تغییرات کمی مرتبط با سن در هسته رافه دورسال در موش بزرگ آزمایشگاهی

محمد حسن تبریزی امجد (M.Sc)
دانشگاه علوم پزشکی سمنان، دانشکده پزشکی - گروه آناتومی

خلاصه

سابقه و هدف: حدود نیمی از نرون‌های سروتونرژیک دستگاه عصبی مرکزی در هسته رافه دورسال قرار دارند. تغییرات در سروتونین این هسته باعث اختلالات زیادی در اعمال حیاتی بدن می‌گردد. در اثر افزایش سن تغییرات مورفولوژیک در تعداد و قطر دندریت‌ها، تعداد خارهای آنها، تعداد استطاله‌های سلول‌های هسته‌های رافه و میزان رنگ پذیری نرون‌های آن ایجاد می‌شود، ولی براساس اطلاعات بدست آمده، تاکنون مطالعه‌ای در زمینه تغییر در تعداد نرون‌ها و حجم هسته‌ها انجام نگرفته است.از این رو هدف این مطالعه، تغییرات کمی مرتبط با سن در هسته رافه دورسال در موش بزرگ آزمایشگاهی می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق از موش صحرایی ماده در سنین ۳ روزه، ۲ ماهه و ۱۲ ماهه از هرکدام ۵ سر استفاده شده است. مغز موش‌ها به روش پرفیوژن با محلول بوئن فیکس شده و نمونه‌ها با متد Kluver&Barrera رنگ آمیزی شدند. سپس با استفاده از گراتیکول شطرنجی تعداد سلول‌ها و حجم هسته رافه دورسال محاسبه گردید. از آزمون آماری Kraskul-Wallis جهت مقایسه آماری استفاده شد.

یافته‌ها: بررسی‌های میکروسکوپی نشان داد که تعداد نرون‌های هسته رافه دورسال و حجم آن در اثر افزایش سن کاهش می‌یابد ($P=۰/۰۴$).

نتیجه‌گیری: کاهش در حجم و تعداد نرون‌های هسته رافه دورسال با افزایش سن قطعاً فیزیولوژی نرون‌های سروتونرژیک را تحت تأثیر قرار می‌دهد که خود می‌تواند زمینه ساز بسیاری از اختلالات در سنین بالا باشد.

واژه‌های کلیدی: هسته رافه دورسال، تشکیلات مشبک، سیستم سروتونرژیک، تغییرات مرتبط با سن.

مقدمه

تشکیلات مشبک ترکیبی از نرون‌هاست که خود را به صورت زوائد و انشعاباتی از یک شبکه گسترده داخل پیاز نخاعی نشان می‌دهد. این تشکیلات در پیاز نخاع، پل و مغز میانی گسترش یافته و در خط میانی شبیه درز یا سجاف بهم پیوسته و تشکیل هسته‌های رافه را داده است. خصوصیت نرون‌های تشکیلات مشبک این است که نظم و ترتیب خاصی ندارند و آکسون‌هایشان به صورت پراکنده در دو جهت سری و دمی (روسترال و کاودال) امتداد یافته‌اند|۶|.

سلول‌های سروتونرژیک تشکیلات مشبک توسط Fuxe و Dahlstrom |۳| به گروه‌های B1-B9 تقسیم شده و توسط دانشمندان دیگر نامگذاری متفاوتی گردیده‌اند. ولی معتبرترین نامگذاری توسط Watson و Paxinos به صورت هسته‌های رافه: مدیان، پونتین، ماگنوس، ابسکیوروس، دورسال و پالیدوس ارائه شده است، که در یک نظم (روسترال و کاودال) سری و دمی واقع شده‌اند|۱۵|.

Zhukova و Leontovich |۵| اولین کسانی بودند که با استفاده از روش گلژی جزئیات نرون‌های مشبک را توصیف نمودند و Newman این توصیفات را مطابق با هسته‌های رافه موش صحرایی می‌داند|۱۳|. براساس

* نویسنده مسئول. تلفن: (داخلی ۳۹۱) ۳۲۰۸۲ - ۰۲۳۱ فاکس: ۳۱۵۵۱-۰۲۳۱

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-07-31]

