



اثرات استات سرب طی دوره تکوینی پس از تولد بر مخچه موش‌های صحرائی نر: ارزیابی بافت‌شناسی و رفتاری

مریم بذرگر^۱، گودرزی^{۲*}، تقی لشکر بلوکی^۲، محمود اله دادی سلمانی^۲، کتانه ابراری^۲

۱- دانشگاه دامغان - دانشکده زیست‌شناسی - گروه زیست‌شناسی عمومی - دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی جانوری.

۲- دانشگاه دامغان - دانشکده زیست‌شناسی - گروه زیست‌شناسی عمومی - استادیار.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۸/۷، تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۰/۲۴

چکیده

مقدمه: مسمومیت حاد یا مزمن حیوانات و انسان‌ها با سرب حتی با غلظت پایین به‌خوبی شناخته شده است. همچنین بررسی‌های اخیر نشان داد که مغز در حال تکوین نیز آسیب‌پذیری ویژه‌ای نسبت به مسمومیت عصبی با سرب دارد. از آنجاکه تکوین مخچه تا مدتی پس از تولد ادامه می‌یابد، این مطالعه با هدف تأثیر سرب بر ساختار بافتی قشر مخچه و رفتارهای حرکتی موش‌های صحرائی طی دوره تکوینی پس از تولد طراحی گردید. **مواد و روش‌ها:** در این مطالعه تجربی نوزادان نر موش‌های صحرائی به تصادف به دو گروه کنترل ($n=10$) و در معرض سرب ($n=10$) تقسیم شدند. گروه در معرض سرب، استات سرب را با دوز 8 mg/kg از روز اول تا ۲۱ روز پس از تولد روزانه یک‌بار به‌صورت تزریق داخل صفاقی دریافت کردند. مطالعات رفتاری شامل آزمون‌های روتارود و *open field* در روزهای ۳۱-۳۳ پس از تولد و مطالعات بافتی بعد از پایان آزمون‌های رفتاری در روز ۳۳ انجام گرفت.

نتایج: تیمار با سرب موجب اختلال در اجرای آزمون روتارود در جلسات ۱، ۲ ($P < 0.01$) و ۴، ۶ ($P < 0.05$) گردید. همچنین سرب باعث اختلال در فعالیت‌های حرکتی و جستجوگرانه حیوانات گردیده به‌طوری‌که تعداد مربع‌های پیموده شده ($P < 0.05$) و تعداد ایستادن‌ها ($P < 0.05$) در آزمون *Open field* به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. نتایج حاصل از مطالعات بافتی نیز نشان داد که تعداد سلول‌های پورکنز به میزان قابل‌توجهی در گروه تیمار شده با سرب نسبت به کنترل کاهش می‌یابد ($P = 0.001$).

نتیجه‌گیری: این نتایج پیشنهاد می‌کند که قرارگیری در معرض سرب طی دوره تکوینی پس از تولد، آثار سوء بر مخچه داشته و باعث اختلال در اجرای فعالیت‌های حرکتی و رفتار جستجوگرانه موش‌های صحرائی می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: استات سرب، سلول‌های پورکنز، تکوین پس از تولد، موش‌های صحرائی.

* نویسنده مسئول: دامغان، دانشگاه دامغان، دانشکده زیست‌شناسی، تلفن: ۰۲۳-۳۵۲۴۷۱۴۶، Email: irangoudarzi@du.ac.ir

ارجاع: بذرگر مریم، گودرزی ایران، لشکر بلوکی تقی، اله دادی سلمانی محمود، ابراری کتانه. اثرات استات سرب طی دوره تکوینی پس از تولد بر مخچه موش‌های صحرائی نر: ارزیابی بافت‌شناسی و رفتاری. مجله دانش و تندرستی ۱۳۹۳؛ ۹(۴): ۱۷-۲۳.

مقدمه

سرب شایع‌ترین آلوده‌کننده زیست محیطی در جهان است که به‌طور گسترده در سراسر پوسته زمین توزیع شده است و از همان اوایل ایجاد تمدن یکی از بیشترین فلزات مورد استفاده بوده است و امروزه نیز کاربرد وسیعی در صنایع مختلف دارد. حیوانات و انسان‌ها عمدتاً از طریق غذا، آب یا هوای آلوده ناشی از صنعت و سوختن بنزین محتوی سرب، در معرض سرب قرار می‌گیرند (۱).

