

Simple and Practical Approach to the Thoracic Spinal Cord in Rat

Niapour A¹, Taghipour Z², Kiani S³, Karamali F⁴, Niapour N¹, Mir Hosseini MM⁵, Piri MR⁵, Salehi H⁶, Najafzadeh N¹, Nasr-Esfahani MH^{4*}, Baharvand H^{3*}

¹Department of Anatomical Sciences, School of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran

²Department of Anatomical Sciences, School of Medicine, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran

³Department of Stem Cells and Developmental Biology, Royan Institute for Stem Cell Biology and Technology, ACECR, Tehran, Iran

⁴Department of Cell and Molecular Biology, Cell Science Research Center, Royan Institute for Animal Biotechnology, ACECR, Isfahan, Iran

⁵Student Research Committee, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

⁶Department of Anatomical Sciences, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

*Corresponding Author. Tel:+983112612900 Fax:+983112602555 E-mail:mh.nasr-esfahani@RoyanInstitute.org

*Corresponding Author. Tel:+982122306485 Fax:+982122310406 E-mail: Baharvand@RoyanInstitute.org

Received: 1 May 2013 Accepted: 16 Sep 2013

ABSTRACT

Objective: Spinal cord injury (SCI) has become an especially challenging target in experimental neuroscience. Approach into the spinal cord is the interface among all different types of spinal cord injury modeling. The lower thoracic spinal cord has generated special interest due to the lower limbs' spinal pattern generator position and presence of relative scales for behavioral assessment. However, a clear method with which to approach the thoracic spinal cord has yet to be determined.

Methods: A total of 20 animals were subjected to this study. Following induction of anesthesia, the 10th thoracic vertebra were positioned, and muscles were retracted. Using the high speed rotary, the vertebral lamina were carefully thinned. As a final point, the reduced lamina was meticulously removed away to expose underlying spinal cord. Loco motor behavioral test (BBB) was implemented before and after surgery procedure.

Results: This manuscript has presented the stepwise method to expose rat thoracic spinal cord. Whole procedure took less than an hour. Animals acquired complete BBB loco motor rating score before and after surgery; indicating the safety of procedure.

Conclusion: This article introduces simple and practical approach for the rat lower thoracic spine. The anatomical orientation, anesthesia, postoperative management, and common problems are discussed.

Keywords: Rat; Thoracic Spine; Laminectomy; Spinal Cord Injury

روشی ساده و کاربردی برای دسترسی به نخاع ناحیه سینه ای در موش صحرایی

علی نیاپور^۱، زهرا تقی پور^۲، سحر کیانی^۳، فرشته کرمعلی^۴، نازیلا نیاپور^۱، محمد مهدی میر حسینی^۵، محمد رضا پیری^۵، حسین صالحی^۶، نوروز نجف زاده^۱، محمد حسین نصر اصفهانی^{۴*}، حسین بهاروند^{۳*}

^۱ گروه علوم تشریحی و پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران ^۲ گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، رفسنجان، ایران ^۳ گروه سلول های بنیادی و بیولوژی تکوین، پژوهشکده زیست فناوری جهاد دانشگاهی، پژوهشگاه رویان قسمت زیست شناسی و فناوری سلول های بنیادی، تهران، ایران ^۴ گروه بیولوژی سلولی و مولکولی، پژوهشکده زیست فناوری جهاد دانشگاهی، مرکز تحقیقات علوم سلولی، پژوهشگاه رویان قسمت زیست فناوری، اصفهان، ایران ^۵ کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران ^۶ گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

*نویسنده مسئول: تلفن: ۰۳۱۱۲۶۱۲۹۰۰ فاکس: ۰۳۱۱۲۶۰۲۵۵۵ پست الکترونیک: mh.nasr-esfahani@RoyanInstitute.org
*نویسنده مسئول: تلفن: ۰۲۱۲۲۳۰۶۴۸۵ فاکس: ۰۲۱۲۲۳۱۰۴۰۶ پست الکترونیک: Baharvand@RoyanInstitute.org

