

تأثیر خوراکی سرب بر غلظت هورمونهای تیروئیدی و آنزیمهای کبدی در موش صحرایی

دکتر مختار مختاری^۱ دکتر مهرداد شریعتی^۲ نوشین گشمردی^۳

^۱ دانشیار گروه فیزیولوژی، ^۲ استادیار گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون ^۳ کارشناس ارشد زیست‌شناسی

مجله پزشکی هرمزگان سال یازدهم شماره دوم تابستان ۸۶ صفحات ۱۲۰-۱۱۵

چکیده

مقدمه: سرب از جمله فلزات سنگین می‌باشد که بعنوان آلوده‌کننده محیطی شناخته شده است. سرب فلز طبیعی است که در آب و خاک وجود دارد و از راه دستگاه گوارش یا تنفس وارد بدن می‌شود. تحقیقات انجام شده نشان می‌دهد این فلز ممکن است بر فعالیت طبیعی غده درون‌ریز و فعالیتهای متابولیکی بدن اثر داشته باشد. هدف این مطالعه بررسی اثر مقادیر سرب بر عملکرد غده تیروئید و آنزیمهای کبدی در موشهای صحرایی نر بالغ می‌باشد.

روش کار: در این مطالعه تجربی، ۴۰ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار در قالب گروههای تجربی، شاهد و کنترل مورد بررسی قرار گرفت. گروههای تجربی به سه زیر گروه تقسیم شدند و سرب را به صورت استات سرب و با مقادیر ۱۰۰ mg/kg و ۵۰ و ۲۵ به صورت دهانی و به مدت ۱۵ روز دریافت کردند. گروه شاهد آب مقطر دریافت نمود و گروه کنترل هیچ ماده‌ای دریافت نکرد. در پایان روز پانزدهم، از ناحیه بطنی قلب خونگیری به عمل آمد و نمونه‌های خونی تهیه شد و غلظت هورمونهای T_3 ، T_4 ، TSH و آنزیمهای AST ، ALT با استفاده از روش الیزا و کیت‌های تجارتي اندازه‌گیری شد. نتایج بدست آمده بین گروههای تجربی و کنترل با استفاده از آزمون ANOVA مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج: بررسی‌های آماری نشان داد غلظت هورمون T_3 و آنزیمهای AST ، ALT بدنبال دریافت مقادیر مختلف استات سرب نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی‌داری نشان نمی‌دهد؛ در حالی که غلظت هورمون T_4 افزایش معنی‌دار و غلظت هورمون TSH و آنزیم ALP کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل نشان دادند.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق، می‌توان نتیجه گرفت سرب بر فعالیت غده تیروئید اثر منفی دارد و احتمالاً از طریق مهار دیدیناسیون T_4 باعث آسیب غده تیروئید می‌شود. سرب از طریق مهار جذب دوپامین آزادسازی هورمون TSH را نیز کاهش می‌دهد. همچنین سرب با اثر بر روی نفونپذیری غشاء سلول‌های کبدی غلظت سرمی آنزیمها را تغییر می‌دهد و بنظر می‌رسد سرب اثر سمی بر فعالیت غده تیروئید و کبد دارد.

کلیدواژه‌ها: سرب - هورمونهای تیروئیدی - تست‌های عملکرد کبد - موش

نویسنده مسئول:
دکتر مختار مختاری
دانشگاه آزاد اسلامی واحد
کازرون
کازرون - ایران
تلفن: +۹۸ ۷۲۱ ۲۲۲۹۳۲
پست الکترونیکی:
Mokhtar_mokhtary@yahoo.com

دریافت مقاله: ۸۴/۶/۱۵ اصلاح نهایی: ۸۵/۹/۳۰ پذیرش مقاله: ۸۵/۱۱/۳۰

مقدمه:

