

## مقایسه اثر عسل بهار نارنج (*Citrus aurantium*) با پماد فنی توئین بر ترمیم زخم در موش صحرائی

اویس پورمهدی<sup>۱</sup>، ایلاز مشتاق<sup>۲</sup>، مهسا رضوان<sup>۳</sup>، مجید غلامی آهنگران<sup>۴\*</sup>

۱- گروه دامپزشکی، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران.

۲- گروه دامپزشکی، واحد شبستر، دانشگاه آزاد اسلامی، شبستر، ایران.

۳- دانش‌آموخته دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.

۴- دانشیار، گروه علوم بالینی، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.

دریافت مقاله: ۵ دی ۱۴۰۰، بازنگری: ۷ اسفند ۱۴۰۰، پذیرش نهایی: ۲۰ اسفند ۱۴۰۰

### چکیده

در این مطالعه تجربی ۳۲ موش صحرائی نیمه بیهوش شدند و زخمی تمام ضخامت در قسمت پشتی به ابعاد یک سانتی‌متر مربع ایجاد شد. موش‌ها در گروه‌های کنترل منفی، کنترل مثبت (اوسرین)، عسل بهار نارنج ۷۵ درصد و فنی توئین ۱ درصد تقسیم‌بندی شدند. در گروه تجربی تحت درمان روزانه ۲ بار به مقدار یک گرم از پماد به صورت یک لایه نازک بر روی سطح زخم‌ها به مدت ۱۴ روز قرار داده شد. نمونه‌برداری جهت بررسی‌های هیستوپاتولوژی در روزهای ۴، ۷، ۱۰ و ۱۴ بعد از ایجاد زخم صورت گرفت. برای اندازه‌گیری جمع‌شدگی زخم از نرم‌افزار دیجی مایزر استفاده شد. در این بررسی میزان آنژیوژنز، فیبروبلازی، تشکیل بافت پوششی، رسوب کلاژن و ارتشاح سلول‌های التهابی مورد ارزیابی قرار گرفت. در بررسی میکروسکوپی در روز ۴، آسیب اپیدرم و درم با حضور لخته خونی و نفوذ سلول‌های التهابی در گروه تحت درمان و بافت جوانه‌ای در حال تشکیل در گروه‌های عسل بهار نارنج ۷۵ درصد و فنی توئین ۱ درصد مشاهده شد. در روز هفتم بافت جوانه‌ای در گروه‌های تحت درمان قابل تشخیص بود. در گروه تحت درمان با عسل ۷۵ درصد تراکم سلولی بافت جوانه‌ای نسبت به سایر گروه‌ها کمتر و سنتز کلاژن نسبت به سایر گروه‌ها بیشتر و بافت پوششی در حال تشکیل نیز قابل تشخیص بود. در روز دهم از تراکم سلول‌های آماسی، عروق خونی و سلول‌های فیبروبلاستی در بافت جوانه‌ای کاسته شد. در گروه کنترل منفی و کنترل مثبت نسبت به عسل ۷۵ درصد و فنی توئین ۱ درصد بافت جوانه‌ای جوان‌تر به نظر می‌رسید. بافت جوانه‌ای در گروه عسل ۷۵ درصد و فنی توئین ۱ درصد تراکم سلولی کمتر و سنتز کلاژن بیشتر را نشان داد. در گروه عسل ۷۵ درصد تشکیل بافت پوششی در مقایسه با روز هفتم پیشرفت بیشتری داشت. در روز چهاردهم در گروه عسل ۷۵ درصد بافت جوانه‌ای بالغ به صورت تراکم سلولی کم و رشته‌های کلاژن ضخیم و منظم و بالغ‌تر از سایر گروه‌ها به نظر می‌رسید و بافت پوششی به‌صورت کامل سطح زخم را پوشانده بود. در بررسی اندازه‌گیری انقباض زخم نتایج حاکی از آن بود که گروه تحت درمان با عسل ۷۵ درصد نسبت به فنی توئین ۱ درصد بهبودی بالاتری داشته که این اختلاف از لحاظ آماری معنی‌دار بود.

**واژگان کلیدی:** ترمیم زخم، عسل بهار نارنج، فنی توئین، زخم برشی، موش صحرائی

مقدمه

پوست بزرگ‌ترین بافت بدن است که در طول زندگی به‌طور مداوم در حال گسترش و نوسازی می‌باشد و نقش مهمی را در حفاظت بدن ایفا می‌کند. پوست از لحاظ مورفولوژی و عملکردی از دو لایه‌ی اپیدرم و درم تشکیل شده است. لایه‌ی اپیدرم خارجی‌ترین لایه‌ی سلولی پوست می‌باشد که از سلول‌های ملانوسیت، لانگرهانس و سلول‌های التهابی تشکیل شده است (۱). این لایه به‌عنوان خارجی‌ترین لایه پوست نقش حفاظتی دارد و مانع از دست رفتن رطوبت بدن و ورود میکروارگانیسم‌ها می‌شود. درم مابین اپیدرم و بافت‌های زیرین پوست قرار دارد و توسط غشای پایه به اپیدرم متصل می‌شود. درم شامل کلاژن، فیبرهای الاستیک و ماتریکس خارج سلولی، غدد عرق، غدد سباسه، فولیکول مو، غدد آپوکرین، غدد لنفاوی و عروق خونی می‌باشد که این عروق خونی مسئولیت تأمین مواد غذایی اپیدرم و درم و دفع مواد زائد آن را بر عهده دارد (۲). گیرنده‌های حسی مکانیکی و دمائی در این لایه قرار دارند در نتیجه هرگونه آسیب به پوست منجر به شکسته شدن این سد حفاظتی شده و در موارد شدیدتر نیز حیات موجود را تهدید می‌کند (۳). زخم بخش آسیب دیده پوست، غشای مخاطی و یا سطحی از اندام بدن است و در اثر عوامل مختلف محیطی ایجاد می‌شود. زخم‌ها در دو گروه زخم باز و زخم بسته تقسیم‌بندی می‌شوند. در زخم‌های باز، پوست به‌صورت تمام ضخامت از موضع جدا می‌شود. از ویژگی‌های بارز یک زخم باز می‌توان به خونریزی، آسیب و جداسازی بافتی و اختلال در فعالیت فیزیولوژیکی بافت اشاره کرد. زخم‌های باز بر اساس درجه آلودگی به ۴ گروه زخم تمیز، زخم تمیز-آلوده، زخم آلوده و زخم کثیف-آلوده تقسیم‌بندی می‌شوند (۴). زخم‌های بسته یا زیرجلد به آن دسته از زخم‌هایی اطلاق می‌شود که هیچ یک

