

بررسی اثر عصاره آبی-الکلی برگ گردو بر روی فشارخون و تداخل اثر آن با سیستم آدرنرژیک در موش صحرایی نر

چکیده

دریافت: ۱۳۹۴/۰۵/۱۳ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۰/۲۲ آنلاین: ۱۳۹۵/۰۱/۱۴

زمینه و هدف: افزایش فشارخون یکی از شایع‌ترین بیماری‌های صدهی اخیر با عوارض فراوان می‌باشد. هدف از مطالعه کنونی بررسی اثر عصاره آبی-الکلی برگ گردو (*Juglans regia L.*) بر روی فشارخون و تداخل اثر آن با سیستم آدرنرژیک در موش صحرایی بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی که در آزمایشگاه تحقیقاتی فیزیولوژی دانشکده علوم، دانشگاه شیراز از مهر ۱۳۹۲ تا شهریور ۱۳۹۳ انجام شد، ۱۰ سر موش صحرایی نر در محدوده‌ی وزنی ۲۵۰-۱۸۰ گرم مورد استفاده قرار گرفتند و به طور تصادفی به دو گروه تقسیم شدند: گروه دریافت‌کننده عصاره برگ گردو و دریافت‌کننده عصاره برگ گردو با آدرنالین. پارامترهای فشارخون (میانگین سرخرگی، فشار سیستولی و فشار دیاستولی) پیش و پس از تزریق درون سیاهرگی عصاره، حلال عصاره، آدرنالین و عصاره توام با آدرنالین از طریق کانول سیاهرگی، ثبت گردید.

یافته‌ها: پارامترهای فشارخون در پاسخ به عصاره برگ گردو نسبت به حالت کنترل و شاهد کاهش یافت ($P < 0/05$). تزریق توام عصاره و آدرنالین نیز باعث کاهش پارامترهای فشارخون به نسبت حالت شاهد آن شد ($P < 0/05$).

نتیجه‌گیری: عصاره آبی-الکلی برگ گردو دارای اثر کاهندگی فشارخون است که شاید این اثر از طریق برهمکنش با سیستم آدرنرژیک باشد.

کلمات کلیدی: گردو، فشارخون، سیستم عصبی مرکزی، اپی نفرین.

هاجر ابراهیمیان^۱، امین‌اله بهاء‌الدینی^{۱*}
جمشید محمدی^۲، مریم محمدیان^۱

۱- گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران.

۲- مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران.

* نویسنده مسئول: شیراز، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شیراز، ایران.

تلفن: ۰۷۱-۳۶۱۳۳۶۰
E-mail: bahaodini@shirazu.ac.ir

مقدمه

در نواحی شمالی، غربی و جنوبی کشور رویش دارد. از این گیاه در طب سنتی با نام عربی جوز نام برده شده و درخت آن را به انگلیسی Walnut tree نامیده‌اند.^۲

برگ گردو دارای ترکیباتی نظیر اسیدهای فنلی و فلاونوئیدها می‌باشد و مهمترین فلاونوئیدهای موجود در برگ گردو کوئرستین گالاکتوزید، کوئرستین پنتوزید، کوئرستین آرابینوزید، کوئرستین گزیلوزید و کوئرستین رامنوزید می‌باشند. برگ‌های این گیاه محتوی تانن، اسیدهای چرب ضروری، اسید اسکوربیک، فلاونوئیدها، اسید کافئیک و اسید پاراکوماریک می‌باشد.^۳ مطالعات نشان داده تجویز عصاره هیدروالکلی برگ گردو باعث افزایش HDL و انسولین و

افزایش فشارخون یکی از شایع‌ترین بیماری‌های عصر حاضر با عوارض مختلف می‌باشد. فشارخون بالا یک عامل خطر عمده برای بیماری عروق کرونر قلب، نارسایی احتقانی قلب، سکته مغزی و بیماری کلیوی است. تغییر در شیوه زندگی نظیر الگوی غذایی به عنوان عوامل موثر بر فشارخون بالا نقش دارند.^۱

گردو متعلق به خانواده Juglandacea و از جنس Juglans می‌باشد. این جنس دارای ۲۱ گونه می‌باشد که مهمترین آن Juglans regia L. در ایران تنها گونه‌ی *J. regia L.* می‌روید و بیشتر

