# بررسی اثرات ضدباکتریایی و ارزیابی هیستوپاتولوژیکی و ماکروسکوپی اثر عصاره زانتوپارملیا لینئولا بر روی التیام زخم در مدل حیوانی خرگوش

**طاهره ولدبیگی**

استادیار زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه ایلام
آدرس مکاتبه: ایلام، خیابان پژوهش، دانشگاه ایلام، دانشکده علوم پایه، صندوق‌پستی: ۵۱۶ – ۶۹۳۱۵
کدپستی: ۷۷۱۱۱-۶۹۳۹۱
تلفن: ۰۹۱۲۶۰۹۲۱۹۷
پست الکترونیک: tvaladbeigi@yahoo.com

**تاریخ دریافت:** ۹۴/۳/۲۲ **تاریخ تصویب:** ۹۴/۱۱/۲۴

## چکیده

**مقدمه:** گلسنگ‌ها ارگانیسم‌های همزیست بین یک مایکوبیونت (قارچ) و یک فایکوبیونت (جلبک سبز فتواتوتروف و یا سیانوباکتری) هستند. تأثیر برخی ترکیبات مختلف زیستی گلسنگ‌ها بر علیه ویروس‌ها، باکتری‌ها، انگل‌ها و خواص ضدتومور و التهاب آنها شناخته شده است.

**هدف:** در این مطالعه اثر عصاره تال زانتوپارملیا لینئولا بر روند ترمیم زخم در پوست خرگوش بررسی می‌شود.

**روش بررسی:** گونه زانتوپارملیا لینئولا از منطقه زیراب استان مازندران جمع‌آوری و کروماتوگرافی لایه نازک انجام شد. سپس عصاره متانولی آن با استفاده از سوکسله تهیه شد. پس از ایجاد زخم، خرگوش‌ها در چهار گروه تقسیم شدند: گروه کنترل، تحت درمان با پماد آلفا، تحت درمان با پماد ۵ درصد عصاره زانتوپارملیا لینئولا و تحت درمان با پماد ۱۰ درصد عصاره زانتوپارملیا لینئولا. سپس درمان تا بهبود کامل زخم ادامه یافت. برای مطالعات هیستوپاتولوژی، نمونه‌های بافتی خرگوش بیست روز پس از جراحی از محل زخم‌های ترمیم شده اخذ شد.

**نتایج:** عصاره متانولی زانتوپارملیا لینئولا مساحت زخم را در گروه درمان نسبت به گروه کنترل به طور در خور توجهی کاهش داد. وجود ترکیبات اوزنیک اسید، پروتوستراریک اسید، و سالازینیک اسید اثبات شد.

**نتیجه‌گیری:** عصاره متانولی زانتوپارملیا لینئولا به دلیل داشتن خاصیت ضدالتهابی، ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی روند ترمیم زخم پوستی را تسریع کرده و مدت زمان لازم برای بهبودی کامل زخم را کاهش می‌دهد.

**گل‌واژگان:** زانتوپارملیا لینئولا، خرگوش، عصاره، هیستوپاتولوژیکی



www.SID.ir

## مقدمه

گلسنگ از اجتماع حداقل یک جلبک سبز یا سیانوباکتر (فایکوبیونت) و یک قارچ (مایکوبیونت) به وجود آمده است [۱]. گونه‌های قارچ همزیست در گلسنگ مربوط به رده آسکومیست‌ها (Ascomycetes) و اغلب جلبک‌های همزیست متعلق به جلبک‌های سبز (Chlorococcales) می‌باشند [۲]. هیف‌های قارچی این موجودات در پاسخ به عوامل محیطی متفاوت در عرصه انتشار خود، متابولیت‌های ثانویه‌ی مختلفی تولید می‌کنند. این ترکیبات خارج سلولی در آب نامحلول بوده با وزن مولکولی نسبتاً پایینی که دارند فقط در حلال‌های آلی حل می‌شوند [۳]. وظایفی که برای این گونه ترکیبات پیشنهاد می‌شود عبارتند از: ۱) محافظت در برابر پرتوهای مضر توسط مواد غشایی مانند پاریتین. ۲) محافظت در برابر تغذیه (توسط حشرات) با تولید ترکیبات تلخ مزه. ۳) برتری‌های رقابتی در برابر باکتری‌ها یا قارچ‌های دیگر از طریق تولید آنتی‌بیوتیک‌ها یا مواد ضدقارچی. ۴) سازش به نوسانات آب و هوایی و هوازدگی سنگ‌ها. ۵) بهبود تبادلات گازی به دلیل وجود ترکیبات هیدروفوبیک و تأثیر بر نفوذپذیری دیواره‌های سلولی و حفظ تعادل همزیستی. بعلاوه بسیاری از متابولیت‌های گلسنگی (مانند ترپن‌ها، دی‌بنزوفوران‌ها، دی‌بنزوپیرانون‌ها، دپسیدها، دپسیدون‌ها و آنتراکوئینون‌ها) دارای فعالیت‌های زیستی آنتی‌مایکوباکتریایی، آنتی‌ویروسی، آنتی‌اکسیدانی، مسکنی و سیتوتوکسیکی هستند. برخی (مانند گزانتون‌ها) نیز به عنوان بازدارنده آنزیمی و فتوسیستمی عمل می‌کنند [۴].