چکیده

زمینه و هدف: آسیب های نخاعی به عنوان یکی از حوضه های مهم تحقیقات در علوم اعصاب مطرح می باشد. دسترسی به نخاع بدون ایجاد آسیب به آن، را می توان به عنوان فصل مشترک ایجاد مدل های مختلف ضایعه نخاعی در نظر گرفت. در این میان، قسمت تحتانی نخاع سینه ای بدلیل استقرار مراکز مرتبط با ایجاد الگو های حرکتی اندام تحتانی و همچنین وجود تست های استاندارد بررسیهای حرکتی، مورد توجه محققین به این ناحیه خاص شده است. با این وجود یک روش مشخص جهت دسترسی به طناب نخاعی این قسمت ارائه نشده است.

روش کار: در مجموع بیست عدد موش صحرایی وارد این مطالعه شد. بدنبال القای بیپوشی، حیوان به شکم روی میز جراحی قرار داده شد. موقعیت مهره دهم شناسایی، و عضلات اطراف آن کنار زده شدند. لامینای مهره مورد نظر به کمک دریل هایی با دور تند، نازک گردید. در قدم آخر، لامینای نازک شده به آرامی و با دقت زیاد از روی طناب نخاعی کنار زده شد. پتانسیل حرکتی حیوانات قبل و بعد از جراحی بوسیله ی تست حرکتی تعیین شد.

یافته ها: مطالعه حاضر روشی مرحله به مرحله را برای دسترسی به نخاع سینه ای موش صحرایی ارائه داده است. پروسه جراحی کمتر از یک ساعت طول کشید. بررسی حرکتی اندام تحتانی، با تست BBB، کسب نمره کامل را قبل و بعد از جراحی نشان داد.

نتیجه گیری: این مقاله یک روش ساده و کاربردی را برای دسترسی نخاع سینه ای تحتانی ارائه می دهد. موقعیت آناتومیک محل جراحی، مراقبتهای حین و بعد از جراحی و سایر مسائل احتمالی بحث شده است.

کلمات کلیدی: موش صحرایی؛ ستون مهره سینه ای؛ برداشتن لامینا؛ آسیب نخاعی

دریافت: ۹۲/۲/۱۱

پذیرش: ۹۲/۶/۲۵

مقدمه

آسیب های نخاعی یکی از حوضه های مهم تحقیقات علوم اعصاب می باشد. در اواخر قرن نوزده میلادی، Albert Aguayo و همکاران، رشد آکسونهای قطع شده نخاع موش صحرایی را داخل قطعه ای از عصب

محیطی که محل آسیب را پل می زد نشان دادند [۲،۱]. این یافته، جزم علمی مبنی بر عدم رشد نورون ها در محیط سیستم عصبی مرکزی را تحت الشعاع قرار داد و امید تازه ای در کالبد بیمارانی دچار صدمات نخاعی و محققین این حوضه دمید. از آن

