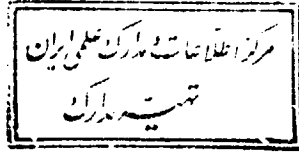


مرکز اطلاعات مدرک علمی ایران
تعمیر مدرک

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



۱۳۸۰ / ۴ / ۲۵

بسم الله الرحمن الرحيم

مطالعه تغییرات تکاملی ضریب رشد آلومتریک و ساختار هیستومورفولوژیک نخاع شوکی در گربه نر

بوسیله
ملیحه الزمان منصفی

پایان نامه

ارائه شده به دانشکده تحصیلات تکمیلی به عنوان بخشی از فعالیتهای
تحصیلی لازم برای اخذ درجه تخصص

در رشته
علوم تشریحی دامپزشکی
از
دانشگاه شیراز
شیراز، ایران

015209

ارزیابی و تصویب شده توسط کمیته پایان نامه با درجه: عالی
امضاء اعضای کمیته پایان نامه:

دکتر سیدرضا قاضی (استاد راهنما و رئیس هیات داوران) استاد

دکتر سید هادی منصوری (استاد راهنما) دانشیار

دکتر مینا تجلی دانشیار

دکتر صغری غلامی دانشیار

دکتر ذبیح الله خاکسار استادیار

دکتر منصور سیاری دانشیار

تیر ۱۳۸۰

۳۸۵۷

تقدیم به:

اولین معلم زندگی، تکیه گاه رنجها،

سنگ صبور لحظه ها، تندیس شکیبایی،

سرچشمه زلال و جوشان محبت و سبزترین خاطره ها

به واژه زیبای مادر

به همه مادران

قدردانی:

بدینوسیله، مقام شامخ اساتید بزرگوار جناب آقای دکتر سیدرضا قاضی و جناب آقای دکتر سید هادی منصوری را که سالها خوشه چین علم و معرفتشان بوده ام، ارج می‌نهم و از راهنماییها و همکاریهای ارزنده و خردمندانه آنها در مراحل مختلف آزمایشگاهی و نیز دقتی که در تصحیح پایان نامه مبذول داشته اند کمال سپاسگزاری را دارم.

از خانواده محترم همسرم که با الطاف بی دریغ راهم را هموار ساخته، دلسوزانه به یاریم شتافتند و در سایه همیاریها و با اتکا به محبت هایشان توانستم این مهم را به انجام رسانم صمیمانه قدردانی می‌نمایم.

از همسر فداکار و مهربانم بخاطر تحمل سختی راه و همراهی های ارزنده اش سپاسگزارم.

سپاسگزاری:

از سرکارخانم دکتر میناتجلی و سرکار خانم دکتر صغری غلامی اعضاء محترم هیات علمی دانشکده دامپزشکی شیراز بخاطر قبول داوری پایان نامه و دقت نظری که اعمال داشته اند کمال تشکر را دارم.

از سرکار خانم دکتر طاهره طلایی عضو محترم هیات علمی دانشکده پزشکی شیراز بخاطر همراهی های بسیار ارزنده شان کمال تشکر را دارم.

از سرکار خانم سیما قدرت کارشناس محترم دانشکده دامپزشکی شیراز بخاطر مشارکت در مراحل آزمایشگاهی و زحمات فراوانی که در این راه متحمل شده اند کمال تشکر را دارم.

از جناب آقای غلامرضا شفیعی کارشناس محترم دانشکده دامپزشکی شیراز بخاطر مشارکت فعال در انجام عملیات آزمایشگاهی و کمک موثر در تهیه نمونه ها کمال سپاسگزاری را دارم.

از جناب آقای حافظ پاک گهر تکنسین محترم دانشکده دامپزشکی شیراز بخاطر کمک در انجام عملیات آزمایشگاهی پایان نامه کمال تشکر را دارم.

از جناب آقای علی ذاکری کارشناس محترم دانشکده علوم شیراز بخاطر کمک در تهیه عکسهای پایان نامه کمال تشکر را دارم.

از همکاری جناب آقای آیت صفوی کارشناس محترم واحد میکروسکوپ الکترونی دانشکده دامپزشکی شیراز کمال تشکر را دارم.

