

بررسی اثر عصاره‌های ترکیبی مومیایی، پنیر باد و زردچوبه بر ترمیم و درمان شکستگی استخوان در موش صحرایی

محمدحسین حبیب الهی^{۱*}، آرزو عبداللهی گنج^۲، علیرضا انصاری مقدم^۳، امیر ریگی^۴، علی سنجرانی^۲، مریم طالب روحی^۲

۱-استادیار، گروه علوم آزمایشگاهی، واحد زاهدان، دانشگاه آزاد اسلامی، زاهدان، ایران

۲-مرکز تحقیقات علوم بالینی سلامت، واحد زاهدان، دانشگاه آزاد اسلامی، زاهدان، ایران

۳-استادیار، گروه پرستاری، واحد زاهدان، دانشگاه آزاد اسلامی، زاهدان، ایران

۴-استاد، گروه اپیدمیولوژی و آمار زیستی، مرکز تحقیقات ارتقای سلامت، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، زاهدان، ایران

یافته / دوره ۲۳ / شماره ۳ / تابستان ۱۴۰۰ / مسلسل ۸۸

چکیده

دریافت مقاله: ۱۴۰۰/۲/۲۱ پذیرش مقاله: ۱۴۰۰/۴/۱

مقدمه: ترمیم استخوانهای شکسته شده ناشی از عوامل فیزیولوژیک و یا عوامل پاتولوژیک از اهداف مورد توجه محققان از گذشته بوده است. هدف از این مطالعه ارزیابی تاثیر عصاره‌های ترکیبی بر روند استخوان‌سازی در شکستگی تجربی ایجاد شده در استخوان فمور موش صحرایی به عنوان الگوی آزمایشگاهی می باشد.

مواد و روش‌ها: مطالعه تجربی آزمایشگاهی حاضر بر روی ۲۱ سر موش صحرایی انجام شد. پس از بیهوشی، برش ۳ سانتیمتری در ناحیه استخوان فمور ایجاد و با چکش مخصوص شکسته شد. پس از جراحی، گروه شاهد بدون عصاره و سه گروه آزمون به ترتیب دوز ۲۰۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن عصاره را دریافت کردند. ۲۱ روز پس از جراحی، آسان‌کشی انجام شد و از محل شکستگی مقاطع تهیه و رنگ آمیزی شدند و مورد ارزیابی هیستوپاتولوژی و هیستومورفومتری قرار گرفتند. جهت آنالیز داده‌ها از نرم افزار SPSS ویرایش ۲۱ استفاده شد.

یافته‌ها: با توجه به آزمون مقایسه زوجی، اختلاف میانگین متغیرهای مغز استخوان، استخوان نابالغ و استخوان لاملار در گروه سوم آزمون با بقیه گروه‌ها تفاوت معناداری داشت ($P < 0.05$) که نشان داد دریافت عصاره در گروه‌های آزمون با افزایش دوز منجر به کاهش میانگین مغز استخوان و استخوان نابالغ شده و در نتیجه باعث افزایش میانگین استخوان لاملار گردیده است.

بحث و نتیجه‌گیری: مطالعه حاضر نشان می‌دهد که مصرف عصاره ترکیبی مومیایی، پنیر باد و زردچوبه قادر به تحریک ترمیم استخوان در موش صحرایی بوده و می‌تواند به عنوان کاندیدی برای درمان شکستگی مطرح شود.

واژه‌های کلیدی: شکستگی استخوان، موش صحرایی، مومیایی، پنیرباد، زردچوبه.

*آدرس مکاتبه: زاهدان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد زاهدان، گروه علوم آزمایشگاهی.

پست الکترونیک: mohamadhossein.habib@gmail.com

مقدمه

بازسازی و ترمیم نقایص استخوانی ناشی از ضربه‌ها، تومورها، عفونت‌ها و بیماری‌های مرتبط با استخوان، از چالش‌های بزرگ جراحان و محققان می‌باشد (۱). تحقیقات انجام شده بر روی ترمیم شکستگی‌های استخوانی بیانگر این است که عامل زمان در روند بهبودی موثر می‌باشد. استخوان‌ها دارای ظرفیت فوق‌العاده‌ای برای ترمیم خود هستند و با درمان مناسب، بیشتر شکستگی‌ها بدون هیچ عارضه‌ای بازسازی می‌شوند اما ترمیم برخی شکستگی‌ها با مشکلاتی همراه بوده و زمانی که یک استخوان به کندی ترمیم شود تاخیر در ترمیم و هنگامی که یک استخوان اصلاً ترمیم نگردد، به نام استخوان جوش نخورده خوانده می‌شود. هر چه التیام سریع‌تر شکل گیرد نقیصه استخوانی از استحکام بیشتری برخوردار خواهد بود و احتمال جوش خوردگی با تاخیر کمتر شده و نیز بروز عفونت و عدم موفقیت در جراحی ارتوپدی کمتر خواهد شد (۲-۴). جوش نخوردن استخوان می‌تواند به علت وجود عفونت، آسیب گسترده به بافت نرم استخوان و به دنبال آن کاهش جریان خون به محل شکستگی، جدا شدن انتهای استخوان شکسته، حرکت دادن و حتی تاخیر شروع درمان باشد (۵،۶).

