

اثر پماد ترکیبی عصاره آبی هسته انگور توام با اوسرین بر ترمیم زخم‌های دیابتی موش صحرایی

هاله لولاآور^۱، دکتر عبدالحسین شیروی^{۲*}، دکتر ویدا حجتی^۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد رشته زیست شناسی سلولی - تکوینی، گروه زیست شناسی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران.

۲- دانشیار، گروه زیست شناسی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران. ۳- استادیار، گروه زیست شناسی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: یکی از عوارض دیابت زخم‌های دیابتی است. این مطالعه به منظور تعیین اثر پماد ترکیبی عصاره آبی هسته انگور (*Vitis Vinifera*) توام با اوسرین بر ترمیم زخم‌های دیابتی موش صحرایی انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی ۴۸ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار در ۴ گروه ۱۲ تایی کنترل و سه گروه تجربی تقسیم شدند. موش‌ها (به جز گروه کنترل) با استرپتوزوتوسین (50 mg/kg/bw) دیابتی شدند. در گروه‌های تجربی زخمی به مساحت ۳ سانتی‌متر مربع در سمت چپ ناحیه کمری ایجاد شد. گروه کنترل سالم بوده و فقط بافر سیترات درون صفاقی دریافت نمود. گروه تجربی یک شامل موش‌های دیابتی بود که ترمیم زخم بدون استفاده از هیچگونه تیماری ارزیابی شد. محل زخم گروه تجربی ۲ توسط پماد اوسرین (یک گرم روزی دوبار) به مدت ۲۱ روز تیمار گردید. محل زخم گروه تجربی ۳ توسط پماد ترکیبی عصاره آبی هسته انگور توام با اوسرین روزی دو بار (نسبت عصاره به اوسرین یک به سه) به مدت ۲۱ روز تیمار گردید. روند ترمیم زخم به صورت ماکروسکوپی و میکروسکوپی ارزیابی شد. **یافته‌ها:** میزان مساحت زخم و درصد سطح زخم پس از تیمار ۲۱ روزه در گروه‌های تجربی دوم و سوم نسبت به گروه دیابتی بدون تیمار، کاهش آماری معنی‌دار و درصد بهبودی افزایش آماری معنی‌داری نشان داد ($P < 0.05$). در ارزیابی میکروسکوپی روند کلاژن‌سازی گروه تجربی سوم نسبت به سایر گروه‌ها افزایش نشان داد.

نتیجه‌گیری: تیمار پماد ترکیبی عصاره آبی هسته انگور توام با اوسرین می‌تواند سبب افزایش قابل توجه بهبودی زخم پوستی موش‌های صحرایی دیابتی گردد.

کلید واژه‌ها: دیابت، ترمیم زخم، هسته انگور، اوسرین، موش صحرایی

* نویسنده مسؤول: دکتر عبدالحسین شیروی، پست الکترونیکی shiravi738@yahoo.com

نشانی: دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، گروه زیست شناسی، تلفن و نمابر ۰۲۳-۳۵۲۲۵۰۲۴

وصول مقاله: ۱۳۹۵/۲/۵، اصلاح نهایی: ۱۳۹۵/۶/۱۶، پذیرش مقاله: ۱۳۹۵/۶/۲۰

مقدمه

در بیماری دیابت، تعداد زیادی از دستگاه‌های بدن از جمله پوست درگیر شده و زخم‌های دیابتی عوارض زودرس و دیررس فراوانی به همراه دارد. براساس پیش‌بینی‌های به‌عمل آمده، شیوع آن در جامعه انسانی در آینده افزایش خواهد یافت (۱). ایسکمی، نورپاتی و عفونت سه عامل پاتولوژیک مهم منجر به عوارض پای دیابتی است که معمولاً همراه با یکدیگر رخ می‌دهند. پاتوژنز، نورپاتی دیابت به‌خوبی شناخته شده نیست؛ اما تئوری‌های مختلف از جمله ایسکمی در اعصاب و تجمع سوربیتول در دیواره رگ مطرح است که مواد توکسیک تولید شده منجر به demyelination می‌شود (۲ و ۳). نورپاتی حسی منجر به کاهش حس درد و حرارت شده و فرد متوجه ضایعات وارد به پا نمی‌شود (۴). دیابت موجب افزایش رادیکال‌های آزاد در سطح سیتوپلاسم سلولی می‌شوند.

