

Research Paper

A Stereological Study on Colon Tissue Layers of Type 1 Diabetic Rats Following Thiamine and Lead Acetate Use



*Rahmat Allah Fatahian Dehkordi¹ , Soren Nooraie¹, Alborz Yadollahi¹

1. Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Shahrekord, Shahrekord, Iran.



Citation: Fatahian Dehkordi R, Nooraie S, Yadollahi A. [A Stereological Study on Colon Tissue Layers of Type 1 Diabetic Rats Following Thiamine and Lead Acetate Use (Persian)]. Journal of Arak University of Medical Sciences (JAMS). 2021; 24(1):36-49. <https://doi.org/10.32598/JAMS.24.1.4927.2>

 <https://doi.org/10.32598/JAMS.24.1.4927.2>



Article Info:

Received: 28 Nov 2019

Accepted: 05 Oct 2020

Available Online: 01 April 2021

ABSTRACT

Background and Aim Diabetes is a well-known disease with such complications, as retinopathy, nephropathy, and gastropathy. This study aimed to investigate the effects of thiamine and lead acetate on the colon of induced-alloxan diabetic rats; the effects of which become obvious in the treatment or reduction of tissue complications caused by diabetes.

Methods & Materials In this study, 63 rats weighing 200 g were divided into 9 groups, as follows: 1) Group of diabetes+pb acetate 200 ppm; 2) Group of thiamin+pb acetate 200 ppm; 3) Group of thiamine+pb acetate 1000 ppm; 4) Group of diabetes+thiamine+Pb acetate 1000 ppm; 5) Diabetes group; 6) Group of diabetes+thiamine; 7) Group of diabetes+thiamine+acetate 200 ppm; 8) Group of diabetes+pb acetate 1000 ppm, and 9) the control group. After 20 days, the study samples were removed from the abdominal cavity and the slides were prepared by routine tissue method. Then, the slides were evaluated for stereological and histomorphometric studies.

Ethical Considerations This study was approved by the Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University (Code: GRN1M1903). Moreover, all methods used in the present study, including facilitation, were conducted per the ethical principles of animal restraint.

Results The mean thickness of mucosa-sub-mucosa suggested significant differences in groups 6 and 7, compared to other treatment groups. There was a significant difference in the thickness of the muscle layer between the control and all treatment groups except for groups 2, 6, and 7. There was no significant difference in the mean thickness of adventitia layer in groups 1, 7, and 8, and the control group. The obtained results also indicated a significant difference concerning different layers of colon tissue between group 1 and controls.

Conclusion Based on the present research results, thiamine presented enhancing effects on muscle layer thickness and adventitia layer thickness. Furthermore, the area of the mucosal layer was not affected by the improving effects of thiamine.

Keywords:

Thiamine, Stereology, Diabetes, Rats, Colon

Extended Abstract

1. Introduction

D

diabetes is a well-known disease, i.e., generally caused by the disorder of insulin hor-

none metabolism, the disorder of hormone production, or the disruption of the production of membrane cell surface receptors on its target cells [4]. Diabetes has such complications as, retinopathy, nephropathy, and the involvement of the main peripheral arteries; it presents gastrointestinal motility disorders [5]. Thiamine is the first known B vitamin

* Corresponding Author:

Rahmat Allah Fatahian Dehkordi, PhD.

Address: Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Shahrekord, Shahrekord, Iran.

Tel: +98 (38) 32324427

E-mail: fatahian_1349@yahoo.com

in energy supply, fat metabolism, and nucleotides. Besides, it plays an essential role as a coenzyme, especially in the formation and development of brain cells [8]. The accumulation of lead in the body can have destructive effects on the blood, bone marrow, kidney, and gastrointestinal blood cells [12]. In a report (Leff 2018), the injection of lead acetate in male mice with diabetes mellitus increased fasting blood glucose levels [15]. This study was designed to investigate the effects of thiamine and lead acetate on the colon of diabetic rats.

2. Materials and Methods

In all stages of this research, the ethical principles of working with laboratory animals in the laboratory of Shahrekord University were considered. This study was approved by the Research Ethics Committee of Shahrekord Veterinary School. In total, 63 rats with an average weight of 220-200 g were prepared from the animal house of Shahrekord University.

The examined rats were classified into 9 groups, as follows:

- 1) Diabetes+acetate group 200 ppm;
- 2) Thiamine+acetate group 200 ppm;
- 3) Thiamine group+lead acetate 1000 ppm;
- 4) Diabetes+thiamine+lead acetate 1000 ppm group;
- 5) Diabetes group;
- 6) Diabetes+thiamine group;
- 7) Diabetes+thiamine+acetate group 200 ppm;
- 8) Diabetes+acetate group 1000 ppm;
- 9) Control group.

After 20 days of treatment, the explored rats were anesthetized with ether anesthetic and facilitated by human methods. The abdominal cavity was opened and the large intestine came out of the cavity. Different layers of colon tissue, including mucosa, submucosa, muscle, and adventitia were examined under a microscope for histology and histometric. For stereological evaluation, using point grade, the area of different wall layers of the colonic tissue structure was examined.

3. Results

The morphometric findings revealed that the mean thickness of the mucosal-submucosal layer was the highest in treatment group 6 (diabetes+thiamine) and the lowest in group 7 (diabetes+thiamine+acetate 200 ppm) (Figures 1 A, B & C). These results also indicated that these differences were significant in groups 6 and 7, compared to other treatment groups and the controls, except for group 5 (diabetic group) concerning analysis at $P<0.05$. Morphometric results revealed a significant difference in the mean thickness of the smooth muscle layer of the colon wall in treatment groups 1 to 8, except for group 2 (thiamine+200 ppm lead acetate), compared to the control group ($P<0.05$). The obtained results presented no significant difference between the mean thickness of the muscle layer of group 2 and the control group ($P<0.05$). The average area of the mucosal-submucosal layer data suggested that in groups 1 and 8, there was a significant difference, compared to the control group ($P<0.05$); in both of them, a decrease was observed in this area. The results of the area parameter study in the muscle layer of the colon indicated that only in group 1, there was a significant difference, compared to the control group ($P<0.05$). Besides, this difference was in the direction of increasing the area.

Examining serous layer surface presented no significant difference, compared to the control group ($P<0.05$). There was only a significant difference between the groups of diabetes+lead 200 acetate and thiamine+lead 200 acetates in this respect.

4. Discussion and Conclusion

The present study investigated the histomorphometric changes of different layers of the colon in diabetic rats. As the present study revealed, the effects of thiamine and lead acetate in two different doses were well evident on the colon wall layers. The obtained data highlighted a significant decrease in the thickness of the mucosal-submucosal layer of groups 1, 7, and 8 (diabetes + acetate 1000 & 200 groups & diabetes + thiamine + lead acetate 200 groups), compared to the control group; this decreasing trend well reflects the damaging effects of lead acetate on the thickness of the mucosal-submucosal layer. The results of some studies suggested that free radicals are the main cause of many disorders in diabetes [21]. The collected results indicated that the thickness of the muscle layer, including decreasing changes in group 5 (diabetes) compared to the controls. However, Nowak et al. (1995) found that, in contrast to the data of the present study, induced experimental diabetes increased the thickness of the muscle layer [27]. Surface findings from the study of colonic tissue stereology

