University of Tehran Press

Journal of Veterinary Research

Homepage: jvr.ut.ac.ir

Online ISSN: 2251-6190

Original Article

J Vet Res, Volume 78, Number 1, 2023, 9-19

Evaluation of Skin Repairing and Antifungal Properties of Alcoholic Extract of *Laleh abbasi* (*Mirabilis jalapa*) Leaf on Induced Wounds in Laboratory White Rat Model

Behran Zamani Raad[1]✉, Seyed Hossein Mardjanmehr[2]✉, Farhang Sasani[2]✉, Alireza Khosravi[3]✉, Mohammad Javad Gharagozlou[2]✉

[1] *Graduated from the Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran*
[2] *Department of Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran*
[3] *Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran*

Received: *15 March 2023****, Accepted:*** *26 December 2022*

10.22059/jvr.2022.340558.3247 20.1001.1.20082525.1402.78.1.2.4

Abstract

BACKGROUND: Based on the historical and recently published documents, it has been demonstrated that Mirabilis jalapa as a herbal medicine may be used as remedies for various health problems included wound healing purposes.

OBJECTIVES: The present study aimed to investigate the effect of ethanolic extract of *Laleh abbasi* green leaf on healing open wounds induced by skin puncture in the back of rats.

METHODS: Collecting and drying *Laleh abbasi* leaves, leaf extracting through Soxhlet procedure, analyzing the extract via gc / ms method, and preparing eucerin-based extract ointment were done according to recommended routine procedures. Herein, we recruited 40 male rats that were randomly divided into five groups of eight, namely the control, phenytoin treatment, eucerin, 5% eucerin extract, and 7.5% eucerin extract ointment treatment groups. Skin puncture and application of ointments on the induced wounds were carried out. Subsequently, tissue samples were taken on days 3, 7, 10, and 14, followed by which histological slides were prepared and stained with H&E and Masson's trichrome staining methods. In vitro mycological studies were conducted using opportunistic fungi, including Candida, Mucor, and Aspergillus species.

RESULTS: Based on the macroscopic evaluations of the wound healing process and microscopic assessments of tissue samples stained with Harris H&E and Masson's trichrome methods, the groups treated with eucerin-based ointments containing ethanolic extract of *Laleh abbasi* leaf had statistically significant positive wound healing responses compared to the other groups. However, the 7.5% ointment group showed statistically better responses compared to the 5% ointment group. The data obtained in the present preliminary experiment on rat model indicated that the extract could facilitate the wound healing process in terms of healing parameters, such as accelerating epithelium repair, creating a favorable inflammatory reaction, angiogenesis, fibroplasia, and collagen precipitation. The antifungal effects of ethanolic extract of *Laleh abbasi* leaves on *Aspergillus fumigatos*, *fusarium*, *Candida albicans* and *Candida cruzei* were demonstrated in vitro using saboro dextrose agar medium.

CONCLUSIONS: According to the findings of this experimental study and the findings of other researchers, it can be concluded that ethanolic extract from *Laleh abbasi* leaves is of healing and antifungal properties.

Keywords: Antifungal effects, Ethanolic extract, histopathology study, Induced skin wound healing, *Laleh abbasi* flower leaf

Copyright © Veterinary Research: Open Access; Copying, distribution and publication are free for full use with attribution. ©The Author(s)
Publisher: University of Tehran

Corresponding author: Mohammad Javad Gharagozlou, Tel/Fax: 021-66933222

How to cite this article:

Zamani Raad, B., Mardjanmehr, S. H., Sasani, F., Khosravi, A., Gharagozlou, M. J. Evaluation of Skin Repairing and Antifungal Properties of Alcoholic Extract of *Laleh abbasi* (*Mirabilis jalapa*) Leaf on Induced Wounds in Laboratory White Rat Model. J Vet Res, 2023; 78(1): 9-19. doi: 10.22059/jvr.2022.340558.3247

Figure Legends and Table Captions

Table 1. Extraction and analysis of specimens with gas chromatography/mass spectrometry method.
Table 2. Effect of different treatments on the inflammatory reaction, neovascularization, fibroplasia, collagen precipitation, and epithelial tissue formation (mean ± standard deviation) on the 10th day of the experiment.
Table 3. Effect of different treatments on the inflammatory reaction, neovascularization, fibroplasia, collagen precipitation, and epithelial tissue formation (mean ± standard deviation) on the 14th day of the experiment.
Table 4. Effect of different treatments on wound diameters (mean ± standard deviation) and wound area (mean ± standard deviation) during the experiment.
Diagram 1. The effect of ointment treatment on the average ± standard deviation of wound area size (mm2) on different days of the experiment.
Figure 1. A. Photomicrograph of the group treated with 7.5% ointment group, B. From the healing ulcer treated with 7.5% ointment on day 7, C. From the group treated with the 7.5% ointment, D. From the group treated with the 7.5% ointment on day 14.
Figure 2. A. The treatment group with 5% ointment on day 14, B. The treatment group with eucerin on day 14, C. The phenytoin treatment group on day 14. D, The control group on day 14.

مجله تحقیقات دامپزشکی
Homepage: jvr.ut.ac.ir
شاپا الکترونیکی: ۶۱۹۰-۲۲۵۱
انتشارات دانشگاه تهران
مقاله پژوهشی
دوره ۷۸، شماره ۱، ۱۴۰۲، ۱۹-۹

اثرات عصاره الکلی برگ گل لاله عباسی (*Mirabilis jalapa*) بر روی روند ترمیم زخم باز پوستی القایی در مدل رت و خاصیت ضدقارچی آن

بهران زمانی‌راد[۱]، سیدحسین مرجانمهر[۲]، فرهنگ ساسانی[۲]، علیرضا خسروی[۳]، محمد جواد قراگزلو[۲]

[۱] دانش آموخته دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران
[۲] گروه پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران
[۳] گروه میکروبیولوژی و ایمونولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران،تهران ،ایران

تاریخ دریافت: ۵ دی ماه ۱۴۰۱، **تاریخ پذیرش:** ۲۴ اسفند ماه ۱۴۰۱
10.22059/jvr.2022.340558.3247 20.1001.1.20082525.1402.78.1.2.4

چکیده

زمینهٔ مطالعه: بر اساس مدارک و مستندات تاریخی و مقالاتی که اخیراً به چاپ رسیده است نشان داده شده که گیاه گل لاله عباسی به عنوان یک گیاه دارویی ممکن است برای مقاصد درمانی از جمله ترمیم زخم مورد استفاده قرار گیرد.

هدف: مطالعه تجربی چگونگی اثر عصاره اتانولی برگ سبز لاله عباسی بر روی ترمیم زخم باز ایجاد شده به‌وسیله پانچ پوستی در ناحیه پشت رت و خاصیت ضدقارچی آن در خارج از بدن در آزمایشگاه.

روش‌کار: جمع‌آوری گیاه و خشک نمودن برگ گل لاله عباسی، عصاره‌گیری به روش سوکسله، آنالیز عصاره به روش Gas chromatography/Mass spectrometry (GC/MS)، تهیه پماد از عصاره بر پایه اوسرین، فراهم‌آوری ۴۰ سر رت نر، تقسیم اتفاقی رت‌ها به ۵ گروه ۸ تایی شامل گروه کنترل، گروه درمان با فنی‌توئین ۱ درصد، گروه‌های اوسرین شامل گروه‌های درمان با پماد اوسرین به تنهایی و اوسرین حاوی ۵ درصد و ۷/۵ درصد عصاره اتانولی برگ گل لاله عباسی. ایجاد پانچ پوستی وکاربرد پمادها در طول دوره مطالعه بر زخم‌های پوستی، نمونه برداری از زخم‌ها در روز ۳، ۷، ۱۰ و ۱۴، تهیه لام و رنگ‌آمیزی به روش هماتوکسیلین و ائوزین و ماسون تری‌کروم، بررسی آسیب‌شناسی نمونه‌های اخذ شده و بررسی اثر عصاره گیاه بر روی قارچ‌های فرصت‌طلب به روش Minimum inhibitory concentration(MIC).

