

## بررسی تجربی اثر عصاره جلبک *Scenedesmus acuminates* بر بهبود زخم های آلوده به استافیلوکوکوس اورئوس در مدل موش صحرایی

هومن عکاشه<sup>۱</sup>، علیرضا جهاننیده<sup>۱\*</sup>، امیر اقبال خواجه رحیمی<sup>۲</sup>، شاپور کاکولکی<sup>۳</sup>، سعید حصارکی<sup>۴</sup>

### چکیده

هدف از مطالعه حاضر استفاده از یک جلبک دریایی به نام *Scenedesmus acuminates* برای کاهش عفونت و ایجاد بهبود زخم می باشد ۶۰ موش صحرایی در چهار گروه درمانی و سه روز نمونه برداری سوم، هفتم و چهاردهم پس از ایجاد زخم تقسیم شدند. بر روی گروه اول یعنی شاهد هیچ درمانی صورت نگرفت. گروه دوم با اکسید روی ۲۵٪ به عنوان داروی انتخابی مورد درمان قرار گرفت. گروه های سوم و چهارم پماد ۳٪ و ۷٪ جلبک دریایی *Scenedesmus acuminates* تحت درمان قرار گرفتند. پس از ایجاد زخم، زخم های پشت موش ها را با ۵۰ میکرولیتر از  $2 \times 10^8$  CFU/mL استافیلوکوک حاوی سوپانتسیون آلوده گردید. ارزیابی هیستوپاتولوژی برای سنجش التهاب و ایمونوهیستوشیمی (CD68) جهت مقایسه تعداد ماکروفاژها روی نمونه های بافتی انجام شد. در روز سوم پس از ایجاد زخم، ماکروفاژها (CD68) در گروه جلبک ۷٪ بیشتر از بقیه گروه ها حضور داشتند. در روز هفتم، فیبروپلازی و سنتز کلاژن در گروه جلبک ۷٪ بهتر از دو گروه دیگر بود. در روز چهاردهم، تجمع رگ های خونی جدید در جلبک ۷٪ بیشتر از بقیه بود. بهترین نتیجه در مورد میزان بیان مولکول CD68 (ماکروفاژ) در روزهای هفتم و چهاردهم در گروه جلبک ۷٪ دیده شد. با توجه به اینکه تعداد حضور ماکروفاژها سنجش خوبی برای ترمیم بهتر است، بیشتر بودن ماکروفاژها در گروه های جلبکی در روز های سوم، هفتم و چهاردهم از بقیه بهتر بودند. استفاده از پماد جلبک می تواند بار باکتریایی زخم را کاهش دهد و بهتر از تجویز اکسید روی است.

واژگان کلیدی: جلبک، سندسموس آکومیناتوس، ترمیم زخم،

استافیلوکوکوس اورئوس، CD68

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۷/۲۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۰/۱۱

### مقدمه

زخم ها و روند بهبود آنها از اختلالات شایع پوست و

بیماری های زیر جلدی است. زخم ها از آسیب های ترومایی ایجاد می شوند که منجر به باز شدن اپیدرم و درم زیرین می شود. برای بازگرداندن وضعیت آشفته پوست و قطع استمرار اپیتلیال و بافت همبند به حالت طبیعی، مبحث بهبود زخم اهمیت پیدا می کند. فرآیندهای بهبود زخم به شدت تروما، تهاجم میکروارگانیزم های فرصت طلب، واکنش های التهابی، ایمونولوژیکی و متابولیکی بستگی دارد. روند بهبود بستگی به نوع لکوسیت های نفوذ یافته، ماست سل های فعال شده، محتوای ماتریکس خارج سلولی و واسطه های التهابی یا تنظیمی مختلف دارد که به بازیابی یکپارچگی بافت کمک می کند (۱). در مرحله اول بهبود زخم، واسطه های التهابی آزاد می شوند که در ایجاد هموستاز محیط زخم نقش دارند. پس از یک روز، مرحله تشکیل بافت جوانه گوشتی است که شامل تکثیر عروق، انقباض، تکثیر فیبروبلاست، سنتز کلاژن و شروع حرکت سلول های اپیتلیال است. در نهایت، زخم به مرحله سوم یعنی بازسازی می رود که در آن باندهای کلاژن ضخیم منظم تر می شوند و عروق و سلول ها کاهش می یابد (۲). پس از آسیب، فاکتور رشد بتا (Tumor necrosis factor)  $\beta$  (TGF $\beta$ : beta) توسط ماکروفاژها، کراتینوسیت ها و پلاکت ها ترشح می شود. TGF $\beta$  برای شروع تشکیل بافت جوانه گوشتی و فیبروز ضروری است. علاوه بر این، TGF $\beta$  برای مهاجرت سلولی در طول ترمیم زخم ضروری است. فاکتور رشد (Vascular Endothelial Growth Factor):

۱- گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران  
dr.jahandideh@gmail.com

۲- گروه بهداشت مواد غذایی و آریان، دانشکده دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی تهران، ایران

