

# بررسی اثر تجویز موضعی زجاجیه چشم گاو بر روند بهبود زخمهای سوختگی ناشی از اسید بر روی پوست خرگوش‌های نر نژاد Dutch

دکتر حسن رخشنده<sup>۱</sup> - اسماعیل نصرآبادی<sup>۲</sup> - دکتر ناصر مهدوی شهری<sup>۳</sup>

## چکیده

**زمینه و هدف:** سوختگیهای کارگاهی و صنعتی که در اثر تماس با مواد شیمیایی سوزاننده بخصوص اسیدها و قلیاها به وجود می‌آیند، درصد قابل توجهی از آمار سوختگی را در جامعه به خود اختصاص می‌دهند. مطالعه حاضر با هدف تعیین اثر تجویز موضعی زجاجیه چشم گاو به عنوان یک ماده طبیعی حاوی مقادیر زیادی اسید هیالورونیک، بر روند بهبودی زخمهای سوختگی ناشی از اسید بر روی پوست خرگوش به وسیله روش بافت‌شناسی و بررسی کلینیکی انجام شد.

**روش بررسی:** در این مطالعه تجربی، ۵ رأس خرگوش نر سفید از نژاد Dutch تقریباً هم‌سن با وزن بین ۲-۲/۴ کیلوگرم تهیه شدند؛ سپس موهای پشت خرگوش‌ها در طرفین ستون مهره‌ها حذف و تحت بی‌حسی موضعی، با استفاده از اسید نیتریک ۶۵٪ سوختگیهایی در حد درجه ۲، به قطر تقریبی ۱۰ میلی‌متر در ۶ نقطه در هر طرف از ستون مهره‌ها در تمام خرگوش‌ها ایجاد شد. زخمهای سمت راست ستون مهره‌های تمام خرگوش‌ها تحت درمان با زجاجیه چشم گاو قرار گرفتند (۳۰ مورد) و زخمهای سمت چپ در تمام خرگوش‌ها به عنوان گروه شاهد با آب مقطر تیمار شدند (۳۰ مورد). در طول دوره آزمایش با اندازه‌گیری سطح زخمها، درصد بهبودی بافت آسیب‌دیده در هر دو گروه محاسبه شد. جهت بررسی میکروسکوپی، از محل‌های آسیب نمونه‌برداری و مقطع‌گیری شد. مقاطع با روشهای هماتوکسیلن - اتوزین (H&E)، Periodic Acid Shift (PAS) و پیک ایندگو رنگ‌آمیزی شدند و از نظر میزان تشکیل اپی‌تلیوم و وضعیت لایه‌های سلولی آن مورد ارزیابی کیفی قرار گرفتند. داده‌ها با استفاده از آزمون t-student و سطح معنی‌داری  $P < 0/05$  مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند.

**یافته‌ها:** درصد بهبودی زخمها در روز هشتم پس از ایجاد آسیب در گروه مورد ۳۰٪ و در گروه شاهد ۵۰٪ بود که در روز شانزدهم به ترتیب به مقادیر ۶۵٪ و ۸۵٪ افزایش یافت. طبق بررسیهای میکروسکوپی، در گروه شاهد تعداد لایه‌های اپی‌تلیوم کمتر اما تمایز یافتگی سلول‌های آن نسبت به گروه مورد بیشتر بود.

**نتیجه‌گیری:** در این تحقیق، کاربرد موضعی زجاجیه چشم گاو با الگوی یک بار در روز بر جراحتهای سوختگی درجه ۲ دارای اثرات منفی داشت که می‌تواند به دلیل تفاوت‌های بین گونه‌ای پروتئین‌های متصل به هیالورونان موجود در زجاجیه چشم گاو و پوست خرگوش و همچنین وزن مولکولی هیالورونان موجود در زجاجیه باشد.

