

مقاله پژوهشی

تأثیر تجویز تستسترون بر روی نوروں های حرکتی عصب سه قلو موش صحرایی نر نابالغ عقیم شده

حسین کلارستاقی^۱، بهنام جامعی^۲، تابنده شریعتی^۳، غلامحسین فرجاه^{۴*}

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

^۲ دانشیار آناتومی دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

^۳ استادیار بافت شناسی دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

^۴ استادیار آناتومی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران

* نویسنده مسئول: دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران

پست الکترونیک: hfarjah@hotmail.com

وصول: ۱۳۹۰/۹/۱۲؛ اصلاح: ۱۳۹۱/۲/۱۹؛ پذیرش: ۱۳۹۱/۳/۱۸

چکیده

زمینه و هدف: هورمون های استروئیدی بر ارگان های هدف متفاوتی از جمله دستگاه عصبی مرکزی و محیطی تأثیر دارند. تأثیر اندروژن ها بر روی نوروں های حرکتی عضلانی که مستقیماً در امور جنسی دخالت دارند روشن شده است. عضلات جونده بطور مستقیم در اعمال جنسی موثر نمی باشند لذا هدف از این تحقیق تأثیر تجویز تستوسترون بر روی نوروں های حرکتی عصب سه قلو موش صحرایی نر نابالغ عقیم شده می باشد.

مواد و روش کار: ۴۰ سر موش نر صحرایی نابالغ (اسپراگ-دالی) بصورت تصادفی به ۵ گروه (نابالغ عقیم شده، نابالغ عقیم شده با تزریق تستوسترون، نابالغ عقیم شده با تزریق روغن کنجد، شم جراحی و کنترل) تقسیم شدند. تستوسترون بصورت روزانه و با دوز ۵ میلی گرم در کیلوگرم وزن بدن حیوان به مدت یک ماه تزریق شد. سپس از ساقه مغز در ناحیه هسته حرکتی عصب سه قلو برش های بافتی تهیه شد سپس طول و حجم هسته و تعداد و چگالی نوروں ها محاسبه شد.

یافته ها: تعداد و تراکم نوروں ها در هسته حرکتی عصب سه قلو در گروه عقیم شده بدون تزریق تستوسترون نسبت به گروه عقیم شده با تزریق تستوسترون کاهش معنی داری داشت ($P < 0/01$). همچنین تراکم نوروں ها در گروه عقیم شده بدون تزریق تستوسترون نسبت به گروه سالم کاهش معنی داری داشت ($P < 0/05$). بدنبال تزریق تستوسترون، تراکم نوروں ها در گروه عقیم شده نسبت به گروه سالم کمتر بود ولی اختلاف معنی داری نداشت.

نتیجه گیری: به نظر می رسد که تستوسترون بر تعداد نوروں ها و تراکم آنها در هسته حرکتی عصب سه قلو موثر است.

واژه های کلیدی: تستوسترون، هسته حرکتی عصب سه قلو، موش صحرایی، عقیم شده

مقدمه

سیستم های عصبی مرکزی و محیطی دارند [۲]. اندروژن

ها از نوروں ها بطور مستقیم در مقابل آسیب های احتمالی محافظت می نمایند و در درمان اختلالات نورودژنراتیو بسیار موثر هستند [۳].

مکانیسم مولکولی هورمون های استروئیدی که می توانند موجب تغییرات در مغز از جمله سبب تحریک ترشح فاکتورهای رشد و تحریک رشد عصب و بقاء نوروں های حرکتی [۴]، تنظیم نورونزیس و مهاجرت نورونی،

هورمون های استروئیدی بر روی ارگانهای هدف متفاوتی از جمله دستگاه عصبی مرکزی، دستگاه عصبی محیطی و سیستم عضلانی تأثیرگذار هستند. همچنین توانایی عبور از سد خونی- مغزی را دارند. این هورمون ها با اتصال به گیرنده های خود که بر روی غشای سلول های هدف قرار دارند، بیان ژنی و متعاقب آن سنتز پروتئین ها را تنظیم می نمایند [۱]. اندروژن ها اثر محافظتی و درمانی بر روی

افزایش بیان نوروترانسمیترها و رسپتورهای آنها [۵]، اثرات نورودژنراتیو نورونی [۶]، اثرات دژنراسیون در نوروں های حرکتی اعصاب محیطی نظیر عصب سیاتیک [۷]، عصب ژنیتو فمورال [۸]، عصب فاسیال [۹] و عصب پودندال [۱۰] می شوند.

با شروع فعالیت بیضه و ترشح تستوسترون تمایز جنسی بین دو جنس از لحاظ ساختمانی ایجاد می شود. در مدل های حیوانی، هورمون های استروئیدی گنادی نقش حیاتی در ایجاد اختلافات جنسی در سیستم عصبی دارند [۱۱]. هورمون های استروئیدی باعث ایجاد تغییرات برجسته ساختاری در مناطقی از بدن می شوند که در رفتار تولید مثلی دخالت دارند [۱۲].

