

## اثرات مسمومیت کوتاه مدت و تحت مزمن با سرب بر متابولیت‌های نیتریک اکساید و پاسخ‌دهی عروقی در Rat

اژدر حیدری<sup>\*M.Sc.</sup>، علی نوروززاده<sup>\*M.Sc.</sup>، علیرضا عسگری<sup>\*Ph.D.</sup>

اصغر قاسمی<sup>\*M.Sc.</sup>، سهیل نجفی<sup>\*M.Sc.</sup>، علی خوش باطن<sup>\*Ph.D.</sup>

### چکیده

**هدف:** بررسی اثرات مسمومیت کوتاه مدت (۸-۴ هفته) و تحت مزمن (۱۲ هفته) سرب بر سطح نیترات و نیتريت كل (NOx) و پاسخ‌دهی عروق به عوامل آدرنرژیک.

**روش بررسی:** موشهای نر از نژاد Sprague-Dawley به گروه‌های چهار، هشت و دوازده هفته‌ای که از آب آشامیدنی حاوی ۱۰۰ ppm سرب استفاده می‌کردند تقسیم شدند. فشار خون سیستولی در هر گروه با استفاده از دستگاه الکترواسفیگمومانومتر اندازه‌گیری شد. از وانادیم کلراید (VCl<sub>3</sub>) برای احیاء نیترات به نیتريت استفاده شد و متعاقب آن سنجش اسپکتروفتومتریک نیتريت كل با استفاده از معرف گریس انجام شد. در آزمایشات حساسیت بافتی آئورت سینه‌ای جدا شده و پس از تثبیت در حمام بافتی، اثر عوامل انقباضی (فنیل افرین و کلونیدین) و شل کننده (ایزوپروتینول) در حضور و عدم حضور آنتاگونیست‌های مربوطه بررسی شد.

**یافته‌ها:** مرحله کوتاه مدت مسمومیت با افزایش معنی‌دار فشار خون و کاهش سطح سرمی NOx همراه بود. در پایان مرحله تحت مزمن مسمومیت علیرغم افزایش بیشتر در فشار خون، روند کاهشی سطح متابولیت‌های نیتریک اکساید بصورت معنی‌داری معکوس شد. در هر دو مرحله کوتاه مدت و تحت مزمن تغییرات معنی‌داری در حساسیت بافتی به فنیل افرین و ایزوپروتینول مشاهده شد.

**نتیجه‌گیری:** در مجموع می‌توان نتیجه گرفت که فشار خون حتی در مراحل اولیه مسمومیت ناشی از سرب نیز افزایش می‌یابد. بنظر می‌رسد مکانیسم‌های دخیل در مراحل مزمن فشار خون ناشی از سرب نظیر نیتریک اکساید و سیستم آدرنرژیک عروق در مراحل کوتاه مدت و تحت مزمن مسمومیت نیز عملکرد داشته باشند.

**واژه‌های کلیدی:** استات سرب، نیتریک اکساید، فشار خون، حساسیت عروقی

### مقدمه

توزیع کلسیم مداخله نموده و حتی در فرایندهای فیزیولوژیک جایگزین آن شود. (۲) سرب همچنین مهارگر قوی آنزیم پمپ سدیم-پتاسیم غشائی است. (۳) از طرف دیگر، سرب سبب افزایش نوراپی نفرین پلاسما، کاهش تراکم گیرنده‌های

در معرض قرار گرفتن مزمن به سطوح پائین سرب ممکن است در رابطه با افزایش خون باشد. مکانیسم دقیق فشار خون ناشی از سرب معلوم نیست. (۱) سرب می‌تواند با قابلیت تعویض یا

دریافت مقاله: ۸۵/۳/۲۰، پذیرش مقاله: ۸۵/۳/۲۳

ک\* نویسنده مسئول: گروه فیزیولوژی و بیوفیزیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه... «عج»، تهران - ایران  
\* آدرس مکاتبه: گروه فیزیولوژی و بیوفیزیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه... «عج». • مرکز تحقیقات آسیب‌های شیمیایی، پژوهشکده طب رزمی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه... «عج»

آدرس پست الکترونیکی: heydariazhdar@yahoo.com

## روش بررسی

موش های صحرایی نر از نژاد Sprague-Dawley با وزن تقریبی ۲۲۰-۱۸۰ گرم استفاده شد (تعداد ۹ سر موش در هر گروه). حیوانات بصورت دستجمعی در قفس های مختلف در دمای مناسب حیوانخانه و شرایط تاریکی-روشنائی ۱۲ ساعته نگهداری شده و دسترسی آسان به آب و غذا داشتند. جهت ایجاد مسمومیت با سرب و با توجه به نتایج مطالعه قبلی، غلظت ۱۰۰ ppm استات سرب انتخاب شده و حیوانات بطور تصادفی در دو گروه کنترل و مسموم با سرب قرار گرفتند. گروه مسموم خود به سه زیر گروه که بترتیب چهار، هشت و دوازده هفته از آب آشامیدنی حاوی استات سرب استفاده می کردند تقسیم شد. حیوانات گروه کنترل تنها از آب آشامیدنی معمولی استفاده کردند.

