DOI: 10.22122/jims.v36i503.10430 Published by Vesnu Publications

مجله دانشکده پزشکی اصفهان سال سی و ششم/شماره‌ی ۵۰۳/هفته‌ی سوم دی ۱۳۹۷

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۴/۲۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۸/۳۰ تاریخ چاپ: ۱۳۹۷/۱۰/۱۵

بررسی اثر کرم نانوامولسیونی حاوی اسانس لاواند و عصاره‌ی شیرین بیان بر بهبود زخم پوستی عمیق در موش صحرایی

مریم کاظمی[۱]، محمد حسین اعرابی[۲]، عصمت آقاداوود[۳]، سید علیرضا طلایی[۴]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: با وجود ویژگی‌های دارویی بسیار خوب اسانس لاواند و عصاره‌ی شیرین بیان، عواملی مانند واکنش‌های آلرژیک و زیست تخریب‌پذیر بودن، فعالیت آن‌ها به عنوان داروهای درمانی را محدود می‌کند. ساخت نانوامولسیون، راهی برای غلبه بر این محدودیت‌ها می‌باشد. هدف از انجام مطالعه‌ی حاضر، بررسی تأثیر کرم نانوامولسیونی حاوی اسانس لاواند و عصاره‌ی شیرین بیان بر بهبود زخم پوستی عمیق در مدل موش صحرایی بود.

روش‌ها: در این مطالعه‌ی تجربی، نانوامولسیون حاوی اسانس لاواند و عصاره‌ی شیرین بیان به روش امولسیون‌سازی خودبه‌خودی ساخته شد. جهت بررسی تأثیر در روند بهبود زخم، روی پوست ۸۵ سر موش صحرایی نر، زخم عمیق ایجاد گردید. برای اندازه‌گیری مساحت سطح زخم در روزهای ۲، ۵، ۷، ۱۰ و ۱۴ بعد از ایجاد زخم از نمونه‌ها عکس‌برداری دیجیتالی انجام شد و به منظور محاسبه، نرم‌افزار Image J مورد استفاده قرار گرفت. همچنین، در روزهای ۲، ۷ و ۱۴ مطالعه، از محل زخم نمونه‌برداری صورت گرفت و میزان بیان ژن‌های Transforming growth factor-beta1 (TGF-β1)، Type I collagen (Col I) و Col III با روش Real-time polymerase chain reaction (Real-time PCR) اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: کرم نانوامولسیونی، مساحت سطح زخم را به طور قابل ملاحظه‌ای سریع‌تر از کرم غیر نانوامولسیونی ($P < ۰/۰۱۰$) و کرم فنی‌توئین ۱ درصد ($P < ۰/۰۵۰$) کاهش داد. همچنین، داده‌های RT-PCR نشان داد که درمان موضعی زخم‌ها با کرم نانوامولسیونی بیان ژن‌های TGF-β1، Col I و Col III را افزایش می‌دهد ($P < ۰/۰۱۰$).

نتیجه‌گیری: کرم نانوامولسیونی حاوی اسانس لاواند و عصاره‌ی شیرین بیان از پتانسیل بالقوه‌ای برای بهبود زخم پوستی عمیق در مدل موش صحرایی برخوردار می‌باشد.

واژگان کلیدی: ترمیم زخم، نانوامولسیون، لاواند، شیرین بیان

ارجاع: کاظمی مریم، اعرابی محمد حسین، آقاداوود عصمت، طلایی سید علیرضا. **بررسی اثر کرم نانوامولسیونی حاوی اسانس لاواند و عصاره‌ی شیرین بیان بر بهبود زخم پوستی عمیق در موش صحرایی.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۷؛ ۳۶ (۵۰۳): ۱۳۶۱-۱۳۵۵

مقدمه

ترمیم زخم، یک فرایند طبیعی است و بدن می‌تواند آسیب به بافت زخمی را جبران کند، اما این فرایند به آرامی صورت می‌گیرد و با خطر بالای عفونت میکروبی مواجه است. بنابراین، نیاز به کمک‌های خارجی برای تسریع روند بهبود زخم وجود دارد (۱). راهبردهای مختلفی شامل کرم‌های حاوی آنزیم‌ها (DNase و کلاژناز)، پانسمان‌های زخم مدرن، پلی‌یورتان‌ها، هیدروژل‌های هیالورونیک اسید و عوامل رشد مصنوعی برای درمان زخم توسعه داده شده است (۲). در سال‌های اخیر، استفاده از داروهای گیاهی با عوارض جانبی کمتر و پتانسیل بهبود قابل توجه در انواع مختلفی از اختلالات پوستی مانند بریدگی‌ها، سوختگی‌ها و زخم مشاهده شده است (۳).

