

بررسی اثر کارواکرول بر فشارخون و تعداد سلول‌های خونی در رت‌های مسموم شده با سرب

فاطمه زارع مهرجردی^{۱*}، سمیه نیک‌نظر^۲ و آزاده شاهرخی راسینی^۳

*۱- نویسنده مسئول، استادیار، مرکز تحقیقات زیست پزشکی اعصاب، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی، یزد، ایران
پست الکترونیک: mehzaref@gmail.com

۲- استادیار، مرکز تحقیقات اختلالات شنوایی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی، تهران، ایران

۳- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی، مرکز تحقیقات زیست پزشکی اعصاب، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی، یزد، ایران

تاریخ دریافت: مرداد ۱۳۹۶

تاریخ اصلاح نهایی: اردیبهشت ۱۳۹۷

تاریخ پذیرش: اردیبهشت ۱۳۹۷

چکیده

مسمومیت با سرب باعث به هم خوردن تعادل اکسیدان و آنتی‌اکسیدان‌ها می‌شود که می‌تواند عامل بسیاری از اثرات سمی سرب بر ارگان‌های مختلف، به‌ویژه سیستم قلبی عروقی باشد. از سویی کارواکرول که از ترکیب‌های اصلی گیاه آویشن است دارای خواص متنوعی از جمله خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. هدف اصلی این مطالعه بررسی اثر کارواکرول بر فشارخون و برخی از پارامترهای خونی در رت‌های مسموم شده با سرب بود. در این مطالعه تعداد ۴۰ رأس رت نر نژاد ویستار به‌طور تصادفی در ۵ گروه قرار گرفتند که شامل: گروه اول گروه کنترل سالم، گروه دوم گروه مسموم شده با سرب و گروه سوم گروه مسموم شده با سرب که دوزهای ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کارواکرول را روزانه دریافت کردند. فشارخون هر هفته به‌وسیله یک پلتیسموگرافی دمی که به رایانه متصل بود، اندازه‌گیری شد. در پایان آزمایش، نمونه خون برای بررسی برخی از پارامترهای خونی (WBC, Hct, Hb, RBC) گرفته شد. افزایش معنی‌داری در میزان فشارخون متوسط از روز ۲۱ مطالعه در رت‌های مسموم شده با سرب نسبت به گروه کنترل مشاهده گردید. کارواکرول باعث کاهش فشارخون در رت‌های مسموم شده با سرب شد. این کاهش در سراسر دوره آزمایش ادامه داشت. کاهش معنی‌داری در بعضی از پارامترهای خونی (WBC, HCT, HB, RBC) در رت‌های مسموم شده با سرب مشاهده شد و کارواکرول از این تغییرات در رت‌های مسموم شده با سرب جلوگیری کرد. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که کارواکرول احتمالاً در کاهش برخی از تغییرات ایجاد شده به‌وسیله سرب در سیستم قلبی عروقی مؤثر است.

واژه‌های کلیدی: استات سرب، کارواکرول، فشارخون، ارزیابی بیوشیمیایی سلول‌های خونی.

مقدمه

سرب یکی از فلزات سنگین است که در همه جا یافت می‌شود. فعالیت‌های انسانی به‌ویژه استفاده از این فلز در صنایع باعث اضافه شدن این فلز به محیط شده است (Wani *et al.*, 2015). سرب به آهستگی و به‌طور مداوم از طریق

دستگاه تنفس و گوارش جذب می‌شود، حتی در ترکیب‌های غیر آلی در مقادیر کم از طریق پوست نیز جذب می‌گردد (Rabinowitz, 1991). سرب بعد از جذب به پروتئین‌های گلبول قرمز به‌ویژه به هموگلوبین متصل می‌شود. این ماده ابتدا در بافت‌های نرم توزیع می‌شود، سپس به جای کلسیم

