

اثر رژیم غذایی حاوی اسید اسکوربیک بر ترمیم زخم در موش صحرایی سالم و دیابتی

علیرضا رضائی زاده^۱ دکتر محمد خاکساری^۲ دکتر محمد مردانی^۳

^۱ کارشناس ارشد بافت‌شناسی، گروه علوم تشریح، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، دانشیار، گروه فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی کرمان^۲

^۳ استادیار، گروه علوم تشریح، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

مجله پزشکی هرمزگان سال هفتم شماره اول بهار ۸۲ صفحات ۴۵ تا ۵۳

چکیده

مقدمه: بر اساس مطالعات انجام شده، افزایش رادیکالهای آزاد اکسیژن در دیابت شیرین همراه با اختلال در ترمیم زخم است و از سوی دیگر ویتامین C یک ترکیب آنتی اکسیدان است. در این مطالعه اثر مصرف اسید اسکوربیک در ترمیم زخم موش‌های صحرایی دیابتی بررسی و نتیجه با حیوان‌های سالم مقایسه شد.

روش کار: این مطالعه تجربی به صورت یک سو کور روی ۸۰ سر موش صحرایی نر بالغ انجام شد. همه موشها به طور تصادفی به ۸ گروه ۱۰ (تایی تقسیم شدند. دیابت تجربی در چهار گروه آزمایشها با تزریق زیر جلدی ۵۰ mg/kg استرپتوزوتوسین ایجاد شد. گروه (I) که دیابتی شده ولی آب آشامیدنی آنها معمولی بود. گروه (II) «گروه پروفیلاکسی دیابتی» فقط یک ماه قبل از القاء دیابت، آب مصرفی آنها حاوی ۲۵۰ mg/lit اسیداسکوربیک بود. گروه (III)، گروه درمان دیابتی، یک ماه بعد از القاء دیابت، غلظت اسیداسکوربیک فوق را دریافت کردند. گروه (IV) «گروه ترکیبی دیابتی»، یک ماه قبل از ایجاد دیابت و هم چنین بعد از ایجاد دیابت تا ترمیم کامل زخم اسیداسکوربیک دریافت کردند. با چهار گروه سالم (گروههای V تا VII) نیز مانند چهار گروه دیابتی (گروههای I تا IV) رفتار شد. هشت هفته بعد از القاء دیابت و پس از بیهوشی موشها، زخمی به مساحت ۳ cm^۲ در پشت همه حیوانها ایجاد شد، میانگین سطح زخم و درصد بهبودی آن و همچنین مدت زمان لازم برای بهبودی کامل زخم بررسی شد. جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمونهای آماری آنالیز واریانس و t-test استفاده شد و سطح معنی‌دار $p < 0.05$ در نظر گرفته شد.

نتایج: نتایج این پژوهش نشان داد که میانگین سطح زخم از روز سوم به بعد در حیوان‌های سالم کمتر از حیوان‌های دیابتی است و در روزهای هفتم تا پانزدهم این اختلاف معنی‌دار ($P < 0.001$) می‌باشد. درصد بهبودی زخم در همه روزهای بعد از جراحی در حیوان‌های سالم بیشتر از حیوان‌های دیابتی مشاهده شد. به علاوه درصد بهبودی زخم در گروه (I) در مقایسه با گروههای (III) و (IV) در همه روزهای بعد از عمل بیشتر بود. مدت زمان لازم برای بهبودی کامل زخم در موش‌های دیابتی و سالم به ترتیب گروههای $I > II > III > IV$ و $VI > VII > VIII > V$ بود.

بحث: مصرف اسیداسکوربیک در حیوان با دیابت مزمن بعد از القاء دیابت و نیز به صورت ترکیبی ترمیم زخم را مختل می‌کند و این در حالی است که مصرف اسیداسکوربیک با همین غلظت در حیوان سالم باعث بهبود زخم می‌شود.

کلیدواژه‌ها: اسیداسکوربیک - مکمل غذایی - ترمیم زخم - دیابت - موش

نویسنده مسئول:

علیرضا رضائی زاده

رفسنجان - میدان انقلاب -

دانشکده پزشکی - گروه علوم

تشریح

تلفن: ۰۳ ۵۲۳۴۰۰۳ ۹۸ ۳۹۱

فاکس: ۰۹ ۵۲۲۵۲۰۹ ۹۸ ۳۹۱

مقدمه:

بیماری دیابت دارای عوارض مزمنی مانند گرفتاری عروق ته چشم، گرفتاری عروق کلیوی، گرفتاری اعصاب (نوروپاتی)، ضایعات پوستی، زخم‌های دیابتی در پا (سندرم زخم پای دیابتی) و بهبود تأخیری و غیرطبیعی در زخم می‌باشد (۱، ۲، ۳). اهمیت زخم پای دیابتی هنگامی بیشتر آشکار می‌شود که مشخص شود این زخم عامل بستری شدن بیماران دیابت در بیمارستان برای چندین روز در هر سال است (۴). نارسایی در ترمیم زخم در بیماران دیابتی ممکن است ناشی از عللی مانند: التهاب مزمن در محل زخم (۱، ۵)، تغییرات ایجاد شده در عروق کوچک از قبیل تکثیر اندوتلیال در شریانچه‌های کوچک و ضخیم شدن غشاء پایه مویرگ‌ها (۶)، مساعد بودن محیط زخم برای ابتلا به عفونت (۵)، کاهش جریان خون و هیپوکسی ناشی از آن به علت کاهش گلوکز داخل یاخته‌های (۴)، نارسایی در عروق‌زایی جدید (۵، ۶)، کاهش گلوکز داخل‌یافته‌ای (۴)، کاهش در تولید و شکل‌گیری کلاژن (۷) افزایش رادیکال‌های آزاد اکسیژن (۸) و افزایش قند خون 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 یابد (۶).

