اثرات عصاره‌ی گل راعی و آلوئه‌ورا بر التیام زخم باز تلقیح شده با باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در رت

شادی سندگل [١]، محمدرضا آقچه‌لو*[٢]، داریوش سعادتی[٣]، عباس جمشیدیان[٤]

١- دانش آموخته دانشکده دامپزشکی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.
٢- استادیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.
٣- دانشیار گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.
٤- استادیار گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.

دریافت مقاله: ٢٠ آبان ١٣٩٩، بازنگری: ٢٢ آذر ١٣٩٩، پذیرش نهایی: ٣٠ آذر ١٣٩٩

چکیده

باکتری استافیلوکوکوس اورئوس جزو فلور طبیعی پوست محسوب شده و عامل مهمی در عفونت زخم‌ها در انسان و حیوانات است. دو گیاه گل راعی و آلوئه‌ورا دارای اثرات ضد التهابی، آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی قوی هستند و می توانند بر روی التیام زخم تأثیرات مثبتی بگذارند. در این مطالعه تعداد ۴۰ رت به‌صورت تصادفی به ۴ گروه تقسیم شدند: گروه شاهد،گروه کنترل مثبت و دو گروه درمانی پماد حاوی دو گیاه یعنی عصاره روغنی گل راعی و عصاره الکلی آلوئه‌ورا که با دو درصد متفاوت ۱ و ۴ درصد ، تحت درمان قرار گرفتند . نتایج بالینی و هیستولوژی با استفاده از آزمون‌های آماری آنوا و کروسکال-والیس با یکدیگر مقایسه شدند. تفاوت آماری معنی‌داری بین درصد التیام زخم در روز ۳ در دو گروه درمان شده با پماد حاوی عصاره گل راعی و آلوئه‌ورا ۱ و ۴ درصد وجود دارد. در روز ۱۴ بافت پوششی دو گروه درمان بهتر از دو گروه دیگر است. در روز چهاردهم در هر دو گروه پماد حاوی عصاره گل راعی و آلوئه‌ورا ۱ و ۴ درصد فولیکول‌های مو تشکیل شده بود اما غدد سباسه فقط در گروه عصاره ۴ درصد مشاهده شد و کیفیت تشکیل بافت پوششی نیز در گروه عصاره ۴ درصد بهتر از سه گروه دیگر بود. نتایج به‌دست آمده نشان می‌دهد که پماد حاوی عصاره روغنی گل راعی و عصاره الکلی آلوئه‌ورا ۴ درصد در زخم تلقیح شده با باکتری استافیلوکوکوس اورئوس دارای اثرات التیام بخشی بهتری از نظر هیستوپاتولوژی و زیبایی است.

واژگان کلیدی: *گل راعی ، عصاره آلوئه‌ورا ، هیستوپاتولوژی ، التیام زخم ، باکتری استافیلوکوکوس اورئوس*

* پست الکترونیک نویسنده مسئول مکاتبه: mraghchelou@gmail.com

مقدمه

استافیلوکوکوس اورئوس* یک پاتوژن شایع و خطرناک است که عفونت‌های مختلفی ایجاد می‌کند. آسیب پوستی مانند زخم و سوختگی می‌تواند باعث کلنیزه شدن این باکتری شده و عفونت زخم ایجاد کند (۱). همچنین این باکتری یک عامل مهم در عفونت زخم در حیوانات خانگی است و آلودگی با استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین یک مبحث مهم به علت محدودیت در درمان و زئونوز بودن آن است (۲) و از باکتری‌های مهم و شایع در عفونت زخم‌های مزمن است که با التیام این زخم‌ها تداخل ایجاد می‌کند (۳).

استافیلوکوکوس اورئوس شایع‌ترین پاتوژن جدا شده از زخم‌های ناشی از سوختگی بوده است (۴). این باکتری یک پاتوژن فرصت طلب است که سهم عمده‌ای در عفونت‌های بیمارستانی دارد (۵) و بر روی پوست و مخاط ۴۰ درصد جمعیت انسانی وجود دارد (۶). امروزه عفونت به استافیلوکوکوس اورئوس یکی از علل در خور توجه در مرگ و میر به‌ویژه پس از جراحی مطرح است (۷). از زمان‌های بسیار قدیم استافیلوکوکوس اورئوس و در سال‌های اخیر استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به وانکومایسین نقش مهمی در عفونت‌های بعد از عمل جراحی داشته است. در این راستا از داروها و پمادهای متعددی استفاده می‌شود که هرکدام دارای محدودیت‌هایی هستند. برای مثال : مصرف موضعی آنتی‌سپتیک‌ها می‌تواند منجر به تاخیر در روند اپی‌تلیالی شدن در موضع زخم شود. طبق بررسی‌های انجام شده مصرف آنتی‌بیوتیک‌های موضعی نیز که به منظور کاهش عفونت زخم استفاده می‌شود، می‌تواند باعث درماتیت† تماسی شود (۸).

بنابراین، باید از روش‌های درمانی استفاده شود که عوارض جانبی کمتر و اثر ترمیمی بیشتری داشته و در عین حال کم هزینه باشند . یکی از بهترین روش‌هایی که می‌تواند ما را در رسیدن به هدف فوق یاری کند استفاده از مواد گیاهی است (۹).

استفاده از گیاهان دارویی به منظور درمان بیماری‌ها در انسان قدمتی طولانی دارد .تخمین زده می‌شود که بیشتر از ۱۰ درصد از هزاران گونه گیاهی شناخته شده کاربرد دارویی دارند (۱۰).

به دلیل پیشنهاد استفاده از گیاهان دارویی توسط سازمان بهداشت جهانی و از سوی دیگر با توجه به عدم معرفی یک داروی مؤثر برای درمان زخم، مطالعه اثر داروهای گیاهی برای ترمیم زخم ضرورت دارد (۱۱).

با این حال به نظر می‌رسد دسترسی به آنتی‌بیوتیک‌های سنتتیک با فعالیت ضد باکتریایی مناسب علیه این باکتری در آینده نزدیک امکان پذیر نخواهند بود. مطالعات آزمایشگاهی مختلفی مشخص نمودند که برخی از عصاره‌های گیاهی اثر باکتری‌کشی قوی بر ضد باکتری‌ها دارند(۱۵-۱۲).

گیاه آلوئه ورا‡ متعلق به خانواده Liliaceae دارای انواع مواد ارزشمند معدنی، ویتامین، آمینواسیدها، آنتراکینونی، امودین§ و آلوئین** با خاصیت ضد ویروسی، آنتی‌اکسیدانی، ضد قارچی، ضد باکتریایی، ضد روماتیسمی، ضد سرطانی، ضد پیری پوست، ضد عفونی کنندگی، ضد التهابی، تنظیم کنندگی سیستم ایمنی، بهبود دهنده جراحت‌ها می‌باشد(۱۶، ۱۷).

با توجه به خواص دارویی مختلف آلوئه‌ورا در

---

* Staphylococcus aureus

† dermatitis

‡ Aloe vera

§ Emodin

** Aloein

داروسازی، تولید ژل و پماد بهبود دهنده جراحات، دهان شویه و ضد عفونی کننده در دندانپزشکی، استفاده می‌شود (۱۸، ۱۹).

تحقیقات نشان می‌دهد گیاه آلوئه‌ورا سبب سرعت بخشیدن به روند بهبودی زخم‌ها، جلوگیری از عفونت، جلوگیری از بجا ماندن آثار زخم وگوشت‌های اضافی می‌گردد. مکانیسم‌های متعددی برای اثرات بهبود زخم توسط آلوئه‌ورا ارائه شده که شامل نگهداری رطوبت پوست، افزایش سلول‌های اپیتلیال، بلوغ سریع‌تر کلاژن‌ها و کاهش التهاب است (۲۰).

گیاه علف چای یا گل راعی با نام علمی *Hypricum perforatum* گیاهی است علفی و پایا به ارتفاع ۱۱۰-۱۰ سانتی‌متر بدون کرک با گل‌هایی به رنگ زرد درخشان جزء گیاهان دارویی که قسمت‌های مورد استفاده آن سرشاخه‌های گلدار و نیز گل‌های گیاه می‌باشد (۲۱). مطالعات فیتوشیمیایی نشان داده که گیاه راعی سرشار از فلاونوئیدها وآنتوسیانین‌ها بوده و دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد (۲۲).

مهم‌ترین فلاونوئیدهای موجود در گیاه کوئرستین و لوتئولین می‌باشند. مقدار فلاونوئیدها درگل‌های گیاه ۱۱/۷ درصد و در برگ و ساقه ۷/۴ درصد می‌باشد (۲۳).

مطالعات نشان داده که اثرات ضد التهابی و ضد دردی، ضد باکتریایی، ضد ویروسی، تغییر نفوذ پذیری مویرگ‌ها، ضد آریتمی، گشادکنندگی عروق کرونر، ضد اسپاسم، تغییر قدرت و سرعت انقباض قلب بیشتر به خاطر فلاونوئیدها و هایپرفورین موجود در گیاه است (۲۴).

با توجه به اینکه درمان زخم یکی از شایع‌ترین و اقتصادی‌ترین مسایل بهبودی در جهان است و تسریع روند ترمیم زخم در دوران ما به عنوان یک اصل در علم درمان مورد توجه می‌باشد که هدف از آن علاوه بر هماهنگی سرعت بهبودی با سرعت زندگی، بهبود زخم‌های بد درمان و مزمن است. هدف از انجام این تحقیق ، بررسی اثرات بالینی و هیستوپاتولوژی عصاره گیاه گل راعی و آلوئه‌ورا در دو غلظت یک و چهار درصد بر روی زخم باز تلقیح شده با باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در رت است.

مواد و روش‌ها

تهیه پماد عصاره گل راعی و آلوئه‌ورای ۱ و ۴ درصد: برای تهیه عصاره الکلی آلوئه‌ورا ۲۰۰گرم برگ آلوئه‌ورا تهیه، تکه تکه شده و در مرحله اول دو سه روز در سایه و سپس در آون گذاشته شد تا خوب خشک شود و آسیاب گردید . در مرحله بعد ۲۰ گرم از پودر گیاه را داخل ۲۰۰ میلی‌لیتر الکل ۹۶ درصد ریخته و ۲۴ ساعت روی دستگاه شیکر گذاشته تا خوب مخلوط شود سپس عصاره حاصل را به کمک کاغذ صافی جدا کرده و با دستگاه تقطیر در خلأ (روتاری) تا حد امکان تغلیظ شد و ۱۰ سی‌سی عصاره به دست آمد.

برای تهیه پماد ۴ درصد از پایه پماد (وازلین و اوسرین استریل شده) تهیه شده در همان حالت ۱۸/۴ گرم جدا گردید و در ظرف مخصوص نمونه‌گیری ریخته شد و سپس ۰/۸ گرم از هرکدام از عصاره‌های گل راعی (شرکت زرد بند، تهران، ایران) و آلوئه‌ورا به ترکیب فوق اضافه شد . برای تهیه پماد ۱ درصد نیز از پایه پماد تهیه شده در همان حالت ۱۹/۶ گرم جدا گردید و در ظرف مخصوص نمونه‌گیری ریخته شد و سپس ۰/۲ گرم از هرکدام از عصاره‌های گل راعی و آلوئه‌ورا نیز به ترکیب فوق اضافه گردید. پمادهای حاصله به منظور روانتر شدن به مدت ۴-۳ دقیقه در فور قرار گرفت و پس از خروج از دستگاه تا لحظه کامل سرد و بسته شدن با انتهای یک سوآپ استریل هم زده شد

(شکل ۱).

