

اثر عصاره هیدروالکلی برگ خشک گردو (*Juglans regia*) در پیشگیری از دیابت نوع ۱ در موش‌های صحرایی نر بالغ

صدیقه عسگری*^۱، پریش رحیمی^۲، حسین مدنی^۳، پروین محزون^۴، نجمه کبیری^۲

چکیده

مقدمه: دیابت یک ناهنجاری متابولیکی است که با هیپرگلیسمی ناشی از نقص در ترشح، عملکرد انسولین و یا هر دو مشخص می‌گردد. برگ گردو در طب سنتی ایران برای درمان دیابت کاربرد داشته است. در این مطالعه اثر عصاره هیدروالکلی برگ خشک گردو در پیشگیری از دیابت در موش‌های صحرایی مورد بررسی قرار گرفت. **روش‌ها:** در این تحقیق ۱۸ موش صحرایی نر با وزن متوسط ۲۴۰ - ۱۸۰ گرم به طور تصادفی در سه گروه شش تایی تقسیم شدند: گروه اول (کنترل غیردیابتی)، گروه دوم (کنترل دیابتی)، گروه سوم (پیشگیری با عصاره هیدروالکلی). برای ایجاد دیابت از آلوکسان با دوز ۱۲۰ mg/kg وزن بدن استفاده شد و تزریقات به صورت درون صفاقی انجام گرفت. موش‌های صحرایی برای ۱۶ ساعت ناشتا بوده، سپس خون در لوله‌های هپارینه برای تعیین میزان انسولین، قند، HbA1c، LDL، HDL و VLDL جمع‌آوری شد.

یافته‌ها: نتایج حاکی از کاهش معنی‌دار میزان قند و LDL در گروه‌های تیمار شده با عصاره هیدروالکلی برگ خشک گردو بود ($P < 0/05$). علاوه بر این، در گروه‌های تیمار شده، میزان انسولین افزایش معنی‌داری نسبت به گروه دیابتی یافته بود ($P < 0/05$). آزمایش‌های بافت‌شناسی نشان دادند که این عصاره در موش‌های صحرایی دیابتی سبب جلوگیری از تخریب بافت پانکراس شده است.

نتیجه‌گیری: این نتایج نشان می‌دهند که عصاره هیدروالکلی برگ خشک گردو ممکن است در درمان و پیشگیری از دیابت موثر بوده باشد. تاثیر این عصاره احتمالاً به دلیل وجود فلاونوئیدها و خواص آنتی‌اکسیدانی آنهاست.

واژگان کلیدی: آلوکسان منویدرات، دیابت نوع ۱، موش صحرایی، گردو، عصاره هیدروالکلی

- ۱ - گروه فارماکونوزی، مرکز تحقیقات قلب و عروق اصفهان، مرکز تحقیقات فیزیولوژی کاربردی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
- ۲ - گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان
- ۳ - گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان
- ۴ - گروه پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

* **نشانی:** دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، مرکز تحقیقات قلب و عروق اصفهان، تلفن: ۰۳۱۱-۳۳۵۹۶۹۶ و ۰۳۱۱-۳۳۷۳۴۳۵ -

