

## Effect of *Lotus Corniculatus* L. Extracts on Wound Healing In Male Diabetic Rats Induced With Streptozocin

Ali Gomar<sup>1\*</sup>, Abdolkarim Hosseini<sup>2</sup>, Naser Mirazi<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Biology, School of Basic Sciences, Science & Research Institute, Islamic Azad University, Tehran, Iran

<sup>2</sup>Department of Physiology, School of Biological Science, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran

<sup>3</sup>Department of Biology, School of Basic Sciences, Bu-Ali Sina University, Hamadan, Iran

Received: 31 Jul, 2013      Accepted: 4 Nov, 2013

### Abstract

**Background and Objectives:** Diabetic wound is a common complication of diabetes. The aim of this study was to evaluate the effects of topical application of *Lotus corniculatus* hydroalcoholic extract on cutaneous wound healing in diabetic rats induced by streptozocin (STZ) in comparison with Phenytoin ointment in rat.

**Methods and Materials:** In this interventional experimental study, male Wistar rats (250±20 g) were divided randomly to normal and diabetic groups. Diabetes was induced by intraperitoneal injection of STZ (60 mg/kg). After anesthesia, full thickness skin of upper dorsal part of rats removed in 2cm<sup>2</sup> area. 24 hours after operation, wound in each animal treated once daily with *L. corniculatus* hydroalcoholic extract (40%) or phenytoin ointment (1%) in normal and diabetic group. Control group received no treatment. Wound surface area measured until 24th postoperative days. The time required for complete healing was also recorded.

**Results:** The progress of wound healing in diabetic animals was slower than in normal animals, and also healing effect of *L. corniculatus* extract compared with controls and normal Phenytoin and diabetic test groups was significant (p<0.001).

**Conclusion:** Topical application of *L. corniculatus* might be accelerate the wound healing after seven day and it was comparable to phenytoin cream in diabetes-related complications.

**Keywords:** Diabetic Wound, Wound Healing, Phenytoin, Streptozocin, Rat

\*Corresponding author:

E-mail: gomar.ucla@gmail.com

## مقاله پژوهشی

# بررسی اثر عصاره علف جوش (*Lotus corniculatus*) بر روند التیام زخم در موش های صحرایی نر بالغ دیابتی شده با استرپتوزوسین

علی گمار<sup>۱\*</sup>، عبدالکریم حسینی<sup>۲</sup>، ناصر میرازی<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران  
<sup>۲</sup> گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران  
<sup>۳</sup> گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه بوعلی سینا همدان، همدان، ایران

دریافت: ۹۲/۵/۹ پذیرش: ۹۲/۸/۱۳

## چکیده

**زمینه و اهداف:** بروز زخم یکی از شایعترین عوارض دیابت است. هدف این مطالعه بررسی اثر مصرف موضعی عصاره هیدروالکلی گیاه علف جوش (*Lotus corniculatus*) بر ترمیم زخمهای باز پوستی در رتهای دیابتی القا شده با استرپتوزوسین (STZ) و مقایسه آن با اثر فنی توئین می باشد.

**مواد و روشها:** در این مطالعه تجربی موشهای صحرایی نر نژاد ویستار با محدوده وزنی  $250 \pm 20$  گرم به طور تصادفی به گروه های سالم و دیابتی تقسیم شدند. القاء دیابت با تزریق درون صفاقی استرپتوزوسین (۶۰ میلی گرم/کیلوگرم) ایجاد شد. پس از بیهوش کردن موشها، زخم پوستی به مساحت ۲ سانتیمتر مربع در پشت آنها ایجاد شد. سپس از روز اول بعد از ایجاد زخم، عصاره علف جوش (۴۰٪) یا کرم فنی توئین (۱٪) به صورت موضعی و روزانه در گروههای سالم و دیابتی روی جایگاه زخم مصرف شد. گروه کنترل هیچگونه درمانی دریافت نکرد. سطح زخم و درصد بهبودی زخم تا روز بیست و چهارم بعد از ایجاد زخم اندازه گیری شد و همچنین زمان لازم برای بهبودی کامل زخم بررسی شد.

**یافتهها:** نتیجه ها حاکی از این بود که میزان پیشرفت ترمیم زخم در حیوانات دیابتی کندتر از حیوانات سالم بوده و همچنین اثر التیامی عصاره ۴۰٪ گیاه علف جوش نسبت به گروههای کنترل و فنی توئین سالم و دیابتی مورد آزمون معنی دار بود ( $P < 0.001$ ).

**نتیجه گیری:** یافته ها نشان می دهند که مصرف موضعی عصاره ی هیدروآتانولی علف جوش ترمیم زخم را از روز هفتم به بعد تسریع می کند که این اثر قابل مقایسه با اثر ترمیمی کرم فنی توئین است.

**کلید واژه ها:** زخم دیابتی، التیام زخم، فنی توئین، استرپتوزوسین، موش صحرایی

\* ایمیل نویسنده رابط: gomar.ucla@gmail.com

## مقدمه

زخم، فرآیندی ترمیمی است که پس از آسیب پوست و بافت های نرم صورت می گیرد. پس از بروز آسیب، پاسخ التهابی بوجود آمده و سلول ها در زیر درم شروع به افزایش تولید کلاژن می نمایند و سپس به تدریج بافت اپیتلیال ترمیم می شود (۳). از گذشته دور

پوست اهمیت حیاتی برای انسان ها دارد و مانع از دست رفتن رطوبت بدن، خونریزی ها و تهاجم میکروب ها می شود (۱). زخم به گسیختگی ساختمان ممتد بدنی در نتیجه آسیب حاصله از عوامل فیزیکی شیمیایی و زیست شناختی اطلاق می شود (۲). بهبود

هیدروالکلی علف جوش بر بهبود زخم‌های دیابتی و مقایسه آن با داروهای التیام دهنده زخم، فنی توئین می‌باشد. با توجه به موارد فوق و با عنایت به اهمیت پژوهش در زمینه پیدا نمودن راهی برای درمان زخم دیابتی بر آن شدیم تا مطالعه پیش روی را به انجام رسانیم.

