

## اثر مصرف خوراکی برگ چغندر بر پاسخ گویایی انقباضی آنورت مجزای موش دیابتی

دکتر قربانعلی رحیمیان\* دکتر مهرداد روغنی\*\* دکتر توراندخت بلوچ نژاد مجرد\*\*\*

### The effect of oral administration of chard on contractile reactivity of isolated aorta in diabetic rats

Gh Rahimian M Roghani\* T Baluchnejad Mojarad

#### \*Abstract

**Background:** Chard (*Beta vulgaris* L. var. *Cicla*) administration could improve the activity of antioxidant systems such as glutathione and has a hypoglycemic and hypolipidemic property.

**Objective:** To evaluate the effect of oral administration of chard on the contractile reactivity of isolated aorta in diabetic rats.

**Methods:** This experimental study was conducted at the School of Medicine, Shahed University in 2003. Male Wistar rats were divided into control, chard-treated control, diabetic, and chard-treated diabetic groups. For induction of diabetes, streptozotcin (STZ) was intraperitoneally administered (60 mg/Kg). Chard-treated groups received chard mixed with standard pelleted food at a weight ratio of 1/15. After one month, contractile reactivity of aortic rings to KCl and noradrenaline was determined using isolated tissue setup.

**Findings:** Serum glucose level showed a significant increase (409/4 and 401/3 mg/dl) in diabetic group at 2<sup>nd</sup> and 4<sup>th</sup> weeks ( $P < 0.001$ ), while this increase was less obvious in chard-treated diabetic group (274/5 and 161/2 mg/dl) ( $P < 0.01$  and  $P < 0.001$  for 2<sup>nd</sup> and 4<sup>th</sup> weeks, respectively). In addition, the latter group showed a lower contraction to KCl ( $P < 0.05$ ) and noradrenaline ( $P < 0.01$ ) as compared to diabetic group (0/76 and 1.41 g/mm<sup>2</sup> of the aortic ring). Meanwhile, there was no significant difference between control and chard-treated control groups regarding contractile reactivity.

**Conclusion:** Oral administration of chard for one month could attenuate the contractile responsiveness of the vascular system and may prevent the development of hypertension in diabetic rats.

**Keywords:** Diabetes Mellitus, Cardiovascular Diseases, Chard, Aorta

#### \* چکیده

**زمینه:** تجویز برگ چغندر موجب بهبود فعالیت سیستم‌های آنتی‌اکسیدانت نظیر گلوکاتایون می‌شود و از طرف دیگر خاصیت هیپوگلیسمیک و هیپولیپیدمیک آن پیش از این اثبات شده است.

**هدف:** مطالعه به منظور تعیین اثر مصرف خوراکی برگ چغندر بر انقباض آنورت مجزای موش صحرایی دیابتی انجام شد.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه تجربی که در سال ۱۳۸۲ در دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد انجام شد، موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار به چهار گروه شاهد، شاهد تحت تیمار با برگ چغندر، دیابتی و دیابتی تحت درمان با برگ چغندر تقسیم شدند. برای دیابتی کردن موش‌ها از ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم استرپتوزوتوسین به طور داخل صفاقی استفاده شد. دو گروه تحت تیمار با برگ چغندر نیز پودر برگ چغندر مخلوط شده با غذای استاندارد موش را با یک نسبت وزنی ۱/۱۵ دریافت نمودند. پس از گذشت یک ماه پاسخ انقباضی حلقه‌های آنورت سینه‌ای به کلرورتاسیم و نورآدرنالین با استفاده از بساط بافت ایزوله بررسی شد.

**یافته‌ها:** در گروه دیابتی میزان گلوکز سرم در هفته‌های دوم و چهارم در مقایسه با هفته قبل از آزمایش به طور معنی‌داری به ۴۰۹/۴ و ۴۰۱/۳ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر افزایش یافت ( $p < 0.001$ ) و میزان گلوکز سرم به ترتیب در هفته‌های دوم و چهارم در گروه دیابتی تحت درمان در مقایسه با گروه دیابتی به طور معنی‌داری کمتر و به ترتیب در حد ۲۷۴/۵ و ۱۶۱/۲ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بود ( $p < 0.01$  و  $p < 0.001$ ). در گروه دیابتی تحت درمان، پاسخ انقباضی به کلرورتاسیم ( $p < 0.05$ ) و نورآدرنالین ( $p < 0.01$ ) به طور معنی‌داری کمتر از گروه دیابتی درمان نشده (به ترتیب در حد ۰/۷۶ و ۱/۴۱ گرم به ازای واحد سطح حلقه آنورتی) بود. هیچ‌گونه تغییر معنی‌دار در پاسخ انقباضی به کلرورتاسیم و نورآدرنالین در گروه شاهد تحت تیمار در مقایسه با گروه شاهد مشاهده نشد.

