Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences
Vol. 24, No.9, Dec 2016
Pages: 736-747

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
دوره ۲۴، شماره ۹، آذر ۱۳۹۵
صفحه: ۷۴۷-۷۳۶

# تاثیرات مواجهه مزمن استات سرب بر واکنش به تحریکات دردناک در موش سوری

محمد کاظم کوهی[۱]، گودرز صادقی هشجین[۲]، علی رسولی[۳]، زکیه خرمی[۴]، ابراهیم شهروزیان*[۵]

**چکیده**

**مقدمه:** اثرات سرب بر بسیاری از اعمال اعضای بدن شناخته شده است ولی کارهای تجربی کمتری برای پی بردن به اثرات آن بر رفتار، ازجمله حس درد انجام شده است. این پژوهش برای بررسی تغییرات احتمالی در شروع حس درد و شدت واکنش به آن در موش سوری پس از تماس طولانی مدت با استات سرب اجرا گردید.

**روش بررسی:** در این مطالعه تجربی، ۲۴ سر موش سوری نر بالغ آلبینو به ۳ گروه ۸ تایی تقسیم شدند. گروه شاهد آب شهری دیونیزه دریافت کردند و هر دو گروه درمان شده، از آب دیونیزه آلوده شده با مقادیر ۵ یا ۵۰۰ قسمت در میلیون استات سرب به مدت ۹۰ روز مداوم دریافت کردند. در روز ۹۱، آزمون‌های دردسنجی با استفاده از صفحه داغ و تزریق فرمالین برای ارزیابی شروع و شدت واکنش به درد حرارتی و شیمیایی انجام شد. در پایان، حیوانات با مرگ آسان کشته شدند و نمونه خون از آن‌ها برای اندازه‌گیری سطوح سرمی کورتیزول با استفاده از روش ELISA اخذ گردید.

**نتایج:** حیواناتی که در معرض استات سرب قرار گرفتند، در پاسخ به درد ناشی از حرارت تأخیر آشکاری را در دوز پایین(۵۲٪) و در دوز بالا (۵۹٪ ) از خود نشان دادند. شدت احساس درد حرارتی به میزان ۶۳٪ در دوز پایین و ۸۲٪ در دوز بالای استات سرب کاهش یافت ($P<0/05$). تأخیر در پاسخ به درد شیمیایی هم تا ۶۸٪ و شدت واکنش به درد تا ۸۰٪ کاهش را نشان داد که هیچ‌کدام از نظر آماری معنی‌داری نبود. میزان کورتیزول خون تقریباً در بین گروه‌ها بدون تغییر بود.

**نتیجه‌گیری:** تأخیر در واکنش به محرک‌های دردناک که پس از تماس طولانی مدت با استات سرب دیده می‌شود ممکن است به‌عنوان یک اختلال منجر به تضعیف نقش هشدار دهنده درد مطرح شود. علاوه براین مطالعات بیشتری در رابطه با مکانیسم عمل و میزان اهمیت این اثرات قابل انجام است.

**واژه‌های کلیدی:** استات سرب، درد حرارتی، درد شیمیایی، موش سوری

۱- استادیار، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران
۲،۳- دانشیار، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران
۴- دکتری عمومی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران
۵- استادیار، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه سمنان
*(نویسنده مسئول)؛ تلفن: ۰۹۱۵۵۷۱۹۳۵۶، پست الکترونیکی: shahroozian@semnan.ac.ir

تاریخ دریافت : ۱۳۹۵/۲/۲۴ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۷/۱۵

[ Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-10-12 ]

**مقدمه**

با ظهور عصر صنعتی و بهره‌برداری از معادن، افزایش عوامل آلاینده محیطی ازجمله فلزات سنگین سلامت بشر را تهدید کرده و تاثیرات فراوانی بر سیستم‌های مختلف بدن گذاشته است. سرب ازجمله آلاینده‌های محیطی است که در نتیجه استفاده صنعتی و وجود منابع طبیعی آن در هر محیطی یافت می‌شود. علیرغم محدودیت‌های قانونی اعمال‌شده برای استفاده از سرب در صنعت، این فلز سنگین همچنان از آلاینده‌های محیطی مهم به شمار می‌رود (۱،۲). با وجود اینکه تأثیر آلاینده‌های محیطی بر مورفولوژی و فیزیولوژی بدن امری بدیهی است، به نظر می‌رسد که در مورد اثرات ناشی از سرب بر تغییر در حس درد ابهامات زیادی وجود دارد و مطالعات انجام شده کافی نیست. تماس با سرب اثرات ویرانگری بر تکامل سیستم عصبی دارد و سبب ایجاد نقصان‌های مورفولوژیک، شناختی و رفتاری می‌گردد (۲،۳). گزارش شده است که غلظت یون سرب در سراسر بافت مغز یکسان و یکنواخت نیست و برخی بافت‌ها دارای غلظت یون سرب بالاتری هستند. همچنین توزیع سرب در نواحی مختلف مغز به مقدار سرب تجویز شده، مدت تماس و سن بستگی دارد (۴،۵). در مسمومیت‌های حاد و مزمن می‌توان تغییرات عصبی و رفتاری را دید (۶،۷). از اثرات عصبی سرب می‌توان به تأثیر آن بر احساس درد اشاره کرد. درد عبارت است از احساس ناخوشایند یک موجود زنده که معمولاً به علت تحریک پایانه‌های عصبی آزاد ایجاد می‌گردد و این تحریک‌ها ناشی از عوامل آسیب‌رسانی است که موجود زنده را وادار می‌سازد تا از این عوامل دوری کند. پایانه‌های عصبی آزاد، گیرنده‌های فاقد کپسول و میلین هستند که در اکثر نواحی بدن یافت می‌شوند. این گیرنده‌ها به تحریکات مکانیکی، دما و مواد شیمیایی مضر پاسخ می‌دهند. این فیبرهای عصبی، درد را به سیستم اعصاب مرکزی منتقل می‌کند تا از آسیب بافتی بیشتر جلوگیری گردد.

