جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مجله پزشکی کوثر
دوره ۱۳، شماره ۲، تابستان ۱۳۸۷
صفحات: ۱۰۲-۹۵

اثر دریافت اسکوربیک اسید بر میزان متابولیت‌های نیتریک اکساید و فشارخون سیستولی بدنبال مواجهه با سرب در موش بزرگ آزمایشگاهی

محمد امانی[✍] M.Sc، علی نوروززاده[*] M.Sc، علیرضا عسگری[**] Ph.D، علی خوش باطن[*] Ph.D

چکیده

هدف: مواجهه مداوم با سطوح پائین سرب باعث افزایش فشارخون در انسان و نمونه‌های حیوانی میگردد. فشارخون ناشی از سرب تا حدودی با افزایش تولید رادیکال‌های آزاد و عوامل اکسیدان نظیر ROS و کاهش نیتریک اکساید (NO) در دسترس ارتباط دارد. در این مطالعه تأثیر دریافت اسکوربیک اسید (ویتامین C) را بعنوان یک آنتی اکسیدان بر میزان متابولیتهای نیتریک اکساید و فشارخون سیستولی بدنبال مواجهه با سرب بررسی کردیم.

مواد و روشها: موشهای صحرائی نر نژاد Wistar با وزن تقریبی ۲۵۰-۲۰۰ گرم در چهار گروه کنترل، گروه مصرف کننده استات سرب (۱۰۰ ppm در آب آشامیدنی)، گروه مصرف کننده استات سرب (۱۰۰ ppm در آب آشامیدنی) بعلاوه اسکوربیک اسید (یک گرم در لیتر آب آشامیدنی) و گروه مصرف کننده اسکوربیک اسید (یک گرم در لیتر آب آشامیدنی) تقسیم بندی شدند. اندازه گیری فشارخون سیستولی با استفاده از دستگاه اسفیگمومانومتر PE300 از ناحیه دم حیوان انجام گرفت.اندازه گیری میزان نیتریک اکساید سرم بصورت غیر مستقیم و از طریق اندازه گیری متابولیتهای پایدار آن یعنی نیترات و نیتریت کل (NOx) به روش اسپکتروفوتومتری و با استفاده از واکنش گریس (Griess) انجام گرفت.

یافته‌ها: پس از دوازده هفته مصرف استات سرب بطور معنی داری فشارخون سیستولی را نسبت به گروه کنترل افزایش داد. دریافت اسکوربیک اسید مانع از افزایش فشارخون سیستولی بدنبال مواجهه با سرب گردید بطوریکه اختلاف معنی داری نسبت به گروه کنترل وجود نداشت. میزان NOx سرم در گروه مصرف کننده استات سرب کاهش معنی داری نسبت به گروه کنترل نشان داد، در حالیکه در گروههایی که علاوه بر استات سرب اسکوربیک اسید نیز دریافت کرده بودند اختلاف معنی داری در میزان NOx سرم نسبت به گروه کنترل مشاهده نشد.

نتیجه گیری: نتایج این مطالعه نشان میدهد که دریافت اسکوربیک اسید میتواند با مکانیسم جلوگیری از کاهش میزان NOx سرم مانع از افزایش فشارخون ناشی از سرب گردد.

واژه‌های کلیدی: اسکوربیک اسید، نیتریک اکساید، فشارخون، سرب

دریافت:۸۷/۴/۸ پذیرش:۸۷/۶/۱۱

✍نویسنده مسئول: گروه فیزیولوژی و بیوفیزیک، مرکز آسیب های شیمیایی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)
* گروه فیزیولوژی و بیوفیزیک، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)
** گروه فیزیولوژی و بیوفیزیک، مرکز آسیب های شیمیایی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

