بررسی میکروسکوپی تأثیر عصارهٔ مغز جنین برروند ترمیم ضایعهٔ عصب فاسیال در رت

محمدرضا نیکروش Ph.D.☆♦، مرتضی بهنام‌رسولی Ph.D.*، ناصر مهدوی شهری Ph.D.*

☆ دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی و درمانی مشهد، دانشکده پزشکی، گروه علوم تشریح

* دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی

♦ آدرس مکاتبه: مشهد، کدپستی ۹۱۳۷۵، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، دانشکدهٔ پزشکی، گروه علوم تشریح

چکیده

* **هدف:** بررسی هیستولوژیک اثرهای عصارهٔ مغز جنین بر روند ترمیم ضایعهٔ عصب فاسیال در رت

* **مواد و روشها:** به منظور تعیین اثرهای احتمالی تزریق عصارهٔ مغز جنین بر تسریع روند ترمیم در اعصاب محیطی ضایعه دیده، عصب فاسیال ۱۶ رت دو ماهه (نژادWistar) در حاشیهٔ قدامی غدهٔ پاروتید به طور یک طرفه قطع شد. سپس رتها به طور تصادفی به گروه تجربی و گروه کنترل (n=۸) تقسیم شدند. به نمونه‌های گروه تجربی، در روزهای ۷، ۱۴ و ۲۱ پس از قطع عصب، ۰/۲ میلی‌لیتر عصارهٔ مغز جنین به صورت زیر پوستی، در محل ضایعه تزریق شد. به نمونه‌های گروه کنترل نیز به طریق مشابه تزریق سرم فیزیولوژی صورت گرفت.

در روز ۲۸ پس از ایجاد ضایعه، از عصب فاسیال به طول ۵ میلی‌متر طوری نمونه برداری شد که محل ضایعه را نیز در بر داشته باشد. پس از کدگذاری و تثبیت نمونه‌ها در فرمالین ۱۰ درصد، آماده سازی بافتی، مقاطع میکروسکوپی سریال با ضخامت ۷ میکرون تهیه و به کمک هماتوکسیلین - ائوزین و پیکروفوشین رنگ‌آمیزی شدند.

* **یافته‌ها:** نتایج حاصل از بررسی میکروسکوپی مقاطع نشان می‌دهد که در نمونه‌های مربوط به گروه تجربی، آثار ترمیم و بازسازی به صورت افزایش عروق خونی و بافت همبند محیط الیاف اکسونی ضایعه دیده مشهود است و ساختار عصب در محل ضایعه به ساختار طبیعی نزدیک شده است. در مقابل در نمونه‌های مربوط به گروه کنترل علاوه بر اینکه تخریب الیاف عصبی و از دست رفتن میلین شدت یافته است، شواهدی که بیانگر فعالیتهای ترمیمی باشد کمتر به چشم می خورد.

* **نتیجه‌گیری:** در نمونه‌های گروه تجربی که تحت تأثیر عصارهٔ مغز جنین واقع شده‌اند، احتمالاً فاکتورهای تروفیک موجود در عصاره پس از جذب، از طریق انتهای پروگزیمال عصب قطع شده و حمل رو به عقب به جسم سلولی نورونهای ضایعه دیده رسیده و علاوه بر حفظ و بقای آنها، زمینهٔ رشد و ترمیم بخش پروگزیمال فیبرهای عصبی را به سوی اندام هدف فراهم نموده است.

