



NAISL

Volume 3, Number 4, 2020

Pages: 27-31

Print ISSN: 2588-6401

Online ISSN: 2588-641X

Website: shaajournal.msrt.ir

Stereotaxic Surgery and its Applications in the Biological and Medical Sciences

Asadollah Asadi¹, Arash Abdolmaleki^{2*}, Ziba Ahmadi³

Abstract

In vivo testing is any method that takes place in a living organism. This type of experiment contrasts with in vitro testing performed in a controlled environment outside a living organism, such as a cell culture vessel or test tube. In vivo experiments accurately reflect the physiology and behavior of a living animal. Stereotaxic surgery allows a scientist to measure the activity and neurochemistry of cells in vivo, as well as manipulate their activity and biochemistry. To get to the animal brain, scientists must perform stereotaxic surgery that allows the injection of matter into the brain or permanent implantation. Scientists can measure the activity of neurons using electrophysiology or visualization of fluorescent probes. On the other hand, they can manipulate specific areas of the brain using physical, pharmaceutical, electrical or genetic methods. These manipulations may affect specific behaviors or affect neural circuits or genes and protein expression and so they can identify the exact neural pathway of a particular behavior.

Key Words:

Stereotaxic surgery,
Brain atlases,
Cannulae,
Electrophysiology,
Brain Surgery

(*) Corrospounding author

1. Department of Biology, Faculty of Science, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.

E-mail: asad.asady@gmail.com

Tel: 09125032346

2. Department of Engineering Sciences, Faculty of Advanced Technologies, University of Mohaghegh Ardabili, Bio Science and Biotechnology Research center (BBRC), Sabalan University of Advanced Technologies (SUAT), Namin, Iran.

E-mail: Abdolmalekiarash1364@gmail.com

Tel: 09183705217

3. Department of Biology, Faculty of Science, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.

E-mail: ari_1364@yahoo.com

Tel: 09148739280

جراحی استریوتاکسی و کاربردهای آن در علوم زیستی و پزشکی



نشریه رویکردهای نوین در
آزمایشگاه‌های علمی ایران
سال سوم، شماره ۴، ۱۳۹۸
صفحات: ۳۱-۲۷
شاپای چاپی: ۶۴۰۱-۲۵۸۸
شاپای الکترونیکی: ۶۴۱X-۲۵۸۸
وبسایت: shaajournal.msrt.ir

اسداله اسدی^۱، آرش عبدالملکی^{۲*}، زیبا احمدی^۳

آزمایش درون تنی (In vivo) مستقیماً بر روی موجود زنده انجام می‌شود و با آزمایش برون تنی (vitro) که در یک محیط کنترل شده در خارج از بدن موجود زنده، مانند پلانت کشت سلولی یا لوله آزمایش انجام می‌شود، متفاوت می‌باشد. آزمایش‌های درون تنی دقیقاً فیزیولوژی و رفتار یک حیوان زنده را منعکس می‌کنند. جراحی استریوتاکسی به یک پژوهشگر اجازه می‌دهد تا فعالیت نوروشیمیایی سلول‌ها را در داخل بدن اندازه‌گیری نموده و یا در فعالیت و بیوشیمی آن‌ها مداخله نماید. پژوهشگران برای دستیابی مستقیم به مغز حیوانات جراحی استریوتاکسی را انجام می‌دهند، که امکان تزریق ماده به مغز یا کاشت دستگاه دائمی را فراهم می‌کند. دانشمندان می‌توانند فعالیت نورون‌ها را با استفاده از الکتروفیزیولوژی یا قابل مشاهده کردن توسط نشانگرهای فلورسنت در بدن موجودات زنده اندازه‌گیری کنند. از طرف دیگر، می‌توانند مناطق خاصی از مغز را با استفاده از روش‌های فیزیکی، دارویی، الکتریکی یا ژنتیکی دستکاری کنند. مداخلات و دستکاری ممکن است بر رفتارهای خاص تأثیر بگذارد و یا مسیرهای عصبی یا بیان ژن و پروتئین را تحت تأثیر قرار دهد و از این طریق می‌توانند مسیر دقیق عصبی یک رفتار خاص را تشخیص بدهند.

