

بررسی هیستوپاتولوژی ترمیم زخم‌های عمیق پوستی غیر عفونی با عصاره هیدروالکلی

گیاهان مرزه کوهی، بادرنجبویه، سدر، گل ختمی و حنا

مهران میراولیایی^۱، ریحانه چلونگر^۲، اکرم امین جعفری^۱، اردشیر طالبی^۳ و مجید غیاث^۴

^۱ اصفهان، دانشگاه اصفهان، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی، بخش سلولی مولکولی

^۲ یزد، دانشگاه پیام نور یزد، دانشکده علوم پایه، گروه زیست‌شناسی

^۳ اصفهان، دانشگاه اصفهان، دانشکده پزشکی، گروه علوم پزشکی، بخش پاتولوژی

^۴ اصفهان، دانشگاه اصفهان، دانشکده جغرافیا و برنامه ریزی

تاریخ دریافت: ۹۵/۸/۱۹ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۱/۲۴



چکیده

با وجود پیشرفتهای عمده در درمان زخم، ترمیم به عنوان یکی از چالش‌های مهم پیش رو باقی مانده است. با توجه به خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی و ضد التهابی اثبات شده در گیاهان مرزه کوهی، بادرنجبویه، سدر، گل ختمی و حنا، تأثیر گیاهان نام برده بر روند ترمیم زخم پوستی و همچنین مقایسه با تتراسیکلین در موش صحرایی مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه ۴۸ رأس رت نر همسان نژاد ویستار در ۸ گروه ۶ تایی به صورت کاملاً تصادفی دسته بندی شدند. پس از ایجاد زخم در رت‌ها (شرایط یکسان)، اثر عصاره هیدروالکلی گیاهان مرزه کوهی، بادرنجبویه، سدر، گل ختمی، حنا از یک سو و پماد تتراسیکلین (کنترل مثبت) از سوی دیگر، بر روند التیام زخم مورد بررسی قرار گرفت. یک گروه به عنوان کنترل، یک گروه تحت تیمار عصاره هر گیاه و گروه دیگر نیز تحت تیمار مخلوط پنج گیاه (با غلظت ۰/۳ gr/ml) قرار گرفتند. بررسیهای میکروسکوپی و هیستوپاتولوژی نشان داد که پس از هفت روز (با شدت کمتر) و بعد از چهارده روز تیمار (تقریباً به طور کامل)، ناحیه درم و اپیدرم پوست ترمیم یافته است. بررسیهای میکروسکوپی تفاوت معنادار را در میزان درصد بهبود لایه درم و اپیدرم پس از ۱۴ روز تیمار (با پمادهای گیاهی)، در مقایسه با گروه کنترل، نشان می‌دهد ($p < 0.05$). تیمار با عصاره گل ختمی (پس از چهارده روز)، در روند بهبود ناحیه درم و اپیدرم نسبت به سایر گروهها چشمگیر تر است. عصاره هیدروالکلی گیاه گل ختمی به واسطه داشتن ترکیبات ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی ویژه، در مقایسه با سایر عصاره‌ها، در التیام لایه اپیدرم و درم مؤثرتر عمل نموده است.

واژه‌های کلیدی: ترمیم زخم، بادرنجبویه، حنا، سدر، گل ختمی، مرزه کوهی، گیاهان دارویی.

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۲۳۲۲۶۱۵۸، پست الکترونیکی: mmiroliaei@yahoo.com

مقدمه

آسیب یا بیماری از دست می‌روند، سریعاً جایگزین می‌شوند. سلولهای جدید در اپیدرم (لایه فوقانی و پوشش محافظتی پوست) ساخته می‌شوند. هنگام بروز زخم این لایه ممکن است عفونی شود و به باکتریها، که بعضی از آنها در سطح پوست زندگی می‌کنند، اجازه دهند که وارد

پوست سد دفاعی کاملاً مؤثر در برابر میکروارگانیسم‌ها و مواد مضر است. اما هنگامی این سد بیشترین تأثیر را دارد که سطح آن آسیب ندیده باشد. پوست به‌طور دائم از طریق ریزش سلولهای مرده و تولید سلولهای تازه، نوسازی می‌کند. در نتیجه سلولهای سطحی که به دلیل سایش،

توجه به خواص متفاوت عملکردی گیاهان نام برده، اهمیت ویژه آنها در فرآیند ترمیم زخم مشخص می‌شود.

به منظور ارزیابی پتانسیل گیاهان مذکور در ترمیم زخم‌های غیر عفونی پوستی، عصاره آنها در التیام زخم‌های غیر عفونی در رت مورد بررسی قرار گرفت و روند ماکروسکوپی و هیستوپاتولوژی ترمیم زخم ارزیابی شد. در طب سنتی از این گیاهان برای درمان التهاب یا عفونت زخم استفاده شده است، اما تا کنون تحقیقی بر روی اثر آنها در روند ترمیم زخم پوستی غیر عفونی گزارش نشده است. از آنجا که این گیاهان خواص درمانی شناخته شده متعددی از جمله خصوصیات ضد میکروبی و ضد التهابی دارند، پیش بینی می‌شود روند بهبود زخم را تسریع نمایند. امروزه برای ترمیم زخم‌های عمیق پوستی از تتراسیکلین استفاده می‌شود که ممکن است دارای اثرات جانبی باشد (۳). لذا در این پژوهش تأثیر عصاره گیاهان در مقایسه با داروی سنتزی تتراسیکلین بر روند التیام زخم‌های غیر عفونی در رت مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روشها

