

اثر رژیم غذایی حاوی اسیدهای چرب غیر اشباع امگا-۳ و امگا-۶ بر بهبود زخم‌های پوستی در موش صحرایی با دیابت مزمن

حمید رضا جعفری نوه^۱، دکتر محمد خاکساری^{۲*}، محمد محسن تقوی^۱، مهدی شریعتی^۱ و علیرضا رضایی زاده^۱

خلاصه

اثرات ویژه اسیدهای چرب غیر اشباع امگا-۳ و امگا-۶ بر روی بهبودی زخم در بیماران دیابتی جالب و مورد بحث می‌باشد. در مطالعه حاضر اثرات مصرف روغن ماهی (غنی از امگا-۳) و روغن ذرت (غنی از امگا-۶) بر بهبود زخم پوستی در مدل تجربی دیابت مزمن بررسی شده است. این مطالعه تجربی بر روی ۴ گروه موش صحرایی نر بالغ انجام شده که یک گروه سالم و سه گروه دیگر با تزریق زیر جلدی 50 mg/kg استرپتوزوتوسین دیابتی شدند. از سه گروه دیابتی شده، یک گروه به عنوان کنترل در نظر گرفته شد و دو گروه دیگر ۴ هفته بعد از القاء دیابت تا بهبودی کامل زخم به ترتیب تحت درمان خوراکی روغن ماهی و روغن ذرت قرار گرفتند. هشت هفته بعد از ایجاد دیابت در هر چهار گروه، زخم عمودی به طول چهار سانتیمتر در پشت حیوان ایجاد شد و سطح زخم، درصد بهبودی آن، میزان تراکم عروق و رشد اپیدرم در روزهای مختلف بعد از ایجاد زخم اندازه‌گیری شد. همچنین گلوکز، کلسترول تام، تری‌گلیسرید، LDL-C و HDL-C پلاسما اندازه‌گیری شد. بر اساس نتایج این پژوهش اثرات التیام‌بخش روغن ذرت از روز هفتم بعد از جراحی آشکار شد، به طوری که از یک سو سطح زخم در این گروه به طور معنی‌داری کمتر از سطح زخم در گروه دیابتی کنترل و گروه تحت درمان با روغن ماهی بود و از سوی دیگر درصد بهبودی زخم در این گروه در روز بیستم بعد از جراحی ۹۶ درصد بود، در حالی که در گروه دیابتی کنترل و گروه روغن ماهی میزان بهبودی زخم به ترتیب ۶۶ و ۷۱/۳ درصد بود. اگرچه تراکم منطقه‌ای عروق و رشد اپیدرم در حیوانات دیابتی شده به طور معنی‌داری کمتر از گروه سالم بود، اما مصرف هیچ یک از روغن‌های فوق اثر افزایشی بر روی این دو شاخص نداشت، علاوه بر این گلوکز پلاسمایی افزایش یافته در حیوانات دیابتی، در گروه‌های روغن ذرت و روغن ماهی به ترتیب به میزان $46/8$ و $40/7$ درصد کاهش پیدا کرد. غلظت کلسترول تام و تری‌گلیسرید پلاسما و LDL-C که در اثر دیابت افزایش یافته بود، در پایان هفته هفتم توسط هر دو رژیم به طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد. همچنین میزان HDL-C نیز توسط هر دو روغن در پایان هفته هفتم در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافت. پژوهشگران نتیجه گرفتند که رژیم تکمیلی روغن ذرت که غنی از اسیدهای چرب امگا-۶ می‌باشد، موجب تسریع بهبودی زخم در موش‌های صحرایی با دیابت مزمن می‌شود، در حالی که روغن ماهی بی‌تأثیر است. روغن ذرت احتمالاً اثر خود را از طریق تغییرات در مراحل التهابی یا فیبروبلاستی پاسخ زخم اعمال می‌نماید.

واژه‌های کلیدی: اسیدهای چرب غیر اشباع امگا-۳ و امگا-۶، روغن ذرت، روغن ماهی، بهبود زخم، دیابت قندی مزمن

۱- مری، بخش تشریح، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان ۲- دانشیار گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی، دانشکده پزشکی و مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات

بهداشتی - درمانی کرمان

* نویسنده مسؤول: کرمان - دانشکده پزشکی افضلی‌پور - گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی • آدرس الکترونیک: Khaksar38@yahoo.co.uk

دریافت مقاله: ۸۳/۱/۲۲ دریافت مقاله اصلاح شده: ۸۴/۲/۷ پذیرش مقاله: ۸۴/۲/۲۱

مقدمه

اگرچه ارائه آمار دقیق شیوع یا بروز زخم‌های پای دیابتی امکان‌پذیر نمی‌باشد، اما بر اساس نتایج حاصل از یک مطالعه مقطعی در جامعه انگلیس ۷/۴٪ از بیماران دیابتی دارای زخم پای دیابتی هستند. در جامعه آمریکا بر اساس داده‌های بیمارستانی بروز زخم پای دیابتی ۵/۸٪ گزارش شده است. در سوئد بروز زخم پای دیابتی گزارش شده است و در هلند میانگین بروز زخم جدید (فقط در دیابت نوع ۲) به میزان ۲/۱٪ گزارش شده است. اهمیت زخم پای دیابتی هنگامی بیشتر آشکار می‌شود که به آمار مربوط به قطع پا به علت این زخم توجه شود. بروز قطع پا به میزان ۵-۰/۵ در هر ۱۰۰۰ نفر جمعیت دیابتی است، که این میزان بین کشورهای مختلف متفاوت می‌باشد (۱۸).

عوامل گوناگونی منجر به زخم پای دیابتی می‌شوند که یکی از این عوامل اصلی، نارسایی در بهبود زخم است (۲۸)، بنابراین اگر شرایطی فراهم شود که از این نارسایی بهبود زخم جلوگیری شود، میزان بروز و شیوع زخم پای دیابتی نیز کاهش پیدا می‌کند. در روند بهبود زخم مجموعه‌ای از مراحل مختلف دخالت دارند که بسیاری از مراحل با یکدیگر هم‌پوشانی دارند. این مراحل شامل انعقاد، التهاب، پرولیفراسیون، اپیتالیزاسیون و بازسازی می‌باشند که تحت تأثیر دیابت قرار می‌گیرند (۳۷).

نارسایی در ترمیم زخم در بیماران دیابتی ممکن است ناشی از علل زیر باشد: افزایش قند خون که موجب نارسایی در عملکرد گلبول‌های سفید و پرولیفراسیون می‌شود (۶)، التهاب مزمن زخم، تکثیر یاخته‌های اندوتلیال در شریانچه‌های کوچک و ضخیم شدن غشاء پایه مویرگ‌ها، مساعد بودن محیط زخم برای ابتلای به عفونت، کاهش جریان خون و هیپوکسی ناشی از آن و نارسایی در عروق زایی جدید (۳۱).

