ارزیابی هیستوپاتولوژیکی اثر اسانس گیاه نعناع فلفلی بر التیام زخم جلدی عفونی شده با مخمر کاندیدا آلبیکنس در موش صحرایی

نازیلا فرهنگی‌قلعه‌جوقی[۱]، محمدرضا فرهپور[۲*]، مسلم نیریزنقده[۳]

چکیده

عفونت‌های زخم ناشی از کاندیدا آلبیکنس (Candida albicans) در سال‌های اخیر رشد چشمگیری داشته است. گران بودن داروها، عوارض جانبی ناشی از آن‌ها و به ویژه توسعه مقاومت دارویی، سبب شد تا استفاده از مواد بیولوژیک به عنوان راه حل‌های جایگزین مطرح گردد. بررسی‌ها نشان می‌دهند که اسانس برگ گیاه نعناع فلفلی (Mentha piperita) به دلیل داشتن فلاونوئید و منتول اثرات ضدباکتریایی از خود نشان می‌دهد. در این مطالعه که بر روی ۱۰۰ موش صحرایی نر نژاد ویستار با میانگین وزنی ۲۰۵-۱۹۵ گرم انجام گرفت، پس از ایجاد بیهوشی عمومی، یک زخم مربع شکل با ابعاد ۱/۵ در ۱/۵ سانتیمتر در محل بین دو کتف ایجاد شده و بلافاصله با ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول حاوی $۱/۵\times۱۰^{۷}$ واحد تشکیل دهنده پرگنه مخمر کاندیدا آلبیکنس عفونی گردیدند. سپس موش‌های صحرایی آزمایش در چهار گروه ۲۵ تایی (شاهد، کنترل و گروه‌های تحت درمان با پمادهای ۱/۵٪ و ۳٪)، و هرگروه خود به ۵ زیرگروه ۵تایی (گروه‌های نمونه برداری در روزهای مختلف) به طور تصادفی تقسیم شدند. در طول اجرای طرح، در پایان روزهای ٤، ۸، ۱۲، ۱٦ و ۲۰ از زخم‌های گروه‌های مختلف، به منظور بررسی‌های هیستوپاتولوژیک، توسط پانچ مخصوص بیوپسی، نمونه اخذ گردید. بر اساس یافته‌های آسیب شناختی، اسانس نعناع فلفلی در شکل موضعی موجب کاهش معنی‌دار میزان آماس، مهاجرت لکوسیت‌ها، و همچنین افزایش معنی‌دار نوزایش عروقی، بافت پوششی، مهاجرت فیبروبلاست‌ها در مقایسه با گروه شاهد گردید. اسانس نعناع بخصوص در دوز بالاتر (۳٪)، موجب افزایش فاکتورهای آسیب شناختی موثر بر روند ترمیم زخم عفونی با کاندیدا آلبیکنس در موش صحرایی گردید.

واژگان کلیدی: *نعناع فلفلی، کاندیدا آلبیکنس، التیام زخم، موش صحرائی.*

تاریخ دریافت: ۹۲/۱۰/۲۳ تاریخ پذیرش: ۹۳/۲/۱٦

مقدمه

عفونت زخم و مخاطرات ناشی از آن همیشه محققان را به دلیل ایجاد مشکلات سلامتی برای انسان به چالش کشانده است بطوریکه تخمین زده شده که در حدود ۱ تا ۲٪ مردم در کشورهای در حال توسعه، از زخم‌های مزمن رنج می‌برند و عفونت در این زخم‌ها دلیل عمده مرگ و میر در افراد آلوده است (۱۷). یکی از این عوامل عفونت‌زا، مخمر کاندیدا آلبیکنس می‌باشد که در شرایط محیطی ویژه، قادر است تا از فرم فرصت‌طلب به فرم پاتوژن تبدیل گردد و در نهایت ایجاد عفونت نماید. یک زخم باز می‌تواند محیطی مناسب از نظر رطوبت و مواد غذایی برای کلونیزاسیون عامل بیماریزای مذکور باشد. از این رو مدیریت زخم‌های باز در طول دوره درمانی می‌تواند به مهار عفونت کمک نماید (۷).

امروزه روش‌های درمانی متنوع بویژه استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها جهت کنترل عفونت کاندیدایی به کار برده می‌شوند. از سوی دیگر مقاومت چند دارویی در میان پاتوژن‌های میکروبی، به یک نگرانی جهانی مبدل شده است(۱٦).

