

بررسی اثر عصاره مغز جنین بر نرون های هسته عصب هیپوگلووس ضایعه دیده در رت (Rat)

مهدي جلاي (Ph.D.) *

محمد رضا نیکروش (Ph.D.) *

چکیده

سابقه و هدف : ضایعات وارد بر الیاف عصبی، پدیده ای است که در اغلب موارد از طریق دژنراسیون رتروگرید منجر به مرگ سلولی نرون های عمل کننده مربوط به آنها می گردد. به منظور نشان دادن تأثیر احتمالی عوامل تروفیک موجود در مغز نابالغ (جنین)، بر حفظ و بقای نرون های حرکتی بالغ، این پژوهش بر روی نمونه حیوانی صورت پذیرفت.

مواد و روش ها : در این مطالعه، عصب هیپوگلووس ۱۲ رت نر ۲ ماهه از نوع Wistar، طی برش پوستی کوتاهی به موازات فک پایین، در زیر عضله دیگاستریک سمت راست قطع گردید. پس از این که رت ها به دو گروه تجربی و کنترل تقسیم شدند، به رت های تجربی، تزریق ۰/۱ میلی لیتر عصاره مغز جنین های ۱۷ روزه رت به صورت روزانه و به مدت دو هفته به محل ضایعه انجام گرفت (در گروه کنترل همین عمل با سرم فیزیولوژی صورت پذیرفت). سپس در پایان هفته دوم تحت بیهوشی و پرفوزیون، ساقه مغز نمونه های هر دو گروه به دقت خارج گردید و پس از فیکساسیون و آماده سازی، از ناحیه هسته هیپوگلووس، برش های بافتی به ضخامت ۵ میکرون و به صورت سریال تهیه گردید. پس از رنگ آمیزی و مطالعات میکروسکوپی، شمارش نرونی و محاسبات آماری انجام پذیرفت.

نتایج : نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که در هسته های هیپوگلووس ضایعه دیده گروه کنترل نسبت به گروه تجربی، به طور چشمگیری از تعداد نرون ها کاسته شده است ($P < 0/05$).

استنتاج : این نتیجه مؤید این واقعیت است که علی رغم این که ارتباط آکسونی نرون ها با اندام هدف قطع گردیده است، در گروه تجربی، احتمالاً از طریق انتهای پروگزیمال عصب ضایعه دیده و با استفاده از پدیده حمل آکسونی، عوامل تروفیک موجود در عصاره مغز جنین به جسم سلولی نرون های مربوطه رسیده و به مقدار قابل توجهی از مرگ و میر آنها کاسته است.

واژه های کلیدی : عوامل تروفیک، عصب هیپوگلووس، مرگ نرونی، رت

مقدمه

علاوه بر عوامل مختلف، از جمله مسایل وراثتی و میانکش های سلولی و امثال آن که به شکل گیری این سیستم کمک می کند، نقش عوامل تروفیک نیز

پدیده تمایز و تکامل سیستم عصبی در گرو عوامل متعددی است که هر کدام می تواند در روند شکل گیری این سیستم نقشی کلیدی از خود نشان دهد. در این رابطه

* متخصص فیزیولوژی، استادیار دانشگاه علوم پزشکی مشهد

✉ مشهد، خیابان دانشگاه، دانشکده پزشکی، کدپستی ۹۱۳۷۵

عصبی جنینی در سیستم عصبی بالغ (۱۲،۱۳) و همچنین، کاشت سلول های بالغ در بافت نابالغ و بروز شواهد تکثیر در آن (۱۴، ۱۵)، این فرضیه را تقویت می کند.

از سوی دیگر، هرچند که تأثیر مستقیم قابلیت ترمیم این گونه عوامل بر روی سلول های ضایعه دیده بالغ سیستم عصبی گزارش شده است (۱۶، ۱۷)، اما در ارتباط با اثرات آنها از طریق الیاف محیطی بر روی این سیستم، هنوز مطالعات چندانی صورت نگرفته است. بنابراین به اعتبار این که بخش عمده ای از ضایعات سیستم عصبی مربوط به اعصاب محیطی است و از این رهگذر صدمات جبران ناپذیری بر سیستم عصبی مرکزی وارد می شود، چنانچه بتوان شرایطی فراهم نمود که از دژنراسیون رتروگرید الیاف محیطی ضایعه دیده جلوگیری شود، به طور مؤثری جسم سلولی متعلق به آنها نیز از مرگ ناشی از ضایعه مصون خواهد ماند. بنابراین در پژوهش حاضر با تکیه بر اهمیت موضوع، سعی شده است که با بهره گیری از پتانسیل بالقوه ای که به عنوان مجموعه ای از عوامل تروفیک در عصاره مغز جنین وجود دارد، از دژنراسیون بخش پروگزیمال الیاف ضایعه دیده عصب هیپوگلوبس (به عنوان یک مدل تجربی مناسب)، جلوگیری به عمل آید، تا به تبع آن بتوان مصونیت بخشیدن به این گونه نرون ها را در برابر کروماتولیز و مرگ نرونی ناشی از ضایعه، مورد ارزیابی قرار داد.

