Archive of SID

Original Paper

Effect of gestational diabetes on expersion of desmocollin 2 and collagen structural genes in C57BL mouse embryo heart

Sara Pasban Bovanlo (B.Sc)[1], Masoud Golalipour (Ph.D)[2]
Kamran Haidari (Ph.D)[3], Mohammad Jafar Golalipour (Ph.D)*[4]

[1]M.Sc Student of Anatomy, Faculty of Medicine, Golestan University of Medical Scineces, Gorgan, Iran. **pasbansara@gmail.com** ORCID ID: 0000-0002-7067-433X

[2]Assistant Professor, Medical Cellular and Molecular Research Center, Golestan University of Medical Scineces, Gorgan, Iran. ORCID ID: 0000-0002-3429-5519

[3]Associate Professor, Department of Anatomical Sciences, Faculty of Medicine, Golestan University of Medical Scineces, Gorgan, Iran. ORCID ID: 0000-0003-4347-5412

[4]***Corresponding Author**, Professor, Gorgan Congenital Malformations Research Center, Golestan University of Medical Scineces, Gorgan, Iran. **mjgolalipour@yahoo.com** ORCID ID: 0000-0002-0646-7096

Downloaded from goums.ac.ir at 9:57 +0330 on Wednesday February 13th 2019

Abstract

Background and Objective: Gestational diabetes (GDM) is a metabolic disorder which is caused by insufficient secretion of insulin. GDM is a risk factor for embryo during pregnancy and it is possible leads to congenital heart defects (CHD). Some of these defects may be due to a change in the expression of some of the important structural genes in the heart. Desmocollin 2 and collagen structural genes have important role in the cell adhesion of the cardiomyocytes.This study was done to determine the effect of gestational diabetes on expersion of desmocollin 2 and col5a2 structural genes in C57BL mouse embryo heart.

Methods: In this experimental study, 12 adult female and six adult male C57BL mice were used.After mating of the animals and observation of the vaginal plug, the female mice with vaginal plug were randomly divided into diabetic and control groups. At the first day of pregnancy, Induction of gestational diabetes mellitus in dams in the diabetic group was performed by the intraperitoneal (IP) injection of Streptozotocin with a dose of 150 mg / kg body weight per day in GD1. While in the control group, only citrate buffer was injected.Cesarean Surgery was done at E11.5 and embryo's heart was extracted from the body.Extraction of RNA, cDNA, and quantitative measurements of the amount of RNA were performed using Real -Time PCR.

Results: Induction of gestational diabetes increased the expersion of desmocollin 2 and col5a2 structural genes in compared to controls, althought only the expersion of desmocollin 2 gene was significant ($P<0.05$).

Conclusion: We suggest that the induction of DM lead to upregulation of structural genes primarily including desmocollin 2 and col5a2 in embryos heart development.

Keywords: Gestational diabetes mellitus, Col5a2 gene, Dsc2 gene, Heart development, C57BL mouse

Received 16 Dec 2017 **Revised** 19 Jun 2018 **Accepted** 11 Aug 2018

Cite this article as: Sara Pasban Bovanlo, Masoud Golalipour, Kamran Haidari, Mohammad Jafar Golalipour. [Effect of gestational diabetes on expersion of desmocollin 2 and collagen structural genes in C57BL mouse embryo heart]. J Gorgan Univ Med Sci. 2019 Winter; 20 (4): 31-35. [Article in Persian]

www.SID.ir

Archive of SID

تحقیقی

اثر دیابت بارداری بر بیان ژن‌های ساختاری کلاژن و دسموکولین در قلب رویان موش‌های آزمایشگاهی نژاد C57BL

سارا پاسبان بوانلو[۱]، دکتر مسعود گلعلی‌پور[۲]، دکتر کامران حیدری[۳]، دکتر محمدجعفر گلعلی‌پور*[٤]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد رشته علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران. pasbansara@gmail.com کد ارکید 0000-0002-7067-433X

۲- استادیار، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران. کد ارکید 0000-0002-3429-5519

۳- دانشیار، گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران. کد ارکید 0000-0003-4347-5412

۴- استاد، مرکز تحقیقات ناهنجاری‌های مادرزادی گرگان، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران. کد ارکید 0000-0002-0646-7096

