Structural and functional improvement of snipped sciatic nerve after allograft injection of Schwann cells into fibrin scaffold

Salati A[1, 2], Aboutaleb Kadkhodaeian H[3, 4]

1. Assistant Professor of Tissue Engineering and Applied Cell Sciences, Nervous System Stem Cell Research Center, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran. ORCID ID: 0000-0002-6840-1527
2. Assistant Professor of Tissue Engineering and Applied Cell Sciences, Department of Tissue Engineering and Applied Cell Sciences, Faculty of Medicine, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran.
3. Assistant Professor of Anatomy Sciences, Nervous System Stem Cell Research Center, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran.
4. Assistant Professor of Anatomy Sciences, Department of Anatomical Sciences, Faculty of Medicine, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran (Corresponding author), Tel: +98-233365428, Email: habootaleb92@gmail.com, ORCID ID: 0000-0002-9736-9722

ABSTRACT

Background and Aim: Peripheral nerve injuries are among the most common types of injuries of the nervous system and are regarded as the main cause of disability. These injuries can lead to disorders in muscles movement and normal sense, and also painful neuropathy. Tissue engineering and stem cells therapy are among the treatment methods for these disorders. In this study we assessed sciatic nerve restoration through a silicone tube containing a fibrin scaffold filled with Schwann cells and citicoline by using electromyography and histological methods.

Materials and Methods: 50 adult male Wistar rats were randomly divided into five groups. 1. Silicon tube. 2. Silicon tube with fibrin gel. 3. Silicon tube with Schwann cells. 4. Silicone tube with citicoline. 5. Silicon tube with Schwann cells & citicholine. The left sciatic nerve was cut and a 10 mm gap was created. A silicon tube was placed between the two cut ends of the nerve, as a guide channel. Allografted Schwann cells and citicoline were injected into the guide channel.

Results: The third and fifth groups were significantly different from other groups in regard to the amplitudes of the waves ($P < 0.05$). Also, we found significant decreases in the latency of the waves recorded in the 1st to 4th groups ($P < 0.05$). There was a significant difference between the third and fifth groups in the results of histological examination ($P < 0.05$).

Conclusions: Increased amplitude in the third and fifth groups indicated better restoration of the nerve in these groups. Also reduced latency in the 1st to 4th groups was indicative of regeneration of the sciatic nerve. Histologic results revealed increased number of recovered axons in the fifth group which was indicative of the better outcome of the combination therapy.

Keywords: Schwann cell, Fibrin scaffold, Citicholine, Silicone tube, Electromyography, Sciatic nerve

Received: Jan 14, 2019 **Accepted:** June 12, 2019

How to cite the article: Salati A, Aboutaleb Kadkhodaeian H. Structural and functional improvement of snipped sciatic nerve after allograft injection of Schwann cells into fibrin scaffold. SJKU 2019;24(3):67-84.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-13]

[DOI: 10.29252/sjku.24.3.67]

بهبود ساختار و عملکرد عصب سیاتیک قطع شده بعد از تزریق آلوگرافت سلول‌های شوان به درون داربست فیبرینی

امیر سلاطی[۱،۲]، حمید ابوطالب کدخداییان[۳،۴]

۱. استادیار مهندسی بافت و علوم سلولی کاربردی، مرکز تحقیقات سلول های بنیادی سیستم عصبی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران. شناسه ارکید: ۱۵۲۷-۶۸۴۰-۰۰۰۲-۰۰۰۰

۲. استادیار مهندسی بافت و علوم سلولی کاربردی، گروه مهندسی بافت و علوم سلولی کاربردی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران.

۳. استادیار علوم تشریح، مرکز تحقیقات سلول های بنیادی سیستم عصبی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران.

۴. استادیار علوم تشریح، گروه علوم تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران (مولف مسئول). تلفن ثابت: ۰۲۳-۳۶۶۰۹۵۰۸، پست الکترونیک: habootaleb92@gmail.com، شناسه ارکید: ۹۷۲۲-۹۷۳۶-۰۰۰۲-۰۰۰۰

چکیده

زمینه و هدف: صدمات اعصاب محیطی جز شایع‌ترین آسیب‌های سیستم عصبی هستند و بزرگترین علت ناتوانی به شمار می آیند. این آسیب‌ها موجب اختلال در توانایی حرکات عضلات، حس طبیعی و نوروپاتی دردناک می‌شود. یکی از روش‌های درمانی در این موارد استفاده از مهندسی بافت و سلول درمانی است. در این تحقیق ترمیم عصب سیاتیک از طریق لوله سیلیکونی حاوی داربست فیبرینی پر شده با سلول‌های شوان و داروی سیتی کولین و با استفاده از الکترومیوگرافی و روش‌های بافتی مورد بررسی قرار گرفته است.

روش بررسی: ۵۰ سر رت نر نژاد ویستار به طور تصادفی به پنج گروه تقسیم شدند.۱) لوله سیلیکون ۲) لوله سیلیکون به همراه ژل فیبرین ۳) لوله سیلیکون به همراه سلول‌های شوان ۴) لوله سیلیکون به همراه سیتی کولین ۵) لوله سیلیکون به همراه سلول‌های شوان و سیتی کولین. عصب سیاتیک چپ به اندازه ۱۰ میلی متر قطع و به عنوان کانال برای ترمیم فاصله ایجاد شده استفاده شد. سلول‌های شوان آلوگرافت کشت داده شده و داروی سیتی‌کولین به درون لوله تزریق شدند.

یافته‌ها: دامنه موج الکتریکی ثبت شده در گروه سوم و پنجم تفاوت معنی داری با سایر گروه‌ها دارد ($P<۰/۰۵$). همچنین تاخیر در هدایت موج الکتریکی ثبت شده در گروه‌های یک تا چهار کاهش معنی داری را نشان می‌دهد در بررسی بافتی بین گروه‌های سوم تا پنجم تفاوت معنی داری وجود دارد ($P<۰/۰۵$).

نتیجه گیری: افزایش دامنه موج در گروه‌های سوم و پنجم بیانگر ترمیم بهتر عصب در این گروه ها می‌باشد. کاهش تاخیر در هدایت موج الکتریکی در گروه‌های یک تا چهار نیز نشان دهنده تر میم عصب می‌باشد. همچنین افزایش تعداد اکسون‌های ترمیم شده در گروه پنجم نشان دهنده نتیجه بهتر درمان ترکیبی است.

کلید واژه ها: سلول شوان، داربست فیبرینی، سیتی کولین، لوله سیلیکون، الکترومیوگرافی، عصب سیاتیک

وصول:۹۷/۱۰/۲۴ اصلاحیه نهایی: ۹۸/۳/۱۹ پذیرش: ۹۸/۳/۲۲

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-13]

[DOI: 10.29252/sjku.24.3.67]

مقدمه

در صدمات عصبی شدید مطالعات هدایت عصب و الکترومیوگرافی شاهدی بر تمامیت عصبی هستند. همچنین در مورد زمان و مقدار بهبودی عصب اطلاعات قابل اعتمادی فراهم می‌کنند. بهبودی آسیب عصب محیطی از طریق سه مکانیسم صورت می‌گیرد: ۱) ساخت مجدد میلین(remyelination) ۲) تشکیل مخروط جانبی اکسون‌ها (collateral sprouting) و ۳) ترمیم از قسمت پروکسیمال محل ضایعه. ساخت مجدد میلین سریعترین فرآیند جبرانی است و در عرض ۱۲-۲ هفته صورت می‌گیرد و بستگی به وسعت ضایعه دارد. در طی تخریب قسمت‌های دیستال اکسون ضایعه دیده، مخروط های جانبی که در همسایگی اکسون‌های سالم قرار دارند، از این اکسون‌ها عصب دریافت کرده و به عضلات مربوط به آنها می روند. این فرآیند ۶-۲ ماه طول می‌کشد (۱). در صدمات شدید اکسونی، جوانه‌های جانبی برای فراهم نمودن عصب برای تمامی رشته‌های عضلانی کافی نیستند. در این موارد، ترمیم بیش از ۱۸ ماه طول می‌کشد. مطالعات هدایت عصب (NSC) و الکترومیوگرافی(EMG) در ارزیابی اختلالات عصبی لازم و ضروری می‌باشند (۲). این مطالعات در متمرکز نمودن محل ضایعه مفید هستند. همچنین در تشخیص قطع هدایت عصبی(neurapraxia) در اکسون‌های تخریب شده مفید هستند (۳).

در طی اکسونوتمزیز و نوروتمزیز ارتباط پریکاریون و اکسون قطع می‌شود و سطح کلسیم داخل اکسونی افزایش می‌یابد، قطعات اکسونی جدا شده متورم می‌شوند و پاسخ دهی الکتریکی در طی ۱۲-۵ روز بعد از آسیب کاهش می‌یابد (۱). زمان مورد نیاز برای بهبود آسیب عصبی به نوع صدمه و همچنین همکاری بین ساخت مجدد میلین، تشکیل جوانه جانبی و ترمیم اکسونی وابسته است. برگشت مجدد هدایت عصبی بعد از نورآپراکسیا وابسته به ساخت مجدد میلین محل آسیب دیده است. زمان بهبود به فاصله ضایعه از عضلات بدون عصب شده وابسته است. سرعت ترمیم دیستال ۲-۱ میلی متر در روز می‌باشد (۴). پیش نیاز ترمیم عصبی، لوله‌های تشکیل شده توسط سلول‌های شوان سالم است که مخروط رشد را به سمت عضلات هدف حمایت و راهنمایی می‌کند. لوله‌های سلول‌های شوان، ۲۴-۱۸ ماه زنده باقی می‌مانند. درصورتی که اکسون به اندام هدف خود نرسد این لوله ها تخریب و از بین می‌روند (۵).

