

اثرات عصاره دانه انگور بر آپوپتوز سلول‌های قلبی در موش‌های صحرایی دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین

یوسف دوستار^۱، داریوش مهاجری^۲، علی رضایی^۳

^۱ استادیار گروه پاتوبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز

^۲ دانشیار، گروه پاتوبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز

^۳ دانشیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز

چکیده

سابقه و هدف: آپوپتوز مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی است که نقش آن در توسعه کاردیومیوپاتی دیابتی گزارش شده است. در بررسی حاضر، تاثیر عصاره دانه انگور بر آپوپتوز سلول‌های قلبی در موش‌های صحرایی دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین مورد مطالعه قرار گرفته است.

روش بررسی: ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با سن تقریبی ۱۲ هفته و محدوده وزنی ۲۰۰-۳۰۰ گرم در چهار گروه مساوی شامل گروه موش‌های سالم تیمار با حامل دارو، گروه موش‌های سالم دریافت کننده عصاره به میزان ۴۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، گروه موش‌های دیابتی و گروه موش‌های دیابتی تیمار با عصاره (۴۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) به مدت ۱۲ هفته، توزیع گردیدند. دیابت با تزریق داخل صفاقی استرپتوزوتوسین (۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) به صورت تک دز، ایجاد گردید.

یافته‌ها: موش‌های دیابتی افزایش معنی داری را در آپوپتوز سلول‌های قلبی نشان دادند. تجویز خوراکی عصاره دانه انگور منجر به کاهش معنی دار سلول‌های دچار آپوپتوز در موش‌های دیابتی گردید.

نتیجه گیری: نتایج حاصل از این مطالعه، وقوع آپوپتوز را در دیابت مورد تأیید قرار داده و اثرات آنتی آپوپتوزی عصاره دانه انگور را خاطرنشان می‌سازد.

واژگان کلیدی: آپوپتوز، دانه انگور، دیابت، موش صحرایی.

مقدمه

هسته انگور از فراورده‌های زائد کارخانه‌های آب میوه می‌باشد که ترکیبی از چربی، پروتئین، کربوهیدرات و ۵ الی ۸ درصد پلی فنل بوده که مقادیر آن بستگی به گونه و جنس انگور دارد. پلی فنل‌های موجود در عصاره هسته انگور شامل فلاوینوئیدها، اسید گالیک، مونومریک فلاوان-۳-کاتچین، اپی-کاتچین-۳-گالیت و دیمریک، مونومریک و پلی-مریک پروآنتوسیانیدین

می‌باشند. پروآنتوسیانیدین دimer موجود در هسته انگور موثرترین ترکیب آنتی اکسیدان می‌باشد (۵-۱). مطالعات نشان می‌دهد که عصاره هسته انگور دارای پتانسیل بسیار بالایی در از بین بردن رادیکال‌های آزاد و مهار استرس اکسیداتیو بوده و در موارد انفارکتوس‌های قلبی و ایسکمی برقراری مجدد گردش خون بافتی (Ischemic reperfusion)، نقش مهمی آن در برابر استرس اکسیداتیو به اثبات رسیده است (۹-۶). دیابت اختلالی است متابولیکی که به وسیله هیپرگلیسمی مشخص و بدنبال نقص در ترشح انسولین، مقاومت به عمل انسولین یا هر دو ایجاد می‌گردد و در دراز مدت با عوارض چشمی، کلیوی، قلبی و عصبی همراه می‌باشد. از عوارض بیماری دیابت افزایش

آدرس نویسنده مسئول: تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، دانشکده دامپزشکی، گروه پاتوبیولوژی،

بخش آسیب‌شناسی، دکتر یوسف دوستار (email: vetdoustar@yahoo.com)

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۹/۶/۸

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۰/۱/۲۳

مواد و روشها

بعد از خریداری انگور قرمز، اقدام به جدا کردن دانه‌ها از تفاله انگور قرمز به طور دستی گردید. دانه‌ها شستشو و خشک کردن دانه‌ها در هوای آزاد و به دور از نور آفتاب انجام شد.

انگور مورد استفاده از خانواده ویتس وینی‌فرا (Vitis Vinifera)، تیره آمپلی‌داسه (Ampelidaceae)، جنس ویتس (Vitis)، زیر جنس اوی‌تیس (Euvtis) و گونه انگور ایرانی بود.

مراحل عصاره‌گیری به شرح زیر بود:

مرحله اول: خشک کردن دانه‌ها در حرارت ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه (نیم ساعت) انجام شد.

مرحله دوم: آسیاب و خرد کردن دانه‌ها تا مرحله تشکیل پودر انجام شد.

مرحله سوم: جهت جداسازی چربی دانه‌ها، پودر حاصله در حلال n.Hexan قرار داده شد که این مرحله خود دوبار تکرار گردید که بعد از هر نوبت، پودر دانه‌ها توسط کاغذ صافی از حلال n.Hexan جدا گردید.

