# بررسی تاثیر مسمومیت مزمن با سرب بر تغییرات فرا ساختمانی ارگانل‌های سیتوپلاسمی نوتروفیل طحال جنین موش

علی اکبر رجب زاده[1]، دکتر زهرا حیدری[2]، دکتر حمیدرضا محمودزاده ثاقب[3]، دکتر سیدمحمدحسین نوری موگهی[3]، ولی الله مرادی[4]، دکتر سید محمد حسینی پناه[2]

**خلاصه**

***سابقه و هدف:*** *سرب از دسته فلزات سنگینی است که ممکن است اثرات مخربی بر سیستم خون‌سازی و ایمنی بدن داشته باشد. از آنجا که طحال عضو مشترکی برای دو سیستم فوق می‌باشد، این مطالعه با هدف بررسی تغییرات فراساختمانی و الگوی گرانول‌های سیتوپلاسمی نوتروفیل‌های طحال جنین موش به دنبال مسمومیت مزمن با استات سرب در سال ۱۳۸۱ انجام گرفت.*

***مواد و روش‌ها:*** *این مطالعه‌ی تجربی بر روی ۳۰ سر موش ماده و ٦ سر موش نر از نژاد اسپراگوداولی که به صورت تصادفی انتخاب شده بودند انجام گرفت. پس از یک هفته سازش با محیط، جفت‌گیری انجام و پس از مشاهده‌ی پلاگ واژینال، موش‌های حامله به دو گروه آزمایش و شاهد تقسیم شدند. در تمام طول بارداری گروه آزمایش روزانه محلول استات سرب ۰/۱۳ درصد و گروه شاهد آب مقطر به عنوان آب آشامیدنی مصرفی دریافت کردند. پس از زایمان، از نوزادان هر دو گروه مورد و شاهد ۱۰ نمونه به روش تصادفی سیستماتیک انتخاب شد. نمونه‌های طحال در محلول گلوتارآلدهاید ۲ درصد ثابت شده و پس ازطی مراحل آماده سازی نمونه، توسط میکروسکوپ الکترونی مورد مطالعه قرار گرفتند.*

***یافته‌ها:*** *تغییرات فرا ساختمانی در نوتروفیل‌ها شامل هسته‌های نامنظم با فرورفتگی‌های عمیق، پاکت‌های غشاء پلاسمایی، حضور واکوئل‌هایی با مواد هتروژن، افزایش میزان قنات‌های شبکه‌ی اندوپلاسمی خشن و متسع شدن آن‌ها، دیده شد. شکل میتوکندری‌ها و الگوی گرانول‌های سیتوپلاسمیک هیچ تفاوتی نشان نداد.*

***نتیجه‌گیری و توصیه‌ها:*** *به نظر می رسد که اثرات سرب ناشی از تداخل عمل آن با اعمال آنزیمی سلول و یا تجمع سرب در ارگانل‌های سلولی باشد.*

**واژگان کلیدی: جنین رت، سرب، طحال، فراساختمانی، نوتروفیل**

**مقدمه**

سرب یکی از مهم‌ترین آلوده کننده‌های زیست محیطی است (۱). استفاده‌ی وسیع از سرب در موادی نظیر رنگ‌ها، مداد، لوازم نقاشی و ظروف سفالی، باطری‌ها و صنایع باطری‌سازی و صنایع نظامی (۲) باعث شده است که علی‌رغم حذف سرب از بنزین در بسیاری از کشورها، هنوز تماس با سرب بسیار زیاد و حتی بیش از حد مجاز سازمان بهداشت جهانی باشد(۳). اثرات عمده‌ی سرب بر دستگاه گردش خون و نیز دستگاه ایمنی پیش از این گزارش شده است (٥،٤) و از آنجایی که طحال عضو مشترکی در این دو دستگاه محسوب می‌شود (٦)، بنابراین تصور می‌شود که تغییراتی در ساختار بافتی و حتی فراساختمانی سلول‌های مختلف طحال به دنبال تأثیر سرب ایجاد شود. در مطالعات قبلی بیان شده است که سرب می‌تواند پدیده‌ی التهاب را در بافت‌های لنفاوی تحریک کند(٥). به نظر می‌رسد که سرب باعث بروز تغییرات آنزیمی و فراساختمانی قابل ملاحظه‌ای در سلول‌های نوتروفیل طحال شود. با توجه به تحقیقات فراساختمانی که در مورد نوتروفیل‌های خون، سلول‌های کبد و کلیه صورت گرفته است به نظرمی رسد که اندام‌های درگیر بایستی لیزوزوم، میتوکندری، میکروزوم یا شبکه‌ی اندوپلاسمی باشند

