

근육의 탈신경후 유리 신경이식에 따른 운동신경종판 재생의 초미세형태학적 연구

계명대학교 의과대학 정형외과학교실, 병리학교실*

손승원 · 황석영 · 박관규*

— Abstract —

Ultrastructural Study of New Motor End-Plate Following Implantation of Nerve into Denervated Muscle

Sung Won Sohn, M.D., Suk Young Hwang, M.D., Kwan Kyu Park, M.D.*

Department of Orthopaedic Surgery and Pathology, School of Medicine,
Keimyung University, Taegu, Korea*

In avulsion nerve injuries at the site of the entrance into the muscles, not only loss of muscle function but also nerve repair is impossible because there is no distal stump to approximate with the proximal end. When nerves are implanted directly into normally-innervated muscle a neuromuscular connection is established very rarely. However, motor nerves implanted into denervated muscle consistently establish functionally effective neuromuscular junctions.

For ultrastructural study of regeneration of new motor end-plate, the following operative procedure were carried out on separate groups of adult rats. The denervation of the triceps muscle plus simultaneous implantation of the peroneal nerve into the proximal one-third of the denervated muscle were done.

At 1, 2, 3, 4, 5 and 8 weeks after operation, the implanted nerves were dissected from the surrounding tissues from the point of implantation to their origin. The neuromuscular junction of tibial nerve of the contralateral (normal) side was used as control group. On transmission electron microscopy, there was an initial degeneration of the axons and regional disintegration of the myelin sheaths by 1 week after operation. At the same time, a number of Schwann cells enclosing tiny axon sprouts appeared. By 2 weeks postoperatively, the contact of neuromuscular junction and target muscle was identified. From 2 weeks after operation, the beginning of myelination was observed. One month after operation, the large axon-Schwann cell units gradually divided into individual nerve

* 이 논문은 1992년 동산의료원 특수과제 연구비로 이루어 졌음.

fibers. Eight weeks after operation, many nerve fibers normal in appearance were found.

In conclusion, the axonal maturation coincides with the time of formation of the neuromuscular junction in the target muscles. Also, for good result we improved the surgical technique dividing (under operating microscope) the peroneal nerve in fasciculi and inserted them atraumatically in small slots in the muscle.

Key Words : New motor-end plate, Denervated muscle.

서 론

산업발달에 의한 산업재해 및 교통사고의 증가로 인해 말초신경의 손상이 점차 증가하고 있으며 이의 적절한 치료를 위하여 손상신경의 재생에 대한 연구가 여러 학자에 의해 보고되어 왔다^{1, 2, 4, 7, 8, 11)}.

신경의 재생은 축색과 수초의 재생을 의미하며 손상신경 근위부에서 신경축색의 재생에 의해 이루어진다. 이를 측정하는 방법에는 조직학적인 방법으로 광학 및 전자현미경을 이용하여 재생된 축색의 수와 두께를 측정하는 방법과 재생된 수초의 충판 두께를 측정하는 방법이 있다. 또한 생화학적인 방법으로 수초의 양을 측정하는 방법, 그리고 생리학적 방법으로 신경의 전도속도를 측정하는 방법 등이 있다¹⁸⁾.

신경손상중에서 신경-근 접합부위(neuromuscular junction)의 신경이 견인 손상시는 손상 근육의 정상적인 기능 소실은 물론 손상된 신경의 근위단과 봉합할 원위단이 없어서 신경 봉합술도 불가능하다¹⁴⁾. 이로 인한 근육의 운동장애로 야기되는 개인의 불구, 사회적 손실이 막대함을 고려할 때 이의 적절한 치료에 많은 관심을 기울여야 할 것이다.

정상적으로 신경의 지배하에 있는 근육에 다른 신경을 이식할 때 이식된 신경에 의해 지배 받지 않지만 신경의 견인 손상으로 인한 탈신경 상태의 근육(denervated muscle)은 유리신경 이식 후 이소성 운동신경종판의 형성에 의하여 해부학적, 기능적 접합을 이를 수 있다는 보고들이 있다^{3, 6)}. 그러나 과거의 연구에서는 대부분이 생리학적인 방법인 신경의 전도속도를 측정하는데 근거를 둔 것으로 조직학적인 관찰, 특히 전자현미경적으로 이소성 운동신경종판의 재생양상을 규명한 것은

그리 많지 않다.

