



شماره ثبت: ۳۰۳



دانشکده دامپزشکی
پایان نامه جهت دریافت درجه دکتری عمومی دامپزشکی
(DVM)

بررسی ماکروسکوپیک اثرات استفاده موضعی عصاره شاه بلوط
هندی بر التیام زخم در موش سوری

به کوشش دانشجو:
ندا صمدزاده

استاد راهنما:
جناب آقای دکتر محمدرضا امامی

استاد مشاور:
جناب آقای دکتر حسین کاظمی مهرجردی

آبان ماه ۱۳۸۸

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

اظهارنامه

اینجانب **ندا صمدزاده** دانشجوی دوره دکتری رشته دامپزشکی دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد نویسنده پایان نامه **بررسی ماکروسکوپیک اثرات استفاده موضعی عصاره شاه بلوط هندی بر التیام زخم در موش سوری** تحت راهنمایی استاد محترم آقای دکتر محمد رضا امامی متعهد می شوم:

- تحقیقات در این پایان نامه توسط اینجانب انجام شده است و از صحت و اصالت برخوردار است.
- در استفاده از نتایج پژوهش های محققان دیگر به مرجع مورد استفاده استناد شده است.
- مطالب مندرج در پایان نامه تا کنون توسط خود یا فرد دیگری برای دریافت هیچ نوع مدرک یا امتیازی در هیچ جا ارائه نشده است.
- کلیه حقوق معنوی این اثر متعلق به دانشگاه فردوسی مشهد می باشد و مقالات مستخرج با نام « دانشگاه فردوسی مشهد » و یا « Ferdowsi University of Mashhad » به چاپ خواهد رسید.
- حقوق معنوی تمام افرادی که در بدست آمدن نتایج اصلی پایان نامه تاثیرگذار بوده اند در مقالات مستخرج از پایان نامه رعایت شده است.
- در کلیه مراحل انجام این پایان نامه، در مواردی که از موجود زنده (یا بافت های آنها) استفاده شده است ضوابط و اصول اخلاقی رعایت شده است.
- در کلیه مراحل انجام این پایان نامه در مواردی که به حوزه اطلاعات شخصی افراد دسترسی یافته یا استفاده شده است، اصل رازداری، ضوابط و اصول اخلاق انسانی رعایت شده است.

امضای دانشجو

تاریخ:

مالکیت نتایج و حق نشر

- کلیه حقوق معنوی این اثر و محصولات آن (مقالات مستخرج، کتاب، برنامه های رایانه ای، نرم افزارها و تجهیزات ساخته شده) متعلق به دانشگاه فردوسی مشهد می باشد. این مطلب باید به نحو مقتضی در تولیدات علمی مربوطه ذکر شود.
- استفاده از اطلاعات و نتایج موجود در پایان نامه بدون ذکر مرجع مجاز نمی باشد.

به نام خدا

بررسی ماکروسکوپیک اثرات استفاده موضعی عصاره شاه بلوط

هندی بر التیام زخم در موش سوری

به کوشش

ندا صمدزاده

پایان نامه

ارائه شده به تحصیلات تکمیلی دانشگاه فردوسی مشهد به عنوان
بخشی از فعالیت های تحصیلی لازم برای اخذ درجه دکتری عمومی

در رشته ی:

دکتری حرفه ای دامپزشکی (DVM)

از دانشگاه فردوسی مشهد

جمهوری اسلامی ایران

ارزیابی کمیته پایان نامه، در جلسه مورخ 88/08/26 با درجه ی: ممتاز (19/40)، نوزده و هشتاد و
هفت) به تصویب هیات محترم داوران رسید.

امضای اعضای کمیته پایان نامه:

استاد راهنما: دکتر محمد رضا امامی، دانشیار بخش جراحی دانشکده دامپزشک

استاد مشاور: دکتر حسین کاظمی مهر جردی، استادیار دانشکده دامپزشکی

استاد داور: دکتر احمد رضا موثقی، استاد بخش پاتولوژی دانشکده دامپزشکی

استاد داور: دکتر کامران سرداری، دانشیار بخش جراحی دانشکده دامپزشکی

با سپاس بی پایان از :

اساتید راهنمای مهربانم آقای دکتر امامی

استاد مشاور گرامی ام آقای دکتر کاظمی که صمیمانه یاریم نمودند.

