

مقاله پژوهشی

مقایسه اثر فنی توئین و عصاره آبی مازو بر ترمیم زخم در موش‌های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار

آرش طواف^۱، مهدیه رئیس زاده^{۲*}، لقمان اکرادی^۳

۱- واحد سنجند، دانشگاه آزاد اسلامی، سنجند، ایران

۲- گروه علوم پایه، واحد سنجند، دانشگاه آزاد اسلامی، سنجند، ایران

۳- گروه علوم پاتوبیولوژی، واحد سنجند، دانشگاه آزاد اسلامی، سنجند، ایران

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۵/۰۸/۰۹

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۵/۰۲/۲۳

چکیده

مقدمه: پوست به سبب حفاظت بدن در برابر کم‌آبی، خون‌ریزی و تهاجم میکروارگانیسم‌ها از اهمیت خاصی برخوردار است. بستر زخم مستعد به عفونت‌های باکتریال شده و احتمال تشکیل اسکارهای بدشکل افزایش می‌یابد؛ بنابراین هدف از این مطالعه بررسی اثرات کرم فنی توئین و عصاره آبی مازو بر روی زخم موش صحرایی نر بود.

مواد و روش‌ها: تعداد ۳۰ سر موش صحرایی نر با وزن ۲۰۰-۱۸۰ گرم به ۵ گروه تصادفی تقسیم شدند. بعد از اعمال زخمی به قطر ۲ سانتی‌متر در ناحیه پشت گردن حیوان با ضخامت (اپیدرم و درم) به ترتیب گروه‌ها با سالیین نرمال (کنترل)، کرم فنی توئین، عصاره آبی مازو با غلظت‌های ۵، ۲۵ و ۵۰ درصد تا روز ۲۱ ترمیم شدند. در روزهای ۳، ۶، ۹، ۱۲، ۱۵، ۱۸ و ۲۱ قطر زخم اندازه‌گیری شد. روز ۲۱ بعد از معدوم کردن انسانی تعدادی از حیوانات از هر گروه، از محل زخم نمونه‌گیری انجام و برای مطالعات هیستوپاتولوژیک آماده شد.

نتایج: درصد بهبودی در گروه عصاره ۵ درصد نسبت به بقیه گروه‌ها بیشتر و این اختلاف با گروه کنترل در روزهای ۳، ۶، ۹ و ۱۸ و با گروه فنی توئین در روزهای ۳ و ۶ معنی‌دار شد ($P < 0.05$). نتایج ماکروسکوپی و میکروسکوپی نشان می‌دهد عصاره ۵ درصد مازو، فنی توئین، سالیین نرمال، عصاره ۲۵ و عصاره ۵۰ درصد مازو به ترتیب بیشترین نقش را در ترمیم زخم در این مطالعه داشتند.

نتیجه‌گیری: با توجه به اثرات آنتی‌اکسیدانی و آنتی میکروبیال می‌توان به اهمیت اثربخشی عصاره ۵ درصد آبی مازو در ترمیم زخم و حتی برتری آن نسبت به فنی توئین رسید.

کلمات کلیدی: عصاره آبی مازو، زخم، فنی توئین، موش صحرایی

مقدمه

گذشته دور پزشکان مصری، یونانی، هندی و اروپایی با توسعه روش‌های مؤثر در پی درمان زخم در کوتاه‌ترین زمان و با کمترین عارضه بوده‌اند (۳).

در طب سنتی نیز تلاش‌های گوناگونی در جهت یافتن دارویی در جهت تسریع در بهبود زخم انجام گرفته است که ازجمله آن می‌توان به استفاده از گزانگبین، اسید آسکوربیک، بابونه، صبر زرد، به دانه و مومیایی در تسریع روند بهبود زخم اشاره نمود (۵-۱۰). اما با توجه به عدم معرفی یک داروی قطعی برای افزایش سرعت ترمیم زخم، مطالعات روی داروهای گیاهی و تأثیر آن بر روند ترمیم زخم هم چنان ادامه دارد.

در بهبودی زخم تعدادی از یاخته‌ها اثر دارند ازجمله فیبروبلاست‌ها، یاخته‌های التهابی و کراتینوسیت‌ها که این یاخته‌ها با یکدیگر همکاری نموده و در یک حالت سازمان‌یافته

زخم به ازهم‌گسیختگی ساختمان ممتد بدنی در نتیجه آسیب حاصله از عوامل فیزیکی - شیمیایی و زیست‌شناختی اطلاق می‌شود (۱). بهبود زخم فرآیندی ترمیمی است که پس از آسیب پوست و بافت‌های نرم صورت می‌گیرد. پس از بروز آسیب، پاسخ التهابی به وجود آمده و سلول‌ها در زیر درم شروع به افزایش تولید کلاژن می‌نمایند و سپس به تدریج بافت اپی تلیال ترمیم می‌شود (۲). با وجود پیشرفت‌های عمده در درمان زخم‌های جراحی، عفونت به‌عنوان یکی از علل قابل‌توجه در مرگ‌ومیر پس از اعمال جراحی باقی‌مانده است (۳). اگرچه از داروها و پمادهای مختلف برای ترمیم زخم استفاده می‌شود ولیکن هرکدام دارای محدودیت‌ها و نواقص فراوان است، از

* نویسنده مسئول: مهدیه رئیس زاده، گروه علوم پایه، واحد سنجند، دانشگاه آزاد اسلامی، سنجند، ایران
Email: vet_mr@yahoo.com



فیروبلاست‌ها شده و به‌این‌ترتیب باعث تسریع در ترمیم می‌شود (۱۹).

با توجه به ترکیبات موجود در گیاه مازو و مطالعات *Invitro* در ارتباط با اثرات آنتی میکروبیال آن، هدف از این مطالعه بررسی اثرات ترمیمی عصاره آبی مازو بر روی زخم باز و مقایسه آن با کرم فنی‌توئین بود.

مواد و روش‌ها

برای تهیه عصاره بعد از خرد نمودن گیاه و توزین، ۵۰ گرم از پودر گیاه در داخل کاغذ صافی پیچیده و در داخل سوکسله انداخته به آن ۱۰۰ میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر اضافه نموده و بعد از ۲-۳ ساعت عصاره آبی گیاه تهیه گردید. سرم فیزیولوژی، عصاره یا کرم با کمک قطعه کوچکی از گاز و پنس استریل به ماده موردنظر بر روی تمام سطح زخم مالیده شد (۱۶).

