

## اثر الکتروپوراسیون بر عصب سیاتیک موش صحرائی

(گزارش اولیه یک مطالعه حیوانی)

\*دکتر رضا شهريار کامرانی، \*\*دکتر احمد محبی آشتیانی، \*\*\*دکتر شایان عبداله‌زادگان، \*\*\*\*دکتر محمد حسین نبیان، \*\*\*\*\*دکتر معصومه فیروزی

«دانشگاه علوم پزشکی تهران»

### خلاصه

**پیش‌زمینه:** الکتروپوراسیون سلول به منظور برداشت نسج سرطانی مورد علاقه محققین قرار گرفته است. هدف از انجام این مطالعه، استفاده از الکتروپوراسیون در آسیب‌های عصب جهت ترمیم بدون شکل‌گیری نوروما بود.

**مواد و روش‌ها:** در یک مطالعه آزمایشگاهی، عصب‌های سیاتیک ۳۸ موش صحرائی بریده شد و ترمیم آنها در سه گروه با روش‌های درمانی مختلف بررسی شد. شانزده موش «الکتروپوراسیون»، ۱۶ موش «برش» دریافت کردند، و ۶ موش گروه کنترل هیچ الکتروپوراسیونی دریافت نکردند. ترمیم و شکل‌گیری احتمالی نوروما با شاخص میکروسکوپی، و عملکرد حرکتی با شاخص عملکرد سیاتیک (SFI) ارزیابی شدند.

**یافته‌ها:** در هفته اول، شاخص عملکرد عصب سیاتیک، آسیب کامل عصب در سه گروه نشان داد. در گروه «الکتروپوراسیون»، از هفته دوم به بعد، در شاخص عملکردی سیاتیک بهبود معنی‌دار حاصل شد؛ و با گذشت چهار هفته، گروه بین دو گروه «الکتروپوراسیون» و کنترل تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. از هفته پنجم شاخص عملکردی سیاتیک گروه «الکتروپوراسیون» به حالت طبیعی (برابر با موش سالم) رسید. این شاخص در گروه «برش» هیچ‌گاه به حد طبیعی نرسید.

**نتیجه‌گیری:** کاربرد الکتروپوراسیون در آسیب عصب سیاتیک موش صحرائی، بهبود کامل عملکرد عصب ایجاد می‌کند و می‌تواند برای درمان نورومای سر راهی عصب، مفید باشد.

**واژه‌های کلیدی:** الکتروپوراسیون، عصب سیاتیک، نوروما، موش صحرائی، آسیب عصب محیطی

دریافت مقاله: ۶ ماه قبل از چاپ؛ مراحل اصلاح و بازنگری: ۲ بار؛ پذیرش مقاله: ۱ ماه قبل از چاپ

## Effect of Electroporation on Sciatic Nerve of the Rat

(A Primary Report on an Animal Study)

\*Reza Shahryar Kamrani, MD; \*\*Ahmad Mohebbi Ashtiani, MD; \*\*\*Shayan Abdollah Zadegan, MD;  
\*\*\*\*Mohammad Hossein Nabian, MD; \*\*\*\*\*Masoumeh Firouzi, PhD

### Abstract

**Background:** Electroporation of cells for cancer ablation has gained popularity. The aim of this study was to evaluate the effect of electroporation in nerve injury and neuroma formation.

**Methods:** In an experimental study, the sciatic nerves cut in 38 rats and the repair was studied by dividing them in 3 groups; each group receiving a different treatment. Sixteen rats received electroporation, 16 received end-to-end repair, and 6 “control” rats received no electroporation. The repair and possible formation of neuroma was evaluated by light-microscopy and the function of the nerve was assessed with sciatic functional index (SFI).

**Results:** Complete nerve injury was demonstrated by SFI in the 3 groups, in the first-week evaluation. After 2 weeks, significant recovery of function was seen in the electroporation group; and in 4 weeks it was similar to control group. This group reached normal SFI in 5 weeks. The cut and repaired group never reached a normal SFI.

**Conclusions:** The electroporation in the sciatic nerve of rat produces complete functional improvement after nerve injury and possibly could be useful for treating symptomatic neuromas.

**Keywords:** Electroporation; Sciatic nerve; Neuroma; Rat; Peripheral nerve injury

Received: 6 months before printing; Accepted: 1 month before printing

\*Orthopaedic Surgeon, Orthopaedic Department, Joint Reconstruction Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, IRAN.

\*\*General practitioner, \*\*\*Student of Medicine, \*\*\*\*Resident of Orthopaedic Surgery, \*\*\*\*\*Cellular & Molecular Biologist (Institute of Biochemistry & Biophysics), Research Center for Neural Repair, University of Tehran, Tehran, IRAN.

**Corresponding Author:** Masoumeh Firouzi, PhD

Research Center for Neural Repair, University of Tehran, Enqelab Avenue, Tehran, Iran. 13145-1384.