## مواد و روش‌ها

در این پژوهش از ۴۸ سر موش صحرایی نر بالغ که از دانشگاه علوم پزشکی همدان خریداری شده بودند استفاده گردید. حیوانات به حیوانخانه آزمایشگاه تحقیقاتی دانشکده علوم منتقل شدند. موشها در طول پروژه در این مکان در دمای  $22 \pm 2$  و شرایط نوری ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی نگهداری شدند و هیچگونه محدودیتی از نظر مصرف آب و غذا نداشتند. موشها جهت تطبیق با محیط آزمایشگاه به مدت یک هفته قبل از انجام آزمایش در این مکان قرار داده شدند. تمامی اصول اخلاقی کار با حیوانات در این پژوهش مد نظر قرار گرفته شد. گیاه *L. corniculatus* در اردیبهشت ماه از ارتفاعات الوند جمع‌آوری گردید و پس از شناسایی توسط متخصص گیاهشناسی با کد هرباریومی ۲۷۱۵۸۳ دانشگاه بوعلی سینا همدان، به آزمایشگاه منتقل و در تاریکی و در معرض هوای جاری خشک شد. سپس بوسیله آسیاب پودر شده و به نسبت ۱ به ۴ در بشر حاوی محلول آبی اتانول ۸۰٪ به مدت دو هفته در محیط آزمایشگاه قرار داده شد. محتویات بشر دو بار در هر روز توسط همزن شیشه ای بهم زده می

شد. بعد از گذشت مدت زمان مذکور محتویات ظرف توسط کاغذ صافی فیلتر گردید و محلول حاصله در دستگاه روتاری، در دمای ۸۰ درجه سانتیگراد و دور متوسط قرار گرفت. پس از تغلیظ و حذف حلال، عصاره حاصله به مدت یک روز زیر هود قرار داده شد تا بصورت کامل خشک شود. عصاره آماده به فریزر منتقل گردید. جهت تهیه پماد از اوسرین (Eucerine) به عنوان یک بستر بی اثر جهت تهیه پماد استفاده شد. بدین صورت که مقدار مناسب از عصاره با نسبت وزنی مناسب با اوسرین مخلوط گردیده و پماد ۴۰٪ از عصاره تهیه شد. پماد حاصله در ظروف استریل درب‌دار در یخچال قرار داده شد. فنی توئین، دیلاتین یا دی فتیل هیدانتوئین یا داروی آرامبخش و ضد صرع می‌باشد. شکل دارویی پماد آن دارای اثرات مفیدی جهت تسریع بهبود زخم داشته و محققان بر این باورند که این عملکرد در اثر تحریک پرولیفراسیون فیبروبلاستها، کاهش فعالیت کلاژناز، مهار تولید گلوکوکور-تیکوئیدها، افزایش بافت گرانولی و نئوواسکولاریزاسیون می‌باشد (۱۸). موشها بصورت تصادفی به شش گروه هشت‌تایی تقسیم بندی شدند: (۱) گروه کنترل سالم (۲) گروه کنترل دیابتی (۳) گروه سالم دریافت‌کننده فنی توئین (۴) گروه دیابتی دریافت‌کننده فنی-توئین (۵) گروه سالم دریافت‌کننده پماد ۴۰٪ (۶) گروه دیابتی دریافت‌کننده پماد ۴۰٪. جهت القای دیابت از داروی استرپتوزوسین (STZ) ساخت کمپانی sigma با دوز  $60 \text{ mg/Kg}$  بصورت تزریق داخل صفاقی (i. p) استفاده گردید. سه روز بعد از

پزشکان مصری، یونانی، هندی و اروپایی با توسعه روشهای موثر در پی درمان زخم در کوتاهترین زمان و با کمترین عارضه بوده‌اند (۴). در طب سنتی نیز از گیاهان و مواد طبیعی گوناگونی برای ترمیم زخم‌ها استفاده می‌شود (۵). التیام زخم‌ها فرآیندی پیچیده اما عمدتاً سازمان یافته است که در چهار مرحله صورت می‌گیرد: بازسازی بافت پوششی سطح زخم، مهاجرت فیبروبلاستها جهت تشکیل کلاژن مورد نیاز جهت ترمیم، تشکیل نسج التیامی و سرانجام جمع شدن یا انقباض زخم (۶). امروزه محققان با ثبت کمی تغییرات حاصل از این وقایع میزان ترمیم پوست را اندازه‌گیری می‌کنند (۷). در حال حاضر در ایران برای درمان جراحات‌ها از محلولهای ضد عفونی کننده نظیر بتادین، اسیداستیک، شستشو با سرم فیزیولوژی، پمادهای آنتی‌بیوتیک و هیدروکورتیزون استفاده می‌شود. در حالی که پژوهش‌های اخیر نشان می‌دهد که بسیاری از محلول‌های ضد عفونی کننده نظیر بتادین، اسید استیک، یدوفور و پراکسید هیدروژن برای فیبروبلاستها، لنفوسیت‌ها و سلول‌های مورد نیاز ترمیم زخم سمی هستند (۸). اختلال در جریان خون موضعی و اکسیژن‌گیری، همراه با سایر عوامل نظیر سن، چاقی، سوء تغذیه، عفونت، بعضی از داروها، برخی از بیماری‌ها مانند دیابت ملیتوس و... می‌توانند فرایند التیام زخم را به تاخیر بیاندازند (۹). در بیماری دیابت، عوارضی مزمن عروق ته چشم و کلیوی را گرفتار کرده و نوروپاتی، ضایعات پوستی، زخمهای دیابتی و بهبود تأخیری و غیرطبیعی در زخم‌ها مشاهده می‌شود (۱۰ و ۱۱). اهمیت زخم دیابتی هنگامی بیشتر آشکار می‌شود که مشخص شود این زخم عامل بستری شدن بیماران دیابتی در بیمارستان برای چندین روز در هر سال است (۱۲). تغییرات ایجاد شده در نارسایی ترمیم زخم در بیماران دیابتی ممکن است ناشی از عللی مانند: التهاب مزمن در محل زخم، تغییرات ایجاد شده در عروق کوچک و ضخیم شدن غشاء پایه مویرگ

