آیا عصاره‌ی نخاع جنین گوساله توانایی القای تولید بافت عصبی را در بین عضلات دیواره‌ی شکم و صفاق در موش صحرایی دارد؟

امین بیغم صادق[1*]، حسین نورانی[2]، محمد شادخواست[3]، مریم ترکیان[4]

۱. دانشیار، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد- ایران.
۲. دانشیار، گروه پاتوبیولیوژی، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه مشهد، مشهد- ایران.
۳. استادیار، گروه علوم پایه، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد- ایران.
۴. دانش آموخته‌ی دکتری عمومی دامپزشکی، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد- ایران.

دریافت: ۱۸ آبان‌ماه ۹۲ **پذیرش:** ۲۱ اسفندماه ۹۲

چکیده

برخلاف ماهیان و دوزیستان، اعصاب محیطی پستانداران و اعصاب مرکزی در حالِ تکامل، در سلول‌های عصبی مرکزی پستانداران بالغ آکسون‌های عملکردی پس از آسیب، دوباره رشد نمی‌کنند. هدف از انجام این مطالعه این است که آیا عصاره‌ی خام طناب نخاعی جنین گوساله می‌تواند القای سلول‌های نورونی سیستم عصبی مرکزی را بین ماهیچه‌های دیواره‌ی شکم و صفاق موش صحرایی تحریک کند یا نه؟ در این مطالعه از ۱۰ سر موش صحرایی بالغ استفاده و بیهوشی القا شد و به وسیله‌ی کتامین ۴۰ mg/kg و آسپرومازین ۵ mg/kg عضلانی ادامه یافت. یک میلی لیتر از عصاره‌ی خام نخاعی تهیه شده، بین صفاق و عضلات عرضی دیواره‌ی شکم تزریق شد. در هر هفته به مدت ۵ هفته، ۲ موش صحرایی به روش انسانی معدوم شدند و نمونه‌ها از محل تزریق عصاره گرفته شدند و در فرمالین ۱۰ درصد نگه‌داری شد. رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین برای این ارزیابی استفاده شد. در ۲ سر از موش های صحرایی (از ۱۰ سر) در محل تزریق واکنش پیوگرانولوماتوز همراه با سلول‌های غول پیکر و واکنش‌های التهابی دیده شد. در ۸ سر موش صحرایی دیگر هیچ‌گونه واکنش التهابی در بررسی‌های آسیب شناسی مشاهده نشد. اگرچه هیچ نشانه‌ای از القای سلول‌های نورونی در این مطالعه رؤیت نشد؛ لیکن تزریق این بیومتریال تهیه شده از نخاع جنینی پس از ۵ هفته هیچ‌گونه واکنش ایمنی در ۸۰ درصد حیوانات مورد مطالعه ایجاد نکرد. برای بررسی‌های بیشتر پیشنهاد می‌شود که از عصاره‌ی حاصل از پروتئین‌های اختصاصی طناب نخاعی استفاده شود و روند القای بافت عصبی با تکنیک‌های بررسی بیان ژن انجام شود.

واژه‌های کلیدی: جنین گوساله، عصاره خام طناب نخاعی، تولید سلول عصبی، مدل حیوانی موش صحرایی

مقدمه

به‌دلیل ناتوانی سلول‌های عصبی مرکزی در اتصالات صحیح آکسونی و دندریتی، آسیب به سیستم عصبی مرکزی بالغ، مخرب خواهد بود. پیامد آسیب وارده تنها یک وقفه در ارتباط بین سلول‌های عصبی سالم نیست؛ بلکه مجموعه‌ای از حوادث است که می‌تواند منجر به دگرگونی نورونی و مرگ سلول شود. برخلاف ماهیان، دوزیستان، اعصاب محیطی پستانداران و اعصاب مرکزی در حالِ تکامل، در سلول‌های عصبی مرکزی پستانداران بالغ آکسون‌های عملکردی پس از آسیب دوباره رشد نمی‌کنند. ناتوانی نورون‌های بالغ برای رشد دوباره پس از آسیب را نمی‌توان به طور کامل به تفاوت ذاتی بین سیستم عصبی مرکزی [Central Nervous System (CNS)] بالغ و سایر سلول‌های عصبی نسبت داد. یافته‌ها نشان می‌دهد شکست در بازسازیِ نورون‌های CNS، تنها یک کمبود ذاتیِ نورون نیست؛ بلکه یک ویژگی از محیط پیرامونیِ