دستگاه گوارش کم می‌کند و مصرف همزمان سرب و کادمیوم علائم بالینی مسمومیت با سرب را تشدید می‌کند (۱). سمیت سرب یک مشکل واضح است و وابسته به فرم شیمیایی، گروه عمل‌کننده، زمان و شدت تماس با آن است (۲). سرب اثرات مختلفی بر خونسازی، سیستم عصبی، کلیه، تولیدمثل و استخوان دارد. شایع‌ترین

استفاده از سرب به عنوان یک عنصر طبیعی تقریباً به آغاز تمدن بشر برمی‌گردد. سرب فلز طبیعی است که در آب و خاک وجود دارد و از راه دستگاه گوارش یا تنفس وارد بدن می‌شود. مواد معدنی مثل کلسیم جذب سرب را از

مطالعات نشان داده است سرب می‌تواند سیگنال‌های درون سلولی بین سلول‌های کوپفر و هیپاتوسیت‌ها را تحریک کند که به طور سیتوتوکسیک باعث کاهش سطح لیپوپولی ساکاریدها می‌شود (۸).

نتایج بدست آمده از مطالعات سایر محققان نشان می‌دهد تیمار با غلظت‌های بالای سرب باعث التهاب شدید در کبد جوجه شده و فرض بر این است که تماس طولانی مدت با سرب ممکن است موجب آسیب‌های کبدی در انسان نیز شود (۸).

سمیت سرب بطور عمده مربوط به تأثیر آن بر سیستم‌های آنزیمی سلول‌هاست که منجر به اختلالات بیوشیمیایی می‌شود. از جمله اینها می‌توان به آنزیم‌های آسپارات آمینوترانسفراز (AST) آلانین ترانسفراز (ALT) و آلکالین فسفاتاز (ALP) اشاره کرد.

AST در ایزوآنزیم‌های میتوکندریایی و سیتوزولی وجود دارد و در کبد، ماهیچه، مغز، پانکراس، شش‌ها، گلبول‌های سفید و قرمز یافت می‌شود (۹). ALT یک آنزیم سیتوزولی است که در غلظت‌های بسیار زیاد در کبد یافت می‌شود و برای کبد اختصاصی است و آسیب سلول‌های کبدی عامل آزاد شدن این آنزیم‌ها به داخل گردش خون است. همچنین ALP آنزیمی است که در بسیاری از بافتها وجود دارد و به مقدرا زیادی از کبد و استخوان آزاد می‌شود و انسداد مجاری صفراوی منجر به افزایش سرمی ALP می‌شود.

تاکنون نقش هورمون‌های تیروئیدی در تنظیم فعالیت دیدیناز بافت‌های بدن و نیز فعال کردن آنزیم‌های متابولیکی و افزایش تعداد و فعالیت میتوکندری‌ها برای تشکیل ATP و تأمین انرژی مورد نیاز اعمال سلولی و تسریع رشد بدن به خصوص رشد سیستم عصبی کاملاً به اثبات رسیده است. همچنین به علت اهمیت نقش کبد در ارتباط با انتقال و متابولیسم هورمون‌های تیروئیدی از طریق سنتز پروتئین‌های پلاسمایی و وجود آنزیم آلکالین فسفاتاز (ALP) که در بیشتر ارگان‌ها وجود دارد و پیوندهای فسفونواستر ترکیبات آلی مختلف را هیدرولیز می‌کند (۱۰)، آسپارات آمینوترانسفراز (AST)

