

## مطالعه هیستومتری و هیستوپاتولوژی اثرات التیامی عصاره الکلی دانه سفید انار کلود و نانو ذرات اکسید روی بر ترمیم زخم پوستی در موش صحرایی

نویسنده اول\*،<sup>۱</sup> نویسنده دوم<sup>۲</sup>، نویسنده سوم<sup>۳</sup>

۱- خانم پریا محمدی divar71@yahoo.com

۲- آقای علی رضایی arezaie1@gmail.com

۳- آقای داریوش مهاجری daryoushmohajeri@yahoo.com

### خلاصه

پوست وسیع ترین عضو از نظر سطح در بدن می باشد و دارای عملکردهای گوناگونی است. یکی از شایع ترین آسیب های وارده به پوست، زخمهای باز ناشی از برش و جراحات می باشد. یکی از مهمترین موضوعات برای پژوهشگران همواره یافتن راهی برای ترمیم زخم بوده است. امروزه، درمان گیاهی به خاطر احتمال بروز اثرات جانبی کمتر بسیار مورد بررسی پژوهشگران در زمینه ی ترمیم زخم می باشد. عصاره دانه سفید انار کلود به علت داشتن خواص ضد باکتریایی، ضدالتهابی احتمالاً در ترمیم زخم موثر است. از سوی دیگر برخی مطالعات نشان دهنده ی خاصیت ضد باکتریایی نانوذرات اکسید روی در مصرف موضعی بوده و باعث کاهش آلودگی و عفونت در زخم میشود و اپیتلیزاسیون مجدد را به عنوان مهمترین مکانیسم بهبود زخم در این ماده پیشنهاد میکنند. در این تحقیق سعی شد تا اثرات التیامی مربوط به نانو ذرات اکسید روی به صورت پماد، عصاره الکلی دانه سفید انار کلود به صورت پماد و پماد ترکیبی این دو نسبت به اثرات گروه کنترل و اوسرین بررسی شود. در این مطالعه بیست و پنج موش سوری انتخاب شدند و به طور تصادفی در پنج گروه درمانی قرار گرفتند. گروه اول هیچ دارویی دریافت نکرد، گروه دوم پماد اوسرین، گروه سوم عصاره الکلی دانه سفید انار به صورت پماد، گروه چهارم نانوذرات اکسید روی به صورت پماد و گروه پنجم عصاره الکلی دانه سفید انار به همراه نانوذرات اکسید روی دریافت کردند. از زخم های ایجاد شده در روزهای صفر، هفت، چهارده، بیست و یک عکس برداری شد و میزان بهبود زخم محاسبه گردید. در روزهای صفر، یک، سه، هفت، چهارده و بیست و یک موش ها به شیوهای بدون درد کشته شدند و از زخم ها نمونه برداری انجام شد. بررسی های هیستوپاتولوژیک بر روی نمونه های جمع آوری شده از زخم انجام شد. در پایان مطالعه میزان سلول های تک هسته ای، چند هسته ای، فیبروبلاست و عروق زایی در گروه پنجم کم تر از سایر گروه ها بود. روند انقباض زخم در گروه پنجم نسبت به سایر گروه ها بیش بود. علی رغم این که در گروه پنجم و چهارم روند انقباض زخم با شدت شدت بیش تری نسبت به سایر گروه ها داشت. بهبودی کامل زخم در روز ۲۱ فقط در گروه پنجم مشاهده شد. در این مطالعه، کاربرد موضعی عصاره ی دانه سفید انار به همراه عصاره نانو ذرات اکسید روی تاثیر مثبتی بر مراحل ترمیم زخم در موش داشت و بنابراین شاید نقش سودمندی بر ترمیم زخم داشته باشد.

**کلمات کلیدی:** هیستوپاتولوژی، التیام زخم، عصاره الکلی دانه سفید انار، نانوذرات اکسید روی، موش سوری.

## ۱. مقدمه

ترمیم زخم روندی است که فوراً پس از جراحی شروع می شود و در طول جراحی بافت تخریب شده، رگ های خونی به آزاد کردن پلاک های خون پرداخته و سلول های خونی به داخل محل جراحی آزاد می شوند. اولین علامت جراحی زخم آزاد کردن ملکول هایی مانند ATP و آشکار شدن کلاژن در دیواره مویرگ های خونی است. فرایندهای عمومی التیام زخم دارای سه مرحله ی عمده می باشند که در طی روند التیام زخم تعریف شده است که شامل فرایندهای التیامی، تشکیل بافت پوششی و جمع شدن زخم می باشد. فرایندهای التیامی طی چهار مرحله رخ می دهد. در طی مرحله ی اول یا خون بندی آسیب های ایجاد شده محدود می شود. لخته یک بستر اولیه ی مناسب برای انتقال سلول ها به ناحیه ی زخم را فراهم می کند. در مرحله ی دوم التهاب رخ می دهد، در این مرحله با افزایش جریان خون در ناحیه ی زخم شده و ورود رده های مختلف گلبول های سفید بافت های آسیب دیده حذف می شود و از زخم در برابر میکروارگانیسم ها محافظت می شود. در مرحله ی تکثیر و تزايد سلولی با همکاری فیبروبلاست ها یک بافت فیبرینی که در واقع همان بافت جوانه ای است در محل زخم تشکیل می شود و به طور همزمان سلول های اپیتلیال از لبه های زخم شروع به تکثیر می کنند. در مرحله ی پایانی بلوغ زخم رخ می دهد. محصول نهایی فرایندهای التیامی بافت اسکار است که می تواند به سه شکل اسکار آتروفیک، هایپر تروفیک و یا کلویید باشد [۱]. پیشرفت های بسیاری در مدیریت زخم های جراحی و روشهای مختلف شامل تکنیک های آسپتیک، آنتی بیوتیک پروفیلاکتیک و جراحی لاپاروسکوپی به کار گرفته شده است. عفونت زخم جراحی و آسیب زخم، عوارض ناشی از جراحی را باقی می گذارد [۲].

انار با نام علمی *Punica granatum L.* یکی از اعضای تیره انار (Punicaceae) است که خاستگاه آن را ایران و کشورهای همجوارش دانسته اند [۳-۴-۵]. تعداد ارقام این گیاه مثمر، بسیار متعدد گزارش شده است و بالغ بر ۱۰۰۰ رقم بر شمرده اند [۶-۷-۸]؛ در حالی که این رقم بر مبنای آخرین گزارش ها در کشور، بیش از ۷۶۰ رقم است [۳-۷-۸-۹]. میوه خوراکی در این گیاه نوعی سته به نام بالوستا است [۳-۸-۹]. پوست میوه این گیاه چرمی و تا اندازه های ضخیم است که تعداد زیادی دانه های گوشتی موسوم به آریل را در برمی گیرد [۱۰]. میوه سه بخش را شامل می شود: دانه ها، که حدود ۳ درصد وزن میوه را تشکیل می دهند و حاوی ۲۰ درصد روغن هستند؛ آب میوه، که حدود ۳۰ درصد وزن میوه را تشکیل می دهد و پوست میوه که با بخش های گوشتی متصل شده به دانه ها، پوست خوانده می شود. میوه انار در دنیا به صورت مختلف همچون تازه خوری یا به شکل فرآوری شده همانند آب میوه، رب، روغن هسته، سرکه، اناردانه و غیره مصرف می شود [۳-۱۰].

انار، زیتون، انجیر و انگور اولین گیاهانی بودند که توسط انسان کشت و کار شده اند. انار یکی از قدیمی ترین میوه جات خوراکی است که در قرآن، انجیل و تورات از آن نام برده شده است [۱۱]. انار را مظهر حیات، طول عمر، سلامت، ظرافت، باروری، آگاهی، اخلاق، جاودانگی و معنویت می دانند [۱۲]. در فرهنگ مصر قدیم، میوه انار به عنوان مظهري از موفقیت و بلندهمتی شناخته می شد [۱۰]. در طب سنتی، اجزای مختلف این گیاه اثرات درمانی متعددی داشته اند. از قدیم الایام در کشورمان از ریشه این گیاه به عنوان دافع کرم استفاده می شده است [۳]. در طب سنتی هند، انار را می دانستند و پوست و ریشه های آن را برای دفع کرم استفاده می کرده اند. پوست میوه آن یک قابض قوی است و برای معالجه اسهال به کار می رفته است و آب میوه آن به عنوان تب بر و نیروبخش (مقوی) مورد استفاده قرار می گرفته است [۱۳]. برخی مولفین [۱۴-۱۵-۱۶]. معتقدند که جوشانده پوست خشک شده انار در آب، برای استعمال داخلی و خارجی آسیب دیدگی های متعدد که مستلزم قابض بودن و یا میکروب کشی بودند، بویژه برای آفت، اسهال و کور کها مفید است. فرآورده های به دست آمده از مخلوطی از دانه، آب میوه و پوست نه تنها باعث جلوگیری از سقط جنین نمی شود، بلکه باعث حاملگی می شود [۱۷]. در طب سنتی یونان، گل های انار برای درمان دیابت به کار می رفته است [۱۸]. کاربردهای نوین فرآورده های مشتق شده از انار امروزه برای درمان سندرم ایدز (AIDS) [۱۹] به کار می رود؛ همچنین برای استفاده زیباسازی و

