اثر درمانی عسل، سیر و برگ گردو بر لیشمانیای جلدی در مدل موشی Balb/c

فرزاد پارسا [۱]، حسین وثوقی [*۲]، مسعود گودرزی [۳]، ایمان باجلان [۴]

چکیده

لیشمانیازیس آلودگی انگلی تک یاخته ای است که در اکثر نقاط جهان گزارش می‌شود و در نواحی مختلف دنیا شیوع دارد. .این بیماری سومین بیماری مهم جهان است که از طریق ناقل بیولوژیک منتقل می شود ۱۲ تا ۱۵ میلیون نفر در بسیاری از کشور های جهان آلوده به لیشمانیازیس هستند و سالانه ۲ میلیون مورد جدید لیشمانیازیس در سطح جهان بروز می‌کند. با توجه به این که عصاره های گیاهان سیر و برگ گردو و عسل دارای اهمیت درمانی فراوانی هستند، در تحقیق حاضر فراورده های حاصل از گیاهان و عسل در مدل موشی بالب /سی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که عصاره سیراثر درمانی موثری بر آماستیگوت های لیشمانیا ندارد. ولی عصاره برگ گردو اثرات درمانی موثری داشت . همچنین این بررسی نشان داد عسل در غلظت های مختلف داری اثر درمانی موثری براین الودگی دارد ولی نسبت به عصاره برگ گردو اثر کمتری را نشان می دهد. و از لحاظ آماری دارای اختلاف معنی است . با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق و اثر بخشی عصاره‌های برگ گردو و عسل امید است بتوان با استفاده از آنها در درمان بیماری سالک گام‌های موثری برداشت.

واژگان کلیدی: لیشمانیای جلدی، فراورده‌های طبیعی، موش Balb/c

---

۱. گروه علوم آزمایشگاهی پزشکی، واحد بروجرد ، دانشگاه آزاد اسلامی، بروجرد، ایران

*۲. گروه انگل شناسی دامپزشکی، واحد بروجرد ، دانشگاه آزاد اسلامی، بروجرد، ایران

۳. گروه زیست شناسی، واحد بروجرد، دانشگاه آزاد اسلامی، بروجرد، ایران

۴. باشگاه پژوهشگران و نخبگان جوان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد، بروجرد، ایران

