

تسریع بهبود زخم پوستی موش صحرایی دیابتی مزمن به وسیله روغن ماهی موضعی

محمد محسن تقوی^۱ (M.Sc)، دکتر محمد خاکساری^{۲*} (Ph.D)

۱- دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، گروه علوم تشریح

۲- دانشگاه علوم پزشکی کرمان، گروه فیزیولوژی

چکیده

سابقه و هدف: در مطالعات قبلی، اثر التیام بخش روغن ماهی بر روی زخم پوستی حیوان با دیابت قندی حاد گزارش شده است. در پژوهش حاضر اثر مصرف موضعی روغن ماهی که غنی از اسیدهای چرب امگا-۳ است، در حیوان با دیابت قندی مزمن بررسی و با اثر روغن ذرت که حاوی اسیدهای چرب امگا-۶ است، مقایسه شده است. مواد و روش ها: این مطالعه تجربی بر روی ۴ گروه موش صحرایی نر بالغ انجام شد. یک گروه به نام سالم (I) و تعدادی از موش ها با تزریق زیرجلدی ۵۰ mg/kg استرپتوزوتوسین دیابتی شدند. پس از مشاهده علائم کلاسیک دیابت، این موش ها به سه گروه تقسیم شدند: یک گروه به عنوان کنترل در نظر گرفته شدند (II)؛ گروه های دیگر به عنوان گروه های آزمایشی که به تفکیک، ۸ هفته بعد از القاء دیابت، تحت درمان موضعی با روغن ماهی (III) یا روغن ذرت (IV) قرار گرفتند. در هر چهار گروه، زخم عمودی به طول ۴ سانتی متر در پشت آن ها ایجاد شد؛ در حیوان های دیابتی، هشت هفته بعد از ایجاد دیابت تجربی، زخم در آن ها ایجاد شد. سطح زخم، درصد بهبودی آن، میزان عروق خونی، ضخامت اپیدرم و دستجات کلاژن در روزهای اول، سوم، هفتم، یازدهم، پانزدهم و بیستم بعد از ایجاد زخم اندازه گیری شد. هم چنین زمان لازم برای بهبودی کامل زخم نیز اندازه گیری گردید.

یافته ها: نتایج این پژوهش نشان داد، که سطح زخم در همه روزهای بعد از جراحی در گروه I کمتر از گروه II است، ($P < 0/001$). علاوه بر این سطح زخم در گروه III در روز پانزدهم بعد از جراحی، کمتر از گروه II است ($P < 0/001$). درصد بهبودی زخم نیز در گروه I در همه روزهای مطالعه بیشتر از گروه II بود ($P < 0/001$). هم چنین این شاخص در گروه III در روزهای هفتم و بیستم اختلاف معنی داری با گروه I نداشت. علاوه بر این سطح زخم از روز هفتم به بعد در گروه IV بیشتر از گروه II ($P < 0/001$) و درصد بهبودی آن نیز کمتر از گروه III بود ($P < 0/001$). مقایسه بین روغن ماهی و روغن ذرت نشان داد که از روز یازدهم به بعد تا انتهای مطالعه درصد بهبودی زخم در گروه III بیشتر از گروه IV بود ($P < 0/001$). مدت زمان لازم برای بهبودی کامل زخم در گروه IV بیشتر از بقیه گروه ها بود. در گروه روغن ماهی، میزان عروق خونی در روز یازدهم و پانزدهم، ضخامت اپیدرم در روز پانزدهم و هم چنین پیدایش دستجات کلاژن در روز پانزدهم در گروه روغن ماهی بیشتر از گروه روغن ذرت بود. نتیجه گیری: براساس این نتایج، پیشنهاد می شود که روغن ماهی که غنی از اسیدهای چرب امگا-۳ می باشد در تسریع بهبودی زخم در موش های با دیابت مزمن مؤثر بوده در حالی که روغن ذرت به علت داشتن اسیدهای چرب امگا-۶ بهبودی زخم را به تأخیر می اندازد.

واژه های کلیدی: بهبود زخم، دیابت قندی مزمن، روغن ماهی، روغن ذرت

نویسنده مسئول. تلفن: ۰۲۴۱-۳۲۲۱۶۶۰-۴. دورنگار: ۰۲۴۱-۳۲۲۱۶۷۱

مقدمه

بیماری دیابت دارای عوارض متابولیکی حاد مانند کتواسیدوز و اغمای هیپراسمولار غیرکتونی و عوارض مزمنی مانند گرفتاری عروق ته چشم، گرفتاری عروق کلیوی، گرفتاری اعصاب (نوروپاتی)، ضایعات پوستی، اختلالات گردش خون، زخم‌های دیابتی در پا (سندرم زخم پای دیابتی) و بهبودی تأخیری و غیرطبیعی زخم می‌باشد [۱۶، ۱۸]. زخم پای دیابتی، عامل بستری شدن بیماران دیابتی در بیمارستان برای چندین روز در هر سال است، این سندرم در نتیجه نارسایی عروق و گرفتاری اعصاب ایجاد می‌شود؛ اکسیژن‌رسانی بافتی مختل شده و افزایش طبیعی جریان خون که برای ترمیم و بهبود زخم به دنبال جراحت و عفونت لازم می‌باشد، به علت بیماری عروق رخ نمی‌دهد [۱۶، ۲۲].

نارسایی در ترمیم زخم در بیماران دیابتی ممکن است ناشی از علل زیر باشد: التهاب مزمن زخم در محل زخم [۳۳]، تغییرات ایجاد شده در عروق کوچک از قبیل تکثیر یاخته‌های اندوتلیال در شریانچه‌های کوچک و ضخیم شدن غشای پایه مویرگ‌ها [۱۹]، مساعد بودن محیط زخم برای ابتلای به عفونت [۳۳]، کاهش جریان خون و هیپوکسی ناشی از آن، کاهش گلوکز داخل یاخته‌ها [۳۵] و افزایش قند خون در موضع زخم دیابتی که ممکن است عمل بیگانه‌خواری ماکروفاژها را مهار نموده و به دنبال آن مواد نکروتیک و زائد از محیط زخم حذف نشده و بدین ترتیب عروق جدید، فیبروبلاست‌ها و مواد غذایی در زخم کاهش یابند [۱۹]. مولکول‌های فعال بیولوژیکی با منشاء داخلی و خارجی شامل موادی می‌شود که 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 به‌طور ویژه‌ای اسیدهای چرب از این نوع مولکول‌های فعال بیولوژیکی هستند [۳۶]، به عنوان مثال: پاسخ‌های فیزیولوژیکی و پاتولوژیکی عروق به عملکرد یک سری از میانجی‌های بین‌سلولی و هورمون‌ها به چربی‌ها

