Archive of SID

تحقیقی

اثر دیابت بارداری بر تعداد نورون‌های حرکتی شاخ قدامی نخاع در زاده‌های ٤، ٨ و ١٢ هفته‌ای موش صحرایی

دکتر محمدجعفر گلعلی‌پور*[1]، ثریا غفاری[2]، علیرضا محرری[3]

۱- استاد، مرکز تحقیقات ناهنجاری‌های مادرزادی گرگان، گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان.

۲- کارشناس زیست شناسی ، گروه علوم تشریحی ، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان. ۳- مربی، گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان.

چکیده

زمینه و هدف : *مطالعات قبلی نشان‌دهنده عوارض دیابت بارداری بر تراکم نورون‌های هیپوکامپ موش صحرایی بوده است. این مطالعه به منظور تعیین اثر دیابت بارداری بر تعداد نورون‌های شاخ قدامی نخاع در زاده‌های ٤ و ٨ و ١٢هفته‌ای موش صحرایی انجام شد.*

روش بررسی : *در این مطالعه تجربی ۳۰ سر موش صحرایی باردار نژاد ویستار به صورت تصادفی در دو گروه دیابت بارداری و کنترل قرار گرفتند. دیابت بارداری با تزریق داخل صفاقی استرپتوزتوسین (٤٠ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) در اولین روز بارداری ایجاد شد. موش‌های گروه کنترل در اولین روز بارداری نرمال سالین دریافت کردند. از نوزادان متولد شده از مادران با دیابت بارداری و کنترل، در پایان هفته چهارم، هشتم و دوازدهم زندگی به‌طور تصادفی ٦ نوزاد انتخاب گردید. پس از بیهوشی و نخاعی کردن نوزادان از ناحیه سرویکال نخاع مقاطع بافتی به صورت سریال و با ضخامت ٦ میکرومتر تهیه و سلول‌ها با استفاده از کرزیل ویولت رنگ‌آمیزی شدند. پس از تصویربرداری از مقاطع با میکروسکوپ تحقیقاتی BX51 و دوربین DP12 ، به‌وسیله نرم‌افزار Olysia تعداد سلول‌های شاخ قدامی بخش خاکستری شمارش و ثبت شد.*

یافته‌ها : *تعداد نورون‌های حرکتی در ۱۰۰۰۰۰ میکرومتر مربع از شاخ قدامی نخاع ناحیه سرویکال در زاده‌های چهار هفته‌ای گروه دیابتی (۰/۵±۱۷/۱٦) نسبت به گروه کنترل (۲/۱±۲۲/۸۵) ۲۵ درصد کاهش نشان داد (P<۰/۰۵). این میزان در زاده‌های هشت هفته‌ای گروه دیابتی (۱/۷±۱۷/۷۰) نسبت به گروه کنترل (۲±۲٦/٤۰) ۳۳ درصد کاهش یافت (P<۰/۰۵) و در زاده‌های دوازده هفته‌ای گروه دیابتی (۰/۷±۱۷/۸۳) نسبت به گروه کنترل (۱/٤±۲۳/۵۸) ۲٤/٤ درصد کاهش نشان داد (P<۰/۰۵).*

نتیجه‌گیری : *دیابت بارداری باعث کاهش معنی‌دار نورون‌های حرکتی شاخ قدامی نخاع در زاده‌های چهار، هشت و دوازده هفته‌ای موش صحرایی گردید.*

کلید واژه‌ها : *دیابت بارداری ، نخاع ، نورون حرکتی ، موش صحرایی*

* نویسنده مسؤول : دکتر محمدجعفر گلعلی‌پور، پست الکترونیکی mjgolalipour@yahoo.com

نشانی : گرگان، مرکز آموزشی درمانی شهید صیاد شیرازی، مرکز تحقیقات ناهنجاری‌های مادرزادی گرگان، تلفن و نمابر ۰۱۷۱-۲۲٦۱۵٦۵

