

بررسی اثر عصاره هیدروالکلی زبان گنجشک (*Fraxinus excelsior*) در ترمیم زخم برشی در موشهای صحرایی نر

نرجس نظری ۱، نسرين حیدریه\* ۲

۱. کارشناس ارشد فیزیولوژی جانوری ، واحد قم، دانشگاه آزاد اسلامی، قم

۲. \*استادیار ، گروه فیزیولوژی جانوری ، واحد قم، دانشگاه آزاد اسلامی، قم

## چکیده

ترمیم زخم پروسه پاتوفیزیولوژیکی پیچیده ای است که شامل ارتباط متقابل پروسه های سلولی و بیوشیمیایی است. هر گونه نقص در پروسه ترمیم نرمال زخم موجب به تاخیر افتادن درمان و یا فیبروز اضافی می شود.

امروزه گرایش جدی به مصرف گیاهان دارویی به خاطر کم بودن عوارض جانبی گوناگون ترکیبات مؤثر موجود در گیاهان، رواج یافته است. با توجه به اثر ضد التهابی گیاه زبان گنجشک هدف از این مطالعه بررسی اثر پماد زبان گنجشک در ترمیم زخم برشی در موش های صحرایی نر شده می باشد.

روش کار: سرشاخه میوه دار و برگ دار زبان گنجشک پس از شناسایی توسط هرباریوم دانشگاه در سایه خشک گردید سپس عصاره هیدروالکلی توسط سوکسله استخراج و با استفاده از روتاری پودر عصاره تهیه گردید. سپس پماد ۷۰٪ و ۳۵٪ به صورت درصد حجمی با استفاده از اوسرین (پایه پماد) و پودر عصاره ساخته شد.

در این مطالعه تجربی موش صحرایی نر نژاد ویستار (200g ± 230) استفاده شد.

برای ایجاد زخم ابتدا حیوان با اتر بیهوش شدند و در ناحیه پوست خط وسط پشت حیوانات زخم برشی به طول ۲ سانتی متر و به ضخامت ۲ میلی ایجاد گردید. موش ها در چهار گروه (n=8) ، بدون تیمار (کنترل منفی) ، تیمار اوسرین (کنترل مثبت)، تیمار با پماد ۳۵٪ و ۷۰٪ زبان گنجشک قرار گرفتند.

تیمار به صورت یک روز در میان از روز ایجاد زخم به مدت ۱۴ روز صورت گرفت. قبل از تیمار با کمک دوربین دیجیتال از محل زخم عکس گرفته و سپس با کمک نرم افزار اتوکد مساحت زخم تعیین گردید و درصد ترمیم زخم محاسبه شد.

داده ها توسط نرم افزار SPSS و آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون توکی مورد تجزیه و تحلیل قرار می گرفتند . (P < 0/05)

نتایج نشان داد بین گروه کنترل منفی (بدون تیمار) و مثبت (دریافت کننده اوسرین) تفاوت معنی داری در درصد ترمیم زخم وجود ندارد و اوسرین در ترمیم زخم اثری ندارد. اما پماد ۳۵٪ و ۷۰٪ زبان گنجشک سبب افزایش معنی داری در درصد ترمیم زخم نسبت به گروه کنترل مثبت گردیدند.

نتیجه گیری:

عصاره هیدروالکلی زبان گنجشک سبب تسریع بهبود زخم در موش های صحرائی می شود .

واژه های کلیدی : زخم برشی ، ترمیم زخم ، عصاره هیدروالکلی زبان گنجشک ، موش صحرائی نر

مقدمه

ابتدایی مورد مصرف قرار می گرفتند تا اینکه کمیته متخصصین سازمان بهداشت جهانی در سال ۱۹۸۰ توصیه کرد که روش های سنتی بیشتر مورد بررسی قرار گیرند.