### اندازه گیری غیر مستقیم فشار خون . فشار خون هر

هفته با استفاده از اسفیگومانومتر مخصوص دم موش (PE 300, Narco) که به یک فیزیوگراف جهت ثبت متصل بود اندازه گیری شد. موشها در محفظه مخصوص قرار گرفته و کاف حلقوی در انتهای دم موش قرار گرفت. میکروفون مخصوص ثبت صداهای کورتوکوف در قسمت تحتانی دم چسبانده شد. متعاقباً، فشار خون سیستولیک ثبت شده و میانگین سه گروه اندازه گیری شده با گروه کنترل مقایسه شد. (۱۶)

### تعیین مقدار سرب خون . در پایان هفته دوازدهم محتوی

سرب خون کامل با استفاده از دستگاه اتمیک ایزورپشن اندازه گیری شده و به صورت میکرو گرم بر دسی لیتر خون بیان شد. (۱۷)

### اندازه گیری نیترات و نیتريت کل Nox . روش توصیف

شده به وسیله Miranda و همکارانش (۱۸) برای احیاء نیترات به نیتريت با استفاده از وانادیم کلراید (VCl<sub>3</sub>) و متعاقب آن سنجش نیتريت کل با استفاده از معرف گریس و به روش طیف سنجی استفاده شد. بطور خلاصه وانادیم کلراید (۸۰ میلی گرم) در ۱۰ میلی لیتر اسید کلریدریک یک مولار حل شد و محلول آبی رنگ حاصل در دمای ۳۰°C کمتر از دو هفته نگهداری شد. بعد از حل کردن NEDD (۱٪ وزنی-حجمی) در آب مقطر و سولفانامید (۲٪ وزنی-حجمی) در اسید کلریدریک ۵٪، هر دو

بتا-آدرنژیک، کاهش تولید cAMP و کاهش پاسخ گشاد کننده عروقی به تحریک گیرنده های بتا در بافتهای عروقی می شود. (۴) سرب باعث افزایش پاسخ عروقی به نوراپی نفرین در نتیجه افزایش حساسیت به گیرنده های آلفا-۱ (۵)، افزایش فعالیت سمپاتیک، اصلاح حساسیت بارورسپتورها و تغییر در سیستم انتقال سیگنال می شود. (۶) در سیستم رنین-آنژیوتانسین هم افزایش (۷) و هم کاهش (۸) فعالیت رنین پلاسما و کاهش تراکم گیرنده های آنژیوتانسین II گزارش شده است. (۹) عوامل محرک عروقی مشتق از اندوتلیوم بنظر می رسد در رابطه با اثرات عروقی سرب مورد توجه باشند اگرچه نتایج حاصل از تحقیقات مختلف مبهم است. در نتیجه مواجهه با غلظت های پائین سرب افزایش (۱۰) یا کاهش (۱۱) سطح اندوتلین و نیز افزایش (۱۲) یا کاهش (۱۳) سطح ادراری نیتريك اکساید و بیان آنزیم سنتز کننده نیتريك اکساید گزارش شده است.

گزارشات معدودی در مورد اثرات کوتاه مدت سرب بر فشار خون موجود است. برای مثال مواجهه کوتاه مدت در موش های مستعد به فشار خون به مدت ۲ هفته موجب افزایش فشار خون بدون دخالت مکانیسم های ذکر شده در مرحله مزمن شد. (۱۴) در مطالعه دیگری افزایش معنی دار فشار خون بدنبال ۲، ۴، ۶ و ۸ هفته مسمومیت سرب دیده شد که با تغییر در فعالیت آنزیم مبدل آنژیوتانسین همراه بود. (۱۵) در مطالعه قبلی که در همین آزمایشگاه انجام شد فشار خون به دنبال ۴ هفته مسمومیت با سرب افزایش یافت که با تغییراتی در مسیرهای نیتريك اکساید و سیکلواکسیژناز همراه بود. (۱۶) هنوز بطور دقیق معلوم نیست آیا در معرض قرار گرفتن کوتاه مدت به سرب سبب بروز فشار خون می شود یا نه، و اگر چنین باشد، آیا تغییرات مشاهده شده در مرحله مزمن در مراحل ابتدایی فشار خون ناشی از سرب هم دیده شوند. در مطالعه حاضر، ما اثرات مسمومیت کوتاه مدت (۸-۴ هفته) و مزمن (۱۲ هفته) استات سرب (۱۰۰ ppm) در آب آشامیدنی ( ) را بر فشار خون، سطح متابولیت های نیتريك اکساید (NOx) و پاسخ دهی عروق به عوامل آدرنژیک بررسی کردیم.

قبل با فنیل افرین یک میکرومولار منقبض شده بودند، آزمایش شد. غلظت‌های تجمعی فنیل افرین (۰/۱ نانومول تا ۰/۱ میلی‌مول) در غیاب و حضور پرازوسین (۰/۱ میکرومول تا ۲۰ دقیقه قبل) به حمام بافتی اضافه شد. بعلاوه غلظت‌های تجمعی کلونیدین (۱ نانومول تا ۱۰ میکرومول) در غیاب و حضور یوهیمین (۱ میکرومول تا ۲۰ دقیقه قبل) در حلقه‌های آئورتی با اندوتلیوم تخریب شده ارزیابی شد. حذف لایه اندوتلیال با سائیدن سطوح داخلی اندوتلیوم بر روی هم صورت گرفت و نتیجه با عدم پاسخ شل شونده حلقه‌ها به غلظت یک میکرومولار استیل کولین تأیید شد. پاسخ‌های شل کننده با اضافه کردن غلظت‌های تجمعی ایزوپروترونول (۱ نانومول تا ۰/۱ میکرومول) به حلقه‌هایی که از قبل با فنیل افرین یک میکرومولار منقبض شده بودند، ارزیابی شد. منحنی‌های غلظت پاسخ مشابهی در حلقه‌های آئورتی که با پروپرانولول (۱ میکرومول به مدت ۲۰ دقیقه) انکوبه شده بودند، بدست آمد. پرازوسین در محلول یک میکرومولار دی‌متیل سولفوکساید و دیگر داروها در آب مقطر حل شدند. (۱۶، ۱۹)

**روش آماری.** نتایج به صورت  $Mean \pm SE$  بیان شدند. مقایسه آماری بین گروه‌های تحت مطالعه با سرب و کنترل با استفاده از آنالیز واریانس ANOVA دو طرفه و به دنبال آن آزمون Tuckey حاصل شد. اختلاف بین مقادیر از جهت معنی‌دار بودن با آزمون Unpaired t-test امتحان شد. آزمایشات مربوط به حساسیت بافتی، انقباض به صورت درصد پاسخ ایجاد شده بوسیله کلروپتاسیم ۶۸ میلی‌مولار و شلی بصورت درصد مهار انقباض ایجاد شده بوسیله غلظت یک میکرومولار فنیل افرین بیان شد. غلظتی از اگونیست که ۵۰٪ حداکثر پاسخ را ایجاد می‌کند ( $EC_{50}$ ) با استفاده از نرم‌افزار مناسب (Graph pad prism) محاسبه شده و بصورت منفی لگاریتم مولی ( $pD_2$ ) بیان شد.  $P < 0.05$  معنی‌دار در نظر گرفته شد.