۳- گروه بهداشت آریان، موسسه تحقیقات علوم شیلات، تهران، ایران

۴- گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی تهران، ایران

سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، آسکوربات پراکسیداز (APX) و پراکسیداز است (۶). مطالعه ای بر روی تجزیه و تحلیل محتوای زیستی گراسیلیا نشان داد که تانن ها فراوان ترین ترکیبات هستند. نتایج سیتوتوکسیک نشان داد که این گونه جلبک می تواند رشد رده سلولی آدنوکارسینومای کولورکتال انسان را مهار کند. بنابراین، این جلبک قرمز دریایی می تواند مخزن مواد افزودنی غذایی ضد تومور برای پیشگیری از سرطان باشد (۷). عصاره جلبک به دلیل خواص زیست سازگار و زیست تخریب پذیر عالی، پانسمان مناسب زخم است. آنها با هدف دوگانه به روند بهبودی کمک می کنند. آنها می توانند زخم را بپوشانند تا از خشک شدن و عفونت جلوگیری کنند. علاوه بر این، آنها می توانند داروهای مختلفی را به محل زخم منتقل کنند. جالب توجه است که جلبک های دریایی می توانند به عنوان آنتی اکسیدان های بیوشیمیایی و آلی عمل کنند (۶). عصاره اتیل استات *Gracilaria corticata* دارای یک فعالیت بازدارنده بر استیل کولین استراز در گورخرماهی است (۸). برخی از مطالعات ثابت کردند که آلزینات ها می توانند ورم معده و زخم معده را برای چندین سال درمان کنند (۹). یکی از بهترین میکروارگانیسم هایی که علیه بسیاری از پاتوژن های باکتریایی عمل می کند، ریزجلبک ها هستند. آنها بسیاری از مواد فعال را سنتز می کنند که می تواند خواص ضد میکروبی زیادی را افزایش دهد. ارزیابی طراحی جلبک به عنوان آنتی بیوتیک در بسیاری از کشورها انجام شده است اما برای اولین بار در فیلیپین نشان داده شده است. این فعالیت های ضد باکتری، آنتی اکسیدانی و فنلی در جلبک ها گزارش شده است (۱۰). سعی شد توانایی بازدارندگی جلبک را بر عفونت زخم نشان داده شده که می تواند منجر به التیام مناسب این نوع آسیب های پوستی شود. علاوه بر بسیاری از گیاهان، ما از یک جلبک

(VEGF) اجزای متعددی از آبشار رگ زایی را تحریک می کند. در اوایل بهبودی آزاد می شود تا رشد مویرگی به حداکثر برسد (۳). انواع مختلفی از میکروارگانیسم ها مانند *استافیلوکوکوس اورئوس* و *E.coli* می توانند زخم ها را آلوده کنند و منجر به تاخیر در بهبود زخم شوند. مقاومت در برابر آنتی بیوتیک های معمولی که برای درمان عفونت زخم استفاده می شود یک پیامد مضر است. با این وجود، انواع مختلف آنتی بیوتیک ها عوارض جانبی برای شرایط فیزیولوژیکی طبیعی ایجاد می کنند و میکروب های پاتوژنی که زخم را آلوده می کنند، مقاومت بیشتری در برابر آنتی بیوتیک های معمول ایجاد کرده اند (۴). بررسی روی عصاره های مختلف گیاهان سنتی، توانایی التیام زخم های پوستی را نشان داده است. این عصاره های دارویی با القای تکثیر اپیتلیال و فیروبلاست ها، مهاجرت و تمایز لکوسیت ها و فعالیت ضد میکروبی در برابر عفونت، بهبود زخم را تقویت می کنند (۵). *استافیلوکوکوس اورئوس* یک باکتری بیماری زا است که می تواند نواحی زخم را آلوده کند. شکل مقاوم به متی سیلین *استافیلوکوکوس اورئوس* می تواند منجر به شکست درمان شود. تشکیل بیوفیلم عاملی است که نفوذ آنتی بیوتیک را کاهش می دهد.

استفاده سنتی از درمان با عصاره گیاهی پزشکی برای ترویج داروهای موثر ترمیم زخم هر روز در حال توسعه است. محققان از سال های گذشته تا به امروز ثابت کرده اند که عصاره های گیاهی خواص آنتی بیوتیکی و ترمیم زخم قابل توجهی را القا می کنند، که ممکن است به عنوان یک داروی انتخابی، کارآمد، ایمن و اقتصادی برای التیام زخم های عفونی بکار رود. گراسیلیا یک جلبک حاوی آنتی اکسیدان های بسیاری از جمله گلوتاتیون (Glutathione)، توکوفرول ها، فلاونوئیدها، آسکوربات و پلی فنول ها است. علاوه بر این، آنزیم های آنتی اکسیدانی زیادی نیز دارد که شامل گلوتاتیون ردوکتاز (GR)، گلوتاتیون S ترانسفراز (GST)،

دریایی به نام *Scenedesmus acuminates* برای اهداف مشابه استفاده شد.

## مواد و روش کار

حیوانات مورد آزمایش

۶۰ سر موش صحرایی ۲۰۰+۳۰ گرمی نر ویستار در شرایط آزمایشگاهی بهینه ۲۵-۲۲ درجه سانتی گراد، رطوبت (۶۰±۵ درصد) و نور ۱۵ ساعت تحت عمل جراحی برای ایجاد زخم قرار گرفتند. جیره طبق پروتکل مراقبت از حیوانات آزمایشگاهی پلیت و آب بود. حیوانات به چهار گروه پنج سری و سه روز زمان بعد از جراحی شامل روزهای سوم، هفتم و چهاردهم تقسیم شدند. حیوانات بوسیله تزریق داخل عضلانی زایلازین (۲ میلی گرم بر کیلوگرم) و کتامین (۵ میلی گرم بر کیلوگرم) بیهوش شدند. پس از ایجاد زخم که بوسیله پانچ به قطر ۱/۵ سانتی متری انجام شد، تمام زخم های پشت موش ها را با ۵۰ میکرولیتر از  $2 \times 10^8$  CFU/mL / استافیلوکوکوس اورئوس سوش *ATCC 25923* حاوی سوسپانسیون آلوده کردیم (۱۱). اندازه زخم با توجه به زمان شروع و زمان نمونه گیری بصورت  $S0-St/St \times 100$  محاسبه شد. به این صورت که *S0* ناحیه زخم در زمان اولیه و *St* اندازه زخم در زمان *t* است (۱۲). گروه اول بدون هیچ درمانی، گروه شاهد بود. گروه دوم با اقدام درمانی بوسیله ۲۵ درصد اکسید روی به عنوان داروی انتخابی درمان زخم تیمار شد و گروه زینک اکساید در نظر گرفته شد. گروه سوم و چهارم با عصاره جلبک دریایی سندسموس به عنوان پماد بترتیب ۳٪ و ۷٪ تحت درمان قرار گرفتند. برش و اصلاح در محل عمل انجام شد و سپس یک زخم مربعی با ضخامت  $1/5 \times 1/5$  سانتی متر ایجاد شد. پمادها از روز بعد پس از جراحی یک بار در روز روی محل زخم مالیده می شد.