خانواده Parmeliaceae با ۲۰۰۰ گونه و ۸۷ جنس یکی از خانواده‌های بزگ گلسنگی محسوب می‌شود. مهم‌ترین جنس‌های این خانواده شامل *Xanthoparmelia* (با حدود ۸۰۰ گونه در دنیا)، *Usnea* (با حدود ۵۰۰ گونه در دنیا)، *Parmotrema* (با حدود ۳۵۰ گونه در دنیا)، و *Hypotrachyna* (با حدود ۱۹۰ گونه در دنیا) می‌باشد. تقریباً همه اعضای این خانواده دارای جلبک سبز (اغلب *Trebuxioa* spp. و گاهی *Asterochloris* spp.) هستند. همچنین اغلب گونه‌های این خانواده به صورت گلسنگ‌های برگی و بوته‌ای می‌باشند [۵].

همانند اغلب گیاهان، گلسنگ‌ها از دوران باستان به عنوان داروهای طبیعی استفاده می‌شوند. گلسنگ‌ها و بعضی ارگانیسم‌های دریایی از منابع مهم ترکیبات بیولوژیکی فعال هستند [۶]. به طور کلی و به جز موارد معدود [۸، ۷]، در زمینه اثرات دارویی گلسنگ‌های بومی ایران و بویژه خواص ترمیمی زخم گونه مورد مطالعه در دنیا کار مؤثری انجام نشده است. امید است با این تحقیق زمینه مناسبی جهت پژوهش در این راستا فراهم آید.

## مواد و روش‌ها

### جمع‌آوری نمونه و عصاره‌گیری

گونه گلسنگ زانتوپارملیا لینئولا (*Xanthoparmelia lineola*) در اوایل مهرماه ۱۳۹۰ از منطقه زیراب سوادکوه واقع در استان مازندران جمع‌آوری شد. نمونه‌ها پس از جمع‌آوری به آزمایشگاه منتقل شدند. سپس چند بار با آب مقطر شستشو و در سایه خشک شدند. پس از خشک شدن، نمونه در هاون چینی خرد و از پودر حاصله (هزار گرم) جهت انجام مراحل بعدی آزمایش استفاده شد. بر طبق مطالعات ولدبیگی و همکارن عصاره متانولی در مقایسه با عصاره آبی و استونی دارای بیشترین خواص دارویی است [۷]. به همین دلیل در این تحقیق از عصاره متانولی استفاده شد. عصاره‌گیری با استفاده از سوکسله (Soxhle) انجام شد [۹]. عصاره‌گیری در سوکسله تا زمانی که داخل ستون آن بی‌رنگ شود (یعنی فقط حلال وجود داشته باشد) ادامه یافت. سپس محلول حاصله در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد در آون خشک شد [۹].

### کروماتوگرافی لایه نازک

کروماتوگرافی لایه نازک در سه سیستم حلال A شامل بنزن: دی‌اگزان: استیک اسید (با نسبت ۴: ۲۵: ۹۰)، حلال B شامل هگزان: اتیل اتر: فرمیک اسید (با نسبت ۱: ۴: ۵) و حلال C شامل تولوئن: استیک اسید (با نسبت ۱۵: ۸۵) انجام گرفت. باندها با استفاده از سولفوریک اسید ۱۰ درصد و گرما به مدت ده



Archive of SID
www.SID.ir

دقیقه در ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد و همچنین نور فرابنفش (۲۵۴nm λ) آشکار شدند [۱۰]. از آترانورین و نورستیک تیک اسید به عنوان کنترل و از زانتوپارملیا لینئولا (با ترکیبات مشخص) که از هرباریوم برلین تهیه شد به عنوان کروماتوگرافی همراه (Co-chromatography) استفاده شد.

**سویه‌های میکروبی**

سویه‌های استاندارد میکروبی (PTCC1039) *Staphylococcus aureus*، *Escherichia coli* (PTCC1885)، *Bacillus cereus* (ATCC6633)، *Klebsiella pneumonia* (PTCC1609)، *Pesudomonas aeruginosa* (PTCC1047) و *Staphylococcus epidimidis* (PTCC2405) از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شد. سوسپانسیون نیم مک فارلندی ($1/5\times10^8$ cfu/ml) از باکتری‌ها بر روی محیط کشت مانیتول سالت آگار به صورت خطی کشت داده شدند. سپس به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور قرارگرفتند [۱۲، ۱۱].