کاندیدا آلبیکنس (Candida albicans) فلور طبیعی غشای مخاطی است (۱). این ارگانیسم یک پاتوژن فرصت طلب می‌باشد به این ترتیب که تغییر در شرایط محیطی مانند نقص شدید سیستم ایمنی، می‌تواند آن را به شکل مهاجم تبدیل نموده و مسبب پیشرفت عفونت‌های مزمن و غیر قابل درمان و حتی مرگ گردد (۱۷). آزول (Azol) و مشتقات آن بویژه فلوکونازول (Fluconazole) به دلیل ویژگی راکد کنندگی فعالیت قارچی، در هر دو شکل موضعی یا دهانی در درمان عفونت‌های کاندیدایی مورد استفاده قرار می‌گیرند (۱). عدم دسترسی آسان و گران بودن داروها، اثرات جانبی و بویژه توسعه مقاومت دارویی منجر به استفاده از مواد بیولوژیکی به عنوان راه‌حل‌های جایگزین گردیده است. در این میان به نظر می‌رسد گیاهان و ترکیباتی که

۱- دانشکده علوم پایه، واحد ارومیه، دانشگاه آزاد اسلامی، ارومیه ایران

*۲- گروه علوم درمانگاهی دامپزشکی، واحد ارومیه، دانشگاه آزاد اسلامی، ارومیه ، ایران.

mrf78s@gmail.com

۳- گروه پاتوبیولوژی دامپزشکی، واحد ارومیه، دانشگاه آزاد اسلامی، ارومیه ، ایران.

Archive of SID

www.SID.ir

از گیاهان مشتق شده‌اند راه‌حل‌های مناسبی برای درمان بیماری‌های عفونی مقاوم باشند (۱۵). یکی از گیاهانی که برخی خواص دارویی آن به اثبات رسیده است اسانس گیاه نعناع فلفلی (Mentha piperita) از تیره نعناعیان می‌باشد. این گیاه به دلیل دارا بودن منتول (Menthol)، منتون (Menthone)، ترکیبات فنول و فلاونوئید (Phenol/flavonoid)، و همچنین اکسید کننده‌هایی مانند پیپریتنون اکسید (Piperitenone oxide) و ترپن‌ها (Trepenes) (۲۰ و ٤) می‌تواند فعالیت های مهاری در برابر باکتری‌ها (مانند استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سرئوس)، ویروس‌ها (مانند آنفلوآنزا و هرپس) و قارچ‌ها (مانند کاندیدا و آسپرژیلوس) داشته باشد (۱۹ و ۵).

در بررسی حاضر اثرات ضد قارچی اسانس نعناع فلفلی بر عفونت‌های جلدی کاندیدا آلبیکنس در شرایط آزمایش بر روی نمونه موجود زنده به شکل آسیب شناختی مورد مطالعه قرار گرفته است.

مواد و روش‌کار

آماده‌سازی اسانس گیاه

برگ‌های تازه گیاه نعناع فلفلی در خردادماه سال ۱۳۹۲ از باغ گیاهان دارویی شهرداری ارومیه جمع آوری و شستشو گردیده و پس از تایید دپارتمان علوم گیاهی و کشاورزی دانشگاه ارومیه، در سایه و در دمای اتاق (۲٤-۲۳ درجه سانتیگراد) خشکانیده و خرد شدند؛ سپس به منظور تهیه اسانس گیاه به مقدار مورد نیاز، در هر بار اسانس گیری در حدود ۱۰۰ گرم از پودر گیاه نعناع فلفلی در بالن نیم لیتری دستگاه کلونجر ریخته شد و مقدار سه تا شش برابر وزن گیاه به آن آب اضافه گردید. اسانس موجود در گیاه با استفاده از دستگاه کلونجر به مدت ۵ ساعت استخراج شد. اسانس بدست آمده پس از آبگیری با سولفات سدیم انیدرید، درون شیشه رنگی کوچک جمع‌آوری گردید و تا روز ساخت پماد در یخچال نگهداری گردید (۲۰).

تهیه پماد پایه

به منظور آماده‌سازی پمادهای درمانی ۱/۵ و ۳ درصد، به ترتیب ۱/۵ و ۳ سی‌سی از اسانس خالص تهیه شده از برگ های گیاه نعناع به ۱۰۰ گرم پماد پایه که از قبل تهیه شده بود، اضافه گردید. پماد پایه از ترکیب ۷۰ گرم وازلین و ۳۰ گرم اوسرین آماده شده بود(۱۳و ۷).

حیوانات مورد آزمایش

۱۰۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با محدوده وزنی ۲۰۵-۱۹۵ گرم و محدوده سنی ۹ الی ۱۱ هفته از محل نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه تهیه گردیدند. حیوانات به مدت ۱۰ روز در قفس های جداگانه در محل آزمایش به منظور تطابق با شرایط محیطی جدید نگهداری شدند. قفس‌های نگهداری حیوانات از نظر شرایط دمایی (۳±۲۲ درجه سانتیگراد)، رطوبت (۵±٦۰٪) و نوردهی (۱۲ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی) در شرایط استاندارد بودند. در طول تحقیق حیوانات به شکل دستی، توسط غذای مخصوص حیوانات آزمایشگاهی تغذیه گردیدند و به آب و غذا دسترسی آزاد داشتند. پروتکل این مطالعه مطابق اصول اخلاقی مورد تائید کمیته‌های بین المللی حمایت از حقوق حیوانات آزمایشگاهی انجام گردیده است.

