NCMBJ | VOLUME 16 | ISSUE 62 | MAY 2026 |

ORIGINAL ARTICLE |

Effects of walnut green skin flavonoids and differentiated mesenchymal stem cells on liver enzyme activity in adult diabetic male rats|

Mana Devsalar[1], Esmail Fattahi[1*], Sima Mashayekh[1]

1- Department of Biology, Islamic Azad University, Ayatollah Amoly Branch, Amoly, Iran

***Corresponding Author:** Dr Esmail Fattahi, Department of Biology, Islamic Azad University, Ayatollah Amoly Branch, Amoly, Iran; **Email:** esmail_fattahy@yahoo.com

| Received | 27/05/2024 | Revised | 02/09/2025 | Accepted | 08/09/2025

| Abstract |

Background and Aim: The liver, as one of the most vital organs of the body, is always exposed to damage caused by the use of various drugs. Considering the tendency of people to use traditional medicines and the application of modern cell therapy methods, in this study, the therapeutic effects of flavonoids and stem cells differentiated into pancreatic beta cells on liver enzymes were investigated.

Materials and Methods: 30 male Wistar rats were selected and divided into 6 groups. The first control group, the second diabetic group, the third and fourth diabetic experimental groups received 50 and 100 mg/kg of green walnut shell flavonoids for three weeks, respectively, and then the fifth and sixth diabetic experimental groups received mesenchymal stem cells differentiated into beta cells with 50 and 100 mg/kg of flavonoids, respectively. After anesthesia of the animals, their blood samples were used for biochemical tests.

Results: Treatment with flavonoids and differentiated mesenchymal stem cells significantly reduced the activity of alkaline phosphatase, aspartate aminotransferase, and alanine aminotransferase enzymes; such that this reduction in the level of alanine aminotransferase in experimental group 4 and the level of alkaline phosphatase in experimental groups 1 and 3 was greater than that in the control group ($P<0.05$).

Conclusion: The results showed that flavonoids and differentiated mesenchymal stem cells can protect the liver from damage caused by the effects of diabetes and have beneficial effects on the reduction of its enzymes.

|Keywords |

Diabetes|
Liver Enzymes|
Flavonoids|
Stem Cells|

| Iau Science |

NCMBJ
New Cellular and Molecular Biotechnology Journal
ISSN : 2228-6926

مقالهٔ اصیل پژوهشی |

اثرهای فلاونوئید پوستِ سبزِ گردو و سلول‌های بنیادیِ مزانشیمیِ تمایزیافته بر فعالیتِ آنزیم‌های کبدی در موشِ صحراییِ نرِ بالغ دیابتی|

مانا دیوسالار[۱]، اسماعیل فتاحی[۱*]، سیما مشایخ[۱]

۱- گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آیت‌الله آملی، آمل، ایران

*نویسندهٔ مسئول: دکتر اسماعیل فتاحی، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آیت‌الله آملی، آمل، ایران؛ پست الکترونیکی: esmail_fattahy@yahoo.com

| تاریخ دریافت | ۱۴۰۳/۰۳/۰۷ | تاریخ ویرایش | ۱۴۰۴/۰۶/۱۱ | تاریخ پذیرش | ۱۴۰۴/۰۶/۱۷

| چکیـــده

زمینه و هدف: کبد به‌عنوان یکی از حیاتی‌ترین اندام‌های بدن، همواره در معرضِ آسیب‌های ناشی از مصرفِ داروهای مختلف قرار دارد. باتوجه به گرایشِ افراد به استفاده از داروهای سنّتی و کاربرد روش‌های نوینِ سلول‌درمانی، در این پژوهش اثرهای درمانیِ فلاونوئید و سلول‌های بنیادیِ تمایزیافته به سلول‌های بتای پانکراس بر آنزیم‌های کبدی بررسی شد.

مواد و روش‌ها: ۳۰ موش صحراییِ نرِ نژادِ ویستار انتخاب و به ۶ گروه تقسیم شدند. گروهِ اول کنترل، گروهِ دوم دیابتی، گروه‌های تجربیِ سوم و چهارمِ دیابتی به‌ترتیب ۵۰ و ۱۰۰میلی‌گرم بر کیلوگرم فلاونوئیدِ پوستِ سبزِ گردو را به‌مدتِ سه هفته دریافت کردند و سپس توسطِ گروه‌های تجربیِ پنجم و ششمِ دیابتی به‌ترتیب سلول‌های بنیادیِ مزانشیمیِ تمایزیافته به سلول‌های بتا با فلاونوئید ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دریافت شد. پس از بیهوشیِ حیوانات، نمونهٔ خونِ آن‌ها به‌منظورِ آزمایش‌های بیوشیمیایی مورداستفاده قرار گرفت.

نتایج: درمان با فلاونوئید و سلول‌های بنیادیِ مزانشیمیِ تمایزیافته به‌طورِ معناداری فعالیتِ آنزیم‌های آلکالین فسفاتاز، آسپارتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز را کاهش داد؛ به‌طوری که این کاهش در سطحِ آنزیمِ آلانین آمینوترانسفراز گروهِ تجربیِ ۴ و سطحِ آنزیمِ آلکالین فسفاتاز گروه‌های تجربیِ ۱ و ۳ از گروهِ کنترل بیشتر بوده است ($p < ۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: نتایج نشان دادند که فلاونوئید و سلول‌های بنیادیِ مزانشیمیِ تمایزیافته می‌تواند کبد را از آسیب‌های ناشی از اثرهای بیماریِ دیابت حفظ کرده و اثرهای مفیدی بر کاهشِ آنزیم‌های آن داشته باشد.

|واژگان کلیدی|

دیابت|
آنزیم‌های کبدی|
فلاونوئید|
سلول‌های بنیادی|

|علوم Iau |

۱ | مقدمه

کبد، یکی از مهم‌ترین اندام‌های درونیِ بدن می‌باشد که دقیقاً زیرِ قفسهٔ سینه و سمتِ راستِ شکم قرار دارد. کبد وظیفهٔ سم‌زدایی از داروها، دفعِ موادِ زایدِ ناشی از تخریب و نوسازیِ گلبول‌های قرمزِ خون به‌صورتِ صفرا، تولیدِ عواملِ انعقادیِ خون، ذخیرهٔ قند به‌صورتِ گلیکوژن، تنظیمِ سوخت‌وسازِ قند و چربی، دفاع در مقابلِ میکروب‌ها و سمومِ جذب‌شده از راهِ موادغذایی را به‌عهده دارد (۱). مهم‌ترین و پُرکاربردترین آنزیم‌هایِ تشخیصیِ کبد، آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آلکالین فسفاتاز (ALP) و آسپارتات آمینوترانسفر (AST) هستند که افزایشِ سطحِ این آنزیم‌ها در خون نشانهٔ آسیبِ کبدی است و در واقع می‌تواند به‌عنوانِ معیاری اختصاصی برای تشخیصِ نکروزِ هپاتوسلولار درنظر گرفته شوند. دیابت یکی از مهم‌ترین بیماری‌های غدد اندوکرین محسوب می‌شود. هیپرگلیسمی ناشی از دیابت با ایجادِ استرس اکسیداتیو و افزایشِ سطحِ رادیکال‌های آزاد موجبِ پراُکسیداسیونِ لیپیدها و تخریبِ غشای سلولی می‌شود. همچنین دیابت با کاهشِ فعالیتِ آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی عملکردِ طبیعیِ سلول را مختل می‌نماید (۲). در واقع دیابت می‌تواند تأثیرهای قابل‌توجهی بر آنزیم‌های کبدی داشته باشد. افزایشِ آنزیم‌های کبدی معمولاً نشان‌دهندهٔ آسیب یا التهابِ کبد است؛ به‌خصوص در افرادِ مبتلا به دیابت که قندخونِ کنترل‌نشده دارند، آسیب به بافتِ کبد بسیار شایع است که می‌تواند منجر به افزایشِ آنزیم‌های کبدی شود (۳). بنابراین به‌علتِ عوارضِ بیماریِ دیابت، یافتنِ بهترین روش‌های درمانیِ مناسب بسیار موردتوجه قرار گرفته است ازاین‌رو استفاده از داروهای گیاهی به‌علتِ کاهشِ عوارض و هزینهٔ آن و همچنین نتایجِ به‌دست‌آمده از تزریقِ سلول‌های بنیادیِ تمایزیافته به بیماران، توانسته است توجه برخی محققان را به خود جلب کند.

