

بررسی فراساختاری اثر توام ژل کلاژن و مجرای پلی وینیلیدین فلوراید بر روی رُزناسیون عصب محیطی موش صحرایی

دکتر غلامحسین فرجاھ^۱، دکتر تهمینه پیروی^۲، دکتر محمد تقی جنتایی^۳، دکتر مهدی مهدیزاده^۴

E-mail: hfarjah@hotmail.com^۱ نویسنده مسئول: استادیار دانشگاه علوم پزشکی ارومیه

^۲ استاد دانشگاه علوم پزشکی ایران ^۳ دانشیار دانشگاه علوم پزشکی ایران ^۴ دانشیار دانشگاه علوم پزشکی ایران

چکیده

مقدمه: تشکیل میلین به بلوغ و تکامل سیتو اسکلتال آکسون و میتو کندری وابسته است. ژل کلاژن بصورت اختصاصی در تنظیم و تکامل سیتواسکلتان آکسون نقش دارد.

روشن کار: این تحقیق یک مطالعه تجربی است که از ۴۸ سر موش صحرایی نر (۲۰۰-۲۵۰gr) استفاده شد. پس از قطع عصب سیاتیک، ۱ سانتی متر از عصب برداشته شد و شکاف حاصله توسط یکی از ۴ روش زیر ترمیم شد (مجرای پلی وینیلیدین فلوراید با ژل کلاژن، اتو گرافت، شم و کنترل). عصب سیاتیک در پایان هفته چهارم و دوازدهم توسط میکروسوب الکترونی مورد مطالعه قرار گرفت.

یافته ها: در پایان هفته چهارم پس از ترمیم، تعداد آکسون های میلین در گروه های اتو گرافت و ژل کلاژن اختلاف معنی داری ندارد ولی در پایان هفته دوازدهم ، تعداد آکسون های بدون میلین در گروه اتو گرافت بیشتر از گروه ژل کلاژن است ($p < 0.001$). چکال میکروتوبول ها در هفته دوازدهم پس از ترمیم، در گروه نرمال و اتو گرافت اختلاف معنی داری ندارند. میتو کندری در گروه های آزمایش موازی با محور درازشان می باشد.

نتیجه گیری: با توجه به اثرات مثبت ژل کلاژن بر روی رشد و تکامل میکروتوبول ها و میتو کندری ها، ممکن است این ژل جای替 ترمیم ضایعات عصب محیطی مفید باشد.

واژه های کلیدی: عصب سیاتیک، ژل کلاژن، میکروتوبول، میتو کندری، پلی وینیلیدین فلوراید

دريافت: ۸۶/۱۰/۱۱ پذيرش: ۸۵/۱۱/۷

کanal راهنمای عصب یا NGC^۱ می گویند.

میزان ترمیم عصب در کanal راهنمای عصب به غلظت ژل کلاژن وابسته است [۳]. در یک تحقیق، هنگامی که از لوله سلیکون حاوی ژل کلاژن بعنوان کanal راهنمای عصب (جهت ترمیم عصب سیاتیک) استفاده گردید، مشاهده شد که سرعت جوانه زدن آکسون افزایش می یابد [۴]. استفاده از ژل کلاژن جهت تشکیل پری نوریوم در طی ترمیم عصب موثر است [۵].

مقدمه

قطع عصب و روش ترمیم آن از دیرباز مورد توجه محققین بوده است. پیوند اتو گرافت عصب در حال حاضر بعنوان یک روش طلایی (Gold standard) برای ترمیم شکاف عصبی به کار می رود. برداشتن عصب از بدن بیمار ایده‌آل نیست و گاهی غیر ممکن است، تشکیل نوروما و بافت لیفی از عوارض شایع در روش اتو گرافت است [۲,۱]. به لوله های طبیعی یا مصنوعی که شکاف بین دو انتهای عصب بریده شده را پل می زنند،

^۱ Nerve Guidance channel

ترمیم عصب تاثیر بیشتری دارد [۱۶.۱۷]. لوله‌های قطبی شده PVDF نسبت به تغییرات مکانیکی حساس‌تر می‌باشند و بطور معنی‌داری حتی در تغییرات کم فیزیکی، شارژ سطحی تولید می‌کنند. بافت ایجاد شده در لوله‌های قطبی شده مثبت بطور معنی‌داری نسبت به لوله‌های قطبی منفی و یا غیر قطبی، تعداد آکسون میلیون‌دار و ضخامت میلیون بیشتری دارد همچنین سطح مقطع عصب نیز بزرگ‌تر است [۱۸]. در تحقیق دیگری مشخص شده است که زوائد نورون‌های کشت داده شده در روی صفحات PVDF قطبی شده بیشتر از PVDF غیر قطبی رشد می‌نمایند [۱۹].

