بررسی اثرات خواص ضد دیابتی عصاره هیدروالکلی گل نر گردو بر آنزیم‌های کبدی در موش‌های صحرایی نر بالغ دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین

سید ابراهیم حسینی* و کاظم کریم‌زاده

دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، گروه زیست شناسی، فارس، ایران

مسئول مکاتبات: Ebrahim.hossini@yahoo.com

چکیده

دیابت یک ناهنجاری متابولیکی ناشی از نقص در ترشح یا کارکرد انسولین می باشد. گردو ماده‌ای مغذی است که در طب سنتی برای درمان دیابت نیز کاربرد دارد. این تحقیق به بررسی اثر بخشی گل نر گردو بر دیابت و عوارض کبدی آن می‌پردازد. در این پژوهش از 80 سر رت نر ۲۰۰ تا ۲۲۵ گرمی، در۳ گروه کنترل، دیابتی و غیردیابتی استفاده شد. گروه کنترل ۸ سر. گروه دیابتی شده و غیر دیابتی هر کدام ۳۲ سر که هر یک از این گروه‌ها خود به ٤ دسته ۸ تایی تقسیم می‌گردند: (الف) گروه شم، (ب) گروه تجربی با دریافت ۲g/kg عصاره، (ج) با دریافت ٤g/kg عصاره، (د) با دریافت ٦g/kg عصاره. ۸ سر موش هم جهت تعیین دوز کشنده (LD50) استفاده شد. برای ایجاد دیابت به صورت IP از ٦۰ mg/kg استرپتوزوتوسین (STZ) استفاده گردید. موش‌ها به مدت ۱۵ روز و به صورت تک دوز توسط عصاره تیمار شدند و در پایان روز پانزدهم از طریق داخل بطنی از حیوانات خونگیری شده و سپس با استفاده از کیت‌های تشخیصی سطوح سرمی قند خون و آنزیم‌های کبدی اندازه‌گیری گردید. نتایج نشان داد که عصاره هیدروالکلی گل نر گردو باعث ایجاد کاهش معنی‌داری در سطوح سرمی گلوکز و آنزیم‌های ASAT وALP درگروهای دیابتی نسبت به گروه‌های غیردیابتی تیمار شده می‌گردد. در این پژوهش تأثیر مفید عصاره هیدروالکلی گل نر گردو به دلیل مهار آسیب کبدی و کاهش میزان قند خون، بصورت غیروابسته به دوز، در گروه‌های تجربی دیابتی مشاهده گردید.

کلمات کلیدی : دیابت، عصاره هیدروالکلی، گل نر گردو، موش صحرایی، آنزیم‌های کبدی، استرپتوزوتوسین

مقدمه

دیابت شیرین شامل گروهی از اختلالات متابولیک شایع می‌باشد که با هیپر گلیسمی همراه است [۸]. بیماری دیابت به دلیل کاهش ترشح انسولین و یا مقاومت سلول‌های بدن در برابر انسولین ایجاد می‌شود و تغییرات مشخصی را در متابولیسم درون سلولی در بسیاری از بافت‌های بدن از جمله کبد ایجاد می‌کند که یکی از مهمترین این تغییرات افزایش سطح آنزیم‌های ALAT و ASAT در سرم خون افراد دیابتی می‌باشد [۲۲ و ۳٤]. دیابت نوع ۲ همراه با مقاومت به انسولین می‌باشد که یک سیر تدریجی داشته و با اضافه وزن و چاقی آغاز می‌شود و در این بیماری تعداد گیرنده‌های انسولینی در بافت‌های مختلف بدن به ویژه کبد، عضلات اسکلتی و بافت چربی کاهش می یابد و منجر به راه اندازی آبشاری از اختلالات می‌گردد که به

