

مقاله پژوهشی

مقایسه اثر مصرف خوراکی ۳۰ روزه عصاره آبی برگ گردو و گلی بن کلامید بر سطح انسولین و HbA1c خون موشهای صحرایی نرمال و دیابتی شده با آلوکسان

مهدی نورالدینی^۱، فاطمه رضایی جوشقان^{۲*}

^۱دانشیار دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کاشان، مرکز تحقیقات فیزیولوژی
آکاردشناس ارشد زیست شناسی، مجتمع آموزش عالی علوم پزشکی اسفراین، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران
^۲نویسنده مسئول: خراسان شمالی، اسفراین، مجتمع آموزش عالی علوم پزشکی اسفراین
پست الکترونیک: rezaeijoshaghan_221@yahoo.com

وصول: ۹۲/۴/۱۵ اصلاح: ۹۲/۵/۳۰ پذیرش: ۹۲/۶/۱۶

چکیده

زمینه و هدف: در کتب طب سنتی از گردو به عنوان داروی مفید در درمان دیابت نام برده شده و تحقیقات زیادی در مورد مکانیسم اثر آن بر سطح گلوکز خون در حال انجام است. در تحقیق حاضر اثر مصرف خوراکی گلین کلامید و عصاره آبی برگ گردو بر میزان انسولین و HbA1c موش صحرایی نرمال و دیابتی مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت.

مواد و روش کار: در این مطالعه تجربی، ۱۲۰ موش صحرایی نر (Sprague-Dawley، ۱۵۰-۲۰۰ g) به ۱۲ گروه ده تایی شامل کنترل نرمال، نرمال دریافت کننده گلین کلامید (۴ mg/kg)، ۳ گروه نرمال دریافت کننده عصاره با دوزهای ۱۰، ۵۰ و ۱۵۰ mg/kg، کنترل دیابتی شده با آلوکسان (۱۷۰ mg/kg)، دیابتی دریافت کننده گلین کلامید (۴ mg/kg) و ۵ گروه دیابتی دریافت کننده عصاره با دوزهای ۱۰، ۵۰، ۱۵۰، ۳۰۰ و ۵۰۰ روزانه به صورت خوراکی و به مدت ۳۰ روز تقسیم شدند. روز ۳۱ نمونه خونی ناشتا جهت بررسی سطح انسولین و HbA1c از قلب موشها تهیه شد.

یافته ها: مصرف خوراکی عصاره آبی برگ گردو در موشهای دیابتی به صورت وابسته به دوز، سطح انسولین و HbA1c را نسبت به موشهای کنترل دیابتی به ترتیب افزایش و کاهش داد ($P < 0.05$). ولی در موشهای نرمال اثر معنی داری نداشت، اثر مشاهده شده مشابه گلین کلامید بود.

نتیجه گیری: مصرف ۳۰ روزه عصاره احتمالاً با افزایش سطح انسولین (از طریق افزایش ترشح یا کاهش تخریب) منجر به کاهش سطح گلوکز و به دنبال آن کاهش سطح HbA1c در موشهای دیابتی میشود.

واژه های کلیدی: برگ گردو، دیابت شیرین، موش صحرایی، گلی بن کلامید، انسولین، HbA1c

مقدمه

در جهان وجود داشته و در سال ۲۰۱۰ میلادی این آمار به میزان ۲۸۴/۸ میلیون نفر رسیده است [۳،۲]. و در ایران حدود ۸٪ افراد بین ۲۵ تا ۶۴ سال به آن مبتلا هستند [۴]. درمانهای شایع دیابت شامل تجویز انسولین یا داروهای محرک ترشح انسولین (گیاهی یا صناعی) به همراه کاهش وزن با ورزش و رژیم غذایی است [۵]. برگ گردو در طب سنتی به عنوان پایین آورنده قند خون استفاده می شده است [۶]. و همچنین تحقیقات متعددی در مورد اثر برگ

