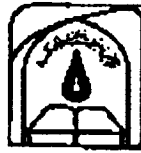


بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

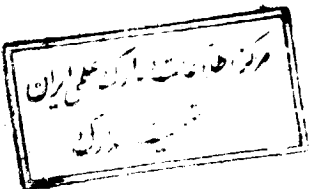
۱۳۸۰ / ۱ / ۲۰



دانشگاه تربیت مدرس

دانشگاه تربیت مدرس
دانشکده علوم پزشکی

۲۳۷۴
بزرگ دارد



رساله دوره دکتری رشته علوم تشریح

بررسی تغییرات فراساختمانی نورون‌های عقده ریشه
پشتی نخاع بعد از قطع عصب سیاتیک در رتهای
نئوناتال

نگارش

محمد هادی بهادری

۱۱۶۹۹

استاد راهنما

آقای دکتر تقی محمد تقی الطریحی

اساتید مشاور

آقای دکتر مجتبی رضازاده
آقای دکتر احمد حسینی

دی ماه ۱۳۷۹

۳۵۱۳۲

«فرم تأییدیه اعضای هیأت داوران مندرج در رساله دکتری»

بدینوسیله رساله دکتری خانم / آقای محمدهادی بهادری

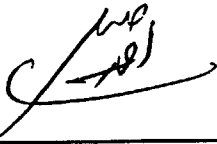
تحت عنوان: بررسی تغییرات فراساختمانی نورونهای عقده ریشه پشتی نخاع بعد از قطع عصب سیاتیک در رتهای ثنوناتال
تقدیم می شود. اینجانبان نسخه نهائی این رساله را از نظر فرم و محتوی بررسی و تأیید کرده و پذیرش آنرا برای تکمیل درجه دکتری
پیشنهاد می کنیم.

نام و نام خانوادگی و امضاء اعضای هیأت داوران:

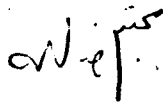
جناب آقای دکتر تقی الطریحی (استاد راهنما)



جناب آقای دکتر احمد حسینی (استاد مشاور)



جناب آقای دکتر مجتبی رضازاده (استاد مشاور)



جناب آقای دکتر بیژن هاشمی ملایری (استاد ناظر و نماینده تحصیلات تکمیلی)



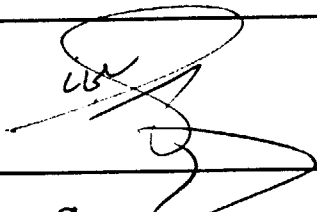
جناب آقای دکتر بهروز نیک نفس (استاد ناظر)



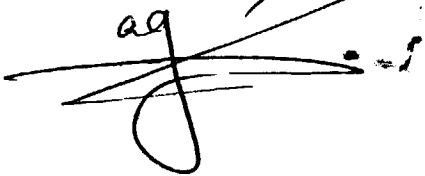
جناب آقای دکتر شمس شریعت تربقان (استاد ناظر)



جناب آقای دکتر علیقلی سبحانی (استاد ناظر)



دکتر حسن نزلانی (استاد ناظر)



بسمه تعالی

آیین نامه چاپ پایان نامه (رساله) های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان نامه (رساله) های تحصیلی دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس مبین بخشی از فعالیتهای علمی - پژوهشی دانشگاه است بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه، دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می شوند:

ماده ۱: در صورت اقدام به چاپ پایان نامه (رساله) ی خود، مراتب را قبلاً به طور کتبی به «دفتر نشر آثار علمی» دانشگاه اطلاع دهد.

ماده ۲: در صفحه سوم کتاب (پس از برگ شناسنامه)، عبارت ذیل را چاپ کند:

«کتاب حاضر، حاصل پایان نامه دکتری نگارنده در رشته بافت شناسی و جنین شناسی است که در سال ۱۳۷۹ در دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی جناب آقای دکتر تقی محمد تقی الطریحی و مشاوره جناب آقایان دکتر رضازاده و دکتر حسینی از آن دفاع شده است».

