ORIGINAL ARTICLE

Effects of Azulene on Granulation Tissue Formation and Epithelialization during Skin Wound Healing in BALB/c Mice

Mohammad Afshar[1,2],
Mohammad mehdi Hassanzadeh-Taheri[1,3],
Mahmood Zardast[4],
Faezeh Vahdati[1,5]

[1] Professor, Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran
[2] Medical Toxicology Research Center, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran
[3] Birjand Cellular and Molecular Research Center, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran
[4] Associate Professor, Department of Pathology, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran
[5] MSc in Anatomy, Faculty of Medicine, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran

(Received July 30, 2018 ; Accepted September 3, 2018)

Abstract

Background and purpose: Azulene is a non-alternating hydrocarbon with various biological activities including anti-inflammatory activity. This study investigated the effects of azulene on granulation tissue formation and epithelialization in skin wound healing in mice.

Materials and methods: In this experimental study, 60 adult male BALB/c mice were divided into 5 groups (n=12): experimental groups I and II were treated with 1% and 2% azulene, respectively and groups III and IV were treated with nitrofurazone and ucerin cream, respectively. Group V did not receive any treatment. After deep anesthesia, a linear wound (2 cm length) was made on dorsal thoracic skin of the mice. Then, wound samples were taken at days 4, 7, 10, and 14 after treatments and processed for histological and microscopic examinations using Hematoxiline-Eosin (H&E) and Masson Trichrome staining methods. Data analysis was done in SPSS V24 applying One-way ANOVA and Tukey test.

Results: The means of granulation formation, angiogenesis, fibroblast cells, and collagen formation increased significantly in groups I and II at days 7, 10, and 14 compared to those of the negative control and sham groups ($P<0.01$). Also, the rate of epithelialization was higher in these groups compared with that of other groups ($P<0.05$).

Conclusion: In current study, azulene could accelerate skin wound healing in BALB/c mice.

Keywords: azulene, granulation tissue, wound healing, mouse

J Mazandaran Univ Med Sci 2019; 28 (170): 1-10 (Persian).

* **Corresponding Author: Faezeh Vahdati-** Faculty of Medicine, Birjand university of medical sciences, Birjand, Iran
(E-mail: F.vahdati110@gmail.com)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-10-31]

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و هشتم شماره ۱۷۰ اسفند سال ۱۳۹۷ (۱۰-۱)

اثرات آزولن بر تشکیل بافت گرانوله و اپی تلیالیزاسیون در طی التیام زخم پوستی موش های نژاد BALB/c

محمد افشار [۱و۲]
محمد مهدی حسن زاده طاهری [۱و۳]
محمود زردست [۴]
فائزه وحدتی [۱و۵]

چکیده

سابقه و هدف: آزولن یک هیدرو کربن غیر متناوب است و دارای فعالیت‌های بیولوژیکی مختلفی از جمله اثرات ضد التهابی می‌باشد. هدف این مطالعه تأثیر این ماده برروند تشکیل بافت گرانوله واپی‌تلیالیزاسیون در روند ترمیم زخم پوستی موش بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی-آزمایشگاهی، ۶۰ سر موش سوری نر بالغ BALB/c به ۵ گروه تقسیم شدند. گروه‌های تجربی ۱و ۲ تحت درمان با غلظت‌های ۱ و ۲ درصد آزولن و گروه‌های ۳، ۴ و ۵ به ترتیب با نیتروفورازون، پایه کرم اوسرین و بدون هیچ درمان تیمار شدند. پس از ایجاد بیهوشی، یک زخم خطی (۲ سانتی‌متر) در سطح پشتی ناحیه توراسیک بدن موش‌ها ایجاد گردید. در روزهای ۴، ۷، ۱۰ و ۱۴، نمونه‌برداری از محل زخم صورت گرفت و بعد از طی کردن مراحل پاساژ بافتی، جهت بررسی‌های میکروسکوپی و ارزیابی متغیرهای مورد مطالعه از روش‌های رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین و رنگ‌آمیزی تری‌کروم ماسون استفاده شد. داده‌ها با استفاده از آزمون‌های ANOVA و Tukey با نرم‌افزار SPSS (نسخه ۲۴) مورد تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: میانگین وسعت بافت گرانوله، رگ زایی، تعداد سلول‌های فیبروبلاست و کلاژن‌سازی در روزهای ۷، ۱۰ و ۱۴ در گروه های درمان شده با آزولن ۱ و ۲ درصد نسبت به گروه‌های کنترل منفی و شم افزایش معنی‌داری داشت ($p< ۰/۰۱$). همچنین میزان اپی‌تلیالیزاسیون در گروه‌های تحت درمان با آزولن ۱ و ۲ درصد افزایش معنی‌داری نسبت به گروه‌های کنترل و شم نشان دادند ($p< ۰/۰۵$).

استنتاج: آزولن می‌تواند روند ترمیم زخم‌های پوستی را در موش‌های نژاد BALB/c تسریع کند.

واژه های کلیدی: آزولن، بافت گرانوله، التیام زخم، موش

مقدمه

پوست به عنوان بزرگترین عضو بدن ۱۶ درصد از وزن و ۱/۸ مترمربع از سطح آن را تشکیل می‌دهد. پوست وظایف متعددی دارد. پوست، مانند یک سد فیزیکی در برابر محیط اطراف عمل می‌کند، محافظ بدن در برابر

مولف مسئول: فائزه وحدتی- بیرجند: دانشگاه علوم پزشکی بیرجند E-mail: F.vahdati110@gmail.com
۱. استاد، گروه علوم تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران
۲. مرکز تحقیقات سم شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران
۳. مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی بیرجند، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران
۴. دانشیار، گروه آسیب شناسی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران
۵. کارشناسی ارشد آناتومی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران
تاریخ دریافت : ۱۳۹۷/۴/۹ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات :۱۳۹۷/۴/۱۶ تاریخ تصویب : ۱۳۹۷/۶/۱۲

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-10-31]