دیابت شیرین شامل گروه ناهمگونی از بیماریهای متابولیک است که مشخصه آنها افزایش گلوکز خون و اختلالات متابولیسم می باشد. این بیماری در نتیجه نقایصی در ترشح انسولین یا عمل انسولین یا هر دو ایجاد می شود و با تغییرات مشخصی در متابولیسم درون سلولی در بسیاری از بافت ها مثل کبد همراه است [۲،۱] به موجب آمار در سال ۲۰۰۰ تعداد ۱۷۷ میلیون بیمار دیابتی

گردو بر سطح گلوکز خون در موشهای دیابتی و سالم و مکانیسم آن مورد بررسی می باشد [۷-۹]. از جمله گزارش شده تزریق دهانی دو بار در روز عصاره هیدروالکلی برگ گردو با دوز بالای ۱۲۵ mg/kg بمدت سه روز سطح گلوکز خون موشهای صحرایی را کاهش میدهد ولی اثری روی سطح گلوکز موشهای نرمال ندارد [۱۰]. از جمله مواد موثره در برگ گردو شامل کوئرستین، کامپفرول، اتوژنول، آوی کولارین، نیکوتین، کافئیک اسید، هاپیرین، بتائودسمول، ژوگلن، پ کوماریک اسید، اسکوربیک اسید، الازیک اسید، گالیک اسید، نئوکلوروژنیک اسید و سیانیدین است [۱۱-۱۶]. حال با توجه به این موضوع که انسولین نقش مهمی در کنترل سطح گلوکز خون دارد و سطح HbA1c یکی از نشانه های تغییر مزمن سطح گلوکز در مدت ۳۰ روزه می باشد و همچنین تحقیقات علمی در زمینه اثر مصرف خوراکی ۳۰ روزه عصاره آبی برگ گردو روی سطح انسولین و HbA1c انجام نشده و با کنترل مثبتی مثل گلیبن کلامید مقایسه نشده است در این تحقیق اثر مصرف خوراکی ۳۰ روزه عصاره آبی برگ گردو و گلیبن کلامید بر سطح انسولین و HbA1c خون موشهای صحرایی نرمال و دیابتی شده با آلوکسان مورد بررسی قرار می گیرد.

روش کار

۱۲۰ سر موش صحرایی نر نژاد Sprague Dawley با محدوده وزنی ۱۵۰-۲۰۰، تهیه شده از حیوان خانه دانشگاه علوم پزشکی کاشان، در قفس های مخصوص و استاندارد نگهداری و استفاده شد. موشها به مدت یک هفته قبل از شروع آزمایش در محیط استاندارد و درجه حرارت $24^{\circ}\text{C} \pm 1$ و سیکل روشنایی ۱۲ ساعت روشنایی ۱۲ ساعت تاریکی و با دسترسی به آب و غذا برای سازش با محیط نگهداری شدند. سپس موشها با محدوده وزنی ۲۰۰ - ۱۵۰ گرم به دو دسته موشهای صحرایی نرمال و موشهای صحرایی نر که توسط آلوکسان منوهیدرات دیابتی شده اند تقسیم شدند. موشهای دسته دوم با تزریق IP آلوکسان منوهیدرات (۱۷۰ mg/kg، ۵٪ و در بافر استات $\text{pH} = 4.5$) دیابتی شدند [۱۷]. ۶ روز بعد با خونگیری از انتهای دم در صورتیکه سطح گلوکز از ۲۵۰ mg/dl بیشتر بود دیابتی شدن آنها تایید شده و

مورد تحقیق قرار می گرفتند. موشها به ۱۲ گروه ده تایی شامل کنترل نرمال، نرمال دریافت کننده گلیبن کلامید (۴ mg/kg)، سه گروه نرمال دریافت کننده عصاره با دوزهای ۱۰، ۵۰ و ۱۵۰ mg/kg، کنترل دیابتی شده با آلوکسان (۱۷۰ mg/kg)، دیابتی دریافت کننده گلیبن کلامید (۴ mg/kg) و پنج گروه دیابتی دریافت کننده عصاره با دوزهای ۱۰، ۵۰، ۱۵۰، ۳۰۰ و ۵۰۰، روزانه به صورت خوراکی و به مدت ۳۰ روز تقسیم شدند. روز سی و یکم، موشها پس از ۱۲ ساعت ناشتایی درحالیکه به آب دسترسی داشتند، جهت بررسیهای بیوشیمیایی توسط اتر بیهوش شده و از طریق قلب، خونشان جمع آوری شد. انسولین سرم توسط کیت فوق حساس اندازه گیری انسولین رت Christal chemical USAcat 90060 و دستگاه الایزا اندازه گیری شد.

