



مقاله پژوهشی

التیام

شاپا الکترونیکی: ۲۷۸۳۳۲۹۱

eltiam.ivsa@yahoo.com

<http://eltiamjournal.ir/>

تأثیر مصرف خوراکی کافئین بر التیام زخم‌های جلدی در موش صحرایی: ارزیابی بالینی و هیستوپاتولوژیک

ابوتراب طباطبایی نائینی^{۱*}، علی حسین زاده^۲، فاطمه رهسپار^۳، علیرضا شیخ زاده^۴

۱. استاد جراحی، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

۲. فارغ التحصیل دکتری عمومی دامپزشکی، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

۳. رزیدنت جراحی، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

۴. رزیدنت جراحی، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

* t-naeini@shirazu.ac.ir

<https://doi.org/10.30500/eltiamj.13.1.6>

تاریخ دریافت: ۱۴۰۵/۰۳/۱۶، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۵/۳۱



کپی‌رایت © مجله التیام: دسترسی آزاد؛ کپی‌برداری، توزیع و نشر برای استفاده کامل با ذکر منبع آزاد است. © نویسندگان. ناشر: انجمن جراحی دامپزشکی ایران.

چکیده

زمینه و نوع مطالعه: پوست به‌عنوان بزرگ‌ترین اندام بدن، نخستین سد دفاعی در برابر عوامل آسیب‌رسان محیطی محسوب می‌شود و ترمیم زخم در آن فرایندی پیچیده، پویا و چندمرحله‌ای است که در نتیجه تعامل هماهنگ سازوکارهای سلولی، مولکولی و بافتی رخ می‌دهد. کافئین، به‌عنوان یکی از پرمصرف‌ترین ترکیبات زیست‌فعال در جهان، به‌دلیل برخورداری از خواص ضدالتهابی و ضددردی در سال‌های اخیر مورد توجه پژوهشگران حوزه ترمیم زخم قرار گرفته‌است.

هدف: با توجه به اهمیت بالینی التیام زخم در پزشکی و دامپزشکی، به‌ویژه در حوزه جراحی و همچنین مصرف گسترده کافئین در زندگی روزمره، بررسی اثرات مصرف خوراکی کافئین بر روند ترمیم زخم‌های جلدی می‌تواند در توسعه راهکارهای درمانی مؤثرتر حائز اهمیت باشد.

روش کار: در مطالعه حاضر، به‌منظور بررسی اثر مصرف خوراکی کافئین بر ترمیم زخم‌های جلدی، ۳۰ سر موش صحرایی به سه گروه شامل گروه کنترل و دریافت‌کننده مقدار ۲۰ و ۵۰ میلی گرم کافئین به ازای هر کیلوگرم وزن بدن تقسیم شدند. پس از ایجاد زخم پوستی در ناحیه پشتی، نیمی از حیوانات در روز دهم آسان‌کشی شده و نمونه‌های بافتی از ناحیه زخم و بافت سالم مجاور جهت ارزیابی هیستوپاتولوژیک جمع‌آوری گردید. نیم دیگر حیوانات نیز تا روز بیست‌ویکم از نظر بالینی و ظاهری روند ترمیم زخم مورد پایش قرار گرفتند. در ارزیابی هیستوپاتولوژیک، ده شاخص اصلی مرتبط با ترمیم زخم بررسی شد.

نتایج: نتایج حاصل از ارزیابی‌های بالینی نشان داد که روند جمع‌شدن لبه‌های زخم، تشکیل بافت جوانه گوشتی و بسته‌شدن ضایعه در گروه دریافت‌کننده دوز بالای کافئین مطلوب‌تر از سایر گروه‌ها بود. همچنین در بررسی‌های هیستوپاتولوژیک، میزان تشکیل بافت جوانه گوشتی و اپیتلیالیزاسیون مجدد در گروه دریافت‌کننده ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم کافئین به‌طور معناداری بیشتر از گروه کنترل بود، در حالی که سایر شاخص‌ها اختلاف آماری معناداری نشان ندادند. علاوه بر این، حضور بیشتر ماست‌سل‌ها در گروه دریافت‌کننده دوز بالاتر کافئین به‌صورت توصیفی مشاهده شد که می‌تواند زمینه‌ساز مطالعات آینده درباره نقش این سلول‌ها در ترمیم زخم باشد.

نتیجه‌گیری نهایی: در مجموع، یافته‌های این مطالعه نشان می‌دهد که مصرف خوراکی کافئین، به‌ویژه در دوز بالاتر، می‌تواند اثرات مثبتی بر برخی مراحل کلیدی ترمیم زخم‌های جلدی داشته باشد؛ هرچند انجام مطالعات گسترده‌تر برای تبیین دقیق‌تر سازوکارهای اثرگذاری آن ضروری است.

واژگان کلیدی: پوست، التیام زخم، موش صحرایی، کافئین خوراکی، هیستوپاتولوژی

مقدمه

پوست به عنوان بزرگ‌ترین اندام بدن، از سه لایه اپیدرم، درم و هیپودرم تشکیل شده است و نقش اساسی در حفاظت از بدن در برابر عوامل آسیب‌رسان محیطی، عوامل بیماری‌زا و جلوگیری از اتلاف آب بدن ایفا می‌کند (۱). ایجاد هرگونه گسستگی در پیوستگی سلولی یا آناتومیک بافت‌های بدن، چه در سطوح داخلی و چه در سطح پوست، به عنوان زخم شناخته می‌شود (۲). التیام زخم یکی از چالش‌های مهم در پزشکی و دامپزشکی به شمار می‌رود و یافتن روش‌هایی که بتوانند سرعت و کیفیت ترمیم زخم را بهبود بخشند، همواره مورد توجه پژوهشگران و جراحان بوده است. زخم‌های جلدی، علاوه بر آن که می‌توانند به عنوان مسیری برای ورود عفونت عمل کنند، از نظر ظاهری و زیبایی نیز اهمیت بالایی دارند و به همین دلیل از دیدگاه بالینی مورد توجه ویژه قرار می‌گیرند. این زخم‌ها ممکن است در اثر عوامل مختلفی از جمله جراحی، آسیب‌های فیزیکی و بیماری‌های پوستی ایجاد شوند.

فرایند ترمیم زخم شامل مجموعه‌ای هماهنگ از رویدادهای سلولی و مولکولی است که با هدف بازسازی بافت آسیب‌دیده رخ می‌دهد. این فرایند از دیدگاه بیولوژیک، پدیده‌ای دقیق، پویا و چندمرحله‌ای است که از طریق فازهای هموستاز، التهاب، تکثیر و بازسازی انجام می‌شود (۳). برای دستیابی به ترمیم موفق، لازم است این مراحل در توالی مناسب، زمان مشخص و به صورت هماهنگ پیش روند. اختلال در هر یک از این مراحل می‌تواند موجب تأخیر در ترمیم یا تشکیل بافت ترمیمی ناکارآمد شود. عوامل متعددی از جمله اکسیژن‌رسانی، عفونت، وضعیت تغذیه، سن، هورمون‌های جنسی، استرس، دیابت، چاقی و برخی داروها می‌توانند بر روند ترمیم زخم و مکانیسم‌های سلولی و مولکولی دخیل در آن اثرگذار باشند (۴، ۵). هدف نهایی در ترمیم زخم، بازسازی سریع و مؤثر پیوستگی پوست و بازیابی عملکرد طبیعی و قابل قبول بافت ترمیمی است (۶). در سال‌های اخیر، کافئین به عنوان یکی از پرمصرف‌ترین ترکیبات زیست‌فعال در جهان، مورد توجه پژوهشگران

حوزه ترمیم زخم قرار گرفته است. این ترکیب که به طور گسترده در نوشیدنی‌هایی مانند قهوه و چای مصرف می‌شود، علاوه بر نقش شناخته شده خود در افزایش هوشیاری، دارای خواص ضدالتهابی و ضددردی نیز هست (۷). مطالعات نشان داده‌اند که کافئین می‌تواند از طریق تعدیل پاسخ‌های التهابی و محافظت سلولی، بر روند ترمیم زخم اثرگذار باشد (۸). در مقابل، برخی پژوهش‌ها نیز نشان داده‌اند که کافئین ممکن است با مهار فعالیت فیبروبلاست‌ها و کاهش سنتز کلاژن، بر برخی مراحل ترمیم زخم اثر بازدارنده داشته باشد (۹، ۱۰). این یافته‌های متناقض نشان می‌دهد که اثر کافئین بر ترمیم زخم، فرایندی وابسته به دوز، نوع مصرف و شرایط بافتی است و همچنان نیازمند بررسی‌های دقیق‌تر می‌باشد.

