مطالعه تفاوت وابسته به جنس (دیمورفیسم جنسی) هسته حرکتی عصب سه قلوی موش صحرایی بالغ

حسین کلارستاقی[1]، **دکتر غلامحسین فرجاه**[2]، دکتر بهنام‌الدین جامعی[3]، دکتر حمید رضا غفاری[4]، هادی نخ زری مقدم[5]

۱- مربی آناتومی دانشگاه علوم پزشکی زابل، زابل، ایران

۲- (نویسنده مسئول)، دانشیار آناتومی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، مرکز تحقیقات نوروفیزیولوژی، گروه آناتومی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران

hfarjah@hotmail.com

۳- دانشیار آناتومی دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

٤- استادیار آناتومی دانشگاه علوم پزشکی زابل، زابل، ایران

۵- مربی فیزیک پزشکی دانشگاه علوم پزشکی زابل، زابل، ایران

تاریخ دریافت: ۹۲/۹/۱۹ تاریخ پذیرش:۹۳/۱/۲۶

چکیده:

مقدمه: تفاوت وابسته به جنس در هسته های اعصاب مغزی و نخاعی جوندگان سالم نشان داده شده است.بعلاوه تفاوت وابسته به جنس در قسمت هایی از سیستم عصبی پستانداران که بطور مستقیم در رفتار های جنسی درگیر نمی باشند, نیز دیده شده است. هدف از مطالعه حاضر بررسی تفاوت وابسته به جنس هسته حرکتی عصب سه قلو است.

روش پژوهش: تعداد ۲۰ سرموش صحرائی بالغ (اسپراگ- دالی) بطور تصادفی به دو گروه نر (۱۰ سر) و ماده (۱۰ سر) تقسیم شدند. بعد از پرفیوژن و فیکساسیون، ساقه مغز بیرون آورده شده، برشهای کرونال به ضخامت ۵۰ میکرون تهیه و با روش نیسل رنگ آمیزی شد.

یافته ها: نتایج نشان می دهد که اختلافات مورفولوژیک معنی داری در هسته حرکتی عصب سه قلو موش صحرایی بالغ نر و ماده وجود دارد. بر پایه این مطالعه حجم، تعداد سلول وتراکم هسته حرکتی سه قلو جنس نر بیشتر از جنس ماده می باشد.

نتیجه گیری: تفاوت وابسته به جنس دراندازه‌حجم، تعداد سلول و تراکم سلولی هسته حرکتی عصب سه قلو در موش صحرایی نر و ماده بالغوجود دارد.

کلید واژه ها: تفاوت وابسته به جنس، هسته حرکتی عصب سه قلو، موش صحرایی.

مقدمه و هدف

مدارک مستدلی ازتفاوتهای وابسته به جنس(دیمورفیسم جنسی) در نواحی مختلف ساختارهای عصبی انسان وحیوانات آزمایشگاهی وجود دارد(۱). تفاوت های ماکروسکوپی وابسته به جنس درسیستم عصبی شامل اندازه، حجم، وزن و قرینگی نیمکره های مغزی، طول نخاع شوکی، شکل و اندازه نواحی خاص سیستم اعصاب مرکزی می باشد. در مطالعات میکروسکوپی این تفاوت ها در حجم هسته های عصبی، تعداد و اندازه نورونها مشاهده می شود (۲). در مورد نورونها مواردی که تحت تأثیر هورمونهای جنسی قرار می گیرند از جمله تفاوت در تعداد نورونها، اندازه جسم سلولی، هسته و هستک، انشعابات دندریتی و طول دندریتها، چگالی و مورفولوژی خارهای دندریتی، طول و رشد اکسون، سازماندهی سیناپسی، تمایز، مهاجرت و مرگ سلولی در تمام دوره حیات رخ می دهد(۱).

نواحی متعددی با تفاوت وابسته به جنس در سیستم عصبی مرکزی شناسایی شده است. در اغلب موارد این ساختارها در جنس مذکر از نظر حجم بزرگتر و از نظر تعداد سلولها نیز بیشتر از جنس مؤنث است. هرچند که در بعضی نواحی عکس این حالت دیده می شود. بعنوان مثال هسته حرکتی در قطعات پنجم و ششم نخاع کمری که

