

بررسی اثرات هیستومتریکی و هیستوپاتولوژیکی اسانس گیاه *Pelargonium roseum* در مقایسه با فنی توئین بعد از ترومای جراحی در پوست موش صحرایی

علی رضایی^{۱*}، داریوش مهاجری^۱، صمد محمد نژاد^۲، احد محمد نژاد^۳، مسعود تقی زاده جاهد^۴، آرش خرمی^۵، مهرداد پاشازاده^۱، دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد تبریز،^۲ دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران،^۳ واحد علوم و تحقیقات تهران،^۴ باشگاه پژوهشگران جوان، دانشگاه آزاد تبریز،^۵ دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تبریز

تاریخ دریافت: ۸۶/۸/۹، تاریخ پذیرش: ۸۶/۱۰/۱۵

Study of Histometric and Histopathological Effects of Essential Oil of *Pelargonium roseum* in Comparison with Phenytoin after Surgical Trauma on Rat's Skin

Rezaie A.^{1*}, Mohajeri D.¹, Muhammad Nejad S.², Muhammad Nejad A.³, Taghizadeh-Jahed M.⁴, Khorrami A.⁵, Pashazadeh M.¹

¹ Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, ² Department of Pharmacology, Tehran University, ³ Science and Research Branch, Islamic Azad University, ⁴ Young Researchers Club, Islamic Azad University, ⁵ Department of Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Tabriz Medical University.

Accepted: 2008/1/24, Received: 2007/10/31

Objectives: *Pelargonium roseum* belongs to the family of Geraniales. Recent reports indicate that the essential oil of this plant can inhibit the experimentally induced paw and ear edema in laboratory animals. On the other hand, in some countries phenytoin is formulated as an accelerator of wound healing. The purpose of this study was to evaluate the efficacy of essential oil of *Pelargonium roseum* in comparison with phenytoin after surgical trauma on rat's skin. **Methods:** For this purpose, 4 full-thickness skin excision were induced on the back of 60 female Wistar rats by punching. Then these animals were divided into 6 groups randomly. The first and second groups were determined as *Pelargonium*-treated groups, third and fourth groups as phenytoin-treated groups, and fifth and sixth groups as control. Duration of treatment was 21 days. The wounds in first, third and fifth groups were photographed daily for histometrical study and finally analyzed with scion image software. In second, fourth and sixth groups in order to do the histopathological study in days 0, 3, 7, 14 and 21, two rats of each group were sampled randomly and then these rats were eliminated. **Results:** Groups that were treated with the essential oil, showed the best healing from the point of view of wound contraction, inflammation, re-epithelialization, fibroplasia, neovascularization, collagenization and maturation of connective tissue. On the other hand phenytoin showed the worst healing. The differences were statistically significant. **Conclusion:** In full-thickness skin excisions, The essential oil of *Pelargonium roseum* accelerates healing process and phenytoin has an inhibitory effect on this process.

Key words: *Pelargonium roseum*, phenytoin, healing, skin, rat.

زمینه و هدف: *Pelargonium roseum* گیاهی از تیره گیاهان شمعدانی عطری است. در بررسی های انجام شده، اسانس این گیاه ادم تجربی ایجاد شده را در پنجه و گوش حیوانات آزمایشگاهی مهار کرده است. همچنین ترکیبات موجود در این گیاه به عنوان قابض مطرح هستند. از سوی دیگر فنی توئین دارویی است که در فارماکوپه برخی کشورها به عنوان تسریع کننده ترمیم فرموله شده است. هدف از این مطالعه بررسی اثرات التیام بخش اسانس گیاه گل عطر در مقایسه با فنی توئین به دنبال ترومای جراحی در پوست موش صحرایی بود. **روشها:** جهت انجام این مطالعه پس از انتخاب ۶۰ سر موش صحرایی ماده نژاد ویستار، با استفاده از پانچ بیوپسی شماره هفت در پوست ناحیه پشت آنها چهار زخم تمام ضخامت ایجاد شد. سپس موش ها به طور تصادفی به شش گروه ده تایی تقسیم شدند. گروه های اول و دوم به عنوان گروه های تیمار با اسانس گیاهی، گروه های سوم و چهارم به عنوان گروه های تیمار با فنی توئین و گروه های پنجم و ششم به عنوان گروه های شاهد تعیین شدند. دوز تجویز شده در گروه های تیمار ۳۵ میلی گرم به ازای هر سانتیمتر مربع موضع تروما بود. طول دوره تیمار ۲۱ روز و دفعات تجویز دارو روزانه یکبار بود. در گروه های اول، سوم و پنجم جهت مطالعه هیستومتریکی به طور روزانه از زخم ها تصاویر دیجیتالی تهیه می شد که در نهایت با استفاده از نرم افزار آنالیز تصاویر دیجیتالی مساحت زخم ها محاسبه شد. در گروه های دوم، چهارم و ششم در روزهای ۰، ۳، ۷، ۱۴ و ۲۱ دوره تیمار دو موش از هر گروه به طور تصادفی به منظور مطالعه هیستوپاتولوژیکی انتخاب شدند که این موش ها پس از انجام نمونه برداری در ادامه روند تحقیق حذف شدند. **یافته ها:** نتایج به دست آمده نشان می داد که گروه های تیمار با اسانس از نظر میزان جمع شدگی زخم، آماس، نوزایی بافت پوششی، پرولیفراسیون فیبروبلاست ها، نوزایی عروقی، کلاژنیزاسیون و بلوغ بافت همبندی وضعیت بهتری را دارا بودند. از سوی دیگر در گروه های تیمار با فنی توئین ترمیم ضعیفتری را در مقایسه با گروه های دیگر شاهد بودیم. نتایج به دست آمده از نظر آماری معنی دار بودند ($P < 0/01$). **نتیجه گیری:** نتایج حاصله بیانگر این است که در زخم های باز تمام ضخامت اسانس گیاه *Pelargonium roseum* دارای اثرات تحریکی روی فرآیند ترمیم و فنی توئین واجد اثرات مهارتی است.

واژه های کلیدی: اسانس گل عطر، فنی توئین، ترمیم، پوست، موش صحرایی.

