



Research Article

Morphometric and Histological Study of the Kidney of Offspring of Diabetic Mothers Treated with Insulin

Sahar Khalvati¹ , Tahereh Foroutan^{1*} , Madjid Momeni- Moghaddam² , Toktam Hajjar²

¹ Department of Animal Biology, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran

² Department of Biology, Hakim Sabzevari University, Sabzevar, Iran

* **Corresponding author:** Tahereh Foroutan, Department of Animal Biology, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran. Email: tataforoutan@gmail.com

DOI: [10.61186/jams.28.1.68](https://doi.org/10.61186/jams.28.1.68)

How to Cite this Article:

Khalvati S, Foroutan T, Momeni-Moghaddam M, Toktam H. Morphometric and Histological Study of the Kidney of Offspring of Diabetic Mothers Treated with Insulin. *J Arak Uni Med Sci.* 2025;28(1): 68-77. DOI: [10.61186/jams.28.1.68](https://doi.org/10.61186/jams.28.1.68)

Received: 14.06.2024

Accepted: 30.01.2025

Keywords:

Pregnancy;
Diabetes;
Insulin;
Kidney.

© 2024 Arak University of Medical Sciences

Abstract

Introduction: This study aimed to investigate the effects of insulin drug therapy on the kidney structure of offspring of insulin-treated diabetic mice.

Methods: After pregnancy, female Sprague-Dawley rats were divided into control, sham, diabetics induced by streptozotocin, and diabetics receiving insulin groups. Diabetic rat offspring were sacrificed on the 10th day after natural childbirth, and the left kidneys were studied for morphometric and histological studies.

Results: The weight of children of diabetic mothers showed a significant decrease compared to children of healthy mothers ($P < 0.001$). The weight of the offspring of diabetic mothers receiving insulin did not show a substantial change compared to the offspring of diabetic mothers. The weight of the kidneys of the offspring of diabetic mothers showed a significant decrease compared to the control group. However, the weight of the kidneys of the offspring of diabetic mothers receiving insulin did not increase compared to those of diabetic mothers. The results of the kidney sections stained with hematoxylin-eosin and trichrome Masson showed that the offspring of diabetic mothers treated with insulin did not show a significant improvement compared to the control group.

Conclusions: Although the use of insulin is one of the momentous therapeutic ways to control blood glucose in diabetics, it cannot significantly lead to the normal health of the kidneys of the offspring of diabetic mothers under insulin treatment.

مطالعه ریخت‌سنجی و بافت‌شناسی کلیه زاده‌های مادران دیابتی تحت درمان با انسولین

سحر خلوتی^۱ ID، طاهره فروتن^۱ ID، مجید مومنی مقدم^۲ ID، تکتّم حجار^۲

^۱ گروه زیست‌شناسی جانوری، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران

^۲ گروه زیست‌شناسی، دانشگاه حکیم سبزواری، سبزوار، ایران

* نویسنده مسئول: طاهره فروتن، گروه زیست‌شناسی جانوری، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران.

ایمیل: tataforoutan@gmail.com

DOI: 10.61186/jams.28.1.68

چکیده	تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۳/۲۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۱/۱۱
مقدمه: دیابت، اپیدمی عمده در قرن حاضر است که ابتلا به آن به سرعت در حال افزایش بوده و اثرات تراتوژنیک آن در فرزندان مادران مبتلا به دیابت، به طور معنی‌داری بالا است. از جمله این اثرات، ناهنجاری‌های مادرزادی کلیه و مجاری ادراری در فرزندان می‌باشد. در واقع افزایش قند خون در دوران بارداری، رشد کلیه‌ها را مختل کرده و منجر به ناهنجاری این اندام می‌شود. این پژوهش با هدف بررسی اثرات دارو درمانی انسولین بر ساختار کلیه‌های زاده‌های موش‌های دیابتی تحت درمان بارداری فوق انجام شد. روش کار: در این مطالعه پس از بارداری، موش‌های اسپراگ داولی به سه گروه شاهد، دیابتی و دیابتی دریافت‌کننده انسولین تقسیم شدند. القای دیابت توسط تزریق داروی استرپتوزوتوسین صورت گرفت. زاده‌های موش‌های دیابتی پس از زایمان طبیعی، در روز دهم، قربانی شدند و کلیه چپ آنها جهت مطالعات مورفومتر و بافت‌شناسی مورد مطالعه قرار گرفتند. یافته‌ها: وزن زاده‌های مادران مبتلا به دیابت نسبت به زاده‌های مادران سالم کاهش معنی‌داری را نشان داد ($P < ۰/۰۰۱$). وزن زاده‌های مادران مبتلا به دیابت دریافت‌کننده انسولین تغییر معنی‌داری نسبت به زاده‌های مادران مبتلا به دیابت نشان نداد. وزن کلیه زاده‌های مادران مبتلا به دیابت نیز نسبت به گروه شاهد، کاهش نشان داد اما دریافت انسولین توسط مادران مبتلا به دیابت سبب افزایش وزن کلیه زاده‌های آنها نسبت به زاده‌های مادران مبتلا به دیابت نشد. نتایج برش‌های بافتی رنگ‌آمیزی شده با هماتوکسیلین-اوتوزین و تری کروماتون نیز نشان داد که درمان مادران مبتلا به دیابت توسط انسولین تأثیر بارزی در بهبود بافتی کلیه زاده‌های آنها نسبت به گروه شاهد نمی‌گردد. نتیجه‌گیری: اگرچه استفاده از انسولین از راه‌های درمانی مهم در کنترل قندخون افراد مبتلا به دیابت می‌باشد اما نمی‌تواند به طور معنی‌داری منجر به بهبود شرایط جسمی و سلامت کلیه‌های زاده‌های مادران مبتلا به دیابت تحت درمان انسولین گردد.	واژگان کلیدی: بارداری؛ دیابت؛ انسولین؛ کلیه تمامی حقوق نشر برای دانشگاه علوم پزشکی اراک محفوظ است.
ارجاع: خلوتی سحر، فروتن طاهره، مومنی مقدم مجید، حجار تکتّم. مطالعه ریخت‌سنجی و بافت‌شناسی کلیه زاده‌های مادران دیابتی تحت درمان با انسولین. مجله دانشگاه علوم پزشکی اراک ۱۴۰۴؛ ۲۸ (۱): ۶۸ - ۷۷.	

مقدمه

دیابت، یک اپیدمی عمده در قرن حاضر بوده و بروز آن به سرعت در حال افزایش است بطوری که یکی از ۱۰ علت اصلی مرگ و میر در بزرگسالان است. دیابت، یک بیماری خودایمنی مزمن است و بیماری‌زایی آن شامل تخریب سلول‌های بتا (β) با واسطه سلول‌های T است که با کمبود انسولین به دلیل از دست دادن سلول‌های بتای پانکراس و هایپرگلیسمی ناشی از آن مشخص می‌شود (۱).