پس، مدل‌های مختلف آسیب نخاعی در حیوانات آزمایشگاهی پایه گذاری شدند که مبتنی بر مکانیسم اولیه آسیب نخاعی که همان ضربه مکانیکی است و یا با هدف بررسی مکانیسم های ثانویه ایجاد آسیب نخاعی طراحی می شوند [۳]. ایجاد کوفتگی، له شدگی و بریدن طناب نخاعی سه روش معمول ایجاد مدل آسیب نخاعی در مقالات استفاده می شود که از مکانیسم اولیه آسیب نخاعی بهره می برند [۴]. در کنار این روشها، مواد شیمیایی ویژه ای با هدف ایجاد آسیب ثانویه نخاع و بررسی درمان احتمالی آن در مقالات استفاده شده است [۳، ۵-۷]. ویژگیهایی همچون چته کوچک، قیمت مناسب، در دسترس بودن، نگهداری راحت، پتانسیل انتقال ژن و وجود مقیاس های استاندارد بهبودی حرکتی، سبب اقبال عمومی به موش سوری و صحرایی در تحقیقات مربوط به ضایعات نخاعی شده است [۸]. سطوح مختلف نخاع برای ایجاد آسیب نخاعی استفاده می شود، لیکن سگمان هایی از نخاع که در محاذات مهره های نهم و دهم سینه ای واقع شده، مورد توجه خاص بوده است. این سگمان ها در ارتباط با مراکز ایجاد الگو های حرکتی اندام تحتانی^۱ (CPG) هستند؛ ضمن اینکه تست های استاندارد برای بررسی بهبودی حرکتی در این سطح از نخاع بصورت مدون و استاندارد تبیین شده است [۹]. با این وجود، مقاله ای که بصورت هدفمند، مراحل دسترسی به نخاع این قسمت را توضیح دهد ارائه نشده است. شاید یک دلیل برای این موضوع را می توان به ساختار مقالات اشاره کرد که می بایست کار جراحی و گروه بندی ها در یک پاراگراف کوتاه و بطور خلاصه ارائه کرد، نسبت داد [۱۰]. از طرف دیگر این موضوع سبب صرف وقت و هزینه می شود تا محقق بتواند با روش کوشش و خطا، سعی در کسب مهارت لازم برای دسترسی بدون آسیب ناخواسته به طناب

نخاعی شود. بنابراین در این مقاله به روشی ساده، بصورت مرحله به مرحله و کاربردی نحوه نمایان ساختن طناب نخاعی ناحیه سینه ای تحتانی توصیف شده است. همچنین مشکلات و موانع احتمالی و راه حل های مقابله در هر مرحله ارائه گردیده است.

روش کار

نگهداری حیوان: در این مطالعه بیست عدد موش صحرایی نر نژاد Wistar با وزن ۲۵۰-۳۰۰ گرم استفاده شد. رت ها از انستیتو رازی کرج تهیه شدند. شرایط نگهداری حیوانات، مراحل بیهوشی و جراحی طبق استانداردهای مصوب پژوهشکده رویان انجام گرفته است. برای القا بیهوشی از روش تزریق داخل صفاقی کتامین (۱۰۰ mg/kg) و زایلازین (۱۰ mg/kg) استفاده شد. سلامت حرکت اندام تحتانی در همه حیوانات قبل از ورود به مطالعه با استفاده از تست حرکتی BBB^۲ [۱۱] تایید گردید.

آماده سازی برای جراحی: ستون مهره ناحیه ی سینه ای موش صحرایی مشتمل بر سیزده مهره می باشد. در حالت طبیعی، بالاترین نقطه ستون مهره در محل اتصال آخرین مهره ی سینه ای به اولین کمری قرار دارد. سیزدهمین مهره سینه ای (T₁₃) بلافاصله در زیر محل اتصال آخرین دنده به ستون مهره قرار گرفته و به راحتی قابل لمس می باشد [۱۳، ۱۲]. بعلاوه، فاشیای عمقی و محل شروع عضلات بزرگ ناحیه پشت مثل تراپزیوس و لاتیسیموس دورسی می تواند طی جراحی در تعیین شماره ی مهره های پایینی سینه ای کمک کننده باشد [۱۲] شکل ۱ و شکل ۲ قسمت C و F).

