Quarterly of the Horizon of Medical Sciences
Volume 22, Issue 1, Winter 2016
Pages: 1-11
Type: Original Research

Effect of Aqueous Extract of *Launaea acanthodes* on Open Skin Wound in Diabetic Rats

Rahbarian R.[1] *PhD*, Sepehri Moghadam H.[2] *PhD*, Sadoughi S.D.* *PhD*

*Young Researchers and Elite Club, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran
[1]Biology Department, Sciences Faculty, Payam-e-Noor University, Tehran, Iran
[2]Agriculture Department, Sciences Faculty, Payam-e-Noor University, Tehran, Iran

Abstract

Aims: Wound healing delay is a common complication of diabetes mellitus. Considering the antioxidant properties of the *Launaea acanthodes*, this study aimed to examine the effects of this plant on open skin wound healing in diabetic rats.

Materials & Methods: In this experimental study, 32 male rats were allocated into the equal groups of control, diabetic control and experimental diabetic 1 and 2. The diabetes in diabetic control and experimental diabetic groups was induced using an intraperitoneal injection of alloxan. In all samples, 4 wound with 7mm diameters were created in two lateral posterial parts of body. Then experimental diabetic groups 1 and 2 treated with 10 and 20% of *Launaea acanthodes* ointment and control and diabetic control groups treated with eucerin for 12 days. Histological studies were performed on each of the days 3, 6, 9 and 12. Data were analyzed by Kruskal-Wallis and *post-hoc* Tukey tests in SPSS 20 software.

Findings: The highest and lowest density of inflammatory cells in control group are 3th and 12th day, diabetic control 9th and 3th day, experimental diabetic 1 and 2 6th and 12th day. The highest and lowest thickness of the epithelium in control group are 6th and 12th day, diabetic control 12th and 3th day, experimental 1 9th and 12th day and experimental 2 6th and 12th day. The highest and lowest density of blood vessels in control group are 6th and 12th day, diabetic control 12th and 3th day, experimental 1 6th and 3th day and experimental 2 6th and 12th day.

Conclusion: Topical treatment of aqueous extract of *Launaea acanthodes* accelerates the healing of diabetic ulcers.

Keywords
Wound [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68014947];
Diabetes Mellitus [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68003920];
Skin [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68012867];
Rats [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68051381]

*Corresponding Author
Tel: +985138683900
Fax: +985138683001
Address: Biology Department, Sciences Faculty, Payam-e-Noor University, Mo'allem Boulevard, Mashhad, Iran. Post Box: 91735-433
damoon.sadughi@gmail.com
Received: April 27, 2015 Accepted: October 31, 2015 ePublished: December 15, 2015

اثر عصاره آبی چرخه (*لائونا آکانتودس*) بر زخم باز پوستی در موش‌های صحرایی دیابتی

راهله رهباریان PhD
گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران
حشمت سپهری‌مقدم PhD
گروه کشاورزی، دانشکده علوم، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران
سیددامون صدوقی* PhD
باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران

چکیده

اهداف: تاخیر در ترمیم زخم از عوارض شایع بیماری دیابت است. عصاره چرخه دارای ترکیبات فلاونوئیدی است که می‌توان از آنها در کاهش اثرات مخرب دیابت استفاده نمود. هدف مطالعه حاضر، بررسی اثر عصاره آبی چرخه بر روند ترمیم زخم باز پوستی در موش‌های صحرایی دیابتی بود.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش تجربی، ۳۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار به گروه‌های مساوی شاهد سالم، شاهد دیابتی و تجربی دیابتی ۱ و ۲ تقسیم شدند. گروه‌های شاهد دیابتی و تجربی دیابتی، با یک‌بار تزریق داخل‌صفاقی آلوکسان دیابتی شدند. در همه نمونه‌ها ۴ زخم به‌قطر ۷میلی‌متر در دو طرف پشتی بدن ایجاد شد. سپس گروه‌های تجربی دیابتی ۱ و ۲ به‌مدت ۱۲ روز با پماد ۱۰ و ۲۰٪ عصاره چرخه و گروه‌های شاهد سالم و شاهد دیابتی با اوسرین تیمار شدند. مطالعات بافتی در روزهای ۳، ۶، ۹ و ۱۲ انجام شد. نتایج توسط آزمون کروسکال‌والیس و آزمون تعقیبی توکی با کمک نرم‌افزار SPSS 20 تحلیل شدند.

یافته‌ها: بیشترین و کمترین تراکم سلول‌های التهابی گروه شاهد سالم در روزهای ۳ و ۱۲، شاهد دیابتی در روزهای ۹ و ۳ و گروه‌های تجربی دیابتی ۱ و ۲ در روزهای ۶ و ۱۲ بود. بیشترین و کمترین ضخامت اپی‌تلیوم گروه شاهد سالم در روزهای ۶ و ۱۲، شاهد دیابتی در روزهای ۱۲ و ۳، تجربی ۱ در روزهای ۹ و ۱۲ و تجربی ۲ در روزهای ۶ و ۱۲ بود. بیشترین و کمترین میانگین تراکم عروق خونی گروه شاهد سالم در روزهای ۶ و ۱۲، شاهد دیابتی در روزهای ۱۲ و ۳، تجربی ۱ در روزهای ۶ و ۳ و تجربی ۲ در روزهای ۶ و ۱۲ بود.

نتیجه‌گیری: تیمار موضعی عصاره آبی چرخه موجب تسریع روند التیام زخم‌های دیابتی می‌شود.

کلیدواژه‌ها: زخم، دیابت، پوست، موش صحرایی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۲/۰۷
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۸/۰۹
*نویسنده مسئول: damoon.sadughi@gmail.com

مقدمه

دیابت شامل گروهی از اختلالات متابولیک است که با افزایش سطح سرمی گلوکز خون نمایان می‌شود. همچنین می‌تواند موجب اختلالات وسیعی از جمله بیماری‌های حسی، حرکتی، عصبی، عدم خون‌رسانی صحیح به کلیه، چشم و اندام‌های انتهایی و در نهایت اختلال شدید آنها شود[1]. عارضه بسیار شایع دیابت، ترمیم کند و ناکافی زخم‌های دیابتی است. التهاب، ایسکمی و عفونت شایع‌ترین دلایل ایجاد زخم‌های دیابتی هستند[2]. در حالت طبیعی مراحل ترمیم زخم پس از ایجاد جراحت در پوست شامل؛ ۱- هموستاز (ایجاد لخته و پاسخ عروقی)، ۲- التهاب (مهاجرت سلول‌های دفاعی به ناحیه زخم)، ۳- تکثیر (شکل‌دهی زخم و بازسازی اپیتلیوم) و ۴- تجدید ساختار (تغییر شکل و انقباض) است. این مراحل از نظر هیستولوژیک و عملکرد کاملاً با یکدیگر متفاوت هستند، اما از نظر زمانی با یکدیگر همپوشانی دارند و نیز ترمیم کامل زخم به ارتباط گسترده عوامل سلولی مولکولی وابسته است[3]. این عوامل شامل هورمون رشد و سیتوکین‌هایی است که از سلول‌های التهابی به فضای زخم ترشح می‌شود و واکنش‌های محل آسیب را با تاثیر بر اجزای ماتریکس خارج سلولی (ECM) کنترل می‌کند که در شدت‌های مختلف آسیب، مقادیر متفاوتی دارد. مهم‌ترین اجزای ماتریکس خارج سلولی که نقش بسیار مهمی در ترمیم زخم دارد شامل؛ کلاژن، الاستین، فیبرونکتین، گلیکوزآمینوگلیکان و پروتئوگلیکان است[4]. در افراد دیابتی پاسخ التهابی، شکل‌گیری ساختار کلاژن در بستر زخم، انقباض مکانیکی زخم‌های سطحی و داخلی و مراحل التهابی ترمیم زخم غیرطبیعی و کند است. به‌عنوان مثال در پژوهشی مشخص شد فیبروبلاست‌ها که سازنده کلاژن و در نتیجه سازنده زیرساخت بافت‌های جدید هستند در مجاورت با سطح بالای گلوکز خون با سرعت کمتری تکثیر می‌شوند[5]. در پژوهش دیگری مشخص شد در افراد دارای سطح بالای گلوگز خون آنژیوژنز مختل می‌شود، خون‌رسانی کاپیلاری ضعیف است و در ناحیه زخم ایسکمی ایجاد می‌شود[6]. در پژوهش دیگری بیان شد که گلوکز بالای خون منجر به تداوم غیرطبیعی مرحله التهاب، جلوگیری از تکثیر سلول‌ها، سطح بالای متالوپروتئینازهای ماتریکس (MMPS) و افزایش سیتوکین‌های التهاب‌زا می‌شود. به همین دلیل در این افراد ترمیم زخم با تاخیر و نقص همراه است[7]. گزارش شده است یکی از عوامل مهمی که سبب اختلال در ترمیم زخم در افراد دیابتی می‌شود، وجود غلظت بالای آنزیم‌های مخرب، بالابودن سطح متالوپروتئینازها و پایین‌بودن مهارکننده‌های آنها در ناحیه زخم است[8]. مشخص شده است یکی از عوامل ایجاد زخم‌های دیابتی، استرس اکسیداتیو ناشی از دیابت و قند خون بالا است. استرس اکسیداتیو ناشی از عدم تعادل بین تولید رادیکال‌های آزاد و ظرفیت دفاع آنتی‌اکسیدانی بدن است و به‌شدت با دیابت و عوارض آن در ارتباط است، به‌طوری که مشخص شده است در هر دو نوع دیابت یک و دو استرس اکسیداتیو سلولی افزایش می‌یابد[9]. تحقیقات گویای این مطلب است که دیابت می‌تواند منجر به صدمه بافتی از طریق تشکیل

گروه‌های بازی بین گروه‌های کربونیل قند و گروه‌های آمینی پروتئین‌ها شود. هیپرگلیسمی مزمن با افزایش تولید پراکسیدهیدروژن و کتوآلدئیدها از طریق اکسیداسیون خودبه‌خودی گلوکز باعث صدمه به سلول‌ها و در نهایت سبب کاهش تکثیر سلولی و اختلال در مراحل طبیعی ترمیم زخم می‌شود[10].

