

تهیه و ارزیابی اشکال دارویی نوین پیوگلیتازون: مطالعه اثربخشی در کاهش گلوکز خون و بهبود زخم در مدل موش صحرایی دیابتی

میلاذ آرموده^۱، علیرضا شیرپور^۲، یوسف رسمی^۳، آناهیتا فتحی آذربایجانی^{۴*}

تاریخ دریافت ۱۴۰۳/۰۳/۲۶ تاریخ پذیرش ۱۴۰۳/۰۸/۰۲

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: دیابت نوعی اختلال در سوخت‌وساز بدن است که با بالا بودن گلوکز خون و مقاومت به انسولین همراه است. پیوگلیتازون یکی از داروهای مؤثر در کاهش مقاومت به انسولین است و اثرات ضدالتهابی دارد. هدف از این کار تهیه نانوفیبرهای حاوی پیوگلیتازون و ارزیابی اثربخشی آن به‌عنوان سیستم کاشت‌نی زیر جلدی جهت کاهش میزان گلوکز خون است. اثر نانوفیبرهای حاوی پیوگلیتازون به‌عنوان پانسمان برای ترمیم زخم در مدل موش صحرایی دیابتی نیز بررسی شد.

مواد و روش کار: در این مطالعه برای ساخت نانوفیبرها از روش الکترورسی استفاده شد. ساختار و خصوصیات فیبرها با استفاده از میکروسکوپ الکترونی و طیف‌سنجی مادون‌قرمز تبدیل فوریه مورد مطالعه قرار گرفت. اثرات کاشت زیر پوستی نانوفیبرها بر میزان گلوکز خون موش‌های صحرایی بررسی و با انسولین مقایسه شد. همچنین میزان تأثیرگذاری نانوفیبرها در ترمیم زخم‌های پوستی در موش‌های صحرایی دیابتی نیز مطالعه شد.

یافته‌ها: فرمولاسیون‌های تهیه‌شده در صورت استفاده به‌صورت کاشت زیر پوستی قادر به کاهش معنی‌داری در میزان گلوکز خون نشد. فرمولاسیون تهیه‌شده به‌صورت پانسمان اثرات مطلوبی را در مدل ترمیم زخم و سرعت بسته شدن آن نشان داد. این اثر ممکن است ناشی از خصوصیات ضدالتهابی دارو باشد. پانسمان به مقدار مطلوبی تشکیل لایه‌های اپیدرم و درم پوستی را تسریع داد.

بحث و نتیجه‌گیری: مطالعات هیستولوژی نشان داد که زخم‌های درمان شده با نانوفیبرهای حاوی پیوگلیتازون به علت داشتن اثرات ضدالتهابی، باعث تسریع در بهبود زخم در مدل‌های موش‌های صحرایی دیابت نوع یک شد. نانوفیبرهای حاوی پیوگلیتازون باعث تشکیل و تکامل فیبرهای کلاژن و بهبود شکل‌گیری لایه‌های اپیدرم و درم شده و همچنین باعث کاهش سلول‌های التهابی گردید. این سیستم دارورسانی موفق به کاهش معنی‌دار گلوکز خون در مدل‌های حیوانی نشد. دلایل احتمالی این مسئله شامل کم بودن غلظت داروی بارگذاری شده و محلولیت پایین دارو است.

کلیدواژه‌ها: نانوفیبر، الکترورسی، پیوگلیتازون، کاشت زیر جلدی، گلوکز، ترمیم زخم، دیابت، ضدالتهاب

مجله مطالعات علوم پزشکی، دوره سی و پنجم، شماره ششم، ص ۵۰۱-۴۹۲، شهریور ۱۴۰۳

آدرس مکاتبه: دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران، ۰۹۰۳۹۰۴۲۷۷۲

Email: fathi.a@umsu.ac.ir

مقدمه

حداکثر غلظت پلاسمایی آن طی دو ساعت به دست می‌آید (۱). این دارو میزان مرگ‌ومیر ناشی از علل مختلف را در بیماران دیابتی نوع ۲ در مقایسه با سایر روش‌های درمانی کاهش می‌دهد. تحقیقات نشان داده است که مصرف این دارو باعث کاهش ۶۰ درصدی در مرگ‌ومیر می‌شود (۲).

پیوگلیتازون هیدروکلراید^۱ یک داروی ضد دیابت خوراکی از دسته تیاژولیدین‌دیون‌ها است که در درمان دیابت نوع II استفاده می‌شود. این دارو پس از تجویز خوراکی به‌سرعت جذب می‌شود و

^۱ دانشجوی دکترای داروسازی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران

^۲ استاد، گروه فیزیولوژی و حیوانات آزمایشگاهی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران

^۳ استاد، گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران

^۴ دانشیار، گروه فارماستوتیکس، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ایران (نویسنده مسئول)

^۱ Pioglitazone hydrochloride (PGH)

کاشت زیر جلدی داروها از جمله روش‌های دارورسانی است که دارو را مستقیماً به جریان خون وارد می‌کند و می‌تواند اثر درمانی طولانی‌مدت تا یک سال را ایجاد نماید و لذا بیمار را از مصرف مداوم دارو بی‌نیاز می‌کند. این سیستم دارویی معمولاً در زیر پوست قرار می‌گیرند مثلاً در مکانی مناسب اما نامشخص بر روی قفسه سینه و بیمار فقط یک برجستگی کوچک در زیر پوست احساس می‌کند. از آنجا که دستگاه کاملاً زیرپوستی است، بدون باز شدن در پوست، احتمال عفونت یا تداخل در فعالیت‌های روزمره بسیار کم است (۱۵). از آنجایی که بیماران مبتلا به دیابت نیاز به تزریق مکرر انسولین یا داروهای کاهنده گلوکز خون را دارند، استفاده از اشکال قابل کاشتنی می‌تواند رهش طولانی و کنترل‌شده دارو را بدون درد ناشی از تزریق ایجاد کند و تعداد دفعات مصرفی دارو در این بیماران را کاهش دهد و این روش درمانی مزیت زیادی برای بیماران دیابتی دارد (۱۶). پلی‌کاپرولاکتون (PCL) پلیمری است زیست‌تخریب‌پذیر و زیست‌سازگار و به علت سرعت تخریب‌پذیری نسبتاً پایین می‌تواند از آن در طراحی اشکال دارویی با رهش کنترل‌شده استفاده نمود (۱۷). هدف از این مطالعه، تهیه و ارزیابی نانوفیبرهای کاشتنی حاوی پیوگلیتازون برای کاهش قند خون و بررسی نقش آن‌ها در ترمیم زخم در مدل موش‌های صحرایی دیابتی است.

