

Effects of Methylprednisolone on Motor Functional Recovery after Sciatic Nerve Transection and Decellularized Scaffold Transplantation in Rats

Abdolmaleki A.¹ *PhD*, Behnam-Rassouli M.* *PhD*, Moghimi A.¹ *PhD*, Mahdavi-Shahri N.¹ *PhD*

*Biology Department, Science Faculty, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

¹Biology Department, Science Faculty, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

Abstract

Aims: Following the peripheral nervous system trauma, prescribing anti-inflammatory agents is one of the strategies to control the damage and promoting the recovery process. The aim of this study was to investigate the effects of methylprednisolone on improvement of motor function and tissue changes following sciatic nerve transection and repairing by decellularized scaffolds transplantation in rats.

Materials & Methods: In this experimental study, 50 adult male Wistar rats were randomly divided into 5 groups of 10; negative control group (receiving no medication with transection of the sciatic nerve), sham group (nerve-mediated surgery with solvent drug), experimental groups 1 and 2 (transection of the sciatic nerve and scaffold transplantation with 1- and 30mg/kg of methylprednisolone intraperitoneally) and experimental group 3 (transection of the sciatic nerve and scaffold transplantation with solvent drug). Behavioral, electrophysiological and tissue tests were performed during the experiment. Data were analyzed by SPSS 16 software and using one-way ANOVA and Tukey's *post hoc* tests.

Findings: the rate of repair and improvement of motor function was increased significantly in the treated groups with methylprednisolone compared to the control group ($p < 0.05$). Musculoskeletal atrophy of gastrocnemius was decreased in methylprednisolone treated groups. In addition, the number of neural fibers, axon diameter and thickness of myelin sheath were significantly higher in the treated groups ($p < 0.05$).

Conclusion: The prescription of methylprednisolone increases the amount of motor improvement and tissue repair after the sciatic nerve transection and the decellularized scaffold transplantation. Recovery of the motor and tissue functions at high dose of methylprednisolone is better than low dose.

Keywords

Methylprednisolone [<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68008775>];

Sciatic Nerve [<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68012584>];

Regeneration [<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68012038>];

Decellularized Scaffold [<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68062088>];

Peripheral Nerves [<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68010525>]

* Corresponding Author

Tel: +98 (51) 32527204

Fax: +98 (51) 32527204

Address: Biology Department, Science Faculty, Ferdowsi University of Mashhad, Azadi Square, Mashhad, Iran

behnam@um.ac.ir

Received: February 4, 2017

Accepted: April 4, 2017

ePublished: July 22, 2017

اثرات متیل پردنیزولون بر بازیابی عملکرد حرکتی به دنبال قطع عصب سیاتیک و پیوند داربست سلول‌زدایی‌شده در موش صحرایی

آرش عبدالملکی PhD

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

مرتضی بهنام رسولی* PhD

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

علی مقیمی PhD

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

ناصر مهدوی شهری PhD

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

چکیده

اهداف: به دنبال ترومای سیستم اعصاب محیطی، تجویز عوامل ضدالتهابی یکی از استراتژی‌های مناسب برای کنترل آسیب وارده و پیش‌برد فرآیند ترمیم است. هدف مطالعه حاضر، بررسی اثرات داروی متیل‌پردنیزولون بر بهبود عملکرد حرکتی و تغییرات بافتی به دنبال قطع عصب سیاتیک و ترمیم با پیوند داربست‌های سلول‌زدایی‌شده در موش صحرایی بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، ۵۰ سر موش صحرایی نر بالغ ویستار به‌طور تصادفی به ۵ گروه ۱۰تایی تقسیم شدند؛ گروه کنترل منفی (قطع عصب سیاتیک بدون دریافت دارو)، گروه شم (انجام عمل جراحی بدون قطع عصب با دریافت حلال دارو)، گروه‌های تجربی ۱ و ۲ (قطع عصب سیاتیک و پیوند داربست با تجویز داروی متیل‌پردنیزولون با دوزهای یک و ۳۰ میلی‌گرم/کیلوگرم به‌صورت درون‌صفاقی) و گروه تجربی ۳ (قطع عصب سیاتیک و پیوند داربست با دریافت حلال دارو). آزمون‌های رفتاری، الکتروفیزیولوژیک و بافتی، در طول دوره آزمایش انجام شد. داده‌ها به‌کمک نرم‌افزار SPSS 16 و با آزمون‌های آنالیز واریانس یک‌طرفه و تعقیبی توکی تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: سرعت روند ترمیم و بهبود عملکرد حرکتی در گروه‌های تیمار شده با متیل‌پردنیزولون در مقایسه با گروه کنترل به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($p < 0.05$). آتروفی توده عضلانی گاستروکمیوس در گروه‌های تیمار شده با متیل‌پردنیزولون کاهش یافت. همچنین، تعداد فیبرهای عصبی، قطر آکسون‌ها و ضخامت غلاف میلین در گروه‌های تیمار شده، به‌طور معنی‌داری بیشتر بود ($p < 0.05$).

نتیجه‌گیری: تجویز متیل‌پردنیزولون به دنبال قطع عصب سیاتیک و پیوند داربست سلول‌زدایی‌شده، میزان بهبود عملکرد حرکتی و ترمیم بافتی را افزایش می‌دهد. بازیابی عملکرد حرکتی و بافتی در دوز بالای متیل‌پردنیزولون نسبت به دوز پایین بهتر است.

کلیدواژه‌ها: متیل‌پردنیزولون، عصب سیاتیک، ترمیم، داربست سلول‌زدایی‌شده، اعصاب محیطی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۱/۱۶

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۱/۱۵

*نویسنده مسئول: behnam@um.ac.ir

مقدمه

اعصاب محیطی همواره با طیف گسترده‌ای از عوامل در معرض آسیب است [1]. آسیب اعصاب محیطی به‌طور معمول به‌علت ترومای ناشی از تصادف، فشار حاد و جراحی ایجاد شده و سبب معلولیت‌های عصبی موقت یا دائمی می‌شود که متعاقب آن ناتوانی اقتصادی و اجتماعی به‌وجود می‌آید [2].

