



## مقایسه اثر پیوند سلول‌های شوان با مدل اتوگرافت در بازسازی بافت اعصاب محیطی در مدل حیوانی

سام زربخش<sup>۱\*</sup>، نسرین خان‌محمدی<sup>۱</sup>، مهرداد بختیاری<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> مرکز تحقیقات سلول‌های بنیادی سیستم عصبی، گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران

<sup>۲</sup> گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

(دریافت مقاله: ۹۴/۵/۲۶- پذیرش مقاله: ۹۴/۹/۲)

### چکیده

**زمینه:** پیوند سلول‌های شوان می‌تواند به بازسازی اعصاب محیطی کمک کند. هدف از این مطالعه، مقایسه اثر پیوند سلول‌های شوان با مدل اتوگرافت در بازسازی اعصاب محیطی در مدل حیوانی بود.

**مواد و روش‌ها:** ۲۰ سر رت نر نژاد ویستار به طور تصادفی به سه گروه کنترل، پیوند سلول‌های شوان و مدل اتوگرافت تقسیم شد. در گروه کنترل، یک قطعه ۱۰ میلی‌متری از عصب سیاتیک سمت چپ را برداشته، لوله سیلیکون جایگزین آن گردید. در گروه پیوند سلول‌های شوان پس از قرار دادن لوله سیلیکونی، حدود ۵۰۰۰۰۰ سلول شوان داخل لوله تزریق شد. در گروه مدل اتوگرافت، قطعه ۱۰ میلی‌متری از عصب سیاتیک سمت چپ را برداشته، پس از معکوس کردن به دو انتهای عصب پیوند زده شد. ۱۲ هفته پس از جراحی، تعداد آکسون‌ها، تعداد عروق خونی و ضخامت غلاف میلین بازسازی شده مورد بررسی قرار گرفت.

**یافته‌ها:** بررسی‌های بافت‌شناسی با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه نشان داد، تعداد آکسون‌ها و ضخامت غلاف میلین در گروه مدل اتوگرافت به طور معنی‌داری بیش از سایر گروه‌ها، و در گروه پیوند سلول‌های شوان به طور معنی‌داری بیش از گروه کنترل بود. همچنین تعداد عروق خونی بازسازی شده در گروه پیوند سلول‌های شوان به صورت معنی‌داری بیش از سایر گروه‌ها بود ( $P < 0.05$ ).

**نتیجه‌گیری:** نتایج نشان می‌دهد پیوند سلول‌های شوان در بهبود بازسازی اعصاب محیطی مؤثر است و احتمالاً می‌تواند جایگزین مناسبی برای روش اتوگرافت شود.

**واژگان کلیدی:** اتوگرافت، سلول‌های شوان، پیوند، اعصاب محیطی

\* سمنان، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات سلول‌های بنیادی سیستم عصبی، گروه علوم تشریحی

## مقدمه

پر کردن شکاف بین دو سر عصب، تشکیل عروق خونی

جدید و در نهایت بازسازی عصب می‌باشد (۱۵).  
بیشترین سلول‌هایی که در بازسازی اعصاب محیطی نقش دارند سلول‌های شوان هستند. عملکرد اصلی این سلول‌ها حمایت از رشد آکسون‌ها با ساختن غلاف میلین، تولید فاکتورهای نوروتروفیک مانند فاکتور رشد عصب و از بین بردن باقی مانده‌های اسکار می‌باشد. همچنین سلول‌های شوان با تولید غشاء پایه‌ای که حاوی پروتئین‌های ماتریکس خارج سلولی مانند کلاژن و لامینین می‌باشد، می‌توانند بستر بیولوژیک مناسبی را برای پیش برد رشد آکسونی فراهم کنند (۱۸-۱۶).

در مطالعات مختلف اثر پیوند سلول‌های شوان بر رشد آکسون‌ها مورد بررسی قرار گرفته است (۱۵، ۱۷ و ۱۹)، اما مقایسه زیادی بین پیوند این سلول‌ها با روش اتوگرافت صورت نگرفته، به طوری که هنوز سلول درمانی نتوانسته جایگزین روش معمول و متداول اتوگرافت گردد. با توجه به اهمیت و نقش سلول‌های شوان در ترمیم اعصاب محیطی، در این پژوهش تأثیر پیوند سلول‌های شوان با مدل اتوگرافت در بازسازی بافت اعصاب محیطی رت مورد بررسی قرار گرفته است.