از لایه‌های پوست از هم جدا نمی‌شود. از انواع زخم‌های بسته می‌توان به کوفتگی‌ها، له شدگی‌ها و پارگی بافت‌های زیر جلدی اشاره کرد (۵). مراحل عمده‌ی روند ترمیم زخم عبارتند از: (۱) فرآیند التیامی (۲) تشکیل بافت پوششی (۳) جمع شدگی زخم. هر کدام از این مراحل مجموعه‌ای از فرایندهای پیچیده بافتی و سلولی است. از دیرباز تا کنون درمان‌های طب سنتی در میان مردم رواج بسیار داشته است. امروزه نیز به دلیل دسترسی آسان، مقرون به صرفه بودن و عوارض کمتر نسبت به داروهای شیمیایی مورد توجه بسیاری قرار گرفته است. عسل محصول طبیعی از تراوشات گیاهان می‌باشد که زنبور عسل آن را جمع‌آوری کرده و پس از ایجاد یکسری تغییرات آن را در کندو ذخیره می‌کند (۶). همچنین عسل یک مخلوط اشباع از فروکتوز، گلوکز، دیگر کربنات‌ها و ۲۰ درصد آب و حاوی آمینواسیدها، موم، رنگدانه و اجزای طعم دهنده محسوب می‌شود. بر اساس گیاه مورد مصرف، حاوی ویتامین C، B<sub>1</sub>، B<sub>2</sub>، نیکوتیک اسید و اسید فرمیک می‌باشد (۷). از عسل به‌عنوان ترکیب طبیعی در درمان جای زخم بعد از جراحی جهت تسریع بهبود ترمیم و پاکسازی موضع مورد استفاده قرار می‌گرفت. عسل دارای خواص آنتی‌باکتریال، ضد قارچی، آنژیژنز و دبریمان طبیعی می‌باشد (۴). همچنین با ویژگی‌هایی چون چسبندگی بالا، فشار اسمزی زیاد، اسیدیته بالا، وجود آنزیم‌های با فعالیت ضد میکروبی مثل دیاستاز، ایجاد بستر مناسب جهت رشد بافت گرانوله، کاهش ادم، تحریک آنژیوژنز و اپیتلیال سازی و تکثیر فیبروبلاست منجر به تسریع التیام زخم می‌شود (۸). آنتی‌اکسیدان‌های موجود در عسل مانع تشکیل رادیکال‌های آزاد شده و مسئول واکنش ضد التهابی می‌باشند (۹). نارنج نام درختی از راسته‌ی ناترک سانان، تیره‌ی سابیان و از جنس مرکبات می‌باشد. شکوفه‌های آن یکی از

گردید. موش‌ها در قفس‌های جداگانه‌ی استاندارد پلی‌پروپیلن، در دمای  $23 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد، رطوبت  $55 \pm 5$  و سیکل روشنایی-تاریکی ۱۲ ساعته نگهداری شده و جهت رسیدن به نتایج بهتر موش‌ها به صورت ۳ تایی در قفس‌ها تقسیم بندی شدند. در طول تحقیق حیوانات به شکل دستی، با غذای مخصوص حیوانات آزمایشگاهی تغذیه گردیدند و به آب و غذا دسترسی آزاد داشتند. حیوانات به مدت ۱۰ روز در محل آزمایش به منظور تطابق با شرایط محیطی جدید قرار گرفتند اصول اخلاقی مربوط به کار با حیوانات آزمایشگاهی مطابق با راهنمای انستیتو ملی سلامت در همه مراحل آزمایش رعایت شد.

**عسل بهار نارنج:** عسل بهار نارنج با مرغوب‌ترین کیفیت از مشهد خریداری و جهت تهیه‌ی پماد عسل بهار نارنج ۷۵ درصد، ۷۵ گرم عسل با ۲۵ گرم اوسرین به‌عنوان پایه‌ی پماد ترکیب شد.

**پماد فنی توئین:** پماد فنی توئین ۱ درصد شرکت داروسازی کیش مدیفارم از داروخانه تهیه گردید.

**طراحی مطالعه و گروه‌بندی:** حیوانات به‌صورت تصادفی به چهار گروه آزمایشی تقسیم شدند. گروه یک به‌عنوان کنترل منفی: پس از ایجاد زخم تحت هیچ پروسه درمانی قرار نگرفتند. گروه ۲ به‌عنوان کنترل مثبت: پس از ایجاد زخم تا بهبودی، از پماد اوسرین به صورت موضعی و دوبار در روز استفاده شد. گروه‌های ۳ و ۴ درمان: پس از ایجاد زخم تا بهبودی کامل به ترتیب از پماد عسل بهار نارنج ۷۵ درصد و پماد فنی توئین یک درصد به صورت موضعی، دوبار در روز و به مقدار یک گرم استفاده شد. موش‌ها با ترکیبی از داروی کتامین (۶۰ میلی‌گرم به ازای وزن بدن) و زایلازین (۲۰ میلی‌گرم به ازای وزن بدن) به‌صورت تزریق داخل

معطرترین گل‌هاست. در مطالعه‌ای بر روی عصاره‌ی روغنی بهار نارنج، مشاهده شد ترکیبات زیستی فعال در آن، تأثیرات قابل توجهی بر التهاب حاد و مزمن دارد. همچنین اثر ضد دردی بر روی اعصاب مرکزی و محیطی داشته و در ترکیب با دیگر خواص آن گزینه‌ی مناسبی در درمان زخم‌ها می‌باشد (۱۰). خواص ضد میکروبی، ضد قارچی و آنتی‌اکسیدانی بهار نارنج نیز تأیید شده است (۱۱). فنی توئین خوراکی دارویی برای کنترل حملات صرعی است. همچنین از پماد فنی توئین جهت بهبود زخم‌های فشاری استفاده می‌شود. از آن جایی که این دارو به‌طور گسترده به‌صورت موضعی برای التیام، کاهش درد و تورم در طیف وسیعی از زخم‌ها و سوختگی‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد می‌توان در شکل‌های کرم، لوسیون یا پانسمان آغشته به دارو تجویز شود. فنی توئین سدیم از مشتقات هیدانتوئین‌ها می‌باشد که به شکل پماد ۱ درصد جهت ترمیم زخم‌های جلدی مورد مصرف قرار می‌گیرد. فنی توئین باعث افزایش سرعت تشکیل سلول‌های بافت همبند، بافت گرانوله، کلاژن‌سازی، تشکیل بافت عروقی و تکثیر فیبروبلاست‌ها می‌شود. در مطالعه چن و همکاران که بر روی موش‌های صحرایی دیابتیک انجام شد، سرعت التیام زخم در گروه درمان شده با فنی توئین موضعی نسبت به گروه کنترل (نرمال سالین) سریع‌تر بود. در مطالعه‌ی آلبسول و همکاران اثر فنی توئین موضعی در افزایش پذیرش اتوگرافت در موش‌ها بررسی شد، نتایج این مطالعه نشان داد که فنی توئین می‌تواند احتمال پذیرش اتوگرافت را افزایش دهد.

