

بررسی فواید اثرباری فاکتور رشد عصب و فاکتور شبیه انسولین بر روی رژیم رژیمی عصب محیطی موش صحرابی

غلامحسین فرجاھ^{۱*} ، محمد آھی^۲ ، محمد علی اطلسی^۳ ، ملک سادات نعیمی^۴

(۱) استادیار دانشگاه علوم پزشکی ارومیه

(۲) استادیار دانشگاه علوم پزشکی ایلام

(۳) استادیار دانشگاه علوم پزشکی کاشان

(۴) پژوهش عمومی

تاریخ پذیرش: ۸۶/۱/۲

تاریخ دریافت: ۸۵/۱۰/۲

چکیده

مقدمه: تشکیل میلین به بلوغ و تکامل سیتو اسکتال آکسون و میتوکندری وابسته است. فاکتور رشد عصب و فاکتور رشد شبیه انسولین بصورت اختصاصی در تنظیم آنها نقش دارند.

مواد و روش ها: این تحقیق یک مطالعه تجربی است که از ۴۸ سر موش صحرابی نر (۲۰۰-۲۵۰ gr) 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 (محرای پلی وینیلیدین فلوراید یا (PVDF) با فاکتور رشد عصب و فاکتور رشد شبیه انسولین، اتوگرافت، شم و کنترل). عصب سیاتیک در پایان هفته چهارم و دوازدهم توسط میکروسوپ الکترونی مورد مطالعه قرار گرفت.

یافته های پژوهش: در پایان هفته چهارم پس از ترمیم، تعداد آکسون های بدون میلین در گروه های اتو گرافت و فاکتورهای رشد اختلاف معنی داری نداشت ولی در پایان هفته دوازدهم، تعداد آکسون های بدون میلین در گروه اتو گرافت نسبت به گروه فاکتورهای رشد ($P < 0.01$) اختلاف معنی داری داشت. چگالی میکروتوبول ها در هفته دوازدهم پس از ترمیم، در گروه نرمال و اتو گرافت اختلاف معنی داری ندارند. ستینغ میتوکندری در گروه های آزمایش موازی با محور درازشان بود.

نتیجه گیری نهایی: از نتایج این مطالعه می توان نتیجه گرفت که با توجه به اثرات مثبت فاکتورهای رشد بر روی رشد و تکامل میکروتوبول ها و میتوکندری ها، ممکن است برای ترمیم ضایعات عصب محیطی مفید باشد.

واژه های کلیدی: عصب سیاتیک، فاکتور رشد عصب، فاکتور شبیه انسولین ۱، میکروتوبول، میتوکندری، پلی وینیلیدین فلوراید

* نویسنده مسئول: دکتر غلامحسین فرجاھ استادیار دانشگاه علوم پزشکی ارومیه

E-mail: hfarjah@umsu.ac.ir

مقدمه

سمپاتیک در طی تکامل سیستم عصبی می‌باشد^(۱۰)). به دنبال قطع اکسون، سلول‌های شوان در قطعه انتهایی شروع به تولید NGF می‌کنند^(۱). فاکتورهای رشد شبه انسولینی^۳ یا IGFs^۴ شباهت زیادی به انسولین دارند. غلظت‌های فیزیولوژیک IGFs در نورون‌های حرکتی، پاراسمپاتیک و حسی منجر به رشد اکسون می‌شوند. IGF-I جوانه زدن آکسون و ترمیم عصب را بعهده دارد. همچنین میانگین قطر آکسون و میلین را افزایش می‌دهد^(۲). انسولین سبب تقویت پتانسیل غشای داخلی میتوکندری و افزایش سطح ATP در نورون‌های حسی بالغ می‌شود^(۳). NGF سبب تحریک مهاجرت سلول‌های شوان و کاهش دژنره شدن و افزایش ترمیم عملی پس از صدمه اعصاب محیطی و افزایش رگ زائی می‌شود^(۴). تجویز NGF سبب افزایش تعداد آکسون‌های میلین‌دار، ضخامت میلین و بلوغ بیشتر لایه‌های اندوتیال می‌گردد^(۵). استفاده از پیوند اتوگرافت شریان و ورید رانی بعنوان کانال راهنمای عصب به دلیل داشتن NGF در لایه‌های انتیما و ادوانتیس ورید و شریان، موجب تسريع ترمیم اعصاب محیطی می‌شود^(۶). مقدار بالای NGF نه تنها ترمیم را تسريع می‌کند بلکه سبب توقف استحاله عصب نیز می‌گردد^(۷). IGF-I با تاثیر بر روی سلول شوان، تولید فاکتور رشد عصب را افزایش می‌دهد^(۸). همچنین تحریک کننده قوی برای تزايد و تمایز سلول‌های شوان است. تجویز IGF-I در محل ضایعه عصب، سبب تقویت جوانه زدن آکسونی و افزایش تعداد آکسون‌ها در هنگام ترمیم عصب می‌گردد^(۹)، و همچنین قطر رشته عصبی و ضخامت میلین را افزایش می‌دهد. مطالعات میکروسکوپ الکترونی نشان می‌دهد که IGF-I سبب افزایش تعداد میکروتوبول‌ها (که نشانه افزایش فعالیت در آکسپلاسم است) می‌شود^(۲).

