

بررسی اثر عصاره برگ گردو با استرس ناشی از شنای اجباری بر پروفایل لیپیدی و وزن بدن در موش‌های صحرایی نر بالغ دیابتی شده

مرضیه فلاحی^۱، سیدابراهیم حسینی^{۲*}

۱. دانش آموخته گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران.
۲. دانشیار گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران.

چکیده

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۱/۲۰
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۹/۱۷

زمینه از بخش‌های مختلف گیاه گردو، در طب سنتی و در درمان بیماری‌های مختلف از جمله دیابت استفاده می‌شود. با توجه به نقش استرس‌های مختلف در بروز بیماری دیابت و عوارض داروهای شیمیایی در درمان این بیماری، مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر عصاره هیدروالکلی برگ گردو بر پروفایل لیپیدی در موش‌های صحرایی نر بالغ دیابتی شده تحت استرس شنا انجام گرفت.

روش کار این مطالعه تجربی بر ۵۰ سر موش صحرایی نر بالغ انجام شد که به ۵ گروه: کنترل، دیابتی، دیابتی تیمار با عصاره برگ گردو (۲۰۰ mg/kg)، دیابتی با استرس شنا در آب ۱۵ درجه سانتیگراد و دیابتی تیمار با استرس شنا و عصاره برگ گردو تقسیم شده بودند. در پایان، پس از تجویز ۲۱ روزه و اندازه‌گیری وزن و خون‌گیری از حیوانات، میزان سرمی تری‌گلیسیرید، کلسترول تام، LDL و HDL اندازه‌گیری شد و داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS-18 و آزمون‌های ANOVA و توکی آنالیز و معناداری اختلاف داده‌ها در سطح $P < 0/01$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها نتایج نشان داد که دیابت و دیابت با استرس شنا، باعث کاهش معنادار وزن و میزان سرمی HDL در سطح $P < 0/01$ و افزایش معنادار میزان سرمی تری‌گلیسیرید، کلسترول تام، LDL در سطح $P < 0/01$ نسبت به گروه کنترل می‌گردد؛ در حالی که عصاره برگ گردو باعث افزایش معنادار HDL در سطح $P < 0/01$ و کاهش معنادار میزان سرمی تری‌گلیسیرید، کلسترول تام و LDL در سطح $P < 0/01$ در حیوانات دیابتی و تحت استرس شنا می‌گردد.

نتیجه‌گیری نتایج نشان داد که استرس شنا و دیابت باعث افزایش میزان سرمی تری‌گلیسیرید، کلسترول تام و LDL و کاهش HDL در خون می‌شود و عصاره برگ گردو باعث اصلاح تغییرات فوق می‌گردد.

کلیدواژه‌ها:

برگ گردو، پروفایل لیپیدی، استرس شنا، موش صحرایی.

۱. مقدمه

دیابت، یک بیماری و ناهنجاری متابولیکی ناشی از نقص در ترشح یا کارکرد انسولین می‌باشد (۱). نشان داده شده است که در بیماران دیابتی، اختلالات لیپیدی، نظیر افزایش تری‌گلیسیرید، کلسترول تام، لیپوپروتئین با چگالی پایین LDL و کاهش لیپوپروتئین

چگالی بالا HDL مشاهده می‌شود (۲). دیابت، با ایجاد رادیکال‌های آزاد و استرس اکسیداتیو منجر به اکسیداسیون لیپیدها، پروتئین‌ها و DNA می‌شود (۳). مالون دی‌آلدئید به عنوان یک بیومارکر کلیدی استراکسیداتیو برای اندازه‌گیری میزان رادیکال‌های آزاد تولید شده در بدن می‌باشد و در یک بررسی نشان داده شده که دیابت باعث افزایش ترکیباتی نظیر مالون دی‌آلدئید و پروتئین

* نویسنده مسئول: سیدابراهیم حسینی
نشانی: //

دورنگار:

