مجله علمی ـ پژوهشی زیست‌شناسی جانوری تجربی
سال ششم، شماره چهارم، پیاپی بیست و چهارم، بهار ۱۳۹۷ (۷۳-۶۷)

اثر پیشگیرانه عصاره هیدروالکلی گل سیر بر میزان هماتوکریت در موش سفید صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین

وحید حسنوند[۱]، نامدار یوسف‌وند[۲*]
۱. کارشناس ارشد زیست شناسی- فیزیولوژی جانوری، دانشگاه رازی کرمانشاه
۲. استادیار فیزیولوژی جانوری دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی دانشگاه رازی کرمانشاه

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۶/۱۴ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۲/۲۴)

چکیده

تأثیر مثبت بسیاری از گیاهان دارویی در کاهش میزان عوارض دیابت (ازجمله کاهش هماتوکریت) شناخته شده است که گیاه سیر یکی از این گیاهان است. ۲۱ سر موش صحرایی *نر* بالغ از نژاد ویستار به ۳ گروه تقسیم شدند (n=۷)، گروه شاهد نرمال، که در طول ۴۵روز، از آب و غذای معمولی استفاده کردند و در روز ۱۵ به آنها نرمال سالین تزریق شد، گروه کنترل (دیابتی شده به وسیله استرپتوزوتوسین با دوز ۴۰mg/kg در روز پانزدهم) و گروه پیشگیرانه عصاره گل سیر، با دریافت عصاره هیدروالکلی گل سیر با دوز ۳۶۰mg/Lit در آب آشامیدنی در یک دوره تیمار به مدت (۱۵ روز) قبل از دیابتی شدن مورد استفاده قرار گرفت. داروی STZ با دوز ۴۰mg/kg به‌صورت درون صفاقی تزریق شد. میزان هماتوکریت خون با استفاده از دستگاه Diatro مدل ABACUS (ساخت اتریش) به صورت خودکار اندازه‌گیری شد. هماتوکریت در گروه تحت تیمار که عصاره هیدروالکلی گل سیر، به صورت پیشگیرانه دریافت کرده بودند نسبت به کنترل، افزایش معناداری (p< ۰/۰۰۱) را نشان داد. نتایج به دست آمده بیانگر آن است که دریافت عصاره گل سیر باعث افزایش میزان هماتوکریت در دیابت القایی موش صحرایی می‌شود.

واژه‌های کلیدی: دیابت، گل سیر، استرپتوزوتوسین، موش صحرایی، هماتوکریت.

Preventive Effect of Garlic Flower Extract on Hematocrit Levels in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats

Vahid Hasanvand[1], Namdar Yousofvand[2*]
1. M.A. in Biology, Animal Physiology, University of Razi, Kermanshah, Iran
2. Assistant Professor in Animal Physiology , Department of Biology, Faculty of Science, University of Razi, Kermanshah, Iran

(Received: Sep. 4, 2016 - Accepted: May 14, 2018)

Abstract

Many of the medicinal herbs have shown to be effective in reducing the incidence of diabetes complications or side-effects (including hematocrit), which garlic is one of these herbs. 21 adult Wistar male rats were divided into 3 groups (n=7) as follows: normal control group that received normal water and food for 45 days and injected normal Saline on 15th day. Control group (diabetic by STZ at 40 mg/kg dose on 15th day) and the prevention group by garlic flower extract at a dose of 360 mg/Lit in drinking water received a treatment period for 15 days before diabetes. One dose of streptozotocin 40mg/kg was injected intraperitoneally. The hematocrit of blood samples was measured automatically, through using the ABACUS-c Diatron device (Austria product). Hematocrit showed a significant increase ($p<0.001$) in the treated group, which received the hydroalcoholic extract of garlic powder as a preventive agent of diabetes. The results of this study indicate that garlic flower extract increases hematocrit in induced diabetes in rat.

Keywords: Diabetes, Garlic Flower, Streptozotocin, Hematocrit, Rat.

