

ارزیابی اثر ترکیب عصاره هیدروآتانولی گل گیاه هوفاریقون و روغن کتان بر بهبود روند التیام زخم جلدی در موش صحرایی

محمد رضا فرهپور^{*۱}

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ارومیه، استادیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، ارومیه، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات: mrf78s@gmail.com

(دریافت مقاله: ۹۳/۳/۱۶ پذیرش نهایی: ۹۳/۶/۵)

چکیده

از روش‌های مختلفی که در راستای اثرگذاری بر سرعت التیام و کیفیت بافت التیامی نهایی می‌توان از آن بهره برد، استفاده از مواد بیولوژیک می‌باشد. هدف این مطالعه ارزیابی اثر ترکیب عصاره هیدروآتانولی گیاه هوفاریقون و روغن کتان در تسریع روند التیام زخم می‌باشد. در این مطالعه که روی ۷۲ سر موش صحرایی نژاد ویستار انجام گرفت، ابتدا اقدام به ایجاد دو زخم دایره‌وار استاندارد به قطر ۷ میلی‌متر، روی پوست پهلوهای راست و چپ موش‌ها شد، سپس هر ۱۸ موش به‌طور تصادفی در یک گروه قرار داده شد و تا پایان هفته دوم پس از ایجاد زخم، روزانه یک بار، مورد درمان موضعی قرار گرفتند. مساحت سطح زخم‌ها در روزهای ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰، ۱۲ و ۱۴ بعد از ایجاد، توسط کاغذ شفاف اندازه‌گیری شدند. به منظور بررسی‌های هیستوپاتولوژی، در پایان روزهای ۳، ۷ و ۱۴ از زخم‌های گروه‌های مختلف، توسط پانچ مخصوص بیوپسی، نمونه بافتی اخذ گردید. کاربرد موضعی پماد ترکیبی عصاره هیدروآتانولی هوفاریقون-روغن کتان، در مقایسه با سایر گروه‌ها، موجب بروز اثرات مثبت آن در افزایش سرعت روند التیام زخم‌های تمام ضخامت پوستی با کاهش اندازه زخم و میزان مهاجرت سلول‌های آماسی چند هسته‌ای به محل زخم، و همچنین افزایش نوزایش عروقی و فیبروپلازی گردید. بر اساس نتایج به‌دست آمده، روند بهبود زخم در پماد درمانی حاوی ترکیب عصاره هیدروآتانولی هوفاریقون-روغن کتان، در مقایسه با سایر گروه‌ها بسیار بهتر بوده است.

کلید واژه‌ها: هوفاریقون، روغن کتان، پماد، التیام زخم، موش.

مقدمه

از قدیمی‌ترین چالش‌ها است. از دیرباز گیاهان طبی به‌طور گسترده در سراسر جهان توسط پزشکان و بیماران برای درمان مورد استفاده قرار می‌گیرند. بهبود زخم پوست یک فرآیند دینامیک است، که توسط

بهبود زخم نقش اساسی را در سلامت فیزیکی بشر ایفا می‌کند. تحقیق در مورد مواد بهبوددهنده زخم از نظر مکانیسم‌های درگیر در ترمیم بافت آسیب‌دیده یکی

جمله، اسید چرب آلفا لینولنیک، و اسید چرب امگا ۳ می‌باشد. بر اساس مطالعات صورت گرفته، مشخص گردیده که اسیدهای چرب امگا ۳ و ۶ حاصل از این گیاه ممکن است از وقوع بیماری‌های قلبی و عروقی، التهابی و برخی از بیماری‌های خود ایمنی مانند بیماری التهابی روده و آرتريت روماتوئید جلوگیری کند (Zuk et al., 2009; Pan et al., 2011; et al.). از سوی دیگر، لیگنان موجود در دانه کتان که یک نوع کربوهیدرات طبقه‌بندی شده به عنوان یک ترکیب فنولیک می‌باشد (Zuk et al., 2019)، آنتی‌اکسیدان قوی بوده و نشان داده شده که استفاده از آن موجب افزایش سطح ایمنی بدن و جلوگیری از وقوع بسیاری از بیماری‌های مختلف، از جمله برخی از انواع سرطان‌ها می‌گردد (Thompson et al., 2005). همچنین کاربرد موضعی این روغن موجب افزایش سرعت و کیفیت بافت ترمیمی زخم‌های پوستی می‌شود (De Souza Franco et al., 2012; De Spirt et al., 2008; Farahpour et al., 2011).

با توجه به اثرات مفید متعدد گیاه هوفاریقون و روغن بزرک، در این مطالعه اثر ترکیب عصاره هیدروآتانولی گل‌های گیاه هوفاریقون با روغن کتان، بر ترمیم زخم تجربی پوست در موش صحرایی مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

روش عصاره‌گیری و آماده‌سازی پماد

پس از چیدن، شستشو و آماده نمودن سرشاخه‌های گلدار گیاه هوفاریقون، برای مدت ۱۰ روز در اتاق (سایه) نگهداری شد تا خشک شوند و پس از خرد کردن، ۲۰۰ گرم از آن توسط ترکیب آب و اتانول ۹۶

سلول‌های متفاوتی مانند فیبروبلاست‌ها، لکوسیت‌ها یا ماکروفاژهای بافتی اتفاق می‌افتد. این فرآیندهای هماهنگ شامل محرک‌ها و فازهای مشترکی هستند که یک بهبود موثر را پیش می‌برند (Fatima et al., 1999).

