مقاله تحقیقی

روش بهبود یافته تشریح رشته‌های عصبی

حسین حقیر M.D., Ph.D.*، یوسف صادقی M.D., Ph.D.**

*گروه علوم تشریح دانشگاه علوم پزشکی مشهد

**گروه علوم تشریح دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

تاریخ وصول: آبان ماه ۸۱، تاریخ پذیرش: آذرماه ۸۱

چکیده

هدف: توضیح کامل نحوه اجرای روش تشریح رشته‌های عصبی همراه با تغییراتی که نویسندگان براساس تجربیات بهبود روش و کسب نتایج مطلوب‌تر در مراحل مختلف اجرای این روش به‌وجود آورده‌اند.

مواد و روشها: روش تشریح رشته‌های عصبی را می‌توان به چهار مرحله تقسیم کرد. مرحله اول: چگونگی درآوردن مغز از درون جمجمه و قرار دادن آن در ظرف فرمالین: مغز باید در زمان کمتر از ۱۲ ساعت پس از مرگ از جمجمه خارج شود. هر چه زمان درآوردن مغز از جمجمه به زمان مرگ نزدیک‌تر باشد، نتایج بهتر خواهد بود. در این مرحله باید مراقب بود که به مغز تثبیت نشده صدمه‌ای وارد نشود. سپس نخی از زیر شریان بازیلار عبور داده و مغز در ظرف محتوی فرمالین گذاشته می‌شود. دو سرنخ به دسته‌های ظرف طوری بسته می‌شود که مغز بدون تماس با بدنه ظرف در محلول فرمالین معلق بماند. مرحله دوم: تثبیت کردن مغز؛ مغز حداقل به مدت ۲ ماه در ظرفی حاوی ۴ الی ۵ لیتر محلول فرمالین ۴ درصد باقی می‌ماند تا تثبیت کامل شود. این محلول فرمالین ۴ درصد باید پس از ۲۴ ساعت و بعد از دو هفته با محلول تازه جایگزین گردد. مرحله سوم: یخ زدن مغز؛ در این مرحله مغز تثبیت شده پس از شستشو در آب به مدت یک هفته در فریزری با سرمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد قرار داده می‌شود. در صورت عدم موفقیت می‌توان مرحله یخ زدن را دو تا سه بار تکرار کرد. پس از آن که یخ مغز آب شد، می‌توان مرحله چهارم را آغاز کرد. مرحله چهارم: تشریح رشته‌های عصبی؛ در این مرحله به کمک ابزارهای چوبی نازک دست‌ساز با اندازه نوکهای متفاوت و میکروسکوپ تشریحی با بزرگنمایی ۶× تا ۴۰× اقدام به جداسازی دستجات رشته‌های عصبی می‌شود.

یافته‌ها: روش تشریح رشته‌های عصبی موجب نمایش سه بعدی ساختارهای درونی مغز و افزایش تمایز رنگ بین ماده خاکستری و ماده سفید می‌شود. از سوی دیگر؛ این روش امکان تعقیب دستجات ظریف عصبی را از مبداء تا مقصد مهیا می‌سازد. این دستجات عصبی یا به صورت رشته‌های باریک یا به شکل ورقه‌هایی از ماده سفید از یکدیگر جدا می‌شوند.

نتیجه‌گیری: به دلیل آن که روش تشریح رشته‌های عصبی علاوه بر آن که موجب نمایش سه بعدی ساختارهای آناتومیک درونی مغز می‌شود، جزء معدود روشهای تعقیب رشته‌های عصبی در مغز انسان است و نیز به دلیل نتایج عالی و هزینه بسیار اندک، احیای این روش در مراکز تحقیقات نوروآناتومی توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: روش تشریح رشته‌های عصبی، روش Klingler ، مغز انسان

مقدمه

یافتن روشهای نوین که درک آناتومی را برای دانشجویان آسانتر سازد همیشه ذهن آناتومیست‌ها را به خود مشغول داشته و از سوی دیگر؛ ابداع روشهایی که راهگشای تحقیقات آناتومی باشند نیز همواره با استقبال دانشمندان مواجه شده است. به عبارتی، حل معضلات آموزش آناتومی یا کمک به رفع

آدرس مکاتبه: مشهد، خیابان دانشگاه، دانشکده پزشکی، گروه علوم تشریح، کدپستی ۹۱۳۷۵ Email: drhaghir@Yahoo.com

مشکلات پژوهشی، دو بستری بوده‌اند که منجر به پیدایش انواع روشها شده‌اند. بر این اساس، روشهای آناتومی را می‌توان به روشهای آموزشی و پژوهشی تقسیم کرد.

نوروآناتومی به عنوان یکی از شاخه‌های برجسته علم آناتومی نه تنها از این قاعده مستثنی نیست بلکه هر دو معضل آموزشی و پژوهشی در نوروآناتومی به مراتب چشمگیرتر از سایر شاخه‌های آناتومی است.

در بعد آموزشی، با توجه به آنکه ساختار پیچیده و متعددی در حجمی کوچک در مغز کنار یکدیگر قرار گرفته‌اند، درک و آموزش سه بعدی این ساختارها و چگونگی مجاورات آنها همواره از بزرگترین معضلات نوروآناتومیست‌ها بوده است.

در بعد پژوهشی نیز نوروآناتومیست‌ها با معضل بزرگی مواجه هستند و آن، تعقیب رشته‌های عصبی در مغز انسان است. روشهای معمول تعقیب رشته‌های عصبی در مغز، مانند تعقیب رشته‌های دژنره یا استفاده از ردیابها[1]، با وجود سهولت و دقت فراوان محدود به نمونه‌های زنده است که این امر کاربرد آنها را روی مغز انسان غیرممکن می‌سازد. از سوی دیگر؛ با توجه به پیچیدگی‌های مغز انسان و گسترش فوق‌العاده بیشتر نواحی ارتباطی قشر مغز در انسان نسبت به حیوانات که تبعاً ارتباطات گسترده‌تری را نیز به همراه خواهد داشت، تعمیم‌پذیری اطلاعات به‌دست آمده از مبدا، مسیر و مقصد رشته‌های عصبی مغز حیوانات به مغز انسان به راحتی امکان‌پذیر نخواهد بود. به همین جهت دانشمندان همواره به دنبال یافتن روشهایی هستند که قادر به تعقیب رشته‌های عصبی در مغز انسان باشد.

از آنچه گفته شد می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که هر روشی در نوروآناتومی بتواند در حل یکی از دو معضل آموزشی و پژوهشی فوق راهگشا باشد، دارای ارزش فراوانی خواهد بود. روش پیشنهادی در مطالعه حاضر نه تنها یکی از دو معضل فوق بلکه هر دوی آنها را به نحوی مطلوب و با هزینه‌ای بسیار اندک برطرف می‌سازد.

اولین بار در سال ۱۶۸۵ Vieussens با استفاده از روش تشریح رشته‌های عصبی توانست کپسول داخلی و راه پیرامیدال پل مغزی و بصل‌النخاع را نشان دهد [۱]. روش تشریح رشته‌های عصبی که در مقایسه با برشهای هیستولوژیک، روش قدیمی‌تری محسوب می‌شود، شامل جدا کردن نوارها و دستجات ماده سفید مغز برای نشان دادن سازماندهی آناتومیک آنهاست. این نخستین روشی بود که ارزیابی ساختار سه بعدی واقعی مغز را ممکن ساخت. با پیدایش روشهای هیستولوژیک این روش سالها مورد غفلت قرار گرفت. در اوایل قرن بیستم، و علیرغم اینکه روش تشریح رشته‌های عصبی نسبتاً مشکل و وقت‌گیر است، با اینکه میکروتوم هم ابداع شده بود، هنوز تعدادی از نوروآناتومیست‌ها، مانند Johnston [۲] ، [Jamieson۳] و Hoeve [۴]، برای مطالعه آناتومی مغز، روش تشریح رشته‌های عصبی را بر روشهای هیستولوژیک ترجیح می‌دادند. هر یک از این دانشمندان برای کسب نتایج بهتر، تغییراتی در نحوه اجرای روش تشریح رشته‌های عصبی ایجاد کردند. در سال ۱۹۳۵ Klingler نحوه اجرای روش تشریح رشته‌های عصبی را آنچنان بهبود بخشید که امروزه این روش را به افتخار وی روش Klingler می‌نامند [۵]. در سال ۱۹۵۶ Klingler به همراه Ludwig به کمک این روش، اطلس آناتومی مغز انسان را که شهرت جهانی دارد ، منتشر ساخت [۶]. در همان سال در ایران نیز دکتر جمال‌الدین مستقیمی با استفاده از روش تشریح رشته‌های عصبی دو مقاله را در مورد رشته‌های کمیسور قدامی در هشتمین کنگره بین‌المللی آناتومیست‌ها در ویسبادن آلمان ارائه کرد [۷ و ۸]. پس از آن با ظهور و پیشرفت روشهای هیستولوژیک روش تشریح رشته‌های عصبی سالها مورد غفلت قرار گرفت، تا اینکه Ebeling و همکارانش با رویکردی دوباره به این روش و انتشار مقالاتی در طی سالهای ۱۹۸۸ تا ۱۹۹۲ بار دیگر ارزشهای روش تشریح رشته‌های عصبی را نمایان ساختند [۹، ۱۰ و ۱۱]. سپس Türe و همکارانش طی سالهای ۱۹۹۷ تا ۲۰۰۰ با استفاده از روش تشریح رشته‌های عصبی به کشفیات بسیار مهمی در مغز انسان نایل شدند [۱۲، ۱۳ و ۱۴].