شامل نورونهای حرکتی عصب دهی به دو عضله مخطط ناحیه پرینئال (بالا برنده مقعد و پیازی- غاری) می باشند،در موش صحرایی جنس ماده وجود ندارد ویا تحلیل رفته است(۲). همچنین تفاوت وابسته به جنس در هسته پشتی خارجیموجود در شاخ قدامی طناب نخاعی دیده می شود که شامل نورون های حرکتی است که به عضلات ورکی-غاری عصب میدهند (۳). مطالعات نشان می دهد تفاوت وابسته به جنس در سیستم های عصبی عضلانی که مستقیماً در رفتار جنسی دخالت ندارند، نیز دیده می شود، بطوری که هسته موجود در طناب نخاعی موش صحرایی که به عضله خم کننده کوتاه انگشتان عصب می دهد،درجنس نر بزرگتر از جنس ماده است(٤). مطالعات همچنین تفاوت وابسته به جنس را در اختلاف عملکرد عصب قدامی خارجی کبوتر نشان می دهد (۵).

هسته حرکتی عصب سه قلو به عضلاتی عصب می دهد که بطور مستقیم در رفتار جنسی دخالت ندارند. هر چند که مطالعات زیادی بر روی این هسته انجام شده است ولی تفاوت های مورفولوژی این هسته در دو جنس نر و ماده موش صحرایی بالغ مقایسه نشده است.

هدف از این تحقیق، بررسی تفاوت وابسته به جنس بر روی هسته حرکتی عصب سه قلو در موش صحرایی بالغ است که در رفتار جنسی دخالت مستقیم ندارد.

مواد و روشها:

تحقیق حاضر یک مطالعه تجربی است که بر روی ۲۰ سر موش صحرایی نژاد اسپراگ- دالی (حیوان خانه دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی ایران) و بصورت تصادفی در ۲ گروه ۱۰ تایی به شرح زیر تقسیم شدند. موش ها با دسترسی کامل به آب آشامیدنی وغذا تحت شرایط یکسان، ۱۲ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی و در دمای تقریبی۲۰ درجه سانتیگراد نگهداری شدند.

گروه ۱: موش‌های صحرایی نربالغ

گروه ۲: موش های صحرایی ماده بالغ.

مطالعات بافت شناسی

موش ها توسط ماده بیهوشی کتامین (۹۰ میلی گرم بر کیلوگرم)و به صورت داخل صفاقی بیهوش و سپس جهت برداشتن نمونه مغزی پرفیوژن شدند. بطوری که بعد از باز نمودن دیواره قفسه سینه وآبشامه قلب، ابتدا ۲۵۰ میلی لیتر نرمال سالین به همراه ۰/۱ میلی لیتر هپارین و سپس محلول فیکساتیو(مخلوطی از گلوتارآلدئید۱/۲۵درصد و پارافرمآلدئید٤ درصد در بافر فسفات ۰/۱مولار) به میزان٤۰۰ میلی لیتراز طریق بطن چپ تزریق شد. بلافاصله جمجمه حیوان جدا و بعد از باز کردن استخوان های پس سری و آهیانه، کل مغز بدون آسیب به همراه نخاع شوکی ناحیه گردنی خارج گردیدو مراحل آماده سازی مغز به منظور برش ۵۰ میکرونی (۳و٦) از ناحیه ساقه مغزبا دستگاه فروزنسکشن انجام شد. مقاطع پس ازبرش و با رعایت جهت راست وچپ بر روی لامهای ژلاتینه قرار داده شد و با روش نیسل رنگ آمیزی شدند. در این روش، لام های مذکور بعد از آبگیری در غظت های نزولی اتانول، توسط رنگ کریزل ویوله ۰/۱ درصد رنگ آمیزی شد. پس از شستشوی رنگ اضافی با آب، با الکل های درجه بندی شده آبگیری شده و در گزیلل شفاف و با چسب انتلان لامل بر روی آن چسبانده شد. این روش برای بیان اجسام نیسل در سیتوپلاسم نورون ها مورد استفاده قرار می گیرد و اجسام نیسل به رنگ بنفش-آبی در می آیند. مقاطعی که حاوی هسته حرکتی عصب سه قلو بود با استفاده از اطلس پاکینوس از حدود برگما ۸/۸۰- تا ۹/۸۰- جهت بررسی پارامترهای مورفومتریک مورد مطالعه قرار گرفتند(۷).طول و حجم هسته حرکتی سه قلو (۸) و تعداد نورونها و همچنین چگالی نورونی و اندازه گیری قطر بزرگ نورون‌ها محاسبه شد (۹). بررسی مورفومتری با کمک نرم افزار (OlysiaBiorefort, Olympus, Japan) انجام شد. در این مطالعه برای شمارش نورون‌ها از تکنیک استریومتری اپتیکال فراکشناتور (optical fractionators) که روشی دقیق و بدون سوگیری است استفاده شد(۱۰). بطوری که با استفاده از روش تصادفی یکنواخت سیستماتیک تعداد

