اثر آنتی اکسیدانی نانوذره های مس پوشش داده شده با عصاره گیاه آرتمیزیا آنووا در سوختگی درجه دو در موش سوری

فرزانه توکلی [۱]، بهناز کریمی بابا احمدی [۱*]، موسی جاودانی[۲]، جهانگیر کبوتری کتج [۱]

چکیده

سوختگی، واکنش‌های پیچیده‌ی التهابی و ساخت رادیکال‌های آزاد را تحریک میکند. گیاه آرتمیزیا آنووا (Artemisia annua) با دارا بودن ویژگی‌های آنتی آماسی، آنتی اکسیدانی و آنتی میکروبی پتانسیل بالایی در بهبود فرآیند ترمیم زخم دارد. در این پژوهش اثر پماد نانوذره مس پوشش داده شده با عصاره آرتمیزیا آنووا بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در سوختگی درجه دو در موش سوری مورد پژوهش قرار می‌گیرد. پس از سنتز سبز نانوذره‌های مس و ایجاد سوختگی درجه ۲، ۱۰۰ سر موش سوری نر در ۵ گروه، کنترل بدون درمان، گروه پماد اوسرین، گروه پماد٪ ۰/۲ نانوذره‌های مس، گروه پماد٪ ۰/۲ نانوذره‌های مس ساخت شده با عصاره آرتمیزیا آنووا و گروه پماد٪ ۵ عصاره آرتمیزیا آنووا مورد استفاده قرار گرفت. فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و میزان لیپید پراکسیداسیون در هموژنات بافتی در روزهای ۱۴،۷،۳، و ۲۱ اندازه‌گیری شد. پماد نانوذره مس پوشش داده شده فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز را در روز ۷ به شکل معنی داری نسبت به گروه کنترل افزایش داد ($p<0.05$). همچنین در روزهای ۱۴، ۷ و ۲۱ کاهش معنی داری در اندازه مالون دی آلدئید نسبت به گروه کنترل دیده شد ($p<0.05$). عصاره گیاه دارویی آرتمیزیا آنووا برای ساخت و پوشش‌دهی نانوذره‌های مس سودمند است. در کنار ویژگی‌های سودمند عصاره گیاهی، نانوذره‌های مس، سبب اثر هم افزایی در نیرومند سازی توان آنتی اکسیدانی و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی در بافت زخم و بهبود فرآیند ترمیم زخم‌های سوختگی درجه دو در موش سوری می‌شود.

واژگان کلیدی: سوختگی درجه دو، گیاه آرتمیزیا آنووا، آنتی اکسیدان، نانوذره‌های مس

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۲/۲۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۲/۱۰

مقدمه

سوختگی همه‌گیرترین و ویرانگرترین شکل زخم است که به طور معمول با التهاب غیر طبیعی، ساخت ناکافی ماتریکس برون سلولی، کاهش رگزایی و تراوش سازه های رشد همراه است که می تواند به طور چشمگیری بهبود زخم را کند کرده و سبب بروز پیامدهایی می شود (۱). هموستاز یک گام بایسته برای شروع و ادامه روند بهبود زخم است که با کموتاکسی، افزایش واکنش‌های شیمیایی و افزایش ساخت رادیکال‌های آزاد همراه است. تولید رادیکال‌های آزاد سوپراکسید و هیدروکسید در نتیجه مستقیم آسیب حرارتی، نکروز بافتی و نارسائی در فعالیت در میتوکندری رخ می‌دهد. همچنین، فعال سازی آنزیم NADPH اکسیداز، گزانتین اکسیداز (XO) و سوپراکسید دیسموتاز (SOD) نیز می‌تواند سبب ساخت گونه‌های پراکسید هیدروژن (H_2O_2) شود. غلظت های متعادل رادیکال‌های آزاد (ROS) میانجی نخستین در روند ترمیم زخم‌های سوختگی به شمار رفته و چندین اثر مفید دارد. پژوهش ها نشان داده است که ROS یک محرک کموتاکتیک برای نوتروفیل ها در زخم است و سبب تقویت اثر باکتری کشی آن‌ها می شود و نقش مهمی در آغاز تکثیر و مهاجرت کراتینوسیت ها دارد (۲). غلظت بالای رادیکال‌های آزاد و حذف ناکارآمد آنها به طور مستقیم با لیپیدهای سلولی، پروتئین‌ها و DNA واکنش داده، سبب آسیب سلولی و کند شدن روند بهبود زخم‌ها می‌شود. برای رویاروئی با واکنش‌های اکسیداسیون بیش از حد در بافت گرانوله، سه آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز

*۱- ۱گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران
Karimibabaahmadi@sku.ac.ir
۲- گروه علوم بالینی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

(CAT) و گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) نقش چشمگیری دارند (۳)

