

ارزیابی مقایسه‌ای تأثیرات پماد فنی توئین، ژل آلوه‌ورا، ژل رویال و عسل بر التیام زخم در مدل حیوانی خرگوش: ارزیابی هیستوپاتولوژیکی و ماکروسکوپی

سید آرمان رضوی^۱، امین بیغم صادق^{۲*}، ایرج کریمی^۳، سیاوش شریفی^۴، ایمان حفار^۵

۱. دامپزشک عمومی بخش خصوصی، شهرستان لنگرود، لنگرود، ایران
۲. استاد، بخش جراحی و رادیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران
۳. دانشیار، بخش پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران
۴. استادیار، بخش جراحی و رادیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران
۵. دامپزشک عمومی بخش خصوصی، شهرستان یزد، یزد، ایران

چکیده

زمینه و هدف: از فنیتوئین سدیم به شکل معمول در درمان زخم استفاده می‌شود. تأثیرات ترمیمی آلورا هم با افزایش ماکروفاژها و فیبروبلاست‌ها با افزایش تولید کلاژن و پروتئوگلیکان‌ها باعث تسریع بهبودی زخم می‌شود. این مطالعه با هدف بررسی اثرات پماد فنی توئین ۱٪، ژل آلوه‌ورا، ژل رویال و عسل بر ترمیم زخم پوستی در مدل حیوانی خرگوش صورت گرفت.

مواد و روش‌ها: این مطالعه روی ۵ خرگوش با ۵۰ زخم پوستی صورت گرفت. پماد فنی توئین ۱٪، ژل آلوه‌ورا، ژل رویال و عسل در چهار زخم استفاده شد و یک زخم دیگر به‌عنوان شاهد بدون دارو در نظر گرفته شد. محل پانسمان مواد به شکل مربع کای عوض می‌شد. مطالعه ماکروسکوپی در روزهای ۴، ۸، ۱۲، ۱۶ و ۲۰ پس از ایجاد زخم و مطالعه هیستوپاتولوژی در روزهای ۱۰ و ۲۱ از محل زخم‌ها صورت گرفت.

یافته‌ها: نتایج این مطالعه نشان داد که در روز ۸ و ۱۲ در گروه‌های ژل آلوه‌ورا، ژل رویال و عسل مساحت زخم نسبت به گروه فنی توئین دارای اختلاف معناداری ($P < 0/05$) بودند که نشان‌دهنده کاهش سریع‌تر سطح زخم نسبت به گروه فنی توئین بوده است. در روز ۱۶ پس از جراحی سطح زخم گروه عسل به‌صورت کامل بسته‌شد و در روز ۲۱ تمامی زخم‌ها در تمامی گروه‌ها به صورت کامل ترمیم شدند. همچنین بررسی‌های هیستوپاتولوژیکی در روزهای ۱۰ و ۲۱ هیچ‌گونه اختلاف معناداری بین گروه‌های مورد مطالعه نشان ندادند و تمامی زخم‌ها در روز بیستم به‌صورت کامل ترمیم شدند.

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داد که پماد فنی توئین ۱٪، ژل آلوه‌ورا، ژل رویال و عسل همگی تأثیر خوبی در ترمیم زخم داشته‌اند.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۱/۱۰
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۳/۱۰

کلیدواژه‌ها:

فنی توئین، ژل آلوه‌ورا، ژل رویال، عسل، ترمیم زخم، خرگوش

۱. مقدمه

بخش عملکردی و محافظتی اپیدرم در ترمیم زخم بسیار مؤثر است، در حالی که ترمیم در بخش‌های عمقی‌تر لایه درم، کمتر و با تأخیر است و موجب تشکیل بافت اسکار و از بین رفتن بخش قابل توجهی از ساختار اصلی و عملکردی پوست می‌شود. به همین دلیل می‌توان برای

ترمیم زخم پس از آسیب به پوست، شامل یک ارتباط گسترده بین اجزای مختلف سلولی و بخش‌های گوناگون پوست و ماتریکس خارج سلولی آن است. در شرایط فیزیولوژیکی طبیعی، ترمیم و بازسازی

* نویسنده مسئول: دکتر امین بیغم صادق

نشانی: دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران. کد پستی ۸۸۱۸۶۳۴۱۴۱، صندوق پستی ۱۱۵

رایانامه: dr.bigham@gmail.com

شناسه ORCID: 0000-0003-4981-7495

شناسه ORCID نویسنده اول: 0000-0002-6739-1187

مجله علمی - پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، دوره ۲۸، شماره ۳، مرداد و شهریور ۱۴۰۰، ص ۳۸۷-۳۹۵
آدرس سایت: <http://jsums.medsab.ac.ir> رایانامه: journal@medsab.ac.ir
شاپای چاپی: ۱۶۰۶-۷۴۸۷

تک‌هسته‌ای، اتوزینوفیل‌ها، فیبروبلاست‌ها، رسوب کلاژن، عروق‌زایی جدید و تشکیل بافت اسکار جدید می‌باشد. این عوامل نشان می‌دهند تأثیر فنی‌توئین در ترمیم سریع و بازسازی زخم می‌تواند ناشی از تکثیر سریع سلول‌ها و به‌کارگیری و جایگزینی آن‌ها در موضع زخم باشد البته افزایش کمی، هم در جمعیت فیبروبلاست‌های پوست هم در شرایط آزمایشگاه دیده شده است. این خاصیت غیرممکن است که ناشی از خاصیت مخدر فنی‌توئین باشد با این حال ممکن است با تأثیر مستقیم بر ترشح، سنتز و مهاجرت فیبروبلاست‌ها از طریق فاکتورهای رشد مثل فاکتور تنظیم‌کننده رشد پلاکتی از ماکروفاژها و مونوسیت‌ها باعث ایجاد بافت گرانوله شود (۸).