نتایج: بررسی‌های ماکروسکوپیک روند ترمیم زخم‌ها و مشاهده نمونه‌های بافتی رنگ‌آمیزی شده با هماتوکسیلین و ائوزین هاریس و ماسون تری‌کروم نشان داد که درمان با عصاره اتانولی برگ گل لاله عباسی در اوسرین از لحاظ پارامترهای التیامی از قبیل تسریع در ترمیم اپیتلیوم، ایجاد شرایط مطلوب رگ‌زایی، فیبروپلازی و ترسیب کلاژن و واکنش التهابی تأثیر مثبتی در ترمیم زخم دارد. به ویژه در روز ۱۰ و ۱۴ درمان، تأثیر عصاره ۷/۵ درصد از نظر آماری در مقایسه با گروه ۵ درصد و سایر گروه‌ها به‌طور معنی‌داری مطلوب‌تر بود. به علاوه اثر ضدقارچی عصاره اتانولی برگ گل لاله عباسی بر روی گونه‌های آسپرژیلوس فومیگاتوس، فوزاریوم، کاندیدااَلبیکنس و کاندیدا کروزه‌ای در کشت روی سابورو دکستروزآگار نشان داده شد.

نتیجه‌گیری نهایی: با توجه به یافته‌های مطالعه حاضر تجربی و یافته‌های سایر محققین می‌توان به این نتیجه رسید که عصاره اتانولی برگ گل لاله عباسی علاوه بر داشتن خاصیت ضدالتهابی و ضدمیکروبی می‌تواند شرایط مطلوب‌تری را برای ترمیم زخم‌های پوستی فراهم کند.

کلمات کلیدی: اثرات ضدقارچی، برگ گل لاله عباسی، ترمیم زخم القایی پوستی، عصاره اتانولی، مطالعه آسیب‌شناسی

کپی‌رایت © تحقیقات دامپزشکی: دسترسی آزاد؛ کپی‌برداری، توزیع و نشر برای استفاده کامل با ذکر منبع آزاد است، © نویسندگان.
ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

نویسنده مسئول: محمد جواد قراگزلو، گروه پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران

مقدمه

ترمیم زخم از دیرباز یکی از مهم‌ترین و اساسی‌ترین مشکلاتی است که بشر از ابتدای خلقت با آن مواجه بوده است. امروزه برای این معضل از داروها و پمادهای بسیاری برای ترمیم زخم‌های باز استفاده می‌شود که هر کدام از آن‌ها ممکن است عوارض و نقایصی را به همراه داشته باشند

(۱، ۲). گیاه لاله عباسی از جمله گیاهانی است که در طب سنتی موارد کاربرد بسیاری داشته و به عنوان مسهل، درمان بیماری‌های انگلی کرمی، التیام زخم و زخم‌های ناشی از سوختگی، رسانیدن دمل و تحلیل ورم و رفع التهاب، جوش و کورک، فلگمون، درمان عوارض بیماری‌های ادراری تناسلی مانند سوزاک، اسپاسم عضلانی، رفع کبودی، استفاده می‌شود. همچنین در برخی کشورهای آمریکای جنوبی عصاره برگ‌های این گیاه را برای درمان التهاب به کار می‌برند. در کشور برزیل بومی‌های این منطقه از جوشانده ریشه این گیاه جهت شستشوی زخم‌ها و درمان ضایعات پوستی استفاده می‌کنند (۳-۵).

امروزه مطالعات بسیاری بر روی استفاده از روش‌های درمانی نوین صورت گرفته است، تا به کمک این روش‌ها بتوان به اهدافی از قبیل تسریع روند ترمیم زخم، جلوگیری از عفونی شدن زخم و کم‌کردن بار میکروبی زخم، افزایش قدرت کشسانی بستر زخم، کاهش اندازه اسکار زخم، ایجاد ضمایم پوستی در موضع ترمیم و کاهش درد و آلام بیمار دست یافت (۶).

هم اکنون در بسیاری از کشورها برای درمان جراحات پوستی از محلول‌های ضدعفونی کننده نظیر بتادین، سرم فیزیولوژیک، اسید استیک، کلرهگزیدین، پمادهای آنتی‌بیوتیک و کورتیکواستروئیدها از جمله هیدروکورتیزون استفاده می‌شود که مطالعات اخیر از احتمال سمی بودن و نامناسب بودن بسیاری از این مواد برای عوامل اصلی دخیل در روند ترمیم زخم به خصوص آنژیوبلاست‌ها، فیبروبلاست‌ها، سلول‌های آماسی از جمله نوتروفیل‌ها، سلول‌های دودمان منوسیت-ماکروفاژ و لنفوسیت‌ها حکایت می‌کند. مطالعات بسیاری بر روی روند ترمیم زخم صورت گرفته که حاصل آن مواد متفاوتی است که به صورت مرهم برای زخم‌ها تهیه و به بازار عرضه شده‌اند که اغلب این مواد به صورت ترکیبات گیاهی و گاهی شیمیایی بوده‌اند، اما تا کنون هیچ کدام از این مواد به صورت یک داروی کاملاً رضایت‌بخش مورد توجه و تأیید قرار نگرفته است (۷).

گل لاله عباسی با نام علمی میرابیلیس جالپا گیاهی از خانواده *Nyctaginacae* که با نام‌های دیگری چون لاله چولاغاسی، لاله مقراضی، Bonina، Marvilha و گل عباس شناخته می‌شود. آنالیز ترکیبات شیمیایی قسمت‌های مختلف گیاه لاله عباسی حضور عواملی از قبیل آلکالوئیدها، فلاوونوئیدها، فنل‌ها، استروئیدها، تریترپن‌ها، گلیکوزیدها، تانن‌ها، ساپونین‌ها و لیگنین‌ها را ثابت کرده است (۸).

مرور نوشته‌های قدیمی و مطالعات اخیر حاکی از این است که بخش‌های مختلف گیاه لاله عباسی با داشتن ترکیبات مفید و بی‌ضرر دارای خواص طبی متعددی می‌باشد (۹، ۱۰). با توجه به اهمیت بهبود و تسهیل روند ترمیم زخم‌های باز پوستی پماد متشکل از مخلوطی از اوسرین به‌عنوان حامل و عصاره اتانولی برگ سبز گل لاله عباسی بر روی زخم پوستی تجربی در موش سفید آزمایشگاهی با استفاده از روش‌های آسیب‌شناسی مورد آزمایش قرار گرفت. به علاوه نظر به این‌که عوامل میکروبی از جمله قارچ‌های فرصت طلب ممکن است زخم باز را مورد تهاجم قرار دهند، اثرات ضد قارچی این عصاره در شرایط برون‌تنی ارزیابی شد (۱۰).

مواد و روش کار

برگ‌های سبز گیاه لاله عباسی از باغ‌ها و باغچه‌ها جمع‌آوری شد. این گیاه به شماره ۲۱۳۴۹ در هرباریوم دانشگاه تهران به ثبت رسیده است. برگ‌های جمع آوری شده را به هرباریوم انتقال داده و بعد از اطمینان حاصل نمودن از گیاه با نمونه ثبت شده در این هرباریوم ادامه روند مطالعه آغاز گردید. برگ‌های جمع‌آوری شده توسط آب مقطر شستشو و به مدت ۲ هفته در دمای اتاق خشک شدند. میزان ۲۰۰ گرم از برگ خشک شده را کاملاً آسیاب کرده سپس پودر را در یک بشر مناسب ریخته و اتانول ۷۰ درصد به اندازه‌ای به آن اضافه شد که پس از مخلوط کردن به ماده خمیری شکلی تبدیل شود. سپس آن را در کیسه‌های متقالی که متناسب با حجم سوکسله تهیه شده بود ریخته تا نصف ظرف پر شود ست سوکسله را روی بالن که در جایگاه اجاق الکتریکی قرار دارد گذاشته و با گیره تثبیت شد. از بالای محفظه سوکسله اتانول ۷۰ درصد را کم‌کم اضافه کرده تا نصف حجم بالن را پر کند. مبرد را بر روی سوکسله قرار داده و جریان آب سرد بر قرار شد. سپس اجاق الکتریکی را روشن کرده و درجه آن طوری تنظیم گردید تا حلال درون بالن به طور متعادل بجوشد. عمل عصاره‌گیری تا ۵۰ ساعت به طول انجامید. پس از پایان عصاره‌گیری دستگاه خاموش، تفاله‌های گیاه که فاقد عصاره است را دور ریخته و عصاره مایع درون بالن را با قیف و کاغذ صافی صاف نموده و بر حسب دستورالعمل مورد استفاده قرار گرفت. در پایان جهت ساخت پمادهای درمانی، مقدار ۵ گرم یا ۷/۵ گرم از عصاره خشک شده برگ لاله عباسی را به ترتیب به ۹۵ گرم و ۹۲/۵ گرم پماد پایه (اوسرین) به شکل وزنی- وزنی اضافه شد، تا به ترتیب پمادهای ۵ درصد

و ۷/۵ درصد به دست آید (۱۱).

