



## Original Research Paper

## Comparison of the effect of ointment containing *Citrus aurantium* extract with phenytoin ointment on wound healing

Oveys Pourmehdi <sup>1</sup>, Ilar Moshtagh <sup>2</sup>, Tohid Moradi Gardeshi <sup>3</sup>, Majid Gholami-Ahangaran <sup>4\*</sup>

<sup>1</sup> Department of Veterinary Medicine, Babol Branch, Islamic Azad University, Babol, Iran

<sup>2</sup> Department of Veterinary Medicine, Shabestar Branch, Islamic Azad University, Shabestar, Iran

<sup>3</sup> Department of Veterinary Medicine, Garmsar Branch, Islamic Azad University, Garmsar, Iran

<sup>4</sup> Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran

### Key Words

Wound healing  
*Citrus aurantium* extract  
 Phenytoin  
 Rat

### Abstract

**Introduction:** Increasing the speed of wound healing with the least scar tissue prevents wound infection and restores the integrity and health of the skin to normal. In this regard, medicinal plants with restorative effects have long been considered to prevent infection and rapid healing of superficial wounds. The aim of this study was to evaluate the wound healing after topical application of ointment containing *Citrus aurantium* extract (5%) in comparison with phenytoin ointment in rats.

**Materials & Methods:** For this purpose, 32 adult rats were randomly divided into 4 groups, including negative control group, positive control group (without treatment), *Citrus aurantium* ointment treatment group (5%) and phenytoin ointment treatment group (1%). In this experiment, the skin of the lumbar region of mice was cut into 1 cm<sup>2</sup> after anesthesia. Ointment containing *Citrus aurantium* extract and phenytoin ointment was applied topically twice a day for 14 days. Tissue samples were taken at 4, 7, 10 and 14 days after incision and microscopic images were obtained. Blood samples were taken from mice every 6 days to check the growth factor.

**Results:** On microscopic examination on the fourth day, budding tissue including fibroblast cell proliferation and developing blood vessels (angiogenesis) was observed in both treatment groups. On the seventh day, the bud tissue was less formed in the treated groups than in the control group. On the tenth day, the formation of epithelial tissue was observed in the group treated with *Citrus aurantium* extract as opposed to the group treated with phenytoin. On the fourteenth day, more collagen deposition and absence of inflammatory cells were observed in the group treated with *Citrus aurantium* extract than in the group treated with phenytoin. Growth factor levels were not significantly different in the study groups. Examination of microscopic images and measurement of wound shrinkage revealed that the group treated with spring orange extract had a higher percentage of improvement than the group treated with phenytoin, which was statistically significant ( $p < 0.001$ ).

**Conclusion:** The results show that *Citrus aurantium* extract (5%) heals wounds faster than phenytoin ointment.

\* Corresponding Author's email: [mgholamia1388@yahoo.com](mailto:mgholamia1388@yahoo.com)

Received: 27 August 2021; Reviewed: 30 September 2021; Revised: 3 December 2021; Accepted: 4 January 2022

(DOI): 10.22034/AEJ.2022.317994.2699

## مقاله پژوهشی

مقایسه اثر پماد حاوی عصاره بهار نارنج (*Citrus aurantium*) با پماد فنی توئین

## بر ترمیم زخم در موش صحرایی

اویس پورمهدی<sup>۱</sup>، ایلاز مشتاق<sup>۲</sup>، توحید مرادی‌گردشی<sup>۳</sup>، مجید غلامی‌آهنگران<sup>۴\*</sup><sup>۱</sup> گروه دامپزشکی، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران<sup>۲</sup> گروه دامپزشکی، واحد شبستر، دانشگاه آزاد اسلامی، شبستر، ایران<sup>۳</sup> گروه دامپزشکی، واحد گرمسار، دانشگاه آزاد اسلامی، گرمسار، ایران<sup>۴</sup> گروه علوم بالینی، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

## کلمات کلیدی

## چکیده

ترمیم زخم  
عصاره بهار نارنج  
فنی توئین  
موش صحرایی

**مقدمه:** گیاهان دارویی با اثرات ترمیمی از دیرباز برای جلوگیری از عفونت و ترمیم سریع زخم‌های سطحی مورد توجه بوده‌اند. هدف این مطالعه بررسی التیام بخشی زخم پس از مصرف موضعی پماد حاوی عصاره بهار نارنج (۵ درصد) در مقایسه با پماد فنی توئین در موش صحرایی بوده است.

**مواد و روش‌ها:** بدین منظور ۳۲ موش صحرایی بالغ به صورت تصادفی در ۴ گروه تقسیم شدند که شامل گروه‌های کنترل منفی، کنترل مثبت (بدون درمان)، گروه تحت درمان با پماد بهار نارنج (۵ درصد) و گروه تحت درمان با پماد فنی توئین (یک درصد) می‌باشد. در این آزمایش پوست ناحیه کمری موش‌ها پس از بی‌هوشی، در ابعاد یک سانتی‌متر مربع برش داده شد. پماد حاوی عصاره بهار نارنج و پماد فنی توئین به مدت ۱۴ روز، روزانه ۲ مرتبه به صورت موضعی استعمال شد. نمونه بافتی در ۴، ۷، ۱۰ و ۱۴ روز بعد از ایجاد برش تهیه شد و تصاویر میکروسکوپی تهیه شد. هر ۶ روز برای بررسی میزان فاکتور رشد از موش‌ها خونگیری به عمل آمد.

**نتایج:** در بررسی‌های میکروسکوپی در روز چهارم، بافت جوانه‌ای در حال تشکیل شامل تکثیر سلولی فیبروبلاستی و عروق خونی در حال تشکیل (آنژیوژنز) در هر دو گروه درمانی مشاهده شد. در روز هفتم، بافت جوانه‌ای در حال تشکیل در گروه‌های تحت درمان نسبت به گروه کنترل کم‌تر بود. در روز دهم، تشکیل بافت پوششی در گروه تحت درمان با عصاره بهار نارنج برخلاف گروه تحت درمان با فنی توئین مشاهده شد. در روز چهاردهم، در گروه تحت درمان با عصاره بهار نارنج رسوب کلاژن بیش‌تر و عدم وجود سلول‌های التهابی نسبت به گروه تحت درمان با فنی توئین مشاهده شد. سطح فاکتور رشد در گروه‌های مورد مطالعه تفاوت معنی‌داری نداشتند. در بررسی تصاویر ماکروسکوپی و اندازه‌گیری جمع شدگی زخم مشخص گردید که گروه تحت درمان با عصاره بهار نارنج نسبت به گروه تحت درمان با فنی توئین درصد بهبودی بالاتری داشته که این اختلاف از لحاظ آماری معنی‌دار بود ( $p < 0.001$ ).

