بررسی تاثیر ترمیم عصب سیاتیک بر روی فراساختمان نورونهای عقده ریشه خلفی نخاع در موش صحرایی بالغ

دکترمحمد علی اطلسی [۱]، دکتر مهدی مهدی زاده [۲]، دکتر محمد هادی بهادری [۳]، دکتر محمد تقی جغتایی [۲]

چکیده

سابقه و هدف: با توجه به ضرورت یافتن راههای مطلوب جهت حفظ و بقاء جسم نورونها به دنبال آسیب سیستم عصبی، و از طرفی کمبود مطالعات در زمینه تاثیر ترمیم عصب محیطی بر روی فراساختار نورونهای حسی، این تحقیق در سال ۱۳۸۳ در دانشگاه علوم پزشکی ایران به انجام رسید.

مواد و روشها: در این مطالعه تجربی، ۲٤ سر رت بالغ نر نژاد ویستار (*Wistar*) به وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرم بطور تصادفی انتخاب و در سه گروه مساوی شامل آکسوتومی، ترمیم و شم تقسیم شدند. در گروه آکسوتومی عصب سیاتیک چپ در وسط ران قطع، ولی ترمیم نگردید.در گروه ترمیم، عصب سیاتیک در وسط ران قطع و به روش سوچور اپی نوریال ترمیم گردید. بعد از هشت هفته پنجمین عقده ریشه خلفی چپ و راست(سالم) خارج شد. برای انجام شمارش نورونی، بعد از تهیه برشهای انجمادی و رنگ آمیزی کریزل ویوله، با استفاده از عدسی مدرج چشمی، نورونها مورد شمارش قرار گرفتند. برای مطالعه فراساختمانی، عقده ها پس از فیکس اولیه و ثانویه، آبگیری، با رزین آرالدیت قالب گیری شدند و بعد از تهیه برشهای نیمه نازک و نازک و رنگ آمیزی، توسط میکروسکوپ نوری و الکترونی *TEM* مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته ها: میزان نورونهای سالم در گروه قطع عصب (آکسوتومی) بعد از دو ماه ۲۷/٤±۷/۷ و در گروه ترمیم عصب ۱۱/٤ ±۳۳/٤بود (*P<0.03*). برشهای نیمه نازک در گروههای سالم و شم نمایی طبیعی داشتند، در گروه آکسوتومی جابجایی هسته و هستک، چروکیدگی، و پیکنوزیس را نشان دادند. در گروه ترمیم این تغییرات کاهش یافته بود. برشهای نازک در گروه سالم وشم کاملا طبیعی، در گروه آکسوتومی تراکم کروماتین، مارژیناسیون و پیکنوزیس هسته، شکلهای غیر طبیعی و تخریب میتوکندری و گشادشدن شبکه آندوپلاسمی دیده شد. در گروه ترمیم نیز در بعضی از نورونها تراکم کروماتین، مارژیناسیون و پیکنوزیس و گشاد شدن میتوکندری و شبکه آندوپلاسمی مشاهده گردید.

نتیجه گیری و توصیه ها: ترمیم عصب به روش ترمیم اپی نوریال می تواند باعث کاهش تغییرات منجر به مرگ سلولی در نورونهای حسی عقده ریشه خلفی نخاع شود، اما نمی تواند کاملا آنها را از بین ببرد. بررسی تاثیر روشهای دیگر ترمیم عصب بر روی وضعیت نورونها و ارزیابی دقیق تر با استفاده از تکنیکهای هیستوشیمی و ایمونوهیستوشیمی توصیه می شود.

واژگان کلیدی: آکسوتومی، ترمیم جراحی، عقده ریشه خلفی، فراساختمان، رت

۱- مربی، عضو هیات علمی دانشگاه علوم پزشکی کاشان، گروه آناتومی

۲- عضو هیات علمی دانشگاه علوم پزشکی ایران، گروه آناتومی

۳- عضو هیات علمی دانشگاه علوم پزشکی گیلان، گروه آناتومی

- **پاسخگو:** *دکتر محمدعلی اطلسی*

کاشان، کیلومتر ۵ جاده راوند، دانشکده پزشکی، گروه آناتومی

تاریخ دریافت مقاله: ۸٤/۱/۷

تاریخ تایید: مقاله ۸٤/۳/۲۰

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-06-12]