همچنین شدت آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد به میزان آنها، طول دوره مجاورت و به نوع آنها بستگی دارد (۵). مهم‌ترین رادیکال‌های آزاد شامل آنیون سوپراکسید، پراکسید هیدروژن و هیدروکسیل است و به‌طور معمول طی متابولیسم اکسیژن تولید می‌گردد. این ترکیبات به دلیل داشتن الکترون تک، بسیار واکنش‌پذیرند و تولید مقادیر بیش از حد آنها موجب آسیب به ماکرومولکول‌هایی نظیر DNA و پروتئین‌ها می‌شود (۶). آنتی‌اکسیدان‌ها منجر به کاهش قطعه قطعه شدن DNA در اثر استرس اکسیداتیو ناشی از دیابت می‌شوند (۷). کاروتنوئیدها، فلاونوئیدها و لیکوپن از آنتی‌اکسیدان‌های مهم رژیم غذایی ویتامین‌های A، E و C هستند. گیاهان دارای ترکیبات آنتی‌اکسیدان فراوان از جمله انواع مختلف ویتامین‌ها، کاروتنوئیدها و فنول‌ها هستند (۸).

انگور از خانواده (*Vitis Vinifera*) تیره Ampelidaceae جنس *Vitis* زیرجنس *Euvitis* و گونه انگور ایرانی است. پلی‌فنل‌های موجود در عصاره هسته انگور شامل فلاونوئیدها، اسید گالیک، مونومریک فلاوان ۳-کاتچین، اپی کاتچین ۳-گالیت و دیمریک، مونومریک و پلی‌مریک پروآنتوسیانیدین هستند. پروآنتوسیانیدین دimer موجود در هسته انگور موثرترین ترکیب آنتی‌اکسیدانی است (۹ و ۱۰). هسته انگور دارای پتانسیل بسیار بالایی در از بین بردن رادیکال‌های آزاد و مهار استرس اکسیداتیو دارد و نقش مهمی آن در مهار استرس اکسیداتیو به اثبات رسیده است. هسته انگور دارای ایزوستریک و مالیک اسید، قند طبیعی، پکتین، مونوگلیکوزید سیانیدین، تانن، آلکالوئیدها، فلاونوئیدها، اسید اسکوریک، آهن، کربوهیدرات، سدیم، منیزیم و ویتامین‌های C و A است که همگی علتی برای استفاده از عصاره هسته انگور سیاه برای درمان زخم‌های پوستی در موش‌های سالم و دیابتی است (۹ و ۱۰). این مطالعه به منظور تعیین اثر پماد ترکیبی عصاره آبی هسته انگور (*Vitis Vinifera*) توام با اوسرین بر ترمیم زخم‌های دیابتی موش صحرایی انجام شد.

روش بررسی

این مطالعه تجربی روی ۴۸ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۴۰-۱۸۰ گرم و سن شش هفته‌ای خریداری شده از موسسه انستیتو پاستور ایران - تهران در گروه زیست‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان طی سال ۱۳۹۵ انجام شد.

اصول اخلاقی کار بر روی حیوانات آزمایشگاهی رعایت گردید. حیوانات در شرایط کنترل شده به منظور تطابق با محیط آزمایشگاه، از نظر نور (۱۲ ساعت روشنایی - تاریکی)، دمای محیط ۲۲-۲۰ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۶۰-۴۰ درصد در اتاق حیوانات دانشکده پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان نگهداری شدند و هیچ‌گونه محدودیتی از نظر مصرف آب و غذا نداشتند. قفس‌های نگهداری حیوانات هفته‌ای ۵ بار ضدعفونی شده و با خرده‌های چوب تعویض می‌گردید.

حیوانات به ۴ گروه ۱۲ تایی به شرح زیر تقسیم شدند (۱۱).

الف) گروه کنترل (بدون دیابتی شدن و تیمار): فقط بافر سیترا را به صورت درون صفاقی دریافت نمود.

ب) گروه تجربی یک (دیابتی و بدون تیمار): از آغاز آزمایش دیابتی شدند و تا پایان آزمایش، ترمیم زخم بدون استفاده از هیچ‌گونه تیماری ارزیابی شد.

ج) گروه تجربی دو (دیابتی و تیمار با پماد اوسرین): بعد از دو ماه از القای دیابت و ایجاد زخم، محل زخم دوبار در روز توسط پماد موضعی اوسرین (۲-۱/۵ گرم) به مدت ۲۱ روز (زمان لازم برای بسته شدن زخم) تیمار گردید.

د) گروه تجربی سه (دیابتی و تیمار با پماد ترکیبی عصاره هسته

انگور توام با اوسرین): پس از گذشت دو ماه از القای دیابت و ایجاد زخم، محل زخم دوبار در روز توسط پماد ترکیبی عصاره آبی هسته انگور توام با اوسرین (نسبت عصاره به اوسرین: یک به سه) به صورت موضعی به مدت ۲۱ روز تیمار گردید (۱۱ و ۱۲).