۱. مقدمه

مواجهه مزمن با سطوح پائین سرب باعث افزایش پایدار فشارخون در انسان و نمونه‌های حیوانی میگردد که حتی بعد از مواجهه با سرب نیز باقی می ماند (۲و۱). هیپرتانسیون ناشی از سرب ارتباط زیادی با استرس اکسیداتیو و افزایش تولید ROS (Reactive Oxygen Species) توسط سرب دارد، مواجهه با سرب حتی در دوزهای پایین باعث افزایش تولید رادیکال‌های آزاد نظیر یون سوپراکسید، پراکسید هیدروژن، رادیکال اکسیژن و رادیکال هیدروژن می شود (۵-۳). استرس اکسیداتیو از طریق غیر فعال نمودن نیتریک اکساید (NO) بوسیله ROS نقش اصلی را در ایجاد بیماری هیپرتانسیون ناشی از سرب ایفاء می کند. کاهش استرس اکسیداتیو با استفاده از آنتی اکسیدان‌ها می تواند باعث کاهش فشار خون و افزایش نیتریک اکساید (NO) در هیپرتانسیون ناشی از سرب شود (۷و۶). اسکوربیک اسید (ویتامین C) یک آنتی اکسیدان مهم در پلاسما و غشاهای سلولی محسوب می شود، این ویتامین محلول در آب بوده است و در میوه وسبزیجات به مقدار زیاد وجود دارد، اسکوربیک اسید می تواند رادیکال‌های آزاد بویژه یون سوپراکسید را از محیط بردارد و نیتریک اکساید (NO) را از طریق محافظت از آن در برابر اکسیداسیون و نیز بالابردن میزان سنتز آن از طریق افزایش فعالیت eNOS (endothelial Nitric Oxide Synthase) افزایش دهد. اسکوربیک اسید همچنین ممکن است باعث کاهش حساسیت عروقی به نوراپی نفرین و افزایش گشادی عروقی وابسته به اندوتلیوم از طریق افزایش میزان نیتریک اکساید شود (۱۲-۸).

با توجه به نقش رادیکال‌های آزاد در ایجاد فشار خون ناشی از سرب، بکارگیری یک آنتی اکسیدان میتواند در کاهش فشار خون ناشی از مواجهه با سرب مفید باشد. در مطالعه حاضر تأثیر اسکوربیک اسید به عنوان یک آنتی اکسیدان بر تغییرات فشار خون ناشی از اثرات کوتاه مدت (۸ و۴ هفته) و تحت مزمن (۱۲هفته) مواجهه با غلظت پایین استات سرب (۱۰۰ppm) و نیز تغییرات سطح متابولیت‌های نیتریک اکساید (NO) یعنی نیتریت و نیترات کل (NOx) و نیز تغییرات وزن حیوانات بررسی شده است.

۲. مواد و روش‌ها:

در این مطالعه موش‌های صحرائی نر نژاد Wistar با وزن تقریبی ۲۵۰-۲۰۰ گرم استفاده شدند. حیوانات بطور تصادفی در چهار گروه مختلف کنترل (CNTL)، گروه دریافت کننده اسکوربیک اسید (AA)، گروه دریافت کننده استات سرب (Ld) و گروه دریافت کننده استات سرب به علاوه اسکوربیک اسید (Ld+AA) قرار گرفتند. با توجه به نتایج مطالعات قبلی اسکوربیک اسید با غلظت ۱ گرم در لیتر و استات سرب با غلظت ۱۰۰ ppm بصورت محلول در آب آشامیدنی به حیوانات مورد نظر داده شد. گروه دریافت کننده اسکوربیک اسید از آب آشامیدنی حاوی اسکوربیک اسید با غلظت ۱ گرم در لیتر استفاده می نمودند. گروه دریافت کننده استات سرب از آب آشامیدنی حاوی ۱۰۰ ppm استات سرب مصرف می کردند و گروه دریافت کننده استات سرب به علاوه اسکوربیک اسید از آب آشامیدنی حاوی اسکوربیک اسید با غلظت ۱ گرم در لیتر و استات سرب با غلظت ۱۰۰ ppm استفاده می نمودند. تغییرات میزان متابولیت‌های نیتریک اکساید (NO) یعنی نیترات و نیتریت کل (NOx) و میزان فشار خون و نیز تغییرات وزن حیوانات در گروههای مختلف آزمایشی در شروع آزمایش و در هفته‌های چهارم، هشتم و دوازدهم اندازه گیری شدند و میزان اسکوربیک اسید سرم در گروههای مختلف آزمایشی نیز اندازه گیری گردید.

حیوانات در شرایط یکسان و دمای مناسب حیوانخانه و شرایط تاریکی- روشنایی ۱۲ ساعته و دسترسی آسان به آب و غذا نگهداری شدند. حیواناتی که برای اندازه گیری میزان NOx استفاده می شدند برای اندازه گیری فشارخون استفاده نشدند و برای آزمایش اندازه گیری فشار خون از حیوانات جداگانه ای استفاده شد.