* پست الکترونیک نویسنده‌ی مسؤول: dr.bigham@gmail.com

آسیب دیده است که یا حمایت نمی‌کند و یا مانع از بازسازی می‌شود. در طی بیست سال گذشته، پیشرفت‌های زیادی در شناسایی برخی عناصر صورت گرفته است که پاسخ‌گوی تفاوت بین محیط‌های CNS بالغ و اعصاب محیطی [Peripheral Nervous System (PNS)] است (۱۱).

هر ساله هزاران نفر در سراسر جهان دچار آسیب‌های سیستم عصبی می‌شوند. تنها در ایالات متحده سالیانه ۵۵۰۰ نفر بر اثر آسیب‌های مغزی می‌میرند و ۸۵۰۰ نفر دچار ناتوانی دایم حسی- حرکتی می‌شوند (۶).

نقطه‌ی مشترک همه‌ی آسیب‌های عصبی بروز ناتوانی یا کم‌توانی است که به دلیل توانایی اندک سیستم عصبی در ترمیم عصب ایجاد می‌شود و بسته به شدت آسیب و مکان آن، زندگی طبیعی فرد را متأثر می‌سازد؛ به این دلیل امروزه بیشتر تحقیقات پایه‌ی علوم عصب در زمینه‌ی آسیب‌های عصبی، بر بازسازی (Regeneration) عصب متمرکز شده است (۱۱).

با وجود چالش‌های فراوانی که در ترمیم CNS آسیب‌دیده وجود دارد؛ پیشرفت‌های قابل توجهی هم در تکنولوژی و هم در درک ساز و کارهای پاتولوژیکیِ آسیب وجود دارد که اجازه‌ی توسعه‌ی مداخلات جدید را می‌دهد. در حال حاضر آزمایش‌های بالینی فراوان و امیدوار کننده‌ای برای آسیب‌های طناب نخاعی [Spinal Cord Injury (SCI)] در حال انجام است که شامل بیان مولکول‌های خنثی‌کننده، سلول‌های بنیادی و سلول‌های گلیال بویایی غلاف‌دار [Olfactory Ensheathing Gelial (OEGs)] و حتی بیومتریال (به‌عنوان مثال، پلی اتیلن گلیکول [Polyethylene glycol(PEG)] می‌شود. در حال حاضر جوامع علمی و پزشکی به‌دنبال این آزمایش‌های بالینی، به راه‌کارهایی ترکیبی همچون استفاده از سلول‌ها، بیومتریال (Biomaterial) و پروتئین‌ها، روی آورده‌اند. ارایه‌ی سلول‌ها در بیومتریال‌های مناسب ممکن است به زنده ماندن سلول اهدا کننده و سرانجام، به نتیجه‌ی بهتر منجر شود. به احتمال زیاد راه‌بردهای آینده شامل عواملی است‌که هم در بهبود حمایت عصبی و هم فراهم کردن محیط مناسب برای بازسازی، نقش خواهند داشت (۷).

بیماری‌های عصبی از دسته بیماری‌هایی هستند که به‌تازگی برای درمان با سلول‌های بنیادی، مورد توجه قرار گرفته‌اند. سرنوشت سلول‌های بنیادی که در آسیب‌های عصبی پیوند می‌شوند به دو عامل نحوه‌ی تیمار آن‌ها در محیط آزمایشگاه و ریزمحیط بافت میزبان بستگی دارد. سلول‌های بنیادی را می‌توان پس از کشت و پاساژ، به‌منظور پیوند به‌کار برد و یا تحت القای عصبی قرار داد و در وضعیتی که درجات متفاوتی از القاء را پذیرفته‌اند، پیوند زد (۸).

چندین دهه است که وجود فاکتورهای رشد در سیستم عصبی به اثبات رسیده است. در سال ۱۹۵۱ اولین فاکتور رشد سیستم عصبی، تحت عنوان Nerve growth factor (NGF) یا فاکتور رشد نورونی به‌صورت تصادفی کشف شد. مطالعات نشان داده‌اند که در حین تکامل سیستم عصبی، NGF در بقای نورون‌های حسی محیطی و اعصاب سمپاتیک نقش دارد (۱۱).