حیوانات در گروه‌های تجربی با تزریق درون صفاقی استرپتوزوتوسین (STZ: Sterptozotosin) (۵۰ mg/kg) دیابتی شدند (۱۱ و ۱۳). سنجش میزان گلوکز سرم برای القای دیابت، ۷۲ ساعت بعد از تزریق استرپتوزوتوسین و با استفاده از خون سیاهرگ دمی، به کمک دستگاه کلوگوکارد صفر و یک انجام شد و موش‌های با گلوکز سرم بالاتر از ۲۵۰ mg/dl دیابتی در نظر گرفته شدند (۱۳).

انگور از شهرستان تاکستان در نزدیکی قزوین تهیه و توسط اساتید بیوسستماتیک گیاهی دامغان تایید گردید. هسته انگور سیاه به منظور عصاره‌گیری به مقدار کافی تهیه و توسط آب مقطر شسته شدند و در فور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند تا کاملاً خشک شوند. سپس هسته‌ها در هاون چینی کاملاً ساییده شدند و به مدت ۲۴ ساعت روی همزن مغناطیسی قرار گرفتند تا کاملاً حل شوند. محلول حاصل از کاغذ صافی عبور داده شد و تحت شرایط مناسب (درون فور ۳۷ درجه سانتی‌گراد) خشک شد. به مقدار ۳۰۰ گرم از پودر خشک شده عصاره با یک لیتر آب مقطر مخلوط و به مدت ۷۲ ساعت در دستگاه بن ماری قرار داده شد. سپس با دستگاه عصاره‌گیری (سوکسله) عصاره هسته انگور جدا گردید و با اوسرین به نسبت یک به سه مخلوط شد (۱۱). اوسرین به‌عنوان نرم کننده و مرطوب کننده برای زخم و به منظور درمان ایکتیوز، پسوریازیس و اگزمای دست و پا استفاده می‌شود (۷).

برای ایجاد زخم ابتدا با تزریق داخل صفاقی کتامین (K113) و زایلین (X1251) موش‌ها بیهوش شدند. موهای سمت چپ ستون فقرات تراشیده شد و نواحی موردنظر توسط محلول بتادین ۱۰ درصد ضدعفونی گردید. سپس با کمک خط کش شابلون، زخمی به مساحت ۳ سانتی‌متر مربع با استفاده از تیغ اسکالپل و تیغ جراحی ایجاد شد.

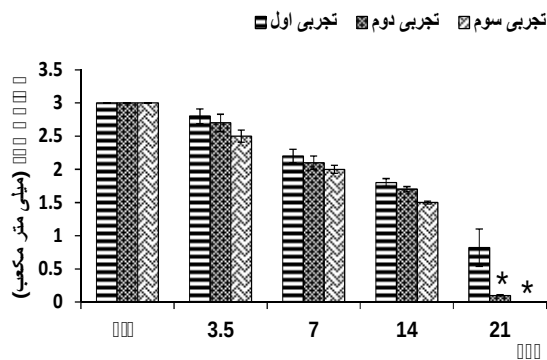
بهبود زخم با اندازه‌گیری سطح زخم، درصد بهبودی و مدت لازم برای بسته شدن کامل زخم (۲۱ روز) ارزیابی شد. سطح زخم در روزهای صفر، ۷، ۱۴، ۲۱ بعد از عمل با واحد میلی‌متر مربع به وسیله کولیس اندازه‌گیری شد. اعداد حاصل از سطح زخم، در فرمول درصد بهبودی قرار گرفت.

X: روز اندازه‌گیری سطح زخم

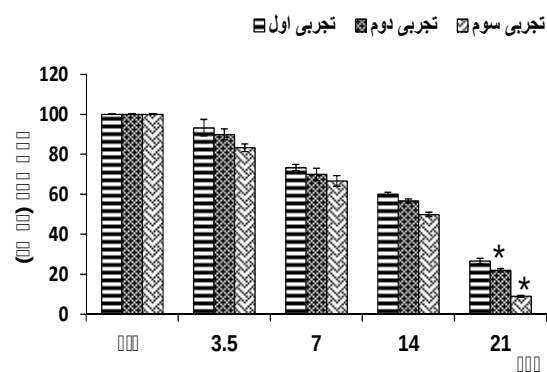
سطح زخم در روز X ضرب در عدد ۱۰۰ تقسیم بر سطح زخم در روز صفر = درصد سطح زخم در روز X