۲. ۱. اندازه گیری فشار خون

اندازه گیری میزان فشار خون حیوانات قبل از شروع داروهای مصرفی و سپس در هفته‌های چهارم، هشتم و دوازدهم انجام شد، به این صورت که ابتدا حیوان با استفاده از ترکیب کتامین و گزیلازین (به ترتیب ۵۰ و ۷ میلی گرم به ازای هر کیلو گرم وزن بدن) بیهوش و سپس فشار خون سیستولی با استفاده از دستگاه فیزیوگراف نارکو MKIII اندازه گیری شد.

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

۲. ۲. اندازه گیری میزان نیتریک اکساید

اندازه‌گیری نیتریک اکساید بطور غیر مستقیم و از طریق اندازه‌گیری متابولیت‌هـای پایدار آن یعنی نیتـرات و نیتریت کل (NOx) انجام گرفت. همبستگی بالایی میان تولید نیتریک اکساید در بدن و سطح نیتـرات و نیتریت کل (NOx) در سـرم، پلاسـما و ادرار وجود دارد (۱۳). رایـج ترین روش اندازه گیـری متابولیت‌ها، روش کالریمتری با اسـتفاده از واکنش گریس اسـت، اساس این واکنش تشکیل یک کروموفور از دی آزوتاسـیون یک سولفانیل آمید به کمک نیتریت در محیط اسـیدی و ترکیب آن با یک آمین دوحلقه‌ای مثل NEDD (N-(1-naphthyl) ethylenediamine dihydroChloride) است (۱۴). در ایـن مطالعه نیترات موجود در نمونه‌ها با اسـتفاده از کلرید وانادیوم (III) (VCl_3) به نیتریت تبدیل شد، سپس از دی آزوتاسیون سـولفانیل آمید به کمک نیتریت در محیط اسـیدی و کونژوگاسیون آن بـا آمین دوحلقه ای NEDD، ماده رنگی تولید و جذب نوری آن در طول موج ۵۴۰ نانومتر خوانده شد و با استفاده از منحنی استاندارد به دست آمده غلظت نمونه‌ها محاسبه گردید (۱۵).

۲. ۳. اندازه گیری میزان اسکوربیک اسید

برای اندازه گیری میزان اسـکوربیک اسـید سـرم ابتدا اسکوربیک اسید توسـط Cu^{2+} به دهیدرواسکوربیک اسید اکسید شد و سپس با ترکیـب حلقوی دی نیترو فنیل هیدرازین در حالت اسـیدی واکنش داده و ماده رنگی را تشـکیل شـد که در طول مـوج ۵۲۰ نانومتر با اسپکتروفتومتر قابل اندازه گیری بود (۱۶).

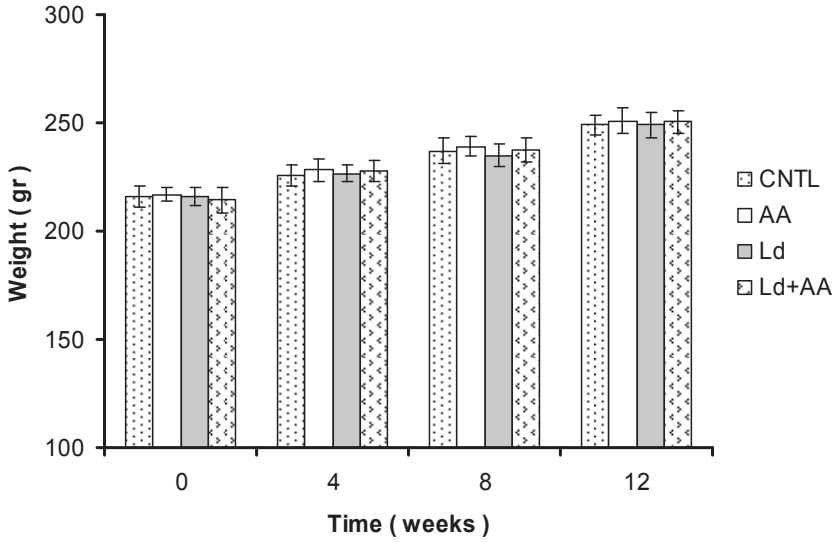
۳. روش آنالیز داده‌ها:

در ایـن مطالعـه به منظور مقایسـه میانگین داده‌هـا در هر گروه با گـروه کنترل از آنالیـز واریانس یکطرفـه (ANOVA) و بدنبال آن پس آزمون Tukey-HSD اسـتفاده شد. برای مقایسه میانگین یک گروه در هفته‌های مختلف با یکدیگر از repeated measurement استفاده شد. نتایج بصورت Mean ± SEM بیان شده و $P<0.05$ به عنوان مرز معنی داری تفاوت‌ها در نظر گرفته شد.