عنوان سندرم متابولیک نامیده می‌شود [۸ و ۱۷]. کبد طی روندهای بیوترانسفورماسیون، داروها و متابولیت-های با منابع خارجی و یا داخلی را طی واکنش‌های آنزیمی به ویژه ترانس‌آمینازها را غیرفعال می‌کند که در ارتباط با برخی داروها، منجر به تشکیل فراورده‌های سمی می‌شود که در خود کبد نیز باعث بروز اختلالاتی می‌گردد و بنابراین میزان فعالیت ترانس آمینازها بازتابی از شدت نکروز و آسیب کبدی می‌باشد [۳۳]. در ضایعات مزمن سلول‌های کبدی ایزو آنزیم ASAT که در سیتوپلاسم و میتوکندری سلول‌های کبدی وجود دارد در پلاسما افزایش می‌یابد و همچنین در دیستروفی عضلانی و بیماری‌های کلیوی نیز سطوح سرمی این آنزیم بالا می‌رود [۱٤]. آنزیم ALAT یکی دیگر از آنزیم های اختصاصی سلول‌های کبدی است که در ارزیابی نحوه عملکرد سلول‌های کبدی اختصاصی‌تر و حساس‌تر از آنزیم ASAT است و میزان افزایش آن در ابتدای ضایعات بیشتر از ASAT است [۱۵]. در عارضه کبد چرب که بیشتر به دلیل مصرف الکل، دیابت ملیتوس و چاقی ایجاد می‌شود در میزان آنزیم‌های ASAT و ALAT افزایش خفیف تا متوسط مشاهده می‌گردد [۲۳ و ۳۵]. آنزیم الکالین فسفاتاز ALP آنزیمی موجود در غشاء سلول‌ها می‌باشد و ایزو آنزیم-های آن در بافت‌های استخوانی، روده، جفت و کبد شناسایی شده است و در افراد بالغ ALP موجود در سرم بیشتر با منبع کبدی است و در بیماری های کبدی، صفراوی و استخوانی اندازه‌گیری آن دارای اهمیت است [۳]. استرپتوزوتوسین (STZ) یک ترکیب nitrosurea است و به عنوان یک عامل مولد دیابت در حیوانات تجربی به حساب می‌آید [۲۸]. STZ از طریق واکنش-های آلکیلاسیون باعث شکسته شدن DNA در سلول-های بتای پانکراس و مرگ آنها می‌شود که همراه با آن موجب تولید Reaction Oxygen (ROS) Species نیز می‌شود و ROS نیز واسطه اعمال سیتوتوکسیتی STZ به حساب می‌آید [۱ و ۲۸]. STZ از طریق تخریب غشای سلول‌های بتا منجر به مرگ و میر آنها می‌شود [۳۲]. بر اساس مطالعات انجام شده بهترین دوز تجویز درون صفاقی STZ جهت القاء دیابت در موش‌های صحرایی 55mg/kg تا ٦٥mg/kg می‌باشد [۱۲]. گردو (*Juglans regia*) علاوه بر مصارف تغذیه‌ای در طب سنتی نیز کاربرد دارد و از برگ های آن برای درمان دردهای روماتیسمی، تب، دیابت، کم خونی و بیماری های تنفسی استفاده می‌شود [۱۸]. از ریشه آن برای درمان دیابت و از مغز گردو به خاطرداشتن امگا ۳ برای تقویت حواس و مغز و قوای جنسی استفاده می‌شود [۹ و۱۰]. حدود ۱۵ ٪ از چربی-های گردو از نوع چربی‌های غیراشباع و مفید برای سلامت قلب می‌باشد [۲۰] و باعث افزایش (HDL یا High-density lipoproteins) و کاهش (LDL یا Low-density lipoproteins) می‌گردد [۲۹]. مطالعات اپیدمیولوژیک نشان دهنده آن است که آمار بیماران دیابتی از ۱۵۰میلیون نفر در سال ۲۰۰۰ به حدود ۳۰۰ میلیون نفر در سال۲۰۳۰ در سراسر جهان خواهد رسید [۱۰] و درحال حاضر به ازای هر ۱۰ ثانیه یک نفر در جهان به دلیل عدم آگاهی از دیابت و روش کنترل آن، جان خود را از دست می‌دهد و چنانچه اقدام مؤثری در ارتباط با بیماری دیابت صورت نگیرد طی۱۰ سال آینده بیماری‌های مرتبط با آن به میزان بیش از ۵۰٪ افزایش خواهد یافت [۲ و ۲۷] و از آن جا که استفاده از انسولین و داروهای کاهنده قند خون دارای عوارض نامطلوب متعددی نظیر افزایش چربی، تحلیل بافت