**کلید واژه‌ها:** زجاجیه چشم گاو؛ هیالورونان؛ التیام زخم؛ سوختگی درجه ۲، خرگوش

افق دانش؛ مجله دانشکده علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی گناباد (دوره ۱۰؛ شماره ۴؛ سال ۱۳۸۳)

<sup>۱</sup> نویسنده مسؤل؛ عضو هیأت علمی گروه فارماکولوژی و مرکز تحقیقات فارماکولوژیک گیاهان دارویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد  
آدرس: مشهد- بیمارستان قائم (عج) - گروه فارماکولوژی

تلفن: ۰۵۱۱-۸۴۴۵۹۲۴ - دورنگار: ۰۵۱۱-۸۴۱۳۵۷۹ - پست الکترونیکی: hasrakhsh@yahoo.com

<sup>۲</sup> کارشناس ارشد گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد

<sup>۳</sup> دانشیار گروه آموزشی زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد

## مقدمه

سوختگیهای کارگاهی و صنعتی که در اثر تماس با مواد شیمیایی سوزاننده بخصوص اسیدها و قلیاها به وجود می‌آیند، درصد قابل توجهی از آمار سوختگی را در جامعه به خود اختصاص می‌دهند. تفاوت عمده بین سوختگیهای حرارتی و سوختگی ناشی از مواد شیمیایی در مدت زمانی است که تخریب بافتی ادامه می‌یابد. عوامل شیمیایی باعث آسیب پیش‌رونده می‌گردند تا زمانی که به واسطه واکنش با بافت خنثی شوند؛ بنابراین عمق سوختگی بیشتر به شدت اثر عامل سوختگی و مدت زمان تماس با محل سوختگی بستگی دارد (۱).

سوختگیهای درجه ۲ و ۳ از اپیدرم فراتر رفته و به داخل درم گسترش می‌یابند، با این تفاوت که در سوختگیهای درجه ۲، عناصر اپی‌تلیالی قابل احیا که رژنراسیون اپی‌تلیالی ممکن است از آنها منشأ گیرد، باقی می‌مانند؛ اما در سوختگیهای درجه ۳، تمام ضخامت پوست و اجزای اپی‌تلیالی به طور کامل و برگشت‌ناپذیر تخریب می‌شوند و از بین می‌روند و رژنراسیون خودبه‌خودی در این دسته امکان‌پذیر نیست (۲).

زجاجیه چشم یک ماده طبیعی حاوی مقادیر زیادی آب، اسید هیالورونیک، کلاژن، ویتامین C و مواد معدنی می‌باشد (۳). اسید هیالورونیک یک گلیکوزآمینوگلیکان خطی غیر سولفات پل‌آنیونی متشکل از هزاران تکرار هماهنگ دی‌ساکارید گلوکورونیک اسید و N-استیل گلوکزآمین می‌باشد که با دیگر گلیکوزآمینوگلیکان‌ها در فرایند سنتز، اندازه مولکول و خواص فیزیکی بسیار متفاوت است. این ماده عاملی ضروری در بستر خارج سلولی می‌باشد که در برهمکنش‌های بین سلول‌ها و شروع پاسخهای مهم سلولی نقش ایفا می‌کند و در بافتهایی مثل زجاجیه چشم، مایع مفصلی، بندناف و مایع گوش داخلی نقش ساختاری و مکانیکی به عهده دارد (۴). در تحقیقات اخیر، تأثیر مثبت اسید هیالورونیک اگرژون در ترمیم زخمهای حاد و مزمن (۵)، زخمهای متابولیکی و سوختگیهای درجه ۱ و ۲ به اثبات رسیده است (۶).

با توجه به محتویات غنی زجاجیه و آثار مثبت برخی از آنها بر روی التیام زخمهای پوستی و مخاطی و سوختگیهای درجه ۲

که در تحقیقات قبلی اعلام شده بود و با توجه به فقدان انجام تحقیق مشابه بر روی زخم سوختگی در مدل حیوانی که امکان همسان‌سازی دقیق گروههای مورد و شاهد را فراهم می‌آورد، مطالعه حاضر با هدف تعیین اثر تجویز موضعی زجاجیه چشم گاو بر روند بهبود زخمهای سوختگی درجه ۲ ناشی از اسید بر روی پوست خرگوش‌های نر نژاد Dutch انجام شد.