در این تحقیق از ۴۸ رت نر همسان، نژاد ویستار، با وزن ۵۰ ± ۲۵۰ گرم استفاده شد. رت‌ها در ۸ گروه ۶ تایی به صورت کاملاً تصادفی تقسیم و تأثیر عصاره های گیاهان مرزه کوهی، بادرنجبویه، سدر، گل ختمی، حنا در کنار پماد تجاری (تتراسیکلین) بر روند ترمیم زخم غیر عفونی بررسی شد. یک گروه به عنوان گروه کنترل که تنها زخم بر روی آن ایجاد شد و دارویی دریافت نکردند، یک گروه با زخم و تیمار هر عصاره و گروه دیگر با عصاره مخلوط پنج گیاه مورد تیمار قرار گرفتند. رت‌ها در قفسهای انفرادی، دمای ۲۲ ± ۲ درجه سانتی‌گراد، سیکل روشنایی، تاریکی ۱۲ ساعته، دسترسی آزادانه به آب و غذا در بخش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه اصفهان نگهداری شدند. گیاهان مورد نظر در مرکز هرباریوم دانشگاه اصفهان تعیین جنس و گونه شدند. مرزه کوهی (*Satureja bachtiarica*) و بادرنجبویه

جریان خون شوند. درمان ضد باکتری زخمها از عفونت جلوگیری می‌کند. سلولهای مستقر در لایه زیرین درم، بعد از آسیب پوست شروع به ساخت کلاژن نموده و سلولهای اپیتلیال را ترمیم می‌نمایند. بر این اساس، یافتن عوامل درمانی برای ترمیم سریع تر لایه درم و اپیدرم در برابر آسیبهای پوستی اهمیت ویژه دارد. امروزه استفاده از گیاهان دارویی به منظور کاهش عوارض جانبی ناشی از مصرف داروهای شیمیایی برای اهداف درمانی مورد استقبال قرار گرفته است (۱۸ و ۱۹). به عنوان مثال، مرزه (*Satureja bachtiarica*) دارای اثرات ضد التهابی و ضد باکتری اثبات شده ناشی از ترکیبات موجود در آن شامل کارواکول و فلاونوئیدها است (۱۰). بادرنجبویه (*Melissa officinalis*) به منظور درمان اختلالات گوارشی، زخم معده، بی‌اشتهایی در طب سنتی استفاده می‌شود و خواص درمانی متعدد مثل خصوصیات ضد باکتری، ضد قارچ، ضد ویروس، آنتی‌اکسیدانی و به دام اندازی رادیکالهای آزاد دارد (۵ و ۱۵). گیاه سدر (*Ziziphus spina christi*) به طور سنتی جهت تسریع بهبود زخمهای تازه (۱۲) و سوختگی استفاده می‌شود (۱)، همچنین این گیاه دارای اثرات ضد میکروبی است (۲). از طرفی، پکتین موجود در گیاه گل ختمی (*Althaea officinalis*) دارای اثر تحریک کنندگی سیستم ایمنی و فعالیت بهبود زخم است. استفاده از این گیاه در درمان بیماریهای پوستی از جمله اگزما گزارش شده است عملکرد آن را به تحریک فاگوسیتوز و فعال سازی ماکروفاژها نسبت می‌دهند (۲۱). گیاه جالب توجه دیگر حنا (*Lawsonia inermis*) است که برای درمان سوختگی و زخمهای دهانی کاربرد دارد (۳). درمان با عصاره هیدروالکلی گیاه حنا، سطح آنزیمهای آنتی‌اکسیدانی سلولی را افزایش می‌دهد (۲۰). از خواص درمانی ذکر شده برای این گیاه می‌توان کمک به بهبودی زخمهای عفونی ناشی از باکتریهای گرم مثبت را نام برد (۱۴). با

شامل برداشت تمام لایه‌های پوستی، ایجاد شد. عمق زخم شامل درم و هیپودرم بود (۱۳). سپس به مدت ۱۴ روز متوالی بستر زخم تحت تیمار پماد حاصل از گیاه و نیز تتراسیکلین قرار داده شد. در روزهای هفتم و چهاردهم پس از تیمار، حیوان از طریق تزریق کلروفورم به طور کامل بیهوش شد و از زخم هر گروه جهت مطالعات هیستوپاتولوژی نمونه برداری شد. بررسی‌های میکروسکوپی از طریق مشاهده ظاهر زخم و روند التیام روزانه انجام شدند. مقاطع بافتی با قرار دادن در فرمالین ۱۰ درصد به آزمایشگاه ارسال شدند و پس از تهیه برش با قطر ۵ میکرون توسط دستگاه میکروتوم و رنگ آمیزی به روش هماتوکسیلین - اتوزین با میکروسکوپ نوری Nikon مورد بررسی قرار گرفتند.

