

## بررسی فعالیت کاهندگی چربی خون و خواص آنتی اکسیدانی عصاره های اتانولی میوه های مورد، عناّب و گل ریواس حاوی ترکیبات آنتراکینون در رت های نر نژاد ویستار

فاطمه غلامی<sup>۱</sup> : f.gholami.iauy@gmail.com

۱.دکترای فیزیولوژی جانوری، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گچساران . گچساران، ایران

### چکیده:

پایین بودن میزان لیپیدهای خون باعث کاهش بیماریهای قلبی عروقی می شود. در این مقاله ، عصاره های اتانولی میوه های مورد، عناّب و گل ریواس حاوی ترکیبات آنتراکینونی بر پروفایل لیپیدی، میزان فعالیت آنزیم سیترات لیاز کبدی ،تغییرات بیوشیمیائی و بافتی کبد در موش های صحرائی نر نژاد ویستار دریافت کننده رژیم غذایی غنی از کلسترول بررسی شد.آزمون غربالگری جهت بررسی ترکیبات آنتراکینون و فعالیت آنتی اکسیدانی انجام شد که از بین آنها ریواس انتخاب گردید. برای بررسی تاثیر کاهندگی گیاه بر روی نمونه های سرمی اندازه گیری پروفایل چربی ، مارکرهای کبدی ، قند و اوره ، اسید اوریک ، مالون دی الدهید و پتانسیل آنتی اکسیدانی تام سرم صورت گرفت. جهت مقایسه کلی داده ها از آنالیز واریانس یک طرفه و پس آزمون توکی استفاده گردید، سطح معنی داری  $p < 0.05$  در نظر گرفته شد.

کلمات کلیدی: ریواس، آنتراکینون، پروفایل لیپیدی، کبد، موش صحرائی

### ۱.مقدمه:

هایپرکلسترولمی فاکتور خطر بیماری های قلبی عروقی نظیر تصلب شرایین، انفارکتوس میوکارد، حملات قلبی و بیماریهای عروق مغزی است که برخی از این بیماری ها عامل مرگ در کشورهای صنعتی هستند. این بیماری از طریق افزایش غیر طبیعی لیپیدها (تری گلیسیرید و کلسترول) و لیپوپروتئین در خون مشخص می شود. تعدیل میزان کلسترول و لیپیدهای خون می تواند موجب کاهش خطر قلبی عروقی شود و نقطه عطفی در کاهش شیوع بیماریهای قلبی عروقی و مرگ و میر است. با توجه به شیوع بالای اثرات جانبی داروهای صنعتی مانند میوپاتی، تخریب کبدی، لکوپنی و تداخلات بالقوه دارویی نیز گزارش شده است و استفاده از این داروها زیاد موفقیت آمیز نبوده است. یافتن داروها و مواد درمانی دیگر برای کنترل میزان کلسترول بویژه داروهای دارای عوارض جانبی کمتر امری اجتناب ناپذیر است. درمانهای مبتنی بر گیاهان به علت کاربرد درمانی شان شناخته می شوند زیرا آنها حداقل عوارض جانبی را دارند یا بدون عوارض جانبی هستند

طی بیست سال گذشته توجه به طب سنتی در بسیاری از بخش های دنیا افزایش چشمگیری یافته است. گیاهان انواع متابولیت هایی نظیر ایزوفلاون، فیتو استرول، ساپونین، فیبر، پلی فنول، فلاونوئید و آسکوربیک تولید می کنند و این مواد بیشترین توجهات را در زمینه نقششان در متابولیسم لیپید و فعالیت ضد اکسیداسیونی جلب کرده اند

امودین [یکی از آنتراکینون های اصلی ریواس] دارای تاثیرات هایپوگلیسمیک و هایپولیپیدمیک بر موش های صحرایی دیابتی است که دچار وضعیت دیس لیپیدمی نیز هستند و موجب کاهش تری گلیسرید، اسیدهای چرب آزاد، کلسترول تام ناشتا و مالون آلدئید<sup>۱</sup> و افزایش میزان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز می شود. گیاهان عناب<sup>۲</sup> و مورد<sup>۳</sup> و ریواس<sup>۴</sup> دارای این ترکیبات فعال هستند و پتانسیل کاهندگی چربی بخصوص میزان کلسترول را دارند. بنابراین هدف اول از این تحقیق آزمایش غربالگری عصاره های سه گیاه نامبرده بر اساس میزان آنتراکینون آنهاست و سپس بررسی تاثیر عصاره گیاه انتخاب شده (از لحاظ بیشترین میزان آنتراکینون) بر پروفایل لیپیدی (میزان کلسترول تام، لیپوپروتئین با چگالی خیلی کم، کم و بالا)، میزان فعالیت آنزیم سیترات لیاژ کبدی<sup>۵</sup> تغییرات بافت کبد در موش های صحرایی بود که رژیم غذایی حاوی کلسترول بالا را دریافت داشته اند [۱].

