



دانشکده علوم پایه و کشاورزی

مرکز تهران

پایان نامه

برای دریافت مدرک کارشناسی ارشد (MS.c)

رشته بیوشیمی

گروه زیست شناسی

عنوان پایان نامه

عصاره گیری، فرمولاسیون و بررسی اثر التیام بخشی عصاره *Scrophularia*

striata در درمان زخم باز پوستی در موش آزمایشگاهی

علی اکبر جعفری

اساتید راهنما :

دکتر مجید شهرتی

دکتر علی محمد لطیفی

استاد مشاور :

دکتر رضا حاج حسینی

دی ۱۳۹۱



این پایان نامه با همکاری دانشگاه پیام نور و مرکز تحقیقات
بیوتکنولوژی کاربردی دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... (عج)
تدوین شده است.



دانشکده علوم پایه و کشاورزی

مرکز تهران

پایان نامه

برای دریافت مدرک کارشناسی ارشد (MS.C)

رشته بیوشیمی

گروه زیست شناسی

عنوان پایان نامه

عصاره گیری، فرمولاسیون و بررسی اثر التیام بخشی عصاره *Scrophularia striata* در درمان زخم باز پوستی در موش

آزمایشگاهی

علی اکبر جعفری

اساتید راهنما :

دکتر مجید شهرتی

دکتر علی محمد لطیفی

استاد مشاور :

دکتر رضا حاج حسینی

دی ۱۳۹۱

ألف

پیوست ۶ (گواهی اصالت ، نشر و حقوق مادی و معنوی اثر)

اینجانب علی اکبر جعفری دانشجوی ورودی سال ۱۳۸۸ مقطع کارشناسی ارشد رشته زیست شناسی گرایش بیوشیمی گواهی می نمایم چنانچه در پایان نامه از فکر، ایده و نوشته دیگری بهره گرفته ام با نقل و قول مستقیم یا غیر مستقیم ، منبع و ماخذ آن را نیز در جای مناسب ذکر کرده ام. بدیهی است مسئولیت تمامی مطالبی که نقل و قول دیگران نباشد بر عهده خویش می دانم و جوابگوی آن خواهم بود.

دانشجو تایید می نماید که مطالب مندرج در این پایان نامه (رساله) نتیجه تحقیقات خودش می باشد و در صورت استفاده از نتایج دیگران مرجع آن را ذکر نموده است .

نام و نام خانوادگی دانشجو

تاریخ و امضاء

اینجانب علی اکبر جعفری دانشجوی ورودی سال ۱۳۸۸ مقطع کارشناسی ارشد رشته زیست شناسی گرایش بیوشیمی گواهی می نمایم چنانچه براساس مطالب پایان نامه خود اقدام به انتشار مقاله، کتاب و نمایم، ضمن مطلع نمودن استاد راهنما، با در نظر ایشان نسبت به نشر مقاله، کتاب و بصورت مشترک و با ذکر نام استاد راهنما مبادرت نمایم.

نام و نام خانوادگی دانشجو

تاریخ و امضاء

کلیه حقوق مادی مترتب از نتایج مطالعات، آزمایشات و نوآوری ناشی از تحقیق موضوع این پایان نامه متعلق به دانشگاه پیام نور و مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی کاربردی دانشگاه علوم پزشکی بقیه ... (عج) می باشد.

آنچه توانستیم لطف خدا بوده است

میهن اسلامی ما، پس از سالها و قرن‌ها اسارت فرهنگی و علمی، اینک در اشتیاق استقلال، گام‌های محکم و استواری بر می‌دارد. همه روزه در گوشه و کنار میهن ما جوانه‌های خودکفایی علمی و فنی رخ نموده و با عنایت خداوند متعال و تلاش و کوشش هزاران سرباز گمنام، سنگ‌های دانش و فن به تسخیر درمی‌آید. خدای را شکر می‌گوئیم که ما را از بندگان خدمتگزارش قرار داده و این فرصت را ارزانی ما داشته تا گام‌هایی هرچند کوچک در راه اعتلای اسلام و رشد و نشر فرهنگ اسلامی برداریم. باشد تا با یاری خداوند متعال و در پرتو همت اندیشمندان، نویسندگان، مترجمان و متخصصان مومن و متعهد بتوانیم در زمینه‌های فرهنگی و هنری نیز، اهداف مقدس و پربار انقلاب را پیگیر بوده و از این حیث، دین خود را به انقلاب اسلامی و خون شهدای عزیز ادا کنیم.

