

Investigating the Anti-inflammatory, Antioxidant and Restorative Effects of *Rumex tuberosus* L. on the Experimental Burn Wound Model in BALB/c

Mehdi Bahmani¹

Hadi Esmaili Gouvarchin Ghaleh²

Javad Raouf Sarshoori³

Seyed Mohammad Zarei⁴

Ebrahim Salimi-Sabour⁴

Masoomeh Shafaei⁵

¹ Pharmacy Student, Faculty of Pharmacy, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

² Assistant Professor, Department of Immunology, Applied Virology Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

³ Assistant Professor, Department of Anatomical Sciences, Faculty of Medicine, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

⁴ Assistant Professor, Department of Pharmacognosy and Traditional Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

⁵ Ph.D Student in Chemistry, School of Chemistry, University College of Science, University of Tehran, Tehran, Iran

(Received July 17, 2023; Accepted November 19, 2023)

Abstract

Background and purpose: Healing burn wounds is considered to be a prominent medical issue, and the identification of a drug or substance that can effectively heal these wounds with minimal side effects is of great importance. The aim of the present study was to investigate the anti-inflammatory, antioxidant and restorative effects of the glandular sorrel plant on the experimental burn wound model in BALB/C mice.

Materials and methods: In this experimental-laboratory study, a total of 60 BALB/C mice were randomly assigned to 5 groups, each consisting of 12 mice. These groups included the control group, the cold cream sham group, the cream group containing the extract of the glandular sorrel plant, the Laagex cream group, and the group of the glandular sorrel leaf group. After second degree burns on days 3, 7, 14 and 21, wound healing variables include comparison of wound closure speed, inflammation, vascularization, epithelial regeneration, number of hair follicles, and number of strands. Collagen levels, inflammatory cytokines, antioxidant enzymes and liver enzymes were also examined.

Results: The results of the study indicated that the average inflammation, vascularization, epithelial regeneration, the number of hair follicles, the amount of collagen fibers and also the average of apparent wound closure in the groups treated with the cream containing the extract and leaves of the *Rumex Tuberosus* L. And Lajex cream has a significant difference ($P < 0.05$) compared to the sham and control groups. In addition, the results showed a significant difference ($P < 0.05$) in the serum level of inflammatory cytokines and antioxidant enzymes in the groups treated with the cream containing the extract and leaves of the *Rumex Tuberosus* L. and the Lajex cream compared to Sham and control groups. With regard to the liver enzymes, no significant changes were found between the studied groups ($P < 0.05$).

Conclusion: Based on the findings of the study, it can be concluded that the tuberous sorrel plant is very efficient in the treatment of second degree burns and can be a good substitute for the currently available product

Keywords: Ethnobotany, Inflammation Scale, Scale of Angiogenesis, Scale of Re-Epithelialization, Scale of Collagen Fiber, Measuring the number of hair follicles, Inflammatory Cytokines, Antioxidant Enzymes

J Mazandaran Univ Med Sci 2023; 33 (Supple 2): 13-26 (Persian).

Corresponding Author: Ebrahim Salimi-Sabour - Faculty of Pharmacy, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran. (E-mail: e.salimisabour@gmail.com)

بررسی اثرات ضد التهابی، آنتی اکسیدانی و ترمیمی گیاه ترشک غده دار بر مدل تجربی زخم سوختگی در موش نژاد بालب/سی

مهدی بهمنی^۱

هادی اسمعیلی گورچین قلعه^۲

جواد رئوف سرشوری^۳

سیدمحمد زارعی ابرقوئی^۴

ابراهیم سلیمی صبور^۴

معصومه شفاپی^۵

چکیده

سابقه و هدف: التیام زخم‌های سوختگی یکی از مشکلات پزشکی محسوب می‌شود و یافتن دارو یا ماده‌ای که بتواند با کمترین عوارض جانبی موجب التیام این زخم‌ها شود، بسیار ارزشمند است. هدف از مطالعه حاضر بررسی اثرات ضد التهابی، آنتی اکسیدانی و ترمیمی گیاه ترشک غده‌دار بر مدل تجربی زخم سوختگی در موش نژاد بालب/سی می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در مطالعه تجربی - آزمایشگاهی حاضر، ۶۰ سر موش نژاد بालب/سی به طور تصادفی به ۵ گروه ۱۲ تایی شامل گروه‌های کنترل، شم کلدکرم، کرم حاوی عصاره گیاه ترشک غده‌دار، کرم لاژکس و برگ گیاه ترشک غده‌دار تقسیم شدند. پس از ایجاد سوختگی درجه دو در روزهای ۳، ۷، ۱۴ و ۲۱ متغیرهای بهبود زخم شامل مقایسه‌ی سرعت بسته شدن زخم، میزان التهاب، عروق زایی، نوزایی اپیتلیال، تعداد فولیکول‌های مو، میزان رشته‌های کلاژن، میزان سایتوکاین‌های التهابی، آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و همچنین آنزیم‌های کبدی مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته‌ها: نتایج نشان داد میانگین التهاب، عروق زایی، نوزایی اپیتلیال، تعداد فولیکول مو، میزان رشته‌های کلاژن و همچنین میانگین بسته شدن ظاهری زخم در گروه‌های درمان شده با کرم حاوی عصاره و برگ گیاه ترشک غده‌دار و کرم لاژکس در مقایسه با گروه‌های شم و کنترل اختلاف معنی داری ($P < 0/05$) دارد. همچنین نتایج نشان داد، در سطح سرمی سایتوکاین‌های التهابی و آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در گروه‌های درمان شده با کرم حاوی عصاره و برگ گیاه ترشک - غده‌دار و کرم لاژکس نسبت به گروه‌های شم کلدکرم و کنترل اختلاف معنی داری ($P < 0/05$) وجود دارد. در رابطه با آنزیم‌های کبدی هیچ گونه تغییر معنی داری بین گروه‌های تحت مطالعه یافت نشد ($P < 0/05$).

استنتاج: براساس نتایج به دست آمده به نظر می‌رسد گیاه ترشک غده‌دار در درمان سوختگی درجه دو بسیار کارآمد بوده و می‌تواند جایگزین مناسبی برای محصولات موجود فعلی باشد.

واژه‌های کلیدی: سوختگی درجه دو، التهاب، عروق زایی، نوزایی اپیتلیال، فولیکول مو، رشته‌های کلاژن، سایتوکاین، آنتی اکسیدان

مقدمه

زخم‌های ناشی از سوختگی یکی از خطراتی است که همواره سلامتی انسان‌ها را تهدید می‌کند. بر اساس گزارش سازمان بهداشت جهانی، تخمین زده می‌شود که سالانه تعداد ۱۸۰۰۰۰ مرگ و میر ناشی از سوختگی است

E-mail: e.salimisabour@gmail.com

مؤلف مسئول: ابراهیم سلیمی صبور - تهران: دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)، دانشکده داروسازی

۱. دانشجوی دکتری داروسازی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)، تهران، ایران

۲. استادیار، گروه ایمنی شناسی، مرکز تحقیقات و پیروشناسی کاربردی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)، تهران، ایران

۳. استادیار، گروه علوم تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)، تهران، ایران

۴. استادیار، گروه فارماکوکینوزی و داروسازی سنتی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)، تهران، ایران

۵. دانشجوی دکتری شیمی، دانشکده شیمی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۴/۲۶ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۴۰۲/۵/۲۳ تاریخ تصویب: ۱۴۰۲/۸/۲۸

