تأثير المستخلص الكحولي لبذور ولب نبات الحنظل في تركيز الكلوكوز وبعض المعايير الكيموحيوية لدى الجرذان المستحثة تجريبيا بداء السكري

زينب إبراهيم محمد/ كلية الطب البيطري /جامعة القادسية

الخلاصة

أجريت هذه الدراسة لمعرفة تأثير المستخلص لبذور ولب نبات الحنظل في تركيز الكلوكوز وبعض المعايير الكيموحيوية في إناث الجرذان البيض ،حيث تم استخدام (15) حيوانا من إناث الجرذ البيض الناضجة جنسيا.قسمت الحيوانات عشوائيا إلى ثلاثة مجاميع متساوية وهي مجموعة السيطرة التي لم يستحدث فيها داء السكري و جرعت ماء الشرب الاعتيادي طيلة مدة التجربة والبالغة أسبوعان ومجموعة المعاملة الأولى ،ضمت مجموعة الحيوانات التي استحدث فيها داء السكري وجرعت ماء الشرب الاعتيادي .

أما مجموعة المعاملة الثانية ضمت الحيوانات التي استحدث فيها داء السكري وجرعت ماء الشرب الحاوي المستخلص الكحولي لبذور ولب نبات الحنظل بتركيز 100 ملغم/كغم من وزن الجسم.أخذت عينات الدم من المجاميع الثلاثة بعد انتهاء مدة التجربة لغرض أجراء الاختبارات الكيموحيوية.

أظهرت نتائج الدراسة حصول انخفاض معنوي ($P<0.05$) في تركيز كلوكوز الدم لدى مجموعة المعاملة الثانية T2 بالمقارنة مع مجموعة المعاملة الأولى ومجموعة السيطرة ،كما أظهرت نتائج الدراسة حصول انخفاض معنوي ($P<0.05$) في تركيز الكولسترول والبروتين ألدهني واطئ الكثافة LDL-c ،إضافة إلى حصول ارتفاع معنوي في تركيز البروتين ألدهني عالي الكثافةHDL-c .

المقدمة

يعد مرض السكري من الأمراض الشائعة في جميع بلـــدان العالم ،وقد ازداد بشكل كبير في العقود الثلاثة الأخيرة حيث يصيب أكثر من 190 مليون شخص في العالم (Sicree *etal*.,2006).ويعرف هذا المرض بأنه حالة مزمنة ناتجة عن عوامل وراثية وبيئية تتسم بارتفاع سكر الدم (glucose) الذي يمثل مصدر الطاقة للأنسجة وله علاقة مباشرة بالعديد من العمليات الايضية داخل الجسم وان أي خلل في ايض الكلوكوز يؤدي إلى أحداث ضرر وتغيير في كثير من العمليات الايضية (Stryer,1996).ويأتي هذا المرض في مقدمة الأمراض المزمنة التي تعمل على أضعاف الجسم ووهنه ،وغالبا ما تؤدي الإصابة به إلى مضاعفات مثل تصلب الشرايين Atherosclerosis والإصابة بالأمراض القلبية الوعائية والالتهابات المزمنة في الجهاز البولي والعجز الكلوي Renal failure وأمراض شبكية العين والتهـــــــاب الأعصاب Neuritis وأخـــــــيرا قد تحدث الغيبوبة السكرية Diabetic coma (Srivastava *etal*.,1993).

يحدث داء السكري أما بسبب نقص في كمية هرمون الأنسولين أو بسبب عدم قدرة الجسم على استخدام الأنسولين (Acharya *etal*.,1996) ،كما ذكر King (2004) بان داء السكري يحدث نتيجة لوجود اضطراب هرموني وعدم توازن في بعض ايض السكريات والبروتينات والدهون والماء والالكتروليتات مع ارتفاع غير طبيعي في تركيز الكلوكوز في الدم ،أما بسبب خلل في إفراز الأنسولين أو بسبب وجود خلل يمنع الأنسولين من أداء عمله.

