فصلنامه طبّ جنوب
پژوهشکده زیست-پزشکی خلیج فارس
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر
سال پانزدهم، شماره ۴، صفحه ۳۰۲ - ۲۹۳ (زمستان ۱۳۹۱)

تأثیر عصاره هیدروالکلی برگ گردو بر تغییرات بافتی پانکراس در موش صحرایی دیابتی شده و نرمال

جمشید محمدی[۱و۲]، علی میرزایی[۳]، ارسلان عزیزی[۴]، امرالله روزبهی[۵]، حمدالله دلاویز[۵*]

[۱] مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج
[۲] گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج
[۳] گروه بیوشیمی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج
[۴] گروه پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج
[۵] گروه آناتومی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج

چکیده

زمینه: مطالعات نشان داده که برگ گردو دارای ویژگی‌های کاهش‌دهنده قندخون، کاهش فشار خون و مدر می‌باشد. هدف از مطالعه کنونی بررسی اثرات هیستوپاتولوژیک عصاره هیدروالکلی برگ گردو روی دیابت نوع اول ایجاد شده در موش‌های صحرایی می‌باشد.

مواد و روش‌ها: تعداد ۴۸ سر موش صحرائی نر نژاد ویستار (وزن ۲۰۰- ۱۵۰ گرم و سن شش هفته) به شش گروه ۸ تایی تقسیم گردیدند. **گروه‌های سوم، چهارم، پنجم و ششم دیابتی شدند و پس از ۷۲ ساعت به‌وسیله گلوکومتر میزان گلوکز خون مشخص گردید. پس از ده روز گروه‌های دوم، چهارم و پنجم به‌ترتیب ۴۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم در روز عصاره برگ گردو و گروه ششم گلی‌بن‌کلامید** به‌میزان ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌مدت چهار هفته دریافت نمودند. در ابتدا و در طول دوره آزمایش (هر هفته) میزان قندخون اندازه‌گیری **گردید، سپس با استفاده از هماتوکسیلین و فلوکسین (CHP) اسلایدهای تهیه شده رنگ‌آمیزی و سپس تعداد سلول‌های β و قطر جزایر پانکراس بررسی گردید.**

یافته‌ها: قطر جزایر لانگرهانس و تعداد سلول‌های β در گروه کنترل دیابتی نسبت به گروه کنترل شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش یافته بود. افزایش معنی‌داری در قطر جزایر لانگرهانس و تعداد سلول‌های β در گروه درمان شده با عصاره برگ گردو به‌میزان ۴۰۰ میلی‌گرم نسبت به گروه کنترل دیابتی وجود داشت. نسبت وزن پانکراس به‌وزن بدن در گروه دیابتی به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه‌های درمان شده افزایش **نشان داد.**

نتیجه‌گیری: عصاره هیدروالکلی برگ گردو در برگشت عملکرد سلول‌های β و بهبود جزایر لانگرهانس مؤثر است.

واژگان کلیدی: برگ گردو، دیابت شیرین ، سلول‌های β، موش صحرایی، جزایر لانگرهانس

دریافت مقاله: ۹۰/۵/۵- پذیرش مقاله: ۹۰/۹/۶

* یاسوج، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی

E-mail: hamdidelaviz@yahoo.com

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2024-09-21]

مقدمه

بیماری دیابت شیرین با تغییر متابولیسم کربوهیدرات‌ها، چربی‌ها و پروتئین سبب افزایش گلوکز خون و پیدایش آن در ادرار، افزایش میزان چربی خون می‌گردد و با ایجاد اترواسکلروز همراهی دارد (۱). اگرچه بیماری دیابت ملیتوس به بیماری متابولیسم کربوهیدرات شناخته شده، اما غیرطبیعی بودن متابولیسم لیپید و لیپوپروتئین نیز واضح است. شیوع این بیماری با توجه به تغییرات در شیوه زندگی، مصرف غذاهای پرانرژی، چاقی در جمعیت امروزی دنیا در حال افزایش است. به دنبال کاهش ترشح انسولین از سلول‌های β در دیابت نوع یک غلظت گلوکز خون بالا می‌رود (۲).

در حال حاضر استفاده مؤثری از گیاهان داروئی در جهت درمان بیماری‌ها در جوامع آسیایی و هم‌چنین در دنیا به‌عمل آمده است. اما مکانیسم عمل بیشتر گیاهان مورد استفاده دقیقاً مشخص نشده است (۳). استفاده از گیاهان دارویی به‌تنهایی یا همراه با داروهای تجویزی پزشکان در درمان بیماری‌ها در دست مطالعه است. با افزایش میزان استفاده از گیاهان در درمان بیماری‌ها، نیاز به پژوهش در جهت گرفتن نتایج علمی و بالینی راجع به ویژگی‌های درمانی گیاهان، مکانیسم عمل آنها، مداخله با داروها و شناسایی اثرات نامطلوب احتمالی احساس می‌شود. بسیاری از گیاهان سنتی مانند جین‌سینگ و سیر برای درمان بیماری دیابت نیز مورد استفاده قرار گرفته‌اند (۴).

