นิพนธ์ต้นฉบับ

ผลของตะกั่วต่อการเจริญของบาร์เรลของสมองในหนู

ราตรี สุดทรวง* อรพิน ผาสุริย์วงษ์**
ภาวิช ทองโรจน์*** พิมพรรณ เกิดอุดม****

Sudsuang R, Pasurivong A, Tongroach P, Kirdudom P. Lead poisoning on development of mouse cortical barrels. Chula Med J 1985 Feb; 29 (2) : 153-168

The study was undertaken to determine the effect of lead intoxication on the cortical barrels of mouse. Lead acetate was given intraperitoneally at 5, 10, 30 μg/g. body weight to three groups of 10-days-pregnant mice. The injection was repeated daily for 20 days. Body and brain weights of selected age groups of offsprings from lead treated mice were significantly decreased together with the thickness of the cerebral cortex. The barrel field areas and the relative number of neurons were also reduced in lead treated animals, although the matured cytoarchitecture of the cortical barrels were normal. Furthermore, the mortality of the mothers and their offsprings were significantly increased with higher doses of lead.

These results suggest that lead intoxication may have a profound effect on the final form of a well-defined neocortical region. The data presented here and in previous studies should serve as a warning so that the dangers from lead contamination to the developing human fetuses and neonate may be prevented.

* ภาควิชาสรีรวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
** สหสาขาวิชาสรีรวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
*** ภาควิชาสรีรวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
**** ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตะกั่วจัดเป็นสารพิษในสิ่งแวดล้อม ในอุตสาหกรรมหลายชนิดตะกั่วมีส่วนเกี่ยวข้องด้วย เช่น การทำแบตเตอรี่ การกลั่นน้ำมัน การผสมสี ฯลฯ เมื่ออุตสาหกรรมต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับตะกั่วมีมากขึ้น อันตรายจากพิษของตะกั่วจึงเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะผู้ที่ทำงานในโรงงานอุตสาหกรรมเหล่านั้น ตะกั่วสามารถเข้าสู่ร่างกายได้หลายทาง เช่นการกินและดื่มโดยปะปนไปกับอาหารและน้ำ โดยการสูดหายใจเอาควันฝุ่นของตะกั่วเข้าไป หรือโดยการซึมเข้าทางผิวหนัง พิษของตะกั่วมีทั้งอย่างเฉียบพลันและชนิดเรื้อรัง ได้มีผู้ศึกษาถึงพิษของตะกั่วที่มีต่อสมองในสัตว์ทดลอง พบว่า ตะกั่วทำให้การเรียนรู้ลดลง[1] ความหนาของ cerebral cortex ลดลง[2,3,4] จำนวน synapse ใน neocortex ลดลง[4] จำนวนเซลล์ประสาทใน cerebellum ลดลง[5] นอกจากนี้ยังพบว่าตะกั่วมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตและการพัฒนาการของร่างกาย[5,6,7]

ในระยะ 10 กว่าปีมานี้ได้มีการศึกษากันอย่างกว้างขวางถึงลักษณะโครงสร้างพิเศษของชั้นที่ 4 ของ somatosensory cortex ในหนูไมซ์ ซึ่งพบว่า เซลล์มาอยู่รวมกันเป็นลักษณะเฉพาะเรียก "บาร์เรล (barrels)" มีลักษณะคล้ายถังเบียร์วางอยู่เป็นกลุ่ม แต่ละบาร์เรลมีความสัมพันธ์กับหนวดแต่ละเส้นของหน้าด้านตรงกันข้าม[8] บาร์เรลนี้จะเริ่มเห็นเป็นครั้งแรกในหนูอายุ 4 และ 5 วัน และเจริญสมบูรณ์ในหนูอายุ 6 วัน[9,10] นอกจากนี้ยังพบว่าถ้าแม่หนูและลูกหนูได้รับอาหารที่ขาดโปรตีน บาร์เรลในลูกหนูจะเจริญสมบูรณ์เต็มที่ช้ากว่าปกติ 2 วัน จำนวนเซลล์ประสาทน้อยลง และขนาดของบาร์เรลเล็กลงกว่าปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ[11] คณะผู้วิจัยจึงทำการศึกษาถึงพิษของตะกั่วที่มีต่อการเจริญเติบโต ลักษณะโครงสร้าง ขนาดและจำนวนเซลล์ประสาทบริเวณบาร์เรลของsomatosensory cortex ในหนูไมซ์ ซึ่งประโยชน์ที่ได้รับจากการศึกษานี้อาจนำไปประยุกต์ใช้ในด้านวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม เพื่อศึกษาแนวทางป้องกันหรือรักษาสารพิษตะกั่วที่มีผลกระทบต่อชีวิตมนุษย์และสัตว์

วัสดุและวิธีการ

1. <u>การผสมพันธุ์สัตว์ทดลอง</u> ใช้หนูไมซ์พันธุ์สวิส อายุ 2-3 เดือน นำมาเลี้ยงในห้องปรับอากาศ ให้อาหารและน้ำตามต้องการ ผสมพันธุ์โดยใช้ตัวผู้ 1 ตัวต่อตัวเมีย 2 ตัวในกรงเดียวกัน ตรวจดูว่ามีการผสมพันธุ์หรือไม่โดยดูจาก vaginal plugs ซึ่งถ้าพบถือว่าเป็นวันที่ 1 ของการตั้งท้อง แยกแม่หนูมาใส่ในกรงต่างหาก กรงที่ใช้เป็นกรงพลาสติก แบ่งแม่หนูออกเป็น 4 กลุ่ม กลุ่มแรกเป็นกลุ่มควบคุมฉีดน้ำกลั่นเข้าช่องท้อง 0.5 มล. 3 กลุ่มหลังฉีดตะกั่วอะซิเตทเข้าช่องท้อง ในขนาด 5, 10 และ 30ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กรัมตามลำดับ โดยฉีดทุกวันตั้งแต่วันที่ 10 ถึง 20 ของการตั้งท้อง เนื่องจาก Rice[10] พบว่า เซลล์ประสาทบริเวณชั้นที่ 4 ของ somatosensory cortex จะเริ่มฟอร์มในลูกหนูในวันที่ 10 ถึง 13 ของการตั้งครรภ์ วันที่ 14-18 เริ่มรวมกันเป็นชั้นที่ 4 เห็นได้ชัดเจน และเริ่มเจริญเป็น