٤. نتایج:

٤. ۱. وزن حیوانات

وزن حیوانـات در شـروع آزمایش و در هفته‌های چهارم، هشـتم و دوازدهم در گروههای مختلف آزمایشی تفاوت معنی داری نسبت به گروه کنترل نداشـته است و دریافت استات سرب و اسکوربیک اسید بر وزن حیوانات بی تأثیر بود (شکل ۱).



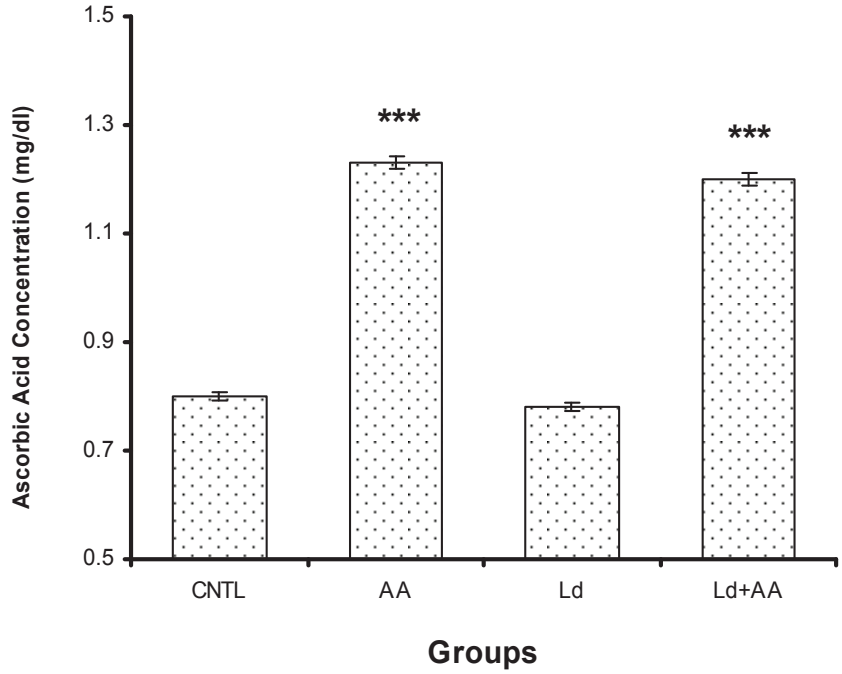
شکل ۱: وزن حیوانات گروههای مختلف آزمایشی قبل از شروع داروها و در هفته‌های چهارم، هشتم و دوازدهم آزمایش.

٤. ۲. اسکوربیک اسید

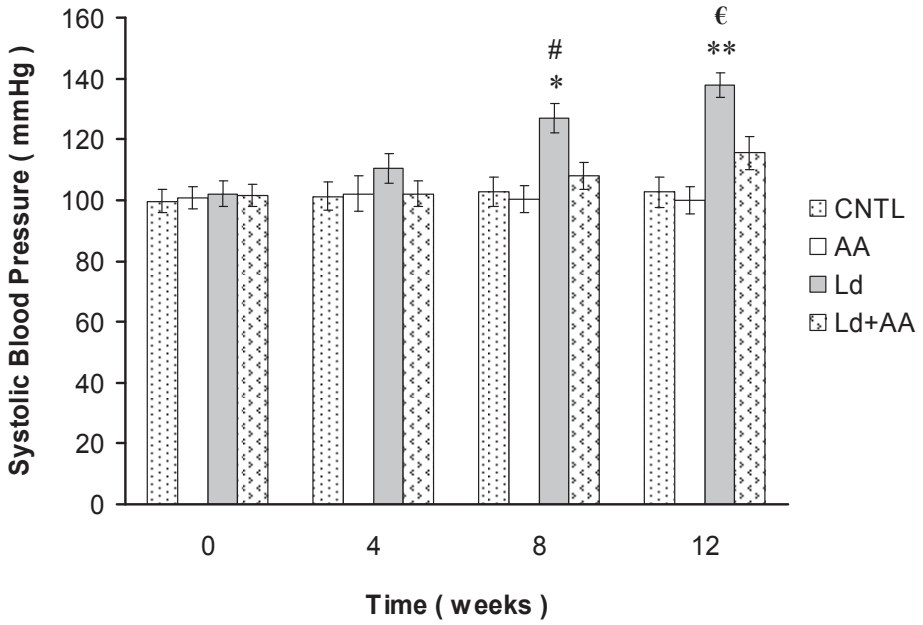
میزان اسکوربیک اسید سرم در گروه دریافت کننده اسکوربیک اسید در هفته دوازدهم برابر ۱/۲۳±۰/۰۱ میلی گرم در دسی لیتر بود که افزایش معنی داری (P<0.001) را نسبت به گروه کنترل نشان داد و این میزان درگروه مصرف کننده استات سرب به همراه اسکوربیک اسید در هفته دوازدهم برابر ۱/۲±۰/۰۱ میلی گرم در دسی لیتر بود و افزایش معنی داری (P<0.001) را در میزان اسکوربیک اسید سرم نسبت به گروه کنترل و گروه دریافت کننده استات سرب نشان داد. سطح اسکوربیک اسید سرم در گروه دریافت کننده اسکوربیک اسید و درگروه دریافت کننده استات سرب و اسکوربیک اسید نزدیک به هم بود و تفاوت معنی داری نداشت. میزان اسکوربیک اسید سرم در گروه کنترل و گروه دریافت کننده استات سرب به ترتیب برابر ۰/۸±۰/۰۰۸ و ۰/۷۸±۰/۰۰۷ میلی گرم در دسی لیتر بود (شکل ۲).