گیاهان ممکن است از طریق مکانیسم‌های متفاوت روی قندخون عمل کنند. برخی از آنها ممکن است دارای آنزیم انسولین کیناز باشند (۴). بعضی ممکن است فعالیت انسولیناز را مهار کنند (۵) و برخی دیگر ممکن است سبب افزایش تعداد سلول‌های β در پانکراس به‌وسیله بازسازی مجدد این سلول‌ها شوند (۶ و ۷). فیبر گیاهان ممکن است نیز در جذب کربوهیدرات مداخله نموده و از این طریق روی قندخون تأثیرگذار باشند (۸ و ۹). درخت گردو در مناطقی از کشور نظیر فارس، همدان، کهگیلویه و بویراحمد و لرستان وجود دارد و در طب سنتی از ریشه آن برای درمان دیابت، از برگ‌های آن برای درمان دردهای روماتیسمی، تب، دیابت، بیماری‌های پوستی و از گل‌های آن برای درمان مالاریا و دردهای روماتیسمی استفاده می‌شود (۱۰ و ۱۱).

برگ گردو دارای ترکیباتی نظیر اسیدهای فنلی و فلاونوییدها[1] می‌باشد و مهم‌ترین فلاونوئیدهای موجود در برگ گردو کوئرستین گالاکتوزید[2] و مشتق‌های کوئرستین پنتوزید[3]، کوئرستین آرابینوزید[4]، کوئرستین گزیلوزید[5] و کوئرستین رامنوزید[6] می‌باشند (۱۲). مطالعات انجام شده در خصوص تأثیر عصاره برگ گردو بر روی فاکتورهای لیپیدی در موش‌های صحرائی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین نشان داده که میزان فاکتورهای لیپیدی کاهش یافته است (۱۴-۱۲).

همچنین بررسی های پیشین نشان داده که این گیاه دارای اثرات ضددردی و ضدمیکروبی است (۱۵). همچنین مطالعاتی در خصوص اثرات بعضی از گیاهان روی جزایر لانگرهانس در حیوانات آزمایشگاهی انجام گردیده است. با توجه به مطالعات قبلی انجام شده بر روی برگ گردو و ارزیابی اثرات این گیاه روی میزان لیپیدها، قندخون، ضددردی و ضدمیکروبی، مطالعه روی اثرات هیستولوژیکی این گیاه ضروری است. بنابراین هدف از

[1] Flavonoids
[2] Qquercetin Galactoside
[3] Quercetin Pentoside
[4] Quercetin Arabinoside
[5] Xyloside Quercetin
[6] Quercetin Rhamnoside

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2024-09-21]

مطالعه حاضر بررسی اثر عصاره برگ گردو روی قندخون و ساختار بافت پانکراس در موش‌های صحرایی دیابتی شده و نرمال می‌باشد.

مواد و روش‌کار

حیوانات

برای انجام آزمایشات تعداد ۴۸ سر موش صحرائی نر نژاد ویستار (وزن ۲۰۰- ۱۵۰ گرم و سن شش هفته) از حیوان‌خانه دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج تهیه گردید. کمیته اخلاقی حیوانات بر اساس پروتکل استفاده از حیوانات آزمایشگاهی انجام آزمایشات بر روی حیوانات را تأیید نمود. تمام حیوانات در دمای ۵±۲۰ درجه سانتی‌گراد و چرخه نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و رطوبت نسبی ۶۸-۵۰ درصد قرار داده شدند. حیوانات در طول دوره آزمایش دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند. حیوانات مورد آزمایش قبل از تزریق استرپتوزوتوسین[7] و قبل از خونگیری، شبانه در گرسنگی قرار گرفتند، در حالی‌که دسترسی آزاد به آب داشتند.

روش تهیه عصاره گیاهی

برگ‌های گردو از باغ‌های اطراف شهر یاسوج تهیه گردید. برگ‌های بریده شده از گیاه در زیر آب لوله‌کشی شسته شده، سپس طی مدت پنج روز خشک شده و با دستگاه الکتریکی خردکن تبدیل به پودر مناسب گردید. میزان چهار لیتر اتانل ۷۰ درصد به‌عنوان حلال هیدروالکلی، به ۵۰۰ گرم پودر گیاه اضافه شد و به‌مدت ۲۴ ساعت با استفاده از شیکر[8] مخلوط شد. سپس به‌وسیله کاغذ صافی شماره یک فیلتر شد. به رسوب باقیمانده مجدداً حلال هیدروالکلی اتانل اضافه گردید و پس از شیکر مجدداً با استفاده از کاغذ صافی شماره یک فیلتر شد و مجدداً این مراحل برای بار سوم تکرار شد. تمام محلول‌های به‌دست آمده با استفاده از دستگاه روتاری (هیدولف-آلمان) در شرایط خلأ تغلیظ شد. برای تهیه پودر خشک، ماده حاصله به‌مدت چهار روز در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در دستگاه آون قرار گرفت. سپس عصاره به‌دست آمده تا زمان انجام آزمایش در دمای ۲۰-درجه سانتی‌گراد در فریزر نگهداری شد. وزن ماده نهایی حاصل از عصاره‌گیری ۴۳ گرم پودر خشک بود.

طراحی آزمایشات

۱- گروه‌بندی، دیابتی نمودن حیوانات و تجویز دارو

حیوانات با وزن بین ۱۵۰-۲۰۰ گرم به‌طور تصادفی به شش گروه ۸ تایی تقسیم گردیدند. گروه اول شاهد نرمال (I)، گروه دوم شاهد تحت درمان (II)، گروه سوم شاهد دیابتی (III)، گروه چهارم و پنجم دیابتی تحت درمان با عصاره گیاه (IV،V) و گروه ششم دیابتی تحت درمان با گلی‌بن‌کلامید (VI).