به منظور استفاده از ترکیبات فعال گیاهان، می‌توان آن‌ها را در قالب عصاره و یا اسانس استخراج نمود. برای مثال، عصاره‌ی ریشه‌ی گیاه شیرین بیان (Glycyrrhiza glabra) با داشتن ترکیبات زیستی فعالی مثل Glabridin A & B و Glycyrrhizinic acid می‌تواند فرایند بهبود زخم پوستی را در مراحل مختلف ترمیم بافت تحت تأثیر قرار دهد و سبب تسریع روند بهبود زخم‌های پوستی شود (۴). از سوی دیگر، اسانس گیاه لاواند (Lavandula angustifolia) که Linalool و Linalyl acetate از اصلی‌ترین ماده‌های مؤثره‌ی آن هستند و خاصیت ضد التهابی و آنتی‌اکسیدانی آن‌ها به اثبات رسیده است (۶-۵)، نیز در

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، مرکز تحقیقات بیوشیمی و تغذیه در بیماری‌های متابولیک، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

۲- دانشیار، گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده‌ی داروسازی و علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۳- استادیار، مرکز تحقیقات بیوشیمی و تغذیه در بیماری‌های متابولیک، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

۴- استادیار، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: سید علیرضا طلایی

Email: talaei@kaums.ac.ir

مراحل مختلف روند ترمیم زخم مؤثر می‌باشد (۷).

اگر چه استفاده‌ی موضعی این محصولات گیاهی ممکن است، اما اول این که این ترکیبات فرار و ناپایدار هستند و اگر در برابر عوامل خارجی (مانند اکسیداسیون، تبخیر شدن، حرارت و نور) محافظت نشوند، به راحتی تخریب می‌شوند. دوم این که فن‌آوری‌های نوین دارورسانی با افزایش فراهمی زیستی و پایداری فیزیکی می‌توانند استفاده از این ترکیبات را کارآمدتر کنند (۸). نانوامولسیونه کردن، یکی از این روش‌های نوین دارورسانی است. نانوامولسیون‌ها، قطرات کوچکی با قطر تقریبی ۲۰۰–۲۰ نانومتر هستند. این ترکیبات غیر سمی، دارای عملکرد سریع می‌باشند و سبب محافظت ترکیب دارو در مقابل فرایند هیدرولیز و اکسیداسیون می‌شوند (۹).

با توجه به آثار مفید گزارش شده برای اسانس لاواند و عصاره‌ی شیرین بیان در بهبود زخم و با در نظر گرفتن مزایای سیستم‌های دارورسانی نوین، هدف از انجام مطالعه‌ی حاضر، بررسی اثر کرم نانوامولسیونی حاوی اسانس لاواند و عصاره ی شیرین بیان بر بهبود زخم پوستی عمیق در مدل موش صحرایی می‌باشد.

روش‌ها

اسانس لاواند و عصاره‌ی شیرین بیان از شرکت داروسازی باریج اسانس کاشان خریداری شد و برای ساخت نانوامولسیون، از روش امولسیون‌سازی خودبه‌خودی (Spontaneous emulsification) استفاده گردید. در مطالعه‌ی قبلی صورت گرفته توسط محققین مرکز دانشگاه علوم پزشکی کاشان، به منظور رسیدن به بهترین فرمولاسیون جهت تشکیل یک نانوامولسیون پایدار، نسبت‌های مختلفی از امولسیفایرها با اسانس‌ها ترکیب شدند (نتایج منتشر نشده است). نتایج حاکی از آن بود که بهترین نسبت برای امولسیفایرها ۱:۲ به ترتیب برای توئین ۲۰ و توئین ۸۰ می‌باشد. همچنین، کمک حلال‌های پلی‌اتیلن گلیکول ۴۰۰ و گلیسیرین با نسبت ۱:۱ استفاده گردید. برای تهیه‌ی نانوامولسیون، ابتدا مقدار تعیین شده از امولسیفایر بر حسب گرم (توئین ۲۰ و توئین ۸۰) برداشته شد و سپس، مقادیر تعیین شده از عصاره‌ی شیرین بیان و اسانس لاواند (بر حسب گرم) به آن اضافه و به این ترتیب قسمت روغنی تشکیل شد. پس از پوشاندن سطح ظرف با پارافیلم، ظرف حاوی قسمت روغنی داخل بن‌ماری قرار گرفت. از طرف دیگر، محلول آبی از کمک‌حلال‌ها (گلیسیرین و پلی‌اتیلن گلایکول ۴۰۰) تهیه و ظرف حاوی قسمت آبی نیز داخل بن‌ماری قرار گرفت. در ادامه، ظرف حاوی قسمت روغنی از بن‌ماری خارج و در حمام آب گرم تعبیه شده بر روی هیتر استایرر (دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد، ۲۰۰ در دقیقه) قرار داده شد و قسمت آبی، به صورت قطره‌قطره به قسمت روغنی اضافه شد. در حین چرخیدن، محلول از نظر تک‌قسمتی بودن و دو قسمتی بودن (نقطه‌ی ابری) بررسی شد. بعد از گذشت زمان مورد نیاز و به دست آوردن محلول شفاف، امولسیون تهیه شده داخل یک ظرف درپوش‌دار نگهداری شد.