افزایش زیبایی [۱۹]، درمان جایگزین هورمون [۲۰]، تشخیص علائم حساسیت [۲۱]، حفاظت عروق قلبی [۲۲-۲۳]، بهداشت دهان و دندان [۲۴]، پماد های چشمی [۲۵] و صابون کاهش وزن [۲۶] مورد استفاده قرار می گیرد. طی چند دهه گذشته، در زمینه تحول دارو با استفاده از سیستم های انتقال ذرات به عنوان حامل های مولکول های کوچک و بزرگ، علاقه قابل توجهی در تحقیقات وجود داشته است. سیستم های ذره ای مانند نانوذرات به عنوان یک رویکرد فیزیکی برای تغییر و بهبود خواص فارماکوکینتیک و فارماکودینامیکی انواع مختلف مولکول های دارویی استفاده شده است [۲۷]. فناوری نانو علم به کنترل درآوردن خصوصیات منحصر به فرد شیمیایی، فیزیکی و زیستی مواد در مقیاس نانو و به کار گیری آن ها در مسیر های بنیادی و جدید است. فناوری نانو می تواند اهمیت به سزایی در بسیاری از زمینه ها از جمله تصویربرداری، داروسازی و مهندسی بافت داشته باشد. کاربرد فناوری نانو در دامپزشکی و تولید مثل حیوانات و در سایر زمینه ها گزارش شده است [۲۸]. فناوری نانو در دامپزشکی با تاکید بیشتر بر بیوسنسورها، داروسازی، دستگاه های شیمی درمانی و همچنین سازوکار های مواد نانو برای تشخیص، درمان و ردیابی بیماری ها کاربرد داشته است. فناوری نانو فهم و به کارگیری خواص جدیدی از مواد و ذرات در ابعاد ۱ تا ۱۰۰ نانومتر است که اثرات فیزیکی جدیدی عمدتاً متأثر از غلبه خواص کوانتومی بر خواص کلاسیک از خود نشان می دهند. با توجه به ویژگی ها و مواد متنوع و مؤثر بر ترمیم زخم که در دانه سفید انار موجود است، هدف این مطالعه، بررسی اثر التیامی عصاره ی دانه سفید انار به همراه نانو ذرات اکسید روی بر التیام زخم تجربی تمام ضخامت در موش سوری است.

## ۲. مواد و روش کار

دانه های سفید انار از میوه جدا شد و در دمای اتاق (۲۴ درجه سانتی گراد) در سایه خشک شد. دانه های خشک شده توسط دستگاه آسیاب برقی آسیاب و به حالت پودری تبدیل شدند. در ادامه، عصاره ی الکلی (الکل اتیلیک) به روش معمول به دست آمد [۲۹]. برای اجرای این مطالعه، تعداد ۲۵ سر موش سوری تهیه و در قفس های انفرادی نگهداری شدند. سپس موش ها به ۵ گروه شامل گروه اول هیچ دارویی دریافت نکرد، گروه دوم پماد اوسرین، گروه سوم عصاره الکلی دانه سفید انار به صورت پماد، گروه چهارم نانوذرات اکسید روی به صورت پماد و گروه پنجم عصاره الکلی دانه سفید انار به همراه نانوذرات اکسید روی تقسیم شدند. در گروه کنترل سالیین، پس از وزن کردن هر موش ( میانگین وزن ۲۵ گرم) با توجه به دوز داروی بی هوشی برای موش سوری کتامین  $50 \text{ mg/kg}$  + زایلازین  $5 \text{ mg/kg}$  [30] به صورت داخل صفاقی و با استفاده از سرنگ انسولین تزریق صورت گرفت. پس از بیهوشی، ناحیه پشت گردن و بین دو کتف حیوان به وسعت  $2.5 \times 2.5$  سانتی متر موزنی و توسط بتادین اسکراب و برای برش جراحی و برداشت یک قطعه دایره ای پوست به قطر ۲ سانتی متر آماده سازی شد. پس از برداشت پوست با تمام ضخامت (اپیدرم و درم) موضع عمل با سرم فیزیولوژی استریل تحت درمان قرار گرفت. این پروسه ی درمانی برای کلیه ۱۲ سر موش پس از اجرای عملیات جراحی صورت گرفت (۱۲ سر موش هر گروه خود نیز به سه زیرگروه ۷، ۱۴ و ۲۱ روز پس از جراحی تقسیم شدند). پس از خاتمه هر دوره ی درمانی در هر گروه، موش ها با استفاده از اثر آسان کشی گردیده و از موضع زخم به همراه  $0.5$  سانتی متر از پوست اطراف، برداشته شد و در فرمالین ۱۰ درصد نگهداری و به آزمایشگاه هیستوپاتولوژی ارسال شد. در گروه های کنترل اسرین و آزمایش، کلیه عملیات انجام شده و مدت زمان درمان همان بود که در گروه کنترل سالیین صورت گرفت با این تفاوت که درمان به ترتیب با اسرین و پایه ی پماد اسرین محتوی عصاره ی دانه ی سفید انار انجام شد. حجم مصرفی سرم فیزیولوژی به گونه ای بود تا موضع زخم از آلودگی های احتمالی پاک سازی شود. همچنین حجم یکسانی از اسرین و اسرین محتوی دانه ی سفید انار استفاده می شد و به صورت لایه ای نازک تمامی موضع زخم را می پوشاند. نمونه گیری نیز به همان روش دو گروه قبل صورت پذیرفت. نمونه های ارسال شده به آزمایشگاه پاتولوژی، پس از رنگ آمیزی به روش هماتوکسیلین - ائوزین، مورد ارزیابی کیفی و کمی قرار گرفتند. در درجه بندی هیستوپاتولوژی، پارامترهای مؤثر بر ترمیم زخم [31] مورد استفاده قرار گرفت و میزان

تشکیل اپیتلیوم، عروق زایی، تشکیل رشته های کلاژن و حضور یا عدم حضور سلول های التهابی مورد بررسی قرار گرفت. معیارهای مذکور به صورت - (عدم حضور)، +۱ (خیلی کم)، +۲ (کم)، +۳ (متوسط) و +۴ (زیاد) امتیازدهی شدند. همچنین سطح زخم در روزهای ۷، ۱۴ و ۲۱ بعد از ایجاد زخم و با استفاده از نرم افزار Image J با واحد  $mm^2$  اندازه گیری شد. درصد بهبودی زخم طبق فرمول ذیل محاسبه شده:

$$(1) \quad \text{درصد بهبودی} = \frac{\text{سطح زخم در روز مورد نظر} - \text{سطح زخم در روز اول}}{\text{سطح زخم در روز اول}} \times 100$$

### ۳. ارزیابی کمی

در مشاهدات ریزبینی از محل ترمیم زخم پوست در روز ۷ از گروه شاهد، قسمت اعظم سطح زخم توسط دلمه های متشکل از لخته خون حاوی فیبرین و سلول های خونی، سلول های آماسی و بقایای بافت های نکروتیک پوشیده شده بود. حضور مقدار زیادی از پرگنه های میکروبی نیز در سطح دلمه روی زخم کاملاً مشخص بود. فضای زیر دلمه توسط بافت همبند سست اشغال شده بود. حضور سلول های آماسی نوع حاد به فراوانی نیز در زیر دلمه و همچنین خود بافت همبند مستقر در فضای زخم مشخص بود. بافت پوششی سنگفرشی که با ایجاد جونه پوششی شروع به نوزایش کرده بود، از سطح زیر دلمه در حال گسترش به طرف سطح زخم بود (شکل ۱).

در مشاهدات ریزبینی از محل ترمیم زخم پوست در روز ۷ از گروه تیمار با اوسرین، قسمت اعظم سطح زخم همانند گروه شاهد در این دوره توسط دلمه های متشکل از لخته خون حاوی فیبرین منعقد، سلول های آماسی و بقایای بافت های نکروتیک پوشیده شده بود. فضای زخم به طور کامل توسط نسج گرانولاسیون جوان و تازه تشکیل اشغال شده بود. سلول های آماسی نوع حاد نیز عمدتاً در قسمت های سطحی زخم و زیر دلمه دیده می شدند، هرچند که در بافت های عمقی تر زخم نیز به وفور قابل مشاهده بودند. بافت پوششی سنگفرشی نیز با ایجاد جوانه پوششی شروع به نوزایش کرده و از سطح زیر دلمه در حال گسترش به سمت سطح زخم بود (شکل ۲).

مشاهدات میکروسکوپی از محل ترمیم زخم پوست در روز ۷ از گروه تیمار با نانوذرات اکسید روی، نشان داد که قسمت اعظم سطح زخم همانند گروه های قبلی (شاهد و تیمار با اوسرین) توسط دلمه حاوی لخته خون متشکل از فیبرین و سلول های خونی و همچنین سلول های آماسی و بافت های نکروتیک پوشیده شده است. فضای زخم به طور کامل توسط جوانه گوشتی جوان پر عروق و پرسلول اشغال شده بود. از شدت حضور سلول های آماسی نسبت به گروه تیمار با اوسرین کاسته شده بود. جوانه پوششی نسبت به گروه تیمار با اوسرین ضخامت و توسعه بیشتری یافته و از سطح زیر دلمه در حال گسترش به طرف سطح زخم بود (شکل ۳).