**بررسی خواص ضدمیکروبی**

باکتری‌ها روی محیط کشت نوترینت آگار کشت شدند. سپس با استفاده از DMSO (دی‌متیل سولفوکساید ۱۰ درصد)، رقت‌های ۶۳، ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره متانولی زانتوپارملیا لینئولا تهیه شد. دیسک‌های کاغذی بلانک ۶ میلی‌متری (تهیه شده از شرکت رکین) برای رقت‌های مختلف استفاده شد. از دیسک‌های آنتی‌بیوتیک جنتامایسین با غلظت ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. سپس محیط‌های کشت باکتری‌ها به مدت ۱۶ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. قطر هاله عدم رشد اندازه‌گیری شد. مقدار MIC و MBC با استفاده از پلیت‌های ۹۶ خانه‌ای و روش میکرودیلوشن طبق دستورالعمل CLSI تعیین شد. همه مراحل با سه بار تکرار انجام گرفت [۱۳، ۱۴، ۱۵].

**تهیه پماد**

جهت تهیه پماد ۵ درصد از عصاره زانتوپارملیا لینئولا به نسبت وزنی، ۰/۵ گرم عصاره خشک با ۴ گرم پماد آلفا مخلوط شد. جهت تهیه پماد ۱۰ درصد به نسبت وزنی ۱ گرم عصاره خشک با ۹ گرم پماد آلفا مخلوط شد [۱۶].

**نحوه ایجاد زخم**

در این مطالعه از ۲۰ سر خرگوش نر نیوزلندی (۴ گروه ۵ تایی) با وزن ۲ – ۱/۳ کیلوگرم استفاده شد. لازم به ذکر است خرگوش‌ها از لحاظ سن مشابه بودند و در دمای ۲۲ درجه و دوره روشنایی و تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت نگهداری شدند. آنها با سبزیجات تازه، هویج و آب لوله‌کشی شهر بدون محدودیت تغذیه شدند. خرگوش‌ها با استفاده از داروی بی‌هوشی دی‌کلرواتان ۵ درصد (مرک) بی‌هوش شدند. محل ایجاد زخم، پهلوی حیوان نزدیک ستون فقرات در نظر گرفته شد. سپس موهای ناحیه مورد نظر با استفاده از قیچی کوتاه و در نهایت با تیغ جراحی به طور کامل تراشیده شد. به این ترتیب که زخمی به طول ۵ سانتی‌متر و به عمق ضخامت پوست خرگوش ایجاد شد. بلافاصله پس از ایجاد زخم، محل مورد نظر با سرم فیزیولوژی شستشو داده شد. روز جراحی نیز روز صفر در نظر گرفته شد [۱۸، ۱۷]. خرگوش‌ها پس از ایجاد زخم به طور تصادفی به چهار گروه ذیل تقسیم شدند:

۱- گروه A: کنترل

۲- گروه B: تحت درمان با پماد آلفا (پماد آلفا یا رژودرم یک ترمیم کننده طبیعی است که تاثیر بی نظیری در درمان انواع زخم‌ها و آسیب‌های پوست دارد)

۳- گروه C: تحت درمان با پماد ۵ درصد تهیه شده از عصاره زانتوپارملیا لینئولا

۴- گروه D: تحت درمان با پماد ۱۰ درصد تهیه شده از عصاره زانتوپارملیا لینئولا

قبل از تجویز هر دارو، روزانه از زخم‌ها با دوربین دیجیتال عکسبرداری شد. برای محاسبه مساحت زخم جهت بررسی مورفومتریک از نرم افزار آنالیز تصاویر فرایند التیام زخم (Motic Images ۲۰۰۱,۲) استفاده شد. درصد بهبودی زخم محاسبه شد [۱۶].



Archive of SID
www.SID.ir

**مطالعات آسیب‌شناسی بافتی**

در روز بیستم که زخم تقریباً بسته و جمع شده بود، پس از ایجاد یک زخم به صورتی که قبلاً گفته شد، یک نمونه بافتی از محل مورد نظر به ابعاد ۲۵ × ۲۵ میلی‌متر با اسکالپل برداشته شد. نمونه بافتی با سرم فیزیولوژیک شستشو و سپس درون فرمالین ۱۰ درصد به عنوان تثبیت کنند غوطه‌ور شد. سپس از نمونه‌ها مقاطع بافتی تهیه شد. مقاطع بافتی با هماتوکسیلین - ائوزین رنگ‌آمیزی شدند. در بررسی‌های آسیب‌شناسی بافتی پارامترهایی مانند آماس بافتی، میزان اپی تلیزاسیون، تشکیل بافت گرانوله و میزان ترمیم ناحیه درم و همچنین درصد سلول‌های ماست سل، ائوزینوفیل و نوتروفیل تعیین شد.

**تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها**

مقایسه میانگین قطر هاله‌ها و بررسی قدرت ضدمیکروبی عصاره‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS ۱۱/۵ انجام گرفت. از آزمون مقابیسه میانگین چند جامعه (تحلیل واریانس) با فاصله اطمینان ۹۹ درصد استفاده شد. سپس از آزمون‌های پس از تجربه (Post Hoc) (دانکن (Duncan)) استفاده شد. جهت توصیف متغییرها از آمار توصیفی مانند میانگین و انحراف معیار استفاده شد.

## نتایج

با استفاده از کروماتوگرافی لایه نازک وجود ترکیبات اوزنیک اسید، پروتوستراریک اسید و سالازینیک اسید (Salazinic acid) اثبات شد.

