Archive of SID

# بررسی تغییرات گلیکوکانژوگه های ماتریکس خارج سلولی و سطح سلول در روند تکامل لیمبوس گوش داخلی در جنین موش صحرائی

طاهره طلایی خوزانی*، محمد رضا عرب** ، علی رضا فاضل*** ، مهدی جلالی***

خلاصه:

گلیکوکانژوگه ها یکی از مهمترین ترکیبات ماتریکس خارج سلولی هستند که نقش برجسته‌ای در بیولـوژی تکـاملی دارند، لیمبوس مارپیچی از اپیتلیوم حلزون گوش در کنار ارگان کورتی، تکامل می‌یابد. در طی تکامل ایـن بخـش، بسیاری از فرایندهای تکاملی نظیر مهاجرت سلولی ، تکثیر سلولی و تغییر آرایش سلولی به چشم می خورد. با توجـه به این موضوع به کمک روشـهای هیستوشـیمیایی و بـا کمـک لکتینـهای BSA1-B4 [1] و PNA [2] بـه ردیـابی ایـن گلیکوکانژوگه ها در طی تکامل لیمبوس از روز ۱۲ جنینی تا روز ۱۵ پس از تولد پرداخته شد.

نتیجه این تحقیق ، تغییرات گلیکوکانژوگه ها را در ماتریکس مزانشیم لیمبوس و در اپی تلیوم پوشاننده سطح آن نشان داد.در ضمن همزمان با بروز این ترکیبات ، رشته های الاستیک در این بخش ظاهر شد.

از نتایج حاصله چنین بر می آید که طرح تغییرات گلیکوکانژوگه های سطح سلول و ماتریکس خارج سلولی در روند تکامل لیمبوس از نظر فضایی زمانی تنظیم شده است .

واژه های کلیدی: گلیکوکانژوگه‌ها، لکتین ، هیستوشیمی ، لیمبوس مارپیچی

مقدمه:

لیمبوس مارپیچی گوش ، برآمدگی اسـت کـه در طـرف داخل سلولهای پشتیبان داخلی ارگان کورتـی قـرار دارد. این بخش توسط سلولهای پوششـی بنـام سـلولهای بیـن دندانی پوشیده شده است. در زیر ایـن اپیتلیـوم ، بـافت همبند حجیم تر میباشد. این اپیتلیـوم پـرده تکتوریـال را ترشح می کند(۱).

اپیتلیوم لیمبـوس از تکـامل بخشـی از اپیتلیـوم مجـرای حلزونی کـه سـتیغ اپیتلیـالی بـزرگتـر (GEL) نـام دارد بوجـود مـی آیـد(۲). تشـکیل بخشـهای مختلـف گوش داخلی تحت کنترل ترکیبات متعددی است.این ترکیبـات در دوره خاصی ظهور کرده میزان آن کم یا زیاد می شود و یا به طور کلی ناپدید می‌گردد(۳،٤،٥،٦،۷).

* استادیار بخش علوم تشریح دانشگاه علوم پزشکی شیراز

** استادیار بخش علوم تشریح دانشگاه علوم پزشکی زاهدان

*** دانشیار بخش علوم تشریح دانشگاه علوم پزشکی مشهد

1- Bandelia Simplifolia

2- Peanut Agglufinin

دریافت مقاله: ۷۹/٦/۳۰ دریافت مقاله اصلاح شده: ۸۰/٦/۳ اعلام قبولی: ۸۰/۱۲/۱۸

www.SID.ir

Archive of SID

یکی از این ترکیبات گلیکوکانژوگه ها هستند که در بسیاری از فرایندهای تکاملی نظیر مهاجرت سلولی(۸)، تعیین قطبیت(۹،۱۰)،تکثیر(۱۱)،تشخیص و چسبندگی سلول (۱۲) و در بسیاری از میان کنشهای بین سلولی و ماتریکس خارج سلولی (٦)نقش دارد.در حین تکامل لیمبوس نیز بسیاری از این پدیده ها مشاهده شده است.

علاوه بر نقشی که گلیکوکانژوگه ها در روند تکامل طبیعی جنین ایفا می‌کنند، در پاتوژنز برخی نقایص مادرزادی در حین تکامل گوش نیز مهم هستند و اختلال در ساخت ترکیبات قندی در روند تکامل منجر به اختلالات شنوایی می گردد(۱۳).