در حال حاضر اتوگرافت عصبی، استاندارد طلایی برای ضایعات عصبی دارای فاصله در نظر گرفته می‌شود. این نوع گرافت ها بدلیل سازگاری زیستی مناسب و سمیت کمتر ساختاری مناسب برای اتصال سلولی و مهاجرت آنها فراهم می‌کنند. اما دارای محدودیت‌هایی هستند از جمله این که موجب کاهش عملکرد، تشکیل نوروما در محل پیوند، و انجام جراحی‌های متعدد می‌شود. در گرافت‌های اتولوگ، عدم تطابق در اندازه بین عصب دهنده و گیرنده مشکل اصلی است (۶). بنابراین هم‌اکنون تمایل به سمت تکامل تکنیک‌هایی است که موجب ارتقا کیفیت پیوند عصب شود.

برای جایگزینی اتوگرافت‌ها جهت ترمیم عصب محیطی، طیف وسیعی از مواد طبیعی استفاده شده است. مثل استخوان،گرافت عضله،گرافت‌های وریدی،گرافت‌های تاندونی،گرافت های ترکیبی عضله _ ورید (۷). اما تمامی این روش‌ها دارای نقص هستند.کانال‌های هدایت کننده عصب که از مواد سنتتیک ساخته می‌شوند در این گونه موارد بسیار مفید هستند (۸). این کانال‌ها بدلیل قطر بیشتر نسبت به عصب آسیب دیده اجازه رشد مخروط آکسونی به طرف انتهای عصب را فراهم می‌کنند. علاوه بر این برای محدود کردن مهاجرت سلول‌ها و زوائد مخروطی درون محدوده لوله، فضایی برای افزایش موضعی غلظت فاکتورهای رشد ایجاد می‌کنند و همانند یک سد عمل نموده تا از ورود فیبروبلاست ها و دیگر موارد مهاری یا تشکیل دهنده اسکار که موجب مهار فرایند ترمیم طبیعی می‌شوند عمل می‌کنند (۹). استفاده از کانال‌های هدایت کننده عصب موجب کاهش فشار در خط بخیه می‌شود. همچنین فضای درون لوله را می‌توان با ماتریکس رشد، فاکتورهای رشد، سلول‌های مناسب و یا داروهای سنتتیک موثر پر نمود (۱۰).

در ترمیم اعصاب محیطی صدمه دیده از سلول‌های مختلفی استفاده می‌شود مثل سلول‌های مغز استخوان، فیبروبلاست، سلول-

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-13]

[DOI: 10.29252/sjku.24.3.67]

های بنیادی فولیکول مو و سلول‌های شوان (۱۱). سلول‌های شوان که مسئول تولید غلاف میلین اطراف اکسون ها هستند در صورت آسیب عصب فعال شده و موجب بوجود آمدن بستری جهت مهاجرت آکسون ها می‌شوند (۱۲). این سلول‌ها فاکتورهای فعال کننده ای رها می‌کنند که مهاجرت عصب را افزایش می‌دهند. بطور مثال مولکول‌های ماتریکس خارج سلولی همانند لامینین ویا تعدادی مولکول چسبنده سلول عصبی (N-CAM) وکلاژن تولید می‌کنند (۱۳). سلول‌های شوان مخلوطی از مولکول‌های نوروتروفیک مثل فاکتور رشد عصب (NGF)، فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز (BDNF) و فاکتور نوروتروفیک سیلیاری (CNTF) سنتز می‌کنند (۱۴). استفاده از سلول های شوان در بای پس‌های (NGC) که کانال فیبرینی تولید می‌کنند موجب تسریع در تشکیل طناب‌های بونگنر شده و یک منبع مداوم از فاکتورهای نوروتروفیک تولید می‌شود که موجب افزایش کیفیت ترمیم عصب می‌شود (۱۵).

سیتی‌کولین دارویی است که در صدمات نورو دژنراتیو سیستم عصبی مرکزی موثر است. این دارو موجب کاهش شکسته شدن غشای سلولی و تولید اسیدهای چرب آزاد و تولیدات سمی بافت صدمه دیده می‌شود و همچنین سیتی کولین موجب ارتقا بقا ویا ترمیم نورون‌های صدمه دیده می‌شود که بعداز قطع عصب سیاتیک ازبین رفته اند (۱۶). سیتی‌کولین به طور واضح موجب کاهش تولید اسکار بعد از قطع عصب سیاتیک و پیوند توسط بخیه می‌شود (۱۷). بنابراین در این طرح برای اولین بار از ترکیب همزمان سلول‌های شوان و داروی سیتی کولین با استفاده از داربست لوله ای سیلیکونی پر شده با فیبرین برای ترمیم عصب سیاتیک در مدل قطع عصب استفاده شده است.

روش بررسی

حیوانات

در این تحقیق تعداد ۵۰ سر موش صحرائی نژاد ویستار با وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرم که از انستیتو پاستور تهران تهیه شدند مورد استفاده قرار گرفت. در مدت تحقیق حیوانات در حیوان خانه دانشگاه علوم پزشکی سمنان در شرایط نور، آب و غذای مناسب و در قفس‌های پلاستیکی نگهداری شدند.

گروه بندی حیوانات

حیوانات به ۵ گروه تقسیم شدند که عبارتند از:

۱- گروه لوله سیلیکون به تنهایی (Silicon). عصب سیاتیک چپ به اندازه ۱۰ میلی متر قطع و به اندازه ۱۲ میلی متر از لوله سیلیکون به دو سر عصب قطع شده دوخته شد.

۲- گروه لوله سیلیکون به همراه ژل فیبرین (Silicon + Fibrin). عصب سیاتیک چپ به اندازه ۱۰ میلی متر قطع و به اندازه ۱۲ میلی متر از لوله سیلیکون به دو سر عصب قطع شده دوخته شد و ۰/۲ میلی لیتر از ژل فیبرین درون لوله تزریق شد.

۳- گروه لوله سیلیکون به همراه سلول‌های شوان (Silicon + Fibrin + Schwann cells). عصب سیاتیک چپ به اندازه ۱۰ میلی متر قطع و به اندازه ۱۲ میلی متر از لوله سیلیکون به دو سر عصب قطع شده دوخته شد و تعداد ۱×۱۰^{۵} سلول شوان بدرون لوله سیلیکون تزریق شد.

۴- گروه لوله سیلیکون به همراه داروی سیتی کولین (Silicon + Fibrin + Citicoline). عصب سیاتیک چپ به اندازه ۱۰ میلی متر قطع و به اندازه ۱۲ میلی متر از لوله سیلیکون به دو سر عصب قطع شده دوخته شد و ۰/۲ میلی لیتر از سیتی کولین بدرون لوله تزریق شد.

۵- گروه لوله سیلیکون به همراه سلول‌های شوان و داروی سیتی کولین (Silicon + Fibrin + Schwann cells+ Citicoline). عصب سیاتیک چپ به اندازه ۱۰ میلی متر قطع و به اندازه ۱۲ میلی متر از لوله سیلیکون به دو سر عصب قطع شده دوخته شد و تعداد ۱×۱۰^{۵} سلول شوان و ۰/۲ میلی لیتر سیتی کولین بدرون لوله تزریق شد.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-13]

[DOI: 10.29252/sjku.24.3.67]

روش کشت سلول‌های شوان

برای کشت سلول‌های شوان از روش ون و همکاران با تغییراتی استفاده شد (۱۸). ابتدا رت ها با استفاده از کتامین و زایلزین بیهوش شدند، پوست کنار زده شد و عصب سیاتیک نمایان شد. با استفاده از قیچی عصب سیاتیک بریده شد و برای جلوگیری از اتصال مجدد دو انتهای بریده شده، با استفاده از نخ بخیه انتهای دیستال عصب به بافت اطراف دوخته شد. سپس پوست حیوان دوخته شد. یک هفته بعد از قطع عصب، مجدد حیوان بیهوش شد پس از باز کردن پوست و کنار زدن عضله دو انتهای عصب سیاتیک قطع شده مشخص شد. اتصال قطعه دیستال به بافت اطراف جدا گردید و با استفاده از قیچی ۱ سانتی متر از عصب سیاتیک (قطعه دیستال) بریده و درون دیش حاوی استرپتومایسین-پنی سیلین-PBS قرار داده شد. سپس در زیر میکروسکوپ اپی نوریوم عصب جدا و آماده هضم سلولی شد. قطعه عصب آماده شده بدین ترتیب به زیر هود انتقال داده شد و در دیش‌های حاوی آنتی بیوتیک و PBS شستشو داده شد و درون لوله حاوی محیط کشت DMEM محتوی gr۰ ۰/۰۱۲۵کلاژناز و gr ۰/۰۱ دیسپاز قرار داده شد. قطعه عصب جدا شده به همراه محیط کشت و آنزیم به مدت ۴-۳ ساعت درون انکوباتور قرار داده شد. سپس لوله فالکون از انکوباتور خارج و به مدت 5 دقیقه و با دور موتور ۲۰۰۰ سانتریفوز شد. بعد از سانتریفوژ مایع رویی خارج و به آن محیط کشت بدون آنزیم اضافه شد. بعد از سوسپانسیون نمودن آنها بدرون فلاسک T-25منتقل شدند و FBS % ۱۰ اضافه و دورن انکوباتور قرار داده شد. محیط کشت سلول ها هر ۴۸ ساعت یکبار تعویض شد.