تستوسترون فراوانترین آندروژن جریان خون در جنس نر است، که از سلولهای لیدیک در انتهای دوره بارداری تا تولد و نیز در هنگام بلوغ در بیضه ها یافت می شود. تستوسترون مسئول تمایز جنسی مردانه در دوره تکامل و تغییرات بلوغ مردانه [۱۳] و مسئول بروز رفتار های جنسی است [۱۴ و ۱۵]. تستوسترون نقش مهمی در تکامل سیستم عصبی مرکزی دارد. اخیرا به اثر محافظتی آن بر روی بافت عصبی توجه بیشتری شده است، بطوری که از آندروژن درمانی جهت پیشگیری و یا درمان اختلالات مرتبط با سن همانند آلزایمر استفاده می شود [۱۶]. مطالعات نشان می دهد که تزریق تستوسترون، ترمیم عصب صورتی فلج شده را تسریع می نماید. بطوری که نقش تستوسترون در ۶ ساعت اول پس از آسیب به عصب، بسیار کلیدی و اساسی است [۱۷].

تستوسترون در بعضی گونه ها در داخل نوروں به استرادیول تبدیل می شود. این مکانیسم تبدیلی نقش حیاتی در مراحل تکامل عضلات در بسیاری از گونه های پستانداران دارد. مطالعات نشان می دهد، که بعضی از نواحی مغز و نخاع در جنس مذکر نسبت به جنس مونث بزرگتر است از جمله ناحیه پره اپتیک در هیپوتالاموس موش صحرایی [۱۸]، نوروں های حرکتی طناب نخاعی که عضله پیازی غاری (بولبوکاورنوزوس) را عصب می دهند [۱۹]، حجم هسته های کنترل کننده آواز در مغز پرند ه های آوازخوان [۲۰] را می توان نام برد. تحقیقات نشان می دهد، که افزایش تعداد نوروں ها در این نواحی و

در جنس نر به دلیل عمل تستوسترون و در طی تکامل اتفاق می افتد [۱۸].

تستوسترون باعث ارگانیزاسیون مدارهای عصبی در مغز جهت ارائه رفتار جفت گیری جنس نر می شود و از ارگانیزاسیون مدارهای عصبی مسئول رفتار جنسی زنانه جلوگیری می نماید [۲۱]. مطالعات نشان می دهد که تستوسترون با تاثیر گذاری بر روی فاکتور نوروتروفیک مشتق شده از استخوان بر روی مورفولوژی نوروں های حرکتی تاثیر دارد [۲۲].

بیشتر اختلافات جنسی در موش های عقیم شده در اوایل زندگی بعد از تولد در جنس نر و درمان با هورمونهای استروئیدی در جنس ماده از بین میروند [۲۳، ۲۴، ۲۵]. پایین آمدن سطح تستوسترون در جنس مذکر سبب کاهش حجم هسته حرکتی و تعداد نوروں ها می شود [۱۲].

مطالعات بر روی نوروں های حرکتی موجود در طناب نخاعی نشان می دهد، که بدنبال تستکتومی، اندازه عضله و تعداد نوروں های حرکتی طناب نخاعی موش صحرایی نر بالغ کاهش می یابد و بر عکس درمان با آندروژن و یا ایمپلنت تستوسترون، حجم نوروں های حرکتی را در طناب نخاعی افزایش می دهد [۱۲]. از انجائی که آندروژن بر روی نوروں های حرکتی عضلات (از لحاظ تعداد نوروں ها و حجم هسته) تاثیر دارد، هدف از انجام این تحقیق بررسی موقعیت نوروں های هسته حرکتی عصب سه قلو در موش صحرایی نر نابالغ عقیم شده و تاثیر تستوسترون بر روی خصوصیات مورفومتریکی آن می باشد. بطوری که مشخص شود آیا برداشتن غدد جنسی در موش صحرایی نر نابالغ سبب تغییر در تعداد نوروں و حجم هسته حرکتی عصب سه قلو می شود؟ تزریق تستوسترون در موش نر عقیم شده چه تاثیری بر چگالی و حجم هسته حرکتی عصب سه قلو بر جا می گذارد؟

روش کار

تحقیق حاضر یک مطالعه تجربی است که بر روی ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد اسپراگ - دالی (حیوان خانه دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران) و بصورت تصادفی در ۵ گروه ۸ تایی به شرح زیر تقسیم شدند. موش ها تحت شرایط یکسان ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲

ساعت روشنایی در دمای تقریبی 25°C نگهداری شده و دسترسی کامل به آب آشامیدنی و غذا داشتند.

گروه ۱: موش‌های صحرانی نر نابالغ (یک ماهه) عقیم شده

گروه ۲: موش‌های صحرایی عقیم شده ۱ ماهه با تزریق تستوسترون زیرجلدی

گروه ۳: موش‌های صحرایی عقیم شده ۱ ماهه با تزریق روغن کنگد زیرجلدی

گروه ۴: شم جراحی

گروه ۵: کنترل

موش‌ها توسط ماده بیهوشی کتامین (90 mg/Kg) و زیلازین (10 mg/Kg) بصورت داخل صفاقی بیهوش شدند. از طریق یک برش به طول ۱ سانتی متر در ناحیه اسکروتوم، در ابتدا عروق اسپرماتیک و مجرای دفران لیگاتور شده و سپس از قسمت دیستال محل لیگاتور، بیضه و اپیدیدیم بریده و از بدن حیوان جدا شدند. در گروه شم جراحی، بیضه و اپیدیدیم نمایان ولی جدا نشدند. پس از عمل جراحی پوست توسط اتیکون ۵۰-۵ بخیه شد.

