

تأثیر عصاره هیدروالکلی میوه گیاه جغجغه بر میزان گلوکز خون و بیان ژن پیرووات کیناز در موش‌های صحرایی دیابتی نوع ۱

موسی درویش سرگزی^۱، صدیقه اسمعیل‌زاده بهابادی^{۲*}، حمید رضا میری^۳، شهلا نجفی^۴، سید کاظم صباغ^۵

۱- کارشناسی ارشد ژنتیک، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه زابل، زابل، ایران.

۲- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه زابل، زابل، ایران.

۳- استادیار، دانشگاه علوم پزشکی تربت حیدریه، تربت حیدریه، ایران.

۴- دانشیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه زابل، زابل، ایران.

۵- دانشیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه یزد، یزد، ایران.

یافته / دوره هفدهم / شماره ۴ / زمستان ۹۴ / مسلسل ۶۶

چکیده

دریافت مقاله: ۹۴/۹/۱۶۹ پذیرش مقاله: ۹۴/۱۱/۱۳

* مقدمه: با توجه به خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره میوه گیاه جغجغه و نقش آنتی‌اکسیدان‌ها در بهبود دیابت، این مطالعه با هدف اثر عصاره هیدروالکلی میوه گیاه جغجغه بر میزان قند خون و بیان ژن پیرووات کیناز در موش‌های صحرایی دیابتی شده انجام شد.

* مواد و روش‌ها: با تزریق استرپتوزوتوسین (60 mg/kg) در موش‌های صحرایی نر ($150-300$ گرم) دیابت نوع ۱ ایجاد شد. گروه دیابتی تحت تیمار به صورت روزانه (300 mg/kg) عصاره میوه جغجغه را به صورت گاواژ به مدت ۳۰ روز دریافت نمودند. گروه شاهد سالم و شاهد دیابتی آب مقطر دریافت کردند. سپس در روز قبل از تجویز عصاره و روزهای ۱۵ و ۳۰ بعد از تجویز عصاره میزان گلوکز خون اندازه‌گیری شد. میزان بیان ژن پیرووات کیناز بافت کبدی توسط روش Real-Time PCR بررسی گردید.

* یافته‌ها: نتایج نشان داد در گروه دیابتی تحت تیمار در روز ۱۵ میزان گلوکز خون به طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد دیابتی کاهش یافت ولی پس از آن تا پایان دوره مطالعه تغییری در گلوکز خون موش‌ها مشاهده نشد. بررسی بیان ژن پیرووات کیناز نیز نشان داد میزان بیان ژن در گروه دیابتی تحت تیمار در روز ۱۵ به طور معنی‌داری نسبت به شاهد دیابتی افزایش یافت، سپس تا پایان روز ۳۰ بیان آن تغییر نکرد ولی همچنان از گروه شاهد دیابتی بیشتر بود.

* بحث و نتیجه‌گیری: تحقیق حاضر نشان می‌دهد تجویز عصاره هیدروالکلی میوه گیاه جغجغه توانسته احتمالاً از طریق افزایش بیان ژن پیرووات کیناز باعث کاهش گلوکز خون شود.

* واژه‌های کلیدی: دیابت نوع ۱، جغجغه، موش صحرایی، پیرووات کیناز.

* آدرس مکاتبه: زابل، دانشگاه زابل، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی.

