The Effect of Grape Seed Proanthocyanidin Extract (GSPE) on Urinary Sodium Excretion

Üzüm Çekirdeği Proanthocyanidin Özü (ÜÇPÖ)'nün İdrar Sodyum Atılımı Üzerine Etkisi

Üzüm Çekirdeği Proanthocyanidin Özü ve İdrar Sodyumu / Grape Seed Proanthocyanidin Extract and Urinary Sodium

Gülsüm Özkan[1], Şükrü Ulusoy1, Asım Örem[2], Mehmet Alkanat[3], Fulya Balaban Yücesan[2]
[1]Nefroloji Bilim Dalı, [2]Biyokimya Ana Bilim Dalı, [3]Fizyoloji Ana Bilim Dalı, Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi, Trabzon, Türkiye

Özet

Amaç: Çeşitli hormon ve aracılar idrar Na atılımını azaltırken nitrik oksid (NO) gibi birtakım aracılar ise Na atılımını arttırmaktadır. Üzüm çekirdeği proanthocynidin özü (ÜÇPÖ), NO düzeyini arttırarak antioksidan etki eden bir moleküldür. Çalışmamızda ÜÇPÖ'nin idrar Na atılımı üzerine etkisini değerlendirmeyi amaçladık. Gereç ve Yöntem: 14 adet rat kontrol ve ÜÇPÖ olmak üzere ayrıldı. Kontrol grubuna gavaj ile 1 hafta süreli 1 cm3 süt verilirken ÜÇPÖ grubuna 100mg/kg ÜÇPÖ verildi. 7. gün 24 saat süreli metabolik kafeste takip edilen ratların idrarları toplanıp 24 saatin sonunda idrar Na atılımı çalışıldı ve deney sonlandırıldı. Bulgular: Kontrol ve ÜÇPÖ gruplarının kilo, aldığı katı ve sıvı gıda ve idrar volumleri arasında fark yoktu. 24 saatlik idrar Na atılımı ÜÇPÖ grubunda (1.43±0.30 gr/gün) kontrol grubuna (1.37±0.29 gr/gün) göre daha fazla idi ancak istatistiksel anlamlı değildi. Na atılımı ile katı gıda alımı (p=0.029, r=0.583) ve idrar hacimleri (p<0.001, r=0.806) arasında pozitif korelasyon mevcuttu. Tartışma: Literatürde ilk kez çalışmamızda ÜÇPÖ'nin sağlıklı ratlarda istatistiksel anlamlı olmasa da idrar Na atılımını arttırdığını, katı gıda alımı ve idrar hacimlerinin Na atılımını etkilediğini gösterdik. Na atılımında ve dengesinde bozukluk olan hipertansif ratlarda yapılacak daha ileri çalışmalarda ÜÇPÖ'nin idrar Na atılımı üzerine etkisinin değerlendirilmesinin faydalı olabileceğini düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler

İdrar Sodyumu; Üzüm Çekirdeği Proanthocynidin Özü; ÜÇPÖ

Abstract

Aim: While various hormones and mediators reduce the urinary excretion of Na, other mediators such as nitric oxide (NO) increase Na excretion. Grape seed proanthocyanidin extract (GSPE) is a molecule that has an antioxidant effect by increasing NO levels. Our study was intended to evaluate the effect of GSPE on Na excretion. Material and Method: Fourteen rats were divided into control and GSPE groups. The control group was given 1 cm3 milk by gavage for one week, while the GSPE group was given 100 mg/kg GSPE. Seventh-day urines were collected from rats monitored over 24 h in a metabolic cage. Urinary Na excretion at the end of 24 h was investigated and the experiment concluded. Results: There was no difference between the control and GSPE groups in terms of weight, solid and liquid food intake and urine volumes. 24-hour urinary Na excretion was higher in the GSPE group (1.43±0.30 g/day) compared to the control group (1.37±0.29 g/day), although the difference was not statistically significant. Na excretion was positively correlated with solid food intake (p=0.029, r=0.583) and urine volume (p<0.001, r=0.806). Discussion: Our study shows, for the first time in the literature, that GSPE increases urinary Na excretion in healthy rats, though not to a statistically significant extent, and that solid food intake and urine volume affect Na excretion. We think that it will be useful for the effect of GSPE on urinary Na excretion in hypertensive rats with impaired Na excretion and balance to be evaluated in future studies.

