

اثر کانال راهنمای عصب در ترمیم عصب سیاتیک در موش صحرایی بالغ

حمدااله دلاویز^۱، ابوالفضل فقیهی^۲، علیرضا عزیززاده دلشاد^۳، محمد هادی بهادری^۴، جمشید محمدی^۵، امراله روزبهی^۶

۱- استادیار گروه علوم تشریحی، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران

۲- دانشیار گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۳- دانشیار گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شاهد، تهران، ایران

۴- دانشیار گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران

۵- استادیار گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران

۶- استادیار گروه علوم تشریحی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران (مؤلف مسؤول)، تلفن: ۰۷۴۱-۲۲۳۰۲۹۰، aroozbehi@yahoo.com

چکیده

زمینه و هدف: ضایعات اعصاب محیطی یکی از دغدغه‌های جراحان اعصاب بوده و شیوه‌های مختلفی برای ترمیم بکار گرفته شده است. این مطالعه، poled polyvinylidene fluoride (PVDF) tube را همراه با فاکتور رشد و ژل کلاژن بعنوان یک جایگزین پیوند اتوگرافت بررسی می‌کند.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، عصب سیاتیک چپ ۵۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار مورد جراحی و بطور تصادفی به ۵ گروه تقسیم شدند. در گروه اپی نوریل، دو انتهای عصب قطع شده به همدیگر سوچور شد. در گروه اتوگرافت یک سانتی‌متر از عصب سیاتیک قطع و بعد از ۱۸۰ درجه چرخش به دو انتهای عصب سوچور زده شد. در گروه کانال راهنمای عصب، لوله PVDF همراه با فاکتور رشد عصب و ژل کلاژن به دو انتهای عصب سوچور زده شد. در گروه آکسوتومی دو انتهای عصب لای عضلات پنهان گردید و در گروه شم، عمل جراحی با لمس عصب سیاتیک تکمیل گردید. دو ماه بعد از جراحی، نورونهای قطعات L4-L6 نخاع به شیوه‌های بافت شناسی، ایمونوهیستوشیمی و ردیابی مورد مطالعه قرار گرفت. داده‌ها با استفاده از تست آماری آنالیز واریانس یک طرفه مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها: میانگین نورونهای بکس مثبت و نورونهای نشاندار شده با DiI به ترتیب در گروه آکسوتومی و شم نسبت به سایر گروهها افزایش معنی‌دار آماری ($p < 0.05$) و میانگین نورونهای نشاندار در گروه اپی نوریل نسبت به گروه‌های اتوگرافت و کانال راهنمای عصب، افزایش معنی‌دار آماری ($P < 0.05$) نشان داد. تفاوت معنی‌دار آماری در مقایسه میانگین نورونهای نشاندار شده بین گروه اتوگرافت و کانال راهنمای عصب مشاهده نگردید. مقایسه میانگین نورونها در سمت چپ نسبت به سمت راست کاهش آماری معنی‌داری ($p < 0.01$) را نشان دادند.

نتیجه‌گیری: کانال راهنمای عصب همراه با درمانهای دیگر محیط مناسبی را برای رشد اکسون فراهم می‌کند و می‌توان آن را بعنوان یک جایگزین برای پیوند اتوگرافت در نظر گرفت.

کلید واژه‌ها: کانال راهنما، NGF، PVDF، ترمیم عصب سیاتیک، نورونهای حرکتی نخاع، ردیابی

وصول مقاله: ۸۹/۸/۱۲ اصلاحیه نهایی: ۹۰/۳/۱ پذیرش مقاله: ۹۰/۳/۲۴

مقدمه

مختلفی مانند پیوند اتوگرافت (۱)، سوچور اپی نوریل

(۲)، پیوند سلول‌های شوان (۳) و پیوند سلول‌های مغز

استخوان برای این منظور بکار رفته است (۴). اما

ترمیم صدمات اعصاب محیطی یکی از مشکلات

پیچیده علم پزشکی و جراحان است. تاکنون روشهای

موفقیت‌های کسب شده در این زمینه ناچیز بوده است. بنابراین تلاش برای یافتن یک جایگزین مناسب که در محل قطع عصب قرار گیرد و منجر به رشد اکسون و بهبود عملکرد شود همواره مورد توجه محققین بوده است. اعصاب محیطی بر خلاف سیستم عصبی مرکزی دارای ظرفیت‌هایی برای ترمیم می‌باشد، اما به شرایط محیطی مناسب و فاکتورهای رشد حمایت‌کننده نیاز دارد. علیرغم اینکه در پیوند اتوگرافت نتایج مناسبی کسب می‌شود در بسیاری از موارد مانند محدودیت منابع، از بین رفتن حس و حرکت در محلی که عصب برای پیوند برداشته می‌شود و انجام چندین عمل جراحی از معایب این پیوند است. استفاده از پیوند اپی نورال که به شکل پیوند دو انتهای عصب صورت می‌گیرد رایج‌ترین روش برای ترمیم اعصاب محیطی است. اما فاصله بین دو انتهای عصب قطع شده نباید زیاد باشد که منجر به فشار و کشش بر دو انتهای عصب شود. از آنجا که در برخی از ضایعات، طول زیادی از عصب از بین می‌رود که امکان پیوند اتوگرافت یا پیوند اپی نورال وجود ندارد. برای این منظور ایجاد یک جایگزین مناسب برای پیوند بین انتهای دیستال و پرگزیمال عصب که منجر به رشد اکسون و بهبود عملکرد شود از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. استفاده از مواد بیولوژیک یا مواد سنتتیک به شکل یک کانال هدایت عصب و به صورت یک پل در محل قطع، روز به روز بیشتر مورد توجه محققین قرار گرفته است، لذا استراتژی‌های مانند کانال هدایت عصب (۵)، استفاده از مواد سنتتیک بصورت یک تیوپ که توسط لاینین یا فیبرونکتین پوشش داده شده است و استفاده از کلاژن به شکل کانال راهنمای عصب در مطالعات تجربی استفاده شده است (۷ و ۶). مطالعات انجام شده نشان داده‌اند

