



مدل سازی آسیب نخاعی به روش Modified Allen در میمون نژاد رزوس با استفاده از دستگاه ابداعی Royan Impactor

مصطفی حاجی نصراله^{۱،۲}، داود شریفی^۱، سحر کیانی^۲، سارنگ سروری^۱، رضا جباری^۴، احسان میرصادقی^۲،
روشنک مختاری^۳

^۱ گروه جراحی و رادیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

^۲ پژوهشگاه رویان، پژوهشکده زیست شناسی و فناوری سلول های بنیادی جهاد دانشگاهی، مرکز تحقیقات علوم سلولی، گروه سلول های بنیادی و زیست شناسی تکوینی، تهران، ایران

^۳ دانش آموخته جراحی و رادیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

^۴ متخصص جراحی مغز و اعصاب، بیمارستان گاندی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۲۰ مهر ماه ۱۳۹۹، تاریخ پذیرش: ۳۰ آذر ماه ۱۳۹۹



[10.22059/jvr.2020.283190.2940](https://doi.org/10.22059/jvr.2020.283190.2940)

<https://dorl.net/dor/20.1001.1.20082525.1400.76.1.10.8>

چکیده

زمینه مطالعه: به دلیل وقوع بالای حوادث مختلف، همواره ضایعات نخاعی و مسائل مربوط به آن یکی از نگرانی ها و دغدغه های جامعه پزشکی و حتی دامپزشکی می باشد. انجام این پروژه جهت یافتن راهی برای درمان این نوع ضایعات ضروری به نظر می رسد.

هدف: هدف از مطالعه حاضر اصلاح سیستم Allen و استفاده از دستگاه ابداعی Royan Impactor برای ایجاد آسیب نخاعی در میمون بزرگ نژاد رزوس و تأیید این مدل سازی با مطالعات بالینی و تصویربرداری جهت کاربرد آن در طب انسانی و دامی می باشد.

روش کار: در مطالعه حاضر از روش Modified Allen و دستگاه Royan Impactor برای ایجاد مدل آسیب نخاعی بر روی میمون نژاد رزوس استفاده شد. ۵ قلابه میمون تحت بیهوشی با کتامین، زایلازین و ایزوفلوران قرار گرفته و پس از لامینکتومی در سطح مهره های سینه ای (T9-T10) مورد نظر، نخاع در معرض دید قرار گرفت. سپس وزنه ۵۰ گرمی از ارتفاع ۱۲ سانتی متری بر روی صفحه فشرده ۲ میلی متری مربعی رها شد.

نتایج: نتایج این مطالعه نشان داد در تمام نمونه ها پس از وارد آمدن ضربه، تغییرات سیگنال به صورت کاهش سیگنال در T2W، در مقاطع ساجیتال و اگزیتال در ناحیه ضربه ناشی از هماتوم، التهاب، فشار بر روی نخاع و تخریب نسج مشاهده شد. در معاینات بالینی تمامی نمونه ها ۳-۵ روز بعد از ایجاد ضایعه نخاعی علائم شوک نخاعی که با احتباس ادرار مشخص بود برطرف گردید. اگرچه تمامی واکنش های سنجش میزان ضایعه، تا حد قابل توجهی ضعیف شده بودند ولی تا پایان مطالعه به حالت طبیعی برگشتند.

نتیجه گیری نهایی: با توجه به نتایج حاصله که به آن ها اشاره شده است و مقایسه این نتایج با نتایج دیگر محققین در این زمینه که از روش های مختلفی برای ایجاد مدل استفاده کرده اند، نشان می دهد روش اصلاح شده Allen و وسیله ای که برای این منظور ساخته شده از کارایی لازم برای ایجاد مدل نخاعی شبیه به مدل بالینی ضایعات نخاعی برخوردار است.

کلمات کلیدی: ضایعات نخاع، مدل سازی آسیب نخاعی، نخستین های غیرانسانی، روش اصلاح شده Royan Impactor, Allen

کپی رایت © تحقیقات دامپزشکی: دسترسی آزاد؛ کپی برداری، توزیع و نشر برای استفاده کامل با ذکر منبع آزاد است.

نویسنده مسئول: داود شریفی، گروه جراحی و رادیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

پست الکترونیکی: dsharifi@ut.ac.ir

مقدمه

از دست دادن انعکاسات عصبی که گاهی توام با درد در انسان و حیوان از نظر بالینی مشهود بوده است یکی از نگرانی ها و دغدغه های جامعه پزشکی و خانواده های وابسته به این مصدومین بوده است.

به دلیل وقوع بالای حوادث مختلف به ویژه حوادث رانندگی و همچنین تجربه جنگ تحمیلی ۸ ساله در کشور ما، همواره ضایعات نخاعی و مسائل مربوط آن که به صورت ضعف، ناتوانی، عدم حفظ تعادل و حتی

کاربرد دارد و در حیوانات بزرگتر مانند سگ و گربه و میمون نژاد رزوس قابل استفاده نیست (۴،۵،۱۰).

با توجه به تفاوت‌های آناتومیکی و فیزیولوژیکی جوندگان کوچک نتایج به دست آمده از این مطالعات نمی‌تواند در درمان ضایعات نخاع به انسان کمک شایانی نماید بنابراین لزوم ساخت وسیله‌ای که بتواند در حیوانات بزرگتر مانند میمون‌ها که شباهت آناتومیکی و فیزیولوژیکی بیشتری به انسان دارند ضروری به نظر می‌رسد.

Zhengwen و همکارانش در سال ۲۰۱۶ دستگاهی را طراحی کردند که امکان ایجاد مدل در میمون رزوس را داشت و از آن در مطالعات خود استفاده کردند (۹).

Deng در سال ۲۰۰۵ از روش Modifid Allen در میمون رزوس استفاده کرد. او یک وزنه ۵۰ گرمی را از ارتفاع ۱۲ سانتی‌متری در طول یک لوله هدایت کننده بر روی یک صفحه فشرده ۱۰ میلی‌متر مربعی که در تماس با نخاع در معرض دید قرار گرفته بود، رها کرد و ضایعه مورد نظر را ایجاد کرد (۲).

در مطالعه انجام شده توسط Deng و همکاران در سال ۲۰۰۵، با وجود اینکه مدل آلن را برای میمون رزوس اصلاح کرده بودند، اما از دیدگاه معاینات بالینی، تصویربرداری و بافت‌شناسی تأیید مدل خود را به اثبات نرساندند و در ارائه یک مدل استاندارد و کمی موفق نبودند (۲).

با توجه به عدم دسترسی به دستگاه‌های مختلف مدل‌سازی و همچنین گران بودن دستگاه موجود، پژوهشگاه رویان جهت پیشبرد مطالعات ضایعه نخاعی در میمون دستگاه بومی و ارزان قیمتی به نام Royan Impactor را طراحی و تولید نمود.