ها، مساعد بودن محیط زخم برای ابتلا به عفونت، کاهش جریان خون و هیپوکسی ناشی از آن به علت کاهش گلوکز درون یاخته‌ای، نارسایی در عروق‌زایی جدید، کاهش در شکل‌گیری کلاژن، افزایش رادیکال‌های آزاد اکسیژن و هیپرگلیسمی باشد که ممکن است عمل بیگانه‌خواری ماکروفاژها را مهار نموده و بدین ترتیب مواد نکروتیک و زائد از موضع زخم حذف نشده و فیبروبلاستها و مواد غذایی در زخم کاهش یابد (۱۳). استفاده دارویی از گیاهان سابقه‌ای طولانی دارد. گیاه علف جوش (*Lotus corniculatus*) گیاهی دارویی از تیره Fabaceae می‌باشد (۱۴). این گیاه در نواحی جنوبی ایران، کوه دنا، آذربایجان و کوه الوند و نواحی دیگر یافت می‌شود (۱۵). در بررسی‌های بعمل آمده قبلی مشخص شده است که این گیاه دارای خواص ضد تشنجی، ضد التهابی، ضد میکروبی، هموستاتیک، ضد نفخ، ضد کرم، آرام بخش، نیروبخش و کاهنده تب می‌باشد (۱۶ و ۱۷). این گیاه در طب سنتی ایران در بین عشایر، کشاورزان و باغداران استان همدان به عنوان مرهم برای زخم‌های جلدی جایگاه مهمی دارد و در مطالعات قبلی اثرات تسریع ترمیم زخم توسط این گیاه مشاهده شده است. هدف این پژوهش، مطالعه و بررسی اثر عصاره

و تست Tukey برای مقایسه دو به دو بین گروهها، استفاده شد. اختلافات داده‌ها با ( $P < 0.05$ ) معنی‌دار در نظر گرفته شد.

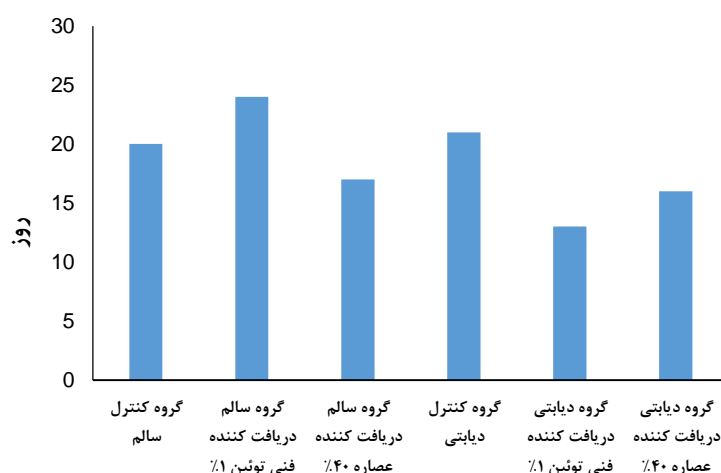
### یافته‌ها

یافته‌های این پژوهش در دو بخش ماکروسکوپی و میکروسکوپی دسته‌بندی شده است. نتایج بررسیهای ماکروسکوپی گروههای مورد آزمون بطور خلاصه در نمودارهای این قسمت قابل مشاهده می‌باشد. در هیچ یک از گروههای مورد مطالعه اثری از عفونت و آگزام و تورم مشاهده نشد.

در تمامی گروههای مورد آزمون در روزهای ابتدایی پس از جراحی، افزایش وسعت زخم مشاهده شد و سپس در روزهای بعدی زخم‌ها روند بهبودی را طی نمودند. در گروه کنترل سالم در روزهای چهارم تا بیستم، بهبودی با سیر کندی صورت گرفت. به گونه‌ای که در روز بیستم هنوز آثاری از زخم قابل مشاهده بود. در گروه کنترل دیابتی نیز روند بهبودی به همین صورت مشاهده گردید با این تفاوت که مدت زمان بهبودی به گونه معنی‌داری بیشتر از موشهای سالم بود و در روز بیست و پنجم نیز هنوز آثار زخم مشاهده می‌شد.