میدان‌های مغناطیسی نقش مهمی در رشد پایانه‌های اکسونی دارد و تغییرات شارژ الکتریکی در تحریک نورونها به تکثیر و تمایز مؤثر می‌باشند (۸ و ۹). دیواره کانال‌های راهنمای عصب Nerve guidance canal (NGC) باید دارای سوراخهایی باشد که امکان مبادله مواد و متابولیت‌ها را با عصب در حال رشد فراهم کند. استفاده از پلی مرهای سنتتیک مانند polylactic acid (PLA) مزایای زیادی دارند، برای مثال می‌توان آنها را به شکل‌های مختلفی پردازش کرد و پاسخ التهابی آنها بسیار پایین است و به دلیل سازگاری بافتی می‌توان آن را بصورت پیوند استفاده کرد (۱۰). شواهدی وجود دارد که استفاده از لوله‌های هدایت عصب که از پروتئین‌های ساختاری مانند کلاژن ساخته شده است توانسته‌اند در قطع اعصاب دست که بیش از ۱۷ میلی‌متر طول داشته‌اند نتایج امیدوارکننده‌ای را ایجاد کند (۱۱). هر چند که برخی از بررسی‌ها نشان می‌دهد که کلاژن به تنهایی و به شکل یک کانال راهنمای عصب در ترمیم قطع ۲۰ میلی‌متر عصب سیاتیک نقش چندانی نداشته است (۱۲). بنابراین پیشنهاد می‌گردد که بهتر است ترکیبی از چندین استراتژی برای بهبود اعصاب محیطی در نظر گرفته شود. در مطالعات تجربی از polyvinylidene fluoride (PVDF) and polarized polytetrafluoroethylene (PTFE) با ایجاد کانال راهنمای عصب می‌توان آن را همراه سایر استراتژی‌ها مانند استفاده از فاکتورهای رشد یا سلول‌های پیوندی استفاده کرد (۱۳). لذا در این تحقیق تکنیک‌های مختلف جراحی در بقا و تعداد نورونهای حرکتی شاخ قدامی نخاع به دنبال قطع عصب سیاتیک به طول ۱۰ میلی‌متر در موش صحرایی بررسی شده است.

روش بررسی

حیوانات آزمایشگاهی

در این مطالعه تجربی از تعداد ۵۰ سر موش بزرگ آزمایشگاهی نر نژاد ویستار به وزن ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم استفاده شد. برای مراقبت و حمایت از حیوانات، همه آزمایشات و عمل‌های انجام شده بر اساس قوانین مجمع عمومی حمایت از حیوانات که مصوب دانشگاه علوم پزشکی تهران بوده است، انجام گردید. موشها با استفاده از ماده بیهوشی کتامین (۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) و گریلازین (۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) به صورت داخل صفاقی بیهوش شدند. پس از تراشیدن موی پای چپ و باز کردن ناحیه خلفی خارجی ران عصب سیاتیک در فاصله بین خار ایسکیال و حفره پوپلیتال به اندازه ۱۰ میلی‌متر قطع گردید. سپس حیوانات به طور تصادفی به پنج گروه شامل؛ اپی نوریل سوچر، اتوگرافت، کانال راهنما، آکسوتومی و جراحی شم، تقسیم شدند. گروه اپی نوریل، سوچر دو انتهای عصب به همدیگر با استفاده از نخ نایلون ۱۰ صفر (اتیکون) دوخته شد. در گروه اتوگرافت یک سانتی متر از عصب سیاتیک قطع و بعد از ۱۸۰ درجه چرخش در محل شکاف سوچر زده شد. در گروه کانال راهنمای عصب، polarized piezoelectric polyvinylidene fluoride (PVDF) tube در محل شکاف قرار داده شد و دو انتهای عصب در داخل آن قرار گرفت و با استفاده از نخ نایلون ۱۰ صفر (اتیکون) به دیواره آن بخیه زده شد. با ایجاد یک سوراخ ریز در لوله، ژل کلاژن (Roche) با غلظت ۱/۲۸mg/ml همراه فاکتور رشد عصب NGF (Roche) به میزان ۱۰۰ng/ml در داخل آن قرار داده شد. در گروه آکسوتومی برای اطمینان از نرسیدن دو انتها به همدیگر

لای عضلات پنهان گردیدند. در گروه شم عصب سیاتیک بدون اینکه قطع شود باز گردید. حیوانات در شرایط یکسان نگهداری شدند و دسترسی آزاد به آب و مواد غذایی داشتند.

