

## تحقیقی

### اثر دیابت بارداری بر تعداد آستروسیت‌های ناحیه CA1 و CA3 هیپوکامپ نوزادان نر موش صحرایی

سکینه کابلی کفشگیری<sup>۱</sup>، ثریا غفاری<sup>۲</sup>، ویدا حجتی<sup>۳</sup>، ابراهیم اسدی<sup>۴</sup>، دکتر محمدجعفر گلعلی پور<sup>۵\*</sup>

۱- کارشناس ارشد زیست شناسی تکوینی. ۲- کارشناس زیست شناسی، گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی گرگان، دانشگاه علوم پزشکی گلستان. ۳- دانشجوی دکتری زیست شناسی تکوینی، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان. ۴- کارشناس ارشد علوم تشریحی. ۵- استاد، مرکز تحقیقات ناهنجاری‌های مادرزادی گرگان، گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی گرگان، دانشگاه علوم پزشکی گلستان.

#### چکیده

**زمینه و هدف:** دیابت قندی یکی از شایع‌ترین بیماری‌های متابولیکی است که با افزایش گلوکز خون و تغییرات متابولیک لیپیدها، قندها و پروتئین‌ها همراه است. در ۵-۳/۵ درصد از بارداری‌ها دیابت حاملگی بروز می‌نماید. این مطالعه به منظور تعیین اثر دیابت بارداری بر تعداد آستروسیت‌های ناحیه CA1 و CA3 هیپوکامپ نوزادان نر ۷ و ۲۱ روزه موش صحرایی انجام شد.

**روش بررسی:** در این مطالعه تجربی ۱۲ سر موش صحرایی باردار نژاد ویستار به صورت تصادفی در دو گروه کنترل و آزمایش (دیابتی) قرار گرفتند. دیابت بارداری با تزریق داخل صفاقی استرپتوزوسین (۴۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) در اولین روز بارداری ایجاد شد. موش‌های گروه کنترل در اولین روز بارداری نرمال سالیین دریافت کردند. از نوزادان متولد شده از مادران گروه آزمایش و کنترل، در پایان هفته اول و سوم زندگی به طور تصادفی ۶ نوزاد نر انتخاب گردید. پس از بیهوشی و نخاعی کردن نوزادان از نیمکره چپ مغز، مقاطع بافتی کرونال به صورت سریال با ضخامت ۶ میکرومتر تهیه و با استفاده از رنگ PTAH رنگ‌آمیزی شد. پس از تصویربرداری از مقاطع، تعداد آستروسیت‌ها در مساحت ۱۰۰۰۰۰ میکرومتر مربع نواحی CA1 و CA3 هیپوکامپ شمارش گردید. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS-11.5 و آزمون آماری t-test تجزیه و تحلیل شدند.

**یافته‌ها:** تعداد آستروسیت‌ها در ناحیه CA1 هیپوکامپ نوزادان ۷ روزه گروه آزمایش ( $71/51 \pm 3/8$ ) نسبت به نوزادان گروه کنترل ( $119/91 \pm 11/2$ ) ۳۶/۲۵ درصد کاهش داشت ( $P < 0/05$ ). در نوزادان ۲۱ روزه گروه آزمایش تعداد آستروسیت‌ها ( $71/26 \pm 6/5$ ) در مقایسه با گروه کنترل ( $112/26 \pm 7/7$ ) ۳۶/۳۷ درصد کاهش داشت ( $P < 0/05$ ). همچنین در ناحیه CA3 هیپوکامپ نوزادان ۷ و ۲۱ روزه گروه آزمایش تعداد آستروسیت‌ها به ترتیب ۳۶/۳۵ درصد و ۲۶/۵ درصد نسبت به گروه کنترل کاهش یافت ( $P < 0/05$ ).

**نتیجه‌گیری:** این مطالعه نشان داد که دیابت بارداری کنترل نشده در موش صحرایی باعث کاهش معنی‌دار تعداد آستروسیت‌های نواحی CA1 و CA3 هیپوکامپ نوزادان نر موش صحرایی می‌گردد.