مطالعات انجام شده، هسته‌های رافه و تشکیلات مشبک مناطق غنی از سروتونین می‌باشند[۱۴]، و تغییر در سروتونین دستگاه عصبی مرکزی باعث اختلالاتی در اشتها، فعالیت جنسی، خواب، حافظه، درد، دمای بدن، یادگیری، اتساع عروقی، رفلکس‌های حرکتی، و یا ایجاد بیماری‌هایی مانند: سندروم داون، پارکینسون، افسردگی، صرع، شیزوفرنی و..... می‌گردد [۱]. تغییرات مورفولوژیک در تعداد و قطر دندریت‌ها، تعداد خارهای آنها، تعداد پایانه‌ها و استطاله‌های سلولی هسته‌های رافه در اثر افزایش سن پیش می‌آید[۵،۹]. با توجه به این که حدود نیمی از نرون‌های سروتونرژیک دستگاه عصبی مرکزی در هسته رافه دورسال واقع شده است[۴]، ولی تغییرات تعداد نرون‌ها و حجم هسته‌ها در اثر افزایش سن مشخص نیست. لذا هدف این تحقیق بررسی این تغییرات می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق از موش صحرایی ماده نژاد آلبینو در سنین ۳ روزه، ۲ ماهه و ۱۲ ماهه از هرکدام ۵ سر استفاده شده است.وزن این موش‌ها به ترتیب ۱۳ - ۱۱ گرم، ۱۵۰ - ۱۲۰ گرم و ۲۷۰ - ۲۵۰ گرم بوده است. موش‌ها در شرایط طبیعی (حرارت ۳۰ - ۲۵ درجه سانتیگراد) نگهداری شدند.

موش‌ها ابتدا با تزریق داخل صفاقی پنتوباربیتال سدیم به میزان ۴۰ میلی‌گرم در کیلوگرم بیهوش شدند، سپس قفسه سینه حیوان باز شده، ۰/۱ سی‌سی هپارین (ضد انعقاد) و ۰/۱ سی‌سی نیتریت سدیم (گشاد کننده عروق) مستقیماً داخل قلب تزریق شد. بلافاصله پس از این تزریق، سوزن درشتی که از قبل آماده شده بود، از نوک قلب وارد بطن چپ و آئورت صعودی شد و هم زمان آئورت نزولی با پنس مسدود گشته و دهلیز راست شکاف داده شد. در ادامه، ۲۰۰ سی‌سی سرم فیزیولوژی (جهت شستشوی عروق) و پس از آن، ۲۰۰ سی‌سی محلول فیکساتیو (بوئن) تزریق گردید.

دقایقی چند پس از این تزریق، در کلیه قسمت‌های فوقانی قلب آثار ورود فیکساتور ظاهر گشت (زرد شدن مخاط بینی، چشم‌ها و انگشتان). در پایان این مرحله سر حیوان از بدنش جدا شده، پس از برداشتن پوست و عضلات، جمجمه لخت گردید. سپس استخوان‌های جمجمه برداشته شده، مغز خارج شد.

با توجه به اینکه فقط بخش‌های پیاز نخاع، ساقه مغزی و مغز میانی مورد نیاز بود، قسمت‌های اضافی جدا گردید. نمونه موجود به مدت ۷۲ - ۴۸ ساعت در فیکساتیو قرار گرفت تا فیکساسیون کامل گردد. در مرحله بعد، نمونه‌ها پس از قالب گیری با پارافین، با ضخامت ۱۵ میکرون به طور سریال برش زده شد و به روش معمول بافت شناسی، مراحل تهیه لام اجرا گردید. جهت رنگ آمیزی نمونه‌ها، از روش Kluver&Barrer [۴] استفاده گردید. در این روش از دو رنگ Luxol Fast Blue برای رنگ آمیزی میلین و Cresyl Violet برای رنگ آمیزی جسم سلولی استفاده می‌شود.

مساحت هسته رافه دورسال با استفاده از گراتیکول شطرنجی محاسبه گشته و بعد تعداد سلول‌های واقع در سطح شمارش شد، سپس نسبت تعداد سلول‌ها به مساحت هسته در سه گروه سنی محاسبه گردید. بررسی‌ها با استفاده از میکروسکوپ نوری دو چشمی Zeiss با دید ۱۰ و ۴۰ انجام شده است.

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون Kraskul-Wallis در سطح معنی‌دار ۵٪ استفاده شد.