تهیه عصاره جلبک

جلبک دریایی سندسموس *Scenedesmus acuminates* از خلیج فارس در عمق ۵۰-۱۰۰ سانتی متر تهیه شد. بعد از شستن جلبک ها برای از بین بردن اپی فیت ها و آلودگی، با دستمال کاغذی آبگیری شده و در معرض تابش خورشید قرار داده شدند تا خشک شوند. نمونه های خشک شده با پودر کننده آسیاب شد و عصاره الکلی با دستگاه سوکسله تولید شد. یک دستگاه تقطیر خلاء عصاره ها را تبخیر کرد تا حلال را خارج کند. سپس آنها در یخچال با دمای ۴ درجه نگهداری شدند. پس از تهیه پماد با پایه اوسرین در غلظت های ۳٪ و ۷٪ توسط تکنسین داروخانه، جهت درمان زخم ها استفاده شدند (۶).

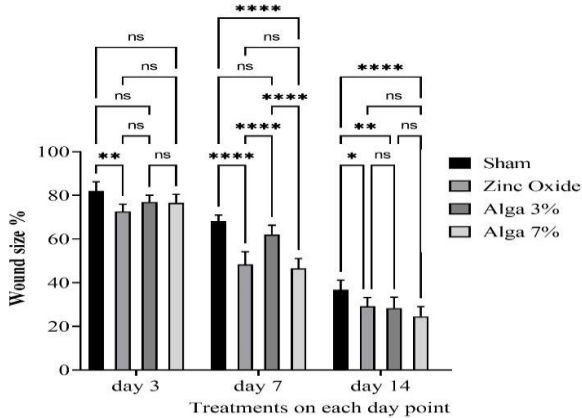
## ارزیابی هیستوپاتولوژیک بهبود زخم

پس از اتانازی موش ها بوسیله اوردوز کتامین (۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم)، برش برای برداشتن نمونه دور تا دور اطراف زخم انجام شد. بافت ها در فرمالین ۱۰ درصد به مدت ۳۶ ساعت تثبیت شدند. پس از تعبیه پارافین، برش های پنج میکرومتری توسط میکروتوم تهیه شد. نمونه ها را با رنگ آمیزی هماتوکسیلین و انوزین و ماسون تری کروم رنگ آمیزی شدند. درجه بندی بافت شناسی به صورت آنژیوژنز، تعداد ماکروفاژها، سطح کلاژن، اپیتلیزاسیون و فیبروز انجام شد. فاکتورهای درجه بندی برای هر پدیده ۰-۳ امتیاز گرفتند. کمترین مقدار یک پدیده ۰ امتیاز داده شد. خفیف نمره ۱، متوسط نمره ۲ و شدید نمره ۳ گرفته شد (۱۳).

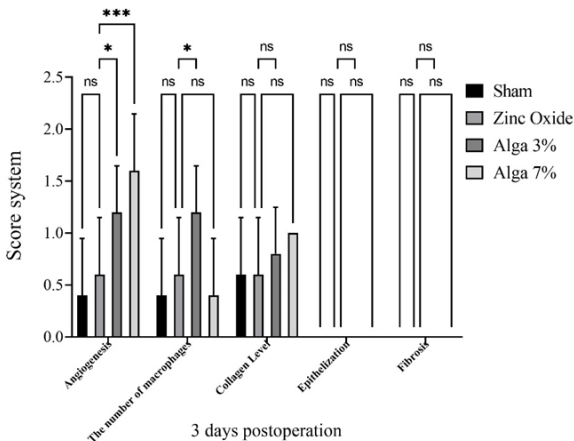
## ارزیابی ایمونوهیستوشیمی

پس از تثبیت نمونه ها و قرار گرفتن آنها در پارافین، مقاطع بافتی ۵ میکرومتری برش زده شد. پراکسیداز درون زا با قرار گرفتن در معرض پراکسید هیدروژن ۳ درصد متوقف شد. آنتی ژن های اضافی پس از ریختن ۱٪ آلبومین سرم گاوی روی نمونه مسدود شد. سپس اسلایدها با یک آنتی

قابل توجهی در گروه درمان شده با جلبک ۷٪ مشاهده شد (تصاویر ۲ و ۳).



تصویر ۱. نمودار آماری درصد بسته شدن زخم با توجه به نقاط زمانی نشان داده شده است. با گذشت زمان میزان بسته شدن زخم بیشتر میشود و این اتفاق در گروه های تیمار جلبکی نزدیک یا بهتر از گروه کنترل مثبت یعنی گروه زینک اکساید است.



تصویر ۲. نمودار مقایسه ای معنی داری تفاوت هیستوپاتولوژی بین گروه های مختلف روز سوم.