[1] کارشناس ارشد بافت شناسی، مربی دانشگاه علوم پزشکی همدان

[2] دکترای علوم تشریحی، استادیار دانشگاه علوم پزشکی همدان

[3] دکترای بافت شناسی، استادیار دانشگاه علوم پزشکی همدان

[4] کارشناس ارشد بافت شناسی، دانشگاه علوم پزشکی همدان

(۹،۸،۷). مطالعه‌ی اثر سرب بر نوتروفیل‌های خون محیطی موش، تغییرات فراساختمانی به صورت افزایش قنات‌های شبکه‌ی اندوپلاسمی خشن را نشان داده است (۱۰). در موارد مواجهه‌ی بیشتر با سرب پاکت‌های هسته‌ای، انکلوزیون‌های کریستالی مشخص، در ماتریکس بعضی از نوتروفیل‌ها گزارش و مورفولوژی میتوکندری ها و الگوی گرانول‌های سیتوپلاسمی بدون تغییر مشاهده شده است (۱۰).در مطالعه‌ی دیگری تاثیر طولانی مدت سرب به صورت کاهش اندکس نوتروفیل‌ها در مغز استخوان بوده و تغییرات شکل ظاهری به صورت هسته‌های نامنظم با فرورفتگی‌های عمیق ،پاکت‌های غشاء پلاسمایی، حضور واکوئول‌هایی با مواد هتروژن گزارش شده است (۱۱). مطالعه‌ی اثرات سرب بر عوامل ایمنی در کارگرانی که در محیط کاری خود در معرض سرب بوده‌اند، نشان داده است که سرب باعث کاهش معنی دار تعداد سلول‌ها، کاهش میزان سطح کمپلمان‌ها، کاهش روند کموتاکسی و مهاجرت تصادفی نوتروفیل‌ها می‌شود. این مطالعه دستگاه ایمنی را یک هدف مهم برای سرب معرفی می‌کند (٤) و به همین علت ضرورت انجام مطالعات بیشتر در مورد تغییرات سلول‌های اعضا دستگاه ایمنی (لنفاوی) در سطوح مختلف به خصوص در سطح فراساختمانی بیشتر احساس می شود. از آنجایی که نوتروفیل‌ها یکی از سلول‌های مهم شرکت کننده در روند التهاب هستند، از این رو مطالعه‌ی حاضر سعی دارد تاثیر مسمومیت مزمن با سرب را بر تغییرات فراساختمانی ارگان‌های سلولی نوتروفیل‌های طحال در نوزاد موش توسط میکروسکوپ الکترونی در تهران سال ۱۳۸۱ مورد بررسی قرار دهد.

**مواد و روش‌ها**

این مطالعه‌ی تجربی در محیط آزمایشگاهی در سال ۱۳۸۱ در تهران انجام شد. ۳۰ سر موش ماده با وزن ۱٦۰ تا ۲۳۵ گرم و ٦ موش نر با وزن ۲۳۰ تا ۲۷۰ گرم از نژاد اسپراگوداولی[1] از حیوان خانه‌ی موسسه‌ی تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی تهران، به طریق نمونه برداری تصادفی انتخاب شد. موش‌های ماده در دسته‌های دو تایی در قفس های مشبک به ابعاد ۵۰×۲۵×۲۰سانتی‌متر و در دمای ۱۸ تا ۲۲ درجه‌ی سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. پس از یک هفته زمان سازش حیوان با محیط جدید ،موش‌های نر جهت جفت گیری به قفس‌های موش‌های ماده انتقال یافتند. موش‌های ماده، هر روز صبح از نظر وجود پلاگ واژینال (به عنوان معیار بارداری) مورد مشاهده قرار می‌گرفتند. موش‌های باردار (١٤ عدد) به صورت تصادفی به دو گروه آزمایش و شاهد تقسیم شدند. از نخستین روز بارداری،گروه آزمایش روزانه محلول استات سرب ۰/۱۳ درصد و گروه شاهد آب مقطر به عنوان آب آشامیدنی دریافت کردند.

