Jundishapur
Scientific Medical Journal

March and April 2022. Volume 21. Number 1

Research Paper

The Effect Of Crocin and Safranal Components of Saffron on Skin Wound Healing in Streptozotocin-Induced Diabetic Rat

Maliha Goli[1], *Rahleh Rahbarian[1], Saeedeh Samareh Mousavi[2], Majid Rajabian[1]

1. Department of Biology, Faculty of Science, Payame Noor University, Tehran, Iran.
2. Department of Biology, Kavian Higher Education Institute, Mashhad, Iran.

Use your device to scan and read the article online

Citation Goli M, Rahbarian R, Samareh Mousavi S, Rajabian M. [The Effect Of Crocin and Safranal Components of Saffron on Skin Wound Healing in Streptozotocin-Induced Diabetic Rat (Persian)]. Jundishapur Scientific Medical Journal. 2022; 21(1):42-53. https://doi.org/10.32598/JSMJ.21.1.2358

https://doi.org/10.32598/JSMJ.21.1.2358

CC BY NC

Received: 29 Dec 2020
Accepted: 22 Nov 2021
Available Online: 01 Mar 2022

Keywords:
Crocin, Safranal, Wound healing, Diabetes

ABSTRACT

Background and Objectives Herbal medicines have fewer side effects than chemical drugs. In this regard, researchers are looking to find herbal ingredients to heal diabetic wounds. Saffron is a powerful antioxidant that can be effective in treating diabetic wounds. This study aims to evaluate the effect of saffron's main ingredients (crocin and safranal) on skin wound healing in streptozotocin-induced diabetic rats.

Subjects and Methods In this experimental study, 30 rats were divided into six groups. One control group, one diabetic group, two diabetic groups treated with crocin (300 and 600 mg/kg body weight), and two diabetic groups treated with safranal (300 and 600 mg/kg body weight). The diabetes was induced by intraperitoneal injection of streptozotocin (55 mg/kg body weight). Sampling was performed for histological studies to measure the number of neutrophils, macrophages, blood vessels, and epithelium thickness on days 3, 7, 15 and 20 after wound creation.

Results The collected data were analyzed by one-way analysis of variance and the least significant difference test, considering the significance level of $P<0.05$.

Conclusion Crocin and safranal components of saffron can accelerate the wound healing process in diabetic rats by affecting the number of neutrophils, macrophages, blood vessels, and epithelial thickness.

Corresponding Author:
Rahleh Rahbarian, PhD.
Address: Department of Biology, Faculty of Science, Payame Noor University, Tehran, Iran.
Tel: +98 (915) 3518157
E-Mail: ra_rahbarian@yahoo.com

Jundishapur
Scientific Medical Journal

Extended Abstract

Introduction

Diabetes mellitus has high prevalence worldwide. There are two types of diabetes mellitus including type 1 and 2. In the first type, there is a problem with insulin secretion, while the second type causes a decrease in the β cells mass and subsequently causes a decline in insulin secretion. In diabetic patients, wounds tend to heal slowly. The main reason for slow wound healing in diabetic patients is high blood sugar. Chronic wounds do not heal and remain in the inflammation stage. As the healing speed increases, the infection subsequently decrease. Effective drug for the treatment of diabetes is insulin as well as the drugs that reduce blood glucose level, but they have several side effects such as increased fat, decreased fat tissue in the injection site, and occurrence of hypoglycemic shock. Due to the fewer side effects of herbal drugs, their use has attracted the attention of researchers. Saffron has antioxidant properties that increase insulin sensitivity and lower blood sugar. The main and active components of saffron are crocin, crocetin and safranal which can eliminate free radicals and reduce oxidative damage in ischemic tissues. In recent studies, the antidiabetic effect of saffron plant has also been reported. This study aims to investigate the effectiveness of the active ingredients of saffron (crocin and safranal) in healing skin wounds in rats with diabetes induced by streptozotocin (STZ)

Methods

In this experimental study, 30 rats were divided into six groups; one control group, one diabetic group, two diabetic groups treated with crocin (300 and 600 mg/kg body weight), and two diabetic groups treated with safranal (300 and 600 mg/kg body weight). After 16 hours of fasting, the rats became diabetic with intraperitoneal injection of STZ (55 mg/kg body weight). Twenty-four hours after the creation of wounds, the first injection of crocin was performed. The control samples, within 25 days, received intraperitoneal injection of 0.5 mL saline solution for creating tension. In diabetic samples, rats received intraperitoneal injection of 0.5 mL saline solution within 25 days. The crocin and safranal with concentrations of 300 and 600 mg/kg body weight were intraperitoneally injected for 25 days. The first sampling was done on the third day after the wound was created. Sampling for histological studies was done to measure neutrophil count, macrophage count, blood vessel count, and epithelium thickness on days 3, 7, 15, and 20 after the creation of wounds. The data were analyzed by one-way analysis of variance and then compared with each other by the least significant difference test, considering the significance level of $P<0.05$.

Results:

In the groups treated with crocin and safranal (300 and 600 mg/kg body weight) compared to the diabetic group, the number of neutrophils and macrophages increased on days 3 and 7, while significantly decreased on days 15 and 20. In the groups treated with crocin and safranal (300 and 600 mg/kg body weight), compared to the diabetic control group, Epithelium thickness increased on days 3 and 7 and decreased on days 15 and 20, which were significant. The number of fibroblasts and blood vessels on days 3, 7, 15 and 20 significantly increased in the groups treated with crocin and safranal group (300 and 600 mg/kg body weight) compared to the diabetic and control groups. The number of macrophages and neutrophils increased on days 3 and 7 and decreased on day 20 in groups treated with crocin and safranal (300 and 600 mg/kg body weight). There was a significant increase in the number of fibroblasts and blood vessels on days 3, 7 and 15 in the diabetic groups treated with a concentration of 600 compared to the diabetic groups treated with a concentration of 300 mg/kg body weight. Epithelium thickness also increased significantly on days 3 and 7 and decreased significantly on days 15 and 20 in the diabetic groups treated with a concentration of 600 mg/kg body weight compared to the diabetic groups treated with 300 mg/kg body weight concentration, which indicates the concentration-dependent effect of saffron extract (crocin and safranal) (Figure 1)

Discussion

Wound healing phases include hemostasis, inflammation, proliferation and remodeling. Modulating inflammation, for example, with the help of antioxidant agents can accelerate wound healing. In diabetic patients, the inflammation phase is longer and wound healing is slow. Saffron increases insulin sensitivity and lowers blood sugar level. According to other studies, it has been proven that saffron extract increases the capacity of antioxidant enzymes and reduces the production of free radicals. Neutrophils are the first cells to act during the inflammation phase. Then macrophages enter the wound site. Macrophages, which are the most important cells in completing the inflammation phase, produce growth factors such as fibroblast, epithelial and endothelial cells and stimulate them in healing wound. Hyperglycemia at the wound site in diabetic patients inhibits the function of macrophages. Therefore, new blood vessels, fibroblasts and nutrients are reduced at the wound site

Figure 1. Comparison of wound healing in crocin, control and diabetic treatrnent groups

Jundishapur
Scientific Medical Journal

and wound healing is thus declined. Increased blood flow is needed for wound healing, which is not present in diabetic wounds due to vascular problems and lack of tissue oxygenation. Decreased epithelialization has been reported in diabetic patients. According to the results of this study, the two active ingredients of saffron significantly reduce the duration of wound healing in diabetic rats by increasing the number of neutrophils, macrophages and blood vessels, and the thickness of epithelium (probably due to antioxidant and cell proliferation effects)

Ethical Considerations

Compliance with ethical guidelines

All ethical principles were considered in this article. The participants were informed about the purpose of the research and its implementation stages; they were also assured about the confidentiality of their information; Moreover, They were allowed to leave the study whenever they wish, and if desired, the results of the research would be available to them.

Funding

This research project is taken from the thesis of Maleeha Goli, biology major, biochemistry major, Payam Noor University, Tehran, which has been registered on the Irandoc website under the number 310761. The financial sponsor of this article was Payam Noor University.

Authors' contributions

Selection of the topic: Maleeha Goli, Rahela Rahbarian, Saeeda Samra Mousavi and Majid Rajabian; Written by: Maliha Goli, Rahelah Rahbarian and Saeeda Samra Mousavi; Correction, follow-up and all necessary measures: Maleeha Goli and Rahelah Rahebarian.