**کلید واژه‌ها:** دیابت بارداری، هیپوکامپ، آستروسیت، استرپتوزوسین، موش صحرایی

\* نویسنده مسؤول: دکتر محمدجعفر گلعلی پور، پست الکترونیکی [mjgolalipour@yahoo.com](mailto:mjgolalipour@yahoo.com)

نشانی: گرگان، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، مرکز تحقیقات ناهنجاری‌های مادرزادی گرگان، تلفن و نمابر ۰۱۷۱-۲۲۲۵۰۱۲  
وصول مقاله: ۹۰/۵/۲۵، اصلاح نهایی: ۹۰/۹/۹، پذیرش مقاله: ۹۰/۹/۱۳

## مقدمه

دیابت قندی یکی از شایع‌ترین بیماری‌های متابولیکی است که با افزایش گلوکز خون و تغییرات متابولیک لیپیدها، قندها و پروتئین‌ها همراه است (۱).

در دیابت قندی سلول‌های پانکراس قادر به تولید انسولین نیستند. انسولین هورمونی است که برای انتقال گلوکز به داخل سلول مورد نیاز است. تولید انسولین در سلول‌های بتای پانکراس در جزایر لانگرهانس انجام می‌شود (۲).

سه نوع دیابت تیپ ۱، تیپ ۲ و دیابت بارداری وجود دارد. هر یک از انواع دیابت صرف‌نظر از نوع آن با تغییرات سیستم عصبی مرکزی در انسان و یا مدل‌های حیوانی ارتباط دارد (۳). این تغییرات در سیستم عصبی مرکزی شامل تغییراتی در نورون‌ها و عملکرد نورون‌ها و همچنین تغییراتی در سلول‌های گلیال می‌باشد. متابولیسم گلوکز و اختلالات مربوط به آن در سیستم عصبی مرکزی (CNS) نه تنها برای نورون‌ها بلکه برای آستروسیت‌ها که مهم‌ترین سلول‌های گلیال دستگاه عصبی مرکزی می‌باشند؛ اهمیت دارد. اختلالات هیپوتالاموس، قشر مخ و هیپوکامپ، اختلالات عروقی مغز، سکنه مغزی، اضطراب، افسردگی و آنسفالوپاتی دیابتی از جمله عوارض ناشی از دیابت بر سیستم عصبی مرکزی می‌باشد (۵و۴). سلول‌های گلیال بافت عصبی به‌خصوص آستروسیت‌ها در پدیده نوروزنز دخالت داشته و علاوه بر پشتیبانی و تغذیه سلول‌های عصبی در فعالیت‌های سیناپسی و انتقال اطلاعات شرکت دارند. بیان غیرطبیعی نوروپپتیدهای هیپوتالامیک، هیپوکامپال آستروگلیکوزیس، کاهش پلاستیسیته سیناپس‌های هیپوکامپ، نوروتوکسیسیته و تغییرات در گلو تامات نوروترانسمیتر، مهم‌ترین تغییراتی است که در اثر هیپرگلیسمی در هیپوکامپ گزارش شده است (۶و۵).

دیابت باعث کاهش حافظه و یادگیری می‌گردد. این کاهش یادگیری در فرزندان مادران دیابتی نیز گزارش شده است (۷). بعضی از مطالعات کاهش تعداد نورون‌ها و کاهش آستروسیت‌های هیپوکامپ در اثر هیپرگلیسمی ناشی از دیابت را به عنوان عامل کاهش حافظه و یادگیری بیان نموده‌اند (۹و۸). همچنین القای دیابت می‌تواند باعث نقص در فرآیندهای شناختی مرتبط با تشکیلات هیپوکامپ و اختلال

در ذخیره‌سازی و بازخوانی حافظه شود (۱۰).

دیابت بارداری رو به افزایش بوده و حدود ۵-۳/۵ درصد بارداری‌ها را شامل می‌شود و از آنجایی که این نوع دیابت، می‌تواند زمینه توسعه دیابت در فرزندان باشد (۱۱)؛ از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است.

با توجه به اثرات دیابت تیپ یک بر سیستم عصبی مرکزی و انجام مطالعات اندک در مورد اثرات دیابت بارداری بر آستروسیت‌های هیپوکامپ و نیز گزارش نتایج متناقض در ارتباط با دیابت تیپ یک و اثرات آن بر هیپوکامپ و آستروسیت‌ها و همچنین با توجه به اهمیت و نقش مهم آستروسیت در پشتیبانی و حمایت تغذیه‌ای نورون‌ها؛ این مطالعه به منظور تعیین اثر دیابت بارداری بر تعداد آستروسیت‌های ناحیه CA1 و CA3 هیپوکامپ نوزادان نر ۷ و ۲۱ روزه موش صحرایی انجام شد.