نانوتکنولوژی نقش برجسته‌ای در پژوهش‌های نوین دارد. امروزه متخصصین نانوبیوتکنولوژی با درهم آمیختن علوم مهندسی، شیمی و زیست شناسی در پی ارائه راهکارهای درمانی مناسب و جدید برای بهبود و بازسازی زخم‌های ناشی از سوختگی هستند. در میان فلزها مس نسبت به طلا و نقره، ارزان‌تر و راحت‌تر در دسترس و یک عنصری ضروری برای بسیاری از فرآیندهای متابولیک طبیعی است. مس فعالیت آنتی میکروبی چشمگیری دارد و یک سازه کارآمد در بهبودی زخم‌های پوستی، بازسازی پوست و در درمان‌های ضد التهابی است و با افزایش ساخت سازه‌های رشد، سبب بهبود زخم‌های پوستی می‌شود. نانوذره‌های مس سبب افزایش مهاجرت فیبروبلاست ها و برانگیختن ساخت رگ‌های خونی جدید می‌شوند (٤). ساخت نانوذره‌ها با روش‌های معمول شیمیایی و فیزیکی ترکیب‌های ناخواسته و زیانباری را بدنبال دارد که برای محیط زیست و سامانه‌های زیستی خطرناک هستند. از این رو ساخت نانوذره‌های مس با هزینه کم، دسترسی آسان و با روش‌های سازگار با محیط زیست بایسته است. سنتز سبز نانوذره های با روش‌های زیستی مانند استفاده از عصاره های گیاهی، کاربرد گسترده‌ای در صنایع غذایی و علوم پزشکی یافته است (۵). گیاه آرتمیزیا آنووا یکی از گیاهان بوته‌ای و کوچک می‌باشد که بیشتر در آسیا، اروپا و شمال آمریکا پراکندگی دارد. این گیاه در بخش‌های گوناگون ایران نزدیک به ٣٤ گونه علفی یک ساله و چندساله دارد. بخش‌های گوناگون گیاه آرتمیزیا آنووا (*Artemisia annua*) دارای سزکوئی‌ترپن‌ها، فلاوونوئیدها، کومارین‌ها، تری ترپنوئیدها، استروئیدها، فنول‌ها، پورین‌ها و لیپیدها هستند. مقدار چشمگیر فنول‌ها و فلاوونوئیدها در بخش‌های گوناگون گیاه، ویژگی آنتی اکسیدانی برجسته‌ای به این گیاه بخشیده است. همچنین عصاره آن دارای اجزای فنلی مانند تانن، گزانتین، کومارین و فلاوونوئیدها و ریزمغذی‌ها، مس، روی و منگنز می‌باشد که آنتی اکسیدان قوی هستند (٦). آرتمیزینین یک سزکوئی‌ترپن و ماده کارآمد در این گیاه است که سبب ویژگی‌های ضدالتهابی، ضد باکتریایی و ضد توموری گیاه می‌گردد. پژوهش ها نشان داده است که اثرهای ضد التهابی آرتمیزینین با مهار آنزیم نیتریک اکسید سنتتاز القایی (iNOS) و مهار فعال سازی مسیر سیگنالینگ NF-kB و MAPK بروز می‌یابد (۷). اسانس روغنی گیاه آرتمیزیا آنوا ، سرشار از مونو و سسکوئی ترپن های قوی و دارای ویژگی ضد باکتریایی قوی در برابر برخی از باکتری های گرم منفی و گرم مثبت است. این اثرات ضد باکتریایی به ترکیباتی مانند وربنول، کافور، سینئول، لینالول، بورنئول، سیمن، سابینن، α و β توجون و ۱،۸- سینئول نسبت داده می‌شود که ممکن است ساز و کار دیگری برای تقویت زخم سوختگی باشد (۸). هدف از این پژوهش بررسی فعالیته نانوذره‌های مس ساخته شده از عصاره گیاه آرتمیزیا آنووا بر کنش آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در زخم‌های سوختگی درجه دو در موش سفید آزمایشگاهی بوده است.

مواد و روش‌کار

عصاره گیری

پودر گیاه آرتمیزیا آنووا از شرکت داروسازی رها اکسیر فارمد کاشان فراهم شد. برای تهیه عصاره آبی، ۷،۵ گرم پودر برگ گیاه به ۱۵۰ میلی لیتر آب مقطر دوبار تقطیر افزوده شده، به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۸۰ درجه ساتیگراد روی دستگاه همزن قرار می گرفت و سپس در دمای ٤٦ درجه سانتیگراد به مدت ٢٤ ساعت به هم زده می شد. محلول به دست آمده با استفاده از کاغذ صافی شماره ٤٠ صاف و در ادامه سانتریفیوژ شده، مایع رویی آن جدا و در یخچال نگهداری می شد.