مطالعات گذشته حاکی از تأثیر سرب در تغییر آستانه درد بوده است (۱۰-۸). همچنین نشان داده شده که سن و روش انجام آزمایش در آستانه تحریک حس درد تأثیرگذار بوده است (۱۱). به منظور ارزیابی حس درد آزمایش‌های مختلفی طراحی شده است که ازجمله آن‌ها می‌توان از تست کشیدن دم (Tail-flick test)، عدم پرش (Flinch-jump test)، نیشگون (Pinch test)، استفاده از صفحه داغ (Hot plate test) و درد ناشی از تزریق فرمالین (Formalin test) نام برد (۱۵-۱۲).

ارزیابی اثرات رفتاری سرب در انسان و دام‌های مزرعه و حیوانات همدم به‌صورت تجربی مقدور نیست. با انجام این نوع آزمایش‌ها، امکان کشف برخی از مکانیسم‌ها و دلایل بروز اختلالات رفتاری، تعمیم آن به سایر گونه‌های حیوانی، تشویق محققین بالینی و روانشناسان به انجام مطالعات میدانی در انسان و به‌طور کلی گشودن یک رهیافت جدید برای مطالعات عمیق‌تر فراهم می‌گردد.

پژوهش حاضر برای پی بردن به اثرات احتمال مسمومیت مزمن با سرب بر تغییرات در حس درد و پاسخ‌دهی به آن در یک مدل حیوانی آزمایشگاهی به منظور تعمیم احتمالی مشاهدات به اختلالات رفتاری مرتبط با درد در انسان در جوامع شهری و صنعتی مدرن انجام‌گرفته لذا با اندازه‌گیری احساس درد حرارتی، احساس درد شیمیایی و سنجش میزان کورتیزول در موش سوری، ارتباط این فلز با حس درد بررسی شده است.

**روش بررسی**

مواد شیمیایی

استات سرب، دی اتیل اتر از شرکت مرک آلمان و محلول فرمالدئید از شرکت دکتر مجللی و محلول کلرید سدیم ۰/۰۹٪ از شرکت ابوریحان خریداری شد.

مدل حیوانی و گروه‌های مورد مطالعه

در این مطالعه موش سوری بالغ نر با دامنه وزنی ۳۰-۲۵ گرم برای انجام آزمایش‌ها انتخاب گردید. حیوانات مورد آزمایش از بخش پرورش و تکثیر حیوانات آزمایشگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران خریداری شدند. حیوانات در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و درجه حرارت ۲۵-۲۲ درجه سانتی‌گراد در قفس‌های از جنس پلی‌اتیلن شفاف نگهداری شدند. حیوانات پیش از شروع دوره به مدت ۱۰ روز جهت تطابق با شرایط جدید بدون تجویز



[ Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-10-12 ]

هرگونه ماده‌ای در شرایط عادی با دریافت غذای تجاری و دسترسی به آب شهری نگهداری شدند. حیوانات در طول دوره آزمایش بر اساس دستورالعمل اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران رفتار شد.

در این مطالعه ۲۴ سر موش سوری به‌طور تصادفی در گروه‌های زیر قرار گرفتند (n=۸ برای هر گروه):

الف) گروه شاهد. این گروه آب معمولی را دریافت نمودند.

ب) گروه۵ppm. در آب آشامیدنی این گروه میزان ۵ppm استات سرب وجود داشت.

ج) گروه ۵۰۰ppm. در آب آشامیدنی این گروه میزان ۵۰۰ppm استات سرب وجود داشت.

اندازه‌گیری پارامترها

میزان مصرف غذا

برای تمامی گروه‌ها مقدار مساوی و کافی از غذای تجاری هر دو هفته به‌وسیله ترازوی دیجیتالی اندازه‌گیری شد و در دسترس حیوانات قرار گرفت. در روزهای ۱۵، ۲۹، ۴۳، ۵۷، ۷۱ و ۸۵ با تفاضل مقدار غذای در دسترس از غذای باقی مانده، میزان غذای مصرف شده محاسبه گردید.

میزان آب مصرفی

برای تمامی گروه‌ها هر دو هفته مقدار مساوی از آب آشامیدنی با دوز مشخص از استات سرب برای هر گروه، در دسترس حیوانات قرار گرفت. به طوری که آب گروه شاهد فاقد استات سرب بود. آب گروه دوم حاوی ۵ppm از استات سرب به‌صورت محلول و آب گروه سوم حاوی ۵۰۰ppm از استات سرب به‌صورت محلول در آب بود. در روزهای ۱۵، ۲۹، ۴۳، ۵۷، ۷۱ و ۸۵ با تفاضل مقدار آب در دسترس از آب باقی مانده، میزان آب مصرف شده محاسبه شد.

میزان تغییرات وزن

میزان تغییرات وزن برای هر گروه در روزهای ۲۹، ۴۳، ۵۷، ۷۱ و ۸۵ با تفاضل میزان وزن در این دو هفته از مقدار وزن در دو هفته گذشته محاسبه گردید.

ارزیابی احساس درد ناشی از حرارت

در روز ۹۱ آزمایش احساس درد حرارتی در تک‌تک حیوانات انجام شد. در این آزمایش حیوانات به مدت ۲۰ ثانیه روی صفحه داغ با حرارت ۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. با استفاده از زمان‌سنج اولین واکنش حیوان در لیسیدن دست خود ثبت گردید و به‌عنوان شاخص شروع احساس درد در نظر گرفته شد. همچنین تعداد دفعاتی که حیوان در مدت‌زمان ۲۰ ثانیه دست خود را می‌لیسد به عنوان شاخص شدت احساس درد اندازه‌گیری گردید.