سمیت سرب قرن‌هاست که شناخته شده است و علائم بالینی مسمومیت با سرب در سیستم‌های هماتوپوئیتیک، معده‌ای- روده‌ای، کلیوی، قلبی و عروقی و عصبی مرکزی به‌خوبی توصیف شده است (۲) و (۳). مطالعات متعددی هم در حیوانات (۴-۷) و هم در انسان‌ها (۸-۱۰) گزارش کرده‌اند که سرب بیشترین اثرات زیان‌آور خود را روی سیستم اعصاب مرکزی به‌ویژه در زمان تکوین به‌علت تکثیر سلولی بیش از حد، تمایز و سیناپتوژنزی که در طی این دوره رخ می‌دهد (۱۱) و (۱۲)، اعمال می‌کند. نابالغ بودن سد خونی مغزی و فقدان کمپلکس‌های پروتئینی که قادرند سرب را از مغز جدا کنند باعث افزایش آسیب‌پذیری مغز به سرب طی تکوین می‌شود (۱۱ و ۱۳)؛ بنابراین موضوعی که اهمیت آلودگی با سرب را در دوران تکوین تشدید می‌کند این است که جذب سرب در دوره تکوین و تمایز ارگانسیم بسیار بیشتر از سایر مراحل زندگی است (۱۴)؛ بنابراین در معرض قرارگیری مزمن با سرب چه در زمان پیش از تولد یا تکوین پس از تولد باعث اختلالات در سیستم عصبی می‌شود که می‌توان به تغییرات بافتی، نوروشیمیایی، فراساختاری و رفتاری اشاره کرد. البته مقدار و بزرگی این سمیت عصبی بستگی به شرایط مختلف سمیت دارد که عمدتاً اشاره به سن فرد، دوز و مدت زمان در معرض قرارگیری با سرب دارد (۱۵). اثرات سمیت سرب روی جایگاه‌های متفاوت از مغز به‌خصوص مخچه (۱۶ و ۱۷) و هیپوکمپ (۱۸) گزارش شده است. در این راستا تخریب مخچه به‌عنوان یک ناحیه‌ای از مغز که در تعادل و یادگیری حرکتی نقش دارد (۲۰) باعث اختلالات حرکتی و رفتاری می‌گردد (۲۰). باتوجه به این نقطه نظرات، هدف از این مطالعه بررسی اثرات استات سرب بر روی ساختار بافتی قشر مخچه و به تبع آن بر رفتارهای حرکتی و تعادلی در موش‌های صحرایی است که طی دوره‌ی محدودی از تولد تا ۲۱ روز پس از تولد در معرض استات سرب قرار گرفتند.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق تجربی، از موش‌های بالغ نر و ماده نژاد ویستار با وزن ۱۷۰-۲۰۰ گرم که از محل موسسه تحقیقات رازی کرج تهیه شدند، استفاده گردید. حیوانات پس از خریداری و انتقال به حیوان‌خانه جهت سازش با محیط جدید به‌مدت یک هفته نگهداری شدند. به‌منظور

بررسی فرضیه مطرح شده، ۵ رت ماده و ۵ رت نر به تصادف انتخاب شدند و هر رت ماده به همراه یک رت نر در یک قفس قرار داده شدند تا جفت‌گیری انجام شود. جهت اثبات جفت‌گیری ۱۲ ساعت بعد از آمون اسمیر گرفته شد که در صورت مثبت بودن آمون، حیوان نر از ماده جدا می‌شد و روز مشاهده پلاک واژینال به‌عنوان روز صفر بارداری در نظر گرفته شد. در تمام طول دوره آزمایش حیوانات در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و دمای محیطی کنترل شده (۲۲-۲۰) درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند و دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند.

پروتکل اخلاقی کار بر روی حیوانات رعایت گردید. در روز تولد نوزادان نر از ماده جدا شدند و به‌طور تصادفی به دو گروه آزمایشی تقسیم شدند:

گروه کنترل: این گروه تزریق روزانه یک‌بار آب مقطر به‌صورت داخل صفاقی (حجم تزریق ۴۰ میکرولیتر) از روز تولد تا ۲۱ روز پس از تولد دریافت کردند (n=۱۰).

گروه در معرض سرب: این گروه تزریق روزانه یک‌بار ۸mg/kg استات سرب حل شده در آب مقطر به‌صورت داخل صفاقی از روز تولد تا ۲۱ روز پس از تولد دریافت کردند (n=۱۰).

از روز تولد تا روز ۳۵ پس از تولد هر هفته یک‌بار تغییرات وزن موش‌ها ثبت گردید. به‌منظور ارزیابی فعالیت حرکتی حیوان از دستگاه open field و برای بررسی فعالیت تعادلی و قدرت هماهنگی حرکتی بین اندام‌های حیوان از دستگاه روتارود استفاده شد. آمون open field در روز ۳۲ پس از تولد انجام گردید. به این صورت که حیوان در جعبه‌ای از جنس پلکسی گلس با ابعاد ۴۵×۴۰×۴۰ سانتی‌متر که به ۱۶ مربع به اندازه‌های مساوی تقسیم شده است، قرار گرفت. این آزمایش برای ارزیابی فعالیت جستجوگرانه حیوان به‌مدت ۵ دقیقه انجام گرفت. پارامترهای مشاهده شده شامل تعداد مربع‌هایی است که حیوان عبور می‌نماید (Crossing) و همچنین عمل تمیز کردن یا خاراندن (Grooming) و ایستادن (Rearing) می‌باشد (۲۱).