بستگی دارد، که یکی از چربی‌های مدنظر که نقش پیام‌رسانی دارد، اسیدهای چرب می‌باشند که دارای نقش فیزیولوژیک و پاتولوژیک در بیماری‌هایی از قبیل تصلب شرائین، التهاب و یا بهبود طبیعی زخم هستند [۳۷]. بیان شده است که تغییر فسفولیپیدهای غشای سلولی می‌تواند در محیط آزمایشگاه یا در موجود زنده از طریق مواد مکمل لیپید یا تغییر در چربی غذایی به دست آید [۳۶] و تغییر در فسفولیپیدهای غشاء از طریق اسیدهای چرب بر روی فرآیندهای سلولی از قبیل فعالیت ناقل‌ها، گیرنده‌ها و سایر پروتئین‌های متصل به غشاء اثر می‌گذارد؛ علاوه بر این مطالعات مختلف گزارش نموده‌اند که اسیدهای چرب، خصوصاً اسیدهای چرب امگا-۳ [یعنی اسیدهای چرب ایکوزانیتانویک اسید (EPA) و دوکوهگزانویک اسید (DHA)] دارای اثراتی از قبیل: کاهش تری‌گلیسرید پلازما در بیماران دیابتی و افراد سالم [۱۰، ۱۴، ۲۵، ۲۸] کاهش VLDL [۱۵، ۳۸]، کاهش کلسترول [۱۱، ۱۵] و افزایش HDL [۳۰] در بیماران دیابتی و حیوان‌های دیابتی هستند؛ هم‌چنین گزارش شده است که اسیدهای چرب تکمیلی، در رژیم غذایی توانایی تکثیر سلولی [۴۱]، افزایش فعالیت فاکتور رشد [۳۶]، تمایز سلولی [۳۶]، تولید کلاژن و اینترلوکین نمره 1 [۲۱] یا افزایش ترشح هورمون‌های رشد، TSH، پرولاکتین و ADH [۲۴] و افزایش تولید mRNA مربوط به فاکتور رشد ترانسفورمینگ بتا (TGF- β) [۱۵] را دارا هستند.

یکی از منابع غذایی اصلی حاوی چربی‌های امگا-۳، ماهی‌های اقیانوسی می‌باشند [۲۴، ۲۵]. اخیراً گزارش شده است که اسیدهای چرب غیراشباع امگا-۳، علاوه بر اثراتی که قبلاً در بیماران با دیابت شیرین، گزارش شده است دارای LTB_4 اثرات ضدالتهابی، کاهش تولید TXA_2 ، PGI_2 ، PGT_2 ، LTB_4 ، افزایش تولید LTB_5 ، PGI_3 ، PGE_3 ، TXA_3 ، کاهش تولید فاکتور فعال‌کننده پلاکتی (PAF) کاهش ویسکوزیته خون، افزایش قدرت تغییر شکل گلبول‌های قرمز خون، مهار تجمع پلاکتی، کاهش پاسخ عروقی به عوامل

۳۰۰-۲۵۰ 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. آب و غذا آزادانه در اختیار آنها بود.

روش ایجاد دیابت تجربی. دیابت در موش‌ها با تزریق زیرجلدی ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم استرپتوزوتوسین (STZ) آمریکا [Upjohn Michigan] در ناحیه بین‌گوش ایجاد شد. [۳۴] و برای نتیجه‌گیری بهتر، حدود 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 [۳۴] و علائم دیگر دیابت از قبیل پرنوشی، پرادراری، کاهش وزن و تأییدیه پاتولوژی مبنی بر تخریب جزایر لانگرهانس را داشتند، دیابتی در نظر گرفته شدند.

روش اندازه‌گیری قند خون. سه روز بعد از تزریق STZ، خون‌گیری از سینوس غاری (Cavernous sinus) چشم حیوان انجام شد و قند خون با دستگاه اتوآنالیزر (Kone Specific، فنلاند) اندازه‌گیری شد.

روش ایجاد زخم و ارزیابی بهبود آن. چون مطالعه بر روی دیابت مزمن می‌باشد، ۸ هفته بعد از القاء دیابت تجربی [۱۷] قند حیوان‌ها اندازه‌گیری شد و پس از حصول اطمینان مجدد از دیابتی بودن حیوان، به منظور ایجاد زخم ابتدا موش‌ها با اتر بیهوش شده، موهای پشت حیوان کوتاه (Shave) شد، سپس برش عمودی به طول ۴ سانتی‌متر و به فاصله یک سانتی‌متری از ستون مهره‌ها و در سمت چپ آن در شرایط غیرعفونی (Aseptic) بعد از آغشته کردن پوست با محلول بتادین، به کمک قیچی ایجاد گردید. عمق زخم شامل درم و هیپودرم بود. بهبودی زخم از طریق اندازه‌گیری سطح زخم، درصد بهبودی و مدت زمان لازم جهت بسته شدن کامل زخم ارزیابی شد. سطح زخم در روزهای ۲، ۳، ۷، ۱۱، ۱۵ و ۲۰ بعد از ایجاد آن به روش فرگوسون و لوگان با واحد mm^2 اندازه‌گیری شد و درصد بهبودی زخم با فرمول خاصی محاسبه شد [۲۰، ۲۱]؛ علاوه بر این بررسی

منتقبض‌کننده عروق از قبیل کاتکول‌آمین‌ها و آئزوتانسین نمره II، افزایش فعالیت عامل شل‌کننده عروقی مشتق از اندوتلیوم (EDRF) است، که نتیجه خالص اکثر اثرات فوق، تغییر در توازن همودینامیکی، به سمت حالت گشاد شدن عروق و افزایش خون‌رسانی به محل زخم است [۳۹، ۲۶، ۵].

با توجه به ویژگی‌های فوق که برای روغن ماهی مطرح شده است، امروز مشخص شده است که روغن ماهی (اسیدهای چرب امگا-۳)، در جلوگیری از بیماری کرونر قلب، حمله قلبی، لوپوس، نفروپاتی، سرطان پستان، سرطان پروستات، سرطان کولون، پرفشاری خون، آرتریت روماتوئید، آرتمی، مرگ و میر ناشی از سکتة قلبی، پیدایش تصلب شرائین [۱۱]، و هم‌چنین در کاهش پاسخ‌های التهابی، آسم، سردرد میگرنی و Psoriasis [۴۴] مفید است. با توجه به شیوع زخم پای دیابتی و علل طولانی شدن بهبود زخم در بیماران دیابتی و اثرات روغن ماهی که در بیان فوق به بعضی از آنها اشاره شد، ما در مطالعات قبل فرضیه مفید بودن روغن ماهی را در ترمیم و بهبود زخم پوستی موش صحرایی دیابتی بررسی کردیم و گزارش نمودیم که مدت زمان لازم برای بهبود کامل زخم در حیوان با دیابت قندی حاد تحت درمان با مصرف موضعی روغن ماهی، ۷ روز کمتر از گروه شاهد است [۲]. از سوی دیگر نشان داده شد، که مصرف سیستمیک روغن ماهی نیز درصد بهبودی زخم را در حیوان با دیابت قندی حاد افزایش می‌دهد [۱]. در مطالعه حاضر ما این فرض را مورد آزمون قرار دادیم که آیا اثرات التیام‌بخش روغن ماهی که در حیوان‌های با دیابت حاد مشاهده شد، در حیوان‌های با دیابت قندی مزمن نیز وجود دارد یا خیر؟ علاوه بر این، این اثر را با اثر روغن ذرت که حاوی چربی‌های امگا-۶ است، مقایسه نمودیم.

مواد و روش‌ها

حیوان‌ها. این مطالعه تجربی دوسوکور روی ۱۰۰ سر موش صحرایی نر از نژاد آلبینو ان ماری با وزن

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 Unpaired t-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 پاتولوژی نشان داد که بعد از سه روز STZ اثرات تخریبی روی جزایر لانگرهانس داشته است که این اثرات تخریبی هم شامل کوچک شدن هر جزیره می‌شود و هم شامل کاهش تعداد یاخته‌های بتا در جزایر است.

