

## بررسی مقایسه‌ای ریخت‌شناسی تأثیر روغن زالوی طبی بر روی پوست صورت با استفاده از نرم‌افزار ریخت‌سنجی هندسی

فرحناز مولوی<sup>\*۱</sup>کیمیا اسدی<sup>۱</sup>معصومه آخوندی رنجبر<sup>۱</sup>نگار قلعه‌نوی<sup>۱</sup>فاطمه‌سادات اعتمادالاسلامی بختیار<sup>۱</sup>تارا عادل راستگو<sup>۱</sup>ساحل یزدان‌پناهی<sup>۲</sup>

۱. گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد

اسلامی، واحد مشهد، مشهد، ایران

۲. گروه پزشکی عمومی، دانشگاه علوم

پزشکی مشهد، مشهد، ایران

نویسنده مسئول:

فرحناز مولوی

مشهد، قاسم‌آباد، بلوار امامیه، خیابان استاد

یوسفی

پست الکترونیک:

farahmolavi@gmail.com

تعارض منافع: اعلام نشده است.

**زمینه و هدف:** استفاده از عصاره زالو در تهیه مکمل‌های آرایشی و ترکیبات دارویی همیشه مورد توجه بوده است. تاکنون تأثیر این عصاره بر روی حجم‌دهی بافت پوششی پوست به‌صورت علمی تأیید نشده است و پژوهشی درخصوص مقایسه اثر انواع روغن‌های پایه در این عصاره صورت نگرفته است.

**روش اجرا:** هدف از این مطالعه بررسی تأثیر عصاره زالو در پایه‌های روغن زیتون، روغن کرچک و روغن بادام تلخ بر روی پوست صورت توسط نرم‌افزار ریخت‌سنجی هندسی لندمارک پایه بود. بدین‌منظور تعداد ۲۵ نفر از گروه سنی ۴۵ الی ۵۵ سال انتخاب شدند. به‌منظور مقایسه تغییرات ریخت‌شناسی به مدت چهار روز در یک ساعت مشخص تصاویر با استفاده از دوربین دیجیتال تهیه شد. بر روی تصاویر دوبعدی، تعداد ۱۲ نقطه لندمارک با استفاده از نرم‌افزار TpsDig2 قرار داده شد. داده‌های شکلی حاصل پس از تحلیل روی‌هم‌گذاری، با استفاده از تحلیل پروکراست با روش‌های آماری چند متغیره PCA و CVA و تحلیل خوشه‌ای (CV) تجزیه و تحلیل شدند.

**یافته‌ها:** نتایج نشان داد که تفاوت معنی‌دار عصاره زالو در حجم‌دهی و رفع چین و چروک با پایه روغن زیتون وجود دارد ( $P < 0.001$ )؛ ولی دو گروه روغن کرچک و روغن بادام تلخ تفاوت معنادار نداشتند ( $P > 0.010$ ).

**نتیجه‌گیری:** عصاره زالو در بازه زمانی مطالعه حاضر تأثیری بر رفع چین و چروک ندارد و تورم موضعی در بافت پوششی پوست ایجاد نمی‌کند.

**کلیدواژه‌ها:** زالودرمانی، زالوی طبی، ریخت‌سنجی هندسی، تورم بافت

دریافت مقاله: ۱۴۰۲/۰۶/۲۹ پذیرش مقاله: ۱۴۰۲/۰۹/۲۲

پوست و زیبایی؛ پاییز ۱۴۰۲، دوره ۱۴ (۳): ۱۵۱-۱۴۴

### مقدمه

بوده و از بی‌مهرگان کوچک تغذیه می‌کنند.<sup>۳</sup> *Hirudo medicinalis* یا زالوی پزشکی اروپایی، پرکاربردترین گونه زالو در طب سنتی ایران است. گونه‌های دیگر زالوها که گاهی به‌عنوان زالوی طبی استفاده می‌شوند عبارتند از *H. orientalis*، *H. troctina*، *H. manillensis* و زالوی دارویی آمریکای شمالی یا *Macrobdella decora*. زالودرمانی یک درمان سنتی است. در ایران قرن هاست که از این روش برای درمان انواع بیماری‌ها مانند آبسه،