لیپوپروتئین ها نقش کلیدی در جذب کلسترول غذایی، اسیدهای چرب دارای زنجیره بلند و ویتامین های محلول در چربی، انتقال تری گلیسریدها، کلسترول و ویتامین های محلول در چربی از کبد به بافتهای محیطی و انتقال کلسترول از بافتهای محیطی به کبد دارد. لیپوپروتئین ها دارای یک هسته از لیپیدهای آب دوست (تری گلیسریدها و استرهای کلسترول) هستند که توسط لیپیدهای آبدوست (فسفولیپیدها، کلسترول های استری نشده) و پروتئین هایی احاطه شده اند که با مایعات بدن واکنش انجام می دهند. (۸)

امروزه پزشکی گیاهی محدوده ای در حال رشد از طب متناوب را دارا هستند. بسیاری از ترکیبات فعال در داروهای صناعی از ترکیبات گیاهی مشتق شده اند و محدوده کاربردی وسیعی دارند. گیاهان و عصاره های گیاهی کم خطر تر از داروهای شیمیایی هستند و محصولات طبیعی عمومیت بیشتری را یافته اند زیرا داروهای صناعی ممکن است تاثیر منفی بر محیط و افراد داشته باشند. [۱۲] ریواس یا ریاس با نام علمی *Rheum acuminatum L* گیاهی است از تیره ترشک ها (هفت بندها) دارای ۷۰ گونه مختلف که بومی مناطق آسیایی از جمله ایران، پاکستان، هند و چین است. [۲] این گیاه پایا، معمولا<sup>۶</sup> در نواحی شیب دار کوهستانها، لابلای تخته سنگها به خوبی سازگاری پیدا نموده است. برگهای ریواس معمولا<sup>۷</sup> حالت طوقه ای پهن، بر روی زمین گسترده شده و دارای دم برگ کوتاه (۵ تا ۱۰ سانتیمتر) و پهنک بسیار خشن و عریضی (در برخی موارد قطر پهنک بیش از ۸۰ سانتیمتر می رسد) می باشد. [۱۳]

مورد (*Myrtus communis*) از خانواده *Myrtaceae* می باشد گیاهی بوته ای و همیشه سبز است که بسته به رقم آن تا ارتفاع ۳ متر رشد می نماید. [۱۱] برگ های آن کوچک، چرمی و به رنگ سبز تیره بوده و گل ها سفید و مشابه به گل های اوکالپتوس هستند. میوه های مورد نیز بنفس تا سیاه رنگ می باشند. منشاء آن ناشناخته. این گیاه از زمان های قدیم کاشت می شده اند و امروزه در نواحی مدیترانه تا جنوب آسیا یافت می شوند. [۳]

<sup>۱</sup>- *Myrtus communis*

<sup>۲</sup>- *Rheum ribes*

<sup>۳</sup>- ACL

درخت عناب بومی کناره های اقیانوس آرام و امریکای شمالی است و تقریباً در همه جای ایران می روید. میوه عناب دارای خواص طبی متعددی است و از میوه های بسیار مفید است که علاوه بر خواص تغذیه ای دارای موارد استفاده زیادی به عنوان یک گیاه دارویی است. درخت عناب شبیه درخت سنجد است و در نواحی کوهستانی برخی از مناطق ایران مانند خراسان یافت می شود. در بریتانیا عناب را به صورت خشک شده و یا به صورت آب نبات های طعم دار همراه با چای عصر میل می نمایند. [۴, ۵] عصاره آن موجب مهار اثر رادیکال های آزاد (به عنوان عامل افزایش التهاب) می گردد. [۶] حاوی آنتی اکسیدان های طبیعی چون ویتامین C، کاروتنوئیدها و فلاونوئید است. [۱۰] همچنین موجب تقویت سیستم ایمنی می شود. [۱۴]