Keywords

Urinary Na; Grape Seed Proanthocyanidin Extract; GSPE

DOI: 10.4328/JCAM.1433 Received: 30.11.2012 Accepted: 10.01.2013 Printed: 01.11.2014 J Clin Anal Med 2014;5(6): 468-470
Corresponding Author: Gülsüm Özkan, Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Nefroloji Bilim Dalı, 61080 Trabzon, Türkiye.
E-Mail: gulsumozkan78@hotmail.com

Giriş

Vasküler tonusdan sonra, kan basıncı ayarlanmasında ikinci sırada görev alan faktör renal sodyum (Na) işlenmesidir. Renal Na işlenmesi, renal perfüzyon ve glomerüler filtrasyon gibi faktörler tarafından etkilenirken, Na atılımını en fazla etkileyen faktör tubuldeki Na miktarıdır [1]. Glomerulden filtre olan Na'un %99'u nefron boyunca geri emilir. Bu geri emilimdeki çok küçük değişiklikler bile Na dengesinde, ekstraselüler sıvı dengesinde ve kan basıncında bozulmalara neden olabilmektedir [2]. Nefron boyunca Na geri emilimini arttıran faktörler anjiotensin II, katekolaminler, glukokortikoitler ve minerolokortikoitler olarak sayılabilir. Na geri emilimini azaltarak üriner Na atılımını arttıran faktörler ise dopamin, atrial natriüretik peptid ve nitrik oksid (NO) olarak sayılabilir [3].

Üzüm çekirdeği proanthocynidin özü (ÜÇPÖ), oligomerik proanthocynidin içeren biyolojik aktif polyphenolic flavonoid kombinasyonudur[4]. Güçlü bir antioksidan olan proanthocynidinler doğada yaygın olarak bir çok sebze ve meyvede bulunan polyphenolic içeriktir [5]. ÜÇPÖ'nün reaktif oksijen türlerinin çöpçüsü ve antioksidan özelliği yanında vazodilatatör, antikarsinojenik, antialerjik, antiinflamatuvar, antibakteriyel, kardiyoprotektif, immunmodulatuvar ve antiviral özelliği çeşitli deneysel çalışmalarda gösterilmiştir [6,7]. Daha önce kliniğimizde yapmış olduğumuz çalışmalarda ise ÜÇPÖ'nün amikasin aracılı nefropati, kontrast madde ilişkili nefropati, siklosporin ilişkili nefropati ve kardiyotoksisiteyi önlemede antioksidan, antiapoptotik ve organ koruyucu etkilerini gösterdik [6-9]. Cui ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada ise ouabain-induced hipertansif ratlarda 5 haftalık ÜÇPÖ verilmesi sonrası NO düzeyini arttırarak antihipertansif etki sağlandığı gösterilmiştir [10].

Çalışmamızda idrar Na atılımı üzerine etkisi bilinmeyen, vazodilatatör ve antihipertansif etkili olduğu, NO düzeyini arttırdığı gösterilmiş olan ÜÇPÖ'nün idrar Na atılımı üzerine etkisini değerlendirmeyi amaçladık.

Gereç ve Yöntem

Çalışmada 200-250 gram ağırlığında 14 adet dişi Spraque Dawley rat kullanıldı. Ratlar 22±2 oC ısıda tutulan kafeslerde, 12 saat aydınlık 12 saat karanlık döngüsüne uygun ortamda, ihtiyaçları kadar yem ve su verilerek beslendi. Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi deney hayvanları etik kurulundan onay alındıktan sonra çalışmaya başlandı. Laboratuar hayvanlarının bakımı ve deneyde kullanılmasında National Instutie of Health Guide'na bağlı kalındı.