برای تهیه برگ گردو و عصاره آن پس از شناسایی گیاه در باغ گیاه شناسی کاشان، برگ آن را جدا، در سایه خشک نموده سپس در مرکز پژوهش اسانس دانشگاه کاشان، برگ آسیاب شده گردو را با استفاده از روش سوکسله عصاره گیری کرده (آبی) و پس از تبخیر حلال و کاهش میزان آن توسط روتاری، بوسیله آون خشک نموده (خشک شدن کامل: در صورت عدم تغییر وزن پس از چند بار در آون گذاشتن) و تا موقع مصرف در یخچال (۴C) نگهداری می شد.

برای تجزیه و تحلیل داده ها از روشهای آنالیز آماری یک طرفه و پس ازآزمون برای مقایسه بین گروههای کنترل و گروههای تحت تیمار و همچنین برای مقایسه بین دوگروه از آزمون تی مستقل استفاده شد. مقادیر $P < 0.05$ دارای ارزش معنی دار است. کار با حیوانات طبق پروتکل دانشگاه علوم پزشکی کاشان انجام شد.

یافته ها

اثر مصرف خوراکی ۳۰ روزه عصاره آبی برگ گردو و گلیبن کلامید بر سطح انسولین سرمی موش های نرمال: مصرف خوراکی ۳۰ روزه گلیبن کلامید، سطح سرمی انسولین را به طور معنی داری نسبت به گروه کنترل نرمال، افزایش داد. ولی مصرف خوراکی ۳۰ روزه عصاره با دوز های ۱۰، ۵۰ و ۱۵۰ تغییر معنی داری در سطح سرمی انسولین نسبت به گروه کنترل ایجاد نکرد (جدول ۱).

جدول ۱: سطح سرمی انسولین در گروههای مختلف نرمال پس از ۳۰ روز تیمار دارویی (روز ۳۱).

گروههای نرمال	دارو	سطح سرمی انسولین ($\mu\text{u/ml}$) Mean $\pm$ sem
	mg/kg	
کنترل	۰	۱/۵۰ $\pm$ ۸/۵۱
گلیبن کلامید	۴	۲۲/۰۵ $\pm$ ۵/۲۰*
عصاره آبی برگ	۱۰	۱۹/۳۰ $\pm$ ۲/۹۳
گردو	۵۰	۲۰/۶۳ $\pm$ ۲/۳۴
	۱۵۰	۱۸/۱۱ $\pm$ ۲/۸۳

* $P < 0.05$ در مقایسه با گروه کنترل نرمال

جدول ۲: سطح سرمی انسولین در گروههای مختلف دیابتی پس از ۳۰ روز تیمار دارویی (روز ۳۱)

گروهها	دارو	سطح سرمی انسولین ($\mu\text{u/ml}$) Mean $\pm$ sem	
	mg/kg		
کنترل نرمال	۰	۸/۵۱ $\pm$ ۱/۵۰	
کنترل دیابتی	۰	۱/۲۱ $\pm$ ۰/۳۴	***
گلیبن کلامید	۴	۵/۱۵ $\pm$ ۰/۵۸	
عصاره آبی برگ	۱۰	۳/۴۷ $\pm$ ۰/۳۴	**
گردو	۵۰	۶/۵۶ $\pm$ ۱/۱۷	†
	۱۵۰	۶/۸۱ $\pm$ ۰/۸۴	††
	۳۰۰	۱۰/۱۶ $\pm$ ۱/۱۳	††† ♦
	۵۰۰	۹/۵۰ $\pm$ ۱/۴۷	††† ×× ♦♦♦
			††† × ♦♦♦

