ارزیابی اثرات ترمیمی داروی دگزامتازون و تاکرولیموس در بهبود ضایعات عصبی محیطی در موش سوری

شیوا صفایی [۱] حمیدرضا فتاحیان *[۲]، سعید حصارکی[۳]

چکیده

هدف از مطالعه حاضر بررسی اثرات ترمیمی داروی دگزامتازون و تاکرولیموس در بهبود ضایعات عصبی محیطی در موش سوری بود. ۲۵ سر موش بالغ نر تهیه شد. موش¬ها به ۵ گروه شم (بدون مداخله درمانی)، کنترل (تزریق آب مقطر به صورت روزانه تا روز ۲۸ بعد از جراحی)، آزمایش یک (۲ میلی گرم بر کیلوگرم)، آزمایش دو (۵ میلی گرم بر کیلوگرم تاکرولیموس) آزمایش سه (۲ میلی گرم بر کیلوگرم دگزامتازون و ۵ میلی گرم بر کیلوگرم تاکرولیموس) تقسیم شدند قبل از جراحی موش¬ها از نظرحرکتی ارزیابی شدند و نحوه راه رفتن با قرار دادن پا بر روی رنگ و راه رفتن بر روی کاغذ سفید مورد ارزیابی قرار گرفتند. استفاده از دگزامتازون و تاکرولیموس به صورت قابل توجهی باعث کاهش میزان لکوسیت شد. کمترین میزان دژنرسانس آکسون مربوط به گروه¬های تاکرولیموس، دگزامتازون و تاکرولیموس+دگزامتازون بود که اختلاف معنی¬داری با یکدیگر نداشتند وهمگی سبب کاهش معنی دار دژنرسانس آکسون شدند. کمترین میزان SFI مربوط به گروه دگزامتازون و گروه تاکرولیموس و دگزامتازون بود. در روز ١٤، کمترین میزان SFI به مربوط به گروه¬ تاکرولیموس و دگزامتازون بود. کمترین میزان SFI در روز ۲۱، مربوط به گروه¬ ٤ و سپس گروه دگزامتازون و تاکرولیموس بود که اختلاف قابل توجهی با یکدیگر نداشتند. کمترین میزان SFI در روز ۲۸ نیز مربوط به گروه¬ شم، ٤ و دگزامتازون و تاکرولیموس بود. به صورت کلی نتایج این مطالعه نشان داد استفاده از ترکیب دارویی مورد استفاده سبب بهبود ضایعات عصب محیطی شد.

واژگان کلیدی: اعصاب محیطی، عصب سیاتیک، ترمیم عصب، دگزامتازون، تاکرولیموس، SFI

تاریخ دریافت: ١٤٠٣/٢/٥ تاریخ پذیرش: ١٤٠٣/٥/١٤

مقدمه

آسیب اعصاب محیطی به دنبال تروما یکی از علل مهم ناتوانی در جوامع کنونی می‌باشد که می‌تواند باعث مشکلات عمده در فعالیت‌های روزمره و شغلی شود. هم چنین این آسیب‌ها توام با افزایش خطر مشکلات ثانویه، به علت اختلال عملکرد اندام درگیر است که پیش آگهی آن وابسته به عواملی چون شدت، محل، سن، آسیب‌های همراه، عامل ایجاد کننده تروما، شیوه‌های درمانی و زمان سپری شده از آسیب می‌باشد. بنابراین تشخیص صحیح آسیب‌های اعصاب محیطی، توزیع آن‌ها و شناخت عوامل شایع ایجاد کننده این آسیب‌ها در جامعه اهمیت بالایی دارد. آسیب های اعصاب محیطی و هر گونه اختلال در عملکرد صحیح اعصاب باعث فلجی، کاهش حس، از دست رفتن کنترل خود به خودی در محل آسیب و به طور کلی نقص در انتقال سیگنال ها تحت اصطلاحاتی مانند پارزیز به معنی نقص در حس و پارالایزیز به معنی نقص در انتقال حس و حرکت می شوند. همچنین آسیب اعصاب محیطی منجر به از دست رفتن قسمتی از عملکرد اعصاب آسیب دیده حسی، حرکتی و خودمختار می شود. این عمیقا روی توانایی بیماران در فعالیت های روزانه آنها اثر می گذارد (۱ و ۲).. علاوه بر اختلالات حسی، حرکتی و خودمختار، آسیب اعصاب محیطی باعث عوارض طولانی مدت، عدم توانایی و هزینه های اقتصادی می باشد که معمولا ترمیم آن ماه ها به طول می انجامد. به علاوه، آسیب های اعصاب محیطی می تواند باعث آتروفی و تحلیل عضلاتی که تحت عصب دهی عصب آسیب دیده هستند،

۱-فارغ التحصیل دکترای عمومی، گروه دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران، ایران
۲ ، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران، ایران
hrfattahian@srbiau.ac.ir
۳- گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران، ایران

شوند و همچنین باعث اختلال طولانی مدت اندام حرکتی و عدم حرکت و به دنبال آن خشکی مفاصل شوند (۳، ٤ و ۵). اعصاب محیطی همیشه با علت های زیادی آسیب می بینند که اغلب به بهبود عملکرد ناقص منجر می شوند. عوامل زمینه سازی که می توانند احتمال آسیب های اعصاب محیطی را افزایش دهند شامل: دیابت، مصرف مواد مخدر، بیماری های عروقی اعصاب محیطی، افزایش وزن بدن، افزایش سن، وجود علائم عصبی، وابستگی به الکل، التهاب مفصل، جنس، آسیب های تروماتیک، سکته مغزی، بیماری های دژنراتیو و صدمات ناشی از جراحی مانند برداشت تومور و فشار های وارده به اعصاب بعد از جراحی می باشد. نر ها بیشتراز ماده ها در معرض آسیب عصب محیطی هستند، چون چربی زیر جلدی کمتری دارند. بعضی از دیگر عوامل مثل مسیر غیر طبیعی عصب یا ناهنجاری های مادرزادی در ناحیه عصب می توانند در آسیب های عصب محیطی اثر بگذارند. سطحی بودن مسیر عصب هم می تواند باعث افزایش ریسک آسیب عصب شود. آسیب های تروماتیکی که باعث آسیب های عصبی می شوند شامل نفوذ جسم خارجی، خرد شدن استخوان، کشش و پارگی و شکستگی استخوان های بلند در حوادث رانندگی می باشد (٦).

آسیب عصب محیطی یک موج التهابی پیشرونده به همراه افزایش نفوذ پذیری عروق و ادم ایجاد می کند. فرایند التهابی و واسطه های التهابی نقش هایی در تنظیم فرایند های تخریبی و ترمیمی آکسون بعد از پیشرفت آسیب عصب بازی می کنند. در طول این فرایند التهابی ماکروفاژ های مستقر شده در مغز استخوان آکسون را، که سلول های شوان و غلاف میلین آن آسیب دیده است، از قسمت میانی جدا می کنند. مسدود کردن التهاب و تشکیل اسکار، تخریب عصب را کاهش می دهند که در طول فرایند التیام رخ می دهد و اثر مثبت روی ترمیم عصب می گذارد (٦).