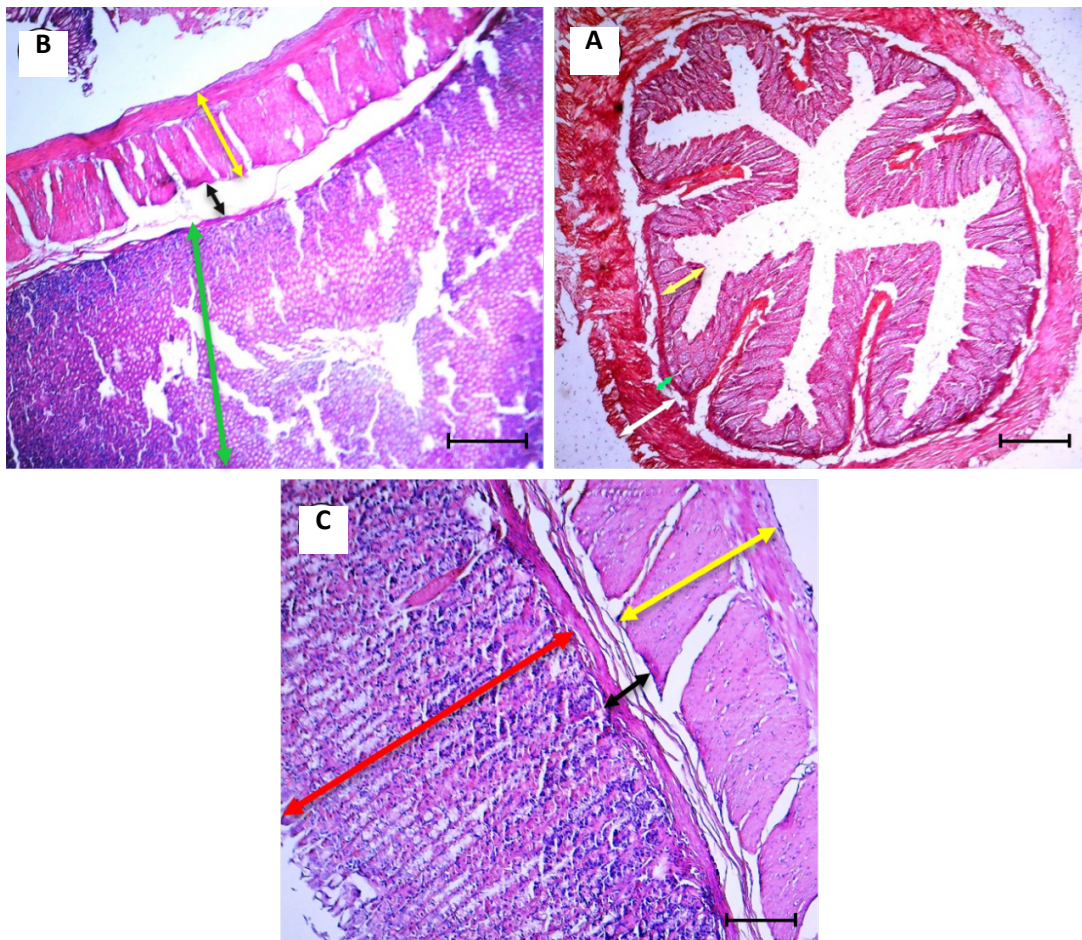


Figure 1. Representative photomicrograph showing quantitative histomorphometric changes of colon tissues from rats

Figure A. The micrograph of colonic tissue in the control group

Note the regular tissue structure of the various layers of the colon wall. Mucous layer (yellow double-sided arrow) with submucosal layer (green double-sided arrow) and muscle layer (white double-sided arrow) (hematoxylin and eosin staining; Bar: 50 μ m).

Figure B. The micrograph of colon tissue in the diabetic group

Note the disjointed tissue structure of the various layers of the colon wall. The mucosal layer (green double-sided arrow) is well visible along with the submucosal layer (black double-sided arrow) and the muscle layer (yellow double-sided arrow) (hematoxylin and eosin staining; Bar: 15 μ m).

Figure C. Colon tissue micrograph in the group of diabetes + thiamine + acetate 1000 ppm

Note the tissue structure of the different layers of the colon wall. The mucosal layer (red bilateral arrow) is visible along with the submucosal layer (black bilateral arrow) and the muscular layer (yellow bilateral arrow) (hematoxylin and eosin staining; Bar: 15 μ m).

presented that in group 1, the average area of different tissue layers was significantly different from the control group. These changes signified the effects of diabetes and lead acetate on colon tissue in the direction of increasing (mucosal layer area-submucosal) and decreasing (muscle layer area and adventitia). The results of another study revealed that diabetes caused a peripheral and longitudinal enlargement

of the colon wall [29]. Considering the induction of experimental diabetes and subsequent administration of thiamine in the rats of the treatment group, thiamine, in some of the studied groups, has improved effects on muscle layer thickness and adventitia layer thickness. However, the mean area of the mucosal layer was not affected by the improving effects of thiamine.

Ethical Considerations

Compliance with ethical guidelines

This study was approved by the ethics code GRN1M1903 in the Faculty of Veterinary Medicine of Shahrekord University. Furthermore, all the methods used, including facilitation, were performed per the ethical principles of animal restraint.

Funding

The project was supported by Faculty of Veterinary Medicine, Vice Chancellor for Research, Shahrekord University.

Authors' contributions

Conceptualization: Rahmat Allah Fatahian, Soren Nouraei; Research: Rahm Atollah Fatahian, Alborz Yadalahi; Editors: Soren Nouraei, Alborz Yadalahi, Rahmat Allah Fatahian.

Conflicts of interest

The authors declared no conflicts of interest.

Acknowledgements

The authors want to thank all staff of the Physico-Pharmacology and Histo-Pathology Laboratories, as well as the esteemed Vice Chancellor for Research of Shahrekord University and Faculty.

This Page Intentionally Left Blank

مقاله پژوهشی

بررسی استریولوژیک لایه‌های بافتی کولون موش‌های دیابتی نوع ۱ به دنبال مصرف تیمین و استات سرب

* رحمت‌الله فتاحیان دهکردی^۱، سورن نورایی^۱، البرز یدالهی^۱

۱. گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: دیابت بیماری شناخته‌شده‌ای است که عوارضی مانند رتینوپاتی، نفروپاتی و گاستروپاتی را به همراه دارد. این مطالعه به منظور بررسی اثر تیمین و استات سرب بر کولون موش‌های دیابتی شده با آلوکسان طرح‌ریزی شده است که اثرات آن در درمان و یا کاهش عوارض بافتی ناشی از دیابت آشکار می‌شود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه ۶۳ عدد موش با میانگین وزنی 200 ± 5 گرم در نه گروه دسته‌بندی شدند. (۱) گروه دیابت+استات 200 ppm؛ (۲) گروه تیمین+استات 200 ppm؛ (۳) گروه تیمین+استات سرب 1000 ppm؛ (۴) گروه دیابت+تیمین+استات سرب 1000 ppm؛ (۵) گروه دیابت؛ (۶) گروه دیابت+تیمین؛ (۷) گروه دیابت+تیمین+استات 200 ppm؛ (۸) گروه دیابت+استات 1000 ppm؛ (۹) گروه کنترل. پس از یک دوره بیست روزه، نمونه‌ها از حفره شکمی خارج و با استفاده از روش معمول بافتی، اسلایدهایی جهت ارزیابی استریولوژی و هیستومورفومتری تهیه شد.

ملاحظات اخلاقی: این مطالعه با کد اخلاق GRN1M1903 در دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهرکرد تأیید شده و همه روش‌های به کار گرفته شده در پژوهش حاضر، از جمله آسان‌کشی با رعایت کامل اصول اخلاقی مقید کردن حیوان انجام پذیرفت.

