

*Anti-diabetic Effect of Methanol Extract of *Trametes versicolor* on Male Mice*

Mohammad Shokrzadeh¹,
Sadaf Azdo²,
Mohammad Amirahmadi²,
Emran Habibi³

¹ Associate Professor, Department of Toxicology and Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

² Doctorate of Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Ramsar International Unit, Mazandaran University of Medical Sciences, Ramsar, Iran

³ Assistant Professor, Department of Pharmacognosy and Biotechnology, Pharmaceutical Sciences Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received September 24, 2016 ; Accepted December 24, 2016)

Abstract

Background and purpose: Diabetes mellitus is a metabolic disorder caused by deficiency of insulin secretion (type I) or dysfunction of insulin (Type II). Investigating the efficacy of natural compounds in treatment of various diseases such as diabetes could be so useful. So, we studied the anti-diabetic effects of methanol extract of *Trametes versicolor* on male mice.

Materials and methods: *T. versicolor* was collected from jungles of Neka (Mazandaran, Iran) and extracted with methanol. Thirty male mice were randomly divided into 6 groups (n=5 per group) as following: group I: non-diabetic (normal), group II, III, and IV were diabetic groups that received *T. versicolor* extract at 500, 1000, and 1500 mg/kg. Group V and VI were also diabetic groups that received 6 U/Kg insulin (Biphasic Isophane) and 0.9% normal saline, respectively. Diabetes was induced by intraperitoneal administration of streptozotocin (50 mg/kg body weight). Blood samples were taken 24 hr after the last injection. After centrifugation, the serum was isolated for measuring the levels of glucose, ALT, AST, ALP, cholesterol, triglycerides, BUN, creatinine, and HDL. Homogenized liver tissue (0.1 g) were also prepared for histological examination.

Results: Compared with the control group, significant reductions were seen in serum glucose, triglycerides and ALT levels in treatment groups receiving the methanolic extract of *T. versicolor* (P<0.05). Moreover, pathology studies showed lower destruction of liver tissue in these groups.

Conclusion: The results showed that the methanol extract of *T. versicolor* might be effective in prevention of diabetes and have a protective effect on liver tissue.

Keywords: *Trametes versicolor*, diabetes, mice, liver, streptozotocin

J Mazandaran Univ Med Sci 2017; 26(145): 165-175 (Persian).

ارزیابی اثر ضد دیابتی عصاره متانولی قارچ ترامتس ورسیکالر بر روی موش سوری نر

محمد شکرزاده^۱صدف آزدو^۲محمد امیر احمدی^۲عمران حبیبی^۳

چکیده

سابقه و هدف: دیابت از بیماری‌های متابولیکی غدد درون ریز است که با فقدان انسولین (نوع ۱) یا نقص عملکرد انسولین (نوع ۲) مشخص می‌شود. بررسی اثر بخشی ترکیبات طبیعی در درمان بیماری‌های مختلف از جمله دیابت از اهمیت زیادی برخوردار است لذا، در این مطالعه اثر ضد دیابتی عصاره متانولی قارچ ترامتس ورسیکالر بروی موش سوری بررسی شد.

مواد و روش‌ها: قارچ از جنگل اطراف نکاء (مازندران) جمع‌آوری و با متانول عصاره‌گیری شد. ۳۰ موش سوری نر به طور تصادفی به ۶ گروه ۵ تایی تقسیم شدند. گروه ۱: غیر دیابتی (نرمال)، گروه‌های ۲، ۳ و ۴ دیابتی به ترتیب عصاره متانولی قارچ با دوز ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن، گروه ۵: دیابتی + انسولین (ایزوفان) به میزان ۶ واحد بر کیلوگرم و گروه ۶: دیابتی + حلال عصاره (نرمال سالین ۰/۹ درصد) می‌باشند. برای ایجاد دیابت از استرپتوزوسین با دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن استفاده شد و تزریقات به صورت درون صفاقی انجام گرفت. ۲۴ ساعت پس از آخرین تزریق، خونگیری انجام و پس از سانتریفیوژ، سرم جهت سنجش میزان گلوکز، ALT، AST، ALP، کلاسترول، تری گلیسیرید، BUN، کراتینین و HDL جدا شده و ۰/۱ گرم بافت کبدی نیز جهت مطالعه هیستوپاتولوژی هموژنیزه گردید.

یافته‌ها: نتایج حاکی از کاهش معنی‌دار میزان گلوکز، تری گلیسیرید و آنزیم ALT در گروه‌های تیمار شده با عصاره متانولی قارچ ترامتس ورسیکالر نسبت به گروه شاهد دیابتیک دریافت کننده حلال حامل عصاره می‌باشد (p < ۰/۰۵). در مطالعات پاتولوژی مشاهده شد که تخریب در بافت کبد در گروه‌های دریافت کننده عصاره نسبت به گروه شاهد کم تر بوده است.

استنتاج: با توجه به یافته‌های حاصل، عصاره متانولی قارچ ترامتس ورسیکالر ممکن است در درمان و پیشگیری از دیابت و محافظت کبدی در فاز بالینی داشته باشد.

واژه های کلیدی: ترامتس ورسیکالر، دیابت، موش سوری، کبد، استرپتوزوسین

مقدمه

افزایش مزمن میزان قندخون به علت نقص عملکرد انسولین یا عدم ترشح آن سبب بروز مهم ترین بیماری متابولیکی غده درون ریز بدن به نام دیابت می‌گردد که شیوع آن به طور چشمگیری در سراسر جهان در حال افزایش می‌باشد. مانند هیپرگلیسمی، پرادراری، پرنوشی، کاهش وزن، تاخیر در التیام زخم‌ها، تاری دید، افزایش

مؤلف مسئول: عمران حبیبی - ساری: جاده دریا، مجتمع پیامبر اعظم (ص) دانشگاه علوم پزشکی مازندران، دانشکده داروسازی E-mail: Emrapharm@yahoo.com

۱. دانشیار، گروه سم شناسی داروشناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۲. دکتری حرفه ای، دانشکده داروسازی، واحد پردیس خودگردان، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، رامسر، ایران