با توجه به عوامل دخیل فوق در نارسایی بهبود زخم در دیابت یکی از راه‌های پیشنهادی برای غلبه بر این عوامل استفاده از مولکول‌های فعال بیولوژیکی با منشاء داخلی و خارجی می‌باشد. این مواد روزانه به وسیله رژیم‌های غذایی مختلف وارد بدن انسان می‌شوند. این مولکول‌ها یا خود میانجی بوده و یا این که تنظیم‌کننده قوی برای بسیاری از فرآیندهای سلولی می‌باشند. انواع مختلف چربی‌های غذایی و به طور ویژه‌ای اسیدهای چرب از این نوع مولکول‌های فعال بیولوژیکی هستند (۳۰). اسیدهای چرب نقش فیزیولوژیک و پاتولوژیک در بیماری‌هایی از قبیل تصلب شرائین، التهاب و یا بهبود طبیعی زخم، دارند (۱). از سوی دیگر در مطالعات مختلف گزارش شده است که اسیدهای چرب

تکمیلی در رژیم غذایی توانایی تکثیر سلولی (۳۳)، افزایش فعالیت فاکتورهای رشد، تمایز سلولی (۳۰)، تولید کلاژن و اینترلوکین نمره ۱ (۱۵)، کاهش التهاب از طریق کاهش واسطه‌های لیپیدی التهاب و کاهش تولید ایکوزانوئیدها (۳۰)، افزایش جریان خون از طریق تغییر در تولید NO و بدنال آن گشاد کردن عروق (۲۴)، افزایش ترشح هورمون رشد، TSH، پرولاکتین و ADH (۲۱)، افزایش تولید فاکتور رشد ترانسفورمینگ بتا (TGF β) (۹) کاهش ویسکوزیته خون، کاهش پاسخ عروقی به عوامل منقبض‌کننده عروق از قبیل کاتکول آمین‌ها و آنژیوتانسین نمره II (۲۳) را دارا هستند. فرض بر این است که اسیدهای چرب از طریق تغییر در ویژگی‌های غشاء پلاسمایی یعنی تغییر در ترکیب فسفولیپیدهای غشایی، در اعمال فوق که همگی می‌توانند در بهبود زخم مؤثر باشند. اثر خود را اعمال می‌نمایند.

اسیدهای چرب غیر اشباع با بیش از یک پیوند دوگانه را به دو دسته تقسیم کرده‌اند: اسیدهای چرب امگا-۶ (6- ω) که اسید آراشیدونیک جزء این دسته قرار می‌گیرد و اسیدهای چرب امگا-۳ (3- ω)، که اسیدهای چرب ایکوزاپنتانوئیک (EPA) و دوکوزاهگزانوئیک (DHA) جزء این دسته قرار می‌گیرند. منبع اسیدهای چرب امگا-۶، روغن‌های گیاهی (روغن ذرت و روغن آفتابگردان) و منبع اسیدهای چرب امگا-۳، ماهی‌های اقیانوسی، کاهو، دانه‌های بذکتنان، سویا و گردو است (۲). از آنجائی که اثرات ویژه این اسیدهای چرب روی بهبود زخم مورد بحث و مناقشه است و از سوی دیگر با توجه به شیوع بالای زخم پای دیابتی و طولانی شدن بهبود زخم در بیماران دیابتی نویسنندگان در چندین مطالعه مختلف، اثرات روغن‌های حاوی اسیدهای چرب امگا-۳ و یا امگا-۶ را روی بهبود زخم پوستی موش صحرایی دیابتی بررسی کرده و نتیجه گرفته شد که مدت زمان لازم برای بهبودی کامل زخم در حیوان با دیابت قندی حاد تحت درمان با مصرف موضعی روغن ماهی، ۷ روز کمتر از گروه شاهد است (۳)، هم‌چنین در مطالعه‌ای دیگر نویسندگان مشاهده نمودند که مصرف سیستمیک (خوراکی) روغن ماهی نیز درصد بهبودی زخم را در حیوان با دیابت قندی حاد افزایش می‌دهد (۲) و از سوی دیگر نشان داده شد که التیام زخم پوستی موش صحرایی با دیابت مزمن نیز با مصرف موضعی روغن ماهی در مقایسه با مصرف روغن ذرت تشدید می‌شود (۱). در مطالعه حاضر این فرض‌ها مورد آزمون قرار داده شد تا اثرات التیام‌بخش روغن ماهی که در موارد فوق مطرح

شده، در حیوان‌های با دیابت مزمن که این روغن را به طریق خوراکی (سیستمیک) مصرف می‌کنند نیز بررسی شود، علاوه بر این، این اثرات با اثرات روغن ذرت مقایسه گردد.

مواد و روش کار

حیوان‌ها: این مطالعه تجربی روی ۱۲۰ سر موش صحرایی نر از نژاد آلبینوان - ماری (۴ ماهه) با وزن ۲۵۰-۳۰۰ گرم انجام گرفت. موش‌ها در قفس‌های ۵ تایی در حیوان‌خانه دانشکده پزشکی رفسنجان با درجه حرارت ۲۲-۲۰ درجه سانتی‌گراد و سیکل روشنایی- تاریکی ۱۲ ساعته نگهداری شدند و آب و غذا آزادانه در اختیار آنها بود.

گروه‌های آزمایشی: موش‌ها به طور تصادفی به ۴ گروه زیر تقسیم شدند که در هر گروه ۳۰ سر حیوان وجود داشت. گروه سالم غیر دیابتی، که در پشت آنها فقط زخم ایجاد شد. گروه دیابتی یا کنترل که دیابتی شده و درمان نشدند و سپس در پشت آنها زخم ایجاد شد. گروه دیابتی تحت درمان با روغن ذرت که ۴ هفته بعد از القاء دیابت و هم‌چنین پس از ایجاد زخم تا زمان بهبودی زخم روغن ذرت مصرف کردند. گروه دیابتی تحت درمان با روغن ماهی که مشابه با گروه روغن ذرت بوده فقط به جای روغن ذرت، روغن ماهی مصرف کردند.

روش ایجاد دیابت تجربی: دیابت در موش‌ها با تزریق زیر جلدی ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم استرپتوزوتوسین [Upjohn Michigan (STZ)، آمریکا] در ناحیه بین دو گوش ایجاد شد (۳۲) و برای نتیجه‌گیری بهتر ۱۸ ساعت قبل از تزریق به حیوان‌ها غذا داده نشد. حیوان‌هایی که قند خون آنها سه روز بعد از تزریق STZ بیش از ۳۰۰ mg/dl بود دیابتی در نظر گرفته شدند (۲۹).

روش مصرف روغن‌ها: روغن ماهی (menhaden, Sigma Co. Germany) که حاوی ۲۵-۳۰ درصد اسیدهای چرب امگا-۳ است، توسط یک لوله دهانی - معدی، به میزان ۱/۲ ml به داخل معده حیوان گاوآژ شد. این رژیم غذایی یک بار در روز و در ساعت معینی و توسط فرد ثابتی به حیوان داده شد و این حجم روغن ماهی داده شده، معادل ۱۰٪ رژیم خوراکی روزانه حیوان بود (۲). مصرف روغن ماهی یک ماه بعد از القاء دیابت شروع شده و تا بهبودی کامل زخم ادامه داشت. یعنی این که حیوان‌ها تقریباً ۷ هفته روغن مصرف کردند. روش و مدت تجویز روغن ذرت (شرکت لادن، ایران) مشابه روغن ماهی بود.

روش ایجاد زخم و ارزیابی بهبود آن: مطالعه بر روی دیابت مزمن می‌باشد، ۸ هفته بعد از القاء دیابت تجربی (۹) گلوکز پلاسمای حیوان‌ها اندازه‌گیری شده و پس از حصول اطمینان از دیابتی بودن حیوان‌ها به منظور ایجاد زخم ابتدا موش‌ها با اتر بیهوش شده و بعد از کوتاه کردن موهای پشت حیوان و آغشته کردن پوست با محلول بتادین و در شرایط استریل (aseptic) بوسیله قیچی برش عمودی به طول ۴ سانتی‌متر و به فاصله یک سانتی‌متری از ستون مهره‌ها و در سمت چپ آن ایجاد گردید. عمق زخم شامل درم و هیپودرم بود. بهبودی زخم از طریق اندازه‌گیری سطح زخم و درصد بهبودی ارزیابی شد. سطح زخم در روزهای ۱، ۳، ۷، ۱۱، ۱۵ و ۲۰ بعد از ایجاد آن به روش فرگوسن ولوگان با واحد mm^2 اندازه‌گیری شده و درصد بهبودی زخم با فرمول خاصی محاسبه شد (۲). علاوه بر این بررسی، ارزیابی مورفومتری اپیدرم و عروق خونی نیز انجام شد، که برای این عمل در روزهای مختلف بعد از کشتن حیوان‌ها، از یک سوم میانی ناحیه زخم نواری به طول ۳ الی ۴ سانتی‌متر و عرض حدود ۵/۰ تا ۱ سانتی‌متر و به صورت تمام ضخامت برداشته شد و بعد از تهیه بلوک و برش از رنگ‌آمیزی هماتوکسیلن و اتوزین جهت مشاهده اپیدرم و نیز مشاهده عروق خونی استفاده شد و با استفاده از فرمول خاصی رشد اپیدرم و میزان تراکم منطقه‌ای عروقی به صورت کمی اندازه‌گیری شد (۱۷).