حیوانات مورد مطالعه: در مطالعه حاضر از ۴۰ سر رت نر نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۰۰-۱۵۰ گرم استفاده شد. دو هفته قبل از مطالعه این رت‌ها به حیوان خانه منتقل و در قفس‌های استاندارد تحت شرایط نوردهی کنترل شده ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و دمای ثابت ۲±۲۳ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. در حین مطالعه تمام حیوانات آزادانه به پلت و آب تازه دسترسی داشتند. مطالعه حاضر تمام ملاحظات اخلاقی و پروتوکل‌های کار بر روی حیوانات آزمایشگاهی، مورد تأیید کمیته نظارت بر روی حقوق حیوانات آزمایشگاهی انجام شد (۱۲).

روش القاء بیهوشی و ایجاد زخم: القاء بیهوشی با تزریق زایلازین هیدروکلراید ۲ درصد با دز ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم و کتامین هیدروکلراید ۵ درصد با دز ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (۱۳) به صورت داخل صفاقی انجام شد. هر رت روی میز جراحی در وضعیت شکمی قرار گرفته و پس از موچینی پشت حیوان توسط اتانول ۷۰ درصد و محلول صابونی پویدن آیودین، ضد عفونی و سپس با کمک پانچ بیوپسی ۸ میلی متری شرکت KAI ژاپن زخم‌هایی با تمام ضخامت بر روی پشت حیوان ایجاد گردید. در روزهای ۳، ۷، ۱۰ و ۱۴ قطر زخم اندازه‌گیری و به منظور بررسی آسیب‌شناسی نمونه بافتی از زخم در حال ترمیم برداشته شد. برای جلوگیری از ایجاد مداخله در روند مطالعه هر رت پس از برداشت نمونه بافتی، از روند مطالعه کنار گذاشته شد.

روش کاربرد پماد: در مطالعه حاضر ۴ نوع پماد موضعی مورد استفاده قرار گرفت. رت‌ها به صورت اتفاقی به ۵ گروه ۸ تایی تقسیم شدند: گروه اول به عنوان شاهد هیچ گونه درمانی دریافت نکردند، گروه دوم به عنوان دارونما فقط با شم دارو یعنی اوسرین مورد تیمار قرار گرفتند، گروه سوم پماد اوسرین حاوی ۵ درصد عصاره اتانولی برگ گل لاله عباسی، گروه چهارم پماد اوسرین حاوی ۷/۵ درصد عصاره اتانولی برگ گل لاله عباسی و گروه پنجم به عنوان گروه کنترل مثبت با پماد فنی‌توئین ۱ درصد ساخت شرکت داروسازی کیش مدیفارم که به صورت تجاری در دسترس بود مورد تیمار قرار گرفتند. به استثنای گروه کنترل تمام گروه‌ها روزانه یک بار پماد را دریافت کردند (۱۴).

بررسی آسیب‌شناسی: در روزهای ۳، ۷، ۱۰ و ۱۴ پس از ایجاد زخم و بعد از القاء بیهوشی عمومی قطعه‌ای از زخم در حال ترمیم با تمام ضخامت همراه با ۲ میلی‌متر از حاشیه پوست سالم از حیوان مورد مطالعه جدا و بلافاصله در داخل ظرف حاوی فرمالین بافر ۱۰ درصد قرار داده شد. سپس فرمالین نمونه‌های پوستی بعد از ۲۴ ساعت تعویض گردید. نمونه‌های پایدار شده در دستگاه هیستیوکینت فرآوری، قالب‌گیری در پارافین، تهیه مقاطع با ضخامت ۵ میکرون با دستگاه میکروتوم و در انتها با روش هماتوکسیلین و ائوزین هاریس و ماسون تری‌کروم به منظور مطالعه روند ترمیم از جمله مراحل آماسی، تشکیل بافت جوانه‌گوشتی، اپیتلیالیزاسیون و ترسیب کلاژن رنگ‌آمیزی شدند. شمار سلول‌های آماسی پلی‌مورفونوکلیر، عروق خونی تازه تشکیل، فیبروبلاست‌ها، فیبروسیت‌ها و حضور الیاف چسبگن در هر میلی‌متر مربع زخم در حال ترمیم توسط نرم افزار ANIX با بزرگ نمایی۴۰، ۱۰۰ و ۴۰۰ مورد ارزیابی قرار گرفت.

تحلیل آماری داده‌ها: اطلاعات به دست آمده با استفاده از آزمون تجزیه و تحلیل واریانس یک طرفه (ANOVA)، مورد واکاوی آماری قرار گرفتند. تفاوت در ($P<۰/۰۵$) معنی‌دار در نظر گرفته شد. یافته‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار (mean±S.D) نشان داده شد.

شناسایی مواد موجود در عصاره الکلی برگ گل لاله عباسی به روش GC/MS: با بهره‌گیری از دستگاه کروماتوگرافی گازی طیف سنجی جرمی عصاره الکلی برگ گل لاله عباسی آنالیز شد.

بررسی اثر ضد قارچی عصاره: به منظور انجام مطالعه حاضر از ۱۰ رقت عصاره الکلی برگ سبز لاله عباسی (بر حسب میکروگرم بر میلی‌لیتر) استفاده گردید که شامل ۶۲/۵، ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰، ۳۰۰۰، ۴۰۰۰، ۵۰۰۰ و ۱۰۰۰۰ بودند.

جدایه‌های قارچی رشته‌ای شامل آسپرژیلوس فومیگاتوس، فوزاریوم، کاندیدا آلبیکانس و کاندیدا کروزه‌ای در محیط سابورو دکستروزآگار کشت داده شده و در انکوباتور در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک هفته انکوبه شدند. بعد از یک هفته به میزان ۵ میلی لیتر از محلول Physiology serum + tween80 (PST) (حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی نرمال + ۱۰ میکرولیتر توبین ۸۰ و سپس اتوکلاو محلول) روی محیط کشت سابورو دکستروزآگار اضافه و با لوپ استریل کاملاً سطح کلنی‌ها شست‌وشو، تهیه سوسپانسیون قارچی و ورتکس آن به مدت ۱۵ ثانیه و قرار دادن آن به مدت ۵ تا ۱۰ دقیقه در آزمایشگاه تا میسیلیوم‌ها ته نشین و اسپورها در تعلیق قارچی باقی بماند. در ادامه،

این سوسپانسیون به وسیله سمپلر به لوله دیگر منتقل و به وسیله لام نئوبار تعداد اسپورها شمارش شدند. تعداد استاندارد کونیدی‌های قارچی باید ۵×۱۰۶ - ۲ کونیدی بر میلی‌لیتر باشد و طبق پروتوکل قارچ‌های رشته‌ای، برای به دست آوردن تعداد ۵×۱۰۵- ۲ کونیدی بر میلی‌لیتر و غلظت نهایی، دوباره با آب مقطر استریل رقت یک دهم تهیه، تا سوسپانسیون نهایی برای انجام آزمون حساسیت دارویی و انجام آزمون MIC آماده شود. در مورد قارچ‌های مخمری، رقت ۵×۱۰۶- ۲ کونیدی بر میلی‌لیتر در محیط سابورو براث تهیه شد (۱۵).

تعیین حداقل غلظت ممانعت از رشد یا MIC: برای سنجش MIC از روش میکرودایلوشن استفاده شد. برای این منظور میکروپلیت‌های ۹۶ خانه ته صاف استریل به همراه محیط سابورو دکستروزبراث به کار گرفته شد. پایین‌ترین غلظتی که از رشد قارچ جلوگیری کند به عنوان MIC ماده ضد قارچی در نظر گرفته می‌شود که بر حسب میکروگرم در میلی‌لیتر می باشد (۱۶).