یافته‌ها: میانگین ضخامت لایه مخاطی زیرمخاطی در گروه‌های شش و هفت نسبت به سایر گروه‌های تیمار اختلاف معناداری نشان داد. ضخامت لایه عضلانی بین گروه کنترل و همه گروه‌های تیمار به استثنای گروه‌های دو، شش و هفت، اختلاف آماری معناداری از خود نشان داد. در میانگین ضخامت لایه ادوانتیس در گروه‌های یک، هفت و هشت اختلاف معناداری با گروه کنترل مشاهده نشد. نتایج نیز بیانگر اختلاف آماری معناداری در مساحت لایه‌های مختلف بافت کولون بین گروه یک و گروه کنترل بود.

نتیجه‌گیری: با بررسی نتایج حاصل از این مطالعه، به نظر می‌رسد تیمین اثرات بهبود را در ضخامت لایه عضلانی و ضخامت لایه ادوانتیس به دنبال داشته است. از سوی دیگر، مساحت لایه مخاطی تحت تأثیر اثرات بهبوددهنده تیمین نبود.

اطلاعات مقاله:

تاریخ دریافت: ۰۷ آذر ۱۳۹۸

تاریخ پذیرش: ۱۴ مهر ۱۳۹۹

تاریخ انتشار: ۱۲ فروردین ۱۴۰۰

کلیدواژه‌ها:

تیمین، استریولوژی، دیابت، موش، کولون

مقدمه

این بیماری در دنیا بیماری شناخته‌شده‌ای است که به طور کلی به دلیل اختلال در متابولیسم هورمون انسولین، اختلال در تولید هورمون و یا اختلال در تولید گیرنده‌های سطح غشای سلول‌های هدف آن ایجاد می‌شود [۴]. عواقب متابولیک دیابت به خوبی شناخته شده است و عوارضی مانند رتینوپاتی، نفروپاتی ایجاد کرده و درگیری عروق اصلی محیطی (به طور وسیع) و اختلالات حرکتی دستگاه گوارش را از خود نشان می‌دهد [۵].

از جمله عوارضی که دیابت در دستگاه گوارشی ایجاد می‌کند می‌توان گاستروپارازی، اتروپاتی (که می‌تواند باعث اسهال، بی‌اختیاری مدفوع و یبوست شود) و کبد چرب غیرالکلی را نام

اختلال شایعی که به طور چشم‌گیر در بیشتر کشورها، از جمله ایران به وفور مشاهده می‌شود، افزایش قند خون (دیابت) است [۲]. بر اساس مطالعات اپیدمیولوژیک صورت گرفته، شیوع جهانی دیابت در سال ۲۰۱۷ حدود ۴۲۵ میلیون نفر گزارش شده است و همچنین تخمین زده می‌شود تا سال ۲۰۴۵ این آمار به ۶۲۹ میلیون نفر افزایش یابد. به نظر می‌رسد این افزایش میزان شیوع به طور قابل توجهی با تغییرات سبک زندگی، عادات غذایی ناسالم و افزایش میزان چاقی متناسب است [۳].

* نویسنده مسئول:

دکتر رحمت‌الله فتاحیان دهکردی

نشانی: شهرکرد، دانشگاه شهرکرد، دانشکده دامپزشکی، گروه علوم پایه.

تلفن: ۳۲۳۲۴۴۲۷ (۳۸) ۹۸+

پست الکترونیکی: fatahian_1349@yahoo.com



بافت‌شناسی و استریولوژی بود.

مواد و روش‌ها

حیوانات و شرایط نگهداری

در تمام مراحل این تحقیق، اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی در آزمایشگاه دانشگاه شهرکرد رعایت شده و توسط کمیته اخلاق معاونت پژوهشی دانشکده دامپزشکی شهرکرد مورد تأیید قرار گرفت.

تعداد ۶۳ عدد موش بامیانگین وزنی ۲۲۰-۲۰۰ گرم از محل خانه حیوانات دانشگاه شهرکرد تهیه شد. جهت سازگاری موش‌ها با شرایط جدید به مدت یک هفته در رطوبت ۲۴ درصد و دمای نسبی 22 ± 1 درجه در بهار ۱۳۹۷ با سیکل روشنایی تاریکی دوازده ساعته نگهداری شدند.

به منظور ایجاد محیط مناسب برای موش‌ها، کف قفس‌ها با خاک اره پوشیده شد. جهت حفظ بهداشت، قفس‌ها هر سه روز یکبار تمیز شدند. همچنین آب و مواد غذایی به مقدار کافی در اختیار حیوانات قرار گرفت.

گروه‌بندی

پس از سازگاری موش‌ها با محیط جدید، حیوانات به صورت تصادفی به نه گروه (در هر گروه هفت نمونه) تقسیم‌بندی شدند. در ابتدا جهت القای دیابت در دسته موش‌های دیابتی (۴۲ سر موش)، آلوکسان با دز ۲۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به صورت درون‌صفاقی (i.p.) تزریق شد و پس از ۷۲ ساعت با انتخاب چند موش از این دسته به صورت تصادفی، اندازه‌گیری قند خون آن‌ها در شرایط ناشتا جهت تأیید دیابتی شدن موش‌ها صورت پذیرفت. موش‌های با قند خون بالاتر از ۱۲۰ دیابتی در نظر گرفته شد.

سیس هفت سر از موش‌های دیابتی به عنوان گروه دیابت مد نظر قرار گرفت و به سایر موش‌های دیابتی، تیمامین و استات سرب به تنهایی و همراه با هم مطابق تقسیم‌بندی که در ذیل ارائه شده است، تزریق شد. در آخر گروه‌های کنترل و تیمار بدین صورت قابل جمع‌بندی است:

گروه ۱: به عنوان گروه دیابت (آلوکسان با دز 220 mg/kg) همراه با استات سرب (200 ppm) در نظر گرفته شد.

گروه ۲: این گروه به عنوان گروه تیمامین (70 mg/kg) همراه با استات سرب (200 ppm) در نظر گرفته شد.

گروه ۳: به عنوان موش‌های گروه تیمامین (70 mg/kg) همراه با استات سرب (1000 ppm) در نظر گرفته شد.

گروه ۴: این گروه از موش‌های دیابتی شده به صورت روزانه و خوراکی، تیمامین (70 mg/kg) همراه با استات سرب با غلظت

برد [۶]. ارتباط بین شرایط میکروبی روده و هموستاز بدن و التهابات مزمن، سبب ایجاد عدم تحمل گلوکز طبیعی می‌شود. در مدل‌های حیوانی، تغییرات میکروبی روده، هموستاز و التهابات بافتی، سبب پیشرفت چاقی و مقاومت انسولینی شده که می‌تواند به دلیل تغییر متابولیسم اسیدهای چرب در بافت چربی و کبد باشد [۷].

تیمامین، اولین ویتامین B شناخته‌شده در تأمین انرژی، متابولیسم چربی و نوکلئوتیدها بوده و به‌خصوص در پیدایش و تکامل سلول‌های مغز، نقش مهمی را به عنوان کوآنزیم ایفا می‌کند [۸].

