زیست‌شناسی جانوری، سال پانزدهم، شماره سوم، بهار ۱۴۰۲، صفحات ۱۸۹- ۱۷۳

مقاله پژوهشی

بررسی اثر عصاره باریجه بر پارامترهای بیوشیمیایی زخم پوستی موش‌های کوچک آزمایشگاهی نژاد NMRI

پریسا سیفعلی، پریچهره یغمایی*، نسیم حیاتی رودباری*

گروه علوم شناختی، واحد علوم تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

*مسئولان مکاتبات: nasimhayati@yahoo.com,yaghmaei_p@yahoo.com

DOI: 10.22034/ascij.2022.1964577.1414

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۵/۲۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۶/۱۶

چکیده

ترمیم زخم یکی از مشکلات مهم در علم پزشکی است. هدف از این مطالعه، بررسی اثر باریجه بر روند ترمیم زخم پوستی در موش‌های آزمایشگاهی نژاد NMRI می‌باشد. ۲٤ سر موش کوچک آزمایشگاهی نژاد NMRI پس از ایجاد زخم پوستی، در روزهای ۳، ٦، ۱۲ و ۲۱ توسط پماد تهیه شده باریجه تیمار شدند و به طور تصادفی به سه گروه اوسرین (دریافت کننده روزانه پماد اوسرین)، گروه تجربی اول (تیمار روزانه با پماد گیاه باریجه با دوز ۲ میلی‌گرم) و گروه تجربی دوم (تیمار روزانه با پماد باریجه با دوز ٤ میلی‌گرم) تقسیم شدند و زخم‌ها با کولیس اندازه‌گیری شد و شاخص‌های بیوشیمیایی سوپر اکسید دیسموتاز (SOD)، مالون دی آلدئید (MDA) و ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی (TAC) دربافت مورد سنجش قرار گرفت و مقاطع بافتی از زخم تهیه و توسط رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین مورد ارزیابی هیستوپاتولوژی قرار گرفت.آنالیز داده‌ها توسط نرم‌افزار SPSS 22و آزمون توکی انجام شد و توسط نرم‌افزار اکسل هیستوگرام‌ها ترسیم شدند. اندازه زخم در گروه‌های باریجه نسبت به گروه اوسرین کاهش معنادار نشان داد ($p < ۰/۰۵$). غلظت MDA در گروه‌های باریجه به صورت وابسته به زمان کاهش معنادار نسبت به گروه اوسرین داشت و فعالیت SOD و TAC در گروه‌های باریجه افزایش معنادار نسبت به گروه اوسرین داشت ($p < ۰/۰۵$). بر اساس یافته‌های هیستوپاتولوژی، ضخامت اپیدرمال و درمال در گروه‌های باریجه نسبت به گروه اوسرین افزایش معنادار داشت ($p < ۰/۰۵$) و تعداد فیبروبلاست و رگ‌های خونی نیز در گروه‌های باریجه به صورت وابسته به زمان نسبت به گروه اوسرین افزایش معنادار را نشان داد ($p < ۰/۰۵$). با توجه به نتایج حاصل نشان داده شد که باریجه با افزایش فعالیت SOD و TAC و کاهش غلظت MDA، هچنین نتایج هیستوپاتولوژی در ترمیم و بهبودی زخم موثر است. بنابراین، یافته‌های این مطالعه دیدگاه جدیدی از این گیاه درمانی برای استفاده در درمان زخم را نشان داد.

کلمات کلیدی: اوسرین، باریجه، زخم پوستی، استرس اکسیداتیو.

مقدمه

پوست بزرگ‌ترین عضو منفرد بدن است و حدود ۱۵ تا ۲۰ درصد کل وزن بدن را تشکیل می‌دهد. در برخی منابع طب نوین، دانسته شده است که ساختار پوست متشکل از سه لایه‌ی اصلی اپیدرم (که لایه‌ی خارجی می‌باشد)، درم (که لایه‌ی داخلی است) و هیپودرم یا زیرجلدی می‌باشد (٤). زخم به هر گونه

گسستگی در انسجام لایه‌های پوست یا بافت‌های زیرپوستی گفته می‌شود که می‌تواند در اثر گسستگی در انسجام لایه‌های پوس (اپیدرم، درم و عوامل فیزیکی مانند برش جراحی، ضربه، فشار و اصابت گلوله) و یا عوامل شیمیایی (سوختگی با اسید) ایجاد شود (۱۱). هنگامی که پوست دچار زخم می‌شود سعی می‌کند خود را ترمیم کند، محققان این مسیر را به چند بخش یا فاز اصلی تقسیم کردند که شامل هموستاز ، التهاب، تکثیر و بازسازی است (۵). ترمیم زخم نیازمند فعالیت هماهنگ سلول‌ها و ارتباط سلول به سلول است. سلول‌ها از طریق پروتئین‌های محلول به نام سیتوکین‌ها و فاکتورهای رشد ارتباط برقرار می‌کنند. این سیتوکین‌ها و فاکتورهای رشد توسط یک سلول آزاد می‌شوند و به گیرنده‌های سلول‌های هدف متصل می‌شوند. هنگامی که یک سیتوکین به سلول هدف متصل می‌شود، آن سلول را تحریک می‌کند تا حرکت کند. از سوی دیگر، فاکتورهای رشد، سلول هدف را تحریک می‌کنند که یا تقسیم شوند و سلول‌های بیشتری تولید کنند یا موادی مانند کلاژن مورد نیاز برای تشکیل ماتریکس خارج سلولی را سنتز و آزاد کنند. ماتریکس خارج سلولی با تعامل با سلول‌ها از طریق گیرنده‌هایی به نام اینتگرین، نقش فعالی در بهبود زخم دارد. به عنوان مثال می‌توان به فعال شدن پلاکت‌ها، مهاجرت اپیتلیال و حرکت فیبروبلاست اشاره کرد (۱۹).

از اهداف مهم حوزه پزشکی، ترمیم زخم در زمان کوتاه با کاهش عوارض جانبی است. مسئله بازگشت بـه داروهای گیاهـی و طبیعی در سال‌های اخیـر بیشـتر مورد توجه واقع شده و نگرش نوینی طی دهه‌های گذشته مبنی بر مطالعه گیاهان دارویی و بررسی اثـرات فیزیولوژیک گیاه باریجه و فارماکولوژیک آنها آغاز شده است (۵). *Ferula gummosa* با نام فارسی باریجه، بالیجه یا قسنی و با نام انگلیسی Galbanum متعلق به خانواده Apiaceae است. بیش از ۳۰ گونه *Ferula* وجود دارد که حدود نیمی از آنها بومی هستند. اکثر گونه‌های فرولا در ایران کوما یا کما نامیده می‌شود. طیف وسیعی از انواع گیاهان را در مناطق کوهستانی تشکیل می‌دهد (۱۰). از لحاظ جغرافیایی از آسیای مرکزی به سمت غرب، در سراسر منطقه مدیترانه تا شمال آفریقا، عمدتا در آسیای مرکزی و جنوب غربی (بیشتر در ایران و افغانستان) پراکنده شده است. در ایران در استان‌های خراسان رضوی، خراسان شمالی، سمنان، مازندران، تهران، اصفهان، مرکزی، چهارمحال و بختیاری، کهکیلویه و بویر احمد پراکندگی دارد (۱۶).

نورینین، ارمورفیلن، لیمونن، بتا آمبرین، ترپن‌ها و ترپنوئیدها ترکیبات برجسته این گیاه هستند (۹).

با توجه به این که ثابت شده است گیاه باریجه دارای خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدباکتریایی و ضدالتهابی قابل توجهی می‌باشد، مورد انتظار است با پیشگیری از ایجاد عفونت و رشد میکروارگانیسم‌ها موجب تسریع روند بهبودی زخم شود (۱۵).

هدف اصلی این تحقیق تهیه مواد درمانی بر پایه گیاه باریجه است تا روش ایمن و ارزانی برای جلوگیری از عفونت‌های حاد و همچنین تسریع روند ترمیم زخم‌های پوستی ایجاد شود.