บาร์เรล แต่จะเจริญสมบูรณ์เต็มที่ในวันที่ 6 หลังคลอด หลังจากฉีดยาแล้วตรวจดูกรงทุกวัน วันแรกที่คลอดนับเป็นอายุ 1 วัน (PND 1, Postnatal day 1) นำลูกหนูอายุต่าง ๆ กันมาศึกษาทางวิทยาฮีสโตต่อไป

2. การศึกษาการเจริญของบาร์เรล นำลูกหนูที่ได้จากแม่หนูทั้ง 4 กลุ่ม อายุแตกต่างกันตั้งแต่ 1-12 วัน มา perfuse ด้วย neutral formalin นำสมองมาตัด tangential sections ผ่านบริเวณบาร์เรล และย้อมด้วย cresyl violet

3. การศึกษาขนาดของบาร์เรลและจำนวนเซลล์ประสาท นำลูกหนูที่ได้จากแม่หนูทั้ง 4 กลุ่ม อายุ 9,12,15,21 และ60วัน มา perfuse ตัด tangential sections หนา 50 ไมครอนผ่านบริเวณบาร์เรล แล้วย้อมสี วัดพื้นที่ทั้งหมดของส่วนหลังของบาร์เรลที่เรียก posteromedial barrel subfield (PMBSF) ซึ่งเป็นบริเวณที่มีลักษณะเฉพาะเด่นเป็นพิเศษ มีการจัดเรียงตัวเป็น 5 แถว A,B,C,D และE ซึ่งแต่ละแถวมีจำนวนบาร์เรลคงที่ ใช้ microprojector วาดจากหลาย ๆ sections จนได้ภาพ PMBSF ที่สมบูรณ์ วัดขนาดพื้นที่ของบาร์เรล C-1 นับจำนวนเซลล์ประสาททั้งหมดในบาร์เรล C-1 โดยอาศัยหลักที่ว่าเซลล์ประสาทจะต้องมี nucleolus ใหญ่อยู่ตรงกลาง และมี cytoplasm เห็นได้ชัดเจน เซลล์พวก astrocytes, oligodendrocytes หรือเซลล์ endothelial ของหลอดเลือดฝอยจะไม่นับ

4. การศึกษาความหนาของ cerebral cortex นำสมองมาตัด coronal sections ผ่านส่วนที่มีบาร์เรล แล้วย้อมสี วัดความหนาของ cerebral cortex ในลูกหนูทั้ง 4 กลุ่ม อายุ 9,12,15,21 และ 60 วัน

5. การศึกษาปริมาณของตะกั่วในเลือด ใช้แม่หนูที่เพิ่งคลอดลูก และใช้แม่หนูและลูกหนูหลังคลอด 21 และ 60 วัน เจาะเลือดจากหัวใจ นำมาวิเคราะห์หาสารตะกั่วในเลือดโดยวิธีของ Hessel[12] โดยใช้เครื่องมือ Perkin-Elmer Model 373 และ HGA 2200

ผลการวิจัย

1. ผลของตะกั่วต่อการเจริญเติบโต Table 1 แสดงผลของตะกั่วต่อการตั้งท้องของแม่หนู ในแม่หนูที่ได้รับตะกั่วขนาด 30 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กรัม จะตายก่อนคลอดถึงร้อยละ 26.25 ($P < 0.005$) น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นระหว่างตั้งท้องในหนูที่ได้รับตะกั่วทุกกลุ่มลดลงจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.001$) ลูกหนูตายแรกคลอดในกลุ่มที่ได้รับตะกั่วเพิ่มมากขึ้นจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.005$) พบว่าจำนวนแม่กินลูกในกลุ่มที่ให้ตะกั่ว 30 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กรัมสูงถึงร้อยละ69ส่วนในกลุ่มควบคุมนั้น จำนวนแม่กินลูกต่ำเพียงร้อยละ 6 อัตราลูกต่อแม่ในกลุ่มที่ได้รับตะกั่วขนาดสูง (30 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว1กรัม) ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.001$) ส่วนระยะเวลาของการตั้งท้องนั้นพบว่า ทั้งกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับตะกั่วใช้เวลาในการตั้งท้องไม่แตกต่างกัน

น้ำหนักตัวและน้ำหนักสมองของลูกหนูอายุต่าง ๆ กันในกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับตะกั่วแสดงใน Figure 1A และ 1B และ Table 2 ในลูกหนูอายุตั้งแต่แรกเกิดถึง 21 วัน น้ำหนักตัวและน้ำหนักสมองในกลุ่มที่ได้รับตะกั่วทุกกลุ่มลดลงจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในลูกหนูอายุ 60 วัน กลุ่มที่ได้รับตะกั่ว 30 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กรัม ทั้งน้ำหนักตัวและน้ำหนักสมองลดลงจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนในกลุ่มที่ได้รับตะกั่ว 5 และ 10 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กรัม น้ำหนักตัวลดลงร้อยละ 10 และ 4 และน้ำหนักสมองลดลงร้อยละ 4 และ 5 ซึ่งการลดลงนี้ไม่มีนัยสำคัญ

ส่วนความหนาของ cortex นั้น ทุกกลุ่มที่ได้รับตะกั่วพบว่า ความหนาของ cerebral cortex น้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่อายุ 9,12,15,21 และ 60 วัน (Figure 1C)

