دراسة تأثير حقن هرمون الأنسولين على رحم وأجنة فئران المعمل الحوامل

سمية إبراهيم الترهوني[1], ابوالقاسم أحمد المريمي[2], عيد علي موسى[3], مروان الطاهر ابوفيلة[4]

المستخلص

أجريت هذه الدراسة على عدد (30) من إناث الفئران المعمل، كان متوسط وزن هذه الإناث21جم ربيت جميعها في مختبر حيوانات المعمل بمركز البحوث الطبية بالزاوية داخل أقفاص وقدمت لها التغذية المناسبة والماء بالتساوي تحت درجة حرارة لا تزيد عن 27°م ورطوبة نسبية تقدر بحوالي 40–50%، وكان الهدف من تربية هذه الإناث هو دراسة التأثير الشكلي لحقن الأنسولين في التجويف البطني للإناث الحوامل على أجنة ورحم الامهات.

قسمت هذه الإناث إلى ستة (6) مجموعات تضم كل مجموعة خمسة (5) فأرات، وعند بلوغ الإناث عمر 12 أسبوع وكان الوزن 19–21 جم، ووضعت الإناث مع الذكور وبعد التأكد من الحمل في اليوم التاسع من الحمل بتقسيم الفأرات إلى مجموعات سيطرة ومعالجة حيث كانت المجموعة الأولى مجموعة السيطرة ولم تحقن بأي شيء والمجموعة الثانية كانت مجموعة السيطرة التي حقنت بالمحلول الملحي Saline Solution وبتركيز 0.9% في التجويف البطني وأما المجموعة الثالثة فقد حقنت بـ0.1 وحدة دولية أنسولين والمجموعة الرابعة حقنت بـ0.2 وحدة دولية والمجموعة الخامسة بـ0.3 وحدة دولية والمجموعة السادسة بـ0.4 وحدة دولية وتركت الحيوانات للمراقبة حتى يوم التاسع عشر (19) من الحمل حيث تم قتل الحيوانات واستخراج الأجنة، والرحم لكل فأرة في جميع المجموعات وتم فحص عدد (188) جنيناً من جميع المجموعات الأجنة بالعين المجردة لملاحظة التشوهات أو التغيرات التي قد تكون نتجت عن حقن الأنسولين ومقارنتها بمجموعة السيطرة، وبعد ذلك إجراء عملية وزن الرحم ووزن الأجنة وكذلك قياس طول الأجنة (من قبعة الرأس إلى المؤخرة) وكانت النتائج كالتالي:

لم يظهر أي اختلاف إحصائي بالنسبة لعدد الأجنة بين المجموعات مما يدل على إن الأنسولين المحقن لم يؤثر على خصوبة الإناث الحوامل لأنه حقن بعد عملية التزاوج غير أنه لما أعطى الجرعة المقررة 0.4

1 - قسم علم الحيوان، كلية العلوم، جامعة الزاوية.
2 - قسم الولادة والتناسليات، كلية الطب البيطري، جامعة طرابلس.
3 - قسم التشريح والأنسجة، كلية الطب البيطري، جامعة السويس.
4 - قسم المختبرات، كلية التقنية الطبية، جامعة الزاوية.

وحدة دولية أثر تأثيراً سلبيا على الأم التي لم نجد بداخلها أي أجنة حيث يعتقد بأنه أدى إلى تسمم وموت الأجنة.

وأما بالنسبة لوزن الرحم فإنه قد زاد عندما حقنت الفأرات الحوامل بجرعة (0.2، 0.1) وحدة دولية ونقص وزن الرحم عند الحقن بجرعة (0.3) وحدة دولية مما يدل على إن الأنسولين المحقن بجرعات صغيرة يزيد ارتشاف النسيج الرحمي للسوائل وعندما تكون الجرعة أكبر من ذلك فإن الأنسولين يؤثر مباشرة على الأجنة وليس على جدار الرحم حيث إن وزن الأجنة قد نقص عند حقن (0.1) وحدة دولية وزاد وزن الأجنة عند حقنت بجرعة (0.3، 0.2) وحدة دولية، وهذا النموذج قد حدث مع قياس طول الأجنة حيث إن طول الأجنة قد نقص عند حقن (0.1) وحدة دولية ولكن زاد عند حقن (0.3، 0.2) وحدة دولية تبعا لوزن الأجنة، وعند حقن (0.4) وحدة دولية تم التأكد من موت جميع الأجنة مع العلم بأن الفأرة كانت حاملا عند اليوم العاشر من الحمل ولكن لم نجد أي جنين عند يوم 19 من الحمل موعد إجراء التشريح دلالة على إن الأنسولين بهذه الجرعة من الممكن أن يكون سببا في تسمم وموت الأجنة وامتصاصها، وكما ثم ملاحظة وجود نزيف حاد وتعرق دموي حول الجنين وكبر حجم المشيمة في المجموعات التي حقنت (0.3، 0.2) وحدة دولية.

ونحن هنا نرى إن حقن الأنسولين لإناث الفئران الحوامل قد يؤثر تأثيراً واضحاً على صحة الأجنة ولذا وجب معرفة الجرعة المناسبة ووقت إعطائها حتى لا يؤثر حقن الأنسولين على إحداث مرض نقص السكري الحاد الذي قد يؤدي إلى موت الأم والجنين أو على الأقل حدوث تشوهات للجنين، كما إنه يجب ملاحظة إن نقص الأنسولين الذي قد يحدث للأمهات أثناء الحمل قد يؤدي إلى نفس النتيجة تقريباً، ولذا نحن ننصح أن تستمر دراسة حقن الأنسولين للفأرات الحوامل وكذلك إحداث داء السكري في الأمهات بواسطة بعض المواد التي تنتج مرض السكري ومعالجة الحالة بالأنسولين وتحديد الجرعات وربط هذه الدراسات بالمستشفيات ووحدات الخدمات الصحية لمعرفة مدى مطابقة هذه الدراسات بالحالات الموجودة عند الإنسان.

Summary

This study was performed on (Thirty) female laboratory white mice *Mus Musculus* These mice weighed about 21gm,all mice were bred at medical research center ,Zawia under 27ºc and relative humidity of 40-50%.Feed and water was given Adliptum to all mice during the whole study period.

The objective of this study was to determine the effect of injected insulin on foetuses of pregnant mice under laboratory conditions morphologically and on some internal organs such as liver, kidneys and lungs of these fetuses.

These females were kept in groups till they reached 12weeks of age and 19-21 gm when these females were left to mate to proven fertile males, mating was confirmed by checking the presence of vaginal plug next day.

Group 1 was considered as control group (CGN1) where females in this group were not subjected to injections.

Group 2(CGNS2) was designed as sham control group where females in this group were injected intrapretoneal (IP) with 0.1ml normal saline solution (Nacl 0.9%).Group3(TG0.1IU) composed of females injected wit 0.1IU of insulin (IP),while females in group 4(TG0.2IU)were injected with 0.2IU insulin (IP) females in group5 (TG0.3IU) were injected with 0.3 IU of insulin (IP) and the last group is group5(TG.0.4IU) which were injected with 0.4IU of insulin (IP).

All females were left under supervision till day 19 of pregnancy, when females were killed, the whole reproductive tract containing the fetuses in it was weighed, checked for any Abnormalities like bleeding, accumulation of fluids and then it was dissected to take the fetuses out for their weight and length measurements.

length was measured as crown rump(CR) for each fetus ,while weigh was done by placing every fetus on bolt paper and weighed, all information was recorded for statistical analysis from one hundred eighty eight fetuses from both treted and control groups .

Data was collected as follows :

No significant difference appeared between control and treated groups in regard to fetus number statistically because insulin was injected after mating and after occurrence of ovulation ,in spite of the presence of numerical difference.

However ,when insulin was given in high doses (TG 0.4IU) it exerts a significant effect on embryos resulted in death and absorption of the embryos. Giving (0.1and0.2IU) of insulin to the pregnant females mice resulted in an increase of the uterine weight compared to the control group ($P<0.05$).

This was not the case when 0.3IU of insulin was injected since the uterine weight decreased.

The weight of fetuses was in contrary to the uterine weight since fetuses decreased in weight when 0.1IU was injected and it was increased with injections of 0.2 and 0.3IUof insulin.

This findings indicate that low doses of insulin may urges the absorption of blood and other fluids into the uterine wall and intra uterine cavities to work as a cushion to protect the fetuses and to promote the metabolism for these fetuses.

While, when higher doses was given it worked in the opposite direction with blood and other fluids were directed to the fetuse resulting in higher weight.

The length of the futuses took the same pattern since their length was decreased with 0.1IU injection and increased with 0.2IU and 0.3IU insulin.

This result is logic since the taller the fetus the more weight is likely we have noticed, in addition, presence of edema, bleeding ,haemorrhage around the fetuses and enlargement of the placenta with fetuses injected with 0.2 and 0.3IU, indicate a hyperaemic effect of injected insulin in moderately high doses to pregnant females , this could lead to desolve and to degenerate the fetuses in high doses as happened with 0.4IU in this study.

From these findings we can conclude that injected insulin to pregnant female mice could affect the weight and the length of the fetuses through its effect on the metabolic process by either increasing or decreasing these parameters.

Additionally, high doses could cause death and absorption of the fetuses even after the process of organogenesis.

We advise to pursue these studies and to try to uncover the correct doses for all species especially for pregnant females because low or high doses of injected insulin may harm the dam and fetus or it may cause death for both.

Suitable studies conducted with eager researchers and sophisticated equipments in well supplied laboratories will lead to correct answers for the dilemma.

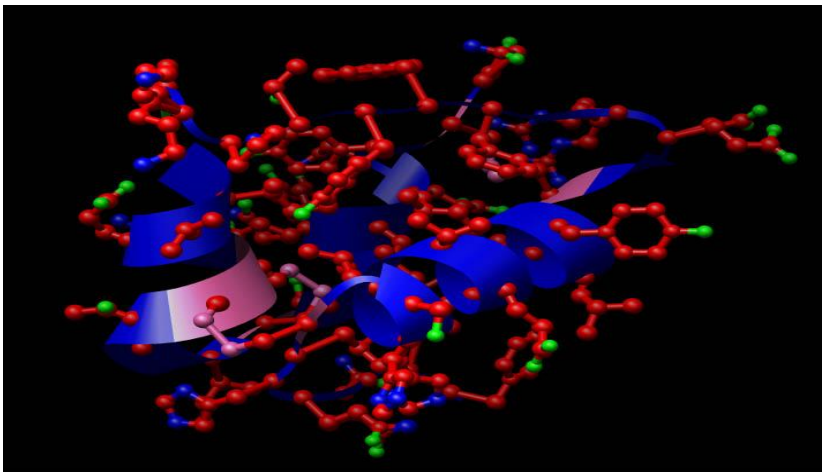
Keywords : insulin, injected ,mice ,fetuses.

