

بررسی اثر سرب بر سلول آندوتلیال جدار سینوزوئید طحال جنین رت Rat از دیدگاه میکروسکوپ الکترونی (TEM)

دکتر زهرا حیدری - دستیار علوم تشریحی - دانشکده پزشکی - دانشگاه علوم پزشکی تهران
دکتر باقر مینایی زنگی - استادیار - دانشگاه علوم پزشکی تهران
دکتر سیدمحمدحسین نوری - استادیار - دانشگاه علوم پزشکی تهران
دکتر محمد اکبری - استادیار - گروه آناتومی - دانشکده پزشکی - دانشگاه علوم پزشکی تهران

Effects of Lead on Ultrastructural Characteristics of Sinusoidal Endothelial Cell of Fetal Rat's Spleen ABSTRACT

Amount of environmental lead pollution is increased with progression of industry. This pollution is able to damage the living beings in many ways. Blood and Immune systems are more sensitive to toxic effects of lead. 30 female and 6 male rats from sprague dawley race are chosen by simple random sampling. After copulation and vaginal plug observation, expectant rats are classified in test and control groups. Since the first day of pregnancy, test group is given a drink containing lead acetate 0.13% in distilled water and control group is given distilled water.

After delivery, for ultrastructural studies, spleen specimens of newborn rats are fixed in glutaraldehyde solution 2% and after processing are studied by T.E.M. Sinusoidal endothelial cell show: morphological changes in mitochondria, appearance of primary & secondary lysosomes and multivesicular bodies and swelling in ER. It seems that these changes are caused by interaction of lead with enzymatic functions or lead accumulation in these cellular organelles.

Keywords: lead, spleen, sinusoidal endothelial cell, fetus, ultrastructure electronmicroscopy.

خلاصه

محلول استات سرب ۰/۱۳٪ و گروه شاهد آب مقطر به عنوان آب آشامیدنی مصرفی روزانه دریافت می‌نمایند. پس از زایمان، نمونه طحال نوزاد در محلول گلو تار آلدهاید ۰/۰۲ تثبیت و پس از طی مراحل آماده‌سازی توسط میکروسکوپ الکترونی مورد مطالعه قرار می‌گیرد. بررسی الکترون میکروسکوپی در سلولهای اندوتلیال سینوزوئید، تغییرات مورفولوژیک میتوکندری، ظهور لیزوزوم‌های اولیه، ثانویه و اجسام مالتی وزیکولار و تورم شبکه آندوپلاسمی را نشان می‌دهد. به نظر می‌رسد که این تغییرات در اثر تداخل سرب با اعمال آنزیمی یا تجمع سرب در ارگانلهای سلولی مذکور باشد.
کلمات کلیدی: سرب، طحال، سلول اندوتلیال سینوزوئید، جنین، فراساختمان، میکروسکوپ الکترونی.

در مطالعه حاضر، تأثیر سرب بر خصوصیات فرا ساختمانی سلول اندوتلیال جدار سینوزوئید در طحال جنین Rat مورد بررسی قرار می‌گیرد. آلودگی زیست محیطی سرب با پیشرفت صنعت، بطور بی‌رویه‌ای در حال افزایش است. این آلودگی به طرق مختلف حیات موجودات زنده را مورد تهدید قرار می‌دهد. دستگاه گردش خون و ایمنی در این میان از حساسیت خاصی برخوردار می‌باشد. ۳۰ رت ماده و ۶ رت نر از نژاد (Sprague Dawley) به طریق نمونه‌برداری تصادفی انتخاب می‌گردند. پس از جفت‌گیری و مشاهده پلاک واژینال، رتهای حامله به دو گروه آزمایش و شاهد تقسیم می‌گردند. از نخستین روز بارداری، گروه آزمایش

مقدمه

(Krigman, 1968) (Perins, 1982).

