● مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل، سال ششم، شمارهٔ ۲ (پی‌درپی ۲۲)، صفحه ۳۵ الی ۳۸، بهار ۱۳۸۳
دریافت:۸۱/٤/۹، پذیرش: ۸۳/۱/۲۰

تاثیر قطع عصب بر بافت مغز استخوان در موش صحرایی

دکتر سیدغلامعلی جورسرایی[۱*]، دکتر محسن پورقاسم[۱]، مهدی شریعتی [۲]
۱- استادیار گروه علوم تشریح دانشگاه علوم پزشکی بابل ۲- عضو هیئت علمی دانشکده پزشکی رفسنجان

سابقه و هدف: مغز استخوان به دلیل خونسازی، از اهمیت خاصی برخوردار می باشد. هرگونه تغییر در روند فیزیولوژی آن مثل کم خونی آپلاستیک، تهاجم عوامل عفونت زا و تومورهای مغز استخوان باعث عوارض سیستمیک وسیعی در بدن می شود. یکی از عواملی که به نظر می رسد عمل مغز استخوان را متأثر سازد، قطع عصب آن است.
مواد و روشها: اعصاب محیطی فمورال و سیاتیک به ترتیب در زیر رباط اینگوئینال و نزدیک سوراخ سیاتیک بزرگ در پای راست رت ها قطع گردید. در فواصل زمانی ۲، ۸ و ۱۲ هفته بعد از قطع، از مغز استخوان تیبیای راست نمونه برداری شد. سپس با استفاده از سه نوع رنگ آمیزی هماتوکسین ائوزین، تری کروم ماسون و تولوئیدین بلو و به روش مورفومتری، تغییرات مغز استخوان، اندازه و تعداد سلولهای آن مورد بررسی کمی و کیفی قرار گرفت.
یافته‌ها: بعد از دو هفته از قطع عصب، هسته سلولها متراکم تر شده و جریان خون درمغز استخوان افزایش یافت. اندازه و تعداد سلولها کاهش معنی داری نشان داد که در گروههای دیگر با توجه به گذشت زمان تشدید شد. از هفته هشتم، کاهش حالت متاکرومازی و افزایش کلاژن در مغز استخوان دیده شد که نشان از فیبریلاسیون زمینه بافت می نمود.
نتیجه‌گیری: متراکم تر شدن هسته و کاهش در اندازه و تعداد سلولها می تواند ناشی از کاهش فعالیت آنها در اثر قطع عصب باشد. بدنبال قطع عصب و تغییر متابولیسم سلول در نهایت turn over بافت، مختل شده که تغییرات کمی را به صورت کاهش در تعداد و اندازه سلولها نشان داد.
واژه‌های کلیدی: *قطع عصب، بافت مغز استخوان، رت.*

مقدمه

مغز استخوان، بافت تخصص یافته ای است که در هنگام تولد در اکثر استخوانهای بدن وجود دارد که بتدریج در بعضی از استخوانها، مثل استخوانهای دراز، جای خود را به بافت چربی داده و خونسازی فقط محدود به استخوانهای خاصی مثل دنده ها، جناغ و استخوانهای پهن می گردد. حدود یازده درصد از خون خروجی قلب به سمت بافت های استخوانی می رود که نشان از فعالیت بالای این بافت، مخصوصاً مغز آن دارد(۱). قطع عصب باعث گشاد شدن عروق خونی شده که خود می تواند جریان خون بافت مربوطه را افزایش دهد که این مسئله در بافت مغز استخوان، حداقل در روزهای اولیه اتفاق می افتد که باعث بهم خوردن تعادل فعالیت استئوکلاستها و استئوبلاستها شده که می تواند Remodeling استخوان را متأثر سازد(۳و۲)، مغز استخوان دارای سیستم اعصاب بوده ولی عمل آن هنوز بخوبی شناخته شده نیست(۴). اکثر بررسیهایی که در زمینه قطع اعصاب و اثر آن بر روی استخوان صورت پذیرفته، بر روی بافت استخوان آن، متمرکز بوده است(۳و۲). همچنین بی حرکتی ناشی از قطع اعصاب اندام تحتانی باعث آتروفی استخوان ها شده که نهایتاً حجم و وزن استخوانها کاهش می یابد، این مسئله در فلج اطفال بخوبی شناخته شده است(۵). اثرات قطع عصب بر روی مغز استخوان هنوز در هاله ای از ابهامات قرار دارد به همین دلیل معتقدند که قطع اعصاب باعث اختلال در

[DOR: 20.1001.1.15614107.1383.6.2.8.0]

عمل لنفوسیت های مغز استخوان شده (۴) و یا اینکه نوراپی نفرین باعث مهار میلیوپوئیزیس می شود(۶) باتوجه به عدم شناخت واکنش مغز استخوان به قطع اعصاب، این مطالعه، تغییرات کمی و کیفی سلولهای مغز استخوانی را نسبت به حالت قطع عصب بررسی میکند.