امروزه درمان زخم‌های دیابتی یکی از مهم‌ترین و پرطرفدارترین برنامه‌های مراکز تحقیقاتی بوده است و تلاش‌های زیادی برای معرفی داروهای جدید با منشاء گیاهی که فرآیند ترمیم را تسریع می‌بخشند، صورت می‌گیرد. چرخه (*Launaea acanthodes*) از خانواده *آستراسه* که به نام‌های چرخان، چرخک یا شکرلوله شناخته می‌شود، گیاهی است یک‌ساله، بوته‌ای و بیابانی با شاخک های انبوه، ساقه‌ای بدون کرک و منشعب که دارای شیرابه‌ای سفیدرنگ است. این گیاه با نام بومی مقل و ملک ازرق در نقاط کویری ایران از جمله استان کرمان و خراسان می‌روید. ساقه این گیاه در بین اهالی مناطق کویری به‌عنوان یک داروی گیاهی موثر در درمان بسیاری از بیماری‌ها نظیر صرع، ناراحتی عصبی، دردهای موضعی و مفصلی، اختلالات معده‌ای روده‌ای، دیابت و کاهش قند خون استفاده می‌شود[11]. در عصاره این گیاه ترکیباتی از قبیل ترپنوئید، ساپونین، آلکالوئید، تانن، پلی‌ساکارید و منوساکاریدهایی نظیر آرابینوز، مانوز و مشتقات اسیدگلکورونیک نیز شناسایی شده است[12]. همچنین عصاره چرخه دارای ترکیبات فلاونوئیدی است و با توجه به اینکه فلاونوئیدها به‌عنوان آنتی‌اکسیدان قادر به کاهش سطح رادیکال‌های آزاد سلولی هستند، می‌توان از آنها در کاهش اثرات مخرب دیابت استفاده نمود[13]. در پژوهشی مشخص شد عصاره چرخه با غلظت ۳۰۰میلی‌گرم بر کیلوگرم می‌تواند با تاثیر بر بافت بیضه موجب کاهش آتروفی لوله‌های اسپرم‌ساز در موش‌های صحرایی دیابتی و با بهبود پارامترهای اسپرمی و افزایش تعداد اسپرم منجر به کاهش عوارض ناشی از دیابت در اسپرم و بافت بیضه شود[14]. همچنین مشخص شد تجویز عصاره آبی چرخه با غلظت ۳۰۰میلی‌گرم بر کیلوگرم به موش‌های صحرایی دیابتی از طریق افزایش تعداد و حجم جزایر لانگرهانس که احتمالاً در نتیجه هیپرتروفی و هیپرپلازی سلول‌های بتا است، موجب افزایش ترشح انسولین و کاهش قند خون می‌شود[15]. گزارش شده است عصاره چرخه موجب بهبود عملکرد کبد با جلوگیری نسبی از افزایش پیش‌رونده سطح شاخص‌های کبدی ALP (آلکالین‌فسفاتاز)، AST (آسپارتات‌آمینوترنسفراز) و ALT (آلانین‌آمینوترنسفراز) در موش‌های صحرایی می‌شود[16]. شواهد نشان می‌دهند که ترکیب‌های فلاونوئیدی موجود در عصاره صمغ گیاه چرخه باعث اثرات ضدتشنجی و ضداضطرابی مشابه دیازپام می‌شود و اثرات تسکین‌دهندگی متفاوت با دیازپام دارد[13].

جستجو در منابع نشان می‌دهد مطالعاتی روی اثراتی که گیاه چرخه بر ترمیم زخم باز دیابتی دارد صورت نگرفته است. در عین حال تحقیقات معدودی نشان می‌دهد که گونه *لائونا نودیکائولیس* (*Launaea nudicaulis*) موجب کاهش سطح گلوکز خون می شود. این اثرات به وجود نوعی گلیکوزید به‌نام بنگالنوزید نسبت داده شده است. همچنین در طب سنتی از گونه *لائونا آربورسنس* (*Launaea arborescens*) برای درمان و کاهش عوارض ناشی از دیابت استفاده می‌شود[11]. مطالعات نشان داد عصاره اتانولی چرخه با غلظت ۱۵۰میلی‌گرم بر کیلوگرم در کاهش سطح گلوکز خون موش‌های صحرایی دیابتی‌شده با استرپتوزوسین موثر است[17].

با توجه به خواص آنتی‌اکسیدانی چرخه و نقش موثر آن در کاهش قند خون، مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر عصاره آبی گیاه چرخه بر روند ترمیم زخم باز پوستی در موش‌های صحرایی دیابتی انجام شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش یک مطالعه تجربی آزمایشگاهی است که در آزمایشگاه تحقیقاتی جانوری گروه زیست‌شناسی دانشگاه پیام نور مرکز مشهد در سال ۱۳۹۳ انجام شد.

جمع‌آوری گیاه: اندام هوایی گیاه چرخه در حد فاصل جاده مشهد به نیشابور در موقعیت جغرافیایی ۳۵ تا ۳۶درجه طول شمالی و ۵۸ تا ۵۹درجه عرض شمالی به‌مساحت حدود ۷ هکتار جمع‌آوری شد. حداقل و حداکثر ارتفاع مناطق به ترتیب ۱۲۵۸ و ۱۴۸۲متر از سطح دریا است. نمونه‌های گیاهی پس از جمع‌آوری در بخش هرباریوم دانشکده علوم دانشگاه پیام نور مرکز مشهد شناسایی و تایید شد.

روش عصاره‌گیری و تهیه پماد: گیاه چرخه پس از طی مراحل خشک‌شدن در سایه در دمای ۳°C±۳۶، توسط آسیاب خرد شد. عصاره آبی گیاه چرخه با استفاده از دستگاه سوکسله تهیه شد. ابتدا ۵۰گرم پودر خشک‌شده گیاه داخل کاغذ کارتوش ریخته و در دستگاه قرار داده شد. سپس ۴۰۰میلی‌لیتر آب مقطر به‌عنوان حلال در داخل بالن دستگاه ریخته شد. آب مقطر توسط گرم‌کن دستگاه به جوش می‌آید و در نهایت موجب جداسازی عصاره گیاه چرخه می‌شود. مبرد، کار سردکردن بخارات اضافی را بر عهده دارد. بنابراین کاهش حجم محلول بسیار آهسته است. پس از حدود ۱۰ ساعت مایع نسبتاً غلیظی در ته بالن جمع شد. سپس با حذف حلال در دمای ۴۰°C عصاره تام استخراج شد[18]. به‌منظور تهیه پماد ۱۰٪ و ۲۰٪ (وزنی- وزنی) عصاره آبی گیاه چرخه، به ترتیب ۱۰ و ۲۰گرم عصاره با ۹۰ و ۸۰گرم اوسرین (شرکت جی؛ ایران) به‌عنوان ماده نگهدارنده کاملاً مخلوط شد و به‌صورت پماد درآمد[19].

حیوانات آزمایشگاهی و شرایط نگهداری: ۳۲ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با سن تقریبی ۱۳-۱۱ هفته و محدوده وزنی ۱۸۵-۱۷۵گرم از موسسه واکسن و سرم‌سازی رازی مشهد خریداری شدند. حیوانات در دمای محیطی ۲۴°C-۲۲، رطوبت

نسبی ۴۵-۴۰٪ و دوره روشنایی تاریکی ۱۲ساعته نگهداری شدند. حیوانات در قفس‌های استاندارد پلی‌کربنات شفاف (ساخت شرکت رازی راد؛ ایران) قرار داشتند و آب به‌مقدار کافی توسط بطری شیشه‌ای ۵۰۰میلی‌لیتر در اختیار آنها قرار داده شد و از غذای فشرده مخصوص موش (شرکت دانه‌داران توس؛ ایران) تغذیه نمودند. به‌منظور حصول حالت سازش با محیط، تمامی آزمایش‌ها پس از گذشت حداقل ۱۰ روز پس از استقرار حیوانات به‌انجام رسید. موش‌های صحرایی به‌صورت تصادفی به ۴ گروه (تعداد=۸سر) شاهد سالم، شاهد دیابتی و گروه‌های دیابتی ۱ و ۲ تقسیم شدند.

