ORIGINAL ARTICLE

Comparing Healing Effects of Olive Leaf Extract Ointment and Dermaheal Ointment on Cutaneous Wound in Diabetic Rats

Abbas Raisi[1],
Ghasem Farjanikish[2],
Pouya Salahi[3]

[1] Assistant Professor, Department of Clinical Science, Faculty of Veterinary Medicine, Lorestan University, Khorramabad, Iran
[2] Assistant Professor, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Lorestan University, Khorramabad, Iran
[3] Doctor of Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Lorestan University, Khorramabad, Iran

(Received November 14, 2018 ; Accepted February 13, 2019)

Abstract

Background and purpose: Diabetes mellitus is highly prevalent in the world and poor wound healing in diabetic patients is a serious public health issue nowadays. In this study, we evaluated the healing effects of olive leaf extract ointment on cutaneous wound in diabetic rats.

Materials and methods: Thirty six male rats were divided into three groups: a control group and two experimental groups to receive either olive leaf ointment or derma heal ointment. Diabetes was induced by a single streptozotocin injection (65mg/kg). Three days later, fasting blood glucose was measured by a glucometer. Rats with blood glucose levels above 250 mg/dl were considered as diabetic. Under anesthesia, a circular full-thickness incision (10 mm diameter) was made in shaved dorsal region. Animals in control group received only distilled water, while treatment groups were treated with ointments (once/daily) until the end of the experiment. To investigate the effects of olive leaf ointment on diabetic wounds, macroscopic and microscopic studies were performed at days 4, 7, 10, 14, and 21.

Results: Macroscopic and microscopic evaluations showed significantly higher rate of wound healing in experimental groups compared to the control group in all days after wound creation ($P<0.05$). But, wound contraction was significantly higher in the group receiving derma heal ointment compared with that in the group treated with olive leaf ointment ($P<0.05$). There were no significant differences between the two experimental groups in microscopic indices ($P>0.05$).

Conclusion: In this study, wound healing was significantly promoted when diabetic wounds were treated with olive leaf ointment.

Keywords: cutaneous wound, olive leaf extract, diabetic rat

J Mazandaran Univ Med Sci 2019; 29 (173): 11-21 (Persian).

*** Corresponding Author: Abbas Raisi -** Faculty of Veterinary Medicine, Lorestan University, Khorramabad, Iran
(E-mail: dr_abbas_raisi@yahoo.com)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-06]

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و نهم شماره 173 خرداد سال 1398 (21-11)

مقایسه اثرات التیامی پماد عصاره برگ زیتون با پماد درماهیل بر زخم های پوستی در موش های صحرایی دیابتی

عباس رئیسی[1]
قاسم فرجانی کیش[2]
پویا صلاحی[3]

چکیده

سابقه و هدف: امروزه با توجه به شیوع دیابت، ترمیم ضعیف زخم در بیماران دیابتی مساله ای جدی برای بهداشت عمومی محسوب می‌شود. در این مطالعه اثرات پماد عصاره برگ زیتون بر ترمیم زخم پوستی در موش‌های صحرایی دیابتی مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: 36 موش صحرایی نر به سه گروه کنترل، پماد عصاره برگ زیتون و پماد درماهیل تقسیم شدند. دیابت، توسط یک دوز تزریق درون صفاقی استرپتوزوتوسین (65mg/kg) ایجاد شد. پس از 3 روز، قند خون ناشتا با استفاده از گلوکومتر اندازه‌گیری شد و موش‌های صحرایی با سطوح قندخون بالاتر از 250mg/dl به عنوان دیابتی در نظر گرفته شدند. تحت بیهوشی یک برش دایره ای تمام ضخامت به قطر 10 میلی‌متر بر روی ناحیه پشتی گردن ایجاد شد. حیوانات در گروه‌های کنترل و درمان تا پایان مدت آزمایش یک بار در روز به ترتیب آب مقطر و پماد دریافت کردند. جهت بررسی اثرات پماد برگ زیتون بر زخم‌های دیابتی، مطالعات ماکروسکوپی و میکروسکوپی در روزهای 4، ۷،۱۰ ، 14، 21 انجام شد.

یافته‌ها: در تمامی روزها شاخص‌های ماکروسکوپی و میکروسکوپی ترمیم زخم در گروه‌های درمان شده با پماد برگ زیتون و درماهیل در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی‌داری بهتر بود ($P <0/05$). اگرچه انقباض زخم در گروه پماد درماهیل نسبت به پماد عصاره برگ زیتون بیش‌تر بود ($P <0/05$)، تفاوت معنی‌داری بین این دوگروه از لحاظ شاخص‌های میکروسکوپی ترمیم زخم مشاهده نشد.

استنتاج: مطالعه حاضر بیانگر این است که التیام زخم در موش‌های دیابتی درمان شده با عصاره برگ زیتون به‌طور معنی‌داری ارتقا می‌یابد.

واژه های کلیدی: زخم پوستی، عصاره برگ زیتون، موش صحرایی دیابتی

مقدمه

براساس گزارش فدراسیون بین‌المللی دیابت (IDF) در سال 2017، بیش از 425 میلیون نفر در سراسر جهان به دیابت ملیتوس (DM) مبتلا هستند و این تعداد تا سال 2045 به 629 میلیون افزایش خواهد یافت(1). اختلال در فرآیند التیام زخم یکی از مهم‌ترین عوارض دیابت است که در بیش‌تر مواقع سبب بروز عفونت‌های مزمن

مولف مسئول: عباس رئیسی - خرم آباد: کیلومتر 5 جاده خرم آباد تهران، دانشگاه لرستان، دانشکده دامپزشکی E-mail : dr_abbas_raisi@yahoo.com
1. استادیار، گروه علوم درمانگاهی، دانشکد دامپزشکی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران
2. استادیار، گروه پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران
3. دکتری عمومی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران
تاریخ دریافت : 1397/8/23 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات :1397/8/28 تاریخ تصویب : 1397/11/24

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-06]

