

بررسی بافتی اثربخشی پماد موضعی فنی توئین سدیم ۱٪ بر زخم پوستی موش صحرایی نر

سیمین ریاحی M.Sc.*، محمود مفید M.Sc.**، حسین ایمانی Ph.D.***، علیرضا عسگری Ph.D.*، حسن قشونی M.Sc.*

محمدرضا حبیبی M.D.***، علی خوش باطن Ph.D.*

* گروه فیزیولوژی و مرکز تحقیقات آسیبهای شیمیایی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی بقیهاله (عج)

** گروه علوم تشریح دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی بقیهاله (عج)

*** گروه جنین شناسی پژوهشکده رویان

**** مرکز پزشکی قانونی تهران

تاریخ وصول: آبان ماه ۸۴، تاریخ پذیرش: دی ماه ۸۴

چکیده

هدف: ارزیابی تأثیرات بافتی پماد فنی توئین سدیم ۱ درصد و وازلین بر ترمیم زخم باز پوستی موش در فازهای التهاب، تزیاید و تجدید ساختار **مواد و روشها:** در این تحقیق که به روش تجربی است زخمی دایره‌ای به قطر حدود ۲ cm در پوست ناحیه پشت گردن ۶۰ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد Wistar به وزن 25 ± 22.5 گرم تحت بیهوشی ایجاد شد. از روز صفر (روز جراحی) یک روز در میان سطح زخم در گروه تجربی با پماد فنی توئین سدیم ۱ درصد و گروه کنترل منفی با وازلین پوشیده شد و در مورد گروه کنترل درمانی صورت نپذیرفت. از نمونه‌های بافتی در روزهای سوم، هفتم، چهاردهم و بیست و هشتم مقاطع پنج میکرونی به شکل سریال تهیه و با استفاده از روشهای رنگ آمیزی هماتوکسیلین - آئوزین، ون گیسن و محلول آبی تولوئیدین بلو ۱ درصد رنگ آمیزی و مطالعه شد و سلولهای فیبروبلاست، ماست سل، عروق خونی شمارش، عمق بافت گرانوله اندازه گیری و میزان سلولهای التهابی و شدت رنگ پذیری رشته‌های کلاژن دسته بندی شدند. داده‌ها با روش آزمون آنوای (Anova) یک طرفه و دوطرفه تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: نتایج حاصل از شمارش سلولهای فیبروبلاست در روزهای سوم، هفتم و چهاردهم در گروههای تجربی و کنترل نشان از افزایش معنی دار میزان این سلولها در گروه تجربی فنی توئین است ($P < 0.05$). تعداد ماست سلها در گروه فنی توئین کاهش یافته است و در روز هفتم بین گروه کنترل و فنی توئین نیز دارای اختلاف معنی دار بود ($P < 0.05$). میزان عروق خونی در روزهای سوم، هفتم و چهاردهم در گروه فنی توئین نسبت به گروه کنترل و وازلین افزایش یافته است و اندازه گیری عمق بافت گرانوله در روز هفتم در گروه فنی توئین نسبت به گروههای کنترل افزایش داشت. در روزهای هفتم و چهاردهم در گروه فنی توئین نسبت به گروههای کنترل کاهش یافته بود. همچنین مطالعات بیانگر شروع زودتر ستر رشته‌های کلاژن در گروه فنی توئین نسبت به دو گروه دیگر بود.

نتیجه گیری: به نظر می‌رسد که مصرف موضعی پماد فنی توئین سدیم ۱ درصد احتمالاً ضمن کاهش التهاب و افزایش روند آنژیوژنز سبب افزایش فیبروبلاست، ستر کلاژن، گرانولاسیون بافت بستر زخم و کاهش سلولهای ماست سل می‌شود.

کلیدواژه‌ها: فنی توئین سدیم، بهبود زخم، ماست سل، وازلین، موش صحرایی.

آدرس مکاتبه: تهران، دانشگاه علوم پزشکی بقیهاله (عج)، گروه علوم تشریح

E-mail: eimanih@yahoo.com

صندوق پستی ۱۹۹۴۵-۵۶

مقدمه

انسان از زمان پا به عرصه گذاشتن حیات در معرض سوانح طبیعی و جنگهای منجر به جراحات و ابتلا به زخم بوده است. بنابراین مراقبت از زخم و نحوه ترمیم آن ذهن آدمی را به خود جلب کرده است تا از عوارضی همچون عفونت، محدودیت حرکتی، کوتاهی بافت اسکارهای محدود کننده، مشکلات زیبایی و عوارض ناخواسته ناشی از آن جلوگیری کند. با شناسایی مراحل اختصاصی التیام زخم و مکانیسمهای موثر بر روند التیام می توان به ترمیم و معالجه زخم کمک نمود. روشهای درمان زخم در طی زمان دستخوش تغییرات زیادی شده است. استفاده از صمغ درختان و پوشش رزین از حدود چهار هزار سال پیش [۱ و ۲] تا به کارگیری عصاره چای و تتور توسط چینیه انجام شده است. در قرن ۱۳ مراقبت از زخم به خشک نگهداشتن آن سوق پیدا کرد و از سال ۱۹۶۰، وینتر (Winter) مراقبت از زخم را به صورت مرطوب نگاه داشتن آن پیشنهاد کرد.

امروزه از محلولهای ضد عفونی کننده مانند بتادین، اسیداستیک و سرم فیزیولوژیک استفاده می شود [۳]. روند التیام زخم براساس منطقه ای از زخم که توسط بافت گرانوله ترمیم شده و میزان گسترش و تجدید اپیدرم و بافت همبند، آنژیوژنز، پدیدار شدن کلاژن و پروتئوگلیکانها سنجیده می شود [۴]. محققین ترمیم زخم را به سه فاز التهاب، تزاید و تجدید ساختار تقسیم می کنند. در فاز التهاب طی چهار ساعت اول نوتروفیلها به حداکثر می رسند و پس از سه روز کاهش می یابند. نوتروفیلها به همراه لنفوسیتها که توسط ایمنوگلوبولینها حمایت می شوند، از عفونت جلوگیری می کنند. طی ۴۸-۲۴ ساعت بعدی ماکروفاژها به حداکثر رسیده و در روز پنجم اکثریت سلولهای زخم را تشکیل می دهند. در فرآیند کموتاکسی در تکثیر فیبروبلاستها، سنتز و تجزیه کلاژن نقش دارند. در فاز تزاید با گذشت چند روز فیبروبلاستها وارد ناحیه می شوند، ماکروفاژها با آزادسازی موادی موجب جذب و تکثیر فیبروبلاستها می شوند. آنها به تدریج جایگزین اغلب لکوسیتها شده و با ترشح گلیکوز

آمینوگلیکانها و کلاژن، تکثیر کلاژن هم افزایش می یابد.