روش ایمونوسیتوشیمی سلول‌های شوان

سلول‌ها کشت داده شده در پاساژ سوم، سه بار و به مدت ۶ دقیقه در محلول PBS شستشو داده شدند. بعد از فیکس نمودن توسط پارافورمالدئید ۴ درصد، به مدت ۳۰ دقیقه درون محلول بلوک کننده قرار داده شد. سلول ها یک شب در دمای ۴ درجه با آنتی بادی اولیه (Rabbit Anti-S100, Dakocytomation, sigma) به نسبت ۱ به ۵۰۰ در PBS +0.3% Triton X + 10% Normal Goat Serum) انکوبه شدند. در مرحله بعد سلول‌ها سه بار به مدت ۱۰ دقیقه درون PBS شستشو داده شدند. سپس به سلول‌ها آنتی بادی ثانویه (goat Anti-Rabbit IgG-AF 568) به نسبت ۱ به ۱۰۰۰ یا FITC اضافه شد و به مدت ۱ ساعت در دمای اتاق انکوبه شدند. در انتها سلول‌ها مجددا سه بار و به مدت ۱۰ دقیقه شستشو داده شدند و توسط گلیسرول بافر فسفات روی لامل چسبانیده شدند و توسط میکروسکوپ فلوئورسنت Olympus مشاهده شدند.

روش ساخت داربست فیبرینی و جراحی در گروه‌های مورد مطالعه

پس از نمایان ساختن عصب سیاتیک چپ و جداسازی آن از بافت همبند اطراف به اندازه ۱۰ میلی متر از عصب قطع شد و دو انتهای پروکسیمال و دیستال آزاد بوجود آمد. سپس ۱۲ میلی متر از لوله سیلیکون (قطر داخلی ۲ میلی متر) حاوی داربست فیبرینی وارد محل جراحی شد. برای تهیه داربست، ابتدا لوله سیلیکون به اندازه ۱۲ میلی متر جدا و اتوکلاو شد و در زیر هود فیبرینوژن به درون آن تزریق شد. با استفاده از سرنگ انسولینی ابتدا فیبرینوژن بدرون لوله تزریق شد و سپس با استفاده از سرنگ دیگری ترومبین وارد لوله شد طوری که با فیبرینوژن درهم آمیخته شد. لوله پر شده در زیر هود به مدت ۴-۳ دقیقه قرار داده شد تا داربست ژل فیبرینی و شبکه مورد نظر آماده شد. این لوله در محل جراحی با استفاده از نخ بخیه ابتدا انتهای پروکسیمال آن به اپی نوریوم قطعه پروکسیمال عصب دوخته شد و متعاقبا انتهای تحتانی آن به قطعه دیستال عصب دوخته شد. جهت اطمینان از اینکه عصب وارد لوله شده است و پس از بخیه زدن از درون لوله خارج نشده است، مقدار ۱ میلی متر از عصب در هر طرف وارد لوله شد. پس از اتمام کار لوله سیلیکونی در بین عضلات و در مسیر عصب سیاتیک قرار داده شد. در گروه دریافت کننده سیتی کولین، gr ۰/۰۰۵۴۶۳ از پودر سیتی کولین درون ۱۰ سی سی آب مقطر حل شد و محلول حاصل در زیر هود فیلتر شد. غلظت داروی حاصل µmol/lit ۱۰۰ و برای هر رت در گروه-های مورد مطالعه ۰/۲ میلی لیتر بدرون لوله سیلیکون تزریق شد. در گروه دریافت کننده سلول، ابتدا سلول ها تریپسینه شده و درون لوله فالکون به مدت ۵ دقیقه و با دور موتور ۱۵۰۰

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-13]

[DOI: 10.29252/sjku.24.3.67]

سانتریفوژ شدند. بعد از سانتریفوژ، مایع رویی خارج و پلت سلولی با مارکر سیتوپلاسمی و غشای سلولی DiI نشان‌دار شد. بطور خلاصه، سلول ها با ۲۵۰ میکرولیتر PBS شستشو داده شدند و به آن ۱/۵ میکرولیتر محلول DiI اضافه شد. سپس لوله که حاوی پلت سلولی و PBS و DiI بود به مدت ۲۰ دقیقه درون انکوباتور قرار داده شد. مجددا سلول ها ۵ دقیقه و با دور موتور ۱۵۰۰ سانتریفوژ شدند. مایع رویی تخلیه شد و به آن PBS اضافه شد و به حالت سوسپانسیون وارد سرنگ انسولینی شدند و به درون لوله سیلیکونی تزریق شدند. بعد از اتمام کار، پوست حیوان توسط نخ بخیه ۴-۰ دوخته شد. در انتها محل بخیه ضد عفونی شد و حیوان درون قفس و در محیط گرم قرار داده شد تا بهوش آید.

روش الکترومیوگرافی (EMG)

۸ الکترومیوگرافی از رت‌ها بر اساس روش آلفورد و همکاران (۱۹) با کمی تغییرات انجام شد. هفته بعد ازتزریق سیتی‌کولین و سلول‌های شوان در گروه‌های مختلف، جهت تایید اتصال دو قطعه پروکسیمال و دیسال عصب و کارایی عصب ترمیم شده، از تست الکترومیگرافی استفاده شد. برای این کار ابتدا رت ها بیهوش و پوست محل جراحی باز شد. پوست تا قسمت پایین ساق باز شد تا عضله گاسترکنمیوس (GC) برای EMG در دسترس قرار گیرد. سپس لوله سیلیکون جایگزاری شده مشخص شد. در انتهای پروکسیمال لوله، دو الکترود تحریک دهنده Stimulator Electrodes قرار داده شد. الکترود زمین Ground Electrodes نیز وارد قسمت شکمی رت شد. سپس دو الکترود دریافت کننده Recording Electrodes بر روی عضله گاستروکنمیوس و زانوی رت قرار داده شد. پاسخ ثبت شده شامل Amplitude و Latency است. پس از اتمام کار قسمت جراحی شده را که شامل لوله سیلیون و عصب درون آن می باشد برداشته و وارد محلول فیکساتیو جهت بررسی بافتی شد.

روش رنگ آمیزی بافتی

۸ هفته بعد از جراحی، سه موش از هر گروه به طور تصادفی انتخاب و پس از باز نمودن پوست و کنار زدن عضلات، لوله سیلیکونی حاوی عصب ترمیم شده نمایان شد و پس از جداسازی لوله از بافت اطراف، دو انتهای عصب بریده شد و لوله جدا گردید. سپس توسط تیغ بیستوری برشی طولی در لوله ایجاد شد و عصب درون لوله خارج گردید و درون گلوتار آلدئید ۲/۵ درصد به عنوان pre _ fix قرار داده شد. بعد از شستشوی نمونه ها توسط بافر فسفات سالین ۰/۱ مولار به مدت ۱۵ دقیقه مراحل بافتی انجام گرفت. با استفاده از دستگاه اولترامیکروتوم (leica_ ultracut) از بلوک‌ها برش‌های ۵۰۰ نانومتری تهیه گردید. برش‌ها روی لام تمیز منتقل و اجازه داده شد تا کاملا خشک شوند. سپس با چند قطره محلول رنگ تولوئیدین بلو ۱ درصد رنگ شدند. بعد از شستشوی لام با آب مقطر و خشک شدن آن بر روی لام، با میکروسکوپ نوری (Olympus,PROVIS Ax 70, Japan) و با دوربین (Olympus DP11, Japan) با بزرگنمایی 400X تصاویر تهیه شد و سپس تصاویر با گرید ۵۰ میکرومتر تقسیم بندی شد. در هر گروه، شش نمونه لام تهیه شد و در هر نمونه سه گرید انتخاب شد و تمامی اکسون‌های موجود (دارای میلین و فاقد میلین) شمارش شدند و میانگین اعداد بدست آمده به عنوان تعداد اکسون-های آن گروه در نظر گرفته شد. همچنین برای ردیابی سلول‌های شوان تزریق شده، بعد از باز نمودن لوله‌های سیلیکونی، بافت ترمیم شده توسط OCT قالب گیری شد و بوسیله دستگاه کرایواستات برش گیری شد. بعد از انجام پروسه بافتی، نمونه ها توسط میکروسکوپ فلوئورسنت مورد مشاهده قرار گرفتند.