ایران دارای یک طب سنتی با قدمت دیرینه جهت ارتقای سلامت می‌باشد، که در آن از تعداد فراوانی گیاه یا عصاره‌های گیاهی جهت درمان انواع عارضه‌ها از جمله درمان زخم‌های ناشی از بریدگی، سوختگی و یا عفونت استفاده می‌شود. یکی از این گیاهان دارویی، هوفاریقون (*St John's wort*) جنس مهمی از خانواده‌های پریاسه است که حدوداً شامل ۳۷۰ گونه گیاه می‌باشد (Linde, 2009). هوفاریقون، گیاه است علفی، چند ساله و دارای گل‌های زرد که بومی اروپا، غرب آسیا و شمال آفریقا بوده و در آمریکا و استرالیا نیز به‌طور طبیعی دیده می‌شود (Peron et al., 2013).

عصاره‌های مختلف گل و بخش‌های هوایی گیاه هوفاریقون برای درمان اختلالات دستگاه گوارش، دستگاه ادراری، دستگاه تنفس، قلب، کبد، مفاصل و سلامت روان استفاده شده است (Spiteller et al., 1998; Nogueira et al., 2008). مطالعات بسیاری تاثیر التیام بخشی عصاره‌های آبی و متانولی گل و بخش‌های هوایی این گیاه روی نمونه موجود زنده را به اثبات رسانیده‌اند (Gál et al., 2009; Hostanska et al., 2012).

گیاه کتان (*Linum usitatissimum*) یکی از قدیمی‌ترین گیاهان کشت شده در جهان است (Diederichsen et al., 2001; Güvenc et al., 2012). روغن دانه این گیاه، تحت عنوان روغن کتان یا روغن بزرک (flaxseed oil) حاوی مشتقات با ارزشی از

داده شده و سطح پشتی موش‌ها از ناحیه کتف تا ایلئوم آماده‌سازی جراحی و اسکراب شده و دو زخم دایره‌ای شکل تمام ضخامت به قطر ۷ میلی‌متر در هر طرف به فاصله ۱ سانتی‌متر از ستون مهره‌ها و ۱/۵ سانتی‌متر از یکدیگر با استفاده از پانچ بیوپسی استریل ۷ میلی‌متری ایجاد شد (Farahpour and Habibi, 2012). پس از ایجاد زخم تمامی موش‌ها، به‌طور تصادفی به ۴ گروه ۱۸ تایی (شاهد، دارونما و دو نوع پماد درمانی) تقسیم شده و سپس موش‌های هر یک از گروه‌ها، خود به ۳ و ۷ (۱۴ و ۷) تقسیم شدند. در پایان روزهای مذکور به منظور بررسی آسیب‌شناختی، نمونه‌ی بافتی جهت انجام آزمایشات مربوطه اخذ شد. برای اطمینان از برداشت کامل بافت از پانچر ۸ میلی‌متری استفاده گردید. برای جلوگیری از وارد آمدن هرگونه خدشه طی مطالعه، هر موش پس از اخذ نمونه، از روند مطالعه کنار گذاشته شد.

اندازه‌گیری سطح زخم

در تمامی گروه‌های درمانی، زخم‌ها در روزهای ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰، ۱۲ و ۱۴ بعد از ایجاد، توسط کاغذ شفاف اندازه‌گیری شدند (Farahpour and Habibi, 2012). به منظور بررسی اندازه‌گیری سطح زخم، هر موش بیهوش شده در وضعیت خوابیده بر روی شکم قرار داده می‌شد و سپس حاشیه زخم بر روی یک کاغذ شفاف ترسیم می‌گردید. برای به حداقل رسانیدن میزان خطا، ترسیم حاشیه کل هر زخم، در هر موش، سه بار تکرار شده و میانگین آن محاسبه می‌گردید.

آسیب‌شناختی بافتی

درجه و با روش ماسریشن عصاره‌گیری شدند. سپس عصاره به‌دست آمده، توسط دستگاه تقطیر در خلأ تغلیظ گردید. محلول غلیظ به‌دست آمده در سه مرحله فیلتر شد. سپس محلول به‌دست آمده نهایی، تحت شرایط استریل شده در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد خشک گردید (Eseyin, 2007). هم‌چنین روغن دانه کتان از شرکت باریج اسانس تهیه گردید. در پایان جهت ساخت پمادهای درمانی میزان ۲/۵ گرم از عصاره خشک شده هوفاریقون، به شکل وزنی-وزنی، به یک قوطی حاوی ۹۷/۵ گرم پماد پایه (ترکیبی از ۷۰ گرم وازلین و ۳۰ گرم اوسرین) اضافه گردید. در قوطی دیگر، ۲/۵ گرم از عصاره خشک شده هوفاریقون به همراه ۲/۵ گرم روغن کتان، تحت عنوان پماد ترکیبی، به شکل وزنی-وزنی به ۹۵ گرم پماد پایه اضافه گردید.