۲. مواد و روش‌ها

مطالعه پژوهشی حاضر در بخش جراحی و رادیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهرکرد در زمستان ۱۳۹۶ صورت گرفت. این مطالعه در کمیته اخلاق دانشگاه با کد اخلاق IR.SKU.REC.1397.554 تأیید شد و در طول مدت پژوهش، تمام حقوق حیوانات رعایت گردید.

تهیه ژل رویال

ژل رویال به‌صورت طبیعی در کندوهای زنبورعسل توسط زنبورهای کارگر تولید می‌شود و از شرکت تولید و پخش عسل ایازی استان چهارمحال و بختیاری به‌صورت خالص تهیه شد.

تهیه عسل

عسل به‌صورت طبیعی در کندوهای زنبورعسل توسط زنبورهای کارگر تولید می‌شود و از شرکت تولید و پخش عسل ایازی استان چهارمحال و بختیاری به‌صورت خالص تهیه شد.

تهیه ژل آلونه‌ورا

برگ گیاه آلونه‌ورا از فروشگاه محصولات گیاهی به‌صورت تازه تهیه گردید و ژل آلونه‌ورا که در قسمت مرکزی برگ موجود است، با برش قسمت مرکزی استخراج گردید.

تهیه پماد فنی‌توئین

این دارو در کارخانه داروپخش به‌صورت تجاری و با غلظت ۱٪ تولید می‌گردد که از داروخانه‌ای در سطح شهر تهیه گردید.

تهیه گونه حیوانی و شرایط نگهداری

در این مطالعه از ۵ قطعه خرگوش محلی با وزن تقریبی ۲ کیلوگرم و سن کمتر از ۱۲ ماه استفاده گردید. این خرگوش‌ها به مدت ۱۵ روز در خانه حیوانات دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهرکرد نگهداری شدند تا با شرایط محیطی جدید تطابق یابند.

تسریع روند التیام زخم و جلوگیری از عفونت و تأخیر در ترمیم از مواد مختلف در پوشاندن سطح باز زخم استفاده کرد (۱). از این رو مطالعه حاضر با هدف بررسی اثرات مقایسه‌ای ژل رویال، عسل، ژل آلونه‌ورا و فنی‌توئین سدیم بر تسریع روند التیام زخم در مدل حیوانی خرگوش صورت گرفته است.

ژل رویال یک مکمل غذایی سنتی است که به‌وسیله غدد فک پایینی و زیرحلقی زنبورهای کارگر تولید می‌شود و غذای اصلی ملکه و لاروها می‌باشد که حاوی آب (۷۰-۶۰٪)، پروتئین (۱۸-۹٪)، کربوهیدرات (۱۸-۷٪)، اسیدچرب (۱۹-۸٪) و نمک‌های معدنی (۳-۰٫۸٪) و مقدار کمی ویتامین و پلی‌فنول است (۲). ژل رویال دارای اثرات آنتی‌باکتریال و آنتی‌اکسیدانی، ضدتوموری و ضدالتهابی می‌باشد (۳)، در مدل‌های آزمایشگاهی، ژل رویال باعث اتساع عروقی، افزایش خون‌رسانی به موضع زخم و همچنین باعث افزایش سرعت رشد سلولی و تمایز سلول‌ها می‌شود.

آلونه‌ورا یک گیاه متعلق به خانواده سوسنیان است که جزو گیاهان شاداب کاکتوس‌مانند هستند و معمولاً دو محصول متمایز دارند: یکی شیرابه زردرنگ است که به عصاره آلونه‌ورا معروف است و دیگری خمیری است که از بخش درونی برگ و پارانثیم منشأ می‌گیرد که محل ذخیره مواد مغذی است و به ژل آلونه‌ورا معروف است که این ژل شامل آب (۹۸٫۵٪) و سایر مواد (۱٫۵٪) مانند ویتامین‌های محلول در چربی، مواد معدنی، آنزیم‌ها، پلی‌ساکاریدها، ترکیبات فنولی و اسیدهای آلی است. آلونه‌ورا از زمان‌های قدیم در ترمیم زخم استفاده می‌شده است. آنزیم‌های هیدرولیزکننده پروستاگلاندین و برادی‌کینین در آلونه‌ورا باعث کاهش التهاب و درد می‌شوند (۵).

عسل یک ماده دارای قند اشباع به‌دست‌آمده از شهد جمع‌آوری و فراوری شده توسط زنبور است که از قدیم در درمان و محافظت از زخم استفاده می‌شده است که شامل (۳۰٪) گلوکز، (۴۰٪) فروکتوز، (۵٪) ساکاروز، (۲۰٪) آب و مواد دیگر مثل اسیدآمین، ویتامین و مواد معدنی می‌باشد. عسل علاوه بر تأثیر محافظتی بر زخم، اثر آنتی‌باکتریالی هم دارد و همچنین باعث افزایش تحریک رشد بافتی در مدل حیوانی و آزمایش‌های انسانی شده است (۶).

در سال ۱۹۳۷ از فنی‌توئین به‌عنوان دارویی برای درمان تشنج استفاده می‌شد ولی بعدها در اثر استفاده بر روی تعدادی بیمار مشخص شد که این دارو باعث تسریع در ترمیم زخم‌های دهانی در برخی بیماران شده است. در مطالعات بعدی، تأثیر فنی‌توئین بر بهبود مؤثر در زخم‌های مزمن و زخم‌های ناشی از تروما به اثبات رسید. امروزه از فنی‌توئین به‌عنوان یک داروی ارزان و در دسترس و مؤثر بر ترمیم زخم در سراسر جهان استفاده می‌شود (۷). بیوپسی از زخم‌های باز تحت درمان با فنی‌توئین، نشان‌دهنده حضور بسیار زود سلول‌های

صورت گرفت و در روز ۲۱ که خرگوش‌ها با استفاده از داروی نمبوتال با دوز بالا به صورت انسانی کشته شدند از سمت دیگر نمونه‌گیری انجام گرفت. نمونه‌گیری به صورتی بود که قسمتی از بافت پوست به صورت تمام‌ضخامت در لبه‌های زخم به نحوی که شامل پوست سالم و آسیب‌دیده باشد توسط برش با اسکالپل برداشته شوند و پس از شستشو با سرم فیزیولوژی، در ظرف حاوی فرمالین بافر ۱۰ درصد به مدت یک هفته فیکس شد. سپس توسط دستگاه میکروتوم مقاطع ۵ میکرونی از این نمونه‌ها تهیه و مورد رنگ‌آمیزی هماتوکسلین- اتوزین قرار گرفت. در مقاطع تهیه‌شده، روند ترمیم زخم از نظر هیستوپاتولوژیک براساس التهاب، بلوغ فیبروبلاست، بافت گرانوله، رگ‌زایی جدید، تشکیل مجدد اپیتلیال و نحوه آرایش کلاژن ارزیابی و امتیازدهی شدند.