٤. ۳. فشارخون

فشارخون گروه مصرف کننده استات سرب قبل از شروع آزمایش برابر ۱۰۲/۱۴±۴/۳۸ میلی متر جیوه بود که در پایان هفته چهارم علیرغم افزایش فشارخون (۱۱۰/۲۸±۴/۸۸ میلی متر جیوه) در گروه استات سرب اختلاف معنی داری نسبت به فشارخون گروه کنترل (۱۰۱/۲۸±۴/۵۵ میلی متر جیوه) مشاهده نگردید. ادامه مصرف استات سرب باعث افزایش بیشتر فشارخون گردید بطوریکه در هفته هشتم اختلاف معنی داری (P<0.05) بین فشارخون گروه مصرف کننده استات (۱۲۷/۱۴±۴/۸۳ میلی متر جیوه) و گروه کنترل (۹۰/۴±۱۰۲/۸۵ میلی متر جیوه) وجود داشت. فشارخون گروه مصرف کننده استات سرب در هفته دوازدهم به ۱۳۷/۸۵±۴/۱۴ میلی متر جیوه افزایش یافت که افزایش معنی داری (P<0.01) را نسبت به فشارخون گروه کنترل (۱۰۲/۵۷±۵/۰۴ میلی متر جیوه) نشان می داد. در گروههایی که علاوه بر استات سرب، اسکوربیک اسید نیز



شکل ۲: میزان اسکوربیک اسید سرم در گروههای مختلف آزمایشی (هفته دوازدهم).
(*) اختلاف نسبت به گروه کنترل، (***: P< 001 Mean ± S.E.M , n =7)



شکل ۳: میزان فشار خون سیستولی در گروههای مختلف آزمایشی. (*) اختلاف نسبت به گروه کنترل، (#) اختلاف نسبت به گروه استات سرب در هفته چهارم، (€) اختلاف نسبت به گروه استات سرب در هفته هشتم
(*,#,€:P<0.05,**: P<0.01 Mean±SEM, N=7)

دریافت کرده بودند اختلاف معنی داری در فشارخون سیستولی نسبت به گروه کنترل مشـاهده نگردید. همچنین بین فشارخون گروههایی که فقط از اسـکوربیک اسید اسـتفاده می نمودند و فشارخون گروه کنترل تفاوت معنی داری وجود نداشت (شکل ۳).

