

ارزیابی اثرات تحریکات الکتریکی بر روی قدرت عضلانی پس از تخریش عصب سیاتیک در سگ: الگوی حیوانی

دکتر داود شریفی^{۱*}، دکتر بهرام دادمهر^۲، دکتر حمیدرضا فتاحیان^۱، مهندس حمیدرضا تقوی^۳

دریافت مقاله: ۱۴ بهمن ماه ۱۳۸۳
پذیرش نهایی: ۱ مردادماه ۱۳۸۴

Evaluation of transcutaneous electrical neural stimulation effects on muscular ability in dog: an animal model

Sharifi.D.¹, Dadmehr, B.², Fattahian, H.R.¹, Taghavi, H.R.³

¹Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran-Iran. ²Graduated from Faculty of Veterinary Medicine University, of Tehran, Tehran - Iran. ³Graduated from Technology Faculty, Sciences and Technology Unit, Azad University, Tehran-Iran.

Objective: Assessment of transcutaneous electrical neural stimulation effects on muscular repair and capability following sciatic nerve injury as animal model.

Design: Experimental study.

Animals: Ten male and female 15-22 month-old mixed breed dogs between 18-23 kg body-weight.

Procedures: Animals were subsequently divided into two groups of (control and experimental) 5 dogs each. Then anesthesia was induced. Skin was incised and the muscular dissection performed. The right sciatic nerve was exposed in all dogs and crushed in full thickness using artery forceps for 5 seconds. The experimental group was subjected to of transcutaneous electrical neural stimulation (TENS) regimen, daily ten minutes for two weeks. The electromyography (EMG) was recorded from semimembranosus (S1), and semitendinosus (S2); Extensors (Ext), and Flexors (Flex) muscles before, after crush, 14, 28 and 45 post-operative day.

Statistical Analysis: Variance analysis by ANOVA and Tukey's test.

Results: EMG recording showed significant differences in muscle forced in S1 and S2 in experimental group by comparison with control one.

Clinical implications: The evaluation of (TENS) showed to be helpful to reduce muscle atrophy.

J.Fac.Vet.Med.Univ.Tehran. 60,2:155-159,2005.

Keywords: TENS, Sciatic nerve, Muscle atrophy, Dog.

Corresponding author's email: sharifid@yahoo.com

هدف: ارزیابی اثرات تحریکات الکتریکی بر روی قدرت عضلانی پس از تخریش عصب سیاتیک در سگ.

طرح: مطالعه تجربی با الگوی حیوانی.

حیوانات: ده قلابه سگ نرو ماده مخلوط ایرانی ۱۵ تا ۲۲ ماهه و با وزن ۱۸ تا ۲۳ کیلوگرم روش: حیوانات به دو گروه مساوی ۵ تایی شاهد و آزمایش تقسیم شد و تحت بیهوشی قرار گرفتند. پس از برش پوست و جداسازی عضلات ران، عصب سیاتیک در معرض دید جراح قرار گرفت و سپس آزردهی تمام قطر عصب سیاتیک با پنس شریانی به مدت ۵ ثانیه ایجاد شد. حیوانات گروه آزمایش با تحریکات الکتریکی به مدت ۱۰ دقیقه برای مدت ۲ هفته بعد از مراقبت‌های ویژه، ۳ روز، تحت درمان قرار گرفتند. این در حالی است که هیچ روش درمانی در گروه شاهد استفاده نشد. گرام‌های فعالیت عضلات با استفاده از الکترومیوگراف قبل، بعد از آزردهی عصب و در روزهای ۱۴، ۲۸، ۴۵ از تمام حیوانات از چهار ماهیچه نیم وتری، نیم غشایی، بازکننده و خم کننده تهیه شدند. تجزیه و تحلیل آماری: روش آنالیز واریانس (ANOVA) و آزمایش تکمیلی (Tukey).

نتایج: گرام‌های حاصله اختلاف معنی داری را در دو ماهیچه نیم وتری و نیم غشایی بین گروه آزمایش و شاهد در $P < 0.05$ نشان داد.

نتیجه‌گیری: ارزیابی اثرات تحریکات الکتریکی در حیوانات نشان داد که تحریکات الکتریکی قادر به جلوگیری از اتروفی ماهیچه است. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، ۱۳۸۴، دوره ۶۰، شماره ۲، ۱۵۹-۱۵۵.