برای انجام این مطالعه‌ی تجربی، از ۸۵ سر موش صحرایی نر نژاد Wistar با وزن ۲۵۰–۲۰۰ گرم استفاده شد. حیوانات از مرکز پرورش حیوانات دانشگاه علوم پزشکی کاشان تهیه شد و در حیوان‌خانه با دمای ۲ ۲۲ درجه‌ی سانتی‌گراد و رطوبت ۴۵ درصد و چرخه‌ی روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته نگهداری شدند. موش‌ها در طول مطالعه از نظر دسترسی به آب و غذا محدودیتی نداشتند. مطالعه‌ی حاضر، پس از اخذ مجوز IR.KAUMS.MEDNT.REC.1396.68 از کمیته‌ی اخلاق دانشگاه علوم پزشکی کاشان انجام شد و اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی مطابق با دستورهای آن کمیته رعایت گردید. حیوانات به صورت تصادفی به گروه‌های زیر (هر گروه ۱۷ سر) شامل گروه ۱ شاهد، گروه ۲ دارونما، گروه ۳ فنی‌توئین ۱ درصد، گروه ۴ دریافت کننده‌ی کرم حاوی اسانس لاواند و عصاره‌ی شیرین بیان به فرم نانوامولسیون و گروه ۵، دریافت کننده‌ی کرم حاوی اسانس لاواند و عصاره‌ی شیرین بیان تقسیم شدند. ابتدا، حیوان‌ها با تزریق داخل صفاقی کتامین (۸۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) و زایلازین (۲۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) بیهوش شدند. سپس، موهای ناحیه‌ی پشت گردن حیوان تراشیده شد و با بتادین سطح آن ضد عفونی گردید. توسط تیغ جراحی، زخمی شامل برداشت تمام لایه‌های پوستی با مساحت تقریبی ۲۵ میلی‌متر مربع در پشت گردن موش، ایجاد شد (۷). عمق زخم شامل درم و هیپودرم بود. سپس، بستر زخم به صورت روزانه تحت تیمار دارو (روزی یک مرتبه و به میزانی که سطح زخم به طور کامل پوشانده شود) به صورت موضعی طبق گروه‌های طراحی شده قرار داده شد. کرم‌های مورد استفاده در پایه اوسرین توسط شرکت داروسازی باریج اسانس کاشان تهیه شدند (شکل ۱).

شکل ۱. محل زخم در نمونه‌ی دریافت کننده‌ی نانوامولسیون در روز صفر (چپ) و روز ۱۴ مطالعه (راست)

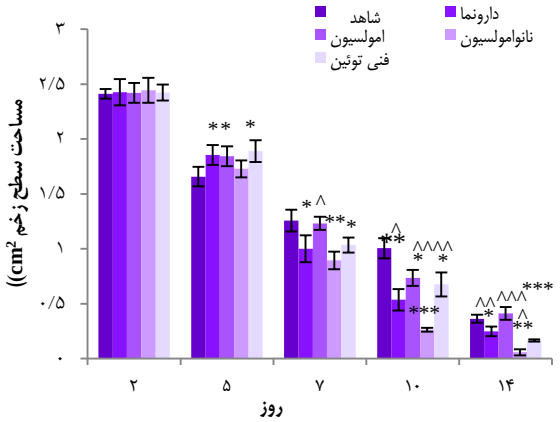
برای ارزیابی هیستومتری، در روزهای ۲، ۵، ۷، ۱۰ و ۱۴ با استفاده از تصاویر دوربین دیجیتال (SONY, HX90 V, JAPAN) با درج مقیاس در کنار زخم تهیه شد. جهت اندازه‌گیری مساحت سطح زخم، از نرم‌افزار Image J (NIH, USA) استفاده شد.