مقدمه

آسیب های اعصاب محیطی از جمله شایع ترین بیماریها در جوامع مختلف است و باعث تحمیل هزینه های بالا ، از دست رفتن کارایی فرد و اختلال در فعالیت جامعه می شوند (۱). بنابراین مطالعه بر روی مکانیسم ایجاد این آسیبها و عواملی که باعث کاهش عوارض آنها و در نتیجه منجر به حفظ و بقای نورونها می شوند، ضروری به نظر می رسد.آکسوتومی یا قطع کامل عصب نخاعی یکی از معمول ترین مدلها برای بررسی مرگ نورونی القا شده توسط آسیب است (۲). با استفاده ازاین مدل در مطالعات مختلف بعضی از مکانیسم هایی که به دنبال آن باعث تخریب (دژنراسیون) و مرگ نورونهای حرکتی و حسی می شوند گزارش شده اند (۲،۳،٤). مطالعات نشان می دهد که در حین تکامل جنین و ابتدای تولد قطع آکسونها و جدا کردن آنها از بافت هدفشان منجر به مرگ گسترده نورونها و کاهش تعداد آنها می شود (۳). در موش یا رت بالغ هم مرگ نورونی به دنبال قطع عصب با شدت کمتری گزارش گردیده است (۲،٥،٦) بین ۷ تا۵۰ درصد اولین نورونهای راه حسی بعد از آسیب عصب محیطی میمیرند (۲) .خصوصیات مورفولوژیکی نورونها نشان می دهد که مرگ سلولها از نوع مرگ سلولی آپوپتوزیس است.تغییرات ایجاد شده در نورونها به دنبال آکسوتومی عصب سیاتیک شامل هسته های متراکم شده بازوفیل، تشکیل کلاهک هسته ای ، چروک خوردن سلول و تشکیل اجسام آپوپتوتیک می باشد (۳). همچنین تغییرات موروفولوژیکی و متابولیکی تحت عنوان کروماتولیزیس در جسم سلولی نورونها به دنبال آکسوتومی محیطی بوجود می آید که شامل پاره شدن اجسام نیسل و تبدیل آنها به ذرات ریز و ناپدید شدن آنها، حجیم و مدور شدن پریکاریون، قطعه قطعه شدن نوروفیبریلها ، تغییر مکان دستگاه گلژی و جابجایی هسته از مرکز به محیط می باشد(۷).در بالغین نورونهای حسی نسبت به آکسوتومی حساس تر از نورونهای حرکتی هستند (۸). مرگ گسترده نورونهای حسی (۹) و رشد آکسونها در جهتی غیر از بافت هدف (۱۰) از فاکتورهای اصلی در بازگشت ضعیف بالینی عصب پس ازقطع عصب نخاعی است. معهذا تاکنون با وجود ترمیم مطلوب جراحی، بهبود اعصاب آسیب دیده محیطی ناکامل و غیر مطلوب بوده و بازگشت کامل حس عصب مربوطه ضعیف است (۹). متد های جراحی مختلفی جهت ترمیم عصب و بهبود رژنراسیون اعصاب محیطی انجام می شوند.متد کلاسیک شامل اتصال انتها به انتهای قطعات ابتدایی (پروگزیمال) و انتهایی (دیستال) عصب قطع شده یا اتصال مستقیم اپی نوریوم دوقطعه عصب (سوچور اپی نوریال) است.این در شرایطی است که فاصله ایجاد شده بین دو بخش عصب زیاد نباشد و کششی بین دو قطعه عصب بوجود نیاید (۱۱) .

مطالعات مختلفی وجود دارد که میزان مرگ نورونها را به دنبال ترمیم عصب محیطی با استفاده از شمارش نورونی گزارش کرده اند (٤،۱۲،۱۳)، اما گزارشهای زیادی در دست نیست که وضعیت جسم نورونها را به دنبال ترمیم جراحی عصب از طریق مطالعه فراساختمان آنها نشان داده باشند. عقیده بر این است که مطالعه فراساختمانی با میکروسکوپ الکترونی، روش استاندارد طلایی برای تشخیص مرگ سلولی است (١٤). آیا با ترمیم جراحی عصب محیطی، مرگ نورونها از بین خواهد رفت؟ما در این مطالعه ازمدل آکسوتومی و روش ترمیم مستقیم اپی نوریال عصب سیاتیک در موش صحرایی بالغ استفاده کرده ایم و با استفاده از میکروسکوپ نوری و الکترونی، ساختمان و فراساختمان نورونهای عقده ریشه خلفی نخاع را در گروههای قطع عصب (آکسوتومی)، ترمیم عصب و شم مورد بررسی قرار داده ایم تا وضعیت بقا و مرگ این نورونها را به دنبال ترمیم عصب نشان دهیم.

مواد و روشها

این مطالعه به روش تجربی بر روی بیست چهار سر موش صحرایی بالغ نر از نژاد ویستار(***wistar***) با حدود وزنی۲۵۰-۲۰۰ گرم در سال ۱۳۸۳ در دانشگاه علوم پزشکی ایران انجام گرفت. موشها از انستیتو پاستور ایران خریداری شده و اجازه داده شد که به مدت دوهفته با شرایط حیوان خانه دانشگاه علوم پزشکی ایران انطباق حاصل کنند.آب، غذا، دما و رطوبت برای همه یکسان بود. همچنین حیوانات، در سیکل ۱۲ساعت روشنایی و تاریکی قرار گرفتند.آنها به صورت تصادفی به سه گروه هشت تایی تقسیم شدند:

گروه اول: گروه آزمایشی یا گروه ترمیم بود.

گروه دوم: گروه شم بود. در این گروه به عصب سیاتیک چپ دسترسی پیدا کرده ولی هیچگونه قطع وترمیمی روی آن صورت نگرفت.

گروه سوم: گروه کنترل یک یا گروه آکسوتومی بود.در این گروه، عصب سیاتیک چپ در وسط ران قطع شده و دو انتهای عصب قطع شده، توسط نخ نایلون ۰-٤ بسته شد تا از عدم رژنزاسیون اطمینان حاصل گردد.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-06-12]

طـرف مقـابل همـه گروهها سمت راست به عنوان گروه کنترل دوم(گروه سالم) در نظر گرفته شد.

