

بررسی اثر قند خون بالا بر روی Pro MMP-1، MMP-3 و TIMP-1 در عوارض قلبی عروقی دیابت

سید علیرضا مهاجرانی^۱، عزیز قهاری^۲، باقر لاریجانی^{*}

چکیده

مقدمه: هیپرگلیسمی، به عنوان عارضه اصلی دیابت در ارگان های مختلف از جمله قلبی- عروقی، عوارض متعددی ایجاد می کند. تنظیم این تغییرات ماتریکس خارج سلولی بر عهده متالوپروتئینازهای ماتریکس است که در بیماران دیابتی تفاوت هایی با بیماران غیر دیابتی دارد.

روش ها: این تحقیق از نوع مورد-شاهدی بوده و با حضور دو گروه ۱۸ نفره بیماران دیابتی و غیر دیابتی، از بیماران کاندید عمل CABG انجام شد. میزان ترشح آنزیم های Pro-MMP-1، MMP-3 و TIMP-1 قبل از عمل و میزان ایجاد آسیب در دو گروه با آزمایش بر روی نمونه های سرمی مقایسه شد. این ارزیابی با کمک روش ELISA انجام شد.

یافته ها: نشان داده شد که Pro-MMP-1، به عنوان عامل مخرب ماتریکس و کلاژن های دیواره عروق در دو گروه متفاوت بود اما این اختلاف معنی دار نبود. همین ارزیابی برای MMP-3 در روزهای قبل از عمل انجام شد، اما اختلاف دو گروه معنی دار نبود. در مورد TIMP یا مهارکننده این دو، MMP هم اختلاف معنی دار مشاهده نشد.

نتیجه گیری: عدم وجود اختلاف در این آنزیم ها (به عنوان پایه های اصلی تغییرات ماتریکس) در بیماران دیابتی در مقایسه با افراد سالم نشان می دهد که قند بالا در شرایط پایه تغییر معنی داری در سطح سرمی این مولکول ها نداده و بیمارانی که تنها از نظر میزان قند خون با هم متفاوتند و دچار عارضه مشابه قلبی هستند، تفاوتی در سطح سرمی این آنزیم ها ندارند.

واژگان کلیدی: مهارکننده بافتی پروتئیناز ماتریکس، بیماری های قلبی- عروقی، دیابت

۱- مرکز تحقیقات غدد درون ریز و متابولیسم، بیمارستان دکتر شریعتی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

۲- مرکز تحقیقات سوختگی و ترمیم زخم، دپارتمان جراحی، دانشگاه بریتیش کلمبیا، ونکوور-کانادا

***نشانی:** تهران، خیابان کارگر شمالی، بیمارستان شریعتی، طبقه پنجم، مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم، تلفن: ۲۸-۳۷-۰۰۳۲۲۰۰۸۸۲۲، نمابر:

۸۸۲۲۰۰۵۲، پست الکترونیک: emrc@sina.tums.ac.ir

مقدمه

هیپرگلیسمی بر همه دستگاه قلبی و عروقی از عروق ریز گرفته تا سرخرگ‌ها و سیاهرگ‌های اصلی و حتی خود قلب را تحت تاثیر قرار می‌دهد [۱]. افراد مبتلا به دیابت نوع ۲، مستعد درگیری عروق بزرگ هستند و عروق کوچک نیز در مجاورت قند بالا دچار عوارضی چون رتینوپاتی، نفروپاتی و نوروپاتی می‌شوند. پژوهش‌های گذشته نشان داده‌اند که ارتباط کاملی بین میزان کنترل گلوکز و خطر وقایع قلبی عروقی وجود دارد. نتایج حاصل از مطالعه DCCT ۱ به طور قاطع نشان داد که به ازای هر یک درصد کاهش در HbA1c، ۳۵٪ کاهش در میزان خطر عوارض دیده می‌شود.