عوارض ناشی از جراحات‌های تروماتیک دستگاه عصبی تنها حاصل آسیب وارده ابتدایی نیستند. آسیب‌های اولیه در همان لحظه بروز آسیب ایجاد شده و موجب تخریب مکانیکی بافت عصبی و مرگ سلول‌ها می‌شوند. به دنبال آن آسیب‌های ثانویه روی می‌دهند که شامل یک سلسله تغییرات پاتولوژیک هستند و بلافاصله پس از بروز آسیب اولیه آغاز می‌شوند. این آسیب‌ها ممکن است تا ماه‌ها

فصل‌نامه علمی- پژوهشی افق دانش

و حتی سال‌ها ادامه یابند و سبب گسترش آسیب به نواحی مجاور شوند [3, 4]. از عوامل ایجادکننده آسیب‌های ثانویه ناشی از تروما می‌توان به التهاب، ایسکمی و هیپوکسی ناشی از آن، افزایش سطح رادیکال‌های آزاد، افزایش میزان یون کلسیم درون‌سلولی، فعال‌شدن آنزیم‌های پروتئولیتیک و سمیت تحریکی ناشی از آزادسازی بیش از حد نوروترانسمیترهای تحریکی اشاره کرد [5, 6].

به‌طور کلی جراحات اعصاب محیطی می‌تواند منجر به آسیب بدون قطع عصب یا صدمات همراه با قطع عصب و ایجاد شکاف میان دو سر عصب شود. در جراحی که شکافی ایجاد نمی‌شود یا شکاف ایجاد شده تقریباً ۵ میلی‌متر و کمتر است، رویکرد درمانی متداول، اتصال دو سر عصب قطع شده از طریق جراحی و بخیه‌زدن دو سر عصب است [7, 8]. در مواردی که جراحی منجر به از بین رفتن بخشی از عصب شده و شکاف به‌وجود آمده زیاد است، به‌منظور پرکردن فضای ایجاد شده از روش‌های دیگری مانند پیوند عصبی اتوگرافت، آلوگرافت یا کانال‌های بیولوژیک راهنمای عصب استفاده می‌شود [9].

مدل عصب سیاتیک موش صحرایی به‌طور گسترده‌ای در ارزیابی بهبود عملکرد حرکتی پس از صدمات عصب محیطی مورد استفاده قرار می‌گیرد [10]. محمدی و همکاران نشان دادند که در مدل قطع عصب سیاتیک و پیوند داربست سنتتیک به موش صحرایی، تجویز موضعی دگزامتازون سبب تسریع در روند ترمیم عصب سیاتیک و عصب‌دهی مجدد اندام هدف می‌شود [11]. در مطالعه دیگری اثرات تجویز عضلانی داروی دگزامتازون بر روند ترمیم عصب محیطی و بهبود عملکرد حرکتی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این بررسی نشان داد که تجویز دگزامتازون شدت تحلیل والرین را کاهش و سرعت ترمیم فیبرهای عصبی میلینه را افزایش می‌دهد [12].

متیل‌پردنیزولون یک گلوکوکورتیکوئید از خانواده کورتیکواستروئیدها است که در ابتدا به‌علت فعالیت‌های ضدالتهابی آن مورد توجه قرار گرفت. از نظر قدرت در مقایسه با کورتیزول به‌عنوان یک عامل ضدالتهابی چهارمرتبه قوی‌تر است. همچنین از نظر نیمه‌عمر دارای مدت اثر طولانی‌تری حدود ۱۲ تا ۳۶ ساعت در مقایسه با ۸ تا ۱۲ ساعت برای کورتیزول است. حدود ۴۰ تا ۶۰٪ متیل‌پردنیزولون به پروتئین‌های پلاسما متصل می‌شود. بنابراین با کاهش پروتئین‌های پلاسما توسط بیماری‌های کبدی یا کلیوی غلظت استروئیدهای آزاد در بدن زیاد می‌شود، در نتیجه اثرات بیولوژیک آن نیز افزایش می‌یابد [13].

متیل‌پردنیزولون اثرات آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی نیز دارد و هنگامی که به حیوانات یا انسان در دوزهای دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی تجویز می‌شود، بازیابی عصبی را بعد از آسیب نخاعی بهبود می‌بخشد [14]. داروی قطعی برای آسیب نخاع و سیستم عصب محیطی وجود ندارد و تاثیر تنها داروی موجود (متیل‌پردنیزولون) مورد اتفاق نظر نیست، اگر چه در همه موارد اورژانس و حاد از آن استفاده می‌شود [15].

هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثرات داروی متیل‌پردنیزولون بر بهبود عملکرد حرکتی و تغییرات بافتی به دنبال قطع عصب سیاتیک و ترمیم با پیوند داربست‌های سلول‌زدایی‌شده در موش صحرایی بود.

مواد و روش‌ها

این مطالعه تجربی از مهر سال ۱۳۹۴ تا مهر سال ۱۳۹۵ در آزمایشگاه تحقیقاتی ترمیم اعصاب دانشکده علوم پایه دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد. کلیه آزمایشات با رعایت اصول اخلاقی

اثرات متیل پردنیزولون بر بازیابی عملکرد حرکتی به دنبال قطع عصب سیاتیک و پیوند دربیست سلول‌زدایی‌شده در موش صحرایی ۲۰۹
عصب سلول‌زدایی‌شده در بافر فسفات (PBS) ۱۰ میلی‌مولار حاوی
پنی‌سیلین/جنتامایسین با $PH=7.2$ و دمای $4^{\circ}C$ ذخیره می‌شوند
(تمامی مراحل سلول‌زدایی در دمای اتاق انجام می‌گیرد).

آزمون پیاده‌روی مسیر (Walking Track) و تعیین شاخص
عملکردی عصب سیاتیک (SFI): در این آزمون رفتاری، کف پای
موش با جوهر رنگی شده، سپس اجازه داده می‌شود حیوان روی
کاغذ سفیدی که در کف راهرویی به ابعاد $10 \times 25 \times 1$ سانتی‌متر قرار
دارد و در نهایت به اتاق تاریکی منتهی می‌شود، راه برود و با
قرار دادن داده‌های حاصل در فرمول زیر شاخص فعالیت عصب
سیاتیک برای پای جراحی‌شده محاسبه می‌شود:

$$SFI = -38.3[(EPL-NPL)/NPL] + 109.5[(ETS-NTS)/NTS] + 13.3[(EIT-NIT)/NIT] - 8.8$$

در این فرمول PL بیانگر طول کف پا، TS نشان‌دهنده فاصله میان
انگشت اول و پنجم پا و IT نمایانگر فاصله میان انگشت دوم و
چهارم پای حیوان است. همچنین حرف N برای نمایش پای سالم
و حرف E برای نمایش پای جراحی‌شده به کار می‌رود. اندازه‌ها بر
حسب میلی‌متر هستند. میزان SFI بین صفر (عصب سالم) تا ۱۰۰-
(قطع کامل عصب) متغیر است. هر چه SFI به صفر نزدیک‌تر شود،
به معنی ترمیم بهتر عصب است. آزمون پیاده‌روی مسیر در
هفته‌های ۱، ۴، ۸ و ۱۲ پس از جراحی انجام شد و در هر آزمون سه
رد پا مورد اندازه‌گیری قرار گرفته و میانگین آن ثبت شد [20].