*Corresponding Author: Dr. Ali Rezaie, Associate Professor, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Tel: 0411- 3372250; Fax: 0426- 2227822; E-mail: a-rezaie@iau-ahar.ac.ir

*نویسنده مسئول: دکتر علی رضایی، دانشیار، دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تلفن: ۰۹۱۴۱۲۶۰۳۵۰، نمابر: ۰۴۲۶-۲۲۲۷۸۲۲

۱- مقدمه

امروزه زخم های مزمن یا زخم هایی که از توانایی ترمیم پایینی برخوردارند، از مشکلات مهم بالینی به شمار میروند و از آنجایی که در جوامع امروزی شیوع این نوع زخم ها با افزایش رخداد بیماری هایی مثل چاقی، دیابت ملیتوس و زخم بستر به طور پیشرونده ای بالا می رود، لذا تلاش های زیادی برای معرفی داروهای جدید با منشاء گیاهی یا شیمیایی که فرآیند ترمیم را تسریع می کنند، صورت می گیرد.

گل عطر با نام علمی *Pelargonium roseum* متعلق به خانواده ای از گیاهان گلدار است که به شمعدانی عطری معروف هستند. منشاء اصلی این گونه آفریقای جنوبی است، ولی امروزه در بسیاری از کشورها نظیر الجزایر، فرانسه و اسپانیا پرورش داده می شود (۱).

ترکیبات فراوانی در اسانس این گیاه شناسایی شده اند که از مهمترین آنها می توان به مونوترپنئیدهایی مثل ژرانیول، سیترونلول، لینالول و همچنین استرهای مثل سیتروننال اشاره کرد. بر اساس نتایج آنالیز GC-MS سیترونلول با ۶۸/۴۶ درصد و ژرانیول با ۱۴/۱۰ درصد در بین مواد تشکیل دهنده اسانس اندام هوایی گیاه بالاترین مقدار را دارا می باشد (۲).

در منابع طب سنتی ایران هیچ مطلبی در مورد گل عطر یافت نمی شود. در برخی مونوگراف های منتشر شده مانند کمسیون E آلمان نیز مطلب زیادی در مورد اثرات بالینی این گیاه وجود ندارد. در کتب آروماتراپی معتبر از اسانس گل عطر به عنوان محرک بخش قشری غده فوق کلیوی، محرک سیستم لفاوی، گندزدا و مسکن یاد شده است (۳).

در تمدن های باستانی به گل عطر به عنوان یک التیام دهنده استثنایی اشاره شده است، اما هیچ مدرک علمی در تایید یا رد این اثر وجود ندارد. در موش های صحرایی، استفاده از اسانس این گیاه بعد از مالیدن یک محرک موضعی باعث کاهش ادم پنجه و گوش شده است (۴). همچنین در برخی منابع از اسانس گل عطر به عنوان یک قابض ارزشمند یاد شده است (۵). در بررسی های انجام شده در محیط آزمایشگاه، اسانس این گیاه از رشد برخی باکتری ها و قارچها جلوگیری کرده است (۶).

از سوی دیگر فنی توئین دارویی است که در فارماکوپه برخی از کشورها مانند ایران به عنوان تسریع کننده ترمیم به شکل موضعی فرموله شده است. مکانیسم هایی که ادعا می شود فنی توئین به واسطه آن ها فرآیند ترمیم را تسریع می کند، به طور کامل مشخص نیستند. مکانیسم های مطرح شده عبارتند از: تحریک پرولیفراسیون فیروبلاست ها،

کاهش فعالیت آنزیم کلاژناز، کاهش فلور باکتریایی زخم، افزایش نوزایی عروقی و کاهش ارتشاح سلول های آماسی (۷).

در این تحقیق با توجه به گزارش هایی که در کتب طب گیاهی غیر رسمی وجود دارد، به بررسی اثرات التیام بخش اسانس گیاه گل عطر در مقایسه با فنی توئین روی زخمهای باز تمام ضخامت در مدل حیوانی پرداخته شده است. از آنجایی که به دنبال اعمال جراحی سرعت بخشیدن به فرآیندهای ترمیمی پوست جهت برقراری مجدد عملکرد فیزیولوژیک بافت و جلوگیری از عفونت های ثانویه ضروری است، این بررسی انجام گرفت.

۲- مواد و روش ها

برای انجام این مطالعه ۶۰ سر موش صحرایی ویستار ماده با وزن متوسط 20 ± 200 گرم و سن حدود ۱۲ هفته انتخاب شدند. موش ها در درجه حرارت ۲۴ درجه سانتیگراد و رطوبت نسبی ۷۰-۶۰ درصد در قفسه های مجزا نگهداری می شدند و تغذیه موش ها با استفاده از پلت آماده ساخت شرکت نیرو سهند تبریز انجام می شد. پروتکل این تحقیق مطابق اصول اخلاقی مورد تایید کمیته های بین المللی حمایت از حقوق حیوانات آزمایشگاهی طراحی شد.

اسانس گیاه *Pelargonium roseum* به روش تقطیر با بخار از اندام هوایی گیاه در شرکت باریج اسانس به صورت لوسیون ۲٪ تهیه شد. همچنین سوسپانسیون ۲٪ فنی توئین با استفاده از پودر موجود در کپسول فنی توئین، ساخت شرکت الحاوی، تهیه شد. از آب مقطر به عنوان حامل جهت تهیه این فرمولاسیون ها استفاده شد. بدین صورت که بلافاصله قبل از تجویز داروها ۲۰۰ mg از اسانس و ۲۰۰ mg از فنی توئین در ۱۰ ml آب مقطر حل می شد.

جهت القای بیهوشی انفکاک می متعادل به منظور ایجاد ترومای جراحی از پروتکل زایلازین ۲٪، ساخت شرکت Alfasan هلند، با دوز ۱۰ mg/kg و کتامین ۱۰٪، ساخت شرکت Alfasan هلند، با دوز ۶۰ mg/kg به شکل تزریق داخل صفاقی استفاده شد.

