

اثر عصاره هیدروآتانولی برگ گیاه پنیرک در التیام زخم‌های پوستی تمام‌ضخامت برشی در موش صحرائی

محمد رضا فرهپور^{۱*}، سارو صداقت^۲

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

۲- دانشجوی گروه علوم درمانگاهی، واحد ارومیه، دانشگاه آزاد اسلامی، ارومیه، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات: mrf78s@gmail.com

(دریافت مقاله: ۹۴/۳/۱ پذیرش نهایی: ۹۴/۶/۳۰)

چکیده

التیام زخم تمام ضخامت پوست همواره به دلیل اختلال در روند ترمیم که منجر به طولانی شدن دوره بهبودی می‌گردد، مورد توجه بوده است. از این رو، تلاش برای یافتن ترکیبات موثر بر بهبود روند التیام زخم‌های جلدی بسیار مهم است. مطالعه حاضر به منظور بررسی اثرات عصاره هیدروآتانولی برگ پنیرک (*Malva sylvestris*) بر روند ترمیم زخم، در ۵۴ سر موش صحرائی نر، انجام شد. دو زخم استاندارد برشی گرد تمام ضخامت جراحی به قطر ۷ میلی‌متر در پوست پشت موش‌ها ایجاد شد و به صورت موضعی، در سه گروه، پارافین نرم زرد (گروه کنترل) و پمادهای درمانی ۱/۵٪ و ۳٪ (عصاره مخلوط با پارافین نرم زرد) تحت مداوا قرار گرفتند. درمان بلافاصله پس از ایجاد زخم و برای بعد از ایجاد زخم، به مدت ۱۶ روز متوالی، به کار گرفته شد. التیام زخم به شکل میکروسکوپی، از نظر شروع رسوب بافت نو پوستی و بسته شدن زخم در طی یک دوره ۱۶ روزه مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان‌دهنده افزایش معنی‌دار میزان انقباض زخم در حیوانات تحت درمان، به‌خصوص دوز درمانی ۳ درصد، در مقایسه با گروه کنترل بود. همچنین، در حیوانات تحت درمان با عصاره هیدروآتانولی برگ گیاه پنیرک میزان نفوذ سلول‌های التهابی کاهش یافته و نوزایش عروقی، انتشار فیبروبلاست‌ها، محتوای کلاژنی و ضخامت بافت پوششی افزایش نشان می‌داد. این نتایج نشان داد که کاربرد موضعی عصاره هیدروآتانولی برگ گیاه پنیرک دارای اثرات مفیدی بر بهبود زخم تمام ضخامت برشی پوست است.

کلید واژه‌ها: پنیرک، عصاره هیدروآتانولی، التیام زخم تمام‌ضخامت، موش صحرائی.

مقدمه

آسیب، واکنش بازسازی بافت طی سه مرحله التهابی، تکثیر، بازسازی و بلوغ، شروع و به پایان می‌رسد. مرحله التهابی با انتشار سلول‌های ایمنی از جمله

روند بهبود زخم یک پاسخ فیزیولوژیک بافت پوست آسیب دیده و سایر بافت‌های نرم می‌باشد. پس از وقوع

با توجه به اثرات مفید متعدد گیاه پنیرک، در مطالعه حاضر تاثیر عصاره هیدروآتانولی برگ گیاه پنیرک، بر ترمیم زخم تجربی تمام ضخامت پوست در موش صحرایی مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

روش عصاره‌گیری و آماده سازی پماد

برگ‌های گیاه پنیرک از مزارع اطراف شهر همدان (عرض جغرافیایی: ۳۴ درجه و ۵۲ دقیقه، طول جغرافیایی: ۴۸ درجه و ۳۲ دقیقه) جمع‌آوری گردید. پس از شستشو، برای مدت ۱۰ روز در اتاق (سایه) نگهداری شد تا خشک شوند و پس از خرد کردن، ۱۵۰ گرم از آن توسط ترکیب آب و اتانول ۹۶ 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 در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد خشک گردید (Eseyin, 2007). در پایان، جهت ساخت پمادهای درمانی میزان ۱/۵ و ۳ گرم از عصاره خالص خشک شده پنیرک، به شکل وزنی-وزنی، به ترتیب به دو قوطی حاوی ۹۸/۵ و ۹۷ گرم پماد پایه تجاری (پارافین نرم زرد) اضافه گردید. در قوطی سوم فقط ۱۰۰ گرم پماد پایه تجاری (پارافین نرم زرد)، جهت کاربرد موضعی در موش‌های قرار گرفته در گروه دارونما، اضافه گردید (Farahpour et al., 2015).

