وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة القادسية/ كلية التربية
قسم علوم الحياة

تأثير اوراق حشيشة الليمون في بعض المعايير الدمية والكيموحيوية في ذكور الجرذان البيض

بحث مقدم إلى

قسم علوم الحياة / كلية التربية / جامعة القادسية وهو جزء من متطلبات نيل درجة البكالوريوس في علوم الحياة

إعداد الطالبة

علياء عمار ياسر

إشراف

د. وجدان مطرود كاظم

١٤٤٠ هـ

٢٠١٩ م

الآية القرآنية

وَقُلِ اعْمَلُوا فَسَيَرَى اللَّهُ
عَمَلَكُمْ وَرَسُولُهُ وَالْمُؤْمِنُونَ

صدق الله العلي العظيم

سورة التوبة { الآية : ١٠٥ }

" الشكـــــــر والتقديـــــــر "

الحمـد لله الأول قبـل الإنشـاء والإحيـاء والآخـر بعـد فنـاء الأشـياء العلـيم الـذي لا ينسـى مـن ذكـره ولا يـنقص مـن شـكره ولا يخيـب مـن دعـاه ولا يقطـع رجـاء مـن رجاه .

والصـلاة والسـلام علـى أشـرف الخلـق والمرسـلين أبـي القاسم محمد وعلى آله الطيبين الطاهرين .

أما بعد . . .

فـإني أتقـدم بـأسمى آيـات الشكـر والتقـدير إلى أسـتاذتي الفاضـلة (د . وجـدان مطـرود كـاظم) لمسـاعدتها لي بتقـديم موضـوع بحثـي وأضـافت مـن خبراتهـا البارعـة للخـروج بأفضـل النتـائج ومتابعتـها المسـتمرة والمتميزة .

" الإهـــــــــــــــــــداء "

إلى منهاج العلم وضياء الصالحين . . . نبراس القلوب

. . . أمير المؤمنين . علي بن أبي طالب (عليه السلام)

إلى دليلي وقوتي وكل ما أنا عليه . . .

. . . أبي الغالي

إلى فرحتي ويقيني بأن الله معي كلما توجهت ودعت لي .

. . . أمي الغالية

إلى أساتذتي الكرام . . . ممن أعطوني كل ما تعلمتُ بالمجان .

إلى أبطال الحشد الشعبي . . . الذين لولاهم لما استطعنا أن نسير بطرقات آمنة . . .

إليكم كل هذا الحب والعرفان بالجميل

الخلاصة

تضمنت الدراسة الحالية تحديد تأثير اوراق حشيشة الليمون في بعض المعايير الدمية والكيموحيوية في ذكور الجرذان البيض. واشتملت الدراسة على (٣٠) ذكر من الجرذان البيض البالغة وقسمت عشوائياً الى ثلاثة مجاميع ، كل مجموعة تشمل (١٠) حيواناُ وكما يأتي: مجموعة السيطرة : وقد تم حقنها بالماء المقطر. مجموعة المعاملة الاولى T1: تم حقنها بالالوكسان بتركيز مقداره 150mg/kg من وزن الجسم وبجرعة مفردة تحت الجلد. مجموعة المعاملة الثانية T2 : تم حقنها بالالوكسان بتركيز مقداره 150mg/kg ومن ثم جرعت بالمستخلص المائي الخام لاوراق حشيشة الليمون بتركيز 150mg/kg ولمدة ٣٠ يوم.

ان استخدام الالوكسان بتركيز 150 ملغم/كغم من وزن الجسم لاستحداث داء السكر في الجرذان البيض ادى الى ارتفاع مستوى الكلوكوز والكولستيرول والكليسريد الثلاثي واليوريا والكرياتنين في الدم وبشكل معنوي في المجموعة المعاملة T1 مقارنة مع مجموعة السيطرة . في حين اظهر المستخلص المائي لاوراق حشيشة الليمون انخفاضا معنويا في مستوى هذه المعايير في دم الحيوانات في مجموعة T2 مقارنة مع مجموعة المصابة T1.

كما بينت النتائج حصول انخفاض معنوي ($P<0.05$) في معدل عدد الكريات الحمر وتركيز الهيموكلوبين وحجم الخلايا المرصوص في المجموعة المعاملة T1 مقارنة مع مجموعة السيطرة . في حين اظهر المستخلص المائي لاوراق حشيشة الليمون ارتفاعا معنويا في مستوى هذه المعايير في دم الحيوانات في مجموعة T2 مقارنة مع مجموعة المصابة T1.