جهت ایجاد زخم ها پس از القای بیهوشی، موش ها به صورت خوابیده روی جناغ بر روی میز جراحی قرار داده شدند. سپس موهای ناحیه پشتی - کمری آنها از لبه خلفی استخوان کتف تا برآمدگی استخوان ایلوم به روش معمول آماده سازی شد. در طول دوره مطالعه نیز برای کمک به بهتر مشخص شدن لبه پوست از بافت پوششی تازه تشکیل، از تراشیدن دوباره موها خودداری شد و تنها موهای مجاور

۳- نتایج

۳-۱ یافته های هیستومتریک

تا روز ۲ دوره تیمار مساحت زخم در همه گروه ها افزایش قابل توجهی را در مقایسه با روز صفر نشان می داد. در روز ۳ اندازه مساحت زخم در گروه تیمار با اسانس گل عطر کاهش چشمگیری را نشان داد، در صورتی که این کاهش در گروه شاهد از روز ۴ و در گروه تیمار با فنی توئین از روز ۵ دوره تیمار شروع شد. به مرور زمان اختلاف بین گروه ها بیشتر شد، طوری که در روز ۲۱ دوره تیمار، گروه تیمار با اسانس گل عطر بیشترین میزان جمع شدگی زخم را نشان می داد و کمترین میزان جمع شدگی زخم در گروه تیمار با فنی توئین مشاهده می شد (نمودار ۱). مساحت زخم در روزهای ۰، ۳، ۷، ۱۴ و ۲۱ در گروه های مختلف در جدول ۲ آورده شده است. نتایج به دست آمده از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی حاکی از معنی دار بودن تفاوت ها در مساحت زخم بود ($P < 0/01$).

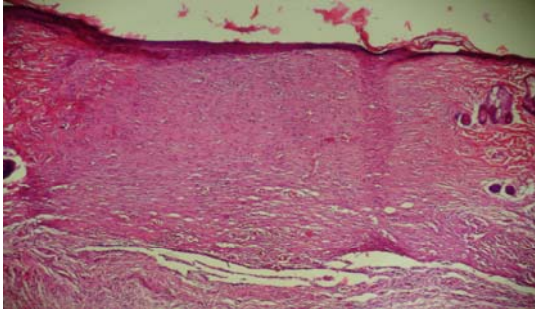
۳-۲ یافته های هیستوپاتولوژیکی

در روز ۳ دوره تیمار تفاوت زیادی از نظر آسیب شناسی بافتی بین گروه ها وجود نداشت، ولی روند ترمیم در گروه تیمار با اسانس گل عطر از وضعیت بهتری برخوردار بود و گروه شاهد نیز در مقایسه با گروه تیمار با فنی توئین تا حدودی بهتر بود. در نمای ریزینی از موضع ترمیم گروه شاهد در روز ۳، ارتشاح شدید سلول های آماسی (عمدتاً نوتروفیل ها)، حضور لخته متشکل از فیبرین و سلول های خونی در سطح زخم، پرخونی و خونریزی مشهود بود. همچنین مهاجرت فیبروبلاست ها به فضای زخم قابل مشاهده بود. نوزایش سلول های بافت پوششی و ایجاد جوانه گوشتی در جوانب و سطح زیرین لخته در روی زخم دیده می شد. پیشرفت روند ترمیم موضع زخم در گروه تیمار با فنی توئین در روز ۳ مشابه گروه شاهد بود، با این تفاوت که ارتشاح سلول های آماسی در این گروه نسبت به گروه شاهد بیشتر بود. در گروه تیمار با اسانس گل عطر در روز ۳ دوره تیمار، عروق نوساز بیشتری نسبت به دو گروه قبلی مشاهده می شد و شدت آماس نیز کمتر بود.

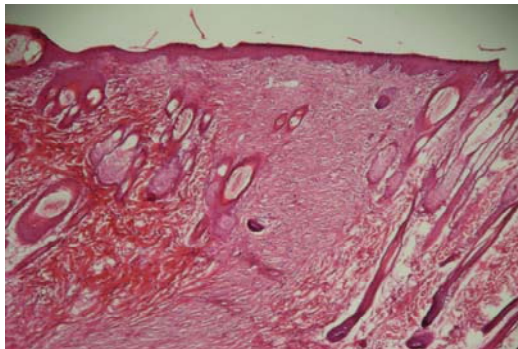
در نمای ریزینی گروه شاهد در روز ۷ دوره تیمار، نسج گرانولی به صورت بافت همبند جوان پرسلول، پرعروق و کم رشته در زیر لخته و در فضای زخم دیده می شد. حضور سلول های آماسی، پرخونی و خونریزی همچنان قابل مشاهده بود. واکنش آماسی در گروه تیمار با فنی توئین در روز ۷ دوره تیمار نسبت به گروه شاهد از شدت بیشتری برخوردار بود. در گروه تیمار با اسانس گل عطر در روز ۷