روش های درمانی مختلفی برای بهبود زنده نگه داشتن اعصاب، رژنراسیون آکسون ها و عصب دهی مجدد ناحیه بیان شده است که شامل انواع روش های دارویی، درمان های سلولی، جراحی ترمیمی و پیوند، فیزیوتراپی و مهندسی بافت می باشند (۷).

بازیابی کامل عملکرد حرکتی پس از جراحات شدید اعصاب محیطی به عنوان یکی از چالش‌های مهم در پزشکی ترمیمی باقی مانده است. از این رو، بسیاری از پژوهشگران به دنبال یافتن استراتژی‌های جدید و موثر برای پیشبرد فرآیند ترمیم عصب و بهبود عملکرد حرکتی هستند (۸ و ۹). یکی از درمان های رایج پس از آسیب سیستم اعصاب محیطی تجویز عوامل محافظت کننده نورونی و عوامل ضدالتهابی برای کنترل آسیب وارده هم چنین کمک به تسریع فرآینـــد ترمـــیم می باشند (۱۰). بنابراین، به‌دنبال ترومای سیستم اعصاب محیطی، تجویز عوامل ضدالتهابی یکی از استراتژی‌های مناسب برای کنترل آسیب وارده و پیش‌برد فرآیند ترمیم است. مطالعات متعدد تجربی اخیر نشان می دهد رژنره شدن عصب بعد از ترمیم آن می تواند با بعضی عوامل دارویی که عمدتا به صورت موضعی در محل ترمیم عصب استفاده می شوند، بهبود یابد. داروهایی که معمولا برای این هدف استفاده می شوند شامل تاکرولیموس، هیالورونیک اسید و مشتقات آن، ملاتونین، متیل پردنیزولون، ویتامین های گروهB و ویتامین B12 و بلاک کننده های کانال کلسیم و پتاسیم می باشد که این مواد دارای خواص محافظت کنندگی و احیاکنندگی عصب هستند و به سرکوب تکثیر فیبروبلاست ها درمحل ترمیم عصب محیطی کمک می کنند در نتیجه باعث کاهش اسکار در محل عصب محیطی آسیب دیده می‌شوند (۱۱ و ۱۲).

تاکرولیموس (FK506) یک داروی ایمونوساپرسیو در گروه ماکرولید لاکتون است که می تواند برای جلوگیری از پس

زدن بافت بعد از پیوند استفاده شود. علاوه بر اثر ایمونوساپرسیو، بر ترمیم عصب نیز اثر دارد. استفاده از FK506 تاثیر بسزایی در تقویت ترمیم عصب از جمله افزایش قطر آکسون در حال ترمیم و افزایش تراکم فیبر های عصبی میلینه شده را دارد. بنابراین FK506 قدرت بازسازی متابولیسم فیبر های عصبی را دارد که از آن یک عامل عالی برای افزایش میزان ترمیم آکسون و بهبود عصب می سازد (۱۲). دگزامتازون، یکی از داروهایی است که در اشکال مختلف خود (شربت، قرص، قطره، آمپول، پماد و محلول‌ها) وجود دارد و یکی از پرکاربردترین داروهاست. دگزامتازون، قویترین دارو و یکی از طولانی‌اثرترین انواع کورتون است. همچنین این دارو از دسته کورتیکواستروئیدها (کورتون‌ها) است که دارای اثرات گسترده‌ای در قسمت‌های مختلف بدن هستند که این اثرات گسترده همانطور که می‌توانند در درمان طیف زیادی از بیماری‌ها مفید باشند، می‌توانند عوارض جانبی زیادی هم به جا بگذارند. درمان حمله آسم، درمان حساسیت شدید، کنترل التهاب در بیماری‌های روماتیسمی و خودایمنی و کنترل صدها بیماری حاد و مزمن دیگر از جمله کاربردهای این داروهاست. همچنین یک استروئید از نوع کورتیکواستروئید است که مانع از آزاد شدن موادی باعث التهاب در بدن می شوند[۲] می شود. دگزامتازون برای درمان بسیاری از شرایط مختلف از قبیل اختلالات آلرژیک، بیماری های پوستی، کولیت اولسراتیو، ورم مفاصل، لوپوس، پسوریازیس، و یا اختلالات تنفسی استفاده می شود. امروزه مشخص شده است که استفاده گسترده از سرکوب کننده های ایمنی خاص، همزمان با نقش در بازسازی عصب، می تواند برای بهبودهای عصبی گسترده تر با نقش در القای ترمیم آکسون ها مهم باشد. استروئید ها نیز یکی از گروه های دارویی معمول برای استفاده در آسیب عصب هستند. آنها جلوی پاسخ التهابی و مهاجرت ماکروفاژ ها را می گیرند. اثر محافظت کنندگی استروئید ها با مکانیسم هایی نظیر جلوگیری از پیشرفت ادم موضعی، جلوگیری از پراکسیداسیون چربی ها، جلو گیری از سنتز سایتوکاین ها، نگه داری جریان خون در بافت و کاهش آسیب آکسون ها می باشد. دگزامتازون یک گلوکوکورتیکو استروئید معمول برای استفاده در درمان التهاب پیشرونده که علت آن آسیب عصبی است، می‌باشند (۷). بنابراین هدف از انجام مطالعه حاضر؛ ارزیابی اثرات ترمیمی داروی دگزامتازون و تاکرولیموس در بهبود ضایعات عصبی محیطی در موش سوری بود.

مواد و روش‌کار

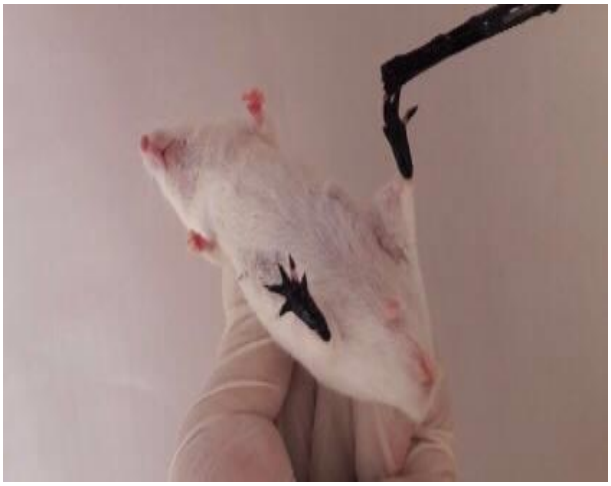
این پژوهش بر روی ۲۵ سر موش بالغ نر با میانگین وزنی و سنی مشابه انجام شد. موش ها از انستیتو پاستور ایران تهیه شدند. موش ها را در شرایط آزمایشگاهی بدون پاتوژن در قفس هایی با پوشش پوشال های چوبی نرم و صاف در کف قفس قرار دادیم. ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی در روز ایجاد نمودیم. در دمای ۳±۲۵ قرار دادیم و دسترسی آزاد برای آب و غذا داشتند. یک هفته در این شرایط محیطی و تغذیه ای موش ها را نگه داری نمودیم. موش ها را به صورت تصادفی و رندوم به ۵ گروه شم، کنترل، آزمایش یک، آزمایش دو و آزمایش سه تقسیم شد (۱۳ و ١٤). ٦ ساعت قبل از جراحی موش ها تحت شرایط *NPO* نگهداری شدند و ۲ ساعت قبل از جراحی ممانعت از آشامیدن آب به عمل آمد. قبل از جراحی موش ها از نظرحرکتی ارزیابی شدند و نحوه ی راه رفتن با قرار دادن پا بر روی رنگ و راه رفتن بر روی کاغذ سفید مورد ارزیابی قرار گرفتند و اطلاعات بدست آمده با اندیس عملکرد عصب سیاتیک مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