با توجه به نتایج به دست آمده از تحقیقات مختلف، ترکیب محرك‌های بیولوژیکی و استفاده از کanal راهنمای عصب از جنس مواد پیزوالکتریک، ممکن است برای تقویت ترمیم عصب و کسب نتایج بهتر مفید باشند [۱۰]. ژل کلژن و خاصیت پیزوالکتریک هر یک به تنهایی موجب افزایش رژئنراسیون می‌شوند. بررسی های انجام شده توسط مولفان مقاله نشان می‌دهد که مطالعه‌ای مبنی بر بررسی فراساختاری آکسون هنگام استفاده توأم آن‌ها تاکنون گزارش نشده است.

روش کار

پژوهش حاضر یک مطالعه تجربی است که بر روی ۴۸ سر موش صحرابی نر بالغ، نژاد Sprague-Dawley به وزن تقریباً ۲۵۰-۲۰۰ گرم انجام گرفت. حیوانات به صورت تصادفی به چهار گروه ۱۲ تایی تقسیم شدند:

- گروه PVDF با ژل کلژن
- گروه اتو گرافت
- گروه Sham
- گروه کنترل

روش جراحی:

موش‌ها در ابتدا توسط ماده بیهوشی Ketamin به مقدار ۹۰mg/kg و Xylazine به مقدار ۱۰mg/kg به صورت داخل صفاقی بیهوش شدند. با ایجاد برشی در پوست ناحیه خلفی خارجی پای سمت چپ، عضله و فاسیا به آرامی کنار زده و عصب سیاتیک در فاصله بین

مطالعات نشان می‌دهد که مراحل طویل شدن آکسون به محل بافت، ماتریکس خارج سلولی، سلول‌های مجاور و عوامل هورمونی نورون در حال ترمیم وابسته است [۶]. ژل کلژن بعنوان یک ماتریکس مناسب برای نگهداری عوامل تغذیه کننده عصب یا سلول‌ها معرفی شده است [۷]. به دنبال ترمیم اعصاب محیطی، فیبروبلاست‌های اندونوریم در تولید کلژن نوع I و فیبرونکتین شرکت می‌نمایند [۸]. نتایج تحقیقات نشان می‌دهد هنگامی که از ورید ژوگولار پر شده با ژل کلژن بعنوان کanal راهنمای عصب استفاده شود، ترمیم عصب افزایش می‌یابد [۹]. پس از قطع عصب (در مقایسه با له شدن) بیان Collagen mRNA در سلول‌های فیبروبلاست اپی‌نوریوم افزایش می‌یابد [۱۰]. تحقیقات نشان می‌دهد که غلظت کمتر ژل کلژن سبب بهبودی بالای ترمیم عصب می‌شود [۱۱]. همچنین استفاده از ترکیب ژل کلژن، لامینین و فیبرونکتین محیط مناسبی را برای ترمیم آکسون ایجاد می‌نماید [۱۲]. مطالعات نشان می‌دهد که استفاده از ترکیب کلژن نوع I و III بعنوان ماتریکس در داخل مجرای راهنمای عصب سبب تقویت ترمیم عصب می‌شوند [۱۳]. در تحقیقی دیگر هنگامی که از لوله سلیکون جهت ترمیم ضایعه عصب محیطی استفاده نمودند، مشاهده شد که استفاده از ژل کلژن تاثیری در افزایش ترمیم عصب ندارد [۱۴].

مواد پیزوالکتریک موادی هستند که تغییر فشار و یا نیرو باعث تغییر بار الکتریکی لحظه‌ای در سطح آن‌ها می‌شود. پلی وینیلیدین فلوراید (PVDF)^۱ یک مجرای مصنوعی است که علاوه بر اجازه انتشار گازها و مایعات به داخل مجرای از نفوذ ملکول‌های مهار کننده جلوگیری می‌نماید و با تولید شارژ سطحی، نقش مهمی در تمایز و تحریک انواع سلول‌ها از جمله سلول شوان و رشد آکسون دارد [۱۵]. تحقیقات نشان می‌دهد که PVDF ترمیم عصب محیطی را تقویت می‌نماید. کanal PVDF قطبی نسبت به غیر قطبی در افزایش کمی و کیفی

^۱ Ploy Vinylidene Fluoride

مناسب برای مطالعه میکروسکوپ الکترونی مشخص شد. سپس برش هایی به اندازه ۵۰ نانومتر تهیه شدند. برش ها بر روی شبکه مسی (Grid) منتقل و رنگ آمیزی شدند. سپس توسط میکروسکوپ الکترونی آزمایش (Leo 906) در بزرگ نمایی های مختلف مطالعه و از نواحی مورد نظر توسط دوربین دیجیتال متصل به کامپیوتر عکس تهیه گردید. ابتدا در بزرگ نمایی ۳۰۰۰ آكسون های بدون میلین شمارش شدند. سپس با بزرگ نمایی ۶۰۰۰ تعداد لایه های میلین آكسون های میلین دار، شکل میتوکندری ها و تعداد میکروتوبول های درون آكسون ها بررسی گردید. تصاویر به نواحی شش گوشه که هریک به مساحت $0.35 \mu\text{m}^2$ اکسپلasm می باشند تقسیم و میکروتوبول ها در حداقل ۶۰ آكسون (۳۷۰ ناحیه شش گوش) شمرده شدند. تعداد متوسط میکروتوبول های هر ناحیه شش گوش توسط تعداد کل میکرو توبول های شمارش شده به تعداد کل نواحی شش گوش بدست آمد [۲۰].