چکیده



آرش عبدالملکی



اسداله اسدی



زیبا احمدی

واژگان کلیدی:

جراحی استریوتاکسی،
اطلس مغز،
کانول،
الکتروفیزیولوژی،
جراحی مغز

(*) مسئول مکاتبات.

۱. گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.

ایمیل: asad.asady@gmail.com

تلفن: ۰۹۱۲۵۰۳۲۳۴۶

۲. گروه علوم مهندسی، دانشکده فناوری‌های نوین، دانشگاه محقق اردبیلی، مرکز پژوهشی علوم زیستی و زیست فن آوری،

دانشگاه فن آوری‌های نوین سبلان، نمین، ایران.

ایمیل: Abdolmalekiarash1364@gmail.com

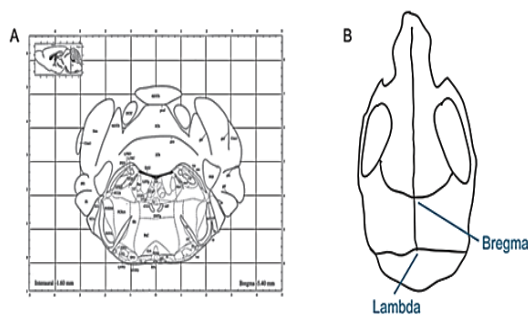
تلفن: ۰۹۱۸۳۷۰۵۲۱۷

۳. گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.

ایمیل: ari_1364@yahoo.com

تلفن: ۰۹۱۴۸۷۳۹۲۸۰

مانند هر روش مربوط به حیوانات مهره دار، کمیته مراقبت و استفاده از حیوانات مؤسسه (IACUC) قبل از انجام هر آزمایش باید روش‌ها را تصویب کند. این کمیته روش‌های جراحی را ارزیابی می‌کند تا از کم‌ترین درد و پریشانی اطمینان حاصل شود. این برای سلامتی حیوانات و همچنین برای آزمایشات بسیار مهم است، زیرا درد و پریشانی می‌تواند فیزیولوژی و رفتار را تغییر دهد [۳].



شکل ۲- موقعیت نقاط برگما و لامبدا در سر حیوان

ایجاد محیط استریل

اولین قدم در هر عمل جراحی تهاجمی تهیه شرایط استریل و عاری از میکروارگانیسم‌هایی است که می‌توانند به مغز حمله کنند و منجر به عفونت بعدی شوند. به طور کلی، دو راه برای استریل کردن ایمپلنت‌ها و ابزار وجود دارد: استفاده از اتوکلاو یا دستگاه ضدعفونی کننده حرارت خشک (آون). تنها جای محیط جراحی که باید کاملاً استریل نگه داشته شود، ابزار و نشان‌گرهایی هستند که با مغز در تماس خواهند بود. دانشمندان درست قبل از اینکه عمل جراحی انجام شود، محیط جراحی را تمیز کرده و ابزارها و نشانگرها را در دستگاه اتوکلاو یا دستگاه ضدعفونی کننده حرارت خشک (آون) استریل می‌کنند. برخی از نشان‌گرها که نمی‌توانند گرمای بالای استریل کردن را تحمل کنند می‌توانند در اتانول ۷۰٪ یا ماده ضدعفونی کننده دیگری قبل از استفاده قرار داده شوند [۳].

بیهوشی

هنگامی که محیط تمیز و آماده انجام یک عمل جراحی باشد، پژوهشگر می‌تواند جوندگان را با داروی بیهوشی تزریقی یا گازی بیهوش کند. یک عامل دارویی که به طور گسترده مورد استفاده قرار می‌گیرد، مخلوط کتامین / زایلازین است.