اشعه ماوراءبنفش است، محافظت در برابر ورود میکروارگانیسم‌ها و عوامل سمی است و همچنین تولید ویتامینD را در بدن به عهده دارد(۲،۱). دو لایه ساختاری پوست شامل، اپی‌درم و درم می‌باشد(۳). ترمیم یا بازسازی زخم یک فرآیند پیچیده است که نتیجه آن بازگشت ساختار آناتومیکی و عملکردی بافت بوده و شامل ۴ مرحله هموستاز، التهاب، تکثیر و بازسازی می‌باشد(۴). گذر از مراحل پیچیده روند ترمیم زخم بسیار حساس و دقیق می‌باشد و عوامل زیادی ممکن است موجب اختلال در مسیر این روند طبیعی گردند. تشکیل بافت گرانوله و وسعت آن یکی از بحرانی‌ترین فرآیندهای ایجاد شده در مسیر ترمیم زخم می‌باشد. تاثیر عوامل مخرب باعث طولانی شدن ترمیم، تشکیل نسج جوشگاهی بد شکل و در مواردی منجر به از کار افتادگی یا حتی مرگ فرد نیز می‌گردد. از طرفی هزینه‌های درمانی زخم‌های مزمن می‌تواند مشکلات جدی در بخش درمان کشورهای مختلف ایجاد کند، برای مثال هزینه سالانه مرتبط با درمان این زخم‌ها در آمریکا در حدود ۱ بیلیون دلار برآورد شده است(۶،۵). در طب سنتی استفاده از روغن‌های حیوانی و گیاهان دارویی برای درمان زخم از سابقه طولانی برخوردار است و امروزه رویکرد استفاده از این گیاهان با توجه به مقرون به صرفه بودن و عوارض جانبی کم‌تر، نسبت به داروهای شیمیایی افزایش پیدا کرده است(۹-۷). گزارشات نشان می‌دهند که بیش از ۴۰۰ گونه گیاهی به صورت بالقوه برای بهبود زخم استفاده می‌شود(۱۰). از جمله یکی از این گیاهان می‌توان بابونه را نام برد که یکی از قدیمی‌ترین گیاهان دارویی در جهان است و در طب سنتی به‌طور گسترده‌ای مورد استفاده قرار می‌گیرد(۱۱). از مهم‌ترین اجزای اصلی اسانس استخراج شده از بابونه آلمانی می‌توان از آلفا ترپنوئید، بیسابلول، آزولن و مشتقات استیلن نام برد(۱۲). آزولن به میزان فراوان در اسانس گیاه بابونه و همین‌طور بومادران یافت می‌شود. این ماده دارای یک هیدروکربن غیر متناوب شامل یک حلقه هفت شاخه و یک حلقه پنج شاخه اشباع است و به دلیل جذب نور بالا به رنگ آبی می‌باشد(۱۳). آزولن مهارکننده مهم فاکتورهای التهابی می‌باشد. از جمله مطالعاتی که در این زمینه انجام شده است بررسی اثر آزولن در مهار پروستاگلاندین E2 می باشد که بر روی سلول‌های RAW26417 حاصل از مایع صفاقی موش‌های نژاد BALB/c انجام شده است. این مطالعه نشان داده است که این ماده اثر مهاری در تولید پروستاگلاندین E2، (یکی از مهم‌ترین میانجی‌های التهابی) دارد(۱۴). همچنین در بررسی انجام گرفته بر روی فیبروبلاست‌های لثه، مشخص گردیده است که آزولن مهارکننده اینترلوکین ۸ (IL-8) می‌باشد که یک سیتوکین مهم التهابی است(۱۵).

در مطالعه دیگری که اثر آزولن بر رشد سلول‌های نرمال و تومورال مورد بررسی قرار گرفت، نتایج نشان داد که آزولن باعث تحریک رشد سلول‌های نرمال شده ولی بر سلول‌های تومورال اثر ندارد. در بررسی‌های انجام شده، با توجه به این‌که در منابع الکترونیکی تاکنون مطالعه‌ای در رابطه با اثرات ترمیمی این ماده بر روی ترمیم زخم وجود نداشته است و محدود مطالعات انجام گرفته در مورد آزولن عمدتا مربوط به اثرات ضد اشعه ماوراء بنفش (Anti UV) و ضد التهابی این ماده می‌باشد، از این رو در مطالعه حاضر به بررسی اثرات این ماده در تشکیل بافت گرانوله و اپی‌تلیالیزاسیون در طی ترمیم زخم‌های ایجاد شده بر روی پوست موش‌های نژاد BALB/c پرداخته شد(۱۷،۱۶).

مواد و روش ها

آماده کردن حیوان

در این مطالعه تجربی- آزمایشگاهی، از ۶۰ سر موش سوری نر بالغ (۲/۵ ماهه) نژاد BALB/c به وزن ۵±۲۵ گرم، تهیه شده از مرکز تحقیقات طب تجربی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، استفاده شد. موش‌ها در قفس‌های انفرادی تمیز نگهداری شدند به طوری که دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند. سیکل روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته، و درجه حرارت محیط ۲۳-۲۲ درجه

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-10-31]

سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۴۰ تا ۵۰ درصد در نظر گرفته شد. موازین اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی بر اساس پروتکل کار با حیوانات آزمایشگاهی مصوبه دانشگاه علوم پزشکی بیرجند با کد تصویب شده ۴۵۵۱۶۰ و کد اخلاق ir.bums.REC.1396.43 اجرا گردید.