روش ایجاد دیابت تجربی: مدل تجربی دیابت (دیابت وابسته به انسولین) در موش صحرایی با یک بار تزریق داخل صفاقی آلوکسان‌مونوهیدرات (سیگما- آلدریچ؛ آلمان) به‌میزان ۱۲۰میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن ایجاد شد و از بافر سیترات به‌عنوان حلال آلوکسان استفاده شد. تزریق به گروه شاهد دیابتی و گروه‌های دیابتی ۱ و ۲ صورت گرفت. با این روش ۷۲ ساعت پس از تزریق، دیابت تجربی در موش‌های صحرایی ایجاد شد. برای تایید آن خون گیری از ورید دمی صورت گرفت و قند خون توسط دستگاه گلوکومتر (EasyGluco؛ کره) اندازه‌گیری و قند خون بالای ۳۰۰میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به‌عنوان شاخص دیابتی‌شدن در نظر گرفته شد[18].

روش ایجاد زخم: با توجه به اینکه مطالعه روی دیابت مزمن بود، ۴ هفته پس از القای دیابت تجربی، قند خون موش‌های صحرایی اندازه‌گیری شد و پس از اطمینان از دیابتی‌بودن آنها توسط ترکیب داروهای کتامین۱۰٪ (Rotexmedica؛ آلمان) با غلظت ۵۰میلی‌گرم بر کیلوگرم و زایلازین۲٪ (Serva؛ آلمان) با غلظت ۱۰میلی‌گرم بر کیلوگرم بی‌هوش شدند. سپس موهای پشت حیوان تراشیده شد و پس از آغشته‌کردن پوست با بتادین، در دو طرف ستون مهره‌ها در ناحیه پشتی بدن مجموعاً ۴ زخم به‌قطر ۷میلی‌متر ایجاد شد. عمق زخم شامل درم و هیپودرم بود. روز ایجاد زخم روز صفر در نظر گرفته شد[18].

روش تیمار و نمونه‌برداری: به‌مدت ۱۲ روز زخم نمونه‌های شاهد سالم و شاهد دیابتی تحت درمان موضعی با اوسرین و گروه‌های دیابتی ۱ و ۲ به ترتیب تحت درمان موضعی با پماد ۱۰٪ و ۲۰٪ عصاره آبی گیاه چرخه قرار گرفت. در هر یک از روزهای ۳، ۶، ۹ و ۱۲، دو موش توسط استنشاق دی‌اتیل‌اتر (مرک؛ آلمان) در محیط بسته قربانی و از زخم‌های در حال ترمیم به‌قطر تقریبی ۷میلی‌متر نمونه‌برداری شد. نمونه‌ها برای فیکس‌شدن در فرمالدئید۱۰٪ (مرک؛ آلمان) قرار داده شدند. پس از انجام مراحل پردازش بافتی، مقاطع بافتی با ضخامت ۵میکرون به‌صورت سریال تهیه و به‌منظور مطالعه عروق خونی، سلول‌های التهابی و ضخامت اپیتلیوم توسط هماتوکسیلین و ائوزین رنگ‌آمیزی شد. نمونه‌ها توسط میکروسکوپ نوری (Olympus CX21؛ ژاپن) با بزرگ‌نمایی ۱۰۰ و ۴۰۰برابر بررسی شدند[18].

تعیین درصد بهبود زخم و بررسی بافتی: قطر زخم تمام نمونه‌ها در هر یک از روزهای ۳، ۶، ۹ و ۱۲ توسط کولیس بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد. سپس مساحت هر زخم توسط فرمول "$\pi d^2/4$" (π: ۳/۱۴ و d: قطر زخم) بر حسب میلی‌مترمربع به‌دست آمد. همچنین درصد بهبود زخم در روز X (روزی که مساحت زخم اندازه‌گیری شده است) با فرمول "(مساحت زخم در روز X تقسیم بر مساحت زخم در روز اول) × ۱۰۰" محاسبه شد.

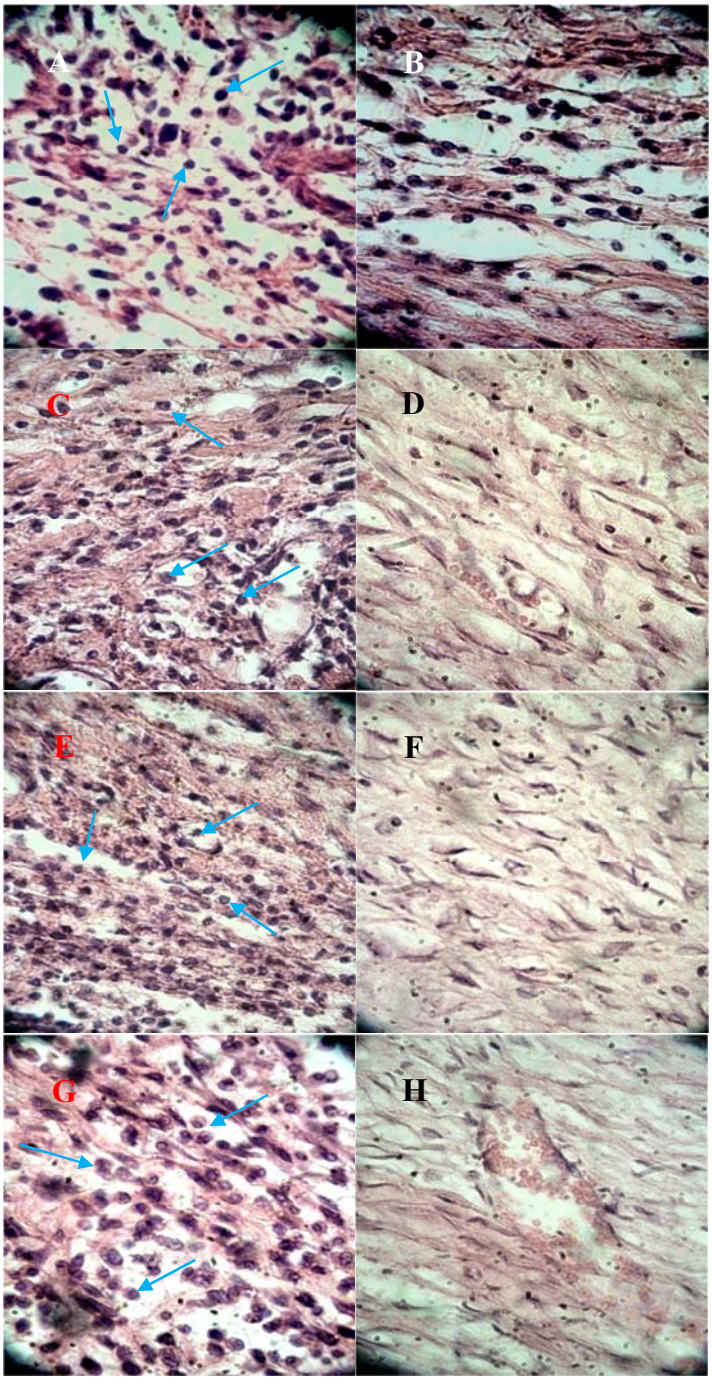
در همه گروه‌ها میانگین ضخامت اپیتلیوم بر حسب میکرومتر، تعداد سلول‌های التهابی (نوتروفیل و لنفوسیت) و عروق خونی بر حسب میکرومترمربع در ناحیه زخم در حال ترمیم توسط میکرومتر چشمی مورد ارزیابی قرار گرفت. به‌منظور بررسی بافتی و تعیین درصد بهبود زخم در گروه‌های چهارگانه، به هر یک از روزهای ۳، ۶، ۹ و ۱۲ بررسی ترمیم زخم ۲ سر موش صحرایی اختصاص داده شد و با توجه به اینکه در سطح پشتی هر موش ۴ زخم ایجاد شده بود، از داده‌ها متوسط به‌دست آمد. تمام اندازه‌گیری‌ها توسط فردی انجام شد که نسبت به گروه‌های شاهد و مداخله بی‌اطلاع بود.

روش آماری: اطلاعات به‌دست‌آمده توسط نرم‌افزار آماری SPSS 20 تحلیل شد. برای تحلیل داده‌ها از آنالیز واریانس ناپارامتری کروسکال‌والیس و برای مقایسه دوبه‌دوی گروه‌ها از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد.

