

مطالعه ظرفیت انتی اکسیدانی عصاره هیدروالکلی گیاه استویا ربادیانا (*Stevia rebaudiana*) بدنبال تجویز شیرین کننده ساخارین بر فاکتورهای خونی در موش بزرگ آزمایشگاهی

عاطفه هرویانی^۱، حسین اریک اغاجی^{۲*}، علی کریمی گودرزی^۳

مقدمه

با توجه به علاقه روزافزون به زندگی سالم و افزایش بروز چاقی و دیابت، مصرف شیرین کننده های غیر مغزی و بدون کالری مصنوعی مانند ساخارین را رواج داده است. استویا یک عصاره شیرین کننده طبیعی است که فواید درمانی فراتر از شیرینی و خاصیت انتی اکسیدانی آن به اثبات رسیده. از طرفی مضرات ساخارین بر روی دستگاه های حیاتی بدن فاکتورهای خونی گزارش شده. لذا مطالعه حاضریه منظور بررسی اثرات انتی اکسیدانی عصاره استویا و تجویز همزمان با ساخارین بر روی فاکتورهای خونی میباشد. در این مطالعه تجربی ۲۴ سر رت نر بالغ نژاد Wistar به صورت تصافی به یک گروه کنترل و سه گروه تجربی تقسیم شدند. گروه اول یا کنترل روزانه ۳ میلی لیتر آب مقطر و گروه دوم ساخارین با دوز ۵ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن و گروه سوم عصاره هیدروالکلی استویا با دوز ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن و گروه چهارم به صورت همزمان ساخارین و استویا را با همان دوز به صورت گاوژ به مدت ۴۸ روز دریافت نمودند. ۲۴ ساعت بعد از آخرین تیمار، بعد از بیهوشی، نمونه های خونی از قلب موشها اخذ و بعد از جداسازی سرم مورد ارزیابی قرار گرفتند. میزان گلوکز، اوره و آنزیمهای کبدی، ALT، AST در گروه ساخارین افزایشی معنی دار بود. میزان البومین خون در گروه ساخارین + استویا کاهش معنی دار و میزان کراتینین افزایش معنی داری داشته است. فاکتور های دیگر مانند پروتئین کل و تری گلیسیرید نیز تغییر معنی داری نداشت. ساخارین به واسطه تولید رادیکالهای ازاد و نیز تضعیف دستگاه انتی اکسیدانی بدن و تغییرات در پارامترهای خونی، قادر به اختلال در عملکرد فیزیولوژیک بدن خواهد بود که مصرف همزمان استویا، میتواند اثرات ساخارین را تعدیل نماید.

چکیده

علاقه روزافزون به زندگی سالم و افزایش بروز چاقی و دیابت، مصرف شیرین کننده های غیر مغزی و بدون کالری مصنوعی مانند ساخارین را رواج داده است. استویا یک عصاره شیرین کننده طبیعی است که فواید درمانی فراتر از شیرینی و خاصیت انتی اکسیدانی آن به اثبات رسیده. از طرفی مضرات ساخارین بر روی دستگاه های حیاتی بدن فاکتورهای خونی گزارش شده. لذا مطالعه حاضریه منظور بررسی اثرات انتی اکسیدانی عصاره استویا و تجویز همزمان با ساخارین بر روی فاکتورهای خونی میباشد. در این مطالعه تجربی ۲۴ سر رت نر بالغ نژاد Wistar به صورت تصافی به یک گروه کنترل و سه گروه تجربی تقسیم شدند. گروه اول یا کنترل روزانه ۳ میلی لیتر آب مقطر و گروه دوم ساخارین با دوز ۵ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن و گروه سوم عصاره هیدروالکلی استویا با دوز ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن و گروه چهارم به صورت همزمان ساخارین و استویا را با همان دوز به صورت گاوژ به مدت ۴۸ روز دریافت نمودند. ۲۴ ساعت بعد از آخرین تیمار، بعد از بیهوشی، نمونه های خونی از قلب موشها اخذ و بعد از جداسازی سرم مورد ارزیابی قرار گرفتند. میزان گلوکز، اوره و آنزیمهای کبدی، ALT، AST در گروه ساخارین افزایشی معنی دار بود. میزان البومین خون در گروه ساخارین + استویا کاهش معنی دار و میزان کراتینین افزایش معنی داری داشته است. فاکتور های دیگر مانند پروتئین کل و تری گلیسیرید نیز تغییر معنی داری نداشت. ساخارین به واسطه تولید رادیکالهای ازاد و نیز تضعیف دستگاه انتی اکسیدانی بدن و تغییرات در پارامترهای خونی، قادر به اختلال در عملکرد فیزیولوژیک بدن خواهد بود که مصرف همزمان استویا، میتواند اثرات ساخارین را تعدیل نماید.