مواد و روش کار

۳۰ رت ماده با وزن gr ۲۳۵ - ۱۶۰ و ۶ رت نر با وزن gr ۲۷۰ - ۲۳۰ از نژاد Srague Dawley از حیوانخانه مؤسسه تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی تهران، به طریق نمونه برداری تصادفی انتخاب گردیدند. رت‌های ماده در دسته‌های پنج‌تایی در قفس‌های مشبک به ابعاد ۵۰ × ۲۵ × ۲۰ سانتیمتر و در دمای ۲۸ - ۱۸ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

پس از یک هفته زمان سازش حیوان با محیط جدید، رت‌های نر جهت جفتگیری به قفس رت‌های ماده انتقال یافتند. صبح هر روز رت‌های ماده از نظر وجود واژینال پلاک مورد بررسی قرار گرفتند. رت‌های حامله (۱۴ عدد) به دو گروه آزمایش و شاهد تقسیم گردیدند. از نخستین روز بارداری، گروه آزمایش محلول استات سرب ۰/۱۳٪ در آب مقطر و گروه شاهد آب مقطر به عنوان آب آشامیدنی مصرفی روزانه دریافت داشتند.

پس از زایمان، نوزادان با اتر بیهوش و طحال آنها خارج گردید. نمونه طحال به ابعاد ۱ × ۱ × ۱ میلی‌متر جهت فیکساسیون اولیه در محلول گلو تار آلد هاید ۲٪ در حرارت ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳-۲ ساعت قرار داده شد. پس از دو بار شستشو با محلول بافر فسفات ۲٪ به مدت ۱۰ دقیقه، جهت فیکساسیون ثانویه در تتروکسیداسمیوم ۱٪ به مدت ۲ - ۱ ساعت در حرارت اتاق قرار داده شد پس از آن شستشو با بافر فسفات مشابه مرحله قبل انجام

پس از مراحل آب‌گیری با اتانول، آغشتگی با رزین اپوکسی Epon 812 با درجات صعودی رزین در الکل و قالب‌گیری در رزین، برش توسط اولترا میکروتوم انجام شد. Coat کردن گریدها با محلول ۲۵٪ تا ۰/۵ درصد پودر Formvar در اتیلن دی کلراید انجام و نمونه‌ها بر روی گرید سوار گردیدند. رنگ‌آمیزی نمونه با سیترات سرب و استات یورانیل صورت گرفت و گریدها توسط میکروسکوپ الکترونی ترانسیمیشن zeiss 902 (TME) ساخت آلمان مورد مطالعه و عکسبرداری قرار گرفت.

نتایج

بررسی سلول‌های آندوتلیال سینوزوئید در گروه شاهد نشان می‌دهد که این سلول‌ها میله‌ای یا استوانه‌ای شکلند و به موازات محور بلند سینوس واقع گردیده‌اند. هسته نسبتاً هتروکروماتینه

مسئله آلودگی محیط زیست یکی از مسائل عمده‌ای است که امروزه قسمت اعظم تلاش برنامه‌ریزان اجتماعی را به خود اختصاص داده است. یکی از مهمترین آلوده‌کننده‌های زیست‌محیطی سرب است. آلودگی سرب غیرآلی به علت فرآیندهای صنعتی و آگزوز اتومبیل بسیار گسترده و قابل توجه است (Jawoerowskiz, 1968) و به همین علت میزان سرب بدن افراد معمولاً خیلی بیشتر از حد می‌باشد (Patterson, 1965).

جذب سرب از سه راه تغذیه، تنفس و جذب پوستی صورت می‌گیرد (صاحبقدم لطفی، ۱۳۶۸) و اثرات بیولوژیکی آن در سطوح مختلف بافتی، سلولی، فراساختمانی و متابولیکی مطرح است (Moore, 1986).

اثرات سمی سرب، اولین بار توسط بقراط کشف شد (صاحبقدم لطفی ۱۳۶۷). مسمومیت با سرب، (Plumbism) اولین بار توسط نیکاندر پزشک یونانی بیش از دو هزار سال پیش توصیف گردید (Hilderbrand, 1973).