نحوه تیمار زخم ها

پس از ایجاد زخم، تمام موش‌ها به طور تصادفی به چهار گروه ۲۵ تایی تقسیم شدند. گروه اول (شاهد) هیچگونه درمانی را دریافت نکردند؛ گروه دوم (گروه کنترل) با استفاده از پماد پایه حاوی ترکیب ۷۰ گرم وازلین و ۳۰ گرم اوسرین، گروه‌های سوم و چهارم (گروه‌های تحت درمان) به ترتیب با پمادهای حاوی ۱/۵ و ۳ درصد اسانس گیاه نعناع فلفلی تیمار شدند. در حدود ۱ گرم پماد به طور موضعی، به شکل روزانه (یک بار در روز) بر روی محل زخم تا زمان بهبودی کامل قرار داده شد(۱٦ و ٦).

www.SID.ir

آماده‌سازی سوسپانسیون مخمر

در ابتدا، سویه استاندارد کاندیدا آلبیکنس (PTCC 5022) بر روی محیط کشت سابورود دکستروز آگار همراه با کلرامفنیکل به مدت ٤٨ ساعت در دمای ٣٧ درجه سانتیگراد کشت داده شد. سپس با استفاده از کلونی های ظاهر شده، استاندارد نیم مک فارلند تهیه گردید (٣).

نحوه ایجاد زخم

پس از القای بیهوشی عمومی با تزریق عضلانی ٥mg زایلازین ٢٪ و ٥٠mg کتامین ٥٪، موش‌ها به صورت شکمی بر روی میز جراحی قرار گرفتند و سپس سطح پشتی موش‌ها از ناحیه بین دو کتف تا ایلئوم آماده سازی و اسکراب جراحی شد. پس از آماده سازی محل زخم و ضد عفونی نمودن محل زخم با الکل ٧٠°، زخم تمام ضخامت به شکل مربع (١/٥×١/٥cm) در ناحیه بین دو کتف ایجاد گردید. بلافاصله پس از ایجاد زخم، محل زخم توسط ٠/٥ml از سوسپانسیون مخمر کاندیدا آلبیکنس آلوده گردید. سپس موش‌های مورد آزمایش در چهار گروه ٢٥ تایی (شاهد، کنترل و دو گروه تحت درمان با پمادهای ١/٥ و ٣٪) به طور تصادفی تقسیم و هر گروه خود به ٥ زیرگروه ٥ تایی (گروه‌های نمونه برداری در روزهای ٤، ٨، ١٢، ١٦ و ٢٠) تقسیم شدند. بعد از سپری شدن ٢٤ ساعت (به منظور کلونیزاسیون مخمر) درمان موضعی آغاز گردید (١٦و ٦).

تهیه مقاطع هیستوپاتولوژیک

در روزهای ٤، ٨، ١٢، ١٦ و ٢٠ پس از جراحی از زخم‌های گروه‌های شاهد، کنترل و درمان نمونه‌ی بافتی برداشته شد(١٦). بدین ترتیب که ٥ حیوان بطور تصادفی از هر گروه انتخاب می‌گردید و پس از ایجاد بیهوشی به روش ذکر شده و انجام عمل اسکراب معمول جراحی، تحت شرایط آسپتیک توسط پانچ بیوپسی، نمونه‌ای به قطر ٧mm از تمام ضخامت بافت التیامی اخذ می‌گردید. نمونه بافتی اخذ شده به منظور پایدار کردن در فرمالین بافر ١٠٪ قرار داده شده و به آزمایشگاه پاتولوژی جهت انجام سایر مراحل آماده‌سازی و تهیه مقطع منتقل گردید. پس از تثبیت و قالب گیری نمونه‌های بافتی در پارافین، توسط میکروتوم مقاطعی به ضخامت ٥ میکرون تهیه وبه روش هماتوکسیلین ـ ائوزین (جهت شمارش سلولی) رنگ‌آمیزی گردید (١٦). در این بررسی پارامترهای آسیب‌شناختی نشان‌دهنده پیشرفت ترمیم از جمله نوزایش عروقی، سلول‌های التهابی، میزان تشکیل لایه شاخی و ضخامت آن، مهاجرت فیبروبلاستی، حجم توده کلاژن و میزان بلوغ کلاژن بر اساس رتبه‌بندی گزارش گردید (جدول ١) (١٣).

جدول ١ـ پارامترهای آسیب شناختی نشان دهنده پیشرفت ترمیم زخم و نحوی رتبه بندی آنها.

امتیاز	سلول‌های التهابی	نو زایش عروقی	فیبروبلاست	کلاژن	تشکیل بافت پوششی
٠	عدم حضور	عدم حضور	عدم حضور	عدم حضور	ضخیم شدن لبه های برش
١	خفیف (اطراف بافت)	خفیف (بافت زیر جلد)	خفیف (اطراف بافت)	خفیف (بافت جوانه‌ای)	مهاجرت سلول‌های پوششی کمتر از ٥٠ ٪
٢	خفیف (بافت جوانه‌ای و خط دمارکاسیون)	خفیف (بافت جوانه‌ای)	خفیف (بافت جوانه‌ای)	حداقل (بافت جوانه‌ای)	مهاجرت سلول‌های پوششی بیشتر از ٥٠ ٪
٣	متوسط (بافت جوانه‌ای و خط دمارکاسیون)	متوسط (بافت جوانه‌ای)	متوسط (بافت جوانه‌ای)	متوسط (بافت جوانه‌ای)	پل زدن ناحیه برش
٤	برجسته(بافت جوانه‌ای و خط دمارکاسیون)	برجسته(بافت جوانه‌ای)	برجسته(بافت جوانه‌ای)	برجسته(بافت جوانه‌ای)	شاخی شدن