وصول مقاله : ۹۲/۸/۱۱ ، اصلاح نهایی : ۹۲/۱۰/۲۱ ، پذیرش مقاله : ۹۲/۱۰/۲٤

مقدمه

دیابت قندی حدود بیش از ۱۰۰ میلیون نفر را در جهان مبتلا نموده و حدس زده می‌شود که طی ۱۰ سال آینده این رقم به ۵۰۰ میلیون نفر برسد (۱). دیابت قندی صرف نظر از نوع آن با تغییرات مغزی در انسان و حیوانات ارتباط دارد (۲). این تغییرات شامل بیان غیرطبیعی نوروپپتیدهای هیپوتالامیک، هیپوکمپال آستروگلیکوزیس کاهش پلاستیسیتی سیناپس‌های هیپوکامپال، نورتوکسیتی و تغییرات در گلوتات نوروترانسمیشن است (۳). شواهدی از اختلالات مغزی در هیپوتالاموس، قشر مخ و مخچه در مدل‌های آزمایشگاهی القاء دیابت با استرپتوزوتوسین (STZ) گزارش شده است (۷-۴).

این بیماری با عوارض متعددی نظیر اختلالات جنینی، رتینوپاتی، نفروپاتی، اختلالات سیستم عصبی مرکزی از جمله اختلالات شناختی در فرآیندهای مرتبط با یادگیری و حافظه همراه است (۱و۱۱-۳).

دیابت قندی شامل سه گروه وابسته به انسولین، غیروابسته به انسولین و دیابت بارداری است. دیابت بارداری تقریباً ۷-۴ درصد زنان بارداری که قبلاً مبتلا به دیابت نبودند و طی بارداری سطح گلوکز آنان افزایش می‌یابد را شامل می‌شود (۱۲). این میزان در

www.SID.ir

Archive of SID

مطالعه اصنافی و طاهری در بابل ۴/۷ درصد بود (۱۳). مطالعات قبلی بر روی مادران دیابتیک و دیابت نوع یک نشان دهنده اثر منفی آن بر تعداد نورون‌های ماده خاکستری نخاع است (۱۴و۱۵).

دیابت بارداری احتمالاً توسط یک مکانیسم نقش‌پذیر در بین فرزندان توسعه می‌یابد و باعث افزایش خطر در نسل‌های بعدی می‌گردد. همچنین روی ژرم‌سل‌ها اثر تغییرپذیری دارد (۲و۱۶). دیابت بارداری از این نظر که زمینه را برای توسعه دیابت در فرزندان مهیا می‌کند؛ حائز اهمیت است (۱۷). مطالعه بر روی حیوانات آزمایشگاهی نشان داده که افزایش سطح گلوکز مادر از طریق جفت به سرتاسر جنین منتقل می‌شود. بنابراین هیپرگلیسمی مادر سبب هیپرگلیسمی جنینی خواهد شد (۱۸). افزایش قندخون و واکنش سریع انسولین مادری باعث نقص سیستم عصبی و به‌علاوه سیستم عصبی مرکزی می‌شود (۱۹). در مطالعه‌ای اثرات پایدار و درازمدت دیابت بارداری روی هموستازی گلوکز فرزندان اثرگذار بود و سبب افزایش آسیب‌های ادراکی در نوزادان مادران با هیپرگلیسمی حاملگی گردید (۱۷). مطالعات قبلی ما نشان داده است که دیابت حاملگی سبب کاهش نورون و آستروسیت‌های هیپوکامپ نوزادان موش صحرایی می‌گردد (۲۰و۲۱).

با توجه به وجود مطالعات اندک در زمینه اثرات دیابت بارداری کنترل نشده بر نورون‌های دستگاه عصبی، مطالعه حاضر به منظور تعیین اثر دیابت بارداری بر تعداد نورون‌های شاخ قدامی نخاع در زاده‌های ۴، ۸ و ۱۲هفته‌ای موش‌های صحرایی انجام گردید.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی ۳۰ سر موش صحرایی ماده و ۱۵ سر موش صحرایی نر بالغ ۱۲-۱۰ هفته‌ای نژاد Wistar از انستیتو پاستور ایران خریداری شدند. این مطالعه در دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی گلستان طی سال ۱۳۹۱ انجام گردید. حیوانات دسترسی آزادانه به آب و غذا داشتند و در شرایط استاندارد با دمای ۲۴-۲۲درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۵۵-۵۰ درصد و دوره تاریکی - روشنایی ۱۲ ساعته نگهداری شدند. کلیه اصول اخلاقی کار بر روی حیوانات آزمایشگاهی مطابق با مصوبه کمیته اخلاق پزشکی دانشگاه علوم پزشکی گلستان رعایت گردید.