تحقیقات اخیر علاوه بر ژنتیک، عوامل خطر رفتاری و سبک زندگی بر شناسایی مشارکت مکانیسم‌های اپی‌ژنتیک و تأثیر محیط داخل رحمی متمرکز شده است. از طرفی طبق مطالعات صورت گرفته اثرات تراتوژنیک در فرزندان مادران مبتلا به دیابت، به طور معنی‌داری، بیش از مادران سالم دیده می‌شود (۲). نوزادان مادران مبتلا به دیابت، به طور قابل توجهی

بیشتر در معرض خطر سقط خود به خودی، تولد نوزاد مرده، ناهنجاری‌های مادرزادی، بیماری و مرگ و میر در حین زایمان قرار دارند (۳). این ناهنجاری‌ها در نتیجه نقص رشد در اوایل اندام‌زایی رخ می‌دهد (۴). فرزندان متولد شده از مادران با هر نوع دیابت در بارداری، ۵۰ درصد افزایش خطر ناهنجاری‌های مادرزادی کلیه و مجاری ادراری را در مقایسه با فرزندان مادران فاقد دیابت دارند (۵) و افزایش تحویل گلوکز و کتون‌ها به جنین در دوران بارداری دیابتی، مسئول اندام‌زایی ناقص و همچنین سایر اختلالات رشد جنین (۶).

نشان داده شده است که قرار گرفتن در معرض هایپرگلیسمی ناشی از دیابت در رحم، باعث اختلال در نفروژنز در موش و منجر به کاهش تعداد نفرون می‌شود. این کمبود نفرون می‌تواند یک عامل خطر برای ایجاد بیماری مزمن کلیه و فشارخون بالا در بزرگسالی باشد (۷).

۲۵۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر (mg/dl) باشد برای فرایند جفت‌گیری در نظر گرفته می‌شوند.

بعد از جفت‌گیری موش‌های ماده دیابتی شده و برآورد اولین روز بارداری، از روز ۱۱ تا ۲۰ بارداری به مدت ۱۰ روز دارودرمانی در زمان مشخص انجام می‌شود. مقدار ۱۴ IU بر کیلوگرم از داروی انسولین را بعد از رقیق سازی با نرمال‌سالین ۰/۹ درصد، به صورت داخلی صفاقی به موش‌ها تزریق می‌شود.

گروه‌های مورد مطالعه در این پژوهش به صورت تصادفی به ۴ گروه شاهد، شاهد، بیمار دیابتی و سرانجام گروه تحت درمان دارویی تقسیم می‌شوند. در هر گروه ۳ مادر به شرح زیر گروه‌بندی شدند:

- گروه شاهد: به عنوان گروه سالم در نظر گرفته می‌شوند.
- گروه شاهد انسولینی (I): موش‌های سالمی که به میزان ۱۴ واحد (IU۱۴) بر کیلوگرم داروی انسولین دریافت می‌کند.
- گروه دیابتی (D): ۲ دوز ۵۰ mg/kg القا کننده دیابت STZ به صورت تزریق داخل صفاقی دریافت کردند.

• گروه دیابتی دریافت‌کننده داروی انسولین (DI): در این گروه، موش‌های دیابتی شده، به میزان ۱۴ واحد بر کیلوگرم انسولین را در روزهای ۱۱ تا ۲۰ بارداری به صورت داخل صفاقی دریافت کردند.

• در طی بارداری با وجود تناسب تغذیه‌ای در همه گروه‌ها، وزن مادران در روزهای ۱، ۶، ۱۰، ۱۵، ۱۹ و ۲۱ توسط ترازو اندازه‌گیری شده و همچنین میزان قند خون به صورت ناشتا نیز در روزهای ۴، ۸، ۱۲، ۱۶ و ۲۰، توسط دستگاه گلوکومتر اندازه‌گیری می‌شوند.

پس از زایمان، زاده‌ها از تغذیه شیردهی مادر استفاده کرده تا طی ۷-۸ روز (۲۶) دوره نفروژنز خود را کامل کنند. زاده‌ها در روز دهم پس از تولد، با پنبه آغشته به کلروفرم بیهوش شدند. سپس با باز نمودن ناحیه شکمی و خارج کردن کلیه‌ها، کلیه‌های راست برای مطالعات بافت‌شناسی پس از شستشو در سرم فیزیولوژی ۰/۹ درصد، در فرمالین ۱۰ درصد و سپس طی حداکثر ۲۴ ساعت، در الکل ۷۰ درصد، درون یخچال نگهداری شدند.

جهت بررسی‌های بافت‌شناسی نمونه‌های کلیوی که در الکل ۷۰ درصد فیکس شده بودند، طبق دستورالعمل استاندارد مراحل پردازش بافتی (آبگیری، شفاف‌سازی و نفوذدهی پارافین)، قالب‌گیری، برش‌برداری را طی کرده و اسلایدهای بافتی تهیه شده به روش هماتوکسیلین-آئوزین رنگ‌آمیزی شدند. در ادامه همچنین رنگ‌آمیزی تری کروم ماسون جهت مشاهده رشته‌های کلاژن در بافت‌ها انجام شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نسخه ۱۰.۲.۳ نرم‌افزار GraphPad Prism انجام شد. تست ANOVA برای مقایسه اختلافات بین گروه‌ها انجام شد. نتایج به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار ارائه شده و $P < 0/05$ به عنوان معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

وزن مادران در طول بارداری:

پس از جفت‌گیری و شروع دوره بارداری، وزن مادران در طی ۶ روز اندازه‌گیری شد. مادران گروه شاهد، طبق یک روند عادی دارای افزایش وزن معنی‌دار روز ۲۱ نسبت به روز اول بارداری می‌باشد ($P < 0/01$) (نمودار ۱).

داده‌های فوق به وضوح نقش تراژونیک را برای گلوکز در نظر می‌گیرند. تشخیص و مدیریت قبل از تولد دیابت در دوران بارداری و کنترل دقیق قند خون مادر در دوران بارداری، باعث کاهش عوارض و مرگ و میر نوزادان می‌شود (۳).

از طرفی ماتریکس خارج سلولی مسئول نگهداری فیزیکی همه سلول‌ها است و در بسیاری از فرایندهای سلولی از جمله تکثیر سلولی، تمایز و مهاجرت نقش دارد و بر فعالیت و پاسخ‌های سلولی تأثیر می‌گذارد. گلوکز بالای محیطی ممکن است برخی اجزای ماتریکس خارج سلولی از جمله رشته‌های کلاژن را تغییر دهد و بنابراین منجر به بدشکلی شود در حال حاضر انسولین به یکی از مؤثرترین عوامل دارویی مورد استفاده برای درمان دیابت نوع ۱ و ۲ تبدیل شده است (۸). انسولین پاسخ‌های سلولی مختلفی را القا می‌کند و گرچه نمی‌تواند از جفت عبور کند اما می‌تواند به گیرنده اختصاصی خود در غشای تروفوبلاست متصل شود و مسیرهای سیگنال‌دهی این هورمون را فعال کند. درمان دیابت با انسولین به عنوان یک روش استاندارد برای حفظ کنترل قند خون در نزدیکی محدوده طبیعی در نظر گرفته شده است.

در این مطالعه بر آن شدیم تا با هدف کاهش ناهنجاری‌های کلیوی در فرزندان مادران دیابتی، اثرات احتمالی ناشی از دیابت مادر بر کلیه زاده‌ها بدنبال درمان با انسولین را به عنوان داروی تعدیل‌کننده دیابت مورد مطالعه قرار دهیم.

روش کار

مطالعه تجربی حاضر پس از دریافت کد اخلاق (IR.KHU.REC. 1401. 040) از کمیته اخلاق دانشگاه خوارزمی انجام شد. مراحل کار به شرح زیر است:

در این پژوهش موش‌های صحرایی ماده نژاد اسپراگ داوولی (Sprague-Dawley) در سن باروری ۱۰ تا ۱۲ هفته با وزن ۱۵۰-۲۰۰ گرم تهیه و در شرایط دمایی (۲۲-۲۵ °C) و رطوبت استاندارد (۶۰-۴۰ درصد) با چرخه تاریکی-روشنایی ۱۲ ساعت نگهداری شد. یک هفته قبل از آغاز مطالعه، حیوانات به اتاق جانوران منتقل شده تا سازگاری لازم در محیط آزمایشگاه را بدست آورند.