محصولات طبیعی و بسیاری از ترکیبات، مواد زیستی و مشتقات آنها به عنوان گزینه‌ای امیدوار کننده برای به حداقل رساندن عوارض جانبی، کاهش هزینه‌ها و ترویج یک فرآیند سریع و کارآمد ترمیم استخوان مورد توجه می‌باشند (۷). داروهایی که از گیاهان دارویی استخراج می‌شوند حداقل توسط ۷۵٪ از جمعیت جهان مورد مصرف قرار می‌گیرند که نشان دهنده اهمیت بالای درمان طب سنتی در اکثر کشورهای در حال توسعه و حتی پیشرفته است (۸،۹). مطالعات نشان داده که برخی از مولکول‌های استخراج شده از ترکیبات طبیعی دارای اثرات ضدالتهابی، آنتی‌اکسیدانی و احیاکنندگی بالایی هستند

که استفاده از این محصولات در درمان بیماری‌های مختلف موفقیت آمیز بوده است (۱۰). مطالعات بالینی و پیش بالینی سعی در اثبات تأثیرات مثبت ترکیبات گیاهی بر تشکیل ماتریس استخوانی و فعالیت سلولی آن دارند (۱۱). تشکیل استخوان تقریباً ۴ تا ۶ ماه طول می‌کشد. استئوبلاست‌ها ماتریس آلی کلاژنی جدید را سنتز می‌کنند و با آزاد کردن وزیکول‌های ماتریسی کوچک به صورت ذرات متصل به غشاء، از یک طرف کلسیم و فسفات را متمرکز می‌کنند و از طرف دیگر بازدارنده‌های کانی‌سازی مانند پیروفسفات یا پروتئوگلیکان‌ها را از نظر آنزیمی تخریب می‌کنند و باعث تنظیم کانی‌سازی ماتریس می‌شوند. شواهد روز افزون مدعی آن است که مکانیسم کلسیفیکاسیون بافت نرم از جمله مکانیسم‌هایی است که در رشد طبیعی، بازسازی و ترمیم استخوان دیده می‌شود (۱۲).

نقش ترکیبات و عصاره‌های طبیعی منجمله عصاره هیدروالکلی مومیایی، پنیر باد و زردچوبه در پیشگیری از پوکی استخوان، ترمیم زخم و درمان سایر امراض ثابت شده است (۱۳-۱۵). مومیایی یکی از داروهای سنتی جهانی است که به صورت یک عصاره چسبناک نیمه جامد به رنگ سیاه-قهوه‌ای و یا قهوه‌ای تیره می‌باشد و از درهم آمیختن مواد معدنی و فیبرهای گیاهی به نام مومیایی به صورت توده‌ای معدنی-گیاهی، در نتیجه اکسیداسیون هیدروکربن‌های روغنی در شکاف کوه‌های رسوبی تولید می‌گردد که در ترکیبات خود به عنوان یک ضدالتهاب دارای عناصر معدنی مختلف، تعدادی از ویتامین‌ها و آنزیم‌ها می‌باشد و در طب سنتی برای درمان امراض مختلف از جمله بیماری‌های استخوانی استفاده می‌شود (۱۳،۱۶). مومیایی به شکل خوراکی و به صورت موضعی برای درمان انواع زخم‌ها، التهاب مفاصل و بیماری‌های مرتبط با استخوان کاربرد دارد و در مطالعات مختلف تأثیرات درمانی آن اثبات شده است (۱۷،۱۸).

دانشگاه تهران انجام شد. عصاره‌گیری به روش هیدروالکلی و بر طبق مطالعات (۱۳،۱۹،۲۱)، توسط دستگاه سوکسله و با حلال اتانول ۷۰٪ انجام شد، محلول حاصل با استفاده از دستگاه روتاری (Heidolph-Germany) در شرایط خلاء تغلیظ گردید و برای خشک کردن به مدت سه روز در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد در دستگاه آون قرار گرفت و سپس در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد و در ظرف شیشه‌ای جهت جلوگیری از تغییرات شیمیایی و دور از نور مستقیم خورشید نگهداری گردید. برای تهیه دوزهای مشخص از عصاره ترکیبی به نسبت معین و در وزن‌های مشخص در آب مقطر حل شدند.

حیوانات

مطالعه تجربی آزمایشگاهی روی ۲۱ سر موش صحرایی بالغ با وزن تقریبی ۲۵۰-۳۰۰ گرم و سن ۱۰ هفته انجام شد. موش‌ها از مرکز تحقیقات تجربی دانشگاه علوم پزشکی ایران تهیه شدند و کار در مرکز تحقیقات علوم بالینی سلامت دانشگاه آزاد اسلامی واحد زاهدان انجام شد. به منظور پرهیز از استرس و سازگاری با محیط، موش‌ها به مدت یک هفته تحت شرایط نور به صورت چرخه روشنایی-تاریکی ۱۲ ساعته و در دمای ۲۳ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۶۰ درصد و در قفس‌های جداگانه نگهداری شدند و به صورت آزاد به آب و غذا دسترسی داشتند (۲).