در سال ۲۰۰۰ نویسندگان این مقاله با استفاده از روش تشریح رشته‌های عصبی دو مقاله را در مورد رشته‌های کپسول‌های خارجی و منتهایی مغز انسان منتشر کردند

1- Tracers

[۱۵ و ۱۶]. هر چند روش تشریح رشته‌های عصبی در درجه اول برای جداسازی دستجات رشته‌های عصبی ماده سفید به‌کار می‌رود ولی همانطور که خواهید دید اگر مراحل مختلف آن، مخصوصاً مرحله یخ زدن، با موفقیت کامل اجرا شود در تشریح ماده خاکستری نیز به اندازه ماده سفید مؤثر خواهد بود. در این مقاله در نظر است تا ضمن توضیح کامل نحوه اجرای روش تشریح رشته‌های عصبی، تغییراتی را که نویسندگان براساس تجربیات خود برای بهبود روش و کسب نتایج مطلوب‌تر در مراحل مختلف اجرای آن به‌وجود آورده‌اند، در اختیار خوانندگان قرار دهند.

مواد و روشها

به منظور سهولت در آموزش روش تشریح رشته‌های عصبی، این روش را در چهار مرحله مورد بررسی قرار می‌دهیم.

مرحله اول؛ درآوردن مغز از درون جمجمه و قرار دادن آن در ظرف فرمالین

نخستین نیاز برای موفقیت در روش تشریح رشته‌های عصبی تازه بودن مغز است [۶]. بهترین نتایج زمانی حاصل می‌شود که بیش از ۱۲ ساعت از مرگ نگذشته باشد [۱۲]. هرچه زمان درآوردن مغز از جمجمه به زمان فوت نزدیکتر باشد، نتایج بهتری به‌دست خواهد آمد. درآوردن مغز در جسدهای تازه (اتوپسی) به مراتب مشکل‌تر از درآوردن مغز در جسدهای تثبیت شده است، چراکه مغز تثبیت نشده قوامی ژله مانند دارد و به راحتی با کوچکترین فشار یا حرکت شدید دچار آسیب می‌شود. در این بخش، چگونگی در آوردن مغز از درون جمجمه در جسدهای تازه (اتوپسی) توضیح داده می‌شود.

ابتدا یک برش نعل اسبی شکل روی پوشش سر ایجاد می‌شود. این برش از پشت یک گوش شروع شده و پس از گذشتن از فرق سر به پشت گوش دیگر می‌رسد (شکل ۱).

نیمه قدامی بخش متحرک پوشش سر روی پیشانی و صورت و نیمه خلفی آن روی گردن پایین کشیده می‌شود. سپس به کمک اسکالپل عضلات تمپورالیس از روی جمجمه برداشته می‌شود تا در هنگام بریدنِ جمجمه خون به اطراف پاشیده نشود. پس از آن که پریوست استخوان کاملاً در معرض دید قرار گرفت با یک اره ارتعاشی برشی دایره‌ای شکل روی استخوان جمجمه ایجاد می‌شود (شکل ۲).

در این مرحله باید مراقبت بود که اره به بافت مغز صدمه نزند. سپس بخش فوقانی (سقف) جمجمه طوری برداشته می‌شود که سخت شامه روی مغز باقی بماند، آنگاه سخت شامه و داس مغز با احتیاط از روی نیمکره‌ها برداشته می‌شوند (شکل ۳).

اکنون با یک دست لوبهای فرونتال از کف جمجمه بلند می‌شوند وبا دست دیگر و به کمک یک اسکالپل، اتصالات مغز به کف جمجمه شامل اعصاب بینایی، شرایین کاروتید داخلی، سایر اعصاب کرانیال، چادرینه مخچه، شرایین ورتبرال و محل تبدیل نخاع به بصل النخاع قطع می‌شود (شکلهای ۴ و ۵).

برای انتقال مغز تثبیت نشده باید مطابق شکل ۶ مغز را روی کف یک دست و با احتیاط جابه‌جا کرد. قبل از قرار دادن مغز در ظرف فرمالین مطابق شکل ۷ باید یک نخ محکم از زیر شریان بازیلار عبور داده شود؛ سپس مغز با احتیاط درون ظرف فرمالین قرار داده می‌شود و دو سر نخی که از زیر شریان بازیلار عبور داده شده بود به دسته‌های ظرف بسته می‌شود به طوری که مغز در محلول فرمالین معلق بماند و با بدنه ظرف تماس نداشته باشد. بدین ترتیب در هنگام تثبیت شدن شکل ظاهری مغز حفظ خواهد شد (شکل ۸).

مرحله دوم: تثبیت کردن مغز

همانطور که گفته شد محلول تثبیت‌کننده در روش تشریح رشته‌های عصبی، فرمالین است. به خاطر داشته باشید که هدف این روش تشریح رشته‌های عصبی است، بنابراین عمل تثبیت شدن مغز باید به مراتب کامل‌تر از یک تشریح ساده مغز صورت بگیرد. حجم محلول فرمالین، غلظت و نوع فرمالین مصرفی و تعویض‌های به موقع آن و مهمتر از همه مدت زمانی که باید مغز در محلول فرمالین بماند، نکاتی است که باید به آنها توجه داشت.

مغز باید بلافاصله پس از خروج از جمجمه درون ظرفی محتوی ۴ تا ۵ لیتر محلول فرمالین قرار بگیرد. از آنجا که

غلظتهای بالای فرمالین موجب تثبیت شدن سریع قسمتهای سطحی مغز می‌شود و این امر نوعی سد انتشاری ایجاد می‌کند که مانع از نفوذ فرمالین به بخشهای عمقی‌تر مغز می‌شود، بنابراین در این حالت هر چند مغز ظاهری مناسب پیدا می‌کند ولی تثبیت شدن ماده سفید و هسته‌های قاعده‌ای که در عمق قرار دارند به خوبی صورت نمی‌گیرد و چنین مغزی برای روش تشریح رشته‌های عصبی مناسب نخواهد بود. برخی از دانشمندان برای تثبیت کردن مغز در روش تشریح رشته‌های عصبی از محلول فرمالین ۱۰ درصد استفاده کرده‌اند [۱۲ و ۱۷]؛ اما صاحبنظران دیگر محلول فرمالین ۵ درصد را مناسبتر می‌دانند [۵، ۶ و ۱۸]. Hoeve معتقد است که مغز باید روز اول در محلول فرمالین ۱ درصد، روز دوم در محلول فرمالین ۲ درصد، روز سوم در محلول فرمالین ۳ درصد، روز چهارم در محلول فرمالین ۴ درصد و بالاخره روز پنجم در محلول فرمالین ۵ درصد قرار داده شود و در همین محلول فرمالین ۵ درصد باقی بماند [۴]. وی اعتقاد دارد که اگر مغز از ابتدا در محلول فرمالین ۵ درصد قرار داده شود، اغلب حدود یک اینچ از سطح خارجی آن تثبیت شده و قسمتهای درونی‌تر تثبیت نشده باقی می‌ماند؛ یا حداقل آن قدر تثبیت نمی‌شود که برای روش تشریح رشته‌های عصبی مناسب باشد [۴]. در تجربیاتی که نویسندگان مقاله حاضر به دست آورده‌اند [۱۵ و ۱۶] عمل تثبیت شدن با محلول فرمالین ۴ درصد (فرمالین تجارتی ۴ واحد، آب ۹۶ واحد) نه تنها از محلول فرمالین ۱۰ درصد بهتر صورت می‌گیرد بلکه حتی در مقایسه با محلول فرمالین ۵ درصد هم بهتر است. به‌علاوه؛ چنانچه مغز از اول در محلول فرمالین ۴ درصد قرار داده شود دیگر نیاز به عبور دادن آن از محلولهای فرمالین با غلظت افزایش یابنده (از ۱ درصد به بالا) نخواهد بود.

