

ارزیابی تجربی تاثیر زیپمت بر روی ترمیم زخم ناشی از سوختگی در قرنيه خرگوش

• علیرضا جهانیدیه

دانش آموخته دکتری حرفه ای واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

• علیرضا جهانیدیه (نویسنده مسئول)

گروه جراحی دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

• احمد اصغری

گروه جراحی دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

• پژمان مرتضوی

گروه پاتوبیولوژی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷-۱۱-۰۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸-۰۲-۲۹

Email: dr.jahandideh@gmail.com



چکیده

هدف از انجام این تحقیق، مطالعه تجربی اثر زیپمت بر روی ترمیم زخم سوختگی قرنيه در خرگوش است. در این مطالعه از ۲۰ سر خرگوش نیوزلندی نر بالغ با دامنه وزنی ۳_۲٫۵ کیلوگرم سالم استفاده گردید. بعد از بیهوشی عمومی، زخم قرنيه در چشم چپ تمام حیوانات ایجاد شد. چشم چپ هر کدام از خرگوش ها با ۲ قطره تتراکایین ۰/۵٪ آغشته شد و پس از ۵ دقیقه کاغذ صافی مدور به قطر ۶ میلی متر که آغشته به ۳۰ میکرولیتر سود یک نرمال است، برای مدت ۶۰ ثانیه در مرکز قرنيه قرار داده شد. بعد از برگشت از بی هوشی، خرگوش ها به ۴ گروه ۵ تایی تقسیم شدند. سپس در گروه اول، دوم و سوم به ترتیب با زیپمت ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ mg/kg گاوژ انجام شد و در گروه چهارم آب مقطر تا ۲۱ روز بعد از ایجاد زخم قرنيه روزانه گاوژ شد. بعد از ۲۱ روز ایجاد سوختگی قرنيه، نمونه های بافتی از محل زخم اخذ و تحت بررسی آسیب شناسی بافتی قرار گرفتند. با توجه به مطالعات آسیب شناختی شاخص های عروق زایی، میزان التهاب و ادم بستره قرنيه در خرگوش های تحت درمان با زیپمت ۲۰۰ mg/kg در مقایسه با گروه شاهد بطور معنی داری کاهش اما لایه های بافت پوششی قرنيه افزایش یافته بود ($p < 0.05$). همچنین استفاده از زیپمت موجب بهبود نظم طبیعی رشته های کلاژن قرنيه شد ($p < 0.05$). بر اساس نتایج به دست آمده به نظر می رسد که زیپمت با دوز پیشنهادی ۲۰۰ mg/kg اثرات مناسب و قابل قبولی بر روند التیام بخشی و ترمیم زخم قرنيه خرگوش داشته باشد.

کلمات کلیدی: زخم قرنيه، زیپمت، سود سوزآور، خرگوش نیوزیلندی

• Veterinary Researches & Biological Products No 126 pp: 108-117

Experimental study of the effect of Zipmet on corneal ulcer healing due to burning in rabbit

By: Mahlouljani, A.R., Graduated from DVM Professional Science and Research Unit, Islamic Azad University, Tehran, Iran. Jahandideh, A.R., (Corresponding Author) Department of Veterinary Surgery, Science and Research Unit, Islamic Azad University, Tehran, Iran. Asghari, A., Department of Veterinary Surgery, Science and Research Unit, Islamic Azad University, Tehran, Iran. Mortezaei, P., Department of Pathobiology, Science and Research Unit, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Received: 2019-01-26

Accepted: 2019-05-19

Email: dr.jahandideh@gmail.com

This study was conducted to examine the effect of Zipmet on healing of corneal ulcer due to burning in rabbit. In this study, 20 adult healthy male New Zealand rabbits with an average weight of 2.5-3 kg were used. After general anesthesia, corneal ulcer in the left eye of the all animals was induced. The left eye of each rabbit was stained with 2 drops of tetracycline 0.05%. After 5 minutes, a circular filter paper of 6 mm in diameter, impregnated with 30 μ L of a Sodium hydroxide 1 was placed in the cornea center for 60 seconds. After returning from anesthesia, the rabbits were randomly divided into 4 groups of 5 numbers. Then, in the first, second and third groups, Zipmet at 50, 100 and 200 mg / kg were gavaged, while the fourth group was gavaged with water for 21 days. After 21 days, corneal samples were taken and evaluated histopathologically. According to the histopathological findings, vascularization, inflammation and matrix edema of cornea significantly marked while the epithelium of cornea increased in metformin 200 mg / kg -treated rabbits compared to control group ($P < 0.05$). Also, administration of Zipmet significantly improved the natural structure of cornea collagen fibers ($P < 0.05$). Based on the results, it seems that Zipmet at dose of 200 mg / kg has useful effect on the healing process in rabbit's corneal ulcer.