تظاهرات مسمومیت مزمن املاح معدنی سرب شامل ضعف عضلانی، عصبانیت، لرزش، لاغری، سردرد و عوارض شکمی است (۳). سرب می‌تواند هر اندام یا سیستمی در بدن را از طریق مکانیسم‌هایی که فرآیندهای بیوشیمیایی اساسی را درگیر می‌کنند، تحت تأثیر قرار دهد. این مکانیسم‌ها شامل توانایی سرب برای مهار یا تقلید عملکرد کلسیم و اثر بر پروتئین‌ها است. در فعل و انفعال پروتئین‌ها سرب به هر گروه عملکردی قابل دسترس شامل سولفیدریل، فسفات و کربوکسیل متصل می‌شود که با گروه سولفیدریل میل ترکیبی بالایی دارد. سرب ممکن است بر فعالیت متالوآنزیم‌های روی، همانطور که روی به گروه سولفیدریل در جایگاه فعال متصل می‌شود، عمل کند (۳). از جمله آنزیم‌هایی که در مسمومیت با سرب آسیب می‌بیند، آنزیم میتوکندریایی فروکلاتاز است که در انتقال آهن از فریتین به پروتوپروفیرین برای تشکیل هم مؤثر می‌باشد. به علت غیر فعال بودن فروکلاتاز پروتوپروفیرین در گلبول‌های قرمز تجمع می‌یابد (۴) که نشانه خوبی برای تشخیص جذب سرب و مسمومیت با سرب است و در نتیجه کمبود آهن را مشخص می‌کند. تحقیقات انجام شده نشان می‌دهد سرب می‌تواند اعمال آندوکرینی را تحت تأثیر قرار دهد. محققان نشان داده‌اند سرب میزان محیطی هورمون‌های تیروئیدی و میزان پایه‌ای آنها را تغییر می‌دهد (۵) ضمن اینکه مطالعه بر روی کارگرانی که در تماس با سرب بوده‌اند، تأثیری بر روی این پارامترهای هورمونی مشاهده نشده است (۶). این عنصر به عنوان یک عامل نوروکسیک با اثرات رفتاری و نوروشیمیایی نیز شناخته شده است و می‌تواند به نوروترانسیمترهای مغزی آسیب برساند که بدینسان الگوی آزاد شدن TSH را تغییر داده و منجر به کاهش در مکانیسم انتقال ید می‌شود. سایر مطالعات نشان داده است تماس مزمن با سرب تغییری در غلظت ۳، ۵ و ۳ تری ید و تیرونین و تیروکسین ایجاد نمی‌کند (۷). بنابراین اختلاف نظرهایی در این زمینه وجود دارد.

حیوانات پس از دریافت استات سرب و آب مقطر تا زمان خونگیری به منظور مطالعات هورمونی و آنزیمی در شرایط آزمایشگاهی ثابت نگهداری شدند.

از تمام حیوانات، در پایان روز ۱۵، خونگیری از ناحیه بطنی قلب انجام شد (۱۱،۱۲). پس از خونگیری هر نمونه به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۳۰۰۰ سانتریفوژ شده تا سرم از لخته جدا شود. بعد از جداسازی سرم خون از لخته بوسیله سمپلر، نمونه‌ها تا زمان انجام سنجش‌های هورمونی و آنزیمی در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد منجمد و نگهداری شدند. هورمونهای تیروئیدی (T_3 ، T_4) و TSH با روش الیزا و با استفاده از کیت‌های خریداری شده از شرکت monobind ساخت آمریکا خاص هر هورمون استفاده شد. بطوری که به $25 \mu\text{l}$ از نمونه برای تعیین T_4 و $50 \mu\text{l}$ از نمونه برای تعیین TSH و T_3 مقدار $100 \mu\text{l}$ محلول کونژوکه ریخته و به مدت ۶۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد. سپس $200 \mu\text{l}$ محلول شستشو اضافه و سه بار شستشو انجام گردید. $100 \mu\text{l}$ محلول سوبسترای آماده به همه نمونه‌ها اضافه شده و پلیت را به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق و در محیط تاریک انکوبه کردیم. سپس $50 \mu\text{l}$ محلول stop را به آن اضافه کرده و پلیت را برای مدت ۲۰-۱۵ ثانیه به آرامی با دست روی میز تکان دادیم و در آخر پلیت را در طول موج ۴۵۰ نانومتر قرائت کردیم.

آنزیمهای ALT، AST و ALP نیز با استفاده از کیت‌های آنزیمی شرکت زیست شیمی و به روش توصیه شده IFCC اندازه‌گیری شد (۱۳).

