

## اثر عصاره هیدروالکلی برگ گردو با شنای اجباری بر میزان سرمی قند، انسولین و فاکتورهای کبدی در موش های صحرایی نر بالغ دیابتی شده

مرضیه فلاحی (MSc)<sup>۱</sup>، سیدابراهیم حسینی (PhD)<sup>۲\*</sup>

۱- دانشکده علوم، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی

۲- گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی

دریافت: ۹۵/۸/۵، اصلاح: ۹۵/۱۱/۶، پذیرش: ۹۶/۱/۱۶

### خلاصه

**سابقه و هدف:** دیابت در نتیجه کاهش ترشح و یا مقاومت به انسولین ایجاد میشود. با توجه به نقش استرسهای مختلف در بروز این بیماری و اثرات جانبی داروهای شیمیایی این مطالعه با هدف بررسی اثر عصاره برگ گردو بر میزان انسولین، قند، آلبومین و آنزیمهای ALT، AST و ALP در موشهای صحرایی دیابتی و دیابتی همراه با شنا انجام گردید. **مواد و روشها:** این مطالعه تجربی بر روی ۵۰ سرموش صحرایی نر بالغ که به ۵ گروه، کنترل، دیابتی، دیابتی تیمار با عصاره برگ گردو (۲۰۰ mg/kg)، دیابتی همراه با شنای اجباری و دیابتی همراه با شنا و عصاره برگ گردو تقسیم گردیدند، انجام گرفت. برای دیابتی کردن موشها از تزریق درون صفاقی داروی استرپتوزوسین با دوز ۶۰ mg/kg استفاده گردید. در پایان بعد از تجویز ۲۱ روزه عصاره برگ گردو و شنا با خونگیری از حیوانات میزان انسولین، قند، آلبومین و آنزیمهای ALT، AST، ALP اندازه گیری و مقایسه شد. **یافتهها:** نتایج نشان داد که دیابت با شنا با میانگین  $4/46 \pm 0/26$  موجب کاهش معنی دار انسولین در مقایسه با گروه دیابت  $5/06 \pm 0/14$  می شود ( $p < 0/01$ ). میزان آلبومین نیز با میانگین  $1/68 \pm 0/23$  و  $1/68 \pm 0/22$  در دو گروه تفاوت داشت ( $p < 0/05$ ) و در میزان قند، ALT، ALP و AST با میانگین  $3/83/80 \pm 2/8/03$  و  $3/83/80 \pm 2/8/03$  و  $4/67 \pm 7/53$  و  $5/52/20 \pm 5/57$  و  $4/2 \pm 0/63$  و  $2/22 \pm 0/2$  باعث افزایش معنی دار آلبومین (به ترتیب  $p < 0/01$  و  $p < 0/05$ ) و در حیوانات دیابتی در میزان قند، ALT، ALP و AST با میانگین  $2/01/80 \pm 1/17/15$  و  $2/01/80 \pm 1/17/15$  و  $4/01/20 \pm 2/22/25$  و  $5/9/40 \pm 2/48/40$  و  $13/06/60 \pm 8/88/88$  باعث کاهش معنی دار ( $p < 0/001$ ) گردید. **نتیجه گیری:** نتایج مطالعه نشان داد که عصاره برگ گردو می تواند باعث افزایش گلوکز، آنزیمهای ALT، ALP و AST و کاهش آلبومین در خون را که توسط شنا و دیابت ایجاد شده، اصلاح نماید.