سپس سیاهرگ و سرخرگ رانی حیوان به ترتیب برای تزریق دارو و اندازه‌گیری فشارخون توسط کانول هپارینه، کانول‌گذاری شدند. کانول شریانی جهت ثبت فشار به ترنسدیوسر فشار مرتبط با دستگاه PowerLab (ADInstruments, Sydney, Australia) متصل شد. دستگاه PowerLab به یک رایانه مجهز به نرم‌افزار LabChart 7 (ADInstruments, Sydney, Australia) متصل گردید. پس از پایان جراحی، یک ساعت به حیوان استراحت داده شد تا عوارض ناشی از استرس جراحی برطرف شده و حیوان در وضعیتی پایدار قرار گیرد. سپس فشارخون حیوان ثبت شد.^۹

تعداد ۱۰ سر موش صحرایی بالغ به‌طور تصادفی به دو گروه پنج‌تایی تقسیم شدند. گروه اول دریافت‌کننده عصاره برگ گردو، در ابتدا فشارخون بدون دریافت هیچگونه تیماری به مدت ۳۰ دقیقه ثبت شد. سپس ۳۰۰ µl حلال عصاره از طریق کانول وریدی طی ۱۵ ثانیه تزریق شد و فشارخون ثبت شد. پس از برگشت فشارخون به حالت نرمال، عصاره برگ گردو (با دوز ۹۰ mg/kg) تزریق شد و فشارخون ثبت گردید. گروه دوم دریافت‌کننده عصاره برگ گردو و آدرنالین، فشارخون حیوانات بدون دریافت هیچگونه تیماری به مدت ۳۰ دقیقه ثبت شد. سپس ۳۰۰ µl حلال آدرنالین (سرم فیزیولوژیک) از طریق کانول وریدی طی ۱۵ ثانیه تزریق و فشارخون ثبت شد. پس از برگشت فشارخون به حالت نرمال، آدرنالین (Merck, Germany) با دوز ۰/۰۴ mg/kg تزریق و فشارخون ثبت گردید. بار دیگر پس از برگشت فشارخون به حالت نرمال عصاره (۹۰ mg/kg) و آدرنالین (۰/۰۴ mg/kg) پشت سر هم تزریق گردید و فشارخون در این حالت ثبت شد.

در همه‌ی ثبت‌ها، ۳۰ دقیقه ابتدای ثبت که طی آن فشار نرمال ثبت می‌گردید به‌عنوان حالت کنترل و همچنین ثبت پس از تزریق حلال عصاره و آدرنالین به‌عنوان حالت شاهد و ثبت پس از تزریق عصاره و عصاره توام با آدرنالین به‌عنوان حالت آزمایش در نظر گرفته شد. گراف‌های ثبت شده با استفاده از نرم‌افزار LabChart به اعداد تبدیل و به وسیله SPSS software, version 19 (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. برای مقایسه میانگین داده‌ها از Paired-samples t-test با در نظر گرفتن سطح معناداری $P < 0/05$ استفاده شد. داده‌ها به صورت میانگین ± خطای استاندارد نمایش داده شده است.

کاهش لیپیدهای خون می‌شود.^۹ همچنین در مطالعات دیگری گزارش گردیده عصاره پره گردو باعث کاهش فشارخون سیستولی و دیاستولی می‌شود.^۶ با توجه به مطالعات گذشته، پژوهش کنونی با هدف بررسی تاثیر عصاره برگ گردو بر فشارخون و تداخل اثر آن با سیستم آدرنرژیک انجام گردید.

روش بررسی

این مطالعه تجربی در آزمایشگاه تحقیقاتی فیزیولوژی دانشکده علوم، دانشگاه شیراز از مهر ۱۳۹۲ تا شهریور ۱۳۹۳ انجام پذیرفت. تعداد ۱۰ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار در محدوده‌ی وزنی ۱۸۰-۲۵۰ گرم از موسسه سرم‌سازی رازی شیراز تهیه و به اتاق حیوانات بخش زیست‌شناسی دانشکده علوم منتقل گردید. نحوه کار با حیوانات آزمایشگاهی بر اساس قوانین حمایت از حیوانات مصوب دانشگاه شیراز رعایت گردید. موش‌ها در شرایط کنترل شده نور ۱۲ ساعت روشنایی/تاریکی و حرارت $22 \pm 3^{\circ}C$ نگهداری شدند. حیوانات در طول مدت نگهداری به آب و غذای (Standard rat chaw) کافی دسترسی داشتند.