۰۳۱۱؛ پست الکترونیک: s_asgari@crc.mui.ac.ir

تاریخ دریافت: ۸۶/۱۲/۲۵

تاریخ پذیرش: ۸۷/۴/۲۰

مقدمه

گردو (*Juglans*) از خانواده Juglandaceae و دارای سه گونه *J. regia*، *J. cinerea* و *J. nigra* می باشد که در ایران تنها گونه *Juglans regia* می روید و بیشتر در نواحی شمالی- غربی و جنوبی کشور گسترش دارد. از این گیاه در کتب طب سنتی با نام عربی جوز نام برده شده و درخت آن را به زبان فرانسوی *Noyer cimmun* و به انگلیسی *Walnut tree* نامیده اند [۱ و ۲]. گردو علاوه بر مصارف تغذیه ای، در طب سنتی نیز کاربرد دارد و خواص درمانی آن از زمان های خیلی قدیم شناخته شده است: برگ های آن برای درمان دردهای روماتیسمی، تب، دیابت، بیماری های پوستی؛ ریشه آن برای درمان دیابت و گل های آن برای درمان مالاریا و دردهای روماتیسمی کاربرد داشته است [۱ و ۳]. ترکیبات عمده فنلی موجود در برگ گردو، اسیدهای فنلی و فلاونوئیدها می باشند. کافئوئیلکونینیک و کوماروئیلکونینیک اسید، مهم ترین اسیدهای فنلی و ژوگلون، کوئرستین و مشتقات آن، کامپفرول و مشتقات آن، مهم ترین فلاونوئیدهای موجود در برگ گردو می باشند. ژوگلون از لحاظ ساختمانی ۵-هیدروکسی او-۴-نفتوکینون بوده که تنها در بخش های سبز و تازه گردو یافت شده و در برگ های خشک، اثر آن از بین می رود [۴ و ۵]. مطالعات زیادی بر روی اثرات مختلف برگ گردو انجام گرفته است [۶ و ۷]. بعضی از این مطالعات نشان داده اند که برگ گردو دارای اثر ضد دیابتی است. جلودار در بررسی اثر برگ درخت گردو بر روی برخی پارامترهای بیوشیمیایی سرم خون موش های صحرایی، دیابتی نشان داد که برگ خشک درخت گردو دارای اثرات هیپوگلیسمیک است [۸]. دیابت، یکی از شایع ترین بیماری های دستگاه غدد درون ریز بدن محسوب می شود که عوارض آن افزایش قندخون، اختلال در متابولیسم کربوهیدرات، چربی و پروتئین است. این بیماری به دلیل عدم جذب سلولی قندخون، ناشی از کاهش ترشح انسولین و یا مقاومت سلول های بدن در برابر انسولین ایجاد می شود و با تغییرات مشخصی در متابولیسم درون سلولی در بسیاری از بافت ها از جمله کبد همراه است [۹]. با توجه به عوارض متعدد و خطرناکی که بیماری قند در افراد دیابتی ایجاد می نماید،

بررسی راه های درمان، تخفیف و پیشگیری از آن لازم است و همچنین با توجه به استفاده فراوان از برگ درخت گردو در طب سنتی به عنوان گیاه کاهنده گلوکز خون، این مطالعه به منظور بررسی اثر عصاره هیدروالکلی برگ خشک گردو در پیشگیری از دیابت نوع ۱ در موش های صحرایی نر بالغ انجام شد.

روش ها

جمع آوری گیاه: برگ های گردو در تیر ماه سال ۱۳۸۴ از منطقه باغداران استان اصفهان جمع آوری و سپس جنس و گونه آن در گروه زیست شناسی دانشکده علوم دانشگاه اصفهان شناسایی شد. نمونه ای از این خانواده در هر بار یوم این دانشکده با شماره ۴۰۲۱ نگهداری می شود.

روش تهیه عصاره هیدروالکلی: برگ های گردو، در سایه خشک و سپس پودر گردیدند. ۱۰۰ گرم از پودر بدست آمده درون ارلن یک لیتری ریخته شد و به آن الکل اتیلیک ۹۶ درصد اضافه گردید، به گونه ای که سطح پودر را بپوشاند و بعد از ۲۴ ساعت محلول صاف شد. در مرحله بعد به تفاله باقی مانده، الکل ۷۵ درصد اضافه و بعد از ۲۴ ساعت صاف گردید. محلول های صاف شده، مخلوط و با دستگاه تقطیر در خلا Laborata4000Heidolph (Germany) در دمای ۵۰ درجه سانتیگراد و سرعت چرخش ۷۰ دور در دقیقه تا یک سوم حجم اولیه تغلیظ گردید. به منظور جداسازی پروتئین، چربی و کلروفیل، محلول تغلیظ شده سه بار توسط کلروفرم ۵۰ میلی لیتر دکانته شد. محلول بدست آمده از آخرین مرحله در اتوکلاو و دمای زیر ۵۰ درجه سانتیگراد و شرایط استریل خشک گردید. به این ترتیب بعد از چند روز پودر خشک عصاره آماده گردید. پودر خشک شده در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شد [۱۰].

حیوانات آزمایشگاهی: در این بررسی از ۱۸ موش صحرایی نر سفید در محدوده وزنی ۲۴۰ - ۱۸۰ گرم از نژاد Wistar (انستیتو پاستور، تهران) استفاده گردید. تمام حیوانات در لانه حیوانات گروه زیست شناسی دانشکده علوم دانشگاه اصفهان در دمای 21 ± 2 درجه سانتیگراد نگهداری شده و آزادانه به آب و غذای مخصوص دسترسی

مویینه انجام پذیرفت. ۱۶ ساعت قبل از انجام هر آزمایش، مواد غذایی از دسترس حیوانات خارج گردید تا قند خون به سطح ثابت و پایدار برسد و فقط آب در اختیار موش‌های صحرایی قرار گرفت [۱۱]. قند، LDL-کلسترول، HDL - کلسترول با استفاده از کیت آنزیمی زیست شیمی و توسط دستگاه Automatic Analyzer 902 Hitachi، انسولین توسط کیت Monobind و به روش الایزا، هموگلوبین گلیکوزیله با روش کروماتوگرافی کیت بیوسیستم اندازه‌گیری شد. کلیه آزمایش‌ها در آزمایشگاه مرکز تحقیقات قلب و عروق اصفهان که تحت نظارت کیفی دانشگاه رافائل بلژیک (St. Rafael University, Department of Epidemiology, Leuven, Belgium) و همچنین تحت نظارت آزمایشگاه North west lipid Metabolism and diabetes Research laboratories, USA می‌باشد، صورت گرفت.

