

بررسی تاثیر روغن مغز گردو غنی شده با β -sitosterol در شاخص های خونی و

عملکرد کبدی رت های مبتلا به دیابت

DOR: 20.1001.1.17359880.1399.14.1.6.9

منیره قربانی^۱، عبدالحسین شیروی^۲، غلامحسین واعظی^۳، ویدا حجتی^۴، حمید سپهری^۵

۱- گروه زیست شناسی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران.

۲- دانشیار، گروه زیست شناسی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران. Shiravi738@yahoo.com

۳- استاد، گروه زیست شناسی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران.

۴- دانشیار، گروه زیست شناسی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران.

۵- دانشیار، دانشگاه علوم پزشکی گرگان، گرگان، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۹/۲/۲۸ تاریخ پذیرش: ۹۹/۹/۳۰

چکیده

زمینه و هدف: مشکلات و عوارض مرتبط با تغییرات آنزیم های کبدی از تاثیرات بیماری دیابت ملیتوس است. استفاده از رویکرد تغذیه ای بخش قابل توجه ای از روند پیشگیری، کنترل و درمان را به خود اختصاص می دهد. مطالعه حاضر بررسی تاثیر روغن مغز گردو غنی شده با β -sitosterol در شاخص های خونی عملکرد کبدی رت های مبتلا به دیابت است.

روش کار: تعداد نمونه مورد مطالعه ۳۰ موش و در مجموع ۵ تیمار در این آزمایش مدنظر بود. گروه کنترل که نرمال سالین، تیمار دوم، روغن خالص مغز گردو بدون افزودن β -sitosterol و ۳ گروه دیگر با دوزهای ۳۰، ۴۵، ۶۰ mg/kg β -sitosterol گاوژ شد. پس از ۴ هفته گاوژ خوتگیری از نمونه های مورد پژوهش انجام و اندازه گیری انسولین و قند خون، بعد از جدا کردن سرم خون به همراه فاکتورهای خونی از قبیل کلاسترول، تری گلیسیرید، کلاسترول با تراکم بالا (HDL)، آسپارات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آلکالین فسفاتاز (ALP)، بیلی روبین توتال، بیلی روبین مستقیم و آلبومین مورد سنجش قرار گرفتند. یافته ها: اختلاف معناداری بین گروه شاهد و گروه مداخله بدون گاوژ β -sitosterol، گروه مداخله با گاوژ 30 β -sitosterol، گروه مداخله با گاوژ 45 β -sitosterol و گروه مداخله با گاوژ 60 β -sitosterol میلی گرم بر کیلوگرم در متوسط قند خون، کلاسترول، تری گلیسیرید و HDL، AST، ALT، ALP، بیلی روبین توتال و مستقیم و آلبومین وجود داشت. نتیجه گیری: روغن غنی شده با β -sitosterol را می توان به عنوان یک ترکیب مفید برای کنترل دیابت پیشنهاد نمود.

واژه های کلیدی: دیابت، β -sitosterol، روغن گردو، کبد.

مقدمه

بیماری دیابت در کمتر از ۴۰ سال دو برابر شده است. حدود ۴۲۲ میلیون نفر در سراسر دنیا و بیش از ۵ میلیون نفر در ایران به بیماری دیابت مبتلا می باشند (۳۳). شیوع جهانی دیابت در سال ۲۰۱۰ میلادی، در میان بزرگسالان ۶/۴ درصد بود. این میزان در سال ۲۰۳۰ میلادی به ۷/۷ درصد خواهد رسید (۵). سازمان جهانی بهداشت با توجه به آمار و روند رو به رشد بیماری دیابت در جهان، آن را به عنوان یک اپیدمی نهفته اعلام نموده است. این اختلال تغییرات عمده ای در اغلب سیستم های بدن ایجاد می کند

بیماری دیابت ملیتوس (Diabetes Mellitus) یکی از اختلالات شایع غدد درون ریز بدن است که سالانه افراد زیادی به آن مبتلا می شوند و همراه با عوارض گسترده ای است و ابعاد مختلف جسمی، روانی و اجتماعی بیماران را تحت تاثیر قرار می دهد (۳۰). این بیماری پنجمین اختلال در جهان است که منجر به مرگ می شود؛ به طوری که هر ۱۰ ثانیه ۲ نفر به این بیماری مبتلا و ۱ نفر به علت عوارض آن در جهان می میرد (۲۴). شمار مبتلایان به

و سبب بروز عوارض فوری و یا دیررس می شود (۲۷). با توجه به این نکته که اختلال دیابت در نتیجه تغییرات گسترده در تولید و جذب انسولین در بدن ایجاد می شود (۸). کبد یکی از ارگان هایی است که عملکرد آن به سطح انسولین خون و میزان حساسیت به آن وابسته است (۳۱). نتایج مطالعات نشان داد عملکرد کبد در پاتوزن دیابت نقش به سزایی دارد؛ به طوری که تعیین مستقیم مقدار چربی کبد و سطوح در گردش آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، و گاما گلوتامیل ترانسفراز (GGT)، که نشان دهنده مقدار چربی کبد هستند، با خطر دیابت مستقل از مصرف الکل و دیگر عوامل خطرزا ارتباط دارند (۳۴). از طرفی آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) از دیگر شاخص های خونی عملکرد کبدی است که در افراد مبتلا به دیابت به صورت شایعی بالا است (۲۳). اختلال تحمل گلوکز، میزان گلوکز، کلسترول، تری گلیسیرید، HDL، ALP، بیلی روبین تونال، بیلی روبین مستقیم و آلبومین از دیگر شاخص های خونی است که در افراد مبتلا به دیابت با تغییرات چشمگیری همراه می باشد (۱۵). به طوری که مطالعات فراسر و همکاران میزان بالای سطوح افزایش یافته گاما گلوتامین ترانسفراز را در افراد دیابتی بالای ۴۰ سال گزارش و اظهار داشتند مطالعات مقطعی قبلی رابطه بین سطوح غیر طبیعی گاما گلوتامین ترانسفراز و اختلال وضعیت گلیسمی را نشان داده اند. هم چنین، آن ها نشان دادند هر دو گاما گلوتامین ترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز، حتی در دامنه طبیعی، با پیش بینی شیوع دیابت ارتباط دارند (۱۰)؛ با این حال، برخی مطالعات ارتباط قوی تر بین گاما گلوتامین ترانسفراز و دیابت را نسبت به آلانین آمینوترانسفراز و دیابت نشان داده اند (۲۹)، (۲۸). اختلال دیابت به شکلی است که استفاده از رویکرد تغذیه ای بخش قابل توجهی از روند پیشگیری، کنترل و درمان را به خود اختصاص می دهد؛ به طوری که قبل از