روش آماری

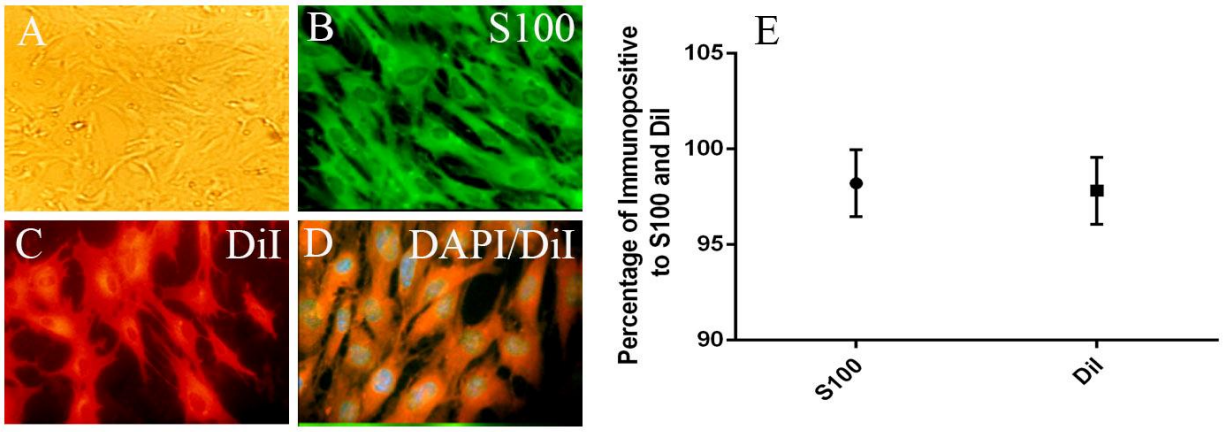
داده‌های آماری حاصل ابتدا توسط آزمون Clomogrove-smirnove نرمال بودن آن‌ها بررسی شد و با توجه به (P>۰/۰۵) بدست آمده، آزمون آماری واریانس یک‌طرفه (ANOVA) با آزمون post hoc Tukey's با استفاده از نرم‌افزار SPSS16.1 استفاده شد و سطح معنی‌داری(P<۰/۰۵) در نظر گرفته شد.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-13]

[DOI: 10.29252/sjku.24.3.67]

یافته ها

سلول‌های شوان به عنوان سلول گلیال در بافت عصبی محیطی هستند و توانایی تقسیم بالایی دارند. این سلول‌ها در محیط کشت قابلیت جداسازی و تکثیر و تمایز دارند. این سلول ها در پاسخ به آسیب وارد شده شروع به تقسیم نموده و تعداد آنها افزایش می یابد. این سلول ها در محیط کشت به صورت فیبروبلاسیت و دوکی شکل دیده می‌شوند (شکل ۱. A). این سلول‌ها در محیط کشت فاکتور S100 که به طور اختصاصی در این سلول ها ترشح می‌شود را بیان می‌کنند (شکل ۱. B ۲±۹۸٪). سلول‌های شوان را می‌توان به عنوان یک عامل درمانی در سلول درمانی استفاده نمود. این سلول‌ها نسبت به مارکر سیتوپلاسمی و غشای سلولی DiI واکنش داده و نشان دار می‌شوند (شکل ۱. C, D ۲±۹۷٪).



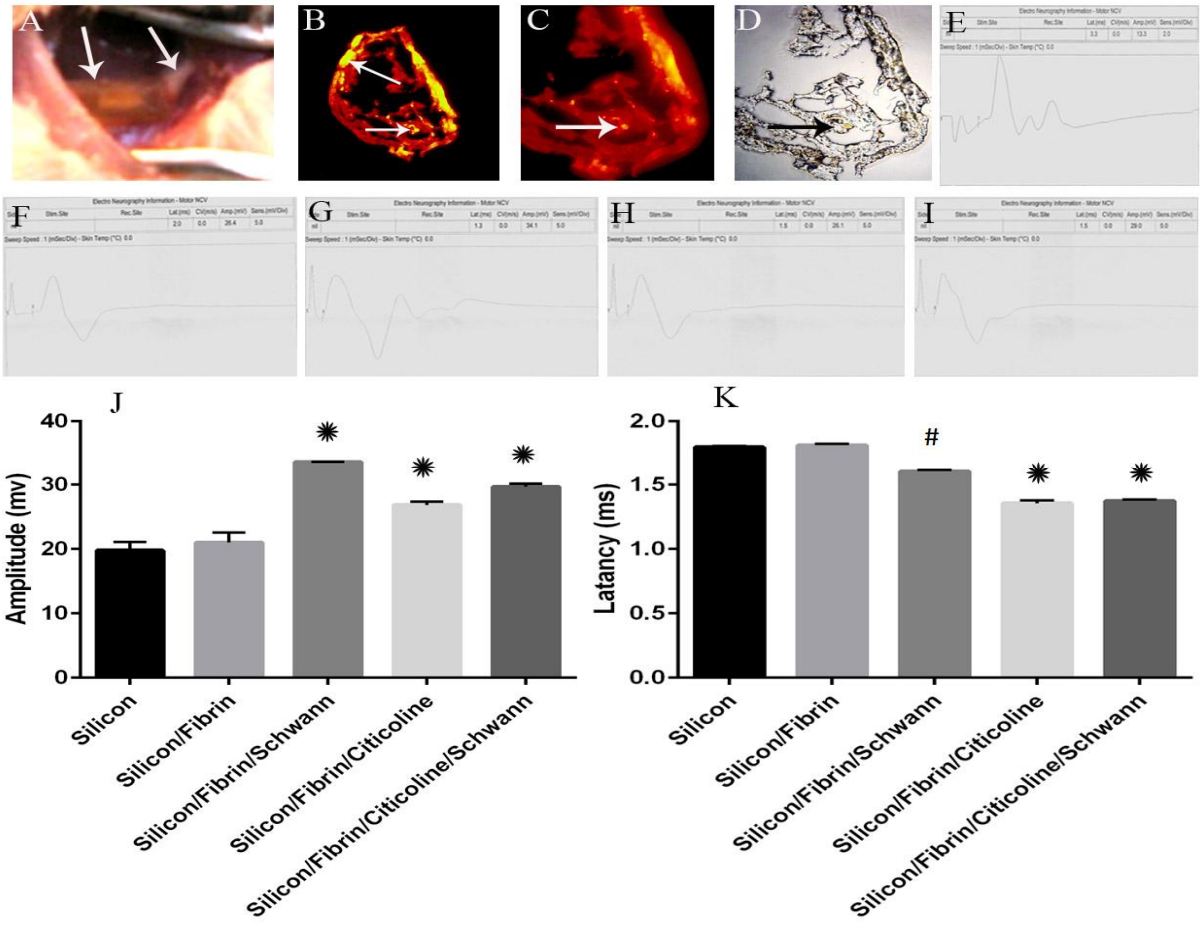
شکل ۱: سلول‌های شوان کشت داده شده و بیان مارکر اختصاصی آن. سلول‌های شوان در پاساژ سوم (A) به صورت سلول‌های دوکی شکل دیده می‌شوند. این سلول ها مارکر اختصاصی سلول‌های شوان (B) را نشان می‌دهند. این سلول‌ها توسط مارکر سیتوپلاسمی (DiI) نشان‌دار شده و هسته این سلول ها توسط مارکر DAPI (D) نشان دار شده است. E درصد بیان مارکر اختصاصی سلول شوان، S100، و سلول نشان دار شده با DiI را نشان می‌دهد. بزرگنمایی ۲۰۰ میکرومتر برای A-D

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-13]

[DOI: 10.29252/sjku.24.3.67]

ایمونوهیستوشیمی عصب بعد از ترمیم

۸ هفته بعد از جایگزاری لوله سیلیکونی حاوی ژل فیبرین و سلول‌های شوان (شکل ۲. A-D)، نمونه عصب سیاتیک ترمیم شده خارج شد و سلول‌های نشان دار شده توسط مارکر DiI پیوند شده ردیابی شدند. تصاویر نمونه‌های ایمونوهیستوشیمی (شکل ۲. B-D) نشان می‌دهند که سلول‌ها شوان نشان دار شده بعد از پیوند توانسته اند در محیط پیوند شده زنده مانده و شروع به مهاجرت نمایند. این سلول ها تقریبا در تمامی قسمت ها لوله از جمله در مرکز و در محیط لوله سیلیکونی دیده می‌شوند. این یافته نشان می‌دهد که سلول‌ها شوان پیوند شده توانایی بقا و مهاجرت در محیط آسیب دیده عصبی را دارند. تجمع سلول‌های پیوند شده بیشتر در محیط لوله دیده می‌شود و کمتر در مرکز قرار دارند.