درصد سطح زخم در روز X = ۱۰۰ - درصد بهبودی در روز X

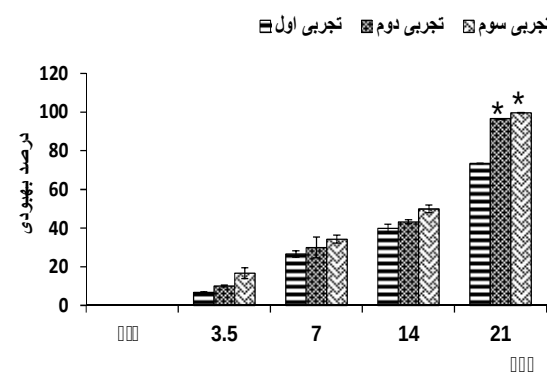
بعد از گذشت روزهای مورد آزمایش از موش‌ها نمونه‌گیری انجام شد و برای ثبوت بافت، نمونه‌های تهیه شده به مدت ۴۸ ساعت



نمودار ۱: مقایسه مساحت زخم در گروه‌های مورد مطالعه گروه تجربی اول: دیابتی با زخم پوستی بدون تیمار. گروه تجربی دوم: زخم پوستی توسط پماد اوسرین (یک گرم روزی دوبار) تیمار شد. گروه تجربی سوم: زخم پوستی توسط پماد ترکیبی عصاره آبی هسته انگور توام با اوسرین (روزی دو بار) تیمار شد. * گروه‌های تجربی دوم و سوم نسبت به گروه تجربی اول ($P < 0.05$)



نمودار ۲: مقایسه درصد سطح زخم در گروه‌های مورد مطالعه گروه تجربی اول: دیابتی با زخم پوستی بدون تیمار. گروه تجربی دوم: زخم پوستی توسط پماد اوسرین (یک گرم روزی دوبار) تیمار شد. گروه تجربی سوم: زخم پوستی توسط پماد ترکیبی عصاره آبی هسته انگور توام با اوسرین (روزی دو بار) تیمار شد. * گروه‌های تجربی دوم و سوم نسبت به گروه تجربی اول ($P < 0.05$)



نمودار ۳: مقایسه درصد بهبودی در گروه‌های مورد مطالعه گروه تجربی اول: دیابتی با زخم پوستی بدون تیمار. گروه تجربی دوم: زخم پوستی توسط پماد اوسرین (یک گرم روزی دوبار) تیمار شد. گروه تجربی سوم: زخم پوستی توسط پماد ترکیبی عصاره آبی هسته انگور توام با اوسرین (روزی دو بار) تیمار شد. * گروه‌های تجربی دوم و سوم نسبت به گروه تجربی اول ($P < 0.05$)

در محلول فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شدند. پس از آن که بافت ثابت گردید؛ برای قالب‌گیری در پارافین پاساژ بافت انجام شد. با استفاده از میکروتوم روتاری (نیمه اتوماتیک، ROTOCUT200، کمپانی SCILAB انگلستان) با تیغه ثابت، برش‌هایی به ضخامت ۵ میکرون به صورت متوالی تهیه گردید. برش‌ها به بن‌ماری منتقل شده و بر روی لام آغشته به چسب آلومین قرار داده شد. نمونه‌ها در دمای معمولی اتاق خشک شد و بعد از گذشت ۲۴ ساعت لام‌ها به روش هماتوکسیلین و انوزین رنگ‌آمیزی شدند.

به منظور مطالعات بافتی در روز ۷ و روز ۱۴ از نمونه‌ها برش‌های بافتی گرفته شد و به دلیل ترمیم زخم در روز ۲۱، نمونه بافتی در انتهای مطالعه گرفته نشد (۱۱ و ۱۲).

