ORIGINAL ARTICLE

Human Amniotic Membrane Extracellular Matrix-Derived Scaffold Modulates the Number of Mast Cells in the Granulation Tissue and Accelerates Skin Wound Healing in Diabetic Rats

Mehdi Mehdinezhad Roshan[1]
Farshad Moharrami Kasmaie[2]
Mohammad Kazemi Ashtiani[3]
Mohammad Amin AbdollahiFar[4]
Saeideh Erfanian[5]
Ibrahim Zarkesh[5]
Davood Nasiry[6]
Abbas Piryaei[7]

[1]MSc Student in Anatomical Sciences, School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[2] Ph.D. Candidate in Anatomical Sciences, School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[3]Assistant Professor, Department of Cell Engineering, Cell Science Research Center, Royan Institute for Stem Cell Biology and Technology, ACECR, Tehran, Iran
[4]Assistant Professor, Department of Biology and Anatomical Sciences, School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[5] Ph.D. Candidate in Tissue Engineering, Department of Cell Engineering, Cell Science Research Center, Royan Institute for Stem Cell Biology and Technology, ACECR, Tehran, Iran
[6] Assistant Professor, Department of Paramedicine, Amol School of Paramedical Sciences, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[7] Professor, Department of Biology and Anatomical Sciences, School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

(Received October 21, 2023; Accepted November 6, 2023)

Abstract

Background and purpose: One of the most complications of diabetes are chronic skin wounds. Recently Human Amniotic Membrane Scaffold (HAMS) used as a wound dressing. In this study, the impact of HAMS on the rate of wound closure and the number of mast cells in the granulation tissue of diabetic rats was evaluated.

Materials and methods: 45 diabetic rats were divided into 3 groups: healthy wound, diabetic wound, and diabetic wound transplanted with HAMS. 30 days after diabetes induction via injecting 55mg/kg of Streptozotocin, a circular wound with a diameter of 15mm was created. HAMS was transplanted to the wound and the percentage of wound closure and the density of type 1, 2 and 3 mast cells in the granulation tissue were evaluated on days 7, 14 and 21.

Results: HAMS transplantation significantly enhanced the wound closure compared to diabetic group ($P<0.05$). Comparing to healthy group, the number of all types of mast cells and their total number in diabetic group was significantly decreased on day 7 ($P<0.001$) and significantly increased on days 14 and 21 ($P<0.001$). However, these changes modulated in HAMS transplanted group, in which in all cases except for type 3 mast cell on day 7 there were significant differences compared to diabetic group ($P<0.01$). Moreover, in HAMS transplant group, the number of type 1 and 3 mast cells on day 14 reached the level of healthy group.

Conclusion: These results suggested that HAMS improves the diabetic wound healing via modulating inflammatory reactions by affecting the mast cells density in the granulation tissue.

Keywords: Diabetic wound, Human amniotic membrane scaffold, Inflammation, Mast cell

J Mazandaran Univ Med Sci 2023; 33 (Supple 1):11-24 (Persian).

Corresponding Author: Abbas Piryaei- School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran. (E-mail: piryae@sbmu.ac.ir)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-11]

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره سی و سوم شماره ویژه نامه 1 آبان سال 1402 (24-11)

داربست حاصل از ماتریکس برون‌سلولی پرده آمنیون انسانی، موجب تعدیل تعداد ماست‌سل‌های بافت گرانوله و تسریع التیام زخم پوستی موش صحرایی دیابتی می‌شود

مهدی مهدی نژاد روشن[1]
فرشاد محرمی کسمائی[2]
محمد کاظمی آشتیانی[3]
محمد امین عبدالهی فر[4]
سعیده عرفانیان[5]
ابراهیم زرکش[5]
داوود نصیری[6]
عباس پیریایی[7]

چکیده

سابقه و هدف: یکی از مهم‌ترین عوارض شایع بیماری دیابت، زخم‌های پوستی مزمن است. به‌تازگی داربست حاصل از پرده‌آمنیون انسانی (Human Amniotic Membrane Scaffold, HAMS) به‌عنوان یک پانسمان مورد استفاده قرارمی‌گیرد. در مطالعه حاضر اثر پیوند HAMS بر میزان بسته شدن زخم و تعداد انواع ماست‌سل‌های نوع 1، 2 و 3 در بافت گرانوله موش‌صحرایی دیابتی مورد ارزیابی قرارگرفت.

مواد و روش‌ها: 45 سر موش صحرایی دیابتی به سه گروه 15عددی تقسیم شدند: زخم سالم، زخم دیابتی و زخم دیابتی تیمارشده با HAMS. 30 روز پس‌از القای دیابت در موش‌ها با تزریق 55mg/kg استرپتوزوتوسین، زخم تمام ضخامت پوستی حلقوی به قطر 51 میلی‌متر ایجاد شد. سپس HAMS به ناحیه زخم پیوند شده و درصد بسته‌شدن زخم و تراکم انواع ماست‌سل‌ها در بافت گرانوله در روزهای 7، 14 و 21 ارزیابی شد.

یافته‌ها: پیوند HAMS باعث تسریع بسته‌شدن زخم در گروه تیمار نسبت به گروه دیابتی شد($P<0/05$). تعداد انواع ماست‌سل‌ها و هم‌چنین تعداد کلی آن‌ها در گروه دیابتی نسبت به گروه سالم در روز 7 کاهش معنادار($P<0/001$) و در روزهای 14 و 21 افزایش معنادار یافته بود($P<0/001$). درحالی‌که با پیوند HAMS این تغییرات تعدیل شد؛ به‌نحوی‌که در همه‌موارد بجز تعداد ماست‌سل‌های نوع 3 در روز 7، تفاوت‌های معناداری با گروه دیابتی مشاهده شد($P<0/01$). علاوه‌برآن در گروه پیوند HAMS تعداد ماست‌سل‌های نوع 1 و 3 در روز 14 به سطح گروه سالم رسیده بود.

استنتاج: این نتایج نشان می‌دهد، HAMS باعث تعدیل واکنش‌های التهابی از طریق اثر بر تعداد ماست‌سل‌های بافت گرانوله و به دنبال آن موجب بهبود روند ترمیم زخم می‌شود.

واژه های کلیدی: زخم دیابتی، داربست پرده آمنیون انسانی، ماست‌سل، التهاب

مولف مسئول: عباس پیریایی - تهران: دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، دانشکده پزشکی E-mail: piryae@sbmu.ac.ir
1. دانشجوی کارشناسی ارشد علوم تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
2. دانشجوی دکترای علوم تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
3. استادیار، گروه مهندسی سلول، مرکز تحقیقات علوم سلولی، پژوهشکده زیست شناسی و فناوری سلول های بنیادی جهاد دانشگاهی، پژوهشگاه رویان، تهران، ایران
4. استادیار، گروه بیولوژی و علوم تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
5. دانشجوی دکتری مهندسی بافت، گروه مهندسی سلول، مرکز تحقیقات علوم سلولی، پژوهشکده زیست شناسی و فناوری سلول های بنیادی جهاددانشگاهی، پژوهشگاه رویان، تهران، ایران
6. استادیار، گروه پیراپزشکی، دانشکده پیراپزشکی آمل، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
7. استاد، گروه بیولوژی و علوم تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
تاریخ دریافت 1402/7/29 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : 1402/8/6 تاریخ تصویب : 1402/8/15

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-11]

مقدمه

دیابت شیرین (Diabetes Mellitus, DM) یکی از بیماری‌های رایج و چالش‌برانگیز در جهان است و از عوارض رایج آن نقص در ترمیم زخم‌های پوستی به‌خصوص در اندام تحتانی است. طبق آمارهای منتشر شده توسط فدراسیون بین‌المللی دیابت حدود 10/5 درصد از جمعیت بزرگ‌سالان جهان (معادل تقریباً 537 میلیون نفر) از بیماری دیابت رنج می‌برند(1). طبق جدیدترین تحقیقات، تعداد افراد دیابتی در ایران حدود 16/3 درصد است(2) که حدود 6/2 درصد از این افراد از زخم پای دیابتی رنج می‌برند(3). عدم ترمیم چنین زخم‌هایی منجر به گسترش آن به تمام ضخامت پوست شده و حتی ممکن است بافت‌های زیر جلدی همچون چربی، عضله، تاندون و استخوان را نیز درگیر نماید(4). طی فرایند ترمیم زخم رخدادهایی شامل فعال‌سازی سلول‌های ماکروفاژ، نوتروفیل و فیبروبلاست‌ها و هم‌چنین ترشح فاکتورهای رشد متعدد و سایتوکاین‌هایی که روند بهبودی را هماهنگ و تقویت می‌کنند، به وقوع می‌پیوندد(5،6). در زخم‌های دیابتی، بروز التهاب طولانی مدت موجب کاهش تولید فاکتورهای رشد، کاهش تکثیر سلولی و نقصان جبران ماتریکس ازدست‌رفته شده، روند بهبود و ترمیم زخم با اختلال مواجه می‌شود(7).