بررسی سطح زخم در گروه‌های مختلف مطالعه. جدول ۱ بیانگر این است که سطح زخم در گروه دیابتی تحت درمان با روغن ماهی در روز اول بعد از ایجاد زخم مساوی با سطح زخم در گروه کنترل (دیابتی) است. اما در روزهای پانزدهم و بیستم کمتر از گروه کنترل است که فقط در روزهای پانزدهم و بیستم این اختلاف معنی‌دار است ($P < 0/05$)، که بیشترین اختلاف سطح در روز بیستم بین گروه کنترل ($1/7 \pm 1/1$) و گروه دیابتی تحت درمان با روغن ماهی ($2/7 \pm 0/3$) وجود دارد. هم چنین سطح زخم در گروه تحت درمان با روغن ماهی در روزهای هفت، یازده، پانزده و بیست کمتر از گروه تحت درمان با روغن ذرت است و بیشترین اختلاف، در روز یازدهم که به ترتیب سطح زخم $1/8 \pm 1/7$ و $9 \pm 1/89$ می‌باشد وجود دارد ($P < 0/001$)؛ علاوه بر این سطح زخم در گروه دیابتی تحت درمان با روغن ذرت در همه روزهای بعد از جراحی بیشتر از گروه کنترل است. سطح زخم در روز یازدهم، در گروه دیابتی تحت درمان با روغن ذرت $8/2 \pm 2/34$ و در گروه کنترل، $15 \pm 1/139$ است ($P < 0/0001$).

کیفی مقدار کلاژن در محل زخم در حال ترمیم، بررسی یاخته‌های التهابی در محل زخم و بررسی کیفی مقدار اپیدرم در محل زخم نیز به عنوان شاخص‌های دیگر ترمیم زخم، استفاده شد [۲۳].

روش مصرف روغن‌ها. روغن ماهی [from menhaden, Sigma Co. UK, (fish oil)] و روغن ذرت [corn oil تولید ایران]؛ به عنوان پلاسبو به طور روزانه و در ساعت معینی و توسط فرد ثابتی به روی زخم مالیده و سعی شد که سطح زخم به طور یکنواخت و کامل به روغن آغشته شود. مصرف روغن تا بهبودی کامل زخم ادامه داشت [۲].

روش تهیه و رنگ‌آمیزی لام‌ها. قبل از ایجاد زخم در گروه‌های آزمایشی، ۱۲ سر از موش‌های دیابتی و سالم به طور تصادفی انتخاب شدند، سپس حیوان‌ها کشته شده و بافت لوزالمعده آن‌ها از بدن خارج و در فرمالین ۱۰٪ نگهداری شد، بعد از آن مقاطع میکروسکوپی تهیه و لام‌ها توسط هماتوکسیلین-ائوزین و آلدئیدفوشین رنگ‌آمیزی شدند تا اثرات STZ روی تخریب جزایر لانگرهانس نشان داده شود.

گروه‌های آزمایشی. موش‌ها به طور تصادفی به ۴ گروه زیر تقسیم شدند که در هر گروه ۱۰ سر حیوان وجود داشت، گروه‌ها عبارت بودند از:

گروه I: گروه «سالم»، غیردیابتی یا گروه شاهد منفی است که در پشت آن‌ها فقط زخم ایجاد شد.

گروه II: گروه «کنترل» یا گروه شاهد مثبت که دیابتی شده ولی درمان نشدند و سپس در پشت آن‌ها زخم ایجاد شد.

گروه III: گروه «دیابتی تحت درمان با روغن ماهی» که ۸ هفته بعد از القاء دیابت و پس از ایجاد زخم در آن‌ها تحت درمان موضعی روغن ماهی در همه روزهای جراحی قرار گرفتند.

گروه IV: گروه «دیابتی تحت درمان با روغن ذرت» که مشابه با گروه III است، فقط با این تفاوت که تحت درمان موضعی روغن ذرت قرار گرفتند.

جدول ۱. مقایسه سطح زخم (mm²) در گروه‌های سالم، کنترل، دیابتی تحت درمان با روغن ماهی یا روغن ذرت در روزهای مختلف بعد از آسیب

روز	۱	۲	۷	۱۱	۱۵	۲۰
سالم	۲۹۷/۱±۲/۳	۲۵۳/۵±۱/۰۴	۲۰۰/۱±۲/۵	۴۵±۱/۱	۶/۲±۰/۳	۲/۲۵±۰/۴
کنترل	۲۸۱±۱۱	۲۶۸±۱۱	۲۲۴/۷±۱۳	۱۳۹/۷±۱۵	۱۱۰/۳±۲	۷۱/۱±۱/۷
دیابتی تحت درمان با روغن ماهی	۲۹۶±۸	۲۹۵±۸	^b ۲۲۷/۶±۱۱	۱۳۲/۶±۱۳	۷۴/۷±۱/۸	۳۰±۰/۷
دیابتی تحت درمان با روغن ذرت	^a ۳۱۱/۶±۱۱	^a ۳۱۰/۶±۱۱	^a ۲۶۹±۱۱	^c ۲۳۴/۲±۸	^d ۱۸۹±۹	^{cd} ۱۲۸/۷±۱۱

داده‌ها به صورت $Mean \pm SEM$ نشان داده شده است. گروه کنترل: حیوان‌های دیابتی که درمان نشده‌اند.

a: اختلاف معنی‌دار با $P < 0.05$ بین گروه کنترل با گروه دیابتی تحت درمان با روغن ذرت.

b: اختلاف معنی‌دار با $P < 0.05$ بین گروه تحت درمان با روغن ماهی با گروه دیابتی تحت درمان با روغن ذرت.

c: اختلاف معنی‌دار با $P < 0.001$ بین گروه تحت درمان با روغن ذرت با گروه‌های تحت درمان با روغن ماهی یا کنترل.

d: اختلاف معنی‌دار با $P < 0.01$ بین گروه تحت درمان با روغن ذرت با گروه کنترل.

بررسی درصد بهبودی زخم در گروه‌های مختلف مطالعه. جدول ۲ نشان می‌دهد که درصد بهبودی در گروه دیابتی تحت درمان با روغن ماهی از روز یازدهم تا بیستم بعد از جراحی بیشتر از درصد بهبودی زخم در گروه دیابتی تحت درمان با روغن ذرت است ($P < 0.001$). به عنوان مثال در روز پانزدهم در گروه دیابتی روغن ماهی این شاخص ۷۰/۲ درصد است در حالی که در گروه روغن ذرت ۳۹/۸ درصد است. هم‌چنین از روز یازدهم به بعد نیز درصد بهبودی زخم در گروه دیابتی (کنترل) بیشتر از گروه تحت درمان با روغن ذرت است که بیشترین اختلاف معنی‌دار بین این دو گروه در روز یازدهم بعد از جراحی دیده می‌شود

($P < 0.001$).