تجزیه و تحلیل آماری

برای ارزیابی داده‌های حاصل از اندازه‌گیری مساحت زخم‌ها، از نرم‌افزار Graph Pad Prism نسخه ۵ استفاده گردید که در آن آزمون آماری One-Way ANOVA انجام گرفت. داده‌های هیستوپاتولوژیک با آزمون Nonparametric Kruskal-wallis از SPSS نسخه ۲۴ ارزیابی شدند. آنالیز آماری داده‌ها با نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۴ سطح معناداری ($p < 0.05$) انجام شد.

۳. یافته‌ها

نتایج ماکروسکوپی ترمیم زخم

در روزهای ۴، ۸، ۱۲، ۱۶ و ۲۰ مساحت زخم‌های ایجاد شده در هر پنج گروه با استفاده از عکس‌های گرفته‌شده و نرم‌افزار Digimizer اندازه‌گیری شد که نتیجه آن در نمودار ۱ آورده شده است.

مساحت زخم روز ۸ در گروه‌های آلورا، ژل رویال و عسل نسبت به گروه فنی توئین به‌طور معنی‌داری کمتر بود اما این گروه با گروه کنترل شاهد، اختلاف معنی‌داری را به نمایش نگذاشت. از طرفی گروه‌های آلورا، ژل رویال، عسل و کنترل شاهد با یکدیگر اختلاف معناداری نداشتند.

مساحت زخم روز ۱۲ در گروه‌های آلورا، ژل رویال، عسل و کنترل شاهد نسبت به گروه فنی توئین به‌طور معنی‌داری کمتر بود و از طرفی گروه‌های آلورا، ژل رویال، عسل و کنترل شاهد با یکدیگر اختلاف معناداری نداشتند.

در روز ۲۰ تمامی زخم‌ها بسته شده بود و مساحت صفر بود.

خرگوش‌ها در روز اول نگهداری برای انگل‌زدایی تحت دارودرمانی با داروی آیورمکتین (1% Ivermectin) با دوز ۰٫۴ میلی‌گرم/کیلوگرم قرار گرفتند و دو هفته بعد نیز این درمان تکرار شد (۹). در تمام طول مدت نگهداری، حیوانات با پلت تغذیه گردیدند.

گروه‌بندی و انجام عمل جراحی

خرگوش‌ها به‌صورت تصادفی به پنج گروه یک‌تایی تقسیم شدند که هر گروه حاوی ۱۰ عدد زخم بود که در گروه ۱، گروه ۲، گروه ۳ و گروه ۴ به ترتیب از پماد فنی توئین سدیم، ژل آلوئه‌ورا، ژل رویال و عسل استفاده گردید و در گروه ۵ به‌عنوان گروه شاهد از هیچ‌گونه دارویی استفاده نگردید.

ابتدا خرگوش‌ها با تزریق عضلانی کوکتل محتوی داروهای کتامین و آسپرولامین به ترتیب با دوزهای ۳۰ و ۰٫۲ میلی‌گرم/کیلوگرم بیهوش شدند (۱۰). سپس موهای پشت حیوان تراشیده و موضع، اسکراب جراحی شد. سپس پوست ناحیه ستون فقرات هر حیوان به‌صورت تمام‌ضخامت و به شکل کاملاً گرد با قطر ۵ میلی‌متر و به فاصله ۲ سانتی‌متر از یکدیگر در پنج ناحیه و در دو طرف ستون فقرات توسط پنچ پوستی برداشته شد. محل پانسمان مواد به شکل مربع کای عوض شد تا در هر محل یک بار یک ماده قرار بگیرد. سپس زخم‌ها توسط گاز استریل بانداژ و حفاظت شدند. مواد مذکور در محل زخم به مدت هفت روز استفاده گردید.

ارزیابی

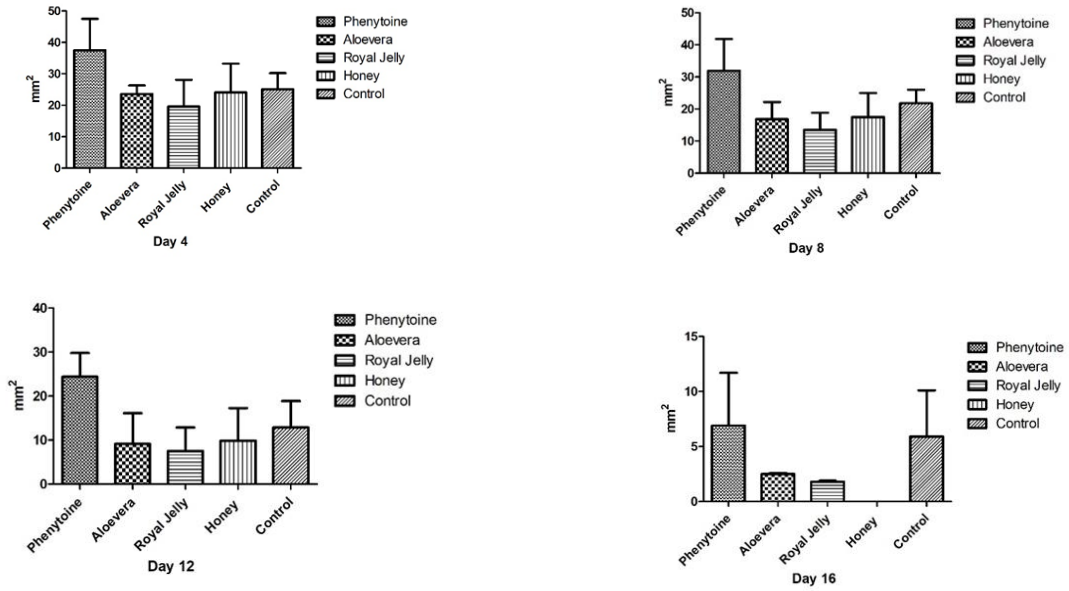
ارزیابی گروه‌ها در دو سطح ماکروسکوپی و هیستوپاتولوژی صورت گرفت.