گل واژگان: عصارهٔ مغز جنین، عصب فاسیال، رت، ترمیم عصب

مقدمه

تجربه نشان داده است که چنانچه ارتباط بین نورون و رشتهٔ عصبی در اثر بریدن و یا له‌کردن قطع شود، قسمت دیستال و جدا شدهٔ عصب دچار تخریب می‌شود که این پدیده به نام دژنرسانس والرین موسوم است (۱). در مقابله با این‌گونه ضایعات اگر چه همواره بر تکنیکهای جراحی و ترمیم اعصاب تأکید شده است اما اعتقاد بر این است که عوامل مؤثری از قبیل فاکتور رشد عصبی NGF[1] (۸-۲)، فاکتورهای نوروتروفیک مشتق از مغز BDNF[2] و نوروتروفین ۳ NT3[3] (۹، ۱۰) و نظایر اینها در روند ترمیم مؤثرند. این فرضیه اولین بار در سال ۱۸۹۸ بوسیلهٔ Forsman بیان شد (۱۱) و سپس بررسیها و تحقیقات بعدی، آن را مورد تأیید و حمایت قرار داد (۱۲، ۱۵). در این رابطه نتایج تحقیقات به عمل آمده بر روی جوندگان بالغ نشان می‌دهد که چنانچه نورونهای مغزی نخاعی این جانوران در سیستم عصبی جنینی کاشته شوند قابلیت رشد آکسونی وسیعی از خود نشان می‌دهند (۱۶، ۲۰). علاوه بر این، زنده ماندن نورونهای حرکتی به ویژه در جانوران نابالغ به برقراری ارتباط بین نورونها و بافتهای هدفی که حمایت تروفیکی را برای آنها انجام می‌دهند وابسته است (۲۱). اگرچه پس از آکسوتومی در جوندگان، بعضی از نورونهای حرکتی زنده می‌مانند ولی در معرض تغییراتی که به‌عنوان کروماتولیز شناخته می‌شوند قرار می‌گیرند در حالی که سایر نورونهای حرکتی در معرض تغییراتی واقع می‌شوند که به مرگ آنها منتهی می‌شود (۲۵-۲۲). مشابه چنین تغییراتی که از آن تحت عنوان آپوپتوزیس یاد می‌شود پس از قطع عصب یا حذف فاکتورهای تروفیک نیز قابل مشاهده است (۲۶، ۲۷). پس از کشف NGF و به دنبال ارائه فرضیه نوروتروفیک (۲۸، ۲۹) که بوسیلهٔ نتایج حاصل از تحقیقات بعدی مورد تأیید قرار گرفت مشخص شد که با تجویز منظم NGF می‌توان از مرگ نورونی ناشی از قطع اعصاب محیطی، از جمله عصب سیاتیک، جلوگیری کرد (۳۰، ۳۱). نکته قابل توجه که در این رابطه باید مد نظر قرار گیرد، موضوع سرعت ترمیم و رابطهٔ آن با فاکتور زمان است. بدیهی است که هر چه فاصلهٔ محل آسیب تا اندام عمل‌کننده بیشتر باشد زمان مورد نیاز برای ترمیم نیز بیشتر خواهد بود. بنابراین چنانچه بتوان به وسیلهٔ عواملی از جمله کاربرد عوامل تروفیک سرعت ترمیم را افزایش داد، از رهگذر کاهش زمان بهبودی، شانس بازگرداندن اعمال طبیعی به اندامهای هدف مربوطه بیشتر خواهد شد (۹، ۳۲، ۳۳). در عین حال این نکته را نیز باید در نظر داشت که اگرچه کاشت نورونهای بالغ در سیستم عصبی مرکزی جنینی یا بالعکس منجر به رشد وسیع آکسونی در بافت بالغ عصبی می‌شود، اما با توجه به مشکلات و محدودیتهای تکنیکی که در این روشها وجود دارد، در این پژوهش سعی شده تا ارتباط توانایی عصارهٔ مغز جنین FBE[4] با افزایش قابلیت ترمیم عصب سیاتیک ضایعه دیده بررسی شود.

مواد و روشها

* حیوان آزمایشگاهی

در این تحقیق ۱۶ رت نر و ۱۰ رت ماده از نژاد ویستار، به سن تقریبی ۲ ماه و به وزن ۱۲۰ تا ۱۵۰ گرم، مورد استفاده شد. از رتهای نر برای قطع عصب فاسیال و از رتهای ماده پس از بارداری برای تهیهٔ عصارهٔ مغز جنین استفاده شد. به منظور قطع عصب فاسیال در رتهای نر، ابتدا رتها توسط مخلوطی از ۰/۲ میلی‌لیتر کتامین و رامپون (به نسبت ۲+۱)، بیهوش شدند. سپس منطبق بر خطی که بریدگی لالهٔ گوش را به گوشهٔ لب وصل می‌کند، برش کوتاهی به طول یک سانتیمتر در پوست سمت راست صورت ایجاد شد. با توجه به اینکه عصب فاسیال رت پس از خروج از غدهٔ پاروتید به صورت دو شاخه امتداد می‌یابد، هر دو شاخهٔ عصب در حاشیهٔ قدامی غدهٔ پاروتید به گونه‌ای قطع شد که دو انتهای عصب در مجاورت یکدیگر باقی بمانند. با قطع دو انشعاب عصب فاسیال جنبش سبیلهای همان طرف به‌طور کامل از بین می‌رود. پس از ضد عفونی محل زخم با استفاده از کلیپسهای مخصوص، پوست به دقت بخیه شد. سپس نمونه‌ها به طور تصادفی، به یک گروه تجربی و یک گروه کنترل تقسیم شدند و در شرایط استاندارد (نور و دمای مناسب و آب و غذای کافی) در حیوانخانه تحت مراقبت قرار گرفتند. در طی ۲۸ روز مراقبت بعد از عمل، تغییر محسوسی در وزن حیوانات و خوراک روزانهٔ هیچیک از گروهها مشاهده نشد.

* تهیهٔ عصارهٔ مغز جنین

به دلیل اینکه در رت، روزهای ۱۷ تا ۲۰ بارداری دورهٔ اوج تمایز سیستم عصبی محسوب می‌شود، برای تهیهٔ عصاره مغز، از جنینهای ۱۷ روزه استفاده شد. بدین منظور پس از بیهوشی، رتهای باردار سزارین شده، سپس مغز هر جنین به سرعت از جمجمه خارج و با استفاده از همگون کننده به حالت سوسپانسیون در آمد. سپس حجم محتویات هر یک از لوله‌های همگن شده را با استفاده از سرم فیزیولوژی به یک میلی‌لیتر رسانده و با سرعت ۵ هزار دور در دقیقه (به مدت ۱۰ دقیقه) سانتریفوژ شد. سپس محلول لوله‌های سانتریفوژ با پیپت استریل جمع‌آوری و در لوله‌های اپندورف تا موقع مصرف در فریزر نگهداری شد.

* نحوهٔ تجویز

به نمونه‌های مربوط به گروه تجربی، در روزهای ۷، ۱۴ و ۲۱ پس از قطع عصب، مقدار ۰/۱ میلی لیتر عصارهٔ مغز جنین (۳۴)، با استفاده از سرنگ مخصوص و به صورت زیر پوستی به محل ضایعه و به‌طور مشابه به رتهای گروه کنترل نیز سرم فیزیولوژی تزریق شد.