چربی در محل تزریق، بروز شوک هیپوگلیسمیک و اختلالات کبدی بوده و همچنین در دراز مدت بر روندهای ایجاد عوارض ناتوان کننده دیابت تأثیری ندارند [۳٤] و از طرف دیگر با توجه به هزینه‌های بالای دارو درمانی و عوارض جانبی داروهای سنتتیک وهمچنین وجود منع مصرف در برخی از بیماران، نیاز به درمان‌های نوین و مؤثر و با عوارض جانبی کمتر کاملا محسوس است [۱٦] و از آن جا که بخشی از عوارض ناتوان کننده دیابت در دراز مدت به دلیل آسیب هایی است که به بافت کبد وارد می کند [۲۲] و با توجه به آن که تا کنون تحقیقات چندانی در ارتباط با عصاره هیدروالکلی گل نر گردو بر سطوح آنزیم‌های ALAT ، LP، ASAT در موش‌های صحرایی دیابتی و غیردیابتی صورت نگرفته است این پژوهش با هدف بررسی اثرات احتمالی عصاره هیدروالکلی گل نر گردو بر سطوح سرمی این آنزیم‌ها در موش های صحرایی نر بالغ انجام گردید.

مواد و روش کار

آماده‌سازی عصاره به روش پرکولاسیون: گل‌های نر گردوی جمع‌آوری شده از درختان گردو را پس از خشک نمودن در سایه به وسیله آسیاب برقی به طور کامل پودر کرده سپس ۲۰ گرم از پودر حاصل را درون ظرف دستگاه پرکولاسیون ریخته و ۳۰۰ میلی لیتر هیدروالکل ۵۰٪ به آن اضافه گردید و برای مدت ۷۲ ساعت در دمای آزمایشگاه نگهداری شد. سپس شیر دستگاه را باز نموده تا عصاره قطره قطره از قیف جدا کننده عبور کرده و جدا شود. در ضمن این عمل ، حلال مورد استفاده (هیدروالکل ۵۰٪) را به همان صورت قطره قطره و تا زمانی که محلول حاوی عصاره دیگر رنگی از گیاه را نداشته باشد به آن اضافه نموده آن گاه عصاره حاصل را درون دستگاه بن ماری با دمای ۵۰ درجه سلسیوس قرار داده تا الکل محصول بخار شده و به طور کامل غلیظ شود. در ادامه برای آن که عصاره کاملا خشک گردد به مدت ۲٤ ساعت در دستگاه دسیکاتور قرار داده شد.

حیوانات مورد آزمایش: این پژوهش بر روی ۸۰ سر موش صحرایی نر بالغ (Rat) و سالم از نژادwistar با میانگین وزنی ۲۰۰ تا ۲۲۵ انجام گردید. حیوانات مورد آزمایش از خانه حیوانات دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شیرازتهیه شدند، که در یک اتاق مخصوص در دمای ۲±۲۲ درجه سلسیوس و در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری می شدند. حیوانات مورد آزمایش به ۹ گروه ۸ تایی شامل گروهای کنترل، ٤ گروه تجربی دیابتی شده و ٤ گروه تجربی غیردیابتی تقسیم شدند. گروه های تجربی هر کدام به ٤ زیر گروه شاهد با دریافت سرم فیزیولوژیک به عنوان حلال دارو و زیر گروه های دریافت کننده عصاره هیدروالکلی گل نر گردو با دوزهای ۲، ٤ و ٦ گرم بر کیلوگرم وزن بدن تقسیم شدند. کلیه تجویزها برای مدت ۱۵ روز انجام گردید و در طول مدت دوره تحقیق، حیوانات به صورت نامحدود از غذای تهیه شده از کارخانه خوراک پارس دام تهران و آب آشامیدنی شهر شیراز استفاده می کردند . پروتکل این تحقیق بر اساس قوانین بین المللی در مورد حیوانات آزمایشگاهی و در کمیته اخلاق دانشگاه به تصویب رسید. در این پژوهش برای تعیین دوز کشنده عصاره گل نر گردو (LD50) ۸ سر موش صحرایی نر بالغ انتخاب و با تجویز دوزهای مختلف عصاره مشخص گردید که در دوزهای بالا(40g/kg) نیز قادر به کشتن حیوانات