شکل ۱- پمادهای ساخته شده

باکتری استافیلوکوکوس اورئوس: برای تلقیح باکتری از باکتری استافیلوکوکوس اورئوس لیوفلیزه شده توسط شرکت مرک آلمان (Enrichment media Staphylococcus) که در محیط نوترینت آگار کشت داده شده بود استفاده گردید (از سویه‌های ATCC 6538 به عنوان کنترل کیفی استفاده شد). بعد از کشت در انکوباتور ۳۷ درجه به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت . در این شرایط باکتری کشت شده یکسری کلونی‌های تک ایجاد کرد که چند کلونی برداشته و در یک محیط براس دوباره کشت داده شد در مرحله بعد به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور شیکردار گذاشته و بعد از آن با دور ۳۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید . مایع رویی ایجاد شده در اثر سانتریفیوژ با سمپلر کشیده و دور ریخته شد که این عمل به منظور شستشو برای خالص‌سازی باکتری صورت گرفت و تا ۲-۳ دفعه شستشو ادامه پیدا کرد. سری سوم که مایع رویی کشیده و دور ریخته شد به رسوب آن یک میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد بعد مایع حاصله ورتکس گردید. در مرحله بعد با دستگاه اسپکتوفتومتر OD محلول به دست آمده در طول موج ۶۰۰ نانومتر محاسبه شد که تعداد باکتری برابر 10^8 cfu/ml بود در مرحله آخر محلول به دست آمده با این تعداد باکتری ده هزار برابر رقیق شده و بلافاصله بعد از ایجاد زخم، به زخم موش‌ها تلقیح گردید.

حیوانات مورد مطالعه: در این مطالعه از ۴۰ رت نژاد ویستار استفاده شد . تمام موش‌ها نر بوده و وزن آنها بین ۱۸۰-۲۲۰ گرم بود. موش‌ها به طور تصادفی به ۴ گروه تقسیم و در قفس‌های جداگانه مخصوص نگهداری حیوانات آزمایشگاهی قرار داده شدند. محیط نگهداری آنها بدون استرس، تمیز و دارای دمای مناسب بود. موش‌ها با غذای استاندارد حیوانات آزمایشگاهی که به صورت پلت بود تغذیه می‌شدند و آب به طور آزادانه در اختیار آنها قرار داده شد. گروه اول یا گروه شاهد (بدون درمان)، گروه دوم یا گروه کنترل مثبت (درمان شده با ترکیب وازلین و اوسرین)، گروه سوم یا گروه درمانی اول (تحت درمان با پماد حاوی عصاره آلوئه‌ورا و گل راعی ۱ درصد) و گروه چهارم یا گروه درمانی دوم (تحت درمان با پماد حاوی عصاره آلوئه‌ورا و گل راعی ۴ درصد) بودند.

موش‌ها برای بیهوش کردن از قفس‌ها خارج شدند و روی تخت جراحی قرار گرفتند. سپس با تزریق داخل صفاقی زایلازین ، Xylazine %2) (Holland ، Woerden ، alfasan با دوز ۵ mg/kg و کتامین ، Ketamin %10) (Holland ، Woerden ، alfasan با دوز ۱۰mg/kg بیهوش شدند.

موش‌ها پس از بیهوشی به‌صورت شکمی بر روی میز جراحی قرار داده شدند و موهای قسمت پشت حیوان کاملا برداشته شد . سپس ناحیه پشت حیوان

با بتادین تمیز و ضد عفونی شد و با پانچی که قطر آن ۶ میلی‌متر بود زخم ایجاد شد. روز عمل روز صفر در نظر گرفته شد.

درمان محل زخم از روز صفر (روز ایجاد زخم) تا روز ۱۴ به صورت روزانه یک بار انجام می‌شد . قبل از انجام درمان در هر روز به استثنای روز صفر که تلقیح باکتری انجام شد محل زخم با استفاده از یک تامپون و محلول سدیم کلراید ایزوتونیک شستشو می‌شد.

بررسی‌های ماکروسکوپیک: در روزهای صفر، ۳، ۷ و ۱۴ از زخم‌های ایجاد شده عکس‌برداری انجام شد . به این صورت که پس از مقید کردن موش یک خط‌کش مدرج در کنار زخم هم سطح با زخم قرار می‌گرفت و سپس عکس‌برداری با یک زاویه عمود بر زخم انجام می‌شد.

برای انجام اندازه‌گیری‌های ماکروسکوپیک در این مطالعه از نرم‌افزار image tool استفاده شد. با استفاده از این نرم‌افزار در هر تصویر مساحت کلی زخم اندازه‌گیری می‌شد. روش اندازه‌گیری به این صورت بود که پس از انتقال تصاویر به نرم‌افزار ابتدا مقیاس سیستم اندازه‌گیری نرم‌افزار با انتخاب فاصله دو نقطه (از روی خط‌کش مدرج که در هنگام تهیه عکس دیجیتالی در کنار زخم قرار گرفته بود) تعریف شد و سپس با استفاده از ابزاری که نرم‌افزار در اختیار قرار داده بود لبه‌های زخم مشخص شد و سپس مساحت ناحیه انتخاب شده اندازه‌گیری شد.

برای محاسبه درصد اندازه زخم در هر روز مساحت اندازه‌گیری شده تقسیم بر مساحت زخم در روز صفر شد مطابق با فرمول زیر:

۱۰۰ × (مساحت زخم در روز صفر ÷ مساحت زخم در روز X) = درصد اندازه زخم در روز X

درصد اندازه زخم در روز X – ۱۰۰ = درصد التیام زخم در روز X

بررسی‌های میکروسکوپیک: نمونه‌برداری به‌منظور انجام بررسی‌های میکروسکوپیک در روزهای ۳، ۷ و ۱۴ انجام شد. به این منظور در روز ۳ از هر گروه به طور تصادفی دو موش انتخاب و با استفاده از اتر یوتانایز شد. در روزهای ۷ و ۱۴ نیز از هر گروه به طور تصادفی ۳ موش انتخاب و یوتانایز شدند. موهای روییده شده در ناحیه زخم قبل از انجام نمونه‌برداری زدوده شدند و سپس با استفاده از یک اسکالپل برشی تمام ضخامت در پوست ایجاد شد و نمونه جهت بررسی آسیب‌شناسی برداشته شد. در هنگام برداشت نمونه هم از بافت پوست سالم و هم از بافت زخم نمونه‌برداری صورت گرفت تا امکان مقایسه بافت سالم و زخم وجود داشته باشد. بعد از برداشت نمونه، بافت زیر جلد از لحاظ حضور چسبندگی مورد بررسی قرار گرفت. نمونه‌های تهیه شده در ظرف‌های نمونه‌گیری حاوی فرمالین بافر ۱۰ درصد قرار داده شدند و مشخصات هر نمونه بر روی ظرف نمونه‌گیری یادداشت شد. بعد از ۲۴ ساعت فرمالین نمونه‌ها تعویض شد.

لایه‌های پوست به طور جداگانه بررسی شدند. معیارهایی که در قسمت اپیدرم مورد توجه قرار گرفت شامل منظم بودن لایه‌ی بازال، تکثیر و تمایز سلول‌های خاردار، لایه سلول‌های دانه‌دار حاوی کراتوهیالین، تغییرات کلی اپیدرم از نظر هایپرپلازی، فرورفتگی اپیدرم در درم (Rete ridge) و بالعکس (Rete pegs) می‌باشد.

تغییرات درم در دو ناحیه سطحی و عمقی به صورت جداگانه مورد بررسی قرار گرفت و در هرکدام از نواحی، میزان و جهت رشته‌های کلاژن (موازی بودن رشته‌های کلاژن با هم و با اپیدرم و عمود بودن آنها بر عروق خونی) و همچنین حضور سلول‌های فیبروبلاست، مورد بررسی قرار گرفت.

در هریک از قسمت‌های درم (سطح و عمق درم) رگ‌های خونی از نظر تعداد رگ‌ها و جهت آنها (عمود بودن بر اپیدرم) مورد مطالعه قرار گرفتند.

همچنین از نظر شدت التهاب و نفوذ سلول‌های التهابی مرحله حاد (پلاکت، فیبرین و سلول‌هایی با هسته چند شکلی (PMN))، سلول‌های التهابی مرحله مزمن (سلول‌های تک‌هسته‌ای (MN)) ، شدت پرخونی، وسعت خونریزی و ایجاد ضمایم پوست (فولیکول‌های مو، غدد سبابه و غدد عرق) در محل التیام مورد بررسی قرار گرفتند.

در نهایت به هرکدام از مراحل فوق براساس شدت، امتیازهای ۱ برای حالت خیلی کم، ۲ برای حالت کم، ۳ برای حالت متوسط، ۴ برای حالت زیاد و ۵ برای حالت خیلی زیاد داده شد و اطلاعات به‌دست آمده در جدول برای هر نمونه ثبت شد (۲۵).

روش تجزیه و تحلیل آماری: در این تحقیق تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۳ انجام شد. از آزمون ANOVA و تست تکمیلی Duncan برای مقایسه مساحت زخم و درصد التیام زخم بین تیمارهای مختلف استفاده شد. و از آزمون غیر پارامتریک کروسکال والیس برای مقایسه داده‌های به‌دست آمده از ارزیابی‌های هیستوپاتولوژیک استفاده شد. سطح معنی‌داری P_{value} کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج

یافته‌های ماکروسکوپیک: نتایج به‌دست آمده نشان داد در روزهای ۳ و ۷ و ۱۴ تفاوت میانگین مساحت زخم بین گروه‌های مختلف درمان معنی‌دار نشده است ($P_{value} \rangle 0/05$)

در روز سه مساحت زخم در گروه کنترل مثبت (درمان شده با وازلین و اوسرین) بیشتر از گروه‌های درمانی با پماد عصاره آلوئه‌ورا و گل راعی ۱ درصد و ۴ درصد وکنترل منفی بود از طرفی در گروه‌های درمان شده با پماد عصاره آلوئه‌ورا و گل راعی مساحت زخم کمتر از دو گروه دیگر بود اما تفاوت معنی‌داری در مساحت زخم در بین گروه‌های مختلف مشاهده نشد.

در روز هفت مساحت زخم در گروه یک کمتر از گروه پماد عصاره گل راعی و آلوئه‌ورا ۱ درصد و ۴ درصد و گروه کنترل مثبت بود و در گروه کنترل مثبت از همه بیشتر بود اما تفاوت معنی‌داری بین این سه گروه مشاهده نشد.

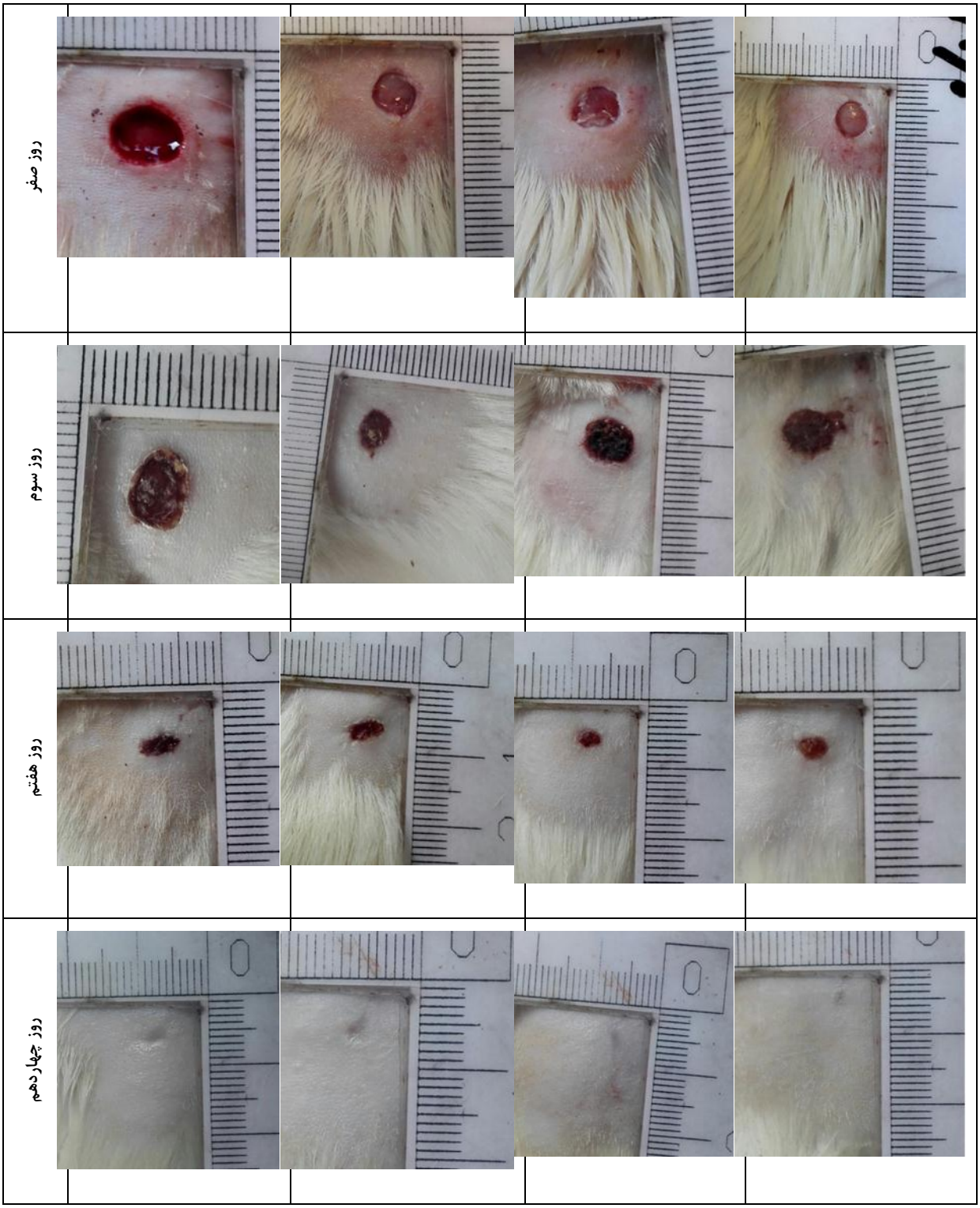
در روز چهارده مساحت زخم در گروه‌های درمانی با پماد کمتر از دو گروه دیگر بود ولی این تفاوت معنی‌دار نشد (جدول ۱).