درخت زبان گنجشک (*Fraxinus excelsior*) یکی از گونه های گیاهان گلدار از راسته نعناسانان است. (۱۰) این درخت در مناطق معتدل رشد می کند، و بومی اروپا است، همچنین در غرب آسیا و سراسر جنوب شرقی مراکش و در ایران اغلب در مناطق شمالی و کوه های البرز و وجود دارد. (۱۲)

در طب سنتی ایران از زبان گنجشک برای تسکین درد، تصلب شرائین، تب بر، تقویت رحم ، تقویت دستگاه ادراری و کلیه ها، دفع سنگ کلیه و مثانه، تقویت دستگاه تناسلی ، تقویت کودکان و درمان درم و زخم استفاده می شده است. (۱)

تا به امروز، ترکیبات مختلف از جمله بنزوکائونزین ها ، کومارین، آکالوئیدها ، فلاونوئیدها ، گلوکوزوئیدهای ثانویه ،

زخم یا جراحت ، آسیبی است که در آن پوست خراشیده، پاره، بریده، سوراخ و یا دریده شود و یا بعلت یک تروما با اینکه پوست سالم مانده ولی در زیر آن آثار قرمزی و یا کبودی دیده شود. (۳،۴)

بهبود زخم فرایندی پیچیده و بیولوژیکی پویا است، این فرایند حاصل چهار مرحله متمایز زمانی است که با هم تداخل دارند: انعقاد، التهاب، تکثیر و بازسازی. (۵،۶)

بهبود زخم شامل یک سری از وقایع هماهنگ از جمله خونریزی، انعقاد ، شروع یک واکنش التهابی اولیه ، بازسازی، مهاجرت و پرولیفراسیون بافت همبند و سلول های پارانشیم، و همچنین سنتز پروتئین ماتریکس خارج سلولی، بازسازی پارانشیم جدید و بافت همبند و رسوب کلاژن می باشد. (۷،۸) در نهایت، افزایش استحکام زخم نشان دهنده اوج ترمیم بافت بریده است. (۷،۹)

همزمان با پیدایش انسان ها، استفاده از گیاهان دارویی نیز آغاز شد. تا قرن نوزدهم گیاهان دارویی به شکل بسیار

ederivatives indol و فنولیک ساده در زبان گنجشک

شناسایی شده است . (۱۲)

تحقیقات نشان داده عصاره الکلی آن دارای خواص ضد

التهاب مشابه دیکلوفنات است . (۱۳،۱۴)

با توجه به اینکه زبان گنجشک دارای اثرات ضد التهابی

است ، لذا این تحقیق با هدف تعیین اثرات عصاره

هیدروالکلی زبان گنجشک بر روی ترمیم زخم موش های

صحرائی نر ، طراحی شد.

روش تحقیق

در این مطالعه تجربی موش های صحرائی نر نژاد ویستار

با محدوده وزنی ۲۰۰-۲۳۰ گرمی از موسسه انیستیتو

پاستور کرج خریداری شد و مورد بررسی قرار گرفتند.

موش ها در شرایط استاندارد ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲

ساعت تاریکی ، رطوبت و تهویه مناسب نگهداری شدند .

در این آزمایش هدف از زخم ، زخم برشی می باشد .

گروه بندی حیوانات

حیوانات به طور تصادفی به ۴ گروه (n=8) تقسیم شدند.

۱- گروه کنترل منفی : فقط زخم

۲- گروه کنترل مثبت : زخم + دریافت ماده پایه

پماد(اوسرین)