با توجه به اهمیت گلیکوکانژوگه ها در فرایندهای تکاملی که برخی از آنها نیز در تکامل لیمبوس مشاهده می شود و اینکه شواهدی دال بر اهمیت قند انتهایی گالاکتوز، قندهای آمینی و سیالیک اسید در وقایع تکاملی در دست است(۱٤)، تصمیم گرفته شد به بررسی تغییرات این ترکیبات در طی تکامل لیمبوس که در ترشح پرده تکتوریال و در نتیجه در فیزیولوژی و پاتوژنز برخی از بیماریهای آن دارای اهمیت است، پرداخته شود. بنابراین به کمک روشهای هیستوشیمیایی و لکتینهایBSA1_B4[1] که می تواند قند انتهایی گالاکتوز (Gal)را شناسایی کند و PNA[2] که می تواند قند انتهایی گالاکتوز ان استیل گالاکتوز آمین(Gal/GalNac) را شناسایی کند، این ترکیبات مطالعه شد.

**مواد و روشها:**

۵۰ سر موش صحرائی نر از نژاد ویستار[3]انتخاب شدندو با مشاهده پلاگ واژنی روز صفر حاملگی مشخص شد. موشهای صحرائی در شرایط استاندارد از نظر دسترسی به آب و مواد غذایی، نور (۱۲ ساعت روشنایی ۱۲ ساعت تاریکی)، رطوبت (۵۵٪-۵۰٪) و درجه حرارت (۲٤-۲۲) نگه داری شدند. جنینهای ۲۰-۱۲ روزه و نوزادان موش صحرائی ۱۵-۱ روزه جمع آوری شدند. پس از بیهوشی با کلروفرم سر نوزادان موشهای صحرائی جدا شد. نمونه ها در B4G (۱۵)، کارنوی و بوئن (۱٦) فیکس شدند. سر نوزادان چهار روزه به بعد توسط EDTA کلسیم زدائی شدند. نمونه ها پس از پاساژ به روش معمول بافتی، به ضخامت ٦ میکرومتر بریده شدند. در صورت وجود هر گونه ناهنجاری نمونه از مسیر مطالعه حذف شد.مقاطع بریده شده به روش هماتوکسیلین - ائوزین، آبی آلسین با pH 1 ، آبی آلسین با pH 5.8 (CEC) [4] که با چهار غلظت MgCl2 تهیه شده بود. جهت ردیابی هیالورونیک اسید ، کندروایتین سولفات ، هپارین و کراتان سولفات ، پاس/ آبی آلسین جهت جداسازی گلیکوکانژوگه های خنثی و اسیدی ، آبی تولوئیدین با pH 4.5جهت ردیابی ترکیبات متاکرومازی و اورسئین رنگ آمیزی شد(۱). درجه بندی شدت رنگ در مقاطع به روش ارائه شده توسط Gong و همکاران (۱۹۹۷) انجام شد (۱۷). چون همه نمونه ها حاوی غضروف بود، مشاهده رنگ در غضروف به عنوان کنترل در نظر گرفته شد.

**لکتین هیستوشیمی:**

مقاطع به روش معمول در بافت شناسی آبدهی و رسوب کلرورجیوه در آنها حذف گردید(۱٦). به منظور خنثی کردن پراکسیداز داخلی مقاطع در محلول ۱٪ آب اکسیژنه در متانول به مدت ۵ دقیقه قرار داده شدند. پس

1- Bandelia Simplifolia
2- Peanut Agglutinin
3- Wistar
4- Critical Electrolyte Concentration

www.SID.ir

Archive of SID

مرطوب در مجاور لکتینهای PNA و BSA1-B4 قرار گرفتند. لکتینها به HRP [1] با رقت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر در PBS [2] (۰/۱ مولار در pH ٦/٨ محتوی 0.02g MgCl2,0.02g MnCl2,0.05g CaCl2 ) استفاده شد. مقاطع پس از شستشو در محلول PBSc ، به مدت ٥ دقیقه در محلول DAB/H2O2 [3] (۰/۰۳ گرم / ۱۰۰ میلی‌لیتر در PBSc محتوی ۲۰۰ µL آب اکسیژنه) قرار گرفتند .جهت توقف واکنش DAB ، مقاطع با آب جاری به مدت ۱۰-٥ دقیقه شستشو شدند. به منظور رنگ زمینه از آبی آلسین استفاده گردید. مقاطع به روش معمول آبگیری، شفاف و بر روی لام چسبانده شدند(١٤).