**واژه های کلیدی:** برگ گردو قند انسولین، آلبومین، ALT، AST، استرس شنا، موش صحرایی.

### مقدمه

دیابت یکی از اختلالات متابولیک شایع بدن در سراسر جهان می باشد که بیمار یا قادر به تولید انسولین نمی باشد و یا بدن او نسبت به آن مقاوم شده است (۱). در بیماری دیابت به دلیل افزایش میزان رادیکال های آزاد و کاهش توان آنتی اکسیدانی بدن و در نتیجه استرس اکسیداتیو در متابولیسم پروتئین ها، چربی ها و قندها اختلال ایجاد می گردد (۲). گردو با نام علمی *Juglans regia* از جمله گیاهانی است که کاربرد فراوانی در طب سنتی دارد. به طوری که از برگ های آن برای درمان دردهای روماتیسمی، تب، دیابت و درمان کم خونی استفاده می شود (۳). برگ گردو حاوی ترکیباتی نظیر اسید گالیک، اسیدالائیک، پتاسیم، منیزیم، باریوم، کاروتن و چربی و دارای خاصیت میکروب کشی است (۴). قسمت های سبز رنگ و تازه گیاه گردو به خصوص برگ های آن حاوی ترکیبات آنتی اکسیدانی مانند اسیدهای فنولی، فلاونوئیدها و اسید کلروژنیک می باشد (۵). گردو ظرفیت آنتی اکسیدانی بدن را افزایش داده و از پیشرفت بیماریهای قلبی عروقی و سرطان جلوگیری می نماید (۶ و ۷). در برگ گردو فلاونوئیدهای متعددی نظیر

ترکیبات کوئرستینی، کامفرول وجود دارد که با داشتن خاصیت آنتی اکسیدانتی قوی باعث کاهش شدید گونه های فعال اکسیژن درون سلولی می شود (۳). مطالعات نشان دادند که عصاره هیدروالکلی گل نر گردو با داشتن آنتی اکسیدان هایی نظیر ترکیبات فلاونوئیدی باعث افزایش میزان هورمون انسولین و کاهش میزان قند و آنزیم های ALT، ALP و AST در خون موش های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوسین می گردد (۸ و ۹). مطالعات نشان دادند که تمرین منظم شنا و هم چنین استفاده از مکمل آربوتین از طریق تنظیم مثبت آنتی اکسیدانت ها و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی از آسیب کلیوی ناشی از استرس اکسیداتیو در رت های دیابتی شده جلوگیری می کنند (۱۰). شنای اجباری در آب سرد بر قند خون ناشتا و تست تحمل گلوکز موثر و موجب افزایش مقاومت به انسولین و کاهش وزن در موش های نر می شود (۱۱). از طرف دیگر نتایج یک مطالعه نشان داد که شنا در آب ۳۵ درجه سانتی گراد موجب کاهش قندخون در موش های صحرایی می شود (۱۲). همچنین استرس اجباری شنا در آب سرد ۱۵

این مقاله حاصل پایان نامه مرضیه فلاحی دانشجوی کارشناسی ارشد رشته فیزیولوژی جانوری دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز می باشد.

\*مسئول مقاله: دکتر سید ابراهیم حسینی

آدرس: شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی. تلفن: ۰۷۲-۸۳۳۱۱۱۴۸

E-mail: ebrahim.hossini@yahoo.com

درجه، باعث افزایش سطح سرمی هورمون های کورتیکواستروئیدی و گلوکز خون می شود (۱۳). مشخص شده که ورزش شنا باعث افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی و کاهش سطح رادیکال های آزاد در خون می گردد (۱۴). با توجه به آن که شواهد تجربی نشان می دهند که استرس باعث ایجاد تغییرات زیاد در میزان سرمی قند خون می گردد (۱۱) و با عنایت به اینکه میلیون ها نفر در سراسر دنیا از بیماری دیابت رنج می برند و احتمالاً یکی از دلایل شیوع گسترده این بیماری انواعی از استرس ها می باشد و با توجه به عوارض جانبی داروهای شیمیایی که در درمان بیماری دیابت مورد استفاده قرار می گیرند، این مطالعه با هدف بررسی اثر عصاره هیدو الکی برگ گردو در موش های صحرایی نر بالغ دیابتی شده تحت تیمار با استرس شنای اجباری انجام گردید.

