

## اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره دانه انگور در موش‌های صحرایی دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین

مقاله پژوهشی

یوسف دوستار<sup>۱</sup>، داریوش مهاجری<sup>۲</sup>

تاریخ دریافت مقاله: ۸۸/۷/۲۶

تاریخ پذیرش مقاله: ۸۸/۹/۲۱

۱. استادیار گروه پاتوبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، دانشکده دامپزشکی

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

## چکیده

**زمینه و هدف:** بیماری دیابت اختلالی است متابولیکی که از دیرباز گریبان‌گیر نوع بشر بوده است و شیوع بالایی در سراسر جهان دارد. استرس اکسیداتیو به میزان زیادی با ایجاد دیابت و عوارض ناشی از آن در ارتباط می‌باشد. عوامل آنتی‌اکسیدان به‌خصوص با منشا گیاهی در پیشگیری از عوارض دیابت بسیار حائز اهمیت می‌باشند. هدف این مطالعه، ارزیابی تاثیر عصاره دانه انگور بر وضعیت آنتی‌اکسیدان‌ها در موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین می‌باشد.

**مواد و روش کار:** در این مطالعه تجربی آزمایشگاهی که در مرکز تحقیقات دانشگاه آزاد واحد تبریز انجام شد، ۴۰ سر موش صحرایی و بیستار نر در چهار گروه مساوی شامل گروه شاهد سالم، گروه سالم تیمار با عصاره (۴۰ mg/kg)، گروه شاهد دیابتی و گروه دیابتی تیمار با عصاره (۴۰ mg/kg) توزیع گردیدند. موش‌های مورد آزمایش به مدت ۱۲ هفته در گروه‌های مربوطه تیمار گردیدند و در پایان، میزان مالون‌دی‌آلدئید و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز گلوبول‌های قرمز خون آن‌ها ارزیابی گردید. مقایسه گروه‌ها از لحاظ آماری، با آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی انجام گردید. سطح معنی‌داری اختلافات،  $p < 0/05$  در نظر گرفته شد.

**یافته‌ها:** موش‌های دیابتی افزایش معنی‌داری را در میزان مالون‌دی‌آلدئید و کاهش معنی‌داری را در میزان فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز گلوبول‌های قرمز خون نشان دادند ( $p < 0/001$ ). تجویز خوراکی عصاره دانه انگور به موش‌های دیابتی منجر به کاهش معنی‌دار مقدار مالون‌دی‌آلدئید و افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز گلوبول‌های قرمز خون آن‌ها گردید ( $p < 0/001$ ).

**نتیجه‌گیری:** نتایج حاصل از این مطالعه، وقوع استرس اکسیداتیو را در دیابت مورد تأیید قرار داده و اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره دانه انگور را نشان می‌دهد. [م ت ع پ ز، ۱۲(۱):ص ۹ تا ۱۴]

کلید واژه‌ها: آنتی‌اکسیدان، دانه انگور، دیابت، موش صحرایی

## مقدمه

درمانی در دیابت به‌طور عمده شامل کاهش مقاومت به انسولین و تحریک ترشح انسولین از طریق اصلاح تغذیه، ورزش و درمان دارویی می‌باشد.<sup>۱،۱۱</sup> 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.<sup>۱۲</sup> 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 با افزایش تولید پراکسید هیدروژن و کتوآلدئیدها از طریق اکسیداسیون خودبه‌خودی گلوکز باعث صدمه به سلول‌ها می‌شود. این ترکیبات همراه با گسترش عوارض دیابت به‌علت تولید و تجمع فرآورده‌های نهائی حاصله از واکنش گلیکوزیلاسیون پیشرفته می‌باشد. رادیکال‌های آزاد به‌طور کنترل نشده‌ای در بیماران دیابتی به‌وسیله اکسیداسیون گلوکز، گلیکاسیون غیر آنزیماتیک پروتئین‌ها و به‌دنبال آن تخریب اکسیداتیو پروتئین‌های گلیکوله ایجاد می‌گردد. افزایش سطوح رادیکال‌های آزاد و کاهش همزمان مکانیسم‌های دفاعی در برابر آن می‌تواند منجر به صدمه بافتی و آنزیم‌ها شده،

هسته انگور از فرآورده‌های زائد کارخانه‌های آب میوه می‌باشد که ترکیبی از چربی، پروتئین، کربوهیدرات و ۵ الی ۸ درصد پلی‌فنل است و مقادیر آن بسته به گونه و جنس انگور متفاوت است. پلی‌فنل‌های موجود در عصاره هسته انگور شامل فلاونوئیدها، اسید گالیک، مونومریک فلاوان-۳-کاتچین، اپی کاتچین-۳-گالیت و دیمریک، مونومریک و پلی‌مریک پروآنتوسیانیدین می‌باشد. پروآنتوسیانیدین دایمر موجود در هسته انگور موثرترین ترکیب آنتی‌اکسیدان می‌باشد. آنتی‌اکسیدان‌ها موادی هستند که با حضورشان در غذا یا بدن حتی در مقادیر بسیار کم، بدن را در برابر انواع مختلفی از آسیب‌های اکسیداتیو که ممکن است در اثر گونه‌های فعال اکسیژن ایجاد گردد، محافظت می‌کنند.<sup>۱۳</sup>

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، نقش مهمی آن در برابر استرس اکسیداتیو به اثبات رسیده است.<sup>۱۴-۱۵</sup> دیابت اختلالی است متابولیکی که به‌وسیله افزایش قندخون مشخص و به‌دنبال 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 خطر ابتلا به کاردیومیوپاتی نیز می‌باشد.<sup>۹</sup> اهداف

حیوان قرار گرفت. پس از یک هفته عادت به وضعیت جدید، مطالعه روی موش‌ها انجام شد. جهت ایجاد دیابت از تزریق داخل صفاقی استرپتوزوتوسین (Streptozotocin) به میزان ۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به همراه حامل سالی نرمال و به صورت تک دوز استفاده شد. با این روش ۴۸ ساعت بعد از تزریق، دیابت در موش‌ها ایجاد گردید که جهت تایید آن، با ایجاد یک جراحی کوچک توسط لانسیت در دم حیوان، یک قطره خون روی نوار گلوکومتر منتقل و نتیجه توسط دستگاه گلوکومتر قرائت و قندخون بالای ۳۰۰ mg/dl، بعنوان شاخص دیابتی شدن در نظر گرفته شد.<sup>۲۰،۱۹</sup>

موش‌های صحرایی به طور تصادفی در ۴ گروه ۱۰ ستری شامل گروه شاهد سالم، گروه سالم تیمار با عصاره (۴۰ mg/kg)، گروه شاهد دیابتی و گروه دیابتی تیمار با عصاره (۴۰ mg/kg)، توزیع گردیدند. موش‌های گروه‌های دریافت کننده عصاره روزانه و به مدت ۱۲ روز تحت گاوآژ عصاره دانه انگور با دوز ۴۰ mg/kg (محلول در ۱۰ ml/kg سالی نرمال ایزوتونیک) قرار گرفتند و گروه‌های شاهد متناظر نیز به همان روش فقط نرمال سالی نرمال به میزان ۱۰ ml/kg دریافت کردند. در پایان دوره موش‌ها با تزریق داخل صفاقی پنتوباریتال سدیم (۶/۵ میلی گرم به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن) بیهوش گردیدند و نمونه خون از سینوس پشت کره چشم (Retro-orbital plexus) اخذ گردید. گلبول‌های قرمز جدا و سه بار در ۱۰ حجم از نرمال سالی نرمال ۰/۹ درصد شستشو داده شدند.<sup>۲۱</sup> اندازه گیری فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددسموتاز و گلوکاتایون پراکسیداز در گلبول‌های قرمز توسط کیت‌های تهیه شده از شرکت راندکس (Randox) انجام و نتایج به صورت واحد در گرم هموگلوبین بیان گردید. اندازه گیری فعالیت کاتالاز طبق متد Abei و براساس میزان تجزیه پراکسید هیدروژن در طول موج ۲۴۰ nm و در دمای ۲۰ °C انجام گردید. فعالیت این آنزیم نیز به صورت واحد در گرم هموگلوبین بیان گردید.<sup>۲۲،۲۳</sup>

میزان مالون‌دی‌آلدئید موجود در گلبول‌های قرمز خون، به عنوان مقیاسی از پراکسیداسیون چربی، در قالب TBARS (thiobarbituric acid reacting substances) و با استفاده از روش Cheesman و Esterbauer مورد سنجش قرار گرفت. میزان TBARS به صورت نانومول TBARS در میلی گرم پروتئین بیان گردید. پروتئین بافتی با استفاده از روش بیوره (Biuret's method) اندازه گیری و مقدار TBARS به صورت نانومول در میلی گرم پروتئین بیان گردید.<sup>۲۲</sup>

نتایج به صورت میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد (Mean  $\pm$  SEM) ارائه گردید. تفاوت بین گروه‌های مختلف با آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (one-way analysis of variance) و آزمون تعقیبی توکی (Tukey) برآورد گردید. مقدار  $p < 0/05$  به عنوان حداقل سطح معنی دار بودن تفاوت میانگین‌ها مورد استفاده قرار گرفت.

#### یافته ها

میزان آنزیم‌های سوپراکسید دسموتاز و گلوکاتایون پراکسیداز گلبول‌های قرمز در موش‌های دیابتی دریافت کننده عصاره هسته انگور با گروه موش‌های

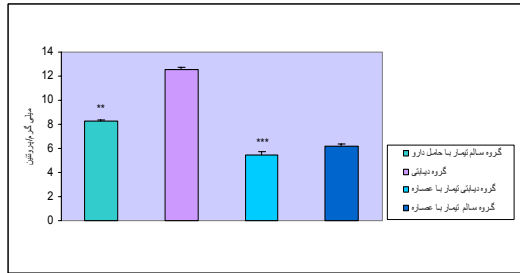
پراکسیداسیون لیپیدی و مقاومت به انسولین را افزایش دهد.<sup>۱۴-۱۲</sup> با توجه به مجموعه فوق‌الذکر، استفاده از عوامل آنتی‌اکسیدان نقش به‌سزایی در کاهش عواقب ناشی از بیماری دیابت خواهد داشت و در این بین استفاده از ترکیبات با منشا گیاهی که معمولاً با عوارض جانبی کمتری همراه است، اهمیت خاص خود را دارد. به نظر می‌رسد که عصاره هسته انگور به علت داشتن خواص آنتی‌اکسیدانی 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.<sup>۱۷،۱۶،۱۵،۲</sup> هدف از مطالعه حاضر، بررسی تاثیر عصاره هسته انگور بر استرس اکسیداتیو در موش‌های صحرایی دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین می‌باشد.

#### روش کار

مطالعه حاضر از نوع تجربی آزمایشگاهی بوده و در سال ۱۳۸۷ در مرکز تحقیقات دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز انجام پذیرفت. در این مطالعه موارد اخلاقی مورد تأیید کمیته نظارت بر حقوق حیوانات آزمایشگاهی مرکز تحقیقات دارویی دانشگاه علوم پزشکی تبریز قرار گرفت. انگور مورد استفاده از خانواده ویتیس وینیفرا (*Vitis Vinifera*)، تیره آمپلی داسه (*Ampelidaceae*)، جنس ویتیس (*Vitis*)، زیرجنس یوویتیس (*Euvtis*) و گونه انگور ایرانی انتخاب و به تایید گروه کشت و توسعه انستیتو گیاهان دارویی تهران رسید. بعد از خریداری انگور قرمز، اقدام به جدا سازی دانه‌ها از تفاله انگور قرمز به طور دستی گردید. دانه‌ها شستشو سپس در هوای آزاد و به دور از نور آفتاب در دمای ۵۰ °C به مدت ۳۰ دقیقه خشک شد.

دانه‌های خشک شده تا مرحله تشکیل پودر خرد و آسیاب شدند. جداسازی چربی دانه به روش سوکسله و با استفاده از حلال هگزان انجام پذیرفت، در این روش ابتدا ۵۰۰ میلی گرم پودر هسته انگور در داخل کاغذ صافی ریخته و در دستگاه سوکسله قرار داده شد و عمل سوکسلاسیون ۵۰۰ میلی لیتر حلال هگزان به مدت یک ساعت انجام گرفت، در ادامه عصاره هگزانی تهیه شده با دستگاه روتاری و در دمای ۵۰ °C تغلیظ و سپس در آرکون و در همان دما خشک گردید. پودر حاصل به روش سوکسله با استفاده از حلال متانول با دو بار تکرار و صاف کردن توسط کاغذ صافی پردازش و در نهایت برای جدا کردن عصاره از حلال متانول محلول متانولی حاوی عصاره در محیط خلاء و دمای ۴۰ °C توسط دستگاه اوپراتور خشک شد و بعد از تبخیر متانول، عصاره خالص در ظرف باقی ماند که پس از جمع آوری، دور از نور و رطوبت نگهداری شد.<sup>۱۸</sup>

موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار (Wistar) در محدوده وزنی ۲۰  $\pm$  ۲۰ گرم و سن تقریبی ۱۲ هفته از محل پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی انستیتو پاستور ایران خریداری و در محل نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز نگهداری گردیدند. شرایط تغذیه و نگهداری برای همه گروه‌ها یکسان (۱۲ ساعت روشنائی/تاریکی به طور متناوب و دمای ۲۲  $\pm$  ۲، در قفس‌های مخصوص و بر روی بستری از پوشال) در نظر گرفته شد. آب و غذا به طور آزاد در دسترس



نمودار ۴- مقایسه میزان مالون دی آلدئید (MDA) گلبول های قرمز خون در گروه های مورد مطالعه. \*\*\* $p < 0.001$  و \*\* $p > 0.05$  می باشد.

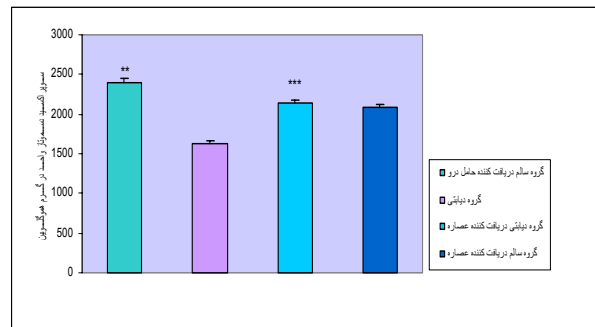
### بحث

در بررسی حاضر عصاره دانه انگور باعث افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی سوپراکسید دسموتاز، گلوکاتایون پراکسیداز و کاتالاز و کاهش میزان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی یعنی مالون دی آلدئید در موش های دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین شد. Irina و همکاران در سال ۲۰۰۹ و Atsushi و همکاران در سال ۲۰۰۷ به تاثیر عصاره هسته انگور در کاهش میزان مالون دی آلدئید اشاره و بیان نمودند که مقادیر ۱۰۰ mg/kg-۵۰ از عصاره هسته انگور خاصیت آنتی اکسیدانی داشته و در حفاظت سلولی و مهار مرگ آنها نیز نقش دارد<sup>۲۴،۲۵</sup>، در مطالعه حاضر نیز با تاثیر عصاره هسته انگور اختلاف میزان مالون دی آلدئید بین گروه های دیابتی، دیابتی دریافت کننده عصاره و سالم دریافت کننده حامل دارو معنی دار بود ( $p < 0.001$ )، لکن اختلاف بین گروه های سالم دریافت کننده حامل دارو و سالم دریافت کننده عصاره از این لحاظ معنی دار نبود.

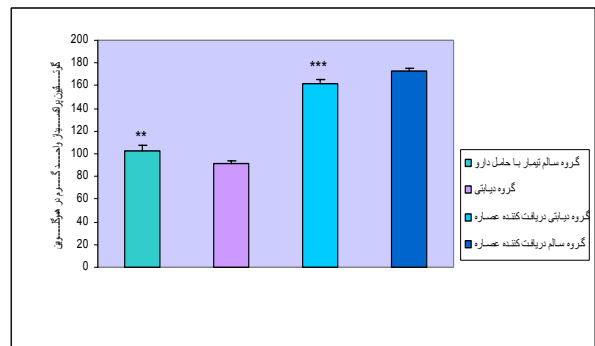
Sihem و همکاران در سال ۲۰۰۷، Irina و همکاران در سال ۲۰۰۹، Gosh و همکاران در سال ۲۰۰۵، Abri و همکاران در سال ۲۰۰۵ به تاثیر عصاره هسته انگور در افزایش دفاع آنتی اکسیدانی از طریق افزایش آنزیم های گلوکاتایون پراکسیداز، سوپراکسیداز دسموتاز و کاتالاز اشاره نموده اند. در مطالعه حاضر نیز در موش های دیابتی دریافت کننده عصاره هسته انگور نتایج معنی دار مشابهی به دست آمده است، به طوری که میزان آنزیم های سوپراکسید دسموتاز، گلوکاتایون پراکسیداز و کاتالاز گلبول های قرمز در موش های دیابتی دریافت کننده عصاره هسته انگور با گروه موش های دیابتی و گروه موش های سالم دریافت کننده حامل دارو اختلاف معنی دار داشت ( $p < 0.001$ )، ولی اختلاف میزان این آنزیم ها بین موش های سالم دریافت کننده حامل دارو و سالم دریافت کننده عصاره معنی دار نبود.

به طور کلی افزایش میزان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی در دیابت باعث افزایش حضور اسیدهای چرب در متابولیسم سلولی و مهار کوئزوگاسیون اسیدهای چرب با کارنیتین گشته و بدین ترتیب با انتقال اسیدهای چرب به میتوکندری ها و اکسیداسیون آنها، تولید رادیکال های آزاد افزایش می یابد که با آسیب سلول های عضلانی قلب همراه است، Braden و همکاران در سال ۲۰۰۸ به تاثیر عصاره هسته انگور در تغییرات کاتاراکت عدسی چشم اشاره نموده و نتایج آنها نشانگر تاثیر آنتی اکسیدانی عصاره و کاهش آسیب سلول های اپی تلیالی عدسی چشم در محیط کشت سلولی بوده است.<sup>۲۸</sup> با

دیابتی و گروه موش های سالم دریافت کننده حامل دارو اختلاف معنی دار داشت ( $p < 0.001$ )، اختلاف میزان این آنزیم ها بین موش های سالم دریافت کننده نرمال سالین معنی دار نبود (نمودارهای ۱ و ۲).

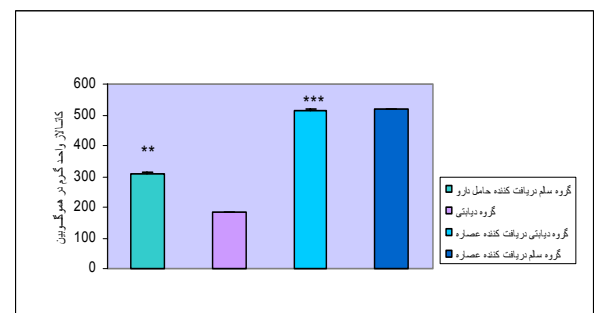


نمودار ۱- مقایسه میزان آنزیم سوپراکسید دسموتاز گلبول های قرمز خون در گروه های مورد مطالعه. \*\*\* $p < 0.001$  و \*\* $p > 0.05$  می باشد.



نمودار ۲- مقایسه میزان آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز (GPx) گلبول های قرمز خون در گروه های مورد مطالعه. \*\*\* $p < 0.001$  و \*\* $p > 0.05$  می باشد.

میزان آنزیم کاتالاز گلبول های قرمز در گروه موش های دیابتی دریافت کننده عصاره با گروه موش های دیابتی اختلاف معنی دار داشت ( $p < 0.001$ )، ولی اختلاف میزان این آنزیم بین گروه های سالم دریافت کننده حامل دارو و سالم دریافت کننده عصاره معنی دار نبود (نمودار ۳).



نمودار ۳- مقایسه میزان آنزیم کاتالاز (CAT) گلبول های قرمز خون در گروه های مورد مطالعه. \*\*\* $p < 0.001$  و \*\* $p > 0.05$  می باشد.

اختلاف میزان مالون دی آلدئید بین گروه های دیابتی، دیابتی دریافت کننده عصاره و سالم دریافت کننده حامل دارو معنی دار بود ( $p < 0.001$ )، لکن اختلاف بین گروه های سالم دریافت کننده حامل دارو و عصاره معنی دار نبود (نمودار ۴).

اکسیدانی و مهار آسیب‌های حاصله از استرس‌های اکسیداتیو اشاره دارد. ایشان به حضور فلاونوئیدها به عنوان یک فاکتور بسیار مهم در ترکیب عصاره اشاره دارند و احتمال می‌دهند که ترکیبات پروآنتوسیانیدین موجود در عصاره هسته انگور از عوامل موثر در بروز خواص آنتی‌اکسیدانی آن می‌باشد.<sup>۳۳،۳۴،۳۵</sup> مطالعات دیگری نیز در زمینه تاثیر عصاره هسته انگور بر میزان تولید فرآورده‌های نهائی حاصله از گلیکوزیلاسیون پیشرفته AGEs و کاهش معنی‌دار میزان mRNA وابسته به عوامل RAGE، NF-KAPPAB، و TGF- $\beta$  توسط Cheng و همکاران در سال ۲۰۰۷ انجام پذیرفته است.<sup>۳۱</sup> با توجه به نتایج مطالعات یادشده و نتایج بررسی حاضر به جرأت می‌توان ادعا نمود که عصاره هسته انگور در کاهش آسیب‌های ناشی از استرس‌های اکسیداتیو به عنوان یک عامل آنتی‌اکسیدان، می‌تواند نقش داشته باشد. لکن، مطالعات تکمیلی و گسترده‌تری پیرامون شناخت دقیق مکان و مکانیسم یا مکانیسم‌های مولکولی و سلولی مؤثر در عملکرد فارماکولوژیکی عصاره هسته انگور در درمان یا کنترل دیابت و سایر بیماری‌ها با اتیولوژی افزایش استرس اکسیداتیو لازم است، تا اطلاعات در زمینه اثرات بالقوه آن کامل‌تر گردد. نتایج به‌دست آمده از این مطالعه نشان می‌دهد که عصاره هسته انگور به دلیل افزایش دفاع آنتی‌اکسیدانی می‌تواند در بیماری دیابت که در آن سلول‌ها دچار استرس اکسیداتیو هستند، مفید واقع گردد.

#### سپاسگزاری

مؤلفین مراتب سپاس خود را از معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز و مرکز تحقیقات دارویی دانشگاه علوم پزشکی تبریز ابراز می‌دارند.

#### References

1. Spector KS. Diabetic cardiomyopathy. Clin Cardiol 1998; 21(12):885-7.
2. Kalin R, Righi A, Del Rosso A, et al. 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(8):819-25.
3. Corder R, Warburton RC, Khan NQ, et al. The procyanidin-induced pseudo laminar shear stress response: a new concept for the reversal of endothelial dysfunction. Clin Sci (Lond) 2004; 107(5):513-7.
4. Sanches-Moreno C, Larrauri JA, Saura-calixto F. Free radical scavenging capacity and inhibition of lipid oxidation of wines, grape juices and related polyphenolic constituents. Food Res Int 1999;32(6):407-412.
5. Shao ZH, Vanden Hoek TL, Xie J, et al. Grape seed proanthocyanidins induce pro-oxidant toxicity in

افزایش متابولیسم اسیدهای چرب و تری‌گلیسیریدها در موش‌های دیابتی مجموعه عملکردهای دفاع آنتی‌اکسیدانی عوامل آنزیمی سوپر اکسید دسموتاز، گلوکاتیون پراکسیداز و کاتالاز کاهش یافته و با افزایش عوامل آزاد شده تحت اثر استرس‌های اکسیداتیو، آسیب سلولی در مرحله پیشرفته‌تری قرار می‌گیرد. بر اساس مطالعات Zahng و همکاران در سال ۲۰۰۵ و Sato و همکاران در سال ۱۹۹۶، از ۶۰۰۰ سال قبل، تاثیر انگور در بیماری‌های پوست، چشم، قلب، التهاب، ترمیم زخم و ... به اثبات رسیده است.<sup>۱۹،۲۹</sup> مطالعات Yu Du و همکاران در سال ۲۰۰۷ نیز نشان داده است که عصاره هسته انگور دفاع آنتی‌اکسیدانی بدن را افزایش می‌دهد. ایشان به نقش سوپراکسید دسموتاز در دسموتاسیون اکسیژن رادیکال به پراکسید هیدروژن و اکسیژن اشاره و به تاثیر مفید عصاره هسته انگور در افزایش دفاع آنتی‌اکسیدانی بدن اشاره نموده‌اند.<sup>۱۹،۲۹،۳۰</sup> Cheng و همکاران نیز در سال ۲۰۰۷ به نقش محافظتی عصاره هسته انگور اشاره نموده و دلیل آن را بیشتر به اثرات آنتی‌اکسیدانی مربوط دانسته‌اند.<sup>۳۱</sup> نتایج بررسی حاضر، با یافته‌های Yu Du و همکاران در سال ۲۰۰۷ و Cheng و همکاران در سال ۲۰۰۷ از لحاظ تاثیر عصاره هسته انگور، در افزایش دفاع آنتی‌اکسیدانی و میزان آنزیم‌های وابسته همخوانی دارد.<sup>۳۰،۳۱</sup> Jianxun و همکاران در سال ۲۰۰۶ به نقش و اهمیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دسموتاز، گلوکاتیون پراکسیداز و کاتالاز در کاردیومیوپاتی دیابتی اشاره نموده‌اند، به طوری که نتایج مطالعات ایشان با اهمیت حضور آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در بیماری دیابت، با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد.<sup>۳۲</sup> مطالعات انجام پذیرفته در سال‌های اخیر توسط Abri, Puiggros, Yassa و همکارانشان نیز همگی به توان عصاره هسته انگور بر افزایش دفاع آنتی-

cardiomyocyte. Cardiovasc Toxicol 2003; 3(4):331-9.

6. Bagchi D, Sen CK, Ray SD, et al. Molecular mechanisms of cardioprotection by a novel grape seed proanthocyanidin extract. Mutat Res 2003; 523-524:87-97.
7. Bagchi D, Ray SD, Bagchi M, et al. Mechanistic pathways of antioxidant cytoprotection by a novel IH636 grape seed proanthocyanidin extract. Indian J Exp Biol 2002; 40(6):717-26.
8. Fein FS, Sonnenblick EH. Diabetic cardiomyopathy. Prog Cardiovasc Dis 1985; 27(4):255-70.
9. Uusitupa MI, Mustonen JN, Airaksinen KE. Diabetic heart muscle disease. Ann Med 1990; 22(6):377-86.
10. Halliwell B. Antioxidants in human health and disease. Annu Rev Nutr 1996; 16:33-50.
11. Kirshenbaum LA, Thomas TP, Randhawa AK. Time course of cardiac myocyte injury due to oxidative stress. Mol Cell Biochem 1992; 111(1-2):25-31.

12. Halliwell B. Free radicals and antioxidants: A personal view. *Nutr Rev* 1994; 52(8 pt 1):253-265.
13. Dixon IM, Kaneko M, Hata T. Alterations in cardiac membrane Ca<sup>2+</sup> transport during oxidative stress. *Mol Cell Biochem* 1990; 99(2):125-133.
14. Gupta M, Singal PK. Time course of structure, function and metabolic changes due to an exogenous source of oxygen metabolites in rat heart. *Can J Physiol Pharmacol* 1989; 67(12):1549-1559.
15. Pinet M, Blay M, Bladé MC, et al. Grape seed-derived procyanidins have an antihyperglycemic effect in streptozotocin-induced diabetic rats and insulinomimetic activity in insulin-sensitive cell lines. *Endocrinology* 2004; 145(11):4985-90.
16. Llopiz N, Ardevol A, Blade C, et al. Antigenotoxic effect of grape seed procyanidin extract in Fao cells submitted to oxidative stress. *J Agric Food Chem* 2004; 52(5):1083-7.
17. Bagchi D, Sen CK, Ray SD, et al. Molecular mechanisms of cardioprotection by a novel grape seed proanthocyanidin extract. *Mutat Res* 2003; 87-97.
18. Samuelsson G. *Drugs of natural origin, A Text book of pharmacognosy*. 4<sup>th</sup> ed. Stockholm :Swedish pharmaceutical press; 1999:48-49.
19. Sato M, Maulik G, Ray PS, et al. Cardioprotective effects of grape seed proanthocyanidin against ischemic reperfusion injury. *J Mol Cell Cardiol* 1999; 31(6):1289-97.
20. Al-Awwadi NA, Araiz C, Bornet A, et al. Extracts enriched in different polyphenolic families normalize increased cardiac NADPH oxidase expression while having differential effects on insulin resistance, hypertension, and cardiac hypertrophy in high-fructose-fed rats. *J Agric Food Chem* 2005; 53(1):151-7.
21. Rees DA, Alcolado JC. Animal models of diabetes mellitus. *Diabet Med* 2005; 22(4):359-70.
22. Esterbauer H, Cheesman KH. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. *Method Enzymol* 1990; 186: 407-421.
23. Aebi, H. Catalase in vitro. *Method Enzymol* 1984; 105,121-126.
24. Boudina S, Abel ED. Diabetic cardiomyopathy revisited. *Circulation* 2007; 115(25):3213-3233.
25. Irina CC, Marius IU, Adriana M, et al. Antioxidant effects of grape seed extract in a rat model of diabetes mellitus. *Diabetes and vascular research* 2009; 6(3): 200-204.
26. Gosh S, Pulnikunil T, Yuen G, et al. Cardiomyocyte apoptosis induced by short-term diabetes requires mitochondrial GSH depletion. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2005; 289(2):H768-76.
27. El-Alfy AT, Ahmed AA, Fatani AJ. Protective effects of red grape seeds proanthocyanidin against induction of diabetes by alloxan in rats. *Pharmacol Res* 2005; 52(3):264-270.
28. Barden CA, Chandler HL, Lu P, et al. Effect of grape polyphenols on oxidative stress in canine lens epithelial cells. *Am J Veterin Res* 2008; 69(1): 94-100
29. Zhang XY, Li WG, Wu YJ, et al. Amelioration of doxorubicin-induced myocardial oxidative stress and immunosuppression by grape seed proanthocyanidins tumour-bearing mice. *J Pharm Pharmacol* 2005; 57(8):1043-52.
30. Du Y, Guo H, Lou H. Grape seed polyphenols cardiac cells from apoptosis via induction of endogenous antioxidant enzymes. *J Agric Food Chem* 2007; 55(5):1695-1701.
31. Cheng M, Gao HQ, Xu L. Cardioprotective effects of grape seed extracts in streptozotocin induced diabetic rats. *J Cardipvasc Pharmacol* 2007; 50(5):503-9.
32. Wang J, song Y, Wang Q, et al. Causes and characteristics of diabetic cardiomyopathy. *Rev Diabet Stud* 2006; 3(3):108-117.
33. Yassa N, Beni HR and Hadjiakhoondi A. Free Radical Scavenging and Lipid Peroxidation Activity of the Shahani Black Grape. *Pak J Biol Sci* 2008; 11(21):657-61.
34. Puiggròs F, Sala E, Vaqué M, et al. In Vivo, in Vitro, and in Silico Studies of Cu/Zn-Superoxide Dismutase Regulation by Molecules in Grape Seed Procyanidin Extract. *J Agric Food Chem*. 2009 May 13; 57(9):3934-42.
35. Saad AA, Youssef MI, and 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; 47(7):1499-1506.

## *Antioxidant effect of extract of the grape seed in streptozotocin induced diabetic rats*

Yusof Doostar<sup>1</sup>, Daryoush Mohajeri<sup>2</sup>

Received: 18/Oct/2009

Accepted: 12/Dec/2009

**Background:** Diabetes mellitus is a metabolic disorder as old as mankind and its incidence is considered to be high all over the world. Oxidative stress is strongly associated with development and the complications of diabetes. Antioxidant agents, especially with the origin of plants, are of more importance in the treatment of diabetic complications. The main objective of the present study was to evaluate the effect of extract of the grape seed on antioxidants status in streptozotocin induced diabetic rats.

**Material and methods:** In this laboratory experimental study which conducted in Islamic Azad University of Tabriz research center. Forty male Wistar rats were randomly assigned into four equal groups including healthy control group, healthy group treated with grape seed extract (40 mg/kg), diabetic control group and diabetic group treated with grape seed extract (40 mg/kg). The experimental rats were treated in related groups for 12 weeks and at the end of experiment serum level of malonaldehyde (MDA) and anti-oxidant enzymes activity including superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx) and catalase (CAT) were measured in red blood cells. Statistically, comparison of the groups was carried out using one-way analysis of variance followed by Bonferroni post-hoc test. Differences were considered statistically significant at  $p < 0.05$ .

**Results:** Diabetic rats showed significant increase in the value of MDA and a decrease in the activities of SOD, GPx and CAT of red blood cells ( $p < 0.001$ ). Oral administration of grape seed extract resulted in significant reduction in the level of MDA and significant increase in the activities of SOD, GPx and CAT of red blood cells ( $p < 0.001$ ).

**Conclusion:** The results of this study provide confirmatory evidence of oxidative stress in diabetes and show the anti-oxidative effect of grape seed extract. [ZJRMS, 12(1):9-14]

**Keywords:** Antioxidant, Grape seed, Diabetes, Rat

1. Assistant Professor of Pathology, Dept. of Pathobiology, School of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Tabriz Branch, Tabriz, Iran.  
2. Associate Professor of Pathology, Dept. of Pathobiology, School of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Tabriz Branch, Tabriz, Iran.