2. <u>ผลของตะกั่วต่อการเจริญของบาร์เรล</u> จากการศึกษาในลูกหนูอายุ1-12วัน จำนวน 120 ตัว พบว่า กลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับตะกั่วเริ่มเห็นบาร์เรลในลูกหนูอายุ 4-5 วัน และเจริญเป็นบาร์เรลที่สมบูรณ์เต็มที่ในลูกหนูอายุ 6 วัน จากการดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดาไม่มีความแตกต่างกันในหนูทั้งสองกลุ่ม ถึงแม้ในกลุ่มที่ได้รับตะกั่ว 30 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กรัม (Figure2)

3. <u>ผลของตะกั่วต่อพื้นที่ของ PMBSF บาร์เรลC-1 และจำนวนเซลล์ประสาท</u> Table2 แสดงผลของตะกั่วต่อพื้นที่ของบาร์เรลและจำนวนของเซลล์ประสาท พบว่าในลูกหนูกลุ่มที่ได้รับตะกั่ว 30 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กรัม ที่อายุ9,12,15,21 และ 60 วัน มีพื้นที่ของ PMBSF ลดต่ำลงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ส่วนกลุ่มที่ได้รับตะกั่ว 5 และ 10ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กรัมนั้น พื้นที่ของ PMBSF ลดต่ำลงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่อายุ 15,21 และ 60 วัน ส่วนในอายุ 9 และ 12 วันนั้น การลดลงไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากกลุ่มควบคุม (Figure 1D)

Figure1Eแสดงผลของตะกั่วต่อขนาดพื้นที่ของบาร์เรล C-1 พบว่าหนูที่ได้รับตะกั่ว 30 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กรัม มีพื้นที่ของบาร์เรล C-1 น้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ในลูกหนูทุกอายุที่ทำการวัด ส่วนในกลุ่มที่ได้รับตะกั่ว5 และ 10 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กรัมนั้น พบว่าพื้นที่ของบาร์เรล C-1 น้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่อายุ 12,15, 21 และ 60 วัน ส่วนในอายุ 9 วันนั้น แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างไม่มีนัยสำคัญ (Table 2)

สำหรับจำนวนเซลล์ประสาทในบาร์เรล C-1 นั้น พบว่า ในกลุ่มที่ได้รับตะกั่วทุกขนาดที่อายุ 12,15,21 และ 60 วัน มีจำนวนเซลล์ประสาทน้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$, Figure1F)

4. <u>ผลของการตรวจระดับตะกั่วในเลือด</u> จากรายงานพบว่าระดับตะกั่วในเลือดมารดาไม่แตกต่างกับทารกแรกเกิด[13] ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงตรวจตะกั่วในเลือดแม่หนูที่เพิ่ง

คลอดลูก ซึ่งจะถือเป็นค่าเดียวกับระดับตะกั่วในเลือดลูกหนูแรกคลอด และตรวจระดับตะกั่วในเลือดแม่และลูกหนูหลังคลอด 21 และ 60 วัน ในกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ให้ตะกั่ว 5 และ 30 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กรัม

ในกลุ่มควบคุมพบว่าระดับตะกั่วในเลือดของทุกอายุที่ทำการตรวจทั้งแม่และลูกไม่แตกต่างจากช่วงแรกเกิด คือในช่วงแรกเกิดมีระดับตะกั่วเฉลี่ย 28.33 ไมโครกรัมต่อเลือด 100 มิลลิลิตร หลังจากคลอดได้ 21 วัน ระดับตะกั่วในเลือดแม่มีค่าเฉลี่ย 30 ไมโครกรัมต่อเลือด 100 มิลลิลิตร ในเลือดลูกเฉลี่ย 28.35 ไมโครกรัมต่อเลือด 100 มิลลิลิตร และหลังจากคลอดได้ 60วัน ระดับตะกั่วในเลือดแม่และลูกมีค่าเฉลี่ย 27.5และ 25 ไมโครกรัมต่อเลือด 100 มิลลิลิตรตามลำดับ (Figure 3A)

Figure3B,3C และ Table3 แสดงระดับตะกั่วในเลือดแม่และลูกของกลุ่มที่ได้รับตะกั่ว 5 และ 30 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กรัม เมื่อแรกเกิดทั้งแม่และลูกมีค่าตะกั่วในเลือดเฉลี่ย 116 และ 240 ไมโครกรัมต่อเลือด 100 มิลลิลิตรตามลำดับ ในกลุ่มที่ได้รับตะกั่ว 5 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กรัม หลังจากคลอดได้ 21 และ 60 วัน ระดับตะกั่วในเลือดแม่และลูกลดต่ำกว่าช่วงแรกเกิดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ส่วนในกลุ่มที่ได้รับตะกั่ว 30 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กรัม เฉพาะระดับตะกั่วในเลือดลูก 21 วัน และหลังคลอด 60 วันในแม่และลูกมีระดับตะกั่วต่ำกว่าช่วงแรกเกิดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แต่ในแม่หลังคลอด 21 วัน ระดับตะกั่วยังใกล้เคียงกับเมื่อแรกคลอด