روز هفتم پس از ایجاد زخم

آنژیوبلاستهای در حال تکثیر رگهای خونی جدید متعددی را در بافت جوانه ای ایجاد کردند. رگزایی مشابه گروه شاهد در گروه جلبک ۷ درصد بود، اما کمتر از شاهد در گروه جلبک ۳ درصد بود. فیبروپلازی و سنتز کلاژن

بادی اولیه علیه مولکول CD68 (شناساگر ماکروفاژها) در رقت ۱:۴۰۰ در طول شب انکوبه کردیم. علت استفاده از این آنتی بادی نشان دادن و شمارش ماکروفاژها بود. پس از شستشوی بافت ها، لام ها با آنتی بادی IgG ضد موش بزی (Abcam) به مدت ۱ ساعت در رقت ۱:۴۰۰ در دمای اتاق انکوبه شدند. اسلایدها به مدت ۵ دقیقه پس از شستشو با (3-3Diaminobenzidine:DAB) آغشته شدند. سپس رنگ آمیزی پس زمینه با هماتوکسیلین انجام شد. اسلایدهای بافت در الکل و سپس زایلن قرار داده شدند و برای ارزیابی میزان مولکول CD68 مورد مطالعه قرار گرفتند.

### تحلیل آماری

داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس دو طرفه و آزمون مقایسه‌های چندگانه دانت با نرم‌افزار Graph pad prism 9.0 برای رسم نمودارها مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. مقادیر  $p < 0/05$  معنی دار در نظر گرفته شد.

### نتایج

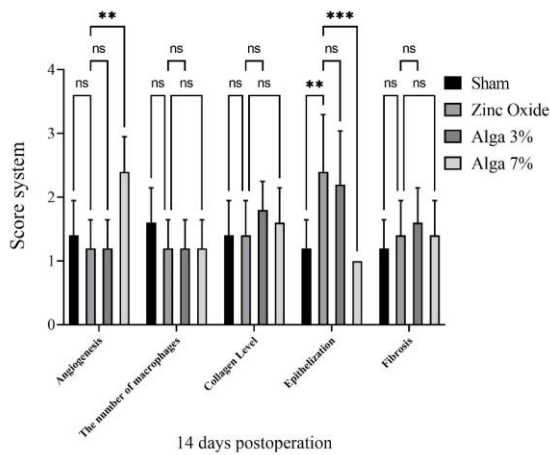
درصد بسته شدن زخم

گروه‌های زینک اکساید و روی و جلبک باعث تسریع بهبود زخم و کاهش قابل توجه سطح زخم در مقایسه با گروه شاهد در روزهای هفتم و چهاردهم پس از عمل شدند (تصویر ۱).

هیستوپاتولوژی

روز سوم پس از ایجاد زخم

تعداد کمی از فیبروبلاست‌ها بسته‌های کلاژنی را در بافت دانه‌بندی اولیه در موش‌های تحت درمان با جلبک تولید کردند که در مقایسه با گروه زینک اکساید معنی دار نبود. افزایش آنژیوبلاست‌ها در گروه‌های مختلف معنی دار نبود. هیچ شروع قابل توجهی برای بازسازی اپیتلیال و فیبروز در هیچ گروهی مشاهده نشد. بیشترین نفوذ ماکروفاژها به طور

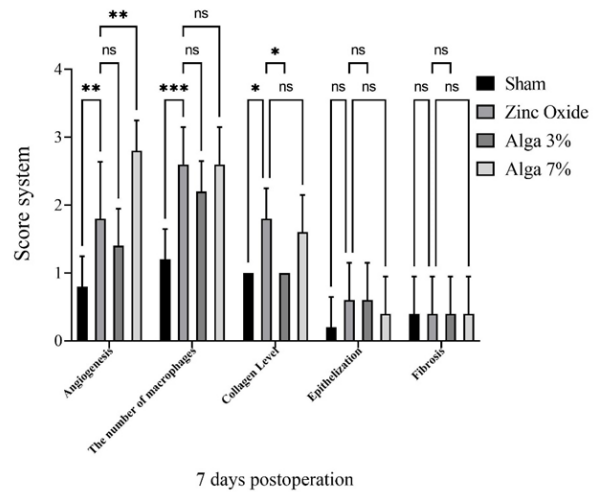


تصویر ۶. نمودار مقایسه ای معنی داری تفاوت هیستوپاتولوژی بین گروه های مختلف روز چهاردهم.

#### درصد بیان CD68

اساس تشخیص درصد مثبت شدن سلول ها در ایمونوهیستوشیمی، برآورد شدت رنگ قهوه ای سلولهای بافت است که بوسیله نرم افزار Image J محاسبه و درصد بندی شد. در روز سوم بیان CD68 در گروه جلبک ۳٪ بصورت معنی داری بیشتر از زینک اکساید بود. در روزهای هفتم و چهاردهم، بیان CD68 در گروه جلبک ۷٪ بصورت معنی داری بیشتر از گروه زینک اکساید و حتی ۳٪ شده بود. در روز ۲۱، تفاوت معنی داری بین گروه زینک اکساید نسبت به جلبک های ۳٪ و ۷٪ وجود نداشت. از این جهت بهترین نتیجه در مورد تعداد ماکروفاژها در گروه جلبک ۳٪ روز سوم و گروه جلبک ۷٪ درصد روزهای هفتم و چهاردهم بود. در روز های سوم، هفتم و چهاردهم که ماکروفاژ مفید است گروه های جلبکی از بقیه بهتر بودند (تصاویر ۸ و ۹).

گروه شاهد و جلبک ۷ درصد کمی بهتر از دو گروه دیگر بود. تعداد ماکروفاژها در گروه های دریافت کننده جلبک بسیار بیشتر از گروه زینک اکساید بود. گروه زینک اکساید بیشتر از گروه شم بود. تشکیل اپیتلیال بدون تفاوت معنی داری بین گروه های مختلف شروع شد. فیروز خفیف بود و تفاوت معنی داری بین گروه ها نداشت (تصاویر ۴ و ۵).