گردو از خانوادهٔ *Juglandaccae* دارای ۶۰ گونه است که ۲۰ گونه از آن در جنسِ *Juglans* قرار می‌گیرند که از برگ‌های آن برایِ درمانِ دردهـای روماتیـسمی، از ریشهٔ آن برای درمانِ تب، دیابت، بیماری‌های پوستی و از گل‌هـای آن بـرایِ درمـانِ مالاریا، دیابت و روماتیسم استفاده می‌شود. پوستِ سبزِ گردو حاوی دو گـروهِ اسـیدهای فنولـی و فلاونوئیدی مـی‌باشـند (۴). این ترکیب‌ها شاملِ اسیدهای فنولی (مانند کلروژنیک اسید، کافئیک اسید، فرولیک اسید، سیناپیک اسید، گالیک اسید، الاژیک اسید، پروتوکاتچیک اسید، سیرینجیک اسید، وانیلیک اسید) و فلاونوئیدها (مانند کاتچین، اپی‌کاتچین، میریستین و ژاگلون) هستند. از عصارهٔ پوستهٔ گردو که حاویِ ژاگلون در بیماری‌های پوستی، دُمل، عفونتِ چشم‌ها در ترکیب‌های داروهای دیابتی، ورمِ معده، تصفیهٔ خون و کم‌خونی مورداستفاده قرار می‌گیرد (۵).

سلول‌های بنیادی، سلول‌های اولیه‌ای هستند که برخی از انواعِ آن‌ها به‌نامِ سلول‌های بنیادیِ پُرتوان توانایی ایجاد هر نوع سلولی در بدن را دارند. آن‌ها با تقسیم می‌توانند سلول‌های مشابهِ خود را ایجاد نمایند و تحتِ تحریکاتِ فیزیولوژیکی یا آزمایشگاهی به سلول‌هایی با عملکردِ اختصاصی مانند سلول‌های عضلانیِ قلب، سلول‌های پوست، سلول‌های بتای پانکراس و سلول‌های کبدی تبدیل شوند. سلول‌های بنیادیِ مزانشیمی مشتق از بافتِ چربی (AdMSCs) دارایِ چندین مزایا نسبت به سلول‌های بنیادیِ مزانشیمیِ دیگر هستند؛ این سلول‌ها علاوه‌بر اینکه جداسازیِ آسان‌تر و ایمن‌تر دارند، می‌توانند در مقادیرِ بیشتری در آزمایشگاه‌ها به‌دست آیند (۶). بنابراین با وجودِ اینکه پژوهش‌ها در زمینهٔ تأثیرِ مصرفِ داروهای گیاهی، سلول‌های بنیادیِ درحالِ گسترش است امّا هنوز نقشِ برخی از ترکیب‌های دارویِ گیاهی مانند فلاونوئیدهای موجود در پوستِ سبزِ گردو و همچنین استفاده از سلول‌های بنیادیِ مزانشیمیِ تمایزیافته به سلول‌های بتای پانکراس جهتِ مقایسهٔ دو روشِ دارودرمانیِ سنّتی و سلول‌درمانی ناشناخته است. هدف از پژوهشِ حاضر، بررسیِ تأثیرِ فلاونوئیدِ حاصل از پوستِ سبزِ گردو و سلول‌های بنیادیِ مزانشیمیِ تمایزیافته به سلول‌های بتا تحت‌تأثیرِ این فلاونوئیدها بر سطحِ سرمیِ آنزیم‌های AST، ALP و ALT است که به‌عنوانِ شاخصِ آسیبِ سلولی و یکی از عوارضِ بیماریِ دیابت مطرح می‌باشد.

۲| مواد و روش‌ها

۲-۱| گروه‌بندی کردن رت‌ها

تعدادِ ۳۰ سرموشِ صحراییِ نرِ بالغ با نژادِ ویستار با محدودهٔ وزنیِ ۲۰±۲۰۰ گرم (از مرکزِ نگهداریِ حیواناتِ آزمایشگاهیِ شهریار) خریداری شد و در شرایطِ آزمایشگاهی با درجهٔ حرارتِ ۲±۲۱ سانتی‌گراد و چرخهٔ نوریِ ۱۲ ساعتِ روشنایی و نیز رطوبتِ نسبیِ هوا بین ۳۰-۶۰ درصد در داخلِ قفس‌های مخصوص نگهداری گردید و آب‌وغذایِ کافی همواره در دسترسِ حیوان‌ها قرار داشت.

حیوان‌ها در ۶ گروه به‌صورتِ زیر تقسیم‌بندی شدند، به‌طوری که در هر گروه ۵ سرموش قرارگیرد:

گروهِ ۱ (سالم): حیوان‌های این گروه هیچ تیماری دریافت ننموده و فقط آب‌وغذای معمول را دریافت نمودند (C).

گروهِ ۲ (دیابتی): حیوان‌های این گروه با داروی استرپتوزوتوسین به‌میزانِ ۶۰ ml/kg وزنِ بدنِ دیابتی شدند (D).

گروهِ ۳ (تجربی ۱): موش‌های دیابتی، داروی فلاونوئیدی را با دوزِ ۵۰ml/kg وزنِ بدن دریافت کردند (T1).

گروهِ ۴ (تجربی ۲): موش‌های دیابتی، داروی فلاونوئیدی را با دوزِ ۱۰۰ ml/kgوزنِ بدن دریافت کردند (T2).

گروهِ ۵ (تجربی ۳): موش‌های دیابتی که سلول‌های بنیادیِ مزانشیمیِ تمایزیافته با فلاونوئید با دوز ۵۰ ml/kg دریافت کردند (T3).

گروهِ ۶ (تجربی ۴): موش‌های دیابتی‌شده که سلول‌های بنیادیِ مزانشیمیِ تمایزیافته با فلاونوئید با دوز ۱۰۰ ml/kg دریافت کردند (T4).