## مواد و روش ها

این مطالعه تجربی در سال ۱۳۹۵ در دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز با کد اخلاق ۱۳۹۵۱۰۰۳-Miau 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 بوده و در یک اتاق مخصوص در دمای  $22 \pm 2$  درجه سلسیوس و در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگه داری شدند. برای دیابتی کردن حیوانات از تزریق درون صفاقی داروی استرپتوزوسین با دوز  $60 \text{ mg/kg}$  استفاده گردید (۹). در این مطالعه با توجه به سطح قابل قبول انسولین، قند خون، آنزیم های AST، ALT، ALP و برای اطمینان بیشتر از دیابتی شدن موش ها ۷۲ پس از تزریق استرپتوزوسین قند خون از طریق خون گیری از سیاهرگ ناحیه دمی و اندازه گیری میزان قند، فقط حیواناتی که قند خون ناشتای آنها بیش از  $250 \text{ mg/dl}$  بود به عنوان دیابتی برای ورود به مطالعه در نظر گرفته شدند (۱۵ و ۹). پس از اطمینان از دیابتی بودن، حیوانات به ۵ گروه ۱۰ تایی شامل گروه های کنترل (فاقد تیمار)، شاهد دیابتی شده و ۳ دسته تجربی که پس از تجویز استرپتوزوسین و دیابتی شدن به ترتیب تحت تیمار با گاوژ عصاره هیدروالکلی برگ گردو بادوز  $200 \text{ mg/kg}$  (۱۶)، تحت تیمار ۵ دقیقه ای شنای اجباری در آب با دمای ۱۵ درجه سانتی گراد (۱۰) و تحت تیمار با گاوژ عصاره هیدروالکلی برگ گردو با دوز  $200 \text{ mg/kg}$  به همراه تیمار ۵ دقیقه ای شنای اجباری تقسیم شدند. برای تهیه عصاره برگ گیاه گردو از نواحی اطراف شیراز جمع آوری شد و بعد از شناسایی و تایید آن

توسط بخش گیاه شناسی دانشگاه شیراز و پس از خشک نمودن با استفاده از دستگاه آسیاب برقی پودر گردید، آنگاه به مقدار کافی از پودر حاصل را در ۲۰۰ میلی لیتر اتانول ۹۶٪ حل نموده و مخلوط به دست آمده ۲۴ ساعت در دمای اتاق (۲۵ درجه سانتی گراد) نگهداری گردید تا کاملاً خیسانده شود و آن گاه به کمک دستگاه هم زن برقی به خوبی هم زده شد تا به حالت یکنواخت درآید و سپس مخلوط به دست آمده را به وسیله فیلتر صاف نموده و به کمک دستگاه روتاری مخلوط حاصل تغلیظ گردید و با دستگاه دسیکاتور تمام رطوبت مخلوط گرفته شد و عصاره ای با ویسکوزیته بالا به دست آمد. کلیه تجویزها برای مدت ۲۱ روز و در ساعات بین ۹ تا ۱۰ صبح انجام گردید. آنگاه در پایان دوره، ابتدا حیوانات به وسیله اثر بی هوش شدند و از قلب آنها جهت اندازه گیری میزان سرمی هورمون انسولین و قند و آنزیم های ALT، AST و ALP، توسط سرنگ ۵ میلی لیتری خون گیری به عمل آمد. برای اندازه گیری غلظت هورمون انسولین از روش ایمونورادیومتری و کیت سنجش انسولین ساخت شرکت Diasource ایتالیا با شماره سریال ۰۰۳۶ و دستگاه گاما کانتر استفاده گردید و قند خون نیز با استفاده از دستگاه گلوکومتر اندازه گیری گردید. هم چنین فعالیت آنزیم های ALT و ALP با استفاده از کیت شرکت پارس آزمون و با روش فتومتریک مقدار آلبومین نیز با کمک کیت تشخیص آلبومین در سرم و با روش فتومتریک اندازه گیری گردیدند. نتایج به دست آمده از آنالیز داده های حاصل از سنجش میزان سرمی هورمون انسولین، قند، آلبومین و فعالیت آنزیم های ALT، ALP و AST با استفاده از نرم افزار SPSS ۱۸ و با استفاده از آزمونهای آماری ANOVA و تست پی گیری دانکن مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و  $p < 0.05$  معنی دار در نظر گرفته شد.