سه دهه پس از کشف NGF، تصور عمومی بر این باور بود که نقش فاکتورهای رشد در سیستم عصبی محدود به بقای نورون‌ها در دوران تکامل است و سیستم اعصاب مرکزی افراد بالغ به این فاکتورها پاسخ نمی‌دهند. در ۱۵-۱۰ سال گذشته، با دست‌یابی به فاکتورهای رشد سیستم عصبی مرکزی در افراد بالغ و نیز توانایی این فاکتورهای رشد در جلوگیری از مرگ نورونی، تمایل به استفاده از این فاکتورها افزایش پیدا کرد. همچنین مشخص شد که این فاکتورها توانایی تغییر در برخی عملکردهای سیستم عصبی از جمله عملکرد سیناپس‌ها و میانجی‌های عصبی (Neurotransmitters) را دارند (۱۱).

بنابراین فاکتورهای رشد امیدهای زیادی را برای درمان آسیب‌های عصبی به‌وجود آورده که نه‌تنها امکان جبران آسیب‌های پس از رخداد آن‌ها وجود داشته باشد؛ بلکه حتی

بتوان از آن‌ها به‌منظور پیشگیری از آسیب عصبی استفاده کرد؛ همچنین از آن‌جایی‌که فاکتورهای رشد چه به صورت طبیعی و چه پس از اضافه شدن به محیط آزمایشگاه، رشد آکسون‌ها را تحریک می‌کنند؛ می‌توان آن‌ها را به عنوان عاملی برای بازسازی اعصاب مرکزی و برقراری جریان‌های الکتریکی در CNS بالغ در نظر گرفت (۱۱). از آن‌جایی‌که سیستم عصبی مرکزی جنین، در حال رشد و تکوین و نیز حاوی فاکتورهای رشد فراوانی است؛ ما را بر آن داشت که عصاره‌ی خامی از طناب نخاعی جنین گوساله تهیه شود و توانایی آن در القای تولید سلول‌های عصبی در بین عضلات و صفاق -که حاوی سلول‌های مزانشیمال هستند- مورد آزمایش قرار گیرد.

مواد و روش کار

برای انجام این آزمایش از ۱۰ سر موش صحرایی نر Sprague-Dawley در محدوده‌ی وزنی ۳۰۰ تا ۳۵۰ گرم استفاده شد. برای سازگاری و تطبیق اولیه، حیوانات در قفس‌های پلاستیکی با یک سیکل ۱۲ ساعت شب ۱۲ ساعت روز و دمای ۲۱ درجه‌ی سانتی‌گراد نگه‌داری شد و آب و غذای پلیت استاندارد آزمایشگاهی به‌صورت آزاد و بدون محدودیت در اختیار آنها قرار داده شد.

به منظور تهیه‌ی عصاره، ابتدا جنین گوساله از کشتارگاه تهیه شد و تمامی بافت نخاع به شکل کاملاً استریل از بافت‌های اطراف جدا و خارج شد و در ظروف پلاستیکی استریل در فریزر با دمای ۸۰- درجه‌ی سانتی‌گراد تا زمان استفاده نگه‌داری شد.۲۰ گرم از کل بافت منجمد شده‌ی نخاع جنین گوساله‌ی ۴/۵ ماهه با قیچی ریز شد و سپس در هاون چینی با استفاده از ازت مایع به صورت پودر درآمد و سرانجام با اضافه کردن ۱۰ میلی‌لیتر بافر نمکی فسفات (PBS)، سوسپانسیونی از عصاره‌ی خام بافت مورد نظر تهیه شد (۲).

