

## اثر عصاره‌ی آبی-الکلی هسته‌ی انگور قرمز بر میزان جریان خون مفصل زانو در موش‌های صحرایی دریافت‌کننده‌ی سرب

فاطمه زارع مهرجردی<sup>۱</sup>، محمد بدوفی<sup>۲</sup>، ساره عاشورزاده<sup>۳</sup>، لیدا مرادی<sup>۴</sup>، سید حسین داودی<sup>۵</sup>، مرجان عجمی<sup>۶</sup>

- ۱- دانشجوی دکترای فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوqi یزد
- ۲- دانشیار گروه فیزیولوژی دانشگاه جندی شاپور اهواز
- ۳- دانشجوی دکترای بیولوژی، مرکز تحقیقاتی-درمانی نایاروری دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوqi یزد
- ۴- دانشجوی دکترای مهندسی بافت، دانشکده فناوری‌های نوین، دانشگاه علوم پزشکی شهر تهران
- ۵- استادیار گروه تغذیه بالینی و رژیم درمانی، انتستیتو تحقیقات تغذیه و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
- ۶- نویسنده مسئول: استادیار گروه تحقیقات سیاستگذاری و برنامه ریزی غذا و تغذیه، انتستیتو تحقیقات تغذیه و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی پست الکترونیکی: marjan\_iums@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۹۲/۱/۲۶

تاریخ دریافت: ۹۱/۱۱/۲۲

### چکیده

**سابقه و هدف:** افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن در حیوانات دریافت‌کننده‌ی سرب نقش اصلی را در افزایش فشار خون شریانی به عهده دارد. در این مطالعه، اثر عصاره‌ی آبی-الکلی دانه‌ی انگور قرمز به عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی بر میزان فشار خون و تغییرات جریان خون مفصل زانو در موش‌های دریافت‌کننده‌ی سرب بررسی شد.

**مواد و روش‌ها:** در این پژوهش از ۳۲ موش صحرایی نژاد ویستار استفاده شد. موش‌ها به ۴ دسته‌ی هشت تایی تقسیم شدند: گروه شاهد، گروه دریافت کننده‌ی آب حاوی ۱۰۰ ppm استات سرب به تنها، گروه دریافت‌کننده‌ی عصاره به تنها (۱۰۰ mg/kg) و گروهی که هم عصاره و هم سرب (۱۰۰ ppm) استات سرب و ۱۰۰ mg/kg عصاره به مدت ۶۰ روز دریافت کردند. برای اندازه‌گیری تغییرات فشار خون از کاف دمی استفاده شد. امواج فشار خون بعد از تقویت و فیلتر شدن با استفاده از نرم افزار چارت-۵ پاورلب روی صفحه نمایش رایانه نشان داده می‌شد. تغییرات جریان خون با استفاده از دستگاه جریان‌سنج لیزری دو کاتالله اندازه‌گیری شد. جریان خون مفصل زانو در پاسخ به تجویز موضعی سدیم نیتروپروساید (SNP) به عنوان شلکننده‌ی غیر وابسته به آندوتیلیوم بررسی شد.

**یافته‌ها:** تماس دراز مدت با سرب به صورت معنی‌داری باعث افزایش فشار خون ( $3/3 \pm 0.05$ ) شد ( $P < 0.05$ ). مصرف عصاره‌ی هسته‌ی انگور به صورت معنی‌داری ( $0.01 < P < 0.05$ ) مانع افزایش فشار خون ناشی از سرب در گروه دریافت‌کننده‌ی سرب و عصاره‌ی هسته‌ی انگور شد ( $11/0.25 \pm 0.11$ ). SNP با دز  $10^4 MOL$  با افزایش قطر عروق باعث افزایش جریان خون مفصل زانو در گروه دریافت‌کننده‌ی سرب ( $1/8.9 \pm 0.22$ ٪ افزایش) و کاهش فشار خون شد ( $P < 0.05$ ). عصاره‌ی دانه‌ی انگور از تأثیر سرب بر کاهش جریان خون مفصل زانو در پاسخ به SNP در گروه دریافت‌کننده‌ی سرب جلوگیری کرد ( $P < 0.05$ ).

**نتیجه‌گیری:** عصاره‌ی هسته‌ی انگور احتمالاً با خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی و با حذف رادیکال‌های آزاد، فشار خون رادر گروه دریافت‌کننده‌ی سرب کاهش می‌دهد و بنابراین، می‌تواند از اثرات سمی سرب جلوگیری کند.