واژه‌های کلیدی: تحریک الکتریکی، عصب سیاتیک، آتروفی ماهیچه، سگ.

درمان آسیب اعصاب محیطی یکی از مشکلات بالینی انسان و حیوانات بوده و هدف از درمان، بازگشت سریعتر به کارایی مؤثر عضوی باشد. حیواناتی که مدت طولانی بر اثر ضایعات عصبی زمینگیر می‌باشند استعداد بالایی در ابتلا به ذات‌الرئیه، التهاب ممانه و زخم‌های بستر دارند، همچنین عدم استفاده از عضو آسیب دیده منجر به آتروفی کلی عضلات و سختی مفاصل می‌شود که روند منجر به بهبودی را طولانی می‌سازد (۱۱). اعصاب محیطی از نقطه نظر فیزیولوژیکی و آناتومی نقش بسزایی در سیستم حرکتی داشته و از آنجایی که دائماً تحت استرس‌های مختلف از جمله استرس مکانیکی قرار دارند بیشتر در معرض آسیب قرار می‌گیرند (۴). از طرفی با توجه به فرضیه عدم التیام و با طولانی بودن زمان التیام بافت عصبی، پژوهش‌ها و تحقیقات در زمینه

۱) گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران.

۲) دانش‌آموخته دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران.

۳) دانش‌آموخته مهندسی پزشکی دانشکده فنی و مهندسی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران.

* نویسنده مسئول: sharifid@yahoo.com





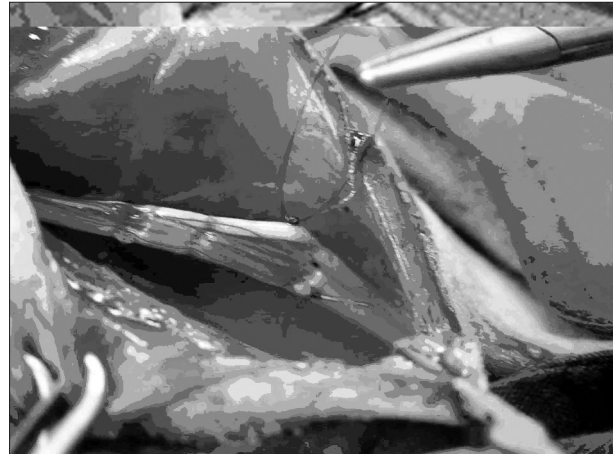
تصویر ۲- نصب الکترودهای سطحی به منظور ایجاد تحریک الکتریکی در ناحیه ران.

ده قلاده سگ به دو گروه شاهد و آزمایش تقسیم شدند، سه روز بعد از عمل جراحی حیوانات گروه آزمایش تحت درمان تحریکات الکتریکی به مدت ۱۰ دقیقه در روز قرار گرفتند اما درمانی در گروه شاهد تجویز نشد (تصویر ۲). حیوانات با مقیدسازی فیزیکی به پهلو چپ حالت گماری شدند سپس پوست ناحیه از مفصل لگن تا ناحیه مفصل زانو با استفاده از الکل ضد عفونی گردید، چهار الکتروده سطحی که دو الکتروده مثبت بر روی بخش فوقانی ناحیه تخریش شده بر روی پوست و دو الکتروده منفی در بخش تحتانی آن ناحیه قرار داده شد. در راستای مطالعه حاضر نوار الکترومیوگرام از حیوانات هر دو گروه شاهد و آزمایش جهت تفسیر تغییرات موضعی ماهیچه‌های نیم و تری، نیم غشایی، بازکننده و خم کننده در روزهای قبل، بعد از تخریش عصب سیاتیک و روزهای ۱۴، ۲۸، ۴۵ تهیه گردید. به این منظور، پوست ناحیه، با استفاده از الکل ایزوپروپیل ۷۰ درصد برای بر طرف کردن آلودگی سطحی و چربی تمیز شد، سپس ژل هادی اولتراسونوگرافی به میزان کافی بر روی پوست گذاشته شد، در نهایت نوار الکترومیوگرام با نصب الکترودهای سطحی تهیه گردید (تصویر ۳). نوار در واقع نتیجه اثرات متقابل پیچیده حاصل از انقباض رشته‌های ماهیچه‌ای متعاقب تحریکات الکتریکی می باشد، لازم به ذکر است که یک ویژگی در ثبت امواج الکترومیوگراف وجود دارد به طوری که هر چه تعداد مؤلفه‌های فرکانس بیشتر باشد، عضله حساستر می شود و آن در واقع در ارتباط با میزان فیبرهای عضلانی می باشد. این به این معناست که هر چه ماهیچه‌ها سالم تر و طبیعی تر باشند، فیبرهای عضلانی بیشتری وارد عمل شده و در نوار الکترومیوگرام ثبت می شوند.

