

## اثرات مسمومیت مزمن با سرب بر رفتارهای پرخطر در موش سوری

گودرز صادقی هنجین\*<sup>۱</sup>، محمد دهرویه<sup>۲</sup>، حسین علی عرب<sup>۳</sup>، لیلی محمدیار<sup>۴</sup>

۳-۱- دانشیار دانشکده های دامپزشکی دانشگاه تهران

۲- دانش آموخته دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرمسار

۴- استادیار دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرمسار

### چکیده

**مقدمه:** با صنعتی شدن جوامع انسانی، آلاینده‌هایی همچون سرب در چرخه زندگی وارد شده که می‌توانند روی ارگان‌های بدن تأثیرات سوئی به جای گذارند. اثرات آلاینده‌ها بر رفتار، چندان مورد مطالعه قرار نگرفته است، هدف از مطالعه‌ی حاضر، بررسی اثرات احتمالی سرب بر رفتارهای قابل اندازه‌گیری در یک موش سوری بوده است.

**روش بررسی:** تعداد ۴۸ عدد موش سوری نر بالغ در ۴ گروه ۱۲ تایی قرار داده شدند، در آب آشامیدنی ۳ گروه از آنها مقادیر ۵، ۵۰ یا ۵۰۰ ppm استات سرب افزوده شد. پس از ۲۸ روز، رفتار حیوانات در ماز بعلاوه مرتفع (Elevated Plus Maze=EPM) مورد مطالعه قرار گرفت. مدت زمان حضور و دفعات ورود حیوان در بازوهای باز (بدون حفاظ) و به ویژه در یک سوم انتهایی آنها به عنوان رفتار پرخطر در نظر گرفته شد.

**نتایج:** در این تحقیق مشخص شد که تماس با سرب موجب افزایش تعداد دفعات ورود حیوان به منطقه انتهایی بازوهای باز (P=۰/۰۰۶) و مدت حضور حیوان در کل بازوی باز (P=۰/۰۳۴) می‌گردد، همچنین رابطه‌ی مستقیمی بین غلظت سرب مورد استفاده و تعداد دفعات و مدت حضور حیوان مشاهده شد.

**نتیجه‌گیری:** این مطالعه نشان داد که مسمومیت با سرب موجب از بین رفتن اضطراب متعارف در موش سوری گردیده و می‌تواند باعث افزایش خطرپذیری حیوان گردد.

**واژه‌های کلیدی:** اضطراب- رفتار پرخطر- موش سوری- سرب

\* (نویسنده مسئول)؛ تلفن ۰۲۱-۶۱۱۱۷۱۹۰، شماره ۰۲۱-۶۶۹۳۳۲۲۲، پست الکترونیک: gsadeghi@ut.ac.ir

## مقدمه

با صنعتی شدن جوامع انسانی، آلاینده‌هایی همچون سرب در چرخه زندگی وارد شده، که می‌توانند اثرات منفی را در ارگان‌های بدن به جای گذارند. یکی از راههای آلودگی در انسان مصرف آب شهری است که به طور جدی در دوره‌های خاصی در دو دهه گذشته مورد توجه قرار گرفته و مقالات زیادی در این رابطه منتشر شده است. ایالات متحده آمریکا در فاصله زمانی بین ۱۹۹۱ تا ۲۰۰۷ حدود ۳۷٪ مقالات منتشر شده در این رابطه را به خود اختصاص داده است (۱). در اتحادیه اروپا، ۲۵٪ لوله‌های آب شهری و متعلقات آن حاوی سرب به عنوان بخشی از آلیاژهای مورد استفاده در آنها هستند و در حالی که در سال ۲۰۱۳ بر اساس قانون مصوب باید میزان سرب در آب از ۱۰ میکروگرم در لیتر کمتر باشد، در برخی مناطق اروپا در حال حاضر میزان سرب در آب از ۲۵ میکروگرم در لیتر نیز تجاوز می‌کند (۲). مسمومیت مزمن با این ماده اثرات زیانباری را بر انسان و حیوانات اعمال می‌کند. موارد مسمومیت با عوارض بالینی از ۵۶ سال قبل گزارش و ۱۷ مورد مسمومیت در کودکان در بیمارستان کودکان واشنگتن در همان سال مورد بررسی قرار گرفته است (۳).

