

Preventive effect of hydroalcoholic extract of garlic flower on hematocrit in streptozotocin (STZ)-induced diabetes in male rats

Vahid Hasanvand¹, Namdar Yousofvand^{2*},
Soheyla Amiri³

1. Former M. Sc. Student, Biology Department, Faculty of Science, University of Razi, Kermanshah, I.R. of Iran

2. Assistant Professor, Biology Department, Faculty of Science, University of Azad Tehran Shomal, I.R. of Iran.

3. Former M. Sc. Student, Biology Department, Islamic Azad University, Tehran-Shomal Branch, Iran

(Received: Aug. 13, 2016 - Accepted: Aug. 4, 2018)

اثر پیشگیرانه عصاره هیدروالکلی گل سیر بر میزان هماتوکریت در دیابت القا شده با استرپتوزوتوسین (STZ) در موش سفید صحرائی نر

وحید حسونند^۱، نامدار یوسف‌وند^{۲*}، سهیلا امیری^۳

۱. کارشناس ارشد زیست‌شناسی - فیزیولوژی جانوری، دانشگاه رازی کرمانشاه، ایران.

۲. استادیار فیزیولوژی جانوری دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی دانشگاه رازی کرمانشاه، ایران.

۳. کارشناس ارشد زیست‌شناسی - سلولی مولکولی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، ایران.

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۵/۲۳ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۷/۵/۱۳)

چکیده

تأثیر مثبت بسیاری از گیاهان دارویی در کاهش میزان عوارض دیابت (از جمله کاهش هماتوکریت) شناخته شده است که گیاه سیر یکی از این گیاهان می‌باشد. ۲۱ سر موش صحرائی نر بالغ از نژاد ویستار به ۳ گروه تقسیم شدند ($n=7$)، گروه شاهد نرمال، که در طول ۴۵ روز از آب و غذای معمولی استفاده کردند و در روز ۱۵ به آنها نرمال سالین تزریق شد، کنترل (دیابتی شده به وسیله STZ با دوز 40 mg/kg در روز پنزدهم) و گروه پیشگیرانه عصاره گل سیر، با دریافت عصاره هیدروالکلی گل سیر با دوز 360 mg/Lit در آب آشامیدنی در یک دوره تیمار به مدت (۱۵ روز) قبل از دیابتی شدن مورد استفاده قرار گرفت. داروی STZ با دوز 40 mg/kg به صورت درون صفاقی تزریق شد میزان هماتوکریت خون با استفاده از دستگاه Diatro مدل BACUS (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 ($p<0.001$) را نشان داد. نتایج به دست آمده بیانگر آن است که دریافت عصاره گل سیر باعث افزایش میزان هماتوکریت در دیابت القایی موش صحرائی می‌گردد.

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

Abstract

Many of the medicinal herbs have shown to be effective in reducing the incidence of diabetes complications (including hematocrit), which garlic is one of these herbs. 21 adult Wistar male rats were divided into 3 groups ($n=7$), which include: normal control group that received normal water and food for 45 days and injected normal saline on 15th day. Control (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 STZ 40mg/kg was injected intraperitoneally. The hematocrit of blood samples was measured, using the ABACUS-c Diatron device (Austria). 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 extract of garlic flower extract increases hematocrit in inducible diabetes in rat.

Keywords: Diabetes, garlic flower, streptozotocin, hematocrit, rat.