تلفن: ۰۹۱۷۱۱۸۴۴۹۵

رایانه: ebrahim.hossini@yahoo.com

شناسه ORCID: 0000-0001-6172-8378

شناسه ORCID نویسنده اول: 0000-0003-0548-0114

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و کاهش سطح رادیکال‌های آزاد در خون، اثرات مفیدی بر جلوگیری از عوارض هیپرلیپیدمیک ناشی از دیابت ملیتوس دارد (۲۰). شواهد تجربی نشان می‌دهند که استرس در افراد دیابتی سطح سرمی انسولین را کاهش و میزان قند خون را به طور معناداری افزایش می‌دهد (۲۱). تحقیقات نشان داده است که استرس، موجب افزایش اسیدهای چرب، کلسترول، تری‌گلیسرید، اجسام کتون‌ی سرم می‌شود (۲۲). انسولین، قدیمی‌ترین دارویی است که در درمان بیماری دیابت استفاده می‌شود و بیشترین تحقیقات و تجربه بالینی نیز در ارتباط با آن وجود دارد (۲۳) و در مطالعات دیگر نیز نشان داده شده است که بین مشکلات روانی و نوع درمان بیماران مبتلا به دیابت، ارتباط وجود دارد؛ به طوری که استفاده از داروی انسولین و مشکلات و پریشانی روانی، ارتباط وجود دارد (۲۴ و ۲۵). امروزه عوارض ناشی از افزایش چربی خون، یکی از معضلات جوامع بشری در سراسر دنیا است (۲۶)؛ به طوری که میلیون‌ها نفر در سراسر دنیا از عوارض ناشی از افزایش چربی خون از جمله بیماری دیابت رنج می‌برند؛ از این رو با توجه به هزینه‌های بالای دارودرمانی و عوارض جانبی ناشی از مصرف داروهای سنتتیک یا ممنوعیت مصرف این داروها در برخی از بیماران، استفاده از روش‌های درمانی نوین و مؤثر و با عوارض جانبی کمتر، کاملاً محسوس است؛ بنابراین امروزه توجه پژوهشگران زیادی به استفاده از داروهای گیاهی و نقش مؤثر آنها جلب شده است (۲۷) و از این رو مطالعه حاضر نیز با هدف پاسخ به این سؤال که آیا تیمار هم‌زمان حیوانات دیابتی شده با استرس ناشی از شنای در آب سرد با عصاره هیدروالکلی برگ گردو بر پروفایل لیپیدی این حیوانات تاثیر بیشتری دارد یا تیمار جداگانه با شنای در آب سرد و عصاره هیدروالکلی برگ گردو انجام گردید تا با استفاده از نتایج حاصل از آن مشخص گردد که حضور افراد دیابتی در جکوزی آب سرد بر پروفایل لیپیدی آنها چه تأثیری دارد

۲. مواد و روش‌ها

این یک مطالعه تجربی است که در سال ۱۳۹۵ در دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز بر روی ۵۰ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار و در محدوده وزنی ۲۲۰ تا ۲۱۰ گرم و سن ۱۱۰ تا ۱۰۰ روزه که از مرکز پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی شیراز تهیه شده بودند انجام گردید. در طول دوره آزمایش، همه حیوانات، از آب و غذای فشرده ساخت شرکت خوراک دام پارس تهران و بدون محدودیت برخوردار بودند و در یک اتاق مخصوص در دمای 22 ± 2 درجه سلسیوس و در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. پروتکل این تحقیق بر اساس

واکنشی C به عنوان بیومارکرهای استرس اکسیداتیو منجر به کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بدن می‌شود (۵ و ۴). در یک بررسی نشان داده شده است که استرس اکسیداتیو با افزایش تری‌گلیسریدها در سرم باعث تغییراتی در پروفایل لیپیدی می‌شود (۶). امروزه نتایج حاصل از تحقیقات به استفاده از روش‌های مختلف از جمله روزه‌داری برای کاهش میزان قند و پروفایل لیپیدی و از گیاهان گوناگونی از جمله انار و گل نر گردو در درمان عوارض ناشی از دیابت اشاره دارند (۷ و ۸). گردو با نام علمی *Juglans regia* از جمله گیاهانی است که در طب سنتی کاربرد فراوانی دارد؛ به طوری که از برگ‌های آن برای درمان دردهای روماتیسمی، تب، دیابت و درمان کم‌خونی استفاده می‌شود (۱۰). نتایج یک مطالعه نشان داد که عصاره پوست سبز گردو از اثرات آنتی‌دیابتیک مشخصی برخوردار است و باعث کاهش میزان سرمی گلوکز، تری‌گلیسرید و LDL و افزایش HDL می‌شود (۱۱). برگ گردو حاوی ترکیباتی نظیر اسیدگالیک، اسیدالازیک، پتاسیم، منیزیم، باریوم، کاروتن و چربی و دارای خاصیت میکروبی‌کشی است (۱۲). نشان داده شده است که گردو، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بدن را افزایش می‌دهد و از پیشرفت بیماری‌های قلبی-عروقی و سرطان جلوگیری می‌کند (۱۳ و ۱۴). شواهد نشان داده‌اند که عصاره برگ گردو دارای اثرات قابل توجهی در کاهش میزان قند و چربی خون در موش‌های دیابتی شده می‌باشد (۱۵). نشان داده شده است که عصاره متانولی برگ گردو باعث کاهش قند خون می‌شود و اثرات قابل توجهی در بهبودی و کنترل اختلالات متابولیکی ناشی از بیماری دیابت دارد (۱۶). بخش‌های سبز رنگ و تازه گیاه گردو به خصوص برگ‌های آن حاوی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مانند اسیدهای فنولی، فلاونوئیدها و اسیدکلروژنیک می‌باشد (۱۷). در برگ گردو، فلاونوئیدهای متعددی نظیر ترکیبات کوئرستینینی، کامفرول وجود دارد که با داشتن خاصیت آنتی‌اکسیدانتی قوی باعث کاهش شدید گونه‌های فعال اکسیژن درون سلولی می‌شود (۱۰). نشان داده شده است که برگ گردو دارای خواص ضدالتهابی، ضدافسردگی، ضدهیپوکسیک و آنتی‌اکسیدانت است (۱۸). در یک بررسی نشان داده شده است که دیابت مادر در دوران بارداری، بر روند تکوین مغز فرزندان اختلال ایجاد می‌کند و باعث کاهش تعداد سلول‌های عصبی در مغز می‌شود و تیمار مادران در دوران بارداری با عصاره برگ گردو باعث پیشگیری از این اثرات دیابت بر مغز جنین می‌شود (۱۲). تمرین منظم شنا و همچنین استفاده از مکمل آربوتین از طریق تنظیم مثبت آنتی‌اکسیدانت‌ها و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی از آسیب کلیوی ناشی از استرس اکسیداتیو در موش‌های صحرایی دیابتی شده جلوگیری می‌کنند (۱۹). ورزش شنا با افزایش فعالیت