یافته ها جهت تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار spss و تست های ANOVA و t-test مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته ها

با ثابت نمودن نمونه ها توسط گلوتار آلدھید و تراکسید اسمیوم، چربی غلاف میلین حفظ شده و در برش های عرضی بصورت یک حلقه تقریباً سیاه که پیرامون آكسون قرار دارد، دیده می شود. مطالعه میکروسکوپ الکترونی نشان می دهد که آكسون های فاقد میلین در ناودان های عمیق موجود در سطح سلول های شوان قرار دارند. برای تعیین تعداد آكسون های بدون میلین، غشای پایه و حضور نوروفیلامنت ها ملاک تشخیص قرار گرفت. تعداد آكسون بدون میلین در بخش های میانی و انتهایی محل ترمیم عصب کمتر از ناحیه ابتدایی می باشد. میانگین آكسون های بدون میلین در پایان هفت دوازدهم پس از ترمیم در گروه ژل کلاژن نسبت به گروه اتوگرافت اختلاف معنی داری دارد ($10.0 > 0.0$) (جدول ۱).

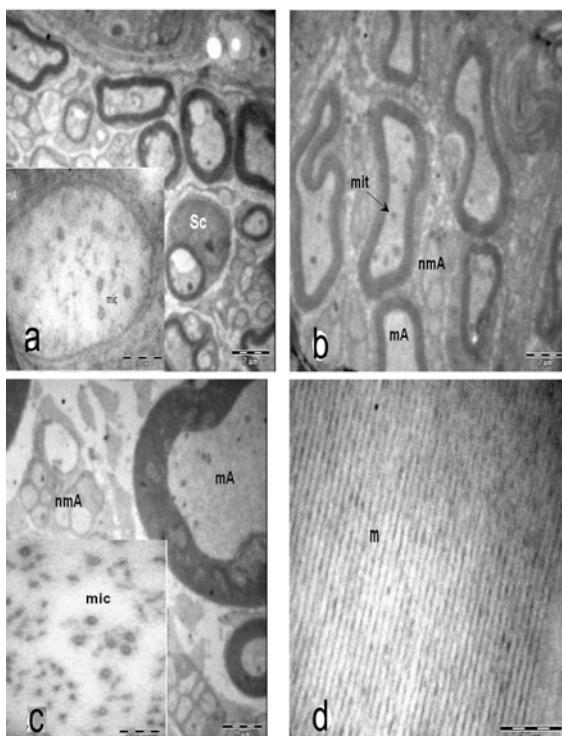
بریدگی سیاتیک تا محل دو شاخه شدن اعصاب تیبیا و پروتئال مشترک نمایان گردید. سپس در حد واسطه بین دو نقطه فوق و در محل یکسان برای گروه اتوگرافت و گروه PVDF + ژل کلاژن، قطعه ای از عصب به اندازه ۱۰ mm قطع شد. از یک قطعه لوله استفاده شد. دو انتهای بریده عصب به صورت تلسکوپی داخل لوله گذاشته و با نخ نایلون ۱۰۰ به دیواره لوله بخیه زده شد. تمام مراحل فوق در زیر میکروسکوپ جراحی (Olympus , SZX12 , Japan) با بزرگ نمایی ۲۰ و تحت شرایط استریل انجام شد. ۰.۳ میلی لیتر از ژل کلاژن (Roche) حاوی کلاژن I و III با غلظت 1.28mg/ml از طریق یک سرنگ و قبل از محکم نمودن بخیه اپی نوریال به داخل لوله تزریق شد. محلول فوق در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به ژل تبدیل می شود.

در گروه اتوگرافت قطعه بریده شده عصب در گوجه جابه جا و به دو انتهای بریده عصب توسط نخ ۱۰۰ بخیه شد. در گروه شاهد (Sham)، عصب سیاتیک نمایان شد ولی قطع نگردید. در گروه کنترل حیوان سالم و دست نخورده است. پس از عمل جراحی، بخش های بریده عضله و پوست بخیه شدند.

شش موش از هر گروه در پایان هفته چهارم و پایان هفته دوازدهم جهت مطالعه بافت شناسی پروفیوژن شدند. عصب سیاتیک ۱ میلی متر قبل و ۱ میلی متر بعد از محل ترمیم (لوله PVDF یا اتوگرافت) بریده و نمونه ها تمام شب در ثابت کننده گلوتار آلدھید درصد و در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. نمونه ها به سه قسمت ابتدایی، میانی و دیستال تقسیم شدند. به دنبال استفاده از تراکسید اسمیوم یک درصد به مدت $1/5$ ساعت، مراحل تهیه بلوك برای میکروسکوپ الکترونی انجام گرفت. توسط اولترامیکروتوم برش هایی به ضخامت ۵۰۰ نانومتر تهیه و با محلول تولوئیدین بلو ۱٪ به مدت ۲-۳ دقیقه رنگ آمیزی شدند. پس از تهیه برش نیمه نازک، محل

