

ORIGINAL ARTICLE

Antidepressant Effect of Methanolic Ginger Extract in Diabetic Mice Using Forced-Swim Test

Davood Farzin¹,
Fatemeh Fathiazad²,
Mojtaba Fazellian³

¹ Psychiatry and Behavioral Sciences Research Center, Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

² Department of Pharmacognosy, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

³ Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received August 1, 2011 ; Accepted February 26, 2013)

Abstract

Background and purpose: Diabetes-associated depression may occur due to changes in the quality of life imposed by treatment, or may be a consequence of biochemical changes accompanying the disease. There are some reports indicating that treatment with methanolic extract of dried rhizomes of ginger could lead to a significant reduction in streptozotocin (STZ)-induced elevation of glucose level. The aim of this study was to evaluate the behaviors of diabetic mice through an animal model of depression -the forced swim test (FST)-, and to determine the efficiency of ginger extract as an antidepressant.

Materials and methods: Balb/C male mice (25-30 g) were submitted to the forced-swimming test after seven days induction of diabetes with streptozotocin (100 mg/kg, i.p.). The test was analyzed using an ethological approach and we investigated the changes of blood glucose levels of diabetic mice during the test. Methanolic ginger extract (175, 350 and 700 mg/kg) was administered i.p. 45 min before the test.

Results: Diabetic mice were significantly more immobile during the forced-swimming test. Ginger extract at doses of 175 and 350 mg/kg did not change blood glucose values and decreased immobility of diabetic mice with no change in behavior when compared with nondiabetic mice. Both blood glucose levels and immobility time were significantly lower in the diabetic mice that received the dose of 700 mg/kg ginger extract.

Conclusion: These results demonstrate that diabetic mice present more intense depressive-like behavior, when exposed to the forced-swimming test. Ginger extract resulted in antidepressant-like effect in these animals. Increased blood glucose level is involved in depression associated with diabetes, because ginger extract counteracts these changes with modifying blood glucose.

Keywords: Depression, diabetes, forced-swim test, ginger, mouse

J Mazand Univ Med Sci 2013; 23(98): 208-220 (Persian).

اثر ضد افسردگی عصاره مтанولی زنجیل در موش های دیابتی، با استفاده از تست شنای اجباری

داود فرزین^۱

فاطمه فتحی آزاد^۲

مجتبی فاضلیان^۳

چکیده

سابقه و هدف: افسردگی وابسته به دیابت ممکن است ناشی از کیفیت زندگی تحمیل شده از درمان، یا پیامد تغییرات بیوشیمیایی همراه بیماری باشد. گزارش شده است که درمان با عصاره مтанولی ریزوم خشک شده زنجیل، کاهش معنی داری در سطح افزایش یافته گلوکز ناشی از استرپتوزوتوسین ایجاد می کند. هدف ما در این مطالعه، ارزیابی رفتارهای موش دیابتی در یک مدل حیوانی افسردگی- یعنی تست شنای اجباری و تعیین آن، در شرایطی که عصاره زنجیل یک ترکیب مؤثر ضد افسردگی باشد، گردید.

مواد و روش ها: در روش مطالعه ما که نوعی روش تجربی می باشد، موش های نر C (Balb) ۷ روز پس از ایجاد دیابت با استرپتوزوتوسین (۱۰۰ میلی گرم / کیلوگرم، داخل صفاقی) وارد تست شنای اجباری شدند. تست با یک روش رفتارشناسی آنالیز گردید و ما تغییرات سطوح گلوکز خون موش های دیابتی را در طی تست مورد تحقیق قرار دادیم. عصاره مтанولی زنجیل (۱۷۵، ۳۵۰ و ۷۰۰ میلی گرم / کیلوگرم) از طریق داخل صفاقی ۴۵ دقیقه قبل از شروع تست تجویز گردید.

یافته ها: موش های دیابتی در طی انجام تست شنای اجباری بیشتر بی تحرک بودند. این موش ها در طی آزمایش به طور معنی داری شنای کم تری کردند. دوزهای ۱۷۵ و ۳۵۰ mg/kg عصاره زنجیل، که سطوح گلوکز خونی را غیرنرداده بودند، بی حرکتی موش های دیابتی را بدون تفاوت معنی دار نسبت به موش های غیر دیابتی کنترل، کاهش دادند. سطح گلوکز خونی و زمان بی حرکتی در موش های دیابتی دریافت کننده دوز ۷۰۰ mg/kg عصاره زنجیل، کمتر از موش های کنترل غیر دیابتی و تفاوت بین این حیوانات معنی دار بود.

استنتاج: نتایج نشان می دهند که موش های دیابتی زمانی که در معرض تست شنای اجباری قرار می گیرند، رفتار شبه افسردگی شدیدتری بروز می دهند. عصاره زنجیل در این حیوانات اثر شبه ضد افسردگی ایجاد می کند. احتمالاً که سطح افزایش یافته گلوکز در افسردگی وابسته به دیابت دخیل باشد، زیرا عصاره زنجیل این تغییرات را با کنترل سطح گلوکز خون اصلاح نمود.

واژه های کلیدی: افسردگی، دیابت، تست شنای اجباری، زنجیل، موش

مقدمه

زنジل (Zingiber officinale Roscoe, Zingiberaceae) یکی از گیاهان دارویی است که به طور گسترده ای در طب سنتی ایران، چین و یونان برای درمان سرماخوردگی، روماتیسم، بیماری های اعصاب، التهاب لثه، درد دندان،

E-mail: davoodfarzin@yahoo.com

مؤلف مسئول: داود فرزین - ساری: کیلومتر ۱۸ جاده خزرآباد، مجتمع دانشگاهی پامبر اعظم، دانشکده پزشکی

۱. مرکز تحقیقات روان پزشکی و علوم رفتاری، گروه فارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۲. گروه فارماکوگنوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۳. دکتری عمومی داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۵/۱۰ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۱/۱/۱۵ تاریخ تصویب: ۱۳۹۱/۱۲/۸

می توانند با تنظیم آزادسازی انسولین و کنترل سطح گلوکز خون، علایم افسردگی را کاهش دهند^(۱۱). این اثر پیشنهاد می کند، پتانسیل ضد دیابتی زنجیل می تواند در کاهش علایم افسردگی مؤثر باشد. مطالعه حاضر برای بررسی اثر ضد افسردگی عصاره مтанولی ریشه زنجیل در موش های دیابتی ناشی از استرپتوزوتوسمین در مدل تست شنای اجباری طراحی و اجرا شده است. روش مطالعه ما تجربی بوده است.

مواد و روش ها

حیوانات:

حیوانات مورد استفاده، موش های سفید نر از نژاد Ball با وزن ۲۵ الی ۳۰ گرم بودند. موش ها در حیوان خانه دانشکده پزشکی در شرایط استاندارد نگهداری می شدند. از هر حیوان نیز فقط یک بار استفاده می شد.

