

اثر عصاره دانه گیاه شنبلیله بر تغییرات ناحیه بازویی نخاع شوکی جنین ۱۸ روزه موش‌های صحرایی دیابتی

ذبیح اله خاکسار، ابراهیم توکل کوخدان*

دانشگاه شیراز، دانشکده دامپزشکی، گروه علوم تشریح

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۱۱/۱۶

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۸/۱۷

چکیده

زمینه و هدف: نخاع شوکی از جمله مهم‌ترین بخش‌های سیستم اعصاب مرکزی است که در معرض اثرات ثانویه دیابت قرار دارد. گیاه شنبلیله دارای اثرات کاهنده قندخون می‌باشد. هدف این مطالعه بررسی اثر عصاره دانه گیاه شنبلیله بر تغییرات ناحیه بازویی نخاع شوکی جنین ۸ روزه موش‌های صحرایی دیابتی بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی شانزده قطعه موش صحرایی ماده سالم به طور تصادفی به چهار گروه مساوی تقسیم شدند. گروه‌ها شامل: کنترل سالم، کنترل دیابتی، کنترل دانه شنبلیله و درمان دانه شنبلیله بودند. از داروی استرپتوزوتوسین جهت دیابتی کردن موش‌ها استفاده شد. در روز هجدهم دوره بارداری روزانه دو قطعه از موش‌های ماده در هر چهار گروه بی‌هوش شده و جنین‌های آنها خارج شد و نمونه‌گیری از نخاع به عمل آمد. پس از به کار بردن تکنیک‌های بافت‌شناسی، پارامترهای بافتی مورد بررسی قرار گرفت. داده‌ها با آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: وزن جنین‌های گروه کنترل دیابتی در مقایسه با سایر گروه‌ها به صورت معنی‌داری بیشتر بود ($P < 0.05$). کاهش معنی‌داری در قطر عرضی و عمودی نخاع و نیز کاهش در تعداد نورون‌های ماده خاکستری نخاع در گروه کنترل دیابتی نسبت به گروه کنترل سالم وجود داشت ($P < 0.05$).

نتیجه‌گیری: در اثر هیپرگلیسمی ناشی از دیابت مادری در دوران جنینی اختلال در تشکیل طبیعی نخاع ایجاد می‌شود و اختلال در نخاع موجب بروز ناهنجاری‌های مختلفی از جمله تغییر در شکل نخاع و تعداد نورون‌ها می‌شود. اختلالات به وجود آمده در دوران جنینی، پس از تولد باقی مانده و می‌تواند موجب عدم توانایی نوزاد در انجام برخی از فعالیت‌های بدنی شود.

واژه‌های کلیدی: شنبلیله، استرپتوزوتوسین، دیابت، نخاع شوکی

مقدمه

کنترل میزان گلوکز خون در بدن بر عهده پانکراس است که با ترشح انسولین این وظیفه را انجام می‌دهد، بنابراین علت افزایش گلوکز خون در بیماری دیابت به دلیل کافی نبودن تولید و ترشح انسولین می‌باشد (۱). در بیش از ۸ درصد کل بارداری‌ها دیابت دوران بارداری دیده شده است (۲). در دیابت حاملگی افزایش انتقال گلوکز و سایر مواد غذایی از طریق جفت به سمت جنین منجر به افزایش تولید انسولین و ذخیره چربی و افزایش برخی پیامدهای نامطلوب بارداری مثل ماکروزمی، دیستوشی شانه و مرگ و میرحین زایمان می‌باشد (۳-۵). مطالعات مختلف خطر سقط آنی و ناهنجاری‌های مادرزادی را با افزایش گلوکز مرتبط می‌دانند (۷-۸). خطر بروز دیابت در فرزندان مادرانی که دیابت غیر وابسته به انسولین دارند بیشتر است (۹). گزارش شده که دیابت مادری باعث افزایش خطر هیپرگلیسمی و عدم تعادل مواد شیمیایی نظیر کلسیم و منیزیم می‌شود (۱۰).

از مهم‌ترین دستگاه‌های متأثر از دیابت، دستگاه عصبی است (۱۱)، به طوری که آسیب به اعصاب دستگاه گوارش و ناحیه تولید مثلی و همچنین درگیری اعصاب حسی گزارش شده است (۱۲). تصلب شرایین در مغز یکی از عوارض دیابت می‌باشد، به طوری که در اثر بیماری دیابت انسداد عروق تغذیه کننده اعصاب، مرگ دسته‌های عصبی و تخریب میلین را می‌توان مشاهده نمود (۱۱). اگرچه دیابت حاملگی