هدف از مطالعه حاضر اصلاح سیستم آلن و استفاده از دستگاه ابداعی Royan Impactor برای ایجاد آسیب نخاعی در میمون بزرگ نژاد رزوس و تأیید این مدل‌سازی با مطالعات بالینی و تصویربرداری می‌باشد.

مواد و روش کار

ساخت Royan Impactor: برای ساخت دستگاه از اطلاعات موجود در منبع استفاده شد (۱،۳،۴) در تمامی منابع ذکر شده است که وزنه ۵۰ گرمی از ارتفاع ۱۲ سانتی‌متری در داخل یک لوله هدایت کننده بر روی یک صفحه فشرده ۱۰ میلی‌متر مربعی که در تماس با نخاع در معرض دید است فرود می‌آید و آسیب مورد نظر را ایجاد

از این رو لزوم انجام تحقیقات جهت یافتن راهی برای درمان این نوع ضایعات ضروری به نظر می‌رسد.

تاکنون روش‌های درمانی متعددی در امر درمان پیشنهاد شده است که هر کدام از مزایا و معایب خاص به خود برخوردار بوده‌اند به صورتی که بر اساس گزارش WHO در سال ۲۰۱۳ میزان شیوع آسیب نخاعی در جهان ۸۰-۴۰ میلیون نفر در سال می‌باشد (۱۵).

امروزه در سراسر دنیا تحقیقات در زمینه مدل‌های آسیب نخاعی، بررسی مکانیسم آسیب ثانویه و انتخاب درمان مناسب در حال انجام است. در ابتدا هر روش درمانی روی حیوانات آزمایشگاهی کوچک و بزرگ انجام می‌شود تا ایمنی و کارایی آن تعیین شده و در صورت تأیید، فاز کارآزمایی بالینی آن روی انسان آغاز شود. بنابراین حیوانات آزمایشگاهی و نحوه مدل‌سازی آن‌ها بسیار حائز اهمیت است. محققان سعی دارند با استفاده از ابزارهای جراحی و دستگاه‌های دقیق، مدل‌سازی مناسب‌تری انجام دهند تا حیوان مدل شده به بیماری مورد نظر در انسان شباهت بیشتری داشته باشد (۱۲).

از جمله قدیمی‌ترین روش‌هایی که برای ایجاد مدل حیوانی آسیب نخاعی استفاده می‌شد، انداختن حیوان از ارتفاع یا زدن با چوب یا یک صفحه فشرده به پشت حیوان بود (۱،۳). پروفیسور Allen در سال ۱۹۱۱ برای اولین بار با طراحی و ساخت دستگاه جدید، موفق شد آسیب نخاعی استاندارد و مشخصی را روی حیوان مدل‌سازی کند. در روش ارائه شده توسط پروفیسور Allen، ابتدا بافت نرم و سپس لامینای یکی از مهره‌های ستون مهره را برداشته و وزنه‌ای مشخص را از ارتفاع قابل تنظیم در داخل یک لوله بر روی نخاع در معرض دید قرار گرفته، رها کرد. روش Allen اگرچه از لحاظ اقتصادی مقرون به صرفه می‌باشد ولی تأثیر تنفس در تغییر شدت ضایعه باعث ایجاد مدل‌هایی با شدت‌های مختلف می‌شد (۱). بعدها با تغییراتی مانند استفاده از نگهدارنده‌های ستون مهره به منظور افزایش دقت در توزیع نیرو بر روی نخاع و یا استفاده از دو گیره که دو طرف ستون مهره را ثابت نگه می‌دارد، این روش کامل‌تر شد. امروزه از این روش در تحقیقات به صورت گسترده استفاده می‌شود و آن را روش اصلاح شده‌ی Allen نام گذاری کرده‌اند (۱۴،۱۷).

امروزه برای مدل‌سازی به روش فوق از وسیله پیشرفته و کامپیوتری به نام NYU Impactor ساخته شده توسط دانشگاه نیویورک، استفاده می‌کنند که اساس کار آن همان روش ارائه شده توسط Allen در سال ۱۹۱۱ است (۲). متأسفانه این وسیله به علت اندازه کوچک، فقط برای جوندگان و میمون کوچک (مارموس) و

نمونه‌های خون تهیه شده به منظور انجام تست‌های Herpes virus A,B, SIV, HBS و آزمایش خون (CBC Drift) و کبد (ALT, AST) به آزمایشگاه فرستاده شد. پس از پایان مدت معین جهت قرنطینه و منفی بودن تست‌های Herpes virus A,B, HBS, SIV میمون‌ها به قفس‌های انفرادی منتقل شدند.

تمام اقدامات صورت گرفته در این طرح زیر نظر کمیته اخلاق پژوهشگاه رویان و بر اساس اصول ۳R انجام شده است.

تعداد ۵ قلاده میمون نژاد رزوس پس از تأیید سلامت از نظر HIV, Herpes virus type A,B برای جراحی آماده شدند. بیهوشی در میمون‌ها توسط تزریق عضلانی کتامین با دز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم زایلازین با دز ۰/۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم القا و بعد از لوله‌گذاری، بیهوشی توسط ماشین بیهوشی و گاز ایزوفلوران به مدت ۳۰ دقیقه ادامه پیدا کرد. در طول مدت بیهوشی علائم حیاتی میمون شامل نبض و میزان اکسیژن خون (دستگاه پالس‌اکسی‌متر) دمای بدن (درجه مقعدی)، تعداد تنفس و تعداد ضربان قلب به طور مرتب بررسی و کنترل شد. علاوه بر این هر گونه تغییرات بالینی از جمله تیره شدن رنگ خون که بیانگر کمبود اکسیژن یا ضعف در اکسیژن رسانی بود و یا بازگشت رفلکس پلک که نشان دهنده کم شدن عمق بیهوشی بود توسط تیم بیهوشی مورد توجه قرار می‌گرفت. پس از لامینکتومی در سطح مهره‌های سینه‌ای ۹ و ۱۰، نخاع در معرض دید قرار گرفت. وسیله مورد نظر بر روی نخاع سوار شد و وزنه ۵۰ گرمی از ارتفاع ۱۲ سانتی‌متری بروی صفحه فشرده ۱۰ میلی‌متر مربعی که در تماس با نخاع بود رها شد (تصویر ۳). بعد از وارد آوردن ضربه برای اطمینان از سلامت سخت‌شامه، تغییر رنگ نخاع در محل ضربه مورد ارزیابی قرار می‌گرفت و همچنین حرکت ناگهانی و شدید اندام‌های خلفی بلافاصله بعد از وارد آمدن ضربه در تمامی نمونه‌ها نشان دهنده ایجاد آسیب نخاعی بود.