با توجه به مصرف گسترده کافئین در جوامع انسانی، شیوع بالای زخم‌های جلدی و اهمیت تسریع روند ترمیم آن‌ها، و همچنین محدود بودن مطالعات انجام‌شده درباره اثر مصرف خوراکی کافئین بر التیام زخم‌های پوستی، انجام پژوهش‌های بیشتر در این زمینه ضروری به نظر می‌رسد. از این رو، در مطالعه حاضر تأثیر مصرف خوراکی کافئین بر روند ترمیم زخم‌های جلدی در مدل حیوانی موش صحرایی، از طریق ارزیابی شاخص‌های هیستوپاتولوژیک اصلی ترمیم زخم، بررسی بالینی و ثبت روند ظاهری التیام، مورد بررسی قرار گرفت تا دیدگاهی جامع از اثرات این ترکیب بر فرایند ترمیم بافت ارائه شود.

مواد و روش کار

مواد آزمایشگاهی

به منظور بررسی تأثیر کافئین خوراکی بر روند التیام زخم، از کافئین بدون آب (Caffeine anhydrous)، بیش از ۹۹ درصد خلوص، (Fluka Chemie AG، سوئیس) استفاده شد. کافئین در آب مقطر دوبار تقطیر شده حل و برای تجویز خوراکی آماده گردید.

تهیه و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی

در این پژوهش، تعداد ۳۰ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد Sprague-Dawley با میانگین وزن تقریبی ۲۵۰ گرم و دامنه سنی ۶ تا ۸ هفته، از مرکز تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی شیراز (شیراز، ایران) تهیه شدند. حیوانات به مدت ۱۰ روز پیش از آغاز مطالعه در شرایط استاندارد نگهداری شده و با محیط آزمایشگاه سازگار شدند. موش‌های صحرایی در قفس‌های پلاستیکی مجزا با ابعاد ۵۰×۴۰×۴۵ سانتی‌متر، در شرایط دمایی ثابت و تهویه مناسب نگهداری می‌شدند. طی دوره سازگاری و همچنین در طول انجام مطالعه، آب آشامیدنی و جیره غذایی استاندارد به‌صورت آزاد در اختیار حیوانات قرار داشت.

ملاحظات اخلاقی: این مطالعه پس از اخذ تأییدیه از کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه..... (کد اخلاق: ۹۸۳۲۶۱۶) انجام شد و تمامی مراحل نگهداری، مراقبت، مداخله و آسان‌کشی حیوانات مطابق دستورالعمل‌های اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی صورت گرفت.

گروه‌بندی حیوانات آزمایشگاهی

پس از پایان دوره سازگاری، حیوانات به‌صورت تصادفی به سه گروه مساوی ($n=10$) تقسیم شدند:

۱. گروه کنترل (بدون دریافت کافئین)
 ۲. گروه دریافت‌کننده کافئین با مقدار ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن (Caffeine 20)
 ۳. گروه دریافت‌کننده کافئین با مقدار ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن (Caffeine 50)
- لازم به ذکر است که انتخاب دوزهای ۲۰ و ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن بر اساس مطالعات پیشین و با در نظر گرفتن محدوده دوزهای ایمن و مؤثر گزارش‌شده در مدل‌های حیوانی انجام گرفت (۱۱، ۱۲).

پس از ایجاد زخم پوستی، تجویز خوراکی کافئین به‌صورت روزانه آغاز شد و به مدت ۱۰ روز ادامه یافت. در هر گروه، نیمی از حیوانات ($n=5$) تا روز دهم نگهداری شدند و پس از آسان‌کشی به روش استنشاق تدریجی گاز دی‌اکسید کربن (CO_2)، نمونه‌های بافتی از ناحیه زخم جهت

ارزیابی‌های هیستوپاتولوژیک برداشت گردید. نیم دیگر حیوانات در هر گروه بدون نمونه‌برداری تا روز ۲۱ تحت پایش و ارزیابی بالینی روند ترمیم زخم قرار گرفتند. تمامی حیوانات طی دوره مطالعه تحت شرایط محیطی و تغذیه‌ای یکسان نگهداری شدند.

روش ایجاد زخم پوستی

پیش از انجام جراحی، وزن حیوانات ثبت شد. سپس بیهوشی عمومی با تزریق داخل عضلانی زایلازین هیدروکلراید ۲ درصد با دوز ۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم و کتامین هیدروکلراید ۱۰ درصد با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (هر دو محصول شرکت آلفاسان، هلند) در عضله ران انجام گرفت. پس از حصول بیهوشی مناسب، ناحیه پشتی بدن بین مهره‌های سینه‌ای و کمری تراشیده و ضدعفونی شد. سپس یک زخم پوستی تمام‌ضخامت به شکل مربع و به ابعاد ۲ در ۲ سانتی‌متر ایجاد گردید تا مدل تجربی ترمیم زخم فراهم شود.

روش تجویز کافئین

در این مطالعه، کافئین به‌صورت خوراکی و روزانه با استفاده از نیدل فلزی گاوآژ مخصوص جوندگان آزمایشگاهی تجویز شد. تجویز کافئین از روز ایجاد زخم آغاز گردید و به مدت ۱۰ روز متوالی ادامه یافت. برای تهیه محلول دارویی، مقدار مشخصی از پودر کافئین خالص در آب مقطر دوبار تقطیرشده حل شد تا محلولی یکنواخت حاصل گردد، به طوری که هر کدام از گروه‌های دریافت‌کننده ۲۰ و ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کافئین، این مقدار را دریافت نمایند؛ در تمام مدت انجام این پژوهش گروه کنترل، دریافت‌کننده آب مقطر به عنوان جایگزین محلول کافئین‌دار بود. تجویز دارو برای هر حیوان به‌صورت انفرادی، در زمان ثابت روزانه و با رعایت کامل اصول بهداشتی انجام شد.

ارزیابی بالینی و ظاهری

سطح زخم‌ها به‌صورت روزانه از نظر رنگ، ترشحات، وضعیت ظاهری و روند بسته‌شدن زخم مورد بررسی و ثبت قرار گرفت. همچنین برای مستندسازی روند ترمیم، در روزهای

نتایج

ارزیابی بالینی

در این مطالعه، وضعیت ظاهری زخم‌ها به صورت روزانه و از نظر شاخص‌هایی شامل شکل، اندازه، میزان کشش زخم، میزان نزدیک شدن لبه‌های زخم، وجود یا عدم وجود عفونت و آلودگی سطحی، رنگ و میزان تشکیل بافت ج创ه‌گوشتی و لخته مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها نشان داد که زخم‌های ایجادشده در روز صفر (تصویر ۲) طی هفته نخست در تمامی گروه‌ها با روند مناسبی دچار انقباض شده و هم‌گرایی قابل قبول لبه‌های زخم حاصل گردید. در این مرحله، تشکیل لخته سطحی به عنوان یکی از مراحل اولیه ترمیم مشاهده شد که در گروه دریافت‌کننده دوز بالای کافتین (50 mg/kg) از نظر ضخامت و کیفیت، وضعیت مطلوب‌تری داشت.