یافته‌ها

سلول‌های التهابی: بیشترین و کمترین میانگین تراکم سلول‌های التهابی در نمونه‌های گروه شاهد سالم در طول دوره ترمیم پوست روز ۳ و ۱۲، در گروه شاهد دیابتی روز ۹ و ۳ و در گروه‌های تجربی تیمارشده با پماد ۱۰٪ و ۲۰٪ عصاره چرخه روز ۶ و ۱۲ بود. میانگین تعداد سلول‌های التهابی در روز ۳ (p=۰/۰۰۱) و روز ۶ (p=۰/۰۰۹) بررسی ترمیم زخم در نمونه‌های گروه شاهد دیابتی در مقایسه با نمونه‌های گروه شاهد سالم به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. میانگین تعداد سلول‌های التهابی در گروه دیابتی تیمارشده با پماد ۱۰٪ عصاره چرخه در روز ۳ (p=۰/۰۰۵) و روز ۶ (p=۰/۰۰۶) بررسی ترمیم زخم و همچنین در گروه دیابتی تیمارشده با پماد ۲۰٪ در روز ۳ (p=۰/۰۰۳) و در روز ۶ (p=۰/۰۰۳)، در مقایسه با گروه شاهد دیابتی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. میانگین تعداد سلول‌های التهابی در روزهای ۳ و ۶ بررسی ترمیم زخم در گروه دیابتی تیمارشده با پماد ۲۰٪ عصاره چرخه در مقایسه با گروه دیابتی تیمارشده با پماد ۱۰٪ افزایش یافت، ولی اختلاف معنی‌دار نبود (p>۰/۰۵). میانگین تعداد سلول‌های التهابی در روز ۹ (p=۰/۰۱۱) و روز ۱۲ (p=۰/۰۰۵) بررسی ترمیم زخم در گروه شاهد دیابتی در مقایسه با گروه شاهد سالم به‌طور معنی‌داری

افزایش یافت. میانگین تعداد سلول‌های التهابی در روز ۱۲ بررسی ترمیم زخم در گروه‌های دیابتی تیمارشده با پماد ۱۰٪ (p=۰/۰۱۸) و ۲۰٪ (p=۰/۰۱۶) عصاره چرخه در مقایسه با گروه شاهد دیابتی به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. میانگین تعداد سلول‌های التهابی در هر یک از روزهای ۹ و ۱۲ بررسی ترمیم زخم در گروه دیابتی تیمارشده با پماد ۲۰٪ عصاره چرخه در مقایسه با گروه دیابتی تیمارشده با پماد ۱۰٪ افزایش یافت، ولی اختلاف معنی‌دار نبود (p>۰/۰۵؛ شکل ۱؛ جدول ۱).



شکل ۱) مقطع عرضی پوست موش‌های صحرایی (تراکم سلول‌های التهابی) پس از ایجاد زخم. فلش‌ها نشان‌دهنده سلول‌های التهابی (نوتروفیل و لنفوسیت‌ها)، رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین–ائوزین، درشت‌نمایی ۴۰۰×. A) تراکم سلول‌های التهابی گروه شاهد سالم در روز ۳ ترمیم زخم. B) تراکم سلول‌های التهابی گروه شاهد سالم در روز ۱۲ ترمیم زخم. C) تراکم سلول‌های التهابی گروه شاهد دیابتی در روز ۹ ترمیم زخم. D) تراکم سلول‌های التهابی گروه شاهد دیابتی در روز ۳ ترمیم زخم. E) تراکم سلول‌های التهابی گروه دیابتی تیمارشده با پماد ۱۰٪ عصاره چرخه در روز ۶ ترمیم زخم. F) تراکم سلول‌های التهابی گروه دیابتی تیمارشده با پماد ۱۰٪ عصاره چرخه در روز ۱۲ ترمیم زخم. G) تراکم سلول‌های التهابی گروه دیابتی تیمارشده با پماد ۲۰٪ عصاره چرخه در روز ۶ ترمیم زخم. H) تراکم سلول‌های التهابی گروه دیابتی تیمارشده با پماد ۲۰٪ عصاره چرخه در روز ۱۲ ترمیم زخم.

جدول ۱) میانگین تراکم سلول‌های التهابی، ضخامت اپی‌تلیوم و تراکم عروق خونی در بین گروه‌های تحت مطالعه طی دوره بازسازی پوست (تعداد در هر گروه= ۸سر)

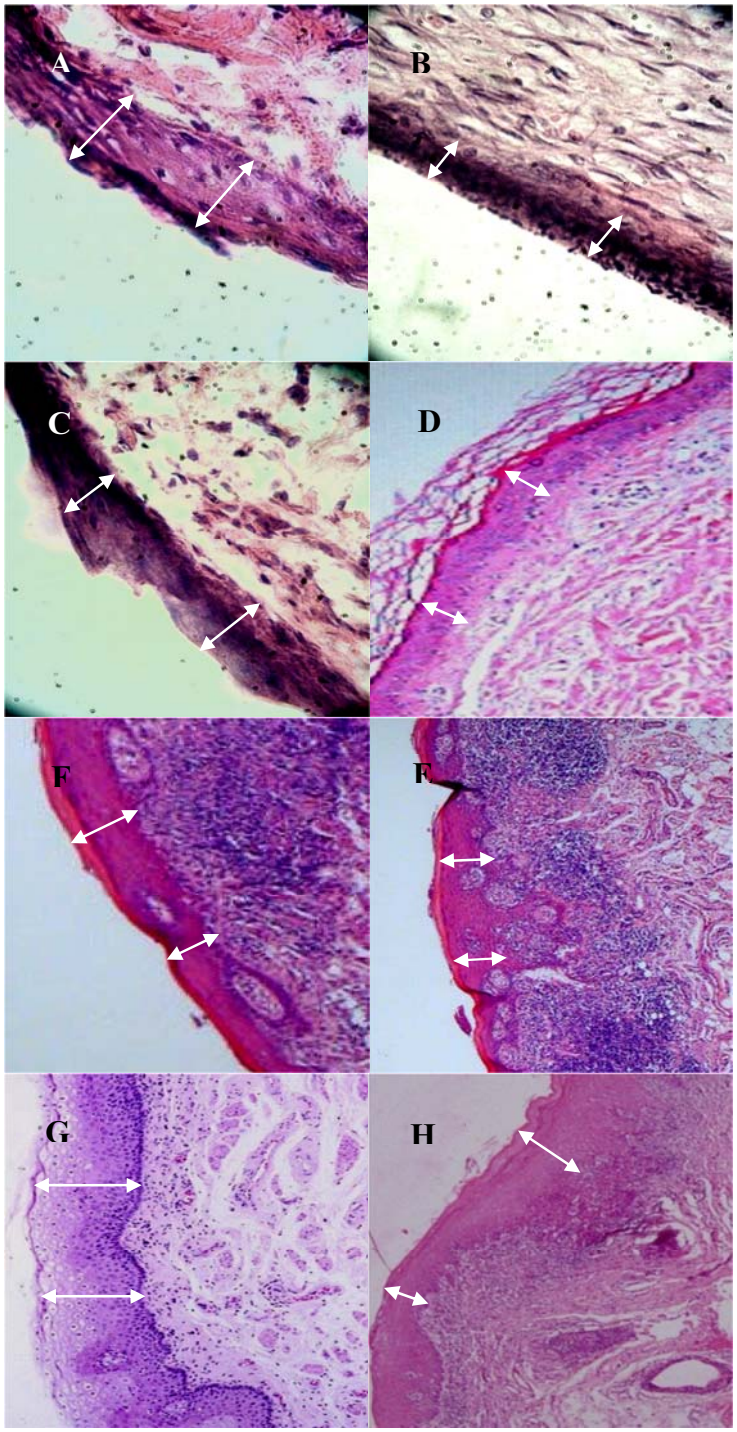
گروه‌های مورد مطالعه	روز ۳	روز ۶	روز ۹	روز ۱۲
میانگین تراکم سلول‌های التهابی (تعداد بر میکرومتر مربع)				
گروه شاهد سالم	۳۱/۶۶±۳/۵۱	۲۵/۰۰±۳/۰۰	۱۴/۳۳±۲/۵۱	۴/۰۰±۱/۱۶
گروه شاهد دیابتی	۱۱/۶۶±۲/۰۰	۱۴/۶۶±۳/۵۷	۲۰/۰۰±۳/۰۰	۱۶/۰۰±۳/۰۳
تجربی۱ (عصاره ۱۰٪)	۲۲/۰۰±۴/۰۰	۲۴/۳۳±۴/۲۱	۱۸/۶۶±۲/۰۰	۱۰/۳۳±۱/۵۱
تجربی۲ (عصاره ۲۰٪)	۲۳/۳۳±۲/۵۱	۲۶/۶۶±۲/۰۰	۲۱/۶۶±۳/۵۷	۱۱/۰۰±۴/۱۶
میانگین ضخامت اپی‌تلیوم (میکرومتر)				
گروه شاهد سالم	۵۸/۷۳±۴/۰۹	۶۴/۲۷±۵/۱۱	۵۲/۳۱±۳/۷۸	۴۳/۵۵±۳/۲۸
گروه شاهد دیابتی	۲۰/۱۴±۳/۴۲	۲۶/۲۲±۴/۷۳	۳۰/۶۸±۲/۹۴	۳۱/۹۱±۵/۷۱
تجربی۱ (عصاره ۱۰٪)	۳۱/۰۲±۳/۳۹	۳۳/۱۹±۴/۵۰	۳۸/۷۵±۳/۶۱	۳۰/۵۶±۲/۵۸
تجربی۲ (عصاره ۲۰٪)	۳۵/۵۲±۲/۳۸	۳۹/۶۶±۳/۸۱	۳۶/۵۱±۴/۹۱	۲۸/۳۵±۳/۱۲
میانگین تراکم عروق خونی (تعداد بر میکرومتر مربع)				
گروه شاهد سالم	۵/۴۷±۱/۱۳	۶/۰۰±۲/۲۶	۴/۳۵±۱/۵۷	۲/۶۳±۰/۲۸
گروه شاهد دیابتی	۲/۳۴±۰/۸۷	۳/۰۸±۱/۱۴	۳/۳۳±۱/۵۹	۴/۳۸±۲/۶۸
تجربی۱ (عصاره ۱۰٪)	۲/۳۶±۰/۶۱	۳/۴۵±۲/۱۴	۳/۰۴±۱/۲۱	۲/۷۱±۱/۵۷
تجربی۲ (عصاره ۲۰٪)	۳/۶۳±۲/۲۸	۴/۴۳±۱/۱۲	۲/۰۰±۱/۱۵	۱/۵۶±۰/۴۷