بلافاصله پس از زایمان، نوزادان با اتر بی‌هوش و طحال آن‌ها خارج شد. برای مطالعه‌ی فراساختمانی سلول‌های طحال، ۱۰ نمونه از گروه شاهد و۱۰ نمونه از گروه آزمایش به روش تصادفی سیستماتیک انتخاب شدند. پس از برداشت نمونه ۱×۱×۱ میلی متر از طحال نوزاد، نمونه در ثابت کننده‌ی اول (گلوتارآلدهاید۲ درصد) قرار داده شد و در حرارت ٤ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ تا ۳ ساعت در یخچال نگه‌داری، سپس شستشو در بافر فسفات ۲ درصد به مدت ۱۰ دقیقه در حرارت ٤ درجه‌ی سانتی‌گراد یخچال انجام شد. نمونه‌ها را در ثابت کننده‌ی دوم (تترا اکسید اسمیوم ۱ درصد) به مدت۱ تا ۲ ساعت قرار داده و پس از آن شستشو در بافر فسفات ۲ درصد در حرارت آزمایشگاه به مدت ۱۰ دقیقه صورت گرفت. فرآیند آب‌گیری با کاربرد درجات صعودی اتانول (۷۰ تا ۱۰۰ درجه) صورت گرفت. روند آغشتگی با استفاده از رزین و استن به نسبت‌های مختلف تا رسیدن به رزین خالص انجام شد، قالب‌گیری نمونه بامخلوط کننده‌ی اپون ۸۱۲[2] در کپسول پلاستیکی در آون ٦۰ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۳ روز صورت گرفت. پس از اصلاح کردن[3]، برش گیری انجام شد.

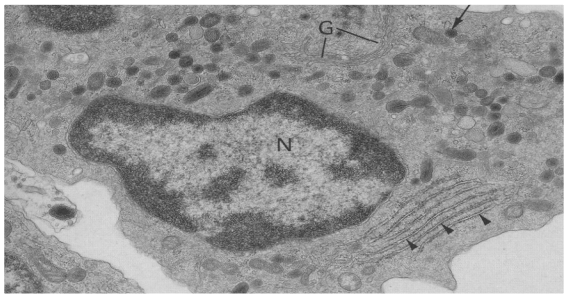
[1] Spragu dawley

[2] Epon 812 Embeding Mixture
[3] Trimming

مقاطع نیمه نازک[4] به ضخامت یک میکرون روی لام منتقل شده و با تولوئیدین بلو رنگ آمیزی شد. سپس مقاطع با میکروسکوپ نوری زایس به منظور یافتن مکان مناسب جهت تهیه مقاطع نازک مورد مطالعه قرار گرفتند.پس از پیدا کردن مناطق مناسب از نظر وجود نوتروفیل در این نمونه‌ها، برش نازک[5] به ضخامت ۹۰ نانومتر با دستگاه اولترا میکروتوم (LKB Sectin 2088) ساخت سوئد و پوشاندن درجات توسط محلول فرم وار[6] ۰/۲۵ تا ۰/۵ درصد در اتیلن دی کلراید انجام شد. سپس مقاطع نازک با سیترات سرب و استات یورانیل رنگ آمیزی و با میکروسکوپ الکترونی ترانسمیژن زایس ۹۰۲ (TMB) ساخت آلمان مورد مطالعه قرار گرفتند و تصاویر الکترونی لازم تهیه شد.