روش ایجاد زخم پوستی

حیوانات با استفاده از کتامین ۷۰ mg/kg و زایلازین ۱۳/۴ mg/kg به صورت تزریق درون صفاقی بیهوش شدند و موهای قسمت پشت ناحیه توراسیک حیوان با استفاده از تیغ تراشیده شد. با استفاده از تیغ جراحی و در شرایط استریل زخمی خطی به طول ۲ سانتی‌متر تا لایه هیپودرم در پوست این ناحیه ایجاد گردید. تصویر برداری از موضع زخم با استفاده از دوربین دیجیتال (Mavica FD91,Sony) به منظور مقایسه ماکروسکوپی وسعت ناحیه زخم در روزهای مختلف انجام گرفت. سپس زخم‌های هر گروه به صورت موضعی با استفاده از کرم تهیه شده دو بار در روز با فاصله زمانی ۱۲ ساعت به مدت ۱۴روز متوالی از روز ایجاد زخم (روز صفر) پانسمان شدند. در هر یک از روزهای ۴، ۷، ۱۰ و ۱۴ تعداد ۳ موش از هر گروه انتخاب و از محل زخم نمونه‌برداری انجام شد(۱۸). موش‌ها به صورت تصادفی به ۵ گروه ۱۲تایی تقسیم شدند، دو گروه درمان، گروه اول کرم حاوی آزولن ۱ درصد و گروه دوم کرم حاوی آزولن ۲ درصد را دریافت نمودند. گروه سوم به عنوان کنترل منفی با پایه کرم (اسرین) و گروه چهارم به عنوان کنترل مثبت با نیتروفورازون ۰/۰۲ درصد درمان شدند. گروه پنجم، شم هیچ درمانی دریافت نکردند. تهیه ماده واکنش دهنده برای انجام این مطالعه پودر آزولن (کد: ۸۲۰۱۱۹) از شرکت سیگما خریداری شد و کرم‌ها به صورت روزانه تهیه و در شرایط استریل درون محفظه‌های جداگانه و تاریک نگه‌داری گردید. کرم‌های حاوی آزولن ۱ و ۲ درصد به ترتیب از ۳۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم آزولن به صورت محلول در اسرین تشکیل شدند(۱۹).

بافت شناسی

نمونه‌های برداشته شده از محل زخم در روزهای مختلف مورد مطالعه، با استفاده از فرمالین تثبیت و پس از انجام مراحل پاساژ بافتی شامل، آب‌گیری با استفاده از درجات صعودی الکل، شفاف‌سازی توسط گزیلل و آغشتگی با پارافین و سپس قالب‌گیری شدند. سپس برش‌هایی به ضخامت ۵ میکرومتر به صورت سریال سکشن توسط میکروتوم تهیه گردید. پس از پارافین‌زدایی، رنگ‌آمیزی با هماتوکسیلین و ائوزین به منظور ارزیابی‌های سلولی، رگ‌زایی، اپی‌تلیالیزاسیون و تری‌کروم ماسون به منظور مشخص شدن وسعت ناحیه بافت گرانوله زخم و دانسیته رشته‌های کلاژن انجام شد. تعدادی از برش‌های رنگ‌آمیزی شده با مضربی مشخص، به طوری که تمام زخم را در بر گیرد جهت بررسی انتخاب شدند. از هر لام انتخابی به صورت تصادفی تعدادی عکس توسط میکروسکوپ تحقیقاتی BNM (Euromex-CMEX-10) از ناحیه زخم گرفته شد. نهایتاً شمارش سلول‌ها، تراکم رشته‌های کلاژن، اپی‌تلیالیزاسیون و اندازه‌گیری وسعت بافت گرانوله توسط نرم‌افزار j image انجام گردید(۱۸). تمامی داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از آزمون‌های آماری (ANOVA)، تست تعقیبی Tukey و توسط نرم‌افزار آماری SPSS (نسخه ۲۴) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. معیار معنی‌دار بودن تفاوت آماری ($p<۰/۰۵$) در نظر گرفته شد.

یافته ها

در این مطالعه پارامترهای مختلفی مانند میزان تشکیل بافت گرانوله، تعداد فیبروبلاست‌ها، میزان رگزایی، تراکم رشته‌های کلاژن ساخته شده و هم‌چنین میزان اپی‌تلیالیزاسیون در روزهای مختلف مورد مطالعه مورد بررسی قرار گرفتند که نتایج حاصله به ترتیب در جداول شماره ۱ تا ۵ آورده شده است.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-10-31]

جدول شماره ۱: تأثیراستعمال موضعی پماد آزولن بر روند گرانولیشن در گروه های مورد مطالعه

پارامتر	روز های مورد مطالعه	گروه های مورد مطالعه				
		تجربی ۱ (آزولن ۱ درصد) (انحراف معیار ± میانگین)	تجربی ۲ (آزولن ۲ درصد) (انحراف معیار ± میانگین)	کنترل مثبت (نیتروفروزان) (انحراف معیار ± میانگین)	کنترل منفی (اسرین) (انحراف معیار ± میانگین)	شم (انحراف معیار ± میانگین)
گرانولیشن	۷	*۱۳۱۵/۳±۳۵۴/۵	*۱۴۹۱/۶±۲۵۶/۳	۱۲۲۲±۲۵۵/۲	۱۱۱۸/۲±۳۰۵/۱	۱۱۶۴/۶±۲۵۴/۸
	۱۰	*۱۶۸۳/۳±۳۲۵	*۱۸۱۴/۱±۳۲۸/	*۱۴۴/۳±۲۲۴/۹	۱۳۷۰/۷±۱۸۴/۶	۱۱۵۸/۸±۳۶۷
	۱۴	*۱۴۷۶/۶±۲۴۳/۵	*۱۶۴۳±۱۸۵/۹	*۱۳۴۱±۱۸۶	۱۲۶۶/۵±۱۸۶	۱۰۹۷/۶±۲۲۱/۵

*: نشان دهنده افزایش معنی دار در وسعت بافت گرانوله (mm2) در گروه تیمار نسبت به گروه شم (بدون درمان) می باشد ($p < ۰/۰۵$).