یافته‌ها

"میانگین سطحی که در آن سطح یک سلول یافت می‌شود" و نیز "میانگین حجمی که در آن حجم یک سلول وجود دارد" و همچنین " حجم کل هسته رافه دورسال" و "تعداد کل نرون‌های این هسته" در سه گروه سنی در جدول شماره ۱ آورده شده است.

بررسی این جدول نشان می‌دهد که در هسته رافه دورسال، میانگین سطحی که در آن سطح یک سلول یافت می‌شود (متوسط سطح به سلول)، از سن ۳ روزگی تا سن ۱۲ ماهگی افزایش یافته است. به همین ترتیب،

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-07-31]

جدول ۱، مقادیر متوسط و انحراف معیار تعداد سلول‌ها و حجم هسته رافه دورسال در گروه‌های سنی مورد بررسی

متغیر / گروه سنی	متوسط سطح به سلول (میکرومتر مربع)	متوسط حجم به سلول (میکرومتر مکعب)	حجم کل هسته (میکرومتر مکعب)	تعداد کل سلول‌ها
۳ روزه	۱۲۷±۱۴	۱۹۱۹±۲۰۸	۴۰۷۵۹۵۹±۱۷۰۶۲۲۳	۳۵۹۳۶±۱۳۰۲
۲ ماهه	۳۹۲±۴۱	۵۸۱۳/۸±۶۴۹	۱۲۴۵۶۵۶۵±۱۲۲۷۵۹۰	۳۳۶۱۹±۱۹۵۸
۱۲ ماهه	۵۱۲/۲±۷۸	۷۳۴۲/۲±۲۱۶	۱۰۵۸۸۸۸۸±۹۳۲۵۴۸	۱۶۴۸۰±۲۳۶۹

میانگین حجمی که در آن حجم یک سلول وجود دارد (متوسط حجم به سلول)، از سن ۳ روزگی تا ۱۲ ماهگی نیز افزایش یافته است.

ارتباط حجم کل هسته رافه دورسال با سن نشان می‌دهد که، این حجم از سن ۳ روزگی تا ۲ ماهگی افزایش یافته ولی از ۲ ماهگی تا ۱۲ ماهگی کاهش یافته است. ارتباط تعداد کل نرون‌های هسته رافه دورسال با سن نشان می‌دهد که، تعداد کل نرون‌های این هسته از سن ۳ روزگی تا ۲ ماهگی کمی کاهش یافته ولی از سن ۲ ماهگی تا ۱۲ ماهگی به شدت کاهش می‌یابد.

بحث

نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که، در اثر افزایش سن، میانگین سطحی که در آن سطح یک سلول یافت می‌شود و همچنین، میانگین حجمی که در آن حجم یک سلول وجود دارد، افزایش می‌یابد. این موضوع قابل توجیه است، چرا که وقتی تعدادی سلول در یک سطح یا یک حجم قرار دارند، اگر آن سطح یا آن حجم به عنوان مثال دو برابر گردد، میزان پراکندگی یا تراکم آن سلول‌ها به نصف کاهش می‌یابد. لذا صرف نظر از تعداد سلول‌ها، همزمان با افزایش سن، دستگاه عصبی نیز مانند سایر قسمت‌های بدن رشد می‌نماید و در نتیجه سطح و حجم نیز افزایش می‌یابد.

حجم کل هسته رافه دورسال از ۳ روزگی تا ۲ ماهگی افزایش می‌یابد ولی از ۲ ماهگی تا ۱۲ ماهگی، ۱۵٪ کاهش نشان می‌دهد. علت این کاهش احتمالاً این است که، هسته‌ها حاوی نرون‌ها هستند و چون در اثر افزایش سن نرون‌ها کاهش می‌یابند [۵]، حجم کل هسته نیز کاهش می‌یابد. همچنین تعداد کل نرون‌های این هسته، از ۳ روزگی تا ۱۲ ماهگی رو به کاهش است که البته علت کاهش نرون‌ها از تولد تا بلوغ (۲ماهگی) کاملاً روشن نیست.این موضوع را محققین دیگر نیز اعلام نموده‌اند[۸]. این تعداد از ۲ ماهگی تا ۱۲ ماهگی ۵۱٪ کاهش یافته است، و این کاهش نیز توسط محققین دیگر گزارش شده است[۵].