زالوها کرم‌هایی هستند که در زیر کلاس Hirudinea (خانواده Annelida) قرار می‌گیرند.<sup>۱</sup> بیش از ۷۰۰ گونه زالو تاکنون توصیف شده است.<sup>۲</sup> آن‌ها هرمافرودیت هستند و توسط مکنده‌ها در هر دو انتها شناسایی می‌شوند. بدن آن‌ها عضلانی و محکم است و اکثر زالوها در زیستگاه‌های آب شیرین زندگی می‌کنند. شناخته‌شده‌ترین گونه زالو دارویی (*Hirudo medicinalis*) است. اگرچه اکثریت آن‌ها خون‌خوار هستند؛ ولی اقلیتی از این گونه‌ها شکارچی

قرار داده و به‌ازای هر یک لیتر آب، ۵۰ گرم سنگ نمک اضافه گردید. سپس محتویات این ظرف به‌مدت ۵ دقیقه جوشانده شد (سنگ نمک خاصیت ضد عفونی‌کنندگی دارد). بعد از جوشاندن، زالوها داخل یک صافی ریخته شده و با آب تمیز، ۲ تا ۳ بار شسته شد. اگر آثار خون مشاهده شود، مراحل فوق مجدداً تکرار می‌گردد. به‌منظور نگهداری، زالوها در یک ظرف در بسته قرار گرفته و بعد از اضافه کردن حدود ۵ سانتی‌متر آب، در یخچال ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند.

### خشک کردن

بهترین روش خشک کردن زالوها، قراردادن آن‌ها بر روی توری پلاستیکی و زیر نور غیرمستقیم آفتاب است. مدت زمان خشک کردن حدود ۱ ماه است. پس از خشک کردن، زالوها توسط دستگاه آسیاب‌کن، خرد و پودری شکل شدند.

### آماده‌سازی

به‌ازای هر ۱ گرم پودر زالو، ۳ گرم روغن پایه و نصف مقدار روغن آب اضافه شد. محلول آب و روغن و پودر زالو به مدت دو ساعت جوشانده شد. اگر آب داخل روغن زودتر از ۲ ساعت به اتمام می‌رسید، مجدداً آب اضافه می‌شد و قبل از اینکه روغن سرخ شود، شعله خاموش شد. بعد از هم‌دماشدن محلول با محیط، محلول در قوطی‌های نیم‌لیتری قرار داده شد.

### غنی‌سازی روغن

در این مرحله، روغن را صاف کرده و ۴۰ روز در دمای ۱۸-۲۵ درجه رو به نور خورشید نگهداری شد.

### تیمار نمونه‌ها

در این مرحله ۲۵ نفر با میانگین سنی ۴۵-۵۵ سال به‌صورت داوطلبانه انتخاب شدند. به دلیل تشابه ساختار پوست در سه نقطه قسمت گوشه راست، گوشه چپ چشم و میان ابروها، این مناطق برای تأثیرگذاری سه روغن و عصاره زالو انتخاب شد. تیمار این نمونه‌ها

آرتريت، گلوکوم، میاستنی گراویس، ترومبوز و برخی اختلالات وریدی استفاده می‌شود. علاوه بر استفاده‌های درمانی از زالو، در اکثر کشورهای آسیایی عصاره زالو به‌نام روغن زالو برای ایجاد تورم و رفع چین و چروک پوست استفاده می‌شود.