از روز هفتم به بعد، روند ترمیم میان گروه‌ها از نظر سرعت بسته شدن زخم‌ها تفاوت نشان داد؛ به گونه‌ای که در گروه دریافت‌کننده دوز بالاتر، پیشرفت ترمیم و کاهش سطح زخم به صورت بارز سریع‌تر از سایر گروه‌ها بود. در روز دهم، به منظور مقایسه روند ترمیم، تصویربرداری مجدد انجام شد (تصویر ۳).

در پایان هفته سوم، زخم در گروه دوز بالا تقریباً به طور کامل بسته شده بود و کشش لبه‌های زخم در سطح رضایت‌بخشی قرار داشت. در برخی نمونه‌ها، بازسازی (regeneration) و تشکیل کامل اپیدرم روی زخم نیز مشاهده شد. در گروه کنترل و گروه دوز پایین، میزان جمع‌شدگی لبه‌ها کمتر بود و در برخی نمونه‌ها مرحله بازآرایی (remodeling) از دید بالینی هنوز کامل نشده بود (تصویر ۴).

ارزیابی هیستوپاتولوژیک

به منظور ارزیابی هیستوپاتولوژیک، نمونه‌ها توسط یک پاتولوژیست به صورت کور (blind) و با استفاده از میکروسکوپ نوری بررسی شدند و ۱۰ شاخص مهم در روند ترمیم زخم ارزیابی گردید. در میان این شاخص‌ها، دو

۰، ۷، ۱۰ و ۲۱ از زخم‌ها تصویربرداری انجام شد. تصاویر با دوربین تلفن همراه آیفون ۱۲ معمولی، ثبت گردید.

ارزیابی هیستوپاتولوژیک

نمونه‌های بافتی پس از برداشت در محلول فرمالین بافر ۱۰ درصد تثبیت شدند. سپس از ناحیه مرکزی بافت ج创ه گوشتی و حاشیه‌های پوست سالم مجاور نمونه‌برداری انجام شد و مطابق مراحل استاندارد، بلوک‌های پارافینی تهیه گردید. از هر نمونه، برش‌هایی با ضخامت ۵ میکرومتر با استفاده از میکروتوم تهیه شد. لام‌های بافتی پس از رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین (Hematoxylin and Eosin staining; H&E) با میکروسکوپ نوری از برند Olympus و نوع cx21 مورد ارزیابی قرار گرفتند. در این مطالعه، ۱۰ شاخص اصلی مرتبط با ترمیم زخم به صورت هیستوپاتولوژیک بررسی شد. همچنین برای ارزیابی میزان تشکیل و بلوغ رشته‌های کلاژن از رنگ‌آمیزی رنگ‌آمیزی تری کروم ماسون (Masson's trichrome staining) استفاده گردید. در این روش، رشته‌های کلاژن به رنگ آبی مشاهده می‌شوند؛ به طوری که کلاژن‌های نابالغ و نامنظم به رنگ آبی روشن و کلاژن‌های بالغ و منظم به رنگ آبی تیره دیده می‌شوند.

علاوه بر این، حضور ماست سل‌ها که به صورت اتفاقی در نمونه‌ها مشاهده گردید، به صورت نیمه کیفی ارزیابی شد. شاخص‌های اصلی پاتولوژیک ارزیابی شده در این مطالعه (تصویر ۱) به شکل نیمه کیفی گزارش شدند و برای هر حالت از این شاخص‌های نام برده یک امتیاز در نظر گرفته شد که سپس مورد آنالیز آماری قرار گرفت.

آنالیز آماری داده‌ها

برای تحلیل آماری داده‌ها از نرم‌افزار SPSS استفاده شد. با توجه به ماهیت نیمه کیفی داده‌های هیستوپاتولوژیک، آزمون Kruskal-Wallis برای تحلیل استفاده گردید و نتایج به صورت جدول گزارش شد. در تمامی تحلیل‌ها، مقدار p کمتر از ۰.۰۵ به عنوان سطح معنی‌داری آماری در نظر گرفته شد و اختلاف میان گروه‌ها در این سطح معنی‌دار تلقی گردید.

التهاب

التهاب نخستین پاسخ بدن به آسیب است که در فاز عروقی با اتساع عروق و در فاز سلولی با جذب سلول‌های التهابی به محل زخم همراه می‌شود. اگرچه وجود التهاب برای آغاز ترمیم ضروری است، تداوم آن بیش از ۲۴ تا ۳۶ ساعت می‌تواند به‌عنوان عامل مداخله‌گر در روند ترمیم مطرح باشد (۱۳). در مطالعه حاضر، میزان التهاب در گروه دوز بالا کمتر از سایر گروه‌ها بود، اما تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها مشاهده نشد (تصاویر ۵ و ۶).

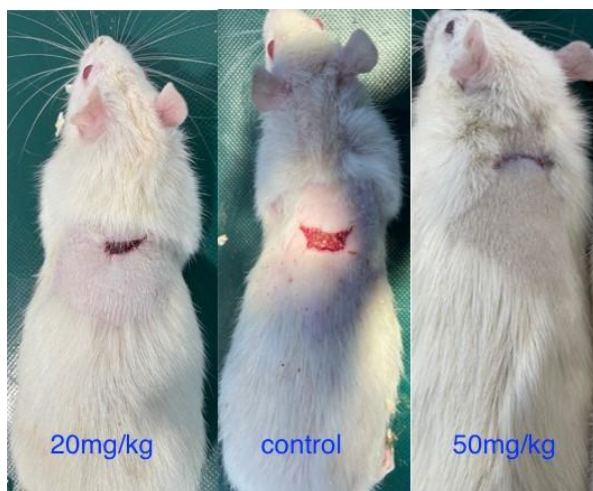
فاکتور اصلی شامل تشکیل بافت جوانه‌گوشتی (granulation tissue) و بازآپی‌تلیالیزاسیون (re-epithelialization) در گروه دریافت‌کننده دوز بالاتر کافئین خوراکی (50 mg/kg) به‌طور معنی‌دار بهتر از دو گروه دیگر بود. در ادامه، هر یک از فاکتورهای پاتولوژیک به تفکیک گزارش می‌شوند.

فاکتور هیستوپاتولوژیک	دستمبندی امتیازدهی (نمره)
بافت گرانولاسیون (جوانه‌گوشتی)	فراوان-۱، متوسط-۲، کم-۳، غایب-۴
التهاب	فراوان-۱، متوسط-۲، اندک-۳
جهت‌گیری رشته‌های کلاژن	عمودی-۱، مختلط-۲، افقی-۳
الگوی کلاژن	شبکه‌ای-۱، مختلط-۲، دسته‌ای-۳
میزان کلاژن زودرس	فراوان-۱، متوسط-۲، کم-۳، غایب-۴
میزان کلاژن بالغ	فراوان-۱، متوسط-۲، کم-۳
بازپوشانی اپیتلیال (re-epithelialization)	وجود دارد (بله-۱)، وجود ندارد (خیر-۲)
فیبروبلاست	خفیف-۱، متوسط-۲، شدید-۳
عروق تازه تشکیل‌یافته	خفیف-۱، متوسط-۲، شدید-۳
تعداد ماست‌سل‌ها	فراوان-۱، متوسط-۲، کم-۳

تصویر ۱: شاخص‌های پاتولوژیک ارزیابی شده در ترمیم زخم (۱۳)