Correspondent author.*

المقدمــة

الأنسولين Insulin:

هرمون الأنسولين عبارة عن بروتين متعدد الببتيد وزنه الجزيئي حوالي6000 Dalton ويتألف من سلسلتين من الأحماض الأمينية سلسلة صغيرة (A) وسلسلة كبيرة (B) مرتبطتين بجسور ثنائية الكبريت كما هو موضح في الشكل رقم (1).



شكل رقم (1): يوضح تركيب جزيء الأنسولين

الأحمر: كربون، الأخضر: أكسجين، الأزرق: نيتروجين، الوردي: كبريت

وتتألف السلسلة الصغيرة "A" من إحدى وعشرين حمضاً أمينياً بينما تتكون السلسلة الكبيرة "B" من ثلاثين حمضاً أمينياً، ويؤدي فصل الجسور ثنائية الكبريت إلى تحطم فعالية الأنسولين، إذ أن الفعالية الحيوية له تعتمد على الجزيئي الكامل (Rex and fallon,1974)، خير الدين وآخرون، 1990).

ويتم إفراز الأنسولين من غدة البنكرياس التي توجد في منطقة الارتباط بين المعدة والإثني عشر في جميع الفقريات تقريباً، وهي تتركب من نسيجين منفصلين وظيفياً وتركيبياً، ويكون معظم النسيج ذو إفراز خارجي قنوي، تنتشر بين أنسجة الغدة مجاميع من الخلايا تعرف بجزر لانجرهانز Islets of Langerhans، وهي التي تمثل الجزء الأصم من البنكرياس الذي ينتج الهرمونات التي تنطلق إلى تيار الدم مباشرة.

تتركب جزر لانجرهانز من ثلاثة أنواع من الخلايا هي خلايا α–cell التي تحتوي علي حبيبات لها قابلية الذوبان في الكحول، وخلايا "بيتا" β–cellالتي لا تذوب حبيباتها في الكحول، وتفرز خلايا "ألفا " هرمون

الجلوكاجون بينما تفرز خلايا "بيتا " هرمون الأنسولين وخلايا دلتاΔ التي تفرز عدة أنواع من الهرمونات مثل (Gastrin -seratonin- somatostatine).

تظهر خلايا "ألفا" متراصة حول الجزء الخارجي من قشرة جزر لانجرهانز التي يتراوح سمكها حوالي ثلاثة خلايا تقريبا وتُكوّن حوالي 25% من خلايا الإفراز الداخلي للبنكرياس، أما خلايا "بيتا" فتوجد على شكل كتلة في وسط جزر لانجرهانز وتمثل حوالي 65% من الخلايا، وتتخلل النوعين السابقين خلايا دلتا التي تمثل حوالي 10%من الخلايا ذات الإفراز الداخلي للبنكرياس (Schmidt and Nielsen,1990).

لإفراز الداخلي للبنكرياس في الأم الحامل:

ترتبط العمليات الأيضية الخاصة بعملية التأقلم للحمل بعلاقة وثيقة مع إفرازات بنكرياس الأم وهي تعمل على تخزين الجلوكوز كاحتياطي للجنين، فعند زيادة مستوى سكر الدم تستجيب خلايا "بيتا" فتفرز كميات عالية من هرمون الأنسولين، وتثّبط بدرجة كبيرة إفراز هرمون الجلوكاجون من خلايا "ألفا".

كما أنه عند تورم البنكرياس من ناحية أخرى فإن هرمون الأنسولين يفرز بشكل غير طبيعي مما يسبب حالة نقص ســكر الدم Hypoglycemia، هذه الأورام تفرز هرمون الأنســولين إلى بلازما الدم بطريقة غير منتظمة، كما وأن هرمون الأنســولين المفرز بكميات كبيرة يســبب تثبيط إفراز هرمون الجلوكاجون فتكون كميته غير كافية لمعادلة الكميات العالية من هرمون الأنسولين (Guyton and Hall; 2000).

الدراســات الســابقة:

إن أول محاولة لفهم تأثير الأنسولين كانت للعالم (Landauer,1945) الذي قام بحقن الأنسولين في صفار البيض لأجنة الدجاج وكانت النتيجة غياب الفقرات الذيلية وبعض من الفقرات العصعصية في الكتاكيت عند التفريخ.

لقد أجريت بعض الدراسات على تأثير هرمون الأنسولين على أجنة بعض الفقريات نذكر منها دراسة عن الأنسولين الأولي (Proinsulin): وهو بروتين له دور مهم في المحافظة على بقاء الخلية حية وسليمة في جنين الدجاج في المراحل الفسيولوجية للنمو والذي تم اختياره كنموذج لحيوان فقري يمكن دراسته في مرحلة التكوين عصبي، وذلك لتحليل ودراسة إفراز الأنسولين في الجنين ودوره في عملية بقاء الخلية حية في المرحلة الجنينية المبكرة، فلوحظ إنه يحافظ على الخلية حية في مرحلة التكوين العصبي في جنين الدجاج وقد وجد أن الأنسولين البشري له تأثير مماثل للأنسولين الذي يفرزه جنين الدجاج عند تركيز 8–10مول/ لتر (Hernandez et al,2002).

وحيث أظهرت نتائج الدراسة التي قام بها (Rakesh and Shah, 2011) الإصابة الموروثة لداء السكري وتأثيرها على التكوين الجنيني المبكر ودور هرمون الأنسولين والأنسولين المعالج، أن الأنسولين المعالج يحدث إصابة واضحة والتي تظهر على شكل تشوهات خلقية في المراحل الجنينية المبكرة لأجنة الفئران المستعملة في المزارع الجنينية وأن هذه النتيجة تدل على أن الأنسولين المعالج يكون فعال ليحدث تشوهات واضحة، وهكذا يظهر أن الأنسولين المعالج يحدث تشوهات في الفئران لا يحدثها هرمون الأنسولين بحد ذاته، وتم العثور على تأخر نمو كبير في أجنة الفئران من حيث الوزن والطول مقارنة بالأجنة الطبيعية، والأنسولين هو المسبب المباشر في خفض نسبة السكر في الدم وله تأثير على الجهاز العصبي المركزي للجنين، وفي الدراسة التي قام بها العالم (Sadler,1995) لاختبار نقص السكر في الدم في الفئران الحوامل وخاصتا في مرحلة التكوين الجنيني المبكر حيث لاحظ نقص السكر في دم الأمهات التي عولجت بجرعة 5IU وهو بدوره أدى إلى تأخر في مرحلة إغلاق الأنبوب العصبي في مرحلة التطور الجنيني، وكذلك نقص النمو أدى إلى انعدام عدسة العين وصغر حجمها.

أهدف الدراسة:

1- دراسة التأثيرات الناتجة عن حقن هرمون الأنسولين على أجنة الفئران الحوامل من حيث العدد والوزن والطول.

2- اختبار بعض الجرعات من الأنسولين المحقن أثناء الحمل وفي فترة تكوين الأعضاء وبتراكيز وكميات مختلفة على أجنة الفئران باعتبارها كنموذج للدراسة المعملية.

المواد وطرق العمل:

استخدم في هذه الدراسة الأنسولين التجاري(Insulatard 100IU/ml) وحافظة إضافة إلى محلول ملحي Saline Solution بتركيز 0.9%.

استخدم في هذه الدراسة عدد 30 فأره بيضاء من نوع الألبينو تم الحصول عليهم من كلية الصيدلة جامعة طرابلس. وتمت التربية داخل معمل تربية حيوانات التجارب بالمركز الوطني للبحوث الطبية بالزاوية خلال الفترة من 20-12-2014 إلى 17-7-2015 وتم تغذيتها بالعليقة الخاصة بالقوارض بمقدار 5جم في اليوم لكل فأرة (Reeves et al,1993) وأعطي الماء بالطريقة الحرة (بالتنقيط) إيواء جميع الحيوانات في ظروف مشابهة ودرجات حرارة متساوية (027) ورطوبة تتراوح بين 40-50% .

وبعد أن وصلت الفئران إلى عمر 12 أسبوع ومعدل أوزان حوالي 19-21 جم وذات صحة جيدة لكلا الجنسين (جاهزة للتلقيح) قمنا بوضع الإناث مع الذكور بنسبة 1: 1 وذلك لضمان حدوث التلقيح في وقت موحد، ثم التأكد من حصول التزاوج بمشاهدة السدادة المهبلية لفترة من6-12ساعة، في صباح اليوم

التالي واعتبار يوم التزاوج هو اليوم الصفر واليوم الذي يليه هو اليوم الأول من الحمل، ثم بفصل الإناث عن الذكور (National Academy of sciences,1978).

وفي اليوم التاسع من الحمل تم حقن الأمهات الحوامل بالجرعات المقررة من الأنسولين ويكون الحقن في منطقة التجويف البطني(intraperitoneal) (Elmarimi,1990) وقد تم تحديد الجرعة لكل المجموعات حسب النظام الذي يتناسب مع التجربة وحسب نظام (Fawaz,2012).

حيث تم تصنيفها إلى ستة مجموعات، كل مجموعة تحتوي على خمسة إناث علي النحو التالي:

1- مجموعة السيطرة (Control) وهي المجموعة التي لم تحقن بأي معامل خارجي.
2- المجموعة الثانية (Sham control) حقنت بمحلول ملحي (Saline solution) بتركيز 0.9 % في اليوم التاسع من الحمل.
3- المجموعة الثالثة (TREATED 1) وحقنت بجرعة أنسولين 0.1 وحدة دولية .
4- المجموعة الرابعة (TREATED 2) وحقنت بجرعة أنسولين 0.2 وحدة دولية .
5- المجموعة الخامسة (TREATED 3) وحقنت بجرعة أنسولين 0.3 وحدة دولية.
6- المجموعة السادسة (TREATED 4) وحقنت بجرعة أنسولين 0.4 وحدة دولية.

وبعد الانتهاء من عملية الحقن أُرجعت الأمهات إلى بيوت التربية الخاصة بها، وتم زيادة كمية الغذاء في كل المجموعات إلى 6غم يومياً لكونها في حالة حمل وتحتاج إلى كمية أكثر من الغذاء بعد الحقن، لحين الكشف على الأجنة حسب العمر المطلوب.