می‌گردد و می‌تواند به قطع عضو و حتی مرگ منجر شود(4-2). اختلالات در روند بهبود زخم در بیماران دیابتی به طور عمده با هیپرگلیسمی، بیان بیش از حد سیتوکین‌های التهابی، استرس اکسیداتیو، سنتز تاخیری کلاژن، کاهش آنژیوژنز و عفونت‌های میکروبی در ارتباط می‌باشد(6،5). آنتی‌بیوتیک‌های موضعی، پانسمان‌های حاوی آنتی‌بیوتیک و دبریدیمانت‌ها جهت کنترل عفونت و بهبود روند التیام، به طور معمول در این بیماران مورد استفاده قرار می‌گیرند. با این وجود برخی از زخم‌ها به این درمان‌ها پاسخ نمی‌دهند و درمواردی حتی موجب وخامت بیش‌تر وضعیت می‌شوند. شیوع دیابت به یک مشکل بزرگ بالینی تبدیل شده و یک مساله جدی برای بهداشت عمومی محسوب می‌شود، بنابراین تحقیق و توسعه جهت دستیابی به رویکردهای درمانی ایمن و مقرون به صرفه برای ارتقاء التیام زخم در این بیماران از ضرورت بالایی برخوردار می‌باشد(7،4). اخیرا استفاده از داروهای گیاهی سنتی و مکمل به دلیل پتانسیل بالا در درمان بسیاری از بیماری‌ها، مورد توجه بسیاری از محققان قرار گرفته است(5،4). به‌طورکلی داروهای گیاهی به‌علت برخورداری از خواص آنتی‌دیابتیک و هم‌چنین عوارض جانبی محدود در مقایسه با داروهای تجاری، برای مدیریت دیابت و عوارض مرتبط با آن، از قبیل بهبود زخم، استراتژی‌های درمانی قابل قبولی محسوب می‌شوند. مطالعات انجام شده نشان دادند که گیاهان دارویی با خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی و ضد التهابی کاندیدهای مناسبی برای استفاده در درمان زخم‌ها هستند(8،5). منشأ خواص درمانی اغلب این گیاهان، ترکیبات فیتوشیمیایی زیست فعال از جمله آلکالوئیدها، اسانس‌ها، فنل‌ها، فلاونوئیدها، تانن‌ها، ترپنوئیدها وساپونین‌ها هستند و به وسیله آن‌ها اثرات فیزیولوژیک خود را اعمال می‌کنند(10،9).

زیتون (*Olea europaea* L.)، متعلق به خانواده اولئاسه (Oleaceae)، یکی از گیاهان دارویی فوق‌الذکر می‌باشد که در درمان زخم و دیابت استفاده می‌شود(10) هم‌چنین برگ زیتون (عصاره اتانولی80درصد) نیز اخیرا در فارماکوپیا اروپا ثبت شده است(11). زیتون سرشار از ترکیبات فنلی شامل اولئوروپین، هیدروکسی تیروزول، ورباسکوزید و دیگر بیوفنول‌ها می‌باشد که دارای فواید متعددی از جمله، خواص ضد دیابتی، آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی، ضد التهابی، کاهنده فشار خون و هیپوکلسترولمیک هستند(14-12). اولئوروپین ترکیب فنلی غالب زیتون و فراورده‌های آن می‌باشد و میزان آن در برگ‌ها بیش از سایر بخش‌های گیاه زیتون است، همچنین عصاره برگ زیتون نسبت به فراورده‌های دیگر آن نظیر روغن زیتون دارای مقادیر بالاتری از اولئوروپین می‌باشد(13،12،10). به طور عمده هیپرگلیسمی و عوارض مرتبط با آن از جمله نوروپاتی و میکروآنژیوپاتی مانع از تولید هیدروکسی پرولین و کلاژن کافی توسط سلول‌ها می‌شود که کاهش استحکام کششی و تضعیف ترمیم زخم را در پی دارد. به نظر می‌رسد که اولئوروپین می‌تواند با افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، مهاجرت فیبروبلاست‌ها، تولید هیدروکسی پرولین، فیبریل‌های کلاژن و کاهش التهاب نقش موثری در بهبود زخم ایفا کند(16،15،10،3).

Koca و همکاران در سال 2011، با اشاره به خنثی‌سازی مستقیم رادیکال‌های آزاد توسط اولئوروپین، تسریع التیام زخم‌های دیابتیک در موش‌های درمان شده با عصاره آبی برگ زیتون را گزارش کردند(14). هم‌چنین بر اساس دو گزارش موردی بالینی در ایران که از ترکیب روغن زیتون و عسل (2008) و ترکیب روغن زیتون همراه با عصاره پروپولیس (2012) جهت درمان زخم دیابتی استفاده کردند، خواص ضد التهابی روغن زیتون به طور قابل توجهی در ترمیم ضایعات موثر واقع شد(۱۷،۱۶).

با این وجود در مطالعه‌ای که توسط Aziza و همکاران در سال2011 بر روند التیام زخم پای بیماران دیابتی در مصر صورت گرفت، تفاوت معنی‌داری بین گروه درمان شده با پماد روغن زیتون و دیگر گروه‌ها

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-06]

دیده نشد(15). هم‌چنین پژوهش دیگری در سال 2018 نشان داد که پماد عصاره متانولی برگ زیتون با ارتقاء ظرفیت آنتی اکسیدانی موجب بهبود زخم‌های دیابتیک می‌شود(10). به نظر می‌رسد مطالعات جامع و کاملی در زمینه ارزیابی اثرات التیامی زیتون و فراورده‌های آن بر زخم‌های دیابتیک انجام نشده است، علاوه بر این نتایج حاصل از همه این پژوهش‌ها در یک راستا قرار نگرفته‌اند. باتوجه به شرایط خاصی که مبتلایان به دیابت در فرآیند ترمیم زخم با آن روبرو هستند انجام پژوهش در این زمینه می‌تواند در رسیدن به رویکرد درمانی بهتر، موثر و مفید واقع شود. هدف از مطالعه حاضر بررسی اثرات پماد عصاره الکلی 80 درصد برگ زیتون بر زخم‌های دیابتیک و هم‌چنین مقایسه آن با پماد درماهیل(یک نمونه تجاری موجود در بازار) در مدل حیوانی موش صحرایی نر می‌باشد.

