مجله دیابت و متابولیسم ایران. مرداد- شهریور۱۳۹۴؛ دوره ۱۴ (شماره۶)۳۷۸-۳۷۳

مقاله پژوهشی

تاثیر عصاره هیدروالکلی کاکوتی کوهی (Ziziphora clinopodioides Lam) بر تعداد سلول‌های فعال بتای پانکراس در موش‌های سوری دیابتی نوع یک ناشی از استرپتوزوتوسین

حمید محمدصادقی[۱]، امیرحسین منصورآبادی[۲*]، سپهر امامی[۳]، محمدرضا نحوی نژاد[۴]، مریم موگویی[۲]

چکیده

مقدمه: دیابت یک اختلال متابولیک است که در اثر تولید ناکافی انسولین یا نبود گیرنده‌های انسولین ایجاد می‌گردد. این بیماری در حال حاضر عامل مهمی در ناتوانی و بستری شدن بیماران بوده و فشار مالی قابل توجه‌ای را به جامعه تحمیل می‌کند. هدف از مطالعه حاضر بررسی تاثیر عصاره هیدروالکلی کاکوتی کوهی بر تعداد سلول‌های فعال بتای پانکراس در موش‌های سوری دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین می‌باشد.

روش‌ها: در این مطالعه از ۳۶ سر موش سوری نر استفاده گردید که هر۶ سر در ۶ گروه کنترل، کنترل دیابتی و گروه‌های تجربی با دوز ۱۰۰،۱۵۰،۲۰۰ و۳۰۰ قرار داده شدند. استرپتوزوتوسین به‌روش درون‌صفاقی با دوز ۵۵ mg/kg تزریق گردید. به‌منظور تعیین تعداد سلول‌های فعال بتای پانکراس، پس از گذشت ۱۸ روز از دریافت عصاره، حیوانات توسط دی‌اتیل‌اتر، بیهوش و پانکراس آن‌ها خارج شد و پس از فیکس‌شدن در فرمالدئید ٤ درصد، برای برش‌گیری آماده شدند. از نمونه‌های پانکراس، برش‌های ۲ میکرونی تهیه و تعداد سلول‌های بتای فعال، با استفاده از کیت ایمونوسیتوشیمی بررسی گردید. داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه و تست Tukey از نظر آماری بررسی گردید. همهٔ داده‌ها به‌صورت Mean ± S.E.M. ارائه شدند. اختلاف در سطح معنی‌داری p<۰/۰۵ تعیین شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که تیمار عصاره هیدروالکلی در غلظت‌های ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، موجب افزایش تعداد سلول‌های بتا با فعالیت ترشحی انسولین، در مقایسه با موش‌های سوری کنترل می‌شود.

نتیجه‌گیری: عصاره هیدروالکلی کاکوتی کوهی، در موش‌های سوری دیابتی شده، با آزادسازی انسولین از سلول‌های بتای پانکراس دارای خاصیت کاهش دهندگی قند خون می باشد و احتمالاً کاربرد سنتی آن تایید می‌گردد.

واژگان کلیدی: کاکوتی کوهی، جزایر لانگر هانس، دیابت، ایمونوسیتوشیمی

۱- گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران
۲- گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران
۳- گروه داروسازی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران
٤- گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران

*نشانی: : یزد، شهرک دانشگاه، خیابان شهدای گمنام، پردیس دانشکده پزشکی، گروه ایمونولوژی، تلفن: ۰۹۳۸۰۰۹۷۰۵۹، پست الکترونیک : a.mansourabadi.67@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۴/۲۷ تاریخ درخواست اصلاح: ۱۳۹۴/۰۶/۰۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۶/۱۹