تهیه عصاره مtanولی ریزوم زنجیل:

پودر ریزوم زنجیل خردباری شد و عصاره مtanولی آن [۳۰ گرم پودر در ۶۰۰ میلی لیتر مtanول که به مدت دو روز در دستگاه سوکسله قرار می گرفت و پس از تبخیر مtanول آن در فشار پایین، عصاره قهوه ای رنگی با بازده ۱۱ درصد به دست می آمد که در روغن آفتاب گردن حل می گردید]. ۱ گرم پودر حاوی ۶-جینجرول (۰/۳۲۵ درصد) و ۱/۲۷ mg ۶-شاگاول (۰/۱۲۷ درصد) بود که با دوز های داخل صفاتی ۱/۷۵، ۳۵۰ و ۷۰۰ میلی گرم / کیلو گرم به حیوانات تزریق می شد. حال کنترل در این مورد روغن آفتاب گردن بود.

ایجاد هیرگلیسمی:

موس ها از طریق تزریق داخل صفاتی دوز ۱۰۰ mg/kg استرپتوزوتوسمین متعاقب یک حالت روزه داری شبانه (بدون غذا) هیرگلیسمیک می شدند.

آسم، بیوست، دیابت و همچنین در صنایع غذایی به عنوان یک معطر کننده مورد استفاده قرار می گیرد^(۱۲). مواد مؤثر موجود در ریشه زنجیل متنوع، بسته به محل کشت و این که ریشه تازه یا خشک باشد، متغیر است. بوی زنجیل مربوط به روغن فرار آن است که به صورت ۱ تا ۳ درصد تهیه می شود. بیش از ۵۰ ماده مؤثر از جمله: مونوتريپنولیدها و سسکویی ترپنولیدها، بتا-سسکویی فلاندرن، بتا-بیسابولن در روغن فرار زنجیل موجود است^(۳). زنجیل آثار فارماکولوژیک مختلفی در بدن دارد. به طور مثال، مصرف عصاره مtanولی ریشه های خشک زنجیل به طور معنی داری اثر فروکتوز را در افزایش سطح لیپید، افزایش وزن بدن و هیرگلیسمی مهار می کند^(۴). علاوه بر این، زنجیل می تواند چاقی القاء شده با گلدتیو گلوکز را در موش ها کاهش دهد و حساسیت به انسولین را بهبود بخشد^(۵). پتانسیل هیوگلیسمیک، هیوکلسترولیک و هیپولیپیدمیک زنجیل و اثر آنتاگونیستی آن بر روی پروتئین اوری و کاهش وزن ناشی از دیابت القاء شده توسط استرپتوزوتوسمین نیز در موش های صحرایی مورد بررسی قرار گرفته و نشان داده شده است که مصرف زنجیل می تواند در افراد دیابتیک با ارزش باشد^(۶).

مطالعات نوروساکوفارماکولوژیک نشان داده است که تغییرات هورمونی و نوروشیمیایی ناشی از دیابت می تواند در بروز افسردگی نقش داشته باشد^(۷، ۸). شیوع افسردگی در بیماران دیابتیک ۱۸ درصد بیشتر از جمعیت عمومی است و فقط ۳۳ درصد از موارد افسردگی بیماران دیابتیک تشخیص و درمان می شوند^(۹، ۱۰). تشخیص به موقع و درمان مؤثر افسردگی ناشی از دیابت مهم است، زیرا موجب پذیرش بیشتر بیمار از رژیم های درمانی ضد دیابت، برای رسیدن به سطح گلوکز پلاسمایی مطلوب می شود^(۹). در این راستا، مشخص شده است که عوامل ضد افسردگی نظری مهار کننده های مونوآمین اکسیداز، داروهای ضد افسردگی سه حلقه ای و مهار کننده های انتخابی برداشت سروتونین

قطع حرکات دست و پای خود از تحرک و فعالیت باز می‌ماندند که به طور قراردادی به آن بی حرکت شدن می‌گویند. برای اندازه‌گیری زمان (Immobility) بی حرکتی، مدت زمان بی حرکتی حیوان در طی یک محدوده زمانی مشخص توسط کرونومتر ثبت می‌گردید. در این حالت، افزایش زمان بی حرکتی را معادل افسردگی و کاهش آن را به عنوان اثر بخشی درمان ضد افسردگی ارزیابی می‌شد. زمان گیری تمام نمونه‌ها به وسیله یک فرد و به صورت blind صورت می‌گرفت. شرایط محیط برای تمام گروه‌ها یکسان و زمان آزمایش شناختی اجباری ۸ بود. در روند اجرای آزمایش، کلیه ضوابط مصوب کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی مازندران در مورد حیوانات رعایت می‌گردید.

مواد و محلول‌ها:

از مواد و محلول‌های زیر در آزمایش‌ها استفاده گردید: پودر ریزوم زنجیل (گل دارو، اصفهان)، استرپتوزوتوسین (سیگما، امریکا)، متانول (مرک، آلمان)، دی‌ایتل اتر (مرک، آلمان)، روغن آفتاب گرдан (روت، آلمان).

آنالیز آماری:

تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار Graph Pad Prism (Version 5) به صورت میانگین \pm انحراف معیار نشان داده شده است. برای تجزیه و تحلیل آماری از آزمون‌های آماری T test، آنالیز واریانس (ANOVA) یک طرفه و یا مکرر و متعاقب آن از تست Newman-Keuls استفاده می‌شد. تفاوت با $p < 0.05$ از نظر آماری معنی‌دار تلقی می‌گردید.

یافته‌ها

دیابت ناشی از استرپتوزوتوسین:

تزریق داخل صفاقی تک دوز ۱۰۰ mg/kg استرپتوزوتوسین یک هفته قبل از نمونه‌برداری خونی، به

جمع‌آوری نمونه‌های خونی و تعیین سطح گلوکز سرمنی یک هفته پس از تزریق با استرپتوزوتوسین، نمونه‌های خونی (۲۰ میلی لیتر) موش‌ها از طریق سوراخ قلبی تحت sedation خفیف دی‌ایتل اتر گرفته می‌شد و سطح گلوکز آن‌ها با استفاده از دستگاه گلوکومتر تأیید شده توسط FDA و آزمایشگاه رفرانس (Accu-Chek Active, Roche, Germany) تعیین مقدار می‌گردید. موش‌های دریافت کننده استرپتوزوتوسین با غلظت گلوکز بالاتر از ۱۸۰ mg/dl به عنوان موش‌های دیابتی تلقی می‌شدند.

درمان موش‌های دیابتی و غیردیابتی با زنجیل: موش‌های دیابتیک به صورت تصادفی به ۴ گروه تقسیم می‌شدند گروه اول به عنوان گروه شاهد mg/kg ۱۰ Vehide داخل صفاقی تزریق شد و ۳ گروه بعدی به عنوان گروه مورد موش‌های دیابتی به ترتیب ۱۷۵، ۳۵۰ و ۷۰۰ mg/kg عصاره زنجیل دریافت می‌کردند. موش‌های غیر دیابتی نیز به ۴ گروه تقسیم می‌شدند و درمان‌های فوق را دریافت می‌کردند.