مواد و روش ها

۱- حیوان

برای این منظور ۱۲ رت نر جوان از نوع Wistar (تهیه شده از مؤسسه رازی مشهد) با ۰/۲ میلی لیتر کتامین- رامپون (به نسبت ۱ به ۲) به طور کامل بیهوش گردیده و به موازات کناره تحتانی سمت راست فک پایین آنان، برش پوستی کوتاهی به طول ۱۵ میلی متر ایجاد شد. سپس عصب هیپوگلوبس در مجاورت بطن

انکارناپذیر است. امروزه این گونه مواد که از آنها با نام عمومی نروتروفین ها نیز یاد می شود دارای حوزه عمل وسیعی دانسته شده اند تا آنجا که بعضی از آنها از جمله عامل رشد عصب (Nerve growth factor) (۲،۱)، نروتروفین-۳ (Neurotrophin-3) (۳)، عامل نروتروفیک سیلاری (Ciliary neurotrophic factor) (۴،۵) و عامل نروتروفیک تمایز مغز (Brain-driven neurotrophic factor) (۳،۴) نه تنها به تمایز و تکامل سیستم عصبی نابالغ کمک می کنند بلکه وجود آنها برای حفظ و بقای نرون های ضایعه دیده بالغ ضروری به نظر می رسد. مطالعات به عمل آمده در این زمینه نشان می دهد که وجود این گونه عوامل در بافت عصبی، پدیده ای الزامی است، زیرا علاوه بر آن که می توانند بر روی سلول های عصبی و غیر عصبی (از قبیل سلول های گلیال)، اثرات تمایز یابندگی داشته باشند، وجود آنها برای حفظ و بقای جمعیت های نرونی بالغ نیز ضروری به نظر می رسد (۶-۸). از سوی دیگر شواهد موجود نشان می دهد که این گونه عوامل علاوه بر این که به مقدار قابل توجهی در سیستم عصبی نابالغ وجود دارند، برخی از آنها در مناطقی از سیستم بالغ (مثل سلول های شووان) و یا اندام هدف پایانه های اعصاب محیطی نیز همواره در حال ساخته شدن هستند (۹،۵،۲). بنابراین، با علم به این که در هنگام بروز ضایعات عصبی سنتز این گونه عوامل در این سیستم افزایش نشان می دهد، می توان اذعان داشت که نقش آنها در حفظ و بقای نرون های ضایعه دیده و جلوگیری از مرگ نرونی واقعی انکارناپذیر است (۱۱،۱۰،۱). در تأیید این موضوع، شواهد مربوط به ایجاد ضایعه و ترمیم تجربی عصب، نشان داده است که بافت عصبی جنینی از توانایی بالایی در پدیده ترمیم برخوردار است تا آنجا که اثرات القایی آن می تواند حتی بافت ضایعه دیده بالغ را نیز تحت تأثیر قرارداد و منجر به ترمیم آن شود. در این رابطه، کاشت بافت

نمونه های کنترل و تجربی با کدگذاری و به صورت کور انجام شد تا در مطالعات بعدی هیچ گونه سوگرایی صورت نگیرد.

۵- شمارش نرونی

برش های سریال هر نمونه که به صورت اتفاقی و از هرینج برش یک مورد انتخاب گردیده بود با درشت-نمایی های مختلف (۱۰۰ تا ۱۰۰۰) مورد ارزیابی قرار گرفت و نرون های هسته راست و چپ در هر مقطع مقایسه، شمارش و ثبت گردید تا ضمن تعیین تعداد نرون های باقیمانده در هسته ضایعه دیده، وضعیت تغییرات ساختمانی نرون های مزبور نیز مشخص گردد. در این رابطه، مجموع شمارش های سریال تقسیم بر تعداد مقاطع شمارش شده آن شد تا میانگین نسبی نرون های شمارش شده در مقطع، به دست آید (جدول شماره ۱).

۶- محاسبات آماری

محاسبات آماری در ارتباط با تعداد کل نرون های شمارش شده در مقاطع مربوط به نمونه های کنترل و تجربی و مقایسه آنها در هسته های سالم و ضایعه دیده، با استفاده از آنالیز واریانس و t-test انجام گرفت.

نتایج

شمارش نرونی در مقاطع مورد مطالعه مربوط به نمونه های گروه کنترل مشخص نمود که تعداد نرون های باقیمانده در هسته سمت ضایعه دیده نسبت به هسته سالم در هر نمونه بسیار اندک است، به طوری که این نسبت در مجموع نمونه های کنترل در طرف ضایعه دیده نسبت به سمت سالم ۱ به ۷ و برای نمونه های گروه تجربی ۱ به ۳ محاسبه شده است ($P < 0/05$).