این اتفاقات از نظر فیزیوپاتولوژیک در ماتریکس بین سلولی رخ داده و توسط MMPs ۲ انجام می‌گیرد. برای مثال MMP-1 در اصلاح ساختار درم و اپیتلیوم و MMP-3 به وسیله شبکه اکتین در انقباض محل آسیب مؤثر هستند [۲]. تنظیم این مولکول‌ها تحت کنترل آنزیمی به نام ۳-۳-۱۴ است و مهار آنها توسط TIMPs ۳ انجام می‌گیرد که فراوانترین آنها نوع ۱ می‌باشد که شباهت زیادی به سایر اینزیم‌ها دارد. نشان داده شده که غلظت MMP-1 در بیماران دیابتی در مقایسه با افراد سالم بالاتر است؛ در مقابل مهارکننده آن از غلظت کمتری برخوردار بوده است [۳].

اساس مولکولی بازآرایی ۴ بطن‌ها در بیماران دیابتی، سیستم MMP/TIMP است که منجر به آپوپتوز سلول‌های میوکارد و سپس تشکیل بافت فیبرو می‌شود. این روند تحت تاثیر قند بالا قرار دارد و جالب آن که قند بالا منجر به آپوپتوز سلول‌های اندوتلیال شده و یا سلول‌های اندوتلیال در مجاورت قند بالا، TIMP-2 را سرکوب می‌کند که این در تقابل با عملکرد MMPs است [۴]؛ از طرف دیگر MMPs در تخریب لایه عروقی هم دخالت دارد [۵].

ترمیم عروق هم در دیابت با مشکل روبه روست. جالب است بدانیم که آنژیوستاتین، به عنوان مهارکننده VEGF

(فاکتور رشد اندوتلیال)، در یک فرآیند که توسط MMPs تحریک شده ساخته می‌شود. ثابت شده که در عروق بیماران دیابتی در پاسخ به انقباض عروقی، مقدار بیشتری MMPs در مقایسه با بیماران غیر دیابتی ترشح می‌گردد که این به معنای اثر قند بالا بر روی ترشح MMPs می‌باشد. در واقع دیابت با تولید بیش از حد آنژیوستاتین، مانع اثرگذاری VEGF و ترمیم سلول‌های اندوتلیال می‌شود [۶].

هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثرات مولکول‌هایی همچون MMP-3، Pro-MMP-1، TIMP-1 در پاتوفیزیولوژی بیماری‌های دستگاه قلبی-عروقی است و این عوارض در بیماران دیابتی با گروه غیر دیابتی مقایسه خواهند شد.

روش‌ها

بیماران: با توجه به دخالت وسیع MMPs در تمامی بافت‌ها و با توجه به معیارهای فوق، ۳۶ بیمار بستری در بخش جراحی قلب باز مرکز قلب تهران با توجه به کرایتریای مورد نظر، مورد ارزیابی نهایی قرار گرفتند. علت انتخاب این گروه از بیماران عبارت بودند از: ۱- دخالت MMPs در بسیاری از اختلالات قلبی و عروقی به خصوص در ارتباط با بیماری دیابت، ۲- امکان همسان سازی بیماران به دلیل تعداد بالای بستری و عمل قلب باز و ۳- عفونی نبودن اسکارهای عمل و تحت نظر بودن شدید بیماران در بخش Post ICU از نظر خطر عفونت. این بیماران در دو گروه سالم و دیابتی قرار گرفتند. گروه سالم ۱۸ نفر و گروه مبتلا به دیابت ۱۸ نفر بودند.

