

اثر عصاره ی برگ گردو بر تغییرات ناحیه کمری-خاجی نخاع شوکی جنین موش‌های صحرایی دیابتی

ذبیح اله خاکسار، مینا تجلی، سیده سارا هاشمی*

دانشگاه شیراز، دانشکده دامپزشکی، گروه علوم تشریحی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۲/۱۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۴/۵

چکیده

زمینه و هدف: دستگاه عصبی یکی از مهم‌ترین دستگاه‌هایی است که در اثر دیابت آسیب می‌بیند. هدف این مطالعه بررسی اثرات عصاره ی برگ گردو بر تغییرات ناحیه کمری - خاجی نخاع شوکی جنین موش‌های صحرایی دیابتی بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی شانزده سر موش صحرایی ماده سالم به طور تصادفی به چهار گروه مساوی؛ کنترل، دیابتی، کنترل برگ گردو و درمان برگ گردو تقسیم شدند. برای دیابتی کردن موش‌ها از داروی استرپتوزوتوسین به صورت تزریق داخل صفاقی استفاده شد. هر چهار گروه با جفت‌گیری طبیعی باردار شدند و از روز اول بارداری عصاره برگ گردو با دوز ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم را دریافت کردند. بعد از تشکیل سیستم عصبی در روزهای هجدهم و بیستم دوره بارداری روزانه دو قطعه از موش‌های مادر بیهوش شده و جنین‌های آنها خارج گشته و نمونه‌گیری از ناحیه کمری-خاجی نخاع به عمل آمد و پس از به کار بردن تکنیک‌های بافت‌شناسی، پارامترهای بافتی مختلفی بررسی شدند. داده‌ها با آزمون آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: کاهش معنی‌داری در قطر عرضی و قطر عمودی نخاع و تعداد نورون‌های ماده خاکستری نخاع شوکی در روزهای ۱۸ و ۲۰ بارداری در گروه کنترل دیابتی نسبت به سایر گروه‌ها دیده شد ($p < 0.05$). همچنین تفاوت معنی‌داری در تعداد نورون‌های ماده سفید نخاع شوکی در روز ۱۸ بارداری مشاهده شد ($p < 0.05$).

نتیجه‌گیری: برگ‌های گردو اثرات بهبود دهنده متعددی را در کنترل اختلالات متابولیک دیابتی بر روی سیستم اعصاب مرکزی جنین مادران باردار دارند.

واژه‌های کلیدی: برگ گردو، دیابت، نخاع شوکی

* نویسنده مسئول: سیده سارا هاشمی، شیراز، دانشگاه شیراز، دانشکده دامپزشکی، گروه علوم تشریحی

Emailsara_hashemi@shirazu.ac.ir

مقدمه

بارداری رخ می‌دهد ولیکن مواردی از تشکیل غیر طبیعی سیستم عصبی مرکزی، نخاع و ستون مهره‌ها در آنها دیده شده است (۹). دیابت مادری با ایجاد هیپرگلیسمی و هیپرانسولینسم حاد در مغز سبب توقف تولید نروپپتید Y در مغز جنین می‌شود (۱۰). دیابت با اثر بر روی مغز سبب تغییرات نوروفیزیولوژیک و اختلال در ساختار و عمل مغز نظیر کاهش دانسیته ماده خاکستری و ماده سفید می‌شود (۱۱). 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 (۱۲). هم‌چنین نشان داده شده است که دیابت مادری می‌تواند باعث بروز تغییراتی در ناحیه کمری-خاجی 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 غیر قابل جبرانی بر سیستم عصبی نوزاد می‌شود (۱۳).

از آنجا که حاملگی‌های متأثر از دیابت در خطر بالای پیامدهای ناگوار نزدیک زایمان و توسعه بیماری دیابت نوع ۲ در آینده می‌باشند، مداخلات درمانی ضروری است (۱۴). در حال حاضر، درمان اصلی و مؤثر دیابت قندی استفاده از انسولین و داروهای شیمیایی کاهنده قند خون است، اما این

پانکراس با ترشح انسولین میزان گلوکز خون را در حد مناسبی نگه می‌دارد، بنابراین علت افزایش گلوکز خون در بیماری دیابت به دلیل کافی نبودن تولید و ترشح انسولین می‌باشد (۱). دیابت دوران بارداری در بیش از ۸ درصد از کل بارداری‌ها اتفاق می‌افتد (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 یک سری پیامدهای نامطلوب بارداری مثل ماکروزمی، دیستوشی شانه^(۱) و مرگ و میر حین زایمان می‌باشد (۳). مطالعات مختلف خطر سقط آبی و ناهنجاری‌های مادرزادی را با افزایش گلوکز مرتبط می‌دانند (۴). خطر بروز دیابت در فرزندان مادرانی که دیابت غیر وابسته به انسولین دارند بیشتر است (۵). گزارش شده است که دیابت مادری باعث افزایش خطر هیپرگلیسمی و عدم تعادل مواد شیمیایی نظیر کلسیم و منیزیم می‌شود (۶).