**نتیجه‌گیری:** مصرف خوراکی برگ چغندر به مدت یک ماه در کاهش پاسخ انقباضی سیستم عروقی و احتمالاً در جلوگیری از بروز پرفشاری خون در موش‌های صحرایی دیابتی مؤثر است.

**کلیدواژه‌ها:** دیابت شیرین، بیماری‌های قلب و عروق، چغندر، آنورت

\*\* دانشیار گروه فیزیولوژی دانشگاه شاهد و مرکز تحقیقات گیاهان دارویی

\* استادیار گروه داخلی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد

\*\*\* دانشیار گروه فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی ایران

آدرس مکاتبه: تهران، بلوار کشاورز، خیابان شهید عبدالله زاده (دهکده)، دانشکده پزشکی شاهد، تلفن ۸۸۹۶۴۷۹۲

✉ Email: mehjour@yahoo.com

## \* مقدمه :

برگ چغندر بر پاسخ گویی انقباضی آئورت مجزا در مدل تجربی دیابت قندی در موش صحرایی نر انجام شد.

## \* مواد و روش ها :

این مطالعه تجربی در سال ۱۳۸۲ در دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد بر روی ۳۶ موش صحرایی نر سفید نژاد ویستار (انستیتو پاستور، تهران) در محدوده وزنی  $215 \pm 25$  گرم انجام شد. تمام حیوان ها در دمای  $21 \pm 2$  درجه سانتی گراد در گروه های ۳ تا ۴ تایی در قفس قرار داده شدند. حیوان ها آزادانه به آب لوله کشی و غذای مخصوص موش یا غذای مخلوط شده با پودر برگ چغندر به مدت یک ماه دسترسی داشتند. به منظور حصول حالت سازش با محیط، تمام آزمایش ها پس از گذشت حداقل دو هفته پس از استقرار حیوان ها انجام شد.

روش تهیه غذای حاوی برگ چغندر به این صورت بود که پس از خریداری و تأیید سیستماتیک آن در اوایل مرداد ماه، برگ های سالم، سبز و تازه جدا و شسته و در درجه حرارت اتاق در سایه خشک شد. پس از آسیاب نمودن، پودر به دست آمده با نسبت ۱/۱۵ با غذای پودر شده و استاندارد موش در حضور آب مقطر مخلوط و دوباره غذای مصرفی با استفاده از دستگاه پلت ساز تولید شد.<sup>(۹)</sup>

در این بررسی از آن دسته موش های صحرایی نر استفاده شد که در شرایط طبیعی بدون برقراری حالت روزه داری میزان گلوکز سرم آنها کم تر از ۲۵۰ میلی گرم بر دسی لیتر بود. موش ها به طور تصادفی به چهار گروه شاهد، گروه شاهد دریافت کننده برگ چغندر، گروه دیابتی و گروه دیابتی دریافت کننده برگ چغندر تقسیم شدند. برای دیابتی نمودن موش ها از ۶۰ میلی گرم بر کیلوگرم استرپتوزوتوسین (STZ) حل شده در محلول سالین فیزیولوژیک سرد به صورت تک دوز و داخل صفاقی استفاده شد. حجم محلول تزریقی به هر حیوان ۰/۵ میلی لیتر بود. گلوکز سرم توسط روش آنزیمی گلوکز اکسیداز (زیست شیمی) قبل از انجام کار و در هفته های دوم و چهارم اندازه گیری شد. روش کار به این