به منظور انجام جراحی، ابتدا حیوانات با ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کتامین (آلفاسان کشور هلند) و ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم آسه پرومازین (آلفاسان کشور هلند) بیهوش شدند. ناحیه‌ی خط وسط شکمی تراشیده و به شکل استریل آماده‌ی جراحی شد. بعد از برش پوست، برش کوچکی در خط وسط دیواره‌ی شکم ایجاد شد و سوزن تزریق بیومتریال (عصاره‌ی نخاعی جنین گوساله به‌میزان ۱ میلی‌لیتر) بین صفاق و عضلات دیواره شکم فرستاده شد. یادآور می‌شود که محل تزریق از محل برش فاصله‌ای به اندازه‌ی سرسوزن داشت. بعد از تزریق، خط وسط شکم با نخ جذب شونده ۲/۰ و پوست با نخ غیرقابل جذب به شکل ساده تکی بخیه شد. آنتی‌بیوتیک درمانی بعد از عمل شامل تزریق روزانه ۱ میلی‌لیتر انروفلوکساسین به‌میزان ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن بود.

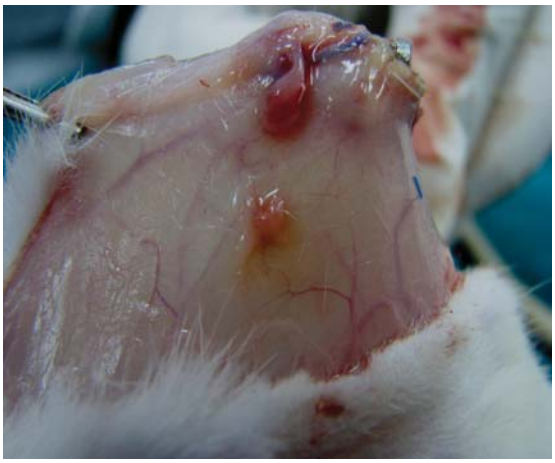
برای انجام مرگ بدون درد، از اتر استفاده شد. هر هفته -به مدت پنج هفته- دو نمونه‌ی بافتی از محل تزریق نخاع گرفته شد. نمونه‌های بافتی اخذ شده، در داخل فرمالین ۱۰ درصد به آزمایشگاه بافت‌شناسی ارسال شد. پس از تهیه‌ی مقاطع از نمونه‌ها، با استفاده از روش رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین زیر میکروسکوپ نوری از نظر تمایز سلول‌های بنیادی بافت صفاق و عضلانی به سلول‌های عصبی با عصاره‌های تزریق شده، مورد بررسی قرار گرفتند.

نتایج

در طول این مطالعه تمامی حیوانات سالم بودند و هیچ‌کدام از حیوانات تلف نشدند و تا پایان مطالعه زنده ماندند.

در زمان برداشت نمونه‌ها در محل تزریق تغییر رنگ کرم رنگی دیده می‌شد؛ لیکن هیچ‌گونه نشانه‌ای از چسبندگی یا عفونت در محل تزریق دیده نشد (شکل ۱).

در مطالعه‌ی میکروسکوپی مقاطع رنگ‌آمیزی شده با روش متداول هماتوکسیلین-ائوزین، در هیچ‌کدام از نمونه ها تشکیل بافت عصبی دیده نشد. به عبارت دیگر عصاره‌ی نخاع جنین گوساله تزریق شده در دیواره شکم رت توانایی القای تولید بافت عصبی را نداشت.