تم الكشف على الأجنة في اليوم التاسع عشر من الحمل وذلك بعد قتل الأمهات بالطريقة المتبعة وهي فصل العنق Cervical Dislocation (Elmarimi,1990)، وبعد التأكد من موت الفأر تم غمره في الماء المعقم والكحول لتسهيل عملية التشريح والتعقيم، وتثبيت الحيوان على لوح خفاف بواسطة الدبابيس، ثم يتم فتحه من الخلف عند فتحه المهبل حتى الوصول لصدر الفأر وإخراج الرحم مع الأجنة، ووزن الأجنة مع الرحم، ثم قمنا بفتح الرحم وإخراج الأجنة ليتم تنظيفها من الدم بمحلول ملحي، وتسجيل عدد الأجنة، ووزن وطول كل جنين من الرأس إلى العجز (Crown-Rump) في كل مجموعة على حدة وملاحظة التغيرات في كل مجموعة ومقارنتها ظاهريا بمجموعة السيطرة (Control) وقد أجريت هذه العمليات على عدد 188 جنيناً من الفأرات التي كانت قد حملت بعد التزاوج مع الذكور بحيث كان عدد أجنة الفأرات التي في مجموعتي السيطرة 83 جنين وعدد الأجنة من مجموعات المعالجة الثلاث 105 جنين.

النتائج:

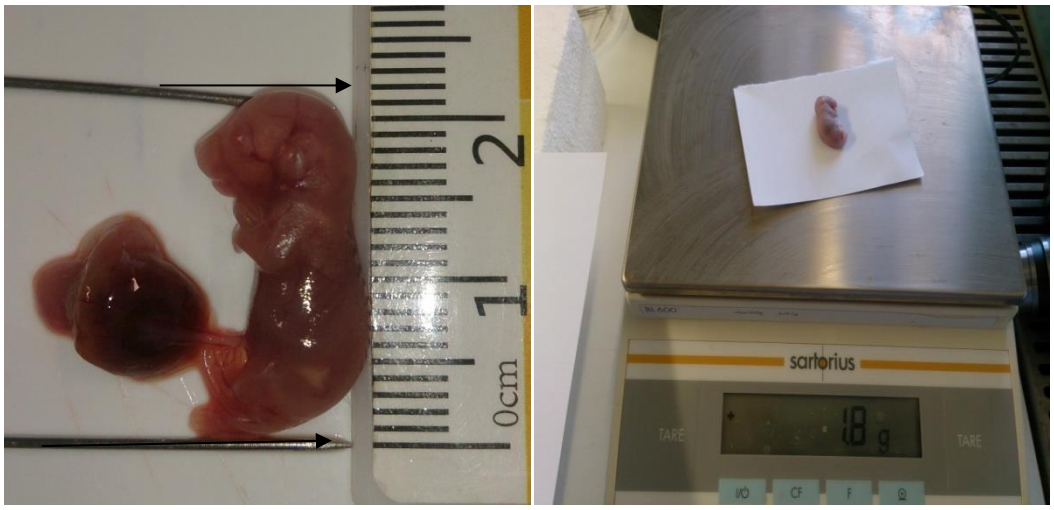
تم جمع كل المعلومات المتعلقة بأوزان الأجنة وأطوالها من جميع المجموعات في جداول خاصة كالآتي:

1- مجموعة السيطرة (Control) وهي المجموعة التي لم تتعرض لأي معامل خارجي وفي اليوم (19) من الحمل تم الكشف على الأجنة، وتم وزن الأجنة مع الرحم وبدون الرحم وعدد الأجنة، وتسجيل الوزن والطول لكل جنين، وأظهر الوصف المظهري لجنين الفأر الأبيض اللون الطبيعي هو الوردي

جدول رقم (1) قياسات المجموعة الأولي مجموعة السيطرة (Control)

عدد الأمهات	عدد الأجنة	وزن الرحم	الوزن الكلي للأجنة (جم)	متوسط وزن الأجنة (جم)	الطول الكلي للأجنة (سم)	متوسط طول الأجنة (سم)
1	14	2.2جم	10.6جم	0.757 جم	25.4 سم	1.814 سم
2	7	1.6جم	6.5جم	0.928 جم	13.7سم	1.957سم
3	8	1.7جم	7.5جم	0.937 جم	15.7 سم	1.962سم
4	7	1.6جم	7.2جم	1.028 جم	14.4 سم	2.057 سم
5	8	1.5جم	8.4جم	1.050 جم	15.8 سم	1.975 سم

الشكل رقم (2): صورة لرحم أنثي عند عمر (19) يوم من الحمل لمجموعة السيطرة وهو في الحالة الطبيعية.

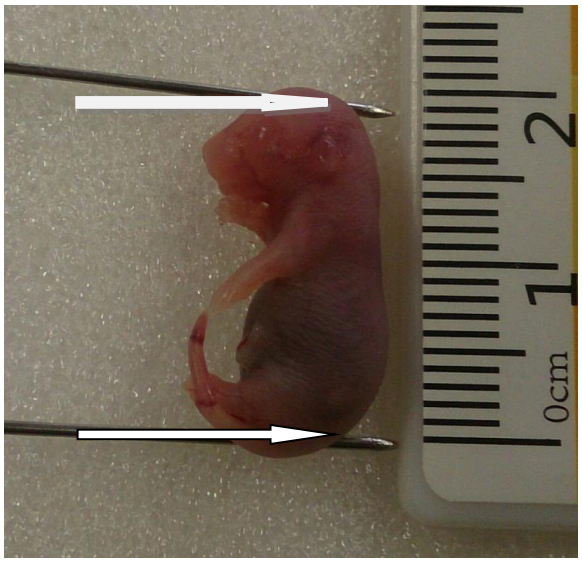


شكل(3): صورة توضح قياس الطول والوزن لكل جنين عمره (19) يوم من الحمل لمجموعة السيطرة.

2- المجموعة الثانية (Sham control) حقنت بـ 0.1 ملم محلول ملحي بتركيز 0.9% Saline solution في يوم التاسع من الحمل، وتم الكشف على الأجنة يوم التاسع عشر من الحمل كما في الشكل رقم (4).

جدول رقم (2) يوضح قياسات المجموعة الثانية (Sham control).

عدد الأمهات	عدد الأجنة	وزن الرحم	الوزن الكلي للأجنة (جم)	متوسط وزن الأجنة (جم)	الطول الكلي للأجنة (سم)	متوسط طول الأجنة(سم)
1	6	1.5جم	5.5جم	0.91جم	11.5سم	1.91 سم
2	8	1.6جم	7.2جم	0.90 جم	15.8سم	1.97سم
3	7	1.5جم	6.4جم	0.91جم	13.8 سم	1.95سم
4	10	2.0جم	9.2جم	0.92جم	19.1 سم	1.91 سم
5	8	1.8جم	8.2جم	1.025 جم	15.6 سم	1.95 سم



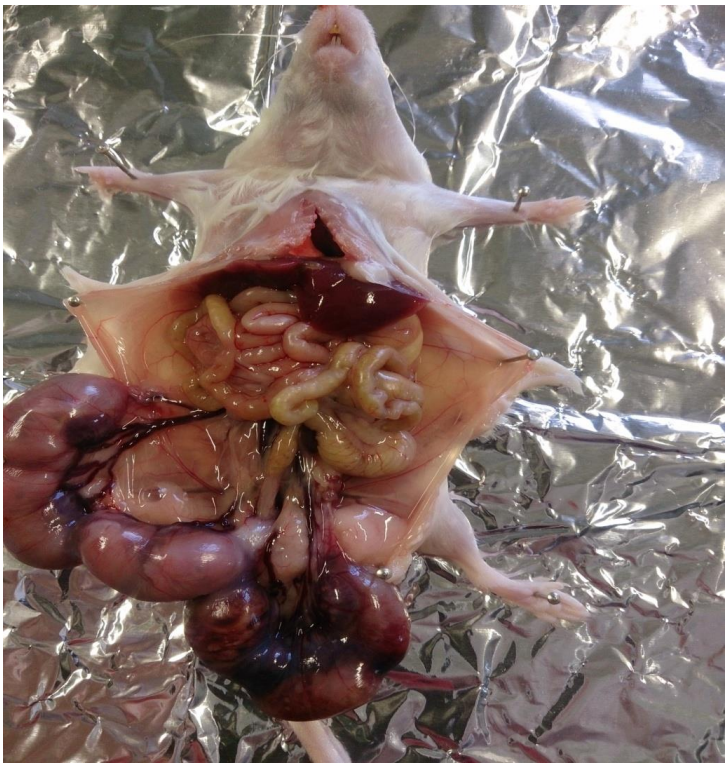
(1) (2)

شكل(4): صورة (1) توضح منظر الأجنة داخل الرحم، وصورة (2) جنين عمره(19) يوم من الحمل لمجموعة (Sham control).

3- المجموعة الثالثة (TREATED-1) وهي المجموعة المعالجة بالأنسولين بجرعة (0.1IU). وتم الكشف على الأجنة يوم التاسع عشر من الحمل .

جدول رقم (3) يوضح قياسات المجموعة الثالثة المعالجة (T0.1IU).

عدد الأمهات	عدد الأجنة	وزن الرحم	الوزن الكلي للأجنة (جم)	متوسط وزن الأجنة (جم)	الطول الكلي للأجنة (سم)	متوسط طول الأجنة(سم)
1	7	2.4جم	5.9جم	0.84جم	12.9سم	1.84 سم
2	5	1.9جم	4.1جم	0.82 جم	9.3سم	1.86سم
3	8	2.2جم	5.4جم	0.67جم	12.4 سم	1.55سم
4	6	2.1جم	3.5جم	0.58 جم	9.1 سم	1.51 سم
5	7	2.3جم	5.0جم	0.71جم	11.2 سم	1.60 سم



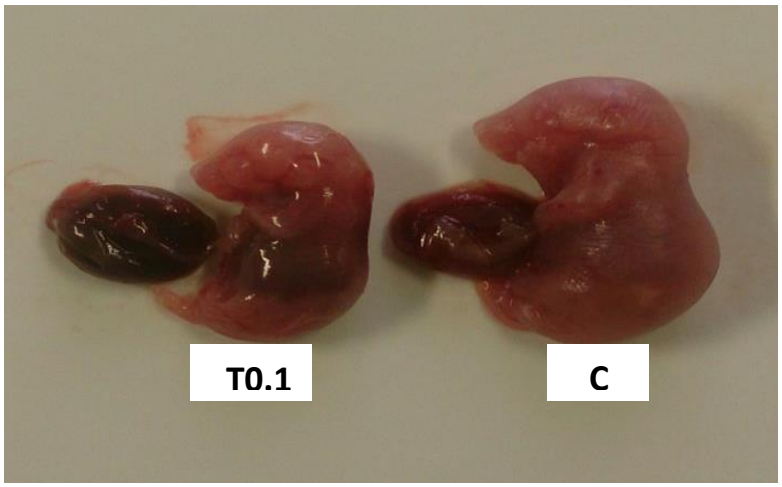
شكل رقم (5): صورة توضح أنثى فأر في اليوم (19) من الحمل حيث يظهر نزيف داخل الرحم وخارجه في المجموعة المعالجة ب 0.1IU أنسولين.