دیابت قندی یکی از شایع ترین بیماری های سیستم غدد درون ریز بدن محسوب می شود که بر اساس پیش بینی به عمل آمده، شیوع آن در جامعه انسانی در آینده افزایش خواهد یافت.<sup>(۱)</sup> کمبود یا کاهش نسبی میزان انسولین در این بیماری، با عوارض متابولیکی حاد و مزمن و عوارض نامطلوب دیگری نظیر گرفتاری عروقی، عصبی و شبکیه، ضایعه های پوستی و اختلال های سیستم قلب و گردش خون در درازمدت همراه است.<sup>(۲)</sup> عوامل مختلف از جمله افزایش تشکیل رادیکال های آزاد اکسیژن به علت افزایش سطح گلوکز خون و تشدید پراکسیداسیون چربی موجب افزایش بروز آترواسکلروز و بیماری های قلبی-عروقی در مبتلایان دیابت قندی می شود. هدف اصلی روش های درمانی دیابت قندی برقراری میزان طبیعی قند خون و جلوگیری یا به تعویق انداختن ظهور عوارض آن است. با توجه به افزایش دانش بشری در مورد هتروژنیته این بیماری، نیاز به یافتن ترکیب های مؤثر با حداقل عوارض جانبی در درمان دیابت و اختلال های ناشی از آن به شدت احساس می شود.<sup>(۳)</sup> اگر چه گیاهان دارویی و مشتقات آنها از دیرباز در درمان دیابت قندی و عوارض ناشی از آن مطرح بوده اند، ولی در مورد اثربخشی قطعی بسیاری از آنها تاکنون شواهد تحقیقاتی معتبری وجود ندارد.<sup>(۴)</sup> برگ چغندر یک گیاه با پراکندگی وسیع در دنیا محسوب می شود که اثر آن بر کاهش قند خون پیش از این در حیوان های دیابتی به اثبات رسیده است.<sup>(۵)</sup> به علاوه، نتایج تحقیقات قبلی نشان داده است که تجویز برگ چغندر موجب بهبود فعالیت سیستم های آنتی اکسیدانت مانند گلو تاتیون می شود و خاصیت کاهش قند و چربی خون دارد.<sup>(۶)</sup> از طرف دیگر تجویز آن برخی عوارض دیابت قندی نظیر تظاهرات پوستی را کاهش می دهد.<sup>(۷)</sup> همچنین وجود برخی مواد آنتی اکسیدانت نظیر اسیداکسالیک نیز در برگ چغندر مورد تأیید قرار گرفته است.<sup>(۸)</sup> این تحقیق با هدف تعیین اثر مصرف خوراکی

کشش، ۶۰ تا ۹۰ دقیقه به بافت اجازه داده می‌شد تا وضعیت ثابت پیدا کند. محلول کربس داخل حمام بافت هم هر ۳۰ دقیقه تعویض می‌شد. پس از حصول حالت تعادل، بافت به ترتیب در معرض غلظت‌های افزایش یابنده کلرورپتاسیم (۱۰ تا ۵۰ میلی‌مولار) و نورآدرنالین ( $10^{-9}$  تا  $10^{-4}$  مولار) قرار گرفت. پاسخ انقباضی در تمامی بررسی‌ها به صورت گرم به ازای واحد سطح آنورت (گرم بر میلی‌متر مربع) گزارش شد. از نظر آماری نیز تمام نتایج به صورت میانگین و انحراف معیار بیان شد. برای مقایسه نتایج هر متغیر در هر یک از گروه‌ها قبل و بعد از بررسی از student's paired t-test و برای مقایسه گروه‌ها با هم در هر یک از دوره‌های زمانی از آزمون One-way ANOVA و Tukey's Post-hoc استفاده و  $p < 0.05$  معنی‌داری در نظر گرفته شد.