مرحله چهارم: در این مرحله پودر حاصله از مرحله سوم، در حلال متانول قرار داده شد که این مرحله خود نیز ۲ بار تکرار و بعد از هر نوبت، پودر دانه‌ها توسط کاغذ صافی از حلال جدا شد.

مرحله پنجم: این مرحله برای جدا کردن عصاره از حلال متانول انجام شد. محلول متانولی حاوی عصاره در محیط خلاء و حرارت ۴۰ درجه سانتی‌گراد توسط دستگاه اواپراتور خشک شد و بعد از تبخیر متانول، عصاره خالص در ظرف باقی ماند که پس از جمع‌آوری، دور از نور و رطوبت نگهداری شد (۲۰).

موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار (Wistar)، با محدوده وزنی ۲۰±۲۰ گرم و سن تقریبی ۱۲ هفته از محل پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی انستیتو پاستور ایران خریداری گردیدند. شرایط تغذیه و نگهداری برای همه گروه‌ها یکسان و به صورت ۱۲ ساعت روشنایی/تاریکی و دمای ۲±۲۱ درجه سانتی‌گراد در قفس‌های مخصوص و در بستری از پوشال، در نظر گرفته شد. آب به‌طور آزاد در دسترس قرار گرفت. پس از یک هفته عادت به وضعیت جدید، مطالعه روی موش‌ها انجام گردید. در این مطالعه موارد اخلاقی مورد تأیید کمیته نظارت بر حقوق حیوانات آزمایشگاهی مرکز تحقیقات دارویی دانشگاه علوم پزشکی تبریز قرار گرفت.

جهت ایجاد دیابت از تزریق داخل صفاتی استرپتوزوتوسین (Streptozotocin) به‌میزان ۵۰ mg/kg و به‌صورت تک دز

خطر ابتلا به کاردیومیوپاتی می‌باشد (۱۱، ۱۰). تحقیقات نشان داده است که در دیابت تجربی القا شده با آلوکسان در موش‌های صحرایی، میزان ابتلا به آترواسکلروز و کاردیومیوپاتی به شدت بالا می‌رود (۱۲).

اهداف درمانی در دیابت به‌طور عمده شامل کاهش مقاومت به انسولین و تحریک ترشح انسولین از طریق اصلاح تغذیه، ورزش و درمان دارویی می‌باشد (۱۳، ۱۴). استرس اکسیداتیو که عبارت از عدم تعادل بین تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و ظرفیت دفاع آنتی‌اکسیدانی بدن می‌باشد، به شدت با دیابت و عوارض آن در ارتباط است، به‌طوری‌که نشان داده شده است که طی هر دو نوع دیابت ۱ و ۲ و حتی در غیاب عوارض دیابتی، استرس اکسیداتیو در خون افزایش یافته و درمان با آنتی‌اکسیدان‌هایی نظیر ویتامین E و ملاتونین منجر به کاهش عوارض دیابت گردیده است (۵). دیابت می‌تواند باعث صدمه بافتی از طریق تشکیل گروه‌های بازی بین گروه‌های کربونیل قند و گروه‌های آمینی پروتئین‌ها گردد. در دیابتی‌های وابسته به انسولین، هیپرگلیسمی مزمن باعث صدمه به سلول‌ها با افزایش تولید H₂O₂ و کتوالدئیدها از طریق اکسیداسیون خودبه‌خودی گلوکز می‌شود. این ترکیبات همراه با گسترش عوارض دیابت به علت تولید و تجمع AGEs (Advanced Glycation end-product) می‌باشد. رادیکال‌های آزاد به‌طور کنترل نشده‌ای در دیابتی‌ها بوسیله اکسیداسیون گلوکز، گلیکاسیون غیر آنزیماتیک پروتئین‌ها و بدنال آن تخریب اکسیداتیو پروتئین‌های گلیکوله ایجاد می‌گردد. افزایش سطوح رادیکال‌های آزاد و کاهش همزمان مکانیسم‌های دفاعی در برابر آن می‌تواند منجر به صدمه سلولی و آنزیم‌ها شده، پراکسیداسیون لیپیدی را افزایش و مقاومت به انسولین را توسعه دهد (۲، ۱۶، ۱۵). با توجه به مجموعه فوق‌الذکر، استفاده از عوامل آنتی‌اکسیدان نقش به‌سزایی در کاهش عواقب ناشی از بیماری دیابت خواهد داشت و در این بین استفاده از ترکیبات با منشأ گیاهی که معمولاً با عوارض جانبی کمتری همراه است، اهمیت خاص خود را دارد. به‌نظر می‌رسد که عصاره هسته انگور در درمان بیماری دیابت حائز اهمیت باشد، چراکه نقش آن در کاهش قند خون و همچنین کاهش استرس اکسیداتیو حاصل از روند التهاب، به اثبات رسیده است (۱۹، ۱۳، ۳-۱۷). هدف از مطالعه حاضر، بررسی تاثیر عصاره هسته انگور بر آپوپتوز سلول‌های قلبی در موش‌های صحرایی دیابتی بود.