پست الکترونیک: esmaeilzadeh@uoz.ac.ir

مقدمه

بیماری دیابت شیرین سندرم پیچیده‌ای است که با افزایش گلوکز خون، اختلال در متابولیسم کربوهیدرات و لیپید همراه می‌باشد. روند ابتلا به دیابت به عنوان شایع‌ترین بیماری ناشی از اختلال متابولیسم در سال‌های اخیر رو به افزایش است. در دیابت نوع یک سلول‌های بتای پانکراس دچار تخریب شده و به دنبال آن تولید انسولین کاهش می‌یابد. به دلیل این که اندام‌های اصلی بدن برای مصرف سوخت خود که عمدتاً گلوکز می‌باشد به هورمون انسولین نیاز دارند، این کاهش منجر به کاهش مصرف گلوکز توسط اندام‌ها و افزایش قند خون و گلوکونئوز می‌شود. انسولین با اثر تحریکی بر مسیر گلیکولیز و مکانیزم کنترل منفی بر مسیر گلوکونئوز باعث افزایش گلیکولیز و مهار گلوکونئوز در بافتها و کاهش قند خون می‌شود (۱). روش‌های مختلفی برای درمان دیابت پیشنهاد شده است که می‌توان به داروهای شیمیایی پایین آورنده گلوکز خون و استفاده از انسولین اشاره نمود (۲). همچنین روش‌های پیوند پانکراس، پیوند جزایر لانگرهانس (۳) و حتی استفاده از سلول‌های بنیادی (۴) مورد توجه می‌باشند. اثرات جانبی داروهای شیمیایی و تداخلات آنها با یکدیگر که در بدن انسان یا در هنگام آزمایش‌های مختلف آشکار می‌شود مسئله مهمی است که باید مدنظر باشد (۵). با توجه به این که گیاهان دارویی نسبت به داروهای شیمیایی اثر جانبی کمتری دارند، بنابراین پژوهشگران به دنبال یافتن ترکیب‌های گیاهی برای درمان و یا پیشگیری از این بیماری هستند. به طور سنتی در طول تاریخ از گیاهان متفاوتی برای کاهش قندخون و بهبود اثرات دیابت، استفاده شده است. داروهای گیاهی به خاطر کم بودن اثرات جانبی، در دسترس بودن، هزینه نسبتاً کم و مؤثر بودن آنها، به طور وسیع در سرتاسر جهان مورد تجویز واقع می‌شوند (۶). عصاره گیاهان دارویی به علت داشتن ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی متعدد دارای خواص آنتی‌اکسیدانی بوده و قادر

به رفع عوارض ناشی از استرس اکسیداتیو در بیماران دیابت می‌باشند. مواد مؤثر موجود در گیاهان دارویی مختلف، از طریق مکانیزم‌های متفاوتی قادر به کاهش قند خون هستند. عمده این مکانیزم‌ها عبارتند از: افزایش ترشح انسولین، فعال کردن مسیر کاتابولیسم گلوکز، مهار یا غیر فعال کردن مسیر گلوکونئوز، هدایت گلوکز به داخل سلول، جذب گلوکز آزاد و ممانعت از اتصال آن به پروتئین‌ها، افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و ممانعت از آسیب‌زایی اکسیدان‌ها می‌باشد (۷). پیرووات کیناز (*PK*) نقش متابولیکی مهمی در گیاهان، باکتریها و جانوران دارد. ایزوزیم‌های مختلف *PK* مصرف کربن متابولیکی به منظور بیوسنتز و استفاده پیرووات برای تولید انرژی را کنترل می‌کند (۸). مطالعات کمی در زمینه تغییرات بیان ژنهای مسیر گلیکولیز تحت تأثیر عصاره‌های گیاهی صورت گرفته است. به عنوان مثال گزارش شده است عصاره گیاه دارویی دارچین، بیان ژن پیرووات کربوکسی کیناز (*PEPCK*) و ناقل ۲ گلوکز (*GLUT 2*) را در موش دیابتی افزایش داد و از کاهش بیان *PK* جلوگیری کرد (۹). گیاه جغجغه (*Prosopis farcta*) از خانواده *Leguminosea* و زیر خانواده *Mimosoideae* می‌باشد که بومی نواحی خشک و نیمه خشک آمریکا، آسیا و آفریقا است (۱۰). از جمله خواص دارویی این گیاه، معالجه زخم معده، سقط جنین، اسهال خونی، روماتیسم، التهاب حنجره، دردهای قلبی و تنگی نفس می‌باشد (۱۱). همچنین در تحقیقات دیگر به خواص ضد دیابتی و فواید ضد اسپاسم، تسکین دهنده‌گی و ضد التهابی گیاه جغجغه اشاره شده است (۱۲). برخی ترکیبات مؤثر موجود در گیاه جغجغه عبارتند از: ۵- هیدروکسیل، ال-آرابینوز، لکتین، توکسین، تریپتامین، آپیچنین و تری گونلین (۱۳). هدف از انجام این مطالعه بررسی اثر عصاره هیدروالکلی میوه گیاه جغجغه بر میزان گلوکز خون و بیان ژن آنزیم پیرووات کیناز، آخرین آنزیم مسیر گلیکولیز می‌باشد.