حیوانات مورد مطالعه

در این تحقیق از ۵۴ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار بالغ با محدوده وزنی ۱۰±۱۹۵ گرم، تهیه شده از دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه، استفاده شد.

نوتروفیل‌ها و ماکروفاژها مشخص می‌شود. مرحله تکثیر توسط رگ‌زایی، رسوب کلاژن، تشکیل بافت پوششی و انقباض زخم و مرحله بلوغ با تموج رشته‌های کلاژن و افزایش قدرت مکانیکی بافت مشخص می‌شود. اگرچه روند التیام به‌طور طبیعی در زخم‌ها شروع شده و تداوم می‌یابد ولی نتیجه همواره مطلوب نمی‌باشد (Farahpour et al., 2015). امروزه جهت افزایش سرعت و کیفیت روند ترمیم، از داروهای صناعتی شبیه نیتروفورازون، جتتامایسین، موپیروسین و دیگر موارد استفاده می‌گردد که داروهای اخیر دارای عوارض جانبی می‌باشند. از این رو، در سال‌های اخیر استفاده از داروهای با منشأ طبیعی رو به افزایش است.

گیاه پنیرک (*Malva sylvestris*)، گیاهی از راسته پنیرک‌سانان است. این گیاه خزنده و پایا می‌باشد که به حالت خودرو در جنگل‌ها و اراضی غیرمزروع می‌روید (Zargari, 1992; Lim, 2014). از تمام قسمت‌های این گیاه به عنوان مواد دارویی استفاده می‌شود. مهم‌ترین ماده مؤثر گل‌های پنیرک را موسیلاژ، فلاونوئید، تانن، ترکیبات فنلی و آنتوسیانین‌ها (مالوین، دلفینیدین، مالویدین) تشکیل می‌دهد (Gasparetto et al., 2012; Razavi et al., 2011; Dehkordi, 2003). در طب سنتی از عصاره گیاه مذکور جهت درمان سرماخوردگی، سرفه، زخم معده و زخم‌های جلدی استفاده می‌گردد (Gasparetto et al., 2012; Esteves et al., 2009; Deh00kordi, 2003). همچنین کاربرد موضعی عصاره دی‌اتیل اتری گل‌های گیاه مذکور موجب افزایش سرعت و کیفیت بافت ترمیمی زخم‌های پوستی در موش‌های دیابتی می‌شود (Pirbalouti et al., 2010; Ozkan et al., 2005; Pirbalouti et al., 2009).

وارد آمدن هر گونه 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 ۴، ۸، ۱۲ و ۱۶ بعد از ایجاد، توسط کاغذ شفاف اندازه‌گیری شدند (Farahpour et al., 2015). به منظور 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.

آسیب شناختی بافتی

در روزهای چهارم، هشتم و شانزدهم بعد از ایجاد زخم، پس از القاء بیهوشی عمومی یک تکه تمام ضخامت از بافت جلدی شامل ۲ میلی‌متر از حاشیه پوست سالم به همراه بخشی از بافت جوانه‌ای، جدا گشته و بلافاصله در داخل ظرف حاوی فرمالین بافر ۱۰ درصد قرار داده شد. پس از تثبیت و قالب‌گیری نمونه‌های بافتی در پارافین (بلوک‌زنی)، توسط میکروتوم مقطعی به ضخامت ۵ میکرون تهیه و به روش‌های تری کروم ماسون و فلورسنت برای کلاژن رنگ‌آمیزی گردید (Farahpour et al., 2015). بر اساس جدول ۱ پارامترهای آسیب شناختی نشان‌دهنده پیشرفت ترمیم زخم بر اساس امتیازدهی گزارش گردید (Ozay et al., 2010).