حیوانات مورد مطالعه

در این تحقیق از ۷۲ سر موش صحرایی نر بالغ با محدوده وزنی 190 ± 10 گرم، تهیه شده از دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه، استفاده شد. این حیوانات به مرکز پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشکده دامپزشکی منتقل شده و در قفس‌های استاندارد نگهداری موش تحت شرایط نوردهی کنترل شده ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و دمای ثابت 22 ± 2 درجه سلسیوس نگهداری گردیدند.

روش القاء بیهوشی و ایجاد زخم

القاء بیهوشی با تزریق زایلازین هیدروکلراید ۲ درصد (10 mg/kg; Woerden, Holland) و کتامین هیدروکلراید ۵ درصد (mg/kg; Woerden, Holland) به صورت داخل صفاقی انجام گردید. سپس موش‌ها به صورت شکمی روی میز جراحی قرار

میکروتوم مقاطعی به ضخامت ۵ میکرون تهیه و به روش هماتوکسیلین-ئوزین (جهت شمارش سلولی) رنگ آمیزی گردید (Süntar et al., 2011). بر اساس جدول ۱ پارامترهای آسیب شناختی نشان دهنده پیشرفت ترمیم زخم بر اساس امتیازدهی گزارش گردید (Ozay et al., 2010).

در روزهای سوم، هفتم و چهاردهم بعد از ایجاد زخم، پس از القاء بیهوشی عمومی، یک تکه تمام ضخامت از بافت جلدی شامل ۲ میلی متر از حاشیه پوست سالم به همراه بخشی از بافت جوانه‌ای، جدا گشته و بلافاصله در داخل ظرف حاوی فرمالین بافر ۱۰٪ قرار داده شد. پس از تثبیت و قالب‌گیری نمونه‌های بافتی در پارافین (بلوک‌زنی)، توسط

جدول ۱- پارامترهای آسیب‌شناختی نشان‌دهنده پیشرفت ترمیم زخم و نحوی رتبه‌بندی آن‌ها

درجه‌بندی	سلول‌های التهابی	نوزایش عروقی	فیبروبلاست	تشکیل بافت پوششی
۰	عدم حضور	عدم حضور	عدم حضور	ضخیم شدن لبه‌های برش
۱	خفیف (اطراف بافت)	خفیف (بافت زیر جلد)	خفیف (اطراف بافت)	مهاجرت سلول‌های پوششی کمتر از ۵۰٪
۲	خفیف (بافت جوانه‌ای)	خفیف (بافت جوانه‌ای)	خفیف (بافت جوانه‌ای)	مهاجرت سلول‌های پوششی بیشتر از ۵۰٪
۳	متوسط (بافت جوانه‌ای)	متوسط (بافت جوانه‌ای)	متوسط (بافت جوانه‌ای)	پل زدن ناحیه برش
۴	بارز (بافت جوانه‌ای)	بارز (بافت جوانه‌ای)	بارز (بافت جوانه‌ای)	شاخی شدن

تحلیل آماری داده‌ها

اطلاعات به دست آمده از اندازه‌گیری سطح زخم‌ها با استفاده از آزمون تجزیه و تحلیل واریانس یک‌طرفه (ANOVA)، مورد واکاوی آماری قرار گرفتند. تفاوت در $p < 0/05$ معنادار در نظر گرفته شد. یافته‌ها توسط میانگین \pm انحراف معیار (mean \pm S.D.) نشان داده شد.

یافته‌ها

ارزیابی اندازه زخم

تغییرات مساحت زخم در پیشرفت روند بهبودی در جدول ۲ نشان داده شده است. ترکیب هوفاریقون-روغن کتان، موجب کاهش معنی‌دار اندازه زخم در مقایسه با گروه شاهد شده است ($p < 0/05$)، به طوری که اندازه مساحت زخم در روزهای ۱۰، ۱۲ و ۱۴ بعد از ایجاد، در گروه شاهد برابر $12/53 \pm 1/86$ ، $7/91 \pm 1/31$ و $3/12 \pm 0/61$ میلی متر مربع بود. در حالی که این میزان در گروه درمانی با پماد ۲/۵٪ گیاه هوفاریقون برابر $5/05 \pm 2/11$ ، $2/78 \pm 0/08$ و $0/59 \pm 0/41$ میلی متر مربع و در گروه درمانی با پماد ترکیبی $6/91 \pm 2/00$ ، $4/31 \pm 1/10$ و $1/42 \pm 0/55$ میلی متر مربع بود.

