

## بهبود سرعت ترمیم زخم با استفاده از عصاره یوکاریوت تک سلولی Ammonia در مقایسه با پماد سیلور سولفادیازین در موش آزمایشگاهی دیابتی القا شده با استرپتوزوتوسین

هادی اسمعیلی گورچین قلعه<sup>۱</sup>، بهمن جلالی کندری<sup>۲</sup>، محمد حسین اسدی<sup>۳</sup>

۱) مرکز تحقیقات ویروس شناسی کاربردی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله، تهران، ایران، ۲) گروه علوم تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله، تهران، ایران، ۳) مرکز تحقیقات طب دریا، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله، تهران، ایران، نشانی مکاتبه‌ی نویسنده‌ی مسئول: گروه علوم تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله، تهران، ایران. دکتر بهمن جلالی کندری؛ e-mail: Bahmanjalali2010@gmail.com

### چکیده

**مقدمه:** دیابت شیرین یک بیماری متابولیک است که به دلیل تجمع زیاد گلوکز، موجب آسیب در دیواره عروق خونی شده و ترمیم زخم را با چالش مواجه می‌سازد. مطالعات متعددی برای یافتن راهی جهت افزایش سرعت بسته شدن زخم دیابتی انجام شده است. هدف از پژوهش حاضر بررسی تاثیر استفاده از عصاره یوکاریوت تک سلولی آمونیا (**Ammonia**) موجود در پماد نوترکیب زینکس (**Zinex**) در افزایش سرعت بسته شدن زخم دیابتی، در مقایسه با پماد سیلورسولفادیازین می‌باشد. **مواد و روش‌ها:** این مطالعه بر روی ۵۴ سر موش سوری نژاد **Balb/C** انجام گرفت. جهت القای دیابت نوع ۲، حیوانات به مدت دو هفته با رژیم غذایی پر چرب تغذیه شدند. برای القای دیابت، یک نوبت تزریق داخل صفاقی، حاوی ۳۰ میلی‌گرم استرپتوزوتوسین به ازا هر کیلوگرم وزن بدن، انجام شد. ایجاد زخم با روش **Excisional wound splinting model** و با استفاده از پانچ بیوپسی صورت گرفت. جهت درمان زخم دیابتی، از عصاره آمونیا ۱۰ درصد موجود در پماد نوترکیب زینکس و هم‌چنین پماد سیلورسولفادیازین ۱ درصد، هر سه روز یک‌بار استفاده شد. سطح سرمی گلوکز با گلوکومتر و میزان انسولین با کیت الایزا اندازه‌گیری شد. از رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین/ئوزین برای بررسی هیستوپاتولوژیک استفاده شد. یافته‌ها: مشاهدات ماکروسکوپیک بیانگر افزایش سرعت بسته شدن زخم در گروه درمان شده با عصاره آمونیا نسبت به سایر گروه‌ها بود. نتایج هیستوپاتولوژیک نیز کاهش معنی‌دار التهاب و افزایش اپیتلیوم‌زایی مجدد در گروه درمان با عصاره آمونیا را نسبت به گروه درمان با سیلور سولفادیازین و شاهد نشان داد. نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که عصاره آمونیا موجود در پماد نوترکیب زینکس می‌تواند با کاهش التهاب، سرعت بسته شدن و اپتلیوم‌زایی مجدد را در زخم دیابتی موش بهبود دهد.

**واژگان کلیدی:** ترمیم زخم، استرپتوزوتوسین، دیابت شیرین، اپیتلیوم‌زایی مجدد، آمونیا

دریافت مقاله: ۱۴۰۰/۹/۲۰ - دریافت اصلاحیه: ۱۴۰۱/۱/۱۷ - پذیرش مقاله: ۱۴۰۱/۱/۲۰

### مقدمه

مقاومت به انسولین و اختلال عملکرد سلول‌های بتا مشخص می‌شود. مقاومت به انسولین که مهم‌ترین اختلال در همراهی با دیابت نوع ۲ است، در مراحل ابتدایی بیماری بروز می‌یابد و در این مرحله، سلول‌های بتا با افزایش ترشح انسولین، هومئوستاز گلوکز را حفظ می‌کنند، ولی بعد از یک دوره‌ی طولانی مقاومت به انسولین، عملکرد سلول‌های بتا ضعیف شده و نمی‌توانند با مقاومت به انسولین مقابله کنند. این

دیابت شیرین<sup>۱</sup> یا دیابت نوع ۲، از نظر بالینی یکی از مهم‌ترین عوامل خطر برای بروز اختلالاتی نظیر نفروپاتی، رتینوپاتی، نوروپاتی و بیماری‌های قلبی عروقی محسوب می‌شود.<sup>۱</sup> دیابت نوع ۲ شایع‌ترین نوع دیابت است که با