در موش‌های یک ماهه عقیم شده، تستوسترون (ساخت شرکت ابوریحان، تهران- ایران) بصورت روزانه با دوز ۵ میلی گرم در کیلوگرم وزن بدن حیوان، حل شده در 250 mg میکرو لیتر روغن کنگد بصورت زیر جلدی تزریق شد. در گروه موش‌های عقیم شده با تزریق روغن کنگد، روغن مذکور به میزان 250 mg میکرو لیتر و بصورت روزانه و از طریق زیر جلدی تزریق شد. تزریق‌ها به مدت یک ماه ادامه داشت. تمامی مراحل که در طول تحقیق بر روی موش انجام گرفت از نظر رعایت اخلاق در پژوهش مطابق با دستورالعمل‌های روش کار با حیوانات آزمایشگاهی بود. مطالعات بافتی

در پایان هفته هشتم، موش‌ها پس از بیهوشی پرفیوژن شدند. به طوری که بعد از باز نمودن دیواره قفسه سینه و ایشامه قلب، محلول فیکساتیو (گلو تارآلدئید $1/25\%$ و پارافرمآلدئید 4% در بافر فسفات 0.1M ($\text{pH}=7.4$) به مقدار 400 ml سی سی و بصورت داخل قلبی تزریق شد. سپس محلول سوکروز 10% به میزان 200 ml سی سی به مدت ۲۰ دقیقه تزریق شد. بلافاصله جمجمه حیوان جدا و

بعد از باز کردن استخوان‌های اکسیپیتال و پاریتال، کل مغز بدون آسیب به همراه نخاع شوکی ناحیه گردنی خارج گردید و مراحل آماده سازی مغز به منظور برش $50\text{ }\mu\text{m}$ میکرونی از ناحیه ساقه مغز با دستگاه کرایواستات انجام شد.

مقاطع بر روی لامهای ژلاتینه قرار داده و باروش نیسل رنگ آمیزی شدند. کلیه نمونه‌ها با میکروسکوپ نوری پیشرفته تحقیقاتی (Olympus, Provis Ax70, Japan) و با بزرگ نمایی $4\times$ ، $10\times$ و $40\times$ مطالعه شدند و از نواحی مورد نظر توسط دوربین دیجیتالی متصل به کامپیوتر عکس گرفته شد. مقاطعی که حاوی هسته حرکتی عصب سه قلو بود با استفاده از اطلس پاکسینوس از حدود مقطع برگما 8.80 تا 9.80 جهت بررسی پارامترهای مورفومتریک مورد مطالعه قرار گرفتند [۲۶]. طول و حجم هسته حرکتی عصب سه قلو و تعداد نورون‌ها و همچنین تراکم نورونی محاسبه شد. بررسی مورفومتری با کمک نرم افزار (Olysia Biorefort, Olympus, Japan) انجام گرفت. جهت شمارش تعداد نورون‌ها، برش‌ها بصورت یک در میان انتخاب شدند. در هر برش هسته حرکتی عصب سه قلو سلول‌هایی که دارای هسته و سیتوپلاسم واضحی بودند، شمارش و میانگین آنها محاسبه گردید. برای محاسبه حجم هسته حرکتی، مساحت هسته در همه برش‌ها محاسبه و در ضخامت هر برش ضرب شد و مجموع آنها بعنوان حجم هسته در نظر گرفته شد. برای محاسبه طول هسته حرکتی، تعداد کل برش‌هایی 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 نورون‌ها در واحد سطح) در مقاطع معین و یکسان از هسته (بر طبق اطلس پاکسینوس)، تعداد نورون‌ها شمارش و بر همان سطح مقطع تقسیم شد و میانگین بعنوان تراکم نورونی در نظر گرفته شد. یافته‌ها جهت تجزیه و تحلیل آماری بوسیله نرم افزار SPSS و با استفاده از تست‌های آماری (ANOVA, Student T test) مورد بررسی قرار گرفتند.

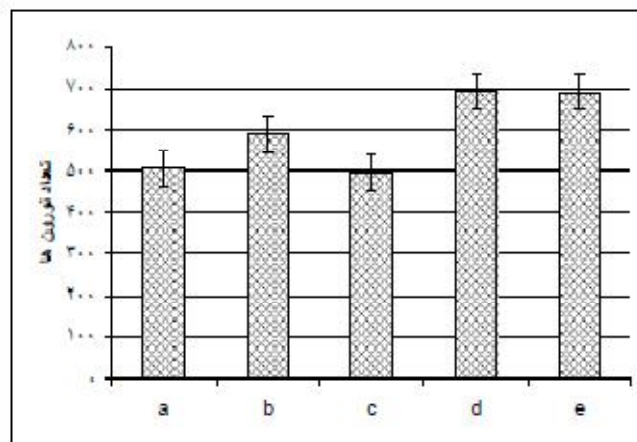
یافته ها

با مقایسه تعداد نورون های هسته حرکتی عصب سه قلو در گروه های مورد تحقیق مشخص شد که تعداد نورون ها در گروه نرسالم بطور معنی داری بیشتر از موش های عقیم شده ۱ ماهه بدون تزریق تستوسترون است ($P < .01$). بدنبال تزریق تستوسترون به موش های عقیم شده یک ماهه، مشاهده گردید که تعداد نورون های هسته حرکتی در این گروه نسبت به گروه عقیم شده یک ماهه بدون استفاده از تستوسترون افزایش بیشتری داشت، که این اختلاف معنی دار بود ($P < .01$). (نمودار ۱، تصویر ۱) در بررسی حجم هسته عصب سه قلو مشاهده گردید که اندازه حجم هسته در گروه عقیم شده با استفاده از تزریق تستوسترون در مقایسه با گروه عقیم شده بدون تزریق تستوسترون افزایش کمی داشت، که این افزایش از لحاظ آماری معنی دار نیست. حجم هسته در گروه نر سالم بطور معنی داری از گروه عقیم شده بدون تزریق تستوسترون بیشتر بود ($P < .01$) (نمودار ۲)