جهت ارزیابی بیان ژن‌های Transforming growth factor-beta1 (TGF-β1)، Type I collagen (Col I) و Col III حیوانات در روزهای ۲، ۷ و ۱۴ بعد از ایجاد زخم کشته شدند و از محل زخم هر یک از حیوانات، یک نمونه شامل همه‌ی لایه‌های پوست استخراج شد. نمونه‌ها با استفاده از دستگاه هموژنایزر، هموژنیزه شدند و استخراج RNA تام با استفاده از کیت مخصوص (Wizol reagent Wisbios, South Korea) صورت گرفت. برای سنتز DNA complementary (cDNA) از کیت Wizscript™ RT master (Wizbios, South Korea) استفاده شد. در این مطالعه، از روش Real time polymerase chain reaction (Real time PCR) جهت ارزیابی میزان بیان ژن های TGF-β1، Col I و Col III استفاده گردید. برای این منظور، از کیت (EVA) WizPure™ qPCR Master (Wizbios, South Korea) و دستگاه (Roche Diagnostics, Rotkreuz, Switzerland) Light Cycler استفاده شد. پرایمرها با استفاده از نرم‌افزار Oligoseven طراحی و توسط شرکت سیناکلون سنتز شدند توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول ۱ آمده است. Comparative CT method (ΔΔCT) یا روش مقایسه‌ای CT برای اندازه‌گیری سطح بیان ژن‌های مورد نظر استفاده شد (۱۰). برای طبیعی کردن داده‌ها، از ژن RNA 18S به عنوان ژن شاهد داخلی استفاده شد.

آنالیز متغیرهای کمی با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۶ (version 16, SPSS Inc., Chicago, IL) و با استفاده از آزمون One-way repeated measures ANOVA انجام شد. همچنین، برای مقایسه‌ی دو به دوی گروه‌ها، از پس آزمون Tukey استفاده گردید.

یافته‌ها

داده‌های مربوط به تغییرات مساحت سطح زخم طی روزهای مختلف مطالعه در شکل ۲ نشان داده شده است. همچنین، بررسی یافته‌ها با استفاده از آزمون One-way repeated measures ANOVA نشان داد که بهبود زخم در همه‌ی گروه‌ها اتفاق افتاده است ($P < ۰/۰۰۱$). به علاوه، واکاوی آماری داده‌ها نشان داد که بین روند بهبود زخم طی روزهای مختلف و بین گروه‌های مختلف مطالعه، اختلاف آماری وجود داشت ($P = ۰/۰۱۶$). نتایج پس‌آزمون Tukey حاکی از آن است که تنها اختلاف بین گروه‌های شاهد و دریافت کننده‌ی نانوامولسیون معنی‌دار بود ($P = ۰/۰۱۸$)؛ به عبارت دیگر، اگر چه بقیه‌ی مداخلات توانسته‌اند تغییری در روند بهبود زخم ایجاد کنند و هم‌زمان با پیشرفت مطالعه از مساحت زخم بکاهند، اما اختلاف آن‌ها با گروه شاهد معنی‌دار نیست.



شکل ۲. مقایسه‌ی مساحت زخم پوستی ایجاد شده در حیوانات گروه‌های مختلف در روزهای ۲، ۵، ۷، ۱۰ و ۱۴ مطالعه

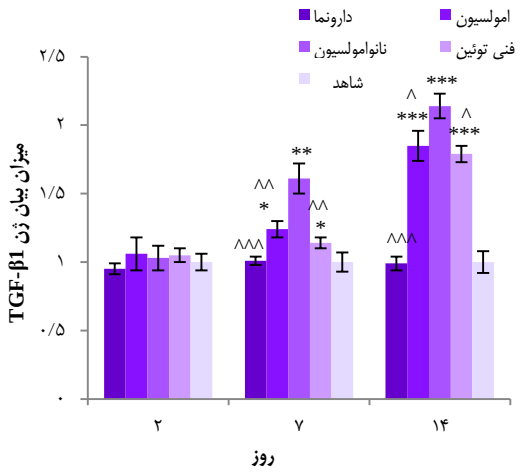
داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار نمایش داده شده‌اند.
* اختلاف معنی‌دار با گروه شاهد ($P < ۰/۰۵۰$)، ** اختلاف معنی‌دار با گروه شاهد ($P < ۰/۰۱۰$)، *** اختلاف معنی‌دار با گروه شاهد ($P < ۰/۰۰۱$).
^ اختلاف معنی‌دار با گروه نانوامولسیون ($P < ۰/۰۵۰$)، ^^ اختلاف معنی‌دار با گروه نانوامولسیون ($P < ۰/۰۱۰$)، ^^^ اختلاف معنی‌دار با گروه نانوامولسیون ($P < ۰/۰۰۱$).

بررسی تغییرات بیان ژن‌های مورد نظر در گروه‌های مختلف با روش Real time PCR نیز نشان داد که تحت تأثیر مداخلات مختلف، بیان ژن‌ها در گروه‌ها تغییر کرده است. نتایج به دست آمده از سنجش بیان ژن TGF-β1 نشان داد که استفاده از دارونما طی روزهای مختلف آزمایش، تأثیری بر بیان این ژن نداشته است، اما مصرف موضعی فنی‌توئین، امولسیون و نانوامولسیون بیان ژن را تغییر داده است (شکل ۳).