محلول مبدل (۵۰ میکرولیتر) به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد با محلول فسفات بافر شستشو و سپس با محلول دی‌آمینو بنزیدین تتراکلراید نیز مجاور و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد مجدداً انکوبه گردیدند. نهایتاً سپس مقاطع بافتی با فسفات بافر شستشو و با تولوئیدین بلو رنگ‌آمیزی شدند (۱۹، ۱۵، ۱۶).

نتایج به صورت میانگین $\pm$ انحراف استاندارد از میانگین ارائه گردیده است. داده‌های حاصل در هر دو گروه تیمار و شاهد، توسط نرم افزار SPSS ویرایش ۱۳ با آزمون ANOVA یک طرفه و آزمون تعقیبی Tukey برآورد شد. $p < 0.05$ به عنوان حداقل سطح معنی‌دار بودن تفاوت میانگین‌ها مورد استفاده قرار گرفت.

یافته‌ها

میزان آپوپتوز در انتهای هفته دوازده در گروه‌های اول و دوم تفاوتی نداشت، در حالی که در گروه سوم افزایش و در گروه چهارم کاهش معنی‌داری را نشان داد. سلول‌های آپوپتوتیک در رنگ‌آمیزی زمینه تولوئیدین بلو به رنگ قهوه‌ای روشن مشاهده می‌شوند که اصطلاحاً به نام سلول‌های تانل مثبت نامیده می‌شوند.

جدول ۱- تغییرات آپوپتوزیس در بافت قلب موش‌ها

متغیر وابسته	میانگین $\pm$ انحراف معیار
گروه سالم دریافت کننده حامل دارو	۱/۳۵۷ $\pm$ ۱/۵۴۳
گروه سالم دریافت کننده عصاره	۱/۲۰۳ $\pm$ ۲/۷۶۵
گروه دیابتی	۱۱/۷۱۴ $\pm$ ۲/۴۰۸
گروه دیابتی دریافت کننده عصاره	۴/۳۵۷ $\pm$ ۱/۸۳۹

میزان قند خون به طور معنی‌داری در گروه دیابتی دریافت کننده عصاره هسته انگور نسبت به گروه دیابتی و گروه‌های سالم دریافت کننده حامل دارو و عصاره کاهش یافت، هر چند که مابین دو گروه سالم و دریافت کننده حامل دارو و عصاره تغییرات معنی‌داری مشاهده نگردید (NS).

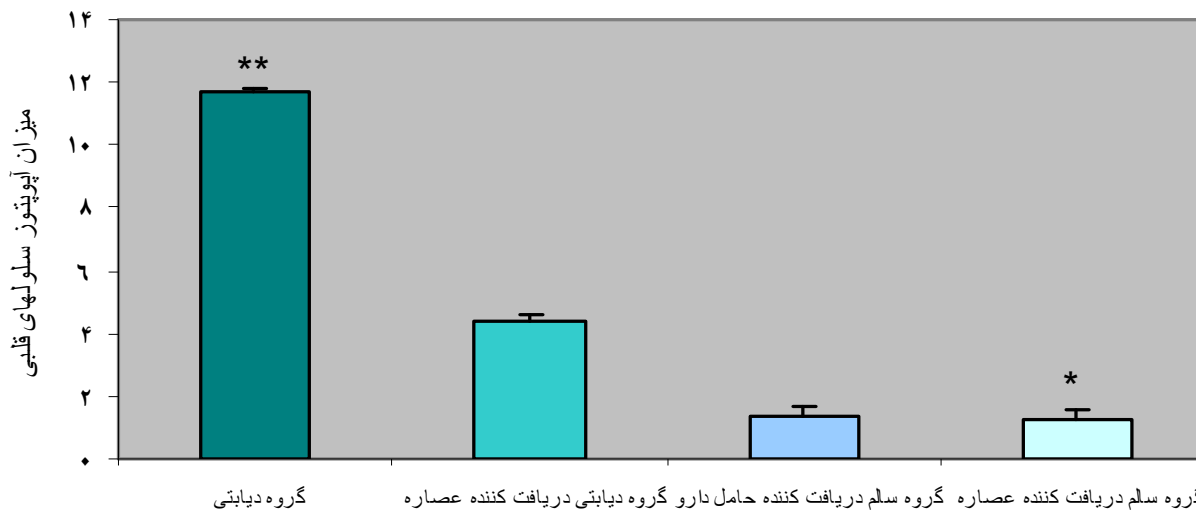
اختلاف میانگین تغییرات آپوپتوزیس بین گروه‌های تیمار و شاهد معنی‌دار بود ($p < 0.05$) (نمودار ۱ و جدول ۱). مقدار قند خون در روزهای بعد از تزریق استرپتوزوسین در گروه دیابتی دریافت کننده عصاره، گروه دیابتی و گروه‌های سالم دریافت کننده حامل دارو و عصاره هسته انگور اختلاف معنی‌داری داشت ($p < 0.01$) (نمودارهای ۲، ۳، ۴ و ۵).