**روش هضم سیالیداز/PNA [4] :**

یکسری از نمونه ها ی مورد مطالعه (از روز ۱۲ جنینی تا ۱٥ پس از تولد) قبل از اجرای PNA در معرض آنزیم سیالیداز (تهیه شده از Arthobacter ureafaciens با رقت ۰/۱ واحد/میلی‌لیتر در بافر استات ۰/۲ مولار با pH 5 به مدت ٢٤-۱۸ ساعت در اطاقک مرطوب قرار داده شدند و سپس در معرض PNA قرار گرفتند(١٤).

**نتایج:**

روزهای ۱۲-١٤ جنینی دو بخش در اپی تلیوم تشکیل دهنده مجرای حلزونی گوش قابل مشاهده است. بخشی از آن دارای اپی تلیوم بلندتر است و بخش دیگر اپیتلیوم کوتاه تر دارد. اپی تلیوم پوشاننده ستیغ اپیتلیالی بلند (GER) و مزانشیم زیر آن در همه نواحی به صورت یکنواخت به رنگ‌آمیزی‌های مختلف پاسخ دادند بطوری که سطح پایه‌ای و رأسی به ترتیب برای CEC1 و CEC2 با شدت "بسیار کم"و"کم" پاسخ داد. پاسخ این بخشها برای رنگ آمیزی های مختلف در جدول ۱ و ۲ خلاصه شده است.

در طی روزهای ۲۰-۱٥ جنینی مزانشیم در زیر بخش داخلی GER (لیمبوس آینده ) متراکم شد اما در ضخامت اپی تلیوم آن تغییری حاصل نشد. پرده تکتوریال روی این بخش در حال پیدایش بود. واکنش این اجزا به روشهای هیستوشیمیایی و لکتینها در جداول مربوطه خلاصه شده است . در طی این روزها اشکال میتوزی نیز قابل مشاهده بود.

در طی روزهای ٤-۱ پس از تولد، مزانشیم زیر بخشی که قرار بود لیمبوس آینده را بسازد ، افزایش می یافت و همین امر باعث ایجاد برآمدگی در این ناحیه شد.در همین حال ضخامت اپی تلیوم ستیغ اپی تلیالی بزرگ کاهش یافت. اپی تلیوم که در ابتدا مطبق کاذب بود ، تجدید آرایش نمود و تک لایه ای و کوتاه شد. پرده تکتوریال در سطح فوقانی آن قابل مشاهده بود.پرده بر روی ارگان کورتی در حال تکامل نیز توسعه داشت .

در روز ٤ پس از تولد این پرده از سطح ارگان کورتی جدا می شود. واکنش اجزاء مختلف لیمبوس به لکتینها و روشهای دیگر هیستوشیمیایی در طی این روزها در جداول مربوطه خلاصه شده است.

در طی روزهای ۱٥-٥ پس از تولد مزانشیم لیمبوس وسعت بیشتری یافت و شکل ظاهری آن به لیمبوس بالغین نزدیکتر شد. پرده تکتوریال از سطح ارگان کورتی آزاد شد. شیار مارپیچی داخلی تشکیل شد.

واکنش اجزاء مختلف لیمبوس به لکتینها و روشهای هیستوشیمیایی دیگر در طی این دوره در جداول مربوطه خلاصه شده است. در طی این دوره سلولهای بین دندانی شکل بالغ خود را بدست آوردند.

1- Horseradish Peroxidase
2- Phosphate –Buffer Saline
3- Diamino Benzisine
4- Sialidase Digestion / PNA (S/PNA)

www.SID.ir

Archive of SID

جدول۱ : واکنش اجزاء لیمبوس مارپیچی به آلسین بلو به روش CEC ، (-)واکنش مشاهده نشد، (+) بسیار کم ، (++) کم، (+++) متوسط، (++++)زیاد، (+++++) بسیار زیاد

| CEC4 | | | CEC3 | | | CEC2 | | | CEC1 | | | روز |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Mes | Base | Apex | Mes | Base | Apex | Mes | Base | Apex | Mes | Base | Apex | مطالعه |
| - | - | - | - | - | - | ++ | ++ | + | ++ | ++ | + | E12-E14 |
| +++- | ++ | ++ | +++ | ++ | ++ | ++++ | +++ | +++ | ++++ | +++ | +++ | E15-E19 |
| +++- | ++ | ++ | ++++ | ++ | +- | ++++ | +++ | +++ | ++++ | +++ | +++ | PN1-PN4 |
| + | - | - | + | - | - | +++ | + | _ | +++ | - | - | PN5-PN15 |