تقدیم به ارواح مقدس شهیدان

بخصوص شهدای خطه خون‌رنگ غرب کشور

و تقدیم به روح بلند مولا و مقتدای

شهیدان حضرت امام خمینی (ره)

تقدیم به مردم خونگرم استان ایلام، مردمی که در مقابل تجاوز بیگانه آشکارا ایستادند، مردمی که در طی هشت سال دفاع مقدس به اسطوره‌هایی مبدل شدند که نام و یادشان در صفحات زرین تاریخ رقم خواهد خورد؛ مردمی که به فرهنگ غنی اسلامی خود بالیدند و استقامت و جهاد را دوباره معنی بخشیدند. استان ایلام از مظلومترین و مقاومترین مناطق در سالهای جنگ تحمیلی به شمار می‌رود. شاید روحیه قناعت‌پیشگی و اعتقاد ریشه‌دار این مردم به ضرورت ایستادگی و مقاومت را در کمتر خطه‌ای بتوان مشاهده کرد. مردمی که به جز آب و آرد، انتظار دیگری از مسئولین نداشتند بواقع خصلت آزادگی خود را آشکار می‌کردند.

و بدینگونه بود که مردمی چنین مصمم، ایستادند و ایستادگی را آموختند و مصداق بارز راست‌قامتان جاودانه تاریخ شدند.

تقدیر و تشکر

بر نقطه دهان تو باشد مدار عمر

اندیشه از محیط فنا نیست هر که را

این نقش ماند از قلمت یادگار عمر

حافظ سخن بگوی که بر صفحه جهان

سپاس رحمت بی کران خداوند عزوجل را که هستی بخش تمام موجودات است و ستایش او امری واجب هم اکنون رحمت که به لطف یگانه خالق هستی توانسته ام آنچه را که بر عهده داشتم با موفقیت به اتمام رسانده و نتایج ماحصل از تحقیقات و تلاش خود را به عالم بشریت تقدیم کنم، بر خود دانستم از کسانی که در این امر بنده را یاری نموده اند تشکر و قدردانی نمایم. از پدر ارجمند و مادر مهربانم سپاسگذارم که در تمام مراحل زندگی بنده را مورد حمایت و محبت قرار داده اند و از برادر و خواهر دلسوزم قدردانی می نمایم. همچنین بر خود می دانم که از استاد بزرگوار جناب آقای دکتر شهرتی و همچنین استاد گرانقدر جناب آقای دکتر لطیفی تشکر نمایم، چرا که بیشتر از آنکه استاد راهنمای پایان نامه بنده باشند، استاد درس معرفت و شناخت زندگی من شدند.

از استاد گرانقدر جناب آقای دکتر حاج حسینی که به عنوان استاد راهنمای همکار در اتمام پایان نامه کمک شایانی به بنده نموده اند سپاسگذارم.

ضمناً از اساتید محترم جناب آقای دکتر نورانی و جناب آقای دکتر مفید که در انجام این پایان نامه کمک شایانی نموده و دلسوزانه من را راهنمایی نمودند کمال تشکر را دارم.