مقدمه

بیماری لیشمانیوز یکی از بیماری‌های مشترک بین انسان و حیوان است که به سه شکل جلدی، احشایی و جلدی- مخاطی بروز می‌کند. عامل لیشمانیوز جلدی، تک یاخته ای از گروه تاژکداران، و جنس لیشمانیا است که به وسیله گزش پشه ناقل از خانواده پسیکودیده، از مخازن حیوانی و انسانی به فرد سالم منتقل می‌شود (۶ و ۴). پشه‌ها با زائده‌ی نزدیک دهان خود باعث زخمی شدن پوست می‌شوند و به همراه خون خورده شده انگل را می‌گیرند. آماستیگوت دارای یک تاژک ۱ میکرو متری است که در ۴ ساعت رشد می‌کند. که به حرکت و اتصالش به معده کمک می‌کند (۳). وقتی که انگل وارد بخش میانی معده‌ی پشه خاکی شد دما کاهش و pH افزایش پیدا می‌کند و آماستیگوت‌ها با تجزیه‌ی ماکروفاژ از درون آن خارج می‌شوند. این آماستیگوت‌ها در ۲۴ساعت به پروماستیگوت تغییر شکل می‌دهند. اولین مرحله‌ی حضور انگل که به صورت پروماستیگوت و دارای تاژک است را پروماستیگوت‌های اولیه‌ی چرخه می‌نامند که حرکت ضعیفی دارد، به صورت فرم خزنده که در خون خورده شده زیاد می‌شود. این خون خورده شده‌ی اولیه وارد معده‌ی میانی شده و در همان جا هضم می‌شود. بعد از چند روز انگل به آرامی شروع به همانند سازی می‌کند و تغییر شکل یافته و بلندتر می‌شود که دارای تحرک زیادی است و به این شکل انگل پروماستیگوت نکتوموناد می‌گویند (۶ و ۳). نکتومونادها به قسمت جلویی معده میانی مهاجرت می‌کنند و در آنجا روی هم جمع می‌شوند و درون غشای پروتروفیک قرار می-گیرند. بعد از حدود ۳ روز از این غشا خارج می‌شوند، این عمل با استفاده از آنزیم کیتیناز انگل انجام می‌شود و ممکن است به خاطر فعالیت کیتینازی شیره‌ی معده ی پشه خاکی این عمل صورت بگیرد. آنها به سمت بخش میانی معده حرکت می‌کنند و بعضی از آنها به میکروویلی‌های سطح اپیتلیوم معده‌ی میانی متصل می‌شوند، در دریچه ی معده قرار می‌گیرند تا ازدیاد پیدا کرده و از فعالیت معده حفظ شوند (۱۱). از زمانی که انگل همراه خون آلوده وارد بدن پشه خاکی می‌شود تا زمانیکه پشه خاکی قابلیت انتقال را پیدا می‌کند بسته به نوع انگل ۱ تا ۲ هفته به طول می‌انجامد (۱۱).ظهور علائم کلینیکی عفونت‌های لیشمانیایی بوسیله‌ی فاکتورهای ترکیبی تشخیص داده می شود. چگونگی ژنتیک میزبان، جایگاه ایمنی، خصوصیات انگل، فاکتورهای همزیستی انگل با وکتور بستگی دارد. در ابتدا ممکن است که علائم بیماری ظاهر نشود، این نشان می‌دهد که انگل با میزبان مهره‌دار به خوبی سازگاری پیدا کرده است. مطالعات اپیدمیولوژی نشان می‌دهد که آلودگی های انسانی ممکن است بدون علامت یا با علائم زیاد یا با تعدا کمی فرایندهای بافتی باقی بماند. علائم این بیماری به صورت زخم‌هایی است که می‌تواند تا یک سال روی بدن باقی بماند. (۱۰).با توجه به این که مصرف داروهای شیمیایی با عوارض جانبی مختلفی همراه است، توجه به اهمیت گیاهان دارویی در درمان بیماری‌ها پیوسته تقویت می‌گردد .گیاهان دارویی دارای ساختار پیچیده‌ای مشتمل بر سلول‌ها و موادی از قبیل نشاسته، قند، پروتئین، آنزیم و چربی می‌باشند و خاصیت درمانی آنها بر روی انسان به دلیل مواد فعال گیاه است که گیاه خود آن را می سازد (۲). در این تحقیق، اثر درمانی عسل و غلظت‌های مختلف از عصاره‌های سیر و برگ گردو بر روی لیشمانیازیس جلدی ناشی از لیشمانیاماژو ر در موش های آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت. هدف اصلی در این بررسی، یافتن داروی طبیعی مفید و مؤثر بر این بیماری، بدون عوارض و اثرا ت جانبی مضر ناشی از داروهای شیمیایی است.

مواد و روشها

-جمع آوری و تهیه نمونه‌های طبیعی

نمونه‌های گیاهی از منابع طبیعی شهرستان بروجرد جمع‌آوری شد. پس از نمونه برداری عملیات خشک کردن به مدت ده روز در سایه و دمای اتاق و با تهویه مناسب صورت گرفت. برای بهتر خشک شدن، نمونه ها روزانه در ساعت معینی زیر و رو شدند (۹). پس از خشک شدن، نمونه ها تا زمان عصاره گیری در پاکت به طور جداگانه نگهداری شدند. در داخل هر پاکت نام منطقه، محل جمع آوری و شماره مخصوص آن ثبت گردید. به منظور عصاره گیری ابتدا برای افزایش نسبت سطح به حجم، نمونه ها به صورت پودر شده در آمدند. سپس از هرنمونه ۱۰ گرم در یک بالن یک لیتری ریخته و به میزان ۱۰۰ میلی لیتر متانول ۹۸ درجه به آن افزوده شد. بعد از آن نمونه ها به مدت ۷۲ ساعت در دمای اتاق و به دور از نور بر روی شیکر قرار گرفتند. پس از گذشت این زمان ابتدا نمونه ها از یک صافی (کاغذ واتمن) عبور داده شدند سپس برای تغلیظ عصاره از دستگاه روتاری استفاده شد. بدین منظور عمل تغلیظ نمونه‌ها به مدت نیم ساعت با روتاری انجام گرفت. در نهایت عصاره خالص را در پتری دیش ریخته و درب آن محکم بسته شد. سپس روی آن مشخصات نوشته و در یخچال قرار گرفت (۱۹). عسل نیز از مراکز پرورش زنبور عسل که دارای اعتبار بود خریداری گردید.