جدول ۲) میانگین قطر زخم، مساحت زخم و درصد بهبودی زخم در بین گروه‌های مورد مطالعه در طول دوره بازسازی پوست (تعداد در هر گروه= ۸سر)

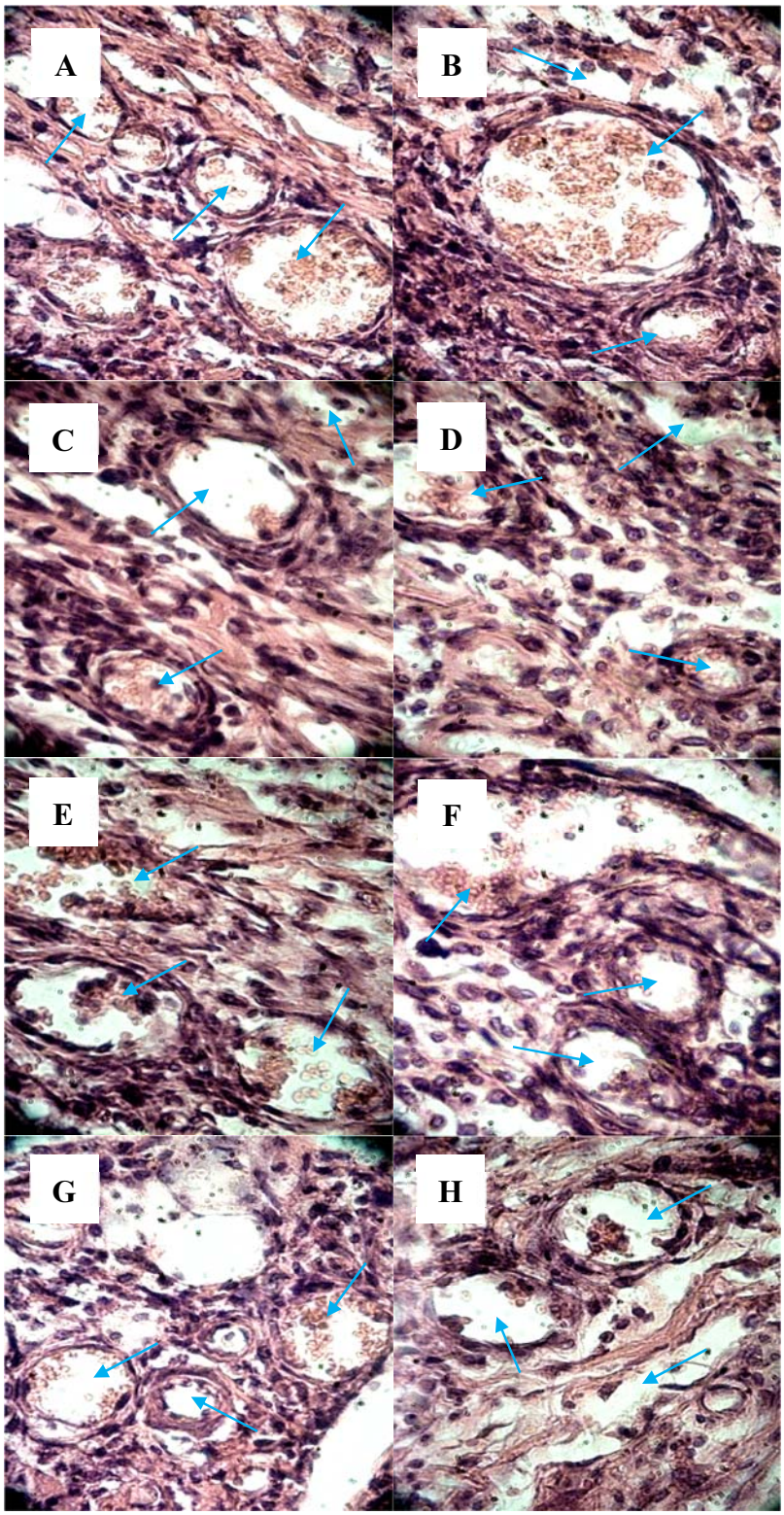
گروه‌های مورد مطالعه	روز ۱	روز ۳	روز ۶	روز ۹	روز ۱۲
میانگین قطر زخم (میلی‌متر)					
گروه شاهد سالم	۶/۶۱±۲/۳۳	۵/۵۰±۱/۰۹	۳/۴۱±۰/۹۷	۱/۸۲±۰/۲۵	۱/۲۵±۰/۶۸
گروه شاهد دیابتی	۶/۱۷±۰/۶۸	۶/۰۹±۰/۷۸	۵/۶۸±۱/۲۱	۴/۹۳±۱/۲۲	۴/۵۰±۲/۶۳
تجربی۱ (عصاره ۱۰٪)	۶/۵۲±۱/۵۷	۶/۳۱±۱/۱۱	۴/۳۸±۰/۸۷	۳/۱۸±۰/۷۰	۲/۸۶±۰/۵۸
تجربی۲ (عصاره ۲۰٪)	۶/۴۴±۲/۶۶	۵/۴۱±۱/۳۳	۳/۸۲±۱/۵۴	۲/۴۷±۰/۶۶	۲/۴۱±۰/۴۱
میانگین مساحت زخم (میلی‌متر مربع)					
گروه شاهد سالم	۳۴/۲۹±۳/۳۱	۲۳/۷۴±۲/۵۵	۹/۱۲±۱/۴۶	۲/۶۰±۰/۴۱	۱/۲۲±۰/۶۳
گروه شاهد دیابتی	۲۹/۸۸±۴/۷۱	۲۹/۱۱±۳/۳۳	۲۵/۳۲±۰/۹۸	۱۹/۰۷±۳/۸۲	۱۵/۸۹±۲/۲۱
تجربی۱ (عصاره ۱۰٪)	۳۳/۳۷±۱/۷۸	۳۱/۲۵±۴/۶۱	۱۵/۰۵±۱/۷۷	۷/۸۳±۰/۸۸	۶/۴۲±۰/۶۹
تجربی۲ (عصاره ۲۰٪)	۳۲/۵۵±۱/۵۷	۲۲/۹۷±۱/۸۷	۱۱/۴۵±۲/۳۱	۴/۷۸±۱/۵۱	۴/۵۵±۱/۰۱
میانگین درصد بهبود زخم					
گروه شاهد سالم	۰	۳۰/۷۶	۷۳/۴۰	۹۲/۴۱	۹۶/۴۴
گروه شاهد دیابتی	۰	۲/۵۷	۱۵/۲۶	۳۶/۱۷	۴۶/۸۲
تجربی۱ (عصاره ۱۰٪)	۰	۶/۳۵	۵۴/۸۹	۷۶/۵۳	۸۰/۲۵
تجربی۲ (عصاره ۲۰٪)	۰	۲۹/۴۳	۶۴/۸۲	۸۵/۳۱	۸۶/۰۲

اپی‌تلیزاسیون: بیشترین و کمترین میانگین ضخامت اپی‌تلیوم در نمونه‌های گروه شاهد سالم در طول دوره ترمیم پوست روز ۶ و ۱۲، گروه شاهد دیابتی روز ۱۲ و ۳، گروه تجربی۱ روز ۹ و ۱۲ و گروه تجربی۲ روز ۶ و ۱۲ بود. میانگین ضخامت اپی‌تلیوم در روز ۳ (p =۰/۰۰۱) و روز ۶ (p=۰/۰۰۱) بررسی ترمیم زخم در نمونه‌های گروه شاهد دیابتی در مقایسه با نمونه‌های گروه شاهد سالم به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. میانگین ضخامت اپی‌تلیوم در نمونه‌های گروه دیابتی تیمارشده با پماد ۱۰٪ در روز ۳ (p =۰/۰۰۹) و روز ۶ (p=۰/۰۱۹) بررسی ترمیم زخم و همچنین در نمونه‌های گروه دیابتی تیمارشده با پماد ۲۰٪ عصاره چرخه در روز ۳ (p=۰/۰۰۵) و در روز ۶ (p=۰/۰۰۷) در مقایسه با نمونه‌های گروه شاهد دیابتی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. میانگین ضخامت اپی‌تلیوم در هر یک از روزهای ۳ و ۶ بررسی ترمیم زخم در نمونه‌های گروه دیابتی تیمارشده با پماد ۲۰٪ عصاره چرخه در مقایسه با نمونه‌های گروه دیابتی تیمارشده با پماد ۱۰٪ اختلاف معنی‌داری نداشت (p>۰/۰۵). میانگین ضخامت اپی‌تلیوم در روز ۹ (p=۰/۰۰۱) و روز ۱۲ (p=۰/۰۰۸) بررسی ترمیم زخم در نمونه‌های گروه شاهد دیابتی در مقایسه با نمونه‌های گروه شاهد سالم به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. میانگین ضخامت اپی‌تلیوم در روز ۹ بررسی ترمیم زخم در نمونه‌های گروه دیابتی تیمارشده با پماد ۱۰٪ (p=۰/۰۱۴) و ۲۰٪ (p=۰/۰۱۷) عصاره چرخه در مقایسه با نمونه‌های گروه شاهد دیابتی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت.