برای ارزیابی فعالیت تعادلی و قدرت هماهنگی حرکتی بین اندام‌های حیوان از دستگاه روتارود استفاده شد. این آمون در روزهای ۳۱، ۳۲ و ۳۳ بعد از تولد انجام گرفت. برای این منظور حیوان روی میله چرخنده دستگاه روتارود قرار می‌گرفت که با سرعت ۵ دور در دقیقه می‌چرخید و زمان سنج آن به‌طور همزمان فعال می‌گردید. سرعت چرخش میله شروع به افزایش می‌نمود تا به حداکثر ۴۰ دور در دقیقه می‌رسید و هنگامی که حیوان تعادلش را روی میله چرخنده از دست داده و می‌افتاد، در این زمان زمان سنج متوقف می‌گردید و زمان باقی ماندن حیوان روی میله چرخنده (حفظ تعادل) را نشان می‌داد. رت‌ها در روز، دو جلسه، حداکثر تا ۶ جلسه (در سه روز متوالی) مورد آزمایش قرار گرفتند. هر جلسه از ۴ آموزش تشکیل شده که فاصله بین آموزش‌های

دفعاتی که حیوان خود را تمیز می‌کند هیچ تفاوت معنی‌داری دیده نشد (جدول ۱).

گروه	کنترل	سرب
تعداد مربع‌های پیموده شده	۶۴/۳ ± ۴/۰۱۴	۴۹/۵ ± ۴/۰۵۴۶*
ایستادن	۲۷/۱ ± ۲/۰۰۵	۲۰/۳ ± ۲/۰۸*
تمیزکردن	۵/۸ ± ۰/۶۶۳۳	۴/۶ ± ۰/۴۲۶۸

داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار نمایش داده شده‌اند (n=۱۰)
* تفاوت معنی‌دار بین گروه کنترل و سرب (P<۰/۰۵)

تعداد سلول‌های پورکنز	کنترل	سرب
	۲/۰۹۸ ± ۰/۰۲۶۵	۱/۵۲ ± ۰/۰۴۲۳***

داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار نمایش داده شده‌اند (n=۵)
*** تفاوت معنی‌دار بین گروه کنترل و سرب (P=۰/۰۰۱)

تغییرات وزن حیوانات از روز تولد تا ۳۵ روز بعد از تولد هر هفته یک بار در هر دو گروه کنترل و سرب ثبت می‌گردید. وزن حیوانات در هر دو گروه کنترل و سرب تا روز ۱۴ پس از تولد تفاوت معنی‌داری نشان نداد اما از روز ۲۱ به بعد در گروه تیمار شده با سرب نسبت به کنترل کاهش معنی‌داری مشاهده شد (P=۰/۰۰۱) (نمودار ۲).

سلول‌های پورکنز دارای جسم سلولی بزرگ (۲۵-۳۰ μm) و دندریته‌های گسترده شبیه پنکه می‌باشند که در قشر مخچه به‌طور منظم و در یک لایه بین لایه مولکولی و لایه گرانولی قرار گرفته‌اند. ترتیب طبیعی لایه سلول‌های پورکنز با لایه مولکولی و گرانول در لوبول‌های قشر مخچه در هر دو گروه مشاهده شد. در موش‌های تیمار شده با سرب نورون‌های پورکنز به‌صورت پراکنده و نامنظم در لایه سلول‌های پورکنز قرار گرفته و بین آنها فاصله زیادی مشاهده گردید. سلول‌های پورکنز در مخچه گروه کنترل کاملاً تمایز یافته و به شکل گلابی مشاهده اما در گروه تیمار شده با سرب اکثر سلول‌های پورکنز به‌صورت کروی مشاهده شدند (شکل ۱). همچنین سلول‌های پورکنز مخچه در طول ۲۵۰ μm در چند ناحیه به‌طور تصادفی در تمامی لوبول‌های مخچه شمارش شد. تعداد سلول‌های پورکنز گروه تیمار شده با سرب در مقایسه با گروه کنترل در قشر مخچه کاهش معنی‌داری نشان داد (P=۰/۰۰۱، جدول ۲).

بحث

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که استات سرب بر قشر مخچه به‌خصوص سلول‌های پورکنز تأثیرات منفی اعمال می‌کند به‌طوری‌که هم تعداد آنها کاهش یافت و هم تغییرات مورفولوژی در آنها ایجاد شد. همچنین این مطالعه نشان داد که استات سرب باعث نقص در هماهنگی حرکتی- تعادلی و فعالیت‌های حرکتی می‌گردد.