جدول ۱. توالی پرایمرهای مورد استفاده در مطالعه

نام ژن	توالی پرایمر R	توالی پرایمر F
TGF-β1	CTCTGTGGAGCTGAAGCAGTAG	ACTGATACGCCTGAGTGGCTGT
Col 1 α	TCCATCGGTCATGCTCTCTC	CATGCCGTGACCTCAAGATG
Col 3 α	CATACCCCGTATCCCTGGAC	GAAGACGGCAAAGATGGGTC
RNA 18S	GGCCTCACTAAACCATCCAA	GCAATTATTCCCCATGAACG

TGF-β1: Transforming growth factor-beta1; Col 1 α: Type I collagen



شکل ۳. مقایسه‌ی تغییرات میزان بیان ژن Transforming growth factor-beta1 (TGF-β1) در زخم پوستی جدا شده از حیوانات گروه‌های مختلف مطالعه در روزهای ۲، ۷ و ۱۴ آزمایش

داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار نمایش داده شده‌اند.

* اختلاف معنی‌دار با گروه شاهد (P < ۰/۰۵۰)، ** اختلاف معنی‌دار با گروه شاهد (P < ۰/۰۱۰)، *** اختلاف معنی‌دار با گروه شاهد (P < ۰/۰۰۱).

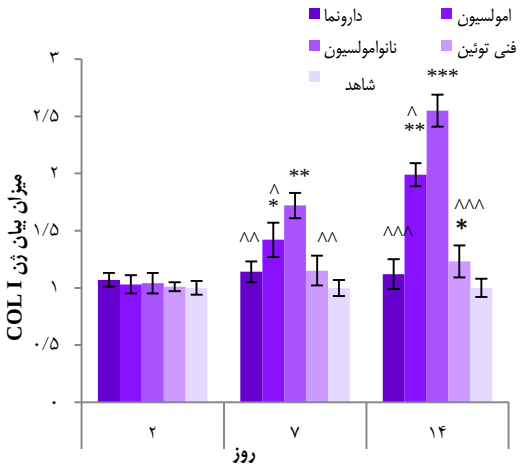
^ اختلاف معنی‌دار با گروه نانوامولسیون (P < ۰/۰۵۰)، ^^ اختلاف معنی‌دار با گروه نانوامولسیون (P < ۰/۰۱۰)، ^^^ اختلاف معنی‌دار با گروه نانوامولسیون (P < ۰/۰۰۱).

بیشترین تغییر در بیان ژن TGF-β1 مربوط به گروه دریافت کننده‌ی نانوامولسیون بود؛ به طوری که بیان آن در انتهای مطالعه، ۲/۱۴ برابر گروه شاهد بود (P = ۰/۰۱۱). دریافت امولسیون نیز باعث شد بیان ژن TGF-β1 در انتهای مطالعه، ۱/۷۹ برابر گروه شاهد باشد (P = ۰/۰۱۹).

دریافت دارونما و فنی‌توئین تغییر معنی‌داری در بیان ژن Col I جدا شده از زخم‌های پوستی در طی مطالعه ایجاد نکرده بود (شکل ۴).

با مصرف موضعی کرم حاوی اسانس لاواند و عصاره‌ی شیرین بیان طی ۱۴ روز بیان این ژن در زخم‌های پوستی در مقایسه با گروه شاهد ۱/۹۹ برابر شده بود، اما این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نبود. مصرف موضعی نانوامولسیون بیان ژن Col I را در انتهای مطالعه ۲/۵۵ برابر کرده بود و این اختلاف، از نظر آماری معنی‌دار بود (P = ۰/۰۰۱).

همه‌ی مداخلات انجام شده در روند بهبود زخم باعث افزایش بیان ژن Col III شده بود (شکل ۵). به طوری که طی ۱۴ روز مطالعه، بیان ژن Col III در گروه دارونما به ۱/۳۳ برابر، در گروه دریافت کننده‌ی امولسیون به ۱/۶۱ برابر، در گروه دریافت کننده‌ی فنی‌توئین به ۱/۸۹ برابر و در گروه دریافت کننده‌ی نانوامولسیون به ۲/۳۱ برابر نسبت به گروه شاهد رسیده بود.



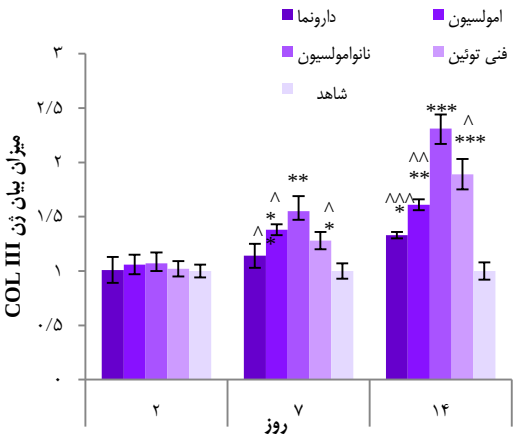
شکل ۴. مقایسه‌ی تغییرات میزان بیان ژن Type I collagen (Col I) در زخم پوستی جدا شده از حیوانات گروه‌های مختلف مطالعه در روزهای ۲، ۷ و ۱۴ آزمایش

داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار نمایش داده شده‌اند.