E-mail: firouzi@ibb.ut.ac.ir

## مقدمه

آسیب عصب محیطی از انواع سه‌گانه آن یعنی برش، لهیدگی یا کشیدگی، با یا بدون اقدامات درمانی، در معرض شکل‌گیری نوروما از نوع انتهایی یا سرراهی است<sup>(۱)</sup>. نوروما از لحاظ بافت‌شناختی به صورت یک برآمدگی کروی یا بیضی شکل ظهور می‌کند و از عناصر میکروسکوپی بافت همبند، فیروبلاست‌ها، تارهای کلاژن بی‌نظم و در هم تنیده، و آکسون‌هایی تشکیل شده است که بدون جهت‌گیری خاصی در میان این نسج بی‌شکل و بی‌نظم قرار گرفته‌اند<sup>(۲)</sup>. آزارنده‌ترین عارضه جانبی نوروما، درد مزمن و مقاوم به درمان به صورت هایپرآلژی است<sup>(۳)</sup>.

«ناث»<sup>۱</sup> و «مک‌کینون»<sup>۲</sup> حدود ۱۵۰ روش را برای درمان نوروما فهرست کرده‌اند<sup>(۴)</sup>. تعدد و تنوع اقدامات درمانی برای مقابله با درد ناشی از نوروما نشان می‌دهد که هیچ‌یک از این روش‌ها، به اندازه‌ای کارآمد نبوده که آن را به یک استاندارد عمومی تبدیل کند. از این اقدامات می‌توان به تزریق سم بوتولینوم به عصب<sup>(۵)</sup>، تزریق مواد نورولیتیک مانند فنل و الکل<sup>(۶)</sup>، برداشت نوروما و پیوند زدن انتهای عصب به داخل استخوان یا عضله مجاور یا پیوند انتهای عصب به خود عصب<sup>(۳،۷)</sup>، و بستن انتهای عصب با کلاهک‌های ارگانیک یا سنتتیک<sup>(۳)</sup> اشاره نمود. از دیگر مداخلاتی که برای قطع عصب، چه در نوروما و چه در سایر ضرورت‌های درمانی استفاده می‌شوند، اولتراسوند، امواج رادیویی (رادیوفرکانس) و مداخلات حرارتی مانند کرایوآنالژی می‌باشند<sup>(۸)</sup>.

دو ضعف عمده در روش‌های عمل جراحی، محققان را به ابداع روش‌های بدیل ترغیب نموده است: (۱) آسیب به بافت همبند عصب محیطی اعم از نکروز انعقادی در اثر وارد شدن تنش حرارتی و برهم‌زدن ترتیب و سازمان کانال‌های مسیر آکسون (اندونوریوم و پری‌نوریوم) که می‌تواند منجر به انحراف مسیر آکسون‌های در حال ترمیم و نرسیدن آکسون به بافت هدف و از همه وخیم‌تر ایجاد مجدد نورومای ثانوی به جراحی شود؛ (۲) عوارض ناشی از عمل جراحی و نیز گران بودن برخی از روش‌ها مانند استفاده از سم بوتولینوم در قطع موقت عصب محیطی برای جلوگیری از کانتراکچر<sup>(۹)</sup>.

الکتروپوراسیون<sup>۳</sup> روش نسبتاً جدیدی است که در حیطه‌های مختلف علمی و صنعتی از جمله صنایع غذایی، میکروب‌زدایی، آزمایش‌های ژنتیک و غیره کاربرد دارد. در دهه اخیر، استفاده از این روش در پزشکی نیز، خصوصاً به منظور برداشت نسج سرطانی، مورد علاقه محققین قرار گرفته است<sup>(۱۰،۱۱)</sup>. در پدیده الکتروپوراسیون، بافت زنده در ارگانسیم، (یا سلول زنده در محیط کشت آزمایشگاهی) تحت تأثیر پالس‌های میدان الکتریکی قرار می‌گیرد و به این ترتیب، در غشاء سلول‌هایی که در میدان این پالس‌ها قرار دارند، روزنه‌هایی در ابعاد نانومتر ایجاد می‌شود. براساس خصوصیات پالس‌های الکتریکی وارده، یا این روزنه‌ها دوباره بسته می‌شوند (الکتروپوراسیون برگشت‌پذیر) یا آنقدر باز می‌مانند که به مرگ سلولی (الکتروپوراسیون برگشت‌ناپذیر) می‌انجامد<sup>(۱۲)</sup>.

الکتروپوراسیون برگشت‌پذیر، به‌منظور وارد کردن مولکول‌های درشتی که در حالت عادی نمی‌توانند از غشاء سلول عبور کنند به کار می‌رود. به‌عنوان نمونه می‌توان قطعه‌ای از کروموزوم حاوی ژن مورد نظر را بدون هیچ اثر جانبی، وارد سلول‌های هدف کرد یا داروهای سایتوتوکسیک را به سلول‌های نامطلوب سرطانی رساند. در کاربردهای الکتروپوراسیون برگشت‌پذیر، مرگ سلولی یک اثر جانبی نامطلوب تلقی می‌شود و خصوصیات موج می‌باید به‌گونه‌ای طراحی شوند که از این عارضه اجتناب شود<sup>(۱۱)</sup>.

الکتروپوراسیون برگشت‌ناپذیر در مواردی کاربرد پیدا می‌کند که مستقیماً مرگ سلول هدف مورد نظر باشد. مطالعات حیوانی اخیر نشان داده است که می‌توان بافت سرطانی را به‌وسیله الکتروپوراسیون برداشت بدون آن که به بافت‌های اطراف مانند عروق و اعصاب آسیب حیاتی وارد شود<sup>(۱۳-۱۶)</sup>.