یکصد میکرولیتر از هر یک از رقت‌های تهیه شده عصاره الکلی برگ سبزگل لاله عباسی در محیط سابورو دکستروز براث در میکروپلیت‌های مسطح ۹۶ خانه‌ای به هر چاهک اضافه شد. بدین ترتیب چاهک اول حاوی بیشترین غلظت و چاهک دهم حاوی کمترین غلظت بود. به گودهای ۱۱ و ۱۲ به عنوان کنترل مثبت و منفی هیچ‌گونه عصاره‌ای اضافه نشد. به دنبال آن به هریک از گودهها به میزان ثابت ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون استاندارد قارچی اضافه نموده تا حجم نهایی مخلوط برابر با ۲۰۰ میکرولیتر شود. گوده ۱۱ حاوی ۱۰۰ میکرولیتر محیط و ۱۰۰ میکرولیتر سوسپاسیون قارچی به عنوان کنترل مثبت یا Growth control (GC) و گوده ۱۲ که فقط حاوی محیط کشت بود به عنوان کنترل منفی Sterility control (SC) در نظر گرفته شد. این آزمون برای هر جدایه قارچی در ردیف افقی مجزا و به صورت دوبار تکرار انجام شد (۱۷).

در این آزمون بیشترین غلظت در گوده اول معادل ۱۰۰۰۰و کمترین غلظت در گوده دهم برابر با ۶۲/۵ میکروگرم در هر میلی‌لیتر بود. این پلیت‌ها در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت انکوبه و بعد از گذشت دوره انکوباسیون میکروپلیت‌ها از انکوباتور خارج و به صورت چشمی قرائت شدند. گوده‌ای که مانع رشد قارچ گردیده به عنوان MIC در نظر گرفته شد.

جدول ۱. عناصر جدا شده و آنالیز عصاره به وسیله دستگاه کروماتوگرافی گازی/ طیف سنجی جرمی.

شماره	دور(دقیقه)	محل	نام	کیفیت	شماره جداسازی	درصد
۱	۲۱/۷۲	۶۰۹۰۳۰۷	نئوفیتادئین	۹۱	۰۰۰۱۵۰-۸۶-۷	۱۸/۷۳
۲	۲۲/۳۴۸	۲۴۵۲۳۵۶	۲-هگزادکان-۱-ال-۳،۷،۱۱،۱۵ تترامتیل	۵۱	۰۰۰۰۰۰-۰۰-۰	۷/۵۴
۳	۲۲/۹۸۶	۱۰۲۸۶۸۴	متیل پالمیتات	۴۶	۰۰۰۱۱۲-۳۹-۰	۳/۱۶
۴	۲۴/۶۵۷	۱۲۹۹۰۵۹	پالمتیک اسید، تریمتیل سیلیل استر	۵۲	۰۱۸۶۰۳-۱۷-۳	۳/۹۹
۵	۲۵/۵۱۳	۹۸۳۰۴۶۵	فیتول	۹۰	۰۰۰۱۵۰-۸۶-۷	۳۰/۲۳
۶	۲۶/۳۴۸	۱۴۶۹۰۳۲	سیلان[۱۵،۱۱،۷،۳ تترامتیل-۲-هگزادکنیل)اکسی] تریمتیل	۹۰	۰۵۷۳۹۷-۳۹-۴	۴/۵۲
۷	۳۷/۶۴۴	۵۰۴۲۴۸۹	ویتامین ای	۹۸	۰۱۰۱۹۱-۴۱-۰	۱۵/۵۱
۸	۴۰/۴۸۷	۱۴۳۵۹۴۳	(اس)-(ای)-(-)-۴-استوکسی-۱-فنیل-۲-دودکان-۱-یک	۴۳	۰۰۰۰۰۰-۰۰-۰	۴/۴۲
۹	۴۱/۲۹۲	۳۸۷۲۲۲۳	(۲۳ اس)-اتیل سوکست-۵-ای ان-۳-بتا، او ال	۹۹	۱۱۳۸۴۵-۲۸-۶	۱۱/۹۱

جدول ۲. اثر تیمارهای مختلف بر سلول‌های ایمنی، نوزایش عروقی، فیبروپلازی، محتوای کلاژنی و تشکیل بافت پوششی (میانگین±انحراف معیار) در روز دهم آزمایش.

تیمارهای آزمایش	سلول‌های ایمنی	نوزایش عروقی	فیبروپلازی	محتوای کلاژنی	تشکیل بافت پوششی
کنترل	۳±۰/۳۵^{a}	۳±۰/۵^{a}	۳±۰/۶۱^{a}	۳±۰/۵^{b}	۲±۰/۳۵^{c}
اوسرین	۲±۰/۷۱^{b}	۲±۰/۵^{b}	۲±۰/۷۹^{ab}	۲±۰/۶۱^{c}	۲±۰/۷۹^{c}
فنی توئین	۲±۰/۷۹^{b}	۲±۰/۳۵^{b}	۱±۰/۳۵^{b}	۳±۰/۷۱^{b}	۱±۰/۳۵^{d}
عصاره ۵ درصد	۲±۰/۳۵^{b}	۲±۰/۷۹^{b}	۱±۱/۱۱^{b}	۳±۰/۷۹^{b}	۳±۰/۷۹^{b}
عصاره ۷/۵ درصد	۱±۰/۳۵^{c}	۱±۰/۷۹^{c}	۱±۰/۷۹^{b}	۴±۰/۷۱^{b}	۴±۰/۶۱^{b}

a: عدم اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل در سطح اطمینان ۰/۹۵ است ($P<0/05$). b: اختلاف معنی‌دار بین گروه کنترل و گروه‌های درمانی در سطح اطمینان ۰/۹۵ می‌باشد ($P<0/05$).

جدول ۳. اثر تیمارهای مختلف بر سلول‌های ایمنی، نوزایش عروقی، فیبروپلازی، محتوای کلاژنی و تشکیل بافت پوششی (میانگین±انحراف معیار) در روز چهاردهم آزمایش.

تیمارهای آزمایش	سلول‌های التهابی	نوزایش عروقی	فیبروپلازی	محتوای کلاژنی	تشکیل بافت پوششی
کنترل	۲±۰/۳۵^{a}	۲±۰/۵^{a}	۲±۰/۳۵^{a}	۲±۰/۵^{c}	۱±۰/۳۵^{d}
اوسرین	۲±۰/۷۱^{a}	۲±۱۱^{a}	۲±۰/۷۱^{a}	۲±۰/۶۱^{c}	۲±۰/۷۹^{c}
فنی‌توئین	۱±۰/۷۹^{b}	۱±۰/۳۵^{b}	۱±۰/۳۵^{b}	۳±۰/۷۱^{b}	۲±۰/۳۵^{a}
عصاره ۵ درصد	۰±۰^{c}	۱±۰/۷۹^{b}	۲±۰/۵^{a}	۳±۰/۷۹^{b}	۳±۰/۷۹^{b}
عصاره ۷/۵ درصد	۰±۰^{c}	۰±۰^{c}	۱±۰/۳۵^{b}	۴±۰/۷۱^{b}	۴±۰/۶۱^{c}

a: عدم اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل در سطح اطمینان ۰/۹۵ است ($P<۰/۰۵$). b: اختلاف معنی‌دار بین گروه کنترل و گروه‌های درمانی در سطح اطمینان ۰/۹۵ می‌باشد ($P<۰/۰۵$).

جدول۴. اثر تیمارهای مختلف بر اندازه قطر زخم (میانگین±انحراف معیار) و مساحت زخم (میانگین±انحراف معیار) در طول دوره آزمایش.