کشف انسولین و داروهای کنترل کننده دیابت، این بیماری با گیاهان دارویی و درمان های سنتی تحت درمان قرار می گرفتند (۱۶). گردو (*Juglans regia* L) یکی از درمان های گیاهی رایج در کنترل دیابت و افزایش قند خون است. این گیاه علاوه بر مصارف خوراکی، در طب سنتی کاربردهای گسترده دارد (۲۶). مطالعات نشان داده اند که گردو تأثیر مثبتی بر روی سیستم عصبی، عملکرد حرکتی و شناختی، یادگیری و عملکرد حافظه، پروفیل چربی، متابولیسم چربی و آنتی اکسیدانی دارد (۶)؛ هم چنین گردو حاوی فیتوسترول ها، مخصوصاً β -sitosterol است که دارای خواص ضدسرطانی می باشد (۳۲). برآیند مطالعات نشان داد مصرف روغن گردو با دوز ۴۰۰ میکروگرم در کیلوگرم در رت های مبتلا به دیابت سبب بهبود وضعیت آنزیم AST شده در حالی که در ALT تاثیر معناداری مشاهده نشد (۲). مطالعات نشان داد مصرف روغن گردو سبب افزایش شاخص خونی آنزیم آمیلاز و شاخص گلیسمیک در رت های مبتلا به دیابت شد (۲۱). مطالعه Fink و همکاران نشان داد روغن گردو در رت های مبتلا به دیابت می تواند گلوکز، کلسترول، تری گلیسیرید، را بهبود دهد (۱۱). علارغم تاثیرات گسترده اشاره شده روغن گردو بر روی آنزیم های کبدی تحقیقات اندکی اثر محافظتی آن را بر مجموع شاخص های خونی کبدی را مورد بررسی قرار داد (۷). مطالعات نشان داده اند که تغییرات در شیوه تغذیه می تواند باعث بروز تغییرات داخلی در ترکیب اسیدهای چرب در کبد و افزایش نسبت اسیدچرب های چندغیراشباعی امگا-۶ به امگا-۳ گردد (۳۲) که باعث ایجاد پروفایل متابولیک نامطلوب و بروز عارضه کبدی می شود (۶). در نتیجه تغییر رژیم غذایی برای بهبود وضعیت چربی در کبد اهمیت به سزایی دارد (۳۰). برخی از گیاهان از قبیل گردو دارای مقادیر اندک اسیدهای چرب اشباع و مقادیر بالای اسیدهای چرب تک

دیابت به همراه بیماری های دیگر از قبلی آرتیریت می شود (۱۳). همچنین در این مطالعه مشخص شد که β -sitosterol باعث افزایش در جذب گلوکز در سلول های چربی شده و باعث تحریک ساخت چربی در سلول های اولیه چربی در حال تمایز می گردد. در مقابل، β -sitosterol باعث القاء لیپولیز در سلول های چربی می شود که با انسولین و انکوباسیون هم زمان با اپی نفرین، بهبود پیدا نمی کند. مثل انسولین، β -sitosterol بیان ژن GLUT4 را تنظیم پایین می کند اما باید بررسی شود که آیا افزایش جذب گلوکز توسط β -sitosterol در سلول های چربی مربوط به سنتز GLUT4 نمی باشد و این که آیا لیپولیز مربوط به تنظیم پایین ژن های Akt و PI3K است یا خیر. حتی با این وجود که به دلیل اثرات منحصر به فرد β -sitosterol بر روی تنظیم جذب گلوکز، ساخت چربی و لیپولیز در سلول های چربی می توان آن را به عنوان یک عامل قوی بالقوه برای دیابت در نظر گرفت (۱۷) اما این مسئله باید در مطالعات بالینی بررسی شود و همچنین باید مشخص شود که آیا β -sitosterol نقشی در حساسیت به انسولین و ترشح گلوکاگون دارد یا خیر (۱۲). مطالعات اندکی در مورد اثر روغن گردو بر روی وضعیت رت های دیابتی و چاق انجام شده است (۱۱). اما بررسی عصاره های حاصل از بخش های مختلف این گیاه بر روی رت ها به طور گسترده ای مورد بررسی قرار گرفته است. برای مثال، عسگری و همکاران اثر عصاره هیدروالکلی برگ خشک گردو در پیشگیری از دیابت در موش های صحرایی را مورد بررسی قرار دادند و به این نتیجه رسیدند که میزان قند و LDL گروه های تیمار شده با عصاره هیدروالکلی برگ خشک گردو کاهش معنی داری داشته است. این محققین تاثیر این عصاره را به وجود فلاونوئیدها و خواص آنتی اکسیدانی آنها نسبت دادند (۳). همچنین، قربانی و همکاران به این نتیجه رسیدند که استفاده دهانی از عصاره

غیراشباعی (MUFA) و مقادیر بالای اسیدهای چرب چند غیراشباعی (PUFA) می باشند که ارزش غذایی بالایی به خصوص برای بهبود وضعیت چربی در عارضه های کبدی دارند. از دیگر مزایای گردو داشتن مقادیر بالای از توکوفرول ها (به خصوص گاما توکوفرول)، فیتوسترول ها، آنتی اکسیدان های پلی فنولیک و فیر می باشد (۲۵). با توجه به فعالیت زیستی بالای این مواد، تحقیقات نشان داده اند که جیره های غذایی غنی از گردو می تواند باعث بهبود وضعیت چربی در عارضه هایی از قبیل دیابت نوع ۲ شود (۳۴). نتایج حاصل نشان داد که روغن خالص مغز گردو حاوی مقادیر بالایی از اسیدهای چرب چندغیراشباعی است که نشان دهنده ارزش تغذیه ای بالای این روغن می باشد. هم چنین این روغن دارای مقادیر بالای توکوفرول میباشد. روغن خالص استخراج شده از مغز گردو فاقد کلسترول بوده و بیشترین میزان ترکیب استرولی در این روغن مربوط به β -sitosterol می باشد که از جمله ترکیبات استرولی مفید بوده و میزان بالای آن نشان دهنده ارزش تغذیه ای و سلامتی روغن می باشد. قابل ذکر است که β -sitosterol در حدود ۸۶ درصد کل ترکیبات استرولی روغن خالص مغز گردو را تشکیل داده و در نتیجه ترکیبات استرولی دیگر در مقادیر بسیار اندکی تشخیص داده شدند. تحقیقات نشان داده اند که تیمار با β -sitosterol باعث افزایش مقادیر انسولین در حالت گرسنگی می شود. هم چنین کاهش قابل ملاحظه ای در گلیسمی در زمان گرسنگی با تغذیه با β -sitosterol مشاهده شده است. همچنین، β -sitosterol باعث بهبود تست گلوکز دهانی و افزایش در ترشح انسولین با القاء گلوکز می شود (۱۴). این اثرات مشابه با اثرات گلین کلامید که یک داروی ضد دیابت است می باشد. مطالعه ای نشان داد که تیمار رت های دیابتی با β -sitosterol باعث جلوگیری از گسترش دیابت و همچنین تسکین مشکلات ناشی از

روی رت های نر دیابتی و تعیین تأثیر روغن گردو بر روی آنزیم های کبدی در رت های نر دیابتی می باشد.

مواد و روش ها

مطالعه حاضر به صورت تجربی آزمایشگاهی با گروه کنترل در سال ۱۳۹۷ انجام شد. جامعه پژوهش شامل ۳۰ عدد رت نر نژاد ویستار (۲۰۰-۱۸۰ گرمی) بود که از انستیتو پاستور آمل خریداری شده و در شرایط آزمایشگاهی (دمای 22 ± 1 درجه سانتی گراد و رطوبت نسبی ۶۰٪) با دوره ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی در حیوان خانه دانشگاه علوم پزشکی گرگان نگهداری شدند. غذای استاندارد و آب آزادانه در اختیار رت ها قرار داده شد. تعداد نمونه مورد مطالعه در ۵ گروه شامل ۶ رت تقسیم بندی و هر گروه در قفسی جداگانه نگهداری شد. دو هفته پس از عادت کردن موش ها به محیط جدید دیابت کردن آن ها با استفاده از (STZ) انجام گردید. بدین منظور، STZ با دوز ۶۵ میلی گرم در کیلوگرم به رت ها به صورت داخل صفاقی تزریق شد. پس از گذشت ۷۲ ساعت، ضمن خون گیری از ناحیه دم رت ها، میزان قند خون نمونه ها اندازه گیری گردید. جهت اطمینان در مورد دیابتی بودن رت ها، یک هفته بعد از تزریق خون گیری تکرار شده و رت های با قند خون بیش از ۳۰۰ mg/dL در سرم خون (۱۶/۶ میلی مولار) به عنوان رت های دیابتی در نظر گرفته شدند. یک گروه از مجموع گروه های رت ها به عنوان کنترل محسوب شد و برای آن ها نرمال سالین به آن ها گاوآژ شد. در ۴ گروه دیگر رت ها از طریق گاوآژ، ۰/۵ میلی لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن رت به صورت روزانه به مدت ۴ هفته روغن خالص مغز گردو به حیوان خوراندند. در مجموع ۵ تیمار در این آزمایش مد نظر بود. تیمار اول: گروه کنترل که نرمال سالین به آنها گاوآژ شد. تیمار دوم: روغن خالص مغز گردو بدون افزودن β -sitosterol از طریق گاوآژ به حیوان خوراندند. در تیمار سوم، ۳۰، در