مواد و روش‌ها

پروتکل مطالعه ما توسط کمیته اخلاق و نظارت بر حقوق حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه لرستان بررسی و و با کد اخلاق به شماره LU.ECRA.2017.14 تایید شد. همه حیوانات تحت مراقبت‌های انسانی مطابق با راهنمای مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی که توسط آکادمی ملی علوم تهیه و توسط موسسه ملی بهداشت (NIH شماره 85-23، اصلاح شده در سال 1985) منتشر شد، قرار گرفتند.

حیوانات آزمایشگاهی

حیوانات مورد آزمایش، موش‌های صحرایی نر بالغ، نژاد ویستار با محدودهٔ وزنی 180- 220 گرم بودند و از مرکز تحقیقات گیاهان دارویی رازی دانشگاه علوم پزشکی لرستان خریداری شدند و در خانه حیوانات با دمای 2± 22 درجه سانتی‌گراد و 12 ساعت روشنایی و 12 ساعت تاریکی و دسترسی آزاد به آب و غذا در قفس نگهداری شدند.

آماده سازی مواد، عصاره گیاهی و پماد

برگ‌های درخت زیتون پس ازجمع آوری توسط کارشناسان دانشکده کشاورزی دانشگاه لرستان شناسایی شدند. سپس برگ‌ها وزن شده و پس از شستشو با آب مقطر، در سایه پهن شده تا خشک شوند. برگ‌ها پس از خشک شدن با آسیاب پودر شده و پودر حاصله با دستگاه سوکسله و اتانول 80 درصد در دمای 40 درجه سانتی‌گراد عصاره‌گیری شد. عصاره هیدروالکلی به دست آمده با دستگاه روتاری تغلیظ شد و در ظروف شیشه‌ای پهن و در دمای اتاق خشک شد. در این مطالعه برای ساخت پماد 10 درصد با استفاده از اوسرین ،10 گرم عصاره خالص برگ زیتون در 100 گرم اوسرین حل و به‌صورت پماد 10 درصد وزنی فرموله شد. جهت مقایسه اثرات التیامی پماد زیتون با یک نمونه تجاری، از پماد مخصوص زخم‌های دیابتی با نام تجاری درماهیل که توسط شرکت دارو درمان تولید می‌شود استفاده شد.

القای دیابت

یک شب قبل از تزریق، موش‌ها تحت پروتکل محرومیت از غذا قرار گرفتند. در ساعت 8 تا 9 صبح روز بعد با تزریق تک دوز داخل صفاقی (65 mg/kg، محلول در سیترات بافر 0/1 مولار PH=4/5) استرپتوزوتوسین (STZ) خریداری شده از شرکت سیگما، دیابتیک شدند و جهت همسان‌سازی شرایط در گروه‌های غیر دیابتیک سیترات بافر با مشخصات فوق به صورت داخل صفاقی تزریق گردید. قند خون دو روز بعد از تزریق (توسط دستگاه اکو - چک، آلمان) اندازه‌گیری شد و همه موش‌ها قند خون بالاتر از 250 میلی‌گرم بر دسی لیتر رانشان دادند و به عنوان موش‌های دیابتیک در نظر گرفته شدند(3، 10، 20-18). هم‌چنین علائم پرنوشی، پر ادراری و پرخوری نیز در آن‌ها مشاهده شد.

روش ایجاد زخم

پس از تأیید دیابت در همه‌ی موش‌های صحرایی، القای بیهوشی با زایلازین 2 درصد (10mg/kg) و کتامین

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-06]

10 درصد (100mg/kg) به روش تزریق داخل صفاقی صورت گرفت. موش‌ها از ناحیه شکمی روی میز جراحی قرار داده شدند. سپس در ناحیه بین گردن و مفصل کتف اسکراب شده و با بتادین 12 درصد ضدعفونی شد. پس از آن، برای ایجاد زخم همسان، دایره‌ای به قطر 10 میلی‌متر، با علامت‌گذاری ابعاد مورد نظر، ضخامت کاملی از پوست شامل اپیدرم، درم و هیپودرم برداشته شد.

گروه بندی موش های صحرایی تحت مطالعه

موش‌های صحرایی به طور تصادفی در سه گروه 12 تایی تقسیم شدند. گروه A : گروه دیابتیک با دریافت آب مقطر (گروه کنترل)، گروه B : گروه دیابتیک درمان شده با پماد عصاره برگ زیتون 10 درصد وگروه C : گروه دیابتیک درمان شده با پماد درماهیل شرکت دارو درمان (گروه‌های آزمایش). طول مدت آزمایش در هر چهار گروه 21 روز و موش‌ها در گروه های تحت مطالعه یک بار در روز با پماد تیمار شدند. به منظور اندازه‌گیری مساحت زخم‌ها در روزهای 4، 7، 10، 14 و 21 از سطح زخم‌ها عکس برداری صورت گرفت و به نرم افزار اتوکد منتقل شد و درصد انقباض یا بهبودی زخم از فرمول زیر محاسبه شد:

$$\text{درصدبهبود زخم} = \frac{\text{اختلاف سطح زخم درروز X با روز جراحی}}{\text{سطح زخم در روز جراحی}} \times 100$$