جدول شماره ۲: تأثیراستعمال موضعی پماد آزولن بر تکثیر سلول های فیبروبلاست در گروه های مورد مطالعه

پارامتر	روز	گروه				
		آزولن ۱ درصد (انحراف معیار ± میانگین)	آزولن ۲ درصد (انحراف معیار ± میانگین)	نیتروفروزان (انحراف معیار ± میانگین)	اسرین (انحراف معیار ± میانگین)	شم (انحراف معیار ± میانگین)
سلول های فیبروبلاست	۷	*۱۱/۹۰±۲/۴۲	*۱۲/۳۰±۲/۲۶	*۱۱/۹۰±۱/۹۱	۹/۵۰±۱/۰۸	۸/۲۰±۲/۱۴
	۱۰	*۳۰/۳۰±۵/۷۷	*۳۴/۵۰±۷/۱۳	۲۷/۱۰±۶/۵۹	۱۹/۲۰±۳/۸۸	۱۳/۱۰±۳/۶۶
	۱۴	*۱۸/۶۰±۳/۵۲	*۱۹/۶۰±۳/۵۹	*۱۵/۹۰±۳/۴۷	۱۲/۱۰±۱/۴۴	۱۱/۶۰±۲/۶۳

*: نشان دهنده افزایش معنی دار سلول های فیبروبلاست (تعداد بر µm2) در گروه تیمار نسبت به گروه شم (بدون درمان) می باشد ($p < ۰/۰۵$).

جدول شماره ۳: تأثیراستعمال موضعی پماد آزولن بر میزان رگ زایی در گروه های مورد مطالعه

پارامتر	روز	گروه				
		آزولن ۱ درصد (انحراف معیار ± میانگین)	آزولن ۲ درصد (انحراف معیار ± میانگین)	نیتروفروزان (انحراف معیار ± میانگین)	اسرین (انحراف معیار ± میانگین)	شم (انحراف معیار ± میانگین)
رگزایی	۷	*۱۱/۷±۱/۸۸	*۱۴/۱±۱/۷۹	*۱۱/۳±۲/۵۸	۹/۲±۱/۵۴	۸/۱±۱/۶۶
	۱۰	*۹±۲/۳۵	*۱۰/۴±۱/۷۱	*۸±۲/۴	۵/۹±۲/۰۷	۴/۵±۱/۷۷
	۱۴	*۶/۹±۲/۱۳	*۷/۴±۲/۰۱	*۵/۸±۱/۱۳	۴±۱/۲۴	۳/۳±۱/۶۳

*: نشان دهنده افزایش معنی دار میزان رگ زایی (تعداد بر µm2) در گروه تیمار نسبت به گروه شم (بدون درمان) می باشد ($p < ۰/۰۵$).

جدول شماره ۴: تأثیراستعمال موضعی پماد آزولن بر سنتز رشته های کلاژن در گروه های مورد مطالعه

پارامتر	روز	گروه				
		آزولن ۱ درصد (انحراف معیار ± میانگین)	آزولن ۲ درصد (انحراف معیار ± میانگین)	نیتروفروزان (انحراف معیار ± میانگین)	اسرین (انحراف معیار ± میانگین)	شم (انحراف معیار ± میانگین)
دانسیته رشته های کلاژن	۱۰	*۰/۳۰۸±۰/۰۲۲	*۰/۳۳۰±۰/۰۱۶	۰/۲۹۴±۰/۰۱۴	۰/۲۵۵±۰/۰۱۲	۰/۲۴۴±۰/۰۱۵
	۱۴	*۰/۵۴۳±۰/۰۳۶	*۰/۵۶۶±۰/۰۲۲	*۰/۵۳۸±۰/۰۳۳	۰/۴۹۵±۰/۰۲۹	۰/۴۶۵±۰/۰۲۱

*: نشان دهنده افزایش معنی دار کلاژن سازی در گروه تیمار نسبت به گروه شم (بدون درمان) می باشد ($p < ۰/۰۵$).

جدول شماره ۵: تأثیراستعمال موضعی پماد آزولن بر روند اپی تلیالیزاسیون در گروه های مورد مطالعه

پارامتر	روز	گروه				
		آزولن ۱ درصد (انحراف معیار ± میانگین)	آزولن ۲ درصد (انحراف معیار ± میانگین)	نیتروفروزان (انحراف معیار ± میانگین)	اسرین (انحراف معیار ± میانگین)	شم (انحراف معیار ± میانگین)
اپی تلیالیزاسیون	۱۰	*۱۱۸/۶۹±۲۰/۲۹	*۱۲۴/۹۳±۱۸/۵۵	*۱۰۵/۷۷±۲۲/۹۱	۸۴/۰۸±۲۰/۰۱	۷۸/۲۳±۱۲/۴۱
	۱۴	*۱۴۹/۱۹±۴۷/۴۶	*۱۶۹/۷۳±۲۹/۴۹	*۱۴۷/۸۰±۴۰/۴۵	۹۰/۱۷±۲۰/۰۴	۸۱/۴۹±۲۲/۵۹

*: نشان دهنده افزایش معنی دارمیزان اپی تلیالیزاسیون (µm) در گروه تیمار نسبت به گروه شم (بدون درمان) می باشد ($p < ۰/۰۵$).

بررسی پارامتر ها در روز ۴

در روز چهارم مطالعه بافت گرانوله در هیچ کدام از گروه‌ها تشکیل نشده و سایر پارامترهای مورد نظر نیز قابل بررسی نبودند. پوشش اپی‌تلیال در دو طرف زخم بیش‌تر از اندازه معمول، از یکدیگر فاصله داشتند و سطح زخم پوشیده از فیبرین بود.

بررسی پارامتر ها در روز ۷

میزان بافت گرانوله در گروه‌های تجربی ۱ و ۲ (تحت درمان با کرم حاوی آزولن ۱ درصد و ۲ درصد) نسبت به گروه‌های کنترل منفی($p<۰/۰۵$) و شم ($p<۰/۰۱$)، تعداد فیبروبلاست‌ها به ترتیب در سطح ($p<۰/۰۵$ و $p<۰/۰۰۱$) و میانگین میزان رگزایی در سطح ($p<۰/۰۵$)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-10-31]

افزایش معنی‌داری نشان داد. اختلاف میانگین وسعت بافت گرانوله، تعداد سلول‌های فیبروبلاست و میزان آنژیوژنز در گروه‌های تجربی ۱ و ۲ نسبت به هم و همچنین نسبت به گروه کنترل مثبت (دریافت‌کننده نیتروفورازون) افزایش معنی‌داری نشان ندادند.