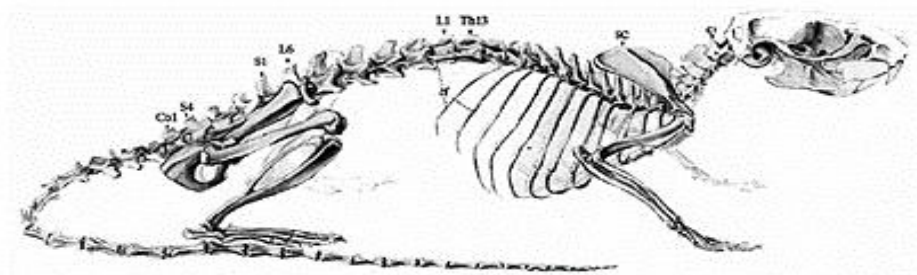
روش جراحی: پس از بیهوش کردن حیوان، مو های ناحیه جراحی تراشیده و با الکل ۷۰٪ و بتادین استریل شد. یک برش طولی در خط وسط و پشت بدن حیوان و در طول مهره های T₁₂-T₈ ایجاد (شکل ۲ قسمت A) و پوست و فاشیای سطحی کنار زده

¹ Central pattern generator

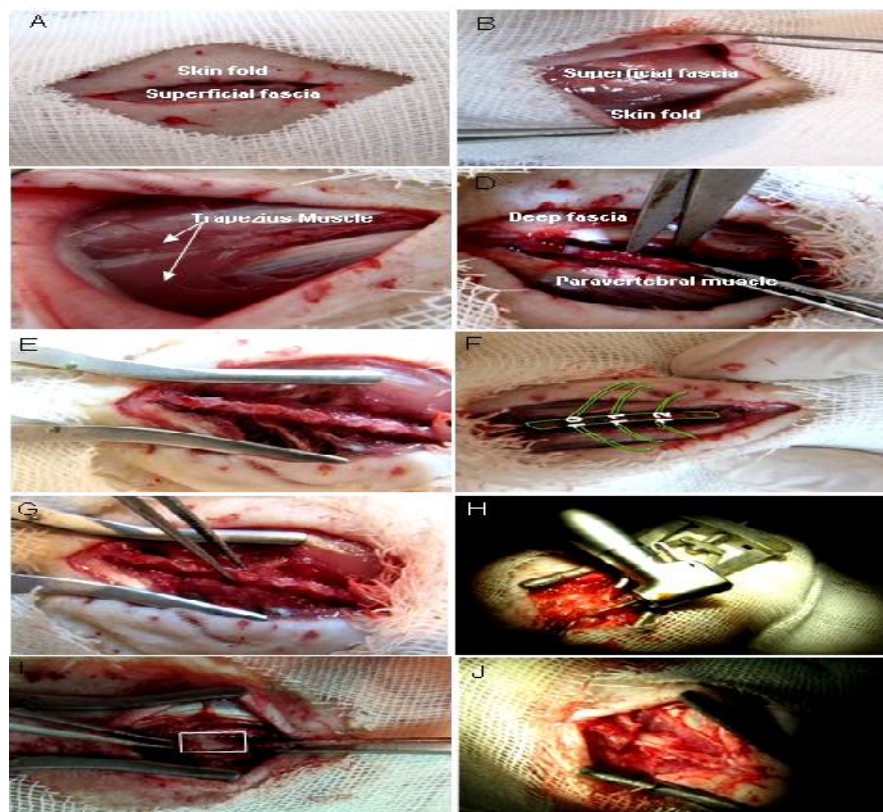
² Basso, Beattie, Bresnahan

شکل ۲ قسمت C و F) و با برش های طولی در دو سمت زواید خاری مهره ها، ماهیچه های پاراورتبرال به کمک Retractor کنار زده شدند (شکل ۲

شدند تا فاشیای عمقی و عضلات مجاور مهره ای نمایان شود (شکل ۲ قسمت A و B). مهره T₁₀ را با استفاده از ویژگی های فوق الذکر مشخص (شکل ۱ و



شکل ۱. تصویری شماتیک اسکلت موش صحرایی در موقعیت طبیعی حیوان. به تعداد مهره ها در نواحی مختلف ستون مهره و تعداد دنده ها توجه شود. بالاترین قسمت در پشت بدن حیوان در محل اتصال مهره T₁₃ به L1 واقع می باشد. این تصویر از کتاب آناتومی موش صحرایی نوشته Hebel و Stromberg برداشته شده است [۱۲].