## مواد و روش‌ها

**حیوانات:** در این زخم، عسل بهار نارنج مطالعه تجربی ۳۲ سر موش صحرایی بالغ نژاد ویستار با وزن تقریبی  $210 \pm 20$  از انستیتو پاستور (آمل) تهیه

صفاقی نیمه بیهوش شدند. سپس موهای پشت هر حیوان توسط تیغ شیو تراشیده شد و با تیغ جراحی زخمی به ضخامت پوست و به اندازه یک سانتی‌متر مربع در سطح پشتی کمری نزدیک ستون فقرات ایجاد گردید عمق زخم شامل درم و هیپودرم بود و روز عمل، روز صفر محسوب شد. طول دوره‌ی درمان ۱۴ روز بود. نمونه‌گیری از حاشیه زخم طی روزهای چهارم، هفتم، دهم و چهاردهم انجام شد. برای ارزیابی روند بهبود زخم، مساحت زخم از چهارمین روز بعد از ایجاد زخم تا روز چهاردهم توسط دوربین موبایل از فاصله‌ی ثابت عکس‌برداری شد و پس از انتقال به کامپیوتر با نرم‌افزار دیجی‌مایزر تحت اندازه‌گیری قرار گرفت. گروه‌های مورد آزمایش در زمان‌های مشخص شده از نظر آنژیوژنز، فیبروپلاستی، تشکیل بافت پوششی، رسوب کلاژن و ارتشاح سلول‌های التهابی مورد بررسی قرار گرفتند.

**بیوپسی از زخم:** نمونه‌های اخذ شده جهت مطالعات هیستوپاتولوژیک در فرمالین بافر ۱۰ درصد قرار گرفتند و پس از یک روز فرمالین نمونه‌ها تعویض شد و بعد از گذراندن مراحل پاساژ بافتی و آبیگری توسط درصدهای مختلف الکل‌ها با پارافین مایع تحت قالب‌گیری قرار گرفتند و پس از سرد شدن، برش‌های پنج میکرونی توسط میکروتوم داده شد. ورقه‌ها بر روی لام‌های شیشه‌ای قرار گرفتند و بعد از پارافین زدایی و رنگ‌آمیزی با هماتوکسین-اُوزین توسط میکروسکوپ نوری بررسی شدند.

**رنگ‌آمیزی:** بیشتر سلول‌ها بی‌رنگ یا شفاف هستند بنابراین جهت مشاهده باید رنگ‌آمیزی شوند. رنگ‌آمیزی هماتوکسین-اُوزین نوعی رنگ‌آمیزی غیر اختصاصی متداول است که در آن از دو رنگ هماتوکسین و اُوزین استفاده می‌شود. اُوزین رنگ اسیدی با بار منفی است. این رنگ ساختارهای بازی را به رنگ قرمز یا صورتی در می‌آورد که ساختارهای اُوزینوفیک نامیده می‌شوند.

هماتوکسین به‌عنوان یک رنگ بازی در نظر گرفته می‌شود. از این رنگ برای رنگ‌آمیزی ساختارهای اسیدی استفاده می‌شود و این ساختارها رنگ بنفش به خود می‌گیرند. بنابراین در این رنگ‌آمیزی هسته سلول بنفش و سایر اجزای سلول صورتی می‌شوند.

جهت رنگ‌آمیزی با هماتوکسین بعد از گذراندن مراحل پارافین‌زدایی و آبدهی، لام‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در رنگ هماتوکسین قرار گرفتند. پس از خارج کردن لام‌ها از ظرف حاوی رنگ، در آب جاری به مدت ۳ تا ۵ دقیقه شسته شدند. برای رنگ‌آمیزی با اُوزین نمونه‌ها در ظرف حاوی اُوزین به مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفتند و سپس به مدت ۳ دقیقه در آب جاری شستشو داده شدند.

