مقاله تحقیقی

مجله دانشگاه علوم پزشکی بابل
سال ۱۳۹۸، دوره ۲۱، صفحه ۳۵۶-۳۴۹

اثر لیپیداحشایی برمیزان تغییرات هیدروکسی پرولین و هیستوپاتولوژی در روند ترمیم زخم جراحی در موش صحرایی نر

کیمیا دیده ور [۱]، غلامعلی جاودان (PhD)[۲]، سیدحسین داوودی (PhD)[۳*]

۱-گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی البرز، کرج، ایران
۲-مرکز تحقیقات جراحی کم تهاجمی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران
۳-مرکز تحقیقات سرطان، پژوهشکده تحقیقات تغذیه ای و صنایع غذایی کشور، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

دریافت: ۹۸/۲/۱۴، اصلاح: ۹۸/۵/۱۵، پذیرش: ۹۸/۵/۲۲

خلاصه

سابقه و هدف: هزینه های بالای درمان و توانبخشی منجر به افزایش گرایش به استفاده از ترکیبات طبیعی و ارزان تر شده است. عصاره بافت چربی حاوی درصد بالایی از انواع اسیدهای چرب ضد التهاب موثر بر بهبود زخم است که تاثیرترکیب این اسید چرب ها درعصاره چربی تابحال مورد بررسی قرارنگرفته است. لذا هدف از این مطالعه بررسی اثرات ضدالتهابی و ترمیمی لیپید احشایی گوسفند برترمیم زخم پوست موش صحرایی می باشد.

مواد وروش ها: در این مطالعه تجربی، ۵۰ سر موش صحرایی نژاد Sprague-Dawley با وزن نسبی ۲۵۰-۳۰۰ gr انتخاب و بطور تصادفی به در ۲ گروه ۲۵تایی، تیمار و شاهد بررسی شدند. پس از تهیه لیپید احشایی از ناحیه اطراف کلیه بره های جوان ذوب و استریل کردن آن، زخم ها به روش Excisional Wounding بر پوست پشت آنها تحت بیهوشی ایجاد شد و سطح زخم گروه تیمار روزانه با۱۰cc از آن توسط سرنگ آغشته شد. در روزهای ۵، ۱۰، ۱۲، ۱۵ ارزیابی اندازه زخم روزانه توسط یک کولیس دقیق و نرم افزار Image J انجام گرفت. بیوپسی بافتی از هر دو گروه کنترل و تیمار برای مقایسه میزان اپیتلیزاسیون، آرایش رشته های کلاژن، سلولهای التهابی، واسکولاریزیشن و فیبروپلازی در محل انجام شد. همچنین از اسکار زخم روز ۲۱ برای بررسی مقدار هیدروکسی پرولین نمونه برداری شد.

یافته ها: طبق یافته های مورفومتری در روز ۱۰، گروه تیمار با متوسط مساحت زخم ۴۳/۶±۰/۴۴ mm^2 بیشترین و گروه شاهد با متوسط مساحت زخم ۹۸/۵±۰/۰۷ mm^2 کمترین میزان جمع شدگی زخم مشاهده شد همچنین در روز ۵ درصد جمع شدگی دو برابر بیشتر از گروه شاهد بود ($p<0/05$). در بررسی هیستولوژِی گروه تیمار در روز دهم بافت ترمیمی و رشته های کلاژن سازمان یافتگی بهتری داشتند و در مجموع امتیاز پارامترهای ترمیم، دارای متوسط امتیاز۲/۷۴±۰/۱۷ در مقایسه با گروه کنترل با امتیاز ۱/۴۲±۰/۱۶ از ۳ امتیاز کل بود. همچنین اختلاف مقادیر هیدروکسی پرولین پوست سالم و اسکار زخم‌های گروه تیمار (۳/۶۹±۰/۲۳ mg/g)کمتر از گروه شاهد (mg/g ۶/۰۸±۰/۳۲ بود($p<0/05$).

نتیجه گیری: طبق شواهد این مطالعه استعمال لیپید احشایی حیوانی، با اثرات ضدالتهابی و همچنین تحریک ساخت کلاژن و افزایش هیدروکسی پرولین بافت، در التیام زخم های جلدی مؤثر است. همچنین خون رسانی ومهاجرت سلولهای موثر در ترمیم زخم را نیز تقویت خواهد کرد.

واژه های کلیدی: چربی احشایی، اسیدچرب، موش صحرایی، زخم، هیدروکسی پرولین.