تهیه و نگهداری انگل لشمانیا ماژور

سوش انگل لشمانیا ماژور (MRHO/IR/75/ER) از موسسه تحقیقاتی پاستور کشور خریداری و در شرایط خاص به آزمایشگاه منتقل گردید. جهت تولید انبوه انگل از محیط مایع (RPMI1640) غنی شده با سرم گاوی (FBS) استفاده شد. در مرحله بعد موشهای بالب / سی (همجنس و هم سن) در سن حدود ۶-۷ هفتگی از موسسه تحقیقاتی پاستور به تعداد مورد نیاز خریداری شد و در شرایط خاص پس از انتقال در قفس نگهداری و تغذیه گردید.پس از تکثیر انگل به حد کافی (۲۰۰۰۰۰۰) پروماستیگوت در میلی لیتر در فاز ایستایی رشد (stationary) 0.1 میلی لیتر از مایع محیط کشت داخل سرنگ انسولین وارد و در قاعده دم موش به صورت SC تزریق صورت پذیرفت. موشها در شرایط یکسان پرورشی قرار گرفت، پس از گذشت ۳۵-۳۲روز موش‌هایی که به آلودگی انگلی به شکل بالینی مبتلا گردیده بودند جدا و جهت نمونه گیری و تشخیص نهایی جداگانه در قفس نگهداری شدند وجود زخم در قاعده دم و تایید وجود انگل به روش تهیه گسترش و رنگ آمیزی گیمسا، وجود انگل در زخم را مورد تایید قرار داد.

درمان موشهای مبتلا

مر حله بعد موش‌های زخم دار در گروه‌های تحت درمان با عسل و عصارهای سیر و برگ گردو قرار گرفتند. در طول درمان پس از مهار موش، تیمارهای مذبور با رقت های مورد نظر روی زخم مالیده شد و سپس حیوان به جایگاه خودش منتقل می گردید. درمان سه نوبت با فاصله ۸ ساعت در ۲۴ ساعت انجام گردید طول دوره درمان ۳۰ روز تعیین گردید (۷).گروه شاهد اول موش‌های تحت درمان با پایه دارویی متانل شامل ۱۰ سر موش بود.گروه شاهد درمان شیمیایی نیز با ۱۰ سر موش تا پایان دوره درمان (۰/۰۲

mg/kg) گلوکانتیم دریافت نمود.در طول دوره درمان ۳۰ روزه اندازه‌گیری توسط کولیس و با فرمول S=D+d/2 انجام پذیرفت.در پایان کلیه اطلاعات موجود در فرم‌های اطلاعاتی جمع آوری و جهت تجزیه و تحلیل آماری با استفاده ازنرم افزار SAS مورد تجزیه وتحلیل قرار گرفت.

نتایج

درگروه شاهد که در آن درمان با پایه متانل انجام پذیرفت، نتایج نشان داد قطر زخم در طول درمان در هفته اول تا پنجم معنی دار و با افزایش قطر زخم همراه بود ($P\leq0.05$). در گروه شاهدی که درمان با داروی گلوکانتیم صورت پذیرفته بود تا هفته چهارم هیچ تغییری در کاهش و بهبودی ملاحظه نگردید ولیکن در هفته چهارم به بعد با کاهش قطر زخم مطالعه پیش رفت که در هفته پنجم که پایان مطالعه بود تفاوت معنی دار آماری ملاحظه گردید (جدول ۱ و شکل ۲).

جدول ۱

نتایج نشان می دهد که در غلظت ۲۵ mg/ml از عصاره سیر استفاده شده در این تحقیق در طول درمان در گروه های درمان شده نسبت به گروه شاهد هیچگونه روند ترمیم و بهبودی از لحاظ آماری دیده نشد. همچنین غلظت‌های عصاره سیر در ۵۰ و ۱۰۰ mg/ml نسبت به گروه های درمان پایه با متانول و درمان با گلوکانتیم از نظر آماری دارای اثر درمانی معنی‌دار نبود (جدول ۱ و شکل ۲).

جدول ۲

در غلظت ۲۵ mg/ml عسل در پایین ترین سطح درمان نسبت به گروهای کنترل از لحاظ آماری معنی دار بود. در غلظت های ۵۰ و۱۰۰ mg/ml اثرات بهتری نسبت به غلظت ۲۵ mg/ml داشته ولی اثر کمتری نسبت به عصاره ۵۰ mg/ml برگ گردو از لحاظ آماری داشته است. اثر غلظت ۲۵ mg/ml عصاره برگ گردو نیز نسبت به گروهای شاهد معنی‌دار بوده و نسبت به عسل با غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۲۵ mg/ml دارای خواص بهتر درمانی بوده است. اگرچه غلظت ۵۰ mg/ml عصاره برگ گردو نسبت به گرو ه‌های شاهد معنی دار بود ولی در غلظت ۲۵ mg/ml عصاره برگ گردو اثر کمتری در طول هفته‌های درمان نشان داد (جدول ۲ و شکل ۲).