روش قطبی نمودن لوله پلی وینیلدن فلوراید پیزوالکتریک polarized piezoelectric polyvinylidene fluoride tube (PVDF)

لوله پلی وینیلدن فلوراید (Harvard Apparatus Ltd) در آزمایشگاه دانشگاه صنعتی شریف به روش زیر قطبی شد. یک وایر نازکی در داخل مجرای لوله PVDF و یک شبکه استیل سوزنی شعاعی در محیط آن، به ترتیب بعنوان الکترود داخلی و خارجی قرار داده شد. الکترود سوزنی خارجی به قطب مثبت یک منبع تامین ولتاژ و الکترود داخلی به زمین وصل شد. ولتاژ خروجی به تدریج تا ۲۱ کیلووات افزایش داده شد و این وضعیت تا ۱۲ ساعت نگهداری گردید. سپس لوله به قطعات ۱۴ میلی‌متری بریده شد. با استفاده از الکل ۷۰٪ استریل گردید، سپس با کلاژن (Roche) ۱/۲۸ mg/ml میلی‌گرم در میلی‌لیتر و ۱۰۰ ng/mg از فاکتور رشد NGF75 (Roche) پر گردید. در ادامه برای پلی مریزاسیون، در انکوباتور ۳۷° مرطوب قرار داده شد.

مطالعه بافت شناسی و ایمونوهیستوشیمی

دو ماه بعد از جراحی، به منظور مقایسه تکنیک‌های مختلف ترمیم عصب سیاتیک در تعداد و بقای نورونهای حرکتی شاخ قدامی، مطالعات بافت شناسی و ایمونوهیستوشیمی بر روی ۵ سر موش از هر گروه انجام گرفت. حیوانات هر گروه بطور عمیق بیهوش و پس از پرفیوژن با نرمال سالین ۰/۹ درصد هپارینی و فرمالین ۱۰ درصد، سگمانهای چهارم تا ششم نخاع کمری آنها جدا و مدت ۲۴ ساعت در همان فیکساتیو نگه داشته شد. به منظور جهت یابی چپ و راست نخاع یک خط برش

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی کردستان/ دوره شانزدهم/ پائیز ۱۳۹۰

چاقو درست خلفی خارجی نمونه ایجاد گردید. برشهای پارافینی عرضی به شکل سریال و ضخامت ۵ میکرون تهیه، به نسبت یک به ده از برشها برداشته شد و پس از رنگ آمیزی هماتوکسیلین و اتوزین نوروها حرکتی شاخ قدامی ماده خاکستری نخاع شمارش گردید. سمت راست نمونه‌ها به عنوان کنترل و سمت چپ آنها به عنوان آزمایش مدنظر قرار گرفت. برای بررسی بقای نوروها، ایمونوهیستوشیمی پروتئین بکس (Bax) انجام گردید. در این مطالعه از آنتی بکس خرگوش (سیگما) به عنوان آنتی بادی اولیه به نسبت یک به دو هزار، و از Antirabbit IgG ساخته شده در بز و کانژوگه با پروکسیداز (سیگما) به عنوان آنتی بادی ثانویه به نسبت یک به دویست استفاده گردید. سرم نرمال بزی (سیگما) به نسبت یک به بیست به عنوان مهارکننده واکنش زمینه‌ای، آب اکسیژنه (مرک) ۳٪ به عنوان مهارکننده پروکسیداز درون زا و از تتراکلریددی آمینو بنزیدین (سیگما) به عنوان ماده رنگ‌زا استفاده شد. برای شمارش سلولی از هر گروه ۵۰ برش عرضی از سگمانهای مورد نظر به طور تصادفی انتخاب گردید. با استفاده از دوربین Digital DP11 که متصل به میکروسکوپ Olympus Ax70 بود از تمامی مقاطع عکس گرفته شد. نوروهای بکس مثبت (سیتوپلاسم تیره) و بکس منفی (سیتوپلاسم روشن) شمارش گردیدند و نمونه‌های بافتی مورد بررسی قرار گرفت (شکل ۳).

مطالعه ردیابی (Tracing)

به منظور مقایسه تکنیک‌های مختلف ترمیم عصب سیاتیک و ارتباط آکسون‌های رشد یافته با عضله هدف، دو ماه بعد از صدمه، مطالعات ردیابی بر روی ۵ سر موش از هر گروه انجام گرفت. برای این منظور ۴۰ μl

محلول اشباع شده DiI در DMSO (Dimethyl sulfoxide) در چهار نقطه عضله گاستروکنمیوس با سرنگ ۱۰ μl هامیلتون تزریق گردید. پس از گذشت یک هفته حیوانات با فیکساتیو پارافمالدئید ۴ درصد پرفیوز شده و به روش لامینکتومی سگمانهای L4 تا L6 نخاع برداشته شد و به مدت ۲۴ ساعت در همان فیکساتیو در دمای ۴°C نگه داشته شدند. نمونه‌ها پس از عبور در ساکاروز ۱۰، ۱۵ و ۳۰ درصد و انجماد در محیط منجمدکننده بافت با OCT، توسط دستگاه برش انجمادی یا کرایواستات (Leica, CM, 3000) از آنها برشهای عرضی سریال ۵۰ میکرونی تهیه گردید، و به ترتیب روی لام ژلاتینه چسبانده شدند.