بررسی توده عضلانی گاستروکنمیوس: به منظور ارزیابی میزان ترمیم
۱۲ هفته پس از جراحی، نسبت وزن عضله گاستروکنمیوس پای
جراحی‌شده به عضله گاستروکنمیوس پای سالم بررسی شد. به طور
خلاصه، بلافاصله پس از خارج کردن عصب ترمیم‌شده، با استفاده از
میکروسکوپ جراحی، عضله گاستروکنمیوس چپ و راست (کنترل)
در همه گروه‌ها به دقت از استخوان و تاندون جدا شده و وزن شد.
سپس برای هر موش صحرایی، ثابت وزن عضله گاستروکنمیوس
بر اساس نسبت وزن عضله پای جراحی‌شده به عضله پای سالم از
طریق فرمول زیر محاسبه شد [21]:

وزن عضله پای سالم/وزن عضله پای جراحی‌شده = نسبت توده عضلانی

ارزیابی الکتروفیزیولوژیک روند ترمیم: در هفته ۱۲ پس از جراحی،
پتانسیل عمل مرکب عضله (CMAP) از عضله گاستروکنمیوس
حیوانات پس از بی‌هوشی توسط کتامین (۷۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) و
زایلازین (۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) توسط دستگاه الکتروفیزیولوژی
(CEPTU؛ انگلستان) با نرم‌افزار PicoScope ثبت شد. به طور
خلاصه، عصب سیاتیک از روی پوست مرطوب‌شده توسط ژل بین
برجستگی ایسکیوم و تروکانتر بزرگ توسط الکترودهای تحریک
دوقطبی به صورت موازی با عصب تحریک می‌شود. الکترودهای
تک‌قطبی فعال و رفرنس به ترتیب درون شکم عضله قرار داده
می‌شود. همچنین الکترود زمین بین الکترودهای تحریک و ثبت
به پوست متصل می‌شود. تحریک‌ها با دوره زمانی ۰/۲ میلی‌ثانیه،
با افزایش تدریجی شدت انجام می‌شود تا زمانی که بالاترین پاسخ
پتانسیل عمل مرکب عضله (CMAP) به دست آید. ثبت سه بار تکرار
شده و دامنه و تاخیر پتانسیل عمل مرکب عضله (CMAP) برای
هر موش ثبت شد. همچنین پتانسیل عمل مرکب عضله (CMAP)
طبیعی از پای سالم جراحی‌نشده ثبت شد. تمامی داده‌های
به دست آمده برای محاسبه پارامترهای الکتروفیزیولوژیک وارد
کامپیوتر شد.

کار با حیوانات آزمایشگاهی (مصوب کمیته اخلاق پژوهشی
دانشگاه فردوسی مشهد) انجام گرفت و تلاش شد که از تعداد
حیوانات کمتری استفاده شود.

حیوانات و گروه‌های آزمایشی: آزمایشات روی ۵۰ سر موش
صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با محدوده وزنی ۲۵۰-۳۰۰ گرم و سن
تقریبی ۳ ماه انجام شد. موش‌ها در حیوان‌خانه دانشگاه فردوسی
مشهد تحت شرایط استاندارد (دمای $22 \pm 2^{\circ}C$ ، دوره ۱۲ ساعت
روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و رطوبت $60 \pm 5\%$) بدون محدودیت
دسترسی به غذا و آب در قفس‌های جنس پلکسی‌گلاس نگهداری
شدند. تمامی آزمایشات بین ساعت ۹ تا ۱۲ ظهر انجام شد. این
حیوانات به طور تصادفی به ۵ گروه ۱۰ تایی به صورت زیر تقسیم
شدند:

۱) گروه کنترل منفی (قطع عصب سیاتیک بدون دریافت دارو)
۲) گروه شم (انجام عمل جراحی بدون قطع عصب همراه با دریافت
حلال دارو)

۳) گروه تجربی ۱ (قطع عصب سیاتیک و پیوند دربیست با تجویز
دارو با دوز یک میلی‌گرم/کیلوگرم)

۴) گروه تجربی ۲ (قطع عصب سیاتیک و پیوند دربیست با تجویز
دارو با دوز ۳۰ میلی‌گرم/کیلوگرم)

۵) گروه تجربی ۳ (قطع عصب سیاتیک و پیوند دربیست همراه با
دریافت حلال دارو)

نحوه تیمار دارویی: حیوانات دو گروه تجربی ۱ و ۲ روزانه با داروی
متیل پردنیزولون (شرکت داروسازی البرز؛ ایران) به ترتیب با
دوزهای یک و ۳۰ میلی‌گرم/کیلوگرم به صورت درون‌صفاقی به مدت
یک هفته تیمار شدند. نشان داده شده که این دوزهای دارویی
دارای اثرات نورپورونکتیو در آسیب‌های سیستم اعصاب مرکزی
هستند [14, 16]. گروه کنترل منفی بدون دریافت دارو بود و در گروه
شم فقط عمل جراحی بدون آسیب به عصب و با دریافت حلال دارو
صورت گرفت.

مراحل جراحی: تمامی آزمایشات در شرایط استریل به وسیله
میکروسکوپ جراحی و توسط یک محقق انجام شد. تمامی
حیوانات با تزریق کتامین به میزان ۷۰ میلی‌گرم/کیلوگرم و زایلازین
به میزان ۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم (شرکت آلفاسان؛ هلند) عمیقاً
بی‌هوش شدند. سپس موهای پوست ناحیه کمر و پای چپ
تراشیده و توسط بتادین ۱۰% ضدعفونی شد و موش‌ها در شرایط
درازکش از ناحیه شکمی روی میز جراحی در شرایط استریل ثابت
شدند. عصب سیاتیک سمت چپ از طریق یک برش طولی از ناحیه
تروکانتر بزرگ به وسط ران باز و نمایان شد. سپس عصب سیاتیک
به طول یک سانتی‌متر قطع و یک قطعه دربیست جایگزین شد و
توسط نخ ۱۰-۰ بخیه زده شد. در ادامه، عضلات و پوست حیوان
توسط نخ ۶-۰ بخیه زده شدند و برای جلوگیری از اوتوتومی پای
چپ حیوانات، از لاک تلخ به صورت روزانه به مدت یک هفته
استفاده شد [17]. در تمامی مراحل جراحی، عصب‌ها برای جلوگیری
از خشک شدن توسط محلول سالین استریل مرطوب نگه داشته
می‌شدند.