گروه دیابتی، از بیمارانی تشکیل شده بود که ابتلای اثبات شده قبلی به دیابت نوع ۲ داشتند و یا HbA1c بالای ۶/۵ به همراه FBS بالای ۱۱۰ mg/dL برای دو روز متوالی داشتند. بیماران هر دو گروه از لحاظ سن، جنس، مصرف سیگار، الکل، مواد مخدر، داروها، HbA1c، درمان‌های قبلی و آزمایش‌های انجام شده، بررسی شدند به نحوی که بیماران هر دو گروه در بازه سنی ۴۰ تا ۶۵ سال قرار داشتند تا الگوی ترشح هورمونی تغییر نکرده باشد. تمامی از میان بیماران مرد انتخاب شدند تا تفاوت عوامل خونی، اختلالی در مقایسه دو گروه ایجاد نکند (تستوسترون بر

1- Diabetes Complications and Control Trial

2- Matrix Metalloproteinase

3-Tissue Inhibitor of MP

4-Remodeling

هلسنیکی II و بیانیه اخلاق اسلامی رعایت گردید، همچنین از بیماران رضایت نامه آگاهانه کتبی گرفته شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

در این طرح برای آنالیز آماری داده‌ها از نرم افزار SPSS ویرایش ۱۵ استفاده شد و برای متغیرهای کمی از Independent Sample t-Test و برای متغیرهای کمی از Cross Tab استفاده گردید. سطح معنی‌داری به صورت $P < 0/05$ تعریف شد.

یافته‌ها

در جدول ۱ اطلاعات اولیه بیماران آورده شده است. بیماران از نظر سن، فشار خون سیستولی و دیاستولی و نمایه توده بدنی (BMI)، تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند (جدول ۲) و تنها از نظر HbA1c دو گروه با هم متفاوت بودند ($P=0/04$). بین دو گروه میزان فعالیت جسمی، رژیم غذایی، ابتلای به پر فشاری خون و چربی خون بالا تفاوت معنی‌داری نداشت. اما از نظر سابقه فامیلی دیابت ($P=0/001$) و چگونگی بهبودی زخم‌ها ($P=0/04$) تفاوت معنی‌دار بود. همچنین بیماران دیابتی ۷۸ بار و گروه دیگر ۵۵ بار دچار سکته قلبی شده بودند که تفاوت معنی‌دار نبود. همچنین از بین نه نفری که دیابت خود را درمان می‌کردند، ۲ نفر با انسولین و ۷ نفر با دارو تحت درمان بودند.

در مورد متغیرهای اصلی، میانگین هر سه متغیر در دو گروه نشان داده شده است (در نمودار ۱). اختلاف سطح سرمی متغیرهای مورد بررسی، در زمان پایه بین دو گروه تفاوت آماری معنی‌داری نداشت ($P > 0/05$).

روی برخی از فرآیندهای مبتنی بر ماتریکس اثر گذار است) [۷و۸]. هیچ بیماری زمینه‌ای به جز دیابت در گروه دیابتی وجود نداشت و داروهایی به جز داروهای قلبی معمول مصرف نمی‌کردند. هیچ یک از بیماران سیگار، الکل و موارد مخدر در سه ماه اخیر مصرف نکرده بودند تا اختلال در میزان HbA1c ایجاد نگردد. عوارض دیگر دیابت مثل نوروپاتی محیطی، بیماری‌های عروقی محیطی (با مقایسه فشار شریانی اندام فوقانی و اندام تحتانی) و میکروآلبومینوری در گروه دیابتی وجود نداشت. در تمامی بررسی‌های قلبی نیز مشکلی به جز آترواسکلروز عروق کرونری وجود نداشت.