วิจารณ์และสรุปผล

จากการศึกษาพบว่าตะกั่วมีผลลดอัตราการเติบโตของลูกหนูในท้อง โดยน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นของแม่หนูในระหว่างตั้งท้อง ในกลุ่มที่ให้ตะกั่วนั้น ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 1) และหลังจากคลอดแล้ว ลูกหนูในกลุ่มที่ได้รับตะกั่วมีน้ำหนักตัวและน้ำหนักสมองลดต่ำกว่าปกติ (Figure 1A,1B) ซึ่งตรงกับรายงานของ Dilts และ Ahokas[14] ที่เป็นเช่นนี้อาจเป็นเพราะว่าตะกั่วมีผลต่อระบบทางเดินอาหารทำให้เบื่ออาหาร ซึ่งอาจทำให้เกิดการขาดอาหารได้ Silbergeld และ Golberg[15] พบว่าน้ำหนักตัวของลูกหนูกลุ่มที่ได้รับตะกั่วจะลดลงจากกลุ่มควบคุมในช่วงที่ได้รับตะกั่ว แต่ถ้างดการให้ตะกั่วแก่ลูกหนูน้ำหนักลูกหนูจะกลับสู่ปกติได้ การศึกษานี้คณะผู้วิจัยพบว่า ในลูกหนูอายุ 60 วัน ระดับตะกั่วในเลือดของลูกหนูและแม่หนูกลับคืนสู่ปกติ น้ำหนักตัวและน้ำหนักสมองไม่ต่างจากปกติ

การที่แม่หนูกลุ่มที่ได้รับตะกั่วปริมาณสูงมีอัตราตายระหว่างตั้งท้องมาก และลูกหนูตายจากถูกแม่กินสูงมากอาจเนื่องจากพิษตะกั่วต่อสมองทำให้เกิดอาการของ acute encephalopathy และมีอาการเปลี่ยนแปลงทางด้าน psychological performance[15,16,17] ทำให้แม่หนูเพิ่มความดุร้าย จากการสังเกตเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม นอกจากนี้ยังพบว่าลูกหนูตายแรกคลอดสูง McClain และ Becker[18] พบว่า ลูกหนูใน

ท้องไวต่อผลที่ร้ายแรงที่สุดของตะกั่วในช่วงที่แม่ตั้งท้องได้ 10 - 15 วัน ซึ่งจะพบอัตราการตายของลูกแรกคลอดสูง

ในลูกหนูที่คลอดและมีชีวิตรอด พบว่าการเจริญของบาร์เรลไม่ต่างจากกลุ่มควบคุม คือเริ่มเห็นบาร์เรลในลูกหนูอายุ 4 - 5วัน และเจริญสมบูรณ์เต็มที่ในลูกหนูอายุ 6 วัน (Figure2) ถึงแม้ว่าน้ำหนักสมองของลูกหนูที่ได้รับตะกั่วจะลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ก็ไม่ทำให้การเจริญของบาร์เรลผิดปกติไป แต่การนับจำนวนเซลล์ประสาทและวัดขนาดพื้นที่ของPMBSF และบาร์เรล C-1 พบความแตกต่างอย่างชัดเจนระหว่าง 2 กลุ่ม (Table 2, Figure1 D,E,F) การลดลงของจำนวนเซลล์ประสาทและขนาดพื้นที่ของบาร์เรลในลูกหนูที่ได้รับตะกั่วนี้อาจเนื่องจากปัจจัยหลายประการ ประการหนึ่งที่น่าจะคำนึงถึงคือ การขาดอาหารของแม่หนูที่ได้รับตะกั่ว Vongdokmai[11] พบว่าในหนูที่ขาดอาหารโปรตีนการเจริญของบาร์เรลจะช้ากว่าปกติไป 2 วัน จำนวนเซลล์ประสาทและขนาดของบาร์เรลลดลงอย่างมีนัยสำคัญ แต่จากการศึกษานี้การเจริญของบาร์เรลยังเป็นปกติ ซึ่งอาจอธิบายได้ว่าในขณะที่บาร์เรลกำลังเจริญนั้น ปริมาณของตะกั่วที่ทำให้เกิดพิษยังไม่มากพอที่จะมีผลต่อการเจริญของบาร์เรล เพราะเริ่มฉีดในวันที่ 10 ของการตั้งครรภ์ แต่ Vongdokmai[11] เลี้ยงแม่หนูให้ขาดอาหารโปรตีนก่อนการผสมพันธุ์ถึง 5 สัปดาห์ แต่ผลต่อมาที่พบว่าจำนวนเซลล์ประสาทและขนาดพื้นที่ของบาร์เรลลดลงนั้น อาจเป็นไปได้ว่าเนื่องจากระยะหลังตะกั่วทำให้เกิดการขาดอาหารในหนู แต่ในการศึกษานี้คณะผู้วิจัยไม่ได้วัดปริมาณอาหารหรือศึกษาผลของตะกั่วต่อระบบทางเดินอาหาร ซึ่งก็น่าจะได้ทำการศึกษาต่อไป

สรุปผลที่ได้จากการศึกษา พบว่า ตะกั่วมีผลต่อการเจริญเติบโตของร่างกาย โดยพบว่าน้ำหนักตัวและน้ำหนักสมองของกลุ่มที่ได้รับตะกั่วต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งสัมพันธ์กับความหนาของ cerebral cortex ที่ลดลงต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนผลของตะกั่วต่อจำนวนเซลล์ประสาท พื้นที่ PMBSF และพื้นที่บาร์เรล C-1 นั้นพบว่า ตะกั่วมีผลลดจำนวนเซลล์ประสาทในบาร์เรลC-1 พื้นที่บาร์เรล C-1 และพื้นที่ PMBSF แต่การเริ่มเห็นบาร์เรลและบาร์เรลเจริญสมบูรณ์เต็มที่ในลูกหนูไม่แตกต่างกันในลูกหนูทั้ง 2 กลุ่ม