میانگین قطر هاله‌های عدم رشد حاصل از تأثیر غلظت‌های ۱۲۵ تا ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره متانولی زانتوپارملیا لینئولا بر روی باکتری‌های مورد مطالعه نشان داد که عصاره متانولی زانتوپارملیا لینئولا بیشترین اثر را بر علیه استافیلوکوکوس اپیدرمیس (با قطر هاله ۲۹/۰۸ میلی‌متر) داشت و بر روی اشریشیا کلی اثری نداشت (جدول شماره ۱). عصاره در غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اثر باکتریسدال (کشندگی) بر روی باکتری استافیلوکوکوس ارئوس و در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اثر کشندگی داشت. همچنین بر روی باکتری انتروکوکوس فکالیس اثری ضدباکتریایی مشاهده نشد (جدول شماره ۲).

بر طبق نمودار شماره ۱ در گروه کنترل به تدریج از وسعت سطح زخم کاسته شد اما این روند آهسته بود، به طوری که زخم در روز نوزدهم به طور کامل درمان نشد (وسعت زخم در روز نوزدهم ۰/۳۱ سانتی‌متر مربع) (جدول شماره ۳، شکل ۱ –A). در گروه B وسعت سطح زخم در روزهای پنجم تا هفتم روند افزایشی و در روزهای بعدی روند کاهشی داشت (وسعت زخم در روز نوزدهم ۰/۴۱ سانتی‌مترمربع) (شکل ۱–B). در گروه C روند بهبود نسبت به گروه کنترل و گروه دوم (B) به طور معنی‌داری کاهش یافته (وسعت زخم در روز نوزدهم ۰/۴۷ سانتی‌متر مربع) (تصویر ۱–C) (جدول شماره ۲). در گروه D روند ترمیم زخم نسبت به همه گروه‌ها سریع‌تر رخ داد، به طوری که در روز هفدهم درصد بهبودی زخم ۹۷ درصد و در روز نوزدهم ۱۰۰ درصد بود(جدول شماره ۲). نتایج حاصله نشان می‌دهد که با افزایش غلظت عصاره، جمع‌شدگی و ترمیم زخم به طور قابل توجهی افزایش می‌یابد به طوریکه در گروه تحت درمان با پماد ۱۰ درصد افزایش معنی‌داری ($P< ۰/۰۱$) در سرعت التیام و جمع‌شدگی نسبت به گروه‌های کنترل نشان داده می‌شود.

متغیرهای آسیب‌شناسی بافتی از جمله تشکیل بافت گرانوله، میزان ترمیم ناحیه درم، میزان اپی‌تلیزاسیون و آماس بافتی و درصد سلول‌های التهابی (ماست سل، ائوزینوفیل و نوتروفیل) بین گروه‌های کنترل و گروه‌های تیمار شده با عصاره تفاوت معنی‌داری داشتند (جدول شماره ۴). به طور کلی عصاره متانولی موجب کاهش تعداد سلول‌های نوتروفیل و ماست سل و افزایش تعداد سلول‌های ائوزینوفیل به طور معنی‌داری می‌گردد. همچنین تأثیر عصاره بر کاهش شدت التهاب و افزایش تشکیل بافت گرانوله، ترمیم بافت درم و اپی-تلیزاسیون نسبت به گروه کنترل از نظر آماری معنی‌دار است (جدول شماره ۴).



Archive of SID
www.SID.ir

**جدول شماره ۱- میانگین قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر) و انحراف معیارحاصل از تأثیر عصاره زانتوپارملیا لینئولا بر باکتری‌های مورد بررسی**

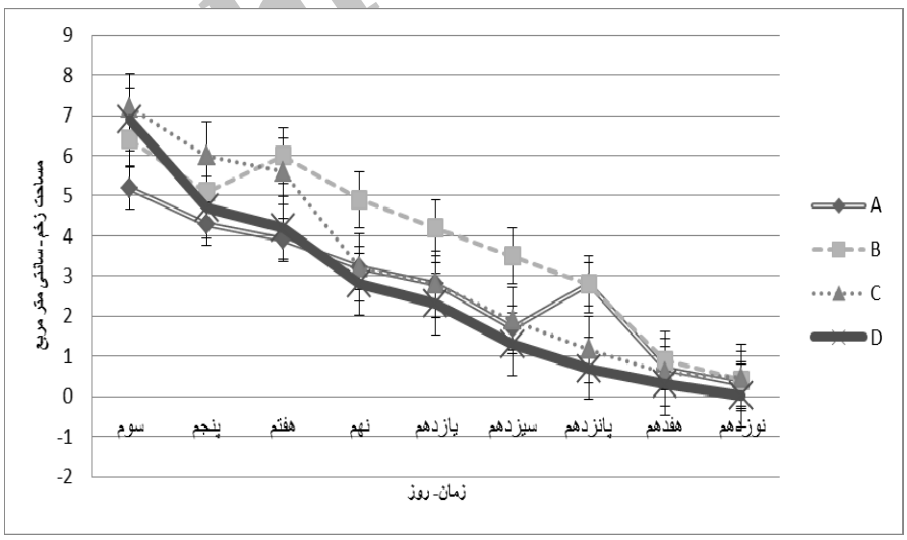
| غلظت عصاره* / باکتری | ۱۲۵ | ۲۵۰ | ۵۰۰ | ۱۰۰۰ |
|---|---|---|---|---|
| *P. aeruginase* | ۹/۰۸±۰/۱۶ | ۱۲/۱۲±۰/۲۵ | ۱۶/۱±۰/۲۲ | ۲۰/۹±۰/۰۲ |
| *K. pneumonia* | ۸/۱۱±۰/۰۱ | ۹±۰/۲۱ | ۱۲/۰۹±۰/۰۲ | ۲۴/۲۲±۰/۱۱ |
| *E. coli* | ۶±۰ | ۶±۰ | ۶±۰ | ۶±۰ |
| *S. epidemidis* | ۱۰/۰۱±۰/۱۳ | ۱۵/۰۹±۰/۱۱ | ۲۳/۰۸±۰/۰۶ | ۲۹/۰۸±۰/۰۶ |
| *S. aureus* | ۱۰/۵۱±۰/۱۷ | ۱۴±۰/۱۲ | ۲۱/۷۱±۰/۲۰ | ۲۵/۶۱±۰/۱۰ |
| *B. cereus* | ۱۰/۰۱±۰/۲۶ | ۱۱/۹۸±۰/۱۳ | ۱۶/۰۲±۰/۱۶ | ۱۹/۹۴±۰/۱۱ |