در هنگام بررسی تراکم نورونهای هسته حرکتی عصب سه قلو ملاحظه گردید که تراکم نورون ها در گروه عقیم شده

بدون تزریق تستوسترون یک ماهه نسبت به گروه نر سالم کاهش معنی داری داشت ($P < .05$). در گروه عقیم شده با تزریق تستوسترون ملاحظه گردید که تراکم نورونها نسبت به گروه عقیم شده یک ماهه بدون استفاده از تستوسترون افزایش معنی داری داشت ($P < .01$). اگرچه تراکم نورونها در گروه عقیم شده یک ماهه با تزریق تستوسترون نسبت به گروه نر سالم کمتر بود ولی این اختلاف معنی دار نیست. (نمودار ۳)

مقایسه میانگین طول هسته حرکتی عصب سه قلو بین گروههای مورد مطالعه نشان داد، که بیشترین میانگین طول هسته مربوط به گروههای شم و کنترل نر سالم و کمترین آن متعلق به گروه عقیم شده بدون تزریق تستوسترون بود. انجام آزمون های آماری برای مقایسه طول هسته تفاوت معنی داری به لحاظ آماری نشان نداد. (نمودار ۴)



d: موش های صحرایی شم جراحی، e: موش های صحرایی کنترل

* تفاوت معنی دار بین گروه های c و e ($P < .01$).

** تفاوت معنی دار بین گروه های b و c ($P < .01$).

نمودار ۱: مقایسه میانگین تعداد نورون های هسته حرکتی

عصب سه قلو در گروه های مختلف

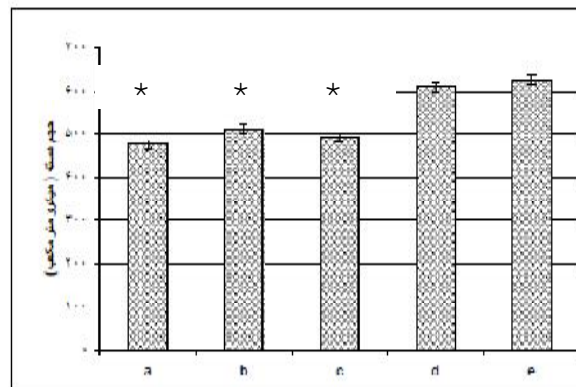
a: موش های صحرایی نر نابالغ عقیم شده

b: موش های صحرایی ۱ ماهه عقیم شده با تزریق

تستوسترون

c: موش های صحرایی ۱ ماهه عقیم شده با تزریق روغن

کنجد زیر جلدی



حجم هسته حرکتی عصب سه قلو در گروه های مورد مطالعه

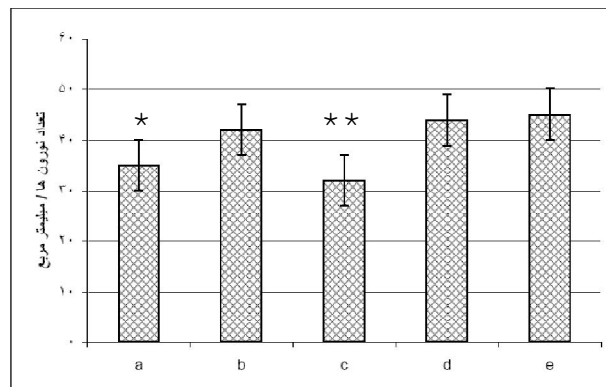
a: موش های صحرایی نر نابالغ عقیم شده

b: موش های صحرایی ۱ ماهه عقیم شده با تزریق تستوسترون

c: موش های صحرایی ۱ ماهه عقیم شده با تزریق روغن کنجد زیر جلدی

d: موش های صحرایی شم جراحی، e: موش های صحرایی کنترل

* تفاوت معنی دار گروه های a, b, c با گروه e ($p < .01$)



نمودار ۳: مقایسه تراکم نورون های هسته حرکتی عصب سه قلو در گروه های مختلف

a: موش های صحرایی نر نابالغ عقیم شده

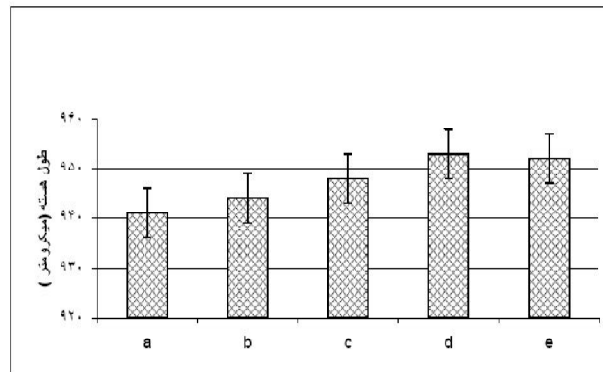
b: موش های صحرایی ۱ ماهه عقیم شده با تزریق تستوسترون

c: موش های صحرایی ۱ ماهه عقیم شده با تزریق روغن کنجد زیر جلدی

d: موش های صحرایی شم جراحی، e: موش های صحرایی کنترل

* تفاوت معنی دار بین گروه های c و e ($P < .01$).

