

اثرات محافظتی سلیوم بر عوارض ناشی از سرب در عملکرد غده سابماندیولار موش صحرایی

دکتر محمد عبداللہی^۱، دکتر ندا رحمت جیرده^۲، دکتر حسن مرزبان^۳

۱- دانشیار فارماکولوژی دانشگاه علوم پزشکی تهران ۲- داروساز،

۳- متخصص علوم تشریح، استادیار دانشگاه علوم پزشکی تهران

سابقه و هدف: مطالعات حیوانی نشان داده است که سلیوم تا اندازه‌ای می‌تواند اثرات سمی سرب مانند سمیت کلیوی و سمیت عصبی را کاهش دهد ولی هیچگونه مطالعه‌ای درباره امکان تداخل میان سرب و سلیوم در عملکرد غدد بزاقی انجام نشده است. این مطالعه طراحی شد تا اثرات محافظتی احتمالی سلیوم بر اثرات ناشی از سرب در عملکرد غده بزاقی تحت فکی موش صحرایی را بررسی کند.

مواد و روشها: بعد از بیهوش کردن موشها، بزاق خالص غدد تحت فکی از راه دهان و بوسیله کاتول‌های ریز پلی‌اتیلنی جمع‌آوری شد و برای تحریک ترشح بزاق از پیلوکارپین استفاده شد.

یافته‌ها: بیست و چهار روز درمان با استات سرب ۰/۰۴٪ و ۰/۰۵٪ در آب خوراکی، عملکرد غدد بزاقی را تغییر داد. سرعت ترشح بوسیله سرب (۰/۰۴٪، ۰/۰۵٪) بطور قابل توجهی افزایش یافت (۰/۰۱٪ $p <$). غلظت پروتئین تام و کلسیم بزاق نیز بطور قابل توجهی با هر دو دوز سرب کاهش پیدا کرد (۰/۰۱٪ $p <$). ضمن اینکه هر دو دوز سرب فعالیت آنزیم NAG را نیز بطور قابل توجه کاهش داد (۰/۰۱٪ $p <$). مصرف سلیوم به تنهایی (۲/۵mg se/kg) در آب خوراکی به مدت بیست و چهار روز تغییر قابل توجهی در عملکرد ترشحی غده بزاقی ایجاد نکرد ولی در ترکیب سلیوم با سرب کاهش فعالیت NAG و کاهش غلظت کلسیم و پروتئین ناشی از سرب بطور قابل توجه جبران شد (۰/۰۱٪ $p <$) و به سطحی نزدیک به کنترل رسید.

نتیجه‌گیری: افزایش سرعت ترشح بوسیله استات سرب نیز با درمان توأم سلیوم و سرب تحت تأثیر عملکرد غده تحت فکی موش صحرایی جلوگیری کند. همچنین توانایی سلیوم به عنوان آنتی‌اکسیدان، پاک‌کننده رادیکالهای آزاد و تثبیت‌کننده تمامیت غشای سلولی مکانیزمهای ممکن برای اثرات محافظتی آن می‌باشد. مطالعات بیشتری درباره تداخل سرب و سلیوم در غدد بزاقی و در سطح مولکولی لازم است تا مکانیزم اصلی تداخل آنها قابل بررسی باشد.

واژه‌های کلیدی: سلیوم، سرب، غدد بزاقی، موش صحرایی.

مقدمه

گزارشات بسیاری از تغییرات بیوشیمیایی و ساختمانی ارگانهای مختلف با توجه به اثرات مزمن سرب وجود دارد ولی تعداد کمی از آنها به اثرات نامطلوب سرب بر غدد بزاقی دلالت دارد. تجمع سرب در غدد بزاقی تحت فکی (۱) و پاروتید (۲) و ترشح آن به داخل بزاق (۳) قبلاً گزارش شده است. شواهد نشان می‌دهد که مصرف سرب می‌تواند سلولهای آسینی پانکراس (۴) و غده پاروتید (۲) را تخریب کند. همچنین گزارش شده است که مصرف

سرب مقدار $2/5 \text{ mg se/kg}$ (۱۶) از پتاسیم سلنوسیانات در آب خوراکی دریافت می‌کردند و گروه ششم تنها $2/5 \text{ mg/kg}$ سلنیوم در آب خوراکی دریافت کردند.