به اعتقاد نویسندگان، محلول فرمالین موجود در ظرف باید پس از ۲۴ ساعت و نیز پس از ۲ هفته با محلول فرمالین تازه ۴ درصد جایگزین شود. تعویض محلول فرمالین پس از ۲۴ ساعت به این دلیل است که مقداری خون، CSF و نسوج وارد محلول می‌شود. این امر نه تنها ظاهر خوشایندی ندارد بلکه باعث می‌شود که اولاً غلظت محلول فرمالین کاهش می‌یابد و ثانیاً خون موجود در محلول روی بافت مغز رسوب کند و موجب کدورت غیرطبیعی مغز شود. این کدورت نه تنها ظاهر بدی به مغز می‌دهد بلکه تمایز ماده سفید از ماده خاکستری را نیز مشکل می‌سازد. نکته مهم دیگری که باید در اینجا به آن اشاره شود نوع فرمالین مصرفی است. چنانچه از فرمالین نامرغوب استفاده شود دو ایراد فوق باز هم به‌وجود خواهد آمد ، یعنی اولاً درصد فرمالین نامرغوب چندان قابل اعتماد نیست و این احتمال وجود دارد که غلظت محلول کمتر یا بیشتر از حد مطلوب شود، ثانیاً به دلیل رسوب ناخالصی‌های موجود در فرمالین نامرغوب امکان کدر شدن غیرطبیعی بافت مغز وجود دارد. عمل تعویض دوم محلول فرمالین که پس از گذشت ۲ هفته انجام می‌شود، به این دلیل است که در طی این مدت مقداری از فرمالدیید محلول در آب به صورت گاز متصاعد شده و غلظت محلول فرمالین کاهش می‌یابد. البته چنانچه در ظرف محکم بسته شده باشد، این کاهش غلظت خیلی کمتر خواهد بود. دربارهٔ مدت زمانی که باید مغز در محلول فرمالین باقی بماند، عقاید مختلفی وجود دارد. برخی از دانشمندان زمان ۴-۲ هفته راکافی می‌دانند [۹، ۱۰ و ۱۱] در حالی که گروهی از صاحبنظران معتقدند که حداقل زمان لازم برای تثبیت شدن مغز ۳-۲ ماه است [۵ و ۱۸]. به تجربه برای نویسندگان این مقاله ثابت شده است که زمان لازم برای تثبیت شدن مغز به طوری که برای تشریح رشته‌های عصبی مناسب باشد، حداقل دو ماه است. نگهداری مغز در محلول فرمالین ۴ درصد برای مدتی بیش از ۲ ماه حتی تا یک سال، نه تنها مضر نیست بلکه می‌تواند مفید باشد.

مرحله سوم؛ یخ زدن مغز

پیش از یخ زدن باید مغز را چند ساعت در آب شستشو داد تا حداقل بخشی از فرمالین آن شسته شود. انجام این کار موجب خواهد شد که هنگام تشریح چشم محقق کمتر از بخار فرمالدیید آزرده شود. سپس مغز در حالی که روی سطح صافی قرار دارد درون فریزر قرار داده می‌شود.

Klingler در سال ۱۹۳۵ سرمای مورد نیاز برای این مرحله را ۶- تا ۸- درجه سانتی‌گراد ذکر کرد [۵]، سپس در سال ۱۹۵۶ وی سرمای ۸- تا ۱۰- درجه سانتی‌گراد را توصیه نمود [۶] و

سرانجام در سال ۱۹۶۰ او سرمای ۱۰- تا ۱۵- درجه سانتی‌گراد را مناسب دانست [۱۸]. گروهی از دانشمندان سرمای مناسب برای مرحله یخ زدن را ۲۵- تا ۳۰- درجه سانتی‌گراد عنوان کرده‌اند [۱۷]. نویسندگان مقاله حاضر به تجربه دریافته‌اند که بهترین نتایج را در سرمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد می‌توان به‌دست آورد. سرمای کمتر از این حد، امکان عدم موفقیت در جداسازی مناسب رشته‌های عصبی را افزایش می‌دهد و سرمای شدیدتر می‌تواند آنچنان منجر به سست شدن بافت مغز شود که در هنگام کار متلاشی شود.

زمان لازم برای نگهداری مغز در فریزر یک هفته است. در روز دوم یا سوم رنگ مغز به سمت خاکستری مایل به قهوه‌ای میل می‌کند و روز چهارم یا پنجم ترکهایی روی قشر مغز به وجود می‌آید که نشانهٔ آماده‌شدن مغز جهت مرحله تشریح رشته‌های عصبی است [۵].

سپس مغز از فریزر خارج شده و به مدت ۳-۲ ساعت در ظرف آبی به حرارت ۳۵ تا ۴۰ درجه سانتی‌گراد [۵] یا به مدت ۲۴ ساعت در آب جاری [۱۷] قرار داده می‌شود تا یخ آن باز شود. به اعتقاد نویسندگان این مقاله، قراردادن مغز در حرارت اتاق به مدت ۲۴ ساعت برای آب شدن یخ آن مناسب‌تر است [۱۵ و ۱۶]. در هر حال قبل از شروع به تشریح رشته‌های عصبی ابتدا باید مطمئن شوید که یخ مغز کاملاً آب شده است. اکنون مغز آماده تشریح است. چنین مغزی را می‌توان برای مدت زمان نامحدودی در محلول فرمالین ۴ درصد نگهداری کرد [۱۵، ۱۶ و ۱۷]. البته هر وقت بخواهید مغز نگهداری شده در فرمالین را تشریح کنید، باید ابتدا مرحله شستشو در آب را انجام دهید تا چشم شما دچار سوزش نشود.

نتیجه عمل یخ زدن، باز شدن بافت عصبی مغز بدون آسیب به ساختار آن از جهات دیگر است. مکانیسم این عمل احتمالاً به شرح زیر است: محلول آبی فرمالین در لابه‌لای رشته‌های عصبی به خوبی نفوذ می‌کند در حالی که به درون این رشته‌ها یا اصلاً نفوذ نمی‌کند یا به مقدار اندکی نفوذ می‌یابد. در نتیجه زمانی که مغز یخ می‌زند، توده‌های اصلی بلور یخ نیز در لابه‌لای رشته‌های عصبی شکل می‌گیرد. از آنجا که حجم آب در هنگام یخ زدن حدود ۱۰ درصد افزایش می‌یابد، این امر موجب جداشدن رشته‌های عصبی از یکدیگر می‌شود. این همان باز شدن رشته‌های عصبی است که تعقیب دستجات ظریف رشته‌های عصبی را آسانتر و در حقیقت آن را ممکن می‌سازد [۵، ۶، ۹ و ۱۸]. عمل یخ زدن نه تنها روی ماده سفید بلکه روی ماده خاکستری مغز نیز مؤثر است. یخ زدن موجب بارزتر شدن تفاوت رنگ بین ماده سفید و ماده خاکستری مغز می‌شود بدون آن که از رنگ‌آمیزی خاصی استفاده شود [۵ و ۱۷] . به علاوه محلول آبی فرمالین با نفوذ به لابه‌لای سلولهای موجود در ماده خاکستری در مرحله یخ زدن موجب متخلخل شدن ماده خاکستری می‌شود که به جداسازی ماده خاکستری از ماده سفید کمک می‌کند.

نتیجه انجماد با همه مغزها موفقیت یکسان ندارد. همانند هر روش دیگری در روش تشریح رشته‌های عصبی نیز گاهی عدم موفقیت وجود خواهد داشت. باید سعی شود این عدم موفقیت کمتر به ماهیت و نوع مغز یا نارسایی روش ارتباط داده شود . چنانچه مغزی که یخ زده شده رضایت شما را فراهم نمی‌کند، در اغلب موارد یخ زدن مجدد کمک کننده است. به اعتقاد نویسندگان، می‌توان یک مغز را تا سه بار و هر بار حدود یک هفته منجمد کرد تا سرانجام به سطح مطلوب برسد ولی نگهداری مغز در فریزر برای بار اول به مدت بیش از یک هفته کمکی به افزایش احتمال موفقیت این روش نخواهد کرد. به عبارت دیگر، به جای نگهداری مستمر مغز به مدت سه هفته در فریزر باید این مغز سه بار و هر بار به مدت یک هفته منجمد و در فواصل دوره‌های انجماد یخ آن آب شود. لازم به یادآوری است که دوره‌های یخ زدن مجدد نباید از یک هفته کمتر باشد.

مرحله چهارم: تشریح رشته‌های عصبی

نکته مهم در هنگام تشریح رشته‌های عصبی آن است که نمونه‌ها باید همیشه در هنگام کار مرطوب باشند؛ به‌همین جهت باید ضمن کار، گاهی نمونه‌ها را در آب غوطه‌ور کرد. تشریح نمونه‌هایی که رطوبت خود را از دست داده‌اند موجب پاره شدن رشته‌های عصبی می‌شود.

از آنجا که تشریح رشته‌های عصبی وقت گیر است و امکان دارد چندین روز طول بکشد، در فواصلِ دوره‌های تشریح باید

نمونه‌ها در محلول فرمالین ۴ درصد قرار بگیرند. هنگامی که مجدداً کار روی نمونه‌ها شروع می‌شود باید مرحله شستشو با آب تکرار گردد تا در هنگام کار دچار سوزش چشم‌ها نشوید. زمانی که تشریح نمونه به پایان رسید، می‌توان آن را برای مقاصد آموزشی به مدت نامحدودی در محلول فرمالین ۴ درصد نگهداری کرد.

برای تشریح رشته‌های عصبی هیچ ابزار اختصاصی وجود ندارد. دانشمندان براساس سلیقه خود از ابزارهای مختلفی برای این منظور استفاده کرده‌اند. هر چند برخی از دانشمندان همانند Jamieson و Klingler برای تشریح رشته‌های عصبی از وسایلی همچون فورسپس‌های نوک کند معمولی و فورسپس‌های ساعت‌سازان سوئیسی استفاده کرده‌اند، ولی به اعتقاد نویسندگان این مقاله برخورد هر نوع ابزار فلزی هرچند بسیار ظریف موجب پاره شدن رشته‌های عصبی می‌شود [۳، ۶ و ۱۸].