## مواد و روش‌ها

در این مطالعه از ۲۰ سر رت نر بالغ نژاد ویستار به وزن ۲۵۰-۳۰۰ گرم استفاده شد. آب و غذا بدون محدودیت در اختیار رت‌ها قرار گرفت و به صورت تصادفی به سه گروه تقسیم شدند: گروه کنترل (n=۶)، گروه پیوند سلول‌های شوان (n=۸) و گروه مدل اتوگرافت (n=۶). همه آزمایش‌ها مطابق با راهنمای مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی و دستورالعمل کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی ایران در این دانشگاه انجام شده

سیستم اعصاب محیطی دارای توانایی ذاتی برای ترمیم می‌باشد که متأسفانه در بسیاری از موارد این بازسازی کافی نبوده و می‌تواند منجر به ناتوانی گردد (۱).

آسیب اعصاب محیطی یکی از مشکلات جامعه امروزی است که حدود ۲/۸ درصد از بیماران ترومایی را شامل می‌شود (۲ و ۳). اگر چه راه‌های درمانی متفاوتی وجود دارد ولی اکثر صدمات به واسطه تکنیک‌های جراحی که شامل بخیه کردن دو انتهای عصب قطع شده به یکدیگر و یا اتوگرافت می‌باشد، درمان می‌شود (۴). بخیه کردن دو انتهای عصب قطع شده در صورت له شدن و زیاد بودن فاصله دو انتهای عصب امکان‌پذیر نیست، بنابراین روش درمانی اتوگرافت به عنوان تکنیک استاندارد در پیوند اعصاب محیطی به کار می‌رود (۵ و ۶). در روش اتوگرافت، فاصله ایجاد شده بین دو سر عصب را با عصب دیگری از خود فرد پر می‌کنند تا بتواند به عنوان هدایت کننده آکسون‌های انتهای پروگزیمال، باعث ترمیم عصب آسیب دیده شود. با وجود همه مزایایی که روش اتوگرافت دارد، متأسفانه به دلیل مشکلاتی از قبیل عدم تطابق اندازه بین عصب دهنده و گیرنده (۷)، نیاز به دو یا سه مرحله جراحی (۸) و از بین رفتن حس یا حرکت در محل عصب دهنده، استفاده از این روش با محدودیت روبروست. بنابراین با توجه به مشکلات ذکر شده و تهاجمی بودن روش اتوگرافت، نیاز به روش‌های جایگزین وجود دارد (۹-۱۱). یکی از روش‌هایی که اخیراً مورد توجه قرار گرفته، سلول درمانی در پیوند اعصاب محیطی است که با استفاده از لوله‌های هدایت کننده عصب، می‌توان رشد آکسون‌ها و در نتیجه ترمیم عصب را فراهم نمود (۱۲-۱۴). هدف از سلول درمانی، فراهم کردن محیط مناسب جهت القاء رشد آکسون‌ها،

درجه سانتی‌گراد قرار داده شد، بعد از شستشو با PBS، به مدت ۳۰ دقیقه با Goat anti-rabbit cyanine 3.18-labelled IgG در دمای اتاق قرار گرفت. سپس سلول‌ها مجدداً شستشو شد، در طول موج ۴۹۰ نانومتر با میکروسکوپ فلورسنت مشاهده شد (۱۷).

### روش جراحی

رت‌ها با تزریق داخل صفاقی کتامین (۸۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) و گزیلازین (۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) بیهوش شدند، پس از باز کردن پوست ران سمت چپ، عضلات خلف فمور از هم تفکیک گشت تا عصب سیاتیک نمایان شود. سپس در گروه کنترل، یک قطعه ۱۰ میلی‌متری از قسمت میانی عصب سیاتیک برداشته شد و به جای آن یک لوله سیلیکونی به طول ۱۲ میلی‌متر که حاوی ژل فیبرین بود قرار داده شد. دو انتهای پروگزیمال و دیستال عصب با نخ ۰-۱۰ به لوله سیلیکونی بخیه شد و ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت به داخل لوله تزریق گردید. در گروه پیوند سلول‌های شوان، حدود ۵۰۰۰۰۰ سلول همراه با ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت به داخل لوله سیلیکون تزریق شد (۱۵) و (۱۷). و در گروه مدل اتوگرافت، پس از خارج کردن قطعه ۱۰ میلی‌متری عصب، آن را معکوس نمودیم و به صورت برعکس به دو انتهای پروگزیمال و دیستال عصب بخیه شد (۲۰ و ۲۱).

### بررسی بافت‌شناسی عصب با میکروسکپ نوری

۱۲ هفته پس از جراحی، رت‌ها را کشته، عصب بازسازی شده در لوله سیلیکون و در مدل اتوگرافت

است و کلیه مواد مصرفی آزمایشگاهی ساخت شرکت سیگما آلدریچ بوده است.