یک آنتی‌اکسیدان قوی برابر ترکیب‌های آنتی‌اکسیدان مانند اسکوربیک اسید، بوتیل هیدروکسیل تولوئن و ویتامین E شناخته شده است (Ruberto et al., 2000؛ Jayakumar et al., 2012). مطالعات نشان داده‌اند که مونوترین‌ها دارای خواص مختلف دارویی از جمله ضدقارچ، ضدباکتری، آنتی‌اکسیدان، ضدسرطان و ضداسپاسم هستند. مونوترین‌ها نقش مهارکننده شیمیایی در سرطان دارند که این کار را از طریق مهار متاستاز و به‌وسیله القاء آنزیم‌هایی که بر روی سوخت و ساز نقش دارند اعمال می‌کنند (Ruberto et al., 2000؛ Jayakumar et al., 2012). علاوه بر فعالیت‌های توصیف شده در بالا مونوترین‌ها همچنین اثرات قابل توجهی در سیستم قلبی و عروقی دارند که شامل گشادی رگ، کاهش ضربان قلب و کاهش فشارخون می‌باشد (Santos et al., 2011). با توجه به اثرات سرب در ایجاد فشارخون و تغییر در سلول‌های خونی و نقش مفیدی که کارواکرول بر سیستم قلبی-عروقی به‌ویژه فشارخون داشته است، در این مطالعه برای اولین بار اثر کارواکرول بر فشارخون و تغییرات پارامترهای خونی در رت‌های مسموم شده با سرب بررسی شد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه از ۴۰ سر رت نر نژاد ویستار (رازی، تهران) در محدوده وزنی ۲۰۰-۱۵۰ گرم استفاده شد. تمامی حیوانات در شرایط یکسان ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی در دمای ۲۳-۲۱ درجه سانتی‌گراد با دسترسی آزاد به آب و مواد غذایی به مدت ۴۲ روز قرار گرفتند. رت‌ها به صورت تصادفی به ۵ گروه مساوی به صورت زیر تقسیم شدند: گروه اول: کنترل سالم، آب آشامیدنی بدون سرب دریافت کردند؛ گروه دوم: مسموم شده با استات سرب، ۰/۵ گرم استات سرب در ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب آشامیدنی (۵۰۰ ppm) دریافت کردند؛ سه گروه دیگر: گروه‌های مسموم شده با سرب که دوزهای ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کارواکرول را به مدت ۴۲ روز به صورت گاوژ دریافت کردند. کارواکرول به صورت تازه هر

در استخوان‌ها رسوب می‌کند. نیمه عمر سرب در استخوان‌ها به چندین سال می‌رسد (Hryhorczuk et al., 1985؛ Rabinowitz, 1991). تحقیقات زیادی در مورد اثر سرب بر بخش‌های مختلف بدن انجام شده است. مشخص شده که سرب باعث اختلال در بیوسنتز هموگلوبین و کم‌خونی، افزایش فشارخون، اختلالات سیستم عصبی و ناباروری می‌شود (Moussa & Bashandy, 2008). افزایش فشارخون یکی از مشکلات عمده مسمومیت با سرب در انسان و حیوانات آزمایشگاهی می‌باشد. یکی از مهمترین علت افزایش فشارخون وابسته به سرب ناشی از افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن و به هم خوردن تعادل آنتی‌اکسیدان و پرواکسیدان در سیستم قلبی-عروقی می‌باشد. افزایش تولید رادیکال‌های آزاد منجر به پراکسیداسیون لیپیدی، آسیب DNA و کاهش آنتی‌اکسیدان‌های سلولی می‌شود (Saxena & Flora, 2004). سرب باعث تغییر در فعالیت آنتی‌اکسیدان‌هایی مانند سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوکوتایون پراکسیداز می‌شود (McCabe et al., 2001؛ Saxena & Flora, 2004). بهبودی فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها می‌تواند در کاهش اثرات مضر سرب مفید باشد. یکی از اهداف اصلی در مسمومیت با سرب سیستم هماتولوژیک می‌باشد. سرب باعث ایجاد استرس‌های اکسیداتیو در گلبول‌های قرمز می‌شود. گلبول‌های قرمز از جمله بخش‌های حساس خون در مقابل سرب می‌باشد، به این علت که حاوی مقادیر زیادی اکسیژن می‌باشند و توانایی تولید استرس‌های اکسیداتیو در آنها بالاست. همچنین اجزاء غشاء آنها به شدت آسیب‌پذیر است و به راحتی هم ترمیم نمی‌شوند (Rice-Evans, 1990). از سویی پلی‌فنل‌ها مواد آنتی‌اکسیدانی طبیعی هستند که در بسیاری از گیاهان، میوه‌ها و سبزیجات به مقدار فراوان یافت می‌شوند (Butterfield et al., 2002). از جمله کارواکرول که یک فنل مونوترین در روغن‌های طبیعی گیاهان می‌باشد. کارواکرول به مقدار فراوان در روغن‌های طبیعی استخراج شده از پونه و آویشن وجود دارد و بوی تند و زننده با رایحه گرم دارد (Can Baser, 2008). اسانس کارواکرول به خوبی به‌عنوان

میزان متوسط هموگلوبین گلبول‌های قرمز (MCH) و میزان غلظت هموگلوبین گلبول قرمز (MCHC)، WBC و انواع گلبول‌های سفید با استفاده از دستگاه سل کاتر انجام شد.

تجزیه و تحلیل‌های آماری

تمام تجزیه و تحلیل‌ها به کمک نرم‌افزار 5 prism انجام شد. بررسی پارامترهای خونی با استفاده از آزمون ANOVA یک‌طرفه و پس‌آزمون توکی انجام گردید. داده‌های حاصل از ثبت فشارخون با استفاده از آنالیز واریانس دوطرفه و پس‌آزمون بن‌فرونی انجام شد. داده‌ها به صورت $Mean \pm SE$ بیان شد. $P < 0.05$ از لحاظ آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