ماز بعلاوه مرتفع (Elevated-Plus Maze) که از این پس با حروف مخفف EPM از آن یاد خواهد شد، یک وسیله ساده و ابتدایی است که بخشی از رفتارهای موش سوری و موش صحرائی را می‌توان در آن، مورد مطالعه قرار داد. این وسیله در سال ۱۹۸۵ توسط Pellow و همکارانش برای مطالعه اضطراب در موش صحرائی معرفی گردید (۴). این وسیله از دو بازوی عمود بر هم ساخته شده که در عمل تشکیل یک بعلاوه را می‌دهد. یکی از بازوها دارای دیواره بلند است و به نام بازوی بسته نامیده می‌شود و دیگری فاقد دیواره است و به عنوان بازوی باز از آن یاد می‌شود. چونندگان بطور کلی ترجیح می‌دهند در مدت کوتاهی که در EPM قرار داده می‌شوند در بازوی بسته اقامت کنند و از مخاطرات حاصل از رفت و آمد و ایستادن در بازوی باز می‌ترسند. تردد آنها در بازوی باز، محدود به کنجکاو و جستجوگری است و بخصوص در قسمتهای انتهایی

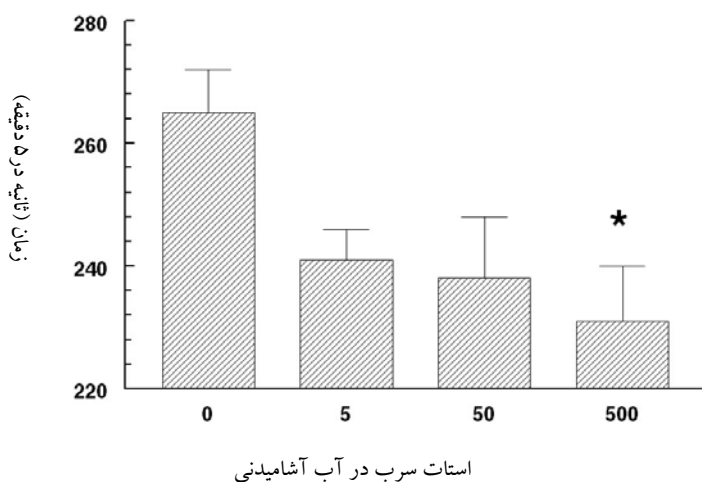
آن بسیار کم وارد می‌شوند چرا که ارتفاع دستگاه از سطح زمین و خطر سقوط از آن از یک سو و بی حفاظ بودن حیوان از سویی دیگر موجب خودداری حیوان از این کار می‌شود. از دو سال پس از معرفی EPM برای استفاده در موش صحرائی، این دستگاه در ابعادی کوچکتر و متناسب برای موش سوری به کار گرفته شد (۵). اشکال مدرن و کامپیوتریزه شده آنها در هر دو حیوان به وفور مورد استفاده واقع می‌گردند ولی اساس کار در مورد دستگاه ساده و مدرن یکی است و اعتبار یکسانی دارند (۶) اثرات آلاینده‌ها بر رفتار چندان مطالعه نشده است در حالی که تغییرات رفتاری (بر خلاف تغییرات در عملکرد ارگانهای حیاتی) به دلیل اثراتی که بر سایر افراد و حیوانات و بطور کلی محیط زندگی اعمال می‌کنند شاید از اهمیت بیشتری نیز برخوردار باشند. هدف از مطالعه‌ی حاضر، بررسی اثرات احتمالی سرب بر بخشی از رفتارهای قابل اندازه‌گیری در یک موش سوری بود. در این مطالعه، افزایش یا کاهش مدت حضور حیوان در بازوهای باز EPM به معنای افزایش یا کاهش در رفتار خطرپذیر تلقی شدند و شاید آنچه در این مدل حیوانی اتفاق می‌افتد در انسان نیز عوارض مشابهی را به دنبال داشته باشد.