تست شناختی اجباری:

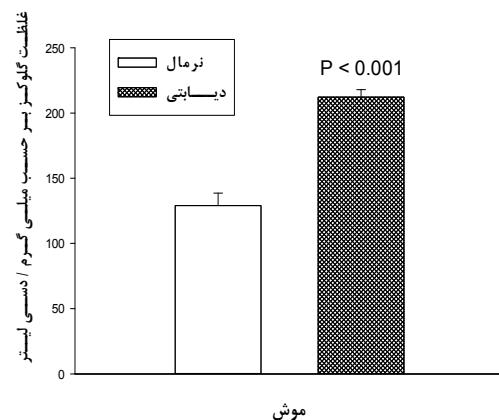
این تست یکی از معتبرترین و رایج ترین تست‌های حیوانی برای بررسی افسردگی می‌باشد(۱۶-۱۲). بر اساس نظریه درمان‌گی آموخته شده آقای مارتین سلیگمن در صورتی که حیوان در معرض استرس مداوم قرار گیرد و راه گریزی از آن نداشته باشد، رفته رفته امید به گریز از این شرایط را از دست داده و تحرک و فعالیت خود را متوقف می‌نماید و درمانده و بی حرکت می‌گردد(۱۷)، (۱۸). روش آزمایش به این صورت بود که از ۱۵ cm ظرف شیشه‌ای استوانه‌ای با ارتفاع ۲۵ cm و قطر ۱۲ cm از آب ۲۵ درجه پر و موش‌های دیابتیک و غیردیابتیک پس از کسب درمان‌های لازم به صورت انفرادی از ارتفاع ۲۰ سانتی‌متری به ملاتیت درون آب قرار داده می‌شدند. در این شرایط، حیوانات برای حفظ پایداری خود در آب شنا می‌کردند. پس از مدتی، حیوانات با

اثر عصاره متابولی زنجیل بر سطح گلوکز: Time Course به موش‌های دیابتی، عصاره متابولی زنجیل (۱۷۵ mg/kg، ۳۵۰ و ۷۰۰) از راه داخل صفاقی تزریق گردید. سطح گلوکز خون حیوانات در زمان‌های ۰ (قبل از تزریق)، ۴۵، ۹۰ و ۱۳۵ دقیقه پس از تزریق عصاره زنجیل اندازه‌گیری شد. تعداد حیوانات در هر زمان مورد آزمایش، ۷ موش بود. مانکریم اثر ضد دیابتی عصاره زنجیل، ۴۵ دقیقه پس از تزریق عصاره به دست آمد. این اثر برای دوز ۷۰۰ میلی گرم/کیلوگرم عصاره زنجیل معنی دار بود ($F(7/54) = 2/373$, $p < 0.043$) (نمودارهای شماره ۳ و ۴). در ارزیابی اثر ضد افسردگی، زمان ۴۵ دقیقه‌ای تزریق برای عصاره زنجیل انتخاب گردید.

اثر ضد افسردگی عصاره زنجیل در موش‌های غیر دیابتی: به موش‌های غیر دیابتی، عصاره زنجیل با دوزهای ۱۷۵ mg/kg، ۳۵۰ و ۷۰۰ تزریق گردید. ۴۵ دقیقه پس از تزریق، زمان بی حرکتی موش‌ها در تست شناختی اجباری اندازه‌گیری شد. دوزهای ۳۵۰ و ۷۰۰ میلی گرم/کیلوگرم عصاره زنجیل به طور معنی داری زمان بی حرکتی موش‌های غیر دیابتی را کاهش دادند ($F(3/20) = 3/921$, $p < 0.037$) (نمودار شماره ۵).

اثر ضد افسردگی عصاره زنجیل در موش‌های دیابتی: به موش‌های دیابتی، عصاره زنجیل با دوزهای ۱۷۵، ۳۵۰ و ۷۰۰ mg/kg از ۷۰۰ تزریق گردید. ۴۵ دقیقه پس از تزریق، زمان بی حرکتی موش‌ها در تست شناختی اجباری اندازه‌گیری شد. تمامی دوزهای تزریق شده عصاره زنجیل (۱۷۵، ۳۵۰ و ۷۰۰ میلی گرم/کیلوگرم) به طور معنی داری زمان بی حرکتی موش‌ها را کاهش دادند ($F(3/28) = 10/66$, $p < 0.001$) (تصویر شماره ۶).

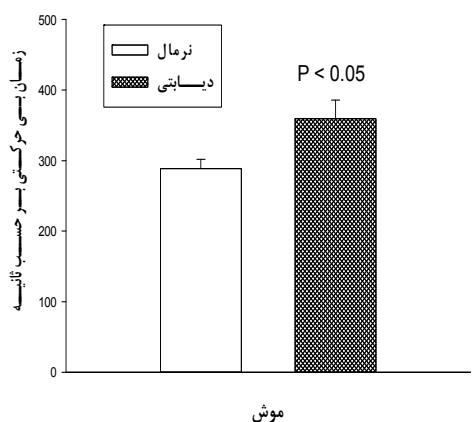
طور معنی داری ($p < 0.001$) سطح گلوکز خون را نسبت به گروه کنترل افزایش داد. افزایش سطح گلوکز خون به بالاتر از 180 mg/dl به عنوان دیابت ناشی از استرپتوزوتوسین تلقی گردید (نمودار شماره ۱).



نمودار شماره ۱: تغییرات غلظت خونی گلوکز ناشی از تزریق استرپتوزوتوسین تعداد حیوانات در گروه نرمال ۷ موش و در گروه دیابتیک ۹ موش بود.

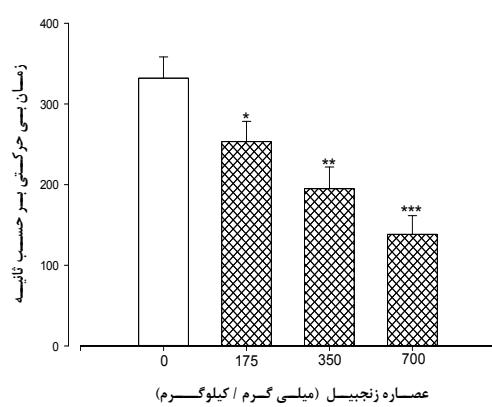
$p < 0.001$ تفاوت از گروه کنترل را نشان می دهد.

اثر دیابت بر زمان بی حرکتی موش‌ها در تست شناختی اجباری: زمان بی حرکتی موش‌ها در تست شناختی اجباری به طور معنی داری ($p < 0.05$) در موش‌های دیابتی افزایش یافت (نمودار شماره ۲).

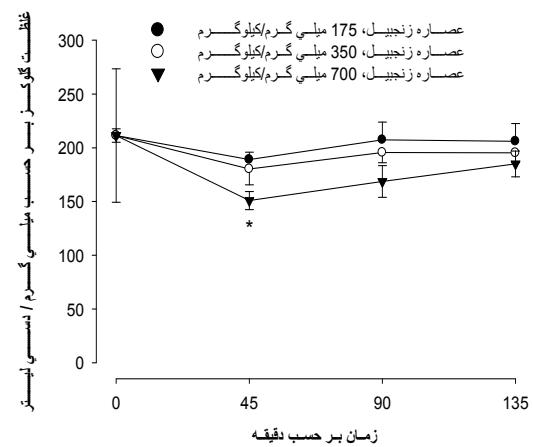


تصویر شماره ۲: اثر دیابت بر زمان بی حرکتی موش در تست شناختی اجباری. تعداد حیوانات در هر گروه ۶ موش بود.

$p < 0.05$ تفاوت از گروه کنترل را نشان می دهد.