همچنین علاوه بر تغییرات ظاهری که در ساختمان نرون های باقیمانده در هسته ضایعه دیده مشهود است تعداد نرون های کمتری در مقاطع مربوط به هسته ضایعه دیده در گروه کنترل نسبت به موارد مشابه در گروه تجربی دیده می شود (جدول شماره ۱ و تصاویر شماره ۱ و ۲).

خلفی عضله دیگاستریک اکسپوز و به طور کامل قطع گردید. پس از ضد عفونی موضع عمل در هر مورد، پوست با استفاده از کلیپس های مخصوص، بخیه گردید. آنگاه نمونه های مورد نظر مطابق جدول به دو گروه تجربی و کنترل تقسیم شدند.

۲- تهیه عصاره مغز جنین

برای تهیه عصاره، از جنین های رت استفاده شد که مادرانشان به صورت باکره آمیزش یافته و در روز ۱۷ حاملگی تحت بیهوشی سزارین شدند. سپس مغز جنین با سرعت و دقت از جمجمه خارج گردید و بعد از آن که با استفاده از هموژنایزر به طور کامل سوسپانسیون گردید، حجم آن با استفاده از سرم فیزیولوژی به ۱ میلی لیتر رسانده شد و با ۵ هزار دور در ثانیه به مدت ۱۰ دقیقه مورد سانتریفوژ قرار گرفت. پس از این مرحله، محلول هر کدام از لوله های سانتریفوژ با پیت استریل برداشت گردید و به لوله های اپندورف منتقل و در فریزر نگهداری شد تا بعداً مورد تجویز قرار گیرد.

۳- تجویز عصاره

از عصاره ای که به روش فوق تهیه و نگهداری گردیده بود، پس از ایجاد ضایعه در عصب هیپوگلووس، به هر یک از نمونه های گروه تجربی به مدت دو هفته به صورت روزانه ۰/۱ میلی لیتر به محل ضایعه تزریق گردید. مشابه این عمل در نمونه های کنترل با سرم فیزیولوژی انجام گرفت.

۴- نمونه برداری و آماده سازی بافتی

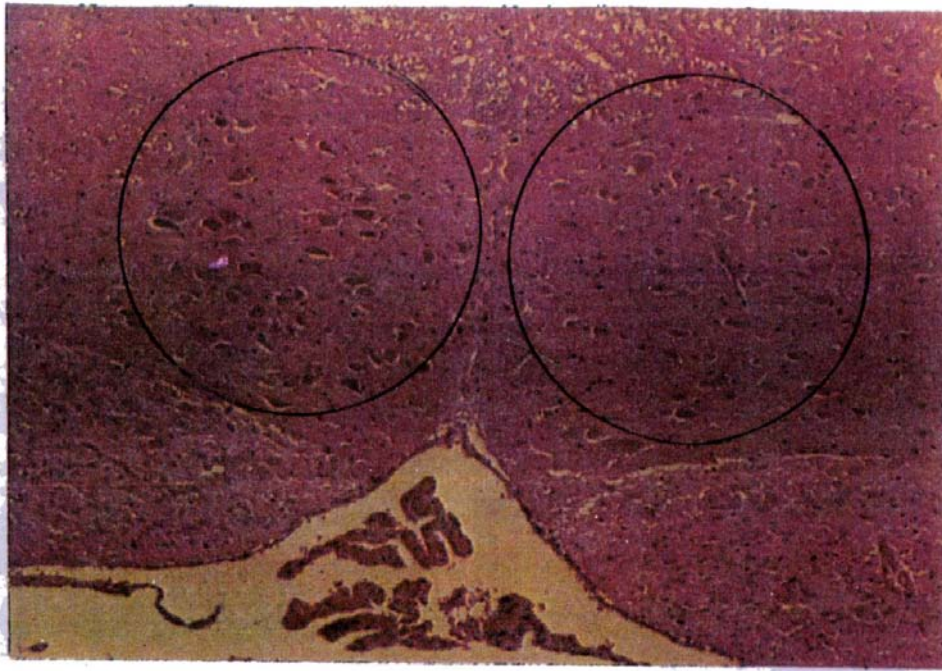
با گذشت دو هفته از انجام عمل، همه نمونه ها تحت بیهوشی قطع نخاع گردیده و مغز آنان به سرعت از جمجمه خارج و در فرمالین ۱۰ درصد فیکس گردید. در مرحله بعد، ناحیه ساقه مغز که محل واقع شدن هسته هیپوگلووس است اختصاصاً جدا گردیده و مراحل قالب-گیری، سریال سکشن (با برش های ۵ میکرونی)، پاساژ بافتی و رنگ آمیزی با دو روش هماتوکسیلین ائوزین و آبی تلویدین از آنها به عمل آمد. عملیات فوق برای

نرون ها چروکیده با حاشیه نامشخص، سیتوپلاسم تحلیل رفته و هسته های تیره فاقد هستک دیده می شوند (تصاویر سمت چپ از شکل های شماره ۳ و ۴).

