

Ewa Stojek
Anna Skoczyńska

ODDZIAŁYWANIE OŁOWIU NA ŚRÓDBŁONEK NACZYNIOWY

THE EFFECT OF LEAD ON VASCULAR ENDOTHELIUM

Z Katedry i Kliniki Chorób Wewnętrznych, Zawodowych i Nadciśnienia Tętniczego Akademii Medycznej we Wrocławiu

Kierownik katedry i kliniki: prof. dr hab. med. R. Andrzejak

STRESZCZENIE Ołów obecny w środowisku naturalnym człowieka, jak również podawany zwierzętom doświadczalnym może powodować nadciśnienie tętnicze i działać miażdżycorodnie. Śródbłonek naczyniowy bierze udział w powstawaniu zmian miażdżycowych oraz nadciśnienia, jest obecnie uznawany za główny narząd docelowy toksycznego działania ołowiu. Działanie ołowiu na śródbłonek jest różnorodne. Obserwowano zaburzenia czynnościowe, głównie w odniesieniu do funkcji syntetyzującej i regulującej procesy wewnątrznaczyniowego wykrzepiania, naruszenie integralności śródbłonka oraz działanie cytotoksyczne. Uszkodzenie śródbłonka pod wpływem ołowiu może polegać na hamowaniu procesów naprawczych komórek uszkodzonych wskutek działania różnych czynników zewnętrznych i wewnętrznych. Ołów może także bezpośrednio lub pośrednio, przez wzrost produkcji wolnych rodników tlenowych, wpływać na naczynioaktywną czynność śródbłonka, związaną z syntezą i uwalnianiem tlenu azotu i endoteliny. Ponadto sprzyja proliferacji komórek mięśni gładkich i zaburzeniom w syntezie prostacykliny. *Med. Pr.* 2003; 54 (1): 87–93

SŁOWA KLUCZOWE: ołów, śródbłonek, naczynia krwionośne

ABSTRACT The results of numerous epidemiological and experimental studies show that environmental exposure to lead in humans, as well as small doses of this element given to experimental animals exert hypertensinogenic and atherogenic effect. The vascular endothelium, involved in the development of arterial hypertension and arteriosclerosis, is now regarded as the main target organ for the toxic effect of lead. This metal can influence endothelium in various ways. Functional disturbances, mainly in respect of synthesizing and modifying functions of intravascular coagulation processes, impairment of endothelium integrity and cytotoxic effect have been observed. The lead-induced vascular damage may involve the inhibition of the repair processes of endothelial cells damaged by various exo- and endogenous factors. In addition, lead can also affect, directly or indirectly, the vasoactive function of endothelium through the increased production of reactive oxygen species. This effect of lead results in modified nitric oxide or endothelin synthesis and/or their release. Lead also accelerates the proliferation of smooth muscle cells and disturbs the synthesis of prostacyclins. *Med Pr* 2003; 54 (1): 87–93

KEY WORDS: lead, endothelium, blood vessels

Otrzymano: 28.10.2002

Zatwierdzono: 6.01.2003

Adres autorek: Pasteura 4, 50-367 Wrocław, e-mail: annaskoc@ak.am.wroc.pl

WSTĘP

Wyniki badań epidemiologicznych i doświadczalnych wskazują, że ołów obecny w środowisku naturalnym człowieka, jak również podawany zwierzętom doświadczalnym w małych dawkach, może powodować nadciśnienie tętnicze i działać miażdżycorodnie (1–6). Ponieważ choroby układu krążenia są nadal najczęstszą przyczyną zgonów w krajach rozwiniętych, zagadnienie wpływu małych dawek ołowiu na układ sercowo-naczyniowy ma wciąż szczególne znaczenie.

Część badań epidemiologicznych nie potwierdziła związku między ekspozycją na działanie ołowiu a podwyższonymi wartościami ciśnienia tętniczego (7–11). Wiele badań populacyjnych dostarczyło jednak danych przemawiających za udziałem ołowiu w rozwoju nadciśnienia (12–18). Wykazywały one istotny statystycznie związek między stężeniem ołowiu we krwi lub układzie kostnym a wzrostem ciśnienia tętniczego (12,19–21). Dostarczyły też danych przemawiających za udziałem ołowiu w rozwoju tzw. samoistnego nadciśnienia tętniczego (22). Wykazano, że u osób z genetyczną predyspozycją do rozwoju nadciśnienia nawet krótkotrwała, łagodna ekspozycja na ołów powoduje utrwalony wzrost ciśnienia (23). Stwierdzenie zależności między narażeniem na ołów, zawartością tego metalu w organizmie a występowaniem nadciśnienia nie jest jednak łatwe, ze względu na obecność licznych czynników zakłócających, podważających wiarygodność rozpatrywa-

nych zależności. Czynnikiem takim są np. alkohol oraz tytoń, które w znacznym stopniu zwiększają stężenie ołowiu we krwi (24–26). Stopień upośledzenia funkcji układu krążenia związany jest ponadto z dawką absorbowanego ołowiu, czasem ekspozycji na działanie tego metalu, drogą, którą dostaje się on do organizmu człowieka, wiekiem oraz aktywnością metaboliczną osoby narażonej (11). Wpływ czynników zakłócających można w dużym stopniu wyeliminować przeprowadzając badania doświadczalne na zwierzętach.