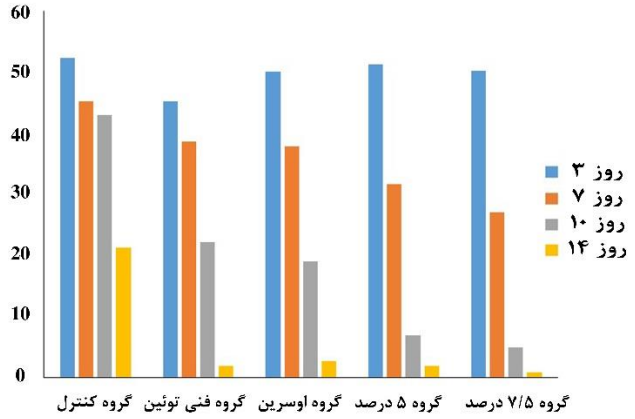
تیمار های آزمایش	قطر زخم (میلی‌متر)	مساحت زخم (میلی‌متر مربع)
کنترل	۴/۴۵±۲/۸۶^{a}	۲۱/۶ ±۲۲/۵۳^{a}
اوسرین	۴/۸۶±۲/۶۹^{a}	۲۳/۹۵±۲۱/۸۴^{a}
فنی‌توئین	۴/۴۱±۳/۰۳^{a}	۲۲/۰۸±۲۳/۰۹^{a}
عصاره ۵ درصد	۴/۱۴ ± ۲/۷۹^{b}	۱۹/۲۹±۱۹/۴۵^{b}
عصاره ۷/۵ درصد	۳/۹۷±۳/۱۸^{b}	۱۹/۹۵±۲۴/۰۸^{bc}

a: بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بین گروه کنترل و گروه‌های درمانی در هر ستون در سطح اطمینان ۰/۹۵ می‌باشد ($P<۰/۰۵$). b: اختلاف معنی‌دار بین گروه کنترل و گروه‌های درمانی در سطح اطمینان ۰/۹۵ می‌باشد ($P<۰/۰۵$).

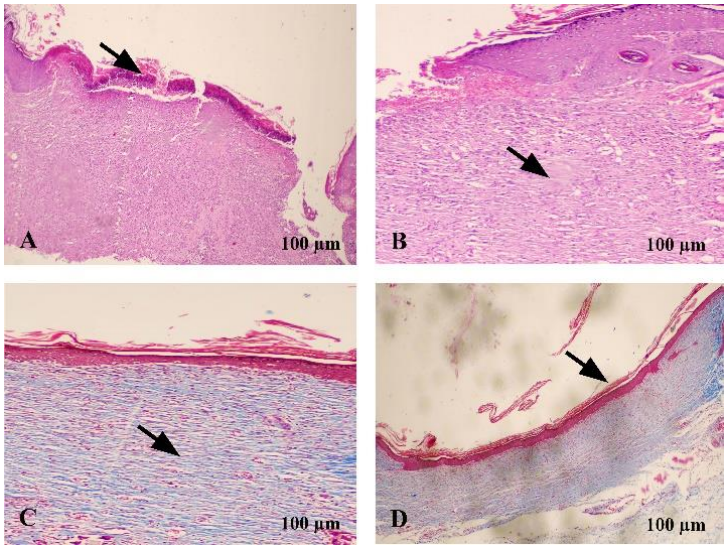
نتایج

ارزیابی اندازه زخم: کاربرد موضعی عصاره اتانولی برگ سبز لاله عباسی، از روز هفتم بعد از ایجاد زخم تجربی سبب کاهش معنی‌دار ($P<۰/۰۵$) اندازه سطح زخم در مقایسه با گروه دارونما شد به طوری که، اندازه مساحت زخم در روز چهاردهم در گروه دارونما برابر ۲/۷۳±۰/۷۹ میلی‌متر مربع بود، در حالی که این میزان در گروه درمانی با پماد ۵ درصد برگ گیاه سبز لاله عباسی برابر ۱/۹۸±۰/۷۶ میلی‌متر مربع و در گروه درمانی با پماد ۷/۵ درصد برگ سبز لاله عباسی ۰/۸۷±۳۹ میلی‌متر مربع بود ($P<۰/۰۵$). نکته قابل توجه این که از روز هفتم به بعد، بین دو گروه درمانی نیز این اختلاف معنی‌دار شد ($P<۰/۰۵$). تغییرات اندازه مساحت زخم و روند ترمیم آن در جدول ۳ نشان داده شده است.

یافته‌های آسیب‌شناسی: در نمونه‌های اخذ شده در روز سوم پس از جراحی، شدت حضور سلول‌های التهابی از جمله نوتروفیل‌ها در گروه کنترل و دارونما (شم دارو)، در مقایسه با هر دو گروه درمانی، از میزان بالاتری برخوردار بود. این حضور در تمام گروه‌ها در روزهای بعدی نمونه برداری (هفتم، دهم و چهاردهم) کاهش یافته بود. در گروه درمانی با پماد با دوز درمانی ۷/۵ درصد، در روز سوم پس از ایجاد زخم، میانگین سلول‌های آماسی ۲±۰/۳۵ و در روزهای نمونه‌برداری دهم ۱±۰/۳۵ و در روز چهاردهم هیچ‌گونه سلول آماسی‌ای مشاهده نشد. نوزایش عروقی در تمام گروه‌ها تا روز هفتم یک روند افزایشی مشاهده شد به گونه‌ای که در روزهای سوم و هفتم نمونه‌گیری به خصوص در گروه درمانی با دوز بالاتر به ترتیب ۳±۰/۷۹ و ۴±۰/۷۹ بود در حالی که در گروه شم دارو و گروه کنترل به ترتیب ۲±۱/۱۱، ۱±۰/۵ بود (جدول ۲). در روز چهاردهم نمونه‌برداری، میزان نوزایش عروقی به دلیل ساخت و رسوب کلاژن در تمام گروه‌های مورد آزمایش کاهش یافته بود. در گروه درمانی توسط پماد با دوز درمانی بالاتر، در روز چهاردهم پس از ایجاد زخم، میزان نوزایش عروقی روند کاهشی قابل ملاحظه‌ای را نشان داد. در روز سوم مهاجرت سلول‌های فیبروبلاست از حواشی زخم به داخل بافت جوانه گوشتی عروقی تازه تشکیل در تمام گروه‌ها ناچیز، اما در روزهای نمونه‌برداری دهم و چهاردهم افزایش چشمگیر فیبروپلازی، تشکیل الیاف چسبگن و ناپدید شدن عروق خونی تازه تشکیل (فیبروپلازی ۴±۰/۷۱ در گروه ۵ درصد، ۴ ±۰/۷۵ در گروه ۷/۵ درصد) مشهود بود، در حالی‌که در نمونه‌های گروه دارونما و کنترل در نمونه‌های گروه درمانی، در روزهای نمونه‌برداری دهم و چهاردهم ۳±۰/۵ و ۲±۰/۶۱ برای دارونما و ۲±۰/۵ و ۲±۰/۶۱ برای کنترل محاسبه شد. در بررسی روز سوم، بازسازی بافت پوششی در گروه کنترل آشکار نشده بود اما در گروه‌های درمانی، به خصوص گروه درمانی با دوز بالاتر، آغاز بازسازی اپیتلیوم از طریق مهاجرت سلول‌های بازال رویت شد. در روز چهاردهم در گروه درمانی با دوز بالاتر، برخلاف ۴ گروه دیگر علاوه بر کامل شدن ترمیم پوست، پردهای پوستی نیز تشکیل گردیده بود. در بررسی آسیب‌شناختی سلول‌های اپیتلیال در روزهای دهم و چهاردهم در گروه درمانی با دوز بالاتر نسبت به دو گروه کنترل و دارونما تکثیر بیشتر این سلول‌ها و کامل شدن لایه‌های سلولی اپیدرم و کراتینیزاسیون اپیدرم مشاهده شد (جدول ۳).