## روش بررسی

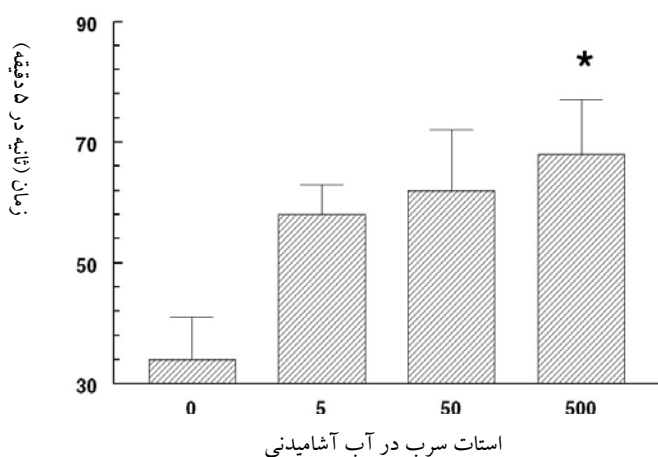
تعداد ۴۸ موش سوری نر بالغ با وضعیت ظاهری سالم از انستیتو پاستور ایران خریداری و در شرایط استاندارد متعارف (درجه حرارت اتاق، تواتر روشنایی-تاریکی ۱۲ ساعته، دسترسی آزاد به غذای تجاری و آب شهری) نگهداری شدند. حیوانات به ۴ گروه ۱۲ تایی به صورت تصادفی تقسیم شده و به مدت ۴ هفته، ۲۸ روز در آب آشامیدنی ۳ گروه از آنها مقادیر ۵، ۵۰ یا ۵۰۰ ppm استات سرب افزوده شد. گروه شاهد آب معمولی دریافت نمود. در روز ۲۹، رفتار حیوانات در ماز بعلاوه مرتفع (Elevated Plus Maze=EPM) مورد مطالعه قرار گرفت. به این منظور، حیوانات به صورت انفرادی در قسمت میانی ماز رها شده، به مدت ۵ دقیقه و با استفاده از دوربین مداربسته مورد بررسی قرار گرفتند. پارامترهای مورد بررسی عبارت بودند از: مدت زمان حضور در بازوهای بسته، مدت زمان حضور در

در این قسمت از ۲ ثانیه در ۵ دقیقه در گروه کنترل به ۲۰ ثانیه در ۵ دقیقه در گروه چهار افزایش یافت.

در این تحقیق روشن شد که تماس با سرب موجب افزایش تعداد دفعات ورود حیوان به منطقه انتهائی بازوی کوتاه ( $P=0/006$ ) و مدت حضور حیوان در کل بازوی کوتاه ( $P=0/034$ ) می‌گردد. همچنین رابطه مستقیمی بین غلظت سرب مورد استفاده و تعداد دفعات و مدت حضور حیوان مشاهده شد.



**شکل ۱:** مدت اقامت موش سوری در بازوهای بسته EPM در ۵ دقیقه به دنبال ۲۸ روز درمان با ۰-۵۰۰ ppm استات سرب در آب آشامیدنی. علامت \* نشاندهنده وجود اختلاف معنی دار بین گروه مربوطه با گروه کنترل (۰ ppm) است ( $P<0/05$ ).



**شکل ۲:** مدت اقامت موش سوری در بازوهای باز EPM در ۵ دقیقه به دنبال ۲۸ روز درمان با ۰-۵۰۰ ppm استات سرب در آب آشامیدنی. علامت \* نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار بین گروه مربوطه با گروه کنترل (۰ ppm) است ( $P<0/05$ ).

بازوهای باز و مدت زمان حضور در یک سوم انتهائی بازوهای باز.

استات سرب استفاده شده در این مطالعه از محصولات شرکت مرک آلمان بود.

داده‌ها به صورت ثنائی ثبت و از نتایج حاصل از هر گروه، میانگین و خطای معیار میانگین به دست آمد. برای مقایسه سه گروه با همدیگر از آنالیز واریانس یکطرفه استفاده شد و هر گاه  $P$  از ۰/۰۵ کوچکتر بود، دو گروه آزمون تک تک با گروه کنترل با استفاده از آزمون  $t$  بونفرونی مقایسه شدند. هر گاه که  $P$  از ۰/۰۵ کوچکتر بود تفاوت بین گروه آزمون و گروه شاهد از نظر آماری معنی دار تلقی گردید. برای آنالیز داده‌ها از نرم افزار SPSS 17.0 و برای ترسیم گرافها از نرم افزار حرفه‌ای SlideWrite Plus 7.0 استفاده به عمل آمد.