گردو مانع کاهش شدید وزن در رت های دیابتی شده و تغییرات مفیدی را در سطح گلوکز خون ایجاد می کند (۱۲). محمّدی و همکاران به بررسی اثر ضد دیابتی عصاره الکی برگ گردو در رت ها پرداختند و متوجه شدند که تیمار حیوانات با عصاره های گردو باعث کاهش معنی دار گلوکز خون، هموگلوبین گلیکویله، LDL، تری گلیسیرید و کلسترول کل و همچنین افزایش معنی دار در میزان انسولین و HDL شد (۴). دهقانی و همکاران به بررسی اثر عصاره آبی تیغه میانی گردو بر روی گلوکز خون و ساختار پانکراس در موش های دیابتی پرداختند و به این نتیجه رسیدند که عصاره آبی تیغه میانی گردو باعث کاهش میزان گلوکز خون در درازمدت می شود (۹). همچنین، Fink و همکاران بیان کردند که کاهش در تری گلیسیرید کبدی همراه با تغییرات معنی داری در الگوهای اسیدهای چرب در کبد و کاهش در شاخص فعالیت SCD و همچنین کاهش و نرمال شدن نسبت اسیدهای چرب امگا-۶ به امگا-۳ در کبد بوده است (۱۱). به طور معمول سنجش شاخص های عملکرد کبد برای تشخیص بیماری ها و ارزیابی تاثیرات داروهایی که احتمالاً دارای اثرات سمی هستند، مورد استفاده قرار می گیرد. معمول ترین این شاخص ها آمینوترانسفرازهای سرمی، آلکالین فسفاتاز، بیلی روبین و آلبومین هستند. بروز اختلال و یا آسیب در بافت کبد باعث آزاد شدن هر یک از معیارها به خون می شود. افزایش در فعالیت پلاسمایی آلانین آمینوترانسفراز، آسپاراتات آمینوترانسفراز، لاکتات دهیدروژناز، آلکالین فسفاتاز و اسید فسفاتاز به احتمال قوی به علت نقص در عملکرد کبد روی می دهد (۱۸). هدف پژوهش حاضر تعیین تأثیر محافظتی β -sitosterol در روغن مغز گردو در رت های نر دیابتی، تعیین تأثیر غنی سازی روغن مغز گردو با β -sitosterol اضافی روی اثر محافظتی آن در رت های نر دیابتی، تعیین تأثیر ترکیب روغن گردو بر

Restek, RSS (طول ستون ۳۰ متر، ضخامت فیلم ۰/۲۵ متر و قطر داخلی ستون ۰/۲۵ میلی متر) با نرخ جریان ۲ میلی لیتر در دقیقه انجام گرفت. دمای دتکتور و انژکتور به ترتیب ۳۰۰ و ۲۸۰ درجه سانتی گراد بود. برنامه دمایی دستگاه به صورت ایزوترمال در دمای ۲۶۰ درجه سانتی گراد بود. پس از تزریق نمونه به دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC)، منحنی رسم شده و زمان بازداری با منحنی استاندارد و زمان بازداری آن مقایسه گردید. به این ترتیب پروفایل استرولی نمونه مورد آزمایش تعیین شد. پس از ۴ هفته گاوآژ مرحله بعدی خونگیری از نمونه های مورد پژوهش انجام شد. جهت انجام این کار بعد از بیهوش نمودن رت ها به کمک کلروفورم، از درون قلب خونگیری انجام شد. پس از سانتریفیوژ نمودن سرم خون جدا گردید و تا زمان اندازه گیری هورمون انسولین قند خون در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد در فریزر نگه داری شد. برای اندازه گیری انسولین و قند خون، بعد از جدا کردن سرم خون از محتویات خونی توسط کیت زیست شیمی، انسولین خون با کمک دستگاه الیزا مورد سنجش قرار گرفت و بعد از جدا کردن سرم خون از محتویات خونی توسط کیت پارس آزمون، گلوکز خون با طول موج ۵۴۶ با دستگاه اسپکتروفتومتر مورد سنجش قرار گرفت. دیگر فاکتورهای خونی از قبیل کلسترول، تری گلیسیرید، کلسترول با تراکم بالا (HDL)، آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آلکالین فسفاتاز (ALP)، بیلی روبین توتال، بیلی روبین مستقیم و آلبومین مورد سنجش قرار گرفتند. میزان گلوکز سرم به روش آنزیمی گلوکز اکسیداز و توسط کیت گلوکز و با دستگاه اتونالایزر اندازه گیری شد. میزان کلسترول، تری گلیسیرید و کلسترول با تراکم بالا توسط کیت های مربوطه و با استفاده از دستگاه اتونالایزر اندازه گیری شد. آنزیم های AST، ALT و ALP با

تیمار چهارم ۴۵ و در تیمار پنجم ۶۰- β mg/kg sitosterol از طریق گاوآژ به حیوان خوراندند. روغن خالص مغز گردو مورد استفاده در این مطالعه به روش پرس سرد توسط شرکت گل کاران کاشان استخراج شد. آنالیز ترکیبات آن به وسیله GC و HPLC توسط آزمایشگاه مرجع دانه های روغنی و روغن های خوراکی انستیتو پاستور ایران انجام شد؛ بدین منظور، از دستگاه HPLC همراه پمپ SP930D مجهز به دتکتور مدل UV730D، سیستم تزریق دستی با لوپ ul۲۰ و رابط نرم افزار AUTO chrom 3000 استفاده شد. ستون مورد استفاده C18 با طول ۲۵۰ میلی-متری و قطر داخلی ۴/۶ میلی-متر بود. فاز متحرک مورد استفاده استونیتریل و آب با ۰/۱٪ اسید فسفریک سرعت جریان ۱ میلی-لیتر در دقیقه در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد و حجم تزریق ۲۰ میکرولیتر بود.