نمی‌باشد. در این مطالعه به منظور دیابتی کردن موش-های صحرایی (Rat) مورد آزمایش، دوز ٦٠mg/kg داروی STZ تهیه شده از Upjohn company (Kalamazoo ,MI, USA) تعیین و عمل تزریق بصورت درون صفاقی (IP) انجام شد [٣]. پس از ٧٢ ساعت، ضمن خون گیری از ناحیه دم حیوانات ، با استفاده از نوار گلوکویاب و دستگاه (Gluco Dr) مدل super sensor ساخت کشور کره جنوبی میزان قند خون آنها اندازه گیری شد. با این حال جهت حصول اطمینان بیشتر مبتنی بر دیابتی بودن موش ها یک هفته بعد از تزریق، خون گیری تکرار گردید و موش-های با قند خون بیش از mg/dl ٣٠٠ در سرم خون (١٦,٦ میلی‌مولار) به عنوان موش های دیابتی در نظر گرفته شدند. کلیه تجویزها به صورت گاواژ و در ساعت ١١ تا ١٢ صبح انجام گردید. ٢٤ ساعت پس از آخرین تجویز و بعد از بی‌هوش نمودن حیوانات به کمک اتر و با شکافتن قفسه سینه آنها و با کمک سرنگ از درون قلب خون‌گیری به عمل آمد . پس از سانتریفوز نمودن نمونه‌های خونی به میزان کافی سرم تهیه و تا زمان اندازه گیری هورمون انسولین و قند خون در دمای 20- درجه سلسیوس در فریزر نگهداری شدند. در این پژوهش برای اندازه‌گیری سطوح سرمی گلوکز و آنزیم-های کبدی ALT, AST, ALP از کیت پارس آزمون (Pars Azmoon Company, Tehran ,Iran) استفاده شد. پس از جمع آوری اطلاعات و داده‌ها با استفاده از برنامه نرم افزاری SPSS ویرایش١٧ و به کمک آزمون تجزیه و تحلیل واریانس یکطرفه (One Way ANOVA) و جهت بررسی گروه‌ها به صورت دو به دو از آزمون تعقیبی توکی (Tukey HSD Test) و Mann-Whitney U استفاده شد. همچنین مرز استنتاج آماری برای اختلاف میانگین‌ها $P<0.05$ در نظر گرفته شده است.

نتایج

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که تجویز خوراکی عصاره هیدروالکلی گل نر گردو با دوزهای ٢ ، ٤ و ٦ گرم بر کیلوگرم وزن بدن در هر روز و برای مدت ١٥ روز به موش‌های صحرایی نر بالغ دیابتی شده در مقایسه با گروه شاهد باعث کاهش معنی دار بر میزان گلوکز خون می گردد ($P=0.001$) در حالی که در موش های غیر دیابتی، عصاره فوق تأثیر معناداری بر میزان قند خون ندارد (جدول ١).

جدول۱ـ مقایسه میانگین سطح گلوکزخون در گروه های دیابتی وغیردیابتی تیمار شده با عصاره نسبت به گروه کنترل

گروه‌های مختلف	انحراف معیار ± میانگین سطح گلوکز سرمی (mg/dl)			
	دیابتی		غیردیابتی	
	روز اول	روز پانزدهم	روز اول	روز پانزدهم
کنترل	142.5 ±16.69	147.5 ±17.52	142.5 ±16.69	147.5 ±17.52
شاهد (شم)	528.12 ±101	673.12 ±92.19	151.25 ±15.06	158.75 ±15.75
تجربی با دوز 2g/kg	744.37 ±100.51	362.5 ±204.78*	156.87 ±8.42	154.37 ±14.5
تجربی با دوز 4g/kg	685.0 ±139.25	*430.0 ±199.74	156.87 ±8.42	160.62 ±9.8
تجربی با دوز 6g/kg	595.0 ±103.92	*356.0 ±151.36	155.62 ±7.76	158.87 ±9.23

*P=0.0001

نتایج حاصل از این بررسی نشان داد کـه دیابـت باعـث افزایش معنی‌دار سطوح سرمی آنزیم ASAT در مقایسه با گروه کنترل شده است (P =0.005) همچنین تجویز خوراکی عصاره هیدروالکلی گل نر گردو برای مدت ۱۵ روز و با دوزهای ۲، ٤ و ٦ گرم بر کیلوگرم وزن بدن به موش های صحرایی نر بالغ دیـابتی شـده در مقایـسه بـا گروه شاهد دیابتی باعث کـاهش سـطوح سـرمی آنـزیم ASAT به ترتیب (P = 0.005)(P = 0.008) و (P = 0.001) می‌گردد (جدول2).