یکی از انواع سلول‌هایی که در بافت درم پوست یافت می‌شود ماست‌سل‌ها هستند که در فرایند التهاب نقش مهمی دارند(8). این سلول‌ها انواعی از واسطه‌های التهابی را در گرانول‌های خویش ذخیره می‌نمایند و در هنگام فعال شدن، با رهاسازی آن‌ها موجب بروز واکنش‌های التهابی می‌شوند. ماست‌سل‌ها براساس میزان رهاسازی گرانول‌ها (درجه دگرانوله‌شدن) به سه نوع تقسیم می‌شوند: ماست‌سل نوع یک هیچ گرانولی آزاد نکرده و غشای سلولی منظمی دارد، ماست‌سل نوع دو مقداری گرانول آزاد کرده، بااین‌وجود هنوز یک غشای منظم وجود دارد و ماست‌سل نوع سه با میزان شدیدی از دگرانوله شدن و شکستگی ناقص یا کامل غشای سلولی مشخص می‌شود(9). عملکرد ماست‌سل‌ها در روند ترمیم طبیعی زخم‌ها باعث بروز التهاب حاد و به دنبال آن (ضمن فروکش کردن واکنش‌های التهابی) به راه‌اندازی فرایندهای ترمیمی، ازجمله تکثیر فیبروبلاست‌ها و ساخت کلاژن، بازآرایی رشته‌های کلاژن و بهبود بافت جوشگاهی، تشکیل عروق خونی جدید و ترمیم اپیدرم از طریق اپی‌تلیال‌زایی مجدد می‌پردازد. درحالی‌که در زخم‌های دیابتی، فعالیت طولانی‌مدت سلول‌های التهابی ازجمله ماست‌سل‌ها موجب تداوم و گسترش واکنش‌های التهابی و عدم فروکش نمودن آن در زمان مناسب می‌گردد که موجب اختلال در فعالیت فیبروبلاست‌ها و درنتیجه تولید و بازآرایی ناقص کلاژن شده هم‌چنین با عدم رگ‌زایی مناسب و اپی‌تلیال‌زایی مجدد مطلوب موجب ترمیم ناقص و تشکیل پوستی ضعیف و غیر عملکردی می‌شود، که همواره ملتهب و مستعد آسیب‌های مجدد است(10). همان‌طورکه اشاره شد، یکی از عوامل مختل‌کننده ترمیم زخم‌های مزمن و ازجمله دیابتی عدم جایگزینی مناسب و به‌موقع ماتریکس برون‌سلولی (Extracellular matrix: ECM) تحلیل‌رفته است. ازاین‌رو، استفاده از داربست مناسب باهدف جبران ECM تحلیل رفته یک عامل کلیدی درروند بهبود زخم‌های دیابتی است(11-13). در میان داربست‌های طبیعی، استفاده از پرده آمنیون جنین انسان بسیار امیدوارکننده بوده است(14). پرده آمنیون حاوی مقدار زیادی سایتوکاین‌ها و فاکتورهای رشد دخیل در ترمیم زخم مانند (Transforming growth factor beta, TGF-β) و (basic fibroblast growth factor, bFGF) است که حتی پس از سلول زدایی، مقدار قابل‌توجهی از آن‌ها در ماتریکس حاصل باقی می‌ماند(15). مجموع این سایتوکاین‌ها و فاکتورهای رشد دارای فعالیت‌های گسترده‌ای ازجمله اثرگذاری بر رفتار بسیاری از سلول‌ها مانند فیبروبلاست و کراتینوسیت، تحریک تکثیر و مهاجرت سلولی و تولید ماتریکس درمی جدید

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-11]

هستند(16،15). علاوه بر آن ماتریکس پرده آمنیون انسانی دارای دو مهارکننده الاستاز با جرم مولکولی کم، الافین و مهارکننده پروتئیناز لکوسیت ترشحی است که دارای خواص ضدالتهابی و ضدمیکروبی هستند و می‌توانند به‌طور قابل‌توجهی بیان سایتوکاین‌های پیش‌التهابی مانند فاکتور نکروزدهنده توموری آلفا (Tumor necrosis factor alpha, TNF-α)، اینترلوکین یک آلفا و یک بتا (Interleukin-1α and 1β, IL-1α, -1β) را سرکوب کنند(17). باوجودآن‌که به‌نظر می‌رسد استفاده از پرده آمنیون انسانی یا ماتریکس آن در مداخلات بالینی سودمند باشد، اما به‌منظور استفاده مطلوب از آن مسائلی وجود دارد که باید برطرف شوند. به‌عنوان‌مثال، به‌دنبال پیوند پرده آمنیون (به دلیل تراکم بالای ماتریکس آن) فرایند مهاجرت و نفوذ سلول‌ها و هم‌چنین رگ‌زایی به درون آن محدود است. ازاین‌رو ایجاد یک داربست سه‌بعدی مهندسی‌شده متخلخل از ماتریکس پرده آمنیون، برای مهاجرت و نفوذ سلول‌ها و هم‌چنین گسترش رگ‌زایی به درون آن مناسب‌تر خواهد بود و به‌طور مؤثرتری عملکرد سلول‌ها و مشارکت آن‌ها را در بازسازی بافت بهبود می‌بخشد(19،18). داربست حاصل از ماتریکس پرده آمنیون انسان (Human Amniotic Membrane Scaffold, HAMS) یک داربست زیستی طبیعی با ساختاری متخلخل است که دارای خواص ضد میکروبی، ضدالتهابی، ضد درد و ضد اسکار بوده و می‌تواند ماتریکس ازدست‌رفته ناشی از زخم را جبران نموده و بدون هیچ‌گونه عوارض جانبی شناخته‌شده‌ای در فرایند ترمیم مشارکت نماید(21،20). مطالعات پیشین نشان داد که استفاده از HAMS باعث کاهش سلول‌های التهابی موضعی زخم ازجمله نوتروفیل‌ها و ماکروفاژها می‌شود(22،14). بنابراین در مطالعه حاضر، به‌منظور درک بهتر تأثیر پیوند HAMS بر فرایند ترمیم زخم دیابتی، اثر این نوع تیمار را بر تعداد و انواع ماست‌سل‌های موجود در بافت گرانوله درحال ترمیم زخم موش‌صحرایی دیابتی مورد مطالعه قرار دادیم.

مواد و روش‌ها

سلول زدایی پرده آمنیون و ارزیابی‌های آن

پرده آمنیون از بخش سزارین بیمارستان طالقانی با رضایت کامل والدین نوزادان سالم دریافت شد. پس از شستشو و جداسازی سایر بافت‌ها، پرده آمنیون به قطعات یک سانتی‌متری بریده شد. جهت فرایند سلول زدایی از روش Ryzhuk و همکاران با اندکی تغییر استفاده شد(18). برای این منظور، قطعات پرده آمنیون به ترتیب به‌مدت دو ساعت در محلول 0/02 درصد EDTA و 0/05 درصد تریپسین، به مدت 18 ساعت در محلول 0/5 درصد SDS، به مدت 18 ساعت در محلول سه درصد Triton X-100 و به‌مدت 48 ساعت در آب مقطر دو بار تقطیر در دستگاه همزن مغناطیسی قرار داده شد. جهت بررسی حضور سلول‌ها در پرده آمنیون سلول زدایی شده (Decellularized Human Amniotic Membrane, dHAM) تعدادی از قطعات در محلول فرمالین تثبیت شده و پس از پردازش بافتی و تهیه برش‌هایی باضخامت پنج میکرومتر، توسط روش هماتوکسیلین و ائوزین (H&E) و هم‌چنین استفاده از رنگ DAPI برای تشخیص سلول‌ها و هسته‌ها رنگ‌آمیزی شدند. هم‌چنین برای بررسی حفظ کلاژن و پروتئوگلیکان‌ها به دنبال سلول زدایی، تعدادی از برش‌های بافتی به ترتیب با روش تری‌کروم‌ماسون و آلسیان‌بلو رنگ‌آمیزی شدند. جهت بررسی محتوای DNAی باقیمانده در dHAM با استفاده از روش فنل-کلروفرم DNAی تام استخراج شده و میزان جذب نوری آن در دستگاه اسپکتروفتومتر با طول‌موج 260 نانومتر خوانده و با پرده آمنیون طبیعی (HAM) مقایسه شد(18).