دستگاه عصبی یکی از مهم‌ترین دستگاه‌هایی است که در اثر دیابت آسیب می‌بیند (۷)، به طوری که آسیب به اعصاب دستگاه گوارش و ناحیه تولید مثلی و هم‌چنین درگیری اعصاب حسی در این مورد گزارش شده است (۸). تصلب شرایین در مغز یکی از عوارض دیابت می‌باشد، به طوری که در اثر بیماری دیابت انسداد عروق تغذیه کننده اعصاب، مرگ دسته های عصبی و تخریب میلین را می‌توان مشاهده نمود (۷). اگرچه دیابت حاملگی در انسان در هفته ۲۴

1-Shoulder Dystocia

مطالعه بررسی اثر عصاره‌ی برگ گردو بر تغییرات ناحیه کمری-خاجی نخاع شوکی جنین موش‌های صحرایی دیابتی بود.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی ۱۶ سر موش صحرایی ماده بالغ از نژاد اسپراگ - داولی 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 ۴ مساوی تقسیم شدند. گروه اول (گروه کنترل غیردیابتی)؛ فرزندان مادران سالمی که مادرانشان معادل حجم عصاره، روزانه سرم فیزیولوژی به صورت خوراکی در طول حاملگی دریافت کردند. گروه دوم؛ فرزندان مادران سالمی که مادرانشان عصاره برگ گردو (محلول در آب) را به میزان ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم روزانه به صورت خوراکی در طول حاملگی دریافت کردند. گروه سوم (گروه کنترل دیابتی)؛ فرزندان مادران دیابتی که در طول آزمایش معادل حجم عصاره، روزانه سرم فیزیولوژی به صورت خوراکی در طول حاملگی دریافت کردند. گروه چهارم، فرزندان مادران دیابتی که مادرانشان عصاره برگ گردو (محلول در آب) را با دوز ۲۵۰

ترکیب‌ها دارای عوارض جانبی متعددی هستند، لذا دستیابی به ترکیباتی که بتوانند با حداقل عوارض جانبی، به خصوص در دوران بارداری قند خون را کاهش دهند و بر 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 قند خون و یا کاهش عوارض ناشی از دیابت شناخته شده است (۱۵). گردو از خانواده Juglandaceae می‌باشد که به طور وسیعی در طب سنتی جهان استفاده می‌شود (۱۶ و ۱۵). از برگ‌های گردو برای درمان دردهای روماتیسمی، تب، دیابت، بیماری‌های پوستی و از گل‌های آن برای درمان مالاریا و دردهای روماتیسمی استفاده شده است (۱۷). هم‌چنین ثابت شد که دم کرده برگ گردو در کاهش قند خون مبتلایان به دیابت مؤثر است (۱۸). در طب سنتی کشور ایران نیز برگ گردو و هم‌چنین قسمت گوشت دار میوه نارس آن به عنوان کاهنده قند خون به کار می‌رود (۱۹). در مطالعه‌ای که به وسیله فتحی آزاد و همکاران (۲۰۰۶) در مورد اثرات عصاره برگ گردو با دوز ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نشان داده شد که موجب کاهش مؤثر قند خون در حیوانات دیابتی می‌شود (۱۶).

با توجه به این که مطالعات مشابه در ارتباط با تأثیر داروهای گیاهی بر تغییرات دستگاه عصبی مرکزی در اثر دیابت مادری وجود ندارد، هدف این

میلی گرم بر کیلوگرم روزانه به صورت خوراکی در طول حاملگی دریافت کردند (۱۶).

برای دیابتی کردن موش‌ها از داروی استرپتوزوتوسین استفاده شد. این دارو با دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم و به صورت داخل صفاقی تزریق شد (۷). حیوانات برای ۱۲ ساعت قبل و بعد از تزریق گرسنه نگاه داشته می شدند. حیوانات پس از یک هفته آزمایش شده و نمونه‌هایی که گلوکز خونشان در محدوده ۲۰۰-۳۰۰ میلی گرم درصد همراه با پرخوری، پرنوشی و پرادراری بودند به عنوان گروه دیابتی جهت آزمایش‌ها منظور شدند (۲۰).