شکل ۱

غلظت ۱۰۰ mg/ml از عصاره برگ گردو نسبت به گرو ههای شاهد سه گانه دارای اختلاف معنی دار بود و اثرات بهتری نسبت به عسل در غلظت های ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ mg/ml از خود نشان داد. بهترین تیمار در این تحقیق عصاره برگ گردو با غلظت ۱۰۰ mg/ml بود که در درمان لیشمانیوزیس جلدی در مدل موشی balb/c بهترین اثر را داشت (شکل ۲).

بحث

سیر کاربردهای درمانی زیادی از جمله خواص ضد باکتری، ضد ویروسی، ضد کرم، کاهش دهنده فشار خون، ضد نفخ، دفع شپش و ترمیم زخم‌های عفونی می‌باشد (۱۷ و ۱۳). برگ گردو نیز دارای خواص بند آورنده خون، ترمیم زخم و از بین برنده عفونت گوش می‌باشد. برگ‌های گردو حاوی ژوگلون، اسید گالیک، اسید پیروگالیک و اسانس می‌باشد (۲۳). عسل حاصل تلاش زنبورهای عسل از گل‌های معطر می‌باشد که پس از مکیده شدن در کندو به عسل تبدیل می‌شود (۲۲ و ۱۲). عسل نیز دارای خواصی از جمله از بین بردن رطوبت های بد بدن، رفع کبودی بدن در اثر کوفتگی، ترمیم کننده زخم‌های سطحی بدن و ناراحتی‌های پوستی، و رفع عفونت گوش می‌باشد. عسل دارای تیامین، ریبوفلاوین، اسید نیکوتنیک و اسید اسکوربیک و دیگر ترکیبات می‌باشد (۲۰ و ۱۸).مطالعات انجام شده بر روی سیر عمدتا نشان دهنده عدم کارایی بعنوان یک داروی ضد لیشمانیوزیس بوده است. به همین دلیل اکثر محققین استفاده از داروهای مکمل را جهت درمان توصیه می‌کنند. برخی محققان نیز اثرات کم سیر را ناشی از پروتئین ۱۰-۱۴ کیلو دالتونی در عصاره سیر می‌دانند که مسئول تولید نیتریک اکساید می‌باشد (۵). هرچند داروهای گیاهی در مواردی جایگزین مواد شیمیایی شده است ولی عصاره سیر در غلظت های ۲۵ mg/ml و ۵۰ mg/ml و ۱۰۰mg/ml در این مطالعه نیز حاکی از بی اثر بودن آن بود.در این خصوص در مطالعه‌ای اثر درمانی عصاره سیر توام با ویتامین آ مورد بررسی قرار گرفت که نتایج حاکی از موثر بودن این دو ماده بود (۸). هرچند نتایج حاصل از مطالعه‌ای دیگر نشان داد سیر می‌تواند سبب تقویت سیستم ایمنی سلولی و بویژه ماکروفاژها و در نهایت کنترل سالک شود (۱۴). البته میزان دوز موثر عصاره در تعیین کنترل سالک هم بی تاثیر نیست. اگر چه در مطالعه حاضر تاثیرات چندانی با دوزهای مورد مطالعه دیده نشد.عوامل موثری در بی تاثیری عصاره گیاهان بخصوص سیر دخالت دارند از آن جمله می-تواتن به ژنتیک میزبان و ژن‌های موثر در پاسخ‌های ایمنی سلولی و ژنتیک گونه مولد بیماری اشاره کرد. به این موارد می‌توان تعداد انگل‌های تلقیح شده و میزان پیشرفت عفونت را اضافه نمود (۲).در مطالعه ای بر روی تاثیر محلول هیدروالکلی بره موم بر فعالیت کیلر سل ها مشاهده شد این ماده فعالیت سیتوتوکسیک سلول های قاتل را افزایش داده و در نهایت منجر به افزایش فعالیت ضد باکتریایی و ضد پروتوزوئری بدن می گردد (۲۱). مطالعه حاضر هم نشان داد عسل دارای اثر ضد لشمانیایی است.در تحقیقات فراوانی اثرات ضد لیشمانیایی دیگر گیاهان به اثبات رسیده است. از جمله بررسی اثر عصاره گیاه درمنه در محیط آزمایشگاهی با غلظت‌های مختلف بر روی انگل لیشمانیا ماژور و