مقدمه

شیوع زخم های مزمن در اجتماع ۴/۵ در ۱۰۰۰ نفر و زخم های حاد حدوداً دوبرابر یعنی ۱۰/۵ در ۱۰۰۰ نفر گزارش شده است (۱). درمان زخم ها و سوختگی ها هنوز یکی از مشکلات اصلی کشور های پیشرفته است. شناخت داروهای ارزان قیمت و موثر (از جمله بافت چربی) که عوارض جانبی ترمیم زخم کمتری دارند امروزه یکی از اهداف تحقیقات است(۳و۲). در طب سنتی نیز روغن‌های حیوانی برای ترمیم زخم مورد استفاده قرار گرفته اند همچنین از عصاره گیاهان مختلفی برای درمان بیماری های پوستی استفاده شده است که دارای ترکیبات موثر مشترک با روغن‌های حیوانی هستند (۴) همچنین مطالعات برون تنی در بافت موش صحرایی نیز نشان می دهد که بافت چربی رشد پوست را تحریک می کند (۵). فرآیند ترمیم زخم شامل چهار مرحله مجزای انعقاد، التهاب، تکثیر و بازسازی می باشد(۸-۶). بافت چربی علاوه بر سلول‌های ادیپوسیت، شامل فیبروبلاست و سلول‌های اندوتلیال عروقی و انواع مختلفی از سلول های ایمنی مانند ماکروفاژها (ATMS) است (۱۰و۹). همچنین به عنوان یک غده اندوکرین هورمون هایی از قبیل لپتین و استروژن ورستین و سیتوکین‌ها و عوامل رشد و پروستاگلاندین و انژیوتانسینII و فاکتور نکروزتوموری الفا و اینترلوکین و فاکتور رشد اندوتلیال عروقی(۱۱) VEGF و فاکتور رشد شبه انسولینIGF-I (۱۲) فاکتور تحریک

▣ این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی به شماره ۱۵۱۸۶ دانشگاه علوم پزشکی ایران می باشد.
* مسئول مقاله: دکتر سیدحسین داوودی
آدرس: تهران، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، پژوهشکده تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور. تلفن: ۲۳۸۷۱-۰۲۱
E-mail: hdavoodi1345@gmail.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1398.21.1.53.8]
[DOI: 10.22088/jbums.21.1.349]

کننده ماکروفاژ MCSF تولید می کند که در روند ترمیم بافت موثرند(۱۳). چربی از نوع زیرجلدی بین لایه درم و فاسیا قرار دارد و چربی از نوع احشایی در حفره شکمی و اطراف ارگان های بدن قرار دارد که عموما نیمه جامد هستند (۱۵و۱۴). لینولئیک اسید با شرکت در ساخت متالوپروتئین ها، در زدودن بافت های آسیب دیده از بستر زخم و ضمن القا فرایند گرانولاسیون به عنوان یه ایمونوژن عمل کرده و پوست را در مقابل عوامل شیمیایی و آنزیمی محافظت می‌کند. عصاره لیپید احشائی نیز حاوی درصد قابل توجهی از چندین اسیدچرب امگا۳ بصورت همزمان می‌باشد (۱۵و۱۳). غنی شدن غشای گلبول های قرمز با اسیدهای چرب امگا ۳، با افزایش قابلیت انعطاف پذیری گلبول های قرمز باعث افزایش خونرسانی و دسترسی مواد غذایی مورد نیاز برای ترمیم می‌گردد(۱۶).

برای توضیح مکانیسم این نتایج یک فرض موجود آن است که این اسیدهای چرب از فرو رفتن اسید آراشیدونیک به داخل فسفولیپید غشایی جلوگیری کرده و خود جایگزین این اسید میگردد که نتیجه آن کاهش سوبسترای لازم برای تولید پروستاگلاندین و لکوترین هاست(۱۷). در ضمن اسیدهای چرب توسط آنزیم‌های اکسیژناز متابولیزه شده و محصولاتی از قبیل پروستاگلاندین E2 و ترومبوکسان A3 را تولید می‌نمایند که دارای توان کمتری در مقایسه با محصولات مشتق از اسید آراشیدونیک بوده و فعالیت این محصولات را از طریق رقابت کاهش می‌دهند (۱۴). علاوه بر آن با ایجاد یک لایه ضدرطوبت بر روی زخم ضمن حفظ رطوبت مناسب از وارد شدن رطوبت اضافه هوا و محیط که در روند طبیعی اختلال ایجاد می‌کنند، جلوگیری می‌کند(۱۹و۱۸). وجود ویتامین های A و D در روغن حیوانی نیز در ساخت کلاژن بی تاثیر نیست(۲۰). پژوهشگران گزارش کردند که، وفور اسیدهای چرب ضروری در روغن حیوانی دلایل احتمالی دیگر تاثیر آن در ترمیم زخمها است (۱۹) که مهم‌ترین آنها لینولئیک اسید و لینولنیک اسید می باشند، که در پستانداران جزء اسیدهای چرب ضروری بشمار میروند (۱۷و۱۴). اسیدهای چرب موجود در لیپید احشایی گوسفند عبارتند از: پالمیتیک اسید ۲۶٪ استئاریک اسید ۱۴٪ میریستیک اسید ۳٪ اولئیک اسید ۴۷٪ پالمیتوئیک اسید ۳٪ لینولئیک اسید: ۳٪ لینولنیک اسید: ۱٪ لینولئیک اسید به عنوان یک عامل کموتاکتیک برای ماکروفاژ ها و در تنظیم سنتز کلاژناز به عنوان یک عنصر اصلی عمل می‌کند (۲) و در سنتز پروتئین، اسید های نوکلئیک، غشای سلولی و تقسیم سلولی موثراست (۲۱). همچنین جریان خون موضعی از مهمترین عوامل ترمیم زخم به دلیل فرآیند های ایسکمی–رپرفیوژن می باشد (۲۴–۲۲). فرآیند ایسکمی–رپرفیوژن با تغییر در میزان ROS موجود در محل آسیب، بر این فرآیند اثر مستقیم دارد. هیدروکسی پرولین یکی از مهمترین شاخص اندازه گیری سنتز کلاژن است لذا برای سنجش میزان کلاژن سازی بافت درحال ترمیم بعنوان معیار التیام زخم از این معیار استفاده شد(۱۷). مقایسه ساختاری و عملکردی چربی احشایی و زیر جلدی نشان داده است که visceral adipose tissue(VAT) در مقایسه با adipose tissue (subcutaneous SCAT)سلول و عروق و اعصاب و سلول‌های التهابی و ایمنی بیشتری دارد(۲۵). همچنین VAT ظرفیت بیشتری برای تولید اسیدچرب ازاد دارد (۹). تاکنون مطالعه ای در مورد اثر بافت چربی احشایی گوسفند در درمان زخم جراحی در موش صحرایی نر انجام نگرفته است و در این مطالعه سعی بر آن بوده است که تغییرات ریخت شناسی و بافت شناسی و همچنین هیدروکسی پرولین بافت حین ترمیم زخم تحت تاثیر بافت چربی احشایی گوسفندی در مدل حیوانی مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش ها