Kimyasallar

ÜÇPÖ (İçeriğinde toplam fenolik madde 66,7 mg/g ve oligomerik proanthocynidin oranı ise % 95 olan solusyon halindeki özün 0,5 ml' de 100 mg ÜÇPÖ içermektedir) (Kale Naturel Bitkisel Ürün. Gıda Kozm. ve Tarım ürünleri LTD. ŞTİ Edremit / Balıkesir / Türkiye)

Çalışma protokolü

Toplam 14 rat 5 günlük uyum döneminden sonra rastgele 7' şerli gruplara ayrıldı. Çalışmanın 1. gününde ratlar tartıldı. Bütün ratlar çalışma boyunca standart rat yemi ve suyunu serbestçe istedikleri kadar alabilecekleri şekilde 7' şerli kafeslere kondu.

1.grup: Kontrol grubu (n:7)

2.grup: ÜÇPÖ grubu (n:7)

Kontrol grubundaki ratlara gavaj ile 1 hafta boyunca 1 cm3 süt verilirken ÜÇPÖ grubundaki ratlara yine gavaj ile100 mg/kg ÜÇPÖ (1 cm3) verildi. 7. Gün tüm ratlar metabolik kafese kondu. 24 saat süreli aldıkları katı ve sıvı gıda kaydedilip, 24 saatlik idrarları toplandı. 7. Günün sonunda deney sonlandırıldı.

Biyokimyasal analiz

Yirmi dört saatlik idrar tetkiklerinden Na atılımı iyon selektif elektrot yöntemi ile çalışıldı.

İstatistiksel analiz

Verilerin istatistiksel analizi SPSS 13.0 kullanılarak yapıldı. Veriler mean ± standart deviasyon olarak alındı. Grupların normal dağılıma uygunluğuna bakıldı. Ardından kilo, alınan katı gıda, alınan sıvı gıda, idrar volümü, idrar Na ve 24 saatlik idrar Na atılımının karşılaştırmasında Kruskal Wallis H testi ve Mann-Whitney U testi kullanıldı. Korelasyon analizinde spearman korelasyon analizi kullanıldı. $P < 0.05$ anlamlı olarak alındı.

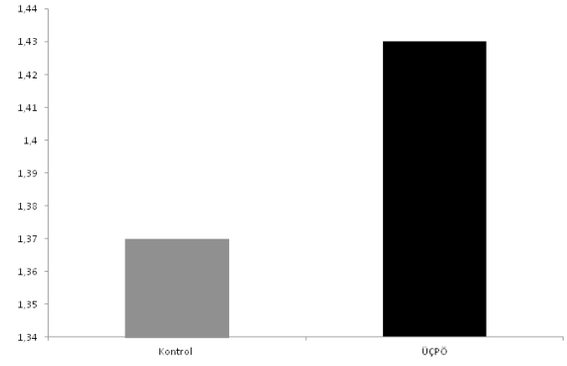
Bulgular

Tablo 1'de görüldüğü üzere kontrol ve ÜÇPÖ grubundaki ratların kiloları arasında anlamlı fark yoktu. Yine aldıkları sıvı gıda ve idrar hacimleri arasında anlamlı fark yoktu. Kontrol grubunda 12.54±2.34 gr katı gıda alımı varken ÜÇPÖ grubunda (16.50±2.10 gr) daha fazla katı gıda alımı vardı ancak istatistiksel anlamlı değildi. Kontrol grubunun idrar Na'u 135.43±20.32 mmol/L iken ÜÇPÖ grubunda daha fazla (141.29±23.50 mmol/L) idi, ancak istatistiksel anlamlı değildi. 24 saatlik idrar Na atılımı yine ÜÇPÖ grubunda(1.43±0.30 gr/gün) kontrol grubuna (1.37±0.29 gr/gün) göre daha fazla idi ancak istatistiksel anlamlı değildi (figür 1).