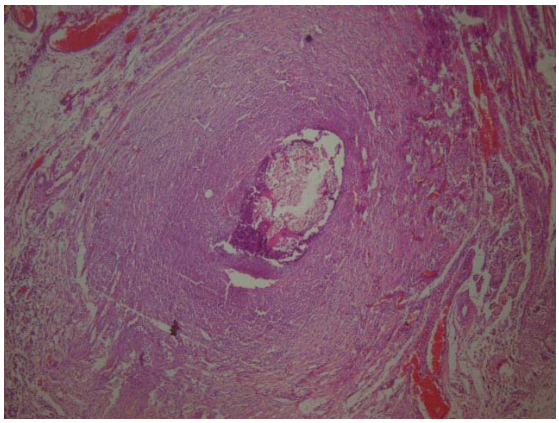


شکل ۱- محل تزریق عصاره‌ی نخاع گوساله‌ی جنینی در زمان برداشت نمونه روز ۳۵

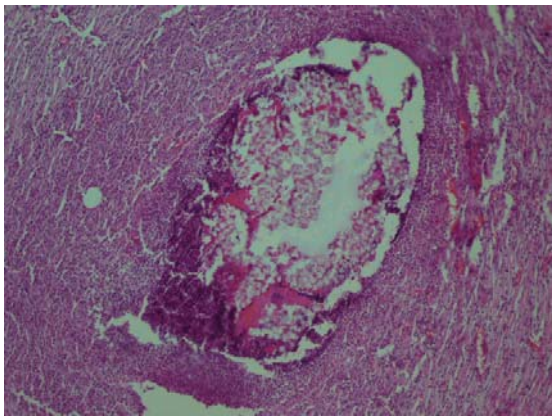
در دیواره‌ی شکم دو سر از رت ها (از ۱۰ سر) واکنش پیوگرانولوماتوز دیده شد که در ناحیه‌ی مرکزی این کانون‌ها بافت نکروزه و ساختارهای هیالینه و ائوزینوفیلیک وجود داشت (شکل‌های ۲ تا ۴) که این ناحیه‌ی مرکزی توسط سلول‌های نوتروفیل با هسته‌ی چند قسمتی و ماکروفاژها با هسته‌ی وزیکولر و سیتوپلاسم کف‌آلود احاطه شده بود (شکل‌های ۴ و ۵). تشکیل بافت جوانه‌ی گوشتی با مویرگ‌های فراوان و پرخونی و همچنین نفوذ سایر سلول‌های آماسی تک‌هسته‌ای نیز در قسمت محیطی این کانون‌ها پیوگرانولوماتوز دیده شد (شکل‌های ۴و ۵). در یکی از این کانون‌های پیوگرانولوماتوز، سلول‌های غول‌پیکر نیز دیده می‌شود (شکل ۶). در ۸ سر از موش‌های صحرایی هیچ‌گونه واکنش آماسی در محل تزریق عصاره‌ی نخاعی جنین گوساله دیده نشد (شکل ۷).

بحث

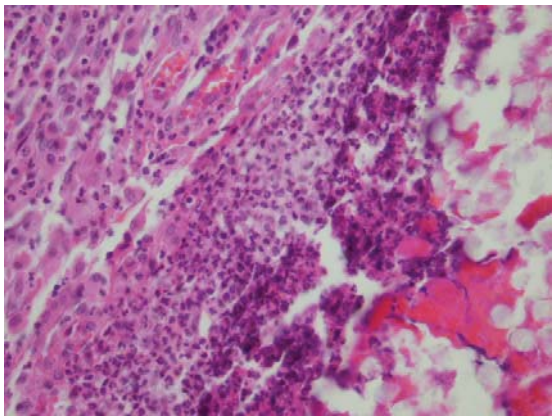
نورون‌ها از جمله سلول‌های انتهایی هستند؛ بدین معنی که پس از بلوغ، دیگر قادر به تقسیم سلولی نیستند. از این رو آسیب به این سلول‌ها بسته به نوع نورون آسیب‌دیده می‌تواند موجب ناتوانی دایم حسی یا حرکتی شود. بدین منظور تلاش برای دست‌یابی به راه‌کارهایی برای بهبود ترمیم عصبی در حال انجام است. التیام شکستگی



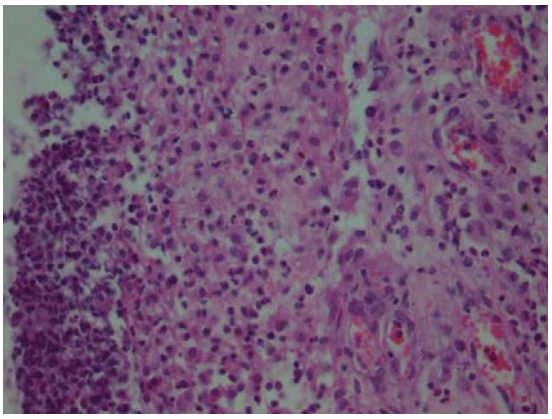
شکل ۲- واکنش پیوگرانولوماتوز در رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین بزرگ نمایی × ۴



