مجله‌ی غدد درون‌ریز و متابولیسم ایران
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی شهید بهشتی
دوره‌ی دوازدهم، شماره‌ی ۵، صفحه‌های ۵۵۱ ـ ۵۴۴ (دی ۱۳۸۹)

مقاله‌ی پژوهشی

# استفاده‌ی موضعی استروژن موجب تسریع روند ترمیم زخم در موش‌های صحرایی دیابتی می‌شود

سپیده خاکسار[۱]، دکتر مهناز کسمتی[۱]، دکتر آناهیتا رضائی[۲]، دکتر عبدالرحمن راسخ[۳]

۱) گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، ۲) گروه پاتولوژی، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز،۳) گروه آمار، دانشکده‌ی ریاضی، دانشگاه شهید چمران اهواز، **نشانی مکاتبه‌ی نویسنده‌ی مسئول:** اهواز ـ دانشگاه شهید چمران ـ دانشکده‌ی علوم، گروه زیست‌شناسی، سپیده خاکسار؛ e-mail: sepideh.khaksar@gmail.com

## چکیده

**مقدمه: زخم‌های دیابتی به‌ویژه در ناحیه‌ی پا و نارسایی در ترمیم آن‌ها، از مواردی است که بیشتر بیماران دیابتی در طول بیماری خود با آن درگیر می‌باشند. با توجه به گزارش‌های گذشته مبنی بر نقش مثبت استروژن در تسریع روند ترمیم زخم، این پژوهش اثر احتمالی استروژن موضعی بر ترمیم زخم در موش‌های دیابتی را مورد بررسی قرار داد. مواد و روش‌ها: ۶۶ موش نر از نژاد ویستار به دو گروه سالم و دیابتی تقسیم شدند و هر گروه به سه زیرگروه کنترل (دست نخورده)، شاهد و آزمون تقسیم‌بندی گردیدند. در همه‌ی گروه‌ها یک زخم مدور با قطر ۱/۵ سانتی‌متر بر سطح پشت موش‌های سالم و دیابتی (القا شده توسط استروپتوزوتوسین) ایجاد شد. در زیرگروه آزمون، روزانه پماد استروژن با دوز ۰/۵ میلی‌گرم و در زیرگروه شاهد، پماد جنتامایسین با دوز ۰/۵ گرم استفاده شد. روند ترمیم زخم به صورت ماکروسکوپی و میکروسکوپی در روزهای ۳، ۵، ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ مورد پی‌گیری قرار گرفت. یافته‌ها: در بررسی ماکروسکوپی، زخم‌های گروه دیابتی در مقایسه با گروه سالم ترمیم دیرتری داشته و التیام زخم در زیرگروه آزمون در موش‌های سالم و دیابتی از روز ۷ به بعد تغییر چشمگیری داشته است($P<0/05$). در بررسی میکروسکوپی گروه سالم، شاخص تشکیل بافت جوانه‌ای اختلاف نداشته ولی افزایش رگ‌زایی و تشکیل اپیتلیوم جدید در زیرگروه آزمون مشهود بود. در گروه دیابتی نیز در تمام موارد، زیرگروه آزمون پیشرفت محسوسی نسبت به زیرگروه شاهد نشان داد. نتیجه‌گیری: براساس یافته‌های به دست آمده در این پژوهش، استروژن می‌تواند موجب تسریع در ترمیم ناقص زخم‌های دیابتی شود.**

**واژگان کلیدی:** ترمیم زخم، استروژن، موش دیابتی

دریافت مقاله: ۸۹/۲/۴ ـ دریافت اصلاحیه:۸۹/۵/۲۴ ـ پذیرش مقاله: ۸۹/۵/۲۷

## مقدمه

زخم‌های پوستی و کاهش زمان بهبود آن‌ها، یکی از جنبه‌های بسیار مهم در علوم پزشکی و جراحی محسوب می‌شود. ترمیم زخم فرایند فعالی است که در آن یک سری ارتباط بین سلول‌های مختلف، واسطه‌های سیتوکینی و ماتریکس خارج سلولی صورت می‌گیرد،[۱] که این فرایند شامل چندین مرحله می‌باشد. اما به طور کلی فرآیندی پیوسته بوده؛ به طوری که هر مرحله با مرحله‌ی بعد خود هم‌پوشانی دارد. این مراحل شامل انعقاد، التهاب، تکثیر و احیا می‌باشد.[۲] دیابت نیز یک بیماری متابولیکی است که به دلیل نقص در تولید، عملکرد و ترکیب انسولین، با افزایش در گلوکز خون توصیف می‌شود و عوارضی مانند گرفتاری اعصاب (نوروپاتی)، گرفتاری چشم (رتینوپاتی) و گرفتاری کلیه

[ Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2026-11-16 ]