- (b) گروه اتوگرافت: تعدادی آکسون بدون میلین که توسط یک سلول شوان احاطه می‌شوند ($\times 4683$)
- (c) گروه ژل کلائز: تعدادی آکسون بدون میلین در حد واسطه دو آکسون میلین دار ($\times 14630$)
- (d) مجاورت سلول شوان با آکسون میلین دار ($\times 21560$)
- (e) عصب نرمال: تیغه پایه (bl) در نزدیکی غلاف میلین ($\times 21560$)
- آکسون میلین دار (mA)، آکسون بدون میلین (nmA)، سلول شوان: (Sc)، میتوکندری (mit)، میلین (m) تصویر کوچک در شکل های a و b: به وضعیت قرارگیری ستیغ های میتوکندری در گروه های ژل کلائز و اتوگرافت (موازی با محور طولی میتوکندری) e و عصب نرمال (عمود بر محور طولی) d توجه نمایید ($\times 35970$)

میکروسکوپ الکترونی مشخص می‌کند، که میکروتوبولها در آکسون عصب نرمال با فاصله کم و مساوی قرار گرفته‌اند و در فضای بین آنها نوروفیلامنت‌ها دیده می‌شود (شکل ۲).

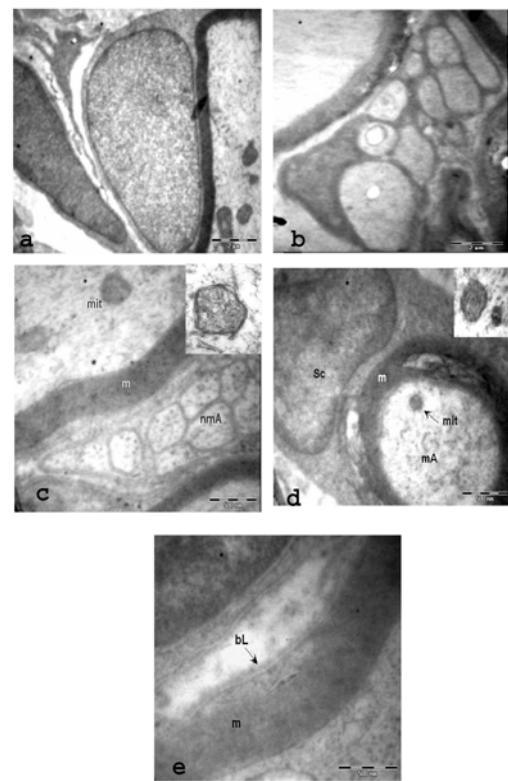


شکل ۲: تصویر میکروسکوپ الکترونی، از عصب رُذنِه در ناحیه میانی لوله PVDF، در مقایسه با اتوگرافت و عصب نرمال ۱۲ هفته پس از ترمیم ($\times 35970$)

(a) گروه اتوگرافت (b) گروه ژل کلائز (c) عصب نرمال (d) منظم بودن خطوط تیره و روشن غشای میلین را نشان می‌دهد ($\times 60000$). تصویر کوچک در شکل های a و b: آرایش میکروتوبولها در آکسون میلین دار و آکسون بدون میلین، به دسته‌های ۳، ۴ و ۵ تابی میکروتوبول توجه فرمائید ($\times 60000$)

میکروسکوپ الکترونی نشان می‌دهد که در گروه‌های آزمایشی غلاف میلین به خوبی در اطراف آکسون ایجاد شده است و میلین در واقع بخشی از سلول شوان می‌باشد، که بصورت مارپیچ دور آکسون می‌پیچد و با یک توالی تیره و روشن مشاهده می‌شود. با اندازه گیری توالی تیره و روشن میلین در پایان هفته چهارم و دوازدهم پس از ترمیم، ملاحظه گردید که ضخامت میلین در گروه اتوگرافت نسبت به گروه ژل کلائز اختلاف معنی‌داری دارد ($p < 0.01$) (جدول ۱).

میکروسکوپ الکترونی نشان می‌دهد که سلول شوان در خارج توسط یک تیغه قاعده‌ای (basal lamina) محدود شده است و آن نیز به نوبه خود توسط اندونوریوم پوشیده می‌شود، به طوری که وجه تمایز سلول‌های شوان از فیبروبلاست‌ها، حضور تیغه قاعده‌ای (basal lamina) است (شکل ۱).