در انسان در هفته ۲۴ بارداری رخ می‌دهد ولیکن مواردی از تشکیل غیر طبیعی سیستم عصبی مرکزی، نخاع و ستون مهره‌ها در آنها دیده شده است (۱۳). دیابت مادری با ایجاد هیپرگلیسمی و هیپرانسولینمیسم حاد در مغز سبب توقف تولید تروپیتیدین در مغز جنین می‌شود (۱۴). دیابت با اثر روی مغز سبب تغییرات نوروفیزیولوژیک و اختلال در ساختار و عمل مغز نظیر کاهش دانسیته ماده خاکستری و ماده سفید می‌شود (۱۵). بررسی اثر دیابت مادری بر تغییرات هیستومورفومتری مخچه نوزادان موش صحرایی نشان داد که هیپرگلیسمی که در اثر دیابت مادری در جنین رخ می‌دهد، سبب کاهش تعداد سلول‌ها و ضخامت ماده خاکستری و سفید مخچه می‌شود (۱۶). همچنین مشخص شده است که دیابت مادری می‌تواند باعث بروز تغییراتی در ناحیه بازویی نخاع شوکی در حیوانات آزمایشگاهی شود، به طوری که ابعاد نخاع و تعداد نورون‌ها را در این ناحیه تحت تأثیر قرار می‌دهد. این امر سبب عوارض و صدمات غیرقابل جبرانی بر سیستم عصبی نوزاد می‌شود (۱۷). بنابراین در حاملگی‌های متأثر از دیابت که خطر پیامدهای ناگوار نزدیک زایمان و توسعه بیماری دیابت نوع ۲ در آنها بالاست، مداخلات درمانی ضروری است (۱۸). در حال حاضر، درمان اصلی و مؤثر دیابت قندی استفاده از انسولین و داروهای شیمیایی کاهنده قندخون است، اما این ترکیبات دارای عوارض جانبی متعددی هستند. لذا شناسایی ترکیباتی که بتوانند با حداقل عوارض جانبی، (به خصوص در دوران

بارداری) قندخون را کاهش داده و روی جنین اثر سوء نداشته باشد، ضروری به نظر می‌رسد.

مصرف گیاهان دارویی در طب سنتی جایگاه خاصی داشته و از سال‌ها قبل برای درمان بسیاری از بیماری‌ها، کاربرد داشته است. تاکنون تأثیر مثبت بیش از ۱۲۰۰ گیاه دارویی در کاهش میزان قندخون و یا کاهش عوارض ناشی از دیابت شناخته شده است (۱۹).

در این تحقیق از میان گیاهان دارویی مختلف با خواص ضد دیابت دانه گیاه شنبلیله^(۱) انتخاب شد. دانه گیاه شنبلیله گیاهی از تیره پروانه‌داران^(۲) است، این گیاه بومی ایران بوده و در بیشتر نواحی ایران از جمله: آذربایجان، اصفهان، فارس، خراسان، سمنان و دامغان می‌روید و به عنوان سبزی خوراکی کاشته شده و مصرف می‌شود. تاکنون تحقیقات زیادی راجع به اثرات ضد دیابتی این گیاه انجام شده است که از جمله می‌توان به موارد زیر اشاره کرد. حنان و همکاران در سال ۲۰۰۷ نشان دادند فیبرهای شکسته شده دانه شنبلیله در هموستاز گلوکز در مدل حیوانی دیابت نوع ۱ با به تأخیر انداختن هضم و جذب کربوهیدرات‌ها و بالابردن عملکرد انسولین تأثیر معنی‌داری دارد (۲۰).

شالینی تاکران و همکاران در سال ۲۰۰۴ گزارش کردند خوراندن پودر دانه شنبلیله به مدت ۳ هفته نقش محافظتی در مقابل اختلالات هیستوپاتولوژیکی در بافت‌های موش‌های صحرایی که در معرض آلوکسان قرار گرفته‌اند، دارد (۲۱). وان لی ژو و همکاران در سال ۲۰۰۷ نشان دادند که خوراندن عصاره شنبلیله در ۲ دوز و متفورمین در موش‌های صحرایی دیابتی

باعث افزایش معنی‌داری در وزن و هم‌چنین کاهش معنی‌داری در میزان گلوکز، تری‌گلیسرید و کلسترول خون شده است (۲۲). تایابا زیا و همکاران در سال ۲۰۰۱ با ارزیابی تأثیر کاهش قندخون در تجویز دهانی شنبلیله در موش‌های نرمال نشان دادند عصاره آبی و الکلی این گیاه به طور معنی‌داری در کاهش میزان قند خون اثر دارد (۲۳).

با توجه به مطالب فوق، هدف این مطالعه بررسی اثر عصاره دانه گیاه شنبلیله بر تغییرات ناحیه بازویی نخاع شوکی جنین ۸ روزه موش‌های صحرایی دیابتی بود.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی ۱۶ قطعه موش صحرایی ماده بالغ از نژاد اسپراگ و داوولی با وزن ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم و ۳ تا ۴ ماهه از مرکز حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی شیراز تهیه شده و در اتاقی با دمای 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد و شرایط نوری ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی و تهویه مناسب قرار داده شدند. تغذیه حیوانات با پلت استاندارد صورت گرفت. حیوانات به طور تصادفی به چهار گروه مساوی تقسیم شدند؛ گروه اول، (کنترل سالم) شامل؛ مادران سالم که معادل حجم عصاره، روزانه سرم فیزیولوژی به صورت خوراکی در طول حاملگی دریافت کردند. گروه دوم، مادران سالمی که عصاره

1-Trigonella foenum-graecum
2-Fabaceae

می‌نماییم و عصاره به دست آمده را در شیشه‌های جداگانه وارد کرده و در دمای یخچال نگهداری نموده و روزانه دوز مورد نیاز را تهیه می‌نمائیم (۲۷-۲۵).

پروتکل این تحقیق بر اساس قوانین بین‌المللی در مورد حیوانات آزمایشگاهی انجام شد و در کمیته اخلاق دانشگاه شیراز به تصویب رسید.

