مقاله پژوهشی

مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز
دوره ۳۳ شماره ۳ مرداد و شهریور ۱۳۹۰ صفحات ۳۵- ۳۰

اثرات عصاره اتانولی دانه هویج برقند خون و بافت کبدی موش های صحرایی دیابتیک شده با استرپتوزوسین

آرش خاکی: گروه پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز، ایران: نویسنده رابط
Email:arashkhaki@yahoo.com

دریافت: ۸۸/۹/ ۹ ، پذیرش: ۸۹/۲/۲۰

چکیده

زمینه و اهداف: مصرف دانه هویج در طب سنتی ایران در درمان دیابت کاربرد داشته است. دراین مطالعه اثر کاهندگی عصاره اتانولی دانه هویج بر قند خون در موش های صحرایی سالم و دیابتیک مورد بررسی قرارگرفت.

مواد و روش ها: موش های صحرایی ویستار به 5 دسته سالم و دیابتیک (استرپتوزوتوسین ۶۵ mg /kg – تزریق داخل صفاقی) تقسیم و حیوانات هر دسته در گروه های ۷ تایی عصاره اتانولی دانه هویج را به صورت خوراکی دریافت کردند. در گروههای دیابتیک، عصاره اتانولی دانه هویج ۷۲ ساعت پس از تزریق استرپتوزوتوسین تجویز شد و سطح گلوکز خون در روز هفتم توسط گلوکومتر اندازه گیری شد. عصاره اتانولی دانه هویج در دوزهای ۲۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ mg / kg دو بار در روز به صورت گاواژ تجویز شد.

یافته‌ها: تجویز خوراکی عصاره با دوزهای ۱۰۰ mg / kg و ۱۵۰ mg / kg، ۷۲ ساعت پس از اولین تجویز عصاره به ترتیب ($P < 0 , 001$) و ($P < 0 , 05$) سبب کاهش معنی داری در سطح گلوکز خون شد.همچنین دوز۱۰۰ mg/kg بر کاهش میزان آلدئید اکسیداز (Ox-LDL) خون درگروههای دیابتیک موثرتر بوده است.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان می دهد که عصاره اتانولی دانه هویج در دوزهای ۱۰۰ و۱۵۰mg/kg اثرات هیپو گلیسمیک قابل ملاحظه ای را در موش‌های صحرایی دیابتیک شده با استرپتوزوسین ایجاد می کند اما روی گروه کنترل دیابتیک اثری ندارد. همچنین این عصاره در این دوزها تاثیرقابل توجهی بر کاهش مرگ سلولهای کبدی و کاهش پرخونی کبدی داشته است.

کلید واژه ها: استرپتوزوتوسین،آلدیید اکسیداز، دانه هویج، دیابت، گلوکز خون.

مقدمه

دیابت بیماری مزمنی است که یکی از ویژگیهای اصلی آن هیپرگلایسمی است. هیپر گلایسمی در دراز مدت بر عملکرد ارگان های مختلف از جمله کبد تاثیر می گذارد. اختلال عملکرد کبد به طور شایع در افراد دیابتی به ویژه بیمارانی که قند خونشان به خوبی کنترل نشده دیده می شود (۱). کبد با تنظیم قند خون از طریق گلیکوژنز و گلیکوژنولیز نقش مهمی در متابولیسم

کربوهیدرات‌ها ایفا می‌کند به طوری که با مختل شدن عملکرد کبد هموستاز متابولیکی گلوکز مختل می شود(۲و۳). دیابت ملیتوس سندرومی را شامل می‌شود که بصورت افزایش قند خون تداخل در متابولیسم چربی‌ها کربوهیدرات‌ها و پروتئین ها را شامل می-شود و سبب افزایش درصد ریسک بیماری های عروقی می‌گردد (۳). افزایش استرس اکسیداتیو و تغییر دوز میزان آنتی اکسیدانت ها نقش مهمی را در پاتوژنز دیابت ملیتوس ایفا می کند (۶-۴). اگر چه مکانیزم دقیق بیماری دیابت ملیتوس تاکنون به خوبی شناخته نشده است، اما افزایش ساخت رادیکالهای آزاد از مکانیزم های عمده آسیب رسان آن می‌باشد (۹-۷). دیابت به عنوان یک بیماری آندوکرینی مهم تلقی می‌شود که در آن تنظیم متابولیسم کربوهیدراتها بهم می‌خورد (۱۰). این تغییرات سبب افزایش ساخت رادیکالهای آزاد و آلدئیداکسیداز می‌گردد (۱۳-۱۱). جود آنتی اکسیدانت هایی مثل ویتامین‌ها، فلاونوئیدها در رژیم غذایی می‌تواند اثرات حفاظتی در بیماران دیابتیک داشته باشد (۱۶-۱۴). نظر به اهمیت و جایگاه خاص دانه هویج در طب سنتی ایران به عنوان یک گیاه ضد دیابت، در این مطالعه اثر کاهندگی قند خون عصاره اتانولی دانه هویج به صورت خوراکی در موش های صحرایی سالم و دیابتیک مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

