تأثیر عصاره هیدروالکلی ترشک و آلبالو بر روی گلوکز، لیپیدهای خون و آسیب بافتی موش های صحرایی نر دیابتی شده با استرپتوزوتوسین

رضا توحیدپور[۱]، سکینه نوری سعیدلو[۲*]، حجت حضرتی[۱]، امیر امنیت‌طلب[۳]، پیمان میکاییلی[۴]، پروین آیرملوی[۵]

۱- دانشکده دامپزشکی، واحد ارومیه، دانشگاه آزاد اسلامی، ارومیه، ایران
۲- مرکز تحقیقات سلامت مواد غذایی و آشامیدنی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران
۳- گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، واحد ارومیه، دانشگاه آزاد اسلامی، ارومیه، ایران
۴- گروه فارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران
۵- گروه اپیدمیولوژی، واحد توسعه تحقیقات بالینی بیمارستان امام خمینی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران
*آدرس مکاتبه: ارومیه، جاده سلماس، بلوار شهید قلی‌پور، معاونت غذا و دارو، مرکز تحقیقات سلامت مواد غذایی و آشامیدنی
تلفن: ۳۲۷۶۶۸۲۵ (۰۴۴)، نمابر: ۳۲۷۶۵۶۵۷ (۰۴۴)
پست الکترونیک: saeedlou2003@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۷/۶/۲۶ **تاریخ پذیرش:** ۹۷/۱۰/۲ doi: 10.29252/jmp.4.72.S12.174

چکیده

مقدمه: کاهش دادن سطح گلوکز در بیماران دیابتی از اهمیت بالینی زیادی برخوردار می‌باشد. با توجه به عوارض جانبی داروها، یافتن گیاهان و مواد گیاهی با خواص مشابه بسیار مفید خواهد بود.

هدف: هدف از مطالعه حاضر تعیین تاثیر عصاره هیدروالکلی گیاهان ترشک و آلبالو بر روی گلوکز، چربی‌های خون و تغییرات بافتی در موش‌های صحرایی دیابتی می‌باشد.

روش بررسی: در این مطالعه ۲۴ سر موش صحرایی نر ویستار به طور تصادفی در چهار گروه شش عددی شامل گروه‌های شاهد سالم، شاهد دیابتی، دیابتی تیمار شده با ترشک (۲۰۰ mg/kg)، دیابتی تیمار شده با آلبالو (۲۵۰ mg/kg) قرار گرفتند. کلیه تیمارها روزانه و از طریق گاواژ معدی در مدت ۲۱ روز انجام شد. در پایان، سطح سرمی گلوکز و لیپیدهای خون موش‌ها اندازه‌گیری شد. ارزیابی آسیب‌شناسی بافتی پانکراس، کبد و کلیه نیز انجام شد.

نتایج: عصاره هیدروالکلی ترشک به‌طور معنی‌داری سطح سرمی گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید، LDL و VLDL را در موش‌های دیابتی شده با استرپتوزوتوسین، کاهش داد (P< ۰/۰۵) و همچنین سبب افزایش HDL در موش‌ها شد ولی این افزایش از نظر آماری معنی‌دار نبود. عصاره هیدروالکلی آلبالو تاثیر معنی‌داری بر روی گلوکز و لیپیدهای سرم موش‌های دیابتی نداشت. همچنین عصاره هیدروالکلی ترشک آسیب بافتی ناشی از دیابت را بهتر از آلبالو بهبود بخشید.

نتیجه‌گیری: در پژوهش حاضر مصرف ترشک و گنجاندن آن در رژیم غذایی افراد مبتلا می‌تواند در بهبود عوارض ناشی از بیماری‌های دیابت و دیس‌لیپیدمی و تنظیم و کنترل سطح گلوکز و لیپیدهای خون در این بیماران تاثیر گذار باشد.

گل‌واژگان: آلبالو، آسیب‌شناسی، ترشک، چربی، دیابت، گلوکز، موش صحرایی

مقدمه

دیابت مهم‌ترین بیماری متابولیک انسان بوده و در برخی کشورها از جمله ایالت متحده سومین علت مرگ می‌باشد. بر اساس آخرین آمار سازمان بین‌المللی دیابت در سراسر جهان ۳۸۲ میلیون نفر در سال ۲۰۱۳ دارای دیابت بودند که این آمار تا سال ۲۰۳۵ با افزایش ۵۵ درصدی به ۵۹۲ میلیون نفر خواهد رسید، که ۸۰ درصد از این افراد در کشورهای در حال توسعه زندگی می‌کنند. بیش از ۷/۸ درصد از کل جمعیت ایران دچار بیماری دیابت هستند [۱].

استفاده نادرست و بی‌رویه از داروهای شیمیایی و عوارض جانبی داروها انسان را به فکر جایگزینی داروهای گیاهی با داروهای شیمیایی به علت در دسترس بودن، مقرون به صرفه بودن و داشتن حداقل عوارض انداخته است. استفاده از گیاهان دارویی و مشتقات آنها اگرچه از دیرباز در درمان دیابت قندی و عوارض ناشی از آن مطرح بوده است اما درباره اثربخشی قطعی بسیاری از این گیاهان تاکنون شواهد تحقیقاتی و معتبر ارایه نشده است [۲]. گیاهان دارویی تاریخ مصرف طولانی در بسیاری از کشورها دارند. امروزه به رغم پیشرفت سریع در صنعت داروسازی و سنتز ترکیبات دارویی، در بسیاری از کشورهای توسعه یافته هنوز از گیاهان دارویی برای حفظ سلامتی استفاده می‌کنند [۳]. گیاه ترشک با نام علمی *Rumex scutatus* L. از خانواده Polygonaceae می‌باشد. گیاه ترشک به طور تقریبی در تمامی دشت‌زارهای آذربایجان یافت می‌شود، نام محلی این گیاه əvəlik می‌باشد [۵، ۴]. از این گیاه در طب سنتی برای درمان اسهال، تب و التهاب، مشکلات گوارشی، تومورها، سرطان‌ها، بیماری‌های وابسته به کبد، کلیه و مجاری ادراری استفاده می‌شود [۹-۶]. گیاهان خانواده Polygonaceae حاوی مقادیر فراوانی از فلاوونوئیدها، پلی‌ساکاریدها و فتیل پروپان گلیکوزیدها می‌باشند [۱۰]. مواد فیتوشیمیایی تشکیل‌دهنده بخش‌های هوایی خشک شده گیاه حاوی روتین، فلاون گلیکوزید، هایپرین، ویتامین C، ویتامین B و A، کارتنوئید، کلروفیل، ارگانیک اسید (برای مثال اگزالیک و مالیک)، فلاونوئیدها، ترکیبات فنولی، ترپانوئیدها، مقادیر بالای کلروفیل، مقادیر ناچیزی عناصر و مواد معدنی از قبیل کلسیم، آهن، منیزیم، مس و روی می‌باشد. خصوصیات آنتی‌اکسیدانی، ضد یرقانی، ضد میکروبی، ضد التهاب، ضد دردی، ضد لاروی و ضد سرطانی این گیاه در مطالعات مختلف به اثبات رسیده است [۱۱، ۹، ۷، ۶]. آلبالو با نام علمی *Cerasus vulgaris* L. یکی از میوه‌های بومی ایران است که غنی از انواع آنتوسیانین‌ها بویژه سیانیدین ۳-گلیکوزید است [۱۲]. آنتوسیانین‌ها، ترکیبات پلی‌فنول و بزرگ‌ترین گروه از رنگدانه‌های گیاهی محلول در آب هستند. این ترکیبات فلاونوئیدهایی با خاصیت آنتی‌اکسیدان هستند که برای بسیاری از سیستم‌های بدن نقش محافظتی دارند و به پیشگیری از بیماری‌های قلبی نیز کمک می‌نمایند [۱۳]. مطالعات در مدل‌های حیوانی و انسانی نشان می‌دهد که مصرف پلی‌فنول‌ها باعث کاهش غلظت کلسترول HDL می‌شوند [۱۸-۱۴]. اثرات مصرف فلاونوئیدها و همچنین آنتوسیانین‌های خاص ایزوله شده از منابع گیاهی آن‌ها از جمله Quercetin, Myricetin, Kaempferol, Resveratrol و Cyanidin-3-Glucoside بر بیماری‌های قلبی- عروقی در مطالعاتی چند به اثبات رسیده است [۲۲-۱۹].