Archive of SID

www.SID.ir

تجزیه و تحلیل آماری

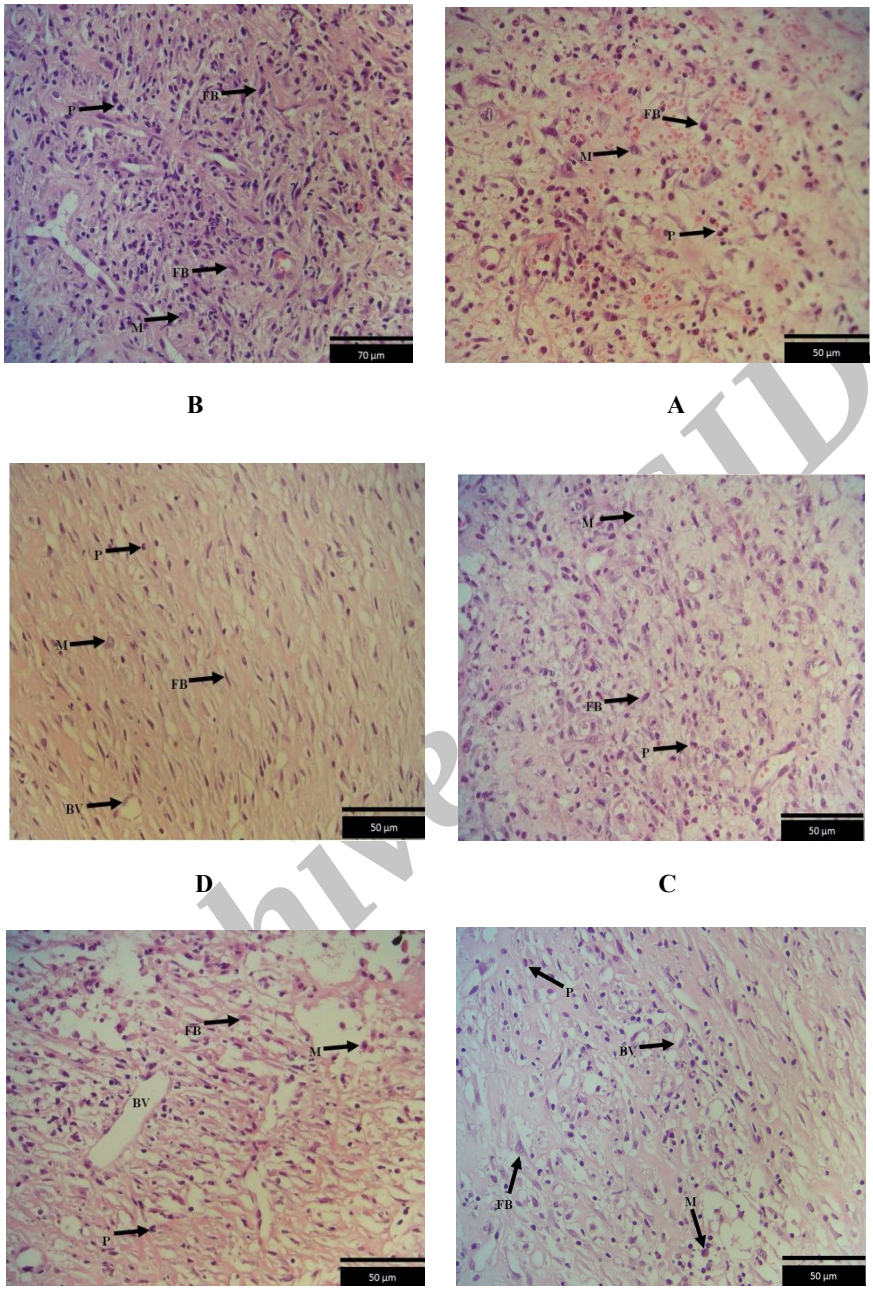
داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف استاندارد(ها) ارائه شده است. نرمال بودن توزیع داده‌ها را برای متغیرهای بافت‌شناسی با استفاده از آزمون کولموگروف ـ اسمیرنوف مورد بررسی قرار گرفت. برای بررسی اختلاف معنی‌دار آماری، متغیرهای بین ۲ گروه، در هر بار اندازه‌گیری، با استفاده از مدل خطی عمومی برای اندازه گیری های مکرر (برای LDF) یا ویلکاکسون زوج نمونه آزمون (برای پارامترهای بافتی) رتبه مقایسه شد. برای تغییر میان گروهی بین فواصل زمانی اندازه‌گیری در طول فرایند بهبود زخم، آزمون کروس ـ کالوالیس انجام شد. برای هر مقایسه، تفاوت در$p< ۰/۰۵$ در نظر گرفته شد. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار کامپیوتری انجام شد (SPSS، نسخه ۱۸، شیکاگو، ایلینوی، ایالات متحده آمریکا).