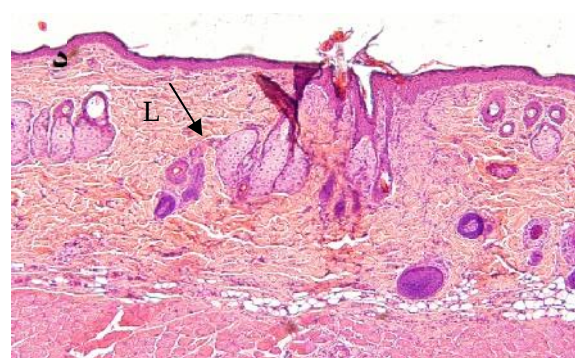
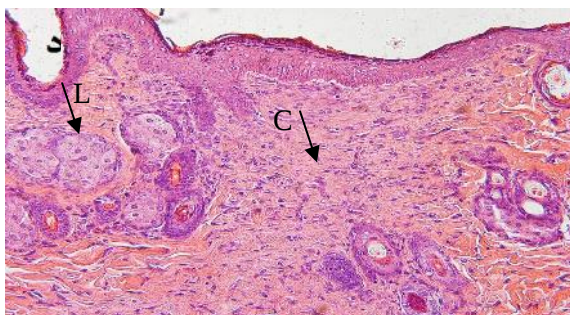
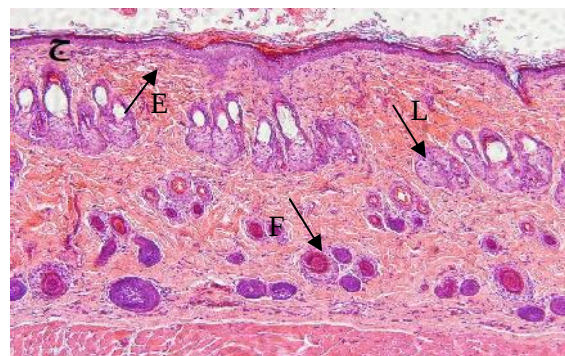
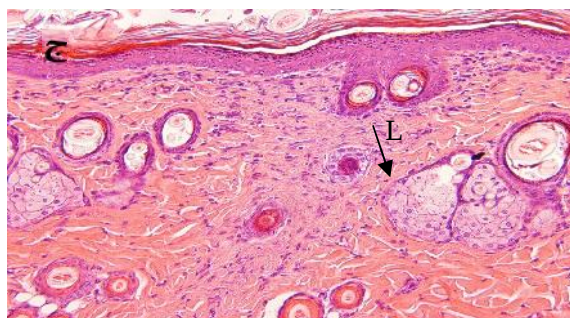
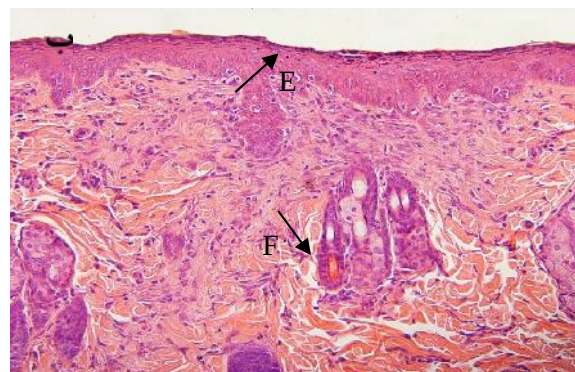
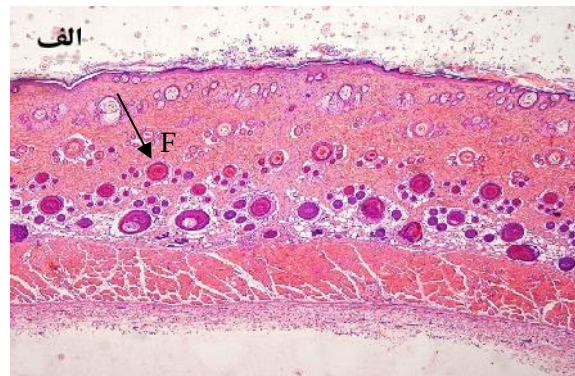
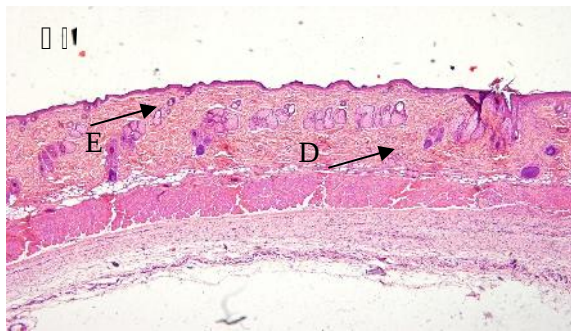
برای بررسی روند ترمیم زخم‌ها در روزهای تعیین شده طول و عرض زخم‌ها اندازه‌گیری شد. مساحت و درصد بهبودی زخم گروه‌های مختلف طی درمان براساس آزمون One way anova و آزمون تک‌میلی Tukey با استفاده از نرم افزار آماری SPSS-15 با یکدیگر در سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ مقایسه گردید.

یافته‌ها

میانگین و انحراف معیار سطح گلوکز سرم (میلی گرم بر دسی لیتر) گروه‌های کنترل، تجربی اول، تجربی دوم و تجربی سوم به ترتیب 390.82 ± 10.16 ، 45.42 ± 5.06 ، 300.42 ± 9.56 و 240.10 ± 6.56 بود. این میزان در گروه‌های تجربی نسبت به گروه کنترل از نظر آماری معنی‌دار بود ($P < 0.05$).