* نمونه برداری و آماده سازی بافتی

نمونه‌های گروه تجربی و کنترل در پایان روز بیست و هشتم پس از

1. Nerve Growth Factor
2. Brain Drived Neurotrophic Factors
3. Neurotrophin3
4. Fetal Brain Extract

عمل، تحت بیهوشی و پرفیوژن واقع شدند. پس از حذف پوست ناحیهٔ صورت، از محل ضایعهٔ عصب فاسیال به طول ۵ میلی‌متر همراه با بستر عضلانی آن، نمونه برداری و پس از کدگذاری با استفاده از فرمالین ۱۰ درصد تثبیت شدند. پس از مراحل آماده سازی بافتی، قالب گیری با پارافین به گونه‌ای انجام شد که انتهای پروگزیمال و دیستال در هر نمونه مشخص باشد. سپس از همهٔ نمونه‌ها مقاطع میکروسکوپی به صورت سریال و با ضخامت ۷ میکرون تهیه شد. برای نمونه‌برداری از مقاطع میکروسکوپی (برشها) از محدودهٔ ضایعه در هر عصب، به طور متوالی از هر ۱۰ برش یک مورد (در مجموع، حدود ۲۰ برش) انتخاب و به صورت زیر رنگ آمیزی شدند:

الف - نیمی از برشها رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین - ائوزین شدند (هسته‌ها به رنگ بنفش و زمینه به رنگ صورتی در می‌آید).

ب - نیمی از برشها رنگ‌آمیزی پیکروفوشین شدند (الیاف کلاژن را به رنگ قرمز و مقاطع الیاف عصبی را به رنگ زرد نشان می‌دهد).

یافته‌ها

نتایج حاصل از بررسیهای میکروسکوپی مقاطع مربوط به بخش پروگزیمال عصب فاسیال به صورت مقایسه‌ای در جدول و در تصاویر ۱ و ۲ ارائه شده است.

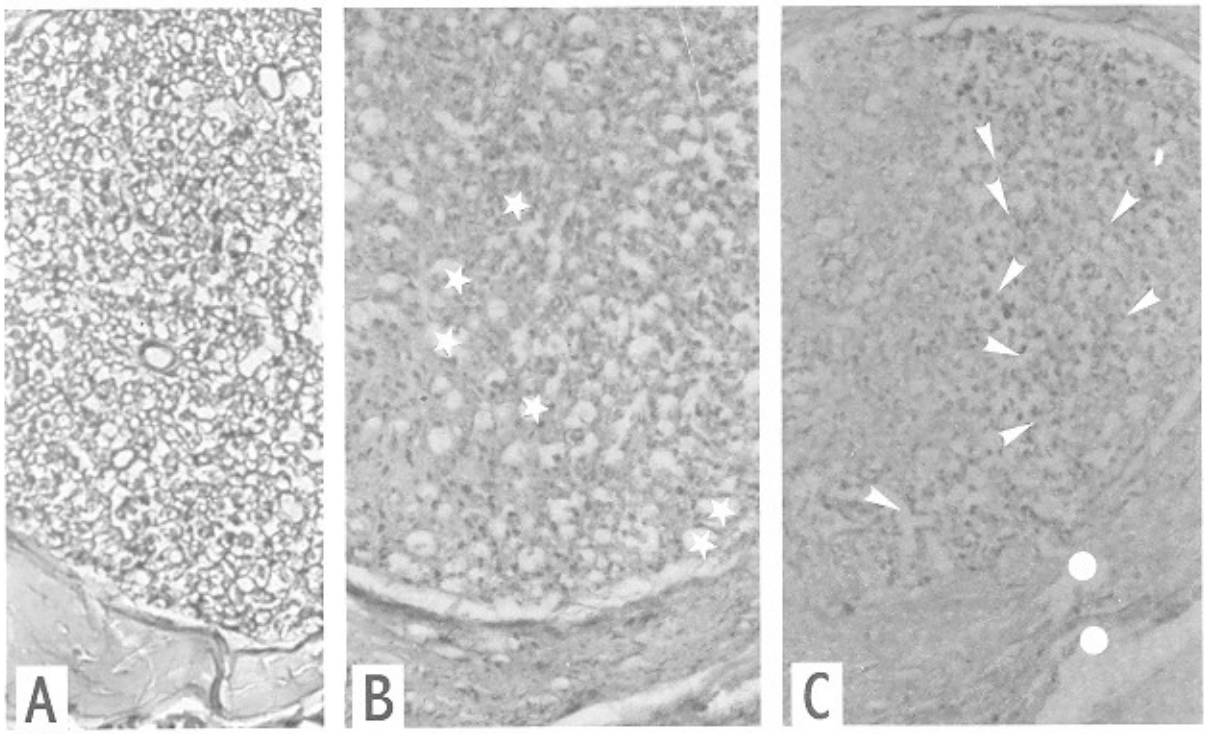
بررسی مقاطع به دست آمده از نمونه‌های مربوط به گروه تجربی، بیانگر این موضوع است که در همهٔ آنها بافت همبند محدودهٔ فیبرهای عصبی ترمیم شده و از این نظر با نمونه‌های دست نخورده تشابه دارد (شکل ۱). علاوه بر این؛ در مقاطع مویرگهای بیشتری دیده می‌شوند (شکل A-۲) و تعداد واکوئولهای روشن (جایگاه تخریب غلاف میلین) کم است. همچنین ظهور الیاف کلاژن در فواصل فیبرهای عصبی (شکل B-۲) به فراوانی قابل رؤیت است.