جدول ۲- اثر پمادهای درمانی بر اندازه مساحت زخم در روزهای مختلف دوره آزمایش (میلی مترمربع)

روزها	روزهای اندازه‌گیری						
	روز ۲	روز ۴	روز ۶	روز ۸	روز ۱۰	روز ۱۲	روز ۱۴
شاهد	۳۷/۳۲±۲/۳۱	۳۲/۵۹±۲/۷۲	۲۱/۹۳±۱/۶۲	۱۷/۷۳±۱/۷۱	۱۲/۵۳±۱/۸۶	۷/۹۱±۱/۳۱	۳/۱۲±۰/۶۱
دارونما	۳۶/۱۹±۲/۴۲	۲۹/۶۱±۲/۹۲	۱۹/۰۹±۱/۱۶	۱۵/۳۴±۱/۹۷	۱۰/۹۲±۱/۷۱	۷/۵۳±۰/۶۸	۲/۷۲±۰/۵۴
پماد ۲/۵٪	۳۵/۳۵±۲/۷۴	۲۷/۵۹±۲/۰۲	۱۷/۳۲±۲/۱۷	۱۱/۲۳±۱/۲۶ ^b	۶/۹۱±۲/۰۰ ^b	۴/۳۱±۱/۱۰ ^b	۱/۴۲±۰/۵۵ ^b
پماد ترکیبی	۳۵/۲۱±۲/۷۸	۲۷/۰۱±۲/۱۲	۱۶/۲۷±۲/۲۹	۱۰/۳۱±۱/۳۱ ^a	۵/۰۵±۲/۱۱ ^a	۲/۷۸±۰/۰۸ ^a	۰/۵۹±۰/۴۱ ^a

a و b بیانگر اختلاف معنی‌دار بین گروه کنترل و گروه‌های درمانی در هر ستون می‌باشد ($p < 0.05$).

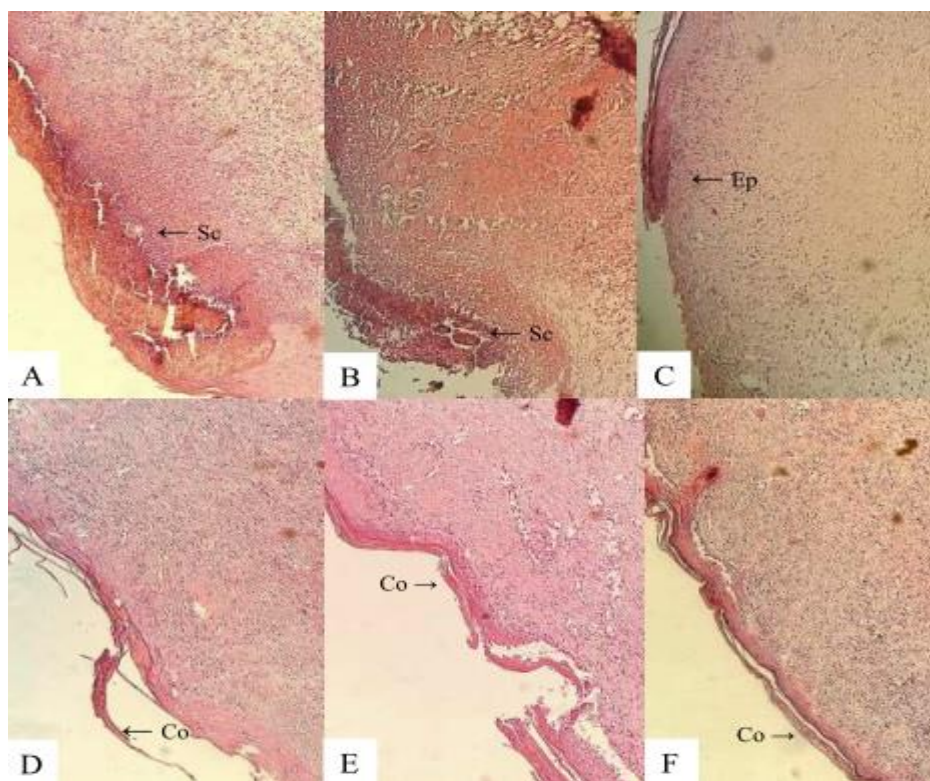
ارزیابی آسیب‌شناختی

در نمونه‌های اخذ شده در روز سوم پس از جراحی، میزان ارتشاح سلول‌های ایمنی چندهسته‌ای در نمونه‌های شاهد و دارونما، در حد بالایی بود و طی یک روند نزولی آهسته، در روز هفتم و چهاردهم نمونه برداری کاهش یافته بود. در حالی که این میزان، در هر دو گروه دریافت‌کننده پماد درمانی، بخصوص زخم‌های درمان شده توسط پماد ترکیبی، در روز سوم پس از ایجاد زخم در حد متوسطی بوده و در روزهای بعدی روند کاهش قابل ملاحظه‌ای پیدا کرده بود (شکل ۱، جدول ۳).