پس از خشک شدن نمونه‌ها، لامها با PBS، ۰/۱ مولار شستشو و از 4',6-Diamidino-2-phenylindole dihydrochloride (Vector Laboratories, Inc., Burlingame, CA) (DAPI) به عنوان رنگ زمینه استفاده گردید. سپس لامها با چسب مخصوص Fluorep موتته شدند و با میکروسکوپ فلورسنت (Olympus Ax70) سلولهایی که سیتوپلاسم آنها به شکل رتروگراد حاوی وزیکولهای فلورسنت قرمز رنگ DiI بودند شمارش گردیدند.

تحلیل آماری

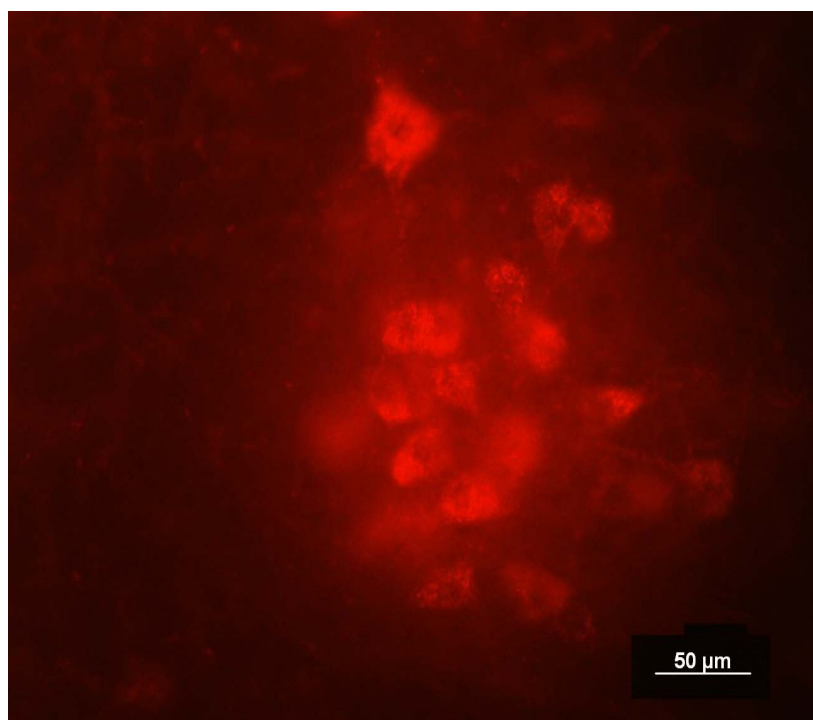
برای تجزیه و تحلیل آماری از آنالیز واریانس یک طرفه، آزمون تعقیبی LSD و آزمون تی زوج استفاده گردید. تمامی داده‌ها بصورت $\text{mean} \pm \text{SE}$ بیان شد و به لحاظ آماری $P < 0/05$ سطح معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

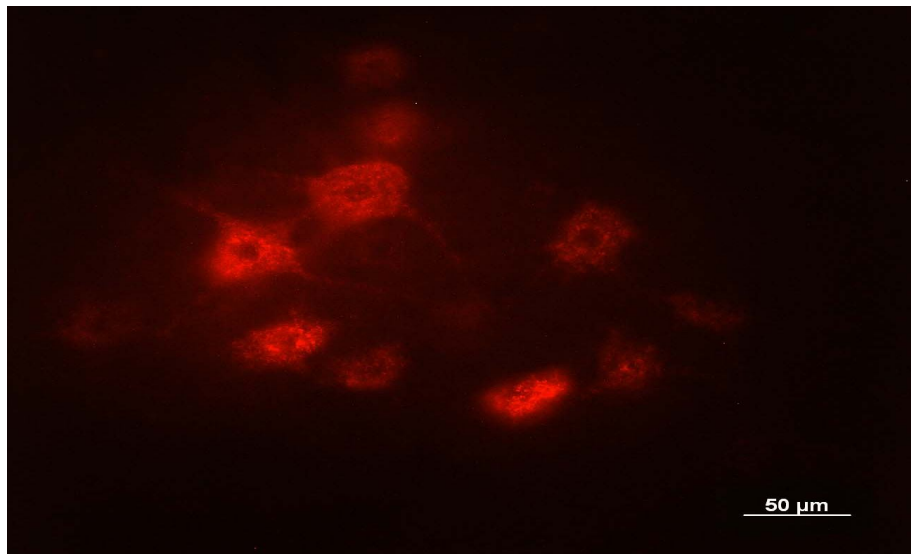
ردیابی نوروهای نشاندار شده در گروه‌های مختلف

نشان داد (جدول ۱). در حالیکه تعداد سلول‌های شمارش شده در گروه اتوگرافت و گروه کانال راهنمای عصب نزدیک به هم بوده و تفاوت آماری معنی‌داری بین آنها مشاهده نشد. در این مطالعه میانگین نورونهای گروه شم ۱۰۰ درصد در نظر گرفته و درصد میانگین سایر گروهها نسبت به آن محاسبه گردید که به ترتیب در گروه‌های اپی نوریل سوچر ۶۹/۵۳٪، اتوگرافت ۵۹/۲۱٪ و کانال راهنمای عصب ۵۶/۰۱٪ بوده است. در تکنیک ردیابی هیچکدام از نورونهای شاخ قدامی نخاع در گروه آکسوتومی نشاندار نگردیدند.