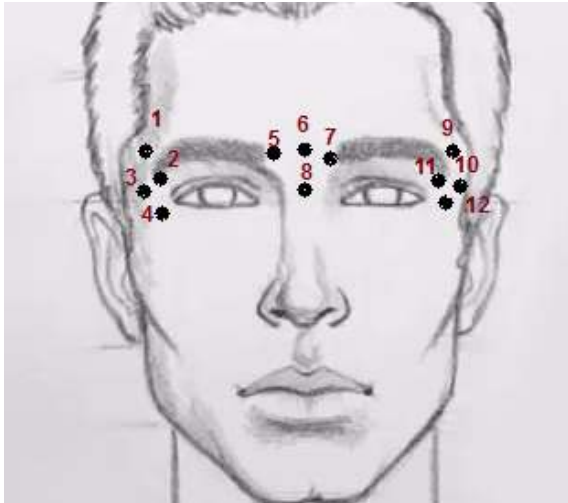
توصیف کمی و تحلیل تغییر شکل بدن، ریخت‌سنجی هندسی نام دارد. روش ریخت‌سنجی هندسی (GMM) تکنیکی برای مطالعه ریخت با استفاده از مختصات هندسی دکارتی به‌جای متغیرهای خطی، مساحت یا حجمی است. این روش برای تغییرات شکل بدن در بسیاری از مطالعات بیولوژیکی، ارزش بسیاری دارد.<sup>۴۵</sup>

روش ریخت‌سنجی هندسی لندمارک پایه، مقایسه تصاویر توسط جمع‌آوری اطلاعات مکانی نقاطی است که لندمارک نامیده می‌شوند.<sup>۶</sup> کیفیت لندمارک‌ها و ثابت بودن جای‌یابی آن‌ها در تمام تصاویر نقش مهمی در نتایج حاصل دارد. تشخیص نقطه عطف (لندمارک) چهره یک روش اساسی برای بسیاری از کاربردهای مدرن و پیشرفته است.<sup>۷،۸</sup> در این روش میزان تغییر در شکل را از یک شکل مرجع اندازه‌گیری می‌کنند و الگوهای تغییر ریختی را می‌توان در حالتی که هر فرد از میانگین منحرف شود، اندازه‌گیری کرد.<sup>۹</sup> در این مطالعه اثر حجم‌دهی عصاره زالو با پایه کرچک، زیتون و بادام تلخ توسط نرم‌افزار ریخت‌سنجی هندسی مورد بررسی قرار گرفت.

### روش اجرا

#### آماده‌سازی اولیه زالو

در این مطالعه ۲۵۰ زالوی طبی استفاده شده است. با یک تیغ جراحی بادکش و سر زالوها جدا شد تا باکتری‌های دهان و فک از مطالعه حذف شوند. سپس با استفاده از تیغ، جداره بدن زالو باز شده و زیر آب ولرم شست‌وشو داده شد تا هیچ اثری از خون مشاهده نشود. این زالوهای شسته‌شده را داخل یک ظرف فلزی



شکل ۱: ۱۲ نقطه لندمارک مورد بررسی در پژوهش.

تفاوت به وجود نیامده است؛ ولی در عصاره زالو بر پایه زیتون سه مؤلفه اصلی به عنوان عوامل تفکیک کننده وجود دارد که به صورت میانگین دو مؤلفه اول حدود ۹۳ درصد واریانس کل برای رسم نمودار به کار گرفته شدند. مهم ترین صفات که تغییرات را ثبت کرده اند، برمبنای بار عاملی یا نمودار لودینگ تعیین شد. این نتایج نشان داد که لندمارک شماره شش بیشترین سهم را در تغییرات بین گروهی داشت، بنابراین پوست منطقه پیشانی تغییرات بیشتری را نسبت به پوست نواحی داخلی چشم و اطراف بینی داشتند.

### بحث

زالودرمانی دارویی (MLT) یا هیروترابی، تکنیکی قدیمی است که برای بیماری های مختلف مانند بیماری های التهابی، آرتروز و درمان بعد از جراحی های مختلف استفاده می شود. زالوها می توانند بیش از ۲۰

جدول ۱: مقادیر ویژه، درصد واریانس و درصد تجمعی هر یک از محورهای آنالیز CVA.

CV	مقادیر ویژه	درصد واریانس	درصد تجمعی
۱	۴۹/۴۹۳	۸۱/۰۵	۸۱/۰۵
۲	۷/۳۹۱	۱۲/۱۶	۹۳/۲۱
۳	۲/۳۷	۴/۹۹	۹۸/۲
۴	۱/۰۹	۱/۸	۱۰۰

چهل روز ادامه داشت و هر روز در یک ساعت مشخص و با یک دوربین مشخص عکس این نواحی گرفته و ذخیره گردید.