تست اندیس عملکرد سیاتیک

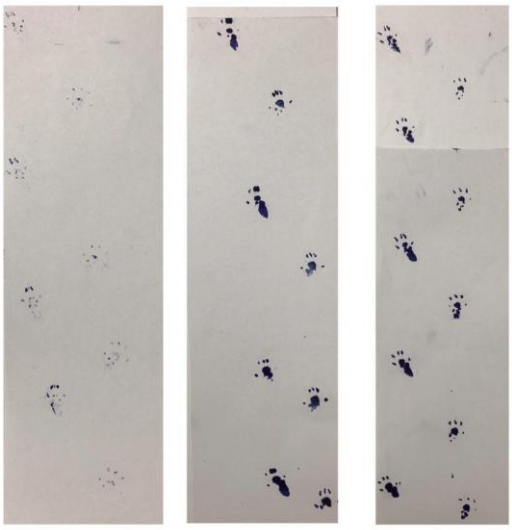
جهت انجام این مطالعه، پاهای عقبی موش ها در جوهر رنگی محلول در آب قرار داده شد. سپس اجازه دادیم موش

ها به سرعت در یک محفظه تاریک راهرو مانند با پهنای ۷/۵ سانتی متر و طول ٦۰ سانتی متر راه بروند. در کف مسیر حرکت کاغذ قرار دادیم تا جای پای موش ها ثبت شود. سپس شروع به اندازه گیری فاصله های مورد نیاز برای تعیین اندیس عملکردی عصب سیاتیک نمودیم.

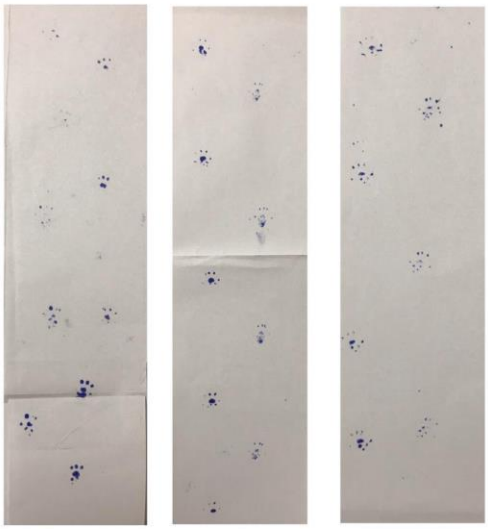
ی اختلال قابل توجه و قطع کامل عصب است و اگر این میزان ۰ باشد عملکرد طبیعی عصب را نشان می دهد.



نگاره ۱: رنگ کردن پای موش ها با جوهر محلول در آب



نگاره ۲: بررسی *SFI* (۷ روز پس از انجام عمل جراحی)



نگاره ۳: بررسی *SFI* (۲۸ روز پس از انجام عمل جراحی)

موش ها پس از یک هفته نگهداری تحت جراحی قرار گرفتند. به منظور انجام جراحی تحت بیهوشی عمومی با ترکیب مدتومیدین (۹۰ میکروگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، از راه عضلانی، ساخت شرکت سیوا، لئون–ایتالیا) و کتامین هیدروکلراید ۱۰ درصد (۲۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، از راه عضلانی، ساخت آلفاسان، وردن–هلند) قرار گرفت (۱۵). مو های ناحیه ی سرینی و رانی پای چپ را شیو نمودیم و سپس با محلول بتادین ۱۰٪ ناحیه ی جراحی را اسکراپ کردیم. پس از آماده شدن گروه جراحی و شان گذاری، موش ها بصورت جانبی حالت گماری شدند، تحت میکروسکوپ جراحی، برش پوست بر روی ناحیه جانبی ران چپ به طول ۲ سانتی متر به صورت طولی و جانبی از ناحیه تروکانتر بزرگ تا ناحیه میانی ران داده شدند. سپس با کندکاری عضله چهار سر رانی و دو سر رانی را با کمک قیچی میکروسرجری مستقیم از هم جدا نمودیم و عصب سیاتیک قرار گرفته در زیر عضله دو سر ران در معرض دید جراح قرار گرفت. با پنس هموستات ریز ۲ میلی متر از عصب سیاتیک را به مدت ۱۰

ثانیه تحت فشار قرار دادیم (۱۵ و ۱٦). و به منظور فشار روی عصب قفل دندانه ی پنس را روی درجه یک نگه داشتیم. پس از فشردن عصب، پنس بر داشته شد. به منظور ردیابی محل آسیب از نخ نایلون ۰-۷ بر روی عضله دو سر ران برای نشانه گذاری استفاده شد (۱۷). سپس بافت زیر جلد را با نخ ۰-۵ پلی گلاکتین۹۱۰ با سوزن غیر برنده به روش ساده سرتا سری و بافت پوست را با نخ نایلون ۰-۵ با سوزن برنده معکوس به روش تکی ساده بخیه نمودیم. مراقبت های پس از جراحی شامل تجویز انروفلوکساسین ٪۵ (۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، از راه زیر جلدی، ساخت شرکت هیپرالونا، گیرونا-اسپانیا) به عنوان آنتی بیوتیک وسیع الطیف و ملوکسیکام ۲٪ (۲ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، ، از راه زیر جلدی، ساخت شرکت رازک، تهران-ایران) به عنوان ضد درد بود. موش ها بعد از جراحی در قفس های تمیز قرار گرفتند و اگر اتاق سرد بود ازپد گرمایی در زیر قفس استفاده می شد و باید در شرایطی می بودند که دسترسی آسان به آب و غذا داشته باشند.

گروه‌های مورد مطالعه

موش ها به پنج گروه مساوی ۵ تایی شم، کنترل منفی، آزمایش یک، آزمایش دو و آزمایش سه تقسیم شدند. گروه شم: هیچ گونه مداخله درمانی و دارویی تا پایان مطالعه صورت نگرفت. گروه کنترل منفی: آب مقطر در زیر پوست ناحیه آسیب دیده روزانه تا روز ۲۸ بعد از جراحی تزریق شد. گروه آزمایش یک: ۲ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن دگزامتازون در زیر پوست ناحیه آسیب دیده بلافاصله در روز جراحی تا ۲۸ روز بعد از جراحی روزانه تزریق می‌شد. گروه آزمایش دو: ۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن تاکرولیموس در زیر پوست ناحیه ی آسیب دیده بلافاصله در روز جراحی تا ۲۸ روز بعد از جراحی روزانه تزریق می شد. گروه آزمایش سه: ۲ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن دگزامتازون و ۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن تاکرولیموس در زیر پوست ناحیه ی آسیب دیده بلافاصله در روز جراحی تا ۲۸ روز بعد از جراحی روزانه تزریق می شد. سپس در پایان هفته ی چهارم موش ها به منظور ارزیابی بالینی و نحوه ی راه رفتن بر روی پای آسیب دیده با قرار دادن پا بر روی رنگ و راه رفتن بر روی کاغذ سفید مورد ارزیابی قرار گرفتند و اطلاعات بدست آمده با اندیس عملکرد عصب سیاتیک مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