IGF-I پس از ضایعه عصب محیطی، دل مهمی در رگ زائی دارد و سبب تحریک تشکیل رشته های عضلانی و افزایش ترمیم عصب می‌شود^(۱۰).

در دستگاه عصب محیطی رشته عصبی، شامل یک آکسون است که در غلافی از سلول شوان قرار دارد. بسیاری از آکسون‌های عصب محیطی دارای غلاف میلین هستند که در بین سلول‌های شوان و آکسون قرار دارند. آکسون‌های بدون میلین غالباً در ناوادن‌های عمیق موجود در سطح سلول‌های شوان قرار می‌گیرند^(۶). نورون‌ها حاوی میتوکندری‌های فراوانی هستند که بطور گسترده پخش می‌شوند. میتوکندری‌ها میله‌ای یا رشته‌ای شکل می‌باشند و غالباً باریکتر از میتوکندری‌های سایر سلول‌ها هستند. قطر آن‌ها بین ۰/۱ تا ۰/۸ میکرون است، اما گاهی میتوکندری گرد و بزرگی نیز دیده می‌شود. میتوکندری‌ها با فاصله در طول آکسون پخش می‌شوند و مخصوصاً در پایانه‌های آکسونی فراوانند. ستیغ‌های آن‌ها همیشه به طور عرضی جهت‌گیری نمی‌کنند بلکه ممکن است در امتداد محور درازشان قرار گیرند، بطوري که در برش‌های عرضی، غشاها بصورت حلقه‌های هم مرکز تیره و روشن به نظر می‌رسند. میکروتوبول‌ها همانند میکروتوبول‌های سایر سلول‌ها هستند و در تشکیل داریست سلولی و انتقال وزیکول‌ها و اندامکها در طول آکسون اهمیت دارند. میکروتوبول‌های منفرد با فاصله کم و مساوی قرار می‌گیرند^(۱۰).

به دنبال قطع اعصاب محیطی و شروع دژنرنسی والرین، قطعه انتهایی آکسون آسیب دیده توسط سلول‌های اطراف هضم و جذب می‌شوند. در روز اول حادثه، انتهای قطعه ابتدایی آکسون، به دلیل تجمع محتويات آکسپلاسمی تازه رسیده شامل ترکیبات سیتواسکلتی همانند میکروتوبول‌ها، میتوکندری‌ها و عناصر اندوبلاسمیک صاف متورم می‌شود که اصطلاحاً به آن مخروط رشد^۱ می‌گویند^(۶). وجود تعداد زیادی اکتین در مخروط رشد، اهمیت آن را در حرکت نشان می‌دهد^(۱۰).