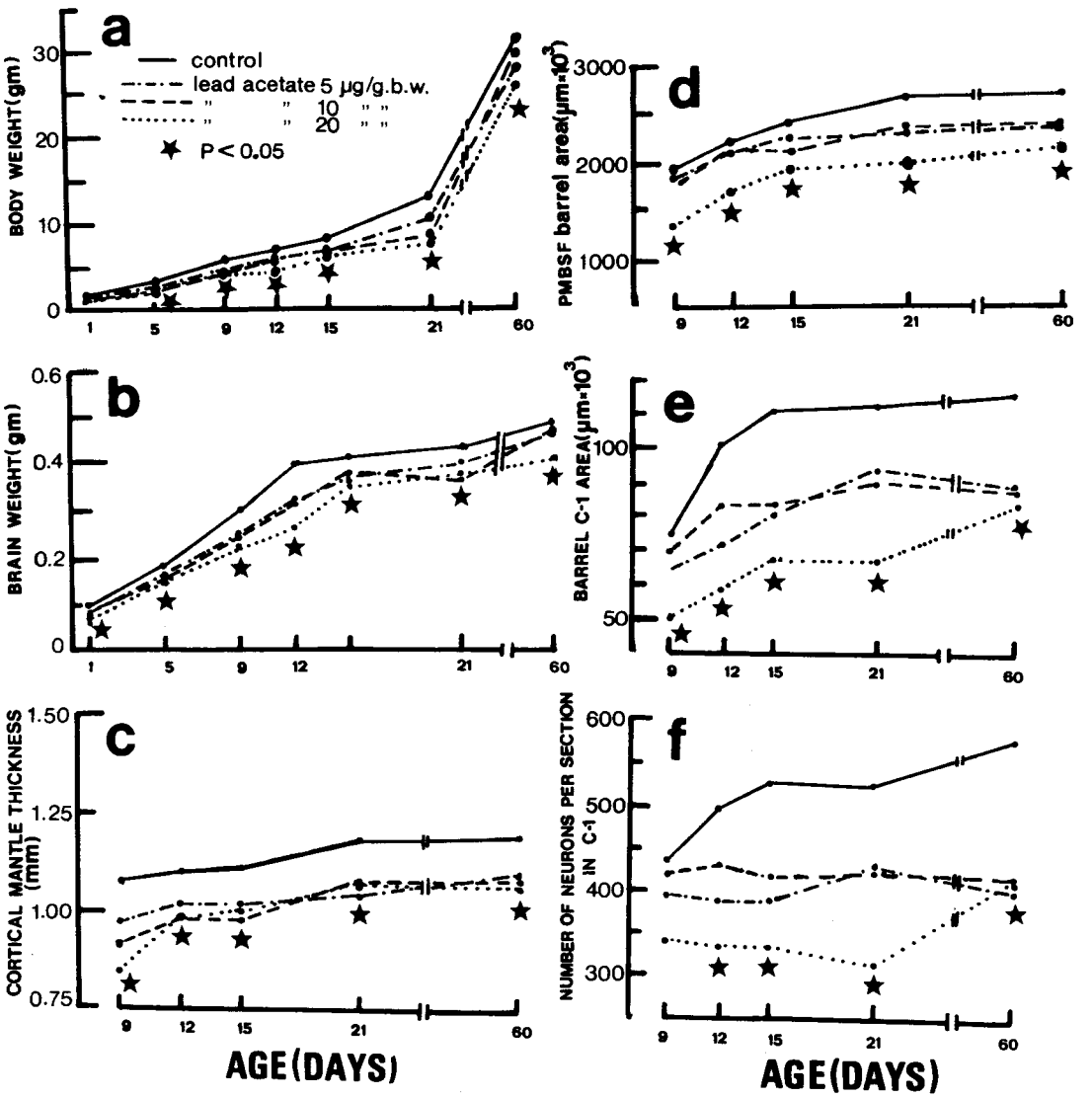

Figure 1 แสดงผลของตะกั่วต่อน้ำหนักตัว(A) น้ำหนักสมอง(B) ความหนาของ cerebral cortex(C) พื้นที่ของ PMBSF(D) พื้นที่ของบาร์เรล C-1(E) และจำนวนเซลล์ประสาทในบาร์เรล C-1(F) เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมในลูกหนูอายุต่าง ๆ กัน ค่าที่แสดงเป็นค่า mean ± S.D.