ANOVA و تست پیگیری توکی، تجزیه و تحلیل شدند و معناداری اختلاف داده‌ها در سطح $P < 0/05$ در نظر گرفته شد.

۳. یافته‌های پژوهش

نتایج حاصل از آنالیز داده‌های این بررسی، بیانگر کاهش معنادار در میانگین وزن بدن در حیوانات گروه‌های دیابتی شده و دیابتی به همراه استرس شنای اجباری به ترتیب در سطح $P < 0/05$ و $P < 0/01$ نسبت به حیوانات گروه کنترل می‌باشد. بین میانگین وزن بدن در حیوانات دیابتی تحت تیمار با عصاره برگ گردو، با حیوانات گروه کنترل، اختلاف معناداری مشاهده نشد اما در گروه دریافت‌کننده عصاره برگ گردو هم‌زمان با استرس شنای اجباری افزایش معناداری در سطح $P < 0/05$ نسبت به گروه کنترل مشاهده گردید (جدول ۱). به علاوه در حیوانات دیابتی تحت تیمار با استرس شنای اجباری، کاهش معناداری در وزن حیوانات نسبت به گروه حیوانات دیابتی تحت تیمار با عصاره برگ گردو نشان داده شد (جدول ۱). همچنین نتایج این مطالعه نشان داد که در حیوانات گروه‌های دیابتی شده و دیابتی تحت تیمار با استرس شنای اجباری در میانگین غلظت کلسترول و تری‌گلیسیرید خون افزایش معناداری در سطح $P < 0/001$ نسبت به گروه کنترل مشاهده می‌شود. از طرفی، میانگین غلظت کلسترول و تری‌گلیسیرید در حیوانات گروه دیابتی شده تحت تیمار با عصاره برگ گردو، کاهش معنی‌داری را نسبت به گروه‌های دیابتی شده و دیابتی تحت تیمار با استرس شنای اجباری در سطح $P < 0/01$ نشان داد و در میانگین غلظت کلسترول و تری‌گلیسیرید در حیوانات گروه دیابتی شده تحت تیمار با عصاره برگ گردو به همراه استرس شنای اجباری، تفاوت معنی‌داری با سایر گروه‌ها مشاهده نشد (جدول ۱). نتایج این بررسی نشان‌دهنده کاهش معنادار در میزان غلظت سرمی HDL در حیوانات گروه‌های دیابتی شده و دیابتی تحت تیمار با استرس شنای اجباری نسبت به گروه کنترل در سطح $P < 0/001$ می‌باشد؛ در حالی که در حیوانات دیابتی شده تحت تیمار با عصاره برگ گردو و دیابتی تحت تیمار با عصاره برگ گردو به همراه استرس شنای اجباری افزایش معناداری در سطح $P < 0/001$ نسبت به گروه‌های دیابتی و دیابتی همراه با استرس شنا مشاهده گردید و نسبت به حیوانات گروه کنترل، اختلاف معناداری مشاهده نشد (جدول ۱). همچنین نتایج این بررسی نشان‌دهنده افزایش معنادار در میزان غلظت سرمی LDL در حیوانات گروه‌های دیابتی شده و دیابتی تحت تیمار با استرس شنای اجباری نسبت به گروه کنترل در سطح