Conflicts of interest

The authors declared no conflict of interest

Acknowledgements

The cooperation of Mashhad Faculty of Medical Sciences, Kavian Institute of Higher Education, professors and laboratory experts of Payam Noor University is thanked and appreciated.

مجله علمی پزشکی
جندی شاپور

مقاله پژوهشی

اثر کروسین و سافرانال بر بهبود زخم‌های پوستی در موش صحرایی دیابتی‌شده با استرپتوزوتوسین

ملیحه گلی[۱]، *راهله رهباریان[۱]، سعیده ثمره موسوی[۲]، مجید رجبیان[۱]

۱. گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران.
۲. گروه زیست شناسی، مؤسسه آموزش عالی کاویان مشهد، ایران.

Use your device to scan and read the article online

Citation Goli M, Rahbarian R, Samareh Mousavi S, Rajabian M. [The Effect Of Crocin and Safranal Components of Saffron on Skin Wound Healing in Streptozotocin-Induced Diabetic Rat (Persian)]. Jundishapur Scientific Medical Journal. 2022; 21(1):42-53. https://doi.org/10.32598/JSMJ.21.1.2358

https://doi.org/10.32598/JSMJ.21.1.2358

تاریخ دریافت: ۰۹ دی ۱۳۹۹
تاریخ پذیرش: ۰۱ آذر ۱۴۰۰
تاریخ انتشار: ۰۱ فروردین ۱۴۰۱

چکیده

زمینه و هدف گیاه زعفران می‌تواند به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی در درمان زخم دیابتی مؤثر باشد. گیاهان دارویی نسبت به داروهای شیمیایی اثر جانبی کمتری دارند. بنابراین محققان برای ترمیم زخم‌های دیابتی به دنبال یافتن ترکیبات گیاهی هستند. این مطالعه با هدف بررسی اثر ماده مؤثر زعفران (کروسین و سافرانال) بر ترمیم زخم پوستی در موش دیابتی‌شده با استرپتوزوتوسین انجام شد.

روش بررسی در این مطالعه تجربی، تعداد ۳۰ رأس موش صحرایی به ۶ گروه کنترل، دیابتی، دیابتی تحت تیمار با کروسین و سافرانال با غلظت‌های ۳۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن موش تقسیم شدند. گروه‌های دیابتی با یک‌بار تزریق داخل صفاقی استرپتوزوتوسین با غلظت ۵۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن موش دیابتی شدند. نمونه‌برداری برای مطالعات بافت‌شناسی به منظور شمارش شاخص‌های بافتی نوتروفیل، ماکروفاژ، عروق خونی، ضخامت اپی‌تلیوم در روزهای ۳، ۷، ۱۵ و ۲۰ بعد از ایجاد زخم انجام شد. میانگین‌ها توسط آزمون واریانس یک‌طرفه تحلیل و سپس توسط آزمون مقایسه میانگین در سطح ۵ درصد با یکدیگر مقایسه شدند.

یافته‌ها در گروه‌های تحت تیمار با عصاره زعفران، روند تشکیل سلول‌های التهابی، عروق خونی، سلول‌های فیبروبلاست و ضخامت اپی‌تلیوم، از روز سوم تا بیستم در مقایسه با گروه دیابت در ابتدا افزایش و در روزهای پانزدهم و بیستم کاهش معنادار داشت ($P<0/05$).

نتیجه‌گیری کروسین و سافرانال توانستند با اثرگذاری بر شاخص‌های نوتروفیل، ماکروفاژ، عروق خونی، ضخامت اپی‌تلیوم و افزایش آن‌ها روند بهبود را تسریع و شرایط ترمیم زخم را تسهیل کنند.

کلیدواژه‌ها:
کروسین، سافرانال، ترمیم زخم، موش صحرایی دیابتی

* **نویسنده مسئول:**
دکتر راهله رهباریان
نشانی: تهران، دانشگاه پیام نور، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی.
تلفن: ۳۵۱۸۱۵۷ (۹۱۵) ۹۸+
رایانامه: ra_rahbarian@yahoo.com

مقدمه

دو نوع از دیابت شیرین شامل دیابت نوع اول و دوم را می‌توان ذکر کرد. در نوع اول ترشح انسولین با مشکل روبه‌رو است. دیابت نوع دوم سبب کاهش توده سلول‌های β شده و متعاقباً باعث ایجاد نقص در ترشح انسولین می‌شود [۱]. دیابت شیرین به‌طور گسترده در جهان پیرامون گسترش یافته است [۲].

بیماری دیابت مشکلات متابولیکی ایجاد می‌کند که این امر سبب هیپرگلیسمی و منجر به بروز ۲۵ درصد نارسایی کلیوی، ۵۰ درصد قطع عضو و نابینایی در بیماران دیابتی شده است. در دیابت، زخم‌ها به کندی التیام می‌یابند. مشکل اصلی برای ترمیم زخم بیماران دیابتی بالا رفتن قند خون است [۳].

پوست یک سد دفاعی مهم برای محافظت بدن در برابر عوامل متعددی است که باید یکپارچگی آن حفظ شود. زخم، حاصل مختل شدن بخش ساختاری و عملکردی پوست است. پس از آسیب بافتی، ترمیم به‌سرعت اتفاق می‌افتد. در بافت آسیب‌دیده، پلاکت‌های خونی توسط عروق آزاد شده و سبب آزادسازی سلول‌های خونی در آن محل می‌شوند. از مهم‌ترین علائم آسیب بافت، آزاد شدن مولکول‌های انرژی‌زا (ATP) یا آدنوزین تری فسفات[1] و ظاهر شدن رشته‌های کلاژنی در دیواره عروق است. در محل آسیب‌دیده، ابتدا لخته ایجاد می‌شود که مانع خون‌ریزی به میزان بیشتر در محل جراحت می‌شود و همچنین مانع ورود عوامل عفونت‌زا از محل آسیب‌دیده می‌شود [۴].

بهبود زخم، یک فرایند هموستاتیک است که می‌تواند تعادل فیزیولوژیک را بازگرداند و شامل فرایند التهابی، ایجاد دوباره اپیدرم، برگرداندن دو لبه زخم و ایجاد بافت هم‌پند است [۵-۷].

مرحله هموستاز، اولین مرحله در ترمیم زخم است که فاز هموستاز و کواگولاسیون به‌سرعت پس از بروز جراحت رخ می‌دهند.

مرحله دوم، فاز التهابی است که به‌سرعت اتفاق می‌افتد و طی این فاز، افزایش نفوذپذیری در رگ‌ها و جذب سلولی رخ می‌دهد.

مرحله سوم، افزایش سلول‌های بازال و انتقال اپی‌تلیال در پل فیبرین در داخل لخته رخ می‌دهد.

مرحله چهارم، شامل ازدیاد فیبروبلاستی، تجمع ماده زمینه‌ای و ایجاد کلاژن رشته‌ای است.

در مرحله پایانی، تمایز بافتی، بازسازی کلاژن‌ها، انقباض زخم و تولید رنگدانه‌ها اتفاق می‌افتد. زخم‌های مزمن پیشرفتی در ترمیم زخم نخواهند داشت و در مرحله التهاب باقی خواهند ماند [۸، ۹].

طبق تحقیقات اعلام‌شده، زخم پای دیابتی ۱۵ درصد گزارش شده است که در بین افراد مواجه‌شده با این مشکل، ۲۵ درصد با قطع عضو روبه‌رو شدند و حدود ۵۰-۵۹ درصد در اثر قطع عضو دچار مرگ شدند. کوتاه‌تر کردن زمان بهبود زخم با عوارض کمتر بسیار مهم است. با افزایش سرعت ترمیم، عفونت نیز متعاقباً کاهش خواهد یافت [۱۰، ۱۱]. افزایش سرعت ترمیم در زخم ازنظر اقتصادی و حتی بهداشتی مقرون به صرفه است [۱۲، ۱۳]. داروی مؤثر در درمان دیابت، انسولین و داروهایی هستند که باعث کاهش گلوکز خون می‌شوند و عوارض متعددی شامل بالا رفتن چربی، کاهش بافت چربی در مکان تزریقی و بروز شوک هیپوگلیسمی دارند. پس فرد به داروهایی با عوارض جانبی کمتر برای درمان نیاز دارد [۲، ۱۳].