مطالعه حاضر از نوع مطالعات تجربی بوده که بر روی ۳۰ سر موش صحرایی نر نژاد S.D به وزن ۲۰۰-۱۸۰ گرم، در دمای ۲۲-۲۵ درجه و رطوبت ۵۰ درصد و ۱۲ ساعت سیکل روشنایی با تغذیه یکسان انجام شد. ابتدا با قیچی و تیغ بیستوری شماره ۱۵ محل ایجاد برش (زخم) واقع در پشت حیوان، نزدیک ستون فقرات کاملاً تراشیده و پس از ضدعفونی محل با الکل اتیلیک، عمل بی‌هوشی با استفاده از تزریق مخلوط کتامین ۵۰ mg/kg و زایلازین ۵ mg/kg به‌صورت داخل صفاقی انجام شده و زخم ایجاد گردید. برش طولی به‌اندازه ۲ سانتی‌متر ایجاد نموده و عمق زخم را لایه اپیدرم و درم در نظر گرفته و برداشت شد، با استفاده از قلم روان‌نویس و ورق شفاف، محیط زخم در روز صفر رسم گردیده و با استفاده از کاغذ میلی‌متری یا کولیس، طول زخم در روز اول اندازه‌گیری گردید در ضمن تمام مراحل آزمایش با رعایت اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی و توسط تکنسین متخصص، انجام شد (۲۰).

موش‌ها به پنج دسته به‌طور تصادفی تقسیم‌شده که در هر دسته ۶ سر موش در نظر گرفته شد. گروه اول بعد از ایجاد زخم طولی در ناحیه پشت حیوان سالیان نرمال به‌صورت موضعی بر سطح پوست دریافت کردند. در گروه شاهد مثبت از کرم فنی‌توئین ۱ درصد روزی یک‌بار استفاده شد؛ و در گروه تست از عصاره گیاه مازو (۵، ۲۵ و ۵۰ درصد) دو بار در روز موضعی استفاده شد (۲۰). در روزهای اول، سوم، ششم، نهم، دوازدهم، پانزدهم، هیجدهم و بیست و یکم بعد از عمل طول زخم‌ها بعد

تقسیم سلولی، تمایز سلولی و مهاجرت سلولی را به‌پیش می‌برند و نهایتاً رسوب کلاژن و بافت همبند و عروق زایی را تحریک می‌کنند (۱۱). نارسایی در بهبود زخم حاد و مزمن مشکلاتی را برای سرویس‌های ارائه‌دهنده خدمات بهداشتی درمانی ایجاد کرده است (۱۲).

طی سالیان متمادی داروهای طبیعی اساس و حتی در برخی موارد تنها راه درمان محسوب می‌شدند و مواد موجود در آن‌ها در صنعت داروسازی مورد استفاده قرار می‌گرفت (۱۳). امروزه گرایش مجددی به مصرف گیاهان دارویی به خاطر کم بودن عوارض سوء جانبی، گوناگونی ترکیبات مؤثر موجود در گیاهان، توسعه صنایع وابسته به کشت گیاهان دارویی و خصوصاً پیشنهاد استفاده از گیاهان دارویی توسط سازمان بهداشت جهانی به وجود آمده است (۱۴).

گل‌وله‌های مازو که در برگ‌های جمع شده بلوط درست می‌شوند مصرف دارویی و صنعتی دارند. مازو (*Mazu*) با نام علمی (*Quercus Infectoria galls*, Oliv) دارای خواص مختلف فارماکولوژیکی بوده و برای مواردی از جمله دیابت، اثرات ضدباکتری، ضدقارچ و ویروس، ضدالتهاب و ترمیم زخم به کار می‌رود (۱۵-۱۷). قابض است و در داروهایی که جهت قبض ساخته می‌شوند به کار می‌رود، برای بند آوردن خون به‌صورت موضعی استفاده می‌شود.

این ترکیب دارای ۷۰-۵۰ درصد تانن بوده که شامل گالوتانیک اسید است. هم‌چنین در عصاره آبی آن فلاونوئید، استروئید و کربوهیدرات وجود دارد (۱۶). فعالیت آنتی‌اکسیدانی بسیار عالی این گیاه به علت وجود ترکیبات فنلی و پلی فنولی است و هم‌چنین بر روی ساخت‌وساز استخوان (*Osteoclastogenesis*) با تقویت پرولیفراسیون، تمایز استئوبلاست‌ها و هم‌چنین مینرالیزاسیون تأثیرگذار است (۱۷-۱۵).

فنی‌توئین موضعی در انواع زخم‌ها، مثل زخم‌های پوستی، زخم‌های پای دیابتی، زخم بستر، جذام و بیماری‌های پریودنتال مورد آزمون قرار گرفته است. تمامی این تحقیقات حاکی از اثرات خارق‌العاده این دارو در ترمیم زخم‌ها است (۱۸). مصرف فنی‌توئین موضعی باعث افزایش ماده خارج سلولی و پروتئین بافت همبند، کاهش آنزیم کلاژناز و افزایش تولید کلاژن می‌شود که این اثرات منجر به تسریع در ترمیم می‌شود. هم‌چنین این دارو از طریق افزایش استروژن منجر به افزایش تقسیم

استفاده از برنامه نرم‌افزاری SPSS18 انجام و $P < 0.05$ سطح معنی‌دار تلقی گردید.

نتایج

با توجه به نتایج گرفته‌شده از مطالعه، قطر زخم باگذشت زمان کاهش داشته است. اختلاف قطر زخم در روز سوم، در گروه ترمیم‌شده فنی توئین با عصاره ۵ درصد و ۲۵ درصد معنی‌دار شد. در روز ششم و نهم اختلاف بین گروه عصاره ۵ درصد با گروه فنی توئین، عصاره ۲۵ و ۵۰ درصد معنی‌دار شد. در روزهای دوازدهم، هیجدهم و بیست و یکم اختلاف آماری معنی‌داری بین قطر زخم در گروه‌های مختلف دیده نشد ($P > 0.05$). (جدول ۱)

از بی‌هوش نمودن حیوان با اتر در ساعات معینی از روز توسط فرد محقق اندازه‌گیری شد (۲۰).