واژگان کلیدی: ساخارین، عصاره هیدروالکلی استویا، آنزیم های کبدی، فاکتورهای خونی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۰/۲۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۱/۱۸

۱. دانش اموزته دکتری حرفه ای دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی واحد کرج، کرج، ایران
۲. استادیار، بخش آناتومی، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران، ایران
h.erikaghaji@gmail.com
۳. استادیار، بخش فیزیولوژی، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی واحد کرج، کرج، ایران

مطالعات دیگر، ارتباط با کاهش عملکرد کلیه و عوامل خطر عروقی را نشان داده اند (۱).

استویا یک عصاره شیرین کننده طبیعی است که از گیاه *Stevia rebaudiana* به دست می آید و شامل ترکیبات متعددی است که طعم شیرینی دارند. جنس استویا شامل ۲۳۰ گونه است، اما تنها *Stevia rebaudiana Bertoni* طعم شیرین را می دهد. چندین فرآورده طبیعی به وفور از برگ های آن جدا شده اند که شناخته شده ترین آنها استویول و گلیکوزیدهای آن است: استویوزید و ربائودیوزید A (۲). با توجه به طعم شیرین شدید و خواص کم کالری در مقایسه با بسیاری از شیرین کننده های دیگر، گلیکوزیدهای استویول به طور جامع توسط کمیته مشترک FAO/WHO در مورد افزودنی های غذایی مورد ارزیابی قرار گرفته و به عنوان افزودنی های غذایی مجاز شده اند. تعدادی از مطالعات نشان داده اند که استویوزید همراه با ترکیبات مرتبط ممکن است فواید درمانی فراتر از شیرینی، مانند اثرات ضد قند خون، ضد فشار خون، ضد التهاب، ضد تومور، ضد اسهال، ادرارآور و تعدیل کننده سیستم ایمنی را نیز ارائه دهد (۳-۶). با توجه به بررسی های انجام شده و مشاهده اثرات نامطلوب شیرین کننده های مصنوعی مانند ساخارین، نیاز به استفاده از شیرین کننده های طبیعی بیشتر شده است. از آنجایی که احتمال آسیب به بافت های حیاتی و تغییرات در فاکتورهای خونی در اثر مصرف شیرین کننده های مصنوعی مثل ساخارین وجود دارد، استفاده از یک شیرین کننده طبیعی مانند استویا ممکن است بتواند اثرات نامطلوب ساخارین را بهبود بخشد.

مواد و روش کار

فیکساتیو بوئن نشان دار نموده و به ۴ گروه تقسیم شدند.

گروه کنترل: دریافت ۳ میلی لیتر آب مقطر از طریق گاواژ به مدت ۴۸ روز.

گروه دوم: دریافت ۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن ساخارین از طریق گاواژ به مدت ۴۸ روز.

گروه سوم: دریافت ۴۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن استویا ربادیانا از طریق گاواژ به مدت ۴۸ روز.

گروه چهارم: دریافت ۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن ساخارین و ۴۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن استویا ربادیانا از طریق گاواژ به مدت ۴۸ روز.

یک روز پس از پایان دوره تیمار، رت ها دوباره توزین شده و پس از بیهوشی با کتامین ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم و زایلازین (۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و خون گیری از قلب، به روش جابجایی مهره های گردن آسان کشی شدند. پس از خون گیری از قلب نمونه های خون به منظور جداسازی سرم با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شده و بلافاصله سرم آن ها جدا شده و در دمای ۸۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند. تجزیه و تحلیل بیوشیمیایی شامل گلوکز خون، کلسترول تام (TC)، اوره، پروتئین کل (TP)، آسپارات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، فسفاتاز قلیایی (الکالین فسفاتاز) (ALP) و آلبومین به وسیله ی کیت های مخصوص با استفاده از دستگاه اتوانالایزر انجام شد.