قوانین بین‌المللی در مورد حمایت از حیوانات آزمایشگاهی تنظیم شد و در کمیته اخلاق دانشگاه تحت شماره IR.miau1396.139622437 به تصویب رسید. در این مطالعه، برای دیابتی کردن حیوانات از تزریق درون صفاقی داروی استرپتوزوسین با دوز 60 mg/kg استفاده گردید و پس از آن که با خون‌گیری از حیوانات مشخص شد که میزان قند خون در آنها به بیش از 300 mg/dl رسیده است، دیابتی شدن حیوانات تأیید گردید، حیوانات به ۵ گروه ۱۰ تایی شامل گروه‌های کنترل (فاقد تیمار)، شاهد دیابتی شده و ۳ دسته تجربی که پس از تجویز استرپتوزوسین و دیابتی شدن به ترتیب تحت تیمار با گاواژ عصاره هیدروالکلی برگ گردو با دوز 200 mg/kg ، تحت تیمار روزانه ۲ دقیقه‌ای شنای اجباری در آب ۱۵ درجه سانتی‌گراد و تحت تیمار به صورت گاواژ عصاره هیدروالکلی برگ گردو با دوز 200 mg/kg به همراه تیمار ۲ دقیقه‌ای شنای اجباری در آب ۱۵ درجه سانتی‌گراد تقسیم شدند. در این مطالعه برای تهیه عصاره برگ گیاه گردو از روش پرکولاسیون استفاده شد و برای این کار به مقدار کافی برگ گیاه گردو از نواحی اطراف شیراز جمع‌آوری شد و بعد از شناسایی و تأیید بخش گیاه‌شناسی دانشگاه شیراز و پس از خشک کردن با استفاده از دستگاه آسیاب برقی، پودر شد، آن‌گاه به مقدار کافی از پودر حاصل در 200 میلی‌لیتر اتانول 96% حل شد و مخلوط به دست آمده ۲۴ ساعت در دمای اتاق (25 درجه سانتی‌گراد) نگهداری گردید تا کاملاً خیسانده شود و آن‌گاه به کمک دستگاه هم‌زن برقی، به خوبی هم زده شد تا به حالت یکنواخت درآید و سپس مخلوط به دست آمده را با فیلتر صاف شد و به کمک دستگاه روتاری، تغلیظ گردید و با کمک دستگاه دسیکاتور، تمام رطوبت مخلوط گرفته شد تا عصاره‌ای با ویسکوزیته بالا به دست آمد. کلیه تجویزها و شنای اجباری در آب سرد برای مدت ۲۱ روز و در ساعات بین ۹ تا ۱۰ صبح انجام شد (۲۸). آن‌گاه در پایان دوره، ابتدا حیوانات با اثر بی‌هوش شدند و از قلب آن‌ها برای اندازه‌گیری میزان سرمی تری‌گلیسیرید، کلسترول تام، LDL و HDL، با سرنگ ۵ میلی‌لیتری خون‌گیری شد. در این بررسی، اندازه‌گیری میزان سرمی تری‌گلیسیرید و کلسترول با استفاده از کیت بایرکس فارس و با اتوآنالیزور Perstige24i و میزان HDL و LDL نیز با استفاده از کیت شرکت بیونیک و بر اساس واکنش آنزیماتیک-کلریمتریک انجام گردید. همچنین برای بررسی میزان تغییرات وزن بدن در گروه‌های مختلف، از ترازوی دیجیتال استفاده شد. در پایان، نتایج به دست آمده از آنالیز داده‌های حاصل از سنجش میزان پروفایل لیپیدی، و وزن بدن با استفاده از نرم‌افزار SPSS-18 و با استفاده از روش‌های آماری

سطح $P < 0.001$ نسبت به گروه‌های دیابتی و دیابتی همراه با استرس شنا مشاهده گردید (جدول ۱).

$P < 0.001$ می‌باشد؛ در حالی که در حیوانات دیابتی شده تحت تیمار با عصاره برگ گردو و دیابتی تحت تیمار با عصاره برگ گردو به همراه استرس شنای اجباری، کاهش معناداری در

جدول ۱. مقایسه اثر عصاره برگ گیاه گردو و استرس شنای اجباری به تنهایی و همراه با هم بر پروفایل لیپیدی و میزان وزن بدن (انحراف معیار \pm میانگین)

وزن بدن (gr)	HDL (mg/dl)	LDL (mg/dl)	کلسترول (mg/dl)	تری‌گلیسیرید (mg/dl)	گروه‌ها
۲۶۱/۸ \pm ۶/۹۳	۳۵/۴۰ \pm ۲/۲۰	۱۵/۲۰ \pm ۰/۵۸	۶۴/۲۰ \pm ۲/۶۹	۷۹/۴۰ \pm ۴/۴۱	کنترل
۲۱۴/۰۰ \pm ۵/۳۹*	۲۳/۰۰ \pm ۱/۵۸***	۴۱/۶۰ \pm ۱/۷۴***	۹۶/۸۰ \pm ۳/۶۱***	۱۳۰/۲۰ \pm ۵/۳۴***	شاهد (دیابتی)
۲۵۶/۸۰ \pm ۸/۹۹	۳۴/۲۰ \pm ۱/۴۶##	۱۹/۶۰ \pm ۱/۶۳#	۷۲/۲۰ \pm ۵/۹۷#	۹۳/۴۰ \pm ۳/۶۶#	تجربی ۱ (دیابتی + عصاره برگ گردو ۲۰۰ mg/kg)
۱۸۸/۰۰ \pm ۱۶/۰۴**&	۲۰/۲۰ \pm ۱/۲۸***	۴۷/۴۰ \pm ۲/۰۱***	۱۰۰/۴۰ \pm ۵/۹۵***	۱۳۱/۴۰ \pm ۸/۴۷***	تجربی ۲ (دیابتی + استرس شنای اجباری)
۲۰۸/۰۰ \pm ۷/۴۶*	۳۰/۰۰ \pm ۲/۶۶##	۲۷/۰۰ \pm ۲/۰۲###***	۸۱/۰۰ \pm ۵/۳۲*	۱۰۰/۰۰ \pm ۱۰/۴۴#	تجربی ۳ (دیابتی + عصاره برگ گردو ۲۰۰ mg/kg و استرس شنای اجباری)