ایجاد شکستگی استخوان و درمان

موش‌ها به طور تصادفی به ۴ گروه ۵ تایی شامل یک گروه شاهد و سه گروه آزمون و یک سر موش برای بررسی استاندارد در شرایط غیر شکستگی (در روز ۰ آزمایش آسان کشی شد و نمونه مورد نظر تهیه شد) تقسیم شدند، که به منظور ایجاد بیهوشی از کتامین ۱۰ درصد (Ketamine Alfasan, Woerden-Holland) به میزان ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن و زایلازین ۲ درصد (Xylazin

پنیرباد گیاهی بوته‌ای و همیشه سبز است و بیشتر خواص درمانی آن مربوط به لاکتون‌های استروئیدی به نام ویتانولیدها و ترکیبات شبه استروئیدی موجود در آن است. تحقیقات نشان داده که این ترکیبات با دخالت در متابولیسم و جذب کلسیم و فسفر، باعث افزایش استخوان‌سازی در طیور شده است (۴،۱۹). زردچوبه، پودر ریزوم خشک شده گیاه *Curcuma longa* است. گیاهی پایا و پوشیده از برگ‌های بلند، نوک تیز و گل‌های زرد شیپوری است. زردچوبه دارای اثرات ضد التهابی، آنتی‌اکسیدانی، ضد سرطانی و حتی ضد عفونی‌کنندگی است و در درمان دیابت، آسم، زخم معده و غیره استفاده می‌شود (۲۰). طبق پژوهش‌ها مشخص شده که ترکیب رنگی موجود در زردچوبه به نام کورکومین بر روی تمایز، فعالیت و طول عمر استئوبلاست‌ها و استئوکلاست‌ها در شرایط آزمایشگاهی موثر است و بر اساس نتایج *Folwarczna* و همکارانش در سال ۲۰۱۰ مشخص گردید که مصرف دوزهای بالای کورکومین احتمالاً بتواند از پوکی استخوان در موش‌های صحرایی جلوگیری نماید (۱۵). با توجه به مطالعات صورت گرفته، فرضیه این که عصاره ترکیبی مومیایی، پنیرباد و زردچوبه می‌تواند سبب تشکیل استخوان گردد، شکل گرفت و هدف از انجام این پژوهش، مطالعه ارزیابی تاثیر این عصاره ترکیبی در ترمیم شکستگی استخوان فمور در مدل حیوانی موش صحرایی بود.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری و عصاره‌گیری

در این مطالعه تجربی از گیاهان زیست بوم استان سیستان و بلوچستان شامل گیاه مومیایی (Mummy plants)، پنیر باد (*Withania coagulans*) و زردچوبه (*Curcuma longa*) که از عطاری‌های معتبر سطح شهر زاهدان تهیه شدند، استفاده شد. عمل عصاره‌گیری و سپس خشک کردن عصاره‌ها در دانشکده داروسازی

رنگ آمیزی و با میکروسکوپ نوری بررسی شدند. برای ارزیابی دقیق و مناسب از روش هیستومورفومتری با استفاده از اندازه‌گیری خطی از طریق خطوط مشبک متقاطع توسط یک عدسی چشمی مشبک با بزرگ نمایی ۴۰ به صورت ۱۰۰ خانه مربعی در محل مورد نظر با تعیین درصدی از ترمیم انجام شد (۲۲) و نمونه‌ها از لحاظ مغز استخوان، سلول‌های نابالغ استخوان و استخوان لاملار مورد بررسی و شمارش قرار گرفتند.

آنالیز آماری

با توجه به نتایج آزمون همگونی واریانس‌ها و آزمون توزیع نرمال داده‌ها (کولموگرواسمیرنوف)، داده‌های به دست آمده شامل درصدی از شکستگی استخوانی که توسط اجزای ترمیم شامل مغز استخوان، استخوان نابالغ و استخوان لاملار اشغال شده، به صورت میانگین و انحراف استاندارد ارائه شدند و اختلاف معنادار بین گروه‌ها (ANOVA) توسط آزمون آماری کروسکال والیس و آزمون تعقیبی یو-من ویتنی در سطح معناداری ($P < 0.05$) توسط نرم افزار SPSS ویرایش ۲۱ محاسبه گردید.

یافته‌ها

توسط میکروسکوپ نوری به بررسی جایگاه ترمیم در قسمت شکستگی استخوان فمور در موش‌های گروه شاهد و گروه‌های آزمون پرداخته شد و مشخص گردید قسمت میانی شکستگی استخوان توسط استخوان نابالغ پر شده و ما بین آنها فضاهای وسیعی از مغز استخوان وجود دارد و در محل اتصال استخوان تازه نابالغ و قدیمی، استخوان‌های لاملار در حال شکل‌گیری هستند. میزان مغز استخوان، استخوان نابالغ پر شده و استخوان لاملار در جدول ۱ ذکر شده‌اند. همانگونه که در جدول مشاهده می‌شود در موش‌های سه گروه آزمون بر اساس افزایش میزان دوز دارو، میانگین میزان