(نفروپاتی) را به دنبال دارد.[۳] در این بیماران، زخم‌های مزمن (به ویژه در ناحیه‌ی پا) یک مشکل اساسی محسوب می‌شود. در پژوهش‌های گوناگونی بیان شده که گلوکز بالای خون منجر به تداوم غیر طبیعی مرحله‌ی التهاب، جلوگیری از ازدیاد سلول‌ها، سطح بالای متالوپروتئینازهای ماتریکس (MMPS)[i] و افزایش سیتوکین‌های التهاب‌زا می‌گردد؛[۴-۵] به همین علت، در این افراد ترمیم زخم با تاخیر و نقص همراه است. این مساله موجب شده که بیماران دیابتی با عوارضی مانند عفونت زخم، قطع عضو، هزینه‌های درمانی بالا و در مواردی مرگ و میر، مواجه شوند.[۳] تاکنون برای رفع این مشکل در بیماران دیابتی درمان‌هایی شامل استفاده از سوسپانسیون کراتینوسیت‌ها و فیبروبلاست‌ها، فیبرونکتین برون‌زا، پروتئازها و فاکتورهای رشد مانند فاکتور رشد مشتق شده از پلاکت (PDGF)[ii] پیشنهاد شده است.[۵-۸] ولی با این حال، هورمون استروژن با توجه به مورد اثر قرار دادن تمام این فاکتورها در محیط زخم، برتری قابل توجهی نسبت به درمان‌های یاد شده دارد که متأسفانه، علی‌رغم بررسی‌های گسترده و یافته‌های بسیار مبنی بر اثر استروژن در ترمیم زخم‌های مزمن، اثر این هورمون در افراد دیابتی کمتر مورد توجه قرار گرفته است. بررسی‌های پژوهشگران در گذشته پیرامون نقش حیاتی استروژن روی ترمیم زخم بیان‌گر آن است که استروژن فرایند ترمیم را در زخم‌های پوستی افراد سالم بهبود می‌بخشد؛[۹-۱۰] هم‌چنین گزارش شده که استفاده‌ی موضعی از استروژن، تاخیر آشکار ترمیم زخم را در موش‌های ماده‌ی تخمدان برداری شده معکوس می‌کند.[۹] این امر نشان می‌دهد که استروژن هم سرعت و هم کیفیت ترمیم زخم را بهبود می‌بخشد. هم‌چنین اثر مثبت استروژن بر تمام مراحل و فاکتورهای ترمیم زخم ثابت شده است.[۱۱] به این‌ترتیب با توجه به نقش گسترده‌ی هورمون استروژن در ترمیم زخم به نظر می‌رسد که این هورمون می‌تواند برای تسریع ترمیم زخم‌های مزمن پوستی به ویژه در افراد دیابتی قابل بررسی باشد. در پژوهش کنونی سعی بر آن است که اثر استروژن موضعی روی ترمیم زخم‌های پوستی موش صحرایی دیابتی، بررسی شود و اثرات آن بر فرآیند ترمیم، به صورت اثرات ماکروسکوپی با اندازه‌گیری سطح زخم و اثرات میکروسکوپی با مطالعه‌ی هیستوپاتولوژی بافت ترمیمی بررسی گردد. در صورت مثبت بودن یافته‌های به دست آمده از این پژوهش، با تعمیم این یافته‌ها می‌توان احتمال دستیابی به بهبودی سریع‌تر در زخم‌های دیابتی را بیان نمود.

## مواد و روش‌ها

در این پژوهش، تعداد ۶۶ سر موش صحرایی سفید نر بالغ از نژاد ویستار با میانگین وزن ۲۰±۲۰۰ گرم که از مرکز تکثیر حیوانات دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز تهیه شد؛ مورد استفاده قرار گرفت. قبل و بعد از جراحی، حیوانات در قفس‌های انفرادی با درجه حرارت ۲±۲۳ درجه‌ی سانتی‌گراد و دوره‌ی روشنایی- تاریکی ۱۲ ساعتی نگهداری شده و هیچ‌گونه محدویتی از نظر مصرف آب و غذا نداشتند. برای القا دیابت، از داروی استروپتوزوتوسین (STZ) با دوز ۶۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت درون صفاقی استفاده شد. یک هفته بعد از تزریق STZ، حیواناتی که گلوکز خون آن‌ها، بالای ۲۵۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر بود و علایم دیابت از جمله کاهش وزن شدید، پرنوشی، پرادراری و بی‌حالی را داشتند؛ به عنوان موش صحرایی دیابتی در نظر گرفته شدند.[۱۲] به منظور ایجاد زخم پس از بیهوش کردن حیوان با داروی کتامین و زایلازین، موهای ناحیه‌ی پشت تراشیده و ضد عفونی شد، سپس با استفاده از نشانگر و خط‌کش شابلون، دایره‌ای به قطر تقریبی ۱/۵ سانتی‌متر بر پشت حیوان ترسیم، و با استفاده از تیغ اسکالپل، پوست آن ناحیه به طور کامل[iii] برداشته شد؛ به طوری که عمق زخم شامل درم و اپیدرم بود.[۷]

در این پژوهش، حیوانات به دو گروه سالم و دیابتی تقسیم شدند. هر گروه نیز به سه زیر گروه ۱۱ تایی طبقه‌بندی شد. در گروه سالم، زیر گروه دست نخورده شامل موش‌هایی بود که روی آن‌ها زخم ایجاد گردید؛ ولی هیچ ماده‌ای دریافت نکردند. در زیرگروه شاهد موش‌ها مورد عمل جراحی قرار گرفتند و روزانه ۰/۵ گرم پماد جنتامایسین برای جلوگیری از عفونت دریافت کردند.[۱۰] در زیر گروه دریافت کننده‌ی استروژن نیز زخم ایجاد شد و روزانه پماد استروژن با دوز ۰/۵ میلی‌گرم به همراه پماد جنتامایسین به مدت ۲۸ روز استفاده شد.[۱۰] در گروه دیابتی نیز موش‌ها پس از اطمینان از دیابتی شدن در سه زیرگروه دست نخورده، شاهد و دریافت کننده‌ی استروژن قرار گرفتند.

i -Matrix Metalloproteinases

ii -Platelet-derived Growth Factor

iii - Full-thickness

[ Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2026-11-16 ]

برای بررسی ماکروسکوپی، سطح زخم‌ها در روزهای ۰، ۳، ۵، ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ اندازه‌گیری شد.[۷] به این ترتیب که پس از بیهوشی ضعیف حیوان، با استفاده از دوربین دیجیتال که در فاصله‌ی مشخصی از زخم تعبیه شده بود، از زخم عکس‌برداری شد، به‌طوری‌که برای همه‌ی موش‌ها و همه‌ی عکس‌ها شرایط یکسانی از عکس‌برداری برقرار شد. سپس برای اندازه‌گیری سطح زخم، تصویرهای گرفته شده پس از انتقال به کامپیوتر وارد نرم افزار Scion Image شدند.[۶] سپس اعداد به دست آمده از سطح زخم، در فرمول درصد بهبودی به شرح زیر قرار داده شدند:[۱۳]

$$\text{درصد سطح زخم در روز X} = \frac{\text{سطح زخم در روزX} \times ۱۰۰}{\text{سطح زخم در روز صفر}}$$