تاکنون مطالعه جامعی جهت بررسی نتایج الکتروپوراسیون بر روی اعصاب محیطی انجام نشده است. باتوجه به سهولت استفاده از الکتروپوراسیون و عدم ایجاد آسیب‌های جانبی به بافت پیوندی، در این مطالعه، ترمیم بهبود عصب محیطی پس از الکتروپوراسیون «برگشت‌ناپذیر» با یکی از روش‌های متداول در درمان نوروما یعنی شیوه برش عصب و پیوند مجدد آن، مورد ارزیابی بافتی و رفتاری قرار گرفت. مطالعه حاضر، می‌تواند مقدمه‌ای برای استفاده از روش الکتروپوراسیون در درمان نوروما باشد.

## مواد و روش‌ها

یک مطالعه آزمایشگاهی بر روی ۳۸ موش صحرایی نر از نژاد ویستار با وزن تقریبی  $375 \pm 36$  گرم انجام شد. موش‌ها به طور تصادفی به سه گروه تقسیم شدند: گروه آزمایشی الکتروپوراسیون (۱۶ موش)، گروه آزمایشی برش (۱۶ موش) و گروه شاهد شم (۶ موش).

در گروه شم، مشابه گروه الکتروپوراسیون، فاصله یک سانتیمتری بالای محل دو شاخه شدن سیاتیک پیدا شد. فاصله بین دو الکتروود به اندازه ۱ میلی‌متر تنظیم و عصب بین دو الکتروود قرار گرفت. بر خلاف گروه الکتروپوراسیون که عصب تحت تاثیر میدان الکتریکی قرار گرفت، در گروه شم بدون فشار دادن دکمه دستگاه و بدون القای میدان، فقط الکتروود به مدت ۱۲ ثانیه (معادل زمان قرارگیری الکتروود بر روی عصب در گروه الکتروپوراسیون) بر روی عصب قرار داده شد و بدون اینکه هیچ‌گونه بار الکتریکی جریان داشته باشد، پس از این مدت زمان، الکتروود برداشته شد.

## روش اعمال جراحی

ابتدا حیوانات با تزریق داخل صفاقی مخلوط کتامین و زایلازین با دوزهای به ترتیب ۱۰ و ۰/۵ میلی‌گرم به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بیهوش شدند. پس از کوتاه کردن مو در ناحیه گلوئتال و پشت ران سمت راست، تحت شرایط استریل عصب سیاتیک پای راست از طریق برش طولی در پوست و سپس باز کردن ماهیچه گلوئتال نمایان

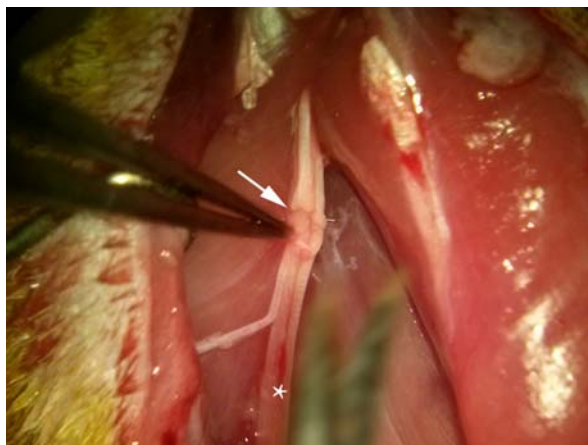
گردید. جهت جلوگیری از هرگونه آسیب مکانیکی به عصب سیاتیک و شاخه‌ها و عضلات اطراف آن، با احتیاط لازم عصب سیاتیک از بستر و بافت هم‌بندی اطراف آزاد شد.

در گروه الکتروپوراسیون، عصب سیاتیک در فاصله یک سانتی‌متری بالای محل دو شاخه شدن سیاتیک، در بین دو الکتروود دستگاه قرار گرفت (شکل ۱). فاصله بین دو الکتروود به اندازه ۱ میلی‌متر تنظیم و عصب به مدت ۴ ثانیه (۲ موج ۲ ثانیه، ۴۰ پالس) تحت تاثیر میدان الکتریکی قرار گرفت. به این صورت که ۲۰ پالس اول در مدت ۲ ثانیه داده شد؛ آنگاه به مدت ۸ ثانیه فرصت کافی برای جلوگیری از ایجاد گرمای اضافی در محل داده شد، و سپس ۲۰ پالس دوم در ۲ ثانیه دوم القا گردید. به این ترتیب میدانی به اندازه ۳۸۰۰ ولت بر سانتی‌متر بر ۵ میلی‌متر از عصب القا شد. برای پیشگیری از هرگونه آسیب مکانیکی توسط الکتروودها و وسایل کمکی جراحی، احتیاط لازم انجام گردید.