روش تجزیه و تحلیل آماری: روش آنالیز واریانس (ANOVA) و آزمایش تکمیلی (Tukey) استفاده شد. در بررسی سطح معنی داری در $P < 0.05$ در نظر گرفته شد.

نتایج

حیوانات هر دو گروه عمل جراحی تخریش عصب سیاتیک را تحمل نمودند اما بدلیل تورم، حساس شدن موضع عمل و درد قادر به وزن گیری بر



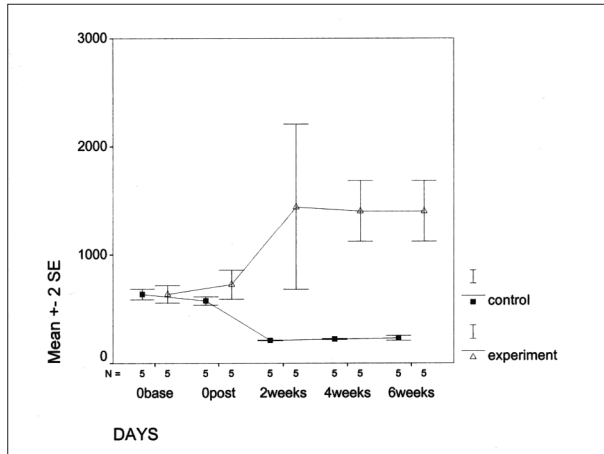
تصویر ۱- نحوه له کردن عصب سیاتیک له شده با استفاده از پنس خونبند.

روشهای درمانی لیزرتراپی، امواج الکترومغناطیسی، امواج اولتراسونوگرافی و تحریکات الکتریکی از روشهای توصیه شده است (۱۰). عملکرد و کارایی این روشها در احیاء بافت آسیب دیده مورد توجه قرار گرفته است، هر چند که در اکثر موارد این روشها به دلیل داشتن خاصیت ضد دردی در شرایط حاد و مزمن جهت رفع درد توصیه می شوند ولی چگونگی عملکرد تحریکات الکتریکی در شرایط آزدگی و آسیب عصبی نیاز به بررسی کامل و دقیق دارد، بر این اساس اثرات بالینی تحریکات الکتریکی در التیام ضایعات عصب سیاتیک در سگ تحت مطالعه تجربی قرار گرفت.

مواد و روش کار

به منظور بررسی اثرات تحریکات الکتریکی در التیام و بازسازی عصب سیاتیک، ۱۰ قلاده سگ بالغ سالم از نژاد مخلوط ایرانی، با وزن ۱۸ تا ۲۳ کیلوگرم و سن ۱۵ تا ۲۲ ماهه مورد استفاده قرار گرفت. حیوانات ۲ هفته قبل از مطالعه در شرایط یکسان نگهداری و بعد از تزریق واکسن هاری تحت درمان انگل زدایی قرار گرفتند. دوازده ساعت قبل از انجام جراحی پرهیز غذایی اعمال شده و سپس سفازولین به میزان ۲۰ میلی گرم به ازای یک کیلوگرم وزن بدن از راه وریدی تزریق شد. پیش بیهوشی با استفاده از آسه پرومازین مالئات به میزان ۰/۰۵ میلی گرم به ازای یک کیلوگرم وزن بدن و کتامین هیدروکلراید به میزان ۵ میلی گرم به ازای یک کیلوگرم وزن بدن از راه عضلانی انجام پذیرفت. حیوانات با تزریق وریدی تیوپنتال سدیم ۵ درصد به میزان ۱۰ میلی گرم به ازای یک کیلوگرم وزن بدن تحت بیهوشی قرار گرفتند و بیهوشی با هالوتان ۱ درصد در تمام طول عمل جراحی نگهداری شد. ناحیه جانبی ران راست در تمامی حیوانات آماده سازی جراحی شد. سپس با برش پوست، جداسازی بافت همبند و ماهیچه، عصب سیاتیک در معرض دید جراح قرار گرفت و عصب مذکور با استفاده از پنس خونبند به مدت ۵ ثانیه تحت فشار و تخریش قرار گرفت (تصویر ۱). در نهایت عضلات و بافت زیر جلد با استفاده از نخ کاتگوت کرومیک ۳ صفر به شیوه سرتاسری و پوست با استفاده از نایلون ۳ صفر به شیوه تک ساده بخیه شدند.