برگ گردو از شهر شیراز جمع‌آوری و سپس توسط استاد گیاه‌شناسی دانشکده علوم دانشگاه شیراز مورد شناسایی علمی قرار گرفت و نمونه سند آن به شماره ۲۵۰۵۰ در هرباریوم دانشگاه شیراز نگهداری گردید. جهت عصاره‌گیری، برگ‌ها شسته و سپس در سایه خشک و توسط آسیاب برقی پودر شدند. پودر حاصله به یک بشر مناسب منتقل و اتانول ۷۰٪ به آن اضافه گردید. سپس با پارافیلیم سطح ظرف پوشانده شد و به مدت ۲۴ ساعت به همین حالت گذاشته شد. پس از ۲۴ ساعت محلول حاصله فیلتر گردید و در بشر جداگانه‌ای نگهداری شد. در مورد رسوب باقیمانده، بار دیگر مراحل گفته شده برای بار دوم و سوم تکرار شد و در انتها تمام محلول‌های به‌دست آمده دوباره فیلتر شدند. محلول فیلتر شده به انکوباتور با دمای $37^{\circ}C$ انتقال داده شد تا کاملاً خشک شده و به حالت پودر تبدیل گردد.

موش‌های صحرایی به وسیله تزریق داخل صفاقی یورتان $1/2$ g/kg (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) بیهوش شدند.^۷ برای جلوگیری از خفگی در زمان بیهوشی، تراکتوستومی انجام شد.

یافته‌ها

گردو موجب کاهش فشارهای سیستولی، دیاستولی و فشار میانگین سرخرگی گردیده است. Balasuriya و همکاران در مطالعه‌ای گزارش کردند که فلاونوئیدهای گیاهان در شرایط برون‌تنی موجب مهار فعالیت آنزیم مبدل آنژیوتانسینوژن (Angiotensin-converting enzyme, ACE) می‌شود و در تنظیم فشارخون بالا نقش دارند.^۸ Perez-Vizcaino و همکاران نشان دادند که رژیم غذایی سرشار از فلاونوئیدها به ویژه کوئرستین سبب کاهش فشارخون می‌گردد.^۹ همچنین در مطالعه دیگری گزارش گردیده عصاره اتانولی پوسته نازک اطراف مغز میوه گردو می‌تواند ۴۰٪ آنزیم مبدل آنژیوتانسین CE را مهار کند.^{۱۰} Javadi و همکاران در مطالعه‌ای گزارش داده‌اند که عصاره پره گردو باعث کاهش فشارخون سیستولی و دیاستولی می‌شود و همچنین افزایش قابل توجه رنین ۱۵ دقیقه پس از تزریق عصاره گردو سبب کاهش قابل توجه نسبت آلدوسترون به رنین گردید.^{۱۱} با توجه به اینکه برگ گردو دارای ترکیباتی نظیر اسیدهای فنلی و فلاونوئیدها می‌باشد و مهمترین فلاونوئیدهای موجود در برگ گردو شامل کوئرستین گالاکتوزید، کوئرستین پنتوزید، کوئرستین

فشارخون سیستولی، فشارخون دیاستولی و میانگین سرخرگی در گروه دریافت‌کننده عصاره برگ گردو در حالت آزمایش به نسبت حالت کنترل کاهش یافته به ترتیب $P=0/002$ ، $P=0/004$ ، $P=0/002$ و در حالت شاهد به نسبت حالت کنترل تغییر معناداری نشان نداد ($P<0/05$) (جدول ۱). همچنین فشارخون سیستولی، فشارخون دیاستولی و میانگین سرخرگی در گروه دریافت‌کننده عصاره برگ گردو و آدرنالین در حالت شاهد به نسبت حالت کنترل افزایش به ترتیب $P=0/000$ و $P=0/007$ و $P=0/001$ و در حالت آزمایش به نسبت حالت شاهد، کاهش یافت به ترتیب $P=0/000$ و $P=0/022$ (جدول ۲).

بحث

نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد که عصاره آبی الکلی برگ

جدول ۱: اثر تجویز عصاره و حلال عصاره برگ گردو در گروه اول بر میزان تغییرات فشارخون سیستولی، فشارخون دیاستولی، فشارخون میانگین سرخرگی (برحسب میلی‌متر جیوه)

حالت	پارامتر	فشارخون سیستولی	فشارخون دیاستولی	فشارخون میانگین سرخرگی
کنترل		۱۰۸/۲۶۹±۷/۱۰	۸۳/۵۶۰±۲/۹۵	۹۱/۷۹۶±۴/۰۴
شاهد (حلال عصاره)		۱۲۱/۷۵۹±۵/۸۸	۸۳/۵۶۹±۶/۲۸	۹۶/۲۹۹±۵/۸۰
آزمایش (عصاره)		*۷۴/۳۰۴±۲/۶۷	*۵۷/۸۳۶±۲/۶۷	*۶۳/۳۲۶±۱/۸۲

* نشان‌دهنده اختلاف معنادار حالت آزمایش با حالت کنترل و شاهد، $P<0/05$ معنادار در نظر گرفته شد.