آزمایش‌های بافت‌شناسی: در پایان مطالعه و پس از آخرین خونگیری، موش‌های صحرایی بوسیله کلروفورم بیهوش و پس از شکافتن قفسه سینه، بخشی از بافت لوزالمعده آن‌ها، خارج گردید و با محلول سرم فیزیولوژیک شسته و به منظور آبگیری و آماده‌شدن جهت دیگر مراحل، در فرمالین ۱۰٪ قرار داده شد. در مرحله بعدی از بافت‌های آبگیری شده، برش‌هایی تهیه و به روش هماتوکسیلین-ائوزین رنگ‌آمیزی گردیدند. از لام‌های آماده شده به این ترتیب، در زیر میکروسکوپ عکس‌برداری انجام گرفت [۱۲].

تحلیل آماری داده‌ها: پس از تجزیه و تحلیل آماری، نتایج به صورت $Mean \pm SD$ ارائه شده است. برای بررسی نتایج بیوشیمیایی و بافت‌شناسی و مقایسه میانگین گروه‌های آزمایشی، از آزمون تجزیه و تحلیل واریانس چند متغیری یا MANOVA (آماره Wilks لامبدا) استفاده شد و $P < 0/05$ معنی‌دار تلقی گردید. تحلیل آماری با استفاده از برنامه نرم‌افزاری SPSS ویرایش ۱۵ انجام پذیرفت.

یافته‌ها

در روش عصاره‌گیری به‌طریقه خیساندن در الکل از هر ۱۰۰ گرم پودر برگ گردو، ۵/۶۴ گرم پودر خشک عصاره بدست آمد. نتایج آزمایش‌های بیوشیمیایی قند، انسولین، هموگلوبین گلیکوزیله، LDL-کلسترول و HDL -

داشتند. به منظور حصول حالت سازش با محیط، تمامی آزمایش‌ها پس از گذشت حداقل ۱۰ روز پس از استقرار حیوانات در لانه به انجام رسید.

آماده سازی حیوانات دیابتی: مدل تجربی دیابت نوع ۱، با یک‌بار تزریق داخل صفاقی آلوکسان (Sigma, Germany) به میزان ۱۲۰ mg/kg وزن بدن ایجاد گردید و از سرم فیزیولوژی به‌عنوان حلال آلوکسان استفاده شد. علائم دیابت شامل پرنوشی، پرادراری و کاهش وزن پس از ۶-۷ روز آشکار گردید. برای اطمینان بیشتر از ایجاد دیابت، یک هفته پس از تزریق آلوکسان، قند خون از طریق خون‌گیری از سینوس رترو ارییتال گوشه داخلی چشم اندازه‌گیری شد. ملاک دیابتی شدن، افزایش میزان گلوکز خون بین ۳۰۰-۲۰۰ mg/dl است [۱۱].

نحوه تیمار: تیمار حیوانات با عصاره گیاهی و سرم فیزیولوژی به صورت داخل صفاقی و روزانه انجام گرفت. در این تحقیق ۱۸ موش صحرایی به‌صورت تصادفی به ۳ دسته ۶ تایی تقسیم شدند: گروه ۱ (کنترل غیر دیابتی): موش‌های صحرایی سالم که معادل حجم عصاره تزریقی، سرم فیزیولوژی را دریافت نمودند. این عمل به منظور یکسان نمودن شوک حاصل از تزریق انجام گرفت. گروه ۲ (کنترل دیابتی): موش‌های صحرایی دیابتی که با سرم فیزیولوژی تیمار شدند.

گروه سوم (پیشگیری): موش‌های صحرایی سالم که عصاره محلول در سرم فیزیولوژی را به‌میزان ۲۰۰ mg/kg وزن بدن در طول چهار هفته و به صورت روزانه دریافت نمودند و سپس با یک‌بار تزریق داخل صفاقی آلوکسان به میزان ۱۲۰ mg/kg وزن بدن دیابتی شده و پس از اطمینان از ایجاد دیابت، دوباره در طول ۴ هفته عصاره را با همان دوز ذکر شده و به‌صورت روزانه دریافت نمودند.

