Archive of SID

ظب نطامی
پاییز ۱۳۸۰ شماره ۳(۳)
صفحات ۱۰۶-۱۰۳

تک‌دوز سولفورموستارد بر سرعت هدایت عصبی در موش اثر ندارد

علیرضا شهریاری .M.Sc، علیرضا عسگری .Ph.D، محمدتقی حلی‌ساز.M.D
هدایت صحرایی .Ph.D، فلاح حسینی.Ph.D

آدرس مکاتبه : دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله(عج) ، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی و بیوفیزیک، تهران-ایران

خلاصه

اطلاعات حاضر دربارهٔ اثرات بیولوژیک سولفور موستارد (SM) روی سیستم اعصاب محیطی اندک است .در تحقیق حاضر اثرات تحت مزمن (Subchronic) سولفور موستارد بر روی سرعت هدایت عصبی در عصب سیاتیک رات بررسی شده است. مسمومیت با سولفورموستارد به روش پوستی انجام شد. در آلودگی پوستی ازدوزهای ۸ و ۱۳ میلی‌گرم/کیلوگرم در گروه شاهد پوستی از حلال سولفورموستارد برای آلودگی پوستی استفاده شد. ۲۶ هفته پس از تماس با سولفور موستارد، بررسی‌های الکتروفیزیولوژیک شامل سرعت هدایت عصبی، آمپلی‌تیود و مدت‌زمان موج M و تأخیر زمانی موج F انجام شد. نتایج مطالعه هدایت عصبی در پارامترهای مختلف تغییرات معنی داری را در بین گروهها نشان نداد. این نتایج پیشنهاد می‌کند که برای ردیابی آسیب‌های عصبی احتمالی SM نیاز به آزمایشاتی با ابزاری دقیق‌تر می‌باشد تا اثرات SM را به شکل حاد و تأخیری تحت بررسی قرار دهند .

واژه‌های کلیدی : سولفورموستارد، سرعت هدایت عصب، نروپاتی

مقدمه

سولفورموستارد(SM) از عوامل شیمیایی می‌باشد که به صورت وسیعی در جنگ علیه ایران توسط عراق بکار گرفته شد. SM یک ماده آلکیله‌کننده قوی با اثرات تاول‌زایی، آنتی‌میتوتونیک، موتاژنیک، کارسینوژنیک و سیتوتوکسیک است (۱،۲). SM در بدن یون سولفونیوم تشکیل می‌دهد که این یون موجب آلکیلاسیون DNA و پروتئین‌ها و عوامل نوکلئوفیلیک مختلف شده و با توقف پروسه‌های مختلف سلول، مرگ سلولی را ایجاد می‌کند. مکانیسم‌های سلولی برای اثرات حاد و دیررس آن بیان شده است (۳). مسمومیت با SM در شدتهای مختلف می‌تواند عوارض حاد و دیررس زیادی را در سیستم‌های مختلف بدن انسان‌ها وحیوانات ایجاد نماید .

در سیستم عصبی مرکزی، تشنج، گیجی، استفراغ و افزایش فعالیت کولینرژیکی به عنوان اثرات حاد و اثراتی چون Debility ، کاهش Vitality، عدم تمرکز حواس، حساسیت بیش از اندازه، کاهش میل جنسی و اختلال در عملکرد سیستم اتونوم قلبی به عنوان اثرات تأخیری شناخته شده‌اند(۱).

اطلاعات در مورد اثرات SM بر روی اعصاب محیطی خیلی کم می‌باشد. شکایت نروپاتیک مزمن مثل دردهای نروپاتیک در اشخاصی که در معرض SM بوده‌اند مشاهده گردیده، که علت آن را به deafferentation ربط داده‌اند (۴). در مطالعه‌ای بر روی مصدومین شیمیایی در ایران، سرعت هدایت عصبی در حد نرمال گزارش شده ولی در ۵ مصدوم از مجموع ۱۰۰ نفری که تحت مطالعات

www.SID.ir

Archive of SID

الکترومیوگرافی قرار گرفتند یکسری یافته‌های غیرطبیعی شامل موج تیز مثبت (PSW, Positive Sharp Waves) و فیبریلاسیون و فاسیکولاسیون در ثبت‌های الکترومیوگرافی در حال استراحت دیده شد (۵) که الگویی از دژنرسانس آکسونی در نظر گرفته شدند .در این مطالعه، نویسنده وجود این اختلالات را ناشی از مصدومیت با SM ندانسته و با احتمالی قویتر آنها را مربوط به ناخالصی‌های همراه بمبهای خردلی یا مربوط به مسمومیت با ارگانوفسفره‌هایی‌که شاید به صورت توأم در جنگ استفاده شده‌اند دانسته است (۵).