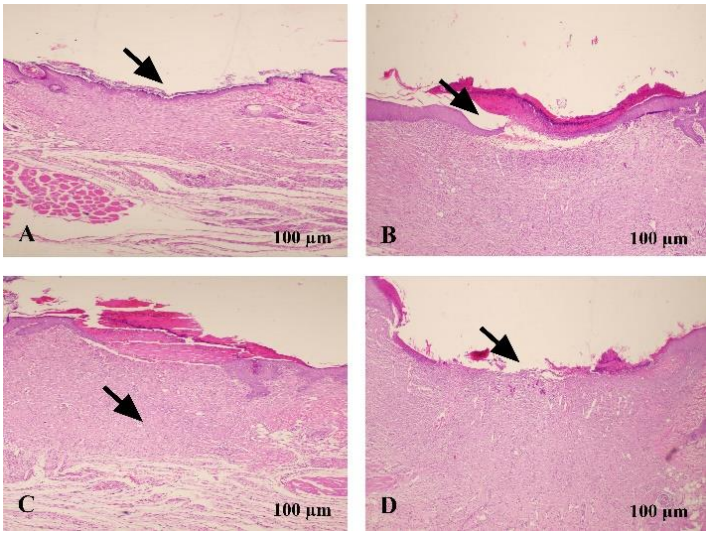


نمودار ۱. اثر پماد درمانی بر میزان میانگین±انحراف معیار اندازه مساحت زخم (میلی‌متر مربع) در روزهای مختلف آزمایش.



تصویر ۱. A: گروه درمانی با عصاره ۷/۵ درصد. در محل ایجاد زخم، اسکب، خونریزی و نفوذ سلول‌های التهابی (پیکان) در روز سوم (رنگ آمیزیH&E). تصویر B: گروه درمانی با عصاره ۷/۵ درصد روز ۷. در این تصویر تشکیل بافت جوانه گوشتی پر عروق (پیکان) و آغاز ترمیم بافت پوششی مشهود است (رنگ آمیزیH&E). تصویر C: گروه درمانی با عصاره ۷/۵ درصد روز ۱۰. بلوغ بافت جوانه گوشتی، جهت‌گیری رشته‌های کلاژن به صورت افقی، ترمیم کامل اپیتلیوم (پیکان) مشاهده می‌شود (رنگ آمیزی تری کروم ماسون). تصویر D: گروه درمانی با عصاره ۷/۵ درصد روز ۱۴. ناپدید شدن عمده رگ‌های خونی و جایگزین شدن آن‌ها با فیبروبلاست‌ها و الیاف چسبگن (پیکان) و بافت اپیتلیوم کراتینیزه یکپارچه قابل رویت است (رنگ‌آمیزی تری کروم ماسون).

نتایج در روز دهم حاکی از این بود که نفوذ سلول‌های آماسی و نوزایش عروقی در گروه کنترل نسبت به سایر گروه‌ها تفاوت معنی‌داری داشت (۰/۳۵±۳). میزان فیبروپلازی در گروه درمان با پماد اوسرین حاوی ۷/۵ و ۵ درصد عصاره برگ لاله عباسی در تمام طول آزمایش بسیار بیشتر از سایر گروه‌های درمانی بوده و این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار بود ($P<0/05$)، ولی با گروه درمان با اوسرین تفاوت معنی‌داری را نشان نداد (۰/۷۱±۲). میزان تشکیل و ترمیم بافت پوششی در گروه درمان با گروه‌های عصاره و فنی‌توئین نسبت به گروه درمان با اوسرین و گروه کنترل بسیار بیشتر بود و تفاوت معنی‌داری را نشان داد ($P<0/05$). در روز ۱۴ آزمایش میزان نفوذ سلول‌های ایمنی در دو گروه درمان با پماد عصاره ۵ درصد و پماد عصاره ۷/۵ درصد نسبت به گروه کنترل بسیار کمتر شده و تفاوت معنی‌داری بین آن‌ها مشاهده شد ($P<0/05$). میزان نوزایش عروقی در گروه کنترل بیشتر از سایر گروه‌ها بود ولی تفاوت معنی‌داری با گروه درمان با اوسرین نداشت ($P<0/05$). محتوای کلاژنی گروه‌های درمان با اوسرین، پماد حاوی ۵ درصد عصاره و پماد حاوی ۷/۵ درصد عصاره بیشتر از سایر گروه‌ها بوده و تفاوت بین آن‌ها و گروه کنترل معنی‌دار بود ($P<0/05$). در روز ۱۴ میزان تشکیل بافت پوششی در گروه ۷/۵ درصد بسیار کامل‌تر از سایر گروه‌ها بود (تصویر ۱) و تفاوت معنی‌دار با سایر گروه‌های درمانی مشاهده شد ($P<0/05$).



تصویر ۲. A: گروه درمانی با عصاره ۵ درصد روز ۱۴. اپیدرم کامل تشکیل شده است و بافت کراتینیزه مشخص است (پیکان) (رنگ آمیزیH&E) بزرگ نمایی X۱۰۰. B: گروه درمانی با اوسرین روز ۱۴. اپیدرم از دو طرف زخم پل ایجاد کرده (پیکان) همچنان اسکب درسطح زخم در حال ترمیم وجود دارد (رنگ آمیزیH&E) بزرگ نمایی X۱۰۰. C: گروه درمانی با فنی توئین روز ۱۴. جوانه گوشتی تشکیل شده (پیکان) ولی اپیدرم ترمیم نشده است، (رنگ آمیزیH&E) بزرگ نمایی X۱۰۰. D: گروه کنترل روز ۱۴. جوانه گوشتی تشکیل شده، اپیتلیوم ترمیم نشده است (پیکان)(رنگ آمیزی H&E) بزرگ نمایی X۱۰۰.

یافته‌های آزمایشگاهی و آنالیز عصاره به روش GC/MC نشان داد که عصاره اتانولی برگ گل لاله عباسی اثر مهاری بر روی رشد سویه‌های قارچی از قبیل آسپرژیلوس فومیگاتوس، فوزاریوم، کاندیدا آلبیکنس و کاندیدا کروزه‌ای دارد. بر اساس نتایج به دست آمده، حداقل غلظت مهاری عصاره اتانولی برگ سبز لاله عباسی برای قارچ‌های آسپرژیلوس فومیگاتوس و فوزاریوم ۵۰۰۰، کاندیدا کروزه‌ای ۴۰۰۰ و کاندیدا آلبیکنس ۳۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر محاسبه شد.

آنالیز عصاره اتانولی برگ سبز لاله عباسی توسط روش کروماتوگرافی گازی - طیف‌سنجی جرمی نشان داد که این عصاره حاوی متیل‌پالمیتات، فیتول، نئوفیتادئین، پالمتیک‌اسید، تریمتیل سیلیل‌استر و ویتامین E می‌باشد (جدول ۱).

بحث

مطالعه حاضر به منظور نشان دادن تأثیر عصاره برگ سبز لاله عباسی بر روی ترمیم زخم باز پوستی القا شده در مدل رت انجام گرفت. یافته‌های مکتسبه حاکی از این است که عصاره ۷/۵ درصد برگ سبز لاله عباسی روند ترمیم زخم را بهبود بخشیده و سرعت این روند را به شکل معنی‌داری افزایش می‌دهد.

کاربرد موضعی عصاره اتانولی برگ گیاه لاله عباسی به شکل وابسته به دوز، موجب افزایش میزان انقباض زخم پوست و کاهش مدت زمان روند ترمیم آن در موش صحرایی شد. در مطالعه حاضر میزان نوزایش‌عروقی، رسوب کلاژن و بازسازی بافت پوششی در حیوانات تحت درمان، به خصوص در دوز درمانی بالاتر (۷/۵ درصد) افزایش یافت. فرآیند ترمیم زخم، با مرحله التهابی آغاز لکن افزایش مدت زمان آن با عوارضی همراه می‌گردد. مرحله التهابی که آغازگر روند ترمیم است با تولید و ترشح فاکتورهای آماسی از جمله انواعی از واسطه‌های شیمیایی وازواکتیو، کموتاکتیک توسط سلول‌های بافت و سلول‌های آماسی مهاجرت کرده به محل زخم شروع می‌شود و تداوم روند ترمیم وابسته به شمار قابل توجهی از فاکتورهایی است که عمدتاً به وسیله ماکروفاژها ساخته و رها می‌شوند. نوتروفیل‌ها که در مرحله آغازین ترمیم متعاقب پاسخ‌های عروقی وارد زخم می‌شوند با عمل فاگوسیتوز و ترشح آنزیم‌های پروتئاز و الاستاز و سایر آنزیم‌ها در محل زخم، عوامل عفونت‌زا را از بین برده و خرده ریزه‌های بافتی را می‌زدایند، اما میزان بالای آنزیم‌های رها شده در موضع زخم به دلیل وجود عفونت محل زخم یا تداوم حضور این سلول‌ها تخریب بافتی و طولانی شدن مدت زمان مرحله التهابی و روند ترمیم را موجب می‌شود (۱۸). بررسی‌های فیتوشیمیایی در مطالعه حاضر و به وسیله سایرین مشخص کرده است که عصاره اتانولی برگ سبز لاله عباسی حاوی مقادیر مشخصی از ترکیبات آلکالوئیدی، فلاوونوئیدها، فنل‌ها، استروئیدها، تریترپن‌ها، گلیکوزیدها، تانن‌ها، ساپونین‌ها، ترکیبات لیگنینی، نئوفیتادئین، متیل‌پالمیتات، فیتول و ویتامین

E است. خواص ضدالتهابی، ترمیمی، ضدمیکروبی از جمله ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی و ضدقارچی این عصاره را می‌توان به این ترکیبات نسبت داد (۱۷-۲۰).