تهیه عصاره

دانه هویج جمع آوری و در آزمایشگاه در مجاورت هوای آزاد و به دور از نور آفتاب خشک گردیده و یکصد گرم از پودر دانهٔ گیاه، آسیاب شده و توسط اتر نفت چربی زدایی گردید و سپس توسط ۵۰۰ میلی لیتر اتانول به روش خیساندن و به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی عصاره گیری گردید. این مرحله ۴ بار تکرار شد. عصاره حاصله به وسیله اواپراتور تحت خلا در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد خشک گردید. میزان عصاره خشک به دست آمده با این روش ۳/۲ ٪ وزن پودر اولیه بود.

-تست وجود فلاونوییدها

به منظور بررسی حضور فلاونوییدها در عصاره از تست shinoda استفاده شده که در آن حضور رنگ قرمز با افزودن یک قطره اسید کلرید ریک 5M و منیزیم فلزی بر روی عصاره اتانولی گیاه وجود این گروه از مواد را در عصاره تایید نمود (۹).

- ایجاد دیابت با استرپتوزوتوسین:

برای ایجاد دیابت، مقدار ۶۵mg/kg از استرپتوزوتوسین در حجم ۰/۵ میلی لیتر آب مقطر حل و به طور داخل صفاقی تزریق شد و سپس هر ۲۴ ساعت میزان قند خون اندازه گیری شد. در این مدل افزایش سطح گلوکز خون پس از ۷۲ ساعت مشهود و قابل ملاحظه بود و این اثرات، برای مدت ۷ روز باقی ماند (۱۰).

۴-۲: اندازه گیری سطح گلوکز خون جهت اندازه گیری قند خون از ناحیه ورید دمی موشها قبل از تزریق داروی استرپتوزوسین و ۴۸ ساعت پس از تزریق داروی استرپتوزوتوسین خونگیری به عمل آمد. برای اندازه گیری سطح گلوکز خون از گلوکومتر (lifescan; johson & Company ; Germany) one touch استفاده شد. موشهایی که قند خون آنها ۳۰۰ میلیگرم بر دسی لیتر بود جهت آزمایش انتخاب گردیدند.

- حیوانات آزمایشگاهی

موش‌های صحرایی ویستار نر به وزن۱۰ $\pm$ ۲۲۰ گرم به طور تصادفی به ۵ گروه ۷ تایی تقسیم شدند در گروه کنترل دیابتیک حیوانات سالم، با تزریق داخل صفاقی استرپتوزوتوسین (mg/kg ۶۵)دیابتی شدند و سپس نرمال سالین را به میزان (۱ میلی لیتر) به صورت گاواژ دریافت کردند در ۴ گروه باقی مانده حیوانات سالم، با تزریق داخل صفاقی استرپتوزوتوسین (mg/kg ۶۵)دیابتی شدند پس از ۷۲ ساعت از ایجاد دیابت این حیوانات عصاره اتانولی دانه هویج را به صورت خوراکی و به وسیله گاواژ که به ترتیب در سوسپانسیون های حاوی ۲۰، ۵۰، ۱۰۰ mg/kg ۱۵۰ عصاره در یک میلی لیتر نرمال سالین دریافت نمودند. قند خون حیوانات در ۷۲ ساعت بعد از دریافت عصاره (روز هفتم از شروع تحقیق) اندازه گیری شد.