ارزیابی ماکروسکوپی

در روزهای ۴، ۸، ۱۲، ۱۶ و ۲۰ پس از جراحی، محل زخم‌ها ابتدا به صورت ماکروسکوپی مورد مطالعه قرار گرفت و از نظر ظاهر زخم مانند التهاب، گرمی، سرخی، تورم و سازگاری ترکیب با ترمیم زخم بررسی گردید. سپس برای ارزیابی روند ترمیم زخم، مساحت زخم موردنظر در گروه‌های پنج‌گانه با استفاده از عکس‌های ثبت‌شده از فرایند ترمیم در روزهای مذکور و نرم‌افزار Digimizer اندازه‌گیری گردید.

ارزیابی هیستوپاتولوژیکی

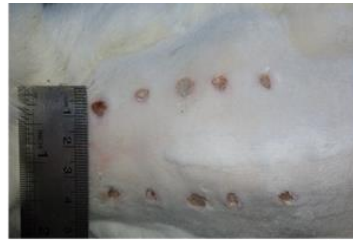
پس از انجام ارزیابی‌های ماکروسکوپی در روز ۱۰ خرگوش‌ها بیهوش شده و از زخم‌های یک سمت ستون مهره‌ها نمونه‌گیری



نمودار ۱. مساحت زخم‌های ایجاد شده در فواصل ۴، ۸، ۱۲، ۱۶ روز پس از جراحی براساس انحراف معیار \pm میانگین



شکل ۲. روز ۸ پس از جراحی



شکل ۱. روز ۴ پس از جراحی



شکل ۴. روز ۱۶ پس از جراحی (ناحیه بخیه شده محل نمونه‌گیری از زخم‌ها در روز ده می‌باشد.)



شکل ۳. روز ۱۲ پس از جراحی (ناحیه بخیه شده محل نمونه‌گیری از زخم‌ها در روز ده می‌باشد.)



شکل ۵. روز ۲۰ پس از جراحی (ناحیه بخیه شده محل نمونه‌گیری از زخم‌ها در روز ده می‌باشد.)

نتایج حاصل از بررسی میکروسکوپی

نمونه‌گیری روز ۱۰ و ۲۱ پس از عمل به‌ترتیب در جدول‌های ۱ و ۲ نمایش داده شده است.

نتایج هیستوپاتولوژی حاصل از بررسی مقایسه‌ای تأثیر پماد فنی توئین سدیم، ژل آلونه‌ورا، ژل رویال، عسل و گروه شاهد بر التیام زخم در

جدول ۱. نتایج حاصل از بررسی هیستوپاتولوژیک نمونه‌های روز ۱۰ بر اساس (حداکثر-حداقل)

شاخص	گروه	فنی توئین	آلونه‌ورا	ژل رویال	عسل	شاهد	P
التهاب	۰(۰-۰)	۰(۰-۰)	۰(۰-۰)	۰(۰-۰)	۰(۰-۱)	۰(۰-۰)	P>0.05
فیبروبلاست	۲(۲-۲)	۲(۲-۲)	۲(۲-۲)	۲(۲-۲)	۲(۲-۲)	۲(۲-۲)	P>0.05
بافت گرانوله	۴(۴-۴)	۴(۴-۴)	۴(۴-۴)	۴(۴-۴)	۴(۴-۴)	۴(۴-۴)	P>0.05
عروق‌زایی جدید	۲(۱-۲)	۲(۱-۲)	۲(۲-۳)	۲(۱-۲)	۲(۱-۲)	۲(۱-۲)	P>0.05
تشکیل مجدد اپیتلیال	۴(۳-۴)	۴(۳-۴)	۴(۴-۴)	۴(۳-۴)	۴(۳-۴)	۴(۳-۴)	P>0.05
نحوه آرایش کلاژن	۲(۱-۳)	۲(۲-۳)	۲(۲-۳)	۲(۱-۲)	۲(۱-۲)	۱(۱-۲)	P>0.05

(جدول ۲) (P>0.05).

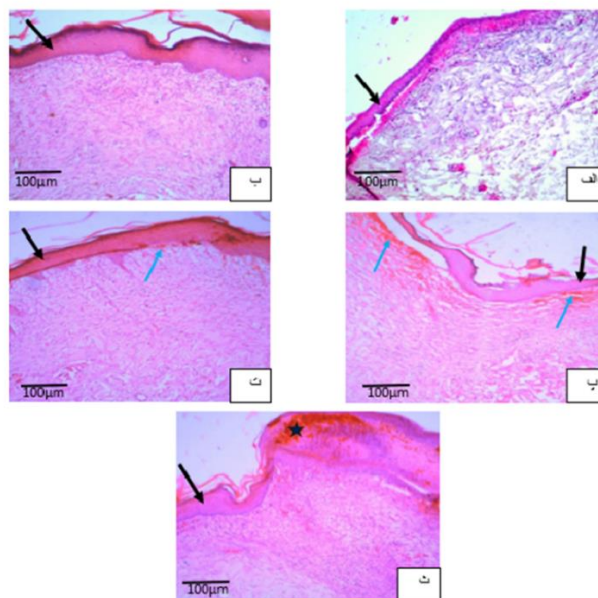
بررسی هیستوپاتولوژیک در نمونه‌های گرفته شده روز ۱۰ هیچ‌گونه اختلاف معناداری را بین گروه‌های مختلف نشان نداد