در این مطالعه بررسی محتوای آنتراکینونی عصاره های مذکور با استفاده از تست تشخیصی آنتراکینون به منظور بررسی اثرات احتمالی درمانی عصاره های فوق الذکر بر هایپرکلسترولمی انجام شد. [۱۴]. بر اساس جستجوی انجام شده تا کنون در مورد اثرات ضد چربی ریواس گزارشی وجود ندارد و لذا در این مطالعه اثرات ریواس بر چربی های خون در مدل حیوانی مطالعه گردید [۷, ۹].

## ۲. مواد و روشها

مورد، عناب و ریواس در اواسط خرداد از مناطق استان کهگیلویه و بویر احمد جمع آوری گردید و توسط کارشناس هر بار یوم دانشگاه کشاورزی یاسوج مورد شناسایی و تایید قرار گرفت. برگ های گیاه مورد، گل ریواس و میوه عناب بعد از خشک کردن به دور از نور مستقیم آفتاب و رطوبت توسط آسیاب به پودر تبدیل و در داخل کیسه های کتان تا موقع تهیه عصاره نگهداری شد.

عصاره های مختلف با استفاده از اتانول، آب و کلروفرم با روش ماسراسیون بدست آمد. برای این کار ۳۰۰ گرم پودر گیاهان مورد آزمایش را با اتانول آب و کلروفرم در ارلن ۱ لیتری قرار داده به نحوی که ارتفاع حلال ۱،۵ تا ۲ سانتی متر بالای پودر قرار گرفت. محلول برای مدت ۴۸ تا ۷۲ ساعت در دمای اتاق قرار گرفت در حالی که روزانه چند بار به مدت ۵ دقیقه به خوبی تکان داده شد.

محلول عصاره ها با استفاده از دستگاه بخار کننده چرخان در دمای ۴۰ درجه در خلاء تبخیر شدو عصاره خالص بدست آمد. از ۳۰۰ گرم پودر گل ریواس، ۹۸ گرم عصاره از ۳۰۰ گرم پودر میوه عناب، ۱۰۰ گرم عصاره همچنین از ۳۰۰ گرم پودر برگ مورد، ۹۲ گرم عصاره بدست آمد. سپس عصاره گیاهان بدست آمده در فریزر تا زمان انجام آزمایش نگهداری شد. آزمایش غربالگری ( ترکیبات آنتراکینون )، اندازه گیری فنل تام فلاونوئید تام و ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی بر روی عصاره های هر ۳ گیاه صورت گرفت.

## ۲-۱. آزمایش غربالگری (آنتراکینون)

۱۰۰ میلی گرم عصاره را با ۱۰ میلی لیتر اسید کلریدریک رقیق جوشانده، فیلتر نموده و به محلول فیلتر شده بنزن اضافه شد. لایه بنزن با هیدراکسید آمونیم مخلوط شد. وجود رنگ قرمز بیان کننده وجود ترکیبات آنتراکینون می باشد. گیاهی که دارای بیشترین مقدار ترکیبات آنتراکینونی باشد به عنوان گیاه مورد مطالعه انتخاب شد.

## ۲-۲. آزمایشات مربوط به فیتوکمیکال و خواص آنتی اکسیدانی به شکل برون تی

ابتدا میزان فنل ، فلاونوئید و خواص آنتی اکسیدانی عصاره های مختلف گیاهان مورد نظر اندازه گیری شد. سپس نمونه عصاره ای که دارای بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی بود به عنوان بهترین عصاره مورد استفاده انتخاب شد

## ۲-۳ اندازه گیری فنل تام

مقادیر فنل تام در نمونه های عصاره گیاهی با اندکی تغییر توسط روش فولین سیکالتو اندازه گیری گردید .

## ۲-۴ ارزیابی فعالیت ضد اکسیدان بوسیله رادیکال آزاد دی فنیل پیکریل هیدرازیل (DPPH.)

فعالیت ضد اکسیدان تام نمونه های عصاره توسط روش (Von gadoo) و همکارانش در سال ۱۹۹۷ ارزیابی شد .

