بررسی فراساختاری اثر فاکتور رشد عصب و فاکتور شبه انسولین بر روی رژنراسیون عصب محیطی موش صحرایی

غلامحسین فرجاه*[۱] ، محمد آهی [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) پزشک عمومی

تاریخ دریافت :۸۵/۱۰/۲ **تاریخ پذیرش :۸۶/۱/۲**

چکیده

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

مواد و روش ها : این تحقیق یک مطالعه تجربی است که از ۴۸ سر موش صحرایی نر (gr ۲۵۰- ۲۰۰) 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 وینیلدین فلوراید یا (PVDF) با فاکتور رشد عصب و فاکتور رشد شبه انسولین ۱، 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 اتوگرافت 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 اتوگرافت اختلاف معنی داری ندارند . ستیغ 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 متیوکندری 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 فرجاه استادیار دانشگاه علوم پزشکی ارومیه

E-mail: hfarjah@umsu.ac.ir

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-07]

مقدمه

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 ناودان‌های عمیق موجود در سطح سلول‌های شوان قرار می‌گیرند(۶).

نورون ها حاوی میتوکندری‌های فراوانی هستند که بطور گسترده پخش می‌شوند. میتوکندری ها میله‌ای یا رشته‌ای شکل می باشند و غالباً باریکتر از میتوکندری‌های سایر سلول ها هستند. قطر آن‌ها بین ۰/۱ تا ۰/۸ میکرون است، اما گاهی میتوکندری گرد و بزرگی نیز دیده می‌شود. میتوکندری ها 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، بطوری که در برش‌های عرضی، غشاها بصورت حلقه‌های هم مرکز تیره و روشن به نظر می‌رسند. میکروتوبول ها همانند میکروتوبول های سایر سلول‌ها هستند و در تشکیل داربست سلولی و انتقال وزیکول‌ها و اندامکها در طول آکسون اهمیت دارند. میکروتوبول‌های منفرد با فاصله کم و مساوی قرار می گیرند (۱۰).

به دنبال قطع اعصاب محیطی و شروع دژنرسانس والرین، قطعه انتهایی آکسون آسیب دیده توسط سلول‌های اطراف هضم و جذب می‌شوند. در روز اول حادثه، انتهای قطعه ابتدایی آکسون، به دلیل تجمع محتویات آکسوپلاسمی تازه رسیده شامل ترکیبات سیتواسکلتی همانند میکروتوبول ها، میتوکندری ها و عناصر اندوپلاسمیک صاف متورم می‌شود که اصطلاحاً به آن مخروط رشد[1] می‌گویند(۶). وجود تعداد زیادی اکتین در مخروط رشد، اهمیت آن را در حرکت نشان می‌دهد(۱۰).

فاکتور رشد عصب[2] یا NGF ، فاکتور اختصاصی برای زنده ماندن نورون‌های حسی و 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[3] یا IGFs 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 نورون های حسی بالغ می شود(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 اندوتلیال 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 تسریع ترمیم اعصاب محیطی می‌شود(۶). مقدار بالای NGF نه تنها ترمیم را تسریع می‌کند بلکه سبب توقف استحاله عصب نیز می‌گردد(۷).IGF با تاثیر بر روی DNA سلول شوان، تولید فاکتور رشد عصب را افزایش می دهد(۸). همچنین تحریک کننده قوی برای تزاید 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 می دهد که IGF-I سبب افزایش تعداد میکروتوبول‌ها (که نشانه افزایش فعالیت در آکسوپلاسم است) می‌شود(۲).

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

1- Growth Cones
2-Nerve Growth Factor
3- Insulin Growth Factors

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-07]

تغییربار الکتریکی رل مهمی در تمایز تحریک انواع سلول ها از جمله نورون‌ها دارد. مواد پیزوالکتریک موادی هستند که تغییرات فشار و یا نیرو باعث تغییر بار الکتریکی لحظه ای در سطح آنها می شود. تحقیقات نشان می دهد که این تغییر الکتریکی نقش مهمی در تمایز و تحریک انواع سلول ها از جمله نورون ها دارد . پلی وینیلیدین فلوراید[1] یک مجرای مصنوعی است که علاوه بر اجازه انتشار گازها و مایعات به داخل مجرا، از نفوذ ملکول های 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 همانندPVDF ، ترمیم عصب محیطی را تقویت می‌نمایند و کانال 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، کانال راهنمای عصب[2] 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 کانال راهنمای عصب از جنس مواد پیزوالکتریک، ممکن است برای تقویت ترمیم عصب و کسب نتایج بهتر مفید باشند(۱۳). فاکتور های رشد و خاصیت پیزوالکتریک هر یک به تنهایی موجب افزایش رژنراسیون می شوند. بررسی های انجام شده نشان می دهد که تاکنون گزارشی مبنی بر بررسی فراساختاری آکسون هنگام استفاده توام آنها منتشر نشده است.

