

نقش ویتامین E در کاهش بروز اختلالات تکاملی در جنین موش‌های صحرایی دیابتی شده

دکتر ایرج امیری* - دکتر ابراهیم نصیری** - دکتر رضا محمودی***

*استادیار گروه علوم تشریح دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان

**استادیار گروه علوم تشریح دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان

***استادیار گروه علوم تشریح دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج

تاریخ دریافت مقاله: ۸۴/۸/۲۲

تاریخ پذیرش: ۸۵/۳/۸

چکیده

مقدمه: امروزه ثابت شده که هیپرگلیسمی مادری موجب افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و کاهش میزان آنتی‌اکسیدان‌ها در سلول‌های جنینی می‌شود و از این راه به جنین‌های مادران دیابتی آسیب می‌رساند. لذا بنظر می‌رسد که استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها می‌تواند موجب کاهش آثار زیانبار هیپرگلیسمی بر روی جنین شود.

هدف: بررسی نقش ویتامین E در کنترل اختلال تکاملی در جنین موش‌های صحرایی دیابتی.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، موش‌های صحرایی ماده از نژاد Wistar با وزن حدود ۳۰۰-۲۵۰ گرم با تزریق داخل صفاقی ۶۵ mg/kg داروی استرپتوزوتوسین (Streptozotocin, Fluka) دیابتی شدند و همراه گروهی از موش‌های صحرایی سالم برای جفت‌گیری در قفس موش‌های نر قرار داده شدند. سپس آن‌ها را به دو گروه تقسیم کردند. به یک گروه از روز اول حاملگی ۱۵۰ mg/Kg ویتامین E خورانده شد. در روز ۱۳ حاملگی موش‌های صحرایی هر سه گروه کشته شده و جنین‌های آن‌ها جمع‌آوری شده و از نظر تعداد، قد و وجود ناهنجاری‌های ظاهری در نیمکره‌های مغزی نظیر اگزینسالی، باز بودن نوروپورهای قدامی و خلفی لوله عصبی، تشکیل جوانه‌های اندام‌های قدامی، خلفی، پلاک‌های شنوایی و بینایی با استفاده از یک میکروسکوپ استریو مدرج مورد بررسی قرار گرفتند. سپس میانگین و انحراف معیار قد و تعداد جنین‌های بدست آمده و باز جذب شده در گروه‌های مختلف با روش آنالیز واریانس یک طرفه و فراوانی ناهنجاری‌های مختلف در گروه‌های مطالعه با استفاده از آزمون مجذور کا مقایسه شد.

نتایج: شمارش تعداد جنین‌های بدست آمده و باز جذب نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین گروه شاهد با گروه درمانی و گروه دیابتی بود. فراوانی جنین‌های ناهنجار (جنین‌هایی با حداقل یک ناهنجاری قابل تشخیص) در گروه شاهد ۱٪ و در گروه‌های دیابتی و دیابتی-درمانی به ترتیب ۴/۳٪ و ۱۱/۶٪ بود. این امر نشان می‌دهد که تجویز ویتامین E موجب کاهش بروز ناهنجاری در جنین آن‌ها می‌شود بطوریکه از این نظر گروه‌های دیابتی و دیابتی-درمانی اختلاف معنی‌داری با هم ندارند ($P < 0.001$). اگرچه اختلاف هر دو گروه با گروه شاهد معنی‌دار بود ($P < 0.001$).

نتیجه‌گیری: تجویز ویتامین E خوراکی به موش‌های صحرایی دیابتی حامله از مراحل اولیه حاملگی می‌تواند موجب کاهش آثار زیانبار دیابت مادر بر روی جنین شود.