باتوجه‌به عوارض کمتر داروهای گیاهی، نظر محققان به سمت این داروها که عوارض جانبی کمتری دارند، جلب شده است. زعفران خواص آنتی‌اکسیدانی دارد که سبب بالا بردن حساسیت به انسولین و کاهش قند خون می‌شود [۱۴]. زعفران با نام علمی Crocus sativus L. از خانواده Iridaceae است. پیکروکروسین طعم تلخ به زعفران می‌دهد که می‌تواند به سافرانال که یک آلدئید است، تبدیل شود. ترکیب دیگر در این گیاه کروسین است که نوعی گلیکوزید مشتق‌شده از کاروتنوئیدی با نام کروستین است که رنگ زعفران را ایجاد می‌کند. اجزای اصلی و فعال زعفران، کروسین، کروستین و سافرانال هستند [۱۵، ۱۶]. گیاه مذکور خواص و کاربردهای دارویی و درمانی متعددی همانند اثرات ضدافسردگی، خواب‌آوری، ضددرد و ضدالتهاب، آنتی‌اکسیدان، ضدآلزایمر و کاهنده قند و چربی خون دارد [۱۷].

اثرات درمانی گیاه زعفران ناشی از خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی است [۱۸]. طی تحقیقات اخیر احتمال اثربخشی زعفران در افزایش بهبود ناحیه آسیب‌دیده در جراحات سوختگی گزارش شد [۱۹]. ترکیبات اصلی زعفران می‌توانند رادیکال‌های آزاد را از بین ببرند و سبب کاهش آسیب‌های اکسیداتیو در بافت‌های ایسکمیک شوند [۱۴، ۲۰]. در تحقیقات اخیر اثر ضددیابتی زعفران نیز تا حدودی مشخص شده است. طی تحقیقی که بر روی موش دچار سرطان کولون انجام شد، طی درمان با تزریق کروسین، قند خون کاهش یافت [۲۱]. اثر آنتی‌اکسیدانی در Crocus sativus به خاطر وجود کاروتنوئیدها و فنل‌ها است [۲۲].

عصاره زعفران برای بهبود سوختگی درجه دو استفاده شده است [۲۳]. مطالعه آزمایشگاهی حسین‌زاده و همکاران بر روی موش مشخص کرد که عصاره زعفران با چندین دُز می‌تواند خاصیت ضددرد و ضدالتهابی داشته باشد که این اثرات ممکن است به‌علت حضور فلاونوئیدها، تانن‌ها، آنتوسیانین‌ها، آلکالوئیدها وساپونین‌های موجود در زعفران باشند [۲۴]. همچنین زعفران با اثر آنتی‌اکسیدانی با افزایش سطح گلوتاتیون و حذف پراکسیداسیون چربی توانست مانع از تخریب مخاط معده و تولید زخم شود [۲۵،۲۶].

روش بررسی

1. Adenosine Triphosphat

این پژوهش به‌صورت تجربی در آزمایشگاه گروه زیست‌شناسی دانشگاه پیام نور مشهد انجام شد.

حیوانات مورد استفاده و شرایط نگهداری

در این مطالعه تجربی، تعداد ۳۰ رأس موش صحرایی با محدوده وزنی ۴±۱۹۵ گرم و سن تقریبی ۳±۹۵ روز تهیه شد. حیوانات در دمای ۳±۲۰ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۵۰ درصد و چرخه تاریکی-روشنایی ۱۲ ساعته تحت برنامه غذایی مشترک (شرکت جوانه خراسان، ایران) در قفس‌های استاندارد پلی‌کربنات شفاف (رازی راد، ایران) قرار داده شد و آب هم به مقدار کافی توسط بطری‌های ۵۰۰ میلی‌لیتری در اختیار آن‌ها قرار داده شد. برای اطمینان از سازش با محیط جدید، پس از گذشت یک هفته آزمایش‌ها انجام شد.

تهیه کروسین و سافرانال

عصاره ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از شرکت سیگما آلدریخ (فرانسه) تهیه شد. سپس به منظور مقایسه دو غلظت و بررسی اثر افزایش غلظت بر میزان تأثیرگذاری دارو، محلول‌هایی با غلظت‌های ۳۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موش به‌طور مجزا آماده شد.

استفاده از استرپتوزوتوسین[2] برای ایجاد دیابت

پس از گذشت ۱۶ ساعت ناشتا، موش‌های صحرایی با تزریق داخل صفاقی استرپتوزوتوسین (سیگما آلدریخ، آلمان) به میزان ۵۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موش، دیابتی شدند. بافر سیترات با اسیدیته ۴/۵ به‌عنوان حلال استرپتوزوتوسین استفاده شد. تزریق استرپتوزوتوسین به گروه دیابتی و ۴ گروه دیابتی تحت درمان با کروسین و سافرانال (غلظت‌های ۳۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن موش) صورت گرفت. ۷۲ ساعت بعد از تزریق استرپتوزوتوسین جهت اطمینان از دیابتی شدن موش‌های مورد آزمایش از رگ ناحیه دم حیوان، خون گرفته شد و قند خون با گلوکومتر (مدل IGM-0002A، شرکت EasyGluco، ساخت کشور کره) تعیین شد. قند خون بالاتر از ۳۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به‌عنوان معیار ارزیابی دیابت درنظر گرفته شد. تزریق عصاره‌ها دو بار در هفته صورت گرفت.

روش ایجاد زخم

بعد از حصول اطمینان از دیابتی شدن حیوانات، در شرایط استریل، ابتدا موهای پشت موش‌ها را به کمک قیچی و کرم موبر حذف شد و به منظور ایجاد زخم، حیوان را در داخل اتاق بیهوشی حاوی دی‌اتیل‌اتر (شرکت MERCK) قرار داده شد. بعد از اطمینان از بیهوشی موش‌ها، ۶ زخم به فواصل ۱ سانتی‌متر از ستون مهره‌ها با اندازه‌های یکسان (طول ۳ سانتی‌متر) در پشت موش‌ها ایجاد شد. عمق زخم شامل اپی‌درم (لایه خارجی)، درم (میانی)، هیپودرم (درونی) بود. ۲۴ ساعت بعد از ایجاد زخم‌ها اولین کروسین تزریق شد.

روش تیمار

گروه اول: نمونه‌های کنترل، ظرف ۲۵ روز، حدود ۰/۵ میلی‌لیتر تزریق داخل صفاقی محلول سالین به منظور ایجاد تنش دریافت کردند.

گروه دوم: نمونه‌های گروه دیابتی، پس از اطمینان از دیابتی شدن موش‌ها، ظرف ۲۵ روز ۰/۵ میلی‌لیتر تزریق داخل صفاقی محلول سالین، به منظور ایجاد تنش دریافت کردند.استرپتوزوتوسین به میزان ۵۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن موش‌ها محاسبه شد.

گروه سوم و چهارم: نمونه‌های دیابتی، بعد از حصول اطمینان از دیابتی شدن حیوانات به مدت ۲۵ روز به میزان ۰/۵ میلی‌لیتر کروسین با غلظت‌های ۳۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن موش به‌صورت داخل صفاقی دریافت کردند.

گروه پنجم و ششم: مشابه گروه قبل، دیابتی شدند و از سافرانال با غلظت‌های ۳۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن موش به‌صورت داخل صفاقی برای درمان آن‌ها استفاده شد. سومین روز پس از ایجاد زخم اولین نمونه‌برداری صورت گرفت. نمونه‌ها در فرمالین ۱۰ درصد فیکس و به‌ترتیب در روزهای ۷، ۱۵ و ۲۰ بعد از ایجاد زخم نمونه‌برداری‌های بعدی صورت گرفت. پس از انجام مراحل آماده‌سازی بافت، برش‌هایی با ضخامت ۵ میکرون توسط دستگاه میکروتوم (Sacora) تهیه و درانتها، نمونه‌ها با روش هماتوکسیلین ائوزین رنگ‌آمیزی شدند. مطالعات آسیب‌شناسی با ارزیابی پارامترهایی مانند آماس بافتی، میزان اپی‌تلیزاسیون، تشکیل بافت گرانوله و پرخونی ناحیه درم ارزیابی شد [۲۱].