Keyword: Corneal ulcer, Zipmet, NaOH, New Zealand Rabbit

از طریق جایگزینی سلول‌های پارانشیمی بازسازی نشده با بافت هم‌بند انجام می‌شود. پس از مراحل التهابی، رگ‌زایی (neovascularization) و تشکیل (angiogenesis)، مهاجرت و تکثیر فیروبلاست‌ها (fibroplasia) و تشکیل اپیتلیوم (epithelialization) انجام می‌شود و پس از آن انقباض زخم، بلوغ بستر برون سلولی و تغییر یافتن Remodeling انجام می‌گیرد. این مرحله با تهاجم فیروبلاست‌ها و تجمع رشته‌های کلاژن در زخم و مهاجرت و تشکیل ساختارهای جدید اندوتلیال در زخم انجام می‌شود. داروی زیپ مت ترکیبی از یک داروی مهارکننده دیپتیدیل پتیداز چهار (۴-DPP) به نام Sitagliptin (V) و یک بی‌گوانید به نام Metformin می‌باشد (۸). که همراه با هم نقش موثرتری در افزایش ترشح انسولین به خون ایفا می‌کنند. علاوه بر نقش متفورمین، جزء دیگر این ترکیب سیتاگلیپتین با افزایش سطح اینکرتین در خون منجر به افزایش ترشح انسولین (خصوصاً پس از غذا) در خون می‌شود. همچنین این دارو با کاهش ساخت قندهای ساده توسط کبد، کاهش جذب کربوهیدرات از روده‌ها و کمک به افزایش حساسیت سلول‌ها برای پاسخگویی به انسولین از چند جهت کمک می‌کند تا قند خون بیماران دیابتی به موثرترین شکل کنترل گردد (۵). علت استفاده از زیپمت به دلیل داشتن فاکتور راکتیو اکسیژن (reactive oxygen species) است.

مقدمه

زخم قلیایی قرنیه واکنش التهابی شدیدتری را نسبت به آسیب‌های ناشی از تروما ایجاد می‌کند. این التهاب شدید می‌تواند با مهار رشد اپیتلیوم طبیعی منجر به ایجاد فیبروز یا اسکار در سطح قرنیه گردد (۲۴). یکی از مکانیسم‌های بیوشیمیایی بسیار مهمی که منجر به آسیب سلولی و مرگ آنها در مواجهه با عوامل شیمیایی می‌گردد، اثر رادیکال‌های آزاد است که قابلیت ترکیب با لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک را داشته و نهایتاً می‌توانند منجر به آسیب و مرگ سلولی گردد. وجود زخم قرنیه منجر به افزایش پراکسیداسیون چربی‌ها و غیرفعال شدن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌شود. پراکسیداسیون چربی‌ها و ایجاد رادیکال‌های آزاد اضافی، می‌تواند موجب آسیب پروتئین‌ها، DNA و القاء آپوپتوز در چشم گردد. التیام زخم یا ترمیم زخم پروسه طبیعی بدن برای بازسازی بافت درم و اپیدرم است. یکسری واکنش‌های پیچیده بیوشیمیایی و سلولی در یک راستای هماهنگ اتفاق می‌افتد تا آسیب را ترمیم کند. آسیب و التهاب وسیع و بادوام بافتی همراه با آسیب سلول‌های پارانشیمی و ساختار داربستی، سبب ایجاد حالتی می‌شود که در آن ترمیم به وسیله بازسازی پارانشیمی به تنهایی، قابل دستیابی نمی‌باشد. تحت این شرایط، ترمیم

اصول اخلاقی مورد تأیید کمیته‌های بین‌المللی حمایت از حقوق حیوانات آزمایشگاهی انجام گردید.

روش ایجاد زخم سوختگی قرنیه

به منظور ایجاد بیهوشی از کتامین ۱۰٪ (شرکت دارویی روتکس) به میزان ۴۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن و زایلازین ۲٪ (شرکت دارویی آلفاسان) به مقدار ۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت داخل عضلانی استفاده شد. پس از بیهوشی کامل، چشم چپ هر کدام از خرگوش‌ها با ۲ قطره تتراکاین ۵٪ آغشته شد و پس از ۵ دقیقه کاغذ صافی مدور به قطر ۶ میلی‌متر که آغشته به ۳۰ میکرولیتر سود یک نرمال است، برای مدت ۶۰ ثانیه در مرکز قرنیه قرار داده شد (۱۴). به دنبال برداشت کاغذ صافی چشم با ۲ میلی‌لیتر سالین نرمال استریل شستشو داده شد و بلافاصله پس از ایجاد سوختگی، رنگ‌آمیزی چشم با فلورسئین برای اطمینان از یکسان بودن زخم‌ها انجام شد. برای جلوگیری از درد بعد از عمل به تمام گروه‌ها تک دوز فلونکسین مگلو مین (شرکت دارویی رویان دارو) ۱ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن بصورت زیرجلدی تزریق شد.

گروه‌های مورد مطالعه

سپس خرگوش‌ها به چهار گروه مساوی شاهد و آزمایش ۱، ۲ و ۳ تقسیم شد. در گروه آزمایش ۱: ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، در

است (۴). نوآوری این طرح آسیب اصلی در دیابت به چشم است که باعث کدورت قرنیه میشود (۱۳). این دارو به دلیل خواص درمانی مشابه و قرابت گروه دارویی احتمال خواص مشابه با متفورمین دارد و به دلیل استفاده زیاد از این دارو در مصارف دیگر از جمله رژیم لاغری و احتمال مضرات، کار تحقیقاتی خوبی انجام گرفته است. با توجه به معرفی تجاری جدید دارو و کاربرد اصلی آن به صورت دارو کاهنده قند خون درمورد روند ترمیم زخم در سایر بافت‌های حساس تاکنون مقاله‌ای منتشر نشده است. هدف از انجام این تحقیق، مطالعه تجربی اثر زیپمت بر روی ترمیم زخم سوختگی قرنیه در خرگوش است.