نمودار ۱- چگونگی قدرت عضلانی عضله نیم غشایی در گروه‌های شاهد و آزمایش.



تصویر ۳- نحوه اتصال الکترودها در ناحیه ران برای اخذ الکترومیوگرام قبل و بعد از تخریش عصب.

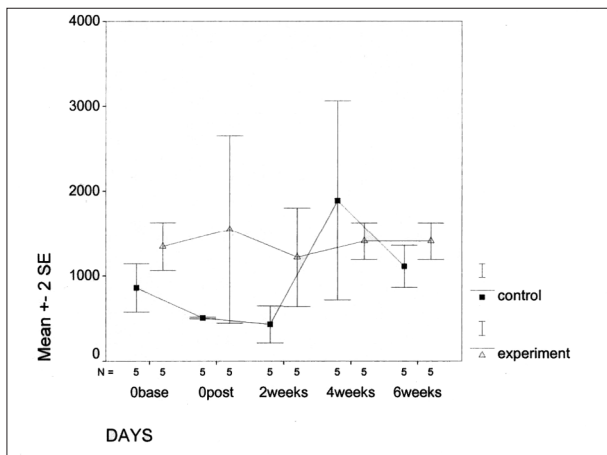
تان‌دون و عضله، کشیدگی‌های عضلانی لنگش و لامینایتس و حتی شکستگی قابل استفاده می‌باشد (۱،۳،۴). امروزه اثر تحریکات الکتریکی در تکمیل کردن خاصیت ضد‌دردی بخوبی شناخته شده است، هر چند که هنوز در پاره‌ای از موارد توضیحات فیزیولوژیکی کاملاً قانع‌کننده‌ای درباره چگونگی مهار درد با جریان الکتریسته وجود ندارد، اما تأثیر آن کاملاً عملی و واقعی بوده و یکی از روش‌های مهار درد می‌باشد که به دارو، عمل جراحی و اقدامات وابسته به روان‌شناسی نیاز نداشته و می‌تواند در دامنه وسیعی از دردهای جسمانی بکار گرفته شود. تحریکات الکتریکی یک روش اثبات و پذیرفته شده در بهبود بسیاری از دردهای حاد و مزمن می‌باشد و از آنجایی که فاقد اثرات جانبی مضر و حتی بدلیل اعتیادآور نبودن آن، روش جایگزینی و تکمیلی در کنار روش‌های دارویی قلمداد می‌شود (۲) به طوری که تحریکات الکتریکی منجر به افزایش خون شده و عامل محرکی در فعال شدن سلول‌های نهفته در بافت می‌شود (۱)، همچنین اثرات تحریکات الکتریکی در افزایش ترشح مواد شبه مورفینی، اندورفین، و همچنین افزایش یافتن سطح کورتیزول سرم خون در مهار نمودن مراحل التهاب مشخص شده است (۳). محققان عامل درونی مولد تسکین دهنده طبیعی را در بدن کشف نموده که سبب کاهش درد می‌شود (۵،۶،۷) همچنین در راستای چگونگی مکانسیم عمل تحریکات الکتریکی تا کنون مواد پپتیدی متعدد شبه مورفینی با خاصیت تسکین دهنده در بدن شناسایی شده‌اند (۷،۱۰). سایر مطالعات نشان داد که بیش از یک ساز و کار نوروفیزیولوژیک در تسکین درد با استفاده از تحریک الکتریکی وجود دارد (۸،۹)، دانشمندان متعاقب مطالعات دریافتند که مشخصات عوامل موثر در تسکین درد؛ شامل شکل موج، فرکانس و دامنه پارامترهای پالس می‌باشد (۸). مطالعه حاضر نشان می‌دهد که اثر تحریکی تحریکات الکتریکی بر روی عصب سیاتیک پس از گذشت ۴۵ روز، باعث افزایش قدرت عضلانی عضلات نیم و تری و نیم غشایی در حیوانات گروه آزمایش می‌شود، در واقع این عضلات از عصب سیاتیک عصب دهی شده و تحریکات الکتریکی باعث کاهش یافتن اثر آتروفی ناشی از آسیب عصبی می‌شود. مطالعه‌ای بر روی موش رت نشان داد که جریان