**بحث و نتیجه‌گیری:** نتایج نشان می‌دهد عصاره بهار نارنج (۵ درصد) نسبت به پماد فنی توئین باعث بهبود سریع‌تر زخم می‌گردد.

## مقدمه

سینه، تپش قلب و اختلالات گوارشی موثر است (۸). این گیاه سرشار از ویتامین‌های B، C و D می‌باشد. هم‌چنین بهارنارنج غنی از آنتی‌اکسیدان بوده و بدن را در مقابل رادیکال‌های آزاد محافظت می‌کند و در نهایت موجب تقویت سیستم ایمنی بدن می‌شود (۹). طی مطالعه انجام شده توسط Fathi و همکاران، خواص ضد میکروبی عصاره بهارنارنج تایید شده است (۱۰). طی بررسی کیفیت خواب توسط Hajjar و همکاران، مشاهده شد عصاره بهارنارنج قدرت بیش‌تری در بهبود کیفیت خواب نسبت به عصاره گل رز و لورازپام داشته و در کاهش اضطراب موثر بوده است (۱۱). در مطالعه انجام‌شده توسط Hamedی و همکاران، بر روی اثر اسانس بهارنارنج بر شاخص‌های سلامت کبدی در مدل حیوان آزمایشگاهی، تغییرات آنزیم‌های کبدی و داده‌های هیستوپاتولوژی نشان داد که این اسانس در دوزهای بالا دارای سمیت خفیف کبدی می‌باشد (۱۲). در بررسی انجام شده توسط Namazi و همکاران، بر تاثیر رایحه بهارنارنج بر شدت درد فاز فعال زایمان در زنان نخست‌زا نتایج بیانگر آن بود که رایحه درمانی با اسانس بهارنارنج موجب کاهش شدت درد زایمان می‌شود (۱۳). فنی‌توئین با نام تجاری Dilantin و با فرمول شیمیایی C15H12N2O2 از مشتقات هیدانتوئین‌ها می‌باشد. این دارو با اشکال دارویی قرص، کپسول و سوسپانسیون در بازار موجود می‌باشد. فنی‌توئین در درمان صرع، تشنج، آریتمی‌های قلبی و دردهای نوریتیک به‌کار می‌رود. این دارو در غلظت‌های درمانی با انسداد کانال‌های سدیم اثر ضد تشنج خود را اعمال می‌کند. هم‌چنین آزاد شدن سروتونین و نوراپی نفرین را مهار کرده و بر غلظت سایر واسطه‌های عصبی تاثیر می‌گذارد. فنی‌توئین به صورت موضعی برای تسریع بهبود زخم‌های عمیق جلدی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۴). فنی‌توئین سدیم به‌شکل پماد موضعی یک درصد جهت ترمیم زخم‌های پوستی استفاده می‌شود که در واکنش به ترکیبات فعال آن، فنی‌توئین موضعی روند بهبودی زخم را تحریک می‌کند. با شروع روند بهبودی پوست، فنی‌توئین باعث افزایش تشکیل سلول‌های همبند، بافت گرانوله، بافت عروقی جدید و تکثیر فیبروبلاست‌ها، کلاژن‌سازی و جلوگیری از نفوذ میکروارگانیسم‌ها و تسکین درد در ناحیه درمان می‌شود. فنی‌توئین با مهار آنزیم کلاژناز فرآیند ترمیم زخم را سرعت می‌بخشد (۱۵). در مطالعه حاضر اثر مقایسه‌ای التیام زخم توسط پماد عصاره بهارنارنج با پماد فنی‌توئین در زخم‌های برشی ایجاد شده در موش صحرایی مورد بررسی قرار گرفته است.

## مواد و روش‌ها

**حیوانات مورد آزمایش:** برای بررسی اثر مقایسه‌ای پماد عصاره بهارنارنج با فنی‌توئین بر ترمیم زخم برشی در موش صحرایی، تعداد

زخم، در ساختار آناتومیکی و عملکردی پوست اختلال ایجاد می‌کند. که براساس عوامل فیزیکی مثل ضربه، فشار، دریدگی، اصابت گلوله یا عوامل شیمیایی مثل سوختگی با اسید ایجاد می‌شود. نحوه مدیریت زخم به پارامترهای مختلفی چون مدت زمان ایجاد زخم، عمق زخم، عوامل ایجادکننده زخم، میزان خون‌رسانی موضع زخم و محل ناحیه درگیر بستگی دارد (۱). از طرفی بستر زخم محیطی مناسب برای رشد میکروارگانیسم‌ها ایجاد می‌کند. عدم درمان به‌موقع و مناسب منجر به نتایج بالینی نامطلوب و طولانی شدن پروسه درمان خواهد شد (۲). زخم‌ها پس از ترمیم به سه نوع زخم‌های ترمیم یافته ایده‌آل، زخم‌های با حداقل میزان ترمیم و زخم‌هایی با ترمیم قابل قبول تقسیم شده که زخم‌های ایده‌آل، زخم‌هایی هستند که در آن‌ها عملکرد و یکپارچگی آناتومیکی به حالت طبیعی برگشته و از طرفی ظاهر زخم نیز طبیعی باشد. زخم‌های با حداقل میزان ترمیم به زخم‌هایی اطلاق می‌شود که در آن‌ها ساختار آناتومیکی ترمیم شده اما عملکرد طبیعی مورد انتظار در آن‌ها ایجاد نشده باشد (۳). زخم‌های با ترمیم قابل قبول نیز در حال ترمیم ساختار آناتومیکی هستند ولی عملکرد ضعیفی دارند. به‌طور کلی فرآیند ترمیم زخم شامل چهار مرحله هموستاز، التهابی، تکثیر و بلوغ می‌باشد. هر کدام از این مراحل با یکدیگر هم‌پوشانی داشته و اختلال در یک مرحله منجر به اختلال در روند کلی ترمیم زخم می‌شود (۴). فاکتورهای رشد پروتئین‌هایی هستند که در التیام زخم نقش مهمی را ایفا می‌کنند که شامل فیبرونکتین‌ها، پروتئوگلیکان‌ها و گلیکوز‌آمینوگلیکان‌ها و فاکتور نکروز توموری آلفا می‌باشد. فیبرونکتین گلیکوپروتئین حیاتی در فرایند التیام زخم است که در اتصالات سلولی و مهاجرت آن‌ها نقش دارد (۵). پروتئوگلیکان و گلیکوز‌آمینوگلیکان در ماده زمینه‌ای بافت همبند وجود داشته و روند التیام زخم را تسریع می‌بخشد. فاکتور نکروز توموری آلفا توسط مونوسیت-ماکروفاژ به‌دنبال آسیب بافتی یا عفونت آزاد می‌شود. این فاکتور نقش مهمی در مرگ سلول‌های توموری و عفونت‌های مزمن باکتریایی و انگلی ایفا می‌کند. هم‌چنین عامل محرک بسیار قوی رشد عروق خونی جدید در التیام زخم می‌باشد. این فاکتور نه تنها برای سلول‌های اندوتلیوم خاصیت کموتاکسی دارد بلکه عامل تخریب غشای پایه مویرگی است که مهاجرت سلول‌های اندوتلیوم را به موضع التیام تسریع می‌کند (۶). از دیرباز تا به امروز استفاده از عصاره‌های گیاهی یکی از روش‌های موثر در ترمیم و بهبود زخم بوده است (۷). بهارنارنج شکوفه درخت نارنج است که در عطر سازی و ساخت اسانس کاربرد بسیاری دارد. عرق بهارنارنج اشتهاآور قوی بوده و برای رفع مشکلات عصبی، افسردگی، تسکین ناراحتی‌های