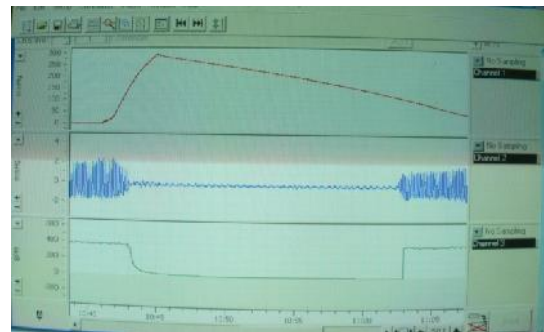
نتایج حاصل اندازه‌گیری فشار خون

از هفته سوم آزمایش، افزایش معنی‌داری در میزان فشار خون در گروه مسموم شده با سرب ($118/1 \pm 4/2$) نسبت به گروه کنترل ($100/6 \pm 2/6$) مشاهده شد ($P < 0.05$) و $F=1/6$. ادامه مصرف استات سرب باعث افزایش فشار خون گردید، به طوری که در هفته ششم اختلاف بیشتری در فشار خون گروه مصرف‌کننده استات سرب ($129/2 \pm 4/9$) با گروه کنترل ($106/7 \pm 4/4$) مشاهده شد ($P < 0.001$). فشار خون سیستمی گروه مسموم شده با سربی که دوز کارواکرول ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم را دریافت کرده بود تفاوتی را با گروه مسموم شده با سرب نشان نداد. فشارخون گروه مسموم شده با سرب که دوز ۵۰ کارواکرول را دریافت کرده بود کاهش معنی‌داری را در هفته‌های پنجم ($111/5 \pm 5/5$) و ششم ($113/4 \pm 4/01$) نسبت به گروه سرب نشان داد ($P < 0.05$). همچنین تجویز دوز ۱۰۰ کارواکرول در گروه مسموم شده با سرب باعث کاهش فشار خون در این گروه در هفته‌های پنجم ($110/1 \pm 4/9$) و ششم ($112/25 \pm 2/97$) نسبت به گروه سرب گردید ($P < 0.05$) ($P < 0.01$) (شکل ۲).

روز آماده می‌شد و از نرمال سالین گرم به‌عنوان حلال کارواکرول استفاده شد (Yu et al., 2012).

اندازه‌گیری فشار خون

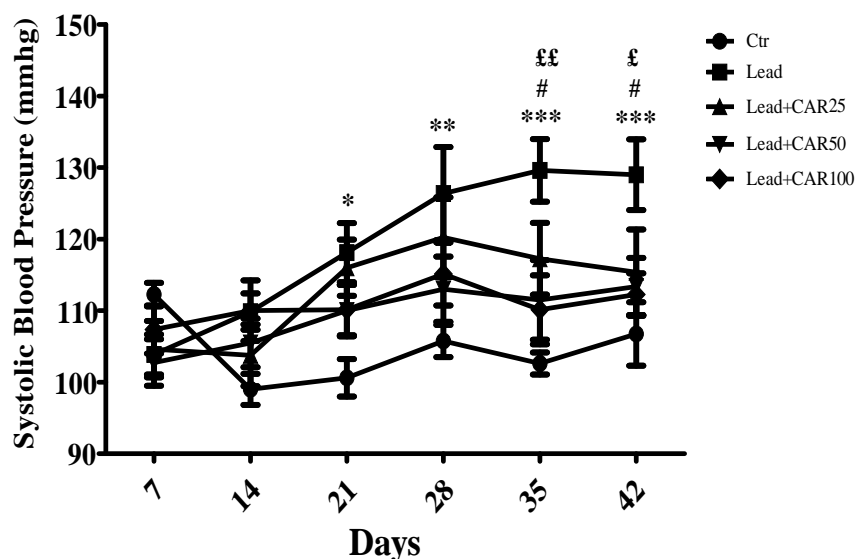
فشار خون با استفاده از پلتیسموگرافی دمی که به یک رایانه برای ثبت متصل بود، اندازه‌گیری شد. رت‌ها بدون بیهوشی در قفس‌های آکرلیک شفاف قرار داده شدند. قبل از اندازه‌گیری فشارخون، به رت‌ها فرصت داده شد که به مدت ۱۵ دقیقه در قفس استراحت کنند. سپس از کاف فشار دمی با قطر تقریباً $1/5 \text{ cm}$ و طول 3 cm از دم رت سه بار فشار گرفته شد و میانگین مقادیر مختلف فشار شریان به‌عنوان فشار سیستمیک در نظر گرفته شد. شروع اولین پالس بعد از باز شدن کاف نشان‌دهنده فشار سیستمیک بود. امواج بعد از تقویت فیلتر شدن با استفاده از نرم‌افزار Powerlab بر روی مانیتور رایانه نمایش داده شد (Gangwar et al., 2014) (شکل ۱).