آنالیز آماری

داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۴ (SPSS, IL, Chicago) مورد ارزیابی آماری قرار گرفتند و نتایج به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار ($\text{Mean} \pm \text{SD}$) بیان شد. جهت مقایسه بین گروه ها، آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA one way) و به دنبال آن تست های تعقیبی

چندگانه توکی (Tukey post hoc) استفاده شدند. سطوح معنی داری $P < 0.05$ در بین گروه های آزمایشی در نظر گرفته شد.

نتایج

با توجه به جدول شماره ۱: میزان گلوکز، اوره، تری گلیسیرید، در سرم خون گروه های کنترل و تجربی بررسی گردید، مقایسه میانگین میزان گلوکز، اوره، تری گلیسیرید،

در گروه ساخارین نسبت به گروه های کنترل و استویا افزایشی بود و افزایش فراسنجه های گلوکز و اوره در گروه ساخارین نسبت به گروه های دیگر معنی دار بود ($0.05 < p$). در گروه استویا+ ساخارین، حضور استویا باعث کاهش میزان اثر نامطلوب ساخارین گردید، به طوریکه در مقایسه فراسنجه های گلوکز و اوره در این گروه نسبت به گروه کنترل و استویا اختلاف معنی داری مشاهده نگردید ($p > 0.05$).

جدول شماره ۱: مقایسه میانگین میزان گلوکز، اوره و تری گلیسیرید در گروه های کنترل و تجربی

کنترل	$132/66 \pm 11/59^a$	$9/43 \pm 1/93^a$	$85/5 \pm 27/52^a$
ساخارین	$163/33 \pm 12/09^b$	$13/13 \pm 0/4^b$	$89/66 \pm 16/15^a$
استویا	$132/5 \pm 15/5^a$	$10/77 \pm 0/67^a$	$85/83 \pm 14/27^a$
ساخارین+استویا	$137/33 \pm 7/37^a$	$11/25 \pm 1/02^a$	$86/5 \pm 12/97^a$

جدول شماره ۲: مقایسه میانگین میزان کلسترول، کراتینین و آنزیم SGOT در گروه های کنترل و تجربی

کنترل	$57/33 \pm 1/25^a$	$0/19 \pm 0/005^a$	$125/67 \pm 10/02^a$
ساخارین	$60/66 \pm 8/32^a$	$0/16 \pm 0/04^a$	$116/83 \pm 59/93^a$
استویا	$54/83 \pm 4/8^a$	$0/16 \pm 0/005^a$	$111/67 \pm 41/05^a$
ساخارین+استویا	$54/83 \pm 9/25^a$	$0/28 \pm 0/05^b$	$75 \pm 4/58^a$

جدول شماره ۳: مقایسه میانگین میزان پروتئین کل، البومین و آنزیم SGPT و ALP در گروه های کنترل و تجربی

ALP	SGPT	پروتئین کل	آلبومین
آنزیم			
(واحد بر لیتر)	(واحد بر لیتر)	(گرم بر دسی لیتر)	(گرم بر دسی لیتر)
کنترل	$63/33 \pm 3/32^{ab}$	$305/67 \pm 31/01^a$	$5/47 \pm 0/59^a$
ساخارین	$91/16 \pm 35/43^b$	$389/67 \pm 140/57^a$	$5/43 \pm 0/31^a$
استویا	$43/16 \pm 4/53^a$	$227 \pm 62/96^a$	$5/27 \pm 0/25^a$
ساخارین+استویا	$48/5 \pm 4/00^{ab}$	$308 \pm 49/24^a$	$5/05 \pm 0/17^a$

با توجه به جدول شماره ۲، میزان کلسترول و SGOT و کراتینین در سرم خون گروه های کنترل و تجربی بررسی گردید، میانگین میزان کلسترول و آنزیم SGOT، در گروه

ساخارین نسبت به گروه های کنترل و استویا افزایشی بود همچنین حضور استویا در گروه استویا+ ساخارین باعث کاهش میزان اثر نامطلوب ساخارین گردید و میانگین میزان

کلسترو، اوره و تغییرات پس رونده در بافتهای حیاتی بدن مشخص می گردند. در مطالعه انجام شده توسط هلال و همکاران در سال ۲۰۱۹، مصرف ساخارین با دوز ۵ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن به صورت خوراکی به مدت ۳۰ روز در موشهای رت، با کاهش وزن بدن و کاهش سطح گلوکز خون همراه بود که با نتایج حاصل از تحقیق حاضر مغایرت داشت درحالیکه باعث افزایش سطح آنزیمهای کبدی اسپاراتات امینو ترانسفراز والاین امینو ترانسفراز گردید که با مطالعه ما مطابقت داشت (۱).