کلید واژه‌ها: جنین/ دیابت شیرین/ رشد جنین/ رویان/ موش‌های صحرایی/ ویتامین‌ای

مقدمه

در فرزندان مادران دیابتی به رغم کنترل هیپرگلیسمی همچنان بطور معنی‌دار بیش از جمعیت سالم است (۱ و ۵). لذا امروزه توجه اغلب محققان به کاستن آثار ناهنجاری‌زایی هیپرگلیسمی با استفاده از روش‌های دیگر متمرکز شده‌است. در مطالعات گزارش شده‌است که استرس‌های اکسیداتیو و رادیکال‌های آزاد نقش بسیار مهمی در ناهنجاری‌زایی دیابت ایفا می‌کنند. زیرا در شرایط دیابتی از یک طرف تولید رادیکال‌های آزاد افزایش می‌یابد و از جانب دیگر تولید آنتی‌اکسیدان‌ها کاهش پیدا

به رغم پیشرفت‌های زیاد در کنترل عوارض دیابت در زنان حامله ریسک تولد نوزادان ناهنجار در آن‌ها همچنان بطور معنی‌داری بیش از جمعیت سالم است (۱ و ۲). مطالعه‌های آزمایشگاهی نیز آثار زیانبار دیابت را بر جنین ثابت است (۳ و ۴). اگرچه نتایج برخی مطالعه‌های نشانگر آن است که کنترل قند خون مادر و جلوگیری از افزایش آن در اوایل دوره حاملگی موجب کاهش فراوانی ناهنجاری‌های جنینی می‌گردد، لیکن تجربه‌های بالینی عملاً نشان داده‌است که فراوانی ناهنجاری‌های مادرزادی

مواد و روش‌ها

این مطالعه تجربی از خرداد ۱۳۸۳ تا مرداد ۱۳۸۴ در دانشکده پزشکی همدان انجام شد، ۳۰ سر موش صحرایی ماده از نژاد Wistar با سن حدود سه ماه و وزن حدود ۲۵۰-۳۰۰ گرم با تزریق داخل صفاقی ۶۵mg/kg استرپتوزوتوسین (Streptozotocin, Fluka) که در بافر سیترات سدیم (PH=۴/۵) حل شده بود دیابتی شدند (۳). ۱۵ سر موش صحرایی سالم نیز به عنوان گروه شاهد انتخاب شدند (به گروه شاهد بافر سیترات سدیم به اندازه داروی تزریق شده به موش‌های صحرایی دیابتی تزریق شد).

این دو گروه در اطاق مخصوص نگهداری حیوانات آزمایشگاهی در شرایط ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شده و با غذای معمولی حیوانات آزمایشگاهی تغذیه شدند.

برای اطمینان از دیابتی شدن موش‌ها، در هفتمین روز پس از تزریق STZ از دادن غذا به آن‌ها خودداری شد و صبح روز بعد، پس از خونگیری از سیاهرگ دمی، میزان قند ناشتا اندازه گیری شد. موش‌های صحرایی با میزان قند ناشتای بیش از ۲۵۰mg/dl دیابتی تلقی شدند (۱۶). پس از شناسایی موش‌های دیابتی (مجموعاً ۲۸ سر) موش‌های غیردیابتی از مطالعه حذف شدند (۲سر). سپس تمامی موش‌های دیابتی و کنترل برای جفت‌گیری در قفس موش‌های نر سالم از همان نژاد قرار گرفتند. صبح روز بعد، از هر کدام از آن‌ها اسمیر واژینال تهیه شد و با مشاهده اسپرم در زیر میکروسکوپ، موش‌هایی که جفت‌گیری کرده بودند را از قفس خارج و در قفس‌های جداگانه نگهداری کردند. روز مشاهده اسمیر واژینال روز صفر حاملگی تلقی شد. از موش‌های صحرایی کنترل ۱۰ سر و از موش‌های صحرایی دیابتی مجموعاً ۱۸ سر جفت‌گیری کرده بودند که به‌طور تصادفی به دو گروه ۹ تایی تقسیم شدند. یک گروه از آن‌ها به عنوان گروه دیابتی و گروه دیگر به عنوان گروه درمانی انتخاب شدند. تعداد

می‌کند. این امر باعث افزایش صدمه ناشی از استرس‌های اکسیداتیو با تضعیف مکانیسم‌های حفاظتی مربوط به آن‌ها می‌شود (۶، ۷، ۸ و ۹). مثلاً در سال ۱۹۹۹ Ornoy و همکاران ثابت کردند که جنین در شرایط دیابتی باعث کاهش فعالیت‌های آنتی‌اکسیدان‌های مهم نظیر سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و کاتالاز (Catalas) و همچنین کاهش غلظت آنتی‌اکسیدان‌های با وزن مولکولی کم (LMWA) نظیر اسید اسکوربیک (ویتامین C) و α -Tochophrol (ویتامین E) در سلول‌های جنینی می‌شود (۱۰).