تشکیل عروق جدید همزمان با فاز فیبروبلاستی است زیرا در صورت اختلال مهاجرت فیبروبلاستها متوقف می شود. در فاز تجدید ساختار سه هفته پس از آسیب شروع شده و کلاژن نوع III به I تبدیل شده و گلیکوزآمینوگلیکانها تجزیه شده تا به غلظت پوست طبیعی برسند [۵ و ۶].

ماست سلها در تمام مراحل ترمیم زخم نقش دارند و روی نفوذپذیری عروق، آنژیوژنز و تشکیل کلاژن موثر هستند. در زخم پوستی طی دو روز اول ترمیم بدون تغییراند و بعد از آن بین روزهای چهارم تا دهم افزایش می یابند و سپس به طور آهسته کاهش یافته و در روز ۲۱ به حد پایه می رسند [۷]. این سلولها تکثیر و مهاجرت فیبروبلاستها را تنظیم می نمایند [۸]. اثر عوامل مختلفی همچون هیالورونیک اسید [۹]، نیتریک اکساید [۱۰]، دزاکسی ریبونوکلوئیداز [۱۱]، استروئیدهای ضد التهابی [۱۲]، کلسیم [۱۳]، نیروی مکانیکی [۱۴] و مس و روی بر ترمیم زخم پوستی گزارش شده است [۹].

داروی فنی توئین، دیلانتین یا دی فیتیل هیدانتوئین سدیم داروی ضد تشنجی غیر آرامبخش است. آثار این دارو باعث تغییرات فیزیولوژیک همانند تغییرات هدایت سدیم، پتاسیم و نوروترانسمیترهای نوراپی نفرین و استیل کولین می شود و اثر تحریک کننده بر روی مخچه داشته و باعث کاهش حملات تشنجی می شود [۱۵].

مشاهده مکرر هیپرپلازی لته که ناشی از تجویز فنی توئین، این موضوع را مطرح کرد که فنی توئین می تواند سبب رشد بافت همبندی شده و قدرت تسریع ترمیم زخم را داشته باشد. موثر بودن مصرف موضعی فنی توئین در آزمایشها پلاسبو کنترل از نظر بعضی محققین تایید نشد. بعضی از منابع نیز مصرف موضعی فنی توئین سدیم را تایید نکردند [۱۶]. ولی محققان دیگر آثار موثر فنی توئین در ترمیم زخم را به علت تحریک پرولیفراسیون فیبروبلاستها، کاهش فعالیت کلاژناز، مهار تولید گلوکوکورتیکوئیدها، افزایش بافت گرانولی و نئوواسکولاریزاسیون می دانستند. این محققین معتقدند که

سربسته بیهوش و پس از مشاهده علائم بیهوشی موی پوست ناحیه پشت گردن و قسمت فوقانی خلفی توراکس تراشیده و با بتادین (شرکت تولید دارو، ایران) ضدعفونی شدند. سپس پوست این ناحیه توسط قیچی جراحی استریل شده به شکل دایره به قطر حدود ۲ سانتی متر به طور کامل برداشته شد. روی زخم با گاز استریل تا توقف خونریزی پوشانده می شد. از روز صفر (روز جراحی) تا زمان معین یک روز درمیان سطح زخم یک گروه به عنوان کنترل منفی، پماد وازلین (شرکت شیمی دارو، ایران) و گروه تجربی با پماد فنی توئین سدیم ۱ درصد (شرکت داروپخش، ایران) پوشیده شدند. در مورد گروه کنترل درمانی صورت نگرفت.

برای انجام مطالعات بافتی در روزهای سوم، هفتم، چهاردهم و بیست و هشتم نمونه برداری بافتی صورت گرفت. در هر فاز پنج سر موش از هر گروه به صورت تصادفی انتخاب شد. پس از کشتن حیوانات با کلروفورم، ناحیه زخم و پوست سالم مجاور آن از فاسیای عمقی زیرین جدا شد. نمونه ها بدون شستشو پس از ثبوت در محلول فرمال سالین ۱۰ درصد و طی مراحل آماده سازی بافت در پارافین قالب گیری شدند. سپس از مقاطع توسط میکروتوم Letiz برشهایی به ضخامت پنج میکرون به صورت سریال تهیه شد. با استفاده از روشهای رنگ آمیزی هماتوکسیلین-آئوزین، ون گیسن و محلول آبی تولوئیدین بلو ۱ درصد رنگ آمیزی شدند. به منظور شمارش سلولی از قطعه چشمی (HWF- IOX.Holland Eye Piece) استفاده شد.

مطالعات کیفی بافتی در روزهای سوم، هفتم، چهاردهم و بیست و هشتم انجام پذیرفت. سلولهای التهابی از نظر وجود سلولهای آماسی حاد و مزمن به مقیاسهای شدید، متوسط، ضعیف و خیلی ضعیف دسته بندی شدند. از نظر رنگ پذیری رشته های کلاژن در رنگ آمیزی ون گیسن (زرد تا قرمز) و نیز شدت رنگ به چهار مرحله دسته بندی شد. مطالعات مورفومتری کمی شامل محاسبه تراکم عددی عروق خونی، تعداد سلولهای فیبروبلاست، ماست سلها و همچنین عمق بافت گرانولاسیون بود.

فنی توئین متابولیسم بافت پیوندی را تنظیم کرده و پرولیفراسیون سلولی را در کشت فیبروبلاستها سبب شده و همچنین موجب افزایش فاکتورهای رشد مشتق از پلاکت می گردد [۱۷].

در مطالعه ای روی ۳۰ بیمار که با فنی توئین تحت درمان قرار گرفتند در دو گروه کنترل و تجربی کاهش در عمق و سطح زخم در پایان سه هفته طول درمان مشاهده شد [۱۸] در یک مطالعه آثار ترمیم زخم با مصرف فنی توئین موضعی و گروه پماد آنتی بیوتیک Triple مقایسه شد. در تمام زخمها پیشرفت ترمیم مشاهده شد اما گروه فنی توئین سریعتر بهبود یافت. بافت گرانوله در مدت دو تا هفت روز ظاهر شد در صورتی که در گروه کنترل این مدت ۶ الی ۲۱ روز به طول انجامید [۱۹]. در عراق گزارش شد که مصرف موضعی فنی توئین در درمان اولسر خارجی (decubitus) در جراحات جنگی موثر بوده است و سبب رهایی سریع از درد، کم شدن ترشحات زخم و کاهش آلودگی میکروبی شده است [۲۰]. مصرف پودر فنی توئین باعث افزایش رگزایی، رشد فولیکولهای مو و قدرت تحمل کشش بافت شده است [۲۱]. محققین آثار متفاوتی از روند ترمیم زخم به صورت پودر، ژل، کرم و پماد فنی توئین با درصدهای متفاوت گزارش نموده اند [۲۲]. بنابراین در این تحقیق روند تغییرات هیستولوژیک پماد فنی توئین سدیم ۱ درصد را بر مراحل روند التیام زخم باز پوستی و تاثیر آن بر سرعت فاکتورهای التیام زخم در مقایسه با گروه کنترل وازلین (کنترل منفی) بررسی شد.