در این مطالعه و مطالعات اخیر نشان داده شد که عصاره برگ سبز گل لاله عباسی به دلیل داشتن عناصر فنولی از قبیل ایزوفلاوون و دی هیدروروتنوئید دارای خواص ضدقارچی است از این طریق از ابتلای زخم به اجرام قارچی جلوگیری و روند ترمیم زخم را تسریع می‌نماید کما این که در مطالعه حاضر اثر ضدقارچی به روش MIC بر روی گونه‌های قارچی آسپرژیلوس‌فومیگاتوس فوزاریوم،کاندیدا کروزه‌ای و کاندیدا آلبیکنس نشان داده شد (۲۱).

Kaladhar و همکاران در سال ۲۰۱۰ نشان دادند که عصاره متانولی ریشه و گل لاله عباسی در برابر آسپرژیلوس نایجر، کاندیدا آلبیکنس و دئادلا اثر ضدقارچی دارد (۲۲). این نتایج از جنبه‌هایی با یافته‌های این مطالعه همخوانی دارد زیرا نشان داده شد که عصاره اتانولی برگ گل لاله عباسی روی رشد گونه‌های آسپرژیلوس‌فومیگاتوس، فوزاریوم، کاندیدا کروزه‌ای و کاندیدا آلبیکنس اثر مهاری دارد.

در این مطالعه با توجه به جداسازی مواد مختلف از جمله ویتامین E به وسیله دستگاه GC/MS می‌توان اذعان نمود که این ویتامین با داشتن خواص آنتی‌اکسیدانی و سایر خواص مفید می‌تواند در بهبود کیفیت روند ترمیم زخم تأثیرگذار باشد (۲۳).

در بررسی اخیر مشخص گردید که از حضور سلول‌های آماسی به ویژه نوتروفیل‌ها در زخم‌های گروه‌های درمان شده توسط پماد حاوی عصاره اتانولی برگ سبز لاله عباسی، به شکل قابل ملاحظه‌ای کاسته شده است. این یافته را می‌توان به وجود ترکیبات ضدمیکروبی عصاره مذکور (۲۴، ۲۵) و همچنین اثرات ضدالتهابی (۲۶) آن نسبت داد. به دنبال آن مرحله دوم ترمیم زخم با فرآیند نوزایش عروقی، مهاجرت فیبروبلاست‌ها به محل زخم آغاز می‌گردد. نوزایش عروقی فرآیندی است که از طریق ایجاد بستر مناسب جهت تکثیر سلولی و بهبود زخم مورد نیاز است (۲۷)، بنابراین، ارزیابی سیرافزایشی و کاهشی نوزایش عروقی می‌تواند در کیفیت و کمیت میزان سرعت ترمیم زخم تأثیرگذار باشد. بر اساس یافته‌های مطالعه حاضر، روند تشکیل و سیر قهقرایی بافت جوانه گوشتی عروقی و جایگزین شدن آن توسط فیبروبلاست‌ها و فیبروسیت‌ها و ترسیب کلاژن در هر یک از گروه‌های درمانی، به خصوص دوز درمانی بالاتر یعنی ۷/۵ درصد در مقایسه با سایر گروه‌ها از نظر آماری بهتر ارزیابی شد.

از سوی دیگر، فیبروبلاست‌ها مسئول ساخت و ترشح کلاژن، الاستین و پروتئوگلیکان‌ها می‌باشند. کلاژن پروتئین عمده ماتریکس خارج سلولی است که مقاومت در برابر کشش لبه‌های زخم را افزایش می‌دهد (۲۷). از این رو، ارزیابی میزان رسوب کلاژن در بافت (پس از تشکیل جوانه‌گوشتی) می‌تواند نشان‌گر افزایش میزان سرعت روند ترمیم زخم باشد. از سوی دیگر، اکسیژن مولکولی نقش اصلی را در پاتوژنز و درمان زخم‌ها ایفا می‌کند. تولید بیش از حد گونه‌های اکسیژن فعال منجر به استرس اکسیداتیو و تخریب سلولی و تأخیر در فرآیند بهبود زخم می‌گردد (۲۴). بنابراین حذف گونه‌های اکسیژن فعال توسط ترکیبات آنتی‌اکسیدان از جمله فلاوونوئیدها، می‌تواند یک راهکار مهم در بهبود زخم‌ها باشد (۲۵، ۲۶). در بررسی حاضر مشخص گردید که شرایط برای مهاجرت فیبروبلاست‌ها، بلوغ و تبدیل آن‌ها به فیبروسیت و ظهور الیاف چسبگن در زخم‌های حیوانات تحت درمان با پماد حاوی عصاره اتانولی برگ سبز لاله عباسی، به خصوص در دوز درمانی بالاتر به شکل معنی‌داری بهبود حاصل کرده است. این اثر را می‌توان به وجود ترکیبات فلاوونوئیدی و اثرات آنتی‌اکسیدانی آن‌ها در عصاره اتانولی برگ سبز لاله عباسی نسبت داد (۲۰، ۲۷).

با افزایش محتوای کلاژن بافت جوانه‌ای و همچنین رشد سلول‌های بافت پوششی از سمت لبه‌های زخم به سوی مرکز آن، روند التیام زخم وارد مرحله سوم یا بلوغ می‌گردد. در مطالعه حاضر کاربرد موضعی عصاره اتانولی برگ سبز لاله عباسی، به خصوص در دوز درمانی بالاتر، موجب بهبود مهاجرت سلول‌های بازال بافت پوششی و کامل شدن سایر لایه‌های بافت پوششی از جمله تشکیل لایه کراتینه، محتوا و تموج کلاژن، بازسازی و انقباض زخم گردید.

مطالعه آسیب‌شناسی از افزایش سرعت ترمیم زخم به وسیله دز بالا یا عصاره ۷/۵ درصد حکایت می‌کند که این افزایش از نظر آماری در مقایسه با سایر گروه‌ها معنی‌دار است، به گونه‌ای که در این گروه در روز ۱۰ درمانی بلوغ بافت جوانه گوشتی، تشکیل کامل بافت اپیتلیوم (۵ لایه بافت پوششی) و حتی تشکیل آخرین لایه بافت پوششی یعنی بافت کراتینه کاملاً مشهود بود که بر سرعت بالاتر روند ترمیم زخم دلالت

می‌کند. نتایج آسیب‌شناسی نشان می‌دهد که پماد عصاره‌های درمانی ۵ درصد و ۷/۵ درصد در روزهای ۱۰ و ۱۴ نمونه‌برداری در مقایسه با گروه کنترل از نظر پارامترهای ترمیم زخم شامل رگ‌زایی، تشکیل محتوای کلاژنی، اپیتلیوم‌زایی، سلول‌های آماسی و فیبروپلازی دارای اختلاف معنی‌داری می باشند.

نتیجه گیری نهایی: با توجه به نتایج مکتسبه، به دلیل حضور عوامل مختلف ضدمیکروبی، آنتی‌اکسیدانی، ضدقارچی و ضدالتهابی، عصاره این گیاه سبب تسریع در روند ترمیم زخم تجربی در مدل رت گردید. به علاوه آزمایشات برون‌تنی بر اثرات ضدقارچی عصاره اتانولی برگ گل لاله عباسی دلالت دارد. نتایج مطالعه حاضر و مطالعات سایر محققین به این موضوع اشاره می‌کند که عصاره اتانولی برگ سبز لاله عباسی می‌تواند یک گزینه مناسب برای بهبود روند ترمیم در زخم‌های پوستی باشد.

