Archive of SID

بررسی اثر آنالژزیک عصاره آبی برگ شنبلیله در موش‌های صحرایی نر دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین

مهرداد روغنی[1*]، محمدرضا واعظ‌مهدوی[1]، محسن خلیلی نجف‌آبادی[1]، سیدروح‌الله میری[2]، فریبا انصاری[3]، سمیرا یادگاری[1]

۱- استادیار فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد

۲- دانشجوی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد

۳- کارشناس فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد

[*]آدرس مکاتبه: تهران، بلوار کشاورز، خیابان شهید عبدالله‌زاده (دهکده)، دانشکده پزشکی شاهد

کدپستی: ۷۴۳۵-۱۴۱۵۵، تلفن: ۸۹۶۴۷۹۲ (۰۲۱) (داخلی ۲۳۳)، نمابر: ۸۹۶۶۳۱۰ (۰۲۱)

چکیده

هیپرآلژزی یکی از علایم مهم نوروپاتی دیابتیک بوده که از شکایات بالینی افراد مبتلا محسوب می‌شود و نحوه زندگی این افراد را تحت تاثیر قرار می‌دهد. به این دلیل که تعدیل درد در این افراد از اهمیت زیادی برخوردار است. لذا در این بررسی اثر آنالژزیک عصاره آبی برگ شنبلیله (*Trigonella foenum- graecum* L.) در موش‌های صحرایی نر مبتلا به دیابت قندی القا شده توسط استرپتوزوتوسین (STZ) با استفاده از آزمون فرمالین در طی دو فاز حاد و مزمن مورد بررسی قرار گرفت. در این تحقیق از موش‌های صحرایی نر نژاد Wistar در محدوده وزنی ۲۵۵-۲۰۵ گرم استفاده شد. موش‌ها به طور تصادفی به پنج گروه کنترل, کنترل تحت درمان با عصاره آبی برگ شنبلیله، کنترل دریافت کننده سدیم سالیسیلات (کنترل مثبت)، گروه دیابتی و گروه دیابتی درمان شده با عصاره آبی برگ شنبلیله تقسیم شدند. برای دیابتی نمودن حیوانات از داروی استرپتوزوتوسین (STZ) به صورت تک دوز به میزان mg/Kg ۲۰۰ استفاده گردید. گروه‌های کنترل و دیابتی نیز عصاره آبی برگ شنبلیله را به‌صورت داخل صفاقی به میزان mg/kg ۲۰۰ به‌طور یک روز درمیان به‌مدت یک ماه دریافت نمودند. میزان گلوکز سرم یک هفته قبل از و چهار هفته پس از انجام کار به روش آنزیمی گلوکز اکسیداز اندازه‌گیری گردید. به‌علاوه، پس از گذشت یک ماه، آزمون فرمالین بر روی تمام موش‌ها انجام پذیرفت. به‌طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که تجویز عصاره آبی برگ شنبلیله موجب کاهش معنی‌دار میزان گلوکز سرم

www.SID.ir

Archive of SID

و میزان احساس درد در مدل تجربی دیابت می‌گردد و این به‌عنوان یک درمان پتانسیل در حالت دیابت قندی می‌تواند مطرح شود.