***،**،* - نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل به ترتیب در سطح $P < 0.05$ ، $P < 0.01$ و $P < 0.001$ می‌باشد.

و # - نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه‌های شاهد و تجربی ۲ به ترتیب در سطح $P < 0.01$ و $P < 0.001$ می‌باشد.

& - نشان‌دهنده اختلاف معنادار در سطح $P < 0.01$ نسبت به گروه تجربی ۱

(GPX) می‌شود در حالی که عصاره الکی برگ گردو باعث کاهش میزان سرمی آنزیم مالون دی آلدئیدروژناز و افزایش فعالیت آنزیم‌های SOD, CAT, GPX می‌گردد (۳۰). لذا در پژوهش حاضر نیز احتمالاً تجویز خوراکی عصاره الکی برگ گردو در موش‌های صحرایی دیابتی شده با استریتوزوسین با افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بدن، اثرات ضد دیابتی خود را اعمال کرده است. هم‌سو با نتایج حاصل از بررسی حاضر در مطالعه‌ای که Rathod و همکاران در سال ۲۰۱۱ نیز انجام دادند مشخص شد که با القای حالت دیابت قندی در موش صحرایی با استفاده از داروی استریتوزوسین، با گذشت زمان و طی چند هفته، کاهش کم تا متوسط وزن و افزایش بارز قند خون و تغییرات نامطلوب در سطح متابولیسم بدن رخ می‌دهد (۳۱). همچنین همسو با نتایج مطالعه حاضر در یک بررسی دیگر نیز نشان داده شد که دیابت، باعث کاهش وزن بدن می‌شود (۳۲). در بیماران دیابتی، فعالیت آنزیم لیپوپروتئین لیپاز بافت چربی (آنزیمی که تبادل سریع بین اسیدهای چرب غیراشباع پلاسما و اسیدهای چرب موجود در تری‌گلیسریدهای بافت چربی برقرار می‌کند) به دلیل کمبود انسولین کاهش می‌یابد و منجر به کاهش تجزیه لیپیدهای

۴. بحث و نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که تجویز داروی استریتوزوسین با ایجاد دیابت، باعث افزایش میزان تری‌گلیسیرید، کلسترول تام، LDL و نیز کاهش وزن بدن و میزان سرمی HDL می‌گردد؛ در حالی که در موش‌های دیابتی شده، استرس شنای اجباری بر میزان سرمی، تری‌گلیسیرید، کلسترول تام، HDL، LDL و وزن بدن، تأثیر معناداری ندارد. اما تجویز عصاره برگ گردو در موش‌های دیابتی شده، باعث افزایش وزن بدن و میزان سرمی HDL و کاهش میزان تری‌گلیسیرید، کلسترول تام و LDL می‌شود. هم‌سو با نتایج مطالعه حاضر در یک بررسی دیگر نیز نشان داده شد که مصرف ۶۰ روزه عصاره برگ گردو باعث اصلاح پروفایل لیپیدی و میزان قند خون در بیماران با دیابت نوع ۲ می‌شود (۲۹). در یک مطالعه دیگر نیز نشان داده شد عصاره برگ گردو باعث کاهش میزان سرمی کلسترول تام و تری‌گلیسیریدها می‌گردد (۱۸). نشان داده شده است بیماری دیابت باعث افزایش میزان سرمی مالون دی‌آلدئیدروژناز (MDA) و کاهش میزان آنزیم‌های اندازه‌گیری ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی (CAT)، سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و گلوکاتیون پراکسیداز

تری‌گلیسیرید، کلسترول، LDL و هم‌چنین افزایش سطح HDL و نسبت HDL/LDL در موش‌های دیابتی شده با استریوتوزوتوسین می‌شود (۱). در یک بررسی نشان داده شد که اسیدکلروژنیک موجود در عصاره برگ گردو با دخالت غیرمستقیم در سنتز کلسترول و مهار آنزیم هیدروکسی متیل گلوکاریل کوآنزیم A ردوکتاز، سنتز آن را در هیپاتوسیت‌های کبدی کاهش می‌دهد و باعث کاهش کلسترول اضافی از طریق افزایش دفع صفراوی آن می‌شود (۳۷)؛ لذا در پژوهش حاضر نیز عصاره برگ گردو احتمالاً از طریق افزایش دفع صفراوی و کاهش تولید کلسترول در سلول‌های کبدی باعث اصلاح پروفایل لیپیدی در حیوانات دیابتی و تحت استرس ناشی اجباری شده است.