مدت زمان درمان بیست و چهار روز بود که در این مدت میزان غذا و آب دریافتی موشها کنترل می‌شد و هر سه روز یکبار نیز توزین می‌شدند. بعد از بیست و چهار روز درمان با رژیم فوق، موشها با تزریق داخل صفاقی 50 mg/kg پنتوباریتال بیهوش شدند و برای ایجاد بیهوشی کامل مجدداً بعد از ۲۰ دقیقه 30 mg/kg دیگر از این ماده به آنها تزریق شد (۱۷) موشها در وضعیت خوابیده به پشت با چسب محکم شدند و برای تسهیل تنفس در نای آنها مجرای تنفسی قرار گرفت. مجرای تحت فکی از طریق دهان با لوله‌های پلی اتیلنی کانول گذاری شد (۱۸). برای تحریک ترشح بزاق مقدار 6 mg/kg پیلوکارپین بصورت داخل صفاقی تزریق می‌شد و بعد از حذف دو قطره اول بزاق، به مدت ۳۰ دقیقه بزاق تحت فکی جمع‌آوری شد و در میکروتیوبهایی که از قبل توزین شده بودند و در حرارت -20°C درجه سانتیگراد نگهداری شد تا مقدار پروتئین - کلسیم و فعالیت آمیلاز و NAG اندازه‌گیری شود. سپس غدد بزاقی تحت فکی حیوانات را خارج کرده و بعد از جدا کردن بافت‌های پیوندی اطرافشان توزین شدند تا سرعت ترشح با توجه به حجم نمونه بزاق، وزن غده و زمان جمع‌آوری بزاق و با توجه به وزن مخصوص بزاق که معادل $1/0$ می‌باشد محاسبه گردد (۱۹).

اندازه‌گیری پروتئین به روش لوری (۲۰) و بوسیله آلومین سرم گاوی استاندارد انجام شد. برای اندازه‌گیری کلسیم نیز از atomic absorption spectrophotometer Flame استفاده شد.

پیلوکارپین یک آگونیست مختلط سمپاتیک - پاراسمپاتیک است که طبق مطالعات انجام شده هیچ اثر قابل توجهی بر فعالیت NAG در بزاق موش ندارد (۲۲). فعالیت NAG نیز با استفاده از سوبسترای P- نیترو فیل - N

سرب ترشحات بزاقی پروتئین، کلسیم و آنزیم لیوزومی N- استیل $D\text{-}\beta$ -گلوکز آمینیداز (NAG) در موش صحرائی را تغییر می‌دهد (۵). آنزیم لیوزومی NAG در غلظتهای بالا در بزاق تحت فکی موش صحرائی و موش سوری وجود دارد و یک پروتئین اگزوکراین است (۷۶). تغییرات ساختمانی در غده تحت فکی موش صحرائی نیز بوسیله سرب گزارش شده ولی مکانیزم عمل آن کاملاً مشخص نیست. سلنیوم به عنوان یکی از عناصر اصلی شناخته شده است. این عنصر به دسته‌ای از عناصر متعلق است که تنها در یک محدوده بسیار باریک مفید و مؤثر می‌باشند. تداخل میان سلنیوم و فلزات سنگین مثل جیوه، کادمیوم، آرسنیک، قلع، مس و غیره قبلاً گزارش شده است (۸). علاوه بر این، گزارشی از تداخل میان سلنیوم و سرب در موجودات نیز وجود دارد (۹-۱۱) که بیشتر اینها نشان دهنده اثر محافظتی سلنیوم بر سمیت سرب است (۱۲). از این گذشته مطالعات حیوانی نیز نشان می‌دهد که سلنیوم می‌تواند تا اندازه‌ای اثرات سمی سرب مثلاً سمیت کلیوی (۱۳) و سمیت عصبی (۱۴) را کاهش دهد. البته هیچ مطالعه‌ای درباره تداخل احتمالی سرب و سلنیوم در عملکرد غدد بزاقی وجود ندارد. بنابراین این مطالعه طراحی شد تا اثرات محافظتی احتمالی سلنیوم بر اثرات سمی ناشی از سرب در عملکرد غدد بزاقی تحت فکی موش صحرائی را بررسی کند.