جدول ۲. نتایج حاصل از بررسی هیستوپاتولوژیک نمونه‌های روز ۲۱ براساس (حداکثر-حداقل) میانه

شاخص	گروه	فنی توئین	آلونه‌ورا	ژل رویال	عسل	شاهد	P
التهاب	۰(۰-۰)	۰(۰-۰)	۰(۰-۰)	۰(۰-۰)	۰(۰-۰)	۰(۰-۰)	P>0.05
فیبروبلاست	۳(۲-۴)	۳(۳-۳)	۲(۲-۳)	۲(۲-۳)	۲(۲-۳)	۳(۳-۳)	P>0.05
بافت گرانوله	۴(۴-۴)	۴(۴-۴)	۴(۴-۴)	۴(۴-۴)	۴(۴-۴)	۴(۴-۴)	P>0.05
عروق‌زایی جدید	۱(۰-۱)	۰(۰-۰)	۱(۱-۱)	۱(۱-۱)	۰(۰-۱)	۱(۱-۱)	P>0.05
تشکیل مجدد اپیتلیال	۴(۴-۴)	۴(۴-۴)	۴(۴-۴)	۴(۴-۴)	۴(۴-۴)	۴(۴-۴)	P>0.05
نحوه آرایش کلاژن	۳(۲-۴)	۳(۳-۴)	۲(۲-۴)	۲(۲-۴)	۳(۳-۳)	۳(۳-۴)	P>0.05

معناداری را بین گروه‌های مختلف نشان نداد (جدول ۳) (P>0.05).

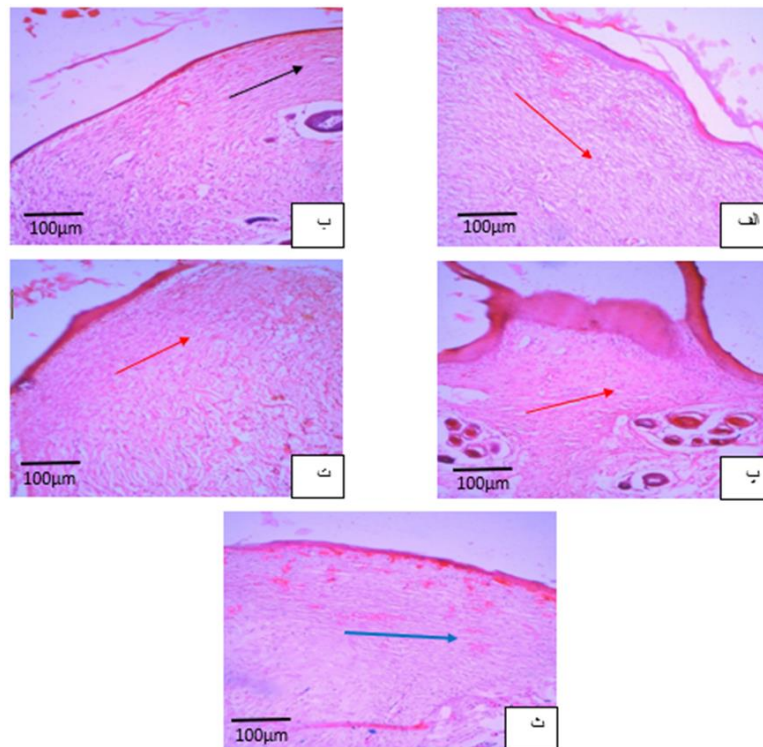
بررسی هیستوپاتولوژیک نمونه‌های گرفته شده روز ۲۱ هیچ‌گونه اختلاف



شکل ۶. مقاطع هیستوپاتولوژی روز ۱۰ تمامی گروه‌ها رنگ آمیزی شده با هماتوکسیلین و انوزین با بزرگ‌نمایی ۱۰ برابر. الف) گروه فنی توئین، ب) گروه آلونه‌ورا، پ) گروه ژل رویال، ت) گروه عسل و ث) گروه شاهد.

در تمامی گروه‌ها بافت اپیتلیوم به‌صورت کامل تشکیل گردید، بافت جوانه‌ای به‌طور کامل نقیصه را پر کرد، جهت‌گیری رشته‌های کلاژن و بلوغ متوسط می‌باشد. هر کدام از نمادهای موجود در این مقاطع، نمایانگر بافتی خاص می‌باشد:

↑ بافت اپیتلیوم، ↑ خونریزی در زیر بافت اپیدرم، ★ لخته سطحی



شکل ۷. مقاطع هیستوپاتولوژی روز ۲۱ تمامی گروه‌ها رنگ‌آمیزی شده با هماتوکسیلین و اتوزین با بزرگ‌نمایی ۱۰ برابر. الف) گروه فنی توئین، ب) گروه آلونه‌ورا، پ) گروه ژل رویال، ت) گروه عسل و ث) گروه شاهد.

هر کدام از نمادهای موجود در این مقاطع، نمایانگر بافتی خاص می‌باشد: **ا** بلوغ خوب و جهت‌گیری خوب رشته‌های کلاژن، **آ** بلوغ بسیار خوب و جهت‌گیری بسیار خوب رشته‌های کلاژن، **ب** بلوغ نسبتاً خوب و جهت‌گیری نسبتاً خوب رشته‌های کلاژن.