**واژگان کلیدی:** عصاره‌ی هسته‌ی انگور، جریان خون مفصل زانو، سرب، سدیم نیتروپروساید (SNP)، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، رادیکال‌های آزاد اکسیژن

### • مقدمه

می‌گذارد (۲). مقادیر کم سرب باعث افزایش فشار خون در انسان و حیوانات آزمایشگاهی می‌شود (۳، ۴).

مطالعات فراوانی برای بررسی مکانیسم اثر سرب انجام گرفته است. عوامل مختلفی در ایجاد فشار خون ناشی از سرب شناخته شده است؛ مانند: تغییر فعالیت ACE (angiotensin converting enzyme)

سرب یک فلز سفید مایل به آبی است که در محیط زندگی ما به فراوانی یافت می‌شود (۱). سازمان حفاظت زیست (EPA) آمریکا سرب را در فهرست ۱۰ ماده‌ی آلوده‌کننده محیط زیست قرار داده است (۲). سرب بر همه‌ی بافت‌ها و دستگاه‌های مختلف بدن انسان و حیوانات تأثیر

استفاده شد (تهیه شده از مرکز تحقیقات، تکثیر و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور /هوژ) استفاده شد. حیوانات در شرایط مطلوب از نظر دما و نور و بدون محدودیت آب و غذا در حیوان‌خانه نگهداری شدند.

موس‌ها به ۴ دسته هشت‌تایی تقسیم شدند: (A) گروه شاهد. (B) گروهی که ۰/۰۱ درصد استات سرب به مدت ۶۰ روز از طریق آب آشامیدنی دریافت کردند. (C) گروهی که ۱۰۰mg/kg عصاره هسته‌ی انگور به مدت ۶۰ روز به صورت گواوژ دریافت کردند. (D) گروهی که ۱۰۰mg/kg عصاره‌ی هسته‌ی انگور و ۰/۰۱ درصد استات سرب از طریق آب آشامیدنی به مدت ۶۰ روز دریافت کردند.

**ثبت فشار خون و ضربان قلب:** موس‌ها بدون بیهودشی در قفس‌های آکریلیک شفاف قرار داده شدند. قبل از اندازه‌گیری فشارخون به موس‌ها فرصت داده شد که به مدت ۱۵ دقیقه در قفس استراحت کنند تا با قفس سازگار شوند. سپس از کاف فشار دمی با قطر تقریباً ۱/۵cm و طول ۳cm استفاده شد (۱۴). دم موس را در این کاف قرار داده و در فواصل زمانی کوتاه کاف مرتباً پر و خالی می‌شد تا موس با شرایط جدید سازگار شود. سپس فشار دم موس ۳ بار اندازه‌گیری شد. میانگین مقادیر مختلف فشار شریانی به عنوان فشار سیستولیک در نظر گرفته شد (۱۵). شروع اولین پالس بعد از باز شدن کاف نشان‌دهندهٔ فشار سیستولیک بود. امواج بعد از تقویت و فیلتر شدن با استفاده از نرم افزار چارت-۵ پاورلب روی رایانه نمایش داده می‌شد. فشار خون هر ۱۰ روز یک بار اندازه‌گیری شد.

**اندازه‌گیری تغییرات جریان خون:** پس از ۶۰ روز، حیوانات با تریق داخل صفاقی اورتان به میزان ۱/۵g/kg بیهودش شدند. یک قسمت بیضی شکل از پوست ناحیه قدامی- جانبی زانو با قیچی برداشته شد تا این ناحیه از مفصل زانو ظاهر شود. برای اندازه‌گیری تغییرات جریان خون از دستگاه لیزرسنج دو کاناله‌ی DRT4 استفاده شد. تغییرات جریان خون زانوی راست در پاسخ به دزهای مختلف سدیم نیتروپروساید (MOL<sup>-۳</sup>) تا ۱۰<sup>-۹</sup> (۱۰) اندازه‌گیری شد.

**روش آنالیز داده‌ها:** مقایسه‌ی داده‌های گروه‌ها با استفاده از Repeated measurement و آزمون tukey انجام شد. داده‌ها به صورت میانگین انحراف $\pm$ معیار بیان شد. P<۰/۰۵ به عنوان مرز معنی‌داری تفاوت‌ها در نظر گرفته شد.

آنژیوتانسین ۲ و آندوتلین (۶، ۵)، افزایش حساسیت به تحریک گیرنده‌های بتا‌ادرنرژیک در قلب و عروق (۷)، تحریک فعالیت سمپاتیک و افزایش کاتکول آمین‌ها در گردش خون (۸).