بررسی مقاطع تهیه شده از منطقهٔ ضایعه دیده در نمونه‌های کنترل (شکل C-۱) نشان می‌دهند که تعداد مقاطع عروق خونی در این نمونه‌ها نسبت به گروه تجربی کمتر است و الیاف آکسونی کمتری در این نمونه‌ها به چشم می‌خورد. علاوه بر این؛ غلاف همبندی عصب دچار ضایعات بیشتری شده است و از نظر مقایسه با مقاطع مشابه در نمونه‌های گروه تجربی، تعداد فضاهای خالی بسیار بیشتر است.

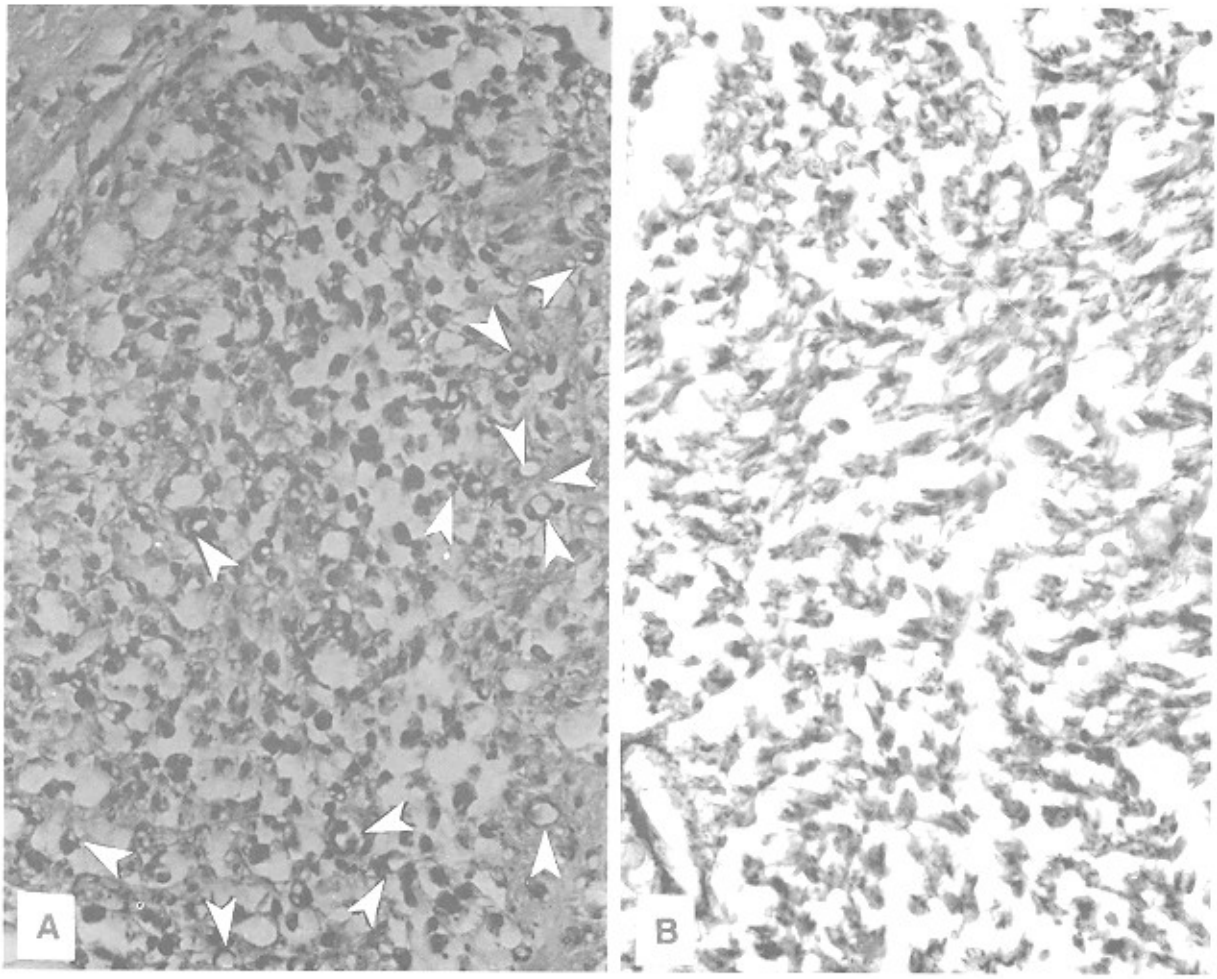
جدول ۱: نتایج حاصل از بررسی میکروسکوپی روند ترمیم عصب فاسیال در گروههای تجربی و کنترل ۲۸ روز پس از ایجاد ضایعهٔ عصبی

	نتایج حاصل از ارزیابی هیستولوژیک روند ترمیم	گروه تجربی	گروه کنترل
*	افزایش عروق خونی در منطقهٔ ضایعه دیده	++	±
*	میزان نسبی سلولهای شوون و سلولهای بافت همبند	++	±
**	میزان نسبی پیدایش میلین در اطراف فیبرهای در حال ترمیم	+	-
***	میزان نسبی بافت همبندی (کلاژن مربوط به غلافهای عصبی)	++	±
	مشابهت عصب درحال ترمیم با نمونهٔ طبیعی (دست‌نخورده)	+	-

*: H&E ، **: پیکروفوشین، ***: تست بلو، +: زیاد، ++: خیلی زیاد، ±: کم و بیش، -: اصلاً