برای دیابتی نمودن حیوانات از داروی استرپتوزوتوسین (سیگما-آلمان) به‌میزان ۵۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم حل شده در محلول سیترات بافر با PH=۴/۵ استفاده شد. پس از ۷۲ ساعت از طریق ورید دم خون‌گیری انجام و توسط دستگاه گلوکومتر (ان‌کالپالس-ساخت کشور چین) میزان گلوکز خون اندازه‌گیری شد تا از دیابتی شدن آنها اطمینان حاصل شود. گلوکز خون بالاتر از ۲۵۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر ملاک دیابتی در نظر گرفته شد (۱۶).

پس از ده روز از تزریق استرپتوزوتوسین، روزانه به حیوانات گروه‌های دوم، چهارم و پنجم به‌ترتیب عصاره برگ گردو با دوزهای ۴۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰

[7] Streptozotocin
[8] Shaker

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2024-09-21]

میلی‌گرم بر کیلوگرم و به گروه ششم گلی‌بن‌کلامید به‌میزان ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم رقیق شده با آب مقطر به‌صورت گاواژ داده شد. همچنین گروه‌های اول و سوم روزانه یک میلی‌لیتر آب مقطر دریافت نمودند. تجویز به تمامی گروه‌ها به‌مدت چهار هفته روزانه یک‌بار انجام گرفت و اندازه‌گیری میزان قندخون در طول دوره آزمایش به‌صورت هفتگی انجام گردید. در انتهای دوره آزمایش، حیوانات به‌مدت ۱۲ ساعت از غذا محروم، اما به آب آزاد دسترسی داشتند و در زیر نور با اتر بیهوش شدند. بافت پانکراس در حیوانات تمامی گروه‌ها برداشته و وزن گردید.

۲- مطالعات بافت‌شناسی

بافت‌های پانکراس در نرمال سالین شسته شده و در بوین–هلند ثابت نگه داشته شدند و دهیدراسیون با الکل و در بوین–هلند به‌مدت ۲۰-۱۸ ساعت انجام گرفت. تمامی بافت‌ها تمیز شدند و در گزیلن و پارافین در دمای C^o ۶۰-۵۸ قالب‌گیری شدند. برش‌هایی با ضخامت ۵ میکرون با استفاده از میکروتوم تهیه گردید. اسلایدهای تهیه شده به‌صورت متوالی از پانکراس هر کدام از حیوانات انتخاب شد. سپس رنگ‌آمیزی اسلایدهای تهیه شده با استفاده از هماتوکسیلین و فلوکسین (CHP) انجام گرفت. در حین رنگ‌آمیزی به‌روش CHP اسلایدها در درجات متفاوتی از الکل ۷۰ تا ۱۰۰ درصد جهت دهیدراسیون قرار گرفتند. در نهایت اسلایدها با استفاده از DPX تثبیت گردیدند. اسلایدهای رنگ‌آمیزی شده با استفاده از میکروسکوپ نوری مشاهده شد و یکصد جزیره پانکراس به‌صورت تصادفی از پانکراس هر حیوان انتخاب گردید. سپس با استفاده از میکروسکوپ تحقیقاتی المپیوس از اسلایدهای تهیه شده عکس گرفته، میانگین قطر جزایر و تعداد سلول‌های β در هر جزیره شمارش، ثبت و آنالیز گردید و در پایان میانگین آنها برای هر گروه مشخص گردید. برای اندازه‌گیری قطر جزایر لانگرهانس در میکروسکوپ نوری از عدسی چشمی خاصی که میکرومتر چشمی یا گراتیکول نام دارد، استفاده شد و با بزرگ‌نمایی ۴۰X قطر کوچک و بزرگ هر جزیره برحسب میکرومتر تعیین و قطر میانگین هر جزیره محاسبه و سپس قطر متوسط جزایر مشخص گردید.

آنالیز آماری داده‌ها

داده‌های جمع‌آوری شده با نرم‌افزار SPSS (SPSS USA، Il، Chicago،Inc) ویرایش ۱۳ آنالیز گردید. از نظر آماری تمامی نتایج به‌صورت میانگین ± خطای استاندارد بیان گردید .برای مقایسه نتایج هر پارامتر در هر یک از گروه‌ها قبل و بعد از مداخله از آزمون آنالیز واریانس با اندازه‌گیری مکرر استفاده گردید. در همه آزمون‌ها سطح معنی‌دار ($P<۰/۰۵$) در نظر گرفته شد.

