

بررسی اثر عصاره هیدرومتانولی پوست انار بر رشد قارچ کاندیدا آلبیکنس

در موش‌های صحرایی دیابتی شده توسط آلوکسان

مجید صادق پور^۱، مریم عیدی^{۲*}، فاطمه نوربخش^۳

چکیده

امروزه قارچ‌های فرصت‌طلب بویژه کاندیدا آلبیکنس از جمله شایع‌ترین عوامل مخاطره‌آمیز در بیماران با ضعف سیستم ایمنی هستند. عفونت‌های قارچی ناشی از گونه‌های کاندیدا و افزایش روزافزون سویه‌های مقاوم به داروهای آزولی در بیماران دارای نقص ایمنی از اهمیت بالایی برخوردار است. سمیت داروهای مورد استفاده، ایجاد مقاومت در این قارچ‌ها و مشکلات ناشی از تداخل دارویی، ضرورت استفاده از داروهایی با تأثیر بیشتر و سمیت کمتر را موجب می‌شود. مصرف انار غیر از جنبه خوراکی آن از دیدگاه دارویی و اثرات درمانی نیز قابل ملاحظه است. هدف از پژوهش حاضر، بررسی اثر عصاره هیدرومتانولی پوست انار با غلظت‌های ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بر رشد قارچ کاندیدا آلبیکنس (ATCC 10131) در موش‌های صحرایی مدل دیابتی شده توسط آلوکسان می‌باشد. موش‌های صحرایی توسط تزریق درون‌صفافی آلوکسان (۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) دیابتی شدند. سپس حیوانات با خوراندن دوز عفونی کاندیدا آلبیکنس به موش‌های صحرایی آلوده شدند. انجام تیمار برای مدت ۷ روز و بصورت متوالی از تمام گروه‌های مورد بررسی انجام گردید و نمونه‌ها را روی محیط کشت قارچی، کشت داده شد و در نهایت توسط کلتی کانت شمارش صورت گرفت. نتایج حاصل نشان داد که تیمار خوراکی عصاره هیدرومتانولی پوست میوه انار موجب بهبود موثر عفونت قارچی حاصل از کاندیدا آلبیکنس در موش‌های صحرایی دیابتی شده و قدرت اثر آن مشابه داروی ایتراکانازول می‌باشد. کاهش موثر تعداد کلتی‌های شمارش شده در روز دوم تیمار عصاره انار مشاهده شد ($p < 0/001$). نتایج نشان دهنده فعالیت موثر ضدقارچی عصاره هیدرومتانولی پوست میوه انار (*Punica granatum L.*) علیه گونه کاندیدا آلبیکنس در حیوانات دیابتی است.

واژگان کلیدی: پونیکا گراناتوم، کاندیدا آلبیکنس، دیابت، موش صحرایی (رت)، آلوکسان

تاریخ دریافت: ۹۳/۶/۲۰ تاریخ پذیرش: ۹۳/۱۰/۱۵

مقدمه

دیابت قندی شامل گروهی از اختلالات متابولیک شایع است که در فنوتیپ هیپرگلیسمی اشتراک دارند. بسته به اتیولوژی

دیابت قندی عوامل دخیل در ایجاد هیپرگلیسمی عبارتند از کاهش ترشح انسولین، کاهش مصرف گلوکز، افزایش تولید گلوکز، اختلالات تنظیمی متابولیک همراه با دیابت قندی که موجب ایجاد تغییرات پاتوفیزیولوژیک ثانویه‌ای در دستگاه‌های مختلف بدن می‌گردند و نگرانی و مسئولیت عظیمی بر فرد مبتلا به دیابت و سیستم مراقبت‌های بهداشتی تحمیل می‌نمایند (۹، ۱۴، ۱۶، ۲۴).