Eriksson و همکاران نیز با استفاده از الگوهای حیوانی نشان دادند که استفاده از آنزیم‌هایی نظیر β -hydroxybutyrate و α -ketosocaproate که رادیکال‌های آزاد را از محیط جمع‌آوری می‌کنند از آثار مخرب آن‌ها بر جنین جلوگیری می‌کند (۱۱).

همچنین Hagay و همکاران در سال ۱۹۹۵ نشان دادند که آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در موش‌های دیابتی باعث کاهش آثار تراتوژن هیپرگلیسمی می‌شود (۱۲). چنین آثاری برای myo-inositol و اسید آراشیدونیک نیز گزارش شده است (۱۳).

از طرف دیگر در برخی از مطالعات نیز نشان داده شده که استفاده از آنتی‌اکسیدان‌هایی نظیر ویتامین‌های C و E می‌تواند باعث جلوگیری از برخی از عوارض دیابت در بدن شود.

برخی مطالعات بر موش‌های صحرایی باردار دیابتی نیز نشان داده‌اند که ویتامین E تاثیر مهمی در جلوگیری از آثار تراتوژن دیابت بر ساختمان‌هایی دارد که سلول‌های ستیغ عصبی در تکامل آنها مشارکت دارند (نظیر: تیروئید، دیواره‌های قلب و اسکلت سر و صورت) (۱۴ و ۱۵). با توجه به این یافته در این مطالعه بر آن شدیم که آثار ویتامین E را در جلوگیری از اختلال تکاملی ساختمان‌های ظاهری اندام‌های خارجی در حال تکامل جنین موش‌های صحرایی دیابتی بررسی کنیم.

موش‌های قرار گرفته در هر گروه مشابه مطالعات دیگر بود (۳ و ۹).

آنگاه از روز اول حاملگی به موش‌های گروه درمانی روزانه ۱۵۰ mg/Kg ویتامین E (Sigma, α -Tochophrol) با گاوآژ خورانده شد. مقدار ویتامین E بر حسب بررسی مطالعات مشابه (۱۴) تعیین شد. در روز دوازدهم بارداری پس از خوراندن ویتامین E به موش‌های گروه درمانی از دادن غذا به هر سه گروه اجتناب شد و در روز سیزدهم، پس از بیهوشی با اتر و خونگیری از سیاهرگ زیر دمی (برای اندازه‌گیری مجدد قند خون) تمامی آن‌ها با روش نخاعی کردن کشته شده و پس از باز کردن شکم، شاخ‌های رحمی آن‌ها خارج و در داخل یک پتری دیش محتوی سرم فیزیولوژی قرار داده شد. در هر گروه جنین‌های موجود و بازجذب شده (reabsorbed) شمرده و یادداشت شد. سپس به کمک پنس و قیچی رحم‌ها تشریح و جنین‌های موجود از آن‌ها خارج شد و پس از جدا کردن از کیسه زرده و بافت دسیدوایی و جفت، برای تثبیت (Fixation) به محلول بوئن انتقال داده شد.

پس از ۷۲ ساعت، جنین‌های جمع‌آوری شده از هر گروه با استریو میکروسکوپ از نظر ساختمان ظاهری نیمکره‌های مغزی، لوله عصبی، جوانه‌های اندام‌های قدامی و خلفی، پلاک‌های شنوایی و بینایی ارزیابی شدند و آنچه که در این برهه از تکامل متناسب با سن جنین نبود مشخص شده و به عنوان ناهنجار تلقی می‌شد. همچنین با استریو میکروسکوپ مدرج طول سر-دمی جنین‌ها اندازه‌گیری و ثبت شد.

