinnervált gégeizomból. A nyíl a polifázisos akciós potenciálra mutat, mely a reinnervációt jelzi. Hasonló jel a nem reinnervált izmokban nem volt elvezethető

Eredmények

Mind az öt kutyán (reinnervációs csoport) egy év (12–14 hónap) múlva végeztünk vizsgálatokat, a kontroll kutyákon pedig 6 hónap múlva.

Videolaryngoscopia: Normál hangszalag mozgást lehetett mindegyik állatban (reinnervációs csoport) postoperatív megfigyelni. A videofelvételek mind az öt kutyán igazolták a denervált CAP izom mozgásának visszatérését. Tekintettel arra, hogy szelektív reinnervációt végeztünk, csak az abduktor izom mozgása állt helyre. Mivel a többi izom ezen az oldalon bénult volt a hangszalag kissé atrofiasnak mutatkozott. Spontán respiráció és elektromos stimuláció folyamán normál, szimmetrikus hangszalag abdukciót lehetett megfigyelni. A hangszalag kitéréseket, a maximális abdukciós mozgást megmértük és összehasonlítottuk a két oldalt (1. táblázat). Technikai okok miatt 5-ből 4 kutya esetén sikerült ez az adatgyűjtés. Reinnervációt követő hangszalagmozgás 66–74%-a volt az ellenoldalinak.

A denervált csoportban, a NLR komplett átmetése paramedián állásban lévő fix gégefelet eredményezett. A CAP izom bénulása az arytenoid porcok sublúxióját eredményezte. Videolaryngoscopia vizsgálat során a bénított jobb oldali gégefelek esetén 6 hónap múlva nem volt látható hangszalag kitérés sem normál respiráció, sem elektromos stimuláció mellett. A denervált CAP izom sápadtabb, atrofias volt, a glottikus struktúra aszimmetrikus volt mind az izom, elaszticitás és rezisztencia szempontjából

EMG: EMG aktivitást a reinnervált izmokban elektromosan váltottuk ki. Mind az öt kutyában látható volt a CAP izmok reinnervációja, melyet a polifázisos potenciálok megjelenése igazolt, amelyet korábbi reinnervációs kísérletekben is leírtak (9).

Ezek a potenciálok a többi nem reinnervált izomból nem voltak elvezethetőek. Így az EMG felvétel, párhuzamosan végzett videolaryngoscopia megfigyeléssel és felvétellel egyértelműen bizonyította a reinnervációt (1. ábra a, b panele). Ezt támasztották alá a szövettani vizsgálatok is.

Szövettani vizsgálat: az ideg-izom lebeny technikával operált állatok esetén nem volt különbség az ép és a reinnervált izmok között.

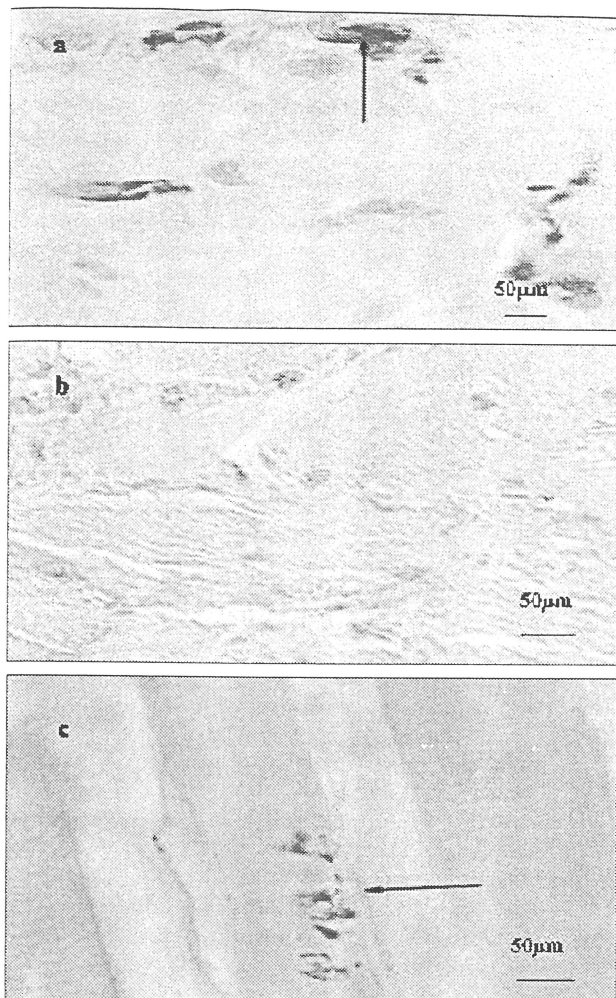
Kis különbség volt az ép és a 6 hónappal korábban denervált izmok megjelenésében. A denervált izom kisebb tömegű volt, de lényeges fibrosis nem lépett fel. Az izomrostok legkisebb átmérőinek átlagértékeit meghatároztuk, a 2. táblázatban foglaltuk össze. Normál esetben is van kis méretbeli ingadozás, ezért meghatároztuk a SD-t. Szignifikáns különbség a reinnervált és az intakt izmok között nem volt. Immunhisz-