### نرم افزار ریختسنجی هندسی

در این تجزیه و تحلیل، از تکنیک ریختسنجی هندسی<sup>۱۰</sup> - که رویکرد چندمتغیره و مبتنی بر نقاط برای ارزیابی تفاوتها در ریخت و الگوهای تورم در سه منطقه است - استفاده شد. تصاویر توسط دوربین Canon Power Shot SX 30 IS گرفته شد. عکسها توسط نرم افزار tpsUtil-1.44 مرتب شدند<sup>۱۱</sup>. facial landmark (شکل ۱) توسط ابزار Digitize landmarks در اجزای صورت انتخاب شد<sup>۱۱</sup>. سپس با استفاده از نرم افزار tpsDig-2.16 داده های دیجیتالی و در یک صفحه دوبعدی به مختصات تبدیل شدند<sup>۱۲</sup>. به دلیل اینکه ویژگی های ریختشناسی چهره تابع فاکتورهای متعددی است، در آنالیزهایی که براساس ریخت صورت می گیرد، این اثرات توسط Procrustes کردن داده ها در نرم افزار PAST حذف می گردد<sup>۱۲</sup>.

در مرحله بعد داده ها با استفاده از روش های تجزیه و تحلیل مؤلفه های اصلی (PCA) و تجزیه و تحلیل تغییرات متعارف (CVA) آنالیز شدند تا متغیرهای فرضی که به بهترین شکل ممکن بیان کننده الگوی تغییرات در داده های چندمتغیره هستند، شناسایی شوند<sup>۱۳</sup>. از آزمون خط شکست و نقطه برش جولیف برای پیدا کردن مؤلفه های اصلی معنی دار استفاده شد؛ بدین صورت که مؤلفه های دارای مقادیر ویژه بیشتر از حد برش جولیف به عنوان مؤلفه های معنی دار و مؤلفه هایی که زیر خط شکست قرار می گیرند، به عنوان مؤلفه های غیرمعنی دار شناسایی شدند<sup>۱۴</sup>.

### یافته ها

نتایج تجزیه به مؤلفه های اصلی (PCA) نشان داد که در دو گروه عصاره زالو با پایه کرچک و بادام تلخ،

هستند که کوچکترین تغییرات ظاهری را نمایش می‌دهند<sup>۲۸</sup>، گرچه ریخت‌سنجی می‌تواند برای توصیف فرم هر شیء مورد استفاده قرار گیرد؛ اما عمدتاً در زیست‌شناسی برای توصیف کمی شکل موجودات استفاده می‌شود و روش کمی‌سازی مقایسه‌شکلی موجودات مختلف را فراهم می‌سازد<sup>۲۹</sup>. ریخت‌سنجی هندسی، یکی از ارکان مهم و کاربردی در جانورشناسی و یک ابزار تحلیلی بسیار مفید برای آنالیز فرم و شکل در تحقیقات است<sup>۳۰</sup>. این روش تا کنون تغییرات ریختی را در موارد مختلف با دقت فراوان نشان داده است<sup>۳۱،۳۲</sup>.

از روش ریخت‌سنجی هندسی قبلاً نیز برای درک تغییرات صورت استفاده شده است<sup>۳۳-۳۵</sup>. قدرت این تکنیک در یافتن کوچکترین تغییرات ریختی اثبات شده است<sup>۳۶،۳۷</sup>. در این تحقیق ما با این روش، اثر عصاره زالو بر روی سه پایه روغنی را روی تورم پوست صورت مورد مطالعه قرار دادیم و نتایج این تحقیق نشان داد که عصاره زالو بر اساس دو روغن کرچک و بادام تلخ اثری بر روی پوست نداشته است؛ ولی عصاره زالو بر پایه روغن زیتون باعث تورم پوست و تغییرات آن در بازه مطالعه این تحقیق شده است. در واقع عصاره زالو تأثیری بر روی رفع چروک و تورم پوست ندارد.

