

# ارزیابی پلانی متری و بیومکانیکی اثر موضعی سینئول بر روی التیام زخم‌های باز تمام ضخامت پوست در رت

رحیم محمدی<sup>۱\*</sup>، قادر جلیل زاده امین<sup>۲</sup>، ملیکا اکبری<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> گروه جراحی و تصویر برداری تشخیصی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران، <sup>۲</sup> گروه بیماری‌های درونی و کلینیکال پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران، <sup>۳</sup> دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

تاریخ وصول: ۱۳۹۶/۲/۳۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۹/۱۳

## چکیده:

**زمینه و هدف:** التیام زخم حاصل واکنش پیچیده وقایع سلولی و بیوشیمیایی می‌باشد که منجر به بازبازی انسجام بافتی و قدرت کششی آن می‌گردد. هدف از این مطالعه ارزیابی فعالیت ترمیمی سینئول در مدل زخم تمام ضخامت پوست موش رت بود.

**روش بررسی:** در این مطالعه تجربی از ۴۰ سر رت برای ارزیابی روند التیام بر اساس مطالعه‌های پلانی متری و بیومکانیکی در یک دوره ۲۱ روزه بعد از جراحی استفاده شد. جهت ارزیابی پلانی متری ۲۰ سر رت سالم به طور تصادفی به ۵ گروه ۴ تایی، شامل گروه کنترل (فقط ایجاد زخم باز)، گروه شاهد (زخم باز با پماد پایه)، گروه تیمار یک با ۰/۲۵، گروه تیمار دو با ۰/۵ و گروه تیمار سه با ۱ درصد پماد سینئول تقسیم‌بندی شدند. درصد کاهش سطح زخم در تمامی گروه‌ها در روزهای ۳، ۶، ۹، ۱۲، ۱۵، ۱۸ و ۲۱ با گرفتن عکس به وسیله دوربین دیجیتالی و محاسبات پلانی متری اندازه‌گیری گردید. جهت مطالعه بیومکانیکی ۲۰ سر رت به طور تصادفی در ۵ گروه ۴ تایی به همان شیوه قبل تقسیم‌بندی شدند. در روز ۹ نمونه‌ها جهت ارزیابی بیومکانیکی با فراسنجه‌های نقطه تسلیم، حداکثر قدرت کششی، حداکثر انرژی جذب شده و سفتی گرفته و بررسی شدند. در خصوص انقباض زخم مقادیر به دست آمده با استفاده از تست اندازه‌گیری مکرر آنوا و در مطالعه بیومکانیکی مقادیر به دست آمده با آنوا یک‌طرفه مورد ارزیابی قرار گرفت.

**یافته‌ها:** در گروه تیمار ۲ فرا سنج‌های بیومکانیکی نقطه تسلیم (۱/۴۹±۰/۱۰)، حداکثر قدرت کششی (۱/۶۴±۰/۱۱)، حداکثر انرژی جذب شده (۱/۷۴±۰/۳۲) و سفتی بافت (۱/۷۴±۰/۱۱) ترمیم یافته تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل، گروه تیمار ۱ و تیمار ۳ داشت (P=۰/۰۰۲). پس از بررسی نتایج حاصل از استعمال پمادهای مختلف حاوی ۱-۸ سینئول بر روی زخم پوست رت‌های مورد آزمایش مشاهده گردید که استفاده از پماد ۰/۵ درصد در گروه تیمار ۲ در روزهای ۱۵ (۵/۶۷±۱/۱۰)، ۱۸ (۲/۷±۰/۴۰) و ۲۱ (۰/۳۰±۰/۳۸) باعث افزایش بیشتری در میزان جمع شدگی زخم و کاهش مساحت زخم در مقایسه با سایر گروه‌ها گردید. به طوری که پماد ۰/۵ درصد در گروه تیمار ۲ (۰/۲۰±۰/۳۸) میزان جمع شدگی سریع‌تر و بیشتری نسبت به گروه‌های دیگر داشت (P=۰/۰۰۲).

**نتیجه‌گیری:** پماد حاوی سینئول نیم درصد در زخم‌های باز به دلیل افزایش روند جمع شدن زخم و کاهش زمان لازم برای پر کردن زخم به وسیله بافت جوانه‌ای می‌تواند مفید باشد.

**واژه‌های کلیدی:** التیام زخم، سینئول، بیومکانیک، پلانی متری

\* نویسنده مسئول: رحیم محمدی، ارومیه، دانشگاه ارومیه، گروه جراحی و تصویر برداری تشخیصی

Email: r.mohammadi@urmia.ac.ir

## مقدمه

بر اساس تعریف، زخم عبارت است از انقطاع در یک نواختی آناتومی طبیعی و اختلال در عمل کردهای متابولیک ساختارهای بدن که شامل ارگان، بافت و سلول می‌باشد. این آسیب‌ها می‌توانند به وسیله موارد زیر ایجاد شوند؛ جراحی، ضربه، سرطان‌ها، داروهای موضعی، عفونت‌ها، مواد شیمیایی، دمای بالا و تشعشعات. التیام زخم، اصطلاحی است که به طور نه چندان دقیق به منظور توصیف مکانیسم‌های میزبان که در فرایند ترمیم پیوستگی بافت‌ها دخیل هستند، به کار می‌رود. به طور کلی التیام زخم بدون در نظر گرفتن این که زخم در کدام بافت بدن است، همان مراحل (فازها) را طی می‌کند. التیام زخم در پستانداران یک فرایند ترمیم بوده و بنابراین عبارت مناسب‌تر ترمیم زخم برای آن در نظر گرفته شده است (۱).

اولین سد دفاعی که در جراحی‌ها و جراحات وارده به بدن شکسته می‌شود و راه ورودی برای هجوم عوامل پاتوژن به بدن می‌گردد، پوست است. پس هرچه که این صدمه وارد شده به این سد دفاعی زودتر بسته گردد از ورود اجرام پاتوژن بیشتری به داخل بدن جلوگیری می‌شود. در ترمیم زخم‌های باز در حیوانات دو پدیده جمع شدگی زخم و پدیده اپیتلیالیزیشن از اهمیت خاصی برخوردار هستند، به صورتی که در زخم‌های باز در حیوانات، بیشتر مساحت زخم به وسیله حرکت تمام ضخامت پوست سالم اطراف زخم به سمت مرکز زخم پوشش داده می‌شود (پدیده جمع شدگی زخم) و مساحت باقی مانده به وسیله ی اپیتلیالیزیشن پوشیده می‌گردد (۲).

بافت جوانه‌ای، مجموعه‌ای از عروق مویرگی جدید، عروق لنفاوی، ماتریکس بی شکل، ماکروفاژها، فیبروبلاست‌ها و فیبرهای الاستین می‌باشد که یک هفته بعد از جراحت وارد شده توسعه پیدا می‌کند. وجود بافت جوانه‌ای، از اهمیت بسیاری برخوردار است. بافت جوانه‌ای محل زخم را پر کرده و به مانند یک سد فیزیکی عمل کرده و از ورود اجرام به داخل زخم جلوگیری می‌کند و از طرف دیگر چون گردش خون بالایی دارد حضور سیستم دفاعی و سلول‌های دفاعی در محل بیشتر می‌گردد (۳).