فاکتور رشد عصب^۲ یا NGF ، فاکتور اختصاصی برای زندگاندن نورون‌های حسی و

1- Growth Cones

2-Nerve Growth Factor

3- Insulin Growth Factors

- ۴۸ سر موش صحرابی نر بالغ به وزن تقریباً -۲۵۰ گرم انجام گرفت. حیوانات به صورت تصادفی به چهار گروه ۱۲ تایی تقسیم شدند:
- گروه PVDF با فاکتورهای رشد (NGF و IGF-I)
 - گروه اتوگرافت
 - گروه شم جراحی intact
 - گروه جراحی
- روش جراحی**
- موش‌ها توسط ماده بیهودشی کاتامین^۳ (۹۰mg/kg) و گزیلازین^۴ (۱۰mg/kg) به صورت داخل صفاقی بیهودش شدند. برشی در پوست ناحیه خلفی خارجی ران پای چپ حیوان ایجاد شد. عضله و فاسیا به آرامی کنار زده و عصب سیاتیک در فاصله بین بریدگی سیاتیک تا محل دو شاخه شدن اعصاب تیبیا و پرونال مشترک نمایان شد. در حد واسطه بین دو نقطه فوق قطعه‌ای از عصب به اندازه ۱۰mm قطع شد. در گروه PVDF و فاکتورهای رشد، از یک قطعه لوله PVDF قطبی مثبت استریل شده با قطر داخلی ۱/۶mm و به طول ۱۴mm در محل شکاف استفاده شد. دو انتهای بریده عصب به صورت تلسکوپی داخل لوله قرار داده شد و با نخ نایلون ۱۰/۰ به دیواره لوله بخیه شد. تمام مراحل فوق در زیر میکروسکوپ جراحی^۵ با بزرگنمایی ۲۰ و تحت شرایط استریل انجام شد.
- ۳/۰ میلی لیتر از محلول بافر فسفات ۱/۰ مولار حاوی NGF ۱۰۰ng و IGF-I ۱۰۰ng از طریق یک سرنگ یک میلی لیتری با سوزن شماره ۲۵ و قبل از محکم نمودن بخیه اپی‌نوریال به داخل لوله تزریق شد(۱۲). در گروه اتوگرافت قطعه بریده شده عصب را ۱۸ درجه جایه‌جا نموده و به دو انتهای بریده عصب توسط نخ ۱۰-۰ بخیه شد. در گروه شم، عصب سیاتیک نمایان شد ولی قطع نگردید. پس از عمل جراحی، بخش‌های بریده عضله و پوست بخیه شدند.

تغییربار الکتریکی رل مهمی در تمایز تحریک انواع سلول‌ها از جمله نورون‌ها دارد. مواد پیزوالکتریک موادی هستند که تغییرات فشار و یا نیرو باعث تغییر بار الکتریکی لحظه‌ای در سطح آنها می‌شود. تحقیقات نشان می‌دهد که این تغییر الکتریکی نقش مهمی در تمایز و تحریک انواع سلول‌ها از جمله نورون‌ها دارد. پلی وینیلیدین فلوراید^۱ یک مجرای مصنوعی است که علاوه بر اجازه انتشار گازها و مایعات به داخل مجرأ، 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(۱۱).

مواد پیزوالکتریک همانند PVDF ، ترمیم عصب محیطی را تقویت می‌نمایند و کanal PVDF قطبی نسبت به نوع غیر قطبی، سبب بهبودی بیشتری در افزایش کمی و کیفی ترمیم می‌شود(۱۱). به لوله‌های طبیعی یا مصنوعی که شکاف بین دو انتهای عصب بریده شده را پل می‌زنند، کanal راهنمای عصب^۲ یا NGCs می‌گویند(۱۲).

اگر چه فاکتورهای رشد عصب موجب تسریع روند ترمیم می‌شوند، ولی هنگامی که ترکیبی از NGF و IGF-I استفاده شود، ترمیم آکسون‌های صدمه دیده نسبت به استفاده مجزای آن‌ها افزایش بیشتری می‌یابند(۱۲). با توجه به نتایج به دست آمده از تحقیقات مختلف، ترکیب محرک‌های بیولوژیکی و استفاده از کanal راهنمای عصب از جنس مواد پیزوالکتریک، ممکن است برای تقویت ترمیم عصب و کسب نتایج بهتر مفید باشند(۱۳). فاکتورهای رشد و خاصیت پیزوالکتریک هر یک به تنهایی موجب افزایش رژئراسیون می‌شوند. بررسی‌های انجام شده نشان می‌دهد که تاکنون گزارشی مبنی بر بررسی فراساختاری آکسون هنگام استفاده توأم آنها منتشر نشده است.

مواد و روش‌ها

تحقیق حاضر یک مطالعه تجربی است که بروی

1-Ploy Vinylidene Fluoride = PVDF

2-Nerve Guidance channels

3-Ketamin

4-Xylazine

5-Harvard Apparatus.Ltd

Olympus Japan , SZX12

ملاک معنی دار بودن نتایج ($P < 0.05$) تعیین گردید.