میانگین ضخامت اپی‌تلیوم در روز ۱۲ بررسی ترمیم زخم در نمونه-های گروه دیابتی تیمارشده با پماد ۱۰٪ و ۲۰٪ عصاره چرخه در مقایسه با نمونه‌های گروه شاهد دیابتی اختلاف معنی‌داری نداشت (p>۰/۰۵). میانگین ضخامت اپی‌تلیوم در هر یک از روزهای ۹ و ۱۲ بررسی ترمیم زخم در نمونه‌های گروه دیابتی تیمارشده با پماد ۲۰٪ عصاره چرخه در مقایسه با نمونه‌های گروه دیابتی تیمارشده با پماد ۱۰٪ اختلاف معنی‌داری نداشت (p>۰/۰۵؛ شکل ۲؛ جدول ۱)



شکل ۲) مقطع عرضی پوست موش‌های صحرایی (ضخامت اپی‌تلیوم) پس از ایجاد زخم. فلش‌ها نشان‌دهنده ضخامت اپی‌تلیوم، رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین، درشت‌نمایی ۱۰۰×. A) ضخامت اپی‌تلیوم گروه شاهد سالم در روز ۶ ترمیم زخم. B) ضخامت اپی‌تلیوم گروه شاهد سالم در روز ۱۲ ترمیم زخم. C) ضخامت اپی‌تلیوم گروه شاهد دیابتی در روز ۱۲ ترمیم زخم. D) ضخامت اپی‌تلیوم گروه شاهد دیابتی در روز ۳ ترمیم زخم. E) ضخامت اپی‌تلیوم گروه دیابتی تیمارشده با پماد ۱۰٪ عصاره چرخه در روز ۹ ترمیم زخم. F) ضخامت اپی‌تلیوم گروه دیابتی تیمارشده با پماد ۱۰٪ عصاره چرخه در روز ۱۲ ترمیم زخم. G) ضخامت اپی‌تلیوم گروه دیابتی تیمارشده با پماد ۲۰٪ عصاره چرخه در روز ۶ ترمیم زخم. H) ضخامت اپی‌تلیوم گروه دیابتی تیمارشده با پماد ۲۰٪ عصاره چرخه در روز ۱۲ ترمیم زخم.



شکل ۳) مقطع عرضی پوست موش‌های صحرایی (تراکم عروق خونی) پس از ایجاد زخم. فلش‌ها نشان‌دهنده تراکم عروق خونی، رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین–ائوزین، درشت‌نمایی ۴۰۰×. A) تراکم عروق خونی گروه شاهد سالم در روز ۶ ترمیم زخم. B) تراکم عروق خونی گروه شاهد سالم در روز ۱۲ ترمیم زخم. C) تراکم عروق خونی گروه شاهد دیابتی در روز ۱۲ ترمیم زخم. D) تراکم عروق خونی گروه شاهد دیابتی در روز ۳ ترمیم زخم. E) تراکم عروق خونی گروه دیابتی تیمارشده با پماد ۱۰٪ عصاره چرخه در روز ۶ ترمیم زخم. F) تراکم عروق خونی گروه دیابتی تیمارشده با پماد ۱۰٪ عصاره چرخه در روز ۳ ترمیم زخم. G) تراکم عروق خونی گروه دیابتی تیمارشده با پماد ۲۰٪ عصاره چرخه در روز ۶ ترمیم زخم. H) تراکم عروق خونی گروه دیابتی تیمارشده با پماد ۲۰٪ عصاره چرخه در روز ۱۲ ترمیم زخم.

تراکم عروق خونی: بیشترین و کمترین میانگین تراکم عروق خونی در نمونه‌های گروه شاهد سالم در طول دوره ترمیم پوست روز ۶ و ۱۲، گروه شاهد دیابتی روز ۱۲ و ۳، گروه تجربی۱ روز ۶ و ۳ و گروه تجربی۲ روز ۶ و ۱۲ بود. میانگین تراکم عروق خونی در روز ۳ (p=۰/۰۱۸) و روز ۶ (p=۰/۰۲۱) بررسی ترمیم زخم در گروه شاهد دیابتی در مقایسه با گروه شاهد سالم به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. میانگین تراکم عروق خونی در هر یک از روزهای ۳ و ۶ بررسی ترمیم زخم در گروه دیابتی تیمارشده با پماد ۱۰٪ عصاره چرخه در مقایسه با گروه شاهد دیابتی اختلاف معنی‌داری نداشت (p>۰/۰۵). میانگین تراکم عروق خونی در روز ۳ (p=۰/۰۲۱) و روز ۶ (p=۰/۰۲۳) بررسی ترمیم زخم در گروه دیابتی تیمارشده با پماد ۲۰٪ عصاره چرخه در مقایسه با گروه شاهد دیابتی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. میانگین تراکم عروق خونی در هریک از روزهای ۳ و ۶ بررسی ترمیم زخم در گروه دیابتی تیمارشده با پماد ۲۰٪ چرخه در مقایسه با گروه دیابتی تیمارشده با پماد ۱۰٪ چرخه اختلاف معنی‌داری نداشت (p>۰/۰۵). میانگین تراکم عروق خونی در روز ۹ (p=۰/۰۰۱) و روز ۱۲ (p=۰/۰۰۶) بررسی ترمیم زخم در گروه شاهد دیابتی در مقایسه با گروه شاهد سالم به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. میانگین تراکم عروق خونی در روز ۹ بررسی ترمیم زخم در گروه دیابتی تیمارشده با پماد ۱۰٪ عصاره چرخه در مقایسه با شاهد دیابتی اختلاف معنی‌داری نداشت (p>۰/۰۵). میانگین تراکم عروق خونی در روز ۹ بررسی ترمیم زخم در گروه دیابتی تیمارشده با پماد ۲۰٪ عصاره چرخه در مقایسه با شاهد دیابتی به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (p=۰/۰۱۹). میانگین تراکم عروق خونی در روز ۱۲ بررسی ترمیم زخم در نمونه‌های دیابتی تیمارشده با پماد ۱۰٪ (p=۰/۰۱۸) و ۲۰٪ (p=۰/۰۰۱) عصاره چرخه در مقایسه با نمونه‌های گروه شاهد دیابتی به‌طور معنی‌داری کاهش یافت و میانگین تراکم عروق خونی در هر یک از روزهای ۳ و ۶ بررسی ترمیم زخم در نمونه‌های دیابتی تیمارشده با پماد ۲۰٪ عصاره چرخه در مقایسه با نمونه‌های گروه دیابتی تیمارشده با پماد ۱۰٪ اختلاف معنی‌داری نداشت (p>۰/۰۵؛ شکل ۳؛ جدول ۱)

درصد بهبود زخم: میانگین درصد بهبود زخم در روز ۳ (p=۰/۰۱۹)، روز ۶ (p=۰/۰۰۱)، روز ۹ (p=۰/۰۰۱) و روز ۱۲ (p=۰/۰۰۱) بررسی ترمیم زخم در نمونه‌های گروه شاهد دیابتی در مقایسه با نمونه‌های گروه شاهد سالم به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. میانگین درصد بهبود زخم در روز ۹ (p=۰/۰۱۴) و روز ۱۲ (p=۰/۰۲۱) بررسی ترمیم زخم در نمونه‌های دیابتی تیمارشده با پماد ۱۰٪ عصاره چرخه در مقایسه با نمونه‌های شاهد دیابتی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. میانگین درصد بهبود زخم در روز ۹ (p=۰/۰۰۹) و روز ۱۲ (p=۰/۰۱۱) بررسی ترمیم زخم در نمونه‌های دیابتی تیمارشده با پماد ۲۰٪ عصاره چرخه در مقایسه با نمونه‌های شاهد دیابتی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. میانگین درصد بهبود زخم در روز ۳ بررسی ترمیم زخم در نمونه‌های دیابتی تیمارشده با پماد ۲۰٪ عصاره چرخه در مقایسه با نمونه‌های دیابتی تیمارشده با پماد ۱۰٪ به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (p=۰/۰۱۹). درصد بهبود زخم در هر یک از روزهای ۶، ۹ و ۱۲ بررسی ترمیم زخم در نمونه‌های دیابتی تیمارشده با پماد ۲۰٪ در مقایسه با ۱۰٪ اختلاف معنی‌داری نداشت (p>۰/۰۵؛ جدول ۲)