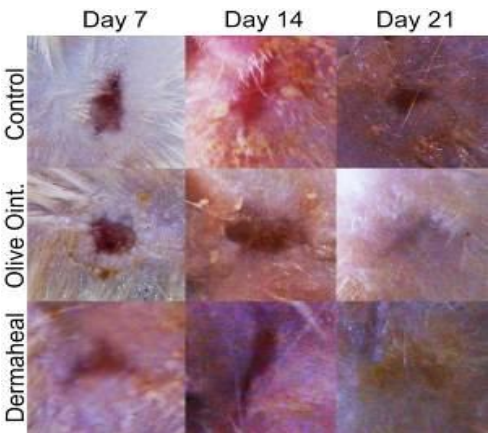
برای ارزیابی میکروسکوپی، در روزهای 4، 7، 10، 14 و 21 از هر گروه به صورت تصادفی دو موش صحرایی انتخاب و پس از بی‌هوش نمودن، ضخامت کاملی از بافت پوست و زیرپوست از محل بافت جوانه‌ای متصل به پوست محل زخم آن‌ها برداشته و در داخل فرمالین بافر 10 درصد قرار داده شد. پس از فرآیند عمل آوری و تهیه بلوک‌های پارافینی، برش‌هایی به ضخامت 5 µm با میکروتوم بریده و به روش هماتوکسیلین و ائوزین رنگ آمیزی شد. سپس، نفوذ سلول‌های آماسی در سطح زخم، تشکیل بافت جوانه‌ای و نوزایش بافت پوششی، با میکروسکوپ نوری ارزیابی شد.

آنالیز آماری داده ها

درصد بهبود زخم و شاخص‌های التهابی در روزهای مختلف با استفاده از نرم‌افزار SPSS 21 و با آزمون آماری آنالیز واریانس یکطرفه (One Way ANOVA) به صورت میانگین± انحراف معیار ارائه شد و مقایسه میانگین به روش دانکن انجام گرفت و تفاوت‌ها در سطح اطمینان بالاتر از 95 درصد ($p<0/05$) معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

نتایج مطالعات ماکروسکوپی به صورت درصد بهبود زخم در هر سه گروه آزمایشی در جدول شماره 1 و تصاویر زخم ها در بعضی از روزهای مطالعه در تصویر شماره 1 آورده شده است.



تصویر شماره1: مورفولوژی زخم ها

با توجه به داده های جدول درصد بهبود در دو گروهی که از پماد عصاره برگ زیتون 10 درصد و پماد درماهیل استفاده شد نسبت به گروه کنترل بهتر بود و در تمام روزهای آزمایش اختلاف معنی دار دیده شد. البته این تفاوت معنی دار نیز بین گروهی که پماد درماهیل استفاده شد و گروهی که پماد عصاره برگ زیتون 10 درصد به کار رفت نیز در همه روزها دیده شد.

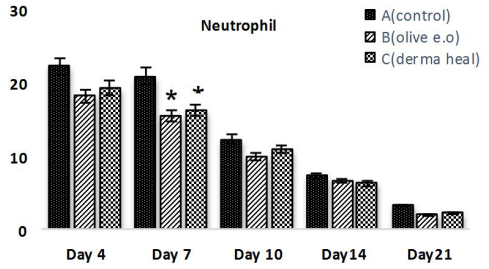
[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-06]

جدول شماره 1: میانگین درصد بهبود (انقباض) زخم در گروه های آزمایش

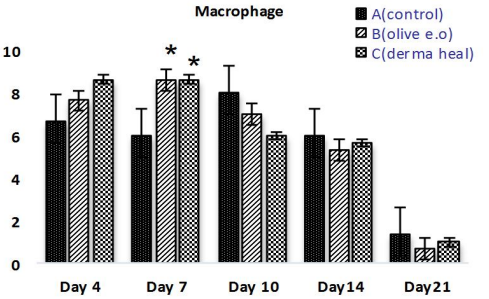
گروه های آزمایش	روز چهارم (N=12)	روز هفتم (N=10)	روز دهم (N=8)	روز چهاردهم (N=6)	روز بیست و یکم (N=4)
A(کنترل)	10/85 ± 0/90	18/42 ± 1/39	28/20 ± 2/04	32/50 ± 2/08	40/75 ± 0/95
B(پماد برگ زیتون)	18/57 ± 1/27 a	26/71 ± 1/60 a	37/60 ± 1/51 a	44/50 ± 1/29 a	58/50 ± 7/67 a
C(پماد درماهیل)	28/14 ± 1/70 ab	39/00 ± 2/23 ab	47/00 ± 2/00 ab	56/25 ± 2/88 ab	72/75 ± 2/25 ab

a و b اختلاف معنی دار را به ترتیب با گروه های A (کنترل) و B (پماد برگ زیتون) نشان می دهند (P <0/05).

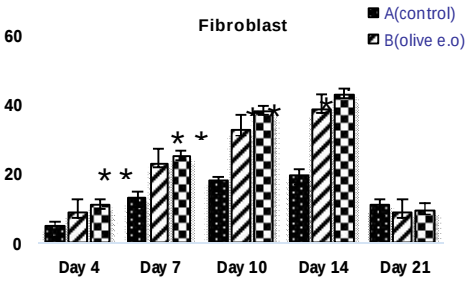
نمودارهای شماره 1، 2، 3 و 4 به ترتیب میانگین شاخص‌های التهابی نوتروفیل، ماکروفاژ، میزان فیبروبلاست و میزان رگ‌زایی را در روزهای مورد آزمایش در سه گروه نشان می‌دهند. در مورد شاخص نوتروفیل در روز 4، این شاخص در هر سه گروه بالا بود که در روز 7، این شاخص در دو گروه پماد عصاره زیتون و پماد درماهیل با سرعت بیش‌تری نسبت به گروه کنترل رو به کاهش بود (P <0/05). در روزهای 10، 14 و 21 نیز این شاخص در این دو گروه نسبت به گروه کنترل روند کاهشی سریع‌تری داشت. شاخص ماکروفاژ در هر سه گروه در روزهای 4 و 7 آزمایش با افزایش روبرو بود که در روز 7 بین گروه کنترل و دو گروه پماد عصاره زیتون و پماد درماهیل اختلاف معنی دار دیده شد(P <0/05). در روز 10 شاخص ماکروفاژ در گروه کنترل با افزایش روبرو بود در صورتی که این شاخص در در دو گروه پماد عصاره زیتون و پماد درماهیل با سرعت بالا رو به کاهش بود. هم چنین در دو گروه درمان، شاخص فیبروبلاست در روزهای 4، 7 ، 10 و 14 با اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه کنترل با روند افزایشی مشاهده شد (P <0/05). در روز 21 این شاخص در همه گروه‌ها کم شد. در بررسی شاخص میزان رگزایی در روزهای 4 و 7 میزان آن در دو گروه درمان نسبت به گروه کنترل بیش‌تر بود که در روزهای 10، 14 و 21 این میزان با سرعت بالا، کم شد در صورتی که در گروه کنترل بیش‌ترین میزان رگ‌زایی در روز 10 دیده شد و در روزهای بعد نیز با سرعت کم‌تری کم شد.