در این مطالعه از عصاره هیدروالکلی گیاه گردو استفاده شد. برگ‌های گردو پس از جمع آوری، در سایه خشک و سپس پودر شدند. مقدار ۱۰۰۰ گرم از پودر به دست آمده درون ارلن یک لیتری ریخته و به آن الکل اتیلیک ۹۶ درصد اضافه شد به گونه‌ای که سطح پودر را بپوشاند. بعد از ۲۴ ساعت محلول صاف گردید. در مرحله بعد به تفاله باقی مانده، الکل ۷۵ درصد اضافه و بعد از ۲۴ ساعت با کاغذ صافی صاف می‌شود. محلول صاف شده مراحل اول و دوم را مخلوط کرده و با دستگاه تقطیر در خلاء و در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد و سرعت چرخش ۷۰ دور در دقیقه تا ۱/۳ حجم اولیه تغلیظ شد (۲۱). به منظور جداسازی پروتئین، چربی و کلروفیل، محلول تغلیظ شده سه بار به وسیله ۵۰ میلی‌لیتر کلروفرم دکانته شد. محلول به دست آمده از آخرین مرحله در آون و دمای زیر ۵۰ درجه سانتی‌گراد و شرایط استریل

خشک شد. به این ترتیب بعد از چند روز پودر خشک عصاره آماده شد. پودر خشک شده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (۱۷).

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 (۲۲). پس از آبستنی و در روز ۱۸ و ۲۰ دوران جنینی، روزانه دو قطعه از موش‌های مادر در هر چهار گروه مورد مطالعه، بیهوش شده و جنین‌های آنها خارج گردید تا مراحل روند تشکیل و تکامل سیستم عصبی مرکزی در ناحیه کمری-خاجی از نخاع شوکی حداقل ۵ جنین مورد بررسی هیستولوژیک و هیستومورفومتریک قرار گیرند. مادران پس از بیرون آوردن جنین‌ها به روش انسانی کشته می‌شدند. نمونه‌های جدا شده با سرم فیزیولوژی شستشو داده شده و جهت ثبوت به محلول فرمالین بافر ۱۰ درصد منتقل شدند.

از نمونه‌ها پس از طی مراحل آماده‌سازی بافتی با دستگاه اتوتکنیکون ساخت شرکت Lipshaw ایالات متحده آمریکا، بلوک‌های پارافینی تهیه شده و سپس به وسیله دستگاه میکروتوم ساخت شرکت Baird & Tatlock کشور انگلستان، مقاطعی با ضخامت ۵ میکرون تهیه شده و روی لام قرار می‌گرفت. لام‌های به دست آمده با همتوکسیلین-اٹوزین و ماسون تری کروم سبز رنگ آمیزی شدند.

داد، اما اختلاف معنی‌داری را در هیچ کدام از روزهای مورد مطالعه نشان نداد ($p < 0.05$). قطر عمودی کانال مرکزی نخاع، در روزهای 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، ۱۲/۱۲۷ و ۲۰، ۸۲/۱۵ بود که نسبت به سایر گروه‌های مورد آزمایش در روز ۱۸ و ۲۰ بیشتر بود ($p < 0.05$). قطر عرضی کانال مرکزی در تمام روزهای مورد مطالعه در گروه دیابتی مقدار کمتری را در مقایسه با سایر گروه‌های مورد آزمایش نشان داد، ولی این اختلاف به صورت معنی‌داری نبود ($p < 0.05$). مقایسه تعداد نورون‌های موجود در ماده خاکستری ناحیه شبکه کمری-خاجی نخاع شوکی در گروه‌های مورد مطالعه نشان داد که تعداد نورون‌ها در ماده خاکستری نخاع شوکی در گروه دیابتی در روزهای مورد مطالعه نسبت به سایر گروه‌های مورد آزمایش به صورت معنی‌داری کمتر بود ($p < 0.05$) (تصویر ۱).

