

بررسی تاثیر گیاه یونجه (*Medicago sativa*) بر بهبود زخم در موش های آزمایشگاهی

مرتضی یوسفی^۱، هدایت الله شیرزاد^۲، حسین یوسفی^{۳*}

(۱) دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد

(۲) گروه ایمنی شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد

(۳) گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد

تاریخ پذیرش: ۸۹/۷/۷

تاریخ دریافت: ۸۹/۲/۸

چکیده

مقدمه: زخم به مفهوم گسیختگی قسمتی از بافت های بدن یکی از مشکلات امروزه جامعه پزشکی محسوب می شود. هر سال، حوادث رانندگی به ایجاد زخم های متنوع در هزاران نفر منجر می گردد. بنابراین، انجام تحقیق به منظور یافتن راهی برای بهبود سریع زخم از اهمیتی ویژه برخوردار است. گیاه یونجه توسط بعضی افراد به عنوان داروی التیام بخش زخم استفاده می شود. از این رو، در این تحقیق با هدف یافتن دارویی مناسب، تاثیر عصاره یونجه بر التیام زخم در مدل حیوانی را مورد بررسی قرار دادیم.

مواد و روش ها: در این مطالعه بر روی قسمت پشت ۳۵ موش با استفاده از تیغ بیستوری زخمی به طول یک سانتی متر ایجاد گردید. سپس این موش ها به پنج گروه هفت تایی تقسیم شدند. گروه اول و سوم با عصاره خام یونجه تازه و گروه دوم و چهارم با عصاره آبی خشک شده یونجه درمان شدند. گروه پنجم به عنوان گروه شاهد فقط سرم فیزیولوژی دریافت کردند. بهبودی زخم با اندازه گیری طول زخم و هم چنین سرعت بهبودی مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته های پژوهش: میانگین طول زخم در گروه هایی که عصاره تازه یونجه دریافت کرده بودند کمتر از میانگین طول زخم در گروه شاهد بود، هر چند این اختلاف از نظر آماری معنی دار نبود. هم چنین سرعت رشد در گروهی که چند بار عصاره تازه یونجه دریافت کرده بودند به طور قابل ملاحظه ای سریع تر از سایر گروه ها مخصوصا گروه شاهد بود.

بحث و نتیجه گیری: با توجه به نتایج این بررسی پیشنهاد می شود تحقیقات بیشتری در این مورد انجام گیرد.

واژه های کلیدی: یونجه سیاه، بهبود زخم، موش

* نویسنده مسئول: گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد

مقدمه

امروزه حوادث رانندگی در کشور ما از شیوع بالایی برخوردار است. هر سال، این حوادث به ایجاد زخم های متنوع در هزاران نفر منجر می گردد. علاوه بر این، بستری شدن طولانی مدت در بیمارستان موجب ایجاد زخم های بستر در هزاران بیمار می گردد. با توجه به آمار بالای این عارضه، یافتن راهی برای بهبود سریع زخم از اهمیت زیادی برخوردار است. در راستای یافتن درمانی مناسب و سریع برای بهبودی زخم، بررسی تاثیر گیاهان دارویی بر روی بهبود زخم در مطالعات مختلف مورد مطالعه قرار گرفته است. نتایج این تحقیقات مبین تاثیر این گیاهان دارویی بر بهبود زخم بوده است، (۶-۱). گیاه یونجه (Medicago sativa) بیشتر در نواحی کوهستانی و سردسیر وجود دارد و معمولاً به صورت خودرو می روید. از نظر طب قدیم ایران، یونجه گرم است، دو برابر اسفناج آهن دارد و برای کسانی که به کم خونی مبتلا هستند مفید است. عوارض کمبود ویتامین ث با خوردن یونجه از بین می رود. تاثیر این گیاه بر درمان دیابت نشان داده شده است، (۷). اما در مورد تاثیر آن بر بهبود زخم تاکنون مطلبی ثبت نگردیده است.

با توجه به اهمیت یافتن دارویی جدید برای تسریع در التیام زخم و با توجه به اینکه به طور سنتی شیره تازه گیاه یونجه سیاه در التیام زخم استفاده می گردیده است، در این مطالعه تاثیر این گیاه بر بهبود زخم در مدل حیوانی مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش ها

این بررسی نوعی مطالعه ی مداخله ای است که جمعیت مورد مطالعه آن موش های آزمایشگاهی outbred سوری ماده (انستیتو رازی کرج) بودند. در هر گروه ۷ موش و جمعا ۳۵ موش مورد آزمایش قرار گرفت. در مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد ابتدا موی ناحیه پشت موش ها با قیچی چیده شد و سپس با استفاده از اتر در داخل دسی کاتور به طور موقت بیهوش شدند. با استفاده از تیغ بیستوری یک زخم سطحی به طول یک سانتی متر که فقط ناحیه ی درم آن ها را درگیر می کرد، ایجاد شد. برای شناسایی موش های داخل یک گروه که در