بررسی شاخص ها در روز ۱۰

وسعت بافت گرانوله در گروه های تجربی ۱ و ۲ نسبت به هر سه گروه کنترل، منفی، مثبت و شم در سطح ($p<۰/۰۵$) افزایش معنی‌داری نشان داد. بعلاوه تعداد فیبروبلاست‌ها، میانگین میزان رگزایی و دانسیته کل رشته‌های کلاژن نیز در گروه های تجربی ۱ و ۲ نسبت به گروه های کنترل منفی و شم ($p<۰/۰۵$) افزایش معنی‌داری داشتند.

تعداد فیبرو بلاست‌ها و میزان آنژیوژنز در هر دو گروه تجربی نسبت به‌گروه کنترل مثبت افزایش معنی‌داری نشان نداد، در حالی که مقایسه میانگین دانسیته رشته‌های کلاژن در گروه تجربی ۲ نسبت به گروه کنترل مثبت افزایش معنی داری مشاهده شد ($p<۰/۰۵$). اما مقایسه این پارامتر در گروه تجربی ۱ نسبت به کنترل مثبت افزایش معنی‌داری نداشت ($p=۰/۶۲$). در این روز میانگین اپی تلیالیزاسیون در گروه‌های تجربی ۱ و ۲ در مقایسه با گروه‌های کنترل منفی، شم وکنترل مثبت افزایش معنی‌داری نشان داد ($p<۰/۰۵$))(تصویر شماره ۱).

بررسی شاخص ها در روز ۱۴

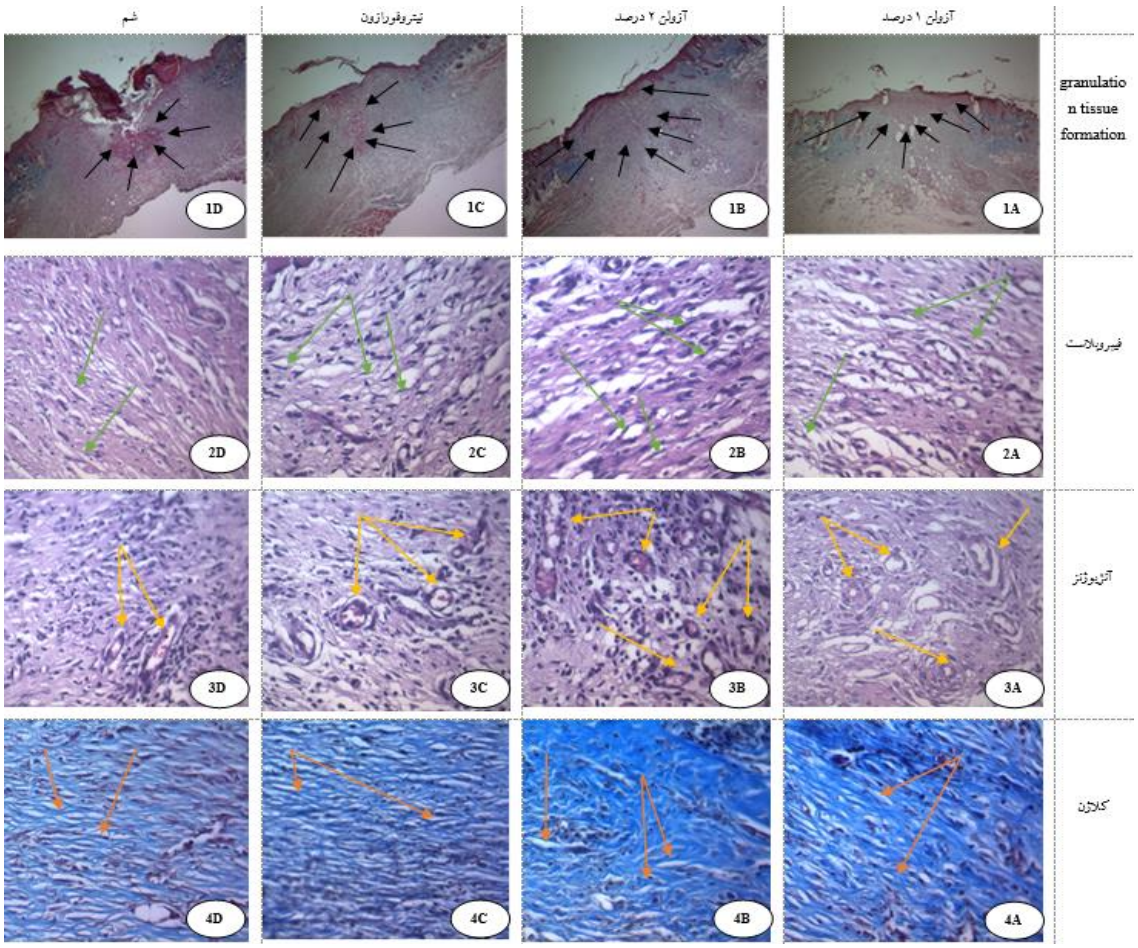
میانگین وسعت بافت گرانوله، تعداد فیبروبلاست‌ها، میزان رگزایی و میانگین دانسیته رشته‌های کلاژن در گروه‌های تجربی ۱ و ۲ نسبت گروه‌های کنترل منفی و شم در سطح ($p>۰/۰۵$) افزایش معنی‌داری نشان دادند در حالی که تمام این پارامترها نسبت به گروه کنترل مثبت معنی‌دار نبودند. میزان اپی تلیالیزاسیون نیز در گروه‌های تجربی ۱ و ۲ نسبت تمام گروه‌های کنترل افزایش معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) نشان داد.