گل‌واژگان: دیابت قندی، عصاره آبی برگ شنبلیله، آنالژزی، تست فرمالین، موش صحرایی

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

در حال حاضر برای کنترل درد از داروهای ضدالتهابی غیراستروییدی و داروهای اوپیوییدی در حالات مرضی دردناک استفاده می‌شود که با عوارض جانبی متعددی نظیر اختلالات گوارشی، آسیب کلیوی، تهوع، یبوست و مشکلات تنفسی همراه می‌باشند [۱]. در این خصوص، هیپرگلیسمی ناشی از دیابت قندی (Diabetes Mellitus) که یکی از شایع‌ترین بیماری‌های اندوکرین محسوب می‌شود با عوارض متعدد از جمله افزایش احساس درد (هیپرآلژزی) و علایم نوروپاتی محیطی همراه می‌باشد. درد ناشی از نوروپاتی اعصاب محیطی (Peripheral Neuropathy) یکی از شکایات مهم بالینی افراد مبتلا به دیابت قندی محسوب می‌شود و کیفیت زندگی این افراد را تحت تاثیر قرار می‌دهد. بنابراین تعدیل درد در این افراد از اهمیت زیادی برخوردار است [۲،۳]. نتایج برخی تحقیقات اخیر نشان می‌دهد که قندخون بالا (Hyperglycemia) با اعمال اثرات توکسیک روی سیستم عصبی محیطی یکی از علل بروز نوروپاتی دردناک می‌باشد. علاوه بر این اثرات سیستمیک هیپرگلیسمی نیز می‌تواند موجب بروز نوروپاتی شوند [٤]. بر خلاف شواهد موجود، نتایج برخی تحقیقات دیگر نشان می‌دهد که هیپرگلیسمی تاثیری در تغییر آستانه درد ندارد [٥]. با توجه به اینکه تاکنون ترکیب دارویی مناسب عاری از عوارض جانبی برای درمان برخی حالات درد حاد و مزمن به‌ویژه در مورد دیابت قندی یافت نشده [٦]، توجه محققان بسیاری به گیاهان دارویی معطوف شده است. در این ارتباط طب سنتی و گیاهان دارویی منبع مناسبی جهت یافتن داروهای ضددرد می‌باشد. اثر ضددردی گیاه شنبلیله در این منابع ذکر شده است. در این خصوص اثرات ضددردی و ضدالتهابی عصاره گیاه شنبلیله در موش‌های صحرایی نرمال قبلاً به اثبات رسیده است [۷،۸]. به‌علاوه اثرات هیپوگلیسمیک عصاره‌های آبی برگ و دانه این گیاه در افراد غیردیابتی مورد تایید قرار گرفته است [۹،۱۰]. با این وجود در مورد اثرات هیپوگلیسمیک و آنالژزیک عصاره آبی برگ شنبلیله در مدل تجربی دیابت قندی گزارشی یافت نمی‌شود. بر این اساس، در مطالعه حاضر بر آن شدیم که اثرات هیپوگلیسمیک و آنالژزیک عصاره آبی برگ شنبلیله (***Trigonella foenum - graecum*** **L.**) در موش‌های صحرایی نر دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین را مورد بررسی تحقیقاتی قرار دهیم.

مواد و روش کار

حیوانات

در این تحقیق از موش‌های صحرایی نرآلبینو نژاد Wistar در محدوده وزنی ۲۵۵-۲۰۵ گرم استفاده شد. حیوانات در شرایط نوری طبیعی در دمای ۲۲-۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شده وآزادانه به آب و غذا دسترسی داشتند. تمامی موش‌ها حداقل یک هفته قبل از شروع آزمایش‌ها به حیوانخانه دانشکده پزشکی و یک ساعت قبل از انجام آزمون فرمالین به آزمایشگاه منتقل می‌گردیدند تا با شرایط آزمایشگاهی سازش حاصل نمایند.

روش تهیه عصاره آبی برگ شنبلیله

پس از تهیه شنبلیله در مرداد ماه و تایید علمی و سیستماتیک آن، برگ‌های سبز و تازه آن جدا شده و سپس در درجه حرارت اطاق و در سایه خشک گردیدند. ۱۲۵ گرم از پودر برگ خشک شده به یک لیتر آب جوش اضافه گردید. پس از ۱۵ دقیقه، محلول حاصله دو بار از صافی رد شده، و بر روی بن ماری خشک گردید تا نهایتاً یک عصاره عسلی غلیظ (٦٧درصد) به‌دست آمد. عصاره تا زمان استفاده در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. محلول عصاره با غلظت‌های پایین‌تر از طریق حل نمودن آن در محلول سالین فیزیولوژیک به‌دست آمد.