۳. استادیار، گروه فارماکولوژی و بیوتکنولوژی، مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۷/۳ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۵/۷/۱۲ تاریخ تصویب: ۱۳۹۵/۱۰/۴

میزان قند خون حیوانات دیابتی شده را کاهش می دهند. عصاره آبی حاصل از قارچ *Ganoderma lucidum* متعلق به خانواده پلی پوراسه از دسته بازیدیومیست ها، میزان قند خون موش های دیابتی شده با استفاده از استرپتوزوسین و آلوکسان را به میزان قابل توجهی کاهش داده است (۱۱، ۱۲). هم چنین عصاره های آبی و متانولی قارچ های دیگر متعلق به دسته بازیدیومیست ها نظیر *Calvatia cyathiformis* *Lentinus lepideus* و *Ganoderma applanatum*، اثر ضد دیابتی معنی داری بر روی موش های دیابتی شده با آلوکسان داشته اند (۱۳). در پژوهشی که از آگزویوپلیمرهای حاصل از گونه های مختلف قارچی جهت سنجش میزان کاهش قند خون موش ها استفاده شد، تنها بیوپلیمر قارچ ترامیس ورسیکالر، بیش ترین اثر را در کاهش میزان گلوکز خون داشته است (۱۴). عده ای از محققین با توانایی جداسازی و خالص سازی پلی ساکارید خارج سلولی EPS-F4-1 حاصل از قارچ ترامتس ورسیکالر متوجه اثر مهای این پلی ساکارید روی آنزیم آلفا گلوکوزیداز شده اند (۱۵). از آنجایی که تاکنون اثرات ضد دیابتی عصاره متانولی قارچ ترامیس ورسیکالر بررسی نشده، لذا در تحقیق حاضر اثر ضد دیابتی عصاره متانولی قارچ مذکور با نگرش بیوشیمیایی و پاتولوژی روی موش های سوری نر مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها

گلو تاتیون استاندارد، دی تیویس نیتروبنزوئیک اسید (DTNB)، بافر تریس (تری کلرواستیک اسید EDTA، $PH=8/9$) (اتیلن دی آمین تترا استیک اسید) از شرکت مرک، اتانول از شرکت نور زکریای رازی و نرمال سالین از شرکت داروسازی ثامن خریداری شد. قرائت میزان جذب توسط دستگاه اسپکتوفوتومتر Shimadzu mini 1240 ساخت ژاپن و عملیات سانتریفیوژ به کمک دستگاه Hettich universal ساخت آلمان انجام شد.

گلوکز در ادرار و برخی علائم دیگر مشخص می شود و در صورت عدم درمان مناسب ممکن است آسیب های قلبی، عروقی، عصبی، کلیوی و نوروباتی در بیمار بروز نماید. از جمله اقدامات مهم کنترل دیابت تغییر در سبک زندگی مانند رژیم غذایی صحیح و ورزش به همراه استفاده از داروها می باشد (۱، ۲). آزمایشات خونی متعددی جهت بررسی تعیین عملکرد کبد انجام می شود که در آن ها میزان سرمی آنزیم های مهم کبدی اندازه گیری می گردد. از جمله مهم رین این آنزیم ها آلانین آمینو ترانسفراز (ALT)، آسپاراتات آمینو ترانسفراز (AST) و آلکالین فسفاتاز (ALP) می باشد که به عنوان شاخص های آسیب بافت کبدی می باشند و در دیابت تیپ ۲ میزان آن ها افزایش پیدا می کند (۳، ۴). استرس اکسیداتیو نقش بسیار مهمی در تعیین پاتوژنز بیماری دیابت تیپ ۲ دارد که به دنبال آن میزان کلسترول خون افزایش می یابد. تعیین سطح سرمی گلو تاتیون احیا (GSH) میزان استرس اکسیداتیو ناشی از دیابت را به خوبی نشان می دهد (۵). بررسی ترکیبات طبیعی در درمان بیماری های مختلف از جمله دیابت از اهمیت زیادی برخوردار است. قارچ ترامیس ورسیکالر که کوریولوس ورسیکالر نیز نامیده می شود، متعلق به خانواده Polyporaceae، راسته Polyporales و از دسته بازیدیومیست (Macrofungi) می باشد. این قارچ در چین مشهور به یون ژی (قارچ ابری) می باشد و به طور گسترده در جنگل های معتدل در نیمکره شمالی زمین پراکنده گی دارد که به عنوان ساپروفیت روی تنه درختان پوسیده رشد می کند (۸-۶). قارچ های دارویی بسیاری به طور سنتی جهت درمان بیماری های گوناگونی استفاده می شود و اثرات درمانی آن ها بر دیابت، سرطان، کلسترول و فشار خون، کبد، التهاب و عوامل میکروبی مورد مطالعه قرار گرفته است (۹). علاوه بر آن نقش مهمی در تنظیم کنندگی سیستم ایمنی را بر عهده دارند (۱۰). آزمایش های متعدد انجام گرفته روی عصاره ها و ترکیبات خالص حاصل از گونه های متعدد بازیدیومیست ها نشان می دهد که این قارچ ها

قارچ ترامتس ورسیکالر در ماه آبان از جنگل‌های شهرستان نکا روستای چلمردی استان مازندران در ارتفاع ۵۰۰ متری از سطح دریا جمع‌آوری گردید. سپس نام علمی آن توسط آقای مهندس سعید علی موسی زاده کارشناس ارشد علوم گیاهی عضو مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی منابع طبیعی مازندران مربوطه تایید شد. جهت از بین رفتن حشرات موذی، چوب خوار و کپک‌ها، نمونه قارچ به مدت ۷۲ ساعت در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. نمونه قارچ پس از تمیز شدن و خشک شدن در سایه و دمای اتاق با استفاده از آسیاب برقی در اندازه مناسب پودر گردید (نمونه قارچی در یخچال برای طولانی مدت قابل نگهداری می‌باشد). دو کیلوگرم از قارچ پودر شده با متانول مطلق به روش خیساندن چند باره (۳ بار و هر بار حداقل ۷۲ ساعت) عصاره‌گیری شد. عصاره حاصله با استفاده از دستگاه روتاری تحت شرایط خلاء تغلیظ گردید و در دستگاه فریز درایر به صورت پودر خشک تهیه شد. جهت انجام مطالعه حیوانی، ۳۰ موش سوری نر با سن ۴ تا ۵ هفته، در محدوده وزنی 20 ± 5 گرم به طور تصادفی به ۶ گروه (۵ تایی) تقسیم شدند. حیوانات در حیوان خانه دانشکده داروسازی رامسر تحت شرایط طبیعی تاریکی، غذا و آب قرار گرفتند و به مدت یک هفته به منظور عادت کردن به محیط جدید بدون هیچ گونه تزریق نگهداری شدند.