در مشاهدات میکروسکوپی با استفاده از میکروسکوپ نوری (مدل ۴۰، شرکت ZEISS, Axioscope، ساخت کشور آلمان) مقاطع بافتی، میزان اپی‌تلیزاسیون (اندازه‌گیری ضخامت اپی‌تلیوم برحسب میکرومتر، توسط میکرومتر چشمی) بررسی شد [۳، ۲۱]. به منظور اندازه‌گیری ضخامت اپی‌تلیوم از میکرومتر چشمی (Mic 1143, HWF 10X EYE PIECE 10/100 Adjustable، شرکت ZEISS, Axioscope، ساخت کشور آلمان) استفاده شد. میکرومتر خطی در اکولر جاگذاری و پس از کالیبراسیون، ضخامت ده نقطه از بافت اپی‌درم جدید که در فاصله‌های مساوی از هم قرار داشتند، مشخص و میانگین آن‌ها برحسب میکرومتر محاسبه شد. داده‌ها با نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۱۸ (شرکت IBM، شیکاگو ایالات متحده) تجزیه‌وتحلیل شد. از آزمون واریانس یک‌طرفه[3] برای مقایسه میانگین استفاده شد [۳، ۹].

همچنین سلول‌های فیبروبلاست، ماکروفاژ، نوتروفیل، عروق خونی (در واحد سطح، میکرومترمربع) شمارش شد. برای شمارش از قطعه

2. Strepotozocin (STZ)

3. One-way ANOVA

چشمی[4] هلندی که روی آن یک جدول شطرنجی با ۴۰۰ خانه نصب بود (مدل ۰۰۷۸-۱۹ Mic، شرکت Euromex Microscope، ساخت کشور هلند) استفاده شد [۲۶]. مساحت مربع شطرنجی برابر با ۶۲۵ میلی‌متر مربع است (معادل ۶۲۵۰۰ میکرومترمربع). صفحه مدرج در اکولر جاگذاری شد و در درشت نمایی x ۴۰۰ تعداد سلول‌های نوتروفیل، ماکروفاژ و فیبروبلاست شمارش شدند. تعداد سلول‌ها در ۱۰ مقطع برش بافتی به تصادف شمارش و مجموع آن‌ها محاسبه شد. سپس میانگین سلول‌های شمارش‌شده محاسبه و توسط نرم‌افزار آماری در گروه‌های مختلف مقایسه شد [۲۶، ۲۷].

تجزیه‌وتحلیل اطلاعات

اطلاعات به‌دست‌آمده توسط نرم‌افزار آماری SPSS بررسی شد. میانگین‌ها توسط آزمون واریانس یک‌طرفه تحلیل شدند و سپس به وسیله آزمون مقایسه میانگین حداقل تفاوت معنادار[5] در سطح ۵ درصد با یکدیگر مقایسه شدند (P<۰/۰۵).

یافته‌ها

بررسی اپی‌تلیزاسیون

نتایج میکروسکوپی نشان داد روند اپی‌تلیزاسیون، تا روز بیستم ترمیم در نمونه‌های تحت تیمار با عصاره‌ها، نسبت به گروه‌های کنترل و دیابتی سریع‌تر است. در روزهای سوم، هفتم، پانزدهم، ضخامت اپی‌تلیوم در نمونه‌های تحت تیمار با کروسین و سافرانال (غلظت ۳۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن موش) نسبت به گروه‌های کنترل سالم و دیابتی روند افزایش معناداری را نشان داد (P<۰/۰۵) (جدول شماره ۱).

4. Eye piece

5. Least Significant Difference (LSD)

جدول ۱. میانگین ضخامت اپی‌تلیوم (برحسب میکرومتر) در موش‌های سالم و دیابتی (وزن بدن موش میلی‌گرم بر کیلوگرم) تحت تیمار با کروسین و سافرانال به تفکیک گروه در روزهای ۱۵ و ۲۰

روز	میانگین±انحراف معیار					
	کنترل	دیابتی	تیمار کروسین ۳۰۰	تیمار کروسین ۶۰۰	تیمار سافرانال ۳۰۰	تیمار سافرانال ۶۰۰
۱۵	۳۰/۶۶±۲/۰۵ hi	۲۳/۶۶±۲/۶۲ l	۳۰/۳۳±۳/۳ hij	۳۹/۶۶±۲/۰۵ bcd	۳۱/۶۶±۱/۲۴ fghi	۴۲±۱/۶۳ ab
۲۰	۳۰/۳۳±۱/۲۴ jkl	۴۰/۶۶±۲/۵ bc	۳۰/۳۱±۲/۹۴ hijk	۳۰/۲۳±۱/۲۴ cde	۳۰/۳۱±۱/۲۴ ghi	۳۰/۲۱±۳/۸۵ defg

طبق آزمون حداقل تفاوت معنادار، حروف مشترک معنادار نیستند (P<۰/۰۵).

مجله علمی پزشکی
جندی شاپور

جدول ۲. میانگین تعداد سلول‌های نوتروفیل (برحسب میکرومترمربع) در موش‌های سالم و دیابتی (وزن بدن موش میلی‌گرم بر کیلوگرم) تحت تیمار با کروسین و سافرانال به تفکیک گروه در روزهای ۳، ۷ و ۲۰

روز	میانگین±انحراف معیار					
	کنترل	دیابتی	تیمار کروسین ۳۰۰	تیمار کروسین ۶۰۰	تیمار سافرانال ۳۰۰	تیمار سافرانال ۶۰۰
۳	۲۸/۳۳±۲/۴۹ a	۱۳/۶۶±۱/۲۴ hig	۲۴±۱/۶۳ cde	۲۶/۳۳±۱/۲۳ abc	۲۵±۰/۸۱ bcd	۲۷±۰/۸۱ ab
۷	۲۷±۰/۸۱ ab	۱۶±۰/۸۱ h	۲۱/۶۶±۲/۰۵ ef	۲۰/۳۳±۱/۲۴ fg	۲۱±۰/۸۱ fg	۱۹±۰/۸۱ g
۲۰	۱۱±۰/۸۱ klm	۲۲/۶۶±۱/۲۴ def	۱۰±۰/۸۱ lmn	۸±۰/۸۱ no	۸/۶۶±۱/۶۹ mno	۷/۳۳±۱/۲۴ o

• طبق آزمون حداقل تفاوت معنادار حروف مشترک معنادار نیستند (P<۰/۰۵).

مجله علمی پزشکی
جندی شاپور

جدول ۳. میانگین تعداد سلول‌های ماکروفاژ (بر حسب میکرومترمربع) در موش‌های سالم و دیابتی (وزن بدن موش میلی‌گرم بر کیلوگرم) تحت تیمار با کروسین و سافرانال به تفکیک گروه در روزهای ۳، ۷ و ۲۰

روز	میانگین±انحراف معیار					
	کنترل	دیابتی	تیمار کروسین ۳۰۰	تیمار کروسین ۶۰۰	تیمار سافرانال ۳۰۰	تیمار سافرانال ۶۰۰
۳	۲۳/۶۶±۱/۲۴ efg	۱۴/۶۶±۱/۰۷ klm	۲۷±۰/۸۱ bc	۲۹/۳۳±۲/۰۵ ab	۲۶/۳۳±۱/۲۴ cde	۳۰±۱/۶۳ a
۷	۲۱±۰/۸۱ gh	۱۹±۰/۸۱ hi	۲۲/۳۳±۱/۷ fg	۲۶/۶۶±۱/۲۴ bcd	۲۳/۶۶±۲/۰۵ efg	۲۷/۶۶±۱/۲۴ abc
۲۰	۱۶/۳۳±۱/۲۴ ijkl	۲۲±۰/۸۱ fg	۱۳±۱/۶۳ mn	۱۰/۶۶±۱/۲۴ n	۱۴±۰/۸۱ lm	۱۰/۳۳±۱/۲۴ n

• طبق آزمون حداقل تفاوت معنادار حروف مشترک معادار نیستند (P<۰/۰۵).