جهتِ دیابتی‌شدنِ حیوان‌ها از محلولِ استرپتوزوتوسین با دوزِ ۶۰ میلی‌لیتر بر کیلوگرمِ وزن به‌صورتِ تزریقِ IP به حیوان‌ها تیمار گردید. جهتِ اطمینان از دیابتی‌شدنِ حیوان‌ها، میزانِ قندخونِ آن‌ها اندازه‌گیری شد که افزایشِ قندخون بیش از ۲۰۰ میلی‌گرم بر دِسی‌لیتر نمایانگرِ دیابتی‌شدنِ حیوان‌ها بود (۷).

۲-۲| جمع‌آوریِ گیاه و تهیهٔ ترکیب‌های فلاونوئیدی

ابتدا میوهٔ گردو به‌صورتِ سالم جمع‌آوری (گردوی شهرستانِ ساوجبلاغ به‌عنوان یک محصولِ شناخته‌شده در ایران، دارای ویژگی‌های منحصربه‌فردی است. این گردوها به‌دلیلِ شرایطِ آب‌وهوایی و خاکِ مناسبِ منطقه، کیفیّتِ بالا و طعمِ دل‌پذیری دارند) و سپس پوستِ سبزِ آن خارج شد و در ادامه در دمای آزمایشگاه خشک کرده و با هاونِ چینی به‌صورت پودری در آورده شد. عصارهٔ حاصل با استفاده از بافرِ استخراجِ متانولِ خالص و در دمایِ ۶۰ تا ۷۰ درجهٔ سانتی‌گراد تهیه شد. سپس به‌منظورِ جداسازی مخلوط عصارهٔ متانول از یکدیگر از دستگاه روتاری او اپراتور (اوپراتور ساخت آلمان، کمپانی Wiggins) استفاده شد. با کمکِ آب‌مقطر با دمایِ ۸۰ درجهٔ سانتی‌گراد و بافرِ استخراجِ بوتانولِ خالص در دمای ۸۰ تا ۱۰۰ درجهٔ سانتی‌گراد فلاونوئید از مابقیِ ترکیب‌های موجود در عصاره جدا شد. برای جداسازیِ فلاونوئید از محلولِ کاتچین استفاده شد. با رسمِ منحنیِ استاندارد براساسِ میزانِ جذبِ محلولِ کاتچین غلظتِ عصاره به‌دست آمد که در این آزمایش از غلظتِ ۵۰ میکرولیتر و ۱۰۰ میکرولیتر غلظتِ عصارهٔ فلاونوئیدی استفاده گردید (۸).

۲-۳| جداسازی، تلخیص، تکثیر و اثباتِ سلول‌های بنیادیِ مزانشیمی مشتق از بافتِ چربی

جداسازی و کشتِ سلول‌های بافتِ چربی مشابه روشِ کو[1] و همکارانش با اندک تغییرهایی انجام شد. به‌طور خلاصه، بافتِ چربیِ زیرصفاقی رت‌ها جدا شدند و Phosphate (Shell Max) Buffer Saline (PBS) نگهداری شدند. بافت‌ها توسطِ اسکالپل ریز شدند و قطعه‌های حاصل به‌منظورِ هضم در کلاژنازِ I (Sigma، آمریکا) در ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد به‌مدتِ ۳۰ دقیقه قرار گرفتند. سپس آنزیم توسط Dulbecco´s Modified Eagle´s Medium (DEMEM) (Shell Max) به‌همراهِ ۱۰ درصد Fetal Bovine Serum (FBS) (Biowest) خنثی شد و مخلوطِ سلولی در ۳۰۰ rpm به‌مدتِ ۱۰ دقیقه سانترفوژ (SIGMA) شد. در نهایت رسوبِ سلولیِ به‌دست آمده در فلاسک‌های حاویِ محیط‌کشتِ DMEM ۱۰ درصد FBS و ۱ درصد پنی‌سیلینِ استرپتومایسین کشت داده شد و انکوباتورِ ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد (Memmert-Germany) و رطوبتِ ۹۰ درصد و ۵ درصد CO_2 قرار گرفتند. بعد از ۲۴ ساعت، اولین تعویضِ محیط به‌همراهِ شست‌وشو انجام شد و سپس تا دستیابی به تراکمِ ۷۰ درصدی هر دو روز یک‌بار تعویضِ محیط تکرار شد. پس از دستیابی به تراکمِ ۷۰ درصدی سلول‌ها به ظروفِ کشت پاساژ داده شدند. سلول‌های حاصل از بافت در پاساژِ دوم موردارزیابیِ فنوتایپی با روشِ فلوسایتومتری قرارگرفتند؛ حدودِ 1×10^5 سلول با تمایزِ مناسبی از آنتی‌بادیِ مونوکلونال کونژوگه با فلوئورسین ایزوتیوسیانات ضدمارکرمای CD90-Fitcl (pharming eu, clone:5E10) و CD34-PE (BD Pharmingeu,clonc:562) و نیز آنتی‌بادیِ مونوکلونالِ کونژرگه با فیکواریزین ضدمارکرمای CD105-PE (pharming eu , clone AD2) و CD45-FITCL (Pharming eu, clone:2D1) و یا آنتی‌بادیِ ایزوتایپِ کنترلِ مرتبط در دمایِ ۴ درجهٔ سانتی‌گراد در تاریکی به‌مدتِ ۳۰ تا ۴۵ دقیقه انکوبه شدند. سپس سلول‌ها با PBS شست‌وشو شدند و بررسی‌های

[1] Cho

ایمونوفنوتایپینگ با استفاده از دستگاه انجام و یافته‌ها با نرم‌افزارِ مربوطه آنالیز شدند (۹).

۲-۴| تمایزِ سلول‌های بنیادیِ مزانشیمیِ مشتق از بافتِ چربی به سلول‌های بتا

پس از جداسازی، کشت، تکثیر، شناسایی و اثباتِ وجودِ سلول‌های بنیادیِ مزانشیمی با تکنیکِ فلوسایتومتری، تمایزِ سلول‌های بنیادیِ مزانشیمیِ بافتِ چربی در محیطِ آزمایشگاهی صورت پذیرفت. سلول‌ها به تعدادِ ۱×۱۰^{۵} مورد در پیت‌ها کشت و بعد از ۲۴ ساعت سلول‌ها با عصارهٔ فلاونوئیدی با دوزهای ml/mg ۵۰ و ml/mg ۱۰۰ به‌مدتِ ۲۱ روز تیمار گردیدند.