به‌مقدار تقریبی یک گرم از پماد به‌صورت موضعی در بستر زخم و به مدت ۱۴ روز انجام شد. از موضع زخم علاوه بر روز شروع، طی روزهای چهارم، هفتم، دهم و چهاردهم از حاشیه زخم‌ها جهت بررسی ناحیه ترمیم شده و ترمیم نشده، نمونه بافتی تهیه شد. نمونه‌های بافتی پس از جمع‌آوری و فیکساسیون، در پارافین قالب‌گیری شد و پس از تهیه مقاطع به ضخامت نیم میکرون با رنگ همتوکسیلین-اُئوزین رنگ‌آمیزی شد. طی این آزمایش میزان نوزایش عروقی، فیبروپلازی، تشکیل بافت پوششی، رسوب کلاژن، نفوذ سلول‌های التهابی و فاکتورهای رشد در مقاطع میکروسکوپی مورد بررسی قرار گرفت. جهت اندازه‌گیری مساحت زخم‌های در حال التیام، تصاویر ماکروسکوپی تهیه شده توسط دوربین موبایل با فاصله یکسان از سطح زخم در روزهای چهارم، هفتم، دهم و چهاردهم به‌صورت جداگانه در فایل‌های مشخص طبقه‌بندی شدند سپس جهت آنالیز داده‌ها در نرم‌افزار دیجی‌مایزر به کامپیوتر منتقل شدند. برای سنجش TGF-b (Transforming growth factor-beta) هر ۶ روز از موش‌ها از ناحیه دم خونگیری شد. پس از جدا کردن سرم، با کیت تجاری (Quantikine) به روش الایزا TGF-b مورد سنجش قرار گرفت.



شکل ۱: ایجاد زخم در قسمت پشتی موش‌های صحرائی

**بیوپسی از زخم:** نمونه‌گیری از موضع زخم طی روزهای چهارم، هفتم، دهم و چهاردهم بعد از ایجاد برش انجام شد. نمونه‌های اخذ شده به‌صورت تمام ضخامت بوده و بعد از نمونه‌گیری در داخل فرمالین بافر ۱۰ درصد جهت مطالعات هیستوپاتولوژی قرار گرفتند. نمونه‌ها بعد از آگیری توسط رقت‌های مختلف از الکل، الکل اتانول و زایلول، با کنار هم قرار گرفتن ۲ قالب فلزی L شکل توسط پارافین مایع قالب‌گیری گشته و بعد از ایجاد ورقه‌هایی به ضخامت ۵ میکرون توسط دستگاه میکروتوم، ورقه‌ها بر روی لام‌های شیشه‌ای قرار گرفتند. پارافین موجود در اطراف بافت‌ها مانع نفوذ رنگ به‌داخل برش‌های بافتی بود بنابراین جهت پارافین زدائی، لام‌ها در سه ظرف گزیلول هر کدام به‌مدت ۴ دقیقه قرار گرفتند. لام‌ها بعد از پارافین زدائی و رنگ‌آمیزی همتوکسیلین-اُئوزین توسط میکروسکوپ نوری بررسی شدند.

۳۲ موش صحرائی بالغ نژاد ویستار با وزن تقریبی  $20 \pm 210$  گرم از پژوهشکده شمال انستیتو پاستور (ایران) تهیه گردید. موش‌ها در شرایط استاندارد با درجه حرارت ۲۳ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۵۰ درصد تحت برنامه نوری ۱۲ ساعت روشنایی/۱۲ ساعت تاریکی و با دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. جهت رسیدن به نتایج بهتر، موش‌ها در قفس‌های پلی پروپیلن به تعداد ۳۲ عدد به صورت مجزا قرار گرفتند. قبل از شروع آزمایش، موش‌ها به‌مدت ۴۸ ساعت شرایط سازش‌پذیری را طی کردند. اصول اخلاقی مربوط به کار با حیوانات آزمایشگاهی مطابق راهنمای انستیتو ملی سلامت در همه مراحل آزمایش رعایت شد.

### جمع‌آوری گیاه و تهیه عصاره: به‌منظور تهیه عصاره، بهار

نارنج خشک شده بعد از خریداری آسیاب و در داخل کاغذ صافی بسته‌بندی شده و در قسمت محفظه استخراج سوکسله قرار داده شد. به‌میزان دو سوم از حجم بالون، حلال (الکل اتانول ۹۷ درصد) اضافه شد. بعد از روشن کردن بخش گرمکن، حلال شروع به تبخیر کرده و بخارات حاصل از آن به سمت کندانسور جریان پیدا کرد و عملیات تقطیر در این قسمت شروع شد. قطرات حاصل از میعان حلال از کندانسور بر روی نمونه گیاهی ریخته شد و در این شرایط حلال با گیاه در تماس مستقیم قرار گرفت و عملیات استخراج شروع شد. تا وقتی که سطح حلال در داخل محفظه استخراج به خروجی محفظه برسد، تمام حلال موجود در داخل محفظه به همراه عصاره استخراج شده به بالن برگشت. این چرخه تا زمانی که رنگ حلال در داخل محفظه استخراج شفاف شود، ادامه یافت. حلال غیر شفاف نشانه عدم استخراج کامل مواد موثره گیاه بود. جهت تهیه پماد ۵ درصد بهارنارنج، ۵ گرم از عصاره بهارنارنج به‌دست آمده با ۹۵ گرم اوسرین ترکیب شد.