❐ روش جراحی گروه آزمایشی یا گروه ترمیم

مـوش هـا بـا تزریق کتامین (۱۰۰*mg/kg*) وگزیلازین (۱۰*mg/kg*) بـه صـورت داخـل صـفاقی بـیهوش شدند.به عصب سـیاتیک چـپ در فاصـله بیـن حفـره پوپلیتـئال و خار ایسکیال دسترسـی پیدا کرده و عصب سیاتیک چپ قطع گردید . سپس دو انـتهای عصب قطع شده، با نخ نایلون ۰-۱۰ (*Ethicon*) بخیه زده شد. و در پایان بخشهای بریده عضله با نخ کرومیک ۰-۵ (سوپا) و پوست حیوان با نخ نایلون ۰-۵ (سوپا) بخیه زده شد.

بعـد از هشـت هفـته موشـها بـا تزریق مخلوطی از بافر فسفات ۰/۱مولار، گلوتارآلدوئید٤٪ (*Merck*) و پارافرمالدوئید٤٪ (*Merck*) بـا ۷/٤ =*PH* بـه روش پرفیوژن کشته شدند و پنجمین عقده ریشه خلفی نخاع چپ و راست برداشته شد، دو تا از آنها در هر گروه، برای انجام رنگ آمیزی نیسل (کریزل ویوله) و بقیه برای مطالعه میکروسکوپ الکترونی مورد استفاده قرار گرفت.

❐ رنگ آمیزی کریزل ویوله

عقده های برداشته شده در همان فیکساتیو قبلی برای یک شب قرار داده شدند. سپس برای یک شب به محلول سوکروز ۳۰٪ در بافـر فسفات با *PH*=۷/٤ منتقل گردید. در ادامه پس از انجماد، توسـط دستگاه کرایواستات (*Leica*) از تمام عقده ها برشهای ۲۰ میکرونی تهیه گردید و بر روی لامهای ژلاتینه قرار گرفت. لامهای مذکـور بعـد از آبگیری در غلظت های نزولی اتانول، توسط رنگ کریـزل ویوله ۰,۱٪ درصد رنگ آمیزی گردید، و شمارش نورونی توسط میکروسکوپ نوری با لنز ٤۰*x* انجام گرفت.

بـرای شمارش نورونی در هر برش دو یا سه منطقه مشابه مشـخص و بـا استفاده از لنز مدرج چشمی، هسته نورونهای سالم مورد شمارش قرار گرفت.

نتایج بدست آمده در جداولی تنظیم، و با استفاده از تست آماری *t student* مورد آنالیز آماری قرار گرفت.

❐ مطالعه میکروسکوپ الکترونی

بـرای بررسـی فراساختمانی، عقده های برداشته شده به داخـل گلوتارآلوئید ۲/۵درصد به مدت ۲ساعت در درجه حرارت ٤درجـه سـانتی گراد و *PH*=۷/۲ قرار داده شدند. بعد از شستشو، نمونه ها به محلول فیکساتیو تتراکسیداسمیوم ۱٪ (*Merck*) منتقل گـردیدند، و بـه مدت ۲ساعت در درجه حرارت اتاق و*PH*=۷/۲ نگهداری شدند.پس از شستشو، توسط غلظت های تدریجی استن، آب گیری شده ودر رزین آرالدیت (*TAAB Araldite502/812*) قالـب گیری شدند.در ادامه با اولترامیکروتوم (*Leica, ultracut*) برشهای نیمه نازک با ضخامت ۵۰۰نانومتر و نازک به ضخامت ۷۰ نانومـتر تهیه گردید. برشهای نیمه نازک با استفاده از رنگ تولیدین بلـو رنـگ آمـیزی و برشهای نازک توسط رنگ اورانیل استات و سـیترات سرب رنگ آمیزی شدند. در نهایت برشهای نیمه نازک با میکروسـکوپ نـوری (*Olympus, provis AX70*) و برشـهای نـازک با میکروسکوپی الکترونی ترانسمیشن (*TEM, Leo 906*) مورد مطالعه فراساختمانی قرار گرفتند.

در مطالعـه برشهای فرا نازک ، برای هر گروه سه گرید از چـند ناحـیه عقـده ریشـه خلفـی تهیه گردید، و بطور متوسط ٤۵ نورون از نظر مورفولوژی هسته، میتوکندری، شبکه آندوپلاسمی و غشا سلولی مورد مطالعه قرار گرفتند. در صورت مشاهده تغییرات مورفولوژیکی در ساختمانهای فوق تا ۲۵ درصد «+»، بین ۲۵ تا ۵۰ درصد «++» و بالاخره بیش از ۵۰ درصد «+++» ثبت گردید.

یافته ها

• *شـمارش نورونی:* میزان نورونهای سالم شمارش شده در عقده ریشه خلفی سالم۱۳/۷±٤٤/۷، و در عقده آکسوتومی شده ۷/۷±۲۷/٤ بـود کـه نشـان می دهد بعد از گذشت دو ماه از قطع عصـب، حـدود ۳۸/۸٪ کاهش نورونی وجود دارد (جدول۱). به دنـبال ترمیم عصب بعد از دو ماه میزان نورونها ۱۱/٤±۳۳/٤۲ بود کـه کاهشـی برابـر ۲۵/٤٪ را نشـان می دهد (*P<0.03*). این در حالـی اسـت که این میزان در گروه ترمیم نسبت به عقده سالم به صورت معنی داری کمتر است (*P<0.003*).