علی اکبر جعفری

مهر ۱۳۹۱

چکیده

ترمیم زخم فرآیند فیزیولوژیک پیچیده ای است که شامل مراحل متوالی می باشد، هر دارویی که بتواند زمان این مراحل را کمتر کند، منجر به تسریع روند ترمیم می شود. گیاه اسکروفولاریا استریاتا، بطور سنتی در التیام زخم مورد استفاده قرار می گیرد. تحقیق حاضر جهت بررسی اثرات التیام بخشی این گیاه در ترمیم زخم موش سوری و مقایسه عصاره های مختلف این گیاه صورت گرفته است. برای این مطالعه از موش سوری نر در محدوده وزنی ۲۵-۳۵ گرم استفاده شد. این تحقیق شامل دو مرحله بود که در مرحله اول اثرات التیام بخشی سه نوع عصاره آبی، الکلی و هیدروالکلی در زخم مورد بررسی قرار گرفت. موشها به پنج گروه تقسیم شده، گروه اول بدون درمان (شاهد)، در گروه دوم از فنی توئین و گروه سوم تا پنجم نیز به ترتیب از عصاره های آبی، الکلی و هیدروالکلی با غلظت ۱۰ درصد برای درمان استفاده شد. برای مطالعه روند ترمیم از زخمها عکس برداری شده و توسط نرم افزار Image J آنالیز گردید. در گام دوم تحقیق که بر اساس یافته های گام اول برنامه ریزی شده بود، اثر التیام بخشی پماد های ساخته شده از عصاره هیدروالکلی این گیاه مورد بررسی قرار گرفت. موشها به پنج گروه شاهد، اسرین، فنی توئین، پماد گیاهی ۵ درصد و ۱۰ درصد تقسیم شدند. برای مطالعات بافت شناسی در روزهای ۴، ۷، ۱۴ و ۲۱ نمونه برداری از زخمها صورت گرفت. میانگین زمان ترمیم زخم در گام اول برای گروه های شاهد، فنی توئین و عصاره های الکلی، آبی و هیدرو الکلی به ترتیب $9/1 \pm 3/1$ ، $6/6 \pm 1/9$ ، $6/5 \pm 1/7$ ، $6/7 \pm 1/8$ و $6/1 \pm 0/9$ روز بود که گروه عصاره هیدروالکلی بهترین نتیجه را نشان داد و در گام دوم تحقیق این زمان برای گروههای پماد ۱۰ درصد، پماد ۵ درصد، فنی توئین، اسرین و شاهد به ترتیب ۶، ۶/۴۳، ۶/۷۱، ۸/۸۶ و ۹/۱۴ روز بود. اگرچه تمامی گروههای مورد مطالعه دارای اختلاف آماری معنی داری ($p < 0.05$) با گروه های شاهد و اسرین بودند، اما نتایج مطالعات بافت شناسی نشان می دهد که گروه پماد ۱۰ درصد نسبت به بقیه گروهها بهترین تاثیر را نشان داد.

واژگان کلیدی: اسکروفولاریا استریاتا، التیام زخم، عصاره، موش سوری

- ۵۳ ۲-۳-۱- مکانیزم عمل
- ۵۴ ۳-۳-۱- فارماکوکیتیک فنی توئین
- ۵۵ ۴-۳-۱- واکنش دارویی
- ۵۷ ۴-۱- گیاه تشنه‌داری
- ۵۷ ۱-۴-۱- کلیات گیاه شناسی
- ۶۳ ۵-۱- ملاحظات اخلاقی

فصل دوم : مبانی نظری و پیشینه تحقیق

- ۶۵ ۱-۲- مطالعات انجام شده در جهان
- ۶۶ ۱-۱-۲- ترکیبات موجود در گیاهان جنس اسکروفولاریا
- ۶۹ ۲-۱-۲- خصوصیات عمده فلاونوئیدها
- ۷۰ ۳-۱-۲- نقش فلاونوئیدها در طبیعت
- ۷۱ ۲-۲- مطالعات انجام شده در کشور
- ۷۴ ۳-۲- تجربیات کلینیکی در مورد فنی توئین