با توجه به عوامل دخیل فوق در نارسایی بهبود زخم در دیابت، یکی از راه‌های پیشنهادی برای غلبه بر این عوامل استفاده از اسیداسکوربیک (ویتامین C) می‌باشد. مطالعات مختلف گزارش نموده‌اند که مصرف مکمل ویتامین C باعث افزایش ساخت و ترشح کلاژن (۹، ۱۰)، مهار رادیکال‌های آزاد اکسیژن، تقویت عمل بیگانه‌خواری ماکروفاژها و با کفایت کردن عملکرد گلبول‌های سفید، مهار کلاژناز، افزایش تکثیر فیبروبلاست‌ها، افزایش تولید هیدروکسی پرولین (۷، ۱۱، ۱۲) افزایش جریان خون از طریق گشاد شدن عروق با واسطه PGI₂ یا افزایش عروق‌زایی (۷، ۱۳)، مهار التهاب در محل زخم (۱۱، ۱۴) و افزایش رهایش اکسیژن در محل بافت می‌شود. اعمال فوق همگی می‌توانند در بهبود زخم مؤثر بوده و به تسریع

التیام زخم کمک کنند. از سوی دیگر مطالعات مختلف نشان داده‌اند که در بیماری دیابت هم مقدار اسیداسکوربیک پلاسما و بافت کاهش یافته (۷، ۱۵) و هم افزایش استرس اکسیداتیو (افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن) وجود دارد (۱۶). بنابراین مفید بودن احتمالی مصرف مکمل اسیداسکوربیک از هر دو جهت قابل طرح است.

بر اساس یافته‌های فوق و عملکرد آنتی‌اکسیدانی ویتامین C است که علاقه به استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها برای درمان بیماری‌های انسان از قبیل بیماری دیابت به مدت حداقل دو دهه ادامه داشته است، اما پیشرفت در درمان بیماری‌ها با برخی از موفقیت‌ها و شکست‌های چشمگیر همراه بوده است. بعنوان مثال مصرف ویتامین C کمتر از میزان توصیه روزانه با افزایش آسیب رادیکال‌های آزاد اکسیژن به DNA همراه است، اما بر خلاف انتظار، مصرف مکمل ویتامین C با دوز بالا هم همین اثر را دارد، یا راجع به اثر حفاظتی مصرف مکمل‌های ویتامین E بر روی بیماری‌های قلبی و عروقی اثرات متفاوتی گزارش شده است. هم‌چنین گزارش شده است که آنتی‌اکسیدان‌ها گاهی مرگ برنامه‌ریزی شده را مهار و گاهی تسهیل می‌کنند (۱۷). به طور خلاصه ایمنی و سلامتی حاصل از مصرف دوزهای بالای اسیداسکوربیک به صورت خوراکی مورد شک و تردید می‌باشد.

از آنجایی که اثرات ویژه ویتامین C بر روی بهبود زخم مورد بحث و گفتگو است و احتمالاً تناقض‌هایی در تأثیر آن (خصوصاً دوز بالای آن) در روند التیام زخم نیز وجود دارد مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر اسید اسکوربیک بر زخم‌های دیابتی و غیردیابتی موش‌های صحرایی انجام شده است. بدیهی است که نتایج حاصل از آن در صورت گردآمدن با نتایج مطالعات مشابه می‌تواند جایگاه ویتامین C را در درمان و پیشگیری از زخم پوستی مشخص نماید.

مواد و روش‌ها:

این مطالعه تجربی روی ۸۰ سر موش صحرایی (Rat) بالغ، جنس نر، از نژاد آلبینو - ان - ماری باوزن ۲۵۰-۳۰۰

گرم و سن ۳ تا ۴ ماهه انجام گرفت. موش‌ها در قفس‌های ۵ تایی در حیوانخانه دانشکده پزشکی رفسنجان با درجه حرارت ۲۲-۲۰ درجه سانتی گراد و سیکل روشنایی - تاریکی ۱۲ ساعته نگهداری شده و هیچگونه محدودیتی از نظر مصرف آب و غذا نداشتند.

جهت ایجاد دیابت تجربی در موش‌ها از روش تزریق زیر جلدی 50 mg/kg استرپتوزوتوسین (STZ) [apjohn آمریکا] در ناحیه بین دو گوش استفاده شد. برای نتیجه‌گیری بهتر حدود ۱۸ ساعت قبل از تزریق به حیوان غذا داده نشد. سه روز بعد از تزریق STZ، حیوان‌هایی که قند خون آنها بیش از 300 mg/dl بود و علائم دیابت از قبیل پرنوشی، پرادراری، کاهش وزن و تأخیر پاتولوژی جهت تخریب جزایر لانگرهانس را داشتند، دیابتیک در نظر گرفته شدند (۱۸، ۱۹).

دوز و روش مصرف اسیداسکوربیک یا ویتامین C به میزان 250 mg/lit در آب مصرفی حیوان‌ها در نظر گرفته شد و در اختیار گروه‌های مورد مطالعه بجز گروه شاهد قرار گرفت، تنها مورد اختلاف در ارتباط با مدت زمان مصرف اسیداسکوربیک در گروه‌های مختلف بود (۲۰). سپس موش‌ها به طور تصادفی به دو گروه کلی (دیابتی و سالم) تقسیم شدند که هر کدام از این گروه‌ها خود به ۴ زیر گروه تقسیم شدند، تعداد حیوان‌ها در هر زیر گروه ۱۰ سر موش صحرایی بود. زیر گروه‌های مطالعه عبارتند از:

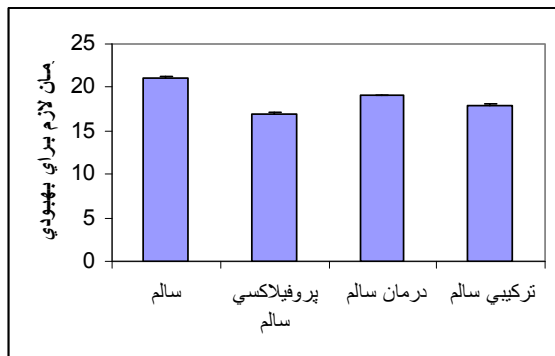
گروه I: «گروه شاهد مثبت»، که دیابتی شده ولی آب آشامیدنی آنها معمولی (فاقد اسیداسکوربیک) بود. گروه II: «گروه پروفیلاکسی دیابتی»، حیوان‌های این گروه یک ماه قبل از ایجاد دیابت در آب مصرفی آنها اسیداسکوربیک با غلظت 250 mg/lit حل شده و پس از ایجاد دیابت رژیم اسیداسکوربیک آنها قطع شد گروه III: «گروه درمان دیابتی»، حیوان‌هایی که دیابتی شده و یک ماه پس از القاء دیابت تحت درمان با اسیداسکوربیک 250 mg/lit قرار گرفته و تا ترمیم کامل زخم، اسیداسکوربیک مصرف کردند. گروه IV: «گروه ترکیبی دیابتی»، حیوان‌هایی که یک

ماه قبل از القاء دیابت و تا ترمیم کامل زخم اسیداسکوربیک مصرف کردند. گروه V: «گروه سالم» غیر دیابتی یا گروه شاهد منفی است که آب آشامیدنی آنها معمولی بود و فقط پشت آن‌ها زخم ایجاد شد. گروه VI: «گروه پروفیلاکسی سالم» که یک ماه قبل از ایجاد زخم در آب آشامیدنی آنها اسیداسکوربیک با غلظت 250 mg/lit حل شد و پس از ایجاد زخم، اسید اسکوربیک آنها قطع شد. گروه VII: «گروه درمان سالم»، پس از ایجاد زخم اسیداسکوربیک با غلظت فوق در آب آنها حل شد و تا بهبود کامل زخم، مصرف ادامه یافت. گروه VIII: «گروه ترکیبی سالم»، از یک ماه قبل ایجاد زخم تا بهبودی کامل اسیداسکوربیک (250 mg/lit) به صورت محلول در آب مصرف کردند.

در ایجاد زخم و ارزیابی بهبود آن، چون مطالعه بر روی دیابت مزمن می‌باشد، ۸ هفته بعد از القاء دیابت تجربی (۲۱) قند خون 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 تراشیده شد، سپس با قرار دادن مارکر فلزی در استامپ و قرار دادن آن روی قسمت تراشیده شده، پشت حیوان دایره‌ای به قطر حدود $1/96$ سانتی متر (مساحت 3 cm^2) رسم شد، سپس توسط قیچی جراحی پوست این ناحیه بطور کامل (Full thickness) در شرایط استریل برداشت شد (۲۲). عمق زخم شامل درم و هیپودرم بود. بهبودی زخم از طریق اندازه‌گیری سطح زخم، درصد بهبودی زخم و مدت زمان لازم جهت بسته شدن کامل زخم ارزیابی شد. سطح زخم در روزهای ۱، ۳، ۷، ۱۱، ۱۵ و ۲۰ بعد از انجام آن به روش فرگوسن لوگان با واحد mm^2 اندازه‌گیری شد و درصد بهبودی طبق فرمول خاصی محاسبه گردید (۱۸، ۲۲). ایجاد زخم و اندازه‌گیری سطح آن در ساعت معین و توسط یک نفر انجام شد.

سپس نتایج حاصله با استفاده از آزمون‌های آماری آنالیز واریانس (ANOVA) و t-test مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و $P < 0/05$ اختلاف معنی دار منظور گردید.

نتایج:



نمودار شماره ۲- مقایسه مدت زمان لازم برای بهبودی کامل زخم در گروه‌های مختلف حیوان. اختلاف معنی دار بین گروه سالم و دو گروه پروفیلاکسی سالم و درمان سالم کمتر از ۰/۰۰۱ می باشد.

در مورد سطح و درصد بهبودی زخم در موش‌های صحرایی دیابتی، میانگین سطح (mm²) و میانگین درصد بهبودی زخم در گروه‌های مختلف دیابتی در روزهای متفاوت پس از جراحی در جدول شماره ۲ نشان داده شده است. علی‌رغم اینکه زخم در روز اول در همه گروه‌ها یکسان بود، اما در روزهای یازدهم و پانزدهم سطح زخم در گروه دیابتی (شاهد مثبت) کمتر از سطح زخم در گروه درمان دیابتی (p < ۰/۰۰۱) و گروه پروفیلاکسی دیابتی (p < ۰/۰۰۱) بود. به عنوان مثال در روز یازدهم سطح زخم در گروه دیابتی ۲۷/۳ ± ۱/۶ بود در حالی که این متغیر در گروه‌های پروفیلاکسی دیابتی و درمان دیابتی به ترتیب ۵۰/۶ ± ۲/۹ و ۷۸/۲ ± ۵/۲ مشاهده شد. همین اختلاف معنی دار در مقایسه درصد بهبودی زخم بین گروه دیابتی با گروه درمان دیابتی در روز فوق وجود داشت (p < ۰/۰۰۱)، اما برای این متغیر در روزهای اول مطالعه نیز بین گروه دیابتی با گروه درمان دیابتی اختلاف معنی دار وجود داشت، اگر چه بیشترین اختلاف (از لحاظ درصد) در همین روزهای یازدهم و پانزدهم می‌باشد. همچنین این جدول نشان می‌دهد که سطح زخم و درصد بهبودی زخم در گروه دیابتی در روزهای یازدهم و بیستم کمتر از گروه ترکیبی دیابتی بوده است (p < ۰/۰۰۱). به علاوه تفاوت معنی‌دار در سطح زخم در گروه پروفیلاکسی دیابتی در مقایسه با گروه درمان (p < ۰/۰۰۱)