متوالی ۱۰ دقیقه بوده و حداقل ۲ ساعت بین ۲ جلسه روزانه فاصله می‌باشد (۲۲).

پس از انجام آزمون‌های رفتاری، موش‌ها با کتامین-زایلین بیهوش شدند و پس از باز کردن قفسه سینه، پرفیوژن از طریق بطن چپ با نرمال سالین و پارافرمالدئید ۱۰٪ انجام شد. به این صورت که رگ آئورت موش‌ها کلمپ می‌شد و ابتدا با نرمال سالینی که به بطن چپ تزریق می‌گردید (۱۰۰ میلی‌لیتر) مغز موش شستشو داده می‌شد و سپس با پارافرمالدئید تزریقی به بطن چپ (۱۰۰ میلی‌لیتر) مغز آنها فیکس می‌گردید، سپس سر موش‌ها برای بیرون آوردن مغز با گیوتین جدا شدند. ورمیس مخچه از بقیه مخچه جدا و در محلول فرمالین-سالین به مدت سه روز فیکس گردید و پس از آماده‌سازی بافتی با پارافین قالب‌گیری شد. از قالب‌های آماده شده مقاطع ۱۰ میکرومتری تهیه و به‌منظور بررسی اثر سرب بر سلول‌های پورکنز مخچه از رنگ‌آمیزی کریزل و یوله استفاده شد. تعداد سلول‌های پورکنز در ۲۵۰ میکرومتر از لایه سلول‌های پورکنز ناحیه ورمیس در دو گروه شمارش شد و به‌عنوان تراکم خطی سلول‌های پورکنز بیان شد.

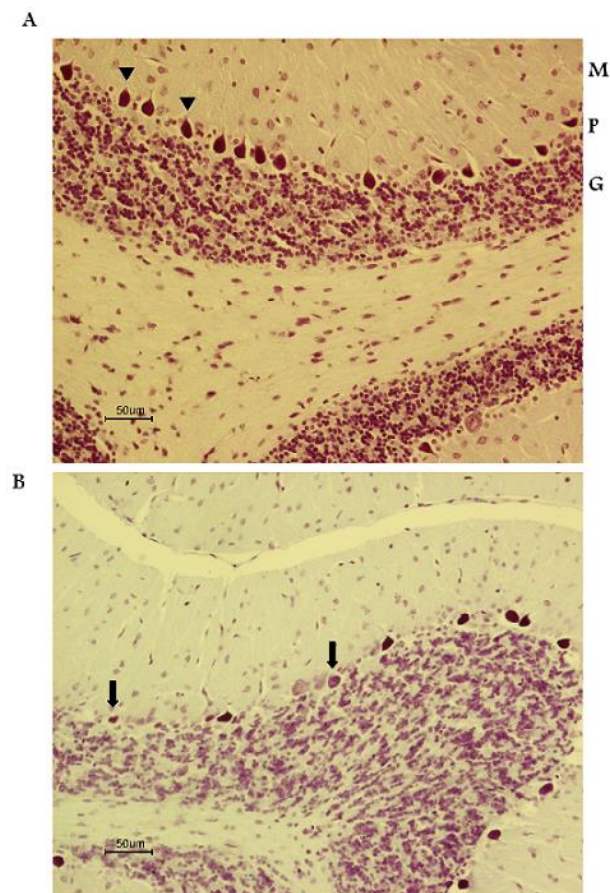
داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS-16 و آزمون Independent samples t-test مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. نمودارهای مربوطه نیز توسط نرم‌افزار Excel رسم گردید.

نتایج

هماهنگی حرکتی و تعادلی حیوانات طی روزهای ۳۱، ۳۲ و ۳۳ بعد از تولد (روزانه در دو جلسه و در سه روز متوالی) با دستگاه روتارود ارزیابی گردید و با گروه کنترل مقایسه شدند. زمان باقی ماندن رت‌ها روی میله در حال چرخش روتارود در جلسه اول روز ۳۱ به‌عنوان زمان باقی ماندن اولیه (Initial latency) در نظر گرفته شد.

موش‌های تیمار شده با سرب زمان باقی ماندن اولیه کمتری را نسبت به حیوانات گروه کنترل نشان دادند (۱۷۸/۸ ± ۱۲/۷) ثانیه در حیوانات گروه کنترل نسبت به ۱۱۸/۱۵ ± ۱۳/۶ ثانیه در حیوانات گروه سرب، (P<۰/۰۱ نمودار A). همچنین زمان باقی ماندن حیوانات گروه سرب روی میله در حال چرخش روتارود در روز سی و دوم و سی و سوم پس از تولد کاهش معنی‌داری را در مقایسه با گروه کنترل نشان داد (P<۰/۰۱) در جلسه‌ی دو، (P<۰/۰۵) در جلسه چهار و شش، نمودار (B).