ماده ۳: به منظور جبران بخشی از هزینه های نشریات دانشگاه تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت چاپ) را به «دفتر نشر آثار علمی» دانشگاه اهدا کند دانشگاه می تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر در معرض فروش قرار دهد.

ماده ۴: در صورت عدم رعایت ماده ۳، ۵۰٪ بهای شمارگان چاپ شده را به عنوان خسارت به دانشگاه تربیت مدرس، تأدیه کند.

ماده ۵: دانشجو تعهد و قبول می کند در صورت خودداری از پرداخت بهای خسارت، دانشگاه می تواند خسارت مذکور را از طریق مراجع قضایی مطالبه و وصول کند؛ به علاوه به دانشگاه حق می دهد به منظور استیفای حقوق خود، از طریق دادگاه، معادل وجه مذکور در ماده ۴ را از محل توقیف کتابهای عرضه شده نگارنده برای فروش، تأمین نماید.

ماده ۶: اینجانب محمد هادی بهادری دانشجوی رشته بافت شناسی و جنین شناسی مقطع دکتری

تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می شوم.



تقدیم به:

روح بزرگ و آسمانی مادرم

پدر بزرگووارم که با صفای باطن و قلبی آکنده از عشق و محبت در تمام
مراحل زندگی، دلسوزانه راهنمای من بوده است.

عاشقانه ترین جلوه زندگی، بهترینم، همسر و همدمم، که همراهم در
زندگی، مشوقم در تحصیل و امیدم در تلاش است.

غنچه بهاری زندگیم، دختر نازنینم، که معصومانه مشکلات زندگی
دانشجویی مرا تحمل کرد.

خواهران و برادران عزیزم

با سپاس از عنایات بی‌کران آن خالق یکتا که هر حقیقتی در عالم نشانه
ذات بی‌همتای اوست.

سپاس خاضعانه نثار بزرگوارانی که در تمامی مراحل تحصیل و تحقیق
یاور و پشتیبانم بوده‌اند بخصوص:

استاد دانشمند جناب آقای دکتر تقی محمد تقی الطریحی که راهنمایی
ایشان در طول تحصیل و تحقیق همواره راهگشایم بوده است.

استادان ارجمند و گرانقدر جناب آقای دکتر مجتبی رضازاده و جناب
آقای دکتر احمد حسینی که همواره با رهنمودهای بنیادین سهم به‌سزایی در
به ثمر رسیدن این پژوهش داشته‌اند و بدون بذل توجه ایشان رسیدن به این
درجه امکان‌پذیر نبود.

معاونت پژوهشی وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی.

جناب آقای دکتر آبرون و جناب آقای بیرانوند کارشناسان بخش علوم
تشریح دانشکده پزشکی.

سرکار خانم‌ها دکتر موحدین، دکتر صالح نیا و آقایان دکتر ایمانی، دکتر
گلشن و دکتر شمس.

و آقایان محمدلو و قنبری.

بررسی فراساختمان نورون‌های حسی گره ریشه پشتی نخاع بعد از قطع عصب سیاتیک در موش‌های صحرائی نئوناتال

قطع عصب محیطی باعث مرگ نورون‌های آکسوتومی شده در موش‌های صحرائی نئوناتال می‌شود. اما علت این که نورون‌ها به واسطه نکروز از بین رفته‌اند یا آپوپتوز، تاکنون به خوبی مشخص نگردیده است.

تحقیق حاضر مرگ نورون‌های گره ریشه پشتی نخاع در سطح L5 را مورد بررسی قرار می‌دهد. عصب سیاتیک سمت راست (آزمایش) موش‌های صحرائی از ناحیه میانی ران در سن‌های ۱، ۳، ۵، ۷ و ۱۰ روز قطع گردید. بعد از ۵ روز گره‌های ریشه پشتی L5 نخاع سمت راست (آزمایش) و چپ (کنترل) همه گروه‌ها جدا، و برای مطالعه با میکروسکوپ نوری و الکترونی ثابت گردیدند. پس از طی مراحل آماده سازی، از نمونه‌های پارافینی برش‌های سریال تهیه و پس از رنگ آمیزی، هستک‌های سالم شمارش گردیدند. آنگاه با تعیین فاکتور تصحیح، تعداد نورون‌ها در گره‌های سمت راست (آزمایش) و چپ (کنترل) همه گروه‌ها براساس روش شمارش سریال (Schmalbruch, 1987) و همچنین روش فیزیکی دایسکتور محاسبه گردیدند.