مواد و روشها

مطالعه بر روی موش صحرائی نژاد Sprague-Dawley نر با وزن تقریبی $250-200$ گرم انجام شد. بعد از چند روز سازگاری با محیط موشها به شش گروه تقسیم شدند. دسته اول که فقط آب شیر دریافت می‌کرد به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شد. دسته دوم و سوم به ترتیب مقدار $0/04$ و $0/05$ استات سرب محلول در آب خوراکی دریافت کرد (۱۵). دسته چهارم و پنجم علاوه بر دریافت مقادیر $0/04$ و $0/05$ استات

استیل - β -گلوکز آمینید اندازه گیری شد (۲۲ و ۲۳). مخلوط آزمایش برای اندازه گیری آنزیم شامل سوپسترا، بافر سیترات (pH=۴/۴) و نمونه بزاق تحت فکی و آب تا حجم ۳ml بود که به مدت ۱۵ دقیقه در حرارت ۳۷ درجه سانتیگراد قرار گرفت و برای پایان دادن به فعالیت آنزیم ۱ml بافر گلیسین (pH=۱۰/۴) اضافه شد و سپس جذب پارانیتروفنل آزاد شده در طول موج ۴۰۵ نانومتر اندازه گیری شد. واحد آنزیمی معادل ۱ نانومول از پارانیتروفنل آزاد شده در دقیقه می باشد.

اندازه گیری فعالیت آمیلاز با استفاده از سوسپانسیون نشاسته انجام شد.

■ آنالیز آماری: کلیه نتایج بدست آمده با استفاده از تستهای ANOVA و Newman-Keul's بررسی شدند.

یافته ها

اثرات دو دوز از استات سرب و سلیوم بر بزاق تحت فکی در جدول ۱ آورده شده است. وزن و یا میزان آب و غذای دریافتی موشها طی درمان با سرب تغییر نکرد. سرعت ترشح بزاق بطور قابل توجه ($p < 0/01$) با سرب (۰/۰۴٪ و ۰/۰۵٪) افزایش یافت. غلظت پروتئین

تام و کلسیم بزاق نیز بطور قابل توجه ($p < 0/01$) با هر دو دوز سرب کاهش یافت. هر دو دوز سرب فعالیت آنزیم NAG را نیز بطور قابل توجه ($p < 0/01$) کاهش داد. مصرف سلیوم به تنهایی تغییرات را در پروتئین ناشی از سرب بطور قابل توجه جبران کرده و به سطحی نزدیک به کنترل رساند (شکل ۱، $p < 0/01$). البته در عملکرد ترشحاتی تغییری ایجاد نکرد ولی در مصرف توأم با استات سرب سبب کاهش غلظت کلسیم (شکل ۲) و کاهش فعالیت NAG (شکل ۳) گردید. افزایش سرعت ترشح بزاق با استات سرب نیز با مصرف توأم سرب و سلیوم تحت تأثیر قرار گرفت و به سطح کنترل نزدیک شد (شکل ۴).

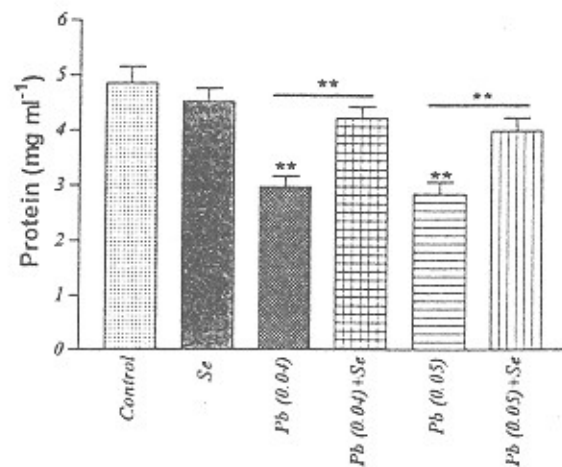
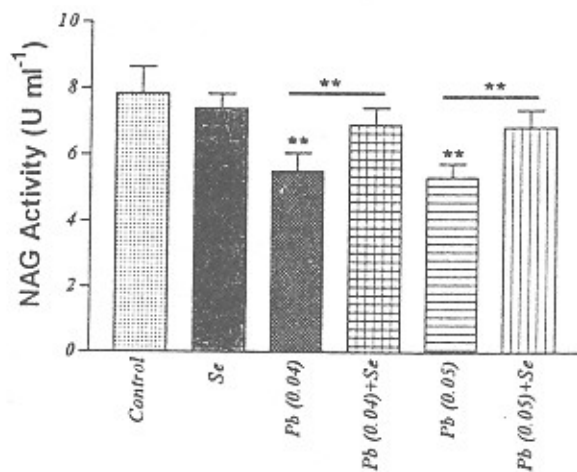
بحث