* میلی‌گرم بر میلی‌متر

**جدول شماره ۲- مقدارMIC و MBC (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) عصاره زانتوپارملیا لینئولا بر علیه باکتری‌های مورد بررسی**

| باکتری | MIC | MBC |
|---|---|---|
| *S. aureus* | ۱۲۵ | ۲۵۰ |
| *B. cereus* | ۵۰۰ | ۵۰۰ |
| *K. pneumonia* | ۵۰۰ | ۵۰۰ |
| *E. coli* | n | n |
| *S. epidemidis* | ۵۰۰ | ۵۰۰ |
| *P. aeruginase* | ۱۰۰۰ | ۱۰۰۰ |

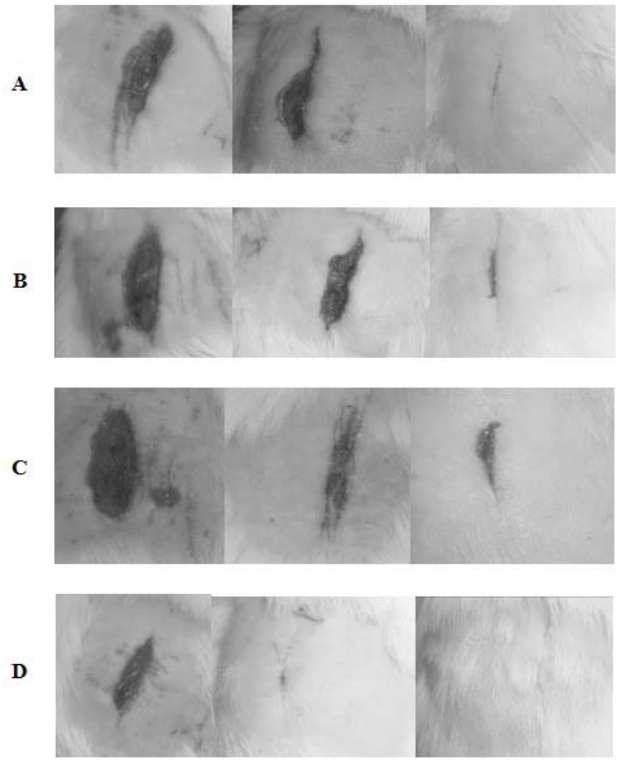
n: فاقد اثر عصاره روی باکتری




**نمودار شماره ۱- روند بهبود زخم در روزهای سوم تا نوزدهم در گروه‌های کنترل (A)، تحت درمان با پماد آلفا (B)، تحت درمان با پماد ۵ درصد عصاره زانتوپارملیا لینئولا (C) و تحت درمان با پماد ۱۰ درصد عصاره زانتوپارملیا لینئولا (D)**



www.SID.ir




**شکل شماره ۱- وضعیت التیام زخم در روزهای پانزدهم، هفدهم و نوزدهم (به ترتیب از چپ به راست) در گروه کنترل (A)، تحت درمان با پماد آلفا (B)، تحت درمان با پماد ۵ درصد عصاره متانولی زانتوپارملیا لینئولا (C) و تحت درمان با پماد ۱۰ درصد عصاره متانولی زانتوپارملیا لینئولا (D)**