مواجهه با سرب حتی در مقداری کم باعث افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن (ROS) نظیر یون سوبراکسید، پراکسید هیدروژن، رادیکال اکسیژن و رادیکال هیدروژن می‌شود (۹، ۱۰). مقداری بالای ROS باعث کاهش میزان نیتریک اکسید (NO) می‌شود (۱۰). NO در آندوتلیوم ساخته می‌شود و با تحریک گوانیلیل سیکلаз محلول در سلول‌های ماهیچه‌ی صاف مجاور، عروق را گشاد می‌کند (۱۱). NO در فشار خون ناشی از سرب نقش مهمی دارد. گزارش‌های متعددی مبنی بر کاهش دفع متابولیت‌های NO در ادرار حیوانات در معرض سرب منتشر شده است (۱۲). در چندین مطالعه برای کاهش استرس اکسیدانیو و برگرداندن فشار خون به حد نرمال از آنتی‌اکسیدان‌ها استفاده شده که مؤثر بوده است. ویتامین‌های C و E به عنوان آنتی‌اکسیدان با برداشت رادیکال‌های آزاد اکسیژن مانع کاهش تولید NO شدند و از افزایش فشار خون جلوگیری کردند (۱۳). عصاره‌ی هسته‌ی انگور غنی از پرو‌آنتوسیانیدین‌ها است. اثر آنتی‌اکسیدانی این عصاره بسیار قوی‌تر از ویتامین‌های C و E است (۱۳). در پژوهش حاضر، اثر عصاره‌ی هسته‌ی انگور به عنوان آنتی‌اکسیدان قوی بر پاسخ‌دهی عروقی به عوامل شل‌کننده در مسمومیت مزمن با سرب که می‌تواند بر میزان جریان خون مؤثر باشد، بررسی شد.

## • مواد و روش‌ها

**تهیه‌ی عصاره:** محموله‌های انگور قرمز مورد استفاده در این پژوهش از باغ‌های قزوین خریداری شد. دانه‌های انگور قرمز به وسیله‌ی متخصص گیاه‌شناسی تأیید شد. هسته‌های انگور به صورت دستی از دانه‌های انگور جدا و به مدت یک هفته در معرض هوا خشک شد (در سایه و در دمای ۲۰ تا ۳۰ درجه سانتی‌گراد). هسته‌های خشک شده به وسیله‌ی آسیاب برقی پودر شد (ذرات کمتر از ۰/۴mm). پودر هسته‌ی انگور در اثانول ۷۰٪ به مدت ۷۲ ساعت در دمای اتاق قرار گرفت و روزی سه بار تکان داده شد تا عصاره جدا شود. سپس مخلوط از صافی عبور داده شد و در دمای اتاق خشک شد. عصاره با آب آشامیدنی، حل شده و به وسیله‌ی سرنگ، گواوژ شد.

**حیوانات مورد آزمایش:** در این پژوهش از موس‌های صحرابی نر نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۵۰ تا ۲۰۰ گرم

## • یافته‌ها

اختلاف معنی دار ( $P < 0.001$ ) در گروه B تا روز شصتمن آزمایش در مقایسه با روز اول ادامه داشت.

**نتایج حاصل از تغییرات جریان خون مفصل زانو در پاسخ به SNP:** بررسی بین گروهی نشان داد که میزان جریان خون مفصل زانو در گروه B تا دز  $SNP^{10^{-5}}MOL$  اختلاف معنی داری با سایر گروهها نداشت. در دز  $SNP^{10^{-4}}MOL$  اختلاف معنی داری داری ( $P < 0.05$ ) در میزان جریان خون مفصل زانو بین گروه B  $1/89 \pm 22/28$  درصد افزایش) با گروه شاهد ( $7/57 \pm 42/24$  درصد افزایش) و گروه C ( $41/41 \pm 4/41$  درصد افزایش) مشاهده شد. اختلاف معنی داری بین میزان جریان خون مفصل زانو در گروه B ( $2/42 \pm 24/28$  درصد افزایش) با گروه شاهد ( $5/07 \pm 44/28$  درصد افزایش) و گروه C ( $3/39 \pm 28/42$  در دز  $SNP^{10^{-3}}$ ) مشاهده شد. در گروههای C و B جریان خون در دزهای  $10^{-4}$  و  $10^{-3}$  SNP نسبت به گروه B مشاهده شد. اختلاف معنی داری در میزان جریان خون بین گروه D با گروه شاهد مشاهده نشد. بین گروه C با گروه شاهد نیز اختلاف معنی داری مشاهده نشد. (جدول ۲). بررسی نتایج داخل گروهی نشان داد که در گروههای شاهد، C و D، اختلاف معنی داری ( $P < 0.001$ ) در میزان جریان خون مفصل زانو در دزهای  $10^{-4}$  و  $10^{-3}$  SNP در مقایسه با دز  $SNP^{10^{-9}}$  وجود داشت. در گروه B افزایش معنی داری ( $P < 0.01$ ) در میزان جریان خون در دز  $10^{-3}$  SNP در مقایسه با دز  $10^{-9}$  SNP مشاهده شد.