به موش‌ها استرپتوزتوسین با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (به جز گروه اول که به عنوان گروه نرمال در نظر گرفته شدند) داخل صفاقی تزریق شد. جهت اندازه‌گیری میزان قندخون ناشتا، خونگیری در روز چهارم انجام شد و میزان قندخون بالاتر از 11 mmol/L دیابتی شدن موش‌ها را تایید کرد (۱۶). گروه اول گروه غیردیابتی (نرمال)، گروه دوم به عنوان گروه کنترل، با تزریق دوز معینی از انسولین (بایفازیک ایزوفان) به میزان ۶ واحد بر کیلوگرم، گروه سوم تا پنجم با تزریق دوزهای مختلفی از عصاره متانولی ترامتس ورسیکالر (۵۰۰، ۱۰۰۰،

۱۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و گروه ششم به عنوان گروه شاهد، با تزریق حامل عصاره (نرمال سالین ۰/۹ درصد) آماده شدند (مدت تیمار با عصاره ۲۱ روز بوده است) (۱۷). با رعایت اصول اخلاقی، ۲۴ ساعت پس از آخرین تزریق، موش‌ها کاملاً بی‌هوش شدند و مورد جراحی قرار گرفتند. بلافاصله پس از شکافتن شکم و سینه حیوان، ۲ الی ۱/۵ میلی‌لیتر خون با سرنگ انسولین (هپارینه شده) از قلب حیوان اخذ و سپس به مدت ۳۰ دقیقه در محیط آزمایشگاه گذاشته شده تا انکوبه شود و پس از سانترفیوژ کردن به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، حدود ۱ میلی‌لیتر سرم از آن‌ها جدا شد و از کیت شرکت Elitek جهت اندازه‌گیری میزان آنزیم‌های ALT, AST, ALP استفاده و از روش UV Test جهت به‌دست آوردن مقادیر آنزیم‌های ALT, AST استفاده گردید. هم‌چنین برای اندازه‌گیری آنزیم آلکالین فسفاتاز از آزمون فتومتر کینتیک استفاده شد (۱۸). جهت اندازه‌گیری گلوکز از روش گلوکز اکسیداز، BUN از روش برتلول، کراتینین از روش رنگ سنجی (روش ژافه) (۱۹)، میزان کلسترول و تری‌گلیسیرید سرمی با استفاده از کیت شرکت درمان کاو (ایران) از طریق روش رنگ‌سنجی تعیین گردید و میزان HDL کلسترول با روش رسوبی اندازه‌گیری شد (۲۰، ۲۱).

بلافاصله پس از خون‌گیری، ۰/۱ گرم از بافت کبد حیوان برای اندازه‌گیری گلوکوتایون خارج و به وسیله سرم فیزیولوژی شستشو داده شد و در فرمالین ۱۰ درصد برای تثبیت بافت و انجام مطالعات هیستوپاتولوژیک قرار گرفت. در مرحله بعد از بافت‌های آبیگری شده، برش‌هایی تهیه و به روش هماتوکسیلین-انوزین رنگ‌آمیزی گردید (۲۲). برداشت نمونه کبدی جهت اندازه‌گیری سطح گلوکوتایون احیا به روش المن انجام شد. بدین منظور ۰/۱ گرم از کبد موش را به لوله هموژنایزر منتقل، ۱ میلی‌لیتر EDTA به آن افزوده و چند بار عمل هموژن کردن صورت گرفت تا مخلوط یکنواختی به دست آید. سپس محتویات آن به لوله

سانتریفیوژ منتقل و ۰/۵ میلی‌لیتر دیگر EDTA به آن اضافه شد. در مرحله بعد، به لوله سانتریفیوژ ۱/۵ میلی‌لیتر TCA با خلوص ۱۰ درصد اضافه شد. سپس لوله‌ها در دور ۳۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ و سپس یک میلی‌لیتر از محلول رویی به لوله سانتریفیوژ دیگر منتقل گردید و به آن ۲/۵ میلی‌لیتر بافر تریس ۰/۴ مولار (PH=۸/۹) و ۰/۵ میلی‌لیتر DTNB اضافه شد. لوله به آرامی تکان داده شد تا رنگ زرد یکنواختی در آن پدیدار گردد. در نهایت جذب محلول حاصل در طول موج ۴۲۱nm قرائت گردید. با مقایسه جذب حاصل با منحنی استاندارد، غلظت گلوکاتایون محاسبه و براساس میکرومول بر هر گرم وزن کبد ارائه شد (۲۳). پس از تجزیه و تحلیل آماری نتایج به صورت Mean \pm SD ارائه شده است. برای بررسی نتایج بیوشیمیایی و بافت شناسی و مقایسه میانگین گروه‌های آزمایشی از آزمون تجزیه و تحلیل واریانس یکطرفه (One-Way ANOVA) استفاده شد و $p < 0/05$ به عنوان سطح معنی‌داری تلقی گردید. تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۱۶ انجام پذیرفت.