در مطالعه انجام شده توسط آندرزیک و همکاران در سال ۲۰۱۳، مصرف ساخارین با دوز ۵ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن به صورت خوراکی به مدت ۶ هفته در موشهای رت بالغ باعث افزایش میانگین وزن و افزایش سطوح قند خون (گلوکز) در گروه درمانی نسبت به گروه کنترل و همچنین باعث افزایش سطوح AST به طور قابل توجهی در گروه درمانی گردید که این موارد با نتایج حاصل از این مطالعه با توجه به جداول شماره ۱ و ۲ مطابقت داشت (۷).

در مطالعه انجام شده توسط الکفافی و همکاران در سال ۲۰۱۵ بر روی موشهای رت نشان دادند که مصرف ساخارین با دوز ۲۵ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن باعث افزایش میزان آلکالین فسفاتاز و آلانین ترانس آمیناز شده و باعث کاهش ظرفیت آنتی اکسیدانی پلازما می شود که این موارد با نتایج حاصل از این مطالعه با توجه به جدول شماره ۳ مطابقت داشت (۸). عزیز و همکارانش در سال ۲۰۱۹ نشان دادند که تجویز ساخارین در طول دوره درمان با اختلال در عملکرد کلیه و کبد مرتبط است. هر دو عوارض جانبی هیپرگلیسمی و چاقی مشاهده گردید. افزایش وضعیت اکسیداتیو کبد و همچنین قرار گرفتن در معرض افزایش استرس اکسیداتیو از طریق افزایش سطوح اسید اوریک و فعالیت کاتالاز نشان داده شد. که این موارد

آنزیم SGOT در گروه استویا+ ساخارین اختلاف کاهشی را نسبت به گروههای دیگر نشان داد، ولی میزان این تغییرات و اختلافات در فراسنجه های فوق الذکر از لحاظ آماری معنی داری نبود ($p > 0/05$). اما مقایسه کراتینین در گروههای مختلف نشان داد که میزان آن در گروه ساخارین+استویا به صورت معنی داری نسبت به سایر گروهها بیشتر بود ($p < 0/05$).

با توجه به جدول شماره ۳، میزان پروتئین کل، آلبومین، آنزیم ALP و SGPT در سرم خون گروههای کنترل و تجربی بررسی گردید، مقایسه میانگین پروتئین کل و آنزیم ALP در گروههای مختلف آزمایشی اختلاف معنی داری را نشان نداد ($p > 0/05$) اما بررسی میانگین آنزیم SGPT در سرم خون گروههای مختلف مشخص کرد که میزان این آنزیم در گروه ساخارین بیشترین میزان بوده و این افزایش در گروه ساخارین نسبت به گروه استویا معنی دار بود ($P > 0/05$). در مقایسه سایر گروهها میانگین میزان این آنزیم افزایشی بود ولی اختلاف معنی داری مشاهده نگردید. بررسی میزان آلبومین سرم خون در گروههای مختلف آزمایشی نشان داد که کمترین میزان آلبومین در گروه ساخارین+استویا بود که تنها در مقایسه با گروه کنترل معنی دار بود ($p < 0/05$) و نسبت به گروههای استویا و ساخارین، این کاهش معنی دار نبود ($p > 0/05$).

بحث

بررسی مطالعات و تحقیقات مختلف نشان می دهند که مصرف ساخارین اثرات سوئی را در بسیاری از بافتها از جمله بیضه ها، کبد، کلیه، قلب، آدرنال، پانکراس، تیموس همچنین باعث تغییرات در پارامترهای خونی در انسان و حیوانات داشته است. این اثرات با تغییرات در میزان آنزیم های کبدی، افزایش وزن، افزایش میزان تریگلیسیریدها،

نیز با نتایج حاصل از این تحقیق همانطور که در جدول شماره ۱ نشان داده شد مطابقت داشت (۹).