이에 저자는 쥐의 탈신경된 하퇴삼두근에 비골신경으로 유리신경이식을 하여 이소성 운동신경종판의 재생유무와 재생시기 및 시간별 변화양상을 전자현미경적으로 관찰을 하고자 본 실험을 하였다.

재료 및 방법

1. 실험 동물

실험 동물로는 암수 구별없이 일정기간 사육하여 외견상 건강이 양호하다고 생각되는 체중 200~300gm 되는 Sprague-Dawley 종 흰쥐를 실험에 사용하였다.

2. 실험 방법

실험군에서 성숙 흰쥐를 Entobar(3mg/100mg) 복강내 주사로 마취하여 고정대에 고정하였다. 슬관절 내측상부에서 근위대퇴부로 피부절개를 가하여 수술현미경(Topcon microscope) 하에서 좌골신경을 노출시키고 그것의 세분지를 박리하여 가장 후측의 경골신경을 견인손상시켰다. 또한 비골신경을 예리하게 절단하여 그 절단단을 각각의 신경섬유속(fasciculus)으로 분리하여 하퇴삼두근(triceps muscle)의 근위 1/3 부위에 터널을 만들어 신경섬유속으로 분리된 신경을 신경초봉합술로 이식 고정하였다. 신경봉합사는 10-0 Nylon을 사용하였으며 조작이 끝난 후 피부봉합을 하였다.

실험 1주, 2주, 3주, 4주, 5주 및 8주 후에 각 군마다 3마리씩 도살하여 이식신경과 근육의 경계조직을 채취하였다. 대조군으로 실험군 도살시 반대편 하지를 이용하여 경골신경의 운동신경종

관을 관찰하였다.

투과전자현미경적 관찰을 위해 조직을 $1\times 1\times 1\text{mm}$ 정도 크기로 세절하여 2.5% glutaraldehyde 용액(0.1M phosphate buffer, PH 7.4)으로 1~4°C에서 2시간 전고정을 하고 0.1M 인산완충용액으로 세척한 후 1% OsO₄ 용액에 2시간 후 고정을 한 뒤 같은 완충용액으로 세척하여 계열 에탄올로 탈수하고 propylene oxide로 치환한 후 Luft 방법⁹⁾에 의한 epon 혼합물로 포매하여 37°C에 12시간, 45°C에 12시간, 60°C에 48시간 동안 열증합을 시켰다. 포매된 조직을 $1\mu\text{m}$ 두께로 박절한 후 toluidine blue 염색을 실시하여 관찰부위를 선택한 다음, 초박절은 Sorvall MT-5000형 ultramicrotome에 Dupont diamond knife를 부착하여 회백색(40~60nm)의 간섭색을 나타내는 초박절 편을 grid에 부착하여 Watson¹⁷⁾ 및 Reynolds¹³⁾ 방법에 의한 uranyl acetate와 lead citrate로 이중전자염색을 실시하여 Hitachi H-600형 투과전자현미경으로 관찰하였다.

결 과

1. 육안적 소견

실험군 전체에서 이식된 신경은 하퇴삼두근의 근위 1/3 부위에 잘 유지되어 있었으며 주위 조직과는 약간의 유착이 있었다. 육안적으로 하퇴삼두근은 대조군의 것과 거의 같았으며 경미한 정도의 섬유화가 관찰되었다. 또한 각각의 실험군에서 하퇴삼두근위축의 현저한 변화를 볼 수 없었으며 시간이 경과함에 따라 주위 조직과의 유착의 정도는 심하였다.

2. 투과전자현미경적 소견

대조군은 슈반세포 주위로 유수신경축색과 무수신경축색이 혼재되어 나타났다(Fig. 1). 1주 군에서는 슈반세포의 세포질내에 지방질 공포 및 공포성 변성이 관찰되었으며(Fig. 2) 탐식세포내에는 다수의 탐식된 수초가 관찰되었다(Fig. 3). 또한 세포간 부종과 염증세포의 침윤도 관찰되었다. 이 시기에 미성숙한 축색의 재생(Axonal sprout)이 관찰되기 시작하였다(Fig. 4). 수초모양의

Fig. 1. Control group. A : axon, M : myelin, S : Schwann cell (TEM, $\times 17000$).