ارزیابی احساس درد شیمیایی

در روز ۹۱ آزمایش احساس درد شیمیایی در تک‌تک حیوانات انجام شد. در تمامی حیوانات فرمالین ۱٪ به میزان ۰/۰۵ میلی‌لیتر به‌صورت زیر جلدی در کف پای راست حیوان تزریق گردید و با استفاده از دوربین مداربسته به مدت ۵ دقیقه واکنش حیوان مورد بررسی قرار گرفت. با استفاده از کرونومتر اولین واکنش حیوان در لیسیدن محل تزریق، به عنوان شاخص شروع احساس درد شیمیایی و مدت‌زمانی که حیوان پای خود را می‌لیسد به عنوان شاخص شدت احساس درد شیمیایی در نظر گرفته شد.

ارزیابی میزان کورتیزول خون

پس از پایان ارزیابی‌های احساس درد حرارتی و شیمیایی، کارهای زیر برای اندازه‌گیری میزان کورتیزول خون انجام شد. موش‌های مورد آزمایش ابتدا با دی اتیل اتر بی‌هوش شده و بعد توسط گیوتین کشته شدند. سپس خون حیوانات جمع‌آوری گردید. خون‌های جمع‌آوری‌شده ابتدا در دمای آزمایشگاه نگهداری و پس از انعقاد، توسط دستگاه سانتریفیوژ سرم آن جدا شد. میزان کورتیزول سرم حیوانات بر حسب میکروگرم بر دسی‌لیتر با روش معمول الایزا (ELISA) اندازه‌گیری گردید.

بررسی آماری داده‌ها

داده‌های گروه‌های مختلف با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه و سپس با استفاده از آزمون بنفرونی در سطح معنی‌داری P کوچک‌تر از ۰/۰۵ مورد بررسی قرار گرفت.

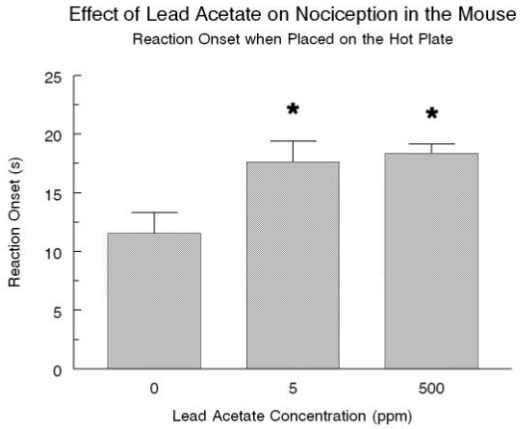
**نتایج**

تأثیر سرب بر زمان شروع حس درد حرارتی



[ Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-10-12 ]

میانگین شروع حس درد حرارتی در گروه شاهد ۱۱/۵۷ ثانیه بود درحالی‌که در گروه ۵ppm، ۱۷/۶۳ ثانیه و در گروه ۵۰۰ppm، به ۱۸/۳۸ ثانیه رسید. در دو گروه ۵ppm و ۵۰۰ppm به‌طور معنی‌داری افزایش زمان شروع درد، در مقایسه با گروه شاهد مشاهده گردید. گروه ۵۰۰ppm در مقایسه با گروه ۵ppm افزایش اندکی در واکنش نسبت به شروع حس درد داشت که این اختلاف معنی‌دار نبود (شکل ۱).

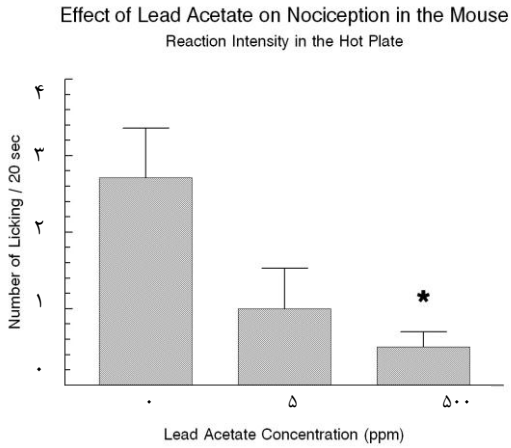



نمودار ۱: میانگین و خطای معیار، زمان شروع حس درد حرارتی در گروه شاهد و گروه‌های با غلظت صفر، ۵ppm و ۵۰۰ppm استات سرب در آب در پایان دوره ۹۰ روزه آزمایش (n=۸)

علامت * بیانگر تفاوت معنی‌دار P<۰/۰۵ در مقایسه با گروه شاهد است.

تأثیر سرب بر شدت حس درد حرارتی

میانگین تعداد دفعات لیسیدن دست در گروه شاهد، ۲/۷۱ و در گروه با غلظت ۵ppm، ۱/۰۰ و در گروه ۵۰۰ppm، ۰/۵۰ بود. در گروه ۵۰۰ppm تفاوت معنی‌داری در مقایسه با گروه شاهد مشاهده گردید. گروه ۵۰۰ppm در مقایسه با گروه ۵ppm واکنش کمتری را نشان داد که این اختلاف معنی‌دار نبود (شکل ۲).



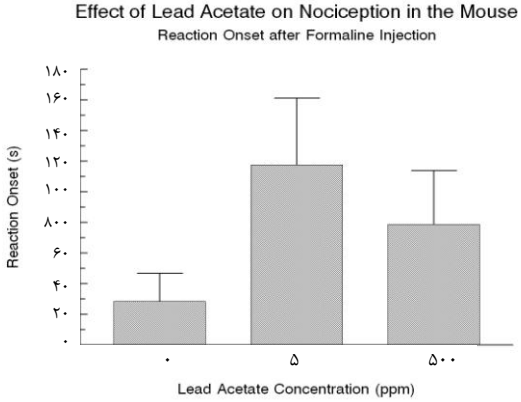

نمودار ۲: میانگین و خطای معیار، شدت حس درد حرارتی در گروه شاهد با گروه‌های با غلظت صفر، ۵ppm و ۵۰۰ppm استات سرب در آب در پایان دوره ۹۰ روزه آزمایش (n=۸)

علامت * بیانگر تفاوت معنی‌دار P<۰/۰۵ در مقایسه با گروه شاهد است.

[ Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-10-12 ]

تأثیر سرب بر زمان شروع حس درد شیمیایی

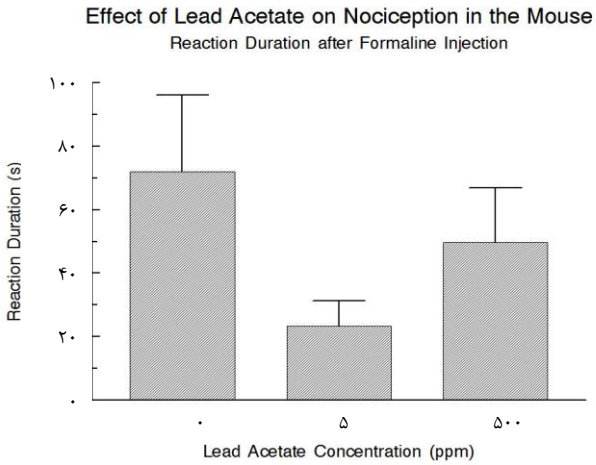
میانگین زمان شروع حس درد شیمیایی در گروه شاهد، ۲۸/۴۳ ثانیه و در گروه ۵ppm، ۱۱۷/۷۵ ثانیه و در گروه ۵۰۰ppm، ۷۸/۸۸ ثانیه بود. در مقایسه گروه شاهد با گروه ۵ppm و ۵۰۰ppm افزایش زمان واکنش نسبت به حس درد شیمیایی مشاهده گردید اما این اختلاف‌ها از نظر آماری معنی‌دار نبود. در مقایسه گروه ۵ppm و ۵۰۰ppm گروه، ۵ppm افزایش زمان اندکی را در شروع حس درد شیمیایی را نسبت به گروه ۵۰۰ppm نشان داد که این اختلاف نیز معنی‌دار نبود (شکل ۳).




نمودار ۳: میانگین و خطای معیار، زمان شروع حس درد شیمیایی (متعاقب تجویز فرمالین در کف پای حیوان)در گروه شاهد با گروه‌های با غلظت صفر، ppm5 و ppm500 استات سرب در آب در پایان دوره ۹۰ روزه آزمایش (n۸=)

تأثیر سرب بر شدت حس درد شیمیایی

میانگین مدت‌زمان لیسیدن پا در گروه شاهد، ۷۲/۰۰ ثانیه، گروه ۵ppm، ۲۳/۳۸ ثانیه و گروه ۵۰۰ppm، ۴۹/۶۳ ثانیه بود. در مقایسه گروه شاهد با گروه ۵ppm و گروه ۵۰۰ppm، مدت‌زمانی که حیوان نسبت به حس درد شیمیایی واکنش نشان می‌دهد در دو گروه ۵ppm و ۵۰۰ppm کاهش نشان داده است؛ اما این اختلاف‌ها معنی‌دار نبوده است. در مقایسه گروه ۵ppm و ۵۰۰ppm، گروه ۵ppm به میزان کمتر نسبت به‌شدت حس درد شیمیایی واکنش نشان داد که این اختلاف نیز معنی‌دار نبود (شکل ۴).

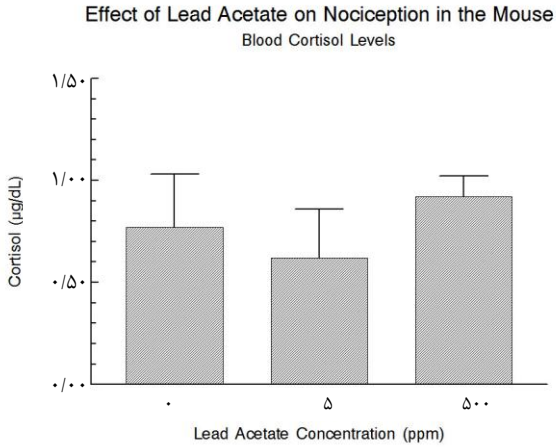



نمودار ۴: میانگین و خطای معیار، شدت حس درد شیمیایی (متعاقب تجویز فرمالین در کف پای حیوان) در گروه شاهد با گروه‌های با غلظت ۵ppm و ۵۰۰ppm استات سرب در آب در پایان دوره ۹۰ روزه آزمایش (n=۸)

[ Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-10-12 ]

تأثیر سرب بر سطح هورمون کورتیزول خون

میانگین سطح کورتیزول خون در گروه شاهد، ۰/۷۷، در گروه ۵ppm، ۰/۶۲ و در گروه ۵۰۰ppm، ۰/۹۲ میکروگرم بر دسی‌لیتر بود. میزان اختلاف سطح کورتیزول خون در گروه‌ها معنی‌دار نبود (شکل ۵).




نمودار ۵: میانگین و خطای معیار، سطح هورمون کورتیزول خون، در گروه شاهد با گروه‌های با غلظت ۵ppm و ۵۰۰ppm استات سرب در آب در پایان دوره ۹۰ روزه آزمایش (n=۸)

تأثیر سرب بر میزان اخذ غذا، آب و وزن بدن

در جدول ۱ میزان اخذ غذا و آب در هر حیوان به طور متوسط در هر دو هفته و همچنین تغییرات وزن بدن در هر حیوان به طور متوسط در کل دوره دوازده هفته‌ای گزارش شده است. تفاوت معنی‌داری در گروه شاهد با گروه‌های در معرض سرب مشاهده نشد (جدول ۱).