تغییرات ماکروسکوپی زخم‌ها در روزهای مختلف در شکل ۲ قابل مشاهده است.

نتایج به‌دست آمده نشان داد درصد التیام زخم در روزهای هفت و چهارده در بین گروه‌های درمانی تفاوت آماری معنی‌داری ندارد اما در روز سه، بین گروه‌های درمان شده با پماد حاوی عصاره آلوئه‌ورا و گل راعی ۱ و ۴ درصد و گروه کنترل مثبت تفاوت آماری معنی‌داری وجود دارد و گروه‌های درمان شده با پماد با هم در یک سطح از لحاظ معنی‌داری قرار دارند.

در روز هفت، درصد التیام زخم در گروه کنترل منفی بیشتر از سایر گروه‌ها بود و همچنین درصد التیام زخم در گروه درمان شده با پماد حاوی عصاره آلوئه‌ورا و گل راعی یک درصد بیشتر از گروه چهار درصد شد اما هیچ گونه تفاوت آماری معنی‌داری در بین گروه های درمانی وجود نداشت.

در روز چهارده، درصد التیام زخم در گروه‌های درمان شده با پمادهای گیاهی ۱ درصد و ۴ درصد بیشتر از دو گروه دیگر بود و درصد التیام زخم بین دوگروه کنترل منفی و کنترل مثبت نیز برابر بود و هیچ گونه تفاوت آماری معنی‌داری بین گروه های درمانی وجود نداشت (جدول ۲).



شکل ۲- تغییرات ماکروسکوپی زخم‌ها

جدول ۱- مساحت زخم (میلی‌متر مربع) در تیمارهای مختلف در طول مدت آزمایش، نتایج به صورت میانگین و انحراف معیار (Mean ±SD) نشان داده شده است.

زمان	کنترل مثبت	کنترل منفی	عصاره ۱٪	عصاره ۴٪	P_{value}
روز ۳	۲۷/۳۱±۴/۶۷	۲۹/۵۷±۴/۷۲	۲۷/۳۹±۳/۲۳	۲۷/۰۴±۳/۷۷	۰,۶۲۹
روز ۷	۱۱/۴۹± ۹/۳۲	۶/۷۴± ۲/۹۷	۷/۰۰± ۱/۹۱	۷/۸۱± ۳/۱۴	۰,۲۶۵
روز ۱۴	۰/۹۹±۰/۸۶	۰/۹۷±۰/۸۳	۰/۰۰± ۰/۰۰	۰/۰۸±۰/۰۷	۰,۳۸۱

جدول ۲- درصد التیام زخم (Mean ±SD) در تیمارهای مختلف در طول مدت آزمایش، در ردیف اول حروف انگلیسی متفاوت، تفاوت آماری معنی‌دار را نشان می‌دهند

زمان	کنترل مثبت	کنترل منفی	عصاره ۱٪	عصاره ۴٪	P_{value}
روز ۳	۰/۰۳±۰/۰۲a	۰/۰۷±۰/۰۶ ab	۰/۰۸±۰/۰۳b	۰/۰۸±۰/۰۴b	۰,۰۴۹
روز ۷	۰/۶۳± ۰/۲۶	۰/۷۹± ۰/۰۶	۰/۷۷± ۰/۰۴	۰/۷۴± ۰/۰۷	۰,۱۳۳
روز ۱۴	۰/۹۹±۰/۰۱	۰/۹۷±۰/۰۲	۱/۰۰± ۰/۰۰	۱/۰۰±۰/۰۰	۰,۳۱۵

یافته‌های میکروسکوپیک: معیار نظم سلول‌های بازال در روز هفت تفاوت آماری معنی‌داری را نشان داد اما تقسیمات میتوزی سلول‌های بازال هیچ گونه تفاوت آماری معنی‌داری در چهار گروه درمانی نشان نداد. از طرفی پماد ۴ درصد عصاره گل راعی و آلوئه‌ورا در روز چهاردهم از لحاظ نظم نمره بهتری نسبت به سه گروه دیگر کسب کرد (جدول ۳).

در قسمت مقایسه سلول‌های لایه خاردار نیز از لحاظ تکثیر و تمایز، بخش تمایز سلول‌های خاردار دارای تفاوت آماری معنی‌داری بود اما تکثیر سلول‌های خاردار و همچنین هایپرپلازی اپیدرم هیچ‌گونه تفاوت آماری معنی‌داری نداشتند اما پماد حاوی عصاره یک درصد در روز هفتم و پماد حاوی عصاره چهار درصد در روز چهاردهم از لحاظ تمایز سلول های خاردار نمره بهتری نسبت به سایر گروه‌ها دریافت کردند.

سلول‌های دانه‌دار حاوی کراتوهیالین از روز هفتم در سه گروه کنترل مثبت و گروه‌های درمان شده با پمادهای گیاهی و در روز چهاردهم در همه گروه ها قابل مشاهده بودند و این سلول‌ها در روز هفتم تفاوت آماری معنی‌داری نشان دادند همچنین عصاره چهار درصد در روز چهاردهم نمره بهتری از لحاظ حضور سلول‌های دانه دار کسب کرد (جدول ۳).

مورد دیگری که در لایه اپیدرم مورد مقایسه قرار گرفت حضور Rete ridges بود که در روز هفتم در گروه‌های کنترل مثبت و درمان شده با پماد و روز چهاردهم در همه گروه‌ها مشاهده شد اما هیچ‌گونه تفاوت آماری معنی‌داری نشان نداد.

در لایه درم رشته‌های کلاژن از لحاظ تعداد و جهت رشته‌ها مورد مقایسه قرار گرفتند که میزان رشته های کلاژن در روز هفتم تفاوت آماری معنی‌داری را نشان داد اما گروه عصاره چهار درصد در روز هفتم و گروه‌های کنترل مثبت و عصاره یک درصد در روز چهاردهم نمره بهتری نسبت به سایر گروه‌ها دریافت کردند (جدول ۳).

از لحاظ معیار فیبروبلاست نیز گروه عصاره چهار درصد در روز چهاردهم نمره بهتری نسبت به سه گروه دیگر کسب کرد اما هیچ‌گونه تفاوت معنی‌داری در بین امتیازات داده شده به موش‌ها در گروه‌های مختلف مشاهده نشد (جدول ۳).

جدول ۳- مقادیر (Mean ±SD) امتیازات هیستوپاتولوژی در تیمارهای مختلف در طول مدت آزمایش