یافته ها

با ثابت نمودن نمونه ها توسط گلوتار آلدھید و تتراسیدامیوم، چربی غلاف میلین حفظ شده و در برش های عرضی بصورت یک حلقه تقریباً سیاه که پیرامون آکسون قرار دارد، دیده می شود. در مطالعه میکروسکوپ الکترونی مشاهده شد که آکسون های فاقد میلین در ناوادان های عمیق موجود در سطح سلول های شوان قرار می گیرند. برای تعیین تعداد آکسون های بدون تشخیص قرار گرفت. تعداد آکسون بدون میلین در بخش های میانی و انتهایی محل ترمیم عصب کمتر از ناحیه ابتدایی می باشد. میانگین آکسون های بدون میلین در پایان هفته چهارم پس از ترمیم، در گروه فاکتورهای رشد (9043 ± 670) و گروه اتوگرافت (8111 ± 417) اختلاف معنی داری ندارد. میانگین آکسون های بدون میلین در پایان هفته دوازدهم پس از ترمیم، نسبت به گروه اتوگرافت اختلاف معنی داری داشت ($P < 0.01$). میانگین تعداد آکسون های بدون میلین در گروه کنترل و شاهد به ترتیب 216 ± 10671 و 10210 ± 205 بود. بررسی با میکروسکوپ الکترونی نشان داد که در گروه های آزمایشی غلاف میلین به خوبی در اطراف آکسون ایجاد شده است و میلین در واقع بخشی از سلول شوان است، که بصورت مارپیچ دور آکسون می بیچد و با یک توالی تیره و روشن مشاهده شد. با اندازه گیری توالی تیره و روشن میلین و در پایان هفته چهارم پس از ترمیم مشاهده شد که ضخامت میلین در گروه فاکتورهای رشد ($44 \text{ nm} \pm 319$) و اتوگرافت ($310 \text{ nm} \pm 33$) اختلاف معنی داری ندارد. همچنان در پایان میلین در گروه اتوگرافت ($1052 \pm 191 \text{ nm}$) نسبت به هفته ۱۲ پس از ترمیم، ملاحظه گردید که ضخامت گروه فاکتورهای رشد ($932 \pm 104 \text{ nm}$) اختلاف معنی داری ندارد. (شکل ۱).

شش عدد 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 (وله PVDF یا اتوگرافت) بریده و نمونه ها تمام شب در ثابت کننده گلوتار آلدھید ۲/۵ درصد و در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

نمونه ها به سه قسمت ابتدایی، میانی و دیستال تقسیم شده و پس از استفاده از تراکسید اسیمیوم یک درصد به مدت ۱/۵ ساعت، مراحل تهیه بلوك برای میکروسکوپ الکترونی انجام گرفت. بلوك های تهیه شده توسط اولترامیکروتوم^۱ به اندازه ۵۰۰ نانومتر برش زده و با محلول تولوئیدین بلو ۱٪ به مدت ۲-۳ دقیقه رنگ آمیزی شدند.

پس از تهیه برش، نیمه نازک محل مناسب برای مطالعه میکروسکوپ الکترونی مشخص شد. سپس برش هایی به اندازه ۵۰ نانومتر تهیه شد. برش ها بر روی شبکه مسی^۲ قرار گرفتند و پس از رنگ آمیزی توسط میکروسکوپ الکترونی^۳ در بزرگ نمایی های مختلف مطالعه شدند و توسط دوربین دیجیتال متصل به کامپیوتر عکس گرفته شدند. ابتدا با بزرگ نمایی ۳۰۰۰ آکسون های بدون میلین شمارش شدند. سپس با بزرگ نمایی ۶۰۰۰۰، تعداد لایه های میلین آکسون های میلین دار، شکل میتوکندری ها و تعداد میکروتوبول های درون آکسون ها بررسی گردید.

تصاویر به نواحی شش گوشه^۴ که هر یک به مساحت $2 \mu\text{m}^2$ ، 0.35 cm^2 اکسپوپلاسم می باشد تقسیم شدند و میکروتوبول های هر ناحیه شمارش شدند. حداقل ۶۰ آکسون (370 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 (۱۴%).