مواد و روشها

تحقیق حاضر یک مطالعه تجربی است که برروی ۴۸ سر مـــوش صحرایی نر بالغ به وزن تقـــریباً ۲۵۰-۲۰۰ گرم انجام گرفت. حیوانات به صورت تصادفی به چهار گروه ۱۲تایی تقسیم شدند:

ـ گـــروه PVDF با فاکتورهای رشد(NGF و IGF-I)

ـ گروه اتوگرافت

ـ گروه شم جراحی

ـ گروه intact

روش جراحی

موش‌ها توسط ماده بیهوشی کتامین[3](۹۰mg/kg) وگزیلازین[4](۱۰mg/kg) به صورت داخل صفاقی بیهوش 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 پرونئال مشترک نمایان شد. در حد واسط بین دو نقطه فوق قطعه‌ای از عصب به اندازه ۱۰mm قطع شد. در گروه PVDF و فاکتور های 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[5] با بزرگنمایی ۲۰ و تحت شرایط استریل انجام شد.

۰/۳میلی لیتر از محلول بافر فسفات ۰/۱ مولار حاوی ۱۰۰ng NGF و ۱۰۰ng IGF-I ۲ 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 ۱۸۰ درجه جابه‌جا نموده و به دو انتهای بریده عصب توسط نخ ۰-۱۰ بخیه شد. در گروه شم، عصب سیاتیک نمایان شد ولی قطع نگردید. پس از عمل جراحی، بخش‌های بریده عضله و پوست بخیه شدند.

1-Ploy Vinyli dene Fluoride = PVDF

2-Nerve Guidance channels

3-Ketamin

4-Xylazine

5-Harvard Apparatus.Ltd

Olympus Japan , SZX12

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-07]

شش عدد موش از هر گروه در پایان هفته چهارم و پایان هفته دوازدهم جهت مطالعه بافت‌شناسی پرفیوژن شدند. عصب سیاتیک ۱ میلی‌متر قبل و ۱ میلی‌متر بعد از محل ترمیم (لوله PVDF یا اتوگرافت) بریده و نمونه ها تمام شب در ثابت کننده گلوتارآلدهید ۲/۵ درصد و در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شدند.

نمونه‌ها به سه قسمت ابتدایی، میانی و دیستال تقسیم شده و پس از استفاده از تتراکسید اُسمیوم یک درصد به مدت ۱/۵ ساعت، مراحل تهیه بلوک برای میکروسکوپ الکترونی انجام گرفت. بلوک های تهیه شده توسط اولترامیکروتوم[1] به اندازه ۵۰۰ نانومتر برش زده و با محلول تولوئیدین بلو ۱٪ به مدت ۳-۲ دقیقه رنگ آمیزی شدند.

پس از تهیه برش، نیمه نازک محل مناسب برای مطالعه میکروسکوپ الکتـــرونی مشخص شد. سپس برش هایی به اندازه ۵۰ نانومتر تهیه شد. برش‌ها بر روی شبکه مسی [2] قرار گرفتند و پس از رنگ آمیزی توسط میکروسکوپ الکترونی[3] در بزرگ نمایی های مختلف مطالعه شدند و توسط دوربین دیجیتال متصل به کامپیوتر عکس گرفته شدند. ابتدا با بزرگ نمایی ۳۰۰۰، آکسون‌های بدون میلین شمارش شدند. سپس با بزرگ نمایی۶۰۰۰۰ ، تعداد لایه‌های میلین آکسون‌های میلین‌دار، شکل میتوکندری‌ها و تعداد میکروتوبول‌های درون آکسون‌ها بررسی گردید.

تصاویر به نواحی شش گوشه[4] که هر یک به مساحت ۲µm ، ۰/۰۳۵ اکسوپلاسم می باشند تقسیم شدند و میکروتوبول های هر ناحیه شمارش شدند. حداقل ۶۰ اکسون (۳۷۰ ناحیه شش گوش) شمرده شدند. تعداد متوسط میکروتوبول های هر ناحیه شش گوش توسط تعداد کل میکرو توبولهای شمارش شده به تعداد کل نواحی شش گوش بدست آمد(۱۴).