۲-۵| بررسیِ مورفولوژیکیِ تمایزِ سلول‌های بنیادیِ مزانشیمیِ مشتق از بافتِ چربی

جهتِ بررسیِ تمایزِ سلول‌های بنیادیِ مزانشیمیِ بافتِ چربی به سلول‌های بتای پانکراس که در شرایطِ آزمایشگاهی تمایز یافته از روشِ بررسیِ موفولوژیکیِ سلول‌های حاصل از تمایز با استفاده از رنگ‌آمیزیِ اختصاصیِ دیتیزون (DTZ) استفاده شد. دیتیزون، عاملِ متصل‌شونده به فلزِ روی است؛ این فلز برای بسته‌بندیِ هورمونِ انسولین در سلول‌های بتا لازم است. پس از رنگ‌آمیزیِ DTZ، توده‌های سلولیِ قرمز رنگِ آجری، نشان‌دهندهٔ سلول‌هایی خواهند بود که تحت‌تأثیرِ عصارهٔ فلاونوئیدیِ پوستِ سبزِ گردو، تمایز یافته‌اند. سلول‌ها به‌مدتِ ۳۰ دقیقه در معرضِ رنگ قرار می‌گیرند، پس از شست‌وشو با HBSS سلول‌ها با میکروسکوپ مشاهده گردیدند (۱۰).

۲-۶| روشِ ایمنوفلورسانس

در این مطالعه از آنتی‌بادی‌های اولیهٔ گیرندهٔ بتای انسولین استفاده شد. آنتی‌بادیِ IgG کونژوگه با FITC: Flaore scencin iso thio cyanate:FITZ, sigma,cat:F9137 به‌عنوانِ آنتی‌بادیِ ثانویه درنظر گرفته شد. جهتِ انجامِ ایموفلورسانسِ سلول‌های تیمارشده با عصارهٔ فلونوئیدی به‌مدتِ ۳۰ دقیقه به محلولِ ۴ درصد پارافرمالدهید انکوبه شدند، پس از شست‌وشو با فسفات، با فرمالین سلول‌ها با محلولِ بلاک‌کننده حاویِ ۳۰ درصد تریتون X-100 و ۱۰ درصد سرمِ نرمالِ بز در PBS به‌مدتِ ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد تیمار شدند. سلول‌ها به‌مدتِ دو ساعت با آنتی‌بادی‌های اولیه و پس از شست‌وشو با PBS به‌مدتِ یک ساعت با آنتی‌بادیِ ثانویه در دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد انکوبه شدند. در نهایت نمونه توسط گلیسرول روی لام چسبانده و توسطِ میکروسکوپِ فلورسانس مشاهده شدند.

۲-۷| پیوندِ سلول‌ها به حیوان‌های دیابتی‌شده

پس از بیهوش‌کردنِ رت‌ها، با تزریقِ داخلِ صفاقی مخلوطِ کتامین ۱۰ درصد با دوزِ mg/kg ۵۰ و زایلازینِ ۲ درصد با دوزِ mg/kg ۱۰، به سیاهرگِ دمیِ موش‌ها با کمک سرنگِ انسولینِ ml PBS ۵ درصد تعدادِ ۱×۱۰^{۵} عدد سلول‌های تمایزیافتهٔ سلول‌های بتا به رت‌های دیابتیِ گروه‌های تحتِ درمان تزریق شد. علاوه‌بر تزریقِ سلول‌های تمایزیافتهٔ بتا به گروه‌های تحتِ درمان به‌مدتِ ۲۰ روز به دو گروهِ دیگر به‌ترتیب عصارهٔ فلاونوئیدی با دوزِ ml/kg ۵۰ و ml/kg ۱۰۰ نیز تزریق شد.

در پایانِ دوره تیمارِ حیوان‌ها به‌مدتِ ۱۲ ساعت از غذا محروم شدند و سپس موش‌ها با کلروفرم بیهوش و خون‌گیری از قلبِ آن‌ها انجام شد. خون به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد تا لخته شود. سپس لوله‌های حاویِ لختهٔ خون در دورِ RPM ۴۰۰ در دقیقه به‌مدتِ ۲۰ دقیقه سانتریوفوژ شدند. سرم را به‌وسیلهٔ سمپلر به لولهٔ تمیزِ جدید انتقال و لولهٔ حاویِ سرم در دمایِ ۸۰- درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شد. غلظتِ آنزیم‌های ALP، AST، ALT (کیتِ پارس آزمون، ایران) سرم به‌روشِ رنگ‌سنجیِ آنزیماتیک و برحسبِ واحدِ U/L اندازه‌گیری شدند.

۲-۸| آنالیز آماری

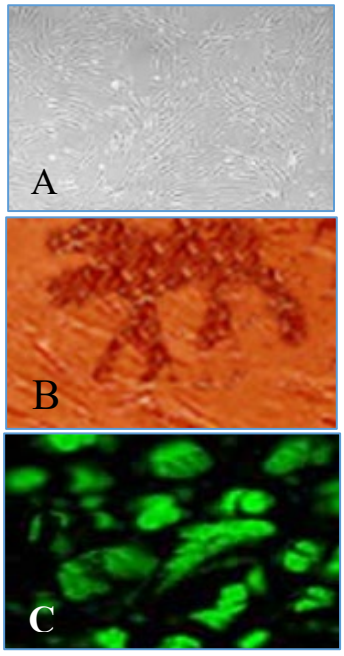
نتایجِ حاصل از بررسی‌های این مطالعه توسطِ نرم‌افزارِ SPSS ویرایشِ ۲۲ تحتِ ویندوز و توسطِ آزمون one way ANOVA و تستِ تعقیبیِ توکی کورد آنالیز و موردِ بررسی قرار گرفت. در نهایت نتایج به‌صورتِ میانگینِ Mean±S.D و در سطحِ معنی‌داری $p<۰/۵$ درنظر گرفته شد و نمودارهای آن توسطِ نرم‌افزار Excel رسم گردید.

۳| نتایج

سلول‌های بنیادیِ مزانشیمیِ حاصل از بافتِ چربیِ موش‌های نرِ بالغ نشان دادند که این سلول‌ها خاصیتِ چسبندگی و اتصالِ کامل به ظرفِ پلاستیکی و تشکیلِ کلونی را دارند.

همچنین این سلول‌ها در مرحلهٔ استخراج، سلول‌های کروی‌شکل و در پاساژِ اول به شکلِ دوکیِ کشیده در آمدند. بررسیِ مارکرهای سطحیِ سلول‌های بنیادیِ مزانشیمی نشان دادند که سلول‌های مارکرهای CD90 و CD105 به‌صورتِ مثبت بیان‌شده‌اند و از نظرِ بیانِ مارکرهای CD34 و CD45 نیز منفی می‌باشند.

در ادامه آزمایشِ سلول‌های دوکی‌شکلِ MSCS تحتِ عصارهٔ فلاونوئیدی تغییرِ مورفولوژی دادند و به‌حالتِ خوشه‌خوشه و رنگِ قرمزِ آجری درآمدند که در این پژوهش با کمکِ رنگ‌آمیزیِ DTZ وجودِ سلول‌های تولیدکنندهٔ انسولین به اثبات رسیدند. سلول‌های MSCS بعد از سه هفته تمایز با غلظتِ ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصارهٔ فلاونوئیدی از نظرِ بیانِ نشانگرِ گیرنده‌های بتای انسولین که ویژهٔ سلول‌های بتاست موردِ بررسی قرار گرفتند. سلول‌های انسولین‌سازِ حاصل از اثرِ ترکیب‌های فلاونوئیدی نشان دادند که قادر به بیانِ گیرندهٔ بتای انسولین هستند (شکل ۱).