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

1-Leica , Ultracut
2-Grid
3-Leo 906
4-Hexagons

روشن به نظر می‌رسند(شکل ۲).

بحث و نتیجه‌گیری

فقدان یک روش استاندارد و شناخت ناکافی اصول مکانیسم‌های ترمیم عصب از جمله دلایل قصور در تحقیقات NGCs می‌باشدند. عنوان مثال اندازه شکاف ایجاد شده در عصب محیطی، خواص فیزیکی و شیمیایی NGCs به کار برده شده، ویژگی‌های ماتریکس داخل لوله، ترکیب فاکتورهای رشد عصب که به داخل لوله اضافه می‌شوند 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 (۱۵). 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.

تحقیقات نشان می‌دهد که استفاده از NGF برای ترمیم عصب له شده مفید است. به طوری که قطر اکسون میلین دار در انتهای هفت‌چهارم افزایش می‌یابد. این افزایش قطر اکسون به دلیل سالم بودن ابی نوروبوم، پری نوروبوم و جلوگیری از تشکیل بافت لیفی می‌باشد. بخیه زدن در پیوند اتوگرافت با تشکیل بافت لیفی سبب محدودیت رشد اکسون‌های ترمیم شده می‌گردد (۱۶).

در تحقیق حاضر نیز همانند سایر تحقیقات انجام شده مشاهده گردید که تعداد آکسون‌های میلین دار در ناحیه انتهایی محل ترمیم کمتر از ناحیه ابتدایی می‌باشد که این امر ممکن است به دو دلیل باشد، اولاً 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. شکل گیری نرمال غشای میلین به بلوغ نرمال سیتواسکلتال وابسته است (۱۷).

استفاده از IGF-I سبب افزایش روند ترمیم می‌شود، که این امر ممکن است به دلیل تاثیر بر زنده ماندن

میانگین ضخامت میلین در گروه کنترل و شاهد به ترتیب ۲۱۵.0 ± ۱۵.4 و ۱۹۵.۰ ± ۱۹.۵ میکرون می‌باشد.

میکروسکوپ الکترونی نشان می‌دهد که سلول شوان در خارج توسط یک تیغه قاعده‌ای 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 است (شکل ۲).

میکروسکوپ الکترونی نشان داد که میکروتوبول‌ها در آکسون عصب نرمال با فاصله کم و مساوی قرار گرفته‌اند و در فضای بین آنها نوروپیلامنت‌ها دیده می‌شود، که تعداد نوروپیلامنت‌ها بسیار زیادتر از میکروتوبول‌هاست. چگالی میکروتوبول‌ها در گروه کنترل و شاهد (۳۴.0 ± ۳.0) در میکرومتر مربع است. آرایش قرارگیری میکروتوبول‌ها در آکسون‌های در حال رژنره با عصب نرمال متفاوت است، به طوری که در هفته چهارم پس از ترمیم، میکروتوبول‌ها در گروه اتوگرافت بصورت دسته‌های ۴-۵ تایی دیده می‌شوند و دسته‌ها با فواصل متغیری نسبت به هم قرار دارند (شکل ۱). چگالی میکروتوبول‌ها در گروه اتوگرافت (۱۶.۰ ± ۲.۷) در میکرومتر مربع می‌باشد، در حالی که در گروه فاکتورهای رشد، میکروتوبول‌ها غالباً بصورت دو تایی دیده می‌شوند و چگالی آنها در گروه فاکتورهای رشد (۱۲.۰ ± ۲.۱) در میکرومتر مربع است، که از لحاظ آماری نسبت به گروه کنترل (۱۹.۰ ± ۳.۰) اختلاف معنی‌داری دارد ($P < 0.01$). در پایان هفته ۱۲، آرایش میکروتوبول‌ها در گروه اتوگرافت تقریباً شبیه آکسون عصب نرمال است، در حالی که چگالی آنها در گروه فاکتورهای رشد (۱۶.۷ ± ۳.۰) می‌باشد ($P < 0.01$) (نمودار ۱).