مواد و روش کار

در این تحقیق از ۲۰ سر خرگوش نیوزلندی نر بالغ با دامنه وزنی ۲٫۵-۳ کیلوگرم سالم استفاده شد خرگوش‌ها از بخش تکثیر و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی انستیتو پاستور ایران تهیه و در قفس‌های مخصوص نگهداری شدند. به منظور پرهیز از استرس و سازگار شدن حیوانات با محیط، هیچگونه آزمایشی به مدت یک هفته روی خرگوش‌ها صورت نگرفت و تمامی حیوانات تحت شرایط محیطی و تغذیه‌ای یکسان (دما، رطوبت، نور، نوع جیره غذایی و تعداد دفعات غذای یکسان) نگهداری شدند و در چرخه روشنایی/تاریکی ۱۲ ساعت نگهداری شدند. تغذیه خرگوش‌ها با استفاده از پلت آماده مخصوص حیوانات آزمایشگاهی صورت گرفت و آب نیز بصورت آزاد در اختیار حیوانات قرار گرفت. پروتکل این مطالعه مطابق



شکل ۱ و ۲- قرار دادن کاغذ صافی مدور به قطر ۶ میلی‌متر که آغشته به ۳۰ میکرولیتر سود یک نرمال است، برای مدت ۶۰ ثانیه در مرکز قرنیه به منظور ایجاد زخم.

پوششی قرنیه، به همراه نظم نظم طبیعی تر رشته‌های کلاژن، ۲۱ روز بعد از جراحی در مقایسه با گروه شاهد شده است. به این ترتیب که در گروه‌های درمانی التیام زخم قرنیه بهتر از گروه شاهد انجام گرفته بود که از لحاظ کاهش میزان عروق‌زایی قرنیه، افزایش لایه‌های بافت پوششی قرنیه، کاهش میزان التهاب، کاهش خیز بستره و نظم طبیعی رشته‌های کلاژن نسبت به گروه شاهد تفاوت معنی‌دار را نشان می‌دهد که نتایج فوق بانتایج تحقیقات مشابه هم‌خوانی دارد.

بحث

در این مطالعه اثرات زیپمت روی التیام زخم سوختگی قرنیه در خرگوش مورد بررسی قرار گرفت و نتایج حاصل از این تحقیق مشخص شد که زیپمت با دوز پیشنهادی ۲۰۰ mg/kg می‌تواند موجب کاهش آسیب وارده به قرنیه در طی روند ترمیم زخم سوختگی قرنیه در خرگوش شود. پس از آسیب وارد شده به قرنیه یاخته‌های اطراف ناحیه‌ی آسیب دیده اعم از یاخته‌های التهابی نوتروفیل و ماکروفاژها و مونوسیت‌ها تلاش می‌کنند تا آسیب وارده را ترمیم و التیام بخشند که در نتیجه ناحیه ملتهب و خیزدار می‌شود. در بسیاری از موارد یاخته‌های بافت پوششی به دلیل فروپاشی غشای پایه و تراوش پروتئین‌ها قادر نخواهند بود اتصال لازم جهت برگرداندن لایه‌ها را فراهم کنند و فاصله بین یاخته‌های بافت پوششی زیاد و پیوند آنها سست می‌شود. زیپمت از دو دارو متفورمین و سیتاگلیپتین می‌باشد. سیتاگلیپتین مهار کننده آنزیم دی پپتیدیل پپتیداز تیپ ۴ (DPP-4) است که در کنار رژیم غذایی و ورزش در کنترل قند خون بیماران دیابتی تیپ II مورد استفاده قرار می‌گیرد. این دارو با مهار آنزیم دی پپتیداز تیپ چهار مانع از تجزیه اینکرتین (Incretin) در بدن می‌شود. اینکرتین که به نام Glucagon-like peptide ۱-۱۰ شناخته می‌شود فاکتوری است که می‌تواند با کنترل ترشح انسولین و کاهش ترشح گلوکاکون بر روی هموستاز گلوکز موثر باشد. کاهش ترشح گلوکاکون می‌تواند بر روی روند گلوکونئوژنز در کبد نیز موثر باشد، به همین دلیل سیتاگلیپتین با مهار این جریان فیزیولوژیک بدن، به شکل موثری قند خون را کاهش می‌دهد. با توجه به ترشح هورمون اینکرتین در پاسخ به حضور غذا در

گروه آزمایش ۲: ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن و در گروه آزمایش ۳: ۲۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن. بلافاصله در روز جراحی تا ۲۱ روز بعد از جراحی روزانه زیپ مت گاوژ شد. در گروه شاهد مساوی با سایر گروه‌ها آب مقطر گاوژ شد.

ارزیابی آسیب‌شناسی بافتی

در پایان هفته سوم حیوانات بیهوش شده و عمل برداشت کره چشم انجام گرفت. پس از جداسازی کره چشم، نمونه‌ها در فرمالین ۱۰٪ قرار داده شده و به آزمایشگاه پاتولوژی ارسال شد. در آزمایشگاه Corneosclera Disk از کره چشم جدا شده و پس از طی روند آماده‌سازی و تهیه بلوک پارافینی مقاطع ۴ میکرونی تهیه شد و با هماتوکسیلین-ائوزین رنگ‌آمیزی شد و در نهایت با توجه به معیارهای ارزیابی شاخص‌ها امتیاز بند شد (جدول ۱).

تجزیه و تحلیل داده‌ها

جهت بررسی‌های آماری و تحلیل نتایج پاتولوژیکی توسط بسته نرم‌افزاری SPSS نسخه ۲۴ کلیه داده‌های کیفی تبدیل به داده‌های کمی شده و با معیار افزایشی از ۰ تا ۳ درجه بندی شد. داده‌ها با استفاده از روش ناپارامتری و با تست تعقیبی kruskal wallis برای مقایسه بین گروه‌های مختلف و Mann-Whitney U برای مقایسه‌ی بین دو گروهی مورد ارزیابی قرار گرفتند و اختلافات در سطح $p < 0.05$ معنی دار تلقی شد.