ساخت نانوذره‌های مس پوشش داده شده

در ابتدا ۳۰ میلی لیتر از محلول ۰/۱ مولار نیترات مس سه آبه با ۱۰ میلی لیتر عصاره آرتمیزیا ترکیب می شد. در ادامه ۳۰ میلی لیتر محلول کربنات سدیم ۰/۱ مولار قطره قطره با استفاده از بورت به محلول افزوده شد. سپس با استفاده از حمام اولتراسونیک به خوبی همگن شده، در یک بشر در کاسه روغنی به مدت ۲٤ ساعت روی همزن با حرارت ۷۵ درجه سانتیگراد قرار می گرفت. در ادامه محلول به دست آمده با استفاده از کاغذ صافی شماره ٤۰ فیلتر شده، نانوذره‌ها برای خشک شدن به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۷۰ درجه سانتیگراد در آون قرار داده می شد. جهت شناسایی نانوذره تست های تکمیلی انجام شد.

ساخت پماد

ساخت پماد نانوذره‌های مس پوشش داده شده با عصاره آبی آرتمیزیا آنووا با غلظت ۰/۲ بر پایه اوسرین درصد انجام گرفت (۹). ساخت پماد عصاره آبی آرتمیزیا آنووا با غلظت ۵ درصد بر پایه اوسرین انجام گرفت.

القای سوختگی وگروه بندی

شمار ۱۰۰ سر موش سوری نر سه ماهه بالغ با وزن تقریبی ۲۰ تا ۲۵ گرم در شرایط دمایی ۲۲ تا ۲۵ درجه سانتی گراد و چرخه ۱۲ ساعد روشنایی-تاریکی؛ دسترسی آزادانه به آب تمیز و تازه و پلت ویژه در قفس های جداگانه نگهداری می شدند. کلیه آزمایشات حیوانی این پژوهش مورد تایید کمیته دولتی اخلاق حیوانی دانشگاه شهرکرد بوده است (IR.SKU.REC.1400.081). بی هوشی با تزریق درون صفاقی زایلازین ۲ درصد (سیگما- آلدریچ، آمریکا) با دوز ۵ میلی گرم بر کیلوگرم و ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم کتامین (سیگما-آلدریچ، آمریکا) ۵ درصد انجام می‌گرفت. سپس موهای پشت حیوان تراشیده و به طور کامل ضدعفونی می شد. سپس با تماس ۱۰ ثانیه‌ای میله فلزی گرد داغ در محل مهره پنجم سینه ای زخم سوختگی درجه دو ایجاد می گردید. پس ازالقای سوختگی موش ها به طور تصادفی به پنج گروه مساوی کنترل (بدون درمان)، گروه اوسرین، گروه پماد نانوذره مس ۰/۲ درصد، گروه پماد نانوذره مس آرتمیزیا ۰/۲ درصد و گروه پماد ۵ درصد حاوی عصاره آرتمیزیا دسته بندی می شدند. روز ایجاد سوختگی روز صفر در نظر گرفته شد و درمان از روز یکم آغاز و روزی دوبار بر روی زخم ها بوسیله سواپ استریل انجام می گردید. در روزهای ۳ و ۷و ۱٤ و ۲۱ پنج موش از هر گروه برای نمونه برداری برگزیده شده، پس از بی هوشی کامل نمونه گیری از بافت زخم برای ارزیابی بیوشیمیایی انجام می شد. برای تهیه هموژنات بافتی، نزدیک به ۱۰۰ میلی گرم از بافت زخم نمونه برداری شده در روزهای گوناگون با یک میلی لیتر بافر Tris HCL ۵۰ میلی‌مولار و بافر NaCl ۱۵۰ میلی‌مولار با نسبت یک به دو آمیخته می شد. سپس با استفاده از دستگاه هموژنایزر به شکل مایع یکدست درآمده، در ادامه به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ٤ درجه سانتیگراد با دور ۵۵۰۰ در دقیقه سانتریفوژ می شد، سپس مایع رویی گردآوری و تا زمان سنجش‌ها در دمای ۸۰- درجه سانتیگراد نگه داری می شد.

سنجش فراسنجه های بیوشیمی

سنجش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز در هموژنات بافت زخم به ترتیب بر اساس دستور کار کیت الایزای شرکت کارمانیا پارس ژن و کیت سنجش فعالیت شرکت کارمانیا پارس ژن انجام می‌گرفت. سنجش میزان پراکسیداسیون لیپیدها بر پایه روش رنگ سنجی و شکل-گیری مواد واکنش دهنده با تیوباربیتوریک اسید بر پایه روش Jeridi انجام شد (۱۰).

آزمون آماری

داده های به دست آمده به صورت میانگین ± انحراف استاندارد (Mean±SEM) نمایش داده می شد.برای بررسی آماری داده‌ها از نرم افزار SPSS-16 و آزمون آماری *تحلیل* واریانس یکطرفه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد (P< ۰/۰۵).