## یافته‌ها

فشار خون پس از هفته چهارم بصورت معنی‌داری به  $109.05 \pm 11.83$  میلی‌متر جیوه در گروه مسموم با سرب نسبت

محلول برای چندین ماه در دمای  $4^\circ C$  قابل نگهداری هستند. جهت کاهش کدورت، پروتئین‌های سرم با استفاده از اتانول (۲۰۰ میکرولیتر) رسوب داده شد. آزمایشات در دمای  $37^\circ C$  در یک اتاق گرم انجام شد. محلول استاندارد نیتريت (۱۰۰ میکرولیتر) بصورت متوالی از ۱۰۰ میکرومول تا ۲۵ میکرومول در یک پلیت ۹۶ خانه رقیق شد. در ابتدا پلیت با نمونه‌ها (۱۰۰ میکرولیتر) بارگیری شد و سپس به ترتیب وانادیم کلراید (۱۰۰ میکرولیتر)، NEDD (۵۰ میکرولیتر) و سولفانامید (۵۰ میکرولیتر) به هر خانه اضافه شد. ماده حلال برای تعیین مقادیر بلانک استفاده شد. پس از ۳۰ دقیقه انکوباسیون در دمای  $37^\circ$  سانتی‌گراد، جذب در طول موج  $540$  نانومتر با استفاده از دستگاه مخصوص اندازه‌گیری شد. هر نمونه از بلانک خودش کم شده و رگرسیون خطی میانگین مقادیر برای تعیین متابولیت‌های نیتريك اکساید استفاده شد.

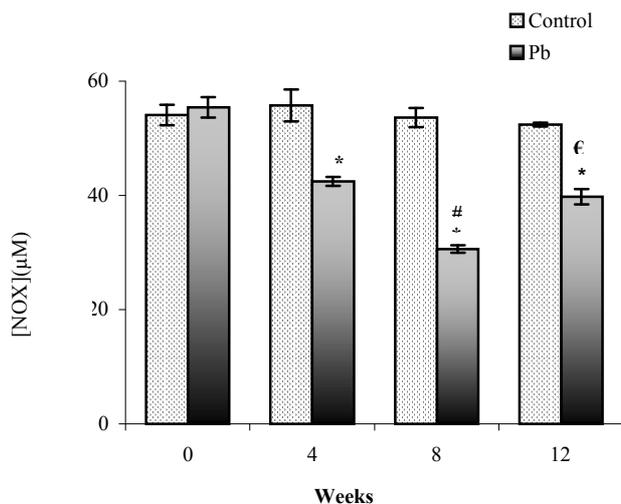
**پاسخ دهی عروق .** بعد از چهار، هشت و دوازده هفته در معرض قرار گرفتن به سرب، حیوانات با استفاده از کتامین (۷۵ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم) بیهوش شدند و قسمت پروگزیمال آئورت سینه ای خارج شده و بعد از قرار گرفتن در محلول کربس سرد از بافت همبند و چربی تمیز شده و به حلقه‌هایی با طول تقریبی ۳ میلی‌متر تقسیم شد. حمام بافتی حاوی ۸ میلی لیتر محلول کربس با دمای  $37^\circ C$  بود که با کربوژن حاوی  $O_2$  ۹۵٪ و  $CO_2$  ۵٪ هوادهی شده و از اجزای زیر تشکیل شده بود (میکرومولی لیتر): کلروسدیم ۱۳۰، کلروپتاسیم ۴/۷، پتاسیم هیدروژن فسفات ۱/۱۸، سولفات منیزیم ۱/۲، کلروسدیم ۱/۶، بی کربنات سدیم ۲۵ و گلوکز ۱۱/۷۰ ( $pH=7.4$ ). حلقه‌های آئورتی با دو قلاب که یکی به یک پایه ثابت و دیگری به یک میدل نیرو متصل بود، آویزان شدند. حلقه‌های آئورتی به مدت ۴۵ دقیقه تحت کشش ۲۵ گرم قرار گرفتند تا به تعادل برسند. بعد از تثبیت، حلقه‌ها دو بار با کلور پتاسیم ۶۸ میلی‌مولار منقبض شدند و انقباض آخری به عنوان مرجع انتخاب شده و پاسخ‌های انقباض به صورت درصدی از این انقباض بیان شدند. سالم بودن اندوتلیوم با پاسخ شل کننده استیل کولین یک میکرومولار در حلقه‌هایی که از

جدول ۱. اثر استات سرب (۱۰۰ ppm) و انکوباسیون با آنتاگونیست ها بر مقادیر Emax و  $PD_{25}$  (-Log EC<sub>50</sub>) پاسخ های ایجاد شده توسط آگونیست های آلفا-یک، آلفا-دو و بتا آدرنرژیک در حلقه های آئورت موش صحرائی با اندوتلیوم (+) یا بدون اندوتلیوم (-). نتایج بصورت means ± SEM (n=6) بیان و P<0.05 معنی دار در نظر گرفته شد. تفاوت معنی داری بین گروههای زیر مشاهده شد: (a-b),(a-c),(g-b), (a'-b'), (a'-c'), (d-e), (d-f),(h-f), (d'-e'), (d'-f')