## ۲-۵ روش تهیه رژیم غذایی حاوی کلسترول

پودر غذای معمولی موشهای صحرایی ( ۶۲,۷۵٪) ، کلسترول (۲٪) ، کولیک اسید (۲۵٪) ، آرد سفید گندم (۱۰٪) ، ساکارز (۱۰٪) و روغن خوک (۱۵٪) بود . غذای موش در یک هاون با ترکیبات فوق مخلوط و حداقل آب به مخلوط آنها اضافه شد به نحوی که خمیر بدست آمد. سپس با استفاده از یک سرنگ ۲۰ میلی لیتری که قسمت سر آن باز بود خمیر به صورت پلت (قرص) در آورده شد.

## ۲-۶ حیوانات و روش تیمار آنها

۶۰ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار با وزن ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم از حیوان خانه دانشگاه علوم پزشکی شیراز خریداری و در قفس های پلاستیکی تحت مراقبت ویژه به دانشگاه علوم پزشکی یاسوج انتقال یافت . برای سازگاری حیوانات مورد مطالعه به مدت یک هفته ننگه داری شدند و سپس بر روی آنها آزمایشات لازم انجام شد. موش های صحرایی به ۶ گروه ده تایی تقسیم شدند الگوی کار با حیوانات آزمایشگاهی در تمام مراحل پژوهش بر اساس استانداردها و ضوابط «دستورالعمل اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی» (مبشر و همکاران سال ۹۰) صورت گرفته است.

## ۲-۷ طراحی تحقیق

گروه بندی حیوانات به شرح ذیل بود

۱. گروه کنترل منفی غذای فشرده و آب مصرفی دریافت کردند.
۲. گروه کنترل مثبت رژیم غذایی حاوی (۲ درصد کلسترول و ۲۵٪ اسید کولیک ) و آب مصرفی را به مدت ۸ هفته دریافت کردند.
۳. گروه درمانی ۱ ، علاوه بر رژیم غذایی حاوی (۲ درصد کلسترول و ۲۵٪ اسید کولیک ) و آب مصرفی ، عصاره برگ گیاه ریواس را به میزان LD50/10 (۵۰۰) میلی گرم به ازاء هر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۸ هفته دریافت کردند.
۴. گروه درمانی ۲ علاوه بر رژیم غذایی حاوی (۲ درصد کلسترول و ۲۵٪ اسید کولیک ) و آب مصرفی ، عصاره برگ گیاه ریواس را به میزان LD50 / 7.5 (۶۶۶) میلی گرم به ازاء هر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۸ هفته دریافت کردند.
۵. گروه درمانی ۳ علاوه بر رژیم غذایی حاوی (۲ درصد کلسترول و ۲۵٪ اسید کولیک ) و آب مصرفی ، عصاره برگ گیاه ریواس را به میزان LD50 / 5 (۱۰۰۰) میلی گرم به ازاء هر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۸ هفته دریافت نمودند

## ۲-۸ قربانی کردن حیوانات

پس از پایان مداخله و بعد از گذشت ۲۸ روز، حیوانات به مدت ۱۲ ساعت ناشتا نگه داشته شده و حیوانات با استفاده از اتر بیهوش شدند و پس از خون گیری از قلب به روش جابجائی مهره گردن قربانی شدند.

## ۲-۹ آماده سازی نمونه های خون

از هر حیوان حدود ۵ میلی لیتر خون گرفته شد و با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه در دمای ۴- درجه سانتیگراد سانتریفیوژ و سرم به دست تهیه شد. سپس سرم خون در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد تا زمان انجام آزمایشات نگهداری گردید.

## ۲-۱۰ آزمایش های بیوشیمیایی

اندازه گیری کلسترول تام و کلسترول لیپوپروتئینهای پر تراکم و تری گلیسرید ، غلظت سرمی HDL-C ، تری گلیسرید و گلوکز سرم به روش آنزیماتیک انجام شد.

فعالیت آنزیم ACL با استفاده از روش زوج مالات دهیدروژناز تعریف شد

ظرفیت کل آنتی اکسیدانی سرم ((TAC با استفاده از روش توان آنتی اکسیدانی احیاء آهن ( FRAP= Ferric reducing antioxidant power) تعیین گردید.