مواد و روشها

در این تحقیق از ۶۰ سر موش صحرایی نر نژاد Wistar با وزن 25 ± 25 گرم تهیه شده از انستیتو پاستور ایران استفاده شد. حیوانات در قفسهای استاندارد با شرایط روز و شب طبیعی و در دمای 20 ± 27 سانتی گراد نگهداری می شدند.

روش ایجاد زخم

ابتدا حیوانات با استفاده از محلول اتر (مرک آلمان) در محفظه

زخم زرد رنگ متمایل به صورتی است. ماست سلها در عمق بافت و مجاور سلولهای چربی بیشتر دیده می شوند که نسبت به گروه کنترل کمتر به نظر می آیند.

مشاهدات میکروسکوپی روز هفتم

گروه کنترل: بافت گرانولاسیون دارای سلولهای التهابی و فیبروبلاست وسیع است در رنگ آمیزی ون گیسن بستر زخم به رنگ صورتی کمرنگ است و ماست سلها بیشتر در نواحی عمقی دیده می شوند.

گروه تجربی وازلین: عروق خونی در بافت گرانوله از گروه کنترل کمتر ولی به نظر سلولهای التهابی و فیبروبلاست با گروه کنترل تفاوتی را نشان نمی دهند. در ناحیه زخم بافت رانوله به رنگ صورتی دیده می شود که شدت رنگ نسبت به گروه کنترل کمتر است. ماست سلها به وفور در ناحیه زخم وجود دارند که تراکم این سلولها نسبت به گروه کنترل بیشتر به نظر می آید.

گروه تجربی فنی توئین سدیم: سلولهای التهابی بستر بافت زخم در مقایسه با گروه کنترل کمتر به نظر می آیند و سلولهای فیبروبلاست آن بیشتر از گروه کنترل به نظر می رسند. در رنگ آمیزی ون گیسن توده های صورتی پررنگ دیده می شود. شدت رنگ بیشتر از گروه کنترل است. تعداد ماست سلها کمتر از گروه کنترل و بیشتر در اطراف عروق خونی دیده می شوند.

مشاهدات میکروسکوپی روز چهاردهم

گروه کنترل: اپتیلیزاسیون هنوز کامل نشده است. در زیر بافت گرانوله، بافت اسکار در حال تشکیل است. در رنگ آمیزی ون گیسن ناحیه زخم به رنگ صورتی است. در رنگ آمیزی تولوئیدین بلو ماست سلها به تعداد کمتر از روز هفتم در نواحی بافت ترمیمی مشاهده می شود (شکل ۱).

گروه تجربی وازلین: روند اپتیلیزاسیون کامل نیست. سلولهای التهابی و فیبروبلاستها در بافت زخم در حدود گروه کنترل به نظر می رسد. شدت رنگ صورتی در بستر زخم با گروه کنترل تقریباً یکسان است. ماست سلها نسبت به گروه کنترل بیشتر و در اطراف عروق خونی پراکنده اند (شکل ۲).

برای اندازه گیری تراکم عددی عروق خونی، سلولهای فیبروبلاست و ماست سلها ده ناحیه از زخم هر نمونه در روزهای سوم، هفتم و چهاردهم انجام شد. به روشی که سه ناحیه از سمت راست و سه ناحیه از سمت چپ و چهار ناحیه از بستر زخم به طور تصادفی انتخاب شدند. عمق بافت گرانولاسیون در روز هفتم با بزرگنمایی ۴۰ برابر در سه ناحیه یکی در خط وسط (عمق زخم) و دو تا در طرفین ناحیه، با فاصله مساوی از عمق زخم با استفاده از نرم افزار Motic Image 2000 1.2 micro-optic industrial group co LTD اندازه گیری شد و میانگین آن برحسب میکرومتر محاسبه شد. پس از ثبت نتایج با استفاده از نرم افزار SPSS کلیه داده ها با آزمونهای ANOVA یک طرفه و دوطرفه تجزیه و تحلیل آماری شدند. در تمام آزمونها $P < 0.05$ به عنوان سطح معنی داری در نظر گرفته شد.

یافته ها

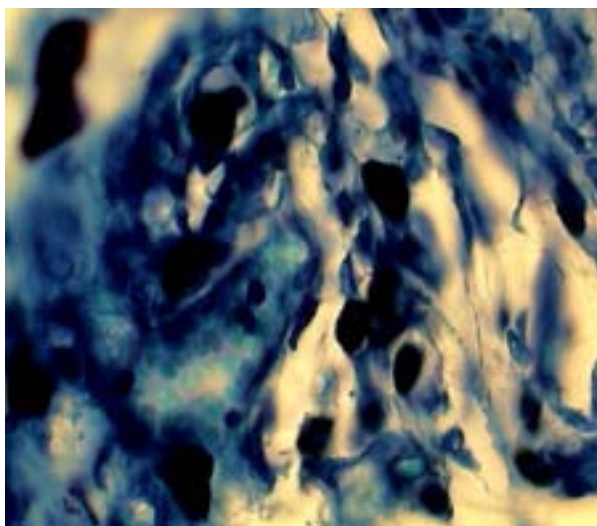
مشاهدات میکروسکوپی روز سوم

گروه کنترل: در بستر زخم بافت گرانوله در دو طرف زخم در حال تشکیل است و در ناحیه زخم رگهای قطور و پر خون دیده می شود. سلولهای التهابی به صورت شدید در زخم دیده می شود. در رنگ آمیزی ون گیسن ناحیه زخم به رنگ زرد کمرنگ دیده می شود. در رنگ آمیزی تولوئیدین بلو در عمق زخم اطراف سلولهای چربی و عروق ماست سلها به صورت پراکنده یا توده ای دیده می شوند.