در نمونه‌های اخذ شده در روز سوم پس از جراحی، میزان ارتشاح سلول‌های ایمنی تک‌هسته‌ای در نمونه‌های شاهد و دارونما، در حد متوسط بود و طی یک روند صعودی آهسته، در روز هفتم افزایش یافته و به‌دنبال آن در روز چهاردهم کاهش یافته است. در حالی که این میزان، در هر دو گروه درمانی، به‌خصوص گروه دریافت‌کننده پماد ترکیبی، در روز سوم پس از

ایجاد زخم در حد بالاتری بوده و در روز هفتم به شدت افزایش یافته و در روز چهاردهم نیز روند کاهش نشان می‌داد (شکل ۱، جدول ۳).

در نمونه‌های دارونما و شاهد، در روز سوم میزان نوزایش عروقی بسیار کم بوده ولی در روز هفتم به میزان قابل ملاحظه‌ای افزایش یافته، اما با نزدیک شدن به روز چهاردهم، با کاهش روند ترمیمی میزان آن کاملاً کم شده بود. در صورتی که در گروه‌های درمانی، به‌خصوص گروه درمانی با پماد ترکیبی، میزان نوزایش عروقی در روز سوم بسیار خوب بوده و با گذشت زمان و در روز هفتم میزان آن چشمگیرتر شده بود. ولی در روز چهاردهم با توجه به اینکه از میزان کلاژن ترشحی به حد زیادی کاسته شده، به همین میزان نوزایش عروقی نیز کاهش یافته بود که این امر به دلیل کاهش پرخونی در بافت، تاثیر مثبتی در روند ترمیم داشت (جدول ۳).



شکل ۱- نمای ریزبینی از سطح مقطع پوست؛ A، B و C در روز چهارم بعد از ایجاد زخم؛ و D، E و F در روز چهاردهم پس از ایجاد زخم؛ به ترتیب گروه‌های شاهد، درمانی با پماد هوفاریقون و هوفاریقون-روغن کتان. دلمه (Sc)، بافت پوششی (Ep)، لایه بافت شاخی (Co) (رنگ آمیزی تری هماتوکسیلین-اُئوزین، درشتنمایی $\times 10$).

این میزان در گروه‌های شاهد و دارونما تا پایان روز چهاردهم از حد متوسط تجاوز نکرده بود. در حالی که، به طور کلی در مورد گروه‌های درمانی به خصوص گروه درمانی با پماد ترکیبی، در همان روز هفتم ضخامت اپیتلیوم خوب بوده، به طوری که این کیفیت خوب منجر به ایجاد بافت شاخی در روز چهاردهم شده بود (شکل ۱، جدول ۳).

در روز سوم، در هر دو گروه درمانی، به خصوص گروه درمانی با پماد ترکیبی، روند فیروپلازی تا پایان دوره وضعیت مناسبی را داشته است، اما در نمونه‌های دارونما و شاهد روند فیروپلازی در روز سوم ضعیف بوده و با نزدیک شدن به روز چهاردهم به تدریج افزایش یافته بود (جدول ۳). در روز سوم پس از جراحی، هیچ‌گونه نوزایش بافت پوششی دیده نشد. از روز هفتم به بعد تشکیل اپیتلیوم در کلیه گروه‌ها آغاز شده بود، اما

جدول ۳- نتایج حاصل از آسیب‌شناختی بافتی در گروه‌های مختلف

روزهای نمونه‌برداری	گروه‌های مورد آزمایش	سلول‌های ایمنی چند هسته‌ای	سلول‌های ایمنی تک هسته‌ای	نورایش عروقی	فیبروپلازی	تشکیل بافت پوششی
	شاهد	++++	++	+	+	-
روز	دارونما	++++	++	+	+	-
سوم	پماد درمانی ۲/۵٪	+++	+++	+++	++	-
	پماد درمانی ترکیبی	+++	+++	++++	++	-
	شاهد	+++	+++	++	++	+
روز	دارونما	+++	+++	++	++	+
هفتم	پماد درمانی ۲/۵٪	++	++++	+++	+++	++
	پماد درمانی ترکیبی	+	++++	++++	+++	+++
	شاهد	+	++	+	+++	+++
روز	دارونما	+	++	+	+++	+++
چهاردهم	پماد درمانی ۲/۵٪	-	+	+	++	++++
	پماد درمانی ترکیبی	-	+	+	++	++++

بحث و نتیجه‌گیری

مطالعات نشان داده‌اند که گونه‌های هوفاریقون دارای مقادیر متناهی از ترکیبات فنلی می‌باشند، که در نتیجه وجود این ترکیبات عصاره‌های حاصل از این گیاه دارای خواص ضد باکتریایی و ضد ویروسی قابل توجهی می‌باشند (Cecchini et al., 2007; Andesen et al., 1991). به نظر می‌رسد فعالیت ضد التهابی گیاه مذکور از نظر فرآیند بهبود زخم و به‌ویژه در اولین گام از فازها بحث برانگیز باشد. در واقع، مدت زمان طولانی فاز التهابی موجب تاخیر در فرآیند بهبود می‌گردد. به منظور کوتاه شدن دوره درمان و هم‌چنین برای به حداقل رساندن میزان درد و اسکار، فعالیت ضد التهابی مورد نیاز است (Singer and Clark, 1999). از آنجایی که گونه‌های هوفاریقون دارای بنیان‌های فعال ضد باکتریایی نظیر هایپرفورین و فلاونوئیدها می‌باشند، احتمالاً سبب بهبود بهتر و سریع‌تر زخم می‌گردند

(Herrera et al., 1996; Cecchini et al., 2007).