شكل رقم(6): صورة توضح الأجنة داخل الرحم مع وجود نزيف حول الجنين في المجموعة المعالجة ب 0.1IU أنسولين.

شكل رقم (7): صورة توضح السائل الأمنيوني في المجموعة المعالجة ب 0.1IU أنسولين.

شكل رقم (8): صورة تظهر النزيف حول الجنين والمشيمة في المجموعة المعالجة بـ(0.1IU) أنسولين.

شكل رقم (9): صورة لجنين عمره (19) يوم من الحمل في مجموعة المعالجة ب 0.1IU.

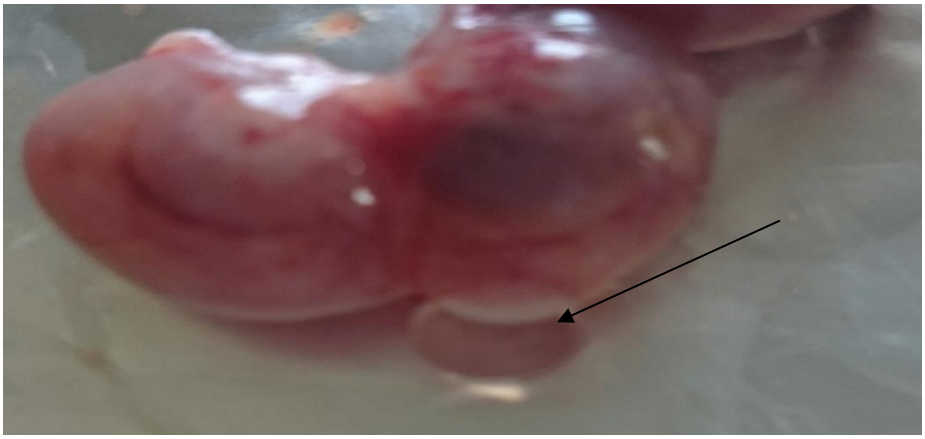


شكل رقم(10): يوضح نقص في الوزن والطول في جنين (T0.1IU) مقارنة بمجموعة السيطرة.

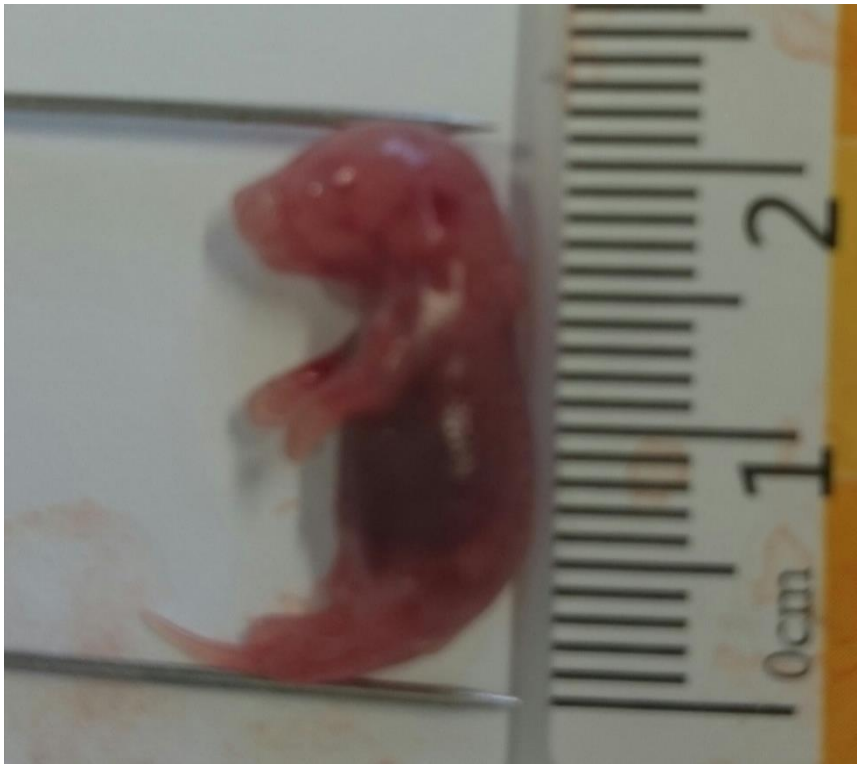
3- المجموعة الرابعة (TREATED-2) وهي المجموعة المعالجة بالأنسـولين بجرعة (0.2IU) في اليوم التاسع من الحمل، وتم الكشف على الأجنة يوم التاسع عشر من الحمل .

جدول رقم (4) يوضح قياسات المجموعة الرابعة المعالجة (T0.2IU).

عدد الأمهات	عدد الأجنة	وزن الرحم	الوزن الكلي للأجنة (جم)	متوسط وزن الأجنة (جم)	الطول الكلي للأجنة (سم)	متوسط طول الأجنة(سم)
1	4	1.7جم	4.3جم	1.075جم	8.2سم	2.05سم
2	6	2.1جم	7.0جم	1.167 جم	13.1سم	2.18سم
3	7	2.3جم	7.2جم	1.028جم	14.0سم	2.0سم
4	9	2.1جم	8.5جم	0.944 جم	18.3 سم	2.03سم
5	10	2.3جم	9.5جم	0.95جم	21.5 سم	2.15سم



شكل رقم (11): صورة لرحم أنثى فأر عمره (19) يوم من الحمل بداخله الأجنة نلاحظ كمية السائل الأمنيوني غزيرة في المجموعة المعالجة بالأنسولين بـ 0.2IU.



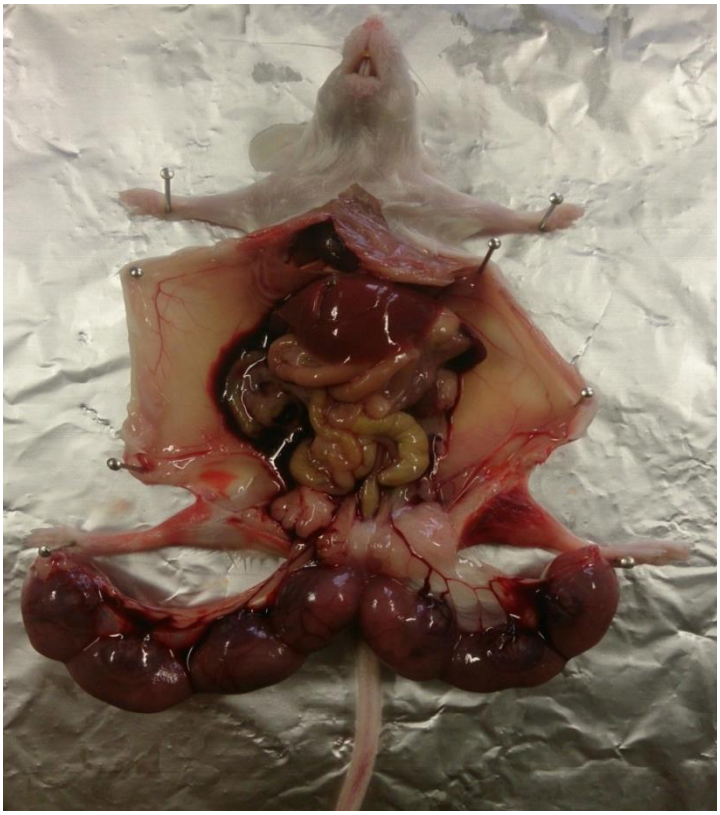
شكل رقم (12): صورة لجنين عمره (19) يوم من الحمل في مجموعة المعالجة بالأنسولين (0.2IU).

شكل رقم (13): صورة لجنين عمر(19) يوم من الحمل توضح الفرق في حجم المشيمة ووجود التعرق الدموي في جنين (T0.2IU) بمقارنة جنين من مجموعة السيطرة (c).

5- المجموعة الخامسة (TREATED-3) وهي المجموعة المعالجة بالأنسولين وحقنت (0.3IU) في اليوم التاسع من الحمل، وتم الكشف على الأجنة يوم التاسع عشر من الحمل في الأشكال .

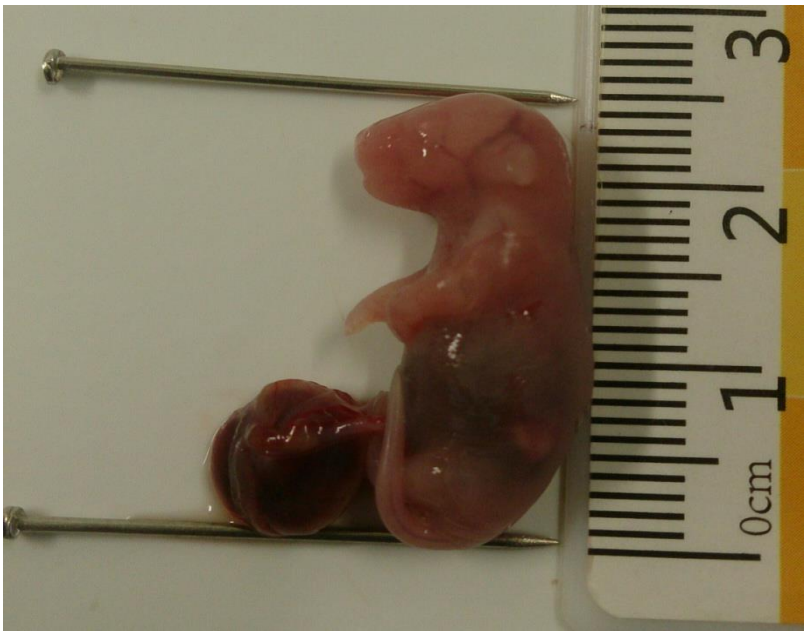
جدول رقم (5) يوضح قياسات المجموعة الرابعة المعالجة (T0.3 IU).