مهاجرت سلول‌های پوششی به سمت مرکز جغرافیایی زخم به بستری نیاز دارد که این بستر بافت جوانه‌ای است. همچنین بافت جوانه‌ای منبع مهمی از میوفیبروبلاست‌ها است که برای روند جمع شدن و پدیده جمع شدگی لازم است. پدیده جمع شدگی در واقع از پدیده اپیتلیالیزیشن مستقل است، یعنی هم‌زمان با پدیده اپیتلیالیزیشن که بافت پوششی تازه تشکیل به سمت مرکز زخم در حال حرکت است، پوست موجود هم حرکتی مستقل دارد. این دو پدیده مستقل از هم هستند، ولی محصول نهایی هر دو، پوشش دادن منطقه‌ای است که فاقد بافت پوششی است. در زخم‌های که که لبه‌های زخم به وسیله نخ بخیه به خوبی رو به روی هم قرار گرفته باشند پدیده اپیتلیالیزیشن ۲۴ تا ۴۸ ساعت بعد شروع شده، چون نقیصه‌ای وجود ندارد تا به وسیله بافت جوانه‌ای پر گردد، ولی در زخم‌های باز پدیده اپیتلیالیزیشن تا زمانی که بستری از بافت جوانه‌ای شکل نگیرد و بستر زخم را پوشش ندهد صورت نمی‌گیرد (۴). پس هرچه پدیده جمع شدگی سریعتر و کامل‌تر صورت پذیرد

تخریب‌پذیر و با توانایی سازگاری بافتی همراه با انواع بانداژها، پیوندهای پوستی خودی و غیر خودی، استفاده از نانو کامپوزیت‌ها و سلول درمانی اشاره نمود. استفاده از عصاره های گیاهی از دیر باز همواره مورد توجه بوده است (۱۰).

ماده ۸-۱ سینئول عمدتاً از گیاهی به نام اکالیپوس از خانواده میرتاسه (Myrtaceae) که یک گیاه بومی استرالیایی می‌باشد، تهیه می‌گردد و امروزه به دلیل افزایش تقاضا برای تولید چوب این نوع از درختان در سراسر جهان در سطح وسیعی توزیع شده و یکی از بیش‌ترین نوع درختان کاشته شده می‌باشد (۱۱ و ۱۲). ترکیب ۸-۱ سینئول یک ترپنوئید اکساید کوچک با وزن مولکولی در حد ۱۵۴/۲۴ دالتون و فرمول شیمیایی آن  $C_{10}H_{18}O$  است که مترادف 1,3,3-Tri-Methyl-2-Oxabicyclo[2,2,2]-Octan می‌باشد (۱۳). ۸-۱ سینئول به عنوان یک ماده فعال بیولوژیکی مهم در شماری از گیاهان عطر و ادویه جات از قبیل؛ گشنیز (coriander) پونه کوهی (oregano)، رزماری (rosemary)، آویش‌ن (thyme) و زنجبیل (ginger) می‌باشد (۱۴).

اخیراً اثرات مهاری آن بر روی رشد چندین میکروارگانیسم تأیید گردیده است. از سینئول به طور وسیع در صنعت داروسازی در ترکیب داروهای مختلف به عنوان بهبود دهنده زیرپوستی و به واسطه دارا بودن اثرات ضداحتقانی و ضدسرفه ای و نیز در آروماتراپی به عنوان یک محرک پوستی در اشکال دارویی مورد استفاده در حمام های پوستی و جلدی بهره‌برداری شده است (۱۵). مطالعه‌های جدیدتر اثر مهاری این ماده را بر روی تولید واسطه های التهابی

حجم بافت جوانه‌ای که باید زخم را پر کند کمتر خواهد بود و پدیده اپیتلیالیزیشن سریع تر رخ داده و به مانند زخمی است که بخیه شده است. همان طوری که نتایج حاصل از تحقیقی نشان داد که در استفاده از از سینئول در روزهای خاصی، پدیده جمع شدگی زخم در مقایسه با گروه‌های کنترل و شاهد تفاوت های معنی‌داری وجود دارد، که نتایج پلانی متری این امر را تأیید می‌کند (۵).

یکی از مهم‌ترین فاکتورها در التیام زخم، افزایش استحکام بافتی می‌باشد (۶). استحکام بافتی در زخم به واسطه سنتز و رسوب کلاژن جدید، افزایش پیدا می‌کند (۷). فراسنجه‌های بیومکانیکی و به ویژه قدرت کششی به واسطه این که نیرو وارد شده بر واحد سطح مقطع را اندازه‌گیری می‌کنند، می‌توانند بیانگر سازمان‌دهی زیرجلدی رشته‌های کلاژنی در کلاژن تازه تشکیل یافته باشند (۶). قدرت کششی بیانگر این است که بافت ترمیم شده تا چه اندازه در برابر تنش مقاومت می‌کند تا از هم گسیخته شود. این امر کیفیت بافت ترمیمی را نشان می‌دهد (۸). یکی از نتایج ترمیم زخم بازیابی استحکام بافتی و بازگشت آن به کارکرد طبیعی خود می‌باشد. در تحقیقاتی که بر روی روند ترمیم زخم انجام می‌گیرد ارزیابی فراسنجه‌های بیومکانیکی از اهمیت خاصی برخوردار است. بر اساس تفسیر نتایج حاصل از ارزیابی‌های بیومکانیکی میتوان میزان بازگشت بافت ترمیم شده به حالت طبیعی را تعیین نمود (۹).

از درمان‌های رایج در ترمیم زخم می‌توان به کاربرد انواع مواد تحریک کننده ترمیم پوست اعم از گیاهان دارویی و عصاره‌های آنها، پلیمرهای زیست

به صورت موضعی بر روی زخم‌های باز تمام ضخامت پوست در رت بود.

### روش بررسی

مطالعه حاضر از نوع تجربی بود. در این تحقیق از ۴۰ سر رت نر بالغ نژاد ویستار با محدوده وزنی  $10 \pm 180$  گرم، تهیه شده از دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه، استفاده شد. این حیوانات به مرکز پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی کلینیک دامپزشکی منتقل شدند و در قفس‌های استاندارد نگهداری موش تحت شرایط نوردهی طبیعی و دمای اتاق یکسان برای همه رت‌ها نگهداری شدند.

حیوان‌ها قبل از انجام مطالعه‌ها به مدت دو هفته دوره تطابق را گذراندند تا تأثیر منفی استرس ناشی از محیط ناآشنا بر روی نتایج مطالعه مورد نظر به حداقل برسد. موش‌ها با پلت تغذیه شدند و به آب و غذا (پلت) دسترسی آزاد داشتند. این تحقیق به وسیله کمیته اخلاق معاونت پژوهشی دانشگاه ارومیه مورد تأیید قرار گرفت.

۸-۱ سینئول به صورت خالص از نمایندگی شرکت سیگما (Sigma Chemical Co., USA) خریداری شد. توین ۸۰ از نمایندگی شرکت مرک (Merck., Germany) تهیه گردید.

القاء بیهوشی با ترکیب زایلانین HCl ۲ درصد (۵ میلی‌گرم برکیلوگرم) و کتامین HCl ۱۰ درصد (۵۰ میلی‌گرم برکیلوگرم) به صورت داخل صفاقی انجام گردید.

ابتدا موش‌ها به صورت شکمی بر روی میز جراحی قرار داده شدند، سپس سطح پشتی موش‌ها

مثل سیتوکین‌ها، پروستاگلاندین‌ها و لکوترین‌ها از طریق مونوسیت‌های خونی انسانی تحریک شده با لیپوپلی ساکارید در شکل درون زیستی و برون زیستی را نشان داده اند. بررسی منابع علمی نشان می‌دهد که اثرات مفید دیگری هم‌چون اثر ضد التهابی، ضد دردی و تأثیر محافظت‌کنندگی در برابر ایجاد زخم معده تجربی با اتانول و ایندومتاسین برای ۱-۸ سینئول تأیید گردیده است (۱۶). اخیراً مشخص شده که سینئول تولید سیتوکین‌ها و متابولیسم آراشیدونیک اسید را روی مونوسیت‌های خون انسان در شرایط برون زیستی مهار می‌کند (۱۷ و ۱۸). هم‌چنین به دنبال تجویز خوراکی در موش سوری و رت تأثیرات ضد دردی و ضد التهابی هم نشان می‌دهد (۱۹). این ویژگی‌ها و تأثیر آن متنوع زیستی سینئول، نگارنده گان را برآن داشت تا تأثیر آن ترمیمی سینئول را در زخم‌های تمام ضخامت در رت را مورد ارزیابی قرار دهند.