فصل سوم : مواد و روشها

- ۸۰ ۱-۳- مواد و وسایل مورد نیاز
- ۸۲ ۲-۳- روش کار

- ۸۲ ۳-۲-۱- تهیه گیاه
- ۸۲ ۳-۲-۲- تهیه عصاره های مختلف
- ۸۳ ۳-۲-۳- تهیه حیوانات آزمایشگاهی مورد نیاز
- ۸۴ ۳-۲-۴- نگهداری و مراقبت حیوانات آزمایشگاهی
- ۸۴ ۳-۲-۵- آماده سازی وسایل جراحی
- ۸۵ ۳-۲-۶- روش بیهوشی
- ۸۵ ۳-۲-۷- روش جراحی
- ۸۶ ۳-۲-۸- نحوه مراقبت و درمان بعد از عمل
- ۸۷ ۳-۲-۹- گروه های آزمایش در گام اول تحقیق
- ۸۸ ۳-۲-۱۰- نحوه اندازه گیری التیام زخم
- ۸۹ ۳-۲-۱۱- گروه های مرحله دوم آزمایش بالینی
- ۸۹ ۳-۲-۱۲- فرمولاسیون پماد گیاهی
- ۹۱ ۳-۲-۱۳- روش بررسی روند التیام زخم
- ۹۱ ۳-۲-۱۴- مراحل تهیه بافت جهت مطالعات بافت شناسی
- ۹۵ ۳-۲-۱۵- رنگ آمیزی
- ۱۰۵ ۳-۲-۱۶- مورفومتری بافت

۱۰۸ ۱۷-۲-۳- نحوه اندازه گیری ضخامت بافت گرانوله

۱۰۸ ۱۸-۲-۳- فتوگرافی

۱۰۸ ۱۹-۲-۳- تحلیل آماری

فصل چهارم : نتایج

۱۱۰ ۱-۴- یافته های گام اول

۱۱۰ ۱-۱-۴- میانگین کل زمان بهبودی زخم ها

۱۱۱ ۲-۱-۴- اثر گیاه بر روی انقباض زخم

۱۱۲ ۳-۱-۴- اثر گیاه بر روی درصد بهبودی زخم

۱۱۳ ۴-۱-۴- زمان افتادن دلمه زخم ها

۱۱۴ ۵-۱-۴- اندازه اسکار باقی مانده

۱۱۵ ۲-۴- یافته های گام دوم تحقیق

۱۱۵ ۱-۲-۴- میانگین کل زمان بهبودی زخم ها

۱۱۶ ۲-۲-۴- اثر پماد گیاهی بر روی انقباض زخم

۱۱۷ ۳-۲-۴- اثر گیاه بر روی درصد بهبودی زخم

۱۱۸ ۴-۲-۴- زمان افتادن دلمه زخم ها

۱۱۹ ۵-۲-۴- اندازه اسکار باقی مانده

- ۱۲۰ ۳-۴- نتایج مطالعات میکروسکوپی گام دوم تحقیق
- ۱۲۰ ۱-۳-۴- بررسی تغییرات وزن
- ۱۲۱ ۲-۳-۴- بررسی رگ زایی
- ۱۲۲ ۳-۳-۴- بررسی تعداد فیبروبلاست
- ۱۲۳ ۴-۳-۴- بررسی تعداد ماست سل
- ۱۲۴ ۵-۳-۴- بررسی تراکم فولیکول های مو
- ۱۲۵ ۶-۳-۴- بررسی عمق اپیدرم تشکیل شده
- ۱۲۶ ۷-۳-۴- بررسی کلاژن
- ۱۲۷ ۸-۳-۴- بررسی میزان التهاب بر اساس حضور سلولهای التهابی