روی پای مورد آزمایش نبودند، به طوری که فلجی پای مورد نظر در حیوانات هر دو گروه مشاهده شد. با شروع انجام تحریکات الکتریکی، فعالیت فیزیکی آنان به مراتب بهتر از گروه شاهد ارزیابی گردید. مطالعه توصیفی همچنین نشان داد که تحریکات الکتریکی بر روی مراحل التیام زخم و پوست موثر بود به طوری که التیام تا پایان هفته اول صورت گرفته بود و تورم، درد و حساسیت موضع کاهش پیدا کرده بود. پس از برداشت بخیه پوست، برجستگی پوستی در گروه آزمایش بسیار کمتر بوده و لبه‌های پوست در هم ادغام شده بودند اما برجستگی پوستی در ناحیه برش حیوانات گروه شاهد وجود داشت. دو حیوان در گروه آزمایش تا پایان هفته اول وزن‌گیری کامل خود را شروع کرده و ۳ حیوان دیگر وزن‌گیری کامل را تا روز ۴۵ بعد از تخریش عصب و پایان تحریکات الکتریکی نشان دادند. لنگش و عدم وزن‌گیری کامل در گروه شاهد تا پایان مدت مطالعه مشاهده شد. سه حیوان از گروه شاهد، عدم توانایی اندام در وزن‌گیری را بخوبی نشان دادند، این در حالی است که یک حیوان بهبودی نسبی را تا پایان مدت مطالعه نشان داد. ثبت نوار الکترومیوگرام نشان داد که قدرت عضلانی در گروه عضلات نیم و تری و نیم غشایی اختلاف معنی‌داری را بین دو گروه شاهد و آزمایش نشان داد ($P < 0/05$) (نمودار ۱،۲). این در حالی است که اختلاف معنی‌داری در قدرت عضلانی، عضلات بازکننده و خم‌کننده بین دو گروه حیوانات مورد مطالعه مشاهده نشد ($P > 0/05$) (نمودار ۳،۴).

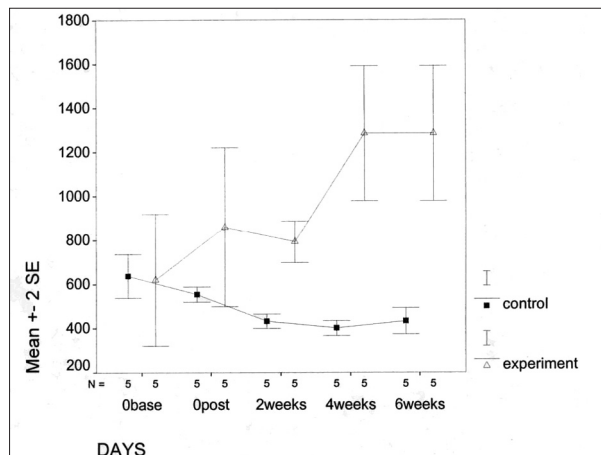
بحث

احیاء مجدد عضو آسیب‌دیده و بازگشت سریع بیمار به حالت طبیعی از اهداف اصلی در درمان بیماری‌رانی است که از ضایعات عصبی رنج می‌برند. روش‌های مکمل درمانی به روش عمومی یا موضعی، بخصوص بکارگیری محرک‌های فیزیکی بیش از چندین دهه در گستره علم پزشکی مورد استفاده قرار می‌گیرد، بنابراین تحریکات الکتریکی به عنوان یک روش با خاصیت ضد‌دردی در حین جراحی و بعد از جراحی قابل استفاده است (۱،۲). تحریکات الکتریکی در حیطه علم دامپزشکی در درمان آرتریت، استئوآرتریت، التهاب