در مشاهدات میکروسکوپی از محل ترمیم زخم پوست در روز ۷ از گروه تیمار با عصاره دانه سفید انار، قسمت زیادی از سطح زخم توسط دلمه حاوی لخته خون متشکل از فیبرین و سلول های خونی و همچنین سلول های آماسی و بافت های نکروتیک پوشیده شده بود. فضای زخم به طور کامل توسط جوانه گوشتی پرسلول و جوان پر شده بود و نسبت به گروه های قبلی (شاهد، اوسرین و نانوذرات اکسید روی) توسعه بیشتری یافته بود. پرخونی مشخصی در عروق نوساز داخل جوانه گوشتی مشاهده می شد. از شدت حضور سلول های آماسی نیز نسبت به گروه تیمار با نانوذرات اکسید روی کاسته شده بود. بافت پوششی سنگفرشی نسبت به گروه تیمار با نانوذرات اکسید روی رشد بیشتری داشته و از سطح زیر دلمه در حال گسترش به طرف سطح زخم بود (شکل ۴).

در مشاهدات ریزبینی محل ترمیم زخم پوست در روز ۷ از گروه تیمار با عصاره دانه سفید انار+نانوذرات اکسید روی، قسمت های زیادی از دلمه از سطح زخم جدا گردیده بود و سطح زخم عمدتاً توسط بقایای بافت های نکروتیک و سلول های آماسی پوشیده شده بود. فضای زخم به طور کامل توسط جوانه گوشتی پر عروق و پرسلول جوان پر شده بود و نسبت به

گروه‌های قبلی توسعه یافته‌تر بود. پرخونی مشخصی نیز در عروق نوساز داخل جوانه گوشتی مشاهده می‌شد. از شدت حضور سلول‌های آماسی هم نسبت به گروه تیمار با عصاره دانه سفید انار کاسته شده بود. بافت پوششی نیز همچنان در حال گسترش در سطح زخم بود و نسبت به گروه تیمار با عصاره دانه سفید انار رشد بیشتری داشت (شکل ۵).

مطالعات ریزبینی محل ترمیم زخم پوست در روز ۱۴ از گروه شاهد نشان داد که قسمت زیادی از سطح زخم همچنان توسط دلمه حاوی لخته خون متشکل از فیبرین و سلول‌های خونی و همچنین تعداد زیادی از سلول‌های آماسی و بافت‌های نکروتیک پوشیده شده است. فضای زخم نیز به‌طور کامل توسط جوانه گوشتی پر عروق و پرسلول جوان اشغال شده بود. سلول‌های آماسی زیادی در سطح زیر دلمه و همچنین خود بافت جوانه گوشتی قابل مشاهده بودند. بافت پوششی سنگفرشی نیز از سطح زیر دلمه در حال گسترش به‌طرف سطح زخم بود (شکل ۶).

در ارزیابی میکروسکوپی محل ترمیم زخم پوست در روز ۱۴ از گروه تیمار با اوسرین قسمت قابل توجهی از سطح زخم هنوز توسط دلمه حاوی لخته خون متشکل از فیبرین و سلول‌های خونی و همچنین تعداد زیادی از سلول‌های آماسی و بافت‌های نکروتیک پوشیده شده بود. فضای زخم نیز به‌طور کامل توسط جوانه گوشتی پر عروق و پرسلول جوان اشغال شده بود و پرخونی مشخصی در عروق نوساز موجود در آن مشاهده می‌شد. از میزان سلول‌های آماسی سطح زیر دلمه و خود بافت جوانه گوشتی نسبت به گروه شاهد کاسته شده بود. بافت پوششی سنگفرشی نیز همچنان به سمت سطح زخم در حال گسترش بود (شکل ۷).

در مشاهدات ریزبینی محل ترمیم زخم پوست در روز ۱۴ از گروه تیمار با نانوذرات اکسید روی، قسمت‌هایی از دلمه سطح زخم جدا شده بود لکن قسمت زیادی از سطح زخم همچنان توسط دلمه حاوی لخته خون متشکل از فیبرین و سلول‌های خونی و همچنین تعداد زیادی از سلول‌های آماسی و بافت‌های نکروتیک پوشیده شده بود. همانند گروه تیمار با اوسرین فضای زخم به‌طور کامل توسط جوانه گوشتی پر عروق و پرسلول جوان اشغال شده بود و تفاوت قابل ملاحظه‌ای با این گروه در آن مشاهده نمی‌شد. از میزان سلول‌های آماسی سطح زیر دلمه و خود بافت جوانه گوشتی نسبت به گروه‌های شاهد و تیمار با اوسرین کاسته شده بود. بافت پوششی سنگفرشی نیز به سمت سطح زخم در حال گسترش بود و نسبت به دو گروه قبل رشد بیشتری داشت و بیش از نصف سطح زخم را پوشش داده بود (شکل ۸).

مطالعات میکروسکوپی محل ترمیم زخم پوست در روز ۱۴ از گروه تیمار با عصاره دانه سفید انار نشان داد که قسمت‌هایی از سطح زخم توسط دلمه حاوی لخته خون متشکل از فیبرین و سلول‌های خونی و همچنین تعداد زیادی از سلول‌های آماسی و بافت‌های نکروتیک پوشیده شده است. فضای زخم که توسط نسج گرانولاسیون جوان اشغال شده است، نسبت به گروه تیمار با نانوذرات اکسید روی از نظم بیشتری برخوردار بود. از میزان سلول‌های آماسی سطح زیر دلمه و خود بافت جوانه گوشتی نسبت به گروه تیمار با نانوذرات اکسید روی به خوبی کاسته شده بود. بافت پوششی سنگفرشی نیز از زیر دلمه به سمت سطح زخم در حال گسترش بود و نسبت به گروه تیمار با نانوذرات اکسید روی سطح بیشتری از زخم را پوشش داده بود (شکل ۹).

مشاهدات میکروسکوپی محل ترمیم زخم پوست در روز ۱۴ از گروه تیمار با عصاره دانه سفید انار+نانوذرات اکسید روی نشان داد که دلمه از سطح زخم جدا گردیده و فضای زخم توسط نسج گرانولاسیون که نسبت به گروه تیمار با عصاره دانه سفید انار نظم و سازمان‌یافتگی بیشتری داشت، اشغال شده است. از میزان سلول‌های آماسی نسبت به گروه تیمار با عصاره دانه سفید نیز به خوبی کاسته شده بود. بافت پوششی سنگفرشی که به سمت سطح زخم در حال گسترش بود سطح بیشتری از زخم را پوشش داده بود لکن نسبت به گروه تیمار با عصاره دانه سفید انار تفاوت چندانی نداشت (شکل ۱۰).

بررسی میکروسکوپی محل ترمیم زخم پوست در روز ۲۱ از گروه شاهد نشان داد که بافت پوششی سنگفرشی با گسترش از دوطرف سطح زخم، قسمت اعظم آنرا پوشش داده است و قسمت باقیمانده در قسمتی توسط دلمه متشکل از لخته خون، بقایای بافت‌های نکروتیک و تعداد اندکی از سلول‌های پوشیده شده است. فضای زخم به‌طور کامل توسط نسج گرانولاسیون جوان پر عروق و پرسلول اشغال شده بود و پرخونی مشخصی در عروق آن مشاهده می‌شد. سلول‌های آماسی نیز به‌طور

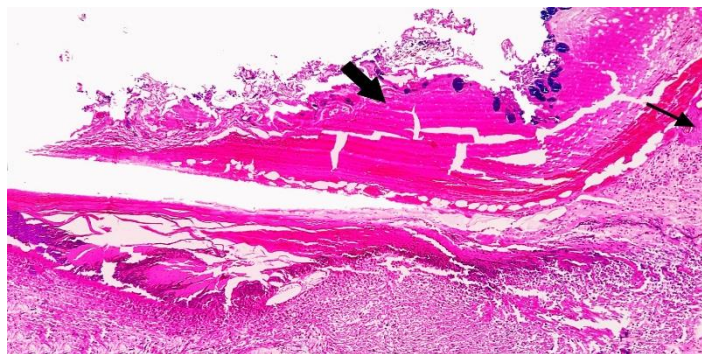
منتشر در نسج گرانولاسیون قابل مشاهده بودند (شکل ۱۱).

مشاهدات ریزبینی محل ترمیم زخم پوست در روز ۲۱ از گروه تیمار با اوسرین، مشخص کرد که بافت پوششی سنگفرشی با گسترش از دوطرف سطح زخم، بیش از نصف سطح زخم را پوشش داده است. فضای زخم به طور کامل توسط نسج گرانولاسیون جوان پر عروق و پرسلول اشغال شده است و رشته‌های کلاژن موجود در آن نسبت به گروه شاهد ضخیم‌تر گردیده و از نظم بیشتری برخوردار بودند. سلول‌های آماسی نیز به طور منتشر در نسج گرانولاسیون قابل مشاهده بودند اما از شدت حضور آن‌ها نسبت به گروه شاهد در این دوره کاسته شده بود. عروق نوساز نسج گرانولاسیون هم در قسمت‌های عمقی‌تر از پرخونی نسبی برخوردار بودند (شکل ۱۲).