Wyniki tych badań potwierdzają hipertensyjne działanie ołowiu w małych dawkach, ale nie pozwalają na sformułowanie ostatecznych wniosków co do mechanizmów działania ołowiu. Badania różnią się jednak gatunkiem zwierząt użytych do doświadczeń, dawką ołowiu, drogą podawania metalu oraz czasem narażenia, co powoduje, że uzyskane wyniki są często rozbieżne. U zwierząt narażonych na ołów w dużych stężeniach nie obserwowano wzrostu ciśnienia, a w pojedynczych przypadkach nawet obniżenie jego wartości. Efekt hipertensyjny występował natomiast przy ekspozycji na ołów w małych dawkach (27–30). Przeprowadzono wiele badań doświadczalnych, w których zwierzętom podawano od 0,1 ppm do 100 ppm ołowiu drogą pokarmową (4,21,31,32). Uzyskane wyniki były zgodne co do hipertensyjnego działania metalu, natomiast stopień nasilenia odpowiedzi uzależniony był od wielu czynników, między innymi od

momentu rozpoczęcia podawania ołowiu: *in utero*, po urodzeniu, w okresie dojrzałości. Ważne jest, że ołów podawany w małych dawkach, indukując nadciśnienie, nie wywołuje innych objawów działania toksycznego, przede wszystkim nie działa nefrotoksycznie (27).

W latach 90. pojawiła się teoria, według której pierwszym i głównym „narzędziem” docelowym toksycznego działania ołowiu, podobnie jak innych metali ciężkich, jest śródbłonek naczyniowy (33). Bierze on udział w powstawaniu zmian miażdżycowych oraz nadciśnienia tętniczego. Badanie wpływu ołowiu na układ krążenia poszerzono o liczne prace, dotyczące oddziaływania ołowiu na strukturę i funkcję śródbłonka.

ŚRÓDBŁONEK NACZYNIOWY – STRUKTURA I FUNKCJA

Śródbłonek naczyniowy stanowi barierę między krwią i tkankami oraz jest źródłem wielu substancji czynnych. Jest nabłonkiem jednowarstwowym, wyścielającym wszystkie naczynia krwionośne. Jego całkowity ciężar u osoby dorosłej wynosi około 3 kilogramów. W większych naczyniach tworzy selektywną barierę zapobiegającą przenikaniu większości zawartych we krwi substancji, a jednocześnie pozwala, a nawet ułatwia, na zasadzie aktywnego transportu, przechodzenie innych, np. insuliny i lipoprotein (34). Od prawidłowego stanu i funkcji śródbłonka zależy fizjologiczna interakcja krew – ściana naczyniowa. Jednocześnie śródbłonek wywiera silny wpływ regulujący napięcie mięśni gładkich ściany naczyniowej. Te liczne funkcje zależą od wytwarzanych w śródbłonku związków biologicznie czynnych. Są one wydzielane albo na powierzchni śródbłonka, zwróconej do światła naczynia, albo w kierunku pozostałych warstw ściany naczyniowej. W pierwszym przypadku regulują oddziaływanie krwi ze ścianą naczyniową, w drugim wpływają na napięcie mięśni gładkich i ich stan morfologiczny (35).

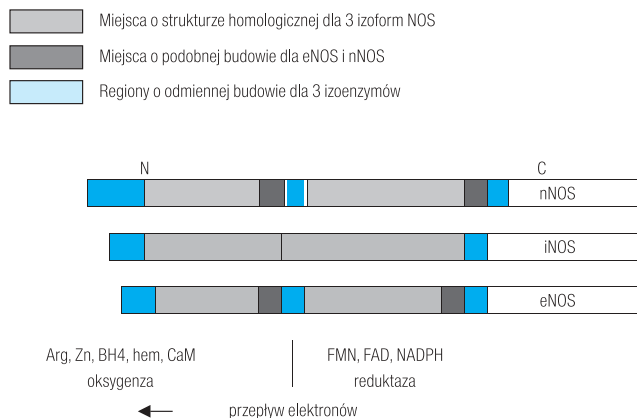
Funkcji śródbłonka naczyniowego przypisuje się obecnie bardzo duże znaczenie w regulacji ciśnienia tętniczego (36,37). Bierze on udział w produkcji kolagenu i glikozaminoglikanów, w procesach hamowania i pobudzenia krzepnięcia krwi oraz w reakcjach immunologicznych. W śródbłonku zawarty jest enzym konwertujący angiotensynę I, odpowiedzialny za lokalną regulację syntezy angiotensyny II i rozpadu bradykininy (38). Śródbłonek produkuje także czynniki o działaniu naczynioskurczowym – endotelinę (ET) oraz tromboksan (TXA_2). Bardzo ważna jest naczyniorozkurczowa aktywność śródbłonka, do której dochodzi dzięki uwalnianiu prostacykliny (PGI_2) i odkrytych w latach 80. czynników (39): śródbłonkowego czynnika rozszerzającego naczynia (endothelial derived relaxing factor; EDRF), utworzonego z tlenkiem azotu (nitric oxide; NO) oraz czynnika hiperpolaryzującego (endothelial derived hyperpolarizing factor; EDHF), którego budowa i funkcja nie zostały jeszcze dokładnie sprecyzowane (40,41). Wyniki ostatnio przeprowadzonych badań sugerują, że być może jest on nadtlenkiem

wodoru (H_2O_2), powstającym przy udziale dysmutazy ponadtlenkowej z anionów ponadtlenkowych (42).