مواد و روش کار

در این تحقیق از موش بزرگ آزمایشگاهی (Rat) نژاد Wistar در محدوده وزنی ۱۵۰-۱۷۰ گرم استفاده شد. SM با خلوص بیش از ۹۵ %که از تخلیه بمبهای عمل نکرده در جنگ فراهم شده بود در اختیار ما قرار گرفت. ایزوپروپیل‌الکل به عنوان حلال SM مورد استفاده قرار گرفت (۶). پس از انجام چند مطالعه pilot از دوزهای ۸ و ۱۳ میلی‌گرم/کیلوگرم SM برای آلودگی پوستی استفاده شد که مورتالیته آن به ترتیب حدود ۳۳% و ۶۵% بود. در ایجاد مسمومیت با SM سعی شد تا پروتکل آلودگی نیروهای رزمی که در معرض SM قرار می‌گیرند شبیه‌سازی شود. با توجه به اینکه معمولاً فرد مصدوم در یک نوبت با بخار SM و از طریق پوستی و استنشاقی‌تماس می‌یابد، ما از تک دوز سولفورموستارد استفاده کردیم.

نحوهٔ آلودگی پوستی. در ابتدا سطح در معرض پوستی انسان را با استفاده از قانون ۹ (قانون تعیین سطح ضایعات سوختگی) محاسبه و پس از تخمین کل سطح بدن موش با $Surface\ area=KM^{2/3}$ درصد در معرض انسانی را بر روی موش پیاده کردیم (۸،۷). سطح پوست مورد نظر در ناحیه گردن و پشت موش تراشیده شد و بر حسب وزن موش دوزهای مورد نظر از محلول آماده شده برداشته می‌شد و بوسیله میکروپیپت پوست مورد نظر آلوده می‌گردید .در گروه شاهد پوستی‌از حلال SM که حجم آن در هر دو گروه آلوده یکسان بود استفاده شد .

نحوه تشریح و دسترسی به عصب سیاتیک و عضله گاستروکنیمیوس. ۲۶ هفته بعد از آلودگی، حیوان با تزریق ۵۰mg/kg (i.p.) بیهوش گردید (۱۰). سپس در وضعیت به شکم خوابیده بر روی تخته تشریح ثابت شد .پوست پای حیوان از ناحیه تاندون آشیل تا بالای لگن باز شد و Femoris Biceps را از لبه خارجی بوسیله ابزار میکروسرجری و پروپ مخصوص از بافتهای اطراف جدا کردیم. برای جلوگیری از هیپوترم شدن حیوان از تخته گرم‌کن و لامپ مادون قرمز استفاده شد (۱۱) و در اطراف عصب حفره‌ای تعبیه و با سرم فیزیولوژی عصب و عضله را مرطوب و گرم نگه‌داشتیم .

نحوه مطالعه هدایت عصبی. دقایقی پس از جراحی الکترود تحریک‌کننده (از جنس نقره) در قسمت پروکزیمال عصب سیاتیک قرار می‌گرفت و عصب سیاتیک با یک تحریک فوق ماکزیمم و مدت زمان۰/۰۲ میلی ثانیه تحریک می‌گیرد. پاسخ حاصله (موج M) بوسیله سوزن EMG و توسط دستگاه ثبت می‌شد و زمان تأخیر موج M محاسبه می‌گردید (۱۲).

در مرحله بعد الکترود تحریک کننده در ناحیه دیستال عصب و در حداکثر فاصله از نقطه پروکزیمال قرار گرفته و با همان تحریک، موج M بدست می‌آمد و زمان تأخیر آن محاسبه می‌شد، سپس فاصله بین نقطه تحریک پروکزیمال و دیستال عصب بوسیله یک پرگار نوک‌تیز عایق شده و بوسیله کولیس به دقت اندازه‌گیری می‌شد. برای بدست آوردن سرعت هدایت عصبی فاصله کاتدی بین دو نقطه تحریک پروکزیمال و دیستال بر حسب میلی‌متر را بر اختلاف تأخیر زمانی در تحریک دیستال و پروکزیمال تقسیم کردیم که حاصل سرعت هدایت عصبی بر حسب میلی‌متر بر ثانیه می‌باشد (۱۱). همزمان با بدست آوردن زمان تأخیر موجM ، آمپلی‌تیود و مدت‌زمان موج را هم بدست آوردیم .