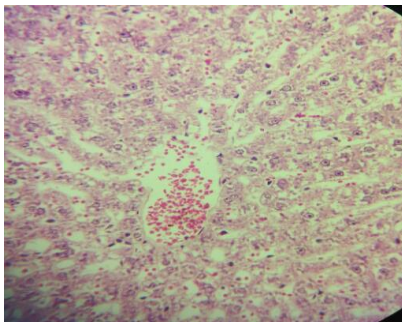
یافته‌ها

مطابق جدول شماره ۱، کم‌ترین میزان گلوکز متعلق به گروه نرمال ۱۶۲/۳۳ \pm ۱۷/۵ میلی‌مول بر لیتر و بیش‌ترین میزان مربوط به گروه دیابتی دریافت‌کننده حلال عصاره (شاهد) ۲۲۰/۱۴ \pm ۲۷۵/۳۳ میلی‌مول بر لیتر می‌باشد. با توجه به آنالیز آماری صورت گرفته اختلاف معنی‌داری ($p < 0/05$) بین گروه‌های شاهد با گروه دیابتی+عصاره متانولی ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۱۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وجود دارد. بیشترین مقدار گلوکاتایون مربوط به گروه دیابتی+انسولین به میزان ۰/۵۴ \pm ۰/۰۲ میکرومول بر گرم و کمترین مربوط به گروه دیابتی+عصاره متانولی ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به میزان ۰/۲۸ \pm ۰/۰۳ میکرومول بر گرم می‌باشد. با توجه به آنالیز آماری صورت گرفته اختلاف معناداری ($p < 0/05$) بین

گروه شاهد با عصاره متانولی ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وجود دارد. اندازه‌گیری میزان کلسترول و تری‌گلیسرید حاکی از آن است که کم‌ترین میزان آن‌ها مربوط به موش‌های گروه نرمال به ترتیب برابر با ۶۰/۶۷ \pm ۲۸/۴۵ و ۹۱/۳۳ \pm ۳/۵۲ میلی‌مول بر لیتر و بیش‌ترین میزان آن‌ها مربوط به گروه شاهد به ترتیب برابر با ۱۲۲/۰ \pm ۲/۶۴ و ۱۳۰/۰ \pm ۲/۰۰ میلی‌مول بر لیتر می‌باشد. آنالیز آماری نیز اختلاف معنی‌داری را ($p < 0/05$) در میزان کلسترول و تری‌گلیسرید بین گروه‌های دیابتی حامل عصاره با گروه دیابتی+عصاره متانولی ۱۰۰۰، ۱۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نشان می‌دهد. هم‌چنین این اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های دیابتی+عصاره با گروه دیابتی+انسولین نیز ($p < 0/05$) وجود دارد. کم‌ترین میزان HDL نیز متعلق به گروه دیابتی+انسولین ۲۳/۶۷ \pm ۳/۰۵ میلی‌مول بر لیتر و بیش‌ترین مربوط به گروه دیابتی+عصاره ۳۵/۳۳ \pm ۴/۰۴ میلی‌مول بر لیتر می‌باشد. از لحاظ آماری اختلاف معناداری ($p < 0/05$) بین گروه‌های دیابتی+عصاره متانولی ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۱۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وجود دارد که این اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های دیابتی+عصاره با گروه دیابتی+انسولین نیز ($p < 0/05$) وجود دارد.

نتایج حاصل از تعیین میزان آنزیم‌های ALT و AST نشان می‌دهد که بیش‌ترین میزان این آنزیم‌ها مربوط به گروه دیابتی حامل عصاره به ترتیب برابر با ۹۶/۰ \pm ۴/۵۸ و ۸۳/۶۷ \pm ۸/۰۸ واحد بر لیتر و کم‌ترین میزان ALT مربوط به به گروه دیابتی دریافت‌کننده عصاره متانولی ۱۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به میزان ۸۰/۶۷ \pm ۴/۱۶ واحد بر لیتر و برای آنزیم AST کم‌ترین میزان مربوط به گروه نرمال به میزان ۷۵/۳۳ \pm ۵/۵۰ واحد بر لیتر می‌باشد. با توجه به آنالیز آماری صورت گرفته برای آنزیم ALT اختلاف معنی‌داری ($p < 0/05$) بین گروه‌های شاهد با گروه دیابتی+عصاره متانولی ۱۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و در آنزیم AST اختلاف آماری معنی‌داری بین گروه شاهد با سایر گروه‌ها وجود ندارد (جدول شماره ۲).

دریافت کننده انسولین ساختار لبولی فوکال بهم ریخته و گرفتگی متوسط سسترا ل وین داریم در سینوزوئیدها دیلاته مختصر منتشر دیده شد. التهاب پورتال خفیف پراکنده و التهاب بین هیپاتوسیتی مختصر پراکنده بود در لام نکروز تک هیپاتوسیتی پراکنده دیده شد و آپوپتوز سلول هیپاتوسیتی بسیار پراکنده وجود داشت و واکنش دار شدن هسته ها (دژنراسیون) پدیدار گشت (تصویر شماره ۱). در گروه های دیابتی دریافت کننده عصاره متانولی ۱۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم ساختار لبولی متوسط، التهاب متوسط و منتشر فضای پورت، التهاب متوسط و پراکنده بین هیپاتوسیت ها وجود داشته است و هم چنین نکروز گروهی و تکی هیپاتوسیتی، آپوپتوز تکی، سینوزوئیدهای مختصر متراکم و هسته منتشر بزرگ شده و سلول ها فوکال هیدروپیک هم مشاهده شد (تصویر شماره ۲).



تصویر شماره ۱: سسترا ل وین congestion (قرمز) - سینوزوئیدها دیلاته (سفید) - دژنراسیون (زرد)

بیشترین میزان افزایش سطح آنزیم ALP نیز مربوط به گروه دیابتی +انسولین ۵۸/۶۷±۳/۵۱ واحد بر لیتر و کمترین میزان مربوط به گروه نرمال به میزان ۴۹/۳۳±۱/۵۲ واحد بر لیتر بدون وجود اختلاف آماری معنی دار بین گروه های شاهد با سایر گروه ها می باشد. کراتینین و BUN در گروه دیابتی +انسولین بالاترین میزان به ترتیب برابر با ۵۶/۰۰±۷/۰۰ و ۵۹/۳۳±۵/۱۳ میلی گرم بر دسی لیتر می باشد و کمترین میزان کراتینین متعلق به گروه نرمال ۴۰/۰۰±۱/۰۰ میلی گرم بر دسی لیتر با اختلاف معنی داری (p<۰/۰۵) بین گروه های دیابتی +حامل عصاره با گروه دیابتی +عصاره متانولی ۵۰۰ و ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم می باشد. هم چنین این اختلاف معنی دار بین گروه های نرمال با گروه دیابتی +انسولین نیز (p<۰/۰۵) نیز وجود دارد. پایین ترین میزان BUN نیز مربوط به گروه دیابتی +عصاره متانولی ۱۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم به مقدار ۴۳/۰۰±۴/۳۶ میلی گرم بر دسی لیتر می باشد و اختلاف معنی داری (p<۰/۰۵) بین گروه های دیابتی +حامل عصاره با گروه دیابتی +عصاره متانولی ۱۰۰۰، ۱۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وجود دارد. هم چنین این اختلاف معنی دار بین گروه های دیابتی +حامل عصاره با گروه دیابتی +انسولین نیز (p<۰/۰۵) وجود دارد (جدول شماره ۲). در بافت کبد گروه دیابتی تیمار با عصاره قارچی تغییرات پاتولوژیک قابل توجهی مشاهده نشد. نتایج پاتولوژی نشان می دهد که در گروه دیابتی