### استخراج و کشت سلول‌های شوان

برای تهیه سلول‌های شوان، یک رت نر بالغ نژاد ویستار با کتامین و گزیلازین بیهوش شد، پس از باز کردن ناحیه ران، عصب سیاتیک خارج گشت و در یک ظرف حاوی PBS<sup>۱</sup> (Phosphate Buffered Saline) و آنتی‌بیوتیک قرار داده شد. بعد از خارج نمودن اپی نوربوم، عصب قطعه قطعه گشته، به یک ظرف حاوی (FBS)<sup>۲</sup> ۱۰ درصد، دیسپاز ۱/۲۵ درصد و کلاژناز ۰/۰۵ درصد منتقل شد و به مدت سه ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس سوسپانسیون سلولی سانتریفوژ گردید، محلول بالایی برداشته شد و پلت باقی مانده توسط محیط کشت شستشو داده شد و داخل فلاسک حاوی محیط کشت (DMEM)<sup>۳</sup>، FBS و آنتی‌بیوتیک (پنیسیلین/استرپتومایسین) در انکوباتور قرار گرفت. چهار روز پس از کشت اولیه، (Ara-C)<sup>۴</sup> به مدت سه روز به محیط کشت اضافه گردید. سلول‌های چسبیده سه بار پاساژ داده و آماده پیوند شدند (۱۷).

### ایمونوسیتوشیمی سلول‌های شوان

برای تأیید سلول‌های شوان، سلول‌هایی که با PBS شستشو داده شده به مدت ۱۵ دقیقه در پارافرمالدهید ۴ درصد فیکس گشت و به مدت ۳۰ دقیقه در PBS محتوی Triton X ۰/۳ درصد و Normal goat serum ۱ درصد قرار گرفتند. سپس به مدت ۶۰ دقیقه با آنتی‌بادی آنتی S۱۰۰ در دمای ۳۷

<sup>۳</sup> Dulbecco's modified eagle medium (DMEM)

<sup>۴</sup> Arabinoside Cytosin

<sup>۱</sup> Phosphate Buffered Saline

<sup>۲</sup> Fetal bovine serum

میکروسکپ الکترونی ترانس‌میشن (TEM) مورد بررسی قرار گرفت (۹ و ۲۲).

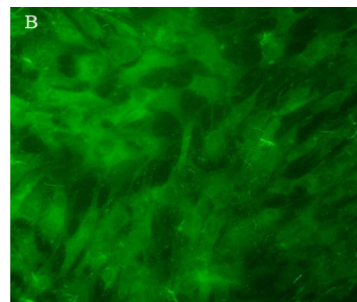
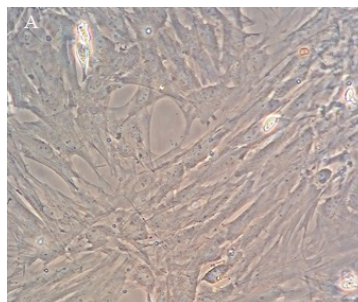
### تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل نتایج با استفاده از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۱۶ صورت گرفت. برای آنالیز داده‌ها از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و در ادامه آزمون تعقیبی Tukey استفاده گردید. داده‌های به دست آمده به صورت انحراف معیار  $\pm$  میانگین، بیان و  $P < 0.05$  از لحاظ آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

### یافته‌ها

#### کشت و تأیید سلول‌های شوان

سلول‌های شوان به کف فلاسک‌های کشت سلول چسبیده، ظاهری دوکی شکل و کشیده داشته و نحوه قرارگیری آنها به صورت کنار هم یا اتصال انتهایها به یکدیگر بود (شکل ۱A). در بررسی با میکروسکوپ فلورسنت مشخص شد که این سلول‌ها پروتئین S100 را بیان کرده و ماهیت سلول‌های شوان را دارند (شکل ۱B).



شکل ۱) سلول‌های شوان (A) (Scale bar=100  $\mu$ m). سلول‌های شوان کشت داده شده در پاساژ ۲ به صورت کشیده و دوکی شکل با میکروسکوپ اینورت مشاهده می‌شود (پیکان‌ها). (B) بیان پروتئین S100 توسط سلول‌های شوان با میکروسکوپ فلورسنت مشاهده می‌شود (پیکان‌ها)

رشد کرده، داخل لوله و اپی نوریوم را پر کرده‌اند و از انتهای پروگزیمال به انتهای دیستال رسیده‌اند، اما قطر عصب بازسازی شده در گروه کنترل باریک‌تر از

خارج گشت و در گلو تار آلد‌هید ۲/۵ درصد و تتر اکسید سمیوم ۲ درصد فیکس شد. پس از آبگیری و قالب‌گیری در رزین، برش‌های ۷۰۰ نانومتری از عصب با استفاده از اولترا میکروتوم تهیه و با تولوئیدین بلو رنگ‌آمیزی گردید. سپس با میکروسکوپ نوری تعداد آکسون‌ها و تعداد عروق خونی بازسازی شده، مطابق روش چن (Chen) و همکاران، به صورت تصادفی در سطحی از مقطع عصب به وسعت  $60 \times 80$  میکرومتر مربع با بزرگ‌نمایی ۴۰۰ برابر شمارش شد و سپس کل تعداد آکسون‌ها و عروق خونی در هر عصب تخمین زده شد و میانگین هر گروه به دست آمد (۲۲).