مواد و روش‌ها

این تحقیق بر روی ۲۴ سر موش کوچک آزمایشگاهی نژاد NMRI با وزن تقریبی ۳۵-۲۵ گرم خریداری شده از مؤسسه انستیتوپاستور ایران، انجام شد. به منظور تطابق با محیط جدید به مدت ۱۰ روز در حیوان خانه شرکت دانش‌بنیان بافت و ژن پاسارگاد درون قفس‌های پلاستیکی ویژه با درب‌های فلزی مشبک نگهداری شدند، کف قفس با پوشال پوشانده گردید، این کار برای جلوگیری از کثیف شدن بستر موش‌ها انجام شد. غذای موش‌ها به صورت Pellet بر

روی قسمتی از درب قفس ریخته شد و آب مورد نیاز از طریق قمقمه‌های پلاستیکی با آب شهری برای مصرف حیوان پر گردید. پوشال کف قفس هر روز تعویض گردید و غذا و آب موش‌ها نیز تعویض شده و به مقدار کافی در اختیار آنها قرار گرفت. دمای اتاق بوسیله دماسنج تعیین شد، درجه حرارت اتاق نگهداری باید حدود ۲۳ درجه سانتیگراد باشد. دوره شبانه‌روزی براساس ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی تنظیم گردید. ابتدا ریشه باریجه را از عطاری خریداری نموده سپس با استفاده از آسیاب برقی مخصوص آن را به پودر تبدیل کرده و تبدیل گیاه به ذرات کوچکتر باعث افزایش مساحت سطح تماس آن با حلال و بازدهی استخراج می‌شود. مقدار ۲۰۰ گرم از گیاه پودرشده را داخل بشر ریخته و مقدار ۱۰۰ میلی‌لیتر الکل ۷۰ درصد به آن اضافه نموده و با استفاده از نایلون یا آلومینیوم درب بشر را پوشانده و آب‌بندی شد. استیرر را روش نموده و حرارت در دمای ٤٥ درجه سانتیگراد تنظیم شد و پس از گذشت ۷۲ ساعت، جهت خنک‌شدن، دستگاه خاموش شد. سپس با استفاده از پمپ خلاء و قیف بوخنرو کاغذ صافی، محلول نهایی را صاف نموده و به بالن ۲۵۰ سی‌سی انتقال داده شد در صورتی که هدف عصاره-گیری باشد، عصاره به همان حلال با روش ماسراسیون به دست آمده و سپس عصاره را به دستگاه روتاری برده و الکل را جدا کرده، عصاره باقیمانده محلول در آب است که برای ساخت پماد در مراحل بعد استفاده می‌شود. به علت نیاز به عصاره مایع، ابتدا غلظت‌سنجی می‌گردد و سپس در فرایند ساخت پماد به غلظت ۲ میلی‌گرم بر گرم استفاده می‌شود.برای تهیه پماد پس از عصاره گیری میزان ۲ میلی لیتر از عصاره برداشته و در آون آزمایشگاهی در دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد خشک شد. سپس با کاهش وزن ظرف، قبل و پس از اضافه نمودن عصاره، غلظت عصاره بدست آمد. میزان ۲۰ گرم از پایه پماد اوسرین برواشته و در دمای ٦٠ درجه سانتیگراد ذوب کرده سپس با حل نمودن ٤٠ میلی‌گرم از عصاره در پایه پماد اوسرین به غلظت ۲ میلی‌گرم بر گرم از عصاره رسید. در مرحله آخر با خنک کردن پماد، حالت فیزیکی از پناد بدست آمد و برای مطالعات حیوانی نگهداری گردید.

جهت ایجاد زخم پوستی، ابتدا موش‌ها بوسیله تزریق مخلوط کتامین (۳ mg/Kg) و زایلازین (۱ mg/Kg) به صورت درون صفاقی (ناحیه شکم) بیهوش شدند. موهای پشت موش تراشیده شد. پوست قسمت تراشیده شده به کمک الکل ۷۰ درصد استریل گردید. جهت جلوگیری از کور شدن موش‌ها در هنگام بیهوشی به هر کدام از چشم‌ها یک قطره آب اضافه شد. سپس، قسمت پشت موش‌ها علامت‌گذاری شد و زخمی به قطر ۱۰ میلی‌متر در پشت موش‌ها بین دو کتف ایجاد گردید. عمق زخم دربرگیرنده درم و هیپودرم است.

روز القای زخم به عنوان روز صفر در نظر گرفته شد . زخم‌های سطح پوست حیوانات به صورت باز و بدون پانسمان نگهداری شدند. جهت جلوگیری از عفونت احتمالی، ۰/۲ میلی‌گرم پنی‌سیلین و جنتامایسین به صورت عضلانی تزریق شد. سپس ،این حیوانات به طور تصادفی به ۳ گروه تقسیم شدند که در هر گروه ۸ سر حیوان وجود داشت. گروه‌ها عبارتند بودند از:

۱- گروه اوسرین: موش‌های زخمی که هر روز یک مرتبه و در ساعت معینی پماد خنثی (اوسرین)، دریافت کردند.

۲- گروه تجربی ۱: موش‌های زخمی که سطح زخم این گروه روزانه یک بار با پماد گیاه باریجه با دوز ۲ میلی‌گرم تیمار شدند.

۳- گروه تجربی ۲: موش‌های زخمی که سطح زخم این گروه روزانه یک بار با پماد گیاه باریجه با دوز ٤ میلی‌گرم تیمار شدند.

در روزهای ۳، ٦، ۱۲، ۲۱ پس از القای زخم ، سطح زخم در گروه‌های اوسرین و تجربی ۱ و ۲ با کولیس اندازه گیری گردید و پس از کشتن موش‌ها نمونه‌های پوستی به وسیله قیچی و پنس جدا شد و بلافاصله به مدت ٤٨ ساعت در محلول فرمالین ۱۰ درصد قرار گرفت و مراحل پردازش بافت و قالب‌گیری با پارافین انجام شد و توسط میکروتوم نمونه‌ها به ضخامت ۵ میکرومتر برش داده شد و بر روی لام سیلانه شده قرار داده شدند و سپس به روش رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین رنگ شدند و با میکروسکوپ نوری (LABOMED) عکس‌برداری انجام گردید و فیبروبلاست‌ها و رگ‌های خونی و ضخامت اپیدرمال و درمال تشخیص داده شد.

برای سنجش شاخص‌های استرس اکسیداتیو TAC و MDA از کیت‌های بیوشیمیایی مخصوص و منحنی استاندارد استفاده شد و جذب آنها به ترتیب در طول موج های ۵۳۵ نانومتر، ٤۹۰ نانومتر در دستگاه خوانش الایزا ریدر اندازه‌گیری شد و آنالیز نتایج انجام گردید. برای تشخیص SOD از کیت بیوشیمیایی مخصوص استفاده شد و جذب آن در دستگاه خوانش الایزا ریدر در طول موج ۵۰۵ نانومتر اندازه‌گیری شد و آنالیز نتایج محاسبه شد.

در مطالعه حاضر، داده‌های حاصل با استفاده از نرم‌افزار SPSS ورژن ۲۲ توسط آزمون Tukey مورد آنالیز قرار گرفت و سطح معناداری برای *p*-value کمتر از ۰/۰۵ در نظرگرفته شد و توسط نرم افزار Excel، هیستوگرام‌ها ترسیم گردید.

نتایج

اثر پماد باریجه بر بهبود زخم: پس از ایجاد زخم بر روی پوست موش‌های مورد مطالعه، اوسرین و پماد باریجه با میزان‌های ۲ و ٤ گرم به مدت ۳ هفته دریافت نمودند. سپس، زخم‌ها در روزهای ۳، ٦، ۱۲ و ۲۱ به وسیله کولیس اندازه‌گیری شد. همان گونه که در نمودار ۱ مشاهده می‌گردد، در گروه اوسرین و گروه‌های باریجه در روزهای ۳، ٦، ۱۲ و ۲۱ کاهش اندازه زخم وابسته به زمان می‌باشد. در روزهای ۳، ٦، ۱۲ و ۲۱ اندازه زخم درگروه‌های باریجه ۱ و ۲ نسبت به گروه اوسرین کاهش معناداراداشت، اندازه زخم در روزهای ٦ و ۱۲ در گروه باریجه ۲ نسبت به باریجه ۱ کاهش معنادار داشت .بیشترین اندازه زخم در گروه اوسرین در روز سوم و کمترین اندازه زخم در گروه باریجه ۲ در روز بیست و یکم مشاهده گردید.

مقایسه سنجش MDA در گروه اوسرین و گروه‌های تیمارشده با پماد باریجه ۱ و ۲: همان طور که در نمودار ۲ مشاهده می‌گردد، میزان غلظت MDA در روزهای ٦، ۱۲ و ۲۱ در گروه باریجه ۲ نسبت به اوسرین کاهش معنادار داشت. همچنین میزان غلظت MDA در روزهای ٦ و ۱۲ در گروه باریجه ۱ نسبت به اوسرین کاهش معنادار داشت. بیشترین میزان غلظت MDA در گروه اوسرین، در روز سوم و کمترین میزان غلظت MDA در گروه باریجه ۲، مربوط به روز دوازدهم مشاهده گردید. نشان داده شد که غلظت MDA به صورت وابسته به زمان کاهش می‌یابد.

مقایسه سنجش SOD در گروه اوسرین و گروه های تیمار شده با پماد باریجه ۱ و ۲: میزان فعالیت SOD در نمودار ۳ نشان می‌دهد که میزان فعالیت SOD در گروه باریجه ۲ در روزهای ٦، ۱۲ و ۲۱ نسبت به اوسرین افزایش معنادار داشت و فعالیت SOD در گروه باریجه ۱ در روزهای ۱۲ و ۲۱ نسبت به اوسرین افزایش معنادار داشت و در روزهای ۱۲ و ۲۱ میزان غلظت SOD در گروه باریجه ۲ نسبت به باریجه ۱ افزایش معنادار داشت. بیشترین افزایش

فعالیت SOD نیز مرتبط با گروه باریجه ۲ در روز بیست و یکم و کمترین فعالیت SOD در گروه اوسرین در روز سوم گزارش شد که نشان‌دهنده افزایش فعالیت SOD به صورت وابسته به زمان می‌باشد.