که عمدتاً در کشورهای کم درآمد و متوسط رخ می‌دهد (۱). در این کشورها، میزان مرگ و میر ناشی از سوختگی در کودکان بیش از هفت برابر بیشتر از کشورهای پردرآمد است (۲). سوختگی آسیب ناشی از گرما، الکتریسیته، مواد شیمیایی، اصطکاک یا تشعشع است. سوختگی سه نوع است: درجه یک (سطحی)، درجه دو (سوختگی با ضخامت جزئی)، درجه سه (سوختگی با ضخامت کامل) (۳). یکی از مهمترین وظایف پوست به عنوان بزرگترین اندام بدن، عملکرد بازدارنده آن در برابر ورود عوامل بیماری‌زا به محیط داخلی بدن است. در سوختگی، پوست یکپارچگی خود را از دست می‌دهد، بنابراین، هدف اصلی داروهای فعلی که برای درمان سوختگی استفاده می‌شود، جلوگیری از عفونت زخم سوختگی است (۳). یکی از مهمترین دلایل مرگ بیماران سوختگی، عفونت ناشی از سوختگی می‌باشد. علاوه بر این، استفاده از چنین داروهایی معمولاً با برخی عوارض جانبی ناخواسته و مقاومت میکروبی در برابر داروها همراه است. در سوختگی‌های درجه دو و سه، روند بهبود زخم معمولاً طولانی مدت است (۴). بنابراین یافتن روش‌ها یا درمان‌های جدیدی که علاوه بر پیشگیری از عفونت زخم سوختگی، بتواند روند بهبود زخم‌های سوختگی را تسریع کند و عوارض جانبی کمتری داشته باشد، از اهمیت بالایی برخوردار است. شاید به همین دلیل باشد که با وجود داروها و روش‌های فعلی برای درمان زخم‌های سوختگی، تحقیقات جدید زیادی برای یافتن داروها یا درمان‌های موثرتر برای درمان زخم وجود دارد. التیام زخم سوختگی یک فرآیند پیچیده شامل التهاب، اپیتلیال شدن مجدد، دانه‌بندی، نئوواسکولایزاسیون و انقباض زخم است (۵). چندین ماده بیوشیمیایی از جمله آنتی‌اکسیدان‌ها، سیتوکین‌ها و بیومارکرهای حاکی از آسیب کبدی و کلیوی در فرآیند التیام سوختگی نقش دارند. اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهان دارویی هزاران سال است که در طب سنتی مورد استفاده قرار می‌گیرند.

اخیراً استفاده از ترکیباتی که عموماً ایمن تلقی می‌شوند توجه زیادی را به خود جلب کرده است (۶). گیاهان یکی از مهمترین منابع ترکیبات طبیعی ایمن هستند که دارای خواص ضد میکروبی و نگهدارنده مواد غذایی هستند. در طب امروزی، ترکیبات مختلفی وجود دارد که برای بهبود زخم‌ها استفاده می‌شود و از طریق فعالیت ضد التهابی یا آنتی‌اکسیدانی، روند بهبودی را تسهیل می‌نماید. با این حال، چندین ماده شیمیایی گیاهی در مدل‌های حیوانی برای درمان زخم‌های سوختگی اثربخش بوده‌اند (۷). در آزمایشات انسانی تاثیر ترکیبات گیاهی مانند پلی‌ساکاریدهای آلئوئه‌ورا برای غلبه بر عوارض جانبی شیمی درمانی انجام شده است (۸). گیاه ترشک غده‌دار به دلیل ترکیبات گیاهی و خواص دارویی، مورد توجه بسیاری از محققان قرار گرفته است. عصاره‌های تام و ترکیبات جدا شده از این گیاه دارای اثرات دارویی مختلفی از جمله خواص ضدالتهابی، آنتی‌اکسیدانی، ضد توموری، ضد باکتریایی، ضد ویروسی و ضد قارچی در شرایط آزمایشگاهی و درون تنی هستند (۹). هدف از مطالعه حاضر بررسی اثرات ضد التهابی، آنتی‌اکسیدانی و ترمیمی گیاه ترشک غده‌دار بر مدل تجربی زخم سوختگی در موش نژاد بلب/سی می‌باشد.

تهیه عصاره تام گیاه

نمونه هرباریوم این گیاه با کد 55/1401/27Sp1/NYA از هرباریوم دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج) تهیه شد. عصاره‌گیری به روش پركولاسیون و با استفاده از متانول ۸۰ درصد محصول شرکت امرتات شیمی برای گیاه ترشک غده دار انجام شد و برای تغلیظ عصاره نیز از دستگاه روتاری استفاده شد. در ادامه کرم ۹/۵ درصد حاوی عصاره گیاه در پایه کلد کرم نیز جهت ارزیابی تاثیر فرمولاسیونی متفاوت از شیوه رایج مصرف این گیاه، تهیه گردید (۹).

۱۶ مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران

۱۰ ml از محیط کشت نمونه‌ها بار دیگر به مدت ۱۰ دقیقه در ۲۰۰g سانتریفیوژ شدند. سپس رسوب سلولی در محیط کشت DMEM حاوی FBS ۱۰ درصد، به حالت سوسپانسیون درآورده شد. پس از فرآیند شمارش سلول‌ها، سوسپانسیون سلولی به تعداد 10^6 cell/ml از هر نمونه تهیه شد. در نهایت این سلول‌ها در پلیت‌های کشت ۲۴ خانه، به مدت ۷۲ ساعت در انکوباتور حاوی ۵ درصد CO_2 کشت داده شدند. پس از طی این مدت، مایع روی آن‌ها جمع‌آوری شد. میزان سایتوکاین‌های IL-1، IL-6 و TNF-Alpha به کمک کیت‌های الایزای (شرکت زل-بیو-آلمان) بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده و با استفاده از دستگاه ELISA reader (شرکت نوین گستر، مدل DANA3200، ایران) انجام شد.

اندازه‌گیری سطح آنزیم‌های کبدی

جهت ارزیابی سمیت کبدی فرمولاسیون‌های مورد استفاده در مطالعه حاضر، سطح آنزیم‌های آسپاراتات ترانس آمیناز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آلکالین فسفاتاز (ALK) بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده کیت‌های شناسایی (ziestchem diagnostics) و با استفاده از دستگاه ELISA reader (شرکت نوین گستر، مدل DANA3200، ایران) اندازه‌گیری شدند.

سنجش نیتریک اکساید، سنجش سوپراکسید دسموتاز و میلوپراکسیداز

بعد از خون‌گیری و تهیه سرم، میزان نیتریک اکساید، سوپراکسید دسموتاز و میلوپراکسیداز طبق دستورالعمل شرکت سازنده کیت (شرکت زل-بیو-آلمان) انجام و جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۴۹۲ نانومتر بر روی دستگاه الایزا ریدر خوانده شد.

روش تجزیه و تحلیل داده‌ها

در مطالعه حاضر شاخص‌های میانگین و انحراف معیار برای متغیرهای کمی گزارش شد. از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (One-Way ANOVA) برای

مقایسه گروه‌های مطالعه و آزمون تعقیبی LSD، برای مقایسه زمان‌های مطالعه از آزمون تی-زوجی (Paired Sample T-Test) و آنالیز واریانس اندازه‌های تکراری (Repeated Measure ANOVA) برای مقایسه زمان‌های مطالعه و آزمون تعقیبی Bonferroni، استفاده شد. جداول و آنالیز آماری با نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۴ انجام و نمودارها توسط نرم‌افزار GraphPad Prism نسخه ۸ انجام شد. سطح معنی‌داری آماری نیز ۰/۰۵ در نظر گرفته شد ($P < 0/05$).