پس از یک هفته موش‌های ماده برای جفت‌گیری در مجاورت موش‌های نر گذاشته شدند. رویت واژینال اسمیر، به‌عنوان روز صفر بارداری در نظر گرفته شد. موش‌های باردار به صورت تصادفی به دو گروه شاهد و دیابتی تقسیم شدند. برای القای دیابت در روز یک بارداری به موش‌های گروه آزمایش، استرپتوزتوسین (Sigma Chemical, St. Luois, Mo. USA) با دوز ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به صورت داخل صفاقی تزریق گردید (۲۲). موش‌های گروه شاهد در روز یک بارداری نرمال سالین دریافت کردند.

سطوح گلوکز خون مادران با استفاده از گلوکومتر در روز اول مطالعه و ۷۲ ساعت بعد از تزریق استرپتوزتوسین و یک هفته بعد از تولد نوزادان تعیین گردید (۵). موش‌های باردار با سطوح گلوکز خون بین ۲۵۰-۱۲۵ میلی‌گرم بر دسی لیتر وارد مطالعه شدند.

از نوزادان گروه‌های آزمایش و شاهد در پایان هفته‌های چهارم، هشتم و دوازدهم (۲۳) به‌طور تصادفی ۶ نمونه انتخاب گردید. پس از بیهوشی عمومی با کلروفرم و تشریح جمجمه، نخاع آنها خارج شد. به منظور فیکساسیون، نمونه‌ها در مقدار مناسبی از محلول فرمالدهید بافر (۱۰درصد به مدت ۲ هفته) قرار داده شدند و پس از انجام پروسه بافتی در بلوک‌های پارافینی قالب‌گیری شدند. از نمونه‌های هر یک از گروه‌های مورد مطالعه، برش‌هایی با ضخامت ۶ میکرون با میکروتوم (Microm HM 325Germeny) به‌صورت سریال تهیه گردید (۲۴). مقاطع سریال مربوط به ناحیه سرویکال نخاع، در سری‌های مجزا به ترتیب شماره‌گذاری و ۱۵-۱۰ مقطع با فاصله ۳۰ میکرون انتخاب و برای بررسی‌های مورفومتریک آماده شدند. مقاطع بافتی نخاع با استفاده از روش‌های رنگ‌آمیزی اختصاصی نورون‌ها Cresyl violet رنگ‌آمیزی شدند (۲۵).

برای بررسی مورفومتریک، از مقاطع رنگ‌آمیزی شده با کرزیل ویوله استفاده گردید. بدین منظور از هر نمونه ۱۵-۱۰ مقطع مربوط به نواحی نخاع با میکروسکوپ نوری دیجیتال مشاهده شد. تصاویر هر ناحیه با بزرگ‌نمایی مناسب و به‌طور مجزا توسط دوربین DP12 (Olympus Optical, Co. LTD, Tokyo, Japan) به رایانه منتقل گردید و با استفاده از نرم‌افزار Olysia Autobioreport محصول شرکت Olympus (Olympus Optical, Co. LTD, Tokyo, Japan) از آنها عکس‌برداری شد. به منظور بررسی تعداد نورون‌های نخاع، با استفاده از امکانات نرم‌افزار یاد شده، شبکه‌هایی (Grid) مناسب بر روی مختصات نخاع موجود در هر تصویر، منطبق و سلول‌های مورد نظر شمارش شدند. در هر مقطع از نخاع تعداد نورون‌ها در شاخ قدامی راست (anterior horn) بخش خاکستری شمارش و ثبت گردید. داده‌های مربوط به هر مقطع به ترتیب و به تفکیک گروه مورد مطالعه جمع‌آوری گردید.

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS-16 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. نتایج به صورت میانگین±خطای استاندارد ارایه شدند.