مقایسه تعداد نورون‌ها در ماده سفید در روزهای مورد مطالعه نشان داد که تعداد نورون‌ها در گروه دیابتی در مقایسه با سایر گروه‌های مورد آزمایش کاهش یافته است، ولی این اختلاف تنها در روز ۱۸ معنی‌دار بود که در آن میانگین گروه دیابتی ۲۸۹/۲۱ بود که نسبت به سایر گروه‌های مورد آزمایش کمتر بود ($p < 0.05$). نسبت ماده خاکستری به

مقاطع تهیه شده با میکروسکوپ نوری مطالعه شدند. اندازه‌گیری قطر عرضی و عمودی نخاع و کانال مرکزی، تعداد سلول‌های ماده خاکستری و سفید در واحد سطح (میلی‌متر مربع) و نسبت ماده خاکستری به سفید با میکروسکوپ نوری ال‌مپوس ساخت کشور ژاپن و نرم افزار Olysia انجام گرفت. جهت شمارش سلولی حداقل ۶ منطقه در ماده سفید (نوروگلی) و خاکستری (نورون و نوروگلی) شاخ قدامی و خلفی از هر مقطع بررسی و میانگین آنها به طور جداگانه ثبت گردید.

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

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS^(۱) و آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه^(۲) و تست دانکن^(۳) تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

بر اساس نتایج حاصله، قطر عرضی نخاع شوکی در تمامی روزهای مورد مطالعه در گروه دیابتی به صورت معنی‌داری کمتر از سایر گروه‌های مورد آزمایش بود. به تفکیک مقدار این فاکتور در گروه دیابتی در روز ۱۸، ۱۲/۴۴۵ و ۲۰، ۱۳/۵۹۲ بود که نسبت به سایر گروه‌های مورد آزمایش در روز ۱۸ و ۲۰ کمتر بود ($p < 0.05$). قطر عمودی نخاع نیز در روزهای مورد مطالعه در گروه دیابتی مقدار بیشتری را در مقایسه با سایر گروه‌های مورد آزمایش نشان

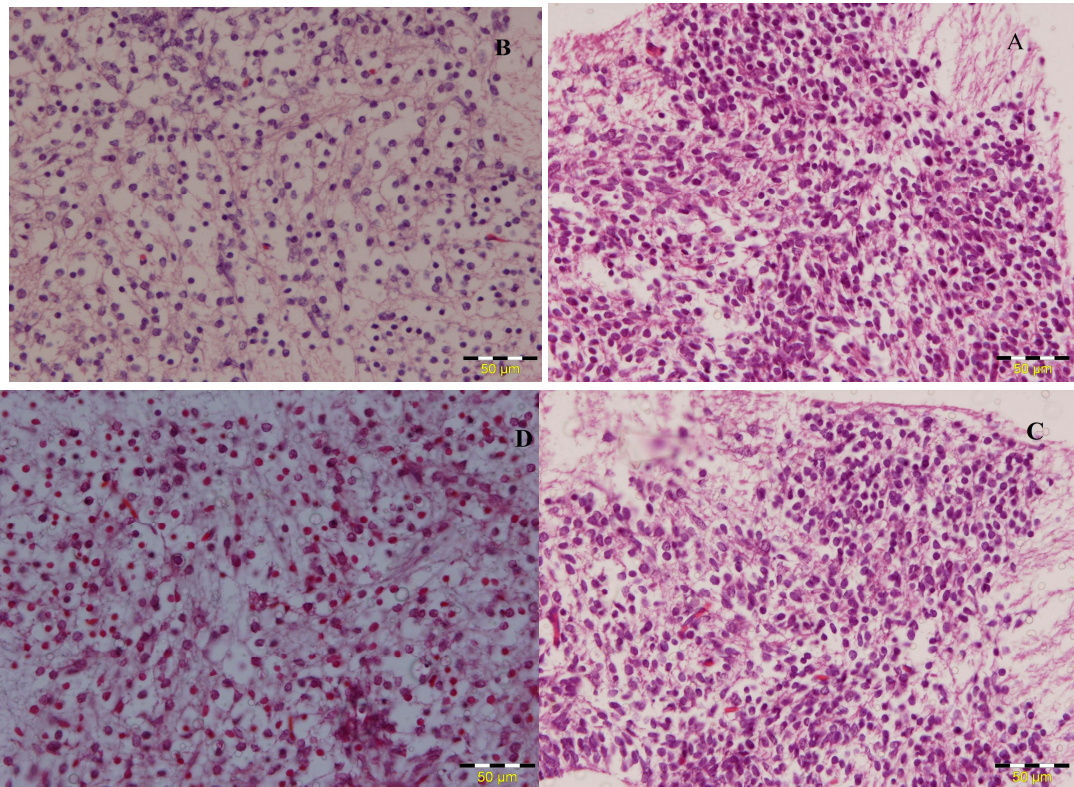
1-Statistical Package for Social Sciences
2-One-Way Analysis of Variance
3-Dunca's Test

سفید در تمام روزهای مورد مطالعه در گروه دیابتی
مقدار کمتری را در مقایسه با سایر گروه های مورد
آزمایش نشان داد، ولی این اختلاف معنی دار
نبود (جدول ۱).