آنالیز داده‌ها: ابعاد لایه درم و اپیدرم با استفاده از عدسی مدرج تحت عنوان میکرومتر (دارای واحد میکرون) با بزرگنمایی ۱۰۰ به دست آمد و با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۷ تمامی نتایج به صورت میانگین و انحراف معیار بیان شدند. پس از مشخص نمودن توزیع داده‌ها، برای مقایسه نتایج هر متغیر در هر یک از گروه‌ها قبل و بعد از بررسی با اندازه‌گیری مکرر، از ANOVA یک طرفه و Duncan استفاده شد. سطح معنا داری کمتر از ۰/۰۵ برای تمامی آنالیزها در نظر گرفته شد.

نتایج

بررسی‌های میکروسکوپی از طریق مشاهده ظاهر زخم و روند التیام روزانه انجام شدند. در روز هفتم و چهاردهم بهبود زخم، عدم التهاب و عفونت، و التیام اپیدرم و درم در گروه‌های تیمار شده با عصاره گیاهان قابل توجه بود. نتایج با آنچه از مطالعه با تتراسیکلین به دست آمد قابل قیاس و چشمگیر است.

ترمیم اپیدرم: مشاهده گردید پس از ۷ روز تیمار، تمامی گیاهان به صورت معناداری ($p < 0.05$) در مقایسه با شاهد

(*Melissa officinalis*) از اعضای از خانواده Lamiaceae و حنا (*Lawsonia inermis*) عضو خانواده Lythraceae است. گیاه سدر (*Ziziphus spina christi*) از خانواده Rhamnaceae و گیاه گل ختمی (*Althaea officinalis*) از خانواده Malvaceae است.

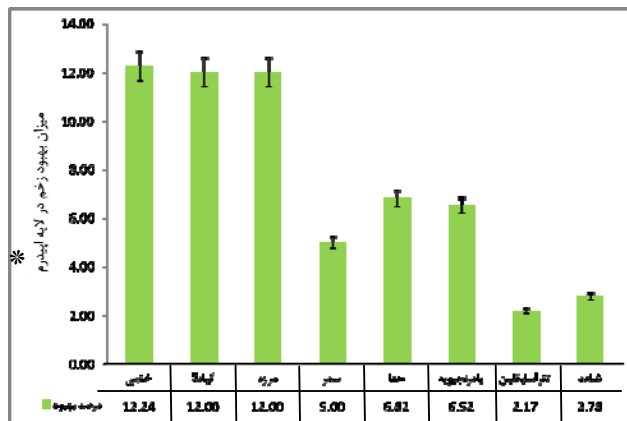
ابتدا گیاهان با آب مقطر به دقت شستشو داده شدند تا مواد زائد آنها جدا شود، سپس در زیر سایه و دمای ۲۵-۲۰ درجه سانتی‌گراد تحت شرایط کاملاً یکسان خشک شدند. جهت عصاره‌گیری ۱۵۰ گرم برگ خشک (برای ختمی از گل خشک استفاده شد) آسیاب شده گیاهان، در ۶۰۰ میلی لیتر الکل ۹۶ درجه به مدت ۲۴ ساعت با دور ۱۵۰ بر روی شیکر قرار داده شدند. به باقیمانده نمونه‌ها پس از گذراندن از کاغذ فیلتر، ۶۰۰ میلی لیتر الکل ۷۰ درجه اضافه شد و به مدت ۲۴ ساعت مجدداً بر روی شیکر با دور ۱۵۰ قرار گرفت. سپس محلول مرحله ۱ و ۲ مخلوط شده و توسط دستگاه تقطیر در خلأ تا یک سوم حجم اولیه تغلیظ شدند. سپس به مدت ۲۴ ساعت در داخل آون گذاشته شد. عصاره غلیظ به دست آمده، مجدداً در داخل آون ۵۰ درجه قرار گرفت. عصاره خشک در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (۵).

به منظور تهیه پماد، ۳ گرم از عصاره‌های به دست آمده در ۱۰ سی سی الکل ۷۰ درجه حل شد، سپس با ۱۰۰ گرم (آسیرین) مخلوط گردید تا محصول یکنواخت به دست آید. جهت تهیه پماد مخلوط پنج گیاه، ۳ گرم از هر گیاه را ترکیب کرده و از این مخلوط ۳ گرم برداشته و در ۱۰ سی سی الکل ۷۰ درجه حل شد.

آماده سازی رت‌ها برای جراحی با تزریق زایلازین با دز ۵ mg/kg در عضله ران صورت گرفت. برای القای بیهوشی، تزریق کتامین (با دز ۴۰ mg/kg) طبق ماده پیش بیهوشی انجام شد. پس از بیهوشی، پشت آنها ناحیه بین دو استخوان کتف تراشیده و با الکل ۷۰ درجه سطح آن با ابعاد ۱×۱ cm ضد عفونی شد. توسط تیغ جراحی، زخمی

۷ روز پس از تیمار) نتایج بهتری نشان داد ($p < 0.05$). پس از ۱۴ روز تیمار نیز لایه اپیدرم در اکثر نمونه‌ها بهبود یافته است (نمودار ۱).