شکل ۱- نمودار ترسیم شده از ثبت فشار خون توسط

Powerlab

برای انجام آزمایش‌های خونی، در پایان آزمایش، حیوانات با دوز بالای کتامین و گزپلوکائین بیهوش شدند و نمونه خون از قلب حیوان گرفته و داخل لوله‌های حاوی EDTA (ماده ضد انعقاد اتیلن دی‌آمین تترا استیک اسید) ریخته شد. آزمایش‌های هماتولوژی شامل میزان گلبول‌های قرمز (RBC)، میزان هموگلوبین خون (Hb)، درصد هماتوکریت (Hct)، حجم متوسط گلبول‌های قرمز (MCV)،



شکل ۲- مقایسه میانگین فشار خون سیستولی بین گروه‌های مختلف

داده‌ها با آنالیز واریانس دو طرفه با اندازه‌گیری‌های تکراری و پس‌آزمون بن فرونی بررسی و به صورت میانگین \pm انحراف معیار بیان شده است (n=8)

** (P < 0.01), *** (P < 0.001) و * (P < 0.05): اختلاف معنی‌دار بین گروه سرب با گروه کنترل

(P < 0.05): اختلاف معنی‌دار بین گروه سرب + کارواکرول ۵۰ (Lead+CAR 50) با گروه سرب

££ (P < 0.01) و £ (P < 0.05): اختلاف معنی‌دار بین گروه سرب + کارواکرول ۱۰۰ (Lead+CAR100) با گروه سرب

(P < 0.05) و درصد هماتوکریت (P < 0.05 و P < 0.01)

در گروه سرب گردید (جدول ۱).

تعداد کل گلبول‌های سفید در گروه مسموم شده با سرب کاهش معنی‌داری را نسبت به گروه کنترل نشان داد (P < 0.01)، همچنین کاهش معنی‌داری در درصد نوتروفیل‌ها در گروه سرب نسبت به گروه کنترل مشاهده شد (P < 0.05). دوز ۲۵ و ۱۰۰ کارواکرول تأثیر معنی‌داری بر تعداد گلبول‌های سفید در رت‌های مسموم شده با سرب ایجاد نکرد، اما در گروه مسموم شده با سرب که دوز ۵۰ کارواکرول را دریافت کرده بود افزایش معنی‌داری در تعداد کل گلبول‌های سفید و درصد نوتروفیل‌ها نسبت به گروه سرب مشاهده شد (P < 0.05). تفاوتی در سایر انواع گلبول‌های سفید (اُوزینوفیل‌ها، نوتروفیل‌ها، بازوفیل‌ها و مونوسیت‌ها) در گروه‌های مورد مطالعه مشاهده نشد (جدول ۲).

نتایج حاصل از اندازه‌گیری پارامترهای خونی

تأثیر دوزهای مختلف کارواکرول بر پارامترهای خونی رت‌های شامل RBC، Hb، Hct، MCV، MCH، MCHC در جدول ۱ و داده‌های مربوط به WBC و انواع گلبول‌های سفید در جدول ۲ آورده شده است. کاهش معنی‌داری در تعداد گلبول‌های قرمز (P < 0.01)، غلظت هموگلوبین (P < 0.001) و درصد هماتوکریت (P < 0.01) در گروه مسموم شده با سرب نسبت به گروه کنترل مشاهده شد. البته تفاوتی بین میانگین حجم هر گلبول قرمز و غلظت هموگلوبین گلبول قرمز در گروه‌های مورد مطالعه مشاهده نشد. تجویز دوز ۲۵ کارواکرول تأثیری بر هیچ یک از پارامترهای خونی در گروه مسموم شده با سرب نداشت. دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ کارواکرول باعث افزایش معنی‌داری در تعداد گلبول‌های قرمز (P < 0.05)، غلظت هموگلوبین

جدول ۱- داده‌های مربوط به برخی از پارامترهای خونی در گروه‌های مختلف

گروه	شمارش گلبول‌های قرمز (RBC) ($\times 10^6/ml$)	غلظت هموگلوبین (Hb) (g/dl)	درصد هماتوکریت (Hct) (%)	MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC (%)
کنترل (ctr)	۵/۵۹ $\pm ۰/۳۴$	۱۴/۳۳ $\pm ۰/۴۲$	۴۳/۷۸ $\pm ۰/۹$	۵۵/۵۳ $\pm ۳/۵۶$	۳۳/۳۶ $\pm ۱/۳۹$	۳۵/۰۴ $\pm ۱/۶۴$
استات سرب (lead)	۴/۲۱ $\pm ۰/۱۳^{**}$	۱۱/۶۲ $\pm ۰/۵۵^{***}$	۳۶/۰۲ $\pm ۱/۵۵^{**}$	۵۰/۹۳ $\pm ۲/۷۴$	۳۰/۲۲ $\pm ۱/۳۸$	۳۰/۶۹ $\pm ۱/۵۷$
استات سرب+	۴/۹۲ $\pm ۰/۲۴$	۱۲/۸۷ $\pm ۰/۳۹$	۳۹/۸۴ $\pm ۱/۶$	۵۵/۶۶ $\pm ۲/۴۶$	۳۲/۱۶ $\pm ۱/۵۵$	۳۴/۳۸ $\pm ۲/۰۸$
کارواکرویل ۲۵	۵/۴۳ $\pm ۰/۱۸^{\#}$	۱۳/۸۳ $\pm ۰/۳۹^{\#\#}$	۴۲/۲۵ $\pm ۱/۴۱^{\#}$	۵۴/۹۸ $\pm ۲/۲۶$	۳۳/۰۴ $\pm ۱/۶۹$	۳۳/۹۷ $\pm ۱/۸۳$
استات سرب+	۵/۲۵ $\pm ۰/۲۵^{\#}$	۱۳/۴۱ $\pm ۰/۴۶^{\#}$	۴۲/۳۲ $\pm ۱/۷۷^{\#}$	۵۳/۹۶ $\pm ۲/۵۸$	۳۱/۳۸ $\pm ۱/۲$	۳۴/۲۶ $\pm ۲/۷$