۱ مقدمه

جراحی های استریوتاکسی

جراحی استریوتاکسی یک روش تهاجمی است که در آن مختصات سه بعدی هدف جراحی، در بدن پیدا و عملیاتی مانند: کندن و سوزاندن، بافت برداری، تزریق، تحریک عمقی مغز، بخیه، ایمپلنت گذاری یا پرتو جراحی بر روی آن هدف انجام می‌گیرد. دستگاه استریوتاکسی دارای ۳ بازوی x, y, z است که هر کدام از این بازوها مجهز به پیچ‌های بسیار دقیق و مدرج هستند (شکل ۱). از یک میکروانیپولاتور در مقیاس ریز برای اندازه‌گیری دقیق و هدف قرار دادن مسافت‌ها در مقادیر ۱ μm استفاده می‌کند و پس از فیکس کردن سر حیوان، نوک سوزن بازو را بر روی نقاط برگما و لامبدا قرار می‌دهیم (شکل ۲) و مختصات بازوها را یادداشت می‌کنیم و سپس جهت تزریق و ورود به ناحیه مورد نظر، نوک سوزن را مطابق اطلس به مختصات مورد نظر برده و علامت گذاری می‌کنیم و در نهایت ناحیه مورد نظر را با میکرودریل سوراخ کرده و تزریق را انجام می‌دهیم. بنابراین، این جراحی مغز حیوانات را درون یک سیستم مختصات سه بعدی قرار می‌دهد تا یک محقق بتواند نشانگرهای عصبی و معرف‌ها را در مناطق مختلف مغز قرار دهد. از این ابزارها می‌توان برای اندازه‌گیری فعالیت عصبی، نمونه برداری از مواد فعال زیستی در محیط خارج سلولی یا دستکاری عملکرد عصبی استفاده کرد. دانشمندان می‌توانند با بررسی بخش‌های بافت‌شناسی مغز پس از اتمام آزمایش، هدف‌گذاری صحیح از مناطق مغز را بررسی کنند. همچنین می‌توان وضعیت ساختارهای مغزی و ایمپلنت‌ها را با استفاده از MRI بررسی کرد [۱، ۲].



کل ۱- تصویر مربوط به دستگاه استریوتاکسی و بازوهای آن

دسترسی به مغز

پس از این‌که سر حیوان در وضعیت مجسمه صاف قرار گرفت، محقق می‌تواند با استفاده از مختصات سه بعدی یک ناحیه مغز را هدف قرار دهد. پژوهشگران با شروع از برگما یا لامبدا، میکرومائیپولاتور را بر روی قسمت مناسب مجسمه قرار می‌دهند. از یک مته دندانپزشکی برای انجام کرانیوتومی استفاده می‌شود. گاهی اوقات خونریزی در این مرحله اتفاق می‌افتد در اینصورت باید خون اضافی را با یک سواب حذف نمود (شکل ۴) [۵].



شکل ۴- تصویر حیوان پس از کرانیوتومی

نفوذ به مغز

هنگامی که مغز در معرض دید قرار گیرد، دانشمند می‌تواند از میکرومائیپولاتور برای انتقال ماده زیست فعال یا نشانگر عصبی مغز استفاده کند. به عنوان مثال، پژوهشگر می‌تواند یک عامل دارویی یا ویروسی را به ناحیه مغزی منتقل کند، یا وسیله‌ای مانند کانول یا پنجره نوری^۱ (جهت دسترسی نوری به ساختارهای سطحی مغز، شکل ۵) را کاشت کند. ایمپلنت‌های دائمی را می‌توان با آکرلیک و / یا سیمان دندان نگه داشت. این سیمان‌ها به طور خاص برای چسباندن اشیاء کوچک در سطح استخوان طراحی شده‌اند. در صورت استفاده صحیح، ایمپلنت‌ها می‌توانند در طول زندگی حیوان به طور ایمن متصل به مجسمه باقی بمانند [۵].

خاتمه جراحی

بعد از اینکه چسب کاملاً سخت شد، کارهای نهایی شامل بستن برش، تمیز کردن ناحیه آسیب دیده و کمک به حیوان در بهبودی است. بسته به طول برش، پژوهشگر می‌تواند از بخیه‌های استریل یا چسب‌هایی که برای بافت‌ها طراحی شده‌اند برای بستن پوست اطراف ایمپلنت استفاده کند. پس از بسته شدن پوست، قسمت بالای سر حیوان را می‌توان به راحتی با محلول بتادین برای تمیز کردن ناحیه آسیب دیده و جلوگیری از عفونت درمان کرد. در حین عمل جراحی، حیوان به دلیل ریزش خون و ضربان قلب پایین می‌تواند گرمای زیادی از بدن را

کتامین یک ماده بیهوشی است، زایلازین آرام‌بخش و ضد درد است. مخلوط کتامین / زایلازین به طور معمول یک حیوان را برای 1-2 ساعت بیهوش می‌کند. تجدید مجدد مخلوط کتامین / زایلازین توصیه نمی‌شود، زیرا قرار گرفتن در معرض طولانی مدت می‌تواند منجر به برادی کاردی (ضربان قلب غیر طبیعی کند)، کوری، تشنج یا مرگ شود.