شکل ۲. مراحل لامینکتومی بصورت مرحله به مرحله. تصویر A و B برش جراحی روی پوست و نمایان شدن فاشیای زیرین را نشان می دهد. پس از برداشتن فاشیای عمقی، عضله تراپزیوس قابل رویت خواهد بود (C). در مرحله بعدی برش های طولی به موازات ستون مهره در دو سمت زواید خاری مهره مورد نظر و یک مهره بالاتر و پایین تر آن ایجاد می شود (D). عضلات مجاور مهره ای (Paravertebral) به کمک رانژور کنار کشیده می شود (E). تصویر F چگونگی تشخیص و شماره گذاری مهره های سینه ای را نشان داده است؛ انگشتان جراح در دو سمت ستون مهره آخرین دنده و موقعیت مهره آخر سینه ای را نمایش می دهد. پس از مشخص شدن زائده خاری مهره سیزدهم، به ترتیب با شمارش زواید خاری می توان به مهره مورد نظر دست یافت که در تصویر G نشان داده شده است. تصویر H مراحل مربوط به دریل کردن لامینای مهره T₁₀ را نشان می دهد. پس از نازک شدن لامینا، طناب نخاعی زیرین و یک شریان در خط وسط قابل تشخیص خواهد بود که داخل مستطیل سفید رنگ در تصویر مشخص شده است. از این مرحله به بعد لامینای نازک شده از دو سمت برش خورده و کنار زده می شود تا نخاع زیرین معلوم گردد (J).

قسمت D و E).

این مرحله با دقت زیادی انجام می شود تا احتمال خونریزی و آسیب به بافت های زیرین به حداقل رسیده و فرایند بهبودی پس از جراحی سریعتر حاصل شود. زائده خاری مهره T₁₀ با استفاده از Rongeur کوچکی برداشته و به کمک دریل با دور چرخش بالا لامینای مهره نازک گردید. سر دریل با فشار ملایم رو به بالا و پائین حرکت داده شد تا زمانی که طناب نخاعی و عروق اطراف آن از زیر لامینای نازک شده مشاهده شود (شکل ۲ قسمت I). نواحی اتصال لامینا به پدیکل و محل مفصل زوائد مفصلی مهره های مجاور هم^۱ با دقت نازکتر و نازکتر شدند تا از ورود ناگهانی به داخل کانال مهره ای و صدمه به نخاع پیشگیری شود. در قدم بعدی، لامینای نازک شده بصورت Flap کنار زده شد. برای این کار، نوک قیچی کوچکی را به آرامی زیر لایه

احتمال نفوذ نوک قیچی در سخت شامه و طناب نخاعی را به حداقل می رساند. نکته قابل توجه اینکه فضای اپیدورال در کانال مهره ای یک فضای واقعی می باشد و عمدتاً از بافت چربی پر شده است که این امر سبب دسترسی راحتتر به این فضا می شود. در مرحله پایانی اضافات لبه های کناری مهره مورد نظر برداشته شد. در صورت نیاز به جراحی های داخل سخت شامه ای با چنگال های ویژه آن برای باز کردن سخت شامه اقدام می شود. بعد از انجام جراحی، عضلات مجاور مهره ای سر جای خود باز گردانده شده و لایه های فاشیای سطحی و پوست به ترتیب با سوزن کرومیک (0-2) و نخ نایلونی (0-5) بخیه شدند. در طول مدت استفاده از دریل جهت کنترل حرارت ایجاد شده، شستشوی مرتب محل روتاری نبایستی فراموش شود. ابزارهای مورد استفاده در جراحی در جدول ۱ ارائه گردیده است.