Fig. 2. 1 week after operation, fat droplet in cytoplasm of Schwann cell and myelin-like degeneration (arrows). F : fat droplet, M : myelin (TEM, $\times 13600$).

변성물(myelin-like degeneration)과 약간의 무수신경축색이 있었으며 리소솜도 관찰되었다.

2주 군에서는 다양한 형태와 두께를 가지는 수초의 재생이 처음으로 관찰되었고(Fig. 5) 이들 수초의 일부는 주변부가 불분명하게 보였으며 슈반세포의 세포질내에는 2차 리소솜(secondary lysosome)과 작은 지방질 공포 및 확장된 소포체가 관찰되었으며 가끔 농축된 핵(pyknotic nucleus)도 보였다. 신경축색에는 풍선양 변성(ballooning degeneration)에 의한 것으로 보여지는 낭포성 구조(cystic structure)도 관찰되었다. 재생

Fig. 3. 1 week after operation, myelin phagocytosis by a macrophage cell. M : macrophage (TEM, \times 13600).

Fig. 4. 1 week after operation, many tiny axon sprouts surrounded by Schwann cell cytoplasm (axon-Schwann cell unit). A : axon (TEM, \times 17000).

과정의 운동신경종판과 근육의 접합이 유지되기 시작하였고 수초가 식작용된 것으로 보여지는 것이 대식세포 내에 보였으며, 간질(interstitium)에는 섬유아세포와 교원질의 침착이 관찰되었다.

3주 군에서는 위의 소견과 더불어 점차적으로 수초의 두께가 증가되었으며 형질세포도 관찰되었다(Fig. 6).

4주 군에서는 수초의 재생이 계속되어 그 두께가 대체로 더욱 두꺼워져 있었으며 크기와 모양도 다양하게 나타났다. 운동신경종판의 재생도 더욱 이루어져 축색-슈반세포 단위(axon-Sch-

Fig. 5. 2 weeks after operation, begining of myelin formation (arrows) and contact of neuromuscular junction and muscle (TEM, \times 10200).

Fig. 6. 3 weeks after operation, cystoid degeneration (arrow) of cytoplasm of Schwann cell and increased lamellation of myelin sheath. M : myelin (TEM, \times 25500).

wann cell unit)가 점차 개개의 신경섬유로 분화되었다. 신경섬유에는 곳곳에 낭포성 변화(focal cystic change)와 리소솜 및 수초양 잔류체(myelin-like residual body)도 관찰되었다. 간질에는 대식세포의 침윤과 섬유아세포 및 교원질의 침착이 관찰되었다(Fig. 7).

5주 군에서는 전체적인 수초의 모양이 약간 불규칙하여 부분적으로 그 재생이 불완전한 것도 있으나 그 두께는 성숙 수초와 비슷할 정도로 재생되었다(Fig. 8).

8주 군에서는 대부분의 수초 재생이 이루어져

Fig. 7. 4 weeks after operation, the large axon-Schwann cell units gradually divided into individual nerve fibers (TEM, $\times 3400$).

대조군과 구분하기 힘들 정도의 수준까지 이르렀다(Table 1).

고 찰

신경손상중에서 신경-근 접합부위(neuromuscular junction)에서 신경이 견인 손상시는 손상근육의 정상적인 기능소실은 물론 손상된 신경의 근위단과 봉합할 원위단이 없어서 신경봉합술도 불가능하다⁸⁾. 정상적으로 신경의 지배하에 있는 근육에 다른 신경을 이식할 때 이식된 신경에 의해 지배받지 않지만 신경의 견인 손상으로 인한 탈신경상태의 근육은 유리 신경이식후 이소성 운동신경종판의 재생에 의하여 해부학적, 기능적 접합을 이를 수 있다는 보고들이 있다^{3,6)}. 이는 정

Fig. 8. 5 weeks after operation, the regeneration was close to normal control but their configuration remained irregular (TEM, $\times 4200$).

상적으로 신경의 지배하에 있는 근육은 신경과 근육간의 평형을 이루어 더 이상 운동신경종판의 재생이 일어나지 않지만 탈신경된 상태의 근육은 신경 재생에 대한 능력이 증가(hyper-neurotization)되어 있어서 새로운 운동신경종판의 재생이 용이 하다고 생각되고 있다.