تمام سلول‌هایی که سیتوپلاسم آنها به شکل رتروگرا د حاوی وزیکولهای فلورسنت قرمز رنگ DiI بودند و هسته آنها مشخص بود در گروههای مختلف جراحی شمارش گردیدند (شکل ۱ و ۲). میانگین تعداد نورونهای نشاندار شده در گروه شم (316 ± 13) نسبت به سایر گروهها تفاوت معنی‌دار آماری ($P < 0.01$) نشان داد (جدول ۱). همچنین میانگین نورونهای نشاندار شده در گروه اپی نوریل سوچر $(219/17 \pm 11/88)$ نسبت به گروه‌های اتوگرافت $(185/1 \pm 18/47)$ و کانال هدایت عصب $(177 \pm 17/13)$ تفاوت معنی‌دار آماری ($P < 0.01$)



شکل ۱: نورونهای نشاندار شده در گروه شم که ماده رتروگرا د DiI به شکل وزیکول‌هایی در داخل سیتوپلاسم و جایگاه هسته به شکل حفره دیده می‌شود ($\times 200$ ، بار عکس ۵۰ میکرون).



شکل ۲: نورونهای نشاندار شده در گروه اپی نورئال سوچر نشان می‌دهد که دو ماه بعد از قطع عصب سیاتیک برخی از اکسونها با رشد مجدد، ماده ردیاب DiI را از عضله گاستروکنمیوس به نورونهای حرکتی شاخ قدامی نخاع انتقال داده‌اند. ($\times 200$ ، بار عکس ۵۰ میکرون).

یافته‌های بافت شناسی و ایمونوهیستوشیمی

مقایسه میانگین نورونها در سمت چپ (آزمایش) نسبت به سمت راست (کنترل) اختلاف آماری معنی‌داری ($p < 0.01$) را نشان دادند. میانگین نورونهای بکس مثبت (شکل ۳) در گروه آکسوتومی نسبت به سایر گروهها افزایش معنی‌دار آماری ($p < 0.05$) را نشان داد در حالیکه سایر گروهها نسبت به همدیگر تفاوت آماری معنی‌داری نداشتند (جدول ۱). با تکنیک ایمونوهیستوشیمی هیچکدام از نورونهای شاخ قدامی نخاع در گروه جراحی شم نشاندار نگردیدند.

جدول ۱: میانگین نورونهای مطالعات ایمونوهیستوشیمی، بافت شناسی و ردیابی در گروه‌های مختلف جراحی ۲ ماه بعد از عمل جراحی

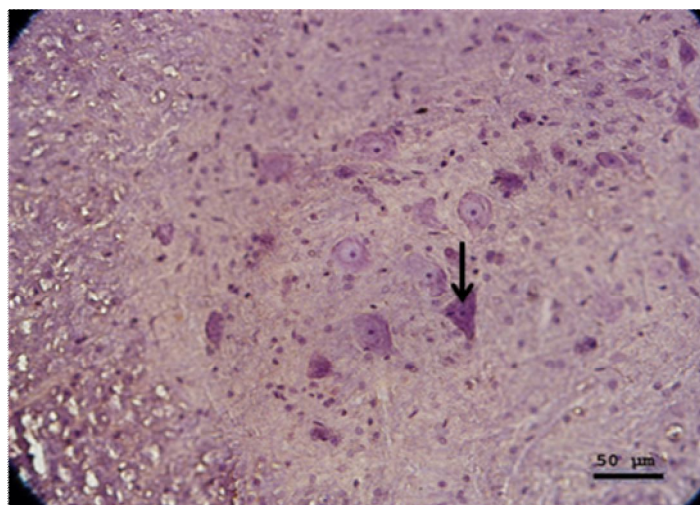
تکنیک مطالعه	ایمونوهیستوشیمی	بافت شناسی		ردیابی
		میانگین تعداد نورونها در مقطع عرضی	میانگین تعداد کل	
گروه‌های جراحی	بکس مثبت	سمت چپ	سمت راست	درصد نورونهای نشاندار شده
جراحی شم	–	$13/6 \pm 1/8$	$13/4 \pm 1/7$	۱۰۰
آکسوتومی	$6/3 \pm 2/2$ (۴)	$11/8 \pm 2/1$ (۵)	$13/2 \pm 1/9$	–
اپی نورئال سوچر	$4/25 \pm 2/1$	$12/2 \pm 1/9$ (۵)	$13/3 \pm 1/5$	$219 \pm 11/88$ (۷)
اتوگرافت	$3/3 \pm 1/7$	$12 \pm 1/9$ (۵)	$13/6 \pm 1/5$	$185/1 \pm 18/47$
کانال هدایت عصب	$3/4 \pm 1/9$	$11/9 \pm 2$ (۵)	$13/5 \pm 1/8$	$177 \pm 17/13$

(۴) میانگین نورونهای بکس مثبت در گروه آکسوتومی نسبت به سایر گروهها ($P < 0.05$).

(۵) میانگین نورونها در سمت چپ در گروه‌های جراحی نسبت به گروه شم ($P < 0.05$).

(۷) میانگین تعداد نورونهای نشاندار شده در گروه شم نسبت به سایر گروه‌های جراحی ($P < 0.01$).