درصد سطح زخم در روزX−۱۰۰= درصد بهبود در روزX

برای بررسی میکروسکوپی، در روزهای ۷، ۳، ۱۴ و ۲۱ در هر زیرگروه یک موش به طور تصادفی با استفاده از کلروفرم کشته شد. برای برداشتن نمونه‌ی بافتی، ناحیه‌ی زخم به همراه حدود ۲ میلی‌متر از ناحیه‌ی پوست مجاور جدا گردید[۱۴] و پس از شستشو با استفاده از محلول نرمال سالین استریل، نمونه‌ی بافتی برای تثبیت در محلول فرمالین بافر ۱۰٪ قرار داده شد. بعد از تثبیت کامل، از نمونه ها مقاطع بافتی تهیه شد و به روش معمول مورد رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین(H & E) قرار گرفت. پس از بررسی آسیب‌شناسی شاخص‌های تشکیل بافت جوانه‌ای، رگ‌زایی و تشکیل اپیتلیوم جدید به صورت نیمه کمّی مورد ارزیابی قرار گرفتند. برای ارزیابی نیمه کمّی، بررسی‌های آسیب‌شناسی در اسلایدهای کد گذاری شده‌ی ۰، ۱، ۲، ۳، ۴ بررسی گردید.[۱۵،۱۰] (جدول ۱).

**جدول ۱- کدگذاری اسلایدهای بافتی در بررسی‌های آسیب‌شناسی**

| کدگذاری / شاخص | ۰ | ۱ | ۲ | ۳ | ۴ |
|---|---|---|---|---|---|
| تشکیل اپیتلیوم جدید | عدم مشاهده‌ی ضخیم شدن لبه‌ها و تکثیر سلول‌های خاردار | مشاهده‌ی تکثیر سلول‌های خاردار و برجسته شدن بافت پوششی در لبه‌های زخم | مهاجرت سلول‌های خاردار روی زخم | پل زدن کامل سلول‌های خاردار روی زخم | مشاهده‌ی کراتین بر روی زخم |
| رگ‌زایی | عدم مشاهده رگ خونی | مشاهده‌ی تعداد ۸-۴ عدد مقطع رگی | مشاهده‌ی تعداد ۱۵-۱۲عدد مقطع رگی | مشاهده‌ی تعداد ۲۰-۱۵ عدد مقطع رگی | مشاهده‌ی بیش از ۲۰ عدد مقطع رگی |
| تشکیل بافت جوانه‌ای | مشاهده‌ی ۷۰٪ اگزودای التهابی | مشاهده‌ی بیش از ۶۰٪ اگزودای التهابی به همراه بافت جوانه‌ای | مشاهده‌ی بیش از ۴۰٪ بافت جوانه‌ای | مشاهده‌ی بافت جوانه‌ای وسیع به همراه تشکیل رشته های کلاژن و عروق عمود بر رشته‌های کلاژن | مشاهده‌ی بیش از ۸۰٪ بافت کامل |

یافته‌های به دست آمده از اندازه‌گیری سطح زخم‌ها در گروه‌های مورد آزمایش، با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و آزمون مقایسه‌ای کمینه‌ی اختلاف معنی‌دار برای مقایسه‌ی بین زیر گروه‌ها و آزمون تی برای مقایسه‌ی بین دو زیر گروه مورد بررسی قرار گرفت. یافته‌ها به صورت میانگین±انحراف معیار (Mean±SEM) بوده و با در نظر گرفتن معنی‌داری $P<۰/۰۵$ گزارش شد.

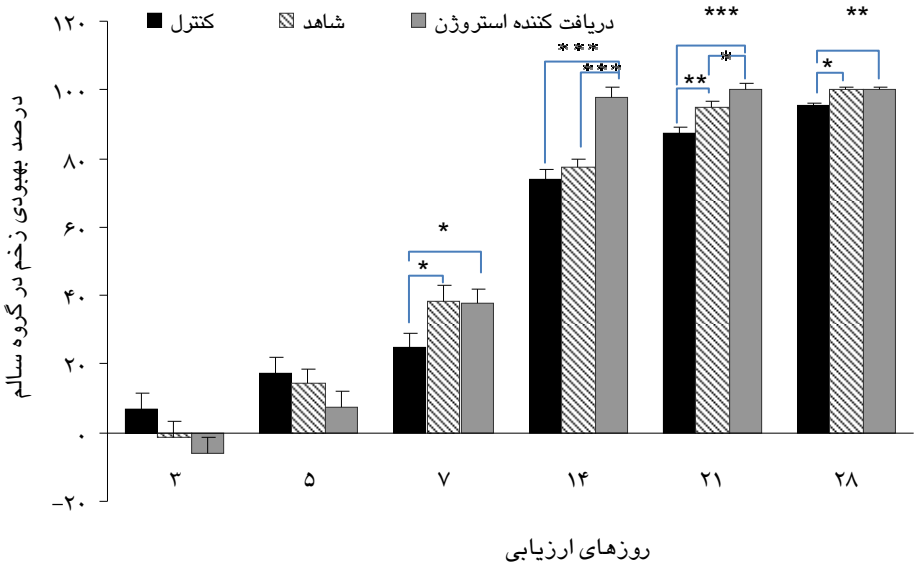
## یافته‌ها

یافته‌های به‌دست آمده از این پژوهش در دو بخش یافته‌های ماکروسکوپی و میکروسکوپی تنظیم شده است.

بررسی یافته‌های ماکروسکوپی به‌دست آمده از مقایسه‌ی درصد بهبودی زخم در سه زیرگروه کنترل، شاهد و دریافت‌کننده‌ی استروژن در موش‌های نر سالم نشان

[ Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2026-11-16 ]

می‌دهد که زیرگروه دریافت‌کننده‌ی استروژن نسبت به زیرگروه شاهد در روزهای ۱۴ (P=۰/۰۰۰۰۰۱) و ۲۱ (P=۰/۰۵) با اختلاف معنی‌داری افزایش داشته است. هم‌چنین زیرگروه دریافت کننده‌ی استروژن افزایش قابل توجه‌ای نسبت به زیرگروه کنترل در روزهای ۷ (P=۰/۰۵)، ۱۴ (P=۰/۰۰۰۰۰۱)، ۲۱ (P=۰/۰۰۰۰۰۱) و ۲۸ (P=۰/۰۰۱) نشان داده که این اختلاف نیز معنی‌دار بوده است (نمودار ۱).