داده‌ها با آنالیز واریانس یک‌طرفه و پس‌آزمون توکی بررسی و به‌صورت میانگین \pm انحراف معیار بیان شده است (n=8).
 ** (P ۰/۰۱) و *** (P ۰/۰۰۱)، اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل و # (P ۰/۰۵) و ## (P ۰/۰۱)، اختلاف معنی‌دار با گروه سرب را نشان می‌دهند.

جدول ۲- داده‌های مربوط به انواع گلبول‌های سفید در گروه‌های مختلف

گروه	شمارش گلبول‌های سفید ($\times 10^3/ml$)	نوتروفیل (%)	لنفوسیت (%)	ائوزینوفیل (%)	بازوفیل (%)	مونوسیت (%)
کنترل (ctr)	۵/۵۱ $\pm ۰/۲۲$	۵۱/۲۵ $\pm ۲/۸۶$	۴۰/۵ $\pm ۴/۰۸$	۱/۴۵ $\pm ۰/۱۹$	۱/۰۳ $\pm ۰/۱۵$	۱/۲ $\pm ۰/۱۸$
استات سرب (Lead)	۳/۹۵ $\pm ۰/۲۴^{**}$	۴۱/۱۳ $\pm ۲/۰۳^*$	۳۵/۲۵ $\pm ۳/۲۲$	۱/۳۴ $\pm ۰/۲۲$	۰/۹۳ $\pm ۰/۱۷$	۰/۹۶ $\pm ۰/۱۹$
استات سرب+	۴/۸۳ $\pm ۰/۳۶$	۴۶/۹۳ $\pm ۲/۹۶$	۳۳/۶۳ $\pm ۲/۸۵$	۱/۳۲ $\pm ۰/۲۴$	۱/۱۲ $\pm ۰/۰۸$	۱/۰۹ $\pm ۰/۱۱$
کارواکرویل ۲۵	۵/۲۲ $\pm ۰/۲۸^{\#}$	۵۲/۱ $\pm ۱/۰۵^{\#}$	۳۷/۵ $\pm ۳/۱۲$	۱/۲۶ $\pm ۰/۲۹$	۱/۱۴ $\pm ۰/۱۸$	۰/۹۳ $\pm ۰/۱۷$
استات سرب+	۵/۱۳ $\pm ۰/۲۸^{\#}$	۴۸/۱۳ $\pm ۲/۸۳$	۳۳/۲۵ $\pm ۲/۳۹$	۱/۳۶ $\pm ۰/۲۴$	۱/۰۵ $\pm ۰/۱۳$	۱/۱۹ $\pm ۰/۱۵$

داده‌ها با آنالیز واریانس یک‌طرفه و پس‌آزمون توکی بررسی و به‌صورت میانگین \pm انحراف معیار بیان شده است (n=8).
 ** (P ۰/۰۱) و * (P ۰/۰۵)، اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل و # (P ۰/۰۵)، اختلاف معنی‌دار با گروه سرب را نشان می‌دهند.

بحث

در این مطالعه مشاهده شد که کارواکرویل اثر پیشگیری‌کننده بر تغییرات ایجادشده به‌وسیله سرب روی سلول‌های خونی یکی از فاکتورهای عملکردی سیستم گردش خون دارد. اثر حفاظتی کارواکرویل ممکن است ناشی از اثر آنتی‌اکسیدانی و چاروب‌کنندگی رادیکال‌های آزاد باشد. رادیکال‌های آزاد مانند سوپراکسید و هیدروکسیل به مقدار زیادی در طی مسمومیت با سرب افزایش می‌یابند (Saxena & Flora, 2004). اثر کارواکرویل در مهار پراکسیداسیون لیپیدی قابل مقایسه با مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی مانند ویتامین E، اسید اسکوربیک و هیدروکسی تولوئن می‌باشد (Ruberto *et al.*, 2000؛ Jayakumar *et al.*, 2012). مطالعات بسیاری نشان داده‌اند که بالا بودن غلظت سرب باعث تولید رادیکال‌های آزاد می‌شود و اثرات مخربی بر سیستم قلبی-عروقی دارند. استرس‌های اکسیداتیو باعث عدم تعادل بین تولید رادیکال‌های آزاد و توانایی سیستم‌های بیولوژیک برای ترمیم صدمات ناشی از این استرس‌ها می‌شوند. آغاز روند تخریبی استرس‌های اکسیداتیو به‌وسیله دو مسیر متفاوت همزمان اتفاق می‌افتد، نخست تولید رادیکال‌های آزاد و دوم تخلیه ذخیره آنتی‌اکسیدانی (Vaziri, 2008). استرس‌های اکسیداتیو از طریق مسیرهای مختلفی می‌توانند باعث افزایش فشار خون گردند. یکی از این مسیرها که در مطالعات بسیاری بررسی شده است اثر این استرس‌ها در کاهش نیتریک اکساید می‌باشد. اکسیداسیون نیتریک اکساید به‌وسیله استرس‌های اکسیداتیو از چند طریق می‌تواند باعث افزایش فشار خون شود. ۱- کاهش نیتریک اکساید به‌عنوان گشادکننده عروق، ۲- کاهش مهار سمپاتیکی ایجاد شده به‌وسیله نیتریک اکساید، ۳- کاهش دیورز ایجاد شده به‌وسیله نیتریک اکساید (Förstermann & Münzel, 2006؛ Vaziri & Rodríguez-Iturbe, 2006). بنابراین با توجه به اینکه استرس‌های اکسیداتیو عامل بسیاری از اثرات مضر سرب می‌باشند، استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها احتمالاً

