Archive of SID

مجله دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی – درمانی شهید صدوقی یزد
سال یازدهم، شماره اول، بهار ۱۳۸۲، ص ۴۰

مطالعه لکتین هیستوشیمی بخش مرکزی غده فوق کلیوی در دوران جنینی

دکتر محمد آهی[۱]، دکتر مختار جعفرپور[۲]، دکتر سکینه غفاریان[۳]، دکتر حسن مفیدپور[۴]، دکتر علیرضا فاضل[۵]

چکیده

جهت مشخص نمودن قند یا قندهای انتهایی زنجیره های گلیکوکونجوگیت های سطح سلول های کرومافینی در حال تکامل موجود در ناحیه مرکزی غدد فوق کلیوی جنین های موش را مورد بررسی قرار دادیم. از جنین در روزهای ۲۰-۱۳ موش های سوری نژاد Balb/c استفاده شد. پس از طی مراحل فیکس و پاساژ بافتی و برش به طریق Serial Section به ضخامت ۵ میکرومتر، جهت مشاهده غدد فوق کلیوی و انتخاب مطلوب، برش ها ابتدا توسط روش رنگ آمیزی هماتوکسیلین – ائوزین (H & E) رنگ شدند و سپس برشهای انتخابی با بکارگیری لکتین هیستوشیمی مورد بررسی میکروسکوپی قرار گرفتند. از بین لکتین های استفاده شده، فقط لکتین MPA (Maclura Pomifera Agglutinin) در روزهای مختلف جنینی، با شدت و ضعف وابسته به سن نمونه سلولهای کرومافین ناحیه ی مرکزی غدد فوق کلیوی را مشخص کرد. بقیه لکتین ها در هیچکدام از نمونه های جنینی، سلولهای کرومافین را مشخص نکردند. با توجه به اینکه تنها لکتین MPA در روزهای مختلف جنینی با سلولهای کرومافینی قسمت مرکزی غدد فوق کلیوی واکنش داده است و این لکتین بطور اختصاصی در سطح سلول به گیرنده Gal-GalNAc (Galactos-N-Acetyl Galactosamine) متصل می گردد، لذا به نظر می رسد که قند انتهایی Gal-GalNAc به عنوان گیرنده ی فاکتورهای القایی تکامل، عامل کلیدی در تکامل سلولهای کرومافین در ناحیه ی مرکزی غدد فوق کلیه باشد.

واژه های کلیدی: سلولهای کرومافین ناحیه مرکزی غدد فوق کلیوی، لکتین هیستوشیمی، گیرنده Gal-GalNAc، لکتین MPA

مقدمه

سلولهای نورال کرست، پتانسیل وسیعی در تشکیل بافت های جنینی دارند که تحقیقات زیادی در زمینه مسیر و مقصد این سلول ها صورت گرفته است. طبق گزارشات، برخی از سلول های نورال کرست همراه و هم مسیر با سلول های تشکیل دهنده ی گانگلیونهای سمپاتیک مهاجرت کرده و در بخش انتهایی مسیر، همراه اعصاب اسپلافکنیک در ناحیه مرکزی غده فوق کلیوی در طول فیبرهای عصبی از طریق راههای داخل و مجاور عروقی استقرار می یابند [۱،۲].

در مورد نحوه ی اجتماع سلول های ترشح کننده ی نوروپپتیدها در ناحیه مرکزی غده فوق کلیوی تحقیقات گسترده ای صورت گرفته که عمدتاً با استفاده از روشهای ایمونوهیستوشیمی به نتیجه رسیده است.