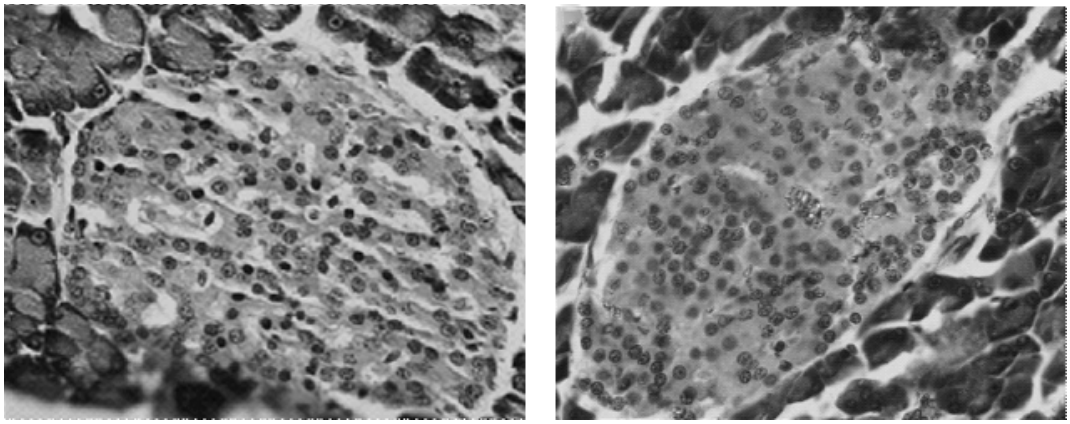
یافته‌ها

اثر هیپوگلیسمی: در این پژوهش میزان گلوکز خون در گروه‌های مورد آزمایش اندازه‌گیری شد. نتایج حاصله نشان داده که پس از چهار هفته تجویز عصاره هیدروالکلی برگ گردو و گلی‌بن‌کلامید در گروه‌های پنجم و ششم میزان گلوکز خون به‌طور معنی‌داری نسبت به‌گروه دیابتی شاهد کاهش یافته است و تفاوت معنی‌داری در میزان قندخون در گروه‌های شاهد و شاهد تحت درمان با عصاره ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وجود ندارد (جدول ۱) ($P<۰/۰۵$).

نتایج بافت‌شناسی: برش‌های رنگ‌آمیزی شده نشان داده که استرپتوزوتوسین موجب تغییرات نکروزی شدید جزایر پانکراس و کاهش اندازه جزایر پانکراس

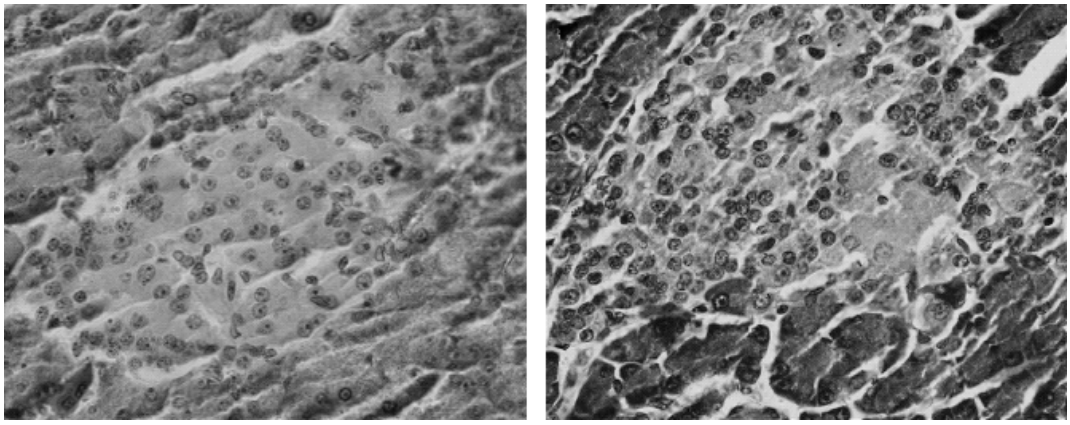
[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2024-09-21]

می‌شود (شکل۲). نشانه‌های بافت شناسی غیرطبیعی به‌طور چشمگیری در گروه‌های درمان شده در مقایسه با گروه شاهد دیابتی کاهش یافته است (شکل ۲ و۳). همچنین نتایج نشان می‌دهد، تغییرات سلولی و ساختاری جزایر لانگرهانس در گروه‌های پنجم و ششم در مقایسه با گروه‌های شاهد نرمال و شاهد تحت درمان تقریباً مشابه می‌باشد (شکل ۱). نمودار ۱ و ۲ قطر متوسط جزایر لانگرهانس و تعداد سلول‌های β را در تمام گروه‌ها نشان می‌دهد. در گروه دیابتی کاهش تعداد سلول‌های β و قطر جزایر لانگرهانس مشاهده شد. قطر جزایر لانگرهانس و تعداد سلول‌های β در گروه شاهد دیابتی نسبت به گروه شاهد نرمال به‌طور معنی‌داری کاهش یافته بود. یافته‌ها نشان داد، افزایش معنی‌داری در اندازه قطر جزایر لانگرهانس و تعداد سلول‌های β در گروه‌های پنجم و ششم در مقایسه با گروه دیابتی شاهد صورت گرفته است (نمودار ۱ و ۲). نتایج نشان داده که تفاوت معنی‌داری در گروه دوم در مقایسه با گروه اول در اندازه قطر جزایر لانگرهانس و تعداد سلول‌های β به‌وجود نیامده است.



الف ب

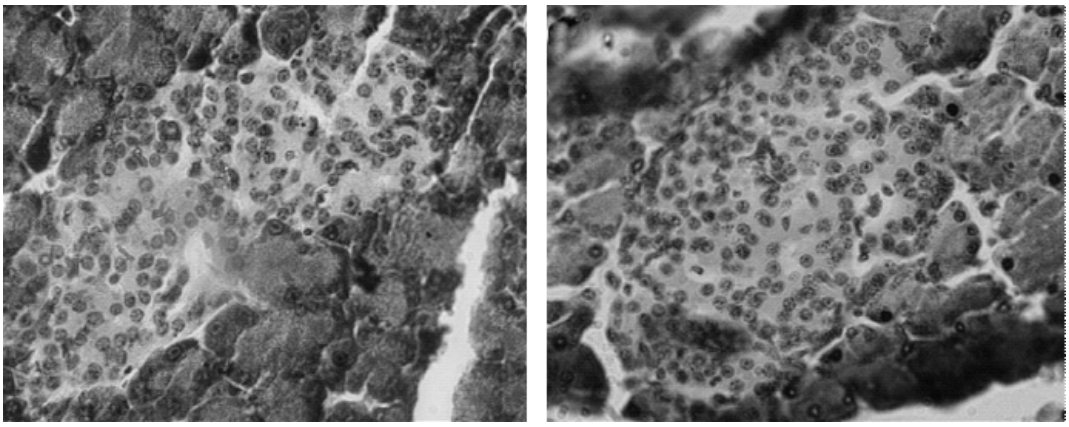
شکل ۱) جزایر لانگرهانس در گروه کنترل (الف) و شاهد تحت درمان (ب)، بزرگ‌نمایی X ۴۰۰، رنگ‌آمیزی CHP