یافته‌ها

تغییرات سطح گلوکز خون مادران با دیابت بارداری و مادران با بارداری طبیعی قبل، حین بارداری (بعد از تزریق استرپتوزتوسین) و هفته‌های چهارم پس از تولد نوزادان در جدول یک آمده است.

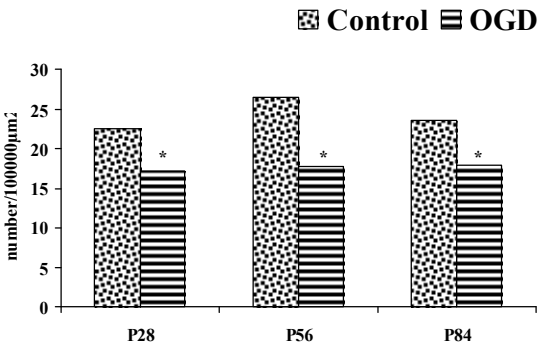
تعداد نورون‌های حرکتی در ۱۰۰۰۰۰ میکرومتر مربع از شاخ

www.SID.ir

جدول ۱ : میانگین و خطای استاندارد سطح گلوکز خون (mg/dl) موش‌های صحرایی با و بدون دیابت بارداری در روز اول بارداری، هفته اول بارداری و هفته چهارم بعد از زایمان

گروه	روز اول بارداری	هفته اول بارداری	هفته چهارم بعد از زایمان
کنترل	۹۷/۷۹±۲/۳۸	۹۹/۲۱±۱/۴۲	۹۷/۰±۲/۰
دیابت بارداری	۹۷/۱۵±۲/۲۲	۱۴۶/۲۸±۲/۹	۱۵۵/۵±۳/۵
p-value	۰/۸۴۷	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱

قدامی نخاع ناحیه سرویکال در زاده‌های چهار هفته‌ای گروه دیابتی (۱۷/۱۶±۰/۵) نسبت به گروه کنترل (۲۲/۸۵±۲/۱) ۲۵ درصد کاهش نشان داد (P<۰/۰۲). این میزان در زاده‌های هشت هفته‌ای گروه دیابتی (۱۷/۷۰±۱/۷) نسبت به گروه کنترل (۲۶/۴۰±۲) ۳۳ درصد کاهش یافت (P<۰/۰۰۶) و در زاده‌های دوازده هفته‌ای گروه دیابتی (۱۷/۸۳±۰/۷) نسبت به گروه کنترل (۲۳/۵۸±۱/۴) ۲۴/۴ درصد کاهش نشان داد (P<۰/۰۰۳) (نمودار یک).



نمودار ۱ : مقایسه تعداد نورون‌های حرکتی در شاخ قدامی نخاع در زاده‌های موش‌های صحرایی با و بدون دیابت بارداری در هفته‌های چهارم، هشتم و دوازدهم
(OGD: Offspring of Gestational Diabetes) * P<۰/۰۵

بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که دیابت بارداری باعث کاهش معنی‌دار نورون‌های حرکتی شاخ قدامی نخاع در زاده‌های ۴ ، ۸ و ۱۲ هفته‌ای موش‌های صحرایی می‌گردد.

نتایج این مطالعه در خصوص کاهش نورون‌ها با نتایج مطالعات دیگر مشابهت داشت (۴و۱۴و۲۶). همچنین در مطالعه‌ای دیابت مادری در موش‌های سوری سبب کاهش تکثیر و افزایش آپوپتوز سلول‌های نوروایپیتلیال در نخاع شوکی جنین گردید (۱۵). مطالعات Khaksar و همکاران نشان‌دهنده کاهش معنی‌دار نورون‌های قشر مغز و نخاع نوزادان موش‌های دیابتیک نوع یک است (۱۴و۲۶). همچنین نتایج مطالعه Plagemann و همکاران نشان داد که دیابت بارداری در موش‌های صحرایی منجر به تغییرات ویژه در سیستم‌های کاتکولامینرژیک هیپوتالاموس نوزادان می‌شود (۲۷). مطالعه احمدپور و حقیر نشان داد که در دیابت القا شده توسط STZ شکل‌گیری نورون‌های تیره با افزایش روند آپوپتوز در لایه گرانولار شکنج دندانه‌ای باعث کاهش نورون‌ها می‌گردد (۲۸). Lim و همکاران کاهش معنی‌داری را در تعداد سلول‌های تکثیر شده شکنج دندانه‌ای موش‌های صحرایی دیابتی شده با STZ گزارش نمودند (۲۹). همچنین در بررسی ارتباط بین دیابت و تغییرات حافظه و اختلال در آموختن، کاهش تکثیر نورون‌ها در ناحیه شکنج دندانه‌ای حیوانات دیابتی شده گزارش شده است (۵و۳۰). در مطالعه همتیان و همکاران نیز دیابت مادر اگرچه باعث کاهش معنی‌دار سلول‌های حرکتی در شاخ قدامی ناحیه کمری خاجی در زاده‌های ۷ روزه گردید؛ اما این تفاوت در زاده‌های یک ماهه معنی‌دار نبود (۳۱).