تروپیکا را معنی‌دار ارزیابی شدند (۱۵). ارزیابی فعالیت ضد لیشمانیایی عصاره تخلیص شده گیاه ونیکا بصورت پماد نشان دهنده اثرات پایین در بهبود و ترمیم زخم بود (۱). مطالعات مختلف اثر عصاره الکلی گیاه زرشک بر لیشمانیا تروپیکا و ماژور در شرایط آزمایشگاهی و طبیعی را در غلظت ۱۰ mg/ml مثبت ارزیابی نمود (۱۶). براتی و همکاران (۱۳۸۴) در بررسی عصاره گیاه آویشن و اسپند نیز اثرات ضد لیشمانیوزیس را مورد مطالعه قرار دادند که نشان از اثر عصاره‌های مذکور داشت (۳). در نهایت می‌توان گفت که عصاره‌های گیاهی و یا ترکیبات مشتق شده از گیاهان منبع با ارزشی برای یافتن داروهای جدید ضد لیشمانیوزیس می‌باشند. گیاهان دارویی دارای ساختار پیچیده‌ای مشتمل بر سلول‌ها و موادی از قبیل نشاسته، قند، پروتئین، آنزیم و چربی می‌باشند و خاصیت درمانی آنها بر روی انسان به دلیل مواد فعال گیاه است که گیاه خود آن را می‌سازد.

پیشنهادات

با توجه به اینکه عصاره های برگ گردو و عسل اثر درمانی موثری نسبت به گرو ههای شاهد در مدل موشی داشت ،ترکیب دو عصاره با کرم پایه،جهت تهیه لوسیون های ترکیبی و استفاده در مدل انسانی پیشنهاد می گردد.

سپاسگزاری

تحقیق حاضر با هزینه مالی دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد انجام گرفته است که بدین وسیله تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

۱. آسمار، م.، فرهمند بیگی، م.، عقیقی، ز.، قائمی، ن.، آیت الهی، ع. (۱۳۸۱). بررسی اثر آکالوئیدهای اختصاصی گیاه وینکا ماژور (گیاه پروانش) بر لیشمانیا ماژور در شرایط invivo و invitro. *مجله دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی*. دوره ۱، شماره ۲، صفحات ۸–۱.

۲. بابایی خو، ل.، محبعلی، م.، نیاکان لاهیجی، م.، مهرابی توانا، ع. (۱۳۸۴). بررسی اثر درمانی گیاهان دارویی گزنه، درمنه، باریجه، مورد، ترخون، سیر و اوکالیپتوس بر روی لیشمانیازیس جلدی ناشی از لیشمانیا ماژور در موش‌های سوری. *مجله پژوهشی حکیم*، سال ۱۰، شماره ۲، صفحات ۲۷–۲۱.

۳. براتی، م.، شریفی، ا.، شریفی فر، ف. (۱۳۸۹). بررسی تاثیر ضد لیشمانیایی عصاره‌های درمنه کوهی، آنقوره و قوز پنبه بر روی پروماستیگوت های لیشمانیا ماژور. *مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی ارتش جمهوری اسلامی ایران*، سال ۸، شماره ۳، صفحات ۱۷۲–۱۶۶.

۴. ثقفی پور، ع.، اکبری، ا.، راثی، ی.، مصطفوی، ر. (۱۳۹۱). اپیدمولوژی لیشمانیوز جلدی در استان قم طی سال‌های ۱۳۸۲-۱۳۸۸. *مجله دانشگاه علوم پزشکی قم*. سال ۶، شماره ۱، صفحات ۸۸-۸۳.

۵. خوش زبان، ف.، غفاری فر، ف.، محمود زاده پور ناکی، ع.، غضنفری، ط.، ناصری، م.، خامس پور، ع.، نایینی، ع.، سادات مجابی، ف. (۱۳۹۰). مقایسه اثر درمانی عصاره آبی و فراورده‌های سیر در درمان زخم ناشی از لیشمانیا ماژور در مدل موشی Balb/c و C57BL/6 و سوری. *مجله علوم پزشکی مدرس*، سال ۱۴، شماره۳، صفحات ۳۴–۲۵.