یافته‌ها

نتایج اندازه‌گیری درصد بسته شدن زخم در گروه‌های مورد مطالعه

تصویر شماره ۱ بسته شدن زخم طی روزهای مختلف مطالعه را نشان می‌دهد. نتایج نشان داد که در تمامی گروه‌های مطالعه در طول زمان از روز ۳ تا روز ۲۱، درصد بسته شدن زخم افزایش معنی‌داری داشته است ($P < 0/001$). همچنین در هر یک از زمان‌ها تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها ($P < 0/001$) نیز دیده شد. نتایج نشان می‌دهد که روز ۲۱ میزان درصد بسته شدن زخم در گروه‌های Telpa Leaf و Lajex، ۱۰۰ درصد شده است (جدول شماره ۱).

نتایج مقیاس التهاب در گروه‌های مورد مطالعه

تصویر شماره ۲ میزان التهاب را در گروه‌های مختلف مطالعه نشان می‌دهد. نتایج نشان می‌دهد که گروه Sham ($P = 0/443$) در بین دو زمان تفاوت معنی‌داری نداشته است. بقیه گروه‌ها از زمان ۳ تا زمان ۷ کاهش معنی‌داری ($P < 0/05$) نشان می‌دهند. تمامی گروه‌های مطالعه در زمان ۳ و زمان ۷ تفاوت معنی‌داری ($P < 0/001$) نشان می‌دهند. نتایج آزمون تعقیبی LSD نیز نشان می‌دهد که در زمان ۳، گروه‌های Sham با کنترل ($P = 0/607$) و گروه‌های Telpa Cream با Telpa Leaf ($P = 0/306$) و Lajex با Telpa leaf ($P = 0/306$) و Lajex با Lajex ($P = 0/999$)

در زمان ۷، گروه‌های Sham با کنترل ($P=0/072$) و گروه‌های Telpa Cream با Telpa Leaf ($P=0/362$) و با Lajex ($P=0/362$) و Telpa Leaf با Lajex ($P=0/999$) تفاوت معنی داری نشان ندادند (جدول شماره ۳).

نتایج مقیاس عروق زایی در گروه‌های مورد مطالعه

تصویر شماره ۳ میزان عروق زایی را در گروه‌های مختلف مطالعه نشان می‌دهد. نتایج نشان می‌دهد که تمامی گروه‌ها از زمان ۳ تا زمان ۱۴ تفاوت معنی داری ($P<0/05$) نشان می‌دهند. تمامی گروه‌های مطالعه در زمان ۳، ۷ و ۱۴ تفاوت معنی داری ($P<0/001$) نشان می‌دهند. آزمون تعقیبی بونفرونی نشان داد که تمامی گروه‌ها در دویه‌های زمان‌ها تفاوت معنی داری دارند. آزمون تعقیبی بونفرونی نیز نشان داد در زمان ۷، گروه‌های Telpa leaf با Lajex ($P=0/999$) و در زمان

۱۴ گروه‌های کنترل و Sham ($P=0/999$) تفاوت معنی داری نداشتند (جدول شماره ۴).

نتایج مقیاس تغییرات نوزایی اپیتلیال بین گروه‌های مورد مطالعه

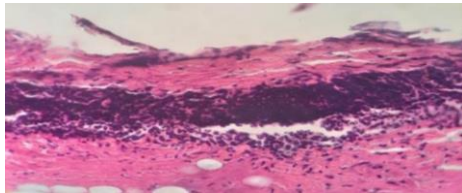
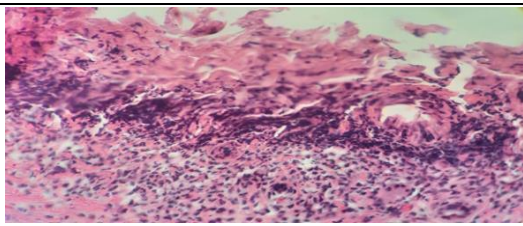
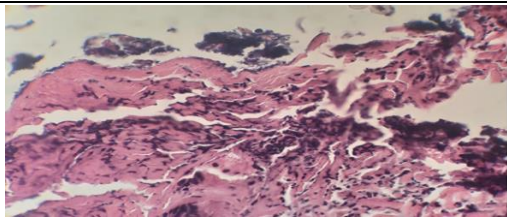
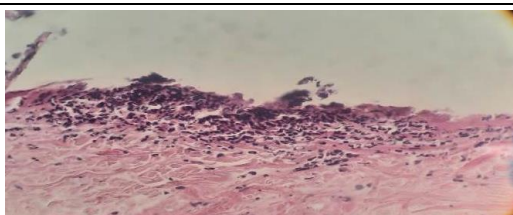
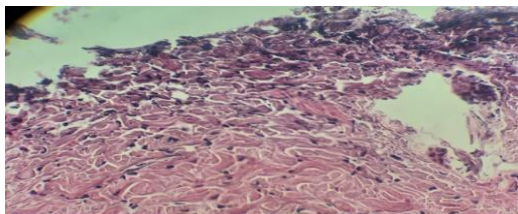
تصویر شماره ۴ میزان نوزایی اپیتلیال را در گروه‌های مختلف مطالعه نشان می‌دهد. نتایج نشان می‌دهد که تمامی گروه‌ها از زمان ۳ تا زمان ۲۱ تفاوت معنی داری ($P<0/05$) نشان می‌دهند. تمامی گروه‌های مطالعه در زمان ۷، ۱۴ و ۲۱ تفاوت معنی داری ($P<0/001$) نشان می‌دهند. اما در زمان ۳ تفاوت معنی داری ($P=0/921$) دیده نشد. آزمون تعقیبی بونفرونی نشان داد که دو به دوی زمان‌ها تفاوت معنی داری داشته‌اند ($P<0/05$). آزمون تعقیبی LSD نیز نشان می‌دهد که در زمان ۷ گروه‌های Telpa Leaf و Lajex ($P=0/999$) تفاوت معنی داری نشان نمی‌دهند (جدول شماره ۵).

روز	۳	۷	۱۴	۲۱	گروه
					Control
					Sham
					Telpa Cream
					Telpa Leaf
					Lajex

تصویر شماره ۱: شکل ظاهری درصد بسته شدن زخم. بیش‌ترین میزان درصد بسته شدن زخم در روزهای ۳ و ۱۴ مربوط به گروه Telpa Cream و در روزهای ۷ و ۲۱ مربوط به گروه Telpa Leaf بود

جدول شماره ۲: خلاصه نتایج درصد بسته شدن زخم در گروه‌ها و زمان‌های مطالعه

گروه	روز ۳ (انحراف معیار $\pm$ میانگین)	روز ۷ (انحراف معیار $\pm$ میانگین)	روز ۱۴ (انحراف معیار $\pm$ میانگین)	روز ۲۱ (انحراف معیار $\pm$ میانگین)	سطح معنی داری ^۱
Control	18/36 $\pm$ 5/95	30/24 $\pm$ 4/31	76/52 $\pm$ 1/06	91/04 $\pm$ 1/73	<0/001
Sham	21/28 $\pm$ 4/28	39/28 $\pm$ 2/26	81/28 $\pm$ 0/83	97/60 $\pm$ 1/15	<0/001
Telpa Cream	50/00 $\pm$ 3/67	63/36 $\pm$ 6/15	98/00 $\pm$ 0/40	99/72 $\pm$ 0/48	<0/001
Telpa Leaf	48/40 $\pm$ 2/23	66/44 $\pm$ 2/58	92/20 $\pm$ 0/32	100/00 $\pm$ 0/00	<0/001
Lajex	37/80 $\pm$ 2/65	57/28 $\pm$ 1/94	95/80 $\pm$ 1/09	100/00 $\pm$ 0/00	<0/001
معنی داری ^۲ P	<0/001	<0/001	<0/001	<0/001	-