بررسی آسیب شناسی

موش ها با استفاده از داروی کلروفرم در فضای بسته تحت مرگ آسان قرار گرفتند (۱۸). ناحیه ی جراحی شده را باز نمودیم و از طریق نخ نشان گری که گذاشته بودیم، محل آسیب عصب سیاتیک را پیدا کردیم. سپس نیم سانتی متر از بالا و پایین ناحیه له شدگی عصب سیاتیک را جدا کردیم (۱۹). نمونه را به منظور ارزیابی هیستوپاتولوژی در محلول ٪۱۰ فرمالین قرار دادیم. سپس به آزمایشگاه دامپزشکی ارسال کردیم. پس از تهیه ی بلوک های پارافینه، برش های ۵ میکرونی تهیه نمودیم.لام نمونه های بافتی را با استفاده از رنگ آمیزی تریکروم و *H&E* رنگ آمیزی کردیم. سپس روند ترمیم را با میکروسکوپ نوری مورد ارزیابی قرار گرفت و اطلاعات حاصل از مطالعه آسیب شناسی تحت تجزیه و تحلیل آماری قرار داده شد. به منظور ارزیابی ساختار بافت از رنگ آمیزی هماتوکسین و ائوزین استفاده شد. ابتدا پارافین زدایی و آبدهی مقاطع انجام شد. سپس به مدت ۲۰ دقیقه در رنگ هماتوکسین قرار گرفتند .پس از شستشو در آب جاری به مدت ۳ دقیقه با اسید الکل رنگ اضافی برداشته شده و متعاقب آن شستشو در آب جاری به مدت ۳ دقیقه انجام شد و پس از آن به منظور تثبیت رنگ هماتوکسین در کربنات لیتیم قرار گرفت و پس از شستشو در آب جاری به مدت ۳ دقیقه، در رنگ ائوزین قرار داده

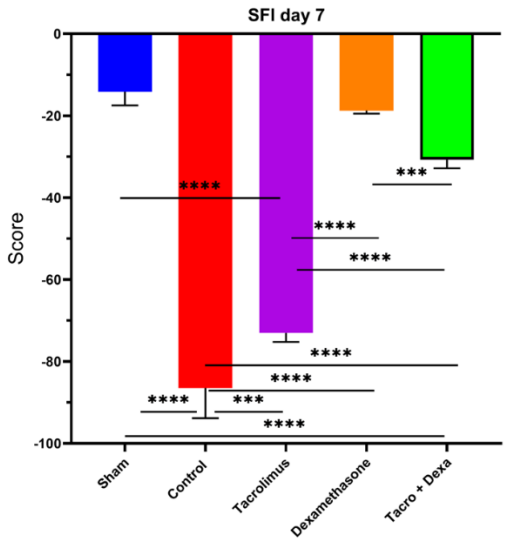
شد و پس از قرارگیری در الکل ۷۰ درصد به مدت ۳ دقیقه و الکل ۹۶ درصد به مدت ۳ دقیقه قرار داده شد و در نهایت شفاف سازی با زایلن انجام و با چسب انتلان بر روی لام چسبانیده شد. به منظور ارزیابی سیتوپلاسم و هسته های باقی مانده ی احتمالی و همچنین بررسی ساختار بافتی از رنگ آمیزی تریکروم ماسون استفاده شد. بدین ترتیب که مقاطع پس از پارافین زدایی و آبدهی در محلول بوئن به مدت ۱ ساعت در دمای ۵۶ درجه ی سانتیگراد داخل فور قرار داده شد. سپس به مدت ۲۰ دقیقه در محلول ویگرت ایرون هماتوکسیلین قرار گرفتند .

آنالیز آماری

داده های حاصل از این تحقیق با استفاده از نرم افزارهای *Excel* و *SPSS Version 25.00* مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. شاخص های آسیب شناسی در قالب آمار توصیفی و به صورت درجه تقویت از دیدگاه هیستولوژی مشخص شد. برای مقایسه ی اختلاف شاخص های به دست آمده درچهار گروه شم و آزمایش و با در نظر گرفتن کیفی و رتبه ای بودن داده ها از آزمون مربع کای *(Chi-Square)* و در صورت لزوم آزمون دقیق فیشر *(Exact Test Fisher's)* استفاده شد.

نتایج

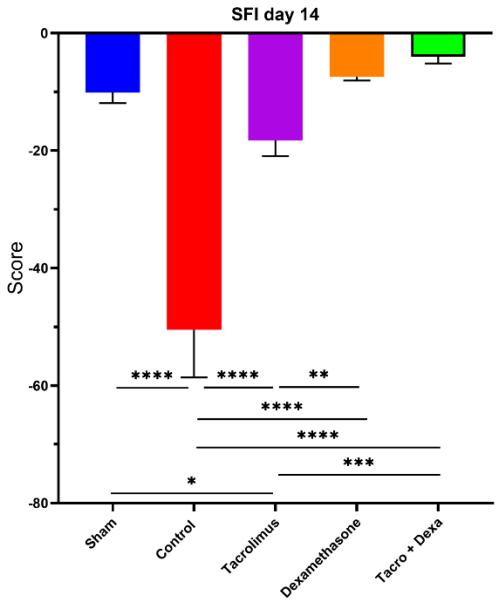
در این تحقیق یک روز قبل از جراحی و در روز های ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ پس از جراحی پاهای عقبی موش ها را با جوهر رنگی کردیم و سپس موش ها را در راهرویی با پهنای ۵.۷ سانتی متر و طول ۶۰ سانتی متر که در کف آن کاغذ سفید گذاشته شده بود، قرار دادیم تا راه بروند و رد پای آن ها ثبت شود. سپس با استفاده از فرمول مورد نظر اندیس عملکرد عصب سیاتیک برای هفته های بیان شده، محاسبه شد. در صورتی که اندیس عملکرد عصب سیاتیک معادل ۱۰۰- باشد، نشان دهنده ی قطع کامل عصب و اگر معادل صفر شود نشان دهنده ی عملکرد طبیعی عصب می باشد. اندیس عملکرد عصب سیاتیک موش های سالم قبل از جراحی ۸/۸- ثبت شد. طبق نتایج بدست آمده در نمودار ۱-٤، بیشترین میزان SFI در روز ۷ مربوط به گروه کنترل و سوم بود، کمترین میزان SFI به مربوط به گروه شم بود. بین گروه‌های درمانی کمترین میزان SFI مربوط به گروه دگزامتازون (گروه ٤) و گروه تاکرولیموس و دگزامتازون (گروه ۵) بود که به صورت معنی‌داری کمتر از سایر گروه‌های درمانی بودند. در ارزیابی عملکرد عصب سیاتیک در هفته اول روز۷ مطالعه، تمامی گروه‌ها لنگش را نشان می‌دادند اما لنگش در گروه کنترل به صورت قابل توجهی بیشتر از گروه های درمانی بود. میزان لنگش در گروه ٤ (دگزامتازون) و سپس گروه تاکرولیموس و دگزامتازون (گروه ۵) کمتر از سایر گروه‌های درمانی بودند. در واقع این دو دارو در روز ۷ سبب بهبود آسیب عصب سیاتیک و متعاقب آن لنگش شده بودند.