جدول ۲ : شدت واکنش رنگ آمیزی با روشهای پاس/آلسین بلو ( PAS/Alc) با pH 2.5 ، تولوئیدین بلو (TB) و آلسین بلو pH 1 در دوره‌های مورد مطالعه

| TB | | | Alc pH 1 | | | Alc pH 2.5 | | | PAS | | | روز |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Mes | Base | Apex | Mes | Base | Apex | Mes | Base | Apex | Mes | Base | Apex | مطالعه |
| - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | + | E12-E14 |
| + | - | - | - | - | + | - | - | - | + | + | + | E15-E19 |
| + | +++ | - | ++ | +++ | ++ | ++ | - | - | + | + | + | PN1-PN4 |
| + | - | - | + | + | - | ++ | - | - | - | + | - | PN5-PN15 |

چدول ۳ : شدت واکنش اجزا ء لیمبوس به لکتینها.

| BSA1-B4 | | | S/PNA | | | PNA | | | روزهای |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Mes | Base | Apex | Mes | Base | Apex | Mes | Base | Apex | مطالعه |
| ++ | - | +++ | ++ | - | ++ | + | - | ++ | E12-E14 |
| ++ | - | - | ++ | - | +++ | + | - | ++ | E15-E19 |
| +++ | + | + | ++ | ++++ | ++ | ++ | ++++ | ++ | PN1-PN4 |
| ++++ | - | - | - | +++ | +++ | +++ | ++ | ++ | PN5-PN15 |

با کمک رنگ‌آمیزی اورسئین الیافی با خاصیت رنگ پذیری رشته الاستیک در بین سلولهای مزانشیمی لیمبوس در روزهای پس از تولد مشاهده شد.

www.SID.ir

Archive of SID

بحث:

تغییرات گلیکوکانژوگه ها در سطح سلولهای اپی تلیوم ستیغ اپی تلیالی بزرگ و ماتریکس اطراف آن در این مطالعه بطور واضح مشاهده شد. میزان اسید هیالورونیک در اپی تلیوم این بخش در بین روزهای ۱۵ جنینی تا ٤ پس از تولد زیاد بود. همزمان با این، دو اتفاق مهم رخ داد: تقسیم سلولی و تجدید آرایش اپی تلیوم. بدین ترتیب اپی تلیوم مطبق کاذب تغییر کرد و سلولهای مویی، سلولهای پشتیبان و سلولهای بین دندانی را بوجود آورد. با توجه اینکه اسید هیالورونیک اتصالات بین سلولی را سست می کند و اجازه جدایی به آنها اعطا می کند (۱۸)، شاید وجود این ماده در تسهیل تقسیم سلولی و تجدید آرایش مشاهده شده در طی تکامل لیمبوس اهمیت داشته باشند.

مشخص ترین و بر جسته ترین مکانی که در آن گلیکوزآمینوگلیکانها (کندرویتین سولفات ، اسید هیالورونیک، هپارین و کراتان سولفات) با روشهای CEC واکنش نشان داد، مزانشیم بخشی از ستیغ اپی تلیالی بزرگ بود که در آینده لیمبوس مارپیچی را می‌سازد. از آنجایی که این گلیکوزآمینوگلیکانها در بسیاری از پدیده های بیولوژیک نقش دارد، تصور می‌شود مشاهده این ترکیبات در این بخش به تشکیل لیمبوس و تجمع مزانشیم و ماتریکس آن در زیر این ناحیه کمک می کند. می دانیم اسید هیالورونیک در تنظیم تکثیر سلولی بخصوص در سلولهای مزانشیمی (۱۸)، مهاجرت سلولی(۲) و تنظیم رفتار آن (۱۹) نقش دارد. کندرویتین سولفات در چسبندگی سلول ، تمایز و تکثیر سلولی (۲۰) شرکت می‌نماید و هپارین سولفات بواسطه اتصال به فاکتورهای رشد می تواند در تنظیم تکثیر سلولی نقش داشته باشد (۲۲،۲۱). بنابراین هر کدام از این ترکیبات می تواند به نوعی در مهاجرت و یا تکثیر سلولی و در نتیجه افزایش مزانشیم و تشکیل برآمدگی لیمبوس نقش داشته باشد.