نتایج

پس از بررسی و درج نتایج حاصل از گروه‌های شاهد، کنترل و درمانی با پمادهای حاوی ۱/۵ و ۳٪ اسانس گیاه نعناع فلفلی، در جدول ۲ و مقایسه آنها با گروه شاهد، مشاهده گردید که در روز چهارم پس از جراحی، شدت آماس در گروه درمانی با پماد درمانی ۳٪ به میزان معنی‌داری نسبت به سه گروه شاهد، کنترل و درمانی ۱/۵٪ کاهش یافته است ($p< ۰/۰۵$). در همین روز از لحاظ مهاجرت سلول‌های ایمنی چند هسته‌ای و حضور سلول‌های مخمر کاندیدا آلبیکنس در محل زخم، کاهش معنی‌داری در گروه درمانی با پماد درمانی ۳٪ درصد اسانس گیاه نعناع فلفلی در مقایسه با سه گروه دیگر مشاهده گردید($p< ۰/۰۵$). از لحاظ نوزایش عروقی نیز، افزایش معنی‌داری در گروه درمانی با پماد ۳٪ مشاهده گردید ($p< ۰/۰۵$). اما در مقایسه سایر پارامترهای مورد بررسی تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید(جدول ۲).

در روز هشتم پس از جراحی، شدت آماس در گروه درمانی با پماد ۳٪ اسانس گیاه نعناع فلفی در مقایسه با سه گروه دیگر، و همچنین پماد ۱/۵٪ با گروه شاهد و کنترل مشاهده گردید ($p< ۰/۰۵$). در همین روز از لحاظ مهاجرت سلول‌های ایمنی به محل زخم، کاهش بسیار قابل توجه و معنی‌داری در حضور سلول‌های ایمنی چند هسته‌ای و افزایش سلول‌های ایمنی تک هسته‌ای، در گروه درمانی با پماد ۳٪ اسانس گیاه نعناع فلفلی در مقایسه با سه گروه دیگر، و همچنین پماد ۱/۵٪ با گروه شاهد و کنترل مشاهده گردید($p< ۰/۰۵$). از لحاظ نوزایش عروقی، نوزایش بافت پوششی و مهاجرت سلول‌های فیبروبلاست به محل زخم، در گروه درمانی با پماد ۳٪ اسانس گیاه نعناع فلفلی در مقایسه با سه گروه دیگر، و همچنین پماد ۱/۵٪ با گروه شاهد و کنترل مشاهده گردید($p< ۰/۰۵$). همچنین از نظر تشکیل لایه های شاخی، پماد ۳٪ از روز هشتم به میزان قابل توجهی شروع اپیتلیزاسیون را نشان می دهد که با روند صعودی ادامه یافته و در روز بیستم به حداکثر می رسد. در سه گروه دیگر اپیتلیزاسیون از روز دوازدهم مشاهده شده و با روند متوسطی تا روز شانزدهم ادامه می یابد. این روند متوسط در گروه درمانی با پماد ۱/۵٪ بسیار محسوس‌تر است. حداکثر میزان اپیتلیزاسیون در گروه‌های شاهد و کنترل در روز بیستم بوده که با میزان آن در روز دوازدهم گروه درمانی ۳٪ برابری می کند. اما در مقایسه سایر پارامترهای مورد بررسی تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید(جدول ۲). در روزهای دوازده و شانزده پس از جراحی، پارامترهای نشان دهنده‌ی شدت آماس، نوزایش عروقی و سلول‌های ایمنی روند کاهشی داشته و تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید. اما در دو پارامتر نوزایش بافت پوششی و همچنین حضور سلول‌های فیبروبلاست در محل زخم، افزایش معنی‌داری در گروه درمانی با پماد ۳٪ اسانس گیاه نعناع فلفلی در مقایسه با سایر گروه‌ها و همچنین پماد ۱/۵٪ با گروه شاهد و کنترل مشاهده گردید ($p< ۰/۰۵$) (جدول ۲). در رور بیست بعد از جراحی کلیه پارامترهای مورد بررسی، روند نزولی داشته و تنها در میزان ضخامت بافت پوششی در گروه درمانی با پماد ۳٪ اسانس گیاه نعناع فلفلی در مقایسه با دو گروه شاهد و کنترل تفاوت معنی‌داری مشاهده گردید(نگاره ۱) ($p< ۰/۰۵$).