یافته‌ها جهت تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار spss و آزمون های Student t-test و two factor ANOVA مورد بررسی قرار گرفتند. ملاک معنی دار بودن نتایج (P<%5) تعیین گردید.

یافته‌ها

با ثابت نمودن نمونه ها توسط گلوتار آلدهید و تتراکسیداسمیوم، چربی غلاف میلین حفظ شده و در برش‌های عرضی بصورت یک حلقه تقریباً سیاه که پیرامون آکسون قرار دارد، دیده می‌شود. در مطالعه میکروسکوپ الکترونی مشاهده شد که آکسون‌های فاقد میلین در ناودان‌های عمیق موجود در سطح سلول‌های شوان قرار می‌گیرند. برای تعیین تعداد آکسون‌های بدون میلین، غشای پایه و حضور نوروفیلامنت‌ها ملاک تشخیص قرار گرفت. تعداد آکسون بدون میلین در بخش‌های میانی و انتهایی محل ترمیم عصب کمتر از ناحیه ابتدایی می‌باشد. میانگین آکسون‌های بدون میلین در پایان هفته چهارم پس از ترمیم، در گروه فاکتورهای رشد (۹۰۴۳±۶۷۰) و گروه اتوگرافت (۸۱۱۱±۴۱۷) اختلاف معنی‌داری ندارد. میانگین آکسون‌های بدون میلین در پایان هفته دوازدهم پس از ترمیم، نسبت به گروه اتوگرافت اختلاف معنی‌داری داشت (P<0.01). میانگین تعداد اکسون های بدون میلین در گروه کنترل و شاهد به ترتیب ۲۱۶ ± ۱۰۶۷۱ و ۲۰۵±۱۰۲۱۰بود.

بررسی با میکروسکوپ الکترونی نشان داد که در گروه‌های 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 می‌پیچد و با یک توالی تیره و روشن مشاهده شد. با اندازه‌گیری توالی تیره و روشن میلین و در پایان هفته چهارم پس از ترمیم مشاهده شد که ضخامت میلین در گروه فاکتورهای رشد (۳۱۹ nm± ۴۴nm) و اتـــوگرافت (۳۱۰±۳۳ nm) اختلاف معنی‌داری ندارد. همچنین در پایان میلین در گروه اتوگرافت (۱۰۵۲±۱۹۱nm) نسبت به هفته ۱۲ پس از ترمیم، ملاحظه گردید که ضخامت گروه فاکتورهای رشد (۹۳۲±۱۰۴nm) اختلاف معنی‌داری ندارد. (شکل ۱).

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

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-07]

میانگین ضخامت میلین در گروه کنترل و شاهد به ترتیب ۱۵۴±۲۱۵۰ و ۱۹۵±۱۹۵۰ میکرون می باشد.

میکروسکوپ الکترونی نشان می‌دهد که سلول شوان در خارج توسط یک تیغه قاعده‌ای [1]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 نوروفیلامنت‌ها دیده می‌شود، که تعداد نوروفیلامنت‌ها بسیار زیادتر از میکروتوبول‌هاست. چگالی میکروتوبول ها در گروه کنترل و شاهد (۳±۲۴) در میکرومتر مربع است. آرایش قرارگیری میکروتوبول ها 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 میکروتوبول ها در گروه اتوگرافت(۲/۷±۱۶/۱) در میکرومترمربع می‌باشد، در حالی که در گروه فاکتورهای رشد، میکروتوبول ها غالباً بصورت دوتایی دیده می‌شوند و چگالی آنها در گروه فاکتورهای رشد (۲/۱±۱۲) در میکرومترمربع است، که از لحاظ آماری نسبت به گروه کنترل (۳± ۱۹/۲) اختلاف معنی‌داری دارند (P<0.01). در پایان هفته ۱۲، آرایش میکروتوبول ها در گروه اتوگرافت تقریباً شبیه آکسون عصب نرمال است، در حالی که چگالی آنها در گروه فاکتور های رشد(۳/۱±۱۶/۷)می‌باشد (P<0.01) (نمودار ۱).