تهیه و نگهداری حیوانات: در این مطالعه تجربی پس از تصویب در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی البرز با کد ۱۳۹۶.۳۶ .Abzums.Rec ۵۰ موش صحرایی نر نژاد اسپیراگو با وزن نسبی۲۰۰–۳۰۰ g و سن متوسط ۱۲ هفته انتخاب و از پژوهشگاه رویان تهران خریداری شد. هریک از موش صحرایی ها در قفسه های جداگانه با غذای پلت و آب سالم تغذیه ونگهداری شدند. تحقیق در اتاقی با شرایط کنترل شده (درجه حرارت ^{o}C ۲۴و رطوبت نسبی ۷۰٪) با روشنایی طبیعی انجام گرفت. زایلازین (۱۰mg/kg I.M) و کتامین (۶۰mg/kg I.M) و اسید کلریدریک و کلروامین T هیدراته ۹۵٪ ومعرف ارلیش (۲٫۵ g of p-dimethylaminobenzaldehyde, 2.7 ml of 12 N HCl, 16 ml of isopropanol)از شرکت سیگما(Sigma Aldrich, Steinheim, Germany)خریداری شد.

تهیه پماد: لیپید احشائئ اطراف کلیه بره جوان از کشتارگاه دام تهران تهیه و پس از شستشو کامل با نرمال سالین و قطعه قطعه کردن آنها با قرار گیری ۴۰ دقیقه درمجاورت لامپ یو وی (UV) استریل شد و قبل از استعمال درظرف درپوشیده در دمای ^{o}C ۶۰ به تدریج ذوب و پس از کاهش دمای نسبی قابل استعمال گشت.

نحوه ایجاد تروما: پس از القای بیهوشی موش های صحرایی با زایلازین ۲٪ و کتامین ۱۰٪، سطح پشتی آنها در ناحیه کتف آماده سازی و موهای آن کوتاه شد. سپس زخم تمام ضخامت دایره ای شکل به قطر ۱/۵ cm با استفاده از پانچ بیوپسی استریل ایجاد شد.

با ایجاد زخم به روش Excisional Wounding لایه های اپیدرم، درم و هایپودرم و Panniculus Carnosus به طور کامل برداشته شدند. پس از ایجاد تروما، به دو گروه ۲۵ تایی تیمار و شاهد تقسیم گردیدند. گروه اول تحت عنوان گروه تیمار با استعمال موضعی روزانه ۱۰cc لیپید ذوب شده به مدت ۲۱ روز پیاپی تیمار شدند و گروه شاهد نیز دارویی دریافت نکرد. در روزهای ۵، ۱۰، ۱۲، ۱۵ و ۲۱ از هر دو گروه ۵ سر موش به صورت تصادفی انتخاب شد. اندازه گیری زخم و بررسی مورفولوژیک و همچنین نمونه برداری از بافت زخم تحت بیهوشی جراحی با اتر انجام گرفت و سپس موش‌های مذکور حذف شدند.

جمع آوری و تحلیل داده های مورفومتریک و هیستوپاتولوژیک: روزانه قبل از تجویز دارو سطح زخم ها با یک تامپون استریل آغشته به سرم فیزیولوژی تمیز شدند. سپس با قرار دادن یک مارکر در مجاورت و به موازات لبه های زخم بدون فشار یا کششی بر پوست مجاور اندازه گیری قطرهای زخم توسط کولیس و بررسی تصویربرداری دیجیتالی در بررسی مورفومتریک فرآیند التیام زخم استفاده شد، سپس باتوجه به میانگین داده ها از فرمول زیر درصد بهبودی زخم محاسبه گردید:

۱۰۰×مساحت زخم در روز اول + (مساحت زخم در روز اول – مساحت زخم در روزx) =درصد بهبودی زخم

مطالعات باف شناسی: در روز های ۵، ۱۰، ۱۲، ۱۵ از کل ضخامت زخم توسط پانچ بیوپسی به قطر ۲ cm ناحیه ترمیم شده، نمونه هیستوپاتولوژی تهیه شد. لامها با استفاده از رنگ آمیزی تری کروم و Hematoxylinand Eosin (H&E) برای فاکتورهای التیام زخم موردبررسی قرار گرفتند (جدول۱).