## روش بررسی

این مطالعه تجربی در دانشکده پزشکی گرگان با کسب مجوز از کمیته اخلاق پزشکی دانشگاه علوم پزشکی گلستان انجام و پروتکل کار روی حیوانات رعایت گردید.

### حیوانات مورد مطالعه

از ۱۲ سر موش صحرایی ماده بالغ نژاد ویستار با سن تقریبی ۱۲ هفته و وزن ۱۸۰-۲۲۰ گرم و ۶ سر موش صحرایی نر بالغ تهیه شده از انستیتو پاستور ایران استفاده شد.

موش‌های صحرایی به بخش حیوانات دانشکده پزشکی گرگان منتقل شدند و در شرایط استاندارد ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی، دمای ۲۴-۲۲ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۵۵-۵۰ درصد نگهداری شدند.

### گروه‌های حیوانی

بعد از جفت‌گیری موش‌های ماده و مشاهده اسپرم در واژینال اسمیر، روز صفر بارداری مادران منظور گردید. در روز اول بارداری موش‌های باردار به صورت تصادفی در دو گروه کنترل و آزمایش (دیابتی) قرار گرفتند.

در گروه آزمایش در اولین روز بارداری استرپتوزتوسین (Sigma Chemical, St. Louis, Mo., USA) بلافاصله پس از حل شدن در نرمال سالین ۸/۵ درصد به صورت تک دوز و داخل صفاق به میزان ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به

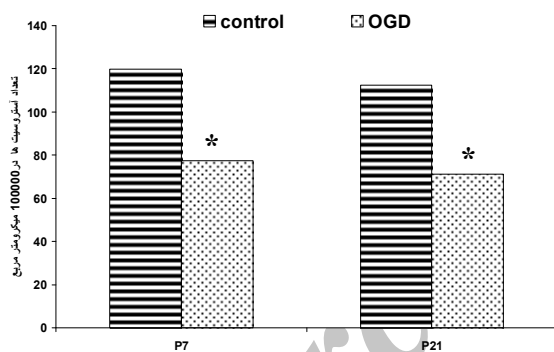
داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS-11.5 و با توجه به توزیع نرمال داده‌ها توسط آزمون آماری t-test تجزیه و تحلیل شدند. فاصله اطمینان ۹۵ درصد و سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

### یافته‌ها

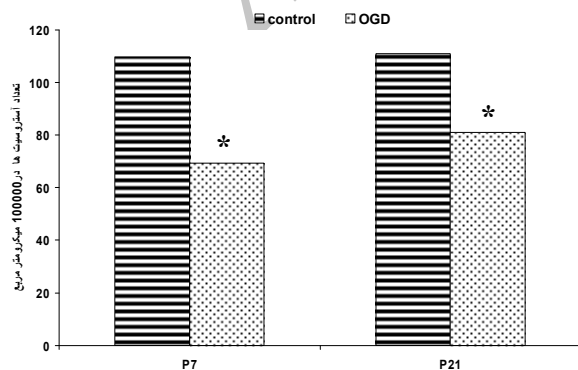
سطح گلوکز خون موش‌های صحرایی بارداری گروه آزمایش قبل از ایجاد دیابت بارداری  $97/15 \pm 2/2$  mg/dl و یک هفته پس از تزریق استرپتوزتوسین به میزان  $146/28 \pm 2/9$  mg/dl افزایش یافت.

سطح گلوکز خون موش‌های صحرایی بارداری گروه کنترل  $99/21 \pm 1/42$  mg/dl و یک هفته بعد  $97/79 \pm 2/3$  mg/dl تعیین گردید.

شمارش آستروسیت‌ها در واحد سطح نواحی CA1 و CA3 هیپوکامپ نوزادان متولد شده از مادران موش‌های صحرایی گروه آزمایش و کنترل در روزهای ۷ و ۲۱ پس از تولد به تفکیک در نمودارهای ۱ و ۲ آمده است.