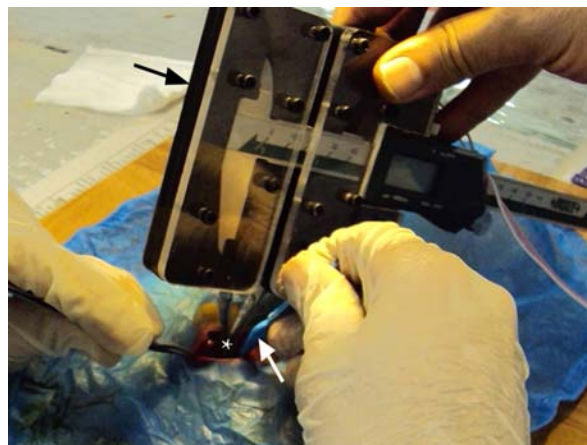
در گروه شم، تمامی مراحل مشابه گروه الکتروپوراسیون انجام شد، با این تفاوت که پس از قرارگیری عصب در بین دو الکتروود، هیچ‌گونه پالس یا بار الکتریکی به عصب القا نشد و پس از مدت زمان مشخص (۱۲ ثانیه) الکتروود برداشته شد.

در گروه برش، در فاصله حدود یک سانتی‌متری از دو شاخه شدن عصب سیاتیک، یک برش کامل عرضی ایجاد شد. دو سر عصب، بلافاصله به کمک روش جراحی میکروسکوپی، با دو بخیه نایلون ۱۰/۰ ترمیم شدند (شکل ۲).

### 1. Gluteal muscle splitting



شکل ۲. برش و بخیه عصب سیاتیک به کمک عمل جراحی میکروسکوپی. فلش سفید، محل برش عصب که تحت بخیه قرار گرفته است؛ و ستاره، محل دو شاخه شدن عصب سیاتیک را نشان می‌دهند.



شکل ۱. قرارگیری عصب در بین دو الکتروود دستگاه. فلش سیاه، دستگاه الکتروپوراسیون؛ فلش سفید، قلاب پلاستیکی جهت بالا نگه‌داشتن عصب؛ و ستاره، عصب در بین دو الکتروود دستگاه را نشان می‌دهند.

ضخامت ۵ تا ۶ میکرون در بلوک پارافین انجام شد و همه مقاطع با روش هماتوکسیلین - ائوزین رنگ آمیزی شدند.

بررسی التهاب و قوام بافت همبندی از طریق ارزیابی لام‌های رنگ آمیزی شده از نظر حضور سلول‌های التهابی، ساختار اپی‌نوریوم و اندونوریوم، تشکیل نوارهای بونگر<sup>۶</sup>، قطعه قطعه شدن و تورم آکسونی، ایجاد دهلیزهای هاضمه<sup>۷</sup>، شبح تار<sup>۸</sup> و فیروز اطراف عصب انجام شد.

دستگاه الکتروپوراسیون: این دستگاه با توجه به خصوصیات نمونه‌های موجود جهانی و براساس کارهای «لی»<sup>۹</sup> و «فیلیس»<sup>۱۰</sup> و همکاران ساخته شد<sup>(۱۳،۱۴)</sup>. هر موج یک ثانیه‌ای تولید شده توسط دستگاه، از ۱۰ پالس با طول مدت ۱۰۰ میکروثانیه و وقفه ۱۰۰ میلی‌ثانیه با ولتاژ ۳۸۰ ولت تشکیل می‌شود.

مدار الکتریکی از دو مدار مجزا تشکیل شده است: (۱) بخش قدرت که توان و ولتاژ لازم برای ایجاد میدان الکتریکی را ایجاد می‌کند، و (۲) بخش کنترل شکل و تعداد پالس‌ها، مدت هر پالس و فاصله میان هر دو پالس را تعیین می‌کند. تعداد پالس‌های قابل اعمال، از ۱ تا ۲۰ قابل تغییر است که به وسیله دو کلید تنظیم می‌شود. مدت هر پالس به وسیله یک مقاومت متغیر قابل تنظیم است و به وسیله آن می‌توان مدت هر پالس را از ۵۰ تا ۱۷۰ میکروثانیه تغییر داد. مدت زمان میان هر دو پالس از ۱ تا ۲۵۵ میلی‌ثانیه قابل تغییر است که آن هم به وسیله یک مقاومت متغیر تنظیم می‌شود.

در تحقیق حاضر، پس از انجام چند آزمون آزمایشی، مدت هر پالس ۱۰۰ میکروثانیه، فاصله میان هر دو پالس ۱۰۰ میلی‌ثانیه، و تعداد پالس‌ها ۲۰ عدد تنظیم شد. هنگام اعمال پالس، دو دوره ۲۰ پالسی به فاصله چند ثانیه اعمال شد.

الکترودهای به‌کاررفته، از آلیاژ سخت فلزی کروم-کادمیوم طراحی و ساخته شده و به وسیله فیکسچر عایق به یک کولیس ورنیه، متصل شد. به این ترتیب، امکان تنظیم فاصله دو الکترودها با دقت صدم میلی‌متر فراهم گردید. غیر از سطح فعال الکترودها، بقیه سطوح به وسیله رزین اپوکسی عایق شد تا از تخلیه بار و

پس از اتمام اعمال جراحی، در تمامی گروه‌ها عضلات با نخ قابل جذب (Catgut) ۴/۰، و پوست با نخ نابلون ۴/۰ بسته شد. نرمال سالین (۵ میلی‌لیتر) به صورت درون صفاقی و سفازولین (۳۰ میلی‌گرم) به صورت زیرجلدی جهت جلوگیری از عفونت احتمالی تزریق گردید. پس از انجام عمل جراحی، موش‌ها در اتاقی با دمای کنترل شده و دسترسی نامحدود به آب و غذا قرار گرفتند. جهت جلوگیری از پدیده خودجراحی<sup>۱</sup>، ماده ضد جویدن ناخن<sup>۲</sup> به‌طور روزانه بر روی پای موش‌ها زده شد.