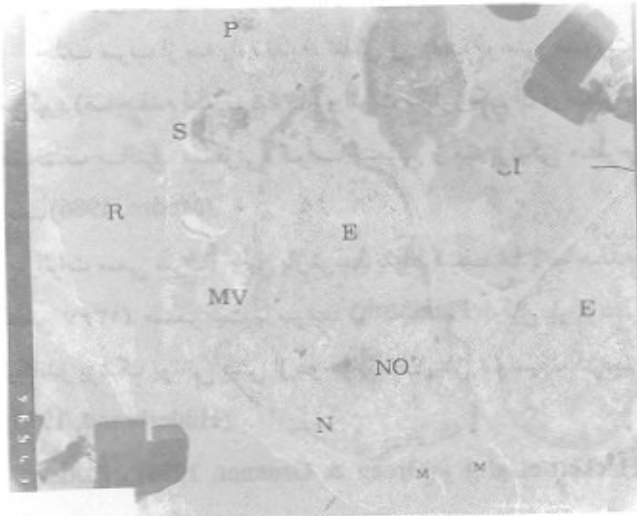
مطالعات (Green & Gruener, 1974) و (Hackett et al., 1982) نشان داده است که سرب در رت از سد خونی - جنینی عبور می‌نماید. لذا سطوح بالای سرب مادر بر تکامل جنین وی اثرات سوء ایجاد می‌نماید.

به گفته (Goyer, 1970) از لحاظ پاسخ به خواص سمی سرب، رت (Rat) نمونه‌ای مشابه با انسان تلقی می‌گردد. با توجه به اینکه اثرات عمده سرب بر سیستم خونی و ایمنی بیان گردیده است (Lee, 1994) و طحال عضو مشترکی در هر دو سیستم محسوب می‌گردد (Bloom & Fwctett, 1995) لذا بایستی تحت تأثیر سرب تغییرات بافتی و فراساختمانی در سلول‌های طحال اتفاق بیفتد. از آنجایی که سلول‌های آندوتلیال سینوزوئیدی نزدیکترین سلول‌ها به خون حاوی مقادیر سرب زیاد می‌باشند و از طرف دیگر نقش اساسی طحال در کنترل برداشت گلبول‌های خونی پیر، صدمه دیده و غیرطبیعی توسط این سلول‌ها و شکاف بین آندوتلیالی اعمال می‌گردد (Chen & Weiss, 1973)، به نظر می‌رسد که سرب باعث بروز تغییرات آنزیمی و ایجاد تجمعات داخلی سلولی و تغییرات فراساختمانی قابل مطالعه با میکروسکوپ الکترونی در سلول آندوتلیال جدار سینوزوئید طحالی گردد.

با توجه به تحقیقات فراساختمانی متعدد به نظر می‌رسد که ارگان‌های درگیر بایستی لیزوزوم، میتوکندری، میکروزوم یا شبکه آندوپلاسمی باشند (Mahaffey, 1981) (Bartrop, 1971)

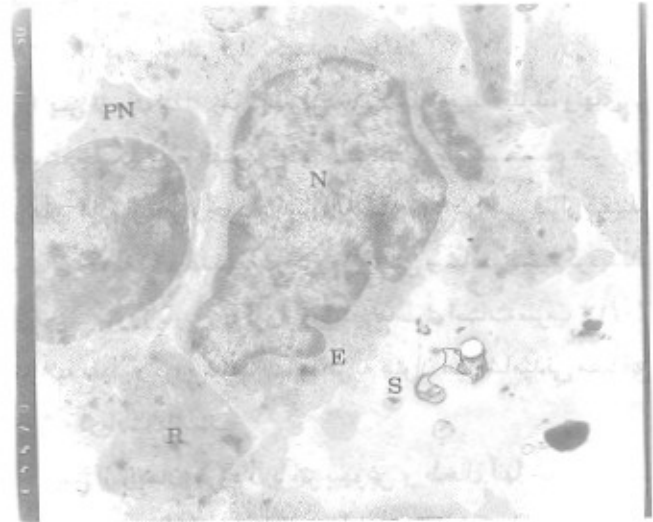
میتوکندری‌ها مدور با کریستالهای تکامل یافته و ماتریکس روشن مشاهده می‌گردد.

تصویر میکروسکوپ الکترونی شماره 2a - دیواره سینوزوئید در پالپ قرمز طحال گروه آزمایش $\times 8000$ فضای سینوزوئید (S)، سلول آندوتلیال جدار سینوزوئید (E) با هسته (N) و هستک (NO) مشخص لیوزوم اولیه (P)، لیوزوم ثانویه (S) اجسام مالتی وزیکولار (*) و میتوکندری‌های تغییر شکل یافته (m).