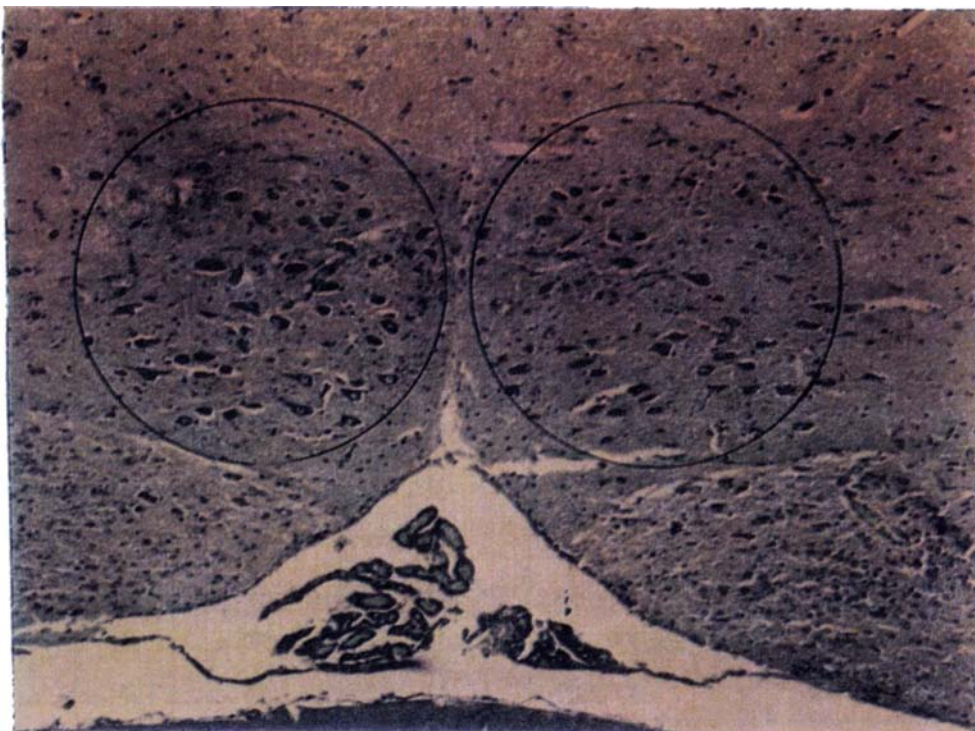
همچنین سلول های باقیمانده نیز در این هسته ها در گروه کنترل در حال تغییر است که حکایت از روند دژنراسیون سلولی دارد. در این وضعیت، جسم سلولی

جدول شماره ۱: مقایسه میانگین نرون های شمارش مقطعی در نمونه های تجربی و کنترل

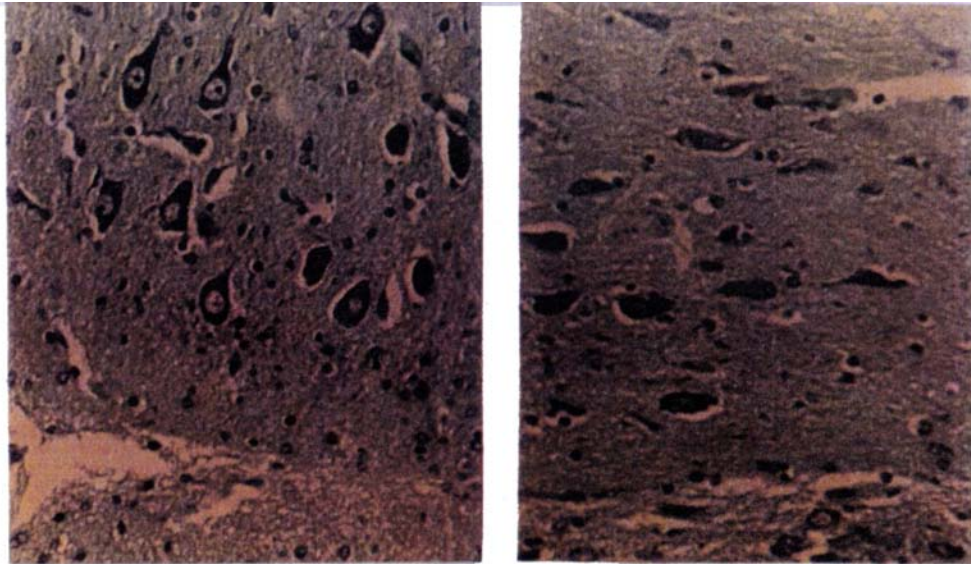
ردیف	میانگین مقطعی نمونه های تجربی		میانگین مقطعی نمونه های کنترل	
	هسته سالم	هسته ضایعه دیده	هسته سالم	هسته ضایعه دیده
۱	۳۲	۱۱	۳۵	۳
۲	۳۷	۱۴	۳۳	۵
۳	۳۵	۱۳	۳۹	۴
۴	۴۱	۱۴	۳۶	۶
۵	۳۳	۱۳	۳۲	۷
۶	۲۸	۱۲	۳۲	۵