## یافته ها

نتایج حاصل نشان داد که در میزان قند خون در حیوانات گروه های تحت تیمار با استرپتوزوسین (دیابتی شده) و دیابتی همراه استرس شنای اجباری افزایش معنی داری مشاهده گردید ( $p < 0.001$ ). در حالیکه در میانگین قند خون در حیوانات دیابتی شده تحت تیمار با عصاره برگ گردو نسبت به گروه های دیابتی شده و دیابتی همراه با استرس شنای اجباری کاهش معنی داری را نشان داد ( $p < 0.001$ ) (جدول ۱). همچنین نتایج این مطالعه نیز نشان داد که در حیوانات گروه دیابتی شده و دیابتی تحت تیمار با استرس شنای اجباری در میزان انسولین نسبت به گروه کنترل کاهش معنی دار و در حیوانات گروه های دیابتی شده و دیابتی تحت تیمار با استرس شنای اجباری در میزان فعالیت آنزیم های ALT، ALP و AST افزایش معنی داری در سطح  $p < 0.001$  و در میزان سرمی آلبومین کاهش معناداری در سطح  $p < 0.05$  نسبت به گروه کنترل مشاهده می شود (جدول ۱).

جدول ۱. مقایسه اثر عصاره برگ گیاه گردو و استرس شنای اجباری به تنهایی و همراه باهم بر میزان سرمی قند، انسولین، آلبومین، آنزیم های ALT و ALP

| گروه ها                                                                   | گلوکز (mg/dl)<br>(mean±SD) | انسولین (ng/ml)<br>(mean±SD) | ALT (IU/L)<br>(mean±SD) | ALP (IU/L)<br>(mean±SD) | آلبومین (g/dl)<br>(mean±SD) |
|---------------------------------------------------------------------------|----------------------------|------------------------------|-------------------------|-------------------------|-----------------------------|
| کنترل                                                                     | $87.0 \pm 23.20$           | $9.52 \pm 1.56$              | $12.0 \pm 0.3$          | $35.12 \pm 4.20$        | $3.14 \pm 0.58$             |
| شاهد (دیابتی)                                                             | $382.80 \pm 28.03^{***}$   | $5.06 \pm 0.41^{**}$         | $194.6 \pm 12.50^{***}$ | $552.2 \pm 5.57^{***}$  | $1.68 \pm 0.22^*$           |
| تجربی ۱ (دیابتی + عصاره برگ گردو $200 \text{ mg/kg}$ )                    | $201.80 \pm 17.15^*$       | $8.04 \pm 0.63^{\#}$         | $130.6 \pm 8.88^{\#}$   | $401.2 \pm 22.25^{\#}$  | $2.22 \pm 0.02$             |
| تجربی ۲ (دیابتی + استرس شنای اجباری)                                      | $467.00 \pm 79.53^{***}$   | $4.46 \pm 0.26^{**}$         | $212.2 \pm 15.57^{***}$ | $481.2 \pm 4.43^{***}$  | $1.68 \pm 0.23^*$           |
| تجربی ۳ (دیابتی + عصاره برگ گردو $200 \text{ mg/kg}$ + استرس شنای اجباری) | $355.60 \pm 29.52^{***}$   | $5.96 \pm 0.77^{**}$         | $141.0 \pm 11.16^{\#}$  | $421.20 \pm 23.02^{\#}$ | $2.20 \pm 0.02$             |

\*\*\* $p < 0.05$ ، \*\* $p < 0.01$ ، \* $p < 0.05$  نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه کنترل، # $p < 0.05$  اختلاف معنی دار با گروه های شاهد و تجربی ۲، \$ $p < 0.05$  اختلاف معنی دار با سایر گروه ها، & $p < 0.05$  اختلاف معنی دار با گروه های شاهد و تجربی دیگر