## مواد و روش‌ها

### حیوانات

در این مطالعه از ۵۴ موش کوچک آزمایشگاهی نر از نژاد Balb/C، با هشت هفته سن و وزن ۲۲ تا ۲۸ گرم، استفاده شد. حیوانات در حیوان‌خانه و در درجه حرارت  $22 \pm 2$  سانتی‌گراد و شرایط نور ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی نگهداری شدند. کلیه آزمایشات با رعایت اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی مصوب کمیته اخلاق پزشکی دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... (شناسه اخلاق: IRIR.BMSU.REC.1398.220) انجام گرفت.

### القای مدل دیابتی در حیوان

در این مطالعه از روش High fat diet- streptozotocin (HFD-STZ) استفاده شد. ابتدا موش‌ها به مدت ۲ هفته با رژیم غذایی پر چرب (۶۰ درصد کالری از چربی) تغذیه شدند. سپس تک دوز STZ ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به شکل داخل صفاقی تزریق شد. سه روز بعد از تزریق دارو، قند خون حیوانات به وسیله دستگاه گلوکومتر اندازه‌گیری شد. حیواناتی که میزان گلوکز خون آن‌ها بالاتر از ۲۵۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر بود به عنوان مدل دیابتی در نظر گرفته شد. جهت تایید بروز دیابت نوع ۲ در این حیوانات، میزان انسولین خون نیز در زمان صبح و در حالت ناشتا با استفاده از کیت الایزا (مونوبایند Insulin 96T) سنجیده شد.<sup>۱۲</sup> جهت اثبات القای مدل دیابتی، میزان قند و انسولین خون در موش‌های دیابتی مورد مطالعه، با خون موش‌های طبیعی که هیچ مداخله‌ای بر روی آن‌ها انجام نشده بود (گروه شاهد)، انجام شد.

### نحوه ایجاد مدل و درمان زخم

در این مطالعه جهت افزایش شباهت مدل زخم دیابتی به انسان، از روش Excisional wound splinting model استفاده شد.<sup>۱۱</sup> در این روش بعد از ایجاد مدل دیابت در حیوان، تحت شرایط بیهوشی، موهای ناحیه پشتی تراشیده شده و ایجاد زخم به وسیله‌ی پانچ بیوبسی استریل ۵ میلی‌متری، انجام شد. سپس، split سیلیکونی روی پوست اطراف زخم قرار داده شده و به کمک نخ جراحی ۶-۰ به بافت زیرین ثابت گردید.

موش‌ها به شکل تصادفی به سه گروه تقسیم شدند: گروه اول (کنترل زخم)؛ شامل موش‌های دیابتی بود که زخم در ناحیه پشت آن‌ها ایجاد شد و هیچ درمانی دریافت نکردند.

وضعیت منجر به افزایش قند خون و اختلال متابولیسم چربی می‌شود.<sup>۲۳</sup> افزایش سن، چاقی، عدم فعالیت فیزیکی و استعداد ژنتیک افراد، از فاکتورهای دخیل در بروز این نوع دیابت می‌باشند.<sup>۴</sup>

در حدود ۲۵ درصد بیماران دیابتی، در طول زندگی خود با زخم‌های ناشی از دیابت مواجه می‌شوند. همچنین، بیماران دیابتی با عوارضی مانند عفونت زخم، قطع عضو، و در مواردی مرگ و میر مواجه می‌شوند. اختلالات در روند بهبود زخم در بیماران دیابتی به طور عمده با هیپرگلیسمی، بیان بیش از حد سیتوکین‌های التهابی، کاهش آنژیوژنز و عفونت‌های میکروبی در ارتباط می‌باشند.<sup>۵،۶</sup> آنتی‌بیوتیک‌های موضعی، پانسمان‌های حاوی آنتی‌بیوتیک و برداشت بافت مرده، جهت کنترل عفونت و بهبود روند التیام، به طور معمول در این بیماران مورد استفاده قرار می‌گیرند. با این وجود برخی از زخم‌ها به این درمان‌ها پاسخ نمی‌دهند. افزایش مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها نگرانی دیگری در درمان این بیماران به روش‌های متداول می‌باشد.<sup>۷</sup> در سال‌های اخیر کوتاه کردن زمان بهبود زخم توجه محققین را به خود جلب کرده است. افزایش سرعت بهبود زخم در بیماران دیابتی با استفاده از ترکیبات گیاهی و طبیعی می‌تواند موجب افزایش میزان بقا در این بیماران گردد.<sup>۸</sup>

