مقاله پژوهشی

اثر عصاره *Panax ginseng* بر تغییرات هیستومورفومتریک ناحیه شبکه بازویی نخاع در جنین‌های ۲۰ روزه موش‌های صحرایی دیابتی

اعظم کرمی[1*]، ذبیح الله خاکسار[2]

۱- گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران
۲- گروه علوم تشریح، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۶/۰۷/۱۸ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۶/۱۲/۱۳

چکیده

زمینه و هدف: دیابت شیرین گروهی از اختلالات متابولیکی بوده که مشخصه آن، افزایش میزان قند خون است. از گذشته‌های دور گیاه جینسنگ برای کنترل دیابت مورداستفاده بوده است. هدف از این پژوهش مطالعه اثر عصاره *Panax ginseng* بر تغییرات هیستومورفومتریک ناحیه شبکه بازویی نخاع در جنین‌های ۲۰ روزه موش صحرایی مادران دیابتی بود.

مواد و روش‌ها: ۱۶ موش صحرایی به چهار گروه مساوی شامل کنترل غیر دیابتی، غیر دیابتی دریافت‌کننده عصاره، کنترل دیابتی و دیابتی دریافت‌کننده عصاره تقسیم شدند. دیابت در موش‌های گروه‌های دیابتی توسط داروی استرپتوزوتوسین القا گردید. گروه‌ها با جفت‌گیری طبیعی باردار شدند. گروه‌های دریافت‌کننده عصاره در طول بارداری روزانه عصاره جینسنگ را دریافت کردند. در روز بیستم بارداری موش‌های مادر بی‌هوش و جنین‌ها خارج گردید و ناحیه شبکه بازویی نخاع به همراه ستون مهره‌ها جدا شد. پس از به‌کارگیری روش‌های بافت‌شناسی، برخی پارامترهای بافتی آن اندازه‌گیری گردید. اطلاعات به‌دست‌آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه و تست دانکن موردبررسی و تحلیل قرار گرفت ($P\leq ۰/۰۵$).

نتایج: تفاوت معنی‌دار در قطر عرضی و عمودی کانال مرکزی نخاع در ناحیه شبکه بازویی گروه کنترل دیابتی نسبت به دو گروه غیر دیابتی وجود داشت ($P\leq ۰/۰۵$). ارتفاع سلول‌های اپاندیم و تعداد سلول‌های ماده خاکستری نخاع در گروه کنترل دیابتی نسبت به سایر گروه‌های موردمطالعه کاهش معنی‌داری داشت ($P\leq ۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: عصاره *Panax ginseng* از طریق افزایش تحریک سلول‌های بتای پانکراس و تولید هورمون انسولین، قادر به کنترل هیپرگلیسمی در مادران دیابتی باردار و کاهش اختلالات حاصل از دیابت بر نخاع جنین آن‌ها می‌شود.

کلمات کلیدی: دیابت شیرین، ناحیه شبکه بازویی نخاع، عصاره *Panax ginseng*، استرپتوزوتوسین، موش صحرایی

مقدمه

دیابت شیرین، یک بیماری متابولیک پیش‌رونده مزمن است که با افزایش قند خون تشخیص داده می‌شود (۱). افزایش قند خون به دلیل عدم جذب سلولی قند خون در اثر کاهش ترشح انسولین (دیابت نوع ۱) و یا مقاومت سلول‌های بدن در برابر انسولین (دیابت نوع ۲) ایجاد می‌شود (۲-۱). دستگاه عصبی یکی از مهم‌ترین دستگاه‌هایی است که در اثر دیابت آسیب می‌بیند (۳). شواهدی از اختلالات مغزی در هیپوتالاموس، قشر مخ و مخچه، بخش‌های مختلف نخاع در مدل‌های آزمایشگاهی القاء دیابت گزارش شده است (۲، ۶-۴).

جنین در دوران بارداری تحت تأثیر تغییرات هورمونی و متابولیکی بدن مادر قرار دارد و این تغییرات می‌تواند تأثیر قابل‌ملاحظه‌ای بر رشد و نمو اندام‌های مختلف بدن جنین ایجاد کند (۲). دیابت بارداری زمینه گسترش دیابت در فرزندان را مهیا می‌سازد (۶). مطالعه بر روی حیوانات آزمایشگاهی نشان داده که افزایش میزان قند خون مادر از طریق جفت به جنین منتقل می‌شود؛ بنابراین هیپرگلیسمی مادر سبب هیپرگلیسمی جنینی خواهد شد (۷). افزایش قند خون و واکنش سریع انسولین مادری

*نویسنده مسئول: **اعظم کرمی**، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران
Email:Karami79@gmail.com
https://orcid.org/0000-0001-6391-9602

منجر به ایجاد ناهنجاری‌هایی در سیستم عصبی جنین ازجمله سیستم عصبی مرکزی می‌گردد. آنانسفالی، مننگوسل، حالات غیرطبیعی در مخ، مخچه، نخاع و مهره‌ها مثال‌هایی از این مورد است (۹-۸).

امروزه به دلیل اثرات جانبی زیان‌بار ناشی از مصرف انسولین و داروهای خوراکی کاهنده قند خون، بیماران دیابتی تمایل زیادی به مصرف ترکیبات و داروهای گیاهی دارند (۱۰). به‌عنوان‌مثال عوارضی مانند کهیر، هیپوگلیسمی، پدیده ریباند یا سوموگی، لیپوآتروفی، خارش، تورم، قرمزی، گرمی در محل تزریق و آنافیلاکسی از عوارض انسولین است و عوارضی نظیر سردرد، سرگیجه، اسهال، تهوع، استفراغ، درد شکمی، هیپوگلیسمی و عفونت دستگاه تنفس فوقانی به دنبال مصرف متفورمین ذکر شده است (۱۱). از سوی دیگر استفاده مستمر از داروهای ضد دیابتی خوراکی، به دلیل تخریب عملکرد سلول‌های بتای پانکراس، نمی‌تواند پاسخگوی کاهش قند خون در درازمدت باشد (۱۳-۱۲). دست‌یابی به ترکیباتی که بتواند در دوران بارداری با کمترین عوارض جانبی، قند خون را کاهش دهد و همچنین کمترین اثر سوء را بر جنین داشته باشد؛ ضروری به نظر می‌رسد.