در این مطالعه، بین میزان بهبود زخم موشهای سالم در گروههای کنترل، دریافت‌کننده فنی‌توئین و دریافت‌کننده عصاره در دوره شش روزه ابتدایی پس از جراحی، اختلاف معناداری وجود نداشت. در این دسته از موشها در دوره شش روزه دوم بین گروههای کنترل و دریافت‌کننده فنی‌توئین اختلاف معناداری مشاهده نشد. در بین گروههای کنترل و دریافت‌کننده عصاره گیاه علف‌جوش اختلاف معناداری وجود داشت ( $P < 0.05$ ). بین گروههای دریافت‌کننده فنی‌توئین و دریافت‌کننده عصاره، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. در شش روزه سوم، بین گروه کنترل و گروه دریافت‌کننده فنی‌توئین اختلاف، معنادار نبود. اختلاف مساحت زخم در بین گروه کنترل و گروه دریافت‌کننده عصاره بصورت معناداری مشاهده گردید ( $P < 0.01$ ).

تزریق، قندخون حیوانات اندازه‌گیری شد و حیواناتی که میزان قندخون آنها بیشتر از  $250 \text{ mg/dl}$  بود به عنوان موش دیابتی در نظر گرفته شدند. این حیوانات علائم دیابت نظیر پر نوشی و پر ادراری و کاهش وزن را داشتند. هشت هفته پس از القای دیابت (مدت زمان لازم جهت شروع اثرات تخریبی دیابت در موشهای صحرایی) برای ایجاد زخم ابتدا موشها بوسیله کتامین ( $10 \text{ mg/Kg}$ ) و زایلازین ( $50 \text{ mg/Kg}$ ) بیهوش شدند، موهای پشت گردن آنها با دقت تراشیده شده و بوسیله بتادین ضدعفونی گردید، سپس با استفاده از شابلون  $2 \times 2 \text{ cm}$  پوست این ناحیه به عمق اپیدرم و درم برداشته شد. روز جراحی روز صفر در نظر گرفته شده و از روز اول گروه‌ها بوسیله سوآپ استریل آغشته به دارو بصورت یک بار در هر روز و رأس ساعت مشخص مورد تیمار قرار گرفتند. گروههای کنترل دیابتی و سالم هیچ‌گونه پمادی دریافت نکردند. هر روز قبل از تیمار میزان تغییرات مورفومتریک زخم حیوان توسط عکاسی دیجیتال و آنالیز تصاویر توسط نرم افزار Digimizer.v4.1.1.0 مورد بررسی قرار گرفت و مساحت زخم سنجیده شده و میزان بهبودی آن مورد ارزیابی قرار گرفت. در روزهای ۳ و ۷ و ۱۴ و ۲۱ از موشها نمونه برداری بافتی صورت گرفته و همچنین در اتمام پروژه و پس از راحت کشی حیوانات توسط کلروفروم از محل ترمیم نمونه برداری شده و پس از گذر از مراحل فیکساسیون و پاساژ بافتی و مقطع‌گیری، با روش هماتوکسیلین و اتوزین رنگ‌آمیزی شدند. سپس اسلایدها توسط میکروسکوپ Zeiss Axioskop2 مورد بررسی و مقایسه قرار گرفتند و نتایج حاصله ثبت گردید. از برش‌های میکروسکوپی تصاویر دیجیتالی تهیه شده و شمارش فیبروبلاست‌ها و جوانه‌های عروقی در واحد میلی‌متر مربع به انجام رسید. یافته‌های بدست آمده از گروههای مورد آزمایش، با استفاده از نرم افزار SPSS21 مورد بررسی قرار گرفت و نتایج حاصله بصورت  $\text{mean} \pm \text{SEM}$  ارزیابی و تجزیه و تحلیل شد. جهت مقایسه نتایج این پژوهش از آزمونهای آماری آنالیز واریانس یک طرفه (One way ANOVA)

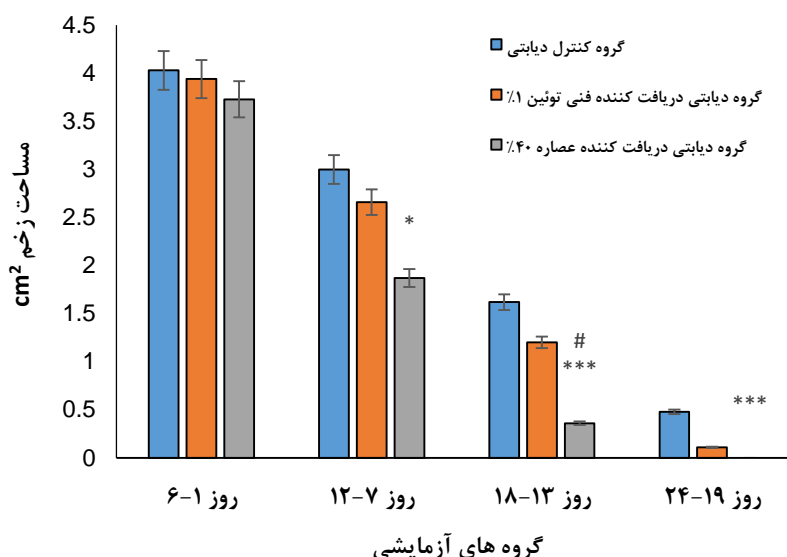
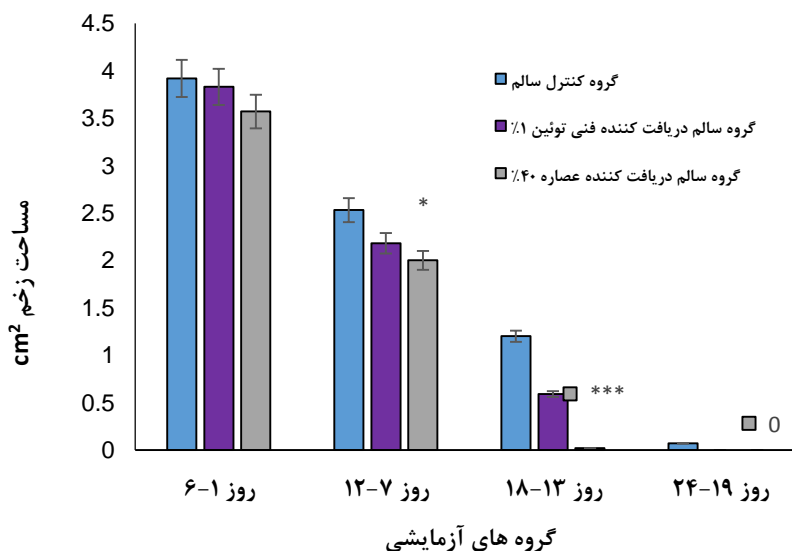