نمودار شماره 1: مقایسه اثر درمان‌های مختلف براساس شاخص «نوتروفیل». *نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار نسبت به گروه A (کنترل) (P<0/05)

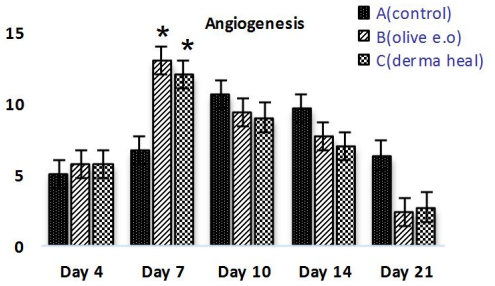


نمودار شماره 2: مقایسه اثر درمان های مختلف براساس شاخص «ماکروفاژ». * نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار نسبت به گروهA (کنترل) (p <0/05)



نمودار شماره 3: مقایسه اثر درمان های مختلف براساس شاخص «فیبروبلاست». * نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار نسبت به گروه A (کنترل) (p <0/05).

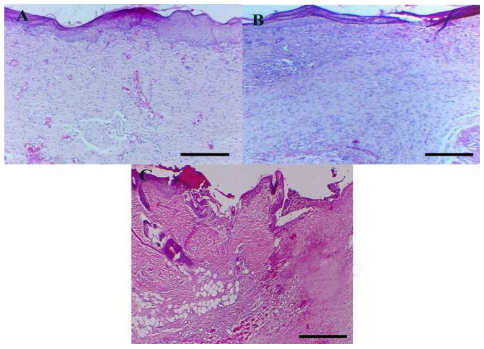
[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-06]



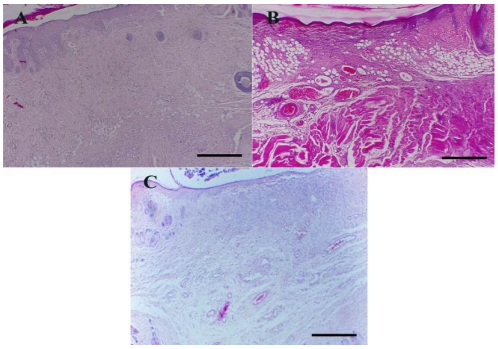
نمودار شماره 4: مقایسه اثر درمان های مختلف براساس شاخص «رگزایی». * نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار نسبت به گروه A (کنترل) ($p<0/05$)

نتایج به دست آمده از مطالعه میکروسکوپی نمونه‌های پوستی گروه کنترل در روز چهارم، زخم همراه خونریزی، لخته فیبرین و التهاب مشاهده شد در حالی که در نمونه‌های مربوط به گروه‌های آزمایش در روز چهارم درمان، میزان سلول‌های التهابی بیش‌تری دیده می‌شد. تصاویر پوستی گروه‌های آزمایش در روز هفتم، بیانگر بازسازی اولیه اپیتلیوم در ناحیه زخم همراه واکنش التهابی و تشکیل مختصر بافت جوانه‌ای بوده است (تصویر شماره 2). در نمونه‌های پوستی گروه کنترل در روز چهاردهم، بیانگر بازسازی اپیتلیوم در ناحیه زخم همراه با حضور سلول‌های التهاب و بافت جوانه‌ای بوده است. درحالی که درگروه‌های آزمایش در روز چهاردهم بازسازی کامل اپیتلیوم مشاهده شد و فولیکول‌های مو و غدد چربی درکنار زخم و رشته‌های کلاژن و فیبروبلاست‌ها در عمق درم قابل مشاهده بود (تصویر شماره 3).

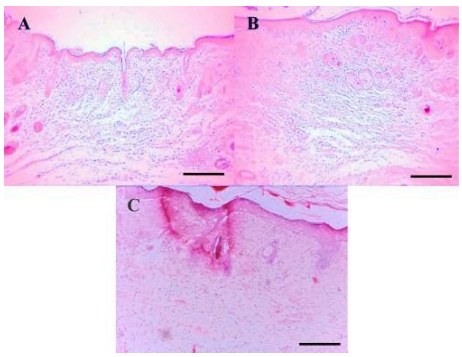
در روز پایان آزمایش، در نمونه‌های پوستی گروه کنترل علی رغم تشکیل اپیدرم، تشکیل اولیه ضمائم پوستی مشاهده می‌شد، در حالی که در گروه آزمایش، اپیدرم همراه ضمائم پوستی در درم دیده می‌شد. سلول‌های فیبروبلاست، فیبروسیت و رشته های کلاژن آرایش منظم پیدا کرده بودند (تصویر شماره 4). مقدار و سازمان یابی رشته های کلاژن در روزهای بررسی شده در گروه های آزمایش نسبت به گروه کنترل از وضعیت بهتری برخوردار بود (تصویر شماره 5).



تصویر شماره 2: بازسازی اپیتلیوم در ناحیه زخم همراه واکنش التهابی خفیف و تشکیل عروق در روز هفتم در گروه های آزمایش (A. گروه دریافت کننده زیتون و B. گروه دریافت کننده پماد). تشکیل ناقص اپیتلیوم و واکنش التهابی شدید درگروه کنترل(C). (HE stain, bar=100).