شکل ۱: تصویر میکروسکوپ الکترونی، از عصب رُذنِه در ناحیه میانی لوله PVDF، در مقایسه با اتوگرافت و عصب نرمال ۱۲ هفته پس از ترمیم (a) گروه ژل کلائز: مجاورت سلول شوان با آکسون میلین دار، هسته سلول فیبروبلاست در مجاورت سلول شوان مشاهده می‌شود ($\times 4683$)

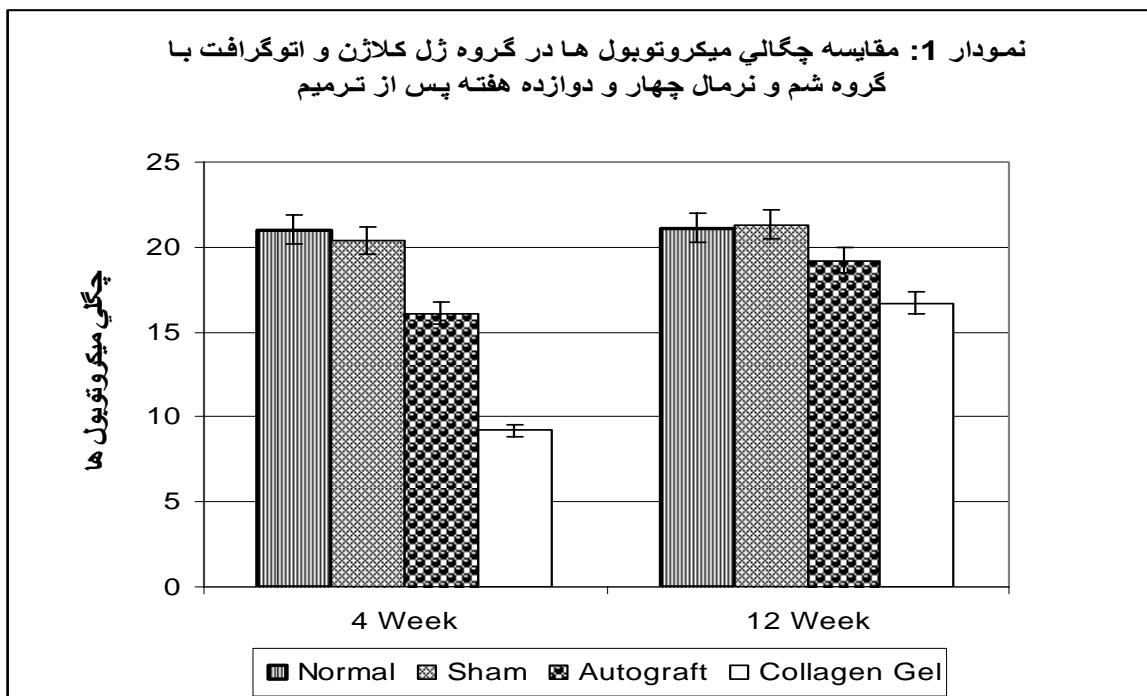
جدول ۱: مقایسه تعداد آكسون های بدون میلین و ضخامت غلاف میلین در هفته چهارم و دوازدهم پس از ترمیم (mean \pm SD)

گروه	تعداد آكسون بدون میلین (هفته چهارم)	ضخامت غلاف میلین (هفته چهارم)	تعداد آكسون بدون میلین (هفته دوازدهم)	ضخامت غلاف میلین (هفته دوازدهم)	دوایزدهم (nm)
PVDF+	۱۰۵۳۰ \pm ۸۸۰	۱۱۲۷۰ \pm ۵۱۱ ^a	۱۱۲۷۰ \pm ۵۱۱ ^a	۲۰۸ \pm ۲۵nm ^a	۵۱۱ \pm ۹۱ nm ^a
اتوگرافت	۸۱۱۱ \pm ۴۱۷	۱۷۲۸۰ \pm ۷۶۰	۱۷۲۸۰ \pm ۷۶۰	۳۱۰ \pm ۳۳ nm	۱۰۵۲ \pm ۱۹۱ nm
شم	۱۰۵۶۱ \pm ۴۴۵	۱۰۵۶۱ \pm ۴۴۵	۱۰۵۶۱ \pm ۴۴۵	۱۸۵۷ \pm ۱۹۵ nm	۱۸۹۰ \pm ۱۹۷ nm
کنترل	۱۱۴۵۰ \pm ۳۷۸	۱۱۴۵۰ \pm ۳۷۸	۱۱۴۵۰ \pm ۳۷۸	۱۹۵۰ \pm ۱۸۱ nm	۲۰۵۰ \pm ۱۸۱ nm

nm = نانومتر

a اختلاف معنی دار در مقایسه با گروه اتوگرافت $p<0.01$

نمودار ۱: مقایسه چگالی میکروتوبول ها در گروه ژل کلاژن و اتوگرافت با گروه شم و نرمال چهار و دوازده هفته پس از ترمیم



میشوند و چگالی آنها $2/8\pm 9$ در میکرومتر مرربع می باشد، که از لحاظ آماری نسبت به عصب نرمال اختلاف معنی داری دارند ($p<0.01$). در پایان هفته ۱۲، چگالی میکروتوبول ها در گروه اتوگرافت نزدیک به عصب نرمال است ($19/2\pm 3$ در میکرومتر مرربع)، در حالی که چگالی آنها در گروه ژل کلاژن ($16/7\pm 3/1$) می باشد ($p<0.01$) (نمودار ۱).

میتوکندری در آكسون میله ای شکل و غالباً باریکتر از میتوکندری در سایر سلول های غیر عصبی است. البته گاهی میتوکندری گرد و بزرگی نیز دیده می شود.

چگالی میکروتوبول ها در عصب نرمال 24 ± 3 در میکرومتر مرربع است.