بحث

در این پژوهش، اثر عصاره آبی گیاه چرخه بر روند ترمیم زخم باز پوستی در موش‌های صحرایی دیابتی مورد بررسی قرار گرفت. براساس نتایج به‌دست‌آمده، تیمار موضعی زخم‌های باز پوستی موش‌های دیابتی توسط پماد ۱۰٪ و ۲۰٪ عصاره چرخه به‌مدت ۱۲ روز توانست موجب تسریع روند بهبودی زخم در مقایسه با نمونه‌های شاهد دیابتی شود. همچنین مشخص شد سرعت ترمیم زخم در نمونه‌های دیابتی تیمارشده با پماد ۲۰٪ عصاره چرخه در مقایسه با پماد ۱۰٪ بیشتر است. بنابراین می‌توان گفت اثرات عصاره گیاه چرخه بر ترمیم زخم‌های باز پوستی در نمونه‌های دیابتی، با افزایش غلظت عصاره افزایش می‌یابد. همچنین مشخص شد درصد بهبودی زخم در هر یک از روزهای بررسی ترمیم زخم در نمونه‌های دیابتی تیمارشده با عصاره ۱۰٪ و ۲۰٪ چرخه در مقایسه با نمونه‌های شاهد دیابتی افزایش یافت. براساس نتایج این پژوهش، دیابت می‌تواند موجب کاهش تراکم سلول‌های التهابی، کاهش میزان اپی‌تلیزاسیون و کاهش تراکم عروق خونی در روند ترمیم زخم شود. گیاه چرخه به‌علت داشتن سطح بالایی از ویتامین‌های A و C می‌تواند در ترمیم زخم نقش موثری داشته باشد[15]. در مطالعه‌ای مشاهده شد روند ترمیم زخم موش‌های دیابتی که تحت درمان موضعی با ویتامین A بودند افزایش یافت. همچنین مشاهده شد که درمان موضعی با ویتامین A موجب هیپرتروفی قابل توجه اپیدرم و درم، ایجاد عروق خونی جدید و افزایش سلول‌های التهابی می‌شود[20]. در مطالعه‌ای دیگر مشاهده شد استفاده موضعی ویتامین A به‌مدت یک هفته سبب افزایش بافت جوانه در لبه‌های زخم شده و پس از ۴ هفته درمان، تحریک بیشتر بافت جوانه‌ای، بافت عروقی جدید و سنتز کلاژن جدید مشاهده شد[21]. با توجه به اینکه مطالعات، حضور ویتامین A را در عصاره گیاه چرخه گزارش کرده‌اند، تسریع در روند ترمیم زخم نمونه‌های دیابتی را می‌توان به ویتامین A موجود در عصاره این گیاه نسبت داد. از دلایل احتمالی اثر التیام‌بخش ویتامین C بر زخم باز پوستی که یکی از ترکیبات موجود در گیاه چرخه است، می‌توان به افزایش سنتز کلاژن، کاهش رادیکال‌های آزاد اکسیژن، افزایش قابلیت تکثیر فیبروبلاست‌ها، تشدید عمل بیگانه‌خواری در موضع زخم، کاهش مرحله التهابی زخم، افزایش عروق‌زایی و به‌دنبال آن

افزایش خون و افزایش ثبات در غشای سلولی اشاره کرد[22, 23]. ویتامین C یک کوفاکتور است که دارای هیدروکسی‌لیزین و هیدروکسی‌پرولین است. در واقع این ترکیبات دو جزء ضروری برای سنتز کلاژن هستند. یکی از علل نارسایی در بهبودی زخم در افراد دیابتی کاهش در ساخت یا افزایش در تجزیه کلاژن است که هر دو پدیده می‌تواند ناشی از کمبود ویتامین C باشد. همچنین دیابت با کاهش سطح ویتامین C در لکوسیت‌های تک‌هسته‌ای موجب اختلال در پاسخ‌های التهابی و افزایش عفونت در افراد دیابتی می‌شود[24]. از سوی دیگر دیابت مزمن با کاهش سطح ویتامین C موجب اختلال در عملکرد فیبروبلاست‌ها شده و باعث حذف نقش کوفاکتوری آن در ساخت کلاژن می‌شود. در نتیجه کلاژن تولید نشده یا به‌صورت غیرطبیعی تولید می‌شود[25]. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده می‌توان گفت استفاده از عصاره گیاه چرخه توانسته موجب به‌تعادل‌رسیدن سطح ویتامین C در ناحیه زخم و در نتیجه افزایش سرعت روند ترمیم زخم شود. گزارش شده است اثرات ضددیابتی گیاهان با خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن رابطه مستقیم دارد[15, 26]. به‌نظر می‌رسد که عصاره چرخه به‌دلیل داشتن ترکیبات فلاونوئیدی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌تواند علاوه بر اصلاح نسبی اختلالات متابولیک ناشی از افزایش گلوکز خون، با جبران نقایص عملکردی پانکراس و افزایش ترشح انسولین، موجب کاهش سطح سرمی گلوکز خون و بهبود شرایط استرس اکسیداتیو سلولی شود[16]. در عصاره گیاه چرخه موادی از قبیل فلاونوئید، ترپنوئید، ساپونین، آلکالوئید و تانن شناسایی شده است[13]. این مواد با اعمال فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی و همچنین مهار تولید رادیکال‌های آزاد که در بیماری دیابت به‌صورت شایعی وجود دارد، مانع از گسترش زخم شده و روند ترمیم را بهبود می‌بخشند. همچنین این ترکیبات موجب تحریک و سرعت‌بخشی در فرآیند ساخت و ترشح مواد و رشته‌های زمینه‌ای بین‌سلولی و همچنین افزایش پرولیفراسیون فیبروبلاست‌ها و افزایش تعداد ماکروفاژها می‌شوند[27]. یکی دیگر از عواملی که می‌توان به اثرات این گیاه در تسریع روند بهبود زخم نسبت داد خاصیت ضدباکتریایی و ضدعفونی‌کنندگی آن است. با توجه به اینکه برای تمامی گونه‌های لائونا خواص ضدباکتریایی گزارش شده است[28]، می‌توان گفت احتمالاً ترکیبات موجود در گیاه چرخه از طریق اعمال اثر ضدباکتریایی خود مانع از ایجاد عفونت در زخم شده و بهبود آن را تسریع می‌بخشد. افزایش خون‌رسانی و اکسیژن‌رسانی به محل ضایعه زخم از طریق گشادنمودن عروق خونی می‌تواند یکی دیگر از عوامل تسریع ترمیم زخم باشد[29]. احتمالاً عصاره گیاه چرخه با خاصیت گشادکنندگی عروق از طریق افزایش خون‌رسانی و اکسیژن‌رسانی به زخم کمک بسزایی در تسریع روند درمانی آن دارد. از سوی دیگر با توجه به اینکه مشخص شده است ترکیبات فلاونوئیدی دارای اثرات ضدمیکروبی[30] و ضدالتهابی هستند[31]، به‌نظر می‌رسد شاید قسمتی از اثرات التیام‌بخشی گیاه چرخه احتمالاً به‌دلیل اثر آن بر مکانیزم‌های تسریع‌کننده التهاب و پیش‌برد التیام زخم در نمونه‌های دیابتی بوده است. در بررسی فرآیند ترمیم زخم، یکی از شاخص‌های مهم، میزان تراکم عروق خونی است. تشکیل عروق جدید از مویرگ‌هایی که از قبل وجود دارند، باعث افزایش تغذیه بافت و نفوذ ترکیبات ضروری برای فرآیند ترمیم به محل زخم می‌شوند و روند ترمیم زخم را تسریع می‌بخشند[32]. در این مطالعه میانگین تراکم عروق خونی در گروه دیابتی تیمارشده با عصاره گیاه چرخه نسبت به گروه شاهد دیابتی افزایش معنی‌دار یافت. پس می‌توان گفت که اثرات مثبت عصاره گیاه چرخه بر رگ‌زایی، احتمالاً از جمله دلایل التیام‌بخشی زخم در گروه‌های تجربی بوده است و به‌نظر می‌رسد که عصاره گیاه چرخه رگ‌زایی و جریان خون را در بافت‌های در حال ترمیم افزایش می‌دهد و بدین وسیله مواد غذایی و اکسیژن را در اختیار فیبروبلاست‌ها و سلول‌های اپی‌تلیال قرار می‌دهد و باعث افزایش تکثیر سلولی و ترمیم اپی‌تلیوم می‌شود.