نتایج

فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD)

نتایج سنجش میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (واحد/ میلی‌گرم پروتئین) در هموژنات بافت زخم موش‌ها در روزهای ۳، ۷ ،۱٤ و ۲۱ در گروه‌های گوناگون در جدول ۱ نشان داده شده است. همانگونه که نشان داده شده است در روز ۷ و ۱٤ در گروه درمانی نانوذره مس پوشش داده شده با عصاره گیاهی نسبت به گروه کنترل (۰/۰۵ >P) و در روز ۱٤، در گروه دارای نانوذره مس و آرتمیزیا نسبت به گروه اوسرین افزایش آماری معنی داری در کارآئی آنزیم سوپراکسید دیسموتاز دیده می‌شود (۰/۰۵ >P).

جدول۱-: میانگین و انحراف معیار کارائی آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (واحد/ میلی‌گرم پروتئین) در گروه‌های گوناگون درمانی. * نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار در هر گروه نسبت به گروه کنترل و حروف ناهمانند نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار بین گروه‌ها در هر ستون است (P< ۰/۰۵).

گروه‌ها	روز۳	روز۷	روز۱٤	روز۲۱
کنترل	٤۰/۳۷ ± ٦/۷۸	۳٥/۹۸ ± ٦/۸۱	٤۰/٦۹ ± ٥	٤۱/۸٤ ± ٦/۸٤
اوسرین	۳۳/۳۰ ± ۷/۷۸	٤۹/۰۲ ± ۷/۲٤	[a]٤۱/۳۷ ± ۷/٥۱	۳۷/۷۰ ± ۷/۲
نانوذره مس پوشش داده شده	٥٤/٤۰ ± ٦/۳٥	٦۲/۱۷ ± ٥/۱٥*	*[b]٦٤/۲٥ ± ٦/٦۳	۳۷/۲٥ ± ۲/۷٤
نانوذره های مس	٤۲/۷۷ ± ٥/۲۰	٤٤/۱۸ ± ٥/٤٤	[ab]٤٤/۸۲ ± ۸/۷	٤۲/۱٥ ± ۲/۷٥
آرتمیزیا آنوا	٤٦/۷٦ ± ۷/۷۱	٤۸/٦۲ ± ۲/۸٥	[ab]٥۰/۳۲ ± ٥/۲۳	٤۲/۹۰ ± ٦/۷۳

جدول ۲-: میانگین و انحراف معیار فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز (واحد/ میلی‌گرم پروتئین) در گروه‌های گوناگون درمانی. * نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار در هر گروه نسبت به گروه کنترل و حروف ناهمانند نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار بین گروه‌ها در هر ستون است (P< ۰/۰۵).

گروه‌ها	روز۳	روز۷	روز۱٤	روز۲۱
کنترل	٦۰/٥۲ ± ۲/۱٤	۷۲/۲۷ ± ۲/۲۱	٦٦/۳۹ ± ۳/۰۹	٦۱/۱٦ ± ۲/۱۰
اوسرین	٥۸/۲۸ ± ۱/۸٥	۷۷/٥۱ ± ۱/۹٤	۷۰/۲٤ ± ۲/۰٥	[a]٦٦/۳۰ ± ۱/۹٦
نانوذره مس پوشش داده شده	٥۹/٤٤ ± ٦/۳٥	*[b]۸۱/۳۱ ± ٥/۹٦	۷۲/۰۹ ± ۱/۹۲	[b]٥٦/٦۳ ± ۲/۳۰
نانوذره های مس	٥٥/٦۷ ± ۲/۲۰	[a]۷۳/۷٥ ± ۱/۸٥	۷۰/۳۱ ± ۱/۸٥	[b]٦۰/۹٤ ± ٤/٤۲
آرتمیزیا آنوا	٦۱/۷٦ ± ۱/۸۱	[a]۷۱/۷٦ ± ٦/۱٦	٦۸/٤٤ ± ٥/۲۳	[a]٦٦/٤٤ ± ۲/۱٥

جدول ۳-: میانگین و انحراف معیار کارائی آنزیم کاتالاز (واحد/ میلی‌گرم پروتئین) در گروه‌های گوناگون درمانی. *نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار در هر گروه نسبت به گروه کنترل و حروف ناهمانند نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار بین گروه‌ها در هر ستون است (P< ۰/۰۵).