جدول ۱: مقایسه میانگین و انحراف معیار ابعاد و تعداد سلولهای قسمت کمری - خاجی نخاع نوزادان موش صحرایی در چهار گروه مورد
آزمایش در روزهای ۱۸ و ۲۰ دوران جنینی

تعداد سلولهای ماده سفید	تعداد سلولهای ماده خاکستری	نسبت ماده خاکستری به سفید	قطر عمودی کانال مرکزی (میکرون)	قطر عرضی کانال مرکزی (میکرون)	قطر عمودی نخاع شوکی (میکرون)	قطر عرضی نخاع شوکی (میکرون)	متغیر گروه
روز ۱۸:							
۳۵۴/۴۳ ± ۲۴/۷۵	۹۷۷/۲۱ ± ۳۶۵/۸۳	۲/۷۲ ± ۰/۰۳	۱۰۰/۹۸ ± ۸/۳۷	۳۱/۴۳ ± ۳/۵۸	۴۵۵/۲۱ ± ۳۲/۷۵	۵۱۳/۵۱ ± ۱۹/۳۲	کنترل
۲۸۹/۲۱ ± ۲۵/۰۴*	۸۹۲۹/۶۱ ± ۳۶۹/۷۴*	۲/۵۹ ± ۰/۰۳	۱۲۷/۱۲ ± ۹/۵۴*	۲۵/۹۷ ± ۲/۷۹	۴۶۱/۰۰ ± ۱۹/۱۳۱	۴۴۵/۱۲ ± ۲۳/۷۲*	دیابتی
۳۵۲/۸۲ ± ۲۶/۴۶	۹۷۶۵/۲۶ ± ۳۶۱/۸۳	۲/۷۱ ± ۰/۰۲	۱۰۱/۴۲ ± ۱۱/۲۴	۲۸/۸۷ ± ۲/۳۵	۴۵۲/۵۱ ± ۳۷/۱۸	۵۱۱/۱۲ ± ۲۱/۹۶	کنترل برگ گردو
۳۴۱/۴۱ ± ۲۶/۵۴	۹۷۱۲/۱۲ ± ۳۵۴/۰۶	۲/۶۷ ± ۰/۰۷	۱۰۴/۰۱ ± ۱۲/۵۷	۲۹/۹۷ ± ۲/۳۷	۴۵۹/۵۳ ± ۳۴/۵۲	۵۰۲/۲۳ ± ۲۲/۱۲	درمان برگ گردو
روز ۲۰:							
۸۷۶/۷۸ ± ۸۷/۶۹	۱۱۷۴۰/۲۶ ± ۱۱۴/۶۸	۲/۶۸ ± ۰/۰۳	۶۳/۵۸ ± ۴/۸۵	۴۱/۶۲ ± ۴/۰۵	۶۲۸/۳۴ ± ۶۵/۸۳	۷۱۱/۲۳ ± ۶۳/۱۶	کنترل
۸۳۲/۵۱ ± ۶۸/۲۲	۱۱۴۳۹/۱۶ ± ۱۳۲/۵۴*	۲/۵۴ ± ۰/۰۳	۸۲/۱۵ ± ۳/۳۹*	۳۳/۷۲ ± ۳/۶۸	۶۴۶/۳۴ ± ۵۴/۳۱	۵۹۲/۱۳ ± ۴۴/۹۱*	دیابتی
۸۷۴/۲۸ ± ۶۶/۲۷	۱۱۷۳۵/۲۱ ± ۱۲۱/۲۸	۲/۶۲ ± ۰/۰۳	۶۱/۱۱ ± ۳/۵۶	۴۱/۵۳ ± ۳/۲۹	۶۳۸/۶۱ ± ۶۳/۵۳	۷۰۱/۶۲ ± ۶۵/۴۲	کنترل برگ گردو
۸۴۹/۷۱ ± ۶۷/۲۳	۱۱۷۰۹/۳۶ ± ۱۲۹/۹۴	۲/۵۷ ± ۰/۰۴	۶۶/۲۳ ± ۴/۹۱	۳۹/۵۱ ± ۲/۷۹	۶۴۱/۱۳ ± ۴۷/۱۴	۶۹۶/۱۳ ± ۵۵/۹۹	درمان برگ گردو

* اختلاف معنی دار بین گروه کنترل دیابتی و سایر گروه های مورد آزمایش ($P < 0.05$).