به عنوان یک گزینه جایگزین، پژوهشگران می‌توانند از بیهوش کننده‌های گازی استفاده کنند، که مخصوصاً برای جراحی‌های طولانی مفید است. مانند ایزوفلوران، بیهوشی رایج گازی و اتر که احتمالاً با مختل شدن انتقال سیناپسی کار می‌کند. گاز در محفظه‌ای که موش در آن قرار دارد آزاد می‌شود و پژوهشگر ۱-۳ دقیقه صبر می‌کند تا جاندار تمام حرکات را متوقف کند. باید پس از آن‌که جاندار هیچ نشانه‌ای از پاسخ حرکتی را نشان نداد، عمل جراحی انجام شود [۱].

قرار دادن جوندگان بر روی دستگاه استریوتاکسی

پژوهشگران پس از تمیز کردن ناحیه جراحی و بیهوش کردن صحیح حیوان، حیوان را روی دستگاه استریوتاکسی قرار می‌دهند. ابتدا میله‌های گوش را در کانال‌های گوش حیوان وارد می‌کند. این قرارگیری اجازه می‌دهد تا سر به سمت بالا و پایین کج شود، دندان‌های حیوان روی نوار نیش قرار می‌گیرند و بینی کاملاً در یک بند قرار می‌گیرد. جهت فیکس کردن سر حیوان از ناحیه پوزه از گیره بینی که در ناحیه قدامی پوزه است استفاده می‌شود. میله‌های جانبی جهت فیکس کردن سر حیوان است که در دو طرف سر، مقابل مجرای شنوایی قرار دارند و باعث حفظ حالت افقی سر حیوان در برابر بازوی دستگاه می‌شوند. پوست ناحیه میانی به آرامی کنار گذاشته شده و مجسمه تمیز می‌شود. برای اندازه‌گیری مختصات سه بعدی در محورهای x، y و z و اطمینان از صاف بودن سطح بالای مجسمه از میکرومائیپولاتور روی استریوتاکس استفاده می‌شود (شکل ۳) [۴].



شکل ۳- نحوه صحیح قرار دادن حیوان بر روی دستگاه استریوتاکسی

^۱Optical window

قرار دادن مناطق خاص مغز با جراحی استریوتاکسی فرصت‌های تجربی بسیاری را برای تعیین نقش این مناطق در رفتار حیوانات فراهم می‌کند. به عنوان مثال، در یک آزمایش از دست دادن عملکرد، پژوهشگر می‌تواند یک ناحیه مغز را غیرفعال کند تا مشخص کند آیا بخش مورد نظر برای انجام یک رفتار ضروری است؟ از طرف دیگر، یک پژوهشگر می‌تواند یک آزمایش عملکردی را انجام دهد و فعالیت عصبی را تحریک کند تا مشخص کند که آیا فعالیت در آن منطقه برای ایجاد یک رفتار موثر است یا خیر. به منظور انجام این آزمایشات، پژوهشگر می‌تواند با استفاده از روش‌های فیزیکی، دارویی، الکتریکی و ژنتیکی مغز زنده را دستکاری کند [۸].

نتیجه‌گیری

جراحی‌های استریوتاکسی توانایی هدف قرار دادن مناطق خاص مغز را برای مشاهده یا دستکاری فراهم می‌کند. پس از یک عمل جراحی می‌توان فعالیت عصبی و نوروشیمیایی تعداد کمی از سلول‌ها را اندازه‌گیری کرد و همچنین فعالیت را برای تعیین نقش این سلول‌ها در فیزیولوژی و رفتار اندازه‌گیری کرد.