(۸) میانگین نورونهای نشاندار شده در گروه اپی نورئال سوچر نسبت به گروه‌های اتوگرافت و کانال هدایت عصب ($P < 0.01$).



شکل ۳: یک عدد سلول Bax-positive (↓) در شاخ قدامی نخاع سمت چپ در گروه کانال هدایت عصب بعد از دو ماه در میان سلولهای سالم دیده می‌شود (۲۰۰×، بار عکس ۵۰ میکرون)

بحث

سلولهای نخاعی وابسته به فاکتورهای رشدی است

که از اعضای هدف از طریق رتروگراد به این نورونها منتقل می‌شوند (۱۴). لذا انتظار می‌رود که بعد از ترمیم عصب سیاتیک با تکنیک‌های مختلف جراحی، تغییرات دژنراتیو و همچنین مرگ سلول‌های شاخ قدامی کاهش یابد. این مطالعه تجربی نشان داد که استفاده از کانال راهنمای عصب همراه با سایر روشهای درمانی مانند ژل کلاژن و فاکتورهای رشد می‌تواند در حفظ نورونهای حرکتی نخاعی همانند اتوگرافت نقش داشته باشد.

پیوند اتوگرافت یا اپی نوریل سوچر در دو انتهای قطع عصب که بیش از یک سانتی‌متر باشد همراه با کشش می‌باشد که میزان فشار را بر عروق را افزایش می‌دهد و خون رسانی را کم می‌کند. افزایش کشش در ناحیه بخیه سبب کاهش قطر عروق خونی تغذیه کننده عصب می‌شود، در نتیجه خون رسانی ناحیه ترمیم عصب دچار اختلال می‌شود. از طرف دیگر در پیوند اتوگرافت به دلیل داشتن دو خط بخیه، امکان ایجاد بافت لیفی

یافته‌های بافت شناسی و ایمونوهیستوشیمی این تحقیق نشان داد که به دنبال قطع عصب محیطی در برخی از نورونهای حرکتی شاخ قدامی نخاع روند تخریبی شروع می‌شود که به مرگ سلولی منجر می‌گردد. از آنجا که در برخی از صدمات اعصاب محیطی ممکن است طول زیادی از عصب از بین برود که امکان ترمیم آن با روشهایی مانند اپی نوریل یا اتوگرافت وجود ندارد. بنابر این کانال راهنمای عصب همراه با سایر استراتژی‌ها می‌تواند بعنوان یک جایگزین در محل قطع عصب قرار گیرد و شرایط ریز محیطی مناسبی را برای ترمیم عصب و رشد اکسون فراهم کنند.

تحقیق حاضر نشان داد که قطع و یا ضایعه عصب سیاتیک به دلیل اینکه باعث قطع ارتباط نورونهای نخاعی با ارگانهای هدف می‌شود می‌تواند باعث تغییراتی مانند آتروفی، چروکیدگی سلول، پیکنوز و حتی مرگ برخی نورونهای حرکتی شاخ قدامی نخاع گردد. بنابراین وجود شرایط فیزیولوژیکی نرمال

بیشتری وجود دارد، که مانع رشد آکسون‌ها و عدم هدایت آنها در مسیر صحیح می‌شود (۱۵).

کانال‌های راهنمای عصب در محیط *In vivo* به عنوان جانشین پیوند اتوگرافت مزایای زیادی دارند و فاکتورهای متفاوتی در این کار دخیل هستند که می‌توان آنها را کم و یا زیاد کرد. اندازه کانال متناسب با شکاف ایجاد شده در عصب محیطی، خواص فیزیکی و شیمیایی NGCs به کار برده شده، ویژگی‌های قالب داخل لوله و ترکیب فاکتورهای رشد عصب که به داخل لوله اضافه می‌شوند می‌توانند بر میزان ترمیم تأثیر بگذارند.

استفاده از لوله PVDF، خط بخیه جراحی را به حداقل می‌رساند و NGF نیز رگ سازی را تحریک می‌نماید. بعلاوه اهمیت فاکتورهای رشد برای حفظ و بقاء نورون‌ها ارزشمند است. کانال راهنمایی که در این مطالعه استفاده گردید، از نوع پیژوالکتریک بوده که علاوه بر راهنما بودن برای هدایت جوانه‌های آکسونی، با ایجاد میدان الکتریکی، باعث کمک به جوانه زدن و بهبود رژنراسیون عصب آسیب دیده می‌شود (۱۶). بنابراین شاید از این نظر نسبت به لوله‌های سیلیکون ارجحیت داشته باشند. اما همچنان لوله‌های سیلیکون در مطالعات تجربی به عنوان مدل، مورد استفاده قرار می‌گیرند. احتمالاً علت استفاده از آنها قدرت نگهداری و تجمع مولکول‌های رشد عصب در آنهاست (۱۷)، با این حال لوله‌های سیلیکون هنوز نتوانسته است باعث بازگشت عملکرد مطلوبی در ضایعات اعصاب محیطی گردند (۱۸).

