

## اثر نیفدیپین موضعی بر روند التیام زخم پوستی در موش دیابتی

عباس عبادی<sup>۱</sup>، حسن قشونی<sup>۱</sup>، عبدالمجید چراغعلی<sup>۲</sup>

۱- دانشگاه علوم پزشکی بقیه... (عج)، دانشکده پرستاری

۲- دانشگاه علوم پزشکی بقیه... (عج)، دانشکده پزشکی

### چکیده

هدف از این تحقیق بررسی اثرات التیام‌بخش پماد نیفدیپین در مراحل مختلف فرآیند التیام و سرعت بسته شدن زخم در موش‌های دیابتی بود. با توجه به گزارشات منتشر شده مبنی بر اثر بخشی نیفدیپین موضعی در تسریع بهبود زخم‌های عروقی، در این مطالعه تأثیر کرم نیفدیپین بر روند التیام زخم‌های پوستی در موش‌ها مورد بررسی قرار گرفت.

در این پژوهش ۳۶ سر موش صحرایی نر از نژاد Wistar به وزن ۱۸۰-۲۰۰ گرم در چهار گروه تقسیم بندی شدند. ابتدا دو گروه از موش‌ها با استفاده از استرپتوزوتوسین (۷۰-۸۰ mg/kg i.p.) دیابتی شدند و دو گروه دیگر به عنوان کنترل (موش‌های سالم) تحت نظر بودند. پس از مشاهده بروز علائم دیابت و افزایش قند خون (۲۵۰-۳۰۰ mg/dl) در دو گروه دیابتی شده، با استفاده از قیچی جراحی زخمی به قطر ۱/۵ سانتی‌متر در ناحیه پشت گردن هر چهار گروه ایجاد شد. یک گروه از موش‌های دیابتی و یک گروه از موش‌های سالم روزانه با کرم نیفدیپین ۳٪ پانسمان (گروه درمانی با نیفدیپین) و به همین ترتیب دو گروه باقیمانده با دارونما (گروه درمانی با پلاسبو) تحت درمان قرار گرفتند. در روزهای سوم، هفتم و روز بسته شدن زخم از مناطق ترمیم شده، نمونه برداری به عمل آمد. نتایج حاصل از مطالعات میکروسکوپی نشان داد که در مراحل التهابی و تجدید ساختار بین دو گروه درمانی نیفدیپین و پلاسبو تفاوت معنی‌داری وجود دارد ( $P < 0.0005$ ). در موش‌های دیابتی نیز در همین دو مرحله التهابی و تجدید ساختار تفاوت وجود داشت ( $P < 0.001$ ). در حالی که در موش‌های سالم فقط در مرحله التهابی تفاوت‌ها معنی‌دار بود ( $P = 0.05$ ). بنابراین می‌توان مدعی شد که نیفدیپین در ترمیم زخم مؤثر است.

واژه‌های کلیدی: نیفدیپین، التیام زخم، دیابت، پوست.

### مقدمه

بافت پوششی و همبند، میزان ترشح کلاژناز و عوامل عدیده دیگر دارد. نتیجتاً تشخیص اختصاصی زخم، مشخص نمودن مراحل بیولوژیک آن و مکانیسم‌های مؤثر بر ترمیم زخم، می‌تواند راهگشای مناسبی برای مداوای هر چه بهتر زخم‌ها و جراحات‌های گوناگون باشد [۱]. اختلال در جریان خون

زخم، نسج از هم گسیخته‌ای است که به سبب عوامل مختلف بیوستگی طبیعی خود را از دست داده است. برگشت سلامت و قوام لازم به بافت صدمه دیده طی روند التیام، بستگی به عوامل مختلفی از جمله تولید، ذخیره سازی و نحوه اتصال کلاژن، نحوه عملکرد سلول‌های گوناگون

## Archive of SID

میلی گرم تجویز گردید. بسیاری از علائم و نشانه بیماران دیابتی از قبیل پارستزی و کرامپ‌های شبانه به طور قابل ملاحظه‌ای در طول درمان بهتر شده بود. زخم سطحی پا بعد از دوماه درمان با این دارو کاهش یافت (۲۶/۹ درصد) [۴]. Ward (۱۹۹۵) نیز در مطالعه‌ای دیگر با عنوان درمان انگشتان اولسره در اسکرودرما بر روی ۱۲ بیمار یا (۱۵ دست) با زخم‌های انگشتی مزمن و بهبودناپذیر بود، انجام دادند. بیماران به وسیله نیفدیپین و بیوفیدبک و سیلورسولفا دیازین درمان می‌شدند. در پایان درمان زخم ۶ دست از ۱۵ دست بهبود یافت [۵].