جدول ۱. لیست وسایل مورد استفاده در جراحی

Device	Catalog number	vender
Scalpel handle	52174	USA
Surgical blade	Health care(china)	China
Micro dissecting scissor	52132-11,12	USA
Operating scissor	52134-92	USA
Micro dissecting forceps	52102-30	USA
Tissue forceps	52108-60	USA
Haemostasis forceps	52110-21	USA
Needle holder	52181-84	USA
Micro-dissecting Retractor	52126-10ALM	USA
Bone Rongeur	52161-02	USA
Chromic suture(2/0)	-	Iran
Nylon suture(5/0)	-	Iran
Surgical micro motor	Strong 204-NO-190	USA
Hand piece	Sno7-UZ0013391	KAVO Brazil
Dental drill 1.35, 1.75	51455-5, 51455-6	USA
DASK drill	XRT 064025 , XRT 084025	Korea
Cotton swab	Commercial	Iran

نازک شده لامینا در محل مفصل Zygapophyseal وارد و به طرف مهره بالا تر ادامه داده شد. این برش در دو سمت انجام و لامینا مثل یک درپوش از روی کانال مهره ای برداشته می شود (شکل ۲ قسمت J). شروع لامینکتومی^۲ از ناحیه Zygapophyseal

مراقبتهای پس از عمل: پس از جراحی و تا حصول هوشیاری، حیوانات روی تشک حرارتی قرار داده شدند. سپس به لانه حیوانات منتقل و در دمای ۲۷ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. آب و غذای به مقدار کافی در دسترس حیوانات قرار داده شد. داروی مسکن استامینوفن به میزان ۱-۲ mg/ml به صورت خوراکی و سرم نرمال سالین به میزان ۵ ml

¹ Zygapophyseal joint

² Laminectomy

به صورت داخل صفاقی برای پیشگیری از دهیدراته شدن پس از جراحی، مورد استفاده قرار گرفت. یک روز پیش از عمل شروع و تا دو روز بعد از عمل تزریق زیر جلدی آنتی بیوتیک جنتامایسن به میزان ۱۵ mg/kg انجام شد تا احتمال عفونت های ناشی از عمل محل جراحی، سیستم عصبی مرکزی و دستگاه ادراری به حداقل برسد.

یافته ها

در این پژوهش بیست عدد موش صحرایی مورد استفاده قرار گرفت. نیمی از رت ها به دلایلی مثل بیهوشی نامناسب و یا نفوذ ناگهانی مته به داخل نخاع از مطالعه حذف شدند. تیم جراحی با افزایش مهارت خود در نازک کردن سطح لامینای مهره توانست میزان تلفات را کاهش دهد. سری نخست جراحی حدود دو ساعت طول کشید که به تدریج به کمتر از یک ساعت کاهش یافت. مقادیر مذکور کتامین و زایلارین می تواند بیهوشی با عمق مناسب برای مدت تقریباً یک ساعت جراحی فراهم آورد. کسب مهارت دریل کردن، برداشتن اضافات لبه مهره و مهارتهای بخیه زنی می تواند زمان جراحی را در حد مطلوبی قرار دهد. سلامت حرکتی اندام تحتانی با استفاده از تست حرکتی BBB [۱۱] قبل و بعد از عمل بررسی شد و در هر دو حالت برابر ۲۱ بود.

بحث

دسترسی به نخاع بدون صدمه به آن را می توان به عنوان فصل مشترک ایجاد انواع مدل های مختلف ضایعه نخاعی در نظر گرفت. امروزه مقالات کثیری در ارتباط با تمهیدات درمانی ضایعات نخاعی گزارش می شود؛ لیکن نحوه دسترسی به طناب نخاعی بصورت خیلی خلاصه ارائه می شود. بنابراین هر محقق به ناچار با صرف زمان و منابع مالی به کسب مهارتهای لازم برای انجام یک جراحی موفقیت آمیز نائل می گردد. تا کنون کمتر مقاله ای صورت