مواد و روش کار

تهیه نانوفیبرها:

محلول پلیمری با غلظت w/v ۸٪ پلی‌کاپرولاکتون در حلال دی‌متیل فرم‌آمید تهیه شد. نانوفیبرها با استفاده از روش الکتروریسی و سرنگ ۲ میلی‌لیتری و سرسوزن گیج ۲۳ تهیه شدند. غلظت دارو در محلول w/v ۱٪ و لته‌اژ اعمال‌شده ۲۵ کیلوولت و فاصله بین سر سوزن و صفحه جمع‌کننده در طول فرآیند ثابت و برابر ۷ cm بود. سرعت تزریق برابر ۱.۵ mL/h بود. تنظیمات دستگاه الکتروریسی و پارامترهای انتخاب‌شده جهت تهیه الیاف نانوفیبر یکدست و بدون گره و گویچه بهینه‌سازی شده است. فرآیند الکتروریسی در دمای اتاق انجام شد. نانوفیبر تهیه‌شده از دستگاه جداشده و در دمای اتاق تحت خلأ خشک شد تا باقیمانده حلال از فرمولاسیون جدا شود (۱۶).

تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی:

بررسی مورفولوژی نانوفیبر با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (Zeiss؛ آلمان) مورد بررسی قرار گرفت. نانوفیبرهای تهیه‌شده بر روی صفحه آلومینیومی با پوشش کربنی قرار گرفته و سپس با لایه نازکی از طلا پوشش داده شدند. الیاف پوشش داده

گیرنده‌های پروکسی زوم گیرنده هسته‌ای^۲ (PPAR- γ) نقش مهمی در تنظیم بیان ژنی لیگاند و فرایندهای فیزیولوژیک بدن از جمله حساسیت‌زایی به انسولین و پاسخ‌های التهابی را بر عهده دارد. تiazولیدیندیون‌ها از جمله پیوگلیتازون از آگونیست‌های PPAR γ می‌باشند که با افزایش حساسیت به انسولین در عضله و بافت چربی باعث کاهش میزان گلوکز می‌شوند. مکانیسم عمل پیوگلیتازون شامل فعال کردن گاما گیرنده هسته‌ای و تکثیر گیرنده پراکسی‌زوم گیرنده هسته‌ای (PPAR- γ) و تحریک PPAR- α است. این روش رونویسی ژن‌های دخیل در کنترل متابولیسم گلوکز و لیپید در عضله، بافت چربی و کبد را تعدیل می‌کند و مقدار گلوکز و هموگلوبین گلیسیته را در جریان خون کاهش می‌دهد. این دارو علاوه بر اثرات بارز در درمان دیابت تیپ ۲، برای درمان سرطان، آلزایمر، التهاب و ترمیم زخم نیز بکار می‌رود. محلولیت آبی پایین این دارو باعث کاهش کارایی و فراهمی زیستی این دارو می‌شود. مطالعات محدودی در زمینه افزایش اثرات درمانی این دارو با استفاده از نانو ذرات و میکروذرات صورت گرفته است و هرکدام از این روش‌ها محدودیت‌هایی داشته‌اند (۳،۴).

سیستم دارورسانی^۳ ایدئال، فرمولاسیون یا ابزاری است که قادر است ترکیب دارویی را به بدن وارد نموده و اثر و ایمنی دارو را حفظ نماید و دارو را با سرعت مشخصی در زمان و بافت مورد نظر آزاد نماید. به‌عبارتی دیگر، DDS پلی بین بیمار و دارو است که می‌تواند یک فرمولاسیون دارویی برای درمان و یا وسیله‌ای برای انتقال دارو باشد. سیستم‌های دارورسانی، نقشی حیاتی در ایجاد اثرات فارماکولوژیک داروها ایفا می‌نمایند زیرا می‌توانند بر نحوه آزادسازی دارو و سرعت آن و نیز توزیع دارو در بدن و حتی بروز عوارض جانبی مؤثر باشند. سیستم دارورسانی مؤثر تضمین می‌کند که داروی فعال بتواند در بافت مناسب خود در زمان صحیح وارد شده و طی زمانی که در آن محیط حضور دارد اثرات خود را اعمال نماید (۵-۷). یکی از روش‌های نوین برای دارورسانی استفاده از نانوفیبرها است. نانوفیبرها اشکال دارویی نوین بوده که به‌راحتی و در مقیاس بالا قابل تهیه می‌باشند. این اشکال داروی ظرفیت بارگذاری بالا و کارایی درمانی مطلوبی دارند. از مزایای این اشکال دارویی می‌توان به تهیه راحت و مقرون‌به‌صرفه آن‌ها اشاره نمود. این فرآورده‌ها از پلیمرهای زیست‌تخریب‌پذیر تشکیل یافته‌اند و بافت متخلخل با سطح تماس بالایی دارند. از دیگر ویژگی‌های آن‌ها می‌توان به ساختار الاستیک و محکم آن‌ها اشاره نمود که باعث شده به‌عنوان کاندیدی مطلوب برای استفاده به‌عنوان پانسمان‌های زخم و طراحی اشکال کاشتنی دارو بکار بروند (۸-۱۴).