Emax/.		(pD2)		
استات سرب			کنترل	
هفته دوازدهم	هفته هشتم	هفته چهارم		
۱۵۹/۸۵±۵/۳۸ <sup>c</sup>	۱۶۷/۳۶±۷/۵۷ <sup>b</sup>	۱۴۶/۷±۹/۱ <sub>g</sub>	۱۳۶/۳±۶/۸ <sup>a</sup>	فنیل افرین (+)
(۷/۰۷±۰/۱۵۶) <sup>c'</sup>	(۷/۱۳۷±۰/۲۵) <sup>b'</sup>	(۶/۹۲۹±۰/۱۷۶)	(۶/۸۳۷±۰/۱۶۷) <sup>a'</sup>	
۱۱۴/۶±۴/۳۱	۱۱۸/۳۶±۴/۷۲	۱۱۱/۹۲±۳/۷۲	۱۰۰/۹۵±۴/۷۶	پرازوسین + فنیل افرین (+)
(۵/۵۴۳±۰/۰۸)	(۵/۴۶۵±۰/۰۱)	(۵/۲۵۶±۰/۰۱)	(۵/۱۲۱±۰/۰۲۶)	
۱۰۰/۶۲±۲/۹۸	۹۹/۵±۴/۷	۹۳/۴۲±۴/۶۵	۱۰۴/۱±۵/۱۳	کلونیدین (-)
(۶/۸۰۴±۰/۰۸۴)	(۷/۰۲۶±۰/۰۳)	(۷/۱۹۴±۰/۰۹۵)	(۷/۲۱۲±۰/۱ <sup>b</sup> )	
۷۴/۲±۸/۹۳	۷۲/۱۸±۳/۷۲	۷۷/۸±۳/۹۹	۶۵/۱۵±۶/۳۱	یوهیمین + کلونیدین (-)
(۶/۱۸۶±۰/۰۲)	(۶/۱۰۵±۰/۰۱)	(۶/۰۸±۰/۰۱)	(۶/۰۸۳±۰/۰۱)	
۷۱/۴۴±۳/۵۵ <sup>f</sup>	۸۱/۰۸±۲/۴۵ <sup>e</sup>	۸۷/۶۸±۶/۸ <sup>h</sup>	۹۴/۱۴±۵/۵۳ <sup>d</sup>	ایزوپروتینول (+)
(۶/۰۷۵±۰/۱۵۶) <sup>f'</sup>	(۶/۱۳±۰/۰۸) <sup>e'</sup>	(۶/۲۳۶±۰/۰۷۵)	(۶/۲۸۹±۰/۰۲) <sup>d'</sup>	
۶۶/۴±۳/۷۱	۶۷/۰۱±۵/۷۲	۷۸/۵۶±۴/۷	۸۴/۲۳±۳/۰۴	پروپرانولول + ایزوپروتینول (+)
(۵/۴۳۲±۰/۰۶)	(۵/۲۷۶±۰/۰۴)	(۵/۱۳۲±۰/۰۴)	(۴/۷۷۳±۰/۳۱)	

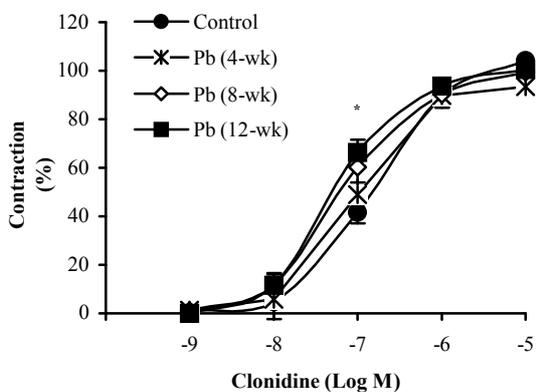
سرب  $26/84 \pm 2/23$  میکروگرم در لیتر بود که بطور معنی داری بیشتر از گروه مصرف کننده آب معمولی (کمتر از ۲ میکروگرم در لیتر) بود. سطح NOx پس از چهار هفته مسمومیت با سرب  $42/44 \pm 0/78$  میکرومول در لیتر بود که کاهش معنی داری را در مقایسه با گروه کنترل ( $54/1 \pm 2/78$  میکرومول بر لیتر) نشان داد. ادامه مسمومیت با سرب باعث کاهش بیشتر در سطح NOx شد بطوریکه در هفته هشتم این مقدار به  $30/66 \pm 0/68$  میکرومول بر

به گروه کنترل ( $103/24 \pm 2/8$  میلی متر جیوه) افزایش یافت. ادامه مسمومیت با سرب با افزایش بیشتر در فشار خون همراه بود بطوری که پس از هفته هشتم و دوازدهم فشار خون در گروه مسموم بترتیب به  $122/91 \pm 2/62$  و  $129/17 \pm 2/64$  میلی متر جیوه رسید. در گروه مصرف کننده آب معمولی هم فشار خون پس از هفته هشتم و دوازدهم برابر  $102/68 \pm 3/09$  و  $102/39 \pm 2/23$  میلی متر جیوه بود (نمودار). غلظت سرب خون موشهای مسموم با



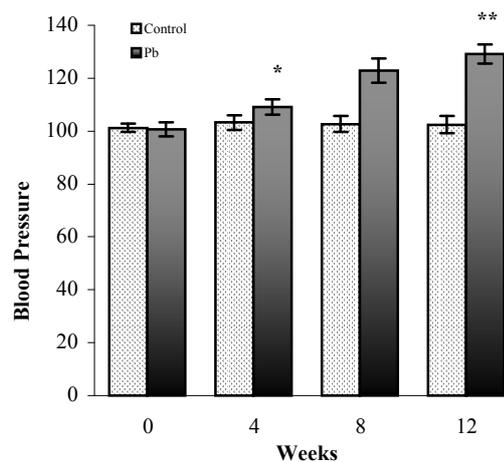
نمودار ۲. اندازه گیری سطح NOx در موشهای تحت آزمایش با استفاده از سنجش Griess/VCI3. انکوباسیون بمدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انجام شد. (\*) اختلاف نسبت به گروه کنترل، (#) اختلاف نسبت به گروه مسموم با سرب در هفته چهارم، (€) اختلاف نسبت به گروه مسموم با سرب در هفته هشتم.