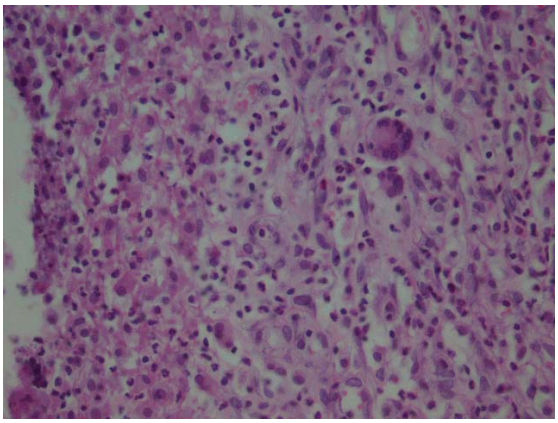
شکل ۳- واکنش پیوگرانولوماتوز. ناحیه‌ی مرکزی نکروزه و کنده شده توسط سلول‌های آماسی و بافت همبند احاطه شده است (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین بزرگ‌نمایی × ۱۰)



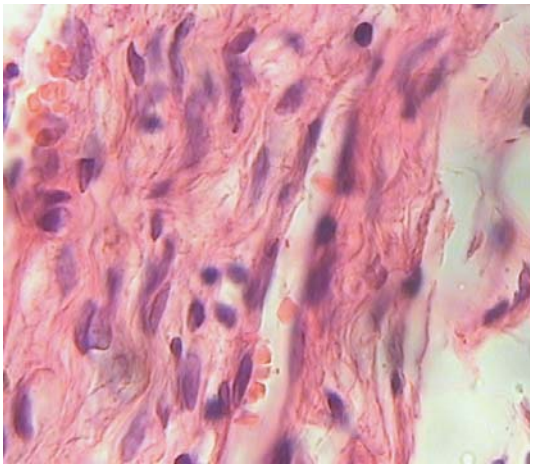
شکل ۴- در سمت چپ ناحیه‌ی مرکزی نکروزه به ترتیب سلول‌های نوتروفیل و ماکروفاژ دیده می‌شود (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین بزرگ‌نمایی × ۴۰)



شکل ۵- تشکیل بافت جوانه‌ی گوشتی با رگ‌سازی زیاد در مجاورت سلول‌های آماسی (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین با بزرگ‌نمایی × ۴۰)



شکل ۶- وجود دو سلول غول‌پیکر در یکی از کانون‌های پیوگرانولوماتوز (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین بزرگ‌نمایی × ۴۰)



شکل ۷- محل تزریق عصاره‌ی نخاع جنین گوساله بدون هیچ‌گونه واکنش آماسی (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین بزرگ‌نمایی × ۴۰)

استخوان در بیماران با آسیب سر سریع‌تر است که در نتیجه‌ی ترشح فاکتورهای رشد سیستماتیک از محل این آسیب مغزی است. آسیب به CNS احتمالاً ترشح بعضی از واسطه‌های رشد را افزایش یا کاهش می‌دهد. ترشح سرمی فاکتورهای استئوژنیک از محل آسیب مغزی، ارتباطی بین آسیب CNS و تشکیل استخوان جدید در محلی دیگر را باعث می‌شود. سرم گرفته شده از بیماران دارای آسیب مغزی باعث افزایش استئوبلاست و افزایش آلکالین فسفاتاز در محیط خارج از بدن می‌شود. پروتئین مورفوژنیک استخوانی یا همان BMP در همه‌ی حیوانات با آسیب مغزی در استخوان و ماهیچه افزایش می‌یابد (۹). Behnam و همکاران در سال ۲۰۰۱ اثرات تجویز موضعی عصاره‌ی استخراج شده از مغز جنین بر روی عصب محیطی آسیب‌دیده را مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج حاصل از این مطالعه اشاره بر این دارد که تجویزعصاره‌ی استخراج شده به شکل چشم‌گیری سرعت بازسازی عصب سیاتیک را در مرحله‌ی ابتدایی دوره‌ی ترمیم، بهبود می‌بخشد (۱).

Davies و همکاران در سال ۱۹۹۷ با تکنیک پیوند میکروسکوپی، سوسپانسیونی از نورون‌ها و سلول‌های ماهواره‌ای از گانگلیای ریشه‌ی پشتی جنین موش صحرایی را به مغز یک موش صحرایی بالغ تزریق کردند که نتیجه‌ی آن رؤیت تعداد قابل ملاحظه‌ای آکسون بازسازی شده و الحاق سریع آنها به ناحیه‌ی گلیال میزبان بود (۳).