#### بررسی بافت‌شناسی عصب با میکروسکپ الکترونی

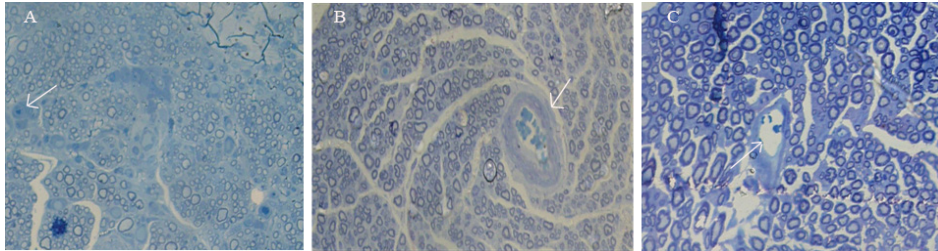
با استفاده از نمونه‌های قالب‌گیری شده در رزین، برش‌های ۷۰ نانومتری نیز از عصب تهیه شد. برش‌ها به گریدهای ۳۰۰ مش منتقل شد و با اورانیل استات ۵ درصد به مدت ۱۵ دقیقه و با سیترات سرب به مدت ۲۰ دقیقه رنگ‌آمیزی گردید. سپس میزان ضخامت غلاف میلین آکسون‌های بازسازی شده با استفاده از

#### یافته‌های بافت‌شناسی عصب

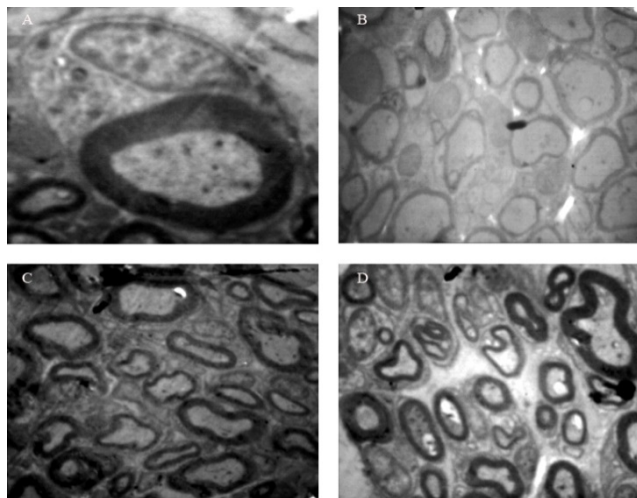
۱۲ هفته پس از پیوند، بعد از باز کردن لوله سیلیکون و مدل اتوگرافت مشاهده شد که در همه گروه‌ها آکسون‌ها

شده بود (شکل ۲)؛ و نتایج میکروسکوپ الکترونی شامل میزان ضخامت غلاف میلین آکسون‌ها بود (شکل ۳).

گروه‌های تجربی بود. ارزیابی بافت‌شناسی عصب سیاتیک بازسازی شده با استفاده از میکروسکوپ نوری و الکترونی صورت گرفت. نتایج میکروسکوپ نوری شامل تعداد آکسون‌ها و تعداد عروق خونی بازسازی



شکل ۲) تصاویر میکروسکوپ نوری از برش عرضی عصب سیاتیک ترمیم شده، ۱۲ هفته پس از پیوند با رنگ‌آمیزی تولوئیدین بلو (Scale bar=۵۰µm). گروه کنترل، (B) گروه پیوند سلول‌های شوان، و (C) گروه مدل اتوگرافت. پیکان‌های سفید نشان دهنده عروق خونی بازسازی شده و پیکان‌های مشکی نشان دهنده آکسون‌های بازسازی شده در عصب می‌باشد.



شکل ۳) تصاویر میکروسکوپ الکترونی از ضخامت غلاف میلین در برش‌های عرضی عصب سیاتیک بازسازی شده، ۱۲ هفته پس از پیوند. (A) یک سلول شوان (پیکان مشکی) به همراه آکسون میلینه شده (پیکان سفید) (Scale bar= ۰/۲ µm)، (B) غلاف میلین آکسون‌های بازسازی شده در گروه کنترل (پیکان‌ها) (Scale bar=۰/۷µm)، (C) غلاف میلین آکسون‌های بازسازی شده در گروه پیوند سلول‌های شوان (پیکان‌ها) (Scale bar=۰/۷µm)، و (D) غلاف میلین آکسون‌های بازسازی شده در گروه مدل اتوگرافت (پیکان‌ها) (Scale bar=۰/۷µm).