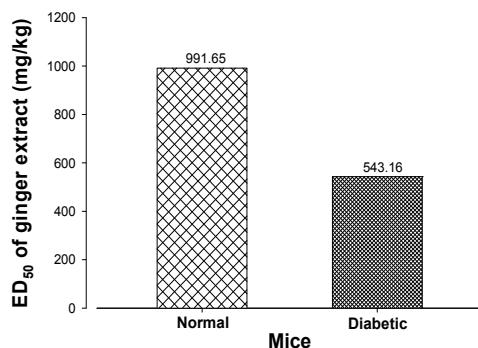


نمودار شماره ۶: اثر ضد افسردگی عصاره زنجیل در موش های دیابتی تعداد حیوانات در هر گروه ۸ موش بود.
 $p < 0.05$ و $p < 0.01$ و $p < 0.001$ تفاوت از گروه کنترل را نشان می دهد.

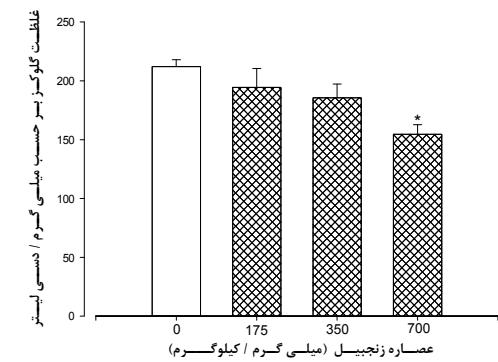


نمودار شماره ۳: اثر عصاره زنجیل بر غلظت گلوکز خون در موش های دیابتی $p < 0.05$ تفاوت از گروه کنترل را نشان می دهد.

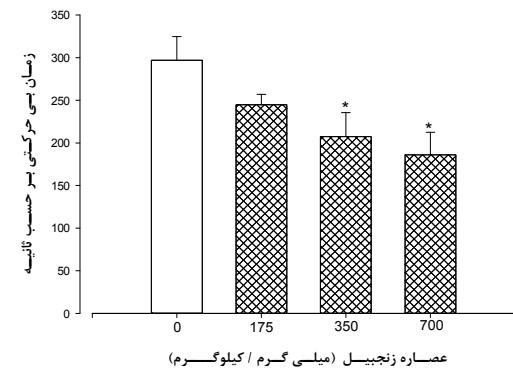
محاسبه ED_{50} عصاره زنجیل
 در موش های غیر دیابتی و دیابتی به موش های غیر دیابتی و دیابتی، عصاره زنجیل با دوزهای ۱۷۵، ۳۵۰ و ۷۰۰ میلی گرم / کیلوگرم تزریق گردید. ۴۵ دقیقه پس از تزریق، زمان بی حرکتی موش ها در تست شناور اجباری اندازه گیری شد. با استفاده از آنالیز رگرسیون، ED_{50} عصاره زنجیل در موش های غیر دیابتی و دیابتی محاسبه گردید. بر حسب ED_{50} محاسبه شده، عصاره زنجیل در موش های دیابتی به طور قابل توجهی بیشتر از موش های غیر دیابتی بود (نمودار شماره ۷).



نمودار شماره ۷: محاسبه شده عصاره زنجیل در موش های غیر دیابتی و دیابتی تعداد حیوانات در گروه غیر دیابتی ۶ موش و در گروه دیابتی ۸ موش در هر دوز تجویزی بود.



نمودار شماره ۴: اثر ضد دیابتی عصاره زنجیل در دقیقه ۴۵ پس از تزریق تعداد حیوانات در گروه کنترل ۹ موش و در گروه های دریافت کننده عصاره ۸ موش بود.
 $p < 0.05$ تفاوت از گروه کنترل را نشان می دهد.



نمودار شماره ۵: اثر ضد افسردگی عصاره زنجیل در موش های غیر دیابتی تعداد حیوانات در هر گروه ۶ موش بود.
 $p < 0.05$ تفاوت از گروه کنترل را نشان می دهد.

بحث

مزمن غلظت سیناپسی این آمین‌ها منجر به بروز عالیم افسردگی می‌شود(۲۰). مطالعات نوروساایکو فارماکولوژیک نشان داده است، تغییرات هورمونی و نوروشیمیابی ناشی از دیابت می‌تواند در بروز افسردگی نقش داشته باشد(۷،۸). به طور مثال، در تست شنای اجباری، مدت زمان بی‌حرکتی در موش دیابتی بیشتر از موش‌های نرمال است و درمان با انسولین این حالت را معکوس می‌کند(۲۱). علاوه بر این، داروهای ضد افسردگی سه حلقه‌ای، مهار کننده‌های انتخابی برداشت سروتونین و مهار کننده‌های مونوآمین اکسیداز می‌توانند با تنظیم آزادسازی انسولین و کنترل سطح گلوکز خون، عالیم دیابت و افسردگی را هم زمان بهبود بخشد(۱۱). افسردگی ناشی از دیابت ممکن است به تغییرات کیفیت زندگی ناشی از وجود بیماری‌های مزمن و یا درمان آن‌ها مربوط باشد. و یا این‌که، متعاقب تغییرات نوروشیمیابی ایجاد شده توسط دیابت به وجود آید. بیشترین مطالعات نوروشیمیابی افسردگی، به تغییرات عملکرد نوروترانسمیترهای سروتونین، نوراپی‌نفرین و گاما آمینو بوتیریک اسید (گابا) مربوط است(۲۲-۲۶). کاهش سطح تریپتوфан مغزی و کاهش سوخت و ساز کاتکول آمین‌ها و سروتونین در موش‌های صحرایی دیابتی، پیشنهاد کننده کاهش فعالیت مونوآمین‌ها در افسردگی ناشی از دیابت است(۱۰). در دیابت ناشی از استرپتوزوتوسین، مشخص شده است که غلظت سروتونین، نوراپی‌نفرین و گابا در قسمت‌های مختلف سروتونین، نوراپی‌نفرین و گابا در قسمت‌های متعادل است و عصاره متابولی زنجیل قادر است با آزادکردن سروتونین، نوراپی‌نفرین و گابا، غلظت سیناپسی این نوروترانسمیترها را متعادل کند(۲۷،۲۵). عملکرد تحریکی عصاره زنجیل در سیستم سروتونین که به صورت تحریک مستقیم گیرنده‌های ۵-HT₃-تاظاهر می‌کند، ترشح انسولین را افزایش داده و سطح خونی گلوکز را کاهش می‌دهد. به همین دلیل، عصاره زنجیل می‌تواند عالیم دیابت و افسردگی ناشی از آن را بهبود بخشد(۲۸).

در این مطالعه، اثر ضد افسردگی عصاره متابولی زنجیل در موش‌های غیر دیابتی و دیابتی با تست شنای اجباری مورد بررسی قرار گرفت. مهم‌ترین نتایج به دست آمده به شرح زیر می‌باشد:

الف- تزریق داخل صفاقی استرپتوزوتوسین با ایجاد دیابت آشکار، زمان بی‌حرکتی موش‌ها را در تست شنای اجباری افزایش داد.

ب- تزریق داخل صفاقی عصاره متابولی زنجیل سطح گلوکز خونی موش‌های دیابتی را در دوز mg/kg ۷۰۰، به طور معنی‌دار کاهش داد.