بنابراین با توجه به اینکه ترشک و آلبالو حاوی ترکیبات فلاونوئید، آنتوسیانین‌ها و کاتچین می‌باشد و با توجه به خاصیت آنتی‌اکسیدانی [۱۳، ۱۱، ۹] و آنتی‌هیپرگلیسیمیک [۲۲] آنها و همچنین بومی و در دسترس بودن این گیاهان، مطالعه حاضر با هدف تعیین **تاثیر** عصاره هیدروالکلی ترشک و آلبالو بر روی گلوکز، چربی‌های خون و آسیب‌شناسی بافتی در موش‌های صحرایی نر دیابتی شده با استرپتوزوتوسین طراحی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها

حیوانات: در این تحقیق ۲۴ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با محدوده‌ی وزنی ۲۲۰-۱۹۰ گرمی از حیوانخانه دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه خریداری شد. موش‌ها در قفس‌های استاندارد فلزی و در شرایط مناسب با درجه حرارت ۲۴ درجه سانتی‌گراد، دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و رطوبت نسبی ۶۰-۴۰ درصد به مدت یک

هفته نگهداری شدند. در تمامی مراحل آزمایش با حیوانات بر اساس قوانین بین‌المللی مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی رفتار می‌شد [۲۳]. حیوانات در طول دوره آزمایش به آب و غذای کافی دسترس داشتند.

تهیه گیاه و عصاره‌گیری: نمونه‌های وحشی گیاه ترشک از حومه شهرستان ارومیه (استان آذربایجان غربی، ایران)، نمونه‌های آلبالو نیز در خردادماه از بازار ارومیه تهیه شد، پس از تایید سیستماتیک گیاه با همکاری مسئولین محترم هرباریوم دانشگاه اورمیه، اقدام به عصاره‌گیری شد. برگ‌های گیاه ترشک و میوه آلبالو با آب سرد در محیط آزمایشگاه شسته شده و سپس در سایه و روی کیسه بزرگ پلاستیکی در محیط آزمایشگاه خشک شدند. برای این کار ابتدا گیاهان بوسیله آسیاب برقی به شکل پودر در آورده شد. حلال استفاده شده در این تحقیق اتانول ۷۰ درصد (۷۲۹ سی‌سی اتانول ۹۶ درصد + ۲۳۱ سی سی آب مقطر) بود که یک حلال هیدروالکلی *Hydroalcoholic solvent* محسوب می‌شد. برای ترکیب پودر گیاهی در حلال، به ازای ۱۰۰۰ سی سی حلال از ۱۵۰ گرم پودر آسیاب شده خشک گیاهی استفاده شد. بعد از ترکیب پودر گیاهی با اتانول ۷۰ درصد، در داخل بشر به خوبی حل کرده و درب آن را بوسیله پارافیلم محکم بسته و در آزمایشگاه به دور از نور به مدت ۱۰ روز نگهداری شد در طول این مدت هر ۸ ساعت یکبار محلول‌ها به هم زده می شدند. پس از طی این مدت محلول‌ها دو بار از کاغذ صافی واتمن عبور داده شدند. بعد از این مرحله نوبت توزیع محلول فرا رسید به این منظور از پلیت‌های شیشه‌ای استریل استفاده شد و بعد از توزیع کردن، محلول‌های صاف شده داخل اتوکلاو و دمای کمتر از ۳۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. بعد از طی مدت تقریباً ۱۰ روز عصاره‌های گیاهی داخل پلیت‌های شیشه‌ای خشک شده و آماده جمع‌آوری شدند. بعد از اتمام کار عصاره‌ها توزین و در داخل ظروف شیشه‌ای به یخچال منتقل شد تا در مراحل بعدی تحقیق از آنها استفاده شود. جهت تجویز میزان دقیق عصاره‌های گیاهی از روش گاواژ معدی در این تحقیق استفاده شد. دوز عصاره ترشک ۲۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن [۲۵، ۲۴] بود و دوز عصاره آلبالو ۲۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن [۲۷، ۲۶] بود.

القای دیابت: برای ایجاد دیابت از استرپتوزوتوسین (STZ, S 0130-Sigma, USA) استفاده شد. دوز داروی به کار برده شده برای دیابتی کردن موش‌های صحرایی ۳۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن [۲۹، ۲۸] بود، که پس از حل کردن در بافر سیترات (pH=4.01) به صورت داخل صفاقی تزریق شد. هفت روز پس از تزریق *STZ*، خون‌گیری از طریق بریدن نوک دم موش‌ها به عمل آمد و موش‌هایی که میزان قند خون آنها بالاتر از ۲۵۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بود به عنوان دیابتی در نظر گرفته شدند و موش‌هایی که قند خون پایین‌تری داشتند با تکرار دوز تزریق دیابتیک شدند. برای اندازه‌گیری قند خون از گلوکومتر Clever check استفاده شد.

گروه‌بندی حیوانات: برای انجام این مطالعه حیوانات به صورت تصادفی به چهار گروه ۶ عددی به صورت زیر تقسیم شدند و به مدت ۲۱ روز تحت درمان با عصاره‌های گیاهی قرار گرفتند: ۱. شاهد سالم ۲. شاهد دیابتی ۳. دیابتی تیمار شده با ترشک به میزان ۲۰۰ mg/kg به مدت سه هفته از طریق گاواژ معدی ۴. دیابتی تیمار شده با آلبالو به میزان ۲۵۰ mg/kg به مدت سه هفته از طریق گاواژ معدی.

بررسی بافتی: در پایان آزمایش حیوانات به مدت ۱۲ ساعت ناشتا (با مصرف آب آزاد) نگهداری شدند سپس توسط اتر به صورت استنشاقی داخل یک ظرف با درب بسته بیهوشی انجام گرفت و اقدام به خونگیری مستقیم از قلب شد، نمونه‌ها پس از مکث ۳۰ دقیقه‌ای به منظور لخته شدن خون، در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ده دقیقه با دور ۴۰۰۰ سانتریفوژ شده و سرم سریعاً جدا و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد برای سنجش فاکتورهای بیوشیمیایی نگهداری شدند و سپس پانکراس، کبد و کلیه آنها با محلول سرم فیزیولوژیک شسته شده و در بافر فرمالین ۱۰ درصد قرار گرفتند. به منظور تهیه مقاطع آسیب‌شناسی، از بافت‌های مورد نظر، پس از طی مراحل ثبوت و پاساژ بافتی (آبگیری، شفاف‌سازی، آغشته‌سازی)، قالب پارافینی تهیه و برش‌های ۵ میکرومتری توسط دستگاه میکروتوم دوار آماده شدند. در نهایت مقاطع بافتی با سه روش هماتوکسیلین و ائوزین (H&E)، آلدهید فوشین

(Aldehyde Fuchsin) و پریودیک اسید شیف (PAS) رنگ‌آمیزی شدند. مقاطع پاتولوژی توسط میکروسکوپ نوری (Olympus CX 23) ارزیابی شد.