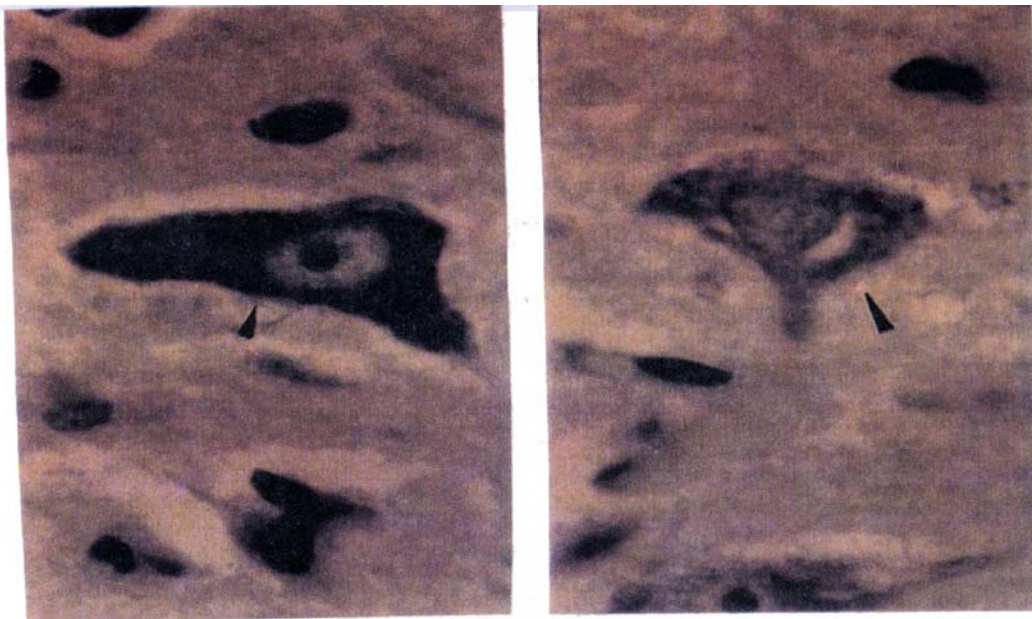
تصویر شماره ۱: مقایسه نرون های موجود در یک مقطع بافتی از هسته سالم عصب هیپوگلوس (محدوده دایره سمت راست تصویر) با هسته ضایعه دیده (محدوده سمت چپ) در یک نمونه تجربی که عصاره مغز جنین دریافت نموده است (رنگ آمیزی هماتوکسیلین انوزین و درشت نمایی ۲۰۰).



تصویر شماره ۲: مقایسه نرون های موجود در یک مقطع بافتی از هسته سالم (دایره سمت راست تصویر) با هسته ضایعه دیده (دایره سمت چپ) در یک نمونه تجربی که عصاره مغز جنین دریافت کرده است (رنگ آمیزی آبی تولوئیدین و درشت نمایی ۲۰۰).



تصویر شماره ۳: مقایسه نرون های موجود در یک مقطع بافتی از هسته سالم (تصویر سمت راست) با هسته ضایعه دیده (سمت چپ) در یک نمونه کنترل که سرم فیزیولوژی دریافت کرده است. در تصویر سمت چپ به تغییرات دژنراتیو و وضعیت نرون های در حال مرگ توجه شود (رنگ آمیزی آبی تلونیدین درشت نمایی ۴۰۰).



تصویر شماره ۴: مقایسه وضعیت نرون های در حال مرگ مقطع بافتی هسته ضایعه دیده (تصویر سمت چپ) و نرون های مصون مانده در هسته مشابه از یک نمونه تجربی (سمت راست) در یک نمونه کنترل. در تصویر سمت چپ به تغییرات دژنراتیو در جسم سلولی نرون های ضایعه دیده توجه شود (رنگ آمیزی آبی تلونیدین درشت نمایی ۱۰۰۰).

بحث

تروفیک بلکه میانجی های عصبی و مولکول هایی که وجودشان برای فعالیت های حیاتی و پدیده انتقال پیام عصبی ضروری است، از این طریق حمل می شوند (۱۸). در این جریان، وزیکول های پینوسیتوتیک در امتداد آکسون نرون های حرکتی همواره در حال جا به جا شدن هستند که در این رابطه نقش میکروفیلانت ها و میکروتوبول ها ضروری به نظر می رسد (۲۰). شواهد مربوط به این موضوع از آنجا ناشی می شود که موادی همچون کلشی سین که میکروتوبول ها را می شکنند می توانند مکانیسم حمل آکسونی رابلوک نموده و این جریان را متوقف نمایند (۲۱).