2. táblázat

Az izomrostok legkisebb átmérőjének átlagértéke (\pm SD) az ép, a reinnervált és a denervált izmokban

Kutyák sorszám	Musculus cricoarytenoideus posterior izomrost		
	ép	reinnervált	denervált
1	23,13 \pm 5,73	23,06 \pm 11,9	
2	19,25 \pm 4,48	20,45 \pm 5,56	
3	24,23 \pm 5,2	25,14 \pm 5,86	
4	22,28 \pm 4,68	19,85 \pm 4,16	
5	21,62 \pm 4,75	28,62 \pm 5,75	
6	29,18 \pm 6,33		22,82 \pm 4,95
7	28,86 \pm 6,26		23,91 \pm 5,19
8	30,24 \pm 6,56		19,68 \pm 4,27

Meghatároztuk az izomrostok legkisebb átmérőinek átlag értékeit. Normál esetben is van kis méretbeli ingadozás, ezért meghatároztuk a SD-t. Szignifikáns különbség a reinnervált és az intakt izmok között nem volt észlelhető



2. ábra: Ép, denervált és reinnervált izom metszetek. Az a panelen az ép cricoarytenoideus posterior izom keresztmetszete látható, melyen pozitív neurofilament reakció ábrázolódott. Hasonló jel a denervált izmon (b panel) nem igazolódott. Az ábra c panele a reinnervált cricoarytenoideus posterior izom hosszanti metszetét mutatja be. A nyíl a motoros véglemezt jelzi az a panelen is látható neurofilament pozitívítás által

tokémiai reakcióval, melyek a neurofilamentumok kimutatására irányult, igazolta mindkét oldalon az idegrostok és motoros véglemezek jelenlétét (2. ábra a és c panele).

CAP izom atrofia méréseink alapján 6 hónap alatt nem lép fel. Idegrostok, neurofilamentumok vagy motoros véglemezek azonban nem mutathatók ki neurofilament antitesttel történő immunhisztokémiai vizsgálattal.

Megbeszélés

A gégebénulás egy- vagy kétoldali egyaránt lehet. Féloldali bénulás esetén a terápia konzervatív vagy sebészi. Kétoldali bénulás esetén a fulladás és a stridor miatt tracheotomia, arytenoidectomia (4, 23) vagy la-

terofixáció (12) válik szükségessé. Medializáció nem minden esetben biztosít megfelelő hangminőséget, a laterofixáció pedig rontja azt. Ezek alapján a reinnerváció tűnik a legjobb megoldásnak (1). Az ideg-izom lebeny technika a szelektív reinnerváció biztosításával kiküszöbölheti a gégeben fellépő szinkinézist, ami nem ritka NLR sérülés után beindul spontán, nem irányított axonregeneráció miatt (7). A paralizált gégefél remobilizációja érhető el ezzel a technikával anélkül, hogy a NLR rendelkezésre állna, hiszen gyakran az ideg identifikálása és lokalizációja a hegesezés miatt lehetetlen. Reinnervációval a megfelelő izomtónus biztosításával helyreáll a normál hangképzés, arytenoid stabilizáció (16).

Ez nyitott technika, melynek feltétele a CA ízület mobilitása. Alkalmazása azonnal a gégebénulást követően vagy megfelelően szelektált, hosszabb ideje fennálló gégeparézisek esetén ajánlott, amikor spontán javulás egyáltalán nem várható (13). Kísérletünkben gége ideg-izom lebeny technika esetén intakt funkcionáló SH izom motoros véglemezeket viszünk át, amely az ansa cervicalis-t tartalmazza (3). A reinnervált izom mindig az ellátó ideg karakterisztikáját veszi fel, ez alapján kell kiválasztani a donor ideget. Az ansa cervicalis SH izomba lépő ágai vagy a ST izomba lépő ágak azok, amelyek a CAP izom reinnervációjához alkalmazhatók, hiszen ezek az izmok is belégzés során működnek közre aktívabban (5), valamint az idegek megfelelő motoros axonokat tartalmaznak.