** تفاوت معنی دار بین گروه های a و e ($P < .05$).



نمودار ۴: مقایسه طول هسته حرکتی عصب سه قلو در

گروه های مختلف مورد مطالعه

a: موش های صحرایی نر نابالغ عقیم شده

b: موش های صحرایی ۱ ماهه عقیم شده با تزریق

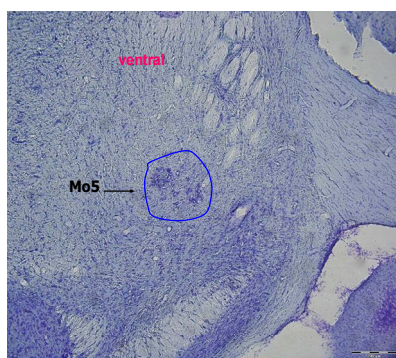
تستوسترون

c: موش های صحرایی ۱ ماهه عقیم شده با تزریق روغن

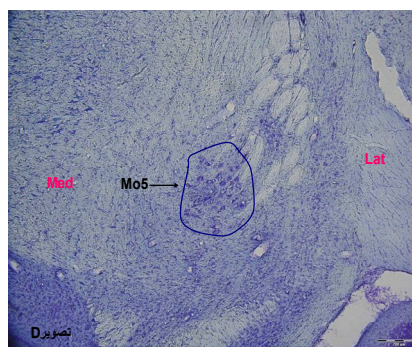
کنجد زیر جلدی

d: موش های صحرایی شم جراحی، e: موش های

صحرایی کنترل



آ



ب

تصویر ۱: برش عرضی رنگ آمیزی شده با نیسل از ناحیه پل مغزی شروع هسته حرکتی تری جمینال (از سمت روسترال - Bregma

, 8.80 - بزرگنمایی 10)، آ، برش دوم، ب، برش سوم

Mo5: هسته حرکتی عصب سه قلو، Med: داخلی، Lat: خارجی

بحث

در این مطالعه چندین پارامتر مورفولوژی شامل حجم هسته، طول هسته، تعداد و تراکم نورون ها مورد بررسی قرار گرفته اند. اگر چه هسته حرکتی عصب سه قلو بطور مستقیم در رفتار جنسی موش ها تاثیری ندارد، ولی تحقیقات نشان می دهد که انداز هسته حرکتی به میزان سطح هورمون اندروژنی وابسته است. مطالعه بر روی تعداد نورون های حرکتی عضله ماستر نشان می دهد، که مقدار اندروژن پستانداران بالغ با تغییرات در ساختمان، تعداد و عمل نورون های حرکتی ارتباط دارد [۲۷].

در تحقیق حاضر با شمارش تعداد نورون های هسته حرکتی عصب سه قلو مشاهده گردید، که تعداد آنها در موش سالم و نیز در گروه عقیم شده با تزریق تستوسترون بطور معنی داری بیشتر از گروه عقیم شده بدون تزریق تستوسترون است. حیوان نر دارای حجم عضلانی بیشتری نسبت به حیوان ماده است و این افزایش حجم عضله علاوه بر بزرگتر بودن قطر رشته های عضلانی، به تعداد رشته های عضلانی نیز وابسته است، لذا انتظار می رود که تعداد بیشتری نورون در هسته حرکتی عصب سه قلو جنس نر نسبت به ماده مشاهده شود. همچنین عضلات جونده در دندان گرفتن بدن حیوان ماده در هنگام جفت گیری نقش دارند. در نتیجه حضور هورمون اندروژن بر حجم بودن عضلات جونده می تواند مؤثر باشد.

مطالعات در خصوص سایر هسته های عصبی که به عضلات مؤثر در امور جنسی عصب دهی می کنند، از جمله هسته عصبی موجود در طناب نخاعی که به عضلات بالا برنده مقعد (لواتور آنی) و پیازی غاری (بولبوکاورنوسوس) عصب می دهد [۲۸] و هسته پشتی خارجی در شاخ قدامی طناب نخاعی که به عضلات ورکی غاری (ایسکیوکاورنوسوس) عصب می دهند، در جنس نر نسبت به ماده دارای تعداد نورون های بیشتر و بزرگتری هستند [۲۹]. همچنین مطالعات نشان می دهد که هسته حرکتی سایر عضلات که در فعالیت جنسی دخالت مستقیم ندارد (خم کننده کوتاه انگشتان) از لحاظ حجم و تعداد نورون ها به دلیل عدم حضور هورمون تستوسترون در جنس ماده کوچکتر و کمتر از جنس نر است [۱۲]. از آنجائی که عضلات فوق در رفتار جنسی در جنسی نر

دخالت دارند، تغییرات در سطح هسته بستگی به سطح هورمون آندروژن گنادی در دوره تکامل و بلوغ دارد. در تحقیق حاضر بدنبال عقیم شده و کاهش ترشح هورمون تستوسترون تعداد، تراکم و اندازه نورون های حرکتی عصب سه قلو کاهش یافت که با سایر مطالعات انجام گرفته همخوانی دارد.