[*]نویسنده مسئول: نامدار یوسف‌وند E-mail: yousofnam@yahoo.com

مقدمه

مجموعه اختلالاتی که در نتیجه کمبود انسولین در بدن رخ می‌دهد را دیابت قندی می‌نامند. دیابت ملیتوس دو نوع اصلی دارد که از این دو، دیابت نوع یک، دیابت وابسته به انسولین است که ناشی از کمبود انسولین می‌باشد (Ganong & Racken, 1997). تخریب سلول‌های بتا جزایر لانگرهانس پانکراس که در نتیجه خودایمنی ایجاد می‌شود در ۳ تا ۵ درصد موارد، مسئول این کمبود یا فقدان انسولین است. سن معمول شروع دیابت نوع یک در ایالات متحده آمریکا چهارده سالگی است و به همین دلیل اغلب آن را دیابت قندی جوانان می‌گویند. دیابت نوع دو که دیابت قندی غیروابسته به انسولین نیز نامیده می‌شود بر اثر کاهش حساسیت بافت‌های هدف نسبت به آثار متابولیک انسولین ایجاد می‌شود. این کاهش حساسیت به انسولین را غالباً مقاومت به انسولین می‌نامند (Guyton & Hall, 2016).

دیابت یک معضل جدی بهداشتی و تهدیدکننده سلامت انسان است که شیوع آن به‌طور هشدار دهنده‌ای در حال افزایش است. دلیل این افزایش مربوط به سبک زندگی کم‌تحرک، استفاده از رژیم غذایی پر انرژی و چاقی است (Yajni, 2001). این بیماری اکنون یکی از شایع‌ترین بیماری‌های غدد درون‌ریز جهان است (Nammis *et al*., 2003). نارسایی قلبی- عروقی، کلیوی و کاهش فعالیت عصبی از جمله عوارض طولانی مدت این بیماری است (Defronzo *et al*., 1997). علائم ویژه هیپرگلیسمی، افزایش دفع ادرار، تشنگی زیاد، از دست دادن وزن، تیرگی دید و افزایش اشتها هستند (Nathan *et al*., 2005). گزارش شده است که در حیوانات دیابتی، سطح هموگلوبین کاهش می‌یابد که خود نشانه آنمی است (Rajasekaran *et al*., 2005). در مطالعه‌ای دیگر نشان داده‌اند که کم خونی خطرناک بیشتر در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۱ دیده می‌شود (Nuria *et al*., 2005). شواهد تجربی نشان می‌دهد که در بیماران مبتلا به دیابت حتی در غیاب نفروپاتی میزان هموگلوبین کاهش یافته و علائم آنمی ظاهر می‌شود؛ در صورتی‌که دیگر سلول‌های خونی از جمله لوکوسیت‌ها تغییر معنی‌داری نشان نمی‌دهند (Kathrine *et al*., 2005). گزارشاتی نشان می‌دهند که در بیماران دیابتی آنمی پس از ظهور علائم نفروپاتی در بیماران تظاهر کرده و آنمی در نفروپاتی دیابتی سریعتر از آنمی حاصل از سایر نفروپاتی‌ها خودنمایی می‌کند. ضمن این‌که این آنمی با کاهش میزان اریتروپوئیتین سرم نیز همراه است (Bosman *et al*., 2001; Thomas, 2007).

بر روی خواص ضددیابتی سیر تحقیقات گسترده‌ای صورت گرفته است. نتایج به دست آمده از مطالعات قبلی بیانگر آن است که دریافت ترکیب عصاره گل سیر و سولفات روی به صورت درمانی باعث افزایش انسولین و کاهش قند خون در دیابت القایی می‌شود (Hasanvand & Yousofvand, 2017)، و مشخص شده که ترکیبات سولفوردار سیر همانند آلیسین به‌عنوان کاهنده قند خون عمل می‌کنند (Anwar & Meki, 2003). در حیوانات آزمایشگاهی، مصرف خوراکی عصاره اتانولی سیر باعث کاهش گلوکز سرم و همچنین افزایش انسولین سرم در موش‌های دیابتی‌شده با استرپتوزوتوسین شده است (Eidi *et al*., 1999). ترکیب اصلی فعال سیر از نظر زیستی تعدادی ترکیبات سولفوره نظیر دی آلیل سولفید، دی آلیل دی سولفید، دی آلیل تری سولفید (Sheela & Augusti, 1995)، s- آلیل سیستئین سولفوکسید، s- ایتل سیستئین سولفوکسید، s- متیل سیستئین سولفوکسید، s-پروپیل سیستئین سولفوکسید هستند (Sheela & Augusti, 1992). برخی از این ترکیبات دارای خاصیت ضددیابت در حیوانات آزمایشگاهی هستند (Huang *et al*., 2004). با عنایت به این خصوصیات و خواص سیر و از آنجا که بخش گل در اکثر گیاهان دارویی مثل زعفران، گل گاوزبان، گل بابونه و گل محمدی و ... دارای اثرات دارویی بیشتری از بخش‌های دیگر گیاه است، لذا طبیعی است