گروه‌های آزمایشی

نمودار ۱. مقایسه میزان بهبودی زخم در زیر گروههای مورد آزمون. مقادیر بیانگر «mean ± SEM» مربوط به (n=۶) موش صحرایی نر نژاد ویستار است.

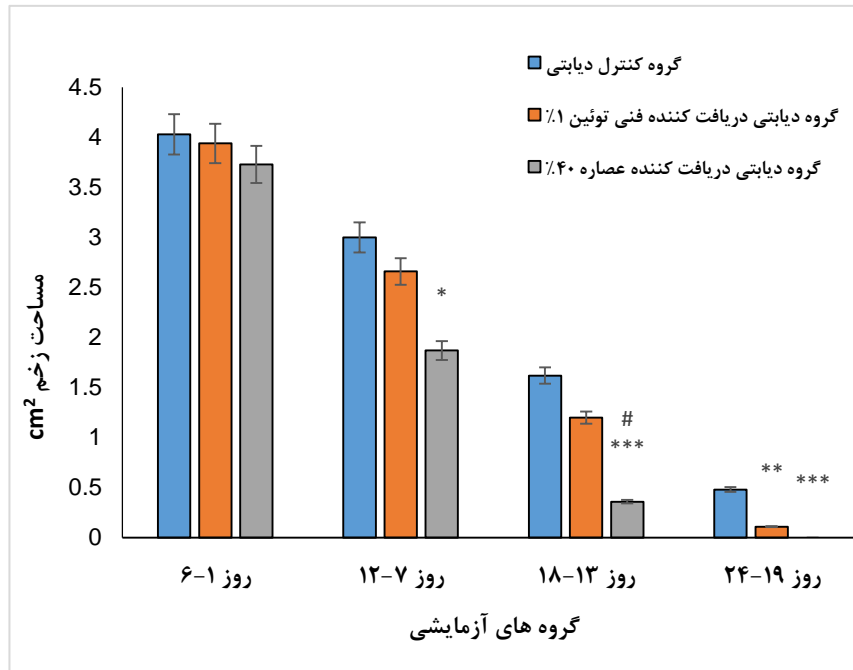
همچنین بین گروههای دریافت کننده فنی توئین و دریافت کننده عصاره نیز تفاوت معنی داری دیده نشد. در اوایل شش روزه سوم، عصاره توانست زخم موشهای سالم را بطور کامل، بسته و ترمیم نماید. در میان موشهای دیابتی نیز در شش روز اول ترمیم زخم، هیچگونه اختلاف معنی داری در بین گروههای مورد آزمون مشاهده نشد. در بین گروههای کنترل و دریافت کننده فنی توئین و همچنین گروه دریافت کننده فنی توئین و دریافت کننده عصاره در شش روزه دوم نیز اختلاف معنی دار نبود. اما در بین گروههای کنترل و دریافت کننده عصاره اختلافات معنی داری وجود داشت

در شش روزه سوم بهبود زخم در موشهای دیابتی، بین گروههای کنترل و دریافت کننده فنی توئین اختلاف معنی داری مشاهده نشد. اختلاف بین گروه کنترل و دریافت کننده عصاره کاملاً معنی دار بود ( $P < 0/001$ ). به همین ترتیب بین گروه دریافت کننده فنی توئین و گروه دریافت کننده عصاره اختلاف معنی داری وجود داشت ( $P < 0/05$ ). در شش روزه سوم، عصاره توانست زخم موش های دیابتی را بطور کامل بسته و ترمیم نماید. در شش روزه چهارم نیز بین اثرات ترمیم فنی توئین در قبال گروه کنترل نتایج معنی دار بود ( $P < 0/01$ ).



نمودار ۲. مقایسه مساحت زخم بین گروههای مورد آزمون در دوره های شش روزه پس از انجام جراحی و روند بهبود آن. نمودار سمت راست مربوط به گروههای سالم و نمودار سمت چپ مربوط به گروههای دیابتی می باشد. مقادیر بیانگر «mean ± SEM» مربوط به (n=۶) موش صحرایی نر نژاد ویستار است. # بیانگر معناداری گروهها نسبت به گروه کنترل # بیانگر معناداری گروهها نسبت به گروه فنی توئین است

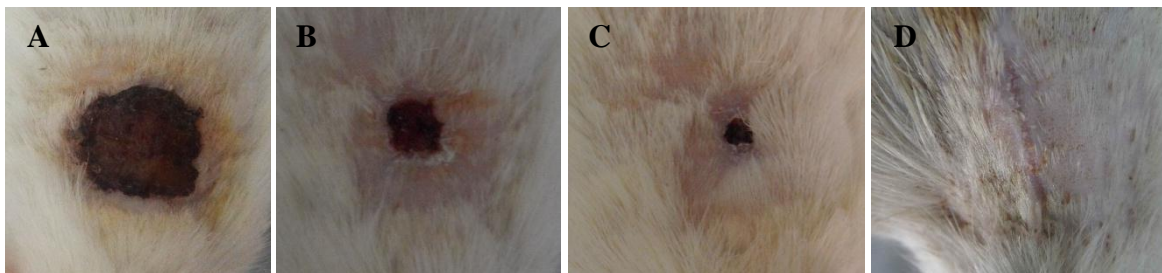
(#:  $P < 0/05$ ) (\*\*):  $P < 0/01$ , (\*\*\*)  $P < 0/001$



نمودار ۳. مقایسه مساحت زخم بین گروه‌های سالم و دیابتی مورد آزمون در دوره‌های شش روزه پس از انجام جراحی و روند بهبود آن. مقادیر بیانگر «mean ± SEM» مربوط به (n=6) موش صحرایی نر نژاد ویستار است.