فلاونوئیدها به‌عنوان ترکیبات فعال آنتی‌اکسیدان، مسئول مهار پراکسیداسیون لیپیدی بوده و مانع از آسیب سلولی و افزایش بقای فیبرهای کلاژنی می‌گردند (Shetty et al., 2008; Getie et al., 2002).

بهبود زخم فرآیند طبیعی پیچیده‌ای به منظور کاهش یا محدود کردن اسکار و هم‌چنین کمک به بهبود و بازسازی آسیب بافتی است. رویدادهای طبیعی بعدی التیام زخم در سه مرحله تقریباً جدا از یکدیگر روی می‌دهد: مرحله تشکیل دلمه و التهاب، مرحله پرولیفراسیون سلول‌های بافت همبندی و مرحله بلوغ (Beldon, 2012). در مرحله اول، پس از چند ساعت از ایجاد زخم، سلول‌های فاز التهابی (سلول‌های ایمنی چند هسته‌ای)، جهت پاک‌سازی، به محل زخم مهاجرت می‌کنند. مشخص گردیده افزایش میزان سلول‌های مذکور موجب افزایش آماس در زخم می‌شود

(2012). حین این مرحله، نوزایش عروقی، رسوب کلاژن، رشد مجدد بافت پوششی و تشکیل بافت گرانوله برای بازگرداندن یکپارچگی بافت پوست اتفاق می افتد. به طور معمول طی این مرحله، از یک سو از میزان حضور سلول های ایمنی در محل زخم کاسته شده و از سوی دیگر بر میزان مهاجرت تعداد سلول های فیبروبلاست به محل زخم، اضافه می گردد (Beldon, 2012). در پژوهش اخیر مشخص گردید که کاربرد موضعی عصاره هیدروآتانولی گیاه هوفاریقون، به صورت قابل ملاحظه ای موجب افزایش مهاجرت فیبروبلاست ها و شروع نوزایش بافت پوششی در روزهای هفتم و چهاردهم بعد از القا زخم گشته است، که این میزان در گروه درمانی با پماد ترکیبی افزایش بسیار بیشتری نشان می دهد. در مطالعات متعددی گزارش گردیده که تغییرات یاد شده در این مرحله می تواند در اثر وجود خاصیت آنتی اکسیدانی عامل دارویی باشد (Shetty et al., 2002; Getie et al., 2008). و از آنجایی که وجود این خاصیت در عصاره هوفاریقون نیز به اثبات رسیده است (Hostanska et al., 2012)، می توان چنین بیان کرد که سرعت روند التیام در مرحله دوم، در زخم های درمان شده با عصاره هوفاریقون و هم چنین عصاره هوفاریقون-روغن کتان افزایش یافته است.

مرحله سوم روند التیامی، مرحله بلوغ است (Beldon, 2012). طی این مرحله افزایش سنتز کلاژن و سازماندهی دستجات کلاژنی، تکامل بافت گرانوله به بافت اسکار و حذف سلول های دیگر توسط فرآیند آپوپتوز و در نتیجه کاهش هرچه بیشتر اندازه زخم اتفاق خواهد افتاد (Beldon, 2012). در بررسی اخیر مشخص گردید که کاربرد موضعی عصاره هیدروآتانولی

(Beldon, 2012). در پژوهش اخیر مشخص گردید که به شکل قابل ملاحظه ای از شدت آماس و حضور سلول های آماسی چند هسته ای (نوتروفیل ها) در زخم های درمان شده توسط پماد ترکیبی حاوی عصاره هیدروآتانولی هوفاریقون-روغن کتان، کاسته شده است. این امر را می توان به وجود ترکیبات آنتی باکتریال عصاره مذکور از جمله ترکیبات فنلی، هایپرفورین و فلاونوئیدها (Herrera et al., 1996; Cecchini et al., 2007) و همچنین خاصیت ضد التهابی عصاره مذکور (Süntar et al., 2010) نسبت داد. در ادامه، در اواسط این مرحله (مرحله اول) از شدت حضور سلول های ایمنی چند هسته ای کاسته شده و به جای آنها بر میزان سلول های ایمنی تک هسته ای افزوده می گردد. حضور سلول های آماسی تک هسته ای به ویژه ماکروفاژها، به منظور ترشح انواع سیتوکین های موثر بر روند التیام و هم چنین فراخوان، جهت مهاجرت فیبروبلاست ها به محل زخم، ضروری است (Beldon, 2012). از سوی دیگر، در اواخر مرحله اول روند التیامی و با کاهش میزان عوامل عفونت زا و آماس زخم، نوزایش عروقی جهت تشکیل بافت جوانه ای آغاز می گردد (Beldon, 2012). در مطالعه اخیر مشخص گردید که کاربرد موضعی عصاره هیدروآتانولی هوفاریقون به تنهایی و همچنین در ترکیب با روغن کتان، موجب افزایش نوزایش عروقی در زخم های درمان شده، گشته است. که این امر با یافته های دیگر محققین مطابقت دارد (Gál et al., 2009; Hostanska et al., 2012).