جدول ۱: مقایسه میزان اخذ غذا و آب (توسط هر حیوان در هر دو هفته) و تغییرات در وزن بدن (در هر حیوان به طور متوسط در طول کل دوره ۱۲ هفته‌ای) در گروه شاهد با گروه‌های تیمار با غلظت ۵ppm و ۵۰۰ppm استات سرب در آب (n=8)

| | ۰ | ۵ | ۵۰۰ |
|---|---|---|---|
| دریافت غذا (گرم/در ۱۲ هفته) | ۶۴±۶ | ۶۸±۱ | ۵۸±۲ |
| دریافت غذا (میلی‌لیتر/ در ۱۲ هفته) | ۸۵±۷ | ۸۲±۶ | ۸۰±۵ |
| وزن گیری (گرم/در ۱۲ هفته | -۰/۳±۱/۲ | -۰/۶±۱/۳ | -۰/۲±۰/۴ |

## بحث

در این مطالعه موش‌های مورد آزمایش سرب را به فرم گوارشی و مزمن که یکی از راه‌های شایع مواجهه سرب در انسان و دام است، دریافت کردند. در این پژوهش شناسایی آستانه تحریک درد به دو روش صفحه داغ و تزریق فرمالین مورد مطالعه قرار گرفت.

تأخیر در احساس درد به‌صورت معنی‌داری در زمان شروع حس درد حرارتی در گروه‌های در معرض سرب، مشاهده گردید. در گروه‌های در معرض سرب، شدت احساس درد کاهش معنی‌دار را نشان داد. تأخیر در زمان احساس درد و کاهش شدت احساس درد در گروه‌های در معرض سرب، مشاهده گردید. تفاوت معنی‌داری در میزان سطح کورتیزول خون در گروه شاهد و گروه‌های در معرض سرب، مشاهده نشد. همچنین در میزان مصرف غذا، آب و تغییرات وزن نیز تفاوت معنی‌دار مشاهده نگردید.

در یکی از مطالعات قبلی که به منظور پی بردن به تأثیر سرب بر احساس درد انجام شد، رت‌ها به مدت ۲۱ روز در دوران

[ Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-10-12 ]

جنینی و ۱۴ روز در زمان شیرخواری در معرض سرب بودند. مادران استات سرب را با دو دوز ۳۰۰ppm و ۱۰۰۰ppm به‌صورت محلول در آب آشامیدنی دریافت کردند. تست بیرون کشیدن دم از آب ۵۰ درجه سانتی‌گراد در روزهای ۲۰ و ۲۵ انجام شد. در روز ۲۰ در گروه ۱۰۰۰ppm و در روز ۲۵ در گروه‌های ۳۰۰ppm و ۱۰۰۰ppm تأخیر در زمان احساس درد مشاهده شد (۱۱).

در مطالعه دیگر، احساس درد در رت‌های متولد شده از مادرانی که در مواجهه با سرب بودند، مطالعه گردید. در این آزمایش، مادران استات سرب را به صورت محلول در آب آشامیدنی دریافت می‌کردند. رت‌های مورد آزمایش به مدت ۲۱ روز در دوران جنینی تا ۲۱ روز بعد از تولد (زمان از شیرگیری) در معرض سرب قرار داشتند. غلظت استات سرب ۳۰۰ppm و ۱۰۰۰ppm بود. آزمایش بیرون کشیدن دم در آب ۵۰ درجه سانتی‌گراد، در روزهای ۱۰، ۲۱ و ۳۰ انجام گردید. مورفین در زمان‌های ۱۵، ۳۰ و ۶۰ دقیقه قبل از انجام آزمایش و با چند دوز مختلف تزریق شد. در گروه ۳۰۰ppm در روز ۱۰ مدت زمان تحمل درد در مقایسه با گروه شاهد کاهش پیدا کرد و سرب سبب اختلال در عمل مورفین شد. خاصیت ضد دردی مورفین در روزهای ۲۱ و ۳۰ با گروه شاهد تفاوتی نداشت. این احتمال وجود دارد که سرب سبب آسیب به گیرنده‌های اپیوئیدی سیستم اعصاب مرکزی می‌شود. این حساسیت در سنین پایین بیشتر است (۱۶).

در چندین مطالعه نشان داده شده که استرس می‌تواند سبب کاهش احساس درد گردد (۱۹-۱۷). محققین به منظور پی بردن به نحوه عملکرد سرب بر سیستم اعصاب مرکزی آزمایشی را طراحی کردند. در این آزمایش، رت‌ها در دوران جنینی و ۱۴ روز بعد از تولد (دوران شیرخواری) در معرض سرب بودند. مادران سرب را به صورت محلول در آب آشامیدنی در دو دوز ۳۰۰ppm و ۱۰۰۰ppm دریافت کردند. جهت بررسی اثر سرب بر گیرنده‌های اپیوئیدی از نالوکسان استفاده گردید. به حیوانات با تست شنا در آب ۲۰ درجه سانتی‌گراد استرس وارد شد. به منظور ایجاد درد از آزمایش بیرون کشیدن دم در آب ۵۰ درجه سانتی‌گراد استفاده شد. در حیواناتی که تنها متحمل تست استرس شدند، سرب تأثیری بر خاصیت ضد دردی استرس نداشت. در حیواناتی که علاوه بر استرس نالوکسان نیز دریافت نمودند اختلال در عملکرد ضد دردی نالوکسان دیده شد. به عبارت دیگر، سرب سبب از هم گسیختگی میانجی‌های اپیوئیدی شد اما بر میانجی‌های غیر اپیوئیدی تأثیری نداشت (۱۱).

مطالعه دیگری روی موش‌های C57BL/6 انجام شد. در این پژوهش اثرات سرب بر احساس درد مورد مطالعه قرار گرفت. یک گروه از موش‌ها در دوران جنینی و شیرخواری توسط مادران خود در معرض سرب بودند. آب آشامیدنی مادران حاوی ۰/۰۱٪ استات سرب بود. این گروه سپس به مدت ۲۱ روز از آب آشامیدنی حاوی ۰/۵٪ سرب استفاده کردند. گروه دیگر تنها به مدت ۲۱ روز آب حاوی ۰/۵٪ سرب را دریافت نمودند. آزمایش صفحه داغ بر روی حیوانات انجام شد. مدت زمانی که حیوان کف پای خود را می‌لیسد و زمانی که حیوان برای فرار کردن از موقعیت تقلا می‌کند ثبت گردید. سرب سبب تأخیر در احساس درد در حیوانات مورد آزمایش شد. آزمایش لیسیدن پا نسبت به زمان فرار کمتر تحت تأثیر سرب بود. در ادامه به منظور پی بردن به نحوه عملکرد سرب به حیوانات نالوکسان تجویز شد. مشاهده شد نالوکسان سبب از بین بردن خاصیت ضد دردی سرب می‌شود که احتمالاً ناشی از تأثیر این فلز بر گیرنده‌های اپیاتی هست (۱۰).