دوره شش روزه چهارم بین گروه کنترل دیابتی و گروه کنترل سالم، گروه سالم دریافت کننده فنی توتین و همچنین گروه سالم دریافت کننده عصاره (P<۰/۰۰۱) اختلاف بصورت معنی داری مشاهده شد. در شش روزه سوم عصاره توانست بطور کامل زخم را (چه در گروه‌های دیابتی و چه در گروه‌های سالم) ببندد و ترمیم را کامل کند. در صورتیکه در سایر گروه‌های مورد مطالعه در شش روزه چهارم، زخم ترمیم یافت. با مطالعه و بررسی اسلایدهای میکروسکوپی تهیه شده از محل ضایعه در نمونه‌های مورد آزمون و شمارش فیبروبلاست‌ها و جوانه‌های عروقی محل زخم، روند طبیعی ترمیم زخم‌ها که قبلاً اشاره شد مشاهده گردید. دیده شد که تعداد فیبروبلاست‌ها و جوانه‌های عروقی در محل ضایعه در موش‌های دیابتی کمتر از موش‌های سالم بوده و همچنین عصاره توانست در هر دو گروه سالم و دیابتی این میزان را افزایش دهد.

اختلاف معنی داری در بین گروه‌های دیابتی و سالم در شش روز اول ترمیم مشاهده نشد. اما در شش روز دوم، بین گروه‌های دیابتی و سالم مورد آزمون شامل گروه‌های کنترل سالم و دیابتی، دریافت کننده عصاره دیابتی و سالم و همچنین گروه دیابتی دریافت کننده عصاره و سالم دریافت کننده عصاره اختلاف معناداری وجود نداشت. گروه سالم دریافت کننده عصاره با گروه دیابتی کنترل (P<۰/۰۰۱) و همچنین با گروه دریافت کننده فنی توتین (P<۰/۰۰۱) دارای اختلاف معنی داری می‌باشد. در شش روز سوم بین گروه‌های کنترل سالم و گروه دیابتی دریافت کننده عصاره (P<۰/۰۰۵)، همچنین بین گروه‌های کنترل دیابتی و گروه سالم دریافت کننده فنی توتین (P<۰/۰۰۱) و بین گروه سالم دریافت کننده عصاره (P<۰/۰۰۱) اختلاف معنی داری وجود داشت. همچنین اختلاف معنی داری در بین گروه‌های دیابتی دریافت کننده فنی توتین و گروه سالم دریافت کننده عصاره (P<۰/۰۰۱) مشاهده گردید. در



شکل ۱. روند ترمیم زخم در موش‌های دیابتی دریافت کننده عصاره. A: روز اول، B: روز هفتم، C: روز چهاردهم و D: روز بیست و یکم.

## بحث

روند التیام زخم دربرگیرنده مجموعه‌ای از رخدادهای سلولی است که لازمه آن جذب سلولهای اطراف به محل ضایعه، رشد و تقسیم سلولی و سنتز، ترشح و تجمع مواد و رشته‌های بین سلولی جدید در بافت پیوندی می‌باشد (۱۹). این سیر ترمیم در مورد زخم‌ها در حالت نرمال صادق می‌باشد. اما روند، کیفیت و سرعت ترمیم زخم در مورد زخمهای مزمن در بیماری‌هایی نظیر فشارخون بالا، چاقی و دیابت ملیتوس همیشه بدین صورت نمی‌باشد و عوامل متعددی در این بیماری‌ها در روند ترمیم و بهبود زخم مداخله می‌کنند. در این پژوهش در چند روز ابتدایی بعد از جراحی شاهد افزایش مساحت زخم بودیم که این امر می‌تواند به دلیل حضور عوامل التهاب‌زای ناشی از آسیب بافتی ایجاد شده باشد. افزایش سطح زخم در روزهای نخستین در گروههای مورد مطالعه متفاوت بود. در گروه دریافت‌کننده عصاره (چه گروه سالم و چه گروه دیابتی) میزان افزایش سطح کمتری مشاهده شد که این امر را می‌توان به خاصیت ضدالتهابی گیاه علف‌جوش نسبت داد. بر طبق گزارشات متعدد، تعدیل مرحله التهاب در زخم‌ها در سیر ترمیم زخم، اثری مثبت دارد. همچنین گزارشات زیادی مبنی بر اثبات خواص ضدالتهابی گیاه علف‌جوش وجود دارد. در سال ۲۰۰۹ koelzer و همکاران و در سال ۲۰۱۱ Pereira و همکاران اثرات ضدالتهابی گیاه *L.corniculatus* را گزارش نمودند. بر پایه مطالعات صورت گرفته اثرات ضدالتهابی این گیاه در بافتها، مرتبط با کاهش میزان محصولات نیتریک اکسید و همچنین مهار و کاهش سطح آنزیم‌های مربوط به پروسه التهاب مانند میلوپراکسیداز (MPO) و آدنوزین دامیناز (ADA) و میانجی‌هایی مانند IL-17A می‌باشد (۲۱ و ۲۰). در روزهای بعد در همه گروهها شاهد روند ترمیم با سرعت و کیفیت‌های متفاوت بودیم. اختلافات در سیر بهبود زخم‌های ایجاد شده در بین گروههای مورد مطالعه بصورت معنی‌داری نشان داد که عصاره ۴۰٪ گیاه علف‌جوش بر ترمیم زخم در گروه سالم و دیابتی اثر مثبت دارد که این امر در بین گروههای دیابتی کنترل و دیابتی دریافت‌کننده فنی‌توئین ۱٪ و دیابتی دریافت‌کننده عصاره بصورت کاملاً معنی‌داری مشاهده گردید. گیاه علف‌جوش حاوی مقدار زیادی آنتوسیانین، فلاونوئید، استرول، آلکالوئید و تانن می‌باشد (۲۲). این مواد با اعمال فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی و همچنین مهار تولید رادیکالهای آزاد که در بیماری دیابت بصورت شایعی وجود دارد، مانع از گسترش زخم شده و روند ترمیم را بهبود می‌بخشند (۲۳). همچنین وجود ترکیبات فوق در عصاره علف‌جوش موجب تحریک و سرعت بخشی در فرایند ساخت و ترشح مواد و رشته‌های زمینه‌ای بین سلولی و همچنین افزایش پرولیفراسیون فیبروبلاست‌ها و افزایش تعداد ماکروفاژها می‌شود. در سال ۱۹۹۷ Song و همکاران مشاهده کردند که فنی‌توئین می‌تواند با افزایش تعداد فیبروبلاست‌ها و همچنین فاکتورهای رشد موضعی و میزان ترکیبات رشته‌ای موجود در بافت عضلانی، ترمیم را تسریع بخشد. گزارشاتی مبنی