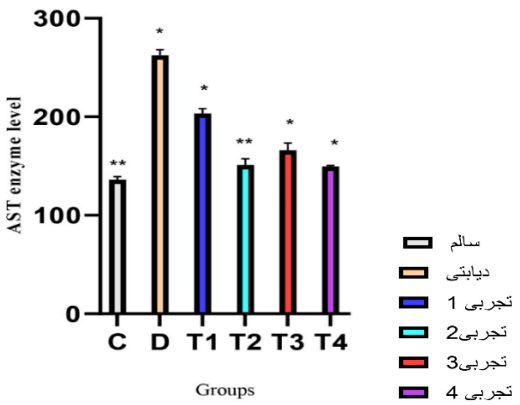
شکل ۱- A: پاساژِ دومِ سلول‌های بنیادیِ مزانشیمیِ مشتق از بافتِ چربی، B: رنگ‌آمیزیِ DTZ، C: تصویرِ میکروسکوپِ فلورسانس از تمایزِ سلول‌های بنیادیِ مزانشیمیِ مشتق از بافتِ چربی به سلول‌های تولیدکنندهٔ انسولین تحتِ عصارهٔ فلاونوئیدی. سلول‌های تیمارشده با عصاره که در آن‌ها آنتی‌بادیِ اولیهٔ گیرندهٔ بتای انسولین استفاده شده است (x400).

۳-۱| آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)

نتایجِ آنالیزِ واریانسِ داده‌های حاصل از بررسیِ مقایسه‌ایِ سطحِ آنزیمِ آسپارتات آمینوترانسفراز قبل و پس از استفاده از فلاونوئید و سلول‌های بنیادیِ مزانشیمیِ تمایزیافته در نمودارِ ۱ نشان داده شده که سطحِ سرمیِ آنزیمِ آسپارتات آمینوترانسفراز بینِ گروهِ کنترل، گروهِ دیابتی و گروه‌های تجربیِ ۱، ۲، ۳ و ۴ دارای اختلافِ آماریِ معنی‌دار بودند (جدول ۱) ($p < ۰/۰۵$).

جدول ۱- مقایسهٔ میانگین±انحراف معیارِ سطحِ آنزیمِ AST (IU/L) در شش گروهِ موردمطالعه

گروه‌ها	میانگین±انحراف معیار
کنترل	bcde
	۱۳۶/۳۲ ± ۳/۰۲
دیابتی	acdef
	۲۶۲/۲۹ ± ۵/۷۱
تجربی ۱	abdef
	۲۰۳/۴۰ ± ۴/۹۲
تجربی ۲	abef
	۱۵۱/۱۷ ± ۶/۱۷
تجربی ۳	bcde
	۱۶۶/۱۴ ± ۷/۱۵
تجربی ۴	abcde
	۱۴۹/۵۶ ± ۰/۹۸



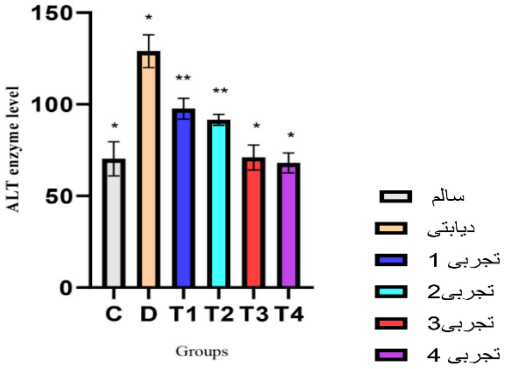
نمودار ۱- مقایسهٔ میانگین±انحراف معیارِ سطحِ آنزیمِ AST (IU/L) در شش گروهِ موردمطالعهٔ سالم، دیابتی و تجربیِ ۱، ۲، ۳ و ۴.

۳-۲| آنزیمِ آلانین ترانسفراز (ALT)

نتایجِ آنالیزِ واریانسِ داده‌های حاصل از بررسیِ مقایسه‌ایِ سطحِ آنزیمِ آلانین ترانسفراز قبل و پس از استفاده از فلاونوئید و سلول‌هایِ بنیادیِ مزانشیمیِ تمایزیافته در نمودارِ ۲ نشان داده شده که سطحِ سرمیِ آنزیمِ آلانین ترانسفراز بینِ گروهِ کنترل، گروهِ دیابتی و گروه‌های تجربیِ ۱، ۲، ۳ و ۴ دارایِ اختلافِ آماریِ معنی‌دار بودند (جدول ۲) ($p < ۰/۰۵$).

جدول ۲- مقایسهٔ میانگین ± انحراف معیارِ سطحِ آنزیمِ ALT (IU/L) در شش گروهِ موردمطالعه

گروه‌ها	میانگین ± انحراف معیار
کنترل	bcde
	۷۰/۲۸ ± ۹/۳۱
دیابتی	acdef
	۱۲۹ ± ۸/۹۰
تجربی ۱	abdef
	۹۷/۶۳ ± ۵/۷۲
تجربی ۲	abef
	۹۱/۵۴ ± ۳/۰۱
تجربی ۳	bcde
	۷۱/۰۲ ± ۶/۸۵
تجربی ۴	abcde
	۶۸ ± ۵/۴۵



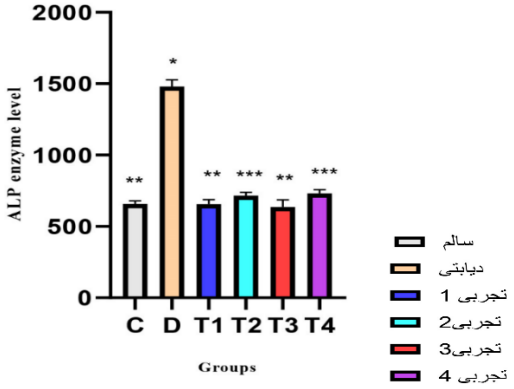
نمودار ۲- مقایسهٔ میانگین ± انحراف معیارِ سطحِ آنزیمِ ALT (IU/L) در شش گروهِ موردمطالعهٔ سالم، دیابتی و تجربیِ ۱، ۲، ۳ و ۴.

۳-۳| آنزیمِ آلانین ترانسفراز (ALT)

نتایجِ آنالیزِ واریانسِ داده‌های حاصل از بررسیِ مقایسه‌ایِ سطحِ آنزیمِ آلکالین فسفاتاز قبل و پس از استفاده از فلاونوئید و سلول‌های بنیادیِ مزانشیمیِ تمایزیافته در نمودارِ ۳ نشان داده شده که سطحِ سرمیِ آنزیمِ آلکالین فسفاتاز بینِ گروهِ کنترل، گروهِ دیابتی و گروه‌های تجربیِ ۱، ۲، ۳ و ۴ دارایِ اختلافِ آماریِ معنی‌دار بودند (جدول ۳) ($p <۰/۰۵$).