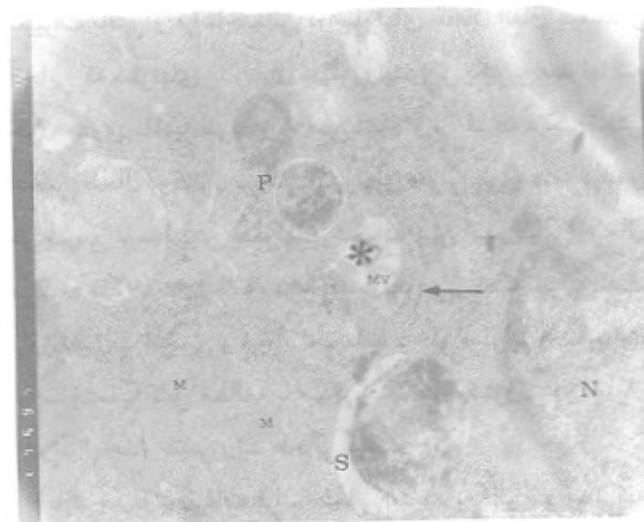


دندان‌دار و هستک معمولاً مشخص است. سیتوپلاسم در اطراف هسته ضخیم‌تر است ولی به طرف انتهای سلول باریک می‌شود.

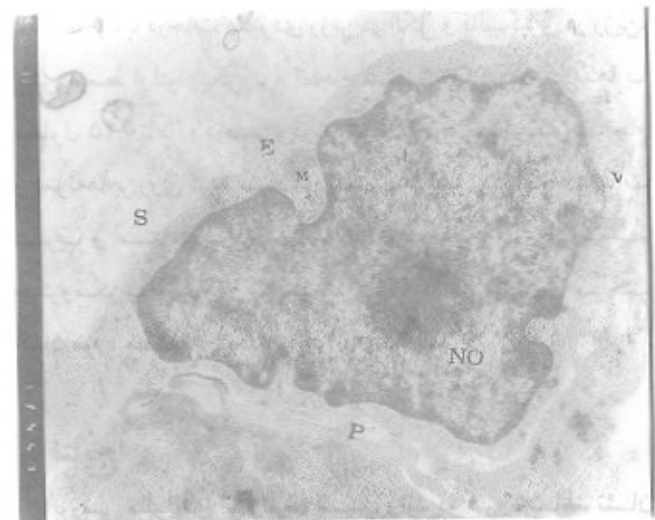
تصویر میکروسکوپی الکترونی شماره 1a - دیواره سینوزوئید در پالپ قرمز طحال شاهد با $\times 8000$ فضای سینوزوئید (S)، سلول آندوتلیال جدار سینوزوئید (E) با هسته مشخص و دندان‌دار دارد. یک سلول رده خونساز که احتمالاً نورموپلاست اولیه است (PN) و بخشی از یک گلبول قرمز بالغ (R).



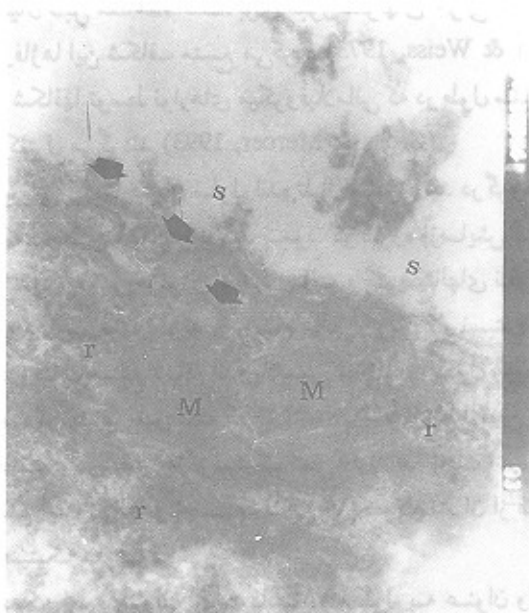
تصویر میکروسکوپ الکترونی شماره 2b - دیواره سینوزوئید در پالپ قرمز طحال گروه آزمایشی - $\times 2000$ سلول آندوتلیال سینوزوئید، هسته (N) در سیتوپلاسم لیوزوم اولیه (P)، ثانویه (S)، اجسام مالتی وزیکولار (*) و میتوکندری‌های تغییر شکل یافته (m)، شبکه آندوپلاسمی خشن با دانه‌های واضح و قنات متسع (پیکان) دیپوزوم و پلی زوم آزاد (f).