ترمیم زخم باز با روش ثانویه حاصل انقباض و اپیتلیزاسیون بافتی می‌باشد. بنابراین در روند ترمیم زخم میزان جمع شدن زخم از اهمیت بالایی برخوردار است. پلانی متری روشی است که در آن مساحت زخم در روزهای خاصی اندازه‌گیری شده و میزان جمع شدگی زخم محاسبه می‌گردد (۲۰).

با توجه به بررسی‌های به عمل آمده مشخص شد که تاکنون مطالعه‌های عمده‌ای در خصوص تأثیر سینئول بر روی روند ترمیم زخم‌های باز تمام ضخامت صورت نگرفته است. هدف از این مطالعه بررسی پلانی متری و بیومکانیکی اثر التیامی سینئول

خود در قفس‌های مشخص شده هر تیمار نگهداری شدند و تا پایان روز نمونه‌برداری مربوطه، روزانه به همین ترتیب مورد مراقبت قرار گرفتند. البته لازم به ذکر است که مالیدن پماد بر روی زخم‌ها بدون ایجاد بیهوشی در هر روز قبل از ظهر و به مدت ۱۰ روز انجام گرفت که بر اساس دیوان و همکاران دیگران بوده است (۲۱).

در این تحقیق، به منظور حذف فاکتورهایی که امکان ایجاد نتایج کاذب را داشتند، موارد زیر انجام شد، همگی ۴۰ قطعه رت برای انجام این تحقیق با وزن تقریبی  $10 \pm 180$  گرم انتخاب شدند تا در محدوده سنی نسبتاً یکسانی بوده و از این طریق تأثیر فاکتورهای متأثر از اختلاف سطوح متابولیسمی بدن در سنین مختلف حذف گردد و حیوان‌های مدل از جنس نر انتخاب شدند تا ضمن جلوگیری از جفت‌گیری و تأثیر تغییر در سطح سرمی برخی هورمون‌ها از جمله استروژن و پروژسترون، بتوان از تأثیر احتمالی اختلاف هورمون‌های جنسی در دو جنس نر و ماده نیز جلوگیری کرد.

برای تعیین مقدار  $LD_{50}$  و بررسی مسمومیت حاد با سینئول؛ در تمام مراحل اثر سنجی، ۸-۱ سینئول در محلول ۲ درصد توین ۸۰ رقیق شد. مقدار  $LD_{50}$  (Median Lethal Dose =  $LD_{50}$ ) با استفاده از یکی از متداول‌ترین روش‌ها یعنی روش لورک محاسبه گردید (۱۱). تعیین  $LD_{50}$  در این روش در دو مرحله انجام شد. در مرحله اول محدوده دوز سمی که اثرات را ایجاد می‌کند محاسبه گردیده و در مرحله دوم دوزهای اختصاصی برای محاسبه  $LD_{50}$  تجویز شدند. مقادیر  $LD_{50}$  برای سه روش

ناحیه بین دو کتف آماده‌سازی و اسکراب شده و یک زخم دایره‌ای شکل به قطر ۲۰ میلی‌متر در بین دو کتف با استفاده از تیغ بیستوری و قیچی ایجاد گردید. با ایجاد زخم به روش برداشتی لایه‌های اپیدرم، درم، هایپودرم و پنیکولوس به طور کامل برداشته شدند. روش ایجاد زخم بر اساس مطالعه مهرتاش و همکاران انجام گرفت (۹). پس از ایجاد زخم تجربی در ۴۰ سر رت ۲۰ سر برای مطالعه‌های پلانی متری و ۲۰ سر برای مطالعه‌های بیومکانیکی در نظر گرفته شدند و به صورت تصادفی به شرح زیر تقسیم‌بندی شدند: گروه اول؛ کنترل نرمال (ایجاد زخم)، گروه دوم؛ کنترل منفی (ایجاد زخم و استعمال پایه پماد)، گروه سوم؛ تیمار ۱ (E1) (ایجاد زخم و استعمال پماد حاوی ۰/۲۵ درصد سینئول)، گروه چهارم؛ تیمار ۲ (E2) (ایجاد زخم و استعمال پماد حاوی ۰/۵ درصد سینئول) و گروه پنجم؛ تیمار ۳ (E3) (ایجاد زخم و استعمال پماد حاوی ۱ درصد سینئول).

در مطالعه‌های بیومکانیک برداشت نمونه بر اساس مطالعه مشابه در روز نهم انجام گرفت (۹). در مطالعه‌های پلانی متری حیوانات هر کدام از این گروه‌ها در روزهای ۳، ۶، ۹، ۱۲، ۱۵، ۱۸ و ۲۱ مورد عکس‌برداری قرار گرفتند. روزهای انتخاب شده در مطالعه پلانی متری بر اساس مطالعه مهرتاش و همکاران دیگران بوده است (۹). رت‌ها پس از اخذ داده‌ها از روند مطالعه حذف گردیدند. پس از ایجاد زخم و جداسازی و برداشت پوست از بافت زیر جلدی ابتدا سطح زخم به وسیله تیمار مربوطه آغشته به پماد گردید (مراجعه به روش تهیه پمادها) و به شکل باز نگهداری شد. سپس حیوانات با توجه به تیمار

خوراکی (Acute Oral Toxicity)، تزریق زیر جلدی (Acute Subcutaneous Toxicity) و استفاده موضعی بر روی پوست (Acute Dermal Toxicity) تعیین گردید. در بررسی به روش پوستی ۲۴ ساعت قبل از انجام آزمایش محلی در پشت بدن موش‌ها در اندازه تقریبی ۵×۵ سانتی‌متر موجینی و تراشیده شد. یک روز قبل از انجام عملیات سم‌شناسی حیوان‌ها از دریافت غذا محروم شده، ولی دسترسی نامحدود به آب را داشتند. میزان حد وسط دوز کشنده بر اساس روش لورک و یا با روش آنالیز احتمال و Maximum Likelihood با استفاده از نرم افزار MINITAB محاسبه شد.

جهت تعیین دامنه دوز سمی برای ۸-۱ سینئول در مرحله اول دوزهای ۱۰ و ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن حیوان تجویز شد. بر این اساس سه حیوان برای هر گروه در نظر گرفته شد. برای انجام مرحله دوم دوزهای ۶۰۰، ۱۰۰۰، ۱۶۰۰، ۲۹۰۰ و ۵۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن از ۸-۱ سینئول انتخاب شدند. با توجه به تلفات مشاهده شده در مرحله دوم بررسی، میزان LD<sub>50</sub> محاسبه گردید. تغییرات رفتاری یا نشانه‌های بالینی و نیز مرگ و میر مشاهده شده ثبت گردید. حیوانات در این بررسی به مدت چهارده روز پیاپی تحت مراقبت بودند. وزن حیوانات تحت بررسی در روز صفر و نیز چهارده روز بعد از ایجاد مسمومیت با روش‌های متفاوت مواجهه برای ارزیابی اثرات احتمالی مسمومیت بر روی تغییرات وزن بدن اندازه‌گیری شد.

در نهایت مقدار مورد استفاده جهت ارزیابی اثرات درمانی احتمالی ماده مورد نظر به میزان ده

برابر کمتر از مقدار در روش خوراکی مد نظر قرار گرفت (۱۲). بنابراین بر اساس مقدار LD<sub>50</sub> به دست آمده برای ۸-۱ سینئول در رت، دوزهای زیر به ترتیب ۰/۲۵ و ۰/۵ و ۱ درصد از ماده خالص جهت بررسی اثرات ترمیمی احتمالی بر روی زخم تجربی به کار برده شدند. تعیین میزان درصد استفاده شده بر اساس مطالعه چراغعلی و همکاران بوده است (۲۱).