تهیه دربیست‌های سلول‌زدایی‌شده: دربیست‌های سلول‌زدایی‌شده
عصب سیاتیک به روش *ساندل* تهیه شدند [18, 19]. به طور خلاصه، در
این روش ابتدا قطعات عصب سیاتیک به مدت ۷ ساعت در آب
مقطر دیونیزه غوطه‌ور می‌شوند. سپس به مدت ۱۲ ساعت به محلول
تریوتون X-100 منتقل شده و به دنبال آن به مدت ۲۴ ساعت به
محلول سدیم دزوکسی‌کولات انتقال یافته و فرآیند مورد نظر بار
دیگر تکرار می‌شود. پس از شست‌وشوی نهایی با آب، قطعات

آماده‌سازی بافت‌ها و بررسی‌های هیستومورفومتری (استریولوژی): به‌منظور آماده‌سازی بافت‌ها برای بررسی‌های هیستومورفومتری ۱۲ هفته پس از جراحی و به‌دنبال بررسی الکتروفیزیولوژیک، حیوانات به‌طور عمیق توسط کتامین (۷۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) بی‌هوش شدند و قطعه دیستال از محل عصب سیاتیک آسیب‌دیده (پای چپ) در گروه‌های تیمار و کنترل برداشته شده و سپس عصب‌ها در پارافرمالدئید ۴٪ فیکس شدند. پس از مراحل آگیری با اتانول صعودی نمونه‌ها قالب‌گیری شدند و برش‌های سریالی از نمونه با اولترامیکروتوم تهیه شد. سپس نمونه‌ها توسط رنگ تولوئیدین بلو ۱٪ رنگ‌آمیزی شدند و به‌دنبال آن شمارش آکسون‌ها، قطر فیبرها و ضخامت لایه میلین توسط نرم‌افزار Image J محاسبه شد. عصب سیاتیک پای مقابل (پای راست) به‌عنوان نمونه کنترل در نظر گرفته شد. آنالیز آماری: طرح آماری پژوهش از نوع طرح کاملاً تصادفی بود. داده‌ها به‌صورت میانگین آماری بیان شدند. برای تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از آزمون واریانس یک‌طرفه و برای مقایسه میانگین متغیرها در گروه‌های آزمایشی از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. کلیه تحلیل‌های آماری و رسم نمودارها توسط نرم‌افزار SPSS 16 صورت گرفت.

یافته‌ها

ارزیابی عملکردی عصب سیاتیک آزمون پیاپی مسیر: قبل از عمل جراحی، میزان SFI در تمامی گروه‌های آزمایشی نزدیک به صفر بود. در هفته اول پس از قطع عصب به‌دلیل از دست رفتن کامل

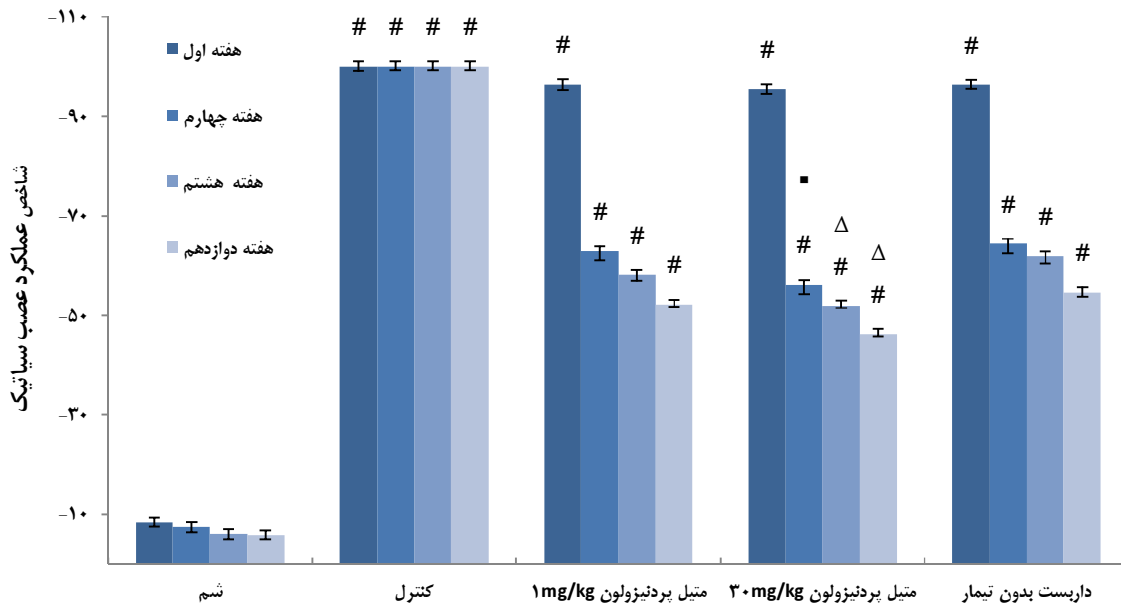
عملکرد عصب سیاتیک، میزان SFI در تمامی گروه‌ها در مقایسه با گروه شم با اختلاف معنی‌داری به پایین‌ترین سطح خود نزدیک ۱۰۰- کاهش یافت.

چهار هفته پس از عمل در گروه‌های تیمار شده با متیل‌پردنیزولون با دوزهای یک و ۳۰ میلی‌گرم/کیلوگرم به ترتیب به ۶۲/۹۲±۳/۵- و ۵۶/۰۷±۲/۷- و در گروه تجربی پیوند داربست همراه با دریافت حلال دارو به ۶۴/۳۴±۴/۲- افزایش یافت که در مقایسه با گروه شم معنی‌دار بود. در این هفته هیچ تغییری در گروه شم و گروه کنترل منفی مشاهده نشد.

در هفته هشتم پس از جراحی، میزان SFI به ترتیب به ۵۸/۰۸±۳/۴-، ۵۱/۸۷±۳/۱- و ۶۱/۸۵±۲/۸- برای گروه‌های تیمار شده با متیل‌پردنیزولون با دوزهای یک و ۳۰ میلی‌گرم/کیلوگرم و گروه تجربی پیوند داربست همراه با دریافت حلال دارو بود که این اختلاف در مقایسه با گروه شم معنی‌دار بود، ولی گروه‌های شم و کنترل منفی تغییری را نشان ندادند.

پس از ۱۲ هفته، میزان SFI در گروه‌های تیمار با متیل‌پردنیزولون با دوزهای یک و ۳۰ میلی‌گرم/کیلوگرم به ترتیب به ۵۲/۰۶±۳/۳- و ۴۶/۱۸±۴/۱- و در گروه تجربی پیوند داربست همراه با دریافت حلال دارو به ۵۴/۶۳±۳/۵- افزایش یافت که در مقایسه با گروه شم معنی‌دار بود، ولی هیچ تغییری در گروه‌های شم و کنترل منفی مشاهده نشد.