معیارهای پاتولوژی	روز	کنترل مثبت	کنترل منفی	عصاره ۱٪	عصاره ٤٪	P_{value}
هایپرپلازی اپیدرم	هفتم	۴/۶۷± ۰/۵۸	----	۴/۶۷± ۰/۵۸	۴/۳۳± ۰/۵۸	۰,۶۷۰
	چهاردهم	۳/۵۰± ۰/۷۱	۴/۰۰± ۰/۰۰	۳/۰۰± ۰/۰۰	۳/۵۰± ۰/۷۱	۰,۳۲۱
نظم سلول‌های بازال	هفتم	۱/۰۰± ۰/۰۰	----	۱/۶۷± ۰/۵۸	۲/۶۷± ۰/۵۸	۰,۰۴۷
	چهاردهم	۴/۰۰± ۰/۰۰	۳/۰۰± ۰/۰۰	۴/۰۰± ۰/۰۰	۵/۰۰± ۰/۰۰	۰,۰۷۲
میزان رشته‌های کلاژن	سوم	۲/۰۰± ۰/۰۰	۱/۰۰± ۰/۰۰	۱/۰۰± ۰/۰۰	۱/۵۰± ۰/۷۱	۰,۱۶۲
	هفتم	۲/۶۷± ۰/۵۸	۲/۰۰± ۰/۰۰	۳/۰۰± ۰/۰۰	۴/۰۰± ۰/۰۰	۰,۰۳۱
	چهاردهم	۴/۰۰± ۰/۰۰	۳/۰۰± ۰/۰۰	۴/۰۰± ۰/۰۰	۳/۵۰± ۰/۷۱	۰,۱۶۲
میزان تشکیل بافت بافت پوششی	سوم	۱/۰۰± ۰/۰۰	۱/۰۰± ۰/۰۰	۱/۰۰± ۰/۰۰	۱/۰۰± ۰/۰۰	۱,۰۰۰
	هفتم	۳/۰۰± ۰,۰۰	۱/۰۰±۰,۰۰	۳/۰۰± ۰,۰۰	۳/۶۷±۰,۵۸	۰,۰۴۰
	چهاردهم	۴,۰۰±۰/۰۰	۳,۰۰±۰/۰۰	۴,۰۰±۰/۰۰	۵,۰۰±۰/۰۰	۰,۰۷۲
فیبروبلاست‌ها	سوم	۲/۵۰± ۰/۷۰	۲/۵۰± ۰/۷۰	۲/۵۰± ۰/۷۰	۳/۰۰± ۰/۰۰	۰,۷۰۶
	هفتم	۲/۶۷± ۰/۵۷	۳/۰۰± ۰/۰۰	۳/۳۳± ۰/۵۷	۴/۶۷± ۰/۵۷	۰,۰۵۴
	چهاردهم	۴/۰۰± ۰/۰۰	۴/۵۰± ۰/۷۰	۴/۵۰± ۰/۷۰	۵/۰۰± ۰/۰۰	۰,۳۲۱
فولیکول‌های مو	سوم	۱/۰۰± ۰/۰۰	۱/۰۰± ۰/۰۰	۱/۰۰± ۰/۰۰	۱/۰۰± ۰/۰۰	۱,۰۰۰
	هفتم	۱/۰۰± ۰/۰۰	۱/۰۰± ۰/۰۰	۱/۰۰± ۰/۰۰	۱/۰۰± ۰/۰۰	۱,۰۰۰
	چهاردهم	۱/۰۰± ۰/۰۰	۱/۰۰± ۰/۰۰	۲/۰۰± ۰/۰۰	۲/۰۰± ۰/۰۰	۰,۰۷۲
غدد عرق	سوم	۱/۰۰± ۰/۰۰	۱/۰۰± ۰/۰۰	۱/۰۰± ۰/۰۰	۱/۰۰± ۰/۰۰	۱,۰۰۰
	هفتم	۱/۰۰± ۰/۰۰	۱/۰۰± ۰/۰۰	۱/۰۰± ۰/۰۰	۱/۰۰± ۰/۰۰	۱,۰۰۰
	چهاردهم	۱/۰۰± ۰/۰۰	۱/۰۰± ۰/۰۰	۱/۰۰± ۰/۰۰	۱/۰۰± ۰/۰۰	۱,۰۰۰
غدد سباسه	سوم	۱/۰۰± ۰/۰۰	۱/۰۰± ۰/۰۰	۱/۰۰± ۰/۰۰	۱/۰۰± ۰/۰۰	۱,۰۰۰
	هفتم	۱/۰۰± ۰/۰۰	۱/۰۰± ۰/۰۰	۱/۰۰± ۰/۰۰	۱/۰۰± ۰/۰۰	۱,۰۰۰
	چهاردهم	۱/۰۰± ۰/۰۰	۱/۰۰± ۰/۰۰	۱/۰۰± ۰/۰۰	۲/۰۰± ۰/۰۰	۰,۰۷۲
عضلات صاف	سوم	۱/۰۰± ۰,۰۰	۱/۰۰ ± ۰,۰۰	۱/۰۰± ۰,۰۰	۱/۰۰± ۰,۰۰	۱,۰۰۰
	هفتم	۱/۰۰± ۰/۰۰	۱/۰۰± ۰/۰۰	۱/۰۰± ۰/۰۰	۱/۰۰± ۰/۰۰	۱,۰۰۰
	چهاردهم	۳/۰۰± ۰/۰۰	۱/۰۰± ۰/۰۰	۳/۰۰± ۰/۰۰	۴/۰۰± ۰/۰۰	۰,۰۷۲
شدت سلول های التهابی	سوم	۴/۰۰± ۰/۰۰	۴/۰۰± ۰/۰۰	۴/۵۰± ۰/۷۱	۴/۵۰± ۰/۷۱	۰,۵۰۶
	هفتم	۲/۰۰± ۰/۰۰	۳/۵۰± ۰/۷۱	۱/۰۰± ۰/۰۰	۱/۰۰± ۰/۰۰	۰,۰۱۹
	چهاردهم	۱/۰۰± ۰/۰۰	۱/۰۰± ۰/۰۰	۱/۰۰± ۰/۰۰	۱/۰۰± ۰/۰۰	۱,۰۰۰
شدت پرخونی	سوم	۳/۵۰± ۰/۷۱	۳/۵۰± ۰/۷۱	۴/۵۰± ۰/۷۱	۴/۰۰± ۰/۰۰	۰,۳۵۱
	هفتم	۲/۰۰± ۰/۰۰	۴/۵۰± ۰/۷۱	۲/۶۷± ۰/۵۸	۲/۳۳± ۰/۵۸	۰,۰۷۳
	چهاردهم	۱/۰۰± ۰/۰۰	۱/۰۰± ۰/۰۰	۱/۰۰± ۰/۰۰	۱/۰۰± ۰/۰۰	۱,۰۰۰
سلول های دانه دار	هفتم	۳/۰۰± ۰/۰۰	----	۳/۰۰± ۰/۰۰	۴/۰۰± ۰/۰۰	۰,۰۱۸
	چهاردهم	۴/۰۰± ۰/۰۰	۳/۵۰± ۰/۷۱	۴/۰۰± ۰/۰۰	۴/۵۰± ۰/۷۱	۰,۳۲۱
خونریزی	سوم	۲/۰۰± ۰/۰۰	۲/۰۰ ± ۰/۰۰	۲/۰۰± ۰/۰۰	۲/۰۰± ۰/۰۰	۱,۰۰۰
	هفتم	۱/۰۰± ۰/۰۰	۲/۰۰± ۰/۰۰	۱/۰۰± ۰/۰۰	۱/۰۰± ۰/۰۰	۰,۰۱۹
	چهاردهم	۱/۰۰± ۰/۰۰	۱/۰۰± ۰/۰۰	۱/۰۰± ۰/۰۰	۱/۰۰± ۰/۰۰	۱,۰۰۰
جهت رگ‌های خونی	سوم	۳/۰۰± ۰/۰۰	۳/۰۰± ۰/۰۰	۳/۰۰± ۰/۰۰	۲/۰۰± ۰/۰۰	۰,۰۷۲
	هفتم	۴/۰۰± ۰/۰۰	۴/۰۰± ۰/۰۰	۳/۶۷± ۰/۵۸	۳/۶۷± ۰/۵۸	۰,۶۰۴
	چهاردهم	۳/۰۰± ۰/۰۰	۴/۰۰± ۰/۰۰	۳/۰۰± ۰/۰۰	۴/۰۰± ۰/۰۰	۰,۰۷۲
جهت رشته‌های کلاژن	سوم	۲/۰۰± ۰,۰۰	۲/۰۰± ۰,۰۰	۲/۰۰± ۰,۰۰	۲/۰۰± ۰,۰۰	۱,۰۰۰
	هفتم	۱/۶۷± ۰/۵۸	۱/۰۰± ۰/۰۰	۲/۰۰± ۰/۰۰	۲/۰۰± ۰/۰۰	۰,۰۷۴
	چهاردهم	۱/۵۰± ۰/۷۱	۱/۰۰± ۰/۰۰	۲/۰۰± ۰/۰۰	۲/۰۰± ۰/۰۰	۰,۱۶۲
تمایز سلول‌های خاردار	هفتم	۲/۰۰± ۰/۰۰	----	۲/۰۰± ۰/۰۰	۳/۰۰± ۰/۰۰	۰,۰۱۸
	چهاردهم	۳/۵۰± ۰/۷۱	۳/۰۰± ۰/۰۰	۳/۵۰± ۰/۷۱	۴/۵۰± ۰/۷۱	۰,۲۴۶
تکثیر سلول‌های خاردار	هفتم	۴/۶۷± ۰/۵۸	----	۴/۶۷± ۰/۵۸	۴/۳۳± ۰/۵۸	۰,۶۷۰

معیارهای پاتولوژی	روز	کنترل مثبت	کنترل منفی	عصاره ۱٪	عصاره ٤٪	P_{value}
	چهاردهم	۳/۰۰± ۰/۰۰	۳/۰۰± ۰/۰۰	۳/۰۰± ۰/۰۰	۳/۰۰± ۰/۰۰	۱,۰۰۰
تقسیمات میتوزی سلول‌های بازال	هفتم	۴/۰۰± ۰/۰۰	----	۴/۰۰± ۰/۰۰	۳/۳۳± ۰/۵۸	۰,۱۰۲
	چهاردهم	۳/۰۰± ۰/۰۰	۳/۰۰± ۰/۰۰	۲/۵۰± ۰/۷۱	۲/۰۰± ۰/۰۰	۰,۱۶۲
تعداد رگ‌های خونی	سوم	۲/۵۰± ۰/۷۱	۳/۵۰± ۰/۷۱	۴/۰۰± ۰/۰۰	۳/۵۰± ۰/۷۱	۰,۲۴۶
	هفتم	۲/۶۷± ۰/۵۸	۳/۵۰± ۰/۷۱	۳/۰۰± ۰/۰۰	۲/۰۰± ۰/۰۰	۰,۰۶۰
	چهاردهم	۲/۰۰± ۰/۰۰	۱/۵۰± ۰/۷۱	۲/۰۰± ۰/۰۰	۲/۰۰± ۰/۰۰	۰,۳۹۲
Rete ridges	هفتم	۳/۳۳± ۰/۵۸	----	۳/۶۷±۰/۵۸	۳/۶۷± ۰/۵۸	۰,۶۷۰
	چهاردهم	۳/۰۰± ۰/۰۰	۲/۰۰± ۰/۰۰	۳/۰۰± ۰/۰۰	۴/۰۰± ۰/۰۰	۰,۰۷۲

عضلات صاف از روز چهاردهم در گروه‌های کنترل مثبت، عصاره یک درصد و چهار درصد قابل مشاهده بود اما هیچ‌گونه تفاوت آماری معنی‌داری نشان نداد و گروه عصاره درمانی چهار درصد در روز چهاردهم بهترین امتیاز را در بین گروه ها کسب کرد.

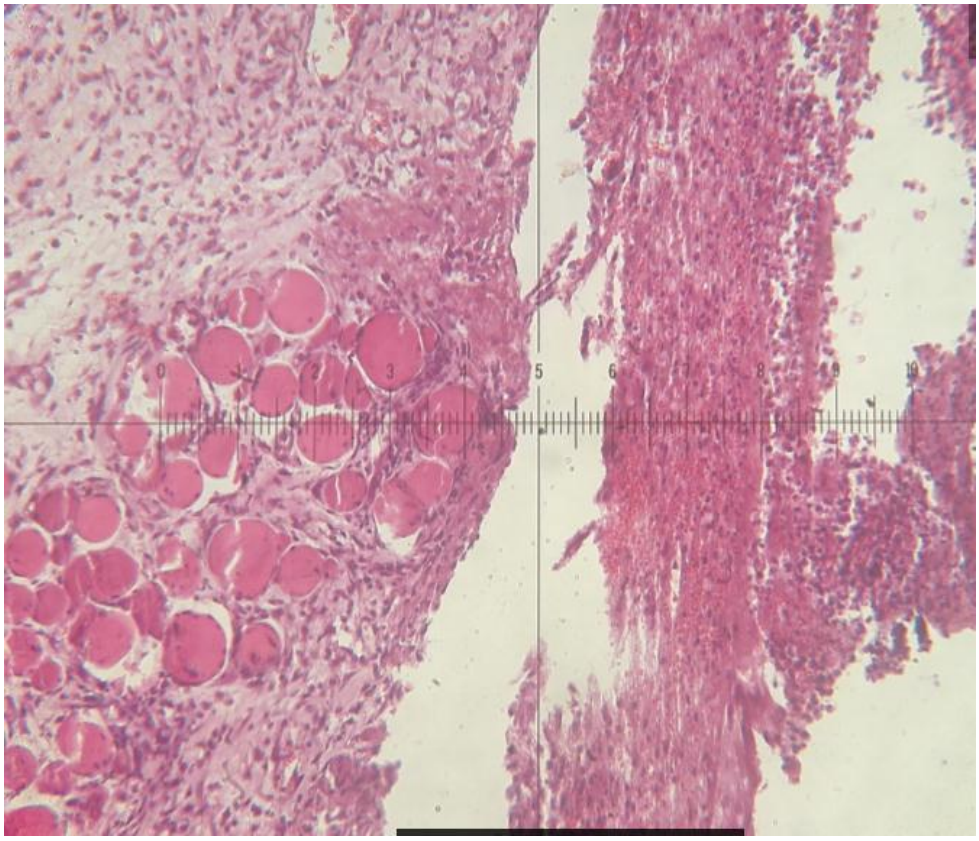
عروق موجود در لایه درم از لحاظ تعداد و جهت مورد مقایسه قرار گرفتند تمامی گروه‌ها از این لحاظ امتیازات خوبی کسب کردند اما از لحاظ آماری معنی‌دار نبود.

التهاب و سلول‌های اصلی که نوتروفیل‌ها و سلول‌های تک‌هسته‌ای بودند فقط در روز سوم در همه گروه‌ها و روز هفتم در دو گروه کنترل مثبت و منفی قابل مشاهده بودند و همچنین شدت سلول‌های التهابی در روز هفتم تفاوت آماری معنی‌داری ایجاد کرد از طرفی در روز سوم شدت سلول‌های التهابی در همه گروه‌ها برابر بود (شکل ۱۰-۳).

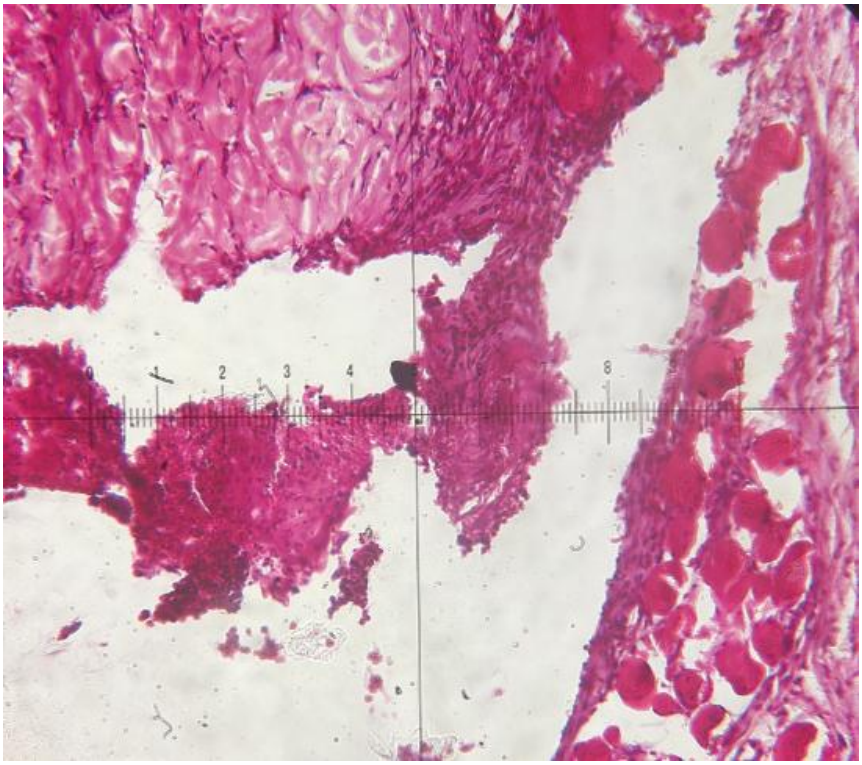
پرخونی در روزهای سوم و هفتم مشاهده می‌شد اما خونریزی فقط در روز سوم و روز هفتم در گروه کنترل منفی دیده می‌شد و همچنین میزان خونریزی در روز هفتم تفاوت آماری معنی‌داری ایجاد کرد (جدول ۳).