ساخت داربست سه‌بعدی متخلخل از ماتریکس پرده آمنیون

به‌منظور ایجاد محلول امولسیون از ماتریکس پرده آمنیون جهت ساخت داربست، قطعات dHAM با دستگاه لایوفیلایزر خشک‌شده و به‌طور کامل آسیاب شدند تا پودری یکنواخت حاصل شود. پودر به‌دست‌آمده در

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-11]

اسیداستیک 0/1 مولار و آنزیم پپسین یک درصد برای مدت 48 ساعت در دمای چهار درجه سانتی‌گراد و pH حدود سه تا چهار روی همزن مغناطیسی حل شد. سپس با اضافه کردن محلول سود یک نرمال و بافر فسفات pH محلول به 7/4 افزایش یافت تا محلول پیش‌ژل تشکیل شود. سپس 500 میکرولیتر از این محلول به درون هر چاهک پلیت 24 چاهکی ریخته و با استفاده از دستگاه لایوفیلایزر خشک شد تا داربست‌های سه بعدی متخلخل با قطر 15 میلی مترو ضخامت دو میلی‌متر که از پایداری لازم برخوردار نبودند ایجاد شود. به‌منظور ایجاد پایداری مناسب و تشکیل پیوندهای عرضی کوالانسی قوی برای دست‌یابی به یک داربست پایدار از (1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide) EDC استفاده شد. نمونه‌ها به مدت یک شبانه‌روز روی همزن و در دمای 25 درجه سانتی‌گراد در محلول الکل 70 درصد حاوی 30 میلی‌مولار EDC، 30 میلی‌مولار (*N*-Hydroxysuccinimide) NHS و 50 میلی‌مولار (2-(*N*-morpholino) ethane sulfonic acid) MES قرار داده شده، سپس خشک شدند تا داربست متخلخل پایدار حاصل شود(14).

حیوانات مورداستفاده و گروه‌های مطالعه

در مطالعه تجربی حاضر با کد اخلاق (IR.SBMU.AEC.1401.011)، 45 سر موش صحرایی نر بالغ، نژاد Sprague-Dawley با وزن حدود 200 تا 250 گرم و سن هشت هفته استفاده شد. موش‌ها از مرکز پرورش حیوانات آزمایشگاهی پژوهشگاه رویان تهیه شده و در شرایط استاندارد حیوان خانه نگهداری شدند. موش‌ها به سه گروه 15 سری تقسیم شدند: زخم غیردیابتی (گروه Healthy)، زخم دیابتی (گروه Diabetic) و زخم دیابتی تیمار شده با داربست (گروه D-HAMS). موش‌های گروه‌های دیابتی با تزریق درون صفاقی داروی استرپتوزوتوسین (Streptozotocin, STZ) با دوز 55 میلی‌گرم بر کیلوگرم دیابتی شده و به‌منظور تثبیت دیابت به مدت 30 روز نگه‌داری شدند(23). موش‌های گروه زخم سالم نیز بدون هیچ‌گونه مداخله‌ای به‌عنوان گروه کنترل به‌صورت مشابه 30 روز نگه‌داری شدند.

روش ایجاد زخم، تیمار و نمونه‌برداری

برای ایجاد زخم، موش‌ها به‌وسیله تزریق داخل‌صفاقی کتامین (50 میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (5 میلی‌گرم بر کیلوگرم)، بی‌هوش شدند. سپس موی قسمت پشت قفسه سینه آن‌ها تراشیده شد و یک زخم مدور به‌طول 15 میلی‌متر باضخامت کامل پوست ایجاد شد. جهت حذف اثر انقباض عضله پوستی و جمع شدگی زخم (که مهم‌ترین عامل ترمیم زخم در جوندگان است) و بارز نمودن فرآیند بازسازی زخم از طریق اپی‌تلیال‌زایی مجدد و تشکیل بافت گرانوله (همچون روند ترمیم زخم پوستی در انسان) یک مهارکننده سیلیکونی مدور که قطر فضای داخلی آن 18 میلی‌متر بود به پیرامون زخم بخیه زده شد. هم‌چنین برای ایجاد شرایط ایسکمیک، دو عدد برش طولی در طرفین زخم حلقوی بافاصله 8 میلی‌متر از لبه زخم و مجموعاً فاصله 3/1 سانتی‌متر از یکدیگر با طول 10 سانتی‌متر از ناحیه کتف تا ستیغ ایلیاک ایجاد شد تا از خون‌رسانی جانبی به موضع زخم جلوگیری شود(14). پس از ایجاد مدل زخم، در گروه تیمار با داربست، به ناحیه زخم هر موش یک عدد HAMS پیوند زده شد. همه موش‌ها در شرایط یکسان نگهداری شدند و در روزهای هفت، 14 و 21 پس از ایجاد زخم و تیمار، از محل زخم تصویربرداری شده و از هر گروه پنج سر حیوان آسان‌کشی شده و نمونه‌ها برای بررسی‌های بافت‌شناسی جمع‌آوری شدند.

قند خون و وزن

بدین منظور پس از القای دیابت با STZ مقدار قند و وزن موش‌ها توسط دستگاه گلوکومتر و ترازو در روزهای (۰،۳،۷،۱۴،۲۱،۳۰) موردبررسی قرار گرفت.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-11]

روش بررسی روند بهبود ظاهری زخم

به‌منظور بررسی ترمیم ظاهری و اندازه‌گیری درصد میـزان بسته‌شـدن زخـم (Wound closure rate) در روزهـای 7، 14 و 21 پـس از ایجـاد زخـم، ناحیـه زخـم توسط دوربین دیجیتال از فاصله مشخص تصـویربرداری شده و سـپس مسـاحت زخـم توسـط نرم‌افـزار Image J تعیین و با فرمول زیر محاسبه شد(24).

$$\text{درصد بسته شدن زخم} = \frac{\text{مساحت زخم در روز مورد بررسی} - \text{مساحت زخم در روز صفر}}{\text{مساحت زخم در روز صفر}} \times 100$$

روش بررسی تراکم انواع ماست‌سل‌ها

بـــه‌منظور بررســـی بافت‌شناســـی تـــراکم انـــواع ماست‌سل‌ها در بافت گرانوله در حال ترمیم در بازه‌هـای زمانی موردنظر، نمونه‌های بافتی بـه مـدت 24 سـاعت در محلـول بـوئن و سـپس بـه مـدت هفـت روز در محلـول فرمـالین 10 درصـد نگـه‌داری شـدند. در ادامـه پـس از پردازش بـافتی، نمونـه‌ها در پـارافین قالـب‌گیری شـده و توسط دستگاه میکروتوم برش‌های سـریالی بـا ضـخامت پنج میکرومتر تهیه شد. تعداد هشت برش بافتی با فواصل 250 میکرومتر از هر موش جهت ارزیابی انتخاب شدند. سپس با استفاده از میکروسکوپ نوری در چهـار گوشـه درم ترمیم شده و یک فیلد در مرکز (مسـاحت هـر فیلـد 0/01 میلی‌متر مربع) از ناحیه بافت گرانوله درحال ترمیم هر برش بافتی عکسـبرداری شـده و شـمارش هریـک از انواع ماست‌سل‌ها انجام شد(25).