گروه‌ها	روز۳	روز۷	روز۱٤	روز۲۱
کنترل	۹۴/۴۹ ± ۱۱/۱۴	۹۳/۱۲ ± ۷/۸۳	۹۲/۴۳ ± ۳/۰۹	۱۰۵/۳۴ ± ۹/۱۰
اوسرین	۹۳/۵۷ ± ۸/۷۸	۹۹/۴۹ ± ۵/۹۴	۹۰/۲۴ ± ۷/۸	[a]۱۰۲/۰۲ ± ۱۱/۴۵
نانوذره مس پوشش داده شده	۹۳/۵۲ ± ۹/۷۶	*۱۰۴/۷۹ ± ۹/۳۱	۹۷/۰۵ ± ۷/۹۲	*[b]۸۷/۸۴ ± ۹/۲۶
نانوذره های مس	۹۶/۸۷ ± ۹/۷۰	*۱۰۳/۵ ± ۶/۷۵	۹۹/۱۷ ± ۱۰/۸۵	*[bc]۹۲/۰۹ ± ۱۲/۴۲
آرتمیزیا آنوا	۹۶/۱۰ ± ۹/۸۱	*۱۰۶/۷۶ ± ۳/۰۱	۹۸/۷۷ ± ۵/۲۳	[c]۹۹/۳۸ ± ۷/۵

جدول ٤-: میانگین ± انحراف استاندارد میزان مالون دی آلدئید در هموژنات بافت توموری (نانومول بر گرم بافت) گروه‌های گوناگون درمانی. *نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار در هر گروه نسبت به گروه کنترل و حروف ناهمانند نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار بین گروه‌ها در هر ستون است (P< ۰/۰۵).

گروه‌ها	روز۳	روز۷	روز۱٤	روز۲۱
کنترل	۷۱۰/۱۴ ± ۵۷/۱۳	۷۲۷/۱۷ ± ۴۰/۲۵	۷۲۰/۵۶ ± ۳۹/۷۱	۵۹۷/۱۷ ± ۴۵/۰۹
اوسرین	۶۷۰/۵۴ ± ۳۵/۴۶	۵۱۲/۴۲ ± ۴۶/۲۵	[b]۵۷۰/۹۹ ± ۴۷/۵۷	[a]۶۹۷/۲۳ ± ۵۱/۲۵
نانوذره مس پوشش داده شده	۵۳۰/۱۶ ± ۲۰/۰۳	*۴۶۰/۸۷ ± ۸۰/۴۵	*[a]۴۱۰/۶۷ ± ۷۰/۸۲	*[c]۳۷۷/۳۳ ± ۱۱/۱۶
نانوذره های مس	۷۴۰/۹۰ ± ۸۸/۷	۵۳۰/۸۶ ± ۲۸/۴۲	*[ab] ۴۹۰/۶۲ ± ۸۵/۶۴	*[cb]۴۷۰/۷۳ ± ۵۰/۰۹
آرتمیزیا آنوا	۵۱۰/۶ ± ۵۳/۴۸	۴۹۰/۷۱ ± ۲۵/۴۸	[b]۵۹۰/۳۴ ± ۲۹/۲۲	[b]۵۰۱/۲۷ ± ۳۸/۱۲

سنجش فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز (GPX)

براساس جدول ۲ فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در روز ۷ در گروه درمانی نانوذره مس پوشش داده شده افزایش معنی داری را نسبت به گروه های کنترل، آرتمیزیا و نانوذره مس نشان داد (P< ۰/۰۵). در روز ١٤ با کمتر شدن روند آماس و پاکسازی بیشتر رادیکال‌های آزاد فعالیت این آنزیم روند کاهشی را نشان داده است، به گونه‌ای که در روز ۲۱ در گروه‌های درمانی نانوذره مس پوشش داده شده و نانوذره مس کاهش معنی داری در فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز نسبت به گروه اوسرین و گروه آرتمیزیا دیده می‌شود (P< ۰/۰۵).

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT)

براساس جدول ۳ فعالیت آنزیم کاتالاز در روز ۷ فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتری در سه گروه درمانی نانوذره مس پوشش داده شده، نانوذره مس و آرتمیزیا نسبت به گروه

کنترل دیده می‌شود (P< ۰/۰۵). در روز ۲۱ با پاکسازی هر چه بیشتر رادیکال‌های آزاد کارآئی آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در دو گروه درمانی نانوذره مس پوشش داده شده و نانوذره مس به تنهائی نسبت به گروه کنترل و همچنین بین گروه درمانی نانوذره مس پوشش داده شده و گروه‌های اوسرین و آرتمیزیا اختلاف و کاهش آماری معنی دار دیده می‌شود (P< ۰/۰۵).

سنجش میزان مالون دی آلدئید (MDA)

همانگونه که در جدول ٤ نشان داده شده است در روز ۷ میزان مالون دی آلدئید در گروه درمانی نانوذره مس پوشش داده شده نسبت به گروه کنترل کاهش معنی دار یافته است (P< ۰/۰۵). این روند کاهشی در روز ١٤ در گروه درمانی نانوذره مس پوشش داده شده نسبت به گروه کنترل، اوسرین و آرتمیزیا دیده می شود (P< ۰/۰۵). در روز ۲۱ در هر دو گروه درمانی نانوذره مس پوشش داده شده و نانوذره مس نسبت به گروه کنترل و اوسرین اختلاف معنی دار دیده می‌شود (P< ۰/۰۵).