هسته نورونهایی که مشاهده می شد ثبت گردید. سپس تعداد کل نورون ها، توسط تعداد نورون های شمارش شده و مطابقت با نمونه محاسبه گردید. برای محاسبه طول هسته حرکتی، تعداد کل برش هایی که در آنها هسته حرکتی عصب سه قلو قابل مشاهده بود در ضخامت برش ضرب و نتیجه بعنوان طول هسته در نظر گرفته شد. برای محاسبه تراکم نورونی (تعداد نورون ها در واحد سطح) در مقاطع معین و یکسان از هسته (بر طبق اطلس پاکسینوس)، تعداد نورون ها شمارش و بر همان سطح مقطع تقسیم شد و میانگین بعنوان تراکم نورونی در نظر گرفته شد. برای محاسبه قطر نورون، محور بلند تنه سلولی که هسته مشخصی نیز دارد، برحسب میکرومترمحاسبه شد. یافته ها جهت تجزیه و تحلیل آماری با استفاده ازنرم‌افزار SPSSو با استفاده ازآزمون t-test مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته ها:

نتایج نشان می دهد که تعداد نورونهای هسته حرکتی عصب سه قلو در گروه نرسالم بطور معنی داری بیشتر از ماده سالم است(P<۰/۰۵).در بررسی حجم هسته حرکتی عصب سه قلو مشاهده گردید، که حجم هسته در گروه نر نسبت به گروه ماده افزایش معنی داری دارد(P<۰/۰۵). بررسی تراکم نورونهای هسته حرکتی نشان می دهد که تراکم نورونها در گروه نر بیشتر است ولی این اختلاف معنی دار نیست(P>۰/۰۵). این اختلاف در حجم هسته و تعداد نورون ها نشان دهنده تفاوت وابسته به جنس در هسته حرکتی عصب سه قلو می باشد. میانگین طول هسته حرکتی عصب سه قلو تفاوت معنی داری را به لحاظ آماری در بین دو گروه نر وماده نشان نمی دهد(P>۰/۰۵).

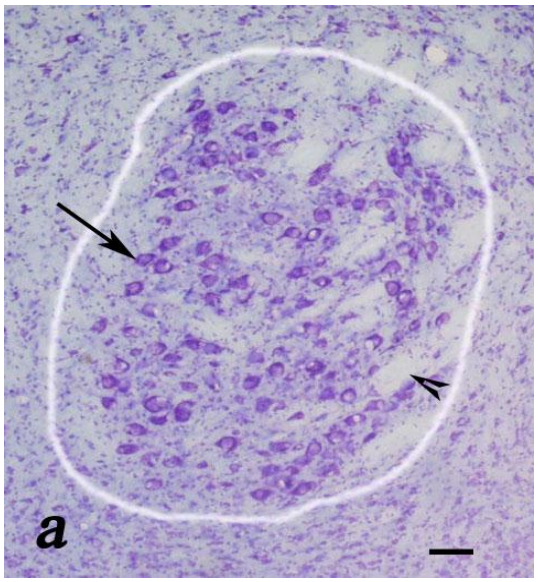
جدول ۱: جدول مقایسه نورونهای گروه های مورد مطالعه

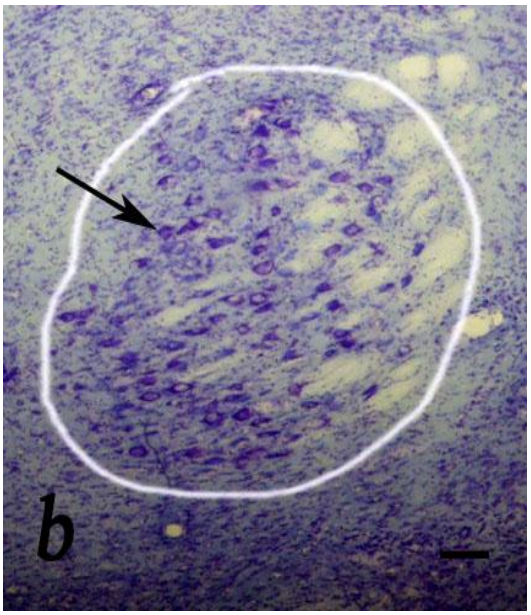
متغییر ها	گروههای مورد مطالعه	
	گروه نر	گروه ماده
تعداد نورون ها	٦٩١±٣٦*	٤٩٦±٣٤
حجم هسته	٦٢٥±١١٣*	٤٢١±٣٩
تراکم نورون ها	٦١±٥٤*	٧٤±٤٠
طول هسته(میکرومتر)	٩٥٠±٥٠	٩١٠±٥٠