ارزیابی میکروسکوپی محل ترمیم زخم پوست در روز ۲۱ از گروه تیمار با نانوذرات اکسید روی. بافت پوششی سنگفرشی با گسترش از دوطرف سطح زخم، قسمت اعظم آنرا (بیش از سه چهارم) پوشش داده و قسمت اندکی از آن فاقد بافت پوششی می‌باشد. فضای زخم به طور کامل توسط نسج گرانولاسیون جوان پر عروق و پرسلول اشغال شده بود و رشته‌های کلاژن موجود در آن نسبت به گروه تیمار با اوسرین ضخیم‌تر و سازمان‌یافته‌تر بوده و از بلوغ بیشتری برخوردار بود. از حضور سلول‌های آماسی نیز همانند گروه تیمار با اوسرین به خوبی کاسته شده بود. عروق نوساز نسج گرانولاسیون در قسمت‌های عمقی‌تر همانند گروه تیمار با اوسرین همچنان از پرخونی نسبی برخوردار بودند (شکل ۱۳).

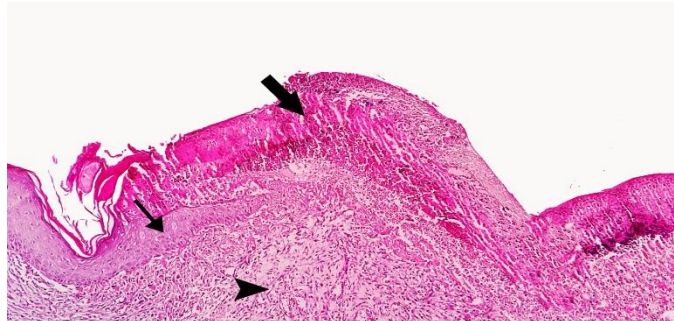
بررسی ریزبینی محل ترمیم زخم پوست در روز ۲۱ از گروه تیمار با عصاره دانه سفید انار نشان داد که بافت پوششی سنگفرشی نوبنیاد نسبتاً منظمی سطح زخم را به طور کامل پوشش داده است. فضای زخم به طور کامل توسط نسج گرانولاسیون نسبتاً بالغ و رشته‌های فیبروزی اشغال شده بود. از حضور سلول‌های آماسی نیز به شدت کاسته شده و به ندرت قابل مشاهده بودند و پرخونی خفیف تا متوسطی در عروق نواحی اطراف منطقه ترمیم مشاهده می‌شد (شکل ۱۴).

مشاهدات میکروسکوپی محل ترمیم زخم پوست در روز ۲۱ از گروه تیمار با عصاره دانه سفید انار+نانوذرات اکسید روی نشان داد بافت پوششی سنگفرشی نوبنیاد که سطح زخم را به طور کامل پوشش داده است نسبت به گروه تیمار با عصاره دانه سفید انار ضخیم‌تر بوده و از نظم و سازمان‌یافتگی بیشتری برخوردار است. فضای زخم به طور کامل توسط نسج گرانولاسیون بالغ با رشته‌های فیبروزی مشخصی اشغال شده است و رشته‌های کلاژن موجود در آن نسبت به گروه تیمار با عصاره دانه سفید انار ضخیم‌تر و سازمان‌یافته‌تر هستند. پرخونی قابل مشاهده نبوده و سلول‌های آماسی نیز قابل ملاحظه نیستند (شکل ۱۵). مقایسه رتبه‌ای تغییرات بافتی ترمیم بین گروه‌های مورد مطالعه در طی دوره آزمایش در جداول ۱ تا ۳ آورده شده است.

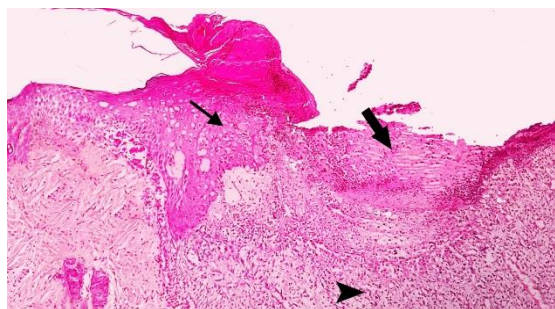


شکل ۱. نمای ریزبینی از محل ترمیم زخم پوست در روز ۷ از گروه شاهد. سطح زخم توسط دلمه‌ای (پیکان ضخیم) متشکل از لخته خون حاوی فیبرین و سلول‌های خونی، سلول‌های آماسی و بقایای بافت‌های نکروتیک پوشیده شده است. حضور پرگنه‌های میکروبی در سطح دلمه روی زخم مشخص می‌باشد. فضای زیر دلمه توسط بافت همبند سست اشغال شده است. حضور سلول‌های آماسی نوع حاد به فراوانی نیز در زیر دلمه و همچنین خود بافت همبند مشخص می‌باشد. بافت پوششی سنگفرشی که با ایجاد جونه پوششی (پیکان نازک) شروع به نوزایش کرده و از سطح زیر دلمه در حال

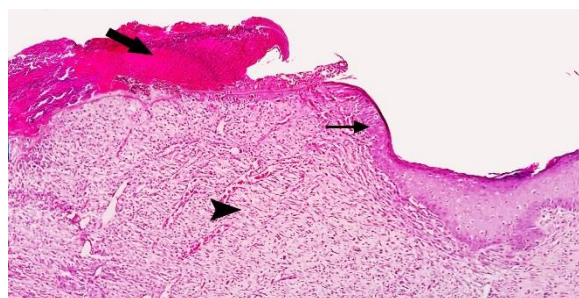
گسترش به طرف سطح زخم می‌باشد قابل مشاهده است (هماتوکسیلین-اُئوزین، بزرگنمایی  $\times 100$ ).



شکل ۲. نمای ریزبینی از محل ترمیم زخم پوست در روز ۷ از گروه تیمار با اوسرین. سطح زخم توسط دلمه‌ای (پیکان ضخیم) متشکل از لخته خون حاوی فیبرین منعقد، سلول‌های آماسی و بقایای بافت‌های نکروتیک پوشیده شده است. فضای زخم به طور کامل توسط نسج گرانولاسیون جوان (نوک پیکان) پر شده است. حضور سلول‌های آماسی نوع حاد نیز عمدتاً محدود به قسمت‌های سطحی زخم و زیر دلمه می‌باشد. هرچند در بافت‌های عمقی تر هم قابل مشاهده هستند. بافت پوششی سنگفرشی که با ایجاد جونه پوششی (پیکان نازک) شروع به نوزایش کرده و از سطح زیر دلمه در حال گسترش به طرف سطح زخم می‌باشد (هماتوکسیلین-اُئوزین، بزرگنمایی  $\times 100$ ).

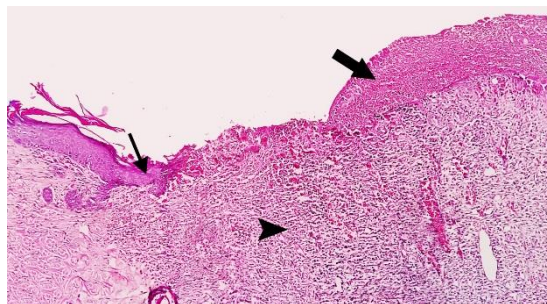


شکل ۳. نمای ریزبینی از محل ترمیم زخم پوست در روز ۷ از گروه تیمار با نانوذرات اکسید روی. سطح زخم توسط دلمه (پیکان ضخیم) حاوی لخته خون متشکل از فیبرین و سلول‌های خونی و همچنین سلول‌های آماسی و بافت‌های نکروتیک پوشیده شده است. فضای زخم به طور کامل توسط جوانه گوشتی پرسلول و جوان (نوک پیکان) پر شده است. از شدت حضور سلول‌های آماسی نسبت به گروه تیمار با اوسرین کاسته شده است. بافت پوششی سنگفرشی که با ایجاد جوانه پوششی (پیکان نازک) شروع به نوزایش کرده نسبت به گروه تیمار با اوسرین ضخامت و توسعه بیشتری یافته و از سطح زیر دلمه در حال گسترش به طرف سطح زخم می‌باشد (هماتوکسیلین-اُئوزین، بزرگنمایی  $\times 100$ ).