**نمودار ۱ـ مقایسه‌ی درصد بهبودی زخم در سه زیرگروه کنترل، شاهد و دریافت‌کننده‌ی استروژن در گروه سالم. زیر گروه دریافت‌کننده‌ی استروژن نسبت به زیرگروه شاهد در روزهای ۱۴ و ۲۱ درصد بهبودی بیشتری با اختلاف معنی‌دار داشته است. (***P<۰/۰۰۱ و** P<۰/۰۱، * P<۰/۰۵)**

در گروه دیابتی نیز بررسی یافته‌های ماکروسکوپی به دست آمده از مقایسه‌ی درصد بهبودی زخم در سه زیر گروه کنترل، شاهد و دریافت کننده‌ی استروژن حاکی از افزایش معنی‌داری در زیرگروه دریافت‌کننده‌ی استروژن نسبت به زیرگروه شاهد طی روز ۲۱ (P=۰/۰۴) نشان می‌دهد. به علاوه افزایش درصد بهبودی با اختلاف معنی‌داری در زیرگروه دریافت کننده‌ی استروژن نسبت به زیرگروه کنترل در روزهای ۱۴ (P=۰/۰۲)، ۲۱ (P=۰/۰۰۰۰۰۱) و ۲۸ (P=۰/۰۰۳) مشاهده می‌شود (نمودار ۲).

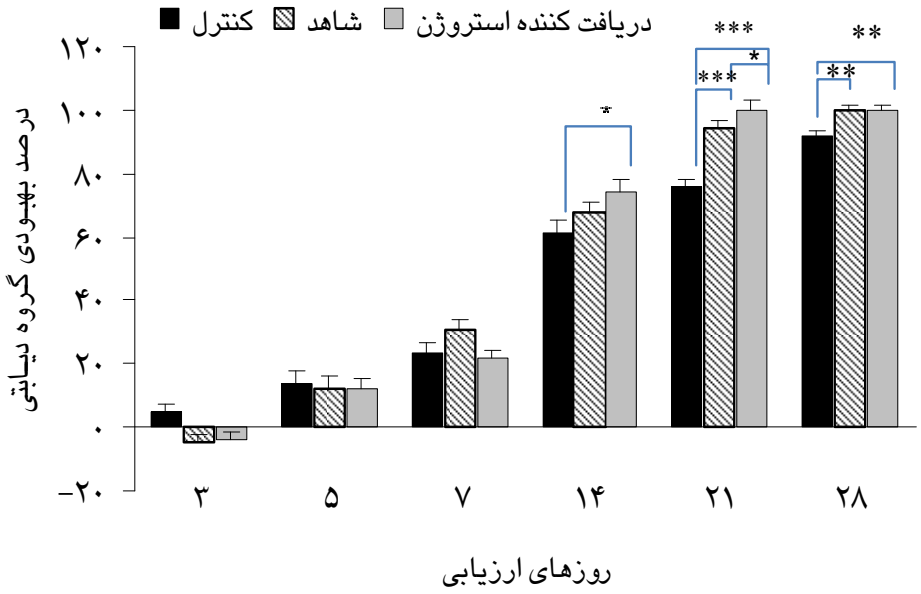
در این بخش ارزیابی نیمه کمّی شاخص‌های هیستوپاتولوژی از جمله تشکیل اپیتلیوم جدید، رگزایی و تشکیل بافت جوانه‌ای مورد بررسی قرار گرفته است. همان‌طور که در جدول ۲ قابل مشاهده است تشکیل اپیتلیوم جدید در زیرگروه دریافت‌کننده‌ی استروژن نسبت به زیرگروه شاهد در روزهای ۳، ۷ و ۲۱ سریع‌تر و کامل‌تر اتفاق افتاده است. هم‌چنین مقایسه‌ی یافته‌های به دست آمده از ارزیابی نیمه کمّی رگزایی، بیانگر افزایش رگزایی در زیرگروه دریافت‌کننده‌ی استروژن نسبت به زیرگروه شاهد در روز ۳ بوده است. از سوی دیگر در شاخص تشکیل بافت جوانه‌ای اختلافی بین زیرگروه‌های دریافت کننده‌ی استروژن و شاهد وجود نداشت (جدول ۲).

در گروه دیابتی، شاخص‌های هیستوپاتولوژی نیز مورد ارزیابی نیمه کمّی قرار گرفت. یافته‌ها بیانگر این است که تشکیل اپیتلیوم جدید در زیرگروه دریافت کننده‌ی استروژن نسبت به زیرگروه شاهد در روزهای ۷ و ۲۱ افزایش داشته است (شکل ۱).

[ Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2026-11-16 ]

مقایسه‌ی یافته‌های به‌دست آمده از ارزیابی نیمه کمّی رگ‌زایی نیز حاکی از این است که رگ‌زایی در زیر گروه دریافت‌کننده‌ی استروژن نسبت به زیرگروه شاهد در روز ۷ افزایش داشته است (شکل ۱).

هم‌چنین، افزایش تشکیل بافت جوانه‌ای در زیرگروه دریافت کننده‌ی استروژن نسبت به زیرگروه شاهد در روزهای ۷، ۱۴ و ۲۱ دیده شده است (شکل ۱) (جدول ۳).