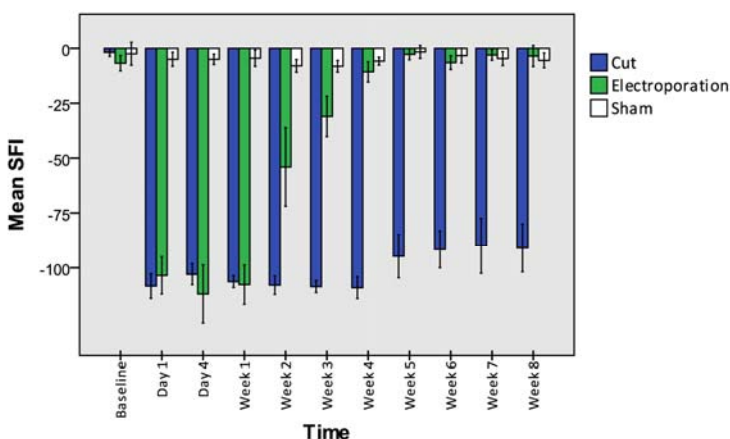
ارزیابی عملکردی: در طی ۸ هفته پس از اعمال جراحی، حیوانات به وسیله شاخص عملکردی سیاتیک<sup>۳</sup> مورد بررسی رفتاری قرار گرفتند. برای این منظور راهرویی با دیواره‌های شفاف به طول ۱۲۰ سانتی‌متر، عرض ۷ سانتی‌متر و ارتفاع ۱۵ سانتی‌متر از جنس پلی‌متیل مت‌آکریلات<sup>۴</sup> ساخته شد.

در انتهای راهرو جعبه‌ای تاریک قرار داده شد تا موش پس از قرار گرفتن در راهرو به سمت آن حرکت کند. در زیر راهرو، یک آینه با زاویه ۴۵° تعبیه گردید تا از طریق کف شفاف آن، گام‌های حیوان تصویربرداری و ثبت شود. در هر هفته شاخص عملکردی سیاتیک برای تمامی موش‌ها محاسبه شد. برای این کار، هر حیوان ۴ بار از راهرو رد شد، تصاویر مربوط به کف پا توسط دوربینی با کیفیت تصویر بالا ثبت و شاخص عملکردی سیاتیک به کمک نرم‌افزار طراحی شده در مرکز تحقیقات ترمیم اعصاب و براساس روش «بین - مکیون-هانت»<sup>۵</sup> محاسبه گردید<sup>(۱۷)</sup>. به‌طور کلی، این شاخص، از سه مولفه طول رد پا (فاصله پاشنه تا انگشت سوم)، میزان باز شدن انگشت‌های میانی (فاصله انگشت دوم تا چهارم)، و میزان باز شدن کل انگشت‌ها (فاصله انگشت اول تا پنجم) تشکیل شده است.

ارزیابی میکروسکوپی: جهت بررسی میکروسکوپی، در روزهای ۴، ۱۴، ۲۸ و ۵۶ پس از عمل جراحی، حیوانات به وسیله مخلوط زایلازین و کتامین بیهوش و عصب‌های سیاتیک پای راست و چپ آشکار شدند. حدود ۳ سانتی‌متر از عصب سیاتیک سمت راست و چپ برداشته و در محلول تثبیت‌کننده بافت، حاوی فرمالدئید و گلو تارالدئید ثابت شد<sup>(۱۸)</sup>. برش عرضی با مقاطعی به

6. Bands of Büngner  
7. Ellipsoid  
8. Ghost fiber  
9. Li  
10. Phillips

1. Automutilation/Autotomy  
2. Anti-bite  
3. Sciatic functional index (SFI)  
4. Polymethyl methacrylate (Perspex)  
5. Bain-Mackinnon-Hunter



شکل ۳. نتایج شاخص عملکردی سیاتیک در سه گروه آزمایش الکتروپوراسیون، برش و شم. سیر بهبود گروه الکتروپوراسیون نسبت به گروه برش تفاوت معنی‌داری را نشان می‌دهد

در تمامی هفته‌ها، بین گروه برش و گروه شم تفاوت معنی‌دار وجود داشت ( $p < 0/001$ ). به علت افت همزمان شاخص عملکردی سیاتیک در دو گروه شم و الکتروپوراسیون در هفته ابتدایی، و بهبود سریع‌تر گروه الکتروپوراسیون، در هفته ابتدایی بین این دو گروه تفاوت معنی‌داری وجود نداشت؛ در حالی که از هفته دوم به بعد تفاوت آماری معنی‌دار بود ( $p < 0/001$ ) (شکل ۳).

یافته‌های میکروسکوپی: مقاطع عرضی اعصاب سیاتیک در سه گروه، به منظور بررسی تعداد هسته‌های سلولی، سلول‌های التهابی و ساختار بافت همبند مشاهده گردید. در گروه شم، عصب منظره طبیعی داشت. در دو گروه آزمایشی، تفاوت‌های قابل ملاحظه‌ای مشاهده شد (جدول ۱).