نحوه تهیه پماد و تهیه پماد پایه و پمادهای حاوی غلظت‌های مختلف بر اساس مطالعه چراغعلی و همکاران بود (۲۱). پس از تعیین دوزهای درمانی جهت آماده سازی پماد ۰/۲۵ درصد، به میزان ۰/۲۵ گرم از ۸-۱ سینئول، در یک قوطی به پایه ۹۹/۷۵ گرمی ترکیبی وازلین و اوسرین (به ترتیب به نسبت ۶۰ گرم و ۳۹/۷۵ گرم) که قبلاً تهیه گردیده بود، اضافه گشت. جهت آماده سازی پماد ۰/۵ درصد، به میزان ۰/۵ گرم، در یک قوطی به پایه ۹۹/۵ گرمی ترکیبی وازلین و اوسرین (به ترتیب به نسبت ۶۰ گرم و ۳۹/۵ گرم) که قبلاً تهیه گردیده بوده، اضافه گشت. جهت آماده سازی پماد ۱ درصد، به میزان ۱ گرم، در یک قوطی به پایه ۹۹ گرمی ترکیبی وازلین و اوسرین (به ترتیب به نسبت ۶۰ گرم و ۳۹ گرم) که قبلاً تهیه گردیده بود، اضافه گشت.

جهت انجام مطالعه‌های بیومکانیکی، برای هر گروه از گروه‌های پنج‌گانه فوق ۴ رت (جمعاً ۲۰ سر رت) در نظر گرفته شد. تمامی موش‌های صحرائی به شیوه ذکر شده در بالا بیهوش شده و به صورت شکمی مقید شده و در ناحیه پشت یک برش تمام ضخامت پوستی به طول ۶ سانتی‌متر و با فاصله ۱ سانتی‌متر از ستون فقرات ایجاد شد. پس از انجام

برای ارزیابی پلانی متری، از همگی زخم‌ها پس از ایجاد، همراه با یک خطکش به عنوان مقیاس اندازه‌گیری برای نرم افزار، با دوربین عکاسی دیجیتال عکس‌برداری شده و روز صفر در نظر گرفته شد. این کار در روزهای ۳، ۶، ۹، ۱۲، ۱۵، ۱۸ و ۲۱ تکرار گردید. با ابزار اندازه‌گیری نرم افزار آکروبات (Adobe Acrobat 9 Pro extended) مقیاس لازم تعریف شده و مساحت زخم محاسبه گردید.

جهت نرمال بودن توزیع متغیرها از تست شاپیرو-ویلک استفاده گردید. در خصوص انقباض زخم مقادیر به دست آمده با تست اندازه‌گیری مکرر آنوا با استفاده از نرم افزار SPSS و در مطالعه بیو مکانیکی مقادیر به دست آمده با آنالیز واریانس یک طرفه (آنوا) مورد ارزیابی قرار گرفته است. میزان  $p < 0.05$  نیز به عنوان سطح معنی‌دار بودن اختلافات آماری در نظر گرفته شد.

### یافته‌ها

مشاهده‌ها نشان داد که خوراندن محلول ۲ درصد توین ۸۰ در موش‌های مورد مطالعه هیچ نوع تغییر رفتاری قابل توجهی را ایجاد نکرد. در موش‌های مصرف کننده ۱-۸ سینئول به صورت خوراکی با دوزهای ۲۹۰۰-۱۰۰۰ تلفات مشاهده گردید (جدول ۱-۳). هیچ کدام از موش‌های مواجهه شده با دوزهای مذکور و حتی با مقادیر بیشتر یعنی ۵۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در دوره زمانی ۱۴ روز بعد از مصرف جلدی و زیر جلدی ۱-۸ سینئول در این بررسی تلف نشدند. مقادیر LD50 در روش خوراکی ۱۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن و در

اقدامات لازم در هر گروه، محل برش با نخ نایلون ۲ صفر با فواصل یک سانتی‌متری بخیه شد. در روز ۹ بعد از عمل موش‌ها بیهوش، بخیه‌ها برداشته و یک نوار پوستی اخذگردید. به طوری که خط برش در وسط نوار قرار گرفت. سپس نمونه‌ها با استفاده از دستگاه کشش طولی (TA.XTPPlus (Texture Analyzer, Stable Micro Systems Surrey GU7 1YL, UK, تحت تست بیومکانیکی قرار گرفته و فراسنجه‌های بیومکانیکی مورد ارزیابی قرار گرفت. فراسنجه‌های بیومکانیکی انجام گرفته عبارت بودند از نقطه تسلیم (Yield strength) و حداکثر قدرت کششی (Ultimate strength) که بر حسب کیلوگرم محاسبه می‌شوند و حداکثر انرژی جذب شده (MES) و سفتی (Stiffness) که بر حسب کیلوگرم بر سانتی‌متر مربع محاسبه می‌شوند.

نقطه تسلیم میزان کششی است که بعد از آن ماده‌ای که حالت کشسانی دارد از حالت الاستیک تغییر شکل دائمی داده و به حالت پلاستیک در می‌آید. به طوری که متعاقب حذف نیروی کششی ماده به حالت اولیه خود بازمی‌گردد. حداکثر قدرت کششی عبارت است از بیشینه تنش که یک جسم در هنگام کشیده شدن از طرفین، تا قبل از این که مقطع نمونه، به صورت قابل توجهی باریک شود، می‌تواند تحمل کند. حداکثر انرژی جذب شده به وسیله اندازه‌گیری سطح زیر منحنی نیرو - تغییر طول تا بالاترین میزان نیروی ثابت شده بر روی منحنی محاسبه می‌شود. مقاومت یک ماده نسبت به تغییر شکل یا خمیدگی الاستیکی را سفتی گویند (۲۲).

درمان نیم درصد تفاوت معنی‌داری هم با گروه کنترل منفی و گروه‌های درمان دیگر دارد.

پس از بررسی نتایج حاصل از پمادهای مختلف حاوی ۱-۸ سینئول بر روی زخم پوست رت‌های مورد آزمایش مشاهده گردید که به صورت عمومی استفاده از این پمادها در روزهای خاصی باعث افزایش میزان جمع شدگی زخم در مقایسه با گروه‌های کنترل و شاهد می‌گردد. به طوری که با توجه به جدول ۵ می‌توان به این نکته پی برد پماد ۵/۰ درصد میزان جمع شدگی سریعتر و بیشتری نسبت به گروه‌های تیمار دیگر داشت ( $p=0/002$ ). به طور کلی در جریان مطالعه و در بین روزهای مختلف، پمادهای حاوی سینئول توانستند میزان ترمیم زخم را سرعت ببخشند (جدول ۵).

روش‌های زیر جلدی و جلدی به میزان بیش از ۵۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن گزارش گردید. تغییرات رفتاری که در این دسته از حیوانات مشاهده گردید شامل عدم تعادل، کاهش فعالیت حرکتی یا جا به جایی، عدم تحرک، فلجی و پرخونی موضعی اطراف محل تزریق بودند. نتایج حاصل از ارزیابی وزن بدن حیوانات قبل و دو هفته بعد از مواجهه با ماده مورد مطالعه، تغییرات کاهشی معنی‌داری را در بین این دو بازه زمانی نشان نداد.