در این بررسی ها، با استفاده از ردیاب های ویژه همانند آنتی بادی ها، سلولهای کرومافینی ناحیه مرکزی غدد فوق کلیوی مورد بررسی قرار گرفته اند [۳،۴]. De Falco و همکارانش در سال ۲۰۰۲ با استفاده از آنتی بادی های پلی کلونال و ایجاد واکنش با DAB (دی آمینو بنزیدین) به وجود نورو

۱- دانشجوی دکترای تخصصی علوم تشریحی
۲و۳و۴- استادیار گروه علوم تشریحی
۵- استاد گروه علوم تشریحی
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی مشهد

www.SID.ir

Archive of SID

پپتیدهای جدیدی در غدد فوق کلیوی پی بردند [٥]. با استفاده از مطالعات لکتین هیستوشیمی جهت شناسایی قندهای انتهایی در زنجیره های گلیکوکونجوگیت های سطح سلولهای اعضای مختلف بدن تحقیقات وسیعی صورت پذیرفته است [٦،٧،٨]. در مورد سلولهای عصبی و نوروگلیال و نورال کرست نیز تحقیقاتی در این زمینه صورت گرفته است [١،٩،١٠].

محققین بررسی کرده اند که سلولهای سمپاتیک و سلول های کرومافینی ناحیه مرکزی غدد فوق کلیوی در ابتدا از یک رده سلولی از نورال کرست مشتق شده و در بخشی از مسیر تکامل نیز با یکدیگر تفاوتی ندارند. ولی به تدریج با تغییر قندهای انتهایی در زنجیره گلیکوکونجوگیت های سطحی آنها، این رده سلولی به دو گروه متفاوت سلولی یعنی سلولهای سمپاتیک و سلولهای ناحیه مرکزی غدد فوق کلیوی تقسیم می شوند [١].

در این رابطه نقش قندهای انتهایی به عنوان گیرنده های فاکتورهای القا کننده تکامل ، در بسیاری از سیستم های بیولوژیکی مشخص شده است. به عنوان نمونه، این قندها در تعیین مسیر مهاجرت سلول های جنسی اولیه نقش کلیدی را ایفا می کنند [١١].

لذا قندهای انتهایی بدنبال اتصال به فاکتورهای القایی مرتبط ، در محل استقرار نهایی سلول ها به عنوان گیرنده های کلیدی در فرایند تکامل سلولی و بافتی دارای نقش مهمی هستند . نقش اخیر در برخی بافت ها، از جمله قلب و سلولهای جنسی اولیه مورد تحقیق و بررسی قرار گرفته است [١١،١٢].

با وجود مطالعات اندک در مورد ارتباط بین تکامل غدد فوق کلیوی با قندهای انتهایی سطح سلولی ، تحقیقاتی در مورد تکامل آن با استفاده از روش های هیستوشیمی و ایمونوهیستوشیمی انجام شده است [١٣،١٤،١٥]. علیرغم تحقیقات وسیعی که ذکر شد ، تاکنون تحقیقات اندکی در مورد ارتباط قندهای انتهایی با گیرنده های تکاملی سلولهای ناحیه مرکزی غدد فوق کلیوی ، صورت گرفته است . از جهتی ، چون لکتین ها مواد ویژه ای جهت شناسایی گیرنده های فوق هستند ، ما بر آن شدیم تا با استفاده از لکتین های کونژوگه با Horse Radish) HRP (Peroxidaz، نقش احتمالی قند یا قندهای انتهایی را در تکامل سلول های کرومافینی ناحیه مرکزی غدد فوق کلیوی مورد بررسی قرار دهیم.

روش بررسی

با توجه به مطالعات انجام شده جهت ظهور غدد فوق کلیوی [١٦،١٧] ، جنین های روزهای ٢٠-١٣ موش به طریق زیر بدست آمدند : تعداد ٢٦ موش بالغ نر وماده نژاد Balb/c از نظر شرایط نگهداری به طور یکسان و استاندارد در اتاق حیوانات به صورت جفت در قفس های مجزا قرار گرفتند و شرایط جفت گیری برای آنها فراهم شد. روز صفر حاملگی با رؤیت پلاک واژینال در ساعات بامدادی تعیین شد. موش های حامله در روزهای موعود توسط کلروفرم بیهوش شدند و پس از کشتن و انجام عمل لاپاراتومی ، جنین های آنها خارج گردید.