روز	گروه
روز ۳	
	Control
	Sham
	Telpa Cream
	Telpa Leaf
	Lajex

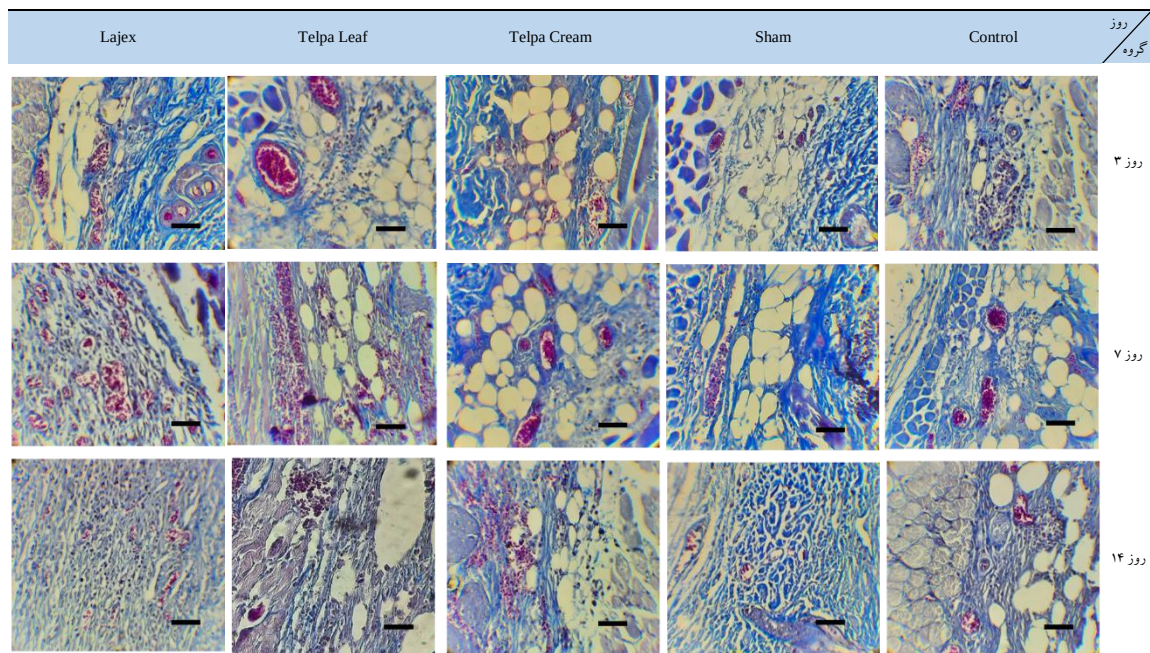
تصویر شماره ۲: میزان التهاب- رنگ آمیزی H&E- بزرگنمایی ۴۰۰- در روز ۳ میزان التهاب در گروه های تیمار شده نسبت به گروه Control و Sham کمتر دیده شد

جدول شماره ۴: میانگین مقیاس عروق زایی بین گروه ها در روزهای ۳، ۷ و ۱۴

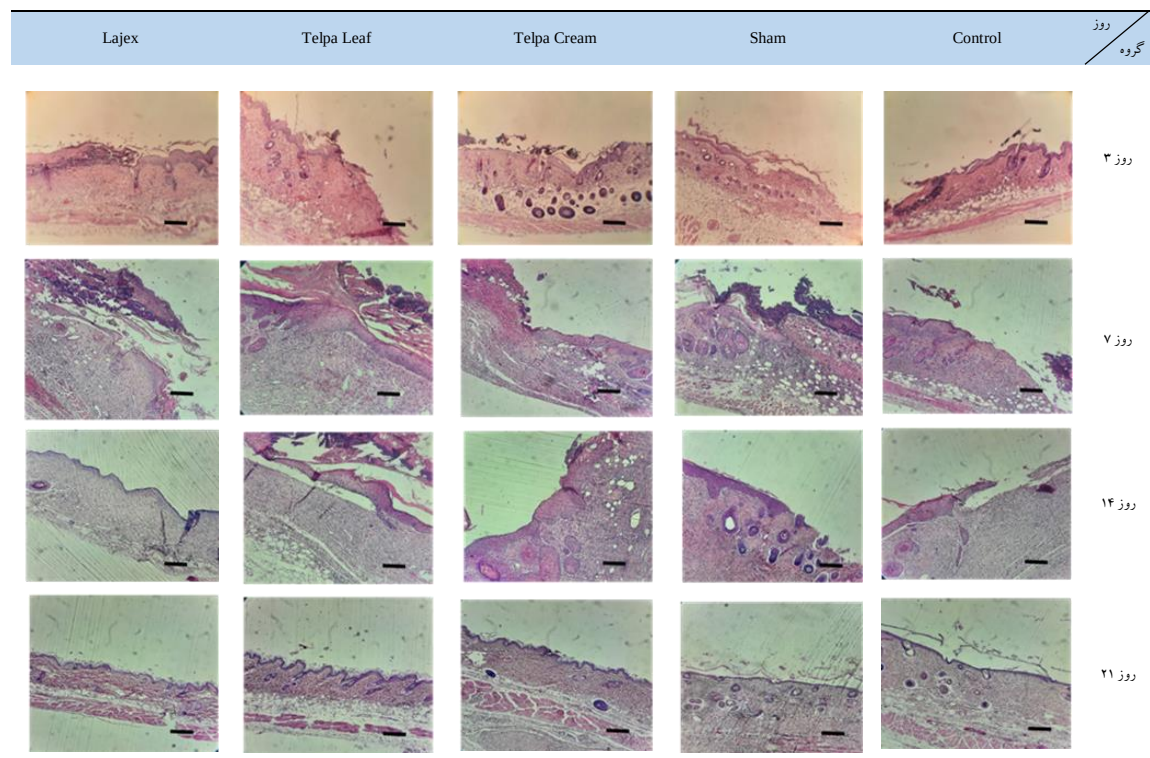
گروه	روز ۳ (انحراف معیار± میانگین)	روز ۷ (انحراف معیار± میانگین)	روز ۱۴ (انحراف معیار± میانگین)	سطح معنی داری ۱
Control	۰/۴۰±۰/۵۲	۲/۰۰±۰/۴۷	۱/۱۰±۰/۳۲	<۰/۰۰۱
Sham	۰/۸۰±۰/۴۲	۱/۸۰±۰/۴۸	۱/۱۰±۰/۳۲	<۰/۰۰۱
Telpa cream	۱/۰۰±۰/۰۱	۲/۶۰±۰/۵۲	۱/۸۰±۰/۴۸	<۰/۰۰۱
Telpa leaf	۱/۸۰±۰/۴۲	۲/۸۰±۰/۴۲	۲/۱۰±۰/۳۲	<۰/۰۰۱
Lajex	۱/۹۰±۰/۳۲	۲/۸۰±۰/۴۲	۲/۰۰±۰/۴۷	<۰/۰۰۱
سطح معنی داری ۲	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱	