مقایسه میانگین سطح زخم (mm²) و میانگین درصد بهبودی زخم در گروه‌های مختلف سالم در روزهای متفاوت پس از جراحی در جدول ۱ نشان داده شده است. سطح زخم در روز اول مطالعه در همه گروه‌ها یکسان بود. در حالی که از روز هفتم بعد از جراحی، در گروه پروفیلاکسی سالم هم سطح زخم کمتر (p < ۰/۰۱) و هم درصد بهبودی زخم بیشتر از گروه سالم بود (p < ۰/۰۵)، به طوری که به عنوان مثال در روز هفتم سطح زخم در گروه سالم و پروفیلاکسی سالم به ترتیب ۱۴۰/۱ ± ۲/۸ mm² و ۱۲۸/۷ ± ۱/۷ mm² بود. از سوی دیگر در همین روز درصد بهبودی زخم در دو گروه مذکور به ترتیب ۵۲/۸ ± ۱ و ۵۷/۰۵ ± ۱/۸ بود. در هیچ یک از روزهای مطالعه اختلاف معنی داری بین گروه‌های سالم و ترکیبی سالم مشاهده نشد. مقایسه سطح زخم در گروه پروفیلاکسی سالم با گروه‌های درمان و یا ترکیبی سالم، اختلاف معنی داری را در روز یازدهم نشان داد، به طوری که سطح زخم در گروه پروفیلاکسی در این روز ۱۰/۳ ± ۱/۱ mm² بود در حالی که در گروه درمان سالم به میزان ۲۱/۲ ± ۱ (p < ۰/۰۱) و گروه ترکیبی سالم به میزان ۱۴/۴ ± ۰/۹ (p < ۰/۰۵) مشاهده شد.



نمودار ۱- مقایسه مدت زمان لازم برای بهبودی کامل زخم در گروه‌های مختلف حیوان. اختلاف معنی‌دار بین گروه پروفیلاکسی دیابتی و درمان دیابتی کمتر از ۰/۰۵ و اختلاف معنی‌داری بین گروه دیابتی و درمان دیابتی کمتر از ۰/۰۰۱ می‌باشد.

جدول شماره ۱ - مقایسه سطح زخم (S) بر حسب میلی‌متر مربع و درصد بهبودی زخم در موش‌های صحرایی سالم در روزهای مختلف پس از جراحی

متغیر	روز									
	اول		سوم		هفتم		یازدهم		پانزدهم	
	بهبودی (%)	(S) mean±Sd	بهبودی (%)	(S) mean±Sd	بهبودی (%)	(S) mean±Sd	بهبودی (%)	(S) mean±Sd	بهبودی (%)	(S) mean±Sd
سالم	—	279/1±37/7	—	202±8/0	31/8±2/0	140/1±2/8	52/8±1	21/7±0/0	92/7±0/7	2/3±0/3
پروفیلاکسی سالم	—	290/7±2/6	—	202/2±2/6	30/4±2/7	128/0±1/7	507/0±0/1/8	310/3±1/8	96/0±0/8	2/3±0/3
ترکیبی سالم	—	300/8±3/1	—	221/3±0/9	36/4±0/8	128/7±2/2	53/0±1/8	14/4±0/9	90/1±0/9	0/9±0/3
درمان سالم	—	298/9±2/2	—	228/2±1/0	22/7±1/2	128/3±1/8	53/9±2/2	21/3±1	92/8±0/8	2±0/7

a: اختلاف معنی‌دار بین سطح زخم یا درصد بهبودی زخم در گروه پروفیلاکسی سالم با گروه سالم با $p < 0.01$

b: اختلاف معنی‌دار بین گروه پروفیلاکسی سالم با گروه درمان و یا ترکیبی سالم به ترتیب با $p < 0.01$ و $p < 0.05$

جدول شماره ۲ - مقایسه سطح زخم (mm^2) و درصد بهبودی زخم (%) در موش‌های صحرایی دیابتی در روزهای مختلف پس از جراحی

گروه	روز											
	اول		سوم		هفتم		یازدهم		پانزدهم		بیستم	
	بهبودی (%)	(S) mean±Sd	بهبودی (%)	(S) mean±Sd	بهبودی (%)	(S) mean±Sd	بهبودی (%)	(S) mean±Sd	بهبودی (%)	(S) mean±Sd	بهبودی (%)	(S) mean±Sd
دیابتی	—	288/4±2/6	—	227/6±4/4	22/1±0/7	160/4±2/3	42/7±2/8	67/3±1/6	90/0±0/0	96/8±0/4	1/4±0/3	99/0±0/6
پروفیلاکسی دیابتی	—	287/8±4/9	—	202±4/1	28/8±1/1	140/7±2/2	50/7±3/9	82/0±1/1	59/2±1/4	22/2±2/3	2/4±0/8	99/2±0/3
درمان دیابتی	—	298/1±3/7	—	240±4/0/3	91/7/8±0/7	177/7±0/2	40/7±1/9	78/2±0/2	97/2±1/7	20/8±1/6	9/1±0/0	99/9±0/2
ترکیبی دیابتی	—	293/7±3/6	—	233±2/0/7	20/4±0/9	166/0±4/0	42/7/1±1/4	47/8±3/8	84/0/2±1/8	14/9±1/8	4/9±0/3	99/4±0/9

a: اختلاف معنی‌دار بین گروه دیابتی با گروه‌های درمان دیابتی و پروفیلاکسی دیابتی به ترتیب با $p < 0.01$ و $p < 0.01$

b: اختلاف معنی‌دار بین گروه دیابتی با گروه درمان دیابتی با $p < 0.001$

c: اختلاف معنی‌دار بین گروه پروفیلاکسی دیابتی با گروه‌های درمان و ترکیبی دیابتی به ترتیب با $p < 0.01$ و $p < 0.01$

d: اختلاف معنی‌دار بین گروه دیابتی با گروه درمان دیابتی با $p < 0.05$

f: اختلاف معنی‌دار بین گروه دیابتی با گروه ترکیبی دیابتی با $p < 0.01$

g: اختلاف معنی‌دار بین گروه پروفیلاکسی دیابتی با گروه‌های درمان دیابتی و ترکیبی دیابتی با $p < 0.05$