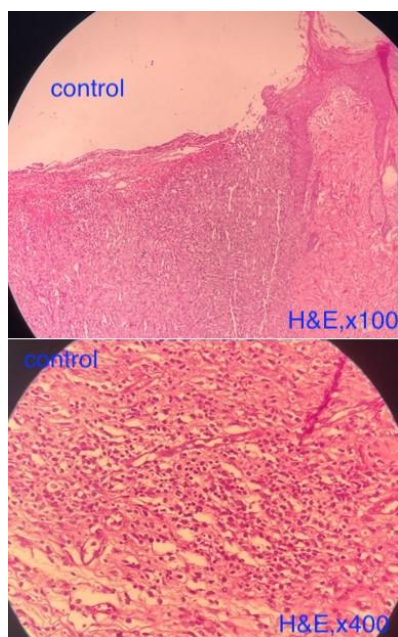
تصویر ۲: نمای زخم‌ها در روز صفر



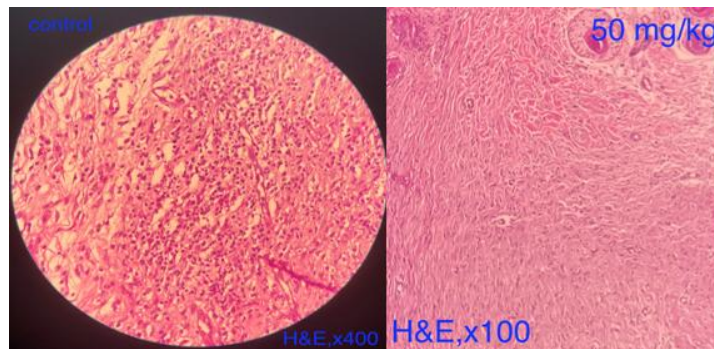
تصویر ۳: نمای زخم ها در روز دهم، به ترتیب از راست به چپ، گروه ۵۰ mg/kg، گروه کنترل، گروه ۲۰ mg/kg



تصویر ۴: نمای روز بیست و یکم، به ترتیب از راست به چپ، گروه ۵۰ mg/kg، گروه کنترل، گروه ۲۰ mg/kg



تصویر ۵: وجود التهاب حاد و اختلال در ترمیم به دلیل التهاب در تصویر بالا



تصویر ۶: مقایسه مقدار کم التهاب در گروه ۵۰ mg/kg در سمت راست و التهاب حاد در گروه کنترل در سمت چپ تصویر

جهت‌گیری الیاف کلاژن (collagen fiber orientation)

پس از تشکیل کلاژن، جهت‌گیری الیاف آن یکی از شاخص‌های بلوغ ترمیم محسوب می‌شود. تغییر جهت از حالت افقی به آرایش مخلوط یا عمودی‌تر نشان‌دهنده بلوغ بیشتر بافت ترمیمی است (۱۵). در گروه دوز بالا، آرایش الیاف کلاژن نسبت به سایر گروه‌ها بیشتر به سمت حالت مخلوط و بالغ مشاهده شد.

الگوی کلاژن (pattern of collagen)

نظم و الگوی قرارگیری الیاف کلاژن شاخص دیگری از کیفیت ترمیم زخم است. الگوی منظم‌تر و نزدیک‌تر به الگوی رتیکولار نشان‌دهنده ترمیم بهتر است (۱۵). در این شاخص، تفاوت قابل توجهی بین گروه‌ها مشاهده نشد و الگوی کلاژن در هر سه گروه مشابه بود.

میزان کلاژن بالغ و نابالغ

ارزیابی کلاژن بالغ و نابالغ با استفاده از رنگ‌آمیزی تری کروم ماسون (Masson's trichrome staining) انجام شد. افزایش نسبت کلاژن بالغ به نابالغ نشان‌دهنده پیشرفت بازآرایی و بهبود ترمیم است (۱۵). در مطالعه حاضر، به صورت توصیفی میزان کلاژن بالغ در گروه دوز بالا بیشتر بود، اما تفاوت آماری معنی‌داری بین گروه‌ها مشاهده نشد (تصویر ۹).

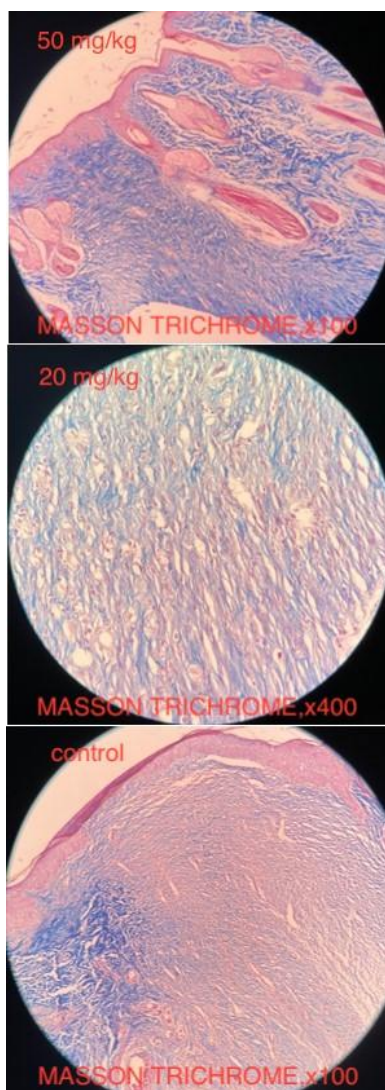
تشکیل بافت جوانه‌گوشتی (granulation tissue)

بافت جوانه‌گوشتی طی روزهای ۳ تا ۵ پس از زخم و پس از فاز التهاب حاد تشکیل می‌شود و شامل رگ‌زایی (angiogenesis)، تکثیر فیبروبلاست‌ها، رسوب کلاژن اولیه و تشکیل ماتریکس خارج سلولی است. این بافت با ترشح فاکتورهایمانند فاکتور رشد تبدیل‌کننده بتا-۲ (Transforming Growth Factor- β 2; TGF- β 2) و فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (Vascular Endothelial Growth Factor; VEGF) موجب تسهیل تکثیر فیبروبلاست‌ها و رگ‌زایی شده و ورود به فاز تکثیر را ممکن می‌سازد. همچنین در پاکسازی بافت نکروتیک و میکروبی از طریق ماکروفاژها نقش دارد و زمینه ورود به فاز بازآرایی را فراهم می‌کند (۱۳).

در این مطالعه، میزان تشکیل بافت جوانه‌گوشتی در گروه دریافت‌کننده دوز بالاتر کافئین نسبت به دو گروه دیگر بیشتر بود که نشان‌دهنده روند ترمیم مطلوب‌تر در این گروه است (تصویر ۷).

بازآپی تلیالیزاسیون (re-epithelialization)

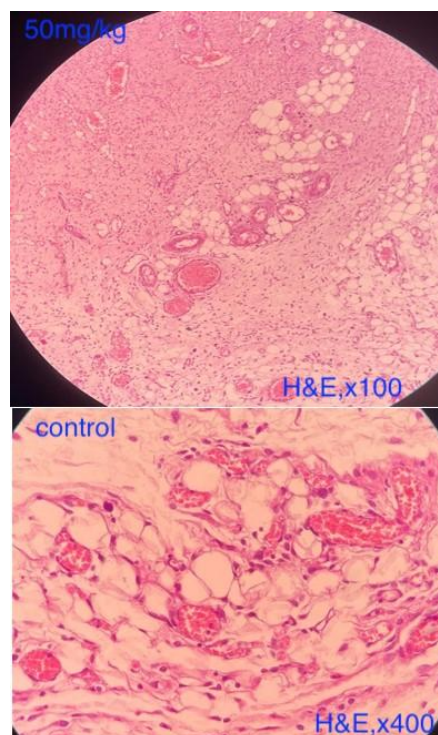
بازسازی اپی‌تلیوم مهم‌ترین شاخص ترمیم کامل زخم است و نشان‌دهنده پوشش مجدد سطح زخم توسط سلول‌های اپی‌تلیال می‌باشد (۱۴). در مطالعه حاضر، در گروه دریافت‌کننده مقدار بیشتر کافئین، تشکیل اپی‌تلیوم در تمامی نمونه‌ها مشاهده شد و این گروه تفاوت معنی‌دار با دو گروه دیگر نشان داد (تصویر ۸).