ابزارهایی که نویسندگان مقاله حاضر برای تشریح رشته‌های عصبی توصیه می‌کنند عبارتند از:

۱ - میله‌های چوبی باریک و دست‌ساز با اندازه نوک‌های متفاوت: برای حذف ماده خاکستری و جداسازی نوارهای بزرگ عصبی [۱-۱۲]. نمونه‌های آن در شکل ۹ مشاهده می‌شود.

۲ - چوب باریک موجود در ست مانیکور: این ابزار بسیار خوش‌دست است و دارای یک انتهای تیز و یک انتهای پهن است. با نوک تیز آن رشته‌های عصبی به صورت دستجات ظریفی جدا می‌شوند و با انتهای پهن آن این دستجات عصبی جابجا می‌گردند. از انتهای پهن این ابزار می‌توان برای بلندکردن بخشهای بزرگی از بافت، مخصوصاً برای بلند کردن رشته‌های ارتباطی کوتاه، استفاده کرد (شکل ۹).

۳. برای تشریح دستجات عصبی بسیار ظریف می‌توان از چند تار پشمی که به هم چسبیده شده باشند، تارهای کتانی مرطوب، موی قلم موهای ظریف یا دُم پرهای نازک استفاده کرد [۶ و ۱۸].

در سالهای اخیر برای افزایش دقت روش تشریح رشته‌های عصبی، جداسازی دستجات عصبی را به کمک میکروسکوپ تشریحی و با بزرگنمایی ۶× تا ۴۰× انجام می‌دهند [۱۶-۹].

یافته‌ها

یافته‌های این روش بستگی به هدف مطالعه دارد. چنانچه هدف آموزش آناتومی باشد، این روش می‌تواند تشریح مرحله به مرحله نیمکره‌های مغزی را از سطح خارجی یا داخلی نیمکره ممکن سازد (شکلهای ۱۰ و ۱۱). همچنین در برشهای سهمی، ساژیتال و ترانسورس مغز، روش تشریح رشته‌های عصبی با بارزتر کردن تمایز رنگ بین ماده خاکستری و ماده سفید موجب نمایان‌تر شدن هسته‌های مختلف و قشر مغز می‌شود (شکل ۱۲). به علاوه به دلیل سست شدن بافت ماده خاکستری، امکان حذف قشر و هسته‌های مختلف و در نتیجه آشکار شدن دستجات عصبی ماده سفید در این روش وجود خواهد داشت، کاری که در یک مغز تثبیت شده معمولی غیر ممکن است (شکل ۱۳).

در بعد پژوهشی، این روش امکان تعقیب رشته‌های عصبی مغز انسان را از مبدا تا مقصد مهیا می‌کند، هر چه نوک ابزار ظریف‌تر، بزرگنمایی میکروسکوپ تشریحی بالاتر و حوصله و وقت بیشتری صرف شود، امکان جداسازی دستجات ظریف‌تر عصبی بیشتر خواهد بود. بسته به این که رشته‌های عصبی چگونه کنار هم قرار گرفته باشند، به صورت دستجات ظریف یا ورقه‌هایی از ماده سفید از یکدیگر جدا می‌شوند (شکلهای ۱۴ و ۱۵). در روش تشریح رشته‌های عصبی، علاوه بر مبدا و مقصد رشته‌ها، مسیر و مجاورات آنها با سایر عناصر تشریح به صورت سه بعدی مشاهده می‌شود.

بحث

در بعد آموزشی، به کمک روش تشریح رشته‌های عصبی می‌توان ضمن تشریح مرحله به مرحله مغز از سطح خارجی یا سطح داخلی نیمکره، دستجات معروف خروجی[1]، ارتباطی[2] و تقاطعی[3] آن را به صورت سه بعدی و در کنار هسته‌ها و سایر عناصر تشریحی به دانشجویان نشان داد. به‌علاوه زمانی که با ایجاد برشهای متوالی در سطوح سهمی، ساژیتال و ترانسورس قصد آموزش این برشها را دارید، روش تشریح رشته‌های عصبی

1- Projection
2- Association
3- Commissural

با افزایش تمایز رنگ ماده خاکستری و سفید، بدون استفاده از رنگ‌آمیزی خاص، موجب می‌شود تا هسته‌ها و قشر مغز به وضوح قابل رویت شوند. به کمک این روش می‌توان قشر مغز را بدون صدمه به ماده سفید زیر آن کاملاً برداشت. همچنین حذف هسته‌های قاعده‌ای که توسط ماده سفید احاطه شده‌اند نیز به کمک روش تشریح رشته‌های عصبی امکان‌پذیر است. بنابراین توصیه می‌شود هنگام تشریح عملی مغز، به جای استفاده از روش معمول تثبیت و تشریح کلاسیک، از روش تشریح رشته‌های عصبی استفاده شود.

از سوی دیگر؛ توصیفاتی که از مجاورات، مسیر و ارتباطات دستجات رشته‌های عصبی وجود دارد و نسبتاً کامل به‌نظر می‌رسد، اغلب براساس مطالعات تجربی روی میمون سانان پست‌تر از انسان استوار است و الزاماً قابل تعمیم به مغز انسان نیست [۱۲ و ۱۴]. امروزه بسیاری از دانشمندان توصیفات موجود از ویژگیهای آناتومیک رشته‌های عصبی ماده سفید مغز را کافی نمی‌دانند [۱۲ و ۱۴]. به‌عنوان مثال اکنون می‌دانیم که دسته پس سری پیشانی فوقانی که تا همین اواخر به‌عنوان یک دسته ارتباطی معروف مغز تدریس می‌شد، اساساً وجود ندارد.

اثبات عدم وجود این دسته عصبی توسط Türe و همکارانش [۱۲] و به کمک روش تشریح رشته‌های عصبی صورت گرفت. همچنین باید اذعان کرد که درک ما از جزئیات ارتباطات و انواع رشته‌های موجود در بخشهای مختلف ماده سفید مغز کامل نیست [۱۴]. به عنوان مثال، جزئیات رشته‌های عصبی کپسول‌های خارجی و منتهایی که از بخشهای معروف ماده سفید مغز انسان هستند تا چندی پیش ناشناخته بود؛ تا آن که نویسندگان این مقاله و همکارانشان با استفاده از روش تشریح رشته‌های عصبی [۱۵ و ۱۶] و نیز به کمک روشهای هیستولوژیک [۱۹ و ۲۰] موفق به توصیف رشته‌های عصبی این کپسول‌ها در مغز انسان شدند. با توجه به اهمیت شناخت مجاورات و ارتباطات رشته‌های عصبی ماده سفید مغز انسان در تشخیص آناتومیک بیماریهای نورولوژیک و بهبود روشهای جراحی مغز و اعصاب و نیز عدم تعمیم‌پذیری آسان اطلاعات بدست آمده از مغز حیوانات به مغز انسان، ارزش روشهایی را که امکان کار روی مغز انسان را فراهم می‌سازند، آشکار می‌نماید. با وجود مزایای فراوان، روش تشریح رشته‌های عصبی دارای محدودیت است. از آنجا که رشته‌های عصبی مغز مجاورات پیچیده‌ای دارند، گاهی نشان دادن یک سیستم رشته‌ای منجر به تخریب سیستم‌های رشته‌ای دیگر می‌شود [۱۴]. برای مقابله با این محدودیت ترکیب روشهای هیستولوژیک قابل اجرا روی مغز انسان با روش تشریح رشته‌های عصبی توصیه می‌شود [۱۲، ۱۴، ۱۵، ۱۶، ۱۹ و ۲۰]. ترکیب روشهای جداگانه اغلب موجب جمع شدن مزایا و حذف معایب آنها می‌شود [۱۴].

رعایت نکات زیر احتمال موفقیت روش تشریح رشته‌های عصبی را افزایش می‌دهد:

۱- هرچه مغز تازه‌تر باشد، نتایج تشریح رشته‌های عصبی بهتر خواهد بود.

۲- هر چه خون بیشتر در مغز باشد، تفاوت رنگ ماده خاکستری و سفید بهتر خواهد بود. بنابراین تشریح مغزهای دچار پرخونی[1] بهتر از تشریح مغزهای آنمیک است.

۳- هر چه مغز مدت بیشتری در محلول فرمالین ۴ درصد باقی بماند، نتایج بهتر خواهد بود.

۴- در مواقعی که یک بار منجمد کردن مغز کافی نبوده است، تکرار مرحله یخ زدن اغلب مفید خواهد بود.

۵- به‌کارگیری میکروسکوپ تشریحی و ابزارهای چوبی ظریف، نتایج بهتری را به همراه خواهد داشت.