گیاهان دارویی منابع غنی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی هستند که در طب سنتی برای کنترل و درمان بسیاری از بیماری‌ها ازجمله دیابت به کار می‌روند. اثرات کاهندگی قند خون در بسیاری از گیاهان دارویی در نمونه‌های حیوانی و آزمایش‌های بالینی بررسی و تأیید شده است (۱۴). در بین گونه‌های مختلف گیاهان دارویی، گیاه جینسنگ به دلیل تأثیر آن در کاهش قند خون، از دیرباز موردتوجه بوده است (۱۵).

در این پژوهش از ریشه گیاه *Panax ginseng* از خانواده Araliaceae استفاده شد. جینسنگ یک گیاه دارویی شناخته‌شده در طب سنتی شرقی است و غالباً به‌عنوان سلطان گیاهان دارویی توصیف می‌شود. در دهه‌های اخیر در ایالات‌متحده، ریشه جینسنگ به‌عنوان یک مکمل غذایی موردتوجه قرار گرفته است. در طب شرقی، جینسنگ معمولاً در درمان دیابت مورداستفاده قرار می‌گیرد (۱۵).

خاصیت دارویی گیاه جینسنگ مربوط به ریشه آن است. ریشه این گیاه دارای ترکیبات فعال مانند ساپونین‌های تری‌ترپنی، لیپیدها، پلی‌استیلن‌ها، آلکالوییدها، پلی‌ساکاریدها، الیگوساکاریدها، الیگوپپتیدها، فلاونوییدها، ویتامین‌ها، پپتیدوگلیکان‌ها، ترکیبات نیتروژنی، اسیدهای چرب و ترکیبات فنولی است (۱۷-۱۶). مهم‌ترین جزء فعال این گیاه، جینسنوزایدها (ساپونین‌ها) هستند که فعالیت‌های فارماکولوژیکی متعدد ازجمله خاصیت ضددیابتی و کاهندگی قند خون را دارند (۱۸).

دیابت بارداری پیامدهای متعدد و خطرناکی در سیستم اعصاب مرکزی جنین به همراه دارد. نظر به خاصیت هیپوگلیسمیک ریشه گیاه جینسنگ و اینکه در کشور ما تاکنون مطالعه‌ای در ارتباط با تأثیر این گیاه در کاهش قند خون مادران باردار دیابتی انجام نشده است؛ بنابراین هدف از این پژوهش مطالعه تغییرات هیستومورفومتریک احتمالی حاصل از تجویز عصاره الکلی ریشه گیاه *Panax ginseng* بر ناحیه شبکه بازویی نخاع جنین‌های ۲۰ روزه موش صحرایی مادران مبتلا به دیابت تجربی بود.

مواد و روش ها

حیوانات آزمایشگاهی: تعداد ۱۶ موش صحرایی سفید ماده بالغ از نژاد *Sprague dawley* با وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرم و ۸ سر موش صحرایی نر با وزن ۳۰۰-۲۵۰ گرم از مؤسسه حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی شیراز خریداری گردید و به لانه حیوانات دانشکده دامپزشکی شیراز منتقل شد. موش‌ها، در شرایط آزمایشگاهی یعنی قرارگیری به مدت ۱۲ ساعت در تاریکی و ۱۲ ساعت در روشنایی و نیز درجه حرارت ۲۲-۲۰ درجه سانتی گراد، قرار گرفتند و به‌منظور سازگاری با محیط جدید به مدت ۱۰ روز با غذای استاندارد و آب کافی تغذیه شدند. درون هر قفس دو قطعه موش قرار گرفت. لازم به ذکر است که در این پژوهش استفاده از حیوانات آزمایشگاهی بر اساس دستورالعمل‌های بین‌المللی بوده است. همچنین در تمام مراحل آزمایش، قوانین و مقررات اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت شده است.

آماده‌سازی عصاره الکلی: پس از تهیه ریشه خام گیاه *Panax ginseng* و تأیید آن توسط بخش گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی شیراز، این ریشه در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت دو ساعت بخارپز شد. پس‌ازاین مرحله ریشه‌ها در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد خشک شدند. فرآورده حاصل، جینسنگ قرمز (red ginseng) نامیده می‌شود (۱۹). ریشه‌های جینسنگ قرمز توسط آسیاب برقی، پودر شد. ۱۰۰۰ گرم از پودر ریشه جینسنگ قرمز در دو لیتر اتانول ۹۰ درصد خیسانده و به مدت ۵ روز در یخچال نگه‌داری و این مخلوط روزانه به هم زده شد.

پس از گذشت پنج روز محلول حاصل از کاغذ صافی عبور داده شد و درون آون ۳۷ درجه سانتی‌گراد خشک گردید (۲۰). پودر خشک‌شده عصاره جینسنگ قرمز، روزانه به میزان مصرف موردنیاز، در آب حل و توسط لوله دهانی مخصوص (نیدل گاواژ) به حیوانات خورانده شد.

گروه‌های موردمطالعه: پس از ۱۰ روز موش‌های ماده به‌صورت تصادفی به چهار گروه تقسیم شدند:

گروه اول (گروه کنترل غیر دیابتی) که دیابتی نشدند و در طول بارداری روزانه معادل حجم گروه‌های دوم و چهارم آب مقطر را به‌صورت خوراکی دریافت کردند.

گروه دوم (گروه غیر دیابتی دریافت‌کننده عصاره) که دیابتی نشدند و در طول بارداری روزانه به میزان ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن عصاره جینسنگ قرمز را به‌صورت خوراکی دریافت کردند (۲۰).

گروه سوم (گروه کنترل دیابتی) که دیابتی شدند و در طول بارداری روزانه معادل حجم گروه‌های دوم و چهارم آب مقطر را به‌صورت خوراکی دریافت کردند.

گروه چهارم (گروه دیابتی دریافت‌کننده عصاره) که دیابتی شدند و در طول بارداری روزانه به میزان ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن عصاره جینسنگ قرمز را به‌صورت خوراکی دریافت کردند (۲۰).

ایجاد دیابت القایی در موش‌های صحرایی: برای دیابتی کردن موش‌ها از داروی Streptozotocin استفاده شد. این دارو با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن و به‌صورت داخل صفاقی به موش‌های گروه سوم و چهارم تزریق شد (۲۱). آزمایش قند خون قبل از تزریق، یک روز و ۱۰ روز بعد از تزریق برای تأیید دیابت انجام شد. مبنای دیابتی شدن، قند خون بالاتر از ۲۵۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر در نظر گرفته شد (۲۲).