اندازه گیری میزان مالون دی آلدئید یکی از روش های تعیین پراکسیداسیون لیپیدی است. برای انجام ۱، میلی لیتر سرم نمونه را با ۲ میلی لیتر معرف حاوی محلول تری کلرواستیک اسید ، تیوباربیتوریک اسید و اسید کلریدریک مخلوط گردید و به مدت ۱۵ دقیقه در حمام آب گرم حرارت داده شد . پس از سرد شدن محلول ، با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید . جذب محلول در طول موج ۵۳۵ نانومتر در مقابل معرف بلانک توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر خوانده شد و غلظت مالون دی آلدئید با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه گردید

## ۲-۱۱ آنالیز بافتی کبد

سلولهای پارانشیم کبدی برای بررسی بافتی مورد استفاده قرار گرفت. بافت ها در بافر فرمالین ۱۰ درصد (۲،۷ pH فیکس (ثبیت) شدند. مقاطع بافتی با ضخامت ۴ میکرون تهیه گردید و با رنگ اتوزین - همتوکسیلین رنگ آمیزی شدند. سپس مقاطع رنگی به وسیله میکروسکوپ مشاهده شد.

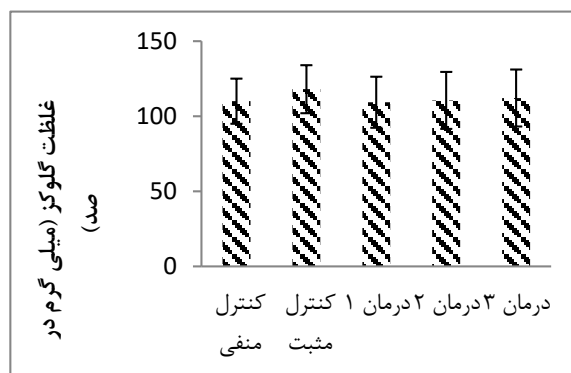
## ۲-۱۲ روش تجزیه داده ها

در  $p < 0.05$  مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار خواهد گرفت و سطح معنی داری SPSS داده ها پس از جمع نظر گرفته خواهد شد. جهت مقایسه کلی از آنالیز واریانس یک طرفه و جهت مقایسه زیر گروه ها از پس آزمون

## ۳ نتایج و بحث

### ۳-۱ نتایج حاصل از اندازه گیری گلوکز سرم

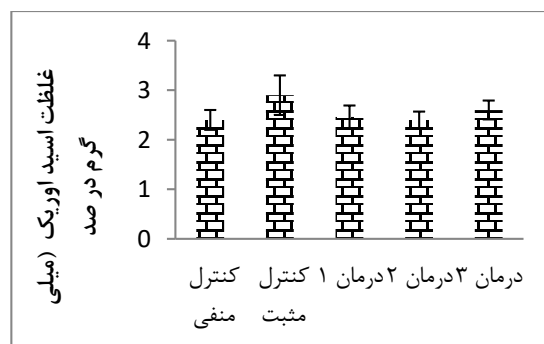
غلظت گلوکز در گروه های مختلف فاقد اختلاف معنی دار ( $p \leq 0.05$ ) بود. میزان گلوکز در گروه های درمان فاقد تفاوت معنی دار با گروه های کنترل منفی است.



نمودار ۳-۱: مقایسه میانگین غلظت سرمی گلوکز در گروه های مختلف

### ۳-۲ نتایج حاصل از اندازه گیری غلظت سرمی اوره در گروه های مختلف

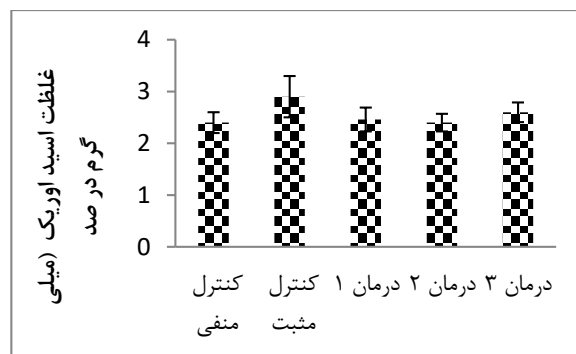
نتایج حاصل از اندازه گیری مقادیر سرمی اوره نشان داد میانگین مقادیر سرمی اوره در گروه های درمان فاقد اختلاف معنی دار با گروه های کنترل منفی و مثبت است. اگرچه میزان سرمی اوره در گروه های درمان ۲ و ۳ نسبت به گروه کنترل مثبت کاهش نشان می دهد اما این اختلاف از لحاظ آماری معنی دار نیست.