## نتایج

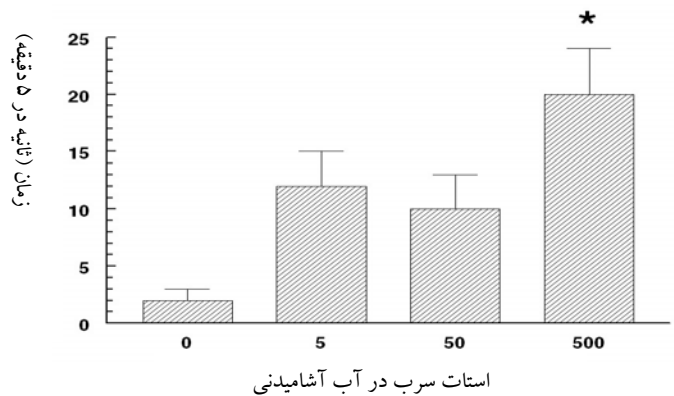
مدت زمان حضور در بازوهای بسته (شکل ۱): تفاوت‌هایی در این مورد مشاهده شد به این نحو که هر چه غلظت سرب مصرفی بیشتر بود مدت زمان حضور در بازوهای بسته کمتر شد ( $P=0/025$ ). بیشترین کاهش در غلظت ۵۰۰ ppm به میزان ۱۳٪ در مقایسه با گروه کنترل ایجاد شد که به سطح معنی داری آماری رسید ( $P<0/05$ ).

مدت زمان حضور در بازوهای باز (شکل ۲): حیوانات درمان شده با سرب مدت طولانی‌تری را در این بازوها به سر بردند ( $P=0/023$ ). اختلاف بین گروهی که ۵۰۰ ppm سرب در آب آشامیدنی دریافت کرده بودند از نظر آماری معنی دار بود ( $P<0/05$ ) به نحوی که این مدت از ۳۴ ثانیه در ۵ دقیقه به دو برابر یعنی ۶۸ ثانیه در ۵ دقیقه رسید.

مدت زمان حضور در یک سوم انتهائی بازوهای باز (شکل ۳): مدت زمان حضور حیوانات در این بخش افزایش مشخصی نشان داد که هر چه غلظت سموم مورد استفاده بیشتر بود بر این مدت افزوده شد ( $P<0/001$ ). این اثر به خصوص در مورد گروهی که بالاترین غلظت را دریافت کرده بودند بطور مشخص مشاهده گردید ( $P<0/05$ ), به طوری که مدت حضور

قرار داده اند. بر اساس یافته‌ی آنان، در نوزادان علایم بیش فعالی، اختلال در یادگیری، کاهش فعالیت جستجوگری و بروز فراموشی مشاهده شده است (۹). گروه دیگری از محققین آزمایشات مشابهی را انجام داده، افزایش علایم اضطرابی را در نوزادان موشهای صحرایی که در تماس با ترکیب سرب و کادمیوم در آب آشامیدنی بوده‌اند گزارش نموده‌اند (۱۰). چنین اثراتی با توجه به اندازه‌گیری‌های انجام شده در هیپوکامپ به افزایش فعالیت سیستمهای دوپامینرژیک و سروتونینرژیک نسبت داده شد. این یافته هماهنگی چندانی با یافته‌های تحقیق حاضر ندارد که شاید به این علت باشد که اثرات، نه در خود موجود بلکه در فرزندان آن مورد مطالعه قرار گرفته است و شاید سرب یا کادمیوم یا هر دو بر روند تکاملی سیستم اعصاب مرکزی تأثیر گذارده باشند که در مطالعه‌ی ما مد نظر نبوده اند. بعلاوه، گونه حیوانی مورد استفاده در موارد فوق موش صحرایی بوده است نه موش سوری.