لازم برای بهبودی کامل زخم بدین صورت است: شاهد > پروفیلاکسی > ترکیبی > درمان.

مقایسه مدت زمان لازم برای بهبود کامل زخم (نمودار ۲) را در موش‌های سالم در گروه‌های مختلف نشان می‌دهد. این زمان برای گروه شاهد سالم $20/77 \pm 0/14$ روز می‌باشد که در مقایسه با گروه شاهد دیابتی اختلاف معنی داری ($P < 0/05$) را نشان می‌دهد. هم چنین گروه شاهد سالم با گروه‌های پروفیلاکسی و ترکیبی سالم اختلاف معنی داری را نشان داد ($p < 0/05$). در همین حاکی است که اثرات التیام‌بخش اسیداسکوریبک بر ترمیم زخم حیوانهای دیابتی بازدارنده بوده، در حالی که مصرف اسیداسکوریبک در حیوانات سالم، تأثیر مثبتی در بهبودی زخم آنها داشته است. رابطه مدت زمان

و یا ترکیبی دیابتی ($p < 0/01$) در روزهای سوم، هفتم و یازدهم و هم چنین درصد بهبودی زخم در روزهای سوم و هفتم ($p < 0/05$) مشاهده شد. این نتایج (نمودار ۱)، مقایسه مدت زمان لازم برای بهبودی کامل زخم را در موش‌های دیابتی در گروه‌های مختلف نشان می‌دهد. این زمان برای گروه‌های شاهد، پروفیلاکسی، درمان و ترکیبی دیابتی به ترتیب روز $25 \pm 0/3$ ، $26/2 \pm 0/0$ ، $22/4 \pm 0/7$ ، $22/2 \pm 0/6$ می‌باشد به طوری که گروه پروفیلاکسی با گروه درمان اختلاف معنی داری ($P < 0/05$) را نشان می‌دهد و نیز گروه شاهد با گروه‌های ترکیبی و درمان دیابتی اختلاف معنی دار دارد ($p < 0/05$). ترتیب مدت زمان

اندازد. در حالی که اگر هم قبل و هم بعد از القاء دیابت مصرف شود (ترکیبی) اگر چه اثر منفی آن کاهش می‌یابد، اما هنوز سه روز تأخیر در بهبودی زخم وجود دارد. اما اگر همین دوز مکمل فقط قبل از ایجاد دیابت مصرف شود (به صورت پروفیلاکسی)، دارای اثر منفی بر روی بهبود زخم نبوده و بی‌تأثیر می‌باشد.

این نتیجه با این فرضیه که ویتامین C برای درمان اختلالات دیابت خصوصاً درمان زخم دیابتی مفید هستند، متفاوت است (۸ و ۲۴). اگر چه مکانیسم‌هایی که منجر به عدم تأثیر اسیداسکوربیک در این مطالعه شد، مشخص نیست، اما احتمالاً این مکمل از طریق مکانیسم‌های زیر عمل نموده است:

اول اینکه ممکن است به علت اینکه دوز مصرف شده بالاتر از دوز فیزیولوژیک بوده فعالیت باکتری‌کشی مهار شده و ترمیم زخم به تأخیر افتاده است، زیرا بر اساس گزارشهای موجود این مکمل در دوزهای فارماکولوژیک اثر مهار روی فعالیت فاگوسیتی نوتروفیل‌ها دارد (۷). هم‌چنین گزارش شده است که مصرف مکمل ویتامین C با دوز بالا با افزایش آسیب‌رادیکالهای آزاد به DNA همراه است (۱۷). ثانیاً ممکن است اسیداسکوربیک باعث تشدید دیابت شده باشد، زیرا گزارش شده است که این مکمل دارای اثر دیابت‌ژنیک است (۲۵). این احتمال نیز وجود دارد که هیپرگلیسمی ممکن است باعث کاهش حضور اسیداسکوربیک در لکوسیت‌های تک‌هسته‌ای، اختلال در پاسخ‌های التهابی و افزایش حساسیت به عفونت در افراد دیابتیک شود (۷، ۲۶). دلیل این رخداد، مهار برداشت اسیداسکوربیک توسط سلول‌ها می‌باشد، زیرا نشان داده شده است که این ویتامین با گلوکز در ورود به سلول‌ها رقابت می‌کند (۲۴). از سوی دیگر شاید همین عدم (کاهش) ورود این مکمل به داخل فیبروبلاست‌ها باعث حذف نقش کوفاکتوری آن در ساخت کلاژن در این یاخته‌ها شده و در نتیجه کلاژن تولید نشده و یا به صورت ناقص (غیر طبیعی) تولید شده است (۷، ۱۰). دلایل احتمالی دیگر عدم تأثیر این ویتامین در درمان زخم دیابتی و به تأخیر انداختن آن، شاید افزایش در تولید