نتایج حاصله بر اساس برنامه آماری SPSS و آزمون ANOVA و تست Tukey مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و اختلاف در سطح احتمال $P < 0.05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج:

مطالعات آماری و مقایسه میانگین غلظت هورمونهای تیروئیدی و آنزیمهای کبدی (ALT، AST و ALP) بدنبال دریافت استات سرب بین گروههای تجربی، شاهد

و آلانین ترانسفراز (ALT) که نشانه‌های خوبی از آسیب سلولهای کبدی هستند، در این تحقیق اثرات مقادیر مختلف این فلز بر غلظت هورمونهای تیروئیدی و آنزیمهای کبدی مورد بررسی قرار گرفته است تا بتواند اطلاعات مهمی در ارتباط با اثرات این فلز بر فعالیت‌های آندوکرینی و متابولیسمی بدن ارائه دهد و زمینه‌های افزایش حفاظت در برابر این فلز فراهم گردد.

روش کار:

حیوانات مورد استفاده در این تحقیق تجربی موشهای صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار با وزن تقریبی ۱۶۰-۱۹۰ گرم بود که از خانه پرورش حیوانات دانشگاه آزاد واحد کازرون تهیه شد. سن حیوانات در زمان انجام آزمایش بطور متوسط ۳-۲/۵ ماه بود.

درجه حرارت محیط در زمان آزمایش ۲۵-۲۰ درجه سانتیگراد در طول شبانه روز بود و شرایط نوری به صورت ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنائی تنظیم شد. آب آشامیدنی از آب لوله‌کشی شهری و تغذیه حیوانات بوسیله خوراک مخصوص موش (غذای فشرده) که از شرکت سهامی خوراک دام و طیور پارس تهیه شده بود، انجام شد. قفس‌های نگهداری حیوانات از جنس پلی‌کربنات بود که هفته‌ای دو بار ضدعفونی و خرده‌های چوب آن تعویض می‌شد. در این تحقیق حیوانات به سه گروه به شرح زیر تقسیم شدند: گروه اول: گروه کنترل، شامل ۸ حیوان که در زمان آزمایش ماده خاصی دریافت نکردند.

گروه دوم: گروه شاهد تزریق، به حیوانات این گروه یک میلی لیتر آب مقطر به مدت ۱۵ روز خورانده شد.

گروه سوم: گروه تجربی شامل سه زیرگروه بود که مقادیر مختلف استات سرب با غلظت حداکثر mg/kg (Pb max) ۱۰۰ و غلظت متوسط mg/kg (Pb max) ۵۰ و غلظت حد اقل (Pb min) یعنی mg/kg ۲۵، به مدت ۱۵ روز به روش دهانی به آنها خورانده شد.

آمده در بررسی تأثیر مقادیر مختلف استات سرب بر میزان هورمون‌های تیروئیدی نشان می‌دهد که استات سرب باعث افزایش معنی‌دار در غلظت هورمون T_4 و کاهش معنی‌داری در غلظت هورمون TSH می‌شود. بر اساس تحقیقات انجام شده سرب می‌تواند اعمال آندوکروینی را از طریق مهار محور هیپوتالاموس - هیپوفیز تحت تأثیر قرار دهد (۱۴) که احتمالاً به دلیل کاهش TSH است. سطح بالای سرب در خون ممکن است باعث مهار دیدیناسیون T_4 و آسیب عمل غده تیروئید شود. سایر تحقیقات نشان داده است آسیب فعالیت T_4 - دیدیناز با سرب باعث کاهش TSH، افزایش T_4 و عدم تغییر در T_3 می‌شود.

سرب فعالیت مونوآمین اکسیداز و استیل کولین استراز را کاهش می‌دهد. این نتایج نشان می‌دهد سرب به عمل نوروترانسمیترهای مغز آسیب می‌رساند (۱۵).