كما يحدث هذا المرض بسبب السمنة وقلة الحركة والإجهاد (Acharya *etal*.,1996) ويتحكم في انتشاره وتوزيعه في العالم عوامل عدة منها الوراثة،العمر،الغذاء،المنطقة الجغرافية ،المناخ والحالة النفسية المتعلقة بالوضع الأمني أو الصدمات النفسية نتيجة حدث معين مفاجئ(Myers,2002). كما أن هذا المرض يحدث بين الناس في عمر ما بعد ال40

سنة ،إضافة إلى أمكانية حدوثه في الأطفال (Gaylor&Gondren,2004) ويعالج هذا المرض بإتباع الحمية ،كما يعالج بالأدوية المعطاة عن طريق الفم أو الحقن بالأنسولين.

يصنف داء السكري إلى:

1-داء السكري من النوع الأول Juvenile onset type or Type 1

يحدث هذا النوع عندما يصبح البنكرياس عاجزا عن العمل ولا يفرز الأنسولين ،حيث يفرز الأنسولين من خلايا بيتا البنكرياسية استجابة لارتفاع تركيز سكر الدم (Bennette&Plum,1996).يصيب هذا النوع من السكر الأعمار الصغيرة لذا يسمى Juvenile onset type (Leif,2000) ومن أعراضه انخفاض الوزن السريع والشعور بالتعب والجوع و البوال.

2-داء السكر من النوع الثاني Maturity onset type or type 2

يكون هذا النوع من داء السكر أكثر انتشارا من النوع الأول ويشكل عدد المصابين به 95% وعادة ما يصيب كبار السن لاسيما من تجاوزت أعمارهم الأربعين عاما (Khan&Hershey,2001) ،حيث أن الأشخاص المصابين به يمتلكون أنسولين غير كافي أو أن مستقبلات الأنسولين الموجودة في خلايا بيتا البنكرياسية لا تستجيب بشكل مناسب للأنسولين (Jay,2000)،إضافة إلى عدم استجابة الخلايا الهدف (كالكبد والعضلات والأنسجة الدهنية) لتأثيرات الأنسولين ،وسبب ذلك هو اختزال عدد مستقبلات الأنسولين الموجودة على سطوح هذه الخلايا .ويختلف هذا النوع عن النوع الأول بصعوبة معرفة تاريخ المرض بدقة ،إذ يمكن أن يبقى المرض لسنوات عديدة دون أن تظهر الأعراض مثل الجوع والتعب والضعف العام (علاوي،1995).ونتيجة لارتفاع الوعي الصحي والعلاجي وبسبب كون العقاقير الطبية المستخدمة لعلاج مرض السكري تؤدي إلى ظهور أعراض جانبية على جسم الإنسان في كثير من الحالات ،زاد الطلب على استخدام مواد بديلة لا تؤثر على جسم الإنسان ومنها النباتات التي تحتوي تراكيز متوازنة ومخففة من المواد الفعالة بحيث يمكن للجسم البشري أن يتفاعل معها برفق في صورتها الطبيعية إلى جانب احتواء النبات الواحد على العديد من المواد الفعالة التي تتعاون معا لمعالجة المرض ومن هذه النباتات نبات الحنظل الذي يعد من محاصيل البذور الزيتية التي تستعمل للأغراض الصناعية والطبية ،إذ تحتوي على نسبة عالية من الزيت (17-19 %) الذي استعمل قديما للإضاءة (Palevitch&Yaniv,1991) كما تستعمل الثمار غذاءا من قبل بعض القبائل وكذلك البذور بعد تحميصها (Hacvery&John,1998) وفي العديد من بلدان العالم يزرع كنبات زينة (James&Duke,1983) وقد وجد Duke(1978) بان ثمرة نبات الحنظل عند التحلل الكيميائي وباستعمال المذيب العضوي Either chloroform تحتوي على الراتنجات Resins والقلويدات Alkaloids ومواد صمغية Gum وبكتين Pectin والبومونيدات Albuminoids وكلايكوسيد فايتوستيرول Aphytosterol Glycoside (Citrullol) وكلايكوسيدات اخرى.

كما تحتوي بذور نبات الحنظل على زيوت ثابتة Fixed oils وأحماض دهنية Fatty acids وتانينات Tannins وهايدروكاربرنات وسكريات متعددة وفايتوستيرول وقلويدات وصابونيات Saponins (Chakravarty,1988) وللحنظل أهمية طبية فهو مسهل قوي بسبب احتوائه على الكلايكوسيدات مرة المذاق مثل Colocynthin ومواد راتنجية (Burkill,1985) كما يستفاد من ثمار نبات الحنظل في معالجة داء السكر وألام المعدة والصفراء والحمى وتوقف البول وفي قتل الطفيليات المعوية وطردها (الراوي،1988).