بهبودی کامل در گروه درمان سالم در مقایسه با گروه‌های پروفیلاکسی و ترکیبی سالم اختلاف معنی‌داری را نشان داد ($p < 0.05$) و این زمان برای گروه شاهد سالم از همه گروه‌ها بیشتر می‌باشد. ترتیب مدت زمان لازم برای بهبودی کامل زخم به ترتیب عبارتست است از: پروفیلاکسی > ترکیبی > درمان > شاهد سالم

بحث و نتیجه‌گیری:

استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها برای درمان بیماریهای انسان و نقش آنتی‌اکسیدان‌های موجود در غذا در پیشگیری از ایجاد بیماری حداقل از دو دهه قبل در محافل علمی مطرح بوده است. یکی از این بیماریها، دیابت است، زیرا در بیماریهای دیابت از یک سو متابولیسم اسیداسکوربیک (که به عنوان یک آنتی‌اکسیدان عمل می‌کند) غیر طبیعی بوده و مقدار آن در پلاسما و بافت‌ها کاهش می‌یابد (۸، ۲۴) و از سوی دیگر افزایش استرس اکسیداتیو در این بیماری وجود دارد (۱۶). یکی از علل نارسایی در بهبودی زخم در افراد دیابتی افزایش رادیکال‌های آزاد اکسیژن و هم‌چنین کاهش در ساخت یا افزایش در تجزیه کلاژن می‌باشد که هر دو پدیده می‌تواند ناشی از کمبود ویتامین C باشد (۷).

نتایج این مطالعه بیانگر این است که در حیوان‌های دیابتی ترمیم زخم به تأخیر می‌افتد به طوری که هم مساحت زخم در این حیوان‌ها بیشتر از حیوان‌های سالم بود و هم درصد بهبودی در این حیوان‌ها کمتر از حیوان‌های سالم بود. نارسایی در ترمیم زخم که در این مطالعه مشاهده شد، هماهنگ با نارسایی مشاهده شده در بهبودی زخم در حیوان‌های هیپرگلیسمیک و بیماران دیابتی است که در مطالعات قبلی نیز گزارش شده است (۸، ۲۳).

یافته دیگر این پژوهش حاکی از این است که مصرف اسیداسکوربیک در حیوان دیابتی نه تنها مفید نیست بلکه دارای اثر منفی نیز می‌باشد، به طوری که اگر این مکمل بعد از ایجاد دیابت مصرف شود، ترمیم زخم را به میزان ۴ روز در مقایسه با حیوان‌های کنترل (دیابتی) به تأخیر می‌

پروستاگلاندین E_2 (V) و طولانی کردن مرحله التهابی پروسه ترمیم زخم دیابتی باشد. آنتی اکسیدان ها ممکن است از طریق پیشگیری از اکسیداسیون موقتی که سبب تحریک فسفریلاسیون پروتئین و فاکتورهای رونویسی می گردد، باعث مهار تکثیر سلول و ترمیم زخم شوند (۱۷). نتایج این مطالعه با نتایج مطالعات پژوهشگران دیگر که عدم تأثیر یا مضر بودن ویتامین C را مطرح نموده اند، هماهنگ است. در مطالعات دیگر نشان داده شده است که مصرف یک آنتی اکسیدان بعد از شروع آسیب اکسیداتیو می تواند به تشدید آسیب منجر شود، به عبارت دیگر به عنوان یک پروکسیدان عمل می کند (۱۷). ایمنی و سلامتی حاصل از مصرف دوزهای بالای اسیداسکوربیک به صورت خوراکی مورد شک و تردید می باشد. از سوی دیگر مکمل های ویتامین E و C، سبب کاهش آسیب به DNA نمی شوند. آنتی اکسیدانها می توانند گاهی مرگ برنامه ریزی شده را تسهیل و گاهی مهارکنند. نتایج یک مطالعه نشان داد که تجویز ویتامین C قبل از در معرض قرار گرفتن با پاراکوات (یک علف کش است) نقش محافظت کننده دارد، اما وقتی ویتامین C بعد از تماس با پاراکوات داده شده موجب تشدید آسیب ناشی از این ترکیب گردید، که علت آن تعامل با فلزات واسطه آسیب اکسیداتیو است (۱۷).

یافته های بخش دیگر این پژوهش نشان داد که مصرف پروفیلاکسی اسیداسکوربیک اگر چه تا روز هفتم بعد از ایجاد زخم درصد بهبودی زخم را در مقایسه با حیوان های کنترل (دیابتی) افزایش داده، اما در مجموع بر روی مدت زمان لازم برای بهبودی کامل زخم اثر نداشته است. مصرف پروفیلاکسی ویتامین C از آن جهت مورد مطالعه قرار گرفت که در مطالعات حیوانی نشان داده شده است که قبل از شروع دیابت، متابولیسم اسیداسکوربیک به طور آشکاری تغییر می یابد، به طوری که در موش های صحرائی پره دیابتی، اسیداسکوربیک و ویتامین E پلاسما کاهش می یابد (۷). مصرف پروفیلاکسی این مکمل احتمالاً از طریق ساز و کارهای زیر نقش خود را اعمال نموده است:

مصرف اسیداسکوربیک قبل از ایجاد دیابت، باعث شده که به مقدار کافی در سلولها جایگزین و در نتیجه ذخیره سلولی آن افزایش یابد به طوری که این ذخیره فقط توانسته است روی مراحل اولیه زخم (روزهای سوم و هفتم) مؤثر باشد احتمالاً مراحل التهابی ترمیم زخم را تحت تأثیر قرار داده است (۱۴)، زیرا این ویتامین دارای اثر ضدالتهابی است (۱۱) (۲۷). اثر آن در روزهای بعد از بین رفته است که دلیل آن احتمالاً کم بودن میزان ذخیره آن به علت کم بودن نیمه عمر آن می باشد (۷، ۱۳). البته نتایج دیگری نیز از یافته فوق به دست می آید، به عنوان مثال می توان بیان کرد که برای بروز اثرات ضد التهابی اسیداسکوربیک احتیاج به مدت زمان مصرف حدود یک ماه است تا با تأثیر در سیستم های نورواندوکرین پاسخ ضدالتهابی ایجاد نماید (۲۴، ۲۸) و یا اینکه اثر ضد التهابی این ویتامین در حیوان دیابتی تضعیف شده است (۲۵، ۲۹).