۶. ظهیرنیا، ا.، مرادی، ع.، نوروزی، ن.، بطحایی، ج.، عرفانی، ح.، مرادی، ع. (۱۳۸۸). بررسی اپیدمیولوژی لیشمانیوز جلدی در استان همدان طی سال های ۱۳۸۱ تا ۱۳۸۶. *مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی همدان*، سال ۱۶، شماره۱، صفحات ۴۷-۴۳.

۷. کاظمی، ا.، طالاری، ص.، هوشیار، ح. (۱۳۸۶). تاثیر عصاره الکلی زرشک بر زخم ناشی از لیشمانیا ماژور در موش Balb/c. *مجله دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی*، سال ۵، شماره۳، صفحات ۴۲–۳۵.

8. Ahmadi, K., Mahmoodzadeh, A., Cheraghali, A., Esfehani, A. (2002). Effect of Garlic extract on cutaneous leishmaniosis by increasing nitric oxide. The Journal of Sharekord University of Medical Sciences **4**: 1–7.

9. Bajalan, I., Pirbalouti, A. G. (2015). Variation in chemical composition of essential oil of populations of Lavandula × intermedia collected from Western Iran. Industrial Crops and Products **69**: 344–347.

10. Banuls, A., Mallorie, H., Franck, P. (2007). Leishmania and the Leishmaniases: A Parasite Genetic Update and Advances in Taxonomy, Epidemiology and Pathogenicity in Humans. Advances in parasitology **6**: 4–7.

11. Bates, P.A. (2007). Transmission of Leishmania metacyclic promastigotes by phlebotomine sand flies. International Journal for Parasitology 37: 1097–1106.

12. Blassa, M., Candracci, M., Accorsi, A., Piacentini, M.P., Albertini, M.C., Piatti E. (2006). Raw millefiori honey is packed full of antioxidants. Food Chemistry **97**: 217–222.

13. Bourgaud, F., Gravot, A., Milesi, S., Gontier, E. (2001). Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. Plant Science **161**: 839–851.

14. Ghazanfari, T., Hassan, Z.M., Ebtekar, M., Ahmadiani, A., Naderi, G., Azar, A. (2000). Garlic: Induces a shift in cytokine pattern in Leishmania major –infected Balb/c mice. Scandinavian Journal of Immunology **52**: 491–494.

15. Hatimi, S., Boudouma, M., Bichichi, M., Chaib, N., Guessous Idrissi, N. (2001). In vitro Evaluation of antileishmanial activity of Artemisia herba-alba Asso. Therapeutique **94**: 57–70.

16. Jacobs, O.J., G.P., Witzum, E., Greenblatt, C.L., (1984). Development of topical treatment for cutaneous leishmaniasis caused by Leishmania major in experimental animals. Antimicrob Ageents Chemothe **26**: 51–754.

17. Krest, I., Glodeck, J., Keusgen, M. (2000). Cysteine sulphoxides and alliinase activity of some Allium species. Journal of Agricultural and Food Chemistry **48**: 3753–3760.

18. Mandal, D.M., and Mandal, S. (2011). Honey: its medicinal property and antibacterial activity. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine **1**: 154–160.

19. Mohammadi, M., Alaei, M., Bajalan, I. (2016). Phytochemical screening, total phenolic and flavonoid contents and antioxidant activity of Anabasis setifera and Salsola tomentosa extracted with different extraction methods and solvents. Oriental Pharmacy and Experimental Medicine **16**: 31–35.

20. Mundo, M.A., Padilla-Zakour, O.I., Worobo, R.W. (2004). Growth inhibition of foodborne pathogens and food spoilage organisms by select raw honeys. International Journal of Food Microbiology **97**: 1–8.

21. Sforcin, J.M., Kaneno, R., Funari, S.R.C. (2002). Absence of seasonal effect on the immunomodulatory action of Brazilian propolis on natural killer activity. Journal of Venomous Animals and Toxins **8**: 19–29.

22. Tonks, A., Cooper, R.A., Price, A.J., Molan, P.C., Jones, K.P. (2001). Stimulation of TNF-alpha release in monocytes by honey. Cytokine **14**: 240–242.

23. Zekiri, F., Molitor, C., Mauracher, S.G., Michael, C., Mayer, R.L., Gerner, C., Rompel, A. (2014). Purification and characterization of tyrosinase from walnut leaves (Juglans regia). Phytochemistry **101**: 5