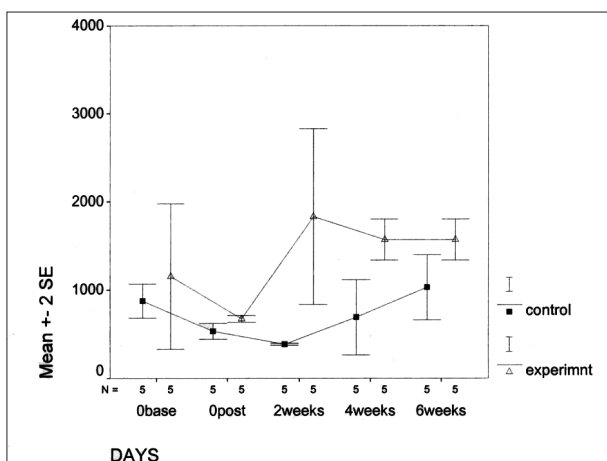




نمودار ۳- چگونگی قدرت عضلانی عضله بازکننده در گروه‌های شاهد و آزمایش.



نمودار ۲- چگونگی قدرت عضلانی عضله نیم وتری در گروه‌های شاهد و آزمایش.



نمودار ۴- چگونگی قدرت عضلانی عضله خم کننده در گروه‌های شاهد و آزمایش.

الکتريکي روزانه در طول ۸ هفته باعث افزايش اندازه و حجم عضلات ناحيه مي شود. اين در حالي است که پس از گذشت ۸ هفته، عضلاتي که تحت تاثير تحريک الکتريکي نبودند وزن کمتری نسبت به عضلات تحت درمان الکتريکي داشتند. همچنان در اين تحقيق مشخص شد که اگر تحريک الکتريکي بلافاصله پس از تحريک عصب آغاز شود و مدتي پس از درمان ادامه يابد آثار مفيدی در بازگشت قدرت عضلانی خواهد داشت (۸). محققان در ترميم اعصاب نخاعي نشان دادند که ميزان جريان الکتريکي اثر بسزايی در درمان سر يعتر اعصاب و بازگشت قدرت عضلانی دارد (۸). عده ايی از محققان از تحريک کننده های داخلي استفاده کردند و اثر تحريک الکتريکي را بر روی ترميم عصب سياتيك در موش رت برسی نمودند، آنها در يافتند که وزن عضلات در گروه تحت درمان بيشتراز گروه شاهد بود (۱۱،۱۲). مطالعات ديگر تأييد کرد که قدرت عضله بدنبال تحريک الکتريکي در ناحيه عصب عضله سولئوس که به طور تجربی تحريک شده بود نسبت به گروه شاهد افزايش معنی داری را نشان داد (۸،۱۱).

گروهی از دانشمندان اثر جريان الکتريکي را بر روی ترميم عصب سياتيك مورد برسی قرار داده اند و در يافتند که جريان الکتريکي مستقيم باعث تسريع روند بهبود عصب سياتيك، پس از قطع عصب و بخيه آن می شود (۱۲). مطالعه حاضر نشان داد که تحريکات الکتريکي باعث ايجاد قدرت عضلانی قابل توجهی در عضلات نیم وتري و نیم غشايی در حيوانات گروه آزمایش شده و با توجه به تعداد مؤلفه های فرکانس عضلات نیم وتري و نیم غشايی و همچنين عضلات باز کننده و خم کننده می توان بيان داشت که تحريک الکتريکي باعث ايجاد حساسيت بيشتري، افزايش قدرت عضلانی و کاهش اثر در عضلات نیم وتري و نیم غشايی آتروفی می شود. افزايش حساسيت در عضلات ناشی از آن است که جريان الکتريکي وارده به عصب است که یک عامل خارجی محسوب ميگردد و از آنجايی که عضلات باز کننده و خم کننده همانند عضلات نیم وتري و نیم غشايی با عصب سياتيك عصب دهی نمی شود بنابراین افزايش حساسيت در آنها قابل مشاهده نخواهد بود (۸،۱۰،۱۱). بر اساس تحقيقات هنگامیکه عضلات دچار خستگی شده، مولد

فرکانس های پايين بوده و بر عکس هنگامیکه عضله شاداب می باشد مولد فرکانس های بالا خواهد بود (۵،۸،۱۱).