جهت تعیین درصد بهبودی زخم، از فرمول زیر استفاده می‌شود:

$$100 \times \frac{\text{طول زخم در روز } x - \text{طول زخم در روز اول}}{\text{طول زخم در روز اول}} = \text{درصد بهبودی}$$

در روز ۲۱ از هر گروه تعدادی حیوان به روش انسانی (اوردوز تیوپنتال سدیم داخل صفاقی) کشته‌شده و نمونه با سرم فیزیولوژیک شسته شد و سپس درون فرمالین ۱۰ درصد جهت تثبیت غوطه‌ور گردید. بعد از انجام تثبیت کامل از نمونه‌ها مقاطع بافتی تهیه شد و با روش (هماتوکسیلین-ائوزین) رنگ‌آمیزی گردید. مطالعات هیستوپاتولوژیک با ارزیابی

جدول ۱- میانگین قطر زخم در روزهای متوالی در گروه‌های مختلف تحت آزمایش

گروه‌ها	قطر زخم Cm	وزن موش (گرم)	قطر زخم در روز ۳	قطر زخم در روز ۶	قطر زخم در روز ۹	قطر زخم در روز ۱۲	قطر زخم در روز ۱۸	قطر زخم در روز ۲۱
GC	۲۳۲/۳±۸۳/۸۷ ^c	۱/۰±۶/۰۳ ^{d,e}	۱/۰±۳/۰۶ ^b	۱/۰±۱۳/۰۸ ^b	۰/۰±۸۶/۱۳ ^c	۰/۰±۸/۱۳ ^b	۰/۰±۳۶/۰۴ ^c	۰/۰±۳۶/۰۴ ^c
TF	۲۳۵/۳±۶۶/۷۴ ^a	۱/۰±۶/۰۶ ^{a,b}	۱/۰±۲۶/۰۲ ^a	۰/۰±۹۳/۰۲ ^a	۰/۰±۷۳/۰۸ ^b	۰/۰±۴۶/۰۴ ^a	۰/۰±۱۶/۱ ^a	۰/۰±۱۶/۱ ^a
T 5%	۲۴۰/۸±۳۳/۴۲ ^b	۱/۰±۴/۰۳ ^{a,d}	۱/۰±۰۶/۰۴ ^{a,b,c,d}	۰/۰±۸۳/۰۵ ^{b,c,d}	۰/۰±۶/۰۳ ^a	۰/۰±۳۶/۰۴ ^b	۰/۰±۲۳/۰۲ ^b	۰/۰±۲۳/۰۲ ^b
T 25%	۲۳۰/۵±۶۶/۸۴ ^d	۱/۰±۴/۰۳ ^{b,e}	۱/۰±۳/۰۳ ^c	۱/۰±۱۶/۰۵ ^c	۰/۰±۸۶/۰۴ ^d	۰/۰±۶۶/۱ ^c	۰/۰±۴۳/۰۸ ^d	۰/۰±۴۳/۰۸ ^d
T 50%	۳±۲۳۴/۳۴ ^e	۱/۰±۴۳/۰۲ ^c	۱/۰±۴۳/۰۲ ^d	۱/۰±۳۶/۰۷ ^{a,d}	۰±۱/۱۲ ^a	۰/۰±۶۶/۱ ^d	۰/۰±۴۳/۰۵ ^e	۰/۰±۴۳/۰۵ ^e

حروف لاتین مشابه در هر ستون نشان بر اختلاف آماری معنی‌دار ($P < 0.05$) بین گروه‌ها است

GC: گروه کنترل منفی تیمار زخم با سرم فیزیولوژی، TF: گروه کنترل مثبت تیمار زخم با کرم فنی توئین ۱ درصد
T5%: گروه آزمایش تیمار زخم با عصاره آبی ۵ درصد مازو، T25%: گروه آزمایش تیمار زخم با عصاره آبی ۲۵ درصد مازو
T50%: گروه آزمایش تیمار زخم با عصاره آبی ۵۰ درصد مازو

درصد بهبودی در روزهای مختلف در گروه‌های کنترل منفی، عصاره ۵ درصد، ۲۵ درصد و ۵۰ درصد با تست آماری آنالیز واریانس و تکمیلی توکی مورد بررسی قرار گرفته و اختلاف آماری معنی‌دار ($p < 0.05$) بین گروه‌ها مشخص شد. درصد بهبودی زخم در روز سوم ترمیم در گروه کنترل منفی ۲۲ درصد، عصاره ۵٪ برابر با ۳۰ درصد، عصاره ۲۵٪ برابر ۲۴ درصد و ۵۰٪ حدود ۲۶ درصد شد. این اختلاف بین گروه کنترل و ۵۰ درصد عصاره معنی‌دار بود.

پارامترهایی مانند آماس بافتی-میزان اپی تلیزاسیون-تشکیل بافت گرانوله و پرخونی ناحیه درم مورد ارزیابی قرار گرفته بر اساس میزان پیشرفت در ترمیم به درجات سوم، دوم و اول تقسیم‌بندی شد (۱۸).

داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف استاندارد و درصد نشان داده‌شده و میانگین آن در گروه‌های تیمار و کنترل با یکدیگر مقایسه گردید. به منظور مقایسه میانگین‌ها، از آزمون One-way ANOVA و Tukey استفاده شد. سنجش آماری داده‌ها با

بیشتر از گروه کنترل منفی است. این اختلاف در روزهای ۳، ۶، ۹ و ۱۸ ترمیم، از نظر آماری معنی‌دار شد ($P < 0.05$). در بررسی اختلاف آماری بین گروه‌های آزمایش پماد فنی‌توئین ۱ درصد به‌عنوان شاهد مثبت، عصاره ۵، ۲۵ و ۵۰ درصد پرداخته شد. در روز سوم درصد بهبودی در گروه فنی‌توئین حدود ۱۸ درصد و در گروه‌های ترمیم‌شده با عصاره ۵، ۲۵ و ۵۰ درصد به ترتیب ۳۰، ۲۴ و ۲۶ درصد به دست آمد. علاوه بر بیشتر بودن درصد بهبودی در گروه عصاره ۵ درصد نسبت به فنی‌توئین این اختلاف نیز از نظر آماری معنی‌دار شد. در روز ششم درصد بهبودی فنی‌توئین برابر با ۳۰ درصد و گروه‌های عصاره ۵، ۲۵ و ۵۰ درصد به ترتیب ۴۶، ۲۹ و ۲۶ درصد به دست آمد.