بنابراین بدیهی است که به دنبال قطع عصب، تغییرات دژنراتیو در دو جهت پروگزیمال و دیستال از محل ضایعه به وقوع می پیوندد که وقوع این پدیده در بخش دیستال، قطعی و غیرقابل پیشگیری است. اما چنانچه بخش پروگزیمال ضایعه به طریقی حمایت شود، از روند تخریب به سمت جسم سلولی نرون های مربوط به آنها کاسته خواهد شد. برای فراهم نمودن چنین موقعیتی، تاکنون تحقیقات دامنه داری انجام شده و پیشنهادات متفاوتی در زمینه ترمیم بیان گردیده است که هر کدام به سهم خود می تواند در بهبود بخشیدن به پدیده ترمیم مؤثر باشد (۲۲-۲۸). در عین حال، بهره گیری از مواد تروفیک در ارتباط با ترمیم ضایعات عصبی، موضوعی است که در دهه های اخیر بیشتر از هر چیزی نظر محققین را به خود جلب نموده است. بر اساس یک نظریه رایج، چنانچه عوامل تروفیک مغز نابالغ، جایگزین آن دسته از نروتروفین هایی شوند که نرون های ضایعه دیده به علت قطع عصب از آنها محروم مانده اند، زمینه حفظ و بقای این گونه نرون ها و ترمیم مجدد زواید سلولی از دست

امروزه از نظر بسیاری از دانشمندان، نقش عوامل رشد عصبی و اهمیت جایگاه آنها در روند تمایز، تکامل، بلوغ سیستم عصبی، و همچنین مکانیزم های حمایتی بعد از آن بر روی این سیستم، واقعیتهای انکار ناپذیر است، زیرا به عنوان مثال، در مواجهه با پدیده مرگ از پیش برنامه ریزی شده سلولی (Programmed cell death) که در جریان تکامل سیستم عصبی به وقوع پیوسته و بالغ بر ۵۰ درصد نرون های نابالغ از بین می روند، این وظیفه بر عهده عوامل رشد عصبی است که از مرگ بیش از اندازه آنها جلوگیری نمایند. همچنین سلول های عصبی بالغ نیز در طول حیات خود به دریافت این گونه عوامل وابسته هستند، زیرا در شرایطی که الیاف عصبی محیطی، در اثر بروز ضایعه از دست برود ارتباط این گونه نرون ها با اندام هدف از بین رفته و ترانسپورت آکسونی به سمت جسم سلولی آنها متوقف می شود. در این راستا، حمل روبه عقب وزیکول های حاوی عوامل رشد عصبی که از اندام هدف ترشح گردیده و باید از طریق پایانه های آکسونی به سمت جسم سلولی نرون ها جابه جا شوند، مختل می گردد (۱۸، ۱۹). بنابراین، با ازدست رفتن این ارتباط، سلول های آسیب دیده بدون حمایت چنین عواملی که نقش بیواستیمولاتور را برای آنان بازی می کنند، ممکن است دچار پدیده کروماتولیز و تغییرات دژنراتیو گردیده و در نهایت دچار مرگ سلولی شوند (۲۰). اهمیت این موضوع تا حدی است که برخی از محققین تکامل نرون های حرکتی نخاع را به طور قوی با میانکنش بافت های هدف آن مرتبط می دانند و فعالیت های بیولوژیک حاصل از این عوامل را تضمین کننده رشد و بقای این دسته از سلول های عصبی بر شمرده اند (۱۱). در پدیده حمل آکسونی نه تنها عوامل

در سلول های عصبی، علایمی بروز می کنند که نوعی پیش آگهی در سیر قهقراپی حیات این گونه نرون ها است. در این حالت اجسام نیسل حالت گرانولار پیدا می کنند و در سیتوپلاسم پراکنده می شوند و RNA سیتوپلاسمی از دست می رود که این پدیده را کروماتولیز می گویند (۲۰). پدیده کروماتولیز که از گره آکسونی شروع می شود، به سرعت در سیتوپلاسم انتشار یافته، به تمام جسم سلولی سرایت می کند و متعاقب این تغییرات، هسته سلول ها که در حالت طبیعی نمای واکوئولی روشن و هستک تیره مشخص دارند از حالت مرکزی در جسم سلولی نرون ها تغییر محل داده و ضمن این که تیره می شوند، هستک های خود را از دست می دهند و وضعیت محیطی به خود می گیرند. در این حالت، جسم سلولی نرون ها کم کم چروکیده می شود و در شرایط حاد به مرگ سلولی می انجامد. سپس آستروسیت های محیطی شروع به فاگوسیت کردن و پاکسازی بقایای سلولی نموده و نوعی بافت جوشگاهی جانشین آنها می گردد. در این رابطه، مقاطع بافتی مربوط به نمونه های کنترل، تغییرات یاد شده و کاهش نرونی حاصل از آن را به خوبی نشان می دهند.