دیابت قندی صرف نظر از نوع آن با هایپرگلیسمی مرتبط است. چندین مکانیسم احتمالی درباره تغییرات مغزی شامل کاهش نورونی هیپوکامپ ناشی از هایپرگلیسمی قابل توصیف هستند. هایپرگلیسمی القا شده دارای چندین پاسخ سلولی است که می‌تواند به صورت پاسخ‌های فعال و غیرفعال نورونی درنظر گرفته شوند (۳۲). دیابت قندی یک استرسور کورونیک اندوژنیک است که وابسته به افزایش استرس اکسیداتیو در سیستم عصبی مرکزی، به‌خصوص در هیپوکامپ است (۳۳و۳۴).

در مطالعه‌ای سطح ترکیبات پرواکسیدانت شامل RAGE و گالکتین۳ در موش‌های صحرایی دیابتی افزایش و در نتیجه سطح ترکیبات آنتی‌اکسیدانی کاهش یافت (۳۵).

عوارض دیابت قندی بر دستگاه عصبی مرکزی به‌طور غیرمستقیم از طریق افزایش رادیکال‌های آزاد می‌تواند ایجاد شود (۳۸-۳۶). این رادیکال‌های آزاد باعث افزایش مرگ نورون‌ها به‌وسیله پروتئین‌های اکسیدیزینگ، تخریب DNA و القای لیپوپراکسیدیشن غشای سلولی می‌شود (۳۹). همچنین پاسخ‌های سلولی غیرفعال، شکل‌گیری پیش‌برنده گلیکولیز و تولید سلول‌های تخریب شده اندوتلیال را می‌افزاید. بنابراین به تخریب عروقی طی هایپرگلیسمی کمک می‌کند. فعالیت دیاسیل گلیسرول پروتئین کیناز C اثرات منفی بر گردش خون مغزی و نفوذپذیری عروقی دارد (۳۲).

در دیابت قندی سطح گلوکز افزایش یافته و انسولین یا عامل رشد شبه انسولین کاهش می‌یابد و سایتوکنین‌ها از جمله TNFa افزایش یافته و مرگ سلولی و آپوپتوز در شماری از بافت‌ها رخ می‌دهد (۴۲-۴۰). علاوه بر این عوامل رشد شبه‌انسولین اثرات

www.SID.ir

Archive of SID

پشتیبانی نورون‌ها و ضدآپوپتوز دارند و انجام تنظیمات بیان عوامل رشد شبه انسولین و رسپتور آن ممکن است سبب کاهش نورون‌ها در دیابتی‌ها شود (۴۳و۴۴). فرایند دیگر در پاسخ فعال نورون‌ها در هایپرگلیسمی غلظت کم mRNA و پروتئین NOS (neural nitric oxide synthase) در نورون‌های نخاعی است (۴۵). همچنین هایپرگلیسمی در موش‌های مادر سبب کاهش آراشیدونیک اسید (از اجزای غشاء سینوپتوزومال) نوزادان شده که برای تکامل نورون‌ها در نوزادان لازم است (۲۳و۴۶).

مطالعات آتی برای تعیین مکانیسم دقیق دیابت بارداری بر تغییرات سلولی پیشنهاد می‌گردد.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که دیابت بارداری باعث کاهش معنی‌دار نورون‌های حرکتی شاخ قدامی نخاع در زاده‌های چهار، هشت و دوازده هفته‌ای موش‌های صحرایی می‌گردد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی مصوب (شماره ۱۹۹۶) معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی گلستان و مرکز تحقیقات ناهنجاری‌های مادرزادی بود و با حمایت آن معاونت انجام گردید.