مقاطع بافت شناسی در گروه‌های مختلف از لحاظ ضمائم پوست شامل فولیکول‌های مو ، غدد سبابه نیز مورد بررسی قرار گرفتند . فولیکول‌های مو در روز چهاردهم در گروه‌های عصاره یک درصد و چهار درصد مشاهده شد. غدد سباسه نیز در روز چهاردهم فقط در گروه عصاره چهار درصد قابل مشاهده بود اما این سه معیار هیچ‌گونه تفاوت آماری معنی‌داری نشان ندادند (شکل۱۵-۱۱).

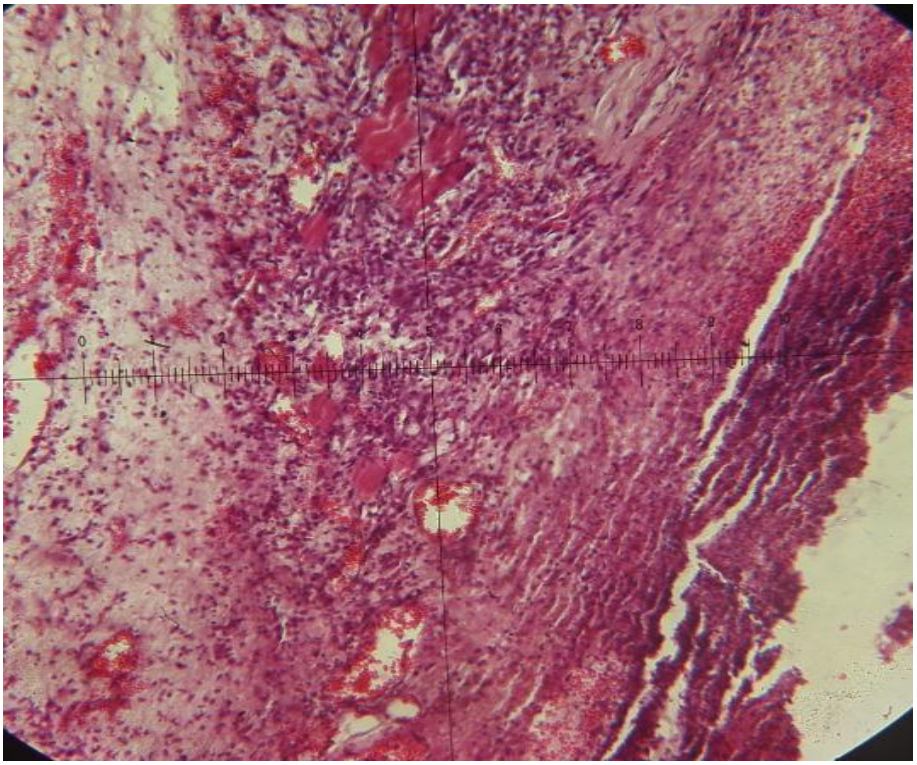
و در آخر میزان تشکیل بافت پوششی مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت که در روز هفتم تفاوت آماری معنی‌داری داشت و همچنین گروه عصاره چهار درصد در روز چهاردهم نمره بهتری نسبت به سایر گروه‌ها از لحاظ میزان تشکیل بافت پوششی دریافت کرد (شکل ۱۵-۷).



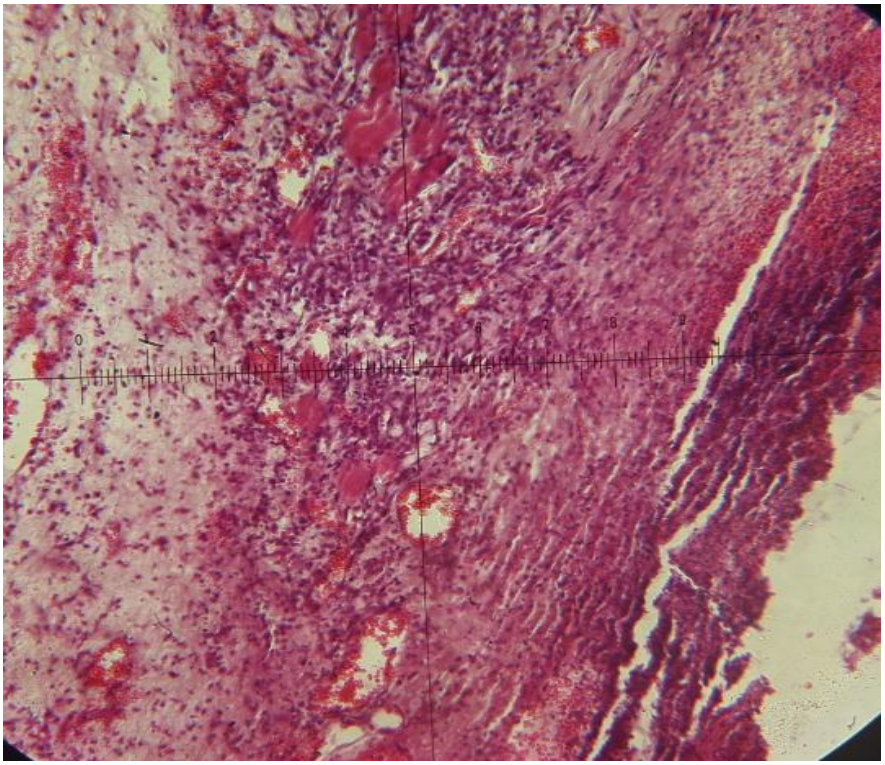
شکل ۳- خونریزی زیاد و داشتن بافت نکروزه مربوط به گروه کنترل منفی در روز ۳ با بزرگ نمایی ۲۰



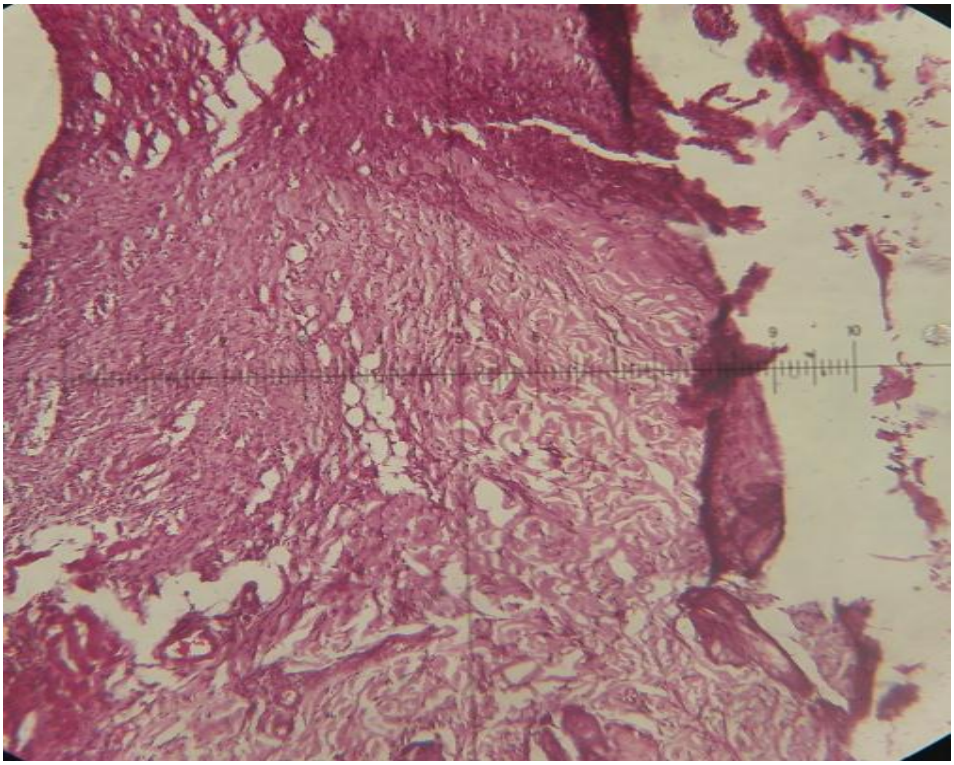
شکل ۴- خونریزی ، بافت نکروزه و ادامه روند تولید بافت همبند در مقطع مربوط به گروه درمان شده با وازلین واوسرین در روز سه با بزرگ نمایی ۲۰



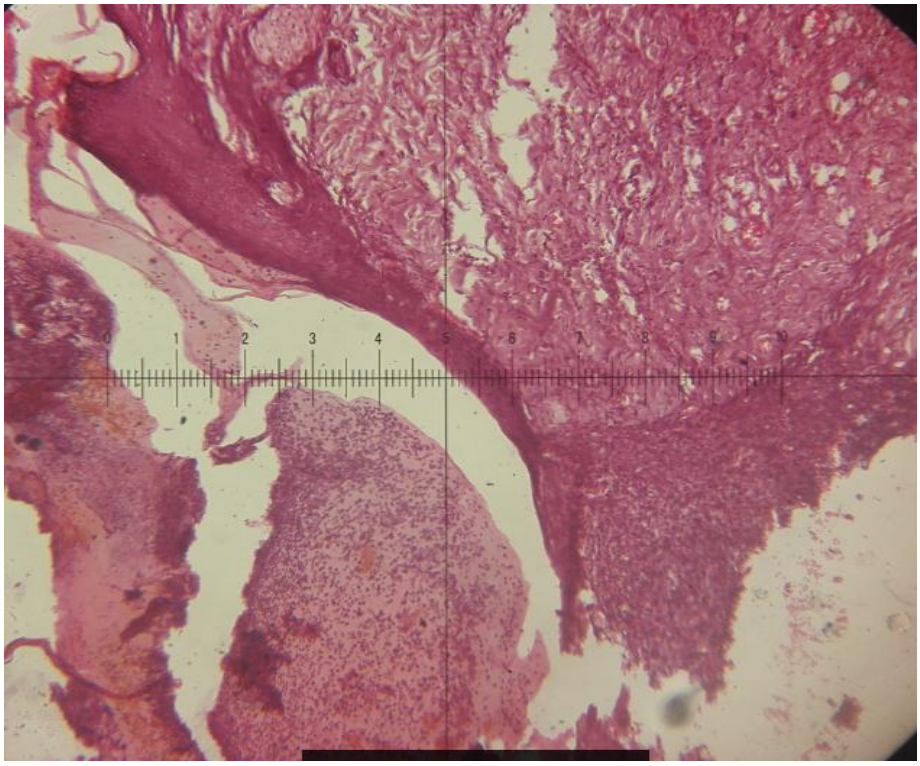
شکل ۵- بافت نکروزه و حضور شدید سلول‌های آماسی در مقطع درمان شده با پماد حاوی عصاره گل راعی و آلوئه‌ورای ۱ درصد در روز سه با بزرگنمایی ۲۰