جدول شماره ۳: میانگین مقیاس التهاب بین گروه ها در روزهای ۳ و ۷

گروه	روز ۳ (انحراف معیار± میانگین)	روز ۷ (انحراف معیار± میانگین)	سطح معنی داری ۱
Control	۳/۸۰±۰/۴۲	۳/۱۰±۰/۳۲	<۰/۰۰۱
Sham	۳/۷۰±۰/۴۸	۳/۵۰±۰/۵۳	۰/۴۴۳
Telpa cream	۲/۹۰±۰/۳۲	۲/۶۰±۰/۵۲	۰/۰۳۲
Telpa leaf	۳/۱۰±۰/۵۷	۲/۴۰±۰/۵۰	<۰/۰۰۱
Lajex	۳/۱۰±۰/۳۲	۲/۴۰±۰/۵۲	<۰/۰۰۱
سطح معنی داری ۲	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱	



تصویر شماره ۳: مقیاس عروق‌زایی - رنگ‌آمیزی تری کروم - خط مقیاس ۱۰۰ میکرون - بزرگنمایی ۴۰۰ - در روز ۳ بیش‌ترین مقیاس عروق‌زایی مربوط به گروه Lajex بود (اختلاف معنی‌دار با گروه Telpa Leaf)، ولی روز ۷ و ۲۱ بیش‌ترین مقیاس عروق‌زایی مربوط به گروه Telpa Leaf بود (عدم وجود اختلاف معنی‌دار با گروه Lajex در روز ۷)



تصویر شماره ۴: مقیاس نوزایی اپیتلیال - رنگ‌آمیزی H&E - خط مقیاس ۱۰۰ میکرون - بزرگنمایی ۱۰۰ - در روزهای ۳، ۷، ۱۴ و ۲۱ بیش‌ترین مقیاس نوزایی اپیتلیال مربوط به گروه Telpa Leaf بود که اختلاف معنی‌دار با گروه‌های Sham و Control داشت

جدول شماره ۵: میانگین مقیاس نوزایی اپیتلیال بین گروه‌ها در روزهای ۳، ۷، ۱۴ و ۲۱

گروه	روز ۳ (انحراف معیار $\pm$ میانگین)	روز ۷ (انحراف معیار $\pm$ میانگین)	روز ۱۴ (انحراف معیار $\pm$ میانگین)	روز ۲۱ (انحراف معیار $\pm$ میانگین)	سطح معنی داری ۱
Control	0.10 ± 0.32	0.90 ± 0.32	1.80 ± 0.42	3.20 ± 0.42	<0.001
Sham	0.10 ± 0.32	0.50 ± 0.53	1.30 ± 0.48	3.00 ± 0.47	<0.001
Telpa Cream	0.20 ± 0.42	1.10 ± 0.32	3.10 ± 0.32	4.30 ± 0.48	<0.001
Telpa Leaf	0.20 ± 0.42	1.20 ± 0.42	3.80 ± 0.42	4.60 ± 0.52	<0.001
Lajex	0.10 ± 0.32	1.20 ± 0.42	3.30 ± 0.48	4.20 ± 0.42	<0.001
سطح معنی داری ۲	0.921	<0.001	<0.001	<0.001	

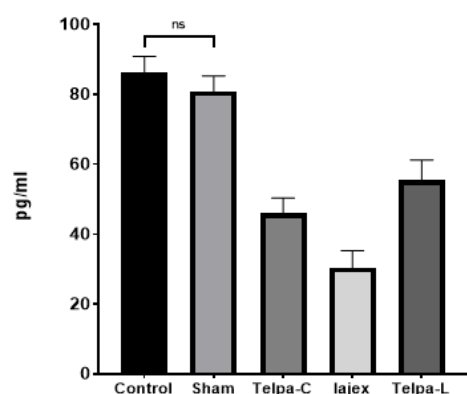
در زمان ۲۱ گروه‌های Control و Sham ($P=0.999$) تفاوت معنی داری نشان ندادند (جدول شماره ۷).

جدول شماره ۶: میانگین مقیاس رشته‌های کلاژن بین گروه‌ها در روزهای ۷، ۱۴ و ۲۱

گروه	روز ۷ (انحراف معیار $\pm$ میانگین)	روز ۱۴ (انحراف معیار $\pm$ میانگین)	روز ۲۱ (انحراف معیار $\pm$ میانگین)	سطح معنی داری ۱
Control	0.80 ± 0.63	2.00 ± 0.47	2.90 ± 0.32	<0.001
Sham	1.10 ± 0.57	2.10 ± 0.57	2.90 ± 0.32	<0.001
Telpa Cream	1.10 ± 0.57	2.90 ± 0.32	3.60 ± 0.52	<0.001
Telpa Leaf	1.10 ± 0.82	2.60 ± 0.52	3.80 ± 0.42	<0.001
Lajex	0.90 ± 0.74	2.60 ± 0.52	3.90 ± 0.32	<0.001
سطح معنی داری ۲	<0.024	<0.001	<0.001	

نتایج ارزیابی سطح سرمی سایتوکاین‌های التهابی
نتایج شاخص IL-1

نتایج آزمون آنالیز واریانس نشان داد که میزان IL-1 در بین گروه‌های مطالعه تفاوت معنی داری ($P<0.001$) دارد. برای بررسی‌های بیشتر، از آزمون تعقیبی LSD استفاده شد. نتایج مقایسات دو به دو نشان داد بین گروه‌های کنترل و Sham ($P=0.213$) تفاوت معنی داری وجود ندارد. باقی گروه‌های مطالعه دو به دو تفاوت معنی داری نشان دادند ($P<0.05$) (نمودار شماره ۱).



نمودار شماره ۱: میزان IL-1 در گروه‌های مطالعه

نتایج مقایسه تعداد فولیکول‌های مو بین گروه‌های مورد مطالعه نتایج نشان می‌دهد که تمامی گروه‌ها از زمان ۱۴ تا زمان ۲۱ افزایش معنی داری ($P<0.05$) نشان می‌دهند. تمامی گروه‌های مطالعه در زمان ۱۴ و زمان ۲۱ تفاوت معنی داری ($P<0.001$) نشان می‌دهند. نتایج آزمون تعقیبی LSD نیز نشان می‌دهد که در زمان ۱۴، گروه‌های Sham با کنترل ($P=0.605$) و گروه‌های Telpa Cream با Lajex ($P=0.605$) و در زمان ۲۱، گروه‌های Sham با کنترل ($P=0.199$) و گروه‌های Telpa Cream با Telpa Leaf ($P=0.666$) و با Lajex ($P=0.999$) تفاوت معنی داری نشان ندادند (جدول شماره ۶).