پروفایل اسیدهای چرب با استفاده از دستگاه Agilent 6890 (Santa Clara, CA, USA) مورد سنجش قرار گرفت. بررسی پروفایل اسیدهای چرب روی یک ستون Teknokroma, TR-CN100 (طول ستون ۱۰۰ متر، ضخامت فیلم ۰/۲۵ متر و قطر داخلی ستون ۰/۲ میلی متر) با نرخ جریان ۵ میلی لیتر در دقیقه انجام گرفت. دمای دتکتور و انژکتور به ترتیب ۳۲۰ و ۲۸۰ درجه سانتی گراد بود. برنامه دمایی دستگاه در ابتدا ۱۶۵ و سپس به ۲۱۰ درجه سانتی گراد به مدت ۴۰ دقیقه بود. پس از تزریق نمونه به دستگاه کروماتوگرافی گازی، منحنی رسم شده و زمان بازداری مربوط به هر اسید چرب با منحنی مربوط به اسید چرب استاندارد و زمان بازداری آن مقایسه گردید. به این ترتیب نوع و میزان اسیدهای چرب موجود در نمونه مورد آزمایش مشخص شد (۱). پروفایل استرولی با استفاده از دستگاه Young Lin Instrument Co., Ltd (Anyang, South Korea) مورد سنجش قرار گرفت. بررسی پروفایل استرولی روی یک ستون

استفاده از کیت های مخصوص مورد اندازه گیری قرار گرفت. بیلی روئین مستقیم و تام به روش دیازو (با استفاده از اسید سولفانلیک دی از ته) و با استفاده از کیت های مخصوص اندازه گیری شد. اندازه گیری آلبومین با استفاده از کیت آلبومین به روش فتومتریک انجام شد. بعد از خونگیری، رت ها کشته شده و کبد آن ها برای آزمایش های بافت شناسی جدا شد. بدین منظور، پس از جداسازی، کبد با محلول سرم فیزیولوژیک شسته شده و به منظور آبگیری و آماده شدن برای مراحل بعدی، در فرمالین ۱۰٪ قرار داده شد. سپس از بافت ها آبگیری شده و قالب گیری اجرا گردید و برش های بافتی تهیه شده و سپس به روش هماتوکسیلین-ئوزین و تریکروم رنگ آمیزی انجام گردید. تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ انجام شد. جهت تعیین نرمال بودن داده ها از آزمون کولموگروف اسمیرنوف (Kalmogorov Smiranov Test) استفاده شد. نتایج آزمون نرمالیتیه از لحاظ آماری معناداری ($P > 0/05$) نبود. محاسبات آماری با استفاده از آمار توصیفی (درصد و انحراف معیار) و آمار تحلیلی (ANOVA یک طرفه و آزمون دانکن) در در سطح معناداری معناداری ($P < 0/05$) انجام شد.

نتایج

جدول ۱ پروفایل اسید چرب روغن استخراج شده از مغز گردو را نشان می دهد. همان طور که از این جدول پیداست، بیشترین درصد اسیدهای چرب در روغن خالص گردو مربوط به اسید لینولئیک سیس (C18:2c) است (حدود ۶۰ درصد از کل اسیدهای چرب موجود در این روغن) که یکی از اسیدهای چرب بسیار مهم تلقی می شود. دومین اسید چرب فراوان در روغن گردو نیز اسید لینولئیک (C18:3) می باشد که آن هم از جمله مهم ترین اسیدهای چرب برای سلامتی تلقی می شود. هم چنین بر طبق این جدول، بالاترین نسبت اسیدهای

چرب در روغن خالص گردو مربوط به اسیدهای چرب چندغیراشباعی (PUFA) است که نشان از ارزش تغذیه ای و سلامتی بالای این روغن دارد. بر اساس نتایج حاصل از بررسی و آنالیز میزان انواع توکوفرول در روغن استخراج شده از مغز گردو، بیشترین و کم ترین به ترتیب میزان متعلق به گاما توکوفرول (ppm 15/539) و آلفا توکوفرول (ppm 57/16) بود. هم چنین میزان دلتا توکوفرول نیز ppm 84/54 اندازه گیری شد. لازم به ذکر است که بتا توکوفرول در روغن استخراج شده شناسایی نشد. جدول ۲ ترکیبات استرولی روغن استخراج شده از مغز گردو را نشان می دهد. همان طور که می توان در این جدول مشاهده نمود، روغن خالص استخراج شده از مغز گردو فاقد کلسترول می باشد. بیشترین میزان ترکیب استرولی در این روغن مربوط به β -sitosterol می باشد که از جمله ترکیبات استرولی مفید بوده و میزان بالای آن نشان دهنده ارزش تغذیه ای و سلامتی روغن می باشد. قابل ذکر است که β -sitosterol در حدود ۸۶ درصد کل ترکیبات استرولی روغن خالص مغز گردو را تشکیل داده و در نتیجه ترکیبات استرولی دیگر در مقادیر بسیار اندکی تشخیص داده شدند. بعد از β -sitosterol، بیشترین میزان ترکیب استرولی مربوط به دلتا-۵-اوناسترول و کمپسترول بود. هم چنین نتایج نشان داد که روغن خالص استخراج شده از مغز گردو دارای مقادیر اندکی از ترکیبات استرولی دیگر از قبیل استیگما استرول، کلسترول و دلتا-۷-استیگما استنول می باشد که با توجه به غلظت پایین این ترکیبات، نمی توان آن ها را به عنوان ترکیبات استرولی مهم در روغن استخراج شده در نظر گرفت. براساس نتایج آزمون ANOVA بین گروه های مداخله و شاهد، قبل از انجام مداخله اختلاف معنی داری ($P > 0/05$) وجود نداشت و نمونه های پژوهش در ۵ گروه مداخله و شاهد از لحاظ ویژگی های سن، وزن، متوسط قند خون، کلسترول، تری گلیسرید و

خون نسبت به نمونه شاهد گردید ($P \geq 0/05$). میزان HDL، AST، ALT و ALP در خون نمونه شاهد (گاواژ نرمال سالین) و در گروه مداخله بدون گاواژ β -sitosterol، گروه مداخله با گاواژ 30 β -sitosterol، گروه مداخله با گاواژ 45 β -sitosterol و گروه مداخله با گاواژ 60 β -sitosterol میلی گرم بر کیلوگرم نشان داده شد بالاترین میزان این شاخص ها در نمونه شاهد مشاهده می شود که به طور معنی داری بالاتر از نمونه های دیگر بود ($p < 0/05$). میزان بیلیروبین توتال و مستقیم در خون نمونه شاهد (گاواژ نرمال سالین) و در گروه مداخله بدون گاواژ β -sitosterol، گروه مداخله با گاواژ 30 β -sitosterol، گروه مداخله با گاواژ 45 β -sitosterol و گروه مداخله با گاواژ 60 β -sitosterol میلی گرم بر کیلوگرم نشان داده شد بالاترین میزان بیلیروبین توتال و مستقیم در نمونه شاهد مشاهده می شود که به طور معنی داری بالاتر از نمونه های دیگر بود ($p < 0/05$).

کلسترول تراکم بالا (HDL)، آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آلکالین فسفاتاز (ALP)، بیلی روبین توتال، بیلی روبین مستقیم، آلبومین با یک دیگر یکسان بودند. با توجه به جدول ۳ نتایج آزمون ها نشان داد اختلاف معناداری در مقایسه متوسط آزمایشات مورد بررسی مطالعه بین گروه شاهد و گروه مداخله بدون گاواژ β -sitosterol، گروه مداخله با گاواژ β -sitosterol وجود داشت. گاواژ روغن خالص گردو منجر به کاهش معنی داری در میزان گلوکز خون گروه مداخله با گاواژ β -sitosterol نسبت به نمونه شاهد گردید ($P \geq 0/05$). میزان کلسترول و تری گلیسرید در خون نمونه شاهد (گاواژ نرمال سالین) و در گروه مداخله بدون گاواژ β -sitosterol، گروه مداخله با گاواژ 30 β -sitosterol، گروه مداخله با گاواژ 45 β -sitosterol و گروه مداخله با گاواژ 60 β -sitosterol میلی گرم بر کیلوگرم نشان داده شد گاواژ روغن خالص گردو منجر به کاهش معنی دار در میزان کلسترول و تری گلیسرید

