جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

دوره ۱/ شماره ی ٤ / تابستان ۱۳۸۲

بررسی اجسام نیسل در یاخته های عصبی حرکتی نخاع گربه در سنین پیش و پس از تولد

چکیده

مقدمه: ارتباط و سازگاری با جهان پیرامون و درک محرک ها و فرستادن پاسخ های مناسب به آنها، نیاز به سلول های عصبی را آشکار می سازد. آگاهی از زمان بندی تکامل این سلول ها، تا اندازه ای راهگشای معماهای فراوان زندگی است. **روش کار:** در این پژوهش، اجسام نیسل موجود در یاخته های عصبی حرکتی نخاع گربه های نر در دو گروه جنینی، در بردارنده ی جنین های ۳۷ روزه (Mid-stage) و جنین های ۵۲ روزه (Late-stage) و سه گروه سنی پس از تولد، در برگیرنده ی نوزاد یک روزه، شش ماهه (بلوغ جنسی) و بالای یک سال (بلوغ جسمی) بررسی شد. در هر گروه سنی، سه حیوان بررسی گردید و از ده سگمان نخاع شوکی (Co1، S2، L7، L4، T13، T7، T4، C8، C4 و C1) در هر پنج گروه سنی مقاطع بافتی به ضخامت پنج میکرومتر فراهم شد و با بهره جویی از رنگ آمیزی تیونین، مقاطع اجسام نیسل موجود در پریکاریون لامینای نهم برپایه ی دسته بندی (Rexed) با بهره جویی از میکروسکوپ نوری مشاهده گردید. در بررسی میکروسکوپ الکترونی، گرید (grid) مربوط به یاخته های عصبی حرکتی چهار بخش S2، L7، T4 وC8 فراهم گردید و تغییرات سیتوپلاسمی پریکاریون و هسته ی این یاخته های عصبی بررسی گردید. سپس یافته های این دو روش با هم مقایسه شد. **یافته ها:** یافته ها بیانگر افزایش اجسام نیسل در سیتوپلاسم یاخته های عصبی حرکتی گربه از دوران جنینی به سمت دوران بلوغ است. همچنین، ریخت شناسی (مورفولوژی) شبکه ی اندوپلاسمیک خشن از حالت نامنظم، گرد و بزرگ به صورت تیغه های باریک موازی با هم تغییر می کند. شمار و حالت کریستاهای میتوکندری ها، نیز به تغییراتی دچار می شود. در گروه سنی بالای یک سال، علایم پیری به صورت پدیداری گرانول های لیپوفوشین و دژنره شدن آکسون ها مشاهده می گردد. **نتیجه:** با توجه به بررسی حاضر می توان نتیجه گرفت که همراه با رشد جثه و

دکتر سید هادی منصوری*،
دکتر سید رضا قاضی**،
دکتر ملیحه الزمان منصفی***،
*دانشیار گروه آناتومی،
** استاد گروه آناتومی،
دانشکده دامپزشکی،
*** استادیار
گروه زیست شناسی،
دانشکده علوم،
دانشگاه شیراز

نویسنده مسوول:
دکتر ملیحه الزمان منصفی
شیراز، دانشکده علوم،
بخش زیست شناسی ،
دانشگاه شیراز
تلفن: ۰۷۱۱-۲۲۸۰۹۱۶
E-mail:
monsefi@biology.susc.ac.ir

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

افزایش سن، یاخته های عصبی نیز بزرگ تر شده و به تراکم اجسام نیسل نیز افزوده می شود و توانایی ها و ارتباطات حیوان با محیط پیرامون آن افزایش می یابد.