جدول ۲: اثر تجویز آدرنالین و عصاره توام با آدرنالین در گروه دوم بر میزان تغییرات فشارهای سیستولی، دیاستولی، فشار میانگین سرخرگی (برحسب میلی‌متر جیوه)

حالت	پارامتر	فشار سیستولی	فشار دیاستولی	فشار میانگین سرخرگی
کنترل		۱۱۳/۴۵۲±۱/۲۸	۷۹/۱۳۱±۷/۱۰	۹۰/۵۷۱±۵/۱۶
شاهد (آدرنالین)		*۱۸۱/۷۵۳±۲/۴۶	*۱۱۴/۸۵۱±۳/۵۴	*۱۳۷/۱۵۱±۱/۷۹
آزمایش (عصاره+آدرنالین)		*۱۲۸/۹۶۰±۲/۱۳	*۹۵/۲۷۴±۴/۶۶	*۱۰۶/۵۰۳±۲/۹۷

* نشان‌دهنده اختلاف معنادار حالت شاهد با حالت کنترل، $P<0/05$ معنادار در نظر گرفته شد. # نشان‌دهنده اختلاف معنادار حالت آزمایش با حالت شاهد، $P<0/05$ معنادار در نظر گرفته شد.

می‌گردند.^{۱۳} Roghani و همکاران گزارش داده‌اند که کوئرستین انقباضات عروقی ناشی از نورآدرنالین را از طریق درگیر کردن کانال‌های کلسیمی L-Type در عروق موش صحرایی کاهش می‌دهد.^{۱۴} همه‌ی نتایج پژوهش‌های فوق می‌توانند گواه بر نتایج مطالعه حاضر باشد.

با توجه به یافته‌های به‌دست آمده از مطالعه حاضر می‌توان چنین بیان کرد که عصاره آبی-الکلی برگ گردو دارای اثرات کاهندگی فشارخون می‌باشد. به نظر می‌رسد این اثر از طریق برهمکنش با سیستم آدرنژیک باشد.

سپاسگزاری: این مقاله حاصل بخشی از پایان‌نامه تحت عنوان "بررسی اثر عصاره آبی-الکلی برگ گردو *Juglans regia L.* بر روی سیستم قلب و عروق در موش صحرایی نر" در مقطع کارشناسی ارشد در سال ۹۳-۱۳۹۲ می‌باشد که با حمایت دانشگاه شیراز انجام شده است.

آرابینوزید، کوئرستین گزیلوزید و کوئرستین رامنوزید می‌باشند،^{۱۵} بنابراین تحقیقات یاد شده می‌تواند با نتایج این پژوهش مطابقت داشته باشد.

نتایج حاصله نشان داد، عصاره آبی الکلی برگ گردو توانست مانع از افزایش فشارخون توسط تزریق آدرنالین شود که شاید نشان دهنده‌ی این است که عصاره برگ گردو با سیستم آدرنژیک برهمکنش دارد. Duarte و همکاران نشان داده‌اند که فلاونوئیدها باعث شل شدن فعالیت انقباضی القا شده با نور آدرنالین و کلرید پتاسیم روی عضله صاف آئورت ایزوله می‌گردند.^{۱۱} Perusquia و همکاران گزارش داده‌اند که عصاره آبی برگ گردو موجب کاهش انقباض ناشی از نورآدرنالین در آئورت ایزوله موش صحرایی می‌شود.^{۱۲}

Ajay و همکاران نشان دادند که فلاونوئیدها باعث جلوگیری از انقباضات القا شده توسط فنیل افرین در آئورت ایزوله موش صحرایی