فراسنجه‌های بیومکانیکی اخذ شده از گروه ایجاد زخم و استعمال پماد حاوی ۵ درصد سینئول، به طور معنی‌داری بیشتر از سایر گروه‌ها بود ( $p=0/002$ ) (جدول ۴). چنانچه از جدول ۴ استنباط می‌گردد، نقطه تسلیم، حداکثر قدرت کششی، حداکثر انرژی جذب شده و سفتی بافت ترمیم یافته در گروه

جدول ۱: تغییرات رفتاری یا نشانه‌های بالینی و مرگ و میر در مسمومیت حاد با تزریق زیر جلدی ۱-۸ سینئول. سینئول در توین ۲٪ حل شده و

تیمار	جنس	مسموم شده / تلف شده	زمان کمون مرگ (ساعت)	نشانه‌های بالینی	میانگین وزن بدنی در روز صفر	میانگین وزن بدنی ۱۴ روز بعد از ایجاد مسمومیت
کنترل (توین ۲ درصد)	ماده	۰/۳	تلف نشدند	-	۱۸۰ ± ۵.۷۷	۱۸۲ ± ۲.۳۳
۵۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ۸-۱ سینئول -	ماده	۰/۳	تلف نشدند	کاهش شدید فعالیت حرکتی، پرخونی موضعی اطراف محل تزریق	۲۰۶.۳۳ ± ۷.۴۶	۲۱۳.۳۳ ± ۲.۰۲
۲۹۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ۸-۱ سینئول -	ماده	۰/۳	تلف نشدند	کاهش شدید فعالیت حرکتی، پرخونی موضعی اطراف محل تزریق	۱۸۶ ± ۶.۰	۱۹۴ ± ۲.۰
۱۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ۸-۱ سینئول	ماده	۰/۳	تلف نشدند	کاهش فعالیت حرکتی، سرخی اطراف محل تزریق	۲۰۶.۴ ± ۱۰.۵۸	۲۱۲.۳۳ ± ۷.۹
۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ۸-۱ سینئول -	ماده	۰/۳	تلف نشدند	سرخ شدن پوست محل تزریق	۲۰۹ ± ۴.۹۳	۲۱۲.۳۳ ± ۲.۳۳
۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ۸-۱ سینئول -	ماده	۰/۳	تلف نشدند	سرخ شدن پوست محل تزریق	۱۶۰ ± ۵.۷۷	۱۶۶.۷ ± ۳.۴۶
۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ۸-۱ سینئول -	ماده	۰/۳	تلف نشدند	-	۱۸۱ ± ۲.۰۶	۱۸۶ ± ۱.۱

به شکل تک‌وزن (بر حسب میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) به صورت زیر جلدی در سوس‌های مصحرایی استفاده گردیده است. سوس‌های مورد بررسی به طور دقیق برای بروز هر گونه نشانه بالینی یا تغییر رفتاری به مدت ۱۴ روز تحت مراقبت بودند. در هر گروه سه سر سوس ماده



مسموم شدند که در هیچ کدام از گروه‌ها تلفات مشاهده نگردید که در ستون سوم به آن اشاره شده است. چون تلفات وجود نداشته بنابراین در

تیمار	جنس	مسموم شده / تلف شده	زمان کمون مرگ (ساعت)	نشانه های بالینی	میانگین وزن بدنی در روز صفر	میانگین وزن بدنی بعد از ایجاد مسمومیت
کنترل (توین ۲٪)	ماده	۰/۳	تلف نشدند	---	۱۶۶.۷ ± ۴.۴	۱۷۵ ± ۲.۸۸
۵۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ۸-۱ سینئول -	ماده	۰/۳	تلف نشدند	پرخونی جلدی، سرخ شدن، کاهش فعالیت حرکتی	۱۷۱.۷ ± ۱۰.۸۱	۱۷۶.۶۶ ± ۸.۸۱
۲۹۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ۸-۱ سینئول -	ماده	۰/۳	تلف نشدند	پرخونی جلدی، سرخ شدن، کاهش فعالیت حرکتی	۱۶۶.۷ ± ۸.۸۱	۱۷۳.۴ ± ۴.۴
۱۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ۸-۱ سینئول	ماده	۰/۳	تلف نشدند	پرخونی جلدی، سرخ شدن پوست ناحیه	۱۹۷.۳۳ ± ۱۵.۷۶	۲۰۴ ± ۹.۱۶
۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ۸-۱ سینئول -	ماده	۰/۳	تلف نشدند	پرخونی جلدی، سرخ شدن پوست ناحیه	۱۶۱.۴ ± ۶.۴۵	۱۶۷ ± ۱۱.۹۳
۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ۸-۱ سینئول -	ماده	۰/۳	تلف نشدند	-	۱۵۸.۴ ± ۸.۷۶	۱۶۵ ± ۵.۰
۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ۸-۱ سینئول -	ماده	۰/۳	تلف نشدند	-	۲۰۷ ± ۶.۸	۲۱۰.۶۶ ± ۵.۳۶

ستون چهارم زمان کمون تا مرگ وجود ندارد.

**جدول ۲: تغییرات رفتاری یا نشانه های بالینی و مرگ و میر در مسمومیت حاد به روش جلدی با ۸-۱ سینئول.** سینئول در توین ۴ درصد حل شده و به شکل تک دوز (بر حسب میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) به صورت مایع در روی پوست در موش‌های صحرایی استفاده گردیده است. موش‌های مورد بررسی بطور دقیق برای بروز هر گونه نشانه بالینی یا تغییر رفتاری به مدت ۱۴ روز تحت مراقبت بودند. در هر گروه سه سر موش ماده مسموم شدند که در هیچ کدام از گروه‌ها تلفات مشاهده نگردید که در ستون سوم به آن اشاره شده است. چون تلفات وجود نداشته بنابراین در ستون چهارم زمان کمون تا مرگ وجود ندارد.

**جدول ۳: تغییرات رفتاری یا نشانه های بالینی و مرگ و میر در مسمومیت حاد به روش خوراکی با ۸-۱ سینئول.** سینئول در توین ۴ درصد حل شده و به شکل تک دوز (بر حسب میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) به صورت خوراکی به موش‌های صحرایی تجویز گردیده است. موش‌های مورد بررسی به طور دقیق برای بروز هر گونه نشانه بالینی یا تغییر رفتاری به مدت ۱۴ روز تحت مراقبت بودند. وزن نهایی بعد از چهارده روز با احتساب وزن موش تلف شده در همان روز محاسبه گردیده است و نماینده عدد دقیق نمی‌باشد. در هر گروه سه سر موش ماده مسموم شدند که در هیچ کدام از گروه‌ها تلفات مشاهده نگردید که در ستون سوم به آن اشاره شده است. چون تلفات وجود نداشته بنابراین در ستون چهارم زمان کمون تا مرگ وجود ندارد.

جدول ۴- فراسنجه‌های بیومکانیکی نقطه تسلیم، حداکثر قدرت کششی، حداکثر انرژی جذب شده و سفتی در گروه‌های آزمایشی. مقادیر بر حسب میانگین  $\pm$  خطای معیار می باشند

فراسنجه‌های بیومکانیکی				
گروه‌ها	حداکثر انرژی جذب شده (کیلوگرم بر سانتیمتر)	سفتی (کیلوگرم بر سانتیمتر)	حداکثر قدرت کششی (کیلوگرم)	نقطه تسلیم (کیلوگرم)
کنترل	$0.10 \pm 0.16$	$0.11 \pm 0.44$	$0.14 \pm 0.76$	$0.15 \pm 0.16$
شاهد	$0.12 \pm 0.75$	$0.15 \pm 0.50$	$0.12 \pm 0.85$	$0.15 \pm 0.77$
تیمار ۱ (E1)	$0.25 \pm 1.17$	$0.12 \pm 0.98$	$0.12 \pm 0.98$	$0.14 \pm 0.79$
تیمار ۲ (E2)	$0.32 \pm 1.74$ *	$0.11 \pm 1.74$ *	$0.11 \pm 1.64$ *	$0.10 \pm 1.49$ *
تیمار ۳ (E3)	$0.20 \pm 1.29$	$0.10 \pm 1.14$	$0.12 \pm 1.21$	$0.16 \pm 0.98$

\* بیانگر معنی‌دار بودن داده‌ها با سایر گروه‌های آزمایشی می‌باشد.

جدول ۵: میانگین مساحت زخم و خطای استاندارد. مقادیر بر حسب میانگین  $\pm$  خطای معیار میباشند.  $\times$  بیانگر اختلاف معنی‌دار با سایر گروه‌های آزمایشی می‌باشد. نتایج مربوط به repeated measure میباشند.