A reinnerváló lebeny kiválasztása mellett a másik fontos tényező a műtét megfelelő időzítése. Klinikai gyakorlatban általában jelentős késéssel kerül sor a NLR sérülést követően a terápiára. Beszámoltak már a bénult izom soradásáról már 2 ill. 8 héttel a denervációt követően (20). Ezzel azonban ellentmond, hogy sikeres reinnervációról számoltak be gégebénulást követően 22 és 50 évvel később (24). A reinnerváció sikere a motoros véglemezek degenerációja után kialakult üres neuromuscularis junkciók megléte.

Kísérletünk igazolja, hogy ansa cervicalis-SH izom lebeny a CAP izom szelektív reinnervációjával egy évvel a denervációt követően remobilizáció érhető el. A reinnervált gégefél mozgása 66–74% a kontroll oldallal összehasonlítva. Ez a különbség abból adódik, hogy a reinnervált oldalon csak a CAP izom működése megtartott, az addukció hiányzik. Kontroll oldalon ezzel szemben mind abdukciós, mind addukciós mozgás működik. Reinnervációt igazolták az immunhisztokémiai vizsgálatok is az idegrostok és a motoros véglemezek jelenlétével, a kontroll denervált izmokban ezek hiányoznak, így spontán reinnerváció nem történt.

Több tanulmány igazolta, hogy a CAP izomban denervációt követően 2–3 hét alatt gyors degeneráció megy végbe, viszont ezt követően egy hét alatt visszanyeri eredeti szerkezetét (10). Hat hónap múlva szignifikáns rost átmérő különbség nem volt látható.

Tanulmányunk eredményei alapján az ideg-izom lebeny alkalmazása CAP izom bénulásakor sikeresen alkalmazható. Ezzel a technikával kiküszöbölhetővé válna az arytenoidectomia szükségessége, ezáltal javítható az életminőség, elkerülhető a szinkinézis kialakulása, valamint a nem megfelelő paradox gégefél mozgás.

Köszönetnyilvánítás

Köszönetünket fejezzük ki Dr. Somodi Sándornak a statisztikai elemzések elvégzéséért.

Munkánk az OTKA T 037255, OTKA T 034376, OTKA T 032571 támogatásával készült.

Irodalomjegyzék

1. Brondo K, Javobsen E, Gjellan M, et al.: Recurrent nerve/ansa cervicalis nerve anastomosis: a treatment alternative in unilateral recurrent nerve paralysis. *Acta Otolaryngol (Stockh)* 112, 353-7, 1992.
2. Broniatowski M.: Bionic larynx: electronic control of the reimplanted organ in the dog. *Laryngoscope* 98, 1107-14, 1988.
3. Crumley RL.: Experiments in laryngeal reinnervation *Laryngoscope* 92, 1-27, 1982.
4. Crumley RL.: Muscle transfer for laryngeal paralysis Restoration of Inspiratory vocal cord abduction by phrenic-omohyoid transfer. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 117, 1113-17, 1991.
5. Crumley RL, Izdebski K, McMicken B.: Nerve transfer versus teflon injection for vocal cord paralysis: a comparison. *Laryngoscope* 98, 1200-4, 1998.
6. Debnath I, Rhich JT, Paniello RC.: Intrinsic laryngeal muscle reinnervation using the muscle-nerve-muscle technique. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 117, 382-8, 2008.
7. Green DC, Berke GS, Graves MC, et al.: Physiologic motion after vocal cord reinnervation: A preliminary study. *Laryngoscope* 102, 14-22, 1992.
8. Kano S, Horowitz JB, Sasaki CT.: Posterior cricoarytenoid muscle denervation. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 117, 1019-20, 1991.
9. Kokesh J, Robinson LR, Flint PW, et al.: Correlation between stroboscopy and electromyography in laryngeal paralysis. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 102, 852-7, 1993.
10. Kumai Y, Ito T, Udaka N, et al.: Effects of a nerve-muscle pedicle on the denervated rat thyroarytenoid muscle. *Laryngoscope* 116, 1027-32, 2006.
11. Lai X, Liu Y, Chen L.: The effect of indirect injury to peripheral nerves on wound healing after firearm wounds. *J Trauma* 40, S56-9, 1996.
12. Lichtenberger G.: Laryngeal microsurgical laterofixation of paralyzed vocal cords using a new suture instrument. *Laryngorhinootologie* 68, 678-82, 1989.
13. van Lith-Bijl JT, Stolk RJ, Tonnaer JADM, et al.: Laryngeal ab-