مواد و روش‌ها

تهیه عصاره هیدروالکلی میوه گیاه جفجغه

جهت تهیه عصاره هیدروالکلی میوه گیاه جفجغه از روش غرقابی استفاده شد (۱۴). بدین منظور ابتدا میوه گیاه جفجغه از سطح زمین‌های بیابانی توابع شهرستان زابل جمع‌آوری گردید. میوه‌ها، در سایه خشک و سپس پودر گردید. ۵۰۰ گرم از پودر بدست آمده درون بشر ۵۰۰۰ سی سی ریخته شد و به آن الکل اتیلیک ۹۶ درصد که با آب مقطر به الکل ۷۰ درصد تبدیل شده بود اضافه گردید، به گونه ای که سطح پودر را بپوشاند. با دستگاه هم زن به مدت ۲۴ ساعت هم زده شد و سپس برای مدت ۴۸ ساعت در فضای تاریکی قرار داده شد. بعد از این مدت، محلول حاصل از کاغذ صافی عبور داده شد و برای اطمینان از خالص بودن عصاره مجدداً با پمپ خلاء صاف گردید و محلول صاف شده به مدت ۲۴ ساعت در آون با دمای ۴۵ درجه قرار گرفت تا خشک شود. پودر خشک شده در آخرین مرحله وزن و تحت دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس با اضافه کردن سرم فیزیولوژیک به وزن مشخصی از عصاره، غلظت مورد نظر تهیه شد و جهت تیمار موش‌های صحرایی دیابتی استفاده شد.

روش القای دیابت نوع ۱

مدل تجربی دیابت قندی نوع ۱ در موش صحرایی نر با تزریق درون صفاقی استرپتوزوتوسین ایجاد شد. ویال یک گرمی پودر استرپتوزوتوسین از شرکت سازنده سیگما با کد S0130 به سفارش شرکت مهران پارس صبا خریداری شد و در بافر نرمال سالین ۰/۱ مولار (pH=3.5-4.2) حل شد. محلول استرپتوزوتوسین تهیه شده به حجم ۶۰ cc رسید و به وسیله سرنگ انسولین به نسبت وزن بدن حیوان به صورت درون صفاقی تزریق شد. مقدار خالص استرپتوزوتوسین تزریق شده به هر موش ۶۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن بود. برای اطمینان از القاء دیابت ۲ روز بعد میزان گلوکز ناشتای خون اندازه‌گیری شد و در

صورتی که سطح گلوکز ناشتای خون آن‌ها بیشتر از ۱۴۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر بود به عنوان موش‌های دیابتی در نظر گرفته شد و در غیر این صورت عمل تزریق بایستی تکرار می‌گردید (۱۴).

تیمار با عصاره هیدروالکلی میوه جفجغه

موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار ۲ تا ۳ ماهه با میانگین وزنی ۳۰۰-۱۵۰ گرم به صورت تصادفی به ۳ گروه ۱۵ تایی تقسیم شدند: گروه ۱ سالم (شاهد غیردیابتی)، گروه ۲ (دیابتی شاهد) و گروه ۳ (دیابتی تحت تیمار). به مدت ۳۰ روز مقدار ۳۰۰ میلی‌گرم عصاره هیدروالکلی میوه به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن از طریق گاوژ به موش‌های مورد مطالعه خوراندند. گروه شاهد سالم و شاهد دیابتی هم در این مدت سرم فیزیولوژی دریافت کردند.