یک قفس نگهداری می شدند از قلم مو و رنگ برای علامت گذاری استفاده شد. نهایتاً، موش های مورد آزمایش به پنج گروه به شرح ذیل تقسیم شدند:

گروه ۱: درمان با عصاره تازه خام هر دو روز یک بار پنج مرتبه

گروه ۲: درمان با عصاره آبی هر دو روز یک بار پنج مرتبه

گروه ۳: درمان با عصاره تازه خام فقط یک بار

گروه ۴: درمان با عصاره آبی فقط یک بار

گروه ۵: به عنوان گروه شاهد به جای عصاره گیاه، سرم فیزیولوژی دریافت نمودند.

گروه یک و سه هر دو روز یک بار عصاره مورد نظر و گروه ۲ و ۴ فقط یک دفعه با عصاره مربوطه درمان شدند. گروه کنترل نیز فقط یک بار در محل زخم سرم فیزیولوژی دریافت کردند. در مورد تمام موش ها، ۵۰ میکرولیتر از عصاره مربوطه با استفاده از سمپلر در محل زخم ریخته می شد و تمام طول زخم با آن آغشته می گردید.

طول زخم ها هر دو روز یک بار توسط کولیس اندازه گیری، و نتایج آن ثبت می شد که در مجموع ۵ مرتبه این کار تکرار شد و بعد از ۱۰ روز تقریباً تمام موش ها بهبودی کامل داشتند. علاوه بر این، تعداد موش های بهبود یافته در هر روز ثبت می گردید.

روش ساخت عصاره آبی: گیاه یونجه سیاه که به صورت خودرو رشد می کند جمع آوری و برگ های آن از ساقه جدا و در سایه خشکانده شد. سپس ۲۰ گرم از پودر برگ های خشکیده با ۲۰۰ میلی لیتر آب مقطر مخلوط گردید. بعد از دو روز با استفاده از کاغذ صافی مخلوط صاف شده و عصاره به دست آمده در دمای ۵۴ درجه سانتیگراد نگهداری تا آب آن تبخیر گردد. پودر باقی مانده که ۲/۹ گرم وزن داشت با ۵/۸ میلی لیتر آب مقطر مخلوط و به عنوان عصاره آبی مورد استفاده قرار گرفت. در طول درمان این عصاره در یخچال نگهداری شد.

روش ساخت عصاره ی خام: گیاه یونجه سیاه به روشی که در مورد عصاره آبی گفته شد تهیه گردید. سپس برگ ها با هاون برقی کاملاً خورد شده و مخلوط از دو لایه گاز استریل گذرانده شد و عصاره خام مورد

آزمایش با عصاره های آبی و خام گیاه یونجه سیاه در گروه های مختلف مورد آزمایش مطابق آنچه در قسمت روش گفته شد، محاسبه گردید که جزئیات آن در جدول شماره ۱ ارائه گردیده است. در مورد سرعت بهبودی دو روز پس از استفاده از عصاره خام، زخم یک موش بهبود پیدا کرد و پس از چهار روز، زخم دو موش بهبود پیدا کرد. این در حالی است که در این مدت زخم موش های گروه شاهد بهبودی نیافت. تعداد موش های بهبود یافته در ۶، ۸ و ۱۰ روز پس از شروع درمان با عصاره خام به ترتیب ۳، ۴ و ۵ موش بود، در حالی که در گروه شاهد در این زمان ها به ترتیب ۲، ۳ و ۵ موش بهبود یافته بودند.

نظر جمع آوری گردید. در طول درمان، این عصاره در یخچال نگهداری شد. ملاک بهبودی زخم در این تحقیق طول زخم بود. در پایان، تمام اطلاعات به دست آمده از این تحقیق با نرم افزار spss مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. با توجه به این که توزیع طول زخم در گروه های مورد مطالعه نرمال نبود از آزمون ناپارامتری کروسیتال والیس برای مقایسه بین گروه ها استفاده شد.