مقدمه

بیماری دیابت در حال حاضر عامل مهمی در ناتوانی و بستری شدن بیماران بوده و فشار مالی قابل توجه‌ای را به جامعه تحمیل می‌کند. در ایران ۲ میلیون نفر از بالغین بین ۲۵ تا ٦٤ سال به دیابت مبتلا می باشند و ٤/٤ میلیون نفر در معرض ابتلا به این بیماری قرار دارند [۱]. آسیا و آفریقا بالاترین پتانسیل را برای ابتلا به بیماری دیابت دارند، به‌طوری‌که نسبت دیابت در این مناطق به دو تا سه برابر سایر نواحی می‌رسد [۲]. روش‌هایی که در حال حاضر برای درمان دیابت غیر وابسته به انسولین استفاده می‌شوند، مانند تغییر رژیم غذایی و عوامل هیپوگلیسمیک خوراکی، محدودیت‌های خاص خود را دارند [۳]. کاربرد گیاهان برای درمان دیابت قندی به‌طور وسیعی به‌ویژه در کشورهای آسیای میانه رایج است [٤]. بسیاری از گونه‌های گیاهی، در طب سنتی ملل مختلف به‌واسطه خواص هیپوگلیسمیک شان برای درمان دیابت قندی مورد استفاده قرار می‌گیرند در نتیجه بر آن شدیم که در این پژوهش به بررسی اثر عصاره هیدرو الکلی کاکوتی کوهی بر تعداد سلول‌های فعال بتای پانکراس موش‌های سوری بپردازیم.

کاکوتی کوهی با نام علمی Ziziphora clinopodioides Lam، گیاهی است متعلق به تیره نعناع که بخش‌های هوایی آن به صورت ادویه مصرف می‌گردد. این گیاه در اغلب مناطق شمالی و غربی و بخش‌هایی از مرکز ایران می‌روید و دارای ۹ زیر گونه بومی است [۵]. بررسی‌های Chitsaz و همکاران منجر به شناسایی ۲۲ ترکیب متفاوت در عصاره کاکوتی کوهی شده است که ۵ ترکیب بیش از ۷۳ درصد عصاره را تشکیل داده‌اند و به‌ترتیب شامل پولگون، پارامنتا-۳-ان-۸-اول، نیو-منتول، پیپری تنونو ۱و۸ سینیول می‌باشند [٦].

تمام قسمت‌های این گیاه در طب گیاهی مورد استفاده دارد. بسیاری از گونه‌های گیاهی هستند که در طب سنتی ملل مختلف به‌واسطهٔ خواص آنتی اکسیدانتی و نقش در کاهش استرس اکسیداتیو به کاهش قند خون منجر شده و برای درمان دیابت قندی مورد استفاده قرار می‌گیرند [۸ ،۷]. این گیاه در درمان بیماری‌های معده و روده با منشاء روانی و بیماری‌های اسهال توام با تحریکات عصبی، نقش موثر و آرام بخشی دارد و همچنین در تنظیم اعمال گوارشی و تقویت کبد به‌ویژه کمک به هضم غذا کاربرد دارد [۱۰ ،۹]. از خواص درمانی این گیاه، خلط‌آور، بادشکن و مقوی معده است. در بعضی نواحی مخلوط گرد دانه آن با عسل، جهت درمان دیسانتری به‌کار می‌رود [۱۲ ،۱۱]. در مناطق مختلف از پودر خشک شده این گیاه به‌عنوان چاشنی بر روی ماست و لبنیات استفاده می‌شود [۱۳]. همچنین در معالجه امراض معده و به‌عنوان ضد عفونی کننده برای رفع سرماخوردگی مورد استفاده دارد [١٤]. اجزای کاکوتی کوهی فعالیت ضد توموری داشته و رشد نوعی از تومورهای بدخیم را تا ۳۲/۳ کاهش می‌دهد [۱۵]. در ایران با وجود استفاده زیاد از گیاهان خانواده نعناع به‌عنوان طعم دهنده، تحقیقات گسترده‌ای پیرامون اثرات ضد دیابتی عصاره گیاه کاکوتی انجام نشده است. هدف از پژوهش حاضر تعیین اثر عصاره Ziziphora clinopodioides Lam بر تعداد سلول‌های بتا پانکراس در موش‌های دیابتی است.

روش‌ها

عصاره گیری

گیاه Ziziphora clinopodioides Lam در بهار ۱۳۹۲ از ارتفاعات هزار مسجد استان خراسان جمع‌آوری شد. پس از تمیز کردن، گیاه در سایه و در فور ۳۰ درجهٔ سانتی‌گراد خشک شد. سپس برگ‌های خشک شده پودر شد.