[DOR: 20.1001.1.15614107.1398.21.1.53.8]
[DOI: 10.22088/jbums.21.1.349]

اندازه گیری هیدروکسی پرولین بافت: میزان هیدروکسی پرولین نمونه های بافتی، با استفاده از روش Summa وهمکاران، که به وسیله محققین اصلاح گردید و به ۲ روش تصویربرداری دیجیتال و هیستولوژی اندازه گیری شد(۱۷). در این روش ابتدا نمونه های بافتی با استفاده از اسید کلریدریک ۶ مولار و در دمای ۱۰۵ ^{o}C بمدت ۱۶ ساعت هیدرولیز شدند. سپس با اضافه کردن محلول کلورامین T، هیدروکسی پرولین در آنها اکسید شد. با اضافه کردن معرف ارلیش به محصول حاصل، ترکیب رنگی ایجاد شد و پس از استخراج تولوئن در طی دو مرحله، توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر میزان جذب نوری آن در طول موج ۵۵۰ نانومتر قرائت شد.

بررسی آماری نتایج: داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS ۱۹ تجزیه وتحلیل و برای مقایسه نتایج بین گروهها از آزمونهای آماری آنالیز واریانس یکطرفه به همراه آزمون توکی (one way ANOVA و Tukey) استفاده گردید و $p<۰/۰۵$ معنی دار در نظر گرفته شد.

جدول ۱. امتیاز بندی متغیرهای هیستوپاتولوژی

امتیاز	اپیتلیزاسیون	التهاب	رگزایی	مقدار رسوب کلاژن	آرایش کلاژنی	فیبروپلازی
۰	بی تغییر	بی تغییر	بی تغییر	بی تغییر	به طور کامل نامنظم	بی تغییر
۱	یک سوم سطح تحتانی	خفیف	خفیف	خفیف	کمی نامنظم	خفیف
۲	دو سوم سطح تحتانی	متوسط	متوسط	متوسط	متوسط	متوسط
۳	کامل	شدید	شدید	شدید	شدید	شدید

یافته ها

یافته های مورفومتریک: در روز پنجم دوره تیمار اندازه زخم در هردو گروه در مقایسه با روز صفر در گروه تیمار چربی احشایی کاهش چشمگیری داشت. با توجه به میانگین مساحت زخم های روزپنجم در گروه های تیمار با چربی احشایی ۱۷/۴۲±۰/۷۳ $mm^{۲}$ در مقایسه با گروه کنترل ۲۳/۰۲±۰/۳۴ mm^2 بیشترین میزان جمع شدگی زخم مشاهده شد (شکل۱). در روز دهم دوره تیمار، در گروه تیمار با چربی احشایی با متوسط اندازه زخم (۴۳/۶±۰/۴۴mm^2) بیشترین و گروه شاهد با متوسط اندازه (۹۸/۵±۰/۰۷ mm^2) کمترین میزان جمع شدگی زخم مشاهده شد (نمودار۱). درنهایت داده های مورفومتریک مابین گرو هها در روزهای مورد مطالعه غیر از روز۱۲و۱۵ از نظر آماری معنی دار بود($p<۰/۰۵$).

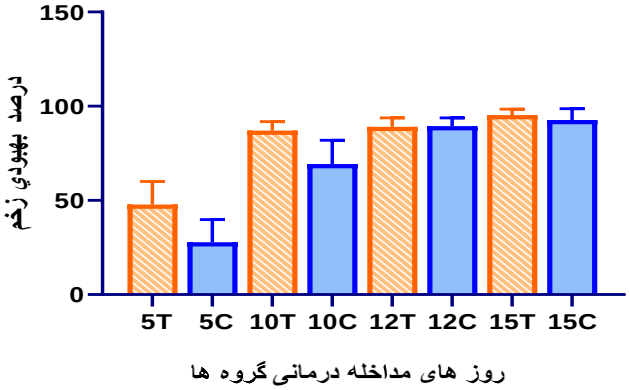
یافته های هیستوپاتولوژیک: در روز پنجم درمان در گروه تیمار رویش بافت پوششی از کناره زخم آغاز شده بود و پوستول روی زخم را پوشانده و تعداد سلو لهای آماسی به نسبت گروه کنترل کاهش بیشتری داشته است. در بافت همبند هیپودرم ارتشاح فیبروبلاست ها و سلولهای آماسی به ویژه نوتروفیل ها به همراه رسوب فیبرین در داخل بافت همبند سست قابل مشاهده بود. در گروه شاهد، ارتشاح شدیدتر سلول‌های آماسی در بستری از فیبرین در محل زخم وجود داشت، ادم و پرخونی مشاهده شد و رویش بافت پوششی آغاز شده بود. در روز ۱۰ دوره تیمار در گروه ها مهاجرت سلول های بازال از لبه های زخم ادامه داشت. در گروه تیمار، بافت گرانولر زخم را اشغال کرده و این مقطع به عنوان بهترین لام روز۱۰ تشخیص داده شد (شکل ۲ الف). در گروه کنترل بر خلاف گروه تیمار، بافت همبند سست وجود نداشت و بافت گرانولر پرسلول و پرعروق بخش کمتری از زخم را اشغال کرده بود. گروه تیمار در روز ۱۵بافت ترمیمی سازمان یافتگی بهتری داشت و اپیتلیوم ضخیم تمام سطح زخم را پوشانده بود. رشته های کلاژن ضخیم تر و سازمان یافته تر بودند، و در مجموع پارامترها، دارای متوسط امتیاز ۲/۸۵±۰/۳۳ بود. در صورتیکه به لحاظ خصوصیات هیستوپاتولوژیکی و بلوغ بافتی تفاوت چشمگیری در روز ۱۲ و ۱۵ دوره بین دوگروه تیمار و کنترل وجود نداشت (جدول ۲).