کلید واژه ها: پریکاریون، اجسام نیسل، نخاع، گربه

مقدمه

یاخته های عصبی حرکتی از آغاز تشکیل تا زمان مرگ، به تغییراتی متعدد دچار می شوند. درک تغییرات یاخته های عصبی پس از بلوغ همراه با افزایش سن، نیز می تواند پاره ای از اختلالات وابسته به سن را توجیه کند. بررسی یاخته های عصبی منطقه ی ۱۷ کورتکس بینایی میمون رزوس در گروه های سنی جوان و پیر، به وسیله ی میکروسکوپ الکترونی، پیدایش گرانول های لیپوفوشین، دندریت های دژنره شده، آکسون های میلینه ی دژنره شده و وجود واکوئل های بزرگ با سرچشمه ی ناشناخته و دارای بقایای غشایی در نوروپیل را نشان می دهد [۱]. بررسی تغییرات ساختاری وابسته به سن در پریکاریون یاخته های عصبی حسی گانگلیون حسی واگ موش های صحرایی ٤ تا ٢٤ ماهه با میکروسکوپ الکترونی، شبکه ی اندوپلاسمیک پاره شده، لیزوزوم های ثانویه و سیسترن های متورم در دستگاه گلژی را مشخص می سازد، اما شمار میتوکندری ها و دستگاه گلژی، تغییرات معنی داری را نشان نمی دهد [۲]. بررسی بخش هفتم ناحیه ی گردنی نخاع موش های صحرایی جوان و پیر، از نظر واکنش ایمنی به پروتئین بتا- آمیلوئید و پروتئین پیش ساز آمیلوئید، تنها در ۵۰ درصد یاخته های عصبی حرکتی موش های پیر واکنش مثبت نشان می دهد. تجمع این پروتئین ها، بیانگر احتمال فرایند دژنرسانس یاخته های عصبی، به دلیل این مواد است [۳]. هدف این مطالعه، بررسی افزایش یا کاهش اندامک ها (ارگانل ها) و تغییر ساختار آنها، از دوران جنینی تا زمان بلوغ در یاخته های عصبی حرکتی نخاع گربه بود.

مواد و روش

شمار ۱۵ قلاده گربه ی نر بومی، در پنج گروه سنی گوناگون، دربردارنده ی دو گروه سنی پیش از تولد (جنین ۳۷ روزه و جنین ۵۲ روزه) و سه گروه سنی پس از تولد (نوزاد یک روزه، گربه های بالغ جنسی یا شش ماهه و گربه های بالغ جسمی یا بالای یک سال) مورد بررسی قرار گرفتند. در هر گروه سنی، سه قلاده گربه ی نر بررسی شدند. تشخیص سن گربه های بالغ از روی دندان ها و بر پایه ی جدول تشخیص سن [٤] انجام گردید و گربه های همسن با درازای Crown-rump یکسان انتخاب گردیدند. گربه های نوزاد، از گربه های آبستنی برگزیده شدند، که تحت مراقبت بودند. درباره ی فراهم کردن جنین ها، گربه های ماده را از آغاز آبستنی زیر نظر گرفته و پس از گذشت زمان لازم، جنین ها بیرون آورده شدند. سپس، با اندازه گیری درازای Crown-rump و