**جدول شماره ۳- درصد بهبودی در روزهای پنجم تا نوزدهم گروه کنترل (A)، تحت درمان با پماد آلفا (B)، تحت درمان با پماد ۵ درصد (C) و تحت درمان با پماد ۱۰ درصد عصاره زانتوپارملیا لینئولا (D)**

| روز / گروه | سوم (درصد) | پنجم (درصد) | هفتم (درصد) | نهم (درصد) | یازدهم (درصد) | سیزدهم (درصد) | پانزدهم (درصد) | هفدهم (درصد) | نوزدهم (درصد) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| A | ۳۵ | ۵۳ | ۵۶ | ۵۸ | ۶۲ | ۷۵ | ۸۰ | ۸۵ | ۹۸ |
| B | ۳۸ | ۲۰ | ۲۲ | ۳۸ | ۵۳ | ۶۵ | ۷۰ | ۸۰ | ۹۴ |
| C | ۳۰ | ۳۸ | ۴۱ | ۵۷ | ۶۲ | ۷۱ | ۷۹ | ۸۴ | ۸۷ |
| D | ۳۳ | ۴۵ | ۵۱ | ۶۲ | ۷۰ | ۸۴ | ۹۰ | ۹۷ | ۱۰۰ |

**جدول شماره ۴- مقایسه یافته‌های بافت‌شناسی در گروه‌های کنترل (A)، تحت درمان با پماد آلفا (B)، تحت درمان با پماد ۵ درصد عصاره زانتوپارملیا لینئولا (C) و تحت درمان با پماد ۱۰ درصد عصاره زانتوپارملیا لینئولا (D). اختلاف معنی دار بین گروه‌های *A*، C و D با *a*، *b*، *c*، *d*، *e*، *f* و *g* نشان داده شده است.**

| گروه‌ها | تشکیل بافت گرانوله | میزان ترمیم ناحیه درم | میزان اپی‌تلیزاسیون | آماس بافتی | ماست سل (درصد) | ائوزینوفیل (درصد) | نوتروفیل (درصد) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| A | *a*۱ | *b*۱/۰۹±۰/۱۱ | *c*۱±۰/۱۰ | *d*۲/۹۸±۰/۱۴ | *e*۴۵±۰/۴۱ | *f* ۲۲±۰/۱۲ | *g*۳۷±۰/۰۲ |
| B | ۱/۷۰±۰/۸۰ | ۱/۷۳±۰/۹۱ | ۲±۰/۰۴ | ۲±۰/۲۱ | ۴۰±۰/۰۹ | ۳۵±۰/۰۹ | ۲۸±۰/۱۱ |
| C | *a*۲/۰۱±۰/۲۳ | *b*۲±۰/۰۱ | ۱/۷±۰/۰۹ | *d*۱/۹۰±۰/۱۴ | ۴۰±۰/۰۲ | *f* ۳۱±۰/۰۵ | *g*۲۹±۰/۰۱ |
| D | *a*۲/۶۰±۰/۶۱ | *b*۲/۷۰±۰/۶۱ | *c*۲/۳±۰/۷۸ | *d*۱/۲۰±۰/۶۱ | *e*۴۲±۰/۱۹ | *f* ۳۵±۰/۸۶ | *g*۲۴±۰/۸۰ |



Archive of SID
www.SID.ir

## بحث

اگرچه مطالعات متعددی در مورد خواص ضدمیکروبی و ترمیم زخم برخی از گونه‌های زانتوپارملیا (مانند *Xanthoparmelia caperata*، *X. pokornyi*، *X. tinctina* و *X. somloensis*) انجام گرفته است [۱۹،۲۰،۲۱]. اما تاکنون خواص ترمیم زخم و ضدباکتریایی گونه زانتوپارملیا لینئولا بررسی نشده است. لذا این موضوع در تحقیق حاضر برای اولین بار بررسی می‌گردد. عصاره استونی *X. caperata* دارای خواص آنتی‌باکتریایی قابل توجهی علیه *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus* است [۲۲]. همچنین عصاره‌های متانولی و کلروفرمی *X. tinctina* علیه باکتری‌های *Staphylococcus epidermis*، *Bacillus subtilis* و *Escherichia coli* دارای خواص ضدمیکروبی هستند [۲۳]. به طور کلی تعدادی از ترکیبات غیرمعمول مانند دپسیدون‌های برومیناته در گلسنگ‌های خانواده Parmeliaceae مسئول خواص ضدمیکروبی در آنها هستند. مشتقات اسید آمینه مانند اسکبروسین استرها (scabrosin esters) (از دپسیدون‌های برومیناته در *X. scabrosa*)، پروتوکانستیپاتیک اسید (protoconstipatic acid) و دهیدرو کانستیپاتیک اسید (dehydroconstipatic acid) (در جنس‌های *Parmelia* و *Xanthoparmelia*؛ بویژه *X. constipa*) خواص ترمیم زخمی این گونه‌ها را باعث می‌شوند [۵،۲۴،۲۵]. به علاوه اوزنیک اسید که یکی از رایج‌ترین اسیدهای گلسنگی در بخش قارچی است و تا بحال از گونه‌های فراوانی (نظیر *Xanthoparmelia chlorochroa*، *Flavocetraria nivalis*، *Ramalina celastri* و *Teloschistes chrysophthalmus*) استخراج شده است خواص ضدمیکروبی و ترمیم زخمی قابل توجهی را سبب می‌شود [۲۶]. از طرفی چون تال زانتوپارملیا لینئولا دارای سه ترکیب اوزنیک اسید، پروتوستراریک اسید، و سالازینیک اسید در عصاره متانولی می‌باشد و خواص ضدمیکروبی و ترمیم زخمی این ترکیبات در برخی از گونه‌های خانواده *Parmeliaceae* (بویژه *Parmelia sulcata*، *P. saxatilis*، *Lobartia pulmonia* و *Ramalina subbreviuscula*) اثبات شده است، پس این مواد می‌توانند مسئول خواص دارویی گونه مورد نظر باشند [۲۶،۲۷]. هر چند که نقش ترکیبات مذکور در گونه مورد مطالعه باید به طور جداگانه در تحقیقات آتی بررسی شود.