برگ‌های خشک و پودر شده (حدود ۸۰ گرم) با ٤۰۰ میلی‌لیتر اتانل (۸۰ درصد) در دستگاه سوکسله به‌مدت ۷۲ ساعت قرار گرفت. سپس عصاره، صاف شد و توسط دستگاه روتاری، خشک گردید.

حیوانات

٣٦ سر موش‌های سوری نر نژاد bulb/c ، از واحد بین الملل دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، خریداری شدند. هر٦ سر به‌ترتیب در گروه‌های کنترل، کنترل دیابتی و گروه‌های تجربی قرار داده و در قفس‌های تمیز با درجهٔ حرارت ٢٤–٢٢ درجهٔ سانتی‌گراد و سیکل نوری ۱۲ ساعت نور، ۱۲ ساعت تاریکی و رطوبت نسبی ٦۰ – ٤۰ درصد در آزمایشگاه دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد نگه‌داری شدند. گروه کنترل سالم به‌روش درون‌صفاقی با سالین تیمار شدند. گروه کنترل دیابتی به‌روش درون‌صفاقی با سالین تیمار شدند، گروه‌های تجربی ۳، ٤، ۵ و ٦ گروه‌های دیابتی

تجربی، به‌ترتیب عصارهٔ گیاهی را با غلظت‌های ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به‌روش درون‌صفاقی دریافت نمودند.

استرپتوزوتوسین (STZ, Sigma-Aldrich, StLouis, MO, USA) پیش از انجام آزمایش، در سرم فیزیولوژیک استریل حل شد و به‌روش درون‌صفاقی (۵۵ mg/kg) به موش‌های سوری تزریق گردید [۱۶]. ۵ روز پس از تزریق، حیوانات برای انجام ادامه آزمایش مورد استفاده قرار گرفتند. عصارهٔ گیاهی در غلظت‌های۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن و سالین به‌صورت تزریق درون‌صفاقی به‌مدت ۱۸ روز تیمار گردید. حجم مادهٔ تیمار شده در تمامی گروه‌ها ۰/۵ میلی‌لیتر بود.

تعیین تعداد سلول‌های بتای فعال پانکراس

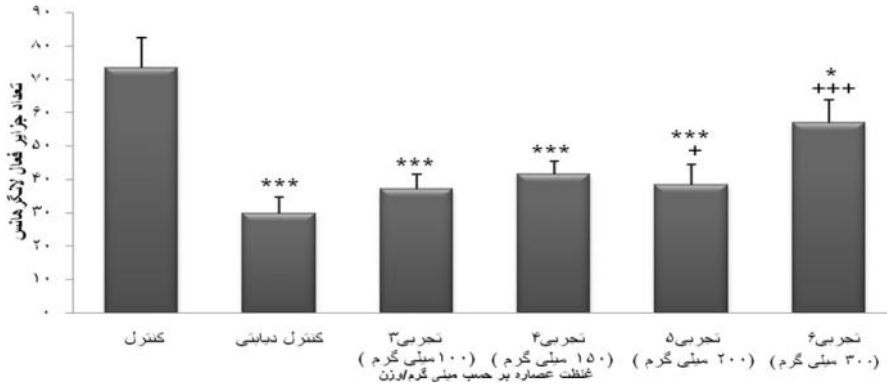
به‌منظور تعیین تعداد سلول بتای فعال پانکراس، پس از ۱۸ روز و خاتمه دوره آزمایش، حیوانات توسط دی‌اتیل‌اتر، بیهوش شدند. پانکراس حیوانات خارج شد و در بافر فرمالدئید ٤ درصد به‌مدت ٢٤ ساعت فیکس شد و به‌منظور برش‌گیری، در پارافین قرار گرفت. برش‌های ۲ میکرومتری برای تعیین تعداد سلول‌های بتای پانکراس با استفاده از کیت ایمونوسیتوشیمی (DAKO, Germany) آماده شدند. نمونه‌ها پس از آماده‌سازی نمونه‌ها با میکروسکوپ نوری و بزرگنمایی ۱۰۰×، مطالعه گردید و تعداد جزایر لانگرهانس (که بر اساس وجود انسولین در آن‌ها رنگ‌آمیزی شده‌اند) در ۳۰ میدان دید میکروسکوپیک با عدسی ٤ شمارش شدند. سپس نتایج به‌دست آمده از نمونه‌های تجربی با نتایج کنترل دیابتی و کنترل سالم، مقایسه آماری گردید.