جدول ۳-۲: مقایسه میانگین غلظت سرمی اوره در گروه های مختلف

### ۳-۳ نتایج حاصل از اندازه گیری اسید اوریک

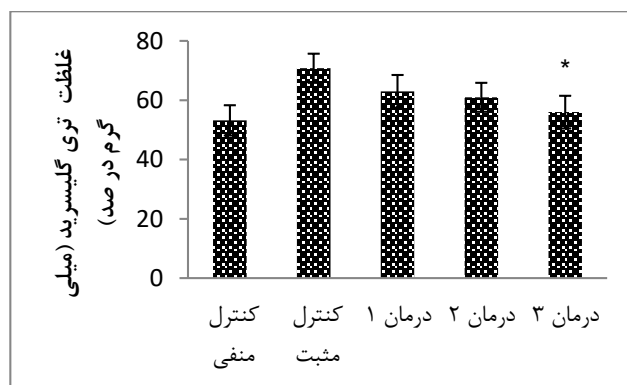
نتایج حاصل از اندازه گیری مقادیر سرمی اسید اوریک در گروه های مختلف نشان میدهد گروه های درمان و کنترل منفی و مثبت فاقد اختلاف معنی دار با یکدیگر می باشند. همانطور که مشاهده می شود میزان اسید اوریک در گروه های درمان و کنترل منفی در مقایسه با گروه کنترل مثبت کاهش غیر معنی داری دیده شد.



جدول ۳-۳: مقایسه میانگین غلظت سرمی اسید اوریک در گروه های مختلف

### ۳-۴ نتایج حاصل از اندازه گیری میزان سرمی تری گلیسرید

نتایج حاصل از اندازه گیری مقادیر سرمی تری گلیسرید در گروه درمان ۳ کاهش معنی داری در مقایسه با گروه کنترل مثبت دیده شد. با وجود اینکه میانگین سرمی این فاکتور در گروه های درمان ۲ و ۳ نسبت به گروه کنترل مثبت کاهش یافته است اما از لحاظ آماری اختلاف معنی داری میان گروه های درمان ۲ و ۳ و کنترل مثبت وجود ندارد.



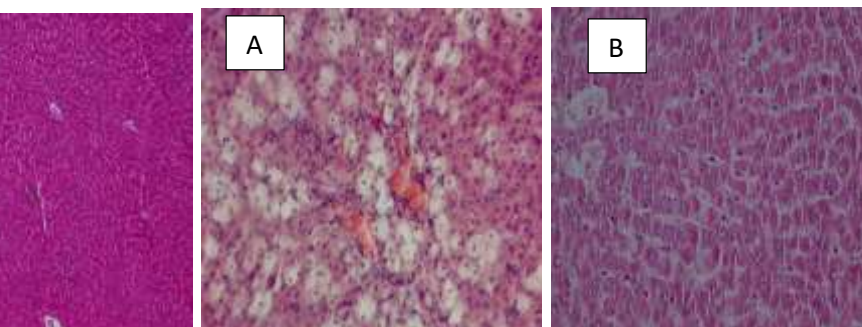
جدول ۳-۴: مقایسه میانگین غلظت سرمی اسید اوریک در گروه های مختلف

### ۳-۵ نتایج حاصل از اندازه گیری شاخص های آنزیمی کبدی و استرس اکسیداتیو

نتایج حاصل از اندازه گیری شاخص های آنزیمی کبدی و استرس اکسیداتیو نشان داد میزان FRAP در گروه های درمان افزایش معناداری در مقایسه با گروه کنترل مثبت داشته و میزان مالون دی آلدئید در گروه های درمان کاهش معناداری نسبت به گروه کنترل مثبت دارد.