در جـدول شـماره (۱) وضعیت نورونهای سالم و کاهش یافـته بر حسب گروههای مورد مطالعه ارائه گردیده است که نشان مـی دهـد در گـروه شـم ۲/۵ درصـد، در گروه آکسوتومی ۳۸/۸ درصـد، و در گروه ترمیم ۲۵/٤ درصد کاهش نورونی وجود دارد. آزمـون نشان داد که این اختلاف به لحاظ آماری معنی دار است (*P<0.05*).

جدول۱- توزیع نورونهای عقده ریشه خلفی L5 بر حسب بقاء و مرگ نورونها و به تفکیک گروههای مورد مطالعه

نورنها	گروه شم	گروه آکسوتومی	ترمیم
سالم	۱۲۲۳(۹۷/۵)	٦۳٤(٦۱/۵)	۹۳٦(۷٤/٦)
کاهش یافته	۳۲ (۲/۵)	۳۹۷(۳۸/۵)	۳۱۸(۲۵/٤)
جمع	۱۲۵۵(۱۰۰)	۱۰۳۱(۱۰۰)	۱۲۵٤(۱۰۰)

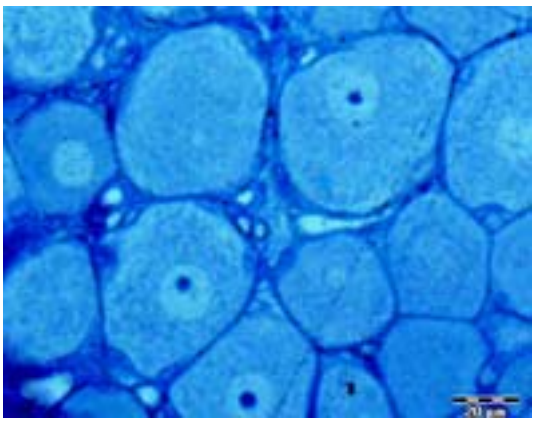
• *یافته های برشهای نیمه نازک (semithin):* در گروههای شم و سالم نورون پیکنوزه ای مشاهده نگردید، اما در

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-06-12]

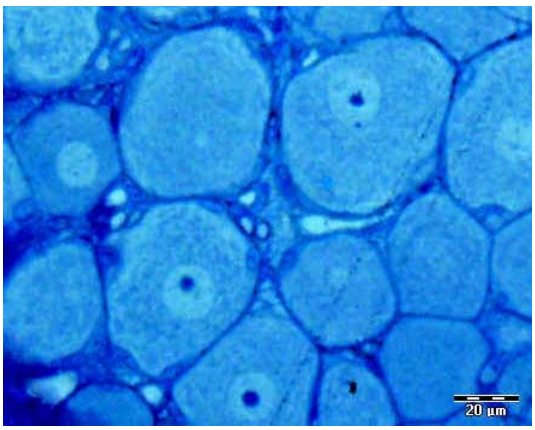
گروه آکسوتومی بعد از دوماه پیکنوزیس(شکل ۱) دیده شد. به دنبال ترمیم این روند کمتر بود به طوری که بعد از دو ماه تقریبا نمایی شبیه به گروه سالم (شکل۲) مشاهده گردید.

بعد از دو ماه در گروه آکسوتومی نورونهای زیادی مشاهده گردید که دارای هسته های خارج از مرکز و جابجایی هستک(شکل۱) بودند. اما دو ماه بعد از ترمیم اپی نوریال، میزان آن کاهش یافته بود .

آتروفی و چروکیدگی سلول در گروههای آکسوتومی و ترمیم اپی نوریال بعد از دوماه وجود داشت که شدت آن در گروه آکسوتومی به مراتب بیشتر دیده شد.



شکل ۱- مقطع نیمه نازک با رنگ آمیزی تولیدین بلو از عقده ریشه خلفی L5 در گروه آکسوتومی دو ماه بعد از قطع عصب. به آتروفی و چروکیدگی سلولها، هسته خارج از مرکز، جابجایی هستک و پیکنوزه شدن یک نورون (فلش) شکل توجه کنید.



شکل ۲- مقطع نیمه نازک با رنگ آمیزی تولیدین بلو از عقده ریشه خلفی L5 در گروه اپی نوریال سوچور دو ماه بعد از ترمیم. نورونها شکل منظم تری دارند.

یافته های برشهای نازک (ultrathin): **نورونهای پیکنوزه در گروه آکسوتومی در ماه دوم پس از قطع عصب مشاهده شدند.در گروه ترمیم نورونهای با هسته متراکم(الکترون دنس) نیز درماه دوم(شکل ۳) قابل مشاهده بود، در گروههای شم و سالم هسته نورونها یوکروماتین و شفاف(الکترون لوسنس) بودند(شکل٤).**

سیتوپلاسم در نورونهای گروههای سالم وشم نمایی شفاف داشت(شکل٤). سیتوپلاسم متراکم(الکترون دنس) در بعضی از نورونهای گروه آکسوتومی و ترمیم در ماه دوم بعد از قطع عصب مشاهده شد.

بعضی از نورونها در گروه آکسوتومی دارای میتوکندریهای متسع شده و کریستاهای نامشخص بودند. در گروه ترمیم نیز میتوکندریهای متسع شده مشاهده شد.