بر طبق روش های مطالعه شده [١١] ، جنین ها پس از شستشو در سرم فیزیولوژی ، به مدت ٢٤ ساعت در محلول های فیکس کننده فرمالین ١٠ درصد و B4G (شامل ٦ درصد کلرورجیوه ، ١ درصد استات سدیم و ٠/١ درصد گلوتارالدهید) در حرارت آزمایشگاه قرار گرفتند. بعداً ، پس از خارج نمودن آنها از محلول فیکس کننده و اعمال آب گیری با درجات مختلف الکل، در محلول گزیلل و پارافین مذاب قرار گرفتند و در جهات مختلف توسط پارافین قالب گیری شدند. بلوک های بدست آمده با ضخامت ٥ میکرومتر به صورت ممتد (Serial section) برش گردید. سپس در مورد برشهای بافتی فیکس شده با محلول B4G ، پس از قرار دادن به مدت ٣ دقیقه در محلول لوگول جهت خارج نمودن رسوبات جیوه ، بصورت تصادفی بعضی برش ها با روش رنگ آمیزی هماتوکسیلین - انوزین (H & E) رنگ شدند و با میکروسکوپ نوری جهت سنجش کیفیت مراحل تهیه برش ها و رؤیت ساختمان بافت شناسی غده فوق کلیوی با استفاده از منابع موجود [١٧] مورد بررسی قرار گرفتند .

در مرحله بعد، برش های مطلوب انتخابی می بایست در معرض لکتین ها قرار گیرند. در این رابطه لکتین های VVA-B4 (Vicia Villosa Agglutinin-B4) . قند اتصالی اختصاصی: ان استیل گالاکتوز آمین (GalNAc) و WGA (Wheat Germ Agglutinin) . قند اتصالی اختصاصی : اسیدسیالیک و آلفا و بتا -دی-ان-استیل گلوکز آمین

www.SID.ir

Archive of SID

(β,α–D–GlcNAc) و (Maclura Pomifera Agglutinin) MPA . قند اتصالی اختصاصی: ان استیل گالاکتوز آمین و گالاکتوز (بتای ۱ به ۳) – ان استیل گالاکتوز آمین (Gal β1-3) (Gal-GalNAc) و OFA (Orange FungusAgglutinin) . قند اتصالی اختصاصی: آلفا –ال-فوکوز (α-L-FUC) [۱۸] که از طریق هلال احمر جمهوری اسلامی ایران از شرکت شیمیایی Sigma خریداری شده بود بکارگیری شدند .

تمام این لکتین ها با آنزیم(Horse Radish Peroxidaz) HRP کونژوگه بوده و در بافر PBS (محلول بافر فسفات) که حاوی ۰/۰۲ گرم کلرور منگنز، ۰/۰۲ گرم کلرور منیزیم و ۰/۰۵ گرم کلرور کلسیم بود در PH=۷/۲ طوری رقیق شدند که غلظت لکتین در بافر ۱۰ میکرو گرم در میلی لیتر باشد. حال جهت انجام ، برش ها ابتدا به روش معمول بافت شناسی آب دهی گشتند و سپس در مورد برش های فیکس شده با محلول B4G، به مدت ۳ دقیقه در محلول لوگول قرار گرفتند. سپس بعد از شست و شو با آب مقطر، جهت خنثی نمودن پراکسیداز موجود به مدت ۱۰-۵ دقیقه لام ها در محلول آب اکسیژنه ۱ درصد در متانول قرار گرفت. بعد از یک ساعت شست و شو در محلول PBS، در اتاقک مرطوب به مدت۲ ساعت لام ها در معرض لکتین قرار داده شدند. سپس بعد از شست و شو با محلول PBS، برش ها به مدت ۱۰ دقیقه در محلول حاوی DAB (دی آمینو بنزیدین) و PBS گذاشته شد. محلول ذکر شده با غلظت ۰/۰۳ گرم DAB در PBS بوده و به ازای هر ۱۰۰ سی سی محلول ، ۲۰۰ میکرولیتر به آن آب اکسیژنه اضافه می گردید. در مرحله بعد ، پس از شست و شوی برش ها با آب جاری به مدت۱۰-۵ دقیقه، جهت ایجاد رنگ زمینه، لام ها ۵ دقیقه در محلول۱ درصد رنگ آلسین بلو در PH=۲/۵ قرار داده شد و بعد از طی مراحل معمول بافت شناسی، لام ها برای بررسی با میکروسکوپ نوری آماده گردیدند [۱۱].