نتایج

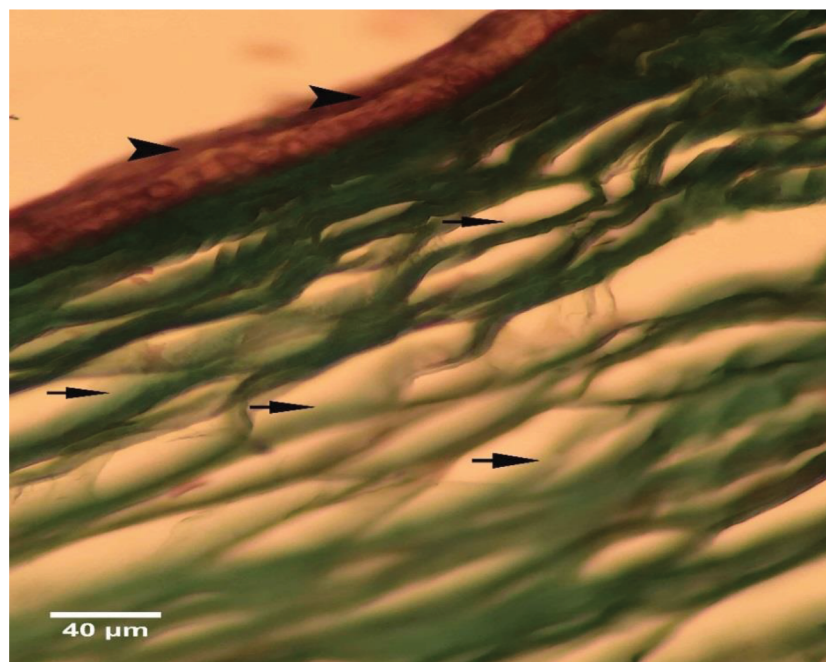
نتایج مربوط به آسیب‌شناسی بافتی گروه‌های مورد آزمایش

بررسی آسیب شناختی بافت نشان داد، افزایش لایه‌های بافت پوششی قرنیه، کاهش میزان التهاب، کاهش ادم بستره و نظم طبیعی رشته‌های کلاژن در گروه‌های درمان شده با زیپمت در مقایسه با گروه شاهد بهتر و به صورت معنادار بود ($p < 0.05$).

با توجه به نتایج آماری حاصل از بررسی میانگین $\pm$ خطای معیار مشخص گردید زیپمت با دوز ۲۰۰ mg/kg موجب کاهش معنی‌دار ($p < 0.05$) در میزان رگ‌زایی قرنیه، التهاب و ادم بستره و همچنین افزایش لایه‌های بافت

جدول ۱- جدول امتیاز بندی شاخص‌ها با توجه به معیار ارزیابی

امتیاز	شاخص‌های مورد ارزیابی				
	رگ زایی	تشکیل لایه‌های اپیتلیوم	وجود التهاب	ادم در استروما	نظم رشته کلاژن
۰	عدم رگ زایی	۵ لایه و بیشتر	عدم وجود	عدم ادم	طبیعی
۱	کم	۳-۴ لایه	اندک و پراکنده	مختصر و کانونی	بی‌نظمی کم
۲	متوسط	۱-۲ لایه	متوسط	متوسط و کانونی	بی‌نظمی متوسط
۳	زیاد	عدم تشکیل	شدید و گسترده	گسترده و وسیع	عدم نظم



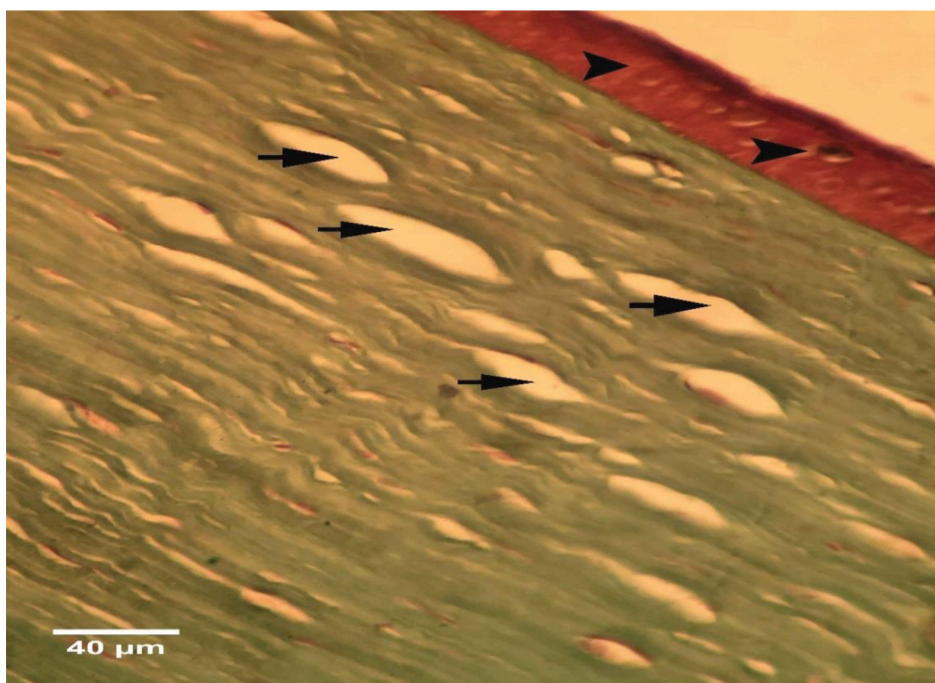
شکل ۳- مقطع بافتی قریه در گروه ۱ (شاهد)، اپیتلیوم نوزایش یافته (نوک پیکان) که نامنظم بودن و ادم شدید استروما دیده می‌شود (رنگ آمیزی Trichrome).