نمودار ۱: میزان SFI (روز ۷) در گروه‌های مورد مطالعه

در ارزیابی هفته ی دوم روز ۱٤مطالعه، روند بهبود لنگش و بازگشت عملکرد عصب سیاتیک به خصوص در گروه ۵ (دگزامتازون و تاکرولیموس) مشهود بود. گروه دگزامتازون

نیز علائم بهبود را هرچند کمتر از گروه ۵ اما به خوبی نشان می‌داد.

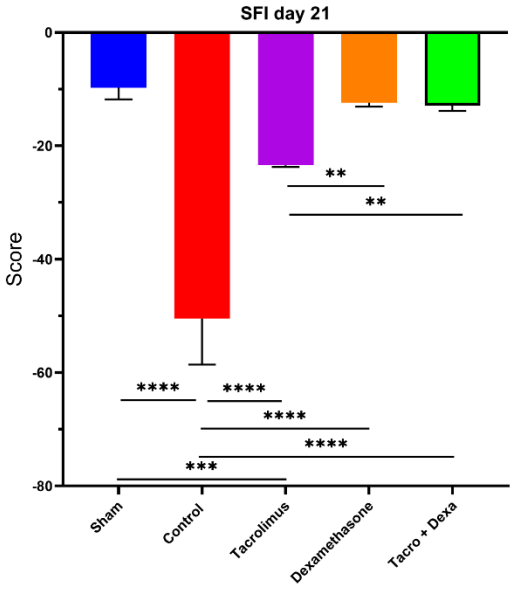


نمودار ۲: میزان SFI (روز ۱٤) در گروه‌های مورد مطالعه

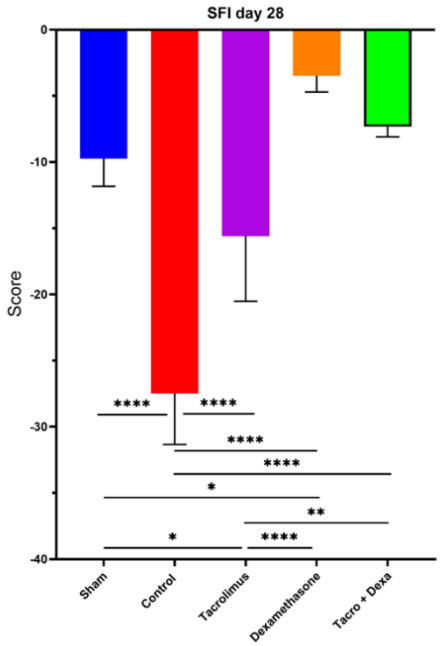
طبق نتایج بدست آمده در نمودار ۳، بیشترین میزان SFI در روز ۲۱ مربوط به گروه کنترل بود، کمترین میزان SFI به مربوط به گروه ٤ و سپس ۵ بود که اختلاف قابل توجهی با یکدیگر نداشتند. شایان توجه است که میزان SFI به صورت معنی‌داری در گروه‌های درمانی و شم کمتر از گروه کنترل بود. طبق نتایج بدست آمده در نمودار ٤، بیشترین میزان SFI در روز ۲۸ مربوط به گروه کنترل بود، کمترین میزان SFI به مربوط به گروه شم، ٤ و ۵ بود. شایان توجه است که میزان SFI به صورت معنی‌داری در گروه‌هایی ٤ و ۵ کمتر از گروه کنترل و سایر گروه‌های درمانی بود.

نتایج بررسی لام های رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین

روند ترمیم و ساخت پرینوریوم (غلاف خارجی عصب) در همه‌ی گروه های مورد مطالعه در پایان روز ۲۸ بطور کامل



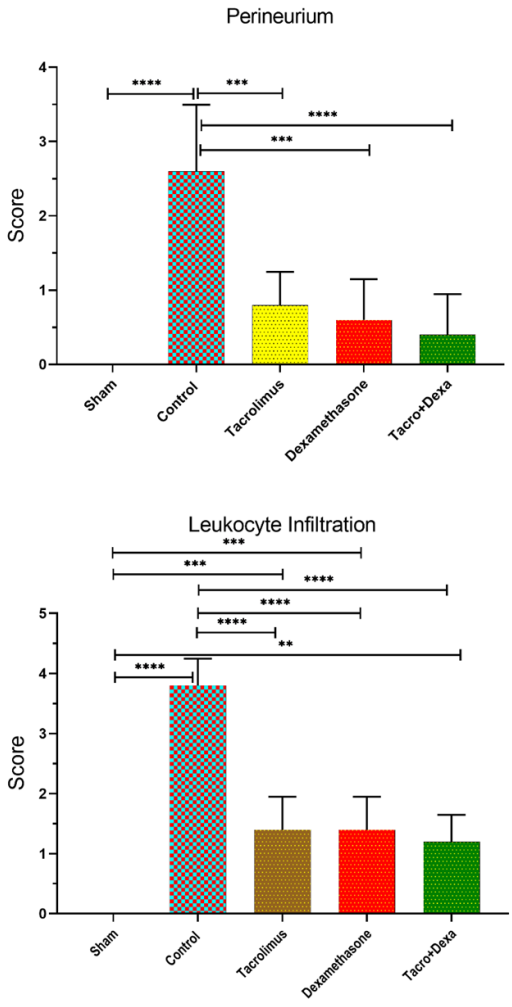
نمودار ۳: میزان SFI (روز ۲۱) در گروه‌های مورد مطالعه



نمودار ٤: میزان SFI (روز ۲۸) در گروه‌های مورد مطالعه

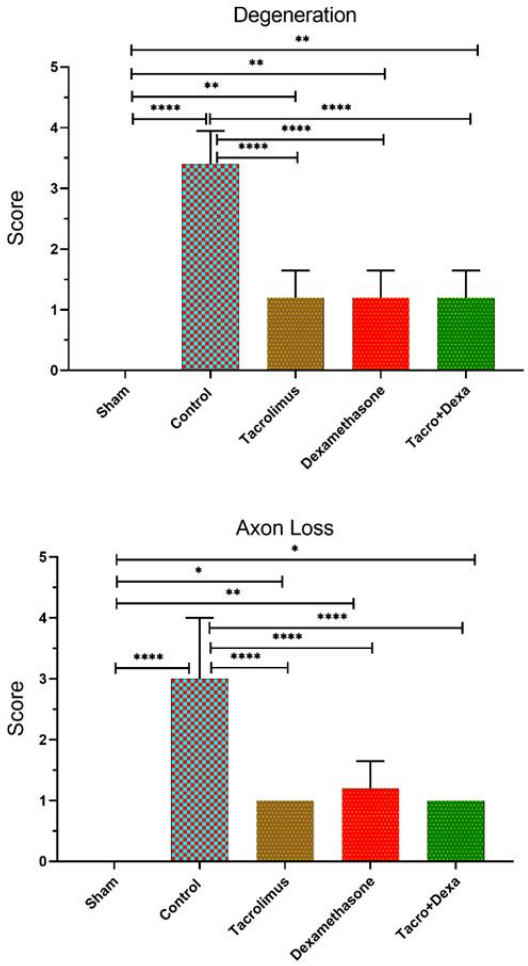
(۱۰۰درصد) انجام شده بود. از لحاظ بررسی آماری این شاخص به وسیله ی آزمون Kruskal-Wallis، تمامی گروه ها درمقایسه با گروه شم اختلاف غیر معنی دار را نشان داده اند و پرینوریوم در تمامی گروه ها در روند کامل شدن