Archive of SID
www.SID.ir



نگاره ۱ـ نمای میکروسکوپی از سطح مقطع پوست پس از ٤ روز از ایجاد عفونت در محل زخم؛A و C به ترتیب گروه‌های درمانی با پماد ۳٪ و ۱/۵٪ اسانس نعناع و B گروه کنترل با حضور قابل توجه سلول‌های ایمنی و آماس. و نمای میکروسکوپی از سطح مقطع پوست پس از ۱۲ روز از ایجاد عفونت در محل زخم D و F به ترتیب گروه‌های درمانی با پماد ۳٪ و ۱/۵٪ اسانس نعناع و E گروه کنترل. فیبروبلاست (FB)، سلول‌های ایمنی چند هسته‌ای (P)، سلول ماکروفاژ (M) و عروق خونی تازه تشکیل شده (BV). (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین ـ ائوزین، بزرگنمایی x ۲۰۰)

www.SID.ir

جدول ۲- نتایج پارامترهای آسیب شناختی موثر در روند ترمیم زخم در گروه‌های مورد مطالعه

گروه‌ها	پارامترهای مورد سنجش				
	شدت آماس	مهاجرت سلول‌های ایمنی	نوزایش عروق	فیبروبلاست	نوزایش بافت پوششی
شاهد روز چهارم	++++	++++	+	+	+
شاهد روز هشتم	+++	+++	++	++	+
شاهد روز دوازدهم	++	++	++	+++	+
شاهد روز شانزدهم	+	+	++	++	++
شاهد روز بیستم	–	–	+	+	++++
کنترل روز چهارم	++++	++++	+	+	+
کنترل روز هشتم	+++	++	++	++	+
کنترل روز دوازدهم	+	++	+++	+++	++
کنترل روز شانزدهم	+	+	++	++	++
کنترل روز بیستم	–	–	+	+	++++
پماد ۱/۵٪ روز چهارم	+++	+++	+	+	–
پماد ۱/۵٪ روز هشتم	++	++[ab]	++[b]	++[b]	–
پماد ۱/۵٪ روز دوازدهم	+	+	++	+++[b]	++
پماد ۱/۵٪ روز شانزدهم	+	+	++	++	++++[ab]
پماد ۱/۵٪ روز بیستم	–	–	++	+	++++
پماد ۳٪ روز چهارم	+++	++[a]	+++[a]	+	–
پماد ۳٪ روز هشتم	+[a]	+[a]	++++[a]	+++[a]	++[a]
پماد ۳٪ روز دوازدهم	+	+	++	++++[a]	++++[a]
پماد ۳٪ روز شانزدهم	+	+	++	+++	++++[ab]
پماد ۳٪ روز بیستم	–	–	+	+	++++

a، b، ab: حروف غیر یکسان نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در مقایسه با گروه شاهد است ($p<۰/۰۵$).

بحث

نتایج آسیب شناختی حاصل از این پژوهش نشان داد که استفاده موضعی از اسانس برگ گیاه نعناع فلفلی در شرایط آزمایش بر روی نمونه موجود زنده، موجب توقف عفونت‌زایی زخم پوستیِ آلوده شده به مخمر کاندیدا آلبیکنس می‌گردد.

مطالعات بسیاری در زمینه خواص ضد قارچی اسانس نعناع فلفلی، بدلیل دارا بودن مقادیر بالایی از منتول، تیمول، کارواکرول در محیط آزمایشگاه انجام گرفته است و بر همین اساس نشان داده شده است که این ترکیبات مهمترین اجزای موثر در فعالیت ضدقارچی و ضد میکروبی گیاه نعناع فلفلی می‌باشند(۱۹ و ۵).

تیمول بخشی از اسانس و فرآورده‌های طبیعی حاصل از بسیاری از گیاهان می باشد که به عنوان ترکیب طبیعی ضد باکتریایی قوی به تنهایی یا در ترکیب با سایر مواد ضدباکتریایی بکار برده می‌شود. فعالیت‌های ضدباکتری، آنتی‌اکسیدان و ضدقارچ تیمول موضوع بسیاری از مطالعات بوده است (۱٤). بخصوص، نشان داده شده است تیمول در شرایط آزمایشگاهی در برابر قارچ‌ها و مخمرهای بیماری‌زا، از جمله آسپرژیلوس، کاندیدا آلبیکانس اثرات مهارکنندگی بالایی دارد(۸).

Archive of SID
www.SID.ir

نشان داده شده است تیمول به عنوان یک ترکیب قارچ‌کش، تاثیر بسیار قوی در برابر سویه‌ی مقاوم کاندیدا آلبیکانس به فلوکونازول، در موارد جدا شده از موجود زنده، در ترکیب با فلوکونازول و یا آمفوتریسین B و حتی به تنهایی دارد (۹). میکایلی و همکاران در یک مطالعه بر روی موجود زنده نشان دادند که عصاره آبی گیاه گون بدلیل دارا بودن مقادیر متنابهی از تیمول، موجب مهار عفونت سیستمیک و جلدیِ ناشی از کاندیدا آلبیکنس می گردد (۱۲).

بر همین اساس Tyagi و Malik طی مطالعات آزمایشگاهی خود نشان دادند که اسانس نعناع فلفلی قادر است از طریق جلوگیری از تغییر شکل در دیواره مخمر کاندیدا آلبیکنس مانع از ایجاد شکل پاتوژن و در نهایت مهار عفونت گردد (۲۰). همچنین Mathur و همکاران نشان دادند که عصاره متانولی نعناع فلفلی فعالیت ضد قارچی بسیار خوبی در برابر سویه های قارچی کاندیدا آلبیکنس، ساکارومیسز سرویزیه و پنیسیلیوم نوتاتوم دارد (۱۱).