الف ب

شکل ۲) جزایر لانگرهانس در گروه دیابتی شاهد (الف) و دیابتی تحت درمان با گلی‌بن‌کلامید (ب)، بزرگ‌نمایی X ۴۰۰، رنگ‌آمیزی CHP

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2024-09-21]



ب الف

شکل۳) جزایر لانگرهانس در گروه دیابتی تحت درمان با ۲۰۰ میلی‌گرم (الف) و ۴۰۰ میلی‌گرم (ب) عصاره برگ گردو، بزرگ‌نمایی X ۴۰۰، رنگ‌آمیزی CHP

تغییرات وزن بدن و پانکراس

از ویژگی‌های عمده دیابت توسط استرپتوزوتوسین، کاهش چشمگیر وزن بدن می‌باشد و نتایج نشان داده که وزن بدن در گروه دیابتی شاهد در مقایسه با گروه‌های درمانی پنجم و ششم کاهش معنی‌دار نشان داد. اگرچه در گروه‌های پنجم و ششم اندکی کاهش وزن نسبت به‌گروه کنترل شاهد وجود داشت. تغییرات وزن پانکراس به وزن بدن در نمودار (۳) نشان داده شده است.

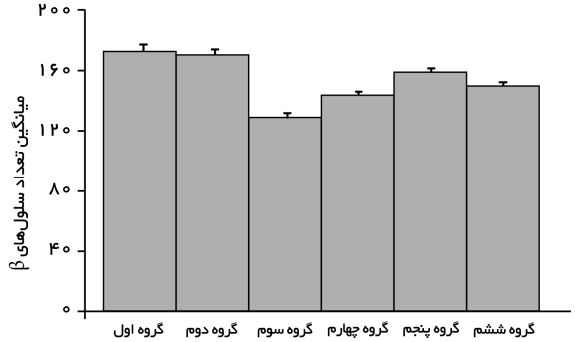
جدول ۱) مقایسه تأثیر مقادیر متفاوت عصاره برگ گردو و گلی‌بن‌کلامید بر میزان گلوکز خون در گروه‌های مورد مطالعه

گروه زمان (روز)	شاهد نرمال I	شاهد تحت درمان با عصاره برگ گردو(۴۰۰ میلی‌گرم) II	شاهد دیابتی III	دیابتی تحت درمان با عصاره برگ گردو (۲۰۰میلی‌گرم)IV	دیابتی تحت درمان با عصاره برگ گردو (۴۰۰ میلی‌گرم)V	دیابتی تحت درمان با گلی‌بن‌کلامید (۴ میلی‌گرم)VI
۰	۱۰۴±۴۱/۲	۱۰۱±۴/۳۷	۹۸±۳/۷۲	۱۰۳/۴±۱/۸۲	۹۸±۴/۵۲	۹۵±۲/۴۸
۷	۹۹/۱±۲/۹۳	۹۷/۴±۲/۱۸	۳۰۶/۲±۱/۹۲	۳۲۸/۵±۶/۳۵	۳۴۴/۳±۵/۷۴	۳۵۵/۸±۴/۸۹
۱۴	۱۰۳±۱/۸۴	۹۳/۱±۴/۷۴	۳۷۹±۳/۸۵	۳۳۲/۷±۵/۳۳	۲۹۲/۶±۷/۱۱	۳۱۴/۶۱±۵/۱۲
۲۱	۱۰۱±۲/۶۸	۹۲/۴±۷/۱۵	۳۴۲/۷±۷/۹۲*	۲۷۶/۳±۸/۴۵	۲۲۳/۹±۴/۳۷	۲۶۹/۱±۴/۵۶
۲۸	۹۷±۲/۱۶	۹۰/۸±۵/۶۴	۳۲۸/۵±۶/۶۲*	۲۱۷/۵±۵/۷۹	۱۶۱/۴±۵/۳۲	۱۹۳/۷±۳/۲۵

داده‌ها به‌صورت میانگین ± خطای استاندارد نمایش داده شده است.

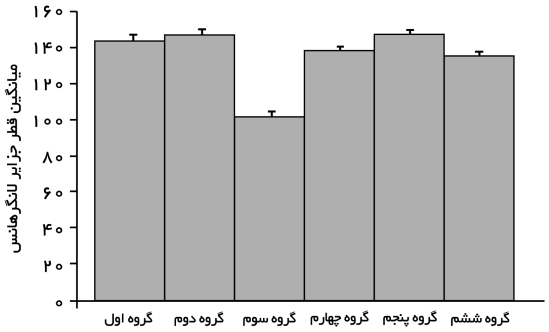
* نشانگر مقایسه‌ی معنی‌دار (P<۰/۰۵) بین گروه دیابتی و گروه‌های تحت درمان عصاره برگ گردو و گلی بن‌کلامید می‌باشد.