Jackson & Reidy نیز ضایعات عضلات صاف دیواره شریانی در مدل‌های حیوانی را با تجویز نیفدیپین درمان کردند. تکثیر سلول‌های عضلات صاف شریانی به طور معنی‌داری افزایش یافت به عبارت دیگر تجویز مکرر نیفدیپین باعث تغییر معنی‌داری در اندازه ضایعات شده بود [۶]. محققین دیگری نیز تأثیر مسدودکننده‌های کانال کلسیمی را در درمان زخم‌های گوارشی، فلاپ پوستی، پرولیفراسیون سلول اپی‌تلیال شبکه‌گزارش کرده‌اند [۷، ۸، ۹].

## مواد و روش‌ها

این مطالعه یک پژوهش تجربی است که در آن از ۳۶ سری موش صحرایی آزمایشگاهی (Rat) بالغ و نر از نژاد Wistar با وزن ۲۰۰-۱۸۰ گرم، استفاده گردید. بعد از گذشت ۱۵ روز و عادت حیوانات به شرایط موجود، بیست سر از آنها با استرپتوزوتوسین (۷۰-۸۰ mg/kg i.p.) دیابتی شدند و بعد از گذشت ۳ روز علائم بالینی دیابت شامل پرنوشی، پرادراری شروع و کاهش وزن (۸۰-۴۰ گرم بعد از ۳ هفته) در آنها ظاهر شد. سطح قند خون حیوانات با نوار گلوکومتر (ساخت شرکت Boehringer Mannheim)،

موضعی و اکسیژن‌گیری، همراه با سایر عوامل نظیر سن، چاقی، سوء تغذیه، عفونت، بعضی از داروها، بعضی از بیماری‌ها نظیر دیابت و ... می‌تواند فرآیند التیام زخم را به تأخیر بیندازد [۲]. در بیماران دیابتی به علت هیپرگلیسمی، یک سری عوارض مزمن و تأخیری ایجاد می‌شود که می‌توان به نوروپاتی، آرتروپاتی و ضعف سیستم ایمنی اشاره کرد. مجموع این عوارض، مشکل «پای دیابتی» را در این دسته از بیماران شایع کرده است. به طوری که آمار نشان می‌دهد، در ایالت متحده ۷۰-۵۰ درصد آمپوتاسیون‌های اندام تحتانی در بیماران دیابتی انجام می‌شود [۳]. روش‌های گوناگونی در درمان زخم بیماران دیابتی پیشنهاد شده است که می‌توان به استفاده از انواع پماد و داروهای مختلف، استفاده از گرم‌کننده‌های موضعی، پانسمان مرطوب، اولتراسوند، لیزر و میدان‌های مغناطیسی اشاره کرد [۳]. تمامی روش‌های به کار گرفته شده در ترمیم زخم بر روی فرآیند التیام زخم تأثیر می‌گذارند. این فرآیند شامل مراحل التهابی (Inflammatory)، پرولیفراسیون (Prolifration) و رشد (Maturation) می‌باشد [۱۰].

نیفدیپین یک داروی ضد آئزین صدی است که در خانواده مسدودکننده‌های کانال کلسیمی قرار دارد. این دارو با بلوک کردن کانال کلسیمی باعث انبساط شریانی می‌شود. گاهی این دارو برای درمان بعضی از بیماری‌ها نظیر رینود [۱۱] و یا زخم‌های عروقی پیشنهاد می‌شود. با توجه به گزارشات مختلف در مورد اثرات نیفدیپین بر روی ترمیم زخم، این مطالعه با هدف تعیین اثر نیفدیپین موضعی بر روند التیام زخم پوستی در موش دیابتی انجام شد.

Nikolova در سال ۱۹۹۵ تحقیقی در مورد تأثیر نیفدیپین در درمان زخم‌های بیماران هیپرتانسیو انجام داده است. در این مطالعه اثر نیفدیپین بر روی ۳۰ بیمار سرپایی در دو گروه آزمون و شاهد در یک دوره دو ماهه، مورد بررسی قرار گرفت. نیفدیپین و پلاسبو روزی سه نوبت و هر بار ۱۰

## Archive of SID

بررسی‌های کیفی، با استفاده از مقیاس‌های (Score) زیر به شکل کمی درآمد. فاز التهابی از نظر وجود سلول‌های آماسی حاد یا مزمن، فاز پروليفراسیون (تکثیر) از نظر تعداد جوانه‌های عروقی و فیروپلاست و فاز Maturation (رشد) از نظر بافت فیروز همبندی (کلاژن) از نظر شدت به مقیاس‌های شدید، متوسط، ضعیف و خیلی ضعیف (نمرات ۱ تا ۴) دسته‌بندی شدند. سپس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری Spss و آزمون غیر پارامتریک Mann-Whitney مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و به شکل میانگین رتبه‌ای خلاصه‌بندی شده‌اند.