شکل ۴- مقطع بافتی قریه در گروه درمان با چنده ۵۰ mg/kg ، اپیتلیوم نوزایش یافته (نوک پیکان) که نامنظم بودن و ادم قابل توجه استروما (پیکان) دیده می‌شود (رنگ آمیزی Trichrome).

مورد بررسی قرار دادند (۲۰). در این مطالعه نیز بکاربردن زیپمت با دوز پیشنهادی ۲۰۰ mg/kg موجب التیام بافت پوششی چشم در خرگوش شد. ژيجی و همکاران (۲۰۱۳) پس از برداشت دایره‌ای به قطر ۶ میلیمتر با استفاده از کراتوتوم، در قرنیه موش صحرایی، بدون آزدگی لیمبوس و استروما (تخریش اپیتلیالی سطحی)، وضعیت نوزایش بافت پوششی و هجوم نوتروفیل‌ها را مورد مطالعه قرار دادند. در مطالعه ایشان مشخص گردید که پلاکت‌ها در عروق لیملال تجمع یافته و نوتروفیل‌ها از عروق به سمت محل آسیب‌دیده مهاجرت می‌کنند. نتایج یافته شده درموشها ایجاد ترومبوسیتوپنی به طور معنی‌داری روند ترمیم را به مخاطره انداخته و ترانسفیوژن دوباره پلاکت‌ها بر عکس عمل می‌نماید. نتیجه اینکه موضعی شدن پلاکت‌ها در عروق لیملال در قرنیه‌های زخم شده نقشی اساسی در نوزایی بافت پوششی دارد (۲۵). این مطالعه در اساس با موضوع مطالعه حاضر دارای مشابهتی می‌باشد که هر دو به نقش مهم و کاملاً اساسی پلاکت‌ها و تأثیر به سزای آن در ترمیم قرنیه اشاره دارد. رید و همکاران (۲۰۰۰) به این نتیجه رسیدند که تجویز موضعی قطره‌های سرم خون اتولوگ به طور موفقیت آمیزی در درمان اختلالات سطحی تا شدید چشم کارایی دارند (۲۱). که تحقیق حاضر نیز از این لحاظ با نتایج بررسی ایشان همخوانی دارد. پیرس و همکاران (۱۹۹۱) طی یک تحقیق در مورد استفاده از platelet rich plasma (PRP) یافتن که به کاهش نهایی قطر زخم

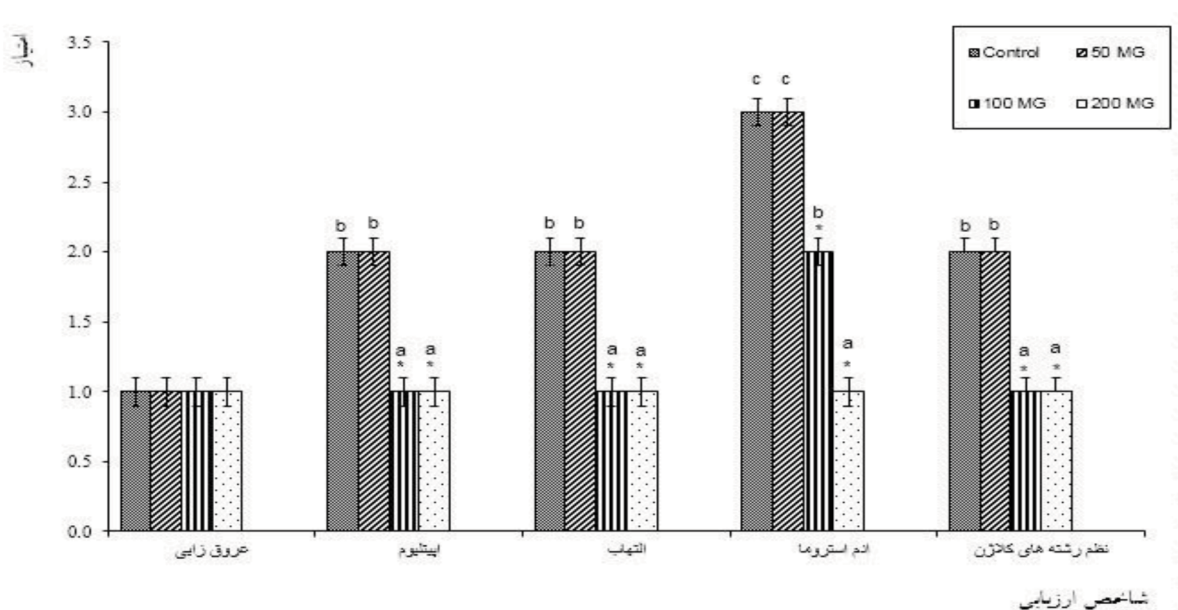
دستگاه گوارش، سیتاگلیپتین با مهار تجزیه این هورمون، هنگام غذا خوردن یا در ساعات اولیه بعد از آن، اثرگذار خواهد بود. متفورمین با کاهش جذب گلوکز در سطح روده، کاهش گلوکونئوژنز، و افزایش حساسیت به انسولین در سطح گیرنده‌های سطح سلول در نتیجه افزایش برداشت گلوکز از خون، قند خون را کاهش می‌دهد (۱۹). همچنین متفورمین سه پروتئین موثر در تورم به نام‌های factor- κ B, Tumor Necrosis Factor α , Cyclooxygenase ۲، را کاهش می‌دهد و اثر ضدالتهابی خود را اعمال می‌کند. همچنین Nrf۲, heme oxygenase ۱, catalase, glutathione activities را افزایش داده که خاصیت محافظت کننده دارند (۱۰). مطالعاتی که محققین بر روی عوامل موثر روی ایسکمی مغز انجام داده‌اند نشان می‌دهد استفاده از متفورمین عاملی موثر در پیشگیری و درمان مراحل ابتدایی می‌باشد. این اثر به دلیل خاصیت ضد التهابی و پاداکسندگی متفورمین به دلیل مهار AMPK می‌باشد (۱۱، ۱۷). از آنجایی که خطر بروز بیماری‌های قلبی-عروقی در بیماران دیابتی رو به افزایش است، بالطبع با کاهش همزمان قند و چربی در مصرف این دارو، نقش بالقوه‌ای در پیشگیری طولانی مدت در بیماری‌های قلبی-عروقی ایفا می‌شود (۱۲). امروزه علاوه بر استفاده‌های که از متفورمین در جهت درمان دیابت، محققان جنبه‌های دیگری از اثرگذاری آن در دیگر بیماری‌ها نظیر کیست تخمدانی، مشکلات عروقی و تومورهای سرطانی نظیر سرطان پستان را