## روش بررسی

در این مطالعه تجربی، ۵ رأس خرگوش نر سفید از نژاد Dutch تقریباً هم‌سن، با وزن بین ۲-۲/۴ کیلوگرم تهیه شدند. ابتدا خرگوش‌ها وزن شدند و به قفسهای شماره‌گذاری شده مخصوص منتقل شدند. روز بعد موهای پشت خرگوش‌ها در موضع مورد نظر ابتدا با قیچی کوتاه و سپس با تیغ تراشیده شد. قبل از ایجاد سوختگی ابتدا پوست پشت حیوان در دو طرف ستون مهره‌ها ضد عفونی و سپس با استفاده از اسپری لیدوکائین ۱٪ بی‌حس گردید. جهت ایجاد سوختگی در پوست خرگوش‌ها از وسیله‌ای متشکل از یک پورت رایانه‌ای که سه لوله موئینه هماتوکریت با فواصل یکسان در آن جاسازی شده بود، استفاده شد. با قرار دادن وسیله طراحی شده در ظرف حاوی اسید نیتریک ۶۵٪، مقدار مشخصی اسید برداشته شد و در سطح یکسان در هر طرف ستون مهره‌ها، ۶ موضع سوختگی ایجاد گردید. مدت‌زمان تماس لوله‌های حاوی اسید با پوست خرگوش در تمام موارد یکسان و به مدت ۱ دقیقه انتخاب شد. اندازه تمام زخمها تقریباً ۱۰ میلی‌متر بود؛ بنابراین در هر حیوان ۱۲ موضع و در مجموع ۶۰ نقطه سوخته جهت مطالعه آماده شد. روز بعد از ایجاد آسیب، برای تعیین درجه سوختگی نمونه‌برداری انجام و پس از آن تیمار موضع زخم آغاز شد؛ در هر حیوان زخمهای سمت راست ستون مهره‌ها (گروه مورد) با زجاجیه چشم گاو و زخمهای سمت چپ ستون مهره‌ها (گروه شاهد) با آب مقطر تیمار شدند؛ بدین ترتیب که روزی یک مرتبه ابتدا مقدار ۱ میلی‌لیتر از ماده مورد نظر (زجاجیه یا آب مقطر) توسط سرنگ در موضع زخم ریخته و سپس با سوآپ تمیز روی سطح زخم مالیده می‌شد. زجاجیه مورد استفاده از چشم تازه لاشه گاوهای

اطلاعات جمع‌آوری شده با استفاده از آزمون t-student و سطح معنی‌داری  $P < 0.05$ ، مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند.

### یافته‌ها

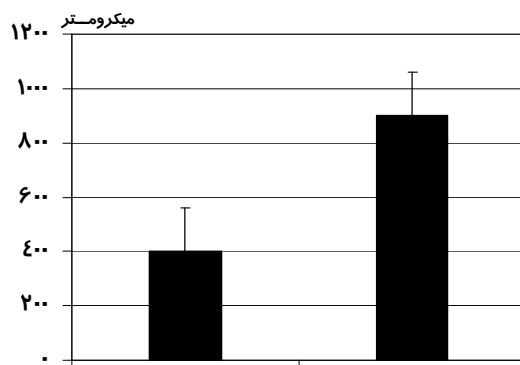
بررسیهای ماکروسکوپی نواحی سوخته در طول دوره درمان نشانگر حذف‌شدن اولین پوسته‌های روی زخمها در هر دو گروه مورد و شاهد و به طور همزمان و در روز هشتم بود.