در موش‌های دیابتی شاهد وزن پانکراس در مقایسه با گروه‌های دیگر کاهش یافته بود (P<۰/۰۵). همچنین مطالعه کنونی نشان داد که پس از چهار هفته نسبت وزن پانکراس به وزن بدن در گروه دیابتی شاهد در مقایسه با گروه‌های درمان شده با عصاره گیاه و گلی‌بن‌کلامید افزایش معنی‌داری داشت (نمودار ۳)، (P<۰/۰۵).

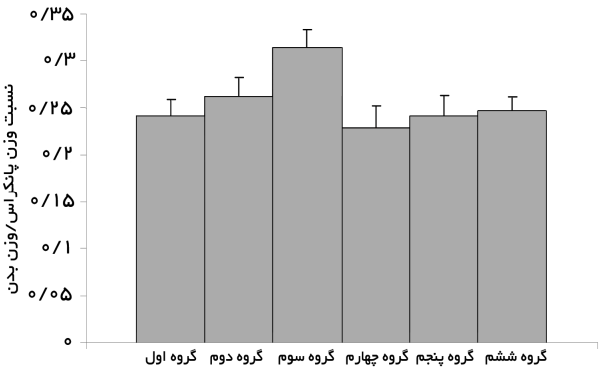


نمودار ۱) میانگین قطر جزایر لانگرهانس چهار هفته پس از درمان با عصاره برگ گردو و گلی‌بن‌کلامید در گروه‌های مختلف (P<۰/۰۵)

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2024-09-21]



نمودار۲) میانگین تعداد سلول‌های β درجزایر لانگرهانس چهار هفته پس از درمان با عصاره برگ گردو و گلی‌بن‌کلامید در گروه‌های مختلف (P<۰/۰۵)



نمودار۳) میانگین نسبت وزن پانکراس به وزن بدن چهار هفته پس از درمان با عصاره برگ گردو و گلی بن کلامید در گروههای مختلف (p<۰/۰۵)

بحث

استرپتوزوتوسین دارویی است که به‌طور انتخابی سلول‌های تولیدکننده انسولین پانکراس را تخریب می‌کند و به‌منظور دیابتی کردن حیوانات آزمایشگاهی استفاده می‌شود. در مطالعه حاضر اثر عصاره برگ گردو در کنترل هیپرگلیسمی و اثرات هیستوپاتولوژیک در موش‌های صحرایی دیابتی شده و نرمال بررسی گردید. پژوهش حاضر نشان داد که میزان قندخون پس از تجویز عصاره گیاهی کاهش می‌یابد. در پژوهشی که توسط فتحی‌آزاد و همکاران در مورد اثرات کاهش‌دهنده قندخون عصاره هیدروالکلی برگ گردو در موش‌های صحرایی انجام گردید، مصرف عصاره به‌صورت وابسته به دوز، سبب کاهش قندخون در حیوانات دیابتی شد، اما در حیوانات سالم اثری نداشت (۱۷). گرچه نوع و مقدار عصاره در تحقیق حاضر با مطالعات مذکور متفاوت بوده است. اثر هیپوگلیسمی ناشی از عصاره گیاهان ممکن است بر اساس مواد مشابه به انسولین در گیاهان و یا تحریک سلول‌های β در تولید بیشتر انسولین، سطح بالای فیبر که با دخالت در جذب کربوهیدرات و یا اثر تولید مجدد سلول‌های β روی بافت پانکراس باشد (۱۶ و ۱۸).

کاهش واضحی در قطر جزایر لانگرهانس و تعداد سلول‌های β در گروه دیابتی مشاهده گردید. مشاهدات نشان داده که در گروه‌های پنجم و گروه ششم درمان شده با عصاره برگ گردو و گلی‌بن‌کلامید تعداد سلول‌های β و قطر جزایر لانگرهانس به‌طور معنی‌داری افزایش یافته است. مطالعات گوناگونی ثابت نموده که عصاره برخی از گیاهان سبب افزایش تعداد سلول‌های β در دیابت ملیتوس ایجاد شده به‌وسیله استرپتوزوتوسین و الوکسان گردیده است (۱۱، ۱۲، ۱۹ و ۲۰).

مطالعه ما نشان داد که اندازه جزایر لانگرهانس و تعداد سلول‌های β در موش‌های صحرایی دیابتی شده کاهش می‌یابد. اخیراً گزارش شده که تحت شرایط ویژه امکان تکثیر سلول‌های β بالغ در پانکراس وجود دارد (۲۴-۲۰)، بنابراین ممکن است که در این بررسی عصاره گیاه برگ گردو منجر به تکثیر سلول‌های β در پانکراس موش‌های صحرایی دیابتی شده باشد.

شیرویکار (Shirwaikar) و همکاران گزارش داده‌اند، استرپتوزوتوسین سبب تخریب پانکراس گردیده و در موش‌های صحرایی دیابتی شده سلول‌های β در جزایر لانگرهانس کاهش یافته و پس از درمان با عصاره گیاهی افزایش یافته و به

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2024-09-21]

حد طبیعی رسیده‌اند (۲۴). العریانی (Al-Eryani) و همکاران مشاهده نموده‌اند که اثرات عصاره گیاه تینوسپورا کوردیفولیا در دیابت نوع دوم به‌وجود آمده از طریق تغذیه حیوان با چربی زیاد به‌طور معنی‌داری سبب افزایش تعداد سلول‌های β و برگشت مجدد قطر جزایر لانگرهانس شده است (۲۵). یافته‌های برخی مطالعات نشان داده که فلاونوئیدها موجب کاهش قند پلاسما می‌شوند (۲۶) و اثر هیپوگلیسمی کوئرستین را در رت‌های دیابتی شده با الوکسان گزارش نموده‌اند.