شیوه بررسی خونگیری بیماران در ۲ نوبت انجام شد (به میزان ۵ سی سی در هر نوبت) تا احتمال بروز خطا به حداقل برسد. هر دو نوبت قبل از عمل و در صبح ناشتا انجام شد و در کمتر از ۱ ساعت به آزمایشگاه مرکز تحقیقات غدد بیمارستان دکتر شریعتی منتقل گردید. در آزمایشگاه ابتدا HbA1c (یک شاخص برای ساختار کلاژنی) اندازه‌گیری شد [۹] و باقیمانده نمونه‌ها در دور ۳۵۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتیفریوژ شدند. در نگاه ماکروسکوپی، هر کدام از سرم‌ها که دارای فیبرین زیاد یا چربی مشهود بودند از طرح حذف شدند. سپس سرم‌های باقیمانده جدا شده و مجدداً در دور ۱۳۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتیفریوژ شده و تمام سرم‌ها در دمای ۸۰- سانتی‌گراد نگهداری شدند. در زمان بررسی نیز مجدداً در دور ۱۳۰۰۰ و به مدت ۵ دقیقه سانتیفریوژ و برای مصرف و به کار بردن در کیت‌های الایزا آماده گردیدند. برای اندازه‌گیری Pro-MMP-1، MMP-3، و TIMP-1 از کیت Human Quantikine ELISA (R&D System) استفاده گردید. در این مطالعه اصول اخلاقی معاهده

جدول ۱- میانگین شاخص‌های سرمی دو گروه مورد مطالعه در جدول زیر ذکر شده است. همانطور که ملاحظه می‌شود هیچ کدام از افراد مورد مطالعه درگیری ارگان‌های حیاتی نداشته و تنها از منظر میزان قند خون با هم متفاوت بوده‌اند.

متغیر	بیماران دیابتی	بیماران غیر دیابتی
هموگلوبین سرم (mg/dl)	۱۵/۴ (۹/۹-۱۸/۶)	۱۴/۲ (۹/۵-۱۷/۸)
پلاکت × ۱۰۰۰ (در ml)	۲۳۵/۴ (۱۳۵-۳۶۵)	۲۲۰/۷ (۱۱۵-۴۰۶)
ESR (mm/hr)	۱۱/۲ (۴-۴۳)	۱۰/۵ (۵-۳۳)
Cr (mg/dl)	۱/۲۵ (۰/۶-۲/۷)	۱/۰۸ (۰/۷-۲/۱)
BUN (mg/dl)	۱۶/۰۹ (۱۰-۳۳)	۱۳/۳۵ (۱۱-۲۷)
کلسترول (mg/dl)	۲۰۸ (۱۶۵-۲۶۳)	۱۸۱ (۱۴۵-۲۲۹)
FBS قبل از عمل (mg/dl) *	۱۴۳ (۸۷-۲۱۵)	۱۰۴ (۶۸-۱۲۱)
PT (sec)	۱۳/۱ (۱۱-۱۵)	۱۳/۰ (۱۱-۱۵)

مقادیر به صورت میانگین با ذکر حداقل و حداکثر بوده است.

مطالعه به صورت مورد-شاهد بوده است.

تعداد بیماران هر گروه ۱۸ نفر بوده است.

* بین دو گروه اختلاف معنی دار مشاهده شد. ($P < 0/05$)

جدول ۲- مقایسه ویژگی‌های دموگرافیک، بیوشیمیایی و علایم حیاتی بیماران شرکت کننده در دو گروه مطالعه

متغیر	P-value*
سن	۰/۶۷۶
فشار خون سیستولی	۰/۵۲۰
فشار خون دیاستولی	۰/۸۳۸
HbA1c	۰/۰۴۷
BMI	۰/۳۲۳

*بر اساس آزمون Chi-square، ارتباط معنی دار $P < 0/05$ در نظر گرفته شد.

نوع مطالعه: مورد-شاهد

تعداد شرکت کنندگان گروه دیابتی: ۱۸ نفر

تعداد شرکت کنندگان گروه سالم: ۱۸ نفر

جدول ۳- میانگین غلظت سرمی Pro-MMP-1، MMP-3 و TIMP-1 در دو گروه بیماران دیابتی و غیر دیابتی