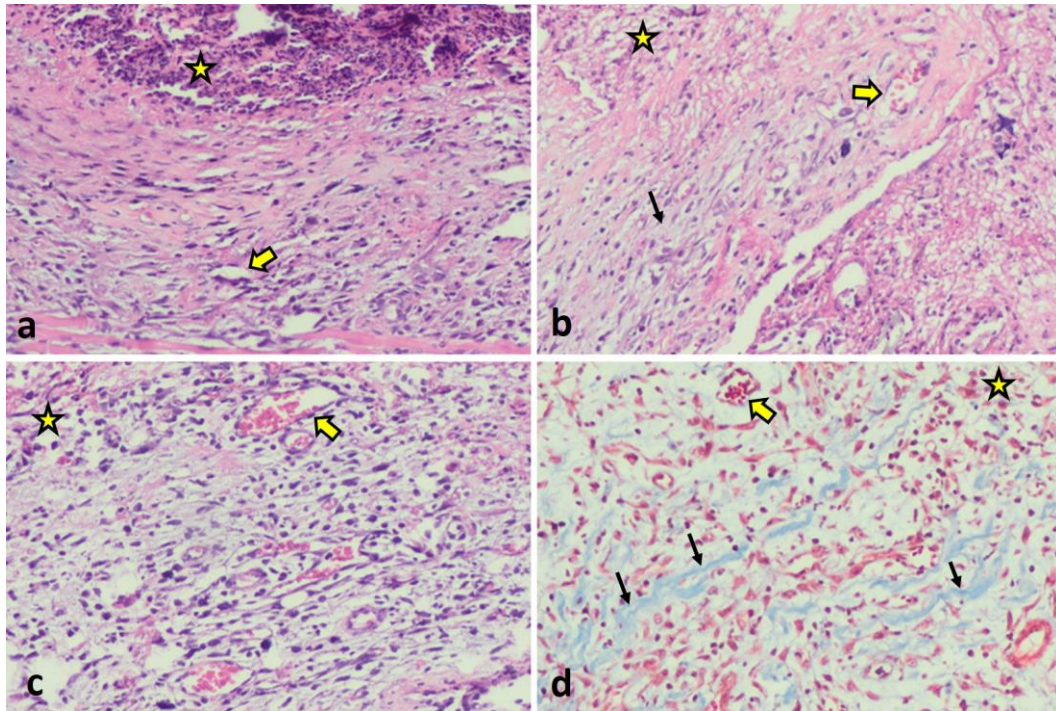


تصویر ۴. نمودار مقایسه ای معنی داری تفاوت هیستوپاتولوژی بین گروه های مختلف روز هفتم.

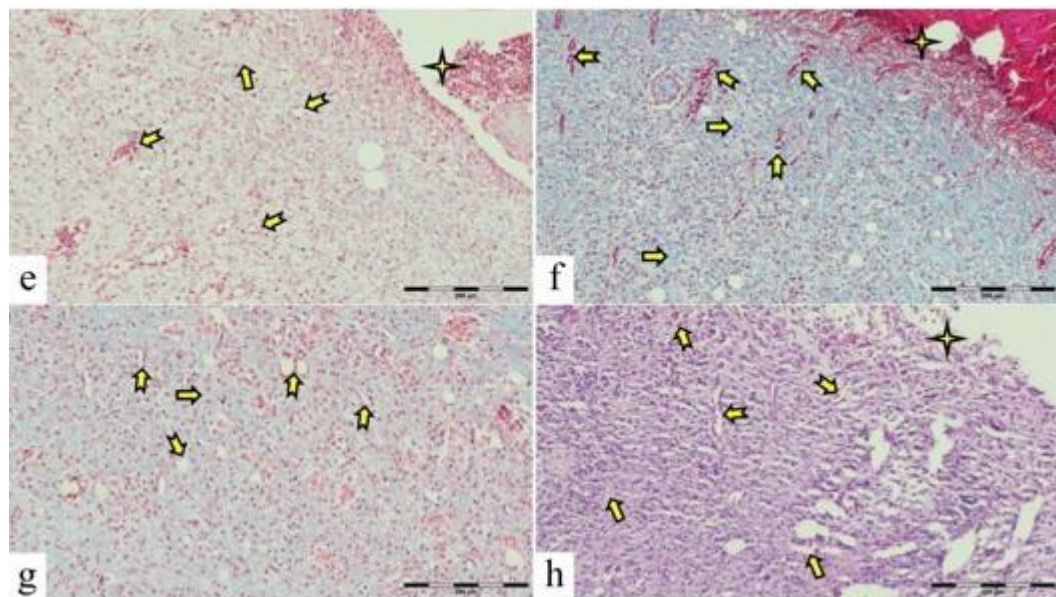
#### روز چهاردهم پس از ایجاد زخم

بسته های کلاژنی که در همه گروه ها ظاهر شد در روز ۱۴ گسترده بود. تجمع رگ های خونی جدید در ۷ درصد گروه جلبک بیشتر از بقیه بود. تعداد ماکروفاژها در گروه ۳٪ دریافت کننده جلبک بسیار کمتر از گروه زینک اکساید و گروه زینک اکساید بسیار کمتر از گروه ۷٪ دریافت کننده جلبک بود (تصاویر ۶ و ۷).