يستخدم نبات الحنظل لخفض نسبة السكر ،حيث ذكر Gary&Gary (2008) بان المادة الفعالة في نبات الحنظل هي الكلايكوسيدات والصابونيات والتي تعمل على تقليل تركيز الكلوكوز في الدم.كما وجد Abdel-Hassan واخرون (2000) بان تجريع المستخلص الكحولي لقشرة ثمرة نبات الحنظل بتركيز(300 mg/kg)سبب انخفاض معنوي في تركيز الكلوكوز لدى الأرانب السليمة بعد ساعة واحدة من التجريع ،وقد ازدادت المعنوية بعد 2و3و6 ساعات من التجريع ،كما ذكروا بأن التأثير الخافض لتركيز السكر في الدم لقشرة ثمرة نبات الحنظل يعود إلى مركبات الكلايكوسيدات والصابونيات وذلك من خلال أعطاء مجموعة من الأرانب طبيعية السكر المستخلص الكحولي لمركبات القلويدات والكلايكوسيدات بتركيز(50 mg/kg).وفي دراسة أخرى قام بها Zamani واخرون (2007) ذكروا بان المستخلص الكحولي لبذور ولب ثمرة نبات الحنظل بتركيز(100 mg/kg)أدى إلى انخفاض معنوي في تركيز الكولسترول و-LDL c و-HDL وTriglyceride و كلوكوز الدم لدى الأرانب المضاف إلى عليقتها نسبة من الكولسترول.

ونظرا لأهمية داء السكري وانتشاره بشكل كبير خصوصا في الأعمار التي تجاوزت سن الأربعين ،إضافة إلى استخدام الأدوية المخصصة للسكري و ما تسببه من مخاطر على الصحة في المستقبل لذا صممت هذه الدراسة لتسليط الضوء على واحد من النباتات الطبيعية الذي يحتوي على المواد الفعالة والتي يمكن أن تسهم في خفض مستوى كلوكوز الدم.

المواد وطرائق العمل

حيوانات التجربة

استخدمت في هذه الدراسة إناث الجرذ البيض Albino rats تراوحت أعمارها بين 6-8 أسابيع والتي تم إيوائها في غرفة خاصة في البيت الحيواني التابع لكلية الطب البيطري/جامعة القادسية ،مكيفة ومجهزة بساحبة هواء ومدفئة زيتية وضبطت درجة حرارة الغرفة مابين (23-25)مئوية وتم تقديم العلف المركز لها والذي تم تصنيعه حسب ما جاء في (ألساعدي،1997).

استحداث داء السكري Induce diabetes mellitus

تم استحداث داء السكري بموجب الخطوات الآتية:

1-تم حجب العليقة عن الحيوانات لمدة 24 ساعة تقريبا.

2-حقنت الحيوانات بمادة الالوكسان Alloxan monohydrate داخل البريتون ،والذي تم تحضيره قبل الاستخدام مباشرة بإذابة 25 ملغم من الالوكسان في مللتر واحد من المحلول الفسلجي المعقم لكل حيوان.

3-حقنت الحيوانات مباشرة بخمس مللترات من محلول الكلوكوز 20% في البريتون ،إضافة إلى استبدال ماء الشرب بمحلول الكلوكوز 5% لمدة 24 ساعة لتخفيف صدمة المعالجة بالالوكسان (العذاري،2006).

4-بعد مرور 4-5 أيام من الحقن ،أخذت نماذج الدم لتقدير تركيز الكلوكوز في المصل للتأكد من حدوث داء السكري ،وقد عدت الحيوانات التي تجاوز تركيز الكلوكوز فيها بعد الصيام 200 ملغم/ديسيلتر مصابة بداء السكري.

5-بعد مرور سبعة أيام على بدء الإصابة عوملت الحيوانات بالمستخلص.

