

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

یوسف دوستار<sup>۱</sup>، داریوش مهاجری<sup>۲</sup>، علی رضایی<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> استادیار گروه پاتوبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز

<sup>۲</sup> دانشیار، گروه پاتوبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز

<sup>۳</sup> 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، تأثیر 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 ۳۰۰-۲۰۰ گرم در چهار گروه مساوی شامل گروه موش‌های سالم تیمار با حامل دارو، گروه موش‌های سالم دریافت کننده عصاره به میزان ۴۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن، گروه موش‌های دیابتی و گروه موش‌های دیابتی تیمار با عصاره (۴۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن) به‌مدت ۱۲ هفته، توزیع گردیدند. دیابت با تزریق داخل صفاقی استرپتوزوتوسین (۵۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن) به‌صورت تک دز، ایجاد گردید.

**یافته‌ها:** موش‌های دیابتی افزایش معنی‌داری را در آپوپتوز سلول‌های قلبی نشان دادند. تجویز خوراکی عصاره دانه انگور منجر به کاهش معنی‌دار سلول‌های دچار آپوپتوز در موش‌های دیابتی گردید. **نتیجه‌گیری:** نتایج حاصل از این مطالعه، وقوع آپوپتوز را در دیابت مورد تائید قرار داده و اثرات آنتی آپوپتوزی عصاره دانه انگور را خاطرنشان می‌سازد.

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

### مقدمه

می‌باشدند. پروآنتوسیانیدین دیمر موجود در هسته انگور موثرترین ترکیب آنتی‌اکسیدان می‌باشد (۱-۵). 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 مهاری آن در برابر استرس اکسیداتیو به اثبات رسیده است (۶-۹). 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

هسته انگور از فرآورده‌های زائد کارخانه‌های آب میوه می‌باشد که ترکیبی از چربی، پروتئین، کربوهیدرات و ۵ الی ۸ درصد پلی‌فنل بوده که مقادیر آن بستگی به گونه و جنس انگور دارد. پلی‌فنل‌های موجود در عصاره هسته انگور شامل فلاوینوئیدها، اسید گالیک، مونومریک فلاوان-۳-کاتچین، اپی‌کاتچین-۳-گالیت و دیمیریک، مونومریک و پلی‌مریک پروآنتوسیانیدین

آدرس نویسنده مسئول: تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، دانشکده دامپزشکی، گروه پاتوبیولوژی،  
بخش آسیب‌شناسی، دکتر یوسف دوستار (email: vетdoustar@yahoo.com)

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۹/۷/۸  
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 وینی فرا (Vitis), جنس Vinifera, تیره آمپلی داسه (Ampelidaceae), جنس ویتس (Vitis)، زیر جنس اوی تیس (Euvitis) و گونه انگور ایرانی بود.

مراحل عصاره‌گیری به شرح زیر بود:

مرحله اول: خشک کردن دانه‌ها در حرارت ۵۰ درجه سانتی گراد 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 مтанول 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 مтанول انجام شد. محلول مтанولی حاوی عصاره در محیط خلاء و حرارت ۴۰ درجه سانتی گراد توسط دستگاه اوپراتور خشک شد و بعد از تبخیر مтанول، عصاره خالص در ظرف باقی ماند که پس از جمع‌آوری، دور از نور و رطوبت نگهداری شد (۲۰). موش‌های صحرایی نر نژاد ویستر (Wistar)، با محدوده وزنی  $200 \pm 20$  گرم و سن تقریبی ۱۲ هفتاه از محل پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی انتستیتو پاستور ایران خریداری گردیدند. شرایط تغذیه و نگهداری برای همه گروه‌ها یکسان و به صورت ۱۲ ساعت روشنایی/تاریکی و دمای  $21 \pm 2$  درجه سانتی گراد در قفس‌های مخصوص و در بستره از پوشال، در نظر گرفته شد. آب به طور 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 استرپیوزوتوزین (Streptozotocin) به میزان ۵۰ mg/kg و به صورت نک دز