مکان اصلی آنزیم مونوآمین اکسیداز با توجه به غلظت آن در کبد، معده، کلیه‌ها و روده است. استفاده از مهارکننده مونوآمین اکسیداز در موشهای صحرایی طبیعی می‌تواند الگوی آزاد شدن TSH را تغییر دهد (۱۶) که به نوبه خود منجر به کاهش در مکانیسم انتقال ید می‌شود.

تحقیقات سایر محققان نشان داده است سرب از طریق مهار اتصال گیرنده، عملکرد غده هیپوفیز را تحت تأثیر قرار می‌دهد و بر ترشح T_3 ، T_4 ، TSH اثر می‌گذارد (۱۷).

سرب به عنوان یک مسموم‌کننده عصبی با اثرات رفتاری و نوروشیمیایی زیادی شناخته شده است. بر اساس تحقیقات انجام شده سرب ممکن است در انتقال نوروترانسمیترهای کاتکول آمینرژیک و خصوصاً دوپامینرژیک دخالت کند بطوری که باعث مهار جذب دوپامین می‌شود (۱۸) که بدلیل اثر مهارری دوپامین بر ترشح TSH میزان این هورمون کاهش می‌یابد (۱۹).

نتایج بدست آمده در بررسی تأثیر استات سرب بر آنزیمهای AST، ALT، ALP نشان می‌دهد غلظت سرمی آنزیم ALP کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل دارد.

مطالعات سایر محققان نشان می‌دهد افزایش در گردش آنزیمهای AST، ALT ممکن است ناشی از افزایش سنتز و ترشح آنها یا مربوط به کاهش

و کنترل انجام گرفت و نتایج به همراه محاسبات آماری در قالب نمودار آورده شده است. علامت * نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح $P < 0.05$ برای هر گروه آزمایش نسبت به گروه کنترل است. بررسی تأثیر مقادیر مختلف استات سرب بر غلظت هورمون T_3 نشان می‌دهد که بین گروههای تجربی و گروه کنترل اختلاف معنی‌داری وجود ندارد. غلظت هورمون T_4 در گروه دریافت کننده 20 mg/kg استات سرب نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی‌دار نشان نمی‌دهد ولی بین گروههای دریافت‌کننده 100 mg/kg و 50 mg/kg استات سرب و گروه کنترل افزایش معنی‌داری وجود دارد. میزان هورمون TSH در گروههای دریافت‌کننده مقادیر مختلف استات سرب کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل نشان می‌دهد (جدول شماره ۱).

جدول شماره ۱ - غلظت سرمی هورمونهای تیروئیدی در

گروههای تجربی دریافت‌کننده استات سرب

مورد	شاهد	حداقل	میانه	حداکثر
T3	۰/۴۸۷±۰/۰۳	۰/۴۸±۰/۰۶	۰/۵۷±۰/۰۸	۰/۴۹±۰/۰۴
T4	۰/۰۱±۰/۰۱	۱/۷۸±۰/۱۳	۱/۵۶±۰/۲	۱/۸±۰/۲
TSH	۹/۴±۰/۵۸	۲/۶۹±۰/۲	۱/۹۰±۰/۳	۱/۹۲±۰/۲

تأثیر استات سرب بر غلظت سرمی آنزیم AST در گروههای تجربی نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی‌داری را نشان نمی‌دهد. غلظت سرمی آنزیم ALT در گروههای تجربی دریافت‌کننده مقادیر مختلف استات سرب نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی‌داری را نشان نمی‌دهد. آنزیم ALP در گروه دریافت‌کننده 50 mg/kg استات سرب نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری را نشان می‌دهد (جدول شماره ۲).