جدول۲ـ مقایسه میانگین سطح سرمی آنزیم ASAT در گروه‌های دیابتی و غیردیابتی تیمار شده با عصاره هیدروالکلی گل نر گردو

گروه های مختلف	انحراف معیار ± میانگین غلظت سرمی آنزیم ASAT (IU/L)	
	دیابتی	غیردیابتی
کنترل	136.25 ±24.61	136.25 ±24.61
شاهد (شم)	⁕177.5 ±14.14	135.62 ±18.61
تجربی با دوز 2g/kg	*135.62 ±29.2	126.87 ±26.04
تجربی با دوز 4g/kg	**137.5 ±30.47	118.12 ±26.17
تجربی با دوز 6g/kg	*** 126.25 ±10.93	121.25 ±24.6

⁕ P = 0.005 ⁕⁕P = 0.008 ⁕⁕⁕P = 0.001

همچنین نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که دیابت تأثیر اندک و غیر معناداری بر افـزایش آنـزیم ALAT در سـرم در مقایـسه بـا گـروه شـاهد داشـته و تجـویز خوراکی عصاره گل نر گردو با دوزهـای ۲، ٤ و ٦ گـرم بر کیلوگرم وزن بدن در هر روز و بـرای مـدت ۱۵ روز فاقد تأثیر معنا داری بر سـطوح سـرمی آنـزیم ALAT در موش‌های صحرایی دیـابتی و غیـر دیـابتی مـی‌باشـد (جدول۳).

جدول۳ـ مقایسه میانگین سطح سرمی آنزیم ALAT در گروه‌های دیابتی و غیردیابتی تیمار شده با عصاره هیدروالکلی گل نر گردو

گروه‌ای مختلف	انحراف معیار ± میانگین غلظت سرمی آنزیم ASAT (IU/L)	
	دیابتی	غیردیابتی
کنترل	63.50 ±2.69	63.50 ±2.69
شاهد (شم)	75.62 ±12.93	59.37 ±6.78
تجربی با دوز 2g/kg	64.37 ±21.94	59.37 ±18.01
تجربی با دوز 4g/kg	72.50 ±17.72	59.37 ±18.01
تجربی با دوز 6g/kg	73.12 ±20.69	62.75 ±16.91

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که دیابـت باعـث افزایش سطوح سرمی آنزیم ALP در موش‌های دیابتی شده در مقایسه با گروه کنترل می‌گردد و همچنین تجویز خوراکی عصاره هیدروالکلی گل نر گردو برای مدت ۱۵ روز و با دوزهای ۲، ٤ و ٦ گرم بر کیلوگرم وزن بدن به موش‌های صحرایی نر بالغ دیـابتی شـده در مقایـسه بـا گروه شاهد دیابتی باعث کـاهش سـطوح سـرمی آنـزیم ALP به ترتیـب (P = 0.004) , (P = 0.006) و (P = 0.057) می‌گردد در حـالی کـه تجـویز عـصاره تـأثیر معنـی‌داری بـر سـطوح سـرمی آنـزیم ALP در موش‌های صحرایی غیر دیابتی ندارد (جدول ٤).

جدول٤ـ مقایسه میانگین سطح سرمی آنزیم ALP در گروه‌های دیابتی و غیردیابتی تیمار شده با عصاره هیدروالکلی گل نر گردو

گروه های مختلف	انحراف معیار ± میانگین غلظت سرمی آنزیم ALP (IU/L)	
	دیابتی	غیردیابتی
کنترل	13.62 ±3.15	13.62 ±3.15
شاهد (شم)	14.12 ±2.93	10.62 ±1.68
تجربی با دوز 2g/kg	* 9.00 ±2.72	9.00 ±1.42
تجربی با دوز 4g/kg	** 9.25 ±2.71	9.25 ±1.75
تجربی با دوز 6g/kg	*** 10.5 ±2.45	8.62 ±1.18