آنالیز آماری: میانگین و انحراف معیار قد و تعداد جنین‌های بدست آمده و بازجذب و قند خون موش‌های صحرایی گروه‌های مختلف با روش ONE WAY ANOVA با نرم افزار SPSS 10 تعیین و با استفاده از آزمون‌های آماری Post Hoc مناسب، اختلاف بین آن‌ها تجزیه و تحلیل شد. در مقایسه میانگین‌ها در صورت همگن بودن واریانس‌ها از تست Tukey استفاده شد. لیکن در واریانس‌های ناهمگن از آزمون‌های NonParametric و تست Kruskal-

wallis و همچنین از تست Tamhanes T₂ برای مقایسه داده‌ها استفاده شد. فراوانی ناهنجاری‌های مختلف در گروه‌های مطالعه نیز با استفاده از آزمون مجذور کا مقایسه شد که اختلاف آن‌ها با $P < 0.05$ معنی دار تلقی شد. ولی در مقایسه دو به دو برای معنی دار بودن اختلاف‌ها $P < 0.02$ در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج میانگین قند خون موش‌های صحرایی مورد مطالعه به همراه میانگین تعداد جنین‌های بدست آمده و بازجذب شده در گروه‌های مختلف در جدول شماره ۱ نشان داده شده است. آنالیز نتایج رت‌ها در سه گروه نشان می‌دهد که استفاده از ویتامین E هیچ تاثیری در کاهش میزان قند خون در موش‌های صحرایی دیابتی ندارد و از این نظر هیچ اختلاف معنی‌داری بین گروه دیابتی و گروه درمانی دیده نمی‌شود. در حالی که اختلاف بین گروه‌های دیابتی و دیابتی-درمانی با گروه شاهد معنی دار بود.

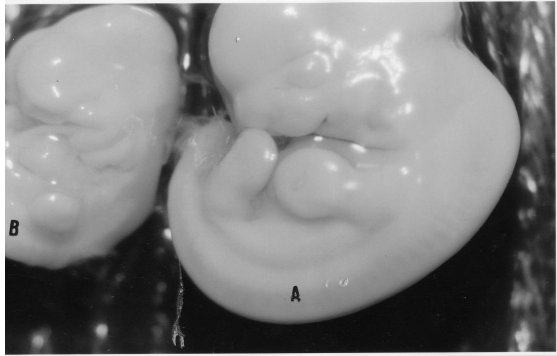
جدول ۱: تعداد کل موش‌های صحرایی مورد مطالعه در گروه‌های مختلف و میانگین تعداد جنین‌های بدست آمده و بازجذب شده.

گروه‌های مطالعه	تعداد رت‌ها	میانگین و انحراف معیار قند خون (g/ds)	میانگین و انحراف معیار تعداد جنین‌های بدست آمده	میانگین و انحراف معیار تعداد جنین‌های بازجذب شده
شاهد	۱۰	۹۴/۳ (±۵/۶۷)	۱۰/۵ (±۱/۴۳)	۰/۳ (±۰/۶۷)
دیابتی	۹	۳۴۰ (±۱۳/۳۷)	۵/۷۷ (±۱/۲)	۲/۴۴ (±۱/۱۰)
دیابتی‌درمانی	۹	۳۳۸ (±۸/۳۸)	۶/۴۴ (±۲/۴۵)	۲ (±۰/۸۶)

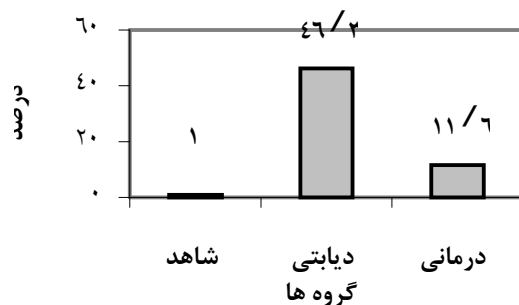
نتایج شمارش جنین‌های بدست آمده نشان داد که تعداد جنین‌های متعلق به گروه‌های دیابتی و درمانی به طور معنی‌دار از گروه شاهد کمتر است ($P < 0.001$). در حالی که از این نظر اختلاف بین گروه درمانی و گروه دیابتی معنی‌دار نبود که نشان می‌دهد تجویز ویتامین E به موش‌های صحرایی دیابتی هیچ تاثیری در تعداد جنین‌های بدست آمده از آن‌ها ندارد.