تجزیه و تحلیل آماری: آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS20 انجام و سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. متغیرهای کمی به صورت انحراف معیار ± میانگین در قالب جداول مناسب گزارش شد. میانگین متغیرهای گلوکز، تری‌گلیسرید، کلسترول تام، HDL، LDL و VLDL با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه ANOVA و تست تعقیبی Tukey در بین گروه‌ها مقایسه شد.

نتایج

مقایسه میانگین قند خون ناشتا، کلسترول، تری‌گلیسرید، HDL، LDL و VLDL در موش‌های دیابتی در بین گروه‌های مورد بررسی در جدول شماره ۱ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که اختلاف میانگین گروه موش‌های دیابتی دریافت کننده‌ی عصاره‌ی آلبالو معنی‌دار نبوده است (P> ۰/۰۵). و همچنین اختلاف میانگین داده‌های پروفایل قند خون ناشتا، کلسترول، تری‌گلیسرید، LDL و VLDL گروه موش‌های دیابتی دریافت‌کننده‌ی عصاره‌ی ترشک معنی‌دار بوده است (P< ۰/۰۵). و لیکن اختلاف میانگین داده‌های HDL معنی‌دار نبوده است (P> ۰/۰۵).

نتایج ارزیابی آسیب‌شناسی بافت‌های کبد، کلیه و پانکراس موش‌های صحرایی در گروه‌های مختلف مورد آزمایش در جدول شماره ۲ ارئه شده است. همچنین تعدادی از تصاویر آسیب‌شناسی مربوط به بافت‌های پانکراس، کبد و کلیه حیوانات مورد آزمایش به ترتیب ارائه شده است (شکل شماره‌های ۱، ۲ و ۳).

جدول شماره ۱- میانگین سطح سرمی گلوکز (BS)، کلسترول (Cholesterol)، تری‌گلیسرید (TG)، HDL، LDL، VLDL در بین گروه‌ها در موش‌های دیابتی

گروه	BS (mg/dl)	Cholesterol (mg/dl)	TG (mg/dl)	HDL (mg/dl)	LDL (mg/dl)	VLDL (mg/dl)
شاهد سالم	۱۰۴±۱۴^{b}	۴۹±۲^{b}	۱۷±۵^{b}	۱۵۹±۱۷^{b}	۱۳±۳^{b}	۳±۱^{b}
شاهد دیابتی	۳۷۱±۳۰^{a}	۱۰۴±۴۶^{a}	۲۱۳±۱۷۴^{a}	۱۵±۲^{a}	۴۶±۳۲^{a}	۴۲±۳۴^{a}
دیابتی+ترشک	۱۶۷±۴۴^{ab}	۶۶±۷^{b}	۱۵±۲^{b}	۲۳±۱^{a}	۱۱±۲^{b}	۳±۰^{b}
دیابتی+آلبالو	۳۷۰±۵^{a}	۱۰۶±۲۲^{a}	۱۸۳±۲۳۷^{a}	۲۰±۲^{a}	۴۳±۱۱^{a}	۳۷±۴۶^{a}

^{a}: اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه شاهد سالم (P< ۰/۰۵) ^{b}: اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه شاهد دیابتی (P< ۰/۰۵)

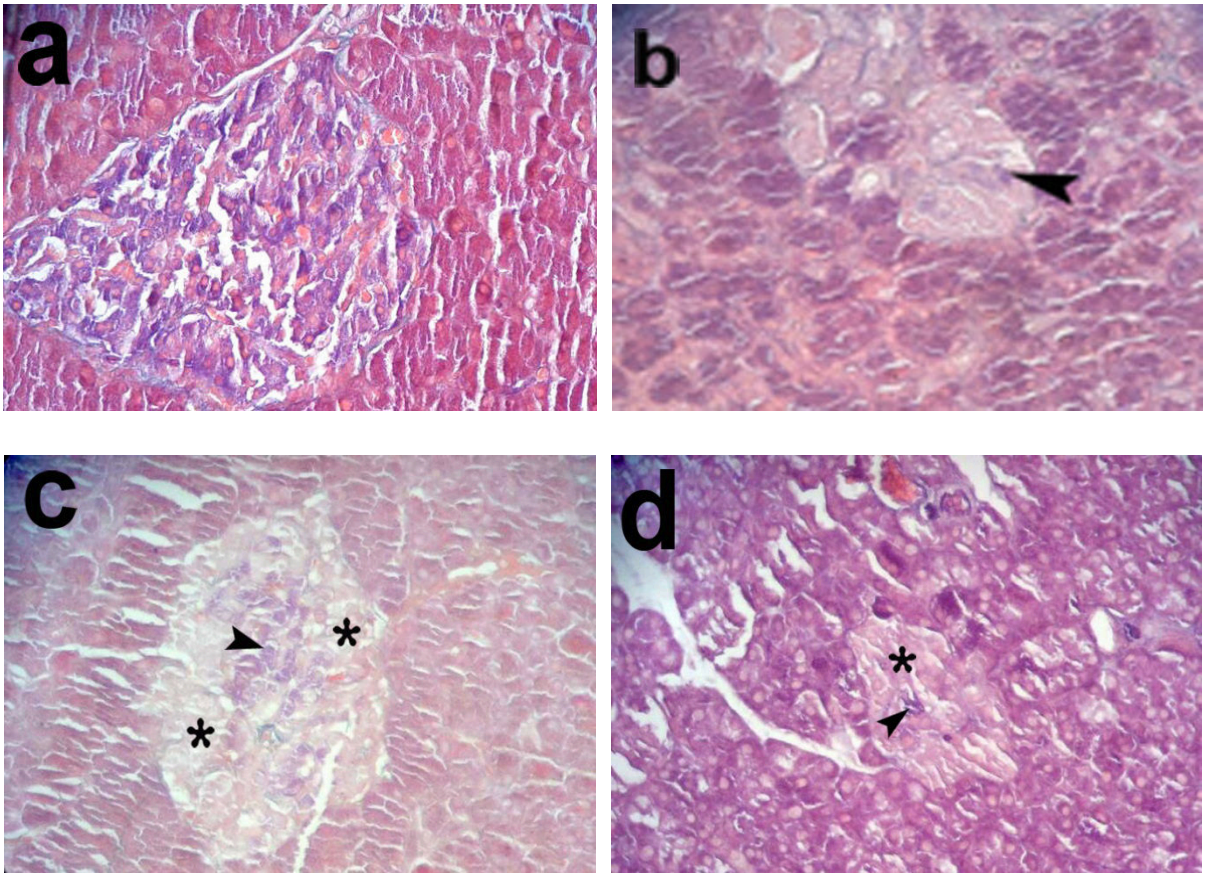
جدول شماره ۲- نتایج هیستوپاتولوژی گروه‌های مورد مطالعه