آنالیز آماری

برای مقایسه میانگین ٦ گروه و نیز تعیین اختلاف گروهی، داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه و تست Tukey از نظر آماری بررسی گردیدند. همهٔ داده‌ها به‌صورت Mean ± S.E.M. ارائه شدند. اختلاف بین گروه‌ها در سطح معنی‌داری$p<۰/۰۵$ تعیین شد. $p<۰/۰۵$*و$p<۰/۰۰۱$***، تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه کنترل سالم (Control) نشان می‌دهد. $p<۰/۰۵$ + و $p<۰/۰۰۱$+++، تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه کنترل دیابتی نشان می‌دهد.

یافته‌ها

نتایج ایمونوسیتوشیمی نشان داد که استرپتوزوتوسین، موجب تخریب سلول‌های بتا در گروه کنترل دیابتی در مقایسه با گروه کنترل سالم می‌شود. از طرف دیگر، تیمار عصاره کاکوتی کوهی به‌مدت ۱۸ روز، موجب افزایش تعداد سلول‌های بتای رنگ‌آمیزی شده در گروه‌های تجربی نسبت به گروه کنترل دیابتی می‌گردد (نمودار ۱).



نمودار ۱- اثر تزریق درون‌صفاقی عصارهٔ هیدروالکلی کاکوتی کوهی در غلظت‌های ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بر تعداد سلول‌های بتای پانکراس در موش‌های سوری سالم (Control)، دیابتی کنترل (Control-diabetic) و دیابتی تجربی

هر ستون Mean± S.E.M. را برای ۶ موش نشان می‌دهد. گروه‌های کنترل و سالم، سالین را به‌عنوان حلال عصاره دریافت کردند. $p<۰/۰۵$*، $p<۰/۰۰۱$***، تفاوت معنی‌داری را نسبت به گروه کنترل سالم (Control) نشان می‌دهد. $p<۰/۰۰۱$+++، $p<۰/۰۵$ +، تفاوت معنی‌داری را نسبت به گروه کنترل دیابتی نشان می‌دهد.

بحث و نتیجه‌گیری

دیابت قندی دومین بیماری اندوکرینی کشور ما به‌شمار می‌آید. شیوع بالای دیابت و مشکلات فردی و اجتماعی حاصل از آن و لزوم احیای طب سنتی و شناسایی اثرات آنتی‌دیابتیک گیاهان دارویی موجود در طبیعت که دارای آثار درمانی با ارزشی هستند، ما را بر آن داشت تا اثر آنتی‌دیابتیک کاکوتی کوهی و سازوکار اثر آن را مورد مطالعه قرار دهیم. کاکوتی کوهی به‌طور معمول به‌عنوان نوعی ادویه کاربرد دارد.

کاکوتی کوهی در طب سنتی برای درمان دیابت توصیف شده‌اند [۱۷]. مطالعات بیشتری برای شناسایی شیمی این برگ‌های باید انجام گیرد.

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تیمار طولانی‌مدت عصاره هیدروالکلی (۸۰٪) کاکوتی کوهی به حیوانات دیابتی، موجب افزایش میزان انسولین در سلول‌های بتای پانکراس در مقایسه با موش های سوری کنترل می‌گردد.

در توافق با نتایج حاضر، ghafari و همکاران در سال ۲۰۰۰ نشان دادند که تیمار عصاره هیدروالکلی (۵۰٪) کاکوتی کوهی موجب کاهش گلوکز سرم در رت‌های تیمار شده توسط آلوکسان می‌گردد. این مطالعه برای اولین بار اثر ضد دیابتی عصاره کاکوتی کوهی را گزارش می‌کند. در تضاد با نتایج تحقیق حاضر، آن‌ها پیشنهاد نمودند که اثر کاکوتی کوهی، به‌سبب تقویت ترشح انسولین از سلول‌های بتای پانکراس نبوده و احتمالاً در دیابت غیروابسته به انسولین موثر است و احتمالاً به‌سبب افزایش مصرف محیطی گلوکز است [۱۸].