### نتایج

نتایج به دست آمده به سه روش مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. مقایسه موش‌های (سالم و دیابتی) فقط از نظر دریافت نوع دارو، مورد آنالیز و مقایسه قرار گرفتند. جدول شماره ۱ به نتایج مقایسه موش‌های (سالم و دیابتی) بر اساس دریافت نیفدیین و پلاسبو را نشان می‌دهد. در گروه‌های ۲ و ۴ (پلاسبو) واکنش التهابی طولانی‌تر از گروه‌های ۱ و ۳ (نیفدیین) بود و اختلاف آماری معنی‌دار بود ( $P=0/005$ ). درحالی که در فاز پروليفراسیون اختلافی بین چهار گروه مشاهده نشد، همچنین در فاز Maturation گروه‌های ۱ و ۳ (نیفدیین) تشکیل بافت فیروز همبندی زودتر بود و این تفاوت را آزمون آماری تأیید کرد ( $P=0/004$ ). جدول ۲ به بررسی موش‌های سالم (گروه ۴ و ۳) تحت درمان با نیفدیین و پلاسبو پرداخته است که در هر گروه ۸ موش تحت مطالعه قرار گرفتند. بر اساس نتایج، فقط فاز التهابی در موش‌های سالم تحت درمان با پلاسبو طولانی‌تر بود و آزمون آماری اختلاف بین دو گروه را تأیید کرد ( $P=0/01$ ). سایر مراحل ترمیم زخم در دو گروه درمانی موش‌های سالم با هم تفاوتی نداشتند.

بعد از خون‌گیری از انتهای دم حیوان اندازه‌گیری شد ( $250-300 \text{ mg/dl}$ ). درحالی که در موش‌های سالم سطح قند حدود ( $70-80 \text{ mg/dl}$ ) بود.

بعد از گذشت سه هفته موش‌های (سالم و دیابتی) بعد از بیهوشی در ناحیه فوقانی خلف توراکس به ابعاد حدود  $4 \times 4$  سانتیمتر، با استفاده از پنس کوخر، زخم تقریباً دایره‌ای شکل به قطر  $1/5$  سانتیمتر با رعایت شرایط استریل به صورت تمام ضخامت پوست (Full Thickness) ایجاد گردید. سپس موش‌ها به شکل انفرادی در قفس‌های فایبرگلاس نگهداری شدند و به طور تصادفی به چهار گروه تقسیم شدند:

گروه ۱: دیابتی - نیفدیین ۱۰ سر

گروه ۲: دیابتی - پلاسبو ۱۰ سر

گروه ۳: سالم - نیفدیین ۸ سر

گروه ۴: سالم - پلاسبو ۸ سر

گروه‌های ۱ و ۳ تحت درمان با کرم نیفدیین ۳ درصد (ماده اولیه تهیه شده از شرکت داروپخش) و گروه‌های ۲ و ۴ تحت درمان با پلاسبو به طور روزانه قرار گرفتند. سپس در پایان روزهای سوم و روز هفتم و روز بسته شدن برای مطالعات هیستولوژیک از زخم‌ها نمونه برداری گردید. رحمتی و همکارانش (۱۳۷۷) اثر جریان الکتریکی ولتاژ بالا بر زخم پوستی با موش صحرائی بررسی کردند. آنها نمونه‌برداری از زخم را در روزهای ۳ و ۷ و ۱۵ بعد از ایجاد شدن زخم انجام دادند و اعلام کردند نمونه اول معرف فاز التهاب فرآیند التیام زخم، نمونه دوم معرف فاز تکثیر و نمونه سوم معرف فاز تجدید ساختار آن است [۱۲]. بافت‌ها بعد از طی مراحل مختلف، ثبوت، کلسیم‌گیری، پردازش (Processing)، برش‌گیری، با سه روش مختلف: H & E، تری کروم و ماسون، ریتکولین رنگ آمیزی و با میکروسکوپ نوری تحت مطالعه قرار گرفتند. حاصل از این