تصویر ۱: فتومیکروگراف بخشی از مقطع عرضی ناحیه شبکه ی کمری-خاجی نخاع شوکی در جنین ۲۰ روزه موش صحرایی. (A: کنترل نرمال، B: دیابتی، C: کنترل برگ گردو، D: دیابتی برگ گردو. رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ئوژن، میکروسکوپ نوری، بزرگ نمایی ۴۰)

بحث

دیابت نوع دو یکی از بیشترین بیماری‌های متابولیک رو به رشد در جهان می‌باشد که مهم‌ترین مشخصه آن هیپرگلیسمی مزمن است (۲۳). در سرتاسر جهان از گیاهان دارویی به طور سنتی برای کنترل تظاهرات مختلف دیابتیک استفاده می‌شود (۲۴). هدف مطالعه بررسی اثر عصاره‌ی برگ گردو بر تغییرات ناحیه کمری-خاجی نخاع شوکی جنین موش‌های صحرایی دیابتی بود.

این مطالعه نشان داد که فاکتور قطر عرضی نخاع و قطر عمودی کانال مرکزی نخاع در روزهای ۱۸ و ۲۰ دوران جنینی در گروه دیابتی نسبت به سایر گروه‌های مورد آزمایش کاهش یافت. بنابراین دیابت مادری سبب کاهش قطرهای عرضی نخاع در ناحیه شبکه کمری-خاجی نخاع می‌شود. با توجه به تحقیقات قبلی، نوروپاتی در اعصاب مختلف در اثر دیابت گزارش شده است، مانند نوروپاتی در عصب سیاتیک و اعصاب خودکار و وجود نوروپاتی در این ناحیه از نخاع می‌تواند سبب عدم تشکیل صحیح آن شود (۲۵ و ۲۶).

این مطالعه نشان داد که تعداد سلول‌های ماده خاکستری و سفید نخاع در گروه دیابتی در روزهای ۱۸ و ۲۰ نسبت به سایر گروه‌های مورد آزمایش کمتر بود. کاهش تعداد نورون‌ها می‌تواند به علت نوروپاتی در گروه دیابتی صورت گیرد، همان طوری که نوروپاتی در دیابتی‌ها به خاطر غلظت بالای گلوکز خون به وجود می‌آید (۲۶). 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 (۶). این موضوع می‌تواند سبب نوروپاتی در جنین و در نهایت نوزاد شود. همچنین در اثر دیابت، عروق خون‌رسان اعصاب صدمه می‌بینند و موجب آسیب به اعصاب و در نتیجه مرگ سلول‌های عصبی می‌شوند (۷). مشخص شده است که در موش سوری، دیابت مادری سبب کاهش تکثیر و افزایش آپوپتوز سلول‌های نوروآپتلیال در نخاع شوکی جنین می‌شود، همچنین تحت تأثیر گلوکز زیاد در سلول‌های اجدادی زاینده عصبی نیز کاهش تکثیر و افزایش آپوپتوز دیده می‌شود (۲۷).

در این مطالعه مقایسه بین گروه درمان و کنترل سالم و دیابتی نشان دهنده تأثیر مثبت عصاره هیدروآلکی برگ گردو در پیشگیری از بروز اثر دیابت بر روی ناحیه کمری-خاجی نخاع شوکی در جنین‌ها می‌شود که می‌توان آن را به وجود آنتی‌اکسیدان‌های موجود در آن نسبت داد. عصاره برگ گردو غنی از ترکیب‌های آنتی‌اکسیدان، نظیر ترکیب‌های فنلی است (۲۸). اسیدهای فنلی و فلاونوئیدها دو گروه عمده ترکیب‌های فنلی موجود در برگ گردو می‌باشند. مهم‌ترین اسید فنلی برگ گردو کافئوئیلکونیک اسید و مهم‌ترین فلاونوئید آن کوئرستین می‌باشد (۲۹ و ۳۰). نتایج مطالعات نشان می‌دهد که فلاونوئیدها موجب کاهش قند پلاسما می‌شوند (۳۰). همچنین مطالعات اثر هیپوگلیسمی کوئرستین در رت‌های دیابتی شده با آلوسان نشان دادند (۳۱) که فلاونوئید کوئرستین