خون‌گیری و آزمایش‌های بیوشیمیایی: از موش‌های صحرایی در سه نوبت (قبل از شروع مطالعه = نوبت ۱، دو هفته بعد از تزریق آلوکسان = نوبت ۲ و در پایان مطالعه = نوبت ۳) خون‌گیری به عمل آمد و میزان هموگلوبین گلیکوزیله (HbA1c)، انسولین، قند، LDL، HDL و VLDL تعیین گردید. خون‌گیری از طریق سینوس اوربیتال گوشه داخلی چشم موش‌های صحرایی و توسط لوله‌های

کلسترول، در دو جدول آورده شده است. در جدول ۱ دیابتی و در جدول ۲ نتایج مربوط به اثر عصاره برگ گردو نتایج مربوط به اثر عصاره برگ گردو بر سطح شاخص‌های بر سطح لیپوپروتئین‌های سرمی ذکر شده است.

جدول ۱ - اثر عصاره برگ گردو بر سطح گلوکز، انسولین و هموگلوبین گلیکوزیله دیابتی در گروه‌های مورد مطالعه موش‌های صحرایی

گروه‌های آزمایشی (تعداد در هر گروه = ۶)			شاخص
پیشگیری	کنترل دیابتی	کنترل غیردیابتی	
			mg/dl گلوکز
۹۶/۰±۱۳/۴۱	۹۸/۵±۱۲/۴۳	۹۵/۵±۱۳/۵۲	نوبت ۱
۱۱۸±۱۷/۹۶	۴۹۲/۴±۹۵/۵۶ ^{‡*}	۱۰۱/۲۵±۲۶/۲۲	نوبت ۲
۹۹/۳۳±۷/۹۹	۵۹۹±۸۲/۵۶ ^{‡**}	۹۷/۲۵±۱۲/۷۸	نوبت ۳
			انسولین (µu/ml)
۱۳/۴±۱/۲۶	۱۳/۴±۱/۲۶	۱۳/۵۲±۱/۱۲	نوبت ۱
۱۲/۶±۲/۰۴	۵/۲۷±۰/۹۱ ^{‡*}	۱۳/۵۲±۱/۰۶	نوبت ۲
۱۲/۱۸±۱/۸۰	۴/۸۶±۱/۴۱ ^{‡**}	۱۲/۵۵±۱/۳۵	نوبت ۳
			هموگلوبین گلیکوزیله پلاسما (%)
۴/۲۱±۰/۱۸	۴/۲۵±۰/۲۵	۴/۲۲±۰/۲۲	نوبت ۱
۴/۹±۰/۴۳	۴/۴۴±۰/۶۳	۴/۳±۰/۱۶	نوبت ۲
۴/۴۳±۰/۲۴	۶/۹±۱/۷ ^{‡**}	۴/۵±۰/۲۱	نوبت ۳

p < ۰/۰۵ * معنی‌دار بودن اختلاف غلظت هر فاکتور در هر گروه در نوبت ۲ در مقایسه با نوبت ۱
 p < ۰/۰۵ * معنی‌دار بودن اختلاف غلظت هر فاکتور در هر گروه در نوبت ۳ در مقایسه با نوبت ۱
 p < ۰/۰۵ ‡ معنی‌دار بودن اختلاف غلظت هر فاکتور در گروه‌ها نسبت به گروه کنترل غیر دیابتی در یک مقطع زمانی.
 p < ۰/۰۵ # معنی‌دار بودن اختلاف غلظت هر فاکتور در هر گروه در نوبت ۳ در مقایسه با نوبت ۲
 هر ستون انحراف معیار ± میانگین (Mean±SD) را نشان می‌دهد.

جدول ۲ - اثر عصاره برگ گردو بر سطح لیپوپروتئین‌های سرمی در گروه‌های مورد مطالعه موش‌های صحرایی