نتایج حاصل از این مطالعه نشان می دهد که سرب ترشح پروتئین، NAG و کلسیم بزاق را کاهش می دهد درحالیکه سرعت ترشح بزاق را افزایش می دهد که این با مطالعات پیشین همخوانی دارد (۵ و ۱۰). همچنین نتایج نشان می دهد که سلیوم به تنهایی اثر قابل توجهی بر عملکرد ترشحاتی غده تحت فکی ندارد ولی مصرف توأم

جدول ۱. اثر استات سرب بر وضعیت بزاق غده تحت فکی موش صحرایی

تعداد سر رت	کنترل	استات سرب ۰/۰۴٪	استات سرب ۰/۰۵٪	سلیوم
نسبت وزن غده به وزن بدن (mg/gr)	۱/۱۳±۰/۰۱	۱/۰۷±۰/۰۱	۱/۰۸±۰/۰۲	۱/۰۶±۰/۰۴
سرعت ترشح (mg/gr min)	۴۳/۶۹±۲/۷	۴۹/۹۰±۲/۳	۵۱/۷۶±۳/۳	۴۲/۹۴±۲/۱
پروتئین (mg/l)	۴/۹۴±۰/۳۵	۳/۰۵±۰/۱	۳/۱۲±۰/۱۵	۴/۸۵±۰/۲۶
آمیلاز (U/l)	۱۴۳۴±۲۱/۷	۱۴۲۷±۱۶	۱۴۲۵/۳±۱۵/۵	۱۴۱۹/۷±۱۴/۳
کلسیم (mEq/l)	۶/۳۳±۰/۰۶۱	۴/۷۷±۰/۰۳۴	۴/۱۲±۰/۰۲۹	۵/۹۸±۰/۰۴۵
NAG (U/ml)	۷/۸۵±۰/۷۹	۵/۵±۰/۰۵۵	۵/۳۵±۰/۰۴۱	۷/۳۹±۰/۰۴۶

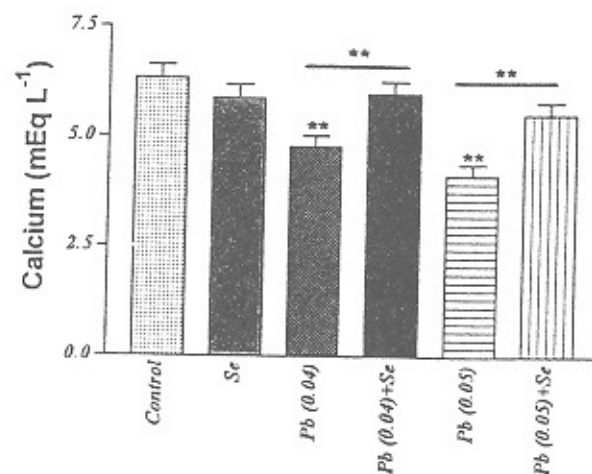
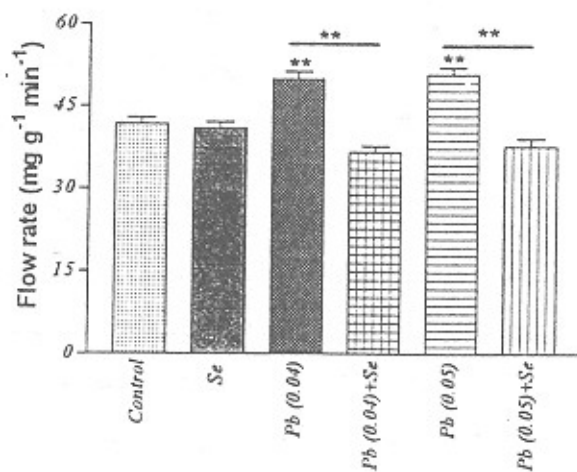
مقادیر بصورت mean±SEM در ۱۰ موش است. سرب (۰/۰۴٪ و ۰/۰۵٪) بصورت استات سرب و سلیوم (۲/۵mg se/kg) بصورت پتاسیم سلیوسیانات در آب آشامیدنی حل شده و به مدت بیست و چهار روز مصرف گردید. گروه کنترل آب شیر دریافت کرد. پیلوکارپین (۶mg/kg) بعنوان محرک ترشح بزاق مصرف شد. بزاق طی ۳۰ دقیقه جمع آوری گردید. تفاوت بین گروه درمانی و کنترل یا بین گروه درمانی سرب و گروه درمانی سرب و سلیوم توأم قابل توجه با $p < 0/01$ است.