٤. ٤. نیتریک اکسید

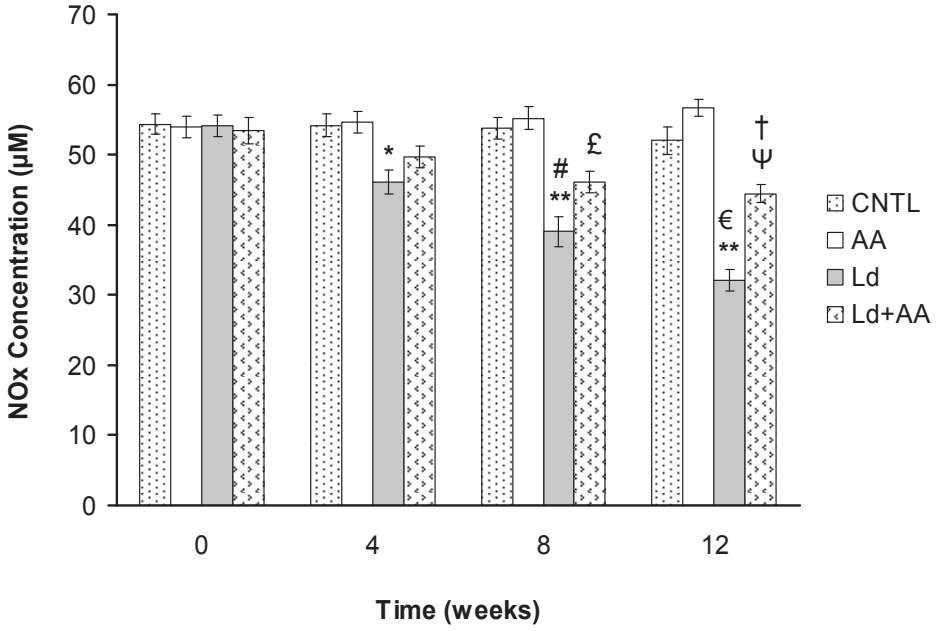
میـزان NOx درگروه مصرف کننده اسـتات سـرب در هفته چهارم برابـر ۱/۶۹±۴۶/۰۵ میکرومول در لیتـر بود که کاهش معنی داری (P<0.05) نسـبت به میـزان NOx گروه کنتـرل (۱/۶۳±۵۴/۱۸ میکرومول در لیتر) داشـت. ادامه مصرف استات سرب باعث کاهش بیشـتر NOx گردید بطوریکه به صـورت معنی داری (P<0.01) در هفته هشتم به ۲/۱۰±۳۹/۰۳ میکرومول در لیتر و درهفته دوازدهم به ۱/۵۷±۳۲/۱۲ میکرومول در لیتر کاهش یافت.

میزان NOx در گروههایی که علاوه بر اسـتات سرب، اسکوربیک اسـید نیز دریافت کرده بودند نسـبت به گروه کنتـرل تغییر چندانی نداشت و تفاوت معنی داری نشان نداد. همچنین بین میزان NOx در گروههایی که فقط اسکوربیک اسید دریافت کرده بودند و گروههای کنترل اختلاف معنی داری وجود نداشت (شکل ۴).

بحث و نتیجه‌گیری:

مطالعه حاضر نشـان می‌دهد که دریافت اسـکوربیک اسید می‌تواند از طریق جلوگیری از اکسیداسـیون NO بوسیله عوامل ROS مانع از بروزفشـارخون بالای ناشی از سرب گردد. در این مطالعه دریافت اسـتات سرب و اسکوربیک اسـید بصورت محلول در آب آشامیدنی هیچ تأثیری برمیزان آب مصرفی و دریافت غذا و وزن حیوانات مورد آزمایش نداشت. در مطالعه ای که توسط کریمی و همکاران (۱۹۹۸) انجام شد نتایج مشابهی بدست آمده است (۱۷).

در مطالعه حاضر فشـارخون سیستولی در گروه دریافت کننده استات سـرب در هفته چهارم اگرچه افزایش یافت ولی این تغییر نسبت به گروه کنترل معنی دار نبود. ادامه مصرف استات سرب باعث افزایش فشـارخون در هفته‌های هشتم و دوازدهم گردید، بطوریکه در هفته دوازدهم فشـارخون نسبت به هفته هشتم نیز افزایش معنی داری را نشـان می داد و این نتایج مشابه نتایج تحقیقات Ding و همکاران



شـکل ٤: میزان غلظت متابولیت‌های نیتریک اکسـید (NOx) سـرم در گروههای مختلف آزمایشی. (*) اختلاف نسبت به گروه کنترل، (#) اختلاف نسبت به گروه اسـتات سـرب در هفته صفر، (€) اختلاف نسـبت به گروه استات سرب در هفته چهارم، (£) اختلاف نسـبت به گروه مصرف کننده استات سرب بعلاوه اسکوربیک اسـید در هفته صفر، (†) اختلاف نسـبت به گروه مصرف کننده اسـتات سرب بعلاوه اسکوربیک اسید در هفته چهارم، (Ψ) اختلاف نسبت به گروه استات سرب در هفته دوازدهم (*,#,£:P<0.05, **,€,†,Ψ:P<0.01 Mean±SEM, N=7)

(۱۹۹۸) بود (۱۸). در این مطالعه دریافت اسـکوربیک اسید با غلظت یک گرم در لیتر در آب آشامیدنی مانع از افزایش معنی دار فشارخون بدنبال مصرف اسـتات سـرب در هفته‌های هشـتم و دوازدهم شده اسـت. هر چند در ظاهر چنین به نظر می رسد که این ممانعت بطور کامل صورت نگرفته اسـت، اما در نهایـت اختلاف معنی داری بین فشـارخون گروه دریافت کننده استات سرب بعلاوه اسکوربیک اسید و فشارخون گروه کنترل مشاهده نگردید.