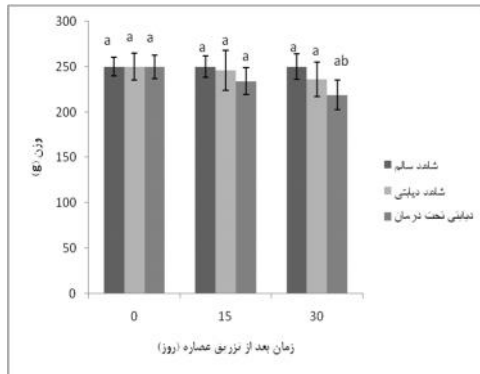
اندازه‌گیری قند و وزن موش‌ها

کنترل گلوکز خون و وزن موش‌ها در طول ۳۰ روز مطالعه طی سه مرحله انجام شد. بدین صورت که اندازه‌گیری گلوکز و وزن ابتدا ۲ روز بعد از تزریق استرپتوزوتوسین قبل از تجویز عصاره و سپس در روزهای ۱۵ و ۳۰ مطالعه انجام شد. برای اندازه‌گیری گلوکز خون یک قطره خون از انتهای دم موش روی دستگاه گلوکومتر ریخته و میزان گلوکز ناشتای خون آن‌ها سنجیده شد. در طی مطالعه وزن موش‌ها نیز بوسیله ترازوی دیجیتالی اندازه‌گیری و ثبت شد.

بررسی بیان ژن پیرووات کیناز

استخراج RNA از بافت کبدی کل طبق دستورالعمل کیت Geneall Hybrid-RTM (شرکت پیشگام) انجام گرفت. پس از استخراج RNA، کمیت و کیفیت آن با روش اسپکتروفتومتری و الکتروفورز ژل آگارز مورد ارزیابی قرار گرفت. جهت سنتز cDNA از کیت Revert Aid First Strand cDNA Synthesis Kit (شرکت پیشگام)، استفاده شد. توالی پرایمرهای اختصاصی برای بیان ژن PK و

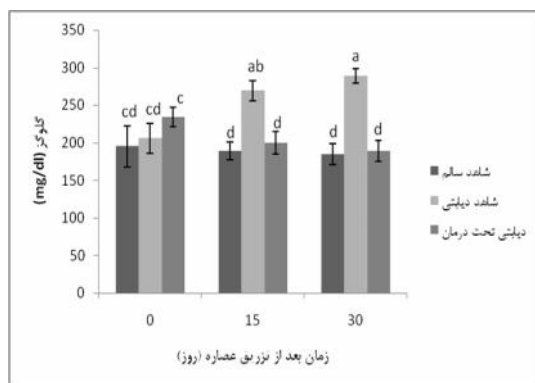
صحرائی تحت تیمار با عصاره میوه جغجغه تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد دیابتی نداشت. بنابراین کاهش وزن در سه گروه مورد مطالعه در هیچ کدام از مقاطع زمانی در طول مطالعه با گروه شاهد دیابتی اختلاف معنی‌داری نداشت.



شکل ۱. اثر مصرف عصاره هیدروالکلی میوه گیاه جغجغه بر وزن موش‌های صحرائی در سه گروه، شاهد سالم، شاهد دیابتی، و دیابتی تحت تیمار با عصاره میوه گیاه جغجغه در سه مقطع زمانی قبل از تجویز عصاره، روزهای ۱۵ و ۳۰ پس از تجویز عصاره. میانگین‌های دارای حرف مشترک در هر تیمار از نظر آماری در سطح ۵٪ تفاوت معنی‌دار ندارند.

بررسی نتایج گلوکز ناشتای سرم موش‌های مورد مطالعه

بررسی گلوکز ناشتای سرم خون نشان داد که در روز ۱۵ در گروه دیابتی تحت تیمار با عصاره، گلوکز خون به طور معنی‌داری نسبت به گروه دیابتی شاهد کاهش یافت. پس از آن تا پایان دوره مطالعه تغییر معنی‌داری در گلوکز خون مشاهده نشد ولی همچنان نسبت به گروه شاهد دیابتی به طور معنی‌داری پایین‌تر بود (شکل ۲).