یافته های پژوهشی

میانگین و انحراف معیار اطلاعات مربوط به اندازه گیری طول زخم در روز های دوم، چهارم، ششم، هشتم و دهم بعد از شروع درمان زخم موش های مورد

جدول ۱. میانگین و انحراف معیار طول زخم (میلی متر) در موش های دارای زخم درمان شده با عصاره خام هر دو روز یک بار پنج مرتبه (گروه اول)، با عصاره آبی هر دو روز یک بار پنج مرتبه (گروه دوم)، با عصاره خام فقط برای یک بار (گروه سوم)، عصاره آبی فقط یک بار (گروه چهارم) و سرم فیزیولوژی (گروه پنجم)، دو، چهار، شش، هشت و ده روز بعد از شروع درمان

مرحله	روز ۲	روز ۴	روز ۶	روز ۸	روز ۱۰
اول	7.35±3.54	5.21±3.80	4.00±3.78	3.14±3.02	1.28±1.60
دوم	8.50±1.38	8.28±1.25	6.42±2.99	4.57±3.25	1.57±2.69
سوم	9.00±0.76	7.85±0.89	5.28±3.81	3.00±4.04	1.71±3.14
چهارم	9.42±0.78	7.28±1.38	5.57±1.90	4.21±3.13	2.14±2.19
پنجم	8.57±0.97	8.07±1.23	4.85±3.38	3.28±3.25	2.00±2.76
میزان معنی داری (P)	۰/۴۲	۰/۱۷	۰/۵۳	۰/۸۵	۰/۹۳

بحث و نتیجه گیری

با توجه به میزان معنی داری جدول ۱، بر اساس آزمون ناپارامتری کروسیتال والیس هیچ اختلافی بین طول زخم در گروه ها در هر پنج مرحله مطالعه دیده نشد، نتیجه این که گیاه یونجه سیاه اثر معنی داری بر روی بهبود زخم سطحی در مدل حیوانی نداشته است. درودگر و همکاران در سال ۱۳۸۶ تاثیر اسانس گیاه درمنه را بر بهبود زخم حاصل از لیشمانیا ماژور در موش مورد بررسی قرار دادند. آن ها نشان دادند که بهبودی کامل زخم با درمان گیاه درمنه بعد از ۳۰ روز، حاصل نگردید، (۸). هم چنین حیدری و همکاران در سال ۱۳۸۱ اثر ضد دردی عصاره متانولی گیاه ترخون را مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند که مقدار مصرف

منفرد این عصاره فاقد اثرات در التیام زخم می باشد، (۹). نتایج این بررسی ها با نتایج حاصل از مطالعه ما هم خوانی دارد. از طرف دیگر در مطالعات زیادی تاثیر دارو های گیاهی روی بهبود زخم نشان داده شده است که به چند مورد آن ها اشاره می گردد.

جهانشاهی و همکاران در سال ۱۳۸۳ تاثیر ترکیب بلوط و بادر نجبویه در کنترل زخم های آفتی مینور مخاط دهان را مورد بررسی قرار دادند. آن ها نشان دادند که استفاده از ترکیب فوق به طور موفقیت آمیزی در درمان این بیماری موثر بوده است، (۱۰). حیدری و همکاران در سال ۱۳۸۰ اثر ضد دردی و زخم زایی عصاره متانولی گل بابونه را

بهبود پیدا می کرد و از طول آن کمتر کاسته می شد. از این رو، محاسبه سرعت بهبودی زخم معیار بهتری نسبت به اندازه گیری طول زخم برای تعیین میزان بهبودی می باشد. در بررسی متون هم هیچ مطالعه ای مشابهی در مورد تاثیر گیاه یونجه سیاه بر بهبود زخم یافت نگردید. با توجه به محدودیت های فوق پژوهش های بیشتر در این زمینه توصیه می گردد. نتایج این بررسی احتمال تاثیر گیاه یونجه بر بهبود زخم را مطرح می کند، اما برای دست یابی به نتایج قطعی پیشنهاد می گردد تحقیقات بیشتری در این مورد انجام شود.

مورد بررسی قرار دادند. آن ها به این نتیجه رسیدند که اثر ضد دردی عصاره بابونه از طریق سیستم اپیوئیدی اعمال نمی شود و احتمالاً ناشی از تاثیر بر فرایندهای التهابی است، (۱۱). آویژگان در سال ۱۳۸۳ اثر ژل آلوئه ورا را بر زخم های مزمن بستر مورد بررسی قرار داد و نشان داد که ژل آلوئه ورا در کیفیت و سرعت بهبود زخم، نسبت به درمان رایج، بسیار موثرتر و کم هزینه تر است. (۱۲)

یکی از محدودیت ها و مشکلات در این تحقیق، انتخاب اندازه گیری طول زخم به عنوان معیار سنجش بهبودی بود. با توجه به مشاهدات ما زخم یک سانتی متری در طول یک سانتی متر زخم هم زمان