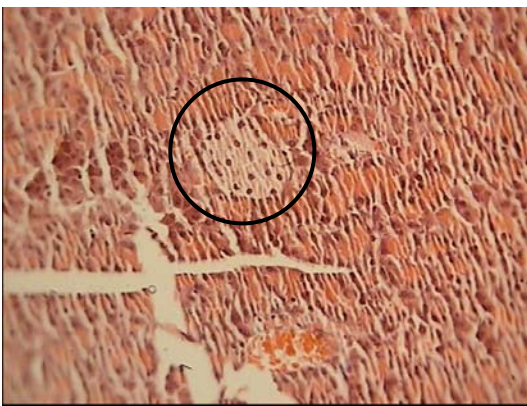
گروه‌های آزمایشی (تعداد در هر گروه = ۶)			شاخص
پیشگیری	کنترل دیابتی	کنترل غیردیابتی	
			(mg/dl) LDL
۱۴/۳۶±۲/۲۹	۱۱/۱۶±۲/۲۲	۱۴/۷۵±۲/۵	نوبت ۱
۱۶/۶۶±۴/۵۴	۲۰/۲±۱/۴۸ ^{‡*}	۱۵/۰±۱/۸۲	نوبت ۲
۱۷/۸۳±۲/۷۸ [#]	۳۳/۰±۳/۳۶ ^{‡**}	۱۶/۲۵±۱/۷۰	نوبت ۳
			(mg/dl) HDL
۳۷/۷۵±۱/۷۷	۳۷/۵±۱/۸۷	۳۷/۲۵±۱/۷۰	نوبت ۱
۳۸/۳۳±۵/۹۸	۳۵/۱۶±۶/۰۸ [‡]	۴۰/۲۵±۱۰/۸۷	نوبت ۲
۴۰/۸۳±۵/۲۲	۳۳/۳۳±۶/۶۵ [‡]	۴۱/۷۵±۶/۳۹	نوبت ۳
			(mg/dl) VLDL
۱۶/۳±۳/۱۲	۱۶/۸±۳/۳۲	۱۷/۴۵±۳/۵۴	نوبت ۱
۱۷/۵۶±۲/۱۲	۲۳/۵۶±۱۱/۹۷ ^{‡*}	۱۵/۱۵±۳/۰۴	نوبت ۲
۱۷/۷۶±۳/۴۷	۳۰/۵±۶/۶ ^{‡**}	۱۶/۵۵±۲/۳۴	نوبت ۳

p < ۰/۰۵ * معنی‌دار بودن اختلاف غلظت هر فاکتور در هر گروه در نوبت ۲ در مقایسه با نوبت ۱
 p < ۰/۰۵ * معنی‌دار بودن اختلاف غلظت هر فاکتور در هر گروه در نوبت ۳ در مقایسه با نوبت ۱
 p < ۰/۰۵ ‡ معنی‌دار بودن اختلاف غلظت هر فاکتور در گروه‌ها نسبت به گروه کنترل غیر دیابتی در یک مقطع زمانی.
 p < ۰/۰۵ # معنی‌دار بودن اختلاف غلظت هر فاکتور در هر گروه در نوبت ۳ در مقایسه با نوبت ۲
 هر ستون انحراف معیار ± میانگین (Mean±SD) را نشان می‌دهد.

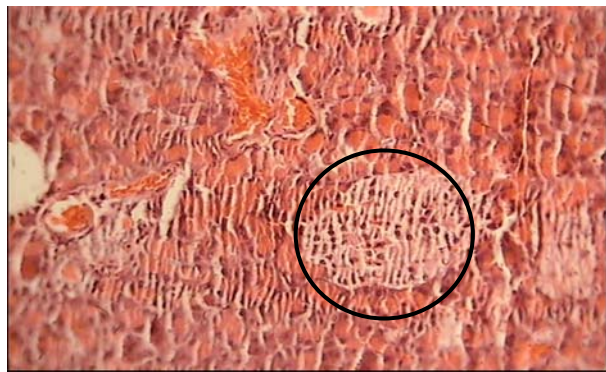
گروه‌ها افزایش معنی‌داری ($P < 0/05$) را نشان داده است (جدول ۱). میزان HDL سرمی در نوبت ۲ در گروه کنترل دیابتی کاهش یافته ولی در گروه‌های کنترل غیردیابتی و پیشگیری تفاوت معنی‌داری دیده نشد (جدول ۲). در نوبت‌های ۲ و ۳ اثر عصاره بر سطح فاکتورهای ذکر شده در حد گروه کنترل غیردیابتی بوده و تفاوت معنی‌داری دیده نشد (جدول ۱ و ۲).

نتایج بافت‌شناسی: بررسی بافت‌شناسی جزایر لانگرهانس گروه‌های آزمایشی مورد مطالعه نشان داده که اندازه جزایر در این گروه‌ها متفاوت است. اندازه جزایر در گروه کنترل دیابتی در مقایسه با گروه کنترل غیر دیابتی تفاوت معنی‌داری ($P < 0/05$) را نشان داده است. در گروه کنترل غیر دیابتی نسبت به گروه پیشگیری تفاوت دیده شده، ولی معنی‌دار نبود (شکل‌های ۱ تا ۳ و جدول ۳).