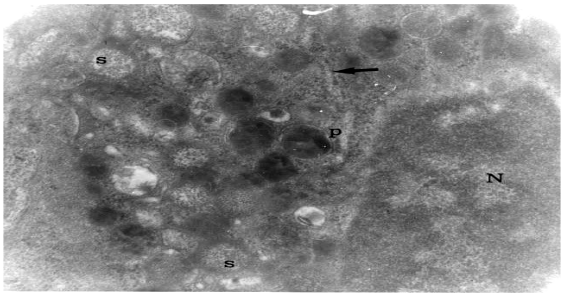
**یافته‌ها**

در این مطالعه سلول‌های نوتروفیل طحال جنین موش‌هایی صحرایی در گروه شاهد دارای هسته های حلقوی و لوبوله (قطعه بندی شده) بود. قطعات هسته به وسیله‌ی چندین رشته‌ی ضخیم کروماتین به هم متصل شدند. در تصاویر میکروسکوپ الکترونی، هسته تقریبا هتروکروماتین بود. از طرفی سیتوپلاسم حاوی گرانول‌های اولیه یا لیزوزوم‌ها و گرانول‌های ثانویه یا اختصاصی بود که به ترتیب به صورت اجسام الکترونی متراکم و اجسام با تراکم الکترونی کم مشاهده می‌شدند. هم‌چنین شبکه‌ی اندوپلاسمی خشن، میتوکندری و دستگاه گلژی در سیتوپلاسم قابل مشاهده بودند (تصویر ۱). در حالی‌که مطالعه‌ی نوتروفیل‌های جنین موش‌های صحرایی در گروه آزمایش نشان داد که هسته‌های این سلول‌ها نامنظم،همراه با فرورفتگی‌های عمیق می‌باشند (تصویر۲). هم‌چنین میزان قنات‌های شبکه‌ی اندوپلاسمی خشن افزایش یافته و حتی بعضی از آن‌ها نیز متسع می‌باشند. وجود واکوئل‌های حاوی مواد هتروژن و هم‌چنین وجود تعدادی پاکت‌های غشای پلاسمایی نیز در گروه آزمایش قابل مشاهده بود (تصویر۳). در مقایسه‌ی دو گروه شاهد و آزمایش، دستگاه گلژی، میتوکندری‌ها و هم‌چنین گرانول‌های اولیه و ثانویه به لحاظ ریخت شناسی هیچ‌گونه تفاوتی از خود نشان ندادند (تصویر٤)




*تصویر ۱ ـ نوتروفیل در پالپ قرمز طحال گروه شاهد- بزرگ‌نمایی ۱۰۰۰۰*

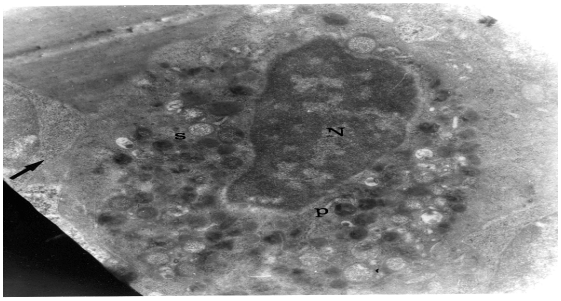
*هسته‌ی هتروکروماتین(N) که دو قطعه‌ی آن مشخص است، قنات‌های شبکه‌ی اندوپلاسمی خشن (نوک پیکان‌ها)، دستگاه گلژی(G)، گرانول‌های سیتوپلاسمی اولیه و ثانویه (پیکان‌ها) به خوبی مشخص می‌باشند.*




*تصویر ۲ــ نوتروفیل در پالپ قرمز طحال گروه آزمایش ـ بزرگ‌نمایی ۱۰۰۰۰*

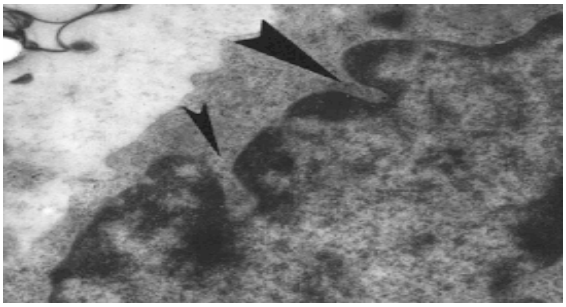
*هسته‌ی هتروکروماتین(N) که یکی از قطعات آن به صورت خارج از مرکز دیده می‌شود. در سیتوپلاسم تراکم فشرده‌ای از گرانول‌ها وجود دارد. گرانول‌های اولیه یا لیزوزوم‌ها(P) با نمای الکترون متراکم و گرانول‌های اختصاصی یا ثانویه (S) با تراکم الکترونی کمتر جلب توجه می‌کنند. در فواصل بین این سلول و سلول‌های دیگر بافت همبند ظریف داربستی، کلاژن و استطاله‌های سلولی(پیکان) دیده می‌شود.*