انجام آزمایش: پس از تثبیت دیابت (افزایش قند خون و افزایش حجم ادرار)، موش‌ها برای ایجاد باروری در مرحله استروس سیکل جنسی (با توجه به گسترش واژن)، در کنار موش نر قرار داده شد. تأیید جفت‌گیری با روش مشاهده پلاک‌های واژینال انجام گرفت. در طول دوره بارداری چهار گروه مورد آزمایش قرار گرفتند. در روز بیستم بارداری موش‌های مادر از هر چهار گروه موردمطالعه، تحت بیهوشی عمومی با ترکیبی از کتامین ۱۰٪ و زایلازین ۲٪ قرار گرفتند بی‌هوش و جنین‌های آن‌ها خارج گردید (۲۳) تا مراحل روند تشکیل و تکامل سیستم عصبی مرکزی آن‌ها موردبررسی هیستومورفومتریک قرار گیرد. در هر گروه حداقل ۵ جنین بررسی شد.

تهیه مقاطع بافت‌شناسی و مطالعات هیستومورفومتریک: جهت انجام مطالعه هیستومورفومتریک، ناحیه شبکه بازویی نخاع به همراه ستون مهره‌ها (۲۴) از سایر بخش‌های جنین جدا گردید و پس از شستشو با سرم فیزیولوژی، نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در محلول بافر فرمالین ۱۰ درصد تثبیت گردید. پس از نوسازی محلول فیکساتیو، نمونه‌ها به مدت ۷۲ ساعت دیگر در محلول مذکور قرار گرفت. پس از انجام مراحل آماده‌سازی بافتی، تهیه بلوک‌های پارافینی و ایجاد برش‌های سریال ۵ میکرونی از بلوک‌ها و قرارگیری برش‌ها بر روی لام‌های میکروسکوپی، مقاطع با هماتوکسیلین- ائوزین و ماسون تری کروم سبز رنگ‌آمیزی شدند (۲۳). سپس موارد زیر توسط میکروسکوپ نوری مطالعه و اندازه‌گیری گردید: قطر عرضی و عمودی نخاع، قطر عرضی و عمودی کانال مرکزی نخاع، نسبت ماده خاکستری به ماده سفید، تعداد سلول‌های نوروگلی ماده سفید در واحد سطح، تعداد نورون‌ها و سلول‌های نوروگلی ماده خاکستری در واحد سطح و ارتفاع سلول‌های اپاندیم کانال مرکزی. اندازه‌گیری‌ها به دو روش استاندارد میکرومتری (دستی) و میکروسکوپ نوری Olympus BX51 (ساخت کشور ژاپن) و نرم‌افزار Olysia انجام شد. جهت شمارش سلولی حداقل ۶ منطقه در ماده سفید (نوروگلی) و خاکستری (نورون و نوروگلی) شاخ قدامی و خلفی از هر مقطع موردبررسی قرار گرفت و میانگین آن‌ها به‌طور جداگانه ثبت شد.

آنالیز آماری: اطلاعات به‌دست‌آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۲۰ و آزمون‌های آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه و تست دانکن موردبررسی و تحلیل قرار گرفت. نتایج به‌دست‌آمده به همراه محاسبات آماری مربوطه به‌صورت خطای میانگین ± انحراف معیار گزارش شد. مرز استنتاج آماری $P\leq ۰/۰۵$ بود.

نتایج

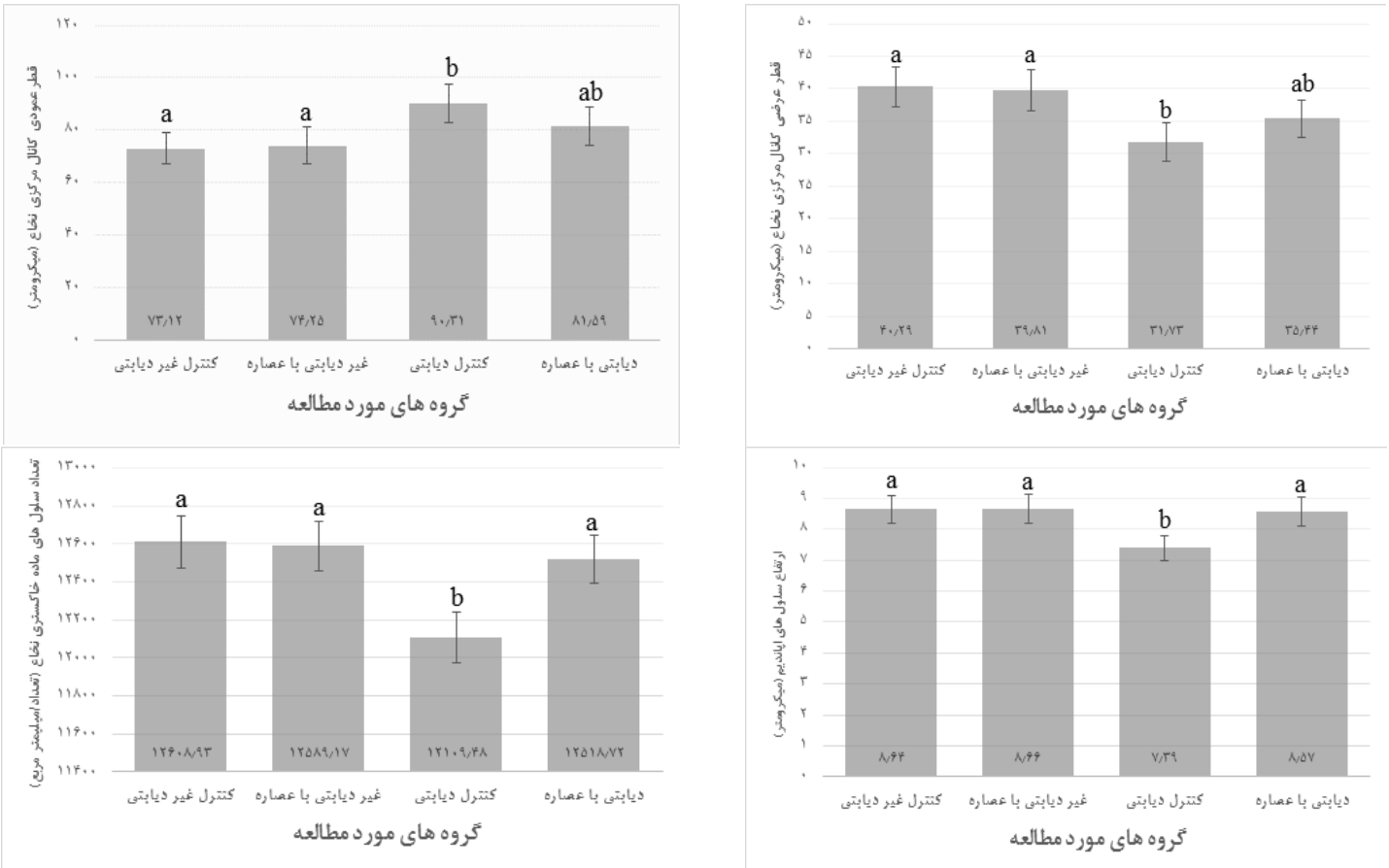
جدول ۱ و تصویر ۱ نشان‌دهنده میانگین ± انحراف معیار تعداد سلول‌ها و ابعاد ناحیه شبکه بازویی نخاع در جنین‌های ۲۰ روزه در هر چهار گروه موردمطالعه موش صحرایی است. همان‌طور که در این جدول مشاهده می‌شود کاهش معنی‌دار در قطر عرضی کانال مرکزی نخاع و افزایش معنی‌داری در قطر عمودی کانال مرکزی نخاع در ناحیه شبکه بازویی جنین‌های ۲۰ روزه گروه کنترل مادران دیابتی نسبت به دو گروه مادران غیر