بحث

استفاده موضعی آزولن می‌تواند اثرات مثبتی بر ترمیم زخم‌های پوستی داشته باشد. این یافته‌ها نشان دادند که آزولن می‌تواند باعث افزایش میزان تشکیل بافت گرانوله در روزهای ۷، ۱۰ و ۱۴ در گروه‌های تحت درمان نسبت به گروه‌های کنترل منفی و شم گردد و هم‌چنین میزان اپی‌تلیالیزاسیون را وسعت بخشیده و از این‌رو سرعت ترمیم را تسریع نماید. التیام زخم پدیده‌ای پویا و پیچیده است و حاصل تعامل بین انواع مختلف سلول‌ها، مولکول‌ها و ماتریکس خارج سلولی می‌باشد. فرایند ترمیم زخم مجموعه‌ای از واکنش‌های متوالی است که در زمان‌های مشخصی با یکدیگر همپوشانی دارند. بهبود زخم یک پاسخ دینامیک به آسیب بوده که تقریباً بلافاصله پس از آسیب پوست آغاز شده و ممکن است تا مدت‌ها ادامه یابد(۲۰). یکی از مهم‌ترین فرایندهای مهم در روند ترمیم زخم، تشکیل بافت گرانوله است. بافت گرانوله ۳ که در تولید پروتئوگلیکان و کلاژن تیپ ۳ دخالت تا ۵ روز بعد از ایجاد زخم تشکیل می‌شود و شامل یک بافت همبند پر عروق به همراه فیبروبلاست‌هایی است می‌کنند(۲۱). هر ماده‌ای که بتواند در سرعت و وسعت تشکیل این بافت تاثیر بگذارد، می‌تواند بر سرعت ترمیم زخم نیز اثر بگذارد. آزولن ماده‌ای است که در چندین گیاه مختلف به خصوص در بابونه آلمانی و بومادران وجود دارد(۲۲،۱۳). مطالعات مختلف نشان داده‌اند که آزولن و مشتقات آن خواص مهمی در اقدامات دارویی و درمانی، از جمله، جلوگیری از زخم دئودنوم، داشتن خاصیت آنتی‌اکسیدانی، مهارکننده TXA2 (ترومبوکسان A2)، ضد اسپاسم و ضد التهاب را دارند(۲۴،۲۳،۱۳). اکثر مطالعات به اثرات ضد التهابی این ماده و ترکیبات مشتق شده از آن متمرکز شده‌اند(۱۴).

در مطالعه‌ای که به روی ۶ نفر افراد سالم و داوطلب در رابطه با مقایسه اثرات ضد التهابی آزولن و کرم هیدروکورتیزون صورت‌گرفت، مشخص گردید که اثرات ضد التهابی آزولن را می‌توان در حد هیدروکورتیزون

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-10-31]



تصویر شماره ۱: 1A (آزولن ۱ درصد)، 1B (آزولن ۲ درصد)، 1C (گروه نیتروفورازون)، 1D (گروه شم)، وسعت بافت گرانوله (۲/۴mm2±۳/۲۰۴) در روز ۱۰ با بزرگنمایی × ۴۰ و رنگ آمیزی تری کروم ماسون (فلش های مشکی رنگ)

2A (آزولن ۱ درصد)، 2B (آزولن ۲ درصد)، 2C (گروه نیتروفورازون)، 2D (گروه شم)، تعداد سلول های فیبروبلاست در روز ۱۰ با بزرگنمایی × ۴۰۰ و رنگ آمیزی هماتوکسیلین وائوزین (فلش های سبز رنگ)

3A (آزولن ۱ درصد)، 3B (آزولن ۲ درصد)، 3C (گروه نیتروفورازون)، 3D (گروه شم)، میزان آنژیوژنز در روز ۱۰ با بزرگنمایی × ۴۰۰ و رنگ آمیزی هماتوکسیلین وائوزین (فلش های زرد رنگ)

4A (آزولن ۱ درصد)، 4B (آزولن ۲ درصد)، 4C (گروه نیتروفورازون)، 4D (گروه شم)، دانسیته رشته های کلاژن در روز ۱۰ با بزرگنمایی × ۴۰۰ و رنگ آمیزی تری کروم ماسون (فلش‌های نارنجی رنگ)

در نظر گرفت(۱۶). در مطالعه حاضر مشخص گردید که آزولن می‌تواند با تاثیر بر گسترس بافت گرانوله روند التیام زخم را تسریع نماید.

مطالعاتی در این رابطه وجود دارند که با نتایج مطالعه حاضر هم‌خوانی دارند. در مطالعه shivananda و همکاران در سال ۲۰۰۷، در رابطه با اثرات عصاره بابونه در ترمیم زخم پوستی رت‌ها مشخص گردید که اضافه کردن عصاره آبی گیاه بابونه به آب آشامیدنی رت‌ها می‌تواند با افزایش میزان بافت گرانوله و تسریع روند اپی‌تلیالیزاسیون سرعت ترمیم زخم را تسریع نماید(۲۵). در یک گزارش موردی که توسط karokawa و همکاران در سال ۲۰۰۳ انجام پذیرفت، اثر مثبت آزولن بر روی یک زخم عمیق پای چپ یک بیمار که در طی مسیر درمان از یک پماد موضعی آزولن و بتامتازون استفاده گردید، گزارش شد(۲۶).

در یک بررسی کلی انجام شده در سال ۲۰۱۱ توسط Atodiresei مشخص گردید که بابونه و ترکیبات اصلی

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-10-31]

آن یعنی آزولن و کامازولن متابولیسم پوست را نرمال نموده و باعث فعال شدن تشکیل بافت گرانوله و اپی تلیالیزاسیون بعد از زخم سوختگی می شوند(۲۷).

در مطالعه Longo R و همکاران در سال ۲۰۱۱، که به بررسی اثر بابونه برترمیم زخم دهانی رت‌ها پرداختند، نتایج در روز ۱۰ نشان داد میزان اپی‌تلیالیزاسیون در گروه دریافت‌کننده عصاره بابونه نسبت به گروه کنترل بیش‌تر بوده است(۲۸).