جدول ۱-۳ مقایسه شاخص های آنزیمی کبدی و استرس اکسیداتیو در موش های صحرایی هایپر لیپیدی



شکل ۱-۳: بافت میکروسکوپی کبد در گروه های مختلف. (A) بافت کبد نرمال (بزرگنمایی ۴۰)، (B) بافت کبد پس از هایپرلیپید (غذای پر چرب) (بزرگنمایی ۴۰)، (C) تغییرات بافتی کبد رت های هایپرکلسترولمی تحت تاثیر درمان با عصاره آبی الکی ریواس قزاز گرفته است (بزرگنمایی ۴۰)

#### ۴- نتیجه گیری

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد عصاره ریواس در دوز ۱۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن موجب کاهش کلسترول تام، کلسترول - لیپوپروتئین با چگالی کم، تری گلیسرید و مالون دی دهید شد. همچنین تجویز عصاره در بالاترین دوز درمانی ۱۰۰۰ میلیگرم بر کیلوگرم باعث افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی سرمی در حیوانات دریافت کننده رژیم غذایی پرچرب گردید. عصاره هیدروالکلی گل ریواس رویش شده در کوه دنا دارای خاصیت کاهندگی چربی در رت‌ها می باشد. اگرچه مکانیسم کاهندگی به دلیل مهار کنندگی رقابتی آنزیم سیترات لیاز کبدی نبود ولی شاید بتوان گفت که پتانسیل کاهندگی چربی در مطالعه حاضر بخاطر پتانسیل آنتی اکسیدانی بالای و همچنین وجود ترکیبات آترکینون این گیاه باشد.



## ۵- منابع

۱. هراتیان., et al ۲۰۲۰, بررسی اثرات عصاره میوه عناب (*Ziziphus jujube*) بر استرس اکسیداتیو هیپو کامپی و اختلال حافظه فضایی القاء شده با مورفین در موش صحرایی نر. مجله پژوهشهای جانوری (مجله زیست شناسی ایران)(علمی), (۳۳)۳, p. 279-292.
۲. کلوندی et al ۲۰۲۰, بررسی اثر گیاه دارویی آرتیشو بر شاخص های کبد چرب. مجله طب مکمل, (۱۰)۲, p. 134-147.
۳. Alkurdi, M.I.S. and J. Supuka, Study of Mediterranean woody plants for hardiness in Central Europe conditions. Praha: Powerprint, 2016.
4. Barton, T., PhD Thesis. Huertas María Díaz-Mula, MSc. Professor María Serrano, PhD Professor Daniel Valero, PhD. PhD. Student. Supervisors.
5. Belfarhi, L., et al., Bioscience Research.
6. Berkhout, T.A., et al., The effect of (-)-hydroxycitrate on the activity of the low-density-lipoprotein receptor and 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase levels in the human hepatoma cell line Hep G2. Biochemical journal, 1990. 272(1): p. 181-186.
7. Bulku, E., et al., A novel dietary supplement containing multiple phytochemicals and vitamins elevates hepatorenal and cardiac antioxidant enzymes in the absence of significant serum chemistry and genomic changes. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2010. 3.
8. Chen, L.-L., et al., Effects of processing adjuvants on traditional Chinese herbs. journal of food and drug analysis, 2018. 26(2): p. S96-S114.
9. Dara, L., J. Hewett, and J.K. Lim, Hydroxycut hepatotoxicity: a case series and review of liver toxicity from herbal weight loss supplements. World journal of gastroenterology: WJG, 2008. 14(45): p. 6999.
10. Dawczynski, C. and S. Lorkowski, Trans-fatty acids and cardiovascular risk: does origin matter? Expert review of cardiovascular therapy, 2016. 14(9): p. 1001-1005.
11. Devaraj, S., J. Rogers, and I. Jialal, Statins and biomarkers of inflammation. Current atherosclerosis reports, 2007. 9(1): p. 33-41.
12. Hammeso, W.W., et al., Antidiabetic and antihyperlipidemic activities of the leaf latex extract of *Aloe megalacantha baker* (Aloaceae) in streptozotocin-induced diabetic model. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2019. 2019.

---

13.Heck, A.L. and R.J. Handa, Sex differences in the hypothalamic–pituitary–adrenal axis’ response to stress: an important role for gonadal hormones. *Neuropsychopharmacology*, 2019. 44(1): p. 45-58.

14.Zhang, Q.-F., et al., Reproductive toxicity of inorganic mercury exposure in adult zebrafish: histological damage, oxidative stress, and alterations of sex hormone and gene expression in the hypothalamic-pituitary-gonadal axis. *Aquatic Toxicology*, 2016. 177: p. 417-424.