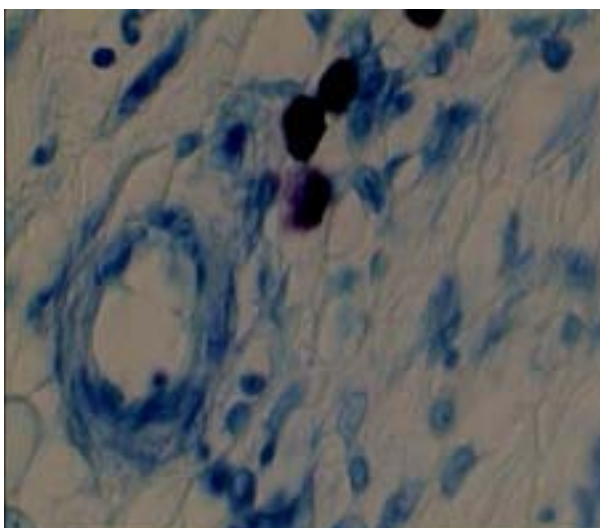
گروه تجربی وازلین: بافت گرانوله در دو طرف زخم در حال شکل گیری است. سلولهای التهابی در حد گروه کنترل دیده می شود. در رنگ آمیزی ون گیسن بافت گرانوله به رنگ زرد به نظر می رسد. در رنگ آمیزی تولوئیدین بلو تعداد ماست سلها در ناحیه هایپودرم، اطراف سلولهای چربی و عروق خونی به نظر می رسد که میزان آن از گروه کنترل بیشتر است.

گروه تجربی فنی توئین سدیم: ارتشاح سلولهای خونی و بافت گرانوله در طرفین زخم دیده می شود. سلولهای التهابی به نظر در حد گروه کنترل و فیبروبلاستها بیشتر از گروه کنترل دیده می شود. در رنگ آمیزی ون گیسن بافت گرانوله در بستر

گرانوله‌ای که به اسکار تبدیل نشده است در مقایسه با گروه کنترل بیشتر به نظر می‌آید. شدت رنگ صورتی در ناحیه اسکار با گروه کنترل تفاوتی نشان نمی‌دهد. در ناحیه اسکار و بافت ترمیمی زیر آن ماست‌سل‌های بیشتری نسبت به گروه کنترل دیده می‌شوند.

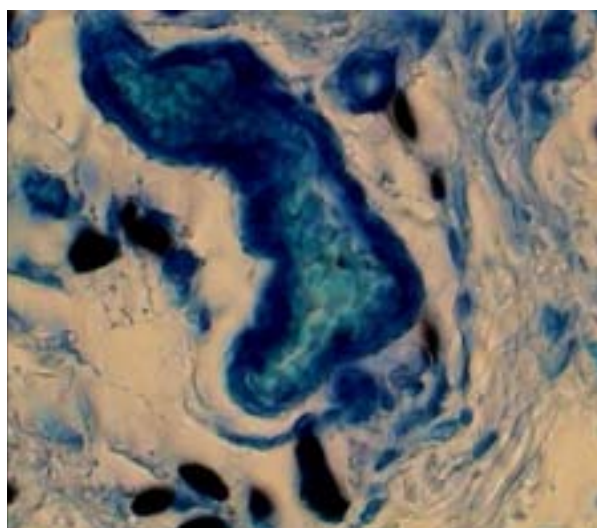


شکل ۲. گروه وازلین، روز چهاردهم ماست‌سل‌ها در این روز به میزان زیاد دیده می‌شود. ماست سل: M، ورید: V. رنگ‌آمیزی: تولوئیدین بلو، بزرگمایی: $\times 1000$



شکل ۳. گروه فنی توئین سدیم - روز چهاردهم - ماست‌سل‌ها در میان سلول‌های فیبروبلاست به میزان کم دیده می‌شوند. ماست سل: M، سلول چربی: L. رنگ‌آمیزی: تولوئیدین بلو، بزرگمایی: $\times 1000$

گروه تجربی فنی توئین سدیم: پدیده اپتیلیزاسیون نسبت به گروه‌های دیگر بیشتر است. در ناحیه زخم فیبروبلاست‌ها بیشتر از گروه کنترل و سلول‌های التهابی کمتر از گروه کنترل به نظر می‌رسند. ضخامت بافت گرانوله که به اسکار تبدیل نشده در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافته است. رنگ قرمز در ناحیه زخم نسبت به گروه کنترل پررنگ‌تر است. تعداد ماست‌سل‌ها نسبت به گروه کنترل کمتر به نظر می‌آید (شکل ۳).



شکل ۱. گروه کنترل، روز چهاردهم. ماست‌سل‌ها در بستر زخم به میزان متوسط دیده می‌شوند. ماست سل: M، ورید: V. رنگ‌آمیزی: تولوئیدین بلو، بزرگمایی: $\times 1000$

مشاهدات میکروسکوپی روز بیست و هشتم

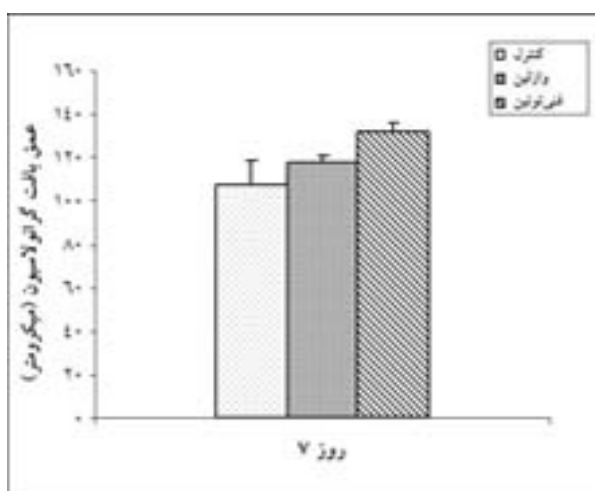
گروه کنترل: بیشتر ضخامت بافت ترمیمی را اسکار فراگرفته است. ضخامت اپیدرم درحد پوست طبیعی شده است. رشته‌های کلاژن به طرز موازی با بافت اپیدرم قرار گرفته‌اند. سلول‌های التهابی به تعداد خیلی کم دیده می‌شوند. بافت گرانوله به صورت یک لایه نازک مجاور اپیدرم مشاهده می‌شود. ناحیه اسکار صورتی پررنگ است. در رنگ‌آمیزی تولوئیدین بلو در نواحی ترمیمی ماست سل زیاد و در ناحیه اسکار به تعداد کمتر دیده می‌شود.