روش اندازه‌گیری پارامترهای بیوشیمیایی: اندازه‌گیری قند خون در چهار مرحله یعنی ابتدای آزمایش، یک ماه بعد از القاء دیابت (زمان شروع مصرف روغن‌ها)، زمان شروع زخم (چهار هفته بعد از مصرف روغن) زمان بهبودی زخم (هفت هفته بعد از مصرف روغن‌ها) انجام شد. بدین طریق که خون‌گیری بعد از یک شب گرسنگی، از سینوس غاری (cavernous sinus) حیوان انجام و گلوکز پلاسمای دستگاه اتوآنالیزر (Kone specific، فنلاند) اندازه‌گیری شد. کلسترول تام، تری‌گلیسرید و HDL-C پلاسمای نیز در سه مرحله ابتدای آزمایش، زمان شروع زخم و زمان بهبودی زخم با دستگاه اتوآنالیزر نامبرده اندازه‌گیری و LDL-C محاسبه شد. روش آماری: اطلاعات به دست آمده به وسیله آزمون‌های آماری آنالیز واریانس یک طرفه و به دنبال آن استفاده از آزمون Tukey و در برخی موارد آزمون unpairedt-test تجزیه و تحلیل شدند. نتایج همه آزمایش‌ها به صورت $\text{mean} \pm \text{SEM}$ گزارش شد و با شرط $P < 0.05$ اختلاف معنی‌دار منظور گردید.

نتایج

بررسی سطح زخم و درصد بهبودی زخم

جدول ۱، بیانگر این است که علی‌رغم این که سطح زخم در روز اول ایجاد زخم در همه گروه‌ها یکسان بود، اما از روز سوم مطالعه تا روز یازدهم سطح زخم در گروه سالم کمتر از بقیه گروه‌ها بود ($P < 0/001$). همچنین درصد بهبودی زخم نیز در گروه سالم در این روزها بیشتر از بقیه گروه‌ها بود ($P < 0/001$). مصرف روغن ذرت باعث کاهش سطح زخم در حیوان دیابتی در مقایسه با حیوان کنترل شد که بیشترین تفاوت در روز بیستم وجود داشت ($P < 0/001$). علاوه بر این از روز یازدهم اثرات بهبودی بخش روغن ذرت در ترمیم زخم آشکار شد، به طوری که از روز یازدهم به بعد سطح زخم در گروه روغن ذرت کمتر از گروه روغن ماهی بود ($P < 0/01$). همچنین درصد بهبودی زخم در گروه روغن ذرت نیز بیشتر از گروه روغن ماهی بود

که بیشترین افزایش درصد بهبودی زخم در روز بیستم بود ($96 \pm 1\%$) در مقایسه با $71/3 \pm 1/9\%$ به ترتیب در گروه روغن ذرت و روغن ماهی، ($P < 0/001$). در روزهای پانزدهم و بیستم بعد از عمل، اختلاف معنی‌دار برای درصد بهبودی زخم بین گروه سالم و دیابتی تحت درمان با روغن ذرت وجود نداشت ($P < 0/05$).

درصد بهبودی زخم در روز بیستم بعد از عمل در گروه‌های مختلف در نمودار ۱، نشان داده شده است. در حالی که در روز بیستم، زخم در گروه‌های سالم و یا روغن ذرت نزدیک به صد درصد بهبودی یافته، اما هنوز زخم در گروه‌های دیابتی (کنترل) و گروه روغن ماهی وجود داشت، اگرچه در این روز درصد بهبودی زخم در گروه روغن ماهی ($71/3 \pm 1/9$) اندکی از گروه کنترل ($66/2 \pm 1/6$) بیشتر بود ($P < 0/05$).

جدول ۱: مقایسه سطح زخم (mm^2) و درصد بهبودی زخم (%) در گروه‌های مورد مطالعه در روزهای مختلف پس از عمل

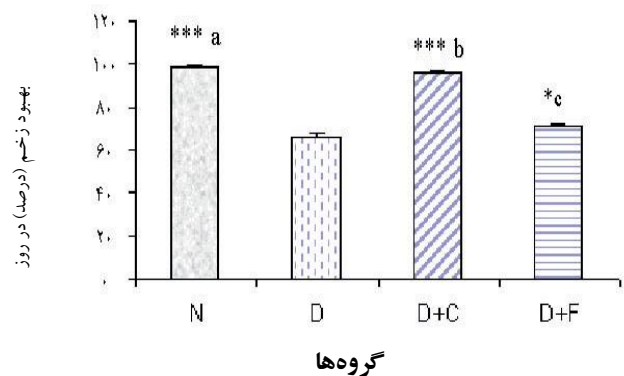
روز	گروه	سالم	دیابتی (کنترل)	دیابتی + روغن ذرت	دیابتی + روغن ماهی
سوم	سطح زخم	$236 \pm 1/6^a$	$253 \pm 1/2$	$251 \pm 1/8$	$250 \pm 1/6$
	درصد بهبودی	$5/5 \pm 0/65^a$	$1/25 \pm 0/54$	$0/64 \pm 0/74$	$0/37 \pm 0/67$
هفتم	سطح زخم	$188 \pm 3/9^b$	$233 \pm 2/7$	$211 \pm 1/6^d$	$224 \pm 2/1$
	درصد بهبودی	$24/7 \pm 1/6^b$	$11/9 \pm 1/1$	$15/5 \pm 0/66^d$	$10/24 \pm 0/86$
یازدهم	سطح زخم	$110 \pm 11/4^c$	$183 \pm 5/3$	$146 \pm 1/8^e$	$170 \pm 3/1$
	درصد بهبودی	$56/5 \pm 3/8^c$	$27/1 \pm 2/1$	$41/6 \pm 0/7^e$	$31/8 \pm 1/3$
پانزدهم	سطح زخم	$57/2 \pm 6/2^h$	$123 \pm 4/6$	$73 \pm 1/5^f$	$112 \pm 2/9$
	درصد بهبودی	$77/1 \pm 7^M$	$50/6 \pm 1/8$	$70/8 \pm 0/6^f$	$55/2 \pm 1/1$
بیستم	سطح زخم	$4/8 \pm 2/3^N$	$84/5 \pm 3/9$	$11/2 \pm 4/8^g$	$71/7 \pm 2/2$
	درصد بهبودی	$98/15 \pm 0/5^N$	$66/2 \pm 1/6^o$	96 ± 1^g	$71/3 \pm 1/9$

a, b, c و d: اختلاف معنی‌دار بین گروه سالم با بقیه گروه‌ها به ترتیب در روزهای سوم، هفتم و یازدهم با $P < 0/001$; e: اختلاف بین گروه روغن ذرت با گروه روغن ماهی در روز هفتم با $P < 0/01$ و f: اختلاف معنی‌دار بین گروه روغن ذرت با گروه‌های کنترل و یا روغن ماهی در روز بیستم با $P < 0/001$; g: اختلاف معنی‌دار بین گروه روغن ذرت با گروه‌های کنترل و یا روغن ماهی در روز بیستم با $P < 0/001$; h: اختلاف بین گروه سالم با بقیه گروه‌ها در روز پانزدهم با $P < 0/001$; M: اختلاف معنی‌دار بین گروه سالم با گروه‌های کنترل و یا روغن ماهی در روز پانزدهم با $P < 0/001$; N: اختلاف بین گروه سالم با گروه‌های کنترل و روغن ماهی در روز بیستم با $P < 0/001$; o: اختلاف بین گروه کنترل با گروه‌های روغن ذرت و روغن ماهی در روز بیستم به ترتیب با $P < 0/001$ و $P < 0/05$