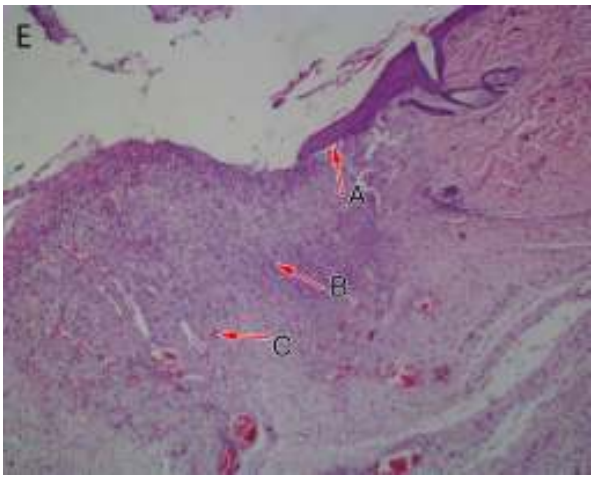

**نمودار ۲- مقایسه‌ی درصد بهبودی زخم در سه زیرگروه کنترل، شاهد و دریافت‌کننده‌ی استروژن در گروه دیابتی. زیرگروه دریافت‌کننده‌ی استروژن نسبت به زیر گروه شاهد در روز ۲۱ به افزایش درصد بهبودی را صورت معنی‌داری نشان می‌دهد. (p<۰/۰۰۱*** و p<۰/۰۱**، p<۰/۰۵*)**

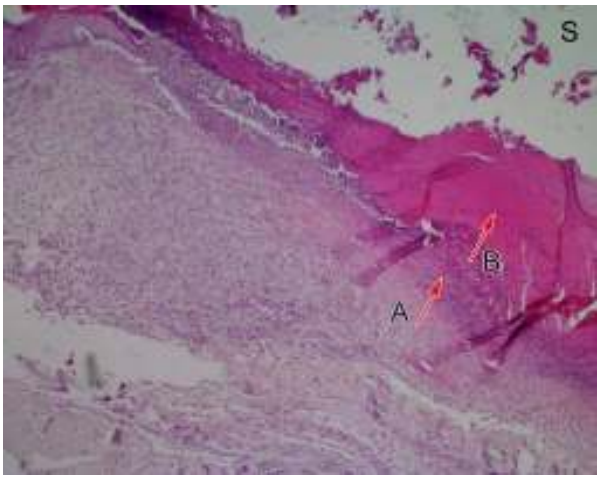
**جدول ۲- مقایسه‌ی یافته‌های آسیب‌شناسی در زخم‌های سه زیر گروه کنترل (C)، دریافت‌کننده‌ی استروژن (E) و شاهد (S) در گروه سالم**

| زیرگروه / شاخص | C/۳ | C/۷ | C/۱۴ | C/۲۱ | E/۳ | E/۷ | E/۱۴ | E/۲۱ | S/۳ | S/۷ | S/۱۴ | S/۲۱ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| تشکیل اپیتلیوم جدید | ۰ | ۱ | ۲ | ۳ | ۱ | ۲ | ۲ | ۳ | ۰ | ۱ | ۲ | ۲ |
| رگ‌زایی | ۰ | ۴ | ۳ | ۲ | ۱ | ۴ | ۳ | ۲ | ۰ | ۴ | ۳ | ۲ |
| تشکیل بافت جوانه‌ای | ۰ | ۲ | ۳ | ۴ | ۰ | ۱ | ۲ | ۳ | ۰ | ۱ | ۲ | ۳ |

**C/۳**: گروه کنترل در روز سوم، **C/۷**: گروه کنترل در روز هفتم، **C/۱۴**: گروه کنترل در روز چهاردهم، **C/۲۱**: گروه کنترل در روز بیست و یکم، **E/۳**: گروه دریافت‌کننده‌ی استروژن در روز سوم، **E/۷**: گروه دریافت‌کننده‌ی استروژن در روز هفتم، **E/۱۴**: گروه دریافت‌کننده‌ی استروژن در روز چهاردهم، **E/۲۱**: گروه دریافت‌کننده‌ی استروژن در روز بیست و یکم، **S/۳**: گروه دریافت‌کننده‌ی حلال در روز سوم، **S/۷**: گروه دریافت‌کننده‌ی حلال در روز هفتم، **S/۱۴**: گروه دریافت‌کننده‌ی حلال در روز چهاردهم، **S/۲۱**: گروه دریافت‌کننده‌ی حلال در روز بیست و یکم.

[ Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2026-11-16 ]




**شکل ۱- مقایسه‌ی شاخص تشکیل اپیتلیوم جدید، رگ‌زایی و تشکیل بافت جوانه‌ای در دو زیرگروه دریافت‌کننده‌ی استروژن (E) و شاهد (S) گروه دیابتی در روز ۷ (هماتوکسیلین و ائوزین×۴)، E: مهاجرت سلول‌های خاردار و برجسته شدن لبه‌ی بافت پوششی (A) روی بافت جوانه‌ی گوشتی (B) به همراه پرخونی عروق (C)، S: اگزودای التهابی و عدم مشاهده‌ی مهاجرت سلول‌های خاردار، رگ‌زایی و تشکیل بافت جوانه‌ای (A) در زیر دلمه (B)**

**جدول ۳- مقایسه‌ی یافته‌های آسیب‌شناسی در زخم‌های سه زیر گروه کنترل(C)، دریافت کننده‌ی استروژن (E) و شاهد (S) در گروه دیابتی**

| زیرگروه / شاخص | C/۳ | C/۷ | C/۱۴ | C/۲۱ | E/۳ | E/۷ | E/۱۴ | E/۲۱ | S/۳ | S/۷ | S/۱۴ | S/۲۱ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| تشکیل اپیتلیوم جدید | ۰ | ۱ | ۲ | ۳ | ۰ | ۱ | ۲ | ۴ | ۰ | ۰ | ۲ | ۲ |
| رگ‌زایی | ۰ | ۴ | ۳ | ۲ | ۰ | ۴ | ۳ | ۳ | ۰ | ۰ | ۴ | ۳ |
| تشکیل بافت جوانه ای | ۰ | ۱ | ۲ | ۳ | ۰ | ۱ | ۳ | ۴ | ۰ | ۰ | ۲ | ۲ |

**C/۳**: گروه کنترل در روز سوم، **C/۷**: گروه کنترل در روز هفتم، **C/۱۴**: گروه کنترل در روز چهاردهم، **C/۲۱**: گروه کنترل در روز بیست و یکم، **E/۳**: گروه دریافت‌کننده‌ی استروژن در روز سوم، **E/۷**: گروه دریافت‌کننده‌ی استروژن در روز هفتم، **E/۱۴**: گروه دریافت‌کننده‌ی استروژن در روز چهاردهم، **E/۲۱**: گروه دریافت‌کننده‌ی استروژن در روز بیست و یکم، **S/۳**: گروه دریافت‌کننده‌ی حلال در روز سوم، **S/۷**: گروه دریافت‌کننده‌ی حلال در روز هفتم، **S/۱۴**: گروه دریافت‌کننده‌ی حلال در روز چهاردهم، **S/۲۱**: گروه دریافت‌کننده‌ی حلال در روز بیست و یکم.