References

- Hermansen K. Diet, blood pressure and hypertension. *Br J Nutr* 2000;83 Suppl 1:S113-9.
- Zargari A. Medicinal Plants. Vol. 4. Tehran: Tehran University Press; 1993. [Persian]
- Pereira JA1, Oliveira I, Sousa A, Valentão P, Andrade PB, Ferreira IC, et al. Walnut (*Juglans regia L.*) leaves: phenolic compounds, antibacterial activity and antioxidant potential of different cultivars. *Food Chem Toxicol* 2007;45(11):2287-95.
- Sharafati R, Sharafati F, Rafieian M. Biological characterization of Iranian walnut (*Juglans regia*) leaves. *Turk J Biol* 2011;35:635-9.
- Mohammadi J, Saadipour K, Delaviz H, Mohammadi B. Anti-diabetic effects of an alcoholic extract of *Juglans regia* in an animal model. *Turk J Med Sci* 2011;41(4):685-91.
- Javadi S, Maham M, Rezapour V. Effect of hydroalcoholic extracts of inner seed paddle of walnut on blood pressure and plasma renin and aldosterone. *Urmia Med J* 2013;24(1):11-6.
- Parasuraman S, Raveendran R. Measurement of invasive blood pressure in rats. *J Pharmacol Pharmacother* 2012;3(2):172-7.
- Balasuresiya N, Rupasinghe V. Plant flavonoids as angiotensin converting enzyme inhibitors in regulation of hypertension. *Funct Food Health Dis* 2011;5:172-88.
- Perez-Vizcaino F, Duarte J, Jimenez R, Santos-Buelga C, Osuna A. Antihypertensive effects of the flavonoid quercetin. *Pharmacol Rep* 2009;61(1):67-75.
- Ziai SA, Rezazadeh Sh, Dastpak A, Shabestari A, Taghizadeh M, Naghdibadi HA, et al. Study of the ACE inhibitory effect of medicinal plants used in Iranian folk-medicine as antihypertensive remedy. *J Med Plant* 2006;4(20):53-74.
- Duarte J1, Pérez Vizcaino F, Utrilla P, Jiménez J, Tamargo J, Zarzuelo A. Vasodilatory effects of flavonoids in rat aortic smooth muscle. Structure-activity relationships. *Gen Pharmacol* 1993;24(4):857-62.
- Perusquia M, Mendoza S, Bye R, Linares E, Mata R. Vasoactive effects of aqueous extracts from five Mexican medicinal plants on isolated rat aorta. *J Ethnopharmacol* 1995;46(1):63-9.
- Ajay M, Gilani AU, Mustafa MR. Effects of flavonoids on vascular smooth muscle of the isolated rat thoracic aorta. *Life Sci* 2003;74(5):603-12.
- Roghani M, Baluchnejadmojarad T, Roghani F. The Involvement of L-type voltage-operated calcium channels in the vascular effect of quercetin in male rats. *Iran J Pharm Res* 2006;5:199-202.

The effect of hydroalcoholic extract of *Juglans regia* L. leaf on blood pressure and its interaction with adrenergic system of male rats

Hajar Ebrahimiyan M.Sc.¹
Aminolla Bahaoddini Ph.D.^{1*}
Jamshid Mohammadi Ph.D.²
Maryam Mohammadiyan
M.Sc.¹

1- Department of Biology, Faculty of Science, Shiraz University, Shiraz, Iran.

2- Medicinal Plants Research Centre, Department of Physiology, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran.

* Corresponding author: Department of Biology, Faculty of Science, Shiraz University, Shiraz, Iran.
Tel: +98- 71- 36137360
E-mail: bahaodini@shirazu.ac.ir

Abstract

Received: 04 Aug. 2015 Accepted: 12 Jan. 2016 Available online: 02 Apr. 2016

Background: Hypertension is one of the most common diseases in recent century with several complications. The purpose of this study was to evaluate the effect of hydroalcoholic extract of *Juglans regia* L. leaves (Walnut tree) on blood pressure and its interaction with the adrenergic system in male rats.

Methods: In this experimental study that established in the physiology lab, School of science in Shiraz University from September to October 2013, in order to determine some of hydroalcoholic extract of *Juglans regia* L. leaves effect on blood pressure, the present study was performed by following procedure: 10 adult male wistar rats weighing between 180-250g were used. They were divided into two groups (Each group contained 5 rats) randomly: *Juglans regia* L. leaf extract group and *Juglans regia* L. leaf extract and adrenaline group. Then each rat was anesthetized by IP injection of 1.2 g/kg urethane. After tracheostomy the femoral vein and artery were cannulated for drug injection and blood pressure recording respectively. Arterial cannula for recording arterial blood pressure connected to a pressure transducer (PowerLab, ADInstruments, Sydney, Australia). Blood pressure parameters were recorded before and after IV administration of hydroalcoholic extract of *Juglans regia* L. leaf, solvent, adrenalin and extract with adrenaline.

Results: The result showed a significant decrease of mean arterial pressure, systolic and diastolic pressure in response to extract with compare to control and sham group ($P<0.05$). Also a significant decrease of blood pressure showed in presence of walnut leaf extract and adrenaline with compare to sham group ($P<0.05$).

Conclusion: It can be concluded that hydroalcoholic extract of *Juglans regia* L. leaf suggested as a hypotensive agent. It seems that this effect is probably due to inhibitory effect on adrenergic system.

Keywords: blood pressure, central nervous system, epinephrine, juglans.