استفاده شد. با این روش ۴۸ ساعت بعد از تزریق، دیابت در موش‌ها ایجاد می‌شود که جهت تایید آن، با ایجاد یک جراحی کوچک توسط لانس در دم حیوانات، یک قطره خون روی نوار گلوکومتر منتقل و نتیجه توسط دستگاه گلوکومتر (Boehringer Mannheim Indianapolis, IN) قرائت و قندخون بالای ۳۰۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر، بعنوان شاخص دیابتی شدن در نظر گرفته شد و همچنین برای ارزیابی تغییرات قند خون در هفته‌های سوم، ششم، نهم و دوازدهم و مقایسه میزان قند خون در گروه‌ها به همان تکنیک توضیح داده شده عمل گردید (۲۱، ۲۲).

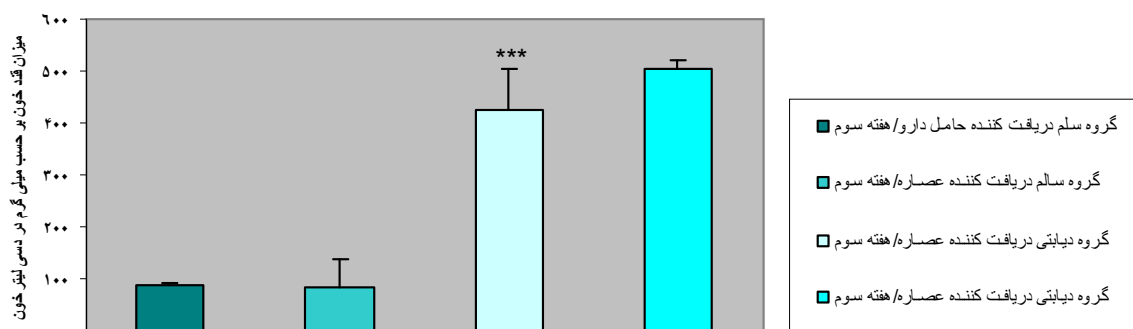
تعداد ۴۰ سر موش صحرایی نژاد ویستار نر به طور تصادفی در ۴ گروه ۱۰ تایی شامل ۱- گروه موش‌های سالم تیمار با حامل دارو، ۲- گروه موش‌های سالم دریافت کننده عصاره به میزان ۴۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، ۳- گروه موش‌های دیابتی و ۴- گروه موش‌های دیابتی تیمار با عصاره (۴۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن)، توزیع گردیدند. موش‌های گروه‌های تیمار با عصاره (گروه‌های ۲ و ۳) روزانه و به مدت ۱۲ هفته تحت گاوژ معدی عصاره دانه انگور با دز ۴۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن (در ۱۰ میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن بدن سالین ایزوتونیک) قرار گرفتند و دو گروه بعدی (گروه‌های ۱ و ۳) نیز به همان روش فقط سالین نرمال به میزان ۱۰ میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن بدن دریافت کردند. در پایان دوره آزمایش موش‌ها با تزریق داخل صفاقی پنتوباریتال سدیم (۶/۵ میلی‌گرم به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن) بیهوش گردیده و نمونه‌های بافتی از بافت قلب اخذ و پس از پایداری در فرمالین بافری ۱۰٪، از آن‌ها مقاطعی با ضخامت ۵-۶ میکرون جهت رنگ‌آمیزی تانل تهیه گردید. تعداد سلول‌های آپوپتوتیک در ۱۰ میدان میکروسکوپی با درشت‌نمایی ۴۰ به طور تصادفی، شمارش و فتومیکروگراف‌هایی با وضوح ۱۲ مگاپیکسل (IXUS 960 IS) تهیه گردید (۱۵، ۲۳).

برای اجرای تکنیک تانل برای تشخیص سلول‌های آپوپتوتیک از کیت تانل (insitu cell death detection kit, POD)، کمپانی Roche، ساخت کشور آلمان استفاده شد.