بتواند در کاهش بسیاری از صدمات ناشی از سرب مؤثر باشد. در مطالعه‌ای که Khalilmanesh و همکاران (۱۹۹۴) انجام دادند مشاهده کردند که استفاده از DMSA (دی‌مرکاپتو سوکسینیک اسید) به‌عنوان آنتی‌اکسیدانی که توانایی شلاته کردن سرب را دارد می‌تواند در کاهش فشار خون ناشی از سرب مؤثر باشد. Gonick و همکاران (۱۹۹۷) نشان دادند که میزان فشار خون در رت‌های مسموم شده با سرب با میزان مارکرهای اکسیداتیو در بافت و پلاسما ارتباط دارد. در مطالعه‌ای دیگر تجویز ال-آرژنین به‌عنوان آنتی‌اکسیدان، میزان فشار خون در رت‌های مسموم شده با سرب را کاهش داد (Ding *et al.*, 1998). Vaziri و همکاران (۱۹۹۷) نیز نشان دادند که استفاده از لازاروئید به‌عنوان آنتی‌اکسیدان غیر شلاته بدون اینکه تغییری در میزان سرب خون ایجاد کند، فشار خون در رت‌های مسموم شده با سرب را کاهش می‌دهد. همه این شواهد نقش استرس‌های اکسیداتیو را در افزایش فشار خون ناشی از سرب و تأثیر آنتی‌اکسیدان‌ها در کاهش فشار خون نشان می‌دهند. این یافته‌ها با یافته‌های این مطالعه مطابقت داشت که نشان داد کارواکرویل در دوزهای مختلف باعث کاهش معنی‌داری در فشار خون رت‌های مسموم شده با سرب می‌گردد. اسانس کارواکرویل به خوبی به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی شناخته شده است (Jayakumar *et al.*, 2012). علاوه بر این کارواکرویل اثر گشادکنندگی عروقی دارد که می‌تواند در کاهش فشار خون مؤثر باشد. اثر وازودیلاتوری کارواکرویل می‌تواند ناشی از اثر روی مسیر انتقال کلسیم از شبکه سارکوپلاسمی یا تغییر حساسیت سیستم انقباضی به کلسیم یا کاهش ورود کلسیم به داخل سلول (Peixoto-Neves *et al.*, 2010) در اثر فعال شدن کانال‌های پتاسیمی غشاء باشد که منجر به هیپرپلاریزاسیون سلول عضله صاف عروق و گشادی عروق می‌شود (Earley *et al.*, 2010). همچنین نشان داده شده است که کارواکرویل با افزایش میزان نیتریک اکساید نقش مهمی در کاهش فشار خون دارد (Aydin *et al.*, 2007). در مطالعه دیگری مشاهده شد که کارواکرویل با