لبه زخم در طول دوره توسط قیچی کوتاه نگه داشته می شد تا مرز لبه های زخم ها قابل مشاهده باشد. پس از تراشیدن موها اسکراب جراحی صورت گرفت. پس از آماده سازی پوست ناحیه، در دو طرف بدن در سطح پشتی در حد فاصل انتهای خلفی استخوان کتف تا برجستگی عجزی تعداد دو زخم در هر طرف به شکل دایره و به قطر ۷ میلی متر، به فاصله ۱ سانتی متر از ستون مهره ها و به فاصله ۱/۵ سانتی متر از یکدیگر با استفاده از پنچ استریل شماره ۷ ایجاد شد. روشی که در این مطالعه جهت ایجاد زخم به کار گرفته شد، Exisional Wounding بود که بر اساس آن لایه های اپیدرم، درم، هایپودرم و فاسیای سطحی عضله به طور کامل برداشته شد (۸). پس از ایجاد تروما، همه موش ها به صورت تصادفی با استفاده از رنگ های غیرسمی شماره گذاری شدند و به شش گروه ده تایی تقسیم گردیدند: گروه های اول و دوم به عنوان گروه های تیمار با اسانس، گروه های سوم و چهارم به عنوان گروه های تیمار با فنی توئین و گروه های پنجم و ششم به عنوان گروه های شاهد تعیین شدند. دوز تجویز شده هم در گروه های تیمار با اسانس و هم در گروه های تیمار با فنی توئین ۳۵ میلی گرم از دارو به ازای هر سانتی متر مربع موضع تروما بود (۹). داروها قبل از تجویز کددهی شده و توسط شخصی که اطلاعی از ماهیت داروها نداشت، تجویز می شد. طول دوره تیمار ۲۱ روز و دفعات تجویز دارو روزانه یکبار و راه تجویز موضعی بود. در گروه های اول، سوم و پنجم جهت مطالعه هیستومتریکی به طور روزانه از زخم ها تصاویر دیجیتالی تهیه می شد که در نهایت با استفاده از نرم افزار آنالیز تصاویر دیجیتالی Scion image مساحت زخم ها محاسبه شد. در گروه های دوم، چهارم و ششم در روزهای صفر (۷ ساعت بعد از ایجاد تروما)، ۳، ۷، ۱۴ و ۲۱ دوره تیمار دو موش از هر گروه به طور تصادفی به منظور مطالعه هیستوپاتولوژیکی انتخاب شدند که این موش ها پس از انجام نمونه برداری در ادامه روند تحقیق حذف شدند. سپس نماهای ریزینی به دست آمده از نمونه ها بر اساس میزان نوزایی بافت پوششی، گستردگی واکنش فیروتیک، پرولیفراسیون فیبروبلاست ها، ادم، آماس و انقباض زخم رتبه بندی شدند که رتبه ۱ بیانگر عدم ترمیم و رتبه ۶ نشان دهنده ترمیم کامل بود. نحوه رتبه بندی هر یک از این شاخص ها در جدول ۱ قید شده است. در نهایت داده های به دست آمده از مطالعات هیستومتریکی و آسیب شناسی بافتی با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یکطرفه و آزمون تعقیبی توکی مورد ارزیابی قرار گرفتند.

وضعیت بهتری نسبت به گروه های دیگر داشت. فضای زخم در ناحیه درم به شدت کاهش یافته و توسط بافت همبند جوان پررشته، کم عروق و کم سلول پر شده بود. هیچ اثری نیز از سلول های آماسی در موضع ترمیم مشاهده نشد. با این وجود، رشته های کلاژن موجود در بافت همبندی هنوز به طور کامل سازمان نیافته بودند (نگاره ۱).



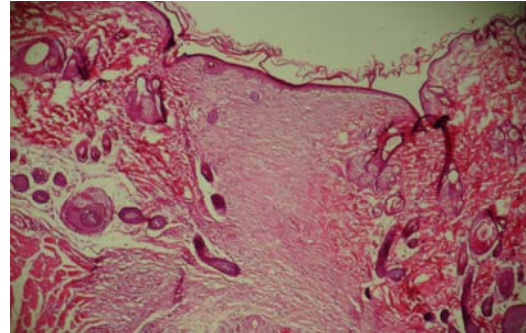
نگاره ۳: نمای ریزبینی از موضع ترمیم پوست در موش گروه تیمار با فنی تونین در روز ۲۱ دوره تیمار. جمع شدگی زخم در مقایسه با گروه های دیگر کمتر می باشد. همچنین بافت پوششی با کیفیت کمتری سطح زخم را پوشانده است (رنگ آمیزی هماتوکسیلین- انوزین) درشت نمایی * (۱۲۰).



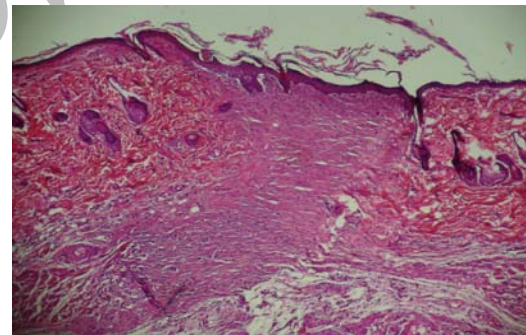
نگاره ۴: نمای ریزبینی از موضع ترمیم پوست در موش گروه تیمار با اسانس گل عطر در روز ۲۱ دوره تیمار. کیفیت بافت پوششی در سطح موضع ترمیم از لحاظ ضخامت و سازماندهی نسبت به گروه های دیگر بهتر می باشد. نسج جوشگاهی از حضور رشته های کلاژن ضخیم تر، متراکم تر و سازمان یافته تری برخوردار است و بلوغ بیشتری را نسبت به سایر گروه ها نشان می دهد. ضمایم پوستی در حال توسعه در جوانب نسج ترمیمی قابل مشاهده هستند (رنگ آمیزی هماتوکسیلین- انوزین) درشت نمایی * (۱۲۰).

موضع ترمیم در گروه شاهد در روز ۲۱ وضعیتی مشابه گروه تیمار با اسانس گل عطر روز ۱۴ دوره تیمار را داشت. فضای التیام در ناحیه درم توسط بافت همبند جوان پررشته، کم عروق و کم سلول اشغال شده بود. اثری از واکنش آماسی نیز دیده نمی شد و بافت پوششی به طور کامل سطح زخم را پوشانیده بود. اما رشته های کلاژن موجود در بافت همبندی بلوغ کمتری را نشان می دادند و به طور کامل سازمان دهی نشده بودند (نگاره ۲).

از حجم لخته در روی زخم کاسته شده بود. در مشاهدات ریزبینی، جمع شدگی زخم کاملاً مشخص بود، به طوری که اندازه زخم تا یک سوم اندازه اولیه کاهش یافته بود. از شمار سلول های آماسی نیز به شدت کاسته شده بود.



نگاره ۱: نمای ریزبینی از موضع ترمیم پوست در موش گروه تیمار با اسانس گل عطر در روز ۱۴ دوره تیمار. انقباض زخم در این تصویر کاملاً مشهود است. بافت همبندی پررشته، کم عروق و کم سلول در فضای زخم استقرار یافته است. رشته های کلاژن هنوز به طور کامل سازمان دهی نشده اند. اثری از سلول های آماسی نیز مشاهده نمی شود. بافت پوششی تمام سطح زخم را به صورت لایه ای نازک پوشانده و ضمایم پوستی نیز مشاهده نمی گردند (رنگ آمیزی هماتوکسیلین- انوزین، درشت نمایی * (۱۲۰).