شکل ۱: مقاطع عرضی از ناحیهٔ پروگزیمال عصب فاسیال دست نخورده (سالم) و ضایعه دیده در روز بیست و هشتم پس از ضایعه. A- نمونهٔ دست نخورده (بزرگنمایی: ۲۰۰×). B- نمونهٔ تجربی (بزرگنمایی ۲۰۰×، رنگ آمیزی: هماتوکسیلین ائوزین). در این نمونه به وضعیت از دست رفتن نسبی غلاف میلین در الیاف عصبی (*) توجه شود. C- نمونهٔ کنترل (بزرگنمایی: ۱۵۰×، رنگ‌آمیزی: هماتوکسیلین-ائوزین). در این نمونه به از دست رفتن شدید غلاف میلین (*) و اسپیِ نسبی بافت همبند غلاف عصبی (●) توجه شود.



شکل ۲: A- مقطع عرضی از محدودهٔ ضایعه در عصب فاسیال یک نمونهٔ تجربی در روز بیست و هشتم (بزرگنمایی: ۴۰۰×، رنگ آمیزی: هماتوکسیلین-ائوزین). در این نمونه به ظهور مقاطع عروقی فراوان در بین الیاف عصبی A توجه شود. B- نمونهٔ تجربی مربوط به روز بیست و هشتم (بزرگنمایی: ۴۰۰×، رنگ آمیزی: پیکروفوشین) که به منظور نشان دادن الیاف کلاژن تهیه شده است.

بحث

امروزه سوانح و حوادث گوناگون یکی از عمده‌ترین عوامل بروز معلولیتهای جسمی است، به‌طوری که ضایعات و صدماتی که از این طریق بر سیستم عصبی مرکزی و محیطی وارد می‌شود همه ساله هزاران معلول در سطح جهان برجای می‌گذارد. از آنجا که این‌گونه ضایعات به‌طور ثانویه موجب تغییر شکل و از کارافتادگی اندامهای دیگر می‌شود در اکثر موارد به شکل جبران ناپذیری، کارآیی و زندگی شخص را دستخوش تغییر و دگرگونی می‌سازند. قابلیت تکثیر و تمایز بافت عصبی در دوران جنینی و نوزادی از یک طرف و محدود شدن این قابلیتها پس از بلوغ این سیستم از طرف دیگر، بیانگر این واقعیت است که کنترل روند تکثیر، مهاجرت و تمایز سلولها و بافتهای در حال رشد و تکامل از مکانیسم پیچیده‌ای بهره‌مند است. در عین حال نقش عوامل ژنتیکی انکار ناپذیر است به‌گونه‌ای که احتمالاً دسته‌ای از اطلاعات ژنتیکی به طور مقطعی فعال شده و فاکتورها یا عواملی را به‌وجود می‌آورند که بستر مناسبی برای انجام پدیدهٔ فوق را فراهم می‌نمایند (۳۵).

مطالعات به عمل آمده نشان می‌دهند که در پدیدهٔ ترمیم اعصاب محیطی، عوامل و فاکتورهای گوناگونی مؤثرند. برای نمونه سن موجود زنده در پدیدهٔ ترمیم عاملی تعیین‌کننده است زیرا میزان سنتز مواد مورد نیاز برای ترمیم فیبرهای عصبی ضایعه دیده با افزایش سن کاهش می‌یابد (۳۶، ۳۷). به همین ترتیب برای ترمیم اعصاب ضایعه دیده فعالیت طبیعی ماکروفاژی، به منظور انهدام بخش دیستال فیبرهای قطع شده، نیز ضروری است (۳۸). عمل طبیعی سلولهای شوان، علاوه بر فعال کردن پدیده ترمیم (۳۹) که احتمالاً به‌دنبال فعال شدن ماکروفاژها اقدام به تولید فاکتور رشد عصبی می‌نمایند، ایجاد غلاف میلین است و از این رو سلولهای شوان نقش عمده‌ای را در پدیدهٔ ترمیم بر عهده می‌گیرند (۴۰). ارتباط عملی ماتریکس خارج سلولی با آکسون و سلولهای شوان (۴۱)، تأثیر میدانهای الکتریکی (۴۲) و اعمال کشش بر انتهای قطع شدهٔ عصب، از عوامل دیگری است که در پدیدهٔ ترمیم مؤثر دانسته شده است (۴۳). از میان این عوامل اثر فاکتورهای رشد عصبی و سایر مشتقات تروفیک در القای رشد مجدد فیبرهای صدمه دیده دارای جایگاهی ویژه است (۴۴). نتایج