بر اساس اندازه‌گیری سطح زخمهای نمونه‌های هر دو گروه، درصد بهبودی زخم در روز هشتم در گروه شاهد  $50\%$  و در گروه مورد  $30\%$  بود که در روز شانزدهم به ترتیب به مقادیر  $85\%$  و  $65\%$  افزایش یافت ( $P < 0.05$ ) (نمودار ۱).

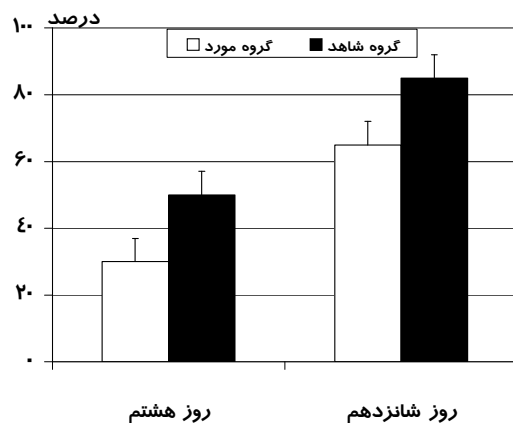
با انجام آزمایشات بافت‌شناختی، سوختگی در حد درجه ۲ تأیید شد و اپی‌تلیوم‌زایی در هر دو گروه تقریباً همزمان و قبل از روز هشتم از حاشیه زخمها به سمت مرکز آغاز شده بود (شکل‌های ۱ و ۲)؛ اما در روز شانزدهم تعداد لایه‌های اپی‌تلیال تازه تشکیل شده در نمونه‌های گروه مورد بیشتر از شاهد بود (نمودار ۲). بررسی این لایه‌های سلولی نشان داد که از نظر تمایز سلولی، سلول‌های نمونه‌های شاهد جلوتر و به مرحله شاخی‌شدن نزدیکتر بود؛ در حالی که لایه‌های سلولی در نمونه‌های گروه مورد هنوز در مرحله رشد و تکثیر بودند و تا مرحله شاخی‌شدن فاصله بیشتری داشتند (شکل‌های ۳ و ۴).

ذبح‌شده در کشتارگاه صنعتی دام شهرداری مشهد، تهیه شد؛ بدین صورت که کره چشم با اسکالپل کمی عقب‌تر از محل اتصال صلبیه به قرنیه به آهستگی سوراخ و دورتا دور کره چشم برش زده می‌شد. پس از بیرون ریختن مایع زلالیه، عدسی به همراه زجاجیه ژله‌ای خارج می‌گردید. پس از انتقال زجاجیه چشم به داخل پتری دیش استریل توسط سرنگ زجاجیه برداشته و به ظرف مناسبی جهت نگهداری انتقال داده می‌شد. جهت ارزیابی دقیق، سطح زخمهای نمونه‌های مورد و شاهد به کمک کاغذ میلیمتری اندازه‌گیری شد. در روزهای هشتم و شانزدهم تصاویر ماکروسکوپی نیز تهیه گردید. در طول دوره درمان همه روزه وضعیت کلینیکی زخمها مورد بررسی قرار می‌گرفت تا تغییرات احتمالی ایجادشده در مقایسه نمونه مورد و شاهد مورد بررسی قرار گیرند.

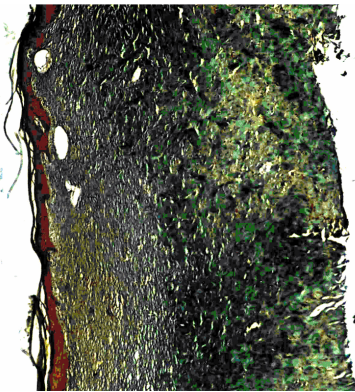
به منظور بررسی مقاطع میکروسکوپی از زخمهای خرگوش‌های مورد مطالعه در چندین مرحله نمونه‌برداری و تهیه مقاطع انجام گرفت. جهت نمونه‌برداری، پس از بی‌حس کردن ناحیه زخم و اطراف آن، با استفاده از Key Skin Punch با قطر ۸ میلی‌متر تمام ضخامت پوست برداشته و به طور جداگانه پس از شستشو در محلول سرم فیزیولوژیک به ظروف حاوی فیکساتور بوئن منتقل شد. مقاطع تهیه‌شده با روشهای هماتوکسین-انوزین، PAS، پیکروفوشین و پیک ایندگو، رنگ‌آمیزی و سپس مورد مطالعه قرار گرفت.