Ide와 Kato⁷⁾는 쥐의 좌골신경에 동결손상후 신경재생에 있어서, 손상된 유수신경축색의 근위부로부터 초기 축색재생(axonal sprouts)에 관여하는 슈반세포 기저층의 중요성을 강조하였다. 말초신경재생의 초기단계에서는 손상받은 신경말단 축색이 벌거벗은 상태로 있다가 점차 근위부에서 재생되어온 미성숙한 슈반세포들이 축색을 따라 이동한다고 하였다. 손상 1~3일후 슈반세포의 세포질돌기(cytoplasmic process)가 기저층(basal

Table 1. Summary of ultrastructural findings

findings	Time sequence					
	1w	2w	3w	4w	5w	8w
inflammatory cells	++	+	+/-	-	-	-
myelin phagocytosis	+++	++	+	+/-	-	-
fat droplet	+	+	-	-	-	-
cystic change	++	+	+	+/-	-	-
fibroblast	-	+	+	-	+	+
individual nerve fiber	-	-	-	+	++	+++
myelin regeneration	+/-	+	++	+++	+/-	-

w : week (s), - : absent, + : mild, ++ : moderate, +++ : severe

laminae)에서 자라나와 슈반세포주(Schwann cell columns)를 형성하며, 좀더 진행되면 재생축색은 개개의 신경섬유로 분리되고 1주가 되면 축색의 유수화가 진행된다고 하였다. 그들은 이러한 슈반세포주의 형성이 축색재생의 기본적인 경로로 설명하고 있다.

본 실험에서는 1주에서 초기 축색재생의 소견을 보였지만 축색의 유수화는 2주에서 처음으로 나타났다. 재생되는 축색의 성장유도에 대해서는 여러가지로 설명하고 있는데, 향신경성(neurotropism), 접촉유도(contact guidance), 화학적 인자(chemical factors)와 기계적인 인자(mechanical factors)등이 있다^{6,12)}. 1951년 Levi Montalcini와 Hamburger¹⁶⁾에 의해 신경성장인자(Nerve growth factor, NGF)가 발견된 이래 손상신경이 지배하는 부위의 조직내에 target-driven neuronotrophic factors(TDNF)라고 불리우는 여러 고유인자가 있어서 근위부 신경원의 생존과 성장촉진에 영향을 미칠 것으로 생각되어져 왔다.

Lundborg 등¹⁰⁾은 쥐를 이용한 실험에서 탈신경 상태의 원위신경절단단이 재생축색의 방향과 성장을 유도한다고 하였다. Varon과 Adler¹⁵⁾은 슈반세포가 신경원의 발생과 신경재생을 촉진시키는 어떤 인자를 유리 시킨다고 하였고 Kuffler⁸⁾는 탈신경된 근육, 즉 근육의 비활동성 자체가 이식된 신경단의 재생을 촉진시킨다고 하였다. 또한 Gurney⁵⁾도 탈신경된 근육이 신경성장인자를 분비하여 신경재생을 촉진시키는 것으로 보고하고 있다.

Alvanou 등²⁾은 토끼의 좌골신경을 절단한 후 다시 신경봉합을 하여 신경재생에 대한 미세구조 연구에서 손상신경 원위부로 신경이 재생되는데에는 슈반세포와 섬유아세포의 활동성이 중요한 역할을 한다고 하였다. 그들은 신경봉합 후 24시간이 지나면 신경축색의 초기변성과 곳곳에 수초의 파괴가 보이며 약간의 수초양 변성(myelin-like degeneration)도 나타난다고 하였으며 이 시기에 섬유아세포의 침투가 시작된다고 하였다. 1주후에는 신경축색이 다양한 정도의 유낭포상 변성(cystoid degeneration)과 그것을 둘러싸고 있는 슈반세포의 세포질내에 다수의 수포와 수포양 변

성물이 보이며 재생하고 있는 유수축색과 무수축색이 관찰된다고 하였다.

이 시기에 섬유아세포와 대식세포의 활동성이 왕성하게 관찰된다고 하였으며 6주가 되면 신경재생이 정상상태와 비슷하다고 보고하였다. 그러나 Feneley 등⁴⁾은 쥐를 이용한 신경재생에 있어서 슈반세포의 전자현미경적 연구에서 1주에는 대식세포의 출현은 있었지만 수초의 파괴가 일어나며 이때 주위에는 탐식세포들이 관찰된다고 하였다. 1주가 되면 탐식세포가 전반적으로 보이며 슈반세포로 둘러쌓인 초기단계의 아주 작은 축색재생(axon sprouts)이 나타나서 축색-슈반세포단위를 형성한다고 하였다. 2주 후부터 수초재생이 되며 3개월 후에는 정상수준과 거의 비슷하게 재생된다고 하였다.