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

استفاده از منحنی تعیین سن جنین ها [۵]، جنین های ۳۷ روزه و سن جنین های ۵۲ روزه انتخاب شدند. پس از کشتن انسانی گربه های نر برگزیده شده، پوست کنی و تخلیه ی امعا و احشا و برداشتن ماهیچه های اضافی از روی ستون مهره ای انجام شد. سپس، سقف جمجمه را برداشته و به کمک سوزن ظریف، برپایه ی اندازه و سن حیوان، به اندازه ی ۵ تا ۱۰ میلی لیتر فرمالین بافر ۱۰ درصد در بطن مغزی، به گونه ای تزریق شد، که افزون بر بطن های مغزی، مجرای مرکزی نخاع و فضای زیر عنکبوتیه از مایع پایدار کننده پرگردید. سپس، نمونه را در مایع پایدار کننده، به گونه ای غوطه ور ساختیم، که موقعیت طبیعی ستون مهره ای، تا آنجا که می شد، تغییر نکند. پس از یک تا دو روز، نمونه را از محلول پایدارکننده بیرون آورده، پس از شست و شو با آب جاری، مهره ها را از نخستین مهره ی گردنی تا انتهای مهره های خاجی لامینکتومی کرده و دقت کافی شد، که به نخاع شوکی آسیبی نرسد. برای پایداری کامل نخاع شوکی، نمونه را دوباره به مدت یک هفته، با نگهداشت موقعیت طبیعی ستون مهره، در محلول پایدار کننده ی یاد شده گذاشتیم. سپس، نمونه را بیرون آورده و پس از شست و شو با آب جاری، مننژ را از روی نخاع شوکی و ریشه ی اعصاب نخاعی کنار زده تا بخش های نخاعی پدیدار شوند. از هریک از گربه ها، شمار ۱۰ سگمان نخاعی، دربردارنده ی بخش های Co1، S2، L7، L4، T13، T7، T4، C8، C4 و C1 جدا گردید. پس از برداشت هر بخش، نیمه ی بیشتر آن جدا شده و در فرمالین بافر ۱۰ درصد قرار داده شد، تا با روش متداول بافت شناسی [٦] و به کمک دستگاه پاساژ بافتی مدل اتوتکنیکون (Autotechniquon) فرآیند آماده سازی بافتی انجام و پس از قالب گیری، قطعه های پارافینی دارای بافت نخاعی فراهم گردیدند. سپس، به کمک دستگاه میکروتوم دوار مدل لیتز (Leitz) ساخت آلمان، مقاطع بافتی پنج میکرومتری فراهم و شمار پنج اسلاید از هر بخش با رنگ آمیزی تیونین برای آشکار سازی اجسام نیسل، رنگ آمیزی شدند. نیمه ی کمتر بافت های جدا شده از هر بخش نخاعی را برای بررسی های میکروسکوپ الکترونی در نظر گرفتیم. نمونه ها، به ابعاد ۱×۱×۱ میلی متر برش داده شده و در محلول کارنوسکی، به عنوان پایدار کننده ی نخستین گذاشته شدند. سپس، نمونه ها را به وسیله ی محلول بافر سدیم کاکودیلیت شست و شو داده و در محلول پایدار کننده ی ثانویه ی تترا اکسید اسمیوم یک درصد غوطه ور ساختیم. پس از آبگیری نمونه ها به وسیله درجه های گوناگون الکل اتیلیک و شفاف سازی به وسیله ی اکسید پروپیلین، مرحله ی نفوذ دادن به وسیله ی آمیزه ی اکسید پروپیلین و رزین، به نسبت برابر و سرانجام، به وسیله ی رزین خالص انجام گردید. رزین مورد استفاده، TAAB Resin بود، که آمیزه ای از

Dodecenyl Succinic Anhydride، Methyl Nadic Anhydride، Dimethyl Aminomethylphenol و TAAB است. پس از قالب گیری بافت ها در کپسول های کوچک پلاستیکی، در آغاز مقاطع نیمه نازک بافت (Semi-thin) به ضخامت نیم میکرومتر فراهم و به وسیله ی تولئیدین بلو رنگ آمیزی گردید. سپس، مقاطع بسیار نازک (Ultra-thin)، به ضخامت ٦٠ نانومتر فراهم و بر روی گریدهای مسی منتقل گردید و به وسیله ی استات یورانیل و سیترات سرب رنگ آمیزی شدند. هر دو گونه مقطع بافتی، به وسیله ی دستگاه اولترامیکروتوم مدل Reichert-Jung-Ultracut، ساخت اتریش، انجام پذیرفت. مقاطع بسیار نازک به وسیله ی میکروسکوپ الکترونی فیلیپس، مدل CM10، ساخت آلمان، بررسی و عکسبرداری گردیدند.

یافته ها

اجسام نیسل موجود در سیتوپلاسم یاخته های عصبی حرکتی نخاع، با رنگ آمیزی تیونین به رنگ آبی دیده می شوند و زمینه ی بافتی بی رنگ است. سیتوپلاسم در جنین های ۳۷ روزه به صورت نوار باریک آبی رنگی در حاشیه ی هسته ای بزرگ و روشن جا دارد، که گویای وجود شبکه ی اندوپلاسمیک خشن و ریبوزوم های آزاد هر چند به اندازه ی کم است. هسته در این گروه سنی، بیشترین حجم سلول را به خود اختصاص داده و هستکی آشکار، نیز در آن دیده می شود. با توجه به ریخت شناسی یاخته های عصبی در این گروه سنی، می توان آنها را نوروبلاست در نظر گرفت (شکل ۱). در بررسی میکروسکوپ الکترونی نیز، هسته ی بزرگ و یوکروماتین و هستک تیره و آشکاری در هسته وجود دارد. شبکه ی اندوپلاسمیک خشن متسع شده با سیسترن های گرد دیده می شود. ریبوزوم های آزاد، چه به صورت منفرد و چه به صورت مجتمع (پلی زوم)، در سیتوپلاسم پراکنده بوده، اما از جمعیتی زیاد برخوردار نیستند. میتوکندری های گرد تا بیضی شکل با کریستاهای آشکار، به شمار محدود دیده می شوند (شکل ۲).