تغییرات هیدروکسی پرولین بافت زخم: اختلاف بین مقادیر هیدروکسی پرولین پوست سالم و اسکار زخم درگروه تیمار (۳/۶۹±۰/۲۳) بطور معنی داری کمتر از زخمهای گروه شاهد(۶/۰۸±۰/۳۲) بود (جدول ۳). این تفاوت نشان داد که درمان با لیپیداحشائی در مقایسه با زخمهای شاهد به طور معنی داری باعث افزایش میزان هیدروکسی پرولین بافت التیامی شده است. ($p<۰/۰۵$).



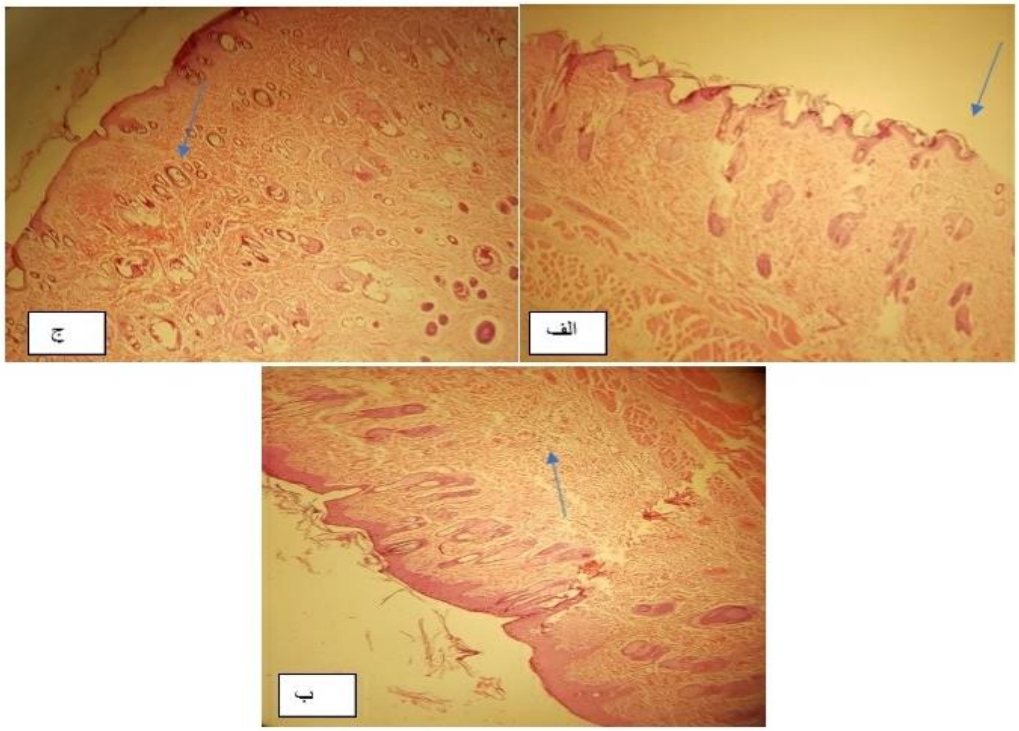
ب الف

شکل ۱. مقایسه ترمیم زخم روز ۵ الف) گروه شاهد ب) گروه تیمار



نمودار ۱. مقایسه درصد بهبودی زخم در گروههای مختلف
گروه روز ۵ کنترل :5C، گروه روز ۵ تیمار5T: ($p<۰/۰۵$). گروه روز۱۰ کنترل:10C، گروه روز۱۰ تیمار10T:($p<۰/۰۵$).

[DOR: 20.1001.1.15614107.1398.21.1.53.8]
[DOI: 10.22088/jbums.21.1.349]



شکل ۲. مطالعه هیستولوژی در لام (رنگ آمیزی H&E) گروه تیمار به ترتیب در روز ۱۰و۱۵(الف) فلش محل رگزایی را نشان میدهد(ب)محل نوزایش و تکثیر بافت پوششی از کناره زخم را نشان می دهد (ج) تعدادی از ضمایم جلدی مانند فولیکول مو و غدد سباسه در مرکز بافت گرانولاسیون وآرایش رشته های کلاژن

جدول۲. میانگین امتیاز متغیرهای هیستوپاتولوژی برای هرگروه و دوزهای مختلف مورد بررسی

گروه	دوره	روز پنجم Mean±SD	روز دهم Mean±SD	روز دوازدهم Mean±SD	روز پانزدهم Mean±SD
تیمار		۱/۸۹±۰/۰۵	۲/۷۴±۰/۱۷	۲/۸۳±۰/۰۴	۲/۸۵ ±۰/۳۳
کنترل		۱/۰۸±۰/۱۰	۱/۴۲±۰/۱۶	۲/۲۱±۰/۲۰	۲/۵۷±۰/۰۲
P-value		۰/۰۳۲	۰/۰۱۹	۰/۰۶۹	۰/۰۷۶

جدول ۳. مقادیر هیدروکسی پرولین در نمونه بافت پوست (میلی گرم در هر گرم ماده خشک- mg/g)