حیوانات هر گروه در مرحله استروس سیکل جنسی همراه با یک موش نر جهت جفت‌گیری و ایجاد لقاح در یک قفس قرار داده شدند. تأیید جفت‌گیری با روش مشاهده پلاک‌های واژینال انجام می‌گرفت (۲۸). پس از آبستنی و در روز ۱۸ دوران جنینی، روزانه دو قطعه از موش‌های مادر (در هر چهار گروه مورد مطالعه) بیهوش و جنین‌های آنها خارج گردید، ابتدا وزن هر کدام از جنین‌ها اندازه‌گیری و ثبت شده و سپس مراحل روند تشکیل و تکامل سیستم عصبی مرکزی در ناحیه بازویی از نخاع شوکی حداقل ۵ جنین مورد بررسی هیستولوژیک و هیستومورفومتریک قرار گرفتند (مادران پس از بیرون آوردن جنین‌ها به روش انسانی کشته می‌شدند). نمونه‌های جدا شده با سرم فیزیولوژی شستشو داده شد و جهت ثبوت به محلول فرمالین بافر ۱۰ درصد منتقل شدند.

از نمونه‌ها پس از طی مراحل آماده‌سازی بافتی به وسیله دستگاه اتوکنیکون (ساخت شرکت Lipshaw ایالات متحده آمریکا)، بلوک‌های پارافینی تهیه و سپس به وسیله دستگاه میکروتوم (ساخت شرکت Baird & Tatlock کشور انگلستان) مقاطعی با ضخامت

دانه گیاه شنبلیله را به میزان ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم روزانه به صورت خوراکی در طول حاملگی دریافت کردند (۲۳). گروه سوم، (کنترل دیابتی)، مادران دیابتی که معادل حجم عصاره، روزانه سرم فیزیولوژی به صورت خوراکی در طول حاملگی دریافت کردند. گروه چهارم، مادران دیابتی که عصاره دانه گیاه شنبلیله را با دوز ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم روزانه به صورت خوراکی در طول حاملگی دریافت کردند (۲۳).

برای دیابتی کردن موش‌ها از داروی استرپتوزوتوسین استفاده شد. این دارو با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و به صورت داخل صفاقی تزریق شد (۱۱).

حیوانات برای ۱۲ ساعت قبل و بعد از تزریق گرسنه نگاه داشته می‌شدند. حیوانات پس از یک هفته آزمایش شده و نمونه‌هایی که گلوکز خونشان در حدود ۲۰۰-۳۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر همراه با پرخوری، پرنوشی و پرادراری بودند به عنوان گروه دیابتی جهت آزمایش‌ها منظور می‌شدند (۲۴).

دانه گیاه شنبلیله از بازار تهیه شده و سپس پودر می‌گردد. مقدار ۱۰۰۰ گرم از پودر به دست آمده را درون ارلن دو لیتری ریخته و به آن ۲ لیتر مخلوط مساوی از آب مقطر و اتانول ۹۶ درصد می‌ریزیم، سپس به مدت ۴۸ ساعت خیسانده می‌شود. پس از آن با کاغذ صافی، صاف شده و با دستگاه عصاره‌گیر الکلی آن را خارج نموده و آن را تغلیظ و خشک

۵ میکرون تهیه شده و روی لام قرار می‌گرفت. لام‌های به دست آمده به وسیله هماتوکسیلین-اُئوزین و ماسون تری کروم سبزی رنگ‌آمیزی و در نهایت به وسیله لامل پوشانده می‌شدند. مقاطع تهیه شده به وسیله میکروسکوپ نوری مطالعه و فاکتورهای؛ قطر عرضی و عمودی نخاع، قطر عرضی و عمودی کانال مرکزی نخاع، تعداد سلول‌های ماده خاکستری در واحد سطح، تعداد سلول‌های ماده سفید در واحد سطح و نسبت ماده خاکستری به سفید در ناحیه بازویی نخاع شوکی اندازه‌گیری شدند.

اندازه‌گیری‌ها به وسیله میکروسکوپ Olympus BX51 (ساخت کشور ژاپن) و نرم افزار Olysia انجام شد. جهت شمارش سلولی حداقل ۶ منطقه در ماده سفید و خاکستری از هر مقطع مورد بررسی قرار گرفته و میانگین آنها به طور جداگانه ثبت می‌شد.

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS^(۱) و آزمون‌های آماری آنالیز واریانس یک طرفه^(۲) و تست دانکن^(۳) تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

بر اساس نتایج حاصله، وزن جنین‌های مادران دیابتی به طور متوسط بیشتر از جنین‌های مادران سایر گروه‌های مورد آزمایش بود، به طوری که میانگین وزن جنین‌های گروه دیابتی در روز ۱۸، ۳/۶۷ گرم می‌باشد که نسبت به جنین‌های سایر گروه‌های مورد آزمایش به طور معنی‌داری بیشتر