از طرف دیگر آنالیز نتایج بدست آمده در مورد تعداد جنین‌های باز جذب شده نیز نشان داد که تعداد آن‌ها در

تجویز ویتامین E موجب کاهش بروز ناهنجاری‌ها در جنین‌های آن‌ها می‌شود. به طوری که از این نظر گروه‌های دیابتی و درمانی اختلاف معنی‌داری با هم دارند ($P<0.001$)؛ اگرچه اختلاف هر دو گروه با گروه شاهد نیز معنی دار است ($P<0.001$).



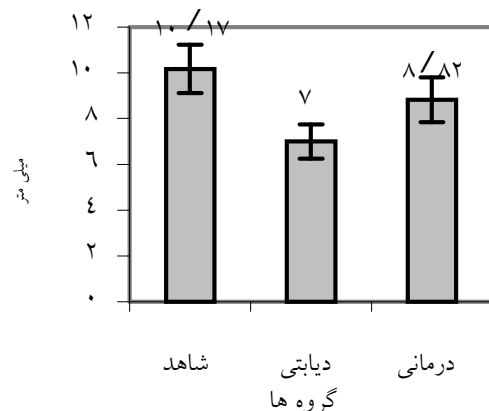
شکل ۱: تصویر دو جنین از گروه‌های درمانی (A) و دیابتی (B). همان‌طور که در شکل مشاهده می‌شود جنین گروه درمانی که تحت تاثیر ویتامین E قرار گرفته است از نظر طول سری-دمی نسب به گروه دیابتی رشد قابل توجهی یافته است. از نظر رشد حباب‌های مغزی و صورت و همچنین تشکیل جوانه‌های اندام‌ها قدامی و خلفی و پلاک‌های گوش و چشمی تفاوت چشمگیری بین این دو جنین دیده می‌شود.



نمودار ۲: مقایسه فراوانی جنین‌های ناهنجار ۱۳ روزه در گروه‌های مختلف مطالعه. همان‌طور که مشاهده می‌شود از این نظر اختلاف معنی‌داری بین گروه شاهد با گروه‌های دیابتی ($P<0.001$) و درمانی ($P<0.004$) مشاهده می‌شود. همچنین بین گروه دیابتی و دیابتی-درمانی نیز اختلاف معنی دار می‌باشد ($P<0.001$).

گروه شاهد $0.73 (\pm 0.77)$ و در گروه‌های دیابتی و درمانی به ترتیب $2.44 (\pm 1.10)$ و $2.08 (\pm 0.86)$ بود که از این نظر هر دو گروه با گروه شاهد اختلاف معنی دار داشتند، در حالی که اختلاف بین خود آن‌ها معنی دار نبود.

نتایج آنالیز یافته‌های مربوطه به اندازه‌گیری طول سری - دمی (Crown-Rump) و ارزیابی مورفولوژی آن‌ها نشان داد که طول سری دمی جنین‌های گروه دیابتی به طور معنی دار از گروه شاهد کمتر بود در حالی که در گروه دیابتی که ویتامین E دریافت نمودند طول سری-دمی نسبت به گروه دیابتی بطور معنی دار افزایش نشان می‌داد (نمودار ۱)، اگرچه اختلاف آن با گروه شاهد نیز معنی دار بود ($P<0.001$).