با توجه به ترکیبات موجود در برگ گردو و اینکه عصاره هیدروالکی آن سبب کاهش قندخون و در پایان منجر به تغییرات ساختاری جزایر لانگرهانس می‌شود، می‌توان این ایده را طرح نمود که ترکیبات موجود در این عصاره سبب تولید مجدد سلول‌های β در حیوانات دیابتی شده و نهایتاً سبب برگشت مجدد جزایر لانگرهانس در حیوانات دیابتی می‌شود.

بررسی کنونی این ایده را تقویت نموده که احتمالاً تولید مجدد سلول‌های β در حیوانات دیابتی شده یا انسان همراه با کاهش معنی‌دار توده سلول‌های β است. مکانیسم دیگری که می‌توان مطرح نمود این است که عصاره برگ‌های گردو سبب افزایش سلول‌های β و تحریک رسپتور انسولین به هورمون انسولین و یا تحریک سلول‌های مادر از جزایر لانگرهانس در پانکراس در موش‌های دیابتی شده با استرپتوزوتوسین می‌شود و نهایتاً میزان گلوکز در گروه‌های درمانی کاهش می‌یابد.

تحقیقات هیستوپاتولوژیک انجام شده روی جزایر لانگرهانس ثابت نموده که برگشت مجدد جزایر لانگرهانس آسیب دیده به حالت اولیه و بهبود تعداد سلول‌های β بعد از درمان با عصاره گیاهی است. این یافته‌ها مشخص می‌سازند که اثرات هیپوگلیسمیک عصاره برگ گردو احتمالاً می‌تواند از طریق عملکرد برگ گردو روی تعداد سلول‌های β و اندازه جزایر لانگرهانس باشد و این موارد در واقع از هیپوگلیسمیک بودن برگ گردو حمایت می‌کنند و احتمالاً علت پائین آمدن قندخون توسط برگ گردو به‌خاطر عمل موادی نظیر فلاونوئیدها و یا افزایش پاسخ نسبت به انسولین می‌باشد. بر اساس نتایج به‌دست آمده می‌توان ارزیابی نمود که عصاره برگ گردو دارای اثر مفید در بهبود قندخون، وزن پانکراس و تغییرات بافت شناسی در بیماری دیابت ملیتوس می‌باشد. از محدویت‌های مطالعه در این بررسی عدم وجود تجهیزات دقیق‌تر، جهت تعیین ماده مؤثره موجود در عصاره است که به‌طور جداگانه اثرات آنها مورد آزمایش قرار گیرد. پیشنهاد می‌شود در آینده مطالعات کاملی در ارتباط با ترکیبات شیمیایی برگ گیاه گردو که در بهبود دیابت ملیتوس مؤثر است، انجام پذیرد.

سپاس و قدردانی

این پژوهش بر اساس طرح پژوهشی تأیید شده توسط معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج انجام گرفته است. بدین‌وسیله از آزمایشگاه دکتر عزیزی، آزمایشگاه حیوانات دانشکده پزشکی و سرکار خانم شهربانو عسکریان که در انجام این پژوهش با ما همکاری داشتند تشکر و قدردانی می‌شود.

References:

1.Mohammadi J, Naik PR. Antidiabetic effects of *Morus alba* in experimentally induced diabetes in Wistar rat. Biomedicine 2008; 28: 112-6.

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2024-09-21]