تحضير المستخلص الكحولي لبذور ولب نبات الحنظل

تم تحضير المستخلص حسب طريقة Harborne (1984) ،حيث تم وزن 20 غرام من مسحوق بذور ولب نبات الحنظل وأضيف إليه 100 مل من الايثانول بتركيز70 % ووضع في قنينة محكمة الغلق ،وبعد مرور 24 ساعة تم ترشيح محتوى القنينة بوساطة ورق الترشيح Wattman No.1 ،وتم صب الراشح في أطباق بتري وتركت لتجف أما الراسب فقد تم إعادته إلى القنينة وأضيف إليه 100 مل أخرى من الايثانول 70 % وهكذا كما في السابق لحين الحصول على راشح ذي لون خفيف، وبعد أن جف المستخلص بتعريضه إلى الهواء ،تم الحصول على مستخلص ذو لون بني بعد ذلك تم وزن طبق بتري فارغ ووزن جميع الأطباق الحاوية على المستخلص الواحد تلو الأخر ليتم تحديد محتوى كل طبق من المستخلص بطرح وزن الطبق الحاوي على المستخلص من وزن الطبق الفارغ بعد ذلك تم تخفيف المستخلص بالماء المقطر لتحضير التركيز المطلوب.

تصميم التجربة

قسمت الحيوانات عشوائيا إلى ثلاثة مجاميع كل مجموعة ضمت خمسة حيوانات ،وقد عوملت الحيوانات على النحو التالي:

1- مجموعة السيطرة(C):ضمت مجموعة الحيوانات التي لم يستحدث فيها داء السكري والتي تناولت ماء الشرب الاعتيادي.
2- مجموعة المعاملة الأولى(T1):ضمت مجموعة الحيوانات التي استحدث فيها داء السكري والتي تناولت ماء الشرب الاعتيادي طيلة مدة التجربة والبالغة أسبوعان.
3- مجموعة المعاملة الثانية(T2):ضمت مجموعة الحيوانات التي استحدث فيها داء السكري والتي تناولت ماء الشرب الحاوي على المستخلص الكحولي لبذور ولب نبات الحنظل بتركيز 100 ملغم/كغم من وزن الجسم طيلة مدة التجربة والبالغة أسبوعان.

التضحية بالحيوانات وسحب الدم

في نهاية مدة التجربة والبالغة (أسبوعان) ،تم رفع الماء الغذاء عن الحيوانات لمدة 12 ساعة بعدها تم تخديرها بواسطة الكلوروفورم وجمعت عينات الدم عن طريق طعنة القلب Intra cardiac puncture بوساطة محقنه طبية

سعة 5 مل ووضعت عينات الدم في أنابيب اختبار نظيفة خالية من المادة المانعة للتخثر ودورت بجهاز الطرد المركزي بسرعة 3000 دورة/دقيقة لمدة 15 دقيقة لغرض الحصول على مصل الدم والذي تم حفظه في أنابيب بلاستيكية خاصة بدرجة حرارة (−20)مئوية لحين أجراء الفحوصات الكيموحيوية عليها.

المعايير المدروسة

1- تقدير تركيز الكلوكوز في مصل الدم(ملغم/ديسيلتر)

تم حساب تركيز الكلوكوز في مصل الدم حسب ما ورد في كتابTietz(1999) .

2-تقدير تركيز الكولسترول الكلي في مصل الدم (ملغم/ديسيلتر)

تم تقدير تركيز الكولسترول في مصل الدم حسب الطريقة الموصوفة في Tietz(1999) .

3-تقدير تركيز الكولسترول للبروتين الدهني العالي الكثافة(ملغم/ديسيلتر)

تم تقدير الكولسترول للبروتين ألدهني عالي الكثافة(HDL-c) بإتباع الطريقة التي وصفها Warnick واخرون(1979) .

4- تقدير تركيز الكولسترول للبروتين الدهني واطئ الكثافة(ملغم/ديسيلتر)

تم تقدير الكولسترول للبروتين الدهني واطئ الكثافة(LDL-c) باتباع الطريقة التي وصفها Friedewald واخرون(1972) .

التحليل الاحصائي

تم إخضاع النتائج للتحليل الإحصائي بهدف معرفة الفروق المعنوية بين مجموعة السيطرة وبقية المجاميع ،إذ استخدم اختبار(F)وLSD لإيجاد اقل فرق معنوي موجود بين مجاميع الدراسة الثلاثة(Schefler,1980).