آنتی‌بیوتیک استرپتوزوتوسین (STZ (Streptozotocin که باعث تخریب و نکروز سلول‌های بتا جزایر پانکراس می‌شود به طور گسترده به صورت تجربی برای تولید مدل دیابت نوع ۱ استفاده می‌شود. میزان این دارو طی آزمون و خطا، به صورت ۲ دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (mg/kg) به فاصله ۲۴ ساعت جهت ایجاد دیابت نوع ۱ بدست آمد. پس از مخلوط دارو با نرمال‌سالین میکروتیوب‌های حاوی STZ در طی تمام مراحل باید در ظرف حاوی یخ حمل شود و سپس توسط سرنگ انسولین به موش ناشتا به صورت داخل صفاقی تزریق شود. موش‌ها باید ۶ تا ۸ ساعت قبل از تزریق ناشتا باشند.

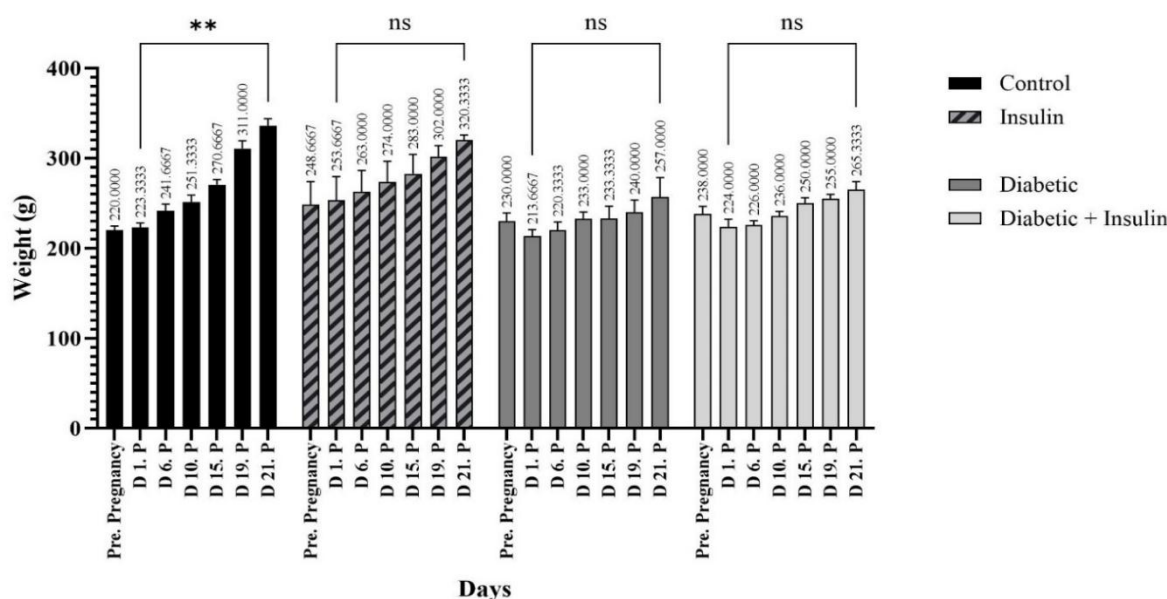
پس از ۷۲ ساعت جهت سنجش قند خون دیابتی، موش صحرایی ۶ تا ۸ ساعت، ناشتا بوده و از طریق برش کوچکی از انتهای دم و خروج یک قطره خون، اندازه‌گیری قند خون توسط دستگاه گلوکومتر انجام می‌شود. رت‌هایی که دیابتی و هایپرگلیسمی شده‌اند و مقدار گلوکز آنها بیش از

بوده و گاهی افزایش قند خون ممکن است به علت تنش‌های ایجاد شده در زمان سنجش قند خون باشد. در گروه شاهد انسولینی نیز قند خون کاهش نیافته و هیپوگلیسمی اتفاق نیفتاد که نشان داد، این دوز می‌تواند فاقد اثرات نوسان در قند خون مادران باشد زیرا نوسان قند خون منجر به ایجاد عوارض می‌شود. در گروه بیمار مبتلا به دیابت، قند خون پس از تزریق STZ بسیار افزایش داشته و در طی روند بارداری نیز نوسان در مقدار آن مشاهده می‌شود. در گروه تحت درمان با انسولین از روز یازدهم که درمان با انسولین صورت گرفته است، میزان قند خون تا روز آخر کاهش داشت که نشان می‌دهد، این دوز از داروی انتخابی سبب کاهش نسبی قند مادر شده است اما نه به اندازه قند خون گروه شاهد.

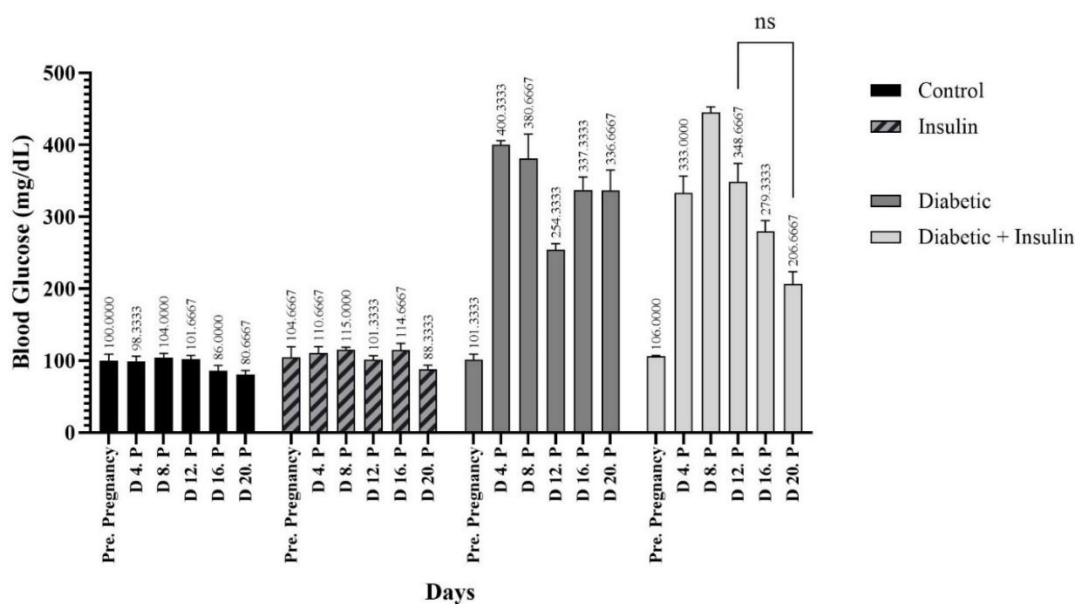
در گروه شاهد، این روند رشدی مادران با سرعت کمتر بود که می‌تواند به دلیل کاهش تعداد زاده‌ها در مادران دریافت‌کننده انسولین باشد که خود سبب کاهش روند افزایش وزن نسبت به گروه شاهد می‌شود. در گروه‌های دیابتی پس از دریافت STZ و روند دیابتی شدن، کاهش وزن در میزان وزن اتفاق افتاد و روند افزایش وزن‌ها هم در گروه دیابتی و هم در گروه دیابتی تحت درمان با انسولین معنی‌دار نبوده که می‌تواند ناشی از کاهش تعداد زاده و همچنین کاهش وزن زاده‌ها به علت دیابت مادری باشد.