مواد و روشها

۴۲ سر رت نر از نژاد Wistar با وزنی حدود ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم انتخاب شده و به صورت تصادفی به سه گروه شاهد ۲، ۸ و ۱۲ هفته ای (N=۶) و سه گروه آزمایشی ۲، ۸ و ۱۲ هفته ای (N=۸) تقسیم گردیدند. در گروه آزمایشی، طی دو عمل جراحی همزمان و تحت بیهوشی عمومی با استفاده از تیوپنتال سدیم (40mg/kg) اعصاب سیاتیک و فمورال پای راست، بترتیب نزدیک سوراخ سیاتیک و زیر رباط اینگوئینال، قطع گردید. بعد از گذشت ۲، ۸ و ۱۲ هفته از قطع عصب و نگهداری رت ها در شرایط مناسب از بافت مغز استخوان تیبیای راست در گروههای آزمایشی و شاهد نمونه برداری صورت پذیرفته و در داخل فرمالین ده درصد نگهداری شدند. سپس نمونه ها با اسید نیتریک ۵ درصد دکلسیفیه شده و برای تهیه برشهای سریال، مراحل تهیه بافت به روش معمول بافت شناسی انجام پذیرفت. برشهای بافت، با استفاده از سه نوع رنگ آمیزی هماتوکسیلین ـ ائوزین، تری کروم ماسون و تولوئیدین بلو و به روش مورفومتری مورد بررسی کمی و کیفی قرار گرفتند. برای اندازه گیری قطر (دیامتر) و تعداد سلولها، بیست ناحیه در هر برش انتخاب گردید. قطر سلولها با استفاده از عدسی چشمی مدرج Eye piece محاسبه گردید.

این روش از ابتدای برش تا انتها به صورت سریال تکرار گردید. اندازه های بدست آمده از قطر سلولها، با هم مقایسه شدند. همچنین برای شمارش سلولهای مغز استخوان در واحد سطح از عدسی مدرج صد خانه ای استفاده شد. اندازه هر واحد برای قطر و یا شمارش، برای عدسی شئی 40x برابر با ۲/۷۵ میکرون می باشد. سپس داده ها با نرم افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته ها

مغز استخوان در گروههای شاهد:

بافت مغز استخوان دارای شبکه ای از بافت همبند سست بوده که متشکل از رشته رتیکولر می باشد. سلولهای اریتروسیت در سینوزوئیها قابل مشاهده اند. سیتوپلاسم اکثر سلولها، بازوفیل بوده و مگاکاریوسیت ها کاملاً واضح دیده می شوند. دیامتر سلولها نیز حالت طبیعی را نشان می دهد(جدول ۱).

جدول ۱. میانگین اندازه و تعداد نوتروفیلها، لنفوسیت ها، اریتروسیتها و مگاکاریوسیتها در دو گروه شاهد و آزمایش

		اندازه سلولها (میانگین)		تعداد سلولها (میانگین)	
زمان		گروه شاهد	گروه آزمایش	گروه شاهد	گروه آزمایش
هفته دوم					
	نوتروفیل	٤/٠٨	٤/٨٠	٢/٠٠	١/٥٦
	لنفوسیت	٤/١٨	٣/٩٤	١٤/٤٢	١١/٤٨
	اریتروسیت	–	–	١٢/٣٠	١٦/٢٠
	مگاکاریوسیت	١٨/٥٣	١٨/٤٠	٤/٠٢	١/٠٣
هفته هشتم					
	نوتروفیل	٣/٦٢	٣/٦٠	٧/١٢	٣/٩٤
	لنفوسیت	٣/٥٧	٣/٥١	١٤/٤٤	٧/٤٦
	اریتروسیت	–	–	١٢/٢٥	١٤/٥٤
	مگاکاریوسیت	١٩/٣٥	١٦/٥٥	٦/٢	١/٤
هفته دوازدهم					
	نوتروفیل	٤/١٢	٣/٨٣	٩/٤٩	٤/٧٨
	لنفوسیت	٣/٦٦	٣/٤٤	٢١/٤١	١٨/٨١
	اریتروسیت	–	–	٨/٦٥	١١/٠٦
	مگاکاریوسیت	١٨/٤١	١٨/٠٥	٥/٠٥	٤/٧٦