- exposed to lead. *Revista Român de Medicin de Laborator*, 20(3/4): 233-243.
- Alagawany, M., El-Hack, M.A., Farag, M.R., Tiwari, R. and Dhama, K., 2015. Biological effects and modes of action of carvacrol in animal and poultry production and health-a review. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, 3(2s): 73-84.
 - Aydin, Y., Kutlay, Ö., Ari, S., Duman, S., Uzuner, K. and Aydin, S., 2007. Hypotensive effects of carvacrol on the blood pressure of normotensive rats. *Planta medica*, 73(13): 1365-1371.
 - Butterfield, D.A., Castegna, A., Pocernich, C.B., Drake, J., Scapagnini, G. and Calabrese, V., 2002. Nutritional approaches to combat oxidative stress in Alzheimer's disease. *The Journal of nutritional biochemistry*, 13(8): 444-461.
 - Can Baser, K., 2008. Biological and pharmacological activities of carvacrol and carvacrol bearing essential oils. *Current Pharmaceutical Design*, 14(29): 3106-3119.
 - Dantas, B.P.V., Alves, Q.L., de Assis, K.S., Ribeiro, T.P., de Almeida, M.M., de Vasconcelos, A.P., de Araújo, D.A.M., de Andrade Braga, V., de Medeiros, I.A. and Alencar, J. L., 2015. Participation of the TRP channel in the cardiovascular effects induced by carvacrol in normotensive rat. *Vascular Pharmacology*, 67: 48-58.
 - Ding, Y., Vaziri, N.D. and Gonick, H.C., 1998. Lead-induced hypertension: ii. response to sequential infusions of l-arginine, superoxide dismutase, and nitroprusside. *Environmental Research*, 76(2): 107-113.
 - Earley, S., Gonzales, A.L. and Garcia, Z.I., 2010. A dietary agonist of transient receptor potential cation channel V3 elicits endothelium-dependent vasodilation. *Molecular pharmacology*, 77(4): 612-620.
 - Förstermann, U. and Münzel, T., 2006. Endothelial nitric oxide synthase in vascular disease. *Circulation*, 113(13): 1708-1714.
 - Gangwar, A., Kumar, P., Rawat, A. and Tiwari, S., 2014. Noninvasive measurement of systolic blood pressure in rats: A novel technique. *Indian Journal of Pharmacology*, 46(3): 351-352.
 - Gonick, H., Ding, Y., Bondy, S., Ni, Z. and Vaziri, N.D., 1997. Lead-induced hypertension: interplay of nitric oxide and reactive oxygen species. *Hypertension*, 30: 1487-1492.
 - Hryhorczuk, D.O., Rabinowitz, M.B., Hessel, S.M., Hoffman, D., Hogan, M.M., Mallin, K., Finch, H., Orris, P. and Berman, E., 1985. Elimination kinetics of blood lead in workers with chronic lead

کاهش جریان کلسیم از طریق کانال‌های کلسیمی و کانال‌های TRP گشادی عروقی ایجاد می‌کند (Dantas *et al.*, 2015) که این اثر کارواکرول می‌تواند به‌عنوان سازوکار احتمالی در کاهش فشار خون ناشی از کارواکرول نقش داشته باشد. در سیستم قلبی-عروقی، علاوه بر اینکه سرب منجر به افزایش فشار خون می‌گردد می‌تواند بر سلول‌های خونی نیز اثر بگذارد. استرس‌های اکسیداتیو ایجاد شده در طی مسمومیت با سرب می‌تواند در ایجاد این اثرات سرب نقش مهمی داشته باشند. سلول‌های خونی از جمله گلبول‌های قرمز در مقابل سرب بسیار آسیب‌پذیر می‌باشند. سرب با اختلال در متابولیسم آهن می‌تواند در سنتز هموگلوبین اختلال ایجاد کند. از سوی سرب با تولید رادیکال‌های آزاد باعث تغییر فعالیت آنزیم‌های دخیل در سنتز هم می‌شود (Mugahi *et al.*, 2003). آنتی‌یکی از علائم شایع مسمومیت با سرب می‌باشد. مطالعات گذشته نشان داده‌اند که سرب باعث کاهش لکوسیت‌های خون می‌گردد که احتمالاً اثر سرب روی سلول‌های هماتوئیتیک را نشان می‌دهد (Aksu *et al.*, 2012). این یافته‌ها با یافته‌های این مطالعه مطابقت داشت. کارواکرول به‌عنوان آنتی‌اکسیدان و آنتی‌آپوپتوز در درمان چندین اختلال قلبی-عروقی مورد استفاده قرار گرفته است (Alagawany *et al.*, 2015). در این مطالعه نیز کارواکرول در سه دوز ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت ۴۲ روز و به صورت خوراکی داده شد. علاوه بر اثر بر کاهش فشار خون، باعث بهبودی پارامترهای خونی مانند گلبول‌های قرمز و سفید، غلظت هموگلوبین و درصد هماتوکریت در رت‌های مسموم شده با سرب گردید. البته بهبودی پارامترهای خونی ممکن است ناشی از خاصیت آنتی‌اکسیدانی کارواکرول باشد که باعث محافظت اریتروسیت‌ها و لکوسیت‌ها از اثرات اکسیداتیو سرب می‌گردد.

منابع مورد استفاده

- Aksu, D.S., Didin, M. and Kayikci, F., 2012. The protective role of polyphenols on blood cells in rats