۴. بحث و نتیجه‌گیری

درمان‌های طبیعی، گیاهی و بیولوژیکی شده است. عسل و سایر محصولات زنبور عسل نظیر ژل رویال، صمغ و زهر، نه تنها به‌عنوان محرک سیستم ایمنی بلکه به‌عنوان محرک درمان زخم‌های مزمن نیز مورد استفاده قرار می‌گیرند (۱۱، ۱۲). حبیبی‌پور و همکاران (۲۰۰۳) تأثیر داروی فنی توئین را بر زخم پوستی در رت بررسی کردند. نتایج حاکی از برتری معنی‌دار گروه فنی توئین نسبت به گروه شاهد در شاخص میزان استحکام کششی زخم بود. هم‌چنین فنی توئین با تأثیر بر پرولیفراسیون سلولی و رشد فیبروبلاست‌ها و کراتینوسیت‌ها و افزایش تولید و بلوغ سریع‌تر کلاژن‌ها و هم‌چنین کاهش بار میکروبی زخم به دلیل خاصیت آنتی‌باکتریال خود، باعث تسریع بهبود روند زخم می‌شود (۱۳). در مطالعه حاضر نیز استفاده از پماد ۱٪ فنی توئین باعث افزایش سرعت تکثیر سلول‌های اپیتلیال و هم‌چنین ایجاد بافت گرانوله جدید و عروق‌زایی قوی در زخم‌های تحت درمان شده است.

روند ترمیم زخم، یکی از پیچیده‌ترین فرایندهای فیزیولوژیک است که طی آن، سلول‌ها و ترشحات مختلف سلولی و به‌ویژه فاکتورهای رشد و بسیاری از سیتوکین‌ها وارد عمل می‌شوند. به دنبال آسیب به پوست، آبخاری از وقایع مولکولی و فعالیت‌های سلولی شامل التهاب، شکل‌گیری بافت جدید و بازآرایی بافتی رخ می‌دهد و در نهایت منجر به ترمیم کلی بافت آسیب‌دیده می‌شود. طی این روند، کراتینوسیت‌ها، سلول‌های اندوتلیال، فیبروبلاست‌ها و سلول‌های التهابی ضمن تکثیر، شروع به مهاجرت به محل آسیب‌دیده می‌کنند. در محل زخم، این سلول‌ها ضمن برقراری ارتباط با ماتریکس خارج سلولی با ترشح سیگنال‌های مختلف تحریکی باعث فعال‌سازی یکدیگر نیز می‌شوند. به موازات این وقایع، ضمن تولید مجدد رگ‌های خونی در محل، سلول‌های مولد ماتریکس و فیبروبلاست‌ها به ناحیه بافت گرانوله وارد می‌شوند و ماتریکس آسیب‌دیده را بازسازی می‌کنند.

امروزه در پزشکی مدرن، توجه زیادی به استفاده از

۱۶). در مطالعه حاضر نیز استفاده از ژل آلونهورا باعث افزایش سرعت تکثیر سلول‌های اپیتلیال و همچنین افزایش رشد کلاژن‌ها و تشکیل بافت گرانوله و افزایش عروق‌زایی در زخم‌های تحت درمان شد و تأثیر مثبتی بر سرعت ترمیم زخم‌ها داشت.

سومارو^۴ و همکاران (۲۰۰۸) تأثیر استفاده موضعی ژل رویال بر موکوزیت‌های دهانی را بررسی کردند. نتایج نشان دادند که عسل و موم در مقایسه با گروه کنترل که تحت درمان با وازلین بودند اندازه موکوزیت را کاهش ندادند، در حالیکه ژل رویال به‌صورت وابسته به دوز به دلیل خاصیت آنتی‌باکتریال و جلوگیری از ایجاد عفونت در زخم و افزایش مهاجرت فیبروبلاست‌ها در لبه زخم و کاهش سریع سطح زخم، به‌طور قابل توجهی موجب بهبود موکوزیت شده بود و به این نتیجه دست یافتند که احتمالاً استعمال موضعی ژل رویال بر بهبود موکوزیت‌های شدید دهانی ناشی از شیمی‌درمانی مؤثر خواهد بود (۱۷). در مطالعه حاضر نیز استفاده از ژل رویال باعث افزایش سرعت تکثیر فیبروبلاست‌ها و همچنین کاهش سریع سطح زخم‌ها در زخم‌های تحت درمان با ژل رویال شد و بر سرعت ترمیم زخم‌ها تأثیر مثبت داشت.

شیرزاد^۵ و همکاران (۲۰۱۰) با بررسی تأثیر ژل رویال بر بهبود زخم ناشی از برش استریل در موش بالبسی دریافتند که استفاده از ژل رویال به‌طور قابل توجهی سبب بهبود زخم‌ها و کاهش زمان التیام زخم می‌گردد (۱۸). در مطالعه حاضر نیز مصرف موضعی ژل رویال به مدت هفت روز صورت گرفت و با افزایش سنتز کلاژن و مهاجرت فیبروبلاست‌ها و کاهش سطح زخم، تأثیر به‌سزایی در روند ترمیم زخم داشت.

چمنی^۶ و همکاران (۲۰۱۷) تأثیر استفاده موضعی از عسل در درمان و بهبود زخم داخل دهانی بر رت را بررسی کردند. در این مطالعه مشخص شد که استفاده از عسل به دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی خود، باعث کاهش آلودگی باکتریایی زخم‌ها و همچنین افزایش عروق‌زایی و افزایش رشد فیبروبلاست‌ها و سلول‌های اپیتلیال و کاهش التهاب بافتی در بستر زخم شده است (۱۹). در مطالعه حاضر نیز مصرف موضعی عسل به مدت هفت روز صورت گرفت و با افزایش عروق‌زایی بافتی و کاهش التهاب و افزایش رشد فیبروبلاست‌ها و سلول‌های اپیتلیال و کاهش سطح زخم، تأثیر به‌سزایی بر روند ترمیم زخم داشت.

تکزازی^۷ و همکاران (۲۰۱۶) تأثیرات سینرژیستی عسل و موم را بر زخم جلدی در رت ارزیابی کردند. ارزیابی ماکروسکوپی و میکروسکوپی نشان داد که درصد بهبود زخم در گروه‌های آزمایش

حسامنیس^۱ و همکاران (۲۰۱۰) داروی فنی‌توئین را به‌صورت موضعی برای بهبود روند ترمیم زخم در رت‌های آلبینو مورد مطالعه قرار دادند و مشاهده کردند که داروی فنی‌توئین در فرایند ترمیم زخم و سرعت بهبودی زخم‌ها تأثیرگذار بوده است (۱۴).