آقایان دکتر موثقی و دکتر سرداری

که زحمت داوری این پایان نامه را تقبل نمودند.

و تمامی اساتید ارجمندی که در طول دوره تحصیل بزرگوارانه مرا از اندوخته

های علمی و اخلاقی خویش برخوردار نمودند.....

و این پایان نامه را تقدیم میکنم

به

همسر عزیزم

به پاس تمام خوبی هایش.....

چکیده

مطالعه حاضر به منظور بررسی اثر ماکروسکوپیک عصاره هیدروالکلی شاه بلوط هندی بر التیام زخم موش سوری صورت گرفت. در این مطالعه از ۴۰ قطعه موش سوری بالغ با میانگین وزنی 20 ± 2 گرم و سن 60 ± 7 روز استفاده شد. در روز شروع مطالعه پس از شماره گذاری موش ها، آنها به ۲ گروه ۲۰ تایی، آزمایش و کنترل تقسیم شدند. تحت بیهوشی عمومی یک عدد زخم تمام ضخامت به اندازه $50/24 \text{ m}^2$ به صورت مدور در ناحیه پشت موش ها ایجاد شد. ۳ روز پس از ایجاد زخم ها، موش های گروه کنترل با پایه پماد و موش های گروه آزمایش با پماد حاوی ۳٪ عصاره دانه شاه بلوط هندی تحت درمان قرار گرفتند. در روز های ۷، ۵، ۳، ۱، ۰، ۱۵، ۱۳، ۱۱، ۹ بعد از ایجاد زخم تصاویر دیجیتال تهیه شد. عکس های حاصل با نرم افزار Scion Image مورد بررسی قرار گرفتند و بعد از تحلیل داده ها توسط نرم افزار SPSS با وجود یک اختلاف مثبت بین گروه کنترل و آزمایش، نتایج معنی دار نبود. یافته های این مطالعه نشان می دهد که درمان زخم های تمام ضخامت، با عصاره هیدرو الکلی شاه بلوط هندی نمی تواند سرعت التیام زخم را در موش سوری از نظر شاخص های ماکروسکوپیک بهبود بخشد. این مطالعه بیان می کند که این عصاره احتمالاً می تواند در زخم های مزمن و بزرگ نتایج دقیقتری نشان دهد.



فهرست مطالب

فصل اول	۱
مقدمه و هدف	۲
فصل دوم	۴
مبانی نظری تحقیق	۴
۱-۲- ساختمان پوست	۵
۱-۱-۲- اپیدرم	۵
۲-۱-۲- درم	۶
۳-۱-۲- هایپودرم	۶
۲-۲- اعمال پوست	۷
۳-۲- زخم	۸
۱-۳-۲- انواع زخم	۸
۴-۲- التیام زخم	۱۰
۱-۴-۲- التهاب	۱۱
۲-۴-۲- پاکسازی	۱۳
۳-۴-۲- ترمیم	۱۵
۴-۴-۲- بلوغ	۱۹
۵-۲- درخت شاه بلوط هندی	۲۴
۱-۵-۲- استفاده های موجود از عصاره شاه بلوط هندی	۲۵
۲-۵-۲- ترکیبات شیمیایی دانه شاه بلوط هندی	۲۶
۱-۲-۵-۲- ساپونین ها	۲۶
۲-۲-۵-۲- فلاونوئید ها	۲۷
۳-۵-۲- فعالیت های بیولوژیکال گیاه شاه بلوط هندی	۲۹
۱-۳-۵-۲- ساپونین ها	۲۹
۲-۳-۵-۲- فلاونوئید ها	۳۱
۴-۵-۲- عوارض جانبی	۳۱
۵-۵-۲- تداخل دارویی	۳۲



۳۳	۲-۶- مروری بر متون.....
۳۵	فصل سوم.....
۳۵	روش تحقیق.....
۳۶	۳-۱- حیوانات مورد مطالعه.....
۳۶	۳-۲- ساخت دارو.....
۳۷	۳-۲-۱- تهیه عصاره.....
۴۰	۳-۲-۲- تهیه پماد.....
۴۰	۳-۳- استفاده از دارو.....
۴۱	۳-۴- اخذ تصاویر دیجیتال.....
۴۲	۳-۵- اندازه گیری بافت گرانوله و اپیتلیال.....
۴۴	۳-۶- روش آماری استفاده شده در بررسی نمونه ها.....
۴۵	فصل چهارم.....
۴۵	نتایج.....
۴۶	۴-۱- نتایج میکروسکوپی.....
۴۹	فصل پنجم.....
۵۰	بحث و بررسی و تحلیل داده ها.....
۵۵	نتیجه گیری و پیشنهادات.....
۵۶	منابع و مآخذ:.....