علی‌رغم وقت‌گیر بودن روش تشریح رشته‌های عصبی، به دلیل آنکه این روش علاوه بر نمایش سه بعدی ساختارهای آناتومیک درونی مغز، جزو معدود روشهایی است که تعقیب رشته‌های عصبی را در مغز انسان ممکن می‌سازد و نیز به دلیل نتایج عالی و هزینه بسیار اندک آن، احیاء این روش در مراکز تحقیقات نوروآناتومی توصیه می‌شود. انجام تحقیقات و کسب تجربه بیشتر با این روش ضمن گسترش آگاهی از ساختار رشته‌های ماده سفید مغز و کمک به آموزش نوروآناتومی، موجب اصلاح و بهبود هرچه بیشتر این روش نیز خواهد شد.

1- Congestion

References

1. **Vieussens R**. Neurographia Universalis. Lyons, Lugduni, Apud Joannem Certe, 1685
2. **Johnston JB**: A new method of brain dissection. Anat Rec. 1908; 2: 345-358
3. **Jamieson EB**: The means of displaying, by ordinary dissection, the larger tracts of white matter of the brain in their continuity. J Anat Physiol. 1909; 18: 225-234
4. **Hove HJH**: A modern method of teaching the anatomy of the brain. Anat Rec. 1909; 3: 247-257
5. **Klingler J**: Erleichterung der macroskopischen Praeparation des gehirns durch den Gefrierprozess. Schweiz Arch Neurol Psychiatr. 1935; 36: 247-256
6. **Ludwig E, Klingler J**: Atlas cerebral human. Basel, Karger, 1956
7. **Mostaghimi J**: There is not any direct relationship between two olfactory bulbs through anterior commissure. 8th International congress of Anatomists, Wiesbaden 1965, p 83
8. **Mostaghimi J**: Two more branches for anterior commissure. 8th International congress of Anatomists, Wiesbaden, 1965, p 83
9. **Ebeling U, Reulen HJ**: Neurosurgical topography of the optic radiation in the temporal lobe. Acta Neuro chir (Wien). 1988; 92: 29-36
10. **Ebeling U, Reulen HJ**: Neurosurgical topography of the pyramidal tract. Advanc Neurosurg. 1989; 17: 194-197
11. **Ebeling U, Cramon D**: Topography of the Uncinate fascicle and adjacent temporal fiber tracts. Act Neurochir (Wien). 1992; 115: 143-148
12. **Türe U, Yasargil MG, Pait TG**: Is there a superior occipitofrontal fasciculus? A microsurgical anatomic study. Neurosurgery. 1997; 40: 1226-1232
13. **Türe U, Yasargil DC, AL-Mefty O, Yasargil MG**: Topographic anatomy of the insular region. J Neurosurg. 1999; 90: 720-733
14. **Türe U, Yasargil MG, Friedman AH, AL-Mefty O**: Fiber dissection technique: Lateral aspect of the brain. Neurosurgery. 2000; 47(2): 417-427

۱۵. **حقیر حسین، صادقی یوسف، مهرآئین پرویز:** بررسی رشته‌های عصبی کپسول خارجی مغز انسان. پژوهنده ۱۳۷۹، سال ۵، شماره ۲، صفحات ۱۴۴-۱۳۵

۱۶. **حقیر حسین، صادقی یوسف، مهرآئین پرویز، حسینی احمد:** تعقیب رشته‌های عصبی کپسول منتهایی مغز انسان. حکیم ۱۳۷۹ ، سال ۳، شماره ۴، صفحات ۳۵۳-۳۴۴

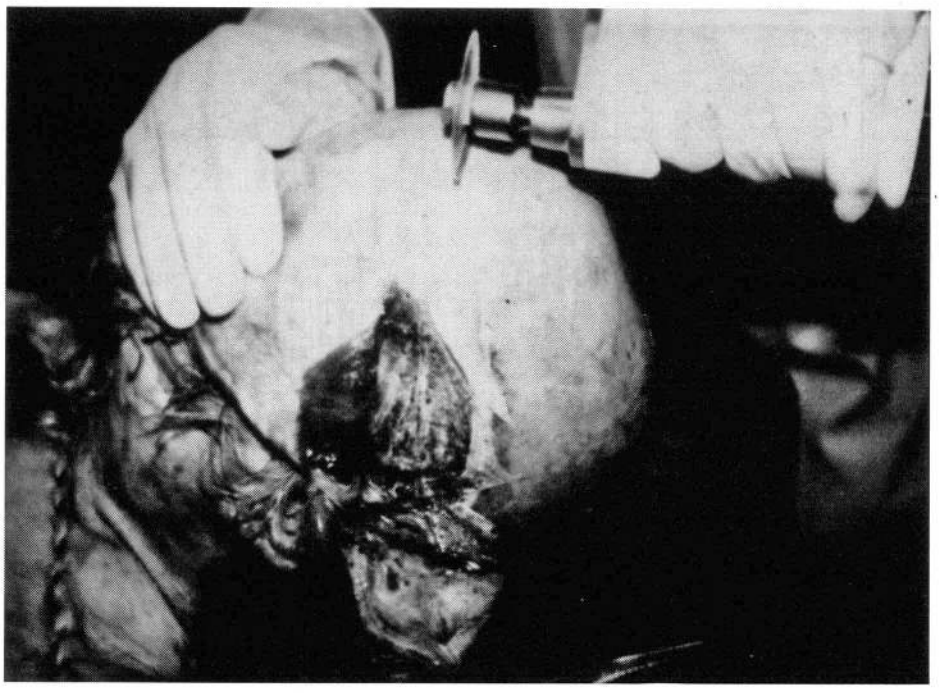
17. **Williams TH, Gluhbegovic N, Jew JY**: The Human Brain: Dissection of the Real Brain. Williams, 1997
18. **Klingler J, Gloor P**: The connections of the amygdala and of the anterior temporal cortex in the human brain. J comp Neurol. 1960; 115: 333-369

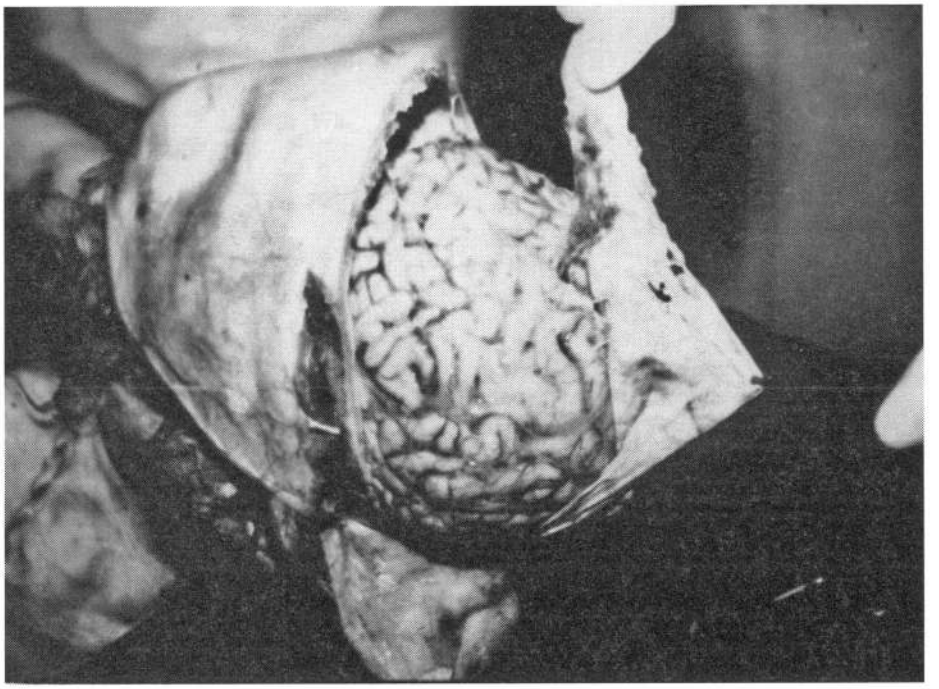
۱۹. **حقیر حسین، صادقی یوسف، مهرآئین پرویز، حسینی احمد:** تعقیب رشته‌های عصبی میلین‌دار کپسول خارجی مغز انسان به روش هیستولوژیک. یاخته ۱۳۸۰، سال ۳، شماره ۹، صفحات ۳۷-۳۱

۲۰. **حقیر حسین، صادقی یوسف، حسینی احمد، مهرآئین پرویز:** بررسی هیستولوژیک رشته‌های عصبی میلین‌دار کپسول انتهایی مغز انسان. یاخته ۱۳۸۰، سال ۳، شماره ۱۰، صفحات ۸۸-۸۳

شکل ۱. برشی که روی پوشش سر در پشت یک گوش ایجاد شده، مشاهده می‌شود.
این برش تا فرق سر ادامه یافته و در نهایت به پشت گوش دیگر می‌رسد.