فصل پنجم : بحث و نتیجه گیری

- ۱۳۰ ۱-۵- بحث
- ۱۴۱ ۲-۵- نتیجه گیری
- ۱۴۳ ۳-۵- پیشنهادات

فصل ششم : پیوست ها

- ۱۴۵ شکل ۱-۶
- ۱۴۶ شکل ۲-۶
- ۱۴۷ شکل ۳-۶

١٤٨	شکل ٤-٤
١٤٩	شکل ٥-٤
١٥٠	شکل ٦-٤
١٥١	جدول ١-٤
١٥٢	فصل هفتم : منابع

مقدمه

زخم بافت گسیخته شده ای است که به سبب عوامل مختلف پیوستگی خود را از دست داده باشد. یکی از مهمترین مسائلی که همواره فکر بشر را به خود مشغول نموده است، بدن انسان، صدمات و جراحات وارده به آن می باشد. از آنجا که در طول تاریخ جنگهای بیشمار، سوانح و بلایای طبیعی، میکرو ارگانیسمهای متفاوت و اعمال جراحی مختلف دائماً به بدن انسان آسیب رسانده، لذا مراقبت از زخم و نحوه ترمیم آن یکی از مهمترین مسائلی بوده که ذهن انسان رو به خود جلب کرده است. این مساله امروزه با وجود توسعه و پیشرفت علم و تکنولوژی همچنان جایگاه مهمی را به خود اختصاص داده است (۳۳).

عوارض زخم مانند ایجاد عفونت، محدودیت حرکتی و کوتاهی در بافت، اسکارهای محدود کننده و مشکلات زیبایی و عوارض ناخواسته ناشی از آن می باشد. مشخص نمودن مراحل اختصاصی التیام زخم و مکانیسم های موثر بر ترمیم آن می تواند راهگشای مناسبی برای مداوای هر چه بهتر زخم و جراحات های گوناگون باشد. صرف نظر از انواع متفاوت زخم و نحوه ایجاد، به لحاظ وجود روند مشابه در مراحل التیام در صورت شناخت عوامل و فاکتورهای موثر بر روند التیام می توان به ترمیم و مداوای طبیعی زخم کمک نمود (۳۴). التیام یا ترمیم زخم یک فرآیند بهبودی است که به دنبال ضایعه پوست و سایر بافتها ایجاد می شود (۳۵). یکی از اهداف علم پزشکی ترمیم زخم در زمان کوتاهتر و با عوارض جانبی کمتر است. کوتاه کردن زمان بهبود زخم به دلیل کم کردن احتمال عفونت و یا عوارض زخم و

کاهش هزینه‌ها از اهمیت به‌سزایی برخوردار است و همین مساله باعث معرفی مواد مختلف به شکلهای متفاوت دارویی شده است (۳۶).

مبحث زخم و درمان آن در طی زمان دستخوش تغییرات زیادی شده است. حدود ۴۰۰۰ سال پیش زخم‌ها با پوشش رزین و عسل پانسمان می‌شدند. این روش درمانی برای قرن‌ها ادامه داشت. این باور بعدها وقتی که یک جراح از تئوری مفید بودن عفونت دفاع کرد منسوخ شد. او اظهار داشت چرک جزء ضروری در ترمیم زخم می‌باشد و حتی اگر چرک آلود نباشد، باید چرک را در آن بوجود آورد. نیازی به گفتن ندارد که تعداد زیادی از بیماران به علت عفونت از پا درمی‌آمدند. از قرن ۱۳ این نظر تغییر کرد و مراقبت از زخم به خشک نگه داشتن آن سوق داده شد (۳۷).

در قرن هجدهم این عقیده به تئوری تبدیل شد که معتقد بود بیماری بوسیله اخلاط بدی ایجاد می‌شود که باید از بدن خارج شوند تا مانع بدتر شدن بیماری و یا مرگ بیمار شوند. بنابراین آنها معتقد بودند که باید طوری از زخم مراقبت نمود که باز باشد و مانع بهبود آن شد تا آلودگی از بدن خارج شود. از اوایل سال ۱۹۶۰ بدنال کار Winter مراقبت از زخم‌ها دوباره به مرطوب نگه داشتن زخم روی آورد. تمام روش‌های مراقبت از زخم از قدیمی‌ترین آن‌ها یعنی استفاده از رزین و عسل و یا عصاره چای تا استفاده امروزی از مواد ضد عفونی‌کننده مانند بتادین و یا سرم فیزیولوژی همگی در جهت ایجاد زمینه‌ای مساعد برای سرعت بخشیدن به روند التیام زخم و به حداقل رساندن عوارض ناشی از ترمیم آن می‌باشد (۳۷).