³ Drug Delivery System (DDS)

² peroxisome proliferator-activated receptor- γ (PPAR γ)

۰.۱ مولار در pH ۴.۳ تهیه می‌شود) تزریق شد. در گروه کنترل نیز تزریق داخل صفاقی از بافر سیترات بدون دارو صورت گرفت. بعد از ۷۲ ساعت نمونه خون از دم موش‌ها گرفته شده و میزان گلوکز خون اندازه‌گیری شد. حیواناتی که گلوکز خون بالای ۳۰۰ mg/dL داشته‌اند به مدت ۷ روز نگهداری و سپس گروه‌بندی و وارد مطالعه شدند. موش‌های صحرایی با تزریق داخل صفاقی کتامین (۲۵ mg/kg) و زایلزین (۱۰ mg/kg) بی‌هوش شدند. موهای قسمت خلفی حیوان کاملاً با تیغ تراشیده شد و با آب (۳ بار) و سپس بتادین و الکل شسته شدند. سپس در قسمت خلفی نزدیک به مهره یک برش خطی و حفره‌ای زیر پوستی ایجاد شد و میزان ۱۰ میلی‌گرم نانوفیبر استریل شده با اشعه UV در داخل حفره قرار داده و با گاز استریل و چسب روی محل برش قرار گرفت (۱۸). گروه‌بندی موش‌های صحرایی جهت مطالعه اثرات کاهندگی گلوکز خون در جدول شماره ۱ آورده شده است. در تمامی گروه‌ها وزن حیوانات مرتب در طول درمان اندازه‌گیری شد و در صورت کاهش وزن و یا گلوکز بالا لانتوس (Sanofi-Aventis) تزریقی استفاده شد. در موش‌هایی که وارد مطالعه شده بودند، گلوکز در هفته ۱، هفته ۲ و هفته ۴ بعد از درمان (با استفاده از کیت پارس آزمون) اندازه‌گیری شد.

شد در محفظه خلأ میکروسکوپ قرار گرفته، و با ولتاژ ۲۲Kv موردبررسی قرار گرفتند. قطر نانوفیبرها از میانگین ۲۰ فیبر مختلف اندازه‌گیری و گزارش شد.

طیف‌سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه^۴:

برهمکنش بین پلیمر و دارو توسط FTIR (مدل Spectrum Two؛ از شرکت Elmer Perkin، ایالات متحده آمریکا) بررسی شد. گروه‌های عاملی دارو و پلیمر به صورت پیک‌هایی در طیف ظاهر می‌شوند و هرگونه تغییر در عدد موجی پیک‌ها و یا حذف و شیفت نشانگر واکنش بین پلیمر و دارو است. طیف‌سنجی فیبرها در دمای محیط (25 °C) در طول موج 450-4000 cm⁻¹ اندازه گرفته شد.

مطالعات حیوانی و ارزیابی سیستم‌های کاشتنی پیوگلیتازون:

این مطالعه تجربی بر روی مدل حیوانی موش‌های صحرایی نر بالغ انجام شده است. تعداد ۱۶ سر موش صحرایی نر بالغ و سالم با متوسط وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرم از مرکز مطالعات حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه تهیه شد. پس از طی مراحل آماده‌سازی و نگهداری، جهت مطالعه به چهار گروه و در هر گروه ۵ سر به صورت تصادفی تقسیم شدند (۱۸).

جهت ایجاد دیابت به موش‌های صحرایی استرپتوزوسین ۶۵mg/kg داخل صفاقی (محلول استرپتوزوسین در بافر سیترات

جدول (۱): گروه‌بندی موش‌های صحرایی جهت بررسی میزان گلوکز خون

گروه‌ها	روش مطالعه	درمان
گروه ۱ (کنترل)	تزریق داخل صفاقی بافر سیترات	-
گروه ۲	تزریق داخل صفاقی استرپتوزوسین	-
گروه ۳	تزریق داخل صفاقی استرپتوزوسین	انسولین
گروه ۴	تزریق داخل صفاقی استرپتوزوسین	نانوفیبر حاوی دارو

تقسیم شدند. در طول مدت ۲ هفته مساحت زخم با استفاده از خط‌کش در روزهای صفر، سه، هفت، ده و چهارده اندازه‌گیری شد. ارتفاع دوربین از حیوانات در طول کل مطالعه ۱۰ cm² است. درصد زخم با استفاده از فرمول زیر ارزیابی شد.

$$100 \times \frac{\text{مساحت زخم در روز } n - \text{مساحت زخم در روز اول}}{\text{مساحت زخم در روز اول}} = (\%) \text{انقباض زخم}$$

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS 16.0 و با استفاده از آزمونی T-تست جفت نشده آنالیز شدند. در تمام آنالیزهای آماری نتایج با $p \leq 0.05$ معنی‌دار گزارش شدند.

یافته‌ها

تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی:

تغییرات در مورفولوژی نانوفیبرهای تهیه‌شده در این مطالعه با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی صورت گرفت. نتایج نشان

بررسی اثرات نانوفیبرهای حاوی پیوگلیتازون در ترمیم زخم و مطالعات هیستولوژی:

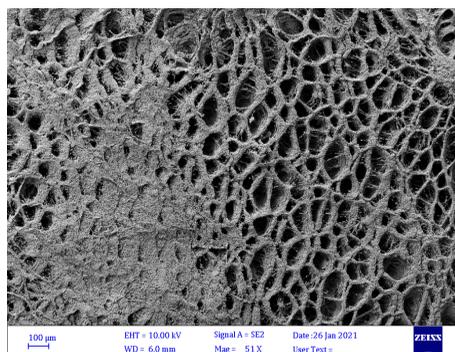
در بررسی اثرات ترمیم‌کنندگی زخم نانوفیبر تهیه‌شده، موش‌های صحرایی که گلوکز خون بالای ۳۰۰ mg/dL داشته‌اند به مدت ۷ روز نگهداری و سپس گروه‌بندی و وارد مطالعه شدند (۱۹). پس از اطمینان از دیابتیک شدن موش‌های صحرایی وارد مطالعه شدند. از نانوفیبرهای بدون دارو و حاوی دارو به‌عنوان پانسمان جهت بررسی سرعت ترمیم زخم استفاده شد. تعویض پانسمان‌ها به صورت روزانه صورت گرفت.