فهرست شکل ها و تصویرها

صفحه	عنوان
۹.....	شکل ۱: مراحل التیام زخم با قصد اولیه و ثانویه.....
۲۳.....	شکل ۲: مراحل منظم التیام زخم.....
۲۴.....	شکل ۳: درخت و میوه شاه بلوط هندی.....
۲۶.....	شکل ۴: ساپونین های موجود در گیاه شاه بلوط هندی(اسین).....
۲۸.....	شکل ۵: فلاونوئید های موجود در گیاه شاه بلوط هندی.....
۲۸.....	شکل ۶: ساختمان پروآنتوسیانیدین A_2
۳۰.....	شکل ۷: نفوذ پذیری نرمال و غیر نرمال عروق.....
۳۷.....	شکل ۸: دستگاه بیهوشی استنشاقی.....
۳۹.....	شکل ۹: دستگاه روتاری.....
۴۶.....	شکل ۱۰: درصد انقباض زخم.....
۴۷.....	شکل ۱۱: درصد تشکیل بافت پوششی.....
۴۷.....	شکل ۱۲: درصد التیام زخم.....
۴۸.....	شکل ۱۳: تصاویر اخذ شده از زخم گروه تست طی ۱۵ روز.....
۴۸.....	شکل ۱۴: تصاویر اخذ شده از زخم گروه کنترل طی ۱۵ روز.....

فصل اول

مقدمه و هدف



کوتاه کردن دوره التیام زخم های ناشی از جراحی های مختلف مزیت های زیادی دارد. التیام زخم پدیده ای پیچیده ولی سازمان یافته است. هنگامی که از دست رفتن یاخته یا بافت شدیدتر باشد مثلاً در زخم های التهابی تشکیل دمل یا حتی صرفاً زخم های بزرگ فرایند ترمیم پیچیده تر است. در این شرایط بازسازی یاخته های پارانشیمی به تنهایی، نمی تواند ساختار اولیه را دوباره برقرار کند. در نتیجه، رشد وسیع بافت گرانولاسیون از حاشیه زخم به سمت مرکز آن وجود دارد. این شکل از التیام، به هم پیوستن ثانویه نامیده می شود. التیام ثانویه از چند جهت با التیام اولیه تفاوت دارد :

- ۱- نقایص بزرگ بافتی ذاتاً حجم بیشتری خرده ریزه نکروتیک ، آگزودا و فیبرین دارند که بایستی حذف شوند. در نتیجه، واکنش آماسی شدیدتر است و امکان بروز آزار ثانویه با میانجی گری التهاب بیشتر می باشد.
 - ۲- مقادیر بسیار بیشتری از بافت گرانوله تشکیل می شود. در نقایص بزرگتر حجم بیشتری از بافت گرانوله تشکیل می گردد تا با پر کردن فضای موجود یک چارچوب زمینه ای برای رشد مجدد اپیتلیوم بافتی فراهم سازد.
 - ۳- التیام ثانویه پدیده انقباض زخم (wound contraction) را از خود نشان می دهد. سطح چشمگیری از نقایص بزرگ پوستی از طریق انقباض تقلیل می یابند. این فرایند به وجود میوفیبروبلاست ها نسبت داده شده است، که فیبروبلاست های تغییر یافته ای هستند که بسیاری از ویژگی های ساختاری و کارکردی یاخته های قابل انقباض ماهیچه صاف را از خود نشان می دهند (۱) .
- این قدرت انقباضی که سلول های غیر عضلانی فیبروبلاست دارا می باشند نقش مهمی در ترمیم زخم دارد (۲) .
- سرعت التیام زخم متاثر از فاکتورهای مختلفی از قبیل هورمون و فاکتورهای پیتیدی، تغذیه، ویتامین ها و اکسیژن قرار می گیرد (۳) .
- تحقیق حاضر به منظور بررسی اثر عصاره شاه بلوط هندی بر روند التیام زخم است. اخیراً عصاره شاه بلوط هندی کاربرد گسترده ای در رفع مشکلات پوستی (چروک های پوستی) (۲، ۴، ۵) و همچنین انقباض عروق در پیشگیری و درمان واریس داشته است (۶) .