موش‌ها 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 (55 mg/kg; Woerden, Holland) به صورت داخل صفاقی انجام گردید. سپس موش‌ها به صورت شکمی روی میز جراحی قرار داده شده و سطح پشتی موش‌ها از ناحیه کتف تا ایلئوم اسکراب و آماده‌سازی جراحی 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 et al., 2015). پس از ایجاد زخم، تمامی موش‌ها به طور تصادفی به ۳ گروه ۱۸ تایی (دارونما و دو نوع پماد درمانی) تقسیم شده و سپس موش‌های هر یک از گروه‌ها، خود به ۳ زیر گروه ۶ تایی (گروه‌های نمونه‌برداری در روزهای ۴، ۸ و ۱۶) تقسیم شدند. در پایان روزهای مذکور به منظور بررسی آسیب‌شناختی بافتی، نمونه بافتی جهت انجام آزمایشات مربوطه اخذ شد. برای اطمینان از برداشت کامل بافت از پانچ ۸ میلی‌متری استفاده گردید. برای جلوگیری از

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

درجه بندی	سلول‌های التهابی	نوزایش عروقی	فیبروبلاست	تشکیل بافت پوششی
-	عدم حضور	عدم حضور	عدم حضور	ضخیم شدن لبه‌های برش
+	خفیف (اطراف بافت)	خفیف (بافت زیرجلد)	خفیف (اطراف بافت)	مهاجرت سلول‌های پوششی کمتر از ۵۰٪
++	خفیف (بافت جوانه‌ای)	خفیف (بافت جوانه‌ای)	خفیف (بافت جوانه‌ای)	مهاجرت سلول‌های پوششی بیشتر از ۵۰٪
+++	متوسط (بافت جوانه‌ای)	متوسط (بافت جوانه‌ای)	متوسط (بافت جوانه‌ای)	پل زدن ناحیه برش
++++	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 تحلیل واریانس یک طرفه (ANOVA)، مورد واکاوی آماری قرار گرفتند. تفاوت در سطح $p < 0.05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد. یافته‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار (mean \pm Standard Diviation) نشان داده شدند.

درصد گیاه پنیرک برابر $1/99 \pm 0/79$ میلی‌متر مربع و در گروه درمانی با پماد ۳ درصد گیاه پنیرک $0/89 \pm 0/39$ میلی‌متر مربع بود. نکته قبل توجه اینکه، از روز هشتم به بعد، بین دو گروه درمانی نیز اختلاف معنی‌دار ($p < 0.05$) وجود داشت. تغییرات اندازه مساحت زخم در پیشرفت روند بهبودی در جدول ۲ نشان داده شده است.

کاربرد موضعی عصاره هیدروآتانولی برگ گیاه پنیرک، از روز هشتم بعد از ایجاد زخم موجب کاهش معنی‌دار

یافته‌ها

ارزیابی اندازه زخم

جدول ۲- اثر پمادهای درمانی بر میزان متوسط \pm انحراف معیار اندازه مساحت زخم (میلی‌متر مربع) در روزهای مختلف دوره آزمایش

روز	روزهای اندازه‌گیری			گروه‌های مورد آزمایش
	روز ۴	روز ۸	روز ۱۲	
دارونما	$37/77 \pm 2/49^a$	$19/04 \pm 1/81^a$	$9/09 \pm 0/91^a$	
پماد ۱/۵٪	$31/88 \pm 2/44^b$	$15/04 \pm 1/45^b$	$5/01 \pm 1/99^b$	
پماد ۳٪	$27/01 \pm 2/12^b$	$11/66 \pm 1/11^b$	$2/99 \pm 0/21^b$	

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

درمانی، از میزان بالاتری برخوردار بود. این میزان در تمامی گروه‌ها در روزهای نمونه‌برداری بعدی (هشتم و شانزدهم) کاهش یافته بود. در گروه درمانی توسط پماد با دوز درمانی بالاتر، در روز چهارم پس از ایجاد زخم،

ارزیابی آسیب‌شناختی در نمونه‌های اخذ شده در روز چهارم پس از جراحی، میزان ارتشاح سلول‌های آماسی (نوتروفیل‌ها) در نمونه‌های گروه دارونما، در مقایسه با هر دو گروه