یوکاریوت تک سلولی آمونیا، از دسته‌ی روزن داران بوده و در نزدیکی ساحل، در میان گل و لای زندگی می‌کند. میکروارگانیزم آمونیا پوسته‌ای آهکی را؛ که ترکیبی از کربنات کلسیم (CaCO<sub>3</sub>) و ذرات دیگر است، سنتز می‌کند.<sup>۹</sup> ترکیبات آلی پوسته شامل انواعی از لیگنین و سمنت می‌باشد که از انواع موکوپلی‌ساکاریدها یا گلیکوپروتئین‌ها تشکیل شده است. عصاره تام این میکروارگانیزم دارای میکروالمنت‌های مختلف و همچنین گلیکوپروتئین‌های متعدد می‌باشد که آن را در درمان انواع زخم بسیار کارآمد می‌سازد.<sup>۱۰</sup> هدف از این مطالعه بررسی تاثیر استفاده از عصاره یوکاریوت تک سلولی آمونیا، موجود در پماد نوترکیب زینکس (Zinex)، در افزایش سرعت بسته شدن زخم و اپیتلیوم زایی مجدد، در موش مبتلا به دیابت نوع ۲ می‌باشد.

تهیه مقاطع بافتی، قرار داده شد. سپس پردازش بافتی انجام شده و مقاطع بافتی به ضخامت ۵ میکرومتر به شکل برش‌های متوالی تهیه شد. بررسی تغییرات هیستوپاتولوژیک بافت با رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و اتوزین انجام شد.

### تجزیه و تحلیل داده‌ها

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ انجام گردید. جهت بررسی طبیعی بودن توزیع داده‌ها؛ از آزمون کولموگروف اسمیرونف استفاده شد. آزمون تحلیل واریانس با اندازه‌گیری مکرر برای بررسی تفاوت در بین گروهی استفاده شد. مقایسه‌ی گروه‌های اصلی با گروه کنترل زخم، از آزمون Dunnet، صورت گرفت. سطح معنی‌داری مطالعه  $P < 0/05$  در نظر گرفته شد.

### یافته‌ها

همان‌طور که در جدول شماره ۱ مشاهده می‌شود، میزان گلوکز در سرم موش‌های دیابتی نسبت به گروه شاهد افزایش یافته است. غلظت انسولین موجود در خون موش‌های دیابتی و گروه شاهد سالم به ترتیب برابر  $210 \pm 29$  پیکومول در لیتر و  $270 \pm 23$  پیکومول در لیتر به دست آمد. نتایج نشان‌دهنده‌ی کاهش میزان انسولین خون در موش‌های دیابتی نسبت به گروه شاهد سالم می‌باشد. هرچند این کاهش زیاد نبوده و نشان‌دهنده بروز دیابت نوع ۲ در این حیوانات می‌باشد.

گروه دوم (درمان با عصاره آمونیا)، شامل موش‌هایی که بعد از ایجاد زخم دیابتی، از عصاره میکروارگانیزم آمونیا موجود در پماد نوترکیب زینکس ساخت شرکت بهزیست آیریک نوین دارو، برای درمان استفاده شد. در این پماد ۱۰ درصد وزنی پماد از عصاره تام آمونیا بوده و مابقی پماد دارای مواد نگه‌دارنده، تثبیت‌کننده و مرطوب‌کننده‌ای مشابه پایه کرم سیلورسولفودیازین، می‌باشد. گروه سوم (درمان با سیلورسولفودیازین) بعد از ایجاد زخم دیابتی، از پماد سیلورسولفودیازین ۱ درصد، که درمان متداول زخم می‌باشد، استفاده گردید. پمادها هر سه روز یک بار و به اندازه‌ای که کاملاً سطح زخم را پوشش دهند (حدود نیم سی‌سی) استفاده شد.

### بررسی ماکروسکوپی زخم

به منظور بررسی میزان تغییرات اندازه زخم، تصویربرداری از زخم از روز صفر تا پایان مطالعه، در شرایط یکسان در همه گروه‌ها، انجام شد. از خط کش مدرج در کنار زخم، برای اندازه‌گیری دقیق ابعاد زخم استفاده شد. نرم‌افزار Image J جهت محاسبه کمی (عددی) اندازه زخم مورد استفاده قرار گرفت.