مطالعات نشان می دهد، که تستوسترون بعنوان قویترین آندروژن بر روی پارامترهای مورفومتریک هسته حرکتی نخاع تاثیر دارد، بطوری که پائین آمدن سطح تستوسترون باعث کاهش حجم و تعداد نورونها در هسته حرکتی می-شود [۱۲].

هورمون های استروئیدی از طریق گیرنده های غشایی سبب تحریک پذیری نورون شده و در فعالیت نورون تاثیر می گذارند [۳۰]. این اثرات بصورت تحریکی و گذرا می باشند. وجود هورمون برای ایجاد این تحریکات لازم است و در صورت حذف هورمون باعث ایجاد تغییرات در ساختمان نورون نظیر تغییر وسعت و دامنه دندریت ها می شوند. هورمون های استروئیدی همچنین از طریق گیرنده های داخل سیتوپلاسمی و یا هسته ای می توانند باعث ایجاد تغییرات وسیعتری در سطح نورون شوند، که در دوره تکامل بصورت دائمی و ارگانیزاسیون در بافت عصبی دیده می شوند [۳۰].

تحقیقات نشان می دهد، که تعداد نورون های حرکتی الفا در حیوانات مسن نسبت به حیوان جوان کمتر است و همچنین به دلیل چین خوردگی در غشای آکسون، قطر آکسون در حیوان مسن کمتر از حیوان جوان می باشد، که این مشاهدات تأثیر اندروژن را بر بقاء نورون های حرکتی و حجم بودن عضلات اثبات می کند. همچنین ممکن است به دلیل پایین آمدن سطح اندروژن ها در حیوان مسن، مرگ سلولی نیز رخ دهد [۳۱]. در تحقیق حاضر مشاهده شد که تعداد نورون های هسته حرکتی عصب سه قلو در گروه عقیم شده یک ماهه نسبت به گروه نر سالم از لحاظ آماری اختلاف معنی داری داشت.

مطالعه بر روی تأثیر تزریق تستوسترون و دهیدروتستوسترون بر روی نورون های حرکتی هسته نخاعی عضله پیازی غاری (بولبوکاورنوسوس) درموش صحرایی نر بعد از عمل عقیم شدن نشان می دهد که این

هورمون ها از کاهش حجم هسته و جسم سلولی نوروں ها جلوگیری می کنند و همچنین تزریق تستوسترون نسبت به دهیدروتستسترون سبب افزایش بیشتر اندازه سلول می شود [۳۲]. در تحقیق حاضر نیز در موش های عقیم شده، از تستوسترون جهت تزریق و بالا بردن سطح اندروژن پلاسمای موش نر استفاده گردید و مشاهده شد، که تعداد نوروں های هسته حرکتی عصب سه قلو در این گروه نسبت به موش های عقیم شده یک ماهه بدون تزریق تستوسترون افزایش بیشتری داشت و این اختلاف معنی دار بود. به نظر می رسد با کاهش سطح تستوسترون، ممکن است تعدادی از نوروں های حرکتی عضله دچار مرگ سلولی شوند، مشابه آنچه که در حیوان مسن به دنبال کاهش سطح تستوسترون مشاهده می گردد [۳۱].

تحقیقات نشان می دهد که تستوسترون ممکن است به واسطه انزیم ۵ الفا ردوکتاز بر روی فعالیت نوروںی تأثیر داشته باشد. تستوسترون بر اندازه نوروں ها تأثیر دارد و سبب افزایش اندازه جسم سلولی نوروں ها در نواحی با اختلاف جنسی در حیوان عقیم شده می شود [۳۲].

در تحقیق حاضر نیز مشاهده گردید که تعداد نوروں های حرکتی عصب سه قلو در گروه عقیم شده نسبت به نر بالغ سالم کمتر است و با توجه به اینکه آندروژن ها، میزان مرگ نوروں های حرکتی را بصورت طبیعی تنظیم می نمایند، لذا استفاده از تستوسترون سبب جلوگیری از مرگ نوروں های حرکتی می گردد.

از طرفی مشخص شده است که عقیم شدن سبب کاهش آزاد شدن یک سری فاکتورهای تغذیه ای نظیر فاکتور نوروتروفیک سیلاری می شوند که این فاکتورها در بقاء نوروں های حرکتی موثر می باشند [۱].

حجم هسته حرکتی در گروه کنترل نسبت به گروه عقیم شده بیشتر است. این افزایش حجم به دلیل افزایش تعداد نوروں های حرکتی و نیز افزایش اندازه نوروں ها می باشد. چنین به نظر می رسد که با کاهش سطح آندروژن ها، تعداد بیشتری از نوروں های حرکتی در گروه عقیم شده بدون تزریق تستوسترون نسبت به گروه عقیم شده با تزریق تستوسترون دچار مرگ سلولی شده اند، لذا تراکم نوروں ها در گروه عقیم شده با تزریق تستوسترون نسبت به گروه عقیم شده بدون تزریق تستوسترون بیشتر است.