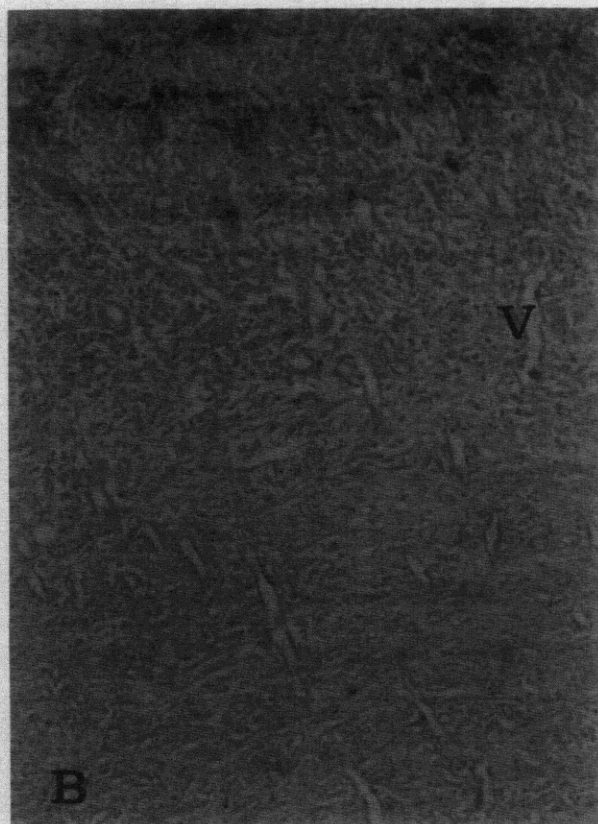
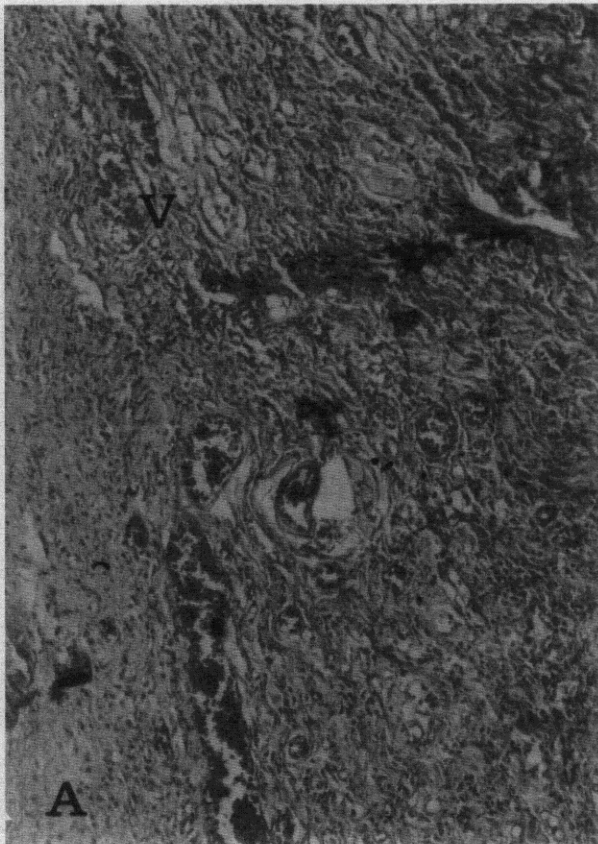
اثر روغن ماهی بر روی مدت لازم برای بهبودی کامل زخم. مقایسه مدت زمان لازم برای بهبودی کامل زخم در شکل ۱ نشان داده شده است. این زمان برای گروه‌های سالم (I) و کنترل (II) به ترتیب ۲۰/۸±۰/۲۷ و ۲۲/۸±۰/۵ روز است ($P < 0.05$) و برای گروه‌های دیابتی تحت درمان با روغن ماهی (III) و ذرت (IV) به ترتیب ۲۱/۵±۰/۲ روز و ۲۴/۲±۰/۲۶ روز است ($P < 0.001$). هم‌چنین این زمان در گروه III کمتر از II است ($P < 0.05$). ترتیب مدت زمان لازم برای بهبودی کامل زخم به صورت زیر است:

$I < III < II < IV$

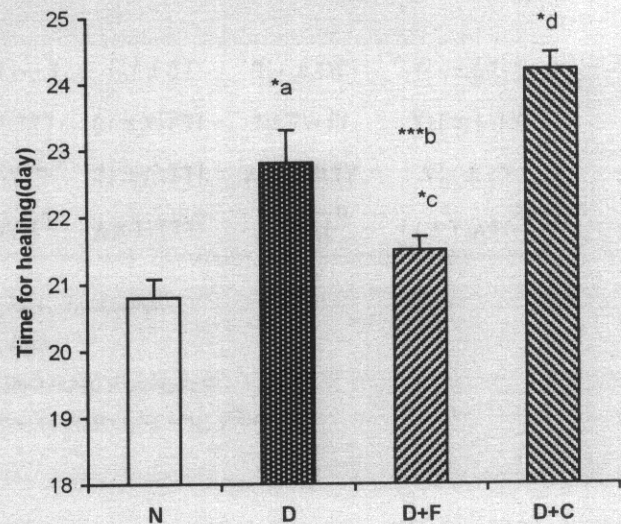
جدول ۲. مقایسه درصد بهبودی زخم در گروه‌های سالم، کنترل، دیابتی تحت درمان با روغن ماهی یا ذرت در روزهای مختلف بعد از آسیب

روز	۱	۳	۷	۱۱	۱۵	۲۰
سالم	۱۴/۵±۰/۴	۳۲/۵±۱/۱	۸۴/۷±۴/۷	۹۷/۸±۱/۳	۹۹/۲±۱/۴	
کنترل	۰/۵۷±۰/۱۳	۱۸/۲±۲/۷	۴۸/۳±۴/۱	^c ۶۲/۳±۶	^c ۷۹/۲±۵/۳	
دیابتی تحت درمان با روغن ماهی	۰/۶±۰/۱	۲۲/۳±۳/۲	^a ۵۳/۷±۴/۷	^a ۷۰/۲±۸/۷	^a ۸۶/۳±۴/۱	
دیابتی تحت درمان با روغن ذرت	۰/۵±۰/۱	۱۴/۶±۲/۲	۲۵/۸±۲/۱	۳۹/۸±۳/۲	۵۸/۹±۳/۱	

داده‌ها به صورت $Mean \pm SEM$ نشان داده شده است. a: اختلاف معنی‌دار با $P < 0.001$ بین گروه تحت درمان با روغن ماهی با گروه تحت درمان با روغن ذرت. b و c: اختلاف معنی‌دار بین گروه کنترل با گروه تحت درمان با روغن ذرت به ترتیب با $P < 0.001$ و $P < 0.05$