میتوکندری در آکسون میله‌ای شکل و غالباً باریکتر از میتوکندری در سایر سلول‌های غیر عصبی است. البته گاهی میتوکندری گرد و بزرگ نیز دیده می‌شود. میتوکندری‌ها در طول آکسون و با فواصلی متغیر نسبت به هم پخش می‌شوند. ستیغ‌های میتوکندری در گروه سالم بیشتر بصورت عرضی جهت‌گیری نموده ولی در گروه‌های آزمایشی موازی با محور درازشان قرار دارند، در نتیجه در برش عرضی، حلقه‌های هم مرکز تیره و

طول سطح خارجی ستون‌های سلول‌های شوان پیشروی می‌کند و بتدریج توسط آن‌ها احاطه می‌شوند(۲). تحقیقات نشان داده اند که NGF و NGFs با تنظیم توبولین و نوروفیلامنت‌ها، رشد جوانه آکسونی را تقویت می‌نمایند(۶).

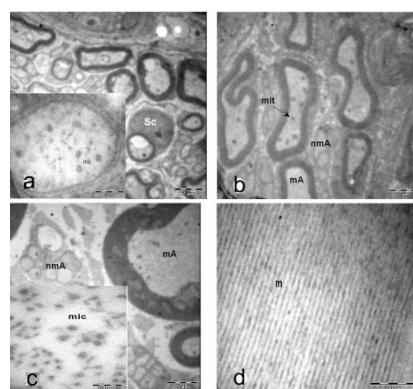
بررسی میکروسکوپ الکترونی نشان می‌دهد که چگالی میکروتوبول‌های آکسونی در گروه اتوگرافت و فاکتورهای رشد در پایان هفته چهارم با عصب نرمال اختلاف معنی داری دارد، و در پایان هفته دوازدهم در هر دو گروه افزایش می‌یابد ولی این افزایش در گروه اتوگرافت به گروه intact نزدیک است و این امر به دلیل سالم بودن پوشش‌های اپی نوریوم و پری نوریوم و حضور تعداد زیادی سلول شوان در گروه اتوگرافت است که ترمیم عصب با سرعت و سهولت بیشتری انجام می‌گیرد. در گروه فاکتورهای رشد 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. میتوکندری و میکروتوبول‌ها با هم همکاری می‌کنند بطوری که میکروتوبول‌ها جهت بازسازی و افزایش طول خود نیاز به انرژی دارند که میتوکندری‌ها آن را تأمین می‌نمایند. میتوکندری‌ها هم جهت انتقال به ناحیه دیستال آکسون به میکروتوبول‌ها وابسته هستند. NGF مکانیسم سوخت و ساز سازنده نورون را تنظیم می‌کند(۱۸)، به این صورت که پتانسیل غشای داخل میتوکندری را تقویت کرده و سبب افزایش سطح ATP می‌شود. IGF نیز میانگین قطر آکسون و میلین را افزایش می‌دهد(۳). قطر رشته عصبی تعیین کننده اصلی سرعت هدایت عصب است و با چگالی میکروتوبول‌ها و ضخامت میلین ارتباط دارد.

در تحقیق حاضر با عنایت به تاثیر مثبت فاکتورهای رشد بر روی رشد و تکامل میتوکندری و میکروتوبول‌ها، به نظر می‌رسد که فاکتورهای رشد بر روی رژیم اسید...- غلامحسین فرجامه و همکاران

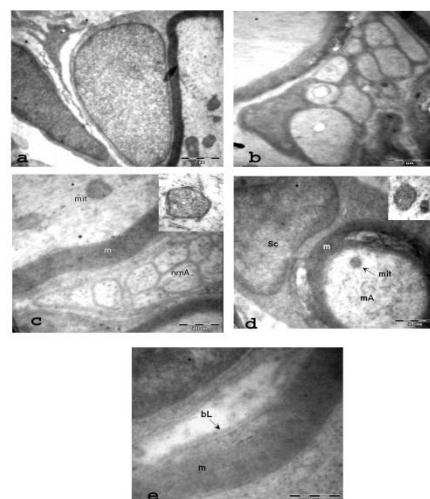
سلول شوان و ادامه میلین سازی باشد. همچنین تمایز فیبروبلاست‌ها و ماکروفازها را جهت تولید ملکول‌های اتصال دهنده و سیتوکین‌ها تسريع می‌نماید و با تسريع کردن دژنرسانس والرین و تحريك سلول‌های شوان از روند مرگ سلولی پیشگیری می‌کند. از طرفی مکانیسم عمل NGF که سبب تقویت رشد آکسون در محل شکاف عصبی می‌شود، هنوز ناشناخته است ولی می‌دانیم که بر نورون و سلول‌های غیر نورونی اثر دارد. تحقیقات نشان می‌دهد با استفاده از IGF-I، تعداد آکسون‌ها به طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل افزایش می‌یابد. همچنین چگالی میکروتوبول‌ها در گروه دریافت کننده IGF-I نسبت به گروه کنترل بالاتر است(۲).