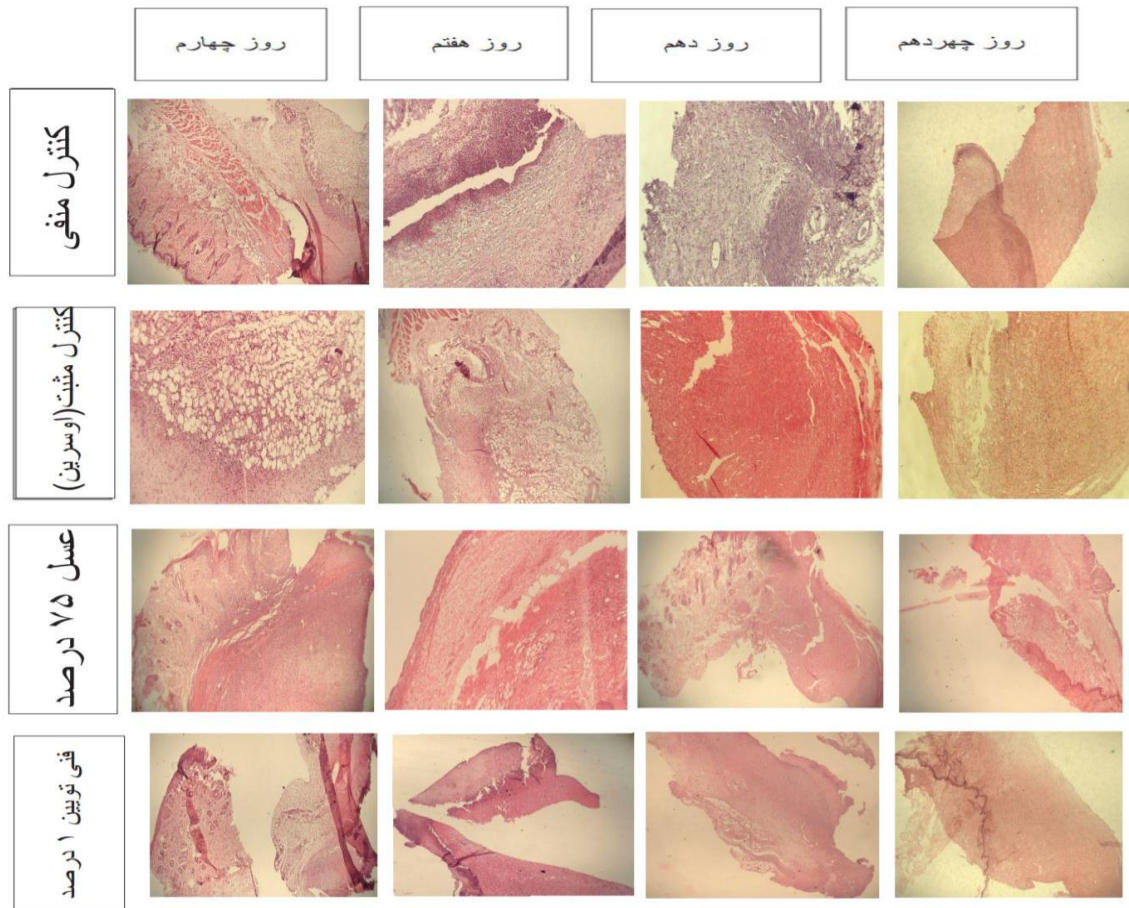
### نتایج

در بررسی هیستوپاتولوژی، در ناحیه زخم روند ترمیم زخم که شامل اپیتلیزاسیون (تشکیل بافت پوششی) و تشکیل بافت جوانه‌ای (شامل تکثیر سلولی فیبروبلاستی جهت تولید کلاژن به همراه روند رگزایی) در ناحیه درم مشاهده شد. ناحیه زخم همچنین فاقد ضمامم جلدی شامل فولیکول مو، غدد عرق و غدد چربی بود. در بررسی میکروسکوپی و مطالعه توصیفی برش‌های بافتی در رنگ‌آمیزی هماتوکسین-اُوزین در روز ۴، آسیب اپیدرم و درم با حضور لخته خونی و نفوذ سلول‌های التهابی در گروه تحت درمان و بافت جوانه‌ای در حال تشکیل در گروه‌های غسل بهار نارنج ۷۵ درصد و فنی‌توئین ۱ درصد مشاهده شد. در روز هفتم بافت جوانه‌ای شامل تکثیر سلول‌های فیبروبلاستی و آنژیوژنز در گروه‌های تحت درمان قابل تشخیص بود. در گروه تحت درمان با غسل ۷۵ درصد تراکم سلولی بافت جوانه‌ای نسبت به سایر گروه‌ها کمتر و سنتز کلاژن نسبت به سایر گروه‌ها بیشتر بود و بافت جوانه‌ای بالغ‌تر به نظر می‌رسید و بافت پوششی در حال تشکیل نیز قابل تشخیص بود. در روز دهم از تراکم

## مقایسه اثر عسل بهار نارنج با پماد فنی توئین بر ترمیم زخم در موش صحرایی ...

جوانه‌ای بالغ به صورت تراکم سلولی کم و رشته‌های کلاژن ضخیم و منظم و بالغ‌تر از سایر گروه‌ها به نظر می‌رسید و بافت پوششی به صورت کامل سطح زخم را پوشانده بود. در مجموع به نظر می‌رسد ترکیب عسل بهار نارنج ۷۵ درصد با اعمال ضد التهابی در روزهای اولیه ترمیم و تشکیل سریع‌تر بافت پوششی و بلوغ سریع‌تر بافت جوانه‌ای، اثر ترمیمی سریع‌تری نسبت به گروه‌های کنترل منفی، مثبت و فنی توئین ۱ درصد داشته است.

سلول‌های آماسی، عروق خونی و سلول‌های فیبروبلاستی در بافت جوانه‌ای کاهش داشت. در گروه کنترل منفی و کنترل مثبت نسبت به عسل ۷۵ درصد و فنی توئین ۱ درصد بافت جوانه‌ای جوان‌تر به نظر می‌رسید. بافت جوانه‌ای در گروه عسل ۷۵ درصد و فنی توئین ۱ درصد تراکم سلولی کمتر و سنتز کلاژن بیشتر را نشان داد. در گروه عسل ۷۵ درصد تشکیل بافت پوششی در مقایسه با روز هفتم پیشرفت بیشتری داشت. در روز چهاردهم در زخم‌های تحت درمان با عسل ۷۵ درصد بافت



شکل ۱- تصویر میکروسکوپی زخم در گروه‌های مختلف مورد مطالعه

جدول ۱- نتایج هیستوپاتولوژی زخم در گروه کنترل منفی

بدون تیمار (کنترل منفی)	روز چهارم	روز هفتم	روز دهم	روز چهاردهم
نوزایش عروقی	+	++	++	+
فیبروپلازی	-	+++	++	++
تشکیل بافت پوششی	-	-	-	+
رسوب کلاژن	-	+	+	++
ارتشاح سلول‌های التهابی	+++	+++	++	+

میزان تراکم سلول‌های لوکوسیت و فیبروبلاست در هر شان از ( ) تا (++++) درجه بندی شد. در صورت مشاهده سلول‌های زیاد (++++) و در صورت عدم وجود سلول ( ) و مقادیر بین این دو (+)، (++) و (+++). میزان کلاژن در هر شان از ( ) تا (++++) درجه بندی شد. در صورت مشاهده کلاژن زیاد (++++) و در صورت عدم وجود کلاژن ( ) و مقادیر بین این دو (+)، (++) و (+++). در تشکیل بافت پوششی در صورت ضخیم شدن لبه‌های پوشش ( )، در صورت مهاجرت سلول‌های پوششی کمتر از ۵۰ درصد (+) ، در صورت مهاجرت سلول‌های پوششی بیشتر از ۵۰ درصد (++) ، در صورت پل زدن ناحیه‌ی برش (++) و در صورت کراتینیزه شدن بافت پوششی (++++) به آن تعلق گرفت.

جدول ۲- نتایج هیستوپاتولوژی زخم در گروه کنترل مثبت

تیمار با اوسرین (کنترل مثبت)	روز چهارم	روز هفتم	روز دهم	روز چهاردهم
نوزایش عروقی	+	++	++	+
فیبروپلازی	-	+++	++	++
تشکیل بافت پوششی	-	-	-	+
رسوب کلاژن	-	+	+	++
ارتشاح سلول‌های التهابی	+++	+++	++	+

میزان تراکم سلول‌های لوکوسیت و فیبروبلاست در هر شان از ( ) تا (++++) درجه بندی شد. در صورت مشاهده سلول‌های زیاد (++++) و در صورت عدم وجود سلول ( ) و مقادیر بین این دو (+)، (++) و (+++). میزان کلاژن در هر شان از ( ) تا (++++) درجه بندی شد. در صورت مشاهده کلاژن زیاد (++++) و در صورت عدم وجود کلاژن ( ) و مقادیر بین این دو (+)، (++) و (+++). در تشکیل بافت پوششی در صورت ضخیم شدن لبه‌های پوشش ( )، در صورت مهاجرت سلول‌های پوششی کمتر از ۵۰ درصد (+) ، در صورت مهاجرت سلول‌های پوششی بیشتر از ۵۰ درصد (++) ، در صورت پل زدن ناحیه‌ی برش (++) و در صورت کراتینیزه شدن بافت پوششی (++++) به آن تعلق گرفت.