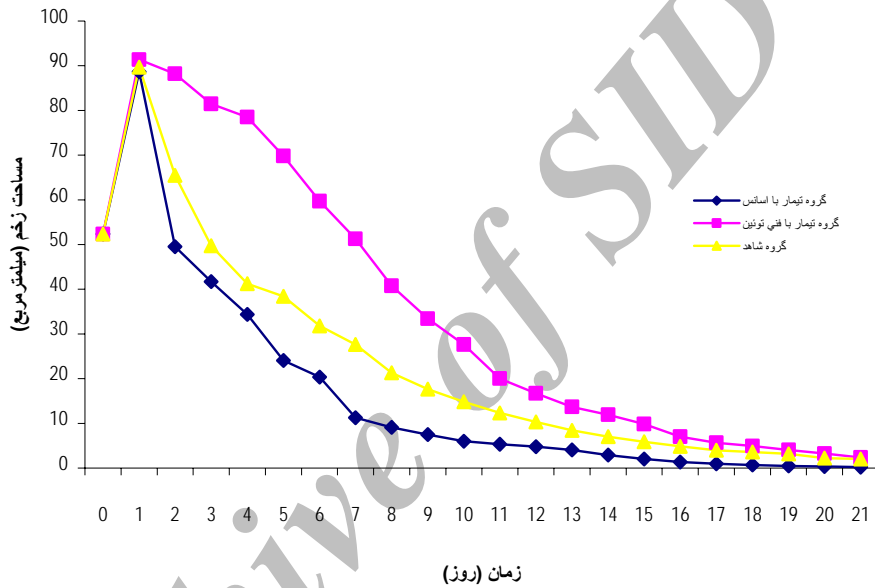


نگاره ۲: نمای ریزبینی از موضع ترمیم پوست در موش گروه شاهد در روز ۲۱ دوره تیمار. فضای التیام در ناحیه درم توسط بافت همبندی پررشته، کم عروق و کم سلول پر شده است. رشته های کلاژن باریک بوده و تراکم نیافته اند. ضمایم پوستی در موضع ترمیم مشاهده نمی گردند و اثری از سلول های آماسی دیده نمی شود (رنگ آمیزی هماتوکسیلین- انوزین) درشت نمایی * (۱۲۰).

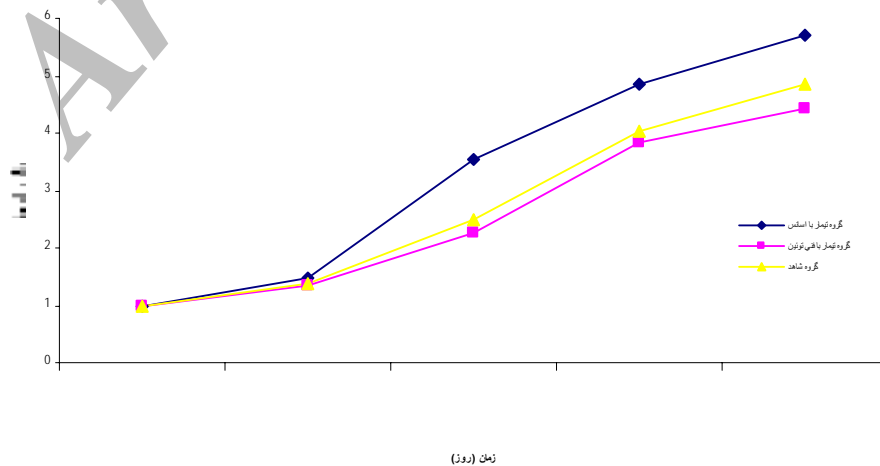
نتایج بررسی های میکروسکوپی از موضع ترمیم در گروه شاهد در روز ۱۴، نشانگر پوشیده شدن کامل سطح زخم توسط بافت پوششی بود. فضای زخم در ناحیه درم کاملاً توسط بافت همبند جوان پرسلول و کم رشته اشغال شده بود. در مطالعات ریزبینی نیز جمع شدگی زخم کاملاً مشخص بود و هیچگونه ضمایم پوستی در موضع التیام مشاهده نگردید. این در حالی است که در گروه تیمار با فنی تونین، بافت پوششی هنوز به طور کامل سطح زخم را تحت پوشش قرار نداده بود. در نمای ریزبینی، موضع ترمیم پوست در گروه تیمار با اسانس گل عطر در روز ۱۴

یافته بود. فولیکول های مو نیز در حال گسترش در کـناره های نسج جوشگاهی بودند (نگاره ۴). برآیند کلی ترمیم در روزهای ۰، ۳، ۷، ۱۴ و ۲۱ در گروه های مختلف در جدول شماره ۳ ذکر شده است. نتایج به دست آمده از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی حاکی از معنی دار بودن تفاوت ها در برآیند کلی ترمیم بود ($P < 0/01$). در نمودار ۲، التیام کلی در گروه های تیمار با اسانس گل عطر، فنی توئین و شاهد در روزهای نمونه برداری مقایسه شده است.

گروه تیمار با فنی توئین نیز در روز ۲۱، از لحاظ جمع شدگی و انقباض زخم، کیفیت بافت پوششی و بلوغ بافت جوانه ای در مقایسه با گروه شاهد پیشرفت کمتری داشت (نگاره ۳). در گروه تیمار با اسانس گل عطر در روز ۲۱، نسج ترمیمی استقرار یافته در فضای زخم در مقایسه با سایر گروه ها بلوغ بیشتری را نشان می داد. بافت پوششی نیز از لحاظ ضخامت و سازمان دهی از کیفیت بهتری برخوردار بود. اندازه زخم در مقایسه با سایر گروه ها به شدت کاهش



نمودار ۱: تغییرات اندازه مساحت زخم در طول دوره تیمار



نمودار ۲: مقایسه برآیند کلی ترمیم در گروه های تیمار با اسانس گل عطر، فنی توئین و گروه شاهد در روزهای ۰، ۳، ۷، ۱۴ و ۲۱ دوره تیمار.