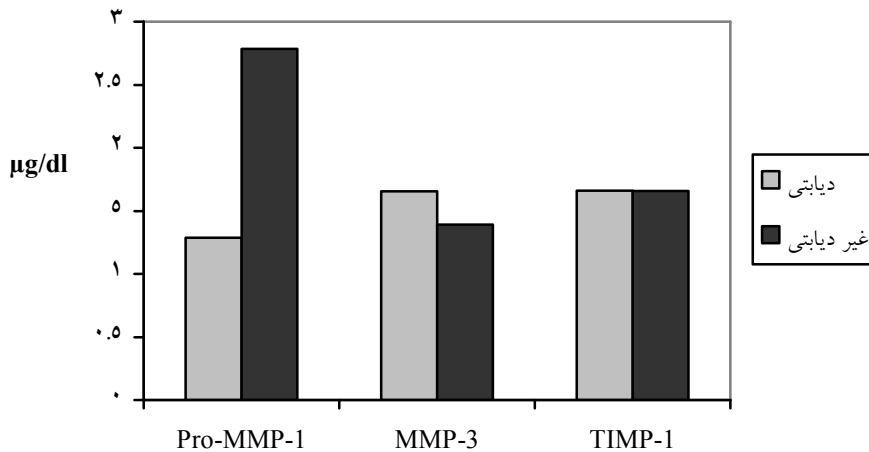
متغیر	گروه سالم	گروه دیابتی
غلظت سرمی Pro-MMP-1 (ng/ml)	۱۳/۹۲	۱۱/۴۳
غلظت سرمی MMP-3 (ng/ml)	۱۱/۱۴۴	۱۳/۲۴
غلظت سرمی TIMP-1 (ng/ml)	۱۶۵/۷	۱۶۶

*بر اساس آزمون Chi-square، ارتباط معنی دار $P < 0/05$ در نظر گرفته شد.

نوع مطالعه: مورد-شاهد

تعداد شرکت کنندگان گروه دیابتی: ۱۸ نفر

تعداد شرکت کنندگان گروه سالم: ۱۸ نفر



نمودار شماره ۱- میانگین سه متغیر اصلی در دو گروه بیماران دیابتی و غیر دیابتی

ماتریکس شده، در نهایت به پاسخهای نامناسب در مقابل تغییرات فیزیولوژیک و یا پاتولوژیک ختم می‌شود. به عنوان مثال در زخم‌های مزمن دیابتی، MMPs از سطح بالاتری نسبت به زخم‌های حاد غیر دیابتی برخوردار هستند [۱۵] و یا در زخم‌های فشاری مزمن، این پروتئین‌ها نسبت به نمونه‌های جراحی از غلظت بالاتری برخوردارند [۱۶، ۱۷]، لذا می‌توان چنین مطرح کرد که شاید در بیماران دیابتی تفاوت‌هایی در غلظت این پروتئین‌ها نسبت به افراد سالم وجود داشته باشد.

نتایج به دست آمده از این مطالعه، نشان می‌دهند که بیماران دیابتی در ترشح برخی از آنزیم‌های موثر و لازم برای فعالیت‌های فضای بین سلولی (در زمان پایه و بدون وجود عوارض غیر از عارضه مشترک قلبی-عروقی)، با سایر افراد تفاوتی ندارند و این نشان می‌دهد که رخدادهای پس از ایجاد عوارض و فرآیندهای بعدی، احتمالاً بیشترین تأثیر را بر تفاوت پروفایل ماتریکس دو گروه دارند.

Pro-MMP-1 به عنوان پیش ساز MMP-1، بر روی ساختمان کلاژن‌ها اثر می‌گذارد و باعث تخریب آنها می‌شود و به همین دلیل از اصلی‌ترین اجزای ماتریکس است و در بسیاری از فرآیندها شرکت دارد. همانطور که در نمودار ۱ مشاهده می‌شود، این پروتئین از سطح بالاتری در سرم بیماران سالم برخوردار بود، اما در محاسبات آماری نشان داده شد این اختلاف معنی‌دار نمی‌باشد (جدول ۳). احتمالاً

بحث

مطالعات مختلف نشان می‌دهند که هیپرگلیسمی بر روی آنزیم بحث شده در این پژوهش تأثیر مخرب دارد. بسیاری از اجزای ماتریکس تحت تأثیر قند بالا دچار اختلال عملکرد می‌شوند. برای مثال آنژیوتنز در سطوح مختلف تحت تأثیر قند بالا مهار می‌شود که این رخداد با واسطه مهار فعال کننده پلاسمینوژن [۱۰]. و یا مهار ترشح NO و کاهش VEGF [۱۱ و ۱۲]، ممانعت از تکثیر و تمایز سلول‌های پستی [۱۳]، کاهش تکثیر فیبروبلاست‌ها و ممانعت از عملکرد مناسب اجزای درم اعمال می‌گردد [۱۴].