شکل ۵- مقطع بافتی قرنیه در گروه درمانی ۱۰۰ mg/kg و ۲۰۰ mg/kg اپیتلیوم نوزایش یافته (نوک پیکان) و نامنظم بودن و ادم کانونی استروما (پیکان) دیده می‌شود (رنگ آمیزی Trichrome).

است. بنیان‌های آزاد چشم که می‌توانند فعالیت آنزیمی یا غیر آنزیمی داشته باشند نظیر $\text{superoxide hydroxyl radical}$, $\text{s hydrogen prooxide}$, singlet oxygen با ایجاد زخم به صورت مکانیکی در قرنیه خرگوش افزایش می‌یابد، زیرا عملکرد پاداکسندگی‌های بیان شده در قرنیه آسیب دیده به طور محسوسی کاهش پیدا می‌کند (۱). متفورمین از طریق فعال‌سازی AMPK که منجر به پاداکسندگی thiore doxin می‌شود می‌تواند سبب کاهش سطح ROS شود (۹). بنیان‌های آزاد از دو مکانیسم در بدتر شدن بیماریهای چشم اثر نامطلوب می‌گذرد، اول: باعث مرگ یاخته و استحاله شده و کارایی و طول عمر یاخته‌های چشمی را کاهش می‌دهند و دوم: با کاهش فرآیند ترمیم در آسیب‌های وارد شده این اثر را تشدید می‌کنند. همچنین لایه اشکی چشم نیز حاوی مواد پاداکسندگی می‌باشد که با آسیب‌های وارد شده به چشم، این خاصیت کاهش می‌یابد. شواهدی دال بر اثر درمانی و بهبود علائم ناشی از افزایش توسط زیپمت وجود دارد. این دارو کاهش پاداکسندگی آنزیمی و غیر آنزیمی را به حالت اول باز می‌گرداند. در این مطالعات بیان شده که زیپمت می‌تواند در بقاء و التیام فلپ پوستی موثر بوده و باعث التیام آن شود. استارب (۲۰۰۰) بیان نمود که با ایجاد زخم در قرنیه، افزایش فعالیت پروتئینازهای تخریبی و کاهش فعالیت پروتئازها باعث از هم گسیختگی سریع کلاژن و سایر اجزای خارج سلولی ماتریکس قرنیه می‌شود (۲۳). در شرایط پاتولوژیک و

می‌انجامد که تحقیق حاضر نیز به نتیجه مشابه با مطالعه حاضر دست یافته است (۱۸). نیشیجیما و همکاران (۲۰۰۱) و (۲۰۰۴) دریافتند که خود پلاکتها نقش عمده‌ای در فراخوانی و موضعی شدن یا جاگیری لوکوسیت‌ها در التهاب حاد قرنیه دارند (۱۶). کوپر و همکاران (۲۰۰۳) نیز دریافتند که خود لوکوسیت‌ها دوباره در تجمع پلاکت‌ها نقش دارند. این مطالعات در اساس با موضوع مطالعه حاضر دارای مشابهتی می‌باشد (۲). گاوز (۲۰۰۷) و کولیگوفسکی (۲۰۰۶)، اشتراک و همیاری رهایه‌های پلاکتی را در کاهش و تعدیل پاسخ التهابی و آسیب بافتی و تسریع درمان مشخص کرده‌اند. که در حداقل بودن میزان التهابات چشمی و سایر عوارض ناشی از التهاب در گروه تیمار در تحقیق حاضر یافته‌ای است که با نتایج ایشان همخوانی دارد (۱۵، ۶). با توجه از نتایج این مطالعه بیان می‌گردد که استفاده از زیپمت موجب کاهش تولید بنیان‌های آزاد و O_2^- در بیماران دیابتی در مقایسه با افراد سالم می‌شود. تحقیقات که روی فعالیت پاداکسندگی برخی آنزیم‌ها نظیر $\text{glutathione peroxidase}$, xanthine oxidase , $\text{xanthine oxireductase}$ و فعالیت‌های کاتالازی که روی قرنیه خرگوش انجام شده نشان می‌دهد که فعالیت این آنزیم‌ها با گذشت زمان کاهش می‌یابد. اگر چه در مطالعه حاضر قادر به اندازه‌گیری غلظت آنزیم‌های اکسیداتیو نشدیم، اما نتایج بدست آمده از این مطالعه نیز همسو با گزارشات پیشین بود. فعالیت آنزیم‌های مذکور در حمایت قرنیه از آسیب‌های وارده حائز اهمیت



نمودار ۱ - (مقایسه نتایج آسیب شناختی بافت بین گروه های مورد مطالعه)

ستاره (*) نشان دهنده اختلاف معنا دار ($p < 0.05$) با گروه کنترل می‌باشد.