انتهای مطالعه مقادیر مربوط به هر دو پارامتر در گروه سالم بیشتر از بقیه گروهها است (جدول ۲)، به طوری که در روز پانزدهم میزان تراکم عروق در گروه سالم $12/2 \pm 0/88$ است در حالی که در گروههای کنترل، روغن ذرت و روغن ماهی به ترتیب $5/9 \pm 0/6$ ، $4/2 \pm 0/28$ و $4/6 \pm 2/36$ است ($P < 0/001$). هم‌چنین در همین روز میزان رشد اپیدرم در گروه سالم $27/3 \pm 0/8$ است در حالی که در گروه کنترل، روغن ذرت و روغن ماهی به ترتیب $16 \pm 0/5$ ، $15/1 \pm 0/4$ و $15/9 \pm 0/5$ است ($P < 0/001$). هیچ‌گونه اختلاف معنی‌داری برای این پارامترها بین گروه کنترل و گروه‌های روغن ذرت و روغن ماهی مشاهده نشد.

بررسی پارامترهای بیوشیمیایی

اثر خالص تغذیه کوتاه مدت و دراز مدت با روغن ذرت و روغن ماهی روی پارامترهای بیوشیمیایی در جدول ۳ نشان داده شده است. میزان گلوکز در موش‌های صحرایی سالم $120/6 \pm 5/1 \text{ mg/dl}$ بود که چهار هفته بعد از ایجاد دیابت به $424 \pm 20/5$ رسید که دارای اختلاف معنی‌داری با گروه‌های تحت درمان با روغن ذرت و روغن ماهی ($P < 0/001$) بود، اگرچه این دو گروه تحت درمان با یکدیگر و هم‌چنین با گروه سالم اختلاف معنی‌داری نداشتند. اما میزان قند در گروه‌های تحت درمان در پایان هفت هفته بیشتر از گروه سالم بود ($P < 0/05$). میزان



گروهها

نمودار ۱: نمایش درصد بهبودی زخم (%) در روز بیستم بعد از عمل در گروه‌های مختلف. N: گروه سالم، D: گروه دیابتی کنترل، D+C: دیابتی + روغن ذرت، D+F: دیابتی + روغن ماهی. a: اختلاف معنی‌دار بین گروه N با گروه‌های D و D+F، b: اختلاف معنی‌دار بین گروه D+C با گروه D و D+F، c: اختلاف معنی‌دار بین گروه D+C با گروه D. * : $P < 0/05$, ***: $P < 0/001$

بررسی تراکم منطقه‌ای عروق و رشد اپیدرم

اگرچه در روز سوم بعد از عمل، میزان تراکم منطقه‌ای عروق و رشد اپیدرم در همه گروه‌ها یکسان است و اختلاف معنی‌داری بین آنها مشاهده نمی‌شود، اما از روز هفتم به بعد تا

جدول ۲: مقایسه تراکم منطقه‌ای عروق و رشد اپیدرم (%) در گروه‌های مورد مطالعه در روزهای مختلف پس از عمل

روز	گروه متغیر	سالم	دیابتی (کنترل)	دیابتی + روغن ذرت	دیابتی + روغن ماهی
سوم	عروق خونی	$0/481 \pm 0/06$	$0/52 \pm 0/05$	$0/51 \pm 0/09$	$0/5 \pm 0/07$
	اپیدرم	$7/35 \pm 0/55$	$7/3 \pm 0/65$	$6/8 \pm 0/06$	$6/2 \pm 0/04$
هفتم	عروق خونی	$1/4 \pm 0/15^a$	$0/73 \pm 0/08$	$1/09 \pm 0/09$	$0/76 \pm 0/03$
	اپیدرم	$10/11 \pm 5/0^{c,b}$	$7/9 \pm 0/04$	$8/1 \pm 0/05$	$7/5 \pm 0/04$
یازدهم	عروق خونی	$5/5 \pm 0/56^a$	$1/5 \pm 0/17$	$3/2 \pm 0/19$	$1/4 \pm 0/15$
	اپیدرم	$15/9 \pm 0/5^b$	$9/9 \pm 0/09$	$11/3 \pm 0/06$	$10/1 \pm 0/07$
پانزدهم	عروق خونی	$12/2 \pm 0/88^a$	$5/9 \pm 0/06$	$4/2 \pm 0/28$	$4/6 \pm 0/36$
	اپیدرم	$27/3 \pm 0/8^e$	$16 \pm 0/05$	$15/1 \pm 0/04$	$15/9 \pm 0/05$
بیستم	عروق خونی	$18/2 \pm 0/39^a$	$13/8 \pm 0/08$	$12/5 \pm 0/05$	$14/1 \pm 0/05$
	اپیدرم	$42/6 \pm 0/8^e$	$25/5 \pm 0/06$	$27/2 \pm 0/05$	$26 \pm 0/04$

a: اختلاف معنی‌دار بین گروه سالم با بقیه گروه‌ها به ترتیب در روزهای مختلف مطالعه با b و c: به ترتیب اختلاف بین گروه سالم با گروه‌های کنترل و روغن ذرت با $P < 0/05$ و با گروه روغن ماهی با $P < 0/01$. d: اختلاف بین گروه سالم با بقیه گروه‌ها با $P < 0/01$. e: اختلاف بین گروه سالم با بقیه گروه‌ها در روزهای پانزدهم و بیستم با $P < 0/01$.

جدول ۳: اثر رژیم غذایی روغن ماهی و روغن ذرت بر روی پارامترهای بیوشیمیایی در موش های صحرایی در هفته های مختلف مطالعه

پارامتر	گروه		سالم	دیابتی (کنترل)	دیابتی + روغن ذرت	دیابتی + روغن ماهی
	۴ هفته	۷ هفته				
گلوکز (mg/dl)	۱۲۰/۶±۵/۱	۱۳۸±۱۲/۶ ^b	۴۲۴±۳۰/۵ ^a	۴۷۲±۳۴/۷ ^a	۲۰۰/۶±۴۰/۳	۲۶۳±۵۹/۵
	۹۲/۶±۳ ^c	۸۹/۳±۵ ^d	۱۲۹/۲±۸/۳	۱۳۲/۱±۱۰/۵	۱۱۳/۵±۳/۱	۱۳۱±۱۲/۷
کلسترول تام (mg/dl)	۷۱/۳±۷ ^c	۶۵/۹±۶/۵	۱۲۲/۴±۱۳/۳	۱۳۱±۱۲/۱	۱۱۵/۷±۶/۵	۱۰۷/۵±۸
	۳۹/۴±۳/۰۵	۴۰/۵±۴/۱	۶۵/۲±۸/۵ ^g	۶۶/۴±۷/۳	۵۷/۸±۸/۰۷	۵۸/۹±۸/۰۷
تری گلیسرید (mg/dl)	۳۶/۷±۱/۳۴	۳۸/۲±۲	۲۹/۸±۰/۷	۳۰/۱±۱/۲ ^h	۳۱/۹±۲/۱۲	۳۵±۲/۱۵
	۴۰/۵±۴/۱	۴۰/۵±۴/۱	۶۶/۴±۷/۳	۶۶/۴±۷/۳	۶۳/۱±۱۲/۹	۵۰±۳/۰۶
LDL _c (mg/dl)	۳۶/۷±۱/۳۴	۳۸/۲±۲	۲۹/۸±۰/۷	۳۰/۱±۱/۲ ^h	۳۱/۹±۲/۱۲	۳۵±۲/۱۵
	۳۸/۲±۲	۳۸/۲±۲	۳۰/۱±۱/۲ ^h	۳۰/۱±۱/۲ ^h	۴۰±۳/۴۶	۳۹/۵±۲/۳