بررسی میزان آلدئید اکسیداز (Ox-LDL) خون:

در روز هفتم ،بررسی میزان **آلدئید اکسیداز (Ox-LDL)** خون توسط کیت مارکودیا الایزا ساخت کشور سوئد برحسب واحد U/L سنجش شد (۱۶).

-جراحی

در روز هفتم، از پنتوباربیتال(mg/kg ۴۰) جهت بیهوشی از طریق تزریق داخل صفاقی استفاده شده و سپس ناحیه صفاقی با شکاف عرضی شکمی باز شد. بافت کبد در گروهای تحت مطالعه و کنترل از بدن خارج شدند. در انتهای این تحقیق حیوانات در طول مدت ۲ ساعت(۱۱ـ۹ صبح) توسط گاز CO2 کشته شدند (۱۳).

مراحل آماده سازی بافت جهت مطالعه با میکروسکوپ‌های نوری:

در روز هفتم نمونه‌های بافت کبدی در محلول فرمالین ۱۰٪بافر تثبیت گردیدند وپس ازتهیهٔ مقاطع میکروسکوپی باضخامت (۵µ) رنگ آمیزی هماتوکسیلن-ائوزین انجام گردید. جهت تهیهٔ تصاویر از فیلم ASA 400 Kodak Ultra و میکروسکوپ نوری مدل (Olympus/ 3H - Z) ساخت کشور ژاپن استفاده شد (۱۰).

- آنالیز آماری

جهت مقایسه نتایج حاصله در گروههای مداخله و شاهد، از آزمون ANOVA و برای استفاده از معنی دار بودن کاهش سطح گلوکز از روش آماری مقایسه ای چندگانه Dunnett استفاده گردید و با استفاده از نرم افزارSPSS نسخه ۱۶، آنالیز آماری انجام گردید.

در این مطالعه مقدار P کمتر از ۰/۰۵ از لحاظ آماری معنی دار تلقی گردید.

یافته‌ها

طبق آزمایشات انجام شده، تزریق استرپتوزوتوسین با تک دوز ۶۵ mg/kg به صورت داخل صفاقی در موش‌های صحرایی بعد از۷۲ ساعت باعث افزایش در سطح گلوکز در همه گروهها شد و این افزایش مشهود در گروه دیابتیک کنترل برابر با mg/dL ۱۱/۱±۵۶۱/۵ بود که این مقدار به طورمعنی‌داری (P< ۰/۰۰۱) در سطح گلوکز خون برای مدت ۷ روز نسبت به سایر گروههای دیابتیک دریافت کننده عصاره اتانولی دانه هویج ادامه داشت. سطح گلوکز خون در گروههای دیابتیک دریافت کنندهء عصاره اتانولی دانه هویج به صورت خوراکی و با دوزهای (۲۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ mg / kg) به مقدار قابل توجهی در ۷۲ ساعت پس از اولین تجویز عصاره (روز هفتم) کاهش یافته بود، که به ترتیب برابر با: mg/dL ۱۱/۵ ± ۴۷۶، ۲۲/۵± ۳۹۹ mg / dL، mg / dL ۱۱/۱±۳۵۰، mg/dL ۸ /۱۱±۲۷۷/۵ بود که این مقادیر در گروههای دریافت کنندهٔ عصاره اتانولی دانه هویج در دوزهای ۱۰۰ و ۱۵۰ mg /kg درمقایسه با گروه دیابتیک کنترل به میزان (P<۰/۰۰۱) در سطح کاهش گلوکز خون معنی‌داری بود جدول شماره ۱.

یافته‌های بررسی میزان آلدئید اکسیداز (Ox-LDL) خون:

میزان آلدئید اکسیداز (Ox-LDL) خون در گروه های کنترل دیابتیک u/l 3.1±0.05 ،در گروههای تحت مطالعه دوم تا پنجم دریافت کننده عصاره اتانولی دانه هویج با دوزهای **(۲۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ mg / kg)** به ترتیب برابر با2.7±0.05 u/l، 3.3±0.05 u/l، 3.0±0.05 u/l، 2.9±0.05 u/l بود و تفاوت معنی داری د رمیان گروهها دیده نشد.