- and erythrocytes: 429-453. In: Harris, J.R., (Ed.). Blood Cell Biochemistry (Vol. 1). Springer, 537p.
- Ruberto, G., Baratta, M.T., Deans, S.G. and Dorman, H.D., 2000. Antioxidant and antimicrobial activity of *Foeniculum vulgare* and *Crithmum maritimum* essential oils. *Planta Medica*, 66(08): 687-693.
 - Santos, M.R., Moreira, F.V., Fraga, B.P., Souza, D.P., Bonjardim, L.R. and Quintans-Junior, L.J., 2011. Cardiovascular effects of monoterpenes: a review. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 21(4): 764-771.
 - Saxena, G. and Flora, S., 2004. Lead-induced oxidative stress and hematological alterations and their response to combined administration of calcium disodium EDTA with a thiol chelator in rats. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 18(4): 221-233.
 - Vaziri, N.D., 2008. Mechanisms of lead-induced hypertension and cardiovascular disease. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 295(2): H454-H465.
 - Vaziri, N.D., Ding, Y., Ni, Z. and Gonick, H.C., 1997. Altered nitric oxide metabolism and increased oxygen free radical activity in lead-induced hypertension: effect of lazaroid therapy. *Kidney International*, 52(4): 1042-1046.
 - Vaziri, N.D. and Rodríguez-Iturbe, B., 2006. Mechanisms of disease: oxidative stress and inflammation in the pathogenesis of hypertension. *Nature Reviews, Nephrology*, 2(10): 582-93.
 - Wani, A.L., Ara, A. and Usmani, J.A., 2015. Lead toxicity: a review. *Interdisciplinary Toxicology*, 8(2): 55-64.
 - Yu, H., Zhang, Z.L., Chen, J., Pei, A., Hua, F., Qian, X., He, J., Liu, C.F. and Xu, X., 2012. Carvacrol, a food-additive, provides neuroprotection on focal cerebral ischemia/reperfusion injury in mice. *Plos One*, 7(3): e33584.
 - intoxication. *American Journal of Industrial Medicine*, 8(1): 33-42.
 - Jayakumar, S., Madankumar, A., Asokkumar, S., Raghunandhakumar, S., Kamaraj, S., Divya, M.G.J. and Devaki, T., 2012. Potential preventive effect of carvacrol against diethylnitrosamine-induced hepatocellular carcinoma in rats. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 360(1-2): 51-60.
 - Khalilmanesh, F., Gonick, H.C., Weiler, E.W., Prins, B., Weber, M.A., Purdy, R. and Ren, Q., 1994. Effect of chelation treatment with dimercaptosuccinic acid (DMSA) on lead-related blood pressure changes. *Environmental Research*, 65(1): 86-99.
 - McCabe, M.J., Singh, K.P. and Reiners, J.J., 2001. Low level lead exposure in vitro stimulates the proliferation and expansion of alloantigen-reactive CD4 high T cells. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 177(3): 219-231.
 - Moussa, S. and Bashandy, S., 2008. Biophysical and biochemical changes in the blood of rats exposed to lead toxicity. *Romanian Journal of Biophysics*, 18(2): 123-133.
 - Mugahi, M.N., Heidari, Z., Sagheb, H.M. and Barbarestani, M., 2003. Effects of chronic lead acetate intoxication on blood indices of male adult rat. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, 11(4): 147-141.
 - Peixoto-Neves, D., Silva-Alves, K., Gomes, M., Lima, F., Lahlou, S., Magalhães, P., Ceccatto, V., Coelho-de-Souza, A. and Leal-Cardoso, J., 2010. Vasorelaxant effects of the monoterpene phenol isomers, carvacrol and thymol, on rat isolated aorta. *Fundamental & Clinical Pharmacology*, 24(3): 341-350.
 - Rabinowitz, M.B., 1991. Toxicokinetics of bone lead. *Environmental Health Perspectives*, 91: 33-37.
 - Rice-Evans, C., 1990. Iron-mediated oxidative stress

The effect of carvacrol on blood pressure and blood cell number in lead-exposed rats

F. Zare Mehrjerdi^{1*}, S. Niknazar² and A. Shahrokhi Racini³

1*-Corresponding author, Neurobiomedical Research Center, Department of Physiology, School of Medicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran, E-mail: mehzaref@gmail.com

2- Hearing Disorders Research Center, Shahid Beheshti University of medical sciences, Tehran, Iran

3- Neurobiomedical Research Center, Department of Physiology, School of Medicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

Received: July 2017

Revised: April 2018

Accepted: May 2018

Abstract

Lead intoxication impairs oxidant/antioxidant balance that can be partially responsible for the toxic effects of lead in the various organs of body especially cardiovascular system. On the other hand, carvacrol, as major component of thyme plant, has a variety of properties including antioxidant ones. The main objective of this study was to investigate the effects of carvacrol on blood pressure and some blood parameters in lead-poisoned rats. In this study, 40 male Wistar rats were randomly divided into five groups. The first group was control, the second group was poisoned with lead, and three lead poisoned groups receiving carvacrol at doses of 25, 50 and 100 mg/kg/daily. The blood pressure was monitored weekly by tail plethysmography coupled to a computer system. At the end of experiment, blood samples were obtained to assess some hematological parameters (RBC, Hb, Hct, and WBC). The mean blood pressure in lead exposed group was significantly higher than that of control group from the 21st day of the study. Carvacrol caused a decrease in hypertension in the lead poisoned rats. This decreasing was consistent throughout the experiment. Some blood parameters (RBC, Hb, Hct, and WBC) were decreased in lead exposed rats. These changes were prevented in the lead groups receiving carvacrol. According to the result of this study, it may be concluded that carvacrol could improve some lead induced changes in the cardiovascular system.

Key words: Lead acetate, carvacrol, blood pressure, biochemical evaluation of blood cells.