در بررسی با میکروسکوپ نوری، یاخته های عصبی حرکتی جنین های ۵۲ روزه بزرگ تر شده و سیتوپلاسم سلول ها، نیز میزانی بیشتر از رنگ آبی را به خود گرفته اند، که گویای وجود اجسام نیسل بیشتری نسبت به گروه سنی پیشین است و می توان نتیجه گرفت، که شبکه ی اندوپلاسمیک خشن و ریبوزوم های بیشتری شکل گرفته اند. بررسی با میکروسکوپ الکترونی نیز، هسته ای بزرگ و یوکروماتین با هستکی برجسته و تیره و بیشتر بیرون مرکز را مشخص می سازد. شبکه های اندوپلاسمیک خشن، همانند گروه سنی پیشین بوده و تنها سیسترن هایی باریک، به صورت پراکنده در سیتوپلاسم وجود دارد. شمار ریبوزوم های آزاد و مجتمع نیز نسبت به گروه پیشین بیشتر به نظر می رسد. همچنین، شمار

شکل۱: فتومیکروگراف یاخته های عصبی حرکتی سگمان هفتم ناحیه کمری درجنین گربه ۳۷ روزه. رنگ آمیزی تیونین، بزرگنمایی۴۰۰.

شکل۲: الکترون میکروگراف از نورون حرکتی سگمان هشتم ناحیه گردنی نخاع در جنین ۳۷ روزه گربه. بزرگنمایی۱۰۵۰۰. شبکه اندوپلاسمیک خشن متسع شده (R)، پلی زومها (P)، میتوکندری (M)، هسته (N)، هستک (NU).

میتوکندری ها، بیشتر از گروه سنی پیشین بوده و کریستاهای آنها، رشد بیشتری را نشان می دهند.

در گروه نوزادان، انباشت اجسام نیسل که با رنگ آمیزی تیونین آبی دیده می شوند، بیشتر از گروه پیشین شده بود. بررسی با میکروسکوپ الکترونی، انباشت بیشتر شبکه های اندوپلاسمیک خشن با سیسترن های باریک و موازی با هم را نسبت به گروه های جنینی نمودار می ساخت. میزان ریبوزوم های آزاد و مجتمع از افزایش آشکار برخوردار بوده و نمایی به نسبت تیره را به سیتوپلاسم می دادند. میتوکندری ها، دارای کریستاهای رشد یافته تر بوده و جمعیت آنها، نسبت به دو گروه پیشین، بیشتر به نظر می رسید.

در گروه سنی شش ماهه، اندازه یاخته های عصبی بسیار بزرگ تر شده و سیتوپلاسم به مقدار چشمگیر پیرامون هسته را فرا گرفته بود. اجسام نیسل به رنگ آبی انباشتی زیاد را در سیتوپلاسم بی رنگ سلول نشان می داد، که نمای پوست ببری را به سلول داده بود. هسته ای درشت و روشن با هستکی تیره و بیرون مرکز در این یاخته های عصبی مشخص بود (شکل۳). بررسی با میکروسکوپ الکترونی نیز هسته ای بزرگ، بسیار روشن با هستکی بزرگ و بیشتر بیرون مرکز را نشان داد. غشای هسته، دارای چین خوردگی هایی آشکار بود و انباشت اجسام نیسل در این چین خوردگی ها و در حقیقت، در تماس نزدیک با غشای بیرونی هسته، آشکارا دیده می شد. شبکه ی اندو پلاسمیک خشن با سیسترن های موازی از افزایشی چشمگیر برخوردار بود، اما

شکل ۳: فتو میکروگراف یاخته های عصبی حرکتی سگمان هفتم ناحیه کمری گربه در گروه سنی ۶ ماهه با بلوغ جنسی. رنگ آمیزی تیونین، بزرگنمایی۴۰۰.

شکل ۴: الکترون میکروگراف از نورون حرکتی سگمان هشتم ناحیه گردنی نخاع گربه در گروه سنی بالای ۱ سال. بزرگنمایی۳۹۰۰ .