در مقایسه بین متیل‌پردنیزولون با دوزهای یک و ۳۰ میلی‌گرم/کیلوگرم، از هفته چهارم به بعد میزان SFI در گروه متیل‌پردنیزولون با دوز ۳۰ میلی‌گرم/کیلوگرم به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (نمودار ۱).



نمودار ۱) شاخص عملکردی عصب سیاتیک در هفته‌های مختلف در هر یک از گروه‌های مورد ارزیابی (۰/۰۵ < p * و ۰/۰۰۱ < p # در مقایسه با گروه شم؛ ۰/۰۵ < p * و ۰/۰۰۱ < p Δ در مقایسه بین دوزهای متیل‌پردنیزولون با یکدیگر)

مقایسه با گروه کنترل منفی افزایش معنی‌داری مشاهده شد. همچنین با افزایش دوز متیل‌پردنیزولون، کاهش وزن عضله گاستروکنمیوس به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (نمودار ۲).

ارزیابی الکتروفیزیولوژیک: در تمامی گروه‌های تیمار شده با متیل‌پردنیزولون، همچنین گروه تجربی پیوند داربست همراه با دریافت حلال دارو، دامنه پتانسیل عمل مرکب به‌صورت تدریجی

بررسی توده عضلانی گاستروکنمیوس: میانگین نسبت وزن عضله بین پای جراحی‌شده و پای سالم در گروه شم پس از ۱۲ هفته حدود ۰/۹۵ بود. اما در گروه کنترل منفی نسبت وزن عضله کاهش قابل توجهی را نشان داد و به حدود ۰/۳ رسید. در گروه‌های تیمار شده با دوزهای یک و ۳۰ میلی‌گرم/کیلوگرم متیل‌پردنیزولون و در گروه تجربی پیوند داربست همراه با دریافت حلال دارو در

افزایش یافت. همچنین میزان تاخیر شروع پتانسیل عمل نیز کاهش یافت. در هفته ۱۲ پس از ایجاد ضایعه، دامنه پتانسیل عمل مرکب عضله و میزان تاخیر در گروه کنترل منفی، گروه تجربی پیوند داربست همراه با دریافت حلال دارو و گروه‌های تیمار با دوزهای یک و ۳۰ میلی‌گرم/کیلوگرم متیل‌پردنیزولون اختلاف معنی‌داری را با گروه شم نشان داد. همچنین در مقایسه بین گروه‌های تیمار با متیل‌پردنیزولون، دوز ۳۰ میلی‌گرم/کیلوگرم به‌طور معنی‌داری نسبت به دوز یک میلی‌گرم/کیلوگرم دامنه پتانسیل عمل بالاتر و میزان تاخیر کمتری را نشان داد (نمودارهای ۳ و ۴).

جدول ۱) مقایسه میانگین آماری پارامترهای مورفولوژیک اعصاب ترمیم شده در پایان هفته ۱۲ پس از جراحی (تعداد در هر گروه = ۱۰ سر)

گروه شم	متیل‌پردنیزولون ۱	متیل‌پردنیزولون ۳۰	پیوند داربست با حلال دارو
تعداد فیبرها	۳۷۶۷/۰۰±۱۳۷/۷۸#	۴۲۵۵/۳۷±۱۱/۶۷*	۳۴۰۹/۳۷±۱۳۱/۷۸#
قطر فیبرها (میکرومتر)	۷/۱۰±۰/۱۱#	۸/۵۱±۰/۱۱#	۶/۳۶±۰/۱۵#
قطر آکسون‌ها (میکرومتر)	۴/۱۵±۰/۰۷#	۴/۲۷±۰/۰۶#	۴/۰۶±۰/۱۰#
ضخامت غلاف میلین (میکرومتر)	۱/۴۷±۰/۰۶#	۲/۰۸±۰/۰۴#	۱/۱۵±۰/۰۷#

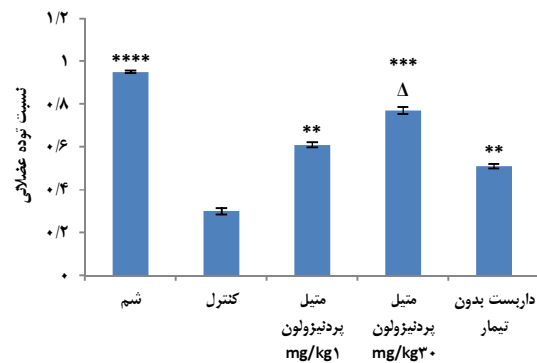
p<۰/۰۰۱ و * p<۰/۰۵ در مقایسه با گروه شم

بحث

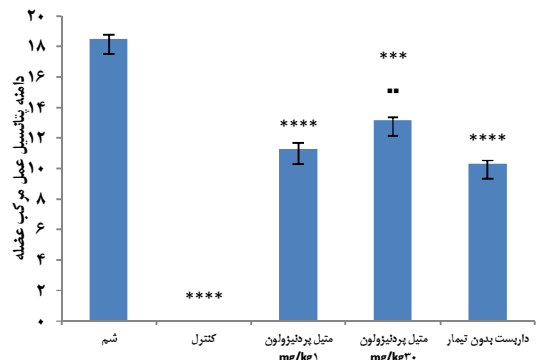
برخلاف سیستم عصبی مرکزی، اعصاب محیطی پس از آسیب قابلیت ترمیم دارند [22]. آسیب‌های سیستم اعصاب محیطی حدود ۱۰٪ کل جراحات و حدود ۳۰٪ آسیب‌های شدید را شامل می‌شوند [23]. به دنبال ترومای سیستم اعصاب محیطی، تجویز عوامل نورپروتکتیو و عوامل ضدالتهابی یکی از استراتژی‌های مناسب برای کنترل آسیب وارده، همچنین پیش‌برد فرآیند ترمیم است [24]. در این پژوهش اثرات داروی متیل‌پردنیزولون بر بهبود عملکرد حرکتی و تغییرات بافتی به دنبال قطع عصب سیاتیک و ترمیم با پیوند داربست‌های سلول‌زایی‌شده در موش صحرایی بررسی شد. آنالیز داده‌های حاصل از این پژوهش نشان داد که استفاده از متیل‌پردنیزولون به‌صورت روزانه بلافاصله پس از آسیب عصب سیاتیک در طول دوره آزمایش سبب افزایش سرعت ترمیم و افزایش کیفیت بازیابی عملکرد حرکتی شد. همچنین دوز ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم متیل‌پردنیزولون در مقایسه با دوز یک میلی‌گرم بر کیلوگرم در افزایش سرعت ترمیم و بازیابی عملکرد حرکتی، تاثیر بهتری داشت.