پ- عصاره متابولی زنجیل زمان بی‌حرکتی موش‌های دیابتی و غیر دیابتی را در تست شنای اجباری کاهش داد. این کاهش، در موش‌های دیابتی برجسته‌تر بود.

ت- بر حسب ED₅₀ محاسبه شده، قدرت اثر عصاره متابولی زنجیل در کاهش زمان بی‌حرکتی در موش‌های دیابتی بیشتر از موش‌های غیر دیابتی بود.

نتایج این مطالعه پیشنهاد می‌کند که اثر ضد دیابتی عصاره متابولی زنجیل در کاهش عالیم افسردگی موش‌ها در تست شنای اجباری مؤثر است. افسردگی را نشانگان بالینی نهایی یک و ضعیت ناهمگون می‌دانند و معتقدند داروهای ضد افسردگی، صرف نظر از تمايل ویژه به یکی از آمین‌های بیوژنیک، تقریباً در دو سوم مبتلایان به افسردگی به یک اندازه مؤثرند(۱۹). تنوع داروهای ضد افسردگی که طی دهه گذشته وارد بازار شده‌اند، دلیل واضحی بر ناهمگونی بیوشیمیابی افسردگی است. سایکوفارماکولوژی مدرن با مطالعه راه‌های عصبی، علاوه بر فراهم کردن بینش نسبت به ساز و کارهای مولکولی سیناپس‌های عصبی، به رمز گشایی نحوه عمل داروهای ضد افسردگی پرداخته است. نتیجه این مطالعات منجر به پذیرش نظریه آمین‌های بیوژنیک در افسردگی شده است. طبق این نظریه، نوروترانسمیترهای مختلفی مانند نوراپی‌نفرین و سروتونین در پاتوژن افسردگی نقش دارند و کاهش

روی کاهش لیپید و کاهش وزن مؤثر است. این نکته مشخص می‌کند که عصاره متانولی زنجیل نسبت به عصاره اتیل استاتی اثر قوی تری در هیپرلیپیدمی ناشی از فروکتوز همراه با مقاومت به انسولین دارد. و این اثر به غلظت ۶-جینجرول موجود در عصاره‌ها بستگی دارد^(۴). در مطالعه دیگر، همان پژوهشگران عصاره‌های متانولی زنجیل را برای هشت هفته به موش‌های کوچک آزمایشگاهی تجویز کردند و دریافتند که عصاره مذکور علاوه بر کم کردن چاقی القاء شده با گلدتیوگلوکز، سطوح گلوکز و انسولین را کاهش می‌دهد و حساسیت به انسولین را بالا می‌برد^(۵).

امروزه مهارکننده‌های آلدوز ردوکتاز از نظر داشتن پتانسیل درمانی در دیابت و عوارض آن بدون افزایش ریسک هیپوگلیسمی مورد توجه قرار گرفته‌اند^(۲۹). تحقیق در مورد ترکیبات مهارکننده آلدوز ردوکتاز موجود در زنجیل منجر به جداسازی ۵ ترکیب فعال گردیده است که دو ترکیب آن یعنی ۲-هیدروکسی-۳-متوكسی فنیل) اتانول و ۴-هیدروکسی-۳-متوكسی فنیل) اتانوئیک اسید از مهارکننده‌های بسیار خوب آلدوز ردوکتاز انسانی با $IC_{50} = 19/2 \pm 1/9$ و $1/1 \pm 18/5$ میکرو مولار هستند. علاوه بر این، ترکیبات فوق نه تنها تجمع سوربیول در گلبول قرمز را مهار می‌کنند، بلکه تجمع گالاکتیتول در عدسی ۳۰ درصد از موش‌های صحرایی مبتلا به کاتاراکت ناشی از تغذیه با گالاکتوز را نیز کاهش می‌دهند. این نتایج، پیشنهاد کننده اثر حفاظتی زنجیل در کاهش عوارض ناشی از دیابت و بهبود علایم آن می‌باشد. بنابراین، مصرف مکمل‌های غذایی حاوی زنجیل می‌تواند در درمان بیماری دیابت سودمند باشد و از عوارض نوروشیمیابی بیماری بکاهد^(۳۰).

گابا از دیگر نوروترانسミترهای دخیل در افسردگی می‌باشد^(۳۱، ۳۲). سطح پلاسمایی گابا در افراد افسرده ۱۵ درصد کمتر از افراد عادی است و غلظت آن در مایع مغزی-نخاعی ارتباط معکوسی با شدت افسردگی

مطالعه حاضر با مطالعات فوق تطابق دارد، ولی نقش انسولین در عملکرد ضد افسردگی عصاره زنجیل به علت کاربرد استرپتوزوتوسین غیر محتمل است. در مطالعه حاضر، دوز ۷۰۰ mg/kg عصاره زنجیل حداقل اثر ضد افسردگی را در موش دیابتی تست شنای اجباری نشان داد. نکته قابل توجه در این مورد، کاهش معنی دار سطح گلوکز با تجویز دوز ۷۰۰ mg/kg عصاره زنجیل میباشد. این نتایج پیشنهاد می‌کند، در عملکرد ضد افسردگی عصاره زنجیل، کاهش سطح گلوکز نقش دارد. به عبارت دیگر، بهبود علایم دیابت توسط عصاره زنجیل می‌تواند علایم افسردگی را تعدیل نماید. اثرات ضد دیابتی زنجیل در مطالعات مختلف مورد بررسی قرار گرفته است. به طور مثال، Al-Amin و همکاران در سال ۲۰۰۶ پتانسیل ایجاد هیپوگلیسمی عصاره آبی زنجیل خام را در موش‌های صحرایی که با استرپتوزوتوسین دیابتی شده بودند، در یک پریود ۷ هفته‌ای مطالعه کردند. در این مطالعه، سرم خون ناشتا حیوانات برای تعیین سطوح گلوکز، کلسترول و تری گلیسرول آنالیز شد. موش‌های صحرایی که به آن‌ها استرپتوزوتوسین تزریق شده بود، هیپرگلیسمی و افت وزن محسوسی را نشان دادند. تزریق عصاره زنجیل خام به این حیوانات، به شکلی واضح سطوح گلوکز، کلسترول و تری گلیسرول و همچنین سطح پروتئین ادرار را کاهش داد. در این راستا، موش‌های صحرایی دیابتی تحت درمان با زنجیل، علاوه بر حفظ کردن وزن اولیه خود، میزان آب مصرفی و خروجی ادرار خود را نیز کاهش دادند^(۶).

Kadnur و Goyal در سال ۲۰۰۵، گزارش کردند که درمان با عصاره متانولی ریزوم خشک زنجیل موجب کاهش معنی دار سطوح افزایش یافته لیپید القاء شده با فروکتوز، وزن بدن و هیپرگلیسمی در موش صحرایی می‌شود. درمان با عصاره اتیل استاتی زنجیل که غلظت ۶-جینجرول آن کمتر از عصاره متانولی است، تغییر معنی داری روی پارامتر اخیر ندارد ولی بر

درمان افسردگی است(۴۵). در مطالعات پایه و پیش بالینی نیز، مشخص شده است که کلونازپام رفتارهای شبی افسردگی را در موش‌های دیابتی تست شنای اجباری کاهش می‌دهد(۴۶). این یافته‌ها، اهمیت عملکرد گابا در افسردگی ناشی از دیابت را توصیف می‌کند.