در روش مطالعه ، لام های تحت واکنش قرار گرفته با لکتین های هر لام بر اساس شدت واکنش به لکتین از صفر تا پنج درجه بندی گردید . مقاطع رنگ آمیزی شده با لکتین توسط اجرا کنندگان طرح به صورت آزمون Blind از جهت شدت رنگ آمیزی درجه بندی و مورد مطالعه قرار گرفت . در مطالعه مرفولوژی واکنش سلول ها به لکتین همراه با مطالعه مرفومتری سطح گسترش واکنش ها در لام ها در نظر گرفته شد .

نتایج

در روزهای مختلف جنینی (۲۰-۱۳) موش، سلولهای کرومافینی در ناحیه مرکزی غده فوق کلیوی با لکتین MPA واکنش نشان دادند. این واکنش از روز سیزدهم با شدت نسبتاً کم در مقایسه با روزهای بعدی ، شروع شد. در روز سیزدهم تعداد کمی از سلولهای کرومافینی به صورت نشاندار با لکتین MPA دیده شدند. به تدریج در روزهای بالاتر واکنش شدیدتر شده و تعداد سلولهایی که با لکتین MPA نشاندار شده بودند بیشتر شد.

حد متوسط از نظر تعداد سلولهای نشاندار با MPA و از نظر شدت واکنش حدوداً در روز ۱۵ جنینی قابل رؤیت بود (تصویر۱).

در تصویر ۱، که از غده فوق کلیوی روز پانزدهم جنینی موش تهیه شده است، تمرکز سلول های کرومافینی بخش مرکزی غده فوق کلیوی که با لکتین MPA واکنش داده اند مشهود است. علاوه بر سلولهای کرومافینی برخی سلول های مشابه در قسمت های قشری غده که به صورت اشعه وار به طرف مرکز کشیده شده اند دیده می شوند که با لکتین MPA واکنش داده اند. با این تفاوت که شدت واکنش در این سلولها در مقایسه با سلول های ناحیه مرکزی خیلی کمتربوده و بیشتر با رنگ آلسین بلو در واکنش می باشند .

در تصویر ۲، با بزرگنمایی بیشتر از تصویر قبل، نواحی غشا و اورگانل های داخل سلولی تحت واکنش با لکتین در ناحیه مرکزی غده فوق کلیوی قابل رؤیت شده است که با لکتین MPA واکنش شدیدی داده اند. در عین حال در این ناحیه، برخی سلول های تکامل یافته نیز دیده می شوند که شدت واکنش آنها با MPA کم و یا هیچ است. در آزمایش با سایر لکتین هایی که مورد بررسی قرار گرفتند، هیچ واکنش عمده ای در غده فوق کلیوی دیده نشد و در نمونه های تهیه شده با کاربرد لکتین های مختلف ، سلول ها فقط با رنگ زمینه آلسین بلو مشخص شدند. البته برخی سلول ها با آلسین بلو شدید-تر از سایر سلول های غده فوق کلیوی رنگ شده اند که از نظر مکان و نحوه پراکندگی همانند سلولهای کرومافینی غده فوق کلیوی می باشند.