حاصل از تحقیقات به عمل آمده اثرهای تسهیل کنندگی نوروتروفینها بر فعال سازی روند ترمیم (۳) و ضرورت وجود آنها برای بهبود ضایعات عصبی و همچنین توسعهٔ عصب‌گیری مجدد را تایید می‌کند (۴، ۵ و ۴۵). با توجه به قابلیت تکثیر و تمایز بافت عصبی در دوران جنینی و نوزادی، پژوهشگران سعی کرده‌اند که با جایگزینی و کاشت سلولهای بافت عصبی جنین در سیستم عصبی مرکزی بالغ و یا برعکس، اثرهای القایی بافت عصبی جنین در ترمیم ضایعات عصبی را نشان دهند (۴۶، ۴۸). همچنین تشکیل سیناپسهای جدید در مغز بالغ صدمه دیده که به‌دنبال کاشت بافت عصبی جنین صورت می‌گیرد به خوبی نشان داده شده است (۱۶). با توجه به موارد فوق می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که در پدیدهٔ ترمیم سیستم عصبی، مجموعه‌ای از عوامل شناخته شده و ناشناخته وجود دارند که می‌توانند با افزایش سرعت ترمیم، زمان ترمیم را کوتاه کنند. به‌نظر می‌رسد که عصارهٔ مغز جنین به دلیل داشتن مقادیر متابهی از گلیکولیپیدها، گلیکوپروتئینها و آدنوزین مونوفسفات حلقوی (cAMP) می‌تواند به‌عنوان کمپلکس تسریع کنندهٔ ترمیم رشته‌های عصبی مورد توجه قرار گیرد (۲). نتایج حاصل از بررسی هیستولوژیک موضع آسیب دیدهٔ عصب فاسیال در گروههای تجربی و کنترل نیز نشان می‌دهند که افزودن عصارهٔ مغز جنین به محل آسیب موجب تغییراتی از قبیل فعالیت سلولهای شوان، سرعت یافتن روند آتزیوژنز و تشکیل الیاف کلاژن در لایه‌لای الیاف اکسونی فیبرهای ضایعه دیدهٔ عصبی شده (۴۹) و روند ترمیم را افزایش می‌دهد؛ به‌طوری که بین پیشرفت فرآیند ترمیم و فعال شدن رشد الیاف در اعصاب محیطی با توسعهٔ بسترهای عروقی رابطهٔ مستقیمی برقرار می‌شود (۵۰). مقایسهٔ مقاطع میکروسکوپی نیز نشان می‌دهد که در مقایسه با گروه کنترل، روند آتزیوژنز در محل ضایعه در گروه تجربی گسترش بیشتری دارد. علاوه بر این؛ در نمونه‌های تجربی تغییرات اندکی در جهت از دست رفتن میلین به چشم می‌خورد و میزان تخریب غلاف میلین به صورت ظهور واکوئولهای روشن دیده می‌شود که در نمونه‌های گروه کنترل بیشتر است. این اثرهای تخریبی می‌توانند به صورت رتروگرید به جسم سلولی نورونها سرایت کرده (۵۱، ۵۲) و موجب بروز پدیدهٔ کروماتولیز شوند. براساس فرضیه فورسمان (۱۱)، با قطع فیبرهای عصبی جسم سلولی نورونها از پیامهای شیمیایی که به طور طبیعی به وسیلهٔ انتقال رتروگرید از پایانه‌های عصبی به جسم سلولی منتقل می شود و سنتز پروتئین را کنترل می‌کند محروم می‌شوند (۵۳). بر این اساس چنانچه جسم سلولی نورونهای ضایعه دیده از طریق بخش پروگزیمال اکسونهای قطع شدهٔ خود در معرض این فاکتورها قرار گیرند، شانس ادامهٔ فعالیتهای حیاتی طبیعی و رژنراسیون سریعتر اکسونهای ضایعه دیده در آنها افزایش می‌یابد (۵۴، ۵۵). نتایج حاصل از این پژوهش نیز حاکی از آن است که در نمونه‌های تجربی که در معرض دریافت عصارهٔ مغز جنین واقع شده‌اند، نه تنها روند تخریبی قابل ملاحظه‌ای در جهت پروگزیمال فیبرهای عصبی دیده نمی‌شود بلکه ساختار عصب ضایعه دیده به عصب طبیعی بسیار نزدیک است. علاوه بر این؛ چنانکه در مقاطع مربوط به نمونه‌های تجربی دیده می‌شود، غلاف عصب در ناحیهٔ ضایعه، تقریباً به حالت طبیعی حفظ شده که خود دلیل دیگری بر جلوگیری از روند تخریب در غلافهای عصبی است. بنابراین در مجموع می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که چه از دید بافت شناسی و چه از نقطه نظر فیزیولوژیکی (بازگشت جنبش سیلهای حیوان)، نه تنها بخش پروگزیمال اعصاب ضایعه دیده در مقابل تغییرات دژنراتیو رو به عقب حمایت شده بلکه روند ترمیم نیز پیشرفت چشمگیری داشته است. با این توصیف می‌توان گفت که تزریق عصارهٔ مغز جنین به محل ضایعه، احتمالاً از طریق اعمال یک مکانیسم حمایتی، شرایطی را فراهم می‌کند که عصب‌دار شدن مجدد اندام هدف با سرعت بیشتری انجام یابد. بر این اساس می‌توان انتظار داشت که عوامل تروفیک موجود در عصارهٔ مغز جنین، سلولهای شرکت کننده در پدیدهٔ ترمیم را به‌عنوان سلولهای القا شده‌ای درآورند که علاوه بر مصونیت در مقابل تغییرات دژنراتیو، روند ترمیم را نیز تسریع بخشند.

در عین حال برای دقت در مطالعه و حصول نتایج بهتر شایسته است با بهره‌گیری از مطالعات مورفومتریک، بررسیهای کمی از قبیل اندازه‌گیری قطر اعصاب ضایعه دیده در طی روند ترمیم، شمارش فیبرهای عصبی و تعداد مقاطع عروقی ظاهر شده در این اعصاب به عمل آید که سعی خواهد شد تا در پژوهشهای بعدی به این موضوع پرداخته شود.