## بحث و نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که تجویز داروی استرپتوزوسین باعث افزایش میزان سرمی قند خون، آنزیم های ALT و AST و باعث کاهش میزان سرمی انسولین، آلبومین می گردد. درحالیکه در موش های دیابتی شده استرس شنای اجباری بر میزان سرمی انسولین، قند خون، آلبومین، ALT و AST تاثیر معنی داری ندارد. اما تجویز عصاره برگ گردو در موش های دیابتی شده باعث افزایش میزان سرمی انسولین، آلبومین و کاهش میزان قند خون، ALT و AST می شود. هم سو با نتایج مطالعه حاضر در یک بررسی دیگر نیز نشان داده شد که مصرف ۶۰ روزه عصاره برگ گردو باعث اصلاح میزان قند خون در بیماران با دیابت نوع ۲ می شود (۱۰). در یک مطالعه دیگر نیز نشان داده شد که تجویز ۲۸ روزه عصاره برگ گردو باعث کاهش میزان سرمی گلوکز و هموگلوبین گلیکولیزه شده می گردد (۱۷). تحقیقات نشان داد که بیماری دیابت باعث افزایش میزان سرمی مالون دی آلدئیدروژناز (MDA) و کاهش میزان آنزیم های اندازه گیری ظرفیت تام آنتی اکسیدانی (CAT)، سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) می شود در حالی که عصاره الکلی برگ گردو باعث کاهش میزان سرمی آنزیم مالون دی آلدئیدروژناز و افزایش فعالیت آنزیم های SOD, GPX, CAT می گردد (۱۸). لذا در پژوهش حاضر نیز احتمالا تجویز خوراکی عصاره الکلی برگ گردو در موش های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوسین با افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی بدن اثرات ضد دیابتی خود را اعمال نموده است. دیابت ناشی از مصرف استرپتوزوسین باعث تغییرات عملکردی و ساختاری در سلول های مختلف بدن از جمله کبد می گردد (۱۹).

احتمالاً افزایش سرمی آنزیم های ALT, AST و ALP ناشی از تغییرات عملکردی و ساختاری کبد در گروه های دیابتی شده می باشد. El-Demerdash و همکاران نشان دادند که افزایش در فعالیت پلاسمایی لاکتات دهیدروژناز، آلکالین فسفاتاز، اسید فسفاتاز، ALT و AST به احتمال قوی به علت نقص در عملکرد کبد روی می دهد (۲۰) Masjedi و همکاران نیز اثبات کردند که در بیماران دیابتی کبد دچار نکروز می شود که در نتیجه آن میزان سرمی ترانس آمینازهایی چون ALT, AST و ALP افزایش می یابد (۲۱). لذا در مطالعه حاضر نیز دیابت احتمالا از طریق نقص در عملکرد کبد و یا نکروزه شدن بافت آن باعث نشت ALT, AST و ALP از سیتوزول سلول های کبدی به داخل جریان خون شده است که در نتیجه آن میزان این آنزیم ها در خون افزایش یافته است. همچنین افزایش کاتابولیسم پروتئین ها همراه با گلوکونئوز و تشکیل اوره که در بیماری دیابت دیده می شود، احتمالا مسئول افزایش این ترانس آمینازها در خون است (۲۳ و ۲۲).

از آنجاکه انسولین ژنهای تولیدکننده آنزیم های گلوکونئوزیک را سرکوب می نماید و با توجه به آنکه ALT نیز به عنوان یک آنزیم گلوکونئوزیک به حساب می آید، لذا در پژوهش حاضر نیز، افزایش میزان ALT در موش های دیابتی شده احتمالا به دلیل کاهش میزان انسولین در نتیجه تجویز استرپتوزوسین می باشد که می تواند حتی با آسیب کبدی نیز در ارتباط نباشد و کاهش این آنزیم در حیوانات تحت تیمار با عصاره برگ گردو به دلیل افزایش هورمون انسولین

می باشد (۲۴). در پژوهش حاضر نیز، افزایش معنی دار فعالیت آنزیم های کبدی ALT, AST و ALP در موش های دیابتی در مقایسه با سایر گروه ها مشاهده شد و درمان با عصاره برگ گیاه گردو موجب کاهش معنی دار فعالیت آنها گردید. بنابراین نتایج بدست آمده در این پژوهش حاکی از آن است که تیمار رت های دیابتی با عصاره هیدروالکلی برگ گیاه گردو توانسته میزان آنزیم های کبدی را کاهش دهد.