در گروه شم وسالم شبکه آندوپلاسمی سالم دیده شد. در گروه آکسوتومی بعضی از سلولها دارای شبکه آندوپلاسمی متسع شده و بعضا واکوئله بودند. در گروه ترمیم نیز با شدت کمتری شبکه آندوپلاسمی متسع شده دیده شد.

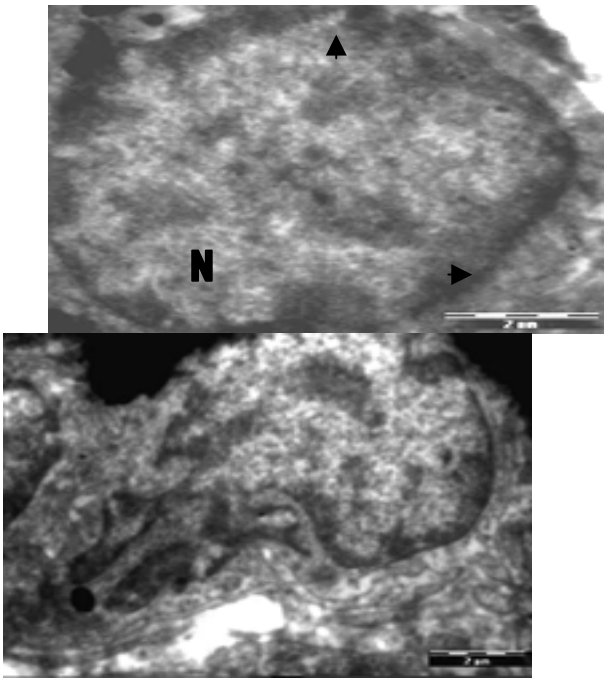
در گروه آکسوتومی چین دار شدن غشاء سلول مشاهده شد. در گروه ترمیم چنین وضعیتی مشاهده نگردید.

چروکیدگی و چین دارشدن غشاء هسته و ایجاد پاهای کاذب نیز در گروه آکسوتومی وجود داشت(شکل۳)، و در گروه اپی نوریال سوچور نیز به میزان کمتری مشاهده گردید.

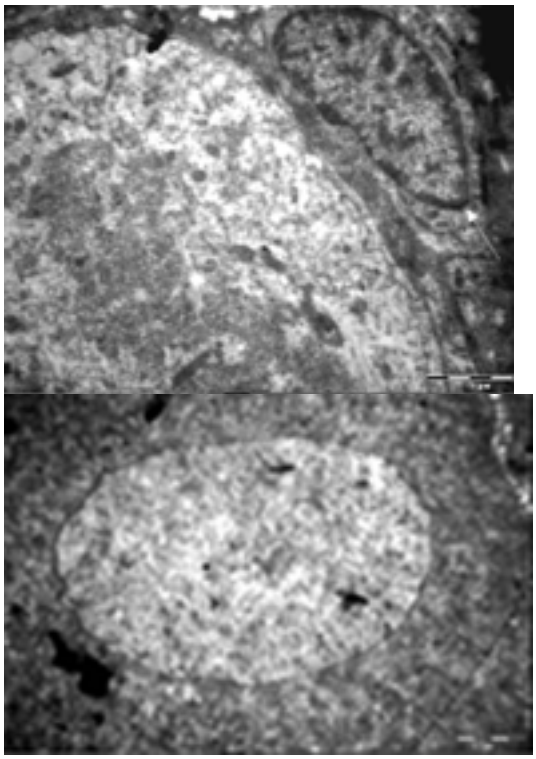
متراکم شدن و مارژیناسیون کروماتین هسته و پیکنوزیس در گروههای آکسوتومی مشاهده گردید(شکل۳) بطوری که در بعضی از آنها کلاهک هسته ای ایجاد کرده بود. در گروههای ترمیم تعدادکمتری از نورونها دارای هسته الکترون دنس، تراکم و مارژیناسیون کروماتین دیده شد (شکل۳). در گروههای سالم و شم چنین وضعیتی مشاهده نگردید.

همچنین در گروه آکسوتومی و با شدت کمتری در گروه ترمیم، در بعضی از نورونها واکوئله شدن سیتوپلاسم وجود داشت. در گروههای سالم وشم واکوئلاسیون دیده نشد.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-06-12]



شکل ۳- میکرو گراف الکترونی هسته (N) دو نورون در مراحل مختلف آپوپتوزیس دو ماه بعد از قطع (شکل بالایی) و ترمیم عصب (شکل پایینی). در نورون بالایی چین دارشدن غشاء هسته، تشکیل پاهای کاذب (فلش) و چروکیدگی سیتوپلاسم و در نورون پایینی تراکم و مارژیناسیون کروماتین (فلش) دیده می شود.



شکل ٤- میکروگرف الکترونی دو نورون سالم عقده ریشه خلفی *L5* در گروههای سالم و ترمیم اپی نوریال. در شکل پایینی هسته یوکروماتین در مرکز سلول و در بالا سلول گلیال ستاره ای (فلش سفید رنگ) اطراف نورون سالم مشاهده می شود.