که احتمال داشتن خاصیت ضددیابتی گل سیر فرضیه خوبی باشد. علاوه بر این تحقیق در مورد اثر دارویی گل سیر تلاشی در راستای اثبات ارزش دارویی- اقتصادی آن محسوب می‌شود و مهمتر از آن با وجود مطالعات گسترده بر روی تأثیر سیر بر دیابت، هیچگونه مطالعه‌ای درخصوص تأثیر گل سیر بر دیابت (بالاخص تأثیر پیشگیرانه آن) تاکنون صورت نگرفته است. لذا تحقیق حاضر، اولین تحقیقی است که در خصوص اثر پیشگیری‌کننده گل سیر بر دیابت انجام شد. برخی مطالعات نشان داده‌اند که استفاده از سیر در جیره غذایی ماهی تیلاپیای نیل می‌تواند میزان هموگلوبین، هماتوکریت، گلبول قرمز و پروتیئن خون را افزایش داده و در مقابل، سبب کاهش میزان چربی و قند خون شود (Shalaby *et al*., 2006). افزایش میزان گلبول‌های سفید و بهبود رشد در اثر تغذیه با جیره غذایی حاوی سیر در خوک‌های جوان نیز گزارش شده است (Dudek *et al*., 2006). با وجود این تحقیقات محدود در خصوص اثر سیر بر عارضه خونی دیابت و از آنجا که درخصوص اثرات پیشگیرانه گل سیر بر دیابت و عوارض آن تاکنون مطالعه‌ای انجام نشده است. لذا تحقیق حاضر، اولین تحقیقی است که با هدف مطالعه اثر پیشگیری‌کننده گل سیر بر عارضه کاهنده هماتوکریت یا کم خونی ناشی از دیابت انجام شد.

مواد و روش‌ها

حیوانات مورد آزمایش در این مطالعه، موش‌های صحرایی از نژاد ویستار (Wistar) و جنس نر بودند که از مؤسسه پاستور ایران تهیه و در مرکز پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی گروه زیست‌شناسی دانشگاه رازی تا رسیدن به شرایط با تطابق با محیط، به مدت دو هفته نگهداری شدند. شرایط نگهداری حیوانات از نظر دما، رطوبت، نور، تغذیه و سایر عوامل زیستی تحت کنترل بود. از لحاظ میزان تابش نور نیز در هر شبانه روز، موش‌ها در یک دوره تناوب ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی نگهداری شدند. داروی مورد استفاده در این مطالعه برای القای دیابت نوع اول پودر سفید رنگ STZ تهیه شده از شرکت سیگما آمریکا است. در این مطالعه برای القای دیابت از استرپتوزوتوسین (STZ) با دوز ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و همچنین از عصاره گل سیر با در نظر گرفتن دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن استفاده شد (Mosallanejad *et al*., 2013). تجویز دارو برای گروه‌ها دو هفته بعد از رسیدن به شرایط ثبات و تطابق با محیط شروع شد. STZ و پودر عصاره گل سیر با دقت کامل توسط ترازوی دیجیتال وزن شدند. از ۸ ساعت قبل از ترزیق STZ، غذای حیوانات را برداشته و آنها را در حالت ناشتا قرار دادیم. سپس STZ در محلول سالین سرد و صفر درجه حل می‌شد و STZ با دوز ۴۰ mg/kg برای القای دیابت به صورت درون صفاقی تزریق شد. در زمان تزریق وزن موش‌ها یادداشت می‌شد.