برگ گردو با داشتن فلاونوئیدهای ژوگلون، کوئرستین گالاتوزید، مشتق های کوئرستین پنتوزید، کوئرستین آرایینوزید، کوئرستین گزیلوزید، کوئرستین رامنوزید و مشتق های کامپفرول پنتوزید دارای خواص آنتی اکسیدانی بسیار بالایی است که با افزایش توان آنتی اکسیدانی بدن و از طریق جمع آوری رادیکال های آزاداز تخریب سلول های مختلف بدن جلوگیری می نماید و دارای اثر محافظتی از بدن در برابر آسیب های ناشی از سموم و رادیکال های آزاد می باشد (۲۵). لذا احتمالا در پژوهش حاضر نیز عصاره برگ گردو از طریق تقویت ظرفیت آنتی اکسیدانی و با جمع آوری رادیکال های آزاد از اثر مخرب آنها بر بافت کبد جلوگیری نموده و از این راه باعث کاهش میزان آنزیم های ALT, AST و ALP شده است.

در این پژوهش نیز هم سو با نتایج حاصل از یک بررسی دیگر میزان غلظت آلبومین در گروه های دیابتی و دیابتی همراه شنای اجباری کاهش معناداری را نشان داد (۲۶). در یک بررسی نشان داده شد که بیماریهای مختلف به خصوص بیماریهای کبدی و آسیب به سلولهای کبد سنتز آلبومین و پروتئین تام را کاهش می دهند (۲۷). لذا در مطالعه حاضر نیز کاهش میزان غلظت آلبومین در گروه های دیابتی را می توان به دلیل آسیب به سلولهای کبدی نسبت داد. اما در گروه های تحت تیمار با عصاره هیدروالکلی برگ گردو تا حدودی از کاهش آن جلوگیری شده است که احتمالا به خاطر وجود خواص حفاظت کبدی عصاره برگ گردو می باشد. تا حدودی هم سو با نتایج بررسی حاضر در یک مطالعه دیگر نشان داده شد که عصاره الکلی برگ گردو با داشتن فعالیت آنتی اکسیدان و جاروب کردن رادیکالهای آزاد می تواند کبد را در برابر آسیب اکسیداتیو ناشی از تتراکلیدکربن محافظت نماید (۱۶).

به عبارتی می توان عنوان کرد که این اثر احتمالا به واسطه وجود ترکیبات فلاونوئیدی خصوصا کوئرستین می باشد. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که دیابت به تنهایی و یا همراه با استرس شنای اجباری در آب سرد باعث افزایش میزان سرمی قند، آنزیم های ALT, AST و ALP و همچنین کاهش میزان هورمون انسولین و پروتئین آلبومین می شود. اما عصاره برگ گردو احتمالا به دلیل داشتن ترکیبات آنتی اکسیدان بسیار قوی از اثرات استرس شنا و دیابت بر فاکتورهای فوق جلوگیری می نماید.

## تقدیر و تشکر

بدین وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز که امکانات انجام این مطالعه را فراهم نمودند تقدیر و تشکر می شود.

## Effects of Walnut Leaf Hydro-Alcoholic Extract by Forced Swimming Stress on Serum Levels of Glucose, Insulin and Liver Parameters in Adult Male Rats' Diabetic

M. Fallahi (MSc)<sup>1</sup>, S.E. Hosseini (PhD)<sup>\*2</sup>

1.Faculty of Sciences, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, I.R.Iran

2.Department of Biology, Faculty of Science, Shiraz branch, Islamic Azad University, Shiraz, I.R.Iran

J Babol Univ Med Sci; 19(5); May 2017; PP: 47-52

Received: Oct 26<sup>th</sup> 2016, Revised: Jan 25<sup>th</sup> 2017, Accepted: Apr 5<sup>th</sup> 2017

### ABSTRACT

**BACKGROUND AND OBJECTIVE:** Diabetes is a metabolic disorder which is associated with secretion reduction or insulin resistance. Since different stress causes play a crucial role in incidence and chemical drugs side-effects of this disease, this study is aimed to investigate the effects of walnut leaves on insulin, glucose, albumin, AST ALT and ALP enzymes in diabetic and diabetic by forced swimming stress.

**METHODS:** In this experimental study, 50 adult male rats divided into 5 groups: control, diabetic, diabetic treated with walnut leaves (200mg/kg), diabetic with swimming stress in water 15°C and diabetic treated with swimming stress and walnut leaves. At the end of 21 days injection and phlebotomizing, serum levels of insulin, glucose, albumin and ALT, AST and ALP enzymes have been measured and the related data by using SPSS-18 software, ANOVA and Tukey has been analyzed.