فعالیت‌های حرکتی حیوانات در روز ۳۱ بعد از تولد با دستگاه open field ارزیابی گردید. این آزمون نشان داد که سرب باعث کاهش معنی‌داری در تعداد مربع‌های پیموده شده (P<۰/۰۵) و ایستادن‌ها (P<۰/۰۵) در مقایسه با گروه کنترل می‌گردد. در صورتی‌که در تعداد

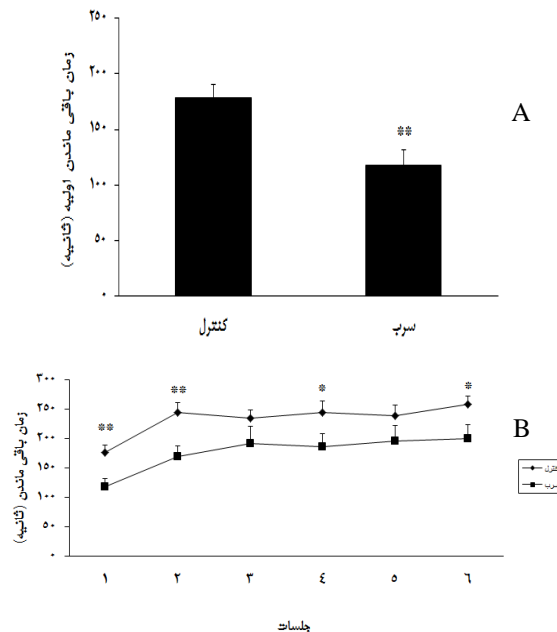


شکل ۱- تأثیر سرب بر سلول‌های پورکنز مخچه

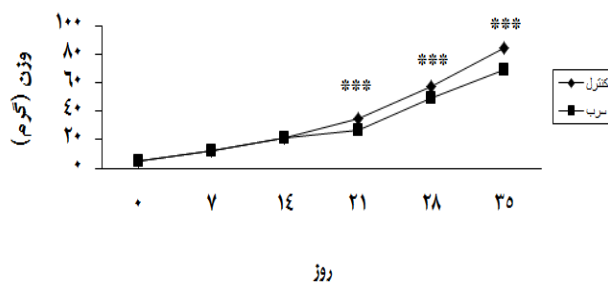
نتایج نشان دادند که زمان باقی ماندن موش‌های تیمار شده با سرب روی میله روتارود در مقایسه با کنترل کاهش معنی‌داری دارد (نمودار ۱ A). این عمل در جلسات بعدی آزمایش که حیوان آموزش دیده بود نیز در گروه سرب نسبت به کنترل کاهش داشت (نمودار ۱ B)؛ بنابراین سرب هم بر قابلیت حرکتی و هم بر قابلیت یادگیری حرکتی تأثیر منفی اعمال می‌کند.

جان لوتمن و همکاران در سال ۱۹۹۲ با استفاده از آزمون balancing rod (دستگاهی است که هماهنگی حرکتی تعادلی حیوان با آن سنجیده می‌شود (۲۴)) نشان دادند که سرب باعث اختلال در مهارت‌های هماهنگی حرکتی می‌شود (۲۵). همچنین بهاتاچاریا در سال ۱۹۹۰ و ۲۰۰۶ نشان دادند که در معرض قرارگیری با سطوح پایین سرب در اوایل دوره کودکی باعث اختلال قابل توجهی بر بلوغ و وضعیت تعادل کودکان می‌شود (۲۶ و ۲۷).

همچنین مطالعه ما نشان داد که در معرض مزمن بودن با استات سرب طی دوره پس از تولد باعث اختلال در فعالیت‌های حرکتی حیوان می‌شود به طوری که تعداد مربع‌های پیموده شده توسط حیوانات و تعداد



نمودار ۱- حیوانات تیمار شده با سرب در مقایسه با گروه کنترل در اولین بار قرارگیری روی میله چرخان
 $P < 0.05$ *، $P < 0.01$ **



نمودار ۲- تأثیر سرب بر وزن حیوانات از روز ۰ تا ۳۵ روز بعد از تولد
 $P = 0.001$ ***

میزان اختلال ناشی از سرب با مراحل تکوین مناطق مختلف مغز تعیین می‌گردد. در رت‌ها نوروژن‌زایی برخی از نواحی مغز تا قبل از روز ۱۵ بارداری کامل می‌شود و بقیه تا قبل از تولد در حال تکوین می‌باشند (نئوکورتکس، قشر لیمبیک)، درحالی‌که مخچه تا روز ۲۰ پس از تولد تکوین آن ادامه دارد (۲۳)؛ بنابراین در این مطالعه رت‌ها در دوران تکوین پس از تولد مخچه در معرض سرب قرار گرفتند.