میزان پایینی را از لحاظ نفوذ فیروبلاست‌ها و محتوای کلاژن نشان می‌دادند، اما در روزهای نمونه‌برداری هشتم و شانزدهم افزایش چشمگیری در نمونه‌های گروه درمانی، به‌خصوص در گروه درمانی با دوز بالاتر دیده شد درحالی‌که، نفوذ فیروبلاست‌ها و محتوای کلاژن در نمونه‌های گروه دارونما در روزهای نمونه‌برداری هشتم و شانزدهم، میزان بسیار کمتری را نشان می‌داد (جدول ۳ و شکل ۱).

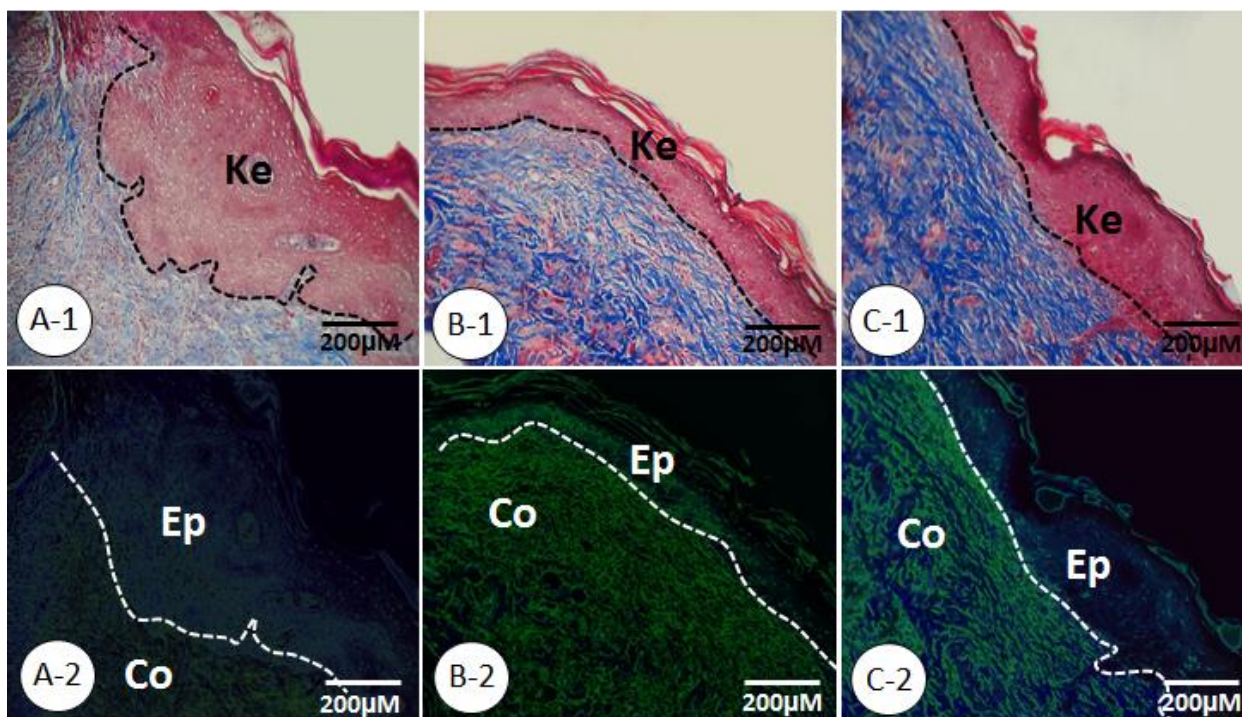
در بررسی روز چهارم، هیچگونه بازسازی بافت پوششی در گروه‌های مورد آزمایش دیده نشد. اما در روز هشتم بازسازی بافت پوششی آغاز شده بود و در گروه‌های درمانی، به‌خصوص گروه درمانی با دوز بالاتر، بازسازی بیشتری مشاهده گردید. در روز شانزدهم در گروه درمانی با دوز بالاتر، برخلاف دو گروه دیگر، پاپیلای پوستی نیز شده تشکیل شده بود (جدول ۳ و شکل ۱).