مطالعات انجام شده نشان می‌دهد که کانال‌های راهنمای عصب، همانند سیلیکون، پلی وینیلیدین فلوراید و کلراید از جمله مواردی هستند که سبب می‌شوند عصب ترمیم شده به شکل گرد در آید و بافت عصب

ترمیم شده در ناحیه مرکز لوله پلی مر قطبی شده تشکیل شود (۱۹). ژل کلاژن با غلظت ۱/۲۸ mg/ml بعنوان ماتریکس داخل لوله نشان داد که عدم یا کاهش رژنراسیون در ضایعات با طول فواصل بزرگ، ممکن است در نتیجه تشکیل ماتریکس ناکافی باشد. در حالی که بعضی مطالعات بهبود عملکرد و رشد مجدد اکسون را با اضافه کردن ژل‌های کلاژن و لامینین نسبت به نرمال سالین نشان داده‌اند (۲۰)، والرو کابری از لوله سیلیکون برای ترمیم قطع چهار میلیمتری عصب سیاتیک استفاده کرد و نشان داد که بعد از سه ماه تعداد نورون‌های حرکتی شاخ قدامی نخاع اختلاف معنی‌داری با گروه کنترل که قطع عصب سیاتیک را دریافت نکرده بودند نداشته است (۲۱). در مطالعه ما تعداد نورونهای شمارش گردیده در گروه کنترل در مقایسه با گروه کانال راهنما و سایر گروه‌های جراحی که قطع عصب سیاتیک را دریافت کرده بودند معنی‌دار بود. شاید، فاصله ترمیمی ۱۰ میلیمتری و مدت زمان کوتا‌هتر در این مطالعه باعث ایجاد نتایج متفاوتی نسبت به مطالعه والرو کابری شده است.

به دنبال قطع عصب سیاتیک در موش صحرایی بالغ و شمارش نورون‌های حرکتی نخاعی در سگمان‌های L4 تا L6 نخاع، یک روز پس از آکسوتومی کاهش معنی‌داری در تعداد نورون‌های حرکتی گزارش نکردند. ولی یک هفته، یک ماه و سه ماه پس از آکسوتومی تعداد نورون‌ها در مقایسه با گروه کنترل به ترتیب ۷/۶۲٪، ۱۰/۹۰٪ و ۱۳/۱۱٪ کاهش نشان داد که این کاهش در هر سه مورد معنادار بود (۲۲). با توجه به آسیب‌پذیر بودن نورون‌ها به قطع عصب معنی‌دار بودن اختلاف تعداد نورون‌های گروه کانال راهنمای عصب نسبت به گروه کنترل (سالم) قابل توجه است، ضمن

نتیجه گیری

به کارگیری کانال راهنمای عصب از جنس پلی وینیلیدین فلوراید همراه با کلاژن و فاکتور رشد عصب می تواند تغییرات دژنراتیو نورونهای مربوطه را کاهش دهد. بنابر این با کشف ویژگیهای مناسب یک کانال راهنمای عصب و شناسائی ترکیب مناسبی از مواد نوروتروفیک و مواد زمینه ای، می توان به جایگزین مناسبی برای پیوند اتوگرافت امیدوار بود.

تشکر و قدردانی

این مطالعه حاصل طرح تحقیقاتی مصوب معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تهران بود که با همکاری دانشگاه علوم پزشکی یاسوج انجام شد. از مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی ایران (اسبق) و آقای دکتر محمد علی اطلسی استادیار علوم تشریحی دانشگاه علوم پزشکی کاشان به خاطر همکاری در اجرای طرح تقدیر و تشکر می نمایم.

آنکه در برخی از بررسی ها، به دنبال قطع عصب سیاتیک تفاوت معنی داری در نورونهای ردیابی شده نخاعی بین گروه های ترمیم با کانال راهنمای عصب و ترمیم مستقیم اپی نوریوم عصب وجود نداشته است (۲۱).

مشاهده مرگ سلولی در گروه های ترمیم در این مطالعه نشان می دهد با وجود اینکه ترمیم جراحی توانسته است، میزان مرگ سلولی را کاهش دهد اما نتوانسته است از این روند بطور کامل جلوگیری نماید. در هر حال نمی توان حمایت فاکتورهای رشد حاصله از بافت هدف و قطعه دور (دیستال) عصب را که به دنبال ترمیم جراحی بوجود می آید را در کاهش مرگ نورونها انکار نمود. مکانیزم های مختلفی در ایجاد مرگ نورونها بعد از آسیب به عصب محیطی درگیر هستند (۲۳). بعد از قطع عصب در نوزاد موش، علاوه بر ویژگی های آپوپتوزیس، تغییرات سیتوپلاسمی خصوصاً میزان بالایی از واکوئلاسیون گزارش گردیده است (۲۳). وجود تغییرات هسته و سیتوپلاسم بعد از دو ماه در گروه های ترمیم عصب نشان می دهد که ارتباط قطعه دور (دیستال) و قطعه نزدیک (پروگزیمال) به تنهایی نمی تواند از وقوع مرگ نورونها جلوگیری نماید. شاید از دلایل احتمالی آن می توان به عدم ارتباط صحیح بین دستجات آکسونی در دو قطعه دور و نزدیک، وجود بخیه و آسیب ثانویه به عصب، و ارتباط عصب با بافت نابجا را بیان نمود، این احتمالات از آنجا ناشی می شود که در صورت له شدن عصب^۱ بصورتی که تداوم اپی نوریوم عصب و دستجات آن از بین نرفته باشد، مرگ نورونها بعد از سه ماه از بین خواهد رفت (۲۴).