بررسی آماری

تمامی داده‌های کمّی توسط نرم‌افزار Prism نسخه 9 آنـالیز شـد. ابتـدا توزیـع نرمـال داده‌هـا بـا تسـت Kolmogorov-Smirnov One sample موردبررســی قرار گرفت. با توجه به توزیع نرمال داده‌ها، برای مقایسه دو گـروه از Independent sample t test/ و بـرای مقایسه بیش‌از دو گروه از روش One way ANOVA و تسـت تعقیبـی Dunn's اسـتفاده شـد. داده‌هـا بـرای ماست‌سـل‌ها به‌صـورت میـانگین ± خطـای اسـتاندارد میـانگین ارائـه شـد و بـرای سـایر پارامترهـا به‌صـورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شد؛ و$P<0/05$ به‌عنوان سطح معنی‌داری تفاوت‌ها در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

ارزیـابی فراینـد سـلول زدایـی پـرده آمنیـون و سـاخت داربست حاصل

بررسی برش‌های بافتی با رنگ آمیزی H&E نشـان داد که پس از فراینـد سـلول زدایـی، هسـته یـا سـلولی در پـرده آمنیون وجـود نـدارد (تصـویر شـماره 1- الـف). هم‌چنـین نتایج حاصل از رنگ‌آمیزی DAPI حاکی از نبودِ هسته در ماتریکس حاصل از سلول زدایی پرده آمنیون بود (تصـویر شـــماره 1- ب). علاوه‌بـــر آن، رنگ‌آمیزی‌هـــای تری‌کروم‌ماسـون و آلسـیان‌بلو بـه ترتیـب نشـان‌دهنده مانـدگاری کلاژن‌هـا و پروتئوگلیکان‌هـا در مـاتریکس سلول زدایی شده بود (تصویر شماره 1- ج و د).

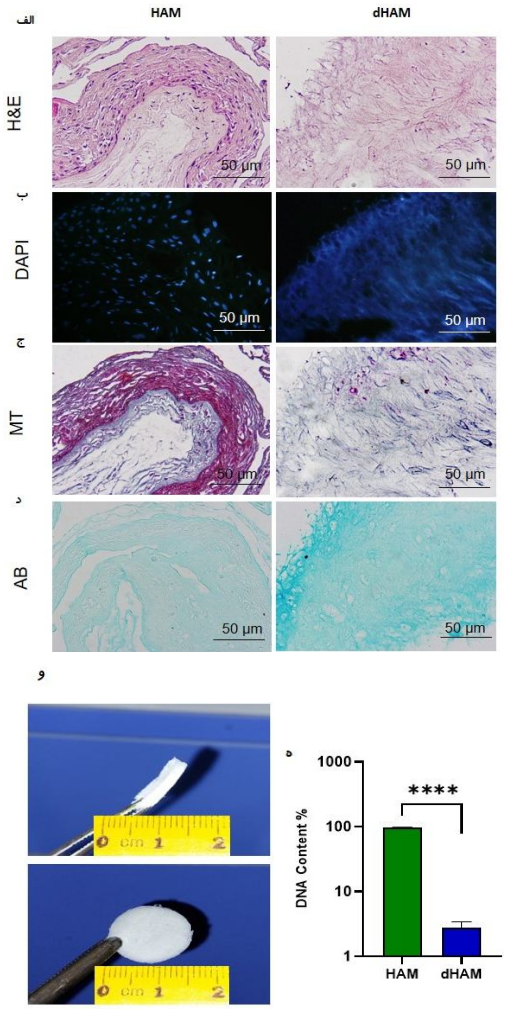
بررسی مولکولی ماتریکس سلول زدایـی شـده نیـز نشان داد که مقدار DNA موجود در آن به کم‌تـر از 2/8 درصد پرده آمنیون طبیعـی رسـیده کـه علاوه‌بـر وجـود تفـاوت معنـادار بـا پـرده آمنیـون طبیعـی($P<0/0001$)، براسـاس منـابع معتبـر(26) در بـازه موردقبـول می‌باشـد (تصویر شماره 1-ه). داربست متخلخل سه‌بعدی حاصـله نیز دارای قطر 15 میلی‌متـر و ضـخامت 1 میلی‌متـر بـود (تصویر شماره 1- و).

ارزیابی قند خون و وزن موش‌ها طی مطالعه

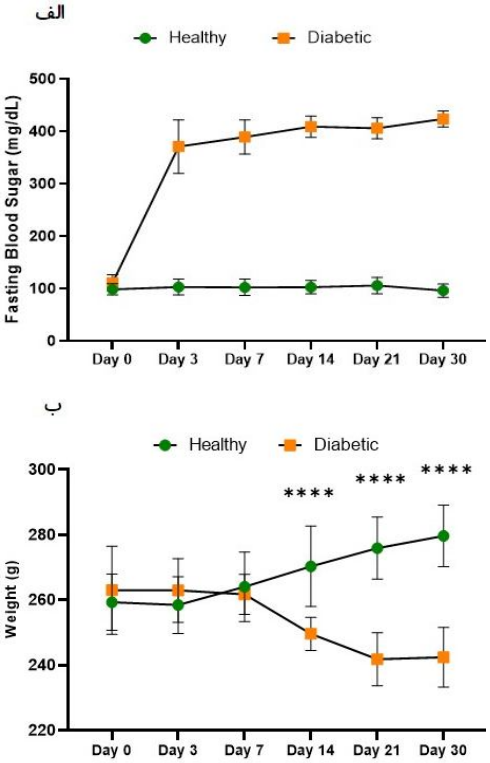
جهت تأیید دیابتی بودن موش‌ها، قند خون آن‌ها در روزهای 3، 7، 14، 21 و 30 چک شـد. نتـایج حـاکی از آن بود که از روز سوم به بعد میزان قند خون موش‌هـای گروه‌های دیابتی و تیمار افزایش چشمگیری یافتـه و بـه بازه 350 تا 400 میلی‌گرم بر دسی‌لیتر رسیده؛ این مقـدار تا روز 30 حفظ شده اسـت. درحالی‌کـه در گـروه سـالم مقدار قند خون طی همین بازه زمانی ثابت و بدون تغییـر

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-11]

بود (نمودار شماره 1-الف). وزن تمامی موش‌ها نیز پیش و پس از تجویز STZ مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان‌داد میانگین وزن در گروه دیابتی و تیمار سیر کاهشی داشته، درحالی‌که در گروه سالم این روند افزایشی بود. به‌نحوی‌که وزن موش‌های سالم و دیابتی از روز 14 به بعد با یکدیگر اختلاف معنی‌دار (P<0/0001) داشتند (نمودار شماره 1-ب).



تصویر شماره 1: سلول زدایی پرده آمنیون، ارزیابی‌های مربوطه و ساخت داربست متخلخل حاصل از ماتریکس برون سلولی آن. (الف و ب) میکروگراف‌های حاصل از برش‌های بافتی پرده آمنیون طبیعی (HAM) و سلول‌زدایی شده (dHAM) با رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین (H&E) و DAPI برای بررسی حضور سلول‌ها. همان‌طور که مشاهده می‌شود، پس از سلول‌زدایی هیچ سلول کامل یا هسته‌ای در ماتریکس حاصله وجود ندارد. (ج و د) میکروگراف‌های حاصل از برش‌های بافتی رنگ‌آمیزی شده با روش تریکروم‌ماسون (Trichrome Mason) و آلسیان‌بلو (Alcian Blue) حاکی از آن است که به ترتیب حضور کلاژن و پروتئوگلیکان‌ها در بافت سلول‌زدایی شده نسبت به پرده آمنیون تفاوت آشکاری ندارد. (ه) مقدار DNA موجود در ماتریکس حاصل از سلول‌زدایی پرده آمنیون (dHAM) و مقایسه آن با پرده آمنیون طبیعی (HAM) نشان می‌دهد که این مقدار به‌طور قابل‌توجهی نسبت به نمونه‌های طبیعی کاهش‌یافته است (p<0/0001 ****). (و) تصویر ماکروسکوپی داربست حاصل از ماتریکس برون‌سلولی پرده آمنیون انسانی (HAMS) که برای پیوند به محل زخم موش‌های دیابتی استفاده شد