مساحت زخم در روزها (میلی‌متر مربع)							
گروه‌ها	روز ۳	روز ۶	روز ۹	روز ۱۲	روز ۱۵	روز ۱۸	روز ۲۱
کنترل نرمال	$3.02/4.0 \pm 1.45$	$2.53/6.4 \pm 0.44$	$9.9/6.8 \pm 1.45$	$8.0/1.0 \pm 0.20$	$4.5/2.0 \pm 1.30$	$2.1/4.0 \pm 1.71$	$8.4/1.6 \pm 0.15$
کنترل منفی	$3.04/4.2 \pm 0.75$	$2.43/1.5 \pm 0.45$	$9.3/2.5 \pm 0.40$	$8.4/1.0 \pm 1.30$	$4.1/4.0 \pm 0.25$	$1.9/1.5 \pm 1.10$	$4.0/9.9 \pm 0.20$
تیمار ۱ (E1)	$2.95/2.2 \pm 3.23$	$2.55/3.0 \pm 1.23$	$8.5/2.0 \pm 1.04$	$6.5/6.0 \pm 0.10$	$2.2/6.0 \pm 0.30$	$1.4/1.0 \pm 0.37$	$2.7/0.0 \pm 0.34$
تیمار ۲ (E2)	$2.57/5.3 \pm 1.12$ *	$2.13/0.5 \pm 0.43$ *	$6.0/5.0 \pm 0.70$ *	$2.7/1.0 \pm 0.20$ *	$5.7/6.7 \pm 1.10$ *	$2.7 \pm 0.40$ *	$0.30 \pm 0.28$ *

تیمار	جنس	مسموم شده/ تلف شده	زمان کمون مرگ (ساعت)	نشانه‌های بالینی	میانگین وزن بدنی در روز صفر	میانگین وزن بدنی ۱۴ روز بعد از ایجاد مسمومیت
کنترل (توین ۲ درصد)	ماده	۰/۳	تلف نشدند	-	$1.09 \pm 1.52$	$1.24 \pm 2.46$
۲۹۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ۸-۱ سینئول -	ماده	۳/۳	۱۲-۲۴	پرخونی جلدی، سرخ شدن، کاهش فعالیت حرکتی	$1.46 \pm 1.14$	تلف شدند
۱۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ۸-۱ سینئول	ماده	۱/۳	۱۲-۲۴	پرخونی جلدی، سرخ شدن پوست ناحیه	$1.19 \pm 1.76$	$1.27.4 \pm 2.66$ <sup>a</sup>
۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ۸-۱ سینئول -	ماده	۱/۳	۱۲-۲۴	پرخونی جلدی، سرخ شدن پوست ناحیه	$1.35 \pm 1.63$	$1.52.7 \pm 9.17$ <sup>a</sup>
۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ۸-۱ سینئول -	ماده	۰/۳	تلف نشدند	-	$1.21.7 \pm 1.62$	$1.25.4 \pm 1.21$
۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ۸-۱ سینئول -	ماده	۰/۳	تلف نشدند	-	$1.24 \pm 1.25$	$1.30.7 \pm 5.2$
تیمار ۳ (E3)		$2.66/1.2 \pm 1.43$	$2.22/6.8 \pm 0.77$	$7.0/2.0 \pm 0.40$	$4.5/2.0 \pm 0.10$	$1.7/1.0 \pm 0.14$

> ۵۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن محاسبه گردید.

از طرفی نتایج مربوط به بررسی یافته‌های بالینی و مرگ و میر در دوزهای بالاتر و سمی از سینئول نشان داد که دریافت بیش از حد آن می‌تواند به عنوان

در این پژوهش به منظور تعیین سمیت سینئول، مقدار LD<sub>50</sub> برای ماده مذکور در روش‌های خوراکی، زیرجلدی و جلدی به ترتیب به میزان ۱۲۵۰، ۵۰۰۰ و

مورد مصارف جلدی و زیر جلدی از سینئول صدق می‌نماید.

به طور کلی تغییرات در وزن گیری بدنی در موش‌های درمان شده با سینئول یا هر ماده سمی دیگر به عنوان یک معیار برای ارزیابی اثرات سوء آن ماده و یا دارو به حساب می‌آید به ویژه اگر مقدار کاهش و یا از دست دادن وزن به میزان معنی‌داری بیشتر از وزن اولیه موش‌ها باشد (۲۷). در مطالعه حاضر مشاهده گردید که تزریق زیرجلدی، کاربرد موضعی و خوراندن تک دوز سینئول بعد از دو هفته، تغییرات وزنی در جهت کاهش وزن در موش‌ها ایجاد نکرد در واقع دلیل دیگری مبنی بر بی خطر بودن و یا غیرسمی بودن این ماده در دوزهای بین ۵۰۰ و ۵۰۰۰ و یا بین ۵۰۰۰ و ۱۵۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن می‌باشد.

تفاوت قابل ملاحظه‌ای بین مقادیر LD<sub>50</sub> در روش خوراکی در مقایسه با دو روش دیگر مشاهده گردید. جهت اطمینان بیشتر مجدداً آزمون تکرار گردید که نتایج قبلی را تأیید کرد. این تفاوت می‌تواند به دلیل تداخل سینئول با محتویات دستگاه گوارش و یا اثرات بسیار مخرب معده‌ای - روده‌ای باشد. این یافته قابل توجه نیازمند مطالعه‌های بیشتری است.

سینئول بخش اعظمی از اسانس چندین گیاه دارویی مهم را تشکیل می‌دهد که برای چاشنی غذاها و نوشیدنی‌ها استفاده می‌شود که از جمله آنها می‌توان به گونه‌های بی‌شماری از نعناع‌ها، پونه و نعناع کوهی اشاره نمود. پونه دارای ۷۵ تا ۸۵ درصد از سینئول است، به طوری که مصرف اسانس پونه با مسمومیت حاد همراه است. دوزهای کشنده در

یک خطر تهدید کننده زندگی محسوب گردد. به نظر می‌رسد اسانس گیاهان دارویی هر چند دارای ترکیب‌هایی هستند که می‌تواند خیلی مفید باشد، ولی در کنار آن به خاطر دارا بودن ترکیب‌های مضر و آسیب‌رسان می‌توانند خیلی خطرناک باشند و صرف طبیعی بودن مواد نمی‌تواند دلیلی بر بی خطر بودن آنها در حین استفاده تلقی شود (۲۵).

بر اساس طبقه‌بندی مطالعه‌های اوماچیگی (۲۶) موادی که میزان LD<sub>50</sub> آنها بین ۵۰۰ و ۵۰۰۰ و یا بین ۵۰۰۰ و ۱۵۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن باشد به ترتیب به عنوان مواد مختصر سمی و یا غیر سمی دسته‌بندی می‌شوند. روی همین اساس و با توجه به نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر میزان بی‌خطر بودن از سینئول در این ردیف قرار می‌گیرد.

بر اساس معیار سمیت ارابه شده امنیت و سلامتی شغلی موادی که میزان LD<sub>50</sub> آنها در محدوده ۵۰۰-۵۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن باشد در ردیف مواد تقریباً سمی (Slightly Toxic) قرار می‌گیرند (۲۶). مقدار LD<sub>50</sub> خوراکی از سینئول در این محدوده می‌باشند، بنابراین جزء مواد تقریباً سمی به حساب می‌آیند، ولی باید یادآوری کرد که هر چند ظاهراً در دوزهای پایین در کوتاه مدت اثر نامطلوبی بر روی موجود زنده ایجاد نمی‌کنند، ولی خطرات بالقوه آنها باید در طولانی مدت مد نظر باشد. بر پایه همین معیار سمیت سنجی، موادی که مقدار LD<sub>50</sub> آنها در استفاده به صورت پوستی بین ۲۲۵۹۰-۲۸۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن باشد در ردیف مواد غیر سمی (Practically Non-Toxic) قرار می‌گیرند که در

موش‌هایی که از سینئول را از طریق داخل صفاقی دریافت کرده‌اند، LD<sub>50</sub> ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم گزارش شده است.