گروه‌های مورد مطالعه	بافت مورد بررسی	نتایج هیستوپاتولوژی
شاهد سالم	پانکراس	دانسیته سلولی عالی و سلول‌های بتا نرمال
	کبد	دانسیته سلولی و ذخایر گلیکوژنی نرمال و هپاتوسیت‌ها سالم‌اند
	قشر کلیه	دانسیته سلولی نرمال و توبول‌ها و گلومرول‌ها سالم‌اند
	مدولای کلیه	وجود کست‌های پروتئینی در توبول‌های ناحیه مدولا به صورت محدود و خفیف
شاهد دیابتی	پانکراس	تعداد جزایر و سلول‌های بتا کاهش چشم‌گیری نسبت به گروه شاهد سالم پیدا کرده‌اند
	کبد	Fatty change خفیف به صورت کانونی (Focal) نسبت به گروه شاهد سالم دیده می‌شود
	قشرکلیه	نسبت به گروه شاهد سالم آتروفی گلومرولی به صورت کانونی (Focal) و کیستیک شدن گلومرول‌ها مشاهده می‌شود و دژنراسیون هیدروپیک هم وجود دارد
	مدولای کلیه	نسبت به گروه شاهد سالم در قسمت مدولا کست‌های پروتئینی در توبول‌ها به صورت کانونی مشاهده می‌شود

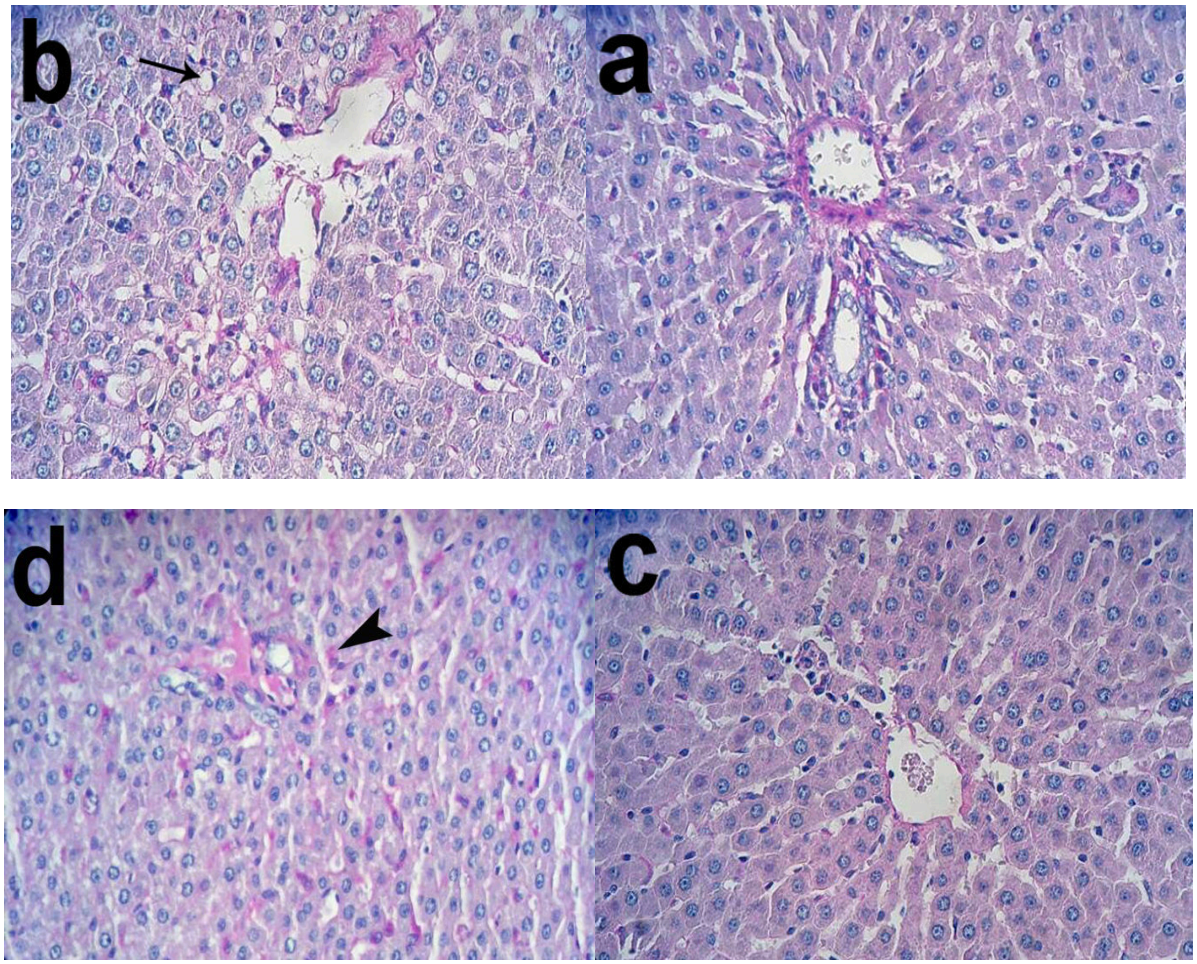
ادامه جدول شماره ۲-

گروه‌های مورد مطالعه	بافت مورد بررسی	نتایج هیستوپاتولوژی
دیابتی+ترشک	پانکراس	تعداد جزایر و سلول‌های بتا کاهش چشم‌گیری نسبت به گروه شاهد سالم دارند
	کبد	دانسیته سلولی نرمال و هپاتوسیت‌ها سالم‌اند
	قشرکلیه	دانسیته سلولی نرمال و توبول‌ها و گلومرول‌ها سالم‌اند
	مدولای کلیه	نسبت به گروه شاهد سالم وجود کست‌های پروتئینی در توبول‌های ناحیه مدولابه صورت محدود و خفیف
دیابتی+آلبالو	پانکراس	تعداد جزایر و سلول‌های بتا کاهش چشم‌گیری نسبت به گروه شاهد سالم دارند
	کبد	دانسیته سلولی و ذخایر گلیکوژنی نرمال و هپاتوسیت‌ها سالم‌اند
	قشرکلیه	نسبت به گروه شاهد سالم دژنراسیون هیدروپیک در اکثریت توبول‌ها و نکروز توبولی در برخی توبول‌ها مشاهده شد و گلومرول‌ها سالم‌اند
	مدولای کلیه	نسبت به گروه شاهد سالم وجود کست‌های پروتئینی در توبول‌های ناحیه مدولابه صورت محدود و خفیف

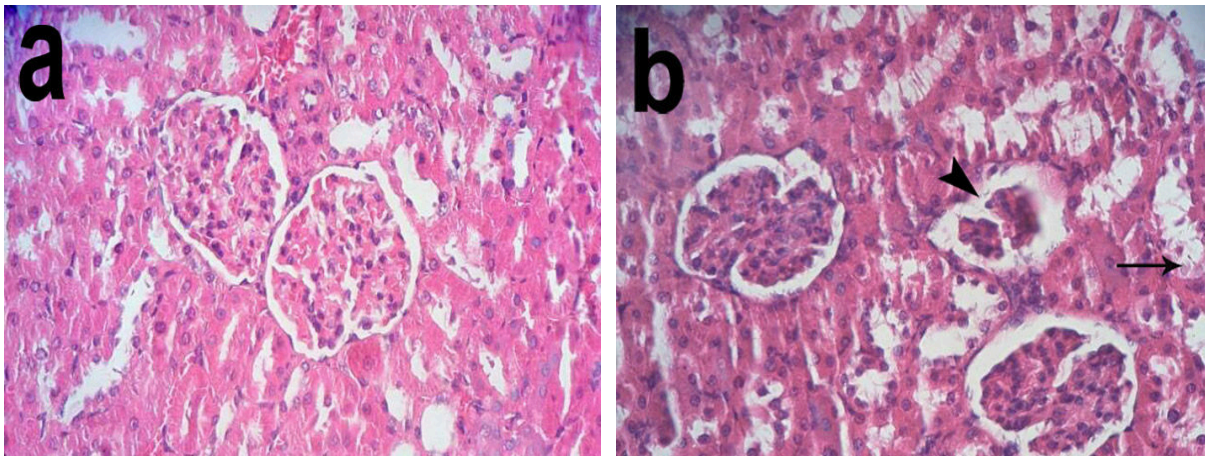
تعدادی از تصاویر هیستوپاتولوژی مربوط به گروه‌های مختلف آزمایشی:



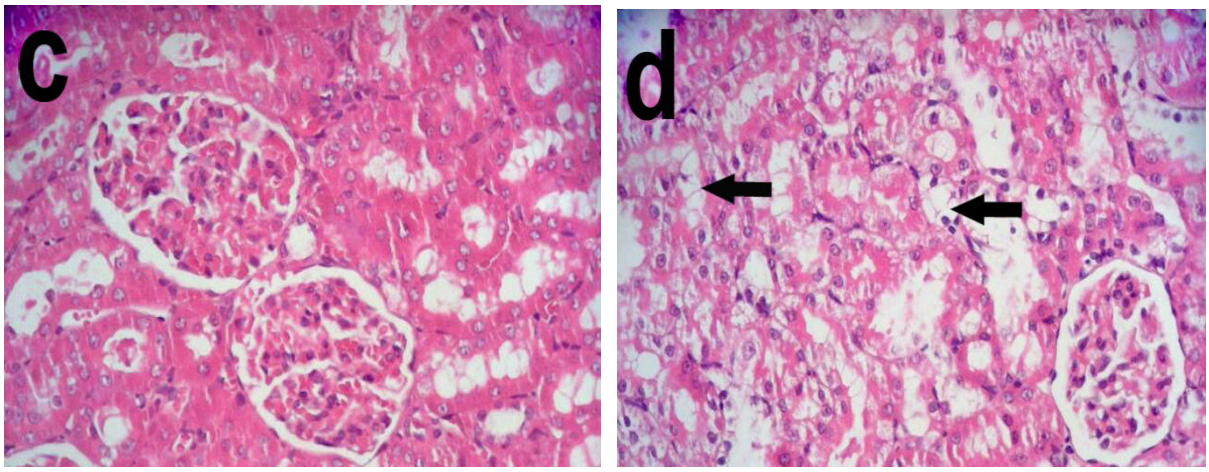
شکل شماره ۱- پانکراس درون‌ریز در گروه‌های مختلف آزمایشی. a) گروه شاهد سالم؛ در جزیره لانگرهانس دانسیته سلولی عالی و سلول‌های بتا طبیعی می‌باشند. b) گروه شاهد دیابتی؛ تعداد جزایر لانگرهانس و سلول‌های بتا کاهش چشم‌گیری پیدا کرده‌اند (سر پیکان). c) گروه دیابتی+ترشک؛ تعداد جزایر و سلول‌های بتا کاهش چشم‌گیری دارند (ستاره و سر پیکان) در ضمن رنگ‌پذیری بنفش سلول‌های بتا به شدت کاهش یافته است. d) گروه دیابتی+آلبالو؛ تعداد جزایر و سلول‌های بتا کاهش چشم‌گیری دارند (ستاره و سر پیکان). رنگ‌آمیزی آلدهید فوشین (Aldehyde Fuchsin)، بزرگنمایی ×۴۰۰.



شکل شماره ۲- کبد گروه‌های مختلف آزمایشی. a) گروه شاهد سالم؛ دانسیته سلولی و ذخایر گلیکوژنی طبیعی و هپاتوسیت‌ها سالم هستند. b) گروه شاهد دیابتی؛ تغییر چربی خفیف به صورت ناحیه‌ای دیده می‌شود (پیکان). c) گروه دیابتی+ترشک؛ دانسیته سلولی طبیعی و هپاتوسیت‌ها سالم‌هستند. d) گروه دیابتی+آلبالو؛ دانسیته سلولی و ذخایر گلیکوژنی (سر پیکان) طبیعی و هپاتوسیت‌ها سالم هستند. رنگ‌آمیزی پریودیک اسید شیف (PAS)، بزرگنمایی ×۴۰۰.



شکل شماره ۳ -



شکل شماره ۳- کلیه موش‌های صحرایی در گروه‌های مختلف آزمایشی. a) گروه شاهد سالم؛ دانسیته سلولی طبیعی و توبول‌ها و گلومرول‌ها سالم می‌باشند. b) گروه شاهد دیابتی؛ آتروفی گلومرولی به صورت ناحیه‌ای و کیستیک شدن گلومرول‌ها (سر پیکان) و دژنراسیون هیدروپیک (پیکان) مشاهده می‌شود. c) گروه دیابتی+ترشک؛ دانسیته سلولی طبیعی و توبول‌ها و گلومرول‌ها سالم هستند. d) گروه دیابتی+آلبالو؛ دژنراسیون هیدروپیک (پیکان) در اکثر توبول‌ها و نکروز توبولی در برخی توبول‌ها مشاهده می‌شود و گلومرول‌ها سالم هستند. رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین (H&E)، بزرگنمایی ×۴۰۰.

بحث

بر اساس نتایج پژوهش حاضر درخصوص پروفایل قند خون از پارامترهای خونی موش‌های صحرایی دیابتی در گروه‌های مورد بررسی معلوم شد که عصاره‌ی ترشک بهتر و بیشتر از گروه موش‌های دیابتی تیمار شده با عصاره‌ی آلبالو نسبت به گروه موش‌های شاهد دیابتی شده با استرپتوزوتوسین، موجب کاهش قند خون شد. در مطالعه Sedaghat و همکاران، تجویز خوراکی دانه ترشک به مدت ۴ هفته نشان‌دهنده آثار هیپوگلیسمیک و بهبود فاکتورهای لیپیدی HDL و LDL در موش‌های دیابتی می‌باشد که با تحقیق حاضر مطابقت دارد [۲۵] و از طرفی گروه موش‌های دیابتی تیمار شده با آلبالو **تاثیر** معنی‌داری بر کاهش گلوکز خون نداشته است که با تحقیقی که Seymour و همکاران بر روی اثرات کاهندگی گلوکز خون توسط آلبالو بر روی رت‌های هیپرکلسترول انجام داده مطابقت ندارد که علت اختلاف می‌تواند حیوانات مورد بررسی باشد که در مطالعه ما حیوانات دیابتیک بودند [۳۰]. میزان لیپوپروتئین با چگالی پایین (LDL) در گروه تیمار شده با ترشک مشابه گروه شاهد سالم است. ترشک می‌تواند به صورت مستقیم یا غیر مستقیم از طریق کاهش گلوکز خون در حیوانات دیابتیک پروفایل لیپیدی را بهبود بخشد [۲۵]. نتایج پژوهش حاضر درخصوص پروفایل لیپوپروتئین با چگالی بسیار پایین (VLDL) از پارامترهای خونی موش‌های صحرایی دیابتی در گروه‌های مورد بررسی نیز معلوم شد که ترشک به طور معنی‌داری باعث کاهش لیپوپروتئین با چگالی بسیار پایین نسبت به گروه موش‌های شاهد دیابتی شد که مطابق با تحقیق Sedaghat و همکاران است [۲۵]. گروه تیمار شده با عصاره آلبالو به میزان ۲۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم **تاثیر** معنی‌داری در کاهش لیپوپروتئین با چگالی بسیار پایین نداشت.