جهت بررسی اثرات نانوفیبرهای طراحی‌شده در ترمیم زخم، موش‌های صحرایی پس از ایجاد دیابت به ۲ گروه کنترل (درمان با نانوفیبرهای بدون دارو) و گروه تیمار (نانوفیبرهای حاوی دارو)

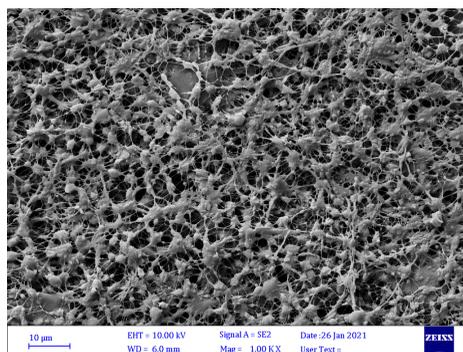
⁴ Fourier-Transform Infrared Spectroscopy(FTIR)

هدایت‌سنجی سیستم و نیز افزایش کشش سطحی آن باشد (۱۹). میانگین قطر نانوفیبرها در فرمولاسیون بدون حضور دارو 82.7 ± 13.4 nm اندازه‌گیری شد. با افزودن دارو به علت تغییر غلظت محلول الکتروریسی، قطر نانوفیبرها به 603.2 ± 48.5 nm افزایش یافت.

داد که افزودن دارو در فرمولاسیون، باعث تغییر مورفولوژی فیبرها می‌شود. فیبرهای حاوی پلیمر خالی نشانگر ساختار رشته‌ای و بدون هرگونه نقص و گویچه می‌باشند با افزودن دارو به فرمولاسیون، قطر فیبرها افزایش یافته و اشکال دوکی در ساختار آن‌ها دیده می‌شوند (شکل ۱). این اثر می‌تواند به علت کاهش



نانوفیبرهای بدون دارو



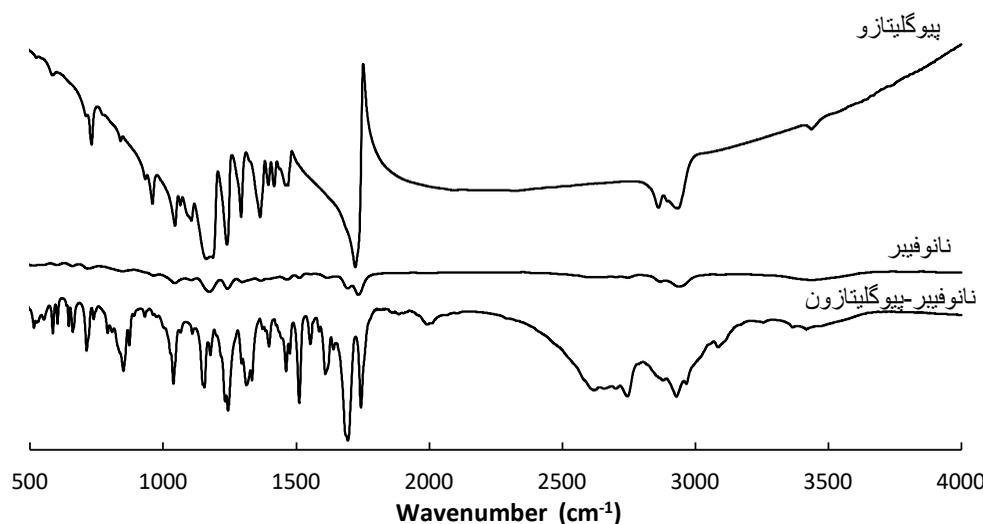
نانوفیبرهای حاوی دارو

شکل (۱): تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی نانوفیبرها

3436 cm^{-1} نشانگر کشش پیوند N-H حلقه لاکتونی دارو است. شکل ۲ نشان می‌دهد که ارتعاشات کششی C=O در داروی پیوگلیتازون و پلیمر که در ناحیه 1600 cm^{-1} الی 1750 cm^{-1} دیده می‌شود در نمونه‌های حاوی دارو و پلیمر کاهش یافته است. همچنین در ناحیه 3436 cm^{-1} شدت پیک‌های مربوطه تقلیل یافته است. این اثر می‌تواند به علت تشکیل پیوندهای هیدروژنی بین دارو و پلیمر باشد (۲۰).

طیف‌سنجی تبدیل فوریه مادون قرمز:

طیف‌سنجی تبدیل فوریه مادون قرمز روشی برای بررسی واکنش‌های احتمالی بین دارو و پلیمر و تغییر در پیوندهای گروه‌های عاملی ترکیبات است. پیک‌های مربوط به گروه عاملی C-H در ناحیه 2929 cm^{-1} و 2743 cm^{-1} است. پیک تیز در ناحیه 1743 cm^{-1} و 1694 cm^{-1} به علت حضور گروه عاملی C=O است. پیک ناحیه



شکل ۲- طیف FTIR نانوفیبر بدون دارو و حاوی دارو

مطالعات حیوانی و ارزیابی سیستم‌های کاشتنی پیوگلیتازون:

پس از القاء دیابت در موش‌های صحرایی، تغییرات وزن آن‌ها در حین مطالعه بررسی شد. تمامی حیوانات به‌جز گروه دیابت افزایش وزن نشان داده‌اند. میزان گلوکز خون قبل از تزریق STZ

طبیعی بود. لیکن میزان گلوکز در گروه دیابت تیپ ۲ بعد از تزریق STZ افزایش نشان داد. گروه تحت درمان با انسولین کاهش قند خون را نشان داد. در گروه تحت درمان با نانوفیبرهای حاوی پیوگلیتازون کاشته شده در زیر پوست تغییر چندانی در گلوکز خون دیده نشد (جدول شماره ۲).