References

1. Huupponen R. Adverse cardiovascular effects of sulphonylurea drugs. Clinical significance. Med Toxicol. 1987 May-Jun; 2(3):190-209.

2. Rees DA, Alcolado JC. Animal models of diabetes mellitus. Diabet Med. 2005 Apr;22(4):359-70.

3. 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.

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. Jackson-Guilford J, Leander JD, Nisenbaum LK. The effect of streptozotocin-induced diabetes on cell proliferation in the rat dentate gyrus. Neurosci Lett. 2000 Oct;293(2):91-4.

6. Saravia FE, Revsin Y, Gonzalez Deniselle MC, Gonzalez SL, Roig P, Lima A, et al. Increased astrocyte reactivity in the hippocampus of murine models of type 1 diabetes: the nonobese diabetic (NOD) and streptozotocin-treated mice. Brain Res. 2002 Dec; 957(2):345-53.

7. Reagan LP, Gorovits N, Hoskin EK, Alves SE, Katz EB, Grillo CA, et al. Localization and regulation of GLUTx1 glucose transporter in the hippocampus of streptozotocin diabetic rats. Proc Natl Acad Sci U S A. 2001 Feb; 98(5): 2820-5.

8. Tehranipour M, Khakzad MR. Effect of maternal diabetes on hippocampus neuronal density in neonatal rats. Journal of Biological Sciences. 2008; 8(6):1027-32.

9. Kramer L, Fasching P, Madl C, Schneider B, Damjancic P, Waldhäusl W, et al. Previous episodes of hypoglycemic coma are not associated with permanent cognitive brain dysfunction in IDDM patients on intensive insulin treatment. Diabetes. 1998 Dec; 47(12):1909-14.

10. Middleton E Jr, Kandaswami C, Theoharides TC. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. Pharmacol Rev. 2000 Dec; 52(4):673-751.

11. Forsberg H, Eriksson UJ, Welsh N. Apoptosis in embryos of diabetic rats. Pharmacol Toxicol. 1998 Sep;83(3):104-11.

12. Persaud ODD. Maternal diabetes and the consequences for her offspring. Journal On Developmental Disabilities. 2007 Nov; 13(1):101-134.

13. Asnafi N, Taheri B. [Incidence of gestational diabetes mellitus in Babol (North of Iran) (2002-03)]. J Gorgan Uni Med Sci. 2007; 8(4): 13-17. [Article in Persian]

14. Khaksar Z, Jelodar GA, Hematian H. Morphological changes in the brachial enlargement of the spinal cord in offspring of diabetic rat. Iranian Journal of Veterinary Research (IVJR). 2010; 11(2): 119-24.

15. Gao Q, Gao YM. Hyperglycemic condition disturbs the proliferation and cell death of neural progenitors in mouse embryonic spinal cord. Int J Dev Neurosci. 2007 Oct;25(6):349-57.

16. Reusens B, Remacle C. Intergenerational effect of an adverse intrauterine environment on perturbation of glucose metabolism. Twin Res. 2001 Oct;4(5):406-11.

17. Van Assche FA, Aerts L, Holemans K. Metabolic alterations in adulthood after intrauterine development in mothers with mild diabetes. Diabetes. 1991 Dec;40 (Suppl 2):106-8.

18. Lampl M, 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 May-Jun;16(3):237-63.

19. ter Braak EW, Evers IM, Willem Erkelens D, Visser GH. Maternal hypoglycemia during pregnancy in type 1 diabetes: maternal and fetal consequences. Diabetes Metab Res Rev. 2002 Mar-Apr; 18(2):96-105.

20. Golalipour MJ, Kafshgiri SK, Ghafari S. Gestational diabetes induced neuronal loss in CA1 and CA3 subfields of rat hippocampus in early postnatal life. Folia Morphol (Warsz). 2012 May; 71(2):71-7.