در روز نهم درصد بهبودی در گروه داروی فنی‌توئین برابر با ۵۲ درصد و عصاره ۵٪ حدود ۵۸ درصد، عصاره ۲۵٪ حدود ۳۴ درصد و عصاره ۵۰٪ برابر با ۳۰ درصد حاصل شد. در روز دوازدهم ترمیم درصد بهبودی در گروه فنی‌توئین، عصاره ۵، ۲۵ و ۵۰ درصد به ترتیب ۶۲، ۷۰، ۵۴ و ۴۹ درصد محاسبه شد. در روز هیجدهم ترمیم درصد بهبودی در گروه‌های فنی‌توئین و عصاره‌های ۵، ۲۵ و ۵۰ درصد به ترتیب ۷۶، ۸۱، ۶۵ و ۶۶

در روز ششم ترمیم گروه کنترل حدود ۳۷ درصد، عصاره ۵٪ حدود ۴۶ درصد، عصاره ۲۵٪ حدود ۲۹ درصد و عصاره ۵۰٪ برابر ۲۶ درصد میزان بهبودی را نشان دادند که بیشترین درصد را گروه ۵ درصد نشان داده و این اختلاف با کنترل منفی، عصاره ۲۵ و ۵۰ درصد معنی‌دار شد. در روز نهم گروه کنترل منفی ۴۵ درصد، گروه آزمایش ۵٪ برابر با ۵۸ درصد، گروه آزمایش ۲۵٪ برابر ۳۴ درصد و گروه آزمایش ۵۰٪ حدود ۳۰ درصد را نشان می‌دهد. با توجه به اطلاعات روز نهم کمترین درصد بهبودی در ارتباط با عصاره ۵۰ درصد و بیشترین مربوط به عصاره ۵ درصد است.

در روز دوازدهم درصد بهبودی در گروه کنترل منفی برابر با ۵۸ درصد، گروه عصاره ۵٪ برابر با ۷۰ درصد و گروه عصاره ۲۵٪ برابر ۵۴ و عصاره ۵۰٪ برابر با ۴۹ درصد شد. در روز هیجدهم درصد بهبودی در گروه کنترل ۶۱ درصد و گروه‌های عصاره ۵، ۲۵ و ۵۰ درصد به ترتیب ۸۱، ۶۵ و ۶۶ درصد به دست آمد. در روز ۲۱ ترمیم گروه کنترل ۸۲ درصد و گروه عصاره ۵، ۲۵ و ۵۰ درصد به ترتیب ۹۱، ۷۷ و ۷۷ درصد را نشان داد به‌صورتی که عصاره ۲۵ و ۵۰ درصد در روزهای ششم، نهم، دوازدهم و بیست و یکم درصد بهبودی کمتری را نسبت به

جدول ۲- مقایسه درصد بهبودی گروه‌های فنی‌توئین و عصاره ۵، ۲۵ و ۵۰ درصد در زخم‌های موش‌های صحرایی

درصد بهبودی گروه‌ها	وزن موش (گرم)	درصد بهبودی زخم در روز ۳	درصد بهبودی زخم در روز ۶	درصد بهبودی زخم در روز ۹	درصد بهبودی زخم در روز ۱۲	درصد بهبودی زخم در روز ۱۸	درصد بهبودی زخم در روز ۲۱
TF	۲۳۵/۳±۶۶/۷۴ ^a	۱۸/۲±۷۶/۳۸ ^a	۳۰/۰±۵/۳۱ ^a	۵۲/۰±۵۳/۹۱ ^{a,b}	۶۲/۴±۸/۰۵ ^a	۷۶/۲±۳/۰ ^a	۹۱/۵±۶۶/۲۷ ^a
T 5%	۲۴۰/۸±۳۳/۴۲ ^b	۱±۳۰/۸۲ ^a	۴۶/۲±۶۶/۱ ^{a,b,c}	۵۸/۲±۳۳/۷ ^{c,d}	۱±۷۰/۸۲ ^{b,c}	۸۱/۲±۶۶/۱ ^{b,c}	۹۱/۲±۳۳/۵۹ ^b
T 25%	۲۳۰/۵±۶۶/۸۴ ^c	۲۴/۲±۲/۲۷ ^b	۲۹/۲±۵/۱ ^b	۳۴/۱±۸/۹۳ ^{a,c}	۵۴/۱±۰/۹۳ ^b	۶۵/۴±۰/۸۳ ^b	۷۷/۳±۴۳/۹۶ ^c
T 50%	۳±۲۳۴/۳۴ ^d	۲۶/۱±۲/۲۲ ^c	۲۶/۱±۲/۲۲ ^c	۳۰/۳±۳۳/۶۵ ^{b,d}	۴۹/۶±۲۶/۱ ^c	۶۶/۵±۲/۱۲ ^c	۷۷/۲±۹۶/۷۵ ^d

حروف مشابه لاتین در هر ستون جدول اختلاف آماری معنی‌دار بین گروه‌ها را نشان می‌دهد.

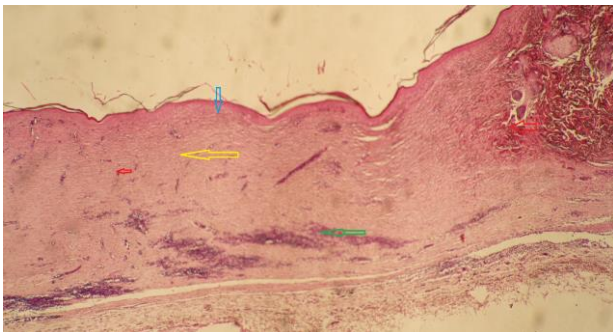
TF: گروه کنترل منفی تیمار زخم با کرم فنی‌توئین ۱ درصد، T5%: گروه آزمایش تیمار زخم با عصاره آبی ۵ درصد مازو
T25%: گروه آزمایش تیمار زخم با عصاره آبی ۲۵ درصد مازو، T50%: گروه آزمایش تیمار زخم با عصاره آبی ۵۰ درصد مازو

درصد شد. در روز آخر دوره‌ترمیم درصد بهبودی گروه دارویی فنی‌توئین حدود ۹۱ درصد و عصاره‌ها با غلظت ۵، ۲۵ و ۵۰ درصد به ترتیب ۹۱، ۷۷ و ۷۶ درصد شد. درصد بهبودی

کنترل منفی داشته و در تمام‌روزها نسبت به گروه عصاره ۵ درصد کاهش بهبودی را نشان می‌دهند. در تمام‌روزهای دوره‌ترمیم درصد بهبودی در گروه‌های عصاره ۲۵ و ۵۰ درصد کمتر از گروه کنترل و در مورد ۵ درصد عصاره درصد بهبودی

گروه فنی توئین ۱ درصد: لبه زخم به هم رسیده (مارکر آبی)، پرخونی (مارکر قرمز) دیده می‌شود، بافت گرانوله کم (مارکر زرد) و سلول‌های التهابی کمی (مارکر سبز) هم دیده می‌شود (تصویر ۲).