ابتدا مقاطع تهیه شده پس از پارافین‌زدائی و آب‌دهی با پروتئیناز K مجاور و پس از انکوباسیون به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد با محلول فسفات بافر شستشو و مقاطع بافتی با محلول واکنش‌گر تانل به میزان ۵۰ میکرولیتر به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد مجاور گردیدند در این مرحله مقاطع بافتی پس از انکوباسیون با



نمودار ۱. میانگین تغییرات آپپتوزیس در بافت قلب گروه تیمار و شاهد ($n=10$). داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار نمایش داده شده‌اند. $p < 0.01$ * در مقایسه با گروه شاهد.

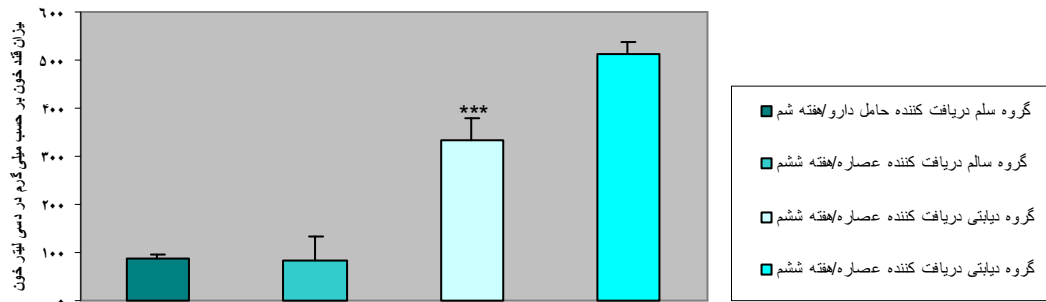


نمودار ۲. میانگین تغییرات قند خون بر حسب میلی‌گرم در دسی لیتر خون گروه آزمایشی در هفته سوم ($n=10$). داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار نمایش داده شده‌اند. $p < 0.01$ *** در مقایسه با گروه‌های سالم دریافت کننده حامل دارو و سالم دریافت کننده عصاره.

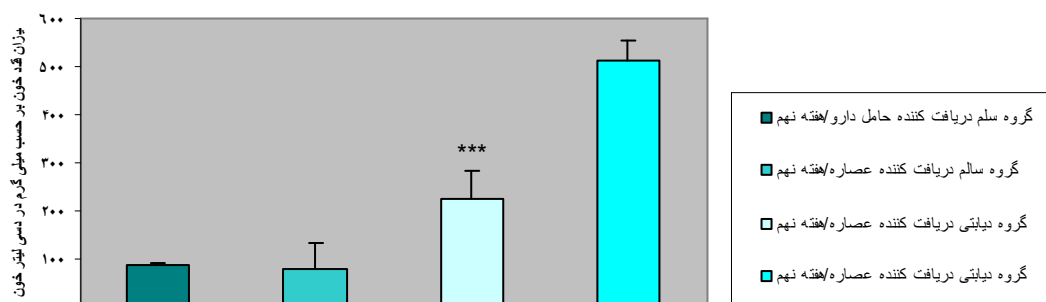
بحث

نشان داده شده که که عصاره هسته انگور به واسطه داشتن خاصیت آنتی‌اکسیدانی نقش محافظتی در آسیب سلولی بافت پانکراس دارد. به علاوه، افزایش آنزیم گلوکوتایون پراکسیداز و کاهش پراکسیداسیون چربی تحت تاثیر حضور عصاره هسته انگور توانسته بود از آسیب حاصل از استرپتوزوسین در بافت پانکراس به طور معنی‌داری بکاهد (۲۳). Gosh و همکاران در سال ۲۰۰۵ به این نتیجه رسیدند که افزایش استرس اکسیداتیو متعاقب بیماری دیابت باعث افزایش میزان ROS و کاهش ظرفیت دفاع آنتی‌اکسیدانی شده و در نتیجه مرگ سلول‌های قلبی یا الگوی آپپتوز روی می‌دهد. همچنین، حضور عوامل آنتی‌اکسیدانی نظیر گلوکوتایون پراکسیداز نقش دفاعی و محافظتی در کاهش مرگ سلول‌های قلبی متعاقب کاردیومیوپاتی دیابتی دارد و عصاره هسته انگور با بالا بردن