المقدمة

عرفت أهمية النباتات الطبية منذ آلاف السنين ، منذ بدء الإنسان البحث عن وسيلة للتخلص من الآلام والأمراض ، إذ استخدم بعض الأعشاب والنباتات التي توصل بها إلى الشفاء، ورغم التطور الكبير في ميادين الكيمياء والصيدلة يعود الإنسان من جديد إلى التداوي بالأعشاب والنباتات الطبية بعدما وجد أن الأدوية الكيميائية لها بعض الآثار السلبية الجانبية بجانب التأثير الطبي الأساسي الذي تستعمل من أجله ، وقد لا تكتشف هذه الآثار الضارة إلا بالتراكم بعد فترة طويلة من استعمال الدواء (الهواري ، ١٩٨٦) .

ومن خلال استطلاع البحوث أشارت Day (١٩٩٥) إلى وجود (٧٠٠) نبات ذو فعالية مخفضة للسكر وأن معظمها ذات خواص غنية بالألياف والمعادن أو تعود إلى مجاميع كاربوهيدراتية (Mugola ,1988) . كما أشارت الباحثة Day (١٩٩٥) إلى المركبات المسؤولة عن خفض مستوى كلوكوز الدم في بعض النباتات وهي أشباه القلويات (Alkaloids) والكلوكوسايدات (Glucosides) والكوانيدين (Guanidine) والسكريات المتعددة (Polysaccharide) والفلافونيدات (Flavonoids) وحامض البروبيونيك (Propionic Acid) والفاناديوم . ومن هذه النباتات اوراق حشيشة الليمون

ويسمى عشبة الشاي أو حشيشة الليمون ***Cymbopogon citratus*** **stapf (DC)** ، ينتشر في المناطق الحارة ويزرع في الهند وبورما وسيلان وإفريقيا الشرقية، وفي كثير من البلاد العربية كمصر والسودان والسعودية. وهو عشب عطري معمر ذو أوراق طويلة تشبه السيف، ملساء، ذات رائحة عطرة تتراوح اطوالها ما بين 15–90 سم، سيقانها منتصبة غير متفرعة يتواجد هذا النبات في المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية من افريقا واسيا واستراليا وامريكا الجنوبية (سعد وجماعته ، 1988) . ويستعمل طبياً كمطهر وطارد للغازات والديدان المعوية، كما يستعمل في صناعة العطور ومستحضرات الزينة وصابون التواليت وكمادة مطيبة. في العراق ينمو النوع Bor ***C.olivieri*** حيث تقتات عليه الجمال ، وهو نبات صحراوي

يستخرج من أوراقه وجذوره زيت يسمى Camel grass oil ويستعمل كدواء لكثير من الأمراض كالروماتيزم والآلام الحادة في الرأس والحمى (سعد وجماعته ، 1988). يستعمل في بعض البلدان كقاتل للفطريات والبكتيريا (Kim *et al.* , 1995) .

المواد وطرق العمل

تم الحصول على اوراق حشيشة الليمون من السوق المحلي، وتمت عملية الاستخلاص بالاعتماد على طريقة (Alkire and McMahon , 2002).

اشتملت الدراسة على (٣٠) ذكر من الجرذان البيض البالغة، وقد تراوحت أعمارهم ما بين (٣-٣.٥) أشهر ووضعت الحيوانات في أقفاص بلاستيكية ورشت أرضيتها بنشارة الخشب كما تمت العناية بنظافة الأقفاص وخضعت الحيوانات في جميع مراحل التجربة تحت ظروف مختبرية متشابهه من تهوية وإضاءة، وقد زودت بالماء والعليقة باستمرار وبشكل حر خلال مدة التجربة. قسمت الحيوانات عشوائياً الى مجموعتين، كل مجموعة تشمل (١٠) حيواناُ وكما يأتي :

١- مجموعة السيطرة : وقد تم حقنها بالماء المقطر.

٢- مجموعة المعاملة الاولى T1: تم حقنها بالالوكسان بتركيز مقداره 150mg/kg من وزن الجسم وبجرعة مفردة تحت الجلد.

٣- مجموعة المعاملة الثانية T2 : تم حقنها بالالوكسان بتركيز مقداره 150mg/kg ومن ثم جرعت بالمستخلص المائي الخام لاوراق حشيشة الليمون بتركيز 150mg/kg ولمدة ٣٠ يوم.