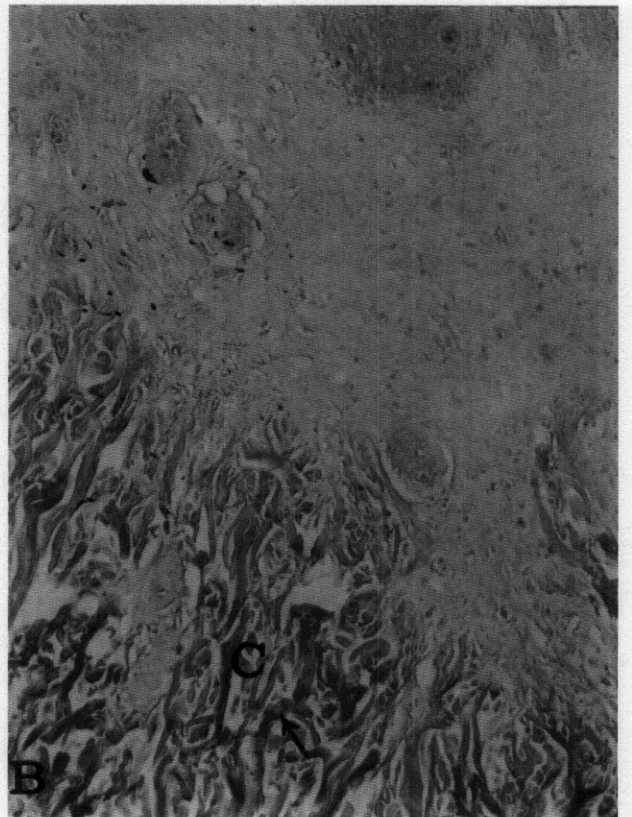
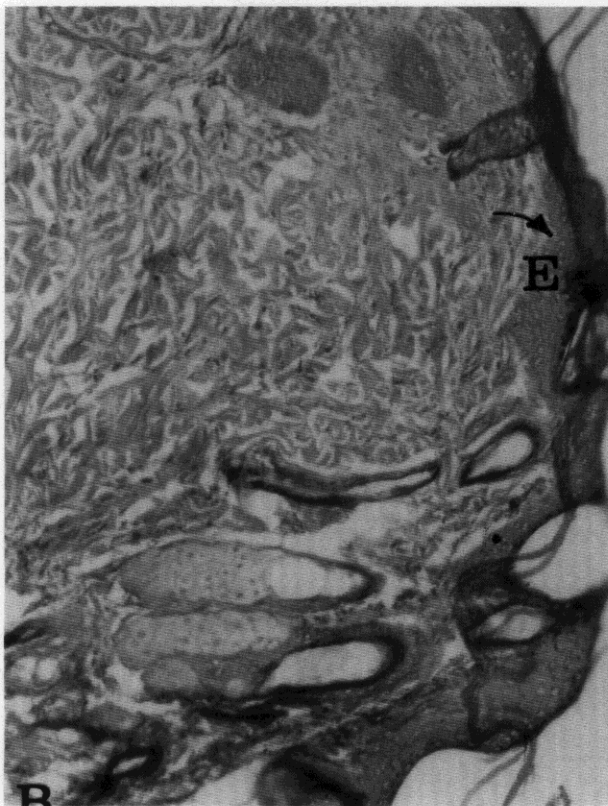
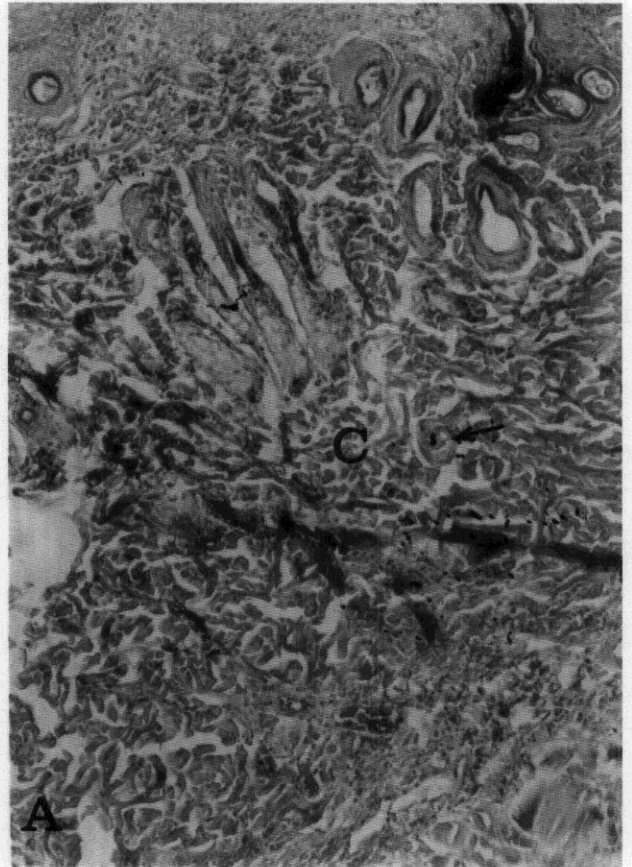
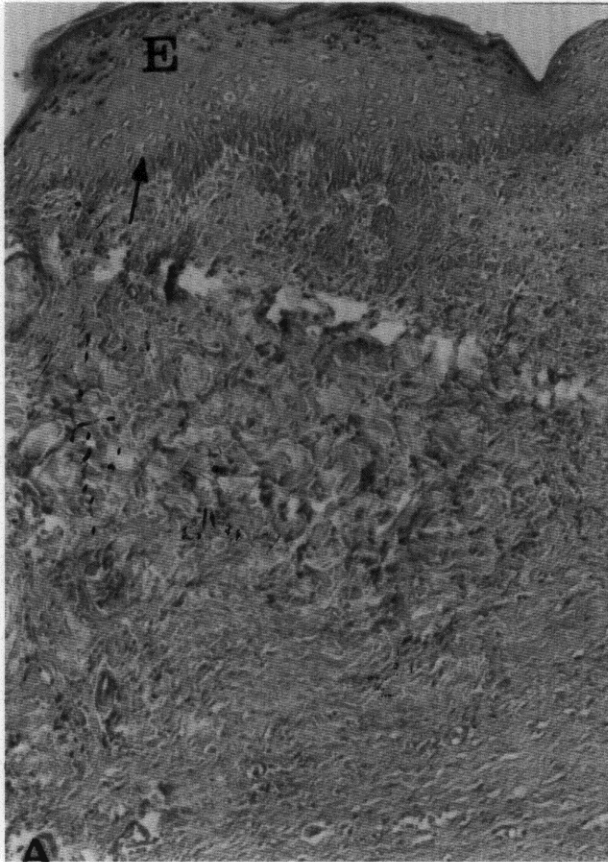
شکل ۲. برش عرضی پوست که میزان عروق خونی پوست را در روز پانزدهم در گروه تحت درمان با روغن ماهی (A) و گروه تحت درمان با روغن ذرت (B) نشان می‌دهد. V: عروق خونی، $\times 100$ تری کروم ماسون



شکل ۱. مقایسه مدت زمان لازم برای بهبود کامل زخم در گروه‌های مختلف C: کنترل با دیابتی D+F تحت درمان با روغن ماهی. D+C: دیابتی تحت درمان با روغن ذرت. N: حیوان سالم. a: اختلاف معنی‌دار بین D با N. b: اختلاف معنی‌دار بین D+F با D+C. c: اختلاف معنی‌دار بین D با D+F. d: اختلاف معنی‌دار بین D+C با D. $* = P < 0.05$ و $*** = P < 0.001$

مطالعات میکروسکوپی نشان دادند که میزان عروق خونی در روز یازدهم و پانزدهم در گروه روغن ماهی در مقایسه با گروه روغن ذرت از تراکم بیشتری در عمق درم برخوردار است؛ در حالی که در روز بیستم در گروه روغن ذرت بیشتر از روغن ماهی می‌باشد (شکل ۲) که این نشان‌دهنده این است که مراحل ترمیم زخم در گروه روغن ماهی پیشرفت سریع‌تری داشته و به همین دلیل ایجاد عروق جدید (تئوواسکولاریزاسیون) در روز بیستم در گروه روغن ماهی کاهش یافته است؛ در حالی که در گروه روغن ذرت هنوز تئوواسکولاریزاسیون مشاهده می‌شود.