۳- گروه درمان ۳۵٪ : زخم + دریافت کننده پماد ۳۵٪

زبان گنجشک

۴- گروه درمان ۷۰٪ : زخم + دریافت کننده پماد ۷۰٪

زبان گنجشک

نحوه تهیه عصاره هیدروالکلی زبان گنجشک

ابتدا ساقه ، برگ و میوه تازه زبان گنجشک از سطح شهر

قم جمع آوری و پس از شناسایی توسط هرباریوم دانشگاه

آزاد قم در سایه خشک گردید سپس مقدار ۴۰ گرم از

زبان گنجشک را وزن کرده و در دستگاه سوکسله قرار

دادیم. حلال مورد استفاده در این پژوهش ۳۰۰ cc

متانول ۷۰٪ بود. عصاره به دست آمده را در دستگاه آون

به مدت ۶-۸ ساعت با دمای ۶۰ درجه سانتی گراد خشک

کردیم . در آخر عصاره پودر شده به دست آمد . جهت

ساخت پماد از ماده اوسرین به عنوان پایه پماد و از سالیین

به عنوان حلال استفاده شد. (۵۱۰۲)

در این آزمایش ۲ دوز پماد زبان گنجشک (۷۰٪) گرم

عصاره + ۳۰ گرم اوسرین) و ۳۵٪ (۳۵ گرم عصاره + ۶۵

گرم اوسرین) به صورت درصد حجمی ساخته شد .

روش ایجاد زخم

برای ایجاد زخم در حیوانات ، ابتدا موش ها با اتر بیهوش

شدند و موهای پشت حیوانات کوتاه شد.

سپس خطی به طول ۲ سانتی متر در امتداد پشت حیوان

متمایل به سمت راست کشیده شد و با استفاده از تیغ

جراحی و قیچی زخم هایی به اندازه اپی درم و درم ایجاد

گردید.

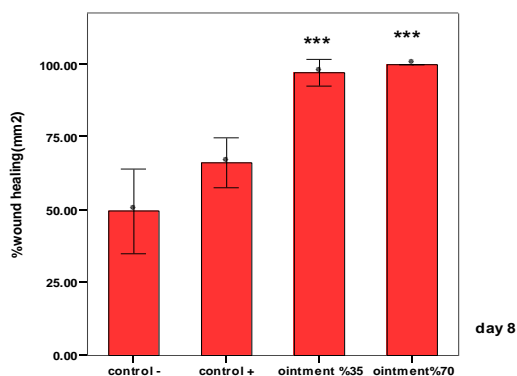
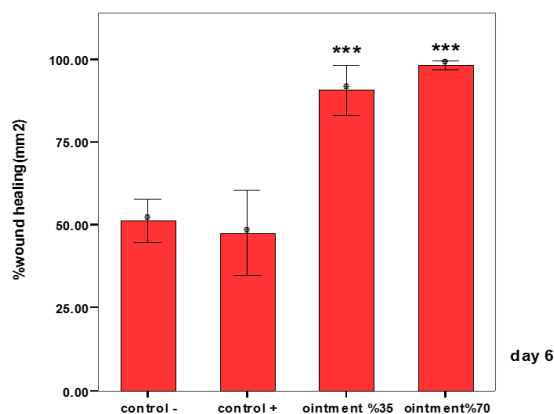
روش تیمار

تمامی آزمایشات  $p < 0.05$  به عنوان معنی دار در نظر گرفته شد.

نتایج

در تمام روزهای پس از ایجاد زخم تفاوت معنی داری بین گروه های کنترل مثبت (دریافت اوسرین) و کنترل منفی (بدون دریافت پماد) مشاهده نشده، یعنی اوسرین تاثیری در التیام زخم ندارد.

در روزهای ششم، هشتم، دهم و دوازدهم بین گروه های دریافت کننده پماد ۳۵٪ و ۷۰٪ نسبت به گروه کنترل مثبت افزایش معنی داری در درصد التیام زخم مشاهده شد. ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.001$ ) (نمودار ۱)



تیمار به صورت یک روز در میان و هر بار حدود ۱۲۵ میلی گرم برای هر موش مورد استفاده قرار می گرفت. گروه کنترل مثبت با اوسرین و گروه های درمان با پماد زبان گنجشک تیمار می شدند.