حروف غیر همنام (a,b,c) نشان دهنده اختلاف معنادار ($p < 0.05$) بین گروه می‌باشد.

گرفتن نتایج مطالعه حاضر مشاهده شد که زیپمت، باعث کاهش سلول‌های التهابی و ادم در قرنیه می‌شود. با توجه به مطالب ذکر شده، نتایج تحقیق حاضر نشان داد که گروه‌های تحت درمان با زیپمت نتایج آسیب‌شناسی بهتری داشتند. به این ترتیب که در گروه‌های درمانی التیام زخم قرنیه بهتر از سایر گروه‌ها انجام گرفته بود که از لحاظ کاهش میزان عروق زایی قرنیه، افزایش لایه‌های بافت پوششی قرنیه، کاهش میزان التهاب، کاهش خیز بستره و نظم طبیعی رشته‌های کلاژن نسبت به گروه شاهد تفاوت معنی‌دار را نشان می‌دهد که نتایج فوق با نتایج تحقیقات مشابه همخوانی دارد.

در نهایت پیشنهاد می‌شود زیپمت با دوز ۲۰۰ mg/kg، دارویی موثر برای کاهش عوارض ناشی از زخم قرنیه و کمک کننده به روند التیام بافت آسیب دیده قرنیه می‌باشد و استفاده از آن در کنار سایر روش‌های درمانی

آسیب بافت قرنیه، بطور قابل توجهی افزایش رادیکال‌های آزاد اکسیژن و افزایش شرایط اکسیداتیو و کاهش در اجزای سیستم آنتی اکسیدانی وجود دارد. عوامل مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد شامل سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز پراکسیداز، ویتامین E، گلوکاتایون، اسید اسکوربیک و... می‌باشد (۲۲). درمان زخم قرنیه، از مشکلات همیشگی علم چشم پزشکی است. علت این امر نیز به خاطر اهمیت بالای قرنیه در ایجاد و حفظ دید طبیعی میباشد. زخم قلیایی قرنیه واکنش التهابی شدیدتری را نسبت به آسیب‌های ناشی از تروما ایجاد می‌کند. این التهاب شدید می‌تواند با مهار رشد اپیتلیوم طبیعی منجر به ایجاد بافت فیروز یا اسکار در سطح قرنیه گردد. از طرفی نشان داده شده که زیپمت و ترکیبات بیگوانیدی دارای اثرات ضد التهابی می‌باشند. این دارو می‌تواند از تولید سایتوکین‌های پیش التهابی همانند اینترلوکین‌های ۱، ۶ و ۸ (IL۱، IL۶، IL۸) نیز جلوگیری کند (۳). با در نظر

امتیاز	معیار ارزیابی	شاخص
۰	عدم عروق	عروق زایی
۱	کم	
۲	متوسط	
۳	زیاد	
۰	۵ لایه و بیشتر	اپیتلیوم
۱	۳-۴ لایه	
۲	۱-۲ لایه	
۳	عدم تشکیل کامل اپیتلیوم	
۰	عدم حضور	التهاب
۱	اندک و پراکنده	
۲	متوسط	
۳	شدید و گسترده	
۰	عدم ادم	ادم استروما
۱	مختصر و کانونی	
۲	متوسط و کانونی	
۳	گسترده و وسیع	
۰	طبیعی	نظم رشته‌های کلاژن
۱	بی نظمی کم	
۲	بی نظمی متوسط	
۳	عدم نظم	

9. Hou, X., Song, J., Li, X.-N., Zhang, L., Wang, X., Chen, L. and Shen, Y. H. 2010. Metformin reduces intracellular reactive oxygen species levels by upregulating expression of the antioxidant thioredoxin via the AMPK-FOXO3 pathway. *Biochemical and biophysical* Steuhl, K. P. 2000. Amniotic membrane transplantation for acute chemical or thermal burns. *Ophthalmology*, 107(5): 980-989.
10. Isoda, K., Young, J. L., Zirlik, A., MacFarlane, L. A., Tsuboi, N., Gerdes, N., Schönbeck, U. and Libby, P. 2006. Metformin inhibits proinflammatory responses and nuclear factor- κ B in human vascular wall cells. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 26(3): 611-617.
11. Jian M-Y, Alexeyev MF, Wolkowicz PE, Zmijewski JW, Creighton JR. 2013. Metformin-stimulated AMPK- α 1 promotes microvascular repair in acute lung injury. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*. 305(11):L844-L855.
12. Josephkutty S, Potter JM. Comparison of tolbutamid and metformin in elderly diabetic patients. *Diabetic Med* 1990;7: 5104.
13. Kato S, Oshika T, Numaga J, Kawashima H, Kitano S, Kaiya T. 2000. Influence of rapid glycemic control on lens opacity in patients with diabetes mellitus. *Am J Ophthalmol*, 130:354-355
14. Khaksar, E., Aldavood, S., Abedi, G., Sedaghat, R., Nekoui, O. and Zamani-ahmadmahmudi, M. 2013. The effect of sub-conjunctival platelet-rich plasma in combination with topical acetylcysteine on corneal alkali burn ulcer in rabbits. *Comparative Clinical Pathology*, 22(1):107-112.
15. Kuligowski, M.P., Kitching, A.R. and Hickey M.J. 2006. Leukocyte recruitment to the inflamed glomerulus: a critical role for platelet-derived P-selectin in the absence of rolling. *Journal of Immunology*, 176: 6991-6999.
16. Nishijima, K., Kiryu, J. and Tsujikawa, A., et al. 2004. Platelets adhering to the vascular wall mediate postischemic leukocyte-endothelial cell interactions in retinal microcirculation. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 45: 977-984.
17. Park CS, Bang B-R, Kwon H-S, Moon K-A, Kim T-B, Lee K-Y, et al. 2012. Metformin reduces airway inflammation and remodeling via activation of AMP-activated protein kinase. *Biochemical pharmacology*. 84:1660-70.
18. Pierce, G.F., Muštoe, T.A., Altmann, B.W., Deuel, T.F. and Thomason, A. 1991. Role of platelet-derived growth factor in wound healing. *Journal of Cell Biochemistry*, 45: 319-326.
19. Product information: Glucophage®, Glucophage®, XR. Bristol-Myers Squibb. Princeton, NJ. 08543 USA revised 1/2001 reviewed June 2001, available in site: <http://www.chfpatients.com>.
20. R.M. and Borke, J.L. 2014. Effect of metformin on periimplant wound healing in a rat model of type 2 diabetes. *Implant Dentistry*,