در دانه گیاه شاه بلوط هندی علاوه بر روغن (عمدتا حاوی اولئیک اسید)، پروتئین، کربوهیدرات، گلیکوزیدهای تری ترپنوییدی، فلاونوییدی، کومارین و تانن وجود دارند (۷)، (۸). مهمترین ترکیب گلیکوزیدهای تری ترپنوییدی این گیاه ازین است (۹). خواص درمانی ازین شامل کاهش نفوذپذیری دیواره مویرگی، فعالیت ضد التهاب، استحکام بخشیدن اندوتلیوم و در نتیجه کاهش ادم است (۷). ازین با کاهش نفوذ پذیری مویرگ از طریق مهار آنزیم هیالورونیداز مانع از تخریب هیالورونیک موجود در ماده زمینه ای شده و بدین طریق، ادم پا را کاهش میدهد (۱۰).

پروآنتوسیانیدین A_2 یکی از فلاونوئید های موجود در شاه بلوط هندی است که خواصی از جمله ضد باکتری، ضد ویروس، ضد التهاب و آنتی اکسیدانی دارد (۴، ۵، ۱۰، ۱۱). فیبروبلاست ها که عمدتا درگیر تولید کلاژن هستند و در نبود آسیب بافتی اصولا فعالیتی ندارند، در التیام زخم و در حالت متمایز شده به میوفیبروبلاست در انقباض آن بسیار مهم هستند (۳). بر اساس منابع، عصاره شاه بلوط هندی با فعال کردن رودامین و رودامین کیناز باعث افزایش قدرت انقباضی پوست که متاثر از فعالیت میوفیبروبلاست هاست می شود (۱۲). ما بر اساس این مکانیسم تصمیم گرفتیم اثر این ماده را بر روند التیام زخم بررسی کنیم. استفاده معمول این گیاه، در درمان واریس است که بسیار موثر می باشد و داروی آن هم اکنون در ایران تحت عنوان ونوگل موجود است.



فصل دوم

مبانی نظری تحقیق



۲-۱- ساختمان پوست

پوست از سه لایه بافتی تشکیل شده است. ۱- اپیدرم^۱ ۲- درم^۲ ۳- هایپودرم^۳

اپیدرم لایه ای سنگفرشی و شاخی است، ولی درم و هایپودرم حاوی عروق خونی و عروق لنفاوی و اعصاب پوست می باشند. غدد عرق، غدد چربی و غدد پستانی به همراه فولیکول های مو ساختارهایی هستند که در درم و هایپودرم قرار دارند (۱۳).

۲-۱-۱ لایه اپیدرم:

از غشایی به نام پرده بازال^۴ و پنج طبقه از سلول های مطابق سنگفرشی بر روی آن تشکیل شده است. این طبقات از عمق به سطح عبارتند از: طبقه بازال^۵، طبقه خاردار^۶، طبقه دانه دار^۷، طبقه شفاف^۸ و طبقه شاخی^۹. تغذیه اپیدرم از طریق نشت مایعات از بستر مویرگی موجود در لایه رتیکولر درم صورت می پذیرد (۱۳).

¹ Epidermis

² Dermis

³ Hypodermis

⁴ Basale

⁵ Stratum basal

⁶ Stratum spinosum

⁷ Stratum granulosum

⁸ Stratum lucidum

⁹ Stratum corneum



۲-۱-۲- لایه درم:

این لایه را می توان به دو لایه بافت سست سطحی^۱ (لایه پاپیلاری) که زیر اپیدرم قرار گرفته و بافت همبند نا منظم متراکم^۲ (لایه رتیکولر) که از لایه سطحی به نسوج زیر جلدی امتداد می یابد، تقسیم نمود. درم غنی از عروق خونی و پایانه های عصبی است. زائده های لایه رتیکولر درم حاوی عروق خونی است که تغذیه سلول های اپیدرم واقع در سطح فوقانی پوست را از طریق ارتشاح فراهم می کند. فیبروبلاست^۳، هیستوسیست^۴ و ماست سل^۵ سه نوع از سلول های مهم موجود در این لایه به شمار می روند. فیبروبلاست ها مسئول تولید الیاف تروپو کلاژن (الیاف نابالغ کلاژن)، الیاف الاستیک و رتیکولر هستند. هیستوسیست ها توانایی بیگانه خواری داشته و ماست سل ها مسئول تولید هیپارین و هیستامین هستند که طی صدمه به نسوج درم آزاد می گردند (۱۳، ۱۴).