نتایج حاصل کاهش معنی داری را در تعداد نورون‌های گره‌های ریشه پشتی L5 نخاع سمت راست در مقایسه با سمت کنترل به شرح زیر نشان داد.

۳۲/۴ درصد در حیوان ۱ روزه، ۲۷/۲ درصد در حیوان ۳ روزه، ۲۳/۸ درصد در حیوان ۵ روزه، ۲۲/۸ درصد در حیوان ۷ روزه، ۲۱/۸ درصد در حیوان ۱۰ روزه در روش شمارش سریال و ۳۴/۰۶ درصد در حیوان ۱ روزه، ۲۵/۷ درصد در حیوان ۳ روزه، ۲۰/۲ درصد در حیوان ۵ روزه، ۲۰/۰ درصد در حیوان ۷ روزه و ۱۴/۲ درصد در حیوان ۱۰ روزه.

خصوصیات مورفولوژیکی مرگ نورون‌ها نیز با استفاده از میکروسکوپ نوری و الکترونی

مورد بررسی فرار گرفت. نتایج نشان داد که حداقل تعدادی از این نورون ها به علت آپوپتوز کاهش یافته‌اند. ارزیابی مورفولوژی به وسیله میکروسکوپ نوری و الکترونی تغییرات تیپیک آپوپتوز، نظیر هسته‌های متراکم شده بازوفیل (condensed basophil nuclei)، تشکیل کلاهک هسته‌ای (nuclear cap)، چروک خوردن سلول (cell shrinkage)، و تشکیل اجسام آپوپتوتیک (apoptotic bodies)، را به خوبی نشان می‌دهد.

به طور کلی می‌توان گفت که نورون های گره ریشه پشتی نخاع پس از قطع عصب محیطی دچار پدیده آپوپتوز شده و کاهش تعداد آنها وابسته به سن حیوان در هنگام قطع عصب می‌باشد و در حیوانات ۱ روزه بیشتر از سایر گروه‌ها می‌باشد.

کلمات کلیدی: آپوپتوز - آکسوتومی - عقده ریشه پشتی - مرگ نورونی.

فهرست مطالب

| عنوان | صفحه |
|--|------|
| فصل اول: موضوع مرگ و زندگی | ۱ |
| ۱-۱: مروری بر مطالعات گذشته | ۵ |
| ۱-۱-۱: واژه‌شناسی | ۷ |
| ۱-۱-۲: آپوپتوز یا مرگ برنامه ریزی شده | ۸ |
| ۱-۱-۳: تقسیم بندی انواع مرگ سلولی | ۹ |
| ۱-۳-۱-۱: مرگ سلولی نوع اول | ۹ |
| ۲-۳-۱-۱: مرگ سلولی نوع دوم | ۱۰ |
| ۳-۳-۱-۱: مرگ سلولی نوع سوم | ۱۰ |
| ۴-۳-۱-۱: مرگ سلولی تدریجی | ۱۱ |
| ۲-۱: اساس ساختمانی و فیزیولوژی آپوپتوز | ۱۲ |
| ۱-۲-۱: وابستگی بین آپوپتوز و میتوز | ۱۲ |
| ۲-۲-۱: آپوپتوز | ۱۲ |
| ۱-۲-۲-۱: وقایع هسته‌ای | ۱۴ |
| ۲-۲-۲-۱: وقایع سیتوپلاسمی | ۱۴ |
| ۳-۲-۲-۱: وقایع غشای پلاسمایی | ۱۵ |
| ۴-۲-۲-۱: تشکیل اجسام آپوپتوتیک | ۱۷ |
| ۳-۲-۱: مکانیسم‌های درگیر آپوپتوز | ۱۸ |
| ۱-۳-۲-۱: کنترل ژنتیکی مرگ سلولی | ۱۹ |
| ۴-۲-۱: نکروز | ۲۰ |
| ۱-۴-۲-۱: مورفولوژی | ۲۰ |