در این پژوهش با در نظر گرفتن تعداد بسیار اندک سلول هایی که در هسته هیپوگلوکس ضایعه دیده نمونه های گروه کنترل باقی مانده است، می توان چنین نتیجه گرفت که پس از قطع عصب، به صرف این که نرون ها فقط بخش دیستال زواید آکسونی خود را از دست داده اند، سایر ارتباطات سلولی نتوانسته است به حفظ و بقای آنها کمک کند. بدین ترتیب همان گونه که نتایج حاصل از شمارش میانگین نرونی مقاطع بافتی مربوط به نمونه های کنترل نشان می دهد، تعداد نرون ها در مقایسه با هسته سالم در هر نمونه بسیار اندک است ($P < 0.05$)، در حالی که در هسته های ضایعه دیده گروه تجربی که به مدت دو هفته و با استفاده از عصاره مغز جنین تحت درمان

رفته در آنان می تواند فراهم شود (۱۸، ۱۹). در این حالت می توان امید داشت که قبل از این که اندام هدف از عصب محروم مانده، دچار آتروفی گردد، مجدداً بتواند در فاصله زمانی کوتاه تری نسبت به وضعیت عادی عصب دار شده و فعالیت های طبیعی خود را به دست آورد.

در این پژوهش که به منظور نشان دادن تأثیر احتمالی عوامل تروفیک مغز جنین از طریق تأثیرگذاری بر الیاف ضایعه دیده عصبی در جلوگیری از مرگ نرونی صورت گرفت، از عصب هیپوگلوکس رت استفاده گردیده است. به اعتبار این که الیاف این عصب از هسته متعلق به آن تا اندام هدف فاصله بسیار کوتاهی را طی می کنند، هرگونه تغییری که ناشی از قطع زواید آکسونی مربوط به آن باشد بازتاب آن به سرعت می تواند در هسته این عصب (در ناحیه ساقه مغز) بروز نماید. از سوی دیگر به اعتبار این که اغلب تغییرات دژنراتیو نرون ها در روز اول پس از ضایعه شروع و بعد از حدود دو هفته کامل می شود، طول این دوره چه از نظر تخریب و چه از نظر مکانیسم عملی که بتواند از مرگ سلولی جلوگیری کند دارای اهمیت حیاتی است (۱۸، ۲۰). به همین جهت ارزیابی عمل عواملی که در کوتاه مدت بتوانند مانع از تخریب سلولی نرون های ضایعه دیده شده و یا به ترمیم مجدد زواید سلولی آنها کمک کنند، از نقطه نظر این پژوهش و با بهره گیری از این عصب آسان تر به نظر رسیده است. در این مطالعه، اگر چه در رابطه با مصون سازی نرون های ضایعه دیده، از عوامل تروفیک به صورت انتخابی بهره گرفته نشده است، اما چنان که نتایج حاصل از ارزیابی هسته ها، در مقایسه بین گروه تجربی (دریافت کننده عصاره) و گروه کنترل (دریافت کننده سرم فیزیولوژی) نشان می دهد، اختلاف چشمگیری در تعداد و وضعیت نرون های هسته ضایعه دیده بین این دو گروه به چشم می خورد. تحقیقات نشان داده است که با شروع تغییرات دژنراتیو ناشی از ضایعه

نرون های مربوطه رسیده و حفظ و بقای آنها را تضمین نموده است. بنابراین با در نظر گرفتن تفاوت معنی داری که رد تراکم نرونی و وضعیت سلامت این نرون ها در مقایسه بین گروهی دیده می شود، می توان گفت که عوامل تروفیک موجود در عصاره مغز جنین در طول این دوره (در نمونه های تجربی) جایگزین اثرات القایی و روند تحریکاتی شده است که می بایست از اندام هدف به این نرون ها برسد و سلامت آنها را تضمین نماید.

بوده اند، کاهش نرونی به چنین حدی نرسیده است. بنابراین می توان چنین نتیجه گرفت که با توجه به این که تغییرات دژنراتیو در طول دوهفته اول پس از ضایعه کامل می شود (۲۰)، نرون های ضایعه دیده نمونه های تجربی که در طول این دوره تحت درمان قرار گرفته اند، از حمایت عوامل تروفیک موجود در عصاره مغز جنین به صورت آگروژن بهره جسته اند. در این شرایط احتمالاً چنین موادی با استفاده از مکانیسم حمل آکسونی، از انتهای پروگزیمال عصب ضایعه دیده به جسم سلولی