باعث بهبود و ترمیم لایه اپیدرم شده‌اند. روند التیام گروه شاهد در مقایسه با تتراسیکلین مناسب‌تر بود ($p < 0.05$). گروه تیمار شده توسط گل ختمی در بین تمامی گروه‌ها

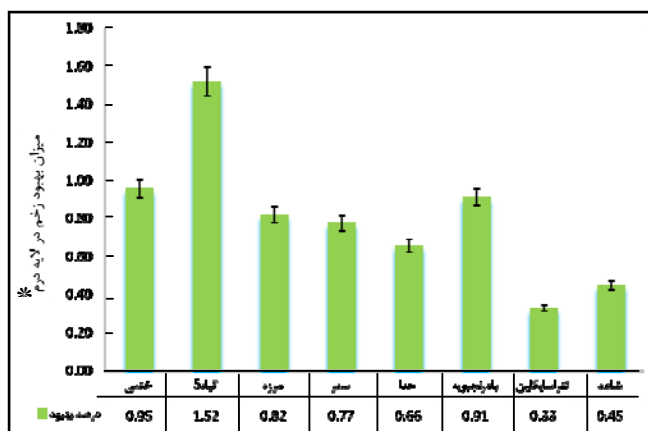


نمودار ۱- مقایسه میزان درصد بهبود زخم در لایه اپیدرم روز هفتم

* واحد بر اساس طول اپیدرم بر مبنای میدان میکروسکوپی با بزرگنمایی ۱۰۰، داده‌ها در ($p < 0.05$) معنی‌دار می‌باشند.

هفتم التیام قابل ملاحظه‌ای یافته‌اند ($p < 0.05$) (نمودار ۲). پس از ۱۴ روز تیمار، لایه درم تیمار شده با عصاره ختمی نسبت به سایر گروه‌ها بهبودی مناسب‌تری نشان می‌دهند ($p < 0.05$) (نمودار ۳).

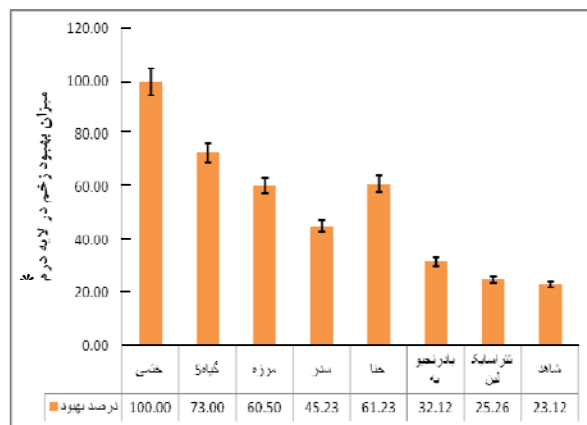
ترمیم درم: لایه درم پس از ۷ روز تیمار توسط عصاره‌ها و در مقایسه با شاهد، به طور معناداری ($p < 0.05$) التیام یافته است. روند بهبودی در گروه شاهد در مقایسه با تتراسیکلین حتی چشمگیرتر است. گروه تیمار شده با مخلوط ۵ گیاه و گل ختمی در میان تمام گروه‌ها در روز



نمودار ۲- مقایسه میزان درصد بهبود زخم در لایه درم (پس از ۷ روز تیمار)

* واحد سطح بر اساس طول و عرض سطح مقطع بافت ترمیمی درم بر مبنای میدان میکروسکوپی با بزرگنمایی ۱۰۰

داده‌ها در ($p < 0.05$) معنی‌دار می‌باشند.

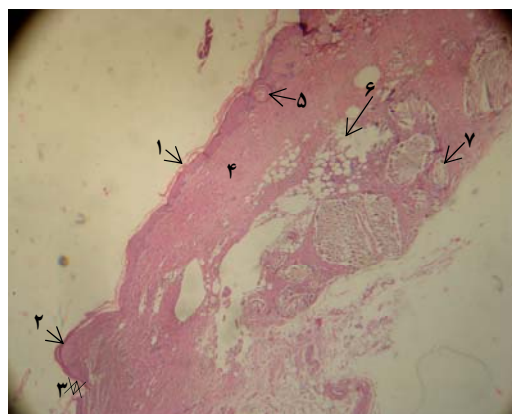


نمودار ۳- مقایسه میزان درصد بهبود زخم در لایه درم روز چهاردهم

* واحد سطح بر اساس طول و عرض سطح مقطع بافت ترمیمی درم بر مبنای میدان میکروسکوپی با بزرگنمایی ۱۰۰ داده‌ها در ($p < 0.05$) معنی‌دار می‌باشند.

گروه شاهد: بررسی میکروسکوپی نشان می‌دهد پس از گذشت ۷ روز لایه اپیدرم در گروه شاهد ترمیم نیافته در حالی که در روز چهاردهم این لایه تا حدودی التیام یافته، لیکن هنوز ترمیم کامل نشده است. در بررسیهای هیستوپاتولوژی، فولیکول نارس مو قابل رؤیت ولی ساقه مو تشکیل نشده است (شکل ۱).

در نمونه‌های تیمار شده با گیاه گل ختمی لایه اپیدرم در روزهای هفتم و چهاردهم همچنین لایه درم در روز چهاردهم، در مقایسه با گروه تیمار شده با مخلوط پنج گیاه، وضعیت مناسب‌تری نشان می‌دهند ($p < 0.05$). پس از هفت روز تیمار با پماد ۳ درصد مخلوط پنج گیاه، لایه درم در مقایسه با گروه تیمار شده توسط گل ختمی، دارای وضعیت بهتری است ($p < 0.05$).