مراجع

- [1]. Dyste, G.N., et al., Stereotaxic surgery in the treatment of multiple brain abscesses. *Journal of neurosurgery*, 1988. 69(2): p. 188-194.
- [2]. Grutzendler, J., N. Kasthuri, and W.-B. Gan, Long-term dendritic spine stability in the adult cortex. *Nature*, 2002. 420(6917): p. 812.
- [3]. Boulton, A.A., G.B. Baker, and A.N. Bateson, In Vivo Neuromethods. Vol. 32. 1998: Springer.
- [4]. Athos, J. and D.R. Storm, High precision stereotaxic surgery in mice. *Current protocols in neuroscience*, 2001. 14(1): p. A. 4A. 1-A. 4A. 9.
- [5]. Geiger, B.M., et al., Survivable stereotaxic surgery in rodents. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, 2008(20): p. e880.
- [6]. Roitman, M.F., et al., Real-time chemical responses in the nucleus accumbens differentiate rewarding and aversive stimuli. *Nature neuroscience*, 2008. 11(12): p. 1376.
- [7]. Wilson, B.C., Kinetic memory electrodes, catheters and cannulae, 1975, Google Patents.
- [8]. Fillenz, M., In vivo neurochemical monitoring and the study of behaviour. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 2005. 29(6): p. 949-962.

از دست دهد. بنابراین باید در قفس ریکاوری روی یک پد گرم یا زیر یک چراغ گرم قرار گیرند. با احیای حیوان، پژوهشگر باید مواد ضد درد و یا آنتی بیوتیک‌های اضافی را تزریق کند. بهبودی کامل حیوان بعد از عمل جراحی از چند روز تا یک هفته کامل طول می‌کشد. تزریق بیش‌تر یک ضد درد و / یا آنتی بیوتیک ممکن است برای کمک به بهبود حیوانات لازم باشد [۱، ۴].

دسترسی طولانی مدت به مغز

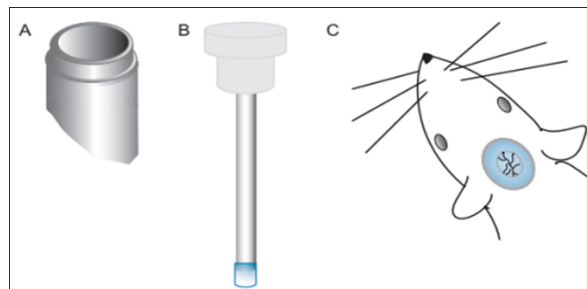
بعد از اینکه پژوهشگر جراحی استریوتاکسی را انجام داد، دسترسی به مغز از بین می‌رود. با این حال، انواع دستگاه‌های قابل کاشت وجود دارد که امکان دسترسی طولانی مدت به مغز را برای تزریق مزمن یا ثبت‌های فیزیولوژیکی فراهم می‌کنند. متداول‌ترین کاشت‌ها شامل محفظه‌های کوچک و کانول (Cannulae) است که هرکدام در زیر شرح داده شده است.

محفظه‌های کوچک

یک محفظه کوچک حلقه‌ای گرد و توخالی است که یک انتهای آن روی جمجمه قرار دارد و انتهای دیگر با یک پیچ بسته شده است. این کاشت در الکتروفیزیولوژی امکان دسترسی پیوسته و طولانی را به محقق می‌دهد. در صورت عدم استفاده، محفظه باید همیشه بسته شود تا از ورود آلودگی‌های خارجی به مغز جلوگیری شود (شکل ۵).

کانول (Cannulae)

کانول یک لوله باریک و استوانه‌ای است که محقق می‌تواند درون مغز وارد کرده و به طور دائم روی جمجمه قرار دهد که برای دسترسی به ساختارهای عمیق در مغز استفاده می‌شود. پس از کاشت، محقق می‌تواند عوامل دارویی و ویروسی را تزریق کند و الکترودهای باریک و حتی نشانگرهای نوری را برای تحریک نور یا تصویر در ساختارهای عمیق مغز وارد کند [۷] (شکل ۵).



شکل ۵- تصویر (A) یک محفظه کوچک را نشان می‌دهد که امکان دسترسی پیوسته به الکترودها و نشانگرها را می‌دهد. تصویر (B) یک کانول را نشان می‌دهد که یک لوله باریک استوانه‌ای که روی جمجمه قرار داده می‌شود. تصویر (C) یک پنجره نوری را نمایش می‌دهد که امکان دسترسی نوری به ساختارهای سطحی مغز را فراهم می‌نماید.

اندازه‌گیری فعالیت‌های عصبی

فعالیت عصبی را می‌توان در داخل بدن با استفاده از الکتروفیزیولوژی یا مشاهده پروتئین‌های فلورسنت اندازه‌گیری کرد. توانایی نفوذ در مغز و هدف