(Alfasan, Woerden-Holland) به مقدار ۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت تزریق داخل صفاقی استفاده گردید، پس از ایجاد بیهوشی ناحیه سستیگ لگنی تا مفصل زانوی اندام حرکتی خلفی چپ به صورت معمول آماده جراحی گردید. برشی به طول ۳ سانتی‌متر روی پوست بخش جانبی اندام خلفی چپ به موازات استخوان فمور ایجاد گردید و پس از جداسازی عضلات از محل اتصال آنها به یکدیگر، استخوان فمور در معرض دید قرار گرفت (۲) و با استفاده از چکش مخصوص و با ضربه، استخوان به صورت عرضی شکسته شد و سپس موضع با استفاده از نرمال سالین شستشو شد و عضلات ناحیه با استفاده از نخ بخیه قابل جذب سنتتیک پلی‌گلیکولات ساخت کارخانه سوپا بخیه شدند. پس از به هوش آمدن کامل، حیوانات به قفس‌های خود منتقل شده و به منظور جلوگیری از عفونت روزانه به آنها ۶۰۰۰ واحد پنی سیلین G به صورت عضلانی به مدت ۵ روز تزریق گردید. در گروه شاهد استخوان شکسته شده بود اما دارویی دریافت نمی‌کردند (کنترل منفی). به گروه اول روزانه ۲۰۰ میلی‌گرم، گروه دوم ۵۰۰ میلی‌گرم و گروه سوم ۱۰۰۰ میلی‌گرم از داروی آماده شده به صورت ۱۲ ساعته به مدت ۲۱ روز توسط سوند مری خورنده شد (۲).

ارزیابی‌های هیستوپاتولوژی و هیستومورفومتری

به منظور ارزیابی هیستوپاتولوژی در روز ۲۱ ام پس از جراحی، موش‌ها با تزریق مقدار زیاد کتامین و زایلایزین به صورت داخل صفاقی بیهوش و سپس آسان‌کشی شدند. پس از برش و کنار زدن عضلات، استخوان فمور جدا شده و در محلول بافر فرمالین ۱۰ درصد به مدت یک هفته ثابت شدند و سپس نمونه‌ها به مدت سه هفته در محلول اسید نیتریک ۱۰ درصد به منظور کلسیم‌گیری قرار گرفتند. از هر نمونه، با استفاده از دستگاه میکروتوم برش‌های پی در پی استخوان به ضخامت ۵ میکرومتر از ناحیه ترمیم شده تهیه گردید و مقاطع با هماتوکسین-ائوزین

($P < 0/05$). در مورد متغیر استخوان نابالغ نیز فقط گروه اول و دوم آزمون تفاوت معناداری ندارند و میانگین استخوان نابالغ در تمامی گروه‌های دیگر با هم تفاوت معناداری دارند ($P < 0/05$). با توجه به تفاوت گروه سوم آزمون با تمامی گروه‌های دیگر مشخص شده که مصرف دارو منجر به کاهش مغز استخوان و استخوان نابالغ شده و در نتیجه به بهبود شکستگی کمک کرده است. در مورد متغیر استخوان لاملار نیز با توجه به نتایج کسب شده، میانگین استخوان لاملار در تمامی گروه‌ها با هم تفاوت معناداری دارند ($P < 0/05$) و همچنین با توجه به اختلاف گروه سوم با بقیه گروه‌ها نتیجه می‌شود که مصرف دارو منجر به افزایش میانگین استخوان لاملار شده است. همچنین با افزایش دوز مصرف دارو، این افزایش بیشتر شده که در نتیجه دارو به بهبود سریع‌تر شکستگی کمک کرده است.

شکل‌گیری مغز استخوان و استخوان نابالغ نسبت به گروه شاهد با سرعت کمتری پیشرفت داشته ولی وضعیت شکل‌گیری استخوان لاملار دقیقاً برعکس است. نرمال بودن متغیرهای وابسته با آزمون شاپیرو ویلک سنجیده شد که طبق نتایج کسب شده هر سه متغیر مغز استخوان، استخوان نابالغ و استخوان لاملار در همه گروه‌ها دارای توزیع نرمال بود ($P < 0/05$). با توجه به نتایج آزمون آنالیز واریانس یکطرفه مشخص شد که بین میانگین مغز استخوان، استخوان نابالغ و استخوان لاملار در گروه‌بندی‌های مختلف تفاوت معنا داری وجود دارد ($P < 0/05$).