در صدمات اعصاب محیطی که قطع فیزیکی عصب روی می‌دهد، به دنبال خون‌رسانی مجدد و ورود مواد غذایی و اکسیژن در بافت آسیب‌دیده میزان تشکیل رادیکال‌های آزاد افزایش می‌یابد که این رادیکال‌های آزاد بر لیبیدهای موجود در بافت تاثیر گذاشته و سبب پراکسیداسیون لیپیدها می‌شود که اثرات مخربی را بر بافت مورد نظر دارد [16, 25]. در این رابطه بسیاری از مطالعات که اثرات عوامل ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی را در ترمیم اعصاب محیطی بررسی کرده‌اند، اثرات مثبتی را در کاهش میزان رادیکال‌های آزاد و سایر عوامل مخرب نشان داده‌اند. همچنین این عوامل سبب تسریع در بهبود آسیب‌های اعصاب محیطی شده‌اند [16, 26].

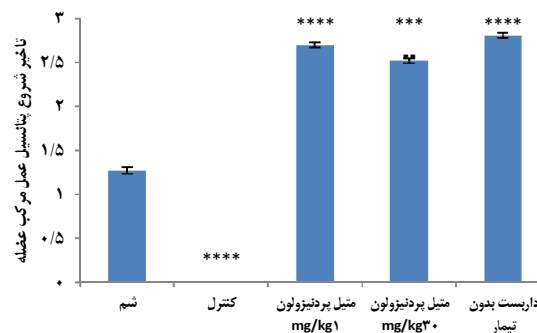
باتگ و همکاران نشان دادند که تجویز متیل‌پردنیزولون با دوز بالا (۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به گربه‌های با آسیب نخاعی نسبتاً شدید نسبت به گروه کنترل بهبود قابل توجهی را دو هفته پس از ایجاد آسیب نشان داد. همچنین بررسی‌های بافتی نیز نشان داد که وسعت ناحیه آسیب در گروه تیمار شده با متیل‌پردنیزولون نسبت به گروه کنترل کاهش قابل توجهی داشت.



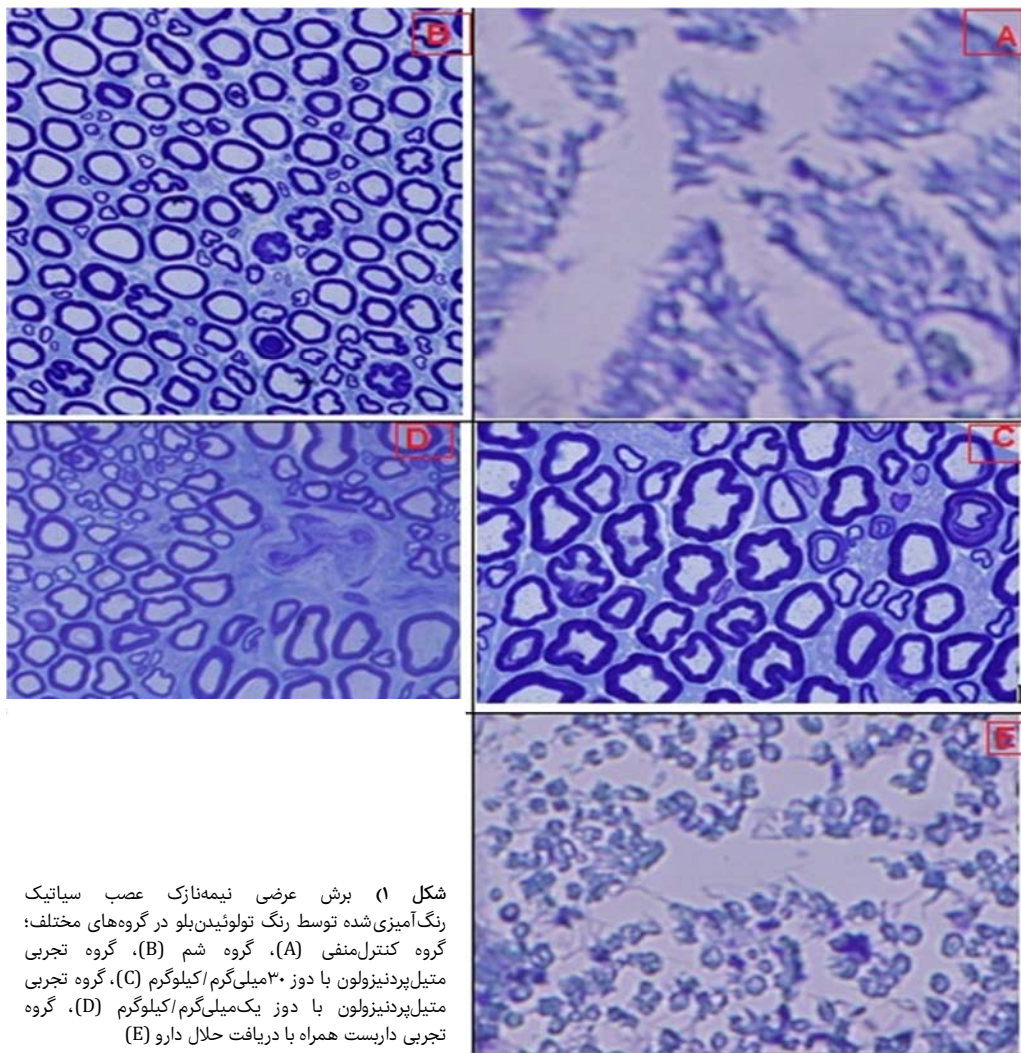
نمودار ۲) نسبت وزن عضله گاستروکنمیوس بین پای جراحی‌شده و پای جراحی‌نشده در هفته ۱۲ پس از جراحی (p<۰/۰۵, * p<۰/۰۱, ** p<۰/۰۰۱, *** p<۰/۰۰۰۱ و **** p<۰/۰۰۰۰۱ در مقایسه با گروه کنترل؛ p<۰/۰۵, * p<۰/۰۰۱, ** p<۰/۰۰۰۱ و **** p<۰/۰۰۰۰۱ در مقایسه بین دوزهای متیل‌پردنیزولون با یکدیگر)



نمودار ۳) دامنه پتانسیل عمل مرکب ثبت شده از گروه‌های مختلف در هفته ۱۲ پس از عمل جراحی (p<۰/۰۵, * p<۰/۰۱, ** p<۰/۰۰۱, *** p<۰/۰۰۰۱ و **** p<۰/۰۰۰۰۱ در مقایسه با گروه شم؛ p<۰/۰۵, * p<۰/۰۰۱, ** p<۰/۰۰۰۱ و **** p<۰/۰۰۰۰۱ در مقایسه بین دوزهای متیل‌پردنیزولون با یکدیگر)