آرایش قراگیری میکروتوبول ها در آكسون های در حال ترمیم در مقایسه با عصب نرمال متفاوت است. در پایان هفته چهارم پس از ترمیم، میکروتوبول ها در گروه اتوگرافت بصورت دسته های ۴-۵ تایی دیده می شوند. دسته ها با فواصل متغیری نسبت به هم قرار دارند و چگالی میکروتوبول ها در گروه اتوگرافت $16/1\pm 2/7$ در میکرومتر مرربع است. در حالی که در گروه ژل کلاژن، میکروتوبول ها غالباً بصورت دو تایی دیده

می‌شود [۲۲].

هنگامی که عصب تحت فشار(Crush) قرار می‌گیرد، پوشش‌های اپی نوریوم و پری نوریوم ان سالم است و نیازی برای بخیه زدن وجود ندارد، در نتیجه ترمیم عصب به راحتی و سریع تر انجام می‌گیرد. در مطالعه حاضر نیز همانند سایر تحقیقات انجام شده مشاهده گردید که تعداد آکسون‌ها در ناحیه انتهایی محل ترمیم کمتر از ناحیه ابتدایی می‌باشد که این امر ممکن است به دو دلیل باشد، اولًاً تعدادی از آکسون‌ها (به دنبال انتخاب مسیر غلط) نوروما تشکیل می‌دهند، ثانیاً ممکن است زمان بیشتری جهت رشد آکسون‌ها و رسیدن آن‌ها به انتهای کانال راهنمای عصب نیاز باشد [۲۳].

میکروتوبول‌ها در عصب سالم بصورت منفرد و با فاصله کم و مساوی قرار می‌گیرند [۲۴]. آنالیز میکروسکوپ الکترونی نشان می‌دهد که چکالی میکروتوبول‌های اکسونی در گروه اتوگرافت و گروه ژل کلائز در پایان هفته چهارم با عصب نرمال اختلاف معنی داری دارد.

در پایان هفته دوازدهم در هر دو گروه افزایش می‌یابد ولی این افزایش در گروه اتوگرافت نزدیک به نرمال است. این امر به دلیل سالم بودن پوشش‌های اپی نوریوم و پری نوریوم و حضور تعداد زیادی سلول شوان در گروه اتوگرافت است که ترمیم عصب به راحتی و سریع تر انجام می‌گیرد. در گروه ژل کلائز به دلیل استفاده از کانال راهنمای عصب، با تشکیل اپی نوریوم و عروق خونی، سلول‌های شوان از دو انتهای پروگزیمال و دیستال کانال تکثیر یافته و در داخل کانال تجمع می‌یابند. تحقیق حاضر نشان می‌دهد که حضور کلائز به عنوان ماتریکس جهت رشد اکسون در کانال راهنمای عصب اهمیت دارد.

بزرگتر بودن مقطع آکسون در ناحیه ابتدایی نسبت به انتهایی محل ترمیم عصب، به دلیل تعداد بیشتر نوروفیلامنټها و میکروتوبول‌ها و سایر پلیپیتیدها می‌باشد. انتقال آکسونی میتوکندری به میکروتوبول‌ها وابسته است ولی به میکروفیلامنټها و جریان

میتوکندری‌ها در طول آکسون و با فواصلی متغیر نسبت به هم پخش می‌شوند. ستیغ‌های میتوکندری در گروه سالم بیشتر بصورت عرضی جهت گیری نموده ولی در گروه‌های آزمایشی موازی با محور درازشان قرار دارند، در برخی عرضی، حلقه‌های هم مرکز تیره و روشن به نظر می‌رسند. همچنین در گروه‌های آزمایشی گرانول‌های متراکم و کروی شکل (matrix granules) بیشتری نسبت به گروه کنترل در فضای بین ستیغی مشاهده می‌گردد (شکل ۱).

بحث

اگر چه پیوند اتوگرافت در حال حاضر به عنوان روش طلایی برای ترمیم شکاف عصبی به کار می‌رود، ولی ترمیم کامل نادر است [۲۱]. فقدان یک روش استاندارد و شناخت ناکافی اصول مکانیسم‌های ترمیم عصب از جمله دلایل قصور در تحقیقات NGC می‌باشد. بعنوان مثال اندازه شکاف ایجاد شده در عصب محیطی، خواص فیزیکی و شیمیایی NGC به کار برده شده، ویژگی‌های ماتریکس داخل لوله و یا تحت فشار قرار دادن عصب (بدون ایجاد شکاف در آن) بر میزان ترمیم تاثیر دارند.

با توجه به روش‌های مختلف ارزیابی توسط محققین مختلف، مقایسه بین این تحقیقات سخت و دشوار است. در بسیاری از تحقیقات انجام شده اندازه شکاف عصب کمتر از یک سانتی‌متر در نظر گرفته می‌شود که این امر مطمئناً بر نتایج حاصل از تحقیق بسیار موثر است. عصب سیاتیک شایع‌ترین مدل برای مطالعه ترمیم عصب در جوندگان می‌باشد، زیرا به راحتی قابل دسترسی است، به اندازه کافی بزرگ است و نهایتاً اینکه عصب مخلوط حسی و حرکتی می‌باشد [۲۱].