تمام نمونه‌ها حدود ۶۰ دقیقه بعد از پایان جراحی به حالت طبیعی خود بازگشتند. پس از برگشت کامل از بیهوشی، میمون‌ها به قفس‌های بستری که کف آن‌ها جهت جلوگیری از ایجاد زخم بستر به صورت غلتان طراحی شده بودند منتقل شدند و آب و غذا به اندازه کافی در اختیار آن‌ها قرار می‌گرفت.

همزمان با شروع بیهوشی ترامادول با دز ۲-۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت زیر پوستی تزریق و تا ۳ روز ادامه داشت. همچنین سفازولین با دز ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم هر ۱۲ ساعت داخل رگ به مدت یک هفته تزریق شد.

می‌کند. دستگاه Royan Impactor دارای ۴ بخش اصلی می‌باشد. (۱) یک لوله توخالی از جنس استیل با سوراخ‌هایی در ارتفاعات مختلف (۱۰، ۱۲، و ۱۵ سانتی‌متری) به نام لوله هدایت کننده (۲) یک پایه نگهدارنده جهت نگهداری لوله هدایت کننده (۳) یک وزنه ۵۰ گرمی (۴) گیره‌های نگه دارنده نخاع. لوله هدایت کننده امکان فرود مستقیم وزنه ۵۰ گرمی از ارتفاع ۱۲ سانتی‌متری بر روی صفحه فشرده ۲ میلی‌متر مربعی را فراهم می‌آورد (بین ضارب). در انتهای لوله هدایت کننده محلی برای فرود آمدن وزنه بر روی پین ضارب وجود دارد. پایه نگهدارنده یک لوله استیل L شکل است که از یک سمت امکان اتصال به میز جراحی و از سمت دیگر محلی برای اتصال به لوله هدایت کننده را دارد (تصویر ۱). جهت نگه داشتن وزنه در ارتفاع دلخواه در هر یک از سوراخ‌های لوله هدایت کننده از پین رها کننده استفاده شده است. وزنه، یک میله آهنی با طول مشخص است که وزن ۵۰ گرم را دارد. در انتهای آن یک حلقه برای ایجاد دستگیره جوش داده شده است تا بعد از رها شدن بتوان به راحتی آن را از داخل لوله هدایت کننده بیرون کشید (تصویر ۱).

برای ارتقاء دستگاه و جلوگیری از تأثیر تنفس در عملکرد دستگاه، دو گیره از جنس استیل که امکان اتصال به زوائد عرضی مهره‌های سینه‌ای را دارند طراحی شد. این گیره‌ها پس از لامینکتومی به زواید خاری (Spinous Process) مهره‌های بالا و پایین محل لامینکتومی متصل می‌شوند که از بالا و پایین رفتن قفسه سینه در حین تنفس جلوگیری به عمل آورد (تصویر ۲).

تأثیر تنفس بدون استفاده از این گیره‌ها به گونه‌ای است که اگر ضربه در هنگام دم وارد شود ضربه شدیدتر و اگر ضربه در هنگام بازدم وارد شود ضربه خفیف‌تری ایجاد می‌شود که این موضوع باعث ایجاد مدل‌هایی با آسیب متفاوت در یک طرح می‌شود (۹، ۱۴).

به این ترتیب با ساخت این گیره‌ها مدل‌هایی با آسیب یکسان ایجاد می‌شوند (۹، ۱۴).

تهیه میمون‌ها (جراحی و ایجاد آسیب نخاعی):

میمون‌های مورد استفاده در این تحقیق از بخش تحقیقات پریمات‌های پژوهشگاه رویان تهیه شدند. برای آماده‌سازی، میمون‌ها پس از ورود به بخش تحقیقات پریمات‌ها به صورت جداگانه توسط شامپو Lindan شسته شده و پس از انجام معاینات دامپزشکی، تست TB و اخذ نمونه خون، برای هر یک از آن‌ها یک کد در نظر گرفته شد و به مدت ۳۰ روز در اتاق مخصوص، قرنطینه شدند.

الف- تغییرات در چهره حیوان

ب- تکان دادن سر و نگاه کردن به محل فرو کردن سوزن

لازم به ذکر است این تست به دلیل ناتوانی حیوان در تکلم و گاهی اوقات لجاجتی که در تحمل درد از خودش نشان می‌داد دقت لازم را نداشت (۱۲).

۲- بررسی حس عمقی: ایجاد تحریک دردناک در قسمت انتهایی اندام حرکتی (۱۲).

جدول ۱. بررسی حرکت خودبخودی اعصاب حرکتی.

حرکت دم (Tail Movement)		امتیاز	ردیف
بدون حرکت	۰	۱	۱
با حرکت ضعیف	۱	۲	۲
با حرکت قوی	۲	۳	۳
<i>S.Tarlov</i>			
حرکت دم (Tail Movement)		امتیاز	ردیف
بدون حرکت ارادی	۰	۱	۱
حرکت محسوس مفصل	۱	۲	۲
حرکت کامل مفصل بدون توانایی ایستادن	۲	۳	۳
توانمندی در ایستادن ولی عدم توانایی در لی لی	۳	۴	۴
سلامتی کامل بدون هیچ آسیب عصبی	۴	۵	۵

جدول ۲. بررسی حرکت غیر ارادی اعصاب حرکتی.

رفلکس دم (Tail Flex reflex)		امتیاز	ردیف
بدون رفلکس	۰	۱	۱
رفلکس ضعیف	۱	۲	۲
رفلکس قوی	۲	۳	۳
حرکت ارادی	۳	۴	۴
رفلکسی نیشگون گرفتن پا (Limb Pinch Test)		امتیاز	ردیف
بدون رفلکس	۰	۱	۱
رفلکس ضعیف	۱	۲	۲
رفلکس قوی	۲	۳	۳
حرکت ارادی	۳	۴	۴
رفلکس زانو (Knee Reflex)		امتیاز	ردیف
بدون رفلکس	۰	۱	۱
رفلکس ضعیف	۱	۲	۲
رفلکس قوی	۲	۳	۳
رفلکس عادی	۳	۴	۴

تصویربرداری MRI: برای اطمینان از سلامتی نخاع قبل و بعد از ضربه (تا ۳۶ ساعت) و همچنین صحت عمل ضربه از هر یک از میمون‌ها تصاویر MR، T2W از نخاع در مقاطع Axial و Sagittal تهیه شد (۷).