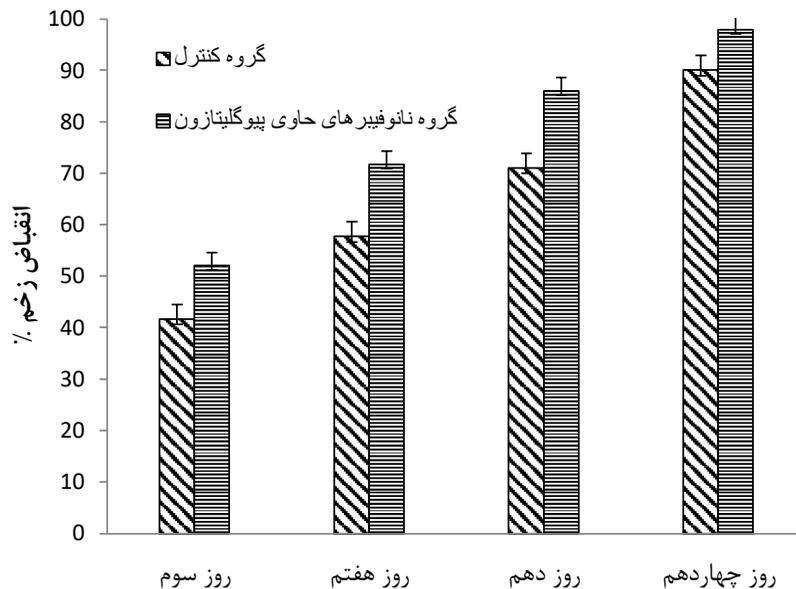
جدول (۲): اندازه‌گیری میزان گلوکز خون ناشتا در موش‌های صحرایی

گروه	هفته چهارم	هفته دوم	هفته اول
کنترل	۵/۲۳ ± ۰/۹	۵/۴۰ ± ۱/۱	۵/۲۰ ± ۰/۸
دیابت تیپ ۲	۲۷/۸۰ ± ۳/۵	۲۶/۰۰ ± ۳/۷	۲۵/۱۲ ± ۴/۶
دیابت تیپ ۲- درمان با انسولین	۷/۶۰ ± ۱/۹	۸/۵۰ ± ۱/۸	۱۰/۰۰ ± ۲/۱
کاشته‌های حاوی پیوگلیتازون	۲۱/۵۰ ± ۱/۶	۲۲/۳۲ ± ۴/۲	۲۳/۴۶ ± ۳/۲

بررسی اثرات نانوفیبرهای حاوی پیوگلیتازون در ترمیم زخم و مطالعات هیستولوژی:

میزان انقباض مساحت زخم در روزهای صفر، ۷، ۱۰ و ۱۴ اندازه‌گیری شد. انقباض و بسته شدن زخم در گروه تحت درمان بیشتر از گروه کنترل بود. دو هفته بعد از جراحی گروه تحت درمان

بهبودی تقریبی یافته است. مقایسه درصد ترمیم زخم در پانسمان‌های حاوی دارو و بدون دارو در نمودار ۱ آورده شده است. گروه دریافت‌کننده دارو افزایشی در سرعت بسته شدن زخم نسبت به گروه کنترل نشان داد لیکن نتایج معنی‌دار نبود ($p \geq 0.05$).



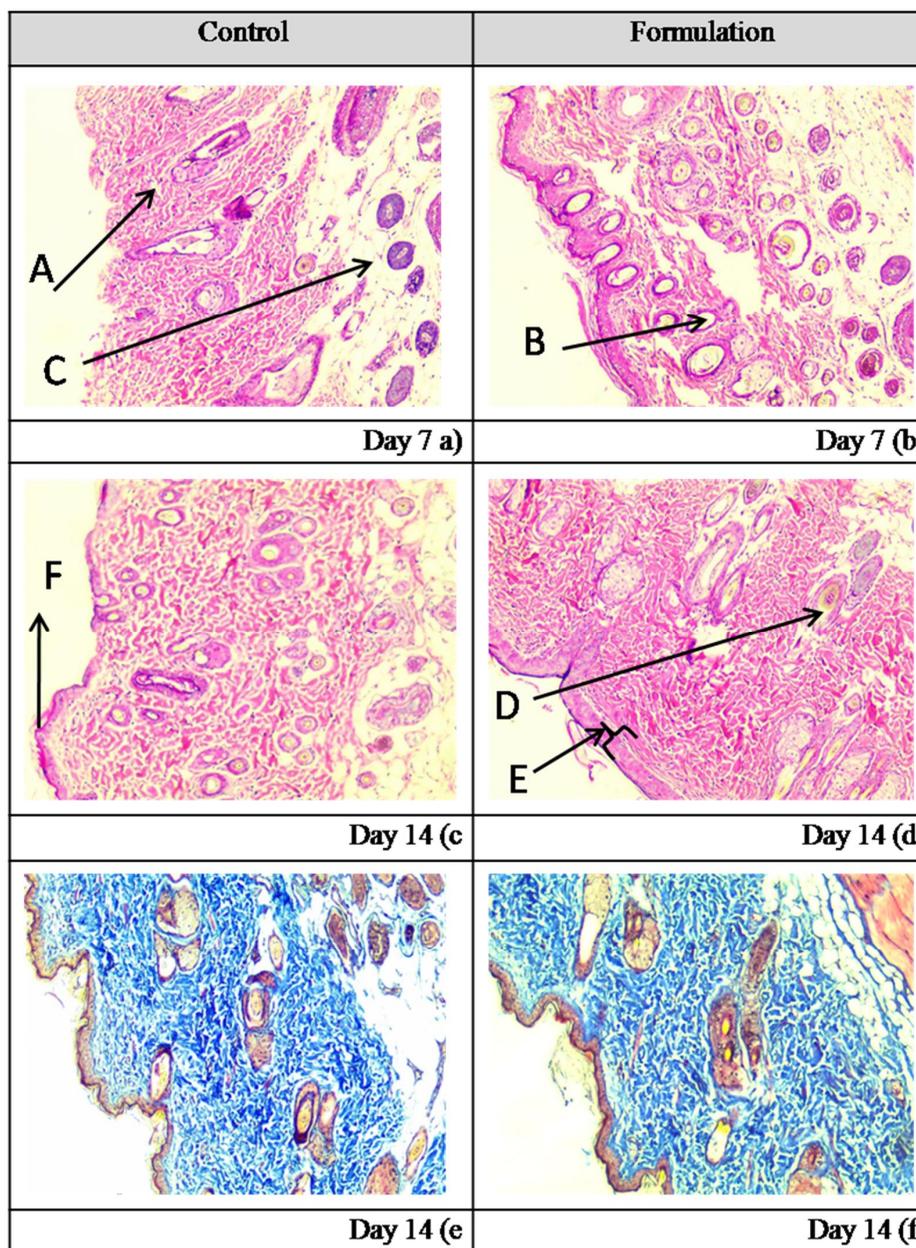
نمودار (۱): درصد ترمیم زخم در پانسمان‌های حاوی دارو و بدون دارو