(P<0.05, mean± SEM, n=9)



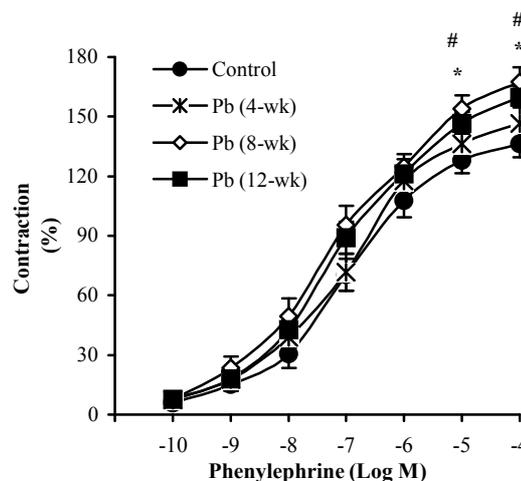
نمودار ۴. اثر استات سرب بر منحنی غلظت- پاسخ کلونیدین حلقه های آئورتی با اندوتلیوم تخریب شده در هفته های چهارم، هشتم و دوازدهم مسمومیت با سرب.

(\*P<0.05, mean± SEM, n=5)



نمودار ۱. اثر استات سرب (۱۰۰ ppm) بر روی فشار خون سیستولی حیوانات مورد آزمایش.

(\*P<0.05, \*\*P<0.01, mean± SEM, n=6)



نمودار ۳. اثر استات سرب بر منحنی غلظت- پاسخ فنیل افرین حلقه های آئورتی با اندوتلیوم سالم در هفته های چهارم، هشتم و دوازدهم مسمومیت با سرب. (\*) اختلاف نسبت به گروه کنترل، (#) اختلاف نسبت به گروه مسموم با سرب در هفته چهارم.

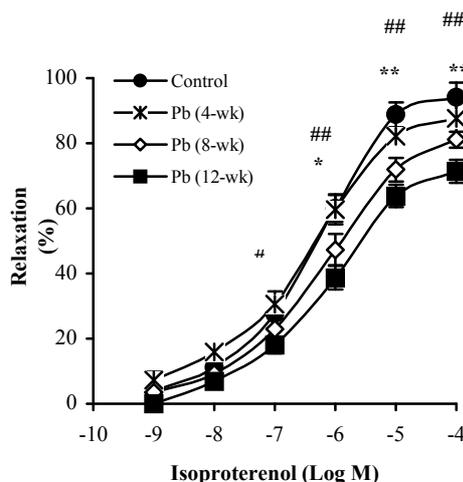
(P<0.05, mean± SEM, n=6)

افزودن ایزوپروترونول بصورت وابسته به دوز باعث جابجائی منحنی غلظت-پاسخ گروه‌های مسموم با سرب بسمت راست و کاهش معنی‌دار در حداکثر پاسخ انقباضی و مقدار  $pD_2$  در گروه هشت هفته‌ای ( $81/08 \pm 2/45$  و  $6/13 \pm 0/08$ ) و دوازده هفته‌ای ( $71/44 \pm 3/55$  و  $6/075 \pm 0/156$ ) مسمومیت با سرب نسبت به گروه کنترل ( $94/14 \pm 5/53$  و  $6/289 \pm 0/02$ ) شد (نمودار ۵).

منحنی‌های غلظت- پاسخ فنیل افرین، کلونیدین و ایزوپروترونول در حضور آنتاگونیست‌های مربوطه یعنی بترتیب پرازوسین، یوهیمین و پروپرانولول بررسی شد. این آنتاگونیست‌ها حداکثر پاسخ انقباضی و  $pD_2$  آگونیست‌های مربوطه را کاهش دادند که نشان می‌دهد پاسخ‌های ایجاد شده از طریق تحریک گیرنده‌های مربوطه بدست آمده است (جدول ۱).

## بحث

سطح پلاسمائی سرب وابسته به غلظت دریافتی و طول زمان مسمومیت می‌باشد. در مطالعه حاضر به علت بالا بودن حجم خون مورد نیاز (۶-۵ میلی لیتر) اندازه‌گیری سطح سرب خون تنها در حیواناتی که ۱۲ هفته از آب آشامیدنی حاوی ۱۰۰ ppm استات سرب استفاده کردند انجام شد. این سطح از مواجهه با سرب در محدوده ای است که انسان‌ها آن را در محیط تجربه می‌کنند و سطوح خونی معادل آنچه در انسان‌ها یافت می‌شود، بدست می‌دهد. (۲۰) سطح سرب در گروه کنترل کمتر از ۲ میکروگرم در دسی لیتر بود که کمتر از مقادیر گزارش شده در جمعیت‌های غیر شهری (۹-۴ میکرو گرم در دسی لیتر) در مواجهه محیطی با سرب بوده است. همچنین سطح سرب خون موش‌های در معرض سرب  $26/84$  میکروگرم در دسی لیتر بود که بیشتر از مقادیر یافت شده در جمعیت‌های ساکن در مناطق شهری (۱۱ میکرو گرم در دسی لیتر) و مشابه یا بیشتر از مقادیر یافت شده در کارگران در معرض سرب (۲۲ میکرو گرم در دسی لیتر) بود. (۶) حیوانات هر هفته به منظور تعیین مقدار داروی مورد نیاز جهت تزریق وزن شدند، با این وجود تغییرات وزن و آب مصرفی حیوانات ثبت نشد. در مطالعه‌ای که قبلاً در راستای



نمودار ۵. اثر استات سرب بر منحنی غلظت- پاسخ ایزوپروترونول در هفته‌های چهارم، هشتم و دوازدهم مسمومیت با سرب در حلقه‌های آئورتی با اندوتلیوم سالم که از قبل با فنیل افرین ( $10^{-6}$  مولار) منقبض شده‌اند. (\*) اختلاف نسبت به گروه کنترل، (#) اختلاف نسبت به گروه مسموم با سرب در هفته چهارم. (\*\*- #  $P < 0.05$ , \*\*- ##  $P < 0.01$  mean  $\pm$  SEM, n=6).