TLENEK AZOTU

Śródbłonkowy czynnik rozszerzający naczynia (EDRF) został odkryty w 1980 r. przez Furchgotta i Zawadzkiego i zidentyfikowany w następnej dekadzie jako tlenek azotu. Odkrycie to zostało docenione przyznaniem w 1998 r. Nagrody Nobla w dziedzinie medycyny. Tlenek azotu jest rozpuszczalnym gazem wytwarzanym w sposób ciągły przez komórki śródbłonka naczyń oraz przez leukocyty z aminokwasu L-argininy pod wpływem działania specyficznego enzymu syntazy tlenku azotu (nitric oxide synthase; NOS). NOS istnieje w postaci trzech izoenzymów, których pierwotna struktura jest bardzo zbliżona (ryc. 1). NOS-1 to izoenzym neuronalny (neuronal nitric oxide synthase, nNOS), obecny w neuronach, astrocytach i niektórych zakończeniach nerwów autonomicznych. Produkuje NO działający jako przekaźnik w synapsach neuronów. Działa stale i jest regulowany przez Ca^{2+} -kalmodulinę. NOS-2, nazywany indukowalną syntazą tlenku azotu (inducible nitric oxide synthase, iNOS), występuje w makrofagach, mięśniach gładkich, fibroblastach i komórkach śródbłonka. Odpowiedzialny jest za wytwarzanie tlenku azotu uczestniczącego w odpowiedzi immunologicznej i biorącego udział w wewnątrzkomórkowym niszczeniu drobnoustrojów przez makrofagi. NOS-2 jest indukowany przez cytokiny i toksyny bakteryjne. Nie jest regulowany przez kalmodulinę, ale jest z nią ściśle sprzężony. Występuje głównie w makrofagach, ale może być indukowany w śródbłonku naczyniowym, przede wszystkim w przypadku wstrząsu septycznego, w którego toku odpowiedzialny jest za spadek ciśnienia na skutek nadmiernego rozszerzenia naczyń. Jest hamowany przez hormony steroidowe i niesteroidowe leki przeciwzapalne. NOS-3 (eNOS, endothelial nitric oxide synthase), czyli syntaza obecna w śródbłonku naczyń, komórkach mięśnia sercowego i płytkach krwi, chroni przed nadciśnieniem i miażdżycą. Jest regulowana przez Ca^{2+} -kalmodulinę (ryc. 2). Dwie z izoform syntazy tlenku azotu (eNOS oraz nNOS) są enzymami konstytutywnymi, wymagającymi do swej aktywacji jonów wapnia, natomiast iNOS jest izoenzymem indukowalnym, na którego ekspresję wpływają cytokiny produkowane w czasie reakcji zapalnych bądź immunologicznych.

Substratami niezbędnymi do produkcji tlenku azotu przy udziale NOS są: L-arginina, cząsteczkowy tlen oraz NADPH, natomiast kofaktorami tetrahydrobiopteryna, dinukleotyd flawinoadeninowy oraz mononukleotyd flawinowy (44). Podczas pierwszego etapu z argininy powstaje cząsteczka cytruliny i jeden rodnik NO^\cdot . Cząsteczka NOS zawiera miejsca wiążące dla hemu i kalmoduliny, będącej donorem jonów wapnia, niezbędnych do wytwarzania i wydzielania NO. eNOS zawiera również jony cynku, które spełniają funkcję stabilizującą dimeryczną budowę cząsteczki enzymu. NOS jest jedną z najbardziej skomplikowanych dioksygenaz,



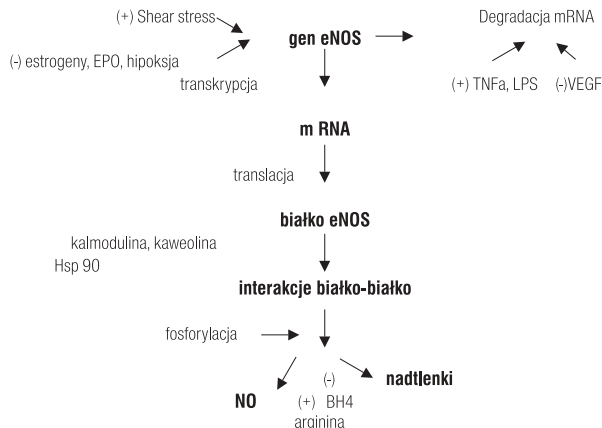
Ryc. 1. Budowa 3 izoenzymów syntazy tlenu azotu. Zaznaczono zakończenia NH₂(N) oraz COOH(C), domeny o cechach oksygenazy i reduktazy i miejsca wiązania dla poszczególnych substratów i kofaktorów oraz kierunek przepływu elektronów (43).

Arg - arginina, BH₄ - tetrahydrobiopteryna, FMN - mononukleotyd flawinowy, FAD - dinukleotyd flawinoadeninowy, CaM - kalmudulina

ponieważ generuje NO wyłącznie wtedy, gdy jest w postaci dimerycznej. Do powstania dimeru niezbędna jest obecność L-argininy i tetrahydrobiopteryny. Niedobór jednej z nich powoduje, że NOS zaczyna funkcjonować jak reduktaza i jednoelektronowo redukuje cząsteczkę tlenu do anionu ponadtlenkowego O₂⁻, który reaguje z wolnorodnikowym tlenkiem azotu tworząc peroksyazotyn (ONOO⁻) (45). Peroksyazotyn jest niezwykle aktywnym związkiem: ma działanie niszczące śródbłonek, a po rozszczepieniu do rodnika hydroksylowego i dwutlenku azotu ma działanie rakotwórcze i unieczynnijające sygnalizacyjny układ kinazy tyrozynowej. Peroksyazotyn uszkadza też DNA, utlenia LDL i hamuje mitochondrialny metabolizm energetyczny (poprzez zakłócenie funkcji poly-ADP-rybozo-syntazy), doprowadzając do śmierci komórki (46).

Jakkolwiek termin „indukowalna” jest zarezerwowany dla iNOS, ekspresja eNOS jest również regulowana przez różnorodne czynniki stymulujące lub hamujące (47). Jest ona zależna od rodzaju tkanki w ten sposób, że znaczna ekspresja tego enzymu dotyczy przede wszystkim komórek śródbłonna w dużych i średnich naczyniach krwionośnych. Na podstawową aktywność śródbłonkowej syntazy tlenu azotu oddziałuje przepływ cieczy przez naczynie, określane mianem „shear stress”, który powoduje wzrost ekspresji eNOS (48). Czynnikiem martwicy nowotworów (tumor necrosis factor α ; TNF α), erythropoetyna, niedotlenienie tkanek oraz duże stężenie utlenionych LDL, zmniejszają ekspresję eNOS (49). Bardzo ważnym regulatorem śródbłonkowej syntazy NO jest sam tlenek azotu, który przez cGMP uczestniczy w mechanizmie ujemnego sprzężenia zwrotnego, powodującym zmniejszenie ekspresji eNOS (50).