**FINDINGS:** The results showed that diabetic and diabetic with swimming caused a significant reduction of insulin ( $4.46 \pm 0.26, 5.06 \pm 0.14$ ) ( $P < 0/01$ ) and albumin ( $1.68 \pm 0.23, 1.68 \pm 0.23$ ) ( $P < 0/05$ ). Also, a significant increase in serum glucose, ALP, ALT and AST ( $467.00 \pm 79.53$  and  $383.80 \pm 28.03$ ,  $552.20 \pm 5.57$  and  $481.20 \pm 4.42$ ,  $84.00 \pm 8.21$  and  $88.50 \pm 3.83$ ,  $84.00 \pm 8.21$  and  $212.20 \pm 15.57$ ,  $194.60 \pm 12.50$ ) ( $p < 0/001$ ) compared to the control group has been observed, while walnut leaf extract caused a significant increase in insulin ( $8.04 \pm 0.63$ ) ( $p < 0/01$ ), albumin ( $2.22 \pm 0.02$ ) ( $p < 0/05$ ) and a significant reduction of the serum levels of glucose, ALP, ALT and AST ( $201.80 \pm 17.15$ ,  $401.20 \pm 22.25$ ,  $59.40 \pm 2.48$  and  $130.60 \pm 8.88$ ) ( $p < 0/001$ ) in diabetic and under swimming stress.

**CONCLUSION:** The results showed swimming and diabetic causes insulin to be reduced. As a result, glucose and ALP, ALT and AST enzymes have been increased and blood albumin has been decreased. Also, it is observed that walnut leaf extract causes the above mentioned indices to be modified.

**KEY WORDS:** Walnut leaf , ALP, ALT , AST, glucose , insulin, albumin , Swimming stress, Rat.

### Please cite this article as follows:

Fallahi M, Hosseini SE. Effects of Walnut Leaf Hydro-Alcoholic Extract by Forced Swimming Stress on Serum Levels of Glucose, Insulin and Liver Parameters in Adult Male Rats' Diabetic. J Babol Univ Med Sci. 2017;19(5):47-52.

\* Corresponding author: S.E. Hosseini (PhD)

Address: Department of Biology, Faculty of Science, Shiraz branch, Islamic Azad University, Shiraz, I.R.Iran.

