فصلنامه علوم زیستی دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان
شماره پیاپی۶، جلد۲، شماره ۳، تابستان ۱۳۸۸، صفحه ۳۹ تا صفحه ۴۵

بررسی اثر تزریق زیر پوستی مایع مغزی نخاعی برمیزان دژنراسیون موتونورون‌های نخاع پس از کمپرسیون عصب سیاتیک در رت

مریم طهرانی پور[۱]، جواد بهارآرا[۱]، **مریم مصطفایی**[۲]
۱- استادیار گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد.
۲- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم جانوری گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد. m.mostafaee634@Gmail. com

تاریخ دریافت: ۸۷/۱۲/۲۲ **تاریخ پذیرش: ۸۸/۲/۲۷**

چکیده

تخریب جسم سلولی نورون‌های آلفا در نخاع پس از ضایعه اعصاب محیطی از جمله آسیب‌های برگشت ناپذیر است . این مطلب که مایع مغزی نخاعی (CSF) در زنده ماندن وتکثیر نورون موثر است ما را به سمت استفاده از آن در موجود زنده هدایت کرد. در این مطالعه از ۱۸ سر رت نر و ۱۸ سر رت ماده باردار (روز ۲۰ بارداری) نژاد ویستار به وزن ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم استفاده شد . رت‌های نر به طور تصادفی در سه گروه (N=٦) شم، کنترل و تزریق زیر پوستی تقسیم شدند. در گروه شم عصب سیاتیک پای راست تحت کمپرسیون (٦٠ ثانیه)، در گروه کنترل عضله در محل عصب سیاتیک بدون آسیب شکافته و در گروه تزریق زیر پوستی، علاوه بر کمپرسیون، ۱۰ میکرولیتر CSF جنینی در محل ضایعه هر سه روز تزریق و از جنین‌های ۲۰ روزه جهت استخراج CSF استفاده شد. پس از ۲۸ روز رت‌ها با روش پرفیوژن تثبیت و پس از پاساژ بافتی از قطعات کمری نخاع نمونه برداری و برش‌های ۷ میکرونی سریال از نخاع تهیه شد . در برش‌ها پس از رنگ‌آمیزی با آبی تولوئیدین، به روش استریولوژی و دایسکتور شمارش نورون‌های حرکتی شاخ قدامی نخاع انجام شد. با مقایسه دانسیته نورونی گروه شم وگروه تزریق زیر پوستی CSF اختلاف معنی داری بین دانسیته نورونی در این دو گروه (p<۰/۰۵) به دست آمد. نتایج نشان داد که CSF جنینی دارای اثرات نوروپروتکتیو بر روی نورون‌های شاخ قدامی نخاع پس از ضایعه ایجاد شده است که احتمالا این اثرات ناشی از وجود فاکتورهای رشد و ترمیم جهت پیشبرد فرآیندهای رژنراسیون در نورون‌ها می‌باشد.

کلید واژه: سیاتیک، دژنراسیون موتونورون، مایع مغزی نخاعی.

مقدمه

نتایج حاصله از پژوهش‌های به عمل آمده در زمینه ترمیم سیستم عصبی محیطی نشان می‌دهد که عوامل مختلفی بر روند ترمیم موثرند. ناگاراجا در سال ۲۰۰۵ نشان داد که فاکتورهای رشد و عوامل نوروپروتکتیو مانند فاکتور شبه انسولینی (IGF-۱) که در مایع مغزی نخاعی (CSF) وجود دارد، مرگ سلولی را در صدمات سیستم عصبی مرکزی کاهش می‌دهند(۱۸). میان در سال ۲۰۰۶ نشان داد که مایع مغزی نخاعی موش‌های رت (Rat) در محیط in vivo و in vitro باعث تمایز وتکثیر سلول‌های جنینی قشر مغز می‌شود، دراین پژوهش مشخص گردید که مایع مغزی نخاعی تمام روزهای جنینی بدون آن که ماده دیگری به محیط اضافه شود، قادر به رشد سلول‌های قشر مغز می‌باشند (۱۷). مایع مغزی نخاعی(CSF) به وسیله ترشح از عروق مغزی و شبکه کوروئید تشکیل وبه وسیله عوامل نوروآندوکرین و عوامل هورمونی تنظیم می‌شود(۱۳). شبکه کوروئید Choroid plexus (CP)