مقایسه سنجش TAC در گروه اوسرین و گروه‌های تیمار شده با پماد باریجه ۱ و ۲: سنجش ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی (TAC) مقایسه گردید (نمودار ٤) بیانگر این است که در گروه‌های باریجه در روزهای ٦، ۱۲ و ۲۱ غلظت TAC نسبت به اوسرین افزایش معنادار داشت . همچنین غلظت TAC در روزهای ٦، ۱۲ و۲۱ در گروه باریجه ۲ نسبت به باریجه ۱ افزایش معنادار داشت. لذا، بیشترین غلظت TAC در گروه باریجه ۲ در روز بیست و یکم گزارش گردید و کمترین غلظت TAC در گروه اوسرین در روز سوم بود که نشان دهنده افزایش غلظت TAC به صورت وابسته به زمان می‌باشد.

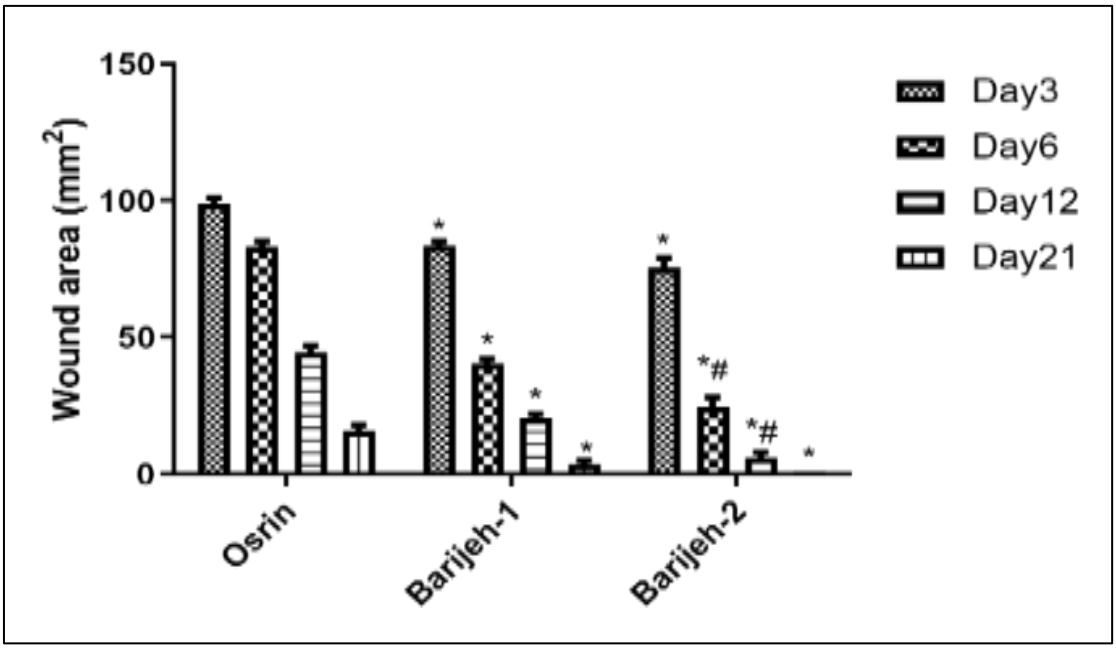
مقایسه ضخامت اپیدرمال بافت زخم در گروه اوسرین و گروه‌های تیمار شده با پماد باریجه ۱ و ۲: همان‌طور که در نمودار **۵** مربوط به اپیدرمال مشاهده می‌گردد، ضخامت اپیدرمال در گروه اوسرین و گروه های باریجه به صورت وابسته به زمان افزایش داشت. همچنین اپیدرمال در گروه باریجه ۱ در روزهای ۱۲ و ۲۱ نسبت به گروه اوسرین افزایش معنادار داشت و ضخامت اپیدرمال در گروه باریجه ۲ نیز در روزهای ٦، ۱۲ و ۲۱ نسبت به گروه اوسرین دارای افزایش معنادار بود. بعلاوه ضخامت اپیدرمال گروه باریجه ۲ در روز ۲۱ نسبت به گروه باریجه ۱ افزایش معنادار داشت . بنابراین، بیشترین ضخامت اپیدرمال در گروه باریجه ۲ در روز بیست و یکم گزارش شد و کمترین ضخامت اپیدرمال نیز متعلق به گروه اوسرین در روز سوم بود.

مقایسه ضخامت درمال بافت زخم در گروه اوسرین و گروه‌های تیمار شده با پماد باریجه ۱ و ۲: در نمودار ٦ مشاهده می‌شود که ضخامت درمال در گروه اوسرین و گروه‌های باریجه به صورت وابسته به زمان افزایش داشت. در گروه‌های باریجه در تمامی روزها نسبت به گروه اوسرین افزایش معنادار داشت و ضخامت درمال در گروه باریجه ۲ در روزهای ۳، ٦ و ۲۱ نسبت به گروه باریجه ۱ دارای افزایش معناداربود. بعلاوه، بیشترین ضخامت درمال در گروه باریجه ۲ در روز بیست و یکم گزارش شد. لذا کمترین ضخامت درمال نیز متعلق به گروه اوسرین در روز سوم بود.

مقایسه تعداد فیبروبلاست در یک میلی‌متر بافت زخم در گروه اوسرین و گروه‌های تیمار شده با باریجه ۱ و ۲: همان‌گونه که در نمودار ۷ مشاهده می‌شود، تعداد فیبروبلاست در یک میلی‌متر بافت زخم در گروه اوسرین و گروه‌های باریجه به صورت وابسته به زمان افزایش داشت. در گروه‌های باریجه در تمامی روزها نسبت به گروه اوسرین افزایش معنادار داشت و تعداد فیبروبلاست در یک میلی‌متر بافت زخم در گروه باریجه ۲ نیز در تمامی روزها به استثنای روز دوازدهم نسبت به گروه باریجه ۱ دارای افزایش معناداربود. بنابراین، بیشترین تعداد فیبروبلاست در یک میلی‌متر بافت زخم، در گروه باریجه ۲ در روز بیست و یکم گزارش شد و کمترین تعداد فیبروبلاست نیز متعلق به گروه اوسرین در روز سوم بود.

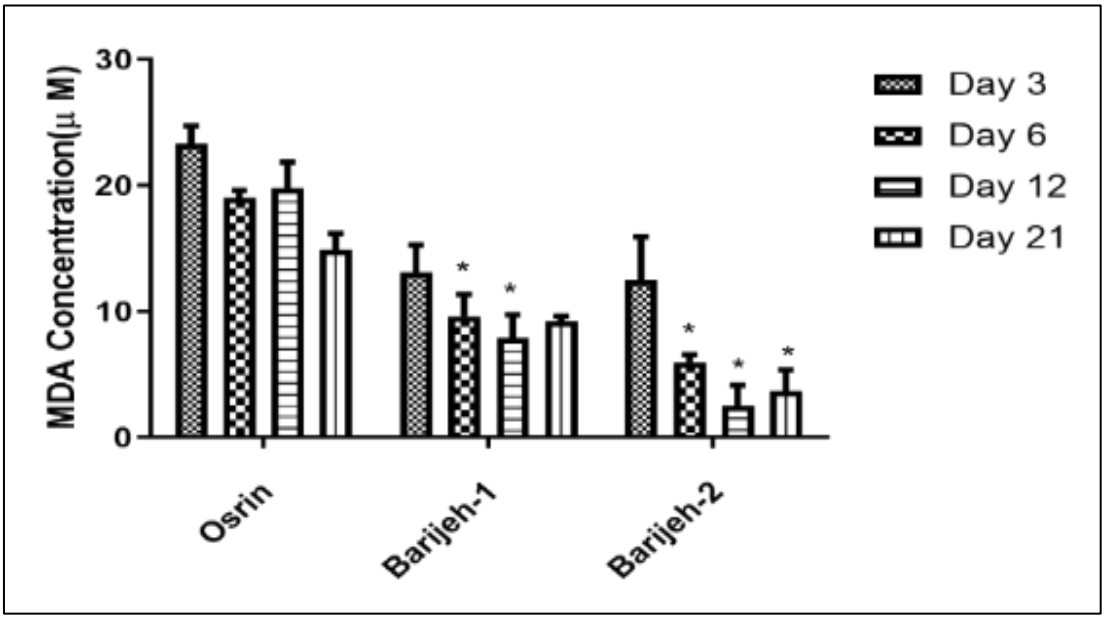
مقایسه تعداد رگ‌های خونی در بافت زخم در گروه اوسرین و گروه‌های تیمار شده با پماد باریجه ۱ و ۲: همان‌طور که در نمودار ۸ مشاهده می‌شود، تعداد رگ‌های خونی در بافت زخم در گروه اوسرین و گروه‌های باریجه به صورت وابسته به زمان افزایش را نشان می‌دهد که این افزایش در گروه باریجه ۱ معنادار نبود ($p > ۰/۰۵$)، در حالی که در گروه باریجه

۲، تعداد رگ‌های خونی در بافت زخم در تمامی روزها به استثنای روز سوم نسبت به گروه اوسرین دارای افزایش معنادار بود ($p < ۰/۰۵$). بعلاوه، در روز بیست و یکم، تعداد رگ‌های خونی در گروه باریجه ۲ نسبت به گروه باریجه ۱ افزایش معنادار داشت. بیشترین تعداد رگ‌های خونی در بافت زخم، در گروه باریجه ۲ در روز بیست و یکم گزارش شد و کمترین تعداد رگ‌های خونی نیز متعلق به گروه اوسرین در روزهای سوم و ششم و در گروه باریجه ۱ در روز سوم مشاهده شد.