فرآیند بهبود زخم، در انواع مختلف زخم پیچیده بوده و با توجه به همپوشانی فیزیولوژیکی، به سه مرحله التهاب، تکثیر بافت همبند، و بازسازی تقسیم می‌گردد. وقوع دقیق تمام این مراحل در زمان مناسب، باعث می شود فرآیند بازسازی و بهبود زخم به صورت عادی امکان پذیر شود. حال افزایش سرعت هر یک از این مراحل یاد شده ترمیم، موجب تسریع کلی زمان بهبودی زخم می‌شود (۲). چند ساعت بعد از وقوع زخم مرحله التهابی با ورود سلول‌های ایمنی چندهسته‌ای آغاز می‌شود و پس از ٤٨ ساعت با ورود سلول‌های ایمنی تک هسته‌ای و تولید بافت جوانه‌ای تداوم می‌یابد (۲). وجود این سلول‌های ایمنی چند هسته‌ای به منظور کوتاه شدن مرحله التهابی و هم چنین برای به حداقل رساندن درد و اسکار مورد نیاز است(۱۸). نتایج حاصل از پژوهش حاضر نشان داد که استفاده موضعی از پماد حاوی اسانس برگ گیاه نعناع فلفلی، بخصوص در دوز بالاتر (۳٪)، موجب کاهش طول دوره التهاب و شروع مرحله دوم روند التیام زخم عفونی شده با مخمر کاندیدا آلبیکنز، با کاهش معنی‌دار سلول‌های فاز التهابی، یعنی نوتروفیل‌ها و همچنین افزایش اصلی‌ترین سلول ایمنی فاز ترمیم یعنی ماکروفاژها و بدنبال آن افزایش معنی‌دار نوزایش عروقی، و در نتیجه افزایش سرعت بهبودی در مرحله اول فرآیند ترمیم زخم در مقایسه با گروه کنترل گردیده است($p< ۰/۰۵$). از سوی دیگر نشان داده شده است ماکروفاژها با جلوگیری از گلیکوزیلاسیون دیواره کاندیدا آلبیکنس، از تغییر مورفولوژیکی مخمر مذکور و تولید هیف و بدنبال آن تولیدمثل مخمر جلوگیری کرده، و در نتیجه موجب مهار رشد و تکثیر آن گردیده‌اند؛ همچنین از سوی دیگر ماکروفاژها با انجام فاگوسیتوز موجب کاهش تعداد آنها می-گردند (۱۰).

ارزیابی آسیب‌شناختی در روزهای هشت و دوازدهم پس از ایجاد زخم نشان‌دهنده‌ی شروع مرحله‌ی دوم زخم، مرحله تزاید سلولی با افزایش مهاجرت سلول‌های فیبروبلاست و همچنین شروع نوزایش بافت پوششی می‌باشد (۲). نتایج حاصل از پژوهش حاضر نشان داد که استفاده موضعی از پماد حاوی اسانس برگ گیاه نعناع فلفلی، بخصوص در دوز بالاتر (۳٪)، موجب افزایش معنی‌دار مهاجرت فیبروبلاست‌ها به محل زخم و نوزایش بافت پوششی و در نتیجه افزایش سرعت بهبودی در مرحله دوم فرآیند ترمیم در مقایسه با گروه شاهد و کنترل گردیده است ($p< ۰/۰۵$).

ارزیابی آسیب‌شناختی در روزهای پایانی نشان‌دهنده‌ی وضعیت مرحله‌ی بلوغ زخم، با افزایش تراکم و باندل شدن کلاژن‌های ترشحی و همچنین تولید بافت شاخی می‌باشد (۲). نتایج حاصل از پژوهش حاضر نشان داد که استفاده موضعی از پماد حاوی اسانس برگ گیاه نعناع فلفلی، بخصوص در دوز بالاتر (۳٪)، موجب افزایش معنی‌دار ترشح کلاژن در محل زخم و ضخامت بافت پوششی و در نتیجه افزایش سرعت بهبودی در مرحله پایانی فرآیند ترمیم در مقایسه با گروه شاهد و کنترل گردیده است ($p< ۰/۰۵$).

Archive of SID

www.SID.ir

با توجه به نتایج حاصل از پژوهش حاضر و سایر محققین، می‌توان چنین بیان کرد که اسانس گیاه نعناع فلفلی بدلیل دارا بودن تیمول، منتول، ترکیبات فنول و فلاونوئید، و همچنین اکسید کننده‌هایی مانند پیپریتنون اکسید و ترپن‌ها دارای خاصیت ضد باکتریایی و ضد مخمری بخصوص کاندیدا آلبیکنس بوده و همچنین بدلیل خاصیت آنتی اکسیدانی ترکیبات شیمیایی یاد شده، توانسته علاوه بر کنترل عفونت پوستی تجربی موجب افزایش سرعت ترمیم نیز شود.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که استفاده موضعی از اسانس گیاه نعناع فلفلی بخصوص پماد ۳٪ در ارزیابی آسیب شناختی، موجب بروز اثرات مثبت آن در روند التیام زخم‌های تمام ضخامت عفونی با کاهش زمان مرحله التهابی و میزان عفونت بافتی و همچنین افزایش نوزایش عروقی، مهاجرت فیبروبلاستی و نوزایش بافت پوششی می‌باشد. در مجموع پماد ۳٪ از لحاظ تاثیرگذاری نسبت به گروه ۱/۵٪ بهتر، و گروه کنترل بسیار بهتر عمل کرده است.