در گروه پیوند سلول‌های شوان به طور معنی‌داری بالاتر از سایر گروه‌ها بوده و بین گروه‌های کنترل و مدل اتوگرافت تفاوت معنی‌داری از نظر تعداد عروق خونی وجود نداشته است (جدول ۱). بررسی و مقایسه ضخامت غلاف میلین در آکسون‌های بازسازی شده نشان داد در گروه مدل

بررسی آکسون‌ها نشان داد، تعداد آکسون‌ها در گروه مدل اتوگرافت به طور معنی‌داری بالاتر از سایر گروه‌ها بوده و در گروه پیوند سلول‌های شوان به طور معنی‌داری بالاتر از گروه کنترل بوده است (جدول ۱). با شمارش عروق خونی تشکیل شده در عصب مشخص شد تعداد عروق خونی

اتوگرافت ضخامت غلاف میلین به طور معنی‌داری بالاتر از سایر گروه‌ها بوده و در گروه سلول‌های شوان به طور معنی‌داری بالاتر از گروه کنترل بوده است (جدول ۱) ( $P < 0.05$ ).

جدول ۱) میانگین نتایج ارزیابی بافت‌شناسی عصب سیاتیک بین گروه‌های کنترل، پیوند سلول‌های شوان و مدل اتوگرافت، ۱۲ هفته پس از پیوند

گروه	تعداد آکسون‌ها	تعداد عروق خونی	ضخامت غلاف میلین (میکرومتر)
کنترل	۵۴۶/۸۵±۳۸	۳۴/۶۷±۵	۰/۸۲±۰/۱۲
پیوند سلول‌های شوان	۱۹۷۷/۶۷±۸۷*	۶۲/۳۴±۱۶*	۱/۴۳±۰/۲۳*
مدل اتوگرافت	۲۵۶۰/۱۴±۱۷۴*	۳۹/۱۵±۶	۱/۸۵±۰/۱۵*

\* اختلاف معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل ( $P < 0.05$ )

## بحث

آسیب اعصاب محیطی یکی از علل ناتوانی‌های مزمن محسوب می‌شود. سیستم اعصاب محیطی پتانسیل ترمیم را دارد اما این توانایی محدود است به همین دلیل در آسیب اعصاب محیطی از پیوند عصب استفاده می‌شود. معمول‌ترین و متداول‌ترین روش پیوند عصب، روش اتوگرافت است که عصب دیگری را از خود بیمار برداشته، به عنوان هدایت‌کننده عصب آسیب دیده به کار می‌برند (۱۱، ۲۳ و ۲۴). با وجود مزایایی که روش اتوگرافت دارد، اما فقط ۵۰ درصد بیماران به طور کامل بهبود می‌یابند (۲۵)، به همین دلیل روش‌های دیگری برای جایگزینی اتوگرافت مورد مطالعه قرار گرفته‌اند که از جمله این روش‌ها سلول درمانی است و بیشترین سلول‌هایی که مورد توجه قرار دارند سلول‌های بنیادی و سلول‌های شوان هستند (۱۵، ۲۶ و ۲۷). با توجه به اینکه سلول درمانی هنوز نتوانسته جایگزین روش متداول اتوگرافت شود و با در نظر گرفتن نقش مستقیم و ضروری سلول‌های شوان در بازسازی اعصاب محیطی پس از آسیب، در این مطالعه اثرات پیوند سلول‌های شوان را با مدل اتوگرافت در بازسازی بافت اعصاب محیطی رت مورد بررسی و مقایسه قرار دادیم.

مطالعات مختلف نشان داده‌اند که پیوند سلول‌های شوان می‌تواند باعث بهبود روند ترمیم اعصاب محیطی گردد (۲۸). در این مطالعه ما سلول‌های شوان را کشت داده، با استفاده از آنتی‌بادی آنتی S۱۰۰ ماهیت سلول‌های شوان را مورد تأیید قرار دادیم که یافته‌ها در تأیید سایر گزارش‌ها می‌باشد (۱۵، ۱۷ و ۲۹). حضور سلول‌های شوان برای بهبود آسیب اعصاب محیطی ضروری است. در اثر دژنراسیون والرین، سلول‌های شوان فعال شده، فاکتورهای رشد که برای بازسازی آکسون‌ها لازم است را ترشح کرده و محیط مناسب برای ترمیم آکسون‌ها را ایجاد می‌کنند. از جمله این فاکتورها NT3، CNTF، GDNF، BDNF، NGF و VEGF می‌باشد که نقش مهمی در زنده ماندن و تکثیر آکسون‌ها دارند (۳۰ و ۳۱). به علاوه سلول‌های شوان با ایمونوگلوبولین‌هایی مانند پروتئین صفر، کادهرین و پروتوکادهرین‌ها باعث طویل شدن و جوانه زدن آکسون‌ها می‌شوند. همچنین این سلول‌ها با تولید ترکیبات غشای پایه، مانند کلاژن نوع چهارم و لامینین نقش مهمی در بازسازی عصب آسیب دیده ایفا می‌کنند. با توجه به مطالب عنوان شده به نظر می‌رسد پیوند سلول‌های شوان به محل ضایعه اعصاب محیطی

VEGF توسط این سلول‌ها بوده است که در تأیید سایر مطالعات می‌باشد (۳۳-۳۵).