Lokalizacja śródbłonkowej syntazy tlenu azotu w strukturach wewnątrzkomórkowych warunkuje poziom jej aktywności. Szczególnie ważnym miejscem są wodniczki, ponieważ umiejscowiona w nich syntaza jest nieaktywna; enzym



Ryc. 2. Czynniki regulujące aktywność eNOS (43). EPO - erythropoetyna; TNF α - czynnik martwicy nowotworów; LPS - lipopolisacharydy; Hsp 90 - białko szoku termicznego; VEGF - czynnik wzrostu śródbłonna; BH₄ - tetrahydrobiopteryna

ten jest tam hamowany przez białko kaweolinę (caveolin-1) (51). W obecności czynników mobilizujących jony wapnia, takich jak bradykinina, acetylocholina, estradiol oraz jonofor wapniowy, związana z wapniem kalmudulina łączy się z eNOS, co powoduje uwolnienie enzymu do cytozolu.

Tlenek azotu wydziela się w sposób ciągły i stale osłabia toniczne napięcie skurczowe naczyń tętniczych, zapewniając odpowiedni do zapotrzebowania przepływ tkankowy krwi. Jest bardzo aktywną chemicznie grupą o cechach wolnego rodnika. Jego okres półtrwania jest bardzo krótki i wynosi około 6 sekund. Podstawowym czynnikiem tonicznie pobudzającym syntezę i wydzielanie NO jest mechaniczne odkształcenie komórek śródbłonna przez przepływającą krew, a także ich rozciąganie przez ciśnienie śródnaczyniowe. W ten sposób tlenek azotu dostosowuje opór większych naczyń do oporu prekapilarów znajdujących się pod wpływem lokalnych czynników naczynioruchowych, regulujących lokalny przepływ zależnie od metabolicznych potrzeb narządów i tkanek (52).

Znanych jest wiele endogennych substancji, które przez wiązanie się z receptorami obecnymi w śródbłonku naczyń krwionośnych uwalniają tlenek azotu. Należą do nich: acetylocholina (ACh, pobudzająca receptor M1), adenozynotrójfosforan (ATP) i adenozyndwufosforan (ADP), stymulujące receptor P2, histamina (przez receptor H1), serotonina (receptor S2), wazopresyna (receptor V2), noradrenalina (receptor α_2), VIP, substancja P, oksycocyna, czynnik aktywujący płytki, kwas arachidonowy, trombina, bradykinina i endotelina. Wiele z tych substancji (serotonina, acetylocholina, histamina) wykazuje działanie kurczące mięśnie gładkie naczyń krwionośnych przy braku śródbłonna naczyniowego. Czynniki wazoaktywne produkowane przez śródbłonek naczyniowy, takie jak bradykinina, mogą pobudzać uwalnianie tlenu azotu przez działanie para- lub endokrynne na śródbłonkowy receptor kininowy B₂.

Powstały w śródbłonku NO dyfunduje do komórek mięśni gładkich w warstwie środkowej ściany naczyń, gdzie jego głównym efektem jest sarkoplazmatyczna cyklaza guanylowa. W wyniku jej pobudzenia wzrasta w komórce stężenie cyklicznego guanozynomonofosforanu (cGMP), który aktywuje kinazę białkową G, uczestniczącą w aktywacji Ca^{2+} -ATP-azy siateczki sarkoplazmatycznej. Wzrasta czynny wychwyt Ca^{2+} z sarkoplazmy komórki i następuje rozkurcz miocytu. Podobnie działają inne związki nitrozowe dostarczające grupę NO do komórki, takie jak nitroprusydek sodu czy nitrogliceryna.

NO oddziałuje również na stan morfologiczny mięśni gładkich. Wykazuje działanie przeciwprzerostowe, antyproliferacyjne (hamuje mitozy) i pobudzające apoptozę miocytów. Aktywuje także cyklazę guanylową płytek krwi i na tej drodze działa antyagregacyjnie, synergicznie z prostacykliną. Tlenek azotu hamuje aktywność czynników wzrostu uwalnianych przez komórki śródbłonka naczyń oraz płytki krwi. Działa przeciwwzapalnie przez hamowanie aktywności procesów syntezy i ekspresji cytokin i cząsteczek adhezyjnych, które przyciągają komórki zapalne do powierzchni śródbłonka i ułatwiają ich przenikanie do ściany naczyń. NO jest również odpowiedzialny za regulację podstawowego napięcia ściany naczyń krwionośnych w krążeniu systemowym, płucnym oraz naczyniach wieńcowych przez zwiększenie stężenia cGMP w mięśniach gładkich, hamowanie działającej konstrykcyjnie na naczynia endoteliny-1 oraz hamowanie uwalniania noradrenaliny z zakończeń nerwów współczulnych.

Tlenek azotu jest bardzo nietrwały. Ulega on szybko utlenieniu do NO_2^- i nieczynnego anionu azotowego NO_3^- . Proces ten przebiega szczególnie szybko w obecności anionów nadtlenkowych, powstających stale w komórkach. NO ulega także szybkiemu unieczynnieniu przez hemoglobinę (powstają methemoglobina i jon azotanowy) i mioglobinę, ponieważ hem obu tych cząsteczek wiąże się z tlenkiem azotu silniej niż z tlenem.