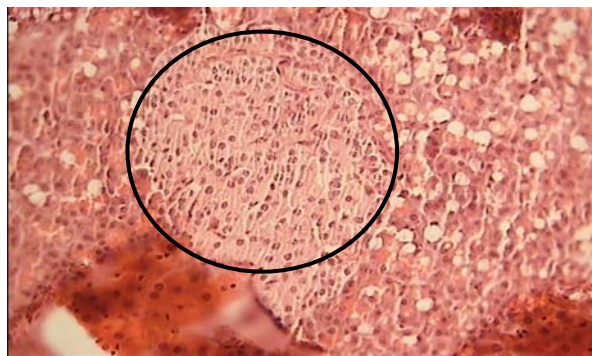
نتایج نشان داد که در نوبت ۱، میانگین فاکتورها در بین گروه‌های مورد مطالعه تفاوت معنی‌داری نداشته است (جدول ۱ و ۲). در نوبت ۲ میزان قند، VLDL و LDL خون در گروه کنترل دیابتی در مقایسه با گروه کنترل غیردیابتی و گروه پیشگیری افزایش معنی‌داری ($P < 0/05$) یافته و تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های کنترل غیردیابتی و پیشگیری دیده نشد. به‌علاوه در گروه کنترل دیابتی در نوبت ۲ در مقایسه با نوبت ۱ افزایش معنی‌داری ($P < 0/05$) در تمامی فاکتورهای ذکر شده دیده شد. در نوبت ۳ در گروه پیشگیری تفاوت معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل غیردیابتی دیده نشد (جدول ۱ و ۲). در نوبت ۲ میزان انسولین در گروه پیشگیری تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل غیردیابتی نداشته ولی گروه کنترل دیابتی نسبت به گروه کنترل غیر دیابتی کاهش معنی‌داری ($P < 0/05$) را نشان داده است (جدول ۱). هموگلوبین گلیکوزیله فقط در نوبت ۳ در گروه کنترل دیابتی در مقایسه با سایر



شکل ۱- جزایر لانگرهانس در برش عرضی لوزالمعده
(رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین، بزرگنمایی $100\times$) گروه کنترل دیابتی شده با آلوسکان



شکل ۲- جزایر لانگرهانس در برش عرضی لوزالمعده
(رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین، بزرگنمایی $100\times$) گروه کنترل غیردیابتی



شکل ۳- جزایر لانگرهانس در برش عرضی لوزالمعده
(رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین، بزرگنمایی $100\times$) گروه عصاره الکلی برگ خشک گردو به عنوان پیش‌گیری

جدول ۳ - مقایسه اندازه جزایر لانگرهانس در گروه‌های مورد مطالعه موش‌های صحرائی

اندازه جزایر لانگرهانس (میکرون)	گروه (تعداد= ۶)
۱/۶۴±۰/۳	کنترل غیردیابتی
۰/۶۲±۰/۴*	کنترل دیابتی
۱/۹۶±۰/۴	عصاره برگ گردو

* $P < 0/05$ معنی‌دار بودن اختلاف اندازه جزایر لانگرهانس در گروه کنترل دیابتی نسبت به گروه کنترل غیر دیابتی را نشان می‌دهد. ستون اعداد، انحراف معیار \pm میانگین (Mean \pm SD) را نشان می‌دهد.

بحث

در این تحقیق اثر عصاره هیدروالکی برگ گردو در پیشگیری از بروز دیابت مورد بررسی قرار گرفت. نتایج بدست آمده در این تحقیق نشان داد که درگروه پیشگیری، سطح قند، HbA1c و LDL خون نسبت به گروه کنترل دیابتی کاهش معنی‌دار ($P < 0/05$) و سطح انسولین نسبت به گروه کنترل دیابتی افزایش معنی‌دار داشته است ($P < 0/05$). بررسی‌های بافت‌شناسی هم نشان دادند که تیمار با عصاره در موش‌های صحرائی سالم مانع تخریب بافت لوزالمعده در اثر دیابت می‌گردد.

طبق بررسی‌های انجام‌شده، سمیت اختصاصی آلوکسان برای سلول‌های بتای لوزالمعده، به علت جذب سلولی سریع آلوکسان توسط سلول‌های بتای لوزالمعده و تولید رادیکال‌های آزاد توسط آلوکسان می‌باشد. رادیکال‌های آزاد قادرند به ترکیبات سلولی موجود زنده (پروتئین‌ها، لیپیدها، کربوهیدرات‌ها، اسیدهای نوکلئیک و...) آسیب برگشت‌پذیر و یا برگشت‌ناپذیری وارد کنند، به این صورت بر فعالیت‌های سلول مثل عملکرد غشاء، متابولیسم و بیان ژن اثر می‌گذارند، در نتیجه برخی از سلول‌ها ساختار و فعالیت‌شان را از دست می‌دهند. طبق تحقیقات انجام‌شده، آسیب اکسیداتیو رادیکال‌های آزاد علت اصلی آسیب سلولی و بافتی در برخی بیماری‌ها نظیر آترواسکلروز، سرطان، دیابت قندی و... می‌باشد [۱۳]. آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که غشاهای سلولی و ترکیب‌های مختلف موجود زنده را در مقابل اکسیدان‌ها حفظ می‌کنند. سازوکار عمل این ترکیبات جمع‌آوری رادیکال‌های آزاد، واگذاری الکترون به این اکسیدان‌ها و غیرفعال کردن آنها می‌باشد [۱۴ و ۱۵]. برگ گردو غنی از