برای بازسازی اعصاب محیطی آسیب دیده، پیوندهای مختلفی از جمله پیوند سلول‌های شوان، سلول‌های بنیادی، فاکتورهای رشد عصب و استفاده از لوله‌های هدایت کننده مختلف مورد مطالعه قرار گرفته است (۶).

#### نتیجه‌گیری

در پژوهشی که ما انجام دادیم، مشخص شد پیوند سلول‌های شوان توانایی بهبود بازسازی اعصاب محیطی را دارند و احتمالاً می‌تواند جایگزین مناسبی برای روش مرسوم اتوگرافت شود. شاید اگر در مطالعات بعدی تعداد بیشتری سلول شوان در محل آسیب تزریق گردد، یا تعداد دفعات تزریق بیشتر شود و یا از ترکیب روش‌ها استفاده گردد نتایج مطلوب‌تری به دست آید.

#### سپاس و قدردانی

این پژوهش بخشی از پایان نامه دانشجویی است که در گروه علوم تشریح دانشگاه علوم پزشکی ایران انجام گرفته و هزینه آن توسط معاونت پژوهشی آن دانشگاه تأمین شده است. بدین وسیله از کلیه اساتید و کارکنان گروه علوم تشریح دانشگاه علوم پزشکی ایران تقدیر و تشکر می‌شود.

#### تضاد منافع

هیچ گونه تضاد منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.

می‌تواند سبب بهبود مؤثر آسیب گردد (۱۷ و ۲۵).

نتایج بافت‌شناسی این پژوهش پس از ۱۲ هفته، نشان دهنده نقش مؤثر پیوند حدود پانصد هزار سلول شوان در بازسازی آکسون‌ها و غلاف میلین در مقایسه با گروه کنترل بود، که احتمالاً به دلیل نقش مستقیم و ضروری این سلول‌ها در بازسازی اعصاب محیطی از جمله تولید فاکتورهای رشد نام برده شده توسط این سلول‌ها می‌باشد و این یافته در تأیید سایر گزارش‌هاست (۱۵، ۱۷، ۲۸ و ۲۹). در گروه مدل اتوگرافت، بازسازی آکسون‌ها و ضخامت غلاف میلین به طور معنی‌داری مطلوب‌تر از گروه پیوند سلول‌های شوان و گروه کنترل بود که این یافته با سایر گزارش‌ها مطابقت دارد (۲۰). همان‌طور که در گزارش‌های مختلف، از پیوند اتوگرافت به عنوان تکنیک استاندارد طلایی برای آسیب اعصاب محیطی نام برده می‌شود، در همان گزارش‌ها لزوم دستیابی به روش‌های جایگزین هم عنوان می‌شود که مهم‌ترین دلایل آن، محدودیت عصب‌های دهنده در بدن بیمار، عدم هماهنگی قطر عصب دهنده و عصب آسیب دیده و از بین رفتن حس یا حرکت در قسمت‌هایی که عصب دهنده از آنجا برداشته می‌شود، می‌باشد (۶ و ۳۲). همچنین بررسی تعداد عروق خونی بازسازی شده در عصب نشان داد، عروق خونی در گروه پیوند سلول‌های شوان به طور معنی‌داری بیشتر از سایر گروه‌ها بوده است. از آنجایی که سلول‌های شوان توانایی تولید VEGF را دارند و با توجه به اینکه VEGF باعث افزایش آنژیوژنیز می‌گردد، احتمالاً بیشتر بودن تعداد عروق خونی ترمیم شده به دلیل ترشح

#### References:

1. Martens W, Sanen K, Georgiou M, et al. Human dental pulp stem cells can differentiate into Schwann cells and promote and guide

neurite outgrowth in an aligned tissue-engineered collagen construct in vitro. *Faseb J* 2014; 28(4): 1634-43.