تیمار مصرف ۲۱ روزه در روند التیام زخم‌های پوستی ایجاد شده (میزان مساحت زخم و درصد سطح زخم) گروه‌های تجربی دوم و سوم نسبت به گروه تجربی یک کاهش آماری معنی‌داری نشان داد ($P < 0.05$) (نمودارهای ۱ و ۲). در گروه تجربی سوم کاهش قابل توجهی در مساحت زخم در روزهای مورد بررسی نسبت به گروه تجربی دوم مشاهده شد. به طوری که در روز ۲۱ در گروه تجربی سوم مساحت زخم تقریباً به صفر رسید. همچنین در گروه تجربی اول در مقایسه با گروه تجربی دوم مساحت زخم طی روزهای ۱۴، ۳، ۷/۵ و ۲۱ با فاصله زمانی بیشتری ترمیم یافت. تیمار ۲۱ روز از پماد اوسرین در گروه تجربی دوم و پماد ترکیبی عصاره هسته انگور و اوسرین در گروه تجربی سوم سبب افزایش آماری معنی‌داری در درصد بهبودی زخم‌های پوستی ایجاد شده گردید ($P < 0.05$) (نمودار ۳).

در همه گروه‌ها در روز هفتم التهاب حاد مشاهده گردید (شکل یک). در گروه تجربی سوم روند کلاژن‌سازی نسبت به سایر گروه‌ها افزایش نشان داد. در گروه تجربی یک به دلیل دیابتی بودن و فقدان تیمار، گلبول‌های سفید بیشتری مشاهده شد و ترمیم به علت قند بالا بسیار دیرتر از سایر گروه‌ها صورت گرفت (شکل ۲).



شکل ۲: بافت پوست پس از ۱۴ روز
بزرگ‌نمایی ۴۰ X، رنگ آمیزی H&E

شکل ۱: بافت پوست پس از ۷ روز
بزرگ‌نمایی ۴۰ X، رنگ آمیزی H&E

الف) گروه کنترل: سالم بوده و فقط بافر سیترات درون صفاقی دریافت نمود. ب) گروه تجربی دو: زخم پوستی توسط پماد اوسرین (یک گرم روزی دوبار) به مدت ۲۱ روز تیمار شد. ج) گروه تجربی یک: دیابتی بوده و زخم پوستی بدون هیچ‌گونه تیماری ترمیم یافت. د) گروه تجربی سه: زخم پوستی توسط پماد عصاره آبی هسته انگور توام با اوسرین روزی دو بار (نسبت عصاره به اوسرین یک به سه) به مدت ۲۱ روز تیمار شد.

(E) اپیدرم، (F) فولیکول مو، (L) بافت چربی، (D) درم، (C) کلاژن

سیکلوآکسیژناز ۲ باعث بهبود زخم در موش‌های سالم گردد (۱۳). در مطالعه حاضر وجود التهاب در ۷ روز پس از زخم می‌تواند به‌خاطر افزایش گلبول‌های سفید و فقدان مرهم باشد. در مطالعه فروتن و همکاران پالماتین با خاصیت ضد رادیکال آزاد سبب ترمیم زخم و تسریع بهبود زخم گردید (۱۲) که مشابه نتایج مطالعه حاضر بود.

هسته انگور سرشار از اسید لینولئیک (امگا۶)، ویتامین E (توکوفرول)، پروآنتوسیانیدین‌ها و ویتامین C است. به احتمال وجود ویتامین C و E سبب وجود خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی عصاره هسته انگور است که سبب کلاژن‌سازی و ترمیم زخم می‌شود (۱۷). مطالعه ما دارای چند محدودیت بود؛ از جمله تفاوت موجود بین مداخلات انجام شده، تفاوت در مساحت زخم، درصد سطح زخم، درصد بهبودی بین گروه‌ها و این که نمونه‌ها باید مدت زمان طولانی را در حالت دیابتی بوده و با توجه به جثه و نیروی موش‌ها تلفات شایان توجهی وجود داشت. همچنین در مطالعه حاضر زخم‌های گروه کنترل دیابتی، کمترین میزان رگ‌زایی را داشت که این اختلال بعد از درمان با عصاره آبی هسته انگور احتمالاً بهبود یافته است. با توجه به این که تشکیل عروق جدید از مویرگ‌هایی که قبلاً وجود دارند؛ باعث افزایش تغذیه بافت و نفوذ ترکیبات ضروری برای فرایند ترمیم به محل زخم می‌شوند و روند ترمیم زخم را تسریع می‌بخشند؛ در مطالعه حاضر نیز اثر مثبت گیاه بر رگ‌زایی، احتمالاً از جمله دلایل التیام‌بخشی در گروه‌های دیابتی بوده است.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که پماد ترکیبی عصاره آبی هسته انگور توام با اوسرین می‌تواند سبب کاهش قابل توجهی در طول مدت بهبودی زخم پوستی موش‌های صحرایی دیابتی گردد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه (شماره ۱۴۲۳۰۵۱۷۹۳۲۰۰۶) خانم هاله لولاآور برای اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته زیست‌شناسی سلولی - تکوینی از دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان بود. بدین وسیله از همکاری اعضای گروه زیست‌شناسی که ما را در اجرای تحقیق یاری نمودند؛ سپاسگزاری می‌نمایم.