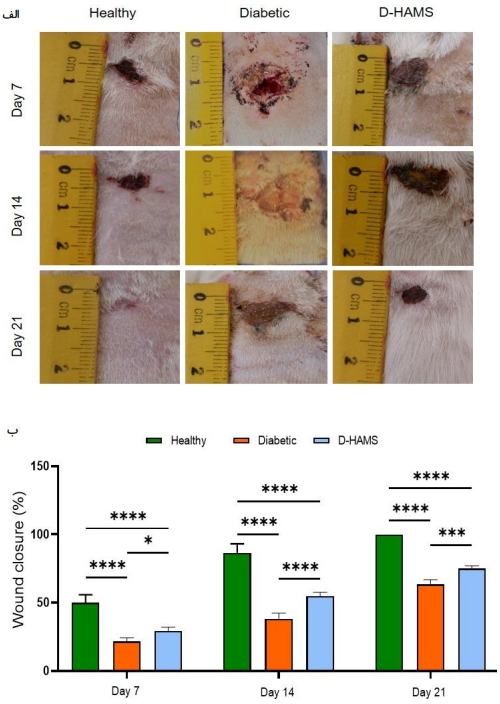


نمودار شماره 1: ارزیابی قند و وزن موش‌ها طی مطالعه. (الف) همان‌طور که مشاهده می‌شود میزان قند خون در گروه دیابتی (Diabetic) سه روز پس از تزریق استرپتوزوتوسین به‌طور معنی داری افزایش داشته و به سطح قند خون دیابتی رسید و این افزایش به‌صورت ثابت ادامه یافته است. (ب) هم‌چنین وزن موش‌ها در گروه دیابتی از روز 14 به بعد نسبت به گروه سالم (Healthy) کاهش معنادار داشته است. داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف از معیار گزارش‌شده است. (P<0/0001 ****).

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-11]

ارزیابی فرایند بسته شدن زخم‌ها

بررسی تغییرات ماکروسکوپی زخم‌ها در هر سه بازه زمانی 7، 14 و 21 روز نشان داد که فرایند بسته شدن زخم‌های هر دو گروه دیابتی (تیمار نشده و تیمار شده) نسبت به گروه زخم غیر دیابتی به‌طور معنی داری (P<0/0001)، کاهش‌یافته است. بااین‌وجود درصد مساحت بسته شدن زخم در گروه دیابتی تیمار شده با HAMS به ترتیب در روزهای 7، 14 و 21 نسبت به گروه دیابتی تیمار نشده افزایش معناداری (به ترتیب: P<0/05، P<0/0001 و P<0/001) را نشان می‌داد (تصویر شماره 2-الف و ب).



تصویر شماره شماره 2: فرایند ترمیم ظاهری و بسته شدن زخم در گروه‌های مختلف طی مراحل مطالعه. (الف) تصاویر ماکروسکوپی روند بسته شدن زخم موش‌ها در روزهای 7، 14 و 21. (ب) ارزیابی کمّی فرایند ترمیم زخم‌ها با محاسبه درصد بسته شدن آن‌ها نسبت به سطح زخم اولیه در روزهای موردمطالعه. داده‌ها به‌صورت میانگین±انحراف معیار گزارش‌شده است.
(* P<0/05)، (*** P<0/001) و (**** P<0/0001).
Healthy: زخم غیردیابتی،
Diabetic: زخم دیابتی تیمارنشده و
D-HAMS: زخم دیابتی تیمار شده با داربست.

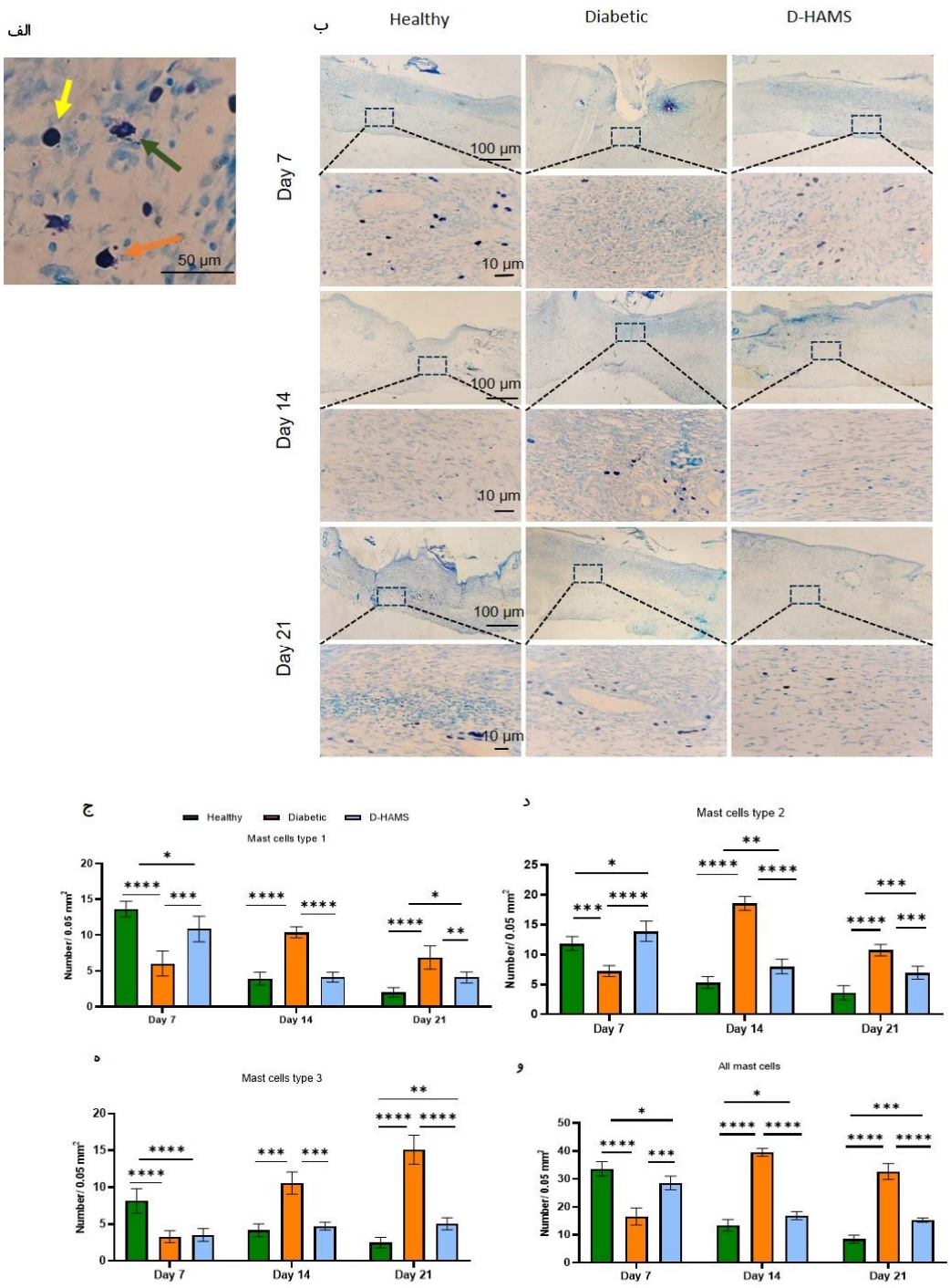
ارزیابی تراکم ماست‌سل‌ها در بافت گرانوله درحال ترمیم

در این مطالعه به‌منظور ارزیابی اثر پیوند HAMS بر پدیده التهاب ناحیه زخم، تراکم انواع ماست‌سل‌ها و هم‌چنین جمع کل آن‌ها در بافت گرانوله درحال ترمیم (به‌عنوان یکی از شاخص‌های فرایند التهاب) مورد ارزیابی قرار گرفت. بدین منظور برش‌های بافتی نمونه‌های پوستی روزهای 7، 14 و 21 توسط تولوئیدین بلو رنگ‌آمیزی شده و انواع ماست‌سل‌ها به تفکیک مشخص و شمارش شدند (تصویر شماره 3-الف و ب). بررسی ماست‌سل‌های نوع یک نشان داد که تراکم این سلول‌ها در روز هفتم در هردو گروه دیابتی تیمارنشده و تیمارشده نسبت به گروه غیردیابتی کاهش معنی‌داری (به ترتیب، (P<0/0001)، و (P<0/05))، یافته است. با این حال تراکم این سلول‌ها در گروه دیابتی تیمارشده نسبت به دیابتی تیمارنشده افزایش معنی‌داری (P<0/001)، را نشان داد.