یافته‌های میکروسکوپ نوری:

دیابت ایجاد شده سبب پرخونی بافت کبدی اتساع فضای دیس و مرگ سلولهای کبدی در تمامی گروههای دریافت کننده داروی استرپتوزوتوسین گردیده است (فتومیکروگراف A). مصرف عصاره اتانولی دانه هویج در دوزهای ۲۰ و۵۰ تاثیر مثبتی بر کاهش میزان پرخونی و اتساع فضای دیس در بافتهای کبدی حیوانات دیابتیک نداشت (فتومیکروگرافهای B,C). مصرف عصاره اتانولی دانه هویج در دوزهای ۱۰۰ و۱۵۰ تاثیرقابل توجه بر کاهش مرگ سلولهای کبدی و کاهش پرخونی کبدی داشت (فتومیکروگرافهایD,E).

فتومیکروگراف A: پرخونی بافت کبدی، اتساع فضای دیس و مرگ سلولهای کبدی (فلش) در گروه کنترل دریافت‌کننده داروی استرپتوزوتوسین .X160 (H&E).

فتومیکروگراف B : پرخونی بافت کبدی، اتساع فضای دیس و مرگ سلولهای کبدی (فلش) در گروه کنترل دریافت کننده داروی استرپتوزوتوسین مصرف کننده عصاره اتانولی دانه هویج با دوز ۲۰mg/kg. X160 (H&E).

فتومیکروگراف C: پرخونی وریدتحت لوبولی کبدی،اتساع فضای دیس ومرگ سلولهای کبدی (فلش) در گروه کنترل دریافت‌کننده داروی استرپتوزوتوسین مصرف کننده عصاره اتانولی دانه هویج با دوز ۵۰mg/kg .X160 (H&E).

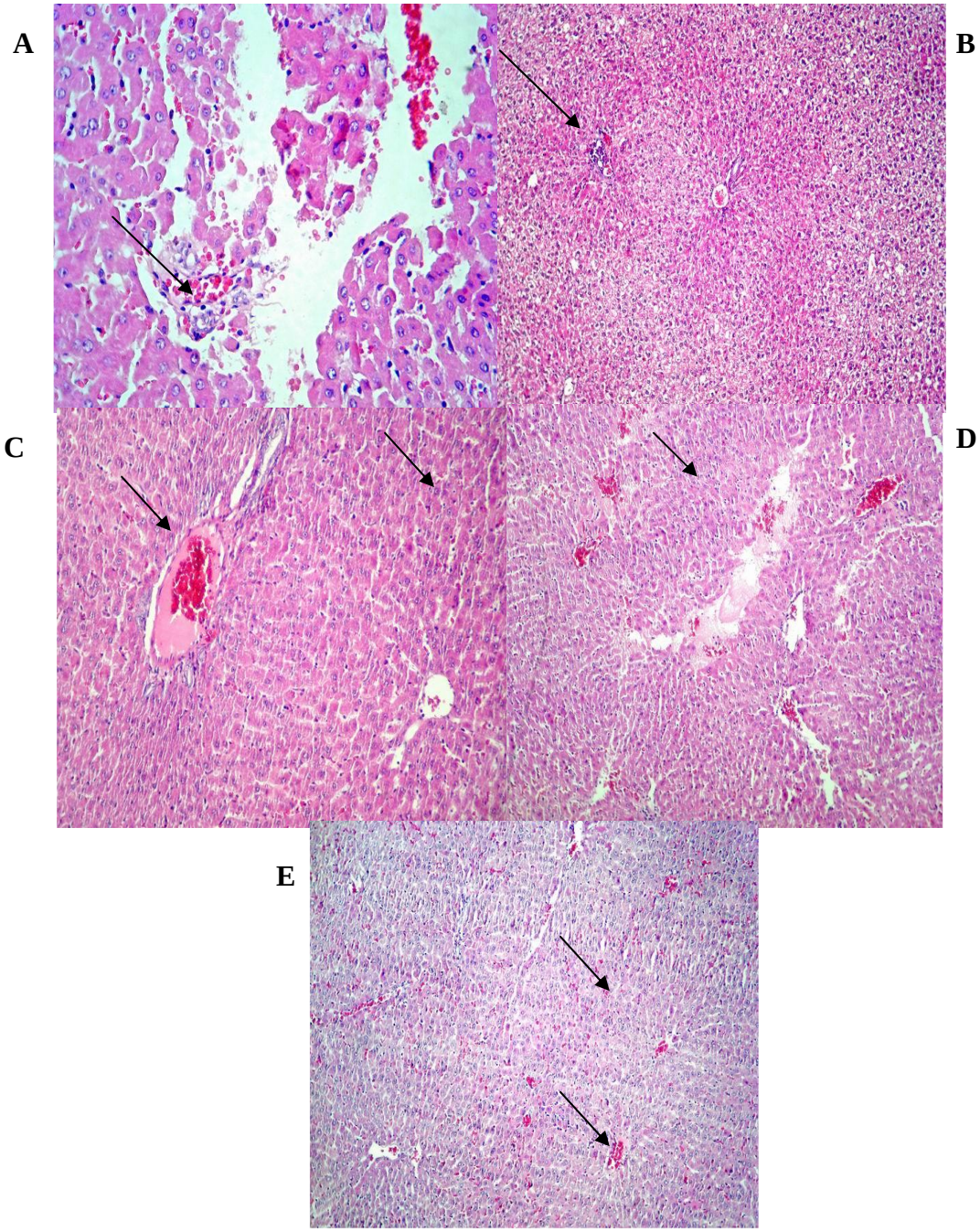
فتومیکروگراف D: پرخونی بافت کبدی، اتساع فضای دیس ومرگ سلولهای کبدی (فلش) در گروه کنترل دریافت کننده داروی استرپتوزوتوسین مصرف کننده عصاره اتانولی دانه هویج با دوز ۱۰۰mg/kg .X160 (H&E). **فتومیکروگراف E**: پرخونی بافت کبدی، اتساع فضای دیس و مرگ سلولهای کبدی (فلش) در گروه کنترل دریافت کننده داروی استرپتوزوتوسین مصرف کننده عصاره اتانولی دانه هویج با دوز ۱۵۰mg/kg .X160 (H&E).