تصویر میکروسکوپ الکترونی شماره 1b - دیواره سینوزوئید در پالپ قرمز طحال شاهد با $\times 12500$ فضای سینوزوئید (S) - سلول آندوتلیال جدار سینوزوئید (E) با هسته (N) و هستک (NO) مشخص، چند وزیکول شفاف (V) و میتوکندری (M)، شکاف بین دو سلول آندوتلیال (P).



تصویر میکروسکوپ الکترونی 2d- سلول آندوتلیال سینوزوئید طحال در گروه آزمایش با $16000 \times$ (S) فضای سینوزوئید، وزیکول روپوش دار (سر پیکانها)، میتوکندری های متورم (M) در سیتوپلاسم مشخص می باشند. در فاصله بین آنها ریبوزوم های آزاد (r) مشاهده می شود.



بحث و استنتاج

بررسی های متعدد نشان داده است که سرب می تواند از سدخونی - جفتی عبور نماید (Oliver et al 1991). در رت این موضوع توسط Green & Gruener 1972 و Hackett 1982 اثبات گردید. عبور سرب از خون مادری که در طی دوره بارداری از محلول استات سرب $0/13$ درصد به عنوان آب آشامیدنی استفاده کرده است مسلماً سبب تغییرات بافتی در جنین خواهد شد. در بافت طحالی جنین سلولهای آندوتلیال جدار سینوزوئید به عنوان نزدیکترین سلولها به خون حاوی مقادیر زیاد سرب، در معرض تغییرات فراساختمانی ناشی از سرب می باشد. تجربیات Coldstein و Markovac در 1988 نشان داده که سطوح بالای سرب باعث صدمات به سلولهای آندوتلیال عروقی و مهار تکثیر آنها می گردند.

سلولهای آندوتلیال سینوزوئید اساساً میله ای و یا استوانه ای شکلند، به موازات محور بلند سینوس واقع شده اند، دارای هسته نسبتاً هتروکروماتینه، دنداندار و با هستک مشخص می باشند. سیتوپلاسم در اطراف هسته ضخیم و در دو انتها باریک است (Chen & Weiss 1973). میتوکندری ها مدور با ماتریکس روشن و کریستالهای تکامل یافته می باشند. وزیکولهای شفاف پینوسیتوزی و واکوئل بیشتر در سطح لومینال دیده می شود. گاهی اثری از مواد الکترون دس در واکوئل دیده می شود که دلالت بر وجود یک محصول فاگوسیتوزی دارد.

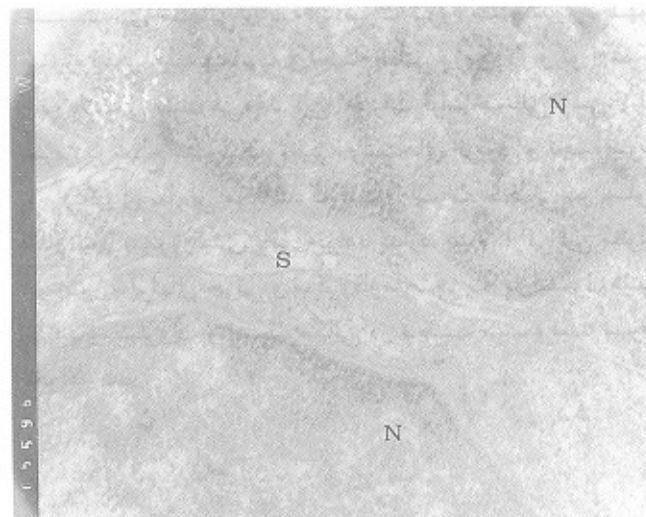
این سلولها در حالت عادی ظرفیت محدودی برای فاگوسیتوز دارند لذا تفسیر قدیمی آنها به عنوان ماکروفاژ دیگر قابل دفاع نیست