شکل ۱. اثر سلنیوم بر تغییرات ناشی از سرب در غلظت پروتئین

بزاق غده تحت فکی موش صحرایی.

مقادیر بصورت $\text{mean} \pm \text{SEM}$ در ۱۰ موش است. سرب (۰/۰۰۵ و ۰/۰۰۴) بصورت استات سرب و سلنیوم (۲/۵mg se/kg) بصورت پتاسیم سلنوسیانات در آب آشامیدنی حل شده و به مدت بیست و چهار روز مصرف گردید. گروه کنترل آب شیر دریافت کرد. پیلوکارپین (۶mg/kg) بعنوان محرک ترشح بزاق مصرف شد. بزاق طی ۳۰ دقیقه جمع آوری گردید. تفاوت بین گروه درمانی و کنترل یا بین گروه درمانی سرب و گروه درمانی سرب و سلنیوم نوآم قابل توجه با $p < ۰/۰۱$ است.



شکل ۲. اثر سلنیوم بر تغییرات ناشی از سرب در غلظت کلسیم

بزاق غده تحت فکی موش صحرایی.

مقادیر بصورت $\text{mean} \pm \text{SEM}$ در ۱۰ موش است. سرب (۰/۰۰۵ و ۰/۰۰۴) بصورت استات سرب و سلنیوم (۲/۵mg se/kg) بصورت پتاسیم سلنوسیانات در آب آشامیدنی حل شده و به مدت بیست و چهار روز مصرف گردید. گروه کنترل آب شیر دریافت کرد. پیلوکارپین (۶mg/kg) بعنوان محرک ترشح بزاق مصرف شد. بزاق طی ۳۰ دقیقه جمع آوری گردید. تفاوت بین گروه درمانی و کنترل یا بین گروه درمانی سرب و گروه درمانی سرب و سلنیوم نوآم قابل توجه با $p < ۰/۰۱$ است.

شکل ۴. اثر سلنیوم بر تغییرات ناشی از سرب در سرعت ترشح

بزاق غده تحت فکی موش صحرایی

مقادیر بصورت $\text{mean} \pm \text{SEM}$ در ۱۰ موش است. سرب (۰/۰۰۵ و ۰/۰۰۴) بصورت استات سرب و سلنیوم (۲/۵mg se/kg) بصورت پتاسیم سلنوسیانات در آب آشامیدنی حل شده و به مدت بیست و چهار روز مصرف گردید. گروه کنترل آب شیر دریافت کرد. پیلوکارپین (۶mg/kg) بعنوان محرک ترشح بزاق مصرف شد. بزاق طی ۳۰ دقیقه جمع آوری گردید. تفاوت بین گروه درمانی و کنترل یا بین گروه درمانی سرب و گروه درمانی سرب و سلنیوم نوآم قابل توجه با $p < ۰/۰۱$ است.