چکیده

زمینه و هدف: *دیابت بارداری (Gestational Diabetes Mellitus: GDM) یک اختلال متابولیک است که به دلیل نقص در ترشح کافی انسولین ایجاد می‌شود. GDM خطر سقط و یا تولد نوزادانی با نقایص مادرزادی قلب را افزایش می‌دهد. برخی از این نقایص ممکن است مربوط به اختلال در بیان برخی از ژن‌های مهم ساختاری قلب باشد. ژن‌های ساختاری کلاژن و دسموکولین نقش مهمی به ترتیب در اتصالات بین سلولی در نواحی دسموزوم و صفحات بینابینی در ساختار قلب دارند. این مطالعه به منظور تعیین اثر دیابت بارداری بر بیان ژن‌های Col5a2 و Dsc2 در قلب رویان موش‌های آزمایشگاهی نژاد C57BL انجام شد.*

روش بررسی: *در این مطالعه تجربی تعداد ۱۲ سر موش ماده نژاد C57BL (۱۰-۸ هفته) و ٦ سر موش نر بالغ از همین نژاد با میانگین وزن ۲٤-۲۲ گرم استفاده گردید. پس از جفت‌گیری حیوانات ماده و رویت پلاک واژینال روز صفر بارداری تعیین شد و به‌صورت تصادفی به دو گروه دیابتی و کنترل تقسیم شدند. القاء دیابت بارداری در موش‌های باردار گروه دیابتی به‌وسیله تزریق داخل صفاقی استرپتوزوتوسین با دوز ۱۵۰ میلی‌گرم برکیلوگرم وزن بدن در روز یک بارداری (GD1) انجام شد. در حالی که در گروه کنترل تنها بافر سیترات در روز یک بارداری تزریق شد. در روز ۱۱/۵ بارداری جراحی سزارین انجام و قلب رویان‌ها با استفاده از استرئو میکروسکوپ خارج شد. سپس به ترتیب استخراج total RNA ، سنتز cDNA و اندازه‌گیری کمی میزان RNA با استفاده از روش Real Time-PCR انجام گردید و میزان بیان ژن‌های Col5a2 و Dsc2 در رویان‌های گروه دیابتی و کنترل اندازه‌گیری شد.*

یافته‌ها: *القاء دیابت بارداری در موش‌های باردار سبب افزایش بیان ژن‌های Col5a2 و Dsc2 در رویان‌های ۱۱/۵ روزه در مقایسه با گروه کنترل شد که در رابطه با دسموکولین این تغییرات از نظر آماری معنی‌دار بود (P<۰/۰۵).*

نتیجه‌گیری: *القاء دیابت در دوره بارداری سبب افزایش بیان ژن‌های Col5a2 و Dsc2 در یکی از مسیرهای مهم ساختاری تکامل قلب در رویان‌های حاصل می‌گردد.*

کلید واژه‌ها: *دیابت بارداری ، ژن Col5a2 ، ژن Dsc2 ، تکوین قلب ، موش C57BL*

* نویسنده مسؤول : دکتر محمدجعفر گلعلی پور ، پست الکترونیکی mjgolalipour@yahoo.com

نشانی : گرگان، بلوار شهید صیاد شیرازی، مرکز آموزشی درمانی شهید صیاد شیرازی، مرکز تحقیقات ناهنجاری‌های مادرزادی گرگان، تلفن ۳۲۲۶۱۵۶۵-۰۱۷

وصول مقاله: ۱۳۹٦/۹/۲۵ ، اصلاح مقاله : ۱۳۹۷/۳/۲۹ ، پذیرش مقاله : ۱۳۹۷/۵/۲۰

مقدمه

نقایص قلبی علت عمده مرگ‌هایی زودرس ناشی از نقص‌های مادرزادی هستند. به‌طوری که از هر ۱۰۰۰ تولد زنده ۸ مورد این مشکل را دارا هستند (۱). در حالی که علت دقیق این نقایص هنوز مشخص نیست؛ مطالعات اپیدمیولوژی نشان می‌دهد برخی از عوامل محیطی مانند دیابت در دوره بارداری در ایجاد نقص‌های قلبی دخالت دارند (۴-۲). دیابت مادری با توجه به مطالعات روی پروتئین‌های ماتریکس خارج سلولی تاثیر می‌گذارد (۵). پروتئین‌های ساختاری قلب مانند Col5a2 و Dsc2 نقش مهمی در روند تکامل قلب و دوره‌های بعد زندگی دارند. ژن Dsc2 و متعاقباً پروتئین این ژن، کادهرینی است ما بین سلول‌های مجاور و در نواحی اختصاصی تحت عنوان دسموزوم بین سلول‌ها ارتباط برقرار می‌کند. ژن این پروتئین به‌صورت گسترده بیان می‌شود و تنها این ایزوفرم در قلب در دیسک‌های اینترکاله میوکاردیوم بیان می‌شود (۶و۷). موتاسیون و بیان بیش از حد این ژن با اختلالات بطن راست همراه است (۸). Col5a2 نیز ژن ساختاری دیگری است که پروتئین کد شده آن و برخی از ایزوفرم‌های دیگر آن در بخش اسکلتی سیستم قلبی - عروقی، اتصالات Focal و در فضای ماتریکس خارج