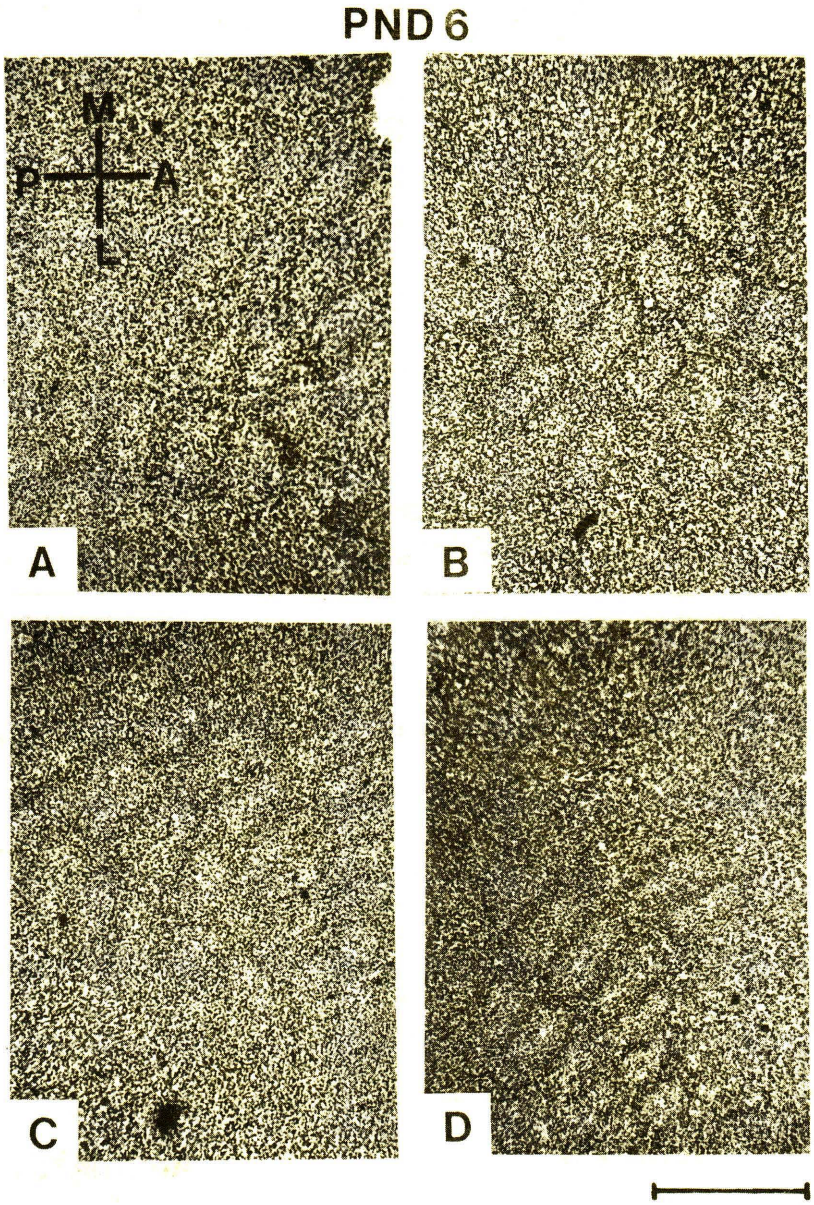

Figure 2 ภาพถ่ายของสมองจากกล้องจุลทรรศน์ของลูกหนูอายุ 6 วัน ย้อมด้วย cresyl violet แสดงบาร์เรลในชั้นที่ 4 ของ somatosensory cortex ใน tangential section A = กลุ่มควบคุม B = ตะกั่ว 5 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กรัม C = ตะกั่ว 10 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กรัม D = ตะกั่ว 30 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กรัม ในแต่ละภาพจะเห็นบาร์เรลที่เจริญสมบูรณ์แต่ไม่ครบทุกแถวของ PMBSF เนื่องจากแสดงเฉพาะ 1 section ถ้านำsections ที่เห็นบาร์เรลมาวาดรูปต่อ ๆ กัน ก็จะได้บาร์เรลที่ครบสมบูรณ์ทั้ง 5 แถว Bar = 500 µm

(m = medial, l = lateral, a = anterior, p = posterior)

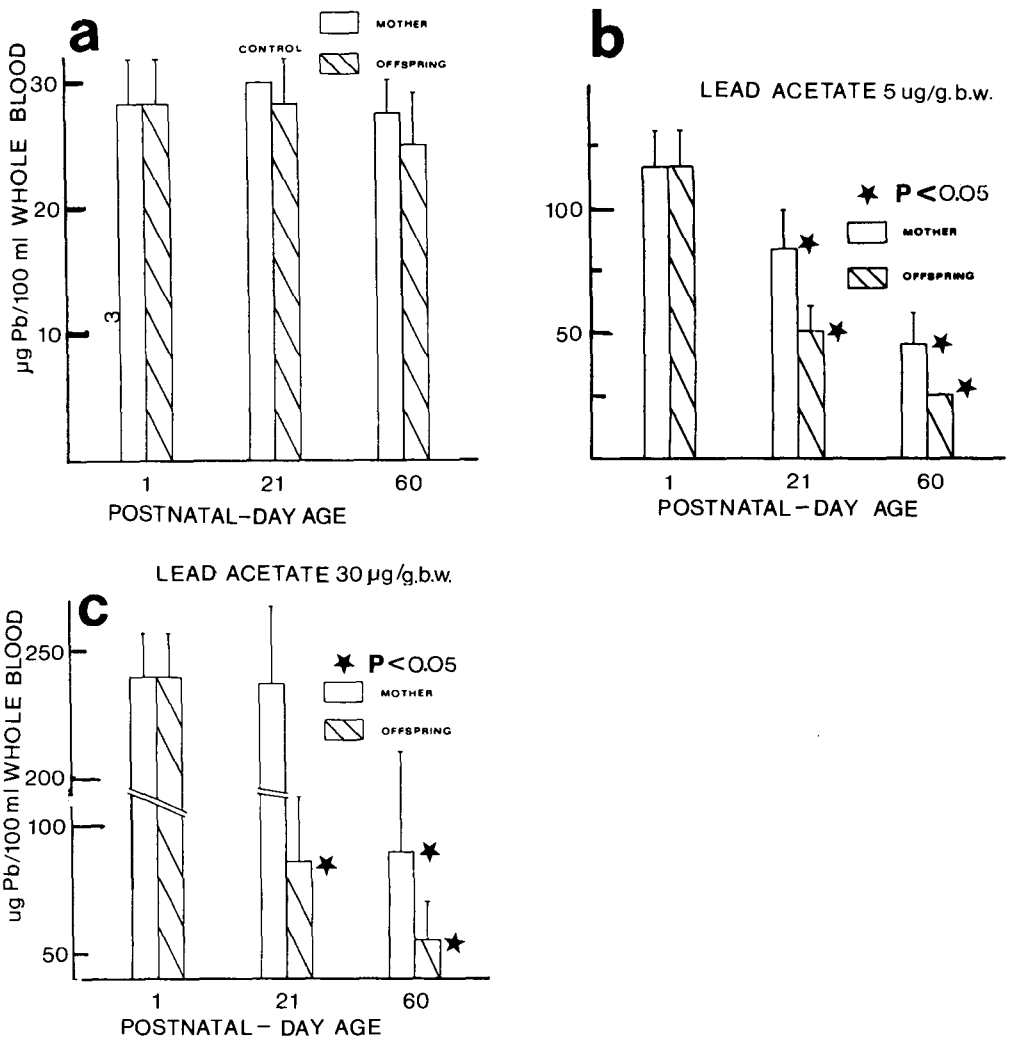

Figure 3 แสดงระดับตะกั่วในเลือดของแม่หนูและลูกหนูเปรียบเทียบกัน ในวันแรกที่คลอดและหลังคลอด 21 และ 60 วัน ค่าที่แสดงเป็นค่า mean ± S.D.