تیمامین در روده کوچک، عمدتاً در دوازدهه جذب شده و استرهای تیمامین به وسیله نوکلئوتید پیروفسفاتاز لوزالمعده‌ای یا آلکالاین فسفاتاز لوزالمعده‌ای هیدرولیز می‌شود. به این جهت تیمامین ساختار د-فسفریله‌شده‌ای را تشکیل داده که توسط سلول‌های انتروسیست (سلول‌های جاذب استوانه‌ای روده کوچک) از طریق انتقال‌دهنده‌های تیمامین در غلظت پایین و از طریق انتشار در غلظت بالای تیمامین، جذب می‌شود [۹].

ارتباط بین تیمامین و دیابت در بیشتر مقالات و نشریات گزارش شده است. تحقیقات نشان داده است که درصد قابل توجهی از مباحث پیرامون سلامت (۳۶-۴۷ درصد)، در شرایط هایپرگلیسمی (افزایش قند خون) مانند رژیم غذایی با قند بالا سبب کمبود تیمامین شده و می‌تواند ارتباط نزدیکی با دیابت و بارداری داشته باشد.

در مطالعه‌ای که توسط لانگ و همکاران انجام شد ذخایر تیمامین در موش‌های مبتلا به دیابت کاهش می‌یابد [۱۰]. سطح تیمامین کاهش یافته می‌تواند نتایجی مانند کاهش فعالیت آنزیم‌ها، تغییر در فعالیت میتوکندری‌ها، ضعف در متابولیسم اکسیداتیو و کاهش تولید انرژی را به دنبال داشته باشد [۱۱].

تجمع سرب در بدن می‌تواند آثار مخربی در خون، سلول‌های خونی مغز استخوان، کلیه و دستگاه گوارش ایجاد کند [۱۲]. سمیت سرب ارتباط نزدیکی با سن، جنسیت، میزان و مدت زمان تماس با سرب، حلالیت، مراحل اکسیداسیون فلز، درصد اشباع و میزان ذخیره‌سازی دارد [۱۳].

سرب می‌تواند از طریق جذب پوستی یا تنفس (دم) به وسیله ترشحات صفراوی به دستگاه گوارش وارد شده و سبب مسمومیت شود [۱۴]. در گزارشی از لفت، تزریق استات سرب در موش‌های نر که در آن‌ها دیابت ایجاد شده بود، باعث افزایش بیان ژن‌های گلوکونوزونیک و افزایش گلوکز شش فسفاتاز در کبد و همچنین افزایش قند خون ناشتا شد [۱۵].

هدف از پژوهش حاضر، بررسی اثر تیمامین بر موش‌های دیابتی شده و به دنبال مصرف استات سرب (در دز متفاوت) از دیدگاه

1000 ppm دریافت کردند.

گروه ۵: به عنوان موش‌های دیابتی در نظر گرفته شد.

گروه ۶: موش‌های دیابتی شده‌ای هستند که تیمین را با دُز 70 mg/kg به صورت داخل صفاقی دریافت کردند.

گروه ۷: موش‌های دیابتی شده‌ای هستند که تیمین را با دُز 70 mg/kg به صورت داخل صفاقی و استات سرب را با غلظت 200 ppm به صورت خوراکی دریافت کردند.

گروه ۸: موش‌هایی هستند که دیابتی بوده و استات سرب خوراکی را با غلظت 1000 ppm مصرف کردند.

گروه ۹: موش‌هایی هستند که دیابتی نشده و به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شدند.

نمونه‌گیری

پس از یک دوره تیمار بیست روزه، موش‌ها توسط داروی بیهوشی اتر بیهوش شده و با روش انسانی، آسان‌کشی شدند. سپس حفره شکمی را باز کرده و روده بزرگ از حفره خارج و بافت‌های اضافی بر طرف شد. با مشخص کردن ساختار آناتومیکی کولون، این اندام در معرض دید قرار گرفت و توسط برش‌های صورت گرفته و برداشت بافت، با استفاده از سرم فیزیولوژی شست‌وشو داده شدند.

جهت تثبیت بافت مذکور، نمونه‌ها در ظروف حاوی فرمالین مرک بافر ۱۰ درصد قرار گرفته و به مدت ۷۲ ساعت داخل ظرف نگهداری شدند. پس از پارافین‌دهی و آب‌گیری، نمونه‌ها به وسیله دستگاه اتوتکنیکون آب‌گیری شده و قالب‌های بافتی تهیه شد.

با استفاده از دستگاه میکروتوم دوار به ضخامت پنج میکرومتر از نمونه‌ها مقاطع بافتی آماده شد. برش‌های بافتی آماده‌شده با استفاده از رنگ آمیزی بافتی همتاکسیلین و اتوزین رنگ آمیزی شدند. لایه‌های مختلف بافت کولون، از جمله مخاط، زیر مخاط، عضله و ادوانتیس توسط میکروسکوپ و از نظر هیستولوژی و هیستومتری بررسی و ارزیابی شدند. جهت ارزیابی استریولوژیکی با استفاده از گرید نقطه‌ای، مساحت لایه‌های مختلف دیواره‌ی ساختار بافتی کولون بررسی شد.

یافته‌ها

در این تحقیق تأثیر تیمین با دُز 70 mg/kg و استات سرب در دو دُز متفاوت 200 ppm و 1000 ppm به تنهایی بر بافت کولون بررسی شد. همچنین اثر هم‌زمان استات سرب و تیمین بر موش‌های دیابتی ارزیابی شد.

نتایج این مطالعه بر پایه اندازه‌گیری ضخامت لایه‌های مختلف بافتی همچون مخاط، زیرمخاط، عضله و ادوانتیس در جدول‌های شماره ۱ و ۲

مشخص شده است. تصاویر شماره ۱ تا ۳ بیان‌گر ساختار بافتی کولون در گروه‌های مختلف بوده و اندازه‌های هیستومتری در تصاویر نشان داده شده است.

در گروه کنترل، ساختار بافتی منظم کولون، شامل لایه‌های مخاطی زیرمخاطی، عضلات صاف دیواره و لایه ادوانتیس در نمونه‌های تهیه‌شده، مشاهده شد (تصویر شماره ۱).

پرزها در داخل ساختار یادشده به شکل منظم خود دیده شدند. سلول‌های استوانه‌ای به طور منظم و در حالت طبیعی هیستولوژیک خود قابل مشاهده بود. غدد لابیرکوهن نیز به مقدار طبیعی و با آرایش منظم در فاصله میان قاعده کرک‌های روده تا ماهیچه مخاطی قرار داشتند.

یافته‌های مربوط به ضخامت لایه‌های بافت کولون

نتایج حاصل از یافته‌های مورفومتریک نشان داد که میانگین ضخامت لایه مخاطی زیرمخاطی در گروه تیمار شش (دیابت+تیمین) بیشترین و در گروه هفت (دیابت+تیمین+استات 200 ppm) کمترین مقدار را به خود اختصاص داده بود.

این نتایج نیز نشان داد که این اختلافات در گروه‌های شش و هفت نسبت به سایر گروه‌های تیمار و گروه کنترل به استثنای گروه پنج (گروه دیابتی) از لحاظ آنالیز آماری و در سطح $P < 0.05$ معنادار بود.

نتایج مورفومتریک نشان داد که اختلاف آماری معناداری در میانگین ضخامت لایه عضلانی صاف دیواره کولون در گروه‌های تیمار یک تا هشت به استثنای گروه دو (تیمین+استات سرب 200 ppm) نسبت به گروه کنترل وجود دارد ($P < 0.05$).