در این مطالعه سعی شد تمامی عوامل تأثیر گذار بر پاسخ نهایی به غیر از متغیرهای اصلی حذف شوند. این بیماران تنها از دو منظر با هم متفاوت بودند: ۱- بالا بودن HbA1c و ابتلای به دیابت و ۲- سابقه خانوادگی ابتلا به دیابت. در سایر موارد تمامی بیماران دو دسته کاملاً با یکدیگر همسان بودند.

همان گونه که ذکر شد، MMPs در بیماران دیابتی و به واسطه قند بالا، در مقایسه با افراد طبیعی، از سطح بالاتری برخوردار هستند که در مهاجرت سلول‌های التهابی، تولید مواد التهابی و نیز ساختارسازی ماتریکس بین سلولی نقش اصلی را دارند و اختلال در عملکرد آنها همانطور که پیش تر اشاره شد، منجر به ناهنجاری‌های مختلف در عملکرد

زخم‌های مزمن دیابتی پیشنهاد کرده‌اند. این مواد یا پوشش‌های قابل طراحی، باید فعالیت‌های پروتئولیتیک در ماتریکس خارج سلولی (ECM) را کاهش دهند تا از اثرات فیبرونکتین و PDGFs (فاکتورهای رشد منشاء گرفته از پلاکت) و MMPs جهت حفظ کلاژن‌ها بکاهند. برای مثال برای کاهش MMPs، می‌توان از مخلوطی از کاتیون‌های فلزی و یا پروتئین‌های خاص مانند آملوژنین برای تامین پروتئینی هرچه بهتر ECM استفاده کرد و بالعکس در بیماران دچار سوختگی که از زخم‌های هیپرتروفیه شده رنج می‌برند و به علت عدم تخریب کلاژن‌ها بافت کلوییدی را بر روی زخم‌های خود دارند، می‌توان از داروهای محرک MMP-1 استفاده کرد. در یکی از این بررسی‌ها اشاره شده که داروهایی همچون راپامایسین با تحریک کپی برداری MMP-1، توانسته‌اند اثر آنتی فیبروتیک داشته و اثرات درمانی داشته باشد [۱۸].

به هر حال آنچه که به انجام رسید پژوهشی است که با رویکرد مقایسه مولکول‌های بنیادین درگیر در عوارض قلبی عروقی انجام شد و نشان داد که بیماران دیابتی در فضای بین سلولی با افراد غیر دیابتی از نظر میزان آنزیم‌های مورد اشاره تفاوتی ندارند. شاید در آینده نزدیک و به واسطه مطالعات بالینی بیشتر، بتوان با استفاده از شیوه‌های خاص سطح سرمی و یا موضعی تمامی این مولکول‌ها را در بیماران دیابتی با عوارض خاص با افراد سالم جامعه مقایسه کرد و با انجام مداخلاتی آنها را به سطح طبیعی برگرداند و در بیمارانی که به عوارض نهایی دیابت همچون زخم پای دیابتی و یا آترواسکلروز دچارند یا بیمارانی که به هر دلیلی دچار زخم‌های مزمن شده‌اند، بتوان با استفاده از فراورده‌های مؤثر بر روی این مولکول‌ها امید به بهبودی عوارض دیابت داشت.