[4] Semithin
[5] Ultrathin
[6] Formvar



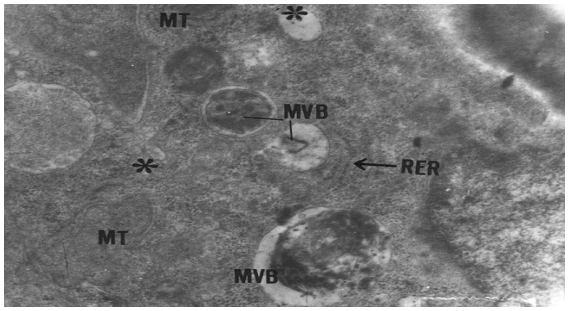

*تصویر ۳ــ نوتروفیل در پالپ قرمز طحال گروه آزمایش ـ بزرگ‌نمایی ۲۵۰۰۰*

*بخشی از هسته(N)، سیتوپلاسم مملو از گرانول، گرانول‌های اولیه(P) با نمای الکترون متراکم و نسبتا هموژن، گرانول‌های ثانویه با تراکم الکترونی کمتر(S) مشخص شده‌اند. قنات‌های شبکه‌ی اندوپلاسمی خشن نیز در بین گرانول‌ها مشخص می‌باشد(پیکان).*



*تصویر ٤ ـ هسته‌ی نوتروفیل طحال گروه آزمایش ـ بزرگ‌نمایی ۲۵۰۰۰*

*بخشی از هسته(N) نوتروفیل با حدود نامنظم و تورفتگی‌های عمیق (نوک پیکان‌ها) در تصویر مشخص می‌باشد. قسمت کوچکی از سگمان دیگر هسته نیز در قسمت پایین وچپ تصویر به چشم می‌خورد (علامت ستاره).*




*تصویر ٥ ـ سیتوپلاسم نوتروفیل طحال گروه آزمایش ـ بزرگ‌نمایی ۳۰۰۰۰*

*شبکه‌ی اندوپلاسمایی خشن(RER) با قنات‌های متسع، میتوکندری‌ها(MT) و تعدادی اجسام مالتی وزیکولار (MVB) که محتوی مواد هتروژن هستند و هم‌چنین چند پاکت غشایی که محتوای مشخصی نشان نمی‌دهند (علامت ستاره) در تصویر مشاهده می‌شود.*

## بحث

مطالعه‌ی حاضر تغییراتی را در هسته، غشاء سیتوپلاسمی و شبکه‌ی اندوپلاسمی خشن نوتروفیل‌های طحال در تماس مزمن با سرب نشان داد. بررسی‌های متعدد نشان داده است که سرب می تواند از سد خونی ـ جفتی عبور کند (۱۲،٦). این موضوع در مطالعات مختلفی بر روی موش صحرایی ثابت شده است (۱٤،۱۳). عبور سرب از خون مادری که در طی دوره‌ی بارداری به طور روزانه از محلول ۰/۱۳ درصد استات سرب به عنوان آب آشامیدنی مصرفی استفاده کرده است، به خون جنین، تغییرات فراساختمانی در سلول‌های طحال، خون محیطی، کلیه و کبد ایجاد می‌کند (۱۵، ۱٤،۹،۸). در مطالعه‌ی حاضر تغییرات فراساختمانی در نوتروفیل‌های طحال جنین به دنبال مسمومیت سرب در مادر به صورت هسته‌های نامنظم با فرورفتگی‌های عمیق، پاکت‌های غشاء پلاسمایی، حضور واکوئل‌هایی با مواد هتروژن و افزایش قنات‌های شبکه‌ی اندوپلاسمی متسع مشاهده شد. طبق مطالعات گذشته حضور واکوئل‌های هتروژن و اجسام چند وزیکولی می‌تواند علامت افزایش فعالیت فاگوسیتیک این سلول‌ها و القاء اثرات التهابی سرب باشد(۵).