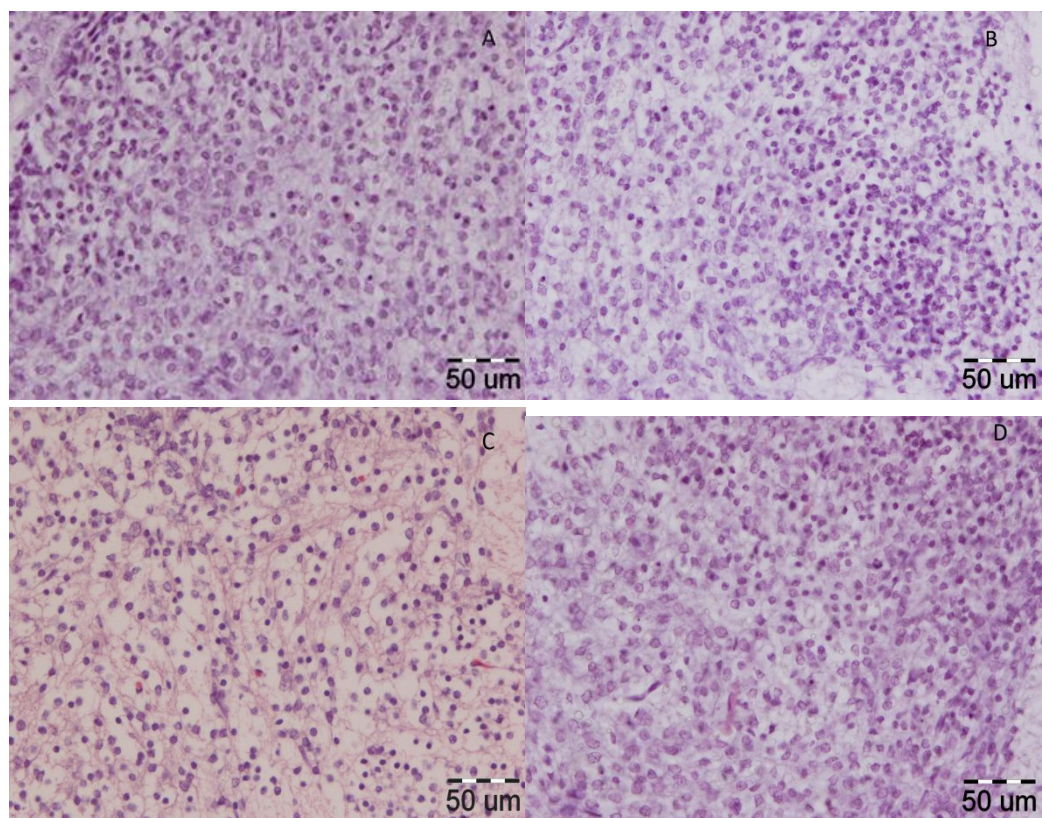
بود ($p < 0.05$). نتایج نشان داد، قطر عرضی نخاع شوکی در روز مورد مطالعه در گروه دیابتی به صورت معنی‌داری کمتر از سایر گروه‌های مورد آزمایش می‌باشد و به تفکیک مقدار این فاکتور در دیابتی در روز ۱۸، ۴۳۷/۵ میکرون بود که نسبت به سایر گروه‌های مورد آزمایش در همین روز کمتر بود ($p < 0.05$). قطر عمودی نخاع نیز در روز مورد مطالعه در گروه دیابتی مقدار بیشتری را در مقایسه با سایر گروه‌های مورد آزمایش نشان داد، اما اختلاف معنی‌داری را در هیچ کدام از روزهای مورد مطالعه نشان نداد. قطر عمودی کانال مرکزی نخاع، در روز مورد مطالعه در گروه دیابتی در مقایسه با سایر گروه‌های مورد آزمایش اختلاف معنی‌داری را نشان داد که به تفکیک میانگین مقدار این فاکتور در گروه دیابتی در روز ۱۸، ۱۱۴/۱۲ میکرون بود که نسبت به سایر گروه‌های مورد آزمایش در روز ۱۸ بیشتر بود ($p < 0.05$). قطر عرضی کانال مرکزی در روز مورد مطالعه در گروه دیابتی مقدار کمتری را در مقایسه با سایر گروه‌های مورد آزمایش نشان می‌داد، ولی این اختلاف تنها در روز ۱۸ معنی‌دار بود، که در آن میانگین گروه دیابتی ۲۴/۸۳ است که نسبت به سایر گروه‌های مورد آزمایش کمتر بود ($p < 0.05$). تعداد سلول‌ها در ماده خاکستری و سفید نخاع شوکی در گروه دیابتی در روز مورد مطالعه نسبت به سایر

1-Statistical Package for Social Sciences
2-One Way ANOVA
3-Duncan's Multiple Range Test

روز مورد مطالعه شمارش شد که تعداد این سلول‌ها در ماده خاکستری، در گروه دیابتی در مقایسه با سایر گروه‌های مورد آزمایش اختلاف معنی‌داری ($p < 0.05$) را نشان داد که به تفکیک میانگین مقدار این فاکتور در گروه دیابتی در روز ۱۸، ۸۵۵/۵۶ عدد بود که نسبت به به سایر گروه‌های مورد آزمایش در روز ۱۸ کمتر بود ($p < 0.05$) (تصویر شماره ۱). تعداد این سلول‌ها در ماده سفید، در گروه دیابتی در مقایسه با سایر گروه‌های مورد آزمایش نیز کمتر بود، اما این اختلاف معنی‌دار نبود ($p > 0.05$) (جدول ۱).

گروه‌های مورد آزمایش به طور معنی‌داری کمتر بود ($p < 0.05$) (جدول ۱).