گرانولاسیون نیز بهبود یافت. همچنین نتایج رنگ‌آمیزی تری کروم نشانگر افزایش تعداد و ضخامت رشته‌های کلاژن در گروه تحت درمان با نانوفیبرهای حاوی پیوگلیتازون بود (شکل ۳). مطالعات

نتایج رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و اتوزین نشان داد که درمان با نانوفیبرهای حاوی پیوگلیتازون باعث کاهش تعداد نوتروفیل‌ها و سلول‌های التهابی شده و اپیتلیزاسیون افزایش یافته و

می‌شود. این دارو همچنین می‌تواند با فعال کردن ژن‌های Pro-resolving و یا با مهار رونویسی ژن‌های پیش التهابی یا هر دو شود (۱۹).

قبلی نشان داده است که پیوگلیتازون اثرات ضدالتهابی بالایی دارد و می‌تواند در محل زخم با مهار ساخت پروتئین‌های مؤثر در التهاب به تسریع بهبود زخم کمک نماید. پیوگلیتازون، توالی‌های خاصی از DNA را به هم متصل می‌کند، که سبب خواص ضدالتهابی آن



شکل (۳): بررسی هیستومورفولوژی ترمیم زخم در روزهای ۷ و ۱۴ ام با رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین با بزرگنمایی (۱۰ X) تصاویر a تا d. همچنین تصاویر e و f نتایج ناشی از رنگ‌آمیزی تری کروم جهت بررسی تشکیل کلاژن‌ها. A: بافت‌های گرانولاسیون و سلول‌های التهابی تک‌هسته‌ای، B: رگ‌زایی، C: فضای سفید نشانگر عدم تشکیل بافت، D: فولیکول مو در مراحل مختلف رشد، E: تشکیل نسبتاً کامل لایه اپیدرم، F: عدم تشکیل لایه اپیدرم

بحث

مطالعات حیوانی و ارزیابی سیستم‌های کاشتنی

پیوگلیتازون: در مطالعه حاضر نانوفیبرهای حاوی پیوگلیتازون تهیه و ارزیابی شدند. از این نانوفیبرهای حاوی دارو هم‌جهت کاهش میزان گلوکز خون پس از استفاده به صورت قرص کاشتنی و هم‌جهت ترمیم زخم در مدل‌های پانسمان پوستی استفاده شد. نتایج این یافته‌ها نشان داد که سیستم‌های کاشتنی حاوی پیوگلیتازون قادر به کاهش میزان گلوکز خون نبوده است. این اثر می‌تواند به علت محدودیت در میزان داروی بارگذاری شده بر روی نانوفیبرها یا به عبارت دیگر ناکافی بودن غلظت دارو باشد. با توجه به عدم کاهش معنی‌دار گلوکز خون در گروه درمان شده، یکی از دلایل احتمالی ممکن است عدم توانایی نانوفیبرها در آزادسازی کافی دارو به جریان خون باشد. به نظر می‌رسد که افزایش غلظت دارو یا استفاده از افزایشنده‌های جذبی می‌تواند باعث بهبود نتایج شود. با توجه به محلولیت آبی بسیار پایین این دارو، امکان بارگذاری مقادیر بیشتر آن در نانوفیبرها میسر نشد. کم بودن غلظت دارو در این سیستم دارورسانی و عدم ایجاد غلظت درمانی پلاسمایی می‌تواند از علل عدم تغییر در میزان گلوکز خون در مدل‌های مورد مطالعه باشد. مشابه این یافته در مقالات قبلی نیز قید شده است (۲۱، ۲۲).

در مطالعه‌ای کارایی پیچ‌های پوستی حاوی پیوگلیتازون به همراه افزایش‌دهنده‌های جذبی جهت ایجاد اثرات کاهش‌دهنده گلوکز خون بررسی شد. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت دارو در فرمولاسیون میزان جذب پوستی دارو در مدل‌های موش‌های صحرایی افزایش نشان داد. همچنین داده‌های فارماکوکینتیک نشانگر افزایش ۲ برابری در مساحت زیر سطح منحنی (AUC) بود. استفاده از افزایش‌دهنده‌های جذبی از جمله پروپیلن گلیکول، توین ۸۰، NMP، اولیک اسید باعث افزایش میزان جذب دارو شد (۲۲).

بررسی اثرات نانوفیبرهای حاوی پیوگلیتازون در ترمیم

زخم: در مطالعه حاضر پانسمان‌های نانوفیبری قادر به تسهیل در بهبود زخم و تکمیل لایه‌های پوستی بودند. نتایج این مطالعه همسو با یافته‌های قبلی است. پانسمان‌های حاوی پیوگلیتازون، مت فورمین و گلی بنگلامید جهت اثرات درمانی در ترمیم زخم در مدل رت بررسی شدند. نتایج نشان داد که در گروهی که ترکیبی از هر سه داروی ضد دیابتی خوراکی استفاده شده بستر مناسبی برای ترمیم زخم ایجاد شد و از روز ۱۴ تشکیل فولیکول‌های مو در این گروه آغاز شد. همچنین، تشکیل لایه‌های اپیدرم و درم و کاهش تعداد سلول‌های التهابی از دیگر تغییرات در این گروه درمانی بود. گروهی که ترکیبی از هر سه دارو را دریافت می‌کردند

به‌عنوان روش مطلوبی برای درمان زخم‌های دیابتی با فراهمی زیستی بالا و عوارض جانبی سیستمیک پایین معرفی شد (۱۹). نانوفیبرها ساختاری مشابه ماتریکس خارج سلولی دارند و برای رشد و مهاجرت فیبروبلاست‌ها و تشکیل بافت‌های پوستی جدید مناسب است. همچنین بافت متخلخل نانوفیبرها مناسب برای تبادل گازها در محل زخم است و کمک به جذب ترشحات زخمی می‌کند. لذا پانسمان‌های نانوفیبری پتانسیل بالایی برای تسهیل در بهبود زخم در انواع مدل‌های پوستی را دارند. (۲۳) هیدروژل هیدروکسی متیل سلولوز حاوی پیوگلیتازون تهیه شد و اثرات درمانی آن در درمان زخم دیابتی در مدل رت بررسی شد. نتایج نشان داد که اثرات ترمیمی این ماده به‌طور چشمگیری باعث ترمیم زخم و تشکیل بافت‌های پوستی می‌شود (۲۴).