a: اختلاف معنی دار بین گروه دیابتی با بقیه گروهها در پایان هفته های چهارم و هفتم با $P < 0.001$; b: اختلاف بین گروه سالم با گروههای روغن ذرت با روغن ماهی در پایان هفته هفتم با $P < 0.05$; c: اختلاف بین گروه سالم با گروه دیابتی و یا گروه روغن ماهی در پایان هفته چهارم با $P < 0.01$; d: اختلاف بین گروه سالم با گروه دیابتی در پایان هفته هفتم با $P < 0.01$; e: اختلاف بین گروه سالم با بقیه گروهها در پایان هفته چهارم با $P < 0.05$; f: اختلاف بین گروه روغن ذرت با گروه روغن ماهی در پایان هفته هفتم با $P < 0.01$; g: اختلاف بین گروه دیابتی با گروه سالم در پایان هفته چهارم با $P < 0.05$; h: اختلاف بین گروه دیابتی، با بقیه گروهها در پایان هفته هفتم با $P < 0.01$.

بحث

نتایج به دست آمده از این مطالعه بیانگر این است که در حیوان های دیابتی، ترمیم زخم به تأخیر می افتد زیرا درصد بهبودی زخم در حیوان های سالم بیشتر از حیوان های دیابتی بود (به ترتیب $77 \pm 1\%$ درمقایسه با $50.6 \pm 1.8\%$). نتایج این مطالعه هماهنگ با مطالعات قبلی در مورد بهبودی زخم، در حیوان دیابتی است (۱، ۲، ۳). یافته دیگر این پژوهش حاکی از این است که رژیم خوراکی حاوی روغن ذرت، باعث تسریع در بهبودی زخم می شود، در حالی که درمان با روغن ماهی مفید نیست. به طوری که سطح زخم در روز پانزدهم در گروه روغن ذرت $73 \pm 1.5 \text{ mm}^2$ و در گروه روغن ماهی $112 \pm 2.9 \text{ mm}^2$ بود و درصد بهبودی زخم در همین روز در دو گروه به ترتیب 70% و $55.2 \pm 1.1\%$ بود. هم چنین در حالی که در روز بیستم بعد از جراحی، زخم در حیوان های سالم و حیوان های دیابتی تحت درمان با روغن ذرت تقریباً به طور کامل ترمیم پیدا کرد درصد بهبودی در حیوان های دیابتی کنترل و دیابتی تحت درمان با روغن ماهی به ترتیب فقط $66.2 \pm 1.6\%$ و $71.3 \pm 1.9\%$ بود. نتیجه فوق با فرضیه مفید بودن اسیدهای چرب امگا-۳ در

کلسترول تام پلاسما در پایان هفته چهارم در گروه سالم کمتر از بقیه گروهها بود ($P < 0.01$)، اما بعد از پایان هفت هفته درمان با روغن ذرت و روغن ماهی میزان کلسترول تام پلاسما در گروههای تحت درمان کاهش پیدا کرد به طوری که فقط بین گروه سالم (89.1 ± 5) و گروه کنترل (132.1 ± 10.5) اختلاف معنی دار وجود داشت ($P < 0.01$). برای میزان تری گلیسرید پلاسما نیز در پایان چهار هفته درمان، فقط اختلاف بین گروه سالم با بقیه گروهها وجود داشت ($P < 0.01$). اما در مورد این پارامتر بین گروههای تحت درمان با گروه کنترل، اختلاف معنی دار وجود نداشت. در پایان هفت هفته درمان اگر چه هنوز میزان تری گلیسرید پلاسما در گروه سالم کمتر از گروههای کنترل و گروه روغن ماهی بود، اما اختلاف معنی دار با گروه روغن ذرت نداشت، هم چنین میزان تری گلیسرید پلاسما در گروه روغن ذرت ($62.2 \pm 2.7 \text{ mg/dl}$) کمتر از گروه روغن ماهی ($93.2 \pm 2.7 \text{ mg/dl}$) است ($P < 0.01$). میزان LDL_c پس از چهار هفته در گروه دیابتی ($65.2 \pm 1.5 \text{ mg/dl}$) بیشتر از بقیه گروهها بود ($P < 0.05$)، علاوه بر این، میزان HDL_c بعد از هفت هفته در گروه دیابتی کمتر از بقیه گروهها بود ($P < 0.01$).

درمان زخم دیابتی مخالف است (۱،۲،۳)، اگر چه مکانیسم‌هایی که منجر به عدم تأثیر روغن ماهی در این مطالعه شد، مشخص نیست، اما از آنجایی که مصرف روغن ماهی باعث کاهش ویتامین E می‌شود می‌توان گفت که این امر منجر به تشدید اختلال دفاع آنتی‌اکسیدانی و به دنبال آن اختلال در ترمیم زخم دیابتی شده است (۸،۱۴). از سوی دیگر روغن ماهی موجب بدتر شدن کنترل هیپرگلیسمی شده و این افزایش گلوکز می‌تواند باعث اختلال در بهبود زخم شود (۱۳). چون در مطالعه حاضر افزایش گلوکز پلاسما در اثر مصرف روغن ماهی مشاهده نشد، بنابراین هیپرگلیسمی به عنوان یک عامل ایجادکننده اختلال در بهبود زخم نمی‌تواند مد نظر قرار بگیرد. روغن ماهی می‌تواند از طریق تضعیف پرولیفراسیون بافت همبند نیز باعث تأخیر در بهبودی زخم شود (۵)، ولی در مطالعه حاضر این اختلاف بین روغن ماهی و ذرت مطرح نیست. دلایل احتمالی دیگر عدم تأثیر روغن ماهی عبارتند از: کاهش پروستاگلاندین E2 (۱)، زیرا گزارش شده است که PGE2 در پوست انسان و موش صحرایی روی پرولیفراسیون کراتینوسیت، تمایز آئریوژنزیس و تشکیل فیبروز به هنگام بهبودی زخم اثر می‌گذارد (۱۰)، ناکافی بودن مدت زمان مصرف روغن ماهی در دیابت مزمن، مهار تولید اینترلوکین‌ها و TNF که از عوامل رشد بافت هستند (۷)، کاهش پرولیفراسیون فیبروز (۲۶)، افزایش اسیدهای چرب اشباع در اثر مصرف روغن ماهی (۱۲) و طولانی نمودن مرحله التهابی زخم از طریق افزایش تولید NO و به هم خوردن نسبت اسیدهای چرب امگا-۶ به امگا-۳ به علت مصرف طولانی مدت اسیدهای چرب امگا-۳ (۲۴).