2. Belkas JS, Shoichet MS, Midha R. Peripheral nerve regeneration through tubes. *Neurol Res* 2004; 26(2): 151-60.
3. Sadeghi M, Manaheji H, Haghparast A, et al. Study of the effect of GABAA receptors and glial inhibition on behavioral responses in CCI model of neuropathic pain in rat. *Iran South Med J* 2015; 17(6): 1120-34. (Persian)
4. Pereira Lopes FR, Lisboa BC, Frattini F, et al. Enhancement of sciatic nerve regeneration after vascular endothelial growth factor (VEGF) gene therapy. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2011; 37(6): 600-12.
5. Moges H, Wu X, McCoy J, et al. Effect of 810 nm light on nerve regeneration after autograft repair of severely injured rat median nerve. *Lasers Surg Med* 2011; 43(9): 901-6.
6. Arslantunali D, Dursun T, Yucel D, et al. Peripheral nerve conduits: technology update. *Med Devices (Auckl)* 2014; 7: 405-24.
7. Daly WT, Knight AM, Wang H, et al. Comparison and characterization of multiple biomaterial conduits for peripheral nerve repair. *Biomaterials* 2013; 34(34): 8630-9.
8. Tseng TC, Yen CT, Hsu SH. Visualization of peripheral nerve regeneration. *Neural Regen Res* 2014; 9(10): 997-9.
9. Wang D, Liu XL, Zhu JK, et al. Bridging small-gap peripheral nerve defects using acellular nerve allograft implanted with autologous bone marrow stromal cells in primates. *Brain Res* 2008; 1188: 44-53.
10. Bellamkonda RV. Peripheral nerve regeneration: an opinion on channels, scaffolds and anisotropy. *Biomaterials* 2006; 27(19): 3515-8.
11. Ishikawa N, Suzuki Y, Dezawa M, et al. Peripheral nerve regeneration by transplantation of BMSC-derived schwann cells as chitosan gel sponge scaffolds. *J Biomed Mater Res A* 2009; 89(4): 1118-24.
12. Shimizu S, Kitada M, Ishikawa H, et al. Peripheral nerve regeneration by the in vitro differentiated-human bone marrow stromal cells with schwann cell property. *Biochem Biophys Res Commun* 2007; 359: 915-20.
13. Rodrigues MC, Rodrigues AA Jr, Glover LE, et al. Peripheral nerve repair with cultured schwann cells: getting closer to the clinics. *ScientificWorld Journal* 2012; 2012: 413091.
14. Hsu SH, Kuo WC, Chen YT, et al. New nerve regeneration strategy combining laminin-coated chitosan conduits and stem cell therapy. *Acta Biomater* 2013; 9(5): 6606-15.
15. Zarbakhsh S, Moradi F, Joghataie MT, et al. Evaluation of the functional recovery in sciatic nerve injury following the co-transplantation of schwann and bone marrow stromal stem cells in rat. *Basic Clin Neurosci* 2013; 4(4): 291-8.
16. Dai LG, Huang GS, Hsu SH. Sciatic nerve regeneration by cocultured Schwann cells and stem cells on microporous nerve conduits. *Cell Transplant* 2013; 22(11): 2029-39.
17. Zarbakhsh S, Bakhtiari M, Faghihi A, et al. The effects of Schwann and bone marrow stromal stem cells on sciatic nerve injury in rat: A comparison of functional recovery. *Cell J* 2012; 14(1): 39-46.
18. Berrocal YA, Almeida VW, Gupta R, et al. Transplantation of schwann cells in a collagen tube for the repair of large, segmental peripheral nerve defects in rats. *J Neurosurg* 2013; 119(3): 720-32.
19. Zhang P, Lu X, Chen J, Chen Z. Schwann cells originating from skin-derived precursors promote peripheral nerve regeneration in rats. *Neural Regen Res* 2014; 9(18): 1696-702.
20. Guenard V, Kleitman N, Morrissey TK, et al. Syngeneic schwann cells derived from adult nerves seeded in semipermeable guidance channels enhance peripheral nerve. *J Neurosci* 1992; 12(9): 3310-20.
21. Braga-Silva J, Gehlen D, Roman JA, et al. Bone marrow stem cells and platelet-rich plasma effects on nervous regeneration and functional recovery in an acute defect model of rats' peripheral nerve. *Acta Ortop Bras* 2006; 14(5): 273-5.
22. Chen CJ, Ou YC, Liao SL, et al. Transplantation of bone marrow stromal cells for peripheral nerve repair. *Exp Neurol* 2007; 204(1): 443-53.
23. Murakami T, Fujimoto Y, Yasunaga Y, et al. Transplanted neuronal progenitor cells in a peripheral nerve gap promote nerve repair. *Brain Res* 2003; 974(1-2): 17-24.