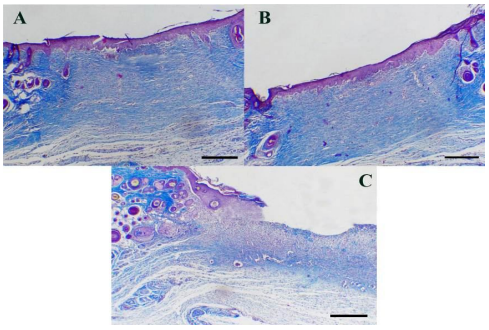


تصویر شماره 3: تشکیل اپیدرم به همراه تشکیل ضمائم پوستی در روز چهاردهم در گروه های آزمایش(A. گروه دریافت کننده زیتون و B. گروه دریافت کننده پماد). (HE stain, ×= 100). بازسازی اپیتلیوم در ناحیه زخم همراه با حضور سلول های التهابی و بافت جوانه ای در روز چهاردهم در گروه کنترل (C). (HE stain, bar= 100).



تصویر شماره 4: اپیدرم همراه ضمائم پوستی و منظم شدن درم در روز بیست و یکم در گروه‌های آزمایش (A. گروه دریافت‌کننده زیتون و B. گروه دریافت کننده پماد). (HE stain, ×= 40). تشکیل اپیدرم و تشکیل اولیه ضمائم پوستی در روز بیست ویکم در گروه کنترل (C). (HE stain, bar= 100).

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-06]



تصویر شماره 5: رنگ‌پذیری رشته های کلاژن در گروه های آزمایش (A. گروه دریافت کننده زیتون و B. گروه دریافت کننده پماد) و گروه کنترل (C). (Masson trichrome stain, bar= 100).

بحث

در مطالعه حاضر اثرات التیام بخشی پماد عصاره برگ زیتون بر زخم‌های پوستی در مدل حیوانی موش‌های صحرایی دیابتی بررسی گردید و با پماد درماهیل یک نمونه تجاری موجود در بازار که برای درمان زخم‌های دیابتی کاربرد دارد مقایسه شد. نتایج حاصل از ارزیابی‌های ماکروسکوپی و میکروسکوپی نشان داد که پماد عصاره برگ زیتون و پماد درماهیل در تمامی روزهای مطالعه به شکل موثری با افزایش انقباض در سطح زخم و هم‌چنین با تقویت روند سلولی التیام میزان بهبودی را نسبت به گروه کنترل افزایش دادند. در بررسی مقایسه ای شاخص ماکروسکوپی، پماد درماهیل نسبت به پماد عصاره برگ زیتون به‌طور معنی‌داری موثرتر بود در حالی که تفاوت معنی‌داری در مورد شاخص‌های میکروسکوپی میان دو گروه دیده نشد.

یافته‌های Xuan و همکاران بر این مهم دلالت دارد که فعالیت‌های مهاجرتی و پاسخ میتوژنیک در فیبروبلاست‌هایی که از زخم‌های دیابتی جدا شدند نسبت به فیبروبلاست‌های نرمال کاهش پیدا می‌کند. فیبروبلاست‌ها سلول‌های اصلی تولیدکننده کلاژن هستند و از این طریق نیروی کششی بافت جوانه‌ای نوظهور را افزایش می‌دهند(21). در پی تجویز پماد عصاره زیتون 10 درصد بر زخم‌های دیابتی، شاخص فیبروبلاست به موازات شاخص ماکروسکوپی درصد انقباض زخم، به طور چشمگیری تا روز چهاردهم آزمایش نسبت به گروه کنترل افزایش یافت. میزان بهبود زخم که در این مطالعه به صورت درصد انقباض سطح زخم بیان شد در همه روزهای آزمایش در گروه پماد درماهیل نسبت به گروه پماد زیتون بالاتر بود که در مطابقت با مطالعه Koca وهمکاران در سال 2011 می‌باشد که اثرات پماد عصاره برگ زیتون 1 درصد را با نمونه تجاری در زخم‌های غیر دیابتی بررسی کرده بودند(14).

مهرآیین و همکاران نیز اثرات مثبت الئوروپئین در افزایش تولید فیبروبلاست‌ها و متعاقبا کلاژن را گزارش کردند(23،22). به نظر می‌رسد پماد عصاره برگ زیتون با افزایش مهاجرت و تولید فیبروبلاست‌ها باعث افزایش تولید و سازماندهی کلاژن‌ها در زخم و متعاقبا باعث افزایش استحکام بافت نوظهور و افزایش انقباض سطح زخم نسبت به گروه کنترل می‌شوند. یکی از مشکلات ترمیم زخم در بیماران دیابتی مزمن شدن فاز التهاب است که به طولانی شدن ترمیم زخم منجر می‌شود(24،20). فرآیند التهاب توسط مجموعه ای از سلول‌ها (نوتروفیل‌ها و ماکروفاژ) و فاکتورهای التهابی (اینترلوکین‌ها، TNF-α،..) صورت می‌گیرد. التهاب مزمن با افزایش نشت سلول‌های التهابی و آنژیوژنز تاخیری در ارتباط است. بررسی شاخص‌های سلولی و هم‌چنین روند آنژیوژنز در گروه دیابتی بدون درمان، بیانگر موفقیت مطالعه حاضر در شبیه‌سازی مدل مورد نظر می‌باشد. نوتروفیل ها و ماکروفاژ پس از ورود به محل زخم با آزادسازی آنزیم‌های پروتولیتیک، نیتریک اکسید(NO) و فاکتورهای آنژیوژنیک (TNF-α و VEGF) ماتریکس خارج سلولی (ECM) را تخریب، نفوذپذیری عروق را افزایش و باعث ادامه دار شدن فرآیند آنژیوژنز طی یک چرخه بازخورد مثبت می‌شوند(25،10). شاخص نوتروفیل در مطالعه‌ی حاضر در روز چهارم در هر سه گروه بالا بود که در روز هفتم در در گروه‌های پماد زیتون و پماد درماهیل به‌طور معنی‌دار کاهش یافت. در مطالعات مهرآیین و همکاران(23،22) شاخص نوتروفیل

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-06]