همچنین نتایج نشان داد، ارتفاع سلول‌های آپاندیم کانال مرکزی نخاع در زمان مطالعه در گروه دیابتی در مقایسه با سایر گروه‌های مورد آزمایش اختلاف معنی‌داری را نشان داد که به تفکیک میانگین مقدار این فاکتور در گروه دیابتی در روز ۱۸، ۸/۱۱ میکرون بود که نسبت به به سایر گروه‌های مورد آزمایش در روز ۱۸ کمتر بود ($p < 0.05$). تعداد سلول‌های نوروگلی در ماده خاکستری و سفید نیز در



تصویر شماره ۱: فتومیکروگراف بخشی از مقطع عرضی ناحیه شبکه بازویی نخاع شوکی در جنین ۱۸ روزه موش صحرایی (A: کنترل نرمال، B: دیابتی، C: کنترل دانه شنبلیله، D: دیابتی دانه شنبلیله، رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین، میکروسکوپ نوری، بزرگنمایی ۴۰)

جدول ۱: مقایسه میانگین و انحراف معیار ابعاد و تعداد سلول های قسمت بازویی نخاع نوزادان موش صحرایی در چهار گروه مورد آزمایش در روز ۱۸ جنینی

متغیر	گروه	کنترل	دیابتی	کنترل دانه شنبلیله	درمان دانه شنبلیله
قطر عرضی نخاع شوکی (میکرون)	۵۴۴/۵۰ ± ۱۲/۳۲	۴۳۷/۵ ± ۱۰/۵۴*	۴۹۹/۰۲ ± ۹/۸۷	۵۲۳/۰۲ ± ۱۰/۴۵۶	
قطر عمودی نخاع شوکی (میکرون)	۴۶۷/۶۵ ± ۹/۶۷	۴۶۱/۷۸ ± ۱۹/۳۴	۴۴۳/۳۴ ± ۷/۶۸	۴۶۸/۵۶ ± ۱۳/۶۷	
قطر عرضی کانال مرکزی (میکرون)	۳۰/۵۵ ± ۳/۷۶	۲۳/۴۳ ± ۲/۵۶	۲۷/۵۶ ± ۲/۹۷	۲۸/۸۶ ± ۲/۲۴	
قطر عمودی کانال مرکزی (میکرون)	۱۱۲/۲۰ ± ۳/۷۰	۱۱۴/۱۲ ± ۲/۶۷*	۱۰۱/۲۰ ± ۱/۲۴	۱۰۳/۸۹ ± ۲/۶۵	
نسبت ماده خاکستری به سفید	۲/۶۵۶ ± ۰/۰۵	۲/۸۴۶ ± ۰/۰۴	۲/۹۰۵ ± ۰/۰۴	۲/۵۹۸ ± ۰/۰۴	
تعداد سلول های ماده خاکستری	۹۶۶۷/۲۰ ± ۱۵/۶	۹۵۹۸/۶۰ ± ۹/۹*	۹۸۴۵/۲۰ ± ۱۲/۸۳	۹۶۴۵/۰۱ ± ۲۳/۵۶	
تعداد سلول های ماده سفید	۳۶۵/۴۰ ± ۱/۶۲	۳۵۶/۲۰ ± ۵/۱۱*	۳۶۷/۸۰ ± ۱/۵۴	۳۲۵/۴۰ ± ۸/۷۲	
ارتفاع سلول های آپاندیم کانال مرکزی	۱۰/۰۱ ± ۹/۹۱	۸/۱۱ ± ۷/۹*	۹/۹۸ ± ۸/۸۸	۹/۸۱ ± ۸/۸۷	
تعداد سلول های نوروگلی در ماده خاکستری	۱۰۲۳/۰۸ ± ۵۷/۴۱	۸۵۵/۵۶ ± ۴۴/۷۳*	۱۰۱۵/۵۶ ± ۴۰/۳۴	۹۴۶/۴۵ ± ۴۱/۴۲	
تعداد سلول های نوروگلی در ماده سفید	۱۲۳۱/۹۵ ± ۱۲۷/۴۲	۹۹۰/۸۷ ± ۱۲۳/۱۷	۱۲۲۴/۴۱ ± ۱۱۸/۳۱	۱۰۶۵/۶۴ ± ۱۱۶/۷۹	

* اختلاف معنی دار بین دو گروه کنترل و دیابتی ($p < 0.05$).

بحث

می شود (۱۰). در این حالت نوزادان مقدار زیادی چربی اضافی در شانه ها و تنه ذخیره می کنند، ماکروزومی در همه اندام ها به جز مغز رخ می دهد (۳۲). در ناحیه بازویی نخاع شوکی، بررسی فاکتور قطر عرضی نخاع و قطر عمودی کانال مرکزی نخاع، نشان دهنده کاهش مقدار آن در روز ۱۸ دوران جنینی در گروه دیابتی نسبت به سایر گروه های مورد آزمایش می باشد که در تمامی موارد این اختلافات به صورت معنی دار بود. بنابراین دیابت مادری سبب کاهش قطرهای عرضی نخاع در ناحیه شبکه بازویی نخاع می گردد. با توجه به تحقیقات قبلی، نوروپاتی در اعصاب مختلف در اثر دیابت گزارش شده است. بنابراین وجود نوروپاتی در این ناحیه از نخاع می تواند سبب عدم تشکیل صحیح آن شود (۳۴ و ۳۳).