**نتایج حاصل از اندازه‌گیری فشار خون شریانی: فشار خون در گروه دریافت‌کننده‌ی سرب قبل از شروع آزمایش  $107 \pm 43/43$  میلی‌متر جیوه بود که در روز سیام پس از شروع دریافت سرب با وجود افزایش فشار خون در گروه B ( $113/79 \pm 2/49$  mmHg) اختلاف معنی داری نسبت به فشار خون گروه شاهد ( $104/44 \pm 1/98$  mmHg) مشاهده نشد. در روز چهلم اختلاف معنی داری بین فشار خون در گروه B ( $122/23 \pm 2/23$  mmHg) و گروههای شاهد (سرب) ( $104/31 \pm 3/08$  mmHg)، گروه C ( $104/22 \pm 2/23$  mmHg) و گروه D ( $107/56 \pm 2/45$  mmHg) مشاهده شد. فشار خون گروه B در روز شصتمن به  $129/12 \pm 3/3$  میلی‌متر جیوه افزایش یافت که اختلاف معنی داری با سایر گروهها نشان داد. اختلاف معنی داری در فشار خون سیستولیک بین گروه D (سرب + عصاره‌ی هسته‌ی انگور) و گروه شاهد در روزهای مختلف مشاهده نشد. همچنین، بین فشار خون گروه C ( فقط عصاره) و گروه شاهد در روزهای مختلف، اختلاف معنی داری مشاهده نشد (جدول ۱).**

بررسی فشار خون داخل گروهی نشان داد که فشار خون در گروههای C، D و شاهد در روزهای مختلف تفاوت معنی داری ندارد. فشار خون در گروه B تا روز سیام آزمایش اختلاف معنی داری با روز اول مطالعه نشان نداد، اما در روز چهلم ( $122/23 \pm 2/23$ ) افزایش معنی داری ( $P < 0.001$ ) در مقایسه با روز اول ( $107/10 \pm 0.93$ ) مشاهده شد. این

جدول ۱. تغییرات فشار خون در روزهای مختلف در گروههای مورد مطالعه

p-value (R.M.ANOVA)	زمان گروه زمان $\times$ گروه	روزهای پژوهش						گروه
		شصتم	پنجاهم	چهلم	سیام	بیستم	دهم	
$0.001$	$107/27 \pm 2/7^a$	$105/33 \pm 1/81^a$	$104/23/23^a$	$104/44 \pm 1/98^a$	$107/5 \pm 3/26^a$	$102/87 \pm 2/2^a$	$106/43 \pm 2/19^a$	A (شاهد)
	$129/12 \pm 3/37^{b,c}$	$125/25 \pm 3/84^b$	$122 \pm 2/23^b$	$113/79 \pm 2/49^{a,b}$	$108/28 \pm 2/59^a$	$105/41 \pm 2/09^a$	$100/93 \pm 1/07^a$	(سرب) B
	$110/25 \pm 2/11^a$	$106 \pm 1/85^a$	$107/56 \pm 2/45^a$	$106/11 \pm 1/26^a$	$107/86 \pm 1/19^a$	$105/68 \pm 1/88^a$	$106/58 \pm 1/37^a$	(عصاره، سرب) C
	$106/5 \pm 2/57^a$	$100/37 \pm 1/75^a$	$104/31 \pm 3/08^a$	$102/65 \pm 2/84^a$	$105/42 \pm 1/38^a$	$104/51 \pm 1/17^a$	$107 \pm 1/99^a$	(عصاره) D

در هر ردیف و ستون، مقادیر با حروف متفاوت، تفاوت معنی داری با یکدیگر دارند.