مجله علمی پزشکی
جندی شاپور

جدول ۴. میانگین تعداد عروق (برحسب میکرومترمربع) در موش‌های سالم و دیابتی (وزن بدن موش میلی‌گرم بر کیلوگرم) تحت تیمار با کروسین و سافرانال به تفکیک گروه در روزهای ۳، ۷ و ۲۰

روز	میانگین±انحراف معیار					
	کنترل	دیابتی	تیمار کروسین ۳۰۰	تیمار کروسین ۶۰۰	تیمار سافرانال ۳۰۰	تیمار سافرانال ۶۰۰
۳	۲۲/۶۶±۲/۰۵ ijk	۱۹/۳۳±۲/۰۵ k	۲۶/۳۳±۳/۳ fghig	۳۰/۳۳±۲/۰۵ def	۲۷/۶۶±۲/۰۵ efgh	۳۲±۲/۴۵ cde
۷	۲۸/۶۶±۲/۸۶ efg	۲۱/۶۶±۲/۵ jk	۳۴±۲/۹۴ bcd	۳۸±۲/۱۹ ab	۳۵±۰/۸۱ bcd	۴۱±۲/۹۴ a
۲۰	۲۶/۳۱±۱/۷ fghi	۲۴/۶۶±۱/۷ ghij	۲۸±۰/۸۱ efg	۳۲/۲±۰/۴۵ cde	۳۰/۳۳±۲/۰۵ def	۳۵±۲/۴۵ bcd

* طبق آزمون حداقل تفاوت معنادار حروف مشترک معنادار نیستند (P<۰/۰۵).

مجله علمی پزشکی
جنـــدی شـــاپور

جدول ۵. میانگین تعداد سلول‌های فیبروبلاست (بر حسب میکرومترمربع) در موش‌های سالم و دیابتی (وزن بدن موش میلی‌گرم بر کیلوگرم) تحت تیمار با کروسین و سافرانال به تفکیک گروه در روزهای ۳، ۷ و ۲۰

روز	میانگین±انحراف معیار					
	کنترل	دیابتی	تیمار کروسین ۳۰۰	تیمار کروسین ۶۰۰	تیمار سافرانال ۳۰۰	تیمار سافرانال ۶۰۰
۳	۲۶/۳۳±۱/۲۴ ij	۱۸/۳۳±۱/۲۴ k	۳۰/۶۶±۱/۰۷ ghi	۳۶/۶۶±۲/۶۲ cdef	۳۳±۲/۵ fg	۴۰/۶۶±۱/۴۴ cd
۷	۳۲/۳۳±۲/۰۵ fgh	۲۲/۳۳±۲/۴۹ jk	۳۷/۶۶±۲/۰۵ cdef	۴۷/۳۳±۱/۷ db	۴۰±۱/۶۳ cd	۴۹/۶۶±۲/۰۵ a
۲۰	۲۷±۱/۶۳ hig	۲۶/۳۳±۲/۰۵ ij	۳۲/۳۳±۲/۰۵ fgh	۴۱±۱/۹۱ cd	۳۴±۳/۲۶ efg	۳۹/۶۶±۴/۷۸ cde

* طبق آزمون حداقل تفاوت معنادار حروف مشترک معنادار نیستند (P<۰/۰۵).

مجله علمی پزشکی
جنـــدی شـــاپور

در روز بیستم، در ضخامت اپی‌تلیوم در بین گروه‌های کنترل سالم و تحت تیمار با عصاره‌ها، نسبت به گروه کنترل دیابتی اختلاف معناداری مشاهده شد (P<۰/۰۵). ضخامت گروه‌های کنترل سالم و تحت تیمار با عصاره‌ها شروع به کاهش کرد، اما ضخامت اپی‌تلیوم نمونه کنترل دیابتی در حال افزایش بود و این نشان‌دهنده تأخیر در روند اپی‌تلیزاسیون گروه کنترل دیابتی است (جدول شماره ۱).

بررسی سلول‌های التهابی

در روز سوم، بیشترین تعداد نوتروفیل در گروه کنترل مشاهده شد که در مقایسه با گروه‌های تحت تیمار با کروسین و سافرانال (غلظت ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن موش) معنادار نبود، اما افزایش مقدار نوتروفیل در گروه کنترل نسبت به گروه‌های دیابتی و تحت تیمار با کروسین و سافرانال (غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن موش) معنادار بود (P<۰/۰۵).

همچنین در روز هفتم، تعداد نوتروفیل‌های بیشتری در گروه‌های تحت تیمار با کروسین و سافرانال (غلظت ۳۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن موش) و کنترل سالم، نسبت به نمونه دیابتی مشاهده شد. در روزهای پانزدهم و بیستم، کمترین تعداد نوتروفیل در گروه‌های تحت تیمار با کروسین و سافرانال (غلظت ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن موش) مشاهده شد. این کاهش در مقایسه با گروه‌های دیابتی، کنترل، تحت تیمار با کروسین و سافرانال (غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بدن وزن موش) معنادار بود و نشان‌دهنده سرعت بهبود ترمیم زخم‌ها بوده است.

همچنین بیشترین تعداد ماکروفاژ در روزهای سوم و هفتم در گروه‌های تحت تیمار با کروسین و سافرانال (غلظت ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن موش) مشاهده شد. این افزایش تعداد در مقایسه با گروه‌های کنترل، دیابت و تحت تیمار با سافرانال و کروسین (تنها در روز هفتم) (غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن موش) معنادار بود و همچنین در روزهای پانزدهم و بیستم، کمترین تعداد ماکروفاژ در گروه‌های تحت تیمار با کروسین و سافرانال (غلظت ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن موش) مشاهده شد. این کاهش در مقایسه با گروه‌های کنترل، دیابت و سافرانال (غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن موش) معنادار (P<۰/۰۵) بود (جداول شماره ۲ و ۳).

بررسی عروق خونی

در روز سوم، گروه کنترل دیابتی در میزان رگ‌زایی براساس شمارش تعداد عروق نسبت به گروه‌های تحت تیمار کروسین، سافرانال (غلظت ۳۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن موش) و کنترل کاهش معناداری نشان داد (P<۰/۰۵). حداکثر تعداد عروق خونی در روز هفتم در گروه‌های تحت تیمار با کروسین و سافرانال ۶۰۰ مشاهده شد که نسبت به گروه‌های کنترل، دیابتی و تحت تیمار سافرانال با غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن موش افزایش معناداری نشان داشت. در روزهای پانزدهم و بیستم، روند رو به کاهش معنادار در تعداد عروق خونی در گروه‌های تحت تیمار با کروسین، سافرانال (غلظت ۳۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن موش) و کنترل نسبت به گروه دیابتی مشاهده شد (P<۰/۰۵) (جدول شماره ۴).

بررسی فیبروبلاست‌ها

در روز سوم، کمترین تعداد فیبروبلاست در گروه دیابت به‌طور معناداری نسبت به گروه کنترل، تیمار با کروسین، سافرانال با غلظت ۳۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن موش مشاهده شد (P<۰/۰۵). در روز هفتم، گروه تحت تیمار با کروسین، سافرانال با غلظت ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن موش، بیشترین تعداد فیبروبلاست را نشان دادند که این اختلاف نسبت به گروه کنترل، دیابت و تیمار با کروسین و سافرانال (غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن موش) معنادار بود.

در روزهای پانزدهم و بیستم، روند رو به کاهشی در گروه کنترل و تحت تیمار با کروسین و سافرانال با غلظت ۳۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن موش نسبت به دیابتی مشاهده شد که معنادار بود (P<۰/۰۵) (جدول شماره ۵).

بحث

بهبود در زخم شامل انعقاد، التهاب، تکثیر و شکل‌گیری مجدد بافت است. در تغییرات ساختاری ترمیم زخم فعالیت چند گروه از سلول‌ها ازجمله ترمبوسیت‌ها، پلاکت‌ها، نوتروفیل‌ها، ماکروفاژها، فیبروبلاست‌ها، کراتینوسیت‌ها، همچنین پروتئازها و فاکتورهای رشد بافتی مشخص شده است [۱۷]. التهاب، پاسخی به آسیب عضلانی است که با انتقال پروتئین‌های پلاسما و مهاجرت سلول‌های دفاعی به درون بافت پس از آسیب بافتی صورت می‌گیرد که سبب پاک‌سازی زخم، حذف سلول‌های آسیب‌دیده و عفونت در محل زخم می‌شود [۱۸، ۲۸].