دیابت نوع دو یکی از بیشترین بیماری های متابولیک رو به رشد در جهان می باشد، که مهم ترین مشخصه آن هیپرگلیسمی مزمن است (۲۹). در سرتاسر جهان از گیاهان دارویی به طور سنتی برای کنترل تظاهرات مختلف دیابتیک استفاده می شود (۳۱ و ۳۰). هدف این مطالعه بررسی اثر عصاره دانه گیاه شنبلیله بر تغییرات ناحیه بازویی نخاع شوکی جنین ۸ روزه موش های صحرایی دیابتی بود. این مطالعه نشان داد که وزن بدن جنین های مادران دیابتی به طور معنی داری بیشتر از سایر گروه های مورد آزمایش بود که این افزایش وزن جنین های مادران دیابتی را به نام ماکروزومیا می شناسند. ماکروزومیا در اثر افزایش انتقال گلوکز و سایر مواد غذایی از مادر به جنین از طریق جفت انجام

خون و کنترل بهتر آن در بلندمدت می‌شود، که نشان دهنده اثر درمانی عصاره شنبلیله می‌باشد. با توجه به اثرات آنتی‌اکسیداتیو ثابت شده گیاه شنبلیله و همچنین دارا بودن خاصیت محافظت از کلیه‌ها در مقابله با اثرات نوروپاتی دیابت این گیاه کاندیدای خوبی برای تولید داروهای مؤثر بر دیابت می‌باشد (۳۶ و ۳۷). وجود فیبرهای قابل حل و خوراکی در شنبلیله و اثر آن در جلوگیری از جذب سوکروز و همچنین افزایش فعالیت آنزیم دی ساکاریداز و جذب گلوکز نیز از جمله تأثیرات اثبات شده شنبلیله است (۲۰). مشخص شده است که انتقال گلوکز در آدیپوسیت‌های 3T3-L1 و فعالیت انسولین در معرض شنبلیله افزایش داشته است (۲۱). نتایج مطالعات نشان می‌دهد که استفاده از پودر شنبلیله به میزان ۵ درصد جیره غذایی می‌تواند در بهبود عملکرد آنزیم‌های گلیکولیتیک، گلوکونئوزنیک و لیپوژنیک کمک به‌سزایی داشته باشد (۳۸). همچنین شنبلیله دارای اثرات محافظتی از سلول‌های کبدی در مقابل مسمومیت اتانولی و آپوپتوسیس می‌باشد (۲۳). در انتها با توجه به وجود اثرات شایان توجه شنبلیله در کنترل و کاهش میزان قند خون پیشنهاد می‌شود در مطالعاتی اثرات این گیاه بر روی سایر ارگان‌های بدن در کاهش اثرات دیابت بررسی شود و همچنین می‌توان مواد مؤثر موجود در شنبلیله را برای تهیه داروهای خوراکی دیابت جداسازی و بررسی نمود.

در مطالعه حاضر تعداد سلول‌های ماده خاکستری و سفید نخاع در گروه دیابتی در روز ۱۸ نسبت به سایر گروه‌های مورد آزمایش به طور معنی‌دار کمتر بود. کاهش تعداد نورون‌ها می‌تواند به علت نوروپاتی در گروه دیابتی صورت گیرد چنانچه نوروپاتی در دیابتی‌ها به خاطر غلظت بالای گلوکز خون به وجود می‌آید (۳۵). در مرحله جنینی در گروه دیابتی به علت گلوکز بالای خون مادر و افزایش انتقال آن از طریق جفت، افزایش گلوکز خون جنین رخ می‌دهد (۱۰). این موضوع می‌تواند سبب نوروپاتی در جنین و در نهایت نوزاد گردد. همچنین در اثر دیابت، عروق خون رسان اعصاب صدمه می‌بینند و موجب آسیب به اعصاب و در نتیجه مرگ سلول‌های عصبی می‌شوند (۱۱). مشخص شده است که در موش سوری، دیابت مادری سبب کاهش تکثیر و افزایش آپوپتوز سلول‌های نوروپیتالیال در نخاع شوکی جنین می‌شود، همچنین تحت تأثیر گلوکز زیاد در سلول‌های اجدادی زاینده عصبی نیز کاهش تکثیر و افزایش آپوپتوز دیده می‌شود (۳۵).

در این مطالعه مقایسه بین گروه درمان و کنترل (سالم و دیابتی) نشان دهنده تأثیر مثبت عصاره هیدروالکی دانه ی گیاه شنبلیله در پیشگیری از بروز اثر دیابت بر روی ناحیه بازویی نخاع شوکی در جنین‌ها می‌باشد که می‌توان آن را به وجود آنتی‌اکسیدان‌های موجود در آن نسبت داد (۳۶). نشان داده شده است که تجویز روزانه عصاره متانلی شنبلیله به مدت ۱۸ روز موجب کاهش پایدار گلوکز

نتیجه‌گیری

با استناد به نتایج بیوشیمیایی و بافت‌شناسی مطالعات گذشته و نتایج این مطالعه می‌توان نتیجه گرفت که یکی از مکانیسم‌های اثر هیپوگلیسمی دانه گیاه شنبلیله، بازسازی و ترمیم جزایر لانگرهانس و به دنبال آن افزایش میزان انسولین است. به این ترتیب، در این تحقیق اثر درمانی عصاره دانه گیاه شنبلیله در مادران دیابتی نشان داده شد و با توجه به این که گیاهان دارویی به دلیل نداشتن عوارض جانبی، نسبت به داروهای شیمیایی، بیشتر ارجحیت دارند، این گیاه می‌تواند کاندیدای خوبی برای ساخت دارویی علیه دیابت در مادران باردار در آینده محسوب شود.