در روزهای سوم و هفتم مطالعه تحت تاثیر تجویز الئوروپئین کاهش قابل توجهی داشت که با نتایج ما همخوانی دارد. شاخص ماکروفاژ در انطباق با شاخص آنژیوژنز تا روز هفتم در گروه‌های تحت درمان نسبت به گروه کنترل بالاتر بود و با رسیدن به پیک خود در روز هفتم اختلاف معنی‌داری نسبت به گروه کنترل نشان داد. پس از روز هفتم فاکتورهای فوق با سرعت رو به کاهش بودند در حالی که در روز دهم شاخص ماکروفاز و آنژیوژنز در گروه کنترل نسبت به گروه‌های درمان بالاتر بود که نشان دهنده التهاب مزمن و آنژیوژنز تاخیری می‌باشد. مهرآیین و همکاران نشان دادند که میزان VEGF به دنبال تزریق داخل پوستی الئوروپئین در روزهای سوم و هفتم افزایش یافت(23). به نظر می‌رسد کاهش شاخص نوتروفیل و افزایش شاخص ماکروفاژ و آنژیوژنز نسبت به گروه کنترل در هفته اول آزمایش، نشانگر اثرات مثبت پماد زیتون در ایجاد تعادل مورد نیاز بین فاکتورهای آنژیوژنیک و آنتی آنژیوژنیک برای حفظ یک روند آنژیوژنز نرمال در مطالعه ما می‌باشد. در افراد مبتلا به دیابت به علت اکسیداسیون خود به خودی قندها و پروتئین‌های گلیکوزیله مقادیر زیادی از رادیکال‌های آزاد (ROS) مانند رادیکال هیدروکسیل (OH^-) و پراکسید هیدروژن (H_2O_2) تولید می‌شود. هم‌چنین NO یکی دیگر از رادیکال آزاد می‌باشد که از بافت دچار التهاب مزمن آزاد می‌شود. رادیکال‌های آزاد به طور مستقیم عملکرد نرمال سلول‌های التهابی را تغییر می‌دهند و موجب تخریب ساختار پروتئین‌ها می‌شوند و از این طریق سبب مزمن و طولانی شدن ترمیم زخم می‌گردند(26،4،3).

مطالعات متعددی نشان دادند که زیتون و فراورده‌های آن با افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در کاهش التهاب و تسریع التیام زخم را ایفای نقش می‌کنند(28،27،19،14،10). به دنبال تخریب ECM توسط لکوسیت‌ها منبع قابل توجهی از مغذی‌ها برای میکروارگانسیم‌ها فراهم می‌شود که این موضوع به نوبه خود موجب افزایش آلودگی میکروبی در محل زخم می‌گردد. هم‌چنین میکروآنژیوپاتی ناشی از هایپرگلایسمی با تضعیف مکانسیم دفاعی در موضع زخم زمینه عفونت‌های مزمن که معمولا توسط ترکیبی از باکتری‌های گرم مثبت و گم منفی ایجاد می‌شوند را فراهم می‌کند و از این طریق باعث طولانی شدن التهاب می‌شوند. فنل‌های موجود در زیتون و فراورده‌های آن دارای خواص آنتی باکتریال (به ویژه در مورد باکتری‌های مقاوم مثل کلبسیلا، ای کلای و سودوموناس) هستند و از این طریق می‌توانند موجب کاهش عفونت و به بهبود روند زخم کمک کنند(۳۰،۲۹،۲۸،۳). اولئوروپئین مهم‌ترین و فراوان‌ترین ترکیب فنلی موجود در عصاره برگ زیتون می‌باشد که طی گزارش‌های متعددی به اثرات مفید آن اشاره شده است. مطالعات درون تنی و برون تنی نشان دادند که الئوروپئین به‌طور قابل توجهی در خنثی کردن رادیکال‌های آزاد نقش دارد(28،۱۴) و هم‌چنین باعث کاهش نشت سلولی و افزایش تولید کلاژن در موضع زخم می‌شود(23،۲،10). از طرفی دیگر نقش آن به عنوان یک آنتی باکتریال(28) در کنترل عفونت ها نیز اثر گذار بوده است. بنابراین به نظر می‌رسد در مطالعه حاضر عصاره برگ زیتون با برخورداری از خواص آنتی‌باکتریال و افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی باعث بازگشت تعادل بین فاکتورهای التهابی و ضدالتهابی می‌شود که به کوتاه تر شدن فاز التهاب مزمن و طولانی در زخم‌های دیابتی کمک می‌کند و به نرمالیزاسیون ترمیم زخم می‌انجامد. مطالعه ما نشان می‌دهد که پماد عصاره برگ زیتون می‌تواند به عنوان یک استراتژی درمانی مکمل در درمان زخم های دیابتیک مورد استفاده قرار بگیرد.

سپاسگزاری

به این وسیله از حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه لرستان و هم‌چنین کلیه عزیزانی که ما را در انجام این مطالعه یاری نموده‌اند قدردانی می شود.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-06]