طی آسیب پوستی تغییراتی در تعادل بین تکثیر و تمایز و همچنین فعال شدن سیستم ایمنی بدن صورت می‌گیرد که مستلزم هماهنگی ارتباطات بین سلولی بین کراتینوسیت‌ها، فیبروبلاست‌ها و سلول‌های التهابی است [۳۱-۲۹]. ترکیبات با خاصیت ضدالتهاب، بالاترین اثر را در مرحله اول و به میزان کمتر در فاز بعدی ترمیم دارند [۳۲]. تعدیل التهاب برای مثال به کمک ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، ترمیم زخم را تسریع می‌کند [۳۳]. از عوارض بالا بودن میزان قند خون در مشکلات دیابتی می‌توان به تداوم غیرطبیعی مرحله التهاب، جلوگیری از ازدیاد سلول‌ها، سطح بالای متالوپروتئین‌های ماتریکس و بالا رفتن سیتوکین‌های التهاب‌زا اشاره کرد؛ بنابراین در بیماران دیابتی بهبود زخم بسیار کند صورت می‌گیرد [۱۵].

در تحقیقات مشابه مشخص شد بهبود زخم در دیابت بسیار آهسته است و باعث طولانی شدن مرحله التهاب می‌شود [۳۴]. خواص ضددرد و ضدالتهاب عصاره زعفران مشخص شده است. این گیاه باعث افزایش حساسیت به انسولین می‌شود و میزان قند خون را کاهش می دهد. همچنین طبق گزارشی، سافرانال توانست فاز حاد درد را مهار کند [۳۷-۳۵].

طبق نتایج تحقیقات دیگر، سافرانال و کروسین التهاب ناشی از تزریق فرمالین در موش‌های نر کوچک آزمایشگاهی را مهار کردند که احتمالاً افزایش ظرفیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و کاهش تولید رادیکال‌های آزاد با اثر ضدالتهاب و بالا بردن سطح خون‌رسانی، منجر به این عوامل می‌شوند [۳۸]. طبق تحقیقات دیگر، افزایش ظرفیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و کاهش تولید رادیکال‌های آزاد توسط عصاره زعفران اثبات شده است [۳۹].

اولین سلول‌هایی که در مرحله التهاب وارد عمل می‌شوند، نوتروفیل‌ها هستند. پس از هجوم نروتروفیل‌ها، ماکروفاژها وارد محل زخم می‌شوند [۴۰]. بالاترین میزان نوتروفیل‌ها ۱۲-۲۴ ساعت پس از آسیب بافتی است و مانع ایجاد و گسترش عفونت در محل زخم می‌شوند [۸، ۴۱]. قند داخل سلولی و افزایش آن در محل آسیب در دیابت، عمل بیگانه‌خواری ماکروفاژها را مهار می‌کند و مواد نکروتیک از محل آسیب برداشته نمی‌شوند؛ بنابراین عروق جدید فیبروبلاست‌ها و مواد غذایی در محل آسیب کاهش می‌یابند که خود از عواملی هستند که روند ترمیم زخم‌های دیابتی را با تأخیر روبه‌رو می‌کنند [۴۲، ۴۳].

در پژوهش حاضر، تعداد نوتروفیل و ماکروفاژهای موجود در محل زخم به‌عنوان معیاری جهت بهبود زخم درنظر گرفته شده است. همان‌طور که ذکر شد در اولین ساعات پس از ایجاد زخم، نوتروفیل‌ها برای حمله و از بین بردن میکروب‌ها وارد عمل می‌شوند و ۳ روز پس از ایجاد زخم به بیشترین تعداد خود می‌رسند. تجزیه‌وتحلیل بیشتر اطلاعات حاصله نشان داد تعداد نوتروفیل‌ها در گروه سافرانال با غلظت ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن موش در مقایسه با گروه سافرانال با غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن موش، افزایش معناداری در روز سوم پس از تیمار داشت. در ابتدای مراحل ترمیم، یعنی روزهای ۳-۷، میزان نوتروفیل در بافت‌ها افزایش یافته و در مراحل پایانی فرایند ترمیم، یعنی روزهای ۱۵-۲۰ تعداد نوتروفیل‌ها کاهش یافته که یافته‌های این تحقیق با گزارش‌های ارائه‌شده توسط محققان دیگر تطبیق داشته است [۴۴،۳۸].

از آنجا که نمونه‌های درمان‌شده با عصاره و گروه کنترل دیابتی همگی توسط استرپتوزوتوسین دیابتی شدند، بهبود میزان نوتروفیل‌ها در گروه آزمایش تیمارشده با عصاره زعفران را به ترکیبات مؤثر در عصاره این گیاه می‌توان نسبت داد. پس از ۲۴-۲۸ ساعت تعداد ماکروفاژها افزایش یافته، در پنجمین روز به بالاترین سطح خواهند رسید [۱۵، ۳۸] که در روند ترمیم ماکروفاژها اهمیت بالایی دارند. از فعالیت ماکروفاژها به پاکسازی عفونت مواد خارجی و سلول‌های مرده در محل آسیب و ساخت مویرگ‌های خونی می‌توان اشاره کرد. منابع تولیدکننده این سلول‌ها شامل دو دسته هستند: ۱. جمعیت ماکروفاژ ساکن مستقر قبل از تولد، ۲. مونوسیت‌های موجود در خون که به نواحی زخم جذب می‌شوند [۴۴،۴۳].

کروسین و سافرانال با غلظت ۳۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن موش، میانگین تعداد سلول‌های ماکروفاژی (برحسب میکرومترمربع) را در گروه‌های تیمارشده با عصاره زعفران ۳ تا ۷ روز پس از تیمار به‌طور معناداری نسبت به گروه‌های کنترل و آزمایش دیابتی افزایش دادند؛ بنابراین بهبود میزان ماکروفاژها در گروه آزمایش تیمارشده با عصاره زعفران را به ترکیبات مؤثر در عصاره این گیاه می‌توان نسبت داد. ماکروفاژها که مهم‌ترین سلول‌ها در تکمیل فاز التهابی هستند، سبب تولید فاکتورهای رشد مثل فیبروبلاست‌ها، سلول‌های اپی‌تلیال و اندوتلیال می‌شوند و محرک آن‌ها در بهبود ناحیه آسیب‌دیده هستند [۴۴].

در این تحقیق، کروسین و سافرانال (غلظت ۶۰۰ میلی‌گرم بر گیلوگرم وزن بدن موش) و سافرانال (غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر گیلوگرم وزن بدن موش) توانستند میانگین تعداد سلول‌های فیبروبلاست (بر حسب میکرومترمربع) را در گروه‌های تیمارشده با عصاره زعفران به‌طور معنادار نسبت به گروه دیابت و کنترل، در تمام روزهای مورد ارزیابی (روزهای ۳، ۷، ۱۵ و ۲۰) افزایش دهند. پس می‌توان بهبود میزان فیبروبلاست در گروه آزمایش تیمارشده با عصاره زعفران را به ترکیبات مؤثر زعفران نسبت داد [۹، ۴۵].

رگ‌های جدید در فاز تکثیر ایجاد می‌شود. آنژیوژنز از روز سوم بعد از آسیب شروع می‌شود و روز هفتم به بالاترین میزان می‌رسد و بعد از سومین هفته سرعت آنژیوژنز کاهش می‌یابد. اختلال در جریان خون موضعی و عواملی چون سن، چاقی، سوءتغذیه، عفونت، مصرف برخی داروها و دیابت سبب کاهش بهبود زخم می‌شود [۴۵].

بالا رفتن جریان خون در بهبود زخم پس از آسیب بافتی بدن مورد نیاز است که در زخم‌های دیابتی به خاطر مشکلات عروقی ایجاد نمی‌شود و اکسیژن‌رسانی به بافت صورت نمی‌گیرد [۲۲، ۴۲]. تزریق عصاره زعفران (با غلظت ۳۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن موش) در نمونه‌های مورد بررسی، تعداد رگ‌های خونی را در گروه تحت تیمار با کروسین و سافرانال در روزهای ۳، ۷، ۱۵ و ۲۰، نسبت به گروه کنترل و دیابت، به‌طور معنادار افزایش داد. احتمالاً بهبود در میزان رگ‌های خونی را بتوان به تأثیر مستقیم سافرانال و کروسین نسبت داد. در فاز تکثیر سلول‌های جدید در اپیدرم (لایه فوقانی و پوشش محافظتی پوست) تولید می‌شوند. اپی‌تلیزاسیون مجدد ۱۲-۱۸ ساعت بعد از تولید لخته در محل آسیب با تهاجم فیبروبلاست‌های درم ایجاد می‌شود [۴۶].