* اختلاف معنی‌دار با گروه شاهد (P < ۰/۰۵۰)، ** اختلاف معنی‌دار با گروه شاهد (P < ۰/۰۱۰)، *** اختلاف معنی‌دار با گروه شاهد (P < ۰/۰۰۱).

^ اختلاف معنی‌دار با گروه نانوامولسیون (P < ۰/۰۵۰)، ^^ اختلاف معنی‌دار با گروه نانوامولسیون (P < ۰/۰۱۰)، ^^^ اختلاف معنی‌دار با گروه نانوامولسیون (P < ۰/۰۰۱).

نتایج آزمون آماری، نشان داد که تنها اختلاف بین روند بیان ژن در گروه دریافت کننده‌ی نانوامولسیون و گروه شاهد معنی‌دار بود (P = ۰/۰۰۱).



شکل ۵. مقایسه‌ی تغییرات میزان بیان ژن Col III در زخم پوستی جدا شده از حیوانات گروه‌های مختلف مطالعه در روزهای ۲، ۷ و ۱۴ آزمایش

داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار نمایش داده شده‌اند.

* اختلاف معنی‌دار با گروه شاهد (P < ۰/۰۵۰)، ** اختلاف معنی‌دار با گروه شاهد (P < ۰/۰۱۰)، *** اختلاف معنی‌دار با گروه شاهد (P < ۰/۰۰۱).

^ اختلاف معنی‌دار با گروه نانوامولسیون (P < ۰/۰۵۰)، ^^ اختلاف معنی‌دار با گروه نانوامولسیون (P < ۰/۰۱۰)، ^^^ اختلاف معنی‌دار با گروه نانوامولسیون (P < ۰/۰۰۱).

بحث

این مطالعه، نشان داد که کاربرد موضعی کرم نانوامولسیونی حاوی اسانس لاواند و عصاره‌ی شیرین بیان سبب تسریع بهبود زخم شد و نیز افزایش بیان ژن TGF-β1 و به دنبال آن افزایش بیان ژن کلاژن نوع ۱ و کلاژن نوع ۳ در بافت زخم مشاهده شد. TGF-β1 در فرایند ترمیم زخم اهمیت دارد و به منظور تکثیر فیبروبلاست‌ها، تحریک تشکیل بافت گرانولی، کمک به سنتز و رسوب کلاژن نوع ۱ و ۳ و همچنین، افزایش قدرت کششی زخم مورد نیاز می‌باشد (۱۱). کلاژن، از اجزای اصلی ماتریکس خارج سلولی می‌باشد که به طور شاخصی، کشش زخم و فرایند بهبود آن به بیوسنتز تنظیم شده، رسوب و به دنبال آن بلوغ کلاژن وابسته است. Ganeshkumar و همکاران، اثر موضعی Acalypha indica را در بهبود زخم پوستی از طریق تنظیم بیان ژن کلاژن نوع ۱ و ۳ در موش صحرایی بررسی کردند. این مطالعه، نشان داد که استفاده‌ی موضعی از Acalypha indica از طریق افزایش بیان ژن TGF-β1 باعث افزایش قابل توجهی در بیان ژن کلاژن نوع ۱ و ۳ می‌شود که در نهایت، باعث افزایش قدرت کششی و تسهیل فرایند ترمیم زخم می‌شود (۱۲).

Mori و همکاران، تأثیر اسانس لاواند را بر بهبود زخم، به واسطه ی تسریع فرایند گرانوله شدن بافت و انقباض زخم از طریق القای TGF-β1 در مدل موش صحرایی بررسی کردند. نتایج این مطالعه نشان داد که کاربرد موضعی اسانس لاواند روند بهبود زخم را با تسریع تشکیل بافت گرانولی از طریق افزایش سنتز کلاژن، بازسازی بافت از طریق جایگزینی کلاژن نوع ۳ توسط کلاژن نوع ۱ و انقباض زخم سرعت می‌بخشد (۱۱). همچنین، علومی و همکاران، تأثیر عصاره‌ی ریشه‌ی گیاه شیرین بیان را در روند بهبود زخم پوست در موش صحرایی مورد بررسی قرار دادند. این مطالعه، نشان داد که این عصاره، تأثیر مثبتی در تکثیر سلولی، تشکیل بافت گرانولی و ری‌اپیتلیالیزاسیون دارد. همچنین، افزایش محتوای هیدروکسی پرولین که نشان دهنده‌ی افزایش تکثیر فیبروبلاست‌ها و به دنبال آن افزایش سنتز کلاژن است، در بافت پوست مشاهده شد (۴).