24. Ao Q, Fung CK, Tsui AY, et al. The regeneration of transected sciatic nerves of adult rats using chitosan nerve conduits seeded with bone marrow stromal cell-derived Schwann cells. *Biomaterials* 2011; 32(3): 787-96.
25. de Luca AC, Lacour SP, Raffoul W, et al. Extracellular matrix components in peripheral nerve repair: how to affect neural cellular response and nerve regeneration. *Neural Regen Res* 2014; 9(22): 1943-8.
26. Uccelli A, Benvenuto F, Laroni A, et al. Neuroprotective features of mesenchymal stem cells. *Best Pract Res Clin Haematol* 2011; 24(1): 59-64.
27. Ladak A, Olson J, Tredget EE, et al. Differentiation of mesenchymal stem cells to support peripheral nerve regeneration in a rat model. *Exp Neurol* 2011; 228(2): 242-52.
28. Goulart CO, Jurgensen S, Souto A, et al. A combination of Schwann-cell grafts and aerobic exercise enhances sciatic nerve regeneration. *PLoS One* 2014; 9(10): e110090.
29. Haastert K, Lipokatic E, Fischer M, et al. Differentially promoted peripheral nerve regeneration by grafted Schwann cells over-expressing different FGF-2 isoforms. *Neurobiol Dis* 2006; 21(1): 138-53.
30. Feng SQ, Zhou XF, Rush RA, et al. Graft of pre-injured sural nerve promotes regeneration of corticospinal tract, and functional recovery in rats with chronic spinal cord injury. *Brain Res* 2008; 1209: 40-8.
31. Hoyng SA, De Winter F, Gnani S, et al. A comparative morphological, electrophysiological and functional analysis of axon regeneration through peripheral nerve autografts genetically modified to overexpress BDNF, CNTF, GDNF, NGF, NT3 or VEGF. *Exp Neurol* 2014; 261: 578-93.
32. Gerth DJ, Tashiro J, Thaller SR. Clinical outcomes for Conduits and Scaffolds in peripheral nerve repair. *World J Clin Cases* 2015; 3(2): 141-7.
33. Liu Z, Huang L, Liu L, et al. Activation of Schwann cells in vitro by magnetic nanocomposites via applied magnetic field. *Int J Nanomedicine* 2014; 10: 43-61.
34. Wang Y, Zhang G, Hou Y, et al. Transplantation of microencapsulated Schwann cells and mesenchymal stem cells augment angiogenesis and improve heart function. *Mol Cell Biochem* 2012; 366(1-2): 139-47.
35. Fan L, Yu Z, Li J, et al. Schwann-like cells seeded in acellular nerve grafts improve nerve regeneration. *BMC Musculoskelet Disord* 2014; 15: 165.

Original Article

# The Comparison of Schwann Cells Transplantation Effect with Autograft Model in Peripheral Nerve Regeneration in Animal Model

S. Zarbakhsh<sup>1\*</sup>, N. Khanmohammadi<sup>1</sup>, M. Bakhtiari<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Research Center of Nervous System Stem Cells, Dept. of Anatomy, School of Medicine, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran

<sup>2</sup> Department of Anatomy, School of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

(Received 17 Aug, 2015

Accepted 23 Nov, 2015)

## Abstract

**Background:** Transplantation of Schwann cells can facilitate the regeneration of peripheral nerves. The aim of this study was to comparison of Schwann cells transplantation effect with autograft model in peripheral nerve regeneration in animal model.

**Materials and Methods:** 20 male Wistar rats were randomly were divided into 3 groups: control, Schwann cells transplantation and autograft model. In the control group, a 10 mm segment of the left sciatic nerve was removed and a silicone tube replaced into this nerve gap. In the Schwann cells transplantation group, after placing the silicone tube were transplanted into the tube about 500,000 Schwann cells. In the autograft model group, 10 mm segment of the left sciatic nerve is removed and it was implanted to the two nerve endings after reversing. 12 weeks after surgery we evaluated the number of axons, the number of blood vessels and the restored myelin sheath thickness.

**Results:** Histological analysis by using one way ANOVA showed that the number of axons and the thickness of myelin sheath in autograft model group was significantly greater than the other groups, and in the Schwann cells transplantation group was significantly greater than the control group. Moreover, the number of restored blood vessels in the Schwann cells transplantation group was significantly greater than the other groups ( $P < 0.05$ ).

**Conclusion:** The results show that Schwann cells transplantation is effective in peripheral nerve regeneration and it may be a good alternative to autograft method.

**Key word:** Autograft, Schwann cells, transplantation, peripheral nerve

©Iran South Med J. All rights reserved.

*Cite this article as: Zarbakhsh S, Khanmohammadi N, Bakhtiari M. The Comparison of Schwann Cells Transplantation Effect with Autograft Model in Peripheral Nerve Regeneration in Animal Model. Iran South Med J 2016; 19(5): 799-808.*

Copyright © 2016 Zarbakhsh, et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-noncommercial 4.0 International License which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cited.

\*Address for correspondence: Research Center of Nervous System Stem Cells, Dept. of Anatomy, school of Medicine, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran. Email: smzarbakhsh@gmail.com

Website: <http://bpums.ac.ir>  
Journal Address: <http://ismj.bpums.ac.ir>