بعد انتهاء التجربة تم تخدير الحيوانات باستخدام الكلوروفورم ثم سحب الدم من القلب مباشرة باستخدام طعنة القلب ووضع ١ مل من الدم المسحوب في أنابيب جمع الدم الحاوية على مادة EDTA المانعة للتخثر لغرض إجراء التحاليل الخاصة بالمعايير الدمية ، في حين وضع ٣ مل من الدم المتبقي في أنابيب اختبار خالية من المادة المانعة للتخثر، وتركت لمدة ١٥- ٢٠ دقيقة في درجة حرارة المختبر ثم وضعت العينات داخل جهاز الطرد المركزي Centrifuge بسرعة ٣٠٠٠ دورة/ دقيقة لمدة ١٥ دقيقة لغرض فصل المصل ولإجراء الاختبارات الكيموحيوية، وتم حفظ المصل بدرجة حرارة - ٢٠ مo لحين الاستعمال.

المعايير الدمية

تم قياس عدد كريات الدم الحمر وتركيز الهيموكلوبين وحجم الخلايا المرصوص عن طريق وضع عينة الدم في EDTA tube في جهاز التحليل الدموي الاتوماتيكي Heamatological Analyzer، بالاعتماد على بروتوكولات الشركة المصنعة والمحاليل المضافة من قبل الجهاز .

المعايير الكيموحيوية

تقدير مستوى الكلوكوز Determining of Glucose

تم تقدير مستوى الكلوكوز في مصل الدم باستخدام عدة التحليل Kit من نوع (Merck – Jermany) و العدة هي عبارة عن عبوات جاهزة تحوي الكواشف والمواد الضرورية لانجاز الاختبار (Annino & Giese, 1976) .

تقدير الكولستيرول Determination of cholesterol

استخدمت الطريقة اللونية للعالم Richmond (١٩٧٣) لتقدير تركيز الكوليسترول الكلي في مصل الدم واستخدمت عدة التشخيصKits المجهزة من شركة Biomerieux الفرنسية.

تقدير الكليسيريد الثلاثي Determination of triglycerides

تم قياس تركيز الكليسريدات الثلاثية في المصل باستعمال عدة الفحص الجاهزة والمنتجة من شركة Rondox الانكليزية وحسب الطريقة المعتمدة (Allain et al., 1974).

تقدير مستوى اليوريا Urea concentration Measurement

تم حُسب تركيز اليوريا في المصل بالاعتماد على طريقة (Fawcett and scott, 1960) واستخدمت عدة التشخيص Kits الجاهزة والمنتجة من شركة Rondox الانكليزية.

تقدير مستوى الكرياتنين Creatinine concentration Measurement

تم حُسب تركيز الكرياتنين في المصل بالاعتماد على طريقة (Henry,1974) واستخدمت عدة التشخيص Kits الجاهزة والمنتجة من شركة Rondox الانكليزية.

التحليل الإحصائي Statistical Analysis

حللت نتائج التجارب باستعمال برنامج SPSS الإحصائي ، إذْ استخدم اختبار (Anova) للمقارنة بين المجموعة المدروسة ومجموعة السيطرة وتم حساب اقل فرق معنوي Least Significant Differences (LSD) لاختبار معنوية النتائج (ابو صالح والناصر، ٢٠١١).

النتائج والمناقشة

ان استخدام الالوكسان بتركيز 150 ملغم/كغم من وزن الجسم لاستحداث داء السكر في الجرذان البيض ادى الى ارتفاع مستوى كلوكوز الدم وبشكل معنوي وهذا يشير الى دور الالوكسان في تحطيم خلايا بيتا البنكرياسية وتعطيل افراز الانسولين منذ بدء التجربة (Bartosikova *et al* , 2003). لقد اظهر المستخلص المائي لاوراق حشيشة الليمون انخفاضا معنويا في مستوى كلوكوز دم الحيوانات مجموعة T2 مقارنة مع مجموعة المصابة T1 ويمكن ان يعزى ذلك الى طبيعة المكونات الفعالة وتراكيزها التي يمتلكها هذا النبات ولاسيما الفلافونيدات والتربينات والتي قد يرجع اليها هذه الفاعلية في التخفيض. ويمكن ان يعزى هذا الدور التخفيضي في مستوى كلوكوز الدم الى تأثير هذه المستخلص في تثبيط الامتصاص المعوي للكلوكوز او تخفيض معدل النشاط البنائي للكلوكوز في الخلايا (Babu *et al* , 2003) وكذلك يمكن ان يؤدي هذا المستخلص الى تحفيز الاستعمال المحيطي للسكر من قبل الانسجة الدهنية والعضلية بشكل مباشر او غير مباشر عن طريق زيادة الحساسية للانسولين مع انخفاض متزامن في عملية بناء الكلوكوز (Abdel-barry *et al* 2001).