| عنوان | صفحه |
|--|------|
| ۲-۴-۲-۱: مکانیسم | ۲۱ |
| ۵-۲-۱: بیولوژی مولکولی آپوپتوز | ۲۳ |
| ۱-۵-۲-۱: مولکول‌های درگیر در پدیده مرگ و بقا | ۲۳ |
| ۲-۵-۲-۱: مسیرهای مولکولی مرگ سلولی | ۲۴ |
| ۱-۲-۵-۲-۱: مرگ با واسطه fas | ۲۴ |
| ۲-۲-۵-۲-۱: مرگ با واسطه لئفوسیت | ۲۶ |
| ۳-۲-۵-۲-۱: مرگ با واسطه P53 | ۲۶ |
| ۴-۲-۵-۲-۱: آپوپتوز نورون‌ها به واسطه فقدان فاکتورهای ۱-۲-۶: آپوپتوز در دستگاه عصبی | ۲۷ |
| ۱-۶-۲-۱: مرگ سلولی ناشی از تکامل طبیعی | ۲۸ |
| ۲-۶-۲-۱: پروتئازها و مهارکننده‌های پروتئازی در مرگ سلولی طبیعی | ۳۱ |
| ۳-۶-۲-۱: مرگ سلولی القا شده به واسطه آکسوتومی | ۳۳ |
| ۴-۶-۲-۱: راه‌های دیگر مرگ سلولی نورونی | ۳۴ |
| ۳-۱: جنین‌شناسی گره ریشه پشتی نخاع | ۳۵ |
| ۴-۱: بافت‌شناسی گره ریشه پشتی نخاع | ۴۰ |
| ۱-۴-۱: عصب سیاتیک | ۴۳ |
| فصل دوم: مواد و روش‌ها | |
| ۱-۲: شیوه آزمایشگاهی | ۴۶ |
| ۱-۱-۲: روش تهیه بافت | ۴۷ |
| ۲-۲: مطالعه با میکروسکوپ نوری | ۵۰ |
| ۱-۲-۲: پردازش بافتی | ۵۰ |
| ۲-۲-۲: انتقال برش‌ها بر روی لام | ۵۲ |

| عنوان | صفحه |
|---|------|
| ۳-۲-۲: روش رنگ آمیزی | ۵۳ |
| ۳-۲: مطالعه با میکروسکوپ الکترونی | ۵۵ |
| ۱-۳-۲: بافت برداری و فیکساسیون | ۵۶ |
| ۱-۱-۳-۲: طرز تهیه تتراکسید اسمیوم | ۵۷ |
| ۲-۳-۲: پردازش بافتی (آب‌گیری) | ۵۸ |
| ۳-۳-۲: برش‌گیری | ۶۰ |
| ۴-۳-۲: مراحل برش‌گیری | ۶۴ |
| ۴-۲: روش محاسبه نورون‌ها | ۶۸ |
| فصل سوم: نتایج | |
| ۱-۳: مطالعات کمی | ۷۲ |
| ۱-۱-۳: کاهش تعداد نورون‌ها در پنجمین گره ریشه پشتی کمری به روش سریال | ۷۲ |
| ۲-۱-۳: کاهش تعداد نورون‌ها در پنجمین گره ریشه پشتی کمری به روش استریولوژی | ۷۴ |
| ۳-۱-۳: وقوع آپوپتوز در نورون‌های حسی پنجمین گره ریشه پشتی کمری | ۷۹ |
| ۲-۳: مطالعات کیفی | ۸۰ |
| فصل چهارم: بحث | |
| ۹۵ | |
| پیشنهادات | |
| ۱۰۸ | |
| منابع | |
| ۱۰۹ | |