میزان ارتشاح سلول‌های آماسی در حد متوسطی بوده و در روزهای نمونه برداری بعدی (هشتم و شانزدهم) روند کاهشی قابل ملاحظه‌ای پیدا کرده بود (جدول ۳). در بررسی میزان نوزایش عروقی، در تمامی گروه‌ها تا روز هشتم یک روند افزایش وجود داشت، به‌طوری‌که در روزهای چهارم و هشتم نمونه‌برداری افزایش قابل توجهی در میزان نوزایش عروقی نمونه‌های گروه درمانی به‌خصوص در گروه درمانی با دوز بالاتر مشاهده شد. درحالی‌که، میزان نوزایش عروقی در نمونه‌های گروه دارونما در روز چهارم بسیار کم بود. در روز نمونه‌برداری شانزدهم، میزان نوزایش عروقی به دلیل ساخت و رسوب کلاژن در تمامی گروه‌های مورد آزمایش کاهش یافته بود. در گروه درمانی توسط پماد با دوز درمانی بالاتر، در روزهای نمونه‌برداری شانزدهم پس از ایجاد زخم، میزان نوزایش عروقی روند کاهشی قابل ملاحظه‌تری را نشان می‌داد (جدول ۳).

در بررسی میزان نفوذ فیروبلاست‌ها و محتوای کلاژن در محل زخم، در روز چهارم درمانی تمامی گروه‌ها

جدول ۳- نتایج حاصل از بررسی آسیب شناختی بافتی در گروه‌های مورد آزمایش

روزهای نمونه برداری	گروه‌های مورد آزمایش	سلول‌های ایمنی	نوزایش عروقی	فیروپلازی	محتوای کلاژنی	تشکیل بافت پوششی
	دارونما	++++	+	+	+	-
روز چهارم	پماد درمانی ۱/۵٪	+++	++	++	++	-
	پماد درمانی ۳٪	++	+++	++	++	-
	دارونما	++	+++	++	++	+
روز هشتم	پماد درمانی ۱/۵٪	+	++++	+++	+++	++
	پماد درمانی ۳٪	+	++++	++++	+++	+++
	دارونما	+	++	+	+++	+++
روز شانزدهم	پماد درمانی ۱/۵٪	-	+	+	+++	++++
	پماد درمانی ۳٪	-	+	+	++++	++++



شکل ۱- نمای ریزبینی از سطح مقطع پوست در روز شانزدهم نمونه برداری. (A) گروه درمان شده با پماد دارونما؛ (B) گروه درمان شده با دوز درمانی ۱/۵ درصد و (C) گروه درمان با دوز درمانی ۳ درصد. در تصاویر ردیف اول اپیتلیوم بالغ به خوبی فشرده شده و کراتین (Ke) قرمز رنگ در سیتوپلاسم سلول های سنگفرشی دیده می شود. تصاویر در ردیف دوم نشان دهنده باندهای کلاژن می باشد که به طور کامل در گروه درمان شده با دوز بالاتر بالغ شده است (A-1, B-1, C-1: رنگ آمیزی تری کروم کروماتون، A-2, B-2, C-2: رنگ آمیزی فلورسنت برای کلاژن، درشتنمایی $\times 400$).

بحث و نتیجه گیری

در بررسی حاضر کاربرد موضعی عصاره هیدروآتانولی برگ گیاه پنیرک، به شکل وابسته به دوز، موجب افزایش میزان انقباض زخم پوست و کاهش مدت زمان روند ترمیم آن در موش صحرائی شد. در این مطالعه میزان نوزایش عروقی، رسوب کلاژن و بازسازی بافت پوششی در حیوانات تحت درمان، به خصوص در دوز درمانی بالاتر، افزایش یافت.

فرآیند ترمیم زخم، با مرحله التهابی آغاز می گردد، که افزایش مدت زمان آن با عوارضی همراه می گردد (Beldon, 2010). از ویژگی های اصلی مرحله التهابی،

تولید و ترشح فاکتورهای التهابی از جمله انواعی از سایتوکین ها، پروستاگلاندین ها و اینترلوکین ها توسط سلول های ایمنی مهاجرت کرده به محل زخم به خصوص نوتروفیل ها می باشد. نوتروفیل ها با ترشح آنزیم های پروتئاز و الاستاز در محل زخم، عوامل عفونت زا را از بین می برند، اما میزان بالای آنزیم های ذکر شده، به دلیل وجود عفونت محل زخم، می تواند باعث تخریب بافتی و طولانی شدن مدت زمان مرحله التهابی گردد (McDaniel et al., 2011).