جدول ۳- مقایسهٔ میانگین ± انحراف معیارِ سطحِ آنزیمِ ALP (IU/L) در شش گروهِ موردمطالعه

گروه‌ها	میانگین ± انحراف معیار
کنترل	bcde
	۶۵۸/۲۸ ± ۲۱/۲۸
دیابتی	abcdef
	۱۴۸۱/۰۳ ± ۴۶/۵۰
تجربی ۱	abcdef
	۶۵۶/۱۴ ± ۳۱/۴۱
تجربی ۲	abce
	۷۱۵/۲۵ ± ۲۴/۱۹
تجربی ۳	abcde
	۶۳۵/۷۱ ± ۵۰/۸۲
تجربی ۴	bce
	۷۳۰ ± ۲۸/۱۳



نمودار ۳- مقایسهٔ میانگین ± انحراف معیارِ سطحِ آنزیمِ ALP (IU/L) در شش گروهِ موردمطالعهٔ سالم، دیابتی و تجربیِ ۱، ۲، ۳ و ۴.

۴| بحث

این پژوهش نشان داد که درمان با فلاونوئید و سلول‌های بنیادیِ مزانشیمیِ تمایزیافته به‌طورِ معناداری فعالیتِ سرمیِ آنزیم‌های کبدی ALP، AST و ALT را کاهش

داده است؛ به‌طوری که این کاهش در سطح آنزیم ALT گروه تجربی ۴ و سطح آنزیم ALP گروه‌های تجربی ۱ و ۳ از گروه کنترل بیشتر نمایان بوده است. بنابراین می‌توان بیان نمود که فلاونوئید و سلول‌های بنیادی مزانشیمی تمایزیافته تحت اثر دوزهای متفاوت فلاونوئید می‌توانند کبد را از آسیب‌های ناشی از اثرهای بیماری دیابت محافظت کرده و اثرهای مفیدی بر کاهش آنزیم‌های آن داشته باشند؛ اگرچه استفاده از داروهای گیاهی یا سنّتی به‌عنوان دارودرمانی باید حتماً زیر نظر پزشک باشد به‌علت داشتن محدودیت‌هایی از جمله تداخل دارویی، ایجاد آلرژی و ... یا استفاده از سلول‌های بنیادی مزانشیمی (MSCs) از بافت چربی استخراج‌شده به‌دلیل دسترسی آسان و توانایی تمایز به انواع مختلف سلول‌ها داراست، و نیز می‌توانند کاربردهای گسترده‌ای در پژوهش‌ها و درمان‌های پزشکی با عنوان سلول‌درمانی داشته باشند امّا بااین‌حال، استفاده از آن‌ها محدودیت‌هایی نیز دارد، از جمله: محدودیت‌های مرتبط با خود سلول‌های بنیادی، تعداد کم و کاهش توانایی تمایز با افزایش سن (موش‌های آزمایشگاهی یا انسان)، خطر آلودگی در محیط‌کشت و ... می‌باشد، بنابراین برای استفادهٔ گسترده‌تر از داروهای گیاهی یا سلول‌ها در درمان بیماری‌ها، به مطالعه‌های بالینی بیشتری نیاز است. در پژوهشی که توسط هایدر[1] و همکاران در سال ۲۰۱۱ صورت پذیرفت نشان داده شد که میزان آنزیم‌های کبدی ALP، ALT و AST به‌صورت معنی‌داری به‌دنبال دریافت استرپتوزوتوسین افزایش پیدا می‌کند که نشان‌دهندهٔ تخریب کبد می‌باشد. در افراد دیابتی، افزایش میزان آنزیم‌های کبدی AST، ALT و AL k.p در پلاسما نشان می‌دهد که دیابت سبب اختلالات کبدی می‌شود، بنابراین افزایش میزان AST، ALT و AL k.p در پلاسما، نتیجهٔ نشت این آنزیم‌ها ازسیتوزول کبد به داخل گردش خون می‌باشد که کاملاً با نتایج حاصل از پژوهش بالا مطابقت دارد. همچنین مطالعه‌ها نشان می‌دهند به‌دنبال تزریق استرپتوزوتوسین، فعالیت NADH دهیدروژناز افزایش یافته و فعالیت سیتوکروم C اکسیداز در زنجیرهٔ تنفس میتوکندریایی کاهش می‌یابد. افزایش فعالیت NADH دهیدروژناز و کاهش فعالیت سیتوکروم C اکسیداز باعث نشت الکترون‌ها از غشای داخلی میتوکندری و افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن در بافت‌های در معرض STZ می‌گردد (۱۱). پژوهش‌ها بیانگر این موضوع بودند که تانن‌ها و پلی‌فنول‌ها، به‌خصوص فلاونوئیدها دارای اثرهای ضددیابتی هستند. بسیاری از ترکیب‌های گیاهی از جمله پلی‌فنول‌ها دارای خواص آنتی‌اکسیدانی می‌باشند. ترکیب‌های پلی‌فنولی به‌ویژه فلاونوئیدها اثرهای حفاظتی در برابر آسیب‌های ناشی از سموم کبدی و رادیکال‌های آزاد دارند (۱۲). در پژوهشی که توسط میری و همکاران در سال ۲۰۱۷ انجام پذیرفت نشان داده شد که در ریشهٔ گیاه جغجغه به‌علت داشتن ترکیب‌های آلکالوئید، فلاونوئید، تانین و با توجه به سازوکارهای متفاوتی مانند افزایش ترشح انسولین، فعال کردن مسیر کاتابولیسم گلوکز، مهار یا غیرفعال کردن مسیر گلوکونئوژنز و هدایت گلوکز به داخل سلول، جذب گلوکز آزاد و ممانعت از اتصال آن‌ها به پروتئین‌ها و ممانعت از جذب گلوکز از روده، غلظت گلوکز سرم خون را کاهش می‌دهد (۱۳). در تحقیقی که توسط یاهوی[2] و همکاران انجام پذیرفت، تعداد ۲۸ سر موش صحرایی نر که به ۴ گروه مساوی تقسیم‌شده بودند (مشاهدهٔ دیابتی و دیابتی تجربی تیمارشده با عصارهٔ گیاه چرخه) که تجویز عصارهٔ گیاه چرخه سطح سرمی آنزیم‌های کبدی را کاهش می‌دهد و در برابر آسیب‌های کبدی القاشده توسط دیابت اثر محافظتی دارد. پژوهش بالا نشان داد که عصارهٔ گیاه چرخه، احتمالاً به‌دلیل محتوای فلاونوئیدی و خاصیت آنتی‌آکسیدانی می‌تواند منجر به کاهش سطح سرمی گلوکز خون شود و از افزایش پیش‌روندهٔ سطوح آنزیم‌های کبدی جلوگیری کند (۱۴). در پژوهش انجام‌شده نیز در گروه‌هایی که صرفاض فلاونوئید تزریق شده بود نتایج با گزارش بالا کاملاً هم‌خوانی داشته است. در پژوهشی که توسط محمدی و همکاران انجام پذیرفت نتایج نشان دادند که در گروه‌های تیمار خوراکی با دوز ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصارهٔ گل همیشه بهار کاهش معنی‌داری در قندخون، سطح سرمی آنزیم‌های کبدی (AST و ALT)، کلسترول و تری‌گلیسرید خون را نسبت به گروه شاهد دیابتی نشان می‌دهد. نتایج حاصل از این مطالعه بیان نمود که تجویز عصارهٔ هیدروالکلی گل همیشه‌بهار می‌تواند سطح سرمی آنزیم‌های کبدی، گلوکز و چربی‌های سرم را