شکل ۲. اثر مصرف عصاره هیدروالکلی میوه گیاه جغجغه بر گلوکز ناشتای موش‌های صحرائی در سه گروه، شاهد سالم، شاهد دیابتی، و دیابتی تحت تیمار با عصاره برگ گیاه جغجغه در سه مقطع زمانی قبل از تجویز عصاره، روزهای ۱۵ و ۳۰. میانگین‌های دارای حرف مشترک در هر تیمار از نظر آماری در سطح ۵٪ تفاوت معنی‌دار ندارند.

همچنین ژن TATA-box binding protein (*TBP*)

به عنوان استاندارد درونی در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱. توالی پرایمرها برای بیان ژنهای *TBP* و *PK*

نام ژن	شماره دسترسی	توالی پرایمر
Forward <i>PK</i>	NM-013631	TGAAGGCGTGAAGAAG TTTGA -3'-5'
Reverse <i>PK</i>	NM-001099779	GCAGCGTCCAATCATC ATCT -3'-5'
Forward <i>TBP</i>	XM-00806748301	GAGCCAAGAGTGAAGA ACA -3'-5'
Reverse <i>TBP</i>	XM-00806748301	TCACATCACAGCTCCCC A -3'-5'

میزان بیان ژن پیروات کیناز با روش Real time PCR

بر اساس روش استاندارد به صورت نسبی صورت گرفت. کمیت نسبی به وسیله اندازه‌گیری افزایش تشعشع فلورسنس در نتیجه اتصال رنگ (Eva Green) با استفاده از دستگاه (RG-3000 Corbett Research) انجام گرفت. میزان بیان ژن *PK* در نمونه با رقت‌سازی از نمونه cDNA نرمال برای ژن و رسم منحنی استاندارد به دست آمد. میزان نسبی سطوح mRNA ژن به صورت نرمالیزه در برابر *TBP* بیان گردید.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

داده‌های به دست آمده با روش آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و آزمون LSD و Dunnett T3 به کمک نرم‌افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. ($P < 0.05$) سطح معنی‌دار در نظر گرفته شد.

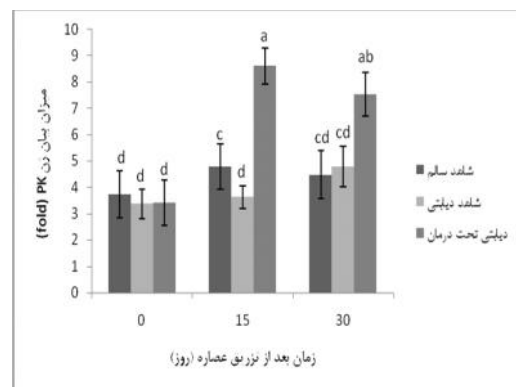
یافته‌ها

بررسی نتایج وزن موش‌های مورد مطالعه

اثر عصاره هیدروالکلی میوه جغجغه بر وزن حیوانات دیابتی نشان داد میانگین وزنی گروه دیابتی تحت تیمار عصاره با دو گروه دیگر در شروع مطالعه اختلاف معنی‌دار آماری نداشته‌اند (شکل ۱). در روز ۱۵ مطالعه گروه شاهد دیابتی نسبت به دو گروه دیگر با کاهش وزن مواجه شده‌اند که در سطح معنی‌داری نبود. در روز ۳۰ مطالعه نیز وزن موش‌های