www.SID.ir

Downloaded from goums.ac.ir at 9:57 +0330 on Wednesday February 13th 2019

Archive of SID

Downloaded from goums.ac.ir at 9:57 +0330 on Wednesday February 13th 2019

سلولی به مقدار بسیار فراوان یافت می‌شوند (۹). دیابت نوع یک در رابطه با بررسی این عامل با افزایش فعالیت فیبروبلاست‌های قلبی در فضای ماتریکس خارج سلولی و نیز افزایش تکثیر کاردیومیوسیت‌ها همراه بوده است. افزایش فعالیت این سلول‌ها در نتیجه دپوزیشن کلاژن می‌تواند خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی - عروقی را افزایش دهد (۱۰). این پروتئین‌ها به عوامل دیگر ECM (Extra Cellular Matrix) متصل می‌شوند و به پایداری اسکلت قلب کمک می‌کنند. بنابراین احتمال تغییرات خارج سلولی در نتیجه استرس و عوامل ایجاد شده و متعاقباً تاثیر این استرس بر روند ریمودلینگ قلب وجود دارد (۹و۱۱).

دیابت بارداری (Gestational Diabetes Mellitus: GDM) به‌طور معمول ناشی از تولید ناکافی انسولین در زنان باردار است. بیماران مبتلا به GDM قبل از حاملگی هیچ نشانه‌ای از دیابت ندارد و به‌طور معمول در سه ماهه دوم بارداری تشخیص داده می‌شود. GDM باعث رشد غیرطبیعی جنین می‌شود (۱۲).

یکی از ویژگی‌های کلیدی که در همه دیابت‌ها مشاهده می‌شود؛ هیپرگلیسمی است و به‌عنوان عامل اصلی خطر در توسعه عوارض دیابت واثرات زیان‌آور طولانی مدت که بر بافت‌ها و اندام‌های مختلف می‌گذارد؛ شناخته شده است. هایپرگلیسمی می‌تواند موجب فعال شدن چندمسیر سلولی از جمله افزایش استرس اکسیداتیو ROS (Reactive Oxygen Species) شود (۱۳) که باعث افزایش بیان مسیرهای التهابی می‌شودکه خود التهاب نیز می‌تواند باعث تشدید عوارض دیابت شود. هرکدام از این عوامل موجب تغییرات اپی‌ژنتیک در ساختار کروماتین می‌شوند ودر نهایت باعث تغییر الگوی بیان ژن‌ها در ارتباط با افزایش گلوکز سرم در بافت‌های مختلف مانند قلب،کلیه، کبد، سیستم عصبی و عضله و رگ‌های خونی می‌شود. بنابراین استرس اکسیداتیو می‌تواند باعث اختلال در مکانیسم بیان ژن در سلول شود. هایپرگلیسمی در اوایل بارداری بر تنظیم بیان ژن‌ها در جنین اثر می‌گذارد و باعث افزایش خطر بیماری‌های مادرزادی قلب (Congenital Heart Defects: CHD) می‌شود. افزایش بیش از حد ROS تحت بعضی از شرایط پاتولوژیکی می‌تواند سیستم قلبی -عروقی را مختل کند (۱۴). لذا بررسی مکانیسم مولکولی به دنبال این اختلالات امری ضروری است. چرا که مکانیسم مولکولی نقص‌های قلبی ناشی از دیابت القا شده هنوز به طور کامل روشن نشده است (۱۵). این مطالعه ممکن است به فهم بیشتر مکانیسم‌های مولکولی در سطح ژن‌های ساختاری که منجر به بروز پیامدهای دیابت بارداری بر تکوین قلب شود؛ کمک کند. این مطالعه به منظور تعیین اثر دیابت بارداری بر بیان ژن‌های ساختاری کلاژن و دسموکولین در قلب رویان موش‌های آزمایشگاهی نژاد C57BL انجام شد.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی تعداد ۱۲ سر موش ماده نژاد C57BL (۱۰-۸ هفته) و ۶ سر موش نر بالغ از همین نژاد با میانگین وزن ۲۴-۲۲ گرم استفاده گردید. حیوانات از انستیتو رازی تهیه و در حیوانخانه دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی گلستان تکثیر شدند. سپس در قفس‌های پلاستیکی شفاف مخصوص نگهداری حیوانات به صورت جداگانه قرار داده شدند. حیوانات آب و غذای مناسب به جز در مواقع آزمایش در دسترس داشتند. محل نگهداری حیوانات از نظر شرایط فیزیکی دوره روشنایی - تاریکی ۱۲ ساعته (۷صبح تا ۷شب)، دمای ۲۴-۲۲ درجه سانتی‌گراد بدون هرگونه آلودگی صوتی بود.