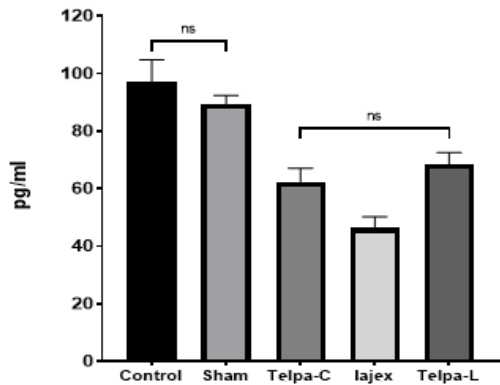
جدول شماره ۶: میانگین تعداد فولیکول‌های مو بین گروه‌ها در روزهای ۱۴ و ۲۱

گروه	روز ۱۴ (انحراف معیار $\pm$ میانگین)	روز ۲۱ (انحراف معیار $\pm$ میانگین)	سطح معنی داری ۱
Control	1.10 ± 0.32	3.50 ± 0.53	<0.001
Sham	1.20 ± 0.42	3.20 ± 0.42	<0.001
Telpa Cream	2.80 ± 0.42	4.20 ± 0.63	<0.001
Telpa Leaf	3.30 ± 0.48	4.30 ± 0.48	<0.001
Lajex	2.70 ± 0.48	4.30 ± 0.48	<0.001
سطح معنی داری ۲	<0.001	<0.001	

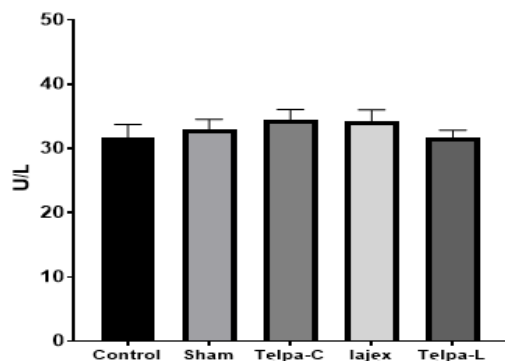
نتایج مقیاس رشته‌های کلاژن بین گروه‌های مورد مطالعه نتایج نشان می‌دهد که تمامی گروه‌ها از زمان ۷ تا زمان ۲۱ تفاوت معنی داری ($P<0.05$) نشان می‌دهند. تمامی گروه‌های مطالعه در زمان ۷ و ۱۴ تفاوت معنی داری ($P<0.001$) نشان می‌دهند. در زمان ۷ تفاوت معنی داری ($P=0.824$) دیده نشد. آزمون تعقیبی بونفرونی نشان داد که دو به دو زمان‌ها تفاوت معنی داری داشته‌اند ($P<0.05$). آزمون تعقیبی LSD نیز نشان می‌دهد که در زمان ۱۴ گروه‌های Telpa Leaf و Lajex ($P=0.999$) و

نتایج شاخص IL-6

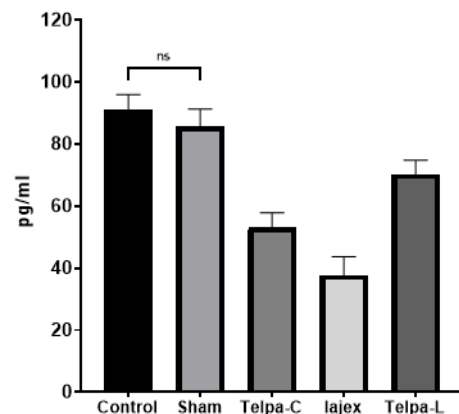
نتایج آزمون آنالیز واریانس نشان داد که میزان IL-6 در بین گروه‌های مطالعه تفاوت معنی‌داری ($P < 0.001$) دارد. برای بررسی‌های بیشتر، از آزمون تعقیبی LSD استفاده شد. نتایج مقایسات دو به دو نشان داد بین گروه‌های کنترل و Sham ($P = 0.238$) تفاوت معنی‌داری وجود ندارد. باقی گروه‌های مطالعه دویه دو تفاوت معنی‌داری نشان دادند ($P < 0.05$) (نمودار شماره ۲).



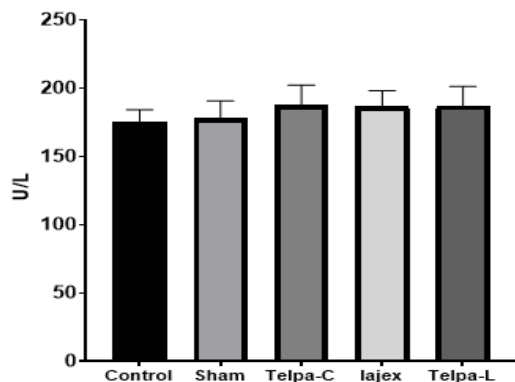
نمودار شماره ۳: میزان TNF-Alpha در گروه‌های مطالعه



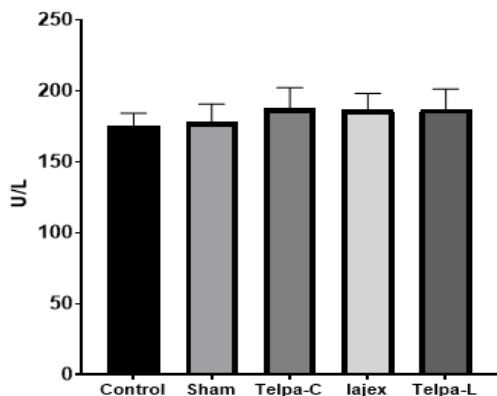
نمودار شماره ۴: میزان AST در گروه‌های مطالعه



نمودار شماره ۲: میزان IL-6 در گروه‌های مطالعه



نمودار شماره ۵: میزان ALT در گروه‌های مطالعه



نمودار شماره ۶: میزان ALK در گروه‌های مطالعه

نتایج شاخص TNF-Alpha

نتایج آزمون آنالیز واریانس نشان داد که میزان TNF-Alpha در بین گروه‌های مطالعه تفاوت معنی‌داری ($P < 0.001$) دارد. برای بررسی‌های بیشتر، از آزمون تعقیبی LSD استفاده شد. نتایج مقایسات دویه دو نشان داد بین گروه‌های کنترل و Sham ($P = 0.081$)، Telpa Cream و Leaf ($P = 0.170$) تفاوت معنی‌داری وجود ندارد. باقی گروه‌های مطالعه دو به دو تفاوت معنی‌داری نشان دادند ($P < 0.05$) (نمودار شماره ۳).

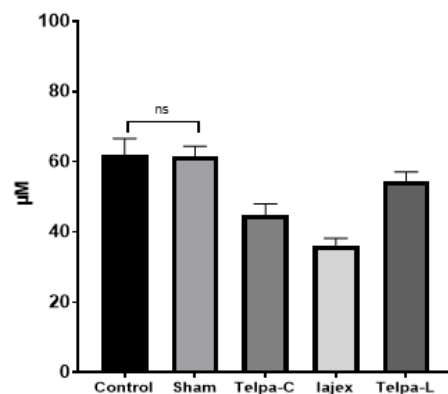
نتایج ارزیابی سطح آنزیم‌های کبدی

نتایج شاخص AST

نتایج آزمون آنالیز واریانس نشان داد که میزان AST، ALT و ALK در بین گروه‌های مطالعه تفاوت معنی‌داری ($P > 0.05$) ندارد (نمودارهای ۴، ۵ و ۶).

نتایج شاخص نیتریک اکساید (NO)

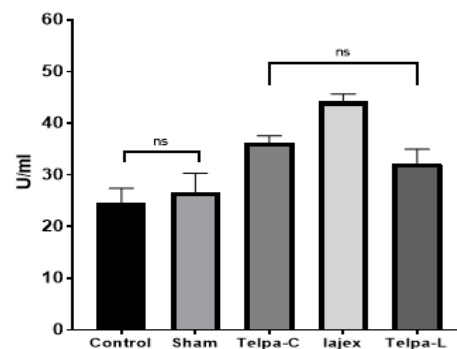
نتایج آزمون آنالیز واریانس نشان داد که میزان NO در بین گروه‌های مطالعه تفاوت معنی‌داری ($P < 0/001$) دارد. برای بررسی‌های بیش‌تر، از آزمون تعقیبی LSD استفاده شد. نتایج مقایسات دویه دو نشان داد بین گروه‌های کنترل و Sham ($P = 0/940$) تفاوت معنی‌داری وجود ندارد. باقی گروه‌های مطالعه دویه دو تفاوت معنی‌داری نشان دادند ($P < 0/05$) (نمودار شماره ۷).