### طراحی مطالعه و گروه‌بندی: در این مطالعه موش‌ها به‌طور

تصادفی به ۴ گروه ۸ تایی تقسیم شدند که شامل گروه کنترل منفی، گروه کنترل مثبت (اوسرین)، گروه تحت درمان با پماد عصاره بهار نارنج (۵ درصد) و گروه تحت درمان با پماد فنی‌توئین (یک درصد) می‌باشد. پماد فنی‌توئین یک درصد از شرکت داروسازی کیش مدیفارم خریداری شد. در این آزمایش، موش‌ها قبل از ایجاد زخم توسط ترکیبی از داروی کتامین (۶۰ میلی‌گرم به‌ازای وزن بدن) و زایلازین (۲۰ میلی‌گرم به‌ازای وزن بدن) به‌صورت تزریق داخل صفاقی نیمه بی‌هوش شدند و بعد از موزدایی و ضدعفونی، تمام ضخامت پوست در ابعاد یک سانتی‌متر مربع در ناحیه پشتی کمر و نزدیک ستون فقرات موش‌ها برش داده شد (شکل ۱). عمق زخم شامل درم و هیپودرم بود. پس از ایجاد زخم، درمان دوبار در روز هر ۱۲ ساعت

۱۰، از تراکم سلول‌های آماسی، عروق خونی تازه تشکیل شده و سلول‌های فیبروبلاستی در بافت جوانه‌ای گروه‌های تحت درمان نسبت به روز ۷ کاهش داشت. هرچند در گروه کنترل منفی و کنترل مثبت نسبت به گروه دریافت‌کننده عصاره بهارنارنج بافت جوانه‌ای جوان‌تر به‌نظر می‌رسید. بافت جوانه‌ای در گروه‌های تحت درمان با عصاره بهارنارنج و پماد فنی‌توئین با تراکم سلولی کم‌تر و سنتز کلاژن بیش‌تر مشاهده شد. هم‌چنین در بررسی‌های هیستوپاتولوژی روز دهم، در گروه تحت درمان با پماد عصاره بهارنارنج برخلاف گروه تحت درمان با فنی‌توئین تشکیل بافت پوششی مشاهده شد. در روز ۱۴، در گروه تحت درمان با عصاره بهارنارنج رسوب کلاژن بیش‌تر و عدم وجود سلول‌های التهابی نسبت به گروه تحت درمان با فنی‌توئین مشاهده شد. در زخم‌های تحت درمان با عصاره ۵ درصد بافت پوششی در حال پیشروی مشاهده شد و بافت جوانه‌ای از بلوغ بیش‌تری نسبت به گروه‌های کنترل مثبت و کنترل منفی برخوردار بود. داده‌های کیفی مربوط به روند ترمیم زخم در روزهای مختلف در گروه‌های کنترل منفی، کنترل مثبت، تیمار شده با پماد فنی‌توئین یک درصد و تیمار شده با پماد عصاره بهارنارنج ۵ درصد در جداول ۱، ۲، ۳ و ۴ (به ترتیب) آمده است. هم‌چنین، روند بهبود ماکروسکوپی و میکروسکوپی زخم در تیمارهای مختلف در زمان‌های مختلف در شکل‌های ۲ و ۳ (به ترتیب) نشان داده شده است.

**رنگ‌آمیزی:** لام‌های تهیه شده تحت رنگ‌آمیزی هماتوکسین ائوزین جهت بررسی میزان لکوسیت‌ها، فیبروبلاست‌ها، عروق خونی تازه تشکیل شده و بافت پوششی نو زایش قرار گرفتند. جهت رنگ‌آمیزی لام‌ها به‌مدت ۱۵ دقیقه در رنگ هماتوکسین و به‌مدت ۵ تا ۱۰ دقیقه در رنگ ائوزین قرار گرفتند و سپس در آب جاری به‌مدت ۳ تا ۵ دقیقه شسته شدند. به‌منظور بررسی تراکم سلول‌ها (تراکم لکوسیت و فیبروبلاست‌ها) در رنگ‌آمیزی H&E ۵۰× (عدسی ۴۰ و عدسی چشمی ۱۰) بررسی شد و میزان سلول‌ها در هر شان از صفر تا ۴ درجه‌بندی گردید. چنان‌چه شان مملو از سلول بود عدد ۴ و چنان‌چه خالی از سلول بود عدد صفر و مقادیر بین این دو با اعداد ۱، ۲ و ۳ درجه‌بندی شدند. در بررسی کلاژن‌ها، میزان کلاژن در هر شان از صفر تا ۴ درجه‌بندی کرده و چنان‌چه مملو از کلاژن بود عدد ۴ و چنان‌چه خالی از کلاژن بود عدد صفر و مقادیر بین این دو را با اعداد ۱، ۲ و ۳ درجه‌بندی شدند. درجه‌بندی جهت ارزیابی تشکیل بافت پوششی به این صورت بود که تنها ضخیم‌شدگی لبه‌های پوششی، درجه صفر، در صورت مهاجرت سلول‌های پوششی کم‌تر از ۵۰ درصد، درجه یک، در صورت مهاجرت سلول‌های پوششی بیش‌تر از ۵۰ درصد درجه ۲، و در صورت پل زدن ناحیه برش درجه ۳ و در صورت کراتینیزه شدن بافت پوششی درجه ۴ به آن تعلق گرفت.

## نتایج

**هیستوپاتولوژی:** در بررسی هیستوپاتولوژی، در ناحیه زخم روند ترمیم شامل تشکیل بافت پوششی و نیز تشکیل بافت جوانه‌ای (شامل تکثیر سلولی فیبروبلاستی جهت تولید کلاژن به همراه روند رگ‌زایی) در ناحیه درم مشاهده شد. ناحیه درم هم‌چنین فاقد ضمام جلدی شامل فولیکول مو، غدد عرق و غدد چربی بود. در بررسی میکروسکوپی و مطالعه توصیفی برش‌های بافتی در رنگ‌آمیزی هماتوکسین- ائوزین در روز ۴، آسیب اپیدرم و درم همراه با حضور لخته خونی و نفوذ سلول‌های التهابی در گروه‌های تحت مطالعه مشاهده شد. بافت جوانه‌ای در حال تشکیل شامل تکثیر سلولی فیبروبلاستی و نیز عروق خونی در حال تشکیل (آنژیوژنز) در گروه‌های دریافت‌کننده عصاره بهارنارنج ۵ درصد و فنی‌توئین یک درصد مشاهده شد. در روز ۷، بافت جوانه‌ای شامل تکثیر سلول‌های فیبروبلاستی و نیز رگ‌زایی جدید (آنژیوژنز) در گروه‌های تحت درمان قابل تشخیص بود و بافت جوانه‌ای جوان پر سلول و پر عروق در همه گروه‌ها مشاهده شد و میزان نفوذ سلول‌های التهابی در گروه‌های تحت درمان نسبت به گروه کنترل کاهش یافته بود. با گذشت زمان و در روز