** $P < 0.01$ و *** $P < 0.001$ در مقایسه با گروه کنترل سالم† $P < 0.05$ ، †† $P < 0.01$ و ††† $P < 0.001$ در مقایسه با گروه دیابتی× $P < 0.05$ ، ×× $P < 0.01$ در مقایسه با گروه دریافت کننده گلیبن کلامید♦ $P < 0.05$ و ♦♦♦ $P < 0.001$ در مقایسه با گروه دریافت کننده عصاره ۱۰ mg/kg

جدول ۳: سطح خونی HbA1c در گروه های مختلف نرمال پس از ۳۰ روز تیمار دارویی (روز ۳۱)

گروهها	دارو mg/kg	سطح سرمی HbA1c (%) Mean±sem
کنترل	۰	۶/۴۶±۰/۷۱
گلیبن کلامید	۴	۴/۹۸±۰/۸۱
عصاره آبی	۱۰	××۱/۲۳±۹/۹۶
برگ گردو	۵۰	۷/۵۳±۰/۷۱
	۱۵۰	۸/۳۶±۱/۳۵

×× P< 0.01 در مقایسه با دریافت کننده گروه گلیبن کلامید

جدول ۴: سطح خونی HbA1c در گروه های مختلف دیابتی پس از ۳۰ روز تیمار دارویی (روز ۳۱)

گروهها	دارو mg/kg	سطح سرمی HbA1c (%) Mean±sem
کنترل نرمال	۰	۰/۷۱±۶/۴۶
کنترل دیابتی	۰	***۲/۴۴±۲۳/۴۱
گلیبن کلامید	۴	+++۱/۲۱±۹/۲۵
عصاره آبی برگ	۱۰	+++۱/۸۴±۱۲/۰۴
گردو	۵۰	+++۱/۸۴±۱۲/۵۸
	۱۵۰	+++۰/۸۲±۱۱/۰۴
	۳۰۰	++۱/۱۴±۱۳/۶۳
	۵۰۰	+++۰/۳۷±۱۲/۸۱

*** P< 0.001 در مقایسه با گروه کنترل نرمال

+++ P< 0.001, ++ P< 0.01, + P< 0.05 در مقایسه با گروه کنترل دیابتی

افزایش دوز مصرفی افزایش یافت و همچنین عصاره آبی برگ گردو در دوزهای ۱۵۰ و ۵۰ mg/kg همانند گلیبن کلامید ۴ mg/kg و در دوزهای ۳۰۰ و ۵۰۰ mg/kg بیشتر از آن باعث افزایش سطح انسولین در موشهای دیابتی گردید (جدول ۲).

اثر مصرف خوراکی ۳۰ روزه عصاره آبی برگ گردو و گلیبن کلامید بر سطح HbA1c در موش های نرمال: مصرف خوراکی ۳۰ روزه گلیبن کلامید، و دوزهای مختلف عصاره ۱۰، ۵۰، ۱۵۰ mg/kg به جز عصاره ۱۰ mg/kg در موشهای نرمال تغییر معنی داری در سطح

اثر مصرف خوراکی ۳۰ روزه عصاره آبی برگ گردو و گلیبن کلامید بر سطح سرمی انسولین موش های دیابتی: به طور کلی پس از ۳۰ روز آزمایش، موشهای دیابتی که درمان دریافت نمودند سطح انسولین خونشان کاهش یافت (P< ۰/۰۰۱). درمان ۳۰ روزه با دوز ۱۰ mg/kg عصاره آبی برگ گردو نتوانست مانع کاهش سطح انسولین در موشهای دیابتی شود. ولی دوزهای بالاتر (۵۰۰ mg/kg، ۳۰۰، ۱۵۰، ۵۰) عصاره آبی برگ گردو نه تنها مانع کاهش سطح انسولین در موشهای دیابتی شده، بلکه باعث افزایش سطح انسولین در این گروهها گردید. این اثر با

رادیكال های آزاد توليد شده به وسيله استرپتوزوسين كمك مي كند و بنابر اين پانكراس را در برابر استرس هاي اكسيداتيوي حفاظت مي كند و اين كاهش استرس اكسيداتيوي روي پانكراس ممكن است به سلول هاي بتا كه در اثر استرپتوزوسين كم شده اند كمك كند كه تكثير پيدا كنند و انسولين بيشتر ترشح كنند [۱۸].