همان‌طور که ملاحظه می‌شود، عصاره‌ی شیرین بیان و اسانس لاواند به طور مؤثری در ترمیم زخم نقش دارند، اما با وجود مزایای موجود، محدودیت‌هایی نظیر ناپایداری و آلرژن بودن در استفاده از این ترکیبات گیاهی به عنوان داروهایی کارآمد وجود دارد. یکی از راه‌های غلبه بر این محدودیت‌ها ایجاد محلول نانوامولسیونی از آن‌ها می‌باشد. نانوامولسیون‌ها، امولسیون‌هایی با مقیاس نانو هستند که جهت بهبود رسانش ترکیبات دارویی فعال، تولید شده‌اند (۱۳). افزایش فراهمی زیستی دارو، افزایش پایداری فیزیکی، افزایش شرایط جذب، توانایی قرارگیری در فرمولاسیون‌هایی مانند کرم و اسپری، کمک به حلالیت داروی‌های چربی دوست، پایدار بودن در برابر ته‌نشینی و تهیه‌ی ساده‌ی آن، از جمله ویژگی‌های مهم نانوامولسیون‌ها به شمار می‌آیند (۸، ۴).

Alam و همکاران، در مطالعه‌ای اثرات اسانس گل میخک بر بهبود زخم و میزان کلاژن، از طریق کپسوله کردن آن در فرم نانو امولسیون در موش صحرایی را مورد بررسی قرار دادند. نانوامولسیون، اثرات بهبودی قابل توجهی را نسبت به فرم غیر نانوامولسیونی نشان داد. از طرفی، افزایش قابل توجهی در محتوای لوسین در مقایسه با فرم غیر نانوامولسیونی و شاهد نشان داد. از طرف دیگر، مساحت سطح زخم را در روزهای ۲۰ و ۲۴ مطالعه به مقدار مشابه با گروه شاهد مثبت رساند (۱۵). به نظر می‌رسد در مطالعه‌ی حاضر نیز نانوامولسیونه کردن عصاره‌ی شیرین بیان و اسانس لاواند از طریق افزایش فراهمی زیستی، افزایش پایداری فیزیکی و افزایش قدرت جذب، توانسته است اثر بهبود دهنده‌ی بیشتری بر زخم پوستی داشته باشد.

در نهایت، می‌توان گفت نانوامولسیون حاوی اسانس لاواند و عصاره‌ی شیرین بیان، روند بهبود زخم را به طور مؤثرتری نسبت به اسانس و عصاره تسریع می‌کند و می‌توان این نانوامولسیون را در قالب فرمولاسیون‌های دارویی همچون کرم به کار برد.

تشکر و قدردانی

این مطالعه، حاصل بخشی از نتایج به دست آمده از پایان‌نامه‌ی دوره‌ی کارشناسی ارشد می‌باشد که هزینه‌ی آن، از طریق طرح تحقیقاتی شماره‌ی ۹۶۱۳۷ مصوب معاونت تحقیقات و فن‌آوری دانشگاه علوم پزشکی کاشان تأمین شده است. بدین وسیله، نویسندگان مقاله مراتب تقدیر و تشکر خود را از آن معاونت اعلام می‌دارند.

References

1. Sabale P, Bhimani B, Prajapatiand C, Sabale V. An overview of medicinal plants as wound healers. J Appl Pharm Sci 2012; 2(11): 143-50.
2. Barreiros VC, Dias FJ, Iyomasa MM, Coutinho-Netto J, de Sousa LG, Fazan VP, et al. Morphological and morphometric analyses of crushed sciatic nerves after application of a purified protein from natural latex and hyaluronic acid hydrogel. Growth Factors 2014; 32(5): 164-70.
3. Moghadamtousi SZ, Rouhollahi E, Hajrezaie M, Karimian H, Abdulla MA, Kadir HA. Annona muricata leaves accelerate wound healing in rats via