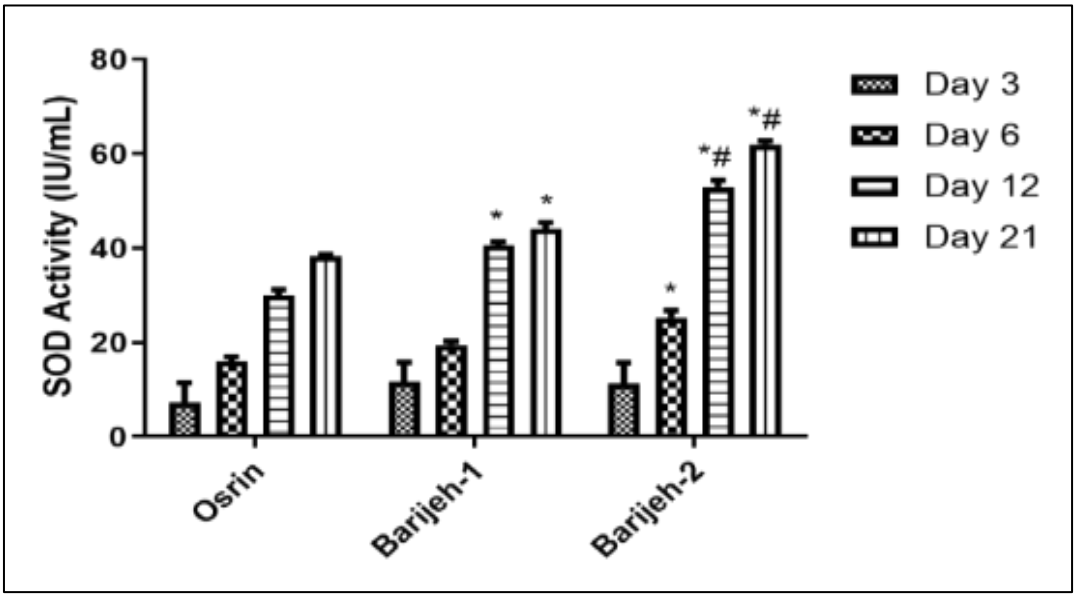
نمودار ۱- اثر پماد باریجه بر بهبود زخم در روزهای مورد مطالعه

* ($p < ۰/۰۵$): معناداری نسبت به گروه اوسرین، # ($p < ۰/۰۵$): معناداری نسبت به گروه باریجه ۱.



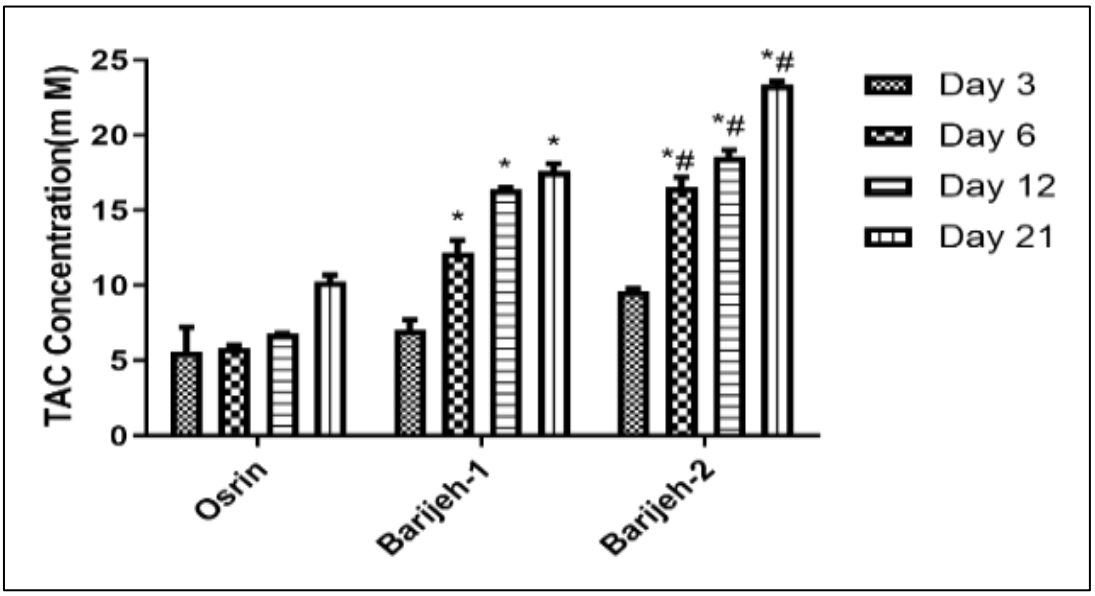
نمودار ۲- مقایسه غلظت MDA در گروه اوسرین و گروه‌های تیمار شده باریجه ۱و ۲ در روزهای مورد مطالعه

* ($p < ۰/۰۵$): معناداری نسبت به گروه اوسرین.



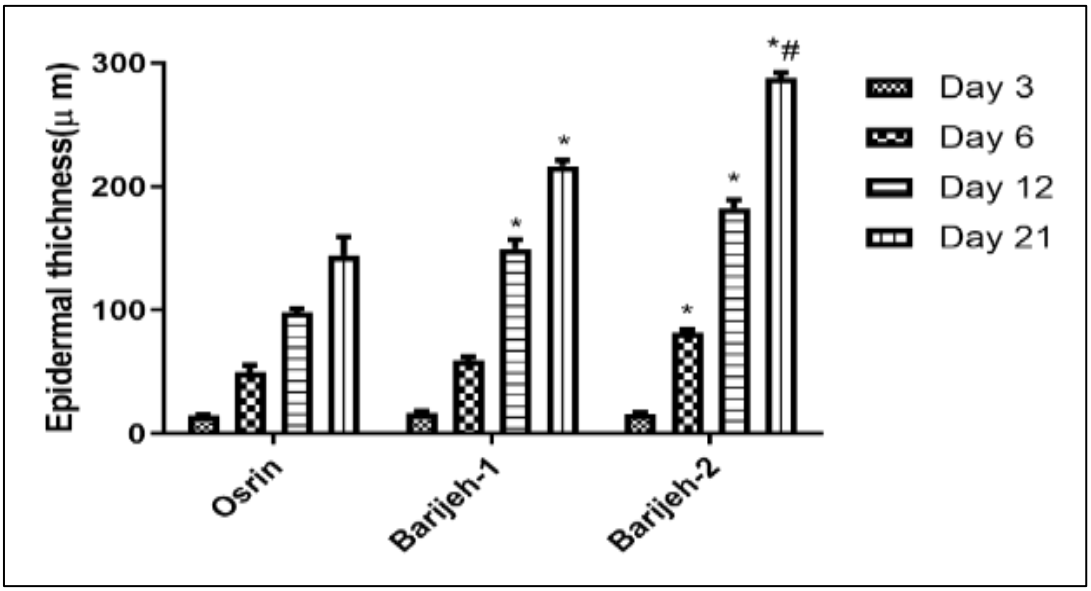
نمودار ۳- مقایسه فعالیت SOD در گروه اوسرین و گروه های تیمار شده باریجه ۱و۲ در روزهای مورد مطالعه

* ($p < ۰/۰۵$): معناداری نسبت به گروه اوسرین، # ($p < ۰/۰۵$): معناداری نسبت به گروه باریجه ۱.



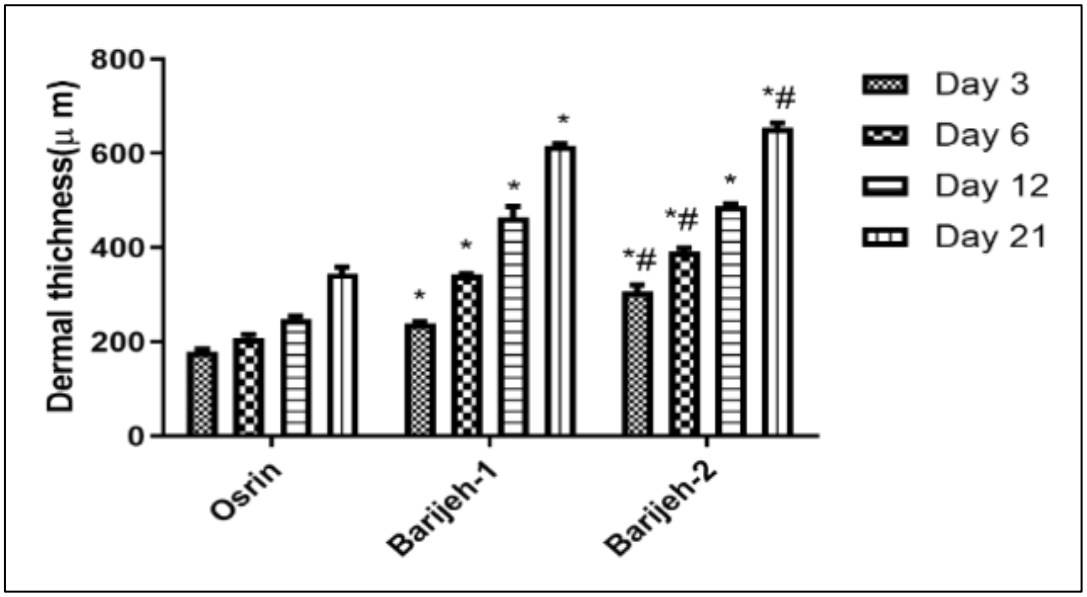
نمودار ٤- مقایسه سنجش غلظت TAC در گروه اوسرین و گروه های تیمار شده باریجه ۱و۲ در روزهای مورد مطالعه

* ($p < ۰/۰۵$): معناداری نسبت به گروه اوسرین، # ($p < ۰/۰۵$): معناداری نسبت به گروه باریجه ۱.