Tel: +98 72 83311148

E-mail: ebrahim.hosseini@yahoo.com

## References

1. Zhou X, Xu J, Shi Y, Ye JM. Discovery of novel anti-diabetic drugs by targeting lipid metabolism. *Curr Drug Targets*. 2015;16(12):1372-80.
2. Aslantürk OS, Çelik TA. Antioxidant, cytotoxic and apoptotic activities of extracts from medicinal plant *Euphorbia platyphyllus* L. *J Med Plants Res*. 2013;7(19): 1293-304.
3. 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;99(4):715-22.
4. 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. *Sci World J*. 2014;2014:303878.
5. Panth N, Paudel KR, Karki R. Phytochemical profile and biological activity of *Juglans regia*. *J Integra Med*. 2016;14(5):359-73.
6. Salehi I, Mohammad M. Effect of regular swimming on heart oxidative stress indexes and its relation to diabetes in rat. *Arak Univ Med Sc J*. 2009;12(3):67-6. [In Persian].
7. Maurya 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.
8. Hosseini S E, Karimzadeh K. Anti-diabetic effects of hydroalcoholic *Juglans regia* male flower extract on blood glucose level and on liver enzymes activity in intact and diabetogenized adult male rat. *J Birjand Univ Med Sci*. 2012;19(2):165-72. [In Persian].
9. Hosseini S E, Karimzadeh K, Vessal M. Effects of a Hydroalcoholic Extract of Walnut Male Flowers on Diabetic Rats. *Zahedan J Res Med Sci*. 2013;15(11):55-8. [In Persian].
10. Habibian M, Farzanegi P, Azimy GR. Therapeutic effect of swimming training and arbutin supplement on diabetes-induced renal oxidative stress. *J Daneshvar Med*. 2015;22(114):13-20. [In Persian].
11. 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. *J Ilam Univ*. 2013;21(1):8-15. [In Persian].
12. Osorio RA, Silveira VL, Maldjian S, Morales A, Christofani JS, Russo AK, et al. Swimming of pregnant rats at different water temperatures. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*. 2003;135(4):605-11.
13. Rathod NR, Chitme HR, Irchhaiya R, Chandra R. Hypoglycemic effect of *Calotropis 51* ligantean linn. leaves and flowers in streptozotocin-induced diabetic rats. *Oman Med J*. 2011;26(2):104-8.
14. 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. [In Persian].
15. Kalalian Moghaddam H, Baluchnejadmojarad T, Roghani M, Khaksari M, Ronaghi A, Mesripour Alavijeh M. Effect of Berberine Chloride on Long Term Potentiation (LTP) at Dentate Gyrus in Streptozotocin- Induced Diabetic Rats. *J Babol Univ Med Sci*. 2014;16(6):33-42. [In Persian].
16. Eydi A, Olamafar S, Zaringhalam J, Rezazadeh S, Eidi M. Protective effect of Walnut (*Juglans regia* L.) extract against CCl4-induced hepatotoxicity in rats. *Res Med*. 2011;35(2):87-92.
17. Mohammadi J, 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;25(2):407-11.
18. Reza-Mohtasham S, Nazem H, Fazilati M. Effect of alcoholic extract of *Juglans regia* leave on brain antioxidant enzymes in streptozotocin-induced diabetic rat. *Kahsan Univ Med Sci J ( FEYZ )*. 2016;20(3):214-21. [In Persian].
19. Chalfoun-Mounayar A, Nemr R, Yared P, Khairallah S, Chahine R. Antioxidant and weight loss effects of pomegranate molasses. *J Ap Pharm Sci*. 2012;2(6):45-50.

- 20.El-Demerdash FM, Yousef MI, El-Naga NI. Biochemical study on the hypoglycemic effects of onion and garlic in alloxan-induced diabetic rats. *Food Chem Toxicol*. 2005;43(1):57-63.
- 21.Masjedi F, Gol A, Dabiri S, Javadi A. Preventive Effect of Garlic on Histopathology of Liver and Markers of Hepatic Injury in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Iran J Endocrinol Metabolism*. 2009;11(4) :433-41.
- 22.Sheweita SA, Mashaly S, Newairy AA, Abdou HM, Eweda SM. Changes in Oxidative Stress and Antioxidant Enzyme Activities in Streptozotocin-Induced Diabetes Mellitus in Rats: Role of Alhagi maurorum Extracts. *Oxid Med Cell Long*.2016;3(9):27-35.
- 23.Vozarova B, Stefan N, Lindsay RS, Saremi A, Pratley RE, Bogardus C, et al. High alanine aminotransferase is associated with decreased hepatic insulin sensitivity and predicts the development of type 2 diabetes. *Diabetes*. 2002;51(6):1889-95.
- 24.Pérez-Carreón JI, Cruz-Jiménez G, Licea-Vega JA, Arce Popoca E, Fattel Fazenda S, Villa-Treviño S. Genotoxic and anti-genotoxic properties of Calendula officinalis extracts in rat liver cell cultures treated with diethylnitrosamine. *Toxicol In Vitro*. 2002;16(3):253-8.
- 25.Wilms LC, Hollman PC, Boots AW, Kleinjans JC. Protection by quercetin and quercetin-rich fruit juice against induction of oxidative DNA damage and formation of BPDE-DNA adducts in human lymphocytes. *Mutat Res*. 2005;582(1-2):155-62.
- 26.Mori KP, Yokoi H, Kasahara M, Imamaki H, Ishii A, Kuwabara T,et al. Increase of total nephron albumin filtration and reabsorption in diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol*. 2017;28(1):278-9.
- 27.Mohajeri D, Mousavi Gh, Kaffashi Elahi R, Neshat GharamalekiM. Study on protective effect of Naringenin (Citrus flavonone) on incipient diabetic hepatopathy in alloxan-induced diabetic rats. *J Veter clin Pathol*. 2016;10(1):39-52. [In Persian].