سپاسگزاری

این مطالعه با حمایت مالی مرکز تحقیقات غدد درون ریز و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام شد. نویسندگان مقاله از ریاست محترم بخش جراحی قلب باز مرکز قلب تهران، جناب آقای دکتر محمد حسین ماندگار و کلیه پرسنل

به دلیل ماهیت تخریبی MMP-1 بر روی کلاژن‌های درم و تأثیر قند بالا بر روی اکثر اجزای ماتریکس، سطح این آنزیم به طور جبرانی پایین آمده است.

آنزیم MMP-3 با کمک شبکه اکترین موجب انقباض درم می‌شود. بسیاری از فرآیندهای ماتریکس زمانی اتفاق می‌افتند که انقباض درم رخ داده باشد. طبق محاسبات آماری ارائه شده در جدول ۳، سطح پایه این آنزیم اختلافی بین دو گروه ندارد. گرچه مطابق نمودار ۱، این آنزیم در گروه دیابتی از غلظت بالاتری برخوردار بود، اما این اختلاف معنی‌داری نبود.

سطح TIMP-1 یا همان مهارکننده بافتی MMPs، برای جلوگیری از اثرات مخرب برخی از MMP ها افزایش می‌یابد. همان طور که در نمودار مشاهده می‌شود، در سطح پایه اختلافی بین دو دسته وجود نداشت که این یافته در انطباق با یکسان بودن شرایط دو آنزیم دیگر در دو گروه است. در واقع چون شرایط یکسان بوده، نیازی به مهار بیشتر در بیماران دیابتی نبوده است.

از منظر درمانی، از آنجایی که دیابت اثرات گسترده‌ای بر روی دستگاه‌های مختلف دارد و هزینه‌های فراوانی به جای می‌گذارد، درمان عوارض آن توجه زیادی را در بین محققین برای تولید مواد یا داروهایی که این امر را تسهیل می‌کنند به خود جلب کرده است. مثلاً در مورد ترمیم زخم، محصولات زیادی تولید شده‌اند اما آنچه تا کنون اتفاق افتاده، تأثیر چشم‌گیری نداشته و نتوانسته به طور کامل ترمیم زخم‌ها را به حالت طبیعی بازگرداند. البته اصل مهم در پیشگیری از تمامی عوارض بیماران دیابتی، کنترل قند خون است. ما در این تحقیق نشان دادیم که بیماران با کنترل نامناسب قند خون، در برخی عوامل پیش برنده ترمیم بافت‌ها از جمله بافت‌های عروقی و قلبی تفاوتی با افراد نرمال ندارند. بارزترین دلیل این عدم اختلاف احتمالاً به دلیل انتخاب سختگیرانه بیماران دیابتی بدون عارضه بود که تنها در میزان قند خون با افراد طبیعی متفاوت بودند.

اما در صورت وجود اختلاف در سایر عوامل و MMPs، می‌توان اشاره کرد که برخی از مقالات صراحتاً بعد از سال‌ها تحقیق به عنوان یک تئوری جدید استفاده از مهارکننده‌های پروتئاز را به عنوان التیام‌دهنده عوارض اندوواسکولار و یا

خوشه چین و آقای مظاهر رحمانی کمال تشکر را دارند.