در روز 14 تعداد ماست‌سل‌های نوع یک در گروه دیابتی تیمارنشده به‌طور معنی‌داری (P<0/0001)، بالاتر از هر دو گروه زخم غیردیابتی و دیابتی تیمارشده بود. هم‌چنین تراکم ماست‌سل‌های نوع یک در روز 21 در گروه دیابتی تیمارنشده افزایش معنی‌داری را نسبت به گروه‌های زخم غیردیابتی و دیابتی تیمارشده (به ترتیب، (P<0/0001)، و (P<0/01))، نشان داد. در این روز افزایش تعداد ماست‌سل‌های نوع یک در گروه دیابتی تیمارشده نیز به‌طور معنی‌داری (P<0/05)، بالاتر از گروه زخم غیردیابتی بود (تصویر شماره 3-ج).

مقایسه ماست‌سل‌های نوع دو در گروه‌ها حاکی از آن بود که در روز 14 نسبت به گروه زخم غیردیابتی، تراکم این سلول‌ها در گروه دیابتی تیمار نشده کاهش معنی‌دار (P<0/001)، و در گروه دیابتی تیمارشده افزایش معنی‌دار (P<0/05)، یافته است. ضمن آنکه تراکم این سلول‌ها در گروه دیابتی تیمارشده نسبت به دیابتی تیمارنشده افزایش معنی‌داری (P<0/0001)، را نشان داد. تعداد ماست‌سل‌های نوع دو در روز 14 در

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-11]



تصویر شماره 3: ارزیابی تعداد ماست‌سل‌های موجود در بافت گرانوله درحال ترمیم زخم‌های گروه‌های مطالعه. (الف) تشخیص سه نوع مختلف ماست‌سل در برش‌های بافتی رنگ‌آمیزی شده با روش تولوئیدین بلو، براساس شاخص‌های ذکرشده در منابع. ماست سل نوع 1: پیکان زرد، ماست سل نوع 2: پیکان نارنجی و ماست سل نوع 3: پیکان سبز. (ب) میکروگراف‌های برش‌های بافتی رنگ‌آمیزی‌شده با روش تولوئیدین بلو از ناحیه بافت گرانوله و حاشیه پوست سالم با دو بزرگنمایی پایین و بالا (ناحیه داخل کادر). (ج تا و) یافته‌های کمّی حاصل از شمارش انواع ماست‌سل‌ها و تعیین تراکم آن‌ها در بافت گرانوله درحال ترمیم زخم‌های گروه‌های مختلف در روزهای 7، 14 و 21. داده‌ها به‌صورت میانگین ± خطای استاندارد میانگین گزارش‌شده‌است. (P<0/05 *)، (P<0/01 *)، (P<0/001 ***) و (P<0/0001 ****).

Healthy: زخم غیردیابتی، Diabetic: زخم دیابتی تیمارنشده و D-HAMS: زخم دیابتی تیمار شده با داربست

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-11]

گروه دیابتی تیمار نشده به‌طور معنی‌داری (P<0/0001)، بالاتر از هر دو گروه زخم غیردیابتی و دیابتی تیمارشده بود. هم‌چنین تراکم این ماست‌سل‌ها در گروه دیابتی تیمارشده نسبت به گروه غیردیابتی افزایش معنی‌داری (P<0/01)، را نشان داد. در روز 21 نیز تعداد این سلول‌ها در هردو گروه دیابتی تیمارنشده و تیمارشده نسبت به گروه غیردیابتی افزایش معنی‌داری (به ترتیب: P<0/0001 و P<0/001)، یافته بود. بااین‌وجود تعداد ماست‌سل‌های گروه دیابتی تیمارشده کاهش معنی‌داری (P<0/001)، را نسبت به گروه دیابتی تیمارنشده نشان داد (تصویر شماره 3-د). ارزیابی ماست‌سل‌های نوع سه حاکی از آن بود که تراکم این سلول‌ها در روز هفتم در هردو گروه دیابتی تیمارنشده و تیمارشده نسبت به گروه غیردیابتی کاهش معنی‌داری (P<0/0001)، یافته است. در روز 14 تعداد این سلول‌ها در گروه دیابتی تیمارنشده به طور معنی داری (P<0/001)، بالاتر از هر دو گروه زخم غیردیابتی و دیابتی تیمارشده بود. هم‌چنین تراکم ماست‌سل‌های نوع سه در روز 21 در گروه دیابتی تیمارنشده افزایش معنی‌داری (P<0/0001)، را نسبت به گروه‌های زخم غیردیابتی و دیابتی تیمارشده نشان داد. ضمن آن‌که در این روز افزایش تعداد این سلول‌ها در گروه دیابتی تیمارشده نیز به‌طور معنی‌داری (P<0/01)، بالاتر از گروه زخم غیردیابتی بود (تصویر شماره 3-ه).

سرانجام ارزیابی تجمیع ماست‌سل‌ها در روز هفتم نشان داد که تراکم این سلول‌ها در هردو گروه دیابتی تیمارنشده و تیمارشده نسبت به گروه غیردیابتی کاهش معناداری (به ترتیب: P<0/0001 و P<0/05)، یافته است. با این حال تراکم این سلول‌ها در گروه دیابتی تیمارشده نسبت به دیابتی تیمارنشده افزایش معناداری (P<0/001)، را نشان داد. در روز 14 و 21 تعداد کل ماست‌سل‌ها در گروه دیابتی تیمارنشده به‌طور معناداری (P<0/0001)، بالاتر از هر دو گروه زخم غیردیابتی و دیابتی تیمارشده بود. درحالی‌که افزایش تراکم این سلول‌ها در گروه دیابتی تیمارشده نسبت به گروه غیردیابتی در روزهای 14 و 21 به ترتیب در سطح (P<0/05) و (P<0/001)، افزایش یافته بود. ضمن آن‌که تراکم کلی ماست‌سل‌ها در روزهای 14 و 21 در گروه دیابتی تیمارشده نسبت به گروه دیابتی تیمارنشده کاهش معنی داری (P<0/0001)، یافته بود (تصویر شماره 3-و).

بحث

نتایج مطالعه حاضر حاکی از آن بود که پیوند HAMS به محل زخم دیابتی موجب بهبود شاخص درصد بسته شدن زخم نسبت به گروه دیابتی تیمارنشده می‌شود. هم‌چنین ارزیابی انواع ماست‌سل‌های موجود در بافت گرانوله درحال ترمیم زخم (به‌عنوان سلول‌های دخیل در فرایند ایجاد و تداوم التهاب) نشان داد که در مقایسه با گروه کنترل، تراکم این سلول‌ها در زخم دیابتی تیمارنشده در روز هفتم کم‌تر و در روزهای 14 و 21 بیش‌تر می‌باشد. درحالی که این تغییرات تقریبا در همه موارد در گروه دیابتی تیمارشده تعدیل شده بود و تفاوت‌های معناداری را با گروه دیابتی تیمارنشده نشان می‌داد. حتی میزان این تعدیل به‌گونه‌ای بود که در گروه دیابتی تیمارشده تراکم ماست‌سل‌های نوع یک و سه در روز 14 به سطح گروه غیردیابتی بازگشته بود. این روند تغییرات تعداد ماست‌سل‌ها در زخم‌های دیابتی نسبت به زخم غیردیابتی بدان معنی است که در بیماران دیابتی التهاب حاد اولیه با تاخیر شروع شده و سپس به‌صورت مزمن درآمده و در زمان مناسب فرکش نمی‌کند؛ ازاین‌رو فرایند التیام زخم دچار اختلال می‌شود(27). در همین راستا نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تعدیل تراکم ماست‌سل‌ها با استفاده از پیوند HAMS می‌تواند فرایند التیام زخم دیابتی را به‌طور مؤثری بهبود بخشد. ترمیم زخم‌های پوستی تحت تأثیر عواملی مانند حضور فاکتورهای رشد ضروری، التهاب کنترل‌شده، به‌هنگام و گذرا، خون‌رسانی مناسب و جبران ماتریکس ازدست رفته است تا یک ریزمحیط سه‌بعدی مطلوب را به‌منظور چسبندگی، نفوذ و مهاجرت سلول‌ها و هم‌چنین

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-11]

رگ‌زایی جدید فراهم نمایند(6). ازاین‌رو، در سال‌های اخیر، تلاش‌های زیادی در میان پزشکان، مهندسان بافت و زیست‌شناسان برای طراحی و ساخت سازه‌های قابل پیوند بافتی مؤثر صورت گرفته تا بتوان روند بهبود را به‌ویژه در زخم‌های مزمن دیابتی تسریع نمود(11). با همین رویکرد، در مطالعه حاضر یک داربست سه‌بعدی متخلخل حاصل از پرده آمنیون انسانی سلول‌زدایی شده به‌عنوان یک ماتریکس طبیعی باهدف ترمیم زخم دیابتی ایسکمیک تمام ضخامت پوستی طراحی شده و مورد استفاده قرار گرفت. علاوه‌برآن، برای درک بهتر اثر این نوع مداخله بر روند بهبود زخم، نتایج در سه مرحله اصلی ترمیم زخم، یعنی روزهای هفتم (فاز التهابی)، 14 (فاز تکثیری) و 21 (فاز بازآرایی) مورد ارزیابی قرارگرفت(11،28).