در مطالعه حاضر میزان NOx سـرم در گروه دریافت کننده سرب در هفته چهارم کاهش معنی داری نسبت به گروه کنترل داشت و میزان NOx در هفته‌های هشـتم و دوازدهم کاهش بیشتری داشته است، بطوری که بیشترین کاهش میزان NOx را در هفته دوازدهم شاهد بودیم. میزان NOx در هفته چهارم در گروهی که علاوه بر اسـتات سـرب، اسکوربیک اسید نیز دریافت کرده بودند اختلاف معنی داری نسبت به گروه کنترل نداشت و اسکوربیک اسید مانع از کاهش میزان NOxدر هفته چهارم گردید. در هفته‌های هشـتم و دوازدهم نیز اگر چه میزان NOx در گروههای دریافت کننده اسـتات سـرب بعلاوه اسکوربیک اسید نسبت به گروه کنترل اختلاف دارد ولی به نظر می رسـد مصرف اسکوربیک اسید تا حدودی توانسته است که از کاهش بیـش از اندازه میزان NOx جلوگیری نماید بطوریکه اختلاف معنی داری بین گروه اسـتات سرب بدون مصرف اسکوربیک اسید و گروه مصرف کننده استات سـرب به همراه اسکوربیک اسید مشاهده می شـود. با این وجود در این مطالعه دریافت اسکوربیک اسید نتوانست بطور کامل مانع از کاهش NOx ناشی از مصرف استات سرب شود، زیرا کاهش معنی داری در میزان NOx گروه دریافت کننده اسـتات سرب بعلاوه اسکوربیک اسید در هفته هشتم نسبت به میزان NOx گروه دریافت کننده اسـتات سـرب بعلاوه اسکوربیک اسید در زمان شـروع آزمایش وجود داشت. همینطور کاهش معنی داری در میزان NOx گروه دریافت کننده اسـتات سرب بعلاوه اسکوربیک اسید در هفته دوازدهم نسـبت به میزان NOx گروه دریافت کننده اسـتات سرب بعلاوه اسکوربیک اسید در هفته چهارم مشاهده شد.

در مطالعات اخیر ارتباط زیادی بین سطح سرب خون و بیماری فشارخون نشان داده شده است، فشارخون بالا در هر دو حالت حاد و مزمن مواجهه با سرب گزارش شده است. در بسیاری از مطالعات مواجهه مزمن با سطوح پایین سرب باعث افزایش پایدار در فشارخون شده است (۲۰و۱۹و۱). فشارخون ناشی از سرب ارتباط زیادی با افزایش تولید رادیکالهای آزاد و تغییرات در متابولیسم نیتریک اکساید دارد (۲۲و۲۱). همچنین چنین استنباط می شود که تغییرات در میزان نیتریک اکساید خون تنها عامل دخیل در ایجاد فشارخون ناشی از سرب نبوده است و عوامل دیگری غیر از نیتریک اکساید از قبیل تغییر در فعالیت ACE و یا تغییر در میزان آنژیوتانسین II (Ag II)، EDCF ، اندوتلین و تغییرات پاسخدهی عروقی می‌توانند دخیل باشند (۲۴و۲۳).

نتایج این مطالعه نشان میدهد که احتمالاً یکی از مکانیسم‌های عمده دخیل در فشارخون ناشی از سرب کاهش در میزان نیتریک اکساید در دسترس بوده است و دریافت اسکوربیک اسید میتواند از طریق مهار اکسیداسیون نیتریک اکساید و در نتیجه افزایش میزان نیتریک اکساید در دسترس مانع از فشارخون بالای ناشی از سرب گردد.

References:

1. Sharp DS, Becker CE, Smith AH. Cronic low-level lead exposure. Its role in the pathogenesis of hypertension. Med Toxicol 1987; 2: 210-32.