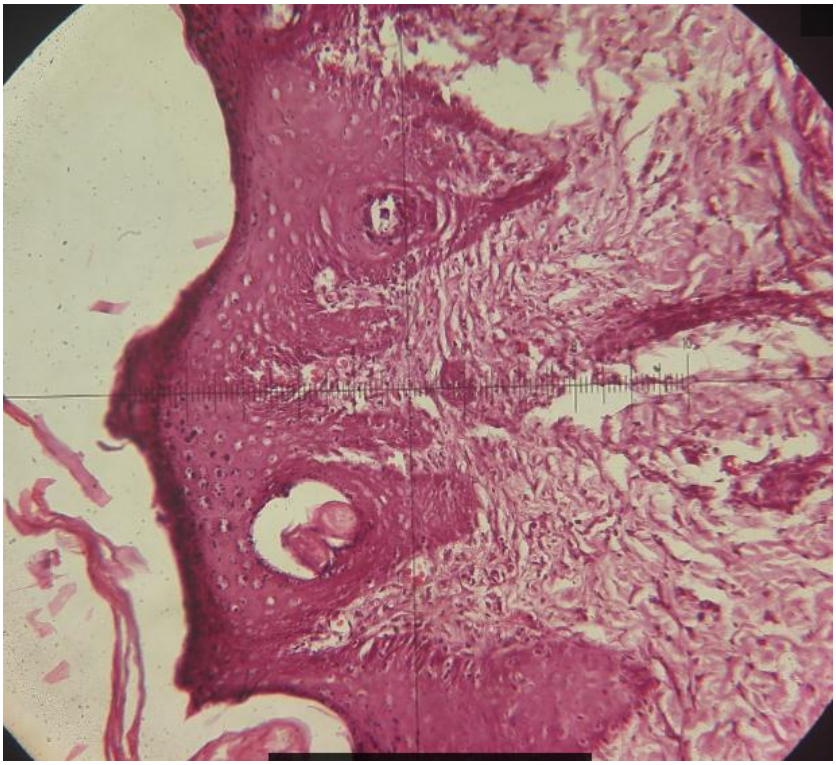
شکل ۶- تشکیل بافت همبند سست و فیبروبلاست در مقطع مربوط به گروه درمان شده با عصاره آلوئه‌ورا و گل راعی ۴ درصد در روز سه با بزرگ نمایی ۲۰



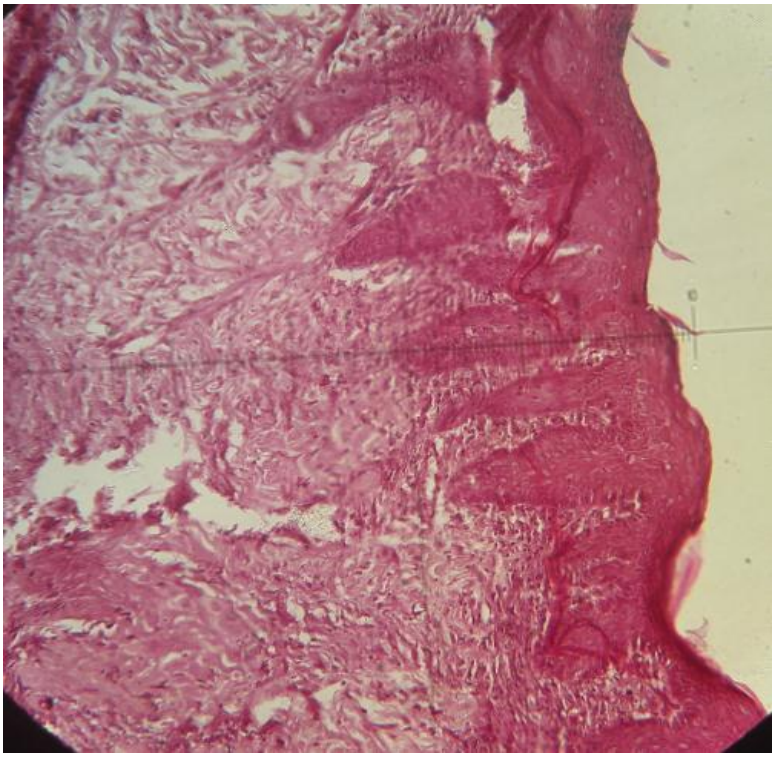
شکل ۷- بافت پوششی در روز هفتم در گروه کنترل منفی تشکیل نشده – عکس با بزرگ نمایی ۱۰



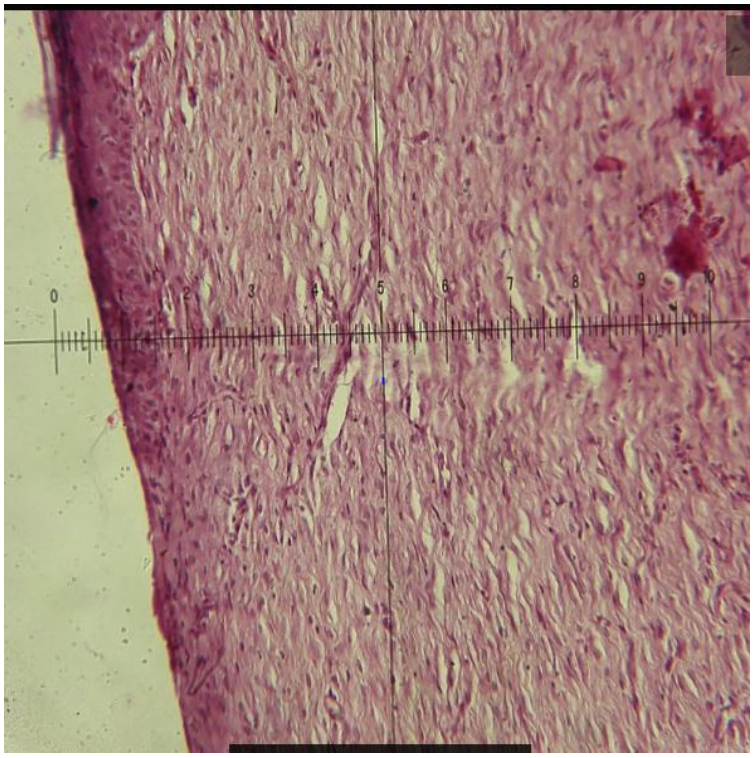
شکل ۸- شروع و ادامه روند تشکیل بافت اپیدرم در مقطع مربوط به گروه درمان شده با وازلین و اوسرین در روز هفت با بزرگ نمایی ۱۰



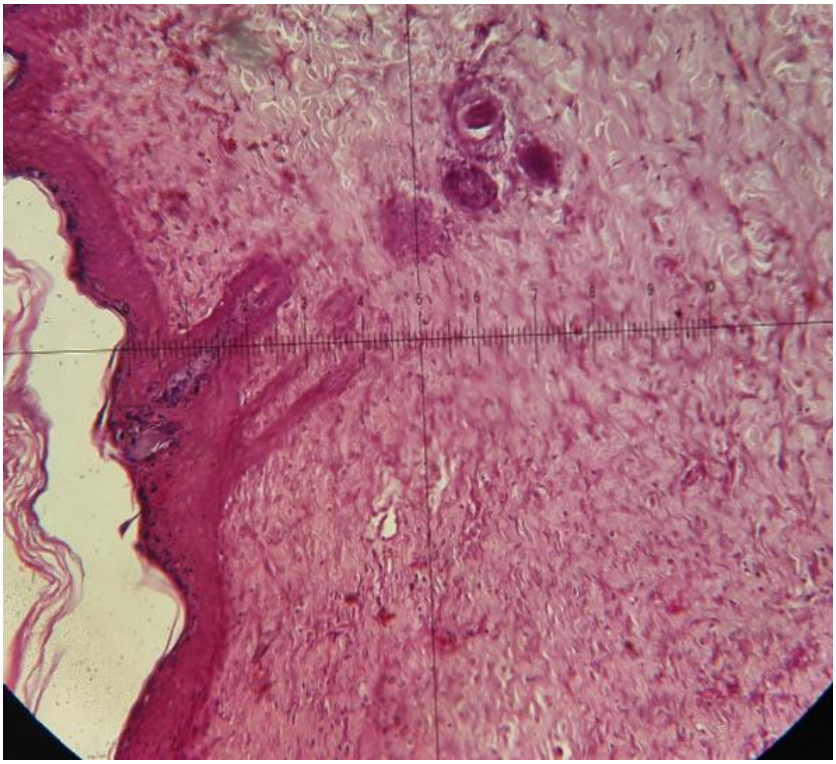
شکل ۹- تشکیل کامل بافت پوششی در گروه درمانی عصاره یک درصد در روز هفت ، عکس با بزرگ نمایی ۲۰



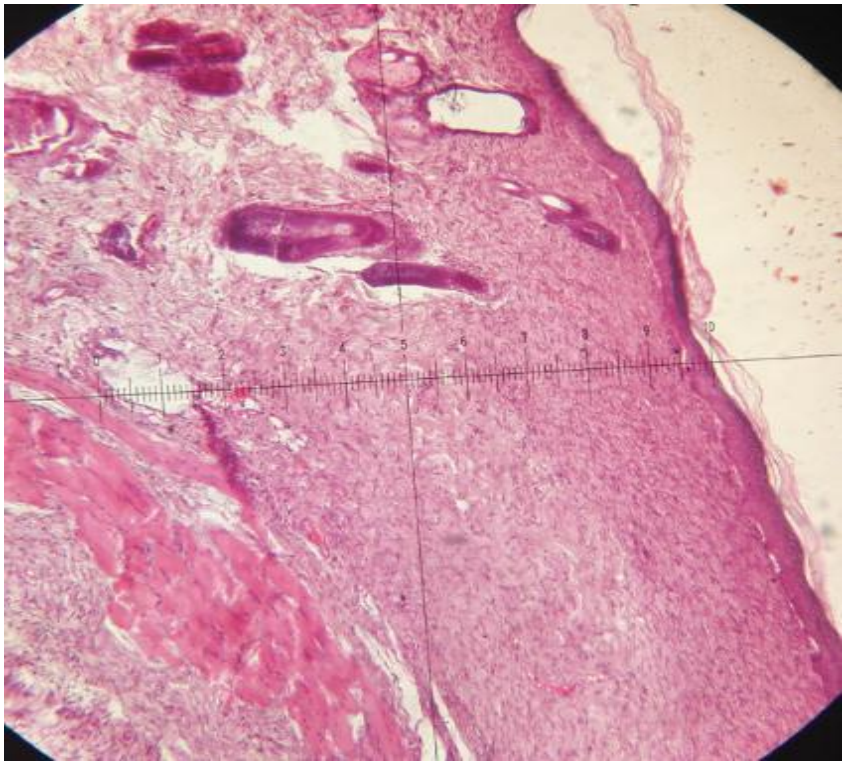
شکل ۱۰- تشکیل کامل بافت پوششی و وجود رشته‌های کلاژن که حالت نامنظم داشته ولی در حال تبدیل به حالت طبیعی است در مقطع مربوط به گروه درمان شده با پماد حاوی عصاره ۴ درصد گل راعی و آلوئه‌ورا در روز هفت با بزرگ نمایی ۲۰



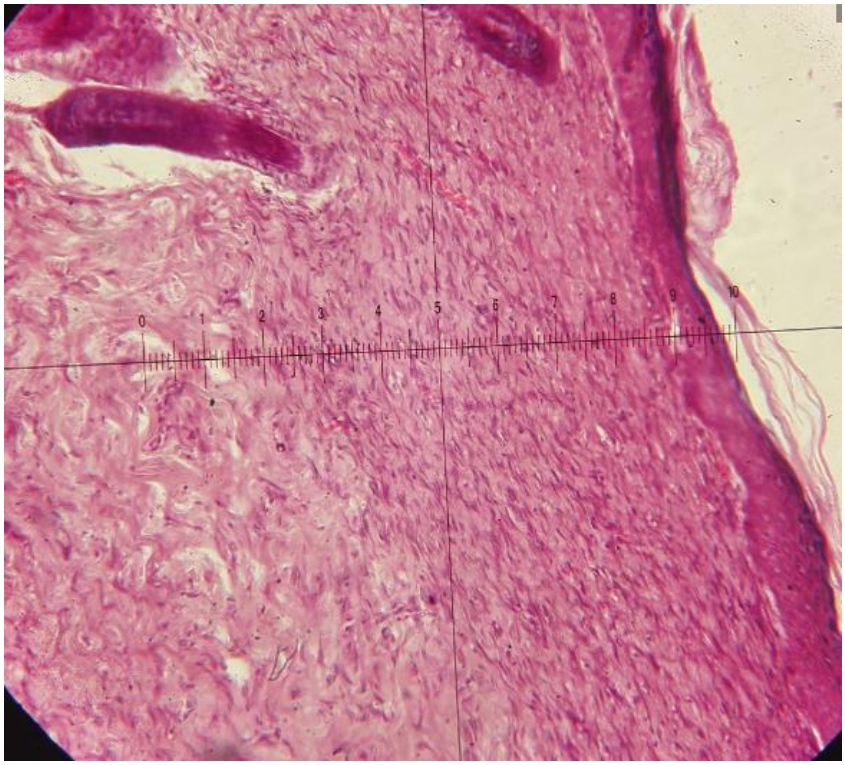
شکل ۱۱- موازی بودن رشته‌ها و اپیدرم ناقص در مقطع مربوط به گروه کنترل منفی در روز چهارده با بزرگ نمایی ۲۰