#### \* یافته‌ها :

از نظر وزن، در هفته قبل از بررسی هیچ‌گونه تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها مشاهده نشد. کاهش وزن موش‌های دیابتی بیمار نشده در هفته دوم ( $p < 0.05$ ) و هفته چهارم ( $p < 0.01$ ) نسبت به گروه شاهد معنی‌دار بود. موش‌های دیابتی تحت تیمار با برگ چغندر نیز مشابه گروه دیابتی درمان نشده کاهش وزن را در هفته‌های دوم و چهارم در مقایسه با گروه شاهد نشان دادند؛ هر چند که این کاهش بسیار مختصر و از نظر آماری معنی‌دار نبود. از نظر میزان گلوکز سرم، در هفته قبل از بررسی هیچ‌گونه تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها یافت نشد. در موش‌های دیابتی درمان نشده، افزایش معنی‌دار سطح گلوکز در هفته‌های دوم و چهارم پس از بررسی در مقایسه با گروه شاهد مشاهده شد ( $p < 0.001$ ). تیمار با برگ چغندر هیچ‌گونه تغییر معنی‌داری در سطح گلوکز گروه شاهد در هفته‌های دوم و چهارم پس از بررسی در مقایسه با گروه شاهد ایجاد نکرد. درمان موش‌های دیابتی با برگ چغندر موجب کاهش معنی‌دار سطح گلوکز در هفته دوم ( $p < 0.01$ ) و چهارم ( $p < 0.001$ ) در مقایسه با

صورت بود که پس از تهیه محلول آنزیمی گلوکز اکسیداز، ۵۰ میکرولیتر سرم به ۵ میلی‌لیتر محلول آنزیمی اضافه شد و به مدت ۱۰ دقیقه در بن‌ماری ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس میزان جذب نوری با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر (اسپکترونیک ۲۰، آمریکا) در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت و غلظت گلوکز با توجه به میزان جذب نور در مورد نمونه استاندارد (غلظت گلوکز برابر با ۱۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) تعیین شد.

پس از یک ماه، موش‌ها با استفاده از اتر بی‌هوش و با باز کردن قفسه سینه، آنورت سینه‌ای آنها جدا شد و در داخل محلول کربس (که به طور مداوم به داخل آن گاز کربون با ترکیب ۹۵ درصد اکسیژن و ۵ درصد دی‌اکسیدکربن دمیده می‌شد) قرار گرفت. ترکیب شیمیایی محلول کربس در تمام آزمایش‌ها عبارت بود از: کلرور سدیم ۱۱۸/۵، کلرور پتاسیم ۴/۷۴، کلرور کلسیم ۵/۲، سولفات منیزیم ۱/۱۸، بیکربنات سدیم ۲۴/۹، فسفات دی‌هیدروژن پتاسیم ۱/۱۸ و گلوکز ۱۰ میلی‌مول.

آنورت در داخل محلول کربس سرد به دقت از بافت پیوندی اطراف پاک و به حلقه‌هایی به طول حدود ۴ میلی‌متر تقسیم می‌شد. برای حصول اطمینان از سلامت آندوتلیوم، پس از ایجاد انقباض با غلظت  $10^{-6}$  مولار نورآدرنالین، استیل‌کولین با غلظت  $10^{-5}$  مولار به حمام بافت اضافه می‌شد. مشاهده پاسخ شل‌شدگی بیش‌تر از ۳۰ درصد در حلقه‌های آنورت به عنوان ملاک سالم بودن اندوتلیوم در نظر گرفته شد. برای ثبت پاسخ‌گویی، حلقه‌های آنورتی با استفاده از سیم‌های پلاتینی L شکل که موازی هم قرار می‌گرفتند، از یک طرف به قلاب شیشه‌ای و از طرف دیگر به ترانس دیوسر ایزومتریک F-60 متصل می‌شدند. سیگنال در ابتدا به کوپلر و سپس به بورد آنالوگ به دیجیتال کامپیوتر (شرکت بهینه آرمان، تهران) منتقل می‌شد. در ضمن برای ثبت و تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار فیزیوگراف (نسخه ۱ همین شرکت) استفاده شد. در این بررسی کشش استراحتی (Resting tension) اعمال شده به حلقه‌های آنورتی ۲ گرم بود. پس از اعمال این

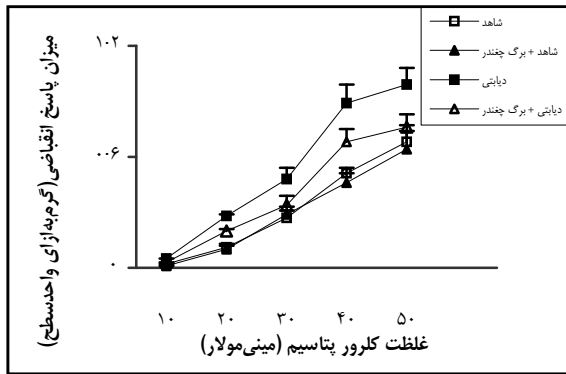
شد (جدول شماره ۱).