ENDOTELINA

Endotelina (endothelin, ET) jest peptydem zbudowanym z 21 aminokwasów i występującym w 3 izoformach oznaczanych jako ET-1, ET-2 i ET-3. Endotelina-1, produkowana głównie w śródbłonku naczyniowym, jest prawdopodobnie najistotniejsza dla funkcjonowania układu sercowo-naczyniowego. Pozostałe endoteliny występują w innych narządach i tkankach (nerki, przewód pokarmowy, przysadka mózgowa, nadnercza). Endoteliny powstają w ostatecznej formie z tak zwanej wielkiej endoteliny (big endothelin) – peptydu zbudowanego z 38 aminokwasów w wyniku proteolitycznego działania enzymu konwertującego endotelinę. ET jest najsilniejszym ze znanych czynników naczyniozężajających, przy czym siła działania poszczególnych endotelin układu się w następujący sposób: ET-1 > ET-2 > ET-3 (53). W komórkach występują dwa rodzaje receptorów dla endoteliny; ET_A (obecne

w komórkach mięśni gładkich naczyń, ich pobudzenie powoduje m.in. skurcz miocytów) oraz ET_B (w miocytach i komórkach śródbłonka – ich pobudzenie w śródbłonku powoduje wydzielanie NO i rozkurcz naczyń). Bodźcami pobudzającymi wydzielanie endoteliny są siły styczne, działające na śródbłonek naczyniowy (shear stress), hipoksja, niedokrwienie. NO hamuje wydzielanie endoteliny (54) i angiotensyna II pobudza jej wydzielanie.

Nie poznano do tej pory dokładnie fizjologicznej roli endoteliny, ale spadek ciśnienia tętniczego wskutek zablokowania receptorów ET_A sugeruje, że może ona wywierać toniczny wpływ na opór obwodowy. Mimo iż stężenie ET w osoczu pacjentów z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym nie jest zwiększone, stwierdzono u tych chorych wzrost ekspresji genu kodującego ET_1 w tętnicach oporowych lub zwiększoną wrażliwość naczyń na ten związek (55). Endotelina wykazuje dodatnie działanie inotropowe na mięsień sercowy, działa antynatriuretycznie, zwiększa na poziomie centralnym i obwodowym napięcie układu współczulnego i pobudza tworzenie reniny, angiotensyny II, aldosteronu i adrenaliny.

EIKOZANOIDY

W naczyniach krwionośnych produkowane są głównie dwa eikozanoidy: prostacyklina (PGI_2) i tromboksan (TXA_2). Prostacyklina jest jednym z produktów kaskady kwasu arachidonowego. Hamuje przyleganie i agregację płytek krwi, adhezję leukocytów oraz działa naczyniorozszerzająco. Tromboksan jest syntetyzowany również w toku kaskady kwasu arachidonowego, ale powstaje głównie w płytkach krwi i w niewielkim stopniu w śródbłonku naczyniowym. Ułatwia agregację płytek, pobudza proliferację mięśni gładkich naczyń oraz działa naczyniozężajająco.

WPŁYW OŁOWIU NA STRUKTURĘ I FUNKCJĘ ŚRÓDBŁONKA NACZYNIOWEGO

Działanie ołowiu na śródbłonek może odbywać się w różnorodny sposób. Mogą być to zaburzenia czynnościowe, głównie w odniesieniu do funkcji syntetyzującej i regulującej procesy wewnątrznaczyniowego wykrępowania, naruszenie integralności śródbłonka oraz działanie cytotoksyczne (33,56). Wyniki niektórych badań doświadczalnych wskazują, że uszkodzenie śródbłonka pod wpływem ołowiu nie ma charakteru zmian degeneracyjnych ani nekrotycznych, o czym świadczy brak wzrostu dehydrogenazy mleczanowej, będącej niespecyficznym markerem uszkodzenia komórek. Wykazano natomiast, zależne od stężenia ołowiu, zahamowanie proliferacji komórek endotelialnych i upośledzenie, stymulowanego przez uwalnianie ze zniszczonych komórek czynniki wzrostu, wbudowywania $[3\text{H}]$ -tymidyny do komórek śródbłonka (56). Na podstawie badań komórek śródbłonka aorty w hodowli stwierdzono, że ołów hamuje działanie cynku, przyspieszającego proces odnowy uszkodzonych komórek (57). Z przytoczonych powyżej danych wynika, że prawdopodobne jest, że szkodliwy wpływ ołowiu

może wynikać ze spowolnienia procesów naprawczych komórek endotelialnych, uszkodzonych wskutek działania różnych czynników zewnątrz- i wewnątrzpochodnych. Ołów obniża również stężenie siarczanu heparanu w komórkach śródbłonka. To działanie może sprzyjać wewnątrznaczyniowemu wykrzepianiu, proliferacji komórek mięśni gładkich i zaburzeniom w syntezie prostacykliny (56).

Prawdopodobnie ołów może bezpośrednio wpływać na naczyniorozszerzającą czynność śródbłonka, związaną z syntezą i uwalnianiem tlenu azotu. Wyniki badań doświadczalnych, przeprowadzonych w ostatnich latach, wskazują na indukowane przez ołów zmiany w metabolizmie tlenu azotu i ochronny wpływ antyoksydantów na syntezę NO (31). Badania te wykazały zmniejszenie ilości metabolitów tlenu azotu wydalanych z moczem i jednocześnie wzrost stężenia nitrotyrozyny (wskaźnika tworzenia rodnika tlenu azotu) w nerkach, sercu, wątrobie i tkance mózgowej oraz protekcyjne działanie witaminy E u szczurów zatrutowanych ołowiem. W innych badaniach, u szczurów z indukowanym przez ołów nadciśnieniem, zmniejszeniu wydalania z moczem metabolitów tlenu azotu towarzyszył paradoksalny wzrost ekspresji indukowalnej i śródbłonkowej syntazy NO w naczyniach krwionośnych i tkance nerkowej (58) oraz wzrost stężenia całkowitego tlenu azotu we krwi (50). Wskazuje to na możliwy udział zwiększonej sekwestracji tlenu azotu w patogenezie nadciśnienia indukowanego przez ołów (4,29).