دلیل تفاوت اثر در روش ترکیبی در مقایسه با پروفیلاکسی احتمالاً این است که در گروه ترکیبی هر چند قبل از القاء دیابت اسیداسکوربیک مصرف شده است و احتمالاً همین موضوع باعث تفاوت اندک آن با حالت مصرف درمانی (بعد از ایجاد دیابت) شده است، اما چون این مصرف پس از ایجاد دیابت ادامه پیدا کرده است، شاید به دلیل رسیدن به دوز فارماکولوژیک در روند بهبودی زخم ایجاد اختلال کرده است.

از سوی دیگر پژوهش حاضر نشان داد که بر خلاف آنچه که ما در حیوان دیابتی مشاهده کردیم، مصرف اسیداسکوربیک در حیوان سالم مفید است، به طوری که مصرف آن به شکل های پروفیلاکسی یا ترکیبی به ترتیب باعث تسریع بهبودی زخم به مقادیر ۴ و ۳ روز در مقایسه با حیوان سالم بدون درمان می شود، در حالی که اگر این مکمل بعد از ایجاد زخم در حیوان سالم مصرف شود اثری بر روی بهبودی زخم ندارد. نتایج این مطالعه تأییدی بر نتایج مطالعات گذشته می باشد، زیرا Hallberg و همکارانش گزارش نمودند که مصرف آنتی اکسیدانها موجب بهبودی زخم اپی تلیال قرنیه در موش صحرائی

در حالی که مصرف همین دوز مکمل در حیوان دیابتی مزمن نه تنها ترمیم زخم را تسریع نمی‌نماید، بلکه هنگامی که بعد از ایجاد زخم مصرف شود ترمیم زخم را به تعویق می‌اندازد به عبارت دیگر نتایج این مطالعه بر تناقص های موجود در عملکرد آنتی اکسیدان‌ها (۱۷) افزود و مجدداً معمای مصرف آنتی اکسیدان‌ها را مطرح کرد. بعبارت دیگر با وجودی که نقش اسیداسکوربیک در بیماری دیابت و عوارض آن به میزان زیادی شناخته شده است، اما لازم است در این ارتباط مطالعات بیشتری صورت گیرد و مثبت بودن نقش این ویتامین خصوصاً در درمان زخم دیابتی بیشتر قطعیت یابد. بنابراین پیشنهاد می‌شود قبل از مصرف این ویتامین به عنوان یک درمان مرسوم در دیابت، اولاً کارآیی و بدون خطر بودن تجویز این ویتامین تأیید شود و ثانیاً پژوهش های بیشتری در خصوص مکانیسم های دخیل در عملکرد این مکمل در حیوان های سالم و دیابتی انجام گیرد.

تشکر و قدردانی:

این پژوهش به عنوان طرح تحقیقاتی شورای پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی اصفهان تصویب و از حمایت مالی آن دانشگاه برخوردار بوده است. هم چنین آزمایش‌ها در دانشکده پزشکی رفسنجان انجام شده است بدینوسیله از مسئولان ذیربط هر دو دانشگاه قدردانی به عمل می‌آید. پژوهشگران بر خود لازم می‌دانند از آقایان محمدرضا حاجی‌زاده، عباس صادقی و نیز از همکاران محترم مرکز کامپیوتر دانشکده پزشکی رفسنجان قدردانی و تشکر به عمل آورند.

می‌شوند (۸). هم چنین Gerald و همکارانش اعلام نمودند که در خوکچه های هندی اسکوربوتیک، مصرف ویتامین C از طریق افزایش هیدروکسی پرولین ترمیم زخم را تسریع می‌نماید (۹). علاوه بر این نشان داده شده است که در تمام بیماران با زخم بستر غلظت اسیداسکوربیک پلاسما کمتر از طبیعی بوده و نیز مصرف مکمل ویتامین C در دیابت استحکام عروق و جلوگیری از خونریزی در شبکیه چشم می‌شود (۷).

دلایل احتمالی اثر التیام بخش ویتامین C بر روی زخم حیوان سالم عبارت است از: افزایش سنتز کلاژن (۹، ۱۰) زیرا آنزیم های دخیل در ساخت پروکلاژن یا کلاژن و هم چنین هیدروکسیلاسیون پرولین احتیاج به اسیداسکوربیک دارد (۱۳، ۳۰). کاهش رادیکالهای آزاد اکسیژن (۲۷)، افزایش قابلیت تکثیر فیبروبلاست ها (۱۲)، تشدید عمل بیگانه خواری در موضع زخم (۱۱)، کاهش مرحله التهابی زخم (۱۴)، افزایش عروق زایی و به دنبال آن افزایش خون رسانی به موضع زخم (۷، ۱۳)، افزایش ثبات در غشاء مویرگی (۷، ۲۹) و افزایش رهایش اکسیژن در محل بافت (۱۳). شاید یکی از دلایل مهم اختلاف اثر اسیداسکوربیک در حیوان سالم و دیابتی مصرف بیشتر این ویتامین در حیوان دیابتی و بالا بودن غلظت پلاسمایی آن به میزان خیلی بیشتر در مقایسه با حیوان سالم است زیرا در این مطالعه مشخص شد که میزان مصرف آب در حیوان دیابتی حدود ۵ برابر بیشتر از حیوان سالم بوده است.