نتیجه‌گیری

نانوفیبرهای حاوی پیوگلیتازون تهیه شدند و کارایی آن‌ها به‌عنوان داربستی برای بهبود زخم در مدل رت دیابتی بررسی و مطالعه شدند. نتایج هیستولوژی نشان داد که سرعت بهبود زخم‌های درمان شده با نانوفیبرهای حاوی پیوگلیتازون سریع‌تر از گروه کنترل بود. این فرمولاسیون باعث تسریع در تکامل فیبرهای کلاژن لایه درم پوست شده و به شکل‌گیری لایه‌های اپیدرم و درم پوست کمک می‌کند. همچنین اثرات ضدالتهابی این دارو باعث کاهش سلول‌های التهابی و آدم شد. نانوفیبرهای حاوی پیوگلیتازون اثر قلیل‌توجهی در کاهش گلوکز خون نشان ندادند که می‌تواند به علت محدودیت در میزان داروی بارگذاری شده بر روی نانوفیبرها باشد. برای افزایش کارایی نانوفیبرهای حاوی پیوگلیتازون در کاهش گلوکز خون، تحقیقات آینده باید بر بهینه‌سازی فرمولاسیون‌ها با استفاده از ترکیبات افزایشنده جذب یا افزایش میزان بارگذاری دارو تمرکز کند.

محدودیت‌های مطالعه:

یکی از محدودیت‌های این مطالعه عدم مقایسه سیستم کاشتنی نانوفیبر حاوی پیوگلیتازون با درمان‌های استاندارد کنترل قند خون مانند انسولین یا داروهای خوراکی رایج ضد دیابت بود. اگرچه در این مطالعه، گروه کنترل با انسولین مورد بررسی قرار گرفت، اما مقایسه مستقیم و کامل‌تری بین سیستم کاشتنی پیوگلیتازون و درمان استاندارد صورت نگرفته است.

تشکر و قدردانی:

نویسندگان از حمایت‌های مالی و معنوی معاونت پژوهشی و فناوری و کمیته تحقیقات و دانشجویی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه در انجام این پژوهش سپاسگزاری می‌کنند.

حمایت مالی:

این مطالعه با حمایت مالی معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی ارومیه انجام شده است.

تضاد منافع:

هیچ‌یک از نویسندگان این مطالعه تعارض منافی برای انتشار

این مقاله ندارند.

ملاحظات اخلاقی:

تمامی مراحل آزمایش با تأیید کمیته اخلاق پژوهشی دانشگاه انجام گرفته است و کد اخلاقی مطالعه IR.UMSU.REC.1398.416 است.

References:

- Patil S, Pawar A, Kumar Sahoo S, Effect of additives on the physicochemical and drug release properties of pioglitazone hydrochloride spherical agglomerates. *Trop J Pharm Res* 2012;11(1): 18-27. <https://doi.org/10.4314/tjpr.v11i1.3>
- Strongman H, Korhonen P, Williams R, Bahmanyar S, Hoti F, Christopher S, et al. Pioglitazone and risk of mortality in patients with type-2 diabetes: results from a european multidatabase cohort study. *BMJ Open Diabetes Res Care* 2017; 5(1): e000364. <https://doi.org/10.1136/bmjdr-2016-000364>
- Shah P, Mudaliar S, Pioglitazone: Side effect and safety profile. *Expert Opin Drug Saf* 2010; 9(2): 347-354. <https://doi.org/10.1517/14740331003623218>
- Nair AB, Gupta S, Al-Dhubiab BE, Jacob S, Shinu P, Shah J, et al. Effective therapeutic delivery and Bioavailability enhancement of pioglitazone using drug in adhesive transdermal patch, *Pharmaceutics*, 2019, 11; 359 <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics11070359>
- Jain KK, "Drug Delivery Systems". *Methods Mol Biol* 2008; 437:1-50. https://doi.org/10.1007/978-1-59745-210-6_1
- How TV, Guidoin R, Young S. K, Engineering design of vascular prostheses. proceedings of the institution of mechanical engineers. *J Eng Med* 1992; 206: 61-71. https://doi.org/10.1243/PIME_PROC_1992_206_269_02
- Fathi Azarbayjani A, Avizheh L, Peirouvi T, Diba K, Electrospun wound dressing as a promising tool for the therapeutic delivery of ascorbic acid and caffeine. *Ther Deliv* 2019; 10 (12): 757-767. <https://doi.org/10.4155/tde-2019-0059>
- Sivan M, Madheswaran D, Asadian M, Cools P, Thukkaram M, Van Der Voort P, et al, Plasma treatment effects on bulk properties of polycaprolactone nanofibrous mats fabricated by uncommon ac electrospinning: a comparative study. *Surf Coat Technol* 2020; 399: 126203. <https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2020.126203>
- Garg K, Bowlin GL, Electrospinning Jets and Nanofibrous Structures. *Biomicrofluidics* 2011; 5(1): 013403. <https://doi.org/10.1063/1.3567097>
- Kim KW, Lee KH, Khil MS, Ho YS, Kim HY, Effect of molecular weight and the linear velocity of drum surface on the properties of electrospun poly(ethylene terephthalate) nonwovens. *Fiber Polym* 2004; 5(2): 122-127. <https://doi.org/10.1007/BF02902925>
- Dersch R, Liu T, Schaper AK, Greiner A, Wendorff JH, Electrospun nanofibers: internal structure and intrinsic orientation. *J Polym Sci A Polym Chem* 2003; 41(4): 545-553. <https://doi.org/10.1002/pola.10609>
- Beachley V, Wen X, Effect of electrospinning parameters on the nanofiber diameter and length. *Mater Sci Eng C Biomim Supramol Syst* 2009; 29(3): 663-668. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2008.10.037>
- Leach MK, Feng ZQ, Tuck SJ, Corey JM, Electrospinning fundamentals: optimizing solution and apparatus parameters. *J Vis Exp* 2011; 47(47): e2494. <https://doi.org/10.3791/2494-v>