جدول ۳- نتایج هیستوپاتولوژی زخم در گروه تحت درمان با عسل بهار نارنج ۷۵ درصد

عسل بهار نارنج ۷۵٪	روز چهارم	روز هفتم	روز دهم	روز چهاردهم
نوزایش عروقی	++	++	+	+
فیبروپلازی	++	++	+	+
تشکیل بافت پوششی	-	+	++	++++
رسوب کلاژن	+	++	++	+++
ارتشاح سلول‌های التهابی	++	+	+	-
ارتشاح سلول‌های التهابی	++	++	+	+

میزان تراکم سلول‌های لوکوسیت و فیبروبلاست در هر شان از ( ) تا (++++) درجه بندی شد. در صورت مشاهده سلول‌های زیاد (++++) و در صورت عدم وجود سلول ( ) و مقادیر بین این دو (+)، (++) و (+++). میزان کلاژن در هر شان از ( ) تا (++++) درجه بندی شد. در صورت مشاهده کلاژن زیاد (++++) و در صورت عدم وجود کلاژن ( ) و مقادیر بین این دو (+)، (++) و (+++). در تشکیل بافت پوششی در صورت ضخیم شدن لبه‌های پوشش ( )، در صورت مهاجرت سلول‌های پوششی کمتر از ۵۰٪ (+) ، در صورت مهاجرت سلول‌های پوششی بیشتر از ۵۰٪ (++) ، در صورت پل زدن ناحیه‌ی برش (++) و در صورت کراتینیزه شدن بافت پوششی (++++) به آن تعلق گرفت.



## مقایسه اثر عسل بهار نارنج با پماد فنی توئین بر ترمیم زخم در موش صحرایی ...

جدول ۴- نتایج هیستوپاتولوژی زخم در گروه تحت درمان با پماد فنی توئین

فنی توئین ۱ درصد	روز چهارم	روز هفتم	روز دهم	روز چهاردهم
نوزایش عروقی	++	++	+	+
فیبروپلازی	++	+++	++	++
تشکیل بافت پوششی	-	-	-	+
رسوب کلاژن	+	+	++	++
ارتشاح سلول‌های التهابی	++	++	+	+

میزان تراکم سلول‌های لوکوسیت و فیبروبلاست در هر شان از ( ) تا (++++) درجه‌بندی شد. در صورت مشاهده سلول‌های زیاد (++++) و در صورت عدم وجود سلول ( ) و مقادیر بین این دو ( )، (++) و (+++). درجه‌بندی شدند. میزان کلاژن در هر شان از ( ) تا (++++) درجه‌بندی شد. در صورت مشاهده کلاژن زیاد (++++) و در صورت عدم وجود کلاژن ( ) و مقادیر بین این دو ( )، (++) و (+++). درجه‌بندی شدند. در تشکیل بافت پوششی در صورت ضخیم شدن لبه‌های پوشش ( )، در صورت مهاجرت سلول‌های پوششی کمتر از ۵۰ درصد ( )، در صورت مهاجرت سلول‌های پوششی بیشتر از ۵۰ درصد (++)، در صورت پل زدن ناحیه‌ی برش (++) و در صورت کراتینیزه شدن بافت پوششی (++++) به آن تعلق گرفت.



شکل ۲- تصویر ماکروسکوپی زخم در گروه‌های مختلف مورد مطالعه

گروه تحت درمان با عسل بهار نارنج ۷۵ درصد مشاهده شد.

همان‌طور که در شکل بالا مشاهده می‌شود، بیشترین میزان بهبودی ظاهری در پایان روز ۱۴ در

جدول ۵- میانگین و انحراف معیار درصد بهبودی زخم روز چهارم در گروه‌های مختلف مورد مطالعه

گروه	تعداد	میانگین	انحراف معیار	P-value (ANOVA)
کنترل منفی	۸	۱۱,۸۱	۰,۸۶۵	P<0.001
کنترل مثبت (اوسرین)	۸	۱۳,۰۰	۱,۱۹۹	
عسل بهار نارنج ۷۵٪	۸	۱۸,۶۹	۱,۰۷۶	
فنی توئین ۱ درصد	۸	۱۰,۲۵	۱,۲۳۴	

همان‌طور که در جدول بالا مشاهده می‌شود، در مقایسه‌ی درصد بهبودی زخم، بیشترین میزان درصد بهبودی در روز چهارم به ترتیب در گروه تحت درمان با عسل بهار نارنج ۷۵ درصد (۱۸,۶۹ درصد)، گروه کنترل مثبت (۱۳,۰۰ درصد)، کنترل منفی (۱۱,۸۱ درصد) و کمترین میزان در گروه تحت درمان با فنی توئین ۱ درصد (۱۰,۲۵ درصد) بوده که این اختلاف از لحاظ آماری معنی‌دار بود ( $P<0.001$ ).

همان‌طور که در جدول بالا مشاهده می‌شود، در مقایسه‌ی درصد بهبودی زخم، بیشترین میزان درصد بهبودی در روز چهارم به ترتیب در گروه تحت درمان با عسل بهار نارنج ۷۵ درصد (۱۸,۶۹ درصد)، گروه کنترل مثبت (۱۳,۰۰ درصد)، کنترل منفی (۱۱,۸۱ درصد) و کمترین میزان در گروه تحت درمان با فنی توئین ۱ درصد (۱۰,۲۵ درصد) بوده که این اختلاف از لحاظ آماری معنی‌دار بود ( $P<0.001$ ).

جدول ۶- میانگین و انحراف معیار درصد بهبودی زخم در روز هفتم در گروه‌های مختلف مورد مطالعه

گروه	تعداد	میانگین	انحراف معیار	P-value (Kruskal wallis test)
کنترل منفی	۸	۱۷,۲۰	۱,۲۴۷	P<0.001
کنترل مثبت (اوسرین)	۸	۳۰,۲۹	۱,۱۵۴	
عسل بهار نارنج ۷۵٪	۸	۴۱,۹۴	۱,۱۵۵	
فنی توئین ۱٪	۸	۲۸,۵۶	۱,۲۳۷	

همان‌طور که در جدول بالا مشاهده می‌شود، در مقایسه‌ی درصد بهبودی زخم، بیشترین میزان درصد بهبودی زخم در روز هفتم به ترتیب در گروه تحت درمان با عسل بهار نارنج ۷۵ درصد (۴۱,۹۴ درصد)، گروه کنترل مثبت (۳۰,۲۹ درصد) و در گروه کنترل (۱۷,۲۰ درصد) دیده شد و کمترین میزان در گروه تحت درمان با پماد فنی توئین ۱ درصد (۲۸,۵۶ درصد) بود که این اختلاف از لحاظ آماری معنی‌دار بود ( $P<0.001$ ).