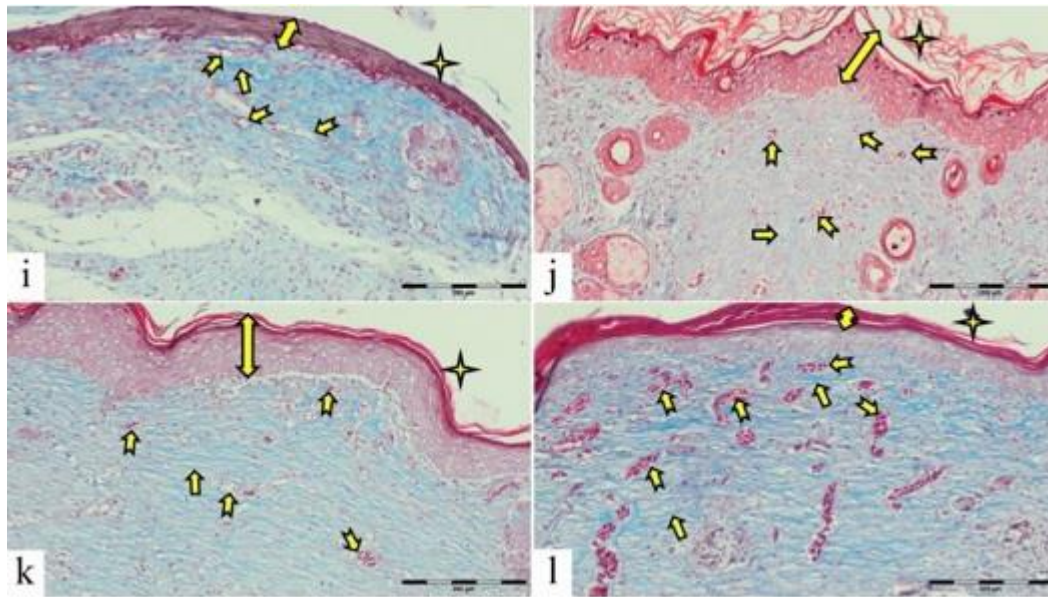




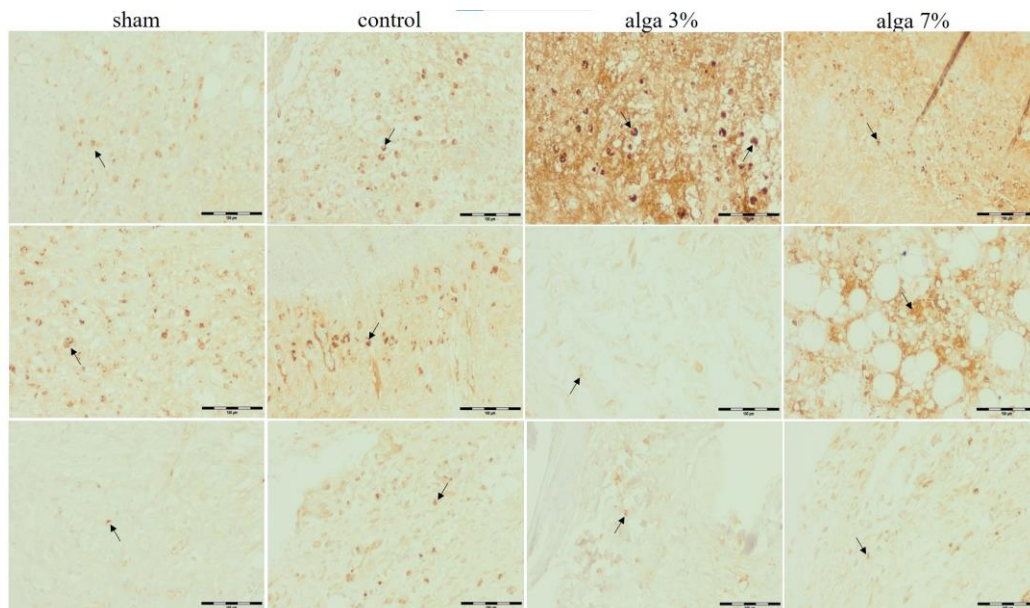
تصویر ۳. مقاطع هیستوپاتولوژی از زخم های پوستی عقنونی موش گروه های مختلف در روز سوم پس از ایجاد زخم (تری کروم ۱۰۰ برابر). ستاره: سطح زخم؛ فلش: عروق تازه تشکیل. a= شاهد، b= زینک اکساید، c= جلبک ۳٪ و d= جلبک ۷٪.



تصویر ۵. مقاطع هیستوپاتولوژی از زخم های پوستی عقنونی موش گروه های مختلف در روز هفتم پس از ایجاد زخم (تری کروم ۱۰۰ برابر). ستاره: سطح زخم؛ فلش: عروق تازه تشکیل. e= شاهد، f= زینک اکساید، g= جلبک ۳٪ و h= جلبک ۷٪.



تصویر ۷. مقاطع هیستوپاتولوژی از زخم های پوستی عقونی موش گروه های مختلف در روز چهاردهم پس از ایجاد زخم (تری کروم ۱۰۰ برابر). ستاره: سطح زخم؛ فلش: عروق تازه تشکیل، فلش دوسر: اپیتلیوم، i = شاهد، j = زینک اکساید، k = جلبک ۳٪ و l = جلبک ۷٪. همانطور که مشاهده می شود اپیتلیوم گروه های زینک اکساید و جلبک ۳٪ هایپرپلاستیک هستند در حالیکه اپیتلیوم گروه جلبک ۷٪ طبیعی است. همچنین میزان عروق در گروه جلبک ۷٪ از بقیه بیشتر است.