چکیده

مطالعه تغییرات تکاملی ضریب رشد آلومتریکی و ساختار هیستومورفولوژیک نخاع شوکی در گربه نر

در این مطالعه تغییرات کمی و کیفی عناصر مختلف نخاع شوکی گربه های نر از دوران جنینی تا بلوغ بررسی گردید. این تغییرات بصورت ماکروسکوپی و میکروسکوپی در ۲ گروه جنینی شامل جنین های ۳۷ روزه (Mid stage) و جنین های ۵۲ روزه (Late stage) و ۲ گروه سنی بعد از تولد شامل نوزاد یک روزه، ۶ ماهه (بلوغ جنسی) و بالای یکسال (بلوغ جسمی) مورد اندازه گیری قرار گرفتند. در هر گروه سنی ۶ حیوان، ۳ حیوان جهت اندازه گیری های ماکروسکوپی و ۳ حیوان جهت اندازه گیری های میکروسکوپی در نظر گرفته شد. در بخش مطالعات ماکروسکوپی، طول کلی و ناحیه ای ستون مهره ای و نخاع شوکی، ضریب رشد آلومتریکی نخاع شوکی نسبت به ستون مهره ای و محل اختتام نخاع شوکی در گروه های سنی مورد نظر بررسی و مقایسه گردید. در بررسی میکروسکوپ نوری، از ده سگمنت نخاع شوکی ($C_1, C_4, C_8, T_4, T_7, T_{13}, L_4, L_7, S_2, Co_1$) در هر ۵ گروه سنی مقاطع بافتی به ضخامت ۵ میکرون تهیه شد. با استفاده از رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین، تغییرات کمی شامل قطر عمودی و قطر عرضی نخاع شوکی و کانال اپاندیم توسط میکرومتر مدرج چشمی و نسبت بین ماده خاکستری به ماده سفید با استفاده از گراتیکول شطرنجی تعیین گردید. همچنین تعداد سلولهای گلایال موجود در شاخ پشتی، شاخ شکمی و کل ماده خاکستری نخاع شوکی شمارش گردید. با استفاده از رنگ آمیزی تیونین مقاطع بافتی، قطر نوروهای حرکتی لامینای ۹ (براساس تقسیم بندی Rexed) و هسته آنها اندازه گیری شد و تعداد نوروهای موجود در شاخ پشتی، شاخ شکمی و کل نخاع شوکی نیز شمارش گردید. با استفاده از رنگ آمیزی هلزر استتاله های سلولهای گلایال مربوط به دو سگمنت T_4 و C_8 در