References

- 1-Pesin I, Koca U, Keles H, Akkol EK. Wound healing activity of rubus sanctus Schreber (Rosaceae): Preclinical Study in Animal Models. Evid Based Complement Alternat Med. 2009 Sep.p. 15. (in press)
- 2-Koca U, Süntar IP, Keles H, Yesilada E, Akkol EK. In vivo anti-inflammatory and wound healing activities of Centaurea iberica Trev. ex Spreng. J Ethnopharmacol 2009 Aug; 22.(in press)
- 3-Agyare C, Asase A, Lechtenberg M, Nihues M, Deters A, Hensel A. An ethnopharmacological survey and in vitro confirmation of ethnopharmacological use of medicinal plants used for wound healing in Bosomtwi-Atwima-Kwanwoma area, Ghana. J Ethnopharmacol 2009 Sep25; 125(3):393-403.
- 4-Preethi KC, Kuttan R. Wound healing activity of flower extract of Calendula officinalis. J Basic Clin Physiol Pharmacol 2009; 20(1):73-9.
- 5-Deshmukh PT, Fernandes J, Atul A, Toppo E. Wound healing activity of Calotropis gigantea root bark in rats. J Ethnopharmacol 2009 Aug 17; 125(1):178-81.
- 6-Han DO, Lee HJ, Hahm DH. Wound-healing activity of Astragali Radix in rats. Methods Find Exp Clin Pharmacol 2009 Mar; 31(2):95-100.
- 7-Gray AM, Flatt PR. Pancreatic and extra-pancreatic effects of the traditional anti-diabetic plant, Medicago sativa (lucerne). Br J Nutr. 1997 Aug; 78(2):325-34.
- 8-Doroodgar A, Arbabi M, Razavi M, Mohebbali M, Sadr F, Tashakkor Z. [Effect of artemisia sieberi extract on Leishmania major ulcers in BALB/c mice]. J of Kashan University of Medical Sciences 2007; 11(3):52-6. (Persian)
- 9-Heidari MR, Asadipour A, Hami M. [Analgesic and ulcerogenic effect of Methanolic extract of Artemisia Dracunculus and histopathological evaluation]. Pharmacology 2002; 6(1): 107-18. (Persian)
- 10-Jahanshahi Gh.R, Moattar F, Soltani MR. [Evaluation of a herbal medicine in the treatment of recurrent Aphthous ulcer]. J of Shahid Behshti University of Medical Sciences 2004; 22(1):19-25. (Persian)
- 11-Heidari MR, Asadipour A, Ghayoor M. [Evaluation of analgesic and ulcerogenic effect of Methanolic extract of Matricaria Chamomilla L]. J of Ghazvin University of Medical Sciences 2001; 20(3):15-23. (Persian)
- 12-Avijgan M. [Aloe Vera gel as an effective and cheap option for treatment in chronic bed sores]. J of Gilan University of Medical Sciences 2004; 13(5): 45-51. (Persian)

◆ Effects of *Medicago sativa* Plant on Wound Healing in Animal Model

Yousefi M¹, Shirzad H², Yousefi H^{3*}

(Received: 28 Apr. 2010

Accepted: 29 Sept. 2010)

Abstract

Introduction: Wound which is destruction of tissue is now considered a main problem in medicine. Road traffic accidents cause thousands of wound cases each year. Therefore, investigation in finding new curative approaches for wound healing is very important. According to Iranian traditional medicine, *Medicago sativa* was used as wound healer by different people. In this research, to find a new curative approach, the effects of this plant on wound healing has been investigated.

Materials & Methods: In this interventional investigation, using a sharp knife, a 1cm length wound was made on the back of each of the 35 mice. Then, the mice were randomly classified in to 5 groups. Group1 and 3 were treated with raw fresh extract of *Medicago sativa* and groups 2 and 4 with dried watery extract of the plant.

Group5 was treated with saline as control group.

Findings: The mean of wound size in groups treated with fresh raw extract of the plant was smaller than that of the control group. However, the difference was not statistically significant. Also, healing duration in the group treated with fresh raw extract for five days was considerably better compared with that of the control group.

Discussion & Conclusion: More investigations are recommended to get a stronger result about curative effects of *Medicago sativa*.

Keywords: *Medicago sativa* wound healing, mice

1.Faculty of Medicine, Shahr-e-Kord University of Medical Sciences, Shahr-e-Kord, Iran

2.Dept of Immunology, Faculty of Medicine, Shahr-e-Kord University of Medical Sciences, Shahr-e-Kord, Iran

3.Dept of Mycology, Faculty of Medicine, Shahr-e-Kord University of Medical Sciences, Shahr-e-Kord, Iran (corresponding author)