در مطالعه حاضر افزایش مقادیر فراسنجه‌های بیومکانیکی در گروه درمان پماد نیم درصد در مقایسه با سایر گروه‌ها بیانگر افزایش استحکام بافتی و بالا بودن کیفیت ترمیم در این گروه می‌باشد. به نظر می‌رسد که افزایش تدریجی مقادیر فراسنجه‌های بیومکانیکی در گروه‌های درمان و به ویژه در گروه پماد نیم درصد با افزایش فیبروبلاست‌ها در ارتباط باشد. فیبروبلاست‌ها در خلال فاز تزیادی التیام زخم مولد کلان نابلغ می‌باشند (۶). در مطالعه دیگری که اثر موضعی پولگون در ترمیم زخم مورد بررسی قرار گرفته بود نتایج بررسی‌های بیومکانیکی بیانگر بهبود فراسنجه حداکثر قدرت کششی در زخم‌های درمان شده با پماد ۲/۵ درصد در مقایسه با پماد ۵ درصد بود که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد (۲۱). در یک مطالعه دیگر تأثیر پماد حاوی عصاره برگ گیاه کلوس آروماتیکوس (*Coleus aromaticus*) مورد بررسی قرار گرفت که نتایج تست کششی زخم‌های درمان شده با پماد ۵ درصد بیشتر از پماد ۱۰ درصد بود که از این نظر با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد (۲۸).

در یک مطالعه اخیر اثر موضعی پولگون بر روی التیام زخم‌های باز تمام ضخامت پوست در رت مورد ارزیابی قرار گرفته است، ارزیابی‌های پلانی متری انجام گرفته در این مطالعه نشان داده است که پولگون ۲/۵ توانسته است سرعت جمع شدگی زخم بیشتری در مقایسه با پماد ۵ درصد را در جریان

مطالعه افزایش دهد (۲۱). در مطالعه دیگری نیز که تأثیر پماد حاوی عصاره برگ گیاه کلوس آروماتیکوس (*Coleus aromaticus*) مورد بررسی قرار گرفت سرعت جمع شدگی زخم در پماد ۵ درصد بیشتر از پماد ۱۰ درصد بود (۲۸). نتایج مطالعه اخیر با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد.

فیبروبلاست‌ها نقش مهمی در تولید کلان ضروری برای بازیابی استحکام بافتی در پوست ایفا می‌کنند (۲۹). نشان داده شده است که منتا پولگیوم (*Mentha pulegium L. Pennyroyal herb*) که یکی از تیره‌های خانواده نعناع بوده و حاوی مقادیر زیادی سینئول می‌باشد سنتز کلان را افزایش داده و متعاقب استعمال جلدی پماد حاوی عصاره آن فعالیت فیبروبلاست‌ها افزایش پیدا کرده است (۳۰). همین محقق نشان داد که استعمال اسانس منتا پولگیوم که حاوی سینئول می‌باشد به میزان قابل توجهی تزیاد یافت جوانه‌ای در مدل برداشتی پوست را افزایش داده است که این امر می‌تواند بیانگر فیبروپلازی باشد (۳۱). از آنجایی که فیبروبلاست‌ها برای تولید کلان ضروری می‌باشند چنین استنباط می‌شود که کاربرد پمادهای حاوی سینئول می‌تواند نقش مهمی در افزایش بافت جوانه‌ای از طریق فراخوانی فیبروبلاست‌ها و تسهیل و تسریع در روند التیام زخم به واسطه افزایش مقادیر فراسنجه‌های بیومکانیکی داشته باشد (۳۲). لازم به ذکر است که در مطالعه حاضر از شواهد بافت‌شناسی برای ارزیابی روند التیام استفاده نشده است که این امر می‌تواند به عنوان یک محدودیت برای این مطالعه محسوب گردد.

تأثیر سینئول بر روی روند ترمیم زخم در مطالعه کنونی بر اساس فراسنجه‌های پلانی متری و بیومکانیکی طراحی گردید. به منظور درک بهتر مکانیسم این تأثیر پیشنهاد می‌گردد که در مطالعه‌های تکمیلی آینده، شواهد بافت شناسی و مولکولی نیز مورد بررسی قرار گیرند. از طرفی دیگر مطالعه‌های وابسته به دوز گسترده‌تری نیاز است تا بتوان دوز مناسب سینئول با بیشینه تأثیر را به دست آورد.

### نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که استفاده از سینئول در سه غلظت متفاوت منجر به افزایش سرعت جمع شدگی زخم و بهبود فراسنجه‌های بیومکانیکی گردید. هنگام مواجهه با زخم‌های باز به دلیل افزایش روند جمع شدن زخم و کاهش زمان لازم برای پر کردن زخم به وسیله بافت جوانه‌ای و تسریع در روند اپیتلیزاسیون استفاده از پمادهای حاوی سینئول با دزهای مشخص می‌تواند مفید باشد.

### تقدیر و تشکر

این مطالعه برگرفته از پایان نامه دکتری عمومی می‌باشد که به تصویب معاونت پژوهشی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه رسیده و بخشی از هزینه‌های آن نیز مورد حمایت مالی آن معاونت محترم قرار گرفته است که بدین‌وسیله تشکر و سپاسگزاری می‌گردد. بدین وسیله از همکاری آقای دکتر علی حسن‌پور استادیار گروه مهندسی مکانیک بیوسیستم دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه به منظور انجام تست‌های بیومکانیکی نهایت تشکر و سپاسگزاری را داریم.

### REFERENCES:

- 1.Thakur R, Jain N, Pathak R, Sandhu SS. Practices in wound healing studies of plants. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine 2011; 438056: 1-17.
- 2.Macphil CM. Surgery of the Integumentary system. In: Small Animal surgery. Fossum TW(editor). 4<sup>th</sup>ed. Elsevier, Philadelphia: USA; 2013; 190-218.
- 3.Demidova-Rice TN, Hamblin MR, Herman IM. Acute and Impaired Wound Healing: Pathophysiology and Current Methods for Drug Delivery, Part 1: Normal and Chronic Wounds: Biology, Causes, and Approaches to Care. Advances in Skin Wound Care 2012; 25(7): 304-14.
- 4.Yen TT, Thao DT, Thuoc TL. An overview on keratinocyte growth factor: from the molecular properties to clinical applications. Protein and Peptide Letters 2014; 21(3): 306-17.
- 5.Agren MS, Andersen TL, Andersen L, Schiodt CB, Surve V, Andreassen TT, et al. Nonselective matrix metalloproteinase but not tumor necrosis factor- $\alpha$  inhibition effectively preserves the early critical colon anastomotic integrity. International Journal of Colorectal Disease 2011; 26(3): 329-37.
- 6.Zhou YX, Xin HL, Rahman K, Wang SJ, Peng C, Zhang H, et al. Portulaca oleracea L: a review of phytochemistry and pharmacological effects. BioMed Research International 2015; 2015: 925631.
- 7.Impacts of the N-terminal fragment analog of human parathyroid hormone on structure, composition and biomechanics of bone. European Journal of Pharmaceutical Sciences 2012; 47(5): 926-33.
- 8.Sujana P, Thulasi M. Penchalaneni M, Challagundla VN. Antibacterial Activity and Phytochemical Analysis of Mentha piperita L. (Peppermint)—An Important Multipurpose Medicinal Plant. Asian Journal of Pharmaceutical Sciences 2013; 4(1): 77-83.