مقدمه

مجموعه اختلالاتی که در نتیجه کمبود انسولین در بدن رخ می‌دهد را دیابت قندی می‌نامند. دیابت ملیتوس دونوع 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 خود ایمنی ایجاد می‌گردد در ۳ تا ۵ درصد موارد مسئول این کمبود یا فقدان انسولین می‌باشد. سن معمول شروع دیابت نوع یک در ایالات متحده آمریکا چهاره سالگی است و به همین دلیل اغلب آن را دیابت قندی جوانان می‌گویند. دیابت نوع ۲ 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 هشداردهنده‌ای در حال افزایش است. دلیل این افزایش مربوط به سبک زندگی کم تحرک، استفاده از رژیم غذایی پر انرژی و چاقی می‌باشد (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 که در حیوانات دیابتی، سطح هموگلوبین کاهش می‌یابد که خود نشانه آنمی می‌باشد (Rajasekaran et al., 2005). در مطالعه‌ای دیگر نشان داده‌اند که کم‌خونی 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 صورتی که دیگر سلول‌های خونی از جمله لوکوسیت‌ها تغییر معنی‌داری نشان نمی‌دهند (Kathrine et al., 2005). بعضی از مطالعات نشان می‌دهند که در بیماران دیابتی آنمی پس از ظهور علائم نفروپاتی در بیماران تظاهر نموده 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 ضد دیابتی 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 می‌گردد (Hasanvand & Yousofvand, 2017) و مشخص شده که ترکیبات سولفوردار سیر همانند آلیسین به عنوان 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 دیابتی شده با استرپتوزوتوسین شده است (Eidi et al., 1999). ترکیب اصلی فعال سیر از نظر زیستی تعدادی ترکیبات سولفوره نظیر دی‌آلیل سولفید، دی‌آلیل دی‌سولفید، دی‌آلیل تری‌سولفید (Sheela & Augusti, 1995)، s-آلیل سیستئین سولفوکسید، s-ایتل سیستئین سولفوکسید، s-متیل سیستئین سولفوکسید، s-پروپیل سیستئین سولفوکسید می‌باشند (Sheela & Augusti, 1992). برخی از این ترکیبات دارای خاصیت ضد دیابت 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 ...

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 می‌باشد. در این مطالعه برای القای دیابت از STZ با دوز ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم استفاده شد و همچنین از عصاره گل سیر با 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 تزریق 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 ۴۰mg/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 گردید. سپس توسط دستگاه خردکننده پودر شد. میزان ۲۰۰ گرم از پودر گیاه در درون یک ایلن یک لیتری ریخته شد و به آن الکل اتیلیک ۷۰ درصد اضافه گردید، ترکیب حاصل به مدت 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 نمودیم. محلول به دست آمده در پتری دیش ریخته و بر روی هیتر برقی با حرارت غیرمستقیم با دمای زیر ۵۰ درجه سلسیوس و در شرایط استریل خشک گردید. عصاره تغلیظ شده حاصل تا زمان آزمایش در فریزر نگهداری شد (Shakiba *et al.*, 2013). با عنایت به اینکه این عصاره خشک در زمان

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 درخصوص اثر پیشگیری‌کننده گل سیر بر دیابت انجام شد. برخی مطالعات نشان داده‌اند که استفاده از سیردرجیره غذایی ماهی تیلاپای نیل می‌تواند میزان هموگلوبین، هماتوکریت، گلبول قرمز و پروتئین خون را افزایش داده و در مقابل سبب کاهش میزان چربی و قند خون گردد (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 کم‌خونی 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 شبانه‌روز،

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 جهت انجام آزمایشات، موش‌های سفید صحرایی با میانگین وزنی حدود $225/03 \pm 9/90$ 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 سالیین 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 360 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 12000 دور در دقیقه (RPM) قرار گرفتند. جهت سنجش میزان هماتوکریت خون با استفاده از دستگاه Diatron مدل ABACUS-c (ساخت اتریش) به صورت خودکار در آزمایشگاه بالینی پاستور کرمانشاه اندازه‌گیری شد.

نرم‌افزار آماری گراف پد پریزم (Graphpad Prism)، (ورژن ۵/۱) که یک برنامه مناسب جهت تحلیل‌های زیست‌شناسی می‌باشد بررسی گردید. برای مقایسه‌ی چندین گروه از روش آنالیز واریانس یک طرفه^۱ و متعاقب آن از تست توکی (Tukey) استفاده شد. داده‌ها به صورت $\text{Mean} \pm \text{Standard Error Mean}$ بیان و کلیه اختلافات آماری با $(p < 0/05)$ معنی‌دار تلقی گردید.

یافته‌ها

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 $(p < 0/001)$. 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 به‌طور معناداری افزایش می‌دهد $(p < 0/001)$.

بحث

نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان داد که هماتوکریت در گروه کنترل (دیابتی شده با STZ) نسبت به گروه نرمال (هیچگونه داروی دریافت نکرده بودند) کاهش معناداری دارد. *Nuria et al.* (2005) در مطالعه‌ای نشان داده‌اند که کم خونی 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 صورتی که دیگر سلول‌های خونی از جمله لوکوسیت‌ها تغییر معنی‌داری نشان نمی‌دهند (*Kathrine et al.*, 2005).