النتائج والمناقشة

أشارت نتائج الدراسة إلى حصول انخفاض معنوي ($P<0.05$) في تركيز الكلوكوز في المجموعة الثانية(T2)التي ضمت مجموعة الحيوانات المعاملة بالمستخلص الكحولي لبذور ولب نبات الحنظل بالمقارنة مع المجموعة الأولى (T1)التي ضمت مجموعة الحيوانات التي استحدث فيها داء السكري ولم تعامل بالمستخلص الكحولي لبذور ولب نبات الحنظل (جدول رقم 1)،حيث اعزي هذا الانخفاض في تركيز الكلوكوز الى تقليل امتصاص الكلوكوز في الأمعاء ،إضافة إلى تقليل أنتاج الكبد للسكر وتقليل حجم الخلايا الدهنيةadipose cells (Sridhar *etal*.,2008)،كما اعزي سبب الانخفاض في مستوى الكلوكوز في مجموعة المعاملة الثانية (T2)إلى أن المستخلص قد سبب استحثاث إفراز الأنسولين من البنكرياس (Swanston-Flatt *etal*.,1990).وفي دراسة أخرى ذكرت أن زيت نبات الحنظل له أهمية كبيرة في تنظيم مستوى السكر في الدم ،حيث انه يحتوي أحماض دهنية غير مشبعة Poly unsaturated fatty acids وأحماض دهنيةMono unsaturated fatty acids وربما مكونات أخرى(Gravena *etal*.,2002;Delplanque *etal*.,2002)،كما ذكرت دراسة أخرى استخدم فيها مجموعة من المستخلصات النباتية والتي من ضمنها نبات الحنظل ،حيث تم خلط هذه المستخلصات مع الزبادي Yoghurt أن المركبات الموجودة في المستخلصات لها دور مهم في تنظيم كلوكوز الدم وإطلاق الأنسولين من البنكرياس (Al-Wabel *etal*.,2008).

جدول (1) يبين معدل تركيز الكلوكوز وبعض المعايير الكيموحيوية لدى الجرذان المستحدث فيها داء السكري.

المعاملات / المعايير	c	T1	T2
تركيز كلوكوز الدم (ملغم/ديسيلتر)	104.04±1.895 **a**	228.06±5.689 **b**	122.66±0.879 **c**
تركيز الكولسترول	109.94±2.388	210.3±12.211	147.8±3.662

(ملغم/ديسيلتر)	a	b	c
تركيز LDL-c (ملغم/ديسيلتر)	22.8±0.666 **a**	27.88±0.373 **b**	23.7±0.353 **a**
تركيزHDL-c (ملغم/ديسيلتر)	42.9±1.064 **a**	52.84±0.826 **b**	62.18±0.950 **c**

الأرقام تمثل المعدلات ±الخطأ القياسي
C : تمثل مجموعة السيطرة
T1 :تمثل مجموعة الجرذان التي استحدث فيها داء السكري والتي تناولت ماء الشرب الاعتيادي.
T2 :تمثل مجموعة الجرذان التي استحدث فيها داء السكري والتي عوملت بالمستخلص الكحولي لبذور ولب نبات الحنظل.
الحروف المختلفة تشير إلى وجود فروق معنوية بين المعدلات.
الحروف المتشابهة تشير إلى عدم وجود فروق معنوية بين المعدلات.

كما بينت نتائج الدراسة انخفاض معنوي ($P<0.05$) في تركيز الكولسترول لدى مجموعة T2 بالمقارنة مع مجموعة T1 وقد اعزي سبب هذا الانخفاض إلى احتواء البذور على كميات كبيرة من الصابونيات والتي ربما تساهم في خفض الكولسترول بالمصل من خلال تقليل امتصاص الكولسترول في الأمعاء(Zamani *etal*.,2007).كما أظهرت نتائج الدراسة وجود انخفاض معنوي ($P<0.05$) في تركيز البروتينات الدهنية واطئة الكثافة LDL-c وارتفاع معنوي في تركيز البروتينات الدهنية عالية الكثافة HDL-c في مجموعة الجرذان المعاملة بالمستخلص الكحولي لبذور ولب نبات الحنظل ،حيث أن انخفاض تركيز الكولسترول يقلل من تركيز البروتين الدهني واطئ الكثافة LDL-c ،إذ أن الكولسترول هو المكون الرئيسي للLDL-c (Bruce,1995) وبما أن تركيز الكولسترول قل في مصل الدم لذا فان تركيز البروتين ألدهني واطئ الكثافة يقل أيضا ،أما بالنسبة لتركيز البروتين ألدهني عالي الكثافة HDL-c ،فقد ازداد تركيزه بسبب قلة تركيز الكولسترول في مصل الدم ،حيث تعمل البروتينات الدهنية عالية الكثافة على التقاط جزيئات الكولسترول من مجرى الدم وخزنه في الكبد لذا يزداد تركيزه بسبب قلة تركيز الكولسترول وجاءت هذه النتائج متوافقة مع ما ذكره Sebbagh وآخرون (2007) حيث توصلوا إلى أن إضافة زيت نبات الحنظل وزيت زهرة الشمس إلى عليقة الجرذان التي استحدث فيها داء السكري ،أدى إلى انخفاض تركيز الكولسترول والبروتين الدهني واطئ الكثافة في مصل الدم في حين لم يحصل أي تغير في تركيز البروتين ألدهني عالي الكثافة.