مطالعه حاضر علی‌رغم سادگی و تکرارپذیری آن در شرایط اولیه‌ی آزمایشگاهی و کارگاهی، به دلیل نبودن آن از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. عدم مطالعات جدی در زمین اثرات آلاینده‌های محیطی بر رفتار، چه در مدل‌های حیوانی و چه در کارآزمایی‌های انسانی، موجب غفلت بسیاری از مسئولین امور بهداشتی و قانونی در این رابطه گردیده است. آنچه در این موارد مد نظر بوده، در اثرات سموم و آلاینده‌ها برجسته می‌شود، اثرات آنها بر ارگانهای اساسی همچون کبد، کلیه، قلب و نظایر آن است در حالی که در حوزه فعالیت‌های اجتماعی، هرگونه اثر احتمالی سموم بر رفتار می‌تواند زندگی عادی انسان را مختل و تأثیرات خود را حتی بر کسانی که خود در معرض آلاینده نبوده‌اند اعمال نماید.



شکل ۳ - مدت اقامت موش سوری در یک سوم انتهایی بازوهای بازم EPMD در ۵ دقیقه به دنبال ۲۸ روز درمان با ۰-۵۰۰ ppm استات سرب در آب آشامیدنی. علامت \* نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه مربوطه با گروه کنترل (۰ ppm) است ( $P < 0.05$ ).

### بحث و نتیجه گیری

یافته‌های پژوهش حاضر از این جهت از اهمیت برخوردارند که اولاً یک موضوع مطرح (یعنی مسمومیت با سرب) را که برای محققین علوم پزشکی قابل درک و ملموس است مورد مطالعه قرار داده است و ثانیاً علی‌رغم اهمیت آن متأسفانه اینگونه مطالعات در محققان قرار گرفته است. در یکی از نخستین مطالعات مرتبط با مسمومیت با سرب در مدل‌های حیوانی، نشان داده شد که این ماده سمی در نوزادان میمون رزوس علاوه بر اثرات پاتولوژیکی در اعضای حساس موجب بیش فعالی و بیخوابی می‌گردد (۷). اثر بیش فعالی این آلاینده در موش سوری نیز از همان سال مورد مطالعه قرار گرفته است (۸).

گروهی از محققان اثرات تماس با سرب در موش صحرایی و یستار را نه بر خود حیوان، بلکه بر نوزادانی که مادران آنها در زمان آبستنی یا شیردهی در تماس با سم بوده‌اند مورد مطالعه

## منابع:

- 1- Hu J, Ma Y, Zhang L, Gan F, Ho YS. *A historical review and bibliometric analysis of research on lead in drinking water field from 1991 to 2007*. Sci Total Environ. 2010; 408 (7) 1738-44.
- 2- Hayes CR, Skubala ND. *Is there still a problem with lead in drinking water in the European Union?* J Water Health. 2009; 7 (4): 569-80.
- 3- Ryan TJ. *Lead poisoning in children; a review of 17 cases at the Children's Hospital, Washington D.C.* Clin Proc Child Hosp Dist Columbia. 1954;10 (10): 202-909.
- 4- Pellow S, Chopin P, File SE, Briley M. *Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat*. J Neurosci Methods. 1985; 14(3):149-67.
- 5- Lister RG. *The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse*. Psychopharmacology (Berl). 1987; 92(2):180-5.
- 6- Hogg S. *A review of the validity and variability of the elevated plus-maze as an animal model of anxiety*. Pharmacol Biochem Behav. 1996; 54 (1): 21-30.
- 7- Allen JR, McWey PJ, Suomi SJ. *Pathobiological and behavioral effects of lead intoxication in the infant rhesus monkey*. Environ Health Perspect. 1974;7:239-46.
- 8- Silbergeld EK, Goldberg AM. *Hyperactivity: a lead-induced behavior disorder*. Environ Health Perspect. 1974;7: 227-32.
- 9- Moreira EG, Vassilieff I, Vassilieff VS. *Developmental lead exposure: behavioral alterations in the short and long term*. Neurotoxicol Teratol. 2001;23(5):489-95.
- 10- Leret ML, Millán JA, Antonio MT. *Perinatal exposure to lead and cadmium affects anxiety-like behaviour*. Toxicology. 2003;186(L2):125-30.