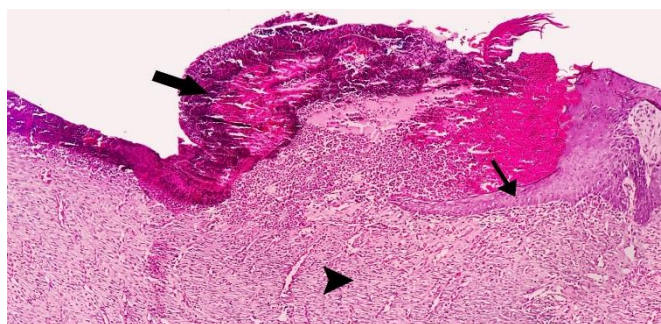


شکل ۴. نمای ریزبینی از محل ترمیم زخم پوست در روز ۷ از گروه تیمار با عصاره دانه سفید انار. سطح زخم توسط دلمه (پیکان ضخیم) حاوی لخته خون متشکل از فیبرین و سلول‌های خونی و همچنین سلول‌های آماسی و بافت‌های

نکروتیک پوشیده شده است. فضای زخم به طور کامل توسط جوانه گوشتی پرسلول و جوان (نوک پیکان) پر شده است و پرخونی مشخصی در عروق نوساز داخل جوانه گوشتی مشاهده می شود. از شدت حضور سلول های آماسی نسبت به گروه تیمار با نانوذرات اکسید روی کاسته شده است. بافت پوششی سنگفرشی (پیکان نازک) نسبت به گروه تیمار با با نانوذرات اکسید روی رشد بیشتری داشته و از سطح زیر دلمه در حال گسترش به طرف سطح زخم می باشد (هماتوکسیلین-ائوزین، بزرگنمایی ۱۰۰×).

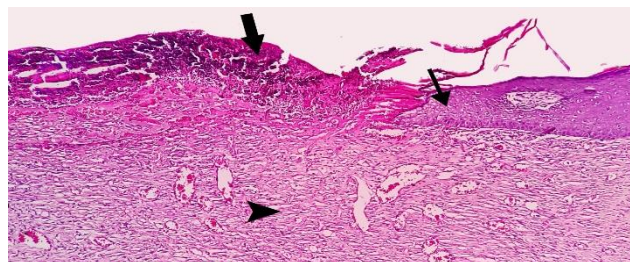


شکل ۵. نمای ریزبینی از محل ترمیم زخم پوست در روز ۷ از گروه تیمار با عصاره دانه سفید انار+نانوذرات اکسید روی. دلمه از سطح زخم جدا گردیده و سطح زخم عمدتاً توسط بقایای بافت های نکروتیک و سلول های آماسی پوشیده شده است. فضای زخم به طور کامل توسط جوانه گوشتی پر عروق و پرسلول جوان پر شده است و پرخونی مشخصی در عروق نوساز داخل جوانه گوشتی مشاهده می شود. از شدت حضور سلول های آماسی نسبت به گروه تیمار با عصاره دانه سفید انار کاسته شده است. بافت پوششی سنگفرشی (پیکان) نیز در حال گسترش در سطح زخم می باشد (هماتوکسیلین-ائوزین، بزرگنمایی ۱۰۰×).

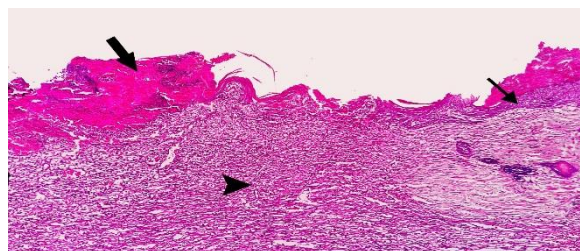


شکل ۶. نمای ریزبینی از محل ترمیم زخم پوست در روز ۱۴ از گروه شاهد. سطح زخم توسط دلمه (پیکان ضخیم) حاوی لخته خون متشکل از فیبرین و سلول های خونی و همچنین تعداد زیادی از سلول های آماسی و بافت های نکروتیک پوشیده شده است. فضای زخم به طور کامل توسط جوانه گوشتی پر عروق و پرسلول جوان (نوک پیکان) اشغال شده است. سلول های آماسی زیادی در سطح زیر دلمه و همچنین خود بافت جوانه گوشتی قابل مشاهده است. بافت پوششی سنگفرشی (پیکان نازک) از سطح زیر دلمه در حال گسترش به طرف سطح زخم می باشد (هماتوکسیلین-ائوزین، بزرگنمایی ۱۰۰×).

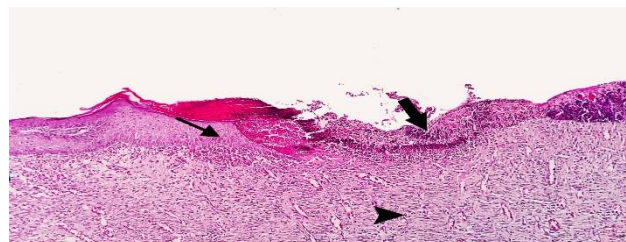




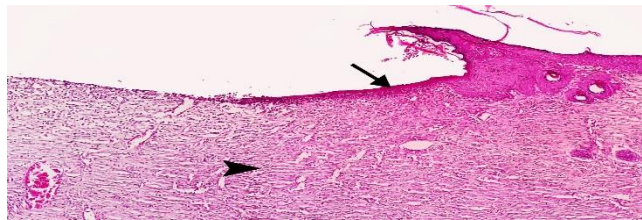
شکل ۷. نمای ریزبینی از محل ترمیم زخم پوست در روز ۱۴ از گروه تیمار با اوسرین. سطح زخم توسط دلمه (پیکان ضخیم) حاوی لخته خون متشکل از فیبرین و سلول‌های خونی و همچنین تعداد زیادی از سلول‌های آماسی و بافت‌های نکروتیک پوشیده شده است. فضای زخم به طور کامل توسط جوانه گوشتی پر عروق و پرسلول جوان (نوک پیکان) اشغال شده است. پر خونی مشخصی در عروق نوساز جوانه گوشتی مشاهده می‌شود. از میزان سلول‌های آماسی سطح زیر دلمه و خود بافت جوانه گوشتی نسبت به گروه شاهد کاسته شده است. بافت پوششی سنگفرشی (پیکان نازک) نیز به سمت سطح زخم در حال گسترش می‌باشد (هماتوکسیلین-ائوزین، بزرگنمایی  $\times 100$ ).



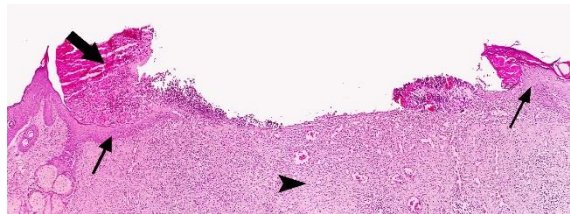
شکل ۸. نمای ریزبینی از محل ترمیم زخم پوست در روز ۱۴ از گروه تیمار با نانوذرات اکسید روی. قسمت‌هایی از دلمه (پیکان ضخیم) سطح زخم جدا شده لکن قسمت زیادی از سطح زخم توسط دلمه حاوی لخته خون متشکل از فیبرین و سلول‌های خونی و همچنین تعداد زیادی از سلول‌های آماسی و بافت‌های نکروتیک پوشیده شده است. فضای زخم به طور کامل توسط جوانه گوشتی پر عروق و پرسلول جوان (نوک پیکان) اشغال شده است. از میزان سلول‌های آماسی سطح زیر دلمه و خود بافت جوانه گوشتی نسبت به گروه شاهد کاسته شده است. بافت پوششی سنگفرشی (پیکان نازک) نیز به سمت سطح زخم در حال گسترش می‌باشد (هماتوکسیلین-ائوزین، بزرگنمایی  $\times 100$ ).



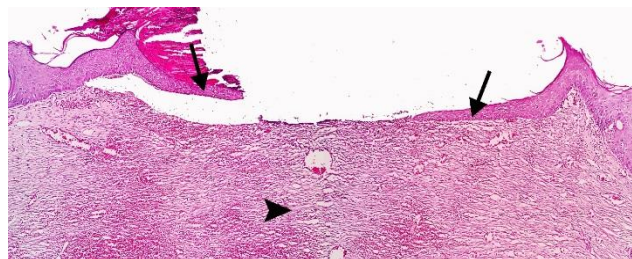
شکل ۹. نمای ریزبینی از محل ترمیم زخم پوست در روز ۱۴ از گروه تیمار با عصاره دانه سفید انار. سطح زخم توسط دلمه (پیکان ضخیم) حاوی لخته خون متشکل از فیبرین و سلول‌های خونی و همچنین تعداد زیادی از سلول‌های آماسی و بافت‌های نکروتیک پوشیده شده است. فضای زخم که توسط نسج گرانولاسیون جوان (نوک پیکان) اشغال شده است، نسبت به گروه تیمار با نانوذرات اکسید روی از نظم بیشتری برخوردار است. از میزان سلول‌های آماسی سطح زیر دلمه و خود بافت جوانه گوشتی نسبت به گروه تیمار با نانوذرات اکسید روی به خوبی کاسته شده است. بافت پوششی سنگفرشی (پیکان نازک) نیز از زیر دلمه به سمت سطح زخم در حال گسترش می‌باشد (هماتوکسیلین-ائوزین، بزرگنمایی  $\times 100$ ).