در این مطالعه مشاهده شد که در روزهای پس از تولد، در مزانشیم لیمبوس الیافی با خاصیت رنگ پذیری رشته الاستیک ظاهر شدند. وجود این رشته ها با افزایش میزان گلیکوزآمینوگلیکانها در این مکان همراه بود. Lee و همکارانش (۱۹۹٤) عنوان نمودند که القاء تولید الاستین با رسوب پروتئوگلیکانهای سولفاته هماهنگ است (۲۳). روش‌های CEC2,CEC3,CEC4 و همینطور آلسین بلو با pH 1 وجود پروتئوگلایکانهای سولفاته را در لیمبوس در حال تشکیل نشان داد با توجه به اظهارات Lee و همکارانش شاید همزمانی وجود پروتئوگلایکانهای سولفاته و ترکیبات الاستیک در لیمبوس گوش نیز با هم مربوط باشد.

با توجه به جدول ۳ ، مشاهده شد که قند انتهایی گالاکتوز با کامل شدن بلوغ سلولهای بین دندانی کم کم ناپدید می شد. به نظر می رسد در روند بلوغ این سلولها این قند انتهایی و یا گلیکوکانژوگه ای که دارای گالاکتوز است ، اهمیت دارد اما این ترکیب خاص که با این روش ردیابی شده است ، در سلول بالغ عملی انجام نمی دهد . این در حالی است که میزان گلیکوکانژوگه ای با این قند انتهایی در مزانشیم لیمبوس با بلوغ افزایش یافت .

افزایش شدت واکنش سلولهای پوششی لیمبوس به PNA پس از کاربرد سیالیداز بیانگر وجود اسید سیالیک در این ناحیه است . , Fazel و همکارانش (۱۹۸۹) نشان دادند که در طی تکامل قلب ، برخی از واحدهای قند انتهایی گالاکتوز/ ان- استیل گالاکتوز آمین توسط سیالیک اسید پوشیده می شود (۱۵). در حالی که در طی

www.SID.ir

Archive of SID

روزهای اول تکامل ، میزان واکنش به PNA قبل و پس از کاربرد آنزیم تغییر نکرد ، می توان نتیجه گرفت که با پیشرفت تکامل در این بخش نیز همچون آنچه که در قلب نشان داده شد (۳) ، واحدهای قندی گالاکتوز/ ان- استیل گالاکتوز آمین توسط سیالیک اسید پوشیده میشود. با توجه به نتایج بدست آمده ، به نظر می رسد که افزایش یا کاهش یک ترکیب قندی مانند گالاکتوز ویا ان- استیل گالاکتوزآمین ، از یک الگوی زمانی - مکانی پیروی می کند و در بسیاری از موارد این تغییرات همراه با حادثه تکاملی خاصی نظیر تغییر شکل اپی تلیوم لیمبوس و یا افزایش مزانشیم در زیر آن ، بوقوع می پیوندد. بنابراین احتمال می رود آن گلیکوکانژوگه خاص در فرایند تکاملی مربوطه اهمیت داشته باشد.

**تقدیر و تشکر:**

در پایان لازم است از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد به جهت تأمین اعتبار این طرح و ریاست دانشکده پزشکی جهت مساعدت در تأمین بودجه خرید مواد خارجی و سرکار خانم متجدد تشکر نمائیم.

**Reference:**

1-Williams,PL.; R.Warwich; M.Dyson; L.H.Banister; Gray's Anatomy; Pub. by Cherchill Livinston PP:104

2-Lim,D.J.; J.Reuda; Distribution of Glycoconjugate during Cochlea Developmente; 1990;Acta otolryngol(stockh);110:224-233

3-Fekete, D.M.; Sheila, A.Homburger; M.T. Waring; Riedl.A.G; Garcia.L.F; Involment of programmed cell death in morphogenesis of the vertebrate inner ear;1997;Develop.;124:2451-2461

4-Gerchman,E.; Hilfer.S.R; Brown.J.B; Involvment of ECM in Formation of Inner Ear; 1995; Dev.Dyn.;202:421-432

5-Mcphee,J.R.;T.R.Van-De-Water;H.Xisu; Hyaluronic Production by the Inner Ear during Otic Capsule and Prilymphatic Space Formation ;Am.J.Otolaryngol;8:265-272