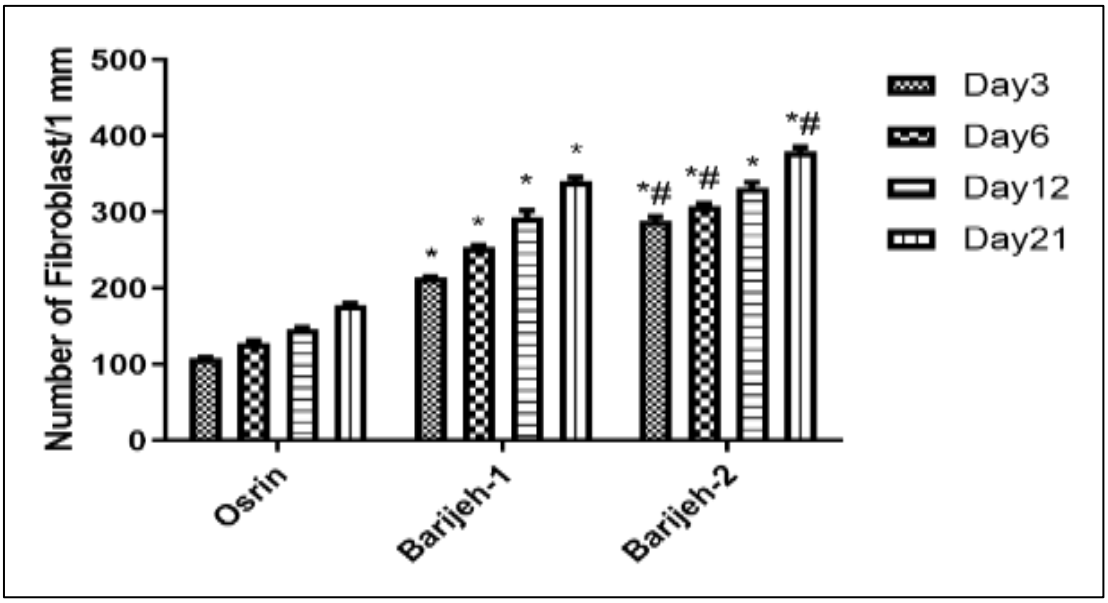
نمودار ۵- مقایسه ضخامت اپیدرمال درگروه اوسرین و گروه های تیمار شده باریجه ۱و۲ در روزهای مورد مطالعه

* ($p < ۰/۰۵$): معناداری نسبت به گروه اوسرین، # ($p < ۰/۰۵$): معناداری نسبت به گروه باریجه ۱.

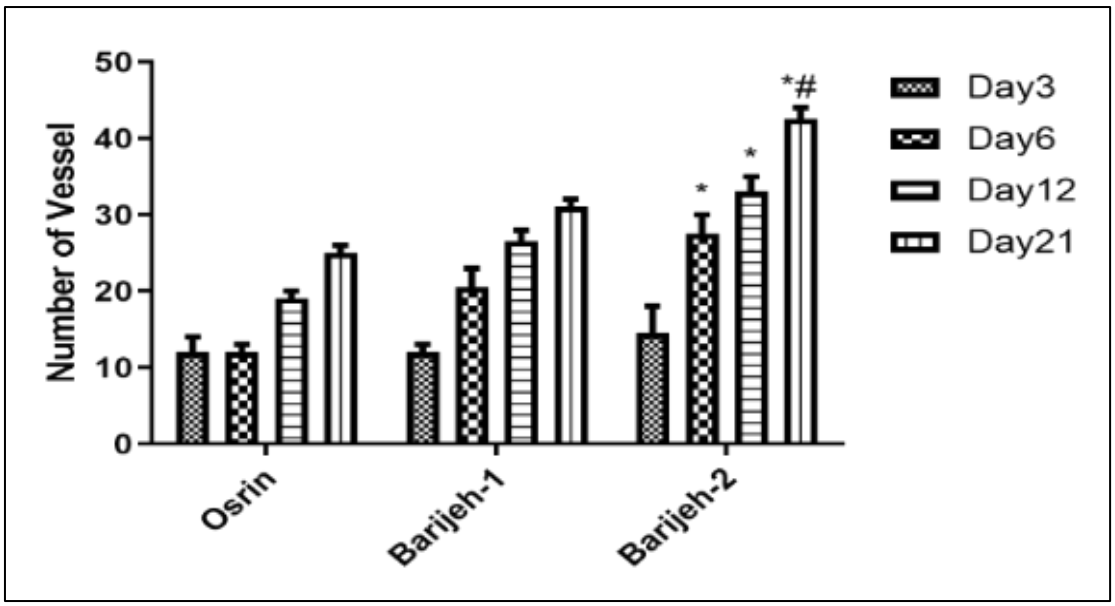


نمودار ٦- مقایسه ضخامت درمال در گروه اوسرین و گروه های تیمار شده باریجه ۱و۲ در روزهای مورد مطالعه

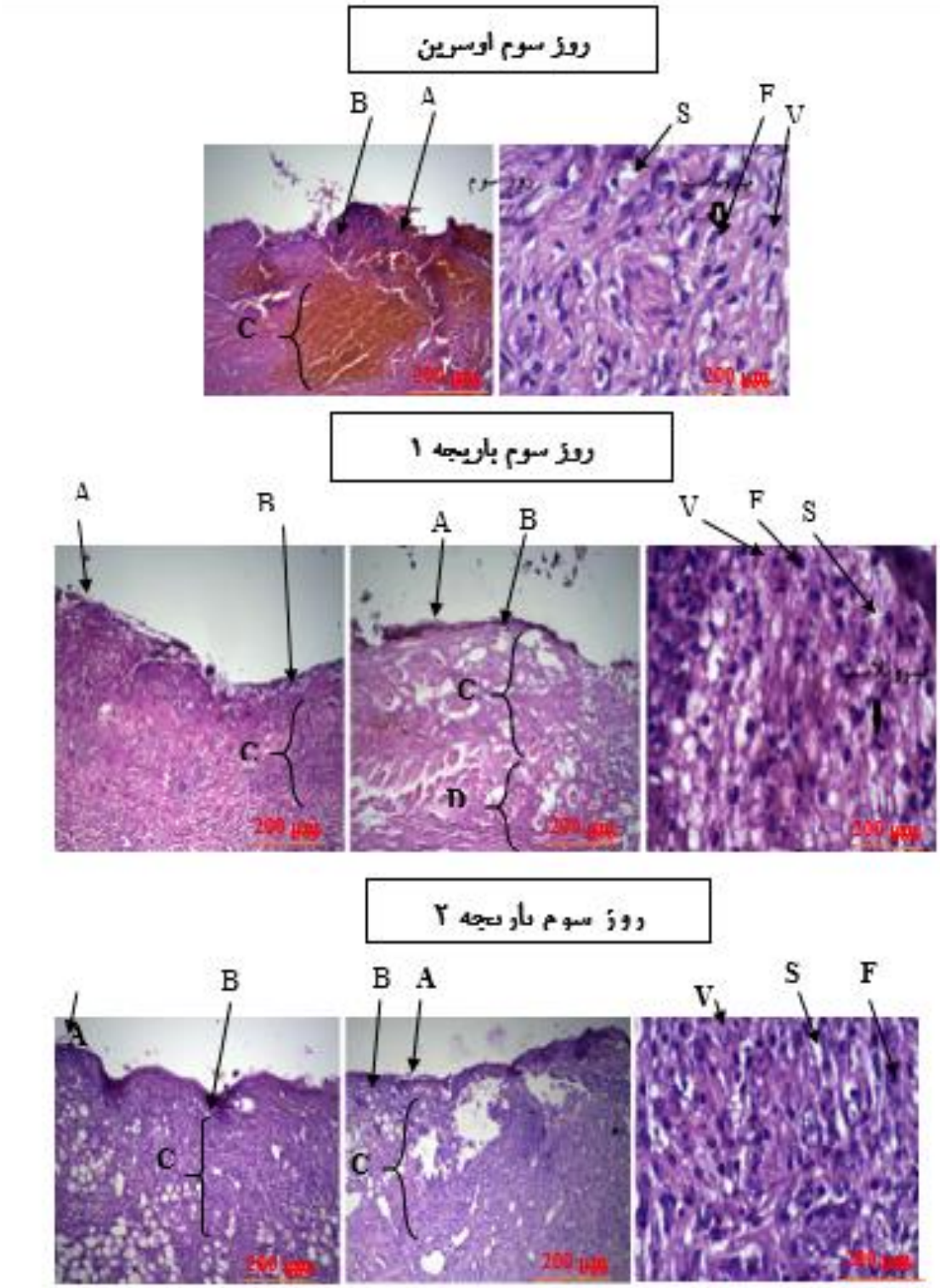
* ($p < ۰/۰۵$): معناداری نسبت به گروه اوسرین، # ($p < ۰/۰۵$): معناداری نسبت به گروه باریجه ۱.