نمودار ۱: نمودار میانگین فاصله سری-دمی (Crown-Rump length) در جنین‌های ۱۳ روزه گروه‌های مختلف. همان‌طور که مشاهده می‌شود از این نظر اختلاف معنی داری بین گروه شاهد با دو گروه دیگر مشاهده می‌شود ($P<0.001$). همچنین بین گروه دیابتی و دیابتی-درمانی نیز اختلاف معنی دار می‌باشد ($P<0.001$).

از نظر فراوانی جنین‌های ناهنجار یعنی جنین‌هایی که در استریو میکروسکوپ حداقل یک ناهنجاری قابل تشخیص داشتند (شکل ۱) نیز اختلاف بین گروه‌های مورد مطالعه معنی دار بود (نمودار ۲). برحسب نمودار فراوانی جنین‌های ناهنجار در گروه شاهد ۱٪ و در گروه‌های دیابتی و دیابتی-درمانی به ترتیب ۴۶٪ و ۱۱٪ بود. این امر نشان می‌دهد که در موش‌های صحرایی دیابتی حامله

بحث و نتیجه گیری

در سال‌های اخیر مطالعات مختلف *In vitro* و *In vivo* نشان داده است که در شرایط رادیکال‌های آزاد اکسیژن نقشی فعال در آسیب سلول‌های جنینی دارند، به طوری که هیپرگلیسمی از یک طرف تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن را افزایش می‌دهد و از طرف دیگر باعث کاهش تولید آنتی اکسیدان‌ها در سلول‌ها می‌شود و با تضعیف مکانیسم‌های حفاظتی مربوط به آنها صدمه ناشی از استرس‌های اکسیداتیو را افزایش می‌دهد (۷ و ۸). همچنین نشان داده شده در شرایط هیپرگلیسمی در سلول‌های جنینی غلظت آنتی اکسیدان‌هایی نظیر اسیداسکوربیک و ویتامین E به طور معنی‌دار کاهش می‌یابد (۱۰).

نتایج این مطالعه نیز مانند یافته‌های محققان دیگر (۲ و ۳) نشان می‌دهد که هیپرگلیسمی موجب کاهش معنی‌دار تعداد جنین‌های موش‌های صحرایی دیابتی و افزایش جنین‌های بازجذب شده نسبت به گروه شاهد (سالم) می‌شود. از طرفی مقایسه آماری فاصله سری-دمی (CR) جنین‌ها در گروه‌های مختلف نشان می‌دهد که تجویز ویتامین E به موش‌های صحرایی دیابتی حامله موجب افزایش طول سری دمی (Crown-Rump) جنین‌های آنها می‌شود به طوری که میانگین طول سری دمی جنین‌ها در گروه‌های دیابتی و درمانی اختلاف معنی‌داری با هم دارند. اگرچه میانگین این طول در جنین‌های گروه درمانی هیچ‌گاه به میانگین طول گروه شاهد نمی‌رسد و از این نظر بین گروه‌های درمانی و شاهد نیز اختلاف معنی‌دار است. برحسب یافته‌های این مطالعه آثار مخرب هیپرگلیسمی مادر بر جنین تنها سبب تاخیر در رشد آن نمی‌شود بلکه موجب بروز ناهنجاری‌های شدید از قبیل اگزانسفالی، باز بودن نوروپور قدامی و نواقص اندام‌های خلفی و تاخیر در تکامل پلاک‌های چشمی و گوش‌ی نیز می‌شود. اگرچه نتایج این مطالعه تقریباً مشابه یافته‌های

محققان دیگر است ولی از نظر میزان بروز ناهنجاری‌ها در موش‌های صحرایی دیابتی، تفاوت‌هایی با یافته‌های دیگران (۱۴، ۱۵، ۱۶ و ۱۷) دیده می‌شود که علت عمدتاً ناشی از اختلاف در نژاد (موش‌های صحرایی) مورد مطالعه است زیرا در بررسی‌های کشورهای مختلف از موش‌هایی با نژادهای مختلف استفاده شده و آمار ارائه شده هر کدام از آن‌ها کاملاً با هم تفاوت دارد که مورد توافق اکثر محققان نیز هست (۱۴).