یافته‌ها مشخص کرد که هیچ‌گونه اختلاف آماری معناداری بین میانگین ضخامت لایه عضلانی گروه دو و گروه کنترل وجود ندارد ($P > 0.05$). بررسی میانگین ضخامت لایه ادوانتیس نشان داد که این ضخامت در گروه دو (تیمین+استات) نسبت به گروه کنترل افزایش معنادار و در گروه‌های تیمار سه، چهار، پنج و شش نسبت به گروه کنترل کاهش معناداری یافته‌اند ($P < 0.05$) (جدول شماره ۱).

یافته‌های مربوط به مساحت لایه‌های بافت کولون

یافته‌های به‌دست‌آمده از آنالیز آماری میانگین مساحت لایه مخاط زیرمخاط نشان داد که در گروه‌های یک و هشت اختلاف معناداری نسبت به گروه کنترل در سطح $P < 0.05$ وجود دارد که در هر دوی آن‌ها کاهش مساحت مشاهده شد.

نتایج حاصل از بررسی پارامتر مساحت در لایه عضلانی کولون نشان داد که تنها در گروه یک اختلاف معناداری نسبت به گروه کنترل در سطح $P < 0.05$ وجود دارد که این اختلاف در راستای

جدول ۱. مقایسه میانگین ضخامت لایه‌های مختلف مخاط زیرمخاط، عضله و ادوانتیس در گروه‌های مطالعاتی کولون موش‌های نر بالغ بعد از بیست روز تیمار

گروه‌ها	عنوان	P	میانگین \pm انحراف معیار		
			مخاط زیرمخاط (μm)	عضله (μm)	ادوانتیس (μm)
گروه ۱	دیابت+استات سرب 200 ppm	<0/05	24/4 \pm 2/18*	18/8 \pm 1*	7/75 \pm 0/2
گروه ۲	تیامین+استات سرب 200 ppm	<0/05	44/6 \pm 2	24/5 \pm 0/9	9/54 \pm 0/4*
گروه ۳	تیامین+استات سرب 1000 ppm	<0/05	40/4 \pm 4/7	13/6 \pm 3*	4/2 \pm 0/4*
گروه ۴	دیابت+تیامین+استات سرب 1000 ppm	<0/05	46/6 \pm 2/4	15 \pm 1*	2/85 \pm 0/2*
گروه ۵	دیابت	<0/05	25 \pm 4/4	18/8 \pm 1/8*	5/33 \pm 0/4*
گروه ۶	دیابت+تیامین	<0/05	56/5 \pm 4/6*	19/2 \pm 1/1*	4/65 \pm 0/3*
گروه ۷	دیابت+تیامین+استات سرب 200 ppm	<0/05	30 \pm 2/6*	20/2 \pm 1/7*	7/8 \pm 0/6
گروه ۸	دیابت+استات سرب 1000 ppm	<0/05	30/4 \pm 2/9*	18/6 \pm 1/1*	6/8 \pm 0/6
گروه ۹	کنترل	<0/05	40/6 \pm 3/7	28/4 \pm 2/8	7/6 \pm 0/3

در هر ستون علامت * بیانگر اختلاف آماری معنی‌دار با گروه کنترل است ($P < 0/05$).



بحث

مطالعه حاضر تغییرات هیستومورفومتریک لایه‌های مختلف تشکیل‌دهنده کولون در موش‌های دیابتی را بررسی می‌کند. همچنان که مطالعه حاضر نشان داد اثرات تیامین و استات سرب در دو دژ متفاوت به خوبی بر لایه‌های دیواره‌ی کولون مشهود بود.

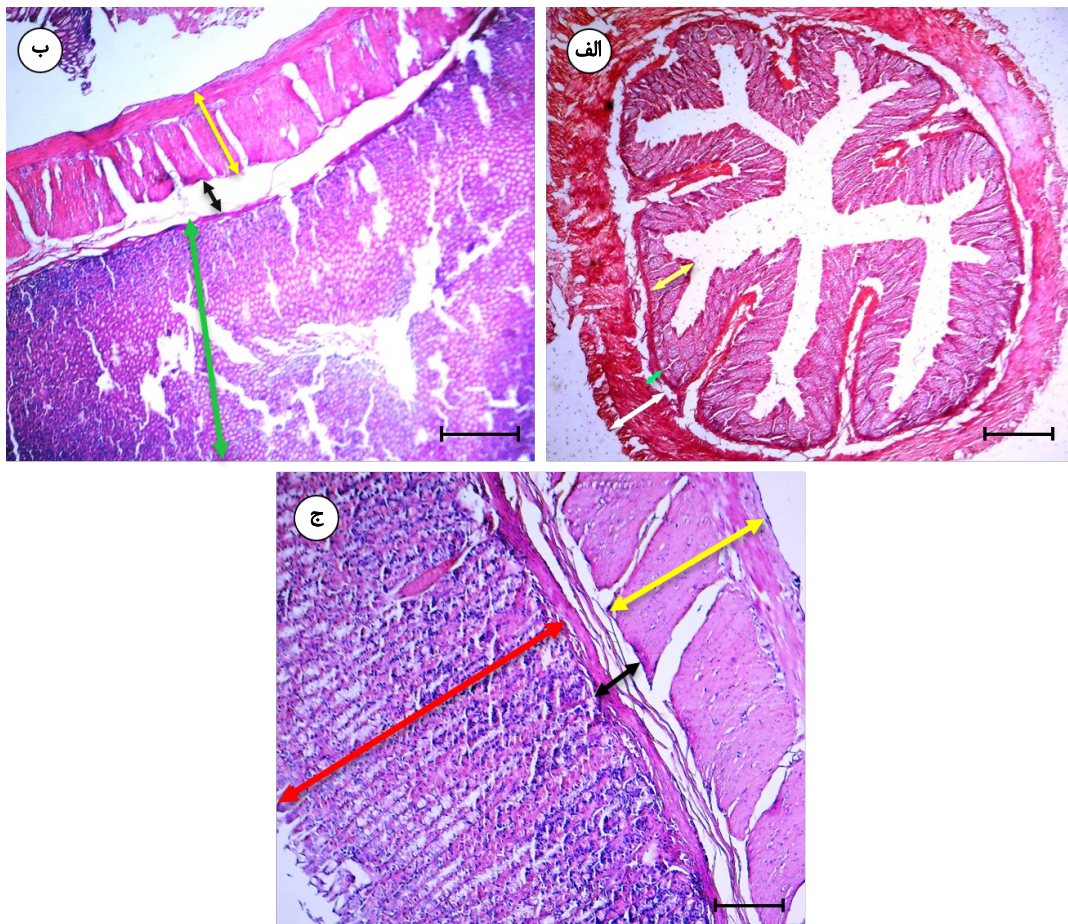
افزایش مساحت است. در بررسی سطح لایه سرزوی مشخص شد که هیچ اختلاف معناداری نسبت به گروه کنترل در سطح $P < 0/05$ رؤیت نشد و تنها بین گروه‌های دیابت+استات سرب دویست و تیامین+استات سرب دویست اختلاف معناداری وجود دارد (جدول شماره ۲).