در تصویر ۳، به عنوان نمونه، عدم واکنش غده فوق کلیوی با لکتین VVA-B4 ملاحظه می شود. در این تصویر واکنش نواحی مختلف کلیه نیز مشخص شده است .

www.SID.ir

Archive of SID

تصویر ۱: برش طولی از کلیه(K) و غده فوق کلیوی(A) جنین پانزده روزه موش سوری که در معرض لکتین MPA قرار گرفته است. در غده فوق کلیه، واکنش بیشتر در نقاط مرکزی (فلش ها) مشاهده می گردد و سلولهایی مشخص واکنشی شدیدتر نشان داده اند. نواحی قشری (ستاره ها) واکنشی نداشته و قسمت هایی که با لکتین در این ناحیه مثبت می باشند به سمت مرکز اشعه وار متمایلند. بزرگنمایی: ۱۵۰

تصویر ۲: بخشی از ناحیه مرکزی غده فوق کلیوی در تصویر شماره ۱ با بزرگنمایی بیشتر. در قسمت هایی که با فلش مشخص شده، برخی سلول ها در مناطق گلژی و سطح سلولی خود شدیداً به لکتین MPA واکنش نشان داده اند. در عین حال تعداد زیادی از سلول ها فقط با آلسین بلو واکنش داده اند (سرفلش ها). بزرگنمایی: ۴۵۰

تصویر ۳: برش طولی از کلیه (K) و غده فوق کلیوی (A) جنین پانزده روزه موش سوری که در معرض لکتینVVA-B4 قرار گرفته است. به جز چند محل در ناحیه نزدیک به قشر غده فوق کلیوی، واکنش دیگری به این لکتین در غده مشاهده نمی گردد (فلش ها). در بعضی نقاط سلول ها با رنگ زمینه آلسین بلو با PH=۲/۵ واکنش داده اند (سر فلش ها). در قسمت قشری کلیه، قسمت هایی در سطح داخلی لوله های ادراری به لکتین واکنش داده اند (ستاره ها). بزرگنمایی: ۱۸۰

www.SID.ir

Archive of SID

بحث

برخی از سلول های نورال کرست که وظیفه ی ساختن سیستم سمپاتیکو کرومافینی را دارا هستند، در حین مهاجرت به سمت مقاصد نهایی خود، مسیرهای متفاوتی را انتخاب می کنند. در مقطعی از مسیر، سلولهای سمپاتیک و کرومافینی که ابتدا در کنار هم قرار داشته و مسیر مشابهی را طی کرده اند از هم متمایز شده و گیرنده های متفاوتی در سطح سلولی آنها ظاهر می گردند. بخش کرومافینی، به مقصد مرکز غدد فوق کلیوی و اجسام کاروتید و سایر اجسام کرومافینی موجود در بدن، از مسیرهای مشخصی عبور می کنند [1] و در این روند مهاجرتی، از قبل در لوله عصبی، سلول های نورال کرست برنامه دار می گردند و در انجام آن ژن های هومئوباکس نقش ایفا می کنند [19]. در تحقیقات بعمل آمده، محققین از لکتین PNA (Peanut Agglutinin) جهت شناسایی سلولهای کرومافینی ناحیه مرکزی غدد فوق کلیوی استفاده کرده اند. این لکتین با گیرنده از نوع گالاکتوز نیز باند می شود [18].

در مطالعه مذکور نشان داده شده که در سطح سلولهای کرومافینی، با وجود گیرنده از نوع گالاکتوز، آنها به لکتین PNA متصل می شوند ولی به دلیل عدم وجود چنین گیرنده هایی در سطح سلولهای سمپاتیک، لکتین PNA به آنها اتصال نمی یابد این در حالی است که هر دو نوع سلول در بخش عمده ای از مسیر مهاجرتی دارای مسیری مشابه بوده اند [1].