۳-۱-۱- هایپورم:

در زیر درم قرار گرفته و پوست را به بافت زیرین متصل میکند. این لایه حاوی قشر ضخیمی از چربی بوده که دارای عمل محافظتی است (۱۳، ۱۴).

¹ Papillary layer
² Lamina reticularis
³ Fibroblasts.
⁴ Histocyte
⁵ Mast cell



۲-۲-۲- اعمال پوست

پوست مهمترین ارگان بدن و در اعمال متعددی نقش دارد از قبیل:

- جلوگیری از تبخیر سطحی و در نتیجه ممانعت از خشک شدن بدن

- جلوگیری از خروج الکتروولیت ها و ماکرومولکول ها از سطح پوست

- به حداقل رساندن ورود مواد شیمیایی و میکرو ارگانیسمها از سطح پوست

- محافظت از اثرات زیانبار اشعه ماوراء بنفش آفتاب

- ثابت نگه داشتن میزان کلسیم بدن

- ترشح مواد گوناگون از سطح پوست. از جمله ترشح عرق، چربی و شیر

- پوست به عنوان سد مکانیکی و حفاظتی بین حیوان و محیط ایفای نقش می کند. با

وجود این بروز زخم های جلدی در اندازه و عمق های مختلف از مسائل اجتناب ناپذیر

است. (۱۳)



۲-۳- زخم

۱-تعریف: زخم قسمتی آسیب دیده از پوست، غشا مخاطی و یا سطح اندامی از بدن می باشد. زخم ممکن است در اثر عوامل فیزیکی، شیمیایی، بیولوژیکی و نئوپلازی ایجاد می گردد(شکل ۱) (۳) .

۲-۳-۱- انواع زخم

بر اساس وسعت: در صورتی که سطحی باشد به آن زخم ساده و چنانچه عضلات، اعصاب و اوتار را در بر گیرد؛ آنرا زخم مرکب می گویند(۱۵) .

بر اساس عمق: همچنین زخم را می توان در دو شکل سطحی و عمقی تقسیم نمود. زخم های سطحی (اروزیون^۱) ضایعاتی هستند که در نتیجه ی از بین رفتن سلول های سطحی پوششی پدید می آیند و سلول های طبقه بازال غالباً سالم باقی می مانند. زخم های عمقی (اولسر^۲) کانون کوچک آماسی است که پوست و مخاطات را فراگرفته و در آن تمام طبقه مخاطی از بین رفته و انتهای زخم در بافت زیر مخاط و یا در ناحیه ای عمقی تر قرار می گیرد(۱۵) .

بر اساس تمامیت بافتی: زخم های باز آن دسته از زخم هایی هستند که در آنها پوست با تمام ضخامت از هم جدا می گردد. شامل بریدگی، دریدگی، جدا شدگی و سوراخ شدگی هستند. در زخم های بسته یا زیر جلدی هیچ یک از لایه های پوست گسیخته نمی شود. یکی از عوامل اینگونه زخم ها فشار خارجی است که منجر به آسیب بافتی و یا سستی اتصال پوست