در مطالعه دیگری اثرات دوزهای مختلف سرب مورد بررسی قرار گرفت. در این پژوهش از موش‌های نر نژاد آلبینو استفاده شد. به منظور ایجاد درد از آزمایش تزریق فرمالین در کف پا استفاده گردید. مدت زمان لیسیدن در دقایق ۵-۰ به عنوان فاز اول و در دقایق ۳۰-۲۵ به عنوان فاز دوم در نظر گرفته شد. سرب با دوزهای ۵۰، ۷۵، ۱۰۰، ۱۲۵ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به روش درکف پا تجویز گردید. در فاز اولیه، در دوزهای ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مدت زمان لیسیدن افزایش یافت و افزایش درد مشاهده گردید. به عبارت دیگر در فاز اولیه میزان احساس درد وابسته به دوز نبود. در فاز دوم سرب سبب بی‌دردی شد که این بی‌دردی وابسته به دوز بود (۲۰).



[ Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-10-12 ]

مطالعه حاضر نشان داد که مسمومیت مزمن با استات سرب سبب تغییر در آستانه تحریک درد و همچنین شدت احساس درد می‌گردد. این تغییر در زمان آغاز حس درد حرارتی و شدت احساس درد حرارتی محسوس‌تر و معنی‌دار بود. در تفسیر این نتایج باید توجه نمود که شناسایی مکانیسم عملکرد سرب به علت فقدان یک نشانگر نوروشیمیایی اختصاصی در تشخیص اختلال سیستم عصبی دشوار است. گزارش شده است که سرب مراحل مختلف عملکرد نوروترانسمیترها (سنتز، انتشار، متابولیسم و عملکرد گیرنده) را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۲۱). سرب ممکن است تأثیر خود را با اختلال در سنتز، نگهداری و آزادسازی پپتیدهای اوپیوئیدی آندوژن اعمال کند (۲۲). ممکن است این اثر به علت تأثیر فلز سرب بر گیرنده‌های اپیوئیدی باشد (۱۶). همچنین می‌تواند فرض شود که نسبت سرب به کلسیم نقش مهمی را در روند تولید نوروترانسمیتر داشته باشد. احتمال داده می‌شود که سرب و کلسیم اثر رقابتی بر جایگاه آزادسازی نوروترانسمیتر دارند (۶). تحقیقات دیگر نیز مکانیسم‌های مختلفی را برای سرب یاد می‌کنند که از آن جمله وجود نوعی گیرنده اختصاصی است که به خاصیت رقابتی بین کلسیم و سرب ارتباطی ندارد (۷). همچنین به نظر می‌رسد نحوه ورود سرب به بدن و میزان دریافت سرب در این امر دخیل باشد.

در مطالعه حاضر در گروه‌های مختلف مورد آزمایش، تفاوت معنی‌دار بر میزان سطح سرمی کورتیزول دیده نشد.

محققین پیشین نیز در مطالعات خود تاثیرات سرب را بر هورمون‌های بدن مورد بررسی قرار دادند. در پژوهشی تأثیر استات سرب بر رفتار جنسی و هورمون تستسترون در رت‌های نر مطالعه گردید. حیوانات مورد آزمایش سرب را به مدت ۲۸ روز به صورت خوراکی با دوزهای ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دریافت کردند. در گروه‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کاهش سطح هورمون تستسترون مشاهده شد (۲۳).

در مطالعه‌ای دیگر تأثیر مسمومیت با سرب بر هورمون‌های LH و GnRH بررسی شد. رت‌های نر سرب را با دوزهای ۰/۰۲۵، ۰/۱، ۰/۵ و ۳٪ در آب به مدت ۱۰۰ روز دریافت نمودند. در حیوانات مورد مطالعه تفاوت معنی‌داری در سطوح هورمون‌های LH و GnRH دیده نشد (۲۴).

همچنین تأثیرات سرب بر هورمون‌های تیروئیدی مورد مطالعه قرار گرفته است. در طی یک مطالعه روی رت‌های آلبینو، نتایج نشان داد که سطوح سرمی هورمون‌های T3، T4 و TSH به دوز سرب وابسته است (۲۵).

در پژوهش‌های پیشین تأثیر سرب بر برخی هورمون‌ها در رت‌های آلبینو مطالعه گردید. حیوانات مورد مطالعه در آن آزمایش سرب را به میزان ۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت ۲۱ روز به صورت داخل صفاقی دریافت نمودند. قابل توجه آن که افزایش معنی‌دار سطح سرمی هورمون کورتیکوسترون، تستسترون، FSH و LH دیده شد (۲۶).

در مطالعه‌ای دیگر تأثیرات سرب بر کارگرانی که در مواجهه شغلی با سرب بودند مورد بررسی قرار گرفت. سطوح خونی سرب در افراد مورد آزمایش در حد متوسط ۱/۹ میکرومول بود. در افراد مورد آزمایش تغییرات هورمون‌های کورتیزول، LH، TSH، T3، T4 و تستسترون در محدوده طبیعی بود (۲۷).

بار دیگر خاطر نشان می‌شود که نتایج این مطالعه نشان داد سطح کورتیزول خون در مسمومیت با استات سرب تغییر معنی‌داری نمی‌کند. برای تفسیر این نتایج به نظر می‌رسد نحوه ورود سرب به بدن و همچنین میزان سربی که وارد بدن می‌شود در این امر دخیل باشند.