جدول ۱- پروفایل اسیدهای چرب در روغن خالص مغز گردو

اسید چرب	درصد	ppm
	میانگین و انحراف معیار	میانگین و انحراف معیار
C16:0	۶.۲۵ ± ۰/۰۵	۵۰۶۰۳/۰۳ ± ۱۴۴۳/۲۳
C16:1	۰/۰۸ ± ۰/۰۱	۷۲۶/۳۴۲ ± ۲۹/۸۸۶
C17:0	۰/۰۴ ± ۰/۰۰	۴۱۵/۰۱ ± ۳۵/۱۷
C17:1	۰/۰۱ ± ۰/۰۰	۱۴۷/۸۰۸ ± ۳۰/۱۲۲
C18:0	۳/۷۳۵ ± ۰/۰۲۵	۳۰۰۱۷/۱۵ ± ۳۱۷/۳۶۹۵
C18:1t	۰/۰۱۵ ± ۰/۰۰۵	۱۶۷/۱۵ ± ۱۰/۷۵
C18:1c	۲/۲۲ ± ۰/۰۰	۱۸۰۶۹۹/۳ ± ۶۵۷۸/۳۲۴
C18:2t	۰/۰۴ ± ۰/۰۰	۲۹۰/۲۵۷۵ ± ۲۳/۳۵۳۵
C18:2c	۵۹/۱۳ ± ۰/۰۲	۴۸۴۲۴۹/۳ ± ۱۵۶۶۱/۷۱
C18:3	۸/۴۲۵ ± ۰/۰۳۵	۷۸۵۸۸/۸۳ ± ۴۱۴/۷۳۵
C20:0	۰/۰۲ ± ۰/۰۰	۲۳۲/۹۴۵ ± ۳۲/۹۴۵
Others	۰/۰۵۵ ± ۰/۰۱۵	-
SFA	۱۰/۰۰۵ ± ۰/۰۲۵	-
MUFA	۲۲/۲۹ ± ۰/۰۱	-
PUFA	۶۷/۵۵۵ ± ۰/۰۵۵	-

جدول ۲- ترکیبات استرولی روغن خالص مغز گردو

استرول	درصد	ppm
کلسترول	-	-
کمپسترول	۵/۷۲ ± ۰/۱۲	۶۳/۴۴۲ ± ۱/۰۳۴
استیگما استرول	۰/۸ ± ۰/۰۰	۸/۸۸۳۵ ± ۰/۳۷۰۵
کلرسترول	۰/۶۴۵ ± ۰/۰۳۵	۷/۱۲۳۵ ± ۰/۱۲۸۵
β -sitosterol	۸۵/۸۵ ± ۰/۳۲	۹۵۲/۷۴۵۵ ± ۳۸/۶۳۴۵
دلتا-۵-اوناسترول	۶/۸۵ ± ۰/۱۵	۷۵/۹۷۰۵ ± ۱/۱۰۷۵
دلتا-۷-استیگما استنول	۰/۱۳۵ ± ۰/۰۱۵	۱/۴۷۰۵ ± ۰/۱۵۹۵
محتوای استرول تام	-	۱۱۰۹/۶۳۷ ± ۴۰/۸۵۹۵

جدول ۳- مقایسه معناداری میانگین آزمایشات مورد بررسی مطالعه به تفکیک گروه مختلف مداخله و شاهد

P Vale	نوع گروه (میلی گرم بر کیلوگرم)					نوع آزمایشات
	گروه شاهد	گروه مداخله بدون گاوآژ β -sitosterol	گروه مداخله با گاوآژ ۳۰ β -sitosterol	گروه مداخله با گاوآژ ۴۵ β -sitosterol	گروه مداخله با گاوآژ ۶۰ β -sitosterol	
۰/۰۰۰۱	۷۹۲/۲ ± ۵/۸ ^c	۶۰۷/۲ ± ۱۶/۶ ^b	۳۹۲/۷ ± ۲۲/۶ ^a	۲۲۷/۶ ± ۱۰/۱ ^d	۱۹۶/۲ ± ۱۰/۳ ^c	گلوکز
۰/۰۰۲	۶۴۰/۷ ± ۱۷/۱ ^c	۴۹۳/۱ ± ۱۰/۷ ^b	۴۰۰/۶ ± ۸/۱ ^a	۳۶۸/۱ ± ۷/۹ ^d	۳۰۹/۴ ± ۷/۸ ^c	کلسترول
۰/۰۰۲	۴۹۸/۷ ± ۱۳/۲ ^c	۴۲۵/۱ ± ۱۱/۳ ^b	۳۳۷/۷ ± ۷/۸ ^a	۲۷۶/۲ ± ۶/۶ ^d	۲۰۰/۳ ± ۴/۱ ^c	تری گلیسیرید
۰/۰۰۰۱	۱۴۳/۱ ± ۱۴/۸ ^c	۹۱/۵ ± ۸/۴ ^a	۹۷/۴ ± ۷/۹ ^a	۸۰/۱ ± ۵/۷ ^b	۷۰/۶ ± ۴/۲ ^b	کلسترول تراکم بالا (HDL)
۰/۰۰۰۳	۲۳۱/۶ ± ۲۳/۲ ^d	۲۰۹/۴ ± ۱۶/۹ ^b	۱۷۳/۶ ± ۱۱/۴ ^a	۱۲۸/۴ ± ۶/۵ ^c	۱۲۰/۱ ± ۴/۲ ^c	AST
۰/۰۰۲	۱۳۷/۱ ± ۶/۹ ^d	۱۰۰/۷ ± ۷/۴ ^b	۸۶/۷ ± ۳/۶ ^a	۶۳/۲ ± ۴/۷ ^c	۴۵/۵ ± ۳/۹ ^c	ALT
۰/۰۰۱	۵۴۸/۹ ± ۱۸/۴ ^d	۴۴۸/۱۰ ± ۰/۱۷ ^b	۳۸۵/۷ ± ۶/۴ ^a	۲۹۸/۴ ± ۶/۴ ^c	۳۲۴۸ ± ۹/۱ ^c	ALP
۰/۰۰۳	۲/۸ ± ۱/۳ ^c	۲/۱ ± ۱/۱ ^b	۱/۶ ± ۰/۹ ^a	۱/۳ ± ۰/۸ ^c	۱/۱ ± ۰/۶ ^d	بیلی روبین توتال
۰/۰۰۳	۰/۶ ± ۰/۲ ^d	۰/۵۸ ± ۰/۷ ^a	۰/۵۱ ± ۰/۴ ^a	۰/۴۸ ± ۰/۶ ^c	۰/۴۱ ± ۰/۳ ^b	بیلی روبین مستقیم
۰/۰۰۴	۵/۶ ± ۱/۳ ^c	۲/۶ ± ۱/۸ ^b	۴/۸ ± ۱/۷ ^a	۴/۶ ± ۱/۶ ^d	۳/۹ ± ۱/۴ ^c	آلبومین

می شود و سینوزوئیدها متسع و پر از التهاب می باشند. بی نظمی زیادی در صفحات سلول کبدی (رشته رمارک) مشاهده می شود. هم چنین، تجمع سلول های تک هسته ای (لنفوسیت) در سلول های هیپاتوسیت به طور گسترده مشاهده می شود. در گروه مداخله بدون گاوآژ β -sitosterol التهاب کمی در اطراف ورید مرکزی و التهاب نسبتاً زیادی در درون سینوزوئیدها مشاهده می شود و سینوزوئیدها تقریباً متسع و پر از التهاب می باشند. بی نظمی هایی در صفحات سلول کبدی (رشته رمارک) مشاهده می شود. هم چنین، تجمع

میزان آلبومین در خون نمونه شاهد (گاوآژ نرمال سالین) و در گروه مداخله بدون گاوآژ β -sitosterol، گروه مداخله با گاوآژ 30 β -sitosterol، گروه مداخله با گاوآژ 45 β -sitosterol و گروه مداخله با گاوآژ 60 sitosterol میلی گرم بر کیلوگرم نشان داده شد بالاترین میزان آلبومین در نمونه شاهد مشاهده می شود که به طور معنی داری بالاتر از نمونه های دیگر بود ($P \leq 0/05$) (شکل ۱). همان طور که از شکل ۱ پیداست، در گروه شاهد (گاوآژ نرمال سالین) التهاب گسترده ای در اطراف ورید مرکزی و در درون سینوزوئیدها مشاهده