بر اساس نتایج پژوهش حاضر درخصوص پروفایل کلسترول و پروفایل تری‌گلیسرید از پارامترهای خونی رت‌های دیابتی در گروه‌های مورد بررسی معلوم شد که عصاره‌ی ترشک بهتر و بیشتر از گروه موش‌های دیابتی تیمار شده با عصاره‌ی آلبالو نسبت به گروه موش‌های شاهد دیابتی، موجب کاهش کلسترول شد. اثر کاهندگی تری‌گلیسرید و کلسترول خون توسط ترشک در مقایسه با گروه موش‌های شاهد دیابتی معنی‌دار بود، و میزان تری‌گلیسرید در گروه تیمار شده با ترشک مشابه گروه شاهد سالم است، در مطالعه‌ی Sedaghat و همکاران دانه ترشک با وجود اینکه اثرات کاهندگی بر روی سطح کلسترول و تری‌گلیسرید داشت ولی با اثر معنی‌دار نبود

که در مطالعه حاضر این تغییر معنی‌دار است که می‌تواند به علت پتانسیل بالای عصاره حاصل از برگ‌های گیاه در تحقیق حاضر نسبت به عصاره حاصل از دانه گیاه ترشک در حیوانات دیابتیک اشاره کرد. ترشک می‌تواند به صورت مستقیم یا غیر مستقیم از طریق کاهش گلوکز خون در حیوانات دیابتیک پروفایل لیپیدی را بهبود بخشد. قابل توجه است که مدارک نشان می‌دهند خصوصیات آنتی‌اکسیدانی عصاره ترشک از شدت پراکسیداسیون لیپیدی که علت آن انواع مختلف رادیکال‌های آزاد است، می‌کاهد و به تبع آن می‌تواند بر روی پروفایل لیپیدی **تاثیر** گذار باشد [۲۵] ولی اثرات کاهندگی آلبالو معنی‌دار نبوده است.

پروفایل لیپوپروتئین با چگالی بالا (HDL) در موش‌های صحرایی دیابتی در گروه‌های مورد بررسی نشان داد که هر دو عصاره‌ی آلبالو و ترشک باعث افزایش سطح لیپوپروتئین با چگالی بالا نسبت به گروه موش‌های شاهد دیابتی شده‌اند و لیکن این افزایش از نظر آماری معنی‌دار نبوده است. در مطالعه Sedaghat و همکاران دانه ترشک توانایی بهبود سطح متابولیت لیپیدی HDL در موش‌های دیابتی را داشت که نشان از توان بالای دانه ترشک نسبت به برگ آن در بهبود سطح HDL دارد [۲۵]. جدول شماره ۲ و شکل شماره‌های ۱، ۲ و ۳ نشان می‌دهند که نتایج ارزیابی هیستوپاتولوژی بافت‌های پانکراس، کبد و کلیه در گروه‌های مختلف آزمایشی با نتایج بیوشیمیایی هم‌خوانی دارد. بررسی بافت پانکراس گروه‌های دیابتی، در مقایسه گروه‌های شاهد سالم، شاهد دیابتی، دیابتی تیمار شده با آلبالو و دیابتی تیمار شده با ترشک نتایج رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین ائوزین و رنگ‌آمیزی اختصاصی آلدهایدفوشین نشان دادند که در گروه‌های دیابتی تیمار شده با آلبالو و ترشک تغییرات محسوس و قابل توجهی درخصوص احیا و بازسازی سلول‌های بتای پانکراس در مقایسه با گروه شاهد مشاهده نشد که این نتایج با گزارش ارزیابی گلوکز خون در گروه دیابتی تیمار شده با آلبالو مطابقت داشت. اما درخصوص عدم تغییر سلول‌های پانکراس در گروه دیابتی تیمار شده با ترشک، با وجود کاهش گلوگز در این گروه، می‌تواند به علت پتانسیل بالای ترشک در بهبود سطح متابولیت‌های لیپیدی شامل HDL و LDL در رت‌های دیابتی و اثرات تقلید انسولینی توسط ماده گیاهی کاتچین که ترشک غنی از این ماده است، باشد. مطالعات زیادی نشان‌دهنده پتانسیل ضد دیابتیک کاتچین می‌باشد. همچنین، کاتچین اثرات مشابه هورمون انسولین دارد و می‌تواند باعث افزایش فسفوریلاسیون تیروزین گیرنده‌های انسولین و گیرنده‌های انسولینی سوبسترات-۱ و کاهش بیان ژن فسفوانول پیروات کربوکسی کیناز در فسفواینوزیتید ۳-کیناز شود. کاتچین همچنین مانند انسولین باعث افزایش فسفواینوزیتید ۳-کیناز، پروتئین کیناز فعال‌کننده میتوژن، و فعالیت p70 می‌باشد. بدین ترتیب ترشک با توجه به ترکیبات موجود در آن می‌تواند به صورت غیر مستقیم سبب کاهش گلوکز خون در حیوانات دیابتیک شده و درنهایت پروفایل لیپیدی را بهبود بخشد [۲۵]. نتایج مطالعه کومار و همکاران بر روی عصاره برگ‌های گیاه *Dillenia indica* که غنی از پلی‌فنول می‌باشد، نشان داد که عصاره این گیاه بر روی آسیب پانکراس ناشی از اثر رادیکال‌های آزاد به دلیل دیابت، موثر است [۳۱]. نتایج ذکر شده در مطالعه حاضر با آسیب‌های بافتی پانکراس که ناشی از القای دیابت می‌باشد هم‌خوانی دارد ولی نمی‌تواند اثرات آنتی‌اکسیدانی گیاهان استفاده شده در تحقیق ما را مبنی بر اثرات ضد دیابتی توجیه کند و نشان از عدم توانایی گیاهان به کار گرفته شده در تحقیق حاضر مبنی بر بازسازی جزایر پانکراسی و بهبود عملکرد پانکراس از لحاظ بافت‌شناسی دارد. می‌توان نتیجه گرفت با وجود اینکه آلبالو و بخصوص ترشک نتوانسته‌اند در بازیابی سلول‌های بتای پانکراس تاثیر مورد انتظار را داشته باشند اما با کاهش گلوکز خون توانسته‌اند در گروه دیابتی تیمار شده با ترشک جلوی تلفات موش‌ها را ۱۰۰ درصد بگیرند.

علی‌رغم حاصل نشدن نتایج مطلوب مورد انتظار هیستوپاتولوژی در پانکراس گروه‌های دیابتی تیمار شده با ترشک و دیابتی تیمار شده با آلبالو، از لحاظ بالینی تعداد تلفات موش‌ها در گروه‌های شاهد دیابتی و دیابتی تیمار شده با آلبالو (۲ سر) نسبت به گروه دیابتی تیمار شده با ترشک زیاد بود که از نظر آماری معنی‌دار نبود ولی هیچ تلفاتی در گروه

دیابتی تیمار شده با ترشک وجود نداشت. در مطالعه حاضر اثرات محسوسی از منظر قدرت ترمیمی ترشک مشاهده نشد ولی با این حال موجب تعدیل گلوکز شد که با توجه به مطالعه Sedaghat و همکاران که بر روی اثرات ضد دیابتی و کاهندگی لیپیدهای خون بر روی موش‌های دیابتی انجام شده، می‌تواند به علت پتانسیل بالای ترشک در بهبود سطح متابولیت‌های لیپیدی شامل HDL و LDL در موش‌های دیابتی و اثرات انسولینی ماده گیاهی کاتچین باشد [۲۵].