برای مقایسه میانگین متغیر وابسته در گروه‌های مختلف به صورت دوبرو یا مقایسه زوجی از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد که طبق نتایج کسب شده در مورد متغیر مغز استخوان به جز گروه دوم و سوم آزمون که تفاوت معناداری ندارند در تمامی گروه‌های دیگر میانگین مغز استخوان با هم تفاوت معناداری ندارند

جدول ۱. آمار توصیفی متغیرهای وابسته پاسخ مغز استخوان، استخوان نابالغ و استخوان لاملار در گروه‌های مختلف

گروه	مغز استخوان			استخوان نابالغ			استخوان لاملار					
	مینیمم	ماکسیمم	*میانگین	*معیار	مینیمم	ماکسیمم	*میانگین	*معیار	مینیمم	ماکسیمم	*میانگین	
شاهد	۴۰/۴	۵۳/۱	۴۷/۸	۴/۷۱	۳۲/۶	۳۹/۱	۳۶/۲	۲/۴۳	۱۴/۳	۲۰/۵	۱۶	۲/۵۵
گروه ۱ دوز ۲۰۰	۳۸/۲	۴۳/۳	۴۰/۶۶	۱/۹۹	۲۶/۶	۳۲	۲۹/۶۴	۲/۰۸	۲۷/۵	۳۲/۳	۲۹/۹	۱/۷
گروه ۲ دوز ۵۰۰	۳۰/۵	۳۱/۴	۳۰/۹۶	-۰/۴۱۵	۲۷/۱	۲۹	۲۷/۸۸	-۰/۸۶۴	۴۰	۴۲	۴۱/۱۶	-۰/۸۷
گروه ۳ دوز ۱۰۰۰	۲۶/۹	۲۸/۴	۲۷/۶۴	-۰/۵۵۹	۲۳/۸	۲۴/۵	۲۴/۰۴	-۰/۲۷	۴۷/۷	۴۸/۶	۴۸/۲۸	-۰/۳۸

رشته‌های کلاژن در آنها، استخوان‌های منظم و لاملار شکل می‌گیرند که باعث اتصال دو سر محل شکستگی به هم می‌شوند. در پژوهش عیوضی و همکارانش در سال ۲۰۱۸ بر روی اثر ترکیبات مومیایی بر تمایز سلول‌های بنیادی مشتق شده از چربی به استئوبلاست‌ها در محیط کشت سلولی مشخص شد که عصاره مومیایی در شرایط آزمایشگاهی به صورت یک تقویت کننده قوی از طریق افزایش سطح بیان ژن‌ها و تولید پروتئین‌های خاص

بحث و نتیجه‌گیری

در پژوهش حاضر نتایج ارزیابی استخوان‌سازی در محل شکستگی در گروه شاهد و مقایسه آن با گروه‌های آزمون نشان‌دهنده نوعی استخوان‌سازی موسوم به استخوان‌سازی داخل غشائی است (۲۳) یعنی در ابتدا با شکل‌گیری مغز استخوان که به صورت سلول‌های نابالغ و نامنظم بوده استخوان‌سازی آغاز شده و با گذشت زمان تغییراتی در استخوان نابالغ ایجاد و با منظم شدن

تاثیر عصاره هیدروالکلی پنیرباد روی استخوان‌سازی جوجه‌های گوشتی نشان داد که مصرف این عصاره در رژیم غذایی جوجه‌ها سبب افزایش ضخامت قشر استخوان درشت نی، نیروی برشی و انرژی شکستگی آن می‌شود (۱۴). همچنین پژوهش‌های انجام شده نشان دادند که عصاره پنیرباد در کنترل و درمان دیابت، بهبود زخم‌های دیابتی و ترمیم بافت‌های نرم و سخت در موش‌های صحرایی موثر است (۲۶، ۲۷). طبق مطالعه دبیدی روشن و همکارانش در سال ۲۰۱۲ که به بررسی اثر تعاملی تمرین استقامتی و مصرف عصاره زردچوبه بر چگالی مواد معدنی نواحی مختلف استخوان ران در موش صحرایی مشخص شد که شیوه سالم زندگی در موش‌ها به صورت محرک ورزشی و تغذیه با زردچوبه به عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی به پیشگیری از رسوب سرب در استخوان‌های اسفنجی و ران کمک می‌کند (۲۸). طبق پژوهش اصغری و همکاران در سال ۲۰۱۶ با هدف بررسی تاثیر عصاره زردچوبه و امپرازول در درمان زخم معده حاصل از گاستروتومی در موش صحرایی به نظر می‌رسد که عصاره زردچوبه اثرات مناسب و قابل قبولی بر روند التیام بخشی و ترمیم در موش‌های صحرایی دارد (۲۹). مطالعات صورت گرفته نشان می‌دهد که عصاره‌های مومیایی، پنیرباد و زردچوبه در روند ترمیم جراحات و شکستگی‌ها موثر بوده و به همین دلیل و با توجه به بومی بودن آنها در استان سیستان و بلوچستان، از عصاره ترکیبی آنها در مطالعه و بررسی روند التیام استخوان شکسته شده استفاده شد.