هيل و هاول^۲ (۱۹۸۵) گزارش كردند كه جزاير جدا شده موش صحرابي در معرض فلاوونويدهاي بخصوصي مثل اپي كاتچين و كوئرستين ۴۴ تا ۷۰ درصد انسولين آزاد مي كنند. آنها استدلال مي كنند كه فلاوونويدها شايد از طريق تغيير در جريان Ca^{2+} و چرخه متابوليسم نوكلئوتيدي و افزايش همانند سازي DNA و سلول هاي جزاير روي عملكرد جزاير تاثير مي گذارند [۱۹].

حسين مدني و همكاران (۱۳۸۴) در تحقيقي با عنوان بررسي اثر عصاره هيدروالكلي شويـد *Anethum graveolens* L. عنوان كردند كه عصاره هيدروالكلي اين گياه داراي فلاوونويـد كوئرستين و كامپفرول بوده و از سازوكارهاي اين گياه اثر بر سلول هاي بتا و ترميم و باز سازي سلول هاي آسيب ديده و تحريك اين سلول ها به ترشح انسولين است [۲۰].

سوكنگ^۳ و همكاران در مطالعه اي روي اثر هيپو گليسميك گليسميك عصاره متانولي و فراكسيون هاي حاصل از گياه *Anacardium occidentale* در رت هاي ديابتي شده با استرپتوزوسين گزارش كردند كه تركيباتي مثل كامپفرول و كوئرستين در اين گياه وجود دارد. به نظر آنها فعاليت عصاره به وسيله تحريك مستقيم عصاره روي ترشح انسولين از سلول هاي بتا باقي مانده صورت گرفته است [۲۱].

لو^۴ و همكاران ۲۰۰۹ مطالعه اي روي اثر هيپوگليسميك توتال فلاوونويـد جدا شده از برگ *Foliom Eriobotryae Japonica* انجام دادند نشان دادند كه اين فلاوونويدها شامل كوئرستين و كامپفرول با دوز هاي (۱۵۰ و ۳۰۰ و ۴۵۰) به صورت معني داري باعث افزايش غلظت انسولين تا حد موش هاي نرمال شدند [۲۲].

خوني HbA1c نسبت به گروه كنترل نرمال ، ايجاد ننمود. (جدول ۳).

اثر مصرف خوراكي ۳۰ روزه عصاره آبي برگ گردو و گليبن كلاميد بر سطح HbA1c در موش هاي ديابتي : پس از ۳۰ روز آزمايش، در موشهاي ديابتي كه درمان دريافت ننمودند سطح خوني HbA1c افزايش يافت ($P<0/001$). درمان ۳۰ روزه با گليبن كلاميد (4mg/kg) و يا عصاره آبي برگ گردو در دوزهاي (500 mg/kg ، 300 mg/kg ، 150 mg/kg ، 50 mg/kg) نه تنها مانع افزايش سطح خوني HbA1c در موشهاي ديابتي شد، بلكه باعث كاهش آن در اين گروهها گرديد. اين اثر با افزايش دوز مصرفي عصاره تغيير نيافت و همچنين اثر عصاره آبي برگ گردو در دوزهاي مختلف همانند گليبن كلاميد (4mg/kg) بود. (جدول ۴)

بحث

نتايج نشان داد كه عصاره آبي برگ گردو در سطح سرمي انسولين موش هاي نرمال تغيير معني داري ايجاد نكرد. در موشهاي ديابتي مصرف خوراكي عصاره آبي برگ گردو به صورت وابسته به دوز توانست سطح انسولين را نسبت به موشهاي ديابتي كه درمان دريافت ننمودند افزايش دهد و اثر دوز هاي بالا بر افزايش سطح سرمي انسولين بيشتر از گليبن كلاميد بود.