در بررسی بافت کبد گروه‌های دیابتی، تغییرات آسیب‌شناسی قابل ذکری در کبد گروه‌های دیابتی تیمار شده با آلبالو و دیابتی تیمار شده با ترشک نسبت به گروه شاهد سالم و شاهد دیابتی مشاهده نشد با اینکه تغییر چربی خفیف در گروه شاهد دیابتی ثبت شد. در مطالعه کومار و همکاران نتایج حاکی از آن است که عصاره برگ‌های گیاه *Dillenia indica* L. موجب بهبود عملکرد کلیه و کبد شده و از هیپرلیپیدمی ناشی از دیابت جلوگیری می‌کند. بعد از درمان با عصاره برگ‌های گیاه *Dillenia indica* L. در کبد گروه دیابتی، سلول‌های کبدی، وریدچه مرکزی و اندازه پورت‌های کبدی نرمال بود. عصاره برگ‌های گیاه *Dillenia indica* L. آثار مطلوبی در جلوگیری از آثار هیستوپاتولوژیکی القای دیابت بر روی پانکراس و کبد داشت. خصوصیات ضد دیابتی گیاهان ممکن است ناشی از کارکرد مشابه انسولینی یا دیگر مکانیسم‌ها مثل تحریک جذب گلوکز توسط بافت‌های محیطی، ممانعت از تولید گلوکز اندوژن یا فعالیت گلوکونئوژنز در کبد و عضلات باشد [۳۱]. در بررسی حاضر تغییر چربی خفیف در کبد گروه شاهد دیابتی مشاهده شد ولی با رنگ‌آمیزی PAS تغییر محسوسی در میزان گلیکوژن سلول‌های کبدی گروه شاهد دیابتی مشاهده نشد. در مطالعه ملکی‌نژاد و همکاران که بر روی اثرات سیلی‌مارین روی فارماکوکینتیک آترواستاتین در موش‌های دیابتی انجام شده است نیز در حیوانات دیابتی ذخایر گلیکوژنی منتشر در هپاتوسیت‌ها نسبت به گروه کنترل کاهش داشت با این‌حال در گروه دیابتی تیمار شده با سیلی‌مارین ذرات گلیکوژن بیشتری نسبت به گروه دیابتی وجود داشت، همچنین یافته‌های هیستوپاتولوژی در این مطالعه نشان از اثرات محافظت‌کنندگی سیلی‌مارین از کبد و پانکراس دارد [۳۲]. در گروه‌های دیابتی تیمار شده با ترشک و دیابتی تیمار شده با آلبالو تغییرات آسیب‌شناسی نسبت به گروه شاهد سالم ثبت نشد و وضعیت ذخایر گلیکوژن نیز در گروه‌های مذکور مشابه گروه شاهد سالم ارزیابی شد.

درنهایت در بررسی بافت کلیه گروه‌های دیابتی، وضعیت بخش‌های قشری و مدولای (مرکزی) کلیه در گروه شاهد سالم نرمال بود اما در گروه شاهد دیابتی در بخش قشری آتروفی گلومرولی و کیستیک شدن گلومرول‌ها و نیز دژنراسیون هیدروپیک در برخی توبول‌ها مشاهده شد که می‌توان آنها را به عوارض کلیوی دیابت در موش‌ها نسبت داد. در بخش مدولای کلیه در تمامی گروه‌های مورد بررسی تغییرات آسیب‌شناسی مهمی مشاهده نشد ولی در تمامی گروه‌ها کست‌های پروتئینی داخل توبولی به صورت ناحیه‌ای در بخش مدولای کلیه وجود داشت. در گروه دیابتی تیمار شده با ترشک وضعیت کلیه در بخش‌های قشر و مدولا مطلوب بود و به لحاظ ساختاری مشابه گروه شاهد سالم ارزیابی شدند در حالی‌که در گروه دیابتی تیمار شده با آلبالو عوارض مشاهده شده مانند گروه شاهد دیابتی بود و در برخی حیوانات حتی عوارض کلیوی شدیدی مثل دژنراسیون و نکروز توبولی نیز در مقایسه با گروه شاهد دیابتی مشاهده شد. با بررسی و مقایسه نتایج کلیوی به نظر می‌رسد ترشک اثر محافظتی بیشتری نسبت به آلبالو در جلوگیری از بروز عوارض کلیوی دیابت داشته است. طبق گزارشات، دیابت ایجاد شده بوسیله STZ در موش از منظر پاتولوژی کلیه و آثار وخیم عملکردی آن بسیار شبیه به دیابت در انسان است. علاوه بر این، طبق گزارشات در موش‌های دیابتی شده با آلوکسان منوهیدرات و STZ ارگان‌های کلیه و کبد دست‌خوش تغییرات پاتولوژیک می‌شوند. هیپرتروفی گلومرول‌ها و توبول‌ها، ضخیم شدن غشای پایه، فیبروز بینابینی توبولی و آتریواسکلروزیس چهره پاتولوژیک نفروپاتی دیابت می‌باشند. این خصوصیات در درجه اول در حد ماتریکس مزانشیال منتشر و افزایش آلبومینوری و در حالت پیشرفته با نارسایی کلیوی همراه می‌شود. مطالعات زیادی نشان‌دهنده افزایش معنی‌دار رنج نفروپاتی کلیوی در اختلالات دیابت

می‌باشد که درنهایت، باعث کاهش عملکرد فیزیولوژیک و تغییر ساختار کلیه در بیماری دیابت می‌شود. هیپرگلیسمی موجب افزایش تولید رادیکال های آزاد بوسیله اکسیداسیون گلوکز و افزایش رادیکال‌های آزاد موجب آسیب کلیوی می‌شود. وجود فلاونویدها، آلکالوئیدها، گلیکوزیدها، فنول‌ها و تانن‌ها در مواد متشکله گیاهی مسوول اثرات ضد دیابتی می‌باشند. بر اساس نتایج بیوشیمیایی و هیستوپاتولوژی به دست آمده از مطالعه اشرف و همکاران اینگونه اثبات می‌شود که عصاره آبی ریشه زرشک کوهی بخصوص دوز ۵۰۰ mg/kg/bw اثرات مفیدی بر روی عملکرد کلیوی موش‌های دیابتی با STZ دارد [۳۳]، این نتایج مطابق با اثرات محافظت‌کننده کلیوی عصاره ترشک در این تحقیق است و به خوبی می‌تواند این اثرات را توجیه کند.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به دست آمده در پژوهش حاضر می‌توان از گیاهان ترشک و آلبالو در بهبود عوارض ناشی از بیماری‌های دیابت و دیس‌لیپیدمی و تنظیم و کنترل سطح گلوکز و لیپیدهای خون در این بیماران استفاده کرد و به نوعی این گیاهان را در رژیم غذایی این نوع بیماران جای داد. با توجه به کمبود امکانات و تجهیزات آزمایشگاهی پیشنهاد می شود که انجام آزمایش‌های بیشتری از جمله اندازه‌گیری سطوح آنتی‌اکسیدان‌های خونی و بافتی به منظور بررسی پتانسیل آنتی‌اکسیدانی گیاه، استفاده از دوزهای متفاوت به منظور دستیابی به اثربخش‌ترین و ایمن‌ترین دوز، بررسی هیستوپاتولوژیک ارگان‌های مختلف از جمله دستگاه گوارش، اندام‌های جنسی و قلب انجام پذیرد.

منابع

1. Federation ID and Atlas I. International Diabetes Federation. IDF diabetes atlas, 6th edn Brussels, Belgium: International Diabetes Federation. 2013.

2. Mandal S, Barik B, Mallick C, De D and Ghosh D. Therapeutic effect of ferulic acid, an ethereal fraction of ethanolic extract of seed of Syzygium cumini against streptozotocin-induced diabetes in male rat. *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacol.* 2008; 30 (2): 121-8.

3. Goleniowski ME, Bongiovanni G, Palacio L, Nuñez C and Cantero J. Medicinal plants from the "Sierra de Comechingones", Argentina. *J. Ethnopharmacology*. 2006; 107 (3): 324-41.