امتیاز	دسته بندی
	بازسازی سلول‌های پوششی
۱	عدم مشاهده بازسازی بافت پوشش
۲	آغاز بازسازی بافت پوششی
۳	پوشش کمتر از نصف زخم
۴	پوشش بیشتر از نصف زخم
۵	پوشش سراسر زخم با ضخامت نامنظم
۶	پوشش سراسر زخم به طور نرمال
	گسترده‌گی واکنش فیبروتیک در پایان دوره مطالعه
۱	عدم رسوب کلاژن
۲	ظهور جدید الیاف کلاژن در محل زخم
۳	فیبروز لامینا پروپریا
۴	فیبروز لایه درم
۵	پیشرفت فیبروز تا لایه زیرین
	ارزیابی خونریزی متعاقب جراحی
۱	خونریزی در زخم بیش از یک دوم میدان میکروسکوپی با بزرگنمایی پایین (۱۰×)
۲	خونریزی در زخم مابین یک چهارم تا یک دوم میدان میکروسکوپی یا بزرگنمایی پایین (۱۰×)
۳	خونریزی در زخم کمتر از یک چهارم میدان میکروسکوپی با بزرگنمایی پایین (۱۰×)
۴	خونریزی محدود به لبه های برش جراحی
۵	خونریزی جزئی فقط در بخشی از برش
۶	عدم مشاهده خونریزی
	روند فیبروپلازی در فضای زخم
۱	عدم ظهور بافت جوانه ای
۲	ظهور اولیه بافت جوانه ای درمحل زخم
۳	گسترش بافت جوانه ای بر سلول
۴	ظهور اولیه الیاف کلاژن
۵	گسترش الیاف کلاژن
۶	تجمع، تراکم و ایجاد نظم در رشته های کلاژن (اسکار)
۷	ظهور ضمایم پوستی در جوانب نسج اسکار
	درجه بندی میزان ادم و آماس
۱	گسترش سلولهای آماسی حاد به سمت داخل لخته و ارتشاح دور رگی و مشاهده سلولهای آماسی حاد بیش از یک دوم میدان دید میکروسکوپی با بزرگنمایی ۱۰٪ توام با نکروزبافتی
۲	گسترش سلولهای آماسی حاد به سمت داخل لخته و ارتشاح دوررگی و مشاهده سلولهای آماسی حاد بین یک چهارم تا یک دوم میدان دید میکروسکوپی با بزرگنمایی ۱۰٪ بدون نکروز بافتی
۳	گسترش سلولهای آماسی حاد به سمت داخل لخته و ارتشاح دور رگی و مشاهده سلولهای آماسی حاد کمتر از یک چهارم میدان دید میکروسکوپی با بزرگنمایی ۱۰٪
۴	گسترش سلولهای آماسی حاد به سمت داخل لخته و ارتشاح دوررگی و داخل بافت همبندی
۵	گسترش سلولهای آماسی حاد به سمت داخل لخته و ارتشاح دور رگی
۶	گسترش سلولهای آماسی حاد به سمت داخل لخته
۷	سلولهای آماسی حاد در لبه های برش
۸	عدم وجود آماس
	درجه بندی جهت ارزیابی میزان انقباض زخم
۱	عدم کاهش اندازه زخم
۲	کاهش اندازه زخم تا ۱۰٪ اندازه اولیه زخم
۳	کاهش اندازه زخم تا ۲۰٪
۴	کاهش اندازه زخم تا ۴۰٪
۵	کاهش اندازه زخم تا ۶۰٪
۶	کاهش اندازه زخم تا ۸۰٪

جدول ۲: مساحت زخم در روزهای ۰، ۳، ۷، ۱۴ و ۲۱ دوره تیمار بر حسب میلیمتر مربع

	روز ۰	روز ۳	روز ۷	روز ۱۴	روز ۲۱
گروه تیمار با اسانس	۵۲/۳۳±۰/۵۲	۴۱/۷۳±۰/۵۳	۱۱/۲۲±۰/۱۴	۲/۸۸±۰/۰۶	۰/۲۲±۰/۰۳
گروه تیمار با فنی توئین	۵۲/۳۳±۰/۵۲	۸۱/۴۴±۰/۵۶	۵۱/۲۷±۰/۳۰	۱۱/۹۷±۰/۰۵	۲/۳۵±۰/۱۱
گروه شاهد	۵۲/۳۳±۰/۵۲	۴۹/۷۳±۰/۵۷	۵۱/۳۷±۰/۹۵	۷/۰۱±۰/۰۵	۱/۹۹±۰/۷۵

جدول ۳: برآیند کلی ترمیم در گروه های تیمار با اسانس گل عطر، فنی توئین و گروه شاهد در روزهای ۰، ۳، ۷، ۱۴ و ۲۱ دوره تیمار.

	روز ۰	روز ۳	روز ۷	روز ۱۴	روز ۲۱
گروه تیمار با اسانس	۱	۱/۴۸±۰/۰۱	۳/۵۳±۰/۰۲	۴/۸۵±۰/۰۳	۵/۷۱±۰/۰۲
گروه تیمار با فنی توئین	۱	۱/۳۴±۰/۰۲	۲/۲۵±۰/۰۱	۳/۸۴±۰/۰۲	۴/۴۴±۰/۰۳
گروه شاهد	۱	۱/۳۷±۰/۰۱	۲/۴۹±۰/۰۲	۴/۰۲±۰/۰۲	۴/۸۴±۰/۰۳

۴- بحث

فرآیند ترمیم در حالت کلی به سه گروه از وقایع تقسیم می شود:

۱- آماس (Inflammation)

۲- مرحله تشکیل بافت جدید (New Tissue Formation Stage)

۳- بازسازی ماده زمینه ای (Matrix Remodeling)

با وجود این که این مراحل در امتداد هم هستند، از نظر زمانی باهم همپوشانی نیز می کنند. هر دارویی که بتواند زمان این فازها را کوتاهتر کند، منجر به تسریع روند ترمیم می شود (۸).