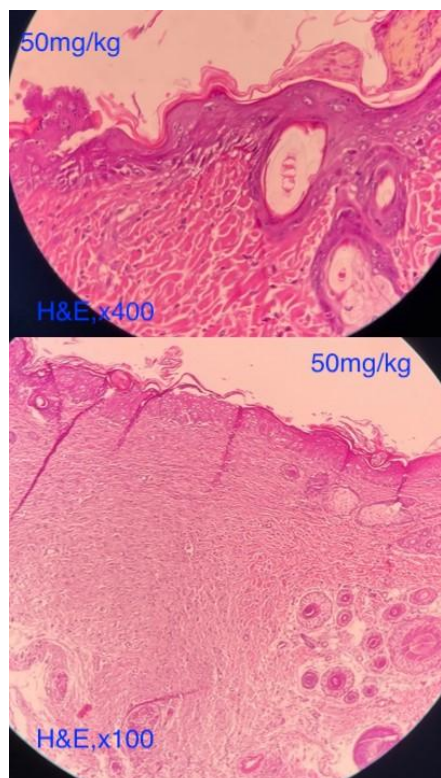
تصویر ۹: کلاژن بالغ در بالا، کلاژن نابالغ در میانه و تشکیل کلاژن‌های اولیه یا نابالغ در محل زخم در کنار بافت سالم که دارای کلاژن بالغ یا ثانویه است در تصویر پایین قابل مشاهده است. رنگ آمیزی اختصاصی تری کروم ماسون (Masson's trichrome staining)

فیبروبلاست‌ها و عروق جدید

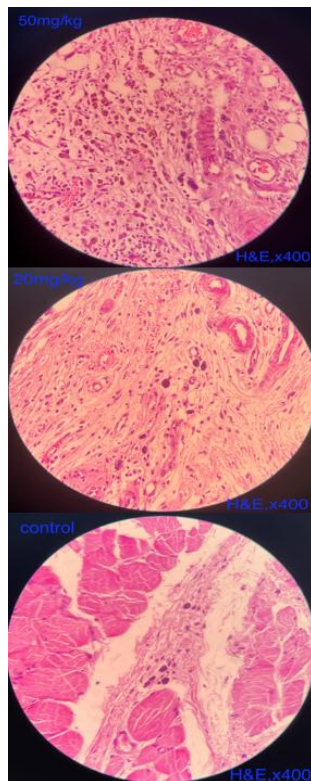
افزایش فیبروبلاست‌ها و رگ‌زایی از شاخص‌های اصلی فاز تکثیر هستند (۱۶). در این مطالعه، تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده نشد، اما به صورت توصیفی میزان فیبروبلاست‌ها و عروق جدید در گروه دوز بالا (۵۰ mg/kg) بیشتر بود. با توجه به نقش این دو در تشکیل بافت جوانه‌گوشتی، این یافته می‌تواند نشان‌دهنده بهبود نسبی روند ترمیم در این گروه باشد (تصویر ۱۰).



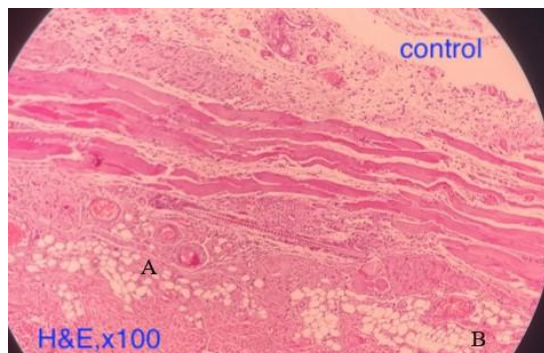
تصویر ۷: بافت جوانه‌گوشتی در بالا و احتقان (Congestion) و ادم به عنوان یک نشانه تشکیل بافت جوانه‌گوشتی در پایین



تصویر ۸: اپی‌تلیالیزاسیون مجدد و تشکیل بافت اسکار در زخم



تصویر ۱۱: مقایسه مقدار ماست سل در زخم ها، به ترتیب مقدار زیاد این سلول ها در تصویر بالا، متوسط در تصویر میانی و کم در تصویر پایین



تصویر ۱۲: حضور جسم خارجی گیاهی در برخی نمونه ها (در فاصله نقطه A تا B)

بحث

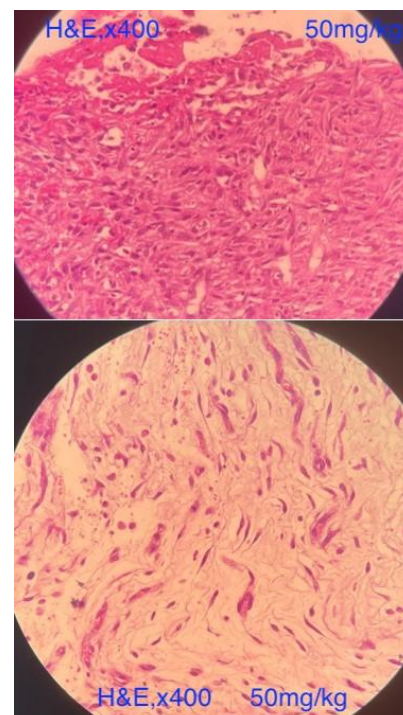
کافئین یکی از پرمصرف ترین آلکالوئیدهای طبیعی موجود در رژیم غذایی انسان است که به طور گسترده در نوشیدنی هایی نظیر قهوه، چای، کاکائو و نوشابه های انرژی زا یافت می شود. این ترکیب متیل گزانتینی، به دلیل ویژگی های فارماکولوژیک متنوع از جمله مهار گیرنده های آدنوزین، اثرات ضدالتهابی و تنظیم کنندگی پاسخ سلولی در سال های اخیر مورد توجه گسترده پژوهشگران علوم زیستی و پزشکی قرار گرفته است. با توجه به نقش کلیدی

ماست سل ها

ماست سل ها در تنظیم پاسخ التهابی و فاز تکثیر از طریق ترشح واسطه هایی مانند اینترلوکین-۱ (IL-1)، فاکتور نکروز توموری آلفا (Tumor Necrosis Factor- α ; TNF- α)، فاکتور رشد تبدیل کننده بتا-۲ (Transforming Growth Factor- β 2; TGF- β 2) و فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (Vascular Endothelial Growth Factor; VEGF) نقش دارند (۱۷). در مطالعه حاضر، حضور ماست سل ها در گروه دریافت کننده دوز بالاتر به صورت توصیفی بیشتر مشاهده شد، اما تفاوت معنی داری بین گروه ها وجود نداشت (تصویر ۱۱).

جسم خارجی

وجود جسم خارجی یکی از عوامل مداخله گر در روند ترمیم زخم است (۱۴). در یکی از نمونه ها، جسم خارجی با منشأ گیاهی به صورت تصادفی مشاهده شد (تصویر ۱۲) که احتمالاً ناشی از ورود ذرات بستر (خرده چوب) به زخم بوده و موجب اختلال در روند ترمیم شده است.



تصویر ۱۰: تشکیل رگ های جدید در بالا و تکثیر فیبروبلاست ها در پایین

مسیرهای وابسته به آدنوزین در تنظیم التهاب، تکثیر سلولی، آنژیوژنز و بازسازی ماتریکس خارج سلولی، بررسی اثر کافئین بر فرایند ترمیم زخم، به ویژه از طریق مصرف خوراکی، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. با این حال، مرور مطالعات پیشین نشان می‌دهد که شواهد موجود در این زمینه همچنان محدود و در برخی موارد متناقض هستند؛ موضوعی که ضرورت انجام پژوهش‌های دقیق‌تر را برجسته می‌سازد (۱۸).

مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر مصرف خوراکی کافئین بر روند ترمیم زخم‌های جلدی در مدل حیوانی موش صحرایی انجام شد. نتایج به دست آمده نشان داد که مصرف خوراکی کافئین، به ویژه در گروه دریافت کننده مقدار ۵۰ میلی گرم کافئین به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، موجب بهبود برخی شاخص‌های کلیدی ترمیم زخم می‌گردد. در ارزیابی بالینی، زخم‌های گروه دریافت کننده دوز بالای کافئین سرعت بیشتری در جمع شدن لبه‌های زخم و بسته شدن کامل ضایعه نشان دادند و در برخی نمونه‌ها تشکیل کامل اپیدرم نیز مشاهده شد. در بررسی‌های هیستوپاتولوژیک نیز میزان تشکیل بافت جوانه گوشتی و اپی‌تلیالیزاسیون مجدد در گروه دوز بالا به صورت معناداری بیشتر از سایر گروه‌ها بود. همچنین اگرچه تفاوت آماری معناداری در شاخص‌هایی نظیر التهاب، تکثیر فیبروبلاست‌ها، رگ‌زایی، میزان بلوغ کلاژن و حضور ماست سل‌ها مشاهده نشد، اما ارزیابی توصیفی این شاخص‌ها نیز عمدتاً به نفع گروه دریافت کننده دوز بالاتر کافئین بود.

فرایند ترمیم زخم یک پاسخ بیولوژیک پیچیده و چندمرحله‌ای است که شامل فازهای هموستاز، التهاب، تکثیر و بازسازی می‌باشد. این مراحل به صورت هم‌پوشان و در تعامل مستقیم با یکدیگر عمل می‌کنند و اختلال در هر یک از آن‌ها می‌تواند منجر به تأخیر در ترمیم یا تشکیل بافت ترمیمی ناکارآمد گردد. در فاز التهابی، نوتروفیل‌ها و ماکروفاژها با حذف عوامل میکروبی و بقایای سلولی، بستر لازم را برای آغاز بازسازی بافت فراهم می‌کنند. در ادامه،

طی فاز تکثیری، رگ‌زایی، تکثیر فیبروبلاست‌ها، تشکیل بافت جوانه گوشتی و مهاجرت سلول‌های اپیتلیال نقش اصلی را در بازسازی بافت ایفا می‌کنند. در نهایت، طی فاز بازآرایی (remodeling)، آرایش مجدد رشته‌های کلاژن و بلوغ بافت همبند موجب افزایش استحکام زخم می‌شود (۱۳).

یکی از مهم‌ترین یافته‌های مطالعه حاضر، افزایش معنادار تشکیل بافت جوانه گوشتی در گروه دریافت کننده مقدار بیشتر کافئین بود. بافت جوانه گوشتی، شاخص اصلی ورود زخم به فاز تکثیری محسوب می‌شود و از مجموعه‌ای شامل مویرگ‌های تازه تشکیل شده، فیبروبلاست‌های فعال، سلول‌های التهابی و ماتریکس خارج سلولی تشکیل شده است. افزایش این بافت نشان‌دهنده فعال شدن مناسب فرایندهای ترمیمی از جمله رگ‌زایی و ساخت ماتریکس خارج سلولی است. از سوی دیگر، تشکیل مطلوب بافت جوانه گوشتی می‌تواند شرایط لازم برای مهاجرت کراتینوسیت‌ها و پوشش مجدد اپیتلیال را فراهم کند؛ موضوعی که با افزایش معنادار اپی‌تلیالیزاسیون مجدد در گروه دوز بالا در مطالعه حاضر هم‌خوانی داشت.

تشکیل مجدد اپیتلیوم یکی از مهم‌ترین شاخص‌های ترمیم موفق زخم محسوب می‌شود؛ زیرا بازسازی سد اپیدرمال نه تنها از اتلاف مایعات جلوگیری می‌کند، بلکه احتمال آلودگی و عفونت ثانویه را نیز کاهش می‌دهد. در مطالعه حاضر، گروه دریافت کننده مقدار ۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن کافئین، بهترین وضعیت اپی‌تلیالیزاسیون مجدد را نشان داد. این یافته می‌تواند بیانگر آن باشد که مصرف خوراکی کافئین، برخلاف برخی گزارش‌های مربوط به مصرف موضعی، در شرایط خاص قادر است از طریق تعدیل پاسخ التهابی و بهبود شرایط متابولیک بافت، روند بازسازی اپیدرم را تسهیل نماید.

اگرچه تفاوت معناداری در میزان التهاب میان گروه‌ها مشاهده نشد، اما کاهش توصیفی التهاب در گروه دوز بالا می‌تواند از نظر بیولوژیک قابل توجه باشد. التهاب کنترل شده و محدود، برای آغاز روند ترمیم ضروری است،

اما تداوم بیش از حد آن می‌تواند باعث افزایش تخریب بافتی و اختلال در تکثیر سلولی شود. مطالعات مختلف نشان داده‌اند که کافئین می‌تواند از طریق مهار برخی مسیرهای التهابی وابسته به آدنوزین و کاهش تولید واسطه‌های التهابی، شدت التهاب مزمن را کاهش دهد (۱۹). به نظر می‌رسد چنین اثری بتواند شرایط مطلوب‌تری برای ورود زخم به فاز تکثیری فراهم سازد.

در بررسی آرایش و بلوغ رشته‌های کلاژن نیز اگرچه تفاوت معناداری میان گروه‌ها مشاهده نشد، اما در گروه دریافت‌کننده دوز بالای کافئین، جهت‌گیری رشته‌های کلاژن به سمت الگوی مختلط و بالغ‌تر متمایل بود. این موضوع می‌تواند نشان‌دهنده پیشرفت بهتر فرایند بازآرایی در این گروه باشد. از آنجا که آرایش مناسب رشته‌های کلاژن نقش مهمی در استحکام و کیفیت نهایی بافت ترمیمی دارد، این یافته توصیفی نیز می‌تواند در کنار سایر نتایج به نفع اثرات مثبت کافئین بر ترمیم زخم تفسیر شود. در مطالعه حاضر، میزان تکثیر فیبروبلاست‌ها و تشکیل عروق جدید نیز در گروه دوز بالا بیشتر بود، هرچند این اختلاف از نظر آماری معنادار نبود. با توجه به نقش کلیدی فیبروبلاست‌ها در سنتز کلاژن و تولید ماتریکس خارج سلولی، و همچنین اهمیت آنژیوژنز در تأمین اکسیژن و مواد غذایی موردنیاز بافت ترمیمی، افزایش توصیفی این شاخص‌ها می‌تواند بیانگر تحریک نسبی فاز تکثیری توسط کافئین باشد. علاوه بر این، افزایش حضور ماست سل‌ها در گروه دوز بالا نیز ممکن است با ترشح فاکتورهای رشد و واسطه‌های التهابی مرتبط باشد؛ اگرچه نقش دقیق این سلول‌ها در ترمیم زخم همچنان به‌طور کامل مشخص نشده است (۱۷).