دیابتی وجود داشته است (P≤۰/۰۵). این دو فاکتور در گروه مادران دیابتی دریافت‌کننده عصاره با هیچ‌کدام از سه گروه دیگر تفاوت معنی‌داری را نشان نداد و تا حدودی به دو گروه مادران غیر دیابتی نزدیک شد (P>۰/۰۵) (تصویر ۱). ارتفاع سلول‌های

جدول ۱- مقایسه میانگین ± انحراف معیار تعداد سلول‌ها و ابعاد نخاع در ناحیه شبکه بازویی در جنین‌های ۲۰ روزه در چهار گروه موردمطالعه

گروه	مادران غیر دیابتی		مادران دیابتی	
فاکتورهای موردمطالعه	کنترل	عصاره جینسنگ	کنترل	عصاره جینسنگ
قطر عرضی نخاع (µm)	۱۴۰۲/۴۸ ± ۹۵/۶۶	۱۳۹۵/۸۲ ± ۱۰۱/۲۳	۱۳۴۸/۲۵ ± ۸۹/۱۱	۱۳۶۳/۲۹ ± ۹۲/۳۶
قطر عمودی نخاع(µm)	۹۵۳/۱۷ ± ۷۳/۲۵	۹۴۸/۴۲ ± ۷۱/۱۸	۹۶۱/۳۶ ± ۸۲/۱۶	۹۵۸/۲۷ ± ۷۸/۶۳
قطر عرضی کانال مرکزی نخاع (µm)	۴۰/۲۹ ± ۳/۰۱ [a]	۳۹/۸۱ ± ۳/۲۲ [a]	۳۱/۷۳ ± ۲/۹۹ [b]	۳۵/۴۴ ± ۲/۸۶ [ab]
قطر عمودی کانال مرکزی نخاع (µm)	۷۳/۱۲ ± ۶/۱۶ [a]	۷۴/۲۵ ± ۷/۰۸ [a]	۹۰/۳۱ ± ۷/۲۱ [b]	۸۱/۵۹ ± ۷/۴۸ [ab]
ارتفاع سلول‌های اپاندیم (µm)	۸/۶۴ ± ۰/۴۳ [a]	۸/۶۶ ± ۰/۴۹ [a]	۷/۳۹ ± ۰/۴۱ [b]	۸/۵۷ ± ۰/۴۵ [a]
تعداد سلول‌های ماده خاکستری (n/mm^2)	۱۲۶۰۸/۹۳ ± ۱۳۸/۴۵ [a]	۱۲۵۸۹/۱۷ ± ۱۲۹/۵۷ [a]	۱۲۱۰۹/۴۸ ± ۱۳۲/۶۴ [b]	۱۲۵۱۸/۷۲ ± ۱۲۵/۷۲ [a]
تعداد سلول‌های ماده سفید (n/mm^2)	۱۷۷۴/۲۱ ± ۶۱/۲۵	۱۷۵۹/۳۶ ± ۵۸/۲۳	۱۶۹۹/۸۶ ±۶۰/۱۷	۱۷۳۶/۱۱ ± ۵۴/۱۶
نسبت ماده خاکستری به سفید	۲/۳۹ ± ۰/۰۸	۲/۳۷ ± ۰/۰۹	۲/۳۱ ± ۰/۰۷	۲/۳۵ ± ۰/۰۸

حروف انگلیسی غیرمشابه در ردیف‌های افقی نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها است (P≤۰/۰۵).



تصویر ۱- مقایسه قطر کانال اپاندیم، تعداد سلول‌ها و ابعاد نخاع در ناحیه شبکه بازویی در جنین‌های ۲۰ روزه در چهار گروه موردمطالعه (میانگین ± انحراف معیار).

اپاندیم و تعداد سلول‌های ماده خاکستری نخاع در شبکه بازویی جنین‌های ۲۰ روزه گروه کنترل مادران دیابتی نسبت به سایر گروه‌های موردمطالعه کاهش معنی‌داری داشت (P≤۰/۰۵). این فاکتورها در گروه مادران دیابتی دریافت‌کننده عصاره به دو گروه مادران غیر دیابتی نزدیک شد به‌طوری‌که با این دو گروه تفاوت معنی‌داری را نشان نداد (P>۰/۰۵) (تصویر ۱).

بحث

همان‌گونه که در جدول ۱ مشاهده می‌شود، دیابت مادری سبب ایجاد تغییراتی در ناحیه شبکه بازویی نخاع در جنین‌های گروه کنترل دیابتی گردیده است. مقایسه اندازه فاکتورهای موردمطالعه در گروه دیابتی دریافت‌کننده عصاره نسبت به سایر گروه‌های موردمطالعه، نشان داد که فاکتورهای موردمطالعه در این گروه به گروه‌های غیر دیابتی نزدیک شده بود و حتی ارتفاع سلول‌های اپاندیم و تعداد سلول‌های ماده خاکستری با گروه‌های غیر دیابتی تفاوت اندک و غیر معنی‌داری را نشان داد. درواقع این موضوع موفقیت عصاره *Panax ginseng* در کاهش قند خون مادران دیابتی و درنتیجه کاهش آسیب‌های دیابت مادر بر جنین‌ها را تأیید می‌کند.