مشاهده شده است. طبق نتایج بدست آمده در نمودار ۵، در مطالعه ی میکروسکوپی عصب های سیاتیک در گروه های تحت مطالعه از نظر میزان ارتشاح مجموعه ی سلول های التهابی بیشترین میزان مربوط به گروه کنترل منفی بود، کمترین میزان ارتشاح سلول های التهابی مربوط به گروه ۵ (دگزامتازون و تاکرولیموس) بود. از لحاظ مقایسه آماری این شاخص در بین گروه های درمانی و گروه کنترل اختلاف معناداری ملاحظه شد به صورتی که در گروه کنترل بیشترین میزان ارتشاح لوکوسیتی مشاهده گردید.

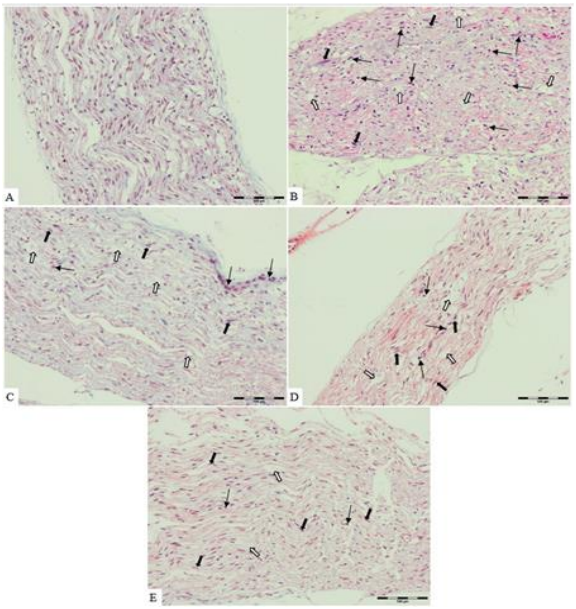


نمودار ۵: میزان ترمیم پرینوریوم و ارتشاح لوکوسیتی در گروه‌های مورد مطالعه

طبق نتایج بدست آمده در نمودار ٦، بیشترین میزان دژنرسانس آکسون مربوط به گروه کنترل منفی بود، کمترین میزان دژنرسانس آکسون مربوط به گروه‌های درمانی ۳، ٤ و ۵ بود که اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند. در واقع گروه‌های درمانی سبب کاهش دژنرسانس آکسون شدند. همچنین، بیشترین میزان از بین رفتن آکسون مربوط به گروه کنترل منفی بود، کمترین میزان از بین رفتن آکسون مربوط به گروه‌های درمانی ۳ و ٤ بود که اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند. شایان توجه است که اختلاف معناداری بین گروه‌های درمانی و کنترل منفی مشاهده گردید که نشانده ی موثر بودن درمان بود.



نمودار ٦: میزان دژنرسانس آکسون ها و از بین رفتن آکسون ها در گروه های مورد مطالعه



نگاره ٤: بافت شناسی بافت عصب سیاتیک. پاسخ: ساختار بافت شناسی طبیعی عصب سیاتیک در گروه شم. ب: نفوذ نوتروفیل ها، هسته های هیپرتروفیک سلول های شوان و دمیلینه شدن سگمنتال در گروه کنترل. C و :Dنفوذ نوتروفیل ها کمتر ، هسته هایپرتروفیک مشابه سلول های شوان، و دمیلینه شدن سگمنتال کمتری در گروه های دگزامتازون و تاکرولیموس در مقایسه با شاهد مشاهده می شود. :E نفوذ نوتروفیل ها، هسته های هیپرتروفیک سلول های شوان و دمیلینه شدن سگمنتال در مقایسه با سایر گروه های تحت درمان کمترین میزان را در گروه تاکرولیموس + دگزامتازون دارند (رنگ آمیزی تریکروم ، ۲۰ ×). پیکان های سفید: رشته های عصبی دمیلینه شده سگمنتال. پیکان سیاه: تکثیر سلولهای شوان فعال شده. پیکان نازک: نوتروفیل.

بحث

نتایج مطالعات محققین حاکی از تاثیر قابل توجه دگزامتازون و تاکرولیموس در ترمیم اعصاب محیطی می-باشد (۲۰، ۲۱، ۲۲ و ۲۳). در مطالعه حاضر نیز مشخص گردید که دو داروی دگزامتازون و تاکرولیموس تاثیر قابل توجهی بر ترمیم عصب محیطی داشتند به نحوی که استفاده همزمان از دگزامتازون و تاکرولیموس (گروه ۵ درمانی) به صورت قابل توجهی باعث کاهش میزان لکوسیت شد. کمترین میزان دژنرسانس آکسون مربوط به گروه‌های درمانی تاکرولیموس، دگزامتازون و تاکرولیموس+دگزامتازون بود که اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند وهمگی سبب کاهش معنی دار دژنرسانس آکسون شدند. Touil و همکاران (۲۰۲۳) طبق مطالعات خود بر اثر دگزامتازون بر ترمیم اعصاب محیطی گزارش نمودند که درد یک چالش در جراحی است که با درد شدید پس از رفع بلوک عصبی محیطی مشخص می‌شود و تجویز داخل وریدی دگزامتازون اثر ضد درد اعصاب محیطی را تقویت می‌کند (۲۳). در مطالعه‌ای دیگر؛ Lee و همکاران (۲۰۲۳) گزارش نمودند تجویز دگزامتازون به صورت داخل وریدی سبب کاهش درد و ترمیم اعصاب محیطی آسیب دیده می‌شود (٢٤). Ghayour و همکاران در مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۸ با بررسی اثرات دگزامتازون بر روند ترمیم به دنبال قطع عصب سیاتیک و پیوند داربست سلول زدایی شده در مدل حیوانی موش صحرایی بیان نمودند که در گروه‌های تیمار شده با دگزامتازون در مقایسه با گروه کنترل منفی سرعت روند ترمیم و بهبود عملکرد حرکتی به طور معناداری افزایش یافت. آنالیز داده‌های توده عضلانی گاستروکنمیوس در گروه های تیمار شده با دگزامتازون در مقایسه با گروه کنترل منفی منفی نشان دهنده کاهش آتروفی عضلانی بود. هم چنین در گروه های تیمار شده تعداد فیبرهای عصبی، قطر آکسون‌ها و ضخامت غلاف میلین به طور معناداری بیشتر بود (۸). یافته‌های مطالعه فوق با نتایج بدست آمده در مطالعه حاضر همخوانی دارد زیرا در مطالعه حاضر نیز مشخص گردید که دگزامتازون و تاکرولیموس با کاهش دژنرسانس آکسون‌ها سبب التیام عوارض ناشی از آسیب به اعصاب محیطی می-شوند. 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 می‌دهد و سرعت ترمیم فیبرهای عصبی میلینه را

افـــــزایش می دهد. مطالعات نشان داده اند که تزریق وریدی دوزهای بالای گلوکوکورتیکوئیدها در ساعات اولیه پس از آسیب های نخاعی سبب کاهش میزان آسیب و جلوگیری از بروز آسیـــب های ثانویه در گربه‌ها، میمون‌ها و موش های صحرایی می‌شود (۲۵ و ۲٦).