اشارت نتائج الدراسة بان استحداث داء السكر بالالوكسان اظهر زيادة معنوية في مستوى الكولستيرول ويعزى ارتفاع الكوليستيرول في حالة استحداث داء السكر الى الزيادة الحاصلة في امتصاصه من قبل الامعاء بسبب زيادة نشاط انزيم كوليسترول اسايل ترانسفريز Cholesterol Acyl Transferase الذي يحفز عند نقص الانسولين (Ganong ,1991). ان المعاملة بمستخلص اوراق حشيشة الليمون ادى الى انخفاض مستوى الكولستيرول معنويا في مجموعة T2 مقارنة مع مجموعة الحيوانات المصابة T1. وقد يعزى هذا التأثير الخافض للمستخلصات النباتية الى امكانية احتوائها على مركبات قد تعمل على تثبيط انزيم Hydroxymethyl slutaryl CoA reductaseالمسؤول عن تخليق الكوليستيرول (Stryer , 2000).

لقد اشتملت الدراسة على تأثير داء السكر المستحدث بالالوكسان في ارتفاع مستوى الكليسريدات الثلاثية بالمقارنة مع مستواه في مجموعة السيطرة ، ويمكن ان يعزى السبب الى انخفاض نشاط انزيم لايبيز البروتينات الدهنية Lipoprotien lipase في الانسجة الدهنية بسبب غياب الانسولين اذ ان هذا الانزيم مسؤول عن تجزئة الكليسريدات الثلاثية وازالتها (محي الدين وجماعته ، 1990). ان المعاملة بمستخلص نبات حشيشة الليمون ادى الى انخفاض مستوى الكليسريدات الثلاثية في T2 مقارنة في الحيوانات المصابة T1، وقد يعزى ذلك الى طبيعة وتراكيز المكونات الفعالة لهذه المستخلصات في التأثير من خلال زيادة افراز الانسولين البنكرياسي او التأثير من خلال ميكانيكية اخرى خارج بنكرياسية.

تعرض البحث ايضاً لدراسة بعض مكونات الدم في الحيوانات المصابة بداء السكر المستحدث بالالوكسان. لقد اشارت النتائج الى انخفاض عدد كريات الدم الحمر معنوياً في الحيوانات المصابة بالسكر مقارنة مع السيطرة ، وقد يعود ذلك الى خلل ايضي وظيفي للكريات الحمر يصاحبه قصر في عمرها عند الاصابة بداء السكر . اشار Kowluru وجماعته (1989) الى انخفاض نشاط الانزيم Na–K– ATPase في أغلفة الكريات الحمر في الجرذان المصابة بداء السكر المستحدث بالستربتوزوتوسين وهذا يؤدي الى زيادة في حجم الخلايا وهشاشتها الاوزموزية وانخفاض في قابليتها الترشيحية ويقود ذلك الى حدوث اضطرابات في الدوران الشعيري مما ينجم عنه تحلل بعض الكريات وحدوث الانيميا Anemia ، يضاف الى ذلك التغيرات في مكونات اللبيدات الغشائية عند المرضى المصابين بالسكر والتي تؤدي الى تغيير في مرونة كريات الدم الحمر مسببة تحللها بسهولة (Ishimura *et al* , 1998). ان الانخفاض في عدد كريات الدم الحمر في الحيوانات المصابة يرافقه ايضا انخفاض في معدل تركيز الهيموكلوبين وحجم الخلايا المرصوص بالمقارنة مع مجموعة السيطرة وهذا ما اوضحته نتائج الدراسة ، لقد اشار Ishimura وجماعته (1998) الى انخفاض كمية الهيموكلوبين عند المصابين بداء السكر ويزداد الانخفاض عندما يرافق الاصابة بداء السكر ارتفاع مستوى

الكرياتنين. ان المعاملة بمستخلص نبات حشيشة الليمون ادى الى ارتفاع مستوى عدد الكريات الحمر وتركيز الهيموكلوبين وحجم الخلايا المرصوص في T2 مقارنة في الحيوانات المصابة T1 ، وقد يعزى ذلك الى طبيعة وتراكيز المكونات الفعالة لهذه المستخلصات في التأثير من خلال زيادة افراز الانسولين البنكرياسي او التأثير من خلال ميكانيكية اخرى خارج بنكرياسية.