گزارش شده است که دیابت بارداری می‌تواند باعث القای اختلال تکاملی در سیستم عصبی مرکزی شود و درنتیجه، منجر به تغییر در وقایع تکاملی مانند نوروژنزیس، مهاجرت نورونی و تمایز و بقای سلولی گردد. دیابت بارداری می‌تواند بر روی بیان برخی از ژن‌هایی که تکامل و رشد سیستم عصبی مرکزی را تنظیم می‌کنند؛ اثر سوء داشته باشد (۲۵).

مشخص شده است که دیابت مادری در موش سوری، سبب کاهش تکثیر و افزایش آپوپتوز سلول‌های نوروایی‌تلیال در نخاع جنین می‌گردد. همچنین تحت تأثیر گلوکز زیاد در سلول‌های اجدادی زاینده عصبی نیز کاهش تکثیر و افزایش آپوپتوز دیده می‌شود (۲۶). در مطالعات مختلف گزارش شده است که هیپرگلیسمی ناشی از دیابت مادر، می‌تواند سبب بروز ناهنجاری‌هایی در تشکیل بخش‌های مختلف نخاع ازجمله تغییر در شکل نخاع، کاهش تعداد نورون‌های موجود در ماده خاکستری نخاع و کاهش قطر عرضی و افزایش قطر عمودی نخاع در جنین‌ها و نوزادان موش صحرایی مادران دیابتی گردد. این امر سبب عوارض و صدمات غیرقابل جبرانی بر سیستم عصبی جنین و نوزاد می‌گردد (۳۰-۲۷). هیپرگلیسمی ناشی از دیابت مادری در دوران جنینی می‌تواند سبب اختلال در تشکیل طبیعی نخاع در ناحیه بازویی شود و این اختلال موجب بروز ناهنجاری‌های مختلفی ازجمله تغییر در شکل نخاع و تعداد نورون‌های موجود در ماده خاکستری می‌گردد (۳۰). Golalipour و همکاران در سال ۲۰۱۴ بامطالعه اثر دیابت بارداری بر تعداد نورون‌های حرکتی شاخ قدامی نخاع در زاده‌های موش صحرایی گزارش کردند که دیابت بارداری منجر به کاهش معنی‌دار نورون‌های حرکتی شاخ قدامی نخاع در نوزادان می‌گردد (۳۱). این گزارش‌ها، نتایج حاصل از مطالعه حاضر را تأیید می‌نماید.

مطالعه خوگیری (Habituation) جنین، یکی از روش‌هایی است که برای ارزیابی اعمال سیستم عصبی مرکزی جنین، استفاده می‌شود. در جنین انسان با استفاده از یک محرک صوتی خوگیری را در حرکات جنینی و میزان ضربان قلب تشخیص می‌دهند. گزارش شده است که جنین‌های مادران دیابتی نسبت به جنین مادران غیر دیابتی، پاسخ ضعیف‌تری را از خود نشان می‌دهند (۳۲). درواقع دیابت مادری با ایجاد اثرات ناهنجاری‌زا بر سیستم عصبی مرکزی جنین، احتمالاً سبب بروز مشکلات پس از تولد نیز می‌گردد. درنتیجه فرزندان مادران دیابتی دارای مشکلات رفتاری و یادگیری می‌شوند (۳۳).

تأثیر گیاهان دارویی بر روی درمان و یا پیشگیری از بیماری‌ها همچنان موردبحث است؛ زیرا در حال حاضر مکانیسم عمل بسیاری از ترکیبات این گیاهان روشن نیست (۳۵-۳۴). در بین گونه‌های مختلف گیاهان دارویی، گیاه جینسنگ به دلیل تأثیر آن در کاهش قند خون، از دیرباز موردتوجه بوده است (۱۵).

در حال حاضر گیاهان دارویی خوراکی با خاصیت ضد دیابتی به‌ویژه آن دسته که خواص سمی کمتری دارند؛ موردتوجه هستند. ویژگی هیپوگلیسمیک این گیاهان به ترکیبات فعال زیستی آن‌ها از قبیل ساپونین‌ها، آنتوسیانین‌ها، فلاونوییدها، دی‌ترپن‌ها، تری‌ترپن‌ها، آلکالوئیدها، فلاونوییدها، تانن‌ها، گلیکوزیدها، پلی‌ساکاریدها و پپتیدهای آن‌ها بستگی دارد (۳۶). *Panax ginseng* و جینسنوزایدهای آن دارای چند عمل فارماکولوژیکی مهم برای درمان بیماری‌های مختلف مانند قند خون بالا، محافظت کبد، ایسکمی مغزی، فشارخون بالا و چربی خون در انسان و حیوانات آزمایشگاهی می‌باشند (۳۲، ۳۷).

خاصیت دارویی گیاه جینسنگ مربوط به ریشه آن است. مهم‌ترین جزء فعال این گیاه، جینسنوزایدها (ساپونین‌ها) هستند که فعالیت‌های فارماکولوژیکی و اثرات درمانی متعدد ازجمله

خاصیت کاهندگی قند خون و ضد دیابت را دارند (۱۸). در مطالعه‌ای نشان داده شد که پلی‌پپتیدهای فعال در گیاه می‌تواند از طریق کاهش استرس اکسیداتیو سبب بهبود مقاومت به انسولین شود (۳۸). همچنین گزارش‌شده که محتوای ترکیبات فنولیک بیواکتیو موجود در ریشه جینسنگ سبب کاهش گلوکز پلاسما و افزایش انسولین و سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی می‌شود (۳۹). در مطالعه‌ای اثرات متوسط آنتی‌اکسیدانی و کاهشی در قند خون توسط ساپونین گزارش شد (۴۰). خاصیت آنتی‌هیپرگلیسمیک و ضد چاقی ترکیبات حاوی ساپونین به دلیل تحریک ترشح انسولین و لپتین توسط این ترکیبات است (۴۱).

Vuksan و همکاران در سال ۲۰۰۶ نشان دادند که مصرف ۱۲ هفته‌ای عصاره جینسنگ آسیایی به میزان ۶ گرم در روز، نسبت به درمان‌های معمول، کنترل خوبی بر میزان قند خون و بهبود گلوکز پلاسما و تنظیم انسولین در بیماران مبتلا به دیابت نوع دو دارد (۱۷). در مطالعه دیگری، پس از تجویز عصاره *Panax ginseng* به‌صورت روزانه ۳۰۰ mg/kg وزن بدن به مدت ۸ هفته، میزان قند خون ناشتا، به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل کاهش داشت (۴۲). نتایج مطالعه Liu و همکاران در سال ۲۰۰۵ نشان داد که تجویز خوراکی ریشه جینسنگ به مدت چهار هفته باعث مهار مقاومت به انسولین القاشده توسط سطوح بالای فروکتوز و همچنین کاهش غلظت گلوکز خون در موش صحرایی می‌گردد (۴۳).