مقایسه نتایج حاصل از آزمون روتارود حاکی از آن است که حیوانات تیمار شده با سرب در مقایسه با گروه کنترل مدت زمان کمتری روی میله چرخان روتارود باقی ماندند که نشان‌دهنده اختلال هماهنگی حرکتی در موش‌های تیمار شده با سرب است. در جلسه اول آزمایش که موش‌ها یاد نگرفته‌اند چگونه تعادل خود را روی میله حفظ نمایند،

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از حمایت مالی دانشگاه دامغان برای انجام این تحقیق تشکر و سپاس‌گزاری می‌نمایند.

References

- Pande M, Flora SJ. Lead induced oxidative damage and its response to combined administration of alpha-lipoic acid and succimers in rats. *Toxicology* 2002;177(2-3):187-196.
- Goyer RA. Lead toxicity: current concerns. *Environ Health Persp* 1993;100:177-187.
- Aggarwal HK, Yashodara BM, Nand N, Sonia, Chakrabarti D, Bharti K. Spectrum of renal disorders in a tertiary care hospital in Haryana. *The Journal of the Association of Physicians of India* 2007;55:198-202.
- Antonio MT, Leret ML. Study of the neurochemical alterations produced in discrete brain areas by perinatal low-level lead exposure. *Life Sci* 2000;67(6):635-642.
- Anwer J, Ali S, Mehrotra NK. Antagonistic effect of zinc in lead treated developing chick embryos. *Drug Chem Toxicol* 1988;11(1):85-95.
- Burger J, Gochfeld M. Effects of lead on learning in herring gulls: an avian wildlife model for neurobehavioral deficits. *Neurotoxicology* 2005;26(4):615-624.
- Dearth RK, Hiney JK, Srivastava V, Burdick SB, Bratton GR, Dees WL. Effects of lead (Pb) exposure during gestation and lactation on female pubertal development in the rat. *Reprod Toxicol* 2002;16(4):343-352.
- Johnston MV, Goldstein GW. Selective vulnerability of the developing brain to lead. *Curr Opin Neurol* 1998;11(6):689-693.
- Fraser S, Muckle G, Despres C. The relationship between lead exposure, motor function and behaviour in Inuit preschool children. *Neurotoxicol Teratol* 2006;28(1):18-27.
- al-Saleh IA. The biochemical and clinical consequences of lead poisoning. *Medicinal Research Reviews* 1994;14(4):415-486.
- Goyer RA. Lead toxicity: from overt to subclinical to subtle health effects. *Environ Health Persp* 1990;86:177-181.
- Moreira EG, Rosa GJ, Barros SB, Vassilief VS, Vassillief I. Antioxidant defense in rat brain regions after developmental lead exposure. *Toxicology* 2001;169(2):145-151.
- Needleman HL, Gatsonis CA. Low-level lead exposure and the IQ of children. A meta-analysis of modern studies. *JAMA: the Journal of the American Medical Association* 1990;263(5):673-678.
- Lockitch G. Perspectives on lead toxicity. *Clin Biochem* 1993;26(5):371-381.
- Correa M, Roig-Navarro AF, Aragon CM. Motor behavior and brain enzymatic changes after acute lead intoxication on different strains of mice. *Life Sci* 2004;74(16):2009-2021.
- Antonio MT, Lopez N, Leret ML. Pb and Cd poisoning during development alters cerebellar and striatal function in rats. *Toxicology* 2002;176(1-2):59-66.
- Press MF. Neuronal development in the cerebellum of lead poisoned neonatal rats. *Acta Neuropathol* 1977;40(3):259-268.
- Alfano DP, Petit TL. Behavioral effects of postnatal lead exposure: possible relationship to hippocampal dysfunction. *Behavioral and Neural Biology* 1981;32(3):319-333.

ایستادن‌های آنها در آزمون open field در گروه سرب نسبت به کنترل کاهش یافت (جدول ۱). این مشاهدات با نتایج سایر مطالعات انجام شده در این زمینه مطابقت دارد (۲۵ و ۲۸).

اگورا و همکاران در سال ۱۹۸۰ با استفاده از روش روتارود اظهار داشتند که رت‌هایی که مخچه ناقصی دارند عملکرد روتارودی کمی نشان می‌دهند (۲۹). همچنین زیون در سال ۱۹۹۰ (۲۴)، کوستا در سال ۱۹۹۹ (۳۰) و بیکفورد در سال ۱۹۹۲ (۳۱) بیان کردند که به تأخیر افتادن یادگیری حرکتی ممکن است مربوط به نقایص مخچه‌ای باشد.