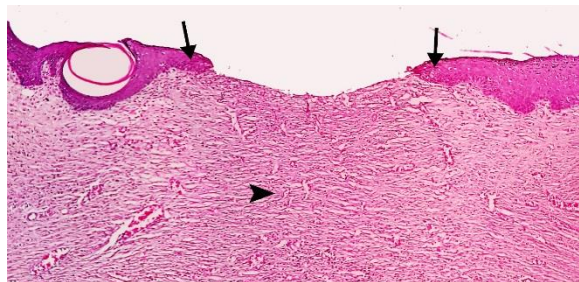
شکل ۱۰. نمای ریزبینی از محل ترمیم زخم پوست در روز ۱۴ از گروه تیمار با عصاره دانه سفید انار+نانوذرات اکسید روی. دلمه از سطح زخم جدا گردیده و فضای زخم توسط نسج گرانولاسیون (نوک پیکان) که نسبت به گروه تیمار با عصاره دانه سفید انار نظم و سازمان یافتگی بیشتری دارد، اشغال شده است. از میزان سلول‌های آماسی نسبت به گروه تیمار با عصاره دانه سفید به خوبی کاسته شده است. بافت پوششی سنگفرشی (پیکان) نیز به سمت سطح زخم در حال گسترش می‌باشد (هماتوکسیلین-اُئوزین، بزرگنمایی ۱۰۰×).



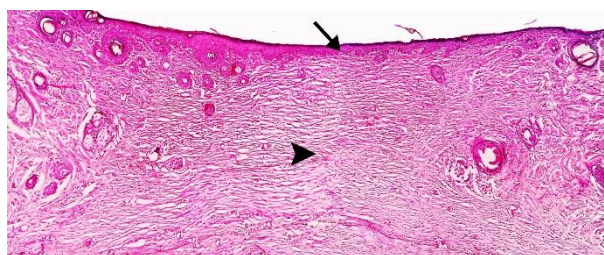
شکل ۱۱. نمای ریزبینی از محل ترمیم زخم پوست در روز ۲۱ از گروه شاهد. بافت پوششی سنگفرشی (پیکان‌های نازک) با گسترش از دو طرف سطح زخم، قسمت اعظم آنرا پوشش داده است و قسمت باقیمانده در قسمتی توسط دلمه (پیکان ضخیم) متشکل از لخته خون، بقایای بافت‌های نکروتیک و تعداد اندکی از سلول‌های پوشیده شده است. فضای زخم به‌طور کامل توسط نسج گرانولاسیون جوان پر عروق و پرسلول (نوک پیکان) اشغال شده است و پر خونی مشخصی در عروق آن مشاهده می‌شود. سلول‌های آماسی بطور منتشر در نسج گرانولاسیون قابل مشاهده می‌باشند. (هماتوکسیلین-اُئوزین، بزرگنمایی ۱۰۰×).



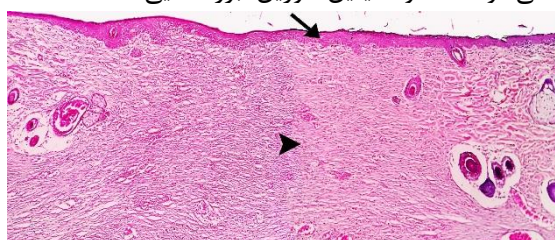
شکل ۱۲. نمای ریزبینی از محل ترمیم زخم پوست در روز ۲۱ از گروه تیمار با اوسرین. بافت پوششی سنگفرشی (پیکان‌های نازک) با گسترش از دو طرف سطح زخم، قسمت اعظم آنرا پوشش داده است. فضای زخم به‌طور کامل توسط نسج گرانولاسیون جوان پر عروق و پرسلول (نوک پیکان) اشغال شده است و رشته‌های کلاژن موجود در آن نسبت به گروه شاهد ضخیم‌تر گردیده و از نظم بیشتری برخوردار هستند. سلول‌های آماسی بطور منتشر در نسج گرانولاسیون قابل مشاهده می‌باشند. عروق نوساز نسج گرانولاسیون در قسمت‌های عمقی‌تر از پر خونی نسبی برخوردار هستند (هماتوکسیلین-اُئوزین، بزرگنمایی ۱۰۰×).



شکل ۱۳. نمای ریزبینی از محل ترمیم زخم پوست در روز ۲۱ از گروه تیمار با نانوذرات اکسید روی. بافت پوششی سنگفرشی (پیکان‌های نازک) با گسترش از دوطرف سطح زخم، قسمت اعظم آنرا پوشش داده و قسمت اندکی از آن فاقد بافت پوششی می‌باشد. فضای زخم به‌طور کامل توسط نسج گرانولاسیون جوان پر عروق و پرسلول (نوک پیکان) اشغال شده است و رشته‌های کلاژن موجود در آن نسبت به گروه تیمار با اوسرین ضخیم‌تر و سازمان‌یافته‌تر بوده و از بلوغ بیشتری برخوردار است. از حضور سلول‌های آماسی نیز به شدت کاسته شده است. عروق نوساز نسج گرانولاسیون در قسمت‌های عمقی‌تر همچنان از پرخونی نسبی برخوردار هستند (هماتوکسیلین-اُئوزین، بزرگنمایی  $\times 100$ ).



شکل ۱۴. نمای ریزبینی از محل ترمیم زخم پوست در روز ۲۱ از گروه تیمار با عصاره دانه سفید انار. بافت پوششی سنگفرشی نوبنیاد نسبتاً منظمی (پیکان نازک) سطح زخم را به‌طور کامل پوشش داده است. فضای زخم به‌طور کامل توسط نسج گرانولاسیون (نوک پیکان) نسبتاً بالغ و رشته‌های فیبروزی اشغال شده است. از حضور سلول‌های آماسی به شدت کاسته شده و به‌ندرت قابل مشاهده بوده و پرخونی خفیف تا متوسطی در عروق نواحی اطراف منطقه ترمیم مشاهده می‌شود (هماتوکسیلین-اُئوزین، بزرگنمایی  $\times 100$ ).



شکل ۱۵. نمای ریزبینی از محل ترمیم زخم پوست در روز ۲۱ از گروه تیمار با عصاره دانه سفید انار+نانوذرات اکسید روی. بافت پوششی سنگفرشی نوبنیاد (پیکان نازک) که سطح زخم را به‌طور کامل پوشش داده است نسبت به گروه تیمار با عصاره دانه سفید انار ضخیم‌تر بوده و از نظم و سازمان‌یافتگی بیشتری برخوردار است. فضای زخم به‌طور کامل توسط نسج گرانولاسیون (نوک پیکان) بالغ با رشته‌های فیبروزی مشخصی اشغال شده است و رشته‌های کلاژن موجود در آن نسبت به گروه تیمار با عصاره دانه سفید انار ضخیم‌تر و سازمان‌یافته‌تر هستند. پرخونی قابل مشاهده نبوده و سلول‌های آماسی نیز دیده نمی‌شوند (هماتوکسیلین-اُئوزین، بزرگنمایی  $\times 100$ ).

جدول ۱- مقایسه تغییرات پارامترهای ترمیم بین گروه‌های مورد مطالعه در روز ۷

نوزایش بافت پوششی	روند فیبروپلازی	کاهش آماس	میزان هموستاز	فراسنجه‌های ترمیم گروه
+	+	+	+	شاهد
+	+	+	+	تیمار با اوسرین
+	+ / ++	+ / ++	+ / ++	تیمار با نانوذرات اکسید روی
++	++	++ / +++	++ / +++	تیمار با عصاره دانه سفید انار
+++	+++	+++	+++	تیمار با عصاره دانه سفید انار + نانوذرات اکسید روی

جدول ۲- مقایسه تغییرات پارامترهای ترمیم بین گروه‌های مورد مطالعه در روز ۱۴

نوزایش بافت پوششی	روند فیبروپلازی	کاهش آماس	میزان هموستاز	فراسنجه‌های ترمیم گروه
++	++	+ / ++	+ / ++	شاهد
++	++	++	++	تیمار با اوسرین
++ / +++	++	++ / +++	++ / +++	تیمار با نانوذرات اکسید روی
+++	+++	+++	+++	تیمار با عصاره دانه سفید انار
+++	++++	++++	++++	تیمار با عصاره دانه سفید انار + نانوذرات اکسید روی

جدول ۳- مقایسه تغییرات پارامترهای ترمیم بین گروه‌های مورد مطالعه در روز ۲۱

نوزایش بافت پوششی	روند فیبروپلازی	کاهش آماس	میزان هموستاز	فراسنجه‌های ترمیم گروه
++ / +++	++ / +++	++	+++	شاهد
+++	+++	++ / +++	++ / +++	تیمار با اوسرین
++++	+++	++ / +++	+++ / ++++	تیمار با نانوذرات اکسید روی
+++++	+++ / ++++	+++ / ++++	++++	تیمار با عصاره دانه سفید انار
+++++	++++	++++	++++	تیمار با عصاره دانه سفید انار + نانوذرات اکسید روی