### آنالیز هیستولوژیک

نمونه‌ها در روزهای ۷، ۱۴ و ۲۱ از ضخامت کامل پوست همه گروه‌ها برداشته شد و پس از شستشو به وسیله سرم فیزیولوژیک، بلافاصله در فرمالین ۱۰ درصد، جهت تثبیت و

جدول ۱- ویژگی‌های موش‌های گروه شاهد و مدل دیابتی HFD-STZ

سطح معنی‌داری	گروه مدل دیابت	گروه شاهد	
$P=0/008$	$310 \pm 25$	$132 \pm 8$	میزان گلوکز (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)
$P=0/039$	$210 \pm 29$	$270 \pm 23$	میزان انسولین (پیکومول در لیتر)
$P=0/16$	$29 \pm 6$	$25 \pm 3$	وزن (گرم)

### نتایج بهبود اندازه زخم

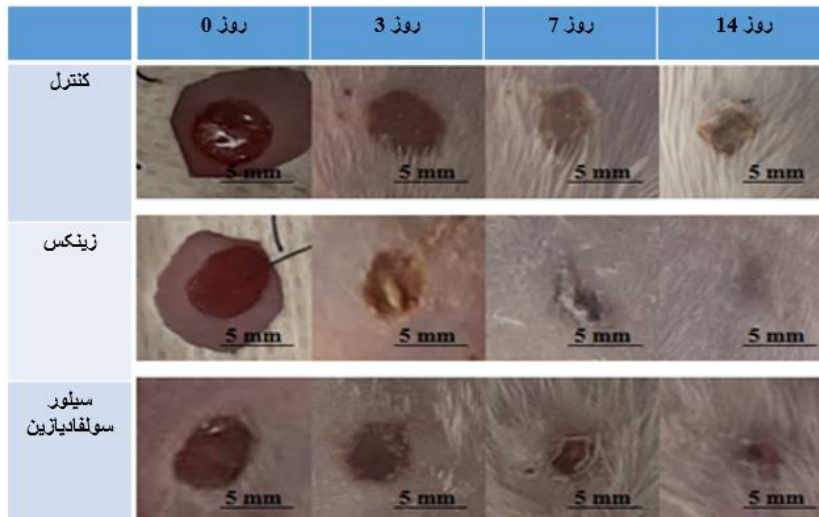
ولی در روز سوم اختلاف معنی‌داری نشان نداد. نسبت سطح زخم در گروه درمان با زینکس در هر سه مرحله نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری داشت (نمودار ۱).

### نتایج هیستوپاتولوژی

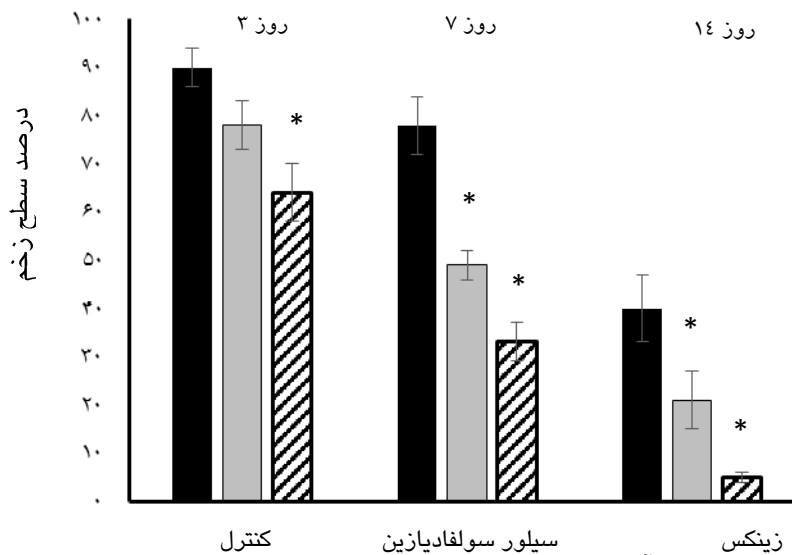
بررسی تغییرات بافتی ناحیه زخم در گروه‌های مختلف با استفاده از رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و اتوزین در شکل ۲ نمایش داده شده است.

نتایج مطالعه ماکروسکوپی نشان داد که اندازه زخم در هر دو گروه درمان با عصاره آمونیا و درمان با سیلورسولفودیازین، نسبت به گروه کنترل زخم، کاهش داشته است (شکل ۱).