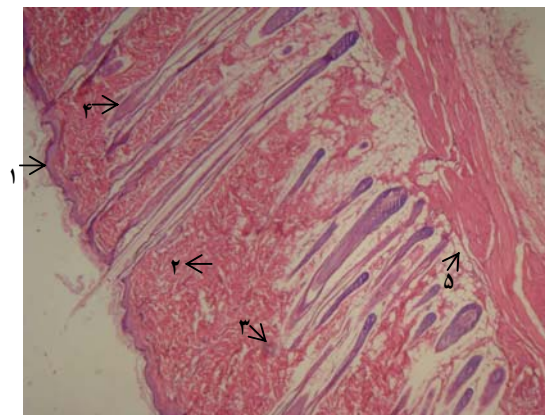


- ۱- اپیدرم
- ۲- هیپریلازی (روی هم رفتن بیش از حد اپیدرم)
- ۳- gap (فاصله اپیدرمی زخم)
- ۴- درم
- ۵- فولیکول نارس مو
- ۶- چربی
- ۷- عروق خونی

شکل ۱- تصویر میکروسکوپی زخم غیر عفونی گروه شاهد پس از ۱۴ روز تیمار با مخلوط ۵ گیاه. رنگ آمیزی H&E و بزرگنمایی ۴۰.

۱۴ روز کامل شده است. در داخل درم نسج گرانولاسیون بافت همبندی ترمیمی از بین رفته است. اجزای طبیعی درم شامل مو و غدد سباسه جایگزین شده اند به طوری که با حالت طبیعی تفاوتی ندارد (شکل ۲).

تأثیر ختمی: پس از گذشت ۷ روز تیمار با وجود اینکه نمونه تیمار شده با گیاه گل ختمی دارای زخم است، اما ترمیم تقریباً صورت گرفته و داخل درم، بافت همبندی ترمیمی گرانولاسیون هنوز باقی است. لایه اپیدرم پس از

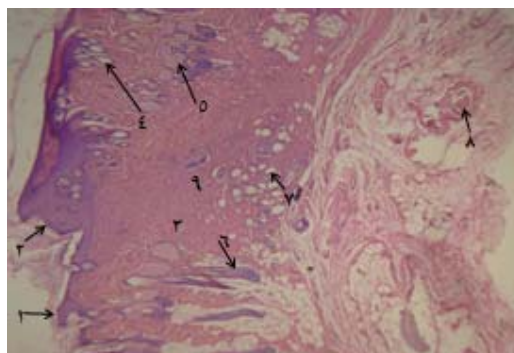


- ۱- اپیدرم
- ۲- درم
- ۳- غدد سباسبه
- ۴- ساقه مو
- ۵- چربی

شکل ۲- تصویر میکروسکوپی زخم غیر عفونی پس از ۱۴ روز تیمار با گل ختمی. رنگ آمیزی H&E و بزرگنمایی ۴۰.

در بهبود زخم، ترمیم و تشکیل اپیدرم بسیار چشمگیر است ($p < 0.05$)، با این تفاوت که تمام اجزای درم گروه تیمار شده با گیاه گل ختمی پس از هفت روز ترمیم شده، اما در گروه تیمار شده با مخلوط پنج گیاه هنوز در چند نقطه اجزاء کامل نشده بودند.

تأثیر مخلوط پنج گیاه: گروه تیمار شده با پماد حاصل از عصاره مخلوط پنج گیاه پس از ۷ روز نشان داد که اپیدرم تقریباً کامل شده است و درم تا حدودی ضایعه دارد. پس از گذشت ۱۴ روز، بررسیها کامل شدن اپیدرم را نشان می‌دهند (شکل ۳). تأثیر عصاره گل ختمی و مخلوط پنج گیاه



- ۱- اپیدرمی
- ۲- هیپرپلازی (روی هم رفتن بیش از حد اپیدرم)
- ۳- درم
- ۴- فولیکولهای نارس مو
- ۵- غدد سباسبه
- ۶- مو
- ۷- چربی
- ۸- عروق
- ۹- سلول التهابی

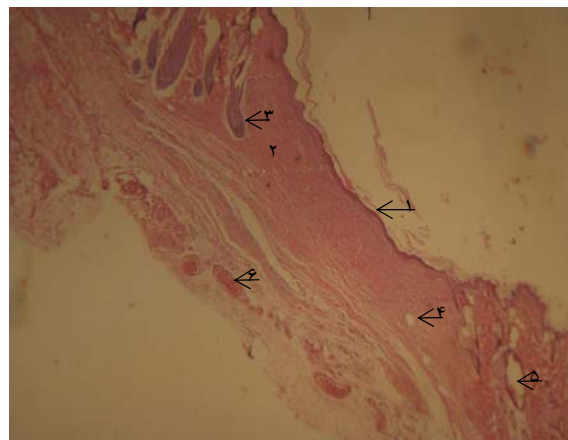
شکل ۳- تصویر میکروسکوپی زخم غیر عفونی گروه تیمار شده با مخلوط پنج گیاه پس از ۱۴ روز. رنگ آمیزی H&E و بزرگنمایی ۴۰.

تشخیص و سلولهای التهابی نیز مشاهده می‌شوند و حتی ۱۴ روز پس از تیمار با وجود اینکه التیام زخم کامل نشده، اپیدرم تشکیل شده است.