جدول ۱: روند ترمیم زخم در گروه کنترل منفی

| روز     | روز | روز  | روز   | روند ترمیم / روزهای بعد |
|---------|-----|------|-------|-------------------------|
| چهاردهم | دهم | هفتم | چهارم | ایجاد زخم               |
| +       | ++  | ++   | +     | نوزایش عروقی            |
| ++      | ++  | +++  | -     | فیبروبلازی              |
| +       | -   | -    | -     | تشکیل بافت پوششی        |
| ++      | +   | +    | -     | رسوب کلاژن              |
| +       | ++  | +++  | ++++  | ارتشاح سلول‌های التهابی |

میزان تراکم سلول‌های لکوسیت و فیبروبلاست در هر شان از (-) تا (++++) درجه بندی شد. در جداول بالا چنان‌چه مملو از سلول بود (++++) و چنان‌چه خالی از سلول بود (-) و مقادیر بین این دو (+)، (++) و (+++) درجه‌بندی شدند. میزان کلاژن در هر شان از (-) تا (++++) درجه‌بندی شد. چنان‌چه مملو از کلاژن بود (++++) و چنان‌چه خالی از کلاژن بود (-) و مقادیر بین این دو (+)، (++) و (+++) درجه‌بندی شدند.

در درجه‌بندی تشکیل بافت پوششی نیز در صورت ضخیم شدن لبه‌های پوششی (-)، در صورت مهاجرت سلول‌های پوششی کم‌تر از ۵۰ درصد (+) در صورت مهاجرت سلول‌های پوششی بیش‌تر از ۵۰ درصد، (++) در صورت پل زدن ناحیه برش (+++) و در صورت کراتینیزه شدن بافت پوششی (++++) به آن تعلق گرفت.

زخم در گروه تحت درمان با عصاره بهارنارنج و سپس در گروه کنترل مثبت (اوسرین) و گروه تحت درمان با پماد فنی‌توئین دیده می‌شود. کم‌ترین میزان درصد بهبودی زخم در گروه کنترل دیده می‌شود که این اختلاف از لحاظ آماری معنی‌دار می‌باشد ( $p < 0.001$ ) (جدول ۵).

جدول ۴: روند ترمیم زخم در گروه تیمار شده با عصاره بهارنارنج ۵ درصد

| روز     | روز | روز  | روز   | روند ترمیم / روزهای بعد ایجاد زخم |
|---------|-----|------|-------|-----------------------------------|
| چهاردهم | دهم | هفتم | چهارم |                                   |
| +       | +   | ++   | ++    | نوزایش عروقی                      |
| ++      | ++  | +++  | ++    | فیبروپلازی                        |
| +       | -   | -    | -     | تشکیل بافت پوششی                  |
| ++      | ++  | +    | +     | رسوب کلاژن                        |
| +       | +   | ++   | ++    | ارتشاح سلول‌های التهابی           |

میزان تراکم سلول‌های لوکوسیت و فیبروبلاست در هر شان از (-) تا (++++) درجه بندی شد. در جداول بالا چنانچه مملو از سلول بود (++++) و چنانچه خالی از سلول بود (-) و مقادیر بین این دو (+)، (++) و (+++) درجه‌بندی شدند.

میزان کلاژن در هر شان از (-) تا (++++) درجه‌بندی شد. چنانچه مملو از کلاژن بود (++++) و چنانچه خالی از کلاژن بود (-) و مقادیر بین این دو (+)، (++) و (+++) درجه‌بندی شدند.

در درجه‌بندی تشکیل بافت پوششی نیز در صورت ضخیم شدن لبه‌های پوششی (-)، در صورت مهاجرت سلول‌های پوششی کم‌تر از ۵۰ درصد (+) در صورت مهاجرت سلول‌های پوششی بیش‌تر از ۵۰ درصد، (++) در صورت پل زدن ناحیه برش (+++) و در صورت کراتینیزه شدن بافت پوششی (++++) به آن تعلق گرفت.

جدول ۲: روند ترمیم زخم در گروه کنترل مثبت

| روز     | روز | روز  | روز   | روند ترمیم / روزهای بعد ایجاد زخم |
|---------|-----|------|-------|-----------------------------------|
| چهاردهم | دهم | هفتم | چهارم |                                   |
| +       | ++  | ++   | +     | نوزایش عروقی                      |
| ++      | ++  | +++  | -     | فیبروپلازی                        |
| +       | -   | -    | -     | تشکیل بافت پوششی                  |
| ++      | +   | +    | -     | رسوب کلاژن                        |
| +       | ++  | +++  | +++   | ارتشاح سلول‌های التهابی           |

میزان تراکم سلول‌های لوکوسیت و فیبروبلاست در هر شان از (-) تا (++++) درجه بندی شد. در جداول بالا چنانچه مملو از سلول بود (++++) و چنانچه خالی از سلول بود (-) و مقادیر بین این دو (+)، (++) و (+++) درجه‌بندی شدند. میزان کلاژن در هر شان از (-) تا (++++) درجه‌بندی شد. چنانچه مملو از کلاژن بود (++++) و چنانچه خالی از کلاژن بود (-) و مقادیر بین این دو (+)، (++) و (+++) درجه‌بندی شدند.

در درجه‌بندی تشکیل بافت پوششی نیز در صورت ضخیم شدن لبه‌های پوششی (-)، در صورت مهاجرت سلول‌های پوششی کم‌تر از ۵۰ درصد (+) در صورت مهاجرت سلول‌های پوششی بیش‌تر از ۵۰ درصد، (++) در صورت پل زدن ناحیه برش (+++) و در صورت کراتینیزه شدن بافت پوششی (++++) به آن تعلق گرفت.

جدول ۳: روند ترمیم زخم در گروه تیمار شده با فنی‌توئین یک درصد

| روز     | روز | روز  | روز   | روند ترمیم / روزهای بعد ایجاد زخم |
|---------|-----|------|-------|-----------------------------------|
| چهاردهم | دهم | هفتم | چهارم |                                   |
| +       | +   | ++   | ++    | نوزایش عروقی                      |
| +       | ++  | +++  | ++    | فیبروپلازی                        |
| ++      | +   | -    | -     | تشکیل بافت پوششی                  |
| +++     | ++  | +    | +     | رسوب کلاژن                        |
| +       | ++  | +++  | +++   | ارتشاح سلول‌های التهابی           |

میزان تراکم سلول‌های لوکوسیت و فیبروبلاست در هر شان از (-) تا (++++) درجه بندی شد. در جداول بالا چنانچه مملو از سلول بود (++++) و چنانچه خالی از سلول بود (-) و مقادیر بین این دو (+)، (++) و (+++) درجه‌بندی شدند. میزان کلاژن در هر شان از (-) تا (++++) درجه‌بندی شد. چنانچه مملو از کلاژن بود (++++) و چنانچه خالی از کلاژن بود (-) و مقادیر بین این دو (+)، (++) و (+++) درجه‌بندی شدند.