با هماهنگی با مرکز تصویربرداری هر کدام از میمون‌ها در روزهای مختلف در داخل صندلی مخصوص میمون به مرکز تصویر برداری منتقل شدند. میمون‌ها توسط آتروپین ۵ درصد با دز ۰/۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم، زایلازین ۲ درصد با دز ۰/۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم و کتامین ۱۰ درصد با دز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بیهوش و به میز MRI منتقل شد. تصاویر MR (دستگاه اسکنر ۳ تسلا زیمنس مدل پریزما) T2W از نخاع در مقاطع Axial و Sagittal در فاصله مهره C5-L4 تهیه شد.

معاینات بالینی جهت ارزیابی میزان ضایعه نخاعی: سه روز

قبل از ایجاد ضایعه و ۵ روز بعد از آن معاینات بالینی برای بررسی شدت و میزان ضایعه توسط دامپزشک با توجه به مقالات پیشین صورت گرفت و این معاینات هر دو هفته یک بار به مدت ۴ ماه تکرار شد (۱۲).

الف: بررسی حرکات خودبخودی اعصاب حرکتی (Spontaneous Motor Activity) (جدول ۱). در این تست با مشاهده اندام حرکتی و دم حیوان توانایی راه رفتن و حرکت دم بررسی و گزارش شد (۱۲).

ب: بررسی پاسخ‌های عصبی نسبت به تحریک (Activity Stimulatory Motor) (جدول ۲).

۱- TFR (Tail Flex Reflex): در این تست دم توسط پنس تحت فشار قرار گرفت و نتیجه گزارش شد (۱۲).

۲- LPT (Limb Pinch Test): در این تست اندام قدامی توسط پنس تحت فشار قرار گرفت و نتیجه گزارش شد (۱۲).

۳- Knee Reflex: با استفاده از چکش دقه و بررسی رفلکس زانو انجام شد.

ج: بررسی اعصاب حسی (Sensory Neuron Evaluation) نیز انجام شد (جدول ۳).

۱- Panniculus Reflex) استفاده از سوزن برای بررسی درد. در این تست از کف پای حیوان تا زیر محل لامینکتومی با سوزن تحریک شد تا رفلکس میمون مشاهده شود. این رفلکس‌ها شامل:

جدول ۳. بررسی اعصاب حسی.

Panniculus Test		
ردیف	امتیاز	
۱	۰	بی پاسخ
۲	۱	با پاسخ
تست در عمقی (Deep Pain Test)		
ردیف	امتیاز	
۱	۰	بی پاسخ
۲	۱	با پاسخ

جدول ۴. نتایج معاینات بالینی در دو قلابه میمون.

۱۱۰۱							کد نمونه	
۱۲۰	۹۰	۶۰	۳۰	۱۰	۵	-۳	تاریخ	
۱۱	۱	۰	۰	۰	۰	۲	TM.	حرکت خودبخودی
۱	۱	۰	۰	۰	۰	۴	S.Tarlov	
۱	۱	۱	۰	۰	۰	۳	TFR.	
۱	۱	۱	۰	۰	۰	۳	LPT.	حرکت غیر ارادی
۱	۰	۰	۰	۰	۰	۳	KR.	
۱	۰	۰	۰	۰	۰	۱	PR.	
۰	۰	۰	۰	۰	۰	۱	DPT.	تست‌های حسی
۲۰۵۹							کد نمونه	
۱۲۰	۹۰	۶۰	۳۰	۱۰	۵	-۳	تاریخ	
۰	۰	۰	۰	۰	۰	۲	TM.	حرکت خودبخودی
۱	۰	۰	۰	۰	۱	۴	S.Tarlov	
۱	۱	۰	۰	۰	۰	۳	TFR.	
۱	۰	۰	۰	۰	۰	۳	LPT.	حرکت غیر ارادی
۱	۰	۰	۰	۰	۰	۳	KR.	
۰	۰	۰	۰	۰	۰	۱	PR.	
۰	۰	۰	۰	۰	۰	۱	DPT.	تست‌های حسی

نتایج حاصل از معاینات بالینی جهت ارزیابی میزان

ضایعه نخاعی: در تمام نمونه‌ها احتباس ادراری ۳-۵ روز بعد از ایجاد مدل ناشی از شوک نخاعی مشاهده شد که بعد از گذشت ۳-۵ روز علائم شوک مرتفع گردید. در طول این مدت مثانه هر یک از میمون‌ها توسط ماساژ دست تخلیه می‌شد.

در تمام نمونه‌ها قبل از ایجاد ضایعه، رفلکس Panniculus و آزمایش درد عمقی مثبت بود. در معاینات بالینی بعد از ایجاد ضایعه فقط در یک نمونه (۱۱۰۱) بعد از گذشت ۴ ماه رفلکس Panniculus مثبت گردید در صورتی که آزمایش درد عمقی در تمام نمونه‌ها منفی گزارش شد.

در ۳ قلابه نیز امتیاز Tarlov فقط تا عدد ۱ افزایش یافت.

نتایج

نتایج حاصل از MRI: در MRI انجام شده از مقاطع

اگزیمال و ساجیتال در T2W در ناحیه C5-L4، قبل از وارد آوردن ضربه، نخاع نمای طبیعی دارد و این نما در تمام نمونه‌ها مشهود است (۷) (تصویر ۴).

در تمام نمونه‌ها پس از وارد آمدن ضربه، تغییرات سیگنال به صورت کاهش سیگنال در T2W، در مقاطع Sagittal (طولی) و Axial (عرضی) در ناحیه ضربه (T9-T10) ناشی از هماتوم، التهاب، فشار بر روی نخاع و تخریب نسج مشاهده شد. عدم وجود زواید شاخی در فاصله T9-T10 به دلیل انجام لامینکتومی مشاهده شد (تصویر ۵).

جدول ۵. نتایج معاینات بالینی در ۳ قلابه میمون.

۱۰۷۸							کد نمونه
۱۲۰	۹۰	۶۰	۳۰	۱۰	۵	-۳	تاریخ
۱	۰	۰	۰	۰	۰	۲	TM.
۱	۰	۰	۰	۰	۰	۴	S.Tarlov
۱	۱	۰	۰	۰	۰	۳	TFR.
۱	۱	۱	۰	۰	۰	۳	LPT.
۰	۰	۰	۰	۰	۰	۳	KR.
۰	۰	۰	۰	۰	۰	۱	PR.
۰	۰	۰	۰	۰	۰	1	DPT.
۲۰۶۰							کد نمونه
۱۲۰	۹۰	۶۰	۳۰	۱۰	۵	-۳	تاریخ
۱	۱	۰	۰	۰	۰	۲	TM.
۱	۰	۰	۰	۰	۰	۴	S.Tarlov
۱	۱	۱	۰	۰	۰	۳	TFR.
۱	۲	۱	۱	۲	۰	۳	LPT.
۰	۰	۰	۰	۰	۰	۳	KR.
۰	۰	۰	۰	۰	۰	۱	PR.
۰	۰	۰	۰	۰	۰	۱	DPT.
۱۰۹۶							کد نمونه
۱۲۰	۹۰	۶۰	۳۰	۱۰	۵	-۳	تاریخ
۱	۱	۰	۰	۰	۱	۲	TM.
۰	۰	۰	۰	۰	۰	۴	S.Tarlov
۱	۱	۰	۰	۰	۰	۳	TFR.
۲	۱	۱	۱	۰	۰	۳	LPT.
۰	۰	۰	۰	۰	۰	۳	KR.
۰	۰	۰	۰	۰	۰	۱	PR.
۰	۰	۰	۰	۰	۰	۱	DPT.