نحوه تهیه عصاره اتانولی گل سیر

به منظور عصاره‌گیری، گل سیر در سایه خشک و سپس توسط دستگاه خردکننده پودر شد. میزان ۲۰۰ گرم از پودر گیاه در درون یک ارلن یک لیتری ریخته شد و به آن الکل اتیلیک ۷۰ درصد اضافه شد. ترکیب حاصل به‌مدت ۷۲ ساعت در این وضعیت باقی ماند. در طی این زمان هر ۱۲ ساعت یک بار ظرف محتوی ترکیب را کاملاً تکان دادیم. در مرحله بعد، ترکیب حاصله را با کاغذ صافی واتمن نمره یک صاف کردیم. سپس محلول صاف شده را توسط دستگاه روتاری در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد و سرعت چرخش ۱۱۰ دور در دقیقه تا یک سوم حجم اولیه تغلیظ کردیم. محلول به‌دست آمده در پتری دیش ریخته و بر روی هیتر برقی با حرارت غیرمستقیم با دمای زیر ۵۰ درجه سلسیوس و در شرایط استریل خشک شد. عصاره تغلیظ‌شده حاصل تا زمان آزمایش در فریزر نگهداری شد (Shakiba *et al*., 2013). با عنایت به اینکه این

عصاره خشک در زمان خوراندن به حیوانات در آب حل می‌شد، لذا در زمان حل شدن و دادن به حیوانات تبخیر آن بسیار اندک بود.

گروه‌بندی حیوانات

در این تحقیق، به منظور انجام آزمایشات، موش‌های صحرایی با میانگین وزنی حدود ۹/۹۰±۲۲۵/۰۳ گرم به طور تصادفی انتخاب و به گروه‌های مورد مطالعه با ۷ حیوان در سه گروه شاهد (نرمال) کنترل (دیابتی شده) و گروه پیشگیرانه عصاره گل سیر تقسیم شدند.

گروه ۱ (نرمال)

این گروه به مدت ۴۵ روز از آب آشامیدنی و غذای معمولی استفاده می‌کردند. در روز پانزدهم تک دوز نرمال سالین به آنها تزریق شد.

گروه ۲ (کنترل)

این گروه با داروی STZ دیابتی شدند و تا پایان دوره ۴۵ روزه داروی خاصی دریافت نکردند.

گروه ۳ (تیمار): گروه پیشگیرانه عصاره گل سیر

این گروه قبل از دریافت STZ به مدت ۱۵ روز از عصاره گل سیر با غلظت ۳۶۰ mg/ Lit استفاده کردند و در پایان روز پانزدهم به آنها STZ تزریق شد و تا پایان یک ماه آب و غذای معمولی استفاده کردند.

نمونه‌های خونی از طریق تکنیک خون‌گیری مستقیم از قلب تهیه شدند، و پس از خون‌گیری نمونه‌های خونی به منظور تهیه سرم به مدت ۶ دقیقه در دستگاه سانتریفوژ با ۱۲۰۰۰دور در دقیقه (RPM) قرار گرفتند. به‌منظور سنجش میزان هماتوکریت خون با استفاده از دستگاه Diatron مدل ABACUS-c (ساخت اتریش) به‌صورت خودکار در آزمایشگاه بالینی پاستور کرمانشاه اندازه‌گیری شد.

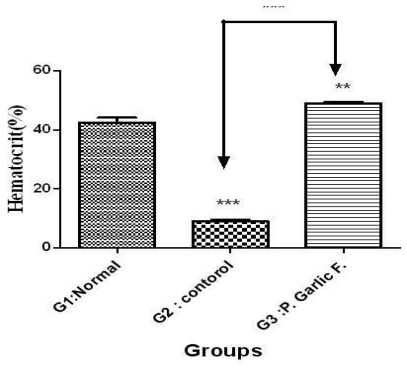
روش آماری

در این پژوهش، نتایج به‌دست آمده از داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری گراف‌پد پریزم (Graphpad Prism)، (ورژن 5.1) که یک برنامه مناسب برای تحلیل‌های زیست‌شناسی است، بررسی شد. برای مقایسه چندین گروه از روش آنالیز واریانس یک طرفه[1] و متعاقب آن از تست توکی (Tukey) استفاده شد. داده‌ها به‌صورت Mean ± Standard Error Mean بیان و کلیه اختلافات آماری با (p<۰/۰۵) معنی‌دار تلقی شد.