www.SID.ir

علاوه بر تولید مایع مغزی نخاعی عمل‌کردهای دیگری هم برای سیستم عصبی مرکزی دارد. شبکه کوروئید فاکتورهای رشد را به درون مایع مغزی نخاعی ترشح می‌کنند. این فاکتورها می‌توانند خود را به مغز رسانده(۶) و آسیب‌های مغزی را با علل ایسکمی و نورودژنره شدن، بهبود بخشند(۱۲). در واقع مایع مغزی نخاعی(CSF) برای زنده نگه داشتن مغز، محیط مکملی شامل انواع ویتامین‌ها، پپتیدها و نوکلئوزیدها و عوامل رشد فراهم می‌کند (۱،۷،۱۱). هدف از انجام این تحقیق، بررسی آثار تزریق زیر پوستی مایع مغزی نخاعی در به تعویق انداختن یا جلوگیری از دژنراسیون مرکزی نورون‌های حرکتی نخاع و در نتیجه بهبود بخشیدن روند ترمیم می‌باشد.

مواد و روش‌ها

حیوانات آزمایشگاهی و روش تجویز

این مطالعه از نوع تجربی آزمایشگاهی است که در سال ۱۳۸۸-۱۳۸۷ انجام شده است. تعداد ۱۸ سر رت ماده باردار و ۱۸ سررت نر ۳ ماهه بالغ با وزن ۲۵۰ - ۲۰۰ گرم درفصل پاییز از سرم سازی رازی تهیه و در شرایط نوری ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی، درجه حرارت ۲۲تا ۲۴درجه سانتی گراد و رطوبت مناسب در اتاق حیوانات گروه زیست شناسی دانشکده علوم دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد نگهداری شدند . آب مورد نیاز حیوانات از آب آشامیدنی شهر و غذای آن‌ها نیز دارای فرمول استاندارد و از شرکت جوانه خراسان تهیه شد. در مرحله بعد رت‌های نر به صورت تصادفی به ۳ گروه(n=۶) کنترل، شم و تجربی تقسیم شدند و همه آن‌ها(جز گروه کنترل) تحت کمپرسیون عصب سیاتیک قرار گرفتند. در گروه تجربی، پس از کمپرسیون عصب سیاتیک، مایع مغزی نخاعی استخراج شده از جنین ۲۰روزه رت به میزان ۱۰ میکرولیتر برای هر رت به طریقه زیر پوستی تزریق شد. این تزریق در دوره ۲۸ روزه آزمایش هر سه روز یک بار تکرار و در هر مرحله تزریق مایع مغزی نخاعی دو جنین برای هر رت و در مجموع در ۹ مرحله از ۱۰۸ جنین استفاده شد. (گرفتن مایع مغزی نخاعی ازجنین‌ها با استفاده از میکروپیپت و از ناحیه سیسترنا مگنا انجام گردید) در گروه شم تزریقی انجام نشد. جراحی حیوانات تحت بیهوشی عمیق ناشی از تزریق داخل صفاقی ۷۰ میلی لیتر بر کیلوگرم کتامین و۷ میلی لیتر بر کیلوگرم رامپون انجام شد. پس از بیهوشی، در پوست ران به طول یک سانتی مترشکافی ایجاد و پس از کنار زدن عضلات در عمق این ناحیه عصب سیاتیک آشکار شد. برای اعمال کمپرسیون عصب، از پنس قفل‌دار(قفل دوم) استفاده و عصب سیاتیک به مدت ۶۰ ثانیه تحت کمپرسیون قرار گرفت (روش اعمال کمپرسیون در همه رت‌ها یکسان و از پنس قفل دار واحدی استفاده شد). پس از کمپرسیون، عصب در محل طبیعی خود قرارگرفته و لبه‌های زخم به وسیله کلیپس مخصوص بخیه زده و محل ضد عفونی شد. در جریان عمل جراحی و پس از آن تا موقع به هوش آمدن، حیوان گرم نگه داشته شد . مجریان در کلیه مراحل به اصول اخلاقی کار با حیوانات متعهد بودند.