نمودار ۱: مقایسه تعداد آستروسیت‌ها در ناحیه CA1 هیپوکامپ نوزادان موش‌های صحرایی با دیابت بارداری و کنترل در روزهای ۷ و ۲۱ پس از تولد ( $P < 0/05$ )



نمودار ۲: مقایسه تعداد آستروسیت‌ها در ناحیه CA3 هیپوکامپ نوزادان موش‌های صحرایی با دیابت بارداری و کنترل در روزهای ۷ و ۲۱ پس از تولد ( $P < 0/05$ )

موش‌های صحرایی که ۱۲-۱۰ ساعت ناشتا بودند؛ تزریق شد (۱۳ و ۱۲). به گروه کنترل در اولین روز بارداری به همان حجم نرمال سالیین داخل صفاق تزریق گردید.

سطح گلوکز خون ۲۵۰-۱۴۰ میلی گرم بر دسی لیتر، به‌عنوان دیابت بارداری در نظر گرفته شد (۱۴).

سطوح گلوکز خون با استفاده از گلوکومتر (ACCU-CHEK® Active Glucometer, Roche Diagnostics, Mann-heim, Germany) تعیین شد (۱۵).

### آزمایشات هیستولوژی

پس از زایمان طبیعی در پایان هفته اول (روز ۷) و هفته سوم (روز ۲۱) از نوزادان نر متولد شده از مادران گروه کنترل و آزمایش (دیابت بارداری) به‌طور تصادفی ۶ سر موش انتخاب شد. مغز نوزادان پس از بیهوشی با کلروفورم و کرانیوتومی، خارج گردید. نمونه‌های به‌دست آمده از نیمکره چپ مغز برای تثبیت بافتی به مدت ۴۸ ساعت در محلول فرمالدئید بافر ۱۰ درصد قرار داده شد و پس از پاساژ بافتی در بلوک‌های پارافینی قالب‌گیری شدند.

مقاطع کروئال به صورت سریال و به ضخامت ۶ میکرومتر و با فاصله ۴۰ میکرومتری نسبت به هم از نواحی ۳/۳۰- میلی متری تا ۶/۰۴- میلی متری Bregma که با مختصات هیپوکامپ مطابقت داشت؛ تهیه شد (۱۶). مقاطع بافتی با روش رنگ آمیزی اختصاصی آستروسیت PTAH (Phosphotungstic Acid Hematoxylin) رنگ آمیزی شدند (۱۷).

### تهیه عکس و بررسی‌های مورفومتریک

با استفاده از میکروسکوپ تحقیقاتی OLYMPUS (Olympus Optical, Co. LTD, Tokyo, Japan) با بزرگ‌نمایی ۴۰۰ برابر و دوربین DP12 از نواحی CA1 و CA3 هیپوکامپ ۲۰-۱۰ مقطع عکس گرفته شد. پس از انتقال تصاویر به نرم‌افزار Olysia Autobiorepoert (Olympus Optical Co. LTD, Tokyo-Japan) و قابلیت برنامه‌ریزی این نرم‌افزار برای مطالعات مورفومتری، شبکه‌هایی (Grid) با اندازه مناسب بر روی هر تصویر قرار گرفت و در نهایت تعداد آستروسیت‌ها در مساحتی برابر با ۱۰۰۰۰۰ میکرومتر مربع از نواحی CA1 و CA3 هیپوکامپ شمارش شد.

میانگین و خطای استاندارد تعداد آستروسیت‌ها در سطح  $100000$  میکرومتر مربع آستروسیت‌ها در ناحیه CA1 هیپوکامپ در نوزادان ۷ روزه و ۲۱ روزه مادران با دیابت بارداری (گروه آزمایش) به ترتیب  $76/51 \pm 3/8$  و  $71/26 \pm 6/5$  تعیین شد ( $P < 0/001$ ) و این میزان در نوزادان ۷ روزه و ۲۱ روزه گروه کنترل به ترتیب  $119/91 \pm 11/2$  و  $112/26 \pm 7/7$  به دست آمد ( $P < 0/001$ ). همچنین تعداد آستروسیت‌ها در CA3 هیپوکامپ نوزادان گروه آزمایش در روز ۷ و روز ۲۱ نسبت به گروه کنترل به ترتیب  $36/35$  درصد و  $26/5$  درصد کاهش یافت ( $P < 0/005$ ).