جدول شماره ۲ - غلظت سرمی هورمونهای کبدی در

گروههای تجربی دریافت‌کننده استات سرب

مورد	شاهد	حداقل	میانه	حداکثر
AST	۱۵۱/۱۸±۲/۸۷	۱۵۴±۳۶	۱۷۵±۵۷	۱۳۳/۴±۷۳
ALT	۰/۴۸±۱/۳۸	۴/۵±۹/۵۶	۵/۲۳±۷/۶	۵/۰۳±۱/۹۷
ALP	۰/۳۱±۱/۹۴	۲۱۷/۸±۷/۸	۲۳۱/۳±۴/۷	۲۳/۸±۱۳/۴

بحث و نتیجه‌گیری:

اثرات سرب بر روی تعدادی از سیستم‌های آنزیمی و پارامترهای بیوشیمیایی اثبات شده است. نتایج بدست

کاتابولیسیم باشد. با توجه به نقش هورمونهای تیروئیدی در افزایش فعالیتهای متابولیکی بافتهای بدن و تأثیر سرب بر غده تیروئید، احتمالاً افزایش آنزیمها ناشی از کاهش کاتابولیسیم است (۲۰). استات سرب معدنی یک پرواکسیدان است و آسیب پراکسیداسیون لیپیدهای غشای سلولی منجر به زود شکنی و نفوذپذیری غشا می شود (۲۱) که بعنوان نتیجه ای از سمیت مطرح است.

تحقیقات نشان داده است AST و ALT با LDL کلسترول ارتباط دارد و کاهش لیپیدهای سرمی منجر به کاهش این دو می شود. تماس مزمن با سرب در اکثر آزمایشات، باعث هیپوتیروئیدیسم شده است (۲۲).

هورمون T_3 آزادسازی و فعالیت ALP متصل به غشا را در سلولهای استئوبلاست بیشتر از T_4 و متابولیتهای غیرفعال هورمونهای تیروئیدی افزایش می دهد؛ بنابراین در هیپوتیروئیدیسم که بدنبال تماس با شرب بوجود می آید، آزادسازی ALP توسط استئوبلاستها کاهش می یابد (۲۳).

سپاسگزاری:

این تحقیق با مساعدت و همکاری مدیریت محترم آزمایشگاههای دانشگاه آزاد واحد کازرون، جناب آقای احمد پیشگر و پرسنل بخش نگهداری حیوانات انجام شده است که بدینوسیله از آنها تشکر و قدردانی می شود.

ALP و کاهش نفوذپذیری غشای سلول باعث کاهش می گردد. ثبات و درستی غشای هیپاتوسیت ها لازمه تمامی اعمال حیاتی کبد است و اختلال در فعالیت آنزیم های غشایی کبد مانند ALP منجر به اختلال در انتقال سوبستراهای فیزیولوژیکی می شود که برای عملکرد طبیعی کبد ضروری است.

با توجه به تغییرات حاصله می توان نتیجه گرفت سرب اثر سمی بر فعالیت غده تیروئید و کبد دارد. این فلز فعالیت غده تیروئید را مهار می کند و با اثر بر نفوذپذیری غشای سلولهای کبدی غلظت سرمی آنزیمها را تغییر می دهد.

تحقیقات نشان داده است AST و ALT با LDL کلسترول ارتباط دارد و کاهش لیپیدهای سرمی منجر به کاهش این دو می شود. تماس مزمن با سرب در اکثر آزمایشات، باعث هیپوتیروئیدیسم شده است (۲۲).

هورمون T_3 آزادسازی و فعالیت ALP متصل به غشا را در سلولهای استئوبلاست بیشتر از T_4 و متابولیتهای غیرفعال هورمونهای تیروئیدی افزایش می دهد؛ بنابراین در هیپوتیروئیدیسم که بدنبال تماس با شرب بوجود می آید، آزادسازی ALP توسط استئوبلاستها کاهش می یابد (۲۳).