در تحقیقی که ما انجام دادیم سلولهای کرومافینی ناحیه مرکزی غدد فوق کلیوی نسبت به لکتین MPA واکنش نشان دادند. با توجه به اینکه این لکتین به گیرنده Gal-GalNAc واکنش دارد و لکتین PNA نیز به قند انتهایی D-Gal و Gal-GalNAc واکنش می دهد و ضمناً PNA نیز دارای واکنش با سلولهای کرومافینی ناحیه ی مرکزی غدد فوق کلیوی می باشد [1]، لذا قندهای انتهایی مذکور در ناحیه مرکزی غدد فوق کلیوی وجود دارند و همانطور که در تصاویر ضمیمه نشان داده شده، واکنش سلولهای کرومافینی که از قشر غده عبور کرده و در ناحیه مرکزی آن متمرکز و مستقر می شوند، به صورت تدریجی، اشعه وار در این ناحیه افزایش می یابند. به بیان دیگر این مسئله گویای مهاجرت تدریجی این سلولها از بیرون غده به طرف قشر آن و بالاخره مستقر شدن در ناحیه مرکزی است (شکل ۱). از جهتی با توجه به (شکل ۲) ، در اثر تکامل تدریجی و استقرار کامل، بعضی از سلولها واکنش به لکتین MPA را از دست داده اند یا واکنش آنها به لکتین ضعیف تر شده است (سر فلش ها). این مطلب می تواند احتمالاً به دلیل پوشیده شدن این قند توسط اسید سیالیک و یا تغییر شکل فضایی و یا تغییر قند انتهایی و همچنین تغییر قند ما قبل آخر باشد [18،20،21]. لذا بیانگر نقش القا کنندگی و گیرنده عناصر القایی مؤثر در تکامل برای قند انتهایی Gal-GalNAc، با توجه به اینکه در بعضی سلولها واکنش کم و یا هیچ به لکتین MPA مشاهده می شود، متصور است. زیرا ابتدا که سلولها در ناحیه قشری هستند مقدار آن (با توجه به واکنش با لکتین MPA) کم ، و سپس بتدریج با مستقر شدن در ناحیه مرکزی تعداد آن افزایش می یابد. این افزایش احتمالاً با تکامل کامل سلول تا عدم وجود واکنش تدریجاً تغییر پیدا کرده، لذا به همین دلیل بعضی سلول های تکامل یافته مرکزی، هیچگونه واکنشی را که دلیل بر وجود این قند انتهایی در آنها باشد، با لکتین MPA نشان نداده اند (سرفلش ها در تصویر ۲). چنانچه اشاره شد، از لکتین های مورد استفاده در این بررسی ، فقط MPA با سلول های کرومافینی ناحیه مرکزی غدد فوق کلیوی واکنش داشت و با دیگر لکتین ها تنها سلول ها با رنگ زمینه آلسین بلو رنگ گرفته که نمونه مربوط به لکتین VVA-B4 ضمیمه تصاویر می باشد (تصویر ۳). در این تصویر برخی سلول ها با رنگ زمینه فوق شدید تر از دیگر سلولها رنگ گرفته اند. محل استقرار و نحوه ی پراکندگی این سلول ها، این احتمال را مطرح می کند که سلول های فوق، سلولهای کرومافینی هستند و بدلیل خاصیت شدید قلیایی خود، شدیداً با آلسین بلو رنگ گرفته اند. در تحقیق دیگری وجود ارتباط بین سلولهای کرومافینی ناحیه مرکزی غده فوق کلیوی و گانگلیون آئورتیکورنال با دستگاه سمپاتیک از نظر بیشترین تعداد سلول های مرتبط، در سگمان های T6-T11 ذکر شده است (۸۱-۷۹ ٪) که توسط اعصاب اسپلانکنیک مرتبط

www.SID.ir

Archive of SID

می گردند [۲۲]. ابـن ارتبـاط از نظـر عملـی در هفتـه اول نـوزادی صورت می گیرد [۲۳].