یافته‌های مطالعه حاضر با برخی مطالعات پیشین هم‌خوانی و با برخی دیگر تفاوت دارد. اوجه و همکاران گزارش کردند که کاربرد موضعی کافئین باعث مهار تکثیر و مهاجرت کراتینوسیت‌ها و در نتیجه تأخیر در اپیتلیالیزاسیون می‌شود (۱۲). تفاوت نتایج مطالعه حاضر با این پژوهش احتمالاً ناشی از تفاوت در مسیر مصرف کافئین، نوع مدل

آزمایشی، غلظت موضعی ماده و تفاوت‌های فارماکودینامیکی میان مصرف موضعی و خوراکی است. در مقابل، آفونسو و همکاران نشان دادند که استفاده موضعی از عصاره قهوه سبز باعث تسریع ترمیم زخم و کاهش اندازه ضایعه می‌شود (۲۰). اگرچه در آن مطالعه از عصاره کامل قهوه استفاده شده بود و نه کافئین خالص، اما نتایج آن تا حدودی با یافته‌های مطالعه حاضر در زمینه بهبود روند ترمیم هم‌راستا است.

همچنین نتایج مطالعه حاضر تا حدی با یافته‌های ییلماز و همکاران مطابقت دارد. آن‌ها نشان دادند که مصرف دوزهای بالاتر کافئین در مدل سوختگی با افزایش تشکیل بافت جوانه گوشتی و تغییر در بیان فاکتورهای مرتبط با ترمیم از جمله فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (Vascular Endothelial Growth Factor; VEGF) و ماتریکس متالوپروتئیناز-۹ (Matrix Metalloproteinase-9; MMP-9) همراه است (۱۹). این یافته‌ها می‌توانند توضیحی برای افزایش تشکیل بافت جوانه گوشتی در گروه دوز بالای مطالعه حاضر باشند. از سوی دیگر، چن و همکاران گزارش کردند که مصرف خوراکی کافئین در موش‌ها منجر به تأخیر در بسته‌شدن زخم و کاهش تشکیل کلاژن می‌شود (۲۰). این اختلاف ممکن است ناشی از تفاوت در مدل زخم، مدت مطالعه، دوز مصرفی و روش‌های ارزیابی بافتی باشد. به‌طور کلی، به نظر می‌رسد اثر کافئین بر ترمیم زخم وابسته به دوز، مدت مواجهه، نوع زخم و مسیر مصرف باشد.

مطالعات دیگری نیز بر نقش بالقوه کافئین در تنظیم پاسخ ترمیمی تأکید کرده‌اند، آویژه و همکاران نشان دادند که پانسمان‌های حاوی کافئین موجب افزایش تعداد فیبروبلاست‌ها و رگ‌های خونی در بافت زخم می‌شوند (۲۳). همچنین ما و همکاران گزارش کردند که کاربرد موضعی ژل کافئین در مدل اسکار هیپرتروفیک، موجب بهبود آرایش رشته‌های کلاژن و کاهش فیبروز می‌شود (۲۴). این یافته‌ها نیز تا حدودی با نتایج توصیفی

مشاهده شده در مطالعه حاضر در زمینه آرایش مناسب تر رشته های کلاژن هم خوانی دارند.

به طور کلی، یافته های مطالعه حاضر نشان می دهد که مصرف خوراکی کافئین، به ویژه در گروه دریافت کننده مقدار ۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، می تواند برخی جنبه های کلیدی ترمیم زخم، از جمله تشکیل بافت جوانه گوشتی و بازسازی اپیتلیوم را بهبود بخشد. با این حال، با توجه به پیچیدگی فرایند ترمیم زخم و مشاهده برخی نتایج متناقض در مطالعات مختلف، همچنان نمی توان درباره اثر قطعی کافئین بر تمامی مراحل ترمیم زخم با اطمینان کامل اظهار نظر کرد. تفاوت در مدل های حیوانی، مسیر مصرف، مقدار مصرفی، مدت زمان مطالعه و روش های ارزیابی، همگی می توانند در بروز این اختلافات نقش داشته باشند.

از محدودیت های مطالعه اخیر می توان به محدود بودن مدت زمان ارزیابی، استفاده از یک مدل حیوانی و بررسی نشدن برخی مسیرهای مولکولی دخیل در ترمیم زخم اشاره کرد. بنابراین، انجام مطالعات آینده با حجم نمونه بیشتر، دوره های زمانی طولانی تر و ارزیابی دقیق تر مسیرهای سلولی و مولکولی می تواند به درک بهتر نقش کافئین در ترمیم زخم کمک نماید.

نتیجه گیری

نتایج حاصل از مطالعه حاضر، در کنار مقایسه آن با یافته های پژوهش های پیشین، نشان می دهد که مصرف خوراکی کافئین می تواند با بهبود نسبی روند ترمیم زخم های جلدی همراه باشد. ارزیابی های بالینی و ظاهری

در این پژوهش حاکی از آن است که مصرف روزانه کافئین، به ویژه در دوز بالاتر، موجب تسریع در جمع شدن و بسته شدن ضایعه و افزایش تشکیل بافت جوانه گوشتی می گردد؛ یافته هایی که بیانگر پیشرفت مطلوب تر فرایند ترمیم هستند. همچنین بررسی های هیستوپاتولوژیک نشان داد که مصرف کافئین از نظر میکروسکوپی نیز می تواند اثرات مثبتی بر روند التیام زخم داشته باشد. اگرچه در برخی شاخص های مورد بررسی اختلاف آماری معناداری میان گروه ها مشاهده نشد، اما افزایش معنادار تشکیل بافت جوانه گوشتی و اپی تلیالیزاسیون مجدد به عنوان دو شاخص اصلی و تعیین کننده در ارزیابی ترمیم موفق زخم در گروه دریافت کننده دوز بالای کافئین، همراه با روند توصیفی مطلوب تر در سایر فاکتورها، مؤید اثرات سودمند این ترکیب بر فرایند بازسازی بافت است. علاوه بر این، افزایش نسبی حضور ماست سل ها در بافت زخم می تواند بیانگر نقش احتمالی کافئین در تنظیم پاسخ های سلولی و التهابی دخیل در ترمیم باشد. در مجموع، یافته های این پژوهش نشان می دهد که مصرف خوراکی کافئین، در شرایط مطالعه حاضر، نه تنها اثر مهاری یا مخربی بر شاخص های ترمیم زخم نداشته، بلکه می تواند در برخی مراحل کلیدی التیام بافت، نقش تسهیل کننده ایفا کند. با این حال، برای تبیین دقیق تر سازوکارهای مولکولی و ارزیابی ارزش بالینی این اثرات، انجام مطالعات تکمیلی ضروری به نظر می رسد.

تعارض منافع:

نویسندگان هیچ گونه تعارض منافع را در این پژوهش شناسایی نکرده اند.

منابع

1. Kanitakis J. Anatomy, histology and immunohistochemistry of normal human skin. European journal of dermatology. 2002 Jul 2;12(4):390-401.
2. George Broughton II, Janis JE, Attinger CE. Wound healing: an overview. Plastic and reconstructive surgery. 2006 Jun <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12095893/>

