



Semnan University of Medical Sciences

KOOMESH

Journal of Semnan University of Medical Sciences

Volume 21, Issue 2 (Spring 2019), 205- 393

ISSN: 1608-7046

Full text of all articles indexed in:

Scopus, Index Copernicus, SID, CABI (UK), EMRO, Iranmedex, Magiran, ISC, Embase

اثر درمان خوراکی ایوپاتیلین بر محافظت فلاپ‌های پوستی در موش‌های صحرایی

جلال‌الدین میرزای رزاز^۱ (M.D, Ph.D)، امیرعلی عبادی فردآذر^۲ (M.D Student)، مهدیه نظیری^۳ (M.Sc)، مجید بنی محمد^۴ (M.D Student)، عباس مجدی سقین سرا^۵ (Ph.D)، غلام‌علی جاودان^۶ (Ph.D)

۱- انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۲- دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

۳- گروه آمار زیستی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

۴- مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

۵- گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

۶- مرکز تحقیقات جراحی کم‌تهاجمی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۲/۲۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۱/۳

Javdan.gholamali@gmail.com

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۲۱۱۰۴۶۳۲

چکیده

هدف: فلاپ‌های پوستی امروزه برای ترمیم زخم‌ها، ضایعات پوستی و در جراحی‌های ترمیمی ایجاد می‌شوند. مشکل اساسی در این میان، از دست رفتن بافت فلاپ و نکروز آن به دلیل فرآیندهای حاصل از آسیب ایسکمی-خون‌رسانی مجدد و گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن است. هدف این پژوهش اثر تجویز ایوپاتیلین (Eupatilin)، یک ترکیب مشتق از گیاه Artemisia با اثرات ضدالتهابی و آنتی اکسیدانی، را روی بقای فلاپ پوستی و استرس اکسیداتیو، به وسیله اندازه ناحیه نکروزی فلاپ و مارکرهای استرس اکسیداتیو در موش صحرایی بررسی شد.

مواد و روش‌ها: چهل موش به چهار گروه ده تایی شامل گروه Sham، گروه فلاپ، گروه ایوپاتیلین + فلاپ (دریافت قبل از انجام فلاپ)، و گروه فلاپ + ایوپاتیلین (دریافت بعد از انجام فلاپ) تقسیم شدند. ایوپاتیلین با دوز ۱۰ mg/kg به صورت خوراکی، به موش‌ها تجویز شد. یک هفته پس از جراحی فلاپ انجام شده در ابعاد ۸×۳ سانتی‌متر، درصد نکروز فلاپ، میزان مالون دی آلدئید (MDA) - با استفاده از روش تیوباربتوریک اسید - و سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) - با استفاده از یک روش آنزیمی اکسیداز- اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: درمان با ایوپاتیلین چه پیش از انجام فلاپ و چه بعد از آن، باعث کاهش میزان نکروز فلاپ شد ($P < 0.05$) در مقابل گروه فلاپ). کاهش میزان MDA ($P < 0.05$) در مقابل گروه فلاپ) و افزایش فعالیت سوپراکساید دیسموتاز (SOD) دیده شد ($P < 0.01$) در مقابل گروه فلاپ).

نتیجه‌گیری: داده‌های حاصله از این پژوهش، نشان‌دهنده بهبود بقای فلاپ پوستی در موش‌های صحرایی و کاهش میزان نکروز بافتی و استرس اکسیداتیو توسط درمان با ایوپاتیلین، چه پیش از انجام فلاپ و چه بعد از آن، در فلاپ‌های پوستی می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: ایوپاتیلین، فلاپ پوستی، نکروز بافتی، مالون دی آلدئید (MDA)، سوپر اکسید دیسموتاز (SOD)

مقدمه

فلاپ پوستی قطعه‌ای از بافت است که یک سمت یا انتهای آن (که پایه یا ساقه می‌نامیم) در محل خود متصل باقی مانده و انتهای دیگر به محل گیرنده متصل می‌شود. ۱ الی ۵ درصد دریافت‌کنندگان فلاپ با از دست رفتن کامل آن مواجه می‌شوند و ۲۰ الی ۳۳ درصد نیز با نکروز نسبی فلاپ مواجهه پیدا می‌کنند [۱-۳]. با وجود بسیاری از شیوه‌های درمانی برای ترمیم ضایعات پوستی و آسیب‌دیدگی‌ها، امروزه فلاپ‌های پوستی اغلب

برای بازسازی آسیب پوستی ناشی از نقص‌ها و جراحی‌ها ایجاد می‌شوند [۴، ۵]. روش انجام فلاپ پوستی و نحوه شکاف پوستی ایجاد شده در جریان جراحی فلاپ، همراه با خطر آسیب‌های ایسکمیک است. این آسیب‌های ایسکمیک اغلب با از دست رفتن جزئی یا کامل فلاپ همراه هستند. جریان خون نامناسب به بافت فلاپ و آسیب‌های ایسکمیک پس از جراحی، علت اصلی نکروز فلاپ در قسمت دیستال آن است [۶-۸]. هم‌چنین آسیب ناشی از ایسکمی - خون‌رسانی مجدد، فرآیندهای التهابی، و فعالیت