تجزیه و تحلیل داده ها

روز عمل جراحی را روز صفر در نظر گرفته می شود. روزهای ۱۴، ۱۲، ۱۰، ۸، ۶، ۴، ۲، زخم به وسیله خط کش اندازه گیری می شد. به این صورت که موش را به کمک اتر بیهوش کرده و خط کش را هم سطح و موازی زخم قرار می دادیم و سپس از محل زخم با کمک دوربین دیجیتالی عکس گرفته می شد. سپس عکس ها به نرم افزار اتوکد منتقل شده و مساحت زخم توسط این نرم افزار تعیین می گردید.

درصد بهبود زخم را با استفاده از فرمول زیر برای هر روز بدست آوردیم.

$$100 \times \frac{\text{مساحت زخم در روز } X - \text{مساحت زخم در روز}}$$

اول

مساحت زخم در روز اول

$X$  مساحت زخم در روزهای مختلفی است که می خواستیم درصد بهبود زخم آن روز را محاسبه کنیم.

داده ها توسط نرم افزار SPSS و آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون توکی مورد تجزیه و تحلیل قرار می گرفتند. در

## بحث

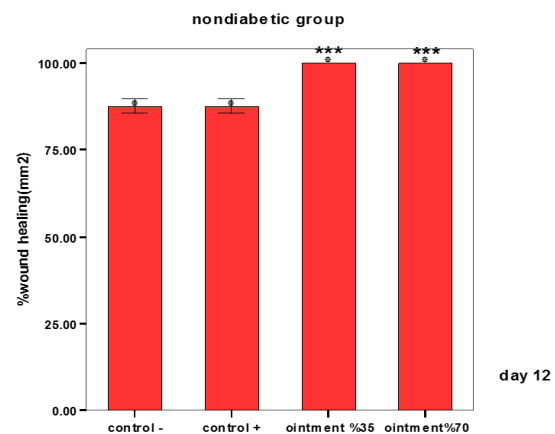
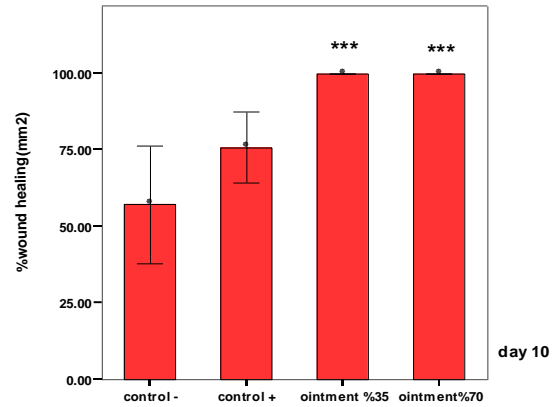
نتایج حاصل از آنالیز داده ها نشان داد که طول درمان یا التیام زخم در موش ها ۱۴ روز است که توسط پماد ۳۵٪ به ۱۰ روز و پماد ۷۰٪ به ۸ روز کاهش پیدا کرد. زخم به عنوان آسیب یا اختلال در ساختار نرمال آناتومی و تابع آن تعریف می شود. (۱۵)

ترمیم زخم پوستی ، فرآیندی شامل همکاری سلول های مختلف ( از جمله فیبروبلاست ها، مونوسیت ها ، ماکروفاژها، سلول های اندوتلیال و سلول های اپیدرمال ) ، فاکتورهای رشد و سیتوکین ها می باشد.