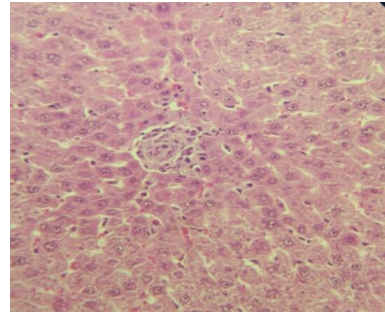
جدول شماره ۱: میانگین و انحراف معیار گلوکتایون کبدی (μmol/g) و گلوکز، کلسترول، تری گلیسرید و HDL بر حسب mmol/L در حیوان مورد مطالعه

گروه ها	گلوکز	کلسترول	تری گلیسرید	HDL	گلوکتایون
نرمال	۱۶۲/۳۳±۱۷/۵۰	۶۰/۶۷±۲۸/۴۵	۹۱/۳۳±۳/۵۲	۲۵/۳۳±۲/۰۸	۰/۴۸±۰/۰۱
دیابتی +حامل عصاره	۲۷۵/۳۳±۲۲/۱۴	۱۲۲±۲/۶۴	۱۳۰±۲/۲	۳۵/۳۳±۴/۰۴	۰/۵±۰/۰۲
دیابتی +عصاره متانولی ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم	۲۳۴/۶۷±۸/۵	۱۱۹±۲/۱	۱۲۱/۶۷±۲/۰۸	۳۰±۷/۹۳	۰/۴±۰/۱۲
دیابتی +عصاره متانولی ۱۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم	۲۱۸/۳۳±۱۰/۰۲	۱۰۹/۶۷±۱/۵۳	۱۱۸/۶۷±۱/۵۲	۳۰/۳۳±۰/۵۷	۰/۲۸±۰/۰۳
دیابتی +عصاره متانولی ۱۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم	۱۹۴/۳۳±۴/۹۳	۱۰۴/۶۷±۹/۲۴	۱۱۳/۳۳±۴/۷۲	۲۶/۳۳±۴/۰۴	۰/۵۳±۰/۰۷
دیابتی +انسولین	۱۷۷/۳۳±۷/۷۶	۱۰۰/۳۳±۵/۶۸	۱۰۷±۲/۶۴	۲۳/۶۷±۲/۰۵	۰/۵۴±۰/۰۲

جدول شماره ۲: میانگین و انحراف آنزیم های AST, ALT, ALP بر حسب (U/L)، اوره و کراتینین سرمی بر حسب mg/dL در حیوان مورد مطالعه

گروه ها	ALP	ALT	AST	BUN	Cr
نرمال	۴۹/۳۳±۱/۵۲	۸۵/۶۷±۶/۰۲	۷۵/۳۳±۵/۰۵	۴۵/۳۳±۱/۵۳	۴±۱/۱
دیابتی +حامل عصاره	۵۳±۲/۱	۹۶±۴/۵۸	۸۳/۶۷±۸/۰۸	۴۹/۶۷±۱/۵۳	۵۱/۶۷±۲/۵۱
دیابتی +عصاره متانولی ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم	۵۳/۶۷±۵/۵	۹۲±۲/۳	۸۱/۶۷±۸/۰۲	۴۵±۲/۶	۴۴/۳۳±۳/۲۱
دیابتی +عصاره متانولی ۱۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم	۵۷/۳۳±۴/۷۲	۸۸/۳۳±۳/۰۵	۷۹/۶۷±۷/۵۷	۴۴/۳۳±۲/۰۸	۴۳±۲/۱
دیابتی +عصاره متانولی ۱۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم	۵۳/۳۳±۲/۸۸	۸۰/۶۷±۴/۱۶	۸۲/۳۳±۸/۶۲	۴۳±۴/۳۶	۴/۵۸±۴/۷/۲۸
دیابتی +انسولین	۵۸/۶۷±۳/۵۱	۹۵±۶/۷	۸۱/۶۷±۵/۵	۵۹/۳۳±۵/۱۳	۵۶±۷/۳