www.SID.ir

Archive of SID

روش انجام کار

در این بررسی از آن دسته موش‌های صحرایی نر استفاده شد که در شرایط طبیعی بدون برقراری حالت روزه داری میزان گلوکز سرم آنها پایین‌تر از حد ۲۵۰ mg/dl بود. موش‌ها به طور کاملاً تصادفی به پنج گروه کنترل شامل موش‌های سالمی که عصاره دریافت نکرده بودند (n =۱۸), گروه کنترل دریافت‌کننده عصاره (n =۱۰)، گروه کنترل دریافت کننده سدیم سالیسیلات (گروه کنترل مثبت)، (n =۵)، گروه دیابتی شامل موش‌های دیابتی که عصاره دریافت نکرده بودند (n =۱۰) و گروه دیابتی درمان شده با عصاره آبی برگ شنبلیله (n =۱۱) تقسیم شدند. عصاره آبی برگ شنبلیله به میزان ۲۰۰ mg/kg به‌طور داخل صفاقی و یک روز در میان به مدت یک ماه تجویز شد. به‌علاوه گروه کنترل مثبت داروی سدیم سالیسیلات را به میزان ۲۰۰ mg/kg به‌طور داخل صفاقی یک‌ساعت قبل از انجام بررسی دریافت نمود. برای دیابتی نمودن حیوانات از داروی استرپتوزوتوسین (STZ) به صورت تک دوز و داخل صفاقی به میزان ۶۰ mg/Kg حل شده در محلول سالین فیزیولوژیک سرد استفاده گردید. حجم تزریق محلول به حیوانات در هر گروه ۰/۵ میلی‌لیتر بود. پس از گذشت یک ماه، آزمون فرمالین بر روی تمام موش‌ها انجام گرفت. در این ارتباط در مورد هر موش آزمون فرمالین فقط یک بار انجام پذیرفت. اندازه‌گیری میزان گلوکز سرم توسط روش آنزیمی گلوکز اکسیداز (زیست شیمی) و با استفاده از اسپکتروفتومتر به انجام رسید. ملاک دیابتی بودن موش‌ها، میزان گلوکز سرم بالاتر از ۲۵۰ mg/kg در نظر گرفته شد.

آزمون فرمالین

برای این آزمون از روش متداول Dubuisson and Dennis استفاده گردید [۱۰]. بدین ترتیب که حیوان در یک محفظه از جنس پلکسی گلاس (۳۰×۳۰×۳۰ سانتی‌متر) در تحت شرایط آرام قرار گرفته و در قسمت زیر محفظه آینه‌ای با زاویه ۴۵ درجه قرار داشت تا وضعیت کف پای حیوان کاملاً مشخص باشد. پس از گذشت یک ساعت ۵۰ میکرولیتر از محلول فرمالین ۲/۵ درصد به صورت زیر جلدی به کف پای حیوان تزریق شد و شدت درد حیوان بر اساس تقسیم‌بندی زیر به چهار درجه تفکیک گردید: ۰ – حیوان بدون توجه به پای تزریق شده می‌نشیند و یا راه می رود. ۱– پای حیوان با محفظه تماس داشته ولی حیوان وزن بدن خود را بیشتر روی پای سالم خود می‌اندازد. ۲– حیوان پنجه دردناک را کاملاً از سطح محفظه بلند می‌نماید. ۳– حیوان پنجه تزریق شده را از شدت درد می‌لیسد، گاز می‌گیرد یا به شدت تکان می‌دهد. ثبت پاسخ‌های رفتاری بلافاصله پس از تزریق فرمالین آغاز و تا دقیقه ۶۰ ادامه می‌یافت. در این ارتباط پاسخ در هر ۱۵ ثانیه ثبت و به عنوان شاخصی از میزان درد در آزمون فرمالین در نظر گرفته می‌شد. با استفاده از این روش اعداد ۰ تا ۳ برای امتیاز درد در زمان‌های مختلف به‌دست می‌آید. میانگین درد در ده دقیقه اول بعد از تزریق فرمالین به عنوان مرحله ابتدایی یا حاد (First phase) و در دقایق ۱۶ تا ۶۰ به‌عنوان مرحله مزمن یا تاخیری (Latent phase) در نظر گرفته شد.

آنالیز آماری

تمام داده‌ها در بررسی حاضر به صورت Mean ± S.E.M. بیان شده است. برای آنالیز آماری از آزمون One-way ANOVA و در صورت معنی‌دار شدن از آنالیز Tukey استفاده گردید. به‌علاوه $p<0/05$ به‌عنوان سطح معنی‌دار در نظر گرفته شد. برای آنالیز آماری از برنامه Graphpad Instat و برای رسم نمودار از برنامه Microsoft Excel 1997 استفاده گردید.

www.SID.ir

Archive of SID

نتایج

نتایج وزن و گلوکز سرم

جدول شماره ۱ نتایج وزن و میزان گلوکز سرم را در گروه‌های مختلف نشان می‌دهد. در این رابطه مشخص گردید که هیچ‌گونه اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها در هفته قبل از شروع مطالعه وجود ندارد. در پایان بررسی، کاهش معنی‌دار وزن موش‌های دیابتی درمان نشده ($p<۰/۰۵$) و درمان شده با عصاره ($p<۰/۰۱$) در مقایسه با گروه کنترل مشاهده گردید، هر چند که میزان وزن موش‌های دیابتی تحت درمان بالاتر از گروه دیابتی بود. به‌علاوه، میزان گلوکز سرم در موش‌های دیابتی درمان نشده و درمان شده با عصاره به‌طور معنی‌دار بالاتر از گروه کنترل ($p<۰/۰۰۱$) و میزان گلوکز سرم در موش‌های دیابتی درمان شده با عصاره کمتر از گروه دیابتی درمان نشده بود ($p<۰/۰۵$). به‌علاوه تجویز عصاره به موش‌های گروه کنترل تغییر معنی‌داری را در این پارامترها به‌وجود نیاورد.