عدد الأمهات	عدد الأجنة	وزن الرحم	الوزن الكلي للأجنة (جم)	متوسط وزن الأجنة (جم)	الطول الكلي للأجنة (سم)	متوسط طول الأجنة (سم)
1	2	1.1جم	2.4جم	1.2جم	4.1سم	2.05سم
2	2	1.0جم	2.3جم	1.15 جم	4.1سم	2.05سم
3	9	1.4جم	8.6جم	0.95جم	17.7 سم	1.96سم
4	12	1.9جم	14.6جم	1.21 جم	27.0 سم	2.25سم
5	11	1.17جم	12.9جم	1.17جم	24.9 سم	2.26سم

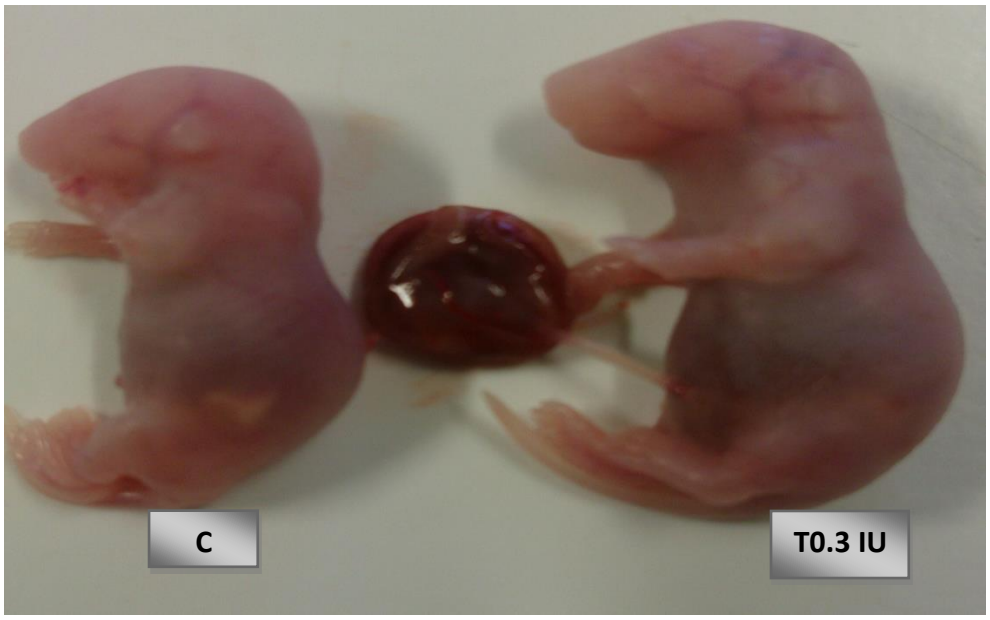


شكل رقم (14): صورة توضح النزيف الحاد في التجويف البطني في المجموعة المعالجة (T0.3IU) أنسولين.

شكل رقم (15): صورة لجنين عمره (19) اليوم في المجموعة المعالجة T0.3 IU ونلاحظ التعرق الدموي حول الجنين.



شكل رقم(16): صورة لجنين عمره(19) اليوم من الحمل في المجموعة المعالجة T0.3IU أنسولين.



شكل رقم(17): صورة لجنين عمره(19) يوم من الحمل تظهر الفرق بين T0.3IUومجموعة السيطرة(C) من ناحية الزيادة في الطول وكذلك كبر الجمجمة والأطراف.

6- المجموعة السادسة (TREATED4) وهي المجموعة المعالجة بالأنسولين (0.4IU) في اليوم التاسع من الحمل وفي هذه المجموعة حدث موت جميع الأجنة، في كل الأمهات الحوامل الخمسة حيث تم الكشف في اليوم التاسع عشر من الحمل ونلاحظ أنه لا يوجد أجنة داخل الرحم بل بقايا من الدم داخل الرحم، ومع العلم أنه عند الحقن تم التأكد من وجود أجنة داخل الرحم وذلك بالكشف على أنثي فأر حامل في اليوم العاشر.

شكل رقم (18): صورة أنثى فأر حامل في اليوم(9) من الحمل حقنت بالأنسولين بجرعة (T0.4IU) من المجموعة السادسة.

شكل رقم(19): صورة لرحم وبداخله الأجنة في عمر (10) من الحمل أي اليوم الذي يلي الحقن وذلك للتأكد من وجود أجنة داخل الرحم في المجموعة المعالجة (T0.4 IU).

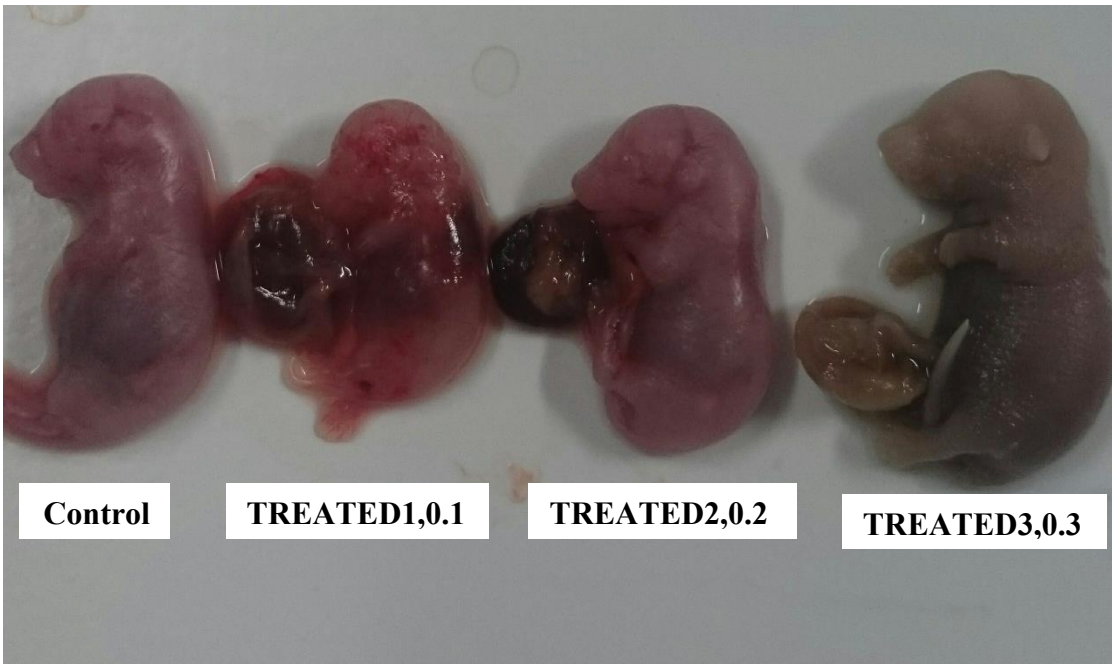
شكل رقم(20): صورة لأنثى الفأر في اليوم (19) من الحمل في المجموعة المعالجة (T0.4IU) نلاحظ موت الأجنة داخل الرحم مع العلم أنه تم التأكد من الحمل بمشاهدة السدادة المهبلية، وكذلك كبر حجم البطن في كل الأمهات الخمسة في المجموعة وأيضا بالكشف على واحده في اليوم (10) من الحمل.

ويمكن ملاحظة الفرق في التغيرات المورفولوجية في أجنة الفئران البيضاء المعالجة بالأنسولين ومجموعة السيطرة نلاحظ الآتي:

1- المجموعة المعالجة (TREATED1(0.1IU نلاحظ قصـــر في الطول وصـــغر حجم الجنين وهذا ما يعرف بالتقزم مقارنة بمجموعة السيطرة.

2- المجموعة المعالجة (TREATED2 (0.2IU نلاحظ تجلط دموي في المشـيمة وكذلك زيادة في الوزن والطول.

3- المجموعة المعالجة (TREATED3 (0.3IU زيادة في الطول والوزن وبروز في العين وكذلك كبر حجم الرأس.



شكل رقم (21): صورة توضح أجنة الفئران البيضاء في عمر (19) من الحمل في كل المجموعات المعالجة ومقارنتها بمجموعة السيطرة.

التحليل الإحصائي للنتائج:

نظرا لاحتواء الوحدة التجريبية الواحدة على عدة مشاهدات (أجنة) بمعنى أن الوحدات التجريبية تمثل عينة عشوائية من المشاهدات يكون التحليل الإحصائي لمثل هذه التجارب مختلفا من حيث مصادر الاختلاف (فاضل، داود. 2002).

هنا سنحصل على مصدر مضاف أخر يدعي بالاختلافات بين الوحدات المعاينة داخل الوحدة التجريبية أو ما يدعى بخطأ المعاينة لذلك يتم استخدام ما يعرف التصميم العشوائي التام بوحدات معاينة (Complete Random Design. with Sampling Unit).

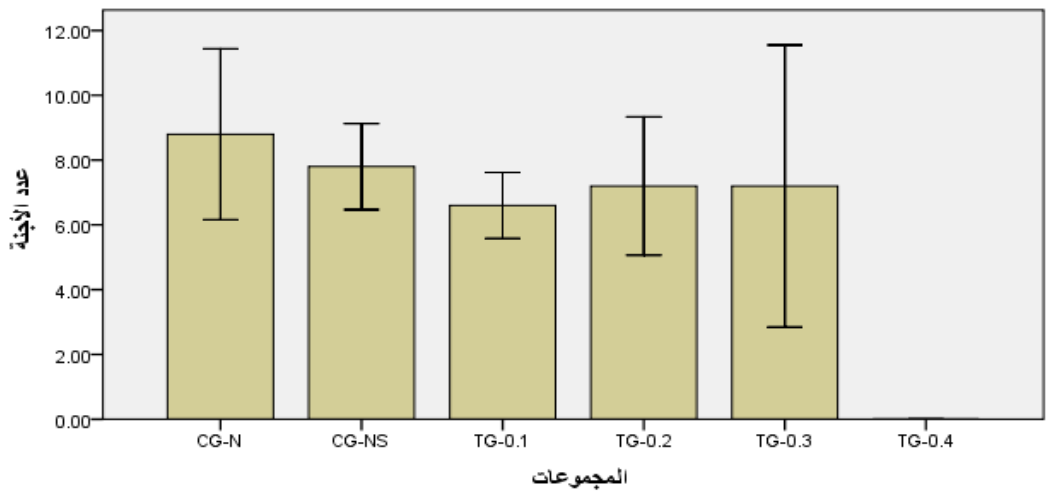
وقد تم إجراء التحليل الإحصائي على هذه المعلومات بحيث تم دراسة المتوسط الإحصائي مع معدل الخطأ (M±SE) وذلك باستخدام برمجيات SPSS لتعين مستوى المعنوية ($P>0.05$) بدون فارق إحصائي معنوي و($P< 0.05$) ذو فارق إحصائي معنوي كما تم استخدام إختبار دونيت (Dunnitt) لتحديد تأثير المعالجات (أنسولين) على عدد الولادات (عدد الأجنة)، وزن الرحم، وزن الأجنة، وطول الأجنة في جميع المجموعات ومقارنتها بمجموعة السيطرة (Control) وكانت النتائج كالآتي:

1- تأثير المعالجات (كمية الأنسولين المعالج) علي عدد الأجنة:

أ- قيمة إحصائي لمدى الاختلاف بين المعالجة (0.1IU) ومعالجة التحكم (control)(0.50990) بدلالة المعنوية محسوبة (0.577) وهي أكبر من مستوى المعنوية 0.05 فهذا يدل على عدم وجود اختلاف معنوي بين متوسط الاستجابة للمعالجة (0.1IU)(6.6000) ومتوسط معالجة التحكم (control)(8.8000).