در درجه‌بندی تشکیل بافت پوششی نیز در صورت ضخیم شدن لبه‌های پوششی (-)، در صورت مهاجرت سلول‌های پوششی کم‌تر از ۵۰ درصد (+) در صورت مهاجرت سلول‌های پوششی بیش‌تر از ۵۰ درصد، (++) در صورت پل زدن ناحیه برش (+++) و در صورت کراتینیزه شدن بافت پوششی (++++) به آن تعلق گرفت.

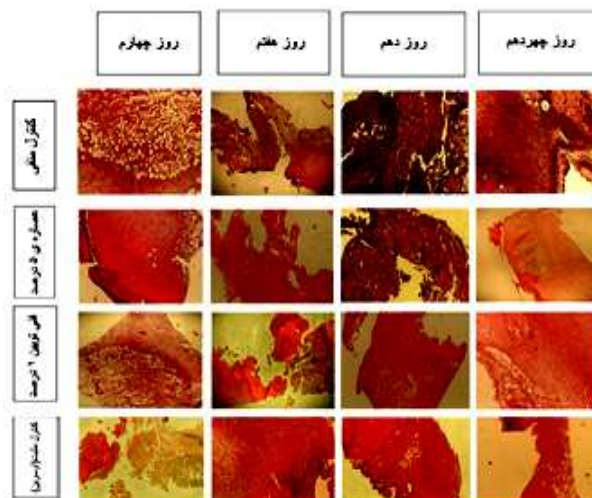
مقایسه درصد بهبودی زخم نشان می‌دهد بیش‌ترین میزان درصد بهبودی در روز چهارم، به‌ترتیب در گروه تحت درمان با عصاره بهار نارنج، گروه کنترل مثبت (اوسرین)، گروه کنترل منفی دیده می‌شود و کم‌ترین میزان درصد بهبودی در گروه تحت درمان با پماد فنی‌توئین بوده که این اختلاف از لحاظ آماری معنی‌دار می‌باشد ( $p < 0.001$ ). در روزهای ۷، ۱۰ و ۱۴ بیش‌ترین میزان درصد بهبودی



شکل ۲: روند ماکروسکوپی بهبود زخم در تیمارهای مختلف مورد مطالعه

جدول ۶: مقایسه میزان فاکتور رشد (پیکو گرم در هر میلی لیتر) در گروه‌های کنترل منفی و دریافت‌کننده عصاره بهار نارنج

| مقدار p | میانگین ±<br>انحراف معیار | گروه             | زمان        |
|---------|---------------------------|------------------|-------------|
| ۰/۰۶۲   | ۵۹±۷ <sup>a</sup>         | کنترل منفی       | روز اول     |
|         | ۶۲±۸ <sup>a</sup>         | عصاره بهار نارنج |             |
| ۰/۰۹۴   | ۶۳±۵ <sup>a</sup>         | کنترل منفی       | روز چهارم   |
|         | ۶۱±۷ <sup>a</sup>         | عصاره بهار نارنج |             |
| ۰/۲۱۹   | ۶۷±۱۰ <sup>ab</sup>       | کنترل منفی       | روز هفتم    |
|         | ۶۹±۹ <sup>ab</sup>        | عصاره بهار نارنج |             |
| ۰/۲۹۸   | ۷۱±۶ <sup>b</sup>         | کنترل منفی       | روز دهم     |
|         | ۷۳±۷ <sup>b</sup>         | عصاره بهار نارنج |             |
| ۰/۲۲۶   | ۷۲±۴ <sup>b</sup>         | کنترل منفی       | روز چهاردهم |
|         | ۷۱±۵ <sup>b</sup>         | عصاره بهار نارنج |             |



شکل ۳: روند میکروسکوپی بهبود زخم در تیمارهای مختلف مورد مطالعه

جدول ۵: میانگین و انحراف معیار درصد بهبودی زخم در روزهای بعد از ایجاد برش در گروه‌های مختلف مورد مطالعه

| مقدار p | میانگین ±<br>انحراف معیار | گروه‌ها             | روزهای<br>بعد برش |
|---------|---------------------------|---------------------|-------------------|
| ۰/۰۰۱   | ۱۱/۸۱±۰/۸۶ <sup>b</sup>   | کنترل منفی          | روز چهارم         |
|         | ۱۳/۰۱±۱/۱۹ <sup>a</sup>   | کنترل مثبت (اوسرین) |                   |
|         | ۱۴/۶۷±۱/۴۹ <sup>a</sup>   | عصاره بهار نارنج    |                   |
|         | ۱۰/۲۵±۱/۲۳ <sup>b</sup>   | فنی توئین           |                   |
| ۰/۰۰۱   | ۱۷/۲۰±۱/۲۴ <sup>c</sup>   | کنترل منفی          | روز هفتم          |
|         | ۳۰/۲۹±۱/۱۵ <sup>b</sup>   | کنترل مثبت (اوسرین) |                   |
|         | ۳۵/۶۰±۱/۳۲ <sup>a</sup>   | عصاره بهار نارنج    |                   |
|         | ۲۸/۵۶±۱/۲۳ <sup>b</sup>   | فنی توئین           |                   |
| ۰/۰۰۱   | ۳۹/۵۴±۱/۳۵ <sup>d</sup>   | کنترل منفی          | روز دهم           |
|         | ۴۲/۳۵±۱/۱۲ <sup>c</sup>   | کنترل مثبت (اوسرین) |                   |
|         | ۵۸/۶۴±۱/۱۵ <sup>a</sup>   | عصاره بهار نارنج    |                   |
|         | ۴۷/۲۳±۱/۴۰ <sup>b</sup>   | فنی توئین           |                   |
| ۰/۰۰۱   | ۶۵/۰۶±۱/۲۴ <sup>d</sup>   | کنترل منفی          | روز چهاردهم       |
|         | ۷۳/۰۹±۱/۰۹ <sup>c</sup>   | کنترل مثبت (اوسرین) |                   |
|         | ۸۷/۳۹±۱/۲۷ <sup>a</sup>   | عصاره بهار نارنج    |                   |
|         | ۷۶/۵۰±۰/۹۵ <sup>b</sup>   | فنی توئین           |                   |

#### فاکتور رشد TGF- $\beta$ : مقایسه میزان فاکتور رشد در گروه‌های

مختلف نشان می‌دهد که سطح فاکتور رشد در گروه‌های مورد مطالعه علی‌رغم تغییر، فاقد تفاوت معنی‌داری بودند ( $F= ۲/۵۵$ ,  $P=۰/۱۲۵$ ) (جدول ۶).