Tablo 1. Kontrol ve ÜÇPÖ gruplarının demografik ve biyokimyasal verilerinin karşılaştırılması

	Kontrol (n:7)	ÜÇPÖ (n:7)	P değeri
Ağırlık (gram)	233.14±5.46	225.86±9.35	Anlamsız
Aldığı katı gıda (gram)	12.54±2.34	16.50±2.10	Anlamsız
Aldığı sıvı gıda (ml)	20.43±3.40	18.07±3.51	Anlamsız
İdrar hacmi (ml)	10.29±2.27	10.50±2.76	Anlamsız
İdrar sodyumu (mmol/L)	135.43±20.32	141.29±23.50	Anlamsız

Veriler mean± standart deviasyon olarak verilmiş, $p<0.05$ anlamlı kabul edilmiştir.
Kısaltmalar: ÜÇPÖ: Üzüm Çekirdeği Proanthocyanidin Özü



Figur 1. Yirmi dört saatlik idrar sodyum atılımının karşılaştırması
Kısaltma: ÜÇPÖ: Üzüm çekirdeği proanthocyanidin özü
24 saatlik idrar Na atılımı yine ÜÇPÖ grubunda kontrol grubuna göre daha fazla idi ancak istatistiksel anlamlı değildi.

İdrar Na atılımını ile alınan katı gıda (p=0.029, r=0.583) ve idrar hacimleri (p<0.001, r=0.806) arasında pozitif korelasyon vardı.

Tartışma

Diyetle alınan Na'un hepsi glomerulden süzüldükten sonra %99'u nefron boyunca geri emilmektedir. Na geri emilimindeki, dolayısıyla üriner Na atılımında çok küçük miktardaki bir değişiklik bile vücut Na dengesi, ekstraselüler sıvı hacimi ve kan basıncında önemli değişikliklere yol açabilmektedir [2]. Nefron boyunca Na taşınması başlıca iki yolla olmaktadır. Birinci taşınma şekli pasif taşımadır. Pasif taşıma nefron boyunca değişik taşıyıcılar aracılığı ile yoğunluk farkına uygun olarak yapılmaktadır. Diğer taşıma şekli olan aktif taşıma ise, başlıca Na-K ATPaz pompası aracılığı ile enerji kullanılarak tüm nefron boyunca gerçekleştirilmektedir. Nefron boyunca gerçekleşen bu karışık Na taşınması çeşitli hormonların ve renal hemodinamiyi etkileyen birtakım faktörlerin kontrolü altındadır. Bu hemodinamik etkili faktörlerin bir kısmı Na geri emilimini arttırarak idrar Na atılımını azaltırken (anjiotensin II, katekolaminler, glukokortikoitler , minerolokortikoitler) birtakım faktörler ise geri emilimi azaltarak natriüretik etki sağlarlar (dopamin, atrial natriüretik peptid, nitrik oksid (NO)) [3].

İdrar Na atılımındaki küçük değişikliklerin bile hücre dışı sıvı miktarındaki artışlara ve kan basıncında artışa yol açabileceğinden bahsetmiştik. Özellikle nefron boyunca gerçekleşen Na taşınması arteryel hipertansiyonun patogenezinde önemli yer almaktadır. Çeşitli deneysel çalışmalarda spontan hipertansif ratlarda proksimal tubuler Na-K ATP az aktivitesinde ve miktarında artış saptanmıştır [11]. Yine bazı deneysel çalışmalarda spontan hipertansif ratlarda Na reabsorbsiyonunda artışa yol açan Na-K ATP az α1 subünitesinde artış saptanmıştır [12].

Üzüm çekirdeği proanthocynidin özü, üzüm çekirdeğinden elde edilen doğal antioksidan bir moleküldür. ÜÇPÖ'nün inivivo ve invitro çalışmalarda Vitamin C, E ve Beta karotenden daha etkili antioksidan etkili olduğu gösterilmiştir[13]. Daha önce kliniğimizde yapmış olduğumuz çeşitli nefropati ve kardiotoksisite modellerinde ÜÇPÖ'nün antioksidan ve antiapoptotik yolla organ koruyucu etkilerini gösterdik [6-9]. Yapılan bir klinik çalışmada ise 5 haftalık ÜÇPÖ tedavisi sonrası hipertansif ratlarda NO üretimini arttırarak antihipertansif etki sağlanıldığı gösterilmiştir [10]. Bilindiği üzere NO vasküler tonus üzerine etkisi yanı sıra idrar Na atılımını arttırıcı etkisi olduğu çalışmalarda gösterilmiştir. Ancak bu çalışmada NO düzeyini artırdığı gösterilmiş olan ÜÇPÖ'nün idrar Na atılımı üzerine etkisi değerlendirilmemiştir [10]. Biz, daha önce araştırılmamış olan ÜÇPÖ'nün idrar Na atılımı üzerine etkisini değerlendirdiğimiz çalışmamızda, idrar Na atılımını istatistiksel anlamlı olmasa da arttırdığını gösterdik. Na atılımını alınan katı gıda ve idrar hacimleri etkilemekte idi.