روش آماری

در این پژوهش، نتایج به‌دست آمده از داده‌ها با استفاده از

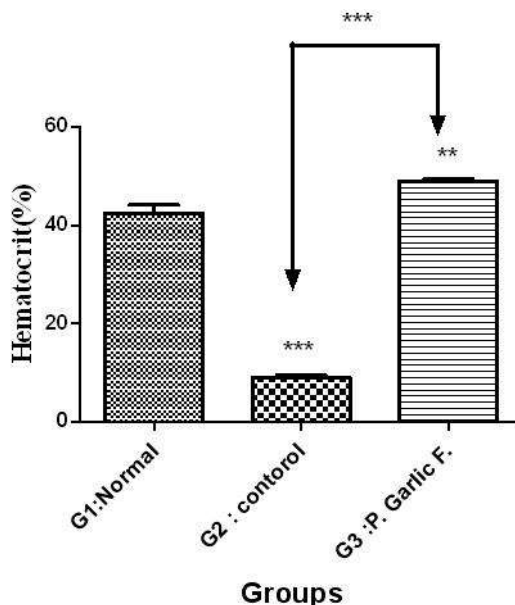
1. One Way Anova

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 (دیابتی شده تحت درمان به صورت پیشگیرانه عصاره گل سیر). مقادیر به صورت میانگین \pm انحراف از معیار بیان شده‌اند.

تیمار	کنترل	نرمال	گروه
۴۹ \pm ۰/۴۰۸۲***	۹ \pm ۰/۵۸***	۴۲/۵۰ \pm ۱/۶۵۸	میزان هماتوکریت (%)

*** $p < 0.001$ نشان دهنده اختلاف معنادار گروه دیابتی (کنترل) با گروه نرمال است.

*** $p < 0.001$ نشان دهنده اختلاف معنادار گروه تیمار با گروه دیابتی (کنترل) است.



نمودار 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 \pm انحراف از معیار بیان شده‌اند).

ANOVA**= $P < 0.01$, (n=7)

ANOVA***= $P < 0.001$, (n=7)

سیر به عنوان 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 می‌باشد کاهش عوارض دیابت را تقریباً به همان نسب مصرف داروی ضد دیابت گلیبن کلامید یا انسولین دارا می‌باشد (Sheela & Augusti, 1996; Augusti & Sheela, 1995). مصرف خوراکی عصاره اتانولی سیر بر روی کاهش گلوکز سرم، کلسترول و تری‌گلسیریدها مؤثر است و همچنین موجب افزایش انسولین سرم در موش‌های دیابتی شده با استرپتوزوتوسین می‌شود (Eidi et al., 1999).

برخی مطالعات نشان داده‌اند که استفاده از سیر در جیره غذایی ماهی تیلاپپای نیل می‌تواند میزان

تعدادی از مطالعات نشان می‌دهند که در بیماران دیابتی آنمی پس از ظهور علائم نفروپاتی در این بیماران تظاهر نموده 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 می‌باشد (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 (دیابتی شده با STZ) افزایش معناداری یافته است. Jain & Vyas (1975) پیشنهاد کردند که

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 به صورت پیشگیرانه با توجه به آزمایش‌های صورت‌گرفته در گروه موش‌های دیابتی، می‌تواند خاصیت ضد دیابتی بسیار قوی داشته باشند، از جمله افزایش درصد هماتوکریت، که نیاز به بررسی بیشتر در این زمینه می‌باشد.

هموگلوبین هماتوکریت گلبول قرمز و پروتئین خون را افزایش داده و در مقابل سبب کاهش میزان چربی و قند خون گردد (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 ماکروفاژها، 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

REFERENCES

- Anwar, M.M.; Meki, A.R.; (2003). 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 2 diabetes: 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.; Esmaili, 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. C. Racken.; (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 glycativ effects of six organosulfar compounds in low-density lipoprotein and plasma. *Jagric Food Chem*; 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.; (2005). Craig BSC (HONS), RN Johnd, Williams FRCP, 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, Boini, 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.; Granada, L.; Salinas, I.; 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 niloticus*). *J. Venom. Anim. Toxinsincl. Trop. Dis.*; 12: 172-201
- Sheela CG, Augusti KT. Antidiabetic effect of S-allyl cysteine sulphoxide isolated from garlic (*Allium sativum* Linn). *Indian JEXP boil*1992; 523-6.
- Sheela, C.G.; Augusti, K.T.; (1995). Antidiabetic 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 microvascular disease? *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.