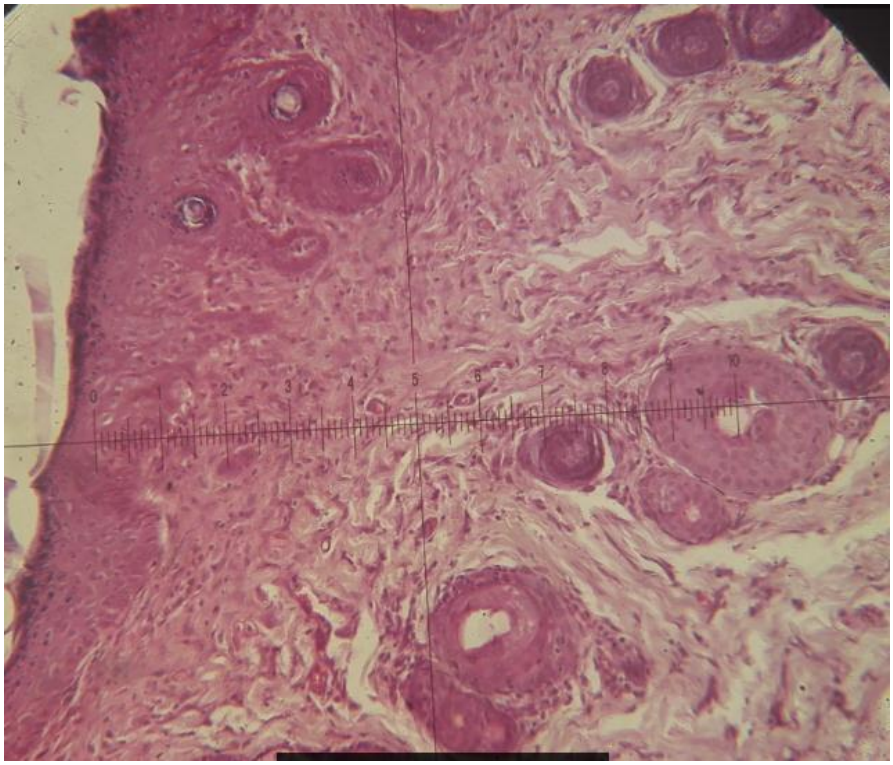
شکل ۱۲- مقایسه بافت سالم (بالای تصویر) و ترمیم شده، تشکیل بافت پوششی بدون ضمائم (پایین تصویر) در مقطع مربوط به گروه کنترل مثبت در روز چهارده با بزرگ نمایی ۲۰



شکل ۱۳- تشکیل عضله در مقطع مربوط به گروه درمان شده با عصاره یک درصد در روز چهارده با بزرگ نمایی ۱۰



شکل ۱۴- بالغ شدن بافت همبند در مقطع مربوط به گروه عصاره یک درصد در روز چهارده با بزرگ نمایی ۲۰



شکل ۱۵- تشکیل فولیکول مو وچربی در مقطع مربوط به گروه درمان شده با پماد حاوی عصاره آلوئه ورا و گل راعی ۴ درصد در روز چهارده با بزرگ نمایی ۲۰

بحث و نتیجه‌گیری

در روز ۳، مساحت زخم از نظر ماکروسکوپیک با تفاوت غیر معنی‌داری در گروه وازلین و اوسرین بیشتر از گروه‌های درمان شده با پماد حاوی عصاره گل راعی و آلوئه‌ورا ۱ و ۴ درصد و کنترل منفی بود اما هیچ‌گونه تفاوت معنی‌داری در مساحت زخم در بین گروه‌های مختلف وجود نداشت. در روز ۱۴، مساحت زخم گروه‌های درمان شده با پماد عصاره آلوئه‌ورا و گل راعی ۱ و ۴ درصد کمتر از سایر گروه‌ها بود اما بازهم تفاوت آماری معنی‌داری بین این گروه‌ها وجود نداشت این موضوع شاید به علت عدم اثر بخشی درمان با عصاره گل راعی و آلوئه‌ورا به صورت بالینی و ماکروسکوپی می‌باشد.

در روز سه، نتایج نشان داد درصد التیام زخم در گروه‌های درمان شده با عصاره‌های آلوئه‌ورا و گل راعی بیشتر از گروه‌های کنترل مثبت و کنترل منفی بود و همچنین درصد التیام زخم در گروه کنترل منفی ببیشتر از گروه درمان شده با وازلین و اوسرین بود و بین گروه‌های درمان شده با پماد حاوی عصاره آلوئه‌ورا و گل راعی ۱ و ۴ درصد و گروه کنترل مثبت تفاوت آماری معنی‌داری وجود داشت. مساحت زخم در روز صفر بر روی درصد التیام زخم مؤثر است و معمولاً بعد از ایجاد زخم مساحت آن به دلیل کشیده شدن پوست از اطراف کمی افزایش می‌یابد. حال چرا درصد التیام زخم در گروه کنترل مثبت در روز سوم کمتر شده است نیاز به بررسی بیشتر دارد.

مقاطع بافت شناسی نشان داد که میزان رشته‌های کلاژن در گروه عصاره گل راعی و آلوئه‌ورا یک درصد، چهار درصد و گروه کنترل مثبت با هم برابر بود.

فیبروبلاست در گروه درمان شده با عصاره گل راعی و آلوئه‌ورا ۴ درصد بیشتر از گروه ۱ درصد، کنترل مثبت و کنترل منفی بود. عضلات صاف نیز در گروه عصاره ۴ درصد بهتر از سه گروه دیگر شکل گرفته بود.

تعداد رگ‌های خونی در روز چهاردهم در گروه‌های درمان شده با عصاره گل راعی و آلوئه‌ورا ۱ و ۴ درصد و کنترل مثبت برابر بود. از لحاظ شدت سلول‌های التهابی، خونریزی و سلول‌های اصلی که شامل نوتروفیل‌ها و سلول‌های تک‌هسته‌ای بودند در روز ۳ دو گروه پماد ۱ و ۴ درصد امتیاز مشابهی کسب کردند. از لحاظ تشکیل ضمائم پوست در روز چهاردهم در هر دو گروه پماد حاوی عصاره گل راعی و آلوئه‌ورا ۱ و ۴ درصد فولیکول‌های مو تشکیل شده بود اما غدد سباسه فقط در گروه عصاره ۴ درصد مشاهده شد. و در نهایت میزان تشکیل بافت پوششی نیز در گروه عصاره ۴ درصد گل راعی و آلوئه‌ورا بهتر از سه گروه دیگر بود همگی این نتایج پاتولوژی و میکروسکوپی نشان از اثر بخشی عصاره‌های گل راعی و آلوئه‌ورا در این مطالعه دارد.

در مطالعه‌ای که در سال ۱۳۹۴ توسط فرهپور و همکاران انجام شد به بررسی اثر ترکیب ژل آلوئه‌ورا و عصاره هیدرواتانولی شنبلیله بر بهبود روند التیام زخم تمام ضخامت برشی پوست در موش آزمایشگاهی دیابتی پرداختند، در این مطالعه روند ترمیم زخم از نظر میزان ادم، نفوذ سلولی، نوزایش عروقی و میزان کلاژن بین گروه‌ها مورد مقایسه قرار گرفت. نتایج نشان داد که میزان انقباض زخم در گروه‌های درمانی نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری ($p < 0/05$) را نشان داد. میزان ادم در هر دو گروه درمانی نسبت به گروه کنترل کاهش یافت، در حالی که نوزایش عروقی، نفوذ فیبروبلاست‌ها وتولید کلاژن افزایش نشان داد، که این افزایش در گروه درمانی با پماد ترکیبی از میزان بالاتری برخوردار بود. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تجویز موضعی ترکیب ژل آلوئه‌ورا ۵ درصد با عصاره هیدرواتانولی تخم شنبلیله ۵ درصد التیام زخم تمام ضخامت برشی پوست را در موش‌های دیابتی نوع۲ افزایش می‌دهد که نتایج ما نیز اثرات عصاره‌های گل راعی و آلوئه‌ورا را از نظر پاتولوژی تأیید می‌کند. در این مطالعه در روزهای سوم، هفتم و پانزدهم بعد از ایجاد زخم پس از القا بیهوشی عمومی تعدادی از موش‌های هر گروه به روشی بدون درد کشته شده و پارامترهای آسیب شناسی نشان‌دهنده پیشرفت ترمیم زخم بر اساس امتیاز دهی گزارش می‌شد که مشابه مطالعه ما می‌باشد.

در مطالعه‌ای که توسط تکزارع و همکاران در سال ۱۳۹۴ انجام شد نیز به بررسی هیستولوژیکی ترمیم‌پذیری زخم باز پوستی پس از مصرف موضعی ژل آلوئه‌ورا پرداختند چون آلوئه‌ورا از گذشته‌های دور در درمان زخم پوستی استفاده شده است. در این تحقیق معیار تعداد فیبروبلاست‌ها و همچنین از نظر ماکروسکوپی مساحت زخم مد نظر بود که نتیجه نشان داد هردو از نظر آماری در گروه تجربی نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری داشته و سبب تسریع التیام زخم شد، از لحاظ معیار فیبروبلاست‌ها در مطالعه ما نیز گروه عصاره چهار درصد در روز چهاردهم نمره بهتری نسبت به سه گروه دیگر کسب کرد اما هیچ‌گونه تفاوت معنی‌داری در بین امتیازات داده شده مشاهده نشد. در انتهای روزهای ۴، ۷ و ۱۴ موش‌ها با روش استنشاق اتر بیهوش و یک نمونه از بستر زخم برای بررسی هیستولوژیکی و شمارش سلولی در رت تهیه شد که مشابه مطالعه ما می‌باشد.

در مطالعه‌ای که توسط ولد بیگی و همکاران در سال ۱۳۹۲ انجام شد اثر ترمیمی عصاره متانولی پروتوپارملیوپسیس مورالیس بر زخم آلوده با استافیلوکوکوس اورئوس در موش ویستار مورد بررسی قرار گرفت. عفونت زخم زمانی رخ می‌دهد که شمار باکتری‌ها در زخم از 10^5 در هر گرم بافت فراتر رود. پاسخ میزبان به تهاجم باکتری‌ها با آزادسازی سلول‌های التهابی مثل نوتروفیل‌ها، آنزیم‌های سیتوتوکسیک، رادیکال‌های آزاد اکسیژن

و واسطه‌های التهابی همراه است که این خود باعث آسیب بیشتر به بافت میزبان می‌شود، نتیجه این تحقیق نشان داد که اثر عصاره متانولی پروتوپارملیوپسیس مورالیس در کاهش اندازه زخم و سرعت بخشیدن به مراحل التیام را می‌توان به فعالیت ضد باکتریایی این ترکیب نسبت داد. نتایج شمارش کلونی کشت‌های میکروبی تهیه شده از سطح زخم نشان داد که افزایش غلظت عصاره باعث افزایش فعالیت ضد باکتریایی شده به طوری که در گروه تحت درمان با پماد ۱۰ درصد در روز هشتم هیچ اثری از باکتری‌ها در سطح زخم یافت نشد. سرنوشت باکتری‌های القا شده در زخم‌ها درمطالعه حاضر مشخص نشد و زخم‌ها روند التیامی خود را بدون استفاده از آنتی‌بیوتیک ادامه دادند، به نظر می‌رسد باکتری‌های القا شده دارای حدت کافی برای عفونی نمودن زخم نبوده اند.