فهرست منابع

1. Agarwal, V., Lal, P., Pruthi, V. (2010): Effect of Plant Oils on Candida albicans. J. Microbiol. Immunol. Infect. 43(5): 447-51.
2. Beldon, P. (2010): Basic science of wound healing. Surgery (Oxford). 28(9): 409-412.
3. Brown, A.E. (2009): Benson's Microbiological Applications: Laboratory Manual in General Microbiology, Short Version: McGraw Hill.
4. Conforti, F., Sosa, S., Marrelli, M., Menichini, F., Statti, G.A., Uzunov, D., et al. (2008): In vivo anti-inflammatory and in vitro antioxidant activities of Mediterranean dietary plants. J. Ethnopharmacol. 116(1): 144-51.
5. Dambolena, J.S., López, A.G., Rubinstein, H.R., Zygadlo, J.A. (2010): Effects of menthol stereoisomers on the growth, sporulation and fumonisin B1 production of Fusarium verticillioides. Food Chem. 123(1): 165-70.

susceptibility of drug resistant bacteria. Int. J. Food Microbiol. 140 (2): 164-168.

6. Farahpour, M., Habibi, M. (2012): Evaluation of the wound healing activity of an ethanolic extract of Ceylon cinnamon in mice. Vet. Med. 57(1): 53-7.
7. Ghosh, V., Saranya, S., Mukherjee, A., Chandrasekaran, N. (2013): Antibacterial microemulsion prevents sepsis and triggers healing of wound in wistar rats. Colloid Surface B. 105.
8. Giordani, R., Regli, P., Kaloustian, J., Mikail, C., Abou, L., Portugal, H. (2004): Antifungal effect of various essential oils against Candidaalbicans. Potentiation of antifungal action of amphotericin B by essential oil from Thymus vulgaris. Phytotherapy Res. 18(12): 990-995.
9. Guo, N., Liu, J., Wu, X., Bi, X., Meng, R., Wang, X., Xiang, H., Deng, X., Yu, L. (2009): Antifungal activity of thymol against clinical isolates of fluconazole-sensitive and-resistant Candida albicans. J. Med. Microbiol. 58(8): 1074-1079.
10. Lewis, L.E., Bain, J.M., Lowes, C., Gillespie, C., Rudkin, F.M., Gow, N.A., Erwig, L.P. (2012) Stage specific assessment of Candida albicans phagocytosis by macrophages identifies cell wall composition and morphogenesis as key determinants. PLoS pathogens. 8(3): e1002578.
11. Mathur, A., Purohit, R., Mathur, D., Prasad, G., Dua, V. (2011): Pharmacological investigation of methanol extract of Mentha piperita L. roots on the basis of antimicrobial, antioxidant and anti-inflammatory properties. Der. Pharmacia. Sinica. 2(1):470-477.
12. Mikaeili, A., Karimi, I., Shamspur, T., Gholamine, B., Modaresi, M., Khanlari, A. (2012): Anti-candidal activity of Astragalus verus in the in vitro and in vivo guinea pig models of cutaneous and systemic candidiasis. Rev. Bras. Farmacog. 22(5): 1035-1043.
13. Ozay, Yusuf, Ozyurt, Sabri, Guzel, Sevda, Cimbiz, Ali, Olgun, Esra, G., Kasim Cayci, M. (2010): Effects of equisetum arvense ointment on dermal wound healing in rats. Wounds. 22(10): 261.
14. Palaniappan, K., Holley, R.A. (2010): Use of natural antimicrobials to increase antibiotic

Archive of SID
www.SID.ir

15. Raja, R.D.A., Jeeva, S., Prakash, J.W., Antonisamy, J.M., Irudayaraj, V. (2011): Antibacterial activity of selected ethnomedicinal plants from South India. Asia. PAC. J. Trop. Med. 4(5): 375-8.
16. Sasidharan, S., Nilawatyi, R., Xavier, R., Latha, L.Y., Amala, R. (2010): Wound healing potential of Elaeis guineensis Jacq leaves in an infected albino rat model. Molecules. 15(5): 3186-99.
17. Siddiqui, A.R., Bernstein, J.M. (2010): Chronic wound infection: facts and controversies. Clin Dermatol. 28(5): 519-26.
18. Singer, A.J., Clark, R. (1999): Cutaneous wound healing. N. Engl. J. Med. 341(10): 738-46.
19. Singh, R., Shushni, M.A., Belkheir, A. (2011): Antibacterial and antioxidant activities of Mentha piperita L. Arab. J. Chem. In Press.
20. Tyagi, A.K., Malik, A. (2011): Antimicrobial potential and chemical composition of Mentha piperita oil in liquid and vapour phase against food spoiling microorganisms. Food Control. 22(11): 1707-14.

Archive of SID

www.SID.ir