نتایج بررسی بیان ژن PK

میزان بیان ژن PK در گروه سالم در سه مقطع زمانی روز قبل از تجویز عصاره، و روزهای ۱۵ و ۳۰ تغییری نداشت. میزان بیان ژن PK در گروه شاهد دیابتی در سه مقطع زمانی روز قبل از تجویز عصاره، و روزهای ۱۵ و ۳۰ نیز در سطح معنی داری بیان نشد. در حالیکه میزان بیان ژن PK در گروه دیابتی تحت تیمار با عصاره در سه مقطع زمانی روز قبل از تجویز عصاره، و روزهای ۱۵ و ۳۰ در سطح معنی دار بیان شد. به طوریکه در گروه دیابتی تحت تیمار با عصاره میزان بیان ژن در روز ۱۵ نسبت به دو گروه دیگر به بیشترین مقدار خود رسید که بیش از دو برابر میزان بیان ژن در نمونه های شاهد دیابتی و شاهد سالم بود. پس از آن تا پایان مطالعه بیان ژن PK تغییری نکرد ولی همچنان از گروه شاهد دیابتی بیشتر بود (شکل ۳).



شکل ۳. تغییرات بیان ژن PK در سه گروه شاهد سالم، شاهد دیابتی و دیابتی تحت تیمار در سه مقطع زمانی قبل از تجویز عصاره، ۱۵ و ۳۰ روز پس از تجویز عصاره. تغییرات بیان ژن PK تحت تاثیر تیمار نسبت به کنترل داخلی و در مقایسه با بیان همان ژن در نمونه های شاهد نشان داده شده است. میانگین های دارای حرف مشترک در هر تیمار از نظر آماری در سطح ۵٪ تفاوت معنی دار ندارند.

بحث و نتیجه گیری

در مطالعه حاضر اثر ضد دیابتی عصاره هیدروالکلی میوه جغجغه در موش های صحرایی دیابتی در زمانهای مختلف بررسی شد. در مطالعه حاضر در پایان روز ۱۵ مطالعه گلوکز ناشتای سرم در موش های دیابتی تحت تیمار عصاره میوه

جغجغه نسبت به دو گروه دیگر کاهش نشان داد که در روز ۳۰ مطالعه نیز همچنان از گلوکز ناشتای سرم در گروه شاهد دیابتی بیشتر بود. همچنین میزان بیان ژن PK، در گروه تحت تیمار با عصاره میوه جغجغه در روز ۱۵ مطالعه به بیشترین مقدار خود نسبت به دو گروه دیگر رسید و در روز ۳۰ مطالعه نیز همچنان از بیان ژن PK در گروه شاهد دیابتی بیشتر بود. در مطالعه مصرف عصاره آبی گیاه جنسینگ در طول ۱۱ هفته تنها در مقطع بعد از ۶ هفته کاهش معنی دار گلوکز ناشتای خون در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شده بود (۱۵). در مطالعه دیگر میزان گلوکز خون در موش های دیابتی تحت تیمار با *Teucrium polium* در هفته دوم و چهارم نسبت به گروه شاهد به طور معنی داری کاهش یافت (۱۶). اثر ضد دیابتی عصاره میوه جغجغه در مطالعه حاضر در پایان روز ۱۵ بروز نمود. بنابراین مدت زمانی که موش های دیابتی تحت تیمار با عصاره میوه جغجغه قرار می گیرند می تواند در کاهش میزان گلوکز خون مؤثر باشد. از آنجایی که تریگونلین یک ترکیب آلكالوئیدی است که دارای خواص دارویی مهمی نظیر ضدسرطان، ضدمیگرن، پایین آورنده چربی خون و ضد دیابت می باشد، بنابراین کاهش گلوکز خون ممکن است ناشی از وجود این ماده در عصاره میوه این گیاه باشد (۱۷). در ادامه تحقیق به منظور درک مکانیزم اثر عصاره، بیان ژن آخرین آنزیم مسیر گلیکولیز، PK بررسی گردید. بررسی منابع نشان می دهد مطالعات کمی در زمینه بررسی بیان ژن آنزیم های مسیرهای متابولیسمی گلیکولیز و گلوکونئوزن تحت تاثیر عصاره های گیاهی صورت گرفته است. ارسالده و همکاران (۱۳۹۱) گزارش کردند موسیر ایرانی به طور معنی داری سطح گلوکز خون را احتمالاً از طریق کاهش بیان ژن آنزیم فسفوانول پیروات کربوکسی کیناز کبد، یکی از آنزیم های گلوکونئوزن کاهش داد (۱۸). لیو و همکاران نیز موسیر ایرانی را بعنوان عامل هاپیوگلاسمیک و ضد دیابت پیشنهاد کردند که اثرش را از طریق افزایش ترشح انسولین و کاهش خروج گلوکز کبدی با سرکوب بیان فسفوانول پیروات کربوکسی کیناز اعمال می کند (۱۹). نتایج مطالعه چهاردولی و همکاران