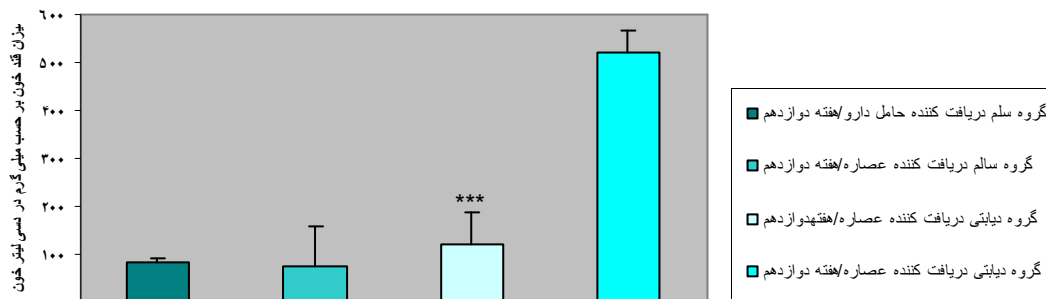
دفاع آنتی‌اکسیدانی باعث کاهش آپپتوز سلول‌های قلبی در کاردیومیوپاتی دیابتی می‌گردد (۲۴). در این تحقیق، تغییرات آپپتوز سلول‌های قلبی در گروه دیابتی در مقایسه با گروه دیابتی دریافت کننده عصاره هسته انگور و گروه سالم دریافت کننده حامل دارو و سالم دریافت کننده عصاره معنی‌دار بود و با بررسی عمیق به نتایج مطالعات Abir و Gosh می‌توان چنین بیان نمود که عصاره هسته انگور به عنوان یک ماده آنتی‌اکسیدان می‌تواند با کاهش میزان استرس اکسیداتیو و بالا بردن دفاع آنتی‌اکسیدانی به طور معنی‌داری از آسیب سلول‌های قلبی در کاردیومیوپاتی دیابتی پیشگیری نماید (۲۵، ۲۶). ترکیبات مختلف موجود در عصاره هسته انگور نظیر پلی‌فنل‌های موجود در عصاره هسته انگور شامل فلاوونوئیدها، اسید گالیک، مونومریک فلاوان-۳-کاتچین، اپی-کاتچین-۳-گالیت و دیمریک، مونومریک و پلی‌مریک پروآنتوسیانیدین از عوامل موثر در بالا بردن دفاع آنتی‌اکسیدانی بوده که در میان



نمودار ۳. میانگین تغییرات قند خون بر حسب میلی گرم در دسی لیتر خون گروه آزمایشی در هفته ششم ($n=10$). داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار نمایش داده شده‌اند. *** $p<0.001$ در مقایسه با گروه‌های سالم دریافت کننده حامل دارو و سالم دریافت کننده عصاره.



نمودار ۴. میانگین تغییرات قند خون بر حسب میلی گرم در دسی لیتر خون گروه آزمایشی در هفته نهم ($n=10$). داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار نمایش داده شده‌اند. *** $p<0.001$ در مقایسه با گروه‌های سالم دریافت کننده حامل دارو و سالم دریافت کننده عصاره.



نمودار ۵. میانگین تغییرات قند خون بر حسب میلی گرم در دسی لیتر خون گروه آزمایشی در هفته دوازدهم ($n=10$). داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار نمایش داده شده‌اند. *** $p<0.001$ در مقایسه با گروه‌های سالم دریافت کننده حامل دارو و سالم دریافت کننده عصاره.

همکاران در سال ۲۰۰۰ محصولات نهایی حاصل از گلیکوزیلاسیون یا HbA1c نظیر ROS باعث آسیب سلولی و حتی القاء آپوپتوز سلول‌های قلبی می‌گردد. تغییرات میزان قند خون در مطالعه حاضر نیز نشانگر تاثیر نزولی میزان قند خون عصاره هسته انگور بود، به طوری که اختلاف میانگین قند خون در گروه دیابتی با گروه‌های دیگر آزمایشی معنی‌دار بوده و موافق نتایج سایر مطالعات می‌باشد (۲۷-۲۹). آپوپتوز سلول‌های قلبی در بیماری دیابت از مسیرهای مختلفی راه‌اندازی می‌گردد. یکی از این مسیرها افزایش هموگلوبین

آنها پروآنتوسیانیدین دایمر موجود در هسته انگور موثرترین ترکیب آنتی‌اکسیدان می‌باشد (۴-۱). مطالعات دیگری در خصوص تاثیر عصاره هسته انگور بر میزان قند خون توسط Hawang و همکاران در سال ۲۰۰۹ و Abir و همکاران در سال ۲۰۰۵ به انجام رسیده که موید تاثیر عصاره هسته انگور بر کاهش میزان قند خون است. آنها بیان داشتند که با افزایش قند خون فراورده‌های حاصل از واکنش گلیکوزیلاسیون یا HbA1c نیز افزایش یافته و بر اساس مطالعات Podesta