W niektórych badaniach wykazano jednak obniżenie stężenia cyklicznej guanylowej w ścianie naczyń krwionośnych szczurów (59). Z kolei stężenie cyklicznego GMP po 3 miesiącach ekspozycji na ołów nie różniło się istotnie statystycznie w porównaniu ze zwierzętami z grup kontrolnych, natomiast uległo obniżeniu po 12 miesiącach zatrutowania ołowiem (27). Sugeruje to upośledzenie produkcji tlenu azotu przez komórki śródbłonka w warunkach przewlekłego narażenia na ołów. Ale w innych badaniach nie obserwowano istotnego wpływu ołowiu na stężenie cyklicznego GMP (60) i wytwarzanie tlenu azotu u szczurów (61).

Podobnie jak w przypadku wpływu ołowiu na syntezę tlenu azotu, niejednoznaczny jest również wpływ ołowiu na stężenie i działanie endoteliny. Większość autorów obserwowała wzrost stężenia endoteliny-3 w osoczu szczurów zatrutowanych ołowiem, podczas gdy poziom endoteliny-1 nie ulegał zmianie (27,29). Inni natomiast wykazywali wzrost stężenia endoteliny-1 (3) u szczurów zatrutowanych ołowiem w takiej samej dawce (100 ppm) i przez taki sam okres (3 miesiące).

Zaburzony przez jony ołowiu metabolizm kwasów tłuszczowych może przyczynić się do zmian w zawartości pochodnych wielonienasyconych kwasów tłuszczowych: prostacykliny, tromboksanu, i leukotrienów w ścianie naczyń krwionośnych. Obserwowano wzrost stężenia prostaglandyny E₂ w surowicy i moczu narażonych na ołów szczurów oraz obniżenie stężenia prostacykliny w naczyniach krwionośnych w doświadczeniach przeprowadzonych *in vitro* (60).

Reaktywne formy tlenu powstające w ścianie naczyń krwionośnych mogą odgrywać istotną rolę w mechanizmie rozwoju nadciśnienia pod wpływem ołowiu (21,61). Wytwarzanie tych form wiąże się ściśle z metabolizmem tlenu azotu. Zarówno aniony nadtlenkowe, jak i tlenek azotu są wolnymi rodnikami (zawierają na zewnętrznej orbicie niesparowany elektron). Syntaza tlenu azotu, przy niedoborze tetrahydrobiopteryny, transportuje elektrony na cząsteczkowy tlen, powodując powstanie anionu nadtlenkowego. Najnowsze badania przeprowadzone z zastosowaniem inhibitora syntazy NO wskazują na możliwość wystąpienia nadciśnienia u szczurów narażonych na ołów w wyniku zmniejszenia ilości tlenu azotu oraz wzrostu ilości wolnych rodników tlenowych (4,29,61).

Mechanizmy, za pośrednictwem których ołów indukuje stres oksydacyjny nie są do końca poznane, natomiast wielu autorów uważa, że główną składową toksycznego działania ołowiu jest katalizowanie przez ten metal reakcji peroksydacyjnych. Liczne badania doświadczalne wykazały nasilenie peroksydacji lipidów i/lub osłabienie aktywności procesów antyoksydacyjnych w ścianie naczyń krwionośnych szczurów zatrutowanych ołowiem w małych dawkach (28,61). Może to być wynikiem podstawowego działania tego metalu, polegającego na zubożeniu komórek w zredukowany glutation i zmniejszeniu całkowitej puli grup sulfhydrylowych związanych z białkami. Mechanizmem pośredniego działania ołowiu może być także hamowanie enzymów antyoksydacyjnych, takich jak peroksydaza glutationu, reduktaza glutationu, dysmutaza nadtlenkowa, katalaza, czy dehydrogenaza glukozy-6-fosforanowa. Wiadomo również, że ołów działa toksycznie na błony komórkowe, zmieniając aktywność enzymów oraz strukturę białek błonowych.

Problem wpływu ołowiu na czynność śródbłonka naczyniowego, jak wynika z powyższego przeglądu, nie jest dokładnie wyjaśniony. Wymaga dalszych, intensywnych badań, ponieważ śródbłonek jest ważną strukturą w powstawaniu zmian miażdżycowych i nadciśnienia tętniczego, a z drugiej strony jest uznany za narząd docelowy toksycznego działania ołowiu. Dokładne poznanie wpływu ołowiu na stan i funkcję śródbłonka będzie prawdopodobnie istotne dla uzasadnienia stosowania nowych metod profilaktycznych i leczniczych chorób układu krążenia u osób narażonych na działanie tego metalu.

PIŚMIENNICTWO

1. Sharp D.S., Becker C.E., Smith A.H.: Chronic low-level lead exposure. Its role in the pathogenesis of hypertension. *Med. Toxicol.* 1987; 2 (3): 210-232.
2. Moller L.F., Kristensen T.S.: Lead - a possible risk factor of increased blood pressure and cardiovascular disease. *Ugeskrift for Laeger* 1993; 155 (40): 3203-3207.
3. Khalil- Manesh F., Gonick H.C., Weiler E.W.J., Prins B., Weber M.A., Purdy R. i wsp.: Effects of chelation treatment with DMSA on lead-related blood pressure changes. *Environ. Res.* 1994; 65: 86-99.