ترکیبات فنلی ثانویه موجود در زبان گنجشک در هموستاز چربی ، کاهش التهاب و نیز دردیابت مرتبط با چاقی نقش دارد. (۱۶)

Dweck و همکاران نشان دادند گیاهانی که دارای خاصیت ضد التهابی می باشند دارای سطح بالایی از فلاونوئیدها هستند. (۱۷)

پژوهش ها نشان داده ترکیبات شیمیایی از قبیل گلیکوزیدهای فنلی متعدد نظیر، گزانتون ، کومارین ، گلیکوزید بتاسیتوسترول و کینوئید تانن ها و آلکالوئیدها در برگ های گیاه به عنوان بخش دارویی گیاه حنا تأثیر مثبتی بر روند ترمیم دارد. (۲)



## نمودار ۱- اثر پماد زبان گنجشک بر ترمیم زخم

زخم برشی موش های صحرایی نر با پماد زبان گنجشک (۳۵٪ و ۷۰٪) و پایه پماد یا اوسرین (کنترل مثبت) یک روز در میان تیمار می شدند. در صد بهبود زخم با تعیین مساحت زخم محاسبه میگردید. نمودارها نشان دهنده میانگین  $\pm$  انحراف معیار استاندارد (SEM  $\pm$  Mean) می

باشند. n=8

\*P<0/05

\*\*P< ۰/۰۱

\*\*\* P< ۰/۰۰۱

طریق تسریع التهاب و تکثیر سلولی بر ترمیم زخم ها  
دخالت دارند.

Kumar و همکاران در سال ۲۰۰۷ نشان دادند که  
فلاونوئیدها و تری ترپنوئیدها، انقباض زخم و اپی  
تلیزاسیون را افزایش می دهند. (۱۸)

Choudhary در سال ۲۰۰۸، التیام زخم را تحت تاثیر  
عصاره اتانولی میوه گیاه هنله (*Terminalia bellirica*)  
(بررسی کردند و نشان دادند که تانن ها ، یکی از  
مهمترین ترکیبات این گیاه است که اساساً مسئول جمع  
شدگی زخم ، افزایش اپی تلیزاسیون ، تشکیل مجاری  
مویرگی و افزایش فیبروبلاست ها می باشند. (۱۹)

با توجه به اینکه گیاه مورد استفاده در تحقیق حاضر نیز  
دارای این ترکیبات می باشد، مشاهده نتایج تحقیق حاضر  
هم راستا با یافته های فوق احتمالاً ناشی از حضور  
فلاونوئیدها ، تریتروپنوئیدها و تانن ها می باشد .

بسیاری از آنتی اکسیدان ها با از بین بردن اثرات منفی  
ROS (گونه های فعال اکسیژن) سبب بهبود زخم می  
شود. (۲۰)

استروئیدهای فعال که از ترکیبات زبان گنجشک می باشد  
هم به عنوان یک جزء مهاری قوی بر روی سلول های  
تومور و التهاب پیشنهاد شده است . (۲۱)

در مجموع با مقایسه نتایج تحقیق حاضر و یافته های  
دیگر دانشمندان، به نظر می رسد زبان گنجشک احتمالاً  
به دلیل دارا بودن آلکالوئیدها با اثرات آنتی اکسیدانی، فلاو  
نوئیدها با اثرات آنتی التهابی و تانن ها با اثرات تکثیر  
سلولی و رگزایی در فرایند ترمیم و بازسازی زخم ها از

in the margin of chronic diabetic foot ulcers. *Wound Repair Regen.* 14:558–565.

7- Labler L, Mica L, Härter L, *et al*:

Influence of V.A.C.-therapy on cytokines and growth factors in traumatic wounds. *Zentralbl Chir* (2006); 131(suppl 1): S62 – S67 [in German].

8- Rivera AE, Spencer JM, (2007)

,Clinical aspects of fullthickness wound healing. *Clin Dermatol*, 25: 39 – 48.

9- Strecker-McGraw MK, Jones TR, Baer DG, (2007) Soft tissue wounds and principles of healing. *Emerg Med Clin North Am* .25: 1 – 22.

10- Kwon AH, Qiu Z, Hiraon Y, Effect of Plasmaon the Incisional Wound Healing in Rats(2007) *Surgery*. 141256-254.

11- Lobmann R, Schultz G, Lehrent H, Proteases and the Diabetic Foot Syndrome: Mechanisms and Therareutic Implications. *Diabetes Care* ,(۲۰۰۵); ۲۸ : ۴۷۱–۴۶۱.