همچنین در گروه روغن ذرت در روز پانزدهم، دسته‌جات کلاژن در ناحیه عمق درم مشاهده می‌شود در حالی که در نواحی سطحی درم هنوز دسته‌جات مشاهده نمی‌شود ولی در گروه روغن ماهی در تمام نواحی



شکل ۴. برش عرضی پوست در روز پانزدهم در گروه تحت درمان با روغن ماهی (A) و گروه تحت درمان با روغن ذرت (B) که ایجاد و پیشرفت اپیتلیوم را نشان می دهد. E: اپیتلیوم، $H&E \times 100$

شکل ۳. برش عرضی پوست در روز پانزدهم در گروه تحت درمان با روغن ماهی (A) و گروه تحت درمان با روغن ذرت (B) که دستجات کلاژن را نشان می دهد. C: کلاژن، $\times 100$ تری کروم ماسون

مساحت زخم در حیوان‌های دیابتی بیشتر از حیوان‌های سالم بود (به ترتیب $2\text{mm}^2 \pm 3/110$ در مقایسه با $2\text{mm}^2 \pm 3/60$ در روز پنزدهم) و هم این‌که درصد بهبودی در آن‌ها کمتر از حیوان‌های سالم بود (به ترتیب $4/1 \pm 3/48$ درصد در مقایسه با $4/7 \pm 7/84$ درصد در روز پنزدهم) و علاوه بر این مدت زمان لازم برای بهبودی کامل زخم در حیوان‌های دیابتی ($5/22 \pm 8/22$) بیشتر از حیوان‌های سالم ($2/20 \pm 7/20$ روز) است. نتایج این مطالعه هماهنگ با نارسایی مشاهده شده در بهبودی زخم در حیوان‌های هیپرگلیسمیک [۱۹] است که در مطالعات قبلی گزارش شده است. علت این اختلاف احتمالاً طولانی شدن مرحله التهابی زخم و تأثیر در گرانولیزاسیون و یا اختلال در رسوب کلاژن در موضع زخم یا کاهش خون‌رسانی به موضع زخم است [۱۹، ۲۲، ۲۷].

یافته دیگر این پژوهش حاکی از این است که درمان زخم دیابتی با روغن ماهی، باعث تسریع در بهبودی زخم می‌شود، به طوری که سطح زخم در گروه دیابتی ($2\text{mm}^2 \pm 3/110$) بیشتر از گروه دیابتی تحت درمان با روغن ماهی ($2\text{mm}^2 \pm 1/84$) در روز پنزدهم است. هم‌چنین درصد بهبودی زخم در گروه دیابتی تحت درمان با روغن ماهی در همین روز ۳۶ درصد بیشتر از حیوان دیابتی است و زخم در حیوان‌های تحت درمان با روغن ماهی حدود ۱ روز، زودتر از حیوان‌های کنترل بهبودی پیدا کرد؛ علاوه بر این درصد بهبودی در حیوان‌های تحت درمان با روغن ماهی در روز هفتم و بیستم بعد از جراحی، قابل مقایسه با درصد بهبودی در حیوان سالم است.

روغن ماهی که غنی از اسیدهای چرب امگا-۳ است، احتمالاً از طریق تعدیل فاکتورهای رشد [۳۶] عمل نموده است، یا اینکه از طریق تغییر در تولید یا عملکرد سیتوکین‌ها عمل نموده است؛ زیرا دیگر پژوهشگران گزارش نموده‌اند که روغن ماهی که غنی از DHA و FPA

درم دستجات کلاژن قابل مشاهده می‌باشد (شکل ۳) که این نیز نشان‌دهنده پیشرفت بیشتر ترمیم زخم در ناحیه درم و ایجاد دستجات کلاژن به عنوان یک شاخص بهبودی در گروه روغن ماهی نسبت به گروه روغن ذرت می‌باشد.

ایجاد اپیدرم و پیشرفت آن در محل زخم نیز یک شاخص در بهبودی زخم می‌باشد که در گروه روغن ماهی در روز پنزدهم ناحیه اپیدرم ضخامت بیشتری نسبت به گروه روغن ذرت داشت (شکل ۴).

همه شاخص‌های بافت‌شناسی فوق (عروق خونی، کلاژن، اپیدرم) حاکی از پیشرفت و سرعت بیشتر در ترمیم زخم در گروه روغن ماهی نسبت به گروه روغن ذرت و گروه کنترل می‌باشد.

بحث

از آنجایی که یکی از مشکلات بیماران دیابتی، بهبود غیرطبیعی و تأخیر طولانی در بهبود زخم حتی در شرایط مناسب است و با توجه به این‌که، این نارسایی در بهبود زخم، دارای علل گوناگونی از قبیل التهاب مزمن [۳۳]، کاهش جریان خون و هیپوکسی ناشی از آن [۳۵] می‌باشد، از سوی دیگر اسیدهای چرب امگا-۳ که در روغن ماهی وجود دارند دارای اثر ضدالتهابی بوده [۴۴] و هم‌چنین توانایی تولید کلاژن [۲۱] و افزایش جریان خون به موضع زخم [۳۹] را دارا هستند؛ بنابراین احتمالاً دارای فواید بالقوه بالینی از قبیل تحت تأثیر قرار دادن بهبودی زخم نیز می‌باشد، بدین لحاظ در مطالعه قبلی، ما نشان دادیم که مصرف روغن ماهی به صورت موضعی و خوراکی [۱، ۲] زخم پوستی را در موش صحرایی با دیابت حاد بهبود می‌بخشد، در پژوهش حاضر بر آن شدیم تا اثر روغن ماهی را بر بهبود زخم در موش صحرایی با دیابت مزمن بررسی کنیم.

پژوهش حاضر بیانگر این است که در حیوان‌های دیابتی، ترمیم زخم به تأخیر می‌افتد به طوری که هم

می باشد، قادر به افزایش دادن mRNA مرتبط به ترانسفورمینگ فاکتور رشد ($TGF-\beta$) و پروتئین در طحال موش است، هم چنین گزارش شده است که این دو اسید چرب از طریق $TGA-\beta$ و هم چنین فاکتور رشد فیبروبلاست و آلفا- فاکتور نکروز. سوموری ($TNF-\alpha$) اثرات تشدید می خود را بر روی مهاجرت سلولی در محل زخم اعمال می کنند، هم چنین روغن ماهی قادر به تقویت اثرات سیتوکین ها (فاکتورهای رشد) از طریق تقویت فعالیت گیرنده های غشایی این مواد یا مسیرهای بعد از گیرنده می باشد [۳۶].

دلایل احتمالی دیگر اثر روغن ماهی، عبارت است از: افزایش بقای منوسیت (زیرا منوسیت ها نقش محوری بر ضد عوامل پاتوژن مهاجم و از بین بردن یاخته های عفونی داشته و لذا نقش در بهبود زخم و ترمیم آن دارند) [۴۱]، تولید کلاژن [۲۱]، کنترل مرحله التهابی زخم [۲۹]، کاهش پروستاگلاندین E2 [۳۲]، افزایش سیالیت غشای سلولی، کاهش ویسکوزیته خون، مهار تجمع پلاکتی، کاهش پاسخ عروق به عوامل منقبض کننده عروق، گشاد شدن عروق و افزایش خون رسانی و اکسیژن رسانی به محل زخم [۵، ۲۶، ۳۹]، افزایش تکثیر سلولی، افزایش تمایز سلولی [۳۶]، افزایش ترشح هورمون رشد [۲۴]، تسریع اپیتلیزاسیون و تسریع عروق زایی [۴۲]، افزایش تولید $LTB5$ و $PCI3$ ، کاهش فاکتور فعال کننده پلاکتی [۳۹]. از سوی دیگر گزارش شده است که ویتامین A موجود در روغن ماهی یک نقش مهم در تشدید بهبودی زخم دارد [۴۲] و شاید وجود این ویتامین، عامل بهبودی زخم ناشی از روغن ماهی باشد. البته احتمال های دیگر نیز قابل طرح است.