یکی از تدابیر درمانی در زمینه بهبود ترمیم سیستم عصبی سلول درمانی است. گرچه از نظر پتانسیل تمایزی عصبی، سلول‌های بنیادی عصبی (Neural Stem Cell) می‌توانند بهترین انتخاب به‌منظور سلول درمانی در ضایعات عصبی باشند؛ لیکن امکان دسترسی به این سلول‌ها و استفاده از آنها برای بررسی القای عصب توسط عصاره‌ی نخاع جنینی در این مطالعه، امری غیر عملی بود. از این‌رو برای این بررسی از سلول‌های بنیادی مزوتلیال و سلول‌های بنیادی ماهیچه‌ای استفاده شد که به‌شکل طبیعی در محل تزریق عصاره با منشا صفاقی و عضلانی

وجود دارند (۵ و ۱۲). سلول‌های بنیادی مزوتلیال هنوز به طور کامل شناخته نشده‌اند؛ اما مطالعات زیادی وجود دارد که نشان می‌دهد سلول progenitor mesothelial در آنها وجود دارد. تحقیقات جدید نشان می‌دهد که این سلول progenitor قادر است به انواع مختلف فنوتیپ سلولی تبدیل شود که بستگی به محیط محل آن دارد (۴). دستگاه عصبی مرکزی در ۴ ماهگی کامل شده و نخاع در این سن در سرتاسر طول بدن رویان امتداد دارد و میلین‌دار شدن رشته‌های عصبی درون نخاع آغاز شده است (۱). چندین دهه است که وجود فاکتورهای رشد در سیستم عصبی به اثبات رسیده است. فاکتورهای رشد امیدهای زیادی را در درمان ضایعات عصبی به‌وجود آورده‌اند که نه تنها امکان جبران ضایعات پس از وقوع آنها وجود داشته باشد؛ بلکه حتی بتوان از آنها برای پیشگیری از ضایعات عصبی استفاده کرد (۱۱).

تاکنون حدود ۳۰ فاکتور رشد اعصاب شناسایی شده‌اند که از جمله آنها می‌توان به انواع کلاس‌های نوروتروفین‌ها، فاکتورهای رشد سایتوکینی، فاکتورهای رشد فیبروبلاستی، فاکتورهای رشد شبه انسولینی، فاکتورهای رشد خانواده TGF-B، فاکتور رشد اپیدرمی و سایر فاکتورهای رشد اشاره کرد که نقش این فاکتورها در جریان تکامل سیستم عصبی به اثبات رسیده است (۱۱). در این مطالعه خاصیت القای عصب توسط عصاره‌ی نخاع جنینی حاوی این فاکتورهای رشد با تکنیک‌های بافت‌شناسی بررسی شد که نتیجه همان‌طور که گفته شد حاکی از عدم شکل‌گیری بافت عصبی بوده است؛ لیکن نتایج نشان دادند که بیومتریال حاصل از بافت نخاع جنینی خاصیت تحریک واکنش آماسی در همه‌ی نمونه‌ها را نداشته است و به‌خوبی توسط بافت‌های بدن پذیرفته شده و دفع نشدند. در دو نمونه‌ای هم که واکنش پیوگرانولوماتوز دیده شد احتمال می‌رود در اثر شکست در استریلیتی جراحی یا در اثر تحریک جسم خارجی ناشی از باقی‌ماندن نخ‌های بخیه در موضع عمل بوده باشد. بالاخره ۸ سر رت دریافت کننده مواد، واکنش گرانولوماتوز را نشان نداده‌اند. البته قبلاً ثابت شده است که بافت‌های جنینی به واسطه‌ی داشتن پروتئینی موسوم به پروتئین آلفا مانع از تحریک سیستم ایمنی بدن علیه خود می‌شوند (۱۰).

نتیجه‌گیری

در این مطالعه اثبات شد که عصاره‌ی نخاعی جنین گوساله هیچ‌گونه خاصیت القاءکنندگی در تولید عصب را ندارد.