بزرگتر بودن مقطع آکسون در ناحیه ابتدایی نسبت به ناحیه انتهایی محل ترمیم عصب، به دلیل تعداد بیشتر نوروفیلامنت‌ها و میکروتوبول‌ها و سایر پلی‌پیتیدها می‌باشد. انتقال آکسونی میتوکندری به میکروتوبول‌ها وابسته است ولی به میکروفیلامنت‌ها و جریان اندپلاسمیک رتیکولوم ارتباطی ندارد. چگالی میکروتوبول‌ها در هفته دوازدهم با افزایش قطر آکسون افزایش می‌یابد. با آنالیز میکروسکوپ الکترونی تعداد میکروتوبول‌ها در گروه فاکتورهای رشد کمتر از گروه اتوگرافت مشاهده شد. افزایش تعداد میکروتوبول‌ها نشانه افزایش بیان پروتئین‌های سیتواسکلتال است که میلین سازی را تحت تاثیر قرار می‌دهد(۱۷).

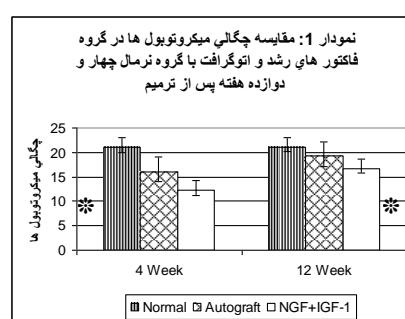
در نورون‌های در حال رشد، میکروتوبول‌ها نقش مهمی در افزایش طول آکسون به سوی سلول هدف بازی می‌کنند. در مخروط رشد، میکروتوبول‌ها بصورت دسته قرار دارند و توسط پل‌های عرضی که در فواصل منظم قرار گرفته‌اند به یکدیگر متصل می‌شوند، این پل‌ها از پروتئینی به نام راینین^۱ تشکیل شده است. این پروتئین در حضور ATP و یک کوفاکتور سبب می‌شود برخی میکروتوبول‌ها نسبت به برخی دیگر از آنها بلغزند. افزایش طول ایجاد شده در میکروتوبول‌های روی هم افتاده، به پیشروی مخروط رشد کمک می‌کند. مخروط‌های رشد بصورت پاها نخی شکل، آرام آرام در



شکل ۱ . تصویر میکروسکوپ الکترونی، از عصب رُزنه در ناحیه میانی لوله PVDF، در مقایسه با اتوگرافت و عصب سالم ۱۲ هفته پس از ترمیم (a $\times 3597$ ، b ، NFG+IGF-I (c ، Autograft (d ، غشای میلین ($\times 60000$) تصویر کوچک در شکل های a و b: آرایش میکروتوبولها در آکسون میلین دار و آکسون بدون میلین، به دسته های ۲، ۳ و ۵ تابی میکروتوبول توجه فرمائید (e $\times 60000$) - میکروتوبول



شکل ۲ . تصویر میکروسکوپ الکترونی، از عصب رُزنه در ناحیه میانی لوله PVDF، در مقایسه با اتوگرافت و عصب سالم ۱۲ هفته پس از ترمیم (a) مجاورت سلول شوان با آکسون میلین دار، هسته سلول فیبروبلاست در مجاورت سلول شوان مشاهده می شود ($\times 4683$) ، (b) تعدادی آکسون بدون میلین که توسط یک سلول شوان احاطه می شوند ($\times 4683$) ، (c) تعدادی آکسون بدون میلین در حد واسطه دو آکسون میلین دار ($\times 12630$) ، (d) مجاورت سلول شوان با آکسون میلین دار ($\times 21560$) ، (e) تیغه پایه (bL) در نزدیکی غلاف میلین ($\times 21560$) - آکسون بدون میلین (mA)، آکسون بدون میلین (nmA)، سلول شوان (Sc) میتوکندری (mit)، میلین (m)- تصویر کوچک در شکل های a و b: به وضعیت قرارگیری سنتیگ های میتوکندری در گروه های آزمایشی (موازی با محور طولی میتوکندری) c و عصب نرمال (عمود بر محور طولی) d توجه نمائید (***).