در مطالعه ای که ما انجام دادیـم، سلولهای کرومـافینی را در روز سیزدهم جنینی در داخل غده فوق کلیـوی مشـاهده شـد . لذا با توجه به اینکه این سلولها در ناحیه مرکزی غده به تدریج در حین تکامل تا موقع تولد بر تعدادشان ا فزوده می گردد و واکنش تدریجی به لکتین MPA این موضـوع مـهاجرت تدریجـی رو بـه ازدیاد را تأیید می نماید، لذا می تـوان احتمـال داد کـه بـا تکـامل عصب دهی ناحیه مرکزی غده فوق کلیوی در هفته اول نـوزادی، سلول های کرومـافینی نـیز در ایـن ناحیـه بـه بیشـترین حـد خـود رسیده اند . قندهای انتهایی به عنوان گیرنده های سطح سلولی در تکامل سلول های کرومـافینی ناحیـه مرکـزی غـدد فـوق کلیـوی نقش کلیدی دارند [۱]. این گیرنده ها هسـتند کـه اگر در معـرض عنـاصر القـا کننـده تکـامل قـرار بگیرنـد، نـوع مـاده القـا کننـده اختصاصی خود را انتخاب کرده و موجب القای تکاملی سلول در جهتی خاص می گردند. وابسته به اینکه چه نوع قند انتهایی متصل به گلیکوکونجوگیـت سـطح سـلولی فعـال و آزاد باشـد، مـاده ی القایی اختصاصی آن قند بـه سـطح سـلول متصـل مـی گردد. ایـن اتصال در محل قند انتهایی ویژه به عنوان گیرنده خـاص صـورت می گیرد. بدین ترتیب نوع تکامل و جهت دیفرانسیاسیون سـلولی مشخص می گردد. نتایج تحقیق پیشنهاد کننده ایـن فرضیـه اسـت که در سلول هـای کرومـافینی ناحیـه مرکـزی غـده فـوق کلیـوی گیرنده Gal-Gal NAc بعنوان گیرنده عنـاصر القـایی تکـامل، در تمایز این سلول ها نقش ایفا می کند.

تقدیـر و تشـکر : بدیـن وسـیله از همکـاری هـا و خدمـات سرکارخانم متجدد کارشـناس آزمایشـگاه تحقیقـاتی گروه علـوم تشـریحی دانشـکده پزشـکی مشـهد و جنـاب آقـای موحدیـان کارشنـاس حیـوان خانه بیمارستان قائم (عج) مشهد، که مـا را در کارهای تکنیکی این پژوهش راهنما بوده اند ، قدردانـی بـه عمـل می آید.

References

1- Katz .D.M, White .M.E, Hall .A.K: ***Lectin binding distinguishes between neuroendocrine and neuronal derivatives of the sympathoadrenal neural crest.*** J Neurobiology 1995;26(2): 241-52.

2- Bogdanova .T.I, Debelenko .L.V: ***Ultrastructure of human adrenal glands at various periods of prenatal morphogenesis.*** Arch Ant Gistol Embriol 1989; 96(4): 69-76.

3- Orezzoli .A.A, Villar .M.J, Gonzalez Nicolini.V.G, Hokfelt .T, Tramezzani .J.H: ***Neuropeptide Tyrosine – like immonoreactivity (NPY-LI) in ganglion neurons in the adrenal gland of the flat snake.*** Bicell 1998; 22(2): 85-91.

4- Fernandez .V.J, Rodinguez .S.F, Versategui .C , Cardoba .M.F, Romero. A, Decastro .J.M: ***Immunocytochemical distribution of serotonin and neuropeptide Y (NPY) in mouse adrenal gland.*** Histol Histopathol 1993; 8(3): 509-520.

5- De Falco . M , Laforgia . V , Valiante . S, Virgilio . F, Varano . L, Deloca . A: ***Different pattern of expression of five neuropeptides in the adrenal gland and kidney of two species of frog.*** Histochem 2002; 34: 21-26.