بحث

افزایش ساخت رادیکال‌های آزاد با نارسائی در روند بهبود زخم‌ها همراه است. امروزه درمان‌های آنتی اکسیدانی که سبب کاهش ساخت رادیکال های آزاد در جایگاه زخم میشوند، همچون یک گزینه درمانی مناسب برای التیام زخم ها به شمار می روند (۳). آرتمیزیا آنووا در میان گیاهان دارویی کارامد در برابر بیماری‌های فراوان انسان و حیوانات رتبه بالایی دارد. این پتانسیل بالا با مجموعه سرشار از ترکیب های فعال زیستی مهم دارویی همچون فنل ها و فلاونوئیدها در ارتباط است (۱۱).

در این پژوهش سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در گروه درمانی نانوذره‌های مس پوشش داده شده با عصاره گیاهی، افزایش معنی‌داری را در روزهای ۷ و ١٤ نسبت به گروه کنترل نشان داد (P< ۰/۰۵). مس کوفاکتور آنزیم‌هایی مانند سوپراکسید دیسموتاز و سیتوکروم اکسیداز است و سرعت بهبودی زخم را افزایش می‌دهد (۱۲). هم راستا با داده‌های این پژوهش، همتی و همکاران (۲۰۲۰) در پژوهشی نشان دادند که نانوذره‌های مس ساخته شده با آسکوربیک اسید و عصاره توت فرنگی فعالیت آنتی اکسیدانی چشمگیری داشته، با پاکسازی رادیکال‌های آزاد و جلوگیری از انباشت چرک در جایگاه زخم، بهبود زخم را سرعت می‌بخشند. این پژوهشگران فعالیت آنتی اکسیدانی نانوذره های ساخته شده را به ترکیب‌های فیتوشیمیایی گوناگون موجود در عصاره توت فرنگی مانند فلاونول‌ها، تانن‌های قابل هیدرولیز و آنتوسیانین نسبت دادند که به صورت هم افزایی با مس سبب پاکسازی رادیکال‌های آزاد اکسیژن و نیتروژن می‌شوند (۱۳). Ghosh و همکاران (۲۰۱۵)، در پژوهشی به بررسی ویژگی‌های ضد دیابتی و آنتی اکسیدانی نانوذره‌های مس ساخت شده بوسیله گیاه دارویی *Dioscorea bulbifera* یا سیب زمینی تلخ پرداختند و بیان داشتند که نانوذره‌های مس ساخته شده با عصاره گیاه سبب برانگیختن فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی پانکراس یعنی سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون-S-ترانسفراز (GST) می‌گردد (١٤).

مس با برانگیختن ساخت کلاژن، اینتگرین و فیبرونکتین، نقش فیزیولوژیکی برجسته ای در بهبود و بازسازی زخم های پوستی ایفا می کند. مس در گسترش گلبول‌های سفید خون، ساخت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و بافت‌های همبند مانند کلاژن و الاستین ایفا می‌کند و همچنین یک ماده مغذی ضروری و بخش جدایی ناپذیر آنزیم های آنتی اکسیدانی و نیز سرولوپلاسمین است. ثابت شده کاهش میزان مس در رژیم غذایی با نارسائی در فعالیت سامانه آنتی اکسیدانی بدن همراه است. ساز و کار ویژگی آنتی اکسیدانی نانوذره های مس دربرگیرنده مهار واکنش‌های

زنجیره ای، تجزیه پراکسیدها و توانایی حذف رادیکال‌های آزاد است (۱۵).

در روز سوم این پژوهش، اختلاف معنی‌داری در فعالیت آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسیداز بین گروه ها دیده نشده است. در روز ۷ پس از سوختگی، اثر چشمگیر نانوذره‌های مس پوشش داده شده با عصاره گیاهی بر افزایش فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز، سبب اختلاف آماری معنی دار با گروه کنترل شده است. در روز ١٤ با کمتر شدن روند آماس و پاکسازی بیشتر رادیکال‌های آزاد، کارآئی آنزیم آنتی اکسیدانی روند کاهشی را به نمایش گذاشته گذاشته است به گونه‌ای که در روز ۲۱ در گروه‌های درمانی نانوذره مس پوشش داده شده با عصاره گیاهی و نانوذره مس کاهش معنی‌داری در کارائی آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز نسبت به گروه اوسرین و گروه آرتمیزیا دیده می‌شود (P< ۰/۰۵). اوگنیک و همکاران (۲۰۱۸) گزارش داده اندکه افزایش غلظت نانوذره‌های مس در جیره جوجه‌های گوشتی سبب افزایش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و سرولوپلاسمین و کاهش میزان پراکسیداسیون چربی‌های پلاسما می‌شود (١٦). میرقاعد و همکاران (۲۰۲۰) با بررسی اثرات محافظ کبدی گیاه آرتمیزیا آنووا بر کبد بیان کردند که مصرف خوراکی این عصاره در ماهیان کپور به مدت سی روز سبب افزایش فعالیت و بیان آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز، کاتالاز و نیز کاهش میزان استرس اکسیداتیو سرم می‌شود (۱۷).