قند خون مادران در طول بارداری:

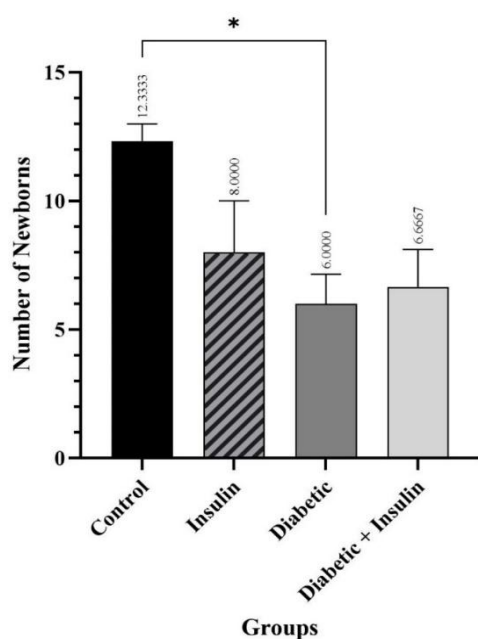
همچنین در طی دوره بارداری، میزان قند خون مادران هم در طی ۵ روز اندازه‌گیری شد (نمودار ۲). روند تغییر قند خون در گروه نرمال ثلث



نمودار ۱. وزن رت‌های مادر سالم، مبتلا به دیابت و دیابتی دریافت‌کننده انسولین در طی بارداری



نمودار ۲. قند خون رت‌های مادر سالم، مبتلا به دیابت و دیابتی دریافت‌کننده انسولین در طی بارداری



نمودار ۴. تعداد زاده‌های حاصل از رت‌های مادر سالم، مبتلا به دیابت و دیابتی دریافت‌کننده انسولین

وزن کلیه‌های زاده‌ها در روز دهم:

در نهایت وزن کلیه‌ها هم متناسب با تمام داده‌های دریافتی از اندازه‌گیری‌های قبلی، در گروه شاهد و گروه شاهد انسولین به نسبت وزن بدن بوده و متناسب با آن، در گروه دیابتی دریافت‌کننده انسولین و در گروه مبتلا به دیابت، متناسب با وزن بدن در ۱۰ روزگی که کاهش را داشتیم، وزن کلیه‌ها نیز نسبت به گروه شاهد کمتر بود (نمودار ۶).

بررسی‌های بافتی کلیه با رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-اتوزین و

تری‌کروم ماسون:

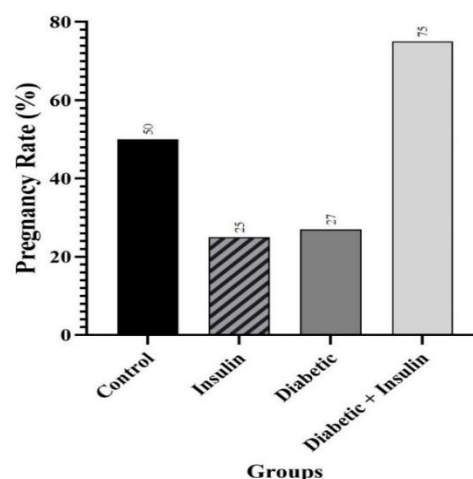
در طی بررسی‌های بافتی و رنگ‌آمیزی در گروه شاهد، فضای گلومرولی در محدوده نرمالی است و در توپول‌های پروکسیمال و دیستال و لوله‌های جمع‌کننده آسیب پاتولوژیکی و دژنراسیون سلولی دیده نمی‌شود. در رنگ‌آمیزی تریکروم، تجمع کلاژنی به شکل نرمال است (الف و ب از اشکال ۱ و ۲).

در گروه مبتلا به دیابت، در فضای گلومرولی چروکیدگی مشاهده می‌شود و فاصله کورپوسکل‌ها نسبتاً افزایش یافته‌اند. در توپول‌های پروکسیمال و دیستال و لوله‌های جمع‌کننده پیکنوز و دژنراسیون سلولی به چشم می‌خورد. در رنگ‌آمیزی تریکروم ضخامت دیواره گلومرولی افزایش یافته است (ج و د از اشکال ۱ و ۲).

در گروه تحت تیمار انسولینی در فضای گلومرولی چروکیدگی خفیف تا متوسط دیده می‌شود و فاصله کورپوسکل‌ها نسبتاً افزایش یافته‌اند. در توپول‌های پروکسیمال و دیستال و لوله‌های جمع‌کننده پیکنوزهای خفیف تا متوسط و دژنراسیون سلولی متوسط اما پراکنده‌ای به چشم می‌خورد. در رنگ‌آمیزی تریکروم ضخامت دیواره گلومرولی افزایش یافته است و این افزایش در دیواره توپول‌ها نیز وجود دارد (ن و ه از اشکال ۱ و ۲).

نرخ باروری:

در رابطه با نرخ باروری، داده‌ها نشان می‌دهد که از میان زاده‌های انتخابی جهت بارداری، به میزان ۵۰ درصد در گروه شاهد بارداری اتفاق افتاده است و این میزان در مادران گروه شاهد به میزان ۲۵ درصد کاهش یافته است. در گروه مبتلا به دیابت، میزان باروری نیز کاهش یافته و به ۲۷ درصد رسیده است، ولی در این گروه با وجود بارداری، پس از زایمان در تعدادی از مادران، زاده‌ها فوت کردند. در گروه دریافت‌کننده درمان انسولین این مقدار بهبود یافته و به ۷۵ درصد افزایش پیدا کرده است (نمودار ۳).



نمودار ۳. نرخ باروری رت‌ها در طی بارداری

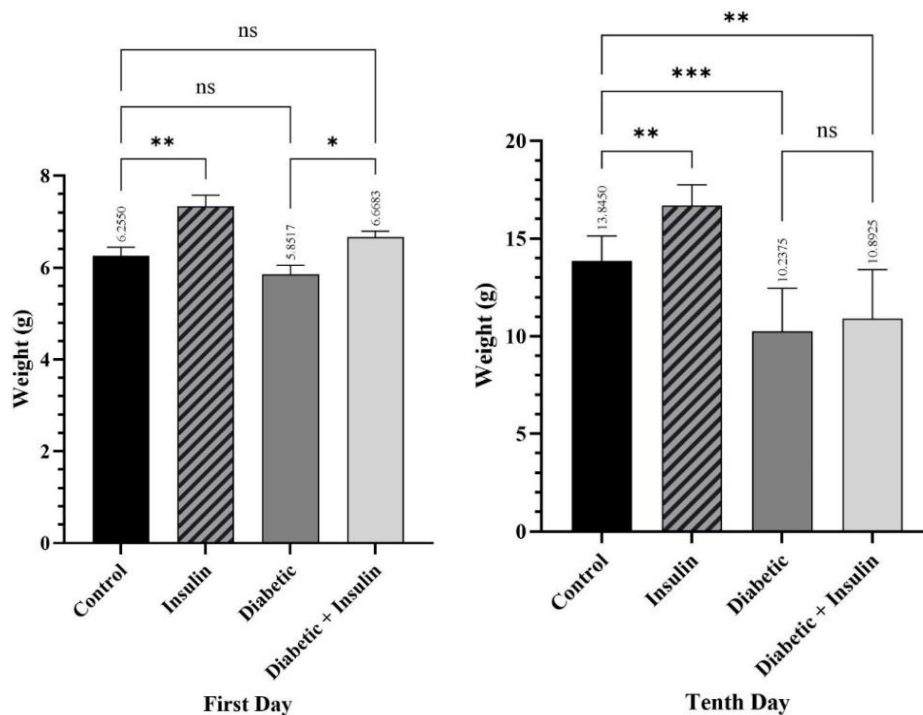
تعداد زاده‌های متولد شده:

در رابطه با تعداد زاده‌هایی که از مادران هر گروه متولد شدند، همانطور که در نمودار ۴ وزن مادران نیز نشان داده است، تعداد زاده‌ها در هر سه گروه نسبت به گروه شاهد کاهش داشته است و بیشترین کاهش مربوط به گروه مبتلا به دیابت می‌باشد که کمترین تعداد تولد زاده را داشتند و با دریافت انسولین به عنوان داروی درمانی این تعداد کمی افزایش یافته است.