مطالعه Vishwakarma و همکاران نشان داده است که ناهماهنگی حرکتی ایجاد شده توسط دیازپام در تست روتارود توسط عصاره ریزوم زنجیل تقویت می‌شود(۴۷). علاوه بر این، در تست ماز به علاوه، حیوانات درمان شده با عصاره زنجیل سکنی گزینی کمتری در بازوی بسته داشتند. این نتایج، پیشنهاد کننده خواص تقویتی عصاره زنجیل بر عملکرد گابا و اثر ضد اضطرابی آن است. ارزیابی غلظت گلوکز خارج سلولی، معمولاً بیان کننده حالت پایدار بین تحويل گلوکز به مغز و نیاز متابولیک نورون‌ها و سلول‌های گلیال است(۴۸). مشخص شده است که میزان گلوکز مغز در موش‌های صحرایی دیابتی ۴۵ درصد بیشتر از حیوانات غیر دیابتی است و همچنین، میزان گلوکز خون موش‌های صحرایی دیابتی بیشتر از ۲۵۰ درصد نسبت به انواع غیر دیابتی تفاوت دارد. مکانیسم‌های هموستاز گلوکز ممکن است نورون‌های حساس به گلوکزی را در گیر کند، که وضعیت متابولیکی بدن را چک می‌کنند(۴۹).

در نورون‌های تحریک شونده با گلوکر، سطوح گلوکزی که در شرایط هیبر گلیسمی مشاهده می‌شود، کانال K_{ATP} را غیر فعال می‌کند. این عمل با افزایش دادن سرعت برانگیختگی نورون‌ها، آزادسازی گابا و دیگر نوروترانسミترها را افزایش می‌دهد(۵۰). استرپتوزوتوسین که عامل القا دیابت است، تمایل بالایی برای اتصال به سایت سولونیل اوره در نورون‌های گابا دارد و می‌تواند آزادسازی گابا را افزایش دهد(۵۱). افزایش مقادیر خارج سلولی گابا در مغز موش‌های صحرایی که با استرپتوزوتوسین دیابتی شده بودند، ثابت شده است(۲۵). ولی در طی روند شنای اجباری،

دارد(۳۱،۳۳). درمان با داروهای ضد افسردگی می‌تواند غلظت گابای خارج سلولی را در نقاط مختلف مغزی افزایش دهد(۳۴). علاوه بر این، درمان مزمن با داروهای ضد افسردگی، دانسیته رپتیورهای GABA_A کورتیکال را کاهش و دانسیته رپتیورهای GABA_B کورتیکال و هیپوکامپ را افزایش می‌دهد(۳۶،۳۵). ابتلا به افسردگی پیشرفته در بیماران دیابتی ۳۰ درصد بیشتر از افراد غیر دیابتی است(۳۷).

مطالعات مربوط به گابا نشان داده است که این نوروترانسミتر مهاری در سلول‌های بتای پانکراس با غلظت بالا و مشابه با غلظت آن در مغز یافت می‌شود(۳۸). گیرنده‌های گابا موجود در سلول‌های جزیره‌ای پانکراس اهمیت خاصی در ترشح انسولین در انسان و جوندگان دارند. علاوه بر این، کاهش غلظت گابا در سلول‌های جزیره ای پانکراس با نقص سنتر و آزاد سازی انسولین در افراد دیابتی همراه است(۳۹). با وجود کاهش غلظت گابا در مایع مغزی-نخاعی بیماران افسرده، تاکنون ارتباط بین کاهش غلظت گابا در مغز بیماران دیابتی و تغییرات رفتاری ناشی از دیابت مشخص نشده است(۴۰،۳۳). تداخل بین هموستاز گلوکز و گابا پیچیدگی زیادی ناشی از گوناگونی اثر متقابل سیستم گابا-ارثیک و بیوشیمی گلوکز در سلول‌های پستانداران دارد. انسولین باعث کاهش برداشت آستروسیت گابا، افزایش گابای خارج سلولی و افزایش تعداد گیرنده‌های فانکشنال گابا نوع A در نورون‌های پس سیناپسی می‌شود(۴۱). در این راستا، دیازپام می‌تواند هیبر گلیسمی القاء شده با مصرف بیش از حد گلوکز و سطح انسولین پلاسمایی در موش‌های صحرایی دیابتی را به ترتیب کاهش و افزایش دهد(۴۳). علاوه بر این، مشخص شده است که دوزهای کم کلونازپام در موش‌های غیر دیابتی موجب کاهش ۲۰ درصدی سطح گلوکز مغز بدون تغییر در سطح گلوکز خون می‌گردد(۴۴). نکته قابل توجه در این مورد، کاربرد بالینی کلونازپام به عنوان یک داروی مکمل در

سلول‌های بتای پانکراس است که در آزاد سازی انسولین نقش دارد^(۵۹). علاوه بر این، دانسته گیرنده‌های M₁ موسکارینی موجود در هیپوتالاموس، ساقه مغز و سلول‌های جزیره ای پانکراس در موش‌های صحرابی دیابتیک کاهش می‌یابد و درمان با انسولین این روند را معکوس می‌کند^(۶۰). با وجود این که، پایرزنپین (آتاگونیست گیرنده M₁) ترشح انسولین القاء شده با استیل کولین را مهار می‌کند^(۵۷)، نقش گیرنده‌های M₁ و M₃ در تنظیم فعالیت مرکزی کولینرژیک در شرایط دیابتیک و درمان با انسولین به وسی مورد بررسی قرار نگرفته است^(۵۷).

استرپتوزوتوسین یک ترکیب سمی برای سلول‌های بتای پانکراس است، می‌تواند با تخرب این سلول‌ها، دیابت ملتوس وابسته به انسولین ایجاد کند. این یافته، پیچیدگی‌هایی در فهم عملکرد گیرنده‌های M₁ و M₃ در تنظیم آزادسازی انسولین در دیابت ناشی از استرپتوزوتوسین ایجاد می‌کند، ولی شواهدی در دست است که نشان می‌دهد، گیرنده‌های M₁ و M₃ موسکارینی ساقه مغز و پانکراس حیوانات دریافت‌کننده استرپتوزوتوسین بطور متفاوتی فعالیت کولینرژیک و سطوح گلوکز خونی را تنظیم می‌کنند^(۶۱,۶۲). بنابراین، می‌توان انتظار داشت که عصاره زنجیل با این مکانیسم در کاهش سطح گلوکز خون و علایم افسردگی در موش‌های دیابتیک القاء شده با استرپتوزوتوسین مؤثر باشد. تأیید این فرضیه مستلزم انتظام آزمایشات جدید می‌باشد.

مشخص شده است که مقادیر خارج سلولی گابا در نقاط مختلف مغزی کاهش می‌یابد^(۵۲). به طور کلی، با دلایل ذکر شده سطوح پایه گابا در مغز موش‌های صحرابی که با استرپتوزوتوسین دیابتی شده‌اند، در طی تست شناور اجباری تغییر نمی‌یابد^(۵۳). ولی عصاره زنجیل ممکن است این توازن را به نفع افزایش سطح گابا تغییر دهد^(۴۷). در این حالت، می‌توان انتظار داشت که عصاره متابولی زنجیل بتواند از طریق تقویت عملکرد گابا اثر ضد افسردگی خود را در موش‌های دیابتی اعمال کند. تأیید این فرضیه، به انجام آزمایشات بیشتری نیاز دارد.