References

1. IDF Diabetes Atlas. 8th ed. 2017. Avalable From: http://diabetesatlas.org/resources/2017 atlas.html (Accessed 10.06.18).
2. Zhang Y, McClain SA, Lee HM, Elburki MS, Yu H, Gu Y, et al. A Novel Chemically Modified Curcumin (Normalizes) Wound-Healing in Rats with Experimentally Induced Type I Diabetes: Initial Studies. J Diabetes Res. 2016.
3. Samancıoğlu S, Esen A, Ercan G, Mansoub NH, Vatansever S, İnce İ. A new dressing material in diabetic wounds: Wound healing activity of oleuropein-rich olive leaf extract in diabetic rats. Gaziantep Med J 2016; 22(1): 14-21.
4. Chokpaisarn J, Chusri S, Amnuaikit T, Udomuksorn W, Voravuthikunchai SP. Potential wound healing activity of Quercus infectoria formulation in diabetic rats. Peer J 2017; 5: e3608.
5. Naji S, Zarei L, Pourjabali M, Mohammadi R. The Extract of Lycium depressum Stocks Enhances Wound Healing in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. Int J Low Extrem Wounds 2017; 16(2): 85-93.
6. Lerman OZ, Galiano RD, Armour M, Levine JP, Gurtner GC. Cellular dysfunction in the diabetic fibroblast: impairment in migration, vascular endothelial growth factor production and response to hypoxia. Am J Pathol 2003; 162(1): 303-312.
7. Trivedi U, Parameswaran S, Armstrong A, Burgueno-Vega D, Griswold J, Dissanaike S, et al. Prevalence of multiple antibiotic resistant infections in diabetic versus nondiabetic wounds. J Pathog. 2014: 173053.
8. Bayraktar O, Altiok E, Yilmazer Q, Ruscuklu D, Buyukoz MY. Antioxidant, antimicrobial and cytotoxic activities of extracts from some selected Mediterranean shrub species (Maquis). Biointerface Res Appl Chem 2016; 6(4): 1437-1444.
9. Thakur R, Jain N, Pathak R, Sandhu SS. Practices in Wound Healing Studies of Plants. Evid Based Complement Alternat Med 2011; 438056.
10. Al-basher G, Al-Otibi F. Biological Activity of Olive Leaf Extract and Regulation of Tissue Transglutaminase Expression in Diabetic Wound Healing. Int J Pharmacol 2018; 14(7): 963-972.
11. De Marino S, Festa C, Zollo F, Incollingo F, Raimo G, Evangelista G, et al. Antioxidant activity of phenolic and phenylethanol glycosides from Teucrium polium L. Food Chem 2012; 133(1): 21-28.
12. Xie PJ, Huang LX, Zhang CH, You F, Zhang*YL*. Reduced pressure extraction of oleuropein from olive leaves (*Olea europaea* L.) with ultrasound assistance. Food and Bioproducts Processing 2015; 93: 29-38.
13. Bagheri S, Ahmadvand A, Khosrowbeygi F, Ghazanfari N, Jafari H, Nazem H, et al. AntioYidant properties and inhibitory effects of SatureKa khozestanica essential oil on LDL oYidation induced $CuSO_4$ in Witro. Asian Pac J Trop Biomed 2013, 3(1): 22-27.
14. Koca U, Suntar I, Akkol EK, Yilmazer D, Alper M. Wound repair potential of Olea europeae L. leaf extracts revealed by in vivo experimental models and comparative evaluation of the extract's antioxidant activity. J Med Food 2011; 14(1-2): 140-146.
15. Aziza ES, Nahad E, Nabila AB, Wael S. Comparative Study of Ozonated Olive Oil Ointment versus Conventional Dressing

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-06]

Methods on the Healing of Grade I Diabetic Foot Ulcers Res 2011; 3: 16-30.

16. Khadem Haghighian H, Koushan Y, Asgharzadeh AA. Treatment of Diabetic Foot Ulcer with Propolis and Olive Oil: A Case Report. J Knowled Health 2012; 6(4): 35-38 (Persian).
17. Zahmatkesh M, Rashidi M. Case report of diabetic foot ulcer with topical honey and olive oil. J Med Plants 2008; 8(2): 36-41.
18. Tombulturk F, Kasap M, Tuncdemir M, Polat E, Sirekbasan S, Kanli A, et al. Effects of Lucilia sericata on wound healing in streptozotocin-induced diabetic rats and analysis of its secretome at the proteome level. Hum Exp Toxicol 2018; 37(5): 508-520.
19. Alirezaei M, Kheradmand A, Salahi P, Azizi A. Olive Leaves Extract Effects on Sperm Quality Following Experimentally-Induced Diabetes in Rats. Iran J Vet Med 2018; 12(4): 335-346 (Persian).
20. Ghaneialvar H, Arjmand S, Saheb Moghadam L, Soleimani M, Mashhadi Abbas F. Influence of Adipose Derived Mesenchymal Stem Cells on the Effective Inflammatory Factors of Diabetic Wound Healing in Animal Models. J Mazandaran Univ Med Sci 2017; 27(148): 12-21 (Persian).
21. Xuan YH, Huang BB, Tian HS, Chi LS, Duan YM, Wang X, et al. High-glucose inhibits human fibroblast cell migration in wound healing via repression of bFGF-regulating JNK phosphorylation. PLOS One 2014; 9(9): e108182.
22. Mehraein F, Sarbishegi M, Aslani A. Therapeutic effects of oleuropein on wounded skin in young male BALB/c mice. Wounds 2014; 26(3): 83-88.
23. Mehraein F, Sarbishegi M, Aslani A. Evaluation of Effect of Oleuropein on Skin Wound Healing in Aged Male Balb/c Mice. Cell J 2014; 16(1): 25-30.
24. Mirza RE, Koh TJ. Contributions of cell subsets to cytokine production during normal and impaired wound healing. Cytokine 2015; 71(2): 409-412.
25. Rostami A, Khazaei M. Inflammation and Angiogenesis: The Role of Cells and Inflammatory Factors. J Isfahan Med Sch 2016; 34(384): 612-622 (Persian).
26. Chokpaisarn J, Urao N, Voravuthikunchai SP, Koh TJ. Quercus infectoria inhibits Set7/NF-_B inflammatory pathway in macrophages exposed to a diabetic environment. Cytokine 2017; 94: 29-36.
27. Nasiri M, Fayazi S, Jahani S, Yazdanpanah L, Haghighizadeh MH. The effect of topical olive oil on the healing of foot ulcer in patients with type 2 diabetes: a double-blind randomized clinical trial study in Iran. J Diabetes Metab Disord 2015; 14: 38.
28. Erdogan I, Bayraktar O, Uslu ME, Tuncel Ö. Wound Healing Effects of Various Fractions of Olive Leaf Extract (OLE) on Mouse Fibroblasts. Romanian Biotechnological Letters. 2018.
29. Baycin D, Altiok E, Üklu S, Bayraktar O. Adsorption of olive leaf (Olea europaea L.) antioxidants on silk fibroin. J Agric Food Chem 2007; 55(4): 1227-1236.
30. Markin D, Duek L, Berdicevsky I. *In vitro* antimicrobial activity of olive leaves. Mycoses 2003; 46(3-4): 132-136.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-06]