پروتکل اخلاقی بین‌المللی کار بر روی حیوانات آزمایشگاهی رعایت شد. این مطالعه مورد تایید کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی گلستان (IR.GOUMS.RES.1395.156) قرار گرفت.

پس از رسیدن موش‌ها به سن بلوغ و باروری، برای جفتگیری (به نسبت ۲ به ۱) به مدت ۲۴ ساعت در مجاورت موش‌های آزمایشگاهی نر گذاشته شدند. در مورد موش های آزمایشگاهی ماده پس از تشخیص پلاک واژینال، جفت‌گیری تایید شد و به‌عنوان روز صفر بارداری (E0.5) در نظر گرفته شد (۱۶).

موش‌های باردار به‌صورت تصادفی به دو گروه کنترل و دیابتی تقسیم شدند.

سطوح گلوکز سرم مادران با استفاده از گلوکومتر (ACCU-CHEK® Active Glucometer, Roche Diagnostics, Mann-heim, Germany) در روز اول مطالعه و ۷۲ساعت بعد از تزریق استرپتوزتوسین (STZ) تعیین گردید. به موش‌های باردار گروه دیابتی برای القاء دیابت در روز یک بارداری (GD1) استرپتوزتوسین به‌صورت تک دوز (۱۵۰میلیگرم بر کیلوگرم وزن بدن) به صورت داخل صفاقی تزریق گردید (۱۷). گروه دیابتی با سطح گلوکز سرم میانگین حدود ۳۰۰- ۲۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به‌عنوان GDM در نظر گرفته شدند. در گروه کنترل نیز میزان گلوکز سرم قبل و بعد از بارداری کنترل شد (۱۸).

پس از گذشت ۱۱/۵ روز از بارداری، موش‌های دوگروه با روش دررفتگی مهره‌های گردنی قربانی شدند. سپس رویان‌های حاصل از این موش‌ها (۳ رویان از۳ موش مختلف برای هر دو گروه دیابتی و کنترل) با برش در ناحیه شکم (مشابه جراحی سزارین) خارج شدند. در مرحله بعد نمونه‌های قلب آنها با استفاده از ابزارهای ظریف قابل دسترس مانند سرسوزن سرنگ انسولین و تیغ بیستوری در زیر میکروسکوپ استرئو جداسازی شد. سپس نمونه‌ها بلافاصله به فریزر در دمای ۸۰- سانتی‌گراد منتقل شدند.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from goums.ac.ir at 9:57 +0330 on Wednesday February 13th 2019

استخراج RNA Total به‌وسیله ترایزول و طبق دستور کیت شرکت تولید کننده (Geneall, Korea) انجام شد. در مرحله بعد سنجش کمی و کیفی RNA به‌ترتیب توسط دستگاه پیکودراپ (Picodrop, Germany) و دستگاه UV-DOC مورد ارزیابی قرار گرفت. سپس برای برطرف شدن آلودگی احتمالی محصول (DNA ژنومی) استخراج شده از تیمار DNase I کیت فرمنتاز (Fermentas, Canada) استفاده شد. سپس سنتز cDNA با استفاده از کیت فرمنتاز (Fermentas, Canada) و طبق پروتکل این شرکت انجام شد.

cDNA از قبل ساخته شده را در حجم معین با مواد اولیه برای واکنش ریل تایم (Termo Scientific) و پرایمر ژن های زیر به‌ترتیب دستور کیت ترکیب و با الکوت کردن محصول حاصل در پلیت‌های مربوط به واکنش، اجرای برنامه دمایی و تکثیر دما بود.