عوارض کم‌تری هستند، می‌توانند نامزد مناسبی برای کاهش آسیب‌های ایسکمیک فلاپ در شرایط بالینی باشند [۳۰، ۳۲-۳۳]. بدیهی است که آنتی‌اکسیدان‌ها بر مسیرهای پیام‌رسانی داخل سلولی اثر دارند [۳۳]. عصاره *Artemisia asiatica* (Asteraceae) و ماده فعال آن ایوپاتیلین، برای کاهش پاسخ التهابی شناخته شده است [۳۴]. ایوپاتیلین به عنوان ماده‌ای دارای خواص ضد التهابی و ضد استرس اکسیداتیو شناخته شده پتانسیل درمانی ایوپاتیلین برای بیماری‌های مختلف، از جمله زخم معده، گاستریت و زخم‌های پپتیک، آسیب کبدی و آسیب پانکراس، به اثرات ضد التهابی آن مربوط است. مطالعات قبلی نشان داده‌اند که ایوپاتیلین موجب کاهش آسیب مجدد ایسکمی در اندام‌های مختلف می‌شود [۳۵-۳۹]. با این حال پتانسیل درمانی ایوپاتیلین در برابر آسیب‌های ایسکمیک فلاپ پوست به همراه فعالیت‌های ضد التهابی آن در کاهش نکروز فلاپ شناخته شده نیست. در این مطالعه ایوپاتیلین را قبل یا بعد از جراحی فلاپ تجویز کردیم (Pre-surgery treatment group and Post-surgery treatment group) تا اثر آن بر روی بقای فلاپ و مدیاتورهای استرس اکسیداتیو را بررسی کنیم [۴۰].

مواد و روش‌ها

موش‌های Sprague-Dawley با وزن ۱۸۰ تا ۲۴۰ گرم در این مطالعه استفاده شدند. ۴۰ موش صحرایی به چهار گروه ۱۰ تایی به نام‌های گروه Sham، گروه فلاپ، گروه ایوپاتیلین + فلاپ (تجویز قبل از انجام جراحی فلاپ)، و گروه فلاپ + ایوپاتیلین (تجویز بعد از انجام جراحی فلاپ) تقسیم شدند. تمام پروتکل‌ها توسط کمیته مراقبت‌های حیوانات دانشگاهی وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی تایید شده و طبق مقررات دانشگاه علوم پزشکی ایران مصوب و اجرا شده است. در گروه Sham، پوست در ابعاد ۸×۳ سانتی‌متر بدون بلند کردن برش داده شد. در گروه Flap، پس از ایجاد دو برش موازی، آن‌ها به صورت متناوب متصل شده و پوست از سطح پایه‌اش بلند شد. دو گروه دیگر (Eupatilin + Flap)، با ۱۰ mg/kg ایوپاتیلین قبل و یا بعد از جراحی درمان شدند. قبل از فلاپ، به حیوانات ۵۰ mg/kg کتامین هیدروکلراید ۱۰ درصد، و ۴ mg/kg زایلازین ۲ درصد به صورت داخل صفاقی (i.p.) تزریق شد.

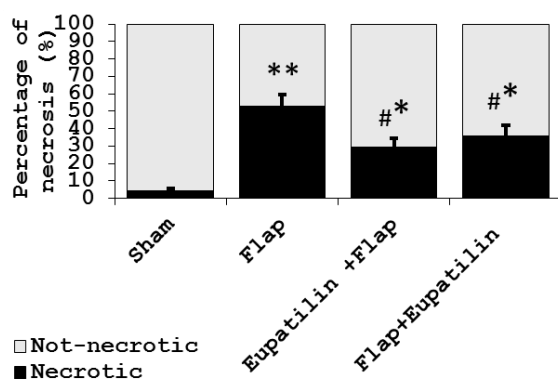
در مورد جراحی فلاپ، ارتفاع آن و اندازه‌گیری ناحیه نکروز بر اساس روش مک فارلین عمل شده است [۴۱]. برش موازی (۸ سانتی‌متر) در پشت موش‌ها با برش ۳ سانتی‌متر caudal incision متصل شد. پوست در منطقه به آرامی از پایه آن با استفاده از یک اسکالپل جدا شد و یک فیلم پلاستیکی استریل بین پوست بلند شده و فاسیای نگه‌دارنده آن قرار گرفت. تمام

سیستم ایمنی بدن نیز در ایجاد صدمات بافتی دخیل است که فلاپ پوستی نیز به عنوان یک بافت، از آن مستثنی نیست [۹-۱۳]. امروزه به عنوان راه حلی برای کنترل نکروز فلاپ، علاوه بر بحث‌های پیرامون عمر سلولی و مسیرهای کنترلی بقای سلول که به صورت تحقیقاتی مطرح هستند [۱۴]، معمولاً در عمل، درمان‌های پزشکی فراوانی انجام می‌شود که شامل تکرار عمل جراحی می‌باشد [۱۵، ۱۶] اما این اعمال اغلب به صورت مشهود، موثر واقع نمی‌شوند و احساس نیاز بزرگی برای روش‌هایی که می‌توانند در کنترل از دست رفتن بافت فلاپ پوستی موثر باشند، وجود دارد.