طبقه‌بندی دیابت قندی بر اساس فرآیندهای پاتوژنیک ایجادکننده هیپرگلیسمی صورت می‌گیرد. دو گروه گسترده دیابت قندی عبارتند از نوع ۱ و نوع ۲. دیابت یک اختلال شایع و مزمن است که بخش قابل توجهی از بودجه‌ی مراقبت بهداشتی را در کشورهای پیشرفته به خود اختصاص می‌دهد. تخمین زده می‌شود که دیابت در انگلستان ۵ درصد کل هزینه مراقبت بهداشتی را به خود اختصاص می‌دهد که این میزان ممکن است بسیار پائین تخمین زده شده باشد. هزینه‌ی سالانه زخم پا، ۱۳ میلیون پوند در انگلستان و ۵۰۰ میلیون دلار در ایالات متحده است. هزینه‌های غیرمستقیم که بخصوص محاسبه آن سخت است، شامل هزینه‌های قابل انتساب به ناخوشی حاد، مزمن و مرگ و میر زودرس که منجر به کاهش قابلیت تولید می‌شوند، می‌باشد. هزینه‌های اجتماعی-اقتصادی دیابت قابل ملاحظه بوده و احتمالاً کمتر از حد واقعی برآورد می‌شوند (۱۸ و ۲۰). افراد دیابتی به برخی از عفونت‌ها حساسیت بیشتری نشان می‌دهند. کاندیدیازیس دهانی یکی از شایع‌ترین عفونت‌های فرصت‌طلب در افراد دیابتی و مبتلایان به

۱- کارشناس ارشد میکروبیولوژی، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زستی، واحد ورامین - پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین - پیشوا، ایران
۲* - دانشیار فیزیولوژی جانوری، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم زستی، واحد ورامین - پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین - پیشوا، ایران، maryameidi@gmail.com
۳- استادیار میکروبیولوژی، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زستی، واحد ورامین - پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین - پیشوا، ایران

قابل توجهی را روی میکروارگانیزم های مختلف دارا می باشد. در مورد ترکیب های فنولیک و به خصوص پونیکالائین (Punicalagin) بدست آمده از پوست انار، گزارش هایی وجود دارد که بیانگر خاصیت ضدقارچی آن در شرایط *in vitro* برابر قارچ کاندیدا آلیکنس (*Candida albicans*) می باشد (۷). لذا در پژوهش حاضر اثر ضدقارچی عصاره هیدرومتانولی پوست میوه انار در موش های صحرایی دیابتی شده توسط آلوکسان مورد بررسی قرار می گیرد.

مواد و روش کار

در این بررسی ابتدا ۳۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرم از دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله اعظم قسمت پرورش حیوانات آزمایشگاهی خریداری گردیده و در بخش نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات در شرایط مطلوب دمایی ۲۵-۲۰ درجه سانتی گراد و رطوبت کافی ۶۰-۵۰ درصد در قفس های نگهداری، رت قرار داده شدند. حیوانات به آب و مواد غذایی کافی و به میزان مناسب دسترسی داشتند. موشها را ابتدا وزن کرده و سپس با تزریق درون صفاقی داروی آلوکسان مونوهیدرات (σ) در غلظت ۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن دیابتی شدند. پس از گذشت مدت ۳-۵ روز، علائم دیابت مانند پرنوشی، کاهش وزن، افزایش حجم و پرادراری ظاهر شدند. به منظور اطمینان از القاء دیابت، گلوکز خون اندازه گیری شد. قند خون ناشتای بالاتر از ۱۸۰ میلی گرم بر دسی لیتر نشان دهنده دیابت بود. سپس، حیوانات دیابتی به روش گاوآذ (خوراکی) توسط قارچ کاندیدا آلیکنس عفونی شدند. برای تهیه محیط کشت قارچی از محیط کشت سابورو دکستروز آگار استفاده گردید. سویه قارچ کاندیدا آلیکنس به شماره استاندارد ATCC ۱۰۲۳۱ را بر روی پلیت های حاوی سابورو دکستروز آگار (Sabouraud dextrose agar) و کلرامفنیکل (Chloramphenicol) کشت داده و پس از قرار

نقص ایمنی سلولی است. در بین افراد مبتلا به دیابت، عوامل دیگری نیز سبب افزایش تحریک کلنیزاسیون کاندیدا در مخاط دهان می شوند (۲۴).