میتوکندری در آکسون میله‌ای شکل و غالباً باریکتر از میتوکندری در سایر سلول های غیر عصبی است. البته گاهی میتوکندری گرد و بزرگی 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 گروه های آزمایشی موازی با محور درازشان قرار دارند، در نتیجه در برش عرضی، حلقه‌های هم مرکز تیره و 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 می‌باشند. بعنوان 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 می دهد که استفاده از NGF برای ترمیم عصب له شده مفید است. به طوری که قطر اکسون میلین دار در انتهای هفته چهارم افزایش می یابد. این افزایش قطر اکسون به دلیل سالم بودن اپی نوریوم، پری نوریوم و جلوگیری از تشکیل بافت لیفی می باشد. بخیه زدن در پیوند اتوگرافت با تشکیل بافت لیفی سبب محدودیت رشد اکسون های ترمیم شده می گردد(۱۶).

در تحقیق حاضر نیز همانند سایر تحقیقات انجام شده مشاهده گردید که تعداد آکسون‌های میلین‌دار 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

1-Basal lamina

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-07]

سلول شوان و ادامه میلین سازی باشد. همچنین تمایز فیبروبلاست‌ها و ماکروفاژها را جهت تولید ملکول های اتصال دهنده و سیتوکین‌ها تسریع می‌نماید و با تسریع کردن دژنرسانس والرین و تحریک سلول های 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 سلول های غیر نورونی اثر دارد. تحقیقات نشان می دهد با استفاده از IGF-I، تعداد آکسون‌ها به طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل افزایش می‌یابد. همچنین چگالی میکروتوبول ها 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 میکروتوبول ها و سایر پلی‌پپتیدها می‌باشد. انتقال آکسونی میتوکندری به میکروتوبول ها وابسته است ولی به میکروفیلامنت‌ها و جریان اندوپلاسمیک رتیکولوم ارتباطی ندارد. چگالی میکروتوبول ها 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 پروتئین های سیتواسکلتال است که میلین سازی را تحت تاثیر قرار می دهد(۱۷).

در نورون های در حال رشد، میکروتوبول ها نقش مهمی در افزایش طول آکسون به سوی سلول هدف بازی می‌کنند. در مخروط رشد، میکروتوبول ها بصورت دسته قرار دارند و توسط پل‌های عرضی که در فواصل منظم قرار گرفته‌اند به یکدیگر متصل می‌شوند، این پل‌ها از پروتئینی به نام راینئین[1] تشکیل شده است. این پروتئین در حضور ATP و یک کوفاکتور سبب می‌شود برخی میکروتوبول ها نسبت به برخی دیگر از آنها بلغزند. افزایش طول ایجاد شده در میکروتوبول های روی هم افتاده، به پیشروی مخروط رشد کمک می‌کند. مخروط‌های رشد بصورت پاهای نخی شکل، آرام آرام در طول سطح خارجی ستون‌های سلول‌های شوان پیشروی می‌کنند و بتدریج توسط آن‌ها احاطه می‌شوند(۲).

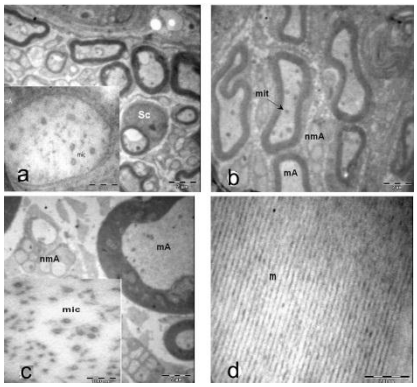
تحقیقات نشان داده اند کهNGF و NGFs با تنظیم توبولین و نوروفیلامنت‌ها، رشد جوانه آکسونی را تقویت می‌نمایند(۶).

بررسی میکروسکوپ الکترونی نشان می دهد که چگالی میکروتوبول های اکسونی 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 می یابد ولی این افزایش در گروه اتوگرافت به گروه intact نزدیک است و این امر به دلیل سالم بودن پوشش های اپی نوریوم و پری نوریوم و حضور تعداد زیادی سلول شوان در گروه اتوگرافت است که ترمیم عصب با سرعت و سهولت بیشتری انجام می گیرد. در گروه فاکتور های رشد به دلیل استفاده از کانال راهنمای عصب، با تشکیل اپی نوریوم و عروق خونی، سلول های شوان از دو انتهای پروگزیمال و دیستال کانال تکثیر یافته و در داخل کانال تجمع می یابند. میتوکندری و میکرو توبول ها با هم همکاری می کنند بطوری که میکروتوبول ها جهت بازسازی و افزایش طول خود نیاز به انرژی دارند که میتوکندری ها آن را تامین می نمایند. میتوکندری ها هم جهت انتقال به ناحیه دیستال آکسون به میکروتوبول ها وابسته هستند. NGF مکانیسم سوخت و ساز سازنده نورون را تنظیم می کند(۱۸)، به این صورت که پتانسیل غشای داخل میتوکندری را تقویت کرده و سبب افزایش سطح ATP می شود. IGF نیز میانگین قطر آکسون و میلین را افزایش می دهد(۳). قطر رشته عصبی تعیین کننده اصلی سرعت هدایت عصب است و با چگالی میکروتوبول ها و ضخامت میلین ارتباط دارد.