همچنین در مطالعه‌ای دیگر، بررسی‌های میکروسکوپی و ماکروسکوپی زخم‌های درمان‌شده با فنی‌توئین نشان‌گر تشکیل دلمه‌های ضخیم‌تری نسبت به گروه شاهد بوده‌اند و همین امر باعث کاهش مهاجرت سلول‌های اپیتلیال در لبه زخم و تشکیل نشدن فولیکول‌های مو می‌شود ولی از طرفی باعث افزایش عروق‌زایی در گروه درمان و همچنین باعث افزایش رشد فیبروبلاست‌ها و رسوب کلاژن و تشکیل بافت گرانوله در بستر زخم شده است (۱۵). در مطالعه حاضر، استفاده از پماد فنی‌توئین ۱٪ باعث افزایش سرعت تکثیر سلول‌های اپیتلیال و همچنین افزایش رشد کلاژن‌ها و عروق‌زایی قوی در زخم‌های گروه درمان شد ولی به دلیل تشکیل دلمه ضخیم، سطح زخم نسبت به سایر گروه‌ها کاهش قابل‌ملاحظه‌ای نداشت اما در نهایت باعث تسریع روند بهبودی زخم و ایجاد بافت گرانوله با درجه بالا در ناحیه زخم گردید.

آتیبیا^۲ و همکاران (۲۰۱۵) تأثیر ژل آلونهورا را در ترمیم و اپیتلیالیزاسیون قرنیه از طریق سوزاندن قرنیه با محلول کلیایی در رت‌های نرمال و دیابتی ارزیابی کردند. در این مطالعه مشخص گردید که استفاده از ژل آلونهورا با کاهش التهاب و افزایش اپیتلیالیزاسیون، تولید فیبروبلاست‌ها و کلاژن باعث تسریع در بهبودی زخم و کاهش تشکیل بافت فیبروزه می‌گردد. همچنین آلونهورا باعث افزایش فاکتورهای رشد مؤثر در ترمیم زخم می‌شود و با کاهش سایتوکاین‌های التهابی و کاهش نفوذ لکوسیت‌ها خاصیت ضد التهابی نیز دارد (۱). در مطالعه حاضر نیز استفاده از ژل آلونهورا باعث افزایش سرعت تکثیر سلول‌های اپیتلیال و همچنین افزایش رشد کلاژن‌ها و تشکیل بافت گرانوله و کاهش التهاب در زخم‌های تحت درمان شده بود و بر سرعت ترمیم زخم‌ها تأثیر مثبت داشت.

تکزازی^۳ و همکاران (۲۰۱۶) از ژل آلونهورا به‌صورت موضعی در زخم‌های پوستی استفاده کردند تا فعال‌سازی فاکتور رشد تراریختی بتا (TGF-B) را بررسی کنند. در این مطالعه مشخص شد که ژل آلونهورا باعث تحریک تولید TGF-B می‌شود که این فاکتور باعث تأثیر بر آنژیوژنز و عروق‌زایی و همچنین اپیتلیالیزاسیون سلولی و تشکیل بافت گرانوله، افزایش سنتز کلاژن و تحریک در تولید فیبروبلاست‌ها شده و باعث تسریع در بهبود زخم می‌شود

۵ Shirzad
۶ chamani
۷ Takzaree

1 Hasamnis
2 Atiba
3 Takzaree
۴ Suemaru

در روز ۱۰ و ۲۱ از نظر آماری، اختلاف معناداری بین گروه‌های مختلف مشاهده نشد.

تضاد منافع: تمامی نویسندگان بدین‌وسیله تأیید می‌کنند که هیچ‌گونه تضاد منافی در این مطالعه ندارند.

تشکر و قدردانی

مقاله حاضر مستخرج از پایان‌نامه دکتری عمومی می‌باشد که نویسندگان، از حمایت مالی معاونت محترم پژوهشی دانشگاه شهرکرد کمال قدردانی دارند.

و گروه شاهد، معنادار بوده است (۲۰). در مطالعه حاضر نیز مصرف موضعی عسل باعث کاهش سطح زخم شد و تأثیر خوبی بر روند ترمیم زخم داشت.

در مطالعه حاضر همچون سایر مطالعات گفته‌شده در بالا مشاهده شد که استفاده از پماد فنی‌توئین، ژل آلوه‌ورا، ژل رویال و عسل، تأثیر به‌سزایی بر فرایند ترمیم زخم داشتند. در بررسی‌های ماکروسکوپی در روز ۸ و ۱۲ بین گروه‌های ژل آلوه‌ورا، ژل رویال و عسل نسبت به فنی‌توئین در کاهش سطح زخم، اختلاف معناداری مشاهده شد ولی در بقیه روزها اختلاف معناداری بین گروه‌های مطالعه مشاهده نشد. همچنین در مطالعه میکروسکوپی