از دیرباز گیاهان دارویی جایگاه ویژه ای در درمان بیماریهای مختلف در جامعه داشتند. عقیده بر این است که درمان با گیاهان سمیت کمتر و ایمنی بیشتری دارد، به این علت که مواد موثره موجود در داروهای گیاهی به دلیل همراه بودن با مواد دیگر پیوسته از یک حالت تعادل برخوردار می باشد لذا در بدن ذخیره شده و اثرات جانبی ندارد و از این رو امتیاز قابل ملاحظه ای نسبت به داروهای شیمیایی دارند. اثرات جانبی داروهای شیمیایی، الزامات زیست محیطی و روند تدریجی گرایش به سوی فرآورده های طبیعی سبب شده که به ویژه در دهه اخیر استفاده از گیاهان دارویی در کشورهای پیشرفته شتابی بیشتر یابد. ایران یکی از کشورهایی است که در آن مصرف گیاهان دارویی به صورت سنتی و بومی پیشینه ای طولانی دارد و به دلیل شرایط اقلیمی و جغرافیایی مناسب آن رویشگاه گستره وسیعی از گیاهان دارویی می باشد که بخشی از آنها به صورت خام از جمله اقلام صادراتی کشور ما است. این پراکنش به گونه ای است که سبب شده است که فلور گیاهی ایران بیشتر از فلور گیاهی تمام اروپا باشد. با وجود مصارف گوناگون گیاهان دارویی در زمینه صنایع دارویی، غذایی، بهداشتی و آرایشی متأسفانه در کشور ما کمتر به فرآورده های گیاهان دارویی توجه شده است (۱).

یکی از گیاهانی که در مناطق غربی کشور و بخصوص استان ایلام مصارف گوناگون دارویی دارد، گیاهی به نام گل سازویی یا اسکروفولاریا استریاتا با نام محلی "تشنه داری" است. این گیاه جزء تیره گل میمون می باشد. مردم منطقه از این گیاه به صورت تجربی در درمان موارد مختلف از جمله درمان زخمهای پوستی و اپی زیاتومی، التهاب، سوختگی ها، ناراحتی های گوارشی، التهاب و عفونت چشم و گوش،

هموروئید^۱ و غیره به صور گوناگون جوشانده خوراکی، بخوردادن موضع، شست و شوی موضعی با جوشانده آن استفاده می کنند (۲). بنابراین با توجه به تحقیقات صورت گرفته در مورد این گیاه، مصرف گسترده و فراوان این گیاه توسط مردم منطقه و مشاهدات عینی در رابطه با اثرات مفید آن، جا دارد که این مطالعه تجربی با موضوع عصاره گیری، فرمولاسیون و بررسی روند التیام زخم باز در موش آزمایشگاهی صورت بگیرد تا اثر این گیاه را بر روی التیام زخمهای پوستی به صورت علمی مطالعه و در صورت امکان موثرترین دوز درمانی آن را مشخص نماییم تا با ارائه آن به مراکز دارویی معتبر، زمینه تحقیقات وسیعتر این گیاه فراهم شده و فرم دارویی موثر آن در دسترس عموم قرار بگیرد.

تحقیق حاضر کوششی است در جهت روشن نمودن اثر گیاه تشنه داری بر التیام زخم باز پوستی موش سوری، که از جنبه های مختلف بافت شناسی و همچنین بررسی مدت زمان مورد نیاز برای بهبودی زخم، افتادن دلمه و اندازه اسکار باقی مانده مورد بررسی قرار گرفته و با پماد فنی توئین سدیم ۱ درصد مقایسه می گردد.

¹ Hemorrhoids

فصل اول

کلیات