هیدروالکلی میوه جفجغه به طور معنی داری در موش های دیابتی افزایش یافت. به طور کلی نتایج تحقیق حاضر نشان می دهد تجویز عصاره هیدروالکلی میوه گیاه جفجغه احتمالاً از طریق افزایش بیان ژن *PK* که یکی از ژن های کاتالیزکننده آخرین مرحله گلیکولیز می باشد، باعث کاهش گلوکز خون در موش های دیابتی می شود.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از پایان نامه دوره کارشناسی ارشد ژنتیک مصوب دانشگاه زابل است. بدینوسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه زابل که بخشی از هزینه این تحقیق را تأمین نمودند سپاسگزار می شود.

(۱۳۹۳) نشان داد مصرف عصاره آلوئه ورا سبب افزایش میزان بیان ژن آنزیم گلوکوکیناز و کاهش میزان بیان ژن آنزیم فسفو انول پیرووات کربوکسی کیناز و به دنبال آن کاهش قند خون در موش های دیابتی گردید (۲۰). همچنین در مطالعه دیگر اسانس روغنی ساتوریا خوزستانیکا جمزاد به واسطه یک افزایش متوسط در میزان بیان ژن آنزیم های گلوکوکیناز و گلیکوژن فسفریلاز و کاهش میزان بیان ژن آنزیم فسفو انول پیرووات کربوکسی کیناز باعث کاهش قند در موش های دیابتی شد (۲۱).

در مطالعه ای دیگر کاهش میزان قند خون و افزایش میزان انسولین به همراه افزایش بیان ژن های گلوکوکیناز، آلدولاز و پیرووات کیناز تحت تأثیر عصاره گیاه *Costus speciosus* در موش های دیابتی مشاهده شد (۲۲). در مطالعه حاضر نیز بیان ژن آنزیم پیرووات کیناز تحت تأثیر عصاره