نتایج این مطالعه با نتایج مطالعات پژوهشگران دیگر بر روی انواع زخم هماهنگ است. در مطالعات قبلی عدم تأثیر اسیدهای چرب امگا-۳ بر روی بهبودی زخم در اثر مواد قلیائی در قرنیه خرگوش (۲۷) و اثر رژیم غذایی غنی از اسیدهای چرب امگا-۳ بر اختلال کیفیت زخم در موش صحرایی (۴) گزارش شده است. علاوه بر این مفید بودن روغن ماهی در درمان زخم در ایلئوم (۳۲) و تضعیف پیوند پوستی توسط امگا-۳ در خرگوش (۲۶) نیز گزارش شده است. افزایش مصرف ایکوزاپنتانویک اسید، ابتلا به عفونت را افزایش می‌دهد و احتمالاً ترمیم زخم را دچار اشکال می‌کند (۳۵). هم‌چنین تضعیف پرولیفراسیون بافت همبند کبدی به وسیله اسیدهای چرب امگا-۳ (۵)، عدم تأثیر روغن ماهی روی زخم‌های روده کوچک (۳۲)، یکسان بودن

اثر اسیدهای چرب امگا-۳ و امگا-۶ در بهبود زخم در مدل موش با استرس جراحی (۲۵) گزارش شده است. اگر چه گزارش‌های فوق همگی نشانگر مفید بودن روغن ماهی یا اسیدهای چرب امگا-۳ در بهبود زخم می‌باشند، اما در برخی مطالعات دیگر اثر مفید روغن ماهی در التیام زخم‌های غیر دیابتی (۱۵،۳۴) و دیابتی (۱،۲،۳) گزارش شده است.

روغن ذرت که غنی از اسیدهای چرب امگا-۶ است احتمالاً از طریق تغییر در میزان تولید ایکوزانوئیدها خصوصاً پروستاگلاندین‌ها التیام زخم را تحت تأثیر قرار می‌دهد. زیرا پژوهشگران گزارش نموده‌اند که پروستاگلاندین‌ها خصوصاً PGE2 در بهبود زخم در انواع بافت‌ها از قبیل قرنیه چشم، پوست، لوله گوارش و کلیه نقش دارند (۱۰،۳۰). از سوی دیگر نشان داده شده که مهار کننده‌های سیکلوآکسیژناز (از قبیل ایندومتاسین و NS-393) بهبود زخم پوستی و زخم در لوله گوارش را مختل می‌کنند (۱۰،۳۰). دلایل احتمالی دیگر اثر بهبودی‌بخش روغن ذرت عبارتند از:

افزایش رهایش هورمون‌های مؤثر در رشد از هیپوفیز قدامی به وسیله ایکوزانوئیدهای مشتق از اسیدهای چرب امگا-۶ (۲۳)، جلوگیری از کاهش اسیدآراشیدونیک در پلاسما و فسفولیپیدهای غشاء در حیوان‌های دیابتی، افزایش اسیدهای چرب امگا-۳ در غشاء پلاسمایی و به دنبال آن کوتاه کردن مرحله التهاب زخم (۱۲) و تسریع بهبودی زخم از طریق خاصیت میتوژنیک این اسیدهای چرب یعنی مشابه با اثر آنها روی پیشبرد سرطان (۸).

البته این موضوع که اسیدهای چرب احتمالاً از طریق تسریع فرآیند تولید اپیتالیزاسیون و هم‌چنین عروق‌زایی، تسریع در التیام زخم را در حیوان دیابتی موجب شده‌اند، مورد شک است زیرا در مطالعه حاضر در هیچ یک از روزهای پس از جراحی میزان تراکم عروق خونی و هم‌چنین رشد اپیدرم در گروه روغن ذرت دارای اختلاف معنی‌دار با گروه دیابتی کنترل یا گروه روغن ماهی نبود. به عبارت دیگر اسیدهای چرب امگا-۳ ترمیم زخم را به وسیله مکانیسمی مستقل از تقسیم سلولی موجب می‌شوند، که این مکانیسم عملکرد برای اسیدهای چرب توسط پژوهشگران دیگر برای انواع دیگر زخم نیز مطرح شده است (۳۰). البته این احتمال نیز مطرح است که شاید بعضی از ناخالصی‌های موجود در روغن ذرت در پیدایش اثرات آن سهیم باشد.

نتایج فوق که در ارتباط با اثر التیام بخش مثبت روغن ذرت (اسید چرب امگا-۶) بر روی زخم دیابتی مزمن می‌باشد، توسط

شد. هم‌چنین کلسترول HDL نیز توسط هردو روغن در پایان هفته هفتم در مقایسه با گروه کنترل (دیابتی) افزایش پیدا کرد. یافته‌های فوق معرف این هستند که شاید اختلافی که در عملکرد روغن ذرت و روغن ماهی در این مطالعه مشاهده شد، به علت اثر متفاوت آن‌ها روی میزان کلسترول و تری‌گلیسرید باشد، به طوری که روغن ذرت هر دو لیپید فوق و خصوصاً تری‌گلیسرید را کاهش داده است و روغن‌های فوق و خصوصاً روغن ذرت احتمالاً ازریق تغییر در اتصال چربی‌ها به اسیدهای صفراوی در لوله گوارش، اختلال در گردش روده‌ای- کبدی، اثر روی گیرندهٔ لیپوپروتئین‌ها در بافت‌های هدف، کاهش در جذب کلسترول در مجرای لنف توراسیک و نهایتاً تغییر در آنزیم‌های داخل سلولی، اثرات خود را روی چربی‌ها اعمال کرده‌اند. شاید اثر این روغن‌ها و خصوصاً روغن ماهی بر روی چربی از طریق تغییر در بیان ژن لپتین اعمال شده باشد (۱۶). در مطالعات قبل کاهش کلسترول (۲۰) و یا عدم تغییر غلظت آن (۱۵) به وسیله روغن ماهی گزارش شده است. هم‌چنین کاهش تری‌گلیسرید نیز در اثر مصرف روغن ماهی توسط بعضی از مطالعات تأیید شده است (۲۲)، که با نتایج مطالعه حاضر هماهنگ نیست. کاهش کلسترول LDL یا افزایش HDL به وسیله روغن ماهی توسط پژوهشگران دیگر نیز تأیید شده است. در اکثر مطالعات قبلی، اسیدهای چرب امگا-۶ بر روی تغییرات لیپید پلاسما بی‌تأثیر بوده‌اند (۲۲)، اگرچه در یک گزارش افزایش تری‌گلیسرید و افزایش VLDL در اثر روغن ذرت (حاوی اسید چرب امگا-۶) مطرح شده است (۳۶).

در مقایسه‌ای که بین اثر روغن ماهی بر روی بهبود زخم پوستی در حیوان با دیابت قندی حاد و مطالعه حاضر انجام شد، آشکار گردید که در دیابت مزمن اثر روغن ماهی کاهش و اثر روغن ذرت افزایش می‌یابد، زیرا در دیابت حاد، روغن ماهی ۳ روز بهبود زخم را به جلو انداخته و روغن ذرت بی‌تأثیر بود (۲)، در حالی که در مطالعه حاضر، اثر روغن ماهی حذف شده و بالعکس اثر التیام بخش روغن ذرت آشکار شده است. این اختلافات مطالعه حاضر با مطالعات قبلی نویسندگان (۱،۲،۳) ممکن است، ناشی از تفاوت در نوع مطالعه (حاد و مزمن) و هم‌چنین نحوهٔ استفاده روغن ماهی باشد. شاید در مصرف روغن ماهی به صورت خوراکی جایگزینی اسیدهای چرب امگا-۳ در غشاء پلاسمایی و یا جذب آنها در لوله گوارش در هنگام دیابت مزمن دچار اختلال شده باشد. در مجموع مطالعه حاضر نشان داد که مکمل‌های رژیمی اسیدهای چرب غیراشباعی با منشاء گیاهی

مطالعات دیگران نیز تأیید شده است. به عنوان مثال Albina گزارش نموده است که اثر روغن ذرت بر روی ترمیم زخم پوستی در موش صحرایی بهتر از اثر روغن ماهی است (۴). هم‌چنین نشان داده شده است که هم اسیدهای چرب امگا-۳ و هم اسیدهای چرب امگا-۶ در بهبود زخم‌های اپیتلیال روده (۳۰)، زخم‌های ناشی از استرس جراحی در موش صحرایی (۲۵) و تشکیل کلاژن (۱۱) مفید هستند. اگرچه داده‌های مطالعه حاضر با نتایج مطالعات قبلی نویسندگان (۱،۲،۳) و برخی مطالعات دیگر متفاوت است (۲۴).