در ادامه مطالعات در این پژوهش میزان اخذ غذا و آب (هر ۲ هفته یک‌بار) و تغییرات وزن بدن (در کل مدت آزمایش به طول ۱۲ هفته) مورد بررسی قرار گرفت. در پارامترهای مورد نظر بین گروه شاهد و گروه‌های در مواجهه با سرب تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد.

در مطالعه‌ای دیگر که توسط محققین پیشین انجام شد. رت‌ها سرب را با دوزهای ppm ۱۰۰، ۸۰۰ و ۱۷۰۰ به صورت محلول در آب دریافت کردند. در دو جنس نر و ماده در دو گروه ppm ۸۰۰ و ۱۷۰۰ کاهش دریافت آب مشاهده گردید (۲۸).

در پژوهشی که توسط محققین در گذشته انجام شد تأثیر سرب بر وزن بدن مورد ارزیابی قرار گرفت. در این آزمایش



[ Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-10-12 ]

رت‌های مورد آزمایش به واسطه مادران خود در زمان جنینی و شیرخوارگی در معرض سرب بودند. حیوانات در مواجهه با سرب تغییرات معنی‌داری را در مقایسه با گروه شاهد نشان ندادند (۲۹).

محققین در مطالعه دیگر تأثیر سرب بر تغییرات وزن را بررسی کردند. در این مطالعه رت‌های باردار در زمان آبستنی و شیردهی در معرض سرب بودند. دوز سرب در مادران ppm ۳۰۰، ۶۰۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰، ۳۰۰۰ و ۴۰۰۰ به صورت محلول در آب آشامیدنی در نظر گرفته شد. در دوزهای بالای ppm ۱۰۰۰ تأثیر سرب بر تغذیه وجود داشت اما در دوزهای پایین اثری دیده نشد (۳۰).

به نظر می‌رسد سرب در دوزهای بالا می‌تواند سبب کاهش در میزان اخذ آب و غذا گردد. این تغییرات در دوزهای پایین سرب دیده نشد. همچنین به نظر می‌رسد نحوه ورود سرب به بدن در تغییرات وزن، میزان اخذ غذا و آب تاثیرگذار باشد.

## نتیجه‌گیری

تأخیر در واکنش به محرک‌های دردناک که پس از تماس طولانی مدت با استات سرب دیده می‌شود ممکن است به عنوان یک اختلال منجر به تضعیف نقش هشدار دهنده درد مطرح شود. از آنجایی که مدت زمان تماس با سرب و سن فاکتورهای مهمی بر اثرات سرب هستند، به نظر می‌رسد آزمایش‌های تکمیلی برای پی بردن به تأثیر سرب در گروه‌های سنی مختلف انجام پذیرد. تحقیقات آتی نه‌تنها در حیوانات آزمایشگاهی بلکه به صورت اپیدمیولوژیک در سطح بالینی در جامعه انسانی نیز صورت بگیرد.

## *References:*


*1-* Jacobs DE, Wilson J, Dixon SL, Smith J, Evens A. ***The relationship of housing and population health: a 30-year retrospective analysis.*** Environ Health Perspec 2009; 117(4): 597.

*2-* Finkelstein Y, Markowitz ME, Rosen JF. ***Low-level lead-induced neurotoxicity in children: an update on central nervous system effects***. Brain Res Rev 1998; 27(2): 168-76.

*3-* Yun SW, Lannert H, Hoyer S. ***Chronic exposure to low-level lead impairs learning ability during aging and energy metabolism in aged rat brain.*** Arch gerontol geriat 2000; 30(3): 199-213.

*4-* Cory-Slechta DA, Weiss B, Cox C. ***Delayed behavioral toxicity of lead with increasing exposure concentration***. Toxicol appl pharmacol 1983; 71(3): 342-52.

*5-* Domingo JL. ***Metal-induced developmental toxicity in mammals: A review***. J Toxicol Environ Health, Part A Current Issues 1994; 42(2): 123-41.

*6-* Silbergeld EK. ***Interactions of lead and calcium on the synaptosomal uptake of dopamine and choline***. Life Sci 1977; 20(2): 309-18.

*7-* Struzyńska L, Rafałowska U. ***The effect of lead on dopamine, GABA and histidine spontaneous and KCl-dependent releases from rat brain synaptosomes***. Acta neurobiol experimen 1993; 54(3): 201-07.

*8-* Baraldi M. ***Neurobehavioral and neurochemical abnormalities of pre-and postnatally lead-exposed rats: zinc, copper and calcium status***. Neurobehav Toxicol Teratol 1985.


[ Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-10-12 ]

*9-* Bondy SC, Hong JS, Tilson HA, Walsh TJ. ***Effects of triethyl lead on hot-plate responsiveness and biochemical properties of hippocampus.*** Pharmacol Biochem Behav 1985; 22(6): 1007-11.

*10-* Vickers C, Paterson AT. ***Two types of chronic lead treatment in C57BL/6 mice: interaction with behavioural determinants of pain***. Life Sci 1986; 39(1): 47-53.

*11-* Jackson HC, Kitchen I. ***Perinatal lead exposure impairs opioid but not non-opioid stress-induced antinociception in developing rats***. British j pharmacol 1989; 97(4): 1338-42.

*12-* Dennis SG, Melzack R. ***Pain modulation by 5-hydroxytryptaminergic agents and morphine as measured by three pain tests.*** Experimen neurol 1980; 69(2): 260-70.

*13-* Dennis SG, Melzack R, Gutman S, Boucher F. ***Pain modulation by adrenergic agents and morphine as measured by three pain tests.*** Life Sci 1980; 26(15): 1247-59.

*14-* Murray CW, Porreca F, Cowan A. ***Methodological refinements to the mouse paw formalin test: an animal model of tonic pain.*** J pharmacol meth 1988; 20(2): 175-86.

*15-* Ramabadran K, Bansinath M. ***A critical analysis of the experimental evaluation of nociceptive reactions in animals.*** Pharm res 1986; 3(5): 263-70.