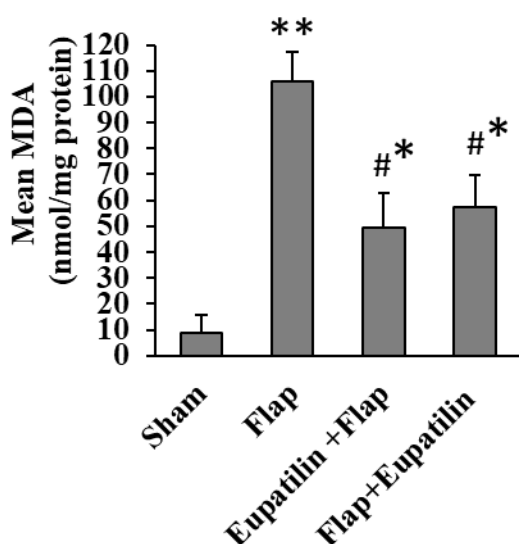
آسیب بافتی ایسکمیک به طور عمده ناشی از تولید و انتشار بیش از حد گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) و واکنش‌های التهابی فعال ایجاد شده توسط انواع مختلف سلول‌ها است [۱۷-۲۲]. به‌وجود آمدن گونه‌های واکنشگر اکسیژن ناشی از خون‌رسانی مجدد به بافت، یا ناشی از فعالیت سیستم ایمنی خود بدن است. در مکانیسم پاتوژنز آسیب ناشی از ROS ها می‌توان گفت که آن‌ها به وارد آوردن صدمه به غشاء (پراکسیداسیون لیپیدی و تخریب اتصالات غشاء) و همچنین به‌وجود آوردن تغییرات DNA موجب تهدید حیات سلول می‌شوند. حاصل برهم‌کنش میان سلول و ROS هم می‌تواند منجر به نکروز بافتی بشود (بیش‌تر در مقادیر بالای ROS)، و هم می‌تواند از دست رفتن بافت به طریقه‌ی آپوپتوز را باعث شود (در مقادیر پایین‌تر ROS). در میان واسطه‌های مولکولی که در آسیب بافتی ایجاد شده توسط ایسکمی و یا در مسیرهای سیگنالی محافظتی وارد عمل می‌شوند، کانال‌های پتاسیمی حساس به ATP (KATP) میتوکندری از عوامل مهم می‌باشد که از طریق واسطه‌های مولکولی مختلف وارد عمل می‌شود [۱۷، ۲۳، ۲۴]. فعال شدن کانال‌های KATP در حفظ پایداری غشای میتوکندری و کاهش مرگ سلولی آپوپتوتیک با کاهش بیان پروتئین پیش آپوپتوتیک Bax و پروتئین Caspase-3 همراه است [۲۵].

بسیاری از مکانیسم‌های طبیعی خود بدن مثل فرآیندهای التهاب و ترمیم و بیماری‌هایی هم‌چون سرطان را می‌توان توسط داروها یا موادی که به بدن وارد می‌کنیم تغییر داد [۲۶، ۲۷]. با توجه به این امر، بافت فلاپ نیز از این قضیه مستثنی نیست و می‌توان آن را با استفاده از داروهایی برای افزایش حفاظت بافت در برابر آسیب‌های ایسکمیک مدیریت کرد. داروهایی که منجر به کاهش واکنش‌های التهابی و مسدود کردن استرس اکسیداتیو می‌شوند، از جمله کاندیداهای دارویی بهبود بقای فلاپ پس از عمل هستند [۲۸، ۲۹].

در میان عوامل دارویی آنتی‌اکسیدان و ضد التهابی، آن‌هایی که از منابع طبیعی مشتق شده‌اند و بدون عوارض جانبی یا با



شکل ۱. میزان نکروز پس از گذشت هفت روز از ایجاد مدل فلاپ. داده‌ها به صورت $\text{Mean} \pm \text{SDV}$ نمایش داده می‌شوند. نواحی تیره نشان دهنده درصد نکروز بافتی و نواحی خاکستری نشان دهنده بافت غیر نکروزه در هر گروه است. * $P < 0.05$ و ** $P < 0.01$ در مقابل Sham و # $P < 0.05$ در مقابل Flap.



شکل ۲. محتوای MDA یا پراکسیداسیون لیپید در بافت فلاپ یک هفته پس از ایجاد مدل فلاپ. * $P < 0.05$ ، ** $p < 0.01$ در مقابل Sham و # $P < 0.05$ در مقابل گروه فلاپ.