سرب می تواند گلو تاتیون و گروه های سولفیدریل متصل به پروتئین را کاهش دهد (۳۷) که منجر به تولید اکسیژن فعال می شود (۳۸) در نتیجه افزایش پراکسیداسیون چربی (Lipid peroxidation) (۳۹-۴۱) تخریب DNA و تغییر هموستاز کلسیم و سولفیدریل رخ می دهد. از سوی دیگر بخوبی مشخص شده است که سلیوم در بسیاری از مراحل بیوشیمیایی نگهدارنده حیات عمل می کند. مهمترین این مراحل تنفس سلولی، بهره برداری سلولی از اکسیژن، رونویسی DNA و RNA، حفظ تمامیت غشاء سلولی و توقف رادیکالهای آزاد می باشند (۴۳). مشخص شده است که موشهایی که دچار نقصان سلیوم هستند دچار ۳۷٪ کاهش فعالیت گلو تاتیون پراکسیداز میتوکندریایی و سیتوزولی می باشند (۴۴). گزارش هایی نیز وجود دارد که نشان می دهد سلیوم با جلوگیری از عملکرد تخریبی رادیکالهای آزاد از سمیت سرب جلوگیری می کند (۴۵). همچنین سلیوم سمیت جیوه را نیز با خنثی کردن اثر رادیکالهای آزادی که بوسیله سمیت جیوه در غشاء سلولی ایجاد می شوند مانع می شود (۴۶) علاوه بر این شواهدی نشان می دهد که سلیوم کاهش DNA و RNA و محتوای پروتئینی مغز موش صحرانی ناشی از سرب را جبران می کند (۴۷ و ۴۸) و تخریب آنزیمهای هگزوکیناز و ATPase تام در مغز را بر طرف می کند (۴۹). در نهایت نتیجه اینکه سلیوم می تواند عوارض ناشی از سرب بر عملکرد غدد بزاقی را بر طرف کند. همچنین خاصیت سلیوم بعنوان آنتی اکسیدان، پاک کننده رادیکالهای آزاد و نگهدارنده تمامیت غشاء سلولی می تواند مکانیزمهای احتمالی این اثرات حفاظتی باشد. مطالعات بعدی درباره تداخل سرب و سلیوم در غدد بزاقی و در سطح مولکولی مورد نیاز است تا مکانیزم اصلی این تداخل را مشخص کند.

آن با سرب از تغییرات ناشی از سرب در ترشح پروتئین، NAG، کلسیم و سرعت ترشح جلوگیری می کند. در مصرف توأم بنظر می رسد که سرب اثرات مهاری بر عملکرد غدد بزاقی دارد که توسط سلیوم جبران می شود. مطالعه قبلی میکروسکوپ الکترونی ما، بر روی غده تحت فکی موش صحرانی که استات سرب دریافت کرده بودند نشان دهنده تخریب سلولی، تورم و اتساع میتوکندری و تخریب دیواره ها بود. اثر سرب به تغییرات ساختمانی غشاء های داخلی و عدم توانایی آنها در تولید ATP نسبت داده شده است. در نتیجه کاهش سطح ATP، در پمپ سدیم وابسته به ATP در غشاء پلاسمایی و پمپ کلسیمی در میتوکندری اختلال ایجاد می شود (۱). سرب یک مهار کننده قوی آنزیمهای حاوی گسروه های سولفیدریل است. به همین دلیل می تواند آنزیم کلیدی سوکسینیک دهیدروژناز در زنجیره تنفسی را مهار کند (۲۵). این وقایع می تواند موجب تخریب میتوکندری و نقصان انرژی در سلول شود (۲۶ و ۲۷). از آنجاکه آنزوسیتوز در غدد بزاقی نیازمند انرژی است، این نقصان انرژی می تواند سرعت مراحل ترشحی غده تحت فکی را کند نماید. کاملاً واضح است که ساخت پروتئین و آنزیم در غدد بزاقی بوسیله راههای وابسته به CAMP میانجیگری می شود (۲۸). از آنجاکه تولید CAMP وابسته به ATP است به همین دلیل نقصان ATP منجر به نقصان CAMP و سپس کاهش ساخت پروتئین می گردد (۲۹). کاهش فعالیت NAG بوسیله سرب نیز طبق مطالعه قبلی ما نیز نشان داده شد و ممکن است با توجه به توانایی سرب در تغییر نفوذپذیری یونی غشاء لیزوزومی و واکنش با فسفولیپیدهای غشایی و سپس ممانعت از آزاد سازی آنزیمهای لیزوزومی باشد (۳۰ و ۳۱). علاوه بر این تغییر کلسیم ترشحی در بزاق می تواند نشانه ای از تغییر هموستاز کلسیم باشد. هموستاز کلسیم برای عملکرد سلولهای طبیعی بزاق مهم است و تخریب عملکرد آن بوسیله سرب (۳۲-۳۶) ممکن است عملکرد غده را سرکوب کند. شواهدی وجود دارد که