جدول ۲- خلاصه ای از ویژگیهای فراساختمانی نورونهای عقده ریشه خلفی L5 درگروههای مورد مطالعه

گروهها	واکوئولاسیون سفید پلاسم	تخریب میتوکندریها و شبکه اندوپلاسمی	چین خوردگی غشای هسته	پیکنوز	مارژیناسیون کروماتین	تراکم کروماتین
نرمال	–	–	–	–	–	–
شم	-	–	–	–	–	–
اکسوتومی	++	++	+++	+++	+++	+++
ترمیم	+	+	+	+	+	+

بحث

ایـن مطالعـه نشـان داد که به دنبال قطع عصب سیاتیک، مـرگ معنـی دار نورونهـای عقـده ریشـه خلفی اتفاق می افتد و فراساختمان بعضی از نورونهای عقده ریشه خلفی، ویژگیهای مرگ سـلولی آپوپتوزیس را نشان می دهد. بدنبال ترمیم عصب به روش ارتـباط اپـی نوریـال، بعـد از دو ماه در گروه ترمیم، کاهش مرگ سـلولی و بهبودی فراساختمان نورونها مشاهده می شود. در بعضی از نورونهـای گـروه آکسـوتومی و ترمـیم، تخریب میتوکندریها و آندوپلاسمی و واکوئله شدن سیتوپلاسم مشاهده گردید که معمولا از ویژگیهای آپوپوزیس نمی باشد.

Groves و همکاران در ۱۹۹۷ با استفاده از متد *ISEL(In situ end labeling)* و شـمارش نورونهـای عقـده ریشه خلفی نخاع در رت بالغ نشان دادند که بدنبال آکسوتومی عصب سیاتیک مـرگ نورونی اتفاق می افتد و حداقل بخشی از این مرگ به علت رونـد آپوپتوزیس است (۵). *Hart* و همکاران معتقدند که این متد نمی تواند تنها آپوپتوریس را تشخیص دهد، بلکه سلولهای نکروزه هم توسط آن رنگ خواهند گرفت (٤). بنابراین برای تشخیص نوع مـرگ نورونـی متد مذکور به تنهایی قابل اعتماد نیست، و مطالعه فراسـاختاری بـا میکروسـکوپ الکترونـی اطلاعات دقیق تری را بدسـت خواهـد داد. بهـادری و همکـاران در ۲۰۰۱ بـا بررسی فراسـاختمانی نشـان دادنـد که مرگ نورونهای عقده ریشه خلفی

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-06-12]

نخاع در نوزاد رت بدنبال آکسوتومی به علت آپوپتوزیس است (۳). یافته های فراساختمانی ما در این مطالعه نشان می دهد که به دنبال آکسوتومی چین دار شدن غشاء سلول و هسته، وتشکیل پاهای کاذب، ایجاد هسته الکترون دنس و متراکم شدن کروماتین، و پیکنوزه شدن آن صورت می گیرد. این خصوصیات فراساختمانی نشان دهنده وقوع روند آپوپتوزیس است. اما از طرفی مطالعه ما تغییرات سیتوپلاسمی مانند تغییر شکل میتوکندریها و تخریب بعضی از آنها، واکوئله شدن سیتوپلاسم را هم به دنبال آکسوتومی نشان داد که از ویژگیهای آپوپتوزیس نیست. *Clarke* چنین تغییراتی در سیتوپلاسم را مرگ سلولی غیر لیزوزومی نوع سوم نامگذاری می کند که از آپوپتوزیس و نکروزیس متفاوت است (۱۵). این نوع مرگ بدنبال آکسوتومی عصب اپتیک در سلولهای گانگلیونی شبکیه جنین جوجه نیز دیده شده است (۱٦). به همین دلیل به نظر می رسد به دنبال آکسوتومی مکانیزمهای مختلفی در ایجاد مرگ نورونها دخالت داشته باشند.

به دنبال ترمیم عصب سیاتیک بعد از دوماه، مرگ نورونی کاهش معنی داری یافته بود و تغییرات فراساختمانی آپوپتوزی مانند متراکم شدن کروماتین و مارژیناسیون آن و پیکنوزه شدن هسته با شدت کمتری مشاهده گردید. به نظر می رسد اتصال قطعات پروگزیمال و دیستال با تکنیک سوچور اپی نوریوم توانسته است تغییرات فراساختمانی که در نهایت منجر به مرگ نورونها می شود را کاهش دهد، تصور می شود قطعه دیستال نقش مهمی در تامین فاکتورهای تروفیک بوسیله انتقال رتروگراد از انتهای عصب آسیب دیده دارد (۹). *Glover* معتقد است که مرگ سلولی بدنبال آکسوتومی به از دست رفتن آکسوپلاسم وابسته است (۱۷) در حالیکه *Johnson* و همکاران از دست رفتن فاکتورهای رشد آزاد شده از بافت هدف و سلولهای شوان که بطور رتروگراد به جسم نورون منتقل می شوند را دلیل مرگ نورونی می داند (۱۸). بعد از آکسوتومی و بدنبال رژنراسیون عصب محیطی نوروتروفین هایی مانند

NGF(Nerve growth factor), NT-3(Neurotrophin-3), BDNF (Brain derived nerve growth factor)