یکی از اهداف رژیم درمانی در بیماران دیابتی اصلاح کردن متابولیسم مواد واسط در این بیماران از قبیل هیپرگلیسمی و هیپرلیپیدمی است. یافته‌های بخش دیگر این پژوهش نشان دادند که هر دو رژیم روغن باعث کاهش میزان گلوکز پلاسما در مقایسه با حیوان‌های کنترل (دیابتی) می‌شوند، اگرچه در دراز مدت (بعد از هفت هفته) اثرات این روغن‌ها روی کنترل قند کاهش پیدا می‌کند. به طوری که تفاوت معنی‌دار بین قند خون این گروه‌ها با گروه سالم بوجود می‌آید، اما هنوز قند خون در این دو گروه کمتر از حیوان دیابتی کنترل است. از آنجایی که هردو روغن قند خون را کاهش دادند ولی اثر متفاوت بر روی ترمیم زخم دیابتی مزمن داشتند. بنابر این مطالعه حاضر معرف این است که اولاً کنترل قند خون نمی‌تواند به عنوان یک عامل اصلی کنترل کننده بهبود زخم در دیابت باشد، و ثانیاً اثرات بهبود بخش روغن ذرت روی زخم پوستی فقط ناشی از کنترل قند خون توسط این روغن نمی‌باشد. راجع به اثر روغن ماهی روی کنترل گلوکز خون در دیابت گزارش‌های متناقضی وجود دارد، به طوری که برخی گزارش‌ها کاهش قند خون (۱۲)، برخی دیگر افزایش و تعدادی نیز عدم تغییر (۱۹) را تأیید نموده‌اند. همین ویژگی برای اثر روغن ذرت (اسیدهای چرب امگا-۶) روی کنترل هیپرگلیسمی وجود دارد (۲۲).

مصرف روغن ماهی تا پایان هفته چهارم توانایی کاهش معنی‌دار کلسترول پلاسما را نداشته است، در حالی که در پایان هفته هفتم اثر آن روی کاهش کلسترول آشکار می‌شود. روغن ذرت در پایان هفته چهارم میزان کلسترول پلاسما را کاهش داد که کاهش بیشتری را در پایان هفته هفتم موجب نشد. میزان تری‌گلیسرید پلاسما تا پایان هفته چهارم توسط هیچ یک از روغن‌ها کاهش داده نشد، اما در پایان هفته هفتم روغن ذرت تری‌گلیسرید را در مقایسه با روغن ماهی کاهش داده است. میزان کلسترول LDL به وسیله هر دو نوع روغن کاهش داده

تأیید شود، زیرا براساس نتایج این مطالعه تجویز خوراکی روغن ذرت به جای روغن ماهی در دیابت مزمن پیشنهاد می‌شود و ثانیاً پژوهش‌های بیشتری لازم است تا مکانیسم‌های دخیل در عملکرد هر دو روغن مشخص شود.

سپاسگزاری

این پژوهش به عنوان طرح تحقیقاتی توسط شورای پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان تصویب و از حمایت مالی آن دانشگاه برخوردار بوده است. بدین وسیله از مسؤولان ذریب قدردانی به عمل می‌آید. همچنین پژوهشگران لازم می‌دانند از همکاران محترم مرکز نگهداری حیوان‌های دانشکده پزشکی رفسنجان قدردانی و تشکر به عمل آورند.

(روغن ذرت) قادر به تعدیل التیام زخم پوستی در حیوان با دیابت قندی مزمن است در حالی که اسیدهای چرب غیر اشباع با منشاء ماهی دارای این توانایی نیستند. براساس نتایج این مطالعه مکمل روغن ذرت یا اسیدهای چرب امگا-۶ احتمالاً نقش مهم کمکی در بهبود زخم و کنترل هیپرگلیسمی در بیماران دیابتی و هم‌چنین درمان سندرم پای دیابتی ایفا می‌نمایند، درحالی که روغن ماهی یا اسیدهای چرب امگا-۳ اگر چه دارای نقش مثبت در کنترل قندخون در این بیماران می‌باشند، اما احتمالاً در بهبود زخم این بیماران نقش ندارند. بنابراین قبل از اینکه مصرف روغن ماهی به عنوان یک درمان مرسوم در زخم دیابت مطرح شود، بایستی ابتدا کارایی و بدون خطر بودن تجویز این روغن

Summary

The Effect of Dietary Polyunsaturated Fatty Acid on Skin Wound Healing in Chronic Diabetic Rat

Jafarinaveh H.R., MSc.¹, Khaksari M., PhD.², Taghavi M.M., MSc.¹, Shariati M., MSc.¹ and Rezaei-zadeh A., MSc.¹

1. Faculty members, Anatomy Department, School of Medicine, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran. 2. Associate Professor of Physiology, Department of Physiology and Physiology Research Center, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran.

The potential role of omega – 3 (ω -3) and omega - 6 (ω -6) fatty acids on wound healing is of interest and controversial. In the present study, the effect of dietary intake of fish oil (ω -3 diet) and corn oil (ω -6 diet) on skin wound healing has been investigated in rat. This experimental study was performed on four groups of male rats (one normal group and three diabetic groups). Diabetes was induced by subcutaneous injection of 50 mg/kg streptozotocin. In diabetic groups, one group was control and received STZ alone, and the other two diabetic groups were respectively fed with oral Fish oil (Fo group) and corn oil (co group) from 4 weeks after the induction of diabetes till complete wound healing. All animals were wounded by a 4 cm vertical incision in the midline of dorsum 8 weeks after diabetes induction. Wound surface area, percentage of wound healing, vessels density, and epidermal growth were measured at various post-operated periods. The results showed that, surface area of wound in co group was less than that of FO-treated rats and control group at the 7th post – operative day. Moreover the percentage of wound healing in co group was 97% at the 20th day, while this parameter in FO group and control group were 66% and 71.3% respectively. Although vessels density and epidermal growth in control group were significantly less than those of normal group, no significant difference was found between both FO and CO groups with control group in this regard. Moreover, FO diet and CO diet had an inhibitory effect on increased plasma glucose in diabetic rats by 46.8% and 40.7% respectively. Diabetic rats demonstrated increased plasma total cholesterol, triglyceride and LDL_C levels, but this change was significantly decreased by both diets at the end of 7th week. FO and CO diets also caused an increase in plasma HDL level comparing to the control group. We concluded that, corn oil (ω -6 diet) supplementation can result in an acceleration of skin wound healing in chronic diabetic rats, but fish oil have no effect. These actions of corn oil may be mediated through changes in inflammatory or fibroplasias stages of wound response.