حرکت دم، رفلکس دم، رفلکس عضو، رفلکس زانو، رفلکس پنیکلوس، تست در عمقی.

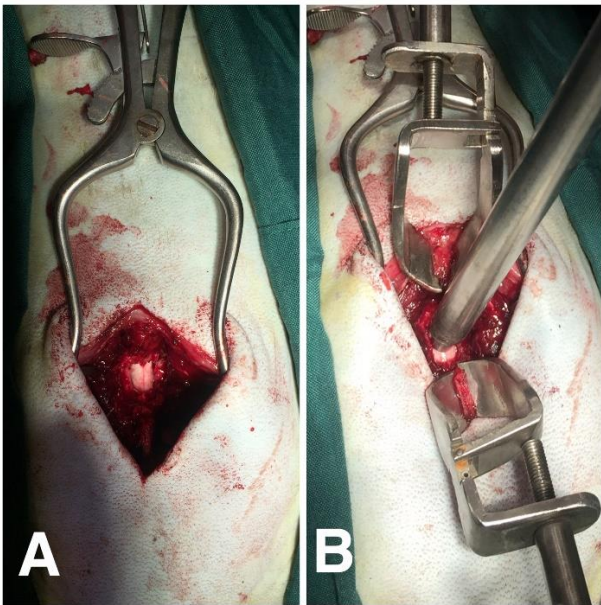
بحث

با توجه به نتایج به دست آمده در معاینات بالینی این طرح (فلجی کامل در اندام تحتانی) و مقایسه آن با مطالعات دیگر که از روش‌های مختلفی برای ایجاد مدل استفاده کرده‌اند، به نظر می‌رسد روش اصلاح شده Allen (۴،۵) و وسیله‌ای که برای این منظور ساخته شده از کارایی لازم برای ایجاد مدل نخاعی شبیه به مدل بالینی برخوردار است. هرچند که این روش دارای عیوبی نیز می‌باشد ولی به‌طور کلی با توجه به مزایای فراوان می‌تواند نیاز محققین ضایعات نخاعی را برای داشتن مدل نخاعی مناسب بر آورده نماید.

با وجود قفس‌های نگهداری با بستر ویژه، زخم‌های بستر شدید و عمیقی بر روی ناحیه مچ پا و لگن مشهود بود که با فیزیوتراپی، ماساژ پاها، شستشو و بانداژ روزانه زخم‌ها تاحدی کنترل شد. بعد از گذشت حدود یک ماه رفلکس‌های عصبی با شدت خفیف شروع و تا انتهای دوره مطالعه تا حد نرمال افزایش پیدا کردند. حرکت ارادی مانند بلند شدن و راه رفتن مشاهده نشد. با وجود انجام فیزیوتراپی آتروفی شدید اندام‌های تحتانی تا پایان دوره مطالعه مشاهده شد.

در نهایت میانگین معاینات بالینی صورت گرفته در ۵ قلابه ثبت شده است (تصویر ۶).

تست‌های پنیکلوس و تحمل درد عمقی بعد از مدل سازی منفی بودند و این روند تا انتهای دوره مطالعه ادامه داشت.

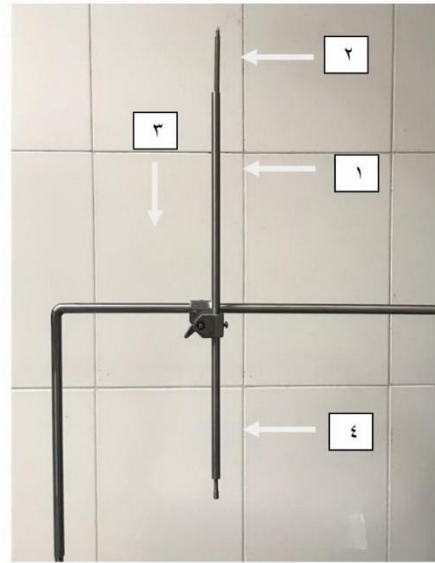


تصویر ۳. مراحل جراحی لامینکتومی. A. برداشتن زوائد و لام مهره‌ها و در معرض قرار گرفتن نخاع. B. اتصال گیره‌ها قرار گرفتن لوله هدایت کننده و پین ضارب بر روی نخاع.

آن‌ها همچنین گزارش دادند که در گروه با ضایعه خفیف قسمت روشن وسط نخاع در T2W بعد از سه هفته از بین رفت در حالی که در هر دو گروه با ضایعه متوسط و شدید، حتی تا سه ماه بعد نیز مشاهده گردید (۴،۵).

Purdy و همکاران در سال ۲۰۰۳ با استفاده از بالن ضایعه نخاعی را ایجاد کردند. در دو نمونه که با استفاده از روش بالن دچار آسیب شده بودند هیچ گونه تغییر شدت signal غیر معمول مشاهده نشد، در صورتی که در بررسی هیستوپاتولوژی خونریزی مشهود بود (۱۳).

در بررسی MRI، افزایش شدت signal مشاهده کردند (۱۳). در مقایسه نتایج حاصل از تحقیق Purdy و همکاران در سال ۲۰۰۳ در استفاده از بالن با نتایج حاصل از استفاده از روش ضربه‌ای که در مطالعه حاضر ذکر شد به این نتیجه می‌رسیم که یافته‌های MRI و بالینی هر دو روش تا حد قابل قبول به یکدیگر و به آنچه که در انسان اتفاق می‌افتد نزدیک است. نکته قابل توجه این است که در استفاده از بالن از لامینکتومی استفاده نمی‌شود و به تبع آن از عوارض استفاده از این عمل اجتناب می‌شود و به عبارتی تنها مزیت این روش نسبت به روش ضربه‌ای همین نکته است. این در حالی است که استفاده از بالن برای ایجاد مدل مستلزم به کارگیری ابزار و لوازم پیشرفته و



تصویر ۱. دستگاه ضربه زننده. ۱. لوله هدایت کننده ۲. وزنه ۳. پایه L شکل ۴. پین ضارب.