مطالعات پیشین نشان داده‌اند که پرده آمنیون انسانی علاوه‌بر دارا بودن ماتریکسی مشابه درم پوست، حاوی سایتوکاین‌های گوناگونی است(20). از بین این سایتوکاین‌ها، TGF-β و bFGF، دارای گسترده‌ترین فعالیت‌ها در فرایند ترمیم زخم هستند، چون بر رفتار بسیاری از انواع سلول‌ها مانند فیبروبلاست و کراتینوسیت تأثیر می‌گذارند(29،20). هم‌چنین این سایتوکاین‌ها می‌توانند مهاجرت و تکثیر سلول‌ها را تحریک کرده(30) و فرایند تولید ماتریکس موقت و تشکیل بافت گرانوله را به‌عنوان بستری برای تشکیل عروق جدید، تعدیل رسوب کلاژن و بازآرایی آن (به‌منظور تشکیل ماتریکس دائمی) به‌راه اندازند(31). از جنبه دیگر، یکی از مهم‌ترین چالش‌های ترمیم زخم دیابتی، التهاب طولانی‌مدت است(32). در مراحل بهبود زخم، پس از ایجاد لخته هموستاتیک، فاکتورهای کموتاکتیک مترشحه از پلاکت‌ها نفوذ سلول‌های التهابی ازجمله نوتروفیل‌ها و ماست‌سل‌ها را به موضع زخم تحریک می‌کنند. این سلول‌های التهابی نیز با ترشح سایتوکاین‌های پیش التهابی باعث القای التهاب می‌شوند(33). در شرایط طبیعی، فاز التهابی گذرا به‌سرعت تعدیل‌شده و فاز تکثیر آغاز می‌شود، اما در شرایط دیابتی ترشح طولانی‌مدت سایتوکاین‌های پیش التهابی باعث ایجاد زخم مزمن غیر التیام‌یافته می‌شود(34). در این رابطه، Chen و همکاران با بررسی مکانیسم مولکولی تأخیر روند بهبود زخم دیابتی ایسکمیک موش صحرایی دریافتند که بیان ژن‌های سایتوکاین‌های پیش التهابی Tnf-α و IL-1β در چنین زخم‌هایی به‌طور قابل‌توجهی بالاتر از زخم‌های غیرمزمن است(35). همان‌طور که پیش‌تر اشاره شد، ماست‌سل‌ها در فرایند التهاب نقش مهمی دارند(8). این سلول‌ها در شرایط نرمال با تحریک سلول‌های فیبروبلاست به تولید ECM در طول فاز تکثیری و هم‌چنین افزایش تولید فاکتورهای مؤثر در فرایند رگ‌زایی باعث بهبود زخم می‌شوند(36)؛ اما در شرایط دیابتی، ترشح طولانی‌مدت واسطه‌های التهابی توسط ماست‌سل‌ها باعث ایجاد التهاب مزمن و تأخیر بهبود زخم می‌گردد(34). بدین ترتیب، استفاده از رویکردهایی باهدف تعدیل تراکم ماست‌سل‌ها در موضع زخم موجب تبدیل ماکروفاژهای نوع یک (التهابی) به ماکروفاژهای نوع دو (ضدالتهابی) شده و متعاقباً میزان التهاب را کاهش می‌دهد و ازاین طریق فرایند ترمیم زخم را سرعت می‌بخشد(27). در این راستا، مطالعات گوناگونی وجود دارد که اثر ضدالتهابی HAM و مشتقات آن را در روندترمیم زخم گزارش کرده است(37،29). در مطالعه حاضر، بررسی‌های مورفومتریک ماست‌سل‌ها در بافت گرانوله زخم دیابتی ایسکمیک درحال ترمیم نشان داد که تراکم این سلول‌ها در گروه دیابتی تیمارنشده در روز هفتم نسبت به گروه غیردیابتی کاهش معنادار و در روزهای 14 و 21 افزایش معنادار یافته است. این یافته‌ها تأییدی بر بروز تأخیری التهاب و فروکش نکردن آن در زمان مقتضی و مزمن شدن آن در زخم دیابتی است. ازطرفی، پیوند HAMS به محل زخم دیابتی موجب شد تا تغییرات تراکم ماست‌سل‌ها به‌طور چشمگیری تعدیل شود. این تعدیل به‌گونه‌ای بود که

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-11]

تراکم ماست‌سل‌های نوع یک و سه در روز 14 به سطح گروه غیردیابتی رسیده بود. Higa و همکاران گزارش نمودند که ماتریکس پرده آمنیون به‌طور قابل‌توجهی بیان سایتوکاین‌های پیش التهابی را سرکوب می‌کند(38). هم‌چنین King و همکاران دریافتند که این ماتریکس دارای خواص ضدالتهابی و ضدمیکروبی است(17). بطور کلی در مطالعه حاضر، تأثیر مثبت پیوند داربست حاصل از ماتریکس پرده آمنیون انسان بر تعدیل واکنش‌های التهابی از طریق اثر بر تعداد ماست‌سل‌های موجود دربافت گرانوله و به دنبال آن بهبود شاخص درصد بسته شدن زخم دیابتی ایسکمیک تمام ضخامت پوستی موش‌صحرایی نشان داده شد. بی‌شک نیاز به مطالعات دقیق‌تر و جامع‌تری است تا بتوان ارتباط دقیق بین اثر پیوند HAMS بر تراکم و عملکرد ماست‌سل‌ها و هم‌چنین دیگر پارامترهای دخیل در ترمیم زخم دیابتی را روشن ساخت. با این وجود، ازآن‌جا که زخم‌پوش‌های متنوع حاصل از پرده آمنیون آثار مثبتی بر ترمیم زخم داشته و تاکنون عوارض جانبی شناخته‌شده‌ای برای آن گزارش نشده است، می‌توان امیدوار بود که اثربخشی چنین داربست‌های متخلخلی بیش‌از دیگر روش‌ها باشد.

این مطالعه دارای محدودیت‌هایی است که جای بحث دارد. ابتدا آن‌که برای بررسی دقیق وقایع سلولی-مولکولی پدیده التهاب لازم است از تست‌هایی همچون RT-qPCR یا وسترن بلات استفاده شود. ضمن آن‌که مهم‌ترین محدودیت این مطالعه استفاده از مدل حیوان آزمایشگاهی است؛ لذا برای تعمیم نتایج حاصله به انسان بایستی تفاوت‌های بین گونه‌ای مد نظر قرار گیرد.

سپاسگزاری

این مقاله، حاصل پایان نامه به شماره 32451 می‌باشد. بدین‌وسیله از حمایت مالی حوزه معاونت محترم تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی تشکر می‌گردد.

References

1. Kumar A, Gangwar R, Ahmad Zargar A, Kumar R, Sharma A. Prevalence of diabetes in India: A review of IDF Diabetes Atlas 10th edition. Curr Diabetes Rev 2023.
2. Lotfi MH, Saadati H, Afzali M. Prevalence of diabetes in people aged ≥ 30 years: the results of screen-ing program of Yazd Province, Iran, in 2012. J Res Health Sci 2014 Winter; 14(1): 87-91.
3. Esteghamati A, Larijani B, Aghajani MH, Ghaemi F, Kermanchi J, Shahrami A, et al. Diabetes in Iran: Prospective Analysis from First Nationwide Diabetes Report of National Program for Prevention and Control of Diabetes (NPPCD-2016). Sci Rep 2017; 7(1): 13461.
4. Hunt DL. Diabetes: foot ulcers and amputations. BMJ Clin Evid 2011; 2011: 0602.
5. Rodrigues M, Kosaric N, Bonham CA, Gurtner GC. Wound Healing: A Cellular Perspective. Physiol Rev 2019; 99(1): 665-706.
6. Guo S, Dipietro LA. Factors affecting wound healing. J Dent Res 2010;89(3):219-29.
7. Dasari N, Jiang A, Skochdopole A, Chung J, Reece EM, Vorstenbosch J, Winocour S. Updates in Diabetic Wound Healing, Inflammation, and Scarring. Semin Plast Surg 2021; 35(3): 153-158.
8. Wulff BC, Wilgus TA. Mast cell activity in the healing wound: more than meets the eye? Exp Dermatol 2013; 22(8): 507-510.
9. Soleimani H, Amini A, Abdollahifar MA, Norouzian M, Kouhkheil R, Mostafavinia A, et al. Combined effects of photobiomodulation and curcumin on mast cells and wound strength in wound healing of streptozotocin-

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-11]

induced diabetes in rats. Lasers Med Sci 2021; 36(2): 375-386.