از طرف دیگر نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که استفاده از ویتامین E به عنوان یک آنتی اکسیدان خوراکی می‌تواند تا اندازه‌ای موجب کاهش آثار تراژون هیپرگلیسمی در جنین‌های موش‌های صحرایی دیابتی شود ولی کاملاً آن را خنثی نمی‌کند. این مسأله نشان‌دهنده آن است که برخی از عواملی که در شرایط دیابتی به جنین آسیب می‌رسانند احتمالاً ناشی از رادیکال‌های آزاد نباشند و به این ترتیب با استفاده از آنتی اکسیدان‌ها نیز قابل جلوگیری نیستند.

نتایج مطالعه ما قابل مقایسه با بررسی‌های دیگری است که نشان داده‌اند استفاده از آنتی اکسیدان‌هایی نظیر ویتامین‌های E و C موجب کاهش اثرات توکسیک هیپرگلیسمی می‌شود؛ لیکن همانند مطالعات دیگر نشان می‌دهد که استفاده از یک آنتی اکسیدان به تنهایی نمی‌تواند اثرات تراژونی دیابت را به طور کامل خنثی کند. در توجیه این امر می‌توان گفت که بروز ناهنجاری‌ها در جنین مادران دیابتی ناشی از فاکتورهای ساده‌ای که به سادگی قابل تشخیص و کنترل باشند نیست بلکه احتمالاً تحت تأثیر میانکنش‌های پیچیده‌تری بین عوامل متعدد باشند. لذا به نظر می‌رسد که برای کنترل کامل آثار ناهنجاری‌زای دیابت می‌بایست از مخلوطی از مواد و آنتی اکسیدان‌های مختلف نظیر اسید اسکوربیک، اسید آراشیدونیک، سوپراکسید دیسموتاز، Myo-inositol و آنتی اکسیدان‌ها بویژه ویتامین‌های E و C و مواد دیگر استفاده نمود.

1. Mills JL, Knopp RH, Simpson JL, Jovanovic - Peterson L. Lack of Relation of Increased Malformation Rates in Infants of Diabetic Mother to Glycemic Control During Organogenesis. *New. Eng JMed* 1998; 318:671-676.
2. Lea RG, Richard G, McCrecken JE. Disturbed Development of the Preimplantation Embryos in the Insulin-Dependent Diabetic BB/E Rats. *Diabetes* 1996;45(11): 1463-1470.
3. Wercheval M, Hertogh R. Experimented Diabetes Impairs Rat Embryo Development During the Preimplantation Period. *Diabetologia* 1990; 33:187-191.
- 4-Pamfer P, Hertogh R, Vanderhyden I. Decreased Inner cell mass proportion in Blastocyst from Diabetic Rats. *Diabetes* 1990;39:471-976.
- 5.Fuhrmann K, Reiher H, Semmler K. Prevention of Congenital Malformations in Infants of Insulin-Dependent Diabetic Mothers. *Diabetes Care* 1983; 6:219-223.
- 6.Peiro C, Lafunte N, Matesanz N. High Glucosis Induces Cell Death of Cultured Human Aortic Smooth Cells Through the Formation of Hydrogen Peroxide. *BvJ Pharmacology* 2001; 133(7): 967-974.
- 7.Ornoy A, Kimyagarov D, Yaffee P, Abir R. Role of Reactive Oxygen Species in Diabetic Induced Embryotoxicity: Studies on Pre-implantation Mouse Embryos. Cultured in Serum Diabetic Pregnant Women *IsrJ Med Sci* 1996; 32(11):1066-1073(abstract).
- 8.Lingjie Zhao. Effects of Free Radicals in Diabetes. *Free Radical Bio Med* 2001; 77: 222-244.
- 9.Debora Donnini, Anna Maria Zambito, et al. Glucose May Induces Cell Death Through a Free Radical-mediated. *Mechanism Bioch And Bioph Res Com*, 1996; 219: 412-417.
- 10.Ornoy A, Zaken V, Kohen R. Role of ROS in the Diabetes-Induced Anomalies in Rat Embryos in Vitro: Reducing in Antioxidant Enzymes and Low-Molecular-Weight Antioxidants (LMWA) May be a Causational Factor for Increased Anomalies. *Teratology* 1999; 60(6): 376-386.
- 11.Eriksson UJ, Borg L. Diabetes and Embryonic Malformations: Role of Substrate-induced Free Oxygen Radical Production for Dymorphogenesis in Cultured Rat Embryos *Diabetes*, 1993; 42: 411-419.
- 12.Hagay ZJ, Weiss Y, Zusman I, Peled-Kamar M, Reece E, Eriksson UJ. Prevention of Diabetes-Associated Embryopathy by Overexpression of the Free Radical Scavenger Copper Zinc Superoxide Dismutase in Transgenic Mouse Embryos. *Am J Obstet Gynecol* 1995;173:1036-1041.
- 13.Akashi M ,Akazawa M ,Akazawa S.Effects of Insulin and Myo-inositol on Embryo Growth and Development During Early Organogenesis in Streptozotocin-induced Diabetic Rats. *Diabetes* 1999;40:1574-1579.
- 14.Siman CM, Eriksson UJ. Vitamin E Decreases the Occurrence of Malformation in the Offspring of Diabetic Rats. *Diabetes* 1997; 46(6): 1054-1061.
- 15.Siman CM, Adriana C ,Gittenberger-DE G ,Wisse B. Malformations in Offspring of Diabetic Rats:Morphometric Analysis of Neural Crest Driven Organs and Effects Of Maternal Vitamin E Treatment. *Teratology* 2000; 61:355-367.
- 16.Reece EA , Ying-king Wu.Prevention of Diabetic Embryopathy in Offspring of Diabetic Rats with Use of a Cocktail of Deficient Substrates and an Antioxidant. *Am J Obstet Gynecol* 1997;176(4):790-798.
17. Chan BW, Chan KS, Koide T, Yeung SM, Maran BW, Leung AJ, et al. Maternal Diabetes Increases the Risk of Caudal Regression Caused by Retinoic Acid. *Diabetes* 2002; 51:2811-2816.