این کاهش تراکم روشن می نماید که اگر چه از تعداد نوروں های حرکتی در گروه بدون تزریق تستوسترون کاسته شده است، ولی در اندازه حجم هسته تغییر زیادی ملاحظه نمی گردد. هنگامی که حجم هسته حرکتی عصب سه قلو در گروه عقیم شده بدون تزریق تستوسترون با گروه عقیم شده با تزریق تستوسترون مقایسه می شود، اختلاف معنی داری ملاحظه نمی گردد، ولی تراکم نوروں ها در گروه با تزریق تستوسترون بیشتر است، که این امر نشانه کاهش مرگ سلولی در این گروه نسبت به موش های عقیم شده بدون تزریق تستوسترون می باشد.

تراکم نوروں ها نقش مهمی در تعیین فاصله بین نوروں ها دارد. هنگامی که نوروں ها با فاصله بیشتری در کنار یکدیگر قرار می گیرند، اگر علائمی دال بر التهاب ملاحظه نگردد، آنگاه وجود مرگ سلولی بین نوروں ها ممکن است سبب کاهش تراکم آنها گردد [۲].

در تحقیق حاضر با اینکه اندازه حجم هسته در گروه عقیم شده با درمان تستوسترون نسبت به گروه عقیم شده بدون درمان، اختلاف معنی داری نداشت، ولی تعداد نوروں های حرکتی در گروه عقیم شده با تزریق تستوسترون افزایش معنی داری نسبت به گروه عقیم شده بدون تزریق داشت و این افزایش همیشه با افزایش تراکم نوروں ها مشاهده می گردد. لذا تراکم نوروں ها در گروه سالم نسبت به گروه عقیم شده افزایش معنی داری دارد. به نظر می رسد حضور آندروژن ها از مرگ نوروں ها جلوگیری می نماید. با تزریق تستوسترون در گروه عقیم شده یک ماهه، تراکم نوروں ها افزایش می یابد و این افزایش نسبت به گروه عقیم شده بدون تستوسترون معنی دار است.

نتیجه گیری

در این پژوهش تأکید می شود، که تستوسترون بر تعداد نوروں ها و تراکم آنها در هسته حرکتی عصب سه قلو تأثیر دارد.

References

1. Cooke B, Hegstrom CD, Villeneuve LS, Breedlove SM, Sexual differentiation of the vertebrate brain: Principles and mechanisms, *Front Neuroendocrinol* 1998; 19:323-362.
2. Fargo KN, Foecking EM, Jones KJ, Sengelaub DR, Neuroprotective actions of androgens on motoneurons, *Front Neuroendocrinol* 2009; 30(2): 130-41.
3. Nguyen TV, Jayaraman A, Quaglini A, Pike CJ, Androgens selectively protect against apoptosis in hippocampal neurons, *J Neuroendocrinol* 2010; 22(9): 1013-22.
4. De Vries GJ, Simerly RB, Anatomy, development and function of sexually dimorphic neural circuits in the mammalian brain, *Hormones, Brain and Behavior* 2000; 4: 137-191.
5. Jameie S.B, Noyan-Ashraf M.H, Behzadi G, Ovariectomy reduces the dendritic spine density of the dorsal raphe nucleus in the adult rat, *Arch Iranian Med* 2004; 7(2): 122-127.
6. Tanzer L, Jones KJ, Gonadal steroid regulation of hamster facial nerve regeneration: effects of dihydrotestosterone and estradiol. *Exp Neurol* 1997; 146(1): 258-64.
7. Kujawa KA, Jacob JM, Jones KJ, Testosterone regulation of the regenerative properties of injured rat sciatic motor neurons, *J Neurosci Res* 1993; 35(3): 268-73.
8. Goh DW, Farmer PJ, Hutson JM, Absence of normal sexual dimorphism of the genitofemoral nerve spinal nucleus in the mutant cryptorchid (TS) rat, *J Reprod Fertile* 1994; 102(1): 195-9.
9. Kujawa KA, Jones KJ, Testosterone-induced acceleration of recovery from facial paralysis in male hamsters: temporal requirements of hormone exposure. *Physiol Behav* 1990; 48(5): 765-8.
10. Jones KJ, Brown TJ, Damaser M, Neuroprotective effects of gonadal steroids on regenerating peripheral motoneurons, *Brain Res Brain Res Rev* 2001; 37(1-3): 372-82.
11. Haqq CM, Donahoe PK, Regulation of sexual dimorphism in mammals, *Physiol rev* 2001; 78(1): 1-33.
12. Leslie M, Forger NG, Breedlove SM, Sexual dimorphism and androgen effects on spinal motoneurons innervating the rat flexor digitorum brevis, *Brain Res* 1991; 11; 561(2): 269-73.
13. Martini L, Melcangi RC, Androgen metabolism in the brain, *J Steroid biochem Mol Biol* 1991; 39(5B): 819-828.
14. Maclusky NJ, Naftolin F, Sexual differentiation of the central nervous system. *Science* 1981; 211: 1294-1302.
15. Bridges RS, Feder HH, Rosenblatt JS, Induction of maternal behaviors in prim gravida rats by ovariectomy, hysterectomy or ovariectomy plus hysterectomy: Effect of length of estration. *Horm Behav* 1977; 9(2): 156-169.
16. Bialek M, Zaremba P, Borowicz KK, Czuczwar SJ, Neuroprotective role of testosterone in nervous system, *Pol J Pharmacol* 2004; 56: 509-18.
17. Tanzer L, Jones KJ, Neurotherapeutic action of testosterone on hamster facial nerve regeneration: temporal window of effects, *Horm Behav* 2004; 45(5): 339-44.
18. Segovia S, Guillamón A, Sexual dimorphism in the vomeronasal pathway and sex differences in reproductive behaviors. *Brain Res Rev* 1993; 18(1): 51-74.
19. Breedlove SM, Arnold AP, Hormonal control of a developing neuromuscular system. II, Sensitive periods for the androgen induced masculinization of the rat spinal nucleus of the bulbocavernosus, *J Neurosci* 1983; 3(2): 424-32.
20. Nottebohm F, Kelley DB, Patton JA, Connections of vocal control nuclei in the canary telencephalon, *J Comp Neurol* 1982; 207(4): 344-57.
21. Jost A, Genetic and hormonal factors in sex differentiation of the brain, *Psychoneuroendocrinology* 1983; 8(2): 183-193.
22. Verhovshek T, Cai Y, Osborne MC, Sengelaub DR, Androgen regulates brain-derived neurotrophic factor in spinal motoneurons and their target musculature, *Endocrinology* 2010; 151(1): 253-61.
23. Simerly RB, Swanson LW, Handa RJ, Gorski RA, Influence of perinatal androgen on the sexually dimorphic distribution of tyrosine hydroxylase-immunoreactive cells and fibers in the anteroventral periventricular nucleus of the rat. *Neuroendocrinology* 1985; 40(6): 501-10.
24. Perez-Laso C, Segovia S, Collado P, Rodriguez-Zafra M, Del Abril A, Guillamón A, Estradiol masculinizes the number of