گلوکاتایون اس - ترانسفراز در بافت‌هایی از موش که در معرض استرپتوزوسین بوده‌اند نسبت به گروه کنترل مشاهده می‌شود (۲۷). تحقیقات مختلف درباره بیماری دیابت نشان می‌دهد که القای دیابت با تزریق STZ سبب افزایش معنی‌دار در سطح سرمی گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید، فاکتورهای کلیوی (اوره، اسید اوریک، کراتینین)، آنزیم‌های کبدی (ALT, AST, ALP) در موش‌های دیابتی نسب به گروه نرمال می‌شود (۲۸). قارچ ترامتس ورسیکالر از انواع قارچ‌های دارویی است که از زمان‌های قدیم در چین به عنوان ترمیم‌کننده زخم و محافظت ایمنی بدن در مقابل بیماری‌ها مورد استفاده قرار می‌گرفت. این قارچ دارویی که به وفور در ایران نیز یافت می‌شود غنی از ماده‌ای از جنس پلی‌ساکارید-پپتید به نام PSP می‌باشد که کارایی آن در درمان سرطان به اثبات رسیده و به طور عمده مورد استفاده قرار می‌گیرد. هم‌چنین پلی‌ساکاریدی دیگر نیز از این قارچ قابل استخراج می‌باشد که به نام PSK (پلی‌ساکارید K) معروف است که یک آنتی‌اکسیدانت قوی بوده و رادیکال‌های آزاد را مهار می‌کند. تا به حال از نظر بالینی موثرترین داروی سرطان‌های معده، مری، مقعد و ریه بوده است. ماده دیگر استخراج شده از قارچ، پلی‌ساکارید ورسیکالر یا VPS می‌باشد که اخیراً به صورت جامد به عنوان مکمل غذایی در ایالات متحده مورد مطالعه قرار گرفته است. مکانیزم مولکولی دقیق عمل PSP و PSK هنوز کشف نشده است. با اینحال این ترکیبات بیش‌تر از طریق پیشرفت سیستم ایمنی میزبان عمل می‌کند و حضور ترکیبات دیگری از جمله تری‌لینولئین، ارگوسترول پراکساید، مشتقات ارگوستا، سرامیدی و فنولیک در این قارچ گزارش شده است (۲۹،۳۱). نتایج حاصل از مطالعه ما در دوزهای مختلف عصاره متانولی قارچ ترامتس ورسیکالر، نشان‌دهنده تاثیر عصاره‌های مذکور بر فاکتورهای دخیل دیابت در موش سوری نر می‌باشد و با توجه به مطالعه Byang و همکارانش بر روی اگزوبیوپلیمرهای استخراج



تصویر شماره ۲: التهاب بین‌هپاتوسیت‌ها (قرمز) و ناحیه نکروز کوچک (سفید)

بحث

امروزه پژوهش‌های متعددی در زمینه بیماری دیابت صورت گرفته است که در همه آن‌ها مسئله سمیت داروهای مورد استفاده و کشف و توسعه داروهای با اثر بخشی بالا که توانایی کاهش قندخون و هم‌کنترل عوارض ثانویه بیماری اعم از نفروپاتی، آسیب کبدی، استرس اکسیداتیو را داشته باشد، مورد توجه است. اخیراً استفاده از گیاهان و قارچ‌های خوراکی و دارویی به علت دارا بودن ترکیبات موثره بالقوه، به‌طور گسترده در درمان بیماری‌ها از جمله دیابت مورد پذیرش جهانی قرار گرفته است. جهت القای دیابت میلوس در مدل‌های حیوانی از استرپتوزوسین به‌عنوان عامل دیابتی‌کننده استفاده می‌شود که اغلب سبب آسیب کلیوی، سمیت کبدی و استرس اکسیداتیو و افزایش میزان کلسترول خون همراه است (۲۴،۲۵). استرپتوزوسین یک آنالوگ ان-استیل گلوکزآمین می‌باشد که سبب رهائش نیتریک اکساید، افزایش گلیکوزیله شدن پروتئین‌های پانکراس و افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌شود که یکی از دلایل تخریب سلول‌های بتای پانکراس می‌باشد (۲۶). استرس اکسیداتیو نتیجه ناهماهنگی پراکسیدانت‌ها و آنتی‌اکسیدانت‌ها در ارگانسیم بوده و افزایش استرس اکسیداتیو در بیماری دیابت تیپ ۱ مشاهده شده است. افزایش رادیکال آزاد اکسیژن و استرس اکسیداتیو بر متابولیسم گلوکاتایون سیتوزول و میتوکندری اثر می‌گذارد و افزایش ۵ تا ۸ برابری

۲۲/۵ درصد) و تری گلیسیرید (۲۲/۷ و ۲۵/۵ درصد) نسبت به گروه کنترل از خود نشان دادند و سطح ALT و AST هم در نمونه‌های دیابتی کاهش پیدا کرد که نتایج با مطالعه ما همخوانی دارد (۳۵). مطالعه دیگری توسط Byung و همکاران بر آگزوپلیمرهای تولید شده توسط میسیلیوم‌های قارچ *Lentinus edodes* روی اثرات کاهندگی قندخون موش‌های صحرایی دیابتی شده توسط استرپتوزوسین انجام گرفت که تجویز میزان ۲۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم آگزوپلیمر به موش‌های دیابتی میزان قند سرم خون را به میزان ۲۱/۵ درصد، میزان کلسترول ۲۱/۱ درصد و میزان تری گلیسیرید را ۴۴/۵ درصد نسبت به گروه کنترل کاهش داده است که همراستا به نتایج مطالعه ما می‌باشد (۳۶). در تحقیقی که بر آگزوپلیمرهای به‌ست آمده از میسیلیوم‌های محیط کشت قارچ *Ganoderma lucidum* با میزان ۱۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم روی موش‌های دیابتی شده توسط استرپتوزوسین انجام شد اثرات کاهندگی گلوکز سرم خون و همچنین کاهش کلسترول و تری گلیسیرید به ترتیب ۱۴/۷ درصد و ۳۱/۴ درصد و افزایش HDL به میزان ۳۷/۷ درصد نسبت به گروه کنترل مشاهده شد و میزان ALT و AST در گروه‌های دریافت کننده عصاره قارچ نسبت به کنترل کاهش معنی‌دار داشت که با نتایج مطالعه ما قرابت دارد (۳۷).

مطابق نتایج فوق، قارچ مورد مطالعه ما نیز توانایی قابل توجهی در کاهش میزان قند خون موش سوری و در نتیجه کنترل بیماری دیابت را داشته است به طوری که سطح سرمی تری گلیسیرید، آنزیم ALT کاهش قابل قبولی داشته است و از مطالعات هیستوپاتولوژیکی مشخص گردیده است که تجویز و افزایش دوز عصاره متانولی، سبب بهبودی در وضعیت بافتی کبد شده است. در نهایت پیشنهاد می‌گردد در مطالعات آتی به شناسایی اختصاصی ترکیبات موثر موجود در قارچ ترامتس ورسیکالر که بر فاکتورهای دخیل در دیابت تاثیرگذار هستند پرداخته شود.