گروه تجربی وازلین: ضخامت اسکار، بافت ترمیمی و اپیدرم در این گروه مشابه گروه کنترل به نظر می‌رسد. میزان بافت

گروه تجربی فنی توئین سدیم

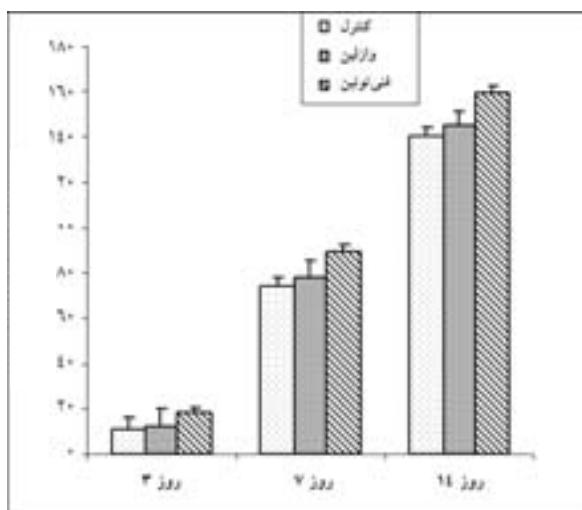
لایه اپیتلیال کامل و شاخی شده است. رشته‌های کلاژن منظم و موازی با اپیتلیال است. عمق ناحیه اسکار همانند گروه کنترل است و بافت گرانوله دیده نمی‌شود. در تمام نمونه‌ها بافت گرانوله به اسکار تبدیل شده است. در رنگ‌آمیزی ون‌گیسن شدت رنگ صورتی رشته‌های کلاژن همانند گروه کنترل به نظر می‌آید. ماست‌سلها در ناحیه اسکار و بافت ترمیمی کمتر از گروه کنترل مشاهده شد.

شمارش عروق خونی در روز سوم نشان می‌دهد که میزان عروق گروه فنی توئین در مقایسه با گروه کنترل بیشتر و این میزان در گروه وازلین کمتر بوده است. اما بین گروهها تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. بررسی روز هفتم نشان داد که بین گروههای کنترل با فنی توئین از نظر تراکم عروقی اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. ولی بین گروه کنترل و وازلین این کاهش معنی‌دار بود ($P < 0.05$). بین گروه فنی توئین با گروه وازلین نیز تفاوت معنی‌دار نبود. در روز چهاردهم، نتایج نشان می‌دهد که تراکم عددی عروقی در گروه فنی توئین بیشتر از گروههای دیگر است ولی تفاوت معنی‌داری بین گروههای کنترل، وازلین و فنی توئین مشاهده نشد (نمودار ۱).



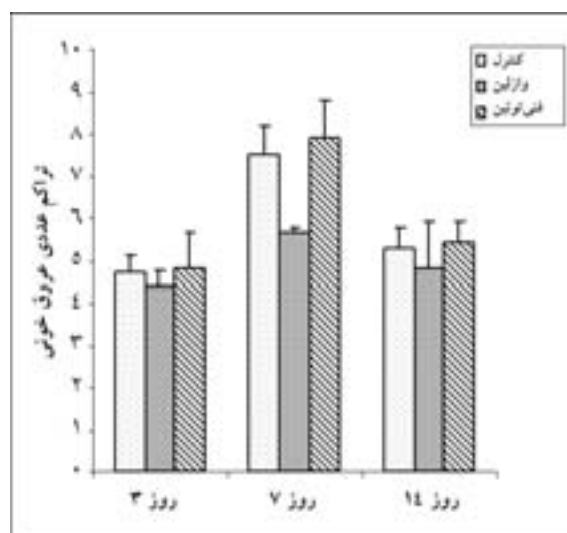
نمودار ۲. مقایسه میزان عمق بافت گرانولاسیون در روز هفتم. بین گروههای تجربی و کنترل تفاوت معنی‌دار وجود ندارد.

در اندازه‌گیری عمق بافت گرانوله در روز هفتم با مقایسه گروه کنترل، وازلین و فنی توئین مشاهده شد که میزان این بافت در گروه فنی توئین بیش از گروههای دیگر افزایش یافته است ولی این افزایش معنی‌دار نبود (نمودار ۲). سلولهای فیبروبلاست در روزهای سوم، هفتم و چهاردهم در گروه فنی توئین بیشتر از گروههای کنترل و وازلین است که این افزایش نسبت به گروه کنترل معنی‌دار بود (نمودار ۳).



نمودار ۳. مقایسه تعداد سلولهای فیبروبلاست در روزهای سوم، هفتم و چهاردهم. بین گروههای کنترل و فنی توئین سدیم در هر سه روز تفاوت معنی‌دار است ($P < 0.05$).

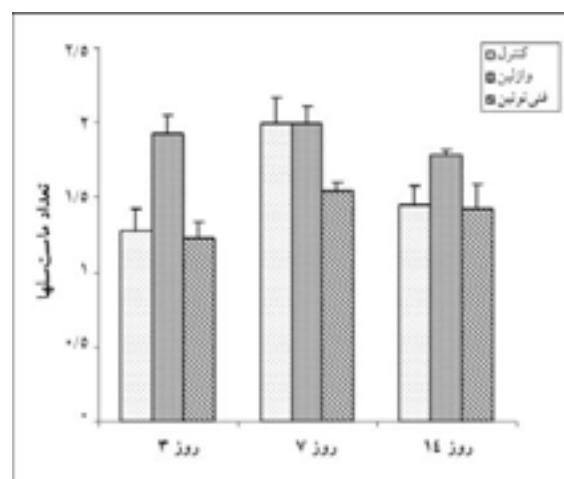
تعداد ماست‌سلها در روز سوم نشان داد که بیشترین تعداد این سلولها در گروه وازلین و کمترین آن در گروه فنی توئین است.



نمودار ۱. مقایسه تراکم عددی عروق خونی در روزهای سوم، هفتم و چهاردهم در گروه کنترل، وازلین و فنی توئین سدیم. بین گروه کنترل و وازلین در روز هفتم تفاوت معنی‌دار است ($P < 0.05$).