### بحث

این مطالعه نشان داد که دیابت حاملگی در موش‌های صحرایی سبب کاهش معنی‌دار آستروسیت‌ها در نواحی CA1 و CA3 هیپوکامپ نوزادان ۷ و ۲۱ روزه می‌گردد. نتایج مطالعه ما با مطالعات انجام شده که روی موش‌های دیابتیک (نه دیابت بارداری) انجام شده است؛ مطابقت دارد (۱۸-۲۰). این مطالعات نشان‌دهنده کاهش معنی‌دار در تعداد سلول‌های GFAP مثبت در هیپوکامپ، مخچه، ماده سفید جسم پینه‌ای، کیسول خارجی و رتین مدل‌های دیابتی القا شده با STZ می‌باشد (۱۸-۲۰).

همچنین یافته این مطالعه با یافته Dennis و همکاران که کاهش سلول‌های GFAP مثبت و کاهش فعالیت GFAP را در اپی‌تلیوم بویایی و بولب بویایی موش‌های دیابتی را در مقایسه با موش‌های گروه کنترل گزارش نمودند؛ مطابقت دارد (۲۱). همچنین مطالعه افشاری و همکاران نشان داد که در هفته ۸ و ۱۶ پس از القای دیابت با استرپتوزوسین در موش‌ها تعداد آستروسیت‌ها در ماده خاکستری نخاع با استفاده از روش ایمنوهیستوشیمی GFAP به میزان ۷۰ و ۸۰ درصد در مقایسه با گروه کنترل کاهش داشت (۲۲).

همچنین مطالعه Lechuge-Suncho و همکاران کاهش آستروسیت‌ها را در هیپوتالاموس ۶ هفته پس از القای دیابت در موش‌های صحرایی گزارش نمود (۲۳). از طرف دیگر، افزایش سلول‌های GFAP مثبت در هیپوکامپ موش‌های بالغ، یک‌ماه بعد از دریافت استرپتوزوسین گزارش شده است (۵). کاهش آستروسیت‌ها در حیوانات دیابتی می‌تواند ناشی از

روند مرگ برنامه‌ریزی شده آستروسیت‌ها (اپوپتوز) باشد (۲۴).

در دیابت قندی با افزایش سطح گلوکز خون (۲۵) و کاهش انسولین یا عامل رشد شبه انسولین (۲۶) و افزایش سیتوکین‌ها از جمله TNF $\alpha$  (۲۷) مرگ سلولی و اپوپتوز در شماری از بافت‌ها به‌وقوع می‌پیوندد (۳۱-۲۸).

سلول‌های گلیال در کنترل و تأمین گلوکز و متابولیت‌های آن در نورون‌ها نقش دارند و اولین خط دفاعی در برابر تغییرات غلظت گلوکز را تشکیل می‌دهند (۳۲). وقتی گلوکز در دسترس سلول‌ها کاهش می‌یابد و گلیکوژن ذخیره شده در آستروسیت‌ها به‌عنوان منبع انرژی برای نورون‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد (۳۳). بنابراین ممکن است افزایش بیش از حد گلوکز باعث افزایش مرگ آستروسیت‌ها گردد.

مطالعات متعدد نشان می‌دهند افزایش سطح گلوکز به‌طور مستقیم، مرگ تیپ‌های مختلف سلول‌های گلیال را القا می‌کند (۳۴ و ۳۵). گرچه در مطالعه Arroba و همکاران نشان داده شد؛ افزایش TNF $\alpha$  و کاهش انسولین یا عوامل رشد انسولین IGF-1 نیز می‌تواند در مرگ سلول‌های گلیال نقش داشته باشد (۳۶).

مکانیسم‌های داخل سلولی افزایش مرگ آستروسیت‌ها ناشی از درگیر شدن انتقال‌دهنده‌های هسته‌ای AIF (عامل القاء کننده آپوپتوز) می‌باشد (۲۴). انتقال‌دهنده‌های هسته‌ای AIF در مرگ سلولی غیروابسته به کاسپاز، در پاسخ به سیگنال‌های مختلف شامل استرس اکسیداتیو، توکسیسیتی گلوتامات و ایسکمی دخالت می‌کنند. کاهش یا از دست دادن یکپارچگی غشای میتوکندریایی نتیجه آزاد سازی عامل AIF است. این عامل به هسته انتقال داده شده؛ تا جایی که باعث القاء قطعه قطعه شدن DNA و تراکم کروماتین می‌گردد (۳۷).