4. Ding Y., Vaziri N.D., Gonick H.C.: Lead - induced hypertension. II. Response to sequential infusions of L-arginine, superoxide dismutase, and nitroprusside. *Environ. Res.* 1998; 76: 107-113.
5. Tsao D., Yu H.S., Cheng J.T., Ho C.K., Chang H.R.: The change of beta-adrenergic system in lead-induced hypertension. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2000; 164 (2): 127-133.
6. Telisman S., Jurasovic J.: Blood pressure in relation to biomarkers of lead, cadmium, copper, zinc, and selenium in men without occupational exposure to metals. *Environ. Res.* 2001; 87 (2): 57-68.
7. Sharp D.S., Osterloh J., Becker C.E., Smith A.H., Holman B.L., Fisher J.M.: Elevated blood pressure in treated hypertensives with low-level lead accumulation. *Arch. Environ. Health* 1989; 44 (1): 18-22.
8. Niu Q., Day F.Y., Chen Y.L.: The effects of low-level lead exposure on autonomic nervous systems. *Toxicology* 1998; 17: 108-112.
9. Wójcik A., Brzeski Z., Sieklucka-Dziuba M.: Lead-levels in body fluids of workers automobile factory with clinically diagnosed arterial hypertension. *Ann. Agric. Environ. Med.* 2001; 8: 285-287.
10. Dolenc P., Staessen J.A., Lauwerys R.R., Amery A.: Short report: low-level lead exposure does not increase the blood pressure in the general population. *Cadmibel Study Group. J. Hypertens.* 1993 11 (5): 589-593.
11. Nordberg M., Winblad B., Fratiglioni L., Basun H.: Lead concentrations in elderly urban people related to blood pressure and mental performance: results from a population - based study. *Am. J. Ind. Med.* 2000; 38 (3): 290-294.
12. Weiss S.T., Munoz A., Stein A., Sparrow D., Speizer F.E.: The relationship of blood lead to systolic blood pressure in a longitudinal study of policemen. *Environ. Health Perspect.* 1988; 78: 53-56.
13. Kort W.L., Verschoor M.A., Wibowo A.A., Van Hemmen J.J.: Occupational exposure to lead and blood pressure. A study in 105 workers. *Am. J. Ind. Med.* 1987; 11: 145-156.
14. Kort W.L., Zwennis W.C.: Blood lead and blood pressure: some implications for the situation in the Netherlands. *Environ. Health Perspect.* 1988; 78: 67-70.
15. Pocock S.J., Shaper A.G., Ashby D., Delves H.T., Clayto B.E.: The relationship between blood lead, blood pressure, stroke, and heart attacks in middle-aged British men. *Environ. Health Perspect.* 1988; 78: 23-30.
16. Navah U., Fromm P., Kristal-Boneh E., Moschkovitz B., Ribak J.: Relationship of blood lead levels to blood pressure in battery workers. *Arch. Environ. Health* 1996; 52 (4): 324-328.
17. Santos A.C., Colacciopo S., Dal-Bo C.M., dos Santos N.A.: Occupational exposure to lead, kidney function tests, and blood pressure. *Am. J. Ind. Med.* 1994; 26: 635-643.
18. Wolf C., Wallnofer A., Waldhor T., Vutuc C., Meisinger V., Rudiger H.V.: Effect of lead on blood pressure in occupationally nonexposed men. *Am. J. Ind. Med.* 1995; 27 (6): 897-903.
19. Micciolo R., Canal L., Maranelli G., Apostoli P.: Non-occupational lead exposure and hypertension in northern Italy. *Int. J. Epidemiol.* 1994; 23 (2): 312-320.
20. Hu H., Aro A., Payton M., Korricks S., Sparrow S., Weiss S.T., Rotnitzky A.: the relationship of bone and blood lead to hypertension. The normative aging study. *JAMA* 1996; 275: 1171-1176.
21. Malvezzi C.K., Moreira E.G., Vassilief I, Vassilief V.S., Cordellini S.: Effect of L-arginine, DMSA and the association of L-arginine and DMSA on tissue lead mobilization and blood pressure level in plumbism. *Brazil. J. Med. Biol. Res.* 2001; 34: 1341-1346.
22. Schwartz J.: Lead, blood pressure, and cardiovascular diseases in men and woman. *Environ. Health Perspect.* 1991; 91: 71-75.
23. Nakhoul F., Kayne L.H., Brautbar N.: Lead hypertensiogenic effect of lead: Studies of the spontaneously hypertensive rat. *Toxicol. Ind. Health* 1992, 8 (1-2): 89-92.
24. Miniuk K., Moniuszko-Jakoniuk J., Kulikowska E., Omeljaniuk N.: The interactions of copper, lead and ethanol in rats: effects on some biochemical parameters of blood. *Pol. J. Pharm.* 1989; 41 (3): 273-280.
25. Staessen J., Yeoman W.B., Flechter A.E., Markowe H.L., Marmot M.G., Rose G. i wsp.: Blood lead concentration, renal function and blood pressure in London civil servants. *Br. J. Ind. Med.* 1990; 47: 442-447.
26. Pizent A., Jurasovic J., Telisman S.: Blood pressure in relation to dietary calcium intake, alcohol consumption, blood lead, and blood cadmium in female nonsmokers. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 2001; 15 (2-3): 123-130.
27. Khalil-Manesh F., Gonick H.C., Weiler E.W., Prins B., Weber M.A., Purdy M.E.: Lead- induced hypertension: possible role of endothelial factors. *Am. J. Hypertens.* 1993; 6: 723-729.
28. Vaziri N.D., Ding Y., Ni Z., Gonick H.C.: Altered nitric oxide metabolism and increased oxygen free radicals activity in lead - induced hypertension: effect of lazaroid therapy. *Kidney Int.* 1997; 52: 1042-1046.
29. Gonick H.C., Ding Y., Bondy S.C., Ni Z., Vaziri N.D.: Lead-induced hypertension : interplay of nitric oxide and reactive oxygen species. *Hypertension* 1997; 30: 1487-1492.
30. Shelkovnikov S.A., Gonick H.C.: Influence of lead on rat thoracic aorta contraction and relaxation. *Am. J. Hypertens.* 2001; 14: 873-878.
31. Vaziri N.D., Ding Y., Ni Z.: Nitric oxide synthase expression in the course of lead- induced hypertension. *Hypertension* 1999; 34: 558-562.
32. Marques M., Millas I., Jimenez A., Garcia-Colis E., Rodriguez-Feo J.A., Velasco S. i wsp.: Alteration of the soluble guanylate cyclase system in the vascular wall of lead-induced hypertension in rats. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2001; 12: 2594-2600.
33. Kaji T., Fujiwara Y., Hoshino M., Yamamoto C., Sakamoto M., Kozuka H.: Inhibitory effect of lead on the proliferation of cultured vascular endothelial cells. *Toxicology* 1995; 95: 87-92.
34. Kirkpatrick C.J., Wagner M., Hermanns I.: Physiology and cell biology of the endothelium: a dynamic interface of cell communication. *Int. J. Microcirc.* 1997, 17: 231-240.
35. Bassenge E.: Endothelial function in different organs. *Progress Cardiovasc. Dis.* 1996; 39: 209-228.
36. Alexander R.W., Dzau V.J.: Vascular biology: the past 50 years. *Circulation* 2000; 102 (20 Supl. 4): IV112-IV116.
37. Taddei S., Virdis A., Ghiadoni L., Sudano I., Salvetti A.: Endothelial dysfunction in hypertension. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 2001; 38 Supl. 2: 11-14.
38. Adamska-Dyniewska H.: Leki hamujące enzym przekształcający angiotensynę. Działanie i zastosowanie kliniczne. *Towarzystwo Terapii Monitorowanej, Łódź* 1996.
39. Furchgott R.F., Zawadzki J.V.: The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980; 288: 373-376.
40. Stanford S.J., Gitlin J.M., Mitchell J.A.: Identification of two distinct vasodilator pathways activated ATP in the mesenteric bed of the rat. *Br. J. Pharmacol.* 2001; 133 (6): 825-832.