آنتی‌اکسیدان‌هایی نظیر اسیدهای فنلی و فلاونوئیدها است. مهم‌ترین اسید فنلی برگ گردو کافئوئیلکوبینیک اسید و مهم‌ترین فلاونوئید آن کوئرستین هستند [۱۶]. نتایج مطالعات نشان داده‌اند که فلاونوئیدها موجب کاهش قند پلاسما می‌شوند [۱۵]. Nur a live و همکاران در سال ۱۹۹۲، اثر هیپوگلیسمی کوئرستین را در رت‌های دیابتی‌شده با آلوکسان، گزارش کرده‌اند. بر اساس نتیجه این تحقیق، کوئرستین علاوه بر قند خون، کلسترول و LDL را به صورت معنی‌داری کاهش می‌دهد. فلاونوئید کوئرستین جذب گلوکز را در روده مهار می‌کند. این عمل به‌طور اختصاصی بر روی ناقل گلوکز ۲ (GLUT2) صورت می‌گیرد. اسید کلروژنیک بازدارنده اختصاصی آنزیم گلوکز ۶ - فسفاتاز بوده و تولید گلوکز را در کبد مهار می‌کند. این آنزیم نقش کلیدی در تنظیم میزان قند خون و خروجی قند از کبد دارد، به این ترتیب باعث کاهش قند خون می‌گردد و بدن‌بال کاهش قند خون، میزان هموگلوبین گلیکوزیله نیز کاهش می‌یابد [۱۷ و ۱۸]. کلروژنیک اسید با دخالت غیر مستقیم در سنتز کلسترول و مهار آنزیم هیدروکسی‌متیل‌گلو تاریل کوآنزیم A ردوکتاز، سنتز آن را در هپاتوسیت‌های کبدی کاهش داده و کلسترول اضافی را از طریق افزایش دفع صفراوی آن کاهش می‌دهند [۱۹]. در این تحقیق آزمایش‌های بافت‌شناسی نشان دادند که تیمار با عصاره در موش‌های صحرائی مانع تخریب بافت لوزالمعده بعد از تزریق آلوکسان شده است. ترکیبات آنتی‌اکسیدانی گیاهی بر بازسازی و ترمیم سلول‌های بتای لوزالمعده موثرند. مطالعه روی سیر، پیاز و شنبلیله نشان داده که در موش‌های صحرائی دیابتی تیمار شده با آنتی‌اکسیدان، تعداد سلول‌های بتا به‌طور معنی‌داری افزایش می‌یابند [۲۰ و ۲۱].

۳- بررسی اثر سایر دوزهای عصاره هیدروالکلی برگ گردو در پیشگیری از دیابت

سپاسگزاری

این پژوهش در قالب طرح شماره ۸۴۱۴۳ با حمایت مالی معاونت پژوهشی مرکز تحقیقات قلب و عروق اصفهان انجام شده است. بدین وسیله از معاونت پژوهشی مرکز تحقیقات قلب و عروق اصفهان، کادر محترم آزمایشگاه مرکز تحقیقات قلب و عروق اصفهان جهت انجام آزمایش‌های بیوشیمیایی و کادر محترم آزمایشگاه بافت‌شناسی دکتر محزونی جهت انجام آزمایش‌های بافت‌شناسی قدردانی می‌شود.

با استناد به نتایج بیوشیمیایی و بافت‌شناسی در این تحقیق می‌توان نتیجه گرفت که یکی از سازوکارهای اثر عصاره هیدروالکلی برگ خشک گردو در پیشگیری از دیابت نوع ۱ در موش‌های صحرایی، بازسازی و ترمیم جزایر لانگرهانس و به دنبال آن افزایش میزان انسولین است.