10. Holl J, Kowalewski C, Zimek Z, Fiedor P, Kaminski A, Oldak T, Moniuszko M, Eljaszewicz A. Chronic Diabetic Wounds and Their Treatment with Skin Substitutes. Cells 2021; 10(3): 655.
11. Milan PB, Lotfibakhshaiesh N, Joghataie MT, Ai J, Pazouki A, Kaplan DL, et al. Accelerated wound healing in a diabetic rat model using decellularized dermal matrix and human umbilical cord perivascular cells. Acta Biomater 2016; 45: 234-246.
12. Saki M, Kazemzadeh Narbat M, Samadikuchaksaraei A, Ghafouri HB, Gorjipour F. Biocompatibility Study Of A Hydroxyapatite-Alumina And Silicon Carbide Composite Scaffold For Bone Tissue Engineering. Cell Journal (Yakhteh) 2009; 11(1): 55-60.
13. Mobini S, Hoyer B, Solati-Hashjin M, Lode A, Nosoudi N, Samadikuchaksaraei A, et al. Fabrication and characterization of regenerated silk scaffolds reinforced with natural silk fibers for bone tissue engineering. J Biomed Mater Res A 2013; 101(8): 2392-2404.
14. Nasiry D, Khalatbary AR, Abdollahifar MA, Amini A, Bayat M, Noori A, et al. Engraftment of bioengineered three-dimensional scaffold from human amniotic membrane-derived extracellular matrix accelerates ischemic diabetic wound healing. Arch Dermatol Res 2021; 313(7): 567-582.
15. Elkhenany H, El-Derby A, Abd Elkodous M, Salah RA, Lotfy A, El-Badri N. Applications of the amniotic membrane in tissue engineering and regeneration: the hundred-year challenge. Stem Cell Res Ther 2022; 13(1): 8.
16. Martin P, Nunan R. Cellular and molecular mechanisms of repair in acute and chronic wound healing. Br J Dermatol 2015; 173(2): 370-378.
17. King AE, Paltoo A, Kelly RW ,Sallenave JM, Bocking AD, Challis JR. Expression of natural antimicrobials by human placenta and fetal membranes. Placenta 2007; 28(2-3): 161-169.
18. Ryzhuk V, Zeng XX, Wang X, Melnychuk V, Lankford L, Farmer D, et al. Human amnion extracellular matrix derived bioactive hydrogel for cell delivery and tissue engineering. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl 2018; 85: 191-202.
19. Yu H, Chen X, Cai J, Ye D, Wu Y, Fan L, et al. Novel porous three-dimensional nanofibrous scaffolds for accelerating wound healing. Chemical Engineering Journal 2019; 369: 253-262.
20. Castellanos G, Bernabé-García Á, Moraleda JM, Nicolás FJ. Amniotic membrane application for the healing of chronic wounds and ulcers. Placenta 2017; 59: 146-153.
21. Leal-Marin S, Kern T, Hofmann N, Pogozhykh O ,Framme C, Börgel M, et al. Human Amniotic Membrane: A review on tissue engineering, application, and storage. J Biomed Mater Res B Appl Biomater 2021; 109(8): 1198-1215.
22. Nasiry D, Khalatbary AR, Abdollahifar MA, Bayat M, Amini A, Kazemi Ashtiani M, Rajabi S, Noori A, Piryaei A. SDF-1α loaded bioengineered human amniotic membrane-derived scaffold transplantation in combination with hyperbaric oxygen improved diabetic wound healing. J Biosci Bioeng 2022; 133(5): 489-501.
23. Nasiry D, Khalatbary AR, Ghaemi A, Ebrahimzadeh MA, Hosseinzadeh MH. Topical administration of Juglans regia L.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-11]

leaf extract accelerates diabetic wound healing. BMC Complement Med Ther 2022; 22(1): 255.

24. Nasiry D, Khalatbary AR, Ebrahimzadeh MA. Anti-Inflammatory and Wound-Healing Potential of Golden Chanterelle Mushroom, Cantharellus cibarius (Agaricomycetes).Int J Med Mushrooms 2017; 19(10): 893-903.
25. Rohr-Udilova N, Tsuchiya K, Timelthaler G, Salzmann M, Meischl T, Wöran K, et al. Morphometric Analysis of Mast Cells in Tumor Predicts Recurrence of Hepatocellular Carcinoma After Liver Transplantation. Hepatol Commun 2021; 5(11): 1939-1952.
26. Lee JS, Shin J, Park HM, Kim YG, Kim BG, Oh JW, et al. Liver extracellular matrix providing dual functions of two-dimensional substrate coating and three-dimensional injectable hydrogel platform for liver tissue engineering. Biomacromolecules 2014; 15(1): 206-218.
27. Tellechea A, Leal EC, Kafanas A, Auster ME, Kuchibhotla S, Ostrovsky Y, et al. Mast Cells Regulate Wound Healing in Diabetes. Diabetes 2016; 65(7): 2006-2019.
28. Han G, Ceilley R. Chronic Wound Healing: A Review of Current Management and Treatments. Adv Ther 2017; 34(3): 599-610.
29. Song M, Wang W, Ye Q, Bu S, Shen Z, Zhu Y. The repairing of full-thickness skin deficiency and its biological mechanism using decellularized human amniotic membrane as the wound dressing. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl 2017; 77: 739-747.
30. Gharaboghaz MNZ, Farahpour MR, Saghaie S. Topical co-administration of Teucrium polium hydroethanolic extract and Aloe vera gel triggered wound healing by accelerating cell proliferation in diabetic mouse model. Biomed Pharmacother 2020;127:110189.
31. El Gazaerly H, Elbardisey DM, Eltokhy HM, Teaama D. Effect of transforming growth factor Beta 1 on wound healing in induced diabetic rats. Int J Health Sci (Qassim) 2013; 7(2): 160-172.
32. Bagheri M, Amini A, Abdollahifar MA, Ghoreishi SK, Piryaei A, Pouriran R, et al. Effects of Photobiomodulation on Degranulation and Number of Mast Cells and Wound Strength in Skin Wound Healing of Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. Photomed Laser Surg 2018; 36(8): 415-423.
33. Eming SA, Martin P, Tomic-Canic M. Wound repair and regeneration: mechanisms, signaling, and translation. Sci Transl Med 2014; 6(265): 265sr6.
34. Brem H, Tomic-Canic M. Cellular and molecular basis of wound healing in diabetes. J Clin Invest 2007; 117(5): 1219-1222.
35. Chen C, Schultz GS, Bloch M, Edwards PD, Tebes S, Mast BA. Molecular and mechanistic validation of delayed healing rat wounds as a model for human chronic wounds. Wound Repair Regen 1999; 7(6): 486-494.
36. Komi DEA, Khomtchouk K, Santa Maria PL. A Review of the Contribution of Mast Cells in Wound Healing: Involved Molecular and Cellular Mechanisms. Clin Rev Allergy Immunol 2020; 58(3): 298-312.
37. Tauzin H, Rolin G, Viennet C, Saas P, Humbert P, Muret P. A skin substitute based on human amniotic membrane. Cell Tissue Bank 2014; 15(2): 257-265.
38. Higa K, Shimmura S, Shimazaki J, Tsubota K. Hyaluronic acid-CD44 interaction mediates the adhesion of lymphocytes by amniotic membrane stroma. Cornea 2005; 24(2): 206-212.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-11]