جذب گلوکز را در روده مهار می‌کند. این عمل به طور اختصاصی بر روی ناقل گلوکز صورت می‌گیرد. اسید کلوژنیک بازدارنده اختصاصی آنزیم گلوکز ۶- فسفاتاز بوده و تولید گلوکز را در کبد مهار می‌کند. این آنزیم نقش کلیدی در تنظیم میزان قند خون و خروجی قند از کبد دارد و به این ترتیب باعث کاهش قند خون می‌شود (۳۲). به دنبال کاهش قند خون، میزان هموگلوبین گلیکوزیله نیز کاهش می‌یابد (۳۳). کلوژنیک اسید با دخالت غیر مستقیم در سنتز کلاسترول و مهار آنزیم هیدروکسی متیل گلو تاریل کوآنزیم A ردوکتاز، سنتز آن را در هیپاتوسیت‌های کبدی کاهش داده و کلاسترول اضافی را از طریق افزایش دفع صفراوی آن کاهش می‌دهد (۳۸). به طوری که ترکیب‌های آنتی‌اکسیدانی گیاهی بر بازسازی و ترمیم سلول‌های بتای لوزالمعده مؤثرند (۳۴).

بر اساس گزارش فتحی آزاد و همکاران (۲۰۰۶)، میزان کاهش گلوکز خون به وسیله عصاره برگ گیاه گردو در دوز ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن رت‌ها بیشتر از دوز ۵۰۰ آن می‌باشد، که احتمالاً نشان دهنده وجود رقابت بین دو دسته از ترکیبات افزاینده و کاهنده گلوکز خون در داخل عصاره برگ گیاه می‌باشد، که با افزایش دوز عصاره اثر ترکیبات افزاینده گلوکز خون بر اثرات وابسته به دوز سایر ترکیبات کاهنده گلوکز خون برتری می‌یابد (۱۶). به علاوه نشان داده شده است که تجویز روزانه عصاره متانلی برگ گیاه گردوبه مدت

۲۱ روز موجب کاهش پایدار گلوکز خون و کنترل بهتر آن در بلندمدت می‌شود، که نشان دهنده اثر درمانی عصاره برگ گیاه می‌باشد (۳۵). همچنین نشان داده شده است که برگ‌های گیاه گردو دارای خواص آنتی‌دیابتیک متعددی مانند کاهش گلوکز خون، اصلاح پروفایل لیپیدها و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌باشد (۳۵).

نتیجه‌گیری

این مطالعه نشان داد، یکی از مکانیسم‌های اثر هیپوگلیسمی عصاره برگ گردو، بازسازی و ترمیم جزایر لانگرهانس و به دنبال آن افزایش میزان انسولین است. به این ترتیب، در این تحقیق اثر درمانی عصاره برگ گردو در مادران دیابتی نشان داده شد و با توجه به این که گیاهان دارویی به دلیل نداشتن عوارض جانبی، نسبت به داروهای شیمیایی برتری دارند، این گیاه کاندیدای خوبی برای ساخت دارویی علیه دیابت در مادران باردار در آینده محسوب شود.

تقدیر و تشکر

این مطالعه حاصل پایان نامه دکترای بافت شناسی مقایسه‌ای مصوب دانشگاه شیراز بود. از آقای بهمن مغیثی به دلیل همکاری در انجام این تحقیق تشکر و قدردانی می‌شود.

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. Vermeulen MJ, Shapiro JL. Preconception care of women with diabetes. Diabetes Care 2004; 27: S78- S80. S80 91.
5. 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.
6. Jones CW. Gestational diabetes and its impact on the neonate. Neonatal Network 2001; 20(6): 17-23.
7. Wyngaarden JB, Smite LH. Cecil Textbook of medicine. 16th ed. W.B. Saunders co: Philadelphia; 1982; 1053-71.
8. Harrison TR, Braunwal DE, Wilson JD. Harrison's principles of internal medicine. 15th ed. McGraw Hill: New York; 2000; 2109-42.
9. 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.
10. 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.
11. 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.
12. 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.
13. 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.
14. Gabbe SG, Gregory RP, Power ML, Williams SB, Schulkin J. Management of diabetes mellitus by obstetrician-gynecologists. Obstet Gynecol 2004; 103(6): 1229-34.
15. Falah Hosseini H, Fakhrzadeh 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.
16. Fathiazad F, Garjani A, Motavallian naini A. Study of hypoglycemic activity of the hydroalcoholic extract of *Juglans regia* in normal and diabetic rats. Pharmaceutical Sciences 2006; 2: 13-7.
17. 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.
18. Zargari A. Medical Plants. Tehran: Tehran University Press; 1990; 459.
19. Yeung-Him-Che. Handbook of Chinese Herbs and Formulas. Los Angeles: Institute of Chinese Medicine; 1985; 2- 33.
20. Jones CW. Gestational diabetes and its impact on the neonate. Neonatal Network 2001; 20(6): 17-23
21. 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.
22. Kar A. Comparative evaluation of hypoglycaemic activity of some Indian medicinal plants in alloxan diabetes rats. J – Ethnopharmacol 2003; 84(1): 105-8.
23. 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.
24. Gray AM, Flatt PR. Pancreatic and extrapancreatic of the traditional anti-diabetic plant, *Medicago Sativa* (Lucerne). Br J Nutr 1997; 78: 325 - 34.