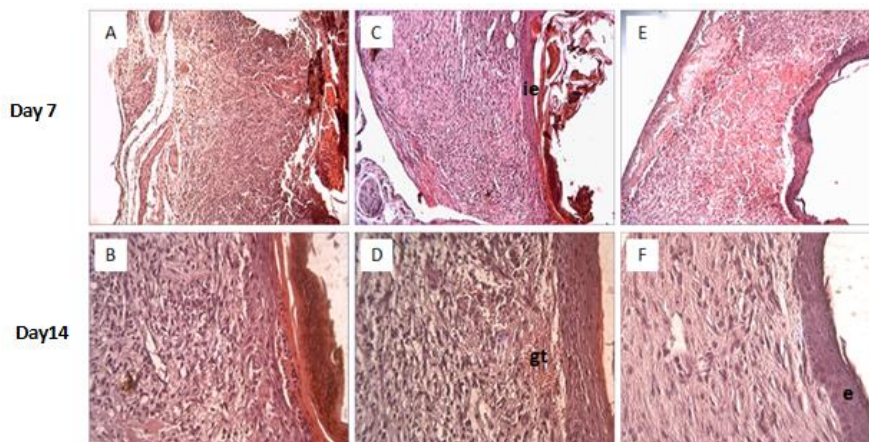
نتایج نشان داد که میانگین سرعت بسته شدن زخم در گروه کنترل بسیار کمتر از گروه‌های درمانی بود. در گروه درمان با سیلور سولفودیازین، نسبت سطح زخم بین روزهای ۷ تا ۱۴ نسبت به گروه کنترل به طور معنی‌داری کاهش یافت



شکل ۱- نمای ماکروسکوپی روند بهبود زخم در گروه‌های کنترل، سیلورسولفادiazین و درمان با زینکس



نمودار ۱- درصد بهبود سطح زخم در طول فرآیند بهبود در گروه‌های کنترل، سیلورسولفادiazین و درمان با زینکس.  $P < 0.05$  \*به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شده است.



(ie): immature epidermis; (gt): granulation tissue; (e): epithelium

شکل ۲- رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و اتوزین ناحیه زخم در روزهای ۷ و ۱۴ در گروه‌های مختلف. (A) و (B): ترمیم زخم دیابتی در گروه کنترل در روزهای ۷ و ۱۴. (C) و (D): ترمیم زخم دیابتی در موش‌های گروه درمان با سیلورسولفادiazین. (E) و (F): ترمیم زخم دیابتی در گروه درمان با عصاره آمونیا.

پیشرفت مدل رژیم پرچرب و STZ تا حدود زیادی به وضعیت بالینی در انسان شباهت داشته و شایع‌ترین مدل حیوانی جهت ایجاد دیابت نوع ۲ می‌باشد. در مطالعه‌ای که توسط زانگ<sup>۱۰</sup> و همکارانش صورت گرفت، حیواناتی که به مدت ۴ هفته از رژیم پرچرب تغذیه کرده و ۳۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن STZ را به صورت داخل صفاقی دریافت کرده بودند، مدل دیابت به خوبی ایجاد شده و میزان قند خون ناشتا ۴ تا ۸ هفته بعد از تزریق STZ تقریباً ثابت و در محدوده ۲۵۲ میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر بود. در مطالعه ما نیز استفاده از رژیم پرچرب به همراه STZ باعث افزایش گلوکز خون و بروز دیابت نوع ۲ در حیوانات مورد مطالعه گردید، که با مطالعه زانگ مطابقت داشت.

در مطالعات پیشین، از روش ایجاد زخم با استفاده از پانچ بیوبسی در حیوان استفاده شده است. مطالعات جدید نشان می‌دهد که با توجه به تفاوت‌های موجود در ساختار لایه‌های زیر پوست موش نسبت به انسان، پوست در این حیوانات دامنه حرکت و تحرک بسیار بیشتری داشته و سرعت بسته شدن زخم با انسان بسیار متفاوت می‌باشد. در این پژوهش، جهت رفع این مشکل و افزایش شباهت مدل زخم دیابتی به انسان، از روش Excisional wound model splinting استفاده شد.<sup>۱۱</sup> با در نظر گرفتن تفاوت‌های اساسی که در ساختار پوست موش و انسان وجود دارد، استفاده از این روش جهت ایجاد زخم در این مطالعه، موجب شد که زخم دیابتیک ایجاد شده تشابه بیشتری به مدل انسانی زخم داشته باشد.

مطالعات پیشین نشان داده است که عفونت اصلی‌ترین عارضه در زخم‌ها بوده و مسئول ۵۰ تا ۷۵ درصد از مرگ و میر بیماران دارای زخم در بیمارستان‌ها می‌باشد.<sup>۱۱</sup> امروزه روش‌های مختلفی برای درمان موضعی زخم مانند پماد سیلور سولفادیازین، استات منفاید، نیترات نقره و پوشش‌های بیولوژیک به کار می‌رود. در صورت عدم موفقیت در کنترل زخم دیابتی، ممکن است نیاز به جراحی و حتی قطع عضو، اجتناب‌ناپذیر شود. هر روشی که زمان ترمیم زخم را کاهش دهد، بار سنگین هزینه‌های مالی و روانی تحمیلی به بیمار و اطرافیانش را نیز کاهش خواهد داد. استفاده از ترکیبات مختلف مورد نیاز جهت ترمیم زخم در فرمولاسیون داروهای موضعی، در ارتقای کیفیت ترمیم و سرعت ترمیم زخم مفید خواهد بود. در عصاره آمونیاک موجود در پماد زینکس، میکرو المنت‌های مهمی نظیر آهن،