## بحث

در زمینه‌ی ترمیم زخم پژوهش‌های بسیاری صورت گرفته که همگی با هدف تسریع در روند بهبودی بوده است ولی هنوز در بیماران دیابتی روند ترمیم با نارسایی همراه می‌باشد و بیماران را با مشکل مواجه کرده است. در راستای چنین هدفی، پژوهش حاضر چگونگی اثر استروژن روی بهبود زخم را در موش‌های نر دیابتی بررسی نمود.

یافته‌های ماکروسکوپی در پژوهش کنونی نشان داده که استفاده‌ی موضعی استروژن با دوز ۰/۵ میلی‌گرم در هر دو گروه سالم و دیابتی باعث تسریع در ترمیم زخم و افزایش جمع‌شدگی زخم می‌شود که نشان‌دهنده‌ی اثرات مثبت استروژن بر ترمیم زخم‌های عمیق پوستی است. این یافته‌ها با پژوهش‌های اصیلیان و همکاران (۲۰۰۱) و رجبی و همکاران (۲۰۰۷) همخوانی دارد.[۱۰،۱۶] با توجه به این‌که استروژن در مرحله‌ی احیا با کاهش متالوپروتئینازها و

[ Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2026-11-16 ]

افزایش کلاژن، قدرت کشسانی را افزایش می‌دهد و به دنبال آن جمع شدگی زخم را تسریع می‌کند؛ شاید بتوان این اثر را توجیه نمود.[۱] یافته‌های ارزیابی نیمه کمّی شاخص‌های هیستوپاتولوژی در گروه سالم بیانگر این است که استروژن تشکیل اپیتلیوم جدید را تسریع می‌کند و نتیجه‌ی مستقیم آن مهاجرت کراتینوسیت‌ها برای پوشیدن زخم برهنه می‌باشد. اثر میتوژنی استروژن بر کراتینوسیت‌ها از راه القا بیان گیرنده در این سلول‌ها، موجب افزایش سرعت تشکیل اپیتلیوم جدید بعد از ایجاد زخم می‌گردد.[۱۷] نتیجه‌ی این پژوهش با یافته‌های اشکرفت و همکاران (۲۰۰۳) و نیز رجبی و همکاران (۲۰۰۷) بر اساس تاثیر استروژن بر تشکیل اپیتلیوم جدید به طور کامل همخوانی دارد.[۱۰،۱۱] ارزیابی نیمه کمّی هیستوپاتولوژی، اثر افزایشی استروژن بر رگزایی را نیز نشان داده که بیانگر تاثیرگذاری استروژن بر روند رگزایی می‌باشد. همچنین گزارش شده استروژن با احیا بیان فاکتور رشد اندوتلیال رگی (VEGF)[i] و تکثیر سلول‌های اندوتلیال بر فرآیند رگزایی اثر می‌گذارد و به همین علت است که از استروژن به عنوان یک واسطه‌ی رگ ساز نام می‌برند.[۲۰-۱۸] این یافته‌ها با بررسی‌های گارگت و همکاران (۲۰۰۲)، رجبی و همکاران (۲۰۰۷) و شانگلین و همکاران (۲۰۰۸) همسو می‌باشد.[۲۰،۱۹،۱۰] مقایسه‌ی یافته‌های به دست آمده از ارزیابی نیمه کمّی تشکیل بافت جوانه‌ای، نیز عدم تاثیر استروژن بر جنبه‌های تشکیل بافت جوانه‌ای را بیان داشته که با یافته‌ی جورگنسون و همکاران (۱۹۶۲) همخوانی دارد.[۲۱] بنابراین استروژن تغییرات معنی‌داری روی هر دو شاخص هیستوپاتولوژی دخیل در ترمیم زخم (تشکیل اپیتلیوم جدید و رگزایی) در گروه سالم نشان داده است.