تأثیر حنا: نتایج پس از ۷ روز در گروه تیمار شده با گیاه حنا نشان داد که نمونه دارای زخم و اپیدرم دارای فاصله است. سلولهای التهابی هنوز قابل رؤیت هستند در حالی که پس از ۱۴ روز تیمار، اپیدرم کامل شده، بافت همبندی قابل رؤیت و ضمائم درم در دو طرف، نیمی از زخم را ترمیم نموده اند (شکل ۴).

تأثیر مرزه: در گروه تیمار شده با گیاه مرزه، پس از ۷ روز اپیدرم آنها تا حدودی ترمیم شده است ($p < 0.05$) و سلولهای التهابی قابل رؤیت می‌باشند. جالب اینکه ۱۴ روز پس از تیمار با عصاره این گیاه اپیدرم کامل شده است.

تأثیر بادرنجبویه و سدر: در گروه تیمار شده با پماد ۳ درصد بادرنجبویه پس از ۷ روز اپیدرم ناقص بود و سلولهای التهابی مشاهده نشد. در تیمار با گیاه سدر تا حدودی اپیدرم ترمیم شده است، عمل ترمیم قابل

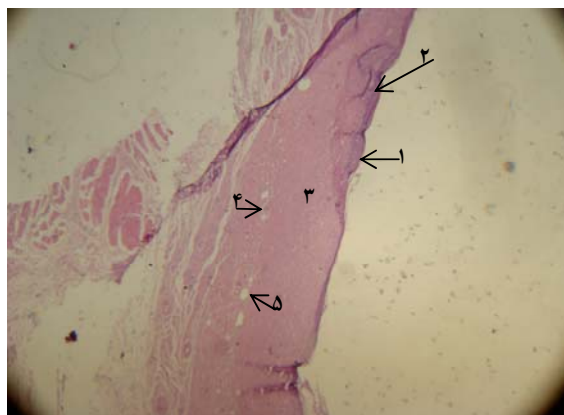


- ۱- اپیدرم
- ۲- درم
- ۳- ساقه مو
- ۴- چربی
- ۵- غدد سباسه
- ۶- عروق خونی

شکل ۴- تصویر میکروسکوپی التیام زخم غیر عفونی گروه تیمار شده با عصاره حنا پس از ۱۴ روز. رنگ آمیزی H&E و بزرگنمایی ۴۰.

ملاحظه می‌باشد و اپیدرم ترمیم نشده است. پس از گذشت ۱۴ روز اپیدرم تا حدودی کامل شده است. بافت همبندی وجود دارد و ضمام در حال تشکیل هستند (شکل ۵).

تأثیر تتراسیکلین: گروه رتهای تیمار شده با آنتی بیوتیک سنتزی در مقایسه با گروه شاهد سرعت ترمیم کندتری داشته است ($p > 0.05$). پس از گذشت ۷ روز تیمار با پماد ۳ درصد تتراسیکلین، نمونه تهیه شده دارای فاصله قابل



- ۱- اپیدرم
- ۲- هپیرپلازی (روی هم رفتن)
- پیش از حد اپیدرم)
- ۳- درم
- ۴- ساقه مو
- ۵- چربی

شکل ۵- تصویر میکروسکوپی روند التیام زخم پس از ۱۴ روز تحت تأثیر تتراسیکلین. با رنگ آمیزی H&E و بزرگنمایی ۴۰.

اپیتلیال می‌شوند. همچنین فلاونوئیدها را عاملی بر کلاژناسیون در نظر می‌گیرند (۶). مطالعات پیشین نشان داده است که گل ختمی به دلیل وجود ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها، دارای اثرات ضد میکروبی است که مانعی در مقابل رشد میکروارگانیسم‌ها و عفونت محسوب می‌شود (۶). گل ختمی دارای اثرات ضد التهابی و آنتی‌اکسیدانی قوی به علت حضور آلفاتوکفرول و افزایش ترشح موسین است (۱۷). لذا می‌توان نتیجه‌گیری نمود که عصاره هیدروالکلی این گیاه از طریق کاهش التهاب،

بحث

ترکیبات فنولی و فلاونوئیدها متابولیت‌های ثانویه در گیاهان هستند که تأثیرات مهمی از جمله خاصیت آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی و ضد میکروبی دارند. (۷). این ویژگیها در فرآیند التیام زخم مؤثر هستند. تأثیر فنلها در التیام بیماریهای پوستی، پیری پوست و آسیبهای پوست شامل زخم و سوختگی به اثبات رسیده است. آنها مدت زمان ترمیم زخم را کاهش می‌دهند. فلاونوئیدها با ایجاد حالت انقباض در محل زخم موجب تسهیل بازسازی سلولهای