ductor reinnervation with a phrenic nerve transfer a 9-month delay. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 124, 393-8, 1998.

14. Maniglia AJ, Dodds B, Sorensen K, et al.: Newer technique of laryngeal reinnervation: superior laryngeal nerve (motor branch) as a driver of posterior cricoarytenoid muscle. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 98, 907-9, 1989.
15. Miehle A, Schätzle W, Haubrich J.: Animal experiment studies on the problem of the reinnervation of the larynx by vagus-recurrent nerve. *Arch Klin Exp Ohren Nasen Kehlkopfhheilkd* 188, 654-67, 1967.
16. Paniello RC, West S, Lee P.: Laryngeal reinnervation with the hypoglossal nerve I. physiology, histochemistry, electromyography, and retrograde I labeling in a canine model. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 110, 532-42, 2001.
17. Peterson KL, Andrews RJ, Sercarz JA, et al.: Comparison of nerve banking techniques in delayed laryngeal reinnervation. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 108, 689-94, 1999.
18. Rovó L, Czigner J.: Kiegészítő adatok a protektív gégeflex afferentációjáról – az Ansa Galeni anatómiai és neuromyográphiás vizsgálata kutyán. *Fül-orr-gégegyógy* 39, 139-143, 1993.
19. Rovó L, Jóri J, Brzózka M, Czigner J.: Airway complication after thyroid surgery minimally invasive management of bilateral recurrent nerve injury. *Laryngoscope* 110, 140-4, 2000.
20. Shindo ML, Herzon GD, Hanson DG, et al.: Effects of denervation on laryngeal muscles: a canine model. *Laryngoscope* 102, 663-9, 1992.
21. Shiotani A, O'Malley BW Jr, Coleman ME, et al.: Human insulinlike growth factor 1 gene transfer into paralysed rat larynx. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 125, 555-60, 1999.
22. Smith ME, Roy N, Stoddard K.: Ansa-RLN reinnervation for unilateral vocal fold paralysis in adolescents and young adults. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 72, 1311-6, 2008.
23. Thornell WC.: Intralaryngeal approach for arytenoidectomy in bilateral abductor paralysis of the vocal cords: a preliminary report. *Arch Otolaryngol* 47, 505-8, 1948.
24. Tucker HM.: Human laryngeal reinnervation: long-term experience with the nerve-muscle pedicle technique. *Laryngoscope* 88, 598-604, 1978.

ZUSAMMENFASSUNG: Die Verff. untersuchten die Möglichkeit zur selektiven Reinnervation des M.cricoaarytenoideus (m.CAP) mit der Anwendung der Nerv-Muskellappen-Technik. An 5 Mischrassehunden durchtrennten sie den N.laryngeus recurrens (NLR), dann präparierten sie einen Ansa cervicalis-M.sternochoyoideus-Lappen (m.SH), den sie auf den linken CAP-Muskel nähten. An 3 Hunden wurde nur die Denervations-Operation vorgenommen. Die video-laryngoskopischen Aufnahmen beweisen eindeutig die Muskelfunktion des durch den Nerv-Muskellappen reinnervierten m.CAP. Das bestätigen auch die im EMG ausgelösten polyphasischen Potenziale. Mit immunhistochemischer Reaktion (Antineurofilament Antikörper+ Biotin) konnten Neurofilamente und motorische Endplatten bei allen 5 Tieren auf beiden Seiten sichtbar gemacht werden. Die Nerv-Muskellappen-Technik kann bei ein- oder beidseitiger Kehlkopflähmung eine Alternative zur Arytenoidektomie und zur Laterofixation werden und dadurch sowohl die Lebensqualität als auch die Stimmqualität verbessern.

SCHLÜSSELWÖRTER: Nerv-Muskellappen-Technik, selektive Reinnervation, EMG