برای زخم قرنیه می‌تواند مفید باشد. با در نظر گرفتن محدودیت‌های این مطالعه، ما قادر به اندازه‌گیری بنیان آزاد اکسیژن متعاقب تجویز زیپمت در چشم دچار سوختگی خرگوش نبودیم. پیشنهاد می‌شود مطالعات آتی با اندازه‌گیری سطح آنزیم‌های اکسیداتیو متعاقب استفاده از زیپمت فرایند ترمیم زخم قرنیه انجام گیرد تا عملکرد دقیق فیزیولوژیک یاخته‌ای و مولکولی زیپمت مشخص شود. همچنان با در نظر گرفتن محدودیت‌های این مطالعه غلظت آنزیم‌های اکسیداتیو بدنبال استفاده زیپمت قابل اندازه‌گیری نبود. احتمالاً زیپمت برخی از اثرات درمانی خود را با مکانیسم تأثیر بر فعالیت این آنزیم‌ها انجام بدهد. پیشنهاد می‌شود مطالعات بیشتری در زمینه روشن شدن ساز و کار دقیق کار اندام‌شناختی یاخته‌ای و مولکولی زیپمت انجام گردد.

منابع مورد استفاده

1. Cejkova, J., Vejrazka, M., Plateník, J. and Stípek, S. 2004. Age-related changes in superoxide dismutase, glutathione peroxidase, catalase and xanthine oxidoreductase /xanthine oxidase activities in the rabbit cornea. *Experimental gerontology*, 39(10): 1537-1543.
2. Cooper, D., Chitman, K.D., Williams, M.C. and Granger, D.N. 2003. Time-dependent platelet-vessel wall interactions induced by intestinal ischemia-reperfusion. *American Journal of Physiology*, 284: G1027-G1033.
3. Cheng, J., Truong, L. D., Wu, X., Kuhl, D., Lang, F. and Du, J. 2010. Serum- and glucocorticoid-regulated kinase 1 is upregulated following unilateral ureteral obstruction causing epithelial-mesenchymal transition. *Kidney international*, 78(7): 668-678.
4. Daille, D., Guigas, B., Chauvin, C., Batandier, C., Fontaine, E., Wiernsperger, N. and Leverve, X. 2005. Metformin prevents high-glucose-induced endothelial cell death through a mitochondrial permeability transition-dependent process. *Diabetes*, 54(7): 2179-2187.
5. Gadsby, R., 2009. Efficacy and safety of sitagliptin in the treatment of type 2 Diabetes. *Clinical Medicine Therapeutics* (1): 53-62.
6. Gawaz, M., Langer, H. and May, A.E. 2005. Platelets in inflammation and atherogenesis. *Journal of Clinical Investigation*, 115(5): 3378-3384.
7. Goshman L. 1999. Diabetes; New oral medications, new attitudes. *Journal of the American Society of Nephrology*, 16(2): 22-30.
8. Herman, G. A., Stevens, C., van Dyck, K., Bergman, A., Yi, B., De Smet, M., Snyder, K., Hilliard, D., Tanen, M., Tanaka, W., Wang, A.Q., Zeng, W., Musson, D., Winchell, G., Davies, M. J., Ramael, S., Gottesdiener, K. M., Wagner, J. A. 2005. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of sitagliptin, an inhibitor of dipeptidyl peptidase IV, in healthy subjects results from two randomized, double-blind, placebo-controlled studies with single oral doses. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 78(6): 675-88.

223(3):319-27.

21. Reid B., Song, B., Colin, D. and Zhao, M. 2000. Wound healing in rat cornea: the role of electric currents *Ophthalmology Journal*, 107: 1347-1351.

22. Shoham, A., Hadziahmetovic, M., Dunaief, J. L., Mydlarski, M. B. and Schipper, H. M. 2008. Oxidative stress in diseases of the human cornea. *Free Radical Biology and Medicine*, 45(8): 1047-1055.

23. Strubbe DT, Brooks DE, Schultz GS, Willis-Goulet H, Gelatt KN, Andrew SE, et al. 2000. Evaluation of tear film proteinases in horses

with ulcerative keratitis. *Veterinary Ophthalmology*. 3(2-3):111-9.

24. Wilson, S.E., Mohan, R.R., Ambrosio, Jr. R., Hong, J., Lee, J. 2001. The Corneal Wound Healing Response Cytokine-mediated Interaction of the Epithelium Stroma and Inflammatory Cells. *Progress in retinal and eye research*, 20(5):625-37.

25. Zhijie, L., Rolando, E., Rumbaut Alan, R.B., and Wayne Smith, C. 2003. Platelet response to corneal abrasion is necessary for acute inflammation and efficient re-epithelialization, *FASEB Journal*, 17: 397-407.