نمودار شماره ۷: میزان NO در گروه‌های مطالعه

نتایج شاخص سوپراکسید دسموتاز (SOD)

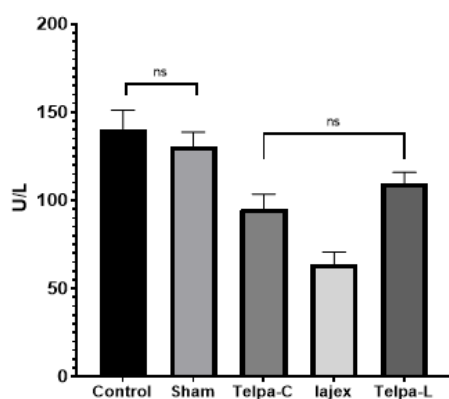
نتایج آزمون آنالیز واریانس نشان داد که میزان SOD در بین گروه‌های مطالعه تفاوت معنی‌داری ($P < 0/001$) دارد. برای بررسی‌های بیش‌تر، از آزمون تعقیبی LSD استفاده شد. نتایج مقایسات دویه دو نشان داد بین گروه‌های کنترل و Sham ($P = 0/350$)، Telpa Cream، و Telpa Leaf ($P = 0/091$) تفاوت معنی‌داری وجود ندارد. باقی گروه‌های مطالعه دویه دو تفاوت معنی‌داری نشان دادند ($P < 0/05$) (نمودار شماره ۸).



نمودار شماره ۸: میزان SOD در گروه‌های مطالعه

نتایج شاخص میلو پراکسیداز (MPO)

نتایج آزمون آنالیز واریانس نشان داد که میزان MPO در بین گروه‌های مطالعه تفاوت معنی‌داری ($P < 0/001$) دارد. برای بررسی‌های بیش‌تر، از آزمون تعقیبی LSD استفاده شد. نتایج مقایسات دویه دو نشان داد بین گروه‌های کنترل و Sham ($P = 0/164$)، Telpa Cream، و Telpa Leaf ($P = 0/056$) تفاوت معنی‌داری وجود ندارد. باقی گروه‌های مطالعه دویه دو تفاوت معنی‌داری نشان دادند ($P < 0/05$) (نمودار شماره ۹).



نمودار شماره ۹: میزان MPO در گروه‌های مطالعه

بحث

مطالعه حاضر با هدف بررسی اثرات ضد التهابی، آنتی‌اکسیدانی و ترمیمی گیاه ترشک غده‌دار بر مدل تجربی زخم سوختگی در موش نژاد بालب/سی طراحی شد. نتایج نشان داد میانگین التهاب، عروق زایی، نوزایی اپیتلیال، تعداد فولیکول مو، میزان رشته‌های کلاژن و هم‌چنین میانگین بسته شدن ظاهری زخم در گروه‌های درمان شده با کرم حاوی عصاره و برگ گیاه ترشک غده‌دار و کرم لاژکس در مقایسه با گروه‌های شم و کنترل اختلاف معنی‌داری دارد. همچنین نتایج نشان داد، اختلاف معنی‌داری در سطح سرمی سایتوکاین‌های التهابی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گروه‌های درمان شده با کرم حاوی عصاره و برگ گیاه ترشک غده‌دار و کرم لاژکس نسبت به گروه‌های شم کلدکرم و کنترل وجود دارد. در رابطه با آنزیم‌های کبدی هیچ‌گونه تغییر

معنی داری بین گروه‌های تحت مطالعه یافت نشد. از آنجا که عفونت ناشی از سوختگی، علت اصلی مرگ و میر در سوختگی‌ها است (۱۲) استفاده از پماد سیلور سولفادیازین نقره ۱ درصد (از گروه سولفونامیدها) که دارای طیف گسترده خاصیت ضد میکروبی می‌باشد، در اکثر مراکز سوانح سوختگی متداول می‌باشد (۱۳). ولی با توجه به تاثیر توکسیک پماد سیلور سولفادیازین بر بازسازی کراتینوسیت‌ها به دلیل چسبیدن به سطح زخم‌ها در طی پانسمان، روند ترمیم آن زخم‌ها با تاخیر مواجه می‌گردد (۱۵، ۱۴). از دیگر عوارض این دارو می‌توان به عدم تعادل الکترولیت‌ها، نکروز پوستی، تغییر رنگ پوست و لکونی اشاره کرد. در افرادی که به گروه سولفونامیدها حساس هستند نیز باید با احتیاط مصرف گردد (۱۷، ۱۶). علاوه بر این شواهدی وجود دارد که اگر تا مدت معینی پس از سوختگی بتوان از عفونی شدن زخم جلوگیری نمود می‌توان مانع از نفوذ میکروب در عمق زخم، عمیق‌تر شدن زخم، تکثیر میکروب و سپتی‌سمی شد. در بین این آلودگی‌های میکروبی در سوختگی‌ها سودوموناس آئروژینوزا شایع‌ترین عامل عفونت‌ها می‌باشد (۱۸). با توجه به این موارد، یافتن دارویی با حداقل عوارض جانبی برای درمان بیماران سوختگی از اهمیت بسزایی برخوردار است.

نتایج مطالعه Luczaj و همکاران نشان داد ترکیبات شیمیایی اصلی جنس *Rumex* آنتراکینون‌ها و فلاونوئیدها هستند. هم‌چنین گونه *R. hymenosepalus* که در آمریکای جنوبی کشت می‌گردد، منبع غنی از تانن (ریشه‌ها بیش از ۲۵ درصد تانن دارند) است (۱۹). هم‌چنین در مطالعه‌ای دیگر مشخص شد گونه‌های این جنس غنی از متابولیت‌های آسکوربیک اسید، اگزالیک اسید، فنولیک اسید، ترکیبات فلاونوئیدی، ترکیبات فنلی، آنتراکوئینون، نفتالن، استرول و تری‌ترپن‌ها هستند (۲۰). گزارش‌های زیادی در مورد خواص دارویی جنس *Rumex* وجود دارد که در مطالعه البکری و همکاران (۲۰۰۲) برخی از آن‌ها را نشان دادند. ترکیبات شیمیایی گیاهی مانند پلی‌فنل‌ها، فلاونوئیدها، کاروتنوئیدها،

توکوفرول‌ها و آسکوربیک اسید با فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالا در *Rumex Vesicarius* L. شناسایی شدند.

نتایج مطالعه فاطمی و همکاران در سوختگی درجه ۲ بر روی موش‌های صحرایی نشان داد عصاره چای سبز به علت داشتن پلی‌فنول‌ها دارای خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی بوده و اثرات مثبتی در تسریع روند ترمیم و بسته شدن زخم دارد (۲۱).