تغییر و تبدیل آستروسیت‌ها می‌تواند ناشی از استرس اکسیداتیو و یا شکل‌گیری رادیکال‌های آزاد باشد (۳۸).

مطالعه Baydas و همکاران نشان داد که در دیابت نوع ۱، میزان لیپید پرواکسیداسیون در قشر مغز موش‌های صحرایی افزایش یافته و میزان گلوکوتایون (GSH) کاهش می‌یابد که با استفاده از ویتامین E به عنوان یک ماده آنتی‌اکسیدانت باعث کاهش مالون‌دی‌آلدهید و افزایش گلوکوتایون شد که

در امر یادگیری و حافظه نقش دارد؛ مطالعات بیشتری نیاز است.

### تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه خانم سکینه کابلی برای اخذ درجه کارشناسی ارشد رشته زیست‌شناسی تکوینی از دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان بود. بدین وسیله از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی گلستان تقدیر می‌گردد.

### References

1. Biessels GJ, van der Heide LP, Kamal A, Bleys RL, Gispen WH. Ageing and diabetes: implications for brain function. *Eur J Pharmacol.* 2002 Apr;441(1-2):1-14.
2. Lebed YV, Orlovsky MA, Nikonenko AG, Ushakova GA, Skibo GG. Early reaction of astroglial cells in rat hippocampus to streptozotocin-induced diabetes. *Neurosci Lett.* 2008;444(2):181-5.
3. Persaud ODD. Maternal Diabetes and the Consequences for her Offspring. *Journal on developmental disabilities.* 2007;13(1): 101-34.
4. Beauquis J, Saravia F, Coulaud J, Roig P, Dardenne M, Homo-Delarche F, et al. Prominently decreased hippocampal neurogenesis in a spontaneous model of type 1 diabetes, the nonobese diabetic mouse. *Exp Neurol.* 2008 Apr;210(2):359-67.
5. Revsin Y, Saravia F, Roig P, Lima A, de Kloet ER, Homo-Delarche F, et al. Neuronal and astroglial alterations in the hippocampus of a mouse model for type 1 diabetes. *Brain Res.* 2005 Mar;1038(1):22-31.
6. Narita M, Miyatake M, Narita M, Shibasaki M, Shindo K, Nakamura A, et al. Direct evidence of astrocytic modulation in the development of rewarding effects induced by drugs of abuse. *Neuropsychopharmacology.* 2006;31(11): 2476-88.
7. Holmes CS, Richman LC. Cognitive profiles of children with insulin-dependent diabetes. *J Dev Behav Pediatr.* 1985 Dec; 6(6): 323-6.
8. Flood JF, Mooradian AD, Morley JE. Characteristics of learning and memory in streptozotocin-induced diabetic mice. *Diabetes.* 1990 Nov; 39(11):1391-8.
9. McCall AL. The impact of diabetes on the CNS. *Diabetes.* 1992 May; 41(5):557-70.
10. Biessels GJ, Kamal A, Ramakers GM, Urban IJ, Spruijt BM, Erkelens DW, et al. Place learning and hippocampal synaptic plasticity in streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetes.* 1996 Sep; 45(9):1259-66.
11. Van Assche FA, Aerts L, Holemans K. Metabolic alterations in adulthood after intrauterine development in mothers with mild diabetes. *Diabetes.* 1991 Dec;40(2):106-8.
12. Forsberg H, Eriksson UJ, Welsh N. Apoptosis in embryos of diabetic rats. *Pharmacol Toxicol.* 1998 Sep; 83(3):104-11.
13. Giavini E, Broccia ML, Prati M, Roversi GD, Vismara C.

نشان‌دهنده نقش استرس اکسیداتیو در ایجاد ضایعات در CNS موش‌های دیابتی از جمله تغییرات آستروسیت‌ها می‌باشد (۳۵).

### نتیجه‌گیری

این مطالعه نشان داد که دیابت بارداری کنترل نشده در موش صحرایی باعث کاهش معنی‌دار تعداد آستروسیت‌های نواحی CA1 و CA3 هیپوکامپ نوزادان نر موش صحرایی در دوران بعد از تولد و شیرخوارگی می‌گردد. برای تعیین مکانیسم دقیق دیابت بارداری بر تغییرات سلولی هیپوکامپ که

Effects of streptozotocin-induced diabetes on fetal development of the rat. *Teratology.* 1986 Aug;34(1):81-8.