به منظور تکمیل اطلاعات در این زمینه، پیشنهاد می‌شود که موارد زیر در تحقیقات آینده مورد توجه قرار گیرند:

۱- بررسی سازوکار مولکولی اثر عصاره هیدروالکلی برگ گردو در پیشگیری از دیابت

۲- شناسایی و جداسازی ترکیب مؤثر عصاره برگ گردو در کاهش قند خون و لیپوپروتئین‌ها

مآخذ

- ۱- زرگری ع، گیاهان دارویی. جلد چهارم موسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران ۱۳۷۲، ۴۶۷ - ۴۵۸.
- 2- Pereira, J.A., Oliveira, I., Sousa, et al. Walnut (*Juglans regia*) leaves: phenolic compound, antibacterial activity and antioxidant potential of different cultivars. *Food and Chemical Toxicology*. 2007. 45(11): 2287 - 2295
- 3- Erdemoglu, N., Kupeli, E., Yesilada, E. Anti-inflammatory and antinociceptive assessment of plants used as remedy in Turkish folk medicine. *Journal of Ethnopharmacology* 2003; 89 : 123 - 129.
- 4- Amaral, J. S., Seabra, R. M., Andrade, P. B. Phenolic profile in the quality control of walnut (*Juglans regia* L.) leaves. *Food Chemistry* 2004; 88 : 373 - 379.
- 5- Fukuda, T., Ito, H., Yoshida, T. Antioxidative polyphenols from walnuts (*Juglans regia* L.). *Phytochemistry* 2003; 63: 795-801.
- 6- Kaumar, S., Harkonen, P.L., Arora, S., Kaur, M. Studies on correlation of antimutagenic and antiproliferative activities of *Juglans regia* L. *Journal Environ Pathol Toxicol Oncol* 2003; 22(1): 59 - 67.
- 7- Qadan, T.N., Thewaini, A.J. The antimicrobial activities of *Psidium guajava* and *Juglans regia* leaf extracts to acne-developing organisms. 2005 *Am J Chin Med* ;33(2):197-204.
- ۸- جلودار غ، نظیفی حبیب آبادی س. بررسی اثر گشنیز، انار و برگ درخت گردو بر روی برخی پارامترهای بیوشیمیایی سرم خون موش‌های صحرایی دیابتی. مجله دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی شهید صدوقی یزد ۱۳۷۸ (شماره ۱): ۸۲ - ۷۷.
- 9- Williams G and Pickup JC. *Handbook of Diabetes*. 2nd ed. Blackwell Science. 2000, pp: 48 - 60.
- 10- Namasivayam, N. Hypolipidemic effect of *Cuminum cyminum* L. on alloxan - induced diabetic rats. *Pharmacological research* 2002; 46 (3): 251 - 255.
- 11- El - demerdash, F.M., Yousef, M. I., Abou El - Naga, N. I. Biochemical study on the hypoglycemic effects of onion and garlic in alloxan - induced diabetic rats . *Food and Chemical Toxicology* 2005, 43: 57 -63.
- 12- Nagappa, A.N., Thakurdesai, P.A., Venkat, N., Singh, Jiwan. Antidiabetic activity of *Terminalia catappa* L fruits. *Journal of Ethnopharmacology* 2003; 88 : 45 - 50.
- 13- Szkudelski, T. The mechanism of Alloxan and Streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiological research* 2001; 50: 536 - 546.
- 14- Fukuda, T., Ito, H., Yoshida, T. Effect of the walnut polyphenol fraction on oxidative stress in type 2 diabetes mice. *Biofactors* 2004; 21: 251 - 253.
- 15- Vaya, J., Aviram, M . Nutritional antioxidants: mechanism of action, analyses of activities and medical applications. *Current Medicinal Chemistry-Immunology. Endocrine & Metabolic Agents* 2002; 1 : 99-117.
- 16- Solar, A., Colaric, M., Usenik, V., Stampar, F. Seasonal variations of selected flavonoids, phenolic acids and quinones in annual shoots of common walnut (*Juglans regia* L.). *Plant Science* 2006; 453 - 461.

- 17- Nuraliev, I.N. Avezov, G.A. The efficacy of quercetin in alloxan diabetes. *EKS perimentalanaia Klinicheskaia Farmakologia* 1992; 55: 42 – 44.
- 18- Dhandapani, S., Subramanian, V, Rajagopal, Namasivayam, N. Hypolipidemic effect of *Cuminum cyminum* L .on alloxan– induced diabetic rats . *Pharmacological research* 2002; 46(3): 251 –255.
- 19- Namasivayam, N. Hypolipidemic effect of *Cuminum cyminum* L .on alloxan – induced diabetic rats. *Pharmacological research* 2002; 46 (3): 251 – 255.
- 20- El – demerdash, F.M., Yousef, M. I., Abou El – Naga, N. I. Biochemical study on the hypoglycemic effects of onion and garlic in alloxan – induced diabetic rats. *Food and Chemical Toxicology* 2005; 43 : 57 –63
- 21- Jelodar, G., Maleki, M., Motadayen, M.H., Sirus, S. Effect of fenugreek, onion and garlic on blood glucose and histopathology of pancreas of alloxan-induced diabetic rats. *Indian Journal of Medical Sciences* 2005; 59(2): 64-69.