استفاده از پودر فنی توئین گزارش شده است [۲۱]. یا اینکه افزایش روند آنژیوژنز با استفاده از پودر افزایش یافته است [۲۳]. استفاده از پودر فنی توئین روند تشکیل بافت گرانوله را تسریع ولی تغییر معنی داری در روند آنژیوژنز نداشته است [۲۴]. بنابراین در تحقیق حاضر تأثیر پماد فنی توئین سدیم در تسریع روند فرآیندهای هیستولوژیک زخم بررسی شد. نتایج به دست آمده نشان می دهد که سلولهای التهابی در روز سوم بین گروههای تجربی و کنترل تفاوتی را نشان نمی دهد ولی میزان این سلولها در روزهای هفتم و چهاردهم در گروه فنی توئین نسبت به گروه کنترل کاهش یافته است. این نتایج با تحقیقات محققینی که گزارش نمودند فنی توئین در زخمهای باز پوستی موجب کاهش سلولهای پلی مورفونوکلئو اینفیلتراسیون ائوزینوفیل می شود همخوانی دارد [۲۵]. ولی با نتایج محققینی که مصرف فنی توئین را موجب ازدیاد مدت زمان واکنشهای التهابی دانسته اند، تطابق ندارد [۲۱]. زیرا در این تحقیق احتمالاً مصرف دارویی فنی توئین به صورت پودر نتوانسته است روند التهاب را کاهش دهد. سلولهای فیبروبلاست موثرترین سلول در پدیده ترمیم زخم هستند. این سلولها با ساخت ماتریکس و فیبرهای کلاژن در روند تشکیل بافت سالم دخالت می نمایند [۶]. سیمسون (Simpson) و همکاران گزارش کردند که مصرف فنی توئین فعالیت فیبروبلاستی را افزایش داده و سبب تجمع کلاژن می شود [۲۶]. تحقیقات نشان داده است که آثار فنی توئین روی فیبروبلاستهای پوست انسان در غلظت زیاد و دوره درمان کوتاه باعث افزایش تکثیر فیبروبلاستها و در غلظت کم و دوره درمان طولانی موجب کاهش تکثیر فیبروبلاستها می شود [۲۷]. گزارش دیگر در محیط کشت نشان داد که فنی توئین نمی تواند روی تکثیر فیبروبلاست پوست درم و کراتینوسیت اپیدرم انسانی اثر تحریکی داشته باشد [۲۸]. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تعداد سلولهای فیبروبلاست در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافته است. در مطالعه روز سوم در گروه فنی توئین در مقایسه با گروههای کنترل و وازلین بستر بافت زخم متمایل به صورتی که نشاندهنده این

در مقایسه بین گروههای کنترل و فنی توئین این اختلاف معنی دار نبوده است ولی در مقایسه بین گروههای کنترل و وازلین ($P < 0.05$) و همچنین گروه وازلین و فنی توئین این اختلاف معنی دار بود ($P < 0.05$). در روز هفتم در گروه وازلین تعداد این سلولها بیشتر و در گروه فنی توئین کمتر شده است. بین گروههای کنترل و فنی توئین اختلاف معنی دار بوده است ($P < 0.05$). در روز چهاردهم میزان ماست سلها در گروه وازلین افزایش بیشتری یافته است. در مقایسه بین گروههای کنترل و وازلین و همچنین گروههای فنی توئین و وازلین این اختلاف معنی دار بود ($P < 0.05$) (نمودار ۴).



نمودار ۴. مقایسه تعداد ماست سلها در روزهای سوم، هفتم و چهاردهم. در روز سوم بین گروههای فنی توئین سدیم و وازلین ($P < 0.01$)، کنترل و وازلین ($P < 0.05$) اختلاف معنی دار است. در روز هفتم بین گروههای تجربی و کنترل ($P < 0.05$)، تجربی و وازلین ($P < 0.05$) اختلاف معنی دار است. در روز چهاردهم بین گروههای کنترل منفی و فنی توئین سدیم ($P < 0.05$)، کنترل و وازلین ($P < 0.05$) اختلاف معنی دار است.

بحث

از آنجایی که طی تحقیقات گذشته تأثیر فنی توئین به صورت پودر، ژل، کرم و پماد بر فرایندهای روند ترمیم زخم (سلولهای التهابی، پرولیفراسیون فیبروبلاستها، آنژیوژنز، اپتیلیزاسیون و تشکیل بافت گرانوله) به صورت جداگانه بررسی شده است و نتایج متفاوتی در تسریع روند بهبودی زخم گزارش شده است. برای مثال افزایش زمان التهاب هنگام

است که سنتز کلاژن در گروه فنی توئین سریعتر شروع شده است. این یافته با افزایش سلولهای فیبروبلاست همخوانی دارد. این نتایج نشان می‌دهد که فاز پرولیفراتیو که سلول اصلی آن فیبروبلاست است در گروه فنی توئین سریعتر آغاز شده است. در روزهای هفتم و چهاردهم نیز میزان کلاژن و فیبروبلاستها در گروه فنی توئین نسبت به گروه کنترل بیشتر شده است. به نظر می‌رسد که فنی توئین از طریق تسریع تکثیر فیبروبلاستها احتمالاً باعث کاهش فعالیت کلاژناز از طریق محور مرکزی آدرنال-هیپوفیز یا آنتاگونیست گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئیدها شده است. این نتایج با تحقیقات محققین دیگر همخوانی دارد [۲۹].

پدیده آنژیوژنز عامل مهمی در تغذیه و بهبود زخم به‌شمار می‌رود. این پدیده مقارن با تشکیل بافت گرانوله در مرحله تجدید ساختار به وقوع می‌پیوندد. بدون این مرحله تهاجم ماکروفاژها و فیبروبلاستها به درون زخم به واسطه عدم وجود اکسیژن با شکست مواجه می‌شود. در صورتی که زمینه لازم برای تشکیل بافت گرانوله ایجاد نشود اپتیلیزاسیون بستر زخم نیز میسر نخواهد شد. در موش صحرایی میزان آنژیوژنز در بافت گرانوله در حدود روز هفتم به بالاترین میزان خود می‌رسد و بعد از آن به تدریج عروق مسدود می‌شود [۲۱]. اگر ساخت عروق دچار اختلال شود مهاجرت فیبروبلاستها نیز دچار توقف می‌شود [۶].

با مقایسه تراکم عددی عروق خونی در گروههای کنترل و تجربی مشاهده شد که روند آنژیوژنز تا روز هفتم سیر صعودی دارد که با فاز تکثیری منطبق بوده و سپس به تدریج سیر نزولی پیدا می‌کند که با فاز تجدید ساختار که طی آن عروق خونی کاهش می‌یابند همخوانی دارد (نمودار ۱). در مطالعه روزهای سوم، هفتم، چهاردهم بین گروههای کنترل، وازلین و تجربی میزان عروق خونی در گروه فنی توئین بیشتر از گروههای کنترل بوده است ولی این تفاوت معنی‌دار نبوده است. آثار موضعی فنی توئین روی زخم نشان داده است که فنی توئین باعث افزایش آنژیوژنز در این گروه شده است [۲۸]. فاکتور رشد اندوتلیال رگ یک واسطه قوی رگزایی در