مطالعه انجام شده نشان داد که در گروه شاهد و بدون مداخله دارویی، استخوان‌سازی به آرامی با تشکیل لایه نازکی از استخوان‌های نابالغ و مقادیر زیادی مغز استخوان در ناحیه شکستگی انجام می‌شود در حالی که در گروه‌های آزمون با مصرف دارو مقادیر بیشتری تیغه‌های استخوانی منظم‌تر و سازمان یافته‌تر در محل شکستگی

استخوان عمل می‌کند و باعث رسوب مواد معدنی توسط سلول‌های بنیادی مشتق شده از چربی می‌شود (۲۴). در تحقیقی دیگر توسط رضوانی‌پور و همکارانش در سال ۲۰۰۷ با هدف بررسی اثر مومیایی بر روی برخی از شاخص‌های دخیل در ترمیم زخم موش سوری با مقایسه میانگین کشش لازم برای از هم گسیختن زخم ترمیم یافته در گروه‌های آزمون و شاهد، مشخص شد که مومیایی با تاثیرات احتمالی بر سنتز یا رسوب کلاژن موجب تسریع و افزایش مقاومت زخم در مقابل کشش می‌شود (۲۵). در پژوهش اله توکلی و همکارانش در سال ۲۰۰۳ با هدف مقایسه اثر مصرف موضعی مومیایی و کرم یک درصد فنی‌توئین بر ترمیم زخم پوستی بر روی موش صحرایی مشخص کرد که ترکیب طبیعی و گیاهی مومیایی هم‌تراز با کرم یک درصد فنی‌توئین و در مقایسه با آن بدون هیچ عوارض جانبی در تسریع بهبود زخم دارای تاثیرات قابل ملاحظه‌ای است و همچنین این عصاره مومیایی اثر مهارى بر روی عفونت‌های باکتریایی دارد (۱۸). عزیزپور و همکارانش در سال ۲۰۲۰ با مطالعه بررسی تاثیر عصاره هیدروالکلی مومیایی بر تکثیر سلول‌های استئوبلاست در شرایط آزمایشگاهی بر روی محیط کشت سلولی حاوی سلول‌های شبه استئوبلاست انسانی MG63 نشان دادند که این ترکیب باعث افزایش بیان عوامل مهم بازسازی استخوان و تکثیر فعال استئوبلاست‌ها می‌شود (۱۳). مطالعات انجام شده با این گزارش که خوردن و مالیدن مومیایی بر روی موضع، در التیام شکستگی استخوان، دررفتگی و کوفتگی و همچنین بهبود انواع زخم‌ها نقش موثری دارد، هماهنگ می‌باشد. این ترکیب با تعدیل التهاب، مکانیسم‌های احتمالی افزایش خون رسانی، تحریک کلاژن‌سازی و همچنین فاکتورهای بازسازی استخوان و جلوگیری از انواع عفونت‌ها، در تسریع بهبودی استخوان و زخم موثر است (۱۸). بررسی‌های حسینی و همکارانش در سال ۲۰۱۶ بر

عمل می نمایند، بنابراین عصاره ترکیبی سه گیاه مومیایی، پنیر باد و زردچوبه با افزایش استخوان‌سازی در بهبود شکستگی‌ها موثر بوده و همچنین با افزایش دوز عصاره این گیاهان سرعت بازسازی و ترمیم استخوان در بازه زمانی مشخص بیشتر می شود. با توجه به اینکه این ترکیبات کاملا گیاهی و خوراکی بوده دارای کمترین عوارض احتمالی ناخواسته خواهند بود و می‌توان از این عصاره ترکیبی در کارآزمایی بالینی تصادفی در انسان‌هایی که نیاز به ترمیم استخوان دارند استفاده نمود، لکن تعیین دقیق مکانیسم اثر و میزان مصرف آن نیازمند تحقیقات تکمیلی می باشد.

تشکر و قدردانی

مقاله حاضر بر گرفته از طرح پژوهشی مصوب در شورای پژوهشی مرکز تحقیقات علوم بالینی سلامت و معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه آزاد اسلامی واحد زاهدان است و دارای کد اخلاق به شماره IR.ZAUMS.REC.1398.275 می‌باشد. بدین وسیله نویسندگان مراتب تشکر و قدردانی خود را از معاونت علوم پزشکی، معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه آزاد اسلامی واحد زاهدان و دانشکده داروسازی دانشگاه تهران ابراز می‌نمایند.

تشکیل می شود، در واقع با افزایش میزان مصرف دوز دارو به خصوص در گروه سوم (دوز ۱۰۰۰ میلی گرم) تشکیل استخوان لاملار افزایش داشت. تغییرات در گروه‌های آزمون در دوز پایین دارو (۲۰۰ و ۵۰۰ میلی گرم) چندان قابل ملاحظه نمی‌باشد و اختلاف معناداری با هم ندارند ($p < 0.05$) که این موضوع تاثیر و استفاده از دوز بالای این ترکیبات دارویی جهت ترمیم و استخوان‌سازی را نشان می دهد. تحقیقات صورت گرفته حاکی بر این است که دوزهای موثر و کارای ترکیبات و عصاره‌های گیاهی در پیشگیری و درمان بیماری‌های مرتبط با استخوان، همواره بالاتر از دوزهای مصرفی از طریق رژیم غذایی روزانه هستند (۱،۶،۱۵). البته باید در دوزهای متعادل و مشخصی مورد استفاده قرار گیرند که عوارض ناخواسته و سمی برای بدن نداشته باشند (۱۳). به همین دلیل استفاده از عصاره‌های گیاهی ترکیبی راهکاری مناسب و قابل جایگزین می باشد.