41. Campbell W.B., Harder D.R.: Prologue: EDHF - what is it? *Am. J. Physiol.* 2001; 280: 2413H-2416H.
42. Matoba T., Shimokawa H., Nakashima M., Hirakawa Y., Mukai Y., Hirano K. i wsp.: Hydrogen peroxide is an endothelium-derived hyperpolarizing factor in mice. *J. Clin. Invest.* 2000; 106 (12): 1521-1530.
43. Govers R., Rabelnik T.J.: Cellular regulation of endothelial nitric oxide synthase. *AJP Renal Physiol.* 2001; 280: 193-206.
44. Oner G., Bilgen I.: L-arginine-induced changes in the characteristics of endothelin relaxation. *J. Basic Clin. Physiol. Pharmacol.* 2001; 12 (1): 77-90.
45. Stroes E.: Origin of superoxide production by endothelial nitric oxide synthase. *FEBS Lett.* 1988; 438: 161-164.
46. Wever R.M., Lüscher T.F.: Atherosclerosis and the two faces of endothelial nitric oxide synthase. *Circulation* 1998; 97: 108-112.
47. Sullivan J.C., Pollock D.M., Pollock J.S.: Altered nitric oxide synthase 3 distribution in mesenteric arteries of hypertensive rats. *Hypertension* 2002; 39: 597-602.
48. Noris M., Morigi M., Donadelli R., Aiello S., Foppolo M., Todeschini M. i wsp.: Nitric oxide synthesis by cultured endothelial cells is modulated by flow conditions. *Circ. Res.* 1995; 76: 536-543.
49. Toporsian M., Govindaraju K., Nagi M., Eidelman D., Thibault G., Ward M.E.: Downregulation of endothelial nitric oxide synthase in rat aorta after prolonged hypoxia in vivo. *Circ. Res.* 2000; 31: 86 (6): 671-675.
50. Vaziri N.D., Ding Y., Ni Z.: Compensatory up-regulation of nitric oxide synthase isoforms in lead-induced hypertension; reversal by a superoxide dismutase-mimetic drug. *J. Pharm. Exp. Ther.* 2001; 298 (2): 679-685.
51. Ju H., Zou R., Venema V.J., Venema R.C.: Direct interaction of the endothelial nitric oxide synthase and caveolin-1 inhibits synthase activity. *J. Biol. Chem.* 1997; 272: 18522-18525.
52. Jen C.J., Jhiang S.J., Chen H.I.: Cellular response to mechanical stress. Invited Review: Effects of flow on vascular endothelial intracellular calcium signaling of rat aortas ex vivo. *J. Appl. Physiol.* 2000; 89 (4): 1657-1669.
53. Benigni A., Remuzzi G.: Endothelin antagonists. *Lancet* 1999; 353: 133-138.
54. Redmond E.M., Cahill P.A., Hodges R., Zhang S., Sitzmann J.V.: Regulation of endothelin receptors by nitric oxide in cultured rat vascular smooth muscle cells. *J. Cell Physiol.* 1996; 166 (3): 469-479.
55. Mulvany M.J.: Vascular remodeling of resistance vessels: can we define this? *Cardiovasc. Res.* 1999; 41: 9-13.
56. Fujiwara Y., Kaji T.: Possible mechanism for lead inhibition of vascular endothelial cell proliferation: a lower response to basic fibroblast growth factor through inhibition of heparan sulfate synthesis. *Toxicology* 1999; 133 (2-3): 147-157.
57. Fujiwara Y., Watanabe S., Sakamoto M., Kaji T.: Repair of wounded monolayers of cultured vascular endothelial cells after simultaneous exposure to lead and zinc. *Toxicol. Lett.* 1998; 94 (3): 181-188.
58. Vaziri N.D., Liang K., Ding Y.: Increased nitric oxide inactivation by reactive oxygen species in lead-induced hypertension. *Kidney Int.* 1999; 56: 1492-1498.
59. Marques M., Millas I., Jimenez A., Garcia-Colis E., Rodriguez-Feo J.A., Velasco S. i wsp.: Alteration of the soluble guanylate cyclase system in the vascular wall of lead-induced hypertension in rats. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2001; 12: 2594-2600.
60. Gonick H.C., Ding Y., Vaziri N.D.: Effect of low lead exposure on eicosanoid excretion in rats. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* 1998; 55: 77-82.
61. Ding Y., Gonick H.C., Vaziri N.D.: Lead-induced hypertension. Increased hydroxyl radical production. *Am. J. Hypertens.* 2001; 14: 169-173.