عفونت دهانی در این افراد به نظر می رسد که با توجه به ضایعات سفید روی گونه ها، لثه و زبان دیده می شود که بدون درد بوده و در برخی از موارد این نوع عفونت می تواند گلو را هم درگیر کرده و در نتیجه بلع دردناک رخ دهد (۱۱).

بر طبق نظریه دکاندول و شواهد موجود انار، بومی ایران و کشورهای همجوار آن است که بتدریج در مناطق آسیای مرکزی تا هیمالیا، خاورمیانه، آسیای صغیر و حوزه مدیترانه گسترش یافته است. امروزه انار در اکثر نقاط دنیا از جمله ایران، اسپانیا، ایتالیا، یونان، مراکش، افغانستان، هندوستان، چین، ترکمنستان، روسیه، ازبکستان و نظایر آن کشت می گردد (۱). گیاه انار از خانواده *Punicaceae* و متعلق به دون خانواده *Pomegranate* بوده و نام علمی آن *Punica granatum L.* است (۱۳).

اسید الازیک که به عنوان یکی از ترکیبات بسیار فعال زیستی است و در چندین مطالعه صورت گرفته در این زمینه از هیدرولیز الازی تانن ها نظیر پونیکالائین، که آن را می توان در انار پیدا کرد. پس از مصرف آب میوه انار یا عصاره آن، اسید الازیک وارد دستگاه گوارش و سپس به گردش خون راه یافته و در بدن منتشر می شود. هیدرولیز الازی تانن ها بدن را از انتشار اسید الازیک بعلت واکنش آنزیمی نیست، بلکه این هیدرولیز وابسته به pH محیط بوده که میزان مطلوب آن برابر با ۸ خواهد بود. حداکثر انتشار الازی تانن ها در محتویات سکوم بوده که پس از یک ساعت قابل مشاهده و ردیابی است (۱۹ و ۱۵، ۸). انواع ترکیبات فنلی و تاننی در انار عبارتند از الازیک اسید، گالیک اسید، پونیکالائین، پونیکالین، کلروژنیک اسید، هیدروکسی سینامیک اسید، پروتوکاتچیک اسید، هیدروکسی بنزوئیک اسید، کافیک اسید، فرولیک اسید، فلوریدزین، کوئرستین، کاتکین، پی - کوماریک اسید و او - کوماریک اسید (۱۰). اسید الازیک در عصاره پوست انار وجود داشته تاثیرات

در غلظت های ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم دریافت کردند (n=۲۰).

• گروه های ۶: موش‌های صحرایی دیابتی که توسط قارچ کاندیدا آلبیکنس عفونی شده و داروی ایتراکونازول در غلظت ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم دریافت کردند (n=۵).

به منظور بررسی اثر درمانی عصاره و داروی ایتراکونازول در روزهای صفر، اول، دوم، سوم، چهارم، پنجم، ششم و هفتم پس از شروع تیمار عصاره و داروی ایتراکونازول از دهان حیوانات با سواب استریل مرطوب نمونه برداری شده و کشت داده شد. سپس، تعداد کلنی های رشد یافته در سطح پلیت با دستگاه کلنی کانترا شمارش انجام شد (۶).

تجزیه و تحلیل داده‌ها در این تحقیق به روش ANOVA (Analysis of variance) (آنالیز واریانس یکطرفه) و آزمون تعقیبی Tukey صورت گرفت. داده‌ها بصورت $\text{mean} \pm \text{S.E.M}$ نشان داده شدند. (SEM = Standard Error) mean آنالیز آماری به کمک نرم‌افزار SPSS و رسم نمودارهای مربوطه، به کمک نرم‌افزار excel انجام شد.