شکل ۲: قرارگیری سلول‌های شوان تزریق شده در لوله سیلیکونی در گروه‌های مختلف و تاثیر بر میزان دامنه موج و تاخیر در هدایت عصبی. A-D سلول-های شوان نشان دار شده با مارکر DiI در محل ترمیم پس از ۸ هفته با ضخامت ۷ میکرون را نشان می‌دهد. با این روش حضور سلول‌های شوان در محل ترمیم به اثبات می‌رسد. شکل D، فاز کنتراست تصویر C را نشان می‌دهند

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-13]

[DOI: 10.29252/sjku.24.3.67]

فلش ها در B, C سلول‌های شوان نشان دار توسط DiI را نشان می‌دهند. سلول ها بیشتر در حاشیه مقطع دیده می‌شوند که بدلیل چسبیدن سلول های شوان به دیواره لوله سیلیکون می‌باشد (بزرگنمایی برای C, D × ۴۰۰ و برای B ×۴۰) E-I. تصاویر موج ثبت شده در عصب ترمیم شده در گروه‌های مختلف بعد از ۸ هفته را نشان می‌دهد و اختلاف بین دامنه موج و تاخیر در هدایت امواج را در گروه ها نشان می‌دهد. J, K نمودار هیستوگرام مقایسه بین میانگین دامنه موج الکتریکی و تاخیر در هدایت موج الکتریکی ثبت شده بر حسب میلی ثانیه در گروه‌های مورد مطالعه را نشان می‌دهد* اختلاف معنی دار در دامنه موج و تاخیر هدایت موج الکتریکی را در مقایسه با گروه سیلیکون و گروه سیلیکون دریافت کننده فیبرین را نشان می‌دهد (J, K). همچنین # اختلاف معنی دار در تاخیر هدایت موج الکتریکی را در مقایسه با گروه سیلیکون و گروه سیلیکون دریافت کننده فیبرین را نشان می‌دهد (K).

نتایج الکترومیوگرافی

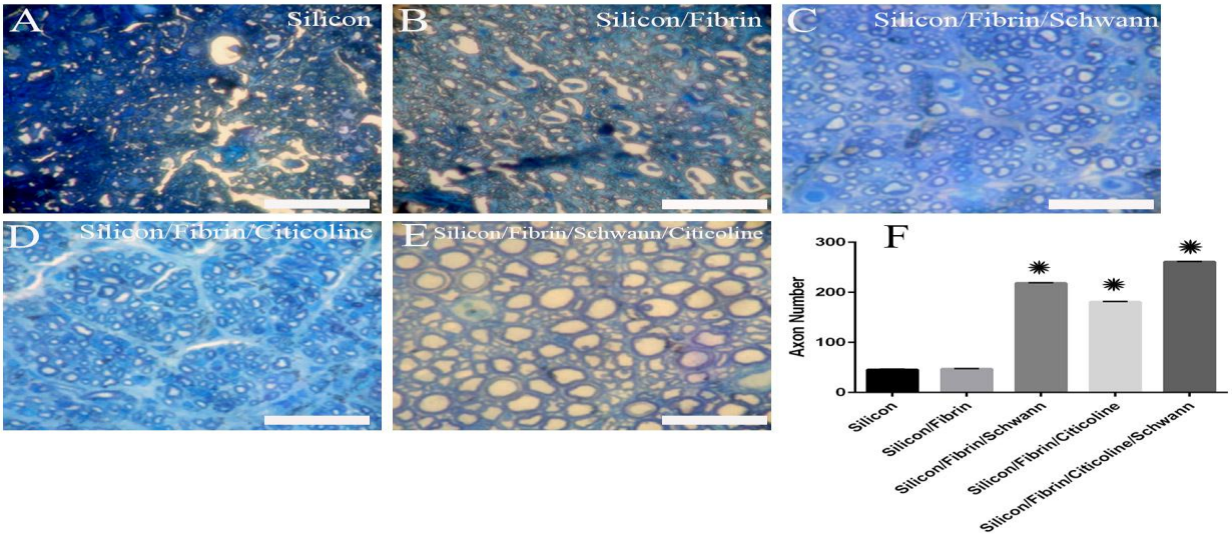
۸ هفته بعد از جراحی جهت تایید اتصال دو قطعه پروکسیمال و دیسال عصب و کارایی عصب ترمیم شده، از الکترومیوگرافی استفاده شد. در انتهای پروکسیمال عصب ترمیم شده، دو الکترود تحریک دهنده قرار داده شد. الکترود زمین (G) نیز وارد قسمت شکمی رت گردید. از دو کپ (cup) که بر روی عضله گاستروکنمیوس و دیگری بر روی زانوی رت گذاشته می شود، استفاده و پاسخ ثبت شد. پاسخ ثبت شده شامل Amplitude و latancy می باشد (شکل ۲. A, E-I). Latancy نماینده تاخیردر هدایت موج الکتریکی است (شکل ۲. K) و نشان دهنده سرعت هدایت موج الکتریکی در سیناپس‌های عصبی- عضلانی است و هر چقدر مقدار آن کمتر باشد نشان دهنده کارایی بهتر سیناپس ایجاد شده و در نهایت عصب ترمیم شده می‌باشد. Amplitude (شکل ۲. J) در نمودار نشان دهنده دامنه موج الکتریکی است و نماینده تعداد واحدهای حرکتی در عضله می‌باشد و هر چقدر بیشتر باشد نشان دهنده وجود واحدهای حرکتی بیشتر و کارایی بیشتر عصب ترمیم شده می‌باشد. در مقایسه بین میانگین دامنه موج الکتریکی در گروه‌های مورد مطالعه در گروه Silicon +Fibrin + Schwann cells (۳۳.۶۸) با گروه‌های Silicon + Fibrin + Citicoline (۲۶.۹۵) و Silicon + Fibrin + Schwann + Citicoline (۲۹.۹۰) با اختلاف آماری کمتر از ۰/۵. (P<0/05) معنی دار است. همچنین در مقایسه بین میانگین دامنه موج الکتریکی در گروه‌های مورد مطالعه در گروه Silicon + Fibrin + Citicoline (۲۶.۹۵) و Silicon + Fibrin + Schwann + Citicoline (۲۹.۹۰) با اختلاف آماری کمتر از ۰/۰۵ (P< ۰/۰۵) معنی دار است. در مقایسه بین میانگین ای تاخیر در هدایت الکتریکی در گروه های مورد مطالعه در گروه Silicon Fibrin + Schwann cells+ (۱.۶) با گروه Silicon + Fibrin + Citicoline (۱.۳۶) و Silicon + Fibrin + Schwann + Citicoline (۱.۳۷) با اختلاف آماری کمتر از ۰/۰۵ (P< ۰/۰۵) معنی دار است. همچنین در مقایسه بین میانگین تاخیر در هدایت الکتریکی در گروه‌های مورد مطالعه در گروه Silicon + Fibrin + Citicoline (۱.۳۶) و Silicon + Fibrin + Schwann + Citicoline (۱.۳۷) با اختلاف آماری کمتر از ۰/۰۵ (P< ۰/۰۵) معنی دار نیست.

نتایج بررسی بافتی به روش تولوئیدین بلو

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-13]

[DOI: 10.29252/sjku.24.3.67]

۸ هفته بعد از جراحی، عصب ترمیم شده را از درون لوله سیلیکون خارج کرده و برش‌های کرونال با ضخامت ۵۰۰ نانومتری از قسمت میانی عصب تهیه و بر روی لام جمع آوری و بارنگ تولوئیدین بلو رنگ آمیزی گردید (شکل شماره ۳). پس از قالب گیری عصب ترمیم شده و تهیه لام-های مورد لازم، با استفاده از میکروسکوپ نوری (Olympus,PROVIS Ax 70, Japan) با بزرگنمایی ۴۰۰ × تصاویر تهیه شد و سپس تصلاویر با گرید ۵۰ میکرومتری تقسیم بندی شدند. در هر گروه از شش نمونه، لام تهیه شد و در هر نمونه سه گرید انتخاب شد و تمامی اکسون‌های موجود (دارای میلین و فاقد میلین) شمارش شدند و میانگین اعداد بدست آمده به عنوان تعداد اکسون‌های آن گروه در نظر گرفته شد.



شکل ۳: مقطع عرضی از عصب سیاتک ترمیم شده در گروه‌های مختلف (بزرگنمایی×۴۰۰). اکسون های ترمیم شده در لوله سیلیکونی به خوبی نشان داده شده است. تعداد و قطر اعصاب ترمیم شده در گروه‌ها با هم دارای اختلاف است و بیشترین تعداد مربوط به گروه ترکیبی سلول شوان و سیتی کولین به همراه فیبرین است (F). در گروه ژل فیبرینی (B) اکسون ها کوچک و فاقد غلاف میلین هستند، در گروه دریافت کننده سلول (C) عروق خونی فراوان و بزرگ در حاشیه عصب ترمیم شده وجود دارند و اکسون‌های ترمیم شده دارای غلاف میلین و فاقد میلین می‌باشند. در گروه لوله سیلیکون به همراه داروی سیتی کولین (D) در مقطع عرضی عصب به طور کامی ترمیم شده و نحوه آرایش اکسون ها به صورت فاسیکل منظم می‌باشد. در گروه لوله سیلیکون به همراه داروی سیتی کولین و سلول‌های شوان (E) در مقایسه با دو گروه قبلی به وضوح تعداد اکسون‌های بیشتر و آرایش منظم تر اکسون ها دیده می‌شود. همچنین تعداد اکسون‌های بزرگ دارای غلاف میلین در این گروه بیشتر می‌باشد

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-13]

[DOI: 10.29252/sjku.24.3.67]

بحث

در تحقیق حاضر اثر داروی سیتی کولین و سلول‌های شوان در ترمیم عصب سیاتیک قطع شده با استفاده از یافته‌های بافتی و الکترومیوگرافی وایمونوهیستوشیمی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج بدست آمده نشان می دهد که استفاده همزمان از داروی سیتی کولین و سلول‌های شوان در افزایش تعداد اکسون‌های ترمیم شده و همچنین افزایش کارایی عصب ترمیم شده نقش موثری دارد.