کلیه گروه‌های سنی از نظر زمان تشکیل و تغییرات تکاملی مورد بررسی قرار گرفتند. در مطالعات میکروسکوپ الکترونی، شاخ شکمی و نورونهای حرکتی موجود در آن در چهار سگمنت (C_8 , T_4 , L_7 , S_2) بررسی گردید و تغییرات سیتوپلاسمی پریکاریون و هسته این نورونها مورد مطالعه قرار گرفت. همچنین تغییرات کیفی اجسام نیسل در این بخش با روش رنگ آمیزی تیونین مقایسه گردید. مقاطع دو سگمنت C_8 و T_4 کلیه گروه‌های سنی توسط آنتی بادی بر علیه GFAP به روش غیرمستقیم رنگ آمیزی شدند. در این تکنیک زمان ظهور پروتئین‌های اسیدی در ساختار استتاله‌های آستروسیت‌ها بررسی گردید و نتایج آن با نتایج بدست آمده از رنگ آمیزی هلزر مقایسه شد. نتایج حاصله بیانگر افزایش طول ستون مهره ای و طول نخاع شوکی از دوران جنینی تا بلوغ می‌باشند. بیشترین طول ستون مهره ای در کلیه گروه‌های سنی به ناحیه دمی تعلق داشته سپس نواحی سینه ای، کمری، گردنی و نهایتاً ناحیه خاجی بیشترین طول را نشان می‌دهد. در حالیکه بیشترین طول نخاع شوکی به ناحیه سینه ای اختصاص داشته و سپس نواحی کمری، گردنی، خاجی و نهایتاً ناحیه دمی از بیشترین طول برخوردار می‌باشد. بیشترین ضریب رشد آلومتریک در کلیه گروه‌های سنی به استثناء گروه سنی بالای یکسال به ناحیه گردنی و در گروه بالغ به ناحیه سینه ای اختصاص دارد در حالیکه کمترین ضریب رشد در کلیه گروه‌های سنی مربوط به ناحیه دمی است. محل اختتام نخاع در جنین ۲۷ روزه در ثلث قدامی مهره اول دمی، در جنین ۵۲ روزه در ثلث خلفی مهره سوم خاجی، در نوزاد در ثلث خلفی مهره دوم خاجی، در گروه سنی ۶ ماهه در ثلث میانی مهره دوم خاجی و در گروه سنی بالای یکسال در ثلث قدامی مهره دوم خاجی می‌باشد. از دوران جنینی تا بلوغ بر قطر عمودی و عرضی نخاع شوکی افزوده می‌شود. بیشترین قطر عمودی و عرضی نخاع در تمامی گروه‌های سنی در ناحیه گردنی و کمترین قطر در ناحیه دمی دیده می‌شود. کانال مرکزی در دوران جنینی کم عرض و کشیده است ولی رفته رفته به سمت بلوغ از ارتفاع آن کاسته شده و برعرض آن افزوده می‌شود. میزان ماده خاکستری در دوران جنینی بیشتر از ماده سفید می‌باشد ولی با افزایش سن این نسبت معکوس

می گردد. قطر پریکاریون و هسته نوروهای حرکتی از جنین ۳۷ روزه تا گروه سنی ۶ ماهه افزایش می یابد ولی از گروه سنی ۶ ماهه تا بالای یکسال کاهش قطر را نشان می دهند. تعداد نوروهای حرکتی شاخ پشتی و شاخ شکمی نخاع شوکی از جنین ۳۷ روزه تا مرحله نوزادی افزایش یافته ولی از این مرحله به بعد کاهش تعداد مشاهده می شود اما پاره ای از سگمنتها نتایج متغیری را نشان می دهند. تعداد سلولهای گلیال، از جنین ۳۷ روزه تا گروه سنی ۶ ماهه افزایش می یابند ولی از ۶ ماهگی به بعد کاهش تعداد سلولی مشاهده می گردد. اجسام نیسل از دوران جنینی به سمت دوران بلوغ افزوده می شوند. در گروه سنی بالای یکسال علایم پیری به صورت ظهور گرانولهای لیپوفوشین و دژنره شدن اکسونها نیز مشاهده شد. استتاله های آستروسیتها و به تبع فیلامنتهای بینابینی درون آنها تا زمان تولد تشکیل نمی شوند ولی در گروه سنی ۶ ماهه و بالای یکسال بر تراکم استتاله ها و فیلامنتهای بینابینی نشاندار شده افزوده می شود.

فهرست مطالب

صفحه	عنوان
پنج	چکیده
هیجده	فهرست جداول
بیست	فهرست نمودارها
بیست و پنج	فهرست تصاویر
۱	فصل اول- مقدمه و تاریخچه
۳۲	فصل دوم- کلیات
۳۲	۲-۱- طرز تشکیل ستون مهره ای
۳۳	۲-۲- طرز تشکیل نخاع شوکی
۳۶	۲-۳- ضریب رشد آلومتریک نخاع شوکی نسبت به ستون مهره ای
۳۶	۲-۴- آناتومی نخاع شوکی
۳۸	۲-۵- آناتومی ستون مهره ای گربه
۳۹	۲-۶- بافت شناسی نخاع شوکی
۴۶	۲-۷- تکنیک ایمونوسیتوشیمی
۴۶	۲-۷-۱- روشهای نشاندار کردن آنتی بادیها
۴۷	۲-۷-۲- روشهای شناسایی و جایابی آنتی ژنها
۴۷	۲-۷-۲-۱- روش مستقیم
۴۷	۲-۷-۲-۲- روش غیرمستقیم