فهرست منابع

1. Mivata Y, Kashihara Y, Homma S, Cuno M. Effects of nerve growth factor on the survival and synaptic function of sensory neurons axotomized in neonatal rats. *J. Neurosci.* 1986; 6: 2012-8.
2. Hohn A, Leibrock J, Bailey K, Barde YA. Identification and characterization of a novel member of the nerve growth factor/ brain- derived neurotrophic factor family. *Nature.* 1990; 344: 339- 41.
3. Erikson NP, Lindsay RM, Aldskogius H. BDNF and NT-3 rescue sensory but not motoneurons following axotomy in the neonate. *Neuro Report.* 1994;5: 1445- 8.
4. Arlen YC, Edmond WC, Sofia L. Distinct neurotrophic responses of axotomized motor neurons to BDNF and CNTF in adult rats. *Neuro Report.* 1994; 5: 693- 696.
5. Sendtner N, Stockii KA, Fnoenen 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.
6. Maisonpierre PC, et al. NT-3, BDNF and NGF in the developing rat nervous system: parallel as well as reciprocal patterns of expression. *Neuron.* 1990; 5: 501- 9.
7. Wong V, Arriaga R, IPNY, Lindsav RM. The neurotrophins BDNF, NT-3 and NT-4/5, but not NGF, up- regulate the cholinergic phenotype of developing motor neurons. *Eur. J. Neurosci.* 1993; 466- 74.
8. 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- 8.
9. Rodriguez PA, Botana M, Gonzalez M, Requejo F. Expression of neurotrophins and their receptors in sciatic nerve of experimentally diabetic rats. *Neurosci. Lett.* 1995; 200: 37- 40.

10. 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 rat dorsal root ganglia. *Neurosci. Lett.* 1987; 83: 156- 60.
11. Gouin A, Camu W, Bloch GE, Mettling C, Henderson CE. Growth and survival factors of spinal motoneurons. *CR. Sciences. Sos. Biol.* 1993; 187: 47- 61.
12. Polezhaev LV, Alexandrova MA. Transplantation of embryonic brain tissue into the brain of adult rats after hypoxic hypoxia. *J. Hirnforsch.* 1984; 99- 106.
13. Ye J H, Billet DC, Horvat JC. Co-transplantation of fetal or adult dorsal root ganglia and of autologous peripheral nerve segments to the adult rat spinal cord: extensive reinnervation of the grafted nerves by the transplanted DRG cells. *Dev. Neurosci.* 1992; 123-9.
14. Itho Y, Sugawara T, Kowada M, Tessler A. Time course of dorsal root axon regeneration into transplants of spinal cord: A light microscopic study. *J. Comp. Neurol.* 1992; 323: 198- 208.
15. Kuhlengel KR, Bunge MB, Bunge RP, Burton M. Implantation of cultured sensory neurons and Schwann cells into lesioned neonatal rat spinal cord. *J. Comp. Neurol.* 1990; 293: 74- 91.
16. Seniuk NA. Neurotrophic factors: role in peripheral neuron survival and axonal repair. *J. Reconstr. Microsurg.* 1992; 8:399- 404.
17. Liuzzi FJ, Tedeschi B. Peripheral nerve regeneration. *Neurosurg. Clin. N. Am.* 1997; 2: 31- 42.
18. Primi MP, Clarke PG. Early retrograde effects of blocking axoplasmic transport in the axons of developing neurons. *Brain. Res.* 1997; 99: 259- 62.
19. 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 transduction in neurons. *Eur. J. Neurosci.* 1994; 6: 626-31.
20. Snell R. *Clinical Neuroanatomy for medical students.* Second ed. Little Brown Company. 1987; 63- 111.
21. Gorenstein C. Fate of lysosomes transported to the dendrites by a colchicines- induced mechanism. *Brain Res.* 1995; 671: 27- 37.
22. Peter JE, James RB, Susan EM, Akira PM, Daniel AH. Selective reinnervation: a comparison of recovery following microsuture and conduit nerve repair. *Brain Res.* 1991; 559: 315- 21.
23. Khullar SM, Brodin P, Messelt EB, Hanaes HR. The effects of low level laser treatment on recovery of nerve conduction and motor function after compression injury in the rat sciatic

- nerve. *Eur. J. Oral Sci.* 1995; 103: 299-305.
24. Kerns JM, Lucchinetti C. Electrical field effects on crushed nerve regeneration. *Exp Neurol.* 1992; 117: 71-80.
25. Todd MF. Trophic interactions between rat nerves and blood vessels in denervated peripheral arteries and in anterior eye chamber transplants. *Cric. Res.* 1986; 58: 641-52.
26. Ilizarov GA, Shudlo MM, Kuzentsova AV, Shudlo NA. Neurohistological characteristics of regeneration of the ends of the injured nerve under measured traction. 1992; 113: 439-42.
27. Angeioy ON, Neiss W, Strepper M, Anderman I, Mader K, Stenner E. Nimodipine accelerates axonal sprouting after surgical repair of rat facial nerve. *J. Neurosci.* 1996; 16731: 1041-48.
28. Jianxin XT, Keith MR. Diphenylpiperazines enhance regeneration after facial nerve injury. *J. Neurocytol. Surgery.* 1997; 26: 339-47.