14. Zamani M, Prabhakaran MP, Ramakrishna S. Advances in drug delivery via electrospun and electrosprayed nanomaterials. *Int J Nanomed* 2013; 8: 2997-3017. <https://doi.org/10.2147/IJN.S43575>
15. Ranade VV, Drug delivery systems, 4.Implants in drug delivery. *J Clin Pharmacol* 1990; 30: 871-889. <https://doi.org/10.1002/j.1552-4604.1990.tb03566.x>
16. Guarino V, Gentile G, Sorrentino L, Ambrosio L, Polycaprolactone: Synthesis, Properties and Applications. *Encycl Polym Sci Technol*. 2017; 1-36. <https://doi.org/10.1002/0471440264.pst658>
17. Nair LS, Laurencin CT, Biodegradable polymers as biomaterials. *Prog Polym Sci* 2007; 32: 762-798. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2007.05.017>
18. Y Murai, T Ohta, H Tadaki, K Miyajima, M Shinohara, F Fatchiyah, et al. Assessment of Pharmacological Responses to an Anti-diabetic Drug in a New Obese Type 2 Diabetic Rat Model, *Med Arch* 2017; 71(6): 380-384. <https://doi.org/10.5455/medarh.2017.71.380-384>
19. Emin Cam M, Yildiz S, Alenezil H, Cesur S, Sinemcan Ozcan G, Erdemir G, et al. Evaluation of burst release and sustained release of pioglitazone-loaded fibrous mats on diabetic wound healing: an in vitro and in vivo comparison study. *J R Soc Interface* 2020; 17(162): 20190712. <https://doi.org/10.1098/rsif.2019.0712>
20. Umesh MB, Upendra CG, Pravin DC, Development of Pioglitazone hydrochloride lipospheres by melt dispersion technique: optimization and evaluation. *J Appl Pharm Sci* 2016; 6(01):107-117. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2016.600118>
21. Uekusa T, Sugano K, Precipitation behavior of Pioglitazone on the particle surface of hydrochloride salt in biorelevant media. *J Pharm Biomed Anal* 2018;161: 45-50. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2018.08.028>
22. Nair AB, Gupta S, Al-Dhubiab BE, Jacob S, Shinu P, Shah J, et al. Effective therapeutic delivery and bioavailability enhancement of pioglitazone using drug in adhesive transdermal patch, *Pharmaceutics* 2019; 11:359 <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics11070359>
23. Gao Z, Wang Q, Yao Q, Zhang P, Application of electrospun nanofiber membrane in the treatment of diabetic wounds. *Pharmaceutics* 2022; 14:6. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14010006>
24. Kamel R, El-batanony, Salama A, Pioglitazone-loaded three-dimensional composite polymeric scaffolds: A proof of concept study in wounded diabetic rats. *Int J Pharm* 2019;570: 118667. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2019.118667>

DEVELOPMENT AND EVALUATION OF NOVEL PIOGLITAZONE DRUG DELIVERY SYSTEM IN DIABETIC WISTAR RAT MODEL

Milad Azemoodeh¹, Alireza Shirpoor², Yousef Rasmi³, Anahita Fathi Azarbayjani^{4*}

Received: 15 June, 2024; Accepted: 23 October, 2024

Abstract

Background & Aims: Diabetes is a metabolic disorder characterized by high blood glucose levels and insulin resistance. Pioglitazone can lower insulin resistance and has anti-inflammatory properties. The aim of this work was to develop pioglitazone-loaded nanofibers and to evaluate their effect as a dermal implant device to lower blood glucose levels. The effect of pioglitazone-loaded nanofiber was investigated as a wound dressing in diabetic Wistar rats.

Materials & Methods: In this work, nanofibers were developed using the electrospinning method. The structure and characteristics of the fibers were evaluated using scanning electron microscopy and Fourier Transform Infrared Spectroscopy. The effect of nanofiber implants was evaluated on blood glucose levels, and their wound healing effect was investigated in diabetic wounds in a Wistar rat model.

Results: The developed formulations did not show any effect in lowering blood glucose when used as an implant; however, they were able to accelerate the wound healing rate when used as a dressing in the wound model. This effect might be due to the anti-inflammatory properties of the drug. The developed wound dressing was able to accelerate the formation of the epidermis and dermis layers in the wound model.

Conclusion: Histological studies indicate that wounds treated with pioglitazone-loaded nanofibers exhibit an anti-inflammatory effect and therefore can increase the wound healing rate. These drug-loaded nanofibers enhanced the development of collagen and improved the formation of the epidermis and dermis while reducing the number of inflammatory cells. The developed drug delivery system was not able to significantly decrease blood glucose levels in the animal model. This effect may be due to the low drug loading capacity as well as its poor aqueous solubility.

Keywords: Nanofiber, Electrospinning, Pioglitazone, Dermal implant, glucose, wound healing, diabetes, anti-inflammatory

Address: School of Pharmacy, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran

Tel: +989039042772

Email: fathi.a@umsu.ac.ir

SOURCE: STUD MED SCI 2024; 35(6): 501 ISSN: 2717-008X

This is an open-access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution-noncommercial 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, as long as the original work is properly cited.

¹ Ph.D student in Pharmacy, Student Research Committee, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran

² Professor, Department of Physiology and Laboratory Animals, Faculty of Medicine, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran

³ Professor, Department of Clinical Biochemistry, Faculty of Medicine, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran

⁴ Associate Professor, Department of Pharmaceutics, Faculty of Pharmacy, Urmia University of Medical Sciences, Iran (Corresponding Author)