ترمیم زخم است و این فاکتور بهترین عامل آنژیوژنز طی فاز تکثیر بوده و کراتینوسیت‌های لبه زخم منبع اصلی آن بوده است [۳۰]. فاکتور رشد فیبروبلاستی نیز میزان رگزایی را با تحریک سلول اندوتلیال و ترشح پروتئین‌ها تنظیم می‌نماید. [۳۱]. نتایج تحقیقات نشان داده است که فاکتور رشد اندوتلیال رگ و فاکتور رشد فیبروبلاستی در گروههایی که با فنی توئین معالجه شده‌اند افزایش یافته و باعث افزایش میزان فیبروبلاستها و آنژیوژنز شده است [۳۲]. مطالعات هیستولوژیک در روزهای سوم و ششم روند التیام زخم در گروههای تجربی فنی توئین در مقایسه با گروه کنترل نشان داده که فنی توئین موجب افزایش پدیده آنژیوژنز در این روزها شده است [۳۳]. براساس نتایج تحقیق حاضر علت معنی‌دار نبودن این پدیده شاید درصد میزان فنی توئین سدیم مصرفی بوده است که گزارشها نشان داده است که مصرف فنی توئین سدیم (۲درصد تا ۴درصد) نتایج مناسبتری داشته است [۳۴].

رابینو (Rabio) تأثیر پودر فنی توئین را بر زخم مثبت ارزیابی نموده و آن را عاملی در جهت تسریع تشکیل بافت گرانوله دانسته است [۲۴]. ال-زایات (El.Zayat) معتقد بود که مصرف فنی توئین باعث افزایش ضخامت بافت گرانوله می‌شود [۲۸]. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که اندازه بافت گرانوله در روز هفتم در در گروه فنی توئین بیشتر از گروههای کنترل و وازلین است. به نظر می‌رسد فنی توئین روند تشکیل بافت گرانوله را افزایش می‌دهد که بافت سریعتر به فاز تکثیری سوق پیدا کند این نتایج با نتایج محققین دیگر همخوانی دارد [۲۴].

ماست سلها به علت واسطه‌های شیمیایی موجود در سیتوپلاسم آنها در پاسخهای التهابی شرکت می‌کنند. هیستامین موجب گشادگی عروق و افزایش نفوذپذیری آن می‌شود. این سلولها در شکل‌گیری کلاژن و پرولیفراسیون سلولی موثراند. مهاجرت فیبروبلاستها را تنظیم و سه بعدی شدن رشته‌های کلاژن را تشدید می‌نمایند [۸]. در تحقیقات شواهدی نشان داده شده است که بین ماست سلها و میزان آنژیوژنز ارتباط

فنی توئین معنی دار است ($P < 0.05$). در روزهای هفتم و چهاردهم نیز کمترین میزان ماست سلها در گروه فنی توئین دیده می شود. کاهش تعداد ماست سلها در سه روز مورد بررسی با نتایج تحقیق ریچ (Reich) و همکاران [۳۹] همخوانی دارد. مشاهده ماست سلها در مجاورت چربی در این تحقیق احتمالاً نظر پوریش (Porish) [۴۰] را در مورد مشارکت احتمالی هپارین ماست سلها در متابولیسم چربی می تواند تأیید می نماید. بنابراین کاهش ماست سلها در فنی توئین احتمالاً می تواند کاهش بافت اسکار در این گروه تجربی را توجیه نماید.

نتایج تجربه حاضر نشان داد که پماد فنی توئین سدیم یک درصد سبب پرولیفراسیون فیبروبلاستها و افزایش سرعت سنتز کلاژن می شود. تأثیر پمادی این دارو احتمالاً موجب کاهش سلولهای التهابی می شود. پدیده آنژیوژنز بر اثر فنی توئین احتمالاً تحریک شده و موجب کاهش ماست سلها و افزایش بافت گرانوله در بستر زخم می شود. احتمالاً در صورتی که غلظت پماد فنی توئین در حدود ۲ درصد یا ۴ درصد باشد، تأثیرات مثبت تری در روند ترمیم التیام زخم مشاهده می شود.

References

1. Jones M, Davey J. Amanda champion. Dressing Wounds. 1999; 11(5): 23-9.
2. Schwartz SI. Principales of surgery, Mc Grow Hill. 1994, pp280-8.
3. Bergman A. Acceleration of wound healing by topical application of honey. Am J Surg, 1983; 145: 374-6.
4. Subrahmanyam M. Topical application of honey in treatment of burns. Br J surg 1996 ; 22(6) : 497-8.
5. Song HF, Chai JK, Lin ZH, Liu NF, Chen ML, Zho YZ. The process of wound healing in different skin tissue and its significance. Zhonghua Yi Xue-Za Zhi. 2003; 83(12): 1070-4.
6. Wayne K, Stadelman MD, Alexander G. Physiology and healing dynamics of chronic

وجود دارد [۳۵]. کوهن (Cohen) گزارش نمود که هیستامین بافت کلونیداز بافت اسکار طبیعی بیشتر است [۳۶]. تحقیقات نشان داده است که در هیپرپلازی لثه تحت اثر فنی توئین گرانولهای فاگوسیت شده ماست سلها در فیبروبلاستها مشاهده شده است. این مطالعه براساس این فرضیه استوار بوده است که بین فیبروبلاستها و ماست سلهای تحت اثر فنی توئین در فیروز لثه ارتباطی وجود دارد [۳۷].

گزارشهای دیگر اثر نقش ماست سلها را به طور غیرمستقیم در افزایش اندروژنها در فیروز لثه تحت تأثیر فنی توئین بیان نموده اند [۳۸]. در بافت زخم، ماست سلها در ناحیه عمقی در کنار عروق خونی و سلولهای چربی دیده می شوند. طی دو روز اول ترمیم بدون تغییر می ماند و بین روزهای چهارم تا دهم افزایش یافته و سپس به طور آهسته کاهش می یابند. در روز بیست و یک به میزان روز صفر تا چهار می رسند [۷]. محققین عنوان نمودند که ماست سلها در فیروز نقش دارند و تعداد آنها در اسکار هایپرتروفیک افزایش می یابد [۸].

نتایج تحقیق حاضر نشان می دهد که بیشترین تعداد ماست سل روز سوم در گروه وازلین و کمترین آن در گروه فنی توئین بوده است و این کاهش بین گروه وازلین و

cutaneous wounds. Am J Surg 1998; 176: 26-38.

7. Liveriamussell RD, Silvia E De Sa, Motecosta A, Mussel RL, De Sa Silva E, Costa AM, Mandarim De-Lacerda CA. Mast cells in tissue response to dentistry material : an adhesive resin, a calcium hydroxide and a glass inorganic cement. J Cell Mol Mod 2003; 7(2): 171-8.
8. Puxeddu F, Schaffer L. Mast cells and tissue remodeling. Rev Fr Allergol Immunol Clin 2002; 42, 16-8.
9. Milane C, Houle T. Currett rends in wound care management. Orthop Nurs Pitman 2002; 6: 11-9.
10. Lee RH, Efron D, Tan try U, Barbul A. Nitric oxide in the healing wound: a time course study. J Surg Res 2001 ; 101(1) : 104-8.