9. Mehrtash M, Mohammadi R, Hobbenaghi R. Effect of adipose derived nucleated cell fractions with chitosan biodegradable film on wound healing in rats. *Wound Medicine* 2015; 10-11: 1-8.
10. Dreifke MB, Jayasuriya AA, Jayasuriya AC. Current wound healing procedures and potential care. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl* 2015; 48: 651-62.
11. Shimizu B. 2-Oxoglutarate-dependent dioxygenases in the biosynthesis of simple coumarins. *Frontiers in Plant Science* 2014; 5: 549.
12. Diwan R, Malpathak N. Furanocoumarins: novel topoisomerase I inhibitors from *Ruta graveolens* L. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 2009; 17(19): 7052-5.
13. Hendry ER, Worthington T, Conway BR, Lambert PA. Antimicrobial efficacy of eucalyptus oil and 1,8-cineole alone and in combination with chlorhexidine digluconate against microorganisms grown in planktonic and biofilm cultures. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2009; 64(6): 1219-25.
14. Santos FA, Rao VSN. 1,8-Cineol, a food flavoring agent, prevents ethanol-induced gastric injury in rats. *Digestive Diseases and Sciences* 2001; 46(2): 331-37.
15. Juergens UR. Anti-inflammatory properties of the monoterpene 1,8-cineole: current evidence for co-medication in inflammatory airway diseases. *Drug Research (Stuttg)* 2014; 64(12): 638-46.
16. Tamama K, Kerpedjieva SS. Acceleration of wound healing by multiple growth factors and cytokines secreted from multipotential stromal cells/mesenchymal stem cells. *Advances in Wound Care (New Rochelle)* 2012; 1(4): 177-82.
17. Juergens UR, Dethlefsen U, Steinkamp G, Gillissen A, Reppes R, Vetter H. Anti-inflammatory activity of 1,8-cineol (eucalyptol) in bronchial asthma: a double-blind placebo-controlled trial. *Respiratory Medicine* 2003; 97(3): 250-6.
18. Lorke D. A new approach to practical acute toxicity testing. *Archives of Toxicology* 1983; 54(4): 275-87.
19. Choudhary GP. Immunomodulatory activity of alcoholic extract of *Terminalia bellerica* Linn. in mice. *Der Pharmacia Lettre* 2012; 4(7): 414-7.
20. Foltynski P, Ladyzynski P, Ciechanowska A, Migalska-Musial K, Judzewicz G, Sabalinska S. Wound Area Measurement with Digital Planimetry: Improved Accuracy and Precision with Calibration Based on 2 Rulers. *PLoS One* 2015; 10(8): e0134622.
21. Cheraghali Z, Mohammadi R, Jalilzadeh-amin G. Planimetric and biomechanical study of local effect of pulegone on full thickness wound healing in rat. *Malaysian Journal of Medical Sciences* 2017; 24(5): 52-61.
22. Hussain SH, Limthongkul B, Humphreys TR. The biomechanical properties of the skin. *Dermatologic Surgery* 2013; 39(2): 193-203.
23. Anthony CD. Toxicology of essential oils reviewed. *Personal Care* 2009; 9(4): 65-7.
24. Wood CS, Weis CP, Caro CM, Roe A. A practice analysis of toxicology. *Regul Toxicol Pharmacol* 2016; 82: 140-6.
25. Subramanion LJ, Zuraini Z, Yeng C, Yee LL, Lachimanan YL, Sreenivasan S. Acute oral toxicity of methanolic seed extract of *Cassia fistula* in mice. *Molecules* 2011; 16(6): 5268-82.
26. Umachigi SP, Jayaveera KN, Ashok Kumar CK, Kumar GS, Vrushabendra Swamey BM, Kishore Kumar DV. Studies on wound healing properties of *Quercus infectoria*. *Journal of Pharmacy Research* 2008; 7(1): 913-9.
27. Guo S, DiPietro LA. Factors Affecting Wound Healing. *Journal of Dental Research* 2010; 89(3): 219-29.
28. Jain AK, Dixit A, Mehta SC. Wound healing activity of aqueous extracts of leaves and roots of *coleus aromaticus* in rats. *Acta Poloniae Pharmaceutica-Drug Research* 2012; 69(6): 1119-23.
29. Nolte SV, Xu W, Rennekampff HO, Rodemann HP. Diversity of fibroblasts-a review on implications for skin tissue engineering. *Cells Tissues Organs* 2008; 187(4): 165-76.
30. Ehrnhöfer-Ressler MM, Fricke K, Pignitter M, Walker JM, Walker J, Rychlik M, et al. Identification of 1,8-cineole, borneol, camphor, and thujone as anti-inflammatory compounds in a *Salvia officinalis* L. infusion using human gingival fibroblasts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2013; 61(14): 3451-59.
31. Ximenes RM, de Moraes Nogueira L, Cassunde NM, Jorge RJ, dos Santos SM, Magalhaes LP, et al. Antinociceptive and wound healing activities of *Croton adamantinus* Müll. Arg essential oil. *Journal of Natural Medicine* 2013; 67(4): 758-64.
32. Khamaisi M, Katagiri S, Keenan H, Park K, Maeda Y, Li Q, et al. PKC $\delta$  inhibition normalizes the wound-healing capacity of diabetic human fibroblasts. *The Journal of Clinical Investigation* 2016; 126(3): 837-53.

# Evaluation of Planimetric and Biomechanical Effects of Local Cineol on Healing of Open Wounds, Total Thickness of Skin in Rats

Mohammadi R<sup>1\*</sup>, Jalilzadeh A<sup>2</sup>, Akbari M<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Surgery and Diagnostic Imaging, Urmia University, Urmia, Iran, <sup>2</sup>Department of Internal Medicine and Clinical Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran, <sup>3</sup>Department of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran

Received: 20 May 2017

Accepted: 4 Dec 2017

## Abstract

**Background and Aim:** Wound healing is a complicated and promising cellular and biochemical reaction that leads to the recovery of tissue integrity and its tensile strength. The purpose of this study was to evaluate the cineol restorative activity in the rat wound skin wound model.

**Methods:** In this experimental study, 40 rats were used to evaluate the healing process based on planimetric and biomechanical studies in a period of 21-day after surgery. To evaluate the planimetric, 20 healthy rats were randomly assigned into 5 groups of 4, including control group (open wound only), control group (open wound with base ointment), one treatment group with 0.25, a treatment group of two with 5.0 and the treatment group was divided into 1% cineol ointment. The percentage of wound healing in all groups was measured on days 3, 6, 9, 12, 15, 18 and 21, by taking a picture with a digital camera and calculating planar measurements. In order to study the biomechanics, 20 rats were randomly divided into 5 groups of 4 in the same manner. On the 9th day, the samples were evaluated for biomechanical evaluation with delivery points, maximum tensile strength, maximum absorbed energy and stiffness. Regarding the contraction of the wounds, the values obtained using repeated measure ANOVA and in the biomechanical study of the obtained results were evaluated in one way ANOVA.

**Results:** In the treatment group, the biomechanical meta-metrics of the delivery point ( $1.49 \pm 0.51$ ), the maximum tensile strength ( $1.64 \pm 1.03$ ), the maximum absorbed energy ( $1.74 \pm 0.32$ ) and the stiffness of the tissue ( $1.74 \pm 1.11$ ) had a significant difference with control group, treatment group 1 and treatment 3 ( $p = 0.002$ ). After examining the results of application of different ointments containing 81 cineoles on the skin of the skin wounds, it was observed that using 0.5% ointment in the treatment group 2 on day 15 ( $5.67 \pm 1.10$ ), 18 ( $40.3\%$  ( $2.7 \pm 0.2$ )) and 21.30 ( $0.31 \pm 0.38$ ) resulted in an increase in the amount of wound squaring and reduction of wound area in comparison with other groups. So that the 0.5% ointment in the treatment group 2 ( $0.31 \pm 0.38$ ) had a faster and more shrinkage than other groups ( $p = 0.002$ ).

**Conclusion:** A half-percent cineole ointment on open wounds can be helpful because of increasing the wound's incidence and reducing the time required to fill the wound by young tissues

**Key words:** Wound healing, Cineol, Biomechanics, Planimetric

---

\*Corresponding Author: Mohammadi R, Department of Surgery and Diagnostic Imaging, Urmia University, Urmia, Iran

Email: r.mohammadi@urmia.ac.ir

## Please cite this article as follows:

Mohammadi R, Jalilzadeh A, Akbari M. Evaluation of Planimetric and Biomechanical Effects of Local Cineol on Healing of Open Wounds, Total Thickness of Skin in Rats. Armaghane-danesh 2018; 22 (6): 739-753.