4. Gupta RC. Veterinary toxicology: basic and clinical principles: Academic press; 2012.

5. Fang H-C, Chen C-L, Wang J-S, Chou K-J, Chiou Y-S, Lee P-T and et al. Acute oxalate nephropathy induced by star fruit in rats. *American J. Kidney Diseases*. 2001; 38 (4): 876-80.

6. Isbilir SS and Sagiroglu A. Total phenolic content, antiradical and antioxidant activities of wild and cultivated *Rumex acetosella* L. extracts. *Biological Agriculture & Horticulture.* 2013; 29 (4): 219-26.

7. Amiri MS, Joharchi MR and TaghavizadehYazdi ME. Ethno-medicinal plants used to cure jaundice by traditional healers of Mashhad, Iran. *IJPR*. 2014; 13 (1): 157.

8. Baig H, Ahmed D, Zara S, Aujla MI and Asghar MN. In vitro evaluation of antioxidant properties of different solvent extracts of Rumex acetosella leaves. *Oriental J. Chem*. 2011; 27 (4): 1509.

9. Ahmed D, Mughal QM, Younas S and Ikram M. Study of phenolic content and urease and alpha-amylase inhibitory activities of methanolic extract of Rumex acetosella roots and its sub-

fractions in different solvents. *Pak. J. Pharm. Sci.* 2013; 26 (3): 553-9.

10. Yokozawa T, Cho EJ, Sasaki S, Satoh A, Okamoto T and Sei Y. The protective role of Chinese prescription Kangen-karyu extract on diet-induced hypercholesterolemia in rats. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 2006; 29 (4): 760-5.

11. Eun-Jin Y, Kwang H- H, HaeRi Ch, Seung-Young K and Chang-Gu H. Anti-inflammatory Activity of Rumex acetosella Extracts from Jeju Island. *KSBB J*. 2018; 33 (3): 155-60.

12. Blando F, Gerardi C and Nicoletti I. Sour cherry (*Prunus cerasus* L) anthocyanins as ingredients for functional foods. *BioMed Res. International* 2004; 2004 (5): 253-8.

13. Harbone J and Grayer R. The anthocyanins. The Flavonoids Ed JB Harborne Chapman and Hall Ltd, London. 1988, pp: 1-20.

14. Fuhrman B and Aviram M. Flavonoids protect LDL from oxidation and attenuate atherosclerosis. *Current Opinion in Lipidol*. 2001; 12 (1): 41-8.

15. Hertog MG, Feskens EJ, Kromhout D, Hollman P and Katan M. Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study. *The Lancet.* 1993; 342 (8878): 1007-11.

16. Ikeda I, Imasato Y, Sasaki E, Nakayama M, Nagao H, Takeo T and et al. Tea catechins decrease micellar solubility and intestinal absorption of cholesterol in rats. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-lipids and lipid Metabolism.* 1992; 1127 (2): 141-6.

17. Knekt P, Jarvinen R, Reunanen A and Maatela J. Flavonoid intake and coronary mortality in Finland: a cohort study. *BMJ.* 1996; 312 (7029): 478-81.

18. Arts IC, Jacobs DR, Gross M, Harnack LJ and Folsom AR. Dietary catechins and cancer incidence among postmenopausal women: the Iowa Women's Health Study (United States). *Cancer Causes & Control.* 2002; 13 (4): 373-82.

19. Sautebin L, Rossi A, Serraino I, Dugo P, Di Paola R, Mondello L and et al. Effect of anthocyanins contained in a blackberry extract on the circulatory failure and multiple organ dysfunction caused by endotoxin in the rat. *Planta Medica*. 2004; 70 (08): 745-52.

20. Preuss HG, Wallerstedt D, Talpur N, Tutuncuoglu SO, Echard B, Myers A and et al. Effects of niacin-bound chromium and grape seed proanthocyanidin extract on the lipid profile of hypercholesterolemic subjects: a pilot study. *Journal of Medicine.* 2000; 31 (5-6): 227-46.

21. Xu J-W, Ikeda K and Yamori Y. Upregulation of endothelial nitric oxide synthase by cyanidin-3-glucoside, a typical anthocyanin pigment. *Hypertension.* 2004; 44 (2): 217-22.

22. Zern TL, Wood RJ, Greene C, West KL, Liu Y, Aggarwal D and et al. Grape polyphenols exert a cardioprotective effect in pre-and postmenopausal women by lowering plasma lipids and reducing oxidative stress. *The Journal of Nutrition*. 2005; 135 (8): 1911-7.

23. Council NR. Guide for the care and use of laboratory animals. Institute of Laboratory Animal Resources, Commission on Life Sciences. National Academy of Sciences, Washington, DC. 1996.

24. Lone IA, Kaur G, Athar M and Alam MS. Protective effect of Rumex patientia (English Spinach) roots on ferric nitrilotriacetate (Fe-NTA) induced hepatic oxidative stress and tumor promotion response. *Food and Chemical Toxicol*. 2007; 45 (10): 1821-9.

25. Sedaghat R, Roghani M, Ahmadi M and Ahmadi F. Antihyperglycemic and antihyperlipidemic effect of Rumex patientia seed preparation in streptozotocin-diabetic rats. *Pathophysiol*. 2011; 18 (2): 111-5.

26. Minaiyan M, Ghannadi A, Asadi M, Etemad M and Mahzouni P. Anti-inflammatory effect of *Prunus armeniaca* L. (Apricot) extracts ameliorates TNBS-induced ulcerative colitis in rats. *Research in Pharmaceutical Sciences* 2014; 9 (4): 225.

27. Tall JM, Seeram NP, Zhao C, Nair MG, Meyer RA and Raja SN. Tart cherry anthocyanins suppress inflammation-induced pain behavior in rat. *Behavioural Brain Res*. 2004; 153 (1): 181-8.

28. Zhang M, Lv X-Y, Li J, Xu Z-G and Chen L. The characterization of high-fat diet and multiple low-dose streptozotocin induced type 2 diabetes rat model. *Experimental Diabetes Res*. 2009; 2008: 1-9.

29. Nagase H, Inoue S, Tanaka K, Saitoh T and Takamura Y. Hyper-response of insulin release to arginine in streptozotocin-induced diabetic rats with hepatic vagotomy. *Endocrinologia Japonica* 1990; 37 (4): 545-53.

30. Seymour E, Lewis SK, Urcuyo-Llanes DE, Tanone II, Kirakosyan A, Kaufman PB and et al. Regular tart cherry intake alters abdominal adiposity, adipose gene transcription, and inflammation in obesity-prone rats fed a high fat diet. *J. Medicinal Food* 2009; 12 (5): 935-42.

31. Kumar S, Kumar V and Prakash O. Antidiabetic, hypolipidemic and histopathological analysis of *Dillenia indica* (L.) leaves extract on alloxan induced diabetic rats. *Asian Pacific J. Tropical Medicine* 2011; 4 (5): 347-52.

32. Malekinejad H, Rokhsartalab-Azar S, Hassani-Dizaj S, Alizadeh-Fanalou S, Rezabakhsh A and Amniattalab A. Effects of silymarin on the pharmacokinetics of atorvastatin in diabetic rats. *European J. Drug Metabolism and Pharmacokinetics* 2014; 39 (4): 311-20.

33. Ashraf H, Heidari R, Nejati V and Ilkhanipoor M. Aqueous extract of Berberis integerrima root improves renal dysfunction in streptozotocin induced diabetic rats. *Avicenna J. Phytomedicine* 2013; 3 (1): 82.