۵۰	فصل سوم- مواد و روش کار
۵۲	۳-۱- مرحله اندازه گیری های ماکروسکوپی
۵۲	۳-۱-۱- اندازه گیری طول کلی ستون مهره ای
۵۲	۳-۱-۲- اندازه گیری طول ناحیه ای ستون مهره ای
۵۲	۳-۱-۳- اندازه گیری طول کلی نخاع شوکی
۵۲	۳-۱-۴- اندازه گیری طول ناحیه ای نخاع شوکی
۵۳	۳-۱-۵- تعیین محل نقطه اختتام نخاع شوکی
	۳-۱-۶- تعیین ضریب رشد آلومتریک کلی و ناحیه ای نخاع شوکی
۵۳	نسبت به ستون مهره ای
۵۳	۳-۲- مرحله اندازه گیری به کمک میکروسکوپ نوری
۵۴	۳-۲-۱- رنگ آمیزی معمولی هماتوکسیلین و ائوزین
۵۴	۳-۲-۱-۱- قطر عمودی و قطر عرضی سگمنتهای نخاع شوکی
۵۴	۳-۲-۱-۲- قطر عمودی و قطر عرضی کانال مرکزی نخاع شوکی
۵۴	۳-۲-۱-۳- نسبت ماده خاکستری به ماده سفید نخاع شوکی
	۳-۲-۱-۴- تعداد سلولهای گلیال موجود در شاخ پشتی ماده
۵۵	خاکستری
	۳-۲-۱-۵- تعداد سلولهای گلیال موجود در شاخ شکمی ماده
۵۵	خاکستری
۵۵	۳-۲-۱-۶- تعداد سلولهای گلیال ماده خاکستری نخاع شوکی
۵۵	۳-۲-۲- رنگ آمیزی تیونین
۵۶	۳-۲-۲-۱- قطر نورونهای حرکتی شاخ شکمی
۵۶	۳-۲-۲-۲- قطر هسته نورونهای حرکتی شاخ شکمی
۵۶	۳-۲-۲-۳- تعداد نورونهای موجود در شاخ پشتی
۵۶	۳-۲-۲-۴- تعداد نورونهای موجود در شاخ شکمی

۵۶	۳-۲-۲-۵- تعداد کل نوروهای نخاع شوکی
۵۷	۳-۲-۳- رنگ آمیزی هلزر
۵۷	۳-۳- مرحله مطالعه سلولی به کمک میکروسکوپ الکترونی
۵۷	۳-۳-۱- پایدارسازی
۵۷	۳-۳-۳-۱- طرز تهیه محلول کارنوسکی
۵۸	۳-۳-۱-۲- طرز ساخت محلول بافر سدیم کاکودیلایت
۵۸	۳-۳-۱-۳- طرز ساخت محلول بافر شستشو دهنده
۵۹	۳-۳-۲- آگیری
۵۹	۳-۳-۳- شفاف سازی
۵۹	۳-۳-۴- نفوذ دادن
۶۰	۳-۳-۵- نشانیدن و آغشته کردن
۶۰	۳-۳-۶- قالب گیری
۶۰	۳-۳-۷- مقطع گیری
۶۱	۳-۳-۸- رنگ آمیزی مقاطع
۶۱	۳-۳-۸-۱- رنگ آمیزی مقاطع نیمه نازک
۶۱	۳-۳-۸-۲- رنگ آمیزی مقاطع بسیار نازک
	۳-۴- مرحله نشاندار کردن پروتئین های اسیدی استتاله های
۶۲	آستروسیت ها به روش ایمونوسیتوشیمی
۶۳	۳-۴-۱- آغشته سازی با سالین بافر فسفات محتوی اوآلبومین
۶۴	۳-۴-۱-۱- روش ساخت سالین بافر فسفات
	۳-۴-۱-۲- روش ساخت سالین بافر فسفات محتوی ۰/۱ درصد
۶۴	اوآلبومین
۶۴	۳-۴-۲- رنگ آمیزی با آنتی بادی به روش غیرمستقیم
۶۵	۳-۴-۳- شستشو با سالین بافر فسفات