متابولیت‌های لیپید کبد و گردش خون در شرایط زنده دارد. این محققین بیان کردند که جیره حاوی ۸ درصد روغن گردو باعث کاهش تری گلیسیرید در کبد شد در حالی که مقادیر تری گلیسیرید سرم خون در زمان گرسنگی در رت های چاق افزایش یافت (۱۱). نتایج حاصل از تحقیق حاضر در مورد تأثیر β -sitosterol بر روی رت های دیابتی با مطالعات گذشته مطابقت دارد. برای مثال، مطالعه ای نشان داد که تیمار رت های دیابتی با β -sitosterol باعث جلوگیری از گسترش دیابت و هم چنین تسکین مشکلات ناشی از دیابت به همراه بیماری های دیگر از قبلی آرتریت می شود (۱۳). هم-چنین در این مطالعه مشخص شد که β -sitosterol باعث افزایش در جذب گلوکز در سلول های چربی شده و باعث تحریک ساخت چربی در سلول های اولیه چربی در حال تمایز می گردد. در مقابل، β -sitosterol باعث القاء لیپولیز در سلول های چربی می شود. در نتیجه می-توان بیان کرد که گاوآژ روغن خالص گردو غنی شده با غلظت های مختلف β -sitosterol منجر به ممانعت از تراوش این آنزیم ها از سلول های داخلی و در نتیجه پایداری غشای سلولی شده است. نتایج هیستوپاتولوژی بر روی رت های دیابتی نشان دهنده التهاب در ساختار لبول های کبدی بود به نحوی که ارتشاح (تجمع و رسوب) سلول های تک هسته ای و ازدیاد سلول های کوپفر و هم چنین خروج سلول های کوپفر از جدار سینوزوئیدها در مقاطع بافتی کبد مشاهده گردید و در اطراف ورید مرکزی نیز تجمع سلول های کوپفر و سلول های تک هسته ای دیده شد. نمونه های بافتی در این مطالعه، بی نظمی هایی را در ساختار صفحات سلول های کبدی (حضور رشته رماک) و گسترش ورید مرکزی در لبول کبدی گروه دیابتی نشان داد. این تغییرات هیستوپاتولوژیکی در کبد در اثر دیابت در مطالعات گذشته نیز مشاهده شده (۱۹) و در نتیجه با نتایج

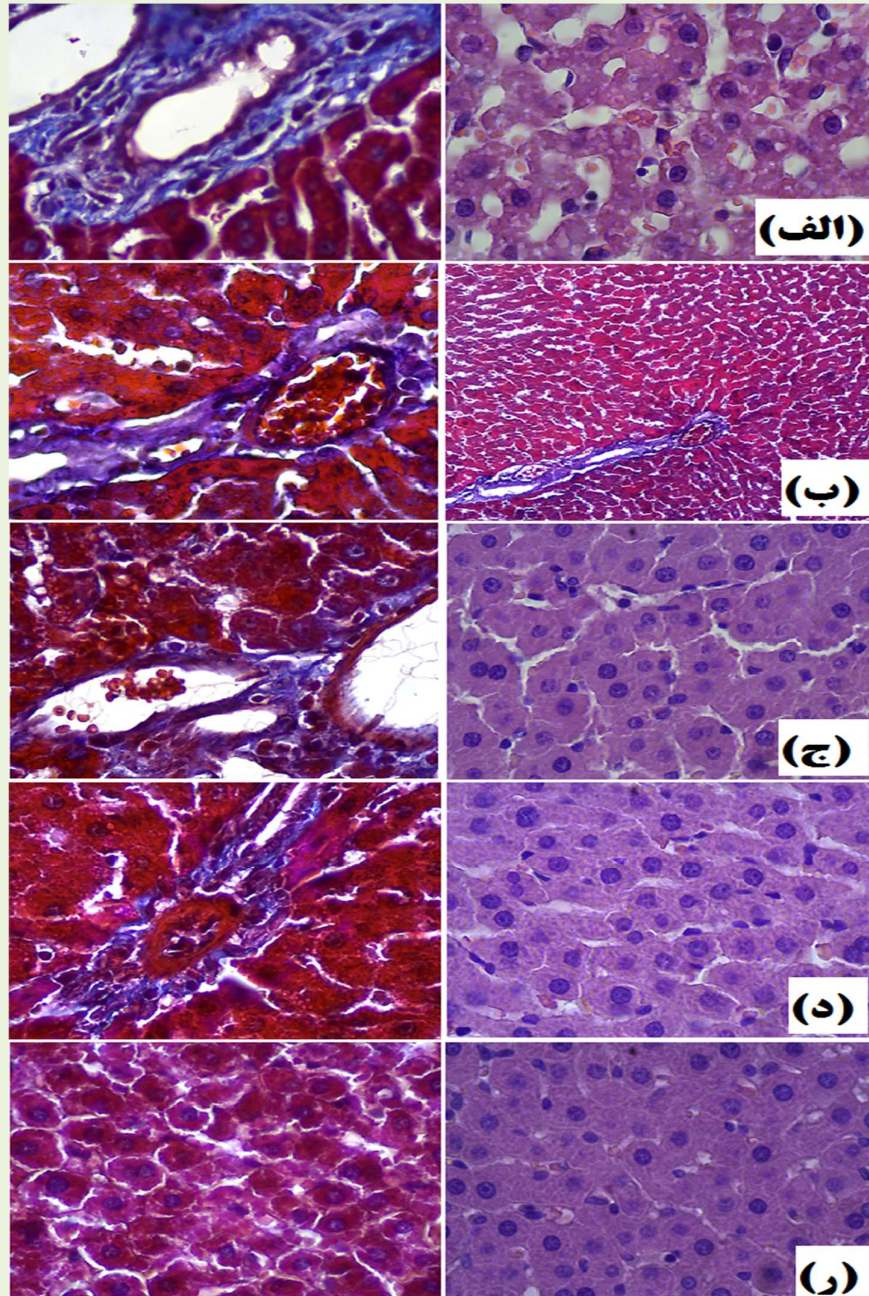
سلول های تک هسته ای (لنفوسیت) در سلول های هپاتوسیت نیز مشاهده می شود. در گروه مداخله با گاوآژ β -sitosterol 30، التهاب کمی در اطراف ورید مرکزی و هم چنین در درون سینوزوئیدها مشاهده می شود و سینوزوئیدها هم چنان کمی متسع و ملتهب می باشند. هم چنین بی نظمی های اندکی در صفحات سلول کبدی (رشته رماک) نیز مشاهده می شود ولی تجمع سلول های تک هسته ای (لنفوسیت) در سلول های هپاتوسیت مشاهده نمی شود. با افزایش غلظت β -sitosterol؛ التهاب در اطراف ورید مرکزی و هم چنین در درون سینوزوئیدها را به میزان زیادی کاهش یافته و سینوزوئیدها فقط به میزان ناچیزی متسع و ملتهب می باشند. هیچ گونه بی نظمی خاصی در صفحات سلول کبدی (رشته رماک) و هم چنین تجمع سلول های تک هسته ای (لنفوسیت) در سلول های هپاتوسیت مشاهده نمی شود.