نحوه نمونه برداری وآماده سازی بافتی

پس از طی ۲۸ روز، با انجام روش پرفیوژن از نخاع ناحیه کمری نمونه برداری و برای یکسان بودن نمونه‌ها، نخاع تا انتها از ستون فقرات خارج و پس از قطع ۱۸ میلی متر از انتهای آن، یک قطعه ۸ میلی متری از نخاع ناحیه کمری نمونه برداری شد. پس از تثبیت توسط فرمالین ۱۰٪ نمکی، نمونه‌ها وارد مراحل پاساژ بافتی شدند که پس از آب‌گیری با اتانل و مرحله شفاف کردن با بوتانل، از بلوک‌های پارافینی حاصل، برش‌های سریالی ۷ میکرونی با میکروتوم تهیه و برش‌های منتقل شده بر روی لام وارد مراحل رنگ آمیزی شدند بدین صورت که ابتدا پارافین زدایی توسط زایلن وسپس آبدهی توسط سری‌های نزولی الکلی انجام شد. بعد از انتقال لام‌ها به محلول رنگ آبی تولوئیدین (pH=۴/۶۵) به مدت ۱۰ دقیقه و شستشو در محلول تامپون (حاوی ۱سی سی اسید استیک نرمال به همراه ۱سی سی استات سدیم نرمال که به حجم ۱۰۰ سی سی رسید) لام‌های حاوی نمونه‌های بافتی در محلول مولیبدات آمونیوم ۴٪ به مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفتند. رنگ

Archive of SID

www.SID.ir

آمیزی ماتریکس توسط اریتروزین ۱٪ به مدت ۱دقیقه انجام شد.

روش شمارش نورون‌ها

برای شمارش نورون‌های حرکتی شاخ قدامی، از نیمه راست برش‌های سریال (پشت سر هم) توسط فتومیکروسکوپ تحقیقاتی عکس برداری و توسط روش دایسکتور و استفاده از یک عدد تصادفی شمارش دانسیته نورونی انجام و دانسیته نورونی گروه کنترل، شم و گروه تجربی با یکدیگرمقایسه شدند. برای تحلیل کمی نیاز به پارامترهایی مانند: ΣQ، Σframe، Vdisector، Numerical density است که چنین تعریف می‌شوند.

ΣQ : مجموع نورن‌های شمارش شده در یک نیمه نمونه.

Σframe : مجموع دفعات نمونه برداری شده.

V disector= A frame × H (حجم چهارچوب نمونه برداری)

A frame: مساحت چهارچوب نمونه‌برداری.

H: فاصله بین دو برش یا ضخامت هر برش.

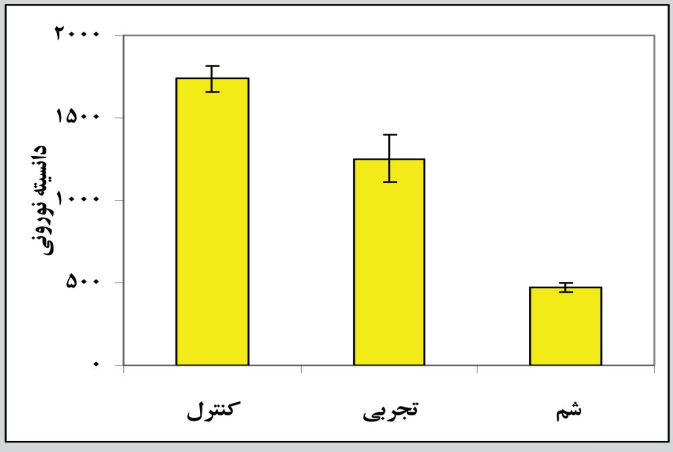
Numerical density (ND) یا دانسیته تعداد، از فرمول زیر محاسبه می گردد (۳).

$$ND=\frac{\Sigma Q}{\Sigma\ frame Vdisector}$$

مساحت چهار چوب نمونه برداری بر روی صفحه مانیتور ۲/۵×۲/۵ سانتی‌متر است که برای به دست آوردن اندازه واقعی این مساحت به میکرون از لام میکرومتری استفاده می کنیم. تحلیل داده‌ها با نرم افزار MINITAP ۱۴، فرمان ANOVA و آزمون t_test و احتمال معنی‌دار P<۰/۰۵ انجام شد.