تعداد نورون ها، حجم هسته، چگالی نورون ها و طول هسته حرکتی عصب سه قلو موش صحرایی نر و ماده

* اختلاف معنی دار بین دو گروه نر و ماده آزمون t- test (P<۰/۰۵)

تصویر برش رنگ آمیزی شده با روش نیسل از ناحیه پل مغزی هسته حرکتی عصب سه قلو





پیکان: نورون حرکتی و سر پیکان: فضای بین نورونی .

a: گروه نرو b: گروه ماده

Scale bare:۲۰ میکرومتر

با اندازه گیری قطر بزرگ نورون ها مشخص شد که نورون های هسته حرکتی دارای قطری بین ٤٠-١٠ میکرومتر

هستند وتعداد نورونهایی که قطربزرگ آنها از۲۰ میکرومتر بیشتر است در جنس نر حدود ٦٥ درصد حجم هسته را تشکیل می دهد، در حالی که این نسبت در جنس ماده ٤٤ درصد است.

بحث و نتیجه گیری:

پارامتر های مورفولوژیک اندازه گیری شده در این مطالعه شامل حجم هسته، طول هسته، تعداد و تراکم نورونها بودند. برای بررسی پارامترهای فوق در تحقیقات، معمولاً از رنگ آمیزی نیسل استفاده میشود(۱۲-۱۱). روش نیسل با ایجاد تفاوت بارز بین جسم سلولی نورونها و سلولهای گلیا، شمارش نورونی و همچنین تشخیص محدوده هسته را آسان می نماید. اگر چه هسته حرکتی در رفتار جنسی موش ها به طور مستقیم شرکت نمی نماید، ولی تحقیقات نشان می دهد که رشد و تکامل این هسته به میزان سطح هورمون اندروژن وابسته است. مطالعات انجام شده بر روی تعداد نورون های حرکتی عضله ماستر نشان می دهد که اختلاف معنی داری در دو جنس وجود دارد (٦) و این تفاوت در تعداد نورون ها به سطح اندروژن قبل از بزرگسالی وابسته است (۱۳).همچنین مشخص شده است که الگوی ایزوآنزیملاکتات دی هیدروژیناز(این آنزیم که در تأمین انرژی عضلات اسکلتی مؤثر است) در عضله ماستر دو جنس مخالف متفاوت است. همچنین مشخص شده است که نوع فنوتیپ زنجیره سنگین میوزین هم در عضله ماستر در موش (١٤) و خرگوش (١٥) و عضله تمپورالیس در خوکچه هندی (١٦) در دو جنس متفاوت است، بطوریکه در جنس نر بیشتر از نوع زنجیره سنگین میوزینIIa و در جنس ماده بیشتر از نوع زنجیره سنگین میوزینIIb می باشد. در تحقیق حاضر با شمارش تعداد نورون های هسته حرکتی عصب سه قلو در دو جنس نر و ماده مشاهده شد، که تعداد نورون های حرکتی در جنس نر بطور معنی داری بیشتر از جنس ماده است. این تفاوت ممکن است به چند دلیل باشد: اول اینکه حیوان نر دارای حجم عضلانی بیشتری نسبت به حیوان ماده است که این افزایش حجم علاوه بر بزرگتر بودن قطر رشته های عضلانی، به تعداد آنها نیز وابسته است و انتظار می رود که تعداد نورون های حرکتی بیشتری در جنس نر نسبت به ماده مشاهده شود. دوم اینکه عضلات جونده در دندان گرفتن بدن حیوان ماده در هنگام جفت گیری نقش دارند. در نتیجه حضور هورمون اندروژن بر حجیم بودن عضلات جونده می تواند مؤثر باشد. بررسیها نشان می دهد که حجم مغز در جنس نر بزرگتر از حجم مغز در جنس ماده است و تفاوت وابسته به جنس در مغز در نواحی که رفتار جنسی را کنترل می کنند، به مقدار بیشتری وجود دارد و در اکثر این موارد هم در جنس نر بزرگتر از جنس ماده می باشد. مطالعات نشان می دهد که هسته حرکتی در قطعات پنجم و ششم طناب نخاعی کمر که به دو عضله بالا برنده مقعد و پیازی-غاری عصب می دهند، در موش صحرایی ماده وجود ندارد ویا تحلیل رفته است. تعداد نورونهای هسته نخاعی عضله پیازی-غاری در موشهای نر بالغ سه تا چهار برابر موشهای ماده است و همچنین حجم این هسته در موشهای نر دو برابر موشهای ماده است(۲). همچنین تعداد نورون های حرکتی که به عضله ورکی-غاری عصب می دهند نیز در جنس نر بیشتر و بزرگتر هستند (۳). عضلات پیازی-غاری و ورکی-غاری در رفتار جنسی در جنس نر دخالت دارند. تغییرات در سطح هسته به سطح هورمون آندروژن گنادی در دوره تکامل و بلوغ بستگی دارد (٤).از طرفی تحقیقات نشان می دهد که تفاوت وابسته به جنس در هسته حرکتی عضله خم کننده کوتاه انگشتان موش صحرایی نیز دیده می شود، عضله فوق در فعالیت جنسی دخالت مستقیم ندارد ولی از لحاظ حجم و تعداد نورونها در جنس نر بزرگتر و بیشتر از جنس ماده است (٤). مطالعه بر روی وابستگی های استروئید در آمیگدال نشان می دهد که تفاوت وابسته به جنس در موش صحرایی مشابه موش کوچک است (۱۷). در تحقیق حاضر نیز با اندازه گیری طول هسته حرکتی عصب سه قلو مشاهده گردید که طول هسته در دو جنس نر و ماده اختلاف معنی داری ندارد، ولی با محاسبه اندازه حجم