کاهش میزان اپی‌تلیزاسیون در دیابت گزارش شده است [۳۴، ۴۶]. در بررسی‌های صورت‌گرفته، روند مشخصی در افزایش ضخامت اپیدرم وجود داشت [۳۹، ۴۶]. در نمونه‌های تیمارشده با عصاره زعفران، نتایج آماری ارائه‌شده نشان دادند تیمار با سافرانال و کروسین، توانست ضخامت لایه اپی‌تلیال را در مقایسه با نمونه کنترل در روزهای اولیه درمان افزایش دهد و سپس روند کاهشی را در ضخامت لایه اپی‌تلیوم ایجاد کند که احتمالاً این روند تسریع در بهبود زخم به تأثیر عصاره‌های زعفران مربوط است.

نتیجه‌گیری

باتوجه‌به خواص ذکرشده و نتایج به‌دست‌آمده از این مطالعه، ماده مؤثر زعفران (کروسین و سافرانال) می‌تواند طول مدت بهبود زخم در موش‌های صحرایی دیابتی را به‌طور قابل‌توجهی کاهش دهد. به نظر می‌رسد حداقل قسمتی از اثرات ضدالتهابی گیاه فوق احتمالاً به‌دلیل اثرات ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی و تکثیر سلولی است که در فرایندهای متعدد ترمیم، نقش تسریع در بهبود زخم داشته است؛ بنابراین در درمان زخم، استفاده از عصاره زعفران، احتمالاً باعث تسریع بهبود، صرف هزینه کمتر درمانی و استفاده کمتر از آنتی‌بیوتیک‌ها و مقاومت به آن‌ها در برابر عفونت‌ها در افراد دیابتی می‌شود.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

همه اصول اخلاقی در این مقاله رعایت شده است. شرکت کنندگان اجازه داشتند هر زمان که مایل بودند از پژوهش خارج شوند. همچنین همه شرکت کنندگان در جریان روند پژوهش بودند. اطلاعات آن ها محرمانه نگه داشته شد.

حامی مالی

این طرح پژوهشی برگرفته از پایان‌نامه ملیحه گلی رشته زیست‌شناسی گرایش بیوشیمی دانشگاه پیام نور تهران که در سایت ایرانداک به شماره ۳۱۰۷۶۱ ثبت شده است. حامی مالی این مقاله دانشگاه پیام نور بوده است.

مشارکت‌نویسندگان

انتخاب موضوع: ملیحه گلی، راهله رهباریان، سعیده ثمره موسوی و مجید رجبیان؛ نگارش: ملیحه گلی، راهله رهباریان و سعیده ثمره موسوی؛ اصلاح، پیگیری وکلیه اقدامات ملزوم: ملیحه گلی و راهله رهباریان.

تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان، این مقاله تعارض منافع ندارد.

تشکر و قدردانی

از همکاری دانشکده علوم پزشکی مشهد، مؤسسه آموزش عالی کاویان، استادان و کارشناسان آزمایشگاه دانشگاه پیام نور تشکر و قدردانی می‌شود.

References

[1] Bathaei Z, Makarizadeh N, Shirali D. A review of the mechanisms of action of herbal active ingredients in the treatment of diabetes mellitus.Journal of Medicinal Plants. 2013; 11(44): 1-24. [Link]

[2] Ashraf H, Heydari R, Nejati W, Ilkhanipour M. [Preventive effect of berberis integerrima on the serum levels of glucose and lipids in streptozotocin (stz)-induced diabetes in rats (Persian)]. J Adv Biomed Sci. 2012; 2(3):148-54. [Link]

[3] Ranjbar Heidari A, Khayyat-Zadeh J, Keshtahgar M. [Study of root aqueous extract of Prosopis farcta effect on wound healing of diabetic adult male rats (Persian)]. J Birjand Univ Med Sci. 2012; 19(3):245-54. [Link]

[4] Nabiuni M, Oryan SH, Ayyobipor M, Bagheri A. [Histochemical study of Verbascum speciocum extract's effects on the wound healing in rats (Persian)]. J Cell Tissue. 2011; 2(1):67-75. [DOI:10.29252/JCT.2.1.67]

[5] Nabiuni M, Azarnia M, Mousavi R, Ramezani T. [The effect of Myrtus Communism leave extract cream on wound healing process in Wistar rats (Persian)]. J Complement Med Res. 2014; 4(3):854-64. [Link]

[6] Miroliaei, M, Cheloongar, R, Aminjafari, A, Ghias, M. Histopathological evaluation of non-infectious skin deep wound healing activity of Melissa officinalis, Zizyphus spina-christi, Althaea officinalis, Satureja bachtiarica extract. Cell Mol Res. 2017; 30(2):212-22.[DOR:20.1001.1.23832738.1396.30.2.9.0]

[7] Hoveizi E. [The effects of wharton's jelly mesenchymal stem cells associated with gum of pistacia atlanticafor burn wound healing (Persian)]. J Anim Physiol Dev. 2020; 13(3):85-96. [Link]

[8] Jaffary F, Nilforoushzadeh M A, Sharifian H, Mollabashi Z. [Wound healing in animal models: Review article (Persian)]. Tehran Univ Med J. 2017; 75(7):471-9. [Link]

[9] Santos TS, Dos Santos IDD, Pereira-Filho RN, Gomes SVF, Lima-Verde IB, Marques MN, et al. Histological evidence of wound healing improvement in rats treated with oral administration of hydroalcoholic extract of vitis labrusca. Curr Issues Mol Biol. 2021; 43(1):335-52. [DOI:10.3390/cimb43010028] [PMID]

[10] Shirvi H, Al-Buwayh M, Hojjati W, Akbari H. [The Effect of Extract of Henna Leaves (Lawsonia inermis) on Skin Wound Healing in Wistar Rats (Persian)]. J Anim Biol. 2011; 3(4):45-52. [Link]

[11] Murshedi H, Ghaibi N, Safari, Ziaee A. [Effect of low-power laser on wound healing and blood sugar in diabetic rats (Persian)]. J Isfahan Med School. 2014; 32(287): 756-67. [Link]

[12] Moodi H, Akbari A, Ghiasi F, Mahmoudzadeh H, Heidari Z, Rashidi H. [The effect of Vacuum-Compression Therapy (VCT) on the diabetic foot ulcer healing (Persian)]. J Adv Med Biomed Res. 2006; 14(57):15-22. [Link]

[13] Samadi H, Javadi SH, Asri S. [Evaluation of the effects of crocin on the serum levels of glucose, insulin, urea, creatinine and β2m in healthy and streptozotocin-induced diabetic rats (Persian)]. Stud Med Sci. 2015; 26(9):802-12. [Link]

[14] Sadoughi SD. [Comparing the effect of safranal and crocin on serum levels of adiponectin, lipid profile and glucose in healthy and type one diabetic rats (Persian)]. Pars J Med Sci. 2017; 15(3):49-59. [DOI:10.52547/jmj.15.3.8]

[15] Froutan B, Malzami S, Heratipour H, Malzami SH, Bolbol haghighi N, Alam al-Hoda FS, et al. [Evaluation of palmatine effects on cutaneous wound healing in normal and diabeticrats (Persian)]. Iran J Diabetes Metab. 2014; 13(5):393-9. [Link]

[16] Moratalla-López N, Bagur MJ, Lorenzo C, Salinas MEMR, Alonso GL. Bioactivity and bioavailability of the major metabolites of Crocus sativus L. Flower. Molecules. 2019; 24(15):2827. [DOI:10.3390/molecules24152827] [PMID] [PMCID]

[17] Vakili A, Eianali MR, Bandagi AR. [The protective effects of Saffron against the oxidative damage in a transient model of focal cerebral ischemia in rats (Persian)]. Tehran Univ Med J. 2011; 69(7):405-12. [Link]