6-Thesleff,I.;A.Voahtokar;S.Venineca; A.Jawelt; Molecular Mechanism of Cell and Tissue Interaction during Early Tooth Development;1996;Ana. Rec.; 245:151-161

7-Van-de-Water,T.R.;G.Schwartz; Collagen Type II in the otic ECM , Effect on Inner Ear Development ; Hear. Res.;30(1):39-47

8-Lodish,H.; D,Baltimor; A.Berk; S.L.Zipursk; p.Matsudaria; j.Darnecc;Molecular Cell Biology; 3rd.ed. Scientific American Books;1995;pp. 1123-1200

9-Olson,A.D.; T.Pysher; R.S.Bienkowski; Organization of Intestinal Epithelial Cell into Multicellular Structures Recuires Laminin and Functional Actin Microfilament ;1991; Exp.Cell Res.;191:543-549

10-Sorokin; L.M.; S.Conzelmann; P.Ekblom; C.Bateglia;M.Aumainey;R.Timple; Monoclonal Antibody against Laminin ACChain Fragment E3and their Effect on Binding Cell and Proteoglycan and on Kidney Development ;Exp.Cell Res.;201:137-144

11-Roushlahti,E.;ECM in the Regulation of Cellular Function ;Cell to Cell Intraction ;1990;Edition M.M.Burger; A.Karger Ssymposium ;pp.88-98

12-Zanetta,P.; S.Kucher; S.Lehman; A.Badache; S.Maschke; D.Thomas; D.Dufourcq; G.Vicendon; Glycoproteins and Lectins in Cell Adhision and Cell Recognition Proccess; 1992;Histochem.J.;24:791-804

13-Hozava K; H Watava; T Takasaka; BA Fenderson ; S Hakomori;(1993); Hearing and Glycoconjugates: Localization of Le(y), and sialosyl-Le(x) in guina pig cochlea, particularly at tectorial membrane and sensory epithelium of the organ of corti;Glycobiology; 3(1): 47-55

14-Fazel AR; Shulte.B.A; Spicer. SS; (1990); Glycoconjugate unique to migrating primordial germ cell differs with genera; Anat. Rec.; 228: 177-184

15- Fazel, A. R.; R. P. Thompson ; H. Sumia; B. A. Shulte; (1989), Lectin Histochemistry of the Embryonic Heart: Expression of Terminal and Penultimate Galactose Residues in Developing Rats and Chicks; Am. J. of Anat.; 184: 85-94.

www.SID.ir

16-Bancrof, J. D.; A. Stevene; (1991); Theory and Practice of Histological Techniques; Pub. by Churchill Livingstone; New York pp. 317.

17-Gong,H.,Wen YE;T.F.Freddo;M.R.Hernandez; Hyaloroni Acid in the normal and Glauomatous Opticc Nerve ; 1997;Exp. Eye Res.;64:587-95

18-Morris-Kay,G.M.;F.Tuchett;The Effect of Streptomycins Hyaluronidase on Tissue Organization and Cell Cycle Time in Rat Embryo;1986: J.Embryol.Exp.Morph.;96:56-70

19-Kohada,D.C.; J.Morton; A.A.Parker; H.Hatanaka; F.M.Inajak;L.D.Cample;F.M.Day; Solution Struture of Link-Module:A Hyaloronic - Binding Domine Involved in ECM Stability and Ccell Migration ;1996; Cell;86:767-775

20-Morris-Kay,F.Tuckeett; Immunohistochemical Localization of Chondroitine Sulfate Proteoglycan and Effect of Chondroitinase ABC in 9-11 Day Rat Embryo; 1989; Development; 106:787-798

21-Bernfield,M.; R.Konkenyes; M.Kato M.T.Hinkes; J.Spring; R.L.Gallo; EG.Lose; Biology of the Syndecan:A Family of transmembraneheparan sulfate proteoglycan; 1992; Ann.Rev. Cell Biol.;8:365-393

22-Trautman,M.S.;J.Kimelman;M.Bernfield; Developmental Expression of Syndecan; an Integral Membrane Proteoglycan; corrolated with Cell Differention; Develop.; 111;213-220

23-Lee,K.A.; R.A.Pierce; R.P.Mecchan; W.C.Parks; Increase Mesenchymal Density Accompanies Induction of Tropoelastin expression in Developing Elastic Tissue ;1994;Deve.Dyn.;200:53-67

www.SID.ir