تحقیقات tian و همکاران در سال ۱۹۸۳ نشان داد که کاکوتی کوهی، موجب مهار سازوکار جذب مجدد توبول پراکسیمال گلوکز در کلیه و در نتیجه، باعث کاهش گلوکز خون می‌شود [۱۹]. Mahdavi و همکاران گزارش نمودند که تیمار درون‌صفاقی عصاره کاکوتی کوهی به‌مدت ٤ هفته، به‌طور موثری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کبد و کلیه رت‌های دیابتی‌شده توسط استرپتوزوتوسین را افزایش می‌دهد. این عصاره، مالون دی‌هیدرات را که یک مارکر لیپید است، به‌میزان قابل توجهی در رت‌های دیابتی کاهش و نیز ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی را در طرح غیروابسته به غلظت، افزایش می‌دهد. بنابراین، عصاره کاکوتی کوهی دارای نقش محافظتی بر ضد آسیب اکسیداتیو در رت‌های دیابتی‌شده توسط استرپتوزوتوسین است [۲۰].

Konyalıoglu و همکاران در سال ۲۰۰۹ نشان دادند که تیمار عصاره آبی کاکوتی کوهی به‌مدت ۲۱ روز، موجب اثر آنتی‌هیپرگلیسمیک وابسته به دوز در رت‌های دیابتی‌شده توسط استرپتوزوتوسین می‌گردد. یافته‌های آن‌ها اثرات مثبت کاکوتی کوهی را بر رت‌هایی که توسط استرپتوزوتوسین دچار اختلالاتی در پروفیل لیپوپروتئین، وضعیت آنتی‌اکسیدان و تحمل گلوکز شده بودند، نشان داد. بنابراین، عصاره آبی کاکوتی کوهی، در کنترل دیابت، اختلال در پروفیل لیپید و استرس اکسیداتیو با فعال‌نمودن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان پانکراسی مفید است [۲۱].

Mehmood و همکاران در سال ۲۰۰۵ گزارش نمودند که عصاره کاکوتی کوهی با فعال‌نمودن رسپتورهای فعال‌شده تکثیر پراکسیزوم (Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)-) دارای عمل ضددیابتی است.

گالیک اسید موجود در این بخش ازگیاه، ترکیب مهم و موثر این گیاه است [۲۲]. در مطالعه دیگری که توسط Mohammad Sadeghi و همکاران در سال ۱۳۹۳ صورت گرفت، گزارش شد که عصاره هیدرو الکلی کاکوتی کوهی می‌تواند به‌طور معنی‌داری گلوکز سرم را در رت‌های نر نژاد ویستار کاهش دهد [۲۳].

طبق نتایج تحقیق حاضر، عصارهٔ هیدروالکلی کاکوتی کوهی به‌صورت مؤثری، گلوکز سرم را در موش‌های دیابتی کاهش می‌دهد و سازوکار اثر آن با افزایش آزادسازی انسولین از سلول‌های بتای پانکراسی است. لذا می‌توان عصاره این گیاه را به‌عنوان داروی ضددیابتی در نظر گرفت. هر چند تحقیق‌های بیوشیمیایی و فارماکولوژیکی بیشتری را باید برای استفاده از آن مدنظر قرار داد. جامعه آماری در این تحقیق ۳٦ سر موش است که این میزان احتمالاً برای تایید نهایی اثر عصاره کم است لذا توصیه می‌گردد به‌منظور به‌دست آوردن نتایج بهتر و دقیق‌تر، این پژوهش در مدل‌های حیوانی بزرگتر و همچنین پس از بررسی‌های کمیته اخلاق، بر روی انسان

نیز مورد ارزیابی قرار گیرد تا اثر مطلوب این گیاه بر دیابت مورد تایید نهایی قرار گیرد.

سپاسگزاری

بدین وسیله از دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، بخش ایمونولوژی و بخش فیزیولوژی به‌واسطه تأمین بودجه مالی تحقیق حاضر، کمال تشکر و قدردانی را می‌نماییم.