Cho و همکاران در سال ۲۰۰۶ نشان دادند که جینسنوزایدهای استخراج‌شده از ریشه گیاه جینسنگ باعث کاهش سطوح گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید و همچنین استرس اکسیداتیو در چشم و کلیه موش‌های دیابتی می‌شود (۴۴). Luo در سال ۲۰۰۹ با بررسی مکانیسم اثر گیاه جینسنگ بر دیابت القاشده توسط استرپتوزتوسین نشان دادند که این گیاه از طریق افزایش تولید هورمون انسولین و کاهش آپوپتوز سلول‌های بتای پانکراس قادر به کنترل هیپرگلیسمی در موش صحرایی است (۴۵).

Hosseini و همکاران در سال ۲۰۱۱ با بررسی اثر عصاره جینسنگ بر میزان قند خون، لیپید سرم و بیومارکرهای کبدی و کلیوی در موش‌های صحرایی دیابتی گزارش کردند که جینسنگ علاوه بر کاهش قند خون، قادر به کاهش عوارض ناشی از دیابت مانند کنترل افزایش چربی خون و همچنین بهبود آسیب‌های کلیوی در این حیوانات است (۴۶).

Abo-Raya و همکاران در سال ۲۰۱۳ نشان دادند که تجویز عصاره گیاه جینسنگ قرمز به موش‌های چاق مبتلا به دیابت موجب کاهش گلوکز خون، کاهش هورمون لپتین، کاهش وزن بدن و همچنین افزایش سطح سرمی هورمون انسولین می‌گردد. در این تحقیق همچنین مشخص شد که گیاه جینسنگ فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سوپراکسید دسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز را در موش‌های صحرایی چاق مبتلا به دیابت افزایش می‌دهد (۲۰).

در مطالعات Kimura در سال ۱۹۸۱ گزارش شده است که عصاره ریشه جینسنگ آسیایی، سطح گلوکز خون در موش‌های صحرایی که به‌صورت ارثی دیابتی هستند و یا به‌وسیله داروی آلوکسان دیابتی شده‌اند را کاهش می‌دهد. برخی شواهد مانند افزایش سطح انسولین خون، کاهش سطح گلیکوژن خون و افزایش رسوب گلیکوژن کبدی، اثرات ضد دیابتی گیاه جینسنگ را تأیید می‌نماید (۴۷).

عصاره ریشه جینسنگ ممکن است عمل ضد دیابتی خود را از طریق انواع مکانیسم‌های عمل بر روی سلول‌های بتای پانکراس و بافت هدف اعمال نماید. درمان با جینسنگ سبب افزایش ترشح انسولین از طریق افزایش تحریک سلول‌های بتای پانکراس می‌گردد (۴۷). درمان درازمدت با جینسنگ، منجر به افزایش متابولیسم و بهبود ترشح انسولین برای دفع گلوکز می‌شود (۱۸). فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره جینسنگ ممکن است پانکراس و بافت‌های دیگر را از استرس اکسیداتیو در طول هیپرگلیسمی محافظت نماید (۴۸).

نتیجه گیری

عصاره ریشه گیاه *Panax ginseng*، از طریق افزایش تولید هورمون انسولین، مهار مقاومت به انسولین، کاهش آپوپتوز و افزایش تحریک سلول‌های بتای پانکراس و درنهایت کاهش قند خون، قادر به کنترل هیپرگلیسمی است؛ بنابراین شاید این گیاه بتواند به‌عنوان گزینه‌ای مناسب برای ساخت دارویی برای مقابله با بیماری دیابت و نیز دیابت بارداری پیشنهاد گردد. مطالعه و ارزیابی بیشتر جینسنگ به‌منظور یافتن مکانیسم‌های ضد دیابتی این گیاه، به‌ویژه مکانیسم‌هایی که منجر به حفظ عملکرد سلول‌های بتای پانکراس و بهبود حساسیت به انسولین می‌گردد

و نیز ممکن است آغاز بیماری را به تأخیر بیندازد؛ توصیه می‌شود. اظهارنظر قطعی در مورد اثرات درمانی اجزای مؤثر این گیاه و سایر دوزهای آن در بهبود عوارض دیابت به‌ویژه دیابت بارداری و شناخت فرایند اثر آن نیازمند مطالعات بیشتری است. به‌منظور تکمیل اطلاعات در این زمینه، پیشنهاد می‌شود که موارد زیر در تحقیقات آینده موردتوجه قرار گیرند:

۱- بررسی سازوکار مولکولی اثر عصاره *Panax ginseng* در درمان دیابت و نیز دیابت بارداری

۲- شناسایی و جداسازی اجزای مؤثر عصاره *Panax ginseng* در افزایش ترشح انسولین و کاهش قند خون در بیماران دیابتی و مادران مبتلا به دیابت بارداری

۳- بررسی اثر سایر دوزهای عصاره *Panax ginseng* در پیشگیری از دیابت و نیز دیابت بارداری

۴- مطالعه اثرات تراتوژن احتمالی گیاه *Panax ginseng* بر روند تکوین سیستم عصبی مرکزی و سایر دستگاه‌های جنین

۵- انجام مطالعات و تلاش‌هایی برای کشت گیاه *Panax ginseng* به‌عنوان سلطان گیاهان دارویی، در ایران

تشکر و قدردانی

این مقاله بخشی از پایان‌نامه دوره دکترای تخصصی آناتومی و جنین‌شناسی مقایسه‌ای دانشگاه شیراز با کد رهگیری ۲۳۷۲۷۳۹ در ایران‌داک و کد مصوب 94INT2M1754 در کمیته تحصیلات تکمیلی دانشگاه شیراز است. نگارندگان این مقاله از دانشگاه شیراز به دلیل فراهم نمودن امکانات و تجهیزات انجام این پژوهش سپاسگزاری می‌نمایند.

تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.