Sonuçta, literatürde ilk kez çalışmamızda ÜÇPÖ'nin sağlıklı ratlarda istatistiksel anlamlı olmasada idrar Na atılımını arttırdığını, katı gıda alımı ve idrar hacimlerinin Na atılımını etkilediğini gösterdik. Na atılımında ve dengesinde bozukluk olan hipertansif ratlarda yapılacak daha ileri çalışmalarda ÜÇPÖ'nün idrar Na atılımı üzerine etkisinin değerlendirilmesinin faydalı olabileceğini düşünmekteyiz.

Çıkar Çakışması ve Finansman Beyanı

Bu çalışmada çıkar çakışması ve finansman destek alındığı beyan edilmemiştir.

Kaynaklar

1. Bełtowski J. Leptin and the Regulation of Renal Sodium Handling and Renal Na-Transporting ATPases: Role in the Pathogenesis of Arterial Hypertension. Curr Cardiol Rev 2010;6(1):31-40.
2. Meneton P, Jeunemaitre X, de Wardener HE, MacGregor GA. Links between dietary salt intake, renal salt handling, blood pressure, and cardiovascular diseases. Physiol Rev 2005;85(2):679-715.
3. Féraille E, Doucet A. Sodium-potassium-adenosinetriphosphatase-dependent sodium transport in the kidney: hormonal control. Physiol Rev 2001;81(1):345-418.
4. Bagchi D, Sen CK, Ray SD, Das DK, Bagchi M, Preuss HG, et al. Molecular mechanisms of cardioprotection by a novel grape seed proanthocyanidin extract. Mutat Res 2003;523-4:87-97
5. Bagchi D, Bagchi M, Stohs S, Ray SD, Sen CK, Preuss HG. Cellular protection with proanthocyanidins derived from grape seeds. Ann N Y Acad Sci. 2002;957:260-70.
6. Ulusoy S, Ozkan G, Ersoz S, Orem A, Alkanat M, Yucesan FB, et al. The effect of grape seed proanthocyanidin extract in preventing amikacin-induced nephropathy. Ren Fail 2012;34(2):227-34.
7. Ozkan G, Ulusoy S, Orem A, Ersoz S, Alkanat M, Yucesan FB, et al. Protective Effect of the Grape Seed Proanthocyanidin Extract in a Rat Model of Contrast-Induced Nephropathy. Kidney Blood Press Res 2012;35(6):445-53.
8. Ulusoy S, Ozkan G, Yucesan FB, et al. Anti-apoptotic and anti-oxidant effects of grape seed proanthocyanidin extract in preventing cyclosporine A-induced nephropathy. Nephrology (Carlton) 2012;17(4):372-9.
9. Ozkan G, Ulusoy S, Alkanat M, Orem A, Akcan B, Ersöz S, et al. Antiapoptotic and antioxidant effects of GSPE in preventing cyclosporine A-induced cardiotoxicity. Ren Fail 2012;34(4):460-6.
10. Cui X, Liu X, Feng H, Zhao S, Gao H. GSPE enhance eNOS expression through AMPK/SIRT1-KLF2 pathway and modulate blood pressure in ouabain induced hypertensive rats. Biol Pharm Bull 2012;35(12):2192-7.
11. Magyar CE, Zhang Y, Holstein-Rathlou NH, McDonough AA. Proximal tubule Na transporter responses are the same during acute and chronic hypertension. Am J Physiol Renal Physiol 2000;279(2):358-69.
12. Hinojos CA, Doris PA. Altered subcellular distribution of Na+,K+-ATPase in proximal tubules in young spontaneously hypertensive rats. Hypertension 2004;44(1):95-100.
13. Bagchi D, Garg 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. Res Commun Mol Pathol Pharmacol 1997;95(2):179-89.