11. **Chen EA, Zhaol Bamat M, Von Borstel R.** Acceleration of wound healing with topically applied deoxyribonucleosides. *Arch Surg* 1999; 134(5): 520-5.
12. **Steenfos HH, Janson JO.** Growth hormon stimulates granulation tissue formation and insolin like growth factor-1 gene expression in wound chambers in the rat. *J Endocrinol* 1992; 132(2): 293-3.
13. **Lans down AB.** Calcium: A potential central regulator in woud healing in the skin. *Wound Repair Regen* 2002; 10(5): 271-85.
14. **Timmenga EJ, Assentt A, Houthoff HJ.** The effect of mecanical stress on healing skin wound: An experimental study in rabbits using tissue expension. *Br J Plast Surg* 1991; 44(7): 514-9.
۱۵. **گاتزونگ، ب.** فارماکولوژی پایه و بالینی. ترجمه همایون مژده‌ی و همکاران. انتشارات ارجمند، ۱۳۷۷.
16. **Thuy Vo, Pharm D.** Topical phenytoin for wound healing. *Phrmacy News Let* 2001; 21: 5.
17. **Scheinfeld N.** Phenytoin in cutaneous medicin: Its uses, mechnisms and side effects. *Dermatol On line* 2004; 9(3): 6-15.
18. **Menezes J, Rajendran A, Jacob AJW, Vaz M.** The use of topical phenytoin as an adjunct to immobilization in the treatment of trophic leprosy ulcer. *Southeast Asian J Trop Med public Health* 1993; 24(2): 340-2.
19. **Rhodes RS, Heyneman CA, Cullbertson VL, Wilson SE, Phatak HM.** Topical phenytoin treatment of stage II decubitus ulcers in the elderly. *Ann Pharmacother* 2001; 32: 675-81.
20. **Oluwatsin OM, Olaabanji JK, Oluwatsin OA, Tijani LA.** A comparison of topical honey and phenytoin in the treatment of choronic ulcer. *Afr J Med Sci* 2000; 29(1): 31-4.
۲۱. **مهر ورز ش، صهماسبی م، عسگری ع.** تأثیر پودر فنی توئین بر مراحل ترمیم زخم بازپوستی در موش صحرایی بزرگ. *مجله پزشکی کوثر* ۱۳۷۷؛ سال سوم (شماره ۳): ۸۳-۱۷۷.
22. **Madaghegh S, Salehian B, Tavasoli M, Djamshidi A, Rezai AS.** Use of phenytoin in healing of war and non-war wounds. *Int J Dermatol* 1989; 28(5): 347-50.
23. **Pitiakoudis M, Giatromanolaki A, Iliopoulos I, Tsaroucha AK, Simopoulo SC, Piperidou C.** Phenytoin induced lymphocytic chemotaxis angiogenesis and accelerated healing of decubitus ulcer in a patient with stroke. *J Int Med Res* 2004 32(2): 201-5.
24. **Rabio J.** Diphenylhydantion in leprosy, presented to the xII congress of Dermatology, ooza, mexico. 1985, pp 9-12.
25. **Lodha SC, Lohiya ML, Vyas MCR, Sudha bhandari GRR, Harsh MK.** Rol of phenytoin in healing large abscess cavities. *Br J Surg* 1991; 78 : 105-8.
26. **Simpson GM, Kunz E, Slafta J.** Use of sodium diphenyl hydantoin in treatment of leg ulcers. *Nesyork J Med* 1955; 65: 888-9.
27. **Moy LS, Tan EML, Holness R, Uitto J.** Phenytoin modulates connective tissue metabolism and cell proliferation in human skin fibroblast cultures. *Arch Dermatol* 1985; 121: 79-83.
28. **EI-Zayat SG.** Preliminary experience with topical phenytoin in wound healing in a war zon. *Mid-Med* 1989; 154(4). 178-80.
29. **Anstead GM, Hart LM, Sunahara JF, Liter ME.** Phenytoin in wound healing. *Ann Pharmacol* 1996; 30: 763-75.
30. **Frank S, Stallmeyer B, Kampfer H, Kolb N.** Nitric oxide triggers enhanced induction of vascular endothelial growth factor expression in cultured keratiocytes and during cutaneous woud repair. *Faseb J*, 1999; 13(14): 2002-14.
31. **Fu X, Shen Z, Guoz, Zhang M, Sheng Z.**

- Healing of chronic cutaneous wound by topical treatment with basic fibroblast growth factor. *Chin Med J (Engl)* 2002; 115(3): 331-5.
32. **Turan M, Saraydyn SU, Bulut HE, Elagoz S, Cetinkaya O, Karadayi K, Canbay E, Sen M.** Do vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor promote phenytoins wound healing effect in rat? An immunohistochemical and histopathologic study. 2004; *J Dermatol Surg*, 30(10): 1303-9.
33. **Dacosta ML, Regan MC, Alsader M, Leader M, Bouchier Hayes D.** Diphenylhydantion sodium promotes early and marked angiogenesis and results in creased collagen deposition and tensile strength in healing Wounds. *J Surg* 1998; 123(3): 287-93.
34. **Bhatia A, Nandas S, Gupta U, Gupta S, Reddy BS.** Topical phenytion suspension double-blind, comparative study. *J Dermatology Treat* 2004; 15(5): 321-7.
35. Cell signaling Mast and Targat cell interacting play rol in angiogenic cascade. *FASB* 2002; p.11.
36. **Cohen IK, Beaven MA, Horakova Z, Keiser HR.** Histamin and collagen synthesis in keloid and hypertrophic scaring.; *J Burn care Rehabil* 1987; 8: 126-31.
37. **Noyan U, Yilmaz S, Arda O, Kuru B.** The ultrastructural examination. 1994; *J Marmara univ Pent fac*. 2(1): 409-13.
38. **Soory M, Suchak A.** The effects of human mast-cell products and of phenytoin on androgen 5 alpha-reductase expression in human gingival fibroblasts; *Arch Oral Biol* 2001; 46(9): 847-55.
39. **Reich JD, Cazzaniga AL.** The effect of electrical stimulation on the number of mast cell in healing wounds. *J Amacad Dermatol* 1991; 25(1): 40-6.
40. **Porish WE.** Inflammation in rook wilkison ebling. *Text book of dermatology blackwell scientific problication Oxford*. 1992, p.229.