جدول ۲. مقایسه میانگین مساحت لایه‌های مختلف مخاط زیرمخاط، عضله و ادوانتیس در گروه‌های مطالعاتی کولون موش‌های نر بالغ بعد از بیست روز تیمار

گروه‌ها	عنوان	P	میانگین \pm انحراف معیار		
			مخاط زیرمخاط (μm^2)	عضله (μm^2)	ادوانتیس (μm^2)
گروه ۱	دیابت+استات سرب 200 ppm	<0/05	0/37 \pm 0/06*	0/42 \pm 0/15*	0/20 \pm 0/08
گروه ۲	تیامین+استات سرب 200 ppm	<0/05	0/55 \pm 0/10	0/29 \pm 0/07	0/13 \pm 0/02
گروه ۳	تیامین+استات سرب 1000 ppm	<0/05	0/62 \pm 0/07	0/19 \pm 0/05	0/17 \pm 0/03
گروه ۴	دیابت+تیامین+استات سرب 1000 ppm	<0/05	0/59 \pm 0/05	0/19 \pm 0/06	0/19 \pm 0/01
گروه ۵	دیابت	<0/05	0/63 \pm 0/06	0/19 \pm 0/05	0/14 \pm 0/02
گروه ۶	دیابت+تیامین	<0/05	0/56 \pm 0/04	0/22 \pm 0/04	0/20 \pm 0/04
گروه ۷	دیابت+تیامین+استات سرب 200 ppm	<0/05	0/52 \pm 0/06	0/29 \pm 0/09	0/17 \pm 0/04
گروه ۸	دیابت+استات سرب 1000 ppm	<0/05	0/51 \pm 0/01	0/30 \pm 0/03	0/17 \pm 0/02
گروه ۹	کنترل	<0/05	0/62 \pm 0/12	0/21 \pm 0/08	0/15 \pm 0/05

در هر ستون علامت * بیانگر اختلاف آماری معنادار با گروه کنترل است ($P < 0/05$).





تصویر ۱. میکروفوتوگراف نوری تغییرات کمی هیستومورفومتری بافت روده‌ی موش صحرایی

تصویر الف: میکروفوتوگراف بافت کولون در گروه کنترل

به ساختار بافتی منظم لایه‌های مختلف دیواره کولون توجه شود. لایه مخاطی (فلش دوسویه زرد) همراه با لایه زیرمخاط (فلش دوسویه سبز) و لایه ماهیچه‌ای (فلش دوسویه سفید) (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین؛ Bar: 50µm).

تصویر ب: میکروفوتوگراف بافت کولون در گروه دیابتی

به ساختار بافتی بهم‌ریخته لایه‌های مختلف دیواره کولون توجه شود. لایه مخاطی (فلش دوسویه سبز) همراه با لایه زیر مخاط (فلش دوسویه سیاه) و لایه ماهیچه‌ای (فلش دوسویه زرد) به خوبی نمایان است (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین؛ Bar: 15µm).

تصویر ج: میکروفوتوگراف بافت کولون در گروه دیابت+تیامین+استات 1000 ppm

به ساختار بافتی لایه‌های مختلف دیواره کولون توجه شود. لایه مخاطی (فلش دوسویه قرمز) همراه با لایه زیرمخاط (فلش دوسویه سیاه) و لایه ماهیچه‌ای (فلش دوسویه زرد) قابل مشاهده است (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین؛ Bar: 15µm).

می‌تواند ناشی از اختلال در ترشح انسولین باشد.

علائم کلاسیک این بیماری پراداری، پرنوشی و کاهش بی‌دلیل وزن است [۱۶]. دیابت بیماری خطرناکی است که ارگان‌های مختلفی را درگیر می‌کند [۱۷] که یکی از اثرات مهم آن روی لوله گوارشی است [۱۸] و علائمی مانند تهوع و استفراغ، اختلالات حرکتی روده کوچک و کاهش جذب در روده را شامل می‌شود [۱۹، ۲۰]. در تحقیقات انجام‌شده عقیده کلی بر این است که موش‌های دیابتی به وسیله استرپتوزوتوسین، مبتلا به هیپرفاژی و هیپرپلاژی در روده شدند.

این اثرات چه به صورت افزایش و چه به صورت کاهش، نشانه‌هایی از علائم ترمیمی را به‌خصوص در گروه تیامین و علائم مخرب را در گروه استات سرب وقتی با گروه کنترل مورد مقایسه قرار گرفت، نشان داد. از سویی با توجه به نتایج به‌دست‌آمده، تغییرات بافتی در ارزیابی هیستومورفومتریک و استریولوژیک در لایه‌های ساختار بافت کولون و در گروه‌های مختلف تیمار قابل مشاهده بود. بیماری دیابت امروزه یک بیماری شایع در سطح جهانی است که با تغییر سبک زندگی، آمار مبتلایان به این بیماری رو به افزایش است. این بیماری سبب یکسری اختلالات متابولیک در بدن شده که سبب هایپرگلیسمی می‌شود که



کند، به طوری که ضخامت لایه عضلانی و طول پرها در موش‌های صحرایی دیابتی درمان شده، در مقایسه با موش‌های گروه کنترل تفاوت آماری معناداری نداشته است [۲۷].

در مطالعه ما تزریق تیمین+استات دویست سبب کاهش ضخامت عضله شد، در حالی که در گروه‌های دیابت+استات افزایش ضخامت این لایه مشهود بود.

برخی مطالعات تغییرات تروفیک روده کوچک را ناشی از هیپرفاژی سلول‌های روده می‌دانند و علت آن مصرف بیشتر غذا توسط موش‌های دیابتی نسبت به موش‌های سالم است [۲۸].

در دیابت به دلیل ورود بیشتر غذا به معده شاهد حرکات و ترشح گاسترین بوده که برخی ترشح گاسترین را علت رشد قسمت فوقانی روده کوچک می‌دانند [۲۹]. مشخص شده است که در دیابت پراکسیداسیون، چربی‌ها افزایش می‌یابد که خود می‌تواند باعث آسیب بافتی مزمن شود [۳۰].

جهت بررسی ساختار دیواره بافت کولون، علاوه بر رهیافت هیستومورفومتیک، اندازه‌گیری مساحت لایه‌های مختلف دیواره کولون با استفاده از تکنیک استریولوژی توانست اطلاعات فزون‌تری در مطالعه حاضر در مورد این ساختار ارائه دهد.

استریولوژی به شاخه‌ای از علم ریخت‌شناسی اطلاق می‌شود که با استفاده از محاسبات عددی، مقاطع دو بُعدی بافتی را به محیطی سه بُعدی تبدیل می‌کند تا به کمک آن‌ها به محاسبه مساحت، حجم و چگالی تقریبی بافت مورد نظر پرداخته شود [۳۱].

با توجه به نتایج مطالعه پیش‌رو، می‌توان چنین بیان داشت که در کولون موش‌های صحرایی دیابتی شده با ماده آلوکسان (گروه دیابت)، تفاوت معناداری با گروه کنترل در میانگین مساحت لایه مخاط زیرمخاط و عضله مشاهده نشد. اندازه‌گیری حاصل از مساحت لایه مخاط زیر مخاط نشان داد که گروه‌های دیابت+استات دویست و دیابت+استات هزار اختلاف معناداری نسبت به گروه کنترل در جهت کاهش مساحت داشتند. در محاسبه مساحت لایه عضلانی تنها در گروه دیابت+استات دویست افزایش مساحت نسبت به گروه کنترل دیده شد.

یافته سطح‌سنجی از بررسی استریولوژی نشان داد که در گروه یک میانگین مساحت لایه‌های مختلف بافتی نسبت به گروه کنترل تغییر معنادار داشته است. این تغییرات در جهت افزایش (مساحت لایه مخاط زیرمخاط) و در جهت کاهش (مساحت لایه عضلانی و ادوانتیس) بیان‌گر اثرات دیابت و استات سرب بر بافت کولون است.