2. Harlan WR. The relationship of blood lead levels to blood pressure in the U.S. population. Environ Health Perspect 1988; 78: 9-13.

3. Vaziri ND. Pathogenesis of lead-induced hypertension: Role of oxidative stress. J Hypertension 2002;20: 15-20.

4. Zhenmin NI, Stephen Hou, Cyril H, Nosratola DV. Lead exposure raises superoxide and hydrogen peroxide in human endothelial and vascular smooth muscle cells. Kidney International 2004; 66: 2329-36.

5. Ding Y, Gonick HC, Vaziri ND. Lead-induced hypertension: Increased hydroxyl radical production. Am J Hypertension 2001; 14: 169-73.

6. Vaziri ND, Liang K, Ding Y. Increased nitric oxide inactivation by reactive oxygen species in lead-induced hypertension. Kidney International 1999; 56: 1492-8.

7. Gurer H, Ercal N. Can antioxidants be beneficial in the treatment of lead poisoning? Free Radic Biol Med 2000; 29: 927-45.

8. Padayatty SJ, Katz A, Wang Y, Eck P, Kwon O, Lee J, et al. Vitamin C as an antioxidant: Evaluation of its role in disease prevention. J Am College Nutr 2003; 22: 18-35.

9. Annong H, Joseph A, Richard C, John F, Keaney J. Ascorbic acid enhances endothelial nitric oxide synthase activity by in creasing intra cellular terahydrobiopterin. J Biol Chem 2000; 275: 17399-406.

10. Newaz MA, Yousefipour Z, Nawal N. Modulation of nitric oxide synthase activity in brain, liver, and blood vessels of spontaneously hypertensive rats by ascorbic acid: protection from free radical injury. Clin Exp Hypertens 2005; 27: 497-508.

11. Uscio L, Milstien S, Richardson D, Smith L, Katusic Z. Long-term vitamin C treatment increases vascular tetrahydrobiopterin levels and nitric oxide synthase activity. Circ Res 2003; 92: 88-95.

12. Ettarh R, Odigie I, Adigun S. Vitamin C lowers blood pressure and alters vascular responsiveness in salt-induced hypertension. Can J Physiol Pharmacol 2002; 80: 1199-200.

13. Granger D, Taintor R, Boockvar K, Hibbs J. Measurement of nitrate and nitrite in biological

samples using nitrate reductase and Griess reaction. Methods Enzymol 1996; 268: 142-51.

14. Sun J, Zhang X, Broderick M, Fein H. Measurement of nitric oxide production in biological systems by using Griess reaction assay. Sensors 2003; 3: 276-84.

15. Miranda KM, Espey MG, Wink DA. A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. Nitric Oxide 2001; 5: 62-71.

16. Roe JH. Ascorbic acid. In: The Vitamins. Gyorgy P and Pearson WN. New York, Acad Press; 1976. pp. 27-51.

17. 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. Pharmacol Res 2002; 46: 31-7.

18. Ding Y, Vaziri ND, Gonick HC. Lead induced hypertension: Response to sequential infusions of L-arginine, superoxide dismutase and nitroprusside. Environ Res 1998; 76: 107-13.

19. Sharp DS, Osterloh J, Becker CE, et al. Blood pressure and blood lead concentration in bus drivers. Environ Health Perspect 1998; 78:131-7.

20. Nowack R, Wiecek A, Exner B, Gretz N, Ritz E. Chronic lead exposure in rats: Effects on blood pressure. Eur J Clin Invest 1993; 23: 433-43.

21. Kasperczyk S, Birkner E, Kasperczyk A, Zalejska J. Activity of superoxide dismutase and catalase in people protractedly exposed to lead compounds. J Ann Agric Environ Med 2004; 11: 291-6.

22. Vaziri ND, Ding Y, Ni Z, et al. Altered nitric oxide metabolism and increased oxygen free radical activity in lead-induced hypertension: Effect of lazaroid therapy. Kidney Int 1997; 52: 1042-6.

23. Sharifi AM, Darabi R, Akbarloo N, Larijani B, Khoshbaten A. Investigation of circulatory and tissue ACE activity during development of lead-induced hypertension. Toxicol lett 2004; 153: 233-8.

24. Heydari A, Norouzzadeh A, Khoshbaten A, Asgari A, ghasemi A, Najafi S, badalzadeh R. Effects of short-term and subchronic lead poisoning on nitric oxide metabolites and vascular responsiveness in rat. Toxicol lett 2006; 166: 88-94.