گروه دیابتی درمان نشده در همین دوره‌های زمانی

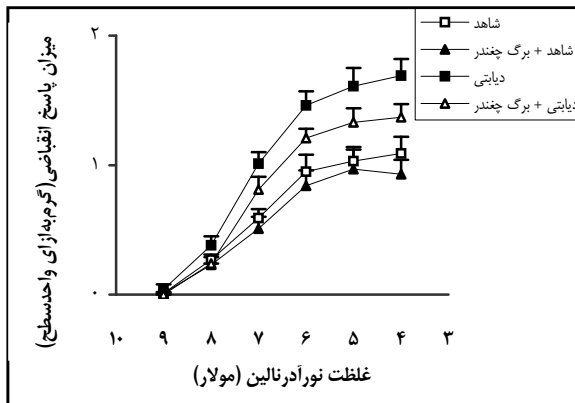
جدول ۱- اثر تجویز خوراکی برگ چغندر بر میزان وزن و گلوکز سرم در موش‌های صحرایی شاهد و دیابتی

میزان گلوکز سرم (میلی گرم بر دسی لیتر)			وزن بدن (گرم)			زمان بررسی گروه
هفته ۴	هفته ۲	قبل مطالعه	هفته ۴	هفته ۲	قبل مطالعه	
۹/۷ ± ۱۲۳/۴	۱۱/۰۸ ± ۱۲۶/۷	۱۳/۰۵ ± ۱۳۱/۵	۵/۹ ± ۲۶۷/۵	۷/۳ ± ۲۵۱/۵۲	۴/۲ ± ۲۳۸/۱	شاهد
۹/۱۹ ± ۱۲۳/۶	۱۱/۱ ± ۸۹/۹	۱۲/۸ ± ۱۱۱/۲	۹/۵ ± ۲۹۰/۲	۱۰/۵ ± ۲۸۵/۳	۷/۷ ± ۲۴۸	شاهد + برگ چغندر
***۸/۴ ± ۴۰/۱/۳	***۸/۴ ± ۴۰/۹/۴	۶/۸ ± ۱۱۸/۹	** ۶/۷ ± ۱۹۰/۷	* ۷/۲ ± ۲۱۱/۳	۵/۴ ± ۲۴۱/۷	دیابتی
۱۹/۵ ± ۱۶۱/۲	*۱۹/۲ ± ۲۷۴/۵	۷/۶ ± ۱۲۶/۱۷	۱۷/۲ ± ۲۷۱/۸	۱۰/۸ ± ۲۸۷/۰۱	۱۳/۲ ± ۲۹۳/۱	دیابتی + برگ چغندر

p < ۰/۰۰۱ \*\*\* (در مقایسه با گروه شاهد)      p < ۰/۰۱ \*\*      p < ۰/۰۵ \*



نمودار ۲- پاسخ انقباضی به نورآدرنالین در گروه‌های مختلف پس از گذشت یک ماه در مقایسه با گروه دیابتی



### \* بحث و نتیجه‌گیری :

این مطالعه نشان داد که مصرف خوراکی برگ چغندر به مدت یک ماه توسط موش‌های دیابتی می‌تواند موجب

پاسخ انقباضی به کلرور پتاسیم و نورآدرنالین در مورد حلقه‌های آئورتی دارای اندوتلیوم پس از گذشت یک ماه برای کلیه گروه‌ها از حالت وابسته به غلظت تبعیت می‌نمود. حداکثر پاسخ انقباضی برای کلرور پتاسیم (غلظت ۵۰ میلی‌مولار) و نورآدرنالین (غلظت ۱۰<sup>-۴</sup> مولار) تفاوت معنی‌داری را بین دو گروه شاهد و شاهد تحت تیمار با برگ چغندر نشان نداد. از سوی دیگر دیابت موجب افزایش پاسخ‌گویی حلقه آئورتی به کلرورپتاسیم و نورآدرنالین شد. به علاوه درمان موش‌های دیابتی با برگ چغندر موجب کاهش معنی‌دار در حداکثر پاسخ انقباضی در مقایسه با گروه دیابتی درمان نشده شد. از نظر حداکثر پاسخ انقباضی در مورد نورآدرنالین تفاوت موجود بین دو گروه دیابتی تیمار شده و شاهد معنی‌دار نبود (نمودارهای شماره ۱ و ۲).