تصویر ۲. پایه‌های نگه دارنده. پایه نگهدارنده دارای دو گیره متحرک است که امکان اتصال به زواید خاری مهره‌های بالا و پایین محل ضایعه را بعد از انجام لامینکتومی فراهم می‌آورند.

Iwanami و همکاران در سال ۲۰۰۵ در بررسی MRI ضایعه خفیف، متوسط و شدید نخاع در مارموس، خونریزی و ادم را در ناحیه مرکز ضایعه گزارش دادند. نقاط سفید در مرکز نخاع (محل ضایعه) نشان دهنده ادم و التهاب است که در T2W به صورت روشن و در T1W بدون تغییر محسوس در تصاویر MRI مشاهده می‌شود. با وجود اینکه تفاوت‌های مشخص در محل‌های روشن‌تر در T2W وجود داشت هیچ تغییر مشخص در شدت سیگنال در T1W گزارش نکردند (۴،۵)

Nemati و همکاران در سال ۲۰۱۳ بهبودی در نمونه‌های کنترل را نیز گزارش کردند که این می‌تواند به دلیل عدم استفاده از گیره‌های نگهدارنده و در نتیجه یکسان نبودن شدت ضایعه در تمامی مدل‌ها باشد. در حالی که در مطالعه حاضر تمامی نمونه‌ها بعد از گذشت ۴ ماه فلجی کامل اندام‌های خلفی را از خود نشان دادند (۱۲).

بررسی نتایج بالینی و هیستوپاتولوژی تحقیق انجام شده توسط Lim در سال ۲۰۰۷ با نتایج تحقیق این مطالعه بیانگر این مطلب است که استفاده از بالن برای ایجاد مدل شبیه به آسیب نخاعی در میزان بالای بادکردن و زمان بالای باقی ماندن بالن در محل مناسب است. به طور کلی به علت استفاده از تعداد بالای نمونه و انواع میزان بادکردن بالن و مدت باقی ماندن بالن و مشکلات جایگزاری بالن در ناحیه و ردیابی، نسبت به روش اصلاح شده آلن هزینه برتر و وقت گیرتر می‌باشد (۸).

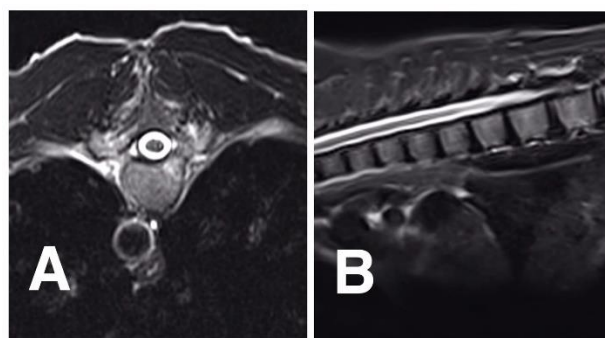
Sledge و همکاران در سال ۲۰۱۶ اعلام کردند که مدل آسیب نخاعی که به روش برش نخاع در میمون ایجاد می‌شود از لحاظ هیستوپاتولوژی و رفتاری با آسیب نخاعی در انسان تفاوت فراوانی دارد (۱۶).

Zhengwen و همکاران در سال ۲۰۱۶ ضایعه خفیف و شدید را در میمون رزوس به کمک یک دستگاه ابداعی ایجاد نمودند. آن‌ها بهبودی خود به خودی را در نمونه‌هایی که ضایعه خفیف در آن‌ها ایجاد شده است نسبت به میمون‌هایی که ضایعه متوسط در آن‌ها ایجاد شده است گزارش نمودند (۹).

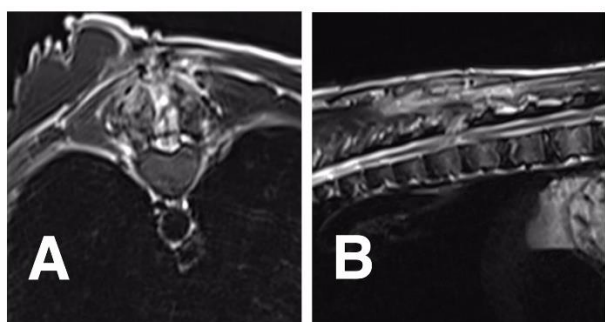
اولین قدم در درمان آسیب‌های نخاعی استفاده از بهترین حیوان مدل و روش مدل‌سازی جهت ایجاد آسیب نخاعی می‌باشد (۱۱).

با توجه به مزایا و معایب روش‌های مختلف مدل‌سازی که برای ایجاد مدل نیازمند به لامینکتومی می‌باشند روش اصلاح شده آلن به جهت شباهت بسیار زیاد مدل حاصله به مدل طبیعی و نیز توانایی ایجاد نیروی ضربه‌ای و فشاری به صورت همزمان (در صورت باقی ماندن وزنه بر روی نخاع در مدت زمان مشخص)، به صرفه بودن از لحاظ اقتصادی و عدم نیاز به وسایل پیچیده به عنوان روش اصلی برای ایجاد مدل آسیب نخاعی انتخاب گردید (۶).

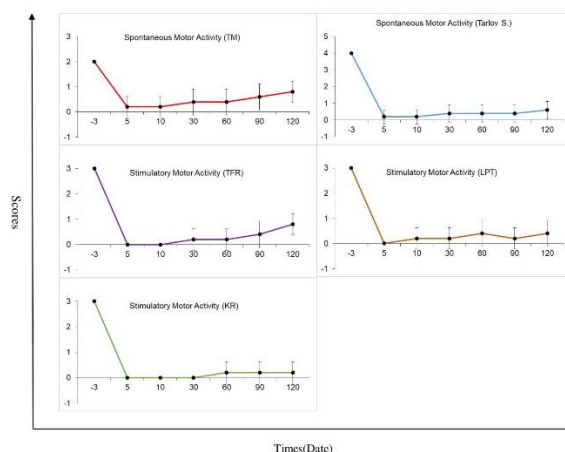
نتایج حاصل از معاینات بالینی انجام شده بر روی این ۵ قلابه میمون، شامل عدم توانایی راه رفتن و همچنین منفی بودن تست تحمل درد عمقی (در ضایعات نخاعی شدید و برگشت ناپذیر اتفاق می‌افتد)، فلجی کامل دو اندام تحتانی را ناشی از آسیب LMN



تصویر ۴. نتایج MRI قبل از مدل‌سازی. A. نمای طبیعی نخاع در برش Axial T2W. B. نمای طبیعی نخاع در برش T2W Sagittal.