چند تن از محققان اثرات مثبت تحريکات الکتريکي را در کاهش حس درد در حيوانات گزارش کرده اند و اثرات ضد دردی تحريکات الکتريکي را در موشهای که از درد ناشی از آسیب عصبی رنج می بردند نشان دادند (۱۱)، و در مطالعات، درمان موفقیت آميز فلجی خلفی در سگ با استفاده از طب سوزنی گزارش شده است (۸)، تحريکات الکتريکي نتایج قابل قبولی را در درمان سگ های که مبتلا به عارضه دیسک سينه ای - کمری بوده در مقایسه با درمانهای محافظه کارانه و جراحی نشان داد. در ان راستا معلوم گردید که تحريک الکتريکي باعث افزايش دينورفين می شود که خود نقش یک واسطه بسيار مهم را در التيام اعصاب دارد (۶،۸).

در مطالعه حاضر، با توجه به مدل تجربی آزردهی عصب سياتيك در الگوی تجربی سگ شرایط را فراهم ساخت تا اثرات مستقيم تحريکات الکتريکي را در التيام و بازسازی بافت عصبی آسیب دیده مورد ارزیابی قرار گیرد، بنابراین نتایج نشان داد که تحريکات الکتريکي قادر است نقش مهمی را در درمان و التيام سر يعتر اعصاب آسیب دیده ایفا نماید. هر چند که مطالعه



References

1. Bow, C.M. , Hildebrand, C. (1993): Different effects of 4-aminopyridine on regenerated cutaneous and muscular rat and sciatic nerve branches. *Journal of Neurology science*. 120: 145-152.
2. Butterworth, J.F. , Strichartz, G.R. (1990): Molecular mechanisms of local anesthesia, *Anesthesiology*. 72: 711-734.
3. Chan, D., Wu, W., Yip, H.K. and So, K.F. (2002): Development of the regenerative capacity of postnatal axotomized motoneurons, *Neurology Report*. 13: 1071-1074.
4. Chen, D., Schneider, G.E., Martinou, J. and Tonegawa, S. (1997): BC1-2 promotes regeneration of several axons in mammalian CNS, *Nature*. 385: 434-439.
5. Hammarberg, H., Piehl, F., Cullheim, S., Fjell, J., Hokfelt, T. and Friend, K. (1996): GDNF mRNA in schwann cells and DRG satellite cells after chronic sciatic nerve injury, *Neurology Report*. 7: 857-860.
6. Liu, R. , Snider, W. (2001): Different signaling pathways mediate regenerative versus developmental sensory axon growth, *Journal of Neuroscience*. 21: 211-215.
7. Maximov, G., Revin, V., and Grunynshkin, I. (2000): Role of acetylcholine in regulation of interaction between axon and Schwann cell during rhythmic excitation of nerve fibers, *Biochemistry*. 65: 431-435.
8. Mert, T., Daglioglu, Y., Gunary, I. and Gosmen, C. (2004): The changes in electrophysiological properties of regenerating rat peripheral nerves; after crush injury, *Neuroscience letters*. 363, 3: 212-217.
9. Naveilhan, P, Elshamy, W. and Ernfors, P. (1997): Differential regulation of mRNA for GDNF and its receptors Rerand GDNFR alpha after sciatic nerve lesion in the mouse, *European Journal of Neuroscience*. 9: 1453-1460.
10. Stoll, G. , Muller, H. (1999): Nerve injury axonal degeneration and neural regeneration basic in sights, *Brain Pathology*. 9: 313-325.
11. Sun, W. , Oppenheim. R. (2003): Response of motoneurons to Neonatal sciatic nerve axotomy in

برروی اثرات تحریکات الکتریکی از مدتها پیش در کشورهای مختلف جهان مورد محک آزمون قرار گرفته و علی رغم نتایج بسیار موثر نیاز به تحقیقات بنیادی وسیع تری در این زمینه احساس می شود.

تشکر و قدردانی

مؤلفین از صمیم قلب از کلیه همکاران این طرح و معاونت محترم پژوهشی دانشکده دامپزشکی و دانشگاه تهران در تصویب و حمایت مالی این طرح قدردانی می نمایند.

Bax-knockout mice, *Molecular and Cellular Neuroscience*. 24, 4: 875-886.

12. Yammada, T., Shimizu, K., Nitta, A., Soumiya, H. and Fukumitsu, S. (2004): Axonal regrowth down regulates the synthesis of glial cell line derived neurotrophic factor in the lesioned rat sciatic nerve, *Neuroscience letters*. 364, 1: 11-15.