متمرکز نحوه انجام جراحی را گزارش کرده است. در سال ۲۰۱۰، Gierthmuehlen و همکاران طی مقاله ای نحوه دسترسی به نخاع در ناحیه پایین کمر را توضیح داده اند [۱۰]. مقاله حاضر با هدف بومی سازی این تکنیک با استفاده از حداقل امکانات روشی استاندارد برای دسترسی نخاع سینه ای موش صحرایی ارائه می دهد. ضمن وجود تشابهاتی در روش اجرای جراحی در این تحقیق و مقاله Gierthmuehlen و همکاران، لیکن کل فرایند جراحی حدود یک ساعت بود که نسبت به مقاله فوق الذکر کمتر می باشد. بعلاوه موقعیت آناتومیک، تشخیص و شماره گذاری مهره های سینه ای موش صحرایی در این کار آورده شده است. از جمله علل کاهش زمان جراحی می توان به استفاده از مته های ویژه دندانپزشکی تحت عنوان مته های جراحی سینوس های ماگزیلاری که به مته های DASK شهرت یافته اند اشاره کرد. به طور معمول چنین مته هایی جهت تراش دادن استخوان ماگزila بدون آسیب رساندن به غشا مخاطی سینوس ماگزیلاری در جراحی های لثه کاربرد دارد. این نوع مته ها سرعت دریل کردن لامینا را بطور قابل ملاحظه ای افزایش می دهند. همچنین، دستگاه های پیزوسرجری^۱ که در جراحی های سیستم عصبی مرکزی و دندانپزشکی کاربرد دارد می تواند سودمند باشد. در این دستگاه با تنظیم فرکانس های اولتراسونیک، ساختار های سخت مثل استخوان برش داده می شود در حالیکه بافت نرم زیرین بدون آسیب حفظ می شود. مورد اخیر مستلزم صرف هزینه بیشتری خواهد بود.

در مراحل اولیه جراحی پس از برش پوستی، بهتر است تا بافت های اضافی سطحی حذف شود. ایجاد یک بستر جراحی مناسب و تمیز می تواند باعث تسهیل تشخیص موقعیت مهره مورد نظر شده و در کاهش زمان جراحی موثر خواهد بود. شستشو با

¹ Pizosurgery

بخیه زده شوند تا از تراوش احتمالی مایع مغزی نخاعی جلوگیری شود.

نتیجه گیری

این مطالعه روشی مرحله ای و کاربردی را جهت برداشتن لامینای موش صحرایی بالغ بدون آسیب به نخاع سینه ای زیرین ارائه داده است. مشکلات احتمالی در هر مرحله از جراحی بیان شده و راه حل های مرتبط ارائه گردیده است.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از زحمات اساتید و کارکنان عزیز پژوهشگاه رویان؛ شاخه ای اصفهان و آزمایشگاه تحقیقاتی جنین شناسی و سلول های بنیادی دانشگاه علوم پزشکی اردبیل تشکر و قدردانی به عمل می آید.

نرمال سالین و استفاده از سواب های مرطوب برای پاک کردن خونریزی های غیر منتظره در طی جراحی کمک کننده خواهد بود. در صورت ادامه خونریزی، داروی لیدوکاین بصورت موضعی کاربرد خواهد داشت.

امکانات در دسترس محقق و عمق بیهوشی مد نظر برای تحقیق، تعیین کننده نوع ماده بیهوشی می باشد. در بین داروهای بیهوشی از کتامین و زایلازین استفاده شد زیرا که از لحاظ عمق و مدت زمان بیهوشی شرایط مناسبی را تا اتمام جراحی ایجاد می کند و حیوانات نیز بعد از جراحی درد کمتری تجربه می کنند [۱۵،۱۴]. ضمن اینکه، در صورت نیاز به زمان بیشتر طی جراحی می توان تا میزان یک دهم دوز اولیه داروی بیهوشی، بصورت مجدد تزریق نمود. برای پیشگیری از دهیدراسیون چشمی بدنال استفاده از کتامین در طی جراحی، می توان از پماد چشمی و یا دستمال مرطوب روی چشم بهره جست. در پایان جراحی فاشیای عمقی می بایست به خوبی