References

1. Abdollahi M, Sharifzadeh M, Marzban H, Abri G, Torab-jahromi M. Alteration by lead acetate of rats submandibular gland morphology and ultrastructure. *Toxic Subs Meach* 1999; 18, 1-9.
2. Andrzejewska A, Szyńska B, Stokowska W. Ultrastructural evaluation of the rat parotid gland after six week intoxication with lead acetate. *Mater Medica Pol* 1994; 27: 43-46.
3. Ghazi-Khansari M, Mortazapour Z, shayganfer N, Abdollahi M, Dehpour AR, Lead determination in parotid and submandibular salivas and whole blood in rats. *Toxic Subs Meach* 1997; 16: 327-335.
4. Andzejewska A, Szyńska B, stokowska W, Szyńska P. Dose lead acerate intoxication damage acinar cell nuclei in the rat pancreas? Ultrastructural observations. *Mater Med Pol* 1995; 27: 43-46.
5. Abdollahi M, Dehpour AR, Fooladgar M. Alteration of rat submandibulary gland secretion of protein, calcium and N-acetyl-b-D-glucosaminidase activity by lead. *Gen Pharmac* 1997; 29: 675-680.
6. Hosoi K, Kobayashi S, Hiranatsu M, Minami N, Ueha T. Androgenic regulation of N-acetyl-n-glucosaminidase activity in the submandibular gland of mice. *J Biochem* 1979; 85: 1483-1488.
7. Dehpour AR, Abdollahi M, Effects of gentamicin on rat submandibulary gland functions. *Gen Pharmac* 1994; 25: 1719-1722.
8. Himeno S. Selenium In: Chiba M. & Suzuki KT, Health and elements their basic knowledge. Tokyo, Nanzando, 1996; 72-79.
9. Chiba M, Fujimoto N, Oyamada N, Kikuchi M. Interaction between calcium and tin, selenium and lead, and their effects on ALAD activity in blood. *Biol Trace Elem Res* 1985; 8: 263-282.
10. Tandon SK, Dhawan M, Kumar A, Flora SJ. Influence of selenium supplementation during chelation of lead in rats. *Indian J physiol pharmacol* 1992; 36: 201-204.
11. Osman K, Schutz A, Akesson B, Maciag A, Vahter M. Interaction between essential and toxic elements in lead exposed children in katowice, poland. *Clin Biochem* 1998; 31: 657-665.
12. Rastogi SC, Ciausen G, Srivastava KC. Selenium and lead : mutual detoxifying effects. *Toxicology* 1976; 6: 377-388.
13. Flora SJS, Singh S, Tandon SK. Role of selenium in protection against lead intoxication. *Acta Pharmacol Toxicol* 1983; 53: 28-32.
14. Nehru B, layer A. Effect of selenium on lead -induced neurotoxicity in different brain regions of adult rats. *J Environ Pathol Toxicol* 1994; 13: 262-268.
15. Staessen JA, Lauwerys RR, Buipitt CJ, fagard R, Roles H, Thijs L, Amery A. Is a positive association between lead exposure and blood pressure supported by animal experiments?. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1994; 3: 257-263.
16. Vadhanavikit S, Ganther HE. Nutritional availability and chronic toxicity of selenocuanate in the rat. *J Nutr* 1988; 118: 718-722.