[18] Milajerdi A, Mahmoudi M. [Review on the effects of saffron extract and its constituents on factors related to nervous system, cardiovascular and gastrointestinal diseases (Persian)]. Clin Exell. 2014; 3(1):108-27. [Link]

[19] Khorasani A, Hosseinimehr SJ, Zamani P, Ghasemi M, Ahmadi A. The effect of saffron (Crocus sativus) extract for healing of second-degree burn wounds in rats. Keio J Med. 2008; 57(4):190-5. [DOI:10.2302/kjm.57.190] [PMID]

[20] Kianbakht S. [A systematic review on pharmacology of saffron and its active constituents (Persian)]. J Med Plants. 2008; 7(28):1-27. [DOI:20.1001.1.2717204.2008.7.28.1.3]

[21] Ali Rajabi A , Siah Kohian M , Akbarnejad A. Adaptation of irisin serum levels, lipid profile and insulin resistance to a period of aerobic exercise and oral consumption of saffron head and its durability in obese women with type 2 diabetes. Basic and clinical research journal 2018 ; 26(1): 9-26. [Link]

[22] Aktar N, Khan HMS, Ashraf S, Mohammad IS, Ali A. Skin depigmentation activity of Crocus sativus extract cream. Trop J Pharm Res. 2014; 13(11):1803-8. [DOI:10.4314/tjpr.v13i11.5]

[23] Vaghardoost R, Ghavami Y, Sobouti B. The effect of mentha pulegium on healing of burn wound injuries in rat. World J Plast Surg. 2019; 8(1):43-50. [DOI:10.29252/wjps.8.1.43] [PMID] [PMCID]

[24] Florin L, Knebel J, Zigrino P, Vonderstrass B, Mauch C, Schorpp-Kistner M, et al. Delayed wound healing and epidermal hyperproliferation in mice lacking JunB in the skin. J Invest Dermatol. 2006; 126(4):902-11. [DOI:10.1038/sj.jid.5700123] [PMID]

[25] Mehrabi S, Shokrpoor M, Jamilian M, Sakhi H. [Evaluation of the effect of saffron 20% cream on the level of infection and episiotomy dehiscence (Persian)]. J Arak Univ Med Sci. 2015; 18(7):75-84. [Link]

[26] Yaghmayei P, Moshrefjavadi F, Nilforooshzade MA, Mardani H, Kakanjadian P. [The effect of 2% alcohol green tea extract on healing process of open wound in male mice (Persian)]. J Isfahan Med Sch. 2009; 27(96):325-36. [Link]

[27] Ghorbani Z, Khadem E. Therapeutic applications of turmeric and its principle constituent curcumin in wound healing and skin regeneration from the perspective of conventional medicine and iranian traditional medicine (ITM). J Med Plants. 2017; 16(64):12-21. [Link]

[28] Zarei L, Gheibi P, Karimipour M. [The effect of vitamin e on histopathology of experimental burn wound healing in rats (Persian)]. Qom Univ Med Sci J. 2015; 9(4):49-54. [Link]

[29] Abdullahzadeh A, Zarifkar A, Dehghan GA, Ay J. [Effects of systemic administration of estrogen on the process of wound healing in excisional wounds in diabetic rat (Persian)]. Stud Med Sci. 2009; 20(1):26-33. [Link]

[30] Hadizadeh M, Malzami S, Bagheri M, Aminiyan M. [Effect of alcohol extract of nigella sativa on wound healing in streptozotocin-induced diabetic rat (Persian)]. J Diabetes Metab Disord. 2015; 16(2):77-84. [Link]

[31] Hajebrahimi Z, Naderi MS, Tabaie SM. [Study of gene expression and nanotechnology in wound healing process (Persian)]. J Lasers Med. 2016; 13(2-3):50-63. [Link]

[32] Liu W, Sun Y, Cheng Z, Guo Y, Liu P, Wen Y. Crocin exerts anti-inflammatory and anti-arthritic effects on type II collagen-induced arthritis in rats. Pharm Biol. 2018; 56(1):209-16. [DOI:10.1080/13880209.2018.1448874] [PMID] [PMCID]

[33] Afshar M, Sattari Fard H, Shadi M, Qaderi R. [Repairing effects of Iran flora on wound healing (Persian)]. J Birjand Univ Med Sci. 2015; 22(1):1-18. [Link]

[34] Thangavel P, Ramachandran B, Chakraborty S, Kannan R, Lonchin S, Muthuvijayan V. Accelerated healing of diabetic wounds treated with L-glutamic acid loaded hydrogels through enhanced collagen deposition and angiogenesis: An in vivo study. Sci Rep. 2017; 7(1):10701. [DOI:10.1038/s41598-017-10882-1] [PMID] [PMCID]

[35] Bukhari SI, Manzoor M, Dhar MK. A comprehensive review of the pharmacological potential of Crocus sativus and its bioactive apocarotenoids. Biomed Pharmacother. 2018; 98:733-45. [DOI:10.1016/j.biopha.2017.12.090] [PMID]

[36] Ataei G, Rahbarian R. [Investigating the effect of safranal on Bax and Bcl2 and oxidative stress levels in testis tissue of streptozotocin-induced diabetic rats (Persian)]. Feyz. 2020; 24(1):10-20. [Link]

[37] Deldar N, Monsefi M, Salmanpour M, Ostovar M, Heydari M. Wound healing potential of crocin and safranal, main saffron (Crocus sativus L.), the active constituents in excision wound model in rats. Galen Medical J. 2021; 10:1-6. [DOI:10.31661/gmj.v10i0.1900]

[38] Lahmass I, El Khoudri M, Ouahhoud S, Lahmass M, Khoulati A, Benyoussef S, et al. Biological effects and pharmacological activities of saffron of Crocus sativus. Arabian J Med Aromat Plants. 2021; 7(2):254-68. [DOI:10.48347/IMIST.PRSM/ajmap-v7i2.22962]

[39] Cai L, Xie L, Dong Q. Crocin enhances the viability of random pattern skin flaps: Involvement of enhancing angiogenesis and inhibiting oxidative stress. Am J Transl Res. 2020; 12(6):2929-38. [PMID] [PMCID]

[40] Okonkwo UA, DiPietro LA. Diabetes and wound angiogenesis. Int J Mol Sci. 2017; 18(7):1419. [DOI:10.3390/ijms18071419] [PMID] [PMCID]

[41] Thanabalasuriar A, Chiang AJ, Morehouse C, Camara M, Hawkins S, Keller AE, et al. PD-L1+ neutrophils contribute to injury-induced infection susceptibility. Sci Adv. 2021; 7(10):eabd9436. [DOI:10.1126/sciadv.abd9436] [PMID] [PMCID]

[42] Mzabri I, Addi M, Berrichi A. Traditional and modern uses of saffron (crocus sativus). Cosmetics. 2019; 6(4):63. [DOI:10.3390/cosmetics6040063]

[43] Smith A, Watkins T, Theocharidis G, Lang I, Leschinsky M, Maione A, et al. A novel three-dimensional skin disease model to assess macrophage function in diabetes. Tissue Eng Part C Methods. 2021; 27(2):49-58. [DOI:10.1089/ten.tec.2020.0263] [PMID] [PMCID]

[44] Krzyszczyk P, Schloss R, Palmer A, Berthiaume F. The role of macrophages in acute and chronic wound healing and interventions to promote pro-wound healing phenotypes. Front Physiol. 2018; 9:419. [DOI:10.3389/fphys.2018.00419] [PMID] [PMCID]

[45] Lotfollahi Z, Dawson J, Fitridge R, Bursill C. The anti-inflammatory and pro-angiogenic properties of high-density lipoproteins (HDL): An emerging role in diabetic wound healing. Adv Wound Care (New Rochelle). 2021; 10(7):370-86. [DOI:10.1089/wound.2020.1308] [PMID]

[46] Limandjaja GC, van den Broek LJ, Waaijman T, van Veen HA, Everts V, Monstrey S, et al. Increased epidermal thickness and abnormal epidermal differentiation in keloid scars. Br J Dermatol. 2017; 176(1):116-26. [DOI:10.1111/bjd.14844] [PMID]