14. Turtas S, Tondi M, Tola G, Sehbundt Viale E, Martinez PL. Impaired intellectual development in children with type I diabetes: association with HbA1c, age at diagnosis and sex. *Diabetologia.* 2002;45(1):123-5.

15. Selvarajah D, Tesfaye S. Central nervous system involvement in diabetes mellitus. *Curr Diab Rep.* 2006 Dec;6(6):431-8.

16. Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. 6<sup>th</sup>. New York: Academic Press. 1998; p:451.

17. Lowe J, Cox G. Neuropathological techniques. In: Bancroft JD, Stevens A. *Theory and practice of histological technique.* 3<sup>rd</sup>. London: Churchill Livingstone. 1990; p:346.

18. Coleman E, Judd R, Hoe L, Dennis J, Posner P. Effects of diabetes mellitus on astrocyte GFAP and glutamate transporters in the CNS. *Glia.* 2004 Nov;48(2):166-78.

19. Asnaghi V, Gerhardinger C, Hoehn T, Adeboje A, Lorenzi M. A role for the polyol pathway in the early neuroretinal apoptosis and glial changes induced by diabetes in the rat. *Diabetes.* 2003 Feb; 52(2):506-11.

20. Rungger-Brändle E, Dosso AA, Leuenberger PM. Glial reactivity, an early feature of diabetic retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2000 Jun;41(7):1971-80.

21. Dennis JC, Coleman ES, Swyers SE, Moody SW, Wright JC, Judd R, et al. Changes in mitotic rate and GFAP expression in the primary olfactory axis of streptozotocin-induced diabetic rats. *J Neurocytol.* 2005 Mar;34(1-2):3-10.

22. Afsari ZH, Renno WM, Abd-El-Basset E. Alteration of glial fibrillary acidic proteins immunoreactivity in astrocytes of the spinal cord diabetic rats. *Anat Rec (Hoboken).* 2008 Apr; 291(4):390-9.

23. Lechuga-Sancho AM, Arroba AI, Frago LM, García-Cáceres C, de Célix AD, Argente J, et al. Reduction in the number of astrocytes and their projections is associated with increased synaptic protein density in the hypothalamus of poorly controlled diabetic rats. *Endocrinology.* 2006 Nov;147(11):5314-24.

24. García-Cáceres C, Lechuga-Sancho A, Argente J, Frago LM, Chowen JA. Death of hypothalamic astrocytes in poorly controlled diabetic rats is associated with nuclear translocation of apoptosis

- inducing factor. *J Neuroendocrinol*. 2008 Dec;20(12):1348-60.
25. Anitha M, Gondha C, Sutliff R, Parsadian A, Mwangi S, Sitaraman SV, et al. GDNF rescues hyperglycemia-induced diabetic enteric neuropathy through activation of the PI3K/Akt pathway. *J Clin Invest*. 2006 Feb;116(2):344-56.
26. Ishii DN. Implication of insulin-like growth factors in the pathogenesis of diabetic neuropathy. *Brain Res Brain Res Rev*. 1995 Jan; 20(1):47-67.
27. Chen G, Goeddel DV. TNF-R1 signaling: a beautiful pathway. *Science*. 2002 May; 296(5573):1634-5.
28. Nishikawa T, Araki E. Impact of mitochondrial ROS production in the pathogenesis of diabetes mellitus and its complications. *Antioxid Redox Signal*. 2007 Mar;9(3):343-53.
29. Allen DA, Yaqoob MM, Harwood SM. Mechanisms of high glucose-induced apoptosis and its relationship to diabetic complications. *J Nutr Biochem*. 2005 Dec;16(12):705-13.
30. Arroba AI, Frago LM, Pañeda C, Argente J, Chowen JA. The number of lactotrophs is reduced in the anterior pituitary of streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetologia*. 2003 May; 46(5):634-8.
31. Arroba AI, Lechuga-Sancho AM, Frago LM, Argente J, Chowen JA. Cell-specific expression of X-linked inhibitor of apoptosis in the anterior pituitary of streptozotocin-induced diabetic rats. *J Endocrinol*. 2007 Jan;192(1):215-27.
32. Pellerin L, Bouzier-Sore AK, Aubert A, Serres S, Merle M, et al. Activity-dependent regulation of energy metabolism by astrocytes: an update. *Glia*. 2007 Sep;55(12):1251-62.
33. Brown AM, Ransom BR. Astrocyte glycogen and brain energy metabolism. *Glia*. 2007 Sep;55(12):1263-71.
34. Xi X, Gao L, Hatala DA, Smith DG, Codispoti MC, Gong B, et al. Chronically elevated glucose-induced apoptosis is mediated by inactivation of Akt in cultured Müller cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2005 Jan;326(3):548-53.
35. Delaney CL, Russell JW, Cheng HL, Feldman EL. Insulin-like growth factor-I and over-expression of Bcl-xL prevent glucose-mediated apoptosis in Schwann cells. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2001 Feb; 60(2):147-60.
36. Arroba AI, Frago LM, Argente J, Chowen JA. Activation of caspase 8 in the pituitaries of streptozotocin-induced diabetic rats: implication in increased apoptosis of lactotrophs. *Endocrinology*. 2005 Oct;146(10):4417-24.
37. Krantic S, Mechawar N, Reix S, Quirion R. Apoptosis-inducing factor: a matter of neuron life and death. *Prog Neurobiol*. 2007 Feb;81(3):179-96.
38. Baydas G, Nedzvetskii VS, Tuzcu M, Yasar A, Kirichenko SV. Increase of glial fibrillary acidic protein and S-100B in hippocampus and cortex of diabetic rats: effects of vitamin E. *Eur J Pharmacol*. 2003 Feb;462(1-3):67-71.