نتیجه گیری کلی مطالعه حاضر معرف این است که مصرف مکمل اسیداسکوربیک به میزان ۲۵۰ mg/lit قادر به تسریع التیام زخم پوستی در حیوان های سالم است،

References

منابع و مأخذ

- ۱- خاکساری، محمد. سجادی، محمدعلی. اثر رژیم غذایی حاوی روغن ماهی بر ترمیم زخم در موش صحرایی دیابتی. فیزیولوژی و فارماکولوژی، ۱۳۷۸، سال ۲. صفحات ۱۸۱ - ۱۹۰.
- 2- Powers AC. Diabetes mellitus. In: Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL. Harrison's principle of Internal Medicine. 15th ed. New York: Mc Graw-Hill; 2001:2109-2138.

- 3- Gleckman R, Mory J. Diabetes - related foot infection. *J Contemp Intern Med*. 1994; 6(8): 57-62 .
- 4- Unger RH, Foster DW. Diabetes mellitus. In: Wilson JD, Foster DW, Kronenberg HM, Larsen PR, eds. Williams textbook of endocrinology. 9th ed. Philadelphia: W.B. Saunders; 2001:973-1061.
- 5- Potemkin V. Endocrinology. Moscow: Mir publisher; 1989: 221-234.
- 6- Goodson WH, Hunt TK. Studies of wound healing in experimental diabetes mellitus. *J Surg Res*. 1977; 22: 221-227.
- 7- چاپ اول. تهران: سپهر. ۱۳۷۷. صفحات ۹ - ۱۰۱. C. یگانی، مجتبی. نگاهی تازه به ویتامین
- 8- Hallberg CK, Roeme SD, Ansari N H. Acceleration of corneal wound healing in diabetic rats by the antioxidant trolox. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol*. 1996; 93(1): 3-12.
- 9- Gerald MK, Louis CF, Edward CB. Ascorbic acid treatment on early collagen production and wound healing in the Guinea pig. *J Periodontol*. 1979;50(4):189-192.
- 10-Ramamurthy NS, Greenwald RA. The effect of alloxan diabetes on prolyl and lysyl hydroxylase activity in uninflamed and inflamed rat gingiva. *Arch Oral Biol*. 1985;30(9):679-683.
- 11-Goldenberg H, Schweinzer E. Transport of vitamin C in animal and human Cells. *J Bioenerg Biomembr*. 1994;26(4):359-367.
- 12-Scholl D, Langkamp-Henkon B. Nutrient recommendation for wound healing. *J Intraven Nurs*. 2001;24(2):124-132.
- 13-Levine M. New concepts in the biology and biochemistry of ascorbic acid. *N Engl J Med*. 1986;314(14):892-902.
- 14- Goodson WH, Hunt TK. Wound healing and the diabetic patient. *Surg Gynecol Obstet*. 1979;149(4):600-608.
- 15- Mc Lennan S, Yue DK, Fisher E. Deficiency of ascorbic acid experimental diabetes. *Diabetes*. 1988;37:359-361.
- 16-Nersi SM, Bruno CM. Alteration of oxid - reductive and hemostatic factors in type 2 diabetes. *J Int Med Res*. 1994;236:495- 500.
- 17-Halliwell B. The antioxidant paradox. *Lancet*. 2000;355:1179-1180.
- 18-Prakash A, Pandit PN, Sherman LK. Studies in wound healing in experimental diabetes. *Int Surg*. 1974;59(1):25-28.
- 19-Wohaieb SA, Godin DV. Alterations in free radicals tissue-defence mechanisms in Streptozocin- induced diabetes in rat. *Diabetes*. 1987;36(9):1014-1018.
- 20-Gembal M, Druzynska J, Kowalczy KM, et al. The effect of ascorbic acid on protein glycation in streptozotocin -diabetic rats. *Diabetologia*. 1994;37(7):731.
- 21-Schneir M, Ramamurthy N, Golub I. skin collagen metabolism in the streptozotocin - induced diabetic rat, Enhanced catabolism of collagen formed both before and during the diabetic state. *Diabetes*. 1982;31:426-431.
- 22- مهورز، شعبان، ایزدیار، بهنام، نظری، فرزانه. بررسی اثر پماد فاندرومول بر روند التیام زخم پوستی در موش صحرائی و مقایسه آن با سرم فیزیولوژی. مجله پزشکی کوثر. ۱۳۷۶. سال ۲. صفحات ۹۵ تا ۱۰۰.
- 23-Hajizadeh S, khoshbaten A, Low voltage electrical stimulation and wound healing in rabbits, effect of altering frequency. *MJIRI*. 1996;10:223-228.
- 24-Garg MC, Singh KP, Bansal DD. Effect of vitamin C supplementation on oxidative stress in experimental diabetes. *Indian J Exp Biol*. 1997;35(3):264-266.
- 25-Stankova L, Riddle M, Larned J, et al. Plasma ascorbate concentration and blood cell dehydroascorbate transport in patients with diabetes mellitus. *Metabolism*. 1984;33(4):347-353.
- 26-Sinclair AJ, Taylor PB, Lunec J, Girling AJ, Barnett AH. Low plasma ascorbate levels in patients with type 2 diabetes mellitus consuming adequate dietary vitamin C. *Diabet Med*. 1994;11(9):893-898.
- 27-Baynes JW, Role of oxidative stress in development of complicationin diabetes. *Diabetes*. 1991;40(4):405-412.
- 28-Padh H. Cellular function of ascorbic acid. *Biochem Cell Biol*. 1990;68(10):1166-1173.
- 29-Julie CW, Byers T. Does diabetes mellitus increase the requirement for vitamin C?. *Nutr Rev*. 1996;54(7):193-202.
- 30-Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. Robbins pathologic basis of disease. 7th ed. Philadelphia: W.B. Saunders; 2003.