پژوهشی بود. از این رو با بهره‌گیری از نتایج مطالعه sanjoy و gosh و همکاران وی در سال ۲۰۰۵ وقوع این نوع از مرگ سلولی را می‌توان چنین تفسیر نمود که دیابت و بالا رفتن قند خون در بیمار باعث القاء کاهش میزان GSH یا گلوتاتیون در میتوکندری سلول‌های قلبی و افزایش تولید میزان رادیکال‌های آزاد اکسیژن، شکل‌گیری کانال‌های غشایی در میتوکندری و فعال شدن کاسپازهای ۹ و ۳ و در نهایت آپوپتوز سلول‌های قلبی می‌گردد. پس می‌توان نتیجه‌گیری نمود، هر عاملی که باعث افزایش دفاع آنتی‌اکسیدانی و کاهش تولید عوامل رادیکال آزاد گردد، می‌تواند از آسیب‌های حاصل از استرس‌های اکسیداتیو را که سلول‌های قلبی را در بیماری دیابت تهدید می‌کند، بکاهد (۳۰). Mauricio و همکاران در سال ۱۹۹۸ به این نتیجه رسیدند که در فرآیند دیابت نوع ۱ که متعاقب تاثیر داروی استرپتوزوتوسین ایجاد می‌گردد، علت وقوع آپوپتوز سلول‌های قلبی علاوه بر افزایش استرس‌های اکسیداتیو، وقوع فرآیند التهابی و حضور سیتوکاین‌هایی نظیر $\text{TNF-}\alpha$ ، $\text{IL-1}\beta$ و $\text{IFN-}\gamma$ است. همچنین تاثیر آن‌ها در تولید اکسید نیتریک باعث پدیداری Fas به وسیله سلول‌های التهابی و قلبی گردیده و در نهایت مرگ سلولی از نوع آپوپتوز در سلول‌های قلبی به وقوع می‌پیوندد (۳۱).

گلیکوزیله (HbA1c) متعاقب دیابت با رخداد گلیکوزیلاسیون غیر آنزیمی است. گلوکز بدون کمک آنزیم‌ها و به طور شیمیایی به گروه‌های آمینی و پروتئین‌ها متصل می‌شود و از این طریق محصولات گلیکوزیلاسیون تولید می‌گردد که این مواد ممکن است بازآرایی شده و محصولات گلیکوزیلاسیون زودرس و پایداری به نام نوع آمادوری (Amadori-Type) ایجاد کنند. درجه گلیکوزیلاسیون آنزیمی به طور مستقیم وابسته به مقدار گلوکز خون است. محصولات گلیکوزیلاسیون تازه بر روی کلاژن و سایر پروتئین‌های با عمر طولانی موجود در بافت‌های بینابینی و دیواره رگ‌های خونی، به جای آنکه تخریب شوند، بیشتر دچار تغییرات شیمیایی آهسته گشته و بازآرایی می‌شوند که در نهایت اشکال غیر قابل برگشت و پیشرفته محصولات نهایی گلیکوزیلاسیون تولید می‌گردد که اشکال نهایی فوق یا Advance glycosylation end products (AGE) نامیده می‌شوند. تشکیل AGE بر روی پروتئین‌ها، چربی‌ها و اسیدهای نوکلئیک رخ می‌دهد و به خصوص در سطح DNA سلول می‌تواند از طریق حضور یکی از محصولات نهایی بسیار مهم گلیکوزیلاسیون یعنی ROS باعث القاء آپوپتوز در سلول‌های قلبی گردد (۲۸، ۲۹). آپوپتوز سلول‌های قلبی یکی از تغییرات بسیار مهم مورد مطالعه در این کار

REFERENCES

- Gosh D, Scheepens A. Vascular action of polyphenils. *Mol Nutr food Res* 2009;53:322-31.
- Shi J, Yu J, Pohorly JE, Kakuda Y. Polyphenolics in grape seeds-biochemistry and functionality. *J Med Food* 2003; 6: 291-99.
- Kalin R, Righi A, Del RA. Activin, a grape seed-derived proanthocyanidin extract, reduces plasma levels of oxidative stress and adhesion molecules (ICAM-1, VCAM-1 and E-selectin) in systemic sclerosis. *Free Radic Res* 2002; 36: 819-25.
- Spector KS. Diabetic cardiomyopathy. *Clin Cardiol* 1998; 21: 885-87.
- Halliwell B. Antioxidants in human health and disease. *Ann Rev Nutr* 1996; 16: 33-50.
- Zhang FL, Gao HQ, Wu JM. Selective inhibition by grape seed proanthocyanidin extracts of cell adhesion molecule expression induced by advanced glycation end products in endothelial cells. *J cardiovasc Pharmacol* 2006; 48: 47-53.
- Bagchi D, Sen CK, Ray SD, Das DK, Bagchi M, Preuss HG, et al. Molecular mechanisms of cardioprotection by a novel grape seed proanthocyanidin extract. *Mutat Res* 2003; 524: 87-97.
- Bagchi D, Ray SD, Bagchi M, Preuss HG, Stohs SJ. Mechanistic pathways of antioxidant cytoprotection by a novel IH636 grape seed proanthocyanidin extract. *Indian J Exp Biol* 2002; 40: 717-26.
- Fein FS, Sonnenblick EH. Diabetic cardiomyopathy. *Prog Cardiovasc Dis* 1985; 27: 255-70.
- Uusitupa MI, Mustonen JN, Airaksinen KE. Diabetic heart muscle disease. *Ann Med* 1990; 22: 377-86.
- Kirshenbaum LA, Thomas TP, Randhawa AK. Time course of cardiac myocyte injury due to oxidative stress. *Mol Cell Biochem* 1992; 111: 25-31.
- Fein FS, Sonnenblick EH. Diabetic cardiomyopathy. *Cardiovasc Drugs Ther* 1994; 8: 65-73.
- Bagchi D, Sen CK, Ray SD. Molecular mechanisms of cardioprotection by a novel grape seed proanthocyanidin extract. *Mutat Res* 2003; 9462: 1-113.
- Cheng M, Gao HQ, Xul L. Cardioprotective effects of grape seed extracts in streptozotocin induced diabetic rats. *J Cardipvasc Pharmacol* 2007; 50: 503-509.