جدول شماره ۱: نتایج آنالیز آماری سطح معنی داری کاهش قند خون در گروههای دریافت کننده عصاره اتانولی دانه همویج را نشان می دهد.

گروه	گروه	اختلاف میانگین	خطای استاندارد	P- مقدار P
۲۰	کنترل	- ۰.۴	۰,۲۳۱۹	۰,۰۰۱
۵۰	کنترل	۰,۲	۰,۲۳۱۹	۰,۸۵
۱۰۰	کنترل	-۰,۱	۰,۲۳۱۹	۰,۵۶
۱۵۰	کنترل	-۰,۲	۰,۲۳۱۹	۰,۴۸

	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	مقدار F	مقدار P
بین گروهها	۱,۵۷۷	۴	۰,۳۹۴	۲۰۹,۵۰۴	۰,۰۰۰۱
داخل گروهها	۰,۰۵۶	۳۰	۰,۰۰۲	-	-
کل	۱,۶۳۳	۳۴	۰,۳۹۶	-	-

با استفاده از آزمون دانت (Dunnett) و باسطح معنی داری ۰/۰۵ نتیجه گیری شد که عصاره اتانولی دانه هویج در حیوانات دیابتیک از نوع II دارای اثرات ضددیابتیکی قابل توجه ای در دوز mg/kg ۲۰ می‌باشد.



نمودار : نتایج حاصل از مطالعات میکروسکوپ نوری از مقاطع تهیه شده از بافت کبد، رنگ آمیزی هماتوکسیلن –ائوزین (H&E)(X۳۲۰)

بحث

تحقیقات وسیعی در دنیا درزمینه استفاده از خواص گیاهان دارویی درزمینه های مختلف طبی انجام گرفته است وبر طبق کتب قدیمی طب سنتی ایران، استفاده از گیاهان دارویی جهت درمان بیماریهای مختلف مخصوصا" دیابت می‌تواند تاثیر مثبت‌داشته باشد (۱). ترکیبات زیادی وجود دارد که اثرات ضد دیابت آنها ثابت شده است از جمله این ترکیبات پپتیدها، آمین‌ها، لیپیدها (۱۲) و فلاونوئیدها (۱۲ و ۱۳) از جمله کرستین می باشد.