نتایج و بحث

اثر پیشگیرانه عصاره گل سیر بر درصد هماتوکریت

نتایج حاصل از پژوهش نشان داد که درصد هماتوکریت خون در گروه دیابتی شده با STZ نسبت به گروه نرمال که هیچ‌گونه دارویی دریافت نکردند کاهش معناداری نشان داد (p<۰/۰۰۱). مصرف پیشگیرانه عصاره هیدروالکلی گل سیر به روش آشامیدنی (ترکیب با آب) به مدت (۱۵ روز) قبل از تزریق STZ (دیابتی شدن) میزان درصد هماتوکریت را نسبت به گروه کنترل به طور معنی‌داری افزایش می‌دهد (p< ۰/۰۰۱) (جدول ۱ و شکل ۱).



شکل ۱. مقایسه اثر درمانی عصاره گل سیر بر درصد هماتوکریت (گروه تحت تیمار با گروه کنترل و گروه کنترل با نرمال مقایسه و مقادیر به صورت میانگین ± انحراف از معیار بیان شده‌اند.)
***=P<0.001, (n=7), **=P<0.01, (n=7)

1. One Way Anova

جدول ۱. میزان هماتوکریت در گروه‌های نرمال (بدون دریافت دارو و عصاره)، گروه کنترل (دیابتی شده بدون درمان با عصاره گل سیر) و گروه تیمار (دیابتی‌شده تحت درمان به‌صورت پیشگیرانه عصاره گل سیر). مقادیر به صورت میانگین ± انحراف از معیار بیان شده‌اند.

گروه	نرمال	کنترل	تیمار
میزان هماتوکریت (٪)	۴۲/۵۰±۱/۶۵۸	۹±۰/۵۸***	۴۹±۰/۴۱***

***=۰/۰۰۱ >p، نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار گروه دیابتی (کنترل) با گروه نرمال است.

***=۰/۰۰۱ >p، نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار گروه تیمار با گروه دیابتی (کنترل) است.

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان داد که هماتوکریت در گروه کنترل (دیابتی‌شده با STZ) نسبت به گروه نرمال (هیچ‌گونه داروی دریافت نکرده بودند) کاهش معنی‌داری دارد. Nuria *et al.* (2005) در مطالعه‌ای نشان داده‌اند که کم‌خونی خطرناک بیشتر در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۱ دیده می‌شود. شواهد تجربی نشان می‌دهد که در بیماران مبتلا به دیابت حتی در غیاب نفروپاتی میزان هموگلوبین کاهش یافته و علائم آنمی ظاهر می‌شود؛ در صورتی‌که دیگر سلول‌های خونی از جمله لوکوسیت‌ها تغییر معنی‌داری نشان نمی‌دهند (Kathrine *et al.*, 2005). تعدادی از مطالعات نشان می‌دهند که در بیماران دیابتی آنمی پس از ظهور علائم نفروپاتی در این بیماران تظاهر کرده و آنمی در نفروپاتی دیابتی سریعتر از آنمی حاصل از سایر نفروپاتی‌ها خودنمایی می‌کند. ضمن اینکه این آنمی با کاهش میزان اریتروپوئیتین سرم نیز همراه است (Bosman *et al.*, 2001; Thomas, 2007). گزارش شده در حیوانات دیابتی، سطح هموگلوبین کاهش می‌یابد که خود نشانه آنمی است (Rajasekaran *et al.*, 2005).