1. Crush injury

References

1. Noble J, Munro CA, Prasad VSSV, Midha R. Analysis of upper and lower extremity peripheral nerve injuries in a population of patients with multiple injuries. *J Trauma* 1998; 45: 116-122.
2. Jiang X, Lim SH, Mao HQ, Chew SY. Current applications and future perspectives of artificial nerve conduits. *Exp Neurol* 2010; 223: 86-101.
3. Seggio AM, Narayanaswamy A, B Roysam B and Thompson DM. Self-aligned schwann cell monolayers demonstrate an inherent ability to direct neurite outgrowth. *J Neural Eng* 2010; 7: 431-8.
4. Mimura T, Dezawa M, Kanno H, Sawada H, Yamamoto I. Peripheral nerve regeneration by transplantation of bone marrow stromal cell-derived schwann cells in adult rats. *J Neurosurg* 2004; 101: 806-812.
5. Ichihara S, Inada Y, Nakamura T. Artificial nerve tubes and their application for repair of peripheral nerve injury: an update of current concepts. *Injury* 2008; 39: 29-39.
6. Chen YS, Hsieh CL, Tsai CC, Chen TH, Cheng WC, Hu CL, and et al. Peripheral nerve regeneration using silicone rubber chambers filled with collagen, laminin and fibronectin. *Biomaterials* 2000; 21: 1541-1547.
7. Madduri S, Feldman K, Tervoort T, Papaloizos M, Gander B. Collagen nerve conduits releasing the neurotrophic factors GDNF and NGF. *J Control Release* 2010; 143: 68-74.
8. Walker JL, Evans JM, Resig P, Guarnier S, Meade P, Siskin BS. Enhancement of functional recovery following a crush lesion to the rat sciatic nerve by exposure to pulsed electromagnetic fields. *Exp Neurol* 1994; 125: 302-305.
9. Valentini RF, Vargo TG, Gardella JA, Aebischer P. Electrically charged polymeric substrates enhance nerve fiber outgrowth in vitro. *Biomaterials* 1992; 12: 775-80.
10. Evans GR, Brandt K, Katz S, Chauvin P, Otto L, Bogle M and et al. Bioactive poly (l-lactic) conduits seeded with Schwann cells for peripheral nerve regeneration. *Biomaterials* 2002; 23: 841-848.
11. KimYT, Haftel VK, Kumar S, Bellamkonda RV. The role of aligned polymer fiber-based constructs in the bridging long peripheral nerve gaps. *Biomaterials* 2008; 29: 3117-3127.
12. Yoshii S, Ok M. Peripheral nerve regeneration along collagen filaments. *Brain Research* 2001; 888: 158-162.
13. Fine EG, Valentini RF, Bellamkonda R, Aebischer P. Improved nerve regeneration through piezoelectric vinylidene fluoride- trifluoroethylene copolymer guidance channels. *Biomaterials* 1992; 13: 183-90.
14. Linden R. The survival of developing neurons: a review of affect control. *Neuroscience* 1994; 58: 671-682.
15. Chen ZW, Wang MS. Effects of nerve growth factor on crushed sciatic nerve regeneration in rats. *Microsurgery* 1995; 16: 547-551.
16. Aebischer P, Valentini RF, Dario P, Domenici C, Galletti PM. Piezoelectric guidance channels enhance regeneration in the mouse sciatic nerve after axotomy. *Brain Res* 1987; 436: 165-168.
17. Hollowell JP, Villadiego A, Rich KM. Sciatic nerve regeneration across gaps within silicone chambers: long-term effects of NGF and consideration of axonal branching. *Exp Neurol* 1990; 110: 45-51.
18. Valero-Cabre A, Navarro X. Functional impact of axonal misdirection after peripheral nerve injuries followed by graft or tube repair. *J Neurotrauma* 2002; 19: 1475-1485.
19. Fine EG, Valentini RF, Bellamkonda R, Aebischer P. Improved nerve regeneration through piezoelectric vinylidene fluoride- trifluoroethylene copolymer guidance channels. *Biomaterials* 1992; 13: 183-90.
20. Valentini RF, Aebischer P, Winn SR, Galletti PM. Collagen and laminin-containing gels impede peripheral nerve regeneration through semipermeable nerve guidance channels. *Exp Neurol* 1987; 98: 350-356.

21. Valero-Cabre A, Tsironis K, Skouras E, Navarro X, Neiss WF. Peripheral and spinal motor reorganization after nerve injury and repair. *J Neurotrauma* 2004; 21: 95-108.
22. Delshad A, Al-tiraihi T, Rezazade M, Niknafs B. The ultrastructural and immunohisto-chemical changes in the spinal motoneurons and their synapses following transaction of sciatic nerve in adult rat. Thesis 2002; p. 112-125.
23. Witherside G, Doyle CA, Hunt SP, Munglani R. Differential time course of neuronal and glial apoptosis in neonatal rat dorsal root ganglion after sciatic nerve axotomy. *Eur J Neurosci* 1998; 10: 3400-3408.
24. Groves MJ, Schanzer A, Simpson AJ, An SF, Kuo LT, Scaravilli F. Profile of adult rat sensory neuron loss, apoptosis and replacement after sciatic nerve crush. *J Neurocytol* 2003; 32: 113-122.