این بخش و نیز پرسنل محترم آزمایشگاه خانم ها کریمی و

مأخذ

1. Monnier VM, Bautista O, Kenny D, Sell DR, Fogarty J, Dahms W et al. Skin collagen glycation, glycooxidation, and crosslinking are lower in subjects with long-term intensive versus conventional therapy of type 1 diabetes: relevance of glycated collagen products versus HbA1c as markers of diabetic complications. DCCT Skin Collagen Ancillary Study Group. *Diabetes Control and Complications Trial. Diabetes* 1999; 48: 870-802.
2. Medina A, Scott PG, Ghahary A, Tredget EE. Pathophysiology of Chronic Nonhealing Wounds. *Journal of Burn Care & Rehabilitation* 2005; 26: 306-319.
3. Lobmann R, Ambrosch A, Schultz G, Waldmann K, Schiweck S, Lehnert H. Expression of matrix-metalloproteinases and their inhibitors in the wounds of diabetic and non-diabetic patients. *Diabetologia* 2002; 45: 1011-1016.
4. Ho FM, Liu SH, Lin WW, Liao CS. Opposite effects of high glucose on MMP-2 and TIMP-2 in human endothelial cells. *J Cell Biochem* 2007; 101: 442-450.
5. Tsuruda T, Costello-Boerrigter LC, Burnett JC Jr. Matrix metalloproteinases: pathways of induction by bioactive molecules. *Heart Fail Rev* 2004; 9: 53-61.
6. Chung AW, Hsiang YN, Matzke LA, McManus BM, van Breemen C, Okon EB. Reduced expression of vascular endothelial growth factor paralleled with the increased angiostatin expression resulting from the upregulated activities of matrix metalloproteinase-2 and -9 in human type 2 diabetic arterial vasculature. *Circ Res* 2006; 99: 140-148.
7. Ashcroft GS, Mills SJ. Androgen receptor-mediated inhibition of cutaneous wound healing. *J Clin Invest* 2002; 10: 615-624.
8. Rijswijk VL. Full-thickness leg ulcers: patient demographics and predictors of healing. Multi-center leg ulcer study group. *J Fam Pract* 1993; 36: 625-632.
9. Black E, Vibe-Petersen J, Jorgensen LN, Madsen SM, Ågren MS, Holstein PE, Perrild H, Gottrup F. Decrease of Collagen Deposition in Wound Repair in Type 1 Diabetes Independent of Glycemic Control. *Arch Surg* 2003; 138: 34-40.
10. Yarom R, Zirkin H, Stammner G, Rose AG. Human coronary microvessels in diabetes and ischemia. Morphometric study of autopsy material. *J Pathol* 1992; 166: 265-270.
11. Jang JJ, Ho HK, Kwan HH, Fajardo LF, Cooke JP. Angiogenesis is impaired by hypercholesterolemia: role of asymmetric dimethylarginine. *Circulation* 2000; 102: 1414-1419.
12. Fard A, Tuck CH, Donis JA, et al. Acute elevations of plasma asymmetric dimethylarginine and impaired endothelial function in response to a high-fat meal in patients with type 2 diabetes. *Arterioscler Throm Vase Biol* 2000; 20: 2039-2044.
13. Spravchikov N, Sizyakov G, Gartsbein M, Accili D, Tennenbaum T, Wertheimer E. Glucose effects on skin keratinocytes: implications for diabetes skin complications. *Diabetes* 2001; 50: 1627-1635.
14. Hehenberger K, Hansson A. High glucose-induced growth factor resistance in human fibroblasts can be reversed by antioxidants and protein kinase C-inhibitors. *Cell Biochem Funct* 1997; 15: 197-201.
15. Trengove NJ, Stacey MC, MacAuley S, Bennett N, Gibson J, Burslem F, et al. Analysis of the acute and chronic wound environments: the role of proteases and their inhibitors. *Wound Repair Regen* 1999; 7: 442-452.
16. Wysocki AB, Staiano-Coico L, Grinnell F. Wound fluid from chronic leg ulcers contains elevated levels of metalloproteinases MMP-2 and MMP-9. *J Invest Perm* 1993; 101: 64-68.
17. Yager DR, Zhang LY, Liang HX, Diegelmann RF, Cohen IK. Wound fluids from human pressure ulcers contain elevated matrix metalloproteinase levels and activity compared to surgical wound fluids. *J Invest Derm* 1996; 107: 743-748.
18. Poulalhon N, Farge D, Roos N, Tacheau C, Neuzillet C, Michel L, Mauviel A, Verrecchia F. Modulation of collagen and MMP-1 gene expression in fibroblasts by the immunosuppressive drug rapamycin. A direct role as an antifibrotic agent? *J Biol Chem* 2006; 281: 33045-33052.