تنه عصب سیاتیک در موش صحرایی تقریبا ۱/۵ سانتی متر طول دارد و تحقیق با قطع بیش از یک سانتی متر، بدلیل دشواری در بخیه زدن تقریبا غیر ممکن است. در بسیاری از تحقیقات انجام شده اندازه قطع عصب کمتر از یک سانتی متر در نظر گرفته می شود که این امر بطور قطع برنتایج حاصل از تحقیق بسیار موثر است (۲۰) بنابراین در تحقیق حاضر از قطع عصب ۱۰ میلی متری استفاده شد. در پیوند اتوگرافت بدلیل داشتن دو خط بخیه، امکان ایجاد بافت لیفی بیشتری وجود دارد که مانع رشد اکسون ها و عدم هدایت آنها در مسیر صحیح می شود. از آنجا که در ترمیم با NGCs، هر دو انتهای عصب درون مجرا قرار می‌گیرند، لذا تشکیل نوروما کمتر است (۲۰). کاربرد لوله سیلیکون در ترمیم اعصاب محیطی مفید می‌باشد. از بین رفتن کشش خط بخیه جراحی و رگ سازی دو فاکتور مهم در ترمیم عصب به شمار می‌رود، که با استفاده از لوله سیلیکون، خط بخیه به حداقل می‌رسد و NGF نیز رگ سازی را تحریک می‌نماید (۲۱) افزایش کشش در ناحیه بخیه سبب کاهش قطر عروق خونی تغذیه کننده عصب می‌شود، در نتیجه خون رسانی ناحیه ترمیم عصب دچار اختلال می‌شود. تشکیل عروق خونی نیز عامل مهمی در ترمیم بافت به شمار می‌رود (۲۲). در این تحقیق ترمیم به صورت جایگزاری لوله سیلیکون حاوی ژل فیبرین به همراه سلول‌های شوان، داروی سیتی کولین و ترکیب هردو انجام گرفت. برداشت قطعه ای از عصب و جایگزینی آن با کانال راهنمای عصب، به دلیل داشتن مزیت‌هایی از قبیل در دسترس بودن، تنوع آن در مقایسه با ترمیم اتوگرافت از جمله روش هایی است که در ترمیم عصب مورد توجه محققین قرار گرفته است (۲۳). در بررسی الکترومیوگرافی، تمامی نمونه ها در همه گروه ها دارای موج الکتریکی هستند که در آن دامنه موج دیده می شود. این نکته نشان دهنده آن است که در تمامی این گروه‌ها ترمیم عصب و رشد اکسونی صورت گرفته است و تفاوت هر کدام از گروها با توجه به مداخله ای که در آن صورت گرفته است نشان دهنده تفاوت در تعداد اکسون-های ترمیم شده می باشد. از آنجا که سلول‌های شوان، محیط عصبی خارج سلولی را توسط سلول‌های بافر کننده و برداشت نوروترانسمیتر ها تنظیم می کنند می‌توانند در انتقال عصبی (neurotransmission) دخالت کنند همچنین سلول‌های شوان پری سیناپتیک (PSCs) صفحه محرکه انتهایی (motor end plate) را احاطه می‌کنند . بنابراین در دامنه موج الکتریکی و سرعت هدایت عصبی نقش مهمی را ایفا می‌کنند. درگروه‌های Silicon + Fibrin + Schwann و Silicon + Fibrin + Schwann + Citicoline دامنه موج بیشتر از دیگر گروه‌ها است ($p<0.05$) و به نظر می‌رسد که در این گروه‌ها سلول‌های شوان اگزوژنوس تزریق شده در تنظیم فعالیت صفحه محرکه انتهایی و انتقال عصبی و در نتیجه افزایش دامنه موج نقش موثری داشته اند. استفاده از داروی سیتی کولین که در کاهش اسکار شرکت می‌کند (۲۲, ۱۶) نیز موجب ایجاد دامنه موج بیشتر نسبت به Silicon + Fibrin شده است. در هر دو گروه Silicon + Fibrin + Citicoline و Silicon + Fibrin فقط سلول‌های شوان اندوژنوس وجود دارد که این سلول ها نیز در تشکیل طناب‌های بونگنر و تشکیل NMJ شرکت می‌کنند (۲۴) اما وجود سیتی کولین به عنوان عامل مداخله ای نشان می‌دهد که این دارو توانسته است در ایجاد موج الکتریکی بلندتر دخالت داشته باشد. در حقیقت سیتی کولین از طریق ارتقا بقا ویا ترمیم نورون‌های صدمه دیده و همچنین کاهش شکسته شدن غشای سلولی و تولید اسیدهای چرب آزاد و تولیدات سمی

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-13]

[DOI: 10.29252/sjku.24.3.67]

بافت صدمه دیده موجب افزایش دامنه موج الکتریکی می‌شود (۱۶, ۲۲). اما در مقایسه با گروه Silicon + Fibrin + Schwann دامنه موج کوتاهتر دیده می‌شود. به نظر می‌رسد که در این گروه که فقط دارای سلول‌های شوان اندوژنوس فعال شده اند، این سلول ها نتوانسته‌اند به طور کامل در انتقال عصبی دخالت داشته باشند. این امر را می‌توان به شرکت اکثر سلول‌های شوان اندوژنوس در تشکیل طناب‌های بونگنر جهت ترمیم اکسون نسبت داد (۲۴). اما در گروه Silicon + Fibrin + Schwann سلول‌های شوان اگزوژنوس در ایجاد و عملکرد NMJ دخالت داشته و در نتیجه موج الکتریکی بلند تر دیده می‌شود. به طور قطع نتیجه ای که از این تحقیق گرفته می‌شود این می‌باشد که استفاده همزمان از داروی سیتی کولین و سلول‌های شوان نقش بسیار خوبی در ترمیم عصب و کارایی عصب ترمیم شده دارد. دامنه موج الکتریکی نشان دهنده فعالیت واحد-های حرکتی در عضله می‌باشد (۲۵) بنابراین وجود دامنه موج بلند تر در گروه‌های Silicon + Fibrin + Schwann و Silicon + Fibrin + Schwann + Citicoline نشان دهنده این مطلب می‌باشد که واحدهای حرکتی بیشتری در این گروه ها فعالیت می‌کنند. هر چند در گروهی که سیتی کولین به تنهایی استفاده شده است بدلیل دامنه موج کوتاهتر احتمالا واحدهای حرکتی کمتری دراین گروه فعالیت می‌کنند. بررسی عصب ترمیم شده بعد از ۲ ماه بدین دلیل می‌باشد که بعد از اینکه یک اکسون قطع می‌شود، فرآیند تخریب والرین در قطعه دیستال عصب برای چندین روز اتفاق می‌افتد (۲۶). در دقایق اولیه بعد از قطع عصب در طی چندین روز اول، قطعه دیستال عصب از لحاظ الکتریکی تحریک پذیر است. در طی این دوره، تحریک دیستال محل ضایعه ممکن است منجر به موج طبیعی و یا نزدیک به موج طبیعی شود. اکسون‌های حرکتی بیش از ۷ روز بعد از آسیب تحریک پذیر باقی می‌مانند و اکسون‌های حسی بیش از ۱۱ روز تحریک پذیر باقی می‌مانند.

با بررسی نمودار و تصاویر گروه‌های مورد مطالعه دیده می‌شود که تاخیر در هدایت عصبی در گروه‌ها روبه کاهش می‌باشد. هر چقدر تاخیر هدایت حرکتی کمتر باشد مدت زمان لازم برای انتقال ایمپالس عصبی کمتر می‌باشد و بنابراین امواج عصبی با سرعت بیشتری منتقل می‌شوند که در عملکرد عصب ترمیم شده تاثیر مثبت دارد (۴, ۲۷, ۲۸). کمترین میزان تاخیر هدایت حرکتی در گروه Silicon + Fibrin + Citicoline و Silicon + Fibrin + Schwann + Citicoline می‌باشد ($P<0/05$). اسکار ایجاد شده بعد از آسیب عصبی در هدایت حرکتی اختلال ایجاد می‌کند و از آنجا که سیتی کولین موجب کاهش اسکار می‌شود (۱۶, ۲۲) بنابراین همانطور که در فرضیه تحقیق انتظار می‌رفت، سیتی کولین موجب افزایش سرعت هدایت ایمپالس‌های عصبی در محل اتصال نوروماسکولار شده است و یا به عبارت دیگر سیتی کولین اسکار بعد از آسیب را کاهش داده و در نتیجه تاخیر در هدایت حرکتی (Latancy) عصب ترمیم شده را کاهش داده است. در گروه Silicon + Fibrin + Schwann تاخیر هدایت حرکتی نسبت به گروه‌های Silicon + Fibrin + Citicoline و Silicon + Fibrin + Schwann + Citicoline افزایش یافته است ($P<0/05$). اما نسبت به گروه Silicon + Fibrin کاهش نشان می‌دهد، در حقیقت سلول‌های شوان اگزوژنوس تزریق شده توانسته اند سرعت هدایت عصبی را از طریق تشکیل و حفظ NMJ افزایش دهد اما در گروه Silicon + Fibrin سلول‌های شوان اندوژنوس نتوانسته اند به اندازه سلول‌های اگزژونوس در تشکیل NMJ و افزایش هدایت عصبی نقش داشته باشند.