شده از پنج قارچ دارویی (*Coriolus versicolor* , *Cordyceps sinensi* , *Paecilomyces japonica*, *Armillariella mellea*, *Fomes fomentarius*) بر روی اثرات کاهندگی قندخون در موش‌های دیابتی شده توسط استرپتوزوسین دریافتند که آگزوپلیمرهای استخراج شده از قارچ *Coriolus versicolor* (ترامتس ورسیکالر) نسبت به چهار قارچ دیگر اثرات کاهندگی قند خون بهتری از خود نشان داده است به طوری که حدود ۲۹ درصد نسبت به نمونه شاهد بیشتر قند خون را کاهش داده است (۳۲). در مطالعه‌ای دیگر که از عصاره آب داغ حاصل از قارچ *Ganoderma lucidum* بروی اثرات کاهندگی قندخون در موش‌های دیابتی شده توسط آلوکسان صورت گرفته، گزارش شده است که تجویز عصاره آبی آن با غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم اثرات بارزی از کاهندگی خون در موش‌های دیابتی شده دریافت کننده عصاره در مقایسه با موش‌های دیابتی عدم دریافت عصاره از خود نشان داد (۱۲). در بررسی که *keiko* و همکارانش با خوراندن عصاره آبی *Grifola frondosa* به موش‌های دیابتیک (*KK-A'*) انجام دادند دریافتند که این عصاره با تاثیر روی رسپتورهای انسولینی سبب کاهش قند خون در بدن موش‌های دیابتی شده دریافت کننده عصاره در مقایسه با موش‌های که عصاره دریافت نکردند، گردید (۳۳). در مطالعاتی که در سال‌های ۲۰۰۰ و ۲۰۰۳ روی پلی ساکاروپپتید (PSP) حاصل از قارچ ترامتس ورسیکالر انجام شد دریافتند که این پلی ساکاروپپتیدها می‌توانند به عنوان کمکی در درمان هپاتیت کبدی و همچنین محافظ کبد در مقابل سم‌های کبدی استفاده گردد (۳۴). طی مطالعه Byung و همکاران در کشور کره جنوبی بر آگزوپلیمرهای استخراج شده از قارچ‌های *Ganoderma applanatum* و *Collybia confluens* با غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم روی موش‌های دیابتی شده توسط استرپتوزوسین، اثرات کاهندگی قند خون به ترتیب به نسبت ۲۲ و ۲۵/۹ درصد و همچنین سبب کاهش سطح کلسترول (۲۰/۳ و

سپاسگزاری

این مقاله نتیجه طرح تحقیقاتی مصوب در دانشگاه علوم پزشکی مازندران و بخشی از پایان نامه خانم صدف آزدو دانشجوی دکتری داروسازی واحد پردیس

دانشگاه علوم پزشکی مازندران - رامسر می باشد. از تمام کسانی که ما را در انجام این پروژه یاری کردند کمال تقدیر و تشکر را داریم.

References

- Whiting DR, Guariguata L, Weil C, Shaw J. IDF diabetes atlas: global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030. *Diabetes Res Clin Pract* 2011; 94(3): 311-321.
- Piero M, Nzaro G, Njagi J. Diabetes mellitus-a devastating metabolic disorder. *Asian Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences* 2014; 4(40): 1-7.
- Ni H, Soe HHK, Htet A. Determinants of abnormal liver function tests in diabetes patients in Myanmar. *International Journal of Diabetes Research* 2012; 1(3): 36-41.
- Khokhar ZU, Ismail A. Investigation of Association Between Severity of Diabetes and Alkaline Phosphatase in Human. 2014. *American-Eurasian Journal of Toxicological Sciences* 2014; 6(4): 136-141.
- Rahimi R, Nikfar S, Larijani B, Abdollahi M. A review on the role of antioxidants in the management of diabetes and its complications. *Biomed Pharmacother* 2005; 59(7): 365-373.
- Chen J, Jin X, Zhang L, Yang L. A study on the antioxidant effect of *Coriolus versicolor* polysaccharide in rat brain tissues. *Afr J Tradit, Complement Altern Med* 2013; 10(6): 481-484.
- NgW J WC, SzeMY D. The Use of Medicinal Mushroom or Herb as Effective Immunomodulatory Agent. *Herbal Medicine: Open Access* 2016; 2(1): 1-13.
- Yu Z-T, Liu B, Mukherjee P, Newburg DS. *Trametes versicolor* extract modifies human fecal microbiota composition in vitro. *Plant Foods Hum Nutr* 2013; 68(2): 107-112.
- Vazirian M, Dianat S, Manayi A, Ziari R, Mousazadeh A, Habibi E, et al. Anti-inflammatory effect, total polysaccharide, total phenolics content and antioxidant activity of the aqueous extract of three basidiomycetes. *Research Journal of Pharmacognosy* 2014; 1(1): 15-21.
- Tripathy SS, Rajoriya A, Mahapatra A, Gupta N. Biochemical & antioxidant properties of wild edible mushrooms used for food by tribal of eastern india. *Int J Pharm Pharm Sci* 2016; 8(4): 194-149.
- Oluba OM, Onyeneke EC, Ojeh GC, Idonije BO. Evaluation of the hypoglycemic effect of aqueous extract of *Ganoderma lucidum* on STZ-induced diabetic wistar rats. *Ann Biol Res* 2010; 1(3): 41-49.
- Mohammed A, Adelaiye A, Abubakar M, Abdurahman E. Effects of aqueous extract of *Ganoderma lucidum* on blood glucose levels of normoglycemic and alloxan-induced diabetic wistar rats. *Journal of Medicinal Plants Research* 2007; 1(2): 034-037.
- Tamez EJ GL, Calderan MT, Rangel R, Ocas F, Castaneda C, Gomes X. hypoglycemic and hypocholesterolemic effects of aqueous and methanolic extracts of *Lentinus lepideus*, *Calvatia cyathiformis* and *Ganoderma applanatum*, from northeastern Mexico, in wister rat. *Journal of Medicinal plant*