فعالیت SOD به عنوان نشان‌دهنده ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بافت فلاپ مورد ارزیابی قرار می‌گیرد. فعالیت SOD یک هفته پس از ایجاد مدل فلاپ به طور معناداری کاهش یافت ($P < 0.05$ ؛ در مقابل گروه Sham، شکل ۳). پیش‌درمان با ایوپاتیلین به طور معنی‌داری فعالیت SOD را در بافت فلاپ در مقایسه با گروه کنترل Flap افزایش داد ($P < 0.01$). تجویز ایوپاتیلین پس از جراحی، فعالیت SOD را در مقابل گروه Flap افزایش داد ($P < 0.01$).

ما اختلاف معناداری در محتوای MDA و فعالیت SOD در بافت‌های فلاپ تهیه شده از گروه‌های تجویز ایوپاتیلین قبل از

برش‌ها دوخته شد و موش‌ها به قفس جداگانه باز گردانده شدند. درصد ناحیه نکروزه در هر فلاپ در روز هفتم پس از بالا بردن فلاپ با تقسیم طول ناحیه نکروتیک به طول کل فلاپ محاسبه و نتیجه بر اساس درصد محاسبه شد. در روز هفتم به موش‌ها میزان 150 mg/kg کتامین تزریق شد و فلاپ‌های پوستی برای ارزیابی‌های بیوشیمیایی جمع‌آوری و ذخیره شدند.

پنج نمونه بافتی (3×3 میلی‌متر) از هر فلاپ تهیه شده و وزن آن تعیین و سپس در بافر تریس اتیلن دی آمین اتر استیک اسید ($\text{pH } 7.0$ و 4°C درجه سانتی‌گراد) هموژنیزه شدند و در یک حمام یخ تا 10°C درجه سانتی‌گراد رقیق شدند. برای تعیین فعالیت SOD در بافت فلاپ از یک روش آنزیمی اکسیداز استفاده شد. محتوای MDA با استفاده از روش تیوباریتوریک اسید (TBA) در دمای 90°C تا 100°C درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری شد [۹].

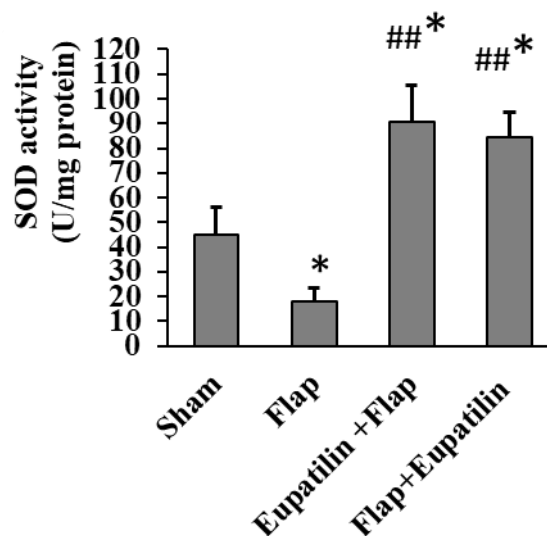
تمام تجزیه و تحلیل‌ها با استفاده از نرم‌افزار GraphPad Prism 6 انجام شد. تجزیه و تحلیل واریانس یک طرفه (ANOVA) و آنالیز پس‌آزمون (Tukey test) برای مقایسه داده‌های بیوشیمیایی بین گروه‌ها انجام شد. سطح معنی‌داری آماری $P < 0.05$ در نظر گرفته شد.

نتایج

درصد نکروز فلاپ در تمام نمونه‌ها (در روز ۷ پس از برآمدگی) و همچنین میانگین نکروز فلاپ در هر گروه در شکل ۱ نشان داده شده‌اند. بلند کردن فلاپ منجر به نکروز شدید ($P < 0.01$) در مقابل گروه Sham شد. تجویز ایوپاتیلین قبل از انجام فلاپ باعث کاهش درصد نکروتیک بافت فلاپ می‌شود ($P < 0.05$ در مقابل گروه فلاپ؛ (شکل ۱). در گروهی که تجویز ایوپاتیلین پس از برآمدگی فلاپ انجام شد نیز تاثیر معنی‌داری بر کاهش درصد نکروز فلاپ داشت ($P < 0.05$) در مقابل گروه فلاپ. ما اختلاف معنی‌داری در نکروز فلاپ بین گروه‌های تجویز پیش از جراحی ایوپاتیلین و تجویز پس از جراحی مشاهده نکردیم.

پراکسیداسیون لیپید و متابولیت‌های حاصل از آن به عنوان شاخص استرس اکسیداتیو مهمی تلقی می‌شوند که در نمونه‌های فلاپ بر اساس محتوای MDA در بافت تعیین شده است. هفت روز پس از ایجاد فلاپ مشاهده شد که محتوای MDA بافت فلاپ ($P < 0.01$) در مقابل گروه sham (شکل ۲) افزایش پیدا کرد. تجویز ایوپاتیلین قبل از ایسکمی فلاپ به طور قابل توجهی منجر به کاهش مقادیر MDA بافت فلاپ در مقایسه با گروه Flap شد ($p < 0.05$; شکل ۲).

انجام فلاپ پوستی و تجویز ایوپاتیلین بعد از جراحی مشاهده نکردیم.