خطر ابتلا به کاردیومیوپاتی می‌باشد (۱۰، ۱۱). 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 به طور عمده شامل کاهش مقاومت به انسولین و تحریک ترشح انسولین از طریق اصلاح تنذیه، ورزش و درمان دارویی می‌باشد (۱۳، ۱۴). استرس اکسیداتیو که عبارت از عدم تعادل بین تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و ظرفیت دفاع آنتی اکسیدانی بدن می‌باشد، به شدت با دیابت و عوارض آن در ارتباط است، به طوری که نشان داده شده است که طی هر دو نوع دیابت ۲۱ و حتی در غیاب عوارض دیابتی، استرس اکسیداتیو در خون افزایش یافته و درمان با آنتی اکسیدان‌های 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، هیپر گلیسمی مزمن باعث صدمه به سلول‌ها با افزایش تولید H2O2 و کتوآلدئیدها از طریق اکسیداسیون خودبه‌خودی گلوكز می‌شود. این ترکیبات همراه با گسترش عوارض دیابت به علت تولید و تجمع Advanced AGEs (Glycation end-product) می‌باشد. رادیکال‌های آزاد به طور کنترل نشده‌ای در دیابتی‌ها بوسیله اکسیداسیون گلوکز، گلیکاپیدیون غیر آنزیماتیک پروتئین‌ها و بدنبال آن تخریب اکسیداتیو پروتئین‌های گلیکوله ایجاد می‌گردد. افزایش سطوح رادیکال‌های آزاد و کاهش همزممان مکانیسم‌های دفاعی در برابر آن می‌تواند منجر به صدمه سلولی و آنزیم‌ها شده، پراکسیداسیون لیپیدی را افزایش و مقاومت به انسولین را توسعه دهد (۱۵، ۱۶، ۲). با توجه به مجموعه فوق الذکر، استفاده از عوامل آنتی اکسیدان نقش بهسزایی در کاهش عوایق ناشی از بیماری دیابت خواهد داشت و در این بین استفاده از ترکیبات با منشا گیاهی که معمولاً با عوارض جانبی کمتری همراه است، اهمیت خاص خود را دارد. به نظر 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 (۱۷-۳، ۱۹). 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 تراکلراید 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 (۱۶، ۱۵، ۱۹).

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 آپوپتوzu 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 آپوپتوzik در رنگ‌آمیزی زمینه تولوئیدین بلو به رنگ قهوه‌ای روش 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	$1/357 \pm 1/543$
گروه سالم دریافت کننده عصاره	$1/203 \pm 2/765$
گروه دیابتی	$11/714 \pm 2/408$
گروه دیابتی دریافت کننده عصاره	$4/357 \pm 1/839$

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 استرپتیزوzin در گروه دیابتی دریافت کننده عصاره، گروه دیابتی و گروه‌های سالم دریافت کننده حامل دارو و عصاره هسته انگور اختلاف معنی‌داری داشت ( $p < 0.001$ ) (نمودارهای ۱، ۲ و ۳).

استفاده شد. با این روش ۴۸ ساعت بعد از تزریق، دیابت در موش‌ها ایجاد می‌شود که جهت تایید آن، با ایجاد یک جراحت کوچک توسط لانست 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، عنوان 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).

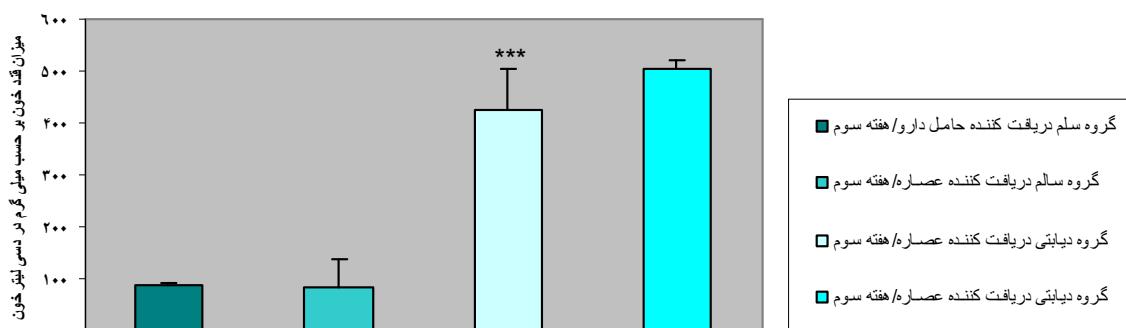
تعداد ۴۰ سر موش صحرایی نژاد ویستار نر به طور تصادفی در ۴ گروه ۱-تابی شامل ۱- گروه موش‌های سالم تیمار با حامل دارو، ۲- گروه موش‌های سالم دریافت کننده عصاره به میزان ۴۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن، ۳- گروه موش‌های دیابتی و ۴- گروه موش‌های دیابتی تیمار با عصاره (۴۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن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

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

ابتدا مقاطع تهیه شده پس از پارافین‌زدایی 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 آپوپتوزیس 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.