برخی محققین دریافته‌اند که اندازه و تراکم نرون‌های سروتونرژیک هسته رافه دورسال، با افزایش سن، همانند طول و تعداد زوائد آنها تغییر می‌یابد[۹]. محققین دیگری که روی مورفومتری نرون‌های سروتونرژیک کار کرده‌اند، معتقدند که افزایش سن روی نرون‌های سروتونرژیک هسته‌های ساقه مغزی موش صحرایی تأثیر می‌گذارد و حتی رنگ پذیری سلول‌های عصبی تغییر می‌نماید و بیشترین احتمال این است که این سلول‌ها عملکرد خود را از دست داده‌اند[۱۰].

تعدادی از دانشمندان عقیده دارند که در سنین بالا یک سری استطاله‌های سروتونرژیک نابجا و یا استطاله‌هایی با اشکال غیر طبیعی در نقاط مختلف مغز بوجود می‌آید که نشان دهنده تخریب احتمالی نواحی خاصی از مغز می‌باشد. البته این تغییرات در نقاطی مانند مجموعه هسته دم دار-پوتامن، گلوبوس پالیدوس، قشر پری‌فرونتال و فرونتوپاریتال بیشتر از نواحی دیگر مانند هسته‌های آمیگدال و سپتال دیده می‌شود. همچنین میزان ۵-هیدروکسی تریپتامین در قشر فرونتوپاریتال، هیپوکامپ، هیپوتالاموس و هسته‌های

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-07-31]

رافه مزانسفال افزایش می‌یابد ولی میزان این ماده در مجموعه کودیت پوتامن ثابت می‌ماند. در حالی که تراکم استطاله‌های با اشکال غیر طبیعی افزایش می‌یابد[۱۶].

تعداد دیگری از محققین که روی موش خانگی مطالعاتی داشته‌اند اعلام نموده‌اند که یک کاهش پیش رونده در تعداد استطاله‌های آوران همراه با کاهش عملکرد آنها، در نواحی بروکا، هسته خلفی تالاموس، ناحیه جانبی هیپوتالاموس، هسته‌های آمیگدال، هسته مشبک پلی و هسته‌های رافه دورسال و مدیان در اثر افزایش سن به وجود می‌آید[۱۷].

تحقیقات انجام شده نشان دهنده این است که استطاله‌های صعودی و نزولی زیادی هسته‌های رافه و سلول‌های سروتونرژیک را با ساختمان‌های بالاتر، تا کورتکس و یا ساختمان‌های پایین‌تر، تا شاخ‌های قدامی، خلفی و بینابینی نخاع ارتباط می‌دهند. نقش هرکدام از این استطاله‌ها دقیقاً مشخص نیست و امید است که این موضوع زمینه تحقیقات بعدی باشد.

به طور کلی، بررسی‌های به عمل آمده نشان می‌دهد که یک سری تغییرات آناتومیک و سیتولوژیک در نقاط مختلف دستگاه عصبی مرکزی در اثر افزایش سن ایجاد می‌شود. به دلیل نقش والای سلول‌های سروتونرژیک در فعالیت‌های حیاتی بدن و ارتباط بسیار گسترده این نرون‌ها با سایر مراکز مهم دستگاه عصبی مرکزی، این تغییرات می‌تواند زمینه ساز بسیاری از اختلالات در سنین پیری باشد.

تشکر و قدردانی

از جناب آقای دکتر احمد حسینی که از راهنمایی‌های ایشان بهره‌مند بودم، و جناب آقای دکتر ناصر سلسبیلی که مشاوری صدیق و امین برایم بودند. و سرکار خانم دکتر ژیلا بهزادی که انتخاب موضوع تحقیق با راهنمایی ایشان صورت گرفت.

منابع

[1] Azmitia, E.C. and Ganon, P.J., The primate serotonergic system. A review of human and animal studies and a report on macaca fascicularis, J. Advan. Neurol. 43 (1986) 407 - 468.

[2] Basbaum, A.I., Fields, H.L., Endogenous pain control system: brainstem spinal pathways and endorphin circuity, Ann. Rev. Neurosci., 7 (1984) 309-338

[3] Dahlstrom, A. and Fuxe, K., Evidence for the existence of monoamine-containing neurons in the central nervous system; I. demonstration of monoamine in cell bodies of brainstem neurons, Acta. Physiol. Scand. 232 (1964) 1-55.

[4] Descarries, L., Watkins, K. C., Garcia, S. and Beaudet, A., The serotonin neurons in nucleus raphe dorsalis of adult rat; a light and electron microscope radioautographic study, J. Comp. Neurol. 207 (1982) 239-254.