تحقیقات حیوانی و انسانی نشان می‌دهد که سیستم اعصاب مرکزی به‌ویژه در زمان تکوین به‌علت نابالغ بودن سد خونی مغزی و افزایش ورود سرب به مغز حساسیت ویژه‌ای به سرب دارد (۳۲-۳۴) و نقص‌های رفتاری نسبت داده شده به اثرات سرب، طی دوره پیش از تولد (۳۵)، پس از تولد (۳۶) و همچنین پس از دوران شیردهی (۳۷) می‌تواند اتفاق بیفتد. نقص در رفتارهای حرکتی در رت‌ها با تخریب سلول‌های پورکنز که توسط نوروتوکسین ایجاد شده مرتبط می‌باشد (۲۰).

نتایج حاصل از بررسی‌های بافتی نشان داد که در موش‌های تیمار شده با سرب تراکم سلول‌های پورکنز در مقایسه با کنترل کاهش یافته است، همچنین سلول‌های پورکنز به‌صورت نامنظم و پراکنده‌تر در لایه سلول‌های پورکنز قرار گرفته‌اند. هسته سلول‌های پورکنز مشخص نبوده، سلول‌ها نسبت به گروه کنترل کوچکتر، جسم سلولی توسعه نیافته و اکثراً به‌صورت کروی مشاهده شدند. در نهایت سلول‌های پورکنز در موش‌های تیمار شده با سرب به‌طور ناچیز تمایز یافته و اغلب مرده بودند. در مقابل سلول‌های پورکنز در گروه کنترل به‌خوبی تمایز یافته، با جسم سلولی توسعه یافته، هسته مشخص و درخت دندریتی قابل رؤیت مشاهده گردیدند. تغییرات مورفولوژیکال مشاهده شده در بافت مخچه و دژنره شدن سلول‌های پورکنز به‌دنبال در معرض سرب بودن در توافق با مطالعات دیگر بود (۲۳، ۳۸ و ۳۹).

همچنین مطالعه ما نشان داد که سرب باعث کاهش وزن موش‌ها می‌گردد که این کاهش وزن در توافق با مطالعات دیگر بود، سیدهو و همکاران در سال ۲۰۰۴ (۴۰) و جوهان لوتمن در سال ۱۹۹۲ (۲۵) کاهش در وزن موش‌های صحرائی در معرض سرب طی پس از تولد مشاهده کردند.

این مطالعه نشان داد که در معرض قرارگیری با سرب در دوران تکوین پس از تولد، اثرات سوء بر مخچه موش‌های صحرائی دارد و باعث اختلال در هماهنگی حرکتی و تعادلی و فعالیت‌های حرکتی می‌گردد.