گروه	پوست سالم mg/g Mean±SD	اسکار زخم mg/g Mean±SD	اختلاف بین پوست سالم و اسکار نهایی mg/g * Mean±SD
تیمار	۸/۳۷±۰/۸۵	۵/۸۷±۰/۶۲	۳/۶۹±۰/۲۳
شاهد	۹/۴۵±۰/۹۲	۴/۲۳±۰/۶۷	۶/۰۸±۰/۳۲

p=۰/۰۰۸۶ *

بحث و نتیجه گیری

طبق نتایج بدست آمده از این مطالعه استعمال موضعی عصاره لیپید احشائی حیوانی بر زخم باضخامت کامل موش صحرایی، بطور معنی داری باعث تسریع زمان بسته شدن سطح زخم و کاهش بازه فاز التهابی ترمیم می‌شود و با تقویت کیفیت رگزایی و کلاژن سازی، باعث افزایش میزان هیدروکسی پرولین بافت اسکار زخم در فاز تکثیر گردید. بارزترین تغییرات مورفولوژیکی در ۱۰ روز اول بهبود زخم رخ داد بطوری که در روز پنجم مساحت سطح زخم گروه شاهد دو برابر مساحت سطح زخم گروه تیمار بوده است. تجزیه و تحلیل بافت شناسی نشان داد که رسوب کلاژن، بازسازی اپیدرم و تکثیر (فیبروبلاست و سلول های اندوتلیال) از گروه تحت درمان بالاتر از گروه کنترل بود. همچنین مطالعه حاضر نشان داد که، میزان هیدروکسی پرولین پوست که یک معیار ویژه از میزان ساخت کلاژن می باشد، در اسکار زخم‌های تحت درمان با عصاره چربی بطور معنی داری افزایش یافته است. مطالعات قبلی نشان داده‌اند که در روند ترمیم بهبودی موفقیت آمیز زخم پس از آسیب دیدگی بافت، نیاز به رفع پاسخ التهابی دارد. اما در صورت ادامه این مرحله، ممکن است زخم وارد مرحله مزمن شود وباعث بجا ماندن اسکار زخم بعداز ترمیم

[DOR: 20.1001.1.15614107.1398.21.1.53.8]
[DOI: 10.22088/jbums.21.1.349]

باشد (۵-۳). در مطالعه ای که توسط Ajami و همکارانش انجام شد مشخص گردید که استفاده ازعصاره بافت چربی زیرپوستی موجب افزایش ماکروفاژ و کاهش نوتروفیل در مرحله تاخیری فاز التهابی می‌شود (۲۵) براساس شواهد مطالعات بیوشیمی توسط Mohiuddin وهمکاران در مقایسه ساختاری و عملکردی چربی احشایی و زیر جلدی ظرفیت بیشتر چربی احشائی برای تولید اسیدچرب آزاد (۹)، بنظر میرسد استفاده از چربی احشایی دراین مطالعه درمقایسه با استعمال چربی زیر پوستی در مطالعات قبلی موثر تر واقع شود. نتایج هیستولوژی حاصل از مطالعه حاضر نیز کاهش سلول‌های آماسی از قبیل نوتروفیل را در فاز التهاب حاد نشان داد. در تایید این نتایج، طبق مطالعه انجام شده توسط Hu و همکارانش مشخص شد که مصرف موضعی روغن حاصل از بافت چربی بعلت غنی بودن از اسید چرب امگا۳، التهاب را کاهش می دهد (۱۲). از جمله مطالعات انجام شده در این زمینه تاثیرمثبت عصاره بافت چربی برتسریع مهاجرت سلول های موثربر ترمیم زخم توسط López و همکاران است (۲۰). مصرف موضعی اسیدهای چرب با زنجیره کوتاه می‌تواند نقصان اسیدهای چرب ضروری را بر طرف نموده و باعث پروفراسیون طبیعی پوست و عدم تشکیل اسکارهای هیپرتروفی شود(۶). بنابراین افزایش هیدروکسی پرولین به طور واضح تسریع بسته شدن زخم را به دلیل انباشت سریعترکلاژن توضیح می دهد. در این مطالعه نیز درگروه تیمار،کلاژن سازی با آرایش منظم و تکامل یافته تری درمدت کمتری صورت گرفت. شواهد هیستوپاتولوژی در بافت درحال ترمیم با لیپید احشایی حاکی ازتقویت آنژیوژنز (رگزایی) است. مطالعه Casano و همکارانش نیز تاثیر مثبت عصاره بافت چربی زیر پوستی بر ترمیم زخم وتقویت بازسازی سلول‌های اندوتلیال عروقی را تائیدمیکند (۲۱). در مجموع نتایج مطالعه حاضر با نتایج مطالعات مشابه در این زمینه همخوانی داشت و بر اساس نتایج این مطالعه لیپید احشایی حیوانی فرایند ترمیم زخم را با اثرات ضد التهابی در پوست تسریع می کند و با توجه به یافته های این پژوهش به نظر می‌رسد که می‌توان از روغن‌های حیوانی به عنوان پایه برای ساخت ترکیبات موضعی جهت درمان زخم‌های پوستی استفاده کرد. اثرات مختلف لیپید احشایی گوسفندی مربوط به ترکیبات متنوع آن است که جهت معرفی مکانیسم عمل این ترکیبات، انجام مطالعات بیشتر در زمینه ارزیابی اثرات هر یک از اسیدچرب‌ها به صورت جداگانه بعنوان کنترل مثبت ومقایسه آنها بایکدیگر ضروری به نظر می رسد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از حمایت مالی، کمیته تحقیقات دانشجویی دانشگاه علوم پزشکی ایران و معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی البرز تقدیر و تشکر می گردد.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1398.21.1.53.8]
[DOI: 10.22088/jbums.21.1.349]