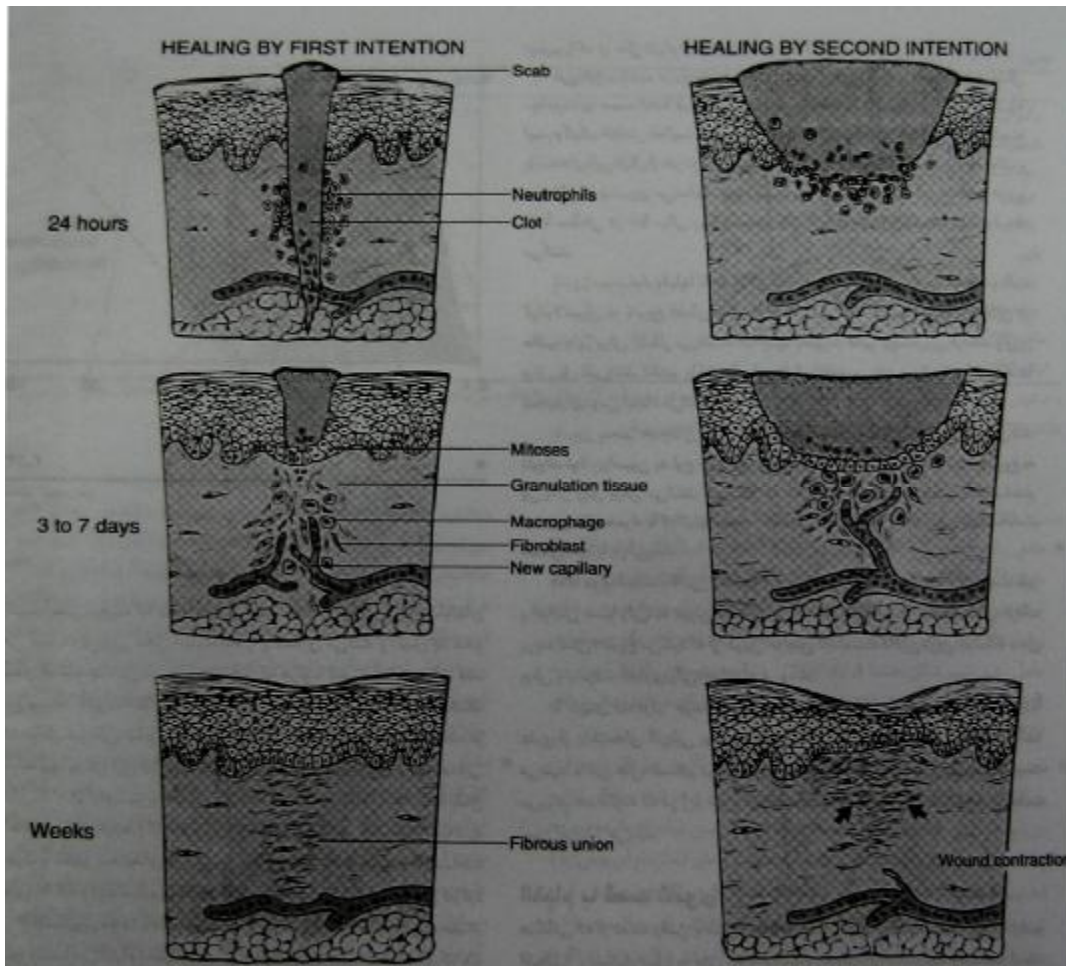
¹ Erosion

² Ulcer



به ساختار های زیرین می شود. زخم های بسته را می توان به اشکال؛ خراشیدگی، کوفتگی و کورک طبقه بندی نمود(۱۵).

بر اساس درجه آلودگی: وجود یا عدم وجود عفونت نیز می تواند به عنوان شاخصی ارزشمند در طبقه بندی زخم ها مطرح باشد، بطوریکه زخم را می توان به زخم تمیز، تمیز آلوده، زخم آلوده و زخم عفونی کثیف تقسیم نمود(۱۵).



شکل ۱: تصویری شماتیک از مراحل التیام زخم با قصد اولیه (چپ) و قصد ثانویه (راست)(۱).



۲-۴- التیام زخم^۱

التیام زخم یک فرآیند بیولوژیک پیشرفته است که بعد از ایجاد جراحات بافت را باز سازی می کند(۱۶) .

این فرایند ترکیبی از فرایندهای فیزیکی، شیمیایی و سلولار است که بافت آسیب دیده را بازسازی می کند و یا با کلاژن جایگزین می کند. التیام زخم بلافاصله بعد از ایجاد جراحات آغاز می شود و شامل چهار مرحله است(۳)(شکل ۲):

۱- التهاب^۲ ۲- پاکسازی^۳ ۳- بازسازی^۴

۴- بلوغ^۵

۳ تا ۵ روز اول روند التیام کند است. زیرا فاز التهاب و پاکسازی غالب است و التیام به صورت محسوس پیشرفت نمی کند(۳) .

التیام تحت تاثیر فاکتور هایی مثل: تفاوت های فردی، مشخصات زخم و سایر فاکتورهای خارجی قرار دارد(۳) .

¹ Wound healing

² Inflammation.

³ Debridement

⁴ Repair

⁵ Maturation.