بر اثر فنی‌توئین بر افزایش میزان تولید و ترشح کلاژن، افزایش فعالیت ماکروفاژهای بافتی و همچنین کشش زخم وجود دارد که باعث بهبود هرچه بیشتر زخم می‌شود (۲۴). در مطالعه حاضر مشاهده گردید که عصاره ۴۰٪ گیاه علف‌جوش بطور کاملاً معناداری نسبت به فنی‌توئین با سرعت بیشتری باعث بهبود زخم می‌شود. در زخم دیابتی که به دلایل فوق‌الذکر دیرتر بهبود می‌یابد و به یک معزل برای بیماران دیابتی تبدیل شده است، نیز مشاهده شد این عصاره توانسته است نسبت به فنی‌توئین اثرات مفیدتری داشته باشد. یکی دیگر از عواملی که می‌توان به اثرات این گیاه در تسریع روند بهبود زخم نسبت داد خاصیت آنتی‌باکتریالی و ضد عفونی‌کنندگی آن می‌باشد. بر پایه گزارش‌های موجود، ترکیبات و مواد بیولوژیک گیاه علف‌جوش مانند آنتوسیانین، تانن و آلکالوئید خواص آنتی‌باکتریالی دارند (۲۷-۲۵). بنابراین می‌توان چنین نتیجه گرفت که احتمالاً ترکیبات موجود در گیاه مورد مطالعه از طریق اعمال اثر ضد باکتریایی خود مانع از ایجاد عفونت در زخم شده و بهبود آنرا تسریع می‌بخشد. لازم به ذکر است که یکی از عوامل مهم ایجاد زخم در بیماران دیابتی، عفونی‌شدن محل ضایعه می‌باشد که با توضیحات فوق می‌توان چنین گفت که گیاه علف‌جوش در این روند مداخله نموده و مانع عفونت شود. کوپرا و همکاران، افزایش خون‌رسانی و اکسیژن‌رسانی به محل ضایعه زخم از طریق گشاد نمودن عروق را یکی دیگر از عوامل تسریع ترمیم زخم عنوان نموده‌اند. مشاهده شده است که گیاه *L.corniculatus* خاصیت آنتی‌اسمپاسموتیک و گشادکنندگی عروق داشته است. بنابراین احتمال می‌رود که همین اثر گیاه علف‌جوش در محل ضایعه از طریق افزایش خون‌رسانی و اکسیژن‌رسانی به زخم، کمک بسزایی در تسریع روند درمانی آن داشته باشد (۲۸ و ۲۳).

## نتیجه‌گیری

بر اساس مطالب فوق و اثرات متعدد مواد و ترکیبات موجود در گیاه *L.corniculatus* و مشاهدات این پژوهش علاوه بر تایید یافته‌های قبلی مبنی بر خواص این گیاه و با انجام آزمایشات تخصصی بیشتر، می‌توان به این نتیجه رسید که این گیاه باعث بهبودی سریعتر در زخمهای بیماران دیابتی به عنوان یکی از عوارض شایع و مهم بیماری دیابت، می‌شود.

## تقدیر و تشکر

برخود لازم می‌دانیم از زحمات بی‌شائبه جناب آقای دکتر مهران وطنچیان که در مراحل بافت‌شناسی و تشخیص نمونه‌ها و سرکار خانم معصومه اسدبگی در تهیه عصاره علف‌جوش و سایر عزیزانی که در انجام این پروژه ما را یاری رسانیدند صمیمانه تشکر و قدردانی نمایم.