A = กลุ่มควบคุม

B = ตะกั่ว 5 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กรัม

C = ตะกั่ว 30 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กรัม

Table 1 Effect of lead on pregnant mice (P = Probability, NS = Not Significant)

	Control	Pb (µg/gm body neight)		
		5	10	30
Total numbers of pregnant mice	32	45	45	80
Percentage of pregnant mice died before delivery.	0	2.22 NS	4.44 NS	26.25 $P < 0.005$
Average duration of gestation(days)	19.95 ± 0.89	19.8 ± 0.89	19.95 ± 0.22	19.55 ± 0.89
Total weight gain in pregnant mice (gm)	24.0 ± 3.21	20.0 ± 4.11 $P < 0.001$	18.14 ± 4.82 $P < 0.001$	14.39 ± 3.36 $P < 0.001$
Total numbers of mouselings	296	396	349	374
Percentage of mouselings died after deliverv	3.04	12.63 $P < 0.005$	14.90 $P < 0.005$	22.46 $P < 0.005$
Percentage of mouselings which were eaten by mothers	16.22	19.95 NS	22.92 $P < 0.05$	54.28 $P < 0.005$
Percentage of mothers which ate thier offsprings	6.25	13.64 NS	30.23 $P < 0.005$	69.49 $P < 0.005$
Average number of mouselings per mother	9.25	9.0 NS	8.12 $P < 0.05$	6.34 $P < 0.001$

		No. of animals	Body weight (g.)	Brain weight (g.)	PMBSF barrel area ($\mu m^2 X 10^3$)	Barrel C-1 area ($\mu m^2 X 10^3$)	Number of neurons per section in C-1
PND 15	Control	8	8.02±0.99	0.42±0.03	2416.12±67.95	111.27±9.44	523.37±40.19
	Pb 5 µg/g	7	6.65±0.95	0.37±0.01	2255,62±174.49	81.05±7.83	387.43±38.04
	% decreased		17.13	10.55	6.64	27.16	25.97
	P value		<0.025	<0.005	<0.05	<0.001	<0.001
	Pb 10 µg/g	7	6.66±0.62	0.39±0.02	2129.67±212.74	83.55±5.9	415.00±42.12
	% decreased		16.97	7.12	11.86	24.91	20.71
	P value		<0.01	<0.025	<0.005	<0.001	<0.001
	Pb 30 µg/g	7	6.14±0.46	0.35±0.06	1910.31±315.53	67.65±18.71	332.86±33.65
	% decreased		23.49	14.97	20.93	39.2	36.4
	P value		<0.001	<0.025	<0.001	<0.001	<0.001
PND 21	Control	9	12.99±1.03	0.44±0.03	2672.83±194.25	112.25±9.6	521.88±67.7
	Pb 5 µg/g	7	10.39±0.70	0.40±0.02	2309.35±213.1	94.11±15.93	429.14±38.25
	% decreased		20.04	7.72	13.60	16.16	17.77
	P value		<0.001	<0.025	<0.005	<0.025	<0.01
	Pb 10 µg/g	10	8.61±2.66	0.37±0.05	2372.89±304.8	90.79±8.01	422.7±53.12
	% decreased		33.69	15.45	11.22	19.12	19.00
	P value		<0.001	<0.005	<0.025	<0.001	<0.005
	Pb 30 µg/g	7	7.39±1.8	0.38±0.05	1970.46±328.68	67.13±16.53	312.28±60.5
	% decreased		43.14	12.70	26.27	40.20	40.16
	P value		<0.001	<0.025	<0.001	<0.001	<0.001

	No. of animals	Body weight (g.)	Brain weight (g.)	PMBSF barrel area ($\mu m^2 X 10^3$)	Barrel C-1 area ($\mu m^2 X 10^3$)	Number of neurons per section in C-1
PND 9 Control	8	5.60±0.49	0.31±0.03	1900.73±172.2	74.87±10.96	433.13±96.07
Pb 5 µg/g	6	4.74±0.06	0.25±0.01	1816.33±192.66	64.87±4.35	393.67±48.06
% decreased		15.46	18.21	4.44	13.35	9.11
P value		<0.025	<0.005	NS	NS	NS
Pb 10 µg/g	7	4.64±0.43	0.25±0.02	1735.04±163.56	69.57±9.64	418.43±49.29
% decreased		17.24	19.40	8.72	7.05	3.39
P value		<0.005	<0.001	NS	NS	NS
Pb 30 µg/g	6	3.92±1.12	0.22±0.03	1330.07±190.73	49.81±8.96	341.5±64.78
% decreased		29.95	27.37	30.02	33.46	21.15
P value		<0.005	<0.001	<0.001	<0.001	<0.005
PND 12 Control	9	6.80±0.54	0.40±0.03	2211.41±146.74	101.2±10.8	494.88±64.73
Pb 5 µg/g	6	5.78±0.81	0.32±0.03	2093.40±142.68	71.71±10.6	385.5±43.85
% decreased		14.88	20.15	5.34	20.13	22.10
P value		<0.025	<0.001	NS	<0.001	<0.005
Pb 10 µg/g	6	5.67±1.13	0.32±0.03	2138.71±171.59	83.77±8.55	430.0±30.87
% decreased		16.50	20.15	3.29	17.19	13.12
P value		<0.025	<0.001	NS	<0.01	≤0.05
Pb 30 µg/g	6	4.33±0.98	0.26±0.01	1678.09±145.04	59.07±10.4	331.5±56.62
% decreased		36.29	34.44	24.12	41.61	33.01
P value		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