17. Abdollahi M, AR Dehpour, Baharnouri G. Effects of rubidium on the secretory function of the submandibular gland. *Toxic Subs Mech* 1998; 17: 121-131.
18. Yoshida Y, Sprecher RL, Schneyer CA, Schneyer LH. Role of aoreceptors in sympathetic regulation of electrolytes in rat submaxillary saliva. *Pro Soc Exp Biol Med* 1967; 126: 912-916.
19. Suddick RP, shannon IL. Salivary Na, K, and CL secretion rates relationship to a fluid generation mechanism. *Jpn J physiol* 1970; 20: 540-549.
20. Lowry OH, Roserbrough NJ, Farr AL, Randell RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193: 262-575.
21. Fernandez FJ, Kahn HL. Clinical methods for atomic absorption spectroscopy . *Clin Chem Newsletter* 1971; 24: 190-195.
22. Hiranatsu M, Hatakeyama K, Hosoi K, Minami N. Effects of autonomic agents on the secretion of N-acetyl-B-glucosaminidase of mouse submaxillary gland. *J Dent Res* 1980; 59: 1439-1441.
23. Borooah J, Leaback DH, Walker PG. Studies on glucisamindase and substrates for N-axetyl-B-d-glucosaminidase. *Biochem* 1961; 78: 106-110.
24. Bernfeld P. Enzymes of starch degradation and synthesis. *Adv Enzynol* 1951; 12: 379-428.
25. Szyńska B, Andrezejewska A. Ultrasrtuctural changes in acinar cell mitochondria of the rat pancreas in the course of Lead intoxication folia. *Histochemica Cytobiologica* 1996; 34: 17-18.
26. Haberman E, Crowell K, Janicki P. Lead and other metals can substitute for Ca calmodulin. *Arch Toxicol* 1983; 54: 61-70.
27. Silbergeld EK, Swedo I, Cartwright I, Viega S, Custer EM. Lead arthritis and lead poisoning following bullet wound, a clinicpathologic, ultrastructural and microanalysis study of two cases . *Hum Pathol* 1988; 19: 223-235.
28. Bum BJ. Neurotransmitter control of secretion. *J Dent Res* 1987; 66: 628-632.
29. Castle JD, Arvan P, Canmeron R. Protein Production and secretion in exocrine cells. *J Dent Res* 1987; 66: 633-637.
30. Nakagawa K, Asami M, Kuriama K. Inhibition of erlease of lysosomal enzymes in young rat brain by lead acetate. *Toxicol Appl Pharmacol* 1980; 59: 86-92.
31. Nakagawa K, Asami M, Kuriyama K. Some Factors affecting enzyme release from cerebral lysosomes : inhibitory effects of lead. *Japan J pharmacol* 1983; 33: 9-15.
32. Bressler P, Goldstein GW. Mechanism of lead neurotoxicity. *Biochem Pharmac* 1991; 41: 479-484.
33. Goldstein GW. Evidence that lead acts as a calcium substitute in second messenger metabolism. *Neurotoxicology* 1993; 14: 97-101.
34. Kaji T, Yamamoto C, Sakamoto M, kozuka H. Inhibitoty effect of lead on the release of tissue plasminogen activator from human vascular endothelial cells in culture. *Toxicology* 1992; 73: 219-227.
35. Schanne FA, Gupter PK, Rosen JF. Lead inhibits 1,25 -dihydroxy vitamin - D 3 regulation of calcium

- metabolism in osteoblastic osteosarcoma cells. *Biochim Biophys Acta* 1992; 1180: 187-194.
36. Simon TJ. Lead-calcium interactions in cellular lead toxicity. *Neurotoxicology* 1993; 14: 77-85.
 37. Daggett DA, Oberley TD, Nelson SA, Wright LS, Kornguth SE, Siegel FL. Effects of lead on rat kidney and liver: GST expression and oxidative stress. *Toxicology* 1998; 128: 191-206.
 38. Adonaylo VN, Oteiza PI. Lead intoxication: antioxidant defenses and oxidative damage in rat brain. *Toxicology* 1999; 135: 77-85.
 39. Tenchova V, petkova V, Pavlova S, Simeonov I. Lipid peroxidation in chronic lead exposure. *Probl Khig* 1997; 22: 54-61.
 40. Achaya S, Acharya UR. In vivo lipid peroxidation responses of tissues in lead-treated swiss mice. *Ind Health* 1997; 35: 542-4.
 41. Skocznska A. Lipid peroxidation as a toxic mode of action for lead and cadmium. *Med Pr* 1997; 48: 197-203.
 42. Yang JL, Wang LC, Chang CY, Liu TY. Singlet oxygen is the major species participating in the induction of DNA strand breakage and 8-hydroxydeoxyguanosine adduct by lead acetate. *Environ Mol Mutagen* 1999; 33: 194-201.
 43. WHO trace elements in human nutrition. Report of a WHO expert committee. Geneva: World Health Organization, 1996.
 44. Molina H, Garcia M. Enzymatic defense of the rat heart against lipid peroxidation *Mechanisms of Aging & Development* 1997; 97: 1-7.
 45. Goyer RA. Nutrition and metal toxicity. *Am J Clin Nutr* 1995; 61: 6462-6502.
 46. Ganther HE. Modification of methylmercury toxicity and metabolism by vitamin E and selenium *Environ Health Perspect* 1978; 25: 71-76.
 47. Nehru B, Dua R, Iyer A. Effect of selenium on lead-induced alterations in rat brain. *Biol Trace Elem Res* 1997; 57: 251-8.
 48. Chan S, Gerson B, Subramaniam S. The role of copper, Molybdenum selenium, and zinc in nutrition and health. *Clin Lab Med* 1998; 18: 673-85.
 49. Nehru B, Dua R. The effect of dietary selenium on lead neurotoxicity. *J Environ Pathol Toxicol Oncol* 1997; 16: 47-50.