از طرفی طبق مطالعات بول و همکاران تعدیل مرحله التهاب (در زمان ایجاد زخم، فعالیت ماکروفاژها سبب التهاب موضع زخمی می‌شود) باعث تسریع التیام زخم می‌شود. از آنجا که عصاره این گونه دارای ماده مؤثره اوزنیک اسید می‌باشد که خاصیت ضدالتهابی داشته [۲۸] و کاهش التهاب از عوامل مؤثر در تسریع ترمیم زخم می‌باشد [۲۹]، می‌توان استنباط نمود که عصاره زانتوپارملیا لینئولا به دلیل دارا بودن مواد ضدالتهابی باعث تسریع ترمیم زخم می‌شود. از طرفی در فرایند التهاب، سلول‌هایی مثل نوتروفیل‌ها و ماکروفاژها آزاد می‌شوند که این سلول‌ها مقادیر زیادی رادیکال‌های آزاد اکسیژن تولید می‌کنند. رادیکال‌های آزاد اکسیژن در تنظیم متابولیسم زخم نقش دارند. غلظت بالای رادیکال آزاد اکسیژن باعث آسیب زدن به بافت‌ها یا مرگ سلول‌های اطراف زخم و طولانی‌تر شدن زمان التیام زخم می‌شود [۱۸،۲۸]. از آنجایی که عصاره این گونه گلسنگ دارای مواد آنتی‌اکسیدانی (اوزنیک اسید) می‌باشد [۱۰،۱۴،۲۵]، یکی از دلایل بهبود زخم‌های پوستی تحت درمان با عصاره این نمونه، می‌تواند به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی آن باشد. با این حال روشن شدن دقیق‌تر مکانیسم‌های گفته شده نیاز به مطالعات تکمیلی بیشتری دارد. همچنین در برخی از گونه‌های *Parmelia* جلوگیری از عفونت زخم، بهبودی زخم را تسریع می‌بخشد [۱۵،۱۶،۲۳،۲۸]، که این مسئله در مورد گونه مورد مطالعه باید بررسی شود.

## نتیجه‌گیری

با توجه به یافته‌های بافت‌شناسی این پژوهش، عصاره متانولی زانتوپارملیا لینئولا روند ترمیم زخم پوستی را تسریع



Archive of SID
www.SID.ir

کرده و مدت زمان لازم برای بهبودی کامل زخم را کاهش می‌دهد. مکانیسم اثر و نقش هرکدام از سه ترکیب اوزنیک اسید، پروتوستراریک اسید و سالازینیک اسید در تال زانتوپارملیا لینئولا که بر ترمیم زخم اثر دارد در مطالعات آتی باید بررسی شود.

## منابع


**1.** Srinivasredy Reddy B, Kiran Kumar Reddy R, Modhusudhana K, Agwane SB, Ramakrishna S, Diwan PV. Evaluation of antimicrobial, antioxidant and wound-healing potentials of healing potentials of *Holoptelea integrifolia*. *J. Ethnopharmacol.* 2007; 115 (2): 249 - 56.

**2.** Temina M, Levitsky DO, Dembitsky VM. Chemical constituents of the epiphytic and lithophilic lichens of the genus *Collema. Rec. Nat. Prod.* 2010; 4 (1): 79 - 86.

**3.** Rankovic B, Kosanic M. Screening of antimicrobial activity of some lichen species in vitro. *Kragujevac. J. Sci.* 2007; 32: 65 - 72.

**4.** Abdur R, Abdul L, Sumbul R, Afaq SH. Study on extracts of *Parmelia perlata* Ach. for its antimicrobial against certain microorganisms. *Int. Res. J. Pharm.* 2013; 4 (11): 101 - 106.

**5.** Crespo A, Lumbsch HT, Mattsson JE, Blanco O, Divakar PK, Articus K, Wiklund E, Bawingan PA, Wedin M. Testing morphology-based hypotheses of phylogenetic relationships in Parmeliaceae (Ascomycota) using three ribosomal markers and the nuclear RPB1 gene. *Mol. Phylogenet. Evol.* 2007; 44 (2): 812 - 24.

**6.** Candan M, Yilmaz M, Tay T, Erden M, Türk AÖ. Antimicrobial activity of extracts of the lichen *Parmelia sulcata* and its salazinic acid constituent. *Z. Naturforsch.* 2007; 62: 619 - 21.

**7.** Valadbeigi T, Moradi H. An investigation of antibacterial effect of methanol and acetone extracts in some lichens in Ilam. *B. J. M*. 2013; 2 (5): 43 - 50.