در یک مطالعه، بررسی غلظت سرب در سلول‌های کبد و کلیه نشان داده است که غلظت زیاد سرب در میکروزوم‌ها (اجزای شبکه‌ی اندوپلاسمی خشن) میتوکندری ها و لیزوزوم های سلول وجود دارد . تمایل زیاد سرب برای گروه های سولفیدریل، و فراوانی آنزیم های این گروه در میتوکندری باعث می شود که میتوکندری مکان اصلی تجمع سرب باشد. سرب به آهستگی از بخش میکروزومی جدا شده و به طور اختصاصی به میتوکندری اتصال می‌یابد (۷). بعضی از مطالعات گذشته، تغییرات شکل ظاهری میتوکندری‌ها را به

دنبال تاثیر سرب، به صورت تورم گزارش کرده‌اند (١٥،٤،٩) اما در مطالعه‌ی حاضر هیچ تغییر واضحی در ریخت شناسی میتوکندری‌ها مشاهده نشد. الگوی گرانول‌های سیتوپلاسمی نیز تفاوت بارزی در دو گروه شاهد و آزمایش نشان نداد. این مورد با مطالعه‌ی سیلوا و هم‌کاران(١٠) که عدم تغییر گرانول‌های سیتوپلاسمیک و میتوکندری ها را در نوتروفیل‌های خون محیطی موش صحرایی بالغ گزارش کرده بودند،کاملا هم‌خوانی دارد و واکنش مشابه نوتروفیل‌های مستقر در طناب‌های پالپی طحال و خون محیطی را نشان می‌دهد. با توجه به این که منشا نوتروفیل‌های طحال نیز معمولا گردش خون است، چنین نتیجه ای قابل انتظار است.

در مطالعه‌ی سیلوا و هم‌کاران (١٠)، پاکت‌های هسته‌ای و انکلوزیون های کریستالینی در ماتریکس سیتوپلاسمیک بعضی از نوتروفیل‌ها گزارش شده است که در مطالعه‌ی حاضر اثری از چنین تغییراتی مشاهده نشد. شاید علت آن باشد که مطالعه‌ی آن‌ها بر روی موش صحرایی بالغ بوده است در حالی‌که بررسی حاضر در جنین موش صحرایی صورت گرفته است. نامنظمی هسته و وجود فرورفتگی‌های عمیق در آن، غشاء پلاسمایی و وجود واکوئل‌های هتروژن در مطالعات دیگری گزارش شده است(١١).

به نظر می رسد که این تغییرات فراساختمانی به علت تداخل عمل سرب با واکنش‌هایی است که کلسیم، میانجی ثانویه آن‌ها می‌باشد. اثرات مهاری سرب بر آنزیم‌های گلوکز ٦ ـ فسفات دهیدروژناز در اریتروسیت‌ها ثابت شده است (١٦). گرچه در بعضی مطالعات گزارش شده که مسمومیت مزمن سرب هیچ اختلالی در عملکرد سلول و انجام وظایف سلول‌های تی و سلول‌های کشنده‌ی طبیعی (NK Cell) ایجاد نمی کند(١٧)، اما تحقیقات دیگری نشان داده‌اند که سرب باعث کاهش معنی‌دار تعداد سلول‌های کمک کننده (T helper)، کاهش میزان ایمونوگلوبین M و G، کاهش سطح کمپلمان‌های $C_3$ و $C_4$، کاهش روند کموتاکسی و مهاجرت تصادفی نوتروفیل‌ها می‌شود (٤). بنابراین دستگاه ایمنی یک هدف اصلی برای اثرات مخرب سرب می باشد. در نهایت می‌توان چنین نتیجه گیری کرد که سرب می‌تواند از سد خونی ـ جفتی عبور کرده و با تجمع در سلول‌های نوتروفیل طحال جنین و ایجاد تغییرات فراساختمانی در ارگانل‌های اصلی باعث اختلال در عملکرد این سلول شود. با توجه به این که نوتروفیل‌ها یکی از مهم‌ترین سلول‌های شرکت کننده در التهاب و حمایت بدن در برابر میکروارگانیسم‌های خارجی می‌باشند، سیستم دفاعی بدن تضعیف شده و احتمال ابتلاء به سایر بیماری‌ها به صورت ثانوی تشدید می‌شود.

## تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله لازم می‌دانند که از سرکار خانم امینی مسئول آزمایشگاه میکروسکوپ الکترونی مؤسسه تحقیقات دارویی شرکت داروپخش به خاطر هم‌کاری‌های ارزنده‌ی تکنیکی قدردانی نمایند. هم‌چنین از مساعدت صمیمانه و عالمانه‌ی جناب آقای دکتر محمد عبدالهی در گروه سم‌شناسی دانشکده‌ی داروسازی و آقایان دکتر رضایت و دکتر دهپور در گروه فارماکولوژی دانشگاه علوم پزشکی تهران و جناب آقای مهندس محمدزاده مسئول آزمایشگاه جذب اتمی سازمان انرژی اتمی ایران تشکر نمایند.

## منابع

1- Joworosi Z. Stable and radioactive lead in environment and human body. ***Nuclear Energy Information Center Review Report*** 1998; 29: 17-30.

2- Patel AB, Williams SV, Frumkin H, Kondawar VK, Glick H, Ganju AK. Blood lead in children and its determinants in Nagpur, India. ***Int J Occup Environ Health*** 2001 ;7(2):119-26.

3- Patterson C. Contaminated and natural lead environments of man. ***Arch Environ Health*** 1995; 11: 344.

4- Basaran N, Undeger U. Effects of lead on immune parameters in occupationally exposed workers. ***Am J Med*** 2000; 38(3): 349-54.

5- Lee J, Battles A. Lead toxicity via arachidonate signal transduction to growth responses in the splenic macrophage. ***Environ Res*** 1994; 67: 209-19.

6- Green M, Gruener N. Transfer of lead via placenta and milk. ***Res Commun Chem Pathol Pharmacol*** 1997 ;8:735-8.

7- Barltrop D. Subcellular distribution of lead in the rat. ***J Clin Med*** 1971; 77:705-12.

8- Krigman M. Lysosomal alternation in lead neuropathy***. Fed Proc*** 1998 ; 27 : 410.

9- Mahaffy K. Concurrent exposure of lead, cadmium and arsenic: effects on toxicity and tissue metal concentration in rat. ***J Lab Clin Med*** 1981 ; 98(4): 463-81.

10- Silwa-Tomczok W, Tomczok J, Matysiak N. Effects of acute lead intoxication on the ultrastructure of neutrophils in the peripheral blood of the rat. ***Exp Pathol*** 1991 ; 43(3-4): 149-54.

11- Sudakova AI, Shevchenko ZT, Nosova LI. Preipheral blood and bone marrow cell status of white rats with long-term lead exposure. ***Tsitol Genet*** 1983; 17(4): 3-7.

12- Hilderbrand DC, Der R, Fahim MS. Effect of lead acetate on reproduction. ***Am J Obstet Gynecol*** 1973; 115(8): 1058-65.

13- Gartner LP, Hiatt JL. ***Color Textbook of Histology***. 2nd ed. philadelphia: W.B.Saunders Co; 2001: 291-5.

14- MacClain R, Becker B. Teratogenicity, fetal toxicity and placental transfer of lead nitrate in rats. ***Toxicol Appl Pharmacol*** 1995 ; 31:72-82.

۱۵ – صاحب قدم لطفی عباس. ***متابولیسم سرب و مسمومیت‌های ناشی از آن***. تهـران : انتـشارات دانـشگاه تربیـت مـدرس، چـاپ اول، ۱۳٦۷، صفحات ۳۲-۲۷.

16- Calderon Salinas V, Hernandez-Luna C, Maldonado M, Saenz D. Mechanisms of the toxic effect of lead. I. Free lead in erythrocyte. ***J Expo Anal Environ Epidemiol 1993;*** 3 (Suppl 1): 153-64.

17- Yucesoy B, Turhan A, Mirshahidi S, Ure M, Imir T, Karakaya A. Effects of high-level exposure to lead on NK cell activity and T-lymphocyte functions in workers. ***Hum Exp Toxicol*** 1997; 16(6):311-4.