همان‌طور که در جدول بالا مشاهده می‌شود، در مقایسه‌ی درصد بهبودی زخم، بیشترین میزان درصد بهبودی زخم در روز هفتم به ترتیب در گروه تحت درمان با عسل بهار نارنج ۷۵ درصد (۴۱,۹۴ درصد)، گروه کنترل مثبت (۳۰,۲۹ درصد) و در گروه کنترل (۱۷,۲۰ درصد) دیده شد و کمترین میزان در گروه تحت درمان با پماد فنی توئین ۱ درصد (۲۸,۵۶ درصد) بود که این اختلاف از لحاظ آماری معنی‌دار بود ( $P<0.001$ ).

جدول ۷- میانگین و انحراف معیار درصد بهبودی زخم روز دهم در گروه‌های مختلف مورد مطالعه

گروه	تعداد	میانگین	انحراف معیار	P-value (Kruskal wallis test)
کنترل منفی	۸	۳۹,۵۴	۱,۳۵۵	P<0.001
کنترل مثبت (اوسرین)	۸	۴۲,۳۵	۱,۱۲۴	
عسل بهار نارنج ۷۵٪	۸	۷۳,۱۸	۱,۰۹۳	
فنی توئین ۱٪	۸	۴۷,۷۳	۱,۴۰۶	

همان‌طور که در جدول بالا مشاهده می‌شود، بیشترین میزان بهبودی زخم در روز دهم به ترتیب

بیشترین میزان بهبودی زخم در روز دهم به ترتیب



## مقایسه اثر عسل بهار نارنج با پماد فنی توئین بر ترمیم زخم در موش صحرایی ...

مثبت (۴۲/۳۵ درصد) دیده شد و کمترین میزان در گروه کنترل منفی (۳۹/۵۴ درصد) بوده که این اختلاف از لحاظ آماری معنی‌دار بود ( $P < 0.001$ ).

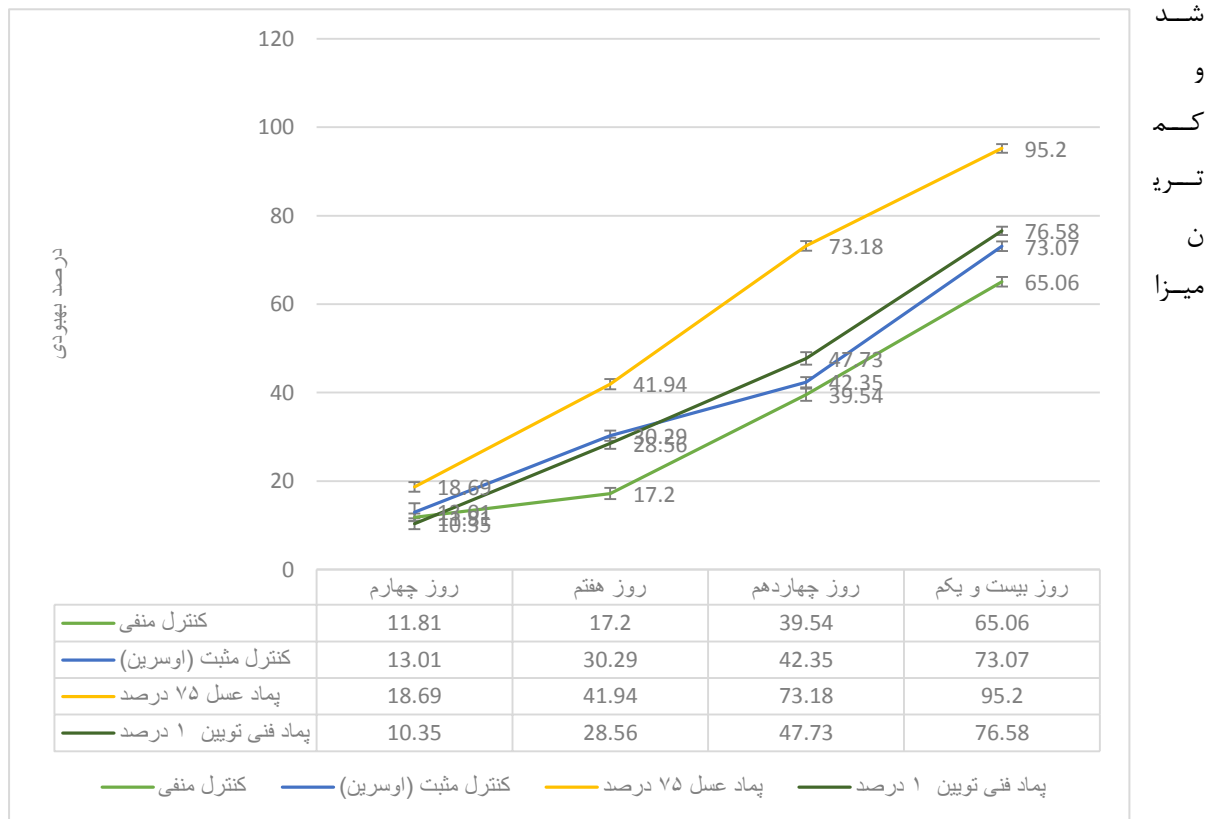
در گروه تحت درمان با عسل بهار نارنج ۷۵ درصد (۷۳/۱۸ درصد)، سپس در گروه تحت درمان با پماد فنی توئین ۱ درصد (۴۷/۷۳ درصد) و گروه کنترل

جدول ۸- میانگین و انحراف معیار درصد بهبودی زخم روز چهاردهم در گروه‌های مختلف مورد مطالعه

گروه	تعداد	میانگین	انحراف معیار	P-value (Kruskal wallis test)
کنترل منفی	۸	۶۵,۰۶	۱,۰۷۶	P<0.001
کنترل مثبت (اوسرین)	۸	۷۳,۰۷	۱,۰۹۴	
عسل بهار نارنج ۷۵٪	۸	۹۵,۰۲	۰,۹۵۵	
فنی توئین ۱٪	۸	۷۶,۵۸	۰,۹۵۳	

ن در گروه کنترل منفی (۶۵/۰۶ درصد) بوده که این اختلاف از لحاظ آماری معنی‌دار بود ( $P < 0.001$ ).