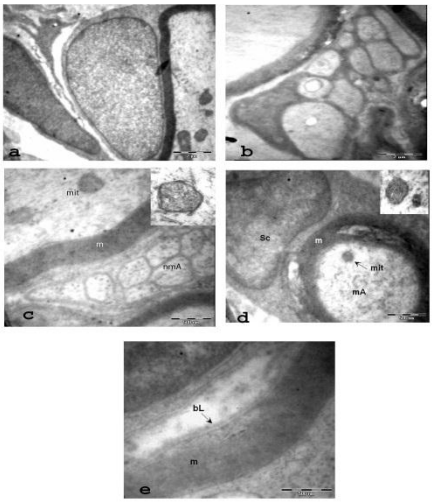
در تحقیق حاضر با عنایت به تاثیر مثبت فاکتور های رشد بر روی رشد و تکامل میتوکندری و میکرو توبول ها، به نظر می رسد که فاکتورهای رشد بر روی رژنراسیون عصب نیز تاثیر مهمی دارند.

1-Rynein

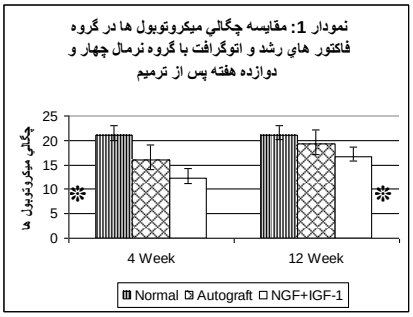
[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-07]



شکل ۱ . تصویر میکروسکوپ الکترونی، از عصب رژنره در ناحیهٔ میانی لوله PVDF، در مقایسه با اتوگرافت و عصب سالم ۱۲ هفته پس از ترمیم (۳۵۹۷ ×) a) گروه NFG+IGF-I ، b) گروه Autograft ، c) عصب سالم ، d) غشای میلین(60000×) تصویر کوچک درشکل های a وb : آرایش میکروتوبول‌ها در آکسون میلین‌دارو آکسون بدون میلین ، به دسته‌های ۲، ۳ و ۵ تایی میکروتوبول توجه فرمائید (۶۰۰۰۰ ×) - میکروتوبول (mic)



شکل ۲ . تصویر میکروسکوپ الکترونی، از عصب رژنره در ناحیهٔ میانی لوله PVDF، در مقایسه با اتوگرافت و عصب سالم ۱۲ هفته پس از ترمیم a) مجاورت سلول شوان با آکسون میلین‌دار، هسته سلول فیبروبلاست در مجاورت سلول شوان مشاهده می‌شود (۴۶۸۳ ×) ، b) تعدادی آکسون بدون میلین که توسط یک سلول شوان احاطه می‌شوند (۴۶۸۳ ×) ، c) تعدادی آکسون بدون میلین در حد واسط دو آکسون میلین‌دار (۱۲۶۳۰ ×) ، d) مجاورت سلول شوان با آکسون میلین‌دار (۲۱۵۶۰ ×) ، e) تیغه پایه (bl) در نزدیکی غلاف میلین (۲۱۵۶۰ ×) - آکسون میلین‌دار (mA)، آکسون بدون میلین (nmA)، سلول شوان (Sc)، میتوکندری (mit)، میلین (m)- تصویر کوچک درشکل های a وb : به وضعیت قرارگیری ستیغ‌های میتوکندری در گروه‌های آزمایشی (موازی با محور طولی میتوکندری) c و عصب نرمال (عمود بر محور طولی) d توجه نمائید (۳۵۹۷۰ *) .



[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-07]

* 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 Reconstractive 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.Kirkpatric, 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-ScottT. 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 Tuszynski M H. CNS Regeneration : Axonal Responses to Injury. California, Academic Press , USA 1999.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-07]