ب- قيمة إحصائي الاختبار لمدى الاختلاف بين المعالجة (0.2IU) ومعالجة التحكم (control) (1.06771) بدلالة معنوية محسوبة (0.799) وهي أكبر من مستوى المعنوية 0.05 فهذا يدل على عدم وجود اختلاف معنوي بين متوسط الاستجابة للمعالجة (0.2IU) (7.2000) ومتوسط معالجة التحكم (control)(8.8000).

ج- قيمة إحصائي الاختبار لمدى الاختلاف بين المعالجة (0.3IU) ومعالجة التحكم (control)(2.17715) بدلالة معنوية محسوبة (0.799) وهي أكبر من مستوى المعنوية 0.05 فهذا يدل على عدم وجود إختلاف معنوي بين متوسط الإستجابة للمعالجة (0.3IU) (7.2000) ومتوسط معالجة التحكم (control)(8.8000).



شكل رقم (22): يوضح نتائج عدد الأجنة لكل مجموعة.

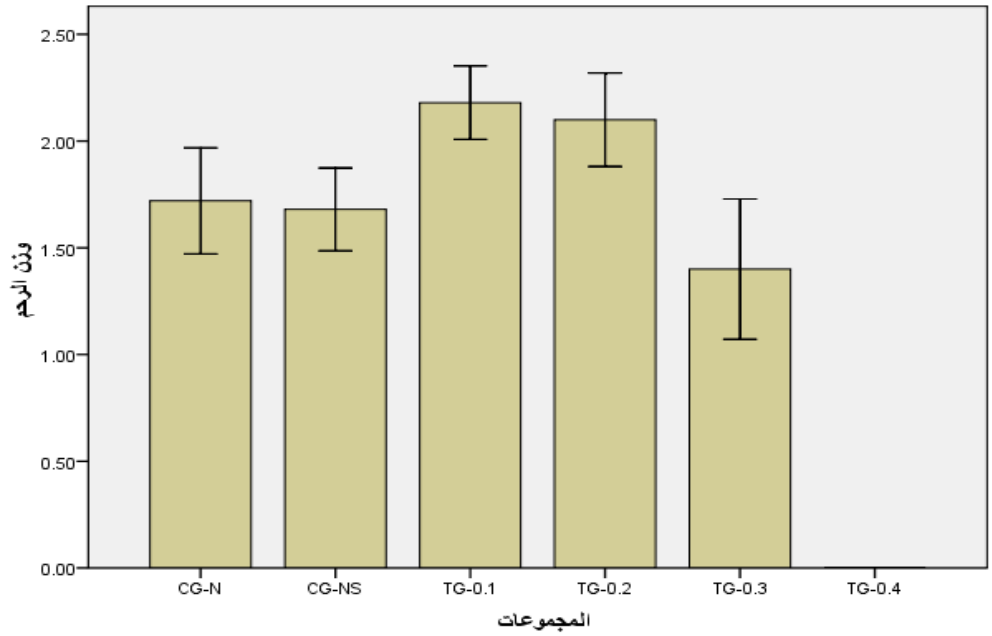
2- تأثير المعالجات (كمية الأنسولين المعالج) على وزن رحم الفأرة:

أ- قيمة إحصائي لمدى الأختلاف بين المعالجة (0.1IU)ومعالجة التحكم (control)(0.86020) بدلالة معنوية محسوبة (0.013) وهي أصغر من مستوى المعنوية 0.05 فهذا يدل على وجود اختلاف

معنوي بين متوسط الاستجابة للمعالجة (0.1IU)(2.1800) ومتوسط معالجة التحكم (control) (1.7200) يؤدي إلى زيادة في وزن الرحم.

ب- قيمة إحصائي الأختبار لمدى الإختلاف بين المعالجة (0.2IU) ومعالجة التحكم (control)(0.10954) بدلالة معنوية محسوبة (0.026) وهي أصغر من مستوى المعنوية 0.05 فهذا يدل على وجود إختلاف معنوي بين متوسط الإستجابة للمعالجة (0.2IU) (2.1000) ومتوسط معالجة التحكم (control)(1.7200) يؤدي إلى زيادة في وزن الرحم.

ج- قيمة إحصائي الاختبار لمدى الاختلاف بين المعالجة (0.3IU) ومعالجة التحكم (control)(.016432) بدلالة معنوية محسوبة (0.000) وهي أصغر من مستوى المعنوية 0.05 فهذا يدل على وجود اختلاف معنوي بين متوسط الاستجابة للمعالجة (0.3IU) (1.4000) ومتوسط معالجة التحكم (control)(1.7200) يؤدي إلى نقص في وزن الرحم.



شكل رقم (23): يوضح نتائج وزن الرحم لكل مجموعة.

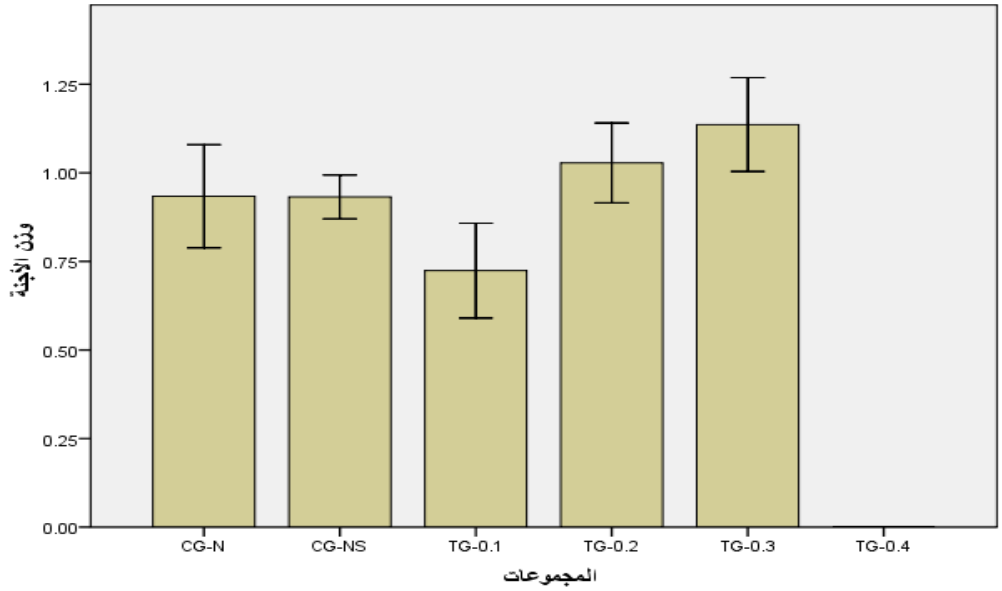
3- تأثير المعالجات (كمية الأنسولين المعالج) على وزن الأجنة:

أ- قيمة إحصائي لمدى الاختلاف بين المعالجة (0.1IU) ومعالجة التحكم (control)(0.04823) بدلالة معنوية محسوبة (0.000) وهي أصغر من مستوى المعنوية 0.05 فهذا يدل على وجود اختلاف معنوي

بين متوسط الاستجابة للمعالجة (0.1IU))(0.7240) ومتوسط معالجة التحكم (control) (0.9340) يؤدي إلى نقص وزن الجنين.

ب- قيمة إحصائي الاختبار لمدى الاختلاف بين المعالجة (0.2IU) ومعالجة التحكم (control)(0.04067) بدلالة معنوية محسوبة (0.002) وهي أصغر من مستوي المعنوية 0.05 فهذا يدل على وجود اختلاف معنوي بين متوسط الاستجابة للمعالجة(0.2IU) (1.0280) ومتوسط معالجة التحكم (control)(0.9340) يؤدي إلى زيادة وزن الجنين.

ج- قيمة إحصائي الاختبار لمدى الاختلاف بين المعالجة (0.3IU) ومعالجة التحكم (control)(.011391) بدلالة معنوية محسوبة (0.000) وهي أصغر من مستوى المعنوية 0.05 فهذا يدل على وجود اختلاف معنوي بين متوسط الاستجابة للمعالجة (0.3IU) (1.1360) ومتوسط معالجة التحكم (control) 0.9340) يؤدي إلى زيادة وزن الجنين.



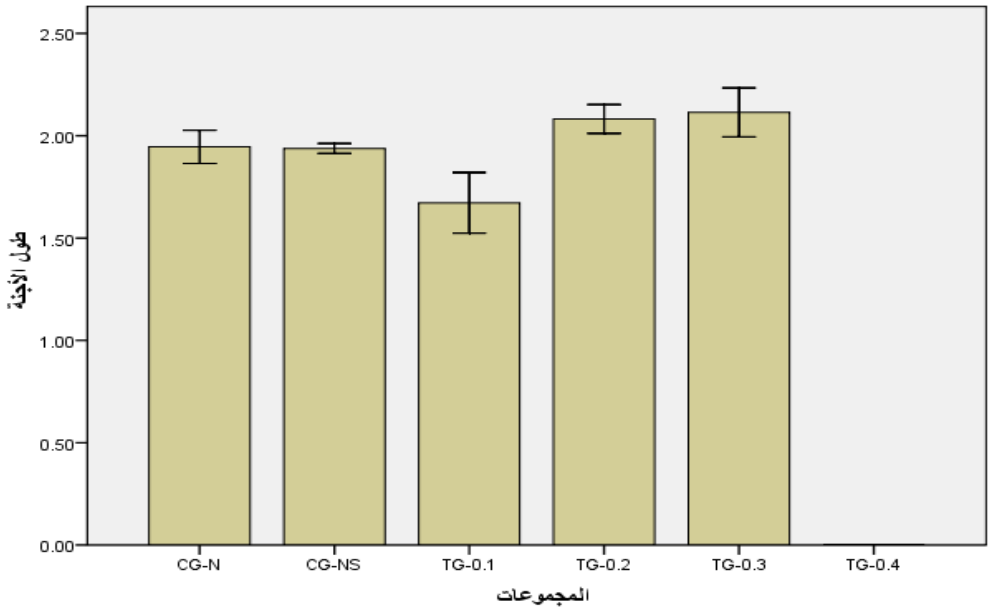
شكل رقم (24): يوضح نتائج وزن الأجنة لكل مجموعة

4- تأثير المعالجات(كمية الأنسولين المعالج) على طول الأجنة:

أ- قيمة إحصائي لمدى الاختلاف بين المعالجة (0.1IU) ومعالجة التحكم (control).(074120) بدلالة معنوية محسوبة (0.001) وهي أصغر من مستوى المعنوية 0.05 فهذا يدل على وجود اختلاف معنوي بين متوسط الاستجابة للمعالجة (0.1IU)(1.6720) ومتوسط معالجة التحكم (control) (1.9460) يؤدي إلى نقص طول الجنين.