مرحله دوم روند التیامی، مرحله افزایشی یا پرولیفراسیون سلول های بافت همبندی می باشد که از روز سوم بعد از وقوع زخم آغاز می گردد (Beldon,

به‌طور کلی نتایج مطالعه حاضر نشان داد که عصاره هیدروآتانولی گل گیاه هوفاریقون، به‌خصوص در ترکیب با روغن کتان، در کاربرد موضعی و در مقایسه با گروه شاهد، موجب بروز اثرات مثبت آن در افزایش سرعت روند التیام زخم‌های تمام ضخامت پوستی با کاهش میزان اندازه زخم و مهاجرت سلول‌های آماسی چند هسته‌ای به محل زخم و همچنین افزایش نوزایش عروقی و فیبروپلازی می‌گردد.

سپاسگزاری

بدین وسیله از زحمات همکار ارجمند آقای دکتر کیوان رزاقی، عضو ارشد سازمان تحقیقات و منابع طبیعی استان همدان که همکاری‌های لازم را با اینجانب مبذول فرموده‌اند، تقدیر و تشکر می‌گردد.

گیاه هوفاریقون، به‌طور قابل ملاحظه‌ای موجب کاهش اندازه زخم و همچنین افزایش تولید بافت پوششی از یک سو، و از سوی دیگر کامل شدن پل بافت پوششی و ایجاد لایه شاخی در روز چهاردهم در زخم‌های درمان شده، گشته است. یافته‌های اخیر، با گزارشات دیگر محققین مطابقت دارد (Herrera *et al.*, 1996; Cecchini *et al.*, 2007; Hostanska *et al.*, 2012; De Souza Franco *et al.*, 2012; De Spirt *et al.*, 2008). از سوی دیگر بر اساس نتایج بررسی اخیر مشخص شد که ترکیب عصاره هیدروآتانولی گل گیاه هوفاریقون با روغن کتان، موجب پیشرفت سریع‌تر روند التیام در مقایسه با گروه کنترل و گروه درمانی با عصاره خالص هوفاریقون می‌گردد.

منابع

- Beldon, P. (2010). Basic Science of wound healing. Surgery (Oxford), 28: 409-412.
- Cecchini, C., Cresci, A., Coman, M.M., Ricciutelli, M., Sagratini, G. Vittori, S., *et al.* (2007). Antimicrobial activity of seven Hypericum entities from central Italy. *Planta Medica*, 73(6): 564.
- De Souza, F.E., de Aquino, C.M.F. and de Medeiros, P.L. (2012). Effect of a Semisolid Formulation of *Linum usitatissimum* L. (Linseed) Oil on the Repair of Skin Wounds. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, Volume 2012: 270752.
- Diederichsen, A. and Richards, K. (2001). Cultivated flax and the genus *Linum* L.: Taxonomy and germplasm conservation. In *Flax, The genus Linum*. Edited by: A. M, Westscott N. Amsterdam: Hardwood Academic Publishers, 22-54.
- De Spirt, S., Stahl, W. and Tronnier, H. (2008). Intervention with flaxseed and borage oil supplements modulates skin condition in women. *British Journal Nutrition*, 101(3): 440-445.
- Eseyin, O.A., Ebong, P., Ekpo, A., Igboasoyi, A. and Oforah, E. (2007). Hypoglycemic effect of the seed extract of *Telfairia occidentalis* in rat. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 10(3): 498-501.
- Farahpour, M.R. and Habibi, M. (2012). Evaluation of the wound healing activity of an ethanolic extract of Ceylon cinnamon in mice. *Veterinari Medicina*, 57(1): 53-57.
- Farahpour, M.R., Taghikhani, H., Habibi, M. and Zandieh M.A. (2011). Wound healing activity of flaxseed *Linum usitatissimum* L. in rats. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 5(21):2386-2389.