مسمومیت با سرب نشان داد (نمودار ۲). حداکثر پاسخ انقباضی و  $pD_2$  منحنی غلظت پاسخ فنیل افرین در گروه کنترل بترتیب  $6/8$   $\pm 1/36$  و  $6/84 \pm 0/167$  بود که در گروه مسموم با سرب به  $1/46/7 \pm 9/1$  و  $6/93 \pm 0/118$  در هفته چهارم،  $1/67/36 \pm 7/57$  و  $7/14 \pm 0/25$  در هفته هشتم و  $1/59/85 \pm 5/38$  و  $7/07 \pm 0/156$  در هفته دوازدهم رسید. تفاوت معنی‌داری در حداکثر پاسخ انقباضی و  $pD_2$  گروه هشت هفته‌ای و دوازده هفته‌ای مسمومیت با سرب نسبت به گروه کنترل مشاهده شد (نمودار ۳). با وجودی که مسمومیت با سرب منحنی‌های غلظت-پاسخ کلونیدین با اندوتلیوم تخریب شده را به سمت چپ جابجا کرد ولی تفاوت معنی‌داری در حداکثر پاسخ انقباضی و  $pD_2$  گروه‌های کنترل ( $10/4/1 \pm 5/113$  و  $7/21 \pm 0/1$ ) و گروه‌های چهار هفته‌ای ( $93/42 \pm 4/65$  و  $7/2 \pm 0/09$ )، هشت هفته‌ای ( $99/5 \pm 4/7$  و  $7/03 \pm 0/03$ ) و دوازده هفته‌ای ( $100/62 \pm 2/98$  و  $6/8 \pm 0/085$ ) مسمومیت با سرب دیده نشد (نمودار ۴).

مطالعه دیگری سرب فعالیت آنزیم NOS مغزی را بجای تحریک مهار کرد. افزایش غیر فعال شدن NO بوسیله ROS ممکن است بصورت بالقوه باعث کاهش در دسترس بودن NO و منجر به افزایش جبرانی در فعالیت آنزیم NOS شود. (۲۳) حداکثر پاسخ انقباض ناشی از فنیل افرین در هفته هشتم و دوازدهم در موشهای تحت تجربه با سرب بیشتر از گروه کنترل بود (نمودار ۳). در هر دو گروه، انقباضات ناشی از فنیل افرین در حلقه های آئورتی با آندوتلیوم سالم بصورت رقابتی بوسیله پرازوسین مهار شد که نشان می‌دهد این انقباضات به واسطه تحریک گیرنده های آلفا-۱ حاصل شده‌اند. شواهدی وجود دارد که افزایش حساسیت عروقی به عوامل منقبض کننده ممکن است یکی از عوامل متعدد دخیل در افزایش فشار خون باشد. (۲۴) همچنین در مطالعه دیگری، حیوانات تحت آزمایش با سرب توانائی بیشتری در تولید نیرو در پاسخ به متوکسامین و نوراپی نفرین نشان دادند. (۵) این یافته‌ها پیشنهاد می‌کند که فشار خون ناشی از سرب ممکن است در رابطه با افزایش پاسخ‌دهی عروق به تحریک گیرنده‌های آلفا-۱ آدرنرژیک باشد. کلونیدین باعث انقباض حلقه‌های آئورتی با آندوتلیوم سالم شد که به دنبال حذف آندوتلیوم افزایش یافت و در تأیید یافته دیگران نشان می‌دهد که گیرنده های آلفا-۲ آدرنرژیک در هر دو لایه آندوتلیوم و عضله صاف وجود دارند. (۲۵، ۲۶)

در موشهای تحت آزمایش با سرب منحنی‌های غلظت- پاسخ کلونیدین در حلقه‌های آئورتی با آندوتلیوم تخریب شده بطرف چپ جابجا شد و با وجود معنی‌دار شدن پاسخ انقباضی در دوزهای میانی (۰/۱ میکرومول) در هفته دوازدهم، حداکثر پاسخ انقباضی و حساسیت بافتی در هیچ یک از گروه های چهار، هشت و دوازده هفته‌ای سرب تغییر معنی‌داری نیافت (نمودار ۴). با توجه به الگوی وابسته به زمان جابجائی منحنی غلظت- پاسخ کلونیدین به سمت چپ، انتظار می‌رفت تغییرات بارزی در پاسخ به کلونیدین در گروه ۱۲ هفته‌ای مسمومیت با دیده شود. با توجه به روند کاهشی NO طی هفته‌های چهار و هشت و معکوس شدن آن در هفته ۱۲ مسمومیت با سرب، بنظر می‌رسد این تغییرات در سطح NO بر پاسخ کلونیدین نیز

همین طرح تحقیقاتی انجام شد (۱۶)، مواجهه چهار هفته‌ای به همین غلظت از استات سرب تغییری در میزان آب مصرفی و وزن نسبت به گروه کنترل ایجاد نکرد. افزایش معنی‌داری در فشار خون از هفته چهارم به بعد مشاهده شد و با افزایش طول دوره مسمومیت فشار خون افزایش بیشتری یافت بطوری که در پایان هفته دوازدهم به بالاترین حد رسید (نمودار ۱). در مجموع با توجه به یافته های حاضر و نتایج حاصل از دیگر مطالعات (۱۶، ۱۷، ۱۸) می‌توان نتیجه گرفت که مسمومیت با سرب علاوه بر مرحله مزمن در مراحل ابتدائی مسمومیت نیز می‌تواند منجر به افزایش فشار خون شود.