شکل ۳. فعالیت SOD به عنوان ظرفیت آنتی اکسیدانی در بافت فلاپ یک هفته پس از ایجاد مدل جراحی فلاپ. * $P < 0.05$ در مقابل گروه Sham و $p < 0.01$ ## در مقابل گروه فلاپ.

بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه ما ایوپاتیلین را برای اولین بار در مدل فلاپ موش استفاده کردیم. ما تاثیر تجویز ایوپاتیلین، پیش از عمل جراحی فلاپ و همچنین در گروهی دیگر از موش ها تاثیر تجویز ایوپاتیلین بعد از عمل جراحی فلاپ را بر بقاء فلاپ ارزیابی کردیم. بقای فلاپ با کاهش سطح نکروز در موش هایی که با ایوپاتیلین درمان شده اند، کاهش پراکسیداسیون لیپید (محتوای MDA) در بافت فلاپ، و افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی (فعالیت SOD) تأیید شد.

اثرات مفید ایوپاتیلین در چندین مدل از آسیب به پرفشاری خون و استرس اکسیداتیو مورد بررسی قرار گرفته است [۴۲،۳۵-۴۴]. این نتیجه، خواص مکرر ضد نکروزی درمان ایوپاتیلین در مدل های فلاپ پوست را در مطالعه حاضر تأیید می کند. در یک تحقیق تاثیر ایوپاتیلین بر روی استرس اکسیداتیو سلول های پوششی گاستریک بررسی گشته است که ایوپاتیلین نشان داده است می تواند از کاهش مهاجرت سلول ها برای ترمیم زخم که از H_2O_2 ناشی می شود، جلوگیری کند. همچنین ایوپاتیلین توانسته از تولید گونه های واکنشگر القا شده توسط $FeSO_4$ جلوگیری نماید. حتی ایوپاتیلین باعث کاهش بیان ژن های دخیل در استرس اکسیداتیو مثل HO-1، PLAUR and TNFRSF10A شده است [۴۷]. با توجه به این که ایوپاتیلین این اثرات را در سلول های پوششی گاستریک داشته است، احتمالاً

روی سلول های پوششی پوست نیز اثرات مشابهی می تواند داشته باشد که البته مطالعه ای ما این اثرات را روی پوست، به صورت افزایش بقای فلاپ پوستی و همچنین کاهش مارکرهای استرس اکسیداتیو تأیید کرد. در تحقیق دیگری نیز بیان شده است ایوپاتیلین استرس اکسیداتیو القا شده توسط H_2O_2 را در سلول های پیگمانی شبکیه (RPC) کاهش داده است [۴۶] که باز تأییدکننده نتایجی است که ما در این آزمایش بر روی فلاپ پوستی به دست آورده ایم. همچنین در آزمایش مذکور روی سلول های پیگمانی شبکیه (RPC)، ایوپاتیلین باعث تنظیم افزایشی بیان Bcl-2 و تنظیم کاهشی بیان Bax شده است. آسیب مجدد ایسکمی، باعث مرگ سلولی آپوپتوتیک در بافت آسیب دیده با عدم تعادل در بیان واسطه های آپوپتوتیک از جمله پروتئین های Bax، Caspase-3 و Bcl-2 می شود [۴۷،۴۰]. مطالعه ارتباط بین پاتوفیزیولوژی میتوکندری، آزادی بیش از حد ROS و مرگ سلولی آپوپتوتیک در مدل های مختلف و آسیب مجدد ایسکمی در سایر اندام ها پیشنهاد شده است [۳۰،۲۴]. نشان داده شده است که اختلالات میتوکندری ناشی از استرس اکسیداتیو و تشکیل اکسیژن فعال میتوکندری (ROS)، پراکسیداسیون چربی و اکسیداسیون گلووتاتیون، با استفاده از درمان ایوپاتیلین مهار می شوند [۴۸].

در نتیجه، با توجه به سایر تحقیقات انجام گرفته در دنیا بر روی اثر محافظتی ایوپاتیلین بر روی سلول های پوششی قسمت های مختلف بدن، ما نیز نشان دادیم که تجویز ایوپاتیلین در سلول های پوششی پوست نیز اثر محافظتی در برابر آسیب اکسیداتیو و نکروز متعاقب آن دارد. ما ایوپاتیلین را در گروهی قبل از جراحی فلاپ، و در گروه دیگر بعد از جراحی فلاپ پوستی تجویز کردیم که نتایج نشان داد این تجویز باعث کاهش ضایعات نکروتیک پس از فلاپ و کاهش آسیب اکسیداتیو می شود. درمان با ایوپاتیلین می تواند دارای اثرات بالقوه در حفاظت از بافت فلاپ پس از انجام جراحی فلاپ داشته باشد.

تشکر و قدردانی

با تشکر از دانشگاه علوم پزشکی ایران، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، و شرکت جان ویشار جهت تأمین تجهیزات لازم برای آزمایشات.

منابع

- [1] Banic A, Boeckx W, Greulich M, Guelickx P, Marchi A, Rigotti G, et al. Late results of breast reconstruction with free TRAM flaps: A prospective multicentric study. *Plast Reconstr Surg* 1995; 95: 1195-1204
- [2] Nahabedian MY, Momen B, Manson PN. Factors associated with anastomotic failure after microvascular reconstruction of the breast. *Plast Reconstr Surg* 2004; 114: 74-82.