نمودار ۴) تاخیر شروع پتانسیل عمل مرکب ثبت شده از گروه‌های مختلف در هفته ۱۲ پس از جراحی (p<۰/۰۵, * p<۰/۰۱, ** p<۰/۰۰۱, *** p<۰/۰۰۰۱ و **** p<۰/۰۰۰۰۱ در مقایسه با گروه شم؛ p<۰/۰۵, * p<۰/۰۰۱, ** p<۰/۰۰۰۱ و **** p<۰/۰۰۰۰۱ در مقایسه بین دوزهای متیل‌پردنیزولون با یکدیگر)



شکل ۱) برش عرضی نیمه‌نازک عصب سیاتیک رنگ‌آمیزی شده توسط رنگ تولوئیدین‌بلو در گروه‌های مختلف؛ گروه کنترل منفی (A)، گروه شم (B)، گروه تجربی متیل‌پردنیزولون با دوز ۳۰ میلی‌گرم/کیلوگرم (C)، گروه تجربی متیل‌پردنیزولون با دوز یک میلی‌گرم/کیلوگرم (D)، گروه تجربی داربست همراه با دریافت حلال دارو (E)

در سیستم عصبی شد [29,30]. در پژوهش دیگری که توسط لی و همکاران انجام شد، اثرات متیل‌پردنیزولون در کاهش درد نوروپاتیک به‌دنبال آسیب اعصاب محیطی در موش صحرایی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج این پژوهش نشان داد که متیل‌پردنیزولون در دوزهای بالا سبب کاهش آلودینای مکانیکی به‌دنبال جراحات اعصاب محیطی می‌شود، اما بر آلودینای حرارتی اثری ندارد [31]. در رابطه با تاثیر متیل‌پردنیزولون به‌دنبال آسیب سیستم عصبی و استفاده از آن اتفاق نظر وجود ندارد و برخی مطالعات نقش مثبتی را برای آن پیشنهاد نکرده‌اند. در مطالعه‌ای که توسط یانگ و همکاران انجام شد، اثرات آمینوگوانیدین، متیل‌پردنیزولون و ملاتونین بر ترمیم عصب به‌دنبال قطع کامل عصب فاسیال در خرگوش بررسی شد. نتایج نشان داد که تجویز آمینوگوانیدین و ملاتونین به‌دنبال قطع عصب فاسیال سبب افزایش سرعت روند ترمیم عصب می‌شود، در حالی که در گروه تیمار شده با متیل‌پردنیزولون هیچ اثر مثبتی مشاهده نشد [32]. از محدودیت‌های این مطالعه می‌توان به کم‌بودن دوره مطالعه اشاره نمود. پیشنهاد می‌شود در مطالعات آتی میزان بازایی عملکرد حرکتی تا هفته ۱۶ یا ۲۰ مورد ارزیابی قرار گیرد.

نتایج این پژوهش به‌طور واضحی نشان داد که تجویز متیل‌پردنیزولون در دوز بالا آسیب ثانویه پس از تروما را با مهار پراکسیداسیون لیپیدها کاهش می‌دهد و همچنین باعث بازایی عملکرد حرکتی و بافتی بهتر می‌شود [27]. نتایج این پژوهش نیز نشان داد که دوز بالای متیل‌پردنیزولون در بهبود عملکرد حرکتی در آزمون پیاده‌روی مسیر، همچنین در ارزیابی‌های الکتروفیزیولوژیک و بررسی‌های بافتی سبب افزایش میزان ترمیم و بازایی عملکرد حرکتی حیوانات در مقایسه با دوز پایین و گروه‌های کنترل شد. احتمالاً دوز بالای متیل‌پردنیزولون سبب مهار پراکسیداسیون لیپیدها و حفظ متابولیسم انرژی می‌شود و از تخریب نوروفیلانت‌ها تا حدودی جلوگیری می‌کند. علاوه بر این نشان داده شده که متیل‌پردنیزولون مانع تجمع کلسیم داخل‌سلولی و مهار تشکیل پروستاگلاندین‌ها و ترومبوکسان می‌شود [14]. مطالعات نشان داده‌اند که تزریق وریدی دوزهای بالای متیل‌پردنیزولون در ساعات اولیه پس از آسیب‌های نخاعی سبب کاهش میزان آسیب و جلوگیری از بروز آسیب‌های ثانویه می‌شود [28]. بررسی‌های دیگر توسط سایر پژوهشگران نیز نشان داد که تجویز دوزهای بالای متیل‌پردنیزولون در گربه‌ها، میمون‌ها و موش‌های صحرایی دچار آسیب نخاعی سبب افزایش سرعت ترمیم

تجویز متیل‌پردنیزولون به‌دنبال قطع عصب سیاتیک و پیوند داربست سلول‌زدایی‌شده در موش صحرایی، میزان بهبود عملکرد حرکتی و ترمیم بافتی را افزایش می‌دهد. همچنین بازیابی عملکرد حرکتی و بافتی در دوز بالای متیل‌پردنیزولون (۳۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) نسبت به دوز پایین (یک میلی‌گرم/کیلوگرم) بهتر است.

تشکر و قدردانی: بدین وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد تقدیر و تشکر می‌شود.
تاییدیه اخلاقی: انجام کلیه آزمایش‌ها در آزمایشگاه تحقیقاتی ترمیم اعصاب محیطی دانشگاه فردوسی مشهد مطابق دستورالعمل اخلاقی موجود در خصوص کار با حیوانات آزمایشگاهی انجام شد.
تعارض منافع: موردی توسط نویسندگان اعلام نشده است.
سهم نویسندگان: آرش عبدالملکی (نویسنده اول)، پژوهشگر اصلی/روشن‌شناس (۴۰٪)؛ مرتضی بهنام‌رسولی (نویسنده دوم)، پژوهشگر کمکی/نگارنده مقدمه (۲۰٪)؛ علی مقیمی (نویسنده سوم)، پژوهشگر کمکی/نگارنده بحث (۲۰٪)؛ ناصر مهدوی شهری (نویسنده چهارم)، پژوهشگر کمکی/تحلیل‌گر داده‌ها (۲۰٪)
منابع مالی: هزینه این پژوهش توسط دانشگاه فردوسی مشهد تامین شده است.