گروه کنترل (GC): لبه به هم نزدیک شده (مارکر آبی) است، پرخونی شدید (مارکر قرمز) و سلول‌های التهابی زیاد (مارکر سبز) دیده می‌شود. بافت گرانوله به میزان زیاد (مارکر زرد) دیده می‌شود (تصویر ۳).



تصویر ۳- بررسی هیستوپاتولوژیک زخم در گروه کنترل

بحث

نگه‌داشتن یکپارچگی پوست در انسان و حیوانات از اهمیت خاصی برخوردار است؛ زیرا آن‌ها را در برابر کم‌آبی، خون‌ریزی و تهاجم میکروارگانیسم‌ها محافظت می‌کند (۲۱). به از بین رفتن اپیدرم و درم زخم اطلاق می‌شود. روند التیام زخم با تجمع و دگرانی‌شدن پلاکتی و تشکیل پلاک فیبرین شروع می‌شود، سپس در فاز التهابی، لکوسیت‌های چندهسته‌ای و ماکروفاژها به بستر زخم کشیده می‌شوند و سیتوکاین و فاکتورهای رشد را ترشح کرده، فیبروبلاست‌ها و عروق خونی از درم اطراف سبب تشکیل بافت گرانوله می‌شوند و در نهایت تکثیر سلول‌های اپیدرم به سمت لبه زخم تا رسیدن آن‌ها به بافت گرانوله سبب بسته شدن زخم می‌شود (۱۳، ۱۴) عوامل موضعی و عمومی متعددی از جمله سن (۱۳، ۲۲)، مصرف داروها (۲۱ و ۱۳)، وضعیت تغذیه، گردش خون، هیپوکسی بافتی، به کار بردن ترکیبات موضعی و پانسمان زخم بر روند طولانی شدن التیام زخم مؤثر است (۱۵، ۲۲).

ترمیم، بستر زخم مستعد به عفونت‌های باکتریال شده و احتمال تشکیل اسکارهای بدشکل افزایش می‌یابد، در نتیجه مشکلات جسمی، روحی و روانی زیادی بر بیمار تحمیل می‌گردد؛ لذا امروزه استفاده از عواملی که سبب کاهش زمان

گروه فنی توئین نسبت به گروه عصاره ۵ درصد در کل دوره ترمیم به جز روز ۲۱ کمتر بوده و این اختلاف در روزهای سوم و ششم

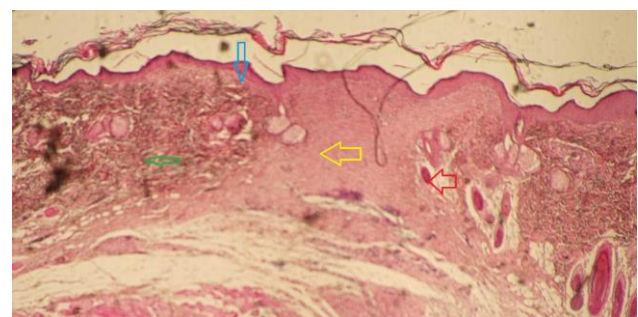


تصویر ۱- بررسی هیستوپاتولوژیک زخم در گروه عصاره ۵ درصد مازو

معنی‌دار است ($P < 0.05$) اما در ارتباط با گروه‌های عصاره ۲۵ و ۵۰ درصد، میزان بهبودی کمتر از گروه فنی توئین بوده و در روزهای نهم و هیجدهم اختلاف معنی‌دار است (جدول ۲).

در روز ۲۱ از هر گروه تعدادی موش با اوردوز تیوپنتال داخل صفاقی کشته و از محل زخم و بافت اطراف آن نمونه‌گیری انجام شد. بعد از انجام مراحل مختلف فیکس، آبگیری و رنگ‌آمیزی هماتوکسین و اتوزین، روند هیستوپاتولوژی ترمیم و بهبود زخم بریدگی در گروه‌های مختلف، بر اساس میزان بازسازی بافت پوششی، تشکیل بافت گرانوله، حضور سلول‌های التهابی با رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-اتوزین بزرگنمایی $10\times$ مورد ارزیابی قرار گرفت.

گروه عصاره ۵ درصد مازو: لبه‌ها به هم رسیده (اپیتلیزاسیون کامل شده است) مارکر آبی. پرخونی بسیار کم (مارکر قرمز) و سلول‌های التهابی نیز در سطح بسیار کم (مارکر سبز) دیده می‌شود. بافت جوانه به میزان کم تشکیل شده (مارکر زرد) به صورتی که زخم بیشترین سطح ترمیم را در مقایسه با گروه‌های دیگر نشان می‌دهد (تصویر ۱).



تصویر ۲- بررسی هیستوپاتولوژیک زخم در گروه فنی توئین ۱ درصد



بهبودی زخم می‌شوند، توجه محققان پزشکی را به خود جلب کرده است.

هدف از این مطالعه بررسی اثرات ترمیمی عصاره آبی مازو بر روی زخم باز و مقایسه آن با کرم فنی‌توئین بود. طی نتایج به‌دست‌آمده فنی‌توئین و عصاره مازو در غلظت ۵ درصد اثرات مثبتی در کاهش قطر زخم و درصد بهبودی آن داشتند؛ اما غلظت‌های بالاتر از مازو (۲۵ و ۵۰ درصد) در ترمیم زخم نه‌تنها اثرات مثبت نداشته بلکه به‌نوعی در روند ترمیم نسبت به گروه کنترل نیز کاهش یافته است.