در ارتباط با اثرات التیام بخش اسانس گیاه *Pelargonium roseum* قبل از این هیچ نوع کارآزمایی بالینی انجام نشده بود. اما در مطالعه ای که به وسیله حاج هاشمی در دانشکده پزشکی دانشگاه اصفهان انجام شد، مشخص گردید که تجویز موضعی اسانس این گیاه بعد از مالیدن کاراژینان و روغن کرچک هندی روی پنجه و گوش موشها از ایجاد ادم جلوگیری می کند (۴). نتایج به دست آمده از آروماتوگرام های انجام شده با اسانس گل عطر در محیط آزمایشگاه حاکی از اثرات مهاری اسانس این گیاه روی استرپتوکوکوس آگالاکتیه، سودوموناس آئروجینوزا، لیستریا مونوسایتوزنز، باسیلوس سرئوس، پروتئوس وولگاریس، کاندیدا آلبیکنس و آسپرژیلوس نایجر می باشد (۶). همچنین اسانس این گیاه به عنوان یک قابض ارزشمند مطرح است. مواد قابض از طریق ترسیب پروتئین های سلول های سطحی، نفوذپذیری غشای این سلول ها را کاهش می دهند (۱۰). نتایج هیستومتریک و آسیب شناسی بافتی به دست آمده از این تحقیق نشان می دهند که اسانس گیاه *Pelargonium roseum* فرآیند ترمیم را در زخم های باز

تمام ضخامت ایجاد شده در پوست به صورت معنی داری تسریع می کند. با توجه به نتایج به دست آمده از مطالعات قبلی که نشان می دادند اسانس این گیاه فرآیند آماس را مهار می کند، فلور میکروبی زخم را می تواند کاهش دهد و همچنین پروتئین های سلول های سطحی را ترسیب می کند، نتایج به دست آمده از این تحقیق در تسریع فرآیند ترمیم منطقی به نظر می رسد.

در نتایج به دست آمده از مطالعه هیستومتریک، تا روز دوم دوره تیمار افزایش قابل توجهی در مساحت زخم در همه گروه ها مشاهده شد که این پدیده به واسطه تطابق زمانی با فاز آماسی ترمیم قابل توجه است. علاوه بر رخداد آماس، الاستیسیته نرمال پوست و و کشش عضلانی نیز در افزایش مساحت زخم در این مرحله دخیل هستند (۸).

داروی دیگری که در این مطالعه با منشاء شیمیایی مورد ارزیابی قرار گرفت، فنی توئین می باشد. مدارک مختلفی دال بر این که فنی توئین فرآیند ترمیم را تسریع می کند، وجود دارد. در سال ۱۹۳۹ Kimball مشاهده کرد که بیماران صرعی تحت درمان با فنی توئین، به درجات مختلفی هایپرپلازی لثه را نشان می دهند (۱۱). در سال ۱۹۵۸ Shapiro گزارش کرد افرادی که به دنبال دریافت خوراکی فنی توئین تحت اعمال جراحی لثه قرار می گیرند، آماس و درد کمتری را متحمل می شوند (۱۲). در سال ۱۹۶۸ Kolbert نشان داد که به دنبال ایجاد زخم قرنیه، خرگوشهای گروه تیمار با فنی توئین خوراکی ترمیم بهتری را نشان می دهند (۱۳). در سال ۱۹۶۷ Sklans و همکارانش به دنبال ایجاد شکستگی تجربی در فک پایین خرگوش، فنی توئین را به صورت سیستمیک تجویز کردند. نتایج این تحقیق حاکی از تسریع فرآیند ترمیم شکستگی استخوان بود (۱۴). در سال ۱۹۷۳ Gudmundson و همکارانش کارآزمایی

مشابهی را در موش های صحرایی انجام دادند (۱۵). Bansal در سال ۱۹۹۳ بیان کرد که فنی توئین در ترمیم زخم های ناشی از لپروسی نقش مهمی دارد (۱۶). در یک کارآزمایی که توسط Elzayat انجام گرفت، اثرات فنی توئین موضعی در مقایسه با کلرگزیدین و پراکسید هیدروژن روی ۱۵ بیمار مبتلا به زخم بستر و زخم ناشی از گلوله مورد ارزیابی قرار گرفت. بر اساس نتایج این تحقیق، زمان لازم برای ترمیم زخم در بیماران تحت تیمار با فنی توئین از ۱ تا ۳ هفته متغیر بود، در حالی که در سایر گروه ها فرآیند ترمیم ۶ تا ۸ هفته طول کشید (۱۷). مکانیسم های اثر فنی توئین در ارتباط با فرآیند ترمیم به طور کامل مشخص نیستند. به نظر می رسد که این دارو عمدتاً از طریق کاهش فعالیت آنزیم کلاژناز در تسریع ترمیم دخیل است. این کاهش فعالیت از طریق مهار مستقیم آنزیم صورت نمی گیرد، بلکه فنی توئین به صورت مرکزی از طریق اثر روی محور هیپوفیز- فوق کلیوی سنتز کلاژناز را کاهش می دهد و یا اینکه می تواند به صورت رقابتی رسپتور های گلوکوکورتیکوئید را در فیبروبلاست ها مهار کند (۱۸). در سال ۱۹۶۱ Shipper اثر تحریکی فنی توئین را روی رده سلول های فیبروبلاستی بررسی کرد. این مطالعه نشان داد که فنی توئین هیچ اثری روی فیبروبلاست های درمی در محیط کشت ندارد (۱۹). شماری از مطالعات بالینی مؤید این مطلب هستند که فنی توئین فلور باکتریایی زخم را کاهش می دهد. مصرف موضعی فنی توئین به مدت ۷ تا ۹ روز باکتری های استافیلوکوکوس طلائی، اشریشیاکولی، سودوموناس و کلبسیلا را از محل زخم حذف می کند (۲۰). در مطالعه ای که روی زخم های ایجاد شده در خوکچه های هندی انجام گرفت، مشخص شد که اثر مهاری فنی توئین روی باکتری های گرم منفی سریع تر از باکتری های گرم مثبت ظهور می کند (۲۱). با وجود داده های فراوان مبتنی بر خواص التیام بخش فنی توئین، این دارو به عنوان تسریع کننده فرآیند ترمیم مورد تایید اداره غذا و داروی آمریکا (FDA) نیست. ولی با این حال، اشکال موضعی فنی توئین در برخی از کشورها مانند ایران و هند به عنوان تسریع کننده ترمیم فرموله شده است. در کارآزمایی انجام گرفته در این تحقیق، نتایج به دست آمده از گروه های تیمار با فنی توئین بر خلاف انتظار با نتایج مطالعات قبلی همخوانی نداشت. در کل طول دوره تیمار،