گزارشي در مورد اثر عصاره آبي برگ گردو بر سطح انسولين خون جهت مقايسه ديده نشد. ولي با توجه به اين موضوع كه از جمله تركيبات موثره مهم موجود در برگ گياه كوئرستين و كامپفرول مي باشد و تحقيقات متعدد نشان مي دهد كه اين تركيبات از طريق اثرات حفاظتي روي سلول هاي بتا و يا با تحريك مستقيم آنها منجر به تحريك ترشح انسولين در موش هاي ديابتي شده ميتوان اثرات عصاره را توجيه نمود.

در مطالعه ماهش^۱ و همكاران كه اثر هيپوگليسميك مصرف خوراكي كوئرستين با دوز هاي 80mg/kg و 50mg/kg در مدت ۴۵ روز بر فشارهاي اكسيداتيوي در رت هاي ديابتي شده با استرپتوزوسين را بررسي كردند اين چنين بيان شده كه اثر حاصل از كوئرستين مي تواند ناشي از محتوای آنتی اكسيدانی آن باشد كه به خنثي سازي

2- Hii & Howell

3- Sokeng

4 -Lu

1- Mahesh

راوی^۵ و همکاران (۲۰۰۴) روی اثرات حفاظتی عصاره مغز دانه ائوجنیا جامبولانا *Eugenia Jambolana* تحقیق کرده و نشان دادند، این عصاره با داشتن چندین ترکیب فعال مثل فلاوونوئیدها گالیک اسید و الازیک اسید باعث فعال شدن سلول های بتا و بازگشت گرانولاسیون نرمال و دادن اثر تولید انسولین شد [۲۳]. بنابراین با توجه به گزارشات فوق احتمالاً کوئرستین و کامفرول موجود در عصاره می تواند از طریق حفظ و یا تحریک سلول های بتای جزایر لانگرهانس منجر به افزایش سطح انسولین خون در موشهای دیابتی شود.

همچنین آزمایشات ما نشان داد سطح خونی $HbA1c$ در موش دیابتی پس از ۳۰ روز به طور معنی داری افزایش پیدا کرد و مصرف خوراکی عصاره آبی برگ گردو به طور معنی داری باعث کاهش سطح $HbA1c$ در موش دیابتی شد. ولی اثری بر روی سطح $HbA1c$ در موش نرمال نداشت و این اثر مشابه اثر گلین کلامید بود. با توجه به این موضوع که سطح خونی $HbA1c$ با افزایش سطح گلوکز خون افزایش میابد و کاهش آن نشان دهنده کنترل مناسب دیابت و قند خون میباشد. در این اواخر سطح خونی $HbA1c$ شاخصی برای بررسی کنترل روند بیماری در بیماران دیابتی در نظر گرفته شده [۲۴]. همچنین Ravi.K و همکاران (۲۰۰۴) گزارش دادند که $HbA1c$ در حیوانات دیابتی افزایش یافته و میزان این افزایش مستقیماً تحت تاثیر سطح گلوکز ناشتای خون قرار دارد [۲۵] و سطح هموگلوبین تام در موشهای دیابتی در طی افزایش تشکیل $HbA1c$ کاهش می یابد [۲۳]. که این موضوع با افزایش سطح خونی $HbA1c$ در این تحقیق هم راستا می باشد.

نورالدینی و همکاران نشان دادند که عصاره آبی برگ گردو اثر کاهشی بر سطح گلوکز خون دارد [۲۶] و از طرف دیگر تحقیق حاضر نشان داد که سطح انسولین خون در حیوانات دیابتی با مصرف دوزهای مختلف عصاره افزایش می یابد. پس احتمالاً عصاره با افزایش سطح انسولین خون منجر به کاهش سطح گلوکز خون در موشهای دیابتی می شود.

بنابراین مصرف خوراکی عصاره در موشهای دیابتی به وسیله خاصیت کاهش سطح گلوکز خون، گلیکوزیلاسیون هموگلوبین را کاهش می دهد و منجر به کاهش سطح هموگلوبین گلیکوزیلاته $HbA1c$ در رت دیابتی می شود. این نورمولیزاسیون $HbA1c$ ، کاهش گلیکوزیلاسیون پروتئین را نمایان می کند که این خود اصلاح استرس اکسیداتیوی هیپرگلیسمی توسط عصاره را نشان می دهد [۲۶، ۲۳].