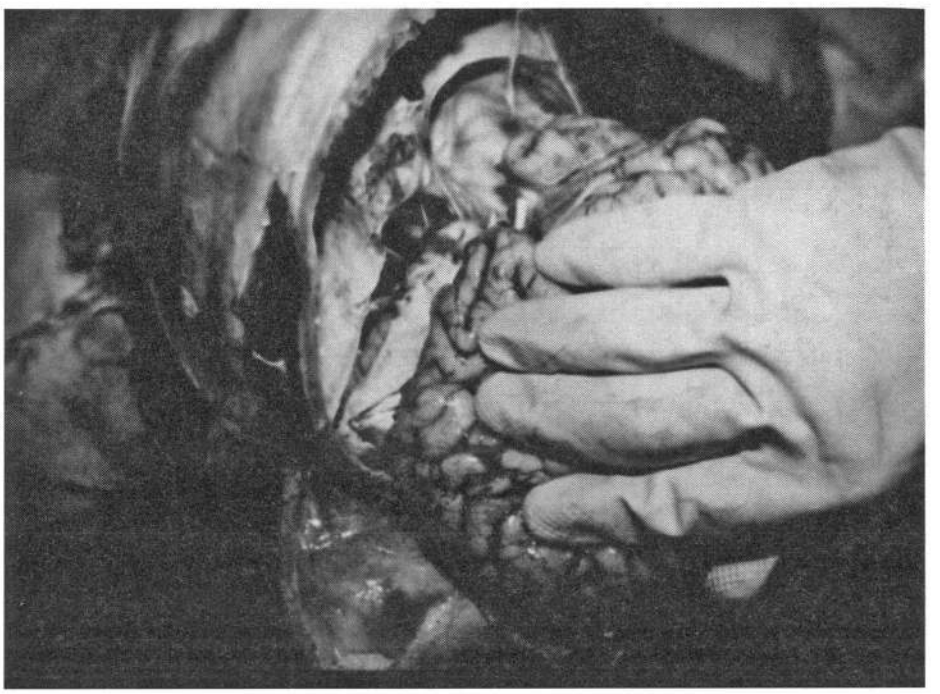
شکل ۲. ایجاد برش دایره‌ای شکل روی استخوان جمجمه به‌وسیلهٔ اره ارتعاشی

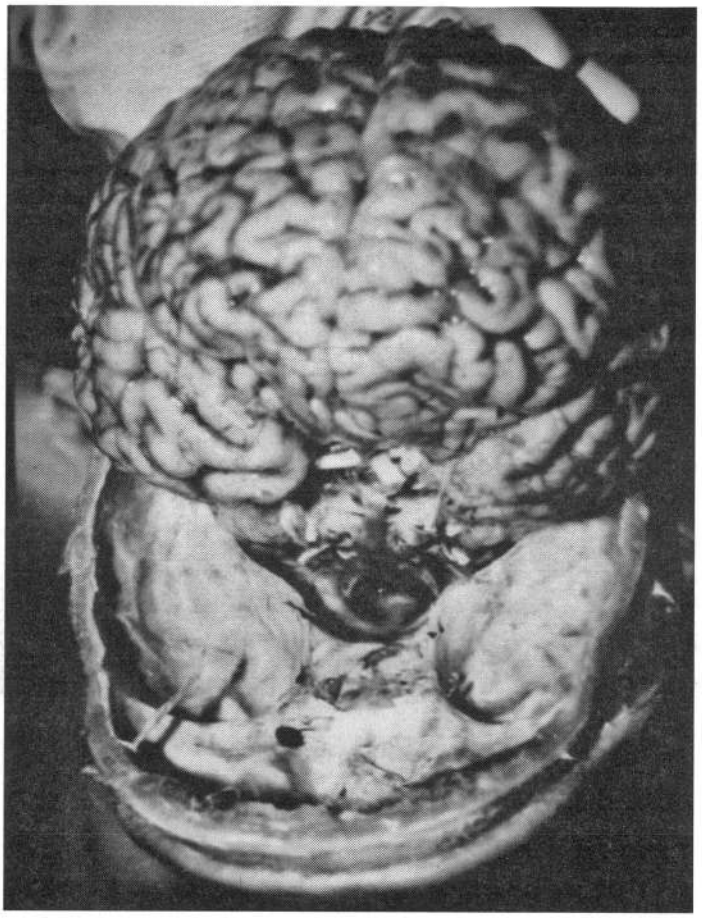




شکل ۳. برداشتن سخت شامه و داس مغز پس از قطع اتصالات آن به جمجمه

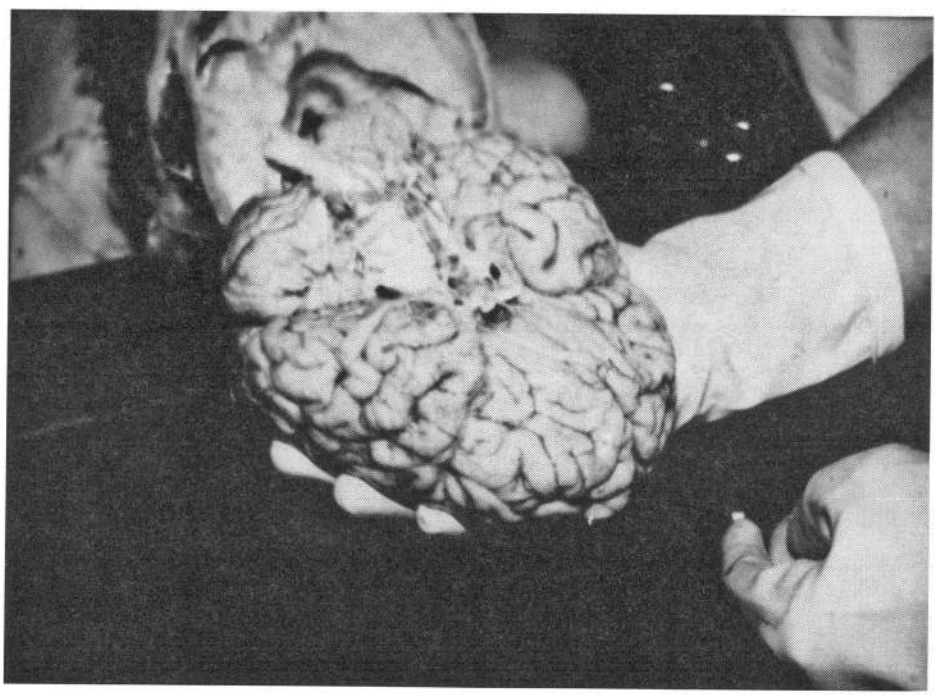
شکل۴. اعصاب بینایی، شرایین کاروتید داخلی و اعصاب کرانیال قطع شده‌اند، چادرینه مخچه در طرف چپ بریده شده و در طرف راست باید بریده شود.

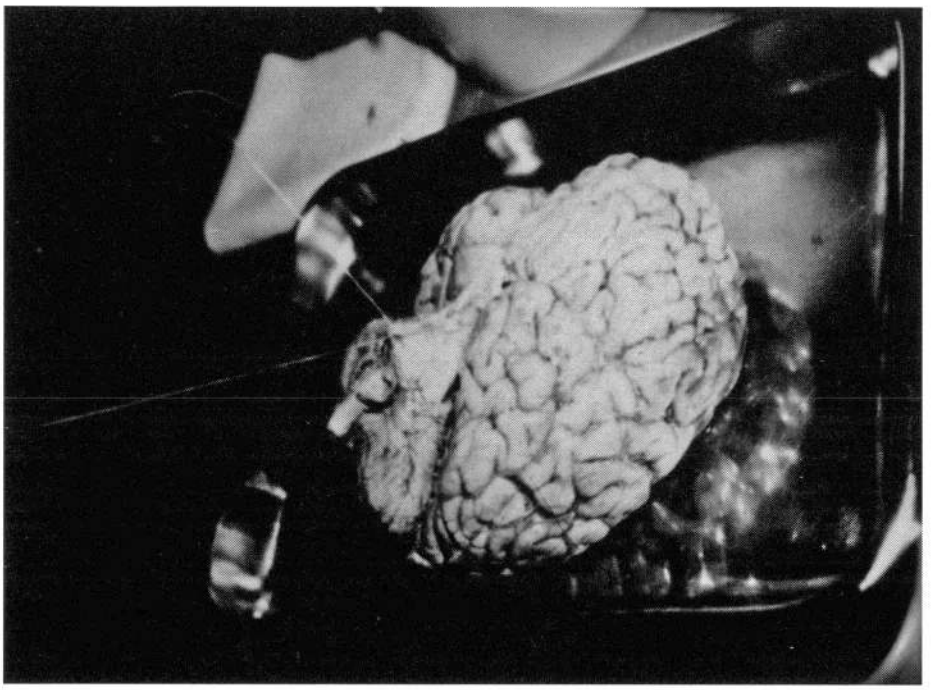




شکل ۵. آخرین اتصالات مغز به قاعده جمجمه شامل شرایین مهره‌ای و محل تبدیل بصل‌النخاع به نخاع نیز باید بریده شود.