The effect of Vitamin E in Prevention of Developmental Defects of Diabetic Rats Embryos

Amiri I.(Ph.D), Nasiri E.(Ph.D), Mahmodi R.(Ph.D)

Abstract

Introduction: Now days it is proven that maternal hyperglycemia increases production of free radicals and decreases antioxidants in the embryonic cells and through this it injures the embryos of diabetic mothers. Therefore it seems that use of antioxidants can decrease deleterious effects of hyperglycemia on embryos.

Objective: This study aims to investigate the effect of vitamin E in control of embryonic developmental disorders in diabetic rats.

Materials and Methods: In this experimental study, diabetes was induced by intraperitoneal injection of 65-mg/kg streptozotocin in Wister female rats with 250-300g weights and was placed with healthy male rats in the same cage for mating. Then they were divided into two groups. One group received 150mg/kg Vitamin E per day from the first day of pregnancy. Animals were killed on day 13 of gestation and embryos were collected and examined for number, size and incidence of malformations in cerebral hemispheres, cranial and caudal neuropors, upper and lower limb buds, otic and lens placodes using an stereomicroscope. Then, One Way ANOVA compared the means of length, number of reabsorbed and achieved embryos in three groups. The incidences of malformations in the groups were compared by Chi-Square test.

Results: Findings show a significant difference between control group and experimental diabetic group when achieved and reabsorbed embryos counted. Frequencies of malformed embryos (at least one diagnosed malformation) in control group were 1% and in diabetic and treated diabetic groups were 46.3% and 11.6% respectively. Result showed that the incidence of embryonic malformation significantly decreased in diabetic rates, that received vitamin E and there was a significant difference in diabetes and treated diabetic groups ($P<0.001$).

Conclusion: The results shows that Vitamin E supplementation in early stages of pregnancy in diabetic mothers can prevent deleterious effects of diabetes.

Kay words: Diabetes Mellitus/ Embryo/ Fetal Development/ Fetus/ Rats/ Vitamin E