منابع

1- Behnam-Rasouli, M; Nikravesh, M. and Mahdavi-Shahri, N; The Effects of local fetal brain extract administration on the electromyogram of crushed sciatic nerve in rat. Iran. Biomed. J.; 2001; 5: 73-77.
2- Belle, JL; Harris, N. and Williams, S; A comparison of cell and tissue extraction techniques using high resolution 1H NMR spectroscopy. NMR in Biomed; 2002; 15: 37-44.
3- Davies, SJA; Fitch, MT. and Memberg, SP; Regeneration of adult axons in white matter tracts of the central nervous system. Nature; 1997; 390: 680-683.
4- Herrick, SE. and Mutsaers, SE; Mesothelial progenitor cells and their potential in tissue engineering. The Int. J. Biochem. Cell Biol; 2004; 36: 621-642.
5- Jackson, WM; Nesti, LJ; Tuan, RS; Potential therapeutic applications of muscle-derived mesenchymal stem and

progenitor cells. Exp. Opin. Biol. Ther; 2010; 10: 505-517.

6- Moscato, BS; Trevisan, M. and Willer, BS; The prevalence of traumatic brain injury and co-occurring disabilities in a national household survey of adults. J. Neuropsych. Clin. Neurosci; 1994; 6: 134-134.

7- Shoichet, MS; Tate, CC. and Baumann, MD; Strategies for Regeneration and Repair in the Injured Central Nervous System In: Reichert WM, ed. Indwelling Neural Implants, Strategies for Contending with the In Vivo Environment, Frontiers in Neuroengineering. North Carolina: Taylor & Francis Group, LLC, 2008; pp: Part IV.

8- Silva, GV; Litovsky, S. and Assad, JAR; Mesenchymal stem cells differentiate into an endothelial phenotype, enhance vascular density, and improve heart function in a canine chronic ischemia model. Circulation; 2005; 111: 150-156.

9- Spencer, R; The effect of head injury on fracture healing. A quantitative assessment. J. Bone Joint Surg; 1987; 69: 525-528.

10- Tizard IR. Veterinary immunology: An introduction. : W. B. Saunders Co, Philadelphia., 2004; pp: 361-362.

11- Toshinsky, M; Joghtay, MT. and Nikbakht, F; Central nervous system healin [Persian translation]. 1th ed: University of Social Welfare And Rehabilitation Sciences; 1384; pp: 101-103.

12- Yung, S; Li, FK. and Chan, TM; Peritoneal mesothelial cell culture and biology. Perit. Dial. Int; 2006; 26: 162-173.

Could calf fetal spinal cord extract induce nervous system regeneration between peritoneal and abdominal muscles in rat model?

Bigham-Sadegh, A.[1*]; Nourani, H.[2]; Shadkhast, M.[3]; Torkian, M.[4]

1. Associate Professor, Department of Clincal Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord-Iran.
2. Associate Professor, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Mashhad University, Mashhad-Iran.
3. Assistant Professor, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord-Iran.
4. DVM graduated student, Shahrekord University, Shahrekord-Iran.

Recieved: 30 October 2013 ***Accepted:*** 12 March 2014

Summary

In the present study we investigate whether calf foetal spinal cord pure extract could promote regeneration of CNS neuronal cells between the abdominal wall muscles and peritoneum of rat model or no. Ten adult rats were used in this study. Anaesthesia was induced and maintained with ketamin 40 mg/kg and acepromazine 5 mg/kg with intramuscular injection. 1 ml of prepared spinal cord pure extract was injected between peritoneum and transverse muscle layer. Linea alba and skin incision were sutured routinely. Every week for 5 weeks 2 rats were euthanized and samples including injection sites were harvested and stored in 10% formalin. H&E staining techniques were used for evaluation. Two rats out of ten rats showed pyogranulomatous reactions with giant cells and inflammatory responses in the injection site, however the other eight rats did not show any inflammatory reactions in histopathological evaluation. No evidence of neuronal cells regeneration was found in our study nevertheless our homemade biomaterial from foetal spinal cord did not show any immunogenic responses after 5 weeks.

Keywords: Calf foetal, Spinal cord extract, Neuronal regeneration, Rat model.

* Corresponding Author email: dr.bigham@gmail.com