نتیجه گیری

مصرف خوراکی ۳۰ روزه عصاره آبی برگ گردو به صورت وابسته به دوز منجر به افزایش سطح انسولین و کاهش سطح $HbA1c$ در موش دیابتی می شود که می تواند به عنوان یک عصاره مناسب جهت درمان بیماران دیابتی مطرح شده و مورد تحقیق و بررسی قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کاشان که در تامین مادی این پروژه (شماره ۸۸۱۷ و مجری: دکتر مهدی نورالدینی) کمک شایانی نمودند و از همکاران محترم گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی تشکر و قدردانی می نمائیم.

References

1. Madani H, Rahimi P, Mahzoni P, Effect of hydroalcoholic extract of *Juglans regia* leave on activity of AST and ALT enzyme in alloxan-induced diabetic rats, *Pharmaceutical Science* 2009; 15(2): 213-218.
2. Wandell PE, Quality of life of patients with diabetes mellitus, An overview of research in primary health care in the Nordic countries, *Scand J Prim Health Care* 2005; 23(2): 68-74.
3. Shaw J, Sicree RA, Zimmet PZ, Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030, *Diabetes research and clinical practice* 2010; 87: 4 – 14.
4. Delavari A, Alikhani S, Nili S, Birjandi RH, Birjandi F, Quality of care of diabetes mellitus type II patients in Iran, *Arch Iran Med* 2009; 12(5): 492-495.
5. Principles of internal medicine *Harrisons*, Endocrine, metabolism and nutrition diseases." *Principles of internal medicine Harrisons* 2008; 17th edition.
6. Mirheidar H, Plants information and plants apply in disease protection and treatment, 1380.
7. Asgary S, Parkhideh S, Solhpour A, et al, Effect of ethanolic extract of *Juglans regia* L. on blood sugar in diabetes-induced rats, *J Med Food* 2008; 11(3): 533-8.
8. Jelodar Gh A, Nazifi-Habibabadi S, Effect of walnut leaf extracts on serum biochemical parameters of diabetic rats, *Journal of The Shaheed Beheshti University of Medical Sciences And Health Services* 1998; 22(2): 25-18.
9. Divband Kh, Komeili GR, Saeidi-Neek F, Effects of Walnut leaves aqueous extract on blood sugar and serum lipids in diabetic rats, *Journal of Birjand University of Medical Sciences* 2010; 17(1): 11-18.
10. Fathiazad F, Garjani A, Motavallian naini A, Study of hypoglycemic activity of the hydroalcoholic extract of *Juglans regia* in normal and diabetic rats, *Pharmaceutical Sciences* 2006; 2: 13-17.
11. Boca Raton D, James A, Handbook of phytochemical constituents of GRAS herbs and other economic plants, Boca Raton, FL: CRC Press 1992; 59-207.
12. Mokhtari M, Shariati M, Sadeghi N, Effect of alcohol extract from leave *Juglans regia* on antinociceptive induced by morphine in formalin test, *Islamic azad medicin university journal* 2008; 18(2): 85-90.
13. Pereira J, Oliveira I, Sousa A, Valenta P, Andrade PB, Ferreira I, Ferreres F, Seabra AR, Estevinho L, Walnut (*Juglans regia* L.) leaves: Phenolic compounds, antibacterial activity and antioxidant potential of different cultivars, *Food and Chemical Toxicology* 2007; 45: 2287–2295.
14. Blumenthal M, Herbal medicine." integrative medicine communication 2000.
15. Jelodar G, Nazifi S, Effect of walnut leaf extracts on serum biochemical parameters of diabetic rats. " *Journal of Faculty of Veterinary University of Tehran* 2001; 56(3): 37-40.
16. Nadkarni KM, Indian Material Medica." Bombay: Popular Prakashan 1979; 709.
17. Jelodar G A, Nazifi Habibabadi S, Effect of Coriander, Pomegranate and Walnut leaf on serum biochemical parameters of diabetic rats." *Journal of shahid sadoughi university of medical sciences and health services* 1999; 7(1): 82-77.
18. Mahesh T, Menon VP, Quercetin Allievates Oxidative Stress in Streptozotocin-induced Diabetic Rats, *Phytother Res* 2004; 18: 123–127.
19. Hii C, Howell SL, Effects of epicatechin on rat islets of Langerhans, *Diabetes*. 1984; 33: 291–296.
20. Madani H, Ahmadi mahmoudabadi N, Vahdati A, Effect of hydroalcoholic extract of *Anethum graveolens* L. in reduce glucose and lipids in alloxan-induced diabetic rats." *J. Diabetes and Lipid of Iran* 1384; 5(2): 109-116.
21. Sokeng S, Lontsi D, Moundipa P, Jatsa HB, Watcho P, Kamtchouing P, Hypoglycemic effect of *Anacardium occidentale* L. methanol extract and fractions on streptozotocin-induced diabetic rats, *Research journal of medicine and medical sciences* 2007; 2(2): 133-137.
22. Lu H, Chen J, Li W, Ren B, Wu J, Zhang H, Hypoglycemic effect of the total flavonoid fraction from *folium eriobotryae*, *Phytomedicine* 2009.
23. Ravi K, Ramachandran B, Subramanian S, Protective Effect of *Eugenia jambolana* Seed Kernel on Tissue Antioxidants in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats, *Biol. Pharm. Bul* 2004; 27(8): 1212—1217.
24. Shishebor F, Mansouri A, Sarkaki AR, Jalali MT, Latifi M, The effect of white vinegar on fasting blood glucose, glycosylated hemoglobin and lipid profile in normal and diabetic rats, *Iranian Journal of Endocrinology & Metabolism* 2007; 19(1).
25. Al-Yassin D, Ibrahim KJ, *Fac Med Univ Baghdad* 1981; 23: 373—380.
26. Rezaei Josheghan F, Effect of aqueous extract of walnut (*Juglans regia*) leaf on serum levels of glucose in the normal and diabetic rats induced by alloxan, (Dissertation for the degree of MS). Esfahan payam noor university 1389.