Forward: ATGCAGATGGGAGAAGCTGT: Dsc2

Reverse: TGCAACAATTTCAGCAGAGG
Col5a2: Reverse: CCAAATTCCTGGTCTGCATT
Forward: GGAGAAGGAAACATCAGATTCA

به‌طور کلی شرایط انجام واکنش به صورت زیر بود.

سیکل اول ۹۵درجه سانتی‌گراد ۱۰ثانیه، ۹۵ درجه سانتی‌گراد ۵ثانیه، ۶۰ درجه سانتی‌گراد ۳۴ ثانیه که در ۴۰چرخه ادامه داشت.

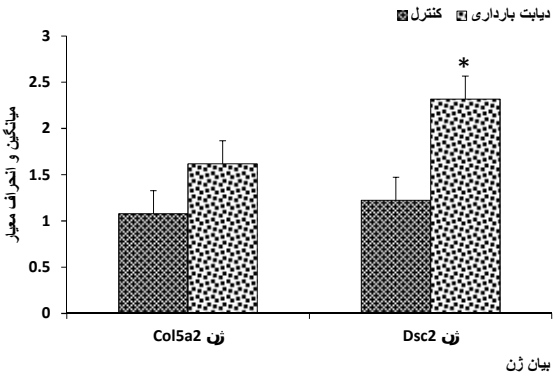
در پایان واکنش‌ها منحنی استاندارد و منحنی ذوب مربوطه مورد ارزیابی قرار گرفت. این روش به‌وسیله دستگاه Real-Time PCR (ABI7300;Germany) انجام شد. در این آزمایش از ژن s18 به‌عنوان کنترل داخلی و از cDNA گروه غیردیابتی به‌عنوان کنترل استفاده شد.

داده ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS-16 تجزیه و تحلیل شدند. نرمال بودن توزیع داده‌ها توسط One-Sample Kolomogrov-Smirnov Test مورد آزمون قرار گرفت. پس از تایید نرمال بودن توزیع داده‌ها نتایج از طریق t-test مقایسه و تغییرات حاصل از آن گزارش شد. ضریب اطمینان مطالعه ۹۵ بود. سطح معنی داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. لازم به ذکر است که ارزیابی بیان ژن‌ها پس از normalize با ژن‌های HKG براساس فرمول $\Delta\Delta^{Ct}$ صورت گرفت و نتایج براساس Fold change گزارش شد. به‌طور کلی نتایج حاصل از داده‌ها به صورت میانگین و انحراف استاندارد ارایه شد.

یافته‌ها

القاء دیابت بارداری در موش‌های باردار سبب افزایش آماری معنی‌دار بیان ژن Dsc2 در رویان‌های ۱۱/۵ روزه در مقایسه با گروه کنترل شد (P<۰/۰۵) (نمودار یک).

بیان ژن Col5a2 در رویان‌های ۱۱/۵ روزه پس از القاء دیابت بارداری در موش‌های باردار، در مقایسه با گروه کنترل به‌طور غیرمعنی‌داری افزایش نشان داد (نمودار یک).



نمودار ۱ : نتایج بیان ژن‌های Col5a1 و Dsc2 در قلب رویان ۱۱/۵ روزه موش C57BL در گروه کنترل و دیابت بارداری به صورت Fold change * P< ۰/۰۵

بحث

با توجه به نتایج این مطالعه، القاء دیابت بارداری با استفاده از استرپتوزوتوسین سبب تغییرات ژن‌های ساختاری قلبی نظیر دسموکولین و کلاژن می گردد.