کلیه مراحل آزمایش شامل تیمار، نمونه‌برداری و ارزیابی هیستوپاتولوژی و هیستومورفومتری به صورت کورسازی دو طرفه انجام گردید و مشخص شد که عصاره ترکیبی تهیه شده دارای تاثیر معناداری بر روی استخوان سازی می‌باشد و آنها با استفاده از مکانیسم‌های متفاوت ترمیم، به طور موثرتری نسبت به عصارها به صورت تکی

References

1. Sargolzaei Aval F, Eteghadi A, Arab MR, Sargolzaei Aval N. Histologic and Histomorphometric Evaluation of Osteogenesis Induced by Implantation of Octacalcium Phosphate-gelatin Composite in Tibia Bone Defects in Rat. *J-Mazand-Univ-Med-Sci*. 2017;27(150):17-26. (In Persian)
2. Mohajeri D, Mousavi G, Rezaie A, Alimohamadi A. Effect of Simvastatin on healing of experimental femoral cortical bone defect in rats. *RJMS*. 2012;18(91):27-35. (In Persian)
3. Mousavi G, Mohajeri D, Rezaie A, Valilu M, Alimohamadi A. Histopathological and histomorphometrical effects of atorvastatin on experimental femoral cortical bone defect healing in rats. *Tehran-Univ-Med-J*. 2012;70(2):78-85. (In Persian)
4. Keramidas E, Solomos M, Page RE, Miller G. The Suzuki frame for complex intra-articular fractures of the proximal interphalangeal joint of the fingers. *Ann Plast Surg*. 2007;58(5):484-488.
5. Kariminasab MH, Shayesteh Azar M, Shafiei E, Sajaddi Saravi M. The Effect of Stating treatment in the Prevalence of Scaphoid Non:union. *Babol-Jbums*. 2006;8(4):48-51. (In Persian)
6. Tarantino U, Cerocchi I, Celi M, Scialdoni A, Saturnino L, Gasbarra E. Pharmacological agents and bone healing. *Clin Cases Miner Bone Metab*. 2009;6(2):144-148.
7. Patel C, Ayaz RM, Parikh P. Studies on the osteoprotective and antidiabetic activities of *Moringa Oleifera* plant extract. *IOSR J Pharm Biol Sci*. 2015;5(5):19-22.
8. Kasote DM, Jagtap SD, Thapa D, Khyade MS, Russell WR. Herbal remedies for urinary stones used in India and China: A review. *J Ethnopharmacol*. 2017;203:55-68.
9. Beyene B, Beyene B, Deribe H. Review on application and management of medicinal plants for the livelihood of the local community. *J Resour Dev Manag*. 2016;22(1):33-39.
10. Arulselvan P, Fard MT, Tan WS, Gothai S, Fakurazi S, Norhaizan ME, Kumar, SS. Role of antioxidants and natural products in inflammation. *Oxid Med Cell Longev*. 2016;2016:1-15.
<https://doi.org/10.1155/2016/5276130>
11. Nash LA, Ward WE. Tea and bone health: Findings from human studies, potential mechanisms, and identification of knowledge gaps. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2017;57(8):1603-1617.
12. Golub EE. Biomineralization and matrix vesicles in biology and pathology. *Semin Immunopathol*. 2011;33(5):409-417.
13. Azizpour Y, Azizi M, Asadollahi K, Abbasi N, Aidy A, Karimi E. Investigation of the effect of hydroalcoholic mumie extract on expression of osteoprotegerin (OPG) and receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand (RANKL). *HBI_Journals*. 2020;24(6):120-129. (In Persian)

14. Hosseini S, Kermanshahi H, Nassirimoghaddam H, Nabipour A, Mirakzeh M, Saleh H, et al. Effects of 1.25-Dihydroxycholecalciferol and Hydroalcoholic Extract of Withania Coagulans Fruit on Bone Mineralization and Mechanical and Histological Properties of Male Broiler Chickens. *Rev Bras Cienc Avic.* 2016;18:73-86.
15. Folwarczna J, Zych M, Trzeciak HI. Effects of curcumin on the skeletal system in rats. *Pharmacological reports : PR.* 2010;62(5):900-909.
16. Moghadari M, Rezvanipour M, Mehrabani M, Ahmadinegadand M, Tajadini H. Mummy (Shilajit) In Traditional Persian Medicine. *Int J Adv Biotechnol Res.* 2017;8(2):1297-1301.
17. Dehghan M, Faradonbeh AS. The effect of mummy on the healing of bone fractures. *African J Pharm Pharmacol.* 2012;6(5):305-309.
18. Allah Tavakoli M, Khaksari Haddad M, Assar S. Comparison of topical application of Mummify and Phenytoin cream on skin wound healing in rat. *Babol-Jbums.* 2003;5(2):7-13. (In Persian)
19. Noori M, Saleh H, Mirakzahi M. effect of calcium level, hydroalcoholic extract of Withania coagulans and flaxseed oil levels on performance, mineral retention and bone morphology of broiler chickens. *Animal Production.* 2020;22(4):619-631. (In Persian)
20. Khosrojerdi A, Mashayekhi K, Zare Marzouni H. Curcumin (Extracted from Tumeric) and its Therapeutic Effects. *Jorjani Biomed J.* 2016;4(2):1-20. (In Persian)
21. Jadidi M, Sameni H-R, mirbeygi Z, Jafari M, Taherian Aa. Effects of hydroalcoholic extract of Turmeric (*Curcuma longa*) Rhizome on the peripheral and visceral pain in mice. *Koomesh.* 2016;17(3):692-700. (In Persian)
22. Carmagnola D, Berglundh T, Lindhe J. The effect of a fibrin glue on the integration of Bio-Oss with bone tissue. A experimental study in labrador dogs. *J Clin Periodontol.* 2002;29(5):377-383.
23. Link DP, van den Dolder J, Jurgens WJ, Wolke JG, Jansen JA. Mechanical evaluation of implanted calcium phosphate cement incorporated with PLGA microparticles. *Biomaterials.* 2006;27(28):4941-4947.
24. Eyvazi M, Farahzadi R, Karimian Fathi N, Karimipour M, Soleimani Rad J, Montaseri A. Mummy Material Can Promote Differentiation of Adipose Derived Stem Cells into Osteoblast through Enhancement of Bone Specific Transcription Factors Expression. *Adv Pharm Bull.* 2018;8(3):457-464.
25. Rezvanipour M, Pourzadehosseini F, Malekpour R, Zarabi A. The Effect of Mummy on Some Indices of Wound Healing in Mice. *J Kerman Univ Med Sci.* 2007;14(4):267-277. (In Persian)
26. Shukla K, Dikshit P, Shukla R, Gambhir JK. The aqueous extract of Withania coagulans fruit partially reverses nicotinamide/streptozotocin-induced