تقدیر و تشکر

این مطالعه حاصل پایان نامه مقطع دکترای آناتومی و جنین‌شناسی مقایسه‌ای مصوب دانشگاه شیراز بود که با حمایت مالی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز انجام شد.

REFERENCES:

1. Murry RK, Graner DK, Mayes PA, Rodwell VW. Harper's Illustrated Biochemistry. 26th ed. Mc Graw Hill: New York; 2003; 270-85.
2. Moore T. Diabetes in pregnancy. In: Creasy RK, Resnik R, Iams JD(editors). Maternal-fetal medicine: principles and practice. 5th ed. Philadelphia: Saunders; 2004; 1023-61.
3. Lucas MJ. Diabetes complicating pregnancy. *Obstet Gynecol Clin North Am* 2001; 28: 513-36.
4. Sermer M, Naylor CD, Farine D, Kenshole AB, Ritchie JW, Gare DK, et al. The Toronto tri-hospital gestational diabetes project. A preliminary review. *Diabetes Care* 1998; 2: 33-42.
5. Beischer NA, Wein P, Sheedy MT, Steen B. Identification and treatment of women with hyperglycemia diagnosed during pregnancy can significantly reduce perinatal mortality rates. *Aust NZ J Obstet Gynaecol* 1996; 36: 239-47.
6. Vermeulen MJ, Shapiro JL. Preconception care of women with diabetes. *Diabetes Care* 2004; 27: S78- S91.
7. Greene MF, Hare JW, Cloherty JP, Benacerraf BR, Soeldner JS. First-trimester hemoglobin A and risk for major malformation and spontaneous abortion in diabetic pregnancy. *Teratology* 1989; 39: 225.
8. Miller E, Hare JW, Cloherty JP. Elevated maternal hemoglobin A1C in early pregnancy and major congenital anomalies in infants of diabetic mothers. *N Engl J Med* 1981; 304: 1331-4.
9. Knowler W, Pettitt DJ, Kunzelman CL, Everhart J. Genetic and environment determinants of non-insulin dependent diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Practice* 1985; 1: 309.
10. Jones CW. Gestational diabetes and its impact on the neonate. *Neonatal Network* 2001; 20(6): 17-23.
11. Wyngaarden JB, Smith LH. Cecil Textbook of medicine. 16th ed. W.B. Saunders co: Philadelphia; 1982; 1053-71.
12. Harrison TR, Braunwal DE, Wilson JD. Harrison's principles of internal medicine. 15th ed. McGraw Hill: New York; 2000; 2109-42.
13. Aberg A, Westbom L, Kallen B. Congenital malformation among infants whose mothers had gestational diabetes or pre-existing diabetes. *Early Human Development* 2002; 61: 85-95.
14. Singh BS, Westfall TC, Devascar SU. Maternal diabetes-induced hyperglycemia and acute intracerebral hyperinsulinism suppress fetal brain neuropeptide Y concentrations. *Endocrinology* 1997; 138(3): 963-9.
15. Musen G, Lyoo IK, Sparks CR. Effects of type 1 diabetes on gray matter density as measured by voxel-based morphometry. *Diabetes* 2006; 1(55): 326-33.
16. Khaksar Z, Jelodar GH, Hematian H. Evaluation of maternal diabetes effects on Lumbosacral portion of spinal cord in neonate rat by morphometry. *Journal of Shaheed Sadoughi University of Medical Sciences* 2010; 18(1): 56-63.
17. Hematian H, Khaksar Z. Evaluation of maternal diabetes effects on Lumbosacral portion of spinal cord in neonate rat by morphometry. *Journal of Shahrekord University Of Medical Sciences* 2010; 12(1): 53-9.
18. Gabbe SG, Gregory RP, Power ML, Williams SB, Schulkin J. Management of diabetes mellitus by obstetrician-gynecologists. *Obstet Gynecol* 2004; 103(6): 1229-34.
19. Falah Hosseini H, Fakhrazadeh H, Ardeshir Larijani B, Shikh Samani AH. Review of anti-diabetic medicinal plant used in traditional medicine. *Journal of Medicinal Plants* 2006; 5: 85-60.
20. Hannan JM, Ali L, Rokeya B, Khaleque J, Akhter M, Flatt PR, Abdel-Wahab YH. Soluble dietary fibre fraction of *Trigonella foenum-graecum* (fenugreek) seed improves glucose homeostasis in animal models of type 1 and type 2 diabetes by delaying carbohydrate digestion and absorption, and enhancing insulin action. *Br J Nutr* 2007; 97(3): 514-21.
21. Thakran S, Siddiqui MR, Baquer NZ. *Trigonella foenum graecum* seed powder protects against histopathological abnormalities in tissues of diabetic rats. *Molecular and Cellular Biochemistry* 2004; 266: 151-9.
22. Xue WL, Li XS, Zhang J, Liu YH, Wang ZL, Zhang RJ. Effect of *Trigonella foenum-graecum* (fenugreek) extract on blood glucose, blood lipid and hemorheological properties in streptozotocin-induced diabetic rats. *Asia Pac J Clin Nutr* 2007; 16: 422-6.
23. Zia T, Hasnain SN, Hasan SK. Evaluation of the oral hypoglycemic effect of *Trigonella foenum-graecum* L. (methi) in normal mice. *Journal of Ethnopharmacology* 2001; 75(2-3): 191-5.
24. Jones CW. Gestational diabetes and its impact on the neonate. *Neonatal Network* 2001; 20(6): 17-23.