Chukwurah و همکاران (٢٠١٤) بیان کردند عصاره گیاه آرتمیزیا آنووا با مهار پراکسیداسیون لینولئیک اسید و کاهش ساخت رادیکال هیدروژن پراکسید اثری وابسته به دوز در مهار همولیز گلبول های قرمز دارد. (۱۸) ساز و کار گیاه آرتمیزیا آنووا در افزایش بیان ژن‌های آنتی اکسیدانی ناشی از فعال سازی مسیر سیگنالینگ (Nuclear factor Nrf2 erythroid 2–related factor 2) می‌باشد. به طور ویژه، برخی از ترکیب ها در گیاه آرتمیزیا آنووا از جمله سزکوئی‌ترپن‌ها با Keap1 که به شکل هترودیمری با Nrf2 موجود در سیتوزول پیوند دارند، برهم‌کنش کرده، Nrf2 را از کمپلکس آزاد می‌کنند. در ادامه مولکول Nrf2 وارد هسته شده، سبب افزایش رونویسی ژن‌های آنتی‌اکسیدانی همچون کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و نیز گلوتاتیون می‌گردد. ساماندهی مسیرهای وابسته به فعال سازی این آبشار همچنین سبب احیای گروه تیول در بسیاری از پروتئین ها می‌گردد (۱۹).

غلظت مالون دی آلدئید (MDA) به طور کلی برای ارزیابی وضعیت پراکسیداسیون لیپیدی کاربرد دارد. به دنبال زخم و آسیب بافتی، ساخت رادیکال‌های آزاد افزایش یافته، سبب افزایش فرآیند اکسیداسیون لیپیدها و آسیب بیشتر سلول ها و بافت می‌گردد (٤). در این پژوهش برانگیخته شدن روند بهبود و بازسازیی زخم در گروه نانوذره‌های مس و گیاه آرتمیزیا آنووا نسبت به گروه کنترل سبب کاهش معنی دار سنجش مالون دی آلدئید در روز ۷، ١٤ و ۲۱ شده است (P< ۰/۰۵). آل داوود و همکاران (۲۰۲۰) بیان کردند تجویز خوراکی نانو ذره‌های مس سبب ایمنی و مقاومت بیشتر در برابر استرس اکسیداتیو و کاهش میزان مالون آلدئید در کبد ماهی کپور می‌شود (۲۰). کیم و همکاران (٢٠١٤) به بررسی اثر نگهدارنده عصاره آرتمیزیا آنووا در برابر استرس اکسیداتیو ناشی از گالاکتوز در موش پرداخته، بیان داشتند عصاره الکلی این گیاه با دارا بودن مقادیر بالایی از فنول تام، سبب القای بیان ژن و نیز فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی شده، نقش کارآمدی در کاهش میزان مالون آلدئید و نیز هیدروکسی داکسی گوانوزین (8-OHdG) دارد (۱۹). پلی‌فنل‌ها و فلاونوئیدهای فراوان گیاه آرتمیزیا می‌توانند با فراهم ساختن الکترون یا واگذاری هیدروژن به رادیکال هیدروکسیل و آنیون سوپراکسید سبب پاکسازی

بهتر رادیکال‌های آزاد و کاهش اثرهای زیانبار آن‌ها شوند (۱۳).

نتیجه گیری

از آنجایی که نانوذره‌های مس و گیاه آرتمیزیا هر دو ویژگی آنتی اکسیدانی دارند، گمان می رود ساخت سبز نانوذره‌های مس بوسیله عصاره آرتمیزیا در افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی، پاکسازی رادیکال های آزاد و کاهش میزان پراکسیداسیون لیپیدی نقش چشمگیری داشته و سبب بهبود روند ترمیم زخم سوختگی درجه دو در موش سوری می شود.