*P = 0.004 **P = 0.006 ***P = 0.057

بحث

کبد که یکی از اهداف اصلی عمل انسولین می‌باشد نقش مهمی در حفظ ثبات سطح گلوکز خون بازی می‌کند و محل اصلی سمیت‌زدایی داروهای مختلف و متابولیت های درون زای بدن می‌باشد و در بیماری دیابت دچار آسیب زیادی می‌گردد. آنزیم‌های ALP، ALAT و ASAT که به مقدار فراوان در کبد وجود دارند، با آسیب سلول‌های کبدی به داخل جریان خون آزاد می‌شوند و افزایش در فعالیت این آنزیم‌ها منعکس کننده آسیب‌های کبدی می‌باشد و در بیماری دیابت نیز به دلیل نکروزه شدن بافت کبدی و احتمالا به دلیل نشت این آنزیم‌ها از سیتوزول سلول‌های کبدی به داخل جریان خون میزان آنها در بیماری دیابت افزایش می‌یابد [٢٦]. دیابت نوع ٢، دیابت غیر وابسته به انسولین است که مهمترین مشخصه آن هیپر گلیسمی مزمن می‌باشد و در نتیجه آن میزان تولید (ROS) Reaction Oxygen Species افزایش می‌یابد به علاوه با افزایش میزان گلایکه شدن آنزیم‌های آنتی اکسیدان، سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز فعالیت آنها در جهت پاکسازی ROS کاهش می‌یابد و افزایش ROS مهمترین عامل ایجاد اختلالات ثانویه دیابتی و علت اصلی آسیب‌های سلولی و بافتی می‌باشد [١٩]، در واقع هیپر گلیسمی ناشی از STZ به عنوان مدل آزمایشگاهی مفیدی برای مطالعه عوامل کاهنده قند خون به شمار می‌آید بدین ترتیب که STZ به صورت انتخابی سلول‌های بتای پانکراس را تخریب کرده و شرایط ایجاد دیابت شیرین و وابسته به انسولین را مهیا می‌کند [٢٦] و از طرف دیگر نقش ROS در ایجاد دیابت و عوارض ناشی از دیابت شیرین القاء شده با STZ نیز روشن شده است [٤]. بنابراین به نظر می رسد که تقویت سیستم آنتی اکسیدانی سلول‌ها در بیماران دیابتی می تواند به عنوان یک عامل مؤثر در کاهش ابتلا به دیابت و همچنین پیشگیری کننده از بروز عوارض ناشی از دیابت

باشد [۵] در واقع آنتی اکسیدان‌ها با جمع‌آوری رادیکال‌های آزاد و واگذاری الکترون به این اکسیدن‌ها باعث غیرفعال شدن آنها می‌شوند و در نتیجه غشاهای سلولی و ترکیبات مختلف موجود زنده را در مقابل اثرات مخرب آنها حفظ می‌کنند [۳۱]. مطالعات نشان داده‌اند که قسمت‌های تازه و سبز رنگ درخت گردو و به ویژه برگ‌های آن حاوی آنتی اکسیدان‌هایی نظیر اسیدهای فنلی و فلانوئیدها و اسید کلروژنیک است [۲٤] که احتمالا با پاکسازی ROS و جمع‌آوری رادیکال‌های آزاد از اختلالات ثانویه دیابتی و آسیب‌های بافتی و سلولی جلوگیری می‌کند که در نتیجه آن سطوح سرمی آنزیم‌هایی نظیر ALP و ASAT کاهش می‌یابد [۱۳]. مطالعات نشان داده‌اند که عصاره هیدروالکلی برگ گیاه گردو به دلیل مهار آسیب کبدی ناشی از دیابت و کاهش میزان سرمی آنزیم‌های ALAT و ASAT می‌تواند در درمان بیماری دیابت و عوارض ناشی از آن مورد استفاده قرار گیرد [۷]. برخی مطالعات نشان داده‌اند که عصاره اتانولی برگ درخت گردو می‌تواند سطوح سرمی گلوکز، کلسترول، تری گلسیرید، ازت اوره، کراتینین و فعالیت آنزیم‌های ALP، ALAT و ASAT را در رت‌های دیابتی شده به طور معنی‌داری کاهش دهند [۱]. برخی مطالعات نشان داده‌اند که عصاره متانولی برگ گیاه گردو باعث کاهش میزان قند خون می‌شود و دارای اثرات بهبود دهنده متعددی در کنترل اختلالات متابولیکی ناشی از دیابت می‌باشد [۳۰]. علاوه بر آن احتمالا به دلیل افزایش نفوذپذیری غشای سلول‌ها در مراحل اولیه تخریب کبد و همچنین افزایش کاتابولیسم پروتئین‌های همراه با گلوکونئوژنز و تشکیل اوره که در بیماری دیابت دیده می‌شود، این ترانس آمینازها در خون افزایش می‌یابند [۳۳]. انسولین باعث سرکوب ژن‌های تولید کننده آنزیم‌های گلوکونئژنیک از جمله ALAT می‌شود و بنابراین در جریان بیماری دیابت که سیگنال انسولین دچار نقص می‌شود تولید ترانس آمینازها و ALAT افزایش می‌یابد که می تواند مستقل از آسیب کبد باشد [۳۳] و با توجه به آن که تحقیقات ما نشان داد که عصاره هیدروالکلی گل نر گردو باعث افزایش هورمون انسولین در موش‌های صحرایی دیابتی شده با STZ می گردد بنابراین کاهش ترانس آمینازها در خون قابل انتظار است . از نتایج حاصل از این تحقیق می توان نتیجه گرفت که با انجام تحقیقات تکمیلی می‌توان از عصاره هیدروالکلی گل نر گردو در جهت بهبود عوارض جانبی بیماری دیابت از جمله در جهت کاهش آنزیم های کبدی ALP و ASAT استفاده نمود.