Key Words: Polyunsaturated Fatty acid, Corn oil, Fish oil, Wound healing, Chronic diabetes

Journal of Kerman University of Medical Sciences, 2005; 12(2): 99-109

منابع:

۱. تقوی، محمد محسن، خاکساری، محمد. تسریع بهبود زخم پوستی موش صحرایی دیابتی مزمن به وسیله روغن ماهی موضعی. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی سمنان، ۱۳۸۱، جلد ۴، شماره ۱ و ۲، ص ۷۳-۶۱.
۲. خاکساری، محمد و سجادی، محمد علی. اثر رژیم غذایی حاوی روغن ماهی بر ترمیم زخم در موش صحرایی دیابتی، مجله فیزیولوژی و فارماکولوژی ۱۳۷۸، سال سوم شماره ۲، ص ۱۹۳-۱۸۱.
۳. سجادی، محمد علی، خاکساری، محمد. اثر موضعی روغن ماهی بر ترمیم زخم در موش های صحرایی دیابتی، مجله دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد ۱۳۷۸، شماره ۳ ص ۴۰-۳۱.
4. Albina JE, Gladden P and Walsh WR. Deterimental effects of an omega-3 fatty acid-enriched diet on wound healing. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 1993; 17(6): 519-521.
5. Arend A, Zilmer M, Vit halem T, Selstam G and Sepp E. Lipoic acid prevents suppression of connective tissue proliferation in the rat liver induced by n-3 PUFAs. A pilot study. *Ann Nutr Metab* 2000; 44(5-6): 217-222.
6. Delamaire M, Maugendre D, Moreno M, Impaired leucocyte functions in diabetic patients. *Diabet Med* 1997; 14(1): 29-34.
7. Drexler AM. Tumor necrosis factor: its role in HIV/AIDS. *STEP Persspect* 1995; 7(1): 13-15.
8. Eritsland J. Safety considerations of polyunsaturated fatty acids. *Am J Clin Nutr* 2000; 71(1suppl) 197S-201S.
9. Friday KE, Childs MT, Tsunehara CH, Fujimoto WY, Bierman EL and Ensinnck JW. Elevated plasma glucose and lowered triglyceride levels from omega-3 fatty acid supplementation in type II diabetes. *Diabetes Care* 1989; 12(4): 276-281.
10. Futagami A, Ishizaki M, Fukuda Y, Kawana S and Yamanak N. Wound healing involves induction of cyclooxygenase-2-expression in rat skin. *Lab Invest* 2002; 82(11): 1503-1513.
11. Gembal M, Druzynska J, Kowalczyk M *et al.* The effect of ascorbic acid on protein glycation in streptozotocin-diabetic rats. *Diabetologia* 1994; 37(7): 731-736.
12. Giron MD, Sanchez F, Hortelano P, Periago JL and Suarez MD. Effects of dietary fatty acids on lipid metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats. *Metabolism* 1999; 48(4): 455-460.
13. Glauber H, Wallace P, Griver K and Brechtel G. Adverse inetabolic effect of omega-3 fatty acids in non-insulin dependent diabetes mellitus. *Ann Intern Med* 1988; 108(5): 663-668.
14. Hammes HP, Weiss A, Fuhrer D, Kramer HJ, Papavassilis C and Grimminser F. Acceleration of experimental diabetic retinopathy in the rat by omega-3 fatty acids. *Diabetologia* 1996; 39(3): 251-255.
15. Hankenson KD, Watkins BA, Schoenlein IA, Allen KG and Turek JJ. Omega-3 fatty acids enhance ligament fibroblast collagen formation in associaation with changes in interleukin-6 production *Proc Soc Exp Biol Med* 2000; 223(1): 88-95.
16. Hynes GR and Jones PJ. Leptin and its role in lipid metabolism. *Curr Opin Lipidol* 2001; 12(3): 321-7.
17. Isler H, Bauen A, Hubler M and Oberholzer M. Morphometric assesment of wound healing in rats treated with a protein-free haemodialysate. *Burns* 1991; 17(2): 99-103.
18. Jeffcoate WJ and Harding KG. Diabetic foot ulcers. *Lancent* 2003; 361(9368): 1545-1551.
19. Kasim SE. Dietary marine Fish oils and insulin action in type 2 diabetes. *Ann NY Acad Sci* 1993; 683: 250-257.
20. Kusunoki M, Tsutsumi K, Hara T, *et al.* Ethyl icosapentate (omega-3 fatty acid) causes accumulation of lipids in skeletal muscle but suppresses insulin resistance in OLETE rats. *Metabolism* 2003; 52(1):30-34.
21. Lands WE. Biochemistry and physiology of n-3 fatty acids. *FASEB J* 1992; 6(8): 2530-2536.
22. Luo J, Rizkalla SW, Vidal H, *et al.* Moderate intake of n-3 fatty acids for 2 months has no detrimental effect on glucose metabolism and could ameliorate the lipid profile in type 2

- diabetic men. *Diabetes Care* 1998; 21(5): 717-724.
23. Malasanos TH and Stacpoole PW. Biological effects of omega-3 fatty acids in diabetes mellitus. *Diabetes Care* 1991; 14(12): 1160-1179.
 24. McVeigh GE, Brennan GM, Johnston GD, *et al.* Dietary fish oil augments nitric oxide production or release in patients with type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia* 1993; 36(1): 33-38.
 25. Nirgiotis JG, Hennessey PJ, Black CT and Andrassy RJ. Low-fat, high-carbohydrate diets improve wound healing and increase protein levels in surgically stressed rats. *J Pediatr Surg* 1991; 26(8): 925-928.
 26. O-hara M, Esato K, Harada M, *et al.* Eicosapentanoic acid suppresses intimal hyperplasia after expanded polytetrafluoroethylene grafting in rabbits fed a high cholesterol diet. *J Vasc surg* 1991; 13(4): 480-486.
 27. Ormerod LD, Garsd A, Abelson MB and Kenyon KR. Eicosanoid modulation and epithelial wound healing kinetics of the alkali-burned cornea. *J Ocul Pharmacol* 1992; 8(1): 53-58.
 28. Reiber GE, Vileikyte L, Boyko EJ *et al.* Causal pathways for incident lower-extremity ulcers in patients with diabetes from two settings. *Diabetes Care* 1999; 22(1): 157-162.
 29. Robertson S, Cameron NE and Cotter MA. The effect of the calcium antagonist nifedipine on peripheral nerve function in streptozotocin diabetic rats. *Diabetologica* 1992; 35(12): 1113-1117.
 30. Ruthig DJ and Meckling-Gill KA. Both (n-3) and (n-6) fatty acids stimulate wound healing in the rat intestinal epithelial cell line, IEC-6. *J Nutr* 1999; 129(10): 1791-1798.
 31. Stepanovic V, Awad O, Jiao C, Dunnwald M and Schatteman GC. Leprdb diabetic mouse bone marrow cells inhibit skin wound vascularization but promote wound healing. *Circ Res* 2003; 92(11): 1247-1253.
 32. Sukumar P, Loo A, Magur E, Nandi J, Oler A and Levine RA. Dietary supplementation of nucleotides and arginine promotes healing of small bowel ulcers in experimental ulcerative ileitis. *Dig Dis Sci* 1997; 42(7): 1530-1536.
 33. Sweeney B, Puri P and Reen DJ. Polyunsaturated fatty acids influence neonatal monocyte survival. *Pediatr. Surg Int* 2001; 17(4): 254-258.
 34. Terkelsen LH, Eskild-Jensen A, Kjeldsen H, Barker JH and Hjortdal VE. Topical application of cod liver oil ointment accelerates wound healing: an experimental study in wounds in the ears of hairless mice. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg* 2000; 34 (1): 15-20.
 35. Thies F, Nebe-Von-Caron G, Powel JR, Yaqoob P, Newsholme EA and Calder PC. Dietary Supplementation with eicosapentanoic acid, but not with other long-chain n-3 or n-6 Polyunsaturated fatty acids, decreases natural killer cell activity in healthy subjects aged >55 years. *Am J Clin Nutr* 2001; 73(3): 534-548.
 36. Toft I, Bonna KH, Ingebretsen OC, Nordoy A and Jenssen T. Effects of n-3 polyunsaturated fatty acids on glucose homeostasis and blood pressure in essential hypertension. *Ann Intern Med* 1995; 123(12): 911-918.
 37. Yue DK, Swanson B, McLennan S, *et al.* Abnormalities of granulation tissue and collagen formation in experimental diabetes, uremia and malnutrition. *Diabet Med* 1986; 3(3): 221-225.