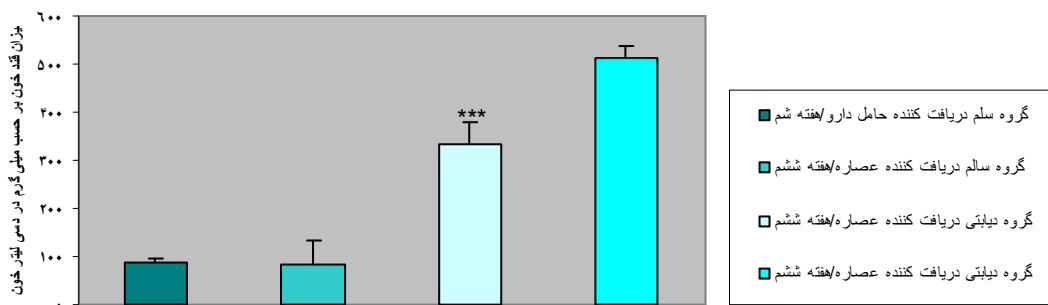


نمودار ۲. میانگین تغییرات قند خون بر حسب میلی‌گرم در دسی لیتر خون گروه آزمایشی در هفته سوم ( $n=10$ ). داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار نمایش داده شده‌اند.  $*** p < 0.001$  در مقایسه با گروه‌های سالم دریافت کننده حامل دارو و سالم دریافت کننده عصاره.

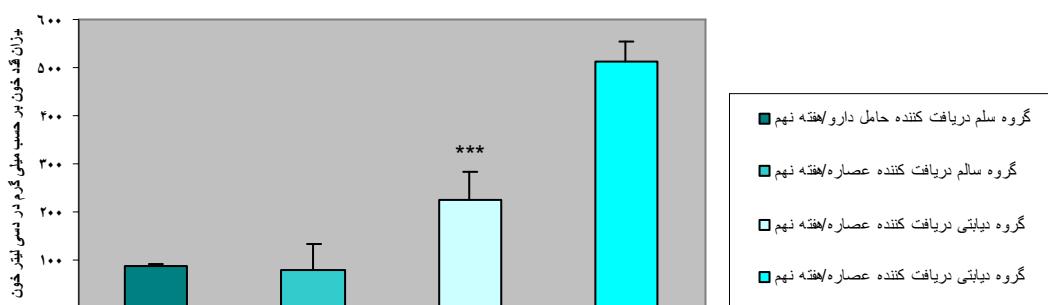
دفاع آنتی اکسیدانی باعث کاهش آپوپتوز سلول‌های قلبی در کاردیومیوپاتی دیابتی می‌گردد (۲۴). در این تحقیق، تغییرات آپوپتوز سلول‌های قلبی در گروه دیابتی در مقایسه با گروه دیابتی دریافت کننده عصاره هسته انگور و گروه سالم دریافت کننده حامل دارو و سالم دریافت کننده عصاره معنی‌دار بود و با بررسی عمیق به نتایج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

## بحث

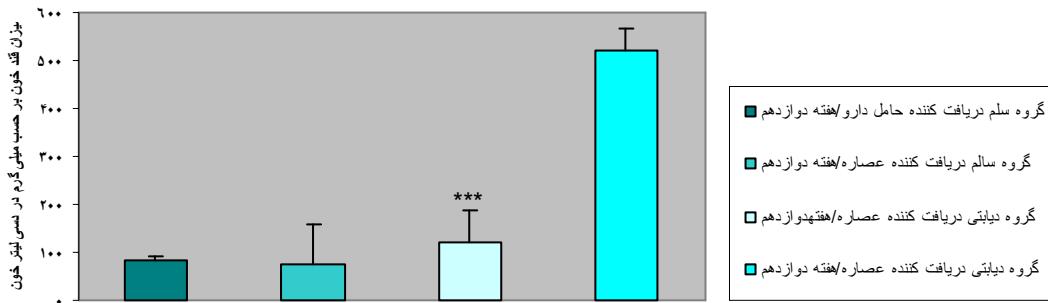
نشان داده شده که که عصاره هسته انگور به واسطه داشتن خاصیت آنتی اکسیدانی نقش محافظتی در آسیب سلولی بافت پانکراس دارد. به علاوه، افزایش آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز و کاهش پراکسیداسیون چربی تحت تاثیر حضور عصاره هسته انگور توانسته بود از آسیب حاصل از استرپتومیزین در بافت پانکراس به طور معنی‌داری بکاهد (۲۳). 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 آنتی اکسیدانی شده و در نتیجه مرگ سلول‌های قلبی یا الگوی آپوپتوز روی می‌دهد. همچنین، حضور عوامل آنتی اکسیدانی نظیر گلوتاتیون پراکسیداز نقش دفاعی و محافظتی در کاهش مرگ سلول‌های قلبی متعاقب کاردیومیوپاتی دیابتی دارد و عصاره هسته انگور با بالا بردن



نمودار ۳. میانگین تغییرات قند خون بر حسب میلی‌گرم 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 میلی‌گرم 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 میلی‌گرم 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.

همکاران در سال ۲۰۰۰ مخصوصاً نهایی حاصل از گلیکوزیلایاسیون 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 دیمر موجود در هسته انگور موثرترین ترکیب آنتی‌اکسیدان می‌باشد (۱-۴). 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 گلیکوزیلایاسیون یا HbA1c نیز افزایش یافته و بر اساس مطالعات Podesta و

پژوهشی بود. از این رو با بهره‌گیری از نتایج مطالعه sanjoy 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 رادیکاها ای 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 استریپتوزوتوسین ایجاد می‌گردد، علت وقوع آپوپتوز سلول‌های قلبی علاوه بر افزایش استرس‌های اکسیداتیو، وقوع فرآیند التهابی و حضور سیتوکاین‌هایی نظری IFN.γ، TNF.α و IL-1β 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).

## REFERENCES

1. Gosh D, Scheepens A. Vascular action of polyphenols. *Mol Nutr food Res* 2009;53:322-31.
2. Shi J, Yu J, Pohorly JE, Kakuda Y. Polyphenolics in grape seeds-biochemistry and functionality. *J Med Food* 2003; 6: 291-99.
3. 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.
4. Spector KS. Diabetic cardiomyopathy. *Clin Cardiol* 1998; 21: 885-87.
5. Halliwell B. Antioxidants in human health and disease. *Ann Rev Nutr* 1996; 16: 33-50.
6. 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.
7. 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.
8. 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.
9. Fein FS, Sonnenblick EH. Diabetic cardiomyopathy. *Prog Cardiovasc Dis* 1985; 27: 255-70.
10. Uusitupa MI, Mustonen JN, Airaksinen KE. Diabetic heart muscle disease. *Ann Med* 1990; 22: 377-86.
11. Kirshenbaum LA, Thomas TP, Randhawa AK. Time course of cardiac myocyte injury due to oxidative stress. *Mol Cell Biochem* 1992; 111: 25-31.
12. Fein FS, Sonnenblick EH. Diabetic cardiomyopathy. *Cardiovasc Drugs Ther* 1994; 8: 65-73.
13. Bagchi D, Sen CK, Ray SD. Molecular mechanisms of cardioprotection by a novel grape seed proanthocyanidin extract. *Mutat Res* 2003; 9462: 1-113.
14. Cheng M, Gao HQ, Xul L. Cardioprotective effects of grape seed extracts in streptozotocin induced diabetic rats. *J Cardipasc Pharmacol* 2007; 50: 503-509.

گلیکوزیله (HbA1c) متعاقب دیابت با رخداد گلیکوزیلاتیون غیر آنزیمی است. گلوکز بدون کمک آنزیمه‌ها و به طور شیمیایی به گروههای آمینی و پروتئین‌ها متصل می‌شود و از این طریق محصولات گلیکوزیلاتیون تولید می‌گردد که این مواد ممکن است بازآرایی شده و محصولات گلیکوزیلاتیون (Amadori-Type) ایجاد کنند. درجه گلیکوزیلاتیون آنزیمی به طور مستقیم وابسته به مقدار گلوکز خون است. محصولات گلیکوزیلاتیون تازه بر روی کلاژن و سایر پروتئین‌های با عمر طولانی موجود در بافت‌های بینابینی و دیواره رگ‌های خونی، به جای آنکه تحریب شوند، بیشتر چار تغییرات شیمیایی آهسته گشته و بازآرایی می‌شوند که در نهایت اشکال غیر قابل برگشت و پیشرفت‌های مخصوصات نهایی گلیکوزیلاتیون تولید می‌گردد که اشکال نهایی فوق یا AGE (Advanced glycosylation end products) 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 گلیکوزیلاتیون یعنی ROS باعث القاء آپوپتوز در سلول‌های قلبی گردد (۲۸، ۲۹). آپوپتوز سلول‌های قلبی یکی از تغییرات بسیار مهم مورد مطالعه در این کار

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, Huauifamg 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 dabetes 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 nonobes diabetic mouse. Diabetes 1998; 47: 1537-43.