25. 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.
26. Guyton AC, Hall JE. *Textbook of medical physiology*. 11th ed. Elsevier Saunders: Philadelphia; 2006; 961-76.
27. 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.
28. Fukuda T, Ito H, Yoshida T. Effect of the walnut polyphenol fraction on oxidative stress in type 2 diabetes mice. *Biofactors* 2004; 21: 251-3.
29. Solar A, Colaric M, Usenik V, Stampar F. Seasonal variations of selected flavonoids, phenolic acids and quinones in annual shoots of common walnut (*Juglans regia* L). *Plant Science* 2006;: 453-61.
30. Li WL, Zheng HC, Bukuru J, De Kimpe N. Natural medicines used in the traditional Chinese medical system for therapy of diabetes mellitid. *Journal of Ethnopharmacology* 2004; 92: 1-21.
31. Nuraliev IN, Avezov GA. The efficacy of quercetin in alloxan diabetes. *EKS Perimentalanaia Klinicheskaia Farmakologia* 1992; 55: 42-4.
32. Namasivayam N. Hypolipidemic effect of *Cuminum cyminum* L. on alloxan-induced diabetic rats. *Pharmacological Research* 2002; 46(3): 251-5.
33. Dhandapani S, Subramanian V, Rajagopal NN. Hypolipidemic effect of *Cuminum cyminum* L. on alloxan-induced diabetic rats. *Pharmacological Research* 2002; 46(3): 251-5.
34. Asgary S, Rahimi P, Madani H, Mahzoni P, Kabiri N. Hypoglycemic effect of extract of *Juglans regia* L. leaves in type 1 diabetic rats Prevention. *J Diabet and Lipid* 2008; 7(4): 363-70.
35. Teimori shaban M, Montaser kohsari Sh, Ghafarzadegan R, Haji rezai R. Antidiabetic Effects of *Juglans regia* Leave's Methanolic Extract . on alloxan-induced diabetic rats. *J Biomed Phar* 2010; 2 (34): 142 –9.

Effects of *Juglans Regia* Leaves Ethanolic Extract on Changes of Spinal Cord Lumbo-Sacral Region in Diabetic Rats Fetus

khaksar Z, Tajali M, Hashemi SS*

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

Received: 30 Apr 2012 Accepted: 25 June 2012

Abstract

Background & aim: Nervous system is one of the organs that suffer from the side-effects of diabetes. This study investigated the effect of *Juglans regia* ethanolic leafextract on lumbo-sacral spinal cord in 18 and 20 days old fetus of diabetic mother rats.

Methods: A total of 16 Sprague Dawley female rats became diabetic by intraperitoneal injection of streptozotocin (50 mg/kg). The animals were randomly divided into four groups. Rats in all groups became pregnant by natural mating. In their first day of pregnancy, they received walnut leaf extract at a dose of 250 mg/ kg. After formation of the nervous system, two fetuses were obtained after anesthezing animals on 18th and 20th gestational days. The animals were euthanized, their birth weight were recorded and the lumbo-sacral spinal cord samples were taken and fixed. Tissue sections were prepared by routine procedures and different histological parameters were examined. Data were analyzed by one-way ANOVA.

Results: Significant decrease in the transverse diameter, vertical diameter, and the number of neurons in the spinal cord gray matter of the spinal cord at days 18 and 20 of pregnancy in the diabetic group compared to other groups was observed ($p \leq 0.05$) and a significant difference in the number of neurons in the spinal cord white matter was observed on day 18 of pregnancy ($p \leq 0.05$).

Conclusion: This study confirmed the ameliorative effects of ethanolic extract of walnut leaves in controlling the metabolic disorders in diabetic pregnancy on the fetus's central nervous system.

Key words: *Juglans regia* leaves, Diabetic, Spinal cord

*Corresponding Author: Hashemi SS, Department of Anatomy, Faculty of Veterinary, Shiraz University, Shiraz, Iran
Email: sara_hashemi@shirazu.ac.ir