نتایج

اثر تیمار خوراکی (در آب آشامیدنی) عصاره هیدرومتانولی پوست میوه انار در غلظت‌های ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و داروی ایتراکونازول در غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بر رشد قارچ کاندیدا آلبیکنس در موشهای آلوده در روزهای صفر، ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶ و ۷ بعد از شروع تیمار عصاره و دارو بررسی گردید و با نتایج گروه کنترل آلوده به قارچ مقایسه شد. نتایج نشان داد در روز صفر یا قبل از شروع تیمار عصاره انار، تعداد کلنی کاندیدا آلبیکنس در محیط کشت غیرقابل شمارش بود، ولی پس از شروع مصرف عصاره انار تعداد کلنی های قارچ کاهش معنی داری را نشان داد که وابسته به زمان و غلظت بود. اثر عصاره انار در روزهای اول، دوم و سوم پس از تیمار کمتر از داروی ایتراکونازول بود که

دادن در انکوباتور دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸-۲۴ ساعت مخمرها رشد کردند و سلول‌های تازه قارچی بدست آمد. یک میلی لیتر از گونه قارچی که ۲۴ ساعت قبل از آزمایش در محیط سابوردکستروز آگار کشت داده شده و بحالت فعال درآمده بود، غلظتی را معادل ۰/۵ مک فارلند (Mc farland) $(1/5 \times 10^8 \text{ cfu/ml})$ به تمام حیوانات مورد بررسی خوراندند شد تا بدین ترتیب مبتلا شوند. پس از گذشت ۴۸ تا ۷۲ ساعت از عفونی شدن تجربی موش‌ها (آلودگی با کاندیدا) با گرفتن سواب دهانی و کشت دادن به روش کشت سطحی (Streak Plate Method) روی محیط کشت کروم آگار کاندیدا و سابوردکستروز آگار (SDA) حاوی کلرامفنیکل تازه تهیه شده، میکروارگانیسم غالب کاندیدا آلبیکنس دیده شد و عفونت تجربی بدین وسیله تایید گردید (۵).

میوه انار از اطراف شهر راوند کاشان جمع اوری شد، پوست میوه جدا و در سایه و به دور از نور خورشید و دمای مناسب قرار داده شده تا خشک گردید. پس از خرد نمودن آنها، ۵۰ گرم از پوست میوه خشک شده انار در ۴۸۰ میلی لیتر متانول ۸۰ درصد به مدت ۴۸ تا ۷۲ ساعت در دمای اتاق و محلی به دور از نور خیسانده شد (روش ماسیراسیون). سپس این مخلوط از کاغذ صافی واتمن ۴۲ عبور داده شده و توسط دستگاه روتاری در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد و به مدت نیم ساعت حلال جدا شد. سپس غلظت های ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم از آن تهیه شد. همچنین غلظت ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم از داروی شیمیایی ایتراکونازول جهت مقایسه با عصاره تهیه گردید.

گروه‌های مورد مطالعه عبارت بودند از:

• گروه ۱: موش‌های صحرایی دیابتی که توسط قارچ کاندیدا آلبیکنس عفونی شده، ولی تیمار دارویی یا عصاره دریافت نکردند (n=۵).

• گروه های ۲، ۳، ۴ و ۵: موش‌های صحرایی دیابتی که توسط قارچ کاندیدا آلبیکنس عفونی شده و عصاره انار را

در روزهای چهارم، پنجم، ششم و هفتم اختلاف معنی داری بین عصاره گیاه و داروی ایتراکونازول مشاهده نشد (جدول ۱).
 نتایج مطالعه حاضر نشان داد که عصاره انار دارای اثرات ضد کاندیدیایی قوی است و این عصاره همچنین با دارا بودن ترکیبات فنلی فراوان خاصیت ضد میکروبی شدیدتری از خود نشان می‌دهد.