Original Article

effects of a 30-day oral regime of glibenclamide and walnut leaf aqueous extract on serum insulin and HbA1c levels in normal and alloxan-induced diabetic rats

Noureddini M¹, Rezaei Josheghan F^{2*}

¹Physiology Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran

²MSc in Animal Biology, sciences institute of Esfarayen, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran

***Corresponding Author:**
North Khorasan University of
Medical Sciences, Bojnurd,
Iran
Email: rezaeijosheghan_221
@yahoo.com

Abstract

Background & Objective: walnut has been widely used for the treatment of diabetes mellitus in traditional medicine. Nowadays more research is carrying out to find out the mechanisms of walnut effect on blood glucose. This study was conducted to compare the effects of oral administration of glibenclamide and the aqueous extract of walnut leaf on the serum levels of insulin and HbA1c in normal and diabetic rats.

Materials and Methods: In present study, 120 adult male rats (Sprague Dawley) were divided into twelve groups as follow: control, control treated with glibenclamide(4mg/kg),normal treated with extracts extract(50,10,50 mg/kg) alloxan-induced diabetic rats(170mg/kg/ ,ip) ,diabetic treated with glibenclimide(4mg/kg), diabetic treated with extract[10,50,150,300,500 mg/kg]-,each groups received daily gavages for one month. Insulin and HbA1c levels were determined one day after the completion of experiments.

Results: Results showed a significant decrease in HbA1c and increase in insulin level of diabetic rats received walnut leaf aqueous extract compared to the control diabetics in a dose-dependent manner ($p<0.05$). No significant effect was seen in normal groups. In both groups the effects were the same as glibenclamide.

Conclusion: One proposed mechanism for the effects of queous extract of walnut leaf may be through the increment in the insulin level; either in secretion or the decrement in its degradation.

Key words: Walnut leaf, Diabetes mellitus, Rat, glibenclamide , Insuline,HbA1c.

Submitted:2013 July 6

Revised:2013 Aug21

Accepted:2013 Sep 7