References

1. Tham S, Dowshing B, Finkelstein D, Donato R, Cheema SS, Bartlett PL: Leukaemia inhibitory factor enhances the regeneration of transected rat sciatic nerve and the function of reinnervated muscle. J Neurosci Res 1997; 47: 208-215

2. Gage FH, Buzsaki G, Armestrong DM: NGF-dependent sprouting and regeneration in the hippocampus. Prog Brain Res 1990; 83: 357-370

3. Drby A, Englemand VW, Fredrich GE, Neises G, Rapp SR, Roufa DG: Nerve growth factor facilitates regeneration across nerve gaps: morphological and bihavioral studies in rat sciatic nerve. Exp Neurol 1993; 119: 176-191

4. Houle JD: Regeneration of dorsal root axons is related specific non-neuronal cells lining NGF-treated intraspinal nitrocellulose implants. Exp Neurol 1992; 118: 133-142

5. Houle JD, Johnson JE: Nerve growth factor treated (NGF)- nitrocellulose enhances and directs the regeneration of adult rat dorsal root axons through intraspinal neural tissue transplants. Neurosci Lett 1989; 103: 17-23

6. Seniuk NA: Neurotrophic factors: Role in peripheral neuron survival and axonal repair. J Reconstr

Microsurg 1992; 8: 399-404
7. Furukawa S: Neurotrophins as a therapeutic tool for degenerative neuronal disorders. Rinsho, Shinkeigaku 1993; l33: 1265-1269
8. Sendtner M, Stockli KA Thoenen H, Synthesis and localization of ciliary neurotrophic factor in the sciatic nerve of the adult rat after lesion and during regeneration. J Cell Biol 1992; 118: 139-148
9. Clatterbuck RE, Price DL, Koliatsos VE: Further characrerization of effects of brain derived neurotrophic factor and ciliary neurotrophic factor on oxotomized neonatal and adult mammalian motor neurons. J Comp Neurol 1994; 342: 45-56
10. Eriksson NP, Lindsay RM, Aldskogius H: BDNF and NT-3 rescue sensory but not motoneurones following axotomy in the neonate. Neuroreport 1994; 5: 1445-1448
11. Evans PJ, Bain JR, Mackinnon SE, Makino AP, Hunter DA: Selective reinnervation: a comparison of recovery following microsuture and conduit nerve repair. Brain Research 1991; 559: 315-321
12. Brushart TM: Preferential reinnervation of motor nerves by regenerating motor axons. J Neurosci 1988; 8: 1026-l031
13. Brushart TM, Seiler WA: Selective reinnervation of distal motor stumps by peripheral motor axons. Exp Neurol 1987; 97: 289-300
14. Politis MJ, Steiss JE: Electromyographic evaluation of a novel surgical preparation to enhance nerve-muscle specificity that follows mammalian peripheral nerve trunk transection. Exp Neurol 1985; 87: 326-333
15. Seckel BR, Ryan SE, Gagne RG, Chiu TH, Watkins E: Target-specific nerve regeneration through a nerve guide in the rat, Plast Reconstr Surg 1986; 78: 793-800
16. Raisman G, Field PM: Synaps formation in the adult brain after lesions and after transplantation of embryonic tissue. J Exp Biol 1990; 153: 277-287
17. Polezhave LV, Alexndrova MA: Transplantation of embryonic brain tissue into the brain of adult rats after hypoxic hypoxia. J Himforsh 1984; 25: 99-106
18. Hoovler DW, Bernstein JJ: Transplantation of fetal rat cortex into regenerating nerve to the biceps femoris of adult rat. Exp Neurol 1985; 89: 337-347
19. Itoh Y, Sugawara T, Kowada M, Tessler A: Time course of dorsal root axon regeneration into transplants of fetal spinal cord: I- A light microscopic study. J Comp Neurol 1992; 323: 198-208
20. Kitakami A: Transplantation of embryonal cerebral cortex to the adult rat cerebellum: the fiber connections made by cortical transplants and the cerebellum. No Shinkei Geka. 1990; 18: 347-353
21. Sunderland S: Nerve Injuries and Their Repair. 1ed. Longman Group UK, 1991, pp 105, 222
22. Lieberman AR: The axon reaction: a review of the principal features of perikaryal responses to axon injury. Interntional Reviw of Neurobiology. 1971; 14: 49-124
23. Crews LL, Wigeston DJ: The dependence of motoneurons on their target muscle during postnatal development of the mouse. J Neurosci 1990; 10: 1643-1650
24. Pollin MM, Mchanwell S, Slater CR: The effect of age on motor neuron death following axotomy in the mouse. Development 1991; 112: 83-90
25. Snider WD, Elliott JL, Yan Q: Axotomy-induced neuronal death during development. J of Neurobiology 1992; 23: 1231-1246
26. Altman I: Programmed cell death: the paths to suicide. Trends in Neurosciences 1992; 15: 278-280
27. Estus S, Zaks WJ, Freeman RS, Gruda M, Bravo R, Johnson EM: Altered gene expression in neurons during programmed cell death: identification of c-jun as necessary for neuronal apoptosis. J Cell Biology; 1994 127: 1717-1727
28. Levi-Montalcini R, Angeletti PU: Nerve growth factor. Physiol Rev 1968; 48: 534-569
29. Yip HK, Rich KM, Lampe PA, Johnson EM: The effects of nerve growth factor or and its antiserum on the postnatal development and survival after injury of sensory neurons in the rat dorsal root ganglia. Neuroscience 1984; 4: 2986-92
30. Otto D, Unsicker K, Grothe C: Pharmacological effects of nerve growth factor and fibroblast growth factor applied to the transected sciatic nerve on neuron death in adult dorsal root ganglia. Neurosci Lett 1987; 83: 156-160
31. Rich KM, Luszczynski JR, Osborne PA, Johnson EM, Nerve growth factor protects adult sensory neurons from cell death and atrophy caused by nerve injury. J Neurocytol 1987; 16: 261-268
32. Rush AR, Mayo R, Zettler C: The regulation of nerve growth factor synthesis and delivery tp peripheral neurons. Pharmacol Ther. 1995; 65: 93-126
33. Calamandrei G, Alleva E: Neuronal growth factors, neurotrophins and memory deficiency. Behav Brain Res