اثرات مثبت تاکرولیموس بر بازسازی آکسون و بهبود اعصاب محیطی آسیب دیده (به عنوان مثال عصب سیاتیک) در مطالعات متعدد گزارش شده است. تاکرولیموس ممکن است یک روش درمانی باشد که می تواند بهبود عصب را پس از درمان جراحی آسیب دیدگی اعصاب بهبود بخشد. Cilingir-Kaya و همکاران در مطالعه‌ای در سال ۲۰۲۱ با بررسی تأثیر تاکرولیموس بر بازسازی عصب محیطی در پیوند آلوگرافت بیان نمودند که بررسی بافت شناسی تفاوت قابل توجهی بین مناطق مختلف اعصاب سیاتیک (دیستال ، میانی و پروگزیمال) نشان نداد. تراکم آکسون در گروه آلوگرافت در مقایسه با گروه اتوگرافت کاهش یافت. نتایج نشان داد که تعداد ماست سل ها در گروه آلوگرافت بدون درمان تاکرولیموس افزایش یافته بود. در کل نتایج این مطالعه نیز همانند یافته‌های بدست آمده در مطالعه حاضر بر اثر ترمیمی تاکرولیموس بر ترمیم اعصاب محیطی دلالت داشت (۲۷). شهرکی و همکاران (۲۰۱۵) در مطالعه‌ای با بررسی اثر تاکرولیموس بر بازسازی اعصاب بیان نمودند که تاکرولیموس سبب بازسازی آکسون‌های آسیب دیده اعصاب محیطی شد (۲۸). با نتایج بدست آمده در مطالعه حاضر همخوانی دارد. در مطالعه‌ای دیگر Tulaci و همکاران (۲۰۱٦)، با بررسی اثر تاکرولیموس بر ترمیم اعصاب خرگوش بیان نمودند که قطر آکسون بیشتر ، غلاف میلین ضخیم تر و تعداد کل آکسون های میلین شده بیشتر در گروه تاکرولیموس یافت شد که نشان می دهد بازسازی بهتری در این گروه در مقایسه با گروه کنترل منفی وجود دارد. در گروه مورد انحطاط واکومولار کمتر بود (۲۹).

یافته‌های این مطالعه نیز از نظر اثر قابل توجه تاکرولیموس با نتایج بدست آمده در مطالعه حاضر همخوانی دارد. گزارش شده است که هر دو آسیب مغزی و تاکرولیموس باعث بازسازی عصب های آسیب دیده محیطی می شوند. در این مطالعه ، قبل از قطع عصب سیاتیک موش صحرایی ، کوفتگی متوسط مغزی ایجاد شد (یا نشد). پس از آسیب عصب سیاتیک ، تاکرولیموس ، یک سرکوب کننده سیستم ایمنی ، به صورت داخل صفاقی تجویز شد (یا نشد). در ٤ ، ۸ و ۱۲ هفته پس از عمل ، نتایج رنگ آمیزی هماتوکسیلین–ائوزین و تریکروم نشان داد که آسیب مغزی یا تاکرولیموس به تنهایی یا ترکیب آنها آتروفی عضله گاستروکنمیوس و اختلال فیبر عصب سیاتیک را در طرف آزمایش کاهش می دهد و همزمان عصب سیاتیک را بهبود می بخشد.

He و همکاران در مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۷ با بررسی اثر تاکرولیموس بر ترمیم اعصاب و شاخص SFI بیان نمودند که تاکرولیموس به صورت معنی داری سبب التیام اعصاب محیطی و بهبود شاخص SFI می‌شود. طبق نتایج بدست آمده در مطالعه حاضر، کمترین میزان SFI مربوط به گروه دگزامتازون و گروه تاکرولیموس و دگزامتازون بود. در روز ١٤، کمترین میزان SFI به مربوط به گروه تاکرولیموس و دگزامتازون بود. کمترین میزان SFI در روز ۲۱، مربوط به گروه ٤ و سپس گروه (٥) دگزامتازون و تاکرولیموس بود که اختلاف قابل توجهی با یکدیگر نداشتند. کمترین میزان SFI در روز ۲۸ نیز مربوط به گروه شم، ٤ و دگزامتازون و تاکرولیموس بود. مطالعات قبلی نشان داد که با بهبود اعصاب آسیب دیده پس از درمان با تاکرولیموس ، پتانسیل عمل مجدداً به اندامهای مورد نظر می رسد، قطر داخلی آکسون تولید شده افزایش می یابد ، غلاف میلین ضخیم می شود و دامنه پتانسیل های عمل افزایش می یابد (۳۰). نتایج حاضر عملکرد تاکرولیموس را در ارتقاء

بازیابی عصب محیطی پس از آسیب تأیید کرد. موشهای تحت درمان با تاکرولیموس زخم خفیف تر و بهبودی در SFI، بهبود عضله گاستروکنمیوس و دامنه پتانسیل عمل را نشان دادند که با نتایج بدست آمده در مطالعه حاضر همخوانی دارد.

به صورت کلی، با توجه به داده ها و نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر، پژوهشگران این تحقیق دریافتند که درمان با تاکرولیموس با دوز ۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن به همراه دگزامتازون با دوز ۲ میلی گرم ازای هر کیلوگرم از وزن بدن در مقایسه با استفاده هر کدام از این دارو ها به تنهایی می تواند به مراتب سبب ترمیم قابل توجه اعصاب محیطی می شود و به میزان قابل توجهی آسیب های اعصاب محیطی را کاهش دهد. با این حال انجام مطالعات بیشتر جهت مشخص شدن تمامی جوانب استفاده از این ترکیب دارویی ضروری می‌باشد.