نتایج آزمون فرمالین

شکل شماره ۱ نتایج حاصله از تست فرمالین را در دو فاز حاد و مزمن در گروه‌های مختلف نشان می‌دهد. تزریق داخل پنجه فرمالین یک پاسخ بارز دو فازی را در تمام گروه‌ها ایجاد نمود. هیپرآلژزی القا شده بر اثر فرمالین در موش‌های دیابتی درمان نشده در هر دو فاز تست فرمالین بیشتر از گروه کنترل بود ($p<۰/۰۵$). به‌علاوه تجویز سدیم سالیسیلات موجب کاهش معنی‌دار نمره درد در فاز دوم تست فرمالین در مقایسه با گروه کنترل گردید ($p<۰/۰۵$).بر خلاف درمان موش‌های کنترل و دیابتی شده با عصاره آبی برگ شنبلیله به ترتیب موجب کاهش معنی‌دار در نمرات درد در هر دو فاز آزمون فرمالین در مقایسه با گروه کنترل و دیابتی درمان نشده گردید.

بحث

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تجویز عصاره آبی برگ شنبلیله به میزان ۲۰۰ mg/Kg (به‌طور یک روز در میان) به صورت داخل صفاقی پس از گذشت یک ماه به موش‌های دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین (٦۰mg/Kg) تغییر معنی‌دار در میزان گلوکز سرم و میزان احساس درد در تست فرمالین (دو فاز حاد و مزمن) در مقایسه با گروه دیابتی (که عصاره دریافت نمی‌کند) به‌وجود می‌آورد. نتایج تحقیقات قبلی نشان می‌دهد که موش‌های صحرایی دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین به‌طور غیرمنتظره یک رفتار تشدید شده مربوط به درد را در آزمون فرمالین به‌دنبال تجویز محرک‌های شیمیایی به‌داخل پنجه پا پس از گذشت ۳-٤ هفته نشان می‌دهند که خود دلالت بر وجود مکانیسم‌های غیرنرمال و متعدد در پردازش سیگنال‌های محیطی درد دارد [۱۲]. قبلاً وجود هیپرآلژزی مکانیکی به‌عنوان اولین نشانگان نوروپاتی دیابتیک به اثبات رسیده که علت آن تا حدودی به اثرات توکسیک

جدول شماره ۱- میزان وزن و گلوکز سرم در موش‌های کنترل، دیابتی و درمان شده با عصاره آبی برگ شنبلیله

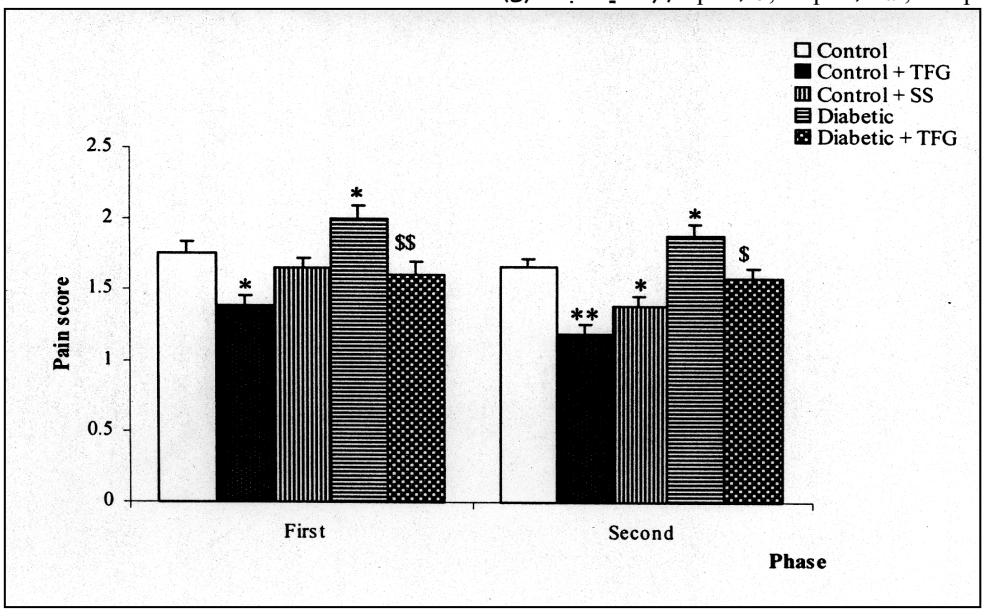
	وزن بدن (g)		گلوکز سرم (mg/dl)	
	هفته ۰	هفته ٤+	هفته ۰+	هفته ٤+
کنترل *	۲۳۸/۱ ± ٤/۲*	۲٦۷/٥ ± ٥/۹*	۱۰۲/۷ ± ٤/۱**	۹٦/۸ ± ۳/٥*
کنترل + TFG *	۲۳۷/۷ ± ٥/۸*	۲٤٥/٤ ± ٤/۳*	۹۹/۸ ± ٥/٦*	۹۱/۷ ± ٤/۲*
دیابت *	۲٤۱/۷ ± ٤/۳*	۱۹۰/۷ ± ٦/۷***	۱۰٤/۷ ± ٤/۷*	۳۷۹/۸ ± ۱٥/۷***