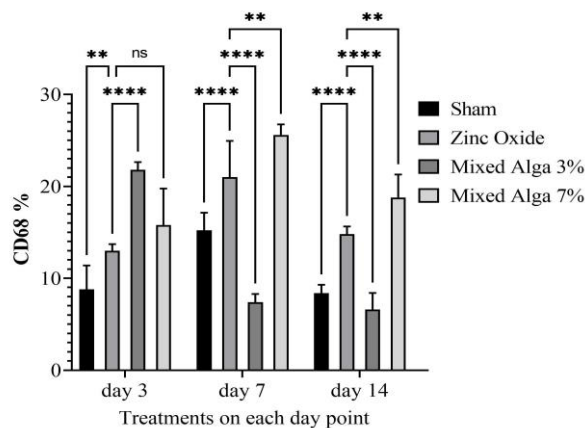


تصویر ۹. مقاطع ایمونوهیستوشیمی از زخم های پوستی عقونی موش گروه های مختلف در روز سوم (بالا)، در روز هفتم (وسط) و در روز چهاردهم (پایین) پس از ایجاد زخم (آنتی CD68، ۱۰۰ برابر).



دارد. عصاره خامی که می تواند رشد پاتوژن های مختلف پوست را زینک اکساید کند (۱۴، ۱۵). در مورد موضوع بسته شدن زخم برخی از مطالعات نشان داد که استفاده موضعی از عصاره جلبک می تواند انقباض زخم را افزایش داده و زمان بسته شدن زخم را کاهش دهد (۱۶-۱۸). در مطالعه حاضر اثرات عصاره در مقایسه با داروهای معمول بهبود خوبی را نشان داد. در روز سوم مطالعه، کاهش قابل توجهی در سطح زخم تنها در گروه زینک اکساید ظاهر شد. در روز هفتم کاهش قابل توجهی در سطح زخم در گروه زینک اکساید و گروه جلبک ۷ درصد مشاهده کردیم که اثرات مثبت جلبک ها در این غلظت را نسبت به گروه ۳ درصد ثابت کرد. در روز چهاردهم مطالعه، زخم تمام گروه های درمان و زینک اکساید به طور معنی داری نسبت به گروه شاهد کاهش یافت. اما در گروه جلبک ۷ درصد بهتر از بقیه بود. در روز ۲۱، تمام گروه ها انقباض یکسانی در سطح زخم داشتند. برخی از مطالعات در بهبود رگ زایی زخم های پوستی توسط عصاره جلبک نشان داد که فعالیت خونرسانی زخم موش های تحت درمان با عصاره سندسموس بهتر از پماد استاندارد در روز ششم بررسی بود (۱۹).

در روز سوم پس از جراحی، رگزایی فراوان به طور معنی داری در گروه دریافت کننده جلبک بیشتر از گروه شاهد و زینک اکساید شد. این یافته به نفع بهبود زخم در گروه های دریافت کننده جلبک است. در روز هفتم نیز روند قبلی ادامه داشت با این تفاوت که گروه جلبک ۷٪ نسبت به بقیه تشکیل عروق زیادتری داشت. در روز چهاردهم کاهش معنی داری در گروه های جلبک ۳٪ نسبت به گروه زینک اکساید داشتیم ولی گروه جلبک ۷٪ همچنان رگزایی زیاد و معنی داری را نشان داد. احتمالاً غلظت بیشتر می تواند کمک کننده باشد. تولید و باندل شدن کلاژن ها در سه روز پس از زخم در همه گروه ها به طور یکسان و غیر معنی



تصویر ۸. نمودار مقایسه ای معنی داری تفاوت بروز مولکول CD68 در سلول های ماکروفاژ گروه های مختلف.

## بحث

در روز سوم پس از ایجاد زخم، ماکروفاژها (CD68) در گروه جلبک ۷٪ بیشتر از بقیه گروه ها حضور داشتند. در روز هفتم، فیبروپلازی و سنتز کلاژن در گروه جلبک ۷٪ بهتر از دو گروه دیگر بود. در روز چهاردهم، تجمع رگ های خونی جدید در جلبک ۷٪ بیشتر از بقیه بود. بهترین نتیجه در مورد میزان بیان مولکول CD68 (ماکروفاژ) در روزهای هفتم و چهاردهم در گروه جلبک ۷٪ دیده شد. با توجه به اینکه تعداد حضور ماکروفاژها سنجش خوبی برای ترمیم بهتر است، بیشتر بودن ماکروفاژها در گروه های جلبکی در روز های سوم، هفتم و چهاردهم از بقیه بهتر بودند. استفاده از پماد جلبک می تواند بار باکتریایی زخم را کاهش دهد و بهتر از تجویز اکسید روی است. خروجی های ارزشمند مطالعه حاضر ممکن است بینشی قوی در زمینه کشف داروهای طبیعی داشته باشد. مطالعه ای در سال ۲۰۱۴ نشان داد که جلبک دریایی سندسموس یکی از بهترین منابع زیستی فعال دارای فیتوکمیکال های مختلف، آنتی اکسیدان ها و آنتی بیوتیک ها هستند. هشت بیومولکول در جلبک های گراسیلاریا وجود