با توجه به کاهش ضخامت لایه مخاط زیرمخاط در گروه اول نسبت به گروه کنترل می‌توان انتظار داشت که میانگین مساحت این لایه نیز به تبع کاهش ضخامت، کاهش یابد و نتایج به‌دست‌آمده،

نتایج مطالعه حاضر نشان‌دهنده‌ی کاهش معنادار ضخامت لایه مخاط زیرمخاط گروه‌های یک، هفت و هشت (گروه‌های دیابت+استات هزار و دویست و گروه دیابت+تیمین+استات سرب دویست) در مقایسه با گروه کنترل بود که این روند کاهشی، به خوبی بیانگر اثرات آسیبی استات سرب بر ضخامت لایه مخاط زیرمخاط است. نتایج بعضی مطالعات، عامل اصلی بسیاری از اختلالات در دیابت را رادیکال‌های آزاد تولیدشده می‌دانند [۲۱]. اگرچه مطالعات بسیاری تأثیرات استات سرب را بر افزایش میزان اختلالات رشد عصبی به خوبی آشکار می‌سازد [۲۲]، اما هنوز مستندات کمی در خصوص تغییرات ناشی از مواجهه با استات سرب بر میزان شیوع بیماری‌های متابولیک همانند دیابت در دسترس است.

در مطالعات انجام‌شده روی اثرات سرب و مکانیسم‌های اثرگذاری این ماده سمی، نشان داده شده که به دلیل تمایل سرب به پروتئین‌ها و ظرفیت آن در تحریک کانال‌های کلسیم و آهن باعث مسمومیت با سرب می‌شود. سرب از طریق القای استرس اکسیداتیو به ترکیبات سلولی آسیب وارد می‌کند [۲۵-۲۳].

از طرفی، نتایج حاصل از مقایسه گروه کنترل با گروه تیمار دیابت+تیمین (گروه شش) نشان‌دهنده روند افزایشی ضخامت لایه مخاط زیرمخاط بوده که می‌توان آن را به اثرات ترمیمی مصرف تیمین بر ساختارهای سلولی این لایه به دنبال دیابت القایی نسبت داد.

با بررسی نتایج حاصل از مطالعه‌ای که توسط دراید و همکاران روی موش‌های صحرایی ویستار انجام گرفت، به نظر می‌رسد آنزیم‌های ترشح‌شده از غدد شیری شتر می‌تواند در تنظیم سطح گلوکز خون و بهبود کارایی کبد، در موش‌های مسموم‌شده با سرب مؤثر است [۲۶].

یافته‌ها حاکی از آن است که ضخامت لایه عضلانی دستخوش تغییرات کاهشی در گروه پنج (دیابت) در مقایسه با گروه کنترل شده است (تصویر شماره ۲).

از سویی در مطالعه‌های دیگر که توسط نواک و همکاران صورت گرفت، مشخص شد که در مقابل اطلاعات مطالعه حاضر، دیابت تجربی القایی، افزایش ضخامت لایه عضلانی را به دنبال داشته است [۲۷]. چنین به نظر می‌رسد که مدت زمان دوره تیمار شاید فاکتور مؤثری در ارزیابی و مقایسه ضخامت لایه عضلانی در مطالعه حاضر با مطالعه نواک باشد. همچنین نتایج مشخص‌کننده کاهش معنادار گروه‌های سه و چهار در مقایسه با گروه کنترل بوده که با تفسیر این یافته‌ها حدس زده می‌شود که در این دو گروه یادشده تیمین اثرات ممانعتی خود را در برابر استات سرب با دز 1000 ppm و گروه دیابتی همراه با استات سرب به خوبی اعمال نکرده است (تصویر شماره ۳).

در نتایج حاصل از مطالعه کریمی‌پور و همکاران مشخص شد که پودر زنجبیل توانسته است از اثرات دیابت بر روده جلوگیری

همچنین از معاونت محترم پژوهشی دانشکده و دانشگاه شهر کرد که امکانات لازم را جهت اجرا و پیش برد این تحقیق در اختیار ما قرار دادند و مارا یاری کردند، تشکر و قدردانی کنند.

این یافته را به خوبی نشان می‌دهد؛ بنابراین تغییر میانگین ضخامت در لایه مخاط زیرمخاط همگام با تغییر میانگین مساحت این لایه بوده و هم‌خوانی این دو فاکتور کاملاً مشهود است.

نتایج مطالعه دیگری نشان داد که دیابت باعث افزایش محیطی و طولی دیواره روده بزرگ شد [۲۷]، همچنان که در مطالعه حاضر در گروه‌های دیابت+استات هزار و دویست افزایش مساحت لایه عضلانی مشاهده شد.

نتیجه‌گیری

چنان می‌توان نتیجه گرفت که با توجه به القای دیابت تجربی و به دنبال آن تجویز تیمین در موش‌های گروه تیمار، تیمین در برخی از گروه‌های مورد مطالعه اثرات بهبود در ضخامت لایه عضلانی و ضخامت لایه ادوانتیس را ایجاد کرده است. از سوی دیگر میانگین مساحت لایه مخاطی تحت تأثیر اثرات بهبوددهنده تیمین نبود.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

این مطالعه با کد اخلاق GRN1M1903 در دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهر کرد تأیید شده و همه روش‌های به کار گرفته شده در پژوهش حاضر، از جمله آسان‌کشی، بارعایت کامل اصول اخلاقی مقید کردن حیوان انجام پذیرفت.

حامی مالی

معاونت‌های محترم پژوهشی دانشکده دامپزشکی و دانشگاه شهر کرد، تأمین مالی این پژوهش را بر عهده داشتند.

مشارکت نویسندگان

مفهوم‌سازی: رحمت‌الله فتاحیان و سورن نورایی؛ تحقیق و بررسی: رحمت‌الله فتاحیان و البرز یدالهی؛ ویراستاری و نهایی‌سازی نوشته: سورن نورایی، البرز یدالهی و رحمت‌الله فتاحیان. همچنین تمامی نویسندگان دارای معیارهای استاندارد نویسندگی بر اساس پیشنهادهای کمیته بین‌المللی ناشران مجلات پزشکی (ICMJE) بودند.

تعارض منافع

طبق نظر نویسندگان هیچ‌گونه تضاد منافی در پژوهش حاضر وجود ندارد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله حاضر، بر خود لازم می‌دانند که از کارشناسان و پرسنل آزمایشگاه فیزیو فارماکولوژی و هیستوپاتولوژی و