در گروه دیابتی، یافته‌های به دست آمده از ارزیابی نیمه کّمی بیانگر نقش افزایشی استروژن بر فاکتور تشکیل اپیتلیوم جدید می‌باشد. در دیابت، کاهش بیان فاکتور رشد مبدل بتا (TGF-β1)[ii] به عنوان نقص بزرگی محسوب می‌شود.[۲۲] در عین حال TGFβ1 در طول مرحله‌ی تکثیر، تشکیل اپیتلیوم جدید را هدایت می‌کند.[۲۳] هم‌چنین استروژن، افزایش ترشح TGF-β1 را به وسیله‌ی فیبروبلاست‌های پوستی القا می‌کند که به تسریع بلوغ زخم‌ها منجر می‌شود؛[۲۴] پس سازوکار احتمالی تاثیرگذاری استروژن بر فاکتور تشکیل اپیتلیوم جدید، افزایش سطح کاهش یافته‌ی فاکتور رشد TGF-β1 در زخم‌های دیابتی می‌باشد. هم‌چنین در این گروه، استروژن موجب افزایش در شاخص رگزایی می‌شود. ضخیم شدن غشا پایه در سلول‌های اندوتلیال مویرگ‌ها و شریانچه‌های افراد دیابتی، یکی از تغییرات ساختاری بیماران دیابتی می‌باشد که سخت شدن دیواره‌ی عروق، کاهش نفوذ پذیری سلول‌های خونی و ترمیم ناقص زخم را به دنبال دارد.[۲۵] گزارش شده غلظت فاکتورهای رشد از جمله PDGF در زخم‌های مزمن کاهش می‌یابد[۲۶] اما PDGF نقش حیاتی خود را در ترمیم زخم به عنوان میتوژن و محرک رگزایی اعمال می‌کند.[۲۷] به طوری که مصرف PDGF، باعث افزایش تولید کلاژن و رگزایی در زخم موش‌های صحرایی شده و فرایند ترمیم زخم را در حیوانات دیابتی تعدیل می‌کند.[۸] بنابراین احتمال می‌رود استروژن با تحریک مونوسیت‌ها و ماکروفاژها در تولید PDGF می‌تواند اثرات خود را با افزایش این فاکتور بر رگزایی اعمال نماید.[۲۸] علاوه بر این یافته‌های هیستوپاتولوژی در گروه دیابتی بیانگر تاثیرگذاری مثبت استروژن بر تشکیل بافت جوانه‌ای است. در دیابت، ترمیم ناقص زخم با کاهش فیبرونکتین پلاسما (PFN) در زخم توصیف می‌شود،[۲۹] زیرا فیبرونکتین نیز در ایجاد مهاجرت، تکثیر فیبروبلاست و سازمان‌دهی بافت جوانه‌ای نقش کلیدی دارد.[۳۰] هم‌چنین استروژن با کاهش الاستاز (مسئول تخریب فیبرونکتین) و افزایش فیبرونکتین ماتریکس می‌تواند در ترمیم زخم نقش مثبتی ایفا کند.[۹] پس احتمال نقش استروژن بر افزایش این شاخص در گروه دیابتی پررنگ‌تر می‌شود. درنتیجه، استروژن سه شاخص هیستوپاتولوژی مهم بر روند ترمیم زخم را تسریع می‌کند که بیانگر نقش مثبت استروژن بر ترمیم زخم در گروه دیابتی می‌باشد.

پیرامون محدودیت‌های پژوهش با توجه به بیماری دیابت و علایم آن مانند کاهش وزن شدید، بی حالی، پرنوشی و پر ادراری در موش‌ها، به طور طبیعی مرگ و میر بالایی را در این دسته از حیوانات به دنبال داشت که سعی شد با مراقبت و نظافت روزانه و ایجاد شرایط بهینه، مرگ و میر در آن‌ها کاهش داده شود. از سوی دیگر به دلیل عدم وجود پانچ مناسب برای ایجاد زخم و لزوم شباهت اندازه‌ی زخم‌ها در تمام موش‌ها، استفاده از خط کش شابلون توسط یک همکار برای دقت بیشتر تا حدود زیادی محدودیت را در این بخش برطرف نمود. هم‌چنین برای جلوگیری از زخمی شدن موش‌ها توسط یکدیگر، موش‌ها در قفس‌های جداگانه نگهداری شدند. موش‌ها نیز با مصرف پماد روی زخم شروع

i - Vascular Endothelial Growth Factor
ii -Transforming Growth factor-β1

[ Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2026-11-16 ]

به لیسیدن و خاراندن محل زخم می‌کردند که برای جلوگیری از عمل آن‌ها، تا جذب نسبی پمادها مراقبت لازم صورت می‌گرفت.

بنابراین با توجه به یافته‌های پژوهش حاضر، تا حدود زیادی اثرات مثبت استفاده‌ی موضعی استروژن بر روند ترمیم زخم در گروه سالم و دیابتی آشکار شده ولی برای بکارگیری این یافته در بخش پزشکی و داروسازی نیاز به پژوهش‌های بیشتری ضروری به نظر می‌رسد.

**سپاسگزاری**: به این‌وسیله نویسندگان مقاله مراتب قدردانی و تشکر خود را از معاونت پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز به خاطر قبول هزینه‌ی این طرح تحقیقاتی ابراز می‌دارند.