تصویر ۵. نتایج MRI بعد از مدل‌سازی. A. نخاع آسیب دیده در برش Axial T2W. B. نخاع آسیب دیده در برش T2W Sagittal. در ناحیه T9-T10 به صورت واضح له شدگی نخاع در سطح پشتی و شکمی، تخریب بافت میلینی و همچنین از بین رفتن زواید خاری ناشی از لامینکتومی و ایجاد آسیب نخاعی کاملاً مشهود است.



تصویر ۶. میانگین معاینات بالینی در ۵ قلابه میمون.

متخصصین مربوطه می‌باشد، که زمان، وقت و هزینه بیشتری را در بر می‌گیرد. در عین حال حالت شوک نخاعی که در ضایعات طبیعی و همچنین در ضربه مشاهده می‌شود را Purdy و همکاران در سال ۲۰۰۳ در روش بالن گزارش نکردند (۱۰،۱۳).

به وسایل پیچیده تخصصی می‌تواند جوابگوی نیاز محققین ضایعات نخاعی باشد.

سپاسگزاری

با تشکر از بخش تحقیقات پریمات‌های مرکز علوم و خدمات تخصصی پژوهشگاه رویان، آزمایشگاه ملی نقشه برداری مغز، بیمارستان لقمان حکیم، جناب آقای رضا باقرپور، جناب آقای جوادی، جناب آقای دودمان دوست، جناب آقای کریم پور، جناب آقای افسری.

تعارض منافع

بین نویسندگان تعارض در منافع گزارش نشده است.

تأیید می‌کند. همچنین نتایج حاصل از MRI نیز گواه شدت ضایعه می‌باشد. با توجه به نتایج حاصل از معاینات بالینی، MRI و مطالعات مختلفی که صورت گرفت می‌توان گفت:

از میان روش‌هایی که برای ایجاد مدل نیازمند به لامینکتومی می‌باشند روش اصلاح شده آلن و وسیله‌ای که به این منظور در پژوهشگاه رویان طراحی و ساخته شده است، به جهت شباهت بسیار زیاد مدل حاصله به مدل طبیعی، توانایی ایجاد نیروی ضربه‌ای و فشاری به صورت همزمان (در صورت باقی ماندن وزنه بر روی نخاع در مدت زمان مشخص)، یکسان بودن تمامی مدل‌های ساخته شده، به صرفه بودن از لحاظ اقتصادی و عدم نیاز

References

- Allen, A.R. (1911). Surgery of experimental lesion of spinal cord equivalent to crush injury of fracture dislocation of spinal column: a preliminary report. *JAMA*, 57(11), 878-880.
- Deng, Y.B., Yuan, Q.T., Liu, X.G., Liu, X.L., Liu, Y., Liu, Z.G., Zhang, C. (2005). Functional recovery after rhesus monkey spinal cord injury by transplantation of bone marrow mesenchymal stem cell derived neurons. *Chin Med J*, 118(18), 1533-1541. PMID: [16232330](https://doi.org/10.1002/cme.10722)
- 3-Doucet, J.R., Ryugo, D.K. (2003). Axonal pathways to the lateral superior olive labeled with biotinylated dextran amine injections in the dorsal cochlear nucleus of rats. *J Comp Neurol*, 461(4), 452-465. <https://doi.org/10.1002/cne.10722> PMID: [12746862](https://doi.org/10.1002/jnr.20436)
- Iwanami, A., Kaneko, S., Nakamura, M., Kanemura, Y., Mori, H., Kobayashi, S., Tanioka, Y. (2005). Transplantation of human neural stem cells for spinal cord injury in primates. *J Neurosci Res*, 80(2), 182-190. <https://doi.org/10.1002/jnr.20436> PMID: [15772979](https://doi.org/10.1002/jnr.20435)
- Iwanami, A., Yamane, J., Katoh, H., Nakamura, M., Momoshima, S., Ishii, H., Okano, H. (2005). Establishment of graded spinal cord injury model in a nonhuman primate: the common marmoset. *J Neurosci Res*, 80(2), 172-181. <https://doi.org/10.1002/jnr.20435> PMID: [15772980](https://doi.org/10.1186/s12891-016-1169-6)
- Ko, C.C., Tu, T.H., Chen, Y.T., Wu, J.C., Huang, W.C., Cheng, H. (2019). Monkey Recovery from Spinal Cord Hemisection: Nerve Repair Strategies for Rhesus Macaques. *World Neurosurg*, 20(8), 707-716. <https://doi.org/10.1016/j.wneu.2019.05.14> PMID: [31132502](https://doi.org/10.1186/s12891-016-1169-6)
- Kumar, Y., Hayashi, D. (2016). Role of magnetic resonance imaging in acute spinal trauma: a pictorial review. *BMC Musculoskeletal Disorde*, 17(1), 310. <https://doi.org/10.1186/s12891-016-1169-6> PMID: [27448661](https://doi.org/10.1186/s12891-016-1169-6)
- Lim, J.H., Jung, C.S., Byeon, Y.E., Kim, W.H., Yoon, J.H., Kang, K.S., Kweon, O.K. (2007). Establishment of a canine spinal cord injury model induced by epidural balloon compression. *J Vet Sci*, 8(1), 89-94. <https://doi.org/10.4142/jvs.2007.8.1.89> PMID: [17322779](https://doi.org/10.1016/j.mehy.2013.07.040)
- Ma, Z., Zhang, Y.P., Liu, W., Yan, G., Li, Y., Shields, L.B., Lu, Y. (2016). A controlled spinal cord contusion for the rhesus macaque monkey. *Exp Neurol*, 279, 261-273. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2016.02.008> PMID: [26875994](https://doi.org/10.1590/s1807-59322006000500013)
- Narazaki, D.K., Barros Filho, T.E.P.D., Oliveira, C.R.G., Cristante, A.F., Iutaka, A.S., Marcon, R.M., Oliveira, R.P. (2006). Spinal cord regeneration: the action of neurotrophin-3 in spinal cord injury in rats. *Clinics*, 61(5), 453-460. <https://doi.org/10.1590/s1807-59322006000500013> PMID: [17072444](https://doi.org/10.1016/j.zool.2017.06.004)
- Nardone, R., Florea, C., Yvonne, H., Francesco, B., Viviana, V., Piergiorgio, L., Stefan, G., Eugen, T. (2017). Rodent, large animal and non-human primate models of spinal cord injury. *Zoology (jena)*, 123, 101-114. <https://doi.org/10.1016/j.zool.2017.06.004> PMID: [28720322](https://doi.org/10.1016/j.zool.2017.06.004)
- Nemati, S.N., Jabbari, R., Hajinasrollah, M., Mehrjerdi, N.Z., Azizi, H., Hemmesi, K., Dizaj, A.V.T. (2014). Transplantation of adult monkey neural stem cells into a contusion spinal cord injury model in rhesus macaque monkeys. *Cell J (Yakhteh)*, 16(2), 117. PMID: [24567941](https://doi.org/10.1016/j.zool.2017.06.004)
- Purdy, P.D., Duong, R.T., White, C.L., Baer, D.L., Reichard, R.R., Pride, G.L., Yetkin, Z. (2003). Percutaneous translumbar spinal cord compression injury in a dog model that uses angioplasty balloons: MR imaging and histopathologic findings. *AJNR Am J Neuroradiol.*, 24(2), 177-184. PMID: [12591630](https://doi.org/10.1016/j.zool.2017.06.004)
- Salegio, E.A., Bresnahan, J.C., Sparrey, C.J., Camisa, W., Fischer, J., Leasure, Strand, S. (2016). A unilateral cervical spinal cord contusion injury model in non-human primates (*Macaca mulatta*). *J Neurotrauma*, 33(5), 439-459. <https://doi.org/10.1089/neu.2015.3956> PMID: [26788611](https://doi.org/10.1089/neu.2015.3956)
- Singh, A., Tetreault, L., Kalsi-Ryan, S., Nouri, A., Fehlings, M.G. (2014). Global prevalence and incidence of traumatic spinal cord injury. *Clin Epidemiol*, 6, 309. <https://doi.org/10.2147/CLEP.S68889> PMID: [25278785](https://doi.org/10.2147/CLEP.S68889)
- Sledge, J., Graham, W.A., Westmoreland, S., Sejdic, E., Miller, A., Hoggatt, A., Nesathurai, S. (2013). Spinal cord injury models in non human primates: Are lesions created by sharp instruments relevant to human injuries?. *Med Hypotheses*, 81(4), 747-748. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2013.07.040> PMID: [23948598](https://doi.org/10.1016/j.mehy.2013.07.040)