12- Arthur C. Guyton & John E. (2006) Hall, *Textbook of Medical Physiology*, Elsevier.

13- Kruedener S, Schneider W and Elstner EF. Effects of extracts from *Populus tremula* L., *Solidago virgaurea* L. and *Fraxinus excelsior* L. on various myeloperoxidase systems.

۱- علوی شیرازی ، محمدحسین ، مخزن الادویه، انتشارات باورداران، تهران، چاپ سوم ، ۱۳۸۰، ص ۷۹۰،

۲- شیروی .ع ، آلبویه . م، حجتی . و، اکبری. ح. ۱۳۹۰، بررسی تأثیر عصاره برگ گیاه حنا بر ترمیم زخم پوستی رت نژاد ویستار، فصلنامه علمی پژوهشی زیستشناسی جانوری، سال سوم، شماره چهارم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان.ص۴۵-۵۱

3- Ghaderi R. (2005), Efficacy of epigluce, suture, honey and animal oil in accelerating healing of full thickness wound of skin in mice. *J Investigative Dermatol.* 125(suppl 1s): A19.

4- Edmonds M, Bates M, Dofxford M, Gough A, AND Foster A. ( 2000), New treatments in ulcer healing and wound infection. *Diabetes Metab* ,Suppl 1: S51– 16.

5- Iranshahi M, Sahebkar A, Hosseini ST Takasaki M, Konoshima T, Tokuda H. (2010), Cancer chemopreventive activity of diversin from *Ferula diversivittata* in vitro and in vivo *Phytomedicine*; 17: 269- 73.

6- Galkowska, H., Wojewodzka, U., and Olszewski, W.L. (2006), Chemokines, cytokines, and growth factors in keratinocytes and dermal endothelial cells

- 18- Kumar B, Vijayakumar M, Govindarajan R, Pushpangadan P. Ethnopharmacological approaches to wound healing exploring medicinal plants of india. *J Ethnopharmacol.* (2007); 114 (2): 103-113.
- 19- Choudhary GP. (2008) ,Wound healing activity of etanol extract of *Terminalia bellirica* Roxb.Fruits. *Natural Product Radiance (NPR).* 7(1): 19-21.
- 20- Suguna L, Singh S, Sivakumar P, Sampath P, Chandrakasan G. (2002) Influence of *Terminalia chebula* on dermal wound healing in rats. *Phytother Res.* 16:227–231.
- 21- Shen H, Shahzad G, Jawairia M, Bostick RM, Mustacchia P. (2014)Association between aspirin use and the prevalence of nonalcoholic fatty liver disease: a cross-sectional study from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Aliment Pharmacol Ther.* 40:1066-73.
- Arzneimittelforschung.*(1996); 46:809-814.
- 14-Meyer, B., Schneider, W., Elstner, E.F . (1995), Antioxidative properties of alcoholic extracts from *Fraxinus excelsior*, *Populus tremula* and *Solidago virgaurea* . *Arznei mittel-Forshung* , 45, 174–176.
- 15- Robson MC, Steed DL, Franz MG. (2001), Wound healing: biologic features and approaches to maximize healing trajectories. *Curr Probl Surg.* 38: 72 – 140.
- 16- Finck, B.N., Bernal-Mizrachi, C., Han, D.H., Coleman, T., Sambandam, N., LaRiviere L.L., Holloszy, J.O., Semenkovich, C.F., Kelly, D.P. (2005) ,A potential link between muscle peroxisome proliferator-activated receptor alpha signaling and obesityrelated diabetes. *Cell Metab .* 1, 133–144.
- 17- Dweck AC. (2002); *Herbal Medicine For The Skin. Their Chemistry and Effects On Skin And Mucous Membranes.* *Perso Care Magaz.* 3 (1): 19-21.