منابع

1- Bloch KO, Zemel R, Bloch OV, Grief H, Vardi P. (2000), Streptozotocin and alloxan-based selection improves toxin resistance of insulin-producing RINm cells. Int J Exp Diabetes Res, 1:211–219

2- Boyle JP, Honeycutt AA, Arayan KM, Hoerger T, Geiss LS, Chen H, Thompson TJ. (2001), Projection of Diabetes Burden Through 2050: Impact of Changing Demography and Disease Prevalence in the U.S. Diabetes Care, 24:1936-1940.

3- Davis LM, Pei Z, Trush MA, Cheskin LJ, Contoreggi C, McCullough K, et al. (2006), Bromocriptine reduces steatosis in obese rodent modelsd. Hepatol,45(3): 439-44.

4- Diwan H, Abdel-Hassan IA, Mohammed ST. (2000), Effect of saponin on mortality and istopathological changes in mice. Eastern Mediterranean Health Journal, 6(2/3): 345-351.

5- Fukuda, T., Ito, H., Yoshida, T. (2004). Effect of the walnut polyphenol fraction on oxidative stress in type 2 diabetes mice. Biofactors, 21: 251 - 253.

6- Fukuda, T., Ito, H., Yoshida, T. (2004). Effect of the walnut polyphenol fraction on oxidative stress in type 2 diabetes mice. Biofactors, 21: 251 - 253.

7-36- Jelodar.Gholamali. (2007), Effect of Walnut leaf Coriander and pomegranate on blood glucose and histhology of Pancreas of Alloxan Induced Diabetic Rats .Afr. J.Trad.CAM, 4 (3) : 299- 305

8- Kangduk Choi and Young-Bum Kim. (2010), Molecular Mechanism of Insulin Resistance in Obesity and Type 2 Diabetes, DOI, 25(2):119-25

9- Kasper DL, Braunwald E, Fauci AS, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL. (2005), Harrison's Principles of Internal Medicine. 16th ed. McGraw-Hill Companies. USA. pp: 2152 - 80

10- Katzung BG. (2001), Basic and Clinical Pharmacology, 8th ed. McGraw Hill. New York. pp: 542,892, 936.

11- Kaumar S., Harkonen P.L., Arora S., Kaur M. (2003), Studies on correlation of antimutagenic and antiproliferative activities of *Juglans regia* L. Journal Environ. Pathol. Toxicol. Oncol, 2(1): 59

12- Lenzen S. (2008), The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced Diabetes. Diabetologia, 51:216-226

13- Madani H. (2009), Effect of hydroalcoholic extract of *Juglans regia* leaves activity of AST and ALT enzymes in alloxan – induced diabetic rats. Pharmaceutical Sciences, 15(2): 213-218

14- Marchesini G, Bugianesi E, Forlani G, Cerrelli F, Lenzi M, Manini R, et al. (2003), Nonalcoholic fatty liver, steatohepatitis, and the metabolic syndrome. Hepatology, 37: 917-2

15- Nannipieri M, Gonzales C, Baldi S,Posadas R, Williams K, Haffner SM, et al. (2005), Liver enzymes, the metabolic syndrome,and incident diabetes: Mexico

City diabetes study. Diabetes Care, 28:1757-2.

16- Naseri M. (2004), Traditional Iranian Medicine and its development through the guidelines of WHO. Daneshvar, 52: 53- 66.