19. Ivry R. Cerebellar timing systems. *Int Rev Neurobiol* 1997;41:555-573.
20. Bortolozzi AA, Duffard RO, Evangelista de Duffard AM. Behavioral alterations induced in rats by a pre- and postnatal exposure to 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. *Neurotoxicol Teratol* 1999;21(4):451-465.
21. Carneiro LM, Diogenes JP, Vasconcelos SM, Aragao GF, Noronha EC, Gomes PB, et al. Behavioral and neurochemical effects on rat offspring after prenatal exposure to ethanol. *Neurotoxicol Teratol* 2005;27(4):585-592.
22. McClean J, Nunez JL. 17 alpha-estradiol is neuroprotective in male and female rats in a model of early brain injury. *Exp Neurol* 2008;210(1):41-50.
23. Xu SZ, Bullock L, Shan CJ, Cornelius K, Rajanna B. PKC isoforms were reduced by lead in the developing rat brain. *Int J Dev Neurosci: The Official Journal of the International Society for Developmental Neuroscience* 2005;23(1):53-64.
24. Zion C, Auvray N, Caston J, Reber A, Stelz T. Effects of cerebellectomy at day 15 on the ontogenesis of the equilibrium behavior in the rat. *Brain Res* 1990;515(1-2):104-110.
25. Luthman J, Oskarsson A, Olson L, Hoffer B. Postnatal lead exposure affects motor skills and exploratory behavior in rats. *Environ Res* 1992;58(2):236-252.
26. Bhattacharya A, Shukla R, Bornschein RL, Dietrich KN, Keith R. Lead effects on postural balance of children. *Environ health persp.* 1990;89:35-42.
27. Bhattacharya A, Shukla R, Dietrich KN, Bornschein RL. Effect of early lead exposure on the maturation of children's postural balance: alongitudinal study. *Neurotoxicol Teratol* 2006;28(3):376-385.
28. Muller YM, Rivero LB, Carvalho MC, Kobus K, Farina M, Nazari EM. Behavioral impairments related to lead-induced developmental neurotoxicity in chicks. *Arch Toxicol* 2008;82(7):445-451.
29. Ogura H, Mikami T, Takamura N, Suzuki Y, Chiba T. Development of behavioral function of cerebellar hypoplasia rats as induced by cytosine arabinoside (ara-C) (author's transl). *Nihon yakurigaku zasshi. Folia Pharmacologica Japonica* 1980;76(1):33-44.
30. Costa AC, Walsh K, Davisson MT. Motor dysfunction in a mouse model for Down syndrome. *Physiol Behav* 1999;68(1-2):211-220.
31. Bickford P, Heron C, Young DA, Gerhardt GA, De La Garza R. Impaired acquisition of novel locomotor tasks in aged and norepinephrine-depleted F344 rats. *Neurobiol Aging* 1992;13(4):475-481.
32. Munoz C, Garbe K, Lilienthal H, Winneke G. Persistence of retention deficit in rats after neonatal lead exposure. *Neurotoxicology* 1986;7(2):569-580.
33. Taylor DH, Noland EA, Brubaker CM, Crofton KM, Bull RJ. Low level lead (Pb) exposure produces learning deficits in young rat pups. *Neurobehavioral Toxicology and Teratology* 1982;4(3):311-314.
34. Dietrich KN, Krafft KM, Bornschein RL, Hammond PB, Berger O, Succop PA, et al. Low-level fetal lead exposure effect on neurobehavioral development in early infancy. *Pediatrics* 1987;80(5):721-730.
35. Bull RJ, McCauley PT, Taylor DH, Crofton KM. The effects of lead on the developing central nervous system of the rat. *Neurotoxicology* 1983;4(1):1-17.
36. Gross-Selbeck E, Gross-Selbeck M. Changes in operant behavior of rats exposed to lead at the accepted no-effect level. *Clin Toxicol* 1981;18(11):1247-1256.
37. Cory-Slechta DA, Thompson T. Behavioral toxicity of chronic postweaning lead exposure in the rat. *Toxicol Appl Pharm* 1979;47(1):151-159.
38. Macauley SL, Sidman RL, Schuchman EH, Taksir T, Stewart GR. Neuropathology of the acid sphingomyelinase knockout mouse model of niemann-pick a disease including structure-function studies associated with cerebellar Purkinje cell degeneration. *Exp Neurol* 2008;214(2):181-192.
39. Villeda-Hernandez J, Mendez Armenta M, Barroso-Moguel R, Trejo-Solis MC, Guevara J, Rios C. Morphometric analysis of brain lesions in rat fetuses prenatally exposed to low-level lead acetate: correlation with lipid peroxidation. *Histol Histopathol* 2006;21(6):609-617.
40. Sidhu P, Nehru B. Lead intoxication: Histological and oxidative damage in rat cerebrum and cerebellum. *The Journal of Trace Elements in Experimental Medicine* 2004;17(1):45-53.



Effect of Postnatal Lead Exposure on the Male Rats Cerebellum: Histological and Behavioral Evaluation

Maryam Bazrgar (M.Sc.)¹, Iran Goudarzi (Ph.D.)^{1*}, Taghi Lashkar bolouki (Ph.D.)¹, Mahmoud Elahdadi Salmani (Ph.D.)¹, Kataneh Abrari (Ph.D.)¹

1- Dept. of General of Physiology, School of Biology, Damghan University, Damghan, Iran.

Received: 29 October 2013, Accepted: 14 January 2014

Abstract:

Introduction: Acute or chronic lead poisoning in animals and humans is well documented. Moreover developing brain appears to be especially vulnerable to lead neurotoxicity, and the cerebellum has been described as a favorable target for lead poisoning. The aim of present study was to evaluate the effects of neonatal lead exposure (postnatal period of cerebellar development) on the motor behavior and cerebellar cortex in male rats.

Methods: In this study, new born male rats were randomly divided into two groups: Control (n=10) and lead exposure groups (n=10). Rat pups in lead exposure group received 8 mg/kg lead acetate intraperitoneally daily for 21 days. Behavioral studies including rotarod and open field tests were performed in postnatal days 31–33 (PD) and histological study was performed after completion of behavioral measurements in postnatal day 33.

Results: Result of the present work indicated that lead could impair rotarod performance in sessions 1, 2 ($P<0.01$) and in sessions 4, 6 ($P<0.05$). Also, open field test demonstrated that number of crossing and rearing significantly decreased in lead exposure group as compared to control group ($P<0.05$). Histological analysis also indicated that number of purkinje cells significantly reduced in lead treated group as compared to control group ($P=0.001$).

Conclusion: These results suggested that chronic postnatal lead exposure had toxic effect on the cerebellum and can induce dysfunctions in motor and exploratory behaviors.

Keywords: Lead acetate; Purkinje cell; Postnatal development; Rats.

Conflict of Interest: No

*Corresponding author: I. Goudarzi, Email: irangoudarzi@du.ac.ir

Citation: Bazrgar M, Goudarzi I, Lashkarbolouki T, Elahdadi Salmani M, Abrari K. Effect of postnatal lead exposure on the male rats cerebellum: histological and behavioral evaluation. Journal of Knowledge & Health 2015;9(4):17-23.