## بحث

گیاهان دارویی به‌عنوان گنجینه ارزشمندی در علوم دارویی محسوب می‌شوند. نتایج مطالعه اخیر نیز نشان داده است که پماد حاوی بهار نارنج می‌تواند روند ترمیم زخم را تسریع نماید. مکانیسم عملکرد بهار نارنج بر ترمیم زخم ناشناخته است اما به نظر می‌رسد بهار نارنج با خاصیت ضد میکروبی و به‌ویژه اثر ممانعت‌کنندگی بر رشد باکتری‌های عامل مولد عفونت زخم مانند سودوموناس آئروژنوزا مانع از عفونت زخم با میکروفلور طبیعی می‌شود و بر روند بهبودی زخم موثر است. از طرف دیگر به نظر می‌رسد اثرات آنتی‌اکسیدانی این ترکیب با خنثی کردن عوامل اکسیدان ناشی از سلول‌های التهابی و در نهایت تقویت سیستم ایمنی بدن در روند بهبودی زخم موثر باشد. مطالعه اخیر نشان داد که استفاده از پماد بهار نارنج با فنی توئین در روند بهبودی اثر بسیار چشمگیری دارد. فنی توئین سدیم معمولاً به شکل پماد موضعی یک درصد جهت ترمیم زخم‌های پوستی استفاده می‌شود. اما در مطالعه اخیر نشان داده شد که استفاده از این پماد به همراه بهار نارنج در تسریع روند بهبودی اثر مثبت دارد. قبلاً بیان شده است که فنی توئین باعث افزایش تشکیل سلول‌های همبند، بافت گرانوله، بافت عروقی جدید و تکثیر فیبروبلاست‌ها، کلاژن‌سازی و جلوگیری از نفوذ میکروارگانیسم‌ها و تسکین درد در ناحیه زخم می‌شود. فنی توئین با مهار آنزیم کلاژناز فرآیند ترمیم زخم را سرعت می‌بخشد. به نظر می‌رسد یک خاصیت هم افزایی بین این دو ترکیب وجود دارد که باعث تسریع روند بهبودی زخم شده است. در مطالعات مختلف اثر گیاهان دارویی به همراه فنی توئین استفاده شده است در یک بررسی عصاره گیاه یونجه پا کلاغی

تولید کلاژن نوع ۱ و سیتوکین‌های التهابی را در ترمیم زخم دارند (۲۱). اگرچه قبلاً اثر بهارنارنج بر میزان تولید و آزادسازی فاکتور رشد بررسی نشده است اما در مطالعه اثر القاکنندگی ژل آلونهورا بر بیان ژن رسپتور فاکتور رشد اپیتلیالی در زخم‌های پوستی موش‌های نر Balb/c نشان‌دهنده آن بود که عصاره ژل آلونهورا سبب افزایش بیان ژن رسپتور EGF در زخم پوستی می‌شود. در این مطالعه درصد بهبودی زخم‌های گروه تجربی افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل داشتند و هم‌چنین عصاره ژل آلونهورا قادر به القا بیان ژن رسپتور EGF در پوست آسیب‌دیده موش‌ها شد و قادر به ایفای یک نقش محوری در فرآیند ترمیم زخم بود (۲۲).

در مجموع به‌نظر می‌رسد عصاره بهارنارنج ۵ درصد با اثر ضد میکروبی و ضدالتهابی در روزهای اولیه ترمیم و تشکیل سریع‌تر بافت پوششی و بلوغ سریع بافت جوانه‌ای اثر ترمیمی سریع‌تری نسبت به گروه‌های تحت درمان با فنی‌توئین یک درصد، کنترل مثبت و کنترل منفی داشته است و می‌تواند به‌عنوان یک درمان کمکی در بهبود روند زخم استفاده شود.

## تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از ریاست و مدیر گروه محترم دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل جهت حمایت و همکاری در طی انجام پروژه، قدردانی می‌گردد.

## منابع

1. Guo, S.A. and DiPietro, L.A., 2010. Factors affecting wound healing. *J Dental Res.* 89(3): 219-229.
2. Mirbagheri, M.J. and Gholami-Ahangaran, M., 2021. The concurrent infection of *Avibacterium paragalinarum* and *Escherichia coli* in swollen head syndrome cases of layers in Isfahan province. *Iran J Anim Environ.* 13(4): 97-102. (In Persian)
3. Wannous, H., Lucas, Y. and Treuillet, S., 2010. Enhanced assessment of the wound-healing process by accurate multiview tissue classification. *IEEE Trans Med Imaging.* 30(2): 315-326.
4. Abazari, M., Ghaffari, A., Rashidzadeh, H., BADELEH, S.M. and Maleki, Y.A., 2010. Systematic review on classification, identification, and healing process of burn wound healing. *Int J Lower Ex Wounds.* 15(3): 473-480. (In Persian)
5. Bao, P., Kodra, A., Tomic-Canic, M., Golinko, M.S., Ehrlich, H.P. and Brem, H., 2009. The role of vascular endothelial growth factor in wound healing. *J Surg Res.* 153(2): 347-358.
6. Ashcroft, G.S., Jeong, M.J., Ashworth, J.J., Hardman, M., Moutsopoulos, N. and Wahl, S.M., 2012. Tumor necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ ) is a therapeutic target for