فهرست منابع

1. Noorafshan A, Omidi 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 Jul 1;42(5):449-55.
2. Romero-Ortega, M. I. Peripheral Nerves, 2014. Anatomy and Physiology of. In. 1-1.
3. Akhlaghi Z, Mobarakeh JI, Mokhtari M, Behnam H, Rahimi AA, Hosseini MS, Samiee F. The effects of altered ultrasound parameters on the recovery of sciatic nerve injury. Iranian Biomedical Journal. 2012 Apr;16(2):107.
4. Ramburrun P, Kumar P, Choonara YE, Bijukumar D, du Toit LC, Pillay V. A review of bioactive release from nerve conduits as a neurotherapeutic strategy for neuronal growth in peripheral nerve injury. BioMed research international. 2014;2014(1):132350.
5. Fowler JR, Lavasani M, Huard J, Goitz RJ. Biologic strategies to improve nerve regeneration after peripheral nerve repair. Journal of reconstructive microsurgery. 2015 May;31(04):243-8.
6. Faroni A, Mobasseri SA, Kingham PJ, Reid AJ. Peripheral nerve regeneration: experimental strategies and future perspectives. Advanced drug delivery reviews. 2015 Mar 1;82:160-7.
7. Uzun T, Toptas O, Saylan A, Carver H, Turkoglu SA. Evaluation and comparison of the effects of artesunate, dexamethasone, and tacrolimus on sciatic nerve regeneration. Journal of Oral and Maxillofacial Surgery. 2019 May 1;77(5):1092-e1.
8. Ghayour MB, Abdolmaleki A, Behnam-Rassouli M. The effect of Riluzole on functional recovery of locomotion in the rat sciatic nerve crush model. European Journal of Trauma and Emergency Surgery. 2017 Oct;43:691-9.
9. Siesjö BK, Zhao Q, Pahlmark K, Siesjö P, Katsura KI, Folbergrová J. Glutamate, calcium, and free radicals as mediators of ischemic brain damage. The Annals of thoracic surgery. 1995 May 1;59(5):1316-20.
10. Terenghi G, Hart A, Wiberg M. The nerve injury and the dying neurons: diagnosis and prevention. Journal of Hand Surgery (European Volume). 2011 Nov;36(9):730-4.
11. Araújo-Filho HG, Quintans-Júnior LJ, Barreto AS, Almeida JR, Barreto RS, Quintans JS. Neuroprotective effect of natural products on peripheral nerve degeneration: a systematic review. Neurochemical research. 2016 Apr;41:647-58.
12. Mekaj A, Mekaj Y. The role of pharmacological agents in nerve regeneration after peripheral nerve repair. Peripher. Nerve Regen. Surg. New Ther. Approaches Incl. Biomater. Cell-Based Ther. Dev. 2017 May 31;10.

13. Feng X, Yuan W. Dexamethasone enhanced functional recovery after sciatic nerve crush injury in rats. BioMed research international. 2015;2015(1):627923.
14. Mirzakhani N, Farshid AA, Tamaddonfard E, Imani M, Erfanparast A, Noroozinia F. Carnosine improves functional recovery and structural regeneration after sciatic nerve crush injury in rats. Life sciences. 2018 Dec 15;215:22-30.
15. Danzi MC, Motti D, Avison DL, Bixby JL, Lemmon VP. Treatment with analgesics after mouse sciatic nerve injury does not alter expression of wound healing-associated genes. Neural regeneration research. 2016 Jan 1;11(1):144-9.
16. Richner M, Bjerrum OJ, Nykjaer A, Vaegter CB. The spared nerve injury (SNI) model of induced mechanical allodynia in mice. JoVE (Journal of Visualized Experiments). 2011 Aug 18(54):e3092.
17. Sun W, Sun C, Lin H, Zhao H, Wang J, Ma H, Chen B, Xiao Z, Dai J. The effect of collagen-binding NGF-β on the promotion of sciatic nerve regeneration in a rat sciatic nerve crush injury model. Biomaterials. 2009 Sep 1;30(27):4649-56.
18. Devesa P, Gelabert M, Gonźlez-Mosquera T, Gallego R, Luis Relova J, Devesa J, Arce VM. Growth hormone treatment enhances the functional recovery of sciatic nerves after transection and repair. Muscle & nerve. 2012 Mar;45(3):385-92.
19. Varejão AS, Cabrita AM, Meek MF, Bulas-Cruz J, Melo-Pinto P, Raimondo S, Geuna S, Giacobini-Robecchi MG. Functional and morphological assessment of a standardized rat sciatic nerve crush injury with a non-serrated clamp. Journal of neurotrauma. 2004 Nov 1;21(11):1652-70.
20. Maagaard M, Andersen JH, Jaeger P, Mathiesen O. Effects of combined dexamethasone and dexmedetomidine as adjuncts to peripheral nerve blocks: a systematic review with meta-analysis and trial sequential analysis. Regional Anesthesia & Pain Medicine. 2024 Jan 22.
21. Mola S, Girma B. Effectiveness of perineural administration of dexamethasone with lidocaine on onset time of sensory block and early postoperative analgesia in axillary brachial plexus block: a prospective cohort study, Ethiopia. Annals of Medicine and Surgery. 2024 Mar 1;86(3):1268-74.
22. Tan ES, Tan YR, Liu CW. Efficacy of perineural versus intravenous dexamethasone in prolonging the duration of analgesia when administered with peripheral nerve blocks: a systematic review and meta-analysis. Korean Journal of Anesthesiology. 2022 Jun 1;75(3):255-65.
23. Touil N, Pavlopoulou A, Delande S, Geradon P, Barbier O, Libouton X, Lavand'homme P. Effect of Intravenous Dexamethasone Dose on the Occurrence of Rebound Pain after Axillary Plexus Block in Ambulatory Surgery. J Clin Med. 2023 Jun 27;12(13):4310.
24. Lee HJ, Woo JH, Chae JS, Kim YJ, Shin SJ. Intravenous versus perineural dexamethasone for reducing rebound pain after interscalene brachial plexus block: a randomized controlled trial. Journal of Korean Medical Science. 2023 Jun 19;38(24).
25. Bracken MB, Shepard MJ, Collins WF, Holford TR, Young W, Baskin DS, Eisenberg HM, Flamm E, Leo-Summers L, Maroon J, Marshall LF. A randomized, controlled trial of methylprednisolone or naloxone in the treatment of acute spinal-cord injury: results of the Second National Acute Spinal Cord Injury Study. New England Journal of Medicine. 1990 May 17;322(20):1405-11.
26. Holtz A, Nyström B, Gerdin B. Effect of methylprednisolone on motor function and spinal cord blood flow after spinal cord compression in rats. Acta neurologica scandinavica. 1990 Jul;82(1):68-73.
27. Cilingir-Kaya OT, Sümer O, Sirvanci S, Gurler EB, Akcal A, Karsidag S. Effect of Tacrolimus on Peripheral Nerve

Regeneration in Allograft Transplantation: A Light and Electron Microscopic Study.
28. Shahraki M, Mohammadi R, Najafpour A. Influence of tacrolimus (FK506) on nerve regeneration using allografts: a rat sciatic nerve model. Journal of Oral and Maxillofacial Surgery. 2015 Jul 1;73(7):1438-e1.
29. Tulaci KG, Tuzuner A, Emir HK, Tatar İ, Sargon MF, Tulaci T, Karadavut Y, Samim EE. The effect of tacrolimus on facial nerve injury: Histopathological findings in a rabbit model. American Journal of Otolaryngology. 2016 Sep 1;37(5):393-7.
30. He XZ, Ma JJ, Wang HQ, Hu TM, Sun B, Gao YF, Liu SB, Wang W, Wang P. Brain injury in combination with tacrolimus promotes the regeneration of injured peripheral nerves. Neural Regeneration Research. 2017 Jun 1;12(6):987-94.