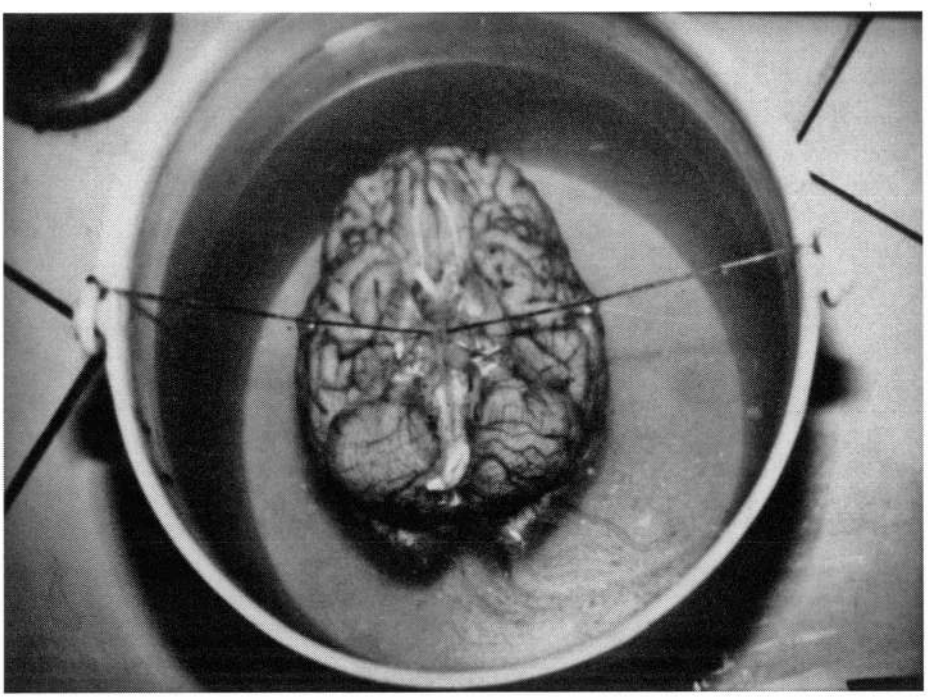
شکل ۶. نحوه انتقال مغز تثبیت نشده

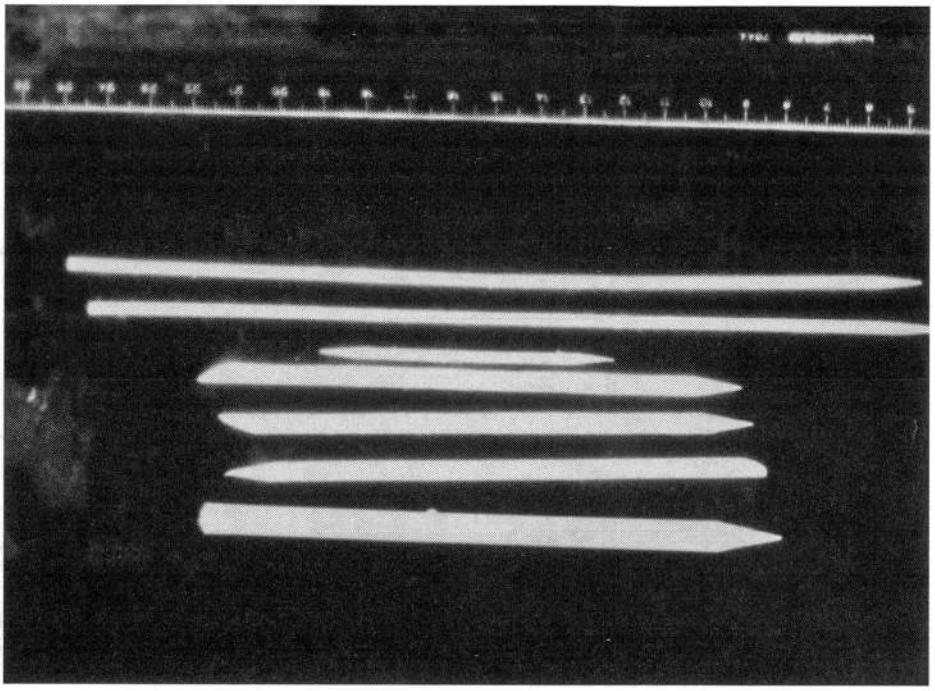




شکل ۷. چگونگی عبور دادن نخ از زیر شریان بازیلار

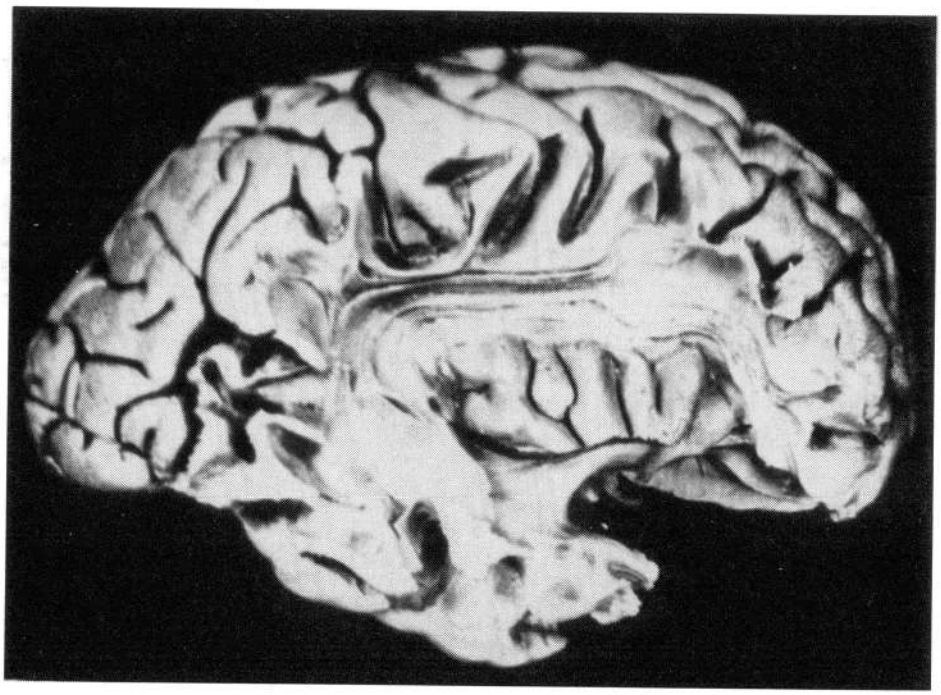
شکل ۸. روش قرار دادن مغز در ظرف فرمالین

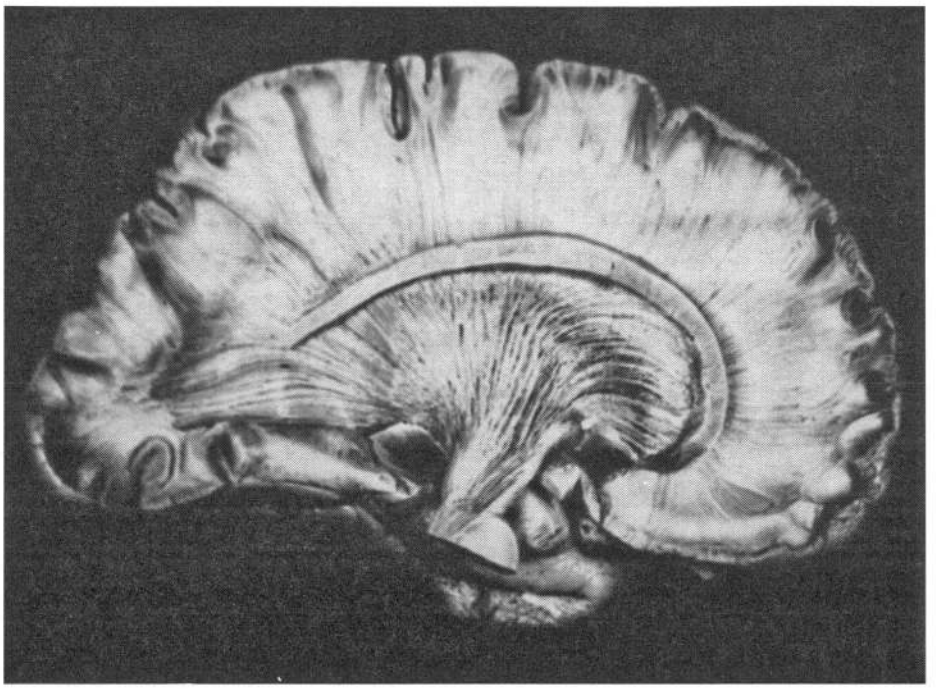




شکل ۹. میله‌های چوبی باریک و دست‌ساز با اندازه نوکهای متفاوت برای تشریح رشته‌های عصبی.
چوب باریک موجود در ست مانیکور که دارای یک نوک تیز و یک انتهای پهن است در ردیف دوم، سوم و چهارم از پایین قرار دارد.