- Research 2013; 7(11): 661-668.
14. Yang BK, Kim GN, Jeong YT, Jeong H, Mehta P. Hypoglycemic effects of exo-biopolymers produced by five different medicinal mushrooms in STZ-induced diabetic rats. *Mycobiology* 2008; 36(1): 45-49.
 15. Yang JP, Hsu T, Lin F, Hsu W, Chen Y. Potential antidiabetic activity of extracellular polysaccharides in submerged fermentation culture of *Coriolus versicolor* LH1. *Carbohydr Polym* 2012; 90(1): 174-180.
 16. Jia J, Zhang X, Hu YS, Wu Y, Wang QZ, Li NN, et al. Evaluation of in vivo antioxidant activities of *Ganoderma lucidum* polysaccharides in STZ-diabetic rats. *Food Chem* 2009; 115(1): 32-36.
 17. Azadbakht M, Safapour SH, Ahmadi AH, Ghasemi M, Shokrzadeh M. Anti diabetic effects of aqueous fruits extract of *Diospyros lotus* L. on streptozotocin-induced diabetic rats and the possible morphologic changes in the liver, kidney and heart. *Journal of Pharmacognosy Phytother* 2010; 2(2): 10-16.
 18. Shokrzadeh M, Azadbakht M, Abadean S, Abotorabi M. The Effect of *Diospyros lotus* on Liver Glutathione Level in Mice Administered by *Senecio vulgaris* Extract. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2013; 23(98): 200-206 (Persian).
 19. Nematbakhsh M, Hajhashemi V, Ghannadi A, Talebi A, Nikahd M. Protective effects of the *Morus alba* L. leaf extracts on cisplatin-induced nephrotoxicity in rat. *Res Pharm Sci* 2013; 8(2): 71-77.
 20. Oyedemi S, Bradley G, Afolayan A. Antidiabetic Activities of Aqueous Stem Bark Extract of *Strychnos ningsii* Gilg in Streptozotocin-nicotinamide Type 2 Diabetic Rats. *Iran J Pharm Res* 2012; 11(1): 221-228.
 21. Zarei A, Ashtiyani SC, Rasekh F, Mohammadi A, Jabary A. The effects of *Physalis Alkekengi* extract on lipids concentrations in rats. *Arak Med Univ J* 2011; 14(2): 36-42.
 22. Atangwho IJ, Ebong PE, Eyong EU, Asmawi MZ, Ahmad M. Synergistic antidiabetic activity of *Vernonia amygdalina* and *Azadirachta indica*: Biochemical effects and possible mechanism. *J of Ethnopharmacol* 2012; 141(3): 878-887.
 23. Shokrzade M, Pakravan N, Sheikholeslamian S. The protective effect of N-acetyl cysteine on glutathione levels and serum cholinesterase in acute poisoning of diazinon, in mice. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2013; 22(2-3): 2-11 (Persian).
 24. Adisa RA CM, Olorunsogo OO. Hypoglycemic activity of *Buchholzia coriacea* (Capparaceae) seeds in streptozotocin-induced diabetic rats and mice. *Experimental and Toxicologic Pathology* 2011; 63(7): 619-625.
 25. Cho EJ, Hwang HJ, Kim SW, Oh JY, Baek YM, Choi JW, et al. Hypoglycemic effects of exopolysaccharides produced by mycelial cultures of two different mushrooms *Tremella fuciformis* and *Phellinus baumii* in ob/ob mice. *Appl Microb Biotechnol* 2007; 75(6): 1257-1265.
 26. Donner H, Rau H, Walfish PG, Braun J, Siegmund T, Finke R, et al. CTLA4 Alanine-17 Confers Genetic Susceptibility to Graves' Disease and to Type 1 Diabetes Mellitus 1. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82(1): 143-146.
 27. Baynes JW. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes* 1991; 40(4): 405-412.
 28. El-Demerdash F, Yousef M, El-Naga NA. Biochemical study on the hypoglycemic effects of onion and garlic in alloxan-induced

- diabetic rats. *Food Chem Toxicol* 2005; 43(1): 57-63.
29. Lovy A, Knowles B, Labbe R, Nolan L. Activity of edible mushrooms against the growth of human T4 leukemic cancer cells, HeLa cervical cancer cells, and *Plasmodium falciparum*. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants* 2000; 6(4):49-57.
30. Chu KK, Ho SS, Chow AH. *Coriolus versicolor*: A Medicinal Mushroom with Promising Immunotherapeutic Values. *J Clin Pharmacol* 2002; 42(9): 976-984.
31. Habibi E, Sadat-Ebrahimi SE, Mousazadeh SA, Amanzadeh Y. Mycochemical Investigation of the Turkey Tail Medicinal Mushroom *Trametes versicolor* (Higher Basidiomycetes): A Potential Application of the Isolated Compounds in Documented Pharmacological Studies. *Int J Med Mushrooms* 2015; 17(3): 255-265.
32. Yang BK, Kim GN, Jeong H, Mehta P, Song Ch. Hypoglycemic Effects of Exo-biopolymers Produced by Five Different Medicinal Mushrooms in STZ-induced Diabetic Rats. *Mycobiology* 2008; 36(1): 45-49.
33. Kubo K, Nanba H. Anti-diabetic mechanism of maitake (*Grifola frondosa*): Mushroom Biology and Mushroom Products University Park. Japan: Penn State University. 1996.
34. Cheng KF, Leung PC. General review of polysaccharopeptides (PSP) from *C. versicolor*: pharmacological and clinical studies. *Cancer Therapy*. 2008; 6: 117-130.
35. Yang BK, Jung YS, Song CH. Hypoglycemic Effects of *Ganoderma applanatum* and *Collybia confluens* Exo-polymers in Streptozotocin-induced Diabetic Rats. *Phytother Res* 2007; 21(11): 1066-1069.
36. Yang BK, Kim DH, Jeong SC, Choi YS, Shin JS, Song Ch, et al. Hypoglycemic Effect of a *Lentinus edodes* Exopolymer Produced from a Submerged Mycelial Culture. *Bioscience Biotechnology Biochemistry* 2002; 66(5): 937-942.
37. Byung KY, Wilson AM, Cho KY, Hyun SCh. Hypoglycemic effect of Exo- and Endo-biopolymers produced by submerged mycelial Culture of *Ganoderma lucidum* in streptozotocin-induced Diabetic Rats. *J Microbiol, Biotechnol* 2004; 14(5): 972-977.