17- Papoutsi Z, Kassi E, Chinou I, Halabalaki M, Skaltsounis LA, Moutsatsou P. (2008), 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. British Journal of Nutrition, 99:715-22.

18- Pereira J.A., Oliveira I., Sousa A., Valentao P., Andrade P., Ferreira I., Ferreres F., Bento A., Seabra R., M.Estevinho L. (2007), Walnut (Juglans regia) leaves: phenolic compound, antibacterial activity and antioxidant potential of different cultivars. Food and Chemical Toxicology, 45(11): 2287-2295

19- Rahimi R, Nikfar Sh, Larijani B, Abdollahi M.A.(2005), Review on the role of antioxidants in the management of diabetes and its complications. J.Biomed.Phar, 59: 365-73.

20- Sabate´ J, Ang Y. (2009), Nuts and health outcomes: New epidemiologic evidence. Am J Clin Nutr, 89(suppl): 1643S-8S.

21- Seppala-Lindroos A., Vehkavaara S. ,Hakkinen A.M., Goto T., Westerbacka J.,Sovijarvi A., Halavaara J., Yki-Jarvinen H. (2002), Fat accumulation in the liver is associated with defects in insulin suppression of glucose production and serum free fatty acids independent of obesity in normal men. J. Clin. Endocrinol. Metab. 87: 3023-3028

22- Seppala-Lindroos A., Vehkavaara S.,Hakkinen A.M., Goto T., Westerbacka J.,Sovijarvi A., Halavaara J., Yki-Jarvinen H. (2002), Fat accumulation in the liver is associated with defects in insulin suppression of glucose production and serum free fatty acids independent of obesity in normal men. J. Clin. Endocrinol. Metab, 87: 3023-3028.

23- Shibahara S, Kitamuro T, Takahashi K. (2002), Heme degradation and human disease: Diversity is the soul of life. Antioxid Redox Signal, 4(4): 593-602.

24- Solar, A., Colaric, M., Usenik, V., Stampar, F. (2006), Seasonal variations of selected flavonoids, phenolic acids and quinones in annual shoots of common walnut (Juglans regia L.). Plant Science, 453-461.

25- Subramanian V., Waran M., Leelavino Pi. (2002), Antioxident effect of Phaseolus vulgaris in streptozotocin-induced diabetic rats.Asia Pacific J Clin Nutr, 11(3): 206-209.

26- Szkudelski, T. (2001), The mechanism of Alloxan and Streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. Physiological research, 50: 536-546.

27- Suji G, Sivakami S. (2003), Approaches to the treatement of diabetes mellitus: an overview. Cell Mol Biol, 49: 635-9.

28- Szkudelski T. (2001), The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. Physiol Res, 50: 537-546

29- Tapsell LC, Gillen LJ, Patch CS, Batterham، M, Owen A, Bare´ M, Kennedy M. (2004), Including walnuts in a low-fat/modified-fat diet improves HDL cholesterol-to-total cholesterol ratios in patients with type 2 diabetes. Diabetes Care, 27: 2777-2783

30-Teimoori M, Montaser kouhsari Sh, Ghafarzadegan R, Hajiaghaee R, (2010), Antidiabetic effects of *Juglans regia* Leave's Methanolic Extract on Alloxan-induced Male Wisrar Rats, Journal of Medicinal Plants, 9(34): 142-149

31- Vaya, J., Aviram, M. (2002), Nutritional antioxidants: mechanism of action, analyses of activities and medical applications. Current Medicinal Chemistry-Immunology. Endocrine & Metabolic Agents, 1: 99-117.

32- Vessal M, Hemmati M, Vasei M. (2003), Hypoglycemic effects of disease. N Engl J Med. Jan; 356(1): 39-46.

quercetin in streptozocin-induced diabetic rats. Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol, 135C: 357-64.

33- Vozarova B., Stefan N., Lindsay R.S., Saremi A., Pratley R.E., Bogardus C., Tataranni P.A. (2002), High alanine aminotransferase is associated with decreased hepatic insulin sensitivity and predicts the development of type 2 diabetes. Diabetes, 51: 1889–1895.

34- Wandell PE. (2005), 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, 23: 68 – 74.

35- Zanettini R, Antonini A, Gatto G, Gentile R, Tesei S, Pezzoli G. (2007), Valvular heart disease and the use of dopamine agonists for Parkinson's