References

1. Aberg A, Westbom L, Kallen B. Congenital malformation among infants whose mothers had gestational diabetes or pre-existing diabetes. Early Human Development. 2001; 61 (2): 85-95.
2. Abo-Raya A.O, Alfky N.A, Elgazar M.F. Anti-Obesity and Antidiabetic Activities of Red Ginseng Plant Extract in Obese Diabetic Male Rats. Global J. Pharmacol. 2013; 7(4): 390-397.
3. Anwar M.M, and Meki A.R. Oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats: Effects of garlic oil and melatonin. Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol. 2004; 135(4): 539-547.
4. Attele A.S, Wu J.A, and Yuan C.S. Ginseng pharmacology: multiple constituents and multiple actions. Biochem. Pharmacol. 1999; 58(11): 1685–1693.
5. Balakumar P, Chakkarwar V.A, and Singh M. Ameliorative effect of combination of benfotiamine and fenofibrate in diabetes-induced vascular endothelial dysfunction and nephropathy in the rat. Mol. Cell. Biochem. 2009; 320(1-2): 149-162.
6. Beauquis J, Saravia F, Coulaud J, Roig P, Dardenne M, and Homo-Delarche F. Prominently decreased hippocampal neurogenesis in a spontaneous model of type 1 diabetes, thenonobese diabetic mouse. Exp. Neurol. 2008; 210 (2): 359-67.
7. Bi L, Tian X, Dou F, Hong L, Tang H, and Wang S. New antioxidant and antiglycation active triterpenoid saponins from the root bark of Aralia taibaiensis. Fitoterapia. 2012; 83(1): 234-240.
8. Hong B. N, Ji M. G, and Kang T. H. The Efficacy of Red Ginseng in Type 1 and Type 2 Diabetes in Animals. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2013.
9. Braak E.W, Evers I.M, Willem Erkelens D and Visser G.H. Maternal hypoglycemia during pregnancy in type 1 diabetes: maternal and fetal consequences. Diabetes Metab Res Rev. 2002; 18 (2): 96-105.
10. Charpentier G. Oral Combination Therapy for Type 2 Diabetes. Diabetes Metab Res Rev. 2002; 18(3):70-76.
11. Cho W.C, Chung W.S, Lee S.K, Leung A.W, Cheng, C.H and Yue K.K. Ginsenoside Re of *Panax ginseng* possesses significant antioxidant and antihyperlipidemic efficacies in streptozotocin-induced diabetic rats. Eur. J. Pharmacol. 2006; 550(1-3):173–179.
12. Davut O, Yakup G, Sevgi B, Harun C, Mehmet S, and Ali Murat K. Morphologic and morphometric investigation of plexus brachialis in rat.Int. J. of Exp. and Clin. Anat.. 2009; 3(1): 21-28.
13. Doherty N. N, and Hepper P. G. Habituation in fetuses of diabetic mothers. Early. Hum. Dev...2000; 59 (2): 85-93.

14. Gao Q, and Gao Y.M. Hyperglycemic condition disturbs the proliferation and cell death of neural progenitors in mouse embryonic spinal cord. Int J Dev Neurosci. 2007; 25(6): 349-357.
15. Golalipour M.J, Ghafari S & Moharreri A.R, Gestational diabetes reduces motor neurons of spinal cord in 4, 8 and 12 weeks rat offspring. Journal of Gorgan University of Medical Sciences. 2014; 16(1): 29-34.
16. Hematian H, Khaksar Z, and Jelodar G. A. Evaluation of maternal diabetes effects on Lumbosacral portion of spinal cord in neonate rats by morphometry. Journal of Shahrekord University of Medical Sciences. 2010; 12(1): 53-59.
17. Hematian H, Khaksar Z, and Jelodar G.A. Morphometric study of the spinal cord in foetuses of diabetic pregnancies. Veterinarski arhiv. 2013; 83(4): 453-462.
18. Hepper P. G, and Leader L. R. Fetal habituation. Fetal and Maternal Med. Rev. 1996; 8 (2):109-123.
19. Hosseini S, Amoghli Tabrizi B, and Mazlom Mogaddam S. Evaluation at Ginseng on Lipid Profiles, Liver and Renal Markers in Diabetic Rats. ZUMS J. 2011; 19(75): 11-17.
20. Hosseini S. A, Ehsanpour A, Asgari M, and Malihi R. Evaluation of standardized Panax ginseng extract (G115 ®) effect on fasting blood glucose levels, glycated hemoglobin and lipid profile in patients with diabetes type 2. Jundishapur Journal Chronic Disease Care. 2013; 2(3): 26-32.
21. Jackson-Guilford J, Leander J. D, and Nisenbaum L. K, The effect of streptozotocin-induced diabetes on cell proliferation in the rat dentate gyrus. Neurosci Lett. 2000; 293(2): 91-94.
22. Jafari Barmak M, and Khaksar Z. Effect of Aloe Vera Extract on Testicular Tissue of Embryo of Diabetic Rats. Armaghane-danesh, Yasuj University of Medical Sciences Journal. 2012; 17(2): 149-155.
23. Jones C. W, Gestational diabetes and its impact on the neonate. Neonatal Network. 2001; 20(6): 17-23.
24. Kainer F, Prechtl H. F. Engele H, and Einspieler C. Assessment of the quality of general movements in fetuses and infants of women with type-I diabetes mellitus. Early Hum Dev. 1997; 50 (1): 13-25.
25. Kamali Y. Histomorphometric and immunohistochemichal studies of effect of WIN 55,212-2 mesylate on descent of the testes in rats. Shiraz University. Faculty of veterinary medicine. 2016.
26. Khaksar Z, and Tavakol Kookhdan E. Effect of Fenugreek Seed Extract Trigonella Foenum-graecum on Brachial Region of the Spinal Cord of an 18-Day Old Rat Offspring with Diabetes. Armaghane-danesh, Yasuj University of Medical Sciences. 2013; 18 (4): 272-283.
27. Khaksar Z, Hematian H, and Jelodar G. A. Morphological changes in the brachial enlargement of the spinal cord in offspring of diabetic rat. Iranian Journal of Veterinary Research, Shiraz University. 2010; 11(2): 119-124.
28. Kimura M. I, Waki T, Chujo T, Kikuchi C, Hiyama K, Yamazaki Z, and *et al*. Effects of hypoglycemic components in ginseng radix on blood insulin level in alloxan diabetic mice and on insulin release from perfused rat pancreas. J. Pharmacobiodyn. 1981; 4 (6): 410–417.
29. Kitts D. D, Wijewickreme A. N, and Hu C. Antioxidant properties of a North American ginseng extract. Mol. Cell. Biochem. 2000; 203 (1-2): 1–10.
30. Kumar A. Chemopreventive action of ginseng on DMBA induced skin papillomagenesis in the skin of Swiss albino mice. Proceedings of the 6th International Ginseng Symposium; 1993; Sept 6-9; Seoul Olympic Parktel. Seoul, Korea: Korea Ginseng & Tobacco Research Institute, 1993; 66-68.
31. Lampl M, and Jeanty P. Exposure to maternal diabetes is associated with altered fetal growth patterns: A hypothesis regarding metabolic allocation to growth under hyperglycemic-hypoxemic conditions. Am J Hum Biol. 2004; 16(3): 237- 263.
32. Lee M. R, Yun B. S In O. H, and Sung C. K. Comparative Study of Korean White, Red, and Black Ginseng Extract on Cholinesterase Inhibitory Activity and Cholinergic Function. Journal of Ginseng Research. 2011; 35(4): 421-428.
33. Liu T. P, Liu I. M, and Cheng J. T. Improvement of insulin resistance by *Panax ginseng* in fructose-rich chow-fed rats. Horm Metab Res. 2005; 37(3): 146–151.
34. Luo J. Z, and Luo L. Ginseng on Hyperglycemia: Effects and Mechanisms. eCAM. 2009; 6 (4): 423–427.
35. Malviya N, jain S, Malviya S, Antidiabetic potential Of Medicinal Plants. Acta pol pharm. 2010; 67(2): 113-118.
36. Nakamura U, Iwase M, Uchizono Y, Sonoki K, Sasaki N, Imoto H. *et al*. Rapid intracellular acidification and cell death by H2O2 and alloxan in pancreatic ß cells. Free Radic. Biol. & Med. 2006; 40(11): 2047-2055.
37. Omar E. A, Kam A, Alqahtani A, Li K. M, Razmovski V, and Nammi S. Herbal medicines and nutraceuticals for diabetic vascular complications: mechanisms of action and bioactive phytochemicals. Curr Pharm Des. 2010; 16(34): 3776-3807.
38. Reagan L. P, Gorovits N, Hoskin E. K, Alves S. E, Katz E. B, and Grillo C. A. Localization and regulation of GLUTx1 glucose transporter in the hippocampus of streptozotocin diabetic rats. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2001; 98(5): 2820-2825.
39. Roger T. Malseed. Springhouse nurse drug guide. 6th ed. Philadelphia Lippincott Williams wilkins. 2005; 117.
40. Skyler J. S. Diabetes mellitus: Pathogenesis and treatment strategies. J. Med. Chem. 2004; 47(17): 4113–4117.
41. Sreelatha S, and Inbavalli R. Antioxidant, antihyperglycemic, and antihyperlipidemic effects of Coriandrum sativum leaf and stem in alloxan induced diabetic rats. J Food Sci. 2012; 77(7): 119-123.