نمودار ۱- پاسخ انقباضی به کلرورپتاسیم در گروه‌های مختلف پس از گذشت یک ماه در مقایسه با گروه دیابتی

محافظت کننده به خوبی شناخته نشده است، ولی نتایج تحقیقات قبلی نشان داده است که پلی ساکاریدها، فلاونوئیدها، گلیکوپروتئین و پلی پتیدها، استروئیدها، آلکالوئیدها، و پکتین موجود در گیاهان دارویی می توانند خاصیت کاهش قند و چربی خون برخی از گیاهان مؤثر در درمان دیابت از جمله برگ چغندر را به خوبی توجیه کنند. در این راستا ساپونین ها و فلاونوئیدها با خاصیت کاهش دهنده قند خون از برگ چغندر جداسازی شده است.<sup>(۱۴و۱۵)</sup> به علاوه این گیاه دارای مقادیر زیاد کاروتنوئیدها (آلفا و بتا-کاروتن، لوتئین)، ویتامین های C، E، A، B، فلاونوئیدها است که برخی از آنها به عنوان عوامل محافظت کننده و آنتی اکسیدان شناخته می شوند.<sup>(۱۶و۱۷)</sup>

به طور کلی مصرف خوراکی برگ چغندر به مدت یک ماه در کاهش دادن پاسخ انقباضی سیستم عروقی و احتمالاً در جلوگیری از بروز پرفشاری خون در موش های صحرایی دیابتی مؤثر است. البته انجام تحقیق های وسیع تر جهت مشخص نمودن مکانیسم اثر این گیاه و مواد مؤثره آن در حالت دیابتی پیشنهاد می شود.

#### \* سپاسگزاری :

از همکاری خانم فریبا انصاری در انجام آزمایش ها قدردانی می شود.

#### \* مراجع :

1. American Diabetes Association. Clinical practice recommendation, screening for diabetes. *Diabetes Care* 1997; 20: 22-4
2. Gleckman R, Mory J. Diabetes-related foot infection. *Journal of Contemporary Internal Medicine* 1994; 6: 57-62
3. Rang HP, Dale MM. The endocrine system pharmacology. 2<sup>nd</sup> ed, UK, Longman Group Ltd, 2001, 504-8

کاهش معنی دار گلوکز سرم شود و حداکثر پاسخ انقباضی به دنبال اضافه نمودن کلرور پتاسیم و نورآدرنالین در نمونه های واجد آندوتلیوم را در حالت دیابت کاهش دهد. در این مطالعه پاسخ انقباضی حلقه های آئورتی دارای آندوتلیوم به نورآدرنالین و کلرورپتاسیم در موش های صحرایی نر دیابتی به طور معنی داری نسبت به حیوان های سالم افزایش یافت. سایر مطالعه ها نیز بیان گر افزایش پاسخ انقباضی آئورت موش های صحرایی دیابتی به نورآدرنالین و کلرورپتاسیم در مقایسه با موش های صحرایی سالم بوده است.<sup>(۱۰)</sup> با توجه به این که دیابت قندی ابتلا به بیماری های قلبی- عروقی از قبیل آتروسکلروز، پرفشاری خون و در نتیجه میزان مرگ و میر را افزایش می دهد، مکانیسم های متفاوتی در ایجاد اختلال در ساختمان و عملکرد عروق خونی در دیابت دخالت دارند که منجر به ایجاد این گونه عوارض می شوند.<sup>(۳)</sup> در دیابت قندی، ظرفیت آندوتلیوم عروق برای تولید گشادکننده های عروقی مانند پروستاگلین و نیتریک اکسید کم شده و تنگ کننده های عروقی مانند آندوتلین به مقدار زیادی تولید می شوند.<sup>(۳)</sup> هر چند که در مورد نقش افزایش قند خون مزمن در بروز عوارض ماکروواسکولار در حالت دیابت قندی شواهد قطعی وجود ندارد، ولی برخی از نتایج به دست آمده، هیپرگلیسمی و تشدید استرس اکسیداتیو ناشی از آن را دلیل بروز این عوارض می دانند.<sup>(۱۰)</sup> مطالعه های اخیر نشان داده است که در دیابت قندی اختلال متابولیسم گلوکز و گلیکوزیلاسیون پروتئین ها سبب تولید رادیکال های آزاد و اکسیژنی می شوند که افزایش رادیکال های آزاد و کاهش دفاع آنتی اکسیدانی نقش مهمی در ایجاد آتروسکلروز و افزایش نفوذپذیری و اسکروز عروق خونی دارند. به علاوه در بیماران دیابتی تولید رادیکال های آزاد از طریق اتواکسیداسیون گلوکز، فعال شدن مسیر سیکلواکسیژناز و تولید اکسیژن فعال به وسیله کربوهیدرات و چربی ها افزایش می یابد.<sup>(۱۱و۱۲)</sup> هر چند که ماهیت شیمیایی مواد فعال موجود در برگ چغندر با خاصیت ضد دیابتی و