Effect of Visceral Fat on the Amount of Hydroxyproline and Histopathological Changes on Surgical Wound Healing in Male Rat

K. Didevar [1], G. Javdan (PhD)[2], S.H. Davoodi (PhD) [*3]

1.Department of Biochemistry, Alborz University of Medical Sciences, Karaj, I.R.Iran
2.Minimally Invasive Surgery Research Center, Iran University of Medical Sciences, Tehran, I.R.Iran
3.Cancer Research Center, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, I.R.Iran

J Babol Univ Med Sci; 21; 2019; PP: 349-56
Received: May 4th 2019, Revised: Aug 6th 2019, Accepted: Aug 13th 2019.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: expensive treatments and rehabilitation has increased the tendency to use natural and cheaper compounds. Animal visceral lipids contain a high percentage of different types of effective anti-inflammatory fatty acids, which till now have not been studied together. Therefore, the purpose of this study was to evaluate the anti-inflammatory and regenerative effects of sheep visceral lipids on surgical wound healing in rat rats.

METHODS: In this experimental study 50 Sprague-Dawley adult male rats with the average weight of 250-300 g were selected and randomly divided into 2 groups with 25 rats in each group. After providing visceral fat from the pre renal part of the young sheep and melting and sterilizing them, the treatment group which were wounded under surgical anesthesia by excisional wounds, were treated by 10 ml of it on the wound each day. The evaluation of the wound size was measured by using an accurate caliper and Image J software on days 5, 10, 12, 15. Tissue biopsies from both control and treatment groups were performed to compare the rate of epithelialization, collagen filament formation, inflammatory cells, vascularization, and fibroplasia in situ. Also a biopsy was performed at day 21th to check the amount of hydroxyproline in the tissue.

FINDINGS: Based on morphometric findings, on the 10th day of treatment, the mean ulcer size of the treatment group with visceral fat was 43.6±0.44 mm2 while the mean size of the ulcer in control group was 98.5±0.07 mm2, which has shown to have the least amount of wound contraction. Also on the 5th day, the wound contraction of the treatment group, was twice as high as the control group($p<0.05$). The histological examination shows the mean 2.74±0.17 points of restoration parameters score in treatment group compared to the control group with a score of 1.42±0.16 points. Also, the difference between the Hydroxyproline concentration of the healthy skin and the scarring wounds in treatment group (3.69±0.23 mg/g) was less than the control group(6.08±0.32 mg/g) ($p<0.05$).

CONCLUSION: According to the findings of this study, the usage of animal visceral lipid, with anti-inflammatory effects and as a stimulator of collagen production, increases the amount of hydroxyproline and affects the healing process of cutaneous ulcers. It also improves the blood perfusion and angiogenesis by increasing RBC membrane flexibility, which will also enhance the migration of cells that are effective in wound healing.

KEY WORDS: *Wound, Visceral Fat, Rat, Fatty Acid, Hydroxyprolin.*

Please cite this article as follows:

Didevar K, Javdan G, Davoodi SH. Effect of visceral fat on the amount of Hydroxyproline and Histopathological changes on surgical wound healing in male rat. J Babol Univ Med Sci. 2019;21: 349-56.

***Corresonding Author: H. Davoodi (PhD)**
Address: National Nutrition and Food Technology Research Institute, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, I.R.Iran
Tel: +98 21 23871
E-mail: hdavoodi1345@gmail.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1398.21.1.53.8]
[DOI: 10.22088/jbums.21.1.349]

References

1.Tan QW, Tang SL, Zhang Y, Yang JQ, Wang ZL, Xie HQ, Lv Q. Hydrogel from Acellular Porcine Adipose Tissue Accelerates Wound Healing by Inducing Intradermal Adipocyte Regeneration. J Invest Dermatol. 2019;139(2):455-63

2.Tejada S, Manayi A, Daglia M, Nabavi SF, Sureda A, Hajheydari Z, et al. Wound Healing Effects of Curcumin: A Short Review. Curr Pharm Biotechnol. 2016;17(11):1002–7.

3..Gawronska-Kozak B, Bukowska J, Wu X, Strong AL, Frazier T, Bunnell BA, etal. Contribution of Adipose-Derived Cells to Skin Wound Healing.[Chapter 7], In: Wound Healing: Stem Cells Repair and Restorations, Basic and Clinical Aspects. John Wiley & Sons, Inc.; 2018. p.89-101.

4.Boniakowski A, Kimball A, Davis F, Joshi A, Schaller M, denDekker A, Kunkel S, Gallagher K. Fatty acid binding protein 4, fabp4, causes impaired wound healing in diabetes. Arterioscler Thromb Vasc Bio. 2018;38(Suppl_1):255.

5.Silva JR, Burger B, Kühl C, Candreva T, dos Anjos MB, Rodrigues HG. Wound Healing and Omega-6 Fatty Acids: From Inflammation to Repair. Mediators Inflamm. 2018;2018:2503950.