بررسی های فیتوشیمیایی نشان داده اند که عصاره هیدروآتانولی برگ گیاه پنیرک حاوی مقادیر متنابهی از

نوزایش عروقی در بافت جوانه‌ای می‌تواند بیانگر افزایش میزان سرعت ترمیم زخم باشد. در بررسی حاضر، تشکیل عروق خونی در هر دو گروه درمانی، به‌خصوص دوز درمانی بالاتر، افزایش قابل توجهی در روز هشتم نمونه‌برداری، نشان داد.

از سوی دیگر، فیروبلاست‌ها مسئول ساخت و ترشح کلاژن، الاستین و پروتئوگلیکان‌ها می‌باشند. کلاژن پروتئین عمده ماتریکس خارج سلولی است که منجر به افزایش قدرت کشیده شدن لبه‌های زخم به طرف یکدیگر می‌گردد (Beldon, 2010). از این‌رو، ارزیابی میزان رسوب کلاژن در بافت جوانه‌ای می‌تواند بیانگر افزایش میزان سرعت ترمیم زخم باشد. از سوی دیگر، اکسیژن مولکولی نقش اصلی را در پاتورنز و درمان زخم‌های مزمن ایفا می‌کند. تولید بیش از حد گونه‌های اکسیژن فعال منجر به استرس اکسیداتیو و در نتیجه سمیت سلولی و تأخیر در روند بهبود زخم می‌گردد. بنابراین، حذف گونه‌های اکسیژن فعال توسط ترکیبات آنتی‌اکسیدان از جمله فلاونوئیدها، می‌تواند یک راهکار مهم در بهبود زخم‌های مزمن باشد (Dissemond *et al.*, 2002; Shetty *et al.*, 2008). در بررسی حاضر مشخص گردید که حضور فیروبلاست‌ها و میزان کلاژن ساخته شده در زخم‌های تحت درمان توسط پماد حاوی عصاره هیدروآتانولی پنی‌رک، به‌خصوص در دوز بالاتر، به شکل قابل ملاحظه‌ای افزایش پیدا کرده است. این امر را می‌توان به وجود ترکیبات فلاونوئیدی و اثرات آنتی‌اکسیدانی آنها در عصاره هیدروآتانولی پنی‌رک نسبت داد (Prudente *et al.*, 2013; Pirbalouti and Koochpyeh 2010; Sleiman and Daher 2009; Somashekar *et al.*, 2008).

ترکیبات پلی‌ساکاریدی، آنتوسیانین، فلاونوئید و تانن می‌باشد. نشان داده شده است که عصاره اتانولی برگ گیاه پنی‌رک به‌دلیل دارا بودن ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی دارای اثرات ضدباکتریایی است (Mihaylova *et al.*, 2015; Gasparetto *et al.*, 2012;) (Razavi *et al.*, 2011; Sleiman and Daher 2009). همچنین تحقیقات دیگری نشان داده است که عصاره هیدروآتانولی برگ گیاه پنی‌رک به دلیل دارا بودن ترکیباتی همچون اسکوپولتین (Scopoletin)، کوئرستین (Quercetin)، ۳-مالویدین (3-malvidin) و ۵-گلوکوزید (5-glucoiside) در کاربرد موضعی موجب کاهش زمان مرحله التهابی و مهاجرت سلول‌های ایمنی می‌گردد (Prudente *et al.*, 2013; Sleiman and Daher 2009).

در مطالعه اخیر مشخص گردید که از حضور سلول‌های ایمنی (نوتروفیل‌ها) در زخم‌های گروه‌های درمان شده توسط پماد حاوی عصاره هیدروآتانولی پنی‌رک، به شکل قابل ملاحظه‌ای کاسته شده است. این امر را می‌توان به وجود ترکیبات ضدباکتریایی عصاره مذکور (Mihaylova *et al.*, 2015; Sleiman and Daher 2009) و همچنین اثرات ضد التهابی (Prudente *et al.*, 2013; Sleiman and Daher 2009) آن نسبت داد.