تفاوت‌های این سلول‌های شمارش شده در این مطالعه، می‌تواند دلالت بر تسریع روند التیام در اثر گروه چهارم و گروه پنجم باشد، زیرا هر چه تعداد سلول‌های التهابی بیش باشد حکایت از تسریع روند التیام زخم است [۳۲]. همچنین روند التیام رابطه‌ی معکوس با تعداد سلول‌های چند هسته‌ای دارد [۳۲] که با یافته‌های حاصل از این مطالعه هم‌خوانی دارد و مبین اثربخشی عصاره‌ی به کار رفته می‌باشد. پس از ۱۴ روز درمان با عصاره‌ی دانه سفید انار و عصاره‌ی نانو ذرات اکسید روی، آثار ترمیم در زخم‌ها با کاهش در سطح زخم و افزایش انقباض ۹۹ درصدی در روز ۱۴ و صد درصدی در روز ۲۱ نسبت به روز ۷ مشاهده شد که شاید این نتایج بتواند در پاسخ به اثر بخشی تانن‌ها و پلی فنول‌ها مانند اسید اللاژیک، اسید گالیک و اسید کومریک موجود در عصاره‌ی دانه سفید انار باشد [۳۳]. در بررسی ماکروسکوپی زخم‌های تحت درمان گروه چهارم و پنجم، تولید بافت گرانوله و انقباض لبه‌ی خارجی زخم مشخص بود. در موضع منقبض شده‌ی زخم، سلول‌های میوفیبروبلاست نقش مهمی در بسته شدن زخم و نزدیک کردن لبه‌های زخم دارند [۳۴]. نتایج نشان می‌دهد که درمان زخم با عصاره‌ی دانه سفید انار و عصاره‌ی نانو ذرات اکسید روی باعث چینش سلول‌های میوفیبروبلاست در نواحی زخم‌های درمان شده می‌شود. این سلول‌ها در سنتز ماتریس شدیداً فعال بوده و سازمان یابی کمی را در حاشیه‌ی زخم نشان می‌دهند [۳۵-۳۶]. ترمیم زخم گذر از یک سری وقایع منظم است که سبب تشکیل تمامیت بافت صدمه دیده می‌گردد. ترمیم زخم سبب می‌شود تا بافت‌های صدمه دیده از تهاجم مواد بیماریزا محافظت شده و موجبات بازسازی بافت صدمه دیده فراهم شود. فازهای متفاوتی در ترمیم زخم دخیل می‌باشند، که شامل، فازهای التهابی، جوانه‌ی گوشتی، تشکیل و تزاید بافت فیبروبلاستی، تشکیل عروقی خونی جدید، جمع شدن زخم و تشکیل بافت اپیتلیال است [۳۷]. فرآیند ترمیم زخم از طریق استفاده از گیاهان و مواد موجود در طبیعت که دارای ترکیباتی از قبیل فلاونوئیدها، آلکالوئیدها، تانن‌ها و سایر بیومولکول‌ها است، صورت می‌گیرد. این عوامل اغلب بر یک فاز از فرآیند ترمیم و یا بیش تر مؤثرند. پوست، پالپ و دانه، پوست انار بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی را دارد. پلی فنول زیادی در پوست انار وجود دارد، به عنوان مثال الاجیک تانیس، اسید الاجیک و اسید گالیک. از آنها در تهیه دستورات عمل‌های مواد غذایی، آرایشی، تنتور و داروهای درمانی استفاده شده است. اثربخشی پوست میوه خشک شده در درمان عفونت‌های دستگاه تنفسی و ادراری و اسهال گزارش شده است. فعالیت سیتوتوکسیک همچنین فعالیت محافظت کننده کبدی و فعالیت هیپوگلیسمی گزارش شده است. عصاره اتانولی پوست انار دارای اثر بهبود دهنده در برابر استرس اکسی داتیو ناشی از کلرپیریفوس- اتیل در موش صحرایی دارد. این ماده همچنین دارای یک عمل قوی محافظت کننده کبدی است و آسیب اکسی داتیوی کلیوی ناشی از نیتریلوتریاستات آهن را سرکوب می‌کند. گونه‌های اکسیژن فعال ROS به سلول‌ها و بافت‌ها آسیب می‌رسانند، از این رو برای بهبود زخم‌ها مضر می‌باشد. ROS لیپیدها را پروکسید، آنزیم‌ها را غیرفعال و DNA را تجزیه می‌کند. مطالعات نشان داده‌اند که ویتامین C و E آنتی اکسیدان‌های مؤثر برای از بین بردن رادیکال‌های آزاد هستند. خاصیت آنتی اکسیدانی و ضدالتهابی میوه انار که می‌تواند روند بهبود زخم را تسریع کند، می‌تواند تا حدودی به این ویتامین‌ها نسبت داده شود. علاوه بر این، تانن‌ها و پلی فنول‌ها مانند اسید اللاژیک، اسید گالیک و اسید کومریک در میوه انار یافت می‌شوند [۲۰]. ضمن این که باید گفت که این اثر به صورت افزایش معنی‌دار در میزان انقباض و جمع‌شدگی زخم، افزایش تشکیل بافت اپیتلیال، افزایش در هیدروکسی پرولین مشخص شد [۳۷]. در مطالعه‌ی حاضر همان‌گونه که ذکر شد کاهش تعداد مقاطع عروق خونی در گروه آزمایش که مرحله‌ی ایده آل از نظر روند بازسازی و سازمان یابی کلژن در موضع زخم می‌باشد دیده شد که احتمالاً به دلیل حضور فلاوین در عصاره‌ی دانه‌ی گرده می‌باشد [۳۷]. رادیکال‌های آزاد تولید شده در موضع صدمه دیده سبب زیان در پروسه‌ی ترمیم از طریق صدمه به غشای سلولی، نوکلئوتید، پروتئین‌ها و لیپید می‌شود. از آنتی اکسیدانهایی مانند ماده‌ی رنگی زرد چوبی، ویتامین E و غیره نامبرده شده که خاصیت آنتی اکسیدانی آنان در بافت‌های صدمه دیده به اثبات رسیده است [۳۸-۳۹]. موضوع کاربرد آنتی اکسیدان‌ها در ترمیم زخم و ارتقاء پروسه‌ی ترمیم زخم به اثبات رسیده است [۴۰-۴۱]. بسیاری

از عصاره ی گیاهان توان بالفعل آنتی اکسیدانی دارند . فلاونوئیدها ترکیبات اصلی بسیاری از عصاره ی گیاهی می باشد. فلاونوئیدها خنثی کننده ی قوی در مقابل رادیکال های آزاد هستند [۴۲]. ثابت شده است که ظرفیت آنتی اکسیدان عصاره های گیاهی مربوط به حضور ویتامین های C و E، کاروتنوئید و فلاونوئیدها آن است [۴۳]. با توجه به اثر کاروتنوئیدها در افزایش قدرت ترمیم زخم، شاید بتوان فعالیت ترمیم زخمی ناشی از این دانه را در ارتباط با کاروتنوئیدها نیز دانست [۴۴]. زخم های درمان شده با فلاون افزایش را در گلوکاتیون که یک اکسیدان است و اسید اسکوربیک نشان می دهند. چنین مشاهده شده است که افزایش میزان این دو در موضع به طور تقریبی پروسه ی ترمیم را ارتقاء می بخشد [۴۳]. اسید اسکوربیک یک نقش تایید شده در متابولیسم کلاژن دارد. علاوه بر این، اسید اسکوربیک محرکی در عمل نسخه برداری از ژن کلاژن، میزان mRNA کلاژن و تولید کلاژن در فیبروبلاست های کشت شده ی انسانی است [۴۵]. با توجه به جذب مواد معدنی از خاک توسط گیاهان مانند منگنز، آهن، مس و روی، کاربرد آنان در ترمیم زخم ممکن است از طریق تامین عناصر لازم برای تشکیل آنزیم مورد نیاز باشد. در واقع این عناصر محرک سنتز آنزیم هایی هستند که در پروسه ی ترمیم زخم دخالت دارند [۴۶]. پایان سخن این که کاربرد موضعی عصاره ی دانه ی سفید انار به همراه نانو ذرات کسید روی تاثیر مثبت بر مراحل متفاوت ترمیم زخم دارد بنابراین شاید نقش سودمندی را در ترمیم زخم به عهده دارد.