یکی دیگر از پارامترهای که در مطالعه هدایت عصبی بررسی شد، تأخیر زمانی موج F بود .موجF یک پاسخ تأخیری است که شکل آن شبیه موج M است و آمپلی‌تیود آن بسیار کمتر است. زمان تأخیرموج متغیر و طولانی‌تر از موج M است. تأخیر زمانی موج F را نیز با تحریک ماکزیمم یا فوق ماکزیمم و با تنظیم خاص دستگاه بدست آوردیم (۸). لازم به ذکر است برای اطمینان از اینکه ثبت‌های انجام شده همان پتانسیل‌های عمل برانگیخته است و از آرتیفکتهای احتمالی مربوط به حرکت، تداخل امواج رادیویی، تداخل امواج الکترواستاتیک و الکترومغناطیسی و پارازیت حاصل از الکترود و

www.SID.ir

Archive of SID

تقویت‌کننده متمایز شده است یکسری تمهیدات استاندارد بکار برده شد.

آنالیز آماری. در این مطالعه سرعت هدایت عصبی، آمپلی تیود و مدت زمان موج M و زمان‌تأخیر موج F به عنوان شاخص‌هایی جهت ارزیابی نروپاتی در عصب سیاتیک رات در نظر گرفته شده،برای تجزیه و تحلیل آماری گروه شاهد با گروههای تجربی از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه به همراه آزمون نیومن-کولز استفاده شد. نتایج به صورت Mean ± SEM بیان شده و در تمامی موارد$P<0.05$ به عنوان مرز معنی‌دار بودن در نظر گرفته شد .

نتایج و بحث

الگوی الکتروفیزیولوژیک نروپاتی‌ها به طور کلی به دو شکل اکسونوپاتی و میلینوپاتی می‌باشد. هر دو الگو نیز می‌تواند در نروپاتی وجود داشته باشد. شاخص‌ترین پارامتر متغیر هدایت عصبی در میلینوپاتی را سرعت هدایت عصبی (NCV) و در آکسونوپاتی آمپلی‌تیود موج M دانسته‌اند. در اندازه‌گیری NCV در یک عصب حرکتی محیطی، سرعت هدایت قطورترین فیبرهای میلین‌دار که دارای بالاترین سرعت هستند، سنجیده می‌شود. برای اینکه سرعت اندازه‌گیری شده کاهش نشان دهد، تقریباً باید تمام فیبرهای با سرعت بالا کاهش NCV داشته باشند و وجود چند فیبر سالم ممکن است NCV را همچنان در سطح نرمال نگه دارد (۹).

آمپلی‌تیود موج M تخمین غیردقیقی از تعداد فیبرهای عضله است که با تحریک عصب فعال می‌شوند و با طبع تخمینی از تعداد فیبرهای عصبی است که قابلیت تحریک‌پذیری دارند که با تحریک عصب در انتقال عصب و عضله در وضعیت نرمال شرکت می‌کنند. این پارامتر شاید مهمترین فاکتور ارزیابی نروپاتی اکسونال باشد ولی در کنار آن ارزیابی الکترومیوگرافی عضله نیز لازم است تا بتوان به طور نسبتاً قطعی‌تر اظهارنظر نمود (۹).

در گروههای آزمایشی و شاهد، ۲۶ هفته پس از آلودگی پوستی سرعت هدایت عصبی، آمپلی‌تیود و تأخیر موج M اندازه‌گیری شدند. نتایج اندازه‌گیری پارامترهای مختلف هیچ گونه تفاوت معنی‌داری را در بین گروههای آزمایش و شاهد نشان نداد (شکلهای ۱ و ۲).

شکل ۱ .آلودگی پوستی SM بر سرعت هدایت عصبی.
(Dose1 = 8mg/kg , Dose2 = 13mg/kg, N= 8-12)