تعدادی وزیکول شفاف پینوسیتوزی و تعدادی واکوئل در سطح لومینال قرار دارند (شکل 1a, 1b). این سلولها برای برداشت مواد ذره ای ظرفیت محدود دارند لذا در نمونه شاهد لیزوزوم و فاگوزوم بندرت مشاهده می شود (شکل 1a, 1b). بین سلولهای آندوتلیال سینوزوئید شکافی برای عبور سلولهای خونی یا ماکروفاژها وجود دارد. این شکاف محتوی مقداری رشته کلاژن، ماتریکس بی شکل و زوائد سیتوپلاسمی سلولهاست و در حالت عادی توسط سلولهای ادوانتیسی یا خونی پوشیده می شود. (شکل 1b). در گروه آزمایش فضای سینوزوئیدها معمولاً توسط سلولهای خونی فراوان و اشکال اجزادی آنها اشغال شده است.

سلول آندوتلیال جدار سینوزوئید یا هسته و هستک واضح جلب توجه می کند (شکل 2a, 2b). در سیتوپلاسم، لیزوزوم های اولیه با نمای هموزن متراکم و محدود به غشاء لیزوزوم های ثانویه بزرگتر و هتروژن و اجسام مالتی وزیکولار و تعدادی میتوکندری با کریستالهای ناواضح و مورفولوژی تغییر شکل یافته و چند قنات متسع ER مشاهده می شود (شکل 2a, 2b, 2d). همچنین تعدادی وزیکول روپوش دار در سطح لومینال سلول جلب توجه می کند (شکل 2d). در فواصل بین ارگانلهای مذکور ریبوزوم های آزاد به صورت منفرد و پلی زوم به فراوانی یافت می شوند (شکل 2b).

شکاف بین آندوتلیال از لحاظ مورفولوژی تغییر محسوسی نشان نداده است رشته های کلاژن، ماتریکس بی شکل و زوائد سلولی در این شکاف مشاهده می شوند (شکل 2c).

تصویر میکروسکوپ الکترونی 2c- سلول آندوتلیال جدار سینوزوئید طحالی در گروه آزمایش $40000 \times$ هسته درشت و هتروکروماتیک (N)، شکاف بین دو سلول (S) جهت عبور سلولها بین خون و طناب پالپی.



پائین سرب باعث کاهش و تأخیر در ظهور سیتوکروم‌ها در میتوکندری می‌شود.

تجربیات (Moore, 1986) نشان داد که سرب با تغییر مقدار Haeme سبب تغییر در میزان سیتوکروم‌ها مخصوصاً P-450 که یک هموپروتئین پیچیده در زنجیر انتقال الکترون است می‌گردد. به این ترتیب متابولیسم میتوکندری را تغییر داده و در غلظت‌های بالا تغییرات مورفولوژیک در میتوکندری را نیز سبب می‌شود (صاحبقدم لطفی، ۱۳۶۷).

(Mahaffey, 1981) نیز در سلولهای کلیوی تحت اثر سرب تورم میتوکندری را گزارش نموده‌است. Pernis و همکاران (1982) در مسمومیت با سرب در اریتروسیت‌های خوکچه هندی میتوکندری‌های ضخیم، سفت و متورم گزارش نموده‌اند (صاحبقدم ۱۳۶۷). (Dersel, 1955) نقطه اصلی اثر سرب را متابولیسم Haeme می‌داند و از آنجائی که بسیاری از واکنشهای بیوسنتز Heame در میتوکندری اتفاق می‌افتد این ارگانل در مسمومیت‌های سرب دستخوش تغییرات مورفولوژیکی و فانکشنال می‌گردد. بررسی غلظت سرب در سلولهای کبد و کلیه نشان داده است که غلظت زیاد سرب در میکروزوم‌ها (ER)، میتوکندری‌ها و لیزوزوم‌های سلول وجود دارد.

تمایل زیاد سرب برای گروههای سولفیدریل و فراوانی آنزیم‌های حاوی این گروه در میتوکندری باعث می‌شود که میتوکندری مکان اصلی تجمع سرب باشد. سرب به آهستگی از بخش میکروزومی جدا گردیده و به طور اختصاصی و محکم به میتوکندریها اتصال می‌یابد (Bartrop, 1971).