.تحقیقات نشان داده است که کبد با تنظیم قند خون از طریق گلیکوژنز و گلیکوژنولیز نقش مهمی در متابولیسم کربوهیدرات ها ایفا می کند به طوری که با مختل شدن عملکرد کبد هموستاز متابولیکی گلوکز مختل می‌شود (۲و۳) با مختل شدن متابولیسم گلوکز و بروز هیپرگلایسمی ،ژن های مرتبط با ذخیرهء اسیدهای چرب در سلول‌های کبدی فعال می‌شوند (۴). از سوی دیگر بیمارهای کبدی نیز می توانند باعث بروز دیابت شوند که این نوع

از دیابت (hepatogenous diabetes) از نظر بالینی با دیابت نوع II متفاوت است چرا که در این فرم از دیابت میکرو آنژیو پاتی کمتر دیده می شود (۱۶). علت زمینه‌ای ایجاد بیماری کبدی در میزان بروز این نوع از دیابت موثر است به طوری که بیشترین میزان بروز دیابت در مصرف الکل، هپاتیت C و هموکروماتوزیس دیده می‌شود (۱۴و۱۵). ایجاد مقاومت نسبت به انسولین در بافت چربی و بافت عضلانی و همچنین سطوح بالای انسولین، اساس آسیب شناسی بروز دیابت در بیماری های کبدی است (۱۷). تحقیقات نشان داده است که آسیب‌های بافت کبد و مرگ برنامه ریزی شده ایجاد شدهٔ توسط دیابت سبب افزایش گونه‌های فعال اکسیژن بوده است. فلاونوئیدها به عنوان یک عامل آنتی‌اکسیدانتی در مواد غذایی مثل: میوه جات، سبزی ها، چای و انگور سیاه یافت می‌شوند (۱۸) این مطالعه به خوبی نشان می‌دهد که عصاره اتانولی دانه هویج در موش‌های صحرایی دیابتیک اثر هیپوگلیسمیک قابل توجهی دارد. به عبارتی دیگر عصاره اتانولی دانه هویج نظیر داروهای بی گوانیدی مثل مت فورمین عمل می‌کند که این داروها به عنوان عامل euglycemic عمل می‌کند (۱۱). تجویز خوراکی عصاره اتانولی دانه هویج با دوزهای با مقادیر ۱۰۰ و mg/ kg ۱۵۰، ۷۲ ساعت پس از تزریق استرپتوزوتوسین باعث کاهش سطح گلوکز خون بطور معنی داری می‌شود، به طوری که عصاره با دوز ۱۰۰ mg / kg در ۷۲ ساعت پس از تجویز به ترتیب موجب کاهش ۶ / ۲۹ ٪ ($P < ۰ / ۰۰۱$) در سطح گلوکز خون در مقایسه با گروه کنترل دیابتیک می‌شود. این کاهش در ۷۲ ساعت بعد برای دوز ۱۵۰ mg / kg به ترتیب به میزان ۳ / ۴۵ ٪ ($P < ۰ / ۰۰۱$) می‌باشد. دوزهای ۲۰ mg / kgو50 mg/kg در هیچکدام از ساعات فوق الذکر تاثیر معنی داری بر میزان قند خون حیوانات در مقایسه با گروه کنترل دیابتیک ندارند. این نتایج نشان می دهد که اثر هیپوگلیسمیک عصاره اتانولی دانه هویج در حیوانات دیابتیک در دوزهای بالا بسیار قابل توجه و وابسته به دوز می‌باشد ولی با کاهش دوز عصاره این اثر حذف می‌گردد. اثرات غیر وابسته به دوز و متفاوت با دوزهای مختلف می‌تواند مربوط به ترکیبات افزاینده قند خون در داخل عصاره باشد که با دوزهای پایین قادر به ایجاد اثر نیست ولی با افزایش مقادیر آنها می تواند اثرات سایر عوامل هیپوگلیسمیک را بپوشاند. همچنین با بعضی از ترکیبات عصاره ممکن است به صورت وابسته به دوز، اثرات دو گانه بر روی سطح گلوکز خون داشته باشد. مکانیسم‌هایی که برای عصاره های دارای پپتیدها، آمین ها، لیپیدها و فلاونوئیدها پیشنهاد شده است عبارتند از تحریک گلیکوژنز، بلوک کانالهای پتاسیم سلولهای بتای پانکراس و تنظیم جذب گلوکز از دیواره روده (۱۲). باتوجه به ترکیب فلاونوئیدی دانه هویج به نظر می‌رسد که درخاصیت ضد دیابتی عصاره اتانولی آن فلاونوئیدها (۱۸و ۷)، بتوانند موثر باشد.