## جدول ۲. تغییرات جریان خون مفصل زانو در پاسخ به دزهای مختلف سدیم نیترو بروساید در گروه‌های مورد مطالعه

p-value (R.M.ANOVA)	زمان گروه زمان×گروه	SNP							شناخت گروه (شاهد) A
		(-log 3)	(-log 4)	(-log 5)	(-log 6)	(-log 7)	(-log 8)	(-log 9)	
.۰/۰۰۱	۴۴±۵/۰۷ <sup>b</sup>	۴۲±۷/۰۷ <sup>b</sup>	۲۲/۱۴±۴/۰۵ <sup>a</sup>	۱۸/۲۸±۴/۲۵ <sup>a</sup>	۱۱±۱/۱۴ <sup>a</sup>	۸/۴۲±۲/۳۷ <sup>a</sup>	۴/۸۶±۲/۶۲ <sup>a</sup>		
.۰/۰۵	۲۴/۲۸±۱/۸۹ <sup>ab</sup>	۲۲/۲۸±۱/۸۹ <sup>ab</sup>	۱۷/۴۲±۴/۸۹ <sup>a,b</sup>	۱۲/۵±۱/۶۱ <sup>a</sup>	۶±۱/۷۱ <sup>a</sup>	۶/۸۵±۲/۴۸ <sup>a</sup>	۴±۱/۱۵ <sup>a</sup>		
.۰/۰۰۱	۴۰/۵±۴/۷۳ <sup>b</sup>	۳۹±۴/۶۴ <sup>b</sup>	۲۷±۱/۱۸۷ <sup>a,b</sup>	۱۹/۱۴±۲/۴۸ <sup>a</sup>	۱۴±۲/۲۵ <sup>a</sup>	۱۲±۲/۰۹ <sup>a</sup>	۹/۸۵±۱/۷۳ <sup>a</sup>		
.۰/۰۰۱	۴۲/۲۸±۳/۳۹ <sup>b</sup>	۴۱/۴±۴/۰۹ <sup>b</sup>	۲۶/۴±۳/۴۷ <sup>a,b</sup>	۲۰/۴±۳/۰۱ <sup>a</sup>	۱۳±۲/۲۶ <sup>a</sup>	۱۱/۱۴±۲/۵۱ <sup>a</sup>	۱۱±۱/۷۳ <sup>a</sup>		

در هر ردیف و ستون مقادیر دارای حروف متفاوت، تفاوت معنی‌دار با یکدیگر دارد

## • بحث

و همکاران نشان دادند که عصاره‌ی هسته‌ی Feringa انگور باعث کاهش معنی‌دار فشار خون سیستولیک و ضربان قلب می‌شود. این کاهش، بسیار ارزشمند است؛ زیرا مطالعات نشان داده است که هر ۳ میلی‌متر جیوه کاهش در فشار خون سیستولیک می‌تواند مرگ و میر ناشی از سکته‌ی مغزی و بیماری‌های قلبی را به ترتیب ۸ و ۵ درصد کاهش دهد.

عصاره‌ی هسته‌ی انگور به دلیل دارا بودن ترکیبات پلی‌فنولی نظیر رزوراتول نه تنها می‌تواند استرس اکسیداتیو را کاهش دهد، بلکه می‌تواند از اکسیداسیون لیپوپروتئین‌ها و تجمع کلسترول در ماکروفاژها جلوگیری کند. علاوه بر این، دسترسی به نیتریک اکسید را افزایش می‌دهد و با کاهش ویسکوزیته‌ی خون از چسبندگی پلاکت‌ها به سطوح پوشیده از فیبرینوژن جلوگیری می‌کند و باعث کاهش فیبرینوژن و فاکتور انعقادی ۷ می‌شود (۲۵). در پژوهش حاضر تجویز موضعی SNP در گروه‌های شاهد، عصاره، عصاره + سرب به صورت وابسته به دز باعث افزایش جریان خون شد. مقادیر SNP کم سرب باعث کاهش پاسخ عروقی به تجویز موضعی SNP می‌شود و مصرف عصاره‌ی هسته‌ی انگور به همراه سرب از اثر سرب بر جریان خون، پیشگیری می‌کند. بنابراین، احتمال دارد که سرب با تولید رادیکال‌های آزاد و اثر بر ماهیچه‌ی صاف عروقی مانع اثر SNP به عنوان NO اگزوزن بر این ماهیچه شود و از افزایش جریان خون به دنبال تجویز SNP جلوگیری کند. این نتایج، مشابه نتایج تحقیقات Marques و همکاران است (۲۱، ۲۰). در پژوهش حاضر، عصاره‌ی هسته‌ی انگور توانست با خاصیت آنتی‌اکسیدانی و حذف رادیکال‌های آزاد از اثر سرب بر ماهیچه‌ی صاف جلوگیری کند و جریان خون عروق زانو را افزایش دهد یک راه احتمالی دیگر این است که عصاره از طریق افزایش تولید