جدول ۱- مقایسه نتایج درمان با نیفدیپین و پلاسبو در تمام گروه‌ها

آزمون آماری (Mann-Whitney)	گروه‌های ۲ و ۴ (تحت درمان با پلاسبو)		گروه‌های ۱ و ۳ (تحت درمان با نیفدیپین)		گروه
	میانگین رتبه‌ای	تعداد	میانگین رتبه‌ای	تعداد	
P.valu					مراحل ترمیم
0.000	۲۵/۱۹	۱۸	۱۱/۸۱	۱۸	التهابی
0.33	۲۰/۱۷	۱۸	۱۶/۸۶	۱۸	پروليفراسيون
0.004	۱۳/۶۱	۱۸	۲۳/۳۹	۱۸	تجدید ساختار

جدول ۲- مقایسه نتایج درمان در دو گروه موش سالم تحت درمان با نیفدیپین و پلاسبو

آزمون آماری (Mann-Whitney)	سالم - پلاسبو		سالم - نیفدیپین		گروه
	میانگین رتبه‌ای	تعداد	میانگین رتبه‌ای	تعداد	
P.valu					مراحل ترمیم
0.014	۱۱/۲۵	۸	۵/۷۵	۸	التهابی
0.663	۹	۸	۸	۸	پروليفراسيون
0.125	۶/۷۵	۸	۱۰/۲۵	۸	تجدید ساختار

جدول ۳- مقایسه نتایج درمان در دو گروه موش‌های دیابتی تحت درمان با نیفدیپین و پلاسبو

آزمون آماری (Mann-Whitney)	دیابت - پلاسبو		دیابت - نیفدیپین		گروه
	میانگین رتبه‌ای	تعداد	میانگین رتبه‌ای	تعداد	
P.valu					مراحل ترمیم
0.001	۱۴/۵	۱۰	۶/۵	۱۰	التهابی
0.349	۱۱/۷	۱۰	۹/۳	۱۰	پروليفراسيون
0.015	۷/۴	۱۰	۱۳/۶	۱۰	تجدید ساختار

## Archive of SID

که این دو مرحله، شامل مرحله انعقاد در مرحله آماسی یا التهابی می‌باشند (که در این تحقیق این دو مرحله تحت عنوان فاز التهابی بررسی گردید). زیرا در طی واکنش التهابی که با تجمع نوتروفیل‌ها، ماکروفاژها و لنفوسیت‌ها همراه می‌باشد، طی ۷۲-۴۸ ساعت پس از ایجاد زخم به حداکثر خود خواهد رسید.

در این مطالعه نیز در گروه درمانی نیفدپین در فاز التهابی اکثر نمونه‌ها عمدتاً شامل سلول‌های آماسی مزمن به تعداد متوسط بودند. در حالی که گروه درمانی پلاسبو اکثراً دارای سلول‌های آماسی مزمن و حاد به نسبت‌های متفاوت داشتند ولی بین دو گروه درمانی در فاز پرولیفراسیون تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. این در حالی است که «هوفمان» همکارانش (۱۹۹۸) در مطالعه‌ای که تأثیر مسدود کننده‌های کانال کلسیمی شامل واپامیل، دیلتیازیم و نیفدپین بر روی پرولیفراسیون پیگمان سلول‌های اپی‌تلیال شبکه در محیط آزمایشگاهی انجام داد. فقط در گروه دارویی واپامیل تأثیر معنی‌داری در تسریع پرولیفراسیون داشت. در حالی که در این مطالعه تأثیر نیفدپین تأیید نشد که با نتایج این مطالعه نیز همخوانی دارد [۸].

در سایر گروه‌های مورد مطالعه شامل حیوانات دیابتی تحت درمان با نیفدپین و پلاسبو نیز نتایج مشابه فوق به دست آمد ولی در گروه موش‌های سالم تحت درمان با نیفدپین و پلاسبو فقط در فاز التهابی تفاوت بین دو گروه درمانی معنی‌دار بود. در مجموع می‌توان اظهار داشت با توجه به سایر گزارشات [۵، ۶، ۷، ۸، ۹]، احتمالاً نیفدپین می‌تواند با تسریع جریان خون موضعی زیر جلدی به عنوان یک درمان حمایتی و مکمل در کنار سایر روش‌های رایج در روند التیام زخم موش‌های دیابتی تأثیر داشته باشد. البته انجام مطالعات بیشتری در این زمینه توصیه می‌شود.