وفي دراسة أخرى قام بها Zamani وآخرون (2007) ،استخدموا فيها المستخلص الكحولي لبذور ولب نبات الحنظل كمضاد لارتفاع الدهون Anti hyper lipidemic لدى الأرانب المضاف إلى عليقتها نسبة من الدهون ،إذ لوحظ حصول انخفاض معنوي في تركيز الكولسترول والبروتينات الدهنية واطئةLDL-c وعاليةHDL-c الكثافة،وقد عزوا سبب هذا الانخفاض إلى الصابونيات الموجودة في نبات الحنظل .

المصادر

- الراوي،علي.(1988).النباتات السامة في العراق.الهيئة العامة للبحوث الزراعية.الطبعة الثالثة.صفحة 122 .
- ألساعدي،جبار عباس احمد.(1997)تأثير خلاصة ثمار نبات الينسون على نمو وتطور الغدد اللبنية في الجرذان .رسالة دكتوراه .جامعة بغداد.
- العذارى ،عشتار عدنان محمد.(2006).دراسة تأثير حليب الإبل في معالجة داء السكري .رسالة ماجستير،كلية الطب البيطري،جامعة بغداد.
- علاوي،جعفر صادق.(1995).مرض السكر.مؤسسة للنشر .لندن،المملكة المتحدة.

-Abdel- Hassan, I.A. ;Abdel-Barry, J.A.& Mohammeda, S.T.(2000).The hypoglycaemic and anti hyperglycaemic effect of citrullus colocynthesis fruit aqueous extract in normal and alloxan diabetic rabbits. J. of Ethnopharmacology . vol 71,Issues 1-2,p:325-330.

-Acharya, R.K.; Upadhyay,B.N.&Dwiwedi,L.D.(1996).Dietary management in prameha.Ancient Sci life.115(3):176.

-Al-wabel,N.A .;Mousa, H.M.;Omer, O.H.& Abdel-Salam,A.M. (2008). Biological evaluation of aqueous herbal extracts and stirred yoghurt filtrate mixture against alloxan –induced oxidative stress and diabetes in rats .International Journal of pharmacology .ISSN 1811-7775.

-Bennette,J.C.&Plum,F.(1996).Text book of medicine 20th ed., W.B. Saunders company LTd.USA,p:1258-1277.

-Bruce,A.K.(1995).“ Lipoprotiens and apolipoprotien” .Post graduate medicine ,2:6-10.

-Burkill,H.M.(1985).The useful plants of west topical Africa .vol.1,Families A-D Royal Botanic Garden.Kew ,Uk.

-Chakravarty,H.L.(1988).Cucurbitaceae of chana (Bull.1.F.A.N.,Dakar).

-Delplanque,B.;Leroy,B.&Mendy,F.(2002).Equilibre entre acids gras insatures :Contribution a1 etude de la prevention des maladies cardiovascularies .Oleagineux ,Corps Gras, Lipids ,9:237-243.

-Duke,J.A.(1978).The quest for tolerant germplasm.In:ASA special symposium ,Croptolerance suboptiomal and conditions .Int.Soc.Agron.Madison,WI.p:1-61.

-Friendewald,W.T.;Levy,R.I.&Fredrickson,D.S.(1972).Estimation of low density lipoprotein cholesterol in plasma without use of the preparative ultra centrifuge .Clin.Chem.18(6):499-502.

-Gary,M.&Gary,C.(2008).Scientific alternative approach in diabetes :An overview.Pharmacognosy Reviews.vol 2,Issue u,p:284-301.