involvement of Hsp70 and antioxidant defence. Int J Surg 2015; 18: 110-7.
4. Oloumi MM, Derakhshanfar A, Nikpoor A. Healing potential of liquorice root extract on dermal wounds in rats. Iran J Vet Med 2007; 1(1): 147-54.
5. de Cassia da Silveira e Sa R, Andrade LN, de Sousa DP. A review on anti-inflammatory activity of monoterpenes. Molecules 2013; 18(1): 1227-54.
6. Marin I, Sayas-Barbera E, Viuda-Martos M, Navarro C, Sendra E. Chemical Composition, Antioxidant and Antimicrobial Activity of Essential Oils from Organic Fennel, Parsley, and Lavender from Spain. Foods 2016; 5(1).
7. Ben Djemaa FG, Bellassoued K, Zouari S, El Feki A, Ammar E. Antioxidant and wound healing activity of Lavandula aspic L. ointment. J Tissue Viability 2016; 25(4): 193-200.
8. Shakeel F, Baboota S, Ahuja A, Ali J, Shafiq S. Skin permeation mechanism and bioavailability enhancement of celecoxib from transdermally applied nanoemulsion. J Nanobiotechnology 2008; 6: 8.
9. Jaiswal M, Dudhe R, Sharma PK. Nanoemulsion: An advanced mode of drug delivery system. 3 Biotech 2015; 5(2): 123-7.
10. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. Methods 2001; 25(4): 402-8.
11. Mori HM, Kawanami H, Kawahata H, Aoki M. Wound healing potential of lavender oil by acceleration of granulation and wound contraction through induction of TGF-beta in a rat model. BMC Complement Altern Med 2016; 16: 144.
12. Ganeshkumar M, Ponrasu T, Krithika R, Iyappan K, Gayathri VS, Suguna L. Topical application of Acalypha indica accelerates rat cutaneous wound healing by up-regulating the expression of Type I and III collagen. J Ethnopharmacol 2012; 142(1): 14-22.
13. Bilia AR, Guccione C, Isacchi B, Righeschi C, Firenzuoli F, Bergonzi MC. Essential oils loaded in nanosystems: a developing strategy for a successful therapeutic approach. Evid Based Complement Alternat Med 2014; 2014: 651593.
14. Okonogi S, Chaiyana W. Enhancement of anti-cholinesterase activity of Zingiber cassumunar essential oil using a microemulsion technique. Drug Discov Ther 2012; 6(5): 249-55.
15. Alam P, Ansari MJ, Anwer MK, Raish M, Kamal YK, Shakeel F. Wound healing effects of nanoemulsion containing clove essential oil. Artif Cells Nanomed Biotechnol 2017; 45(3): 591-7.

DOI: *10.22122/jims.v36i503.10430* *Published by Vesnu Publications*

Journal of Isfahan Medical School **Vol. 36, No. 503, 3rd Week, January 2019**

Received: 14.07.2018 Accepted: 21.11.2018 Published: 05.01.2019

The Effects of Nanoemulsion Cream Containing Lavender Essential Oil and Licorice Extract on Healing of Deep Skin Wound in Rats

Maryam Kazemi[1], Mohammad Hossein Aarabi[2], Esmat Aghadavoud[3], Sayyed Alireza Talaei[4]

Original Article

Abstract

Background: Despite the very good medicinal properties of lavender essential oil and licorice extract, some factors, such as allergic reaction and being biodegradable, limit the application of them as candidates for pharmacotherapeutic treatments. Nano-emulsification is one of the ways to overcome these limitations. The aim of this study was to investigate the effects of nanoemulsion cream containing lavender essential oil and licorice extract on healing of deep skin wound in rat model.

Methods: In this experimental study, nanoemulsion cream containing lavender essential oil and licorice extract was made using self-emulsifying method. To investigate its effect on wound healing process, a full-thickness skin wound was produced on 85 male Wistar rats. The wound area was digitally photographed at 2nd, 5th, 7th, 10th, and 14th days after surgery using a digital camera; then, the area was quantified using an image analysis system (Image J). Moreover, the expression of transforming growth factor-beta1 (TGF-β1), type I collagen (Col I), and Col III genes was evaluated using real-time polymerase chain reaction (real-time PCR) at days 2, 7, and 14.

Findings: Nanoemulsion cream significantly decreased the surface area of the wounds faster than lavender essential oil and licorice extract cream ($P < 0.010$) and phenytoin ($P < 0.050$). Moreover, real-time PCR showed that topical treatment of wounds with nanomulsion cream increased the expression of TGF-β1, Col I, and Col III genes in rat's skin ($P < 0.01$).

Conclusion: Nanoemulsion cream containing lavender essential oil and licorice extract exhibits a promising wound healing potential towards excisional wound models in rats.

Keywords: Wound healing, Lavandula angustifolia, Glycyrrhiza glabra

Citation: Kazemi M, Aarabi MH, Aghadavoud E, Talaei SA. **The Effects of Nanoemulsion Cream Containing Lavender Essential Oil and Licorice Extract on Healing of Deep Skin Wound in Rats.** J Isfahan Med Sch 2019; 36(503): 1355-61.

1- MSc Student, Biochemistry and Nutrition in Metabolic Diseases Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran
2- Associate Professor, Department of Biochemistry, School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
3- Assistant Professor, Biochemistry and Nutrition in Metabolic Diseases Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran
4- Assistant Professor, Physiology Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran
Corresponding Author: Sayyed Alireza Talaei, Email: talaei@kaums.ac.ir