ب- قيمة إحصائي الاختبار لمدى الاختلاف بين المعالجة (0.2IU) ومعالجة التحكم (control) (003513) بدلالة معنوية محسوبة (0.000) وهي أصغر من مستوى المعنوية 0.05 فهذا يدل على وجود اختلاف معنوي بين متوسط الاستجابة للمعالجة (0.2IU) (2.0820) ومتوسط معالجة التحكم (control)(1.9460) يؤدي إلى زيادة طول الجنين.

ج- قيمة إحصائي الاختبار لمدى الاختلاف بين المعالجة (0.3IU) ومعالجة التحكم control) (005988) بدلالة معنوية محسوبة (0.000) وهي أصغر من مستوى المعنوية 0.05 فهذا يدل على وجود اختلاف معنوي بين متوسط الاستجابة للمعالجة (0.3IU) (2.1140) ومتوسط معالجة التحكم (control) (1.9460) يؤدي إلى زيادة طول الجنين.



شكل (25): يوضح نتائج أطوال الأجنة لكل المجموعة.

المناقشة:

من المعروف إن للأنسولين خصائص مهمة في تكون الأجنة في الفقاريات وإن زيادة جرعة الأنسولين قد يؤدي إلى تشوهات في الجنين أو موت الجنين بالإضافة إلى مضاعفات قد تحدث للأم الحامل. وقد وجد إن هذه التشوهات تحدث في أجنة الفئران وكذلك أجنة الإنسان (Landauer,1947; Duraiswami,1950).

كما إن نقص الأنسولين في مرحلة ما قبل الولادة قد يؤدي إلى إحداث تشوهات أيضاً في الجنين واضطرابات في بيئة الجنين وذلك ناتج عن انكماش شرايين الرحم الناتج عن نقص الأنسولين وزيادة

الجلوكوز في الدم الذي يؤدي إلى نقص كمية الأوكسجين الواصل للجنين مما يؤدي إلى صغر حجم وطول الجنين ووزنه (Wigglesworth,1964;Chinara,1980).

كما يؤدي إلى صغر حجم رأس الجنين وفقر دم موضعي للجنين وبناء على هذه المعلومات فإننا قمنا بتصميم هذه التجربة لاختبار مدى تأثير الأنسولين المعطى بواسطة الحقن للأمهات الحوامل في فترة تكوين الجنين. ومن خلال النتائج التي تحصلنا عليها ظهر لنا إن هذه الحيوانات تستجيب لحقن الأنسولين بطرق متعددة تعتمد على كمية الأنسولين وعلى فترة حقن الأنسولين الخارجي للأمهات الحوامل (Dealy,1996). فنحن لم نجد أي تأثير لحقن الأنسولين على الأمهات الحوامل من فئران المعمل على عدد الأجنة حيث إنه لم يكن هناك أي اختلاف إحصائي ($P>0.05$)على عدد الأجنة المنتجة في جميع المجموعات علماً بأن هناك اختلاف عددي بين المجموعات مما يدل على إن الأنسولين لم يؤثر على خصوبة الإناث وإن تأثيره يمكن أن يكون على عمليات الأيض والوزن فقط بعد تكوين مرحلة الموريولا في الرحم وهو ما يعادل اليوم الرابع في الفئران البيضاء وهو قبل موعد حقن الأنسولين في هذه التجربة مما يؤكد الدراسات السابقة لهذا الموضوع (Gardner and Kaye;1991).

وعند قياس وزن الرحم للأمهات التي حقنت بالأنسولين ومقارنتها بوزن رحم الأمهات في مجموعة السيطرة فقد تبين تأثير الأنسولين بوضوح حيث وجدنا زيادة في وزن رحم الأمهات اللواتي حقنت بجرعة (0.1IU) وكذلك جرعة (0.2IU) من الأنسولين مقارنة بمجموعة السيطرة بحيث كانت هذه النتيجة ذات فارق إحصائي معنوي ($P<0.05$) وهذا ما تحصل عليه (Rakesh and Shah,2011).

ويرجع ذلك إلى إن الأنسولين عندما يحقن في فترة من 6–9 أيام إلى الأمهات الحوامل يؤدي إلى امتلاء الحويصلة الرحمية (Uterine Visecle) بالسوائل الأمنيوني والماء لزيادة حماية الأجنة من الموت.

ولكن عند زيادة هذه الجرعة إلى (0.3IU) تنتقل هذه السوائل والمياه إلى الأجنة وذلك بزيادة الارتشاف الذي يحدثه جرعة الأنسولين بذلك يزيد وزن الأجنة ويقل وزن الرحم شكل رقم (17).

وهذا واضح بين مجموعتي السيطرة اللتان لم تتأثر من حيث وزن الرحم لا بزيادة ولا بنقصان حيث لم تحقن بالأنسولين ولذا لم يتأثر وزن الرحم كما نرى في الشكل حيث إن مجموعتي السيطرة سواء المحقونة بالمحلول الملحي أو التي لم تحقن لم يتغير وزن الرحم فيها تقريباً.

ولكن عند زيادة الجرعة إلى (0.4IU) وجدنا إن الأجنة ماتت جميعاً وهذا راجع إلى إن الأنسولين قد أظهر مفعولاً قوياً وربما يكون ساماً على خلايا الأجنة وهذا ما أكده العالمان (Sadler and Horton,1983) حيث وجدا إنه عند زيادة جرعة الأنسولين وجد إن الفئران قد عانت كثيراً من التشوهات على الجهاز

العصبي وربما نتج عنها موت بعض الأجنة وهذا حسب ما جاء في تقرير المركز الوطني للتشخيص الأيضي (Fawaz,2012) وكان تأثير الأنسولين على وزن الأجنة واضحاً .

حيث إن حقن (0.1IU) قد عمل على نقص وزن الأجنة مقارنة بمجموعتي السيطرة وتبين عند حقن (0.2IU) وكذلك (0.3IU) وإن متوسط وزن الأجنة قد زاد في هاتين المجموعتين ولقد عزينا نقص الوزن في المجموعة الثالثة (0.1IU) ناتج عن زيادة ارتشاف السائل الأمنيوني والسوائل الأخرى داخل الرحم وفقدان الأجنة فيها مما زاد وزن الرحم ونقص وزن وطول الأجنة كما ذكر سابقاً مؤيداً للدراسات السابقة (Rakesh and Shah,2011) وكذلك وجدنا إن هذه الجرعات قد أحدثت بداية نزيف في الرحم وحولين الجنين والمشيمة كما في الشكل (8).

وكانت هذه النتائج مشابهة للدارسة التي قام بها (Chinara,1980) والذي أوضح إن انكماش الشرايين في الرحم الذي أحدثه حقن الأنسولين هو ما أدى إلى نقص وصول الأوكسجين للأجنة مما أدى إلى تقزمها ونقص طولها ووزنها وقد لاحظ نفس الملاحظه وزاد عنها إن حقن الأنسولين للأمهات الحوامل الغير مريضة بداء السكري (فئران طبيعية) يجعل الأجنة تعاني من صغر حجم الرأس والأطراف ونقص في الوزن والطول.

وأكد العالم (Sadler,1995) صحة النظرية حيث ارجع سبب نقص الوزن والطول والتقزم إلى ظاهرة نقص السكر في الدم (Hypoglycaemia) الذي يحدثه الأنسولين المحقن وهذا ماحصل في دراستنا الحالية حيث وجد إن الأجنة المحقونة قد حصل لها نقص في الوزن والطول وهو ما وجده غيرنا (Dawd,1980) الذي أرجع السبب إلى إن حقن الأنسولين يؤدي إلى تثبيط المادة البين خلوية التي تساعد في نمو الأطراف وعند حقن الأنسولين تنقص هذه المادة فيقل طول الجنين ووزنه.

ولكن مع زيادة جرعة الأنسولين المحقونة تزيد نسبة الأيض عند الفئران فتطلب زيادة في الغذاء (Reeves et al,1993) وهذا ما حدث معنا حيث إننا قمنا بزيادة كمية العلف عند الحقن بجرعتي (0.3IU,0.2IU) حيث لاحظنا إن النزيف كان كبيراً في المشيمة وكذلك وفرة في السائل الأمنيوني وزاد طول ووزن الأجنة وعند الجرعة (0.3IU) كان النزيف واضحاً في التجويف البطني كما في شكل رقم (14).

وتشير الدراسات التي قام بها (Dealy and Kosher,1995) إلى أن الأنسولين وعوامل النمو شبيهة الأنسولين (TGF-1,TGF-2) تعملان على تحفيز نمو براعم الأطراف في الجنين وجعل طبقة الأكتوديريم الرقيقة أكثر سماكة وجعلها قادرة على تكوين طبقة الأكتوديرم الفوقية أكثر سماكة.

.

وكان (Landauer and Bliss,1946) قد وجد أن زيادة جرعة الأنسولين قد تسبب تشوهات في أطراف الأجنة أوقد تعمل على موت هذه الأجنة في الفئران غير إنهما لم يوضحان الجرعة المطلوبة لهذا الغرض وهو ما ثبت لنا في هذه التجربة حيث إننا وجدنا بعض الجرعات قد تسبب في نقص طول ووزن الأجنة وبعض الجرعات قد تسبب في زيادة وزن وطول الأجنة وعند زيادة الجرعة عن (0.375IU) المقررة من (Fawaz,2012) قد أدت إلى موت جميع الأجنة كما يظهر في الشكل رقم (20).

وكان الباحثون (Liu et al,2009) قد حددوا جرعة الفئران المناسبة بين(0.001 و10 وحدات) لكل 1كلجم من وزن الحيوان وهو ما قمنا بحسابه على أوزان الفئران لدينا لنجد أن الجرعة المناسبة لدى فئران المعمل تتراوح بين (0.3–0.1) وحدة دولية.

وقد أجمعت جميع البحوث والتقارير على أنه لحقن الأنسولين تأثير على الأعضاء وخاصتا الجهاز العصبي وقد لوحظ ظهور عيوب في الأنبوب العصبي على أجنة الأمهات المصابة بالسكري عند مقارنتها بالمجموعة الغير مصابة حيث أن معدل العيوب كانت أعلى ثلاث مرات تقريبا حيث ظهرت تشوهات في الدماغ الوسطى والدماغ الخلفي ودخلت الخلايا في موت مبرمج وأظهرت النتائج إن أجنة الفئران المصابه السكري فشلت في إنتاج Pax-3 وهو عبارة عن جين مسئول عن إقفال الأنبوب العصبي في الدماغ الوسطى والدماغ الخلفي وهذا أدى إلى تأخر نمو في الأنبوب العصبي (Shelley et al. 1997).