افزایش فشار خون سیستولی در موش های مسموم با سرب با کاهش معنی دار در سطح سرمی NOx در گروه چهار هفته‌ای سرب همراه بود که می‌تواند نشانگر کاهش تولید NO باشد. افزایش بیشتر فشار خون در گروه هشت هفته‌ای سرب با کاهش بیشتر سطح NOx همراه بود که بر نقش NO در بروز فشار خون تاکید می‌کند (نمودار ۲). کاهش NO می‌تواند بعلت کاهش تولید یا افزایش غیر فعال شدن آن باشد و سطح NO تعادل بین تولید آن از طریق NOS و تجزیه اش را که فرایندی تحت تاثیر ROS است، منعکس می‌کند. (۲۱) با توجه به افزایش تولید ROS بدنال مسمومیت با سرب، بنظر می‌رسد غیر فعال شدن NO دلیل اصلی کاهش NOx در این مرحله از مسمومیت با سرب باشد. (۲۲) در گروه دوازده هفته سرب، علیرغم افزایش بیشتر فشار خون روند کاهشی سطح NOx بطور معنی‌داری معکوس شد (نمودار ۲). این احتمال وجود دارد که محرومیت از NO منجر به افزایش فشار خون شود که باوجود طبیعی شدن NO پایدار باقی ماند. از طرفی مکانیسم های دیگری به غیر از NO در تنظیم فشار خون نقش دارند که ممکن است مسئول اصلی پایداری فشار خون در دوره تحت مزمن (دوازده هفته) مسمومیت با سرب باشند. یک مکانیسم فرضی برای بازگشت NOx سرمی به طرف مقادیر نرمال افزایش آنزیم NOS است. در یک مطالعه، سرب باعث افزایش بیان پروتئین NOS آندوتلیایی و تولید NO در سلول‌های آندوتلیال کشت شده گردید. (۱۲) در مقابل، در

بتا کاسته شده باشد. اگرچه نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد که کاهش NO و افزایش انقباض عروقی ناشی از گیرنده‌های آلفا- یک در فشار خون دخیل است، با اینحال کاهش پاسخ‌دهی به گیرنده‌های بتا می‌تواند یک مکانیسم اضافی دیگر در افزایش مقاومت کل محیطی و افزایش بیشتر فشار خون باشد.

**نتیجه‌گیری:** در مجموع می‌توان نتیجه گرفت که فشار خون حتی در مراحل اولیه مسمومیت با مقادیر پایین سرب افزایش می‌یابد و احتمالاً مسیرهایی نظیر مسیر نیتریک اکساید، سیستم رنین- آنژیوتانسین و پاسخ دهی عروقی که در مرحله مزمن فشار خون ناشی از سرب تغییر می‌کنند، در مراحل کوتاه مدت و تحت مزمن مسمومیت با سرب نیز عملکرد داشته باشند.

## References

1. Valencia I, Castillo EF, Chamorro G, Bodadilla RA, Castillo C. Lead induced endothelium and Ca-independent contraction in rat aortic rings. *Pharmacology & Toxicology* 2001; 89: 177-182.
2. Piccinini F, Favalli L, Chiari MC. Experimental investigation on the contraction induced by lead in arterial smooth muscle. *Toxicology* 1997; 8: 43-51.
3. Weiler E, Khalil-Manesh F, Gonick H. Effects of lead and natriuretic hormone on kinetics of sodium potassium ATP<sub>ase</sub>: possible relevance to hypertension. *Environmental Health perspectives* 1998; 78: 113- 115.
4. Tsao DA, Yu HS, Chang HR, Cheng JT, Ho CK. The change of beta-drenergic system in lead- induced hypertension. *Toxicology Applied Pharmacology* 2000; 64: 127-133.
5. Webb RC, Winquist RJ, Victory W, Vander AJ. In vivo and in vitro effects of lead on vascular reactivity

تاثیرگذار باشد. بنابراین بنظر می‌رسد افزایش NO در هفته ۱۲ با تاثیر بر حساسیت گیرنده‌های آلفا- دو از جابجایی بیشتر منحنی غلظت- پاسخ کلونیدین به سمت چپ جلوگیری کرده باشد. حداکثر پاسخ گیرنده‌های آلفا-۱ نیز در هفته ۱۲ نسبت به هفته ۸ کاهش نشان می‌دهد که در تائید فرضیه بالا در مورد اثر NO بر انقباض عروقی ناشی از تحریک گیرنده‌های آلفا است. بنابراین اثر NO بر تنظیم افزایشی گیرنده‌های آلفا-۱ نیاز به بررسی بیشتر دارد.

ایزوپروترونول شلی وابسته به غلظتی را در حلقه هائی که از قبل با فنیل افرین منقبض شده بودند ایجاد کرد. آنتاگونیست غیر انتخابی گیرنده‌های بتا-۱ و بتا-۲ یعنی پروپرانولول منحنی غلظت- پاسخ ایزوپروترونول را بسمت راست جابجا کرد که وجود گیرنده‌های بتا-۱ و بتا-۲ را در عروق تائید می‌کند. (۲۷) در مواجهه با سرب منحنی‌های غلظت- پاسخ ایزوپروترونول در حلقه‌های آئورتی با اندوتلیوم سالم بطرف راست جابجا شد و حداکثر پاسخ انقباضی و حساسیت بافتی در گروه های ۸ و ۱۲ هفته‌ای سرب تغییر معنی‌داری یافت (نمودار ۵). کاهش پاسخ‌دهی عضله صاف عروقی به آگونیست گیرنده‌های بتا در مدل های مختلف فشار خون از جمله فشار خون ناشی از سرب گزارش شده است. (۴) بعلاوه کاهش پاسخ دهی به آگونیست گیرنده‌های بتا با افزایش تون عروقی ناشی از فنیل افرین همراه بوده است. (۲۸) همچنین کاهش ضربان قلب و کاهش تاکیکاردی ناشی از ایزوپروترونول در کارگران در معرض سرب مشاهده شده است که می‌تواند در رابطه با کاهش عملکرد گیرنده های بتا باشد. (۲۹) کاهش پاسخ دهی به آگونیست گیرنده‌های بتا ممکن است با بالا رفتن مقاومت عروقی که در فشار خون اتفاق می‌افتد در ارتباط باشد. افزایش فشار خون با افزایش تخلیه سمپاتیک، افزایش سطح کاتکول آمینهای پلاسما، کاهش تراکم گیرنده‌های بتا و کاهش تولید cAMP عروقی همراه است. (۶) از آنجا که افزایش سطح کاتکول آمین‌های پلاسما در فشار خون ناشی از سرب دیده شده است (۴) ، احتمال دارد در اثر تنظیم کاهشی گیرنده‌های بتا در مواجهه با سطوح بالای کاتکول آمین ها، از تراکم گیرنده های