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که مقادیر کم سرب در دراز مدت باعث افزایش فشار خون می‌شود و مصرف عصاره‌ی هسته‌ی انگور به همراه سرب از افزایش فشار خون در اثر سرب جلوگیری می‌کند. مطالعات فراوانی نشان داده است که فشار خون ناشی از سرب ارتباط زیادی با افزایش تولید رادیکال‌های آزاد دارد (۴، ۳)، وزیری و همکاران نشان دادند که پراکسیداسیون لیپیدی و تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن در موش‌ها و سلول‌های کشت‌شده‌ی آندوتیال در اثر مواجهه با سرب افزایش می‌یابد (۱۷، ۱۶). نقش رادیکال‌های آزاد اکسیژن در افزایش فشار خون کاملاً شناخته شده نیست، اما چند مطالعه نشان داده است که سرب بر سیستم NO اثر می‌گذارد و با کاهش فعالیت eNOS یا افزایش کاتابولیسم NO باعث افزایش فشار خون می‌شود یا افزایش کاتابولیسم NO در موش‌های صحراوی شل شدگی عروقی به NSP در موش‌های صحراوی دریافت‌کننده‌ی سرب کاهش می‌یابد (۲۰، ۲۱).

از طرفی انگور از میوه‌هایی است که به مقدار فراوان در سراسر جهان مصرف می‌شود و مقادیر زیادی پرو‌آنتوسیانیدین دارد. هسته‌ی انگور شامل چندین فلاونوئید است: فلاونولهای مونومریک (کاتچین و اپی‌کاتچین) دی‌مریک، تری‌مریک و پروسیانیدین‌های پلی‌مریک و اسیدهای فنلی (۲۲). فلاونوئیدها در پیشگیری از بیماری‌های قلبی نقش مهمی ایفا می‌کنند (۲۳). Du و همکاران نشان دادند که پلی‌فنل‌های هسته‌ی انگور با القا آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سلولی باعث محافظت سلول‌های قلبی از آپوپتوز می‌شود (۲۴).

نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که سرب احتمالاً با تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و تخریب ماهیچه‌ی صاف عروق باعث افزایش فشار خون می‌شود و عصاره‌ی هسته‌ی انگور با خاصیت آنتی اکسیدانی قوی و حذف رادیکال‌های آزاد تولید شده به وسیله‌ی سرب یا از طریق تحریک سنتر نیتریک اکسید، فشارخون را در گروه دریافت‌کننده‌ی سرب کاهش می‌دهد. کاهش معنی‌دار در افزایش جریان خون در گروه دریافت‌کننده‌ی سرب نسبت به سایر گروه‌ها در پاسخ به NSP می‌تواند شاهدی بر این ادعا باشد.

از آن جا که هسته‌ی انگور سرشار از ترکیبات فنولی است، طیف وسیعی از خواص آنتی اکسیدانی و ضد التهابی دارد و می‌تواند سلول‌ها را در مقابل رادیکال‌های آزاد و استرس اکسیداتیو محافظت کند. امید است که این پژوهش در یافتن راه‌های جایگزین طبیعی برای درمان و پیشگیری از فشار خون مفید باشد.

NO باعث بهبودی جریان خون در گروه دریافت‌کننده‌ی سرب شده است.

*Cui* و همکاران در سال ۲۰۱۲ نشان داد که عصاره‌ی هسته‌ی انگور باعث کاهش فشار خون می‌شود. این عمل از راه‌های متفاوتی انجام می‌شود. یکی از این راه‌ها تحریک نیتریک اکسید سنتاز اندوتلیم عروق است. در پژوهش حاضر نیز عصاره‌ی هسته‌ی انگور و NSP هر دو باعث کاهش فشارخون شدند. اختلال در عملکرد اندوتلیال یکی از ویژگی‌های بیماری‌های قلبی عروقی است و عملکرد طبیعی عروق به نیتریک اکسید اندوتلیوم وابسته است زیرا این ماده در پیشگیری از تجمع و چسبندگی پلاکت‌ها و لوکوسیت‌ها به اندوتلیوم نقش مهمی دارد. ظاهر نیتریک اکسید سنتاز اندوتلیم توسعه عواملی تحریک می‌شود، عصاره‌ی هسته‌ی انگور یکی از این عوامل است. این که چه راهی هسته‌ی انگور ظاهر نیتریک اکسید سنتاز را تحریک می‌کند، هنوز کاملاً شناخته شده نیست. (۲۶)