본 실험에서도 1주군에서 탐식세포내의 탐식된 수초와 슈반세포의 세포질내에 지방질 공포 및 공포성변성이 관찰되었으며 미성숙한 축색의 재생이 관찰되었다. 또한 2주 군에서 수초의 재생이 시작되어 위의 소견과 일치하였다. 그러나 섬유아세포의 침투는 1주 군에서는 관찰되지 않았고 2주 군에서 관찰되어 위의 소견과는 일치하지 않았다. 또한 5주 군에서 신경재생이 정상상태와 비슷한 정도로 재생되어 Alvanou 등²⁾의 소견과 일치하였다. 신경섬유의 재생속도는 유수축색이나 무수축색에 관계없이 하루에 1~2mm 재생되는 것으로 알려져 있으며 무수축색의 재생과정은 먼저 초기단계의 미성숙한 축색재생이 일어난 뒤 종적성장, 여분의 미성숙한 축색소실 및 축색성숙의 과정으로 일어난다고 보고되고 있다¹⁾.

축색성숙의 속도는 여러가지 인자에 의해 좌우되는데 신경의 종류, 손상의 정도, 표적기관사이의 거리 및 실험동물의 나이와 종에 따라 달라진다고 알려져 있다¹¹⁾. 이소성 운동신경종판의 형성 시기에 대해서는 Guth 등⁶⁾이 쥐를 이용하여 탈신경된 흥채유돌근에 설하신경을 이식하여 술후 4주부터 새로운 운동신경종판의 형성을 관찰하였으며, 술후 8주에는 근섬유의 38%가 새로운 운동신경종판을 가진다고 하였다. Nahm 등¹¹⁾은 축색성숙의 정도는 정상 신경의 직경으로 회복되는 것이며, 이는 신경근 접합의 형성과도 일치한다

고 하였다. 본 실험에서도 2주군부터 축색과 근육의 접합이 관찰되었으며 5주 군에서 대조군 수초의 두께와 거의 비슷한 수준으로 재생되었다.

이상의 성적과 고찰을 근거로 하면 유리신경 이식 후 1주까지는 염증세포의 침윤, 파괴된 수초의 탐식작용 및 슈반세포의 세포질내에 수초양변성이 주된 소견이며 이때 초기 단계의 미성숙한 축색의 재생이 일어난다. 2주가 되면 수초의 유수화 및 섬유아세포의 침투가 처음으로 관찰되며 수초의 탐식작용 및 수초양변성을 지속되었다. 3주가 되면 염증소견과 수초의 탐식작용은 차츰 소실되기 시작하며 2주째 나타난 수초와 축색의 재생작용이 왕성하게 일어나서 수초의 두께가 증가되었다. 5주가 되면 더 이상의 새로운 신경재생 소견은 거의 볼 수 없었고 정상수초 두께와 비슷하게 재생되어 8주가 되면 대부분의 수초재생이 이루어져 대조군과 구분하기 힘들 정도의 수준까지 이르렀다.

그러나 좀 더 자세하고 객관적인 운동신경종판이 형성시기와 그 기능의 회복정도를 알기 위해서는 조직학적 관찰은 물론 생화학적인 방법으로 수초의 양을 측정하는 방법과 생리학적으로 재생된 신경의 전도속도를 측정하는 것이 필요하리라고 사료된다.

요 약

쥐를 이용한 동물실험에서 탈신경된 근육에 유리신경이식을 하여 운동신경종판재생의 유무와 양상을 전자현미경적으로 관찰을 하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 신경이식 초기단계에서는 염증소견과 수초의 변성이 주로 나타났으며 1주째 미성숙한 단계의 수초의 재생이 나타났다.
2. 수초의 유수화는 2주째 처음으로 관찰되었으며 축색-슈반세포단위가 개개의 신경섬유로 분화되는 것은 4주째였다.
3. 운동신경종판과 근육의 접합은 2주에서 시작되었으며 8주째에서 대부분의 수초재생이 이루어져 신경재생이 완료되었다. 이 시기에 비로서 운동신경종판과 근육이 해부학적, 기능적 접합을 이루는 것으로 사료된다.