هسته مشاهده شد، که مقدار آن در نر بالغ نسبت به ماده بیشتر است. مطالعات نشان می دهد که حجم هسته در هسته های ناحیه قدامی هیپوتالاموس در دو جنس متفاوت است (۸). این افزایش حجم به دلیل افزایش تعداد نورون های حرکتی و نیز افزایش اندازه نورونها می باشد. تفاوت وابسته به جنس درنورون های حرکتی نشان می دهد که آندروژنها برروی پارامترهای مورفومتریک هسته حرکتی تأثیر می گذارند و پایین بودن سطح آندروژنها در جنس ماده باعث کاهش حجم و تعداد نورونها در هسته حرکتی می شود. اندروژن هاگیرنده هایی در سطح نورون ها دارند و می توانند سبب تحریک فاکتورهای رشد و تحریک رشد عصب و بقای نورون های حرکتی شوند(۱۳).

بررسی میکروسکوپ نوری اختلافات مورفومتریک معنی داری را در هسته حرکتی عصب سه قلوموش صحرایی در دو جنس نر و ماده نشان میدهد. حجم و تعداد وچگالی نورون ها در جنس نر بزرگتر و بیشتر از جنس ماده است، ولی طول هسته در دو جنس تفاوت معنی داری ندارد. اگر چه مشخص شده است که اندروژن ها موجب تفاوت وابسته به جنس در هسته های اعصاب نخاعی و مغزی می شوند، پیشنهاد می گردد که با استفاده از ابزارهای ژنتیکی سایر عوامل تأثیر گذار بررسی و شناخته شوند.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از معاونت محترم تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی ایران که بودجه این کار تحقیقاتی را تأمین نموده اند تشکر و قدردانی می نمایند.

References:

1. Cooke B, Hegstrom CD, Villeneuve LS, Breedlove SM. Sexual differentiation of the vertebrate brain: Principles and mechanisms. Front in Neuroendocrinol. 1998; 19(4):323-62.

2. Breedlove S.M, Arnold A.P. Sex differences in the pattern of steroid accumulation of motoneurons of the rat lumbar spinal cord. J Comp Neurol 1983; 215(2): 211-6.

3- Jordan Cl, Breedlove SM, Arnold AP. Sexual dimorphism and the influence of neonatal androgen in the dorsolateral motor nucleus of the rat lumbar spinal cord. Brain Res 1982; 249(2):309-14.

4. Leslie M, Forger NG, Breedlove SM. Sexual dimorphism and androgen effects on spinal motoneurons innervating the rat flexor digitorumbrevis. Brain Res. 1991; 11: 561(2):269-73.

5- KempsterRm, Garza-Gisholt E, Egeberg CA, Hart NS, Osdhea OR, Collin SP. Sexual dimorphism of the electrosensory system: a quantitative analysis of nerve axons in the dorsal anterior lateral line nerve of the blue-spotted Fantail Stingray (Taeniura Lymma). Brain BehavEvol. 2013; 81(4): 226-35.