وعند دراسة تأثير الجرعات العالية من الأنسولين وخاصتا (20IU) في يوم7.5 من الحمل وهو اليوم المناسب لتكوين الصفيحة العصبية وعند الحقن في هذا اليوم أظهرت النتائج أن أجنة الفئران المحقونة تأخرت في نمو وتأسيس الصفيحة العصبية مقارنة بالفئران السليمة وقد تم اختيار يوم 9.75 من الحمل وهي المرحلة التي تتشكل فيها القطع العضلية والطيات العصبية وجزر الأوعية الدموية التي تحيط بالكيس المحي للجنين مع ملاحظة نقص شديد في توفير الجلوكوز (Sadler, 1980) في هذه الفترة.

وأشارت النتائج التي قام بها (Keiichiro et al 1991) إلى ظهور تشوهات في الجهاز الهيكلي في الفئران المعالجة بالأنسولين عند مقارنتها بالفئران السليمة حيث وجدت تشوهات في الأطراف وكذلك غياب بعض الضلوع وتشوهات في القفص الصدري وشملت التشوهات أيضاً العمود الفقري.

وأن أحداث داء السكري في الحيوانات المعملية يعتمد على عدة عمليات أيضيه للجلوكوز ومستويات الأنسولين والتي تجعله يتغير ويصبح قادر على أحداث المرض بشكل مستقل عن العوامل الأخرى وإن الملاحظات الحالية في هذه التجربة تظهر وجود حالة التقزم ونقص في الوزن في المجموعة المعالجة بـ0.1IU وهذا يدل على نقص السكر في الدم في مراحل التكوين الجنيني عند الفئران الحوامل، ولذلك

يجب أن يعطي الأنسولين بشكل دقيق للأمهات الحوامل ويجب ملاحظة مستوى الجلكوز في الدم بشكل دوري ودقيق (Mueller and young,1998).

وإن كل التقنيات التي تكون زراعة الأجنة خارج الرحم يجب أن تكون لغرض إنجاح الزراعة المعملية والنظام المتبع لأجنه الفئران والجرذان خلال فتره التكوين الجنيني يجب أن يكون متشابهاً بينهما والمواد الصناعية المضافة التي توضع في الوسط الزراعي للأجنة تتطابق بشكل كبير وملحوظ مع العوامل الخاصة للأجنة البشرية خلال الأسبوع الرابع إلى الأسبوع السادس من الحمل Sadler and (Horton,1983).

حيث أنه في هذه المرحلة الحساسة لمرضى السكر تكون المزارع الجنينية تتطور في البيئة الغير مستقرة لسكر الدم والأجسام الكيتونيه، إضافة إلى العوامل الأخرى التي تستطيع أن تحدث بشكل مستقل مرض السكري.

ومن خلال الحالة الصحية للنساء الحوامل المصابات بداء السكري مع المراقبة الدقيقة والتحكم بمستوي الجلوكوز في الدم ينتج عنه تحسن كبير وملحوظ للسكر في الدم أما بالنسبة للتشوهات الخلقية فأنها تظهر على شكل شذوذ في الأجنة أي في نسل الأمهات.

وإنه من الصعب إحصاء معدل الحالات التي تظهر التشوهات من خلال النسل المصاب بداء السكري، واختلال توازن الجلوكوز في الدم وفرط كيتونيه الدم، ومستوي الأنسولين الغير طبيعي مثلها مثل العوامل الأخرى التي تؤدي إلى حدوث التشوه في مراحل المبكرة من الحمل (هاشم 1990، الكاديكي 1998، غنيم 1999).

ويتبين لنا من هذه الدراسة إن حقن الأنسولين للأمهات الحوامل المصابة بالسكري ينتج عنه تحسن كبير ولكن يجب أن يكون بمقادير وتحت إشراف طبي كامل وبجرعات مدروسة ومحددة مسبقاً وإلا تحول حقن الأنسولين إلى حالة قد ينتج عنها تشوهات في الجنين أو موته.

التوصيات

1- نحن نوصي بأن هذه التجارب يجب أن تستمر ولكن مع توفير إمكانيات أكثر حيث يجب أن يدرس تأثير حقن الأنسولين على القلب والرئتين والكلى والجهاز العصبي والجهاز الهيكلي وذلك بتوفير معمل شرائح مجهز جيداً لدراسة الأنسجة مع توفير مجهر إلكتروني حتى يمكن رؤية التغيرات التي يحدثها حقن الأنسولين في هذه الأعضاء.

2- كما نوصى بأن يستمر العمل على هذا النمط لأكثر من باحث مع وضع خطة عملية لدراسة تأثير حقن الأنسولين على الفئران وباقي حيوانات المعمل مع إحداث مرض السكري معملياً لهذه الحيوانات

بتوفير مواد مثل (Streptozotocin , Alloxan) التي تحدث مرض السـكري عند حقنها للحيوان ومن ثم دراسـة تأثير الأنسـولين المحقونة عليها كما إنه من المهم جداً تحديد الجرعة المناسـبة لإحداث التشـوهات في الأجنة في كل حيوانات المعمل، وهذا يتطلب دراسـة دقيقة مع توفير معدات وبعض المواد الكيماوية المناسبة.

3- ضـرورة ربط هذه الدراسـة بمختبرات وزارة الصـحة والقائمين عليها للمسـاعدة في تطبيق هذه الدراسـة ميدانياً على النساء الحوامل وإيجاد الحلول للمصابات منهن.

❋❋❋❋❋

المراجع:

أ- المراجع العربية

1- حسام الدين غنيم (1999) سكر الحمل، جريدة الجزيرة.

2- خير الدين، محي الدين، وليد يوسف وسعد توحله (1990) فسلجة الغدد الصم والتكاثر في الثدييات والطيور، دار الحكمة للطباعة والنشر 176-185.

3- سمير سليم فاضل، جمال إبراهيم داود (2002) تصميم التجارب والتحليل الإحصائي، دار شموع الثقافة الزاوية.

4- عثمان الكاديكي (1998) الداء السكري، الدار الجماهيرية للنشر والتوزيع والإعلان، ص 70- 102.

5- محمد هاشم (1990) أمراض الغدد الصماء، الجزء السادس، مكتبة الأماني، ص139-151.

ب. المراجع الإنجليزية

1- Dawd, D, S. (1980); The development of the vertebrate limb, an approach through experiment, genetics , and evolution , Oxford Press Plates 1,2,3,4,5.

2- Dealy,C. N; and R.A, Kosher. (1995); Studies on insulin like Growth factor-1 and Insulin in chick limb morphogenesis.Dev- Dyn, 202 (1), PP. 67-79.

3- Dealy. C. N. (1996); IGF-1, insulin and FGFS induced outgrowth of the limb buds of amelic mutant chick embryos, Development. 122(4) PP.-30-1323.

4- Elmarimi,A.A. (1990); Efect of Vitamin A and β Carotene on Mice and Rabbit Embryo Production and Viability; Ph.D Thesis. Hungarian Academy of Science.Budapest, Hungary.

5- Fawaz G.H. (2012); Intraperitoneal Insulin Tolerance Test.Mouse Metabolic Pheotyping Centers (MMPC).

6- Gardner H.G and PL Kaye. (1991); Insulin increases cell numbers and morphological development in mouse pre-Implantation embryos in Vitro. Reproduction, Fertility and development.3(1)79-91.

7- Guyton, A.C and J.E,Hall. (2000); Human physiology and mechanisms of Diesease. 10th Ed, USA, PP.884-897.

8- Hernandez Sanchez; Catalina Rubio and Eva. Serna, (2002); Unprocessed proinsulin promotes cell survival during neurulation in the chick embryo. Diabetes.51(3), PP. 7-70.
9- Kiichiro T; K Mikiko;T Osamu; and K Yuzuru. (1991); Skeletal malformations in Rat off spring Long-Term Effect of Maternal Insulin-Induced Hypoglycemia During Organogenesis Diabetes 40: (1)115-121.
10- Lindauer,W. (1945);Rumplessness of chicken embryos produced by Injection, of insulin and other chemicals. J.Exp.Zool.;65: 98.
11- Lindauer, W and C. I Bliss. (1946); Insulin induced rumplessness in Chickens J.Exp.Zool. 1: 101.
12- Liu,Y; MA, Lan; Y.Zhang; F.Ding and H.Zhou.(2009);Effect of insulin on development of ICR mouse embryos in vitro.J.of Repro.and Contraception.20(4).PP205-210.
13- Mueller,R.F.and I.D Young. (1998); Emery's Elements of Medical Genetics.In: Genetics and congenital abnormalities10th Ed; Churchill. Livingstone, Edinburgh, pp 233-234.
14- National Academy of sciences. (1978); Nutrient requirements of the mouse.Im ;Nutrient requirements of Laboratory animals.3rd.Ed.(10). Washington, D.C.
15- Rakesh, K.D.and G.L.Shah. (2011); "Insulin Induced Congenital Malformations in Rat." J. Anat. Soc. 60(1): 1-5.
16- Reeves, P; G,Nielsen; H, Forrest; and C,Gerorge.JR (1993); Laboratory Rodent Diet.Journal of Nutrition Nov.V.123(11).
17- Rex; Robert,L and J.F,Fallon.(1974); Biochemistry 4th Ed , PP.79-675.
18- Sadler,T.W.(1980); Effects of maternal diabetes on early embryogenesis: Hyperglycemia-induced exencephaly.Teratology. 21: 349-356.
19- Sadler,T. W, and W.E ,Horton , JR(1983); Effects of Maternal diabetes on Early Embryogenesis. The Role of Insulin and Insulin Therapy.Diabetes.32: 1070-1074.
20- Sadler,T.W.(1995); Langman's Medical Embryology.In: Congenital Malformations. 7th Ed; Lippincort Williams &Wilkins.Baltimore PP122-143.
21- Schmidt,K;andT, Nielsen. (1990); Animal physiology: Adaptation and environment.4thEd. Cambridge Press, PP.497.
22- Shelley A. Phelan, Moriko Ito, and Mary R. Loeke.(1997); Neural Tube Defects in Embryos of Diabetic Mice.Role of the Pax-3 Gene and Apoptosis,Diabetes 46: 1189-1197.
23- Wigglesworth, J.S. (1964); Experimental growth retardation in the fetal rat. Pathol.Bacteriol. 88: 1-13.