شکل ۲. اثر آلودگی پوستی SM روی مدت زمان موجM .
(Dose 1= 8mg/kg , Dose2 = 13mg/kg, N=8-12)

www.SID.ir

Archive of SID

عدم تغییر در پارامترهای هدایت عصبی با توجه بـه Turn Over اجزاء سازنده میلین و اینکه میلـین عـصب مـی‌توانـد دوبـاره بازسازی شود نمی‌تواند دلیلـی بـرای رد میلینوپـاتی گـردد و بایـد بـا آزمایشات و ابزار دقیق‌تر و به صورت حاد تـأثیرات موسـتارد بـر روی هدایت عصبی بررسی شود؛ خصوصاً که مدت آلودگی تا ثبت پارامترها در این مطالعه شش ماه طول کشیده است. بـه عبـارت دیگـر، عـدم وجود تغییرات در هدایت عصبی نمی‌تواند به طور دقیق ما را در رد یـا قبول آسیب عصبی راهنمایی کند. شـاید اگـر مطالعـات دقیـق‌تـر بـا استفاده از ابزاری همچون میکروسکوپ الکترونی بـر روی سـاختمان آکسونهای محیطی (شکل گره‌های رانویه و ...) انجام پذیرد، بتوان با احتمال بیشتری عدم تأثیر تک‌دوز سولفورموستارد را در مدت چند ماه در این حیوان اظهار داشـت.

References

1. Dacre JC,and Goldman M(1996). Toxicology and pharmacology of the chemical warfareagent sulfur mustard.Pharmacol Rev;48(2): 289-325.

2. Sasser LB, Miller RA ,Kalkwarf DR ,Cushing JA and Dacre JC (1996).Subchronic toxicity evaluation of sulfur mustard in rats. J Appl Toxicol ; 16 (1) : 5-13.

3. Uri W(1991).Toxicology of mustard gas . Tips ;12:164-167.

4. Tomsen AB, Eriksen J , Smidt NK (1998). Chronic neuropthic symptoms ofter exposureto mustard gas : A long term investigation. J.AM.Acad.Dermatol; 39 (2PT1):187-90.

۵- حلی ساز محمدتقی (۱۳۷۸). بررسی شیوع نروپاتی در جانبازان شیمیایی، پایان‌نامه طرح تحقیقاتی در پژوهشکده طب‌زرمی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌ا...،صفحات ۱-۲۵.

6. Coutelier JP , Lison D, Simon O and Willems J (1991).Effect of sulfur mustard on murine lymphocytes. Toxicol Lett; 58:143-148.

7. Lawrance WW(1994). Current Surgical (Diagnosis and Treatment). 4th ED, P.136.

8. Gilpin DA(1996) . Calculation of a new meeh constant and expermental determination of burn size. Burns; 22(8): 607-611.

9. Shin JO (1993) . Clinical electromyography (Nerve Conduction Study). Second Edition,Williams and Wilkins, p.10-50,450-520.

10. Thy Sheng L , and Tain Junn C (1998). Stimulated single fiber electromyography inthe rat. Muscle Nerve ; 21 : 482- 489.

۱۱. توکلی اسداله (۱۳۷۵ .(بررسی اثر انالاپریل بر کاهش سرعت هدایت عصب در موش صحرایی دیابتیک .پایان‌نامه کارشناسی ارشد فیزیولوژی، دانشگاه تربیت مدرس، صفحات ۳۳-۴۸ .

12. Roberts DV and Trollope IE(1979) .Nerve conduction velocity and refractory periodas parameters of nenrotoxicity. Electroencephal Clin Neurophysiol ; 46 : 351 - 354.

۱۳. حلی ساز محمدتقی (۱۳۷۸). بررسی زمانی ادامه وجود علائم Denervation در بیماران مبتلا به فلج۱۰-۱۴ .

14. Nabil ME , Stanley TO , George JK , John LI , Eric TD , Conrad RW and Don WK(1989).Response of mouse brain to a single subcutaneous injection of the monofnnctionalsulfur mustard , butyl 2-chloroethyl sulfide . Toxicology;58 :11-20.

15. Vandam Ps Vanasbek BS , Bravenboer B, Vanoirschot Jf , Marx JJ and Gispen Wh(1999) . Nerve conduction and antioxidant level in experimentally diabetic rats : Effects ofstreptozotocin dose and diabetes duration. streptozotocin dose and diabetes duration. Metabolism ; 48 (4) : 442-7.

16. Jenner P(1996) . Oxidafive stress in parkinsons disease and other neuro-degnerative disorder . Pathol Biol Paris ; 44(1) : 57-64.

17. Aboudonia MB (1993). The cytoskeleton as a target for organophoshorus esterinduced delayed neurotoxicity (OPIDN). Chem Biol Interact ; 87 (1-3) : 383-39.

۱۸. چراغعلی عبدالمجید (۱۳۷۹). پیشگیری و درمان عوارض ناشی از سلاحهای شیمیایی .چاپ اول، پژوهشکده‌طب رزمی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌ا...، نشر گلبانگ، صفحات ۶۵-۱۱۹.

www.SID.ir

Archive of SID

www.SID.ir