نتایج این مطالعه با نتایج مطالعات پژوهشگران دیگر بر روی انواع دیگر زخم هماهنگ است، Terkelsen و همکاران گزارش نموده اند که مصرف موضعی روغن کبد ماهی بر روی سرعت اپیتلیزاسیون زخم و هم چنین عروق زایی جدید در موضع زخم مؤثر است [۴۲]،

Hankenson و همکاران، اثر مفید اسیدهای چرب امگا-۳ را در درمان لیگامان های آسیب دیده و تولید کلاژن بیان نمودند [۲۱]، تغذیه با اسیدهای چرب امگا-۳ بعد از عمل جراحی الکتیو موجب کاهش معنی داری در مدت زمان بستری بیماران در بیمارستان می شود [۱۲]، Bjerve گزارش نموده است که در بیماران با کمبود اسیدهای چرب امگا-۳ نارسایی در بهبود زخم وجود دارد [۹]، کسائی و همکاران، اثر تسریع کننده بهبودی زخم را در اثر مصرف موضعی روغن ماهی در زخم حاصل از سوختگی بیان نموده اند [۴]، سجادی و همکاران و هم چنین Mathushevscaia نشان داده اند که روغن ماهی باعث بهبودی زخم معده و دئودنوم می شود [۳، ۴۳]، اگرچه گزارش های فوق همگی نشانگر اثر مفید روغن ماهی و اسیدهای چرب امگا-۳ در بهبود زخم های غیردیابتی بودند، اما گزارش هایی نیز وجود دارد که اثر مفیدی برای روغن ماهی در التیام زخم بیان نموده اند [۶، ۴۰].

در مقایسه ای که بین اثر روغن ذرت (که غنی از اسیدهای چرب امگا-۶ است) و روغن ماهی در ترمیم زخم انجام شد، آشکار گردید که بهبودی زخم در حیوان هایی که روغن ماهی دریافت کرده بودند، بهتر و سریع تر اتفاق افتاده است، زیرا به عنوان مثال سطح زخم در روز یازدهم در گروه تحت درمان با روغن ذرت $234/2 \pm 8 \text{mm}^2$ است در حالی که در همین روز این میزان در گروه روغن ماهی $132/6 \pm 13 \text{mm}^2$ است، هم چنین درصد بهبودی در همین روز در گروه روغن ذرت $39/8 \pm 3/2$ درصد است در حالی که در گروه دیابتی تحت درمان با روغن ماهی $70/2 \pm 8/7$ درصد است. علاوه بر این زخم در گروه روغن ذرت به ترتیب ۴ روز، ۳ روز و ۱/۵ روز دیرتر از حیوان های سالم، تحت درمان با روغن ماهی دیابتی بهبودی پیدا کرد، بنابراین روغن ذرت بهبودی زخم را به تأخیر انداخته است که این هماهنگ با نتایج قبلی ما است [۱، ۲]. روغن ذرت شاید

ماهی یا اسیدهای امگا-۳ می‌توانند احتمالاً یک نقش مهم کمکی در بهبود زخم بیماران دیابتی و هم‌چنین درمان سندرم پای دیابتی ایفا نمایند. پژوهش‌های بیشتری لازم است تا مکانیسم‌های دخیل در فرآیند التیام‌بخش روغن ماهی را آشکار نمایند.

تقدیر و تشکر

این پژوهش به عنوان طرح تحقیقاتی، از سوی شورای پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان تصویب و از حمایت مالی آن دانشگاه برخوردار بوده است، بدین وسیله از مسئولان ذریبط قدردانی به عمل می‌آید، هم‌چنین پژوهشگران لازم می‌دانند از آقایان دکتر سیدمحمدعلی سجادی، مهدی شریعتی، رضایی‌زاده، یزدان‌پناه و همکاران محترم مرکز نگهداری حیوانات و مرکز کامپیوتر دانشکده پزشکی رفسنجان قدردانی و تشکر به عمل آورند.

منابع

- [۱] خاکساری، م. و سجادی، م.ع.، اثر رژیم غذایی حاوی روغن ماهی بر ترمیم زخم در موش صحرایی دیابتی، مجله فیزیولوژی و فارماکولوژی، شماره ۲ (۱۳۷۸)، صفحات ۱۹۰-۱۸۱.
- [۲] سجادی، م.ع. و خاکساری، م.، اثر موضعی روغن ماهی بر ترمیم زخم در موش‌های صحرایی دیابتی، مجله دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، شماره ۳ (۱۳۷۸)، صفحات ۳۹-۱.
- [۳] سجادی، م.ع. و خاکساری، م.، اثر روغن ماهی در پیشگیری از ایجاد زخم معده ناشی از ایندومتاسین در موش صحرایی، مجله دانشگاه علوم پزشکی قزوین، شماره ۱۷ (۱۳۸۰)، صفحات ۲۷-۳.
- [۴] کسای، م. و رشیدی‌پور، ع.، بررسی اثر موضعی روغن ماهی بر بهبود زخم حاصل از سوختگی در موش سفید آزمایشگاهی، مجله دانشگاه علوم

از طریق افزایش تولید TXA2، PGE2 و LTB4؛ التهاب در موضع زخم را طولانی نموده و هم‌چنین کاهش جریان خون به موضع و کاهش ساخت کلاژن را موجب شده و در نتیجه تأخیر در بهبودی زخم را ایجاد نموده است [۱۸، ۱۷]. Trocki و همکاران اعلام نموده‌اند که اسیدهای چرب امگا-۳ بر خلاف اسیدهای چرب امگا-۶ به علت اینکه پیش‌سازهای ساخت PGE2 (تصفیه‌کننده سیستم ایمنی) نیستند، بنابراین در ترمیم زخم مؤثر هستند ولی اسیدهای چرب امگا-۶ مؤثر نیستند [۴۳]؛ اگر چه Derek و همکاران اعلام نموده‌اند، هم اسیدهای چرب امگا-۳ و هم اسیدهای چرب امگا-۶ در بهبود زخم‌های اپیتلیال روده موش صحرایی مفید هستند [۳۶] و Albina گزارش نموده است که اثر روغن ذرت بر روی ترمیم زخم پوستی در موش صحرایی بهتر از اثر روغن ماهی است [۷].

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 اثر روغن ماهی در حالت دیابت قندی مزمن تا حدودی کاهش یافته است، به طوری که در حالت دیابت حاد، روغن ماهی حدود ۳ روز بهبود زخم را به جلو می‌انداخت [۲]، در حالی که در مطالعه حاضر این اختلاف زمان فقط ۱/۳ روز بود؛ بنابراین نتیجه‌گیری می‌شود که احتمالاً در دیابت مزمن به علت اختلالات بیشتری که بوجود آمده است، اثر التیام‌بخش روغن ماهی کاهش یافته است ولی این کاهش معادل با حذف اثرات مفید روغن ماهی نیست.

در مجموع، بررسی ما نشان داد که مصرف موضعی روغن ماهی، قادر به تعدیل التیام زخم پوستی در حیوان با دیابت قندی مزمن است در حالی که روغن ذرت نه تنها این توانایی را ندارد، بلکه باعث تأخیر در بهبودی زخم نیز می‌شود که دلیل عمده این اختلاف مربوط به تفاوت در اسیدهای چرب غیراشباع در این دو نوع روغن می‌باشد. این مطالعه پیشنهاد می‌کند که مکمل روغن