References

- [1]. Atiba A, Wasfy T, Abdo W, Ghoneim A, Kamal T, Shukry M. Aloe vera gel facilitates re-epithelialization of corneal alkali burn in normal and diabetic rats. *Clinical ophthalmology* (Auckland, NZ). 2015;9:2019.
- [2]. Sabatini AG, Marcazzan GL, Caboni MF, Bogdanov S, Almeida-Muradian L. Quality and standardisation of royal jelly. *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science*. 2009;1(1):1-6.
- [3]. Ramadan MF, Al-Ghamdi A. Bioactive compounds and health-promoting properties of royal jelly: A review. *Journal of functional foods*. 2012;4(1):39-52.
- [4]. Viuda - Martos M, Ruiz - Navajas Y, Fernández - López J, Pérez - Álvarez J. Functional properties of honey, propolis, and royal jelly. *Journal of food science*. 2008;73(9):R117-R24.
- [5]. Dat AD, Poon F, Pham KB, Doust J. Aloe vera for treating acute and chronic wounds. *Cochrane database of systematic reviews*. 2012;(2).
- [6]. Jull AB, Cullum N, Dumville JC, Westby MJ, Deshpande S, Walker N. Honey as a topical treatment for wounds. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2015;(۳)
- [7]. Saddik MS, Alsharif FM, El-Mokhtar MA, Al-Hakkani MF, El-Mahdy MM, Farghaly HS, et al. Biosynthesis, characterization, and wound-healing activity of phenytoin-loaded copper nanoparticles. *AAPS PharmSciTech*. 2020;21(5):1-12.
- [8]. Swamy S, Tan P, Zhu Y, Lu J, Achuth H, Mochhala S. Role of phenytoin in wound healing: microarray analysis of early transcriptional responses in human dermal fibroblasts. *Biochemical and biophysical research communications*. 2004;314(3):661-6.
- [9]. Mellgren M, Bergvall K. Treatment of rabbit cheyletiellosis with selamectin or ivermectin: a retrospective case study. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 2008;50(1):1.
- [10]. Farhangnia I, Bigham-Sadegh A, Shirian S, Javdani M. Using Xenogenic (Calf Foetal) Osteochondral Transplantation for Articular Cartilage Defect in Rabbit Model. *Iranian Journal of Orthopaedic Surgery*. 2018;16(4):276-81.
- [11]. Majtan J. Apitherapy--the role of honey in the chronic wound healing process. *Epidemiologie, mikrobiologie, immunologie casopis Spolecnosti pro epidemiologii a mikrobiologii Ceske lekarske spolecnosti JE Purkyne*. 2009;58(3):137-40.
- [12]. Majtan J, Kumar P, Majtan T, Walls AF, Klaudivny J. Effect of honey and its major royal jelly protein 1 on cytokine and MMP - 9 mRNA transcripts in human keratinocytes. *Experimental dermatology*. 2010;19(8):e73-e9.
- [13]. Pereira CAZ, de A Alchorne AdO. Assessment of the effect of phenytoin on cutaneous healing from excision of melanocytic nevi on the face and on the back. *BMC dermatology*. 2010;10(1):1-7.
- [14]. Hasamnis AA, Mohanty BK, Patil S. Evaluation of wound healing effect of topical phenytoin on excisional wound in albino rats. *Journal of Young Pharmacists*. 2010;2(1):59-62.
- [15]. Shakeri F, Tebyanian H, Karami A, Babavalian H, Tahmasbi MH. Effect of topical phenytoin on wound healing. *Trauma Monthly*. 2017;22;(۵)
- [16]. Takzaree N, Hadjiakhondi A, Hassanzadeh G, Rouini MR, Manayi A, Zolbin MM. Transforming growth factor-β (TGF-β) activation in cutaneous wounds after topical application of aloe vera gel. *Canadian journal of physiology and pharmacology*. 2016;94(12):1285-90.
- [17]. Suemaru K, Cui R, Li B, Watanabe S, Okihara K, Hashimoto K, et al. Topical application of royal jelly has a healing effect for 5-fluorouracil-induced experimental oral mucositis in hamsters. *Methods and findings in experimental and clinical pharmacology*. 2008;30(2):103.
- [18]. Shirzad H, Sedaghat A, Ghasemi S, Shirzad M. Effect of royal jelly on sterile wound healing in Balb/C mice. *Armaghane danesh*. 2010;15(1):38-46.
- [19]. Chamani G, Zarei MR, Mehrabani M, Mehdavinezhad A, Vahabian M, Ahmadi-Motamayel F. Evaluation of Honey as a Topical Therapy for Intraoral Wound Healing in Rats. *Wounds: a compendium of clinical research and practice*. 2017;29(3):80-6.
- [20]. Takzaree N, Hadjiakhondi A, Hassanzadeh G, Rouini MR, Manayi A. Synergistic effect of honey and propolis on cutaneous wound healing in rats. *Acta Medica Iranica*. 2016:233-9.

Comparative evaluation on the Effect of Phenytoin Ointment, Aloe Vera Gel, Royal Jelly and Honey on Wound Healing in the Animal Model of Rabbit: Histopathological and Macroscopic Evaluation

Seyed Arman Razavi¹ . Amin Bigham-Sadegh^{2*} . Iraj Karimi³ . Siavash Sharifi⁴ . Iman Hafar⁵

1. Graduated DVM, Private clinician, Langrod City. Langrod, Iran
2. Professor, Department of Veterinary Surgery and Radiology, School of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran
3. Associate Professor, Department of Veterinary Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord, Iran
4. Assistant Professor, Department of Veterinary Surgery, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord, Iran
5. Graduated DVM, Private clinician, Yazd City, Yazd, Iran

Abstract

Introduction: Phenytoin ointment is a usual medicine for wound healing. Aloe vera gel promotes wound healing by directly stimulating the activity of macrophages and fibroblasts that increase both collagen and proteoglycan synthesis, thereby promoting tissue repair. The aim of this study was to evaluate the effects of phenytoin ointment 1%, aloe vera gel, royal jelly and honey on skin wound healing in rabbit animal model.

Materials and Methods: 5 rabbits with 50 skin wounds were used in this study. Phenytoin ointment 1%, aloe vera gel, royal jelly and honey were used in four wounds and another was considered as an untreated control. Macroscopic study was performed on days 4, 8, 12, 16 and 20 after wounding and histopathologic study was done on the days 10 and 21 from the wounds.

Results: On the 8th and 12th days in the Aloe vera gel, royal jelly and honey groups, the area of the wound had a significant difference ($P < 0.05$) than group 1 (phenytoin), indicating a faster reduction of the wound surface than the phenytoin group. On the 16th day after surgery, the ulcer surface of the honey group was completely closed and on day 20 all the wounds were fully restored in all groups. Also, histopathologic studies on 10 and 21 days showed no significant difference between the studied groups and all wounds were completely restored on day 20.

Conclusion: Finally, the results of this Study showed that phenytoin 1% ointment, aloe vera gel, royal jelly and honey, all had a good effect on wound healing.

Received: 2020/01/30

Accepted: 2020/05/30

Keywords: Phenytoin, Aloe vera gel, Royal Jelly, Honey, Wound healing, Rabbit