17. Talac, R., Friedman, J.A., Moore, M.J., Lu, L., Jabbari, E., Windebank, A.J., Yaszemski, M.J. (2004). Animal models of spinal cord injury for evaluation of tissue

engineering treatment strategies. *Biomaterials*, 25(9), 1505-1510. [https://doi.org/10.1016/s0142-9612\(03\)00497-6](https://doi.org/10.1016/s0142-9612(03)00497-6) PMID: [14697853](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14697853/)



Establishment of Spinal Cord Injury Model in Nonhuman Primate (Rhesus Macaca Mulatta) with Royan Impactore Device

Mostafa Hajinasrollah^{2,3}, Davood Sharifi¹, Sahar Kiani², Sarang Soroori¹, Reza Jabbari⁴, Ehsan Mirsadeghi², Roshanak Mokhtari³

¹ Department of Surgery and Radiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

² Department of Stem Cells and Developmental Biology at Cell Science Research Center, Royan Institute for Stem Cell Biology and Technology, ACECR, Tehran, Iran

³ Graduated from the Department of Surgery and Radiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

⁴ Neurosurgeon Gandy Hospital Tehran, Iran

doi: [10.22059/jvr.2020.283190.2940](https://doi.org/10.22059/jvr.2020.283190.2940)

Received: 11 October 2020, Accepted: 20 December 2020

Abstract

BACKGROUND: There have been many reports on spinal cord injuries in humans and animals, which is a major medical and veterinary concern; therefore, the present research project was carried out to devise an appropriate treatment approach.

OBJECTIVES: The purpose of the present study was to apply the modified Allen's test and Royan Impactor Device in order to 1) induce spinal cord injury on rhesus monkeys and 2) gain the ultimate confirmation by clinical examinations and MR imaging for application in human and veterinary medicine.

METHODS: Royan Impactor Device was used to induce spinal cord injury on rhesus monkeys. Five rhesus monkeys were anesthetized with ketamine, xylazine, and isoflurane. Laminectomy was done at the level of T9-T10, and a 50 g weight was then dropped from a 12 cm height through a guide tube onto a 10 mm² impact plate on the exposed spinal cord.

RESULTS: The results of the present study showed signal changes with decreasing the trend in the T2W of spinal cord in sagittal and axial areas due to hematoma, inflammation, pressure on spinal cord, and tissue destruction after spinal cord injury. In the clinical examination of all samples, spinal cord shock symptoms, marked by bladder distention, disappeared 3-5 days post spinal cord injury. Not all measurable factors related to the severity of the injury were restored to the normal condition until the end of the study although their severities were reduced to some extent.

CONCLUSIONS: Modified Allen's test and the instrument that we designed for this study were able to satisfy the needs of the researchers in treating the spinal cord injury.

Keywords: Spinal cord injury, Spinal cord injury model, Nonhuman primates, Modified allen's method, Royan Impactor

Copyright © 2020. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution- 4.0 International License which permits Share, copy and redistribution of the material in any medium or format or adapt, remix, transform, and build upon the material for any purpose, even commercially.

Corresponding author's email: dsharifi@ut.ac.ir Tel/Fax: 021-23562533/021-66933222

How to cite this article:

Hajinasrollah, M., Sharifi, D., Kiani, S., Soroori, S., Jabbari, R., Mirsadeghi, E., Mokhtari, R. (2021). Establishment of Spinal Cord Injury Model in Nonhuman Primate (Rhesus Macaca Mulatta) with Royan Impactore Device. *J Vet Res*, 76(1), 83-93. <https://doi.org/10.22059/jvr.2020.283190.2940>

Figure Legends and Table Captions

Table 1. Spontaneous motor activity.

Table 2. Stimulatory motor activity.

Table 3. Sensory test.

Table 4. Clinical examination of two monkeys. TM: tail movements. TFR: Tail Flex Reflex. LPT: Limb Inch Test. KR: Knee Reflex. PR: Panniculus Reflex. DPT: Deep Pain Test.

Table 5. Clinical examination of three monkeys. TM: tail movements, TFR: Tail Flex Reflex, LPT: Limb Inch Test, KR: Knee Reflex, PR: Panniculus Reflex, DPT: Deep Pain Test.

Figure 1. Royan Impactor. 1. Guide tube 2. Weight 3. Holder 4. Release pin.

Figure 2. Holding Clamps which hold the spinous process of vertebra.

Figure 3. Steps of Laminectomy. A: Removal of spinous process. B: Holding clamps and use of NYU Impactor.

Figure 4. Result of MRI before modeling. Axial T2W view of normal cord. Sagittal T2W view of normal cord.

Figure 5. Result of MRI After modeling. Axial T2W view of the injured cord. Sagittal T2W view of the injured cord. Signs of cord contusion and edema due to laminectomy are obvious in the site of laminectomy (T9-T10).

Figure 6. Means of clinical examination.