فهرست منابع

1. Liu M, Chen Y, Zhu Q, Tao J, Tang C, Ruan H, et al. Antioxidant thermogelling formulation for burn wound healing. Chemistry–An Asian Journal. 2022;17(16):e202200396.
2. Palackic A, Jay JW, Duggan RP, Branski LK, Wolf SE, Ansari N, et al. Therapeutic Strategies to Reduce Burn Wound Conversion. Medicina. 2022;58(7):922.
3. Qiu X, Wu Y, Zhang D, Zhang H, Yu A, Li Z. Roles of Oxidative Stress and Raftlin in Wound Healing Under Negative-Pressure Wound Therapy. Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology. 2021:1745-53.
4. Singh BN, Prateeksha n, Upreti DK, Singh BR, Defoirdt T, Gupta VK, et al. Bactericidal, quorum quenching and anti-biofilm nanofactories: a new niche for nanotechnologists. Critical reviews in biotechnology. 2017;37(4):525-40.
5. Din MI, Arshad F, Hussain Z, Mukhtar M. Green adeptness in the synthesis and stabilization of copper nanoparticles: catalytic, antibacterial, cytotoxicity, and antioxidant activities. Nanoscale research letters. 2017;12:1-15.
6. Mazandarani M, Majidi Z, Zarghami-Moghaddam P, Abrodi M, Hemati H, Fathiazad F. Essential oil composition, total phenol, flavonoid, anthocyanin and antioxidant activities in different parts of Artemisia annua L. in two localities (North of Iran). Journal of Medicinal plants and By-product. 2012;1(1):13-21.
7. Wang KS, Li J, Wang Z, Mi C, Ma J, Piao LX, et al. Artemisinin inhibits inflammatory response via regulating NF-κB and MAPK signaling pathways. Immunopharmacology and immunotoxicology. 2017;39(1):28-36.
8. Katadj JK, Rafieian-Kopaei M, Nourani H, Karimi B. Wound healing effects of Artemisia sieberi extract on the second degree burn in mice skin. Journal of HerbMed Pharmacology. 2016;5(2):67-71.
9. Zangeneh MM, Ghaneialvar H, Akbaribazm M, Ghanimatdan M, Abbasi N, Goorani S, et al. Novel synthesis of Falcaria vulgaris leaf extract conjugated copper nanoparticles with potent cytotoxicity, antioxidant, antifungal, antibacterial, and cutaneous wound healing activities under in vitro and in vivo condition. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology. 2019;197:111556.
10. Jridi M, Sellimi S, Lassoued KB, Beltaief S, Souissi N, Mora L, et al. Wound healing activity of cuttlefish gelatin gels and films enriched by henna (Lawsonia inermis) extract. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects. 2017;512:71-9.
11. Feng X, Cao S, Qiu F, Zhang B. Traditional application and modern pharmacological research of Artemisia annua L. Pharmacology & therapeutics. 2020;216:107650.
12. Tao B, Lin C, Deng Y, Yuan Z, Shen X, Chen M, et al. Copper-nanoparticle-embedded hydrogel for killing bacteria and promoting wound healing with photothermal therapy. Journal of Materials Chemistry B. 2019;7(15):2534-48.
13.

Hemmati S, Ahmeda A, Salehabadi Y, Zangeneh A, Zangeneh MM. Synthesis, characterization, and evaluation of cytotoxicity, antioxidant, antifungal, antibacterial, and cutaneous wound healing effects of copper nanoparticles using the aqueous extract of Strawberry fruit and L-Ascorbic acid. Polyhedron. 2020;180:114425.

14. Ghosh S, More P, Nitnavare R, Jagtap S, Chippalkatti R, Derle A, et al. Antidiabetic and antioxidant properties of copper nanoparticles synthesized by medicinal plant Dioscorea bulbifera. Journal of Nanomedicine & Nanotechnology. 2015(S6):1.
15. Sandoval C, Ríos G, Sepúlveda N, Salvo J, Souza-Mello V, Farías J. Effectiveness of Copper Nanoparticles in Wound Healing Process Using In Vivo and In Vitro Studies: A Systematic Review. Pharmaceutics. 2022;14(9):1838.
16. Ognik K, Stępniowska A, Cholewińska E, Kozłowski K. The effect of administration of copper nanoparticles to chickens in drinking water on estimated intestinal absorption of iron, zinc, and calcium. Poultry science. 2016;95(9):2045-51.
17. Mirghaed AT, Paknejad H, Mirzargar SS. Hepatoprotective effects of dietary Artemisia (Artemisia annua) leaf extract on common carp (Cyprinus carpio) exposed to ambient ammonia. Aquaculture. 2020;527:735443.
18. Chukwurah PN, Brisibe EA, Osuagwu AN, Okoko T. Protective capacity of Artemisia annua as a potent antioxidant remedy against free radical damage. Asian Pacific journal of tropical biomedicine. 2014;4:S92-S8.
19. Kim MH, Seo JY, Liu KH, Kim J-S. Protective effect of Artemisia annua L. extract against galactose-induced oxidative stress in mice. PloS one. 2014;9(7):e101486.
20. Dawood MA, Eweedah NM, Moustafa EM, El-Sharawy ME, Soliman AA, Amer AA, et al. Copper nanoparticles mitigate the growth, immunity, and oxidation resistance in common carp (Cyprinus carpio). Biological Trace Element Research. 2020;198:283-92.