اثر روغن زیتون بر روی تورم پوست نتیجه‌ای است که قبلاً اثبات شده است<sup>۳۷</sup>؛ اما ماده استفاده‌شده در این تحقیق شامل دو بخش است: عصاره زالو و روغن زالو. تا کنون خاصیت روغن زیتون در کشسانی پوست و التیام ضایعات پوستی اثبات شده است<sup>۳۸-۴۰</sup>. هم‌چنین ترکیبات موجود در زیتون و روغن حاصل از آن می‌توانند در خصوص تکثیر و سلامت سلول‌های سایر ارگان‌های بدن نیز سودمند است<sup>۴۱</sup>. علاوه بر این اثربخشی روغن زیتون، انواع عصاره‌های گیاهی<sup>۴۲،۴۳</sup> و سیانوباکترها<sup>۴۴</sup> روی تورم پوستی بارها اثبات شده است و چون در دو مورد دیگر ما تغییری در ریخت مناطق تحت مطالعه ندیده‌ایم، می‌توان این استنباط را داشت

ماده فعال زیستی مانند آنتی‌استازین، اگلین، گوامرین، هیروودین، ساراتین، بدلین، مکمل و مهارکننده‌های کربوکسی پپتیداز را ترشح می‌کنند. این مواد اثرات ضد درد، مهارکننده پلاکت، ضدالتهاب، ضدانعقاد و ضد میکروبی دارند<sup>۱۵</sup>. زالودرمانی در کشورهایمانند مصر باستان، چین، اکثر کشورهای عربی، انگلوساکسون، یونان و روم استفاده می‌شد<sup>۱۶-۱۸</sup>. در قرن هفدهم، بیشترین استفاده از زالودرمانی در مناطق مختلف می‌شد؛ اما در دهه ۱۹۰۰، توجه به زالودرمانی کاهش یافت و از قرن بیستم مجدداً زالودرمانی به تحقیقات پزشکی سنتی بازگشته است.

زالودرمانی ارزان و آسان است و به همین دلیل در آسیا از زالو برای درمان بسیاری از بیماری‌ها استفاده می‌شود<sup>۱۹</sup>. یک مطالعه جامع در مورد مزایای زالودرمانی در سال ۲۰۲۰ انجام شد<sup>۲۰</sup> و اثرات زالودرمانی بر درمان میگرن<sup>۲۱</sup>، دیسمنوره<sup>۲۲</sup> و بیماری‌های قلبی - عروقی<sup>۲۳</sup> اثبات گردید. در سال‌های اخیر هیروودین در نقش مهارکننده ترومبین به‌عنوان یک درمان مؤثر برای فیبروز کلیه توجه زیادی را به خود جلب کرده<sup>۲۴</sup> و ثابت شده است که هیروودین بر رابطه ساختار - فعالیت داروهای ضدترومبوتیک مؤثر است<sup>۲۵</sup>.

درواقع زالودرمانی بخشی از درمان‌های چندرشته‌ای است و مواد فعال زیستی مختلفی را در خود دارد<sup>۲۶</sup>. تاکنون مقالات علمی زیادی اثربخشی زالودرمانی را در طب سنتی اثبات کرده‌اند<sup>۲۷</sup>؛ ولی در خصوص ادعای زالوترابی برای رفع چین و چروک پوست و ایجاد تورم بافت‌های پوششی مطالعه علمی انجام نشده است. در ایران ده‌ها سال است که جهت رفع چین و چروک و یا ایجاد تورم بافت پوششی، از عصاره زالو بر پایه روغن‌های مختلف استفاده می‌شود و در تمام فروشگاه‌های گیاهی سطح این کشور محصولات تولیدشده از زالو به فروش می‌رسد.

مطالعات ریخت‌شناسی تکنیک‌های قدرتمندی

در پایان از مدیر محترم گروه زیست‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد، کارشناس محترم آزمایشگاه مرکزی و سرکار خانم دکتر بهاره سرگزی به جهت همراهی در انجام پروژه، نهایت تشکر و قدردانی را داریم.