بنابر آنچه گفته شد سلول آندوتلیال سینوزوئید طحالی در جنین رت در اثر سطوح بالای سرب، تغییرات ارگانلی و آسیب‌پذیری سیستم‌های حیاتی را به صورت تورم میتوکندری، ظهور لیزوزوم‌های اولیه و ثانویه و اجسام مالتی و زیگولار و تورم شبکه آندوپلاسمی نشان می‌دهد. این تغییرات فراساختمانی ناشی از اثر سرب در سطح متابولیک، تغییر فعالیت‌های آنزیمی و تجمع سرب در ارگانل‌های سلولی می‌باشد که مسلماً اثرات مخربی بر سلول آندوتلیال سینوزوئیدی باقی خواهد گذارد. عدم کارائی این سلولها در عبور سلولهای خونی و ماکروفاژها منجر به پر سلول شدن طنابهای بیلروت و اسپلنومگالی در تعقیب مسمومیت سرب خواهد شد.

(Bloom & Fwcett 1995).

این سلولها توسط شکافی از سلول آندوتلیال مجاور خود جدا می‌گردد. این شکافها در حالت عادی بسته هستند. زوائد سلولی، ماتریکس بی‌شکل و تعدادی رشته کلاژن در فاصله بین سلولهای آندوتلیال قابل مشاهده است. برای عبور سلولهای خونی، پلاکتها و ماکروفاژها این شکاف متسع می‌گردد (Chen & Weiss, 1973). اندازه شکافها توسط نوارهای میکروفیلامانی که در طول سلول قرار دارند کنترل می‌گردند (Cross & Mercer, 1993).

بررسی فرا ساختمان سلول آندوتلیال سینوزوئید در گروه شاهد نظر محققین قبلی را تأیید نمود. در گروه آزمایش تعدادی میتوکندری با مورفولوژی تغییر یافته و کریستالهای ناواضح، لیزوزوم‌های اولیه، ثانویه و اجسام مالتی و زیگولار نسبتاً فراوان، تعدادی قنات متسع شبکه آندوپلاسمی و چند زیگولار روپوش‌دار مشاهده گردید. بر طبق گفته Bloom & Fawcett 1995 این سلولها در حالت عادی نقش فاگوسیتیک کمی دارند اما تحت اثر سرب افزایش لیزوزوم‌ها و اجسام مالتی و زیگولار نشان از فعالیت فاگوسیتیک سلولها دارد.

ممکن است فراوانی این ارگانلها در سلول به عنوان واکنش حفاظتی جهت ذخیره فلز و کاهش ظرفیت آسیب‌رسانی آن باشد. Koening, 1963 بیان نموده است که گرچه نقش لیزوزوم‌ها در متابولیسم سرب هنوز مشخص نشده است اما بعضی فلزات سنگین از جمله سرب در سلول زنده در لیزوزوم‌ها تجمع می‌یابند.

Krigman, 1968 نیز در نفروپاتی سرب تغییر لیزوزومی را گزارش نموده است. ترکیب شیمیایی متصل به لیزوزوم‌ها در سلولهای کبدی در مسمومیت با سرب توصیف گردیده است. (Dingle 1969). مطالعات هیستوشیمیائی Brank در 1972 در فیبروبلاست‌های کشت شده نشان داده که سرب به لیزوزوم‌ها الحاق می‌شود.

Mahaffey, 1981 نیز در سلولهای کلیوی تحت اثر سرب، ظهور لیزوزوم‌های اتوفاژی را گزارش نموده است. تغییرات مورفولوژیک میتوکندری در سلول آندوتلیال نیز از اثرات سمی سرب است. Eriksen در 1955 توزیع فراساختمانی سرب را به صورت اتصال با میتوکندری بیان کرده است. Passow, 1970 نشان داد که فلز سرب تمایل زیادی برای گروههای سولفیدریل و فسفات دارد لذا توزیع سرب در سلول ممولاً تابع این فلز است. مطالعات McCalin و همکاران (1975) بر روی مغز رت در حال رشد نشان داد که سطوح

منابع

- 1- Bartrop, D. Barrett, M.J (1971): Subcellular distribution of lead in the rat. J. Lab. Clin. Med. 77. 705-712.
- 2- Bloom. W., and Fawcett, D.W. (1995) In a Text book of Histology

(ed) Saunders, philadelphia.