در مطالعه‌ای که توسط Albsoul-Younes و همکاران در خصوص بررسی اثرات ترمیمی فنی‌توئین انجام شد فاکتورهایی از جمله حضور بافت گرانوله، کاهش اندازه زخم و زمان لازم بررسی شدند و نتایج به‌دست‌آمده نشان داد که استفاده از فنی‌توئین موجب تسریع در التیام زخم می‌شود (۲۳).

تاکنون مطالعات متعددی به‌منظور کشف نحوه اثر داروی فنی‌توئین در ترمیم انواع زخم‌ها انجام گرفته است. افزایش آنژیوژنز و به وجود آمدن قدرت تحمل کشش بیشتر در روند التیام زخم از جمله اثرات فنی‌توئین است (۲۳، ۲۴). در مطالعه Chan و همکاران که بر روی موش‌های صحرایی دیابتیک انجام شد سرعت التیام زخم در گروه درمان شده با فنی‌توئین موضعی نسبت به گروه کنترل (نرمال سالین) سریع‌تر بود (۲۵).

پژوهشگران نتیجه گرفتند که استفاده از فنی‌توئین سدیم باعث کاهش التهاب، افزایش عروق، ساخت کلاژن و افزایش سرعت ترمیم در گروه فنی‌توئین نسبت به گروه کنترل و وازلین شده بود (۲۶). فنی‌توئین موضعی علاوه بر داشتن خاصیت تسریع ترمیم و ضدالتهابی، با تعدیل pH و افزایش گردش خون زخم دارای اثرات آنتی‌باکتریال نیز است (۲۷).

Subbanna و همکاران در مطالعه خود اعلام نمودند که جذب سیستمیک فنی‌توئین ناچیز بوده و محلول فنی‌توئین در پانسمان زخم ایمن و بی‌خطر به نظر می‌رسید، اما بررسی روند التیام زخم نسبت به نرمال سالین نشان از تأثیر اندک آن داشت که از نظر آماری اختلاف موجود معنی‌دار نبود (۲۸). مطالعه اخیر در ارتباط با اثربخشی فنی‌توئین و سالین نرمال تا حدودی با مطالعه سوبانا و همکاران هم‌راستا بود.

در مطالعه اخیر نیز درصد بهبودی در گروه موش‌های صحرایی نسبت به گروه کنترل منفی در روزهای ۹، ۱۲، ۱۸ و ۲۱ بیشتر بوده اما اختلاف معنی‌دار نیست به صورتی که می‌توان

گفت تأثیر بهبودی اندکی را در روند ترمیم زخم نشان می‌دهد. اما در ارتباط با عصاره مازو ۵ درصد و گروه کنترل علاوه بر افزایش درصد بهبودی در کل دوره ترمیم نسبت به کنترل در روزهای ۳، ۶، ۹ و ۱۸ اختلاف به‌صورت معنی‌دار بود. همچنین درصد بهبودی عصاره ۵ درصد مازو نسبت به گروه فنی‌توئین علاوه بر افزایش در کل دوره ترمیم در روزهای ۳ و ۶ دارای اختلاف معنی‌داری شد؛ بنابراین عصاره ۵ درصد مازو در ترمیم زخم بریدگی در این مطالعه نسبت به فنی‌توئین و کنترل برتری درمان را نشان می‌دهد.

عصاره مازو Quercus Infectoria Galls دارای اثرات فارماکولوژیک از جمله اثرات آنتی‌باکتریال، ضدقارچ، لاروکش، ضد دیابت، بی‌حسی موضعی، اثرات ضد ویروسی و ضد التهابی دارد. اثرات ضد التهابی آن به سبب مهار واسطه‌های التهاب اینترلوکین ۶ (IL-6) و پروستاگلندین (PGE) است. حدود ۵۰-۷۰ درصد تانن و مقدار کمی هم گالیک اسید و الاجیک اسید است (۱۵-۱۷).

از آنجاکه تانن‌ها گروهی از پلی‌فنل‌ها هستند و می‌توانند با پروتئین‌ها، آلکالوئیدها و یا ژلاتین کمپلکس‌های نامحلول در آب تشکیل داده و به‌عنوان یک لایه ضد آب بر روی غشاهای مخاطی عمل کنند. اثرات ضد میکروبی، ضد قارچی و ضد رادیکال‌های آزاد از آن‌ها گزارش شده است. در درمان زخم‌ها، سوختگی‌ها و التهاب‌ها با تشکیل یک لایه محافظ (تانن - پروتئین) (تانن - پلی ساکارید) کمپلکسی تشکیل داده و از آسیب بیشتر بافت اپیتلیال جلوگیری می‌کنند و در مراحل ترمیم زخم هم به‌طور طبیعی کمک می‌نمایند (۲۹).

بنابراین به نظر می‌رسد با توجه به تأثیر عصاره آبی ۵ درصد مازو در اکثر مسیرهای ترمیم زخم و افزایش بافت کلاژن لایه درم پوست، بر تکثیر و فعالیت فیبروبلاست‌ها اثر گذاشته و می‌تواند ساخت فیبرهای کلاژن و بیوسنتز اسیدهای نوکلئیک و پروتئین‌سازی را افزایش داده و سبب ترمیم می‌گردد. افسانا و همکاران در سال ۲۰۰۴ در مطالعه‌ای اعلام کردند که در غلظت‌های بالای اسید تانیک و یا طولانی استفاده نمودن آن می‌تواند سبب کاهش جذب آهن و سایر عناصر معدنی دیگر شود (۳۰).