نتایج حاصل از آزمایشات ما نشان داد که هماتوکریت در گروهی که تحت تیمار عصاره هیدروالکلی گل سیر به صورت پیشگیرانه بودند، نسبت به گروه کنترل (دیابتی‌شده با STZ) افزایش معنی‌داری یافته است. Jain & Vyas (1975) پیشنهاد کردند که سیر به‌عنوان یک ماده ضد دیابت باعث افزایش ترشح پانکراسی انسولین از سلول‌های بتا ذخیره شده عمل می‌کند. تحقیقات دیگری نشان داده‌اند که s–آلیل سیستئین سولفوکسید (آلیئین) که یک اسید آمینه محتوی سولفور در سیر است، کاهش عوارض دیابت را تقریباً به همان نسبت مصرف داروی ضد دیابت گلیبن کلامید یا انسولین داراست (Sheela & Augusti, 1995; Augusti & Sheela, 1996). مصرف خوراکی عصاره اتانولی سیر بر روی کاهش گلوکز سرم، کلسترول و تری‌گلسیریدها مؤثر است و همچنین موجب افزایش انسولین سرم در موش‌های دیابتی‌شده با استرپتوزوتوسین می‌شود (Eidi *et al.*, 1999).

برخی مطالعات نشان داده‌اند که استفاده از سیر در جیره غذایی ماهی تیلاپیای نیل می‌تواند میزان هموگلوبین هماتوکریت گلبول قرمز و پروتئین خون را افزایش داده و در مقابل سبب کاهش میزان چربی و قندخون شود (Shalaby *et al.*, 2006). افزایش میزان گلبول‌های سفید و بهبود رشد در اثر تغذیه با جیره غذایی حاوی سیر در خوک‌های جوان گزارش شده است (Dudek *et al.*, 2006). عصاره سیر باعث افزایش تولید سایتوکین‌ها، افزایش فعالیت ماکروفاژه، لنفوسیت‌ها و سایر سلول‌های سیستم ایمنی می‌شود (Agarwal, 1996). گونه‌های جنس Allium با افزایش پاسخ‌های ایمنی از قبیل افزایش سنتز لنفوسیت‌ها افزایش رهاسازی سیتوکینین افزایش فاگوسیتوزیس باعث بهبود سیستم ایمنی و تقویت آن در موش‌ها می‌شود (Ushijima *et al.*, 1998).

نتیجه‌گیری

نتایج کلی حاصل از این پژوهش نشان می‌دهد که مصرف عصاره هیدروالکلی گل سیر به‌صورت پیشگیرانه با توجه به آزمایشات صورت گرفته در گروه موش‌های دیابتی، می‌توانند خاصیت ضد دیابتی بسیار قوی داشته باشند؛ از جمله افزایش درصد هماتوکریت، که نیاز به بررسی بیشتر در این زمینه است.

REFERENCES

Anwar, M.M.; Meki, A.R. (2002). Oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats Effects of garlic oil and melatonin. Comp. Biochem. Physiol A Mol Integr Physiol; 135(4): 539-547.

Agarwal, K.C. (1996) Therapeutic action of garlic constituents. *Med. Res. Rev*.; 16: 111-124.

Augusti, K.T.; Sheela, C.G. (1996). Anti-peroxide effect of with s-allylcystemesulfoxide, on insulin secretagogue, in diabetic rats. Exprientia; 115-120.

Bosman, D.R.; Winkler, A.S.; Marsden, J.T.; Macdougall, I.C.; Watkins, P.J. (2001). Anemia with erythropoietin deficiency occurs early in diabetic nephropathy. Diabetes Care; 24: 495-499

Defronzo, R.A. (1997). Pathogenesis of type 2diabetes: Metabolic and molecular implications for identifying diabetes genes. Diabetes review; 177- 269.

Dudek, K.; Sliwa, E.; Tatara, M. (2006). Changes in blood Leucocyte pattern in piglets from sows treated with garlic preparations. Bull Vet Inst Pulway; 50: 236-267.

Eidi, A.; Eidi, M.; Esmaeili, E. (1999). Anti-diabetic effect of garlic (*Allium sativum* L.) in normal and streptozotocin induced by immobilization stress in mice. Nipponyakurigakuzassh; 191-197.

Engelbart, K.; Kief, H. (1970). The functional behaviour of zinc and insulin contain in the pancreatic islet cells of rats. Virchows Archives, Cell Pathol; 4: 294-302.

Ganong, M.; Racken, C. (1997). Guest editor with Dohna Hoel. Postgraduation Medicine; 101(4): 334.