[1] Haider

[2] Yahooi

توسطِ ترکیب‌های آنتوسیانینی مانند کاروتن، لیکوپی، ساپونین و اثرهای آنتی‌آکسیدانی و فلاونوئیدیِ این عصاره، در موش‌های دیابتی را به‌طورِ معنی‌داری کاهش دهد (۱۵). فلاحی و همکاران در سالِ ۲۰۱۷ دریافتند که عصارهٔ برگِ گردو به‌دلیلِ داشتنِ ترکیب‌های آنتی‌اکسیدانی و فلاونوئیدی بسیار قوی از اثرهای استرسِ شنا و دیابت که باعثِ افزایشِ میزانِ سرمیِ قند، آنزیم‌های ALT، AST، ALP و همچنین کاهشِ میزانِ هورمونِ انسولین و آلبومین می‌شود جلوگیری می‌کند (۱۶). در واقع سلول‌ها محتویِ آنزیم‌هایی هستند که برایِ عملکردِ آن‌ها ضروری است. زمانی که یک سلولِ آسیب‌دیده پاره می‌شود، آنزیم‌ها به درونِ پلاسما رها می‌شوند، جایی که فعالیتِ آن‌ها می‌تواند به‌عنوانِ شاخصِ مفیدِ آسیبِ سلول اندازه‌گیری شود. نشان داده شده است که فعالیتِ آنزیم‌های ویژهٔ پلاسما با بیماری افزایش یا کاهش می‌یابد. امروزه آنزیم‌ها یک نقشِ مهم در آسیب و پیشرفتِ بیماریِ حیوان‌ها بازی می‌کنند؛ همچنین براساسِ یافته‌های پژوهشِ حاضر غلظتِ AST سرم در گروهِ کنترلِ سالم به‌طورِ معنادار کمتر از پنج گروهِ دیگر بود و تفاوتِ میانِ برخی از گروه‌های دیگر معنادار نبود و سطحِ غلظتِ آنزیمِ ALP سرم در گروهِ کنترلِ سالم کمتر از پنج گروهِ دیگر و همچنین غلظتِ ALP سرمِ گروهِ تجربی ۱ و ۳ حتی کمتر از گروهِ کنترلِ سالم بود. در پژوهشی که توسطِ رباتی در سال ۲۰۱۰ انجام شد با ایجادِ آسیبِ حادِ کبدیِ القا شده با استامینوفن در موش و سپس جهتِ درمان تزریقِ هپاتوسیت مشتق از سلول‌های بنیادیِ مزانشیمیِ انسان انجام پذیرفت که نتایج بیانگرِ ترمیمِ آسیب پس از دو هفته بود (۱۷). در پژوهشِ دیگری که توسط استوک [1] در سال ۲۰۱۴ با ایجادِ آسیبِ حادِ کبدی القا شده با استامینوفن در موش و سپس تزریقِ سلول‌های بنیادیِ مزانشیمیِ مشتق از بافتِ چربی صورت پذیرفت؛ یافته‌ها نشان دادند که در موش‌ها کاهشِ آنزیمِ کبدی و کاهشِ التهاب پس از یک هفته رخ داده است (۱۸). با توجه به پیشینهٔ پژوهش و نتایجِ حاصل از تحقیق بالا، نشان داده می‌شود که تغییرهایی بر روی متغیرهای موردبررسیِ حاصل از تزریقِ فلاونوئید و پیوندِ سلول‌های بنیادیِ مزانشیمیِ مشتق از بافتِ چربیِ تمایزیافته توسطِ عصارهٔ فلاونوئیدی، احتمالاً به‌میزانِ تخریبِ سلول‌های بتای پانکرانس و بافتِ کبد وابسته است. به گونه‌ای که با تزریقِ عصارهٔ فلاونوئیدی یا پیوندِ سلول‌های بنیادیِ تمایزیافته علاوه‌بر بهبودِ عملکردِ سلول‌های بتا در تولیدِ انسولین حتی می‌توانند باعثِ جلوگیری از مرگِ مابقیِ سلول‌های بتا باشند و بدین روش نه‌تنها از ادامهٔ اثرهای تخریبیِ بیماریِ دیابت بر بافتِ کبد و افزایشِ پارامترهای بیوشیمیایی جلوگیری کرد بلکه احتمالاً باعثِ ترمیمِ بافتِ آسیب‌دیدهٔ کبد و کاهشِ سطحِ سرمیِ آنزیم‌های ترشحی هم می‌گردند.

۵| نتیجه‌گیری

نتایجِ این مطالعه نشان دادند که سلول‌های بنیادیِ مزانشیمیِ استخراج‌شده از بافتِ چربیِ رت‌ها در محیطِ آزمایشگاهی توانسته است تحتِ اثرِ دو دوزِ مطرح‌شده از فلاونوئیدِ حاصل از پوستِ سبزِ گردو به سلول‌های انسولین‌ساز تبدیل و تولیدِ انسولین را در رت‌ها افزایش دهند. همچنین تیمارِ رت‌های دیابتی توسطِ فلاونوئید (وابسته به دوز) و پیوندِ سلول‌های بنیادیِ تمایزیافته باعثِ کاهشِ فعالیتِ آنزیم‌های کبدی ALP، AST و ALT به‌صورت معنادار شدند.

۶| ملاحظات اخلاقی

تمامِ مراحلِ انجامِ این پژوهش براساسِ اصولِ اخلاقیِ مربوط به کار با حیوان‌های آزمایشگاهی انجام شده و تحتِ نظارتِ کمیتهٔ اخلاقِ پژوهشِ دانشگاهِ آزادِ اسلامی صورت گرفته است. این مطالعه بخشی از پایان‌نامهٔ کارشناسی‌ارشدِ مصوبِ دانشگاهِ آزادِ اسلامی واحدِ آیت‌الله آملی بوده و پروتکل‌های مربوط به مراقبت و کاهشِ درد در حیوان‌های آزمایشگاهی در تمامِ مراحل رعایت گردیده است.

۷| تشکر و قدردانی

از تمامیِ دوستان و اساتیدِ بزرگوار که ما را در انجامِ این پروژه یاری رساندند، صمیمانه قدردانی و تشکر می‌گردد.

۸| تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌کنند که هیچ‌گونه تعارضِ منافعِ مالی، شخصی یا سازمانی در ارتباط با این مقاله وجود ندارد.

۹| سهم نویسندگان

[1] Stock

تمامیِ نویسندگان در طراحیِ پژوهش، اجرایِ پروتکلِ آزمایشگاهی، کار با حیوان‌های آزمایشگاهی، جمع‌آوری و استخراجِ داده‌ها، تحلیلِ آماری و تفسیرِ نتایج مشارکت داشته‌اند. همچنین همگی در نگارشِ پیش‌نویس و بازبینیِ مقاله نقش داشته و نسخۀ نهایی را مطالعه و تأیید نموده‌اند.