نمودار ۲- میانگین ضخامت اپیدرم بازسازی شده در روز شانزدهم دوره تحقیق بر حسب میکرومتر ( $P < 0.05$ )



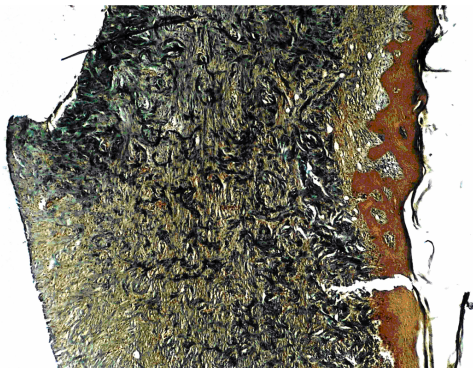
نمودار ۱- مقایسه درصد بهبودی زخم بر اساس سطح اندازه‌گیری شده در روزهای هشتم و شانزدهم



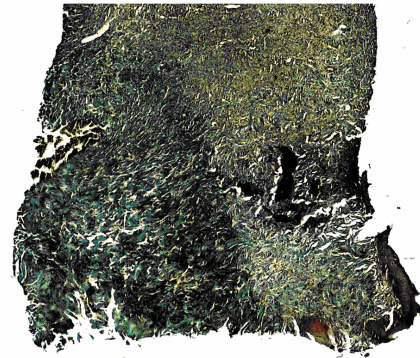
شکل ۳- مقطع تهیه شده از بافت آسیب دیده گروه شاهد در، روز شانزدهم پس از ایجاد آسیب؛ اپی تلیوم رنگ متمایل به قهوه‌ای به خود گرفته است (بزرگنمایی ۱۴۳ برابر)



شکل ۱- مقطع تهیه شده از بافت آسیب دیده گروه شاهد در روز هشتم پس از ایجاد آسیب که شروع رویش اپی تلیوم از حاشیه زخم را نشان می‌دهد (بزرگنمایی ۱۴۳ برابر).



شکل ۴- مقطع تهیه شده از بافت آسیب دیده گروه مورد در روز شانزدهم پس از ایجاد آسیب؛ اپی تلیوم رنگ متمایل به قهوه‌ای به خود گرفته است (بزرگنمایی ۱۴۳ برابر)



شکل ۲- مقطع تهیه شده از بافت آسیب دیده گروه مورد در روز هشتم پس از ایجاد آسیب که شروع رویش اپی تلیوم از حاشیه زخم را نشان می‌دهد (بزرگنمایی ۱۴۳ برابر).

## بحث

در خصوص توجیه نتایج فوق، آنچه که می‌توان استدلال نمود این است که زجاجیه یک فراورده طبیعی است و در این تحقیق هیچ‌گونه تغییری بر روی آن صورت نگرفته است؛ بنابراین با وجودی که اجزای تشکیل‌دهنده آن هر کدام به تنهایی می‌توانند اثرات مثبتی بر التیام زخم داشته باشند، اما برهمکنش آنها با یکدیگر ممکن است باعث بروز اثرات متفاوتی شود که این عقیده با یافته‌های Burd و همکاران همخوانی دارد (۶)؛ این پژوهشگران در تحقیقات خود دریافتند که اسیدهای هیالورونیک با منشأ متفاوت و یا مشترک اما روش استخراج متفاوت، در فعالیت بیولوژیک با هم متفاوتند که این اختلاف در عملکرد ناشی از تفاوت در نوع پروتئین‌های متصل به اسید هیالورونیک و همچنین اختلاف در وزن مولکولی اسید هیالورونیک منابع