که عصاره زالو تأثیری بر روی چین و چروک پوستی و یا تورم موضعی یک منطقه ندارد یا اینکه باید زمان بیشتری برای اثربخشی این محصول استفاده گردد. همچنین روغن زیتون اثر مکملی دارد و می‌تواند در این خصوص به کار گرفته شود.

## References

1. Scardino R, Arculeo M, Arizza V, et al. New distributional data on *Haemogregarina stepanowi* (Apicomplexa) and *Placobdella costata* (Hirudinea) parasitising the Sicilian pond turtle *Emys trinacris* (Testudines). *J Nat Hist* 2022; 9: 11-6.
2. Phillips AJ, Goetz FE. Comparative reproductive morphology of two species of *Macrobdella* (Hirudinea: Arhynchobdellida: Macrobdellidae). *Zoomorphology* 2023; 142: 153-68.
3. Marinković N, Paunović M, Raković M, et al. Importance of small water bodies for diversity of leeches (Hirudinea) of western Balkan. *small water bodies of the western Balkans* 2022: 251-70.
4. Kuo PC, Benson RB, Field DJ. The influence of fossils in macroevolutionary analyses of 3D geometric morphometric data: A case study of galloanseran quadrates. *J Morphol* 2023; 284: e21-65.
5. Al-Kholani AI. Morphometric relationships between permanent maxillary central incisors and face among a sample of yemeni population. *J Clin Med Img Case Rep* 2023; 3: 1420.
6. Collyer ML, Davis MA, Adams DC. Making heads or tails of combined landmark configurations in geometric morphometric data. *Evol Biol* 2020; 47: 193-205.
7. Boz İ, Manuta N, Özkan E, et al. Geometric morphometry in veterinary anatomy. *Veterinaria* 2023; 72: 15-27.
8. Chandran P, Ciccone L, Gross M, et al. Local anatomically-constrained facial performance retargeting. *ACM Trans Graph* 2022; 41: 1-4.
9. Cardin V, Kremneva E, Komarova A, et al. Resting-state functional connectivity in deaf and hearing individuals and its link to executive processing. *Neuropsychologia* 2023; 185: 108583.
10. Bookstein FL. Reworking geometric morphometrics into a methodology of transformation grids. *Evol Biol* 2023; 50: 275-99.
11. Wu T, Cui Y, Lian A, et al. Vehicle emissions of primary air pollutants from 2009 to 2019 and projection for the 14th five-year plan period in Beijing, China. *J Environ Sci* 2023; 124: 513-21.
12. Rohlf FJ. *tpsDig, digitize landmarks and outlines*: Department of Ecology and Evolution. State University of New York at Stony Brook. 2013.
13. Rohlf FJ, Slice D. Extensions of the procrustes method for the optimal superimposition of landmarks. *Syst Zool* 1990; 39: 40-59.
14. Aguilar-Medrano R, Frederich B, De Luna E, et al. Patterns of morphological evolution of the cephalic region in damselfishes (Perciformes: Pomacentridae) of the Eastern Pacific. *Biol J Linn Soc Lond* 2011; 102: 593-613.
15. Sig AK, Guney M, Guclu AU, et al. Medicinal leech therapy-an overall perspective. *Int Med Res* 2017; 6: 337-43.