کمترین میزان جمع شدگی زخم مربوط به این گروه ها بود. در مطالعه آسیب شناسی بافتی نیز بیشترین میزان آماس و کمترین میزان نوزایی بافت پوششی، کلاژنیزاسیون و بلوغ بافت همبندی مربوط به گروه تیمار با فنی توئین بود. از آنجایی که نتایج به دست آمده از این مطالعه با سطح اطمینان ۹۵٪ معنی دار بود، لذا می توان ادعا کرد که دست کم در زخمهای باز و تمام ضخامت ایجاد شده در پوست، فنی توئین در پی تجویز موضعی فرآیند ترمیم را به تاخیر می اندازد. این امر می تواند ناشی از آزار سلولی ایجاد شده توسط فنی توئین باشد که در مقادیر بالا با سطح زخم در تماس است. لازم به ذکر است که در اغلب مطالعات قبلی که نشان دهنده خواص التیام بخش فنی توئین بودند، این دارو به شکل سیستمیک تجویز شده بود. در پی تجویز موضعی، غلظت پلاسمایی فنی توئین غیرقابل اندازه گیری است (۱۸). لذا این دارو در پی تجویز موضعی نمی تواند روی محور هیپوفیز- فوق کلیوی و به دنبال آن آنزیم کلاژناز اثر مهاری داشته باشد. سطح پایین ترسیب کلاژن در نماهای ریزیینی موضع ترمیم در گروه های تیمار با فنی توئین نیز مؤید این مطلب است.

۵- نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان می دهد که دست کم در زخم های باز تمام ضخامت، اسانس گیاه *Pelargonium roseum* در پی تجویز موضعی فرآیند ترمیم پوست را تسریع و داروی فنی توئین این فرآیند را مهار می کند. از آنجایی که نتایج حاصله از گروه های تیمار با فنی توئین با نتایج مطالعات قبلی همخوانی نداشت، لذا انجام کارآزمایی های بیشتری روی سایر مدل های ترمیم زخم با فرمولاسیون های متفاوت و راه های تجویز مختلف فنی توئین پیشنهاد می شود.

۶- تقدیر و تشکر

نویسندگان این مقاله بر خود لازم می دانند که از زحمات آقای مهندس حجازی، مدیریت محترم شرکت بارچ اسانس، که ما را در تهیه اسانس یاری نمودند و همچنین از زحمات آقای دکتر بیژن تقی زاده تقدیر و تشکر نمایند.

6- References:

- Guenther E. The essential oils. Van Nostrand Company, New York, 1982, Vol IV, 671-90.
- سادات هاشمی محمد، مطالعه گیاهشناسی و تجزیه گیاه گل عطر با نام علمی *Pelargonium roseum* به روش GC-MS. پایان نامه دکتری داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، ۱۳۷۶.
- Patricia D. Aromatherapy, An A-Z. Daniel Company, Florida, 1988, 143-44.
- حاج هاشمی ولی ا. بررسی اثرات ضدالتهاب موضعی اسانس گیاه ژرانیوم (*Pelargonium roseum*) در حیوانات آزمایشگاهی. مجموعه مقالات شرکت بارچ اسانس، سال سوم و چهارم. ص ۸۷-۸۳.
- زرگری علی. گیاهان دارویی. انتشارات دانشگاه تهران، جلد ۱، ۱۳۶۸، ص ۴۳۵-۴۳۲.
- Mahboobi M., Shahcheraghi F., Feizabadi M. Bactericidal effects of essential oils from clove, lavender and geranium on multi-drug resistant isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. Iranian journal of biotechnology, 2006, Vol. 4, No. 2, 137-140.
- Bahatia A., Prakash S. Topical phenytoin for wound healing. Dermatology journal, 2007, Vol. 10, No.1, 1-10.
- Luisa AD., Aime L.B. Wound healing. Humana Press, New Jersey, 2002, 3-16.
- McAnally LE., Thompson D. Use of phenytoin for wound healing. Hospital pharmacy, 1992; 27, 649-50.
- Booth N., McDonald L. Veterinary pharmacology and therapeutics. Iowa state university press, Iowa, 1985, 658.
- Kimball OP., Horan TN. The use of dilantine in the treatment of epilepsy. Annual Internal Medicine, 1939, 13:787-93.
- Shapiro M. Accelerating of gingival wound healing in non-epileptic patients receiving diphenylhydantoin sodium, Exp Med Surg, 1958, 30:191-5.
- Kolbert GS. Oral diphenylhydantoin in corneal wound healing in the rabbit. Am J Opthamol. 1968, 66: 736-8.
- Sklans S., Taylor RG., Shklar G. Effects of diphenyl hydantoin sodium on healing of experimentally produced fractures in rabbit mandibles. Journal of oral surgery, 1967, 25:310-9.
- Gudmundson C., Lidgren L. Does diphenylhydantoin accelerates healing of fractures in mice? Acta Orthop Scand, 1973, 44:640-9.
- Bansal NK. Comparison of topical phenytoin with normal saline in the treatment of chronic trophic ulcers in leprosy. Int J Dermatol, 1993, 32:210-13.
- El Zayat SG. Preliminary experience with topical phenytoin in wound healing in a war zone. Mil Med, 1989, 28:347-50.
- Anstead GM., Hart LM., Sunahara JF., Liter ME. Phenytoin in wound healing, Ann Pharmacol, 1996, 30:768-75.
- Shafer WG. Effect of dilantin sodium on various cell lines on various cell lines in tissue culture. Proc Soc Exp Biol Med, 1961, 108:694-96.
- Modagheh S., Salehian B., Tavassoli M. Use of phenytoin in healing of war and non-war wounds. A pilot study of 25 cases. Int J Dermatol, 1989, 28:347-350.
- Lodha SC., Lohia ML., Vyas MCR., Bhandari S. Role of phenytoin in healing of large abscess cavities. British journal of surgery, 1991, 78:105-8.

Archive of SID