۱۰| کد اخلاق

شناسۀ اخلاق: IR.IAU.BABOL.REC.1402.109

| Extended Abstract

The liver, as one of the most vital organs of the body, plays a pivotal role in metabolism, blood sugar regulation, and detoxification, and because of this position, it is always exposed to serious damage caused by the use of various drugs and systemic diseases, especially diabetes. Given the side effects of chemical drugs and the need for alternative treatments, there has been an increasing trend towards the use of plant compounds with antioxidant properties, as well as new cell therapy methods. The aim of this study was to investigate and explain the possible therapeutic effects of flavonoids extracted from green walnut skin and mesenchymal stem cells differentiated into pancreatic beta cells, on the levels of liver enzymes in laboratory models with diabetes in order to evaluate the effectiveness of this compound in reducing liver tissue damage. In this experimental study, 30 male Wistar rats were selected and randomly divided into 6 groups of 5. To make the rats diabetic, streptozotocin was injected intraperitoneally at a dose of 60 mg/kg. The first control group, the second diabetic group, and then for three weeks the third and fourth diabetic experimental groups received 50 and 100 mg/kg of green walnut shell flavonoids, respectively, and the fifth and sixth diabetic experimental groups received 50 and 100 mg/kg of flavonoid-differentiated mesenchymal stem cells in beta-sols, respectively. After the treatment period, the animals were subjected to standard anesthesia, and blood samples were extracted from their hearts to measure liver biochemical parameters and were examined. The results of biochemical tests showed that diabetes induction led to a significant increase in liver enzyme levels in diabetic groups. However, combined treatment with flavonoids and differentiated mesenchymal stem cells was able to significantly reduce the activity of aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), and alkaline phosphatase (ALP) enzymes compared to the diabetic group. The highest improvement and reduction in the levels of these enzymes were observed in experimental groups 5 and 6, indicating a synergistic effect of cell therapy and flavonoid compounds. ($P<0.05$) It was also observed that a dose of 100 mg of flavonoid was more effective than a dose of 50 mg in returning the enzyme levels to normal. Based on the findings of this study, it can be concluded that the combination of walnut green skin flavonoids and differentiated stem cells has a high potential in protecting liver tissue against oxidative stress and diabetes-induced damage. This therapeutic approach can prevent the progression of diabetes-related side effects by reducing the levels of liver-destructive enzymes. It can be considered as a complementary treatment protocol in future studies to improve liver health in diabetic patients.

| Keywords

Diabetes, Liver Enzymes, Flavonoids, Stem Cells, Wistar Rats.

| منابع

1. Jamali R, Jamali A. Non-alcoholic fatty liver disease. Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, 2010; 14(2), 169-181.
2. Yahooi S.M , Sadoughi S.D , Rahbarian R. The Effect of Aqueous Extract of Launaea acanthodes on Liver Enzymes and Histopathology in Male Type 1 Diabetic Rats. J Rafsanjan Univ Med Sci. 2016; 15(9): 861 -7.
3. Yahooi S.M. Sadoughi S.D. Rahbarian R. The Effect of Aqueous Extract of Launaea acanthodes on Liver Enzymes and Histopathology in Male Type 1 Diabetic Rats. Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences.2016; 15(9): 861-874.
4. Asgary S, Rahimi P , P., Mahzoni p and Kabiri N. Hypoglycemic effect of extract of Juglans regia L. leaves on alloxan-induced diabetic rats. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants.2010; 26(1): 30-39.
5. Noshirvani N , Fasihi H , Moradipayam A. Study on the Antioxidant Effects of Extract and Powder of Green Walnut Hulls on the Oxidation of Sunflower Oil. Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology ,2015; 10(3): 79-90.
6. Asgharzadeh M, Pour Haji A. Stem Cells and Their Application. Laboratory and Diagnosis Quarterly. 2014;23: 39-47.
7. Zarghami N, Alani B, Erani H et al. Study of Leptin Gene Expression Changes in Streptozotocin-Treated Diabetic Rats. Iranian Journal of Diabetes and Metabolism. 2014;5 (2); 133-127.
8. Esmaeili F, Kharazian N, Houshmand F et al. Investigation of ،The Induction of Stem Cell Differentiation into Pancreatic Beta Cells by Methanolic Extract of Alfalfa. Shahed University Scientific-Research Bimonthly. 2014; 22 (115);51-64.
9. Hosseinpur Z, Hashemi SM, Salehi E et al. Mesenchymal Stem Cell Isolation from Adipose and Lung Tissues of BALB/c Murine and Comparison of Their Immunophenotype. Scientific and Research Journal of Zanjan University of Medical Sciences and Health Services. 2013; 21(89): 17-29.
10. Babaee Sadati S.D, afari Chashmi A, Hashemvarzi S.A et al. Effect of Progressive Aerobic Training, Injection of Adipose Tissue-Derived stem Cells, and Their Combination on Bax and Bcl-2 Levels of Beta - Pancreatic Cells in Diabetic Rats. Koomesh. 2021; 23(2):242-249.
11. Haider R, Subbuswamy K, Prabu M.A, Narayan G. Impaired Mitochondrial Respiratory Functions and Oxidative Stress in Streptozotocin Induced Diabetic Rats. Inter J Mol Sci 2011; 12: 3133-47.
12. Kawakami M, Hirayama A, Tsuchiyak.Ohgaware HM, et al . Promotion of {Beta} Cell Differentiation by the Alkaloid Conophylline in Porcine Pancreatic Endocrine Cells. Biomedicine & pharmacotherapy.2010;64:226-231.
13. Bazi Shad A, Miri Hr, Esmaeilzadeh Bahabadi S et al .The Effect of Hydro-Alcoholic Extract of Prosopis Farcta on Weight,Blood Glucose and Gene Expression of Pyruvate Kinase in Diabetic rat (Type I). Journal of Health Chimes.2017;4(4):1-9.
14. Yahooi SM, Sadoughi SD, Rahbarian R et al. The Effect of Aqueous Extract of Launaea Acanthodes on Liver Enzemes and Histopathology in Male Type 1 Diabatic rats. Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences.2016;9 (15):861-874.
15. Mohammadi M, Salehi Yeraj, Muradkhani SH. The Effect of Administration of Hydroalcoholic Extract of Marigold on Glucose, Serum Lipids and Liver Enzymes AST, ALT in Diabetic Male Wistar Rats. Animal Environment Scientific-Research Quarterly. 2014; 7(3): 73-80.
16. Fallahi M, Hosseini SE. Effects of Walnut Leaf Hydro-Alcoholic Extract by Forced Swimming Stress on Serum Levels of Glucose, Insulin and Liver Parameters in Adult Male Rats' diabetic (Persian)]. Journal of Babol University of Medical Sciences. 2017; 19(5):47-52.
17. Rabani V, Shahsavani M, Ghavavi M et al. Mesenchymal Stem Cell in Fusion Therapy in a Carbon Terachorid-Induced Liver Fibrosis Mod Affacte Matrix Metalloproteinse Expression. Cell Biol Int. 2010;34(6):601-605.
18. Stock P, Bruckner S, Winkler S et al. Human Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell-Drived Hepatocytes Improve the Mouse Liver After Acetaminophen Intoxication by Preventing Progress of Fnjury. Hny J mol sci. 2014; 15 (4):7004-7028.