جدول ۳ به بررسی موش‌های دیابتی تحت درمان با نیفدپین و پلاسبو (گروه‌های ۲ و ۱) پرداخته است. در هر گروه ۱۰ موش تحت مطالعه قرار گرفتند. در گروه دیابتی - نیفدپین واکنش التهابی طولانی‌تر از گروه دیابتی - پلاسبو بود و آزمون آماری Mann-Whitney اختلاف بین دو گروه را تأیید کرد ( $P=0/001$ ). همچنین در مرحله Maturation هم بین دو گروه اختلاف آماری معنی‌دار بود ( $P=0/015$ ). به عبارت دیگر، تشکیل اسکار در گروه موش‌های دیابتی تحت درمان با نیفدپین سریع‌تر از گروه دیابتی - پلاسبو بود. در حالی که در مرحله پرولیفراسیون ترمیم تفاوتی بین دو گروه وجود نداشت.

## بحث

نیفدپین در گروه داروهای مسدود کننده کانال کلسیم قرار دارد که در بالینی به عنوان یک داروی ضد آنژین صدری به کار می‌رود.

افزایش جریان کلسیم به داخل سلول، فعالیت آنزیم‌های مصرف کننده ATP متعددی را تسریع می‌کند و در نتیجه ذخایر حیاتی و انرژی سلولی کاهش می‌یابند. این امر باعث افزایش حساسیت سلول‌های ایسکمیک شده و تخریب سلولی را افزایش می‌دهد. در نتیجه مهار کانال‌های کلسیمی می‌تواند ضمن افزایش خون‌رسانی بافتی، از افزایش تخریب سلول‌ها جلوگیری کند. تأثیر داروهای مسدود کننده کانال کلسیمی علاوه بر درمان آنژین همچنین امید می‌رود در بسیاری از شرایط بالینی دیگر نیز مفید واقع شوند، این‌ها عبارتند از: میگرن، پدیده رینود و آترواسکلروز [۱۱].

اساساً انتخاب روز سوم در این مطالعات با توجه به وجود دو مرحله مقدماتی قبل از اپی‌تلیزیشن، صورت گرفت

## منابع

- [۱] مهرورز، ش. «تأثیر پودر فنی توئین بر روند التیام زخم باز پوستی در موش آزمایشگاهی»، *مجله پزشکی کوثر*، شماره ۳، (۱۳۷۷) ۱۸۲-۱۷۷.
- [2] Balesun, J.V. *Wound care nursing*, A patient-centred approach, Baillier Tindall, (1997) 83.
- [3] Simeltzer, S.C. and Bare B.G. *Brunner and Suddarth textbook of medical surgical nursing*, 8th ed, (1999) 1010.
- [4] Nikolova, K. Treuimeni of hypertensive venous leg ulcers with nifedipine, *Methods-Find Exp. Clin. Pharmacol.*, 17 (1995) 54-59.
- [5] Ward W.A., Van, M. Management of finger ulcers in scleroderma, *J. Hand. Sury. Am.*, 20 (1995) 868-872.
- [6] Reidy, M.A. Jackson, C.L. Factors controlling growth of arterial cells following injury's, *Toxicol. Pathol.*, (1990) 547-553.
- [7] Al-Dohayan, A.D., Al-Tuwaijri, A.S. The potential synergistic effect of calcuim channel blockers and alpha-tocopherol on gastric mucosal injury induced by ischaemia-reperfusion, *Eur. J. Gastroenterol Hepatol*, 8 (1996) 1107-1110.
- [8] Hoffman, S. Verapamil inhibits proliferation, migration and protein kinase C activity in human retinal pigment epithelial cells, *Exp. Eye. Res.*, 67 (1998) 45-52.
- [9] Davies, B.W. The impact of vasodilators on random-pattern skin flap survival in the rat following main stream smoke exposure, *Ann. Plast. Surg.*, 40 (1998) 630-636.
- [10] Eckersly, J.R.I., Dudley H.A.F. Wounds and wound healing, *Br. Med. Bull.*, 440 (1988) 433-436.
- [11] گاتزونگ، برترام. *فارماکولوژی پایه و بالینی*، ترجمه همایون مژدهی و همکاران، انتشارات ارجمند، (۱۳۷۷) ۲۶۳-۲۵۶.
- [۱۱] رحمتی، ب. و همکاران، بررسی بافت شناسی و مقاومت کششی اثرات کاربرد جریان ولتاژ بالا بر التیازم زخم پوست با ضخامت کامل پوست موش صحرائی، *مجله پزشکی کوثر*، شماره ۳، (۱۳۷۷) ۴۱-۳۱.