**8.** Valadbeigi T, Rashki S. Wound healing activity of methanolic extract of Protoparmeliopsis muralis on wound infected with Staphylococcus aureus in wistar rat. *B. J. M*. 2014; 3 (10): 65 - 74.

**9.** Kosanic M, Rankovic B. Screening of antimicrobial activity of some lichen species in vitro. *Kragujevac. J. Sci.* 2010; 32: 65 - 72.

**10.** Bucar F, Schneider I, Ogmundsdottir H, Ingolfsdottir K. Antiproliferative lichen compounds with inhibitory activity on 12 (S)-HETE production in human platelets. *Phytomed*. 2004; 11: 602- 606.

**11.** Manoj GS and Murugan K. Wound healing activity of methanolic and aqueous extracts of *Plagiochila beddomei* steph. thallus in rat model. *Indian. J. Exp. Biol.* 2012; 50 (8): 551 - 558.

**12.** Nayake BS, Lexley M, Pinto P. *Catharanthus roseus* flower extract has wound-healing activity in sprague dawley rats. *BMC Complement. Altern. Med*. 2006; 6 (41): 1 - 6.

**13.** Choi MJ, Yohannes SB, Lee SJ, Damte D, Reza MA, Rhee MH, Kim TH and Park SC. The in vitro antibacterial activity of enrofloxacin-trimethoprim combination against five bacterial species. *Pak. Vet. J.* 2012; 32 (3): 363 - 366.

**14.** Candan M, Yilmaz M, Tay T and Kivanc M. Antimicrobial activity of extracts of the lichen *Xanthoparmelia pokornyi* and its gyrophoric and stenosporic acid constituents. *Z. Naturforsch.* 2006; 61c: 319 - 323.

**15.** William KJ. The effect of topically applied zinc on the wound healing in open wound. *J. Surg. Res.* 1979; 27 (3): 62 - 97.

**16.** Isler H, Bauen A, Hubler M and Oberholzer M. Morphometric assessment of wound healing in rats treated with a protein-free haemodialysate.




Archive of SID
www.SID.ir

*Burns*. 1991; 17 (2): 99 - 103.

**17.** Bing Li, Davidson JM and Guelcher SA. The effect of the local delivery of platelet-derived growth factor from reactive two-component polyurethane scaffolds on the healing in rat skin excisional wounds. *Biomaterials* 2009; 30 (20): 3486 - 94.

**18.** Randhir R, Lin YT and Shetty K. Stimulation of phenolics, antioxidant and antimicrobial activities in dark germinated mung bean sprouts in response to peptide and phytochemical elicitors. *Process. Biochem.* 2004; 39 (5): 637 - 46.

**19.** De Paz GA, Raggio J, Gómez-Serranillos MP, Palomino OM, González-Burgos E, Carretero ME and Crespo A. HPLC isolation of antioxidant constituents from *Xanthoparmelia* spp. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2010; 53: 165 - 171.

**20.** Molnar K and Farkas E. Current results on biological activities of lichen secondary metabolites: A review. *Z. Naturforsch. C.* 2010; 65: 157 - 173.

**21.** Turk AO, Yilmaz M, Kivanc M and Turk H. The antimicrobial activity of extracts of the lichen *Cetraria aculeata* and its protolichesterinic acid constituent. *Z. Naturforsch.* 2003; 58c: 850 - 854.

**22.** Gupta N and Jain UK. Investigation of wound healing activity of methanolic extract of stem bark of *Mimusops elengi* Linn. *Afr. J. Tradit. Complement. Altern. Med.* 2011; 8 (2): 98 - 103.

**23.** Radika S. Development of treated bandage using lichen extract for wound healing. *Int. J. Latest. Res. Sci. Tech.* 2013; 2 (2): 163 - 166.

**24.** Boustie J and Grube M. Lichens- a promising source of bioactive secondrary metabolites. *Plant. Genet. Resour.* 2005; 3 (2): 273 - 287.

**25.** Rankovič B, Rankovic D and Maric D. Antioxidant and antimicrobial activity of some lichen species. *Microbiol.* 2010; 79 (6): 809 - 15.

**26.** Ingólfsdottir K. Usnic acid. *Phytochem.* 2002; 61 (7): 729 - 73.

**27.** Melgarejo M, Sterner O, Castro JV and Mollinedo P. More investigations in potent activity and relationship structure of the lichen antibiotic (+)-usnic acid its derivate dibenzoyl usnic acid. *Rev. Boliv. Quím.* 2008; 25 (1): 24 - 9.

**28.** Bvl NN, Mckenzie AL, Westi M and Whitney JD. Low-dose ultrasound effects on wound healing- A controlled study with yucalan pigs. *Arch. Phys. Med. Rehabil.* 1992; 73 (2): 658 - 664.

**29.** Cansaran D and Kabya D. Identification and quantitation of usnic acid from the lichen *Usnea* species of anatolia and antimicrobial activity. *Z. Naturforsch. C.* 2006; 61: 773 - 6.

Archive of SID



www.SID.ir