### فهرست منابع

1. Enoch S, Leaper DJ. Basic science of wound healing. Surgery (Oxford). 2008;26(2):31-7.
2. Belachew TF, Asrade S, Geta M, Fentahun E. In vivo evaluation of wound healing and anti-inflammatory activity of 80% methanol crude flower extract of *Hagenia abyssinica* (Bruce) JF Gmel in mice. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2020;2020.
3. Bao P, Kodra A, Tomic-Canic M, Golinko MS, Ehrlich HP, Brem H. The Role of Vascular Endothelial Growth Factor in Wound Healing. Journal of Surgical Research. 2009;153(2):347-58.
4. Parastan R, Kargar M, Solhjoo K, Kafilzadeh F. Staphylococcus aureus biofilms: Structures, antibiotic resistance, inhibition, and vaccines. Gene Reports. 2020;20:100739.
5. Negut I, Dorcioman G, Grumezescu V. Scaffolds for Wound Healing Applications. Polymers. 2020;12(9):2010.
6. Kannan M, Pushparaj A, Dheeba B, Nageshwari K, Kannan K. Phytochemical screening and antioxidant activity of marine algae *Gracilaria corticata* and *Spirulina platensis*. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research. 2014;6(11):312-18.
7. Namvar F, Baharara J, Mahdi AA. Antioxidant and anticancer activities of selected persian gulf algae. Indian journal of clinical biochemistry : IJCB. 2014;29(1):13-20.
8. Athitya L, Bharath V, Nellore J, Prakash P. Screening of *Gracilaria corticata* Extracts for Acetylcholinesterase Inhibitory Activity. Research Journal of Pharmacy and Technology. 2018;11(9):3848-50.
9. Nagaoka M, Shibata H, Kimura-Tagaki I, Hashimoto S, Aiyama R, Ueyama S, et al. Anti-ulcer effects and biological activities of polysaccharides from marine algae. Biofactors. 2000;12(1/4):267-74.

دار بود. در روز هفتم، در گروه ۷٪ بیشتر از گروه شاهد و گروه ۳٪ بوده و در گروه زینک اکساید نزدیک به گروه ۷٪ بود. این یافته به معنای شرایط بهینه در گروه درمان شده با جلبک ۷٪ است. در روز ۱۴، تفاوت ها در تولید کلاژن معنی دار نبود. ما استدلال کردیم که گروه جلبک ۷٪ تا روز چهاردهم در تولید کلاژن موفق تر از بقیه بود. گروه جلبک ۷٪ در روز چهاردهم از نظر رگزایی موفق تر از گروه های دیگر بود. در حالیکه تشکیل اپیتلیوم که روز چهاردهم کامل شده بود، گروه ۳٪ و زینک اکساید از بقیه بهتر بودند. گروه جلبک در هدایت اجزای ترمیم زخم بهتر از گروه شاهد بود. رشد رگزایی در گروه ۷٪ بهترین بود. روند فیبروپلازی روز چهاردهم در گروه ها معنی دار نشد. بطورکلی می توان نتیجه گرفت که اسفاده از عصاره جلبک در رگزایی و فیبروپلازی در غلظت های متفاوت بهتر از داروی رایج عمل کرد. علت این وقایع مربوط به القای ماکروفاژها و رگزایی بیشتر بویژه در اوایل بروز زخم است. البته در مورد زخم های عفونی نیز با توجه به عفونی بودن زخم می تواند ناشی از تاثیرات مهارى روی رشد باکتری باشد.

### تعارض منافع

نویسندگان هیچ گونه تعارض منافی را در این پژوهش شناسایی نکردند.

### سپاسگزاری

این مقاله بر اساس کار پژوهشی مستخرج از پایان نامه در دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات انجام پذیرفت. از مهندس عابدی بابت تهیه برش های هیستوپاتولوژی تشکر می شود.

10. Arguelles E. Proximate analysis, antibacterial activity, total phenolic content and antioxidant capacity of a green microalga *Scenedesmus quadricauda* (Turpin) Brébisson. *Asian J Microbiol, Biotechnol Environ Sci*. 2018;20(1):150-8.
11. Wu D, Wei D, Du M, Ming S, Ding Q, Tan R. Targeting Antibacterial Effect and Promoting of Skin Wound Healing After Infected with Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* for the Novel Polyvinyl Alcohol Nanoparticles. *Int J Nanomedicine*. 2021;16:4031-44.
12. Khoo R, Jansen S. The Evolving Field of Wound Measurement Techniques: A Literature Review. *Wounds*. 2016;28(6):175-81.
13. Nisbet HO, Nisbet C, Yarim M, Guler A, Ozak A. Effects of three types of honey on cutaneous wound healing. *Wounds: a Compendium of Clinical Research and Practice*. 2010;22(11):275-83.
14. Oliveira GA, Carissimi E, Monje-Ramírez I, Velasquez-Orta SB, Rodrigues RT, Ledesma MTO. Comparison between coagulation-flocculation and ozone-flotation for *Scenedesmus* microalgal biomolecule recovery and nutrient removal from wastewater in a high-rate algal pond. *Bioresource technology*. 2018;259:334-42.
15. Anand V, Kashyap M, Ghosh A, Kiran B. Spectroscopic insights exploring triacylglyceride accumulation in *Scenedesmus* sp. via biomolecular transitions. *Bioresource Technology Reports*. 2020;12:100593.
16. Adolph S, Jung V, Rattke J, Pohnert G. Wound Closure in the Invasive Green Alga *Caulerpa taxifolia* by Enzymatic Activation of a Protein Cross-Linker. *Angewandte Chemie International Edition*. 2005;44(18):2806-8.
17. Madkour FF, Hassan MM, Abdo W, Khalil WF. Wound healing activity of brown algae plus polyherbal extract in normal and alloxan-induced diabetic rats. *Journal of Advanced Veterinary Research*. 2013;3(3):102-8.
18. Premarathna AD, Ranahewa TH, Wijesekera SK, Wijesundara RRMKK, Jayasooriya AP, Wijewardana V, et al. Wound healing properties of aqueous extracts of *Sargassum illicifolium*: An in vitro assay. *Wound Medicine*. 2019;24(1):1-7.
19. Akashe H, Jahandideh A, Khajehrahimi A, Kakoolaki S, Hesarakhi S. The Effect of *Gracilaria Corticata* and *Scenedesmus Acuminates* Extract Mixture on the Healing of Wounds Contaminated with *Staphylococcus* in the Rat Model. *Archives of Academic Emergency Medicine*. 2022;10(1):e70-e.