6- Perfumo .C.J, Mores .N, Armocida .A.D, Piffer. I.A, Massone .A.R, Itagaki .S . ***Histochemical and lectinhistochemical studies on nasal mucosa of***

www.SID.ir

Archive of SID

Pigs with or without respiratory diseases. J Vet Med Sci 1998 Sep; 60(9): 1021-3.

7- Salvetti.N.R,Ricci .N,Dallard .B.E, Lorente .J.A, Iguzquiza .I , ortega .H.H: ***Lectinhistochemical and cytometrical evaluation of the Corpus luteum of the rat at the end of pregnancy.*** Anat Histol Embryol 2000 Jun; 29(3): 129-34.

*8-*Smolkova.O, Zavadka.A, Barkston.P, Lutsyk .A: ***Cellular heterogeniety of rat vascular endothelium as detecte by HPA and GSI lectin – gold probes.*** Med Sci Monit 2001 Jul-Aug; 7(4): 659-668.

9- Schill.J,Cervos–Navarro.J:***Lectinhistochemistry of mixed gliomas demonstrating an intermediate cell type.*** Histo Histopathol 1998 Jan; 13(1): 73-9.

10- Pelaez . B , Blazquez .J.L, Pastor. F.E, Sanchez. A, Amat .P: ***Lectinhistochemistry and ultrastructure of microglial response to monosodium glutarmate-mediated neurotoxicity in the arcuate nucleus.*** Histol Histopathol 1999 Jun; 14(1): 165-74.

11- Fazel .A.R, Schulte .B.A, Thompson .R.P, Spicer .S.S: ***Presence of a unique glycoconjugate on the surface of rat primordial germ cells during migration.*** Cell Differ. 1987; 21: 199-211.

12- Fazel .A.R, Sumida .H, Schulte .B.A, Thompson .R.P: ***Lectinhistochemistry of the embryonic heart: fucose-specific lectin binding sites in developing rats and chicks.*** Am J Anat 1989; 184(1): 76-84.

13- Boglione.L, Bondone.C, Gattolin.A, Levi.A.C: ***The development of the suprarenal gland : Surgical and antomical considerations.*** Panminerva Med 2001; 43(1): 33-7.

14- Barinov .E.F, Sulaeva .O.N: ***Mechanisms of adrenal embryogenesis.*** USP Fiziol Nauk 2001; 32(2): 99-112.

15- Mamet .J, Peyronnet .J, Roux .J.C, Cottet -- Emard .J.M: ***Long – term Prenatal hypoxia alters maturation of adrenal medulla in rat.*** Pediatr Res 2002; 51(2): 207-14.

16- Kaufman .M.H, Bard .J.B.L: ***The anatomical basis of mouse development.*** Academic Press, 1999, : 220-223.

*17-*Kaufman .M.H: ***The atlas of mouse development . Academic press, 1992, pp: 160-334.***

Vliegenthart JFG, Montreuil J, Schachter H: Glycoproteins II. Elsevier 1997: 403-455.

18- Morphy .M, Bartlett .P.F: ***Molecular regulation of neural crest development.*** Mol Neurobiol 1993; 7(2): 111-135.

19- Varky. I: ***Diversity in the silaic acid. Glycobiology*** Philadelphia, 1992: 25-40.

20- Schauer .R: ***Sialic acids and their role as biological masks.*** TIBS 1985 Sep: 357-60.

21- Jensen . I , Poliwsky . P, liewellyn-smith . I , Minson . J , Chamers . J : ***Sympathetic preganglionic neurons projecting to the adrenal medulla and aorticorenal ganglion in the rabbit.*** Brain Res 1992; 586(1): 125-9.

22- Lau . C , Franklin . M , Mckarthy . L , Pylypi. W.A, Ross . L . L : ***Thyroid hormone control of preganglionic innervation of the adrenal medulla and chromaffin cell development in the rat. An ultrastructural morphometric and biochemical evaluation.*** Brain Res Dev Brain Res 1988; 44(1): 109-17.

www.SID.ir