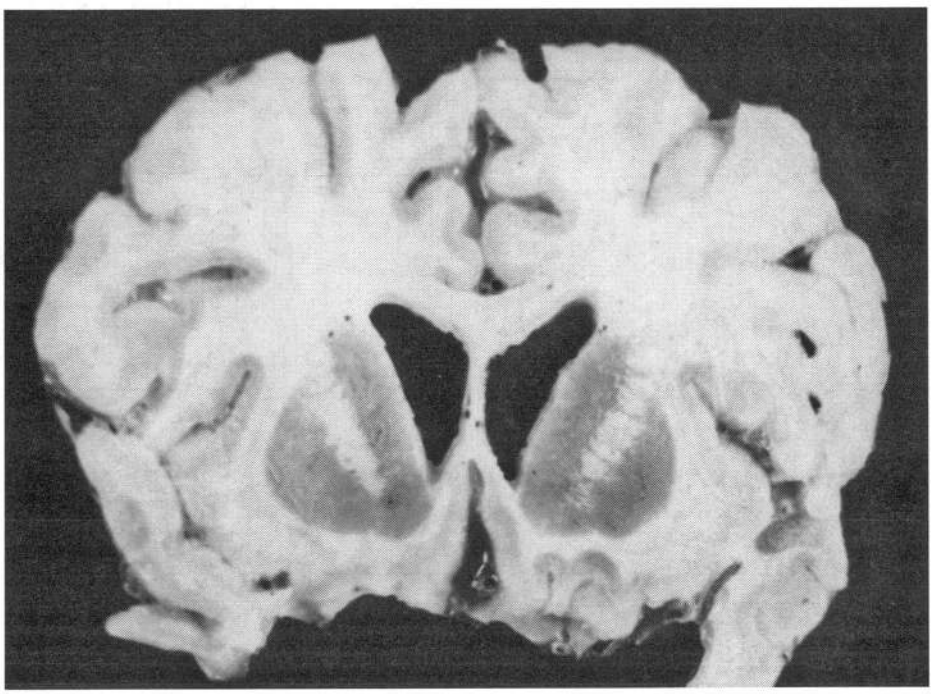
شکل ۱۰. اولین مرحله از تشریح سطح خارجی نیمکره به کمک روش تشریح رشته‌های عصبی.
رشته‌های دسته طولی فوقانی که از بالای اینسولا می‌گذرند تشریح شده‌اند. تصویر از اطلس مغز انسان، تالیف Ludwig و Klingler

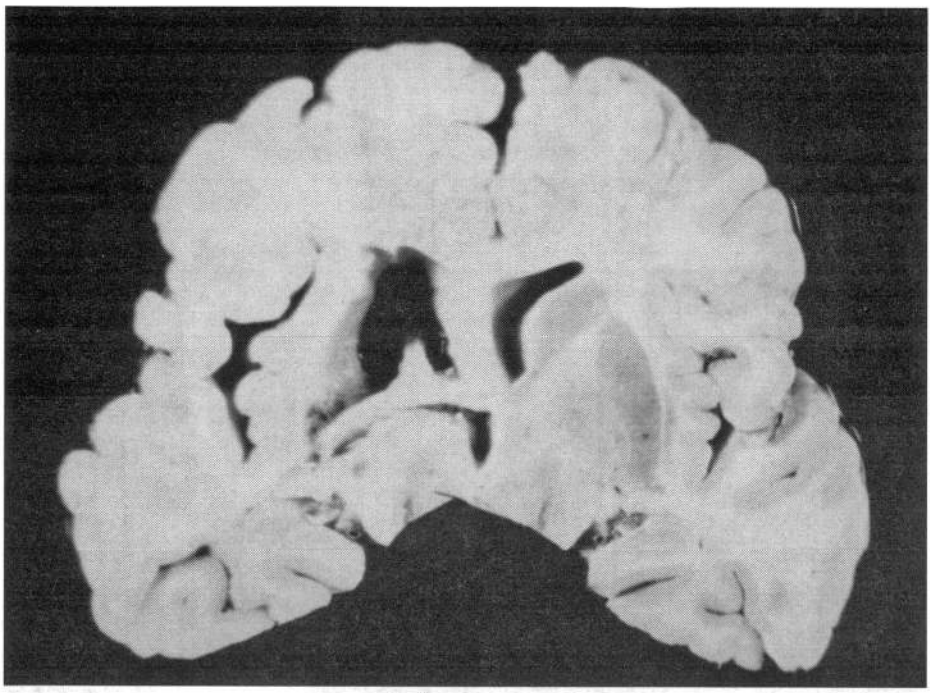




شکل ۱۱. تشریح تاج شعاعی و کپسول داخلی از سطح داخلی نیمکره.
تصویر از اطلس مغز انسان، تالیف Ludwig و Klingler

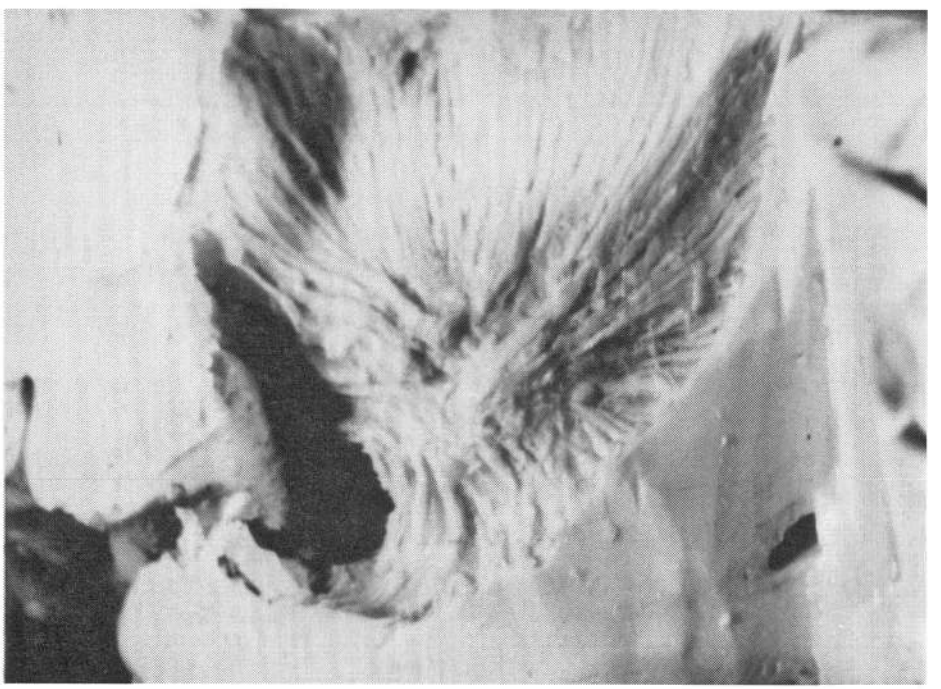
شکل ۱۲. برش سهمی مغز از نواحی قدامی هسته‌های عدسی و دمدار.
همان‌طور که مشاهده می‌شود تفاوت رنگ بین ماده خاکستری و ماده سفید به کمک روش تشریح رشته‌های عصبی بسیار بارز شده است.

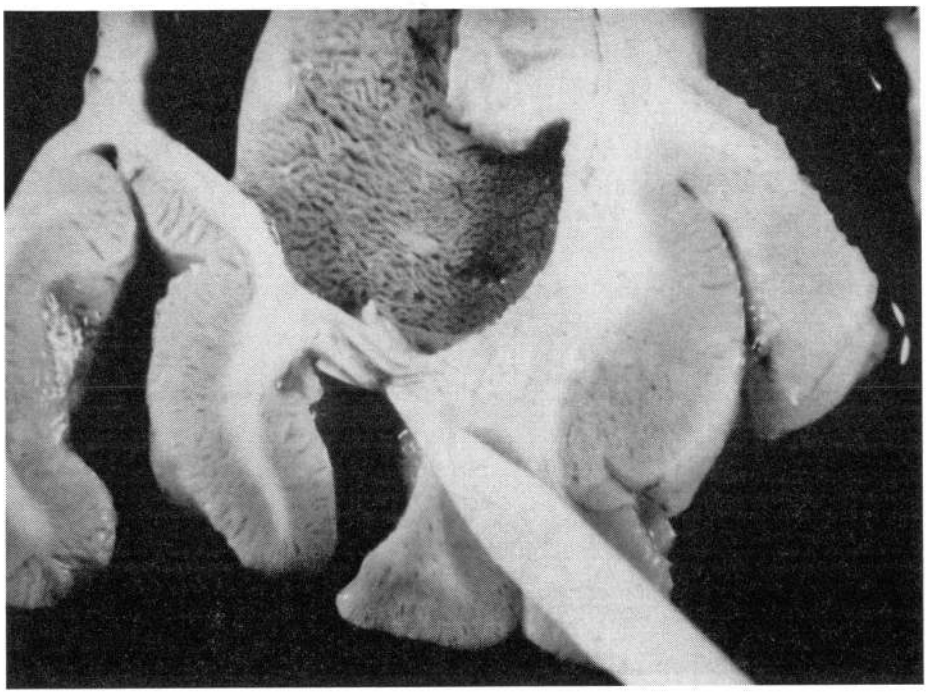




شکل ۱۳. عدسی در نیمکره چپ هسته به کمک روش تشریح رشته‌های عصبی حذف شده است تا کمیسور قدامی که دارای دو دسته قدامی و خلفی است، آشکار شود.

شکل ۱۴. تشریح رشته‌های کپسول خارجی مغز انسان به کمک روش تشریح رشته‌های عصبی. همان‌طور که مشاهده می‌شود رشته‌های عصبی به صورت دستجات ظریفی از یکدیگر جدا شده‌اند.





شکل ۱۵. در این شکل رشته‌هایی که بین کپسول خارجی و روستروم کورپوس کالوزوم مبادله می‌شوند، به صورت ورقه‌هایی از جنس ماده سفید از یکدیگر جدا شده‌اند.