محدودیت‌های این مطالعه شامل کنترل شرایط بهداشتی زخم و جلوگیری از مرگ‌ومیر حاصل از عفونت بوده است. پیشنهاد می‌شود از غلظت‌های متفاوت عصاره چرخه، همچنین اثرات ترکیبی این عصاره با موادی مانند عسل و روغن‌های حیوانی که اثرات مفیدی در ترمیم زخم دارند، استفاده شود و در صورت امکان فراکسون‌های حاصل از آنالیز بیوشیمیایی عصاره گیاه چرخه در روند ترمیم زخم‌های دیابتی مورد بررسی قرار گیرد.

نتیجه‌گیری

عصاره آبی چرخه با سرعت‌بخشیدن به فرآیند التهابی، افزایش تکثیر سلول‌های اپی‌تلیومی و افزایش تشکیل عروق خونی نقش موثری بر روند ترمیم زخم و افزایش درصد بهبودی زخم‌های دیابتی دارد.

تشکر و قدردانی: بدین وسیله نویسندگان مقاله از تمام اساتید محترمی که نقطه نظرات آنها نقش ارزشمندی در ارتقای کیفیت مقاله داشته است، سپاسگزاری و قدردانی می‌نمایند.

تاییدیه اخلاقی: رعایت تمامی حقوق حیوانات آزمایشگاهی در پژوهش برای استفاده انسانی مبتنی بر دستورالعمل‌های بین‌المللی مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی بود. همچنین در کلیه مراحل، قوانین و مقررات اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت شد.

تعارض منافع: موردی از طرف نویسندگان بیان نشده است.

منابع مالی: این مقاله حاصل طرح پژوهشی مصوب دانشگاه پیام نور است. همچنین منابع مالی توسط دانشگاه پیام نور تامین شده است.

منابع

1- Matveyenko A, Vella A. Regenerative medicine in diabetes. Mayo Clin Proc. 2015;90(4):546-54.
2- Adams SB Jr, Sabesan VJ, Easley ME. Wound healing agents. Crit Care Nurs Clin North Am. 2012;24(2):255-60.
3- Bazrafshan A, Owji M, Yazdani M, Varedi M. Activation of mitosis and angiogenesis in diabetes-impaired wound healing by processed human amniotic fluid. J Surg Res. 2014;188(2):545-52.
4- Mott JD, Werb Z. Regulation of matrix biology by matrix metalloproteinases. Curr Opin Cell Biol. 2004;16(5):558-64.
5- Moura LI, Dias AM, Suesca E, Casadiegos S, Leal EC, Fontanilla MR, et al. Neurotensin-loaded collagen dressings reduce inflammation and improve wound healing in diabetic mice. Biochim Biophys Acta. 2014;1842(1):32-43.
6- Oviedo-Socarras T, Vasconcelos AC, Barbosa IX, Pereira NB, Campos PP, Andrade SP. Diabetes alters inflammation, angiogenesis, and fibrogenesis in intraperitoneal implants in rats. Microvasc Res. 2014;93:23-9.
7- Lobmann R, Zemlin C, Motzkau M, Reschke K, Lehnert H. Expression of matrix metalloproteinases and growth factors in diabetic foot wounds treated with a protease absorbent dressing. J Diabetes Complic. 2006;20(5):329-35.
8- Thomas DR. Clinical management of diabetic ulcers. Clin Geriatr Med. 2013;29(2):433-41.
9- Schafer M, Werner S. Oxidative stress in normal and impaired wound repair. Pharmacol Res. 2008;58(2):165-71.
10- Boulton AJ. The pathway to foot ulceration in diabetes. Med Clin North Am. 2013;97(5):775-90.
11- Hajinejad Boshroue R, Behnam Rassouli M, Tehranipour M, Gheybi F, Hajinejad Sh, Elahi Moghaddam Z. The effects of hydro- alcoholic extract of launaea acanthodes on the blood, Urine Albumin and Bilirubin levels in male hyperglycemic wistar rat. Iran J Endocrinol Metab. 2013;15(2):190-233. [Persian]
12- Piazza L, Bertini S, Milany J. Extraction and structural characterization of the polysaccharide fraction of Launaea acanthodes gum. Carbohydr Polym. 2010;79(2):449-54.
13- Karimidokht shahrbabaki A, Oryan Sh, Parivar K. Anticonvulsant activity of ethanolic extract and aqueous fraction of Launaea acanthodes gum in comparison with diazepam in mice. J Qhazvin Univ Med Sci. 2009;13(1):14-20. [Persian]
14- Rohbarian R, Sepehri Moghadam H, Sadoughi SD. Effect of Aqueous Extract of Launaea acanthodes on Testicular Tissue and Sperm Parameters in Alloxan-Induced Diabetic Rats. Q Horiz Med Sci. 2015;21(1):21-9. [Persian]
15- Sepehri-Moghadam H, Rahbarian R, Sadoughi SD. The effect of aqueous extract of Launaea acanthodes (Boiss.) O. Kuntze on the serum level of insulin and blood glucose and histomorphological changes of pancreas in diabetic rats. Feyz. 2015;19(1):30-7. [Persian]
16- Jalali M, Behnam Rassouli M, Tehranipour M, Ghayour N, Khayatzadeh J, Jannati H. Study of the effects of hyperglycemia and Launaea acanthodes extract administration on disorders of liver function in rats. Physiol Pharmacol. 2012;15(4):562-71. [Persian]
17- Behnam-Rassouli M, Ghayour N, Ghayour MM, Ejtehadi MM. Investigating the effects of hydroalcoholic extract of Launaea acanthodes on the serum levels of glucose, insulin, lipids and lipoproteins in stereptozotocin induced type I diabetic rats. Arak Med Univ J. 2012;14(6):48-56. [Persian]
18- Sadoughi SD. Effect of aqueous extract of Ferula assa-foetida's resin on wound healing of streptozotocin induced diabetic rats. Q Horiz Med Sci. 2013;19(3):129-35. [Persian]
19- Hoseini-Tahmasbi M, Hoseini-Tahmasbi S, Karami-dehkordi A, Delaram M, MalekAnzabi J, Fatahi F. Effect of Arnebia euchroma root extract on burn wound healing in Balb/c mice. J Shahrekord Univ Med Sci. 2013;15(4):54-61. [Persian]
20- Kitano Y, Yoshimura K, Uchida G, Sato K, Harii K. Pretreament of topical all-trans acid is benefical for wound healing in genetically diabetic mice. Arch Dermatol Res. 2001;293(10):515-21.
21- Lateef H, Abatan OI, Nadeem Aslam M, Stevens MJ, Varani J. Topical pretreatment of diabetic rats with all-trans retinoic acid improves healing of subsequently induced abrasion wounds. Diabetes. 2005;54(3):855-61.
22- Ringsdorf WM Jr, Cheraskin E. Vitamin C and human wound healing. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1982;53(3):231-6.
23- Jagetia GC, Rajanikant GK, Baliga MS, Rao KV, kumar P. Augmentation of wound headling by ascorbic acid treatment in mice exposed to gamma- raditition. Int J Radiat Biol. 2004;80(5):347-54.
24- Pinnel SR, Murad S, Darr D. Induction of Collagen Synthesis by Ascorbic AcidA Possible Mechanism. Arch Dermatol. 1987;123(12):1684-6.
25- Nusgens BV, Humbert Ph, Rougier A, Colige AC, Haftek M, Lambert CA, et al. Topically applied vitamin C enhances the mRNA level of collagens I and III, their processing enzymes and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase 1 in the human dermis. J Invest Dermatol. 2001;116(6):853-9.
26- Lukacinova A, Mojzis J, Benacka R, Keller J, Maguth T, Kurila P, et al. Preventive effects of flavonoids on alloxan-induced diabetes mellitus in rats. Acta Vet Brno. 2008;77:175-82.
27- Lodhi S, Singhai AK. Wound healing effect of flavonoid rich fraction and luteolin isolated from Martynia annua Linn on streptozotocin induced diabetic rats. Asian Pac J Trop Med. 2013;6(4):253-9.
28- Zellagui A, Gherraf N, Ladjel S, Hameurlaine S. Chemical composition and antibacterial activity of the essential oils from Launaea resedifolia L. Org Med Chem Lett.. 2012;2(1):2.
29- Tonnesen MG, Feng X, Clark RF. Angiogenesis in wound healing J Investig Dermatol Symp Proc. 2000;5(1):40-6.
30- Wang L, Yang X, Qin P, Shan F, Ren G. Flavonoid composition, antibacterial and antioxidant properties of tartary buckwheat bran extract. Ind Crops Prod. 2013;49:312-7.
31- Feng R, Guo ZG, Yan CM, Li EG, Tan RX, Ge HM. Anti-inflammatory flavonoids from Cryptocarya chingii. Phytochem. 2012;76:98-105.
32- Greaves NS, Ashcroft KJ, Baguneid M, Bayat A. Current understanding of molecular and cellular mechanisms in fibroplasia and angiogenesis during acute wound healing. J Dermatol Sci. 2013;72(3):206-17.