- clinical outcome, *Surgery*, 112 (1992) 56-67. diabetic rats, *J. Pediat. Surg.*, 25(1990)75-78.
- [13] Dines, K.C. and Cameron, N.E., Contrasting effects of treatment with omega-3 and omega-6 essential fatty acids on peripheral nerve function and capillarization in streptozotocin diabetic rats, *Diabetologia*, 366 (1993) 1132-1138.
- [14] Fritsland, J., Safety consideration of polyunsaturated fatty acids, *Am. J. Clin. Nutr.*, 71 (2000) 1975-2015.
- [15] Friday, U.E. and, Elevated plasma glucose and lowered triglyceride levels from omega-3 fatty acid supplementation in type 2 diabetes, *diabetes care*, 12 (1989) 276-281.
- [16] Fuster, D.W., Diabetes mellitus. in; A.S. Fauci, ..., *Harrison's principles of internal medicine*, McGraw Hill Co. New York, 14th ed. (1998) 2081-2020.
- [17] Gembal, M., The effect of ascorbic acid on protein glycation in streptozotocin-diabetic rats, *Diabetologica*, 37 (1994) 731-736.
- [18] Gleckman, R. and Mory, J., Diabetes-related foot infection, *J. Contemporay Internal Medicine*, (1994) 57-62.
- [19] Goodson, W.H. and Hunt, T.K., Studies of wound healing in experimental diabetes mellitus, *J. Surg. Res.*, 25 (1977) 221-227.
- [20] Hajizadeh, S. and Khoshbaten A., Low voltage electrical stimulation and wound healing in rabbits. Effect of altering
- پزشکی سمنان، شماره ۱ (۱۳۷۸)، صفحات ۱۷-۳۲.
- [۵] محمدی باغملایی، م.م.، ترکیب اسیدهای چرب ماهی پر مصرف خلیج فارس و دریای خزر، (w6، w3)، فصل نامه طب جنوب، شماره اول (۱۳۷۶)، صفحات ۳-۱۵.
- [6] Arend, A., Zilmer, M., Vihalemm, 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.*, 44 (2000) 217-222.
- [7] Albina, J.E., Gladden, P. and Walsh, W.R., Detrimental effects of an omega-3 fatty-enriched diet on wound healing, *JPEN. J. Enteral. Nutr.*, 17 (1993) 519-521.
- [8] Austen, K.F., The role of arachidonic acid metabolites in local and systemic inflammatory processes, *Drugs*, 33 (1987) 7-10.
- [9] Bjerve, K.S., n-3 fatty acid deficiency in man, *J. Inter. Med.*, 225 (1989) 171-175.
- [10] Conner, W.E., Diabetes, fish oil, and vascular disease. *Ann. Inter. Med.* 123 (1995) 450-952.
- [11] Conner, W.E., Importance of n-3 fatty acids in health and disease, *Am. J. clin. Nutr.*, 71 (2000) 1715-1755.
- [12] Daly, J.M., Lieberman, M.D., Goldfine, J., Shou, J. and Weintraub, F., Enteral nutrition with supplementation arginin, RNA, and omega-3 Fatty acids in patients after operation immunologic, metabolic, and

- and fish oil in well controlled type II diabetes, *Diabetes care*, 19 (1996) 463-467.
- [29] Mooney, M.A., Vaughn, D.M., Reinhart, G.A. and Powers, R.D., Evaluation of effects of omega-3 fatty acid-containing diets on the inflammatory stage of wound healing in dogs, *Am. J. Vet. Res.*, 59 (1998) 859-863.
- [30] Mori, T.A. and, Comparison of diets supplemented with fish oil or olive oil on plasma lipoproteins in insulin- dependent diabetics, *Metabolism*, 40 (1991) 241-246.
- [31] Matushevakaia, V.N. and, Optimization of dietary fat composition in erosive and ulcerative diseases of gastroduodenal area, *Vopr. Pitan*, 6 (1996) 35-37.
- [32] Peck, L.W., Essential fatty acid deficiency in renal failure: can supplements really help? *J. Am. Diet. Assoc.*, 97 (1997) S150-S153.
- [33] Potemkin, V., *Endocrinology*, Mir Publisher, Moscow, (1989) 221-234.
- [34] Robertson, J., The effect of the calcium antagonists nifedipine on peripheral nerve function in streptozotocin diabetic rats, *Diabetologica*, 35 (1992) 1113-1117.
- [35] Roger, H., *Diabetes mellitus*, in: J.D., Wilson, D.W., Foster, Williams, textbook of endocrinology, W.B. Saunders Co. London, 8th ed. (1998) 1255-1233.
- [36] Ruthing, D.J. and Meckling-Gill, A., Both (n-3) and (n-6) fatty acids stimulates wound healing in the rat intestinal epithelial cell line, IEC-6, *J. Nutr.*, 129 (1999) 1791-1798.
- [37] Sellmayer, A., H. rboticky, N. and Weber, frequency, *M.J.I.R.I.*, 10 (1996) 223-228.
- [21] Hankenson, K.D., Watkins, B.A., schoenlein, I.A., Allen, K.G. and Turek, J.J., Omega-3 fatty acids enhance ligament fibroblast collagen formation in association with changes in interleukin-6 production, *Biol. Med.*, 223 (2000) 88-95 *Proc soc, Exp.*
- [22] Hennesey, P.J. and Ford, E.G., Wound collagen activity correlates directly with collagen glycosylation in
- [23] Isler, H., Bauen, A., Hubler, M. and Oberhozer M., Morphometric assesment of wound healing in rats treated with a protein-free haemodialysate, *Burns*, 17 (1991) 99-103.
- [24] Lands, W.E.M., *Biochemistry and physiology of n-3 fatty acids*, *FASEB. J.*, 6 (1992) 2530-2536.
- [25] Luo, J. and, Moderate intake of n-3 fatty acids for 2 months has no deterrental effect on glucose metabolism and could ameliorate the lipid profile in type 2 diabetic man, *Diabetes Care*, 21 (1998) 717-724.
- [26] Malasanos, T.H. and Stapoole, P.W., Biological effect of w- fatty acid in diabetes mellitus, *J. Diabetes Care*, 14 (1991) 1160-1179.
- [27] McMorry, J.F., Wound healing with diabetes mellitus; better glucose control for better wound healing in diabtes, *Surg. Clin. North. Am.*, 64 (1984) 769-774.
- [28] McManus, R.M. and, Comparison of the effect of n-3 fatty acids from linseed oil

- Polyunsaturated fatty acids influence neonatal monocyte survival, *Pediatet. Surg.*, 17 (2001) 254-258.
- [42] Terkelsen, L.H., Eskild-Jensen, A., Kielsen, H., Barker, J.H. and Hjortdal, V.E., Topical application of cod liver oil ointment accelerates wound healing: an experimental study in wound in the ears of hairless mice, *Scand. J. Plast. Reconst. Surg. Hand. Surg.*, 34 (2000) 15-20.
- [43] Trocki, O., Heyd, T.J., Waymack, J.P. and Alexand, J.W., Effect of fish oil on postburn metabolism and immunity. *JPEN. J. Parenter. Enteral. Nutr.*, 11(1987) 521-528.
- [44] Uauy-Dagach, R. and Valenzuela, A., Marine oils: The health benefits of n-3 fatty acids, *Nutr. Rev.*, 54 (1996) S102-S108.
- P.C., Lipids in vascular function, *Lipids*, 34 (1999) 513-518.
- [38] Sheehan, J.P. and, Effect of high fiber intake in fish oil treated patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus, *Am. J. Clin. Nutr.*, 66 (1997) 1187-1187.
- [39] Simopoulos, A.P. and Kiferr, L., Effect of dietary fish oil on leukocyte leukotriene and PAF generation and on neutrophil chemotaxis, health effect of w-3 polyunsaturated fatty acid in seafoods, *J. Word. Rev. Nutr. Diet.*, 66 (1991) 391-400
- [40] Sukumar, P., Loo, A., Magur, E., Nandi, J., Oler, A. and Levine, R.A., Dietary supplementation of nucleotides and arginine promotes healing of small bowel ulcers in experimental ulcerative ileitis, *Dig. Dis. Sci.*, 42 (1997) 1530-1536.
- [41] Sweeney, B., Puri, P. and Reen, D.J.,