استفاده از پلی مرهای شارژ شده همانند PVDF، ممکن است نکات بیشتری را درباره نقش جریان الکتریکی در کنترل ترمیم روشن نماید. نتایج نشان می‌دهد که برخلاف بزرگسالان، ترمیم بافت در جنین (به دلیل عدم حضور التهاب شدید) سریع‌تر انجام

میکروتوبول های روی هم افتاده، به پیشروی مخروط رشد کمک می کند. مخروطهای رشد بصورت پاها نخی شکل، آرام آرام در طول سطح خارجی ستونهای سلولهای شوان پیشروی می کنند و تدریج توسط آنها احاطه می شوند [۲۶].

در سیستم عصبی تشکیل و تکامل غلاف میلین به تکامل میکروتوبول ها وابسته است [۲۷، ۲۰].

در تحقیق حاضر نیز مشاهده می گردد در گروه اتوگرافت میانگین ضخامت میلین در هفته چهارم و دوازدهم پس از ترمیم بطور معنی داری بیشتر از گروه ژل کلاژن⁺ PVDF است و این مطلب با افزایش چگالی میکروتوبول ها ارتباط دارد. بطوری که در پایان هفته دوازدهم چگالی میکروتوبول ها در گروه اتوگرافت نزدیک به چگالی عصب نرمال است.

میتوکندری و میکرو توبول ها با هم همکاری می نمایند بطوری که میکروتوبول ها جهت بازسازی و افزایش طول خود نیاز به انرژی دارند که میتوکندری ها آن را تامین می کنند. میتوکندری ها هم جهت انتقال به ناحیه دیستال اکسون به میکروتوبول ها وابسته هستند.

نتیجه گیری

این مطالعه پیشنهاد می کند که با توجه به اثرات مثبت بر روی رشد و تکامل میکروتوبول ها و میتوکندری ها، ژل کلاژن ممکن است جهت ترمیم ضایعات عصب محیطی مفید باشد.

اندوفلامینیک رتیکولوم ارتباطی ندارد. چگالی میکروتوبول ها در هفته دوازدهم با افزایش قطر آکسون افزایش می یابد، این افزایش چگالی با افزایش قطر آکسون ها ارتباط دارد. با آنالیز میکروسکوپ الکترونی تعداد میکروتوبول ها در گروه PVDF + ژل کلاژن کمتر از گروه اتوگرافت است. افزایش تعداد میکروتوبول ها نشانه افزایش بیان پروتئین های سیتواسکلتال است که میلین سازی را تحت تاثیر قرار می دهد [۲۳].

در نورون های در حال رشد، میکروتوبول ها نقش مهمی در افزایش طول آکسون به سوی سلول هدف بازی می کنند. به دنبال قطع اعصاب محیطی و شروع دژنرسانس والرین، قطعه انتهایی آکسون آسیب دیده توسط سلول های اطراف هضم و جذب می شوند. در روز اول حادثه، انتهای قطعه ابتدایی آکسون، به دلیل تجمع محتویات آکسوسپلasmی تازه رسیده شامل ترکیبات سیتواسکلتی همانند نوروفیلامنت ها، میکروتوبول ها و میکروفیلامنت ها، همچنین میتوکندری و عنصر اندوفلامینیک صاف متورم می شوند، که اصطلاحاً به آن مخروط رشد (Growth Cones) می گویند [۲۵]. در مخروط رشد، میکروتوبول ها بصورت دسته قرار دارند و توسط پل های عرضی که در فواصل منظم قرار گرفته اند به یکدیگر متصل می شوند، این پل ها از پروتئینی به نام دیئنین (Dynein) تشکیل شده است. این پروتئین در حضور Adenosine Triphosphate (ATP) یک کوفاکتور سبب می شود برخی میکروتوبول ها نسبت به برخی دیگر از آنها بلغزند. افزایش طول ایجاد شده در

References

- 1- Hudson TW, Evans GR.D, and Schmidt CE: Engineering strategies for peripheral nerve repair. Clin Plast Surg. 1999; 26(4): 617-628.
- 2- Ansselin AD, Fink T, and Davey DF. An alternative to nerve grafts in peripheral nerve repair: Nerve guides seeded with adult schwann cells. Acta Chirurgica Austriaca. 1998; 30(147): 19-24.
- 3- Valentini FR, Aebischer P, Winn SR and Galletti PM. collagen-and Laminin containing gels impede peripheral nerve regeneration through semipermeable nerve guidance channels. Exp Neurol. 1987; 98(2): 350-6.
- 4- Satou T, Nishida S , Hiruma S , Tanji K , Takahashi M , Fujita S , et al. A morphological study on the effects of collagen gel matrix on regeneration of served rat sciatic nerve in silicone tubes. Acta pathol Jpn. 1986 ; 36(2): 199-208.
- 5- Takahashi M, satou T, and Hashimoto S. Experimental in vivo regeneration of peripheral nerve