از طرف دیگر اگرچه فلاونوئیدها در غلظت پایین به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی عمل می‌کنند ولی نشان داده‌شده است که غلظت بالای فلاونوئیدها سبب ایجاد رادیکال‌های آزاد و

همچنین در تکمیل نتایج ماکروسکوپی، با کمک نمونه‌های هیستوپاتولوژیک زخم‌های ترمیم‌شده در روز ۲۱ بر اساس ترمیم بافت اپیدرم، تشکیل بافت گرانوله پیشرفت روند ترمیم می‌توان به اثربخش بودن عصاره ۵ درصد مازو در مقایسه با گروه کنترل و فنی تئوین اشاره نمود.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج این تحقیق می‌توان به اثربخشی عصاره ۵ درصد مازو در مقایسه با فنی تئوین در ترمیم زخم باز اشاره نمود. پتانسیل‌های بالای گیاه در راستای اثرات آنتی میکروبیال، ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی می‌توان به تحقیق بر روی این گیاه و استخراج مواد مؤثره و ساخت اشکال دارویی جایگزین در ترمیم زخم‌ها امیدوار بود. با توجه به عوارض جانبی و مقاومت‌های سویه‌های باکتری‌ها نسبت به داروهای شیمیایی و عفونت‌های ثانویه زخم‌ها استفاده از پتانسیل‌های گیاه مازو در ترمیم و کنترل عفونت زخم می‌تواند اثرات مطلوبی را در آینده به دنبال داشته باشد.

تشکر و قدردانی

این مقاله بخشی از پایان‌نامه دکتری عمومی دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنندج بوده که با حمایت دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنندج انجام شد.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ گونه تعارض منافی را اعلام نکرده‌اند.

آپوتوز سلولی می‌گردند (۳۱) رادیکال‌های آزاد سبب پراکسیداسیون لیپیدی شده که منجر به آسیب غشای سلولی، تغییر فشار اسمزی و تورم سلولی شده و در نهایت مرگ سلولی رخ می‌دهد. علاوه بر این رادیکال‌های آزاد واسطه‌های التهابی را جذب نموده، سبب ایجاد واکنش التهابی و آسیب بافتی می‌شوند (۳۲ و ۳۳).

در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۷ برای ترمیم زخم انجام پذیرفت غلظت‌های ۲ و ۴ درصد عصاره مازو را به عنوان ترمیم بخشی بر روی زخم موش صحرایی گزارش شد (۳۴). این مطالعه هم‌راستا با نتایج مطالعه گودهری و همکاران در خصوص اثربخشی غلظت‌های پایین عصاره مازو بود.

در این مطالعه درصد بهبودی در عصاره ۵ درصد در تمام روزهای ترمیم بالاتر از عصاره ۲۵ و ۵۰ درصد بوده و در مجموع اختلاف آماری در روزهای ۶، ۹، ۱۲، ۱۸ و ۲۱ معنی‌دار شد. همچنین کمترین درصد بهبودی در غلظت ۵۰ درصد و بیشترین ۵ درصد بود به گونه‌ای که افزایش غلظت عصاره مازو (۲۵ و ۵۰ درصد) اثرات کاهنده و بازدارنده‌ای را با کاهش درصد بهبودی در زخم‌ها نشان می‌دهد که این مسئله با توجه به غلظت بالای تانن در عصاره‌های غلیظ‌تر می‌تواند سبب سیتوتوکسیسیتی شده و در نتیجه روند ترمیم را به تعویق اندازد (۳۱، ۳۴). همچنین غلظت‌های بالای عصاره آبی مازو (۲۵ و ۵۰ درصد) به علت داشتن تانن بالا و با مهار عملکرد آنتی‌اکسیدان‌های درون‌زا و افزایش رادیکال‌های آزاد و مرگ سلولی به سبب افزایش ترکیبات فلاوونوئیدی (۳۱) می‌تواند دارای اثرات منفی بر رشد، تعداد فیبروبلاست‌ها و رشته‌های کلاژن و به تبع سبب تعویق مسیر ترمیم شود.

References

1. Johnston DE. Wound healing in skin, plastic and reconstructive surgery. Vet Clinic North Am, 1990;20(1):1-45.
2. Souba WW, Wilmore D. Diet and nutrition in case of the patient with surgery. 9th ed. Baltimore: Williams and Wilkins Press; 1999:1589-1618.
3. Townsend CM. Sabiston textbook of surgery. 16th ed. New York: Oxford University Press; 2001:85-91.
4. Amin Gh. Introduce some of the most common herbs in Iran, Tehran, Secretariat of the International Congress of History of Medicine in Islam and Iran, 1993; p. 16. [in Persian]
5. Zareian P, Zahiri SH, Ketabchi F, Ruzmeh SH. Effect of local Tamarix monnifera on skin wound healing process in rabbit. J Mazand Univ Med Sci. 2007;17(57):48-57. [in Persian]