آخر، تأیید شده است که عصاره زنجیل اثر آگونیستی مستقیم بر روی رسپتورهای پس سیناپسی کولینرژیک موسکارینی M₃ دارد. علاوه بر این، با مهار فعالیت اتورسپتورهای پیش سیناپسی موسکارینی، می‌تواند آزادسازی استیل کولین را افزایش دهد و به طور غیر مستقیم دیگر رسپتورهای موسکارینی را تحریک نماید^(۵۴). مشخص شده است که تحریک عصب محیطی واگ، سطح انسولین در گردش را افزایش می‌دهد^(۵۵). مطالعات آناتومیکی نشان داده است که منشاء این فیرهای واپران واگ، هسته ambiguous و هسته حرکتی خلفی است که مستقیماً وارد پانکراس می‌شوند^(۵۶). در سلول‌های بتای پانکراس، انواع گیرنده‌های موسکارینی وجود دارند^(۵۷) که اثرات تحریکی استیل کولین واگ را برابر روی آزادسازی انسولین واسطه گری می‌کنند^(۵۸,۵۷). گیرنده M₃ موسکارینی مهم‌ترین گیرنده کولینرژیک موجود در

References

1. Awang DVC. Ginger. Can. Pharm.J., 1992; 125: 309-311.
2. Afzal M, Henness S, Menon M, Pesek J, Dhami MS. Ginger: an ethnomedical, chemical and pharmacological review. Drug Metab. Drug Interact. 2001; 18: 159-190.
3. Langner E, Greifenberg S, Gruenwald J. Ginger: history and use. Adv. Ther. 1998; 15: 25-44.
4. Kadnur SV, Goyal RK. Beneficial effects of Zingiber officinaleRoscoe on fructose induced hyperlipidemia and



- hyperinsulinemia in rats. Indian J. Exp. Biol. 2005; 43: 1161-1164.
5. Goyal RK, Kadnur SV. Beneficial effects of Zingiber officinaleRoscoe on goldthioglucose induced obesity. Fitoterapia 2006; 77: 160-163.
 6. Al-Amin ZM, Thomson M, Al-Qattan KK, Peltonen-Shalaby R, Ali M. Anti-diabetic and hypolipaemic properties of ginger (*Zingiber officinale*) in streptozotocin-induced diabetic rats. Br.J.Nutr. 2006; 96: 660-666.
 7. Bellush LL, Rowland NE. Stress and behavior in streptozotocin diabetic rats: Biochemical correlates of passive avoidance learning. Behav. Neurosci. 1989; 103: 144-150.
 8. Lustman PJ, Amado H, Wetzel RD. Depression in diabetics: A critical appraisal. Comp. Psychiatry 1983; 24: 65-74.
 9. Gavard JA, Lustman PJ, Clouse RE. Prevalence of depression in adults with diabetes. Diabetes Care 1993; 16: 1167-1178.
 10. Lustman PJ, Griffith LS, Gavard JA, Clouse RE. Depression in adults with diabetes. Diabetes Care 1992; 15: 1631-1639.
 11. Goodnick PJ, Henry JH, Buki VMV. Treatment of depression in patients with diabetes mellitus. J. Clin. Psychiatry 1995; 56: 128-136.
 12. Porsolt RD, Le Pichon M, Jalfre M. Depression: A new animal model sensitive to antidepressant treatments. Nature 1977; 266: 730-732.
 13. Porsolt RD, Anton G, Blavet N. Behavioural despair in rats: A new model sensitive to antidepressant treatment. Eur. J. Pharmacol. 1978; 47: 379-391.
 14. Mague SD, Pliakas AM, Todtenkopf MS. Antidepressant-like effects of kappa-opioid receptor antagonists in the forced swim test in rats. J. Pharmacol. Exp. Ther. 2003; 305: 323-330.
 15. Connor TJ, Kelliher P, Harkin A. Reboxetine attenuates forced swim test-induced behavioral and neurochemical alterations in the rat. Eur. J. Pharmacol. 1999; 379: 125-133.
 16. Krocza B, Branski P, Palucha A. Antidepressant-like properties of zinc in rodent forced swim test. Brain Res. Bull. 2001; 55: 297-300.
 17. Blazer DG. Mood disorders. In: Sadock BJ, Sadock VA, (eds). Kaplan & Sadock Comprehensive Textbook of Psychiatry. 7th ed. Lippincott Williams & Wilkins, USA, 2000; pp: 1298-1308.
 18. Kaplan B, SadockVA. Mood disorders, In: Synopsis of psychiatry, 8th edition, Williams & Wilkins, Baltimore, USA, 1998; pp: 524-580.
 19. Akiskal HS. Mood disorders: introduction and overview. In: Kaplan & Sadock's Comprehensive textbook of psychiatry. 7th ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2000; pp:1284-1298.
 20. McKinney WT. Animal research and its relevance to psychiatry. In: Kaplan & Sadock's Comprehensive textbook of psychiatry. 7th ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2000; pp: 545-562.
 21. Hilakivi-Clarke LA, Wozniak KM, Durcan MJ, Linnoila M. Behavior of streptozotocin-diabetic mice in test of exploration, locomotion, anxiety, depression and aggression. Physiol. Behav. 1990; 48: 429-433.