همزمان با کاهش میزان عفونت، تعداد سلول‌های ایمنی و التهاب محل زخم، مرحله دوم روند ترمیم با نوزایش عروقی، مهاجرت فیروبلاست‌ها و فیروسیته‌ها به محل زخم آغاز می‌گردد. نوزایش عروقی فرآیندی است که جهت تکثیر سلولی و بهبود زخم مورد نیاز است (Folkman, 1995). از این‌رو، ارزیابی میزان

می تواند یک گزینه مناسب برای درمان زخم های پوستی تمام ضخامت غیرعفونی باشد. در آینده مطالعات بیشتری جهت مقایسه اثرات ماده یا مواد موثره موثره جدا شده از عصاره گیاه پنیرک با عصاره خام به منظور درک کامل مکانیسم اثر برگ گیاه پنیرک بر روند التیام زخم مورد نیاز است.

سپاسگزاری

نگارندگان مقاله بدین وسیله از زحمات همکار ارجمند آقای دکتر کیوان رزاقی (جهت آماده نمودن عصاره گیاه) و آزمایشگاه آینده که همکاری های لازم را با اینجانب مبذول فرموده اند، تقدیر و تشکر می نمایند.

با افزایش محتوای کلاژن بافت جوانه ای و همچنین رشد سلول های بافت پوششی از سمت لبه های زخم به طرف مرکز آن، روند التیام وارد مرحله سوم (بلوغ) و نهایی می گردد. در مطالعه ما کاربرد موضعی عصاره هیدروآتانولی پنیرک، به خصوص در دوز درمانی بالاتر، موجب افزایش قابل ملاحظه محتوای کلاژن و تموج کلاژن، بازسازی بافت پوششی و انقباض زخم گردید.

نتایج این مطالعه نشان داد که کاربرد موضعی عصاره هیدروآتانولی برگ گیاه پنیرک، به خصوص در دوز درمانی بالاتر، موجب بروز اثرات مثبت در افزایش سرعت روند التیام زخم های تمام ضخامت پوستی با کاهش میزان التهاب، اندازه زخم و همچنین افزایش نوزایش عروقی و فیبروپلازی می گردد. با توجه به نتایج به دست آمده، عصاره هیدروآتانولی برگ گیاه پنیرک

منابع

- Beldon, P. (2010). Basic science of wound healing. Surgery (Oxford), 28: 409.
- Dehkordi, N. (2003). Iranian herbal pharmacopoeia. Tehran: Ministry of Health, 206-11.
- Dissemond, J., Goos, M. and Wagner, S.N. (2002). The role of oxidative stress in the pathogenesis and therapy of chronic wounds. Hautarzt, 53: 718-23.
- Esteves, P.F., Sato, A., Esquibel, M.A., Campos-Buzzi, F.D., Meira, A.V. and Cechinel-Filho, V. (2009). Antinociceptive activity of Malva sylvestris L. Latin American Journal of Pharmacy, 28(3): 454-6.
- Eseyin, O.A., Ebong, P., Ekpo, A., Igboaso, 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., Mirzakhani, N., Doostmohammadi, J. and Ebrahimzadeh, M. (2015). Hydroethanolic Pistacia atlantica hulls extract improved wound healing process; evidence for mast cells infiltration, angiogenesis and RNA stability. International Journal of Surgery, 17: 88-98.
- Folkman, J. (1995). Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other disease. Natural Medicine, 1(1): 27-31
- Gasparetto, J.C., Martins, C.A.F., Hayashi, S.S., Otuky, M.F. and Pontarolo, R. (2012). Ethnobotanical and Scientific aspects of Malva Sylvestris L: a millennial herbal medicine. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 64(2): 172-189.
- Lim, T. K. (2014). Malva sylvestris. In Edible Medicinal and Non Medicinal Plants. pp: 395-404.