لقد تم التعرض في هذه الدراسة الى مستوى اليوريا والكرياتنين في دم الحيوانات المصابة بداء السكر المستحدث بالالوكسان اذ وجد ارتفاع معنوي في مستوى اليوريا والكرياتنين عند الحيوانات المصابة بالسكر مقارنة بمجموعة السيطرة ولوحظت هذه النتائج بانها تتفق مع Bartosikova وجماعته (2003) و Babu وجماعته (2003). يفسر هذا الارتفاع بشكل اساسي الى المضاعفات المزمنة التي تحدث في بعض اعضاء الجسم نتيجة الاصابة الطويلة بداء السكر ومنها الـ Diabetic nephropathy الذي يتميز بتغيرات سلبية متدرجة وبطيئة في وظيفة الكلى ينجم عنها ارتفاع مستوى اليوريا (Uremia) والكرياتنين في الدم (Bartosikova *et al* , 2003 ; Ishimura *et al* , 1998). ويمكن ان يعزى الارتفاع الى فقدان المصدر المباشر للطاقة في الجسم (الكلوكوز) بسبب غياب الانسولين ولجوء الحيوان الى استغلال البروتين كمصدر بديل للطاقة والذي ينجم عنه تكوين كميات كبيرة من اليوريا(عداي و حنا، 1987). ان معاملة الحيوانات المصابة بحشيشة الليمون ادى الى انخفاض معنوي في مستوى اليوريا والكرياتنين بالمقارنة مع مجموعة المصابة T1، ويمكن ان يعود السبب في تحسن نسبة اليوريا والكرياتنين الى طبيعة وتراكيز المكونات الفعالة لهذه المستخلصات في التأثير من خلال زيادة افراز الانسولين البنكرياسي او التأثير من خلال ميكانيكية اخرى خارج بنكرياسية مما يؤكد دور الانسولين الذي يعيد الاختلالات الايضية الى مسارها الطبيعي.

جدول (١): يبين تأثير اوراق حشيشة الليمون في بعض المعايير الدمية والكيموحيوية في ذكور الجرذان البيض

المجاميع المعايير	مجموعة السيطرة	مجموعة المعاملة T1	مجموعة المعاملة T2
عدد الكريات الحمر (10^6x/ ملم^3)	0. 2 ± 8.5 a	0. 4 ± 7 b	0. 6 ± 8.3 a
تركيز الهيموكلوبين (غرام/١٠٠مل)	0. 1 ± 13.5 a	0. 8 ± 10.1 b	0.3 ± 13.2 a
معدل حجم الخلايا المرصوص %	0.2 ± 41.5 a	0. 1 ± 33.2 b	0.6 ± 41 a
الكلوكوز (ملغم/ديسيلتر)	0. 4 ± 131.2 b	0. 9 ± 220 a	0.1± 134.3 b
الكوليستيرول (ملغم/ ١٠٠مل)	0.4 ± 123.7 b	0.5 ± 198.6 a	0.2± 125.2 b
الكلسيريدات الثلاثية (ملغم/١٠٠مل)	0.18 ±157.3 b	0.07± 242.1 a	0.12 ±160.1 b
اليوريا (ملغم/ديسيلتر)	0.1 ± 25.8 b	0.2 ± 45.2 a	0.1 ± 27.1 b
الكرياتنين (ملغم/ديسيلتر)	0.04 ± 0.75 b	0.1 ± 2.6 a	0.3 ± 0.77 b

- الأرقام تمثل المعدل ± الخطأ القياسي .

- الحروف المختلفة تشير الى وجود فروق معنوية ($P<0.05$) بين المجاميع .

المصادر

أبو صالح، محمد صبحي والناصر، أمجد ضيف الله. (٢٠١١) . دليل التحليل الإحصائي باستخدام SPSS. الطبعة الاولى. دار اليازوري للنشر والتوزيع. عمان – الأردن.١٥٧-١٧٣.