www.SID.ir

Archive of SID

دیابت + TFG *	*۳/۷ ± ۲۳٤/۳	*۷/۱ ± ۲۱۱/٤	*٥/۸ ± ۹٦/٥	**۱۲/۹ ± ۲۸۱/۷

* p<۰,۰۱ , ** p<۰,۰۰٥ , *** p<۰,۰۰۱ (در مقایسه با کنترل)



شکل شماره ۱- اثر تزریق داخل صفاقی عصاره آبی برگ شنبلیله (TFG; ۲۰۰ mg/kg) بر میزان درد در آزمون فرمالین در موش‌های دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین (۶۰ mg/kg) پس از گذشت یک ماه در دو مرحله حاد و مزمن

*p<۰,۰۱**، p<۰,۰٥ *(در مقایسه با گروه کنترل)، $p<۰,۰۱$$، $p<۰,۰٥$ (درمقایسه با گروه دیابتی درمان نشده)

مقادیر بالای گلوکز بر سیستم عصبی محیطی و فعال شدن مسیرهای بیوشیمیایی آلدوز ردوکتاز و polyol نسبت داده شده است [۱۳، ۳]. به‌علاوه وجود حالت دیابت پردازش سیگنال‌های درد را در ناحیه نخاع تحت تاثیر قرار می‌دهد [۱۲،۱۳]. با این وجود شواهدی یافت می‌شود که بر آن اساس خود هیپرگلیسمی به تنهایی نمی‌تواند در برخی مدل‌های تجربی دیابت هیپرآلژزی ایجاد نماید [۱٤]. نتایج تحقیقات اخیر نشان می‌دهد که موش‌های صحرایی دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین را می‌توان به‌عنوان مدل درد مزمن به حساب آورد که در مورد آن نشانه‌های هیپرآلژزی (Hyperalgesia) و آلودینی (Allodynia) در کوتاه مدت (۱ الی دو ماه) به‌خوبی مشاهده می‌شود [۱٤]. با توجه با اینکه در فاز مزمن تست فرمالین مکانیسم‌های محیطی و در فاز حاد آن مکانیسم‌های مرکزی دخالت دارند [۱٦، ۱٥] و با عنایت به اینکه در بررسی حاضر اثرات ضددردی عصاره آبی برگ شنبلیله در هر دو فاز تست فرمالین مشاهده گردید، می‌توان ادعا نمود که عصاره از طریق مکانیسم‌های مرکزی و محیطی مدارهای پردازش‌کننده درد را تحت تاثیر قرار می‌دهد. اثرات سودمند تجویز عصاره آبی برگ شنبلیله را در کاهش میزان احساس در مدل تجربی دیابت می‌توان به اثرات هیپوگلیسمیک و آنتی‌اکسیدانی آن نسبت داد

www.SID.ir

Archive of SID

[۴،۱۷]. در این خصوص مشخص گردیده است که اثرات ضددردی، ضدالتهابی، و ضدتب گیاه شنبلیله بسیار مشابه داروهای ضدالتهاب غیراستروییدی می‌باشد. به علاوه این اثرات را می‌توان به فلاونوییدها، اسید نیکوتینیک و سالیسیلات موجود در گیاه شنبلیله نسبت داد [۱۹، ۱۸]. لذا انجام تحقیقات بیشتر جهت مشخص نمودن مکانیسم اثر ضددردی عصاره گیاه شنبلیله در دو حالت نرمال و دیابتی توصیه می‌گردد.