Archive of SID

## Original Paper

# Effect of gestational diabetes on astrocyte density in CA1 and CA3 subfields of hippocampus in Rat offspring

Kaboli Kafshgiri S (MSc)<sup>1</sup>, Ghafari S (BSc)<sup>2</sup>, Hojjati V (MSc)<sup>3</sup>  
Asadi E (MSc)<sup>4</sup>, Golalipour MJ (PhD)<sup>\*5</sup>

<sup>1</sup>MSc in Developmental Biology. <sup>2</sup>BSc in Biology, Department of Anatomy, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran. <sup>3</sup>PhD Candidate in Developmental Biology, Department of Biology, Islamic Azad University, Damghan Branch, Damghan, Iran. <sup>4</sup>MSc in Anatomy. <sup>5</sup>Professor, Gorgan Congenital Malformations Center, Department of Anatomy, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran.

## Abstract

**Background and Objective:** Diabetes mellitus is one of the most common serious metabolic disorders characterized by hyperglycemia, altered metabolism of lipids, carbohydrates and proteins. Gestational diabetes mellitus (GDM), affects 3.5–5% of all human pregnancy. Therefore, this study was done to evaluate the effect of gestational diabetes on astrocyte density in CA1 and CA3 subfields of hippocampus in rat male offspring.

**Materials and Methods:** In this experimental study, 12 Wistar Dams rats were randomly allocated in control and diabetic groups. Gestational diabetes induced by 40 mg/kg/body weight of streptozotocin at the first day of gestation (GD) in experimental group and controls were received an equivalent volume normal saline injection intraperitoneally (IP). Six male offspring of cases and controls dams, at the 7, 21 postnatal day (P7, P21) were randomly selected. Animals were scarified using chloroform anesthesia. The coronal sections of brain by 6 micrometer serially were prepared. The sections were stained with PTAH. The number of astrocytes was evaluated in 100000  $\mu\text{m}^2$  area of CA1 and CA3 in 1000X magnification. Data was analyzed by SPSS-11.5 and t-test.

**Results:** In CA1 subfield of hippocampus in offspring, the number of astrocytes significantly reduced by 36.25% and 36.37% in diabetic group in compare to controls in the P7 and P21, respectively ( $P < 0.05$ ). In CA3, astrocytes density significantly reduced 36.35% and 26.5% in GD in comparison with controls in the P7 and P21, respectively ( $P < 0.05$ ).

**Conclusion:** This study showed that the uncontrol gestational diabetes significantly reduces astrocytes density in CA1 and CA3 subfields of hippocampus in rat offspring.

**Keywords:** Gestational diabetes, Astrocyte, Hippocampus, Streptozotocin, Rat

\* Corresponding Author: Golalipour MJ (PhD), E-mail: [mjgolalipour@yahoo.com](mailto:mjgolalipour@yahoo.com)

Received 16 August 2011    Revised 30 November 2011    Accepted 4 December 2011