Reference

- [1] Kassab E, McFarlane SI, Sowers JR. Vascular complications in diabetes and their prevention. *Vasc Med.* 2001; 6(4):249-55. [DOI:10.1177/1358836X0100600409] [PMID]
- [2] Mosayebi G, Ghaznavirad E, Fani E, Moazeni S. [Frequency of Human Leukocyte Antigens (HLA) class-I and II in arakian patients with insulin dependent diabetes mellitus (Persian)]. *J Arak Univ Med Sci.* 2006; 8(3):42-9. <https://www.sid.ir/en/journal/ViewPaper.aspx?id=46344>
- [3] Forouhi NG, Wareham NJ. Epidemiology of diabetes. *Medicine.* 2019; 47(1):22-7. [DOI:10.1016/j.mpmed.2018.10.004]
- [4] Hayashi T, Nozawa M, Sohmiya K, Toko H, Nakao M, Okabe M, et al. Efficacy of pancreatic transplantation on cardiovascular alterations in diabetic rats: An ultrastructural and immunohistochemical study. *Transplant Proc.* 1998; 30(2):335-8. [DOI:10.1016/S0041-1345(97)01295-5]
- [5] Camilleri MJE, Clinics M. Gastrointestinal problems in diabetes. *Endocrinol Metab Clin.* 1996; 25(2):361-78. [DOI:10.1016/S0889-8529(05)70328-5]
- [6] Nathan D, Genuth S, Lachin J, Cleary P, Crofford O, Davis M, et al. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med.* 1993; 329(14):977-86. [DOI:10.1056/NEJM199309303291401] [PMID]
- [7] Musso G, Gambino R, Cassader M. Obesity, diabetes, and gut microbiota: The hygiene hypothesis expanded? *Diabetes care.* 2010; 33(10):2277-84. [DOI:10.2337/dc10-0556] [PMID] [PMCID]
- [8] Amiri A, Fatahian Dehkordi RA, Heidarnejad MS, Jafarian Dehkordi M. Effect of the zinc oxide nanoparticles and thiamine for the management of diabetes in alloxan-induced mice: A stereological and biochemical study. *Biol Trace Elem Res.* 2018; 181(2):258-64. [DOI:10.1007/s12011-017-1035-x] [PMID]
- [9] Rindi G, Laforenza U. Thiamine intestinal transport and related issues: Recent aspects. *Proc Soc Exp Biol Med.* 2000; 224(4):246-55. [DOI:10.1111/j.1525-1373.2000.22428.x] [PMID]
- [10] Quoc Luong KV, Nguyen LTH. The impact of thiamine treatment in the diabetes mellitus. *J Clin Med Res.* 2012; 4(3):153-60. [DOI:10.4021/jocmr890w]
- [11] Sugiura S. When Was B1, the first Vitamin, discovered?: An alternative perspective. *J Nutr Sci Vitaminol.* 2016; 62(5):372-4. [DOI:10.3177/jnsv.62.372] [PMID]
- [12] Baht RV, Moy GG. Monitoring and assessment of dietary exposure to chemical contaminants. *World Health Stat Q.* 1997; 50(1-2):132-49. [PMID]
- [13] Pitot HC. The molecular biology of carcinogenesis. *Cancer.* 1993; 72(S3):963-70. [DOI:10.1002/1097-0142(19930801)72:3+3.0.CO;2-H]
- [14] Sharma R, Mogra S. Lead as a developmental toxicant: A review. *Int J Pharm Sci Res.* 2014; 5(3):636-42. [DOI:10.13040/IJPSR.0975-8232.5(3).636-42]
- [15] Leff T, Stemmer P, Tyrrell J, Jog R. Diabetes and exposure to environmental lead (Pb). *Toxics.* 2018; 6(3):54. [DOI:10.3390/toxics6030054] [PMID] [PMCID]
- [16] Laakso M. Hyperglycemia and cardiovascular disease in type 2 diabetes. *Diabetes.* 1999; 48(5):937-42. [DOI:10.2337/diabetes.48.5.937] [PMID]
- [17] Chaikom R, Rayner CK, Jones KL, Horowitz M. Upper gastrointestinal function and glycemic control in diabetes mellitus. *World J Gastroenterol.* 2006; 12(35):5611-21. [DOI:10.3748/wjg.v12.i35.5611] [PMID] [PMCID]
- [18] Anitha M, Gondha C, Sutiiff R, Parsadaniyan A, Mwangi S, Sitaraman SV, et al. GDNF rescues hyperglycemia-induced diabetic enteric neuropathy through activation of the PI3K/Akt pathway. *J Clin Invest.* 2006; 116(2):344-56. [DOI:10.1172/JCI26295] [PMID] [PMCID]
- [19] Maleki D, Locke 3rd GR, Camilleri M, Zinsmeister AR, Yawn BP, Leibson C, et al. Gastrointestinal tract symptoms among persons with diabetes mellitus in the community. *Arch Gen Intern Med.* 2000; 160(18):2808-16. [DOI:10.1001/archinte.160.18.2808] [PMID]
- [20] Rayner CK, Horowitz M. Gastrointestinal motility and glycemic control in diabetes: The chicken and the egg revisited? *J Clin Invest.* 2006; 116(2):299-302. [DOI:10.1172/JCI27758] [PMID] [PMCID]
- [21] Nourooz-Zadeh J, Rahimi A, Tajaddini-Sarmadi J, Tritschler H, Rosen P, Halliwell B, et al. Relationships between plasma measures of oxidative stress and metabolic control in NIDDM. *Diabetologia.* 1997; 40(6):647-53. [DOI:10.1007/s001250050729] [PMID]
- [22] Searle AK, Baghurst PA, Van Hooff M, Sawyer MG, Sim MR, Galletly C, et al. Tracing the long-term legacy of childhood lead exposure: A review of three decades of the port Pirie cohort study. *Neurotoxicology.* 2014; 43:46-56. [DOI:10.1016/j.neuro.2014.04.004] [PMID]
- [23] Ayoubi A, Vaizadeh R, Omid A, Abolfazli MD. Protective effects of vitamin C (ascorbic acid) in lead acetate exposed diabetic male rats: Evaluation of blood biochemical parameters and testicular histopathology. *Istanbul Univ Vet Fak Derg.* 2014; 41(1):84-91. [DOI:10.16988/iuvfd.2015.90715]
- [24] Hakim ZS, Patel BK, Goyal RK. Effects of chronic ramipril treatment in streptozotocin-induced diabetic rats. *Indian J Physiol Pharmacol.* 1997; 41(4):353-60. [PMID]
- [25] Jenkinson KM, Reid JJ. Effect of diabetes on relaxations to non-adrenergic, non-cholinergic nerve stimulation in longitudinal muscle of the rat gastric fundus. *Br J Pharmacol.* 1995; 116(1):1551-6. [DOI:10.1111/j.1476-5381.1995.tb16372.x] [PMID] [PMCID]
- [26] Draid MM, Bushwreb MO, Ramadan SG. Lead acetate toxicity on glucose level and liver enzymes ameliorated by camel's milk in wistar albino rat. *Int J Basic Clin Pharmacol.* 2016; 5(3):1125-30. [DOI:10.18203/2319-2003.ijbcp20161580]
- [27] Nowak TV, Chey WW, Chang T-M, Weisbruch JP, Fouquet G. Effect of streptozotocin-induced diabetes mellitus on release of vasoactive intestinal polypeptide from rodent small intestine. *Dig Dis Sci.* 1995; 40(4):828-36. [DOI:10.1007/BF02064987] [PMID]
- [28] Jervis EL, Levin RJ. Anatomic adaptation of the alimentary tract of the rat to the hyperphagia of chronic alloxan-diabetes. *Nature.* 1966; 210(5034):391-3. [DOI:10.1038/210391a0] [PMID]
- [29] Ekundayo AA, Lee CY, Goodlad RA. Gastrin and the growth of the gastrointestinal tract. *Gut.* 1995; 36(2):203-8. [DOI:10.1136/gut.36.2.203] [PMID] [PMCID]
- [30] Afshari AT, Shirpoor A, Farshid A, Saadatian R, Rasmi Y, Saboori E, et al. The effect of ginger on diabetic nephropathy, plasma antioxidant capacity and lipid peroxidation in rats. *Food Chem.* 2007; 101(1):148-53. [DOI:10.1016/j.foodchem.2006.01.013]
- [31] Fatahian Dehkordi RA, Habibi A. Stereological and electron microscopic study on the internal organization of the urinary secretory units in three species of birds. *J Appl Animal Res.* 2015; 43(1):118-24. [DOI:10.1080/09712119.2014.928625]

This Page Intentionally Left Blank