ALP آنزیمی است که در بسیاری از بافتها وجود دارد و به مقدار زیادی از کبد و استخوان آزاد می شود. احتمالاً سرب از طریق مهار فعالیت آنزیم $Na^+ - k^+$

References

منابع

- Ahrens AF. Effects of lead on glucose metabolism, ionflux and collagen synthesis incerebral capillaries of calves. *Am J Vet Res.* 1993;808-812.
- Kulikowska E, Moniuszko J. Lead and Zinc influence on antioxidant enzyme activity and melondialdehyde concentration. *Plish Journal of Environmental Studies.* 2001;10(3):161-165.
- Ford MD, Delaney KA, Ling LG, Erickson T. Toxicology. W.B. Saunders company. Philadelphia; 2001.
- Sergio P. Lead poisoning in: Nelson text book of pediatrics, Nathen and Oski. 15th ed. 1996;2010-2013.
- Gustafson A, Hedner P, Schutz A, Skerfving S. Occupational lead exposure and pituitary function. *International Archives of Occpational and Environmental Health.* 1989;61(4):277-281.
- Tuppurainen M, Wager G, Kuppa K. Thyroid function as assessed by routine laboratory tests of workers with long term lead exposure. *Scand J Work Environ Health.* 1988;4:175-180.
- Vyskocil A, Fiala Z, Etterova E, Tenjnorova I. Influence of chronic lead exposure on hormone levels in developing rats. *Journal of Applied Toxicology.* 1990;10(4):301-302.
- Miolservic N, Maire P. Lead stimulates intracellular signaling between hepatocytes and kupffer cells. *Enr J Pharmacol.* 2000;401:317-328.

9. Praff DS, Kaplan MM. Evaluation of abnormal liver enzyme results in asymptomatic patients. *N Engl Med*. 2000;342:1266-1271.
10. Limdi J, Hyde G. Evaluation of abnormal liver function tests. *Postgrad Med J*. 2003;79:307-312.
11. Abdulkarim KB, Rasim M, Aylin K. Opposite effects of zinc and melatonin on thyroid hormones in rats. *J Toxicology*. 2004;195:69-75.
12. Piao F, Yokoyama K. Morphologic observation of the effect of lead on thyroid gland of pregnant rats. *J China Med Univ*. 1992;21:120-122.
13. IFCC/AACC standard method for ALP. *Clin Chim*. 1983;79:751.
14. Booth NH. Veterinary pharmacologic and therapeutics. 6th ed. Iowa state university press; 1998.
15. Katti SR, Sathyanesan AG. Neurotoxicology. 1986;7:47-52.
16. Nour ED, Miloud S, Abdelkaader A. Effect of lead exposure on dopaminergic transmission in the rat brain. *Toxicology*. 2002;28:363-368.
17. Lau YS, Camoratto AM, White LM, Moriarty CM. Effect of lead on TRH and GRF binding in rat anterior pituitary membranes. *Toxicology*. 1991;68:169-179.
18. Nour ED, Miloud S, Abdelkader A. Effect of lead exposure on dopaminergic transmission in the rat brain. *Toxicology*. 2002;28:363-368.
19. Tammura W, Goldenberg RL, Johnston KE, Dubard M. Maternal plasma zinc concentrations and pregnancy outcome. *Am J Clin Nutr*. 2000;71:109-113.
20. Christ-Crain M, Meier CPuder J, Staub JJ, Huber PR, Keller U. Changes in liver function correlate with the improvement of lipid profile after restoration of euthyroidism in patients with subclinical hypothyroidism. *Excil Journal*. 2004;3-19.
21. Tatgana JS, Dusica P, Irana S, Tatgana S, Gordana K. Effects of captopil on membrane-associated enzymes in lead-induced hepatotoxicity in rats. *Acta Fac Med Naiss*. 2003;20(3):183-188.
22. Philip AT, Gerson B. Lead poisoning-part II. Effects and assay. *Clin Lab Med*. 1994;14:651-670.
23. Banovac K, Koren E. Triiodothyronine stimulates the release of membrane-bound alkaline phosphatase in osteoblastic cells. *Calcif Tissue Int*. 2000;67:60-65.