به‌طور خلاصه، نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تجویز عصاره آبی برگ شنبلیله به میزان mg/Kg ۲۰۰ به مدت یک ماه به موش‌های دیابتی کاهش معنی‌داری را در میزان گلوکز خون و میزان احساس درد در مراحل حاد و مزمن تست فرمالین به‌وجود می‌آورد. لذا تجویز عصاره جهت کاهش برخی مشکلات دردزای ناشی از حالت دیابت قندی توصیه می‌شود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله مراتب تشکر وافر خود را از سرکار خانم فریبا انصاری کارشناس گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی شاهد در تهیه عصاره و کمک به انجام آزمایش‌ها اعلام می‌دارند.

منابع

1. Galer BS, Gianas A, Jensen MP. Painful diabetic polyneuropathy: epidemiology, pain description and quality of life. *Diabetes Res Clin Pract.* 2000; 47:123-28.

2. Dobretsov M, Hastings SL, Romanovsky D, Stimers JR, Zhang JM. Mechanical hyperalgesia in rat models of systemic and local hyperglycemia. *Brain Res.* 2003; 960: 174-83.

3. Dobretsov M, Hastings SL, Stimers JR, Zhang JM. Mechanical hyperalgesia in rats with chronic perfusion of lumbar dorsal root ganglion with hyperglycemic solution. *J. Neurosci Methods.* 2001; 110: 9-15.

4. Raz I, Hasdai D, Seltzer Z, Melmed RN. Effect of hyperglycemia on pain perception and on efficacy of morphine analgesia in rats. *Diabetes.* 1988; 37: 1253-59.

5. Nakamura-Craig M, Follenfant L. Effect of lamotrigine in the acute and chronic hyperalgesia induced by PGE2 and in the chronic hyperalgesia in rats with streptozotocin-induced diabetes. *Pain.* 1995; 63: 33-7.

6. Javan M, Ahmadiani A, Semnanian S, Kamalinejad M. Antinociceptive effects of *Trigonella foenum-graecum* leaves extract. *J. Ethnopharmacol.* 1997; 58: 125-29.

7. Ahmadiani A, Javan M, Semnanian S, Barat E, Kamalinejad M. Anti-inflammatory and antipyretic effects of *Trigonella foenum-graecum* leaves extract in the rat. *J. Ethnopharmacol*. 2001; 75: 283-6.

8. Abdel-Barry JA, Abdel-Hassan IA, Al-Hakiem MH. Hypoglycemic and antihyperglycemic effects of *Trigonella foenum-graecum* leaf in normal and alloxan induced diabetic rats. *J. Ethnopharmacol.* 1997; 58: 149-55.

9. Abdel-Barry JA, Abdel-Hassan IA, Jawad AM, Al-Hakiem MH. Hypoglycemic effect of aqueous extract of the leaves of *Trigonella foenum-graecum* in healthy volunteers. *J. East Mediterr. Health.* 2000; 6: 83-8.

10. Dubuisson D, Dennis SG. The formalin test: a quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats and cats. *Pain.* 1977; 4: 161-74.

11. Cesena RM, Caleutt NA. Gabapentin prevents hyperalgesia during the formalin test in diabetic rats. *Neurosci Lett*. 1999; 262: 101-4.

www.SID.ir

Archive of SID

12. Calcutt NA. Potential mechanisms of neuropathic pain in diabetes. *Int Rev Neurobiol.* 2002; 50: 205-28.

13. Piercy V, Banner SE, Bhattacharyya A, Parsons AA, Sanger GJ, Smith SA, Bingham S. Thermal, but not mechanical, nociceptive behavior is altered in the Zucker Diabetic Fatty rat and is independent of glycemic status. *J. Diabetes Complications.* 1999; 13: 163-69.

14. Shibata M, Ohkubo T, Takahashi H, Inoki R. Modified formalin test: characteristic biphasic pain response. *Pain*. 1989; 38: 347-52.

15. Rosland JH, Tjolsen A, Maehle B, Hole K. The formalin test in mice-effect of formalin concentration. *Pain.* 1990; 42: 235-42.

16. Genet S, Kale RK, Baquer NZ. Alterations in antioxidant enzymes and oxidative damage in experimental diabetic rat tissues: effect of vanadate and fenugreek (*Trigonellafoenum graecum*). *Mol. Cell Biochem.* 2002; 236: 7-12.

www.SID.ir