## • References

1. Davidson KA. Toxicity summary for lead (inorganic). Chemical hazard evaluation group; 1994 Dec: 3-27. Available at: <http://rais.ornl.gov/tax/profiles/lead.shtml/>. Accessed 2007 Oct5.
2. Jubery DR, Kleiman CF, and Kwan SC. Position paper of the American Council on Science and Health: lead and human health. Ecotoxicol Environ Saf 1997;38:162-80.
3. Gonick HC, Ding Y, Bondy SC, Ni Z, Vaziri ND. Lead-induced hypertension: interplay of nitric oxide and reactive oxygen species. Hypertension 1997; 30(6):1487-92.
4. Vaziri ND, Sica DA. Lead-induced hypertension: role of oxidative stress. CurrHyperens Rep 2004;6:314-20.
5. Sharifi AM, Darabi R, Akbarloo N, Larigani B, Khoshbaten A. Investigation of circulatory and tissue ACE activity during development of lead-induced hypertension. Toxicollett 2004; 153:233-8.
6. Heydari A, Norouzzadeh R. Effects of short-term and subchronic lead poisoning on nitric oxide metabolites and vascular responsiveness in rat. Toxicollett 2006; 166:88-94.
7. Chang HR, Tsao DA, Yu HS, Ho CK. The change of  $\beta$ -adrenergic system after cessation of lead exposure. Toxicology 2005; 207: 73-80.
8. LaiCC, Lin HH, Chen CW, Chen SH, Chiu TH. Excitatory action of lead on rat sympathetic preganglionic neurons in vitro and in vivo. Life Sci2002; 71: 1035-45.
9. Ni Z, Hou S, Barton CH, Vaziri ND. Lead exposure raises superoxide and hydrogen peroxide in human endothelial and vascular smooth muscle cells. Kidney Int 2004; 66: 2329-36.
10. Vaziri ND, Liang K, Ding Y. Increased NO inactivation and sequestration in lead-induced hypertension. Effect of vitamin. Kidney Int 1997;56:1492-98.
11. Buss R, Mulsch A, Fleming I, Hecker M. Mechanism of nitric oxide release from the vascular endothelium. Circulation 1993;87:18-25.
12. Purdy RE, Smith JR, Ding Y, Vaziri ND. Lead induced hypertension is not associated with altered vascular reactivity in rat. American Journal of hypertension 1997;10:997-1003.
13. Bagchi D, Gray A, Krohn RL, Bagchi M, Tran MX, Stohs SJ. Oxygen free radical scavenging abilities of vitamins C and E, and a grape seed proanthocyanidin extract in vitro. PatholPharmacol 1997;95(2):179-89.
14. Gerges NZ, AleisaAM, Alhaider AA. Reduction of elevated arterial blood pressure in obese Zucker rats

- by inhibition of ganglionic long-term potentiation. *Neuropharmacology* 2002;43(7):1070-6.
15. Alkadi KA, Alzoubi KH, Aleisa AM. Psychosocial stress-induced hypertension results from invivo expression of long-term potentiation in rat sympathetic ganglia. *Neurobiol Dis* 2005;20(3):849-57.
  16. Vaziri ND, Lin CY, Farmand F, Sinhu RK. Superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase and NADPH oxidase in lead-induced hypertension. *Kidney Int* 2003; 63(1): 186-94.
  17. Ding Y, Gonick HC, Vaziri ND. Lead promotes hydroxil radical generation and lipid prooxidation in cultured aortic endothelial cells. *AM J Hypertens* 2000; 13(5, part 1): 552-5.
  18. Mittal CK, WB Harrell, CS Mahta. Interaction of heavy metal toxicants with brain consecutive nitric oxide synthase. *Mol Cell Biochem* 1995; 149-150: 263-5.
  19. Gonick HC, Ding Y, Bondy SC, Ni Z, VaziriND. Lead-induced hypertension: interplay of nitric oxide and reactive oxygen species. *Hypertension* 1997; 30(6): 1487-92.
  - 20.. Marques M, Millas I, Jimenez A, Garcia-Colis E, Rodriguez-Feo JA, Velasco S, et al. Alteration of the soluble guanylatecyclase system in the vascular wall of lead-induced hypertension in rats. *J Am SocNephrol* 2001;12(12):2594-600.
  21. Courtois E, Marques M, Barrientos A, Casado S, López-Farré A. Lead-induced downregulation of soluble guanylatecyclase in isolated rat aortic segments mediated by reactive oxygen species and cyclooxygenase-2. *J Am SocNephrol* 2003; 14: 1464-70.
  22. Agarwal C, Veluri R, Kaur M, Chou SC, Thompson JA, Agarwal R. Fractionation of high molecular weight tannins in grape seed extract and identification of procyanidin B<sub>2-3</sub>, 3-di-o-gallate as a major active Constituent causing growth inhibition and apoptotic death of DU145 human prostate carcinoma cells. *Carcinogenesis* 2007; 28(7); 1478-84.
  23. Van Mierlo L A I, Zock LP, Vander knap HCM, Drijer R. Grape polyphenols do not affect vascular function in healthy men. *Am Soc Nut* 2010; 10. 1769-73.
  24. Du Y, Guo H, Lou H. Grape seed polyphenols protect cardiac cells from apoptosis via induction of endogenous antioxidant enzymes. *J Agric Food Chem* 2007; 55(5): 1695-1701.
  25. Feringa H.H, Laskey DA, Dickson JE, Coleman CI. The effect of grape seed extract on cardiovascular risk markers: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials *J Am Diet Assoc* 2011 Aug, 111 (8): 1173-81.
  26. Cui X, Liu X, Feng H, Zhao S, Gao H. Grape seed proanthocyanidin extracts enhance endothelial nitric oxide synthase expression through 5'-AMP activated protein kinase/sirtuin 1-Krüpple like Factor 2 Pathway and Modulate Blood Pressure in ouabain induced hypertensive rats. *Biol Pharm Bull* 2012; 35(12): 2192-7.