مطالعات مختلفی که توسط محققینی مانند چاتسودتیپونگ در سال ۲۰۰۹، گریگرسن در سال ۲۰۰۴، وناندینی در سال ۲۰۱۶ و رویز رویز در سال ۲۰۱۵ انجام گرفت نشان دادند که استویوزید همراه با ترکیبات مرتبط ممکن است فواید درمانی فراتر از شیرینی، مانند اثرات کنترل قند خون، کنترل فشار خون، ضد التهاب، ضد تومور و اثرات انتی اکسیدانی و تعدیل کننده سیستم ایمنی داشته باشد (۳-۶). در مطالعه ای که توسط ژانگ و همکاران در سال ۲۰۱۷ انجام گرفت اثرات عصاره هیدروالکلی برگ استویا ربادیانا بر تونی بر روی کلیه و کبد موش سوری بررسی گردید و گزارش نمودند که این عصاره هیچگونه تاثیر نامطلوبی بر روی کبد و کلیه و فاکتورهای بیوشیمیایی خون از قبیل گلوکز، پروتئین کل، البومین، کلاسترول موش ندارد که این نتایج با نتایج حاصل از مطالعه حاضر مطابقت داشت (۲).

زنگنه و همکاران در سال ۲۰۱۸ در مطالعه ایی که بر روی رت های دیابتی شده انجام دادند مشاهده نمودند که سطح گلوکز خون در گروه های تیمار شده با استویا نسبت به موش های دیابتی درمان نشده به طور معنی داری کاهش داشت. نتایج حاصل از این تحقیق نیز با نتایج مطالعه حاضر همانطور که در جدول شماره ۱ که کاهش سطح گلوکز را در گروه استویا و استویا + ساخارین نشان میداد کاملاً مطابقت داشت (۱۰). در مطالعه ای که توسط عادل امین و همکاران در سال ۲۰۱۵ بر روی موشهای رت انجام گرفت، مصرف دوزهای مختلف ساخارین به مدت ۳۰ روز، باعث افزایش انزیمهای کبدی و سطوح پروتئین کل و البومین و عملکرد کلیه مانند سطوح اوره و کراتینین شده است که در موارد پروتئین کل و البومین با مطالعه حاضر چنانچه در جدول شماره ۳ بیان گردید مغایرت داشت، زیرا در مطالعه حاضر تغییر معنی داری مشاهده نشده بود. همچنین میزان تری

گلیسیرید و کلاسترول در گروه ساخارین با دوز بالا ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن، کاهش یافته بود که با مطالعه حاضر مغایرت داشت (۱۱). در مطالعه ای که توسط پیلا زافریلا و همکارانش در سال ۲۰۲۱ انجام گرفت اثر آنتی اکسیدانی و التهابی استویا، سوکراالوز و ساکارز مورد بررسی قرار گرفت که به صورت یک آزمایش بالینی با ۱۳۸ نفر از افراد چاق انجام شد در نتیجه اثرات انتی اکسیدانی و ضد التهابی استویا نسبت به دیگر شیرین کننده ها که از نوع شیرین کننده های مصنوعی بودند نشان داده شد که نتایج این تحقیق با مطالعه حاضر با توجه به جداول شماره ۱ و ۳ مطابقت داشت (۱۲). در مطالعه ای که رافت و همکارانش در سال ۲۰۲۱ در ارتباط با اثرات عصاره گیاه استویا بر روی موشهای رت دیابتی و تاثیر آن بر داروی ضد دیابتی ساکساگلیپتین انجام دادند، شاهد کاهش معنی دار قند خون و بهبود اثر بخشی داروی ساکساگلیپتین در حضور عصاره استویا شدند که با نتایج حاصل از مطالعه حاضر مطابقت داشت (۱۳).