21. Kaboli Kafshgiri S, Ghafari S, Hojjati V, Asadi E, Golalipour MJ. [Effect of gestational diabetes on astrocyte density in CA1 and CA3 subfields of hippocampus in Rat offspring]. J Gorgan Uni Med Sci. 2012;14(1):19-25. [Article in Persian]

22. Giavini E, Broccia ML, Prati M, Roversi GD, Vismara C. Effects of streptozotocin-induced diabetes on fetal development of the rat. Teratology. 1986 Aug;34(1):81-8.

23. Zhao J, Del Bigio MR, Weiler HA. Maternal arachidonic acid supplementation improves neurodevelopment of offspring from healthy and diabetic rats. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids. 2009 Nov-Dec;81(5-6):349-56.

24. Hossain M, Chetana M, Devi PU. Late effect of prenatal irradiation on the hippocampal histology and brain weight in adult mice. Int J Dev Neurosci. 2005 Jun;23(4):307-13.

25. Lowe J, Cox G. Neuropathological techniques. In: Bancroft JD, Stevens A. Theory and practice of histological technique. 5th. London: Churchill Livingstone. 2004; pp:374-89.

26. Khaksar Z, Jelodar G, Hematian H. Cerebrum malformation in offspring of diabetic mothers. Comp Clin Pathol. 2011. DOI:10.1007/s00580-010-1160-9

www.SID.ir

27. Plagemann A, Harder T, Lindner R, Melchior K, Rake A, Rittel F, et al. Alterations of hypothalamic catecholamines in the newborn offspring of gestational diabetic mother rats. Brain Res Dev Brain Res. 1998 Aug;109(2):201-9.

28. Ahmadpour SH, Haghir H. Diabetes mellitus type 1 induces dark neuron formation in the dentate gyrus: a study by Gallyas' method and transmission electron microscopy. Rom J Morphol Embryol. 2011;52(2):575-9.

29. Lim BV, Shin MC, Jang MH, Lee TH, Kim YP, Kim HB, et al. Ginseng radix increases cell proliferation in dentate gyrus of rats with streptozotocin-induced diabetes. Biol Pharm Bull. 2002 Dec; 25(12):1550-4.

30. Kamal A, Biessels GJ, Urban IJ, Gispen WH. Hippocampal synaptic plasticity in streptozotocin-diabetic rats: impairment of long-term potentiation and facilitation of long-term depression. Neuroscience. 1999 Mar;90(3):737-45.

31. Hematian H, Khaksar Z, Jelodar G. [Evaluation of maternal diabetes effects on Lumbosacral portion of spinal cord in neonate rats by morphometry]. J Shahrekord Univ Med Sci. 2010;12(1): 53-9. [Article in Persian]

32. Klein JP, Waxman SG. The brain in diabetes: molecular changes in neurons and their implications for end-organ damage. Lancet Neurol. 2003 Sep;2(9):548-54.

33. Grillo CA, Piroli GG, Wood GE, Reznikov LR, McEwen BS, Reagan LP. Immunocytochemical analysis of synaptic proteins provides new insights into diabetes-mediated plasticity in the rat hippocampus. Neuroscience. 2005;136(2):477-86.

34. Ahmadpour Sh, Sadeghi Y, Haghir H. Streptozotocin-induced hyperglycemia produces dark neuron in CA3 region of hippocampus in rats. Asian Journal of Medical Sciences. 2010;2(1):11-15.

35. King RH. The role of glycation in the pathogenesis of diabetic polyneuropathy. Mol Pathol. 2001;54(6): 400–8.

36. Okouchi M, Okayama N, Aw TY. Differential susceptibility of naive and differentiated PC-12 cells to methylglyoxal-induced apoptosis: influence of cellular redox. Curr Neurovasc Res. 2005 Jan; 2(1):13-22.

37. Ziegler D, Sohr CG, Nourooz-Zadeh J. Oxidative stress and antioxidant defense in relation to the severity of diabetic polyneuropathy and cardiovascular autonomic neuropathy. Diabetes Care. 2004 Sep;27(9):2178-83.