جدول ۱: اثر تیمار خوراکی عصاره هیدرومتانولی پوست انار در غلظت های ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم و ایتراکونازول در غلظت ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم بر تعداد کلنی فارچ کاندیدا آلبیکنس در روزهای ۱-۷.

روز	کنترل	۲۵mg/kg	۵۰mg/kg	۱۰۰mg/kg	۲۰۰mg/kg	ایتراکونازول
۰	>۱۰°	>۱۰°	>۱۰°	>۱۰°	>۱۰°	>۱۰°
۱	>۱۰°	۲۹۰۵/۶ ± ۱۰۴۳/۲ *** +	۳۴۰/۸ ± ۱۰/۶۹ ***	۳۵۲/۶ ± ۲۹/۹ ***	۳۰/۲ ± ۳/۲ ***	۷۲۵/۸ ± ۱۶۵/۴ ***
۲	>۱۰°	۱۱۰۹/۴ ± ۳۳۴/۳ *** ++	۱۳۲ ± ۱۴/۹ ***	۸۷ ± ۳۸/۷ ***	۷/۶ ± ۰/۵ ***	۲۱۴/۸ ± ۹۲/۸۵ ***
۳	>۱۰°	۲۰۴/۴ ± ۷۲/۱۳ ***	۱۰۱/۲ ± ۹/۹ ***	۱۳/۶ ± ۳/۹	.	۵۹/۸ ± ۳۶/۵
۴	>۱۰°	۱۶۶/۴ ± ۵۶/۹ *** +++	۳۲/۸ ± ۹/۷ ***	.	.	.
۵	>۱۰°	۸ ± ۳/۲ ***	۱۴/۴ ± ۳/۶ *** +++	.	.	.
۶	>۱۰°
۷	>۱۰°

*** p < ۰/۰۰۱ اختلاف از گروه کنترل و ++p < ۰/۰۱، +++p < ۰/۰۰۵، +p < ۰/۰۵ اختلاف از گروه ایتراکونازول را نشان می‌دهد.

بحث

اشکال دیگر شامل غشای کاذب (برفک) است که وقتی تراشیده می‌شود، یک سطح مرطوب همراه با تراوش‌های خونریزی دهنده‌ای را نشان می‌دهد (۴). طب گیاهی در سرتاسر دنیا برای محدوده‌ای از افراد مبتلا به دیابت کاربرد دارد. در بیماران دیابتی اختلالات دهانی نظیر خشکی دهان، اختلال چشایی، بیماری‌های لثه‌ای و پریودنتال، تغییرات زبان و کاندیدیازیس دهانی شایع است (۱). Belazi با بررسی و گزارش‌های مکرر نشان داد که شیوع عفونت‌های کاندیدیایی در حفره دهانی دیابتی‌ها نسبت به غیردیابتی‌ها بیشتر است. عقیده عمومی بر این است که استعداد ابتلا به عفونت در افراد دیابتیک بیشتر از افراد

دیابت به معنای اختلالات متابولیکی است که موجب افزایش میزان گلوکز خون می‌شود و بیماری مزمن مادام‌العمری است که جزء شایع‌ترین بیماری‌های غدد درون ریز بوده که با کاهش ترشح انسولین توسط سلول‌های بتا جزایر لانگرهانس پانکراس ایجاد می‌شود. عفونت‌های کاندیدیایی دهان در افراد با ضعف سیستم ایمنی و افرادی که تحت درمان طولانی مدت با آنتی بیوتیک‌ها، داروهای کورتیکواستروئیدها و استفاده کنندگان از دندان‌های مصنوعی دیده می‌شوند. شکل معمول عفونت‌های دهانی و مری به صورت لکه‌های سفید پنبه‌ای شکل است.

سالم است و این عفونت‌ها در این گروه خط سیر پیچیده‌تری داشته و میزان شیوع آن با اندازه گلوکز پلاسما در ارتباط می‌باشد (۲۳).