همانطور که از نتایج حاصل از تحقیق حاضر مشاهده میگردد تغییر شاخص های بیوشیمیایی سرم خون موشهای تحت درمان با ساخارین و عصاره هیدروالکلی استویا و همچنین مصرف همزمان این دو ماده با توجه به جداول ارائه شده و همچنین نتایج مطالعات مختلف پیشین، آثار سوء مصرف شیرین کننده های مصنوعی مانند ساخارین، به سلامت اندامهای حیاتی بدن و در مجموع سلامتی حیوانات و انسانها بسیار مشهود هست و همچنین جایگزین نمودن شیرین کننده های طبیعی مانند استویا و مشتقاتش در محصولات مختلف مانند نوشابه ها، محصولات پخته شده، مربا، آدامس، میوه های کنسرو شده، آب نبات، دسر و سس سالاد، و همچنین محصولات آرایشی و بهداشتی (مانند خمیر دندان، دهان شویه و براق کننده لب و ...)، ویتامین ها و داروها و..... می تواند علاوه بر تامین طعم شیرینی

effect of sucralose and sodium saccharin on some physiological parameters in male albino rats. *The Egyptian Journal of Hospital Medicine*. 2019 Jan 1;74(7):1552-8.

- 2 .Zhang Q, Yang H, Li Y, Liu H, Jia X. Toxicological evaluation of ethanolic extract from *Stevia rebaudiana* Bertoni leaves: Genotoxicity and subchronic oral toxicity. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2017 Jun 1;86:253-9.
- 9 .Azeez OH, Alkass SY, Persike DS. Long-term saccharin consumption and increased risk of obesity, diabetes, hepatic dysfunction, and renal impairment in rats. *Medicina*. 2019 Oct 9;55(10):681.
- 10 .Zangeneh MM, Goodarzi N, Zangeneh A, Najafi F, Tahvilian R. Hypoglycemic and nephroprotective effects of aqueous extract of *Stevia rebaudiana* (sweet fraction) in streptozotocin-induced diabetic mice. *J Ardabil Univ Med Sci*. 2018;17(4):437-46.
- 11 .Amin KA, AlMuzafar HM. Alterations in lipid profile, oxidative stress and hepatic function in rat fed with saccharin and methyl-salicylates. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*. 2015 Apr 15;8(4):6133.
- 12 .Zafrilla P, Masoodi H, Cerdá B, García-Viguera C, Villaño D. Biological effects of stevia, sucralose and sucrose in citrus-maqui juices on overweight subjects. *Food & function*. 2021;12(18):8535-43.
13. Abdel-Aal RA, Abdel-Rahman MS, Al Bayoumi S, Ali LA. Effect of stevia aqueous extract on the antidiabetic activity of saxagliptin in diabetic rats. *Journal of ethnopharmacology*. 2021 Jan 30;265:113188.

و برآورده نمودن نیازهای مورد نظر ما ، به عنوان یک انتی اکسیدان که اثرات بسیار مفیدی فراتر از بحث شیرینی مانند عامل کنترل قند خون، کنترل فشار خون، ضد التهاب و ضد تومور.... را برای ما فراهم آورد.

فهرست منابع

1. Helal EG, Al-Shamrani A, Abdelaziz MA, El-Gamal MS. Comparison between the
- 3 .Chatsudthipong V, Muanprasat C. Stevioside and related compounds: therapeutic benefits beyond sweetness. *Pharmacology & therapeutics*. 2009 Jan 1;121(1):41-54.
- 4 .Gregersen S, Jeppesen PB, Holst JJ, Hermansen K. Antihyperglycemic effects of stevioside in type 2 diabetic subjects. *Metabolism*. 2004 Jan 1;53(1):73-6.
- 5 .Ritu M, Nandini J. Nutritional composition of *Stevia rebaudiana*, a sweet herb, and its hypoglycaemic and hypolipidaemic effect on patients with non-insulin dependent diabetes mellitus. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2016 Sep;96(12):4231-4.
- 6 .Ruiz-Ruiz JC, Moguel-Ordoñez YB, Matus-Basto AJ, Segura-Campos MR. Antidiabetic and antioxidant activity of *Stevia rebaudiana* extracts (Var. Morita) and their incorporation into a potential functional bread. *Journal of food science and technology*. 2015 Dec;52:7894-903.
- 7 .Andrejić BM, Mijatović VM, Samojlik IN, Horvat OJ, Čalasan JD, Dolai MA. The influence of chronic intake of saccharin on rat hepatic and pancreatic function and morphology: gender differences. *Bosnian Journal of Basic Medical Sciences*. 2013 May;13(2):94.
- 8 .Alkafafy ME, Ibrahim ZS, Ahmed MM, El-Shazly SA. Impact of aspartame and saccharin on the rat liver: Biochemical, molecular, and histological approach. *International journal of immunopathology and pharmacology*. 2015 Jun;28(2):247-55.