15. Sesti Doustar Y, Mohamadi M, Mohajeri D, Hashemi M. The effect of treadmill exercise on experimenyal diabetic hepatopathy in rat. Medical Science Journal of Islamic Azad University 2009; 19: 17-25. [In Persian]
16. Shrinpoor A, Siamak S, Khadem-Ansari M. Cardioprotective effect of vitamin E: rescues of diabetes induced cardiac malfunction, oxidative stress and apoptosis in rat. J Diab Complicat 2008. (In Press)
17. Pinent M, Blay M, Bladé MC, Salvadó MJ, Arola L, Ardévol A. Grape seed-derived procyanidins have an antihyperglycemic effect in streptozotocin-induced diabetic rats and insulinomimetic activity in insulin-sensitive cell lines. Endocrinology 2004; 145: 4985-90.
18. Llopiz N, Ardevol A, Blade C, Arola L, Salvado MJ. Antigenotoxic effect of grape seed procyanidin extract in Fao cells submitted to oxidative stress. J Agric Food Chem 2004; 52: 1083-87.
19. Johansen JS, Harris AK, Rychly DJ, Ergul A. Oxidative stress and the use of antioxidants in diabetes: Linking basic science to clinical practice. Cardiovasc Diabetol 2005; 45: 123-28.
20. Sato M, Maulik G, Ray PS, Bagchi D, Das DK. Cardioprotective effects of grape seed proanthocyanidin against ischemic reperfusion injury. J Mol Cell Cardiol 1999; 31: 1289-97.
21. Akabarzadeh A, Norouzian D, Mehrabi MR. Induction of diabetes by streptozotocin in rats. Indian J Clin Biochemistr 2007; 22: 60-64.
22. Factor SM, Bhan R, Minase T, Wolinsky H, Sonnenblick EH. Hypertensive-diabetic cardiomyopathy in the rat: an experimental model of human disease. Am J Pathol 1981; 102: 219-28.
23. Yu Du, Huaufamg Guo, Hangxiang Lou. Grape seed polyphenols cardiac cells from apoptosis via induction of endogenous antioxidant enzymes. J Agri Food Chem 2007; 55: 1695-701.
24. Jianxun Wang, Ye song, Qian Wang, Patricia MK. Causes and characteristics of diabetic cardiomyopathy. Rev Diabet Stud 2006; 3: 108-17.
25. Yu BP. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. Physiol Rev 1994; 74: 139-62.
26. Saad AA, Youssef MI, El-Shennawy LK. Cisplatin induced damage in kidney genomic DNA and nephrotoxicity in male rats: The protective effect of grape seed proanthocyanidin extract. Food Chem Toxicol 2009; 7: 1499-506.
27. EL-Aify AT, Ahmed AAE, FataniAJ. Protective effect of red grape seeds proanthocyanidins against induction of diabetes by alloaxn in rats. Pharmacol Res 2005; 52: 264-70.
28. Hwang IK, Kim DW, Park JH, Lim SS, Yoo KY, Kwon DY, et al. Effects of grape seed extract and its ethylacetate/ethanol fraction on blood glucose levels in a model of type 2 diabetes. Phytother Res 2009; 23: 1182-85.
29. Podestà F, Romeo G, LiuWH, Krajewski S, ReedJC, Gerhardinger C, et al. Bax is increased in the retina of diabetic subjects and is associated with pericyte apoptosis *in vivo* and *in vitro*. Am J Pathol 2000; 156: 1025-32.
30. Ghosh S, Pulinilkunnil T, Yuen G, Kewalramani G, An D, Qi D, et al. Cardiomyocyte apoptosis induced by short-term diabetes requires mitochondrial GSH depletion. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2005; 58: 768-76.
31. Mauricio D, Mandrup P, Orlinick JR, Vaishnam Ak. Role of Fas-FasL in insulitis in nonobese diabetic mouse. Diabetes 1998; 47: 1537-43.