42. Tripathi A, Bhoyar P, Baheti J, Biyani D, Mayuresh M, Yogesh M. Herbal Antidiabetic. International Journal of Research in Phamaceutiucal. 2011; 2(1): 30-37.
43. Veermuthu D, Muniappan A, and Savarimuthu I. Antimicrobial activity of some ethnomedicinal plants used by Paliyar tribe from Tamilnadu. Indian Complem. Altern. Med. 2006; 6(35): 1472-1482.
44. Vuksan V, Sung M. K, Sievenpiper J. L, Stavro P. M, Jenkins A. L, and Di Buono M. Korean red ginseng (*Panax ginseng*) improves glucose and insulin regulation in well-controlled, type 2 diabetes: results of a randomized, double-blind, placebo-controlled study of efficacy and safety. Nutr Metab Cardiovasc Dis. 2006; 18(1): 46-56.
45. Xie J. T, Mehendale S, and Yuan C. S. Ginseng and diabetes. The American Journal of Chinese Medicine. 2005; 33(3): 397–404.
46. Yang C, Wang J, Zhao Y, Shen L, Jiang X, and Xie Z. Anti-diabetic effects of Panax notoginseng saponins and its major anti-hyperglycemic components. J. Ethnopharmacol. 2010; 130(2): 231-236.
47. Yoo K, Lee C,Lo Y. and Moon B. The hypoglycemic effects of American red ginseng (*Panax quinquefolius*) on a diabetic mouse model. J Food Sci. 2012; 77(7): 147-152.
48. Zhang W, Zheng L, Zhang Z, and Hai C. Protective effect of a water-soluble polysaccharide from Salvia miltiorrhiza Bunge on insulin resistance in rats. Carbohyd. Polym. 2012; 89(3): 890–898.

Original Article

The Effect of Panax Ginseng Extract on Histomorphometric Changes on Brachial Plexus Region of the Spinal Cord in 20 Days Fetuses of Diabetic Rats

Karami A[1]*, Khaksar Z[2]

1. Department of Biology, Payamenoor University, Tehran, Iran
2. Department of Anatomy, Faculty of Veterinary, Shiraz University, Shiraz, Iran

Received: 10 Oct 2017 Accepted: 04 Mar 2018

Abstract

Background & Objective: Diabetes mellitus is a group of metabolic disorders characterized by increased levels of glucose. Ginseng has been used to control the diabetes for many years ago. This study investigated the effect of Panax ginseng extract on histomorphometric changes on brachial plexus region of spinal cord in 20 days fetuses of diabetic rats.

Material & Methods: 16 rats were divided into four groups: non-diabetic control, non-diabetic recipient of the extract, diabetic control and diabetic recipient of the extract. Diabetes was induced by streptozotocin in diabetic groups and all groups became pregnant. During pregnancy, recipient of the extract groups received ginseng extract every day. On the 20th day of pregnancy, the mothers were anesthetized, and the fetuses were obtained. Brachial region of the spinal cord with vertebral column separated after using the techniques of histology, some histological factors were measured. Data were analyzed by using SPSS software and ANOVA and Duncan statistical tests ($P \leq 0.05$).

Results: A significant difference was observed in the transverse and vertical diameter of central canal of the spinal cord in brachial plexus region of fetuses in diabetic control group than non-diabetic groups ($P \leq 0.05$). A significant reduction was observed in height of ependymal cells and cell count of gray matter of spinal cord in diabetic control group than other groups ($P \leq 0.05$).

Conclusion: Extract of Panax ginseng can control hyperglycemia and manage diabetes on spinal cord in fetuses of mothers with gestational diabetes by increasing β-cells stimulation and increasing insulin production.

Keywords: Diabetes mellitus, brachial plexus region of spinal cord, Panax ginseng extract, Streptozotocin, Rat

***Corresponding Author: Azam Karami,** Department of Biology, Payamenoor University, Tehran, Iran
Email: Karami79@gmail.com
https://orcid.org/0000-0001-6391-9602