-Gaylor,A.S.&Gondren,M.E.(2004).Type 2 diabetes mellitus in pediatric population.Pharmacotherapy,24(7):871-878.

-Gravena,C.;Mathias,P.C.&Ashocroft,S.J.(2002).Acute effects of fatty acids on insulin secretion from rat and human islets of langerhans.J.Endocrinol.,173:73-80.

-Hacvery,M.D.&Join,S.F.(1998).Colocynthis :King s American Dispensatory.Kohler.S Medicinal p Fanzen,vol.1,Bentley and Trimen,Med.Plants,114.

-Harborne,J.B.(1984).Text book of phytochemical methods .A Guide to Modren Techniques of plant Analysis.2nd ed., London, New York, Chapman and Hall.p:196-197.

-James,A.&Duke,M.(1983).Citrullus colocynthis :Hand book of energy corps, Center for new corps and plants products .Univ. purdue.

-Joy,S.S.(2000).Type 2 diabetes :Insulin secretion VS insulin action .J. International diabetes moniter.,12:13.

-Khan,N.M.&Hershey,C.O.(2001).Update on screening for type 2 diabetes They, Why, Who, How and What of testing and diagnosing .Postgraduate Medicine,109(2).

-King,M.W.(2004). "Medical Biochemistry".Academic.Excelience,p:171-175.

-Leif,G.(2000).Genetic and metabolic heterogeneity of diabetes. J .Inter ., 12:14.

-Myers,B.(2002).Disease mangagement programes are strongly recommended to improve diabetes care.Am.J.Prev.Med.,22(4):15-38.

-Palevitch,D.&Yaniv,Z.(1991).Medicinal plants of the Holand .(in Hebrew) Tamus Modan Press,Tel Aviv.p:56-58.

-Schefler,W.C.(1980).Statistics for biological science .2nd ed.,Addison,Wesley,Pub.Co.,London,Amesterdam.p:121.

-Sebbagh,N.;Sari,D.C.;Taleb,S.A.;Benyoucef,M.;Lahouel,M.;Ktorza,A.& Magnan,C.(2007).Effects of dietary colocynthis and sunflower fatty acids containing oils on lipid metabolism and on anti oxidant parameters in streptozotocin-induced diabetic rats. Research Journal of Applied Sciences.2(7):832-838.

-Sicree,R.;Shaw,J.&Zimmet,P.(2006).Prevalence and projections. In: D. Ganed. Diabetes Atlas, World Diabetes Foundation.3rd ed.Brussels,Belgium: International diabetes federation,16-104.

-Sridhar,M.G.;VinaYagamoorthi,R.;Arulsuyambunathan,V.;Bobby,Z. & Selvaraj, N.(2008).Bitter gourd(momordica charantia) improves in insulin sensitivity by increasing skeletal muscle insulin –stimulated IRS-1 tyrosine phosphrylation in high fat fed rats .Jawaharlal institute of postgraduate medical education and research(JIPMER).Pondicherry-605-6,India.Publishedin Br.J.Nutr.99(4):806-12.

-Srivastava,Y.Venkata Krishna ,H.; Verma, Y.; Venkaiak, K. & Reval, B. H. (1993).PTR.phytother.Res.7(4):285-289.

-Stryer,L.(1996)." Biochemistry".4th ed., W.H. Freeman and Co. New York.

-Swanston-Flatt,S.K.;Day,C.;Bailey,C.J.&Flatt,P.R.(1990).Traditional plant treatments for diabetes.Studies in normal and streptozotocin diabetic mice.Diabetologia,33(8):462-464.

-Tietz,N.V.(1999)." Text book of clinical chemistry " .W.B. Saunders company,Philadelphia,p:490-491,1000-1025.

-Warnick,G.R.;Chenny,M.C.&Albers,J.J.(1979). "Comparsion of current method of high density lipoproteins cholesterol quantition".Clin.Chem.25(4):596-604.

-Zamani,M. ;Rahimi,A.O.;Mahdavi,R.;Nikbakhsh,M.; Jabbari, M.V. ; Rezazadeh,H.;Delazar,A.;Nahar,L.&Sarker,S.D.(2007).Assessment of anti hyperlipidemic effect of citrullus colocynthis.Brazilian Journal of Pharmacognosy.17(4):492-496.