References

- 1- David S, Aguayo AJ. Axonal elongation into peripheral nervous system 'bridges' after central nervous system injury in adult rats. *Science*. 1981 Nov; 214(4523): 931-3.
- 2- Richardson PM, McGuinness UM, Aguayo AJ. Axons from CNS neurons regenerate into PNS grafts. *Nature*. 1980 Mar; 284(5753): 264-5.
- 3- Onifer SM, Rabchevsky AG, Scheff SW. Rat models of traumatic spinal cord injury to assess motor recovery. *ILAR J*. 2007; 48(4): 385-95.
- 4- Rosenzweig ES, McDonald JW. Rodent models for treatment of spinal cord injury: research trends and progress toward useful repair. *Curr Opin Neurol*. 2004 Apr; 17(2): 121-31.
- 5- Yan J, Xu L, Welsh AM, Hatfield G, Hazel T, Johe K, et al. Extensive neuronal differentiation of human neural stem cell grafts in adult rat spinal cord. *PLoS Med*. 2007 Feb; 4(2): e39.
- 6- Mothe AJ, Tator CH. Transplanted neural stem/progenitor cells generate myelinating oligodendrocytes and Schwann cells in spinal cord demyelination and dysmyelination. *Exp Neurol*. 2008 Sep; 213(1): 176-90.
- 7- Zawadzka M, Rivers LE, Fancy SP, Zhao C, Tripathi R, Jamen F, et al. CNS-resident glial progenitor/stem cells produce Schwann cells as well as oligodendrocytes during repair of CNS demyelination. *Cell Stem Cell*. 2010 Jun; 6(6): 578-90.
- 8- Kwon BK, Oxland TR, Tetzlaff W. Animal models used in spinal cord regeneration research. *Spine*. 2002 Jul; 27: 1504-10.
- 9- Barriere G, Leblond H, Provencher J, Rossignol S. Prominent role of the spinal central pattern generator in the recovery of locomotion after partial spinal cord injuries. *J Neurosci*. 2008 Apr; 28(15): 3976-87.

- 10- Gierthmuehlen M, Freiman T, Elverfeldt D, Kaminsky J. Microsurgical approach to the spinal canal in rats. *J Neurosci Methods*. 2010 May; 188(2): 295-301.
- 11- Basso DM, Beattie MS, Bresnahan JC. A sensitive and reliable locomotor rating scale for open field testing in rats. *J Neurotrauma*. 1995 Feb; 12(1):1-21.
- 12- Hebel R, Stromberg MW. *Anatomy of the laboratory rat*, 1st ed. Baltimore: Williams & Wilkins Company. 1976: 1-17.
- 13- Narazaki DK, Barros Filho TE, Oliveira CR, Cristante AF, Iutaka AS, Marcon RM, et al. Spinal cord regeneration: the action of neurotrophin-3 in spinal cord injury in rats. *Clinics (Sao Paulo)*. 2006 Oct; 61(5): 453-60.
- 14- Wixson SK, White WJ, Hughes HC, Lang CM, Marshall WK. The effects of pentobarbital, fentanyl-droperidol, ketamine-xylazine and ketamine-diazepam on arterial blood pH, blood gases, mean arterial blood pressure and heart rate in adult male rats. *Lab Anim Sci*. 1987 Dec; 37 (6): 736-42.
- 15- Wixson SK, White WJ, Hughes HC, Marshall WK, Lang CM. The effects of pentobarbital, fentanyl-droperidol, ketamine-xylazine and ketamine-diazepam on noxious stimulus perception on adult male rats. *Lab Anim Sci*. 1987 Dec; 37(6): 731-5.