سیسترن های گرد و متسع، نیز دوباره توسعه یافته و از انباشتی بالا برخوردار بود. نکته ی جالب توجه، وجود آکسون های میلینه شده پیرامون پریکاریون ها بود، که در میان گروه های سنی پیشین، تنها در نوزادان و به اندازه ی کم دیده می شد.

درگروه سنی بالای یک سال، رنگ پذیری یاخته های عصبی برای اجسام نیسل بیشتر شده و این اجسام، به گونه ای انباشته تر و پررنگ تر، سیتوپلاسم را در برگرفته بودند. بنابراین، در میان گروه های سنی مورد بررسی، بیشترین انباشت اجسام نیسل، به این گروه و کم ترین انباشت اجسام نیسل، به جنین های ۳۷ روزه اختصاص داشت و این روند، در همه ی بخش های مورد بررسی همانند بود. بررسی با میکروسکوپ الکترونی نیز، سیتوپلاسم سرشار از ریبوزوم های آزاد و مجتمع را نشان داد، به گونه ای که، رنگ بسیار تیره ای را به آن بخشیده بود. شمار سیسترن های متسع و نامنظم محدود بود. انباشت کریستاهای میتوکندری ها فراوان بوده و نمایی تیره را به این اندامک می داد. همچنین، شماری چشمگیر لیزوزوم و گرانول های لیپوفوشین دیده می شدند. در این گروه سنی، آکسون ها میلینه شده بودند و میلین های دژنره شده دیده می شدند (شکل۴).

در میان بخش های مورد بررسی در همه ی گروه های سنی، ناحیه ی کمری و خاجی، رشدی آشکارتر را نسبت به دیگر نواحی نشان می دادند و ناحیه ی گردنی، نیز نسبت به ناحیه ی سینه ای، از رشدی سریعتر برخوردار بود.

بحث

یافته های مقاطع بافتی با رنگ آمیزی تیونین، نشان می دهد، که هر چه از گروه سنی جنین ۳۷ روزه به سمت گروه بالغ پیش می رویم، بر انباشت اجسام نیسل در یاخته های عصبی حرکتی افزوده می شود، به گونه ای که، بیشترین انباشت این اجسام، در گروه سنی بالای یک سال، سپس، گروه سنی شش ماهه، نوزاد، جنین ۵۲ روزه و سرانجام کم ترین انباشت در جنین ۳۷ روزه دیده می شود. هر چه سن جاندار بیشتر شود، نیاز به فعالیت و برقراری ارتباط با دیگر یاخته های عصبی و فرستادن پاسخ های حسی و حرکتی، بیشتر می شود. بنابراین، نیاز به ساختن نوروترانسمیتر و نیز، پروتئین های ساختاری، برای مصرف درونی یاخته های عصبی ضروری به نظر می رسد. بنابراین، اجسام نیسل از انباشتی بالاتر برخوردار می شوند. این روند افزایش انباشت اجسام نیسل در ناحیه ی کمری، خاجی و گردنی آشکار تر از ناحیه ی سینه ای است، که احتمالاً به دلیل الگوی تکامل شبکه های عصبی مربوط به اندام حرکتی جلویی و پشتی در نواحی یاد شده است. برای نمونه، حرکات جنین در پایان دوران جنینی، به گونه ای است، که این حرکات درانسان به وسیله ی مادر حس می شود [۷]. با توجه به این که، این حرکات در اندام ها به تحریکات عصبی وابسته است، بنابراین، این امر گویای رشد بیشتر یاخته های عصبی و اجسام نیسل آنها، به ویژه در نواحی شبکه های عصبی است. همچنین، به نظر می رسد، که حرکات پرشی و جهش های این حیوان از ارتفاع (چند ماه پس از تولد) به هماهنگی زیاد در میان دستگاه اعصاب مرکزی و ماهیچه ها نیاز دارد. در بررسی های انجام شده، نیز به هسته ای روشن و یوکروماتیک اشاره گردید، که بیانگر فعالیت این سلول ها است، که لازمه ی تکامل آنهاست. تنها در گروه سنی بالای یک سال، از حالت یوکروماتیک هسته کاسته شده و هسته، اندکی تیره می شود. در این گروه سنی، به سیسترن های نامنظم شبکه ی اندوپلاسمیک، پیدایش لیزوزوم وگرانول های لیپوفوشین اشاره شد، که احتمالاً، به دلیل آغاز دژنره شدن پاره ای از اندامک ها با افزایش سن است. این یافته در بررسی بر روی یاخته های عصبی مغز میمون [۱] و یاخته های عصبی حسی گانگلیون واگ در موش صحرایی [۲]، نیز تأیید شده است.