References

1. Bagheri M, Molzemi S, Hadizadeh M, Aminian M. [Study of Alcohol Extract of Sesame on Wound Healing of Diabetic Male Wistar Rats]. J Neyshabur Univ Med Sci. 2016; 3(4): 1-9. [Article in Persian]
2. Potdar D, Hirwani RR, Dhulap S. Phyto-chemical and pharmacological applications of Berberis aristata. Fitoterapia. 2012 Jul; 83(5): 817-30.
3. Beveridge TH, Girard B, Kopp T, Drover JC. Yield and composition of grape seed oils extracted by supercritical carbon dioxide and petroleum ether: varietal effects. J Agric Food Chem. 2005 Mar; 53(5): 1799-804.
4. Ekmektzoglou KA, Zografos GC. A concomitant review of the effects of diabetes mellitus and hypothyroidism in wound

در بافت‌های ارایه شده به دلیل قند بالا در گروه‌های تجربی اول و دوم تغییرات در لام‌ها یکسان نبود. همچنین در گروه کنترل که موش‌های غیردیابتی بودند و فقط بافر سیرتات به‌منظور حفظ تعادل بدن دریافت کردند؛ نیز تغییرات بافتی از نوع التهاب حاد در ۷ روز پس از زخم مشاهده شد.

بحث

با توجه به نتایج مطالعه حاضر تیمار پماد ترکیبی عصاره آبی هسته انگور توام با اوسرین سبب تسریع در ترمیم زخم‌های پوستی موش‌های دیابتی گردید.

تاکنون برای التیام زخم بیماران دیابتی درمان‌هایی شامل استفاده از سوسپانسیون کراتینوسیت‌ها و فیبروبلاست‌ها، فیبرونکتین برون‌زا، پروتازها و عوامل رشد مانند عامل رشد مشتق شده از پلاکت پیشنهاد شده است (۱۴).

در افراد دیابتی به‌طور طبیعی ترمیم زخم با فاصله زمانی بیشتری بهبود می‌یابد. علت آن است که گلوکز بالای خون منجر به تداوم غیرطبیعی مرحله التهاب، جلوگیری از ازدیاد سلول‌ها، سطح بالای متاپروتئازهای Metalloproteinases و افزایش سیتوکین‌های التهاب‌زا می‌گردد (۱۵).

نارسایی در ترمیم زخم در بیماران دیابتی ممکن است ناشی از عللی نظیر التهاب مزمن در محل زخم، تغییرات ایجاد شده در عروق کوچک، تکثیر آندوتلیال در شریانچه‌های کوچک و ضخیم شدن غشای پایه مویرگ‌ها، مساعد بودن محیط زخم برای ابتلا به عفونت، کاهش جریان خون و هیپوکسی ناشی از آن به علت کاهش گلوکز داخل باخته‌ای، نارسایی در عروق‌زایی جدید، کاهش گلوکز داخل باخته‌ای، کاهش در تولید و شکل‌گیری کلاژن، افزایش رادیکال‌های آزاد اکسیژن و افزایش گلوکز سرم باشد که ممکن است عمل بیگانه‌خواری ماکروفاژها را مهار نموده و بدین ترتیب مواد نکروتیک و زائد از موضع زخم حذف نشده و بدین ترتیب فیبروبلاست‌ها و مواد غذایی در زخم کاهش می‌یابد (۱۶). همچنین التهاب به وسیله پروستاگلاندین در جایی که سیکلوآکسیژناز ۲ در سنتز آنها نقش کلیدی ایفا می‌کند؛ ایجاد می‌شود. لذا عصاره آبی هسته انگور ممکن است به علت خاصیت سرکوب‌کنندگی

healing. World J Gastroentero. 2006; 12(17): 2721-9. doi: 10.3748/wjg.v12.i17.2721

5. Laitiff AA, Teoh SL, Das S. Wound healing in diabetes mellitus: traditional treatment modalities. Clin Ter. 2010; 161(4): 359-64.

6. Suba V, Murugesan T, Rao RB, Ghosh L, Pal M, Mandal SC, et al. Antidiabetic potential of Barleria lupulina extract in rats. Fitoterapia. 2004 Jan; 75(1): 1-4.

7. Kumar B, Vijayakumar M, Govindarajan R, Pushpangadan P. Ethnopharmacological approaches to wound healing--exploring medicinal plants of India. J Ethnopharmacol. 2007 Nov; 114(2): 103-13.