## References

- Mcgrath JA, Breathnach SM. *Rook's textbook of dermatology*. London, Blackwell; 1998; PP: 336-355.
- Johnston D.E. Wound healing in skin, plastic and reconstructive surgery. *Vet Clinic North Am* 1990; **20**(1): 1-45.
- Souba WW, Wilmore D. *Diet and nutrition in case of the patient with surgery. Trauma and sepsis*. 9<sup>th</sup> ed. Baltimore, Williams and Wilkins, 1999; PP: 1589-1618.
- Townsend CM. *Sabiston Textbook of Surgery*. 16<sup>th</sup> ed. New York, Oxford University Press, 2001; PP: 85-91.
- Hemmati A.A, Arzi A, Amin M. Effect of *Achillea millefolium* extract in wound healing of rabbit. *J Nat Remed* 2002; **2**(2): 164-167.
- Schwartz S. *Principles of surgery*. 4<sup>th</sup> ed. New York, McGraw-Hill Company, 1984; PP: 289-304.
- Dyson M, Young S, Pendle CL, Webster DF, Lang SM. Comparison of the effects of moist and dry conditions on dermal repair. *J Invest Dermatol* 1988; **91**(5): 434-439.
- Sewall GK, Robertson KM, Connor NP, Heisey DM, Hartig GK. Effect of topical mitomycin on skin wound contraction. *Arch Facial Plast Surg* 2003; **5**: 59-62.
- Bale S, Jones V. *Wound Care Nursing: A Patient-Centered Approach*. London, Baillière Tindall, 1997.
- Powers AC, Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL. *Harrison's principle of Internal Medicine*. 15<sup>th</sup> ed. New York, Mc Graw-Hill, 2001; PP: 2109-2138.
- Gleckman R, Mory J. *Diabetes - related foot infection*. *J Contemp Intern Med* 1994; **6**(8): 57-62.
- Unger RH, Foster DW, Wilson JD, Foster DW, Kronenberg HM, Larsen PR, et.al. *Williams textbook of endocrinology*. 9<sup>th</sup> ed. Philadelphia, W.B. Saunders, 2001; PP: 973-1061.
- Hallberg CK, Roeme SD, Ansari N H. Acceleration of corneal wound healing in diabetic rats by the antioxidant trolox. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* 1996; **93**(1): 3-12.
- Kumar B, Vijayakumar M, Govindarajan R, Pushpangadan P. Ethnopharmacological approaches to wound healing-exploring medicinal plants of India. *J Ethnopharmacol* 2007; **114**(3): 103-113.
- Ramírez-Restrepo CA, Barry TN, López-Villalobos N, Kemp PD, McNabb WC. Use of *Lotus corniculatus* containing condensed tannins to increase lamb and wool production under commercial dryland farming conditions without the use of anthelmintic. *Animal Feed Science and Technology*; **117**(1-2): 85-105.
- Jan Triska. *The Hamlyn Encyclopedia of Plants*. Hamlyn, Cambridge University Press, 1975; PP: 66-99.
- Waghorn GC, Ulyatt MJ, John A, Fisher MT. The effect of condensed tannins on the site of digestion of amino acids and other nutrients in sheep fed on *Lotus corniculatus* L. *Br J Nutr* 1987; **57**(1): 115-126.
- Scheinfeld N. Phenytoin in cutaneous medicine: Its uses, mechanisms and side effects. *Dermatol Online* 2004; **9**(3): 6-15.
- Ghasemi Pirbalouti A, Koohpyeh A. *Wound Healing Activity of Extracts of Malva Silvestre's and Stachys lavandulifolia*. *International Journal of Biology* 2011; **3**(1): 10-15.
- Pereira DA, Dalmarco JB, Wisniewski A Jr, Simionatto EL, Pizzolatti MG, Fröde TS. Lotus corniculatus regulates the inflammation induced by bradykinin in a murine model of pleurisy. *J Agric Food Chem* 2011; **59**(6): 2291-2298.
- Pereira K, Dalmarco, Frode P. Evaluation of the anti-inflammatory efficacy of *Lotus corniculatus*. *Food Chem* 2009; **117**(3): 7.
- Tsegahun A, Chairatanayuth P, Vijchulata P, Tadsri S. The Effect of Dry Season Supplementation of *Lotus corniculatus* Hay on Body and Fleece Weights of Three Sheep Breeds Grazing Natural Pasture under Ethiopian Conditions. *Kasetsart J (Nat. Sci)* 2006; **40**: 978 - 986.
- Dalmarco, JB, Dalmarco, EM, Koelzer J, Pizzolatti MG, Frode TS. Isolation and identification of bioactive compounds responsible for the anti-bacterial efficacy of *Lotus corniculatus* var. *São Gabriel* 2010;
- Song S, Cheng T. The effect of Systemic and Local irradiation on wound macrophages and the repair promoting action of phenytoin sodium. *Chung Hual HsuehTsa chi* 1997; **77**: 54-57.
- Cisowska A, Wojnicz D, Hendrich AB. Anthocyanin's as antimicrobial agents of natural plant origin. *Nat Prod Commun* 2011; **6**(1): 149-156.
- Vieira S.C, Borba A. E. S. Effects of Condensed Tannins from Quebracho Extract on the Kinetic of in vitro Gas Production on *Trifolium repens*, *Lotus corniculatus* and *Lolium perenne*. *Journal of Agricultural Science and Technology* 2011; **1**: 982-988.
- Damintoti Karou, Aly Savadogo, Antonella Canini, Saydou Yameogo, Carla Montesano, Jacques Simpore, et.al. Antibacterial activity of alkaloids from *Sida acuta*. *African Journal of Biotechnology* 2006; **5**(2): 195-200, 216.
- Chopra RN, Nayar SL, Chopra C. Glossary of Indian Medicinal plants. New Dehli. *Council of scientific and Industrial Research* 1986; **85**: 16-20.