در گروه کنترل تراکم سلول‌های التهابی به وضوح قابل مشاهده است. در گروه‌های درمان با عصاره آمونیاک و درمان با سیلورسولفادیازین، کاهش التهاب در ناحیه زخم مشاهده شد. اپیدرم‌زایی در هر دو گروه درمان به خوبی روی داده است، هرچند سرعت آن در گروه عصاره آمونیاک نسبت به گروه سیلورسولفادیازین بیشتر بوده است. میزان گرانول‌زایی در گروه درمان با عصاره آمونیاک نسبت به دو گروه دیگر افزایش یافته است، که این افزایش نسبت به گروه کنترل معنی‌دار می‌باشد.

## بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که استفاده از عصاره آمونیاک در درمان زخم‌های دیابتی نوع ۲ می‌تواند سرعت بسته شدن زخم را افزایش دهد. هم‌چنین بر اساس نتایج هیستوپاتولوژیک، استفاده از این پماد می‌تواند اپیدرم‌زایی مجدد و تشکیل کلاژن در محل زخم را تسریع نماید. تشکیل اپیتلیوم جدید و افزایش سرعت بسته شدن زخم و اپیدرم‌زایی آن می‌تواند از آثار سوء زخم‌های دیابتی نظیر عفونت جلوگیری نماید. نتایج بررسی‌های هیستوپاتولوژیک نشان داد؛ که میانگین سرعت بسته شدن زخم در گروه کنترل بسیار کمتر از گروه‌های درمانی بود. در گروه درمان با سیلور سولفادیازین، اندازه سطح زخم (درصد سطح زخم نسبت به روز صفر) بین روزهای ۷ تا ۱۴، نسبت به گروه کنترل به طور معنی‌داری کاهش یافت، ولی در روز سوم اختلاف معنی‌داری نشان نداد. اندازه سطح زخم در گروه درمان با زینکس در هر سه مرحله نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری داشت.

مدل‌های حیوانی زیادی برای مطالعه دیابت وجود دارد، اما استفاده از مدل حیوانی که به وضعیت بالینی این بیماری در انسان شبیه‌تر باشد بسیار حائز اهمیت است. در مطالعات گذشته<sup>۱۲،۱۴</sup> مشخص شده است که استرپتوزوتوسین اثرات مخربی روی سلول‌های بتا دارد. اثر تخریبی STZ رابطه مستقیمی با مقدار مصرف آن دارد، به طوری که مقادیر بالای آن برای القای دیابت نوع ۱ استفاده می‌شود. استفاده از رژیم غذایی پرچرب در کنار مقادیر پایین از STZ می‌تواند باعث القای دیابت نوع ۲ در جوندگان شود. در بسیاری از مدل‌ها، تزریق STZ با مقادیر بالا صورت می‌گیرد و هپر گلیسمی ایجاد شده بیشتر به علت تخریب سلول‌های بتا رخ می‌دهد تا مقاومت به انسولین. اما الگوی شروع و

پروتئوگلیکان‌ها، در بسیاری از فرایندهای بیولوژیک؛ نظیر ایجاد بستر برای اتصال سلولی، مهاجرت سلول‌ها، القای تکثیر سلولی و بیان ژن‌ها نقش دارند. در مطالعه‌ای که توسط تانگ و همکاران<sup>۲۰</sup> انجام گرفت؛ نتایج نشان داد که استفاده از گلیکوز آمین گلیکان‌ها در زخم موش‌های صحرایی دیابتی می‌تواند موجب سنتز بیشتر کلاژن نوع ۱ شده و فرایند ترمیم زخم را تسریع نماید. نتایج مطالعه ما نیز نشان داد که استفاده از گلیکوز آمین گلیکان‌ها در فرمولاسیون پمادهای ترمیم زخم می‌تواند کمک شایانی به کاهش میزان التهاب و افزایش سرعت بسته شدن زخم‌های دیابتی نماید.

در مطالعه حاضر استفاده از روش Excisional wound splinting موجب شده است که مدل حیوانی زخم به مدل انسانی نزدیک‌تر باشد. از نقاط قوت مطالعه ما بررسی آتم‌های مختلف بهبود زخم نظیر ارزیابی ماکروسکوپی، بررسی التهاب، تشکیل بافت گرانوله و کلاژن‌سازی در روند بهبود زخم دیابتی بود. هر چند به نظر می‌رسد بهتر است مطالعه در مدت زمان بیشتری انجام شده و تشکیل فولیکول‌های مو و ایجاد کلاژن‌های نوع سه نیز بررسی شود. با این حال نتایج این مطالعه نشان داد استفاده از عصاره آمونیا نسبت به پماد سیلورسولفادیازین، موجب افزایش سرعت ترمیم زخم دیابتی در موش می‌گردد.