## ۱۲. مراجع

1. Clark, R.A. 2013. *The molecular and cellular biology of wound repair*: Springer Science & Business Media.
2. Rath, G., Hussain, T., Chauhan, G., Garg, T., & Goyal, A. K. (2016). Development and characterization of cefazolin loaded zinc oxide nanoparticles composite gelatin nanofiber mats for postoperative surgical wounds. *Materials Science and Engineering: C*, 58, 242–253.
3. Mirjalili SA. Recognition of pomegranate. Agricultural Education Publishing. Karaj. 2002.
4. Mirjalili SA. Punicaceae in Iran. In: proceeding of scientific lectures of Imam Khomeini Higher Education Center. Agricultural Education Publishing. Karaj. 2010.
5. Mirjalili SA. Punicaceae in Iran. In: proceeding of scientific lectures of Imam Khomeini Higher Education Center. Agricultural Education Publishing. Karaj. 2010.
6. Levin GM., Pomegranate (*Punica granatum*) plant genetic resources in Turkmenistan, *Plant Genetic Resources Newsletter*, 1994; 97, 31.
7. Mirjalili SA. & Poorazizi E. Dispersion, Biodiversity and Genetic Resources of Pomegranate (*Punica granatum*) in Iran. The 3th international symposium on pomegranate and minor Mediterranean climate fruits. September 20-24 2013. Taian, Shanding, china. 2013b.
8. Mirjalili SA. & Poorazizi E. Integrated pest management for carob moth (*Spectrobates ceratoniae Zell*) in Iran. The 3th international symposium on pomegranate and minor Mediterranean climate fruits. September 20-24 2013. Taian, Shanding, china. 2013c.
9. Mirjalili SA. & Poorazizi E. A Study on Determining the Optimum Thickness and Planting Time of Pomegranate Cuttings in Greenhouse Conditions in Iran. The 3th international symposium on pomegranate and minor Mediterranean climate fruits. September 20-24 2013. Taian, Shanding, china. 2013a.

10. Chaturvedula V., Sai P. and Indra P. Bioactive Chemical Constituents from Pomegranate (*Punica granatum*) Juice, Seed and Peel-A Review. *International Journal of Research in Chemistry and Environment* 2011; 1:1-18.
11. Akpınar-Bayızit A., Tulay Ozcan and Lutfiye Yilmaz-Ersan. The Therapeutic Potential of Pomegranate and Its Products for Prevention of Cancer, *Cancer Prevention - From Mechanisms to Translational Benefits*, Dr. Alexandros G. Georgakilas (Ed.), ISBN: 978-953-51-0547-3. 2012.
12. Mahdihassan S., Outline of the beginnings of alchemy and its antecedents, *Am. J. Chin. Med.*, 1984; 12: 32.
13. Naovi SAH, Khan MSY, Vohora SB. Antibacterial, anti-fungal and anthelmintic investigations on Indian medicinal plants, *Fitoterapia* 1991; 62: 221 - 25.
14. Nagaraju N, Rao K.N. A survey of plant crude drugs of Rayalaseema, Andhra Pradesh, India. *J. Ethnopharmacol.* 1990; 29: 137 - 40.
15. Boukef K, Souissi H.R, Balansard G. Contribution to the study of plants used in traditional medicine in Tunisia, *Plant Med. Phytother.* 1982; 16: 260 - 67.
16. Caceres A, Giron L.M, Alvarado S.R, Torres M.F. Screening of antimicrobial activity of plants popularly used in Guatemala for the treatment of dermatomucosal diseases, *J. Ethnopharmacol.* 1987; 20: 223 - 28.
17. Zhan B. Multifunctional vaginal suppository for contraception, etc. CN 1,103,789A. 1995.
18. Saxena A., Vikram N.K., Role of selected Indian plants in management of type 2 diabetes: a review. *Journal of Alternative and Complementary Medicine* 2004; 10: 369 - 73.
19. Lee J and Watson R.R. Pomegranate: a role in health promotion and AIDS? In: Watson, R.R. (Ed.), *Nutrients and Foods in AIDS*. CRC Press, Boca Raton, FL, 1998; 179.
20. Moayadi A. Mixtures of pomegranate seed oils for cosmetics, JP 2004083544, A2 20040318 2004.
21. Lansky E.P. Pomegranate supplements prepared from pomegranate material including pomegranate seeds, US Patent 6, 060, 063. 2000.
22. Watanabe K. and Hatakoshi M. *Punica granatum* leaf extracts for inactivation of allergen, JP 2002370996, A2 20021224. 2002.
23. Shiraishi T, Abe M, Miyagawa T. Cheese foods containing conjugated polyunsaturated fatty acid glycerides, JP 2002176913. 2002.
24. Aviram M, Dornfeld L, Kaplan M, Coleman R, Gaitini D, Nitecki S, Hofman A, Rosenblat M, Volkova N, Presser D, Attias J, Hayek T, Fuhrman B. Pomegranate juice flavonoids inhibit lowdensity Lipoprotein oxidation and cardiovascular diseases: studies in atherosclerotic mice and in humans, *Drugs Exp. Clin. Res.* 2002; 28: 49 - 53.
25. Kim M.M. and Kim S. Composition for improving oral hygiene containing *Punica granatum L.* extract, KR 2002066042. 2002.

26. Bruijin C.D, Christ F.R, Dziabo A.J. Ophthalmic, pharmaceutical and other healthcare preparations with naturally occurring plant compounds, extracts and derivatives, US Patent Application 20030086986 2003.
27. Moayadi A. Mixtures of pomegranate seed oils for cosmetics, JP 2004083544, A2 20040318 2004.18.
28. Anwar Y, Lowenstein EJ. Eucerin2016: A Revolutionary Formulation Still Going Strong for Over a Century. *Skinmed*; 14(6):437-439.
29. Shukla, A.; Rasik, A.M.; Jain, G.K.; Shanker, R.; Kulshrestha, D.K. And Dawan, B.N. (1999). In vitro and in vivo wound healing activity of Asiaticoside isolated from *Centella asiatica*. *Journal of Ethnopharmacology*, 65: 1-11.
30. Tranquilli, W.J.; Thurmon, J.C. And Grimm, K.A. (2013). *Lumb & Jones' Veterinary Anesthesia and Analgesia*. 5th ed. Oxford, Blackwell, Pp: 83,291-292.
31. Fattahian, H., Nasirian, A. and Mortazavi, P. (2013). The Role of Red and Infrared Low Level Laser Therapy on Unmeshed Full-Thickness Free Skin Autograft in Rabbits: As An Animal Model. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 19(5): 829-836.
32. Kumar, V.; Abbas, A.; Fausto, N.; Robbins and Gotran (2005). *Pathologic basis of disease*, 7th Ed, Philadelphia; Elsevier, Pp: 78-118.
33. Sheikh M, Mirghazanfari SM, Dadpay M, Nassireslami E. Evaluation of wound healing activities of pomegranate (*Punica granatum* Lythraceae) peel and pulp. *Journal of Research in Medical and Dental Science*. 2018; 6(3):230-6.
34. Corsi, R.C.C.; Corsi, P.R.; Pirana, S.; Muraco, F.A.E.and Jorge, D. (1994). wound healing: literature review. *Brazilian Journal of Cardiovascular Surgery*, 84: 17-24.
35. Declair, V.; Carmona, M.P. and Cruz, J.A. (1998).Essential fatty acids (EFAs) cell protectors of aggressive mechanisms of hypoxic injury.*Journal of Nursing in Current Dermis*, 4: 15-17.
36. Falanga, V. (2005). Wound healing and its impairment in the diabetic foot. *The Lancet*, 366 (9498), 1736-1743.
37. Gupta, A.; Kumar, A.; Pal, K.; Singh, V.; Banerjee, P.K. and Sawhney, R.C. (2006). Influence of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) Flavone on dermal wound healing in rats. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 290:193-198.
38. Pascoe, G.A.; Fariss, M.W.; Olafsdottir, K. And Reed, D.J. (1987). a role of vitamin E in protection against cell injury: Maintenance of intracellular glutathione precursor and biosynthesis. *European Journal of Biochemistry*, 166: 241-247.
39. Selvam, R.; Sumramanian, L.; Gayathri, R. And Angayarkanni, N. (1995).The antioxidant activity of turmeric (*Curcuma longa*). *Journal of Ethnopharmacology*, 47: 59-67.
40. Gomathi, K.; Gopinath, D.; Rafiuddin Ahmed, M.and Jayakumar, R. (2003). Quercetin incorporated collagen matrices for dermal wound healing processes in rats. *Biomaterials*, 24: 2767-2772.
41. Khanna, S.; Venojarvi, M.; Roy, S.; Sharma, N.; Trikha, P.; Bagchi, D. et al. (2002). Dermal wound healing properties of redox-active grape seed proanthocyanidins. *Free Radical Biology and Medicine*, 33: 1089-1096.



42. De-Groot, H. And Rauen, U. (1998). Tissue injury by reactive oxygen species and the protective effects of flavonoids. *Fundamental and Clinical Pharmacology*, 12: 249-255.
43. Xing, J.; Yang, B.; Dong, Y.; Wang, B.; Wang, J. and Kallio, H.P. (2002). Effects of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) seed and pulp oils on experimental models of gastric ulcer in rats. *Fitoterapia*, 73: 644-650.
44. Akkol, E.K.; Süntar, I.; Keles, H. and Yesilada, E. (2011). The potential role of female flowers inflorescence of *Typha domingensis* Pers. In wound management. *Journal of Ethnopharmacology*, 133(3): 1027-1032.
45. Chojkier, M.; Houglum, K.; Solis-Herruzo, J. and Brenner, D.A. (1989). Stimulation of collagen gene expression by ascorbic acid in cultured human fibroblasts: a role for lipid peroxidation. *The Journal of Biological Chemistry*, 264: 16957-16962.
46. Duke, J.A. And Ayensu, E.S. (1985). *Medicinal plants of China*. Algonac, MI: Reference Publications, 2: 544.