[5] Diaz-Cintra, S., Cintra, L., Kemper, T., Resnic, O. and Morgane, P.J., Nucleus raphe dorsalis: a morphometeric golgi study in rats of three age groups, Brain Res. 216 (1981) 1-16.

[6] Kandel, E. R. and Schwarts, J.H. and Jessell, T.M., Principles of neural science, 3rd edition, Elsevier, Netherlands, 1991, pp.556-560.

[7] Leontovich, T.A. and Zhukova, G.P., The specificity of the neuronal structure and topography of the reticular formation in the brain and spinal cord, J. Comp. Neurol. 121 (1963) 347-381.

[8] Lidove, H.G. and Molliver, M. E.,

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-07-31]

Immunohistochemical study of the development of serotonergic neurons in the rat's C.N.S, Brain Res. Bull., 9 (1992) 559-604.

[9] Lolova, I., Davidof, M., Age related changes in serotonin-immunoreactive neurons in the rat nucleus raphe dorsalis and nucleus centralis superior: a light microscope study, Mecha. Age. Devel. 62 (1991) 279-289.

[10] Lolova, I., Morphological evidence for effects of the aging on the serotonergic neurons in the rat brainstem nuclei, Acta. Physiol. Pharmacol. Bulg. 22 (1996) 17-25.

[11] Marcinkiewicz, M., Morcos, R.and Chretien, M., C.N.S. connection with the median raphe nucleus: Retrograde tracing with WGA-apo HRP-Gold complex in the rat. J. Comp. Neurol. 289 (1989) 11-35.

[12] Molliver, M.E., Serotonergic neuronal systems: What their anatomic organization tells us about function, J. Clinical Psychopharma., 7 (1987) 3-23.

[13] Newman, D.B., Distinguishing rat brainstem reticulospinal by their neuronal morphology: II. Pontin and mesencephalic nuclei, J. Hirnforsch., 26(1985) 385-418.

[14] Palkovits, M., Brownstein, M. and Saavedra, J.M., Serotonin content of the brainstem nuclei in the rat, Brain Res. 25(1980) 237-249.

[15] Paxinos, G. and Watson, G.R.R., The rat brain in stereotaxic coordinates, 2nd Edition, Academic Press, Orland, 1982.

[16] Van-Luijtelaar, M.G., Tonnear, J.A. and Steinbusch, H.W., Aging of the serotonergic system in the rat forbrain: an immunocytochemical and neurochemical study, Neurobiol.Aging, 13(1992) 201-215.

[17] Villalobos, J., Beracochea, D. and Jaffard, R., Age related changes in the subcortical afferents to the medial frontal cortex in mice: a WGA-HRP study, Neurosci.Lett., 119 (1990) 97-100.

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-07-31]

Quantitative age related changess in the nucleus raphe dorsalis of the rat

M.H.T. Amjad* (M.Sc)

Dept. of Anatomy, School of Medicine, Semnan University of Medical Science, Semnan, Iran

Introduction. About 50% of serotonergic neurons of the C.N.S exist in the dorsal raphe nucleus. To change the serotonin's rate of C.N.S induces many disorders. Due to age increase, morphologic changes in number and diameter of dendrites, number of their spines, number of fibers and cellular endings in the nucleus raphe dorsalis and rate of their staining are observed. The aim of this research is to survey of any changes in neurons numbers and volume of nucleus raphe dorsalis in aging.

Materials and Methods. In this research 15 female albino rats with age of 3 days, 2 and 12 months were used. The brain of these rats fixed by perfusion method with BOEIN solution, then the specimens stained by Cluver and Barrera method. The number of cells and volume of the nucleus raphe dorsalis have been calculated by using eye peace microscope. The data were analysed by Kraskul-Wallis test and $P< 0.05$ was considered as significant.

Results. Microscopic examinations have been shown that with increasing age the number of neurons of the nucleus raphe dorsalis and the volume of them significantly decreased($P<0.05$).

Conclusion. These quantitative changes in higher ages, make the negative effects in vital activity of the neurons, which may induce many disorders.

Key words: Nucleus Raphe Dorsalis; Reticular Formation; Serotonergic System; Age Related Changes

* Fax: 0231-31551; Tel: 0231-32082

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-07-31]