- Fatima, A.D., Modolo, L.V., Conegero, S., Andreia, C. and Porto, R.R. (2008). Wound healing agents: The role of natural and non-natural products in drug development. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 8(9): 879-888.
- Gál, P., Tomáš, T., Tomáš, G., Zuzana, V., Karel, S., Dvořánková, B. and Tomáš G. (2009). Effect of *Atropa belladonna* L. on skin wound healing: biomechanical and histological study in rats and in vitro study in keratinocytes, 3T3 fibroblasts, and human umbilical vein endothelial cells. *Wound Repair and Regeneration*, 17: 378-386.
- Getie, M., Gebre-Mariam, T., Rietz, R. and Neubert, R.H. (2002). Evaluation of the release profiles of flavonoids from topical formulations of the crude extract of the leaves of *Dodonaea viscosa* (Sapindaceae). *Die Pharmazie*, 57(5): 320.
- Güvenc, A., Akkol, E.K. and Hürkul, M.M. (2012). Wound healing and anti-inflammatory activities of the *Michauxia L'Hérit* (Campanulaceae) species native to Turkey. *Journal of Ethnopharmacology*, 139: 401-408.
- Herrera, R.M., Perez, M., Martin-Herrera, D.A., Lopez-Garcia, R., Rabanal, R.M. and Arias, A. (1996). Antimicrobial activity of extracts from plants endemic to the Canary Islands. *Phytotherapy Research*, 10(4): 364-366.
- Hostanska, K., Rostock, M., Melzer, A. Joerg, B.S. and Reinhard, S. (2012). A homeopathic remedy from arnica, marigold, St. John's wort and comfrey accelerates in vitro wound scratch closure of NIH 3T3 fibroblasts. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 12: 100.
- Linde, K. (2009). St. John's wort– an overview. *Forsch Komplementmed*, 16: 146-155.
- Nogueira, T., Duarte, F., Venâncio, F., Tavares, R., Lousã, M., Bicchi, C., *et al.* (1998). Aspectos quimiotaxonómicos do género *Hypericum* L. em Portugal. *Silva Lusitana*. 6: 55-61.
- Ozay, Y., Ozyurt, S., Guzel, S., Cimbiz, A., Olgun, E.G. and Kasim, C.M. (2010). Effects of *Equisetum arvense* Ointment on Dermal Wound Healing in Rats. *Wounds*, 22(10): 261.
- Peron, A.P., Mariucci, R., Gonçalves, D.A., Igor, V., Düsmán, E., Mantovani, M.S., *et al.* (2013). Evaluation of the cytotoxicity, mutagenicity and antimutagenicity of a natural antidepressant, *Hypericum perforatum* L. (St. John's wort), on vegetal and animal test systems. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 13(1): 97.
- Shetty, S., Udupa, S. and Udupa, L. (2008). Evaluation of antioxidant and wound healing effects of alcoholic and aqueous extract of *Ocimum sanctum* Linn in rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 5(1):95-101.
- Singer, A.J. and Clark, R.A. (1999). Cutaneous wound healing. *New England Journal of Medicine*, 341(10): 738-746.
- Spitteller, M., Ozen, T., Šmelcerović, A., Zuehlke, S. and Mimica-Dukić, N. (2008). Phenolic constituents and the in vitro antioxidant activity of the flowers of *Hypericum venustum*. *Fitoterapia*, 79: 191-193.
- Süntar, I.P., Akkol, E.K., Yılmaz, D., Baykal, T., Kırmızıbekmez, H., Alper, M., *et al.* (2010). Investigations on the in vivo wound healing potential of *Hypericum perforatum* L. *Journal of Ethnopharmacology*, 127 (2): 468-477.
- Süntar, I., Akkol, E.K., Keleş, H., Oktem, A., Başer, K.H. and Yeşilada, E. (2011). A novel wound healing ointment: a formulation of *Hypericum perforatum* oil and sage and oregano essential oils based on traditional Turkish knowledge. *Journal of Ethnopharmacology*, 134(1): 89-96.
- Žuk, M., Kulma, A. and Dymińska, L. (2011). Flavonoid engineering of flax potentiate its biotechnological application. *BMC Biotechnology*, 11: 10.6

Evaluation of the combined effect of *St John's wort* hydroethanolic flower extract and flaxseed oil on skin wound healing -in rats-

Farahpour, M.R. ^{1*}

1- Assistant Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia Branch, Islamic Azad University, Urmia, Iran.

*Corresponding author email: mrf78s@gmail.com

(Received: 2014/6/6 Accepted: 2014/8/27)

Abstract

The use of biological substances is among the methods utilized to increase the rate and quality of wound healing. This experiment was designed to investigate the effects of co-administration of *St John's wort* hydroethanolic extract and *flaxseed* oil for acceleration of wound healing based on their therapeutic properties. The study was conducted on 72 male Wistar rats. Experimental wounds measuring 7 mm in diameter was created on both sides of animals then the animals treated with ointments once a day for 2 consecutive weeks. Wound area was determined on days 2, 4, 6, 8, 10, 12 and 14 using a transparent paper. Tissue samples were collected on days 3, 7 and 14 for histopathological studies. According to the data, hydroethanolic extract of *St John's wort* and *flaxseed* oil ointment decreased wound area and distribution of polymorphonuclear immune cells in wound area as well as increase in new vessel formation and fibroplasia ($P<0.05$). Furthermore, wound healing process was better in group treated with hydroethanolic extract of *St John's wort* and flaxseed oil ointment compared to the other groups.

Keywords: *St John's wort*, flaxseed oil, Ointment, Wound Healing, Rat.