- in rats. American Journal of Physiology 1981; 214: 211-216.
5. Khalil-Manesh F, Gonick HC, Weiler EJ, Prins B, Weber MA, Purdy R. Lead-induced hypertension: possible role of endothelial factors. American Journal of Hypertension 1993; (6):723-729.
6. Carmignani M, Volpe AR, Boscolo P, Qiao N, Di Gioacchino M, Grilli A. Catecholamine and nitric oxide systems as targets of chronic lead exposure in inducing selective functional impairment. Life Sciences 2000; 68: 401-415.
7. Victory W, Vander AJ, Shulak JM, Schoeps P, Julius S. Lead, hypertension, and the renin-angiotensin system in rats. J Lab Clin Med 1982; 99: 354-362.
8. Victory W, Vander AJ, schoeps P, Germain C. Plasma rennin is increased in young rats exposed to lead in utero and during nursing. Proc Soc Exp Bio Med 1983; 172: 1-7.
9. Carsia RV, Forman D, Hock CE, Nagele RG, Mcillroy PJ. Lead alters growth and reduces angiotensin II receptor density of rat aortic smooth muscle cells. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine 1995; 210: 180-190.
10. Khalil-Manesh F, Gonick HC, Weiler EW, Prins B, Weber MA, Purdy R, Ren Q. Effect of chelation treatment with dimercaptosuccinic acid (DMSA) on lead-related blood pressure changes. Environmental Research 1994; 65: 86-99.
11. Skoczynska A, Stojek E, Gorecka H, Wojakowska A. Serum vasoactive agents in lead-treated rats. Int J Occup Med Environ Health 2003; 16(2): 169-177.
12. Vaziri ND, Ding Y. Effect of lead on nitric oxide synthase expression in coronary endothelial cells. Hypertension 2001; 37: 223-232.
13. Vaziri ND, Ding Y, NI Z and Gonick HC. Altered nitric oxide metabolism and increased oxygen free radical activity in lead-induced hypertension: Effect of lazaroid therapy. Kidney International 1997; 52: 1042-1046.
14. Nakhoul F, Kyne LH and Braut NB. Rapid hypertensinogenic effect of lead: Studies in the spontaneously hypertensive rats. Toxicology and Industrial health 1992; 8(1/2): 89-102.
15. Sharifi AM, Darabi R, Akbarloo N, Larijani B and Khoshbaten A. Investigation of circulatory and tissue ACE activity during development of lead-induced hypertension. Toxicology letters 2004; 3: 233-238.
16. Karimi GR, Khoshbaten A, Abdollahi M, Sharifzadeh M, Namiranian KH, Dehpour AR. Effects of subacute lead acetate administration on nitric oxide and cyclooxygenase pathways in rat isolated aortic ring. Pharmacological Research 2002; 46(1): 31-37.
17. Dehpour AR, Essalat M, Ala S, Ghazi-Khansari M, Ghafourifar P. Increase by NO synthase inhibitor of lead-induced release of N-acetyl-beta-d-glucosaminidase from perfused rat kidney. Toxicology 1999; 132: 119-25.
18. Miranda KM, Espey MG, Wink DA. A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. Nitrite Oxide: Biology and Chemistry 2001; 5(1): 62-71.

19. Purdy RE, Smith JR, Ding Y, Oveisi F, Vaziri ND, Gonick HC. Lead induced hypertension is not associated with altered vascular reactivity in vitro. *American Journal of Hypertension* 1997; 10(9): 1997-1003.
20. Harlan W. The relationship of blood lead level to Prespec 1988; 78: 9-13.
21. Gryglewski RJ, Palmer RMF, Moncada S. Superoxide anion is involved in the breakdown of endothelium-driven relaxing factor. *Nature* 1986; 320: 454-456.
22. Gonick HC, Ding Y, Bondy SC, Ni Z, Vaziri ND. Lead-induced hypertension: interplay of nitric oxide and reactive oxygen species. *Hypertension* 1997; 30: 1487-92.
23. Quinn MR, Harris CL. Lead inhibits Ca-stimulated nitric oxide synthase activity from rat cerebellum. *Neuroscience Letters* 1995; 196: 65-68.
24. Chai S, Webb C. Effects of lead on vascular Reactivity. *Environmental health perspectives* 1988; 78: 85-89.
25. Tejera N, Balfago G, Marin J, Ferrer M. Gender differences in the endothelial regulation of  $\alpha_2$ -adrenoceptor-mediated contraction in the rat aorta. *Clinical Science* 1999; 97: 19-25.
26. Fauaz G, Feres T, Borges AC, Paiva TB. Alpha-2 adrenoceptors are present in rat aorta smooth muscle cells, and their action is mediated by ATP-sensitive K<sup>+</sup> channels. *British Journal of Pharmacology* 2000; 131: 788 -794.
27. Conde MV, Marin J, Fernandez-Criado C, Balfago G. Regulation of  $\beta$ - adrenoceptor-mediated relaxation of the rat aorta is modulated by endogenous ovarian hormones. *Clinical Science* 2000; 98: 381-387.
28. Michel MC, Brodde OE, Insel PA. Peripheral adrenergic receptors in hypertension. *Hypertension* 1990; 16: 107-120.
29. Bertel O, Buhler FR, Ott J. Lead-induced hypertension: blunted beta-adrenoceptor-mediated functions. *Br Med J* 1978; 4: 551.