همان‌طور که در جدول بالا مشاهده می‌شود، بیشترین میزان درصد بهبودی زخم در روز چهاردهم به ترتیب در گروه تحت درمان با عسل بهار نارنج ۷۵ درصد (۹۵/۰۲ درصد) و سپس در گروه تحت درمان با پماد فنی توئین ۱ درصد (۷۶/۵۸ درصد) و گروه کنترل مثبت (۷۳/۰۷ درصد) دیده



شد و کم‌ترین میزان

نمودار ۱- مقایسه درصد بهبودی زخم با گذشت زمان در گروه‌های مختلف

## بحث

بر اساس مطالعات انجام شده قبلی بر روی اثر بخشی عسل و پماد فنی توئین در سرعت جمع‌شدگی زخم در موش صحرایی نتایج حاکی از آن بود که عسل و فنی توئین سرعت بسته شدن زخم را نسبت به گروه کنترل افزایش دادند و سرعت بهبودی در گروه فنی توئین بیشتر بود (۴)

در بررسی انجام شده بر روی تأثیر پانسیمان عسل با پانسیمان هیدروکلئید بر ترمیم زخم فشاری، نتایج هر دو پانسیمان در ترمیم نتایج مشابهی نشان داده و هر دو در بهبودی زخم فشاری مؤثر بوده‌اند. بنابراین راحتی تهیه، مقرون به صرفه بودن و طبیعی بودن پانسیمان عسل در ترمیم زخم فشاری موجب گردید تا این پانسیمان به‌عنوان گزینه مناسب‌تر و بهتر در ترمیم زخم فشاری توصیه گردد (۱۲)

در مطالعه انجام شده در بررسی مقایسه‌ی عسل و روغن حیوانی در تسریع روند ترمیم زخم در موش صحرایی، یافته‌ها نشان‌دهنده آن بود که تشکیل بافت گرانوله، تراکم و فعال شدن سلول‌های فیبروبلاست، کراتینیزه شدن سطح زخم و ضخامت شای پایه و اپیدرم در گروه درمان با عسل بیشتر از گروه روغن حیوانی بود. عسل بیشتر از روغن حیوانی موجب کاهش التهاب، ادم و باز شدن زخم گردید. میزان بهبودی زخم در گروه عسل بیشتر از گروه روغن حیوانی بود ( $P < 0.05$ ) (۵).

در بررسی تأثیر عسل بر زخم‌های ناشی از سوختگی، نتایج حاکی از آن بود که عسل در درمان عفونت‌های برجای مانده از عمل سزارین و سوختگی‌ها از آنتی‌بیوتیک‌های مرسوم کارآمدتر عمل می‌کند. خواص عسل در ترمیم زخم‌ها به علت ویژگی‌های دبرید کننده آنزیم کاتالاز، جذب ادم ناشی از خاصیت عسل در جذب رطوبت، توانایی آن در گسترش گرانولاسیون و اپی‌تلیزاسیون از لبه‌های زخم و خواص ضد باکتریایی آن می‌باشد. تأثیر عسل بر روی زخم‌های ناشی از سوختگی پس از درمان تا بهبودی کامل مشخص شده است (۳).

در مطالعه‌ای بر روی موش‌های صحرایی تحت تیمار با عسل آکاسیا (اقایای سیاه)، مشاهده شد میزان پوست‌زایی و التیام به طرز معنی‌داری در گروه تیمار در مقایسه با گروه شاهد بیشتر بود (۱۳).

در مطالعه‌ی انجام شده بر روی اثرات عسل گیاه کلپوره بر فرآیند التیام زخم سوختگی، درصد بهبودی زخم در روزهای ۱۲ و ۱۸ در گروه کنترل به‌ترتیب ۳۰/۲ و ۶۱/۴ درصد و در گروه تیمار به‌ترتیب ۳۹ و ۷۸ درصد بود. در بررسی کیفی هیستوپاتولوژی نمونه‌های بافتی درمان شده با عسل، فرایند ترمیم زخم سرعتی بهتر، با آرایش منظم‌تر و تراکم آماسی کمتر از خود نشان داد. نتایج این مطالعه نشان داد که احتمالاً عسل گیاه کلپوره باعث تسریع در روند التیام زخم سوختگی در موش می‌گردد (۲).

سوختگی، فشاری و ساده مؤثر بوده و نتایج مطالعات گذشته با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد. مطالعه‌ی حاضر نشان داد که استفاده از عسل بهار نارنج ۷۵ درصد می‌تواند بر روند التیام زخم از نظر زمانی تأثیر مثبت داشته باشد و در روزهای ۴، ۷، ۱۰ و ۱۴ درصد بهبودی زخم در گروه تحت درمان با عسل ۷۵ درصد بیشترین مقدار بوده که در بررسی‌های میکروسکوپی و ماکروسکوپیک شاهد بهبود بهتر و سریع‌تر در این گروه بودیم و با آنژیوژنز سریع در بافت جوانه‌ای و تکثیر فیبروبلاست‌ها و تولید کلاژن بیشتر و تشکیل بافت پوششی و کاهش ارتشاح سلول‌های التهابی، وضعیت کلی ترمیم زخم را بهبود بخشید و در مرحله‌ی بعد گروه تحت درمان با پماد فنی توئین ۱ درصد بهترین شرایط را داشت. با توجه به نتایج به‌دست آمده از مطالعه‌ی حاضر می‌توان نتیجه گرفت که بهبود زخم با عسل بهار نارنج ۷۵ درصد نسبت به پماد فنی توئین بهتر بوده و به دلیل خواص ضد التهابی، آنتی‌اکسیدانی، ضد باکتریایی و قارچی، اسمزی، تحریک آنژیوژنز و اپیتلیزاسیون عسل بهار نارنج می‌باشد.

#### تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله بدین‌وسیله مراتب تشکر و قدردانی خود را از ریاست محترم و مدیر گروه دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل اعلام می‌دارد.

#### References

- 1- Ansari Cheharsughi MS, Ahmadi-Dastgerdi A, Gholami-Ahangaran M. Antibacterial effect of *Capparis spinosa* (*Capparis spinosa*) and *Pistacia atlantica* (*Pistacia atlantica*) extracts on growth of *Escherichia coli* in vitro and in vivo. *Veterinary Clinical Pathology The Quarterly Scientific Journal*. 2020; 14(54): 115-126. [In Persian]
- 2- Ansari M, Alizadeh AM, Paknejad M, Khaniki M, Naeimi SM. Effects of *teucrium polium* honey on burn wound healing process. *Journal of Babol University of Medical Sciences*. 2009; 11(3): 7-12. [In Persian]

در بررسی انجام شده بر روی تأثیر عسل در بهبود زخم ساق پا در ۲۵ بیمار، هر زخم دو بار در روز و به مدت یه هفته با عسل استریل تحت درمان قرار گرفت. در طول دوره درمان، متوسط سطح زخم تمام بیماران به‌طور قابل توجهی از ۵۱ به ۲۲ کاهش یافت. در ۱۸ بیمار کاهش میزان شدت درد دیده شد. در حالی که در ۵ بیمار شدت درد در آنها ثابت بود. رضایت از درمان با عسل در ۸۰ درصد بیماران مثبت بود (۱۴).