مآخذ

1. Esteghamati A, Gouya M, Abbasi M, Delavari A, Alikhani S, Alaedini F, Safaie A, Forouzanfar M, and Gregg EW. Prevalence of diabetes and impaired fasting glucose in the adult population of Iran national survey of risk factors for non-communicable diseases of Iran. *Diabetes care* 2008; 96-98.
2. Abdel-Barry JA, Abdel-Hassan IA, Al-Hakiem MH. Hypoglycaemic and antihyperglycaemic effects of Trigonella foenum-graecum leaf in normal and alloxan induced diabetic rats. *Journal of ethnopharmacology* 1997; 58(3):149-55.
3. Burman TK. Isolation and hypoglycemic activity of glycoprotein moran A from mulberry leaves. *Planta Med* 1985; 482-52.
4. Grover JK, Vats V, and Rathi SS. Anti-hyperglycemic effect of Eugenia jambolana and Tinospora cordifolia in experimental diabetes and their effects on key metabolic enzymes involved in carbohydrate metabolism. *Journal of Ethnopharmacology* 2000; 461-470.
5. Mesa RY, Tomas J. Plantas medicinales, aromáticas o venenosas de Cuba. *Ciencia y técnica. Inst. del Libro* 1974; 120-823.
6. Chitsaz M, Pergar A, Naseri M, Kamalinajad M, Bazargan M, Mansouri S, Ansari F. Composition of the essential oil and antibacterial activity of alcoholic extract and oil of Ziziphora clinopodiodes. LAM on selected bacteria. *Daneshvar J* 2007; 14 (68): 15-22
7. Gill GV, Woodward A, Casson IF, and Weston PJ. Cardiac arrhythmia and nocturnal hypoglycaemia in type 1 diabetes—the ‘dead in bed’syndrome revisited. *Diabetologia* 2009; 42-45.
8. Arseculeratne SN, Gunatilaka AA, Panabokke RG. Panabokke. Studies on medicinal plants of Sri Lanka. Part 14: toxicity of some traditional medicinal herbs. *Journal of Ethnopharmacology* 1985; 13(3):323-35.
9. Hasani-Ranjbar Sh, Larijani B, and Abdollahi M. A systematic review of the potential herbal sources of future drugs effective in oxidant-related diseases. *Inflammation & Allergy-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Inflammation & Allergy)* 2009; 2-10.
10. Karimi I, Hayatgheybi H, Motamedi Sh, Naseri D, Shamspur T, Afzali D, and Hassanpour Aghdam A. Chemical Composition and Hypolipidemic Effects of an Aromatic Water of Ziziphora tenuior L. in Cholesterol-fed Rabbits. *Journal of Applied Biological Sciences* 2013; 61-67.
11. Bravo L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition reviews*. 1998; 317-333.
12. Radfar M, and Abdollahi M. Pharmacotherapy in Endocrinology: Diabetes, Obesity, and Hy-perlipidemia-Review Article. *Iranian Journal of Public Health* 2014; 49-63.
13. Huang TH, Yang Q, Harada M, Li GQ, Yamahara J, Roufogalis BD, Li Y. Pomegranate flower extract diminishes cardiac fibrosis in Zucker diabetic fatty rats: modulation of cardiac endothelin-1 and nuclear factor-kappaB pathways. *Journal of cardiovascular pharmacology* 2005; 46(6):856-62.
14. Jafri MA, Aslam M, Javed K, and Singh S. Effect of Punica granatum Linn. (flowers) on blood glucose level in normal and alloxaninduced diabetic rats. *Journal of ethnopharmacology* 2000; 70(3):309-14.
15. Li Y, Qi Y, Huang TH-W, Yamahara J, and Roufogalis BD. Pomegranate flower: a unique traditional antidiabetic medicine with dual PPAR-α/-γ activator properties. *Diabetes, Obesity and Metabolism* 2008; 10(1):10-7.
16. Khaki A, Afshin Khaki A, Hajhosseini L, Sadeghpour Golzar F, and Ainehchi N. The Anti-Oxidant Effects of Ginger and Cinnamon on Spermatogenesis Dys-function of Diabetes Rats. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines* 2014; 1-8.
17. Inzucchi SE, Maggs DG, Spollett GR, Page SL, Rife FS, Walton V, Shulman GI. Page, Frances S. Rife, Veronika Walton, and Gerald I. Shulman. Efficacy and metabolic effects of metformin and troglitazone in type II diabetes mellitus. *New England Journal of Medicine* 1998; 26;338(13):867-72.
18. Ghafari H, Yasa N, Mohammadirad A, Dehghan G, Zamani MJ, Nikfar S, Khorasani R, Minaie B, and Abdollahi M. Protection by Ziziphora clinopoides of acetic acid-induced toxic bowel inflammation through reduction of cellular lipid peroxidation and myeloperoxidase activity. *Human & experimental toxicology* 2006; 325-332.