- [24] Mehrjerdi FZ, Aboutaleb N, Pazoki-Toroudi H, Soleimani M, Ajami M, Khaksari M, et al. The protective effect of remote renal preconditioning against hippocampal ischemia reperfusion injury: role of KATP channels. *J Mol Neurosci* 2015; 57: 554-560.
- [25] Arabian M, Aboutaleb N, Soleimani M, Ajami M, Habibey R, Rezaei Y, et al. Preconditioning with morphine protects hippocampal CA1 neurons from ischemia-reperfusion injury via activation of the mTOR pathway. *Can J Physiol Pharmacol* 2018; 96: 80-87.
- [26] Davoodi SH, Ajami M, Ayatollahi SA, Dowlatsahi K, Javedan G, Pazoki-Toroudi HR. Calorie shifting diet versus calorie restriction diet: A comparative clinical trial study. *Int J Prev Med* 2014; 5: 447-456.
- [27] Ehrampoush E, Homayounfar R, Davoodi SH, Zand H, Askari A, Koupayeh SA. Ability of dairy fat in inducing metabolic syndrome in rats. *Springerplus* 2016; 5: 2020.
- [28] Sarifakioglu N, Gokrem S, Ates L, Akbuga UB, Aslan G. The influence of sildenafil on random skin flap survival in rats: An experimental study. *Br J Plast Surg* 2004; 57: 769-772.
- [29] Lin B, Lin Y, Lin D, Cao B. Effects of bezafibrate on the survival of random skin flaps in rats. *J Reconstr Microsurg* 2016; 32: 395-401.
- [30] Farahini H, Habibey R, Ajami M, Davoodi SH, Azad N, Soleimani M, et al. Late anti-apoptotic effect of K(ATP) channel opening in skeletal muscle. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2012; 39: 909-916.
- [31] Pazoki-Toroudi HR, Hesami A, Vahidi S, Sahebjam F, Seifi B, Djahanguiri B. The preventive effect of captopril or enalapril on reperfusion injury of the kidney of rats is independent of angiotensin II AT1 receptors. *Fundam Clin Pharmacol* 2003; 17: 595-598.
- [32] Javedan G, Shidfar F, Davoodi SH, Ajami M, Gorjiour F, Sureda A, et al. Conjugated linoleic acid rat pretreatment reduces renal damage in ischemia/reperfusion injury: Unraveling antiapoptotic mechanisms and regulation of phosphorylated mammalian target of rapamycin. *Mol Nutr Food Res* 2016; 60: 2665-2677.
- [33] Amani H, Ajami M, Nasseri Maleki S, Pazoki-Toroudi H, Daglia M, Tsetegho Sokeng AJ, et al. Targeting signal transducers and activators of transcription (STAT) in human cancer by dietary polyphenolic antioxidants. *Biochimie* 2017; 142: 63-79.
- [34] Gulmen S, Kiris I, Kocyigit A, Dogus DK, Ceylan BG, Meteoglu I. β -Glucan protects against lung injury induced by abdominal aortic ischemia-reperfusion in rats. *J Surg Res* 2010; 164: e325-332.
- [35] Jeong EK, Jang HJ, Kim SS, Oh MY, Lee DH, Eom DW, et al. Protective effect of eupatilin against renal ischemia-reperfusion injury in mice. *Transplant Proc* 2015; 47: 757-762.
- [36] Cai M, Phan P-TT, Hong JG, Kim DH, Kim JM, Park SJ, et al. The neuroprotective effect of eupatilin against ischemia/reperfusion-induced delayed neuronal damage in mice. *Eur J Pharmacol* 2012; 689: 104-110.
- [37] Lee HM, Jang HJ, Kim SS, Kim HJ, Lee SY, Oh MY, et al. Protective effect of eupatilin pretreatment against hepatic ischemia-reperfusion injury in mice. *Transplant Proc* 2016; 48: 1226-1233.
- [38] Qiao Z, Xu YW, Yang J. Eupatilin inhibits the apoptosis in H9c2 cardiomyocytes via the Akt/GSK-3 β pathway following hypoxia/reoxygenation injury. *Biomed Pharmacother* 2016; 82: 373-378.
- [39] Ryoo SB, Oh HK, Yu SA, Moon SH, Choe EK, Oh TY, et al. The effects of eupatilin (Stillen®) on motility of human lower gastrointestinal tracts. *Korean J Physiol Pharmacol* 2014; 18: 383-390.
- [40] Ajami M, Davoodi SH, Habibey R, Namazi N, Soleimani M, Pazoki-Toroudi H. Effect of DHA+EPA on oxidative stress and apoptosis induced by ischemia-reperfusion in rat kidneys. *Fundam Clin Pharmacol* 2013; 27: 593-602.
- [41] Mcfarlane RM, Deyoung G, Henry RA. The design of a pedicle flap in the rat to study necrosis and its prevention. *Plast Reconstr Surg* 1965; 35: 177-182.
- [42] Agostini S, Chiavacci E, Matteucci M, Torelli M, Pitto L, Lionetti V. Barley beta-glucan promotes MnSOD expression and enhances angiogenesis under oxidative microenvironment. *J Cell Mol Med* 2015; 19: 227-238.
- [43] Ozkan OV, Ozturk OH, Aydin M, Yilmaz N, Yetim I, Nacar A, et al. Effects of β -glucan pretreatment on acetylsalicylic acid-induced gastric damage: An experimental study in rats. *Current Therapeutic Research* 2010; 71: 369-383.
- [44] Sandvik A, Wang YY, Morton HC, Aasen AO, Wang JE, Johansen FE. Oral and systemic administration of beta-glucan