38. Ahmadpour Sh, Sadeghi Y, Hami J, Haghir H. [Effect of insulin and ascorbic acid therapy on plasma Cu level in stereptozotocin-induced diabetic rats]. J Birjand Univ Med Sci. 2008;15(3):26-32. [Article in Persian]

39. Hawkins CL, Davies MJ. Generation and propagation of radical reactions on proteins. Biochim Biophys Acta. 2001 Apr; 1504(2-3):196-219.

40. 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.

41. Allen DA, Yaqoob MM, Harwood SM. Mechanisms of high glucose-induced apoptosis and its relationship to diabetic complications. J Nutr Biochem. 2005;16(12):705-13.

42. 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.

43. Russell JW, Feldman EL. Insulin-like growth factor-I prevents apoptosis in sympathetic neurons exposed to high glucose. Horm Metab Res. 1999 Feb-Mar;31(2-3):90-6.

44. Li ZG, Zhang W, Grunberger G, Sima AA. Hippocampal neuronal apoptosis in type 1 diabetes. Brain Res. 2002 Aug; 946(2):221-31.

45. Reagan LP, McEwen BS. Diabetes, but not stress, reduces neuronal nitric oxide synthase expression in rat hippocampus: implications for hippocampal synaptic plasticity. Neuroreport. 2002 Oct;13(14):1801-4.

46. Reeves PG. Components of the AIN-93 diets as improvements in the AIN-76A diet. J Nutr. 1997 May;127(5 Suppl):838S-841S.

www.SID.ir

Archive of SID

Original Paper

Gestational diabetes reduces motor neurons of spinal cord in 4, 8 and 12 weeks rat offspring

Golalipour MJ (Ph.D)*[1], Ghafari S (B.Sc)[2], Moharreri AR (M.Sc)[3]

[1]Professor, Gorgan Congenital Malformations Research Center, Department of Anatomical Sciences, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran. [2]BSc in Biology, Department of Anatomical Sciences, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran. [3]Academic Instructor, Department of Anatomical Sciences, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran.

Abstract

Background and Objective: Previous studies have shown the adverse effects of gestational diabetes on hippocampal neuron density in animal model. This study was conducted to determine the effect of gestational diabetes on number of motor neuron in the ventral horns of spinal cord in 4, 8 and 12 weeks rat offspring.

Materials and Methods: In this experimental study, 30 Wistar dams were randomly allocated in control and diabetic groups. Dams in diabetic group were received 40 mg/kg/bw of streptozotocin (STZ) at the first day of gestational day (GD) and control group were received an equivalent volume normal saline, intraperitoneally. Six offspring of cases and controls were randomly selected at the 4, 8, 12 postnatal weeks. Postnatal rats were scarified and sections (6 micrometer) were taken from the cervical part of spinal cord, stained by cresyl violet. A photograph of sections was produced using an Olympus BX51 microscope and a DP12 digital camera. The number of motor neurons in the right ventral horns of spinal cord was evaluated in 100000 μm^2 area of spinal cord using OLYSIA Autobioreport software.

Results: The number of motor neurons in 4 weeks rat offspring were reduced (24.90%) in gestational diabetics compared to controls (17.16±0.5 vs22.85±2.1, $P<0.05$). The motor neurons in 8 weeks rat offspring were reduced (32.95%) in gestational diabetics in comparison with controls (17.70±1.7 vs26.40±2.0, $P<0.05$). Also, the number of motor neurons in 12 weeks rat offspring were reduced (24.38%) in gestational diabetics in comparison with controls (17.83±0.7 vs23.58±1.4, $P<0.05$).

Conclusion: The uncontrolled gestational diabetes reduces the number of motor neurons in the ventral horn of spinal cord in rat offspring.

Keywords: Gestational diabetic, Motor neurons, Spinal cord, Rat

---

*** Corresponding Author: Golalipour MJ (Ph.D), E-mail: mjgolalipour@yahoo.com**

Received 2 November 2013 **Revised** 11 January 2014 **Accepted** 14 January 2014

This paper should be cited as: Golalipour MJ, Ghafari S, Moharreri AR. [Gestational diabetes reduces motor neurons of spinal cord in 4, 8 and 12 weeks rat offspring]. J Gorgan Uni Med Sci. 2014; 16(1): 29-34. [Article in Persian]

www.SID.ir