19. Tian S, Shi Y, Zhou X, Ge L, Upur H. Total polyphenolic (flavonoids) content and antioxidant capacity of different Ziziphora clinopodioides Lam. extracts. *Pharmacognosy magazine* 2011; 7(25):65-8.
20. Mahdavi M. Antimicrobial effects of Ziziphora clinopodioides extracts on Salmonella typhi Vi+ in vitro, in vivo and amp; amp; cell culture. *Clinical Biochemistry* 2011; S326.
21. Konyalıoglu S, Bintug O, and Gözde EM. Comparison of Chemical Compositions and Antioxidant Activities of the Essential Oils of Two Ziziphora. Taxa from Anatolia. *Pharmaceutical biology* 2006; 121-126.
22. Rashad M. *Phytochemical Investigation of Medicinally Important Croton Sparsiflorus and Ziziphora Tenuior Plants*. PhD diss., University of Karachi, 2011.
23. Mohammad Sadeghi H, Mansourabadi A, Moogooei M, Nahvinejad M. The Effects of the Hydroalcoholic Extract of Ziziphora Clinopodioides Lam on Pancreatic Beta Cell Count in Diabetic Wistar Rats. *journal of diabetes Nursing* 2015; 2(4): 8-15.

THE EFFECT OF ZIZIPHORA CLINOPODIOIDES LAM HYDROALCOHOLIC EXTRACT ON ACTIVE PANCREATIC BETA CELLS COUNT IN DIABETIC TYPE 1 INDUCED STZ MICE

Hamid Mohammad Sadeghi[1], Amir Hossein Mansourabadi[2*], Sepehr Emami[3], Mohammad Reza Nahvinejad[4], Maryam Moogooei[2]

1. Physiology Department, Faculty of Medicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran
2. Immunology Department, Faculty of Medicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran
3. pharmacology Department, Faculty of pharmacology, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran
4. Biochemistry Department, Faculty of Medicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

ABSTRACT

Background: Diabetes is a metabolic disorder caused by insufficient production of insulin or insulin receptors deficiency. It is now the major cause of morbidity and hospitalization in patients with a significant financial burden to the society. The aim of this study was to evaluate the effect of Ziziphora ethanolic extract on active pancreatic beta cells on streptozotocin induced diabetic mice.
Methods: In this study, 36 mice were used and divided in to 6 group such as control group, diabetic control and experimental groups which were exposed to dose of 100, 150, 200 and 300mg/kg. STZ intraperitoneally at a dose of 70 mg / kg was administered. In order to determine the number of active pancreatic beta cells, the mice were anesthetized by diethyl ether after treatment with the extracts for 18days. The pancreases were removed from the mice and fixated in 4% formaldehyde; afterwards, the pancreases were prepared for sectioning. Three-micron sections were prepared from the samples, and the number of active beta cells was evaluated by an immunocytochemistry kit**.**
Results: The results showed that the hydroalcoholic extracts of Ziziphora clinopodioides lam (100, 150, 200 and 300 mg/kg) increased the number of beta cells and insulin secretion in diabetic mice, compared to control diabetic mice. In other words, this plant could effectively increase the activity of beta cells in diabetic mice, compared to control mice. Therefore, Ziziphora clinopodioides lam could reduce serum glucose level in diabetic animals by increasing insulin secretion.
Conclusion: According to the results, the hydroalcoholic extract of Ziziphora clinopodioides lam had hypoglycemic effects in streptozotocin-diabetic mice by stimulating insulin secretion from pancreatic beta cells. Therefore, based on the obtained findings, application of this plant may be useful.

Keywords: Ziziphora Clinopodioides Lam, Beta Cells, Diabetes, immunohistochemistry

[*] University Town, shohadaye gomnam blvd, College of medicine, immunology department, Yazd, Iran. tell:09380097059, Email:a.mansourabadi.67@gmail.com