*16-* Kitchen I, McDowell J, Winder C, Wilson J. ***Low-level lead exposure alters morphine antinociception in neonatal rats.*** Toxicol let 1984; 22(2): 119-23.

*17-* Jackson HC, Kitchen I. ***Swim-stress-induced antinociception in young rats.*** British j pharmacol 1989; 96(3): 617-22.

*18-* Millan M. ***Stress and endogenous opioid peptides: a review.*** Mod prob pharmacopsych 1981; 17: 49.

*19-* Terman GW, Morgan MJ, Liebeskind JC. ***Opioid and non-opioid stress analgesia from cold water swim: importance of stress severity.*** Brain Res 1986; 372(1): 167-71.

*20-* Kaufman T, Kalderon N, Ullmann Y, Berger J. ***Aloe vera gel hindered wound healing of experimental second-degree burns: a quantitative controlled study.*** J Burn Care Res 1988; 9(2): 156-9.

*21-* Govoni S, Memo M, Lucchi L, Spano P, Trabucchi M. ***Brain neurotransmitter systems and chronic lead intoxication.*** Pharmacol Res Commun 1980; 12(5): 447-60.

*22-* Bailey C, Kitchen I. ***Ontogenesis of proenkephalin products in rat striatum and the inhibitory effects of low-level lead exposure.*** Develop Brain Res 1985; 22(1): 75-9.

*23-* Mokhtari M, Zanboori M. ***The Effects of Lead Acetate on Sexual Behavior and the Level of Testosterone in Adult Male Rats.*** Inter J Fertil Steril 2011; 5(1): 13.

*24-* Sokol RZ, Wang S, Wan Y-JY, Stanczyk FZ, Gentzschein E, Chapin RE. ***Long-term, low-dose lead exposure alters the gonadotropin-releasing hormone system in the male rat.*** Environ health perspect 2002; 110(9): 871.

[ Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-10-12 ]

*25-* Sujatha K, Srilatha C, Rao TC, Amaravathi P. ***Lead induced thyroid dysfunction in Wistar albino rats and its amelioration with Ocimum sanctum leaf extract–a hormonal and histopathological study.*** J Environ Occup Sci 2012; 1(1): 12-6.

*26-* Biswas NM, Ghosh PK. ***Protection of adrenal and male gonadal functions by androgen in lead-treated rats.*** Kathmandu Univ Med J 2006; 4(2): 218-21.

*27-* Gustafson Å, Hedner P, Schütz A, Skerfving S. ***Occupational lead exposure and pituitary function.*** Inter Arch Occup Environ Health 1989; 61(4): 277-81.

*28-* Kubaszky R, Esdaile DJ, Forster R. ***Reproductive effects of lead acetate administered in drinking water to Wistar rats in an extended one generation toxicity study.*** Inter J Toxicol 2013; 32(1): 80-1.

*29-* Winder C, Kitchen I, Clayton LB, Gardiner SM, Wilson JM, Lewis PD. ***The effect of perinatal lead administration on the ontogeny of striatal enkephalin levels in the rat.*** Toxicol appl pharmacol 1984; 73(1): 30-4.

*30-* Carmichael NG, Winder C, Lewis PD. ***Dose response relationships during perinatal lead administration in the rat: a model for the study of lead effects on brain development.*** Toxicol 1981; 21(2): 117-28.

[ Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-10-12 ]

# *Effects of Chronic Exposure to Lead Acetate on the Reactions to Painful Stimuli in Mice*

***Mohammd-kazem Koohi (PhD)[1], Goudarz Sadeghi-Hashjin (PhD)[2]***
***Ali Rasouli (PhD)[3], Zakiye Khorami (MD)*[4], Ebrahim Shahroozian (PhD)[5]***

[1-4] *Department of Basic Science, School of Veterinary Medicine, Tehran University, Tehran, Iran.*
[5] *Department of Basic Science, School of Veterinary Medicine, Semnan University, Semnan, Iran.*

***Received:*** 13 May 2016 ***Accepted:*** 6 Oct 2016

## *Abstract*

***Introduction:*** Influences of lead on functions of many organ systems are known, but less experimental studies has been done on influences over the behavior, including pain sensation. This study was carried out to reveal possible changes in the onset and intensity of reactions to painful stimuli in mice, after long-term exposure to lead acetate.

***Methods:*** In this experimental study, 24 adult male albino mice were divided randomly into 3 groups of 8 each. Control group received fresh water ad lib and 2 treated groups received drinking water contaminated by either 5 ppm or 500 ppm of LA for 90 consecutive days. On the day of 91, nociceptive were performed using a hot plate and formalin, to evaluate onset and intensity of reaction in response to the thermal and chemical pain, respectively. At the end, the animals were euthanized and blood samples were collected for determination of cortisol levels using an ELISA assay.

***Results:*** The animals exposed to LA showed a delay in reaction to painful stimuli induced by thermal stimulus by 52% and 59% with low and high doses, respectively. Thermal pain intensity of reactions to was declined by 63% with LA 5 ppm and by 82% with LA 500 ppm ($P<0.05$). Delayed reaction to chemical stimulus was also prominent in treated groups up to 68% and the pain intensity was declined by 80%, but they were not statistically significant. Blood cortisol levels remained almost unchanged.

***Conclusion:*** Delayed reaction to painful stimuli after chronic LA exposure may be considered as a complication which weaken the alarming role of the pain. Further studies regarding the mechanism of action and the extent of the importance of these effects are warranted.

***Keywords:*** Lead Acetate; Thermal Pain; Chemical Pain; Mice

***This paper should be cited as:***
Mohammd-kazem Koohi, Goudarz Sadeghi-Hashjin, Ali Rasouli, Zakiye Khorami, Ebrahim Shahroozian. ***Effects of chronic exposure to lead acetate on the reactions to painful stimuli in mice.*** J Shahid Sadoughi Univ Med Sci 2016; 24(9): 736-47.

****Corresponding author: Tel: 09155719356, email: shahroozian@semnan.ac.ir***

[ Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-10-12 ]