باکتری استافیلوکوکوس اورئوس یک پاتوژن مهم می‌باشد که با فعالیت سلول‌های میزبان ایجاد تداخل می‌کند، این تداخل خصوصاً در آلودگی زخم‌ها به این باکتری مشاهده شده است که مانع التیام زخم می‌شود و هنوز مکانیسم آن به روشنی مشخص نیست. پروتئین چسبنده خارج سلولی (extracellular adherence protein) یک ترکیب ضد التهاب و ضد رگ زایی بوده است (۲۹).

در مطالعه‌ای که توسط Yucelو همکاران در سال ۲۰۱۷ انجام شد اثر عصاره روغنی گل راعی برای درمان زخم های تحت فشار (زخم بستر) در انسان مورد بررسی قرار گرفت این اولین مطالعه موردی است که درمان زخم‌های تحت فشار با استفاده از عصاره روغنی گل راعی در بخش مراقبت‌های ویژه را گزارش می‌دهد. این عصاره به مدت ۴۰ روز تک دوز برای مراقبت از زخم و درمان مورد استفاده قرار می‌گرفت. وضعیت بهبودی با اندازه‌گیری مساحت زخم در فواصل مشخص و همچنین ارزیابی هیستوپاتولوژیک بخش‌های بافتی بررسی می‌شد. نتایج به‌دست آمده از آزمایشات ماکروسکوپیک و هیستوپاتولوزیک نشان داد که عصاره روغنی گیاه گل راعی برای زخم‌های تحت فشار مؤثر است.

در مطالعه‌ای که توسط Prisacaru و همکاران در سال ۲۰۱۳ انجام شد به بررسی اثر عصاره روغنی گیاه گل راعی بر روی جراحات پوستی در موش‌های صحرایی نژاد ویستار پرداخته شد. در این تحقیق که به مدت ۲۱ روز درمان به صورت موضعی انجام شد و در روزهای ۷، ۱۴و ۲۱ موش‌ها با اتر بیهوش و با رعایت اصول اخلاقی کشته شدند و ارزیابی‌های بالینی، ماکروسکوپی و هیستوپاتولوژیکی صورت گرفت، نتایج نشان داد که پماد حاوی عصاره روغنی گل راعی اثر بسیار خوبی بر روی آسیب‌های پوستی دارد که یافته‌های هیستوپاتولوژی مطالعه حاضر نتایج مطالعه Prisacaru را تأیید می‌کند.

هدف از انجام این مطالعه بررسی اثرگذاری عصاره گل راعی و آلوئه‌ورا در دو درصد متفاوت (۱ و ۴ درصد) در التیام زخم‌های باز تلقیح شده با باکتری استافیلوکوکوس اورئوس است. نتایج به‌دست آمده نشان می‌دهد که پماد حاوی عصاره روغنی گل راعی و عصاره الکلی آلوئه‌ورا ۴ درصد دارای اثرات التیام بخشی بهتری نسبت به پماد ۱ درصد از نظر هیستوپاتولوژی دارد و بر اساس تشکیل بافت پوششی بهتر و همچنین تشکیل ضمائم پوستی از نظر زیبایی شکل ظاهری بهتری به پوست می‌دهد.

سپاسگزاری

این مقاله پایان‌نامه دانشجویی با شماره ۲۵/۲۲۰۳۸ می‌باشد. نویسندگان از ریاست محترم دانشکده دامپزشکی دانشگاه زابل بابت همکاری بی‌دریغ ایشان سپاسگزاری می‌نمایند.

References

1- Cheng M, Zhang L, Zhang H, Li X, Wang W, Xia F, *et al.* An Ointment Consisting of the Phage Lysin LysGH15 and Apigenin for Decolonization of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus from Skin Wounds. Viruses. 2018; 10(5): 244.

2- Vincze S, Stamm I, Kopp PA, Hermes J, Adlhoch C, Semmler T, *et al.* Alarming proportions of methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) in wound samples from companion animals, Germany 2010-2012. PLoS One. 2014;9(1): e85656.

3- Price M. Community-acquired methicillin-resistant Staphylococcus aureus: an ongoing challenge for WOC nursing. J Wound Ostomy Continence Nurs. 2010;37(6):633-8.

4- Grigaite R, Pavilonis A, Rimdeika R, Antusevas A. Resistance of Staphylococcus aureus isolated from burn wounds to antibiotics. Medicina (Kaunas). 2006;42(5):377-83.

5- Alreshidi MM, Dunstan RH, Gottfries J, Macdonald MM, Crompton MJ, Ang C, *et al.* Changes in the Cytoplasmic Composition of Amino Acids and Proteins Observed in Staphylococcus aureus during Growth under Variable Growth Conditions Representative of the Human Wound Site. PLoS One. 2016; 11(7):e0159662.

6- Bagdonas R, Tamelis A, Rimdeika R. Staphylococcus aureus infection in the surgery of burns. Medicina (Kaunas). 2003;39(11):1078-81.

7- Sewall GK, Roberston KM, Conner NP, Heisey DM, Hartig GK. Effect of topical mitomicin on skin wound contraction. Arch. Facia. l Plast. Surg. 2003; 5(1): 59- 62.

8- Nowrouzian I, Azarabad H, Nasirian A, Ghamsari SM. Wound healing in large Animals histopathology and surgical management. Tehran: Tehran University press; 2009, P: 74- 87.

9- Isler H, Bauen A, Hubler M, Oberholzer M. Morphometric assessment of wound healing in rat treated with a pritein-free hemodylisis. J. Burns. 1991; 1(2): 99- 103

10- Moerman, DE. An analysis of the food plants and drug plants of native North. American Journal of Ethnopharmacology. 1996; 52:1-2.

11- Allah Tavakoli M, Khaksari Haddad M, Assar SH. Comparison of topical application of Mummify and phenytoin cream on skin wound healing in rat. J Babol univ Med Sci. 2003;5(2):7-13[In Persian].

12- Bal AM, Gould IM. Antibiotic resistance in Staphylococcus aurous and its relevance in therapy. Expert Opinion on Pharmacotherapy. 2005; 5:761-9.

13- Samy RP, Ignacimuthu S, Sen A. Screening of 34 Indian medicinal plants for antibacterial properties. Journal of Ethnopharmacology. 1998; 62: 173–182.

14- Dupont S, Caffin N, Bhandari B, Dykes GA. In vitro antibacterial activity of Australian native herb extracts against food-related bacteria. Food Control. 2006; 17: 929-932.

15- Lin J, Opoku AR, Geheeb-Keller M, Hutchings AD, Terblanche SE, Jager AK, Van Staden J. Preliminary screening of some traditional Zulu medicinal plants for anti-inflammatory and antimicrobial activities. Journal of Ethnopharmacology. 1999; 68: 267–274.

16- Gupta, VK, Malhotra S. Pharmacological attribute of Aloe vera: revalidation through experimental and clinical studies. AYU. 2012; 33(2); 193–196.

17- Lee KH, Kim JH, Lim DS, Kim CH. Anti-leukaemic and anti-mutagenic effects of di(2-ethylhexyl) phthalate isolated from Aloe vera Linne. J. Pharm. Pharmacol. 2000; 52(5); 593-8.

18- Beger, RD. Review of applications of metabolomics in cancer. Metabolites. 2013; 3: 552-574.

19- Hudson, JB, Lee MK, Rasoanaivo P. Antiviral activity in plants endemic to Madagascar. Pharmaceutical Biology. 2000; 38(1):36-39.

20- Reynolds T, Dweck AC. Aloe vera leaf gel: a review update. J. Ethnopharmacol. 1999: 68(1-3): 3-37.

21- Samsam-Shariat H, Moatar F. Natural herbs (Materia Medica). Esfahan: Mashal Pub; 1986.

22- Zou Y, Lu Y, Wei D. Antioxidant activity of a flavonoid-rich extract of Hypericum perforatum L. in vitro. J Agric Food Chem. 2004;52(16):5032-9.

23- Hammer KD, Hillwig ML, Solco AK, Dixon PM, Delate K, Murphy PA, *et al.* Inhibition of prostaglandin E (2) production by anti-inflammatory hypericum perforatum extracts and constituents in RAW264.7 Mouse Macrophage Cells. J Agric Food Chem. 2007;55(18):7323-31.

24- Circus W, Wharf C. European medicines agency, Annual report: medicinal products (HMPC). 2009; United Kingdom: London E14 4HB 129:2335-2337.

25- Ghamsari SM, Aghchelou MR, Dehghan MM, Ashrafihelan J, Sanchol A. Cultured equine autologous Keratinocytes on collagen membrane for limb wound healing. IJVS. 2014; 9(2): 17-26.

26- Farahpour M, Aghaei M. Assessment of the effect of co- administration of Aloe vera gel and Fenugreek seed hydroethanolic extract on the improvement of full-thickness excisional skin wound healing in diabetic mice. Journal of Veterinary Clinical Pathology. 2016; 36: 285-296[In Persian].

27- Takzare N, Hassanzadeh G, Rouini M, Keshtkar A, Manai A, Hajieh Akhoondi A. Histological evaluation of open skin wound repair after topical application of Aloe vera gel. TUMJ. 2015;73(9):660-667[In Persian].

28- Valadbeigi T, Rashki S. Wound Healing Activity of Methanolic Extract of Protoparmeliopsis muralis on Wounds Infected with Staphylococcus aureus in Wistar Rat. Biological Journal of Microorganism.2014; 3(10):65-74[In Persian].

29- Athanasopoulos AN, Economopoulou M, Orlova VV, Sobke A, Schneider D, Weber H, *et al.* The extracellular adherence protein (Eap) of Staphylococcus aureus inhibits wound healing by interfering with host defense and repair mechanisms. Blood. 2006; 107(7):2720-7.

30- Yücel A, Kan Y, Yesilada E, Akın O. Effect of St.John's wort (Hypericum perforatum) oily extract for the care and treatment of pressure sores; a case report. J Ethnopharmacol. 2017; 196:236-241. doi: 10.1016/j.jep.2016.12.030.

31- Prisăcaru AI, Andritoiu CV, Andriescu C, Havarneanu EC, Popa M, Motoc AGM, Sava A. Evaluation of the wound-healing effect of a novel Hypericum perforatum ointment in skin injury. Rom J Morphol Embryol. 2013; 54(4):1053-9.

Effects of Hypericum perforatum and Aloe vera extracts in rat open wounds inoculated with Staphylococcus aureus: clinical and histopathology aspects

Shadi Sanadgol[1], Mohammad Reza Aghchelou[* 2], Darush Saadati [3], Abbas Jamshidian[4]

1 - Gradated student, Faculty of Veterinary Medicine, University of Zabol, Zabol, Iran.
2 - Department of Clinical Science, Faculty of Veterinary Medicine, University of Zabol, Zabol, Iran.
3 - Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, University of Zabol, Zabol, Iran.
4 - Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Zabol, Zabol, Iran.

Receive: November 10, 2020; Revise: December 12, 2020; Accept: December 20, 2020

Summary

Staphylococcus aureus is an important cause of wound infection and is found on the skin of normal human and animal population. Hypericum perforatum and Aloe vera have antioxidant, anti-inflammatory and antibacterial effects, so they can affect wounds positively together. For this purpose, 40 rats were selected and randomly divided into 4 groups: negative and positive control groups and two groups that were treated with Hypericum perforatum and Aloe vera ointments containing 1 and 4 percent extracts. The wounds were pictured 0, 3, 7 and 14 days after wound creation and the wound healing rates were calculated clinically. Histopathologic studies were performed on samples collected from the wounds 3, 7 and 14 days after wound creation. Finally, the data were analyzed by Anova, and Kruskal Wallis tests. The ppercentage of wound healing in the 3th day in two groups treated with ointment containing extract was higher than other groups. On the 14th day the clinically epithelial tissue of the two groups treated with plant extracts was better than the other two groups. Appendices of the skin like hair follicles were formed in the two groups containing extracts, but in the extract of %4 they were observed much better than the other three groups becase the sebaceous glands were just observed in this group and quality of epithelial tissue was much better. The results show that the ointments containing %4 Aloe vera and Hypericum perforatum extracts have better healing effects and skin beauty results than %1 ointment on wounds that are inoculated with Staphylococcus aureus.

Keywords: *words: Hypericum perforatum, Aloe vera, histopatology, wound healing, Staphylococcus aureus.*