طی مطالعه‌ی انجام شده در تجویز موضعی همزمان عسل و آلونوره‌وا، تسریع جمع‌شدگی و التیام زخم‌های ناشی از سوختگی درجه دو مشاهده گردید. بهبودی سریع و دسترسی آسان به عسل و آلونوره‌وا سبب پیشنهاد این ترکیبات برای درمان زخم‌های ناشی از سوختگی شد (۱۵).

#### نتیجه‌گیری

بر اساس مطالعات انجام گرفته قبلی بر روی تأثیر عسل بر روی زخم‌های ناشی از سوختگی، مقایسه عسل و روغن حیوانی در روند ترمیم زخم در موش صحرایی، تأثیر پانسما عسل با پانسما هیدروکلئید بر ترمیم زخم فشاری و مقایسه‌ی اثر عسل و فنی توئین در سرعت بسته شدن زخم و تأثیر عسل آکاسیا بر میزان پوست‌زایی و التیام می‌توان نتیجه گرفت که عسل بر تسریع ترمیم زخم‌های

- 3- Hadagali MD, Chua LS. The anti-inflammatory and wound healing properties of honey. *European Food Research and Technology*. 2014; 239(6): 1003-1014.

- 4- RIAHI S, IMANI H, Torkamaan G, MOFID M, Ghoshouni H, Khoushbaten A. Effect of topical application of honey on skin wound healing with full thickness in male rats. 2008; 5(1): 23-27.

- 5- Ghaderi R, Afshar M, Akhbarie H, Golalipour M J, Ghaderi R, Afshar M. Comparison of the efficacy of honey and animal oil in accelerat-

ing healing of full thickness wound of mice skin. *Int J Morphol*. 2010; 28(1): 193-8. [In Persian]

**6- Salahvarzan A, Abdolapour F, Ismaeli A, Sepahvand F.** Anti-oxidant and anti-microbial activities of two types of honey by change in bees, diet in comparison with other honey products in Abestan region of Khorramabad province, yafte. 2015; 17(3): 10-15. [In Persian]

**7- Ouchemoukh S, Louaileche H, Schweitzer P.** Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some Algerian honeys. *Food control*. 2007; 18(1): 52-58.

**8- Esmaelian B, Najafi O, Aldavood S, Jalali F, Farshid A, Rahmani S.** Clinical and histopathological evaluations of local honey application in the healing of experimental wounds in dog. *Journal of Veterinary Research*. 2012; 67(3): 265-271. [In Persian]

**9- Henriques A, Jackson S, Cooper R, Burton N.** Free radical production and quenching in honeys with wound healing potential. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2006; 58(4): 773-777.

**10- Khodashenas B.** The influential factors on antibacterial behaviour of copper and silver nanoparticles. *Indian Chemical Engineer*. 2016; 58(3): 224-239. [In Persian]

**11- Ammar I, Bardaa S, Mzid M, Sahnoun Z, Rebaii T, Attia H, et al.** Antioxidant, antibacterial and in vivo dermal wound healing effects of Opuntia flower extracts. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2015; 81: 483-490.

**12- Nowroozi N, Faraji S, Nouralishahi A, Shahrousvand M.** Biological and structural properties of graphene oxide/curcumin nanocomposite incorporated chitosan as a scaffold for wound healing application. *Life Sciences*. 2021; 264: 118640. [In Persian]

**13- Eftekhari B, Sahraian M, A, Nouralishahi B, Khaji A, Vahabi Z, Ghodsi M, et al.** Prognostic factors in the persistence of posttraumatic epilepsy after penetrating head injuries sustained in war. *Journal of neurosurgery*. 2009; 110(2): 319-326. [In Persian]

**14- Mayer A, Slezak V, Takac P, Olejnik J, Majtan J.** Treatment of non-healing leg ulcers with honeydew honey. *Journal of tissue viability*. 2014; 23(3): 94-97.

**15- Shahani M, Rouhollah F, Atabi F, Hajrasouliha S, Samsami M.** Cellular Effects of Wound Fluid (Seroma) from Tumor Bed on Human Breast Cancer Cell Lines. *Archives of Advances in Biosciences*. 2021; 12(1): 18-24. [In Persian]

## Comparison of the effect of *citrus aurantium* honey with phenytoin ointment on wound healing in rats

Oveys Pourmahdi<sup>1</sup>, Ilar Moshtagh<sup>2</sup>, Mahsa Rezvan<sup>3</sup>, Majid Gholami-Ahangaran<sup>4\*</sup>

۱۳۲

1- Department of Veterinary Medicine, Babol Branch, Islamic Azad University, Babol, Iran.

2- Department of Veterinary Medicine, Shabestar Branch, Islamic Azad University, Shabestar, Iran.

3- Graduated of Veterinary Medicine Faculty, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

4- Associate Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

Receive: December 26, 2021; Revise: February 26, 2022; Accept: March 11, 2022

### Summary

In this experimental study, 32 rats were anesthetized with 2% ketamine and 5% xylazine, ip. Then a shear wound was created on the back of each animal, measuring one cm<sup>2</sup> in full thickness. Mice were divided into negative control, positive control (osrine), spring orange 75% and phenytoin 1% groups. In the experimental group, 2 g of ointment was applied twice a day as a thin layer on the surface. Wounds were monitored for 14 days. Sampling was performed for histopathological examinations on days 4, 7, 10 and 14 after wounding. Digiser software was used to measure wound shrinkage. In this study, the rate of angiogenesis, fibroplasia, epithelial formation, collagen deposition and infiltration of inflammatory cells were evaluated. On microscopic examination on day 4, epidermal and dermal damage was observed in the presence of blood clots and infiltration of inflammatory cells in the treated group and budding tissue forming in the 75% spring orange and phenytoin 1% honey groups. On day 7, bud tissue was detectable in the treated groups. In the group treated with honey, 75% of the cell density of bud tissue was lower than the other groups and collagen synthesis was higher than the other groups and the developing epithelial tissue was also detectable. On day 10, the density of inflammatory cells, blood vessels, and fibroblasts in bud tissue decreased. In the negative and positive control groups, 75% of the bud tissue appeared younger than honey and 1% phenytoin. Germ tissue in honey group 75% and phenytoin 1% showed lower cell density and higher collagen synthesis. In the honey group, 75% of the formation of epithelial tissue was more advanced compared to the 7th day. On the 14th day in the honey group, 75% of the mature bud tissue appeared to have low cell density and collagen fibers were thicker, regular and more mature than the other groups, and the covering tissue completely covered the wound surface. In the study of wound contraction, the results showed that the group treated with honey 75% had a higher improvement than phenytoin 1%, which was statistically significant.

**Key words:** Wound healing, spring orange honey, phenytoin, shear wound, rat