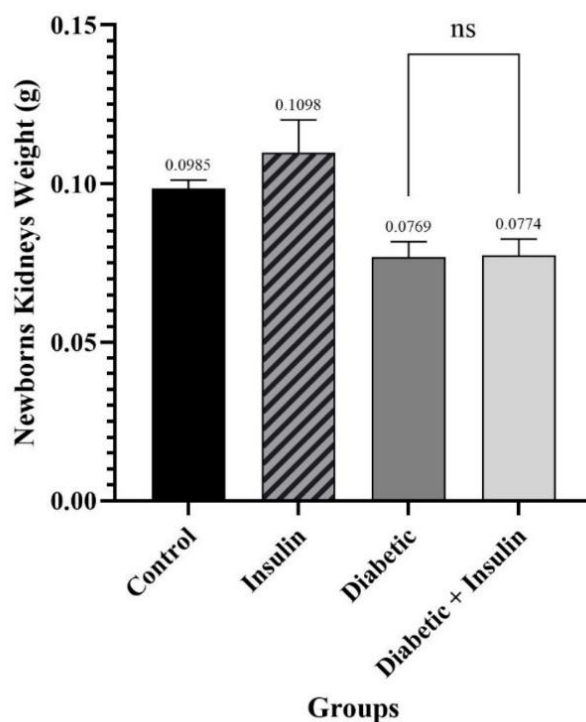
وزن زاده‌های روز اول و دهم:

در رابطه با وزن زاده‌ها در زمان تولد، در گروه دریافت‌کننده انسولین، وزن زاده‌ها با توجه به تعداد افراد کمتر نسبت به گروه شاهد، افزایش معنی‌داری را نشان می‌دهد. در گروه مبتلا به دیابت، وزن زاده‌ها تقریباً مشابه با گروه شاهد است اما باید به این نکته توجه داشت که تعداد زاده‌های مادران مبتلا به دیابت بسیار کمتر بوده است. در گروه دیابتی دریافت‌کننده انسولین هم وزن زاده‌ها نسبت به گروه مبتلا به دیابت افزایش داشته است.

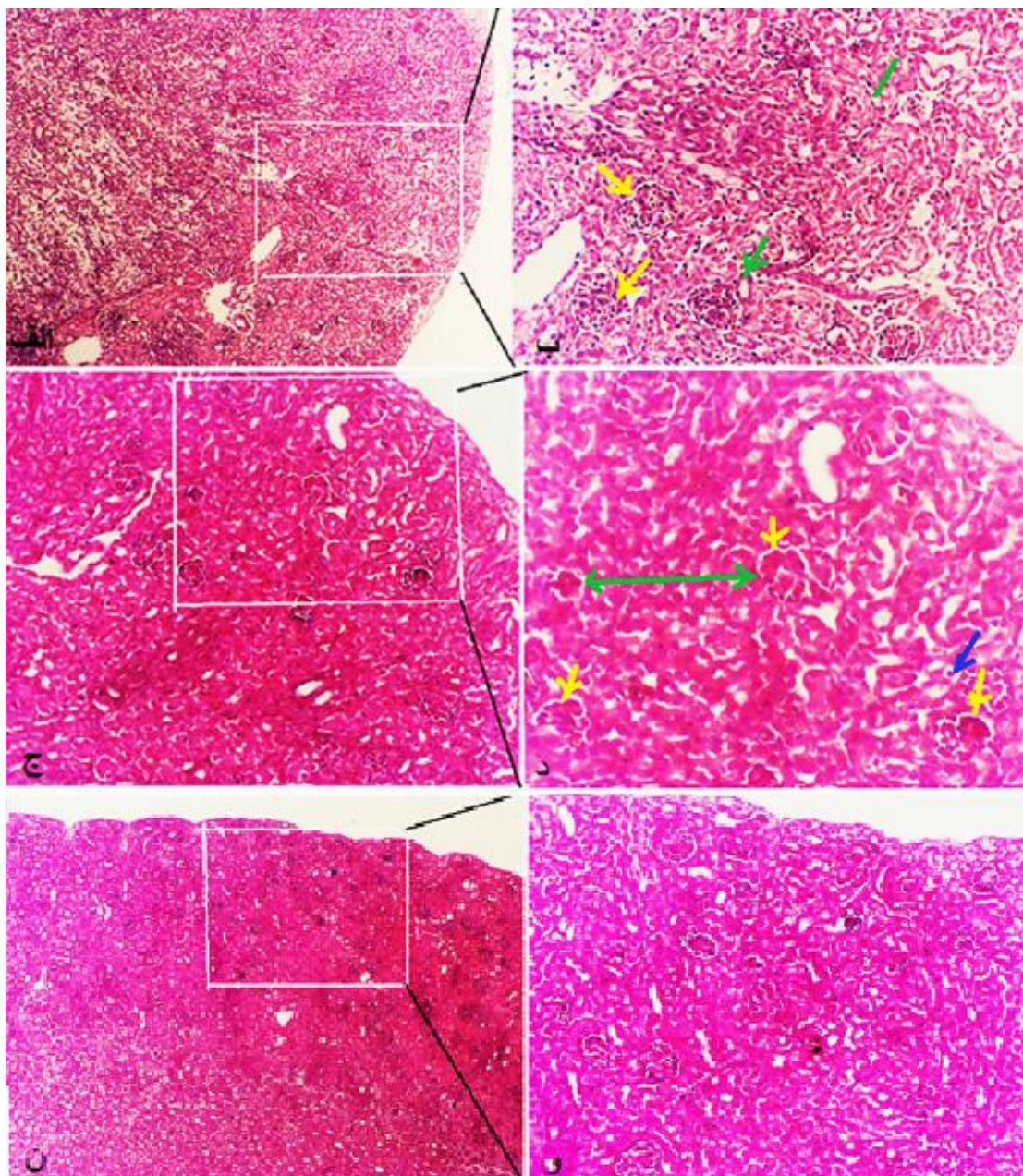
در روز دهم پس از تولد نیز، در گروه شاهد و گروه شاهد انسولینی نسبت به روز اول افزایش متناسب را داشته است، اما در گروه مبتلا به دیابت این نسبت بسیار کاهش یافته و زاده‌های مادران دیابتی در روز دهم بسیار کم وزن‌تر از زاده‌های مادران شاهد بودند و این نسبت در گروه تحت درمان با انسولین نسبت به گروه مبتلا به دیابت هم تغییرمعنی‌داری را نشان نداد (نمودار ۵).