در بررسی ترمیم اعصاب محیطی، تعداد اکسون‌های ترمیم شده از لحاظ تعداد و همچنین میلین دار شدن آنها و نیز بررسی کیفیت غلاف میلین ترمیم شده، اطلاعات مفیدی جهت پی بردن به موثر بودن روش جراحی و تداخلات درمانی فراهم می‌کند (۲۹). در بررسی بافتی عصب ترمیم شده می‌توان عروق ایجاد شده درون عصب در حال ترمیم

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-13]

[DOI: 10.29252/sjku.24.3.67]

را نیز مورد توجه قرار داد. یکی از مواردی که در استفاده از کانال‌های هدایت عصب مد نظرمی‌باشد استفاده از لوله ای است که اجازه خون رسانی به عصب در حال ترمیم را می دهند. به عبارت بهتر از لوله‌هایی استفاده می شود که آنژیوژنزیز را موجب می‌شوند (۳۰). لوله سیلیکون بدلیل اینکه اجازه ورود عروق خونی به درون عصب را نمی‌دهد، کمتر مورد توجه قرار می‌گیرد بنابراین در تحقیق حاضر و در بررسی بافت عصب ترمیم شده، توجه به وجود و تعداد عروق خونی تشکیل شده درون عصب ترمیم شده در گروه‌های مورد مطالعه کارایی و کیفیت کانال هدایت عصب را نشان می‌دهد. به نظر می‌رسد که عروق خونی تشکیل شده در گروه‌های مورد مطالعه به دلیل حضور سلول‌های شوان باشد چرا که این سلول ها فاکتور رشد عصب (NGF) تولید می‌کنند و این فاکتور نقش بسیار مهمی در تشکیل عروق خونی (آنژیوژنزیز) دارد . در حقیقت این فاکتور در طریق مهاجرت، تکثیر، حفظ، بقا و عملکرد سلول‌های اندوتلیال از طریق مکانیسم‌های اتوکرین و پاراکرین شرکت می‌کند (۲۱). با توجه به تصاویر و نمودارهای مربوط به تعداد اکسون ها دیده می‌شود که تفاوت معنی داری بین گروه Silicon و Silicon + Fibrin و گروه‌های Silicon + Fibrin + Schwann و Silicon + Fibrin + Citicoline و Silicon + Fibrin + Schwann + Citicoline وجود دارد ($P<۰/۰۵$). همانطور که در شکل شماره ۳. A, B دیده می‌شود عصب ترمیم شده درون لوله سیلیکون ازلحاظ بافتی با عصب سیاتیک طبیعی تفاوت دارند. درون عصب ترمیم شده در این دو گروه بافت همبندی فراوان دیده می‌شود که احتمالا نشان دهنده هجوم فیبروبلاست ها است. فاسیکل-های عصبی مورد انتظار در یک عصب در این دوگروه دیده نمی‌شود و در ضمن اکسون‌های ترمیم شده نیز اکثرا فاقد میلین می‌باشند. به همین دلیل نمودار دامنه موج الکتریکی (amplitude) در این دو گروه کوتاه و پهن دیده می‌شود که با نتایج بافتی آن مطابقت دارد.

در گروه‌های Silicon + Fibrin + Schwann و Silicon + Fibrin + Citicoline و Silicon + Fibrin + Schwann + Citicoline اعصاب ترمیم شده دارای نظم بیشتر و بهتری می‌باشند. فاسیکل ها در هر سه گروه تشکیل شده است اما نحوه آرایش فاسیکل ها در گروه Silicon + Fibrin + Citicoline و Silicon + Fibrin + Schwann + Citicoline+ بهتر از گروه Silicon + Fibrin + Schwann می‌باشد. تراکم اکسون‌های ترمیم شده در گروه Silicon + Fibrin + Schwann + Citicoline بیشتر از گروه‌های Silicon + Fibrin + Schwann و Silicon + Fibrin + Citicoline می‌باشد همچنین قطر اکسون‌ها نیز در گروه Silicon + Fibrin + Schwann + Citicoline بیشتر می‌باشد. تعداد اکسون‌های ترمیم شده در گروه Silicon + Fibrin + Schwann + Citicoline دارای تفاوت معنی داری با دو گروه دیگر می‌باشد همچنین گروه Silicon + Fibrin + Schwann با گروه Silicon + Fibrin + Citicoline نیز از لحاظ تعداد اکسون ها دارای تفاوت معنی داری است ($P<۰/۰۵$). (شکل شماره ۳. F).

در بررسی ایمونوهیستوشیمی عصب ترمیم شده درون لوله سیلیکون (شکل شماره ۲. B-D) دیده می‌شود که سلول-های شوان نشاندار شده با مارکر DiI که به درون لوله سیلیکون تزریق شده اند در حاشیه لوله متمرکز شده اند. در حقیقت با توجه به گذشت ۲ هفته از تزریق سلول‌های شوان، تجمع سلول ها در حاشیه لوله قابل قبول می‌باشد چراکه این سلول ها با توجه به ترشح مولکول‌های چسبنده سطح سلول و تولید لامینین نیاز به تکیه گاه برای تولید طناب‌های بونگنر دارند (۳۱) و پس از گذشت مدتی به مرکز عصب برای تشکیل طناب ها حرکت می‌کنند، بنابراین چسبیدن سلول ها به حاشیه لوله طبیعی است. در گروه Silicon + Fibrin + Schwann و Silicon + Fibrin + Schwann + Citicoline تعداد اکسون ها بیشتر از گروه Silicon + Fibrin + Citicoline می-

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-13]

[DOI: 10.29252/sjku.24.3.67]

باشد که فاقد سلول شوان می‌باشد و به نظر می‌رسد به دلیل وجود سلول‌های شوان اگزوژنوس تزریق شده در این گروه ها باشد. از طرفی استفاده از داروی سیتی کولین نیز موجب کاهش شکسته شدن غشای سلولی و تولید اسیدهای چرب آزاد و تولیدات سمی بافت صدمه دیده می‌شود و همچنین سیتی کولین موجب ارتقا بقا ویا ترمیم نورون‌های صدمه دیده می‌شود که بعداز قطع عصب سیاتیک ازبین رفته اند (۲۲). اما همانطور که مشاهده می‌شود تاثیر سلول‌های شوان در افزایش تعداد اکسون ها بیشتر از داروی سیتی کولین بوده است و این احتمالا به دلیل تولید مولکول‌های ماتریکس خارج سلولی و عوامل نوروتروفیک می‌باشد. شاید به همین دلیل که هم داروی سیتی کولین و هم سلول-های شوان موجب بقا نورونی و افزایش ترمیم می‌شوند است که در گروه Silicon + Fibrin + Schwann + Citicoline تعداد اکسون بیشتری در عصب ترمیم شده وجود دارد و احتمالا این دو اثر تقویتی بر روی یکدیگر دارند.

پیوند سلول های شوان در محل ضایعه عصب سیاتیک موجب تشکیل میلین اکسون های ترمیم شده می‌شود و موجب تشکیل نواحی گره ای جدید که قادر به بیان کانال سدیمی هستند می‌شود(۳۲). وجود غلاف میلین و افزایش قطر غلاف منجر به افزایش سرعت هدایت الکتریکی و افزایش دامنه موج الکتریکی می‌شود (۳۱). همانطور که در شکل شماره ۳. D, E دیده می‌شود اکسون های ترمیم شده دارای غلاف میلین ضخیم‌تری نسبت به سایر گروه ها هستند و این افزایش ضخامت با نتایج الکتروفیزیولوژیکی منطبق می‌باشد.

یکی از دلایل استفاده از سیتی کولین در این طرح اثر این دارو در کاهش تولید اسکار بعد از آسیب عصبی است (۲۲). در تحقیق حاضر عصب سیاتیک به اندازه ۱۰ میلی متر قطع شد و فاصله ای بین دو سر پروکسیمال و دیسال عصب بوجود آمد. در چنین مواردی بخیه زدن دو انتهای عصب باعث بوجود آمدن فشار و کشش بر روی عصب می‌شود در نتیجه ترمیم عصب به خوبی صورت نمی‌گیرد (۳۳) بنابراین از کانال سیلیکونی برای پر نمودن این فاصله استفاده شد. بخیه زدن دو انتهایی عصب به دو سر لوله کشش و فشار را از روی عصب بر می‌دارد اما اسکاری که در محل بخیه به وجود می‌آید می تواند در ترمیم بافت اختلال ایجاد نماید. بافت همبند و اسکار در گروه Silicon و Silicon+ Fibrin به وضوح دیده می‌شود اما مقدار آن در گروهSilicon + Fibrin + Schwann کاهش یافته است. در گروهSilicon + Fibrin + Citicoline که از داروی سیتی کولین بطور منفرد استفاده شده است اسکار در مقایسه با گروه‌های دیگر کاهش داشته است به طوری که در اطراف عصب ترمیم شده بافت غیر عصبی دیده نمی‌شود به عبارت دیگر در حاشیه عصب همانند مرکز عصب ترمیم شده اکسون ها دیده می‌شوند این مطلب در سایر گروه ها دیده نمی‌شود. در گروه Silicon + Fibrin + Schwann + Citicoline به دلیل استفاده از سیتی کولین حاشیه عصب و در نتیجه اسکار کمتر از گروه Silicon + Fibrin + Schwann می باشد که فاقد سیتی کولین است.