2.Molina PE. Endocrine physiology. 3rd ed. New York: McGraw-Hill; 2010: p. 165-8.
3.Amin IM. Hypoglyclemic Effects in Response to Abelmoshus Esculentus Treatment: A Research Framework using STZ-Induced Diabetic Rats. Int J Biosci Biochem Bioinforma 2011; 11: 63-7.
4.Bailey CJ, Day C. Traditional plant medicine as treatment for diabetes. Diabetes Care 1989; 12: 553-64.
5.Abdel-Moneim A, El-Feki M, Salah E. Effect of Nigella Sativa, Fish oil and Gliclazide on alloxan diabetic rats, I-Biochemical and Histopathological studies. J Egypt Ger Sc Zool 1999; 23: 237-65.
6.Grover JK, Yadav S, Vats V. Medicinal plants of India with anti-diabetic potential. J Ethnopharmacol 2002; 81: 81-100.
7.Orian H, Aidi M, Yazdi E, et al. Hypoglycemic effects of Morus nigra *L* alcoholic extract in male adult normal and diabetic rats. Med plants 2003; 12: 979-81.
8.Chakravarthy BK, Gupta S, Gambhir SS, et al. Pancreatic beta cell regeneration: A novel antidiabetic mechanism of Petercarpus marsupium. Ind J Pharmacol 1980; 12: 123-8.
9.Shanmugasundaram ER, Gopith kl, Radha SK, et al. Possible regeneration of the islets of Langerhans in streptozotocin-diabetic rats given *gymnema sylvestre* leaf extract. J Ethnopharmacol 1990; 30: 265-9.
10.Zargari A.Medicinal drugs Tehran Univ Pub 1990; 4: 106-11.
11.Erdemoglu N, Kupeli E, Yesilada E. Anti-inflammatory and antinociceptive assessment of plants used as remedy in Turkish folk medicine. J Ethnopharmacol 2003; 89: 123-9.
12.Anderson KJ, Teuber SS, Gobeille A, et al. Walnut polyphenolics inhibit in vitro human plasma and LDL oxidation. J Nutr 2001; 131: 2837-42.
13.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: 533-8.
14.Komeili GR, Bagheri H. Effects of Walnut Leaf Aqueous Extract on Blood Sugar and Lipids in Male Diabetic Rats. Saudi Med J 2008; 29: 1350-2.
15.Eidi A, Olamafar S, Zaringhalam J, et al. Protective effect of walnut [juglans regia L.] extract against CCI[4] – induced hepatotoxicity in rats. J Res Med Sci 2011; 35: 87-92.
16.Jelodar GA, Maleki M, Motadayen MH, et al. Effect of fenugreek, onion and garlic on blood glucose and histopathology of pancreas of alloxan-induced diabetic rats. Ind J Med Sci 2005; 59: 64-9.
17.Fathi Azad F, Garjani A, Motavalian Naeini A. Study of hypoglycemic activity of the hydroalcholic extract of juglans regia in normal and diabetic rats. Pharm Sci 2006; 2: 13-7.
18.Yazdanparast R, Eslami MA, Ashrafi HJ. *Teucrium polium* extract effects pancreatic function of streptozotocin diabetic rats: A histological examination. Iranian Biomed J 2005; 9: 81-5.
19.Dor Y, Brown J, Martinez OI, et al. Adult pancreatic β cells are formed by self-duplication rather than stem cell differentiation. Nature 2004; 429: 41-6.
20.Chandavar VR, Naik PR. Variation in plasma glucose and pancreatic β cell in the turtle *Lissemys punctata* (order: Chelonia; Family: Trionychidae). Acta Zoologica 2004; 85: 113-8.
21.Yin D, Tao J, Lee DD, et al. Recovery of islet β cell function in streptozotocin induced diabetic mice. Diabetes 2006; 55: 3256-63.
22.Moqbel FS, Naik PR, Habeeb NM, et al. Antidiabeic properties of *Hibiscus rosa sinensis* L. leaf extract fractions on non-obese diabetic (NOD) mouse. Ind J Experi Biolo 2011; 49: 24-9.
23.Mohammadi J, Naik PR. Evaluation of hypoglycemic effect of *Morus alba* in an animal model. Ind J Pharmacol 2008; 40: 15-8.
24.Shirwaikar A, Rajendran K, Dinesh Kumar C, et al. Antidiabetic activity of aqueous leaf extract of Annona squamosa in streptozotocin-nicotinamide type 2 diabetic rats. J Ethnopharmacol 2004; 91: 171-5.
25.Al-Eryani MAY, Naik PR. Antidiabetic activity of stem extracts of Tinospora cordifolia on streptozotocin induced diabetic Wistar rat. Biosci Biotechnol Res Asia 2007; 4: 603-8.
26.Li WL, Zheng HC, Bukuru J, et al. Natural medicines used in the traditional Chinese medical system for therapy of diabetes mellitus. J Ethnopharmacol 2004; 92: 1-21.

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2024-09-21]

Original Article

The effects of hydroalcoholic extract of Juglans regia leaf on histological changes of Langerhans islet in diabetic rats model

J. Mohammadi [1,2], A. Mirzaei [3], A. Azizi [4], A. Rouzbehi [5], H. Delaviz [5]*

[1]Herbal Medicine Research Center, Yasouj University of Medical Sceinecs, Yasouj, IRAN
[2]Department of Physiology, School of Medicine, Yasouj University of Medical Sceinecs, Yasouj, IRAN
[3]Department of Biochemistry, Herbal Medicine Research Center, Yasouj University of Medical Sceinecs, Yasouj, IRAN
[4]Department of Pathology, School of Medicine, Yasouj University of Medical Sceinecs, Yasouj, IRAN
[5]Department of Anatomy, School of Medicine, Yasouj University of Medical Sceinecs, Yasouj, IRAN

(Received 27 Jul, 2011 Accepted 27 Nov, 2011)

Abstract

Background: It has been shown that the Juglans regia leaves have hypoglycemic, diuretic and blood pressure reduction properties. The objective of the present study was to examine the histopathology effects of Juglans regia leaves on diabetes mellitus in rats.

Material and Methods: Forty-eight Wistar rats (150- 200 g) were randomized into six groups of 8 animals. Groups III, IV, V and VI received intraperitoneal injection of streptozotocin to make diabetic model. Blood glucose was measured by glucometer after 72 hours. After 10 days, Group II, IV and V received 400, 200 and 400 mg/kg Juglans regia extract, respectively and group VI treated with 4 mg/kg glybenclamid for four weeks. Group I were fed with normal diet and group III received distilled water (diabetic control). The body weight and blood glucose were measured in every week. The number of β cells and diameter of islets of Langerhans were determined *using* hematoxylin-floxin staining. The collected data was analyzed by the SPSS software using one-way ANOVA.

Results: The number of β cells and diameter of islets decreased significantly in diabetic control compare to the normal group. Treatment with 400 mg/kg of Juglans regia extract showed a significant decrease in blood glucose, a significant increase in diameter of islets and number of β cells compared to diabetic control group. The pancreas / body weight ratio increased in diabetic rats compare to the treatment group.

Conclusion: The administration of Juglans regia extract can cause recovery of β cells number and improve the size of islets of Langerhans in diabetic model rats.

Keywords: Juglans regia leaf, diabetes mellitus, β cells, rat, islets of Langerhans

**Address for correspondence*: Department of Anatomy, School of Medicine, Yasouj University of Medical Sceinecs, Yasouj, IRAN; E-mail: hamdidelaviz@yahoo.com

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2024-09-21]