- [3] Moran SL, Nava G, Behnam AB, Serletti JM. An outcome analysis comparing the thoracodorsal and internal mammary vessels as recipient sites for microvascular breast reconstruction: A prospective study of 100 patients. *Plast Reconstr Surg* 2003; 111: 1876-1882.
- [4] Ayatollahi SA, Ajami M, Reyhanfarid H, Asadi Y, Nassiri-Kashani M, Rashighi Firoozabadi M, et al. BCL-2 and bax expression in skin flaps treated with finasteride or azelaic acid. *Iran J Pharm Res* 2012; 11: 1285-1290.
- [5] Firooz A, Bouzari N, Mojtahed F, Pazoki-Toroudi H, Nassiri-Kashani M, Davoudi M, et al. Topical immunotherapy with diphencyprone in the treatment of extensive and/or long-lasting alopecia areata. *J Eur Acad Dermatol Venerol* 2005; 19: 393-394.
- [6] Hashimoto I, Abe Y, Ishida S, Kashiwagi K, Minoda K, Yamashita Y, et al. Development of skin flaps for reconstructive surgery: random pattern flap to perforator flap. *J Med Invest* 2016; 63: 159-162.
- [7] Rah DK, Min HJ, Kim YW, Cheon YW. Effect of platelet-rich plasma on ischemia-reperfusion injury in a skin flap mouse model. *Int J Med Sci* 2017; 14: 829-839.
- [8] Tejada S, Manayi A, Daglia M, Nabavi SF, Sureda A, Hajheydari Z, et al. Wound healing effect of curcumin: A Review. *Curr Pharm Biotechnol* 2016.
- [9] Habibey R, Ajami M, Ebrahimi SA, Hesami A, Babakooi S, Pazoki-Toroudi H. Nitric oxide and renal protection in morphine-dependent rats. *Free Radic Biol Med* 2010; 49: 1109-1118.
- [10] Pazoki-Toroudi HR, Ajami M, Habibey R. Pre-medication and renal pre-conditioning: A role for alprazolam, atropine, morphine and promethazine. *Fundam Clin Pharmacol* 2010; 24: 189-198.
- [11] Ajami M, Eghtesadi S, Razaz JM, Kalantari N, Habibey R, Nilforoushzadeh MA, et al. Expression of Bcl-2 and bax after hippocampal ischemia in DHA + EPA treated rats. *Neurol Sci* 2011; 32: 811-818.
- [12] Faghfoori Z, Fazelian S, Shadnough M, Goodarzi R. Nutritional management in women with polycystic ovary syndrome: A review study. *Diabetes Metab Syndr* 2017; 11: S429-S432.
- [13] Mohtasham N, Babakooi S, Montaser-Kouhsari L, Memar B, Salehinejad J, Rahpeyma A, et al. The expression of heat shock proteins 27 and 105 in squamous cell carcinoma of the tongue and relationship with clinicopathological index. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2011; 16: e730-735.
- [14] Pazoki-Toroudi H, Amani H, Ajami M, Nabavi SF, Braidly N, Kasi PD, et al. Targeting mTOR signaling by polyphenols: A new therapeutic target for ageing. *Ageing Res Rev* 2016; 31: 55-66.
- [15] Ajami M, Pazoki-Toroudi H, Amani H, Nabavi S, Braidly N, Vacca R, et al. Therapeutic role of sirtuins in neurodegenerative disease and their modulation by polyphenols. *Neurosci Biobehav Rev* 2016; 73.
- [16] Pazoki-Toroudi H, Ajami M, Habibey R, Hajiaboli E, Firooz A. The effect of enalapril on skin flap viability is independent of angiotensin II AT1 receptors. *Ann Plast Surg* 2009; 62: 699-702.
- [17] Amani H, Habibey R, Hajmiresmail SJ, Latifi S, Pazoki-Toroudi H, Akhavan O. Antioxidant nanomaterials in advanced diagnoses and treatments of ischemia reperfusion injuries. *J Mater Chem B* 2017; 5: 9452-9476.
- [18] Pazoki-Toroudi H, Nassiri-Kashani M, Tabatabaie H, Ajami M, Habibey R, Shizarpour M, et al. Combination of azelaic acid 5% and erythromycin 2% in the treatment of acne vulgaris. *J Dermatolog Treat* 2010; 21: 212-216.
- [19] Pazoki-Toroudi H, Nilforoushzadeh MA, Ajami M, Jaffary F, Aboutaleb N, Nassiri-Kashani M, et al. Combination of azelaic acid 5% and clindamycin 2% for the treatment of acne vulgaris. *Cutan Ocul Toxicol* 2011; 30: 286-291.
- [20] Lin R, Chen H, Callow D, Li S, Wang L, Li S, et al. Multifaceted effects of astragaloside IV on promotion of random pattern skin flap survival in rats. *Am J Transl Res* 2017; 9: 4161-4172.
- [21] Cheng L, Chen T, Tu Q, Li H, Feng Z, Li Z, et al. Naringin improves random skin flap survival in rats. *Oncotarget* 2017; 8: 94142-94150.
- [22] Ghadernezhad N, Khalaj L, Pazoki-Toroudi H, Mirmasoumi M, Ashabi G. Metformin pretreatment enhanced learning and memory in cerebral forebrain ischaemia: The role of the AMPK/BDNF/P70SK signalling pathway. *Pharm Biol* 2016; 54: 2211-2219.
- [23] Habibey R, Pazoki-Toroudi H. Morphine dependence protects rat kidney against ischaemia-reperfusion injury. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2008; 35: 1209-1214.