نتایج

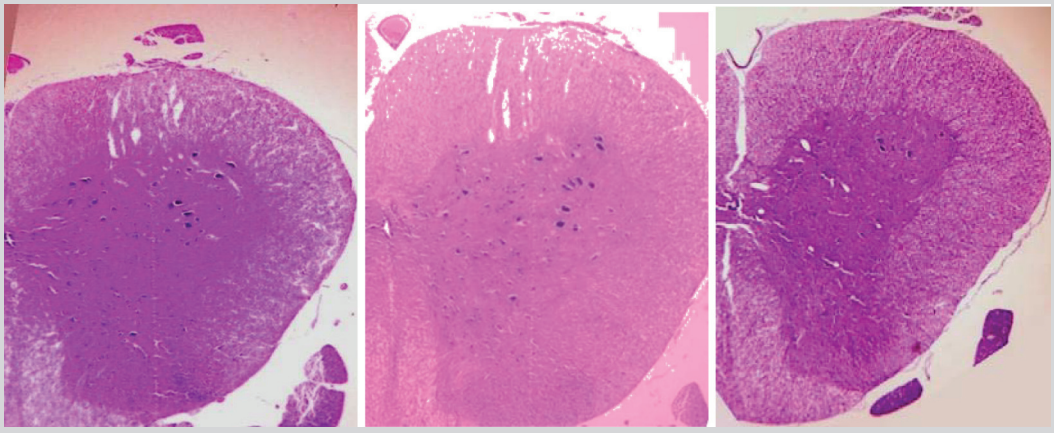
مقایسه آماری میانگین دانسیته نورون‌های حرکتی آلفا بین گروه‌های کنترل، گروه شم با گروه تجربی (گروه تزریق زیر پوستی مایع مغزی نخاعی) نشان داد که میانگین دانسیته نورون‌ها در گروه تجربی (۱۴۱±۱۲۵۳) نسبت به گروه شم(۲۶±۴۷۰) بیشتر است (p<۰/۰۵). این مطلب نشان می‌دهد که گروه تجربی با دریافت مایع مغزی نخاعی توانسته است از تخریب نورون‌های حرکتی آلفا جلوگیری کند. این یافته‌ها هم چنین نشان می‌دهدکه بین دانسیته نورون‌های حرکتی آلفا در گروه تجربی و گروه کنترل(۷۸±۱۷۳۹) حالت معنی‌داری وجود دارد، یعنی تزریق زیرپوستی مایع مغزی نخاعی به میزان قابل قبولی می‌تواند از تخریب نورون‌های حرکتی آلفا جلوگیری کند به عبارت دیگر تعداد نورون‌های حرکتی آلفا در گروه تجربی بسیار نزدیک به گروه کنترل است (نمودار۱ و شکل۱). (براساس نتایج حاصل از شمارش نورون‌های آلفا در شاخ قدامی نخاع و با درنظرگرفتن A frame و فاصله‌بین دو برش، دانسیته تعداد (ND) محاسبه گردید.)



نمودار ۱- مقایسه دانسیته نورون‌های حرکتی آلفا در نخاع که پس از گذشت ٤ هفته از ایجاد کمپرسیون عصب سیاتیک در گروه‌های مختلف نشان داده شده است. (p<۰/۰۵)

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۱- برش عرضی نیمه راست نخاع به ترتیب از راست به چپ: گروه شم، گروه کنترل، گروه تجربی (درشت‌نمایی ۲۰۰×، رنگ آمیزی آبی تولوئیدین اریتروزین. نقطه‌های پررنگ نورون‌های حرکتی آلفا هستند.