ضد میکروبی، ضد ویروسی و ضد قارچی است و عصاره آن حاوی ساپونین، آلکالوئید، تانن، فلاونوئید و موسیلاژ می باشد که ترکیبات مؤثر در التیام و ضد عفونی شدن زخم هستند (۴). گیاه حنا با اثرات شناخته شده ضد باکتریایی، ضد ویروسی، ضد قارچی و آنتی‌اکسیدانی (۹ و ۱۶) غنی از فلاونوئیدها، اسید گالیک، مانیتول و موسیلاژ است (۳ و ۷). مهم‌ترین ترکیب شناخته شده حنا لاوسون (lawsone) است که اثر ضد باکتریایی دارد. در طب سنتی از حنا برای درمان آگزمای پوستی، زخم‌های دهان، جوش و التیام زخم استفاده شده است. انتظار می‌رود حضور ترکیبات نام برده با ویژگیهای فارماکولوژیک شناخته شده در هر یک از گیاهان فوق، اثر بخشی مخلوط پنج گیاه را در التیام زخم پوستی غیر عفونی افزایش داده باشند. به هر حال، نتایج مطالعه حاضر نشان داد عصاره گیاهان گل ختمی و مخلوط پنج گیاه آسیب لایه درم و اپیدرم را به طور معناداری نسبت به گروه شاهد کاهش داده است. در بررسیهای میکروسکوپی، گروه تیمار شده با گیاه گل ختمی دارای شرایط التیامی بهتری نسبت به سایر گروهها و شاهد بود.

نتیجه گیری

با توجه به یافته‌های این پژوهش، عصاره هیدرو الکلی گل ختمی بر روند ترمیم زخم غیر عفونی پوست رت مؤثرتر است. ترمیم اپیدرم در روز هفتم و ترمیم درم در روز چهاردهم تحت تیمار با عصاره گل ختمی روند مطلوب تری نسبت به عصاره پنج گیاه، مرزه، حنا، بادرنجبویه و سدر نشان دادند. التیام درم پس از هفت روز تیمار با عصاره پنج گیاه در مقایسه با تیمار توسط عصاره ختمی، بادرنجبویه، سدر و حنا چشمگیر تر است. به هر حال، مشاهدات کاهش معنادار آسیب در لایه اپیدرم و درم توسط عصاره گیاهان گل ختمی و مخلوط پنج گیاه را تأیید می‌نمایند.

زدودن رادیکالهای آزاد و مواد اکسیدان، روند ترمیم زخم غیر عفونی را بهبود بخشیده است (۶). عصاره آبی این گیاه فاگوسیتوز را تحریک می‌کند و باعث آزاد شدن رادیکالهای اکسیژن و لکوترینها از نوتروفیل‌های انسان می‌شود. این ویژگیها روند ترمیم زخم را بهبود می‌بخشند. تولید فاکتور اینترلوکین ۶ توسط ختمی افزایش می‌یابد که سبب تکثیر سلولهای اپیدرمی می‌شود (۱۷). خواص آنتی‌اکسیدانی و تحریک کننده سیستم ایمنی گل ختمی به حضور ترکیباتی از قبیل فلاونوئید، موسیلاژ و پکتین نسبت داده شده است (۸). براین اساس پیش بینی می‌شود روند ترمیم زخم در سطح اپیدرم و درم مرتبط با حضور ویژگیهای فوق الذکر در عصاره گل ختمی است.

مرزه با پیشینه شناخته شده ضد درد، ضد التهاب و التیام سوختگی پوست در طب سنتی، گیاهی مؤثر است. این گیاه با داشتن ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مثل فنلها موجب افزایش ابعاد کلاژن در محل ترمیم زخم می‌شود. همچنین آنژیوژنز و تکثیر و تمایز کراتینوسیت‌ها در محل زخم را تحریک می‌کند. التیام زخم توسط مرزه می‌تواند به حضور ترکیبات فنلی، تیمول و کارواکرول (که فعالیت ضد میکروبی دارند) در آن نسبت داده شود (۱۱). بادرنجبویه گیاهی با اثرات شناخته شده ضد ویروسی، ضد قارچی، ضد باکتریایی و ضد التهابی است که می‌تواند ناشی از وجود فلاونوئیدها، اسید کافئیک، اسید هیدروکسی بنزوئیک و اسید اولئیک در گیاه باشد (۵، ۱۵). پیش بینی می‌شود اثر التیام بخشی عصاره بادرنجبویه، حاصل فعال سازی مکانیسمهای مولکولی ترمیم زخم از سوی ترکیبات نامبرده در آن باشد (۵ و ۱۵).

گیاه سدر در طب سنتی برای نرم کردن زخم، درمان زخم و ضد عفونی کردن انگلهای پوستی استفاده می‌شود. مشخص شده است گیاه سدر دارای اثرات ضد التهابی،