[47] Pazoki-Toroudi H, Ajami M, Babakoohi S, Khaki L, Habibey R, Akhiani M, et al. Effects of diphencyprone on expression of Bcl-2 protein in patients with alopecia areata. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 2010; 32: 422-425.

[48] Shaki F, Pourahmad J. Mitochondrial toxicity of depleted uranium: Protection by Beta-glucan. *Iran J Pharm Res* 2013; 12: 131-140.

protects against lipopolysaccharide-induced shock and organ injury in rats. *Clin Exp Immunol* 2007; 148: 168-177.

[45] Choi EJ, Oh HM, Na BR, Ramesh TP, Lee HJ, Choi CS, et al. Eupatilin protects gastric epithelial cells from oxidative damage and down-regulates genes responsible for the cellular oxidative stress. *Pharm Res* 2008; 25: 1355-1364.

[46] Du L, Chen J, Xing YQ. Eupatilin prevents H₂O₂-induced oxidative stress and apoptosis in human retinal pigment epithelial cells. *Biomed Pharmacother* 2017; 85: 136-140.

Effects of oral gavage treatment of Eupatilin on protection of skin flaps in rats

Jalaledin Mirzay Razaz (Ph.D, M.D)¹, Amir ali Ebadi Fard Fzar (M.D Student)², Mahdyieh Naziri (M.Sc)³, Majid Banimohammad (M.D Student)⁴, Abbas Majdi Seghinsara (Ph.D)⁵, Gholamali Javdan (Ph.D)^{* 4,6}

1 -National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition and Food Technology, Shahid Beheshti university of medical sciences, Tehran, Iran

2 -Medicine Faculty, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

3 -Department of Biostatistics, Iran University of Medical Science, Tehran, Iran

4- Physiology research center, Medicine Faculty, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

5- Department of Anatomical Science, Medicine Faculty, Tabriz University of Medical Science, Tabriz, Iran

6- Minimally Invasive Surgery Research Center, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

* Corresponding author. +98 9121104632 Javdan.gholamali@gmail.com

Received: 11 May 2018; Accepted: 23 Jan 2018

Introduction: Nowadays, skin flaps are used to repair wounds, skin lesions and in reconstructive surgeries. In this way, the main problem is loss of flap tissue and necrosis, due to processes that result from ischemia-reperfusion injury and reactive oxygen species. *Eupatilin* is an O-methylated flavone derived from *Artemisia* plants that demonstrates anti-inflammatory, anti-oxidative, and anti-tumor effects. In this study, we evaluated the effect of Eupatilin administration on the survival of skin flap and oxidative stress by measuring necrotic area of skin flap and oxidative stress markers, in rats.

Materials and Methods: Forty rats were divided into four groups (10 rats per group), including Sham group, Flap group, Eupatilin+ Flap group (received Eupatilin before flap), and Flap + Eupatilin group (received Eupatilin after flap). Eupatilin (10 mg / kg) was administered as oral gavage to mice. One week after flap surgery in a 3 x 8 cm scale, flap necrosis, malondialdehyde (MDA) levels - using thiobarbituric acid method (TBA)- and superoxide dismutase (SOD) - using an oxidase enzymatic method- was measured.

Results: Treatment with Eupatilin, before or after flap, reduced the necrosis area of flap ($P < 0.05$ vs flap group). Decreased MDA level ($P < 0.05$ vs flap group) and increased superoxide dismutase activity (SOD) ($P < 0.01$ vs flap group) are shown.

Conclusion: The data obtained from this study demonstrated improvement of skin flap survival in rats and reduction of tissue necrosis and oxidative stress by Eupatilin treatment, either before or after flap surgery.

Keywords: Eupatilin, Skin flap, tissue necrosis, Malondialdehyde (MDA), Superoxide dismutase (SOD).