## References


1. Desiree MO, Tania J, philipse MD. Sex Hormones and Wound Healing. Wounds 2006; 18: 8-18.
2. Enoch S, Leaper DJ. Basic science of wound healing. Surgery 2008; 26: 31-7.
3. Chakrabarty A, Norman RA, Phillips TJ. Cutaneous Manifestations of Diabetes. Wounds 2002; 14: 267–74.
4. Komesu MC, Tanga MB, Buttros KR, Nakao C. Effects of acute diabetes on rat cutaneous wound healing. Pathophysiology 2004; 11: 63-7.
5. Lobmann R, Ambrosch A, Schultz G, Waldmann K, Schiweck S, Lehner H. Expression of matrix-metalloproteinases and their inhibitors in the wounds of diabetic and non-diabetic patients. Diabetologia 2002; 45: 1011-6.
6. Velander P, Theopold C, Bleiziffer O, Bergmann J, Svensson H, Feng Y, et al. Cell Suspensions of Autologous Keratinocytes or Autologous Fibroblasts Accelerate the Healing of Full Thickness Skin Wounds in A Diabetic Porcine Wound Healing Model. JSR 2009; 157: 14-20.
7. Qiu Z, Kwon AH, Kamiyama Y. Effects of Plasma Fibronectin on the Healing of Full-Thickness Skin Wounds in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. JSR 2007; 138: 64-70.
8. Haihong L, Xiaobing F, Lei Z, Huang Q, Wu Z, Sun T. Research of PDGF-BB Gel on the Wound Healing of Diabetic Rats and Its Pharmacodynamics. JSR 2007; 145: 41-8.
9. Ashcroft GS, Greenwell-Wild T, Horan MA, Wahl SM, Ferguson MWJ. Topical Estrogen Accelerates Cutaneous Wound Healing in Aged Humans Associated with an Altered Inflammatory Response. Am J Pathol 1999; 155: 1137-46.
10. Rajabi MA, Rajabi F. The effect of estrogen on wound healing in Rats. Pakistan J Med Sci 2007; 23: 394-52.
11. Ashcroft GS, Ashworth JJ. Potential role of estrogens in wound healing. Am J Clin Dermatol 2003; 4: 737-43.
12. Kumar G, Banu GS, Murugesan AG, Pandian MR. Antihyperglycaemic and antiperoxidative effect of Helicteres isora L. bark extracts in streptozotocin-induced Diabetic Rats. J Appl Biomed 2007; 5: 97-104.
13. Khaksari M, Sajadi M, Hajizadeh S. Effect of dietary fish oil on wound healing in diabetic rats. The Journal of Physiology and Pharmacology 2000; 3: 181-91. [Farsi]
14. Frank S, Kämpfer H. Excisional Wound Healing. In: Dipietro LA, Burns AL, editors. Methods in Molecular Medicine: Wound Healing Methods and Protocols. Vol 78. Totowa New Jersey: Human Press 2003; P 3-16.
15. Gál P, Toporcer T, Vidinský B, Mokrý M, Grendel T, Novotný M, et al. Postsurgical Administration of Estradiol Benzoate Decreases Tensile Strength of Healing Skin Wounds in Ovariectomized Rats. JSR 2008; 147: 117–22.
16. Asilian A, Tavakolikia R, Iraji F, Ghasemi M. Topical Estrogen in Wound Healing: A Double Blind Randomized Clinical Trial on Young Healthy People. JRMS 2001; 6.
17. Verdier-Sevrain S, Yaar M, Cantatore J, Traish A, Gilchrest BA. Estradiol induces proliferation of keratinocytes via a receptor mediated mechanism. The FASEB Journal 2004; 18: 1252-4.
18. Stevenson S, Taylor AH, Meskiri A, Sharpe DT, Thornton MJ. Differing responses of human follicular and nonfollicular scalp cells in an in vitro wound healing assay: Effects of estrogen on vascular endothelial growth factor secretion. Wound Rep Reg 2008; 16: 243 -53.
19. Gargett CE, Zaitseva M, Bucak K, Chu S, Fuller PJ, Rogers PAW. 17β-estradiol Up-regulates vascular endothelial growth factor receptor-2 expression in human myometrial microvascular endothelial cells: Role of estrogen receptor-α and –β. JCEM 2002; 87: 4341-9.
20. Shang Leen LL, Filipe C, Billon A, Garmy-Susini B, Jalvy S, Robbesyn F, et al. Estrogen-Stimulated Endothelial Repair Requires Osteopontin. ATVM 2008; 28: 2131-6.
21. Jorgensen O, Schmidt A. Influence of sex hormones on granulation tissue formation and on healing of linear wounds. Acta Chir Scand 1962; 124: 1-10.
22. Jude EB, Blakytny R, Bulmer J, Boulton AJ, Ferguson MW. Transforming growth factor-beta 1, 2, 3 and receptor type I and II in diabetic foot ulcers. Diabetic Med 2002; 19: 440-7.
23. O'Kane S, Ferguson MW. Transforming growth factor βs and wound healing. The International Journal of Biochemistry and Cell Biology 1997; 29: 63-78.
24. Ashcroft GS, Dodsworth J, Van Boxtel E, Tarnuzzer RW, Horan MA, Schultz GS, et al. Estrogen accelerates cutaneous wound healing associated with an increase in TGF-β1 Levels. Nat Med 1997; 3: 1209-15.
25. Christopherson K. The impact of diabetes on wound healing: implications of microcirculatory changes. Br J Community Nurs 2003; 8: S6-13.
26. Beer HD, Longaker MT, Werner S. Reduced Expression of PDGF and PDGF Receptors During Impaired Wound Healing. JID 1997; 109: 132-8.
27. Henderson JL, Cupp CL, Ross EV, Shick PC, Keefe MA, Wester DC, et al. The effects of autologous platelet gel on wound healing. ENT Journal 2003; 82: 598–60.
28. Shanker G, Sorci-Thomas M, Adams MR. Estrogen modulates the inducible expression of platelet-derived growth factor mRNA by monocyte/macrophages. Life Sci 1995; 56: 499-507.
29. Labat-Robert J, Leutenegger M, Llopis G, Ricard Y, Derouette JC. Plasma and tissue fibronectin in diabetes. Clin Physiol Biochem 1984; 2: 39-48.
30. Grinnell F. Fibronectin and wound healing. J Cell Biochem 1984; 26: 107-16.


[ Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2026-11-16 ]

*Original Article*

# Topical Estrogen Accelerates Wound Healing in Diabetic Rats

Khaksar S[1], Kesmati M[1], Rezaie A[2], Rasekh A[3]
[1]Department of Biology, Faculty of Sciences, [2]Department of Pathology, Faculty of Veterinary Medicine,
[3]Department of Statistic, Faculty of Mathematics, Shahid Chamran University, Ahwaz, I.R. Iran
e-mail: sepideh.khaksar@gmail.com

**Received**: 24/04/2010 **Accepted**: 18/08/2010

**Abstract**

**Introduction: Diabetic ulcers especially foot ulcers and the delay in their healing is a major problem faced by most diabetic patients. Based on data available on the positive role of estrogen in accelerating wound healing, this research aimed at assessing the possible effect of topical estrogen on wound healing in diabetic rats. Materials and Methods: Sixty-six male wistar rats were divided into two groups (normal and diabetic) and each group was divided into 3 subgroups (control, sham and test). A circular full- thickness wound with a diameter of 1.5 cm was created on the backs of streptozotocin(stz)- induced diabetic and intact rats. In the test subgroup, the wounds were treated with a daily topical dose of 0.5 mg estrogen and in the sham subgroup, gentamicin ointment (dose 0.5 g) was used. The process of wound healing was assessed by macroscopic and microscopic studies on days 3, 5, 7, 14, 21, and 28. Results: The macroscopic study, showed delays in healing of the diabetic group in comparison with the normal group and after the seventh day, wound healing showed considerable change in the test subgroup in both normal and diabetic rats ($p<0.05$). In the normal group microscopic study, the only parameter which did not show any differerence was granulation tissue organization; however increasing of neoangiogenesis and re-epithelization was observed in the test subgroup. Also, in the diabetic group, the estrogen receiving subgroup showed impressive improvement compared to the sham subgroup. Conclusion: Topical that estrogen can accelerate the process healing of diabetic wounds.**

**Keywords**: Wound Healing, Estrogen, Diabetic Rat

[ Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2026-11-16 ]