منابع

- 1-Adzu B, Amos S, Wambebe C, Gamaniel K. 2001; Antinociceptive activity of *Zizyphus Spina-chirist* root bark extract. *Fitoterapia*.72(4):344-350.
- 2-Ali-Shtayah MS, Yaghmour RM, Faidi YR, Salem K, A-Nuri MA. 1998; Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the Palestinian area, *J Ethnopharmacol*. 60(3):265-271.
- 3-Al-Rubiay KK, Jaber NN, Al-mhaawe BH, Alrubaiy LK. 2008, Antimicrobial efficacy of henna extracts. *Oman Med J*. 23(4):253-6.
- 4-Carnat AP, Carnat A, Fraisse D and Lamaison JL. 1998, The aromatic and polyphenolic composition of lemon balm (*Melissa Officinalis L. Subsp.Officinalis*) tea. *pharm Acta Helv*. 72:301-305.
- 5-Dastmalchi K, Damien, Dormana H, Oiononena P, Darwisd Y, Laaksoa I, Hiltunen R. 2008, Chemical composition and in vitro antioscidative activity of a lemon balm (*Melissa Officinaliss L.*) extract. *LWT-food sci techno*. 41:391-400.
- 6-Devipriya, S Shyamaladedri GS, 1999, Protective effect of quereetin induced cell injury in the kidney. *Indian J pharmacol*. 31, 222-4.
- 7-Duke JA. 1985, CRC handbook of medicinal herbs. Boca Raton: CRC Press: 274-6.
- 8-Fukia T, Marumo A, Kaitouk, Kanadat, Terad S, Nomura T. 2002, Anti-helicobacter pylori flaronoids from licorice extract. *Life sci*. 71(12):1449-63.
- 9-Gupta AK. 2003, Quality standards of Indian medicinal plants. Indian council of medicinal research. 1:123-129.
- 10-Hajhashemi V, Ghannadi A, Pezeshkian SK. 2002, Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Satureja hortensis L.* extracts and essential oil. *J. Ethnopharmacol*. 82: 83-7.
- 11-Hajhashemi V, Sadraei H, Ghannadi A.R, Mohseni S. 2000, Anti-spasmodic and antidiarrhoeal effect of *Satureja hortensis L.* essential oil. *Journal of Ethnopharmacology*. 71:1-2.
- 12-Hutchens AR. 1973. *Indian Herbage of North America*. Shambhala: Boston. pp382.
- 13-Khorasgani A, Karimi A.H, Nazem M.R. 2010, A comarsion of healing effects of propolis and silver sulfadiazine on full thickness skin wounds in rats. *Pak Vet J*. 30(2):72-74.
- 14-Malekzadeh F. 1986, Antimicrobial activity of *Lawsonia inermis L.* *Applied microbiology*, 16(4):663-664.
- 15-Moradkhani H, Sargsyan E, Bibak H, Anseri B, Sadat-Hosseini M, Fayazi-Barjin A, Meftahizadeh H. 2010, *Melissa Officinalis L.*, a valuable medicine plant: A Review. *J medicinal plants Research*. 4:2753-2759.
- 16-Sastri BN. 1962, The wealth of India: Raw materials. Edn6, vol. (L-M), CSIR, New Delhi, 47-50.
- 17-Scheffer J, Wagner H, Proksch A. 1991, Radix althaea und Flores chamomillae Extrakte auf Entzündungsreaktionen humaner neutrophiler Granulozyten, Monozyten und Rattenmastzellen. In: Abstracts of the third phytotherapy congress. Lubech-Travemunde: Abstract., p9.
- 18-Souba WW, Wilmore D. 1999, Diet and nutrition in case of the patient with surgery. trauma and sepsis. In: Shils ME, Olsar JA, Shike M, Editors. *Modern nutrition in health and disease*. 9th ed. Baltimore: Williams and Wilkins, pp: 1589 - 618.
- 19-Souba WW, Wilmore D. 1999, Diet and nutrition in case of the patient with surgery. 9th Ed, Baltimore: Williams and Wilkins Press; 1589-1618.
- 20-T Dasgupta, A.R Rao, P.K Yadara, 2003, "Modulatory effect of henna leaf (*Lawsonia inermis*) on drug metabolizing phase I and phase II enzymes, antioxidant enzymes, lipid peroxidation and chemically induced skin and forestomach papillomagenesis in mice, *Molecular and cellular Biochemistry*. 245, 11-22.
- 21-Yamada H. 1996, Pectins and pectinases, *Proceedings of an International Symposium*. *Progress Biotechnol*. 14:173-190.

Histopathological evaluation of non-infectious skin deep wound healing activity of herbal extract

Miroliaei M.¹, Chelongar R.², Aminjafari A.¹, Talebi A.³ and Ghiyas M.⁴

¹ Biochemistry and Molecular Biology Division, Biology Dept., Faculty of Sciences, University of Isfahan Isfahan, I.R. of Iran

² Biology Dept., Faculty of Sciences, Payame Nour University of Yazd, Yazd, I.R. of Iran

³ Division of Pathology, Group of Medical Sciences, School of Medicine, Medical University of Isfahan, Isfahan, I.R. of Iran

⁴ Faculty of Geography, University of Isfahan, Isfahan, I.R. of Iran

Abstract

Despite major advances in treatment of wound, healing remained as one of the most important challenges ahead. Since antioxidant, antimicrobial and anti-inflammatory properties of *Melissa officinalis*, *Zizyphus spina-christi*, *Althaea officinalis*, *Satureja bachtiarica* have been proven and these properties are involved in wound healing, The present investigation was undertaken to assess the efficacy of mentioned officinal herbs hydroalcoholic extracts on thickness and non-septic wound healing model in rat. Each extract was co-administered for 7 and 14 consecutive days on 50 experimental wounded rats. Macroscopic observations showed all applied hydroalcoholic extracts had wound healing potentials. *Althaea officinalis* extract presented the most activity in wound healing specified by significant increase in wound contraction. Furthermore, histopathological assessments confirmed the wound healing potential of *Althaea* extract. This could be attributed to the induction effects of a typical fibroblast affecting wound contraction. It was observed a combined hydroalcoholic extract from all herbs also possesses wound healing potential properties less than *Althaea officinalis*.

Key words: wound healing, Histopathology, *Melissa officinalis*, *Zizyphus spina-christi*, *Althaea officinalis*