القای شوک بر روی بافت‌های مجاوری که هدف آزمون نبودند جلوگیری شود. سطوحی از الکتروود که با بافت در تماس بود، کاملاً صاف و پولیش شد تا از یکنواختی میدان الکتریکی اطمینان حاصل شود. منطقه عمل هر الکتروود یک بیضی است با قطر کوچک‌تر به طول ۵ میلی‌متر به نحوی که هنگام در برگرفتن عصب می‌تواند ۵ میلی‌متر از عصب را تحت تأثیر میدان پالس‌های الکتریکی قرار دهد.

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از آزمون پارامتری تحلیل واریانس و نرم‌افزار آماری SPSS و در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ بررسی شدند.

## یافته‌ها

یافته‌های رفتاری: در طی مدت ۸ هفته پس از جراحی، شاخص عملکردی سیاتیک مورد اندازه‌گیری و بررسی قرار گرفت. این شاخص یک بار قبل از عمل جراحی برای تمامی موش‌ها محاسبه شد تا میزان پایه در دسترس قرار گیرد. پس از عمل‌های جراحی، در تمامی هفته‌ها بین سه گروه مورد آزمون تفاوت معنی‌دار مشاهده شد ( $p < 0/001$ ) (شکل ۳).

در طی سه هفته اول، بین دو گروه الکتروپوراسیون و گروه شم تفاوت معنی‌دار وجود داشت ( $p < 0/001$ ). پس از هفته اول، شاخص عملکردی سیاتیک به سرعت در این گروه بهبود پیدا کرد به طوری که از هفته چهارم، بین این گروه و گروه شم (شاهد) تفاوت معنی‌دار نبود ( $p \geq 0/05$ ) (شکل ۳).

جدول ۱. مشاهدات بافت‌شناختی در محل عمل و منطقه دیستال به عمل در سه گروه شم، برش و الکتروپوراسیون در روز ۳، هفته ۲، ۴ و ۸

گروه‌ها	روز ۲			هفته ۲			هفته ۴			هفته ۸		
	گروه شم	گروه برش	گروه الکتروپوراسیون	گروه شم	گروه برش	گروه الکتروپوراسیون	گروه شم	گروه برش	گروه الکتروپوراسیون	گروه شم	گروه برش	گروه الکتروپوراسیون
کروز بافت پیوندی	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
رژنر اسپیون	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+
دژنر اسپیون	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	-	-

تفصیل مورد مطالعه قرار گرفته و مدل‌های مختلف ریاضی برای تعیین چگونگی این فرآیند پیشنهاد شده است<sup>(۲۲،۲۳)</sup>؛ اما این مطالعات به دلیل تفاوت ریخت‌شناسی نورو با سایر سلول‌ها و تفاوت بافت‌شناختی عصب با سایر بافت‌ها قابل تعمیم به سلول‌های عصبی نمی‌باشد.

با توجه به این تفاوت‌ها، تفسیر مشاهدات میکروسکوپی برای نتیجه‌گیری کافی نمی‌باشد و به همین دلیل، در این مطالعه سعی شد که با یک آزمون استاندارد عملکردی (SFI)، قطع آکسون‌های عصب بررسی شود. ادامه فقدان کامل عملکرد عصب سیاتیک به مدتی قابل اعتنا و هماهنگی این فقدان عملکرد با مشاهدات میکروسکوپی را می‌توان به عنوان شاخص قطع موقت عصب تلقی کرد. آغاز پیشرفت عملکرد سیاتیک با شیب تند در هفته دوم، می‌تواند نشانه مزیت الکتروپوراسیون بر سایر روش‌ها در قطع موقت اعصاب محیطی باشد. از آنجا که در الکتروپوراسیون، به بافت همبند آسیب وارد نمی‌شود، نظام طبیعی اپینوریوم، پرینوریوم و از همه مهمتر اندونوریوم تغییر نمی‌کند و همه جوانه‌های عصبی می‌توانند، مستقیماً در همان راهی که قبلاً در آن قرار داشته‌اند به سمت بافت هدف رشد و حرکت داشته باشند<sup>(۲۴)</sup>.

«لی» در یک مطالعه اثر الکتروپوراسیون برگشت‌ناپذیر را به منظور از بین بردن تومورهای درگیر کننده اعصاب بررسی نمود<sup>(۱۳)</sup>. در این بررسی عملکرد عصب بعد از ۷ هفته به حد قابل قبول رسید که در مطالعه حاضر نیز نتیجه مشابه حاصل شد. همچنین در مطالعه حاضر دریافتیم که الکتروپوراسیون بدون تخریب بافت همبند و با حفظ ساختار می‌تواند به قطع موقت عصب منجر شود. این نتایج مشابه مطالعات «شولناست»<sup>۱</sup> بود که بر روی خوک و با محوریت میزان اسکارزایی الکتروپوراسیون انجام گردید<sup>(۱۵،۱۶)</sup>.