نمودار ۷- مقایسه تعداد فیبروبلاست در یک میلی‌متر بافت زخم در گروه اوسرین و گروه‌های تیمار شده باریجه ۱و۲ در روزهای مورد مطالعه. * ($p < ۰/۰۵$): معناداری نسبت به گروه اوسرین، # ($p < ۰/۰۵$): معناداری نسبت به گروه باریجه ۱.



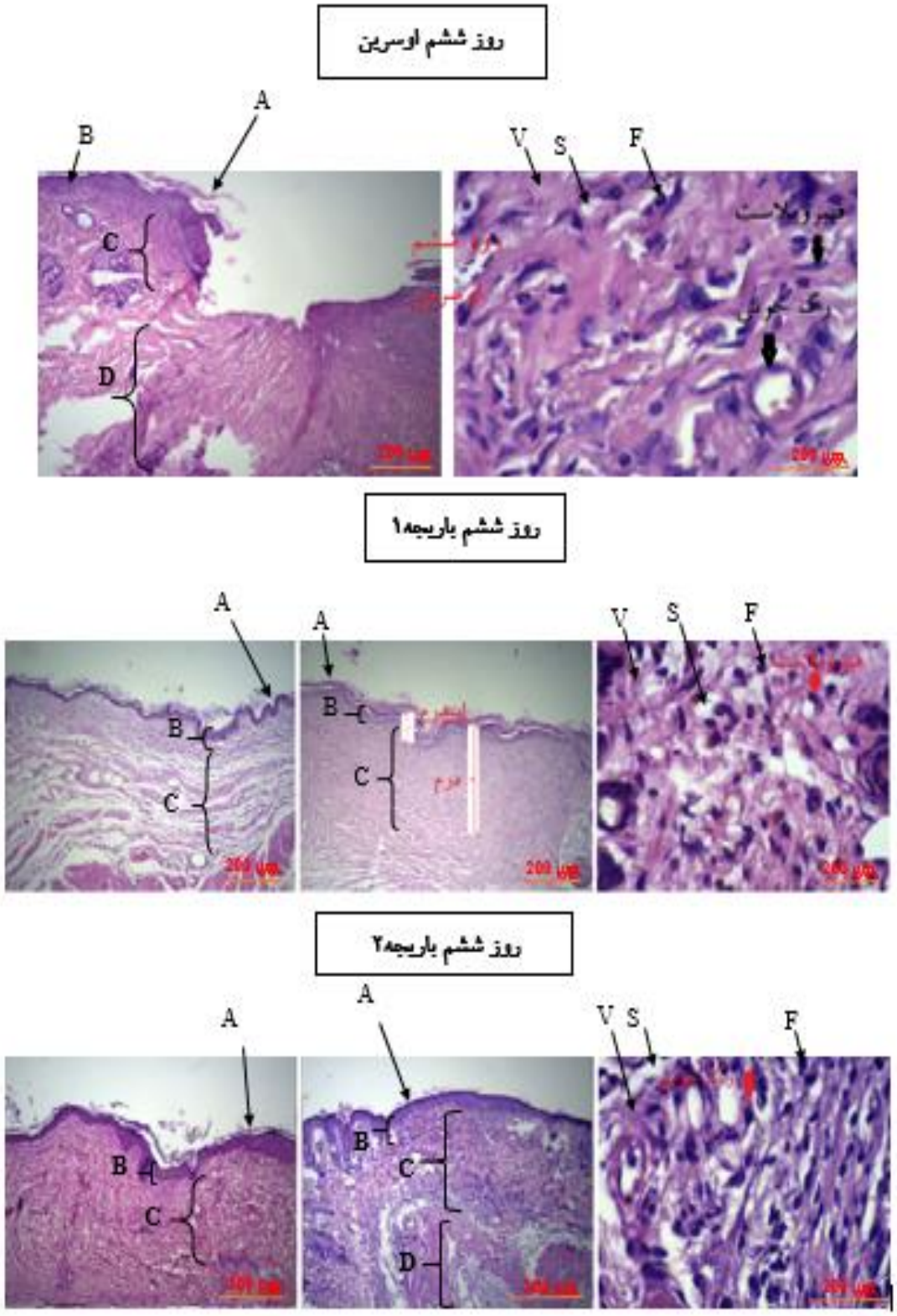
نمودار ۸- مقایسه تعداد رگ‌های خونی در گروه اوسرین و گروه های تیمار شده باریجه ۱و۲ در روزهای مورد مطالعه * ($p < ۰/۰۵$): معناداری نسبت به گروه اوسرین، # ($p < ۰/۰۵$): معناداری نسبت به گروه باریجه ۱.



شکل ۱- روز سوم. میکروگراف بافت پوست/گروه‌های اوسرین /باریجه۱/باریجه۲/ /رنگ‌آمیزیH&E

A:لایه شاخی، B: لایه اپیدرم، C: لایه درم، D: لایه هیپودرم، بزرگنمایی ٤٠x

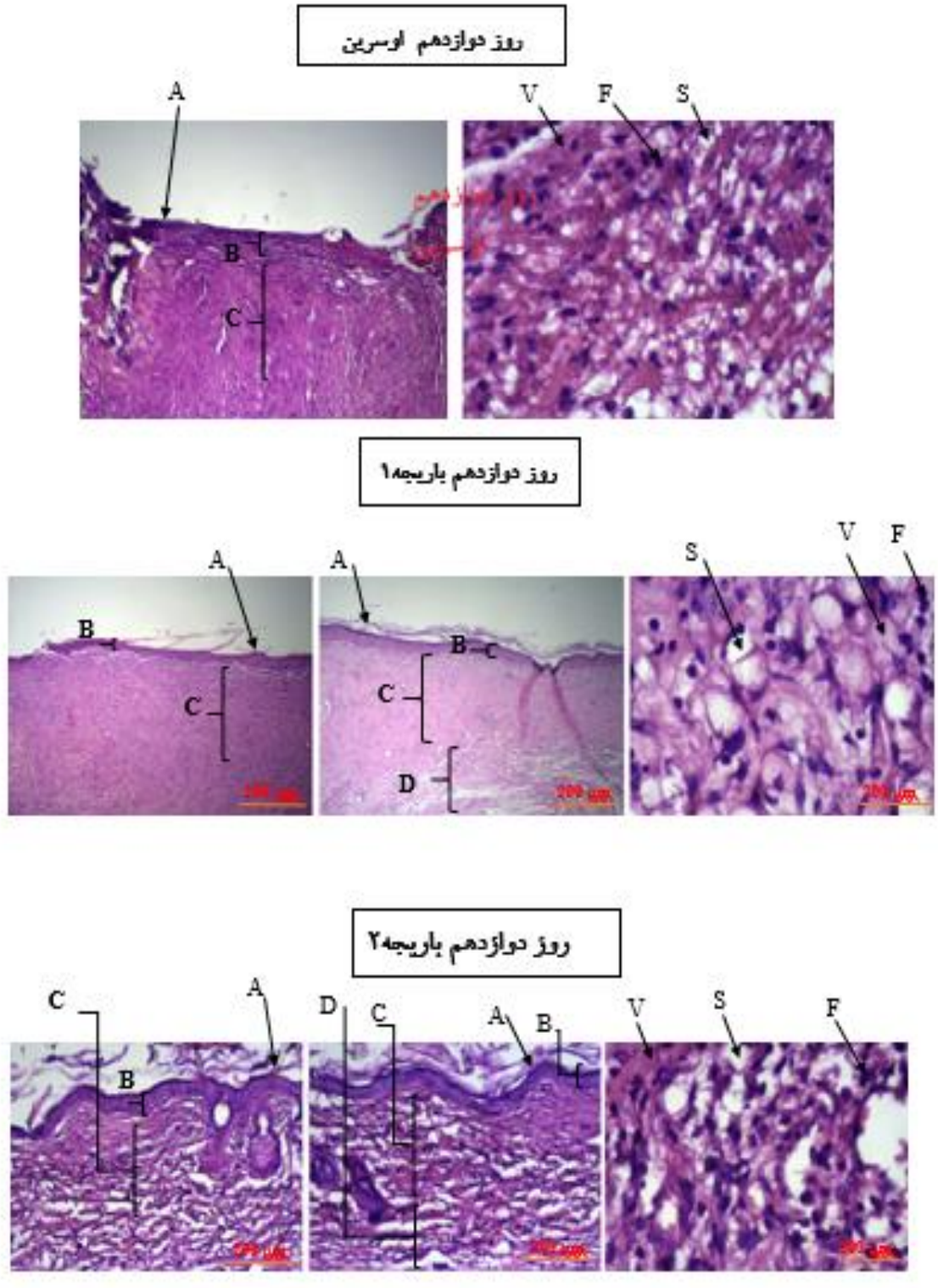
F: فیبروبلاست، V: رگ خونی، S: غدد چربی، بزرگنمایی ١٠٠x



شکل ۲- روز ششم. میکروگراف بافت پوست/گروه‌های اوسرین /باریجه۱/باریجه۲/ /رنگ‌آمیزیH&E