- diabetes mellitus in rats. *J Med Food*. 2012;15(8):718-725.
27. Prasad SK, Kumar R, Patel DK, Hemalatha S. Wound healing activity of *Withania coagulans* in streptozotocin-induced diabetic rats. *Pharm Biol*. 2010;48(12):1397-1404.
28. Dabidi Roshan V, Hemmati Safarshahi Y, Nooredinini HG. Interactive Effect of the 8-week Endurance Exercise and Turmeric Extract on the Regional Bone Mineral Density of Femur bone. *QHMS*. 2012;18(2):27-36. (In Persian)
29. Asghari A, Arfaee F, Ghodarzi N. The effect of curcuma longa extract on gastric injury induced by gastrotomy in rats. *Vet Res Biol Prod [Internet]*. 2016;29(2):25-36. (In Persian)

Effect of Combined Extracts of Mummy, *Withania Coagulans*, and Turmeric on the Repair and Treatment of Bone Fractures in Rats

Habibollahi MH^{1,2*}, Abdollahi gonbaj A^{2,3}, Ansari Moghaddam AR^{2,4}, Rigi A², Sanjarani A², Talebrohi M²

1. Assistant Professor, Department of Laboratory Sciences, Zahedan Branch, Islamic Azad University, Zahedan, Iran, mohamadhossein.habib@gmail.com

2. Health Clinical Sciences Research Center, Zahedan Branch, Islamic Azad University, Zahedan, Iran

3. Assistant Professor, Department of Nursing, Zahedan Branch, Islamic Azad University, Zahedan, Iran

4. Professor, Department of Epidemiology and Biostatistics, Health Promotion Research Center, Zahedan University of Medical Sciences, Zahedan, Iran

Received: 11 May 2021

Accepted: 22 Jun 2021

Abstract

Background: Repair of broken bones due to physiological or pathological factors has always been important for researchers. In this regard, this study aimed to evaluate the effect of a combined extract on the osteogenic process in the experimental fracture created in the femoral of rats as laboratory models.

Materials and Methods: This experimental study was performed on 21 rats. After induction of general anesthesia to each mouse, a 3-cm incision was made in the femoral bone and it was broken with a special hammer. After surgery, the control group did not receive any extract, while the three experimental groups received 200, 500, and 1000 mg/kg PO, respectively. In the next step, 21 days after surgery, euthanasia was performed and bone sections were prepared and stained in the fracture site. Next, histopathological and histomorphometric studies were carried out for the evaluation of bone healing in rats. The collected data were analyzed in SPSS software (version 21).

Results: According to the pairwise comparison test, the mean difference of variables, namely bone marrow, woven bone, and lamellar bone of the third group of the test was significantly different from those of the other groups ($P < 0.05$). This indicated that receiving the extract in the experimental groups with an increased dose led to a decrease in the mean bone marrow and woven bone which, in turn, increased the mean lamellar bone.

Conclusion: The results showed that the combined extracts of mummy, *Withania coagulans*, and turmeric can stimulate osteogenesis in rats and be considered as a candidate for fracture treatment.

Keywords: Bone fracture, Mummy, Rat, Turmeric, *Withania coagulans*.

***Citation:** Habibollahi MH, Abdollahi gonbaj A, Ansari Moghaddam AR, Rigi A, Sanjarani A, Talebrohi M. Investigating the effect of combined extracts of Mummy, *Withania coagulans* and Turmeric on the repair and treatment of bone fractures in rats. *Yafte*. 2021; 23(3):68-78.