6. Khaksari M, Mardani M, Rezaei Zadeh AR. The effect of dietary ascorbic acid on wound heading chronic diabetic rats. *J Babol Univ Med Sci*. 2005;8(2):12-21.[in Persian]
7. Jarrahi M, Emami Abarghuee M. Effect of Hydro-Alcoholic extract of *Matricaria chamomilla* L on burned wound healing in rat. *Journal Gorgan of University of Medical Sciences*. 2008;10(۲):22-26. [in Persian]
8. Jarrahi M, Zahedi M, Ajorlu M. Effect of *Aloe barbadensis* Miller on skin wound healing in rat. *Journal Gorgan of University of Medical Sciences*. 2009;11(۵):13-17. [in Persian]
9. Mousavi ZB, Meshki M, Rafiei R, Hemmati A, Saleh Veissi M. Evaluation of the efficacy of Quince mucilage on wound healing. *Iranian Journal of Dermatology*. 2006;9(۲۲):260-263. [in Persian]
10. Tavakoli M, Khaksari Haddad M, Assar SH. Comparison of topical application of Mummify and Phenytoin cream on skin wound healing in rat. *Journal of Babol University of Medical Sciences*. 2003;5(۲):7-13. [in Persian]
11. Adzik NS. Wound healing, In: D.C. Sabiston and H.K. Iyertu (Eds), *Text book of surgery, The biological basis of modern surgical practice*. 5th ed. New York: W.B. Saunders Co; 1997, 207-20.
12. Ashcroft GS, Wild TG, Horan MA, Wahl SM, Ferguson MWJ. Topical estrogen accelerates cutaneous wound healing in aged humans associated with an altered inflammatory response. *Am J Pathol*, 1944; 155(۲): 1137-46.
13. Akhtari A, Poorfakharan M, Fereshteh Nejad M. *Principles of surgery* [Translated book]. 1th ed. Tehran: Eshraghie publishing; 2008, 252-75.[in Persian]
14. Shariat A, Namadi Vosogh M, Movahed Poor M. *Text book of medical surgical nursing* [Translated book]. 2th ed. Tehran: Salemi publishing; 2008, 145-6.[in Persian]
15. Kaur G, Hamid H, Alam MS, Athar M. Anti-inflammatory evaluation of alcoholic extract of galls of *Quercus infectoria*, *J Ethnopharmacol*, 2008; 90(2-3): 285-292.[in Persian]
16. Kaur G, Athar M, Alam MS. *Quercus infectoria* galls possess antioxidant activity and abrogates oxidative stress-induced functional alterations in murine macrophages. *Chem Biol Interact*. 2008; 171(3):272-282.[in Persian]
17. Aivazi A.A and Vijayan V.A. Larvicidal activity of oak *Quercus infectoria* Oliv. (Fagaceae) gall extracts against *Anopheles stephensi* Liston, *Parasitol Res*, 2009; 104(6): 1289-1293.
18. Shaw J, Hughes CM, Lagan KM, Bell PM. The clinical effect of topical phenytoin wound healing. *British J Dermatol*, 2007; 157(5): 997-1004.
19. Ghapanshi J, Haghighi F, Dehpour GH. Effect wound healing in operation in gigivictomy. *J Denticits of Shiraz*, 1998; 1(1): 31-5. [in Persian]
20. Alizadeh AM, Alizadeh A, Mohagheghi M, Khaniki M, Saeedpour K, Khalilvand D, et al. Evaluate the effect of aluminum hydroxide on skin wound healing in rats. *Journal of Medical Sciences*, 2006; 14(56): 117-123.
21. Simpson NB, Gunliff WJ. Rook S. *Text book of dermatology*. 7th ed. New York: Oxford Blackwell Science; 2004, 11-38.
22. Hekmatpoo D. *Principles of wound care*. 1th ed. Arak: Arak University of Medical Sciences; 2000, 34-44.[in Persian]
23. Albsoul-Younes A, Younes NA, Badran DH. Topical phenytoin ointment increases autograft acceptance in rats. *Saudi Med J*. 2006; 27(7): 962-6.
24. Mehrvarz Sh, Tahmasebi MH, Asgari AR. Effect of phenytoin powder on open wound healing process in rat skin. *Kowsar Medical Journal*. 1998; 3(3): 177-82. [in Persian].
25. Chan FC, Kennedy C, Hanson RP, O'Sullivan B, Kelly J, Bouchier-Hayes D. Topical phenytoin can improve healing in a diabetic incision animal wound model. *J Wound Care*. 2007; 16(8): 359-63.
26. Riahi S, Mofid M, Imani H, Asgari A, Ghoshoni H, Habibi M, et al. Effect topical phenytoin on skin wound healing in rat. *J Anatomy Iran*. 2005; 3(4): 269-79.[in Persian]
27. Shaw J, Hughes CM, Lagan KM, Bell PM. The clinical effect of topical phenytoin wound healing. *British J Dermatol*. 2007; 157(5): 997-1004.
28. Subbanna Pk, Margaret Fx, George J, Tharion G, Neelakantan N, Durai S, et al. Topical phenytoin solution for treating pressure ulcers: a prospective, randomized, double-blind clinical trial. *Spinal Cord*. 2007; 45(11): 739-43.
29. Simoes CMO, Schenkel EP, Gosmann G, Mello JCP, Mentz LA. *Farmacognosia da planta ao medicamento*. 5th ed. Florianópolis: Editora da UFRGS, Porto Alegre, Brasil; 2003, P: 424.
30. Afsana K, Shiga K, Ishizuka S, Hara H. Entitled Reducing effect of ingesting tannic acid on the absorption of iron, but not of zinc, copper and manganese by rats. published by Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry. *Biochem Soc Symp*. 2004;68(3): 77-80.
31. Wätjen W, Michels G, Steffan B, Niering P, Chovolou Y, Kampkötter A, et al. Low concentrations of flavonoids are protective in rat H4IIE cells whereas high concentrations cause DNA damage and apoptosis. *J Nutr*. 2005;135(3):525-31.
32. Halliwell B. How to characterize an antioxidant: an update. *Biochem Soc Symp*. 1995;61(1):73-101.
33. Nijveldt RJ, Van Nood E, Van Hoorn DE, Boelens PG, Van Norren K, Van Leeuwen PA. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am J Clin Nutr*. 2007; 19(4), 3271-3273.



Original Article

Comparing the Effect of Phenytoin Cream and Aqueous Quercus Infectoria Gall Extract on Wound Healing in Adult Male Wistar Rats

Tavaf A¹, Raeeszadeh M^{2*}, Akradi L³

1- Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran

2- Department of Basic Sciences, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran

3- Department of Pathobiology, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran

Received: 12 May 2016

Accepted: 30 Oct 2016

Abstract

Background & Objective: Skin is of great significance for protecting body against dehydration, bleeding and invading microorganisms. The wounds are prone to bacterial infections and may increase the possibility of scar formation. The aim of this study was to evaluate the effects of phenytoin cream and aqueous Mazu extract on wound healing in rats.

Material & Methods: 30 male Wistar rats weighing 200-180 g were randomly selected and divided into 5 groups. Having created a 2-cm wound in the animal's neck (epidermal and dermal), the researchers administered normal saline (control), phenytoin cream, aqueous extract of Quercus Infectoria Galls to the groups with concentrations of 5%, 25%, and 50% to heal them for 21 days. On the 3rd, 6th, 9th, 12th, 15th, 18th, and 21st day the diameter of the wound was measured. On 21st day, wound sampling was carried out and prepared for histopathological studies.

Results: Improvement percentage in the group that received 5% aqueous extract was more than other groups and this difference was significant among control groups on the 3rd, 6th, 9th, and 18th day ($P < 0.05$) and among groups that received phenytoin on the 3rd and 6th day ($P < 0.05$). The macroscopic and microscopic results show that the 5% aqueous extract, phenytoin, normal saline, and 25% and 50% extract played the largest role in wound healing respectively.

Conclusion: According to its antioxidant and antimicrobial effects, the 5% aqueous extract of Quercus Infectoria Galls can be important in wound healing and even superior to phenytoin.

Keywords: Aqueous Quercus infectoria gall extract, Wound, Phenytoin, Rat

*Corresponding author: Raeeszadeh Mahdiah, Department of Basic sciences, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran, Email: Vet_mr@yahoo.com