22. Crandall EA, Gillis MA, Fernstrom JD. Reduction in brain serotonin synthesis rate in streptozotocin-diabetic rats. *Endocrinology* 1981; 109: 310–312.
23. Mackenzie RG, Trulson ME. Effects of insulin and strepto streptozotocin-induced diabetes on brain tryptophan and serotonin metabolism in rats. *J. Neurochem.* 1978; 30: 205–211.
24. Montgomery R. Determination of glycogen. *Arch. Biochem. Biophys.* 1957; 67: 378–386.
25. Ohtani N, Ohta M, Sugano T. Microdialysis study of modification of hypothalamic neurotransmitters in streptozotocin-diabetic rats. *J. Neurochem.* 1997; 69: 1622–1628.
26. Trulson ME, Himmel CD. Decreased brain dopamine synthesis rate and increased [³H]spiroperidol binding in streptozotocin-diabetic rats. *J. Neurochem.* 1983; 44: 1873–1876.
27. Yi, LT, Xu Q, Li YC, Yang L, Kong LD. Antidepressant-like synergism of extracts from magnolia bark and ginger rhizome alone and in combination in mice. *Progress in neuropsychopharmacology and biological psychiatry.* 2009; 33: 616-624.
28. Heimes K, Feistel B, Verspohl EJ. Impact of the 5-HT₃ receptor channel system for insulin secretion and interaction of ginger extracts. *Eur. J. Pharmacol.* 2009; 624: 58–65.
29. Giannoukakis N. Drug evaluation: ranirestatan aldose reductase inhibitor for the potential treatment of diabetic complications. *Curr. Opin. Invest. Drug* 2006; 7: 916–923.
30. Kato A, Higuchi Y, Goto H, Kizu H, Okamoto T, Asano N, Hollinshead J, Nash RJ, Adachi I. Inhibitory effects of Zingiber officinale Roscoe derived components on aldose reductase activity in vitro and in vivo. *J. Agric. Food Chem.* 2006; 54: 6640–6644.
31. Petty F. GABA and mood disorders: a brief review and hypothesis. *J. Affect. Disord.* 1995; 34: 275–281.
32. Shiah IS, Yatham LN. GABA function in mood disorders: an update and critical review. *Life Sci.* 1998; 63: 1289–1303.
33. Gerber RH, Hare TA. CSF GABA in normal subjects and patients with depression, schizophrenia, mania, and anorexia nervosa. *Am. J. Psychiatry* 1981; 138: 1098–1101.
34. Parent MB, Master S, Kashlub S, Baker GB. Effects of antidepressant / antipanic drug phenelzine and its putative metabolite phenylethydrazine on extracellular g-aminobutyric acid levels in the striatum. *Biochem. Pharmacol.* 2002; 63: 57–64.
35. Scatton KG, Lloyd P, Zivcovic B, Dennis T, Claustre Y, Dedek J, Arbilla S, Langer SZ, Bartholini G. Fengabine, a novel antidepressant GABAergic agent. ii. Effect on cerebral noradrenergic, serotonergic and GABAergic transmission in the rat. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1987; 241: 241–257.
36. Surany-Cadotte BE, Dam TV, Quirion R. Antridepressant–anxiolytic interaction: decreased density of benzodiazepine receptors in rat brain following chronic administration of antidepressants. *Eur. J. Pharmacol.* 1985; 106: 673–675.
37. Gavard JA, Lustman PJ, Clouse RE. Prevalence of depression in adults with diabetes. *Diabetes Care* 1993; 16: 1167–1178.
38. Okada Y. Localization and function of GABA in pancreas islets. In: Erdö, S. L., Bowery, N. G., eds. *GABAergic mechanisms in the mammalian periphery*. New York: Raven Press; 1986:223–240.
39. Okada Y, Taniguchi H, Baba S. High concentration of GABA in the pancreatic



- islets with special emphasis on b cells. In: Okada, Y., Roberts, E., eds. *Problems in GABA research: From brain to bacteria*. Amsterdam: Excerpta Medica; 1982:379–386.
40. Petty F. GABA and mood disorders: A brief review and hypothesis. *J. Affect. Disord.* 1995; 34: 275–281.
 41. Figlewicz DP. Endocrine regulation of neurotransmitter transport. *Epilepsy Res.* 1999; 37: 203–10.
 42. Guyot LL, Diaz FG, O'Regan MH, Song D, Phillis JW. The effect of streptozotocin-induced diabetes on the release of excitotoxic and other amino acids from the ischemic rat cerebral cortex. *Neurosurgery* 2001; 48:385–91.
 43. Gomez R, Asnis N, Tannhauser SL, Barros HMT. GABA agonists differentially modify blood glucose levels of diabetic rats. *Jpn. J. Pharmacol.* 1999; 80: 327–31.
 44. Ishizuka H, Sawada Y, Ito K, Sugiyama Y, Iga T, Hanano M. Nonlinear relationship between benzodiazepine receptor occupancy and glucose metabolic response in the conscious mouse brain *in vivo*. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1989; 251: 362–7.
 45. Morishita S, Aoki S, Watanbe S. Clonazepam as a therapeutic adjunct to improve the management of psychiatric disorders. *Psychiatr. Clin. Neurosci.* 1998; 52: 75 –8.
 46. Gomez R, Barros HMT. Ethopharmacology of the antidepressant effect of clonazepam in diabetic rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 2000; 66: 329– 35.
 47. Vishwakarma SL, Pal SC, Kasture VS, Kasture SB. Anxiolytic and antiemetic activity of Zingiber officinale. *Phytother. Res.* 2002; 16: 621–626.
 48. Fray AE, Forsyth RJ, Boutelle M, Fillenz M. The mechanisms controlling physiological stimulated changes in rat brain glucose lactate: a microdialysisstudy. *J. Physiol.* 1996; 496: 49– 57.
 49. Levin BE. Glucose-regulated dopamine release from substantia nigra neurons. *Brain. Res.* 2000; 874: 158–164.
 50. During MJ, Paola L, Davis KE, Kerr D, Sherwin RS. Glucose modulates ratsubstantia nigra GABA release *in vivo* via ATP-sensitive potassium channels. *J. Clin. Invest.* 1995; 95: 2403–2408.
 51. Levin BE, Dunn-Meynell AA. Effect of streptozotocin-induced diabetes on rat brain sulfonylurea binding sites. *Brain Res. Bull.* 1998; 46: 513– 8
 52. Gomez R, Vargas CR, Wajner M, Barros HMT. Lower *in vivo* brain extracellular GABA concentration in diabetic rats during forced swimming. *Brain Res.* 2003; 968: 281– 284.
 53. Gomez R, Barros HMT. Clonazepam increases *in vivo* striatal extracellular glucose in diabetic rats after glucose overload. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 2003; 76: 443– 450.
 54. Ghayur MN, Khan AH, Gilani AH. Ginger facilitates cholinergic activity possibly due to blockade of muscarinic autoreceptors in rat stomach fundus. *Pak. J. Pharm. Sci.* 2007; 20: 231–235.
 55. Balakrishnan S, Mathew J, Antony S, Paulose CS. Muscarinic M1, M3 receptors function in the brainstem of streptozotocin induced diabetic rats: Their role in insulin secretion from the pancreatic islets as a function of age. *Eur. J. Pharmacol.* 2009; 608: 14–22.

-
56. Bereiter DA, Rohner-Jeanrenaud F, Berthoud HR, Jeanrenaud B. CNSmodulation of pancreatic endocrine function. Multiple modes of expression. *Diabetologia* 1981; 20: 417–425.
57. Iismaa TP, Kerr EA, Wilson JR, Carpenter L, Sims N, Biden TJ. Quantitative and functional characterization of muscarinic receptor subtypes in insulin secreting cell lines and rat pancreatic islets. *Diabetes* 2000; 49: 392–398.
58. Gilon P, Henquin JC. Mechanisms and physiological significance of the cholinergic control of pancreatic beta-cell function. *Endocr. Rev.* 2001; 22: 65–604.
59. Duttaroy A, Zimliki CL, Gautam D, Cui Y, Mears D, Wess J. Muscarinic stimulation of pancreatic insulin and glucagon release is abolished in M3 muscarinic acetylcholine receptor-deficient mice. *Diabetes* 2004; 53: 1714–1720.
60. Gireesh G, Balarama Kaimal S, Peeyush Kumar T, Paulose CS. Decreased muscarinic M1 receptor gene expression in the hypothalamus, brainstem and pancreatic islets of streptozotocin-induced diabetic rats. *J. Neurosci. Res.* 2007; 86: 947–953.
61. Paik SG, Fleischer N, Shin SI. Insulin-dependent diabetes mellitus induced by subdiabetogenic doses of streptozotocin: obligatory role of cell mediated autoimmune processes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1980; 77: 6129–6133.
62. Like AA, Rossini AA. Streptozotocin-induced pancreatic insulitis: new model of diabetes mellitus. *Science* 1976; 193: 415–417.