X=۴۰ **P<۰/۰۵**

[DOR: 20.1001.1.15614107.1383.6.2.8.0]

تغییرات بافت مغز استخوان، دو هفته بعد از فلجی

سیتوپلاسم تعدادی از سلولها، حالت اسیدوفیلی پیدا کرده و نسبت به حالت طبیعی، هسته ها متراکم تر شدند. افزایش جریان خون تا حدودی مشاهده گردید و اکثر سلولها، رنگ پریده بنظر می رسیدند، حفرات خالی افزایش یافت و ارتشاح خاصی (شبه هیالین) زمینه را فرا گرفته بود. اندازه و تعداد سلولهای تشکیل دهنده مغز استخوان کاهش یافت (جدول ۱).

تغییرات بافت مغز استخوان، هشت هفته بعد از فلجی

هسته نوتروفیلها و ائوزینوفیلها، کماکان تراکم بیشتری داشتند. در رنگ آمیزی با تولوئیدین بلو، زمینه بافت تا حدودی حالت رنگ لایت گرین را به خود گرفته بود. تعداد نوتروفیلها، لنفوسیتها و مگاکاریوسیت ها کاهش نشان داد.

تغییرات بافت مغز استخوان، دوازده هفته بعد از فلجی

بنظر می رسید که حفرات خالی بیشتر شدند. در رنگ آمیزی با تری کروم ماسون زمینه بافت، فیبریلاسیون بیشتری را نسبت به دفعات قبل نشان داد. اندازه و تعداد نوتروفیلها و لنفوسیت ها، بازهم کاهش را نشان می دادند.

بحث

مغز استخوان، بافتی است تخصصی که دارای عصب می باشد. لذا قطع آن، چنانکه در این تحقیق نیز دیده شد، می تواند آنرا متأثر سازد و در این مورد، گزارشات متعددی نیز وجود دارد (۷و۲و۱). عده ای معتقدند که روند خونسازی می تواند توسط سیتوکین ها و فاکتورهای نوروآندوکرین تنظیم شود(۸) لذا بعضی از این مواد مثل Neuro Kinin A (NKA) توسط انتهای اعصاب به داخل مغز استخوان آزاد می شود(۵). کاتکولامین ها نیز می توانند بر فعالیت مغز استخوان تأثیر بگذارند، زیرا قطع عصب سمپاتیک باعث کاهش سلولاریته مغز استخوانی می شود (۹) و این مسئله می تواند توجیه کننده کاهش تعداد سلولهای مغز استخوان در این بررسی باشد. از آنجائیکه با گذشت زمان، حفرات خالی در بافت مغز استخوان افزایش یافته است می تواند مؤید این مسئله باشد که سلولهای مغز استخوان، جای خود را به بافت چربی داده و با حل شدن چربی در روش معمولی تهیه بافت، جای خالی آن به شکل حفراتی دیده می شود. افزایش این حفرات می تواند دال بر کاهش فعالیت بافت مغز استخوان باشد. بنابراین بقای فعالیت طبیعی مغز استخوان، وابسته به حضور اعصاب می باشد که نقش آن می تواند شبیه نوروترفیک باشد زیرا وجود فیبرهای عصبی آدرنرژیک و پپتیدرژیک در مغز استخوان، نشان از تنظیم خونسازی توسط عصب را دارد (۷). عده ای بر این باورند که برای پرولیفراسیون و بلوغ لکوسیت ها، حضور فیبرهای وابران اعصاب سمپاتیک ضروری است(۱۰) و بعضی، با دید بیشتری معتقدند که برای فعالیت طبیعی مغز استخوان هر دو نوع الیاف آوران و وابران اعصاب سمپاتیک ضروری است(۱۱).

همچنین ممکن است در بیماران قطع نخاعی، اعمال لنفوسیت های مغز استخوان، در مناطق فلج شده کم شده و قطر سلولهای اجدادی خونساز، نیز کاهش یابد(۴)، که با نتایج بدست آمده در این تحقیق مطابقت دارد. در این مطالعه، تعداد سلولها و قطر آنها بعد از قطع عصب کاهش یافت و با گذشت زمان نیز روند کاهش، کماکان ادامه داشت. میزان جریان خون نیز در مغز استخوان تیبیای گروه آزمایش در طی هفته دوم، افزایش پیدا کرد که می تواند ناشی از حذف اثر مهاری سیستم سمپاتیک بر شریان مربوط به آن باشد که باعث پرخونی مغز استخوان گردیده است. ولی در گروههای آزمایش ۸ و ۱۲ هفته، میزان جریان خون با گروه شاهد تفاوتی نداشته است. این مسئله می تواند نشان دهندهٔ آن باشد که پس از یک مدت زمان معین، تطابق فیزیولوژیکی بوجود آمده و میزان جریان خون به حالت عادی بر می گردد(۲).