16. Herlin C, Bertheuil N, Bekara F, et al. Leech therapy in flap salvage: Systematic review and practical recommendations. *Ann Chir Plast Esthet* 2017; 62: 1-13.
17. Whitaker IS, Oboumarzouk O, Rozen WM, et al. The efficacy of medicinal leeches in plastic and reconstructive surgery: A systematic review of 277 reported clinical cases. *Microsurgery* 2012; 32: 240-50.
18. Bordon KD, Cologna CT, Fornari-Baldo EC, et al. From animal poisons and venoms to medicines: Achievements, challenges and perspectives in drug discovery. *Front Pharmacol* 2020; 11: 1132.
19. Singh SK, Rajoria K. Medical leech therapy in ayurveda and biomedicine-a review. *J Ayurveda Integr Med* 2020; 11: 554-64.
20. Lemke S, Vilcinskas A. European medicinal leeches-new roles in modern medicine. *Biomedicines* 2020; 8: 99.
21. Ghiyami Taklimi S H, Afroundeh R, Bahram M E, et al. Comparison of the effectiveness of yoga and leech therapy interventions in medical management of women with migraine. *J Sports Sci* 2021; 13: 329-49.
22. Khodavardian A, Khajooyan-Rahmani B, Haj Talebi R, et al. Investigating the effect of leech and wind therapy compared to LD contraceptive pill on the improvement of dysmenorrhea: A randomized clinical trial. *Iran J Obstet Gynecol Infertil* 2022; 25: 67-76.
23. Valipour A, Schneider F, Kossler W, et al. Heart rate variability and spontaneous baroreflex sequences in supine healthy volunteers subjected to nasal positive airway pressure. *J Appl Physiol* 2005; 99: 2137-43.
24. Cao X, Luo Y, Liu X, et al. Aptamer-thrombin loaded magnetic microspheres for bio-specific extraction and precise detection of hirudin. *Talanta* 2024; 267: 125244.
25. Ma Y, Wu S, Zhao F, et al. Hirudin inhibits glioma growth through mTOR-regulated autophagy. *J Cell Mol Med* 2023; 27: 2701-13.
26. Chhayani K, Daxini P, Patel P. An overview on medicinal leech therapy. *J Pharm Pharmacol* 2023; 11: 107-13.
27. Singh SK, Rajoria K. Medical leech therapy in Ayurveda and biomedicine - A review. *J Ayurveda Integr Med*. 2020;11(4): 554-64.
28. Slice DE, Bookstein FL, Marcus LF, et al. A Glossary Geometric Morphometrics. <http://www.life.bio.cunysb.edu/morph/glossary.2001>.
29. Matzig DN, Hussain ST, Riede F. Design space constraints and the cultural taxonomy of European final palaeolithic large tanged points: A comparison of typological, landmark-based and whole-outline geometric morphometric approaches. *J Archaeol Sci Rep* 2021; 4: 27.
30. Gohari Manesh M. Providing a comprehensive toolbox for geometric morphometrics with MATLAB software. In the third conference of ichthyology of Iran 2015 (Persian).
31. Hadžimerović N, Gundemir O, Tandir F, et al. Geometric and morphometric analysis of the auditory ossicles in the red fox (*Vulpes vulpes*). *Animals* 2023; 13: 1230.
32. Luigi C, Giuliani A, Furlani M, et al. Influence of abutment macro-and micro-geometry on morphologic and morphometric features of peri-implant connective tissue. *Clin Oral Implants Res* 2023; 12: 35-48.
33. Maili L, Ruiz OE, Kahan PH, et al. Facial analytics based on a coordinate extrapolation system (zFACE) for morphometric phenotyping of developing zebrafish. *Dis Model Mech* 2023; 16: 15-23.