A: لایه شاخی، B: لایه اپیدرم، C:لایه درم، D: لایه هیپودرم، بزرگنمایی ٤٠x

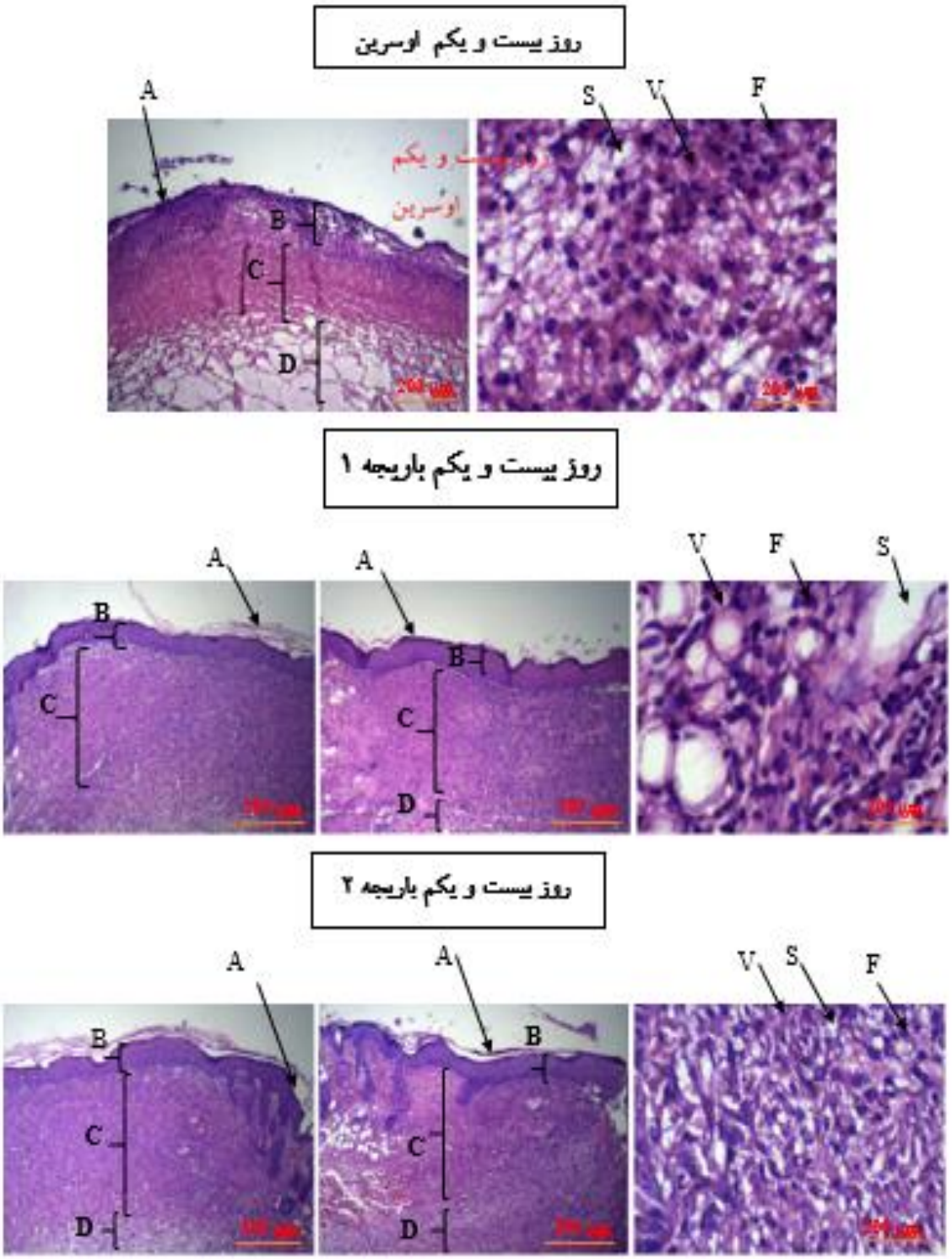
F: فیبروبلاست، V: رگ خونی، S: غدد چربی، بزرگنمایی ١٠٠x



شکل ۳- روز دوازدهم میکروگراف بافت پوست/گروه‌های اوسرین /باریجه۱/باریجه۲/ رنگ آمیزیH&E

A: لایه شاخی، B: لایه اپیدرم، C: لایه درم، D: لایه هیپودرم، بزرگنمایی ۴۰x

F: فیبروبلاست، V: رگ خونی، S: غدد چربی، بزرگنمایی ۱۰۰x



شکل ٤- روز بیست و یکم میکروگراف بافت پوست/گروه‌های اوسرین/باریجه۱/باریجه۲/رنگ‌آمیزیH&E

A: لایه شاخی، B:لایه اپیدرم، C: لایه درم، D: لایه هیپودرم، بزرگنمایی x٤٠

F: فیبروبلاست، V: رگ خونی، S: غدد چربی، بزرگنمایی x١٠٠

بحث

با توجه به خاصیت ضد میکروبی اجزای اصلی اسانس گیاه باریجه، مخمرها، میکروارگانیسم‌های حساس به اسانس این گیاه هستند. بتاپینن‌ها برای مخمرها و باکتری‌های گرم مثبت بسیار سمی هستند، آلفاپینن‌ها یکپارچگی سلولی باکتری‌های گرم مثبت را از بین می‌برند و سیستم تنفسی میتوکندری را مهار می‌کنند (۱۷). در بررسی دیگر عصاره اتانولی ریشه گیاه باریجه با محتوای فنل و فلاونوئید قدرت آنتی-اکسیدانی متوسطی را در سیستم های مختلف آنتی-اکسیدانی نشان داد (۱٦). توانایی آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی ریشه این گیاه کمتر از ویتامینc، کوئرستین و هیدروکسی آنیزول بوتیله بود (۱۳). عصاره استون ریشه (۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم داخل صفاقی) اثرات ضدالتهابی نشان داد(۷).اثرات ضد التهابی و ضد دردی گیاه باریجه مربوط به اولئورزین آن است (۱٤). Yaghmaei و همکاران درسال ۲۰۱۰ در مطالعه‌ای اثر عصاره آبی و الکلی چای سبز بر التیام زخم باز پوستی در موش نژاد NMRI بررسی و نتیجه‌گیری شد که استفاده از عصاره چای سبز ارتباطی به تیمار آبی یا الکلی آن ندارد، در حالیکه میزان دوز تزریقی بالاتر در شکل‌دهی زخم ارزشمند است (۲۰). هم راستا با پژوهش حاضر نیز نشان داد که پماد باریجه با دوز ٤ میلی‌گرم تاثیر بیشتری در کاهش اندازه زخم و بهبود زخم داشته است.

Atiba و همکاران در سال ۲۰۱۲ اثر مصرف خوراکی آلوئه ورا بر زخم‌های باز در موش‌های صحرایی دیابتی نوع ۲ را بررسی کردند. نتایج نشان داد که انفیلتراسیون سلولی التهابی، رگ‌زایی، رسوب ماتریکس خارج سلولی و اپیتلیال شدن به ترتیب ارتقا یافته است (۲). در توافق با نتایج فوق در مطالعه کنونی نیز رگ‌زایی و اپیتلیال شدن و بهبود زخم مشاهده گردید که احتمالا(TGF- β1) در مهاجرت و تکثیر فیبروبلاست، نقش داشته و در نهایت فیبروبلاست‌ها، ماتریکس خارج سلولی جدیدی را سنتز و رسوب می‌کنند که از سلول‌ها و رگ‌های خونی پشتیبانی می‌کنند و ماکروفاژها فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) را آزاد می‌کنند که باعث رگ‌زایی می‌شود (۳) و در نهایت منجر به بهبودی زخم می‌شود .

Ghilissi و همکاران در سال ۲۰۱٦ برخی از خواص بیولوژیکی عصاره آبی *Artemisia campestris* (ACAE) آن را بررسی کردند. نتایج بهبود قابل توجهی را در پیشرفت بهبود زخم و آسیب استرس اکسیداتیو در بافت زخم موش‌های تحت درمان با ACAE نشان داد.. علاوه بر فعالیت آنتی اکسیدانی، ACAE فعالیت ضدباکتریایی و آنتی اکسیدانی قابل توجهی از خود نشان داد (۷). در توافق با نتایج فوق در مطالعه کنونی نیز تایج مشابه هیستوپاتولوژی، در تأیید اثربخشی پماد باریجه احتمالا به علت داشتن ترکیبات ساپونین دارای فعالیت ضد التهابی (٦) و به علت داشتن آلفاپینن و بتاپینن دارای خاصیت ضدباکتریایی (۱۷) و همچنین به علت داشتن اجزای فنلی مانند فنل و فلاونوئید دارای خاصیت آنتی-اکسیدانی (۱٦) است که به صورت وابسته به زمان، التیام زخم و افزایش ضخامت اپیدرمال را نشان داد.

Arbab و همکاران در سال ۲۰۱۸ این مطالعه به منظور بررسی تاثیر مصرف هم زمان ژل آلوئه ورا و عصاره هیدرواتانولی پوست درخت دارچین بر روند بهبود زخم در موش دیابتی انجام شد. میزان بسته شدن زخم، تعداد فیبروبلاست، رسوب کلاژن، ضخامت اپیتلیوم و TAC و SOD به طور معناداری افزایش یافت. و محتوای MDA به طور معناداری کاهش یافت (۱). در توافق با نتایج فوق در مطالعه کنونی نیز میزان TAC وSOD در گروه های باریجه

نسبت به اوسرین افزایش داشت و MDA در گروه-های باریجه نسبت به اوسرین کاهش داشت و همچنین افزایش تعداد فیبروبلاست، ضخامت اپیتلیوم و بسته شدن زخم، موجب بهبودی زخم شد.