신경재생의 좋은 결과를 얻기 위해서는 수술현미경하에서 이식신경의 절단단을 각각의 신경섬유속으로 분리하여 가능한한 손상을 적게 주면서 이식하는 술기가 필요하다고 생각되며 신경이 절단된 후 신경재생에 대한 연구에 비해 비교적 덜 알려진 운동신경종판의 재생유무와 재생시기에 대한 비교적 자세한 변화 양상을 관찰할 수 있어 인체의 경우에도 좋은 정보를 제공하리라 사료된다.

REFERENCES

- 1) 박창일 : 흰쥐의 말초신경 재생에 대한 형태학적 연구. 대한정형외과학회지, 18 : 18-27, 1983.
- 2) Achparaki-Alvanou, A., Manthos, A., Kontopoulos, V., Kerameos-Foroglou, C. and Foroglou, G. : *Ultrastructural study of rabbit sciatic nerve regeneration following experimental excisional transection and autograft reconstruction*. Acta Neurochir, 85 (3-4) : 172-182, 1987.
- 3) Aitken, J.T. : *Growth of nerve implants involuntary muscle*. J. of anatomy, 84 : 38-49,
- 4) Feneley, M.R., Fawcett, J.W. and Keynes, R.J. : *The role of Schwann cells in the regeneration of peripheral nerve axons through muscle basal lamina grafts*. Exp. Neurol. 114 (3) : 275-285, 1991.
- 5) Gurney, M.E. : *Suppression of sprouting at the neuromuscular junction by immune sera*. Nature, Lond, 307 : 546-548, 1984.
- 6) Guth, L. and Zalewski, A.A. : *Disposition of cholinesterase following implantation of nerve into innervated and denervated muscle*. Experi. Neurology, 7 : 316-326, 1963.
- 7) Ide, C. and Kato, S. : *Peripheral nerve regeneration*. Neurosci. Res. Suppl, 13 : 157-164. 1990.
- 8) Kuffler, D.P. : *Regeneration of muscle axons in the frog is directed by diffusible factors from denervated muscle and nerve tubes*. J. of comparative neurology, 281 : 416-425, 1989.
- 9) Luft, J.H. : *Improvement in epoxy resin embedding method*. J. Biophysic Biochem Cytol, 9 : 409-414, 1961.
- 10) Lundborg, G., Dahlin, L.B., Danielsen, N., Ge-

- Iberman, R.H., Longo, F.M., Powell, H.C. and Varon, S.: *Nerve regeneration in silicon chambers: Influence of gap length and of distal stump components*. *Experi. Neurology*, 76: 361-375, 1982.
- 11) Nahm, I., Shin, T. and Chiba, T.: *Regeneration of the recurrent laryngeal nerve in the guinea pig: Reorganization of motor neurons after freezing injury*. *Am. J. Otolaryngol.*, 11 (2): 90-98, 1991.
- 12) Rath, S. and Green, C.J.: *Lack of topographical specificity in sensory nerve regeneration through muscle grafts in rats*. *J. of hand surgery*, 16B: 524-530, 1991.
- 13) Reynolds, E.S.: *The use of lead citrate at high pH as electron opaque stain in electron microscopy*. *J. Cell Biol.*, 17: 208-212, 1963.
- 14) Sakellarides, H.T., Sorbie, C. and James, L.: *Re-innervation of denervated muscles by nerve transplantation*. *Clin. Orthop.*, 83: 194-201, 1972.
- 15) Varon, S. and Adler, R.: *Trophic and specifying factors to neuronal cells*. *Adv. Cell Neurobiol.*, 2: 115-163, 1981.
- 16) Waris, T., Rechardt, L. and Kyosola, K.: *Re-innervation of human skin grafts: A histochemical study*. *Plast. and Reconstr. Surg.*, 72: 439-447, 1983.
- 17) Watson, M.L.: *Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals*. *J. Biophysic Biochem Cytol.*, 226: 475-479, 1958.
- 18) Wong, J.F. and Mattox, D.E.: *Experimental nerve regeneration*. *Otolarynologic Clin. North Am.*, 24: 739-752, 1991.