34. Krüsi M, Halazonetis DJ, Eliades T, et al. Covariance patterns between ramus morphology and the rest of the face: A geometric morphometric study. *Korean J Orthod* 2023; 53: 185-93.
35. Kožejová Jaklová L, Kočandrlová K, Dupej J, et al. Morphometric assessment of facial morphology in infants with orofacial clefts up to two years of age: A three-dimensional cross-sectional study. *Cleft Palate Craniofac J* 2023; 20: 105-70.
36. Manuta N, Gündemir O, Yalin EE, et al. Pelvis shape analysis with geometric morphometry in crossbreed cats. *Anat Histol Embryol* 2023.
37. Fazeli Nasab A, Saeedi H, Fazeli F, et al. Evaluation of antimicrobial and antioxidant activity of 4 medicinal plants on 10 standard bacteria. *Vet Microbiol* 2023; 5: 19-30.
38. Nemati F, Abdullah Pour A, Soleimani Rad A, et al. Biological effects of the combination of ethanol extract of *Myrtus communis* and olive oil (*Olea europaea*) on the expression of VEGF, EGF, FGF-1, IGF-1 genes in wound healing in small laboratory mice of Balb/c breed. *Journal of Qom University of Medical Sciences* 2023;17: 30 (Persian).
39. Shabir S, Ilyas N, Saeed M, et al. Treatment technologies for olive mill wastewater with impacts on plants. *Environ Res* 2023; 216: 114399.
40. Raisi A, Farjanikish G, Salahi P. Comparing healing effects of olive leaf extract ointment and dermaheal ointment on cutaneous wound in diabetic rats. *J Res Med Sci* 2019; 29: 11-21.
41. Heydari Sadegh S, Ramezan D, Pirnia M, et al. Evaluation of yield and total polysaccharide amounts of the basidiocarp of iranian isolates of *Agrocybe aegerita* and *Hypsizygus ulmarius* mushroom produced on various substrates. *BJM* 2023; 12: 1-7.
42. Ahmadi L, Kolahi M, Mohajjel Shoja H, et al. Effect of TiO<sub>2</sub> nanoparticles on physiological and anatomical characteristics of Baby sun rose (*Aptenia cordifolia*). *Cell Tissue J* 2020; 11: 188-203.
43. Framarazi Dozin H, Karimi A, Eskuyan, Ghasemi H. Comparative investigation of phytochemical, antioxidant and anti-inflammatory properties of dill, black cumin, yarrow and clove plant extracts. *EJMP* 2022; 9: 43-58.
44. Nowruz F. A review of sunscreen compounds and moisturizers extracted from cyanobacteria. *skin and beauty quarterly* 2022; 13: 119-32.

# A comparative study of the morphology of the effect of medical leech *Hirudo medicinalis* oil on facial skin using geometric morphometry software

Farahnaz Molavi, PhD<sup>1\*</sup>  
Kimia Asadi, BSc<sup>1</sup>  
Masoomeh Akhondi Ranjbar, BSc<sup>1</sup>  
Negar Ghalehnavi, BSc<sup>1</sup>  
Fatemehsadat Etemadolelami  
Bakhtiar, BSc<sup>1</sup>  
Tara Adell Rastgoo, BSc<sup>1</sup>  
Sahel Yazdanpanahi, PhD<sup>2</sup>

1. Department of Biology, Islamic Azad University, Mashhad Branch, Mashhad, Iran
2. Department of General Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

Received: Sep 20, 2023  
Accepted: Dec 13, 2023  
Pages: 144-151

## Corresponding Author:

Farahnaz Molavi, PhD

Ostad Yusofi St., Emamieh Blvd.,  
Ghasemabad, Mashhad, Iran  
Email: farahmolavi@gmail.com

**Conflict of interest:** None to declare

**Background and Aim:** The use of leech extract in the preparation of cosmetic supplements and medicinal compounds has always been of interest. So far, the effect of this extract on the volume of the skin's epidermal tissue has not been scientifically confirmed, and no research has been done regarding the comparison of the effects of different types of base oils in this extract.

**Methods:** The purpose of this study was to investigate the effect of leech extract in the bases of olive oil, castor oil and bitter almond oil on the facial skin using the basic geometric morphometry software. For this purpose, 25 people from the age group of 45 to 55 years were selected. In order to compare morphological changes for forty days at a specific hour, pictures were taken using a digital camera. 12 landmark points were placed on the two-dimensional images using TpsDig2 software. The shape data obtained after superimposition analysis were analyzed using Procrust analysis with multivariate PCA and CVA statistical methods and cluster analysis (CV).

**Results:** The results showed that there is a significant difference between leech extract in volumizing and removing wrinkles with olive oil base ( $P < 0.001$ ), but the two groups of castor oil and bitter almond oil did not have a significant difference ( $P > 0.001$ ).

**Conclusion:** Leech extract has no effect on removing wrinkles and does not cause local swelling in the epidermal tissue in the time frame of the present study.

**Keywords:** hirudotherapy, medical leech, geometric morphometrics, tissue swelling