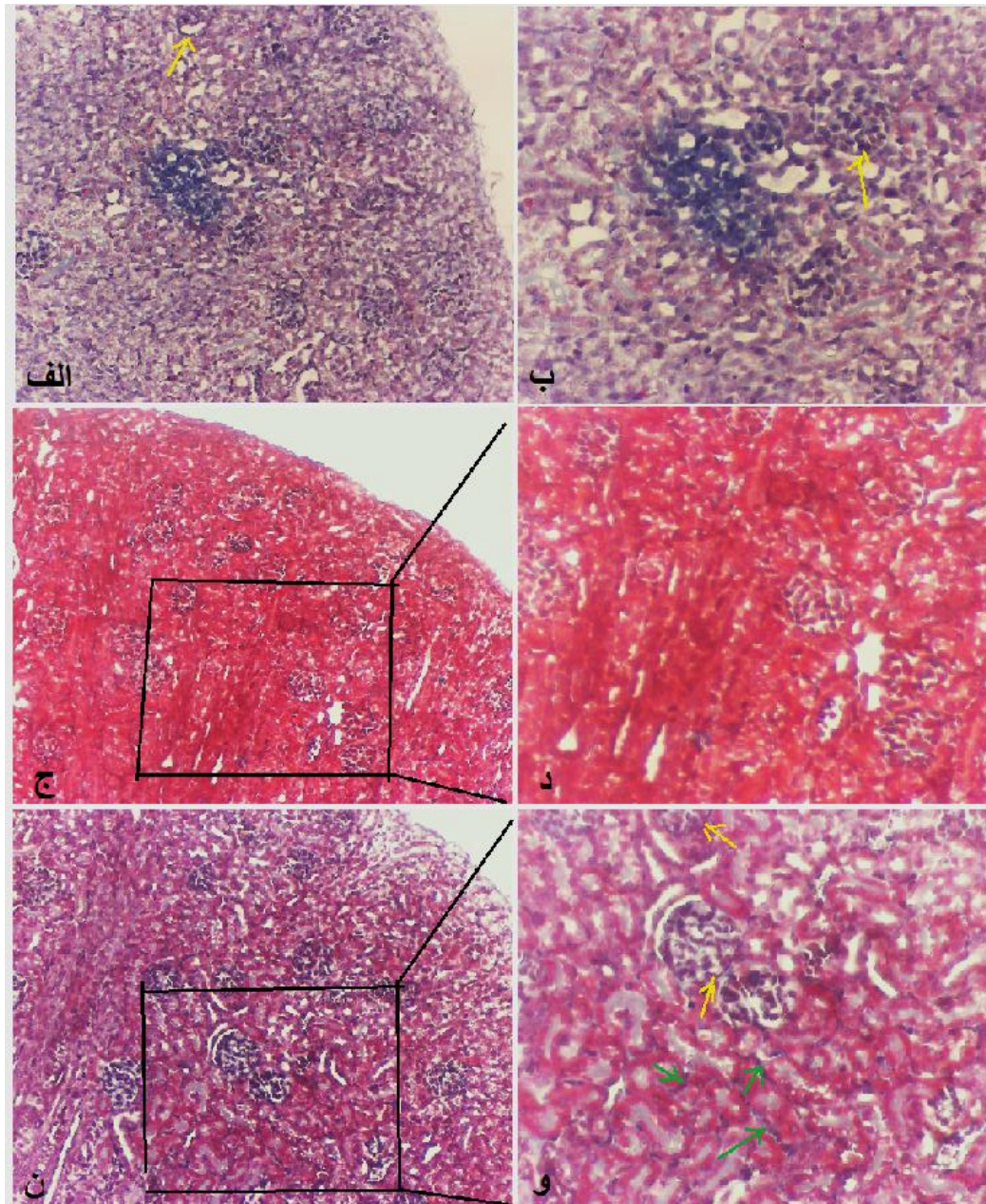
نمودار ۵. وزن زاده‌های حاصل از رت‌های شاهد، مبتلا به دیابت و دیابتی دریافت‌کننده انسولین در روزهای اول و دهم پس از تولد



نمودار ۶. وزن کلیه زاده‌های حاصل از رت‌های شاهد، مبتلا به دیابت و دیابتی دریافت‌کننده انسولین در روزهای اول و دهم پس از تولد



شکل ۱. مقایسه بافتی کلیه زاده‌های ۱۰ روزه مادران سالم (الف و ب)، مبتلا به دیابت (ج و د) و دیابتی دریافت‌کننده انسولین (ن و ه) با رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-انوزین. در گروه شاهد (الف و ب) فضای گلومرولی (پیکان‌های زرد) محدوده نرمالی را نشان داده و در توبول‌های پروکسیمال و دیستال و لوله‌های جمع‌کننده (پیکان‌های سبز) آسیب پاتولوژیکی و دژنراسیون سلولی دیده نمی‌شود. در گروه مبتلا به دیابت در فضای گلومرولی چروکیدگی وجود دارد (پیکان زرد) و فاصله کورپوسکل‌ها نسبتاً افزایش یافته‌اند (پیکان سبز). در توبول‌های پروکسیمال و دیستال و لوله‌های جمع‌کننده پیکنوز و دژنراسیون سلولی به چشم می‌خورد (پیکان آبی). در گروه دیابتی تحت تیمار انسولین در فضای گلومرولی چروکیدگی دیده می‌شود و فاصله کورپوسکل‌ها نسبت به گروه مبتلا به دیابت افزایش یافته است. در توبول‌های پروکسیمال و دیستال و لوله‌های جمع‌کننده پیکنوز به چشم می‌خورد.



شکل ۲. مقایسه بافتی کلیه زاده‌های ۱۰ روزه مادران سالم (الف و ب)، مبتلا به دیابت (ج و د) و دیابتی دریافت‌کننده انسولین (ن و ه) توسط رنگ‌آمیزی تری کروماسون. (الف): تجمع کلاژنی دیواره گلومرولی و توبولی در محدوده نرمال قرار دارد (پیکان زرد). (ب): در گروه مبتلا به دیابت در رنگ‌آمیزی تریکروم ضخامت دیواره گلومرولی افزایش یافته است. (ج): در گروه دیابتی دریافت‌کننده انسولین، ضخامت دیواره گلومرولی افزایش یافته (پیکان زرد) و این افزایش در دیواره توبول‌ها نیز وجود دارد (پیکان سبز).

بحث

در اوایل بارداری، سطوح بالای گلوکز می‌تواند به عنوان یک تراتوژن عمل کند و با ایجاد مشکلاتی در جنین منجر به ناهنجاری‌های مادرزادی بزرگی شود که بر سیستم‌های قلبی-عروقی، اسکلتی-عضلانی، عصبی و تناسلی کلیه تأثیر می‌گذارد (۹). تحقیقات نشان داده که دیابت می‌تواند باعث تغییر در تعداد سلول‌های کلیوی در حال تکثیر و همچنین افزایش تولید کلاژن و سایر اجزای ماتریکس خارج سلولی شود (۱۰، ۱۱). نتایج مطالعه حاضر حاکی از این بود که حتی در کلیه زاده‌های مادران دیابتی تحت درمان با انسولین نیز افزایش بیان کلاژن بخصوص در اطراف گلومرول‌ها

مشاهده می‌شود. تغییرات در ترکیب ECM باعث اختلال در نفروژنز در نوزادان مادران هیپرگلیسمی می‌شود، زیرا تشکیل ECM یک رویداد کلیدی در تمایز سلول‌های کلیوی است. ECM از طریق برخی ترکیبات خود از جمله کلاژن نوع یک و لامینین تشکیل ساختارهای نفرونی-مجاری ادراری را القا می‌کند. بنابراین بنظر می‌رسد اختلال در نفروژنز فرزندان مادران هیپرگلیسمی به دلیل تغییراتی در ترکیب ماتریکس خارج سلولی باشد (۴).