- 1;117(7S):1e-S.
<https://doi.org/10.1097/01.prs.0000222562.60260.f9>
3. Almadani YH, Vorstenbosch J, Davison PG, Murphy AM. Wound healing: a comprehensive review. In *Seminars in plastic surgery* 2021 Aug (Vol. 35, No. 03, pp. 141-144). Thieme Medical Publishers, Inc. <https://doi.org/10.1055/s-0041-1731791>
4. Guo SA, DiPietro LA. Factors affecting wound healing. *Journal of dental research*. 2010 Mar;89(3):219-29. <https://doi.org/10.1177/0022034509359125>
5. Singh M, Govindarajan R, Nath V, Rawat AK, Mehrotra S. Antimicrobial, wound healing and antioxidant activity of *Plagiochasma appendiculatum* Lehm. et Lind. *Journal of Ethnopharmacology*. 2006 Aug 11;107(1):67-72. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.02.007>
6. Singer AJ, Clark RA. Cutaneous wound healing. *New England journal of medicine*. 1999 Sep 2;341(10):738-46. <https://doi.org/10.1056/NEJM1999090234110>
7. La Monica F, Campora S, Ghersi G. Collagen-based scaffolds for chronic skin wound treatment. *Gels*. 2024 Feb 8;10(2):137. <https://doi.org/10.3390/gels10020137>
8. Pergolizzi S, D'Angelo V, Aragona M, Dugo P, Cacciola F, Capillo G, Dugo G, Lauriano ER. Evaluation of antioxidant and anti-inflammatory activity of green coffee beans methanolic extract in rat skin. *Natural Product Research*. 2020 Jun 2;34(11):1535-41. <https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1523161>
9. Ma Y, Liu Z, Miao L, Jiang X, Ruan H, Xuan R, Xu S. Mechanisms underlying pathological scarring by fibroblasts during wound healing. *International Wound Journal*. 2023 Aug;20(6):2190-206. <https://doi.org/10.1111/iwj.14097>
10. Ojeh N, Stojadinovic O, Pastar I, Sawaya A, Yin N, Tomic-Canic M. The effects of caffeine on wound healing. *International wound journal*. 2016 Oct;13(5):605-13. <https://doi.org/10.1111/iwj.12327>
11. AYDEMİR S, YILMAZ F, YILMAZ B, ILGEN O, KURT S, BAYKARA B. The effects of dose-dependent chronic caffeine consumption in a rat burn wound model. In *Book of Abstracts* (p. 74). <https://doi.org/10.22038/ijbms.2024.76513.16557>
12. Supit T, Susilaningsih N, Prasetyo A. Effects of Caffeine Consumption on Autologous Full-Thickness Skin Graft Healing in an Animal Model. *Indian Journal of Plastic Surgery*. 2021 Sep;54(03):314-20. <https://doi.org/10.1055/s-0041-1734573>
13. Kumar V, Abbas AK, Aster JC, Deyrup AT. Robbins and Kumar basic pathology, - south Asia edition-E-book. Elsevier Health

- Sciences; 2023 Mar 21.
<https://shop.elsevier.com/books/robbins-and-kumar-basic-pathology-11th-edition-south-asia-edition/kumar/978-81-312-6792-9>
14. Fossum TW. Small Animal Surgery E-Book: Small Animal Surgery E-Book. Elsevier Health Sciences; 2018 Apr 3.
<https://www.uk.elsevierhealth.com/small-animal-surgery-9780323443449.html>
15. Gupta A, Kumar P. Assessment of the histological state of the healing wound. Plastic and Aesthetic Research. 2015 Sep 15;2:239-42.
<https://doi.org/10.4103/2347-9264.158862>
16. Ng MF. The role of mast cells in wound healing. International wound journal. 2010 Feb;7(1):55-61.
<https://doi.org/10.1111/j.1742-481X.2009.00651.x>
17. Komi DE, Khomtchouk K, Santa Maria PL. A review of the contribution of mast cells in wound healing: involved molecular and cellular mechanisms. Clinical reviews in allergy & immunology. 2020 Jun;58(3):298-312.
<https://doi.org/10.1007/s12016-019-08729-w>
18. Bonyanian Z, Rose'Meyer RB. Caffeine and its potential role in attenuating impaired wound healing in diabetes. Journal of Caffeine Research. 2015 Dec 1;5(4):141-8.
<https://doi.org/10.1089/jcr.2015.0011>
19. Pergolizzi S, D'Angelo V, Aragona M, Dugo P, Cacciola F, Capillo G, Dugo G, Lauriano ER. Evaluation of antioxidant and anti-inflammatory activity of green coffee beans methanolic extract in rat skin. Natural Product Research. 2020 Jun 2;34(11):1535-41.
<https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1523161>
20. Affonso RC, Voytena AP, Fanan S, Pitz H, Coelho DS, Horstmann AL, Pereira A, Uarrota VG, Hillmann MC, Varela LA, Ribeiro-do-Valle RM. Phytochemical composition, antioxidant activity, and the effect of the aqueous extract of coffee (*Coffea arabica* L.) bean residual press cake on the skin wound healing. Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2016;2016(1):1923754.
<https://doi.org/10.1155/2016/1923754>
21. Yilmaz F, Aydemir S, Yilmaz B, Ilgen O, Kurt S, Baykara B. Effects of dose-dependent chronic caffeine consumption in a rat burn wound model: Histopathological and immunohistochemical evaluation. Iranian Journal of Basic Medical Sciences. 2024;27(9):1180.
<https://doi.org/10.22038/IJBMS.2024.76513.16557>
22. Chen X, Luo F, Huang ZZ, Peng Y, Xiong RP, Li P. Effects of caffeine consumption on cutaneous wound healing and scar formation in

- mice.<https://doi.org/10.16016/j.1000-5404.202006248>
23. Avizheh L, Peirouvi T, Diba K, Fathi-Azarbayjani A. Electrospun wound dressing as a promising tool for the therapeutic delivery of ascorbic acid and caffeine. *Therapeutic Delivery*. 2019 Dec 1;10(12):757-67.
<https://doi.org/10.4155/tde-2019-0059>
24. Ma JC, Wang ZN, Xi MF, Yin D, Jiang LF, Qi J. Experimental study on the effect of caffeine hydrogel on the expression of TGF- β 1, α -SMA and collagen in hypertrophic scar of rabbit ears. *Journal of Burn Care & Research*. 2024 Jan 1;45(1):85-92.
<https://doi.org/10.1093/jbcr/irad115>

Abstracts in English

The effect of oral caffeine consumption on skin wound healing in rats: clinical and histopathological evaluation

Aboutorab Tabatabaei Naeini^{1*}, Ali Hosseinzadeh¹, Fatemeh Rahsepar¹, Alireza Shaikhzadeh¹

1. Department of Clinical Sciences, School of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran.

Corresponding author: Aboutorab Tabatabaei Naeini * t-naeini@shirazu.ac.ir

* t-naeini@shirazu.ac.ir

Background: The skin, being the largest organ of the body, serves as the initial defense barrier against environmental damaging agents. Wound healing in the skin is a complex, dynamic, and multi-stage process resulting from the coordinated interaction of cellular, molecular, and tissue mechanisms. Caffeine is one of the most widely consumed bioactive compounds globally and has recently garnered attention from researchers for its potential benefits in wound healing due to its anti-inflammatory, and analgesic properties.

Objective: Given the clinical importance of wound healing in both human and veterinary medicine, especially in surgical settings, it is vital to explore the effects of oral caffeine consumption on cutaneous wound healing. This investigation could contribute to developing more effective therapeutic strategies, particularly in light of caffeine's widespread consumption in everyday life.

Methods: The present study involved 30 rats divided into three groups: a control group and two groups receiving different doses of oral caffeine (20 mg/kg and 50 mg/kg body weight). After creating skin wounds on the dorsal region of the rats, half of the animals were euthanized on Day 10, and tissue samples from both the wound area and adjacent healthy tissue were collected for histopathological evaluation. The other half were monitored clinically for the wound healing process until Day 21. Histopathological evaluation focused on ten main indicators related to wound healing.

Results: Clinical evaluations indicated that wound edge contraction, granulation tissue formation, and wound closure were significantly more favorable in the high-dose caffeine group compared to the others. Histopathological analysis showed that granulation tissue formation and re-epithelialization were substantially higher in the group receiving 50 mg/kg of caffeine compared to the control group, although no significant differences were found for other indicators. Additionally, an increased presence of mast cells was observed in the group that received a higher dose of caffeine, which could lead to future studies on the role of these cells in wound healing.

Conclusion: The findings suggest that oral caffeine administration, especially at higher doses, may positively affect specific stages of cutaneous wound healing. Further studies are needed to elucidate the underlying mechanisms more precisely.

Keywords: Skin, Wound healing, Rat, Oral caffeine, Histopathology