8. Saad B, Azaizah H, Said O. Tradition and perspectives of arab herbal medicine. A review. Evid Based Complement Alternat Med. 2005; 2(4): 475-79. doi: 10.1093/ecam/neh133
9. Kim H, Deshane J, Barnes S, Meleth S. Proteomics analysis of the actions of grape seed extract in rat brain: technological and biological implications for the study of the actions of psychoactive compounds. Life Sci. 2006 Mar; 78(18): 2060-5.
10. Tehranipour M, Behnam Rassouli M, Rahimi A. Maternal Diabetes proliferate the choroid plexus and enlarge the lateral ventricle in brain of new born rats. Endocrine Abstracts. 2008; 15(2): 147-57.
11. Shiravi A, Sayyad Zomorodi M. [The study effect of Rubus Fruticosus extract on cutaneous wound healing in diabetic wistar rat]. Iran J Diabetes Metabol. 2015; 15(1): 1-8. [Article in Persian]
12. Lee WC, Kim JK, Kang JW, Oh WY, Jung JY, Kim YS, et al. Palmatine attenuates D-galactosamine/lipopolysaccharide-induced fulminant hepatic failure in mice. Food Chem Toxicol. 2010 Jan; 48(1): 222-8. doi: 10.1016/j.fct.2009.10.004
13. Foruotan B, Molzemi S, Harati por H, Molzemi S, Bolbol haghghi N, Alam al-Hoda FS, et al. [Evaluation of palmatine effects on cutaneous wound healing in normal and diabetic rats]. Iran J Diabetes Metabol. 2014; 13(5): 393-99. [Article in Persian]
14. Isah AB, Ibrahim YK, Abdulrahman EM, Ibrahim MA. The hypoglycaemic activity of the aqueous extract of Stachytarpheta angustifolia (Verbanaceae) in normoglycaemic and alloxan-induced diabetic rats. Pak J Biol Sci. 2007 Jan; 10(1): 137-41.
15. Wändell PE. Quality of life of patients with diabetes mellitus. An overview of research in primary health care in the Nordic countries. Scand J Prim Health Care. 2005 Jun; 23(2): 68-74.
16. Li WL, Zheng HC, Bukuru J, De Kimpe N. Natural medicines used in the traditional Chinese medical system for therapy of diabetes mellitus. J Ethnopharmacol. 2004 May; 92(1): 1-21.
17. Singh J, Kakkar P. Antihyperglycemic and antioxidant effect of Berberis aristata root extract and its role in regulating carbohydrate metabolism in diabetic rats. J Ethnopharmacol. 2009 May; 123(1): 22-6. doi: 10.1016/j.jep.2009.02.038

Original Paper

Effect of combination of topical ointment of aqueous extract of grape seed (*Vitis Vinifera*) and Eucerin on wound healing in diabetic rats

Lolaavar H (B.Sc)¹, Shiravi AH (Ph.D)^{*2}, Hojati V (Ph.D)³

¹M.Sc Student in Cellular and Developmental Biology, Department of Biology, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran. ²Associate Professor, Department of Biology, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran. ³Assistant Professor, Department of Biology, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran.

Abstract

Background and Objective: Diabetic mellitus is one of the main health problems of diabetic subjects skin wound. This study was done to evaluate the effect of topical ointment produced from aqueous extract of grape seed (*Vitis Vinifera*) plus Eucerin on wound healing in diabetic rats.

Methods: In this experimental study, 48 male Wistar rats were randomly allocated into control, first, second and third experimental groups. Animals in control group were received only buffer citrate, interaperitonally. Diabetes was induced by 55 mg/kg/bw of Streptozotocin in three experimental groups. Skin wound (2×3 cm²) was created in left side of the lumbar region in three experimental groups. Animals in experimental group 1 did not received any treatment. The wounds of animals in experimental group 2 were treated with topical ointment of Eucerin twice a day. The wounds of animals in experimental group 3 were treated with topical ointment of aqueous extract of grape seed plus Eucerin with a ratio of 3:1 for 21 days twice a day. Wound healing process was evaluated using macroscopic and histological method.

Results: The mean area and percentage of wound after treatment was significantly reduced in experimental group 2 and 3 in compare to experimental group 1 (P<0.05). The percentage of improvement wound healing was significantly increased in experimental groups 2 and 3 in compare to experimental group 1 (P<0.05). Synthesis of collagen fibers was increased in experimental group 3 in compare to experimental group 2 and 1.

Conclusion: Topical application of aqueous extract of grape seed with ointment of Eucerin accelerates skin wound healing in diabetic rats.

Keywords: Diabetes mellitus, Wound healing, Grape seed, Eucerin, Rat

*** Corresponding Author:** Shiravi AH (Ph.D), E-mail: shiravi738@yahoo.com

Received 24 Apr 2016

Revised 6 Sep 2016

Accepted 10 Sep 2016