سپاسگزاری: نویسندگان این مقاله از آقای دکتر علی علی اکبر اصفهانی ریاست مرکز تحقیقات طب دریا دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... (عج) بابت حمایت از این طرح تحقیقاتی قدردانی می‌نمایند.  
تعارض منافع: ویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافی در پژوهش حاضر وجود ندارد.

کلسیم، کلر، گوگرد وجود دارد که نقش هر کدام از این عناصر در فرایند بهبود زخم بسیار مهم و ضروری می‌باشد. در افراد مبتلا به دیابت به علت اکسیداسیون خود به خودی قندها و پروتئین‌های گلیکوزیله، مقادیر زیادی از رادیکال‌های آزاد (ROS) مانند رادیکال هیدروکسیل و پراکسید هیدروژن تولید می‌شود. هم‌چنین NO یکی دیگر از رادیکال آزاد می‌باشد که از بافت دچار التهاب مزمن آزاد می‌شود. رادیکال‌های آزاد به طور مستقیم عملکرد نرمال سلول‌های التهابی را تغییر می‌دهند و موجب تخریب ساختار پروتئین‌ها می‌شوند و از این طریق سبب مزمن و طولانی شدن ترمیم زخم می‌گردند.<sup>۱۷</sup> در فرمولاسیون نهایی پماد زینکس علاوه بر عصاره آمونیا از روغن زیتون نیز استفاده شده است. مطالعات متعددی نشان دادند که روغن زیتون با افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در کاهش التهاب و تسریع التیام زخم نقش مهمی ایفا می‌کند.<sup>۱۸</sup> علاوه بر این گلیکوز آمین گلیکان و گالاکتوز آمین موجود در عصاره آمونیا از فاکتورهای مهم ترمیم زخم به شمار می‌روند. مطالعات پیشین نشان داده است که میزان گلیکوز آمین گلیکان‌ها در پوست موش‌های دیابتی ۵۰ تا ۷۰ درصد کاهش می‌یابد. این عمل به دلیل کاهش در سطح فاکتورهای insulin-like growth factor-I (IGF-I) و IGF-binding proteins (IGF-BPs) روی می‌دهد. لذا تامین گلیکوز آمین گلیکان‌ها می‌تواند در فرایند ترمیم زخم دیابتی نقش موثری داشته باشد.<sup>۱۹</sup> در فرایند ترمیم زخم در بالین نیز، بعد از جراحی، ۱۵۰۰ میلی‌گرم گلوکز آمین تا زمانی که درمان کامل شود، توصیه می‌شود. در واقع گلیکوز آمین گلیکان‌ها با اتصال به پروتئین‌ها و تشکیل

## References

- Cade WT. Diabetes-related microvascular and macrovascular diseases in the physical therapy setting. *Phys Ther* 2008; 88: 1322-35.
- Cerf ME. Beta cell dysfunction and insulin resistance. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2013; 4: 37.
- Wilcox G. Insulin and insulin resistance. *Clin Biochem Rev* 2005; 26: 19-39.
- Kolb H, Martin S. Environmental/lifestyle factors in the pathogenesis and prevention of type 2 diabetes. *BMC Med* 2017; 15: 131.
- Rosenberg CS. Wound healing in the patient with diabetes mellitus. *Nurs Clin North Am* 1990; 25: 247-61.
- Okonkwo UA, DiPietro LA. Diabetes and Wound Angiogenesis. *Int J Mol Sci* 2017; 18: 1419.
- Singh SK, Gupta B. Choices and Challenges of Antibiotics Therapy in Diabetic Foot Infection. *Indian J Endocrinol Metab* 2017; 21: 647-8.
- Choudhury H, Pandey M, Hua CK, Mun CS, Jing JK, Kong L, et al. An update on natural compounds in the remedy of diabetes mellitus: A systematic review. *J Tradit Complement Med* 2017; 8: 361-76.
- Orsi WD, Morard R, Vuillemin A, Eitel M, Wörheide G, Milucka J, et al. Anaerobic metabolism of Foraminifera thriving below the seafloor. *ISME J* 2020; 14: 2580-94.
- Luparello C, Mauro M, Lazzara V, Vazzana M. Collective Locomotion of Human Cells, Wound Healing and Their Control by Extracts and Isolated Compounds from Marine Invertebrates. *Molecules* 2020; 25: 2471.
- Wang X, Ge J, Tredget EE, Wu Y. The mouse excisional wound splinting model, including applications for stem cell transplantation. *Nat Protoc* 2013; 8: 302-9.
- Gheibi S, Kashfi K, Ghasemi A. A practical guide for induction of type-2 diabetes in rat: incorporating a high-fat diet and streptozotocin. *Biomed Pharmacother* 2017; 95: 605-13.
- Srinivasan K, Viswanad B, Asrat L, Kaul CL, Ramarao P. Combination of high-fat diet-fed and low-dose strept-