سپاسگزاری

با سپاس از جناب آقای مهندس بالال کارشناس محترم بخش قارچ شناسی و جناب آقای رضا آقاابراهیمی سامانی کارشناس گرامی گروه آموزشی پاتولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران که مطالعه حاضر جز با همکاری و همت این عزیزان میسر نمی‌گردید.

تعارض منافع

بین نویسندگان تعارض در منافع گزارش نشده است.

References

1. Behfarnia P, Khorasani MM, Birang R, Abbas FM. Histological and histomorphometric analysis of animal experimental dehiscence defect treated with three bio absorbable GTR collagen membrane. Dent Res J. 2012;9(5):574. doi: 10.4103/1735-3327.104876 PMID: 23559922

2. Estevão LRM, Mendonça FdS, Baratella-Evêncio L, Simões RS, Barros MEGd, Arantes RME, Rachid Ma, Evencio-neto J. Effects of aroeira (Schinus terebinthifoliu Raddi) oil on cutaneous wound healing in rats. Acta Cirurgica Brasileira. 2013;28(3):202-9.

3. Eseyin OA. Hypoglycemic effect of the seed extract of Telfairia occidentalis in rat. Pak J Biol Sci, 10(3),498-501. doi: 10.3923/pjbs.2007.498.501 PMID: 19069524

4. Rozina R. Pharmacological and biological activities of Mirabilis jalapa L. Int J Pharmacol Res. 2016;6:160-8. doi: 10.7439/ijpr.v6i5.2725

5. Yang S-W, Ubillas R, McAlpine J, Stafford A, Ecker DM, Talbot MK, Rogers B. Three new phenolic compounds from a manipulated plant cell culture, Mirabilis jalapa. J Nat Prod. 2001;64(3):313-7. doi: 10.1021/np0004092 PMID: 11277746Ro

6. Folkman J. Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other disease. Nature Med. 19951(1):27-30. doi: 10.1038/nm0195-27 PMID: 7584949

7. Prudente AS, Loddi AM, Duarte MR, Santos AR, Pochapski MT, Pizzolatti MG, Hayashi SS, Campos FR, Pontarolo R, Cabrini DA, Otuki MF. Pre-clinical anti-inflammatory aspects of a cuisine and medicinal millennial herb: Malva sylvestris L. Food Chem Toxicol, 2013;58:324-31. doi: 10.1016/j.fct.2013.04.042 PMID: 23684757

8. Hajji M, Jarraya R, Lassoued I, Masmoudi O, Damak M, Nasri M. GC/MS and LC/MS analysis, and antioxidant and antimicrobial activities of various solvent extracts from Mirabilis jalapa tubers. Process Biochemistry.2010;45(9):1486-93. doi: 10.1016/j.procbio.2010.05.027

9. Thomas P, Sekhar AC, Upreti R, Mujawar MM, Pasha SS. Optimization of single plate-serial dilution spotting (SP-SDS) with sample anchoring as an assured method for bacterial and yeast cfu enumeration and single colony isolation from diverse samples. Biotechnol Rep (Amst). 2015;8:45-55. doi: 10.1016/j.btre.2015.08.003 PMID: 28352572

10. Purohit S, Solanki R, Soni M, Mathur V. Experimental evaluation of Aloe vera leaves pulp as topical medicament on wound healing. Pharmacol Res. 2012;2(3):110-2.

11. Farahpour M, Sedaghat S. Effect of malva sylvestris hydroethanolic leaf extract on the healing of full-thickness, excisional skin wounds in the rat. Vet Clin Pathol Sci J. 2015;9(1(33) Spring):73-81.

12. Behfarnia P, Khorasani MM, Birang R, Abbas FMJDRJ. Histological and histomorphometric analysis of animal experimental dehiscence defect treated with three bio absorbable GTR collagen membrane. Dent Res J (Isfahan). 2012;9(5):574. doi: 10.4103/1735-3327.104876

13. Farahpour MR, Mirzakhani N, Doostmohammadi J, Ebrahimzadeh M. Hydroethanolic Pistacia atlantica hulls extract improved wound healing process; evidence for mast cells infiltration, angiogenesis and RNA stability. Int J Surg. 2015;17:88-98. doi: 10.1016/j.ijsu.2015.03.019 PMID: 25849027

14. Mahalingam R, Bhirathidasan R, Ambikapathy V, Panneerselvam A. GC-MS determination of bioactive compounds of Mirabilis jalapa. Asian J Plant Sci Res. 2012;2(3):224-7.

15. Kakad S, Dhembare A, Ruchita C. Evaluation of antifungal activities of some selected plant species against fungal pathogen. J Microbiol Biotechnol. 2015;5(1):24-7. .

16. Maurya VK, Kachhwaha D, Bora A, Khatri PK, Rathore L. Determination of antifungal minimum inhibitory concentration and its clinical correlation among treatment failure cases of dermatophytosis. J Family Med Prim Care. 2019;8(8):2577. doi: 10.4103/jfmpc.jfmpc_483_19 PMID: 31548935

17. Eneji S, Inuwa H, Ibrahim S, Ibrahim A, Abdulfattah A. In vitro assessment of bioactive components of Mirabilis jalapa ethanolic extract on clinical isolates of Salmonella typhi and Bacillus cereus. Afr J Biotechnol. 2011;10(71),16006-16011. doi: 10.5897/AJB11.1135

18. Kaladhar D, Nandikolla SK. Antimicrobial studies, biochemical and image analysis in Mirabilis jalapa. Int J Pharm. 2010;2(3):683-93.

19. Rumzhum NN, Rahman MM, Islam MS, Chowdhury SA, Sultana R, Parvin MN. Cytotoxicity and antioxidant activity of extractives from Mirabilis jalapa. Stamford J Pharm Sci. 2008;1(1):85-8. doi: 10.3329/sjps.v1i1.1814

20. Shetty S, Udupa S, Udupa L. Evaluation of antioxidant and wound healing effects of alcoholic and aqueous extract of Ocimum sanctum Linn in rats. Evid Based Complement Alternat Med. 2008;5(1):95-101. doi: 10.1093/ecam/nem004 PMID: 18317555

21. Walker CI, Trevisan G, Rossato MF, Franciscato C, Pereira ME, Ferreira J, Manfron MP. Antinociceptive activity of Mirabilis jalapa in mice. J Ethnopharmacol. 2008;120(2):169-75. doi: 10.1016/j.jep.2008.08.002 PMID: 18761072

22. McDaniel JC, Massey K, Nicolaou A. Fish oil supplementation alters levels of lipid mediators of inflammation in microenvironment of acute human wounds. Wound Repair Regen. 2011;19(2):189-200. doi: 10.1111/j.1524-475X.2010.00659.x PMID: 21362086

23. Beldon P. Basic science of wound healing. Surgery (Oxford). 2010;28(9):409-12. doi: 10.1016/j.mpsur.2010.05.007

24. George Broughton I, Janis JE, Attinger CE. Wound healing: an overview. Plast Reconstr Surg. 2006;117(7S):1e-S. doi: 10.1097/01.prs.0000222562.60260.f9 PMID: 16801750

25. Dissemond J, Goos M, Wagner S. The role of oxidative stress in the pathogenesis and therapy of chronic wounds. Der Hautarzt; Zeitschrift fur Dermatologie, Venerologie, und verwandte Gebiete. 2002;53(11):718-23. doi: 10.1007/s00105-001-0325-5 PMID: 12402133

26. Russell A. Mechanisms of bacterial resistance to non-antibiotics: Food additives and food and pharmaceutical preservatives. J Applied Bacteriol. 1991;71(3):191-201. doi: 10.1111/j.1365-2672.1991.tb04447.x PMID: 1955413

27. Pirbalouti AG, Yousefi M, Nazari H, Karimi I, Koohpayeh A. Evaluation of burn healing properties of Arnebia euchroma and Malva sylvestris. J Biol. 2009;5(3):62-6.