## The effects of aqueous-alcoholic red grape seed extract on the knee joint blood flow in rats receiving lead

Zare M. F<sup>1</sup>, Badavi M<sup>2</sup>, Ashoorzadeh S<sup>3</sup>, Moradi L<sup>4</sup>, Davoodi H<sup>5</sup>, Ajami M\*<sup>6</sup>

1-Physiology Ph.D student. Dept. physiology, school of medicine, shahid sadoughi university of medical sciences, yazd, iran.

2- Associated Prof. Physiology Research Center, Department of Physiology, Faculty of Medicine, Ahwaz Jundishapour university of medical sciences, Ahwaz, Iran.

3- Biology Ph.D student. Research & clinical center for infertility, shahid sadoughi university of medical science, Yazd, Iran.

4- Tissue engineering Ph.D student. School of technologies in advance medicine, Tehran university of medical science (TUMS).

5-. Assistant Prof. Dept. of Clinical Nutrition and Dietetics, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Science, Tehran, Iran.

6- \* Corresponding author: Assistant Prof. Dept. of Food and Nutrition Policy and Planning Research, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran. Email: marjan\_iums@yahoo.com

Received 10 Feb, 2013

Accepted 15 Apr, 2013

**Background and Objective:** Chronic exposure to low amounts of lead causes hypertension in humans and experimental animals. The main objective of this study was to determine the effect of aqueous-alcoholic red grape seed extract (GSE) on the knee joint blood pressure and blood flow changes in rats receiving lead.

**Materials and Methods:** Thirty two adult male Wistar rats were divided into four groups of 8 each. Group A (control) received ordinary feed and tap water. The other three groups received tap water containing 100 ppm lead acetate alone (group B), GSE alone (100 mg/kg, orally, group C), or 100 ppm lead acetate in drinking water + GSE (100 mg/kg, orally, group D) for 60 days. A laser Doppler flowmeter was used to measure changes in the blood flow. The responsiveness of blood vessels in the knee joint area to the different doses of sodium nitroprusside (SNP) (endothelium-independent vasorelaxant) was determined.

**Results:** The results indicated that chronic exposure to lead could increase blood pressure significantly ( $129.12 \pm 3.3$ ;  $p < 0.05$ ) in rats. Consumption of GSE prevented the increase significantly ( $p < 0.001$ ) in the group receiving lead and GSE ( $110.2 \pm 2.1$ ). SNP at a dose of  $10^{-4}$  resulted in an increase in blood flow ( $22.28 \pm 1.89\%$ ) in the knee joint by increasing diameter of the vessels in the group receiving lead and in a reduction in blood pressure ( $p < 0.05$ ). In addition, GSE prevented the lead from reducing blood flow in the knee joint in the group receiving ( $p < 0.05$ ).

**Conclusion:** Based on the result of this study, it can be concluded that grape seed extract can, through its strong antioxidant activity and eliminating free radicals, reduce blood pressure in rats receiving lead, thereby lessening its toxic effects.

**Keywords:** Grape seed extract, Knee joint blood flow, Lead, Sodium nitroprusside, Antioxidant activity, Reactive oxygen species (ROS)