References

1. Can A, Akev N, Ozsoy N, Bolkent S, Arda BP, Yanardag R, et al. Effect of Aloe vera leaf gel and pulp extracts on the liver in type-II diabetic rat models. *Biol Pharm Bull.* 2004; 27(5): 694-698.
2. Heydari I, Radi V, Razmjou S, Amiri A. Chronic complications of diabetes mellitus in newly diagnosed patients. *Int J Diabetes.* 2010; 2(1): 61-63.
3. Cantarovich D, Perrone V. Pancreas transplant as treatment to arrest renal function decline in patients with Type 1 diabetes and proteinuria. *Sem Nephrol.* 2012; 32(5): 432-436.
4. Zhao Y, Mazzone T. Human cord blood stem cells and the journey to a cure for type 1 diabetes. *Autoimmun Rev.* 2010; 10(2): 103-107.
5. Srivastava Y, Venkatakrishnan-Bhatt H, Verma Y. Antidiabetic and adaptogenic properties of *Momordica charantia* extract: an experimental and clinical evaluation. *Phytother Res.* 2003;7: 285-289.
6. Venkatesh S, Reddy GD, Reddy BM. Antihyperglycemic activity of *Caralluma attenuate*. *Fitoterapia.* 2003; 74(3): 274-279.
7. Shirali S, Bathaei SZ, Nakhjavani M, Ashori MR. Effects of Saffron aqueous extract on serum biochemical factors in streptozotocin-induced diabetic rats. *Iran J Medicin Aromat Plants.* 2012; 28(2): 293-308.
8. Amiri A, Goodarzi M, Hassanzadeh T, Tavilani H, Karimi J. Aminoguanidine partially prevents the reduction in liver pyruvate kinase activity in diabetic rats. *Adv Biomed Res.* 2014; 3(260): 1-6.
9. Soliman M, Ahmed M, EL-Shazly SA. Cinnamon extract regulates gene expression of lipid and carbohydrate metabolism in streptozotocin induced diabetic wistar rats. *American J. Biochemistry and Biotechnology.* 2013; 9(2): 172-182.
10. Saad B, Azaizeh HS, Said O. Tradition and perspectives of arab herbal medicine. A review. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2005; 2(4): 475-479.
11. Al-Qura NS. Taxonomical and pharmacological survey of therapeutic plants in Jordan. *J Nat Prod.* 2008; 1(1): 10-26.
12. Jarald E, Balakrishnan JS, Chandra Jain D. Diabetes VS Herbal Medicines. *Iran J Pharmacol Ther.* 2008; 7(1): 97-106.
13. Harzallah-Skhiri F, Jannet HB. Flavonoids diversification in organs of two *Prosopis farcata* (Banks & Sol.) Eig. (Leguminosea, Mimosoideae) populations occurring in the Northeast and the Southeast of Tunisia. *J Appl science Res.* 2005; 1(2):130-136.
14. Hedayati M, Pouraboli I, Pouraboli B, Dabiri S, Javadi A. Effects of *Otostegia persica* extract on serum level of glucose and morphology of pancreas in diabetic rats. *Koomesh.* 2012; 13 (2):201-218. (In Persian)
15. Li J, Kaneko T, Qin LQ. Long-term effects of high dietary fiber intake on glucose tolerance and lipid metabolism in GK rats: comparison among barley, rice and cornstarch. *Metab Clin Exp.* 2003; 52(9): 1206-1210.

16. Sabet Z, Roghani M, Najafi M, Maghsoudi Z. Antidiabetic effect of *Teucrium polium* aqueous extract in multiple low-dose streptozotocin-induced model of type 1 diabetes in rat. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*. 2013; 1(2): 34-38.
17. Mehrafarin A, Ghavami N, Naghdi Badi H, Ghaderi A. Trigonellin, a medicinal metabolite. *J Medicin Plants*. 2012; 11(1): 33-39. (In Persian)
18. Arsalandeh F, Hoseini SM, Hoseini J. Effects of *Allium hirtifolium* extract on gene expression of glycogene phosphorylase and phosphoenol pyruvate carboxykinase. First National Student Conference of Biotechn. 2012; 46-56. (In Persian)
19. Liu L, Liou, SS, Cheng JT. Mediation of β -endorphin by myricetin to lower plasma glucose in streptozotocin-induced diabetic rats. *Ethnopharmacol*. 2006; 8(104): 199-206.
20. Chahardoli M, Mahmoodi MR, Hajizadeh. Effect of Aloe Vera Hydroalcoholic Extract on Blood Glucose, Serum Insulin and the Key Enzymes in Metabolic Pathways of Glycolysis and Gluconeogenesis in Hepatocytes of Type 1 Diabetic Rats. *J Rafsanjan Univ Med Sci*. 2014; 13(8): 668-682. (In Persian)
21. Shahsavari G, Ehsani A, Hooshmand M. Effect of essential oils of *Satureia khuzestanica* Jamzad on enzyme activity and gene expression of some regulatory enzymes of glucose in diabetic and normal rats. *Yafte*. 2008; 10(4): 71-80. (In Persian)
22. Ha A, Almaghrabi OA, Afifi ME. Molecular mechanisms of anti-hyperglycemic effects of *Costus speciosus* extract in streptozotocin-induced diabetic rats. *Saudi Med J*. 2014; 35(12): 1501-1506.