۶۵	۳-۴-۴-نشانداری سازی با پروتئین ۱.گلد ۲۰ نانومتری
۶۵	۳-۴-۴-۱- روش ساخت محلول پات
۶۵	۳-۴-۵- شستشو با محلول پات و آب مقطر
۶۶	۳-۴-۶- رنگ آمیزی نهایی گریدها
۶۶	۳-۴-۶-۱- روش ساخت استات یورانیل آبی
۶۶	۳-۴-۷- تجزیه و تحلیل داده ها
۶۷	فصل چهارم- نتایج
۶۷	۴-۱- نتایج حاصله از اندازه گیریهای ماکروسکوپی
	۴-۱-۱- اندازه گیری طول ستون مهره ای در گروههای سنی مورد
۶۷	بررسی
۷۶	۴-۱-۲- اندازه گیری طول نخاع شوکی در گروههای سنی مورد بررسی
	۴-۱-۳- بررسی موقعیت تشریحی نقطه اختتام نخاع شوکی در گروههای
۸۶	سنی مورد بررسی
۸۸	۴-۱-۴- تعیین ضریب رشد آلومتریک در گروههای سنی مورد بررسی
	۴-۲- نتایج حاصل از اندازه گیری های میکروسکوپی بوسیله میکروسکوپ
۹۷	نوری
	۴-۲-۱- اندازه گیری اقطار سگمنتهای نخاع شوکی در گروههای سنی
۹۷	مورد بررسی
۹۷	۴-۲-۱-۱- اندازه گیری قطر عمودی نخاع شوکی
۹۷	۴-۲-۱-۲- اندازه گیری قطر عرضی نخاع شوکی
	۴-۲-۲- اندازه گیری اقطار کانال مرکزی سگمنتهای نخاع شوکی در
۱۰۲	گروههای سنی مورد بررسی
۱۰۲	۴-۲-۲-۱- اندازه گیری قطر عمودی کانال مرکزی نخاع شوکی
۱۱۷	۴-۲-۲-۲- اندازه گیری قطر عرضی کانال مرکزی نخاع شوکی

- ۴-۲-۳- اندازه گیری نسبت ماده خاکستری به ماده سفید سگمنتهای
 نخاع شوکی در گروههای سنی مورد بررسی ۱۲۳
- ۴-۲-۴- اندازه گیری نوروتهای حرکتی شاخ شکمی سگمنتهای نخاع
 شوکی در گروههای سنی مورد بررسی ۱۲۳
- ۴-۲-۵- اندازه گیری قطر هسته نوروتهای حرکتی شاخ شکمی
 سگمنتهای نخاع شوکی در گروههای سنی مورد بررسی ۱۳۱
- ۴-۲-۶- شمارش تعداد نوروتهای سگمنتهای نخاع شوکی در گروههای
 سنی مورد بررسی ۱۳۵
- ۴-۲-۶-۱- شمارش تعداد کل نوروتهای سگمنتهای نخاع شوکی ۱۳۵
- ۴-۲-۶-۲- شمارش تعداد نوروتهای شاخ پشتی سگمنتهای نخاع
 شوکی ۱۳۹
- ۴-۲-۶-۳- شمارش تعداد نوروتهای شاخ شکمی سگمنتهای نخاع
 شوکی ۱۴۳
- ۴-۲-۷- شمارش تعداد کل سلولهای گلیال ماده خاکستری سگمنتهای
 نخاع شوکی در گروههای سنی مورد بررسی ۱۴۷
- ۴-۲-۷-۱- شمارش تعداد کل سلولهای گلیال ماده خاکستری
 سگمنتهای نخاع شوکی ۱۴۷
- ۴-۲-۷-۲- شمارش تعداد سلولهای گلیال ماده خاکستری شاخ پشتی
 سگمنتهای نخاع شوکی ۱۴۸
- ۴-۲-۷-۳- شمارش تعداد سلولهای گلیال ماده خاکستری شاخ شکمی
 سگمنتهای نخاع شوکی ۱۵۶
- ۴-۲-۸- نتایج حاصل از بررسی تراکم اجسام نیسل در نوروتهای
 حرکتی شاخ شکمی سگمنتهای نخاع شوکی در گروههای
 سنی مورد بررسی ۱۶۰