Guyton, A.; Hall, G.; (2016). Textbook of medical physiology 13th ed. By sanders. pp: 972.

Hasanvand, V.; Yousofvand, N. (2017). Effect of Combined Zinc and Hydroalcoholic Extract of Garlic Flower on Serum Glucose and Insulin in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. Journal of Zoology Environment; 9(3): 79-84.

Huang, C.N.; Horng, J.S.; Yin, M.C. (2004). Anti-oxidative and anti glycative effects of six organosulfar compounds in low – density lipoprotein and plasma. Jagric food chem 2; 52(11): 3674-8.

Jain, R.C.; Vyas, C.R. (1975). Garlic in alloxan-induced diabetic rabbits. Am J Clin Nutr; 684-685.

Kathrine, J.; Craig, B.S.C.; (HONS), R.N.; Johnd, Williams, F.R.C.P. (2005). Stephan G and Riley MD *et al*., Anemia and Diabetes in the Absence of Nephropathy. Diabetes Care; 28(5): 1118.

Mosallanejad, B.; Avizeh, R.; Najafzadeh Varzi, H.; Pourmahdi, M. (2013). A Comparison between Metformin and Garlic on Alloxan-Induced Diabetic Dogs. Comparative Clinical Pathology; 22(2): 169-74.

Nammis, Bboini, M.K.; Lodgala, S.D.; Behara, R.S. (2003). The juice of fresh leaves of Catharanthus roseus Linn. reduces blood glucose in normal and alloxan diabetic rabbits. BMC Complement Altern; Med 2; 3: 4.

Nathan, D.M.; Cleary, P.A.; Backlund, J.Y.; Genuth, S.M.; Lachin, J.M.; Orchard, T.J.; *et al*. (2005). Intensive diabetes treatment and cardiovascular disease in patients with type 1 diabetes. N Engl J med; 2643-53.

Nuria Alonso, M.; Luisa Granada, Isabel Salinas, Lucas, M. (2005). Serum Pepsinogen I: An Early Marker of Pernicious Anemia in Patients With Type 1 Diabetes. The Journal of Clinical Endocrinology Metabolism; (9): 52 5419.

Rajasekaran, S.; Sivagnanam, K.; Subramanian, S. (2005). Antioxidant effect of *Aloe vera* gel extract in streptozotocin-induced diabetes in rats. Pharmacological reports; 90-96.

Shakiba Dastgerdi, A.; Rafieian-Kopaei,

M.; Jivad, N.; Sedehi, M.; Yousefi, Darani, M.; Shirani, F. (2013). Effect of hydroalcoholic extract of Anethum graveolens leaves on time response to pain stimuli in mice. J Shahrekord Univ Med Sci; 15(2): 70-76.

Shalaby, A.M.; Khattab, Y.A.; Abdel Rahman, A.M. (2006). Effects of Garlic (*Allium sativum*) and chloramphenicol on growth performance, physiological parameters and survival of Nile tilapia (*Oreochromis nilo* ticus). J venom Anim Toxinsincl Trop Dis; 12: 172-201.

Sheela, C.G.; Augusti, K.T. (1992). Antidiabetic effect of S-allyl cysteine sulphoxide isolated from garlic (*Allium sativumlinn* Linn). Indian JEXP Boil; 523-6.

Sheela, C.G.; Augusti, K. T. (1995). Antidibetiec effect of onion and garlic sulfoxide amino acids in rats. Planta Med; 61(4): 356-7.

Thomas, M.C. (2007). Anemia in diabetes: Marker or mediator of microvasculardisease? Nat ClinPract Nephrol; 3(1): 20-30.

Ushijima, M.; Sumioka, I.; Kakimoto, M.; Yokoyama, K.; Uda, N.; Matsuura, H.; Kyo, E.; Suzuki, A.; Kasuga, S.; Itakura, Y.; Petesch, B.L.; Amagase, H. (1998). Effect of garlic and garlic preparations on physiological and psychological stress in mice. Phytother. Res.; 11: 226-230.

Yajni, C.S. (2001). The insulin resistance epidemic in India: fetal origins, later lifestyle, or both? Nutr Rev.; 59-51.