- 3- Brunk, U., and Brun, a. (1972): Histochemical evidence for lysosomal uptake of lead in tissue cultured fibroblasts. Hisochemie, 29 140-146.

- 4- Chen, L.T. and weiss, L. (1973): The Role of sinus wall in the passage of Erythrocytes through the spleen. *Blood*, Vol., 41, No. 4, 529-537.
 - 5- Cross, P.C. and Mercer, K.L. (1993): cell and tissue ultrastructure. stanford univ. scho. Med. W.H. freeman and company USA. 204-5
 - 6- Dersel, E.LB (1955): The role of some prophyrins and porphyrin precursors in the biosynthesis of haem. In ciba foundation symposium on prophyrin Biosynthesis and metabolism. Churchill, Livingstone London. 72-85.
 - 7- Dingle, J.T., and Barrett, A.J. (1969): Lysosomes in biology and pathology, Vol. 2. Amsterdam, North Holland, chap. 20.
 - 8- Eriksen, L (1955): Lead intoxication. 1L the effect of lead on the invitro biosynthesis of haeme and free erythrocyte porphyrins. *Scand. J. clin. Lab. Invest.* 7, 80-85.
 - 9- Green-M., and Gruener, N. (1974): Transfer of lead via placenta and milk. *Res. commun. Chem. Pathol. pharmacol.* 8, 735-738.
 - 10- Hackett, P.L., et al. (1932): Effects of dose leverl and pregnancy on the distribution and toxicity of intravenous lead in rats. *J.Tocicol. environ. Health*, 9. 1007-1020.
 - 11- Hilderbrand, D.C., Der, R. and fahim, M.S. (1973): Effect of lead acetate on reproduction, 115, 8, 1058-1064.
 - 12- Joworosi, Z. (1968): stable and radioactive lead in environment and human body. warsaw, Nuclear Energy Information Center, Review Report No. 29.
 - 13- Khanna & Johri (1991): Lead and immunity L II- suppression of Humoral Immune Response. *J. Hygiene Epidemiol. Microbiol. & Immunol.* 35, 1, 1-7.
 - 14- Koenig, H. (1963): Intravital staining of lysosomes by basic dayes and metallic ions, *J. Histochem. cytochem.* 11:120
 - 15- Krigman, M.R. et al. (1968). lysosomal alteration in lead neuropathy, *fed proc.* 27-410.
 - 16- Lee, J.J., and Battles, A.H. (1994): Lead toxicity Via Archidonate Signal Transduction to Growth Responses in the splenic Macrophage. *Enviromental Resarch* 67, 209-219.
 - 17- Mahaffey, K.R. et al. (1981) Concurrent exposure of lead, cadmium and arsenic: Effects on toxicity and tissue metal concentration in the rat, *J. Lab. Clin. Med.* 98, 4:463-481.
 - 18- Markovac, J, coldstein, G.W. (1988): Lead activates protein kinase in immature rat brain microvessles. *Toxicol. Appl. pharmacol.* 96: 14-23
 - 19- McClain, R.M. & Becker, B.A (1975): Teratogenicity, fetal toxicity and placental Transfer of lead nitrate in Rats. *Toxicol. & Appl. pharmacol.* 31, 72-82,
 - 20- Moore, M.r (1986): Lead Posining seminars in dermatology 5(2), 169-177.
 - 21- Oliver T. (1911): A lecture on lead poising and race: *Br. Med. J.* 1069-1098.
 - 22- Passow, H. (1970). The red blood cell: Penetration, distribution, and toxic actions of heavy metals: Effect of metal on cells, subcellular elements, and macromolecules, edited by J. Malinaff, J.R. Coleman, MW. 291-334.
 - 23- Patterson, C.C (1965): contaminated and natural lead environments of man. *Arch. Environ. Health.* 11. 344.
- ۲۴- ساجیدم لطفی - عباس (۱۳۶۷) - متابولیسم سرب و مسمومیت‌های ناشی از آن - انتشارات دانشگاه تربیت مدرس.