| صفحه | عنوان |
|------|---|
| ۹ | شکل ۱-۱: طبقه بندی مرگ سلولی به نکروز و مرگ برنامه ریزی شده |
| ۱۱ | شکل ۲-۱: انواع مرگ سلولی برنامه ریزی شده در اعصاب |
| ۱۴ | شکل ۳-۱: تصویر، مکانیسمی را که در طی آن فاگوسیت‌ها، سلول‌های آپوپتوتیک را تشخیص می‌دهند نشان می‌دهد |
| ۲۵ | شکل ۴-۱: مسیرهای شماتیک آپپتوز در ۳ سیستم مختلف |
| ۲۶ | شکل ۵-۱: مسیر ملکولی آپپتوز القا شده به وسیله p53 |
| ۳۶ | شکل ۶-۱: تصویر گره ریشه پشتی نخاع را در روز ۱۴ جنینی (E14) نشان می‌دهد |
| ۳۷ | شکل ۷-۱: میکروگراف میکروسکوپ الکترونی اسکینینگ نورون‌های گره ریشه پشتی در مراحل مختلف تکامل |
| ۴۲ | شکل ۸-۱: تقسیم بندی نورون‌های DRG بر اساس میکروسکوپ الکترونی |
| ۴۳ | شکل ۹-۱: شاخه‌های عصب سیاتیک موش صحرائی در فاصله بین تروکانتر و مفصل زانو k پس از برداشتن عضلات این ناحیه |
| ۴۷ | شکل ۱-۲: تصویر عصب سیاتیک موش صحرائی ۳ روزه در ناحیه میانی ران که توسط پنس بیرون آورده شده است |
| ۴۹ | شکل ۲-۲: تصویر حیوان بیهوش شده بر روی بالشتک یخ در زیر استریومیکروسکوپ نشان می‌دهد |
| ۴۹ | شکل ۳-۲: بساط پرفیوژن |
| ۸۰ | شکل ۱-۳: پیکان یک نورون آپوپتوتیک واضح با هسته پیکنوزه و سیتوپلاسم متراکم را نشان می‌دهد |
| ۸۱ | شکل ۲-۳: پیکان یک نورون آپوپتوتیک که هسته آن به چند قطعه شکسته شده است نشان می‌دهد |

- شکل ۳-۳: پیکان یک نورون آپوتوتیک با هسته متراکم را نشان می دهد ۸۲
- شکل ۴-۳: پیکان یک جسم آپوتوتیک را نشان می دهد ۸۲
- شکل ۵-۳: پیکان یک نورون آپوتوتیک را نشان می دهد ۸۳
- شکل ۶-۳: پیکان یک نورون آپوتوتیک را که به وضوح چروکیده شده است با هسته پیکنوزه نشان می دهد ۸۳
- شکل ۷-۳: تصویر تعدادی اجسام آپوتوتیک (پیکان) را در یک برش نیمه نازک در کنار نورون های سالم نشان می دهد ۸۴
- شکل ۸-۳: تصویر یک نورون آپوتوتیک (پیکان) را در یک برش نیمه نازک نشان می دهد ۸۴
- شکل ۹-۳: پیکان یک نورون آپوتوتیک را با سیتوپلاسم متراکم نشان می دهد ۸۵
- شکل ۱۰-۳: پیکان دو نورون آپوتوتیک را با سیتوپلاسم متراکم و هسته پیکنوزه نشان می دهد ۸۵
- شکل ۱۱-۳: پیکان دو نورون آپوتوتیک را با سیتوپلاسم متراکم نشان می دهد ۸۶
- شکل ۱۲-۳: پیکان یک نورون واکوئل را با تعداد زیادی واکوئل در اندازه های کوچک نشان می دهد ۸۶
- شکل ۱۳-۳: پیکان یک نورون واکوئل را با هسته متراکم نشان می دهد ۸۷
- شکل ۱۴-۳: تصویر میکروسکوپ الکترونی از یک نورون سالم ۸۷
- شکل ۱۵-۳: تصویر میکروسکوپ الکترونی از یک نورون سالم. یک هسته درشت روشن با دو هسته واضح که به خوبی رنگ گرفته است ۸۸
- شکل ۱۶-۳: تصویر میکروسکوپ الکترونی از یک نورون آپوتوتیک ۸۸
- شکل ۱۷-۳: تصویر میکروسکوپ الکترونی از یک نورون آپوتوتیک ۸۹
- شکل ۱۸-۳: تصویر میکروسکوپ الکترونی از یک نورون آپوتوتیک ۹۰
- شکل ۱۹-۳: تصویر میکروسکوپ الکترونی از همان نورون (شکل ۳-۱۸) با بزرگ نمایی بالاتر ۹۱
- شکل ۲۰-۳: تصویر میکروسکوپ الکترونی از یک سلول که قطعات یک نورون آپوتوتیک را بلعیده است ۹۱