باتوجه به موارد فوق الذکر و نتایج آزمایشات انجام شده گیاه انار دارای خواص ضدباکتریایی و ضدقارچی می‌باشد و از این نظر می‌تواند بر علیه طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌ها اثرات قابل توجهی داشته باشد. میزان اثر ضد میکروبی این گیاه در گونه‌های مختلف از لحاظ قدرت و طیف اثر متفاوت است. همچنین نحوه استخراج، گونه گیاه، موقعیت جغرافیایی، استرس‌های وارد شده به گیاه، تفاوت‌های درون گونه‌ای بر میزان و نوع ترکیبات شیمیایی گیاه موثر می‌باشند.

در توافق با نتایج حاضر، Salehi Surmaghi بیان کرده که انار، گیاه شناخته شده‌ای در طب قدیم است و اثرات مختلف آن شناخته و مشخص شده است، به طوری که تمدن‌های کهن مصر، هند، چین و یونان این گیاه دارویی را شناخته بودند. مهمترین اثراتی که برای انار در کتب سنتی عنوان شده، خاصیت قابض، ضدانگل، ضدسرطان، ضددیابت، ضدقارچی، ضد باکتری آن است (۲۳).

Yoshida نشان داد الاژی تانن موجود در انار، اثرات ضد میکروارگانیسمی در حدود هفت روز روی باکتری‌هایی نظیر اشریشیاکلی، کلبسیلا، سودوموناس، باسیلوس، پروتوس، استافیلوکوکوس و قارچ‌هایی نظیر (کاندیدا و کریپتوکوکوس) اعمال می‌نماید و کاملاً اثر گذار است (۱۷).

Dhanya با بررسی عصاره متانولی انار که دارای فعالیت وسیع الطیف ضد میکروبی است نشان داد این گیاه در برابر ۱۵۹ نوع باکتری مولد عفونت ادراری جدا شده از بیماران با سنین و جنسیت متفاوت و نیز در برابر چندین نوع باکتری مقاوم نسبت به داروها بسیار موثر عمل می‌نماید (۱۲).

Abdolhossein Rustaiyan با بررسی فعالیت فنولیک انار در مناطق مختلف جغرافیایی ایران از شهرهای گوناگون نظیر: یزد، کاشان، ساوه و ورامین نشان داد که مقدار فنول موجود در این

میوه متناسب با منطقه آب و هوایی مختلف و متغیر است. این ماده موثر در انار منطقه راوند کاشان بیشتر از ورامین بوده و محدوده جغرافیایی یزد ترکیب موثره بیشتری نسبت به انار منطقه ساوه دارد (۲۱).

نتایج تحقیق حاضر تایید کننده کاربرد سنتی پوست میوه انار برای درمان عفونت‌های قارچی در بیماران دیابتی است و کاربرد ضد میکروبی عصاره انار از این جهت حائز اهمیت است.

تشکر و سپاسگزاری

با سپاس فراوان از زحمات و همکاری‌ها و رهنمودهای بی‌دریغ اساتید بزرگوار و فرهیخته دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین - پیشوا و همکاران محترم دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی که با کمک و رهنمودهای ارزنده امکان انجام این تحقیق را میسر نمودند.

فهرست منابع

۱. مازندرانی، م، خوجم لی، ز، دانشور، الف (۱۳۸۹): معرفی و مقایسه مهمترین مواد موثره ثانوی گیاه انار وحشی (Punica granatum L) در رویشگاه‌های متفاوت استان گلستان. نشریه پژوهش‌های اکوفیزیولوژی گیاهی ایران، شماره ۳۸، جلد ۲، ۷۰-۶۳.
2. Albrecht, M., Banoczy, J., Dinya, E. (1992): Occurrence of oral leukoplakia and lichen planus in diabetes mellitus. J Oral Path Med 21(8): 364-366.
3. Belazi, M., Velegraki, A. (2005): Candidal overgrowth in diabetic patients: potential predisposing factors. J Mycoses 48(3): 192-196.
4. Bennani-Kabchi, N. (2000): New model of atherosclerosis in insulin resistant sand rats: hypercholesterolemia combined with D2 vitamin. Atherosclerosis 150(1): 55-61.
5. Black, J.G. (2012): Microbiology Principles and Explorations 8th edition United States of America. Wiley: 189-190.