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که به طور کلی عصاره اتانولی دانه هویج در حیوانات دیابتیک از نوع II دارای اثرات ضد دیابتی قابل توجهی در دوز های پایین می‌باشد. با توجه به جدول ANOVA زیر ملاحظه می‌گردد که در سطح معنی‌داری α=۰,۰۵ اختلاف بین گروهها (کنترل، ۲۰،۵۰، ۱۰۰،۱۵۰)معنی‌دار می‌باشد.

References

1. Jiang GY. *Practical Diabetes*.1st ed. Beijing, People's Health Pub, 1996; PP: 55-70
2. Holstein A, Hinze S, Thiessen E, Plaschke A, Egberts EH. Clinical implications of hepatogenous diabetes in liver irrhosis. *J Gastroenterol Hepatol* 2002; **17**: 677-668.
3. Tappy L, Minehira K. New data and new concepts on the role of the liver in glucose homeostasis. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2001; **4**: 273-277
4. Blumenthal M, Goldberg A, Brinckmann J. Herbal medicine Integrative medicine communications. *Austin* 2000; **8**: 401.
5. Gruenwald J, Brendler T. PDR for herbal medicines. 3rd ed. THOMSON PDR at Montvale, 2004; PP: 861-862.
6. Cada J, Covington R, Generali A. The review of natural products. Facts and Comparisons. *Missouri* 2002; 46.
7. Fathi Azad F, Garjani A, Motavalian A. Study of hypoglycemic activity of the hydroalcoholic extract of Juglans regia in normal and diabetic rats. Pharmaceutical Sciences. *Summer* 2006; 13-17.
8. Wagner H, Bladt S. *Plant's drug analysis*. Springer – Verlag, Berlin, 1996; PP: 278.
9. Markham KR. Technique of flavonoid identification. Academic Press, London, 1982; PP: 71.
10. Rush E, Crook N, Simmons D. Point-of-care testing as a tool for screening for diabetes and pre-diabetes. *Diabet Med* 2008; **25**(9):1070-1075.
11. Fathiazad F, Garjani A, Maleki N, Ranjdoost S. Study of the hypoglycemic activity of hydroalcoholic extract of Urtica dioica in normal and diabetic rats. *Pharmaceutical Sciences* 2005; **2**: 65-69.
12. Marles RJ. World Health Organization-diabetes mellitus, Report of WHO study group. *Journal of Botanical Medicine*1996; **1**(3): 85–135.
13. Hosseinzadeh H, Ramezani M. Danaei A. Antihyperglycemic Effect & Acute Toxicity of

Securigera securidaca L. Seed Extracts in Mice. *Phototherapy Research* 2002; **16**: 745–747.
14. Atsushi K, Yuka M, Yamamoto J, Isao A, Alison A, Robert J. Nash. Protective Effects of Dietary Chamomile Tea on Diabetic Complications. *J Agric Food Chem* 2008; **56**: 17.
15. Custro N, Carroccio A, Ganci A, Scafidi V, Campagna P, Di Prima L, Montalto G. Glycemic homeostasis in chronic viral hepatitis and liver cirrhosis. *Diabetes Metab* 2001; **27**: 476-481.
16. Lecube A, Hernandez C, Genesca J, Esteban JI, Jardi R, Simo R. High prevalence of glucose abnormalities in patients with hepatitis C virus infection: a multivariate analysis Considering the liver injury. *Diabetes Care* 2004; **27**: 1171-1175.
17. Khaki A, Nouri M, Fathiazad F, Ahmadi-Ashtiani HR, Rastgar H, Rezazadeh Sh. Protective Effects of Quercetin on Spermatogenesis in Streptozotocin-induced Diabetic Rat. *Iranian Journal of Medical Plants* 2009; **8**(4); 57-64.
18. Khaki AA, Khaki A, Nouri M, Ahmadi-Ashtiani HR, Rastegar H, Rezazadeh Sh, Fathiazad F, etal. Evaluation Effects of Quercetin on Liver Apoptosis in Streptozotocin-induced Diabetic Rat. *Iranian Journal of Medical Plants* 2009; **8**(4); 70-78.