- axons and perineurium guided by resorbable collagen film . *Acta pathol Jpn.* 1988; 38(12): 1489-502.
- 6- Sephel GC, Burrous BA, and kleinman HK. Laminin neural activity and binding proteins. *Dev Neurosci.* 1989; 11(4-5): 313-31.
- 7- Keeley R, Atagi T , Sabelman E , Padilla J , Kadlcik S , Keeley A , et al . Peripheral nerve regeneration across 14-mm gaps: a comparison of autograft and entubulation repair methods in the rat . *J Reconstr Microsurg.* 1993; 9(5): 349-58.
- 8- Siironen J,Sandberg M , Vuorinen V , and Royta M. Expression of type I and III collagens and fibronectin after transection of rat sciatic nerve. Reinnervation compared with denervation. *Lab Invest.* 1992; 67(1): 80-7.
- 9- Wang KK, Costas PD , Jones DS , Miller RA , and Seckel BR . Sleeve insertion and collagen coating improve nerve regeneration through vein conduits. *J Reconstr Microsurg.* 1993; 9(1): 39-48.
- 10- Siironen J, Vuorio E , Sandberg M , and Royatta M . Expression of type I and III collagen and Laminin beta I after rat sciatic nerve crush injury . *J Peripher Nerve Syst.* 1996;1(3) : 209-21.
- 11- Labrador RO , Buti M , and Navaro X . Influence of collagen and laminin gels concentration on nerve regeneration after resection and tube repair . *Exp Neurology.*1998 ; 149:243-252.
- 12- Chen YS, Hsieh CL, Tsai CC, Chen TH, Cheng WC, Hu CL, et al. Peripheral nerve regeneration using silicone rubber chambers filled with collagen, laminin and fibronectin .*Biomaterials.*2000; 21(15): 1541-7.
- 13- Keilhoff G, Stang F , Wolf G , and Fansa H . Bio-compatibility of type I/III collagen matrix for peripheral nerve reconstruction , *Biomaterials*, 2003 ; 24(16): 277-87.
- 14- Terris DJ, Cheng ET , Utley DS , Tarn DM , HO PR , and Verity AN . Functional recovery following nerve injury and repair by silicon tubulization: comparison of laminin-fibronectin, dialyzed plasma, collagen gel , and phosphate buffered solution . *Auris Nasus Larynx.* 1999 ; 26 (2): 117-22 .
- 15- Robert F, Pokholok DK and Hannett NM. Electrically charged Polymeric substrates enhance nerve fibre out growth in vitro. *Biomaterials.* 1992 ;13(3): 183-190.
- 16- Aebischer P, Valentini RF , Dario P ,Domenici C , and Galletti PM . Piezoelectric guidance channels enhance regeneration in the mouse sciatic nerve after axotomy. *Brain Research.* 1987; 436: 165-168.
- 17- Valentini RF , Sabatini AM , Dario P , and Aebischer P. Polymer electret guidance channels enhance peripheral nerve regeneration in mice. *Brain Research.* 1989; 480: 300-304.
- 18- Fine EG, Valentini RE , Bellamkonda R , and Aebischer P. Improved nerve regeneration through piezoelectric vinylidenefluoride trifluoroethylene copolymer guidance channels. *Biomaterials.* 1991; 12: 775-780.
- 19- Valentini RF, Vargo TG , Gardella JA JR , and Aebischer P. Electrically charged polymeric substrates enhance nerve fiber outgrowth in vitro. *Biomaterials.* 1992; 13(3): 183-90.
- 20- Lura L.Kirkpatrick , Andrea S.Witt , H.Ross Payne , H. David Shine , and Scott T. Brady .Changes in Microtubule Stability and Density in Myelin-Deficient Shiverer Mouse CNS Axons. *The Journal of Neuroscience.* 2001; 21(7):2288-2297.
- 21- Pu LL.syed SA, Reid M , Patwa H. Effects of nerve growth factor on nerve regeneration through a vein graft across a gap.*Plastic and Reconstructive Surgery.* 1999; 104(5), 1379-1385.
- 22- Wang K, Nemeth IR, Seckel BR, Chakalis DP, Swann DA , Kuo JW , et al. Hyaluronic acid enhances peripheral nerve regeneration in vivo. *Microsurgery.* 1998; 18: 270-275.
- 23- ScottT.Brady, Andrea S. Witt, Laura L. Kirkpatrick , Sylvie M.de Waegh , Carol Readhead , Pang-Hsien Tu, and et al. Formation of compact myelin is required for maturation of the axonal cytoskeleton. *The journal of Neuroscience.* 1999; 19(17):7278-7288.
- 24- Lundborg G. Neyre regeneration and repair- A review. *Acta Orthop.*1987; 58: 145-169.
- 25- Grill RJ, and Tuszyński M H. CNS Regeneration: Axonal Responses to Injury, California, Academic Press , USA , 1999 : 15-90
- 26- Thanos PK, Okajima S, and Terzis J K. Ultrastructure and cellular biology of nerve regeneration. *J of Reconstructive Microsurg.* 1998; 14(6): 423-437.