- ozotocin-treated rat: a model for type 2 diabetes and pharmacological screening. *Pharmacol Res* 2005; 52: 313-20.
14. Cheng KY, Lin ZH, Cheng YP, Chiu HY, Yeh NL, Wu TK, et al. Wound healing in streptozotocin-induced diabetic rats using Atmospheric-Pressure argon plasma jet. *Sci Rep* 2018; 8: 13172.
15. Zhang M, Lv XY, Li J, Xu ZG, Chen L. The characterization of high-fat diet and multiple low-dose streptozotocin induced type 2 diabetes rat model. *Exp Diabetes Res* 2008; 2008: 704045.
16. Saaqi M, Ahmad S, Zaib MS. Burn wound infections and antibiotic susceptibility patterns at pakistan institute of medical sciences, islamabad, pakistan. *World J Plast Surg* 2015; 4: 9-15.
17. Bielefeld KA, Amini-Nik S, Alman BA. Cutaneous wound healing: recruiting developmental pathways for regeneration. *Cell Mol Life Sci* 2013; 70: 2059-81.
18. Donato-Trancoso A, Monte-Alto-Costa A, Romana-Souza B. Olive oil-induced reduction of oxidative damage and inflammation promotes wound healing of pressure ulcers in mice. *J Dermatol Sci* 2016; 83: 60-9.
19. Cechowska-Pasko M, Pałka J, Bańkowski E. Decrease in the glycosaminoglycan content in the skin of diabetic rats. The role of IGF-I, IGF-binding proteins and proteolytic activity. *Mol Cell Biochem* 1996; 154: 1-8.
20. Tong M, Tuk B, Shang P, Hekking IM, Fijneman EM, Guijt M, et al. Diabetes-impaired wound healing is improved by matrix therapy with heparan sulfate glycosaminoglycan mimetic OTR4120 in rats. *Diabetes* 2012; 61: 2633-41.

Original Article

# Assessing the Wound Healing Rate Using Ammonia Single-cell Eukaryote Extract and Silver Sulfadiazine Ointment in Streptozotocin-induced Diabetic Rats

Esmaeili Gouvarchin Ghaleh H<sup>1</sup> , Jalali Kondori B<sup>2</sup> , Asadi MH<sup>3</sup> 

<sup>1</sup>Applied Virology Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran, <sup>2</sup>Department of Anatomical Sciences, Faculty of Medicine, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran, <sup>3</sup>Marine Medicine Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, I.R. Iran.

e-mail: bahmanjalali2010@gmail.com

Received: 11/12/2021 Accepted: 09/04/2022

## Abstract

**Introduction:** Diabetes mellitus is a metabolic disease that causes vascular wall damage and poor wound healing due to the excessive accumulation of glucose. Various investigations have been performed on increasing the diabetic wound healing rate. The present study aimed to evaluate the effects of Ammonia single-cell eukaryote extract in Zinex ointment compared to silver sulfadiazine ointment on increasing the diabetic wound closure rate. **Materials and Methods:** This study was performed on 54 BALB/c transgenic mice. For type 2 diabetes induction, the animals were fed a high-fat diet for two weeks and followed by a single dose of Streptozotocin (STZ) (30 mg/kg) injection intraperitoneally. The excisional wound was created using the excisional wound splinting model and a biopsy punch. For diabetic wound treatment, 10% Ammonia extract in Zinex ointment and 1% silver sulfadiazine ointment were used every three days. Glucose and insulin serum levels were measured using a glucometer and an ELISA kit, respectively. Histopathological examinations were also performed using H&E methods. **Results:** Macroscopic observations indicated an increase in the wound closure rate in the Ammonia extract group compared to the other groups. Also, histopathological results showed a significantly decreased inflammation and increased re-epithelialization in the Ammonia extract treatment group compared to the silver sulfadiazine treatment and control groups. **Conclusion:** The results showed that Ammonia extract in Zinex ointment could improve the closure rate and re-epithelialization in diabetic rat wounds through inflammation reduction.

**Keywords:** Wound healing, Streptozotocin, Diabetes mellitus, Re-epithelialization, Ammonia