- McDaniel, J.C., Massey, K. Nicolaou, A. (2011). Fish oil supplementation alters levels of lipid mediators of inflammation in microenvironment of acute human wounds. *Wound Repair Regeneration*, 19(2): 189-200.
- Mihaylova, D., Popova, A., Denkova, R., Alexieva, I., Krastanov, A. (2015). in vitro antioxidant and antimicrobial activity of extracts of Bulgarian Malva sylvestris. *First National Conference of Biotechnology, Sofi*, 100(4): 41-48.
- Ozay, Y., Ozyurt, S., Guzel, S., Cimbiz, A., Olgun, E.G. and Cayci, M. (2010). Effects of Equisetum arvense Ointment on Dermal Wound Healing in Rats. *Wounds*, 22(10): 261
- Ozkan, A.M. and Kutselm, O. (2005). Anti-ulcerogenic activity of some plants used in folk medicine of pinnarbasi. *Journal of Ethnopharmacology*, 101: 313-318.
- Pirbalouti, A.G., Yousefi, M., Heshmetollah, N., Karimi, I. and Koohpayeh, A. (2009). Evaluation of burn healing properties of Arnebia euchroma and Malva sylvestris. *Electronic Journal of Biology*, 5: 62-66.
- Pirbalouti, A.G. and Koohpyeh, A. (2010). Wound healing activity of extracts of Malva sylvestris and Stachys lavandulifolia. *International Journal of Biology*, 3(1): 174.
- Prudente, A.S., Loddi, A.M., Duarte, M.R., Santos, A.R., Pochapski, M.T., Pizzolatti, M.G., *et al.* (2013). Pre-clinical anti-inflammatory aspects of a cuisine and medicinal millennial herb: Malva sylvestris L. *Food and Chemical Toxicology*, 58: 324-331.
- Razavi, S.M., Zarrini, G., Molavi, G. and Ghasemi, G. (2011). Bioactivity of Malva sylvestris L., a medicinal plant from Iran. *Iranian journal of basic medical sciences*, 14(6): 574.
- Sleiman, N.H. and Daher, C.F. (2009). Malva sylvestris water extract: a potential anti-inflammatory and anti-ulcerogenic remedy. *Planta Medica*, 75(09), PH10.
- 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.
- Zargari, A. (1992). *Medicinal Plants*. 5th ed., Iran: Tehran, University Publication, pp:346-352

Effect of *Malva sylvestris* hydroethanolic leaf extract on the healing of full-thickness, excisional skin wounds in the rat

Farahpour, M.R.^{1*}, Sedaghat, S.²

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

2- Graduate of Veterinary Medicine, Department of Clinical Sciences, Urmia Branch, Islamic Azad University, Urmia, Iran.

*Corresponding author's email: mrf78s@gmail.com

(Received: 2015/5/22 Accepted: 2015/9/21)

Abstract

The healing of full-thickness wounds has always attracted attention due to disruption of the healing process that leads to prolonged recovery period. Therefore, the quest for finding clinically effective wound-healing agents is important in the medical management of full-thickness wounds. The present study was conducted to investigate the effects of *Malva sylvestris* hydroethanolic leaf extract on wound healing process in 54 male rats. Two standardized circular surgical full-thickness excisional wounds with a diameter of 7mm were created in the dorsal skin of rats in all three groups. The rats in the two treatment groups were treated with ointments containing 1.5% and 3% of the extract mixed with yellow soft paraffin, whereas the rats in the control group were only treated with yellow soft paraffin. Treatments were applied immediately after wounding and also for 16 consecutive days post-wounding. Wound-healing was assessed microscopically in terms of the initiation of neo-dermal tissue deposition and wound closure over a 16-day period. Significant increase in wound contraction rate was seen in the treatment groups, especially the 3% group, compared to the control group ($P < 0.05$). Moreover, the inflammatory cell score showed a decrease, whereas new vessel formation, fibroblast distribution, collagen production and epidermis thickness increased in *Malva sylvestris* hydroethanolic leaf extract-treated animals. These results suggest that the topical application of *Malva sylvestris* hydroethanolic leaf extract has beneficial effects on full-thickness excisional wound healing.

Key words: *Malva sylvestris*, Hydroethanolic extract, Excisional wound healing, Rat.