25. Erdemoglu N, Kupeli E, Yesilada E. Anti-inflammatory and antinociceptive assessment of plants used as remedy in Turkish folk medicine. *Journal of Ethnopharmacology* 2003; 89: 123-9.
26. Eseyin O, Ebong P, Ekpo A, Igboasiyi A, AndOforah E. Hypoglycemic effect of the seed extract of *Telfairia occidentalis* in rat. *Pakistan Journal of Biological Science* 2007; 10(3): 498-501.
27. Pereira JA, Oliveira I, Sousa A, Valentao P, Andrade P, Ferreira I, et al. Walnut (*Juglans regia*) leaves: phenolic compound, antibacterial activity and antioxidant potential of different cultivars. *Food and Chemical Toxicology* 2007; 45(11): 2287-95.
28. Kar A. Comparative evaluation of hypoglycaemic activity of some Indian medicinal plants in alloxan diabetes rats. *J Ethnopharmacol* 2003; 84(1): 105-8.
29. Rahimi R, Nikfar Sh, Larijani B, Abdollahi M. A review on the role of antioxidants in the management of diabetes and its complications. *J Biomed Phar* 2005; 59: 365 – 73.
30. Bailey CJ, Day C. Traditional plant medicines as treatments for diabetes. *J Diabetes Care* 1989; 12: 553 - 64.
31. Gray AM, Flatt PR. Pancreatic and extrapancreatic of the traditional anti-diabetic plant, *Medicago Sativa* (Lucerne). *Br J Nutr* 1997; 78: 325 -34.
32. Cunningham FG, Lolo KG, Blome AL, Hat JC. *William's obstetrics*. 22nd ed. McGraw-Hill: New York; 2005; 1170-87.
33. Artico M, Massa R, Cavallotti D. Morphological changes in the sciatic Nerve of Diabetic Rats Treated with low Molecular weight Harparin op 2123/parnaparin. *Anat Histol Embryol* 2002; 31: 193-7.
34. Guyton AC, Hall JE. *Textbook of medical physiology*. 11th ed. Elsevier Saunders: Philadelphia; 2006; 961-76.
35. 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; 25(6): 349-57.
36. Tripathi UN, Chandra D. Anti-hyperglycemic and anti-oxidative effect of aqueous extract of *Momordica charantia* pulp and *Trigonella foenum graecum* seed in alloxan-induced diabetic rats. *Indian J Biochem Biophys* 2010; 47(4): 227-33.
37. Xue W, Lei J, Li X, Zhang R. *Trigonella foenum graecum* seed extract protects kidney function and morphology in diabetic rats via its antioxidant activity. *Nutr Res* 2011; 31(7): 555-62.
38. Jayadev R, Dhananjay G, Araga R, Rao P, Yadava K, Najma Z. Baquer *Trigonella foenum graecum* (fenugreek) seed powder improves glucose homeostasis in alloxan diabetic rat tissues by reversing the altered glycolytic, gluconeogenic and lipogenic enzymes. *Mol Cell Biochem*. 2001;224(1-2):45-51

Effect of Fenugreek Seed Extract (*Trigonella Foenum-graecum*) on Brachial Region of the Spinal Cord of an 18-Day Old Rat Offspring with Diabetes

Khaksar Z, Tavakol Kookhdan E*

Department of Anatomy, Faculty of Veterinary, Shiraz University, Shiraz, Iran

Received: 07 Nov 2012

Accepted: 04 Feb 2013

Abstract

Background & aim: Diabetes can affect the spinal cord, an important part of the central nervous system. Fenugreek seed has been suggested to have potential antidiabetic effects. This study was conducted to assess the effects of Fenugreek seed extract (*trigonella foenum-graecum*) on fetal spinal cord structure, specifically in the brachial enlargement cord in an 18-day old fetus of diabetic mothers treated with extracts in comparison with the control groups' mothers.

Methods: In the present cross-sectional study, sixteen healthy female rats were randomly divided into four equal groups: Healthy control, Diabetes control, Fenugreek control, Fenugreek treatment. Diabetes was induced by intraperitoneal injection of Streptozotcin (50 mg/kg). All four groups became pregnant by natural mating. After formation of the nervous system, two fetuses from each group were expelled by cesarean after performing anesthesia on the animals on 18th day of pregnancy; furthermore their brachial enlargement spinal cord samples were taken. Finally, the tissue sections were prepared by routine procedures and diverse histological parameters were examined. The collected data were analyzed by one-way ANOVA.

Results: results showed that fetal body weight on the diabetic control group was significantly higher compared to the other groups ($P \leq 0/05$). Moreover, significant reductions in the transvers and vertical diameters in central channel of the spinal cord and as well in the number of neurons of the spinal cord gray matter in the diabetic control groups in comparison with the other groups were observed ($P \leq 0/05$).

Conclusion: The hyperglycemic effect of maternal diabetes during fetal period causes abnormalities, especially in the brachial enlargement of spinal cord, including changes in the spinal cord and neurons number in the gray matter. Disorders occurring in the prenatal remains and may perhaps cause lack of ability to perform certain physical activities.

Key words: Fenugreek, Streptozotocin, Diabetes, Spinal Cord

*Corresponding Author: Tavakol Kookhdan E, Department of Anatomy, Faculty of Veterinary, Shiraz University, Shiraz, Iran
Email: tavakol@shirazu.ac.ir