1995; 66: 129-132
34. Vejsada R, Sagot Y, Kato AC: BDNF-mediated rescue of axotomized motor neurones decreases with increasing dose. Neuroreport 1994; 5(15): 1889-1892
35. Ernfors P, Henschen A, Olson L, Persson H: Expression of nerve growth factor receptor mRNA is developmentally regulated and increased after axotomy in rat spinal cord motoneurons. Neuron 1986; 2: 1605-1613
36. Snell RS Clinical Neuroanatomy for Medical Students. 3ed. Little, Brown and Company, Boston, America, 1987, pp 103-113
37. Vaughan DW: Effects of advancing age on peripheral nerve regeneration. J Comp Neurol 1992; 323: 219-37
38. Tanaka K, Zang QL, Webter HD: Myelinated fiber regenration after sciatic nerve crush: morphometric suppressions and conditioning lesions. Exp Neurol 1992; 118: 53-61
39. Guenrad V, Kleitman N, Morrissey TK, Bunge RP, Aebischer P: Syngeneic schwann cells derived from adult nerves seeded in semipermeable guidence channels enhance peripheral nerve regeneration. J Neurosci 1992; 12: 3310-3320
40. Carbonetto S: Facilitatory and inhibitory effects of glial cells and extracellular matrix in axonal regeneration. Curr Opin Neurobiol 1991; 1: 407-413
41. Liu HM: The role of extracellular matrix in peripheral nerve regeneration: a wound chamber study. Acta Neuropatol 1991; 83: 469-474
42. Kerns JM, Lucchienttic C: Electerical field effects on crushed nerve regeneration. Exp Neurol 1992; 117: 71-80
43. Ilizarov GA, Shudlo MM, Kuznetasova AV, Shudlo NA: Neurohistological characteristics of regeneration of the ends of the injured nerve under measured traction. Biull Eksp Biol Med 1992; 113: 439-442
44. Terenghi G: Peripheral nerve regeneration and neurotrophic factors. J Anatomy 1999; 194: 1-14 morphological and bihavioral studies in rat sciatic nerve. Exp Neurol 119: 176-191
45. Rogister B, Delree P, Leprince P, Martin D, Sadzot C, Malgrange B, Munaut C, Rigo GM, Lefebvre PP, Octave GN: Transforming growth factor beta as a neuronoglial during peripheral nervous system response to injury. J Neurosci Res 1993; 34: 32-34
46. Steinbusch HW, Van-Luijtelaar MG, Dijkstra H, Nijssen A, Tnnae JA: Aging and regenerative capacity of the rat serotonergic system. A morphological, neurochemical and behavioral analysis after transplantation of fetal raphe cells. Ann NY Acad Sci 1990; 600: 384-402
47. Jaeger CB, Toombs JP, Borgens RB: Grafting in acute spinal cord injury: morphological and immunological aspects of transplantated adult rat enteric ganglia. Neuroscience 1993; 52: 333-346
48. Wang GY, Hirai K, Shimada H, Taji S, Zong SZ: Behvior of axon, Schowan cells and perineurial cells in nerve regeneration within transplanted nerve grafts: Effects of anti-laminin and anti-fibronectin antisera. Brain Res 1992; 583: 216-226
49. Siironen J, Sandberg M, Vuorinen V, Roytta M: Expression of type I and III collagens and fibronectin after transection of rat sciatic nerve. Reinervation compared with denervation. Lab-Invest 1992; 67(1): 80-87
50. Todd ME: Trophic interactions between rat nerves and blood vessels in denervated peripheral arteries and in anterior eye chamber transplants. Circ Res 1986; 58: 641-652
51. Primi MP, Clarke PG: Early retrograde effects of blocking axoplasmic transport in the axons of developing neurons. Brain-res 1997; 99: 259-262
52. Crouch MF, Heydon K, Garnaut SM, Milburn PJ, Hendry IA: Retrograde axonal transport of the alpha-subunit of the GTP-binding protein GZ in mouse sciatic nerve: a potential pathway for signal Eur-J-Neurosci 1994; 6: 626-631
53. Jing SQ, Wen DZ, Yu YB, Holst PL, Luo Y, Fang M: GDNF-induced activation of the Ret protein tyrosine kinase is mediated by GDNFR-x, a novel receptor for GDNF. Cell 1996; 85: 1113-1124
54. Sjoberg J, Kanje M: Insuline-like growth factor (IGF-1) as a stimulator of regeneration in the freeze-injured rat sciatic nerve. Brain Res 1989; 485: 102-108
55. Ferrer I, Blanco R, Carulla M, Alcantora S, Olive M: Transforming growth factor-immunoreactivity in the developing and adult brain. Neuroscience 1995; 66(1): 189-199