چنان که گفته شد نوروما تنها یکی از بیماری‌هایی است که برای درمان آن، قطع موقت عصب کاربرد دارد<sup>(۶)</sup>. از سوی دیگر این روش یکی از ده‌ها روش‌های درمانی نوروما تلقی می‌شود. اما به نظر می‌رسد الکتروپوراسیون با توجه به امکانات بالقوه‌ای

در دو گروه الکتروپوراسیون و برش، در روزهای ابتدایی پس از عمل، علائم اولیه دژنراسیون والری در بیشتر آکسون‌ها مشاهده شد. در ناحیه عمل التهاب به صورت ارتشاح سلول‌های التهابی دیده شد. به تدریج با گذشت زمان (هفته دوم و چهارم)، نشانه‌های دژنراسیون والری، در منطقه دیستال به ناحیه عمل به صورت هیپرسولولاریته شدید، تشکیل نوار بونگر، گسیختگی دیواره آکسون و دهلیزهای هاضمه ظاهر شد.

برخلاف گروه برش، در گروه الکتروپوراسیون سازمان بافت پیوندی کاملاً دست نخورده و سالم بود و هیچ نشانی از نکروز دیده نشد. همچنین در گروه برش در ناحیه عمل، علائم التهاب و بافت کلاژنی اسکار گسترده تشکیل شد؛ در حالی که در گروه الکتروپوراسیون هیچ نشانه قابل مشاهده‌ای از التهاب، نکروز و اسکار دیده نشد. کاهش سطح مقطع عصب نیز در حدی که در سطح ارزیابی کیفی قابل مشاهده باشد در گروه برش واضح و در گروه الکتروپوراسیون ناچیز بود. این کم شدن سطح مقطع عصب را می‌توان نتیجه روی هم خوابیدن آندونوریوم‌های منفرد خالی از آکسون تلقی کرد که در موارد مشابه دیده می‌شود<sup>(۱۹)</sup>.

## بحث

در مطالعه حاضر، الکتروپوراسیون به عنوان شیوه جایگزین برای برخی جراحی‌های تهاجمی قطع موقت اعصاب محیطی ارزیابی شد. با توجه به نتایج شاخص عملکردی عصب سیاتیک، پس از گذشت چهار هفته از زمان آسیب، گروه الکتروپوراسیون به میزان عملکرد طبیعی بازگشت، در حالی که در گروه برش این شاخص هیچ‌گاه به میزان طبیعی باز نمی‌گردد. با توجه به قطع کامل عملکرد عصب توسط الکتروپوراسیون و بهبود سریع پس از آن، این روش می‌تواند به عنوان یک درمان جایگزین قطع عصب به روش برش مطرح گردد.

مکانیسم ایجاد مرگ سلولی به وسیله الکتروپوراسیون، در برخی مطالعات به صورت بیرون ریختن محتویات سیتوپلاسم و از میان رفتن تمامیت فیزیولوژیک سلولی و در برخی دیگر به کار افتادن مکانیسم آپوپتوز گفته شده است<sup>(۲۰،۲۱)</sup>. چگونگی تأثیر میدان الکتریکی بر وضعیت مکانیکی غشا، در بافت‌های دیگر به

عملکرد عصب به میزان طبیعی باز می‌گردد. در نتیجه، این روش می‌تواند معادلی برای روش جراحی برش عصب و ترمیم با بخیه باشد و این در حالی است که آسیب‌های بافت همبندی ایجاد نمی‌کند و با سرعت بیشتری ترمیم می‌شود. پیشنهاد می‌شود مطالعات آینده، در زمینه بررسی کیفیت استفاده الکتروپوراسیون در درمان نورومای سر راهی عصب انجام شود.

#### تشکر و قدردانی

نویسندگان از کمک‌های بی‌دریغ سرکار خانم سودابه هوشیاری در تهیه نمونه‌های بافتی، سرکار خانم فهیمه صفرپور در نگهداری و جراحی حیوانات، و شرکت فن‌آموز برای ساخت مدار الکتریکی دستگاه الکتروپوراسیون تشکر و قدردانی می‌نمایند.

1. Electrical neurostimulation

که دارد نظیر به وجود نیاوردن نکروز و اسکار، بر هم زدن نظام توپوگرافیک بافت همبند داخل عصب و کم هزینه بودن، می‌تواند جایگزین بسیار مناسبی برای روش‌های دیگر باشد. روشی که حداقل اسکار را ایجاد می‌کند و در آن نیازی به آسیب زدن مجدد به عصب آسیب دیده نمی‌باشد، قطعاً امکان ایجاد نورومای مجدد را نیز به حداقل می‌رساند. به علاوه، وجود الکترودهای سوزنی این امکان را فراهم می‌کند که بدون نیاز به عملیات تهاجمی جراحی و بدون باز کردن پوست، با تعیین محل عصب به وسیله تحریک الکتریکی<sup>۱</sup> یا اولتراسوند، به عصب دست یافت و آن را تحت تأثیر الکتروپوراسیون قرار داد.