الهواري ، سهام (١٩٨٦) النباتات الطبية كغذاء ودواء ، المجلة العربية السعودية ، العدد ٢١. ٥١ . ص ٧٠ –٧١.

عداي ، محيسن حسن و حنا ، فؤاد شمعون(1987). علم الفسلجة. الجزء الثاني ، دار الكتب للطباعة والنشر ، جامعة الموصل ، (مترجم) ، ص 346 .

محي الدين ، خير الدين ، يوسف ، وليد حميد ، توحلة ، سعد حسين (1990).فسلجة الغدد الصم والتكاثر في الثديات والطيور . دار الحكمة للطباعة والنشر ، الموصل، ص 171-175 .

سعد ، شكري ابراهيم ، القاضي ، عبدالله ، محمد ، صاغ عبد الكريم(1988). النباتات الطبية والعطرية والسامة في الوطن العربي. اصدار المنظمة العربية للتنمية الزراعية ، دار مصر للطباعة ، ص 477 .

Abdel-Barry J.,Abdel-Hassan I. And Mohammed S.(2001). The effect of Saponin extract of Citrullus colocynthis on glucose homeostasis in normal and Alloxan diabetic Rabbits. J. Biology. Iraqi., 1(1):135-146.

Alkire B.,McMahon C.(2002).Methods of extracting essential oils. Balancing body, Mind &Spirit With Pure Essential Oils, Ben's home distillation and Wite Lotus Aromatics., 3-5 .

Allain, C. C.; Poon, L. S.; Chan, C. S.; G. and Richmond, W. F. C. (1974). The Merk manual of diagnostic and therapy, Merk Co. Clin. Chem., *20* (4): 470 – 475.

Annino, J. J. and Giese, R.W.(1976). Clinical chemistry" 4th edn, little, Brown and co, Boston.

Babu V.,Gangadevi T., Subramoniam A.(2003). Antidiabetic activity of ethanol extract of *Cassia kleinii* leafin streptozotocin-induced diabetic rats and isolation of an active fraction and toxicity evaluation of the extract. J. Pharmacol. Indian., 35:290-296.

Bartosikova L.,Necas J.,Suchy V.,Kubinova R.,Vesel D.,Benes L.,Bartosik T.,Illek J.,Salplachta J.,Klusakova J.,Bartosova L.,Strnadova V.,Frana P. and Franova J.(2003). Monitoring of antioxidatve effect of Morin in Alloxan-induced diabetes mellitus in the laboratory rat. Acta Vet. BRNO., 72:191-200.

Day C.(1995). Hypoglycemic plant compounds. Pract. Diab. Int., 12:269-271.

Fawcett, J. K. and Scott ,J.E . (1960) .J.Clin. Path.,13:156-159.

Ganong W.(1991). Review of medical physiology. Fifteenth edition. Prentice-Hall International.USA. SanFrancisco. P312-314.

Henry, R.J.(1974). Clinical Chemistry, Principles And Techniques.2nd Edition Harper and Row .P:525.

Ishimura Y.,Nishizawa S.,Okuno S.,Matsumoto N.,Emoto M.,Inaba M.,Kawagishi T.,Kim C. and Morii H.(1998).Diabetes Mellitus increase the severity of anemia in non-dialyzed patients with renal failure. J. Nephrology., 11(2):88-91.

Kim J.,Marshal M.,Cornell J.,Preston J. and Wei I.(1995). Antibacterial activity of carvacrol, citral and geraniol against ***Salmonella typhimurium*** in culture medium and on fish cubes. J. of Food Science., 60:1364-1374.

Kowluru R.,Bitensky M., Kowluru A.,Dembo M.,Keaton P. and Buican T.(1989). Reversible sodium pump defect and swelling in the diabetic rat erythrocytes: effect of filterability and implications for microangiopathy. Proc. Natl. Acad. Sci. USA.,86:3327-3331.

Mugola EN (1988) The use of traditional medicine for Diabetes . Cited In. word book of Diabetes in practice . 13th IDS , Congress , Sydney , PP : 12-30 .

Richmond, W. (1973). Preparation and properties of cholesterol oxidase from Nocard sp. and its application to the enzymatic assay of total cholesterol. Clin. Chem., *19* : 1350 - 1356.

Stryer L.(2000). Biochemistry. 4th ed., New York, USA., pp.612.