| صفحه | عنوان |
|------|--|
| ۹۲ | شکل ۳-۲۱: تصویر میکروسکوپ الکترونی یک نورون واکوتلر |
| ۹۲ | شکل ۳-۲۲: تصویر میکروسکوپ الکترونی شکل ۳-۲۱ با بزرگ نمایی بالاتر |
| ۹۳ | شکل ۳-۲۳: تصویر یک گره ریشه پشتی نخاع L۵ که از ناحیه میانی برش خورده است |
| ۹۳ | شکل ۳-۲۴: تصویر طناب نخاعی همراه با گره ریشه پشتی راست و چپ و ضمائم همراه آن |

| عنوان | صفحه |
|---|------|
| نمودار ۱-۱: مراحل تکاملی و درصد انواع نورون‌ها از E14 تا P1 | ۳۸ |
| نمودار ۲-۱: مقایسه شمارش نورون‌ها در گره‌های نخاعی L4-L6 موش‌های صحرائی تا سال ۱۹۸۷ | ۴۱ |
| نمودار ۱-۳: مقایسه میانگین تعداد کل نورون‌های پنجمین گره ریشه پشتی نخاع موش‌های صحرائی در سمت کنترل (چپ) و آزمایش (راست) در گروه‌های سنی ۱، ۳، ۵، ۷ و ۱۰ روزه ۵ روز بعد از قطع عصب سیاتیک به روش شمارش سریال | ۷۳ |
| نمودار ۲-۳: ارتباط بین درصد کاهش نورون‌ها و سن موش صحرائی | ۷۴ |
| نمودار ۳-۳: مقایسه میانگین تعداد کل نورون‌های پنجمین گره ریشه پشتی نخاع موش‌های صحرائی در سمت کنترل (چپ) و آزمایش (راست) در گروه‌های سنی ۱، ۳، ۵، ۷ و ۱۰ روزه ۵ روز بعد از قطع عصب سیاتیک با روش شمارش استریولوژی | ۷۵ |
| نمودار ۳-۴: مقایسه کاهش نورون‌ها و ارتباط آنها با افزایش سن بر حسب دوروش شمارش نورونی سریال و استریولوژی | ۷۶ |
| نمودار ۳-۵: مقایسه تعداد کل نورون‌های سمت آزمایش بین دوروش شمارش سریال و استریولوژی | ۷۷ |
| جدول ۱-۳: شمارش میانگین تعداد کل نورون‌های پنجمین گره ریشه پشتی نخاع موش‌های صحرائی در سمت کنترل (چپ) و آزمایش (راست) و درصد کاهش بین سمت کنترل و آزمایش در گروه‌های سنی ۱، ۳، ۵، ۷ و ۱۰ روزه ۵ روز بعد از قطع عصب سیاتیک | ۷۲ |
| جدول ۲-۳: میانگین تعداد کل نورون‌های پنجمین گره ریشه پشتی نخاع موش‌های صحرائی و درصد کاهش بین سمت کنترل (چپ) و آزمایش (راست) در گروه‌های سنی ۱، ۳، ۵، ۷ و ۱۰ روزه | ۷۴ |
| جدول ۳-۳: مساحت کل هر گره و تعداد کل نورون‌های آپوتوتیک در سمت آزمایش هر گره و شیوع نورون‌های آپوتوتیک در هر میلی متر مربع در گروه‌های سنی ۱، ۳، ۵، ۷ و ۱۰ روزه | ۷۹ |