PND 60	Control	9	31.22±3.24	0.49±0.02	2683.58±136.47	115.22±16.5	575.88±54.65
	Pb 5 µg/g	12	28.13±3.7	0.47±0.04	2364.97±233.85	88.96±9.37	405.5±48.69
	% decreased		9.92	4.89	11.87	22.79	29.58
	P value		NS	NS	<0.005	<0.001	<0.001
	Pb 10 µg/g	8	30.06±1.88	0.47±0.02	2397.92±172.9	86.91±15.42	415.13±28.48
	% decreased		3.71	4.23	10.64	24.57	27.9
	P value		NS	NS	<0.005	<0.005	<0.001
	Pb 30 µg/g	8	25.94±3.42	0.41±0.03	2138.63±243.22	83.22±8.96	412.25±52.32
	% decreased		16.93	15.97	20.31	27.77	28.41
	P value		<0.01	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

Table 3 Results of blood lead level (µg/100 ml. blood) in pregnant mice and mouselings. (Values are expressed as mean ± S.D., PND = Postnatal day, NS = Not Significant, Numbers in parentheses indicate number of animaes)

	Control	Pregnant mice		Control	Mouselings	
		Pb (µg/gm body neight)			Pb (µg/gm body neight)	
		5	30		5	30
PND 1	28.33 ± 2.89 (3)	116.66 ± 15.28 (3)	240.0 ± 17.32 (3)	28.33 ± 2.89 (3)	116.66 ± 15.28 (3)	240.0 ± 17.32 (3)
PND 21	30.0 ± 0.0 (3)	82.5 ± 15.0 (4)	237.5 ± 29.86 (4)	28.35 ± 2.36 (3)	50.0 ± 10.0 (3)	86.25 ± 25.94 (4)
% changed	+ 5.89	- 29.28	- 1.04	0	- 57.14	- 64.06
Pvalue	NS	< 0.05	NS	NS	< 0.005	< 0.001
PND 60	27.5 ± 2.88 (4)	44.66 ± 11.77 (6)	90.25 ± 40.17 (4)	25.0 ± 4.08 (4)	25.0 ± 0 (4)	55.0 ± 14.99 (6)
% changed	- 2.93	- 61.71	- 62.39	-11.75	-78.57	- 77.08
Pvalue	NS	< 0.001	< 0.005	NS	< 0.001	< 0.007

อ้างอิง

1. Brown DR. Neonatal lead exposure in the rat : decreased learning as a function of age and blood lead concentration. Toxicol Appl Pharmacol 1975 Jun ; 32 (3) : 628 - 637
2. Krigman MR, Druse MJ,Traylor TD, Wilson MH, Newell LR, Hogan EL. Lead encephalophathy in the developing rat : effect on cortical ontogenesis. J Neuropha-thol Exp Neurol 1974 Oct; 33(5) : 671 - 686
3. Louis-Ferdinand RT,Brown DR, Fiddler SF, Daughtrey WC, Klein AW. Morphometric and exzymatic effects of neonatal lead exposure in the rat brain. Toxicol Appl Pharmacol 1978 Feb ; 43 (2) : 351 -360
4. Petit TL, LeBoutillier JC. Effects of lead exposure during development on neocortical dendritic and synaptic structure. Exp Neurol 1979 Jun ; 64 (3): 482 - 492
5. Michaelson IA. Effects of inorganic lead on RNA,DNA and protein content in the developing neonatal rat brain. Toxicol Appl Pharmacol 1973 Dec ; 26 : 539-548
6. Lefauconnier JM, Lavielle E, Terrien N, Bernard G,Fournier E. Effect of various lead doses on some cerebral capillary functions in the suckling rat. Toxicol Appl Pharmacol 1980 Sep ; 55(3) : 467 - 476
7. Toews AD, Kolber A, Hayward J, Krigman MR, Morell P. Experimental lead encephalopathy in the suckling rat : concentration of lead in cellular fractions enriched in brain capillaries. Brain Research 1978 May; 147(1) : 131-138
8. Woolsey TA, Van der Loos H. The structural organization of layer IV in the somatosensory region (SI) of mouse cerebral cortex. Brain Research 1970 Jan 20 ; 17 : 205 - 242
9. Rice FL. Somatosensory cortex of the mouse: development of barrels and of

barrel field. Anat Rec 1973 ; 175 : 423 - 424

10. Rice FL. Somatosensory cortex of the mouse : time of origin and postnatal migration of neurons in the barrel field. A quantitative autoradiographic study. Anat Rec 1974 ; 178 : 447
11. Vongdokmai R. Effect of protein malnutrition on development of mouse cortical barrels. J Comp Neurol 1980 May ; 191(2) : 283 - 294
12. Hessel DW. A simple and rapid quantitative determination of lead in blood. Atomic Absorption Newsletter 1968 ; 7 : 55 - 56
13. Angell NF, Lavery JP. The relationship of blood lead levels to obstetric outcomes. Am J Obstet Gynecol 1982 Jan ; 142(1) : 40 - 46
14. Dilts PV, Ahokas RA.Effects of dietary lead and zinc on pregnancy. Am J Obstet Gynecol 1979 Dec ; 135(1): 940 - 946
15. Silbergeld EK, Adler HS.Subcellular mechanisms of lead neurotoxicity. Brain Research 1978 Jun ; 148 (2) : 451 - 467
16. Golter M, Michaelson IA. Growth. behavior , and brain catecholamines in lead exposed neonatal rats: a reappraisal. Science 1975 Jan 31; 187(4174):359-361
17. Kishi R, Ikeda T, Miyake M, Uchino E, Tsuzuki T, Inoue K. Effects of low lead exposure on neuro-behavioral function in the rat. Arch Environ Health 1983 Jan ; 38(1) : 25 - 32
18. McClain RM, Beeker BA. Teratogenicity, fetal toxicity, and placental transfer of lead nitrate in rats. Toxicol Appl Pharmacol 1975 Jan ; 31(1) :72 - 82

จุฬาลงกรณ์เวชสารได้รับต้นฉบับเมื่อวันที่ 25 เดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2527