بحث و نتیجه گیری

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که گاوآژ روغن خالص مغز گردو که غنی از اسیدهای چرب چندغیراشباعی و ترکیبات مفید دیگر است باعث بهبود وضعیت در رت های دیابتی شده است. این یافته با نتایج تحقیقات دیگر همخوانی دارد. برای مثال، Mayyas و همکاران بیان کردند که روغن های غنی از اسید چرب های چندغیراشباعی باعث کاهش استرس اکسیداتیو شده و در نتیجه می توان از آن ها در مبتلایان به دیابت به منظور کاهش خطر ابتلا به بیماری های قلبی عروقی استفاده نمود (۲۰). هم چنین رحیمی و همکاران بیان کردند که مصرف روغن گردو به طور معنی داری باعث کاهش گلوکز خون و بسیاری از دیگر شاخص های خونی در رت های دیابتی شده است (۲۲). در مطالعه ای دیگر، Fink و همکاران به این نتیجه رسیدند که کیفیت و کمیت لیپیدهای غذایی به طور متمایزی بر روی

های کبدی رت های دیابتی در اثر تجویز روغن گردوی غنی شده، باعث جلوگیری از ارتشاح تک هسته ای ها و تکثیر سلول های کوپفر در اطرف ورید مرکزی گردید.

تحقیق حاضر هم خوانی دارند. به نظر می رسد که روغن خالص گردو غنی شده با β -sitosterol در تحقیق حاضر از تغییرات پاتولوژیک ایجاد شده در رت های دیابتی ممانعت به عمل آورد به طوری که ساختار بافتی لبول-



شکل ۱- نمای ریزبینی از بافت کبد یک موش صحرائی متعلق به

(الف) گروه شاهد (گاواژ نرمال سالین)، (ب) گروه مداخله بدون گاواژ β -sitosterol، (ج) گروه مداخله با گاواژ β -sitosterol ۳۰، (د) گروه مداخله با گاواژ β -sitosterol ۴۵ و (ه) گروه مداخله با گاواژ β -sitosterol ۶۰ میلی گرم بر کیلوگرم با رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین (راست) و تریکروم (چپ)

غنی کردن روغن با β -sitosterol اضافی باعث افزایش اثر محافظتی آن می شود؛ اثر محافظتی روغن هم به خاطر β -sitosterol و هم به خاطر ترکیبات روغن است؛ و روغن گردو بر روی آنزیم های کبدی رت های نر دیابتی، اثر محافظتی دارد. در نتیجه می توان بیان کرد که علی رغم اثرات مثبت روغن خالص گردو در کنترل دیابت و بهبود اثرات ناشی از آن در رت های دیابتی، غنی سازی این روغن با β -sitosterol به طور قابل ملاحظه ای اثرات آن را بیشتر می کند و در نتیجه می توان عنوان کرد که روغن غنی شده با β -sitosterol را می توان به عنوان یک ترکیب مفید برای کنترل دیابت پیشنهاد نمود.

هم چنین تیمار رت های صحرایی با روغن خالص گردو غنی شده با β -sitosterol، بی نظمی در صفحات سلول کبدی و رشته رماک را کاهش داد و شکل ظاهری سینوزوئیدها را به حالت طبیعی خود برگرداند. این تغییرات بافتی مثبت علاوه بر جلوگیری از التهاب، نظم و آرایش صفحات سلول های کبدی و شکل ظاهری سینوزوئیدها در رت های دیابتی را به حالت نرمال برگرداند. بدین ترتیب، می توان بیان کرد که تمامی فرضیات تحقیق مورد تأیید قرار می گیرد. بر این اساس، نتایج حاصل از این مطالعه تأیید می کند که وجود β -sitosterol به عنوان آنتی اکسیدان در روغن مغز گردو دارای تأثیر محافظتی در رت های نر دیابتی می باشد؛

منابع

- تغییرات بافتی پانکراس در موش صحرایی دیابتی شده و نرمال. طب جنوب، جلد ۱۵، شماره ۴، صص ۳۰۲-۲۹۳.
5. Adeloje, D., Ige, J.O., Aderemi, A.V., Adeye, N., Amoo, E.O., Auta, A., et al. (2017). Estimating the prevalence, hospitalisation and mortality from type 2 diabetes mellitus in Nigeria: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open*, 7(5):e015424.
6. Al-Aboudi, A., Afifi, F.U. (2011). Plants used for the treatment of diabetes in Jordan: a review of scientific evidence. *Pharmaceutical Biology*, 49(3);221-39.
7. Chiva-Blanch, G., Arranz, S., Lamuela-Raventos, R.M., Estruch, R. (2013). Effects of wine, alcohol and polyphenols on cardiovascular disease risk factors: evidences from human studies. *Alcohol and Alcoholism*, 48(3); 270-7.
8. Colberg, S.R., Sigal, R.J., Yardley, J.E., Riddell, M.C., Dunstan, D.W., Dempsey, P.C., et al. (2016). Physical activity/exercise and diabetes: a position statement of the American Diabetes Association. *Diabetes care*. 39(11); 2065-79.

- ۱-پرسا، س.، عزیزاده، م.، قهرمان نژاد، ن. ۱۳۹۶. تشخیص تقلبات روغن سویا در روغن کنجد بوسیله آنالیز پروفیل کروماتوگرام گازی مواد فرار روغن به روش ریز استخراج فاز جامد از فضای فوقانی با فیبرپلمری نانو ساختار. *مجله علوم و صنایع غذایی*، دوره ۱۴، شماره ۶۷، صص ۲۸۴-۲۷۵.
- ۲-زنگنه، ا.، زنگنه، م.م.، گودرزی، ن.، نجفی، ف.، حق نظری، ل. ۱۳۹۷. اثرات حفاظتی عصاره آبی تیغه میانی میوه گردو بر هیپوتوپاتی دیابتی در موش های سوری دیابتی شده با استرپتوزوتوسین. *مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی کردستان*، دوره ۲۳، صص ۳۷-۲۶.
- ۳-عسگری، ص.، رحیمی، پ.، مدنی، ح.، محزون، پ.، کبیری، ن. ۱۳۸۷. اثر عصاره هیدروالکلی برگ خشک گردو (*Juglans regia*) در پیشگیری از دیابت نوع ۱ در موش های صحرایی نر بالغ. *مجله دیابت و متابولیسم ایران* (مجله دیابت و لیپید ایران)، دوره ۷، شماره ۴، صص ۳۷۰-۳۶۳.
- ۴-محمدی، ج.، میرزایی، ع.، عزیزی، ا.، روزبهی، ا.، دلاویز، ح. ۱۳۹۱. تأثیر عصاره هیدروالکلی برگ گردو بر