افزایش حالت اسیدوفیلی در سلولهای مغز استخوان، می تواند ناشی از کاهش ریبوزومها و پروتئینها باشد که حاکی از کاهش فعالیت سلولی است، از طرف دیگر ارتشاح خاصی زمینه بافت مغز استخوان را در گروه آزمایش در برگرفته که با گذشت زمان، افزایش می یابد و این مسئله می تواند ناشی از ترشح پیش سازهای الیاف کلاژن باشد که باعث فیبریله شدن بافت شده و دلیل آنرا رنگ پذیری بافت به لایت گرین می توان دانست و نمونه آن در رنگ آمیزی تری کروم ماسون، الیاف کلاژن هستند که به رنگ سبز در آمده اند. از آنجائیکه ثابت شده، بیحرکتی باعث تغییر در بافت استخوان می شود و استئوپروز نیز باعث بهم خوردن تعادل بین

[DOR: 20.1001.1.15614107.1383.6.2.8.0]

فعالیت استئوبلاستها و استئوکلاستها می گردد، این نظر قوت می گیرد که آیا این بیحرکتی و یا فلجی باعث تغییر در بافت مغز استخوان گردیده و یا اینکه قطع عصب، سبب اینگونه تغییرات شده است که احتیاج به بررسی بیشتری دارد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از استاتید محترم آقایان دکتر رامین آذر هوش و دکتر محمدرضا وفا و دانشجویان پزشکی آقایان مجید اسماعیلی و محمد قاسم روشنفکر تشکر و قدردانی می گردد

****

References

1. Iverson PO, Nicolaysen G, Benestand HB. The Leukopoietic cytokine colony stimulating factor increases blood flow to rat bone marrow. Exp Hematol 1993:21 (2), 231 – 5.

2. Sandhu HS, Herskouits A.KWS, Singh IJ. The early effects of surgical sympathectomy on bone resorption in the rat Incisor socket. Arches Oral Bio 1990; 35(12): 1003-7.

3. Irie K, Hara–Irie F, Ozawa H, Yajima T. Calcitonin gene related peptide (CG-RP) Containing nervous in bone tissue and their involvement in bone remodeling. Microsc Res Tech 2002; 58(2) : 85 – 90.

4. Iversen PO, Hjeltens N, Holm B, Flatebo T, Strom Gundersen I, Ronning W, Stanghelle J, Benestad HB. Depressed immunity and impaired proliferation of hematopoietic progenitor cells in patients with complete spinal cord injury. Blood 2000; 96 (6) : 2081 – 3.

5. Shimizu T, Ishoguro N, Miura T. The effect of calcitonin on osteoporosis of the rat hind limb induced by denervation and isograft transplantation: J Recons Micros 1992; 8(1): 41-5.

6. Miyan JA, Broome CS, Whetton AD. Neural regulation of bone marrow. Blood 1998; 92(8): 2971-2.

7. Tabarowski Z, Gibson Berry K, Felten SY. Noradrenergic and peptidergic innervation of the mouse femur bone marrow. Acta Histochem 1996; 98 (4): 453 – 7.

8. Maestroni GJ. Neurohormones and catecholamines as functional components of the bone marrow microenvironment. Ann NY Acad Sci 2000; 917:29-37.

9. Afan Am, Broome CS, Nicholls SE, Whetton AD, Miyan JA. Bone marrow innerration regulates cellular retention in the murine haemopoietic system. Br J Haematol 1997: 98 (3) : 569-77

10. Thang Y, Shankar R, Gamelli R, Jones S. Dynamic norepinephrine alterations in bone marrow evidence of functional innervation. J Neuroimmunol 1999; 97(2): 182 – 9.

11. Benestad HB, Strom Gundersen I, Ole Iversen P, Haug E, Nja A. No neuronal regulation of murine bone marrow function. Blood 1998; 91 (4): 1280-7.

* آدرس نویسنده مسئول: بابل، دانشگاه علوم پزشکی، گروه تشریح، تلفن: ۵-۲۲۲۹۵۹۱-۰۱۱۱.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1383.6.2.8.0]