تکامل قلب نیازمند تنظیم بیان ژنی و مولکولی صحیح است. تغییرات بیان یک ژن ممکن است در طول تکامل قلب به اختلال در ساختار و عملکرد قلبی منجر شود. مکانیسم دقیق اثرات تراتوژنیک دیابت بر روی جنین در حال تکامل همچنان نامشخص است؛ اما هایپرگلیسمی باعث افزایش ROS می‌شود و تکامل سیستم قلبی - عروقی را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۱۳). باتوجه به شواهد و نتایجی که در این مطالعه به‌دست آمده و نیز مطالعات صورت گرفته توسط محققین GDM در نتیجه افزایش گلوکز خون سیگنال‌های استرس‌زا ایجاد می کند و باعث افزایش استرس شبکه اندوپلاسمیک و ROS می‌شود (۱۲). تجمع بیش از حد ROS بر عملکرد طبیعی سلول اثر می‌گذارد و باعث آسیب رساندن به ماکرومولکول‌هایی مانند پروتئین، چربی و DNA می شود (۱۹). سلول‌ها و بافت‌ها در جنین به دلیل این که نابالغ هستند؛ به ROS بیش از حد، در مقایسه با بافت‌های بالغ حساسیت بیشتری نشان می‌دهند. ROS به‌صورت مستقیم بر بیان ژن‌های مهم فرآیندهای مورفوژنیک سلولی مانند Dsc2 و Col5a1 اثر می گذارد. به‌طور اختصاصی سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان معمولاً در میوکارد نابالغ نسبت به میوکارد در بالغین پایین‌تر است و این سطح پایین از آنزیم در سلول‌های قلبی نابالغ تا حدی توانایی قلب را برای حفاظت از خودش در برابر ROS بیش از حد از دست می‌دهند و قلب نسبت به آسیب‌های اکسیداتیو

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from goums.ac.ir at 9:57 +0330 on Wednesday February 13th 2019

آسیب‌پذیر می‌شود. به‌طور کلی هیپرگلیسمی، ROS و استرس اکسیداتیو می‌توانند باعث تولید عوامل التهابی شوند که این عوامل می‌توانند سبب اختلال در بیان ژن‌های ساختاری قلب گردند که ممکن است اتصالات بین سلولی در بافت قلب و همچنین فرآیندهای هدایتی و فیزیولوژیک آن را دچار تغییر نماید و ممکن است قلب به سمت هیپرتروفی و فیبروزه شدن در نتیجه فعالیت فیبروبلاست‌ها برای تولید ماکرومولکول‌هایی مانند کلاژن پیش رود (۱۴و۲۰). با وجود مطالعات انجام شده در زمینه دیابت و اثر آن بر تکامل و ساختار قلب (۱۴و۱۵)، هنوز مکانیسم القایی CHD در فرزندان مبتلا به GDM همچنان در ابهام است و با روند روبه رشد این اختلال نیاز مبرم به درک اساسی از مکانیسم‌های آن و به‌کارگیری استراتژی‌های پیشگیرانه مؤثر وجود دارد.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که در نتیجه دیابت بارداری عوامل آسیب‌زایی تولید می‌گردند که ممکن است بر روی بیان ژن‌های ساختاری و یا مورفولوژیکی تکامل قلب اثرگذار باشند و تکامل این ارگان را دچار آشفتگی کنند.

تشکر و قدردانی

این مقاله نتیجه بخشی از پایان‌نامه (شماره ۲۳۴) خانم سارا پاسبان‌بوانلو برای اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته علوم تشریحی از دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی گلستان بود. همچنین این مقاله حاصل بخشی از طرح تحقیقاتی مصوب (شماره ۱۷۴۴۹) معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی گلستان بود و با حمایت مالی آن معاونت محترم به انجام رسید.

References

1. Meyer-Wittkopf M, Simpson JM, Sharland GK. Incidence of congenital heart defects in fetuses of diabetic mothers: a retrospective study of 326 cases. Ultrasound Obstet Gynecol. 1996 Jul; 8(1): 8-10. doi: 10.1046/j.1469-0705.1996.08010008.x

2. Eisenberg LM, Markwald RR. Molecular regulation of atrioventricular valvuloseptal morphogenesis. Circ Res. 1995 Jul; 77(1): 1-6.