نتایج ما کاهش تعداد نوزادان مادران دیابتی را نشان داد که همراه با نتایج مطالعه‌ای بود که افزایش خطر سقط خود به خود جنین در بین

که خطر سقط جنین خود به خود در بین زنان دیابتی وابسته به انسولین ممکن است به طور قابل توجهی بیشتر از جمعیت عمومی باشد (۱۲) که کاهش تعداد نوزادان مادران دیابتی در مطالعه حاضر نیز این گزارشات را تأیید می‌کند. در نتایج ما، کاهش نرخ باروری در مادران دیابتی که دچار هایپرانسولینمی شدند، اتفاق افتاد.

از لحاظ دارودرمانی، حتی زنان مبتلا به دیابت که توسط انسولین بطور دقیق قندشان کنترل می‌شود در مقایسه با جمعیت عمومی بدون دیابت، ناهنجاری‌ها و اختلالات رفتاری بیشتری را نشان می‌دهند (۲۱). انسولین درمانی، می‌تواند منجر به افزایش وزن قابل توجهی شود که به طور معکوس خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی-عروقی را افزایش می‌دهد (۲۳). نتایج ما نشان داد، انسولین درمانی خطر ابتلا به مشکلات کلیوی را در فرزندان افزایش می‌دهد. تغییر در آرایش رشته‌های کلاژن باعث می‌شود سلول‌ها کمتر به ECM متصل شوند که اثر سوء بر تعاملات بین سلول-ماتریکس خواهد داشت (۲۴).

بر اساس مطالعات، انسولین درمانی تأخیری احتمال مؤثر نبودن در کاهش آسیب کلیوی فرزندان پیش‌بینی شده بود (۱۰) که نتایج مطالعه حاضر این احتمال را تأیید کرد. بنابراین اگرچه درمان با انسولین می‌تواند به عنوان «استاندارد طلایی» برای درمان دیابت بارداری در بسیاری از کشورها در نظر گرفته شود ولی دارای معایب متعددی در دیابت بارداری است، علاوه بر این، درمان با انسولین به طور بالقوه با خطر ابتلا به دیابت نوع ۲ در فرزندان بعدی در زندگی مرتبط است (۲۵). بنابراین، تحقیقات باید به سمت درک بهتر نقش بالقوه عوامل تعیین‌کننده مانند محیط مادر و سایر عوامل اولیه زندگی و همچنین روندهای تغییر در جمعیت‌شناسی جهانی، برای کمک به شکل دادن به برنامه‌های پیشگیری از بیماری باشد.

نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر با وجود بهبود وضعیت قند خون در مادران مبتلا به دیابت، کاهش مؤثر علائم دیابتی در فرزندان مادران تحت دارودرمانی مشاهده نشد و شواهد نشان داد که درمان با انسولین فعلی به طور کامل خطر مشکلات کلیوی فرزندان را در دیابت نوع ۱ کاهش نمی‌دهد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله مراتب تقدیر و تشکر خود را از معاونت پژوهشی دانشگاه خوارزمی و دانشگاه سبزواری و تمام کسانی که برای انجام این مطالعه ما را یاری نمودند، اعلام می‌دارند.

سهم نویسندگان

طاهره فروتن طراحی، راه اندازی روش کار و تحلیل، مجید مومنی مقدم طراحی و راه اندازی روش کار، سحر خلوتی نمونه‌گیری و انجام آزمایشات و استخراج نتایج و تکمیل جداول، راه‌اندازی روش کار.

تضاد منافع

بنابر اظهار نویسندگان این مقاله تعارض منافع ندارد.

زنان دیابتی تیمار شده با انسولین نسبت به جمعیت عمومی را گزارش کرده بود (۱۲). افزایش قند خون مادر منجر به افزایش قند خون جنین می‌شود زیرا گلوکز به راحتی از جفت عبور می‌کند ولی انسولین مادر به میزان قابل توجهی از جفت عبور نمی‌کند. افزایش قند خون کنترل نشده در جنین منجر به هایپرترافی جزایر پانکراس جنین و هایپرانسولینمی شده (۳) که آن هم سبب افزایش استفاده از گلوکز سلولی، افزایش رسوب چربی و تولید پروتئین می‌شود که رشد بیش از حد و افزایش اندازه سلول را بدنبال دارد (۱۳).

هایپرگلیسمی مادر منجر به هایپرگلیسمی جنین و بدنبال آن هایپرانسولینمی جنین برای کنترل سطح گلوکز خود می‌شود (۱۴). افزایش انسولین درون‌زا به عنوان فاکتورهای رشد جنین عمل می‌کند که منجر به ذخیره مقادیر بیش از حد گلوکز به عنوان گلیکوژن و چربی در بدن جنین شده که سبب بزرگتر از حد طبیعی شدن نوزادان می‌شود (۱۵). در واقع انسولین جنینی آنابولیزم جنین را فعال کرده و در نتیجه سبب رشد بیش از حد جنین می‌شود. علاوه بر هایپرگلیسمی، شرایط مرتبط با دیابت بارداری، مانند جفت بزرگتر، هایپرپتینمی، هایپرانسولینمی و استرس اکسیداتیو، ممکن است در پاتوفیزیولوژی این بیماری دخیل باشند و بر رشد جنین تأثیر بگذارند. دیابت بارداری ساختار جفت را تغییر می‌دهد که ممکن است انتقال مواد مغذی به جنین را تغییر دهد. انسولین مادر برای انتقال گلوکز از طریق جفت لازم نیست، زیرا این امر عمدتاً از طریق GLUT-1 رخ می‌دهد که حاملی است که مستقل از انسولین عمل می‌کند. با این حال جفت گیرنده‌های انسولین دارد و انسولین مادر می‌تواند مسیرهای پیام‌رسانی آن را فعال کند و بر متابولیسم جفت و در نتیجه رشد جفت و جنین تأثیر بگذارد. پیام‌رسانی انسولین باعث افزایش برخی از حامل‌های لیپید جفت می‌شود که ممکن است حمل و نقل و ذخیره چربی جنین را افزایش دهد، لذا سبب افزایش وزن جنین می‌شود، همانطور که مطالعه حاضر نیز افزایش وزن نسبت به گروه شاهد در گروه شاهد انسولینی مشاهده شد.

در رابطه با کاهش وزن زاده‌ها در بارداری دیابتی باید گفت که دیابت شدید در دوران بارداری منجر به کاهش وزن مادران می‌شود (۱۶). در زنان مبتلا به دیابت نوع ۱، محدودیت رشد داخل رحمی به طور معمول منشأ جفتی دارد (۱۷). به عبارتی هایپرگلیسمی مزمن باعث اختلال عملکرد عروق جفت می‌شود که منجر به کاهش تأمین مواد مغذی و اکسیژن به جنین و در نتیجه محدودیت رشد داخل رحمی می‌شود (۱۸). و طی تحقیقات دیگر وزن کم نوزاد هنگام تولد برای مادران مبتلا به عوارض عروقی در دیابت نوع ۱ شدید مشاهده شده است (۱۹). بنابراین اختلال در رشد جنین، می‌تواند با محدودیت رشد داخل رحمی و وزن کم هنگام تولد مشخص شود (۲۰). در تجزیه و تحلیل ما نیز وزن کم هنگام تولد و محدودیت رشد را پس از تولد نشان دادند.