نتایج این مطالعه نشان داد که دیابت و استرس ناشی از شنای در آب سرد، باعث افزایش میزان تری‌گلیسیرید، کلسترول تام و LDL و همچنین باعث کاهش وزن بدن و میزان HDL در خون می‌گردد؛ در حالی که عصاره برگ گردو باعث افزایش وزن بدن و میزان HDL و کاهش تری‌گلیسیرید، کلسترول تام و LDL در خون می‌شود.

تشکر و قدردانی

این مقاله، برگرفته از پایان‌نامه دوره کارشناسی ارشد فیزیولوژی جانوری می‌باشد. بدین وسیله از همکاری حوزه معاونت پژوهش دانشگاه در جهت اجرای آن تقدیر و تشکر می‌شود.

ترکیبات لیپوپروتئین و سبب دفع کلیوی لیپوپروتئین‌ها می‌شود و از این طریق باعث کاهش وزن بدن در موش‌های صحرایی دیابتی می‌گردد (۳۳). لذا احتمالاً در پژوهش حاضر نیز دیابت از طریق کاهش فعالیت آنزیم لیپوپروتئین لیپاز، اثرات خود را بر کاهش وزن اعمال کرده است. از سویی، در مطالعه حاضر، میانگین وزن بدن در گروه دیابتی تحت استرس ناشی اجباری، از گروه دیابتی نیز کمتر شده بود و با آن نیز اختلاف معناداری را نشان می‌داد که با مطالعات Karra و همکاران در سال ۲۰۱۰ هم‌خوانی دارد (۳۴) و بر اساس برخی از مطالعات دیگر، استرس در نمونه‌های دیابتی، نسبت به نمونه‌های غیردیابتی باعث کاهش وزن به مراتب شدیدتری می‌شود (۲۸ و ۳۵). همچنین نشان داده شده است که در معرض سرما بودن باعث افزایش میزان متابولیسم می‌گردد، به طوری که شنای در آب سرد ۲۰ درجه سانتی‌گراد باعث افزایش میزان متابولیسم تا حدود دوبرابر و در آب ۱۴ درجه تا بیش از ۴ برابر می‌گردد که همه این عوامل، سبب کاهش وزن بدن می‌گردند (۳۶). لذا در پژوهش حاضر نیز شنای در آب سرد، احتمالاً از طریق افزایش متابولیسم باعث کاهش شدیدتر وزن در حیوانات دیابتی شده گردید. هم‌سو با نتایج مطالعه حاضر، در یک بررسی دیگر نیز نشان داده شد که مصرف عصاره برگ گردو موجب کاهش نسبت LDL-C به HDL-C همچنین کاهش نسبت کلسترول تام به HDL-C و تری‌گلیسیرید در حیوانات دیابتی شده می‌شود (۲۸). در یک بررسی دیگر نیز نشان داده شد که عصاره هیدروالکلی گل نر گردو به صورت غیروابسته به دوز، موجب کاهش قند خون،