سپاسگزاری

به این وسیله، سپاس خود را از شورای محترم پژوهشی دانشگاه شیراز، به دلیل فراهم کردن اعتبار مالی این طرح ابراز می کنیم. همچنین، از کمک های فنی آقای غلامرضا شفیعی و آقای حافظ پاک گهر و سرکار خانم قدرت در بخش علوم تشریحی سپاسگزاری می گردد.

A Study on Nissl Bodies within Motor Neurons of the Spinal Cord of Prenatal and Postnatal Cats

SH. Mansouri, Ph.D., SR. Ghazi, D.V.M., Ph.D. **, M. Monsefi, Ph.D. ***, * Associate Professor of Anatomy, School of Veterinary Medicine, ** Professor of Anatomy, School of Veterinary Medicine, *** Assistant Professor of Anatomy, School of Sciences, Shiraz University, Shiraz, Iran*

Correspondence:
M. Monsefi
Department of Biology, School of Sciences, Shiraz University, Shiraz, Iran
Tel: *+98-711-2280916*
E-mail:
monsefi@biology.susc.ac.ir

Background: Communication and adaptation in our world and the understanding of stimulation as well as sending optimum responses and its detection are all entities that demonstrate the need for nerve cells. The knowledge of the developmental stages of these cells can help to solve many problems in life. **Materials and Methods:** In this study, Nissl bodies in the perikaryon of motor neurons of the spinal cord were studied from fetal period to adult age in male cats. These changes were evaluated microscopically in 2 prenatal groups of mid-stage fetus (day 37) and late-stage fetus (day 52) and in 3 postnatal groups of newborn stage (day 1), sexually adult stage (at 6 months) and adult age (more than 1 year). Each group consisted of 3 cats. From all 5 groups, tissue sections of 5 micrometers thickness of C1, C4, C8, T4, T7, T13, L4, L7, S2 and Co1 were prepared and stained with thionine method. In all age groups, the motor neurons in IXth lamina (according to Rexed classification) were used to compare the changes in Nissl bodies. Cytoplasmic and nuclear changes of motor neurons within the ventral horns in C8, T4, L7 and S2 spinal cord segments were studied by electron microscopy (EM). The results of both methods were compared. **Results:** An increase in density and number of Nissl bodies in the cytoplasm of motor neurons of cats was seen with an increase in age. Lipofuscin granules and degenerated axons were also seen in 6-month-old and adult group segments by EM technique. **Conclusion:** It can be concluded that with an increase in the growth of animals, the size of motor neurons and Nissl bodies are increased to facilitate communication with the surrounding environment.

Keywords: Perikaryon, Nissl body, Spinal cord, Cat

منابع

[1]Vincent SL, Peters A, Tigges J: Effect of aging on the neurons within area 17 of Rhesus monkey cerebral cortex. ***Anat Rec*** 1989;223(3):329-431.

[2]Soltanpour N, Baker DM, Santer RM: Neurons and microvessels of the nodose (vagal sensory) ganglion in young adult and aged rat: Morphometric and enzyme histochemical studies. ***Tissue Cell*** 1996;28(5):593-602.

[3]Xie YY, Yao ZB, Wu WT: Survival of motor neurons and expression of beta amyloid

protein in the aged rat spinal cord. ***Neuroreport*** 2000;11(4):697-700.
[4]Ellenport CR, Clair LE St: Carnivore digestive system. In: Getty R, ed. ***Sisson and*** 5th ed. Philadelphia, USA: W.B. Saunders Co., 1975:1538-45.
[5]Evans HE, Sack WO: Prenatal development of domestic and laboratory mammals. ***Anat Histol Embryol*** 1973;2:11-45.
[6]Smith A, Bruton J: ***A colour atlas of histological staining techniques.*** 2nd ed. Wolf Medical Publication, LTD. 1978:133-63.
[7]Sadler TW: Third month to birth. In: Sadler TW, ed. 8th ed. Baltimore, USA: Williams and Wilkins, 2000:12-119.