morphological and biochemical study. J Ethnopharmacol 2000 Nov; 73(1-2): 251-9

6. Sener G, Sacan O, Yanardag R, Ayanoglu-Dulger G. Effects of chard (*Beta vulgaris* L. var. *cicla*) extract on oxidative injury in the aorta and heart of

streptozotocin-diabetic rats. J Med Food 2002 Spring; 5(1): 37-42

7. Tunali T, Yarat A, Yanardag R, Ozcelik F, Ozsoy O, Ergenekon G, Emekli N. The effect of chard (*Beta vulgaris* L. var. *cicla*) on the skin of streptozotocin induced diabetic rats. Pharmazie 1998 Sep; 53(9): 638-40

8. Kayashima T, Katayama T. Oxalic acid is available as a natural antioxidant in some systems. Biochem Biophys Acta 2002 Oct 10; 1573(1): 1-3

9. Swanston-Flatt SK, Day C, Bailey CJ, Flatt PR. Evaluation of traditional plant treatments for diabetes: studies in streptozotocin diabetic mice. Acta Diabetol Lat 1989; 26(1): 51-5

10. Deedwania PC. Diabetes and vascular disease: common links in the emerging epidemic of coronary artery disease. Am J Cardiol 2003; 91: 68-71

11. Yildirim O, Buyukbingol Z. Effect of cobalt on the oxidative status in heart and aorta of streptozotocin-induced diabetic rats. Cell Biochem Funct 2003 Mar; 21(1): 27-33

4. Kuhn MA, Winston D. Herbal therapy and supplements: a scientific and traditional approach London. Lippincott, 2000, 85-8

5. Bolkent S, Yanardag R, Tabakoglu-Oguz A, Ozsoy-Sacan O. Effects of chard (*Beta vulgaris* L var. *Cicla*) extract on pancreatic B cells in streptozotocin-diabetic rats: a 12. Mori S, Takemoto M, Yokote K, Asami S, Saito Y. Hyperglycemia-induced alteration of vascular smooth muscle phenotype. J Diabet Complications 2002 Jan-Feb; 16(1): 65-8

13. Grover JK, Yadav S, Vats V. Medicinal plants of India with anti-diabetic potential. J Ethnopharmacol 2002; 81: 81-100

14. Masayuki Y, Shoichi H. Extraction of blood glucose lowering saponins from *Beta vulgaris*. Jpn Kokaia Tokkyo Koho JP 1997; 220: 177

15. Hikino H, Kobayashi M, Suzuki Y, Konno C. Mechanisms of hypoglycemic activity of aconitan A, a glycan from *aconitium carmichaeli* roots. J Ethnopharmacol 1989; 25: 295-304

16. Dijoux MG, Lavaud C, Massiot G, Lemén-Olivier L. Flavonoids from *Beta vulgaris* varieties. Fitoterapia 1995; LXVI: 195

17. Shimizu M, Ito T, Terashima S, Mayashi T, Arisawa M, Morita N, Kurokawa S, Ito K, Hasimoto Y. Inhibition of lens aldose reductase by flavonoids. Phytochemistry 1984; 23: 1885-8