(*Lotus corniculatus* L.) و پماد فنی‌توئین بر روی التیام زخم پوستی بررسی شد در این بررسی سطح زخم التیام‌یافته در گروه‌های تحت‌درمان با عصاره ۲۰ و ۴۰ درصد گیاهی نسبت به سایر گروه‌های کم‌تر بود و هم‌چنین در نتایج هیستوپاتولوژیکی برآیند کلی التیام در گروه‌های تحت درمان با عصاره بهتر از سایر گروه‌ها بود. در نتیجه اثرات ضدالتهابی، ضد میکروبی و ترمیمی عصاره گیاه یونجه پا کلاغی در مقایسه با داروی فنی‌توئین در التیام زخم‌های جلدی تمام ضخامت موثرتر بود. (۱۶). در بررسی دیگری عصاره علف جوش (*Lotus corniculatus*) به‌همراه فنی‌توئین استفاده شد و نشان دادند مصرف موضعی عصاره هیدواتانولی علف جوش به همراه فنی‌توئین ترمیم زخم را از روز هفتم به بعد تسریع کرد (۱۷). Zeinali و Sharifan، نشان دادند که اثر ترمیمی گیاه کوهستانی قیچ (*Zygophyllum eurypterum*) بر زخم و التهاب پوستی به همراه فنی‌توئین افزایش می‌یابد و زمان لازم برای بهبودی کامل زخم در گروه دریافت‌کننده گیاه قیچ نسبت به گروه پماد فنی‌توئین به‌طور معنی‌دار کم‌تر بود (۱۸). در خصوص استفاده از بهارنارنج در ترمیم زخم یک مطالعه وجود دارد که نشان می‌دهد عسل بهارنارنج می‌تواند در تسریع روند ترمیم زخم در مدل حیوانی اثر قابل توجهی داشته باشد (۱۹). در بررسی اثر فاکتورهای رشد تغییر شکل‌دهنده بتا و فاکتور بازی رشد فیبروبلاستی بر قابلیت سلول‌های بنیادی استخراج‌شده از خون محیطی و مغز استخوان در ترمیم زخم موش نتایج حاکی از آن بود که با استفاده از فاکتورهای رشد ذکر شده مهاجرت سلول‌های بنیادی به محل زخم افزایش می‌یابد. هم‌چنین در محل زخم رونویسی ژن کلاژن نوع یک در سلول‌های بنیادی استخراج‌شده افزایش می‌یابد. در نتیجه فاکتورهای رشد بر قابلیت سلول‌های بنیادی استخراج‌شده از خون محیطی و مغز استخوان در ترمیم زخم موش اثر مثبتی دارند (۲۰). فاکتورهای رشد مختلفی در فرآیند ترمیم زخم نقش دارد. شناخته‌شده‌ترین آن‌ها فاکتور رشد تغییر شکل‌دهنده بتا است که محرک تجدید یا ترمیم بافت است. این فاکتور قدرتمندترین عامل در ترمیم است. هم‌چنین این فاکتور یک تعدیل‌کننده فیبروزیک (تشکیل بافت همبند) مهم در بدن محسوب می‌شود. این فاکتور در تنظیم التهاب نیز نقش دارد. در ترمیم زخم سیتوکین‌ها و عوامل کموتاکسی و میوژنیک با اثر روی برخی سلول‌ها مثل سلول‌های اندوتلیال و فیبروبلاست‌ها عمل می‌کنند. فاکتور رشد فیبروبلاستی باعث افزایش پاسخ گلبول‌های سفید خون به سیتوکین‌ها و عوامل کموتاکسی و حضور آن‌ها در درم ملتهب می‌شود. در بررسی دیگری مشخص شد فیبروبلاست‌های خون محیطی که در فرآیند ترمیم زخم موثر است توانایی تولید کلاژن در محل زخم را به‌عهده دارد. در مطالعه دیگری ثابت شد که فیبروبلاست‌های خون محیطی نقش



22. **Najafi, N., Arabi, M and Jafarzadeh, H., 2014.** Inducing effect of *aloe vera* gel extract on epithelial growth factor receptor gene expression in cutaneous wounds of male mice Balb/c. *Cell Tissue*. 5(1): 53-61. (In Persian)
7. **Budovsky, A., Yarmolinsky, L. and Ben-Shabat, S., 2015.** Effect of medicinal plants on wound healing. *Wound Rep Reg*. 23(2): 171-183.
8. **Suntar, I., Khan, H., Patel, S., Celano, R. and Rastrelli, L., 2018.** An overview on *Citrus aurantium* L.: Its functions as food ingredient and therapeutic agent. *Oxidative Med Cell Longevity*. 12(4): 100-110.
9. **Karthikeyan, V. and Karthikeyan, J., 2014.** *Citrus aurantium* (bitter orange): A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. *Int J Drug Dis Herbal Res*. 4(4): 766-772.
10. **Fathi, H., Paknejad, S. and Ahanjan, M., 2017.** Evaluating antimicrobial effects of different *orange blossom* extract (*Citrus aurantium* L) on microbial species in vitro. *Health Biotech. Biopharma*. 1: 25-36.
11. **Hajjar, T., Arhami, M. and Kakhki, M.V., 2019.** Comparative Effects of *Orange Blossom*, Violet, and *Marjoram* Extracts and Lorazepam on Sleep Deprivation Induced Anxiety in Mice. *Neurophysiol*. 51(1): 29-34.
12. **Hamed, A., Jamshidzadeh, A., Dana, M., Pasdaran, A. and Heidari, R., 2020.** Investigation of the effect of essential oil from *Citrus aurantium* L. flowers on liver health parameters in a laboratory animal model. *Kaums J (Feyz)*. 24(1): 38-47. (In Persian)
13. **Namazi, M., Akbari, S.A., Mojab, F., Talebi, A., Majd, H.A. and Jannesari, S., 2014.** Aromatherapy with *citrus aurantium* oil and anxiety during the first stage of labor. *Iran Red Cres Med J*. 16(6): 100-110. (In Persian)
14. **Oluwatosin, O.M., Olabanji, J.K., Oluwatosin, O.A., Tijani, L.A. and Onyechi, H.U., 2000.** A comparison of topical honey and phenytoin in the treatment of chronic leg ulcers. *Afr J Med Med Sci*. 29(1): 31-34.
15. **Bhatia, A. and Prakash, S., 2004.** Topical phenytoin for wound healing. *Derm Online J*. 10(1): 100-110.
16. **Asadbegi, M., Mirazi, N., Vatanchian, M. and Gharib, A., 2016.** Comparing the healing effect of *Lotus Corniculatus* Hydroethanolic Extract and phenytoin cream 1 on the rat's skin wound: A Morphometrical and Histopathological Study. *J Chem Pharm Sci*. 9(2): 746-752. (In Persian)
17. **Gomar, A., Hosseini, A. and Mirazi, N., 2014.** Effect of *Lotus Corniculatus* L. Extracts on Wound Healing in Male Diabetic Rats Induced with Streptozocin. *Med J Tabriz Uni Med Sci*. 36(4): 94-101. (In Persian)
18. **Zeinali, M. and Sharifan, M., 2014.** The restorative role of *Zygophyllum eurypterum* on wounds and skin inflammation, 2nd International Conference on New Findings in Agricultural Sciences, Resources and Environment, Tehran, Iran. (In Persian)
19. **Pourmahdi, O., Moshtagh, I., Rezvan, M. and Gholami Ahangaran, M., 2022.** Comparison of the effect of citrus aurantium honey with phenytoin ointment on wound healing in rats. *Iran J New Findings in Vet Microbiol*. 4(2): 120-132. (In Persian)
20. **Bakshayesh, M., Soleimani, M., Mehdizadeh, M. and Katebi, M., 2012.** Effects of TGF- $\beta$  and b-FGF on the potential of peripheral blood-borne stem cells and bone marrow-derived stem cells in wound healing in a murine model. *Inflammation*. 35(1): 138-142. (In Persian)
21. **Sharifian Paghaleh, M., Zeinali Pour, M. and Tavakkoli, M., 2013.** The study of *Zygophyllum eurypterum* effects on wound healing process in Suri mice (*Mus musculus*). *J Animal Environment*. 7(3): 65-72. (In Persian)