Ghorbani و همکاران در سال ۲۰۱۶ تحقیقی با هدف بررسی تأثیر مصرف روزانه عصاره هیدروالکلی ریشه Ferula .gummosa بر وضعیت اکسیدانی-آنتی-اکسیدانی سرم بود. نتایج نشان داد که عصاره به طور معناداری باعث افزایش فعالیت SOD شد ($p < ۰/۰۵$)، و سطح MDA را کاهش داد. در نتیجه، بیان شد که با افزایش فعالیت SOD و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی، دفاع بدن را در برابر استرس اکسیداتیو افزایش می‌دهد (۸). هم راستا با پژوهش حاضر نیز نشان داد که سطح فعالیت SOD افزایش و سطح MDA را کاهش که نشان‌دهنده تأیید فعالیت آنتی-اکسیدانی این گیاه می‌باشد زیرا این گیاه احتمالا دارای اجزای فنلی مانند فنل و فلاونوئید است که دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضد رادیکال‌های آزاد است (۱۶) و احتمالاً استرس اکسیداتیو می‌تواند نتیجه التهاب باشد نه علت و با کاهش MDA دفاع بدن در مقابل استرس اکسیداتیو افزایش می‌یابد (۱۲).

به طور کلی در مطالعه کنونی اثربخشی گیاه باریجه جهت سرعت بخشیدن به بهبود زخم مشاهده گردید . هر چه سرعت بهبود زخم افزایش یابد درصد عفونت زخم کاهش خواهد یافت و پژوهش کنونی نشان داد عصاره گیاه باریجه می‌تواند موجب تسریع فرایند التیام زخم باز در موش‌های کوچک آزمایشگاهی نژاد NMRI شود.

نتیجه‌گیری

مطالعه کنونی فعالیت بهبودی زخم گیاه باریجه در قالب پماد ۱ و ۲ گرم را آشکار کرد. باتوجه به نتایج حاصل نشان داده شد که باریجه با افزایش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و ظرفیت تام آنتی-اکسیدانی (TAC) و کاهش غلظت مالون دی‌آلدئید (MDA) و همچنین افزایش تکثیر فیبروبلاست، رگ-های خونی، ضخامت اپیدرمال و درمال در ترمیم و بهبودی زخم مؤثر است. بنابراین، یافته‌های این مطالعه دیدگاه جدیدی از این گیاه درمانی، برای استفاده در درمان زخم را نشان داد.

منابع

1. Arbab J., Farahpour M.R., Rooholla hi-Masoumi A.H. 2018. The effect of co-administration of Aloe vera gel and *Cinnamon zeynalicum* hydroethanolic extract on wound healing process in diabetic mice. *Iranian Journal of Veterinary Surgury*, 2(29):40-48

2. Atiba A ., Ueno H .,Uzuka Y. 2012. The effect of aloe vera oral administration on cutaneous wound healing in type 2 diabetic rats. *Journal of Veterinary and Medical Sciences*,13(6):92-100

3. Cañedo-Dorantes L., Cañedo-Ayala M. 2019. Skin acute wound healing: a comprehensive review. *International Journal of Inflammation*, 2019(1):1-15.

4. Chambers E.S., Vukmanovic-Stejic M. 2020. Skin barrier immunity and ageing. *Immunology*, 160(2):116-125.

5. Dan MM., Sarmah P., Vana DR., Dattatreya A. 2018. Wound healing: concepts and updates in herbal medicine. *International Journal of Medical Research and Health Sciences*, 7(1):170-181.

6. Ghasemi Z., Rezaee R., Aslani MR. 2021. Boskabady MH. Anti-inflammatory, anti-oxidant, and immunomodulatory activities of the genus *Ferula* and their constituents: A review. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 24(12):1613-1623.

7. Ghlissi Z., Sayari N., Kallel R., Bougatef A., Sahnoun Z. 2016. Antioxidant, antibacterial, anti-inflammatory and wound healing effects of

Artemisia campestris aqueous extract in rat. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 84: 115-122.

8. Ghorbani A., Mogharrabi M ., Mohebbati R., Mousavi S.M., Hasan zadeh S.h., Emamian M., Baharloo A., Soukhtanloo M. 2016. Effect of long-term administration of *Ferula gummosa* root extract on serum oxidant-antioxidant status .*Iranian Journal of Pharmaceutical Scieces*, 12(1):85-96

9. Heydari- Majd M., Rezaeinia H., Shadan M.R., Ghorani B., Tucker N.,2019. Enrichment of zein nanofibre assemblies for therapeutic delivery of Barije (*Ferula gummosa Boiss)* essential oil. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 54:101290.

10. Jahansooz F., Ebrahimzadeh H., Najafi A.A., Naghavi M.R., Kouyakhi E.T., Farzaneh H., 2008.Composition and antifungal activity of the oil of Ferula gummosa samples from Iran. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 11(3):284-291

11. Karimlar S., Naderi A., Mohammadi F., Moslehishad M., Delrish E., Aghajanpour L. 2019. Hypoglycemic and hypolipidemic effects of Myrtus communis, Trachyspermum copticum and Ferula gummosa essential oils on streptozotocin induced diabetic rats. *Nutrition and Food Sciences Research*, 6(1):1-8

12.Mohammadhosseini M., Venditti A., Sarker S.D., Nahar L., Akbarzadeh A. 2019. The genus Ferula: Ethnobotany, phytochemistry and bioactivities–A review. *Industrial Crops and Products*, 129:350-394.

13. Nabavi S.F., Habtemariam S., Sureda A., Nabavi S.M. 2012. *Ferula gummosa* Boiss as a rich source of natural antioxidants with numerous therapeutic uses - A short review. *I*n: Capasso, Anna, (ed.) Medicinal Plants as Antioxidant Agents: Understanding Their Mechanism of Action and Therapeutic Efficacy. Research Signpost, Kerala, India, pp. 15-26..

14. Nazari A., Golezar E., Mahdiuni H. 2019. Antioxidant activity of the *Ferula gummosa* Boiss.'s aerial parts: Measurements based on different assay methods. *Journal of Reports in Pharmaceutical Sciences*, 8(1):61-67.

15. Nikolaou P., Marciniak P., Adamski Z., Ntalli N.,2021. Controlling Stored Products' Pests with Plant Secondary Metabolites: A Review. *Agriculture*, 11(9):879.

16. Rodrigues M., Kosaric N., Bonham C.A., Gurtner G.C. 2019. Wound healing: a cellular perspective. *Physiological Reviews*, 99(1):665-706.

17. Yaghmaei P., Moshrefjavadi F., Nilforooshzade M.A., Mardani H., Kakanejadian P. 2010. Effects of watery and alcoholic extract of green tea on the process of open skin wounds healing in male rat (NMRI). *Medical Sciences*, 20(2):69-75.

Evaluation of the Effect of *Ferula gummosa* Extract on Biochemical Parameters of a Skin Wound in NMRI Mice

Parisa Seifali, Parichehreh Yaghmaei*,Nasim Hayati Roodbari*

Department of Cognitive Sciences, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran

Abstract

Wound healing is one of the important problems in medicine. Therefore, this study aimed to investigate the effect of *Ferula gummosa* extract on skin wound healing in NMRI mice. 24 NMRI mice with skin ulcers, were treated with *Ferula gummosa* ointment on days 3, 6,12, and 21, and randomly divided into three eucerin groups (daily recipient eucerin ointment), the experimental group1(daily treatment with *Ferula gummosa* ointment at a dose of 2 mg) and the experimental group 2 (daily treatment with *Ferula gummosa* ointment at a dose of 4 mg and the ulcers were measured with a calliper and the biochemical indexes of superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA) and total antioxidant capacity (TAC) in tissue, were measured. Then, tissue sections were prepared from the wound and evaluated histopathologically by hematoxylin-eosin staining. The data were analyzed by SPSS 22 software and the Tukey test at a significance level of $p < 0.05$ and the histograms were drawn in excel. wound size in the *Ferula gummosa* groups compared to the Eucerin group showed a significant decrease ($p < 0.05$). The concentration of MDA in groups the *Ferula gummosa* significantly decreased time-dependent compared with the eucerin group ($p < 0.05$). SOD activity and TAC concentration also showed a significant increase in time-dependent in groups *Ferula gummosa* compared to the eucerin group ($p < 0.05$). Based on histopathological findings, epidermal and dermal thickness increased significantly in groups Barijeh compared to eucerin group ($p < 0.05$), and the number of fibroblasts and blood vessels in the two groups of Barijeh in a time-dependent manner compared to the Eucerin group showed a significant increase ($p < 0.05$). According to the results, it was shown that *Ferula gummosa* is effective in wound healing and repair by increasing SOD and TAC activity and decreasing MDA concentration, as well as histopathological results. Therefore, the findings of this study showed a new perspective on this herbal medicine for us wound healing.

Keywords: Eucerin, *Ferula gummosa*, Skin Wound, Oxidative Stress.