نقش بارزی در بقای نورونهای حسی عقده ریشه خلفی نخاع دارند(۱۹). *Ma* و همکاران نشان داده اند که اتصال قطعه پروگزیمال و دیستال به روش ارتباط اپی نوریوم مرگ نورونهای حسی را به نصف تقلیل می دهد و نورونهای حرکتی تقریبا به طور کامل جلوگیری می نماید (۸). نتایج مطالعه ما نیز نشان می دهد که بدنبال اتصال دو قطعه عصب سیاتیک تغییرات فراساختمانی نورونهای حسی کاهش می یابد که با نتایج گزارش مطالعه ذکر شده مطابقت دارد. بنابراین می توان نتیجه گرفت اتصال قطعه پروگزیمال ودیستال باعث برقراری مجدد انتقال رتروگراد فاکتورهای آزاد شده از بافت هدف و سلولهای شوان در محل اتصال دو قطعه عصب، و در نتیجه باعث بقای جسم نورونهای مربوطه گردیده است. در مطالعه حاضر، مرگ نورونها بعد از ترمیم عصب از ۳۸/۸٪ به ۲۵/٤٪ رسید، و تغییرات فراساختمانی آپوپتوزی نورونها بدنبال ترمیم عصب بعد از دو ماه کاملا از بین نرفت. علت آن می تواند مربوط به حساسیت بیشتر نورونهای حسی به محرومیت از فاکتورهای رشد باشد، بطوری که در مطالعه *Ma* و همکاران نیز بدنبال ترمیم عصب، مرگ نورونهای حسی از ۵۰٪ به ۲۵٪رسید و کاملا از بین نرفت از طرفی در این مطالعه آنها بعد از ۱٦ هفته نورونها مورد بررسی قرار گرفت ۸ ولی ما بعد از ۸ هفته این بررسی را انجام دادیم. بنابراین احتمالا با گذشت زمان بیشتری از ترمیم عصب، می توان نورونهای زنده با فراساختمانی طبیعی تر را در عقده ریشه خلفی یافت. وجود پیش سازهای نورونی در عقده ریشه خلفی و احتمال نوروژنز در عقده بعد از تولد (۲۰)، می تواند این احتمال را مطرح کند که سلولهای مرده با گذشت زمان توسط نورونهای جدید جایگزین شوند، و با گذشت زمان تعداد نورونهای بیشتری دیده شون.

دهها سال است که محققین مختلف برای بررسی پدیده مرگ سلولی و مکانیزمها و عوامل مؤثر در ایجاد و کنترل آن از مدل آکسوتومی استفاده می کنند (۲،۳،٤). ما نیز از این مدل برای ایجاد مرگ سلولی استفاده نمودیم. ما در این مطالعه نورونهای پنجمین عقده ریشه خلفی نخاع را مورد بررسی قرار دادیم زیرا حدود ۷۰ درصد نورونهای این عقده به داخل عصب سیاتیک رشته می فرستند(٦). بنابراین اثرات قطع و ترمیم عصب سیاتیک بر روی نورونهای این عقده بخوبی قابل بررسی است. ترمیم عصب به روش اتصال اپی نوریوم دو قطعه پروگزیمال و دیستال عصب که در این مطالعه انجام گرفت، یک متد کلاسیک برای ترمیم عصب است (۱۱). بنابراین می توان آثار ترمیم عصب را (با یک روش رایج ترمیم بر روی جسم نورونها مورد بررسی قرار داد.

با توجه به اینکه محققین مختلف در مطالعات فراساختمانی نورونهای عقده ریشه خلفی به دنبال آکسوتومی نشان داده اند که آکسوتومی باعث مرگ سلولی از نوع آپوپتوزیس می شود(۳،۵) و از طرفی این اعتقاد وجود دارد که تکنیک مطالعه فراساختاری با کمک میکروسکوپ الکترونی در مقایسه با سایر تکنیکهای ارزیابی آپوپتوزیس و مرگ نورونی از اعتبار بالاتری برخوردار است (۱٤) بنابراین با استفاده از اطلاعات فراساختاری بدست آمده از میکروسکوپ الکترونی، این توانایی بوجود خواهد

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-06-12]

آمد تا تاثیر ترمیم عصب قطع شده بر کاهش تغییرات مرگ سلولی مورد ارزیابی قرار گیرد. در مطالعه ما ساختمان و فراساختمان نورونها ۸ هفته بعد از قطع و ترمیم عصب مورد ارزیابی قرار گرفت، زیرا *Hart* و همکاران نشان داده اند که حداکثر مرگ نورونی در نورونهای عقده ریشه خلفی دو ماه بعد از قطع عصب است (٤).

Guntinas-Lichius و همکاران در سال ۱۹۹۷ بدنبال آناستوموزعصب هیپوگلوسال-عصب فاشیال وبه دنبال آن دژنراسیون نورونهای حرکتی فاشیال و رژنراسیون نورونهای حرکتی هیپوگلوسال نشان دادند که کروماتولیزیس و جابجایی هسته و هستک در نورونهای در حال دژنراسیون تا ۱۱۲ روز بعد از عمل و در نورونهای در حال رژنراسیون تا قبل از روز ٥٦ بعد از عمل دیده می شود .آنها همچنین نشان دادند که نورونهای در حال رژنراسیون سریعتر این تغییرات را نشان می دهند در حالیکه نورونهای در حال مرگ برای مدت زیادتری این تغییرات را حفظ می کنند(۲۱). در مطالعه ما، به دنبال آکسوتومی تا ٦۰ روز پس از قطع عصب همچنان چنین تغییراتی در نورونهای حسی عقده ریشه خلفی مشاهده می شد، در حالیکه بدنبال ترمیم بعد از ٦۰ روز این تغییرات کاهش یافته بود. کاهش سریعتر این تغییرات در نورونهای عصب ترمیم شده نسبت به نورونهای گروه آکسوتومی با چنین اتفاقی در نورونهای در حال دژنراسیون در مطالعه گانتیناسن مطابقت دارد.