References

- [1]. Karimzadeh K, Hosseini E, Kavooosi E, Nasihatkon A, Nikseresht M. Hypolipidemic effects of hydroalcoholic extract from walnut male flowers on diabetic rats. *Armaghane danesh*. 2013; 18 (6):484-694.
- [2]. Tripathi BK, Srivastava AK. Diabetes mellitus: complication and therapeutics. *Med Sci Monit*.2006; 12(2): 130-47.
- [3]. Chen J, Lu Y, Lee C, Li R, Leiter EH, Mathews CE, Commonalities of genetic resistance to
- [4]. spontaneous autoimmune and free radical-mediated diabetes, *Free Radic Biol Med* 2008; 45(9): 1263-70
- [5]. 22.Kumari S, Panda S, Mangaraj M, Mandal M, Mahapatra P. Plasma MDA and antioxidant vitamins in diabetic retinopathy. *Indian J Clin Biochem*2008;23:158-62.
- [6]. Asgarv S, Rafieian-kopaei M, Goli-malekabadi N. The Effects of Jujube Fruit (*Ziziphus vulgaris*) Powder in Antioxidant Capacity Elevation and Prevent of Inflammation Detection Due to Diabetes in Wistar Rat. *sjimu*. 2016; 24 (5) :55-64.
- [7]. Abolfathi A A, Vahabzadeh Z, Mahmoodiaghdam N, Vahabzadeh D, Hakhamesh M S. Effects of taurine and homocysteine on lipid profile and oxidative stress in fructose-fed rats. *SJKU*. 2017; 22 (3) :49-59
- [8]. Bagheri P, Delshad Noghabi A, Moshki M. The Effect of Fasting on Metabolic Syndrome changes in type 2 Diabetic People . *Horizon Med Sci* . 2014; 20 (1) :35-41.
- [9]. Rezaei E, Hosseini ,, Mehrabani D. Effects of pomegranate juice on insulin and glucose in diabetic and non-diabetic male rats. *Journal of Birjand University of Medical Sciences*. 2013; 20 (3) :244-251
- [10]. Hosseini S, Karimzadeh K, Vessal M. Effects of a Hydroalcoholic Extract of Walnut Male Flowers on Diabetic Rats. *zirms* 2013; 15 (11) :55-58
- [11]. Papoutsis Z, Kassi E, Chinou I, Halabalaki M, Skaltsounis LA, Moutsatsou P. Walnut extract (*Juglans regia* L.) and its component ellagic acid exhibit anti-inflammatory activity in human aorta endothelial cells and osteoblastic activity in the cell line KS483. *Br J Nutr*. 2008 Apr;99(4):715-22.
- [12]. Mirbadalzade R, Shirdeh Z. Comparison of J. regia Shell Extract and Glibenclamide on Biochemical Blood Parameters in Alloxan-Induced Diabetic Rats. *Journal of Experimental Animal Biology*.2014;2(3):1-8.
- [13]. Zhao MH, Jiang ZT, Liu T, Li R. Flavonoids in *Juglans regia* L. leaves and evaluation of in vitro antioxidant activity via intracellular and chemical methods. *Scientific World J* .2014; 2014: 303878.

- [14]. Kumar S, Malhotra R, Kumar D. Antidiabetic and Free Radicals Scavenging Potential of Euphorbia hirta flower extract. *Indian J Pharm Sci.* 2010; 72(4): 533-7.
- [15]. Maurva AK, Tripathi S, Ahmed Z, Sahu RK. Antidiabetic and antihyperlipidemic effect of Euphorbia hirta in Streptozotocin induced diabetic rats. *Scholars Res Library.* 2012; 4(2): 703-7.
- [16]. Habibian M, Saghafi M R, Farzanegi P. The Effect of Regular Swimming Exercise on the Levels of Renal Matrix Mettaloproteinase-2 and Transforming Growth Factor - β 1 in Rats with Diabetes. *Journal of Kerman University of Medical Sciences.* 2016; 23(4): 446-456.
- [17]. Teimoori M, Montaser Kouhsari Sh, Ghafarzadegan R, Hajiaghae R. Anti-diabetic effects of juglans regia leaves methanolic extract on alloxan-induced male wistar rats. *J Med Plants.* 2010; 2(34): 142-9.
- [18]. 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 Sci.* 2006; 170(3): 453-61.
- [19]. Mohammadi I, Delaviz H, Malekzadeh JM, Roozbehi A. The effect of hydro alcoholic extract of *Juglans regia* leaves in streptozotocin-nicotinamide induced diabetic rats. *Pak J Pharm Sci.* 2012 Apr; 25(2): 407-11.
- [20]. Habibian M, Farzanegi P, Azimv GR. Therapeutic effect of swimming training and arbutin supplement on diabetes-induced renal oxidative stress. *Journal of Daneshvar Medicine.* 2015; 22 (114) :13-20
- [21]. Salehi I, Mohammadi M, Farajnia S, Gaderi Sophi F, Badalzadeh R, Vatankhah A M. Effect of Regular Swimming on Oxidative Stress and Atherogenic Index in Blood of Diabetic Male Rats. *Sci J Hamadan Univ Med Sci.* 2007; 14 (3) :29-3.
- [22]. Wallace K, Burt AD, Wright MC. Liver fibrosis. *Biochem J.* 2008 Apr 1; 411(1):1-18
- [23]. Shahraki M, Mirshekari H, shahraki A, Khamar moghadam S, shahraki E. The Survey of Mandatory Cold Swim Stress Insulin in Male Rats on FBS, OGTT and Serum Insulin in Male Rats. *Sjimu.* 2013; 21 (1) :8-15.
- [24]. Petznick A. Insulin management of type 2 diabetes mellitus. *American Family Physician* July 2011; 84: 183-90.
- [25]. Neamat Pour S, Shahbazian HB, Gholam Pour A. Evaluation of Psychological Problems in Diabetic Patients. 2010; *Journal of the Jundishapur Scientific Medical,* 4(9): 354-360.
- [26]. Young E and Unachukwu C. 2012. Psychosocial aspects of diabetes mellitus. *Journal of Diabetes Medicine* 2012; 20(1): 5-7.
- [27]. Lee H, Ahn S, Kim Y. Self - efficacy ,and glycemc control of Korans with diabetesus. *Journal of the Asian Nurse Res* 2009; 3(3): 139- 46.
- [28]. Tapsell LC, Gillen LJ, Patch CS, Batterham M, Owen A, Bare M, et al. Including walnuts in a low-fat modified-fat diet improves HDL cholesterol-to-total cholesterol ratios in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 2004; 27(12):2777-83.
- [29]. Sabate J, Ang Y. Nuts and health outcomes: new epidemiologic evidence. *Am J Clin Nutr* 2009; 89(5): 1643S-1648S.
- [30]. Shahraki M, Mirshekari H, shahraki A, Khamar moghadam S, shahraki E. The Survey of Mandatory Cold Swim Stress Insulin in Male Rats on FBS, OGTT and Serum Insulin in Male Rats. *sjimu.* 2013; 21 (1) :8-15
- [31]. Hosseini S, Jamshidi L, Mehrzadi S, Mohammad K, Najmizadeh AR, Alimoradi H, Huseini HF. Effects of *Juglans regia* L. leaf extract on hyperglycemia and lipid profiles in type two diabetic patients: a randomized double-blind, placebo-controlled clinical trial. *J Ethnopharmacol.* 2014 Mar 28; 152(3):451-6.
- [32]. Reza-Mohtasham S, Nazem H, Fazilati M. Effect of alcoholic extract of *Juglans regia* leave on brain antioxidant enzymes in streptozotocin-induced diabetic rat. *KAUMS Journal (FEYZ).* 2016; 20 (3) :214-221.
- [33]. Rathod NR, Chitme HR, Irchhaiya R, Chandra R. Hypoglycemic Effect of *Calotropis gigantea* Linn. Leaves and Flowers in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Oman Med J.* 2011 Mar; 26(2):104-8.
- [34]. Wang Y, Campbell T, Perry B, Beaurepaire C, Qin L. Hypoglycemic and insulin-sensitizing effects of berberine in high-fat diet- and streptozotocin-induced diabetic rats. *Metabolism.* 2011 Feb; 60(2):298-305.
- [35]. Karra E, Yousseif A, Batterham RL. Mechanisms facilitating weight loss and resolution of type 2 diabetes following bariatric surgery. *Trends Endocrinol Metab.* 2010 Jun; 21(6):337-44.
- [36]. Mahmoudzadeh-Sagheb H, Heidari Z, Shahraki MR. Effects of cold water swim stress on volumetric parameters of adrenal gland in rats. *Zahedan J Res Med Sci (ZJRMS).* 2011; 13(2): 44-48.
- [37]. Divband K, Komeili G, Saeidi-Neek F. Effects of Walnut leaves aqueous extract on blood sugar and serum lipids in diabetic rats. *J Birjand Univ Med Sci.* 2010; 17 (1) :11-18.
- [38]. Solar A , Mateja Colaric M, Valentina 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; 170(3): 453-461.