نتیجه گیری

بر خلاف سیستم عصبی مرکزی، سیستم عصبی محیطی توانایی ترمیم بعد از آسیب وارده به خود را داراست. البته نوع آسیب وارد شده و محل آسیب در فرایند ترمیم عصب بسیار مهم می‌باشند. امروزه از مواد بسیار متنوعی در ترمیم اعصاب محیطی استفاده می‌شود. اما عامل اصلی ترمیم در این سیستم وجود سلول های شوان می‌باشد که دارای پتانسیل فراوان برای ترمیم می‌باشد. در تحقیقات اخیر تلاش در افزایش کارایی این سلول‌ها و یا کمک به این سلول ها در ترمیم عصب می‌باشد. در تحقیق حاضر با استفاده از سلول‌های شوان و داروی سیتی کولین و کانال هدایت عصب سیلیکونی و همچنین روش های ایمونوهیستوشیمی و بافتی و الکتروفیزیولوژیکی سعی در ترمیم عصب قطع شده بوده است. در این تحقیق دیده شد که استفاده از سلول‌های شوان و سیتی کولین درون لوله سیلیکون موجب ترمیم بهتر

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-13]

[DOI: 10.29252/sjku.24.3.67]

عصب سیاتیک هم از لحاظ بافتی و هم از لحاظ عملکـردی می‌شود.

تقدیر و تشکر

این مقاله حاصل از طرح تحقیقاتی (کد طرح: ۱۹۲۸/۸۸) دوره کارشناسی ارشد آناتومی در دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی است و نویسندگان مقاله از حمایت های بخش علوم تشریح دانشگاه علوم پزشکی ایران و مرکز تحقیقات سلول های بنیادی سیستم عصبی دانشگاه علوم پزشکی سمنان و همچنین مرکز تحقیقات چشم فارابی کمال تشکر و امتنان را دارد.

References

1. Quan D, Bird SJ. Nerve conduction studies and electromyography in the evaluation of peripheral nerve injuries. Univ Pa Orthop J 1999;12:45-51.
2. Samiee F, Zarrindast M-R. Effect of electrical stimulation on motor nerve regeneration in sciatic nerve ligated-mice. Eur J Transl Myo 2017;27:6488
3. Gordon T. Electrical stimulation to enhance axon regeneration after peripheral nerve injuries in animal models and humans. Neurotherapeutics 2016;13:310-295.
4. Kuyucu E, Gümüs B ,Erbas O, Oltulu F, Bora A. Exenatide promotes regeneration of injured rat sciatic nerve. Neural Regen Res 2017;12:637-43.
5. Gramsbergen A, IJkema-Paassen J, Meek M. Sciatic nerve transection in the adult rat: abnormal EMG patterns during locomotion by aberrant innervation of hindleg muscles. Exp Neurol 2000;161:183-93.
6. Siemionow M, Brzezicki G. Current techniques and concepts in peripheral nerve repair. Int Rev Neurobiol 2009;87:141-72
7. Tan C, Ng MH ,Ohnmar H, Lokanathan Y, Nur-Hidayah H, Roohi S, et al. Sciatic nerve repair with tissue engineered nerve: Olfactory ensheathing cells seeded poly (lactic-co-glygolic acid) conduit in an animal model. Indian J Orthop 2013;47:547-522.
8. Johnson P, Wood M, Moore A, Mackinnon S. Tissue engineered constructs for peripheral nerve surgery. Eur Surg 2013;45:122-35.
9. Georgiou M, Bunting SC, Davies HA, Loughlin AJ, Golding JP, Phillips JB. Engineered neural tissue for peripheral nerve repair. Biomaterials 2013;34:7335-43.
10. Belanger K, Dinis TM, Taourirt S, Vidal G, Kaplan DL, Egles C. Recent strategies in tissue engineering for guided peripheral nerve regeneration. Macromol Biosc 2016;16:472-81.
11. Jiang L, Jones S, Jia X. Stem cell transplantation for peripheral nerve regeneration: Current options and opportunities. Int J Mol Sci 2017;18:94.
12. Phinney DG, Prockop DJ. Concise review: mesenchymal stem/multipotent stromal cells: the state of transdifferentiation and modes of tissue repair—current views. Stem Cells 2007;25:2896-902.
13. Cooney DS, Wimmers EG, Ibrahim Z, Grahammer J, Christensen JM, Brat GA, et al. Mesenchymal stem cells enhance nerve regeneration in a rat sciatic nerve repair and hindlimb transplant model. Scie Rep 2016;6:31306.
14. Masgutov R, Masgutova G, Mukhametova L, Garanina E, Arkhipova SS, Zakirova E, et al. Allogenic Adipose Derived Stem Cells Transplantation Improved Sciatic Nerve Regeneration in Rats: Autologous Nerve Graft Model. Front Pharmacol 2018;9:86.
15. Ma Y, Ge S, Zhang J, Zhou D, Li L, Wang X, et al. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles promote nerve regeneration after sciatic nerve crush injury in rats. Int J Clin Exp Pathol 2017;10:10032-9.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-13]

[DOI: 10.29252/sjku.24.3.67]

16. Sinir SSSHM, ve Fonksiyonel R. Investigation of the dose-dependency of citicoline effects on nerve regeneration and functional recovery in a rat model of sciatic nerve injury. Turk Neurosurg 2014;24:54-62.
17. Emril DR, Wibowo S, Meliala L, Susilowati R. Cytidine ′۵-diphosphocholine administration prevents peripheral neuropathic pain after sciatic nerve crush injury in rats. J Pain Res 2016;23:287-91.
18. Wen J, Tan D, Li L, Guo J. Isolation and Purification of Schwann Cells from Spinal Nerves nuof Neonatal Rat. Bio Protocol 2017;7:e2588.
19. Alford EK, Roy RR, Hodgson JA, Edgerton V. Electromyography of rat soleus, medical gastrocnemius, and tibialis anterior during hind limb suspension. Exp Neurol 1987;96:635-49.
20. Roganovic Z, Pavlicevic G. Difference in recovery potential of peripheral nerves after graft repairs. Neurosurgery 2006;59:621-33.
21. Nico B, Mangieri D, Benagiano V, Crivellato E, Ribatti D. Nerve growth factor as an angiogenic factor. Microvasc Res 2008;75:135-41.
22. Özay R, Bekar A, Kocaeli H, Karlı N, Filiz G, Ulus İH. Citicoline improves functional recovery, promotes nerve regeneration, and reduces postoperative scarring after peripheral nerve surgery in rats. Surg Neurol 2007;68:615-22.
23. Roozbehi A, Almasi-Tork S, Piryaee A, Sadeghi Y. Effects of cadmium on photoreceptors and ganglionic cells of retinal layer in mice embryo—an ultrastructural study. Indian J Exp Biol 2007;45:469-74.
24. Constantin A-M, Tache S. Stimulating factors for the regeneration of peripheral nerves. Cluj Med 2012;85:9-12.
25. Sheth KA, Iyer CC, Wier CG, Crum AE, Bratasz A, Kolb SJ, et al. Muscle strength and size are associated with motor unit connectivity in aged mice. Neurobiol Aging 2018;128:36-67.
26. Chang B, Quan Q, Lu S, Wang Y, Peng J. Molecular mechanisms in the initiation phase of Wallerian degeneration. Eur J Neurosci 2016;44:2040-8.
27. Hsu S-T, Yao C-H, Hsu Y-M, Lin J-H, Chen Y-H, Chen Y-S. Effects of taxol on regeneration in a rat sciatic nerve transection model. Sci Rep 2017;7:45421.
28. Moattari M, Kouchesfehani HM, Kaka G, Sadraie SH, Naghdi M, Mansouri K. Chitosan-film associated with mesenchymal stem cells enhanced regeneration of peripheral nerves: A rat sciatic nerve model. J Chem Neuroanat 2018;46:54-88.
29. Ayan I, Esenkaya I, Karakaplan M, Germen B, Milcan A, Zorludemir S, et al. The effect of human placental suspension on rat sciatic nerve healing. Acta Orthop Traumatol Turc 2007;41:140-6.
30. Stang F, Keilhoff G, Fansa H. Biocompatibility of different nerve tubes. Materials (Basel) 2009;2:1480-507.
31. Armati P. The function of RhoGTPases in axon ensheathment and myelination: Glia 2008;56:1508-17.
32. Hu X, Hu J, Dai L, Trapp B, Yan R. Axonal and Schwann cell BACE is equally required for remyelination of peripheral nerves. J Neurosci 2015;35:3806-14.
33. Terzis J, Faibisoff B, Williams B. The nerve gap: suture under tension vs. graft. Plast Reconstr Surg 1975;56:166-70.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-13]

[DOI: 10.29252/sjku.24.3.67]