#### نتیجه‌گیری

با استفاده از روش الکتروپوراسیون، می‌توان آسیب عملکردی کامل در عصب ایجاد کرد. آسیب ایجاد شده با شیب سریع به سمت بهبود حرکت می‌کند؛ به نحوی که در زمان کوتاه،

#### References

- Edstrom LE, Karacaoglu E.** Chronic Nerve Injuries and Treatment of Neuromas. In: Berger RA, Weiss A-PC, eds. *Hand Surgery*. 1<sup>st</sup> ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; 2004. p 847-65.
- Mackinnon SE, Dellon AL.** *Surgery of the Peripheral Nerve*. 1<sup>st</sup> ed. NY: Thieme Med Pub; 1988.
- Birch R.** Nerve Repair. In: Wolfe SW, Hotchkiss RN, Pederson WC, Kozin SH, eds. *Green's Operative Hand Surgery*. 6th ed. Philadelphia, PA: Churchill Livingstone; 2011:1063-71.
- Nath RK, Mackinnon SE.** Management of neuromas in the hand. *Hand Clin*. 1996;12(4):745-56. 5.
- Wheeler A, Smith HS.** Botulinum toxins: mechanisms of action, antinociception and clinical applications. *Toxicology*. 2013;306:124-46. doi:10.1016/j.tox.2013.02.006.
- Rajput K, Reddy S, Shankar H.** Painful neuromas. *Clin J Pain*. 2012;28(7):639-45. doi:10.1097/AJP.0b013e31823d30a2.
- Al-Qattan MM.** Prevention and treatment of painful neuromas of the superficial radial nerve by the end-to-side nerve repair concept: an experimental study and preliminary clinical experience. *Microsurgery*. 2000;20(3):99-104.
- Neumann V, O'Connor RJ, Bush D.** Cryoprobe treatment: an alternative to phenol injections for painful neuromas after amputation. *AJR Am J Roentgenol*. 2008;191(6):W313. doi:10.2214/AJR.08.1371.
- Cordivari C, Misra VP, Catania S, Lees AJ.** Treatment of dystonic clenched fist with botulinum toxin. *Mov Disord*. 2001;16(5):907-13.
- Gehl J.** Electroporation: theory and methods, perspectives for drug delivery, gene therapy and research. *Acta Physiol Scand*. 2003;177(4):437-47. doi:10.1046/j.1365-201X.2003.01093.x.
- Kandušer M, Miklavčič D.** Electroporation in Biological Cell and Tissue: An Overview. In: Lebovka N, Vorobiev E, eds. *Electrotechnologies for Extraction from Food Plants & Biomaterials*. NY: Springer, 2008. 1-37. doi:10.1007/978-0-387-79374-0\_1.
- Phillips M, Maor E, Rubinsky B.** Nonthermal irreversible electroporation for tissue decellularization. *J Biomech Eng*. 2010;132(9):091003. doi:10.1115/1.4001882.
- Li W, Fan Q, Ji Z, Qiu X, Li Z.** The effects of irreversible electroporation (IRE) on nerves. *PLoS One*. 2011;6(4):e18831. doi:10.1371/journal.pone.0018831.
- Maor E, Ivorra A, Leor J, Rubinsky B.** The effect of irreversible electroporation on blood vessels. *Technol Cancer Res Treat*. 2007;6(4):307-12.
- Schoellnast H, Monette S, Ezell PC, et al.** The delayed effects of irreversible electroporation ablation on nerves. *Eur Radiol*. 2013;23(2):375-80. doi:10.1007/s00330-012-2610-3.
- Schoellnast H, Monette S, Ezell PC, et al.** Acute and subacute effects of irreversible electroporation on

nerves: experimental study in a pig model. *Radiology*. 2011;260(2):421-7. doi:10.1148/radiol.11103505.

**17. Varejão AS, Meek MF, Ferreira AJ, Patrício JA, Cabrita AM.** Functional evaluation of peripheral nerve regeneration in the rat: walking track analysis. *J Neurosci Methods*. 2001;108(1):1-9.

**18. Hancock SK, Hinckley J, Ehrich M, Jortner BS.** Morphological measurement of neurotoxic injury in the peripheral nervous system: preparation of material for light and transmission electron microscopic evaluation. *Curr Protoc Toxicol*. 2005.

**19. Fu SY, Gordon T.** Contributing factors to poor functional recovery after delayed nerve repair: prolonged denervation. *J Neurosci*. 1995;15(5 Pt 2):3886-95.

**20. Pakhomova ON, Gregory BW, Semenov I, Pakhomov AG.** Two modes of cell death caused by exposure to

nanosecond pulsed electric field. *PLoS One*. 2013;8(7):e70278. doi:10.1371/journal.pone.0070278.

**21. Beebe SJ, Fox PM, Rec LJ, Willis ELK, Schoenbach KH.** Nanosecond, high-intensity pulsed electric fields induce apoptosis in human cells. *FASEB J*. 2003;17(11): 1493-5. doi:10.1096/fj.02-0859fje.

**22. Kotnik T, Kramar P, Pucihar G, Miklavcic D, Tarek M.** Cell membrane electroporation- Part 1: The phenomenon. *IEEE Electr Insul Mag*. 2012;28(5):14-23. doi:10.1109/MEI.2012.6268438.

**23. Davalos R V, Rubinsky B, Mir LM.** Theoretical analysis of the thermal effects during in vivo tissue electroporation. *Bioelectrochemistry*. 2003;61(1-2):99-107.

**24. Chen C, Smye SW, Robinson MP, Evans JA.** Membrane electroporation theories: a review. *Med Biol Eng Comput*. 2006;44(1-2):5-14.