6.Ehrampoush E, Homayounfar R, Davoodi SH, Zand H, Askari A, Kouhpayeh SA. Ability of dairy fat in inducing metabolic syndrome in rats. Springerplus 2016;5(1):2020.

7.Amani H, Ajami M, Nasseri Maleki S, Pazoki-Toroudi H, Daglia M, Tsetegho Sokeng AJ, et al. Targeting signal transducers and activators of transcription (STAT) in human cancer by dietary polyphenolic antioxidants. Biochimie. 2017;142:63–79.

8.Lawrence WT. Physiology of the acute wound. Clin Plast Surg. 1998;25(3):321–40.

9.Mohiuddin OA, Campbell B, Poche JN, Thomas-Porch C, Hayes DA, Bunnell BA, Gimble JM. Decellularized Adipose Tissue: Biochemical Composition, in vivo Analysis and Potential Clinical Applications. Adv Exp Med Biol. 2019.

10.Kim S, Moustaid-Moussa N. Secretory, endocrine and autocrine/paracrine function of the adipocyte. J Nutr 2000;130(12):3110S-5S.

11.Javedan G, Shidfar F, Davoodi SH, Ajami M, Gorjipour F, Sureda A et al. Conjugated linoleic acid rat pretreatment reduces renal damage in ischemia/reperfusion injury: Unraveling antiapoptotic mechanisms and regulation of phosphorylated mammalian target of rapamycin. Mol Nutr Food Res. 2016;60(12):2665-77.

12.Hu L, Wang J, Zhou X, Xiong Z, Zhao J, Yu R, Huang F, Zhang H, Chen L. Exosomes derived from human adipose mensenchymal stem cells accelerates cutaneous wound healing via optimizing the characteristics of fibroblasts. Scient Rep. 2016;6:32993.

13.Dehghan G, Tahmasebpour N, Hosseinpour Feizi M, Banan S, Sheikhzadeh F, Monirinasab H. Effects of methanol extract of teucrium orientale on the serum levels of glucose and lipids in diabetic rats. J Babol Univ Med Sci. 2014; 16(1):44-9. [In Persian]

14.Sheidaei S, Jafarnejad F, Rajabi O, Najafzadeh M. Comparison of vaginal cream of coconut oil and clotrimazole on candidal infection of vagina. J Babol Univ Med Sci. 2019; 21 (1) :93-8. [In Persian]

15.Davoodi SH, Shahbazi R, Esmaeili S, Sohrabvandi S, Mortazavian A, Jazayeri S, et al. Health-Related Aspects of Milk Proteins. Iran J Pharm Res. 2016;15(3):573–91.

16.Shamsaldini s, Zohour a.. Comparison between the effects of animal fat and sulfadiazine on healing of skin lesions in rabbits. J ZANJAN UNIV MED SCI. 2002;39(10):21–4.
Available from: https://www.sid.ir/en/journal/ViewPaper.aspx?ID=31858

17.Habibey R, Pazoki-Toroudi H. Morphine dependence protects rat kidney against ischaemia-reperfusion injury. Clin Exp Pharmacol Physiol. 2008;35(10):1209-14.

18.Zarch AV, Toroudi HP, Soleimani M, Bakhtiarian A, Katebi M, Djahanguiri B. Neuroprotective effects of diazoxide and its antagonism by glibenclamide in pyramidal neurons of rat hippocampus subjected to ischemia-reperfusion-induced injury. Int J Neurosci. 2009;119(9):1346-61.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1398.21.1.53.8]
[DOI: 10.22088/jbums.21.1.349]

19.Amani H, Mostafavi E, Arzaghi H, Davaran S, Akbarzadeh A, Akhavan O, et al. Three-dimensional graphene foams: synthesis, properties, biocompatibility, biodegradability, and applications in tissue engineering. ACS Biomater Sci Eng. 2018;5(1):193-214.

20.López JF, Sarkanen JR, Huttala O, Kaartinen IS, Kuokkanen HO, Ylikomi T. Adipose tissue extract shows potential for wound healing: in vitro proliferation and migration of cell types contributing to wound healing in the presence of adipose tissue preparation and platelet rich plasma. Cytotechnology. 2018;70(4):1193-204.

21.Summa M, Russo D, Penna I, Margaroli N, Bayer IS, Bandiera T, et al. A biocompatible sodium alginate/povidone iodine film enhances wound healing. Eur J Pharm Biopharm. 2018;122:17-24.

22.Casano AM, Sixt M. A Fat Lot of Good for Wound Healing. Dev Cell. 2018;44(4):405-6.

23.Toroudi HP, Rahgozar M, Bakhtiarian A, Djahanguiri B. Potassium channel modulators and indomethacin-induced gastric ulceration in rats. Scand J Gastroenterol. 1999;34(10):962–6.

24.Mehrjerdi FZ, Aboutaleb N, Pazoki-Toroudi H, Soleimani M, Ajami M, Khaksari M, et al. The protective effect of remote renal preconditioning against hippocampal ischemia reperfusion injury: role of katp channels. J Mol Neurosci. 2015;57(4):554-60.

25.Ajami M, Eghtesadi S, Razaz JM, Kalantari N, Habibey R, Nilforoushzadeh MA, et al. Expression of Bcl-2 and Bax after hippocampal ischemia in DHA + EPA treated rats. Neurol Sci. 2011;32(5):811–8.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1398.21.1.53.8]
[DOI: 10.22088/jbums.21.1.349]