6. Burapadaja, S., Bunchoo, A. (1995): Antimicrobial activity of tannins from *Terminalia citrina*. *Planta Medica* 61(04): 363-366.
7. Carlton, P.S., Kresty L.A., Stoner, G.D.(2000): Failure of dietary lyophilized strawberries to inhibit 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone-and benzo pyrene-induced lung tumorigenesis in strain A/J mice. *Cancer letters* 159(2): 113-117.
8. Chang, F.Y., Shaio, M.F. (1995): Respiratory burst activity of monocytes from patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes Research and Clinical Practice* 29(2): 121-127.
9. Crozier, A., Jaganath, I.B., Clifford, M.N. (2009): Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. *Natural Product Reports* 26(8): 1001-1043.
10. Denning, D.(1997): Guidelines for the investigation of invasive fungal infections in haematological malignancy and solid organ transplantation. *European J.Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 16(6): 424-436.
11. Dhanya, P., Benny P. (2013): Antifungal Effect of Methanolic Extracts of Leaves of *Garcinia Gummi-Gutta*. L. *International JPharmaceutical Sciences Review & Research* 21(2): 230-237.
12. Duke, J.A.(2010): Handbook of medicinal herbs 2th edition, CRC press, New York: 562.
13. Geerlings, S.E., Hoepelman, A.I. (1999): Immune dysfunction in patients with diabetes mellitus (DM). *FEMS Immunology & Medical Microbiology*.(26)3□4 :258-265.
14. Häkkinen, S.H.(2000): Ellagic acid content in berries: Influence of domestic processing and storage. *European Food Research and Technology* 212(1): 75-80.
15. Joshi, N.(1999): Infections in patients with diabetes mellitus. *New England JMedicine* 341(25): 1906-1912.
16. Jourdes, M.(2013): Hydrolyzable tannins: gallotannins and ellagitannins, in *Natural Products*, Springer.:1975-2010.
17. Meier, M.(2005): Identification of urinary proteinpattern in type 1 diabetic adolescents with early diabetic nephropathy by a novel combined proteome analysis. *J Diabetes and Its Complications* 19(4): 223-232.
18. Naeini, A. (2009): Anti-Candida albicans activity of some Iranian plants used in traditional medicine. *Journal de Mycologie Médicale/JMedical Mycology* 19(3): 168-172.
19. Olefsky, J.M.(2001): Prospects for research in diabetes mellitus. *JAMA* 285(5): 628-632.
20. Rustaiyan, A.(2013): Extraction, analysis and study of antioxidant activity and total phenolic of pomegranate (*Punica granatum* L.) seed oil from four different regions of Iran (Yazd, Saveh, Kashan and Varamin). *Nature & Science* 11(2): 524-529.
21. Sadraei, H., Asghari, G., Khazae, M. (2009):Relaxant effect of four fractions separated from alkaloid extract of *Pycnocyclus spinosa* on rat isolated ileum. *Research in Pharmaceutical Sciences* 3(2): 9-14.
22. Salehi Surmaghi, H.(2006): Medicinal plants and phytotherapy. *Donyae Taghazie, Tehran,Iran*, 6 (2): 59-63.
23. Smaill, F., Vazquez, J. (2007): Antibiotics for asymptomatic bacteriuria in pregnancy. *J Cochrane Database Syst Rev* 2.2:23-29.
24. Vazquez, J.A., Sobel, J.D. (1995): Fungal infections in diabetes. *J Infectious Disease Clinics of North America* 9(1): 97-116.