بحث

شبکه کوروئید(Choroid plexus (CP فاکتورهای رشد را به درون مایع مغزی نخاعی ترشح می‌کند. این فاکتورها می‌توانند خود را به مغز برسانند(۶،۱۴). در مایع مغزی نخاعی فاکتور رشد عصب (Transforming growth factor) وجود دارد و مقدار آن در بیماری‌های مغزی تغییر می‌نماید. احتمالاً فاکتورهای NGF (Nerve growth factor) و فاکتور رشد تغییر شکل یافته TGF-α درمایع مغزی نخاعی نقش آموزنده برای نورون‌ها دارند. اگر چه نقش مایع مغزی نخاعی در مراحل جنینی هنوز در مراحل اولیه مطالعه است(۷)، اما بررسی‌های متعددی از نقش مایع مغزی نخاعی در رشد مغزی انجام شده است(۱۶،۱۹). Miyan نشان داد که سلول‌های مغزی در مایع مغزی نخاعی جنینی قادربه زندگی بوده(۱۷) و مایع مغزی نخاعی جنینی در محیط in vivo و invitro باعث تمایز وتکثیر سلول‌های جنینی قشر مغز می‌شود. قدرت تکثیر سلول‌های قشر مغز به سن جنین بستگی دارد. سلول‌های قشر مغز یک جنین ۲۰-۱۷ روزه تکثیرکمی در مایع مغزی نخاعی دارند در حالی که سلول‌های قشر مغز یک جنین۱۹و۱۸روزه بیشترین تکثیر را نشان می‌دهند. در مطالعه‌ای مایع مغزی نخاعی استخراج شده از همه روزهای جنینی جهت بررسی اثرات آن‌ها آزمایش و مشاهده شد بدون آن که ماده دیگری به محیط اضافه شود، همه قادر به رشد سلول‌های قشر مغزهستند (۱۷). هم چنین گاتو نقش مایع مغزی نخاعی را در نوروژنز توضیح داد و دریافت که FGF۲ در مایع مغزی نخاعی جنین جوجه یک فاکتور حیاتی است. او دریافت که مایع مغزی نخاعی جنین جوجه در زنده ماندن وتکثیر نورون موثر است(۸). فاکتورهای حیاتی موجود در مایع مغزی نخاعی مانند فاکتور رشد عصب، اینترلوکین ۶ و CNTF (Ciliary neurotrophic factor) می‌توانند سبب رشد رشته‌های آسیب‌دیده شوند(۵،۱۰). فاکتوری به نام APP -Amyloid Beta A۴ protein precursor در مایع مغزی نخاعی جنینی انسان و رت وجود دارد. این پروتئین به طور معمول در مغز موجود بوده و یک شکل محلول از آن در مایع مغزی نخاعی افراد بالغ مشاهده شده است. شکل محلول APP محرک تقسیم سلول‌های بنیادی عصبی جنینی است. APP نه تنها می‌تواند در نوروژنز نقش داشته باشد بلکه می‌تواند با انتقال در مایع مغزی نخاعی عمل کردهای دیگری هم داشته باشد (۲۰).

مایع مغزی نخاعی شامل چندین فاکتور ماتریکس خارج سلولی است. فاکتورهایی مانند فیبرونکتین Fibronectin، لامینین Laminin، تناسکین Tenascin، فیبولین Fibulin، ورسیکن Versican و پروتئین‌های مربوط به سلول‌های عصبی در مایع مغزی نخاعی وجود دارد. از آن جایی که خیلی از این فاکتورها می‌توانند در مهاجرت

Archive of SID

www.SID.ir

سلول‌های عصبی نقش داشته باشند، پس حضور آن‌ها در مایع مغزی نخاعی نشان دهنده رشد وتمایز سلول‌های عصبی اجدادی است (۲۰). تناسکین Tenascin فاکتوری است که در مایع مغزی نخاعی یافت می‌شود. این ماده یک گلیکو پروتئین ماتریکس خارج سلولی است که به عنوان راهنمای رشد آکسون در طی رشد آکسون و مراحل ریژنره شدن است(۹). در واقع مایع مغزی نخاعی مایعی است که نیازهای سلول عصبی را برآورده ساخته و محیطی مناسب برای رشد و حیات آن‌ها ایجاد می‌نمایند. مایع مغزی نخاعی به عنوان یک میانجی (واسطه) بین خون ومغز برای انتقال مواد غذایی و فاکتورهای رشد می‌باشد (۴). البته فاکتورهای مایع مغزی نخاعی که باعث ممانعت از تکثیر می‌شوند هم شناخته شده است. در مطالعاتی که بر روی Ratهای هیدروسفال تگزاس (H-TX) انجام شد، مشاهده گردید که تکثیر نورونی و مهاجرت نورونی کاهش یافته است(۱۷).