6. Maeda N, Sugiyama H, Suemune S, Niida S, Ogata K, Miyata K. Sexual dimorphism in the trigeminal motor neurons innervating the mouse masseter muscle. Brain Res. 1993; 5: 627(1):177-80.

7. Paxinos G; Watson. The rat brain in serototaxiccoordination.Vol 2, Academic Press, New York, 1986.

8. Roselli CE, Larkin K, Resko JA, Stellflug JN, Stormshak F. The volume of a sexually dimorphic nucleus in the ovine medial preoptic area/anterior hypothalamus varies with sexual partner preference. Endocrinology 2004; 145(2): 478-83.

9. Kreczmanski P, Heinsen H, Mantua V, Woltersdorf F, Masson T, Ulfig N, et al. Volume, neuron density and total neuron number in five subcortical regions in schizophrenia. Brain 2007; 130:678-92.

10. West MG, Slomianaka l, Gundersen HJ. Unbiased stereological estimation of the total number of neurons in the subdivisions of the rat hippocampus using

the optical fractionators.Anat Rec 1991; 231(4):482-97.
11. Cordero ME, Valenzuela CY, Torres R, Rodriguez A. Sexual dimorphism in number and proportion of neurons in the human median raphe nucleus. Brain Res Dev Res. 2000;124(1):43-52.
12. Nottebohm F, Arnold AP. Sexual dimorphism in vocal control areas of the songbird brain. Science 1976; 194:211-3.
13- Morris JA, Jordan CL, Bredlove SM. Sexual dimorphism in neuronal number of the posterodorsal medial amygdale is independent of circulating androgens and regional volume in adult rats. J Comp Neurol. 2008;506(5):851-9.
14. Eason JM, Schwartz GA, Pavlath GK, English AW.Sexually dimorphic expression of myosin heavy chains in the adult mouse masseter. J Appl Physiol. 2000; 89(1):251-8.
15. English AW, Eason J, Schwartz G, Shirley A, Carrasco DI. Sexual dimorphism in the rabbit masseter muscle: myosin heavy chain composition of neuromuscular compartments. Cells Tissues Organs. 1999;164(4):179-91.
16. Lyons GE. Kelly AM, Rubinstein NA. Testosterone- induced changes in contractile protein isoforms in the sexually dimorphic temporalis muscle of the guinea pig. J Biol Chem. 1986; 261(28): 13278-84.
17- Morris JA, Jordan CL, King ZA, Northcutt KV, Breedlove SM. Sexual dimorphism and steroid responsiveness of the posterodorsal medial amygdale in adult mice. Brain Res. 2008; 1190:115-21.

Study of Sexual Dimorphism in adult rat trigeminal motor nucleus

Hossein Kalarestaghi[1], **Golamhossein Farjah**[2], Behnamodin Jameie[3], Hamid Reza Ghaffari[4], HadiNakhzariMoghadam[5]

1- Instructor of Anatomy, Zabol University of Medical Sciences, Zabol, Iran
2- (**Corresponding Author**), Associate Professor of Anatomy, Neurophysiology Research Center, Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Urmia university of Medical Sciences, urmia, Iran. hfarjah@hotmail.com
3- Associate Professor of Anatomy, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
4- Assistance Professor of Anatomy, Zabol University of Medical Sciences, Zabol, Iran
5- Instructor of Medical Physics, Zabol University of Medical Sciences, Zabol, Iran

Received: 2013/12/10 **Accepted: 2014/4/15**

Abstract:

Introduction: Sexual dimorphism of cranial and spinal nucleus has been demonstrated in normal rodents. In addition, certain structures in mammalian nervous system which are not directly involved in sexual behavior also show sexual dimorphism. The aim of present study was to clarify sexual dimorphism of trigeminal motor nucleus.
Methods: Twenty adult rats (Sprague -dawely)were randomized into two groups: male (n=10) and female (n=10).After perfusion and fixation, the brain stems were removed; coronal sections (50µm-thick) were cut and stained with nissl.
Results: This study showed significant morphometric differences between trigeminal motor nucleus in male and female adult rats. Based on our finding the volume, cell number and density of male motor nucleus of trigeminal nerve was significantly more than female.
Conclusion: There is sexual dimorphism in trigeminal motor nucleus in volume, cell number and density of male and female adult rat.
Kay words: Sexual dimorphism, trigeminal motor nucleus, Rat.