در یک مطالعه مروری که در سال ۲۰۱۰ توسط Vikas gupta انجام شد، پتانسیل فارماکولوژیک عصاره بابونه از جهت درمان سوختگی بررسی گردید. نتایج این پژوهش نشان داد که آزولن وکامازولن دو ترکیب اصلی عصاره بابونه هستند. در این مطالعه گزارش گردید که عصاره بابونه به شکل روغن، پتانسیل خوبی جهت تسریع درمان زخم سوختگی در رت‌ها دارد و به صورت موضعی نیز در بهبود زخم خطی در موش‌های صحرایی نسبت به کورتیکواستروئیدها مؤثرتر می‌باشد(۲۹).

تمامی این تحقیقات و نتایج مطالعه حاضر نشان از این دارد که ماده آزولن به عنوان یک ترکیب مؤثر در عصاره بابونه می‌تواند اثرات درمانی بسیار خوبی بر روند گرانولاسیون ترمیم زخم داشته باشد. با توجه به این که تشکیل بافت گرانوله یک پدیده بسیار مهم و کلیدی در روند ترمیم زخم می‌باشد و تغییرات ایجاد شده روی این بافت سرنوشت ترمیم زخم را تعیین می‌کند، ما در بخشی از مطالعه حاضر به یکی از مهمترین اجزاء سازنده بافت گرانوله یعنی فیبرو بلاست‌ها پرداختیم. فیبرو بلاست‌ها یکی از مهم‌ترین سلول‌های دخیل در تشکیل بافت گرانوله می‌باشند و در تولید ماده خارج سلولی (Extra Cellular Matix) بافت گرانوله نقش اساسی بر عهده دارند. یکی از مهم‌ترین یافته‌های مطالعه حاضر اثر افزایشی تعداد سلول‌های فیبروبلاست و به دنبال آن سنتز رشته‌های کلاژن در گروه‌های درمانی آزولن نسبت به گروه‌های کنترل بوده است. بررسی مقالات در این رابطه نشان می‌دهد که مطالعاتی محدود در این رابطه وجود دارد که با مطالعه ما همخوانی داشته و این تأثیر را تایید می‌نمایند.

مطالعه‌ای توسط Manomion و همکاران در سال ۲۰۱۱ در رابطه با اثرات ضد التهابی ترکیبات مختلف آزولن بر روی فیبروبلاست‌های لثه انسان (Human Gingival Fibroblast) انجام شده است. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که ترکیبات مربوط به آزولن با تحریک تولید فیبروبلاست‌های لثه باعث کاهش تولید عوامل التهابی (IL-1β) می‌شوند(۱۵).

در مطالعه‌ای که Jun-Ichiueki و همکاران در سال ۲۰۱۱ اثر آنتی UV و تسکین دهنده ترکیبات مشتق شده از آزولن را مورد بررسی قرار دادند، ترکیبات مربوط به آزولن شامل، Benzo[*b*]cyclohepta[*e*] [1,4]thiazine ، 6,8-dibromobenzo[*b*]cyclohepta[*e*][1,4]thiazine ، benzo[*b*]cyclohept[*e*][1,4]oxazin-6(11*H*)-one ، 3-methyl-1-trichloroacetylazulene، 3-ethyl-1-trichloroacetylazulene بوده است. نتایج این مطالعه نشان داد ترکیبات مربوط به آزولن، فیبروبلاست‌های لثه و دندان را تحریک می‌کنند اما بر روی سلول‌های تومورال استخراج شده از دهان و دندان اثری ندارند(۳۰).

در مطالعه ای دیگر، اثر سمیت سلولی برخی ترکیبات آزولن از جمله guaiazulene بر روی فاکتور رشد هپاتوسیتی (Hepatocyte growth factor = HGF) و تأثیر پرتو نور UV بر این سمیت را بررسی نمودند. این مطالعه نشان داد، ترکیب guaiazulene guaiazulene در دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومول روی بقای فیبروبلاست‌ها در محیط کشت اثر گذاشته و با افزایش دوز باعث کاهش آن‌ها می‌شود. در این بررسی که توسط Fiori و همکاران در سال ۲۰۱۱ انجام گرفت، مشخص گردید که تابش پرتو UV به محیط کشت می‌تواند سمیت سلولی این ماده را کم نماید و در نتیجه تحت تاثیر پرتو UV می‌توان اثرات سمی guaiazulene بر روی سلول‌های HGF را کنترل نمود(۳۱).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که آزولن اثرات بسیار

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-10-31]

مثبتی در مسیر ترمیم زخم‌های پوستی از طریق افزایش شکل گیری بافت گرانوله دارد. آزولن می‌تواند بر تکثیر سلول‌های فیبرو بلاست تشکیل‌دهنده بافت گرانوله و به دنبال آن سنتز رشته‌های کلاژن و همین‌طور بازسازی اپی‌تلیوم تاثیر بگذارد. مطالعات دقیق تری در رابطه با شناخت مکانیزم‌های احتمالی و همین‌طور استفاده از آزولن در آزمایشات تجربی مداخله‌ای بر روی انسان می‌تواند در راستای دست آوردهای این مطالعه شکل بگیرد.

سپاسگزاری

این مطالعه حاصل برخی یافته مربوط به پایان‌نامه دوره کارشناسی ارشد تشریح می‌باشد و بدین‌وسیله از مساعدت معاونت پژوهشی به خاطر تامین هزینه مطالعه و پرسنل مرکز تحقیقات طب تجربی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند که در اجرای این طرح پژوهشی همکاری لازم را داشته اند، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌شود.

References

1. Stenn KS, Goldenhersh MA, Trepeta RW. Structure and functions of the skin. The Skin 1992; 9(1): 1-14.
2. Afshar M, Vafaei-Nezhad S, Shadi M, Ghaderi R. The important herbal plants of Iranian flora on burn healing. J Gorgan Univ Med Sci 2017; 19(3): 1-14 (Persian).
3. Zaidi Z, Lanigan SW. Dermatology in Clinical Practice. London: Springer; 2010.
4. Li J, Chen J, Kirsner R. Pathophysiology of acute wound healing. Clin Dermatol 2007; 25(1): 9-18.
5. Young A, McNaught C-E. The physiology of wound healing. Surgery (Oxford) 2011; 29(10): 475-479.
6. Hanafi N, Shahani S, Enayatifard R, Talebpour Amiri F, Ghasemi M, Karimpour AA. Licorice cream promotes full-thickness wound healing in Guinea pigs. Marmara Pharmaceutical Journal 2018; 22(3): 411-421.
7. Afshar M, Ravarian B, Zardast M, Moallem SA, Fard MH, Valavi M. Evaluation of cutaneous wound healing activity of Malva sylvestris aqueous extract in BALB/c mice. Iran J Basic Med Sci 2015; 18(6): 616-622 (Persian).
8. Afshar M, Ghaderi R, Zardast M, Delshad P. Effects of topical emu oil on burn wounds in the skin of Balb/c mice. Dermatol Res Pract 2016; 2016.
9. Nasiry Zarrin Ghabaee D, Ebrahimzadeh MA, Akbari J, Talebpour Amiri F. Wound healing activity of Sambucus ebulus. Int J Journal of Pharmaceutical Sciences and Research 2017; 8(1): 132-135.
10. Ghosh PK, Gaba A. Phyto-extracts in wound healing. J Pharm Pharmaceut Sci 2013; 16(5): 760-820.
11. Astin JA, Pelletier KR, Marie A, Haskell WL. Complementary and alternative medicine use among elderly persons: one-year analysis of a Blue Shield Medicare supplement. J Gerontol A Biol Sci Med Sci 2000; 55(1): M4-M9.
12. Srivastava JK, Shankar E, Gupta S. Chamomile: a herbal medicine of the past with a bright future. Mol Med Rep 2010; 3(6): 895-901.
13. Wang L, Yan J, Fu PP, Parekh KA, Yu H. Photomutagenicity of cosmetic ingredient chemicals azulene and guaiazulene. Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis 2003; 530(1-2): 19-26.
14. Ogata J, Minami K, Horishita T, Shiraishi M, Okamoto T, Terada T, et al. Gargling with sodium azulene sulfonate reduces the

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-10-31]

postoperative sore throat after intubation of the trachea. Anesth Analg 2005; 101(1): 290-293.

15. Ono M, Kantoh K, Ueki J, Shimada A, Wakabayashi H, Matsuta T, et al. Quest for anti-inflammatory substances using IL-1β-stimulated gingival fibroblasts. In Vivo 2011; 25(5): 763-768.
16. Guarrera M, Turbino L, Rebora A. The anti nflammatory activity of azulene. JEADV 2001; 15(5): 486-487.
17. Ueki J-I, Sakagami H, Wakabayashi H. Anti-UV activity of newly-synthesized water-soluble azulenes. In Vivo 2013; 27(1): 119-126.
18. Afshar M, Hassanzadeh-Taheri M, Zardast M, Ayati S, Shadi M. Effect of topical application of Plantago Major alcoholic extract on excisional wound healing in BABL/c mice. Pharmacophore 2017; 8(6S): 1733-1741.
19. Andersen FA. Final report on the safety assessment of azulene. Int J Toxicol 1999; 18(suppl:3): 27-32.
20. Kaplan B, Gönül B, Dinçer S, Kaya FN, Babül A. Relationships between tensile strength, ascorbic acid, hydroxyproline, and zinc levels of rabbit full-thickness incision wound healing. Surg Today 2004; 34(9):747-451.
21. Jones K. Fibrotic Response to Biomaterials and all Associated Sequence of Fibrosis. Host Response to Biomaterials: Elsevier; 2015; 189-237.
22. Sizova NV. Composition and antioxidant activity of essential oils containing azulene derivatives. Pharm Chem J 2012; 46(6): 369-371.
23. Ikegai K, Imamura M, Suzuki T, Nakanishi K, Murakami T, Kurosaki E, et al. Synthesis and biological evaluation of C-glucosides with azulene rings as selective SGLT2 inhibitors for the treatment of type 2 diabetes mellitus: discovery of YM543. Bioorg Med Chem 2013; 21(13): 3934-3948.
24. Tomiyama T, Yokota M, Wakabayashi S, Kosakai K, Yanagisawa T. Design, synthesis, and pharmacology of 3-substituted sodium azulene-1-sulfontes and related compounds: non-prostanoid thromboxane A2 receptor antagonists. J Med Chem 1993; 36(7): 791-800.
25. Nayak BS, Raju SS, Rao AV. Wound healing activity of Matricaria recutita L. extract. J Wound Care 2007; 16(7): 298-302.
26. Kurokawa I, Hayami J, Kita Y. A therapy-Resistant chronic leg ulcer treated successfully with topical basic fibroblast growth factor. J Int Med Res 2003; 31(2): 149-151.
27. Atodiresei GV. Botanical resources of spontaneous and cultivated flora, with applications in the cosmetics industry. Agronomy Series of Scientific Research/ Lucrari Stiintifice Seria Agronomie 2011; 54(1): 94-97.
28. Duarte CM, Quirino MR, Patrocínio MC, Anbinder AL. Effects of Chamomilla recutita (L.) on oral wound healing in rats. Med Oral Patol Oral Cir Bucal 2011; 16(6): 716-721.
29. Gupta V, Mittal P, Bansal P, Khokra SL, Kaushik D. Pharmacological potential of Matricaria recutita-A review. Int J Pharm Sci Drug Res 2010; 2(1): 12-16.
30. Ueki J, Shimada A, Sakagami H, Wakabayashi H. Hormetic and UV-protective effects of azulene-related compounds. In Vivo 2011; 25(1): 41-48.
31. Fiori J, Teti G, Gotti R, Mazzotti G, Falconi M. Cytotoxic activity of guaiazulene on gingival fibroblasts and the influence of light exposure on guaiazulene-induced cell death. Toxicol In Vitro 2011; 25(1): 64-72.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-10-31]