- ۱۶۰ ۴-۲-۸-۱- بررسی اجسام نیسل در نورونهای حرکتی جنین ۳۷ روزه
- ۱۶۱ ۴-۲-۸-۲- بررسی اجسام نیسل در نورونهای حرکتی جنین ۵۲ روزه
- ۱۶۱ ۴-۲-۸-۳- بررسی اجسام نیسل در نورونهای حرکتی نوزاد یک روزه
- ۴-۲-۸-۴- بررسی اجسام نیسل در نورونهای حرکتی گروه سنی ۶ ماهه یا بلوغ جنسی
- ۱۶۱ ۴-۲-۸-۵- بررسی اجسام نیسل در نورونهای حرکتی گروه سنی بالای یکسال یا بلوغ جسمی
- ۴-۲-۹- نتایج حاصل از بررسی تراکم استطاله های سلولهای گلیال ماده خاکستری سگمنتهای نخاع شوکی در گروههای سنی مورد بررسی
- ۱۶۴ ۴-۲-۹-۱- بررسی استطاله های سلولهای گلیال ماده خاکستری سگمنتهای نخاع شوکی در جنین ۳۷ روزه
- ۱۶۴ ۴-۲-۹-۲- بررسی استطاله های سلولهای گلیال ماده خاکستری سگمنتهای نخاع شوکی در جنین ۵۲ روزه
- ۱۶۴ ۴-۲-۹-۳- بررسی استطاله های سلولهای گلیال ماده خاکستری سگمنتهای نخاع شوکی در نوزاد یک روزه
- ۱۶۶ ۴-۲-۹-۴- بررسی استطاله های سلولهای گلیال ماده خاکستری سگمنتهای نخاع شوکی در گروه سنی ۶ ماهه یا بلوغ جنسی
- ۱۶۶ ۴-۲-۹-۵- بررسی استطاله های سلولهای گلیال ماده خاکستری سگمنتهای نخاع شوکی در گروه سنی بالای یکسال یا بلوغ جسمی
- ۱۶۶

- ۴-۳- نتایج حاصله از مطالعه میکروسکوپ الکترونی نوروتهای حرکتی شاخ شکمی سگمنتهای نخاع شوکی در گروههای سنی مورد بررسی ۱۷۱
- ۴-۳-۱- بررسی پریکاریون و هسته نوروتهای حرکتی سگمنتهای نخاع شوکی جنین ۳۷ روزه ۱۷۱
- ۴-۳-۲- بررسی پریکاریون و هسته نوروتهای حرکتی سگمنتهای نخاع شوکی جنین ۵۲ روزه ۱۷۵
- ۴-۳-۳- بررسی پریکاریون و هسته نوروتهای حرکتی سگمنتهای نخاع شوکی نوزاد یک روزه ۱۸۱
- ۴-۳-۴- بررسی پریکاریون و هسته نوروتهای حرکتی سگمنتهای نخاع شوکی گروه سنی ۶ ماهه یا بلوغ جنسی ۱۸۱
- ۴-۳-۵- بررسی پریکاریون و هسته نوروتهای حرکتی سگمنتهای نخاع شوکی گروه سنی بالای یکسال یا بلوغ جسمی ۱۸۶
- ۴-۴- نتایج حاصله از نشاندار کردن پروتئین های اسیدی استتاله های آستروسیتهای ماده خاکستری سگمنتهای نخاع شوکی در گروههای سنی مورد بررسی ۱۹۵
- ۴-۴-۱- بررسی پروتئین های اسیدی نشاندار شده در استتاله های آستروسیتهای ماده خاکستری سگمنتهای نخاع شوکی جنین ۳۷ روزه ۱۹۵
- ۴-۴-۲- بررسی پروتئین های اسیدی نشاندار شده در استتاله های آستروسیتهای ماده خاکستری سگمنتهای نخاع شوکی جنین ۵۲ روزه ۱۹۷
- ۴-۴-۳- بررسی پروتئین های اسیدی نشاندار شده در استتاله های آستروسیتهای ماده خاکستری سگمنتهای نخاع شوکی نوزاد یک روزه ۱۹۷