* نشانه اختلاف معنی دار است ($p < 0.01$)

References

- 1-Lundborg G: Neyre regeneration and repair- A review, *Acta Orthop.* 1987; 58: 145-169.
- 2-Thanos PK, Okajima S, and Terzis J K: Ultrastructure and cellular biology of nerve regeneration . *J of Reconstructive Microsurg.* 1998; 14(6): 423-437.
- 3-Tze-Jen Hung , Alex Verkhratsky , and Paul Fernyhough . Insulin enhances mitochondrial inner membrane potential and increases ATP levels through phosphoinositide 3-kinase in adult sensory neurons . *Mol Cell Neurosci.* 2005; 28:42-54.
- 4-Santos PM, Winterowd JG, Allen GG, et al: Nerve growth factor: increased angiogenesis without improved nerve regeneration , *OtoLaryngol Head Neck Surg.* 1991; 105(1): 12-25.
- 5-Chamberlain LJ, Yannas JV, Hsu HP, et al: Connective tissue response to tubular implants for peripheral nerve regeneration: the role of myofibroblasts. *J Comp Neurol.* 2000; 417 (4): 415-30.
- 6-Levine MH : Nerve growth factor is expressed in rat femoral vein. *J Oral Maxillofac Surg.* 2002; 60 : 729-739.
- 7-Tsai CC, Lu MC, Chen YS, et al: Locally administered nerve growth factor suppresses ginsenoside R b1-enhanced peripheral nerve regeneration. *Am J Chin Med.* 2003; 31(5): 665-73.
- 8-Stewart HG, Weber M, Eisen A, et al: Regulation of rat schwann cell expression and DNA synthesis by insulin-like growth factors in vitro. *Eur J Neurosci.* 1996; 8(3): 553-64.
- 9-Fortes WM, Noda EM, Liuzzi FJ, et al: End – to side neurorrhaphy: evaluation of axonal response and upregulation of IGF-I and IGF-II in a non injury model . *J Reconstr Microsurg.* 1999; 15(6): 449-57.
- 10-Rabinovsky ED, and Draghia-Akli R: Insulin-like growth factor I plasmid therapy promotes in vivo angiogenesis . *Mol Ther.* 2004; 9(1): 46-55.
- 11-Aebischer P, Valentini RF, Dario P, Domenici C, et al: Piezoelectric guidance channels enhance regeneration in the mouse sciatic nerve after axotomy. *Brain Research.* 1987 436: 165-168 .
- 12-Kimpinski K , and Mearow K:Neurite growth promotion by nerve growth factor and insulin-like growth factor-I in cultured adult sensory neurons. *J Neuroscience Research.* 2001; 63: 486-499.
- 13-Hudson TW, Evans GR.D, and Schmidt CE. Engineering strategies for peripheral nerve repair. *Clin Plast Surg.* 1999; 26(4): 617-628.
- 14-Lura L.Kirkpatrick, Andrea S.Witt, H.Ross Payne, et al. Changes in Microtubule Stability and Density in Myelin-Deficient Shiverer Mouse CNS Axons. *The Journal of Neuroscience.* 2001; 21(7):2288-2297.
- 15-Pu LL. syed SA, Reid M, Patwa H, et al. Effects of nerve growth factor on nerve regeneration through a vein graft across a gap . *Plastic and Reconstructive Surgery.* 199; 104(5) , 1379-1385.
- 16-Chen ZW, Wang MS. Effects of nerve growth factor on crushed sciatic nerve regeneration in rats . *Microsurgery.* 1995; 16(8): 547-51.
- 17-Scott T. Brady, Andrea S.Witt, Laura L. Kirkpatrick, et al: Formation of compact myelin is required for maturation of the axonal cytoskeleton. *The journal of Neuroscience.* 1999; 19(17):7278-7288.
- 18-Grill RJ, and Tuszyński M H. CNS Regeneration : Axonal Responses to Injury. California, Academic Press , USA 1999.