التیام موفقیت‌آمیز در زخم سوختگی مدیون دو پدیده نوزایش اپیدرم و ترمیم درم است. مهمترین مراحل نوزایش اپیدرم عبارتند از: تقسیم، مهاجرت، تشکیل تیغه پایه، تمایز، مرگ سلولی و در نهایت شاخی شدن (۷). بررسی حاضر شروع تشکیل مجدد اپی تلیوم از اپیدرم سالم حاشیه سوختگی را در حدود روز هشتم نشان داد که با تحقیقات مشابه در این زمینه همخوانی دارد (۸،۷).

در این تحقیق، در مرحله تکثیر و بلوغ اپی تلیوم در روز شانزدهم، ضخامت اپیدرم در گروه مورد نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری یافت؛ هر چند گسترش سطحی آن نسبت به گروه شاهد به طور معنی‌داری کمتر بود ( $P < 0.05$ ).

صورت گیرد. در این مورد پیشنهاد می‌شود آزمایش با زجاجیه فریزشده یا حرارت‌دیده که پروتئین‌های اختصاصی متصل به هیالورونان آن دناتوره شده‌اند، تکرار شود.

### تشکر و قدردانی

این مقاله در قالب طرح تحقیقاتی (شماره ۵/۴۲۷۲-۱۳۸۲/۹/۶) و با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد و همچنین با همکاری مرکز طب تجربی بیمارستان قائم مشهد انجام شد که بدین‌وسیله مراتب تشکر و قدردانی اعلام می‌گردد.

مختلف می‌باشد. در روز شانزدهم که معرف مرحله بلوغ در فرایند التیام زخم سوختگی است، ضخامت اپی‌تلیوم در گروه شاهد نسبت به گروه مورد کاهش نشان می‌دهند که با فرایند تجدید ساختاری و تمایزیابی که در این مرحله رخ می‌دهد، همخوانی دارد.

هرچند الگوی تیمار یک بار در روز زجاجیه چشم گاو بر روی زخمهای سوختگی پوست خرگوش اثرات مثبتی در بر نداشت، اما با توجه به این که اجزای تشکیل‌دهنده زجاجیه توانایی بالقوه در بهبود روند التیام زخم دارند، پیشنهاد می‌شود تحقیقات بیشتر در جهت بهینه‌کردن مواد تشکیل‌دهنده زجاجیه در جهت افزایش کارایی آن در فرایند التیام زخم سوختگی

### منابع:

- 1- Warden GD, Heimbach DM. Burns in Schwartz SI. In: Principles of Surgery. 7<sup>th</sup> ed. New York: McGraw-Hill; 1999: 223-53.
- 2- Peckhurst S. Wound Care in Bosworth. In: Burns, Trauma, Management, Nursing. London: Bailliere Tindal; 1995: 63-75.
- 3- Laurent T, Ryan M, Pietruszkiewicz A. Fractionation of hyaluronic acid. The polydispersity of hyaluronic acid from the bovine vitreous body. *Biochim Biophys Acta* 1960; 42: 476-80.
- 4- Larvard CL. The Tree: Hyaluronan Research. In the 20<sup>th</sup> Century. <http://www.glycoforum.gr.jp/science/hyaluronan>, 2002.
- 5- Abatangelo G, Martelli M, Vecchin P. Healing of hyaluronic acid-enriched wounds: histological observations. *J Surg Res* 1980; 35: 410-16.
- 6- Burd DAR, Greco RM, Regauer S. Hyaluronan and wound healing: a new perspective. *Br J Plastic Surg* 1991; 44: 579-84.
- 7- Oldland G, Russel R. Human wound repair: epidermal regeneration. *J Cell Biology* 1968; 36: 135-51.
- 8- Peacock JR. Wound Care and Wound Healing; Principles of Surgery. 7<sup>th</sup> ed. New York: McGraw-Hill; 1998. Chapter 8.