- accessory olfactory bulb mitral cells in the rat, *Brain Res Bull* 1997, 42(3): 227-230.
25. Matsumoto A, Synaptogenic action of sex steroids in developing and adult neuroendocrine brain, *Psychoneuroendocrinology* 1991; 16(1-3):25-40.
26. Paxinos G; Watson, The rat brain in stereotaxic coordinates, Vol 2, Academic Press, New York, 1986.
27. Maeda N, sugiyama H, Suemune S, Wakisaka H, Niida S, Ogata K, Miyata K, Sexual dimorphism in the trigeminal motor neurons innervating the mouse masseter muscle, *Brain Res* 1993; 627(1):177-80.
28. Breedlove SM, Arnold AP, Sex differences in the pattern of steroid accumulation of motoneurons of the rat lumbar spinal cord, *J Comp Neurol* 1983, 215(2): 211-216.
29. 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- 314.
30. Alonso R, Lopez-Coviella I, Gonadal steroid and neuronal function, *Neurochem Res* 1998, 23(5):675-688.
31. Sturock RR, Changes in the number of neurons in the mesencephalic and motor nuclei of the trigeminal nerve in the ageing mouse brain, *J Anat* 1987; 151: 15-25.
32. Forger NG, Fishman RB, Breedlove SM, Differential effect of testosterone metabolites upon the size of sexually dimorphic motoneurons in adulthood, *Horm Behav* 1992; 26(2):204-213.

Original Article

The effect of testosterone administration on motor nucleus of the trigeminal nerve in immature of castrated male rat

Kalarestaghi H¹, Jameie B², Shariati T³, Farjah Gh⁴

¹ Instructor of Immunology, Zabol University of Medical Sciences, Zabol, Iran

² Associate Professor of Anatomy, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

³ Assistant Professor of Anatomy, Iran university of Medical Sciences, Tehran, Iran

⁴ Assistant Professor of Anatomy, Urmia university of Medical Sciences, Urmia

***Corresponding Author:** Urmia
university of Medical Sciences,
Urmia, Iran
Email: hfarjah@hotmail.com

Abstract

Background and Objectives: The steroid hormones play a significant role on different target organs including the central and peripheral nervous system. It is known, that the androgens influence on motor neurons of muscles that directly involved in sexual activity. The masticator muscles are not involved directly in sexual activity. The purpose of this study was to evaluate the testosterone administration on trigeminal nerve motor neurons of immature castrated male rats.

Material & Methods: In this experimental study 40 one-month aged male rats were randomly divided into five groups (immature testectomy, immature testectomy + testosterone injection, immature testectomy + sesame oil injection, sham surgery, control). Testosterone (5mg/kg/day subcutaneously) was injected for one month. Then histological sections were prepared from brain stem at the level of trigeminal nerve. The length, Volume, number and density of motor nucleus neurons were calculated.

Results: The number and density of neurons in the motor nucleus of the trigeminal nerve in testectomy without testosterone injection group was significantly lower than those testectomy with testosterone injection ($P < 0.01$). Neuronal density in the testectomy without testosterone injection showed a meaningful decrease in comparison to those of control group ($P < 0.05$). Following injection of testosterone, neuronal density was lower in testectomy group than in the control group and this difference was not statistically significant.

Conclusion: It seems testosterone is effective on the number of motor neurons and their density in the nucleus of the trigeminal nerve.

Key Words: Testosterone, Trigeminal motor nucleus, Rat, Testectomy

Submitted: 2011 Dec 3

Revised: 2012 May 8

Accepted: 2012 Jun 7