Effects of Walnut Leaves' Extract with Stress Caused by Forced Swimming on Lipid Profile and Body Weight in Adult Male Rats' Diabetes

Marziyeh Fallahi¹, Seyedbrahim Hosseini^{2*}

1. Msc, Department of Biology, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shira, Iran.
2. Associate Professor Department of Biology, Shiraz branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran.

Abstract

Introduction: Different parts of walnut plants are used in traditional medicine and in the treatment of various diseases, including diabetes. Considering the role of various stresses in diabetes and the side effects of chemical drugs in the treatment of this disease, the present study was conducted to investigate the effect of Walnut leaf hydroalcoholic extract on lipid profiles in swine stressed diabetic rats.

Materials and Methods: This experimental study was performed on 50 adult male rats divided into 5 groups: control, diabetic, diabetic, walnut leaf extract (200 mg / kg), diabetic with swimming stress at 15 ° C, and diabetic treatment with swimming stress and walnut leaf extract. At the end of the 21 day follow up, weighing and blood sampling of animals, serum levels of triglyceride, total cholesterol, LDL and HDL were measured using SPSS-18 software, ANOVA and Tukey tests, and significant differences in the level of data $P < 0.01$ was considered.

Results: The results showed that diabetes and diabetes with swimming stress caused a significant decrease in weight and serum levels of HDL in the level of $P < 0.01$, and a significant increase in serum levels of triglyceride, total cholesterol, LDL in the level of $P < 0.001$ compared to the control group, while the extract of Walnut leaves Significant increase in HDL levels was observed at $P < 0.01$ level at $P < 0.01$ and a significant decrease in serum triglyceride, total cholesterol and LDL levels at $P < 0.001$ in diabetic and swimming stressed animals.

Conclusion: The results showed that swimming stress and diabetes probably increased the level of triglycerides, total cholesterol and LDL, and decreased HDL in the blood, due to increased oxidant compounds, and the walnut leaf extract would probably correct these changes through the increase of antioxidants in the body.

Received: 2018/04/9

Accepted: 2018/12/8

Keywords: Walnut leaf, lipid profile, Swimming stress, Rat.