در تحقیق Alahtavakoli و همکاران برشی روی زخم موش صحرایی ایجاد شده که در گروه درمان شده با عصاره گیاه پونه به دلیل وجود تانن، فلاونوئید و آسپاراژین، اثرات ضد درد و ضد التهاب دارد که با اختلاف معنی داری در مقایسه با سایر گروه‌ها باعث بهبود سریع‌تر زخم می‌شود (۲۲). بر اساس مطالعات فارماکولوژیکی به اثبات رسیده است که فعالیت تسریع‌کنندگی بسیاری از گیاهان دارویی حاوی مواد ترکیبات طبیعی از جمله تانن‌ها، ترپنوئیدها و فلاونوئیدها می‌باشد که توانایی افزایش سرعت بهبود زخم ناشی از حوادث و برخی بیماری‌ها را دارد (۲۳). انصاری و همکاران در سال ۲۰۰۹ اثر عسل گیاه کلپوره (از تیره نعنائیان حاوی تانن و ترپنوئیدها) را بر فرایند التیام زخم سوختگی در ۲۸ سر موش صحرایی بررسی کردند. نتایج حاصل از این تحقیق بیشترین درصد بسته شدن زخم را در گروه تیمار در روزهای ۱۲ و ۱۸ نسبت به گروه کنترل نشان داد (۲۴). لذا براساس نتایج تحقیق ما و تحقیقات پیشین به نظر می‌رسد گیاه ترشک غده‌دار، به علت دارا بودن ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و خواص ضد میکروبی، موجب شده میکروب‌های روی زخم در همان روزهای اول ایجاد زخم، از بین بروند و با جلوگیری از ایجاد عفونت و هم‌چنین با تاثیر بر سایر عوامل موثر در روند درمان زخم، باعث بهبود بهتر و سریع‌تر نسبت به سایر گروه‌ها باشد.

براساس نتایج به دست آمده به نظر می‌رسد گیاه ترشک غده‌دار در درمان سوختگی درجه دو بسیار کارآمد بوده و بعد از انجام مطالعات تکمیلی می‌تواند جایگزین مناسبی برای محصولات موجود فعلی باشد.

References

1. Rybarczyk MM, Schafer JM, Elm CM, Sarvepalli S, Vaswani PA, Balhara KS, et al. A systematic review of burn injuries in low- and middle-income countries: Epidemiology in the WHO-defined African Region. *Afr J Emerg Med* 2017; 7(1): 30-37.
2. Mamo ST, Addisie AA, Heye TB, Tegegne OA. Clinical Pattern and Outcome of Burn Injury in Children in AaBet Trauma Center Addis Ababa Ethiopia: Prospective Study. *SAGE Open Nurs* 2023; 9: 23779608231186864.
3. Stan D, Tanase C, Avram M, Apetrei R, Mincu NB, Mateescu AL, et al. Wound healing applications of creams and "smart" hydrogels. *Exp Dermatol* 2021; 30(9): 1218-1232.
4. Markiewicz-Gospodarek A, Koziół M, Tobiasz M, Baj J, Radzikowska-Büchner E, Przekora A. Burn Wound Healing: Clinical Complications, Medical Care, Treatment, and Dressing Types: The Current State of Knowledge for Clinical Practice. *Int J Environ Res Public Health* 2022; 19(3): 1338.
5. Lu M, Zhao J, Wang X, Zhang J, Shan F, Jiang D. Research advances in prevention and treatment of burn wound deepening in early stage. *Front Surg* 2022; 9: 1015411.
6. Ozkan G, Kamiloglu S, Ozdal T, Boyacioglu D, Capanoglu E. Potential use of Turkish medicinal plants in the treatment of various diseases. *Molecules* 2016; 21(3): 257.
7. Parham S, Kharazi AZ, Bakhsheshi-Rad HR, Nur H, Ismail AF, Sharif S, et al. Antioxidant, Antimicrobial and Antiviral Properties of Herbal Materials. *Antioxidants (Basel)* 2020; 9(12): 1309.
8. Khan AW, Farooq M, Haseeb M, Choi S. Role of Plant-Derived Active Constituents in Cancer Treatment and Their Mechanisms of Action. *Cells* 2022; 11(8): 1326.
9. Vasas A, Orbán-Gyapai O, Hohmann J. The Genus *Rumex*: Review of traditional uses, phytochemistry and pharmacology. *Journal of Ethnopharmacology* 2015; 175: 198-228.
10. Meyerholz DK, Piester TL, Sokolich JC, Zamba GK, Light TD. Morphological parameters for assessment of burn severity in an acute burn injury rat model. *Int J Exp Pathol* 2009; 90(1): 26-33.
11. Gal P, Kilik R, Mokry M, Vidinsky B, Vasilenko T, Mozes S, et al. Simple method of open skin wound healing model in corticosteroid-treated and diabetic rats: standardization of semi-quantitative and quantitative histological assessments. *Vet Med* 2008; 53 (12): 652-659.
12. Ramakrishnan MK, Sankar J, Venkatraman J, Ramesh J. Infections in burn patients—experience in a tertiary care hospital. *Burns* 2006; 32(5): 594-596
13. Branykardy H. *Schwartz's Principles of Surgery*. Translated by Shams Akhtari A, Porfakhary M, Freshtehnejad M. Tehran: Ashraaqhy Publication; 2005. p. 198-247 (Persian).
14. Nikrooze L, Jafari Barmak M, Naghmachi M, Ghafarian shirazi, Dehghani N. Study of Jaft Aqueous Extract and Silver Sulfadiazine on Burn Healing in Male Rat. *Arma Dan J Yasu UMS* 2011; 18(2): 107-114.
15. Wasiak J, Cleland H, Campbell F, Spinks A. Dressings for superficial and partial thickness burns. *Cochrane Database Syst Rev* 2013; (3): CD002106.
16. Sood R., Achauer and Sood's Burn Surgery Reconstruction and Rehabilitation. 1st ed. Philadelphia: Sanders Elsevier; 2006: 65-66.
17. Fraser JF, Bodman J, Sturgess R, Faoagali J,

- Kimble RM. An in vitro study of the anti-microbial efficacy of a1% silver sulfadiazine and 0.2% chlorhexidinedigluconate cream 1% silver sulfadiazine cream and a silver coat dressing. *Burns* 2004; 30(1): 35-41.
18. Li W, Wu X, Gao C. Ten-year epidemiological study of chemical burns in Jinshan, Shanghai, PR China. *Burns* 2013; 39(7): 1468-1473.
 19. Luczaj L. Archival data on wild food plants used in Poland in 1948. *J Ethnobiol Ethnomed* 2008; 4(4): 1-4.
 20. Zhang LS, Li Z, Mei RQ. Hastatusides A and B: two new phenolic glucosides from *Rumex hastatus*. *Helvetica Chimica Acta* 2009; 92(4): 774-778.
 21. Fatemi MJ, Nikoomaram B, Rahimi AA, Talayi D, Taghavi S, Ghavami Y. Effect of green tea on the second degree burn wounds in rats. *Indian J Plast Surg* 2014; 47(3): 370-374.
 22. Alahtavakoli M, Vazirinejad R, Ansari Jaberi A, Negahban T, Mashayekhi H, Nazari M, Ghoresli S, Nematollahi F. Effect of *Teucrium polium* extract on skin wound healing in rat. *HMJ* 2012; 16(1): 17-24.
 23. Cushnie T, Lamb A. Recent advances in understanding the antibacterial properties of onoids. *Int J Antimicrob Agents* 2011; 38(2): 99-107.
 24. Ansari M, Alizadeh AM, Paknejad M, Khaniki M, Naeimi SM. Effects of *Teucrium polium* Honey on Burn Wound Healing Process. *J Babol Univ Med Sci* 2009; 11(3): (Persian).