مرده‌زایی که در مادران دیابتی افزایش نشان داده ۴۴ تا ۸۴ درصد از کل میزان مرگ و میر پرناتال را تشکیل می‌دهد (۲۱). کاهش نرخ باروری در مطالعه حاضر همراستا با مطالعه فوق بود. دیابت و به ویژه دیابت دوران بارداری با عوارض عروقی همراه، به وضوح یک عامل خطر مهم برای مرده‌زایی است (۲۲). بنظر می‌رسد نرمال نبودن بافت کلیه در اوایل تولد می‌تواند یکی از عوامل منجر به مرده‌زایی باشد. تحقیقات نشان می‌دهند

References

- Katsarou A, Gudbjörnsdóttir S, Rawshani A, Dabelea D, Bonifacio E, Anderson BJ, et al. Type 1 diabetes mellitus. *Nat Rev Dis Primers*. 2017;3:17016. **pmid:** 28358037 **doi:** 10.1038/nrdp.2017.16.
- Mohammadi P. Teratogenic effects of some factors on the human fetus: a review study [in Persian]. *J Mil Med*. 2017;19(5):423-31.
- Nold JL, Georgieff MK. Infants of diabetic mothers. *Pediatr Clin North Am*. 2004;51(3):619-37. **pmid:** 15157588 **doi:** 10.1016/j.pcl.2004.01.003
- Amri K, Freund N, Vilar J, Merlet-Benichou C, Lelievre-Pegorier M. Adverse effects of hyperglycemia on kidney development in rats: in vivo and in vitro studies. *Diabetes*. 1999;48(11):2240-5. **pmid:** 10535460 **doi:** 10.2337/diabetes.48.11.2240
- Parimi M, Nitsch D. A systematic review and meta-analysis of diabetes during pregnancy and congenital genitourinary abnormalities. *Kidney Int Rep*. 2020;5(5):678-93. **pmid:** 32405589 **doi:** 10.1016/j.ekir.2020.02.1027
- Zabihi S, Loeken MR. Understanding diabetic teratogenesis: where are we now and where are we going? *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*. 2010;88(10):779-90. **pmid:** 20706996 **doi:** 10.1002/bdra.20704
- Rocha SO, Gomes GN, Forti ALL, do Carmo Pinho Franco M, Fortes ZB, de Fátima Cavanal M, et al. Long-term effects of maternal diabetes on vascular reactivity and renal function in rat male offspring. *Pediatr Res*. 2005;58(6):1274-9. **pmid:** 16306207 **doi:** 10.1203/01.pdr.0000188698.58021.ff
- Nkongse KM, Nkongse DK, Nkongse TN. Insulin therapy for the management of diabetes mellitus: a narrative review of innovative treatment strategies. *Diabetes Ther*. 2023;14(11):1801-31. **pmid:** 37736787 **doi:** 10.1007/s13300-023-01468-4
- Battin M, Woules TA, Rowan J. Neurodevelopmental outcome in offspring born following gestational diabetes. In: Rajendram R, Preedy V, Patel V. editor. *Nutrition and Diet in Maternal Diabetes*. Humana Press, Cham: Nutrition and Health; 2018. **doi:** 10.1007/978-3-319-56440-1_27
- França-Silva N, Oliveira NDG, Balbi APC. Morphofunctional renal alterations in rats induced by intrauterine hyperglycemic environment. *Arch Med Sci*. 2016;12(2):243-51. **pmid:** 27186167 **doi:** 10.5114/aoms.2015.48220
- Miner JH. Type IV collagen and diabetic kidney disease. *Nat Rev Nephrol*. 2020; 16:3-4. **doi:** 10.1038/s41581-019-0229-1
- Miodovnik M, Lavin JP, Knowles HC, Holroyde J, Stys SJ. Spontaneous abortion among insulin-dependent diabetic women. *Am J Obstet Gynecol*. 1984;150(4):372-6. **pmid:** 6207729 **doi:** 10.1016/S0002-9378(84)80141-6
- Neves HM, Sgarbosa F, Calderon IMP, Vianna LS, Santini ACM, Sieiro Netto L, et al. Does hyperglycemia in pregnancy change fetal kidney growth? a longitudinal prospective study. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2013;35:442-6. **pmid:** 24337055 **doi:** 10.1590/S0100-72032013001000003
- Pedersen J. Diabetes and pregnancy; blood sugar of newborn infants during fasting and glucose administration. *Ugeskr Laeger*. 2014;114(21):685. **pmid:** 14958933
- Arshad R, Karim N, Hasan JA. Effects of insulin on placental, fetal and maternal outcomes in gestational diabetes mellitus. *Pak J Med Sci*. 2014;30(2):240-4. **pmid:** 24772119 **doi:** 10.12669/pjms.302.4396
- Dong MZ, Li QN, Fan LH, Li L, Shen W, Wang ZB, et al. Diabetic uterine environment leads to disorders in metabolism of offspring. *Front Cell Dev Biol*. 2021;9:706879. **pmid:** 34381787 **doi:** 10.3389/fcell.2021.706879
- Gutaj P, Wender-Ozegowska E. Diagnosis and management of IUGR in pregnancy complicated by type 1 diabetes mellitus. *Curr Diab Rep*. 2016;16(5):39. **pmid:** 26983627 **doi:** 10.1007/s11892-016-0732-8
- Langmia IM, Kräker K, Weiss SE, Haase N, Schütte T, Herse F, et al. Cardiovascular programming during and after diabetic pregnancy: role of placental dysfunction and IUGR. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2019;10:215. **pmid:** 31024453 **doi:** 10.3389/fendo.2019.00215
- Kong L, Nilsson I A, Gissler M, Lavebratt C. Associations of maternal diabetes and body mass index with offspring birth weight and prematurity. *JAMA Pediatr*. 2019;173(4):371-8. **pmid:** 30801637 **doi:** 10.1001/jamapediatrics.2018.5541
- Ojeda NB, Grigore D, Alexander BT. Intrauterine growth restriction: fetal programming of hypertension and kidney disease. *Advances in chronic kidney disease*. 2008;15(2):101-6. **doi:** 10.1053/j.ackd.2008.01.001
- Bhandari J, Thada RK, Khattar D. *Diabetic Embryopathy*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025.
- Dudley DJ. Diabetic-associated stillbirth: incidence, pathophysiology, and prevention. *Obstet Gynecol Clin North Am*. 2007;34(4):293-307. **pmid:** 17572273 **doi:** 10.1016/j.ogc.2007.03.001
- Liu Y, Chen H, Li H, Li L, Wu J, Li H. Effect and safety of adding metformin to insulin therapy in treating adolescents with type 1 diabetes Mellitus: an updated meta-analysis of 10 randomized controlled trials. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2022;13:878585. **pmid:** 35707462 **doi:** 10.3389/fendo.2022.878585
- Kular JK, Basu S, Sharma RI. The extracellular matrix: Structure, composition, age-related differences, tools for analysis and applications for tissue engineering. *J Tissue Eng*. 2014;5:2041731414557112. **doi:** 10.2041731414557112.
- Ruiz-Palacios M, Ruiz-Alcaraz AJ, Sanchez-Campillo M, Larqué E. Role of insulin in placental transport of nutrients in gestational diabetes mellitus. *Ann Nutr Metab*. 2017;70(1):16-25. **pmid:** 28110332 **doi:** 10.1159/000455904.