پیشنهاد می شود تا جهت ارزیابی بهتر نقش ترمیم عصب در بهبود و بقای جسم نورونها از تکنیکهای دیگر ترمیم مانند گرافت عصبی و استفاده از کانالهای راهنمای عصب و همچنین برای ارزیابی وضعیت نورونها علاوه بر میکروسکوپ الکترونی از تکنیکهای ردیابی، هیستوشیمی و ایمونوهیستوشیمی استفاده گردد.

تشکر و قدردانی

مجریان این تحقیق از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی ایران به خاطر تامین هزینه ها و مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی این دانشگاه به خاطر کمک در اجرای این طرح تشکر و قدردانی می نمایند.

References:

1- Wilson ADH, Hart A, Brannstrom T, Wiberg M, Terenghi G. Primary sensory neuronal ***rescue with systemic acetyl-L-carnitine following peripheral axotomy. A dose-response analysis****. British Journal of Plastic Surgery. 2003; 56:732-739*

2- Li L, Houenou LJ, Wu W, Lei M., Prevette DM, Oppenheim RW. ***Characterization of spinal motoneuron degeneration following different types of peripheral nerve injury in neonatal and adult mice****. J Comp Neurol. 1998; 396:158-168*

3- Bahadori MH, Al-Tiraihi T, Rezazadeh-Valojerdi M. ***Sciatic nerve transection in neonatal rats induces apoptotic neuronal death in L5 dorsal root ganglion****.J Neurocytology. 2001; 30(2):125-130*

4-Hart AM, Wiberg M, Youle M, Terenghi G. ***Primary sensory neurons and satellite cells after peripheral axotomy in the adult rat-Timecourse of cell death and elimination****.Exp Brain Res. 2002;142:308-318.*

5- Groves MJ, Christopherson T, Giometto B, Scarvilli F. ***Axotomy-induced apoptosis in adult rat primary sensory neurons****. Journal of Neurocytology. 1997; 26:615-624.*

6- Himes BT, Tessler A. ***Death of some dorsal root ganglion neurons and plasticity of others following sciatic nerve section in adult and neonatal rats****. J Comp Neurol. 1989; 284: 215-230*

7- Fawcett DW. ***A textbook of histology****. 12th ed.Chapman & Hall Company. 1994*

8- Ma J, Novikov LN, Kellerth JO, Wiberg M. ***Early nerve repair after injury to the postganglionic plexus: an experimental study of sensory and motor neuronal survival in adult rat****. Scand J Plast. Reconstr Sur. Hand Surg. 2003; 37: 1–9*

9- Schenker M , Kraftsik R, Glauser L,Kuntzer T., Bogousslavsky J, Barakat-Walter I. ***Thyroid hormone reduces the loss of axotomized sensory neurons in dorsal root ganglia after sciatic nerve transection in adult rat****. Experimental Neurology. 2003; 184(1):225-236*

10- Guntinas-Lichius O, Irintchev A, Streppel M., Lenzen M, Grosheva M, Wewetzer K, Neiss WF,Angelov DN. ***Factors limiting motor recovery after facial nerve transection in the rat: combined structural and functional analysis****. Eur J Neuroscience 2005; 21: 391-402*

11- Lundborg G. ***Nerve regeneration and repair****.Areview. Acta orthop Scand. 1987; 58:145-169*

12- Valero-Cabre A, Tsironis K, Skouras E, Navarro X, and Neiss WF. ***Peripheral and spinal motor reorganization after nerve injury and repair****. J Neurotrauma. 2004; 21(1): 95-108*

13- Hollowell JP, Villadiego A, Rich KM. ***Sciatic nerve regeneration across gaps within silicone chambers: long-term effects of NGF and consideration of axonal branching****. Experimental Neurology. 1990;110: 45-51*

14- LeBlanc AC. ***Apoptosis techniques and protocols****. Second Edition. Humana Press. 2002*

15- Clarke PGH ***Developmental cell death: morphological diversity and multiple mechanisms****.Anat Embryol (Berl). 1990; 181:195-213*

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-06-12]

16-Borsello T, Motter V, Castagne V, Clarke PGH ***Ultrastructure of retinal ganglion cell death after axotomy in chick embryos****.The Journal of Comparative Neurology. 2002;453:361-371*
17-Glover RA. ***Sequential cellular changes in the nodose ganglion following section of the vagus nerve at two levels****.Anat Rec. 1967;157:248*
18- Johnson EM,Chang JY, Koike T,Martin DP. ***Why do neurons die when deprived of trophic factor****. Neurobiol Aging. 1989;10:549-552*
19- Terenghi G. ***Peripheral nerve regeneration and neurotrophic factors****. J Anat. 1999; 194:1-14*
20- Namaka MP, Sawchuk M, Macdonald SC,Jordan LM, Hochamr S. ***Neurogenesis in postnatal mouse dorsal root ganglion****. ExpNeurol. 2001; 172:60-69*
21-Guntinas-Lichius O, Schulte E, Stennert E., Neiss W. ***The use of texture analysis to study the time course of chromatolysis****.Journal of Neuroscience Methods. 1997; 78:1-6*

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-06-12]