9. Dehghani, R., Khamechian, T., Vazirianzadeh, B.H.V., Moravvej, S.A. (2012). Toxic effects of scorpion, hemiscorpius lepturus (hemiscorpiidae) venom on mice. The Journal of Animal & Plant Sciences, 22(3); 593-596.
10. Fraser, G.R., Chaves, A.V., Wang, Y., McAllister, T.A., Beauchemin, K.A., Benchaar, C. (2007). Assessment of the effects of cinnamon leaf oil on rumen microbial fermentation using two continuous culture systems. Journal of Dairy Science, 90; 2315-2328.
11. Fink, A., Rüfer, C.E., Le Grandois, J., Roth, A., Aoude-Werner, D., Marchioni, E., et al. (2014). Dietary walnut oil modulates liver steatosis in the obese Zucker rat. European Journal of Nutrition, 53(2); 645-60.
12. Ghorbani, M., Shiravi, A., Vaezi, G., Sepehri, H., Hojati, V., Khorri, V. (2019). A non-insulin herbal treatment to improve liver tissue in diabetic rats through gavage of walnut oil enriched with a phytosterol. Cogent Biology, 5(1); 1-13.
13. Gupta, R., Sharma, A.K., Dobhal, M., Sharma, M., Gupta, R. (2011). Antidiabetic and antioxidant potential of β -sitosterol in streptozotocin-induced experimental hyperglycemia. Journal of Diabetes, 3(1); 29-37.
14. Hardman, W.E. (2014). Walnuts have potential for cancer prevention and treatment in mice. The Journal of Nutrition, 144(4); 555S-60S.
15. Iglesias, M.M.R., Grajeda, D.M.V., Parra, M.F., Aguilera, A.A., Galindo, H.S.G. (2019). Conjugated linoleic acid supplemented diet influences serum markers in orchidectomized sprague dawley rats. European Journal of Lipid Science and Technology, 12(3); 1900098.
16. Jenkins, D.J., Kendall, C.W., Augustin, L.S., Mitchell, S., Sahye-Pudaruth, S., Mejia, S.B., et al. (2012). Effect of legumes as part of a low glycemic index diet on glycemic control and cardiovascular risk factors in type 2 diabetes mellitus: a randomized controlled trial. Archives of Internal Medicine, 172(21); 1653-60.
17. Kuppasamy, U.R., Arumugam, B., Azaman, N., Jen Wai, C. (2014). *Leucaena leucocephala* fruit aqueous extract stimulates adipogenesis, lipolysis, and glucose uptake in primary rat adipocytes. The Scientific World Journal, 2014; Article ID 737263, 8 pages.
18. Kwo, P.Y., Cohen, S.M., Lim, J.K. (2017). ACG clinical guideline: evaluation of abnormal liver chemistries. American Journal of Gastroenterology, 112(1); 18-35.
19. Mahmoud, M.F., Sakr, S.M. (2013). Hepatoprotective effect of bee propolis in rat model of streptozotocin-induced diabetic hepatotoxicity light and electron microscopic study. Life Sci J., 10; 2048-54.
20. Mayyas, F., Jaradat, R., Alzoubi, K. (2018). Cardiac effects of fish oil in a rat model of streptozotocin-induced diabetes. Nutrition Metabolism and Cardiovascular Diseases, 28(6); 592-9.
21. Mollica, A., Zengin, G., Locatelli, M., Stefanucci, A., Macedonio, G., Bellagamba, G., et al. (2017). An assessment of the nutraceutical potential of *Juglans regia* L. leaf powder in diabetic rats. Food and Chemical Toxicology, 107; 554-64.
22. Rahimi, P., Kabiri, N., Asgary, S., Setorki, M. (2011). Anti-diabetic effects of walnut oil on alloxan-induced diabetic rats. Afr J Pharm Pharmacol, 5(24); 2655-61.
23. Salimi, A., Ahmadi, R., Khezerloo, J.K. (2017). Assessment of biochemical parameters after exposure to ultrasound waves; an in vivo study. Biomedical Research, 28(1); 13-21.
24. Selvaraj, V.K., Jayabal, M., Subramaniam, M., Shivalingiaya, J., Ramanathan, R. (2019). Classical autonomic function tests in type 2 diabetes mellitus patients with different HbA1c levels: A comparative study. Indian Journal of Clinical Anatomy and Physiology, 6(1); 23-6.
25. Shukitt-Hale, B., Miller, M.G., Chu, Y.F., Lyle, B.J., Joseph, J.A. (2013). Coffee, but not caffeine, has positive effects on cognition and psychomotor behavior in aging. Age, 35(6); 2183-92.
26. Taha, N.A., Al-wadaan, M.A. (2011). Utility and importance of walnut, *Juglans regia* Linn. A. African Journal of Microbiology Research, 5(32); 5796-805.
27. Vashist, S.K., Luong, J.H. (2017). Diabetes: a growing epidemic and the need for point-of-care testing. Point-of-care Glucose Detection

for diabetic monitoring and management. CRC Press, p;11-28.

28. Willis, L.M., Bielinski, D.F., Fisher, D.R., Matthan, N.R., Joseph, J.A. (2010). Walnut extract inhibits LPS-induced activation of BV-2 microglia via internalization of TLR4: possible involvement of phospholipase D2. *Inflammation*, 33(5);325-33.

29. Willis, L.M., Shukitt-Hale, B., Cheng, V., Joseph, J.A. (2008). Dose-dependent effects of walnuts on motor and cognitive function in aged rats. *British Journal of Nutrition*, 101(8);1140-

30. Winograd, M. (2017). Understanding the Predictors of posttraumatic growth among those with a history of a reproductive trauma. Seton Hall University Dissertations and Theses (ETDs). 2319.

31. Xia, H., Dufour, C.R., Giguère, V. (2019). $ERR\alpha$ as a bridge between transcription and function: role in liver metabolism and disease. *Frontiers in endocrinology*, 10; 206-215.

32. Yang, J. (2009). Brazil nuts and associated health benefits: A review. *LWT-Food Science and Technology*, 42(10);1573-1580.

33. Zhou, B.Lu. Y., Hajifathalian, K., Bentham, J., Di Cesare, M., Danaei, G., et al. (2016). Worldwide trends in diabetes since 1980: a pooled analysis of 751 population-based studies with 4·4 million participants. *The Lancet*, 387(10027);1513-1530.

34. Zhou, R., Fan, X., Schnabl, B. (2019). Role of the intestinal microbiome in liver fibrosis development and new treatment strategies. *Translational Research*, 209; 22-38.



The Effect of β -Sitosterol Enriched Walnut Oil on Blood Indicators and Liver Function of Diabetic Rats

M. Ghorbani¹, A. Shirvi², Gh. H. Vaezi³, V. Hojjati⁴, H. Sepehri⁵

1. Department of Biology, Damghan Branch, Islamic Azad University, Semnan, Iran.

2. Associate Professor, Department of Biology, Damghan Branch, Islamic Azad University, Semnan, Iran.

Shiravi738@yahoo.com

3. Professor, Department of Biology, Damghan Branch, Islamic Azad University, Semnan, Iran.

4. Associate Professor, Department of Biology, Damghan Branch, Islamic Azad University, Semnan, Iran.

Associate Professor, Gorgan University of Medical Sciences, Golestan, Iran.

Received: 2020.17. 5

Accepted: 2020.20.12

Abstract

Introduction & Objective: Problems and complications associated with liver enzyme changes can be regarded as some effects of Diabetes Mellitus. Using a nutritional approach is a significant part of the prevention, control and treatment process. The aim of this study was to investigate the effect of walnut oil enriched with beta-sitosterol on blood parameters of liver function in diabetic rats.

Material and Method: The study sample consisted of 30 mice divided into 5 groups of 6 rats, where each group was kept in a separate cage. Five treatments were considered in this experiment, where control group received normal saline, the second treatment were given pure walnut oil without the addition of β -sitosterol and the other three groups were gavaged with 30, 45, 60 mg / kg β -sitosterol. After 4 weeks of gavage, the next stage of blood sampling was performed. Insulin and blood glucose were measured after blood serum separation along with the measurement of blood factors such as cholesterol, triglyceride, high-density cholesterol (HDL), aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), alkaline phosphatase (ALP), total bilirubin, direct bilirubin, and albumin.

Results: Significant differences existed among the mean values of the tests in the control group and the intervention groups without, with 30 mg/kg, with 45 mg/kg, and with 60 mg/kg β -sitosterol. These significant differences among the treatments were seen in mean fasting blood sugar, cholesterol, triglyceride, high-density cholesterol (HDL), total aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), alkaline phosphatase (ALP), total bilirubin, direct bilirubin, and albumin.

Conclusion: β -sitosterol-enriched walnut oil can be regarded as a helpful option to control diabetes.

Keywords: Diabetes, β -Sitosterol, Walnut Oil, Liver.