منابع

- 1- Arkhipova SS, Raginov IS, Mukhitov AR, Chelyshev IuA. Satellite cells of the sensory neurons after different types of sciatic nerve trauma in rat. *Morfologiya* 2008;135(3):29-34. [Russian]
- 2- Kim TH, Yoon SJ, Lee WC, Kim JK, Shin J, Lee S, et al. Protective effect of GCSB-5, an herbal preparation, against peripheral nerve injury in rats. *J Ethnopharmacol*. 2011;136(2):297-304.
- 3- Tator CH, Fehlings MG. Review of the secondary injury theory of acute spinal cord trauma with emphasis on vascular mechanisms. *J Neurosurg*. 1991;75(1):15-26.
- 4- Umebayashi D, Natsume A, Takeuchi H, Hara M, Nishimura Y, Fukuyama R, et al. Blockade of gap junction hemichannel protects secondary spinal cord injury from activated microglia-mediated glutamate excitotoxicity. *J Neurotrauma*. 2014;31(24):1967-74.
- 5- Takeuchi H. Neurotoxicity by microglia: Mechanisms and potential therapeutic strategy. *Clin Exp Neuroimmunol*. 2010;1(1):12-21.
- 6- Benveniste H, Jørgensen MB, Sandberg M, Christensen T, Hagberg H, Diemer NH. Ischemic damage in hippocampal CA1 is dependent on glutamate release and intact innervation from CA3. *J Cereb Blood Flow Metab*. 1989;9(5):629-39.
- 7- Bozkurt A, Deumens R, Beckmann C, Damink LO, Schügner F, Heschel I, et al. In vitro cell alignment obtained with a Schwann cell enriched microstructured nerve guide with longitudinal guidance channels. *Biomaterials*. 2009;30(2):169-79.
- 8- Meek MF, Coert JH. Clinical use of nerve conduits in peripheral-nerve repair: Review of the literature. *J Reconstr Microsurg*. 2002;18(2):97-110.
- 9- Tang JB, Shi D, Zhou H. Vein conduits for repair of nerves with a prolonged gap or in unfavorable conditions: an analysis of three failed cases. *Microsurgery*. 1995;16(3):133-7.
- 10- Noorafshan A, Omid A, Karbalay-Doust S, Aliabadi E, Dehghani F. Effects of curcumin on the dorsal root ganglion structure and functional recovery after sciatic nerve crush in rat. *Micron*. 2011;42(5):449-55.
- 11- Mohammadi R, Azad-Tirgan M, Amini K. Dexamethasone topically accelerates peripheral nerve repair and target organ reinnervation: a transected sciatic nerve model in rat. *Injury*. 2013;44(4):565-9.
- 12- Feng X, Yuan W. Dexamethasone enhanced functional recovery after sciatic nerve crush injury in rats. *Bio Med Res Int*. 2015;2015:1-9.
- 13- Bracken MB, Collins WF, Freeman DF, Shepard MJ, Wagner FW, Silten RM, et al. Efficacy of methylprednisolone in acute spinal cord injury. *JAMA*. 1984;6(1):45-52.
- 14- Hall ED. Lipid antioxidants in acute central nervous system injury. *Ann Emerg Med*. 1993;22(6):1022-7.
- 15- Rasouli MR, Nouri M, Rahimi-Movaghar V. Spinal cord injuries from road traffic crashes in southeastern Iran. *Chin J Traumatol*. 2007;10(6):323-6.
- 16- Yüce S, Gökçe EC, Iskdemir A, Koç ER, Cemil DB, Gökçe A, et al. An experimental comparison of the effects of propolis, curcumin, and methylprednisolone on crush injuries of the sciatic nerve. *Ann Plastic Surg*. 2015;74(6):684-92.
- 17- Ghayour MB, Abdolmaleki A, Behnam-Rassouli M. The effect of Riluzole on functional recovery of locomotion in the rat sciatic nerve crush model. *Eur J Trauma Emerg Surg*. 2016;12:1-9.
- 18- Johnson PC, Duhamel RC, Meezan E, Brendel K. Preparation of cell free extracellular matrix from human peripheral nerve. *Muscle Nerve* 1982;5(4):335-44.
- 19- Sondell M, Lundborg G, Kanje M. Regeneration of the rat sciatic nerve into allografts made acellular through chemical extraction. *Brain Res*. 1998;795(1-2):44-54.
- 20- Bain JR, Mackinnon SE, Hunter DA. Functional evaluation of complete sciatic, peroneal, and posterior tibial nerve lesions in the rat. *Plast Reconstr Surg*. 1989;83(1):129-36.
- 21- Solandt DY, Magladery JW. The relation of atrophy to fibrillation in denervated muscle. *Brain*. 1940;63(3):255-63.
- 22- Noorafshan A, Omid A, Karbalay-Doust S. Curcumin protects the dorsal root ganglion and sciatic nerve after crush in rat. *Pathol Res Pract*. 2011;207(9):577-82.
- 23- Secer HI, Daneyemez M, Tehli O, Gonul E, Izci Y. The clinical, electrophysiologic, and surgical characteristics of peripheral nerve injuries caused by gunshot wounds in adults: A 40-year experience. *Surg Neurol* 2008;69(2):143-52.
- 24- Terenghi G, Hart A, Wiberg M. The nerve injury and the dying neurons: Diagnosis and prevention. *J Hand Surg Eur Vol*. 2011;36(9):730-4.
- 25- Yilmaz Z. Neuroprotective effects of mannitol and vitamin c on crush injury of sciatic nerve: an experimental rat study. *J Neurol Sci*. 2012;28(4):538-51.
- 26- Galloway EB, Jensen RL, Dailey AT, Gregory Thompson B, Shelton C. Role of topical steroids in reducing dysfunction after nerve injury. *Laryngoscope*. 2000;110(11):1907-10.
- 27- Young W, DeCrescito V, Flamm ES, Blight A, Gruner JA. Pharmacological therapy of acute spinal cord injury: Studies of high dose methylprednisolone and naloxone. *Clin Neurosurg*. 1987;34:675-97.
- 28- Bracken MB, Shepard MJ, Collins WF, Holford TR, Young W, Baskin DS, et al. A randomized, controlled trial of methylprednisolone or naloxone in the treatment of

Neurol Scand. 1990;82(1):68-73.

31- Lee MY, Yoon TG, Sung JJ, Kim HJ, Yum KW. Pre-emptive effect of methylprednisolone on the mechanical allodynia development after peripheral nerve injuries in rats. Korean J Anesthesiol. 2004;46(6):S17-21.

32- Yanilmaz M, Akduman D, Sagun ÖF, Haksever M, Yazicilar O, Orhan I, et al. The effects of aminoguanidine, methylprednisolone, and melatonin on nerve recovery in peripheral facial nerve neurotomy. J Craniofac Surg. 2015;26(3):667-72.

acute spinal-cord injury: Results of the second national acute spinal cord injury study. N Engl J Med. 1990;322(20):1405-11.

29- Iizuka H, Iwasaki Y, Yamamoto T, Kadoya S. Morphometric assessment of drug effects in experimental spinal cord injury. J Neurosurg. 1986;65(1):92-8.

30- Holtz A, Nyström B, Gerdin B. Effect of methylprednisolone on motor function and spinal cord blood flow after spinal cord compression in rats. Acta