نتایج تحقیق ما نیز با پژوهش‌های دانشمندان مذکور سازگاری داشته و احتمالاً فاکتورهای رشد عصبی موجود در مایع مغزی نخاعی از دژنره شدن سلول‌های عصبی آسیب دیده تحت ضایعه محیطی جلوگیری می‌کند. در تحقیق حاضر نیز مشخص شد درشرایط in vivo مایع مغزی نخاعی با تزریق زیر پوستی می‌تواند از مرگ نورونی جلوگیری کند. پژوهش حاضر بر پایه آثار حفاظتی مایع مغزی نخاعی بر جلوگیری از دژنراسیون مرکزی طراحی شده است. نتایج حاصل از مقایسه آماری یافته‌های مربوط به آثار تزریق مایع مغزی نخاعی در جلوگیری از دژنراسیون مرکزی نورون‌های حرکتی آلفا در نخاع حاکی از آن است که بین دانسیته نورون‌های حرکتی در گروه شم و کنترل تفاوت معنی داری وجود دارد. این تفاوت نشان می‌دهد که کمپرسیون عصب سیاتیک موجب کاهش معنی دار دانسیته نورون‌های حرکتی آلفا در شاخ قدامی ماده خاکستری نخاع می‌شود. کاهش دانسیته نورون‌های حرکتی آلفا را می‌توان به عنوان معیاری برای ارزیابی میزان دژنراسیون مرکزی ناشی از ضایعات اعصاب محیطی در نظر گرفت. در همین رابطه نشان داده شده است که دو هفته پس از وقوع آسیب در ۸۰ درصد نورون‌های حرکتی آلفا در شاخ قدامی نخاع رت، تغییرات دژنراتیو و مرگ سلولی مشاهده می‌شود. این گونه تغییرات که به احتمال زیاد ناشی از اختلال در حمل اکسونی رو به عقب (رتروگراد)است، شامل کروماتولیز، تجمع نوروفیلامان‌های فسفریله شده و از دست رفتن شکل طبیعی سلول می‌باشد(۱۵). در این رابطه نتایج حاصل از گزارش دیگری حاکی از آن است که قطع عصب سیاتیک موجب تخریب ۱۵ تا ۳۰ درصد سلول‌ها می‌گردد(۲).

نتیجه آماری دانسیته نورون‌های حرکتی آلفا بین گروه کنترل و گروه شم از یک طرف وگروه تجربی از طرف دیگر نشان می‌دهد دانسیته نورون‌های حرکتی آلفادر گروه تجربی نسبت به گروه شم به طور معنی‌داری بالاتر است. هم چنین مقایسه دانسیته نورون‌های حرکتی بین گروه کنترل وگروه تجربی کاملاً معنی‌دار است. این یافته بیان‌گر آثار مثبت ۹بار تزریق مایع مغزی نخاعی در جلوگیری از دژنراسیون مرکزی نورون‌های آلفا است. از آن جا که مایع مغزی نخاعی حاوی ترکیبات وعناصر مختلفی است و با توجه به نتایج حاصل از آزمایش فوق می‌توان چنین استدلال کرد که ترکیبات موجود درCSF در محیط in vivo توانسته است تا حدی از دژنراسیون مرکزی جلوگیری کند.

نتیجه‌گیری

با توجه به شواهد موجود مشخص می‌شود که کمپرسیون و یا ایجاد ضایعه فشاری در اعصاب، دارای اثرات تخریبی در جسم سلولی نورون‌های حرکتی آن‌ها در نخاع است. این اثرات تخریبی به وسیله حمل آکسونی رتروگراد به جسم سلولی رسیده و باعث دژنراسیون مرکزی می‌شود. لذا از آن جا که نورون‌ها سلول‌های تجدید نشدنی می‌باشند دژنراسیون مرکزی سیستم عصبی ضایعات جبران ناپذیری را به دنبال دارد. برای جلوگیری از این مسئله استفاده از CSF به عنوان یک ماده نوروپروتکتیو

Archive of SID

www.SID.ir

می‌تواند از ضایعات بعدی جلوگیری کند. که نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد که در گروه تیمار شده با مایع مغزی نخاعی اثرات رتروگراد کمپرسیون به جسم سلولی نورون‌ها بسیار کاهش یافته است. به طوری که دانسیته نورونی در گروه تجربی نسبت به گروه شم افزایش معنی داری را نشان می‌دهد ($P<۰/۰۵$).

تقدیر و تشکر

از همکاران محترم آزمایشگاه‌های تحقیقاتی تکوین جانوری و فیزیولوژی جانوری گروه زیست شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد تقدیر و تشکر می‌شود.

منابع

1. Arakava, Y., Sendtner, M., Thoenen, H. (1990). Survival effect of ciliary neurotrophic factors (CNTF) on chick embryo motoneurons in culture: comparison with other neurotrophic factors and cytokines. J Neurosci, 10, 3507-3515.

2. Arvidsson, J., Ygge, J., Grant, G. (1996). Cell loss in lumbar dorsal root ganglia and transganglionic degeneration after sciatic nerve resection in the rat. Brain Res, 327, 15-21.

3. Behnam-Rasoli, M., Nikravesh, M., Mahdavi-Shahri, N., Tehranipour, M. (2000). Postoperative time effects after sciatic nerve crush on the number of alfa motoneurons , using a stereological counting method. Iranian Biomadical, 4(1), 45-49.

4. Chodobski, A., Szmydynger- Chodobska J. (2001). Choroid plexus: target for polyeptides and site of thair synthesis. Microsc. Res. Tech. 52(1),65-82.

5. Davson, H., Segal, M.B. (1990). Physiology at CSF and blood Brain Barriers. CRC press Boca Raton, 1- 822.

6. Emerich, D. F., Vasconcellos, A. V., Elliott, R. B., Skinner, S. J.M., Borlongan, C.V. (2004). The choroid plexus: function, pathology and therapeutic potential of its transplantation. Informa, 4(8), 1191-1201.

7. Emerich, D.F., Skinner, S.J., Borlongan, C.V., Vasconcellos, A.V., Thanos, C.G. (2005). The choroid plexus in the rise, fall and repair of the brain. Bioessays, 27,262-274.

8. Gato, A. (2005). Embryonic cerebrospinal fluid regulates neuroepithelial surrvival,proliferation,and neurogenesis in chick embryos. Anat. Rec. A Discov. Mol. cell Evol. Biol, 248 (1), 475-484.

9. Gotz, M. (1997). Tenascin-C synthesis and influence on axonal growth during rat cortical development. Eur. J. Neurosci, 9(3),496-506.

10. Ikeda, K., Iwasaki, Y. (1994). Neuroprotective effect of various cytokines on developing spinal motoneurons following axotomy. Journal of the Neurological Sciences, 132, 109-113.

11. Johanson, C. (1999). The choroid plexus. Neuroscience. Edited by: Adelman G. Boston: Birkhauser, 1,384-387.

12. Johanson, C., McMillan, P., Palm, D., Stopa, E., Doberstein, C., Duncan, J.A. (2003). Volume transmission-mediated protective impact of choroid plexus-CSF growth factors on forebrain ischemic injury. In Blood-Spinal Cord and Brain Barriers in Health and Disease Edited by: Sharma H, Westman J. San Diego. Academic Press, 361-384.

13. Johanson, C., Duncan, J. A. (2008). Multiplicity of cerebrospinal fluid functions: New challenges in health and disease Accepted: Cerebrospinal Fluid Research, 5:10 doi, 10. 1186/ 1743-84545-10.

14. Johanson, C. (2008). Choroid plexus-CSF circulatory dynamics: Impact on brain growth, metabolism and repair. In Neurosciencein Medi-

Archive of SID

www.SID.ir

cine Edited by: Conn P. Totowa, New Jersey: TheHumana Press in press.

15. Koliatos, V., Price, W., Pardo, C., Price, D. (1994). Ventral root avulsion: an experimental model of death of adult motor neurons. J Camp Neural, 342(1),35-44.

16. Miyan, J.A., Nabiyouni, M., Zendah, M. (2003). Development of the brain: a vital role for cerebrospinal fluid. Can. J. Physiol. Pharmacol. 81(4),317-328.

17. Miyan, J.A., Zendah, B., Mashayekhi, F., Owen-Lynch, J. (2006). Cerebrospinal fluid supports viability and proliferation of cortical cells in vitro, mirroring in vivo development. Cerebrospinal Fluid Res, 3 (2) doi, 10. 1186/1743-8454-3-2.

18. Nagaraja, T. N., Goroski, M. (2005). In normal rat, intraventricularly administered insulin –like growth factor– l is rapidly cleared from CSF with limited distribution in to brain. Cerebrospinal fluid research, 2:5 dio, 10. 1186/1743-8454-2-5.

19. Siciliano, G., Piazza, S. (2007) Antioxidant capacity and protein oxidation in cerebrospinal fluid of amyotrophic lateral sclersis . Neurology, 254(5), 575-580.

20. Zappaterra, M.D., Lisgo, S.N. (2007). A comparative proteomic analysis of human and rat embryonic cerebrospinal fluid. J. Proteome Res, 6 (9),3537–3548.

Archive of SID

www.SID.ir