3. Mjaatvedt CH, Nakaoka T, Moreno-Rodriguez R, Norris RA, Kern MJ, Eisenberg CA, et al. The outflow tract of the heart is recruited from a novel heart-forming field. Dev Biol. 2001 Oct; 238(1): 97-109. doi: 10.1006/dbio.2001.0409

4. Srivastava D. Making or breaking the heart: from lineage determination to morphogenesis. Cell. 2006 Sep; 126(6): 1037-48. doi: 10.1016/j.cell.2006.09.003

5. van Lunteren E, Moyer M. Oxidoreductase, morphogenesis, extracellular matrix, and calcium ion-binding gene expression in streptozotocin-induced diabetic rat heart. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2007 Sep; 293(3): E759-68. doi: 10.1152/ajpendo.00191.2007

6. Li J, Radice GL. A New perspective on intercalated disc organization: implications for heart disease. Dermatol Res Pract. Volume 2010. Article ID 207835. http://dx.doi.org/10.1155/2010/207835

7. Bao J, Wang J, Yao Y, Wang Y, Fan X, Sun K, et al. Correlation of ventricular arrhythmias with genotype in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. Circ Cardiovasc Genet. 2013 Dec; 6(6): 552-56. doi: 10.1161/CIRCGENETICS.113.000122

8. Brodehl A, Belke DD, Garnett L, Martens K, Abdelfatah N, Rodriguez M, et al. Transgenic mice overexpressing desmocollin-2 (DSC2) develop cardiomyopathy associated with myocardial inflammation and fibrotic remodeling. PLoS One. 2017 Mar; 12(3): e0174019. doi: 10.1371/journal.pone.0174019

9. Daley WP, Peters SB, Larsen M. Extracellular matrix dynamics in development and regenerative medicine. J Cell Sci. 2008 Feb; 121(Pt 3): 255-64. doi: 10.1242/jcs.006064

10. Schiano C, Vietri MT, Grimaldi V, Picascia A, De Pascale MR, Napoli C. Epigenetic-related therapeutic challenges in cardiovascular disease. Trends Pharmacol Sci. 2015 Apr; 36(4): 226-35. doi: 10.1016/j.tips.2015.02.005

11. Lin X, Yang P, Reece EA, Yang P. Pregestational type 2 diabetes mellitus induces cardiac hypertrophy in the murine embryo through cardiac remodeling and fibrosis. Am J Obstet Gynecol. 2017 Aug; 217(2): 216.e1-216.e13. doi: 10.1016/j.ajog.2017.04.008

12. Ornoy A, Reece EA, Pavlinkova G, Kappen C, Miller RK. Effect of maternal diabetes on the embryo, fetus, and children: congenital anomalies, genetic and epigenetic changes and developmental outcomes. Birth Defects Res C Embryo Today. 2015 Mar; 105(1): 53-72. doi: 10.1002/bdrc.21090

13. Han SS, Wang G, Jin Y, Ma ZL, Jia WJ, Wu X, et al. Investigating the mechanism of hyperglycemia-induced fetal cardiac hypertrophy. PLoS One. 2015 Sep; 10(9): e0139141. doi: 10.1371/journal.pone.0139141

14. Zhao Z. Cardiac malformations and alteration of TGFbeta signaling system in diabetic embryopathy. Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol. 2010 Apr; 89(2): 97-105. doi: 10.1002/bdrb.20225

15. Reece EA, Homko CJ, Wu YK, Wiznitzer A. The role of free radicals and membrane lipids in diabetes-induced congenital malformations. J Soc Gynecol Investig. 1998 Jul-Aug; 5(4): 178-87.

16. Golalipour MJ, Ghafari S, Moharreri AR. [Gestational diabetes reduces motor neurons of spinal cord in 4, 8 and 12 weeks rat offspring]. J Gorgan Uni Med Sci. 2014; 16(1): 29-34. [Article in Persian]

17. Lister R, Einstein F, Chamberlain A, Dar P, Bernstein P, Zhou B. 269: Streptozotocin dosing for the induction of fetal cardiac dysmorphology associated with maternal hyperglycemia. Am J Obstet Gynecol. 2012; 206(1): S131. https://doi.org/10.1016/j.ajog.2011.10.287

18. Damasceno DC, Sinzato YK, Bueno A, Netto AO, Dallaqua B, Gallego FQ, et al. Mild diabetes models and their maternal-fetal repercussions. J Diabetes Res. 2013; 2013: 473575. doi: 10.1155/2013/473575

19. Galleri L, Sebastiani G, Vendrame F, Grieco FA, Spagnuolo I, Dotta F. Viral infections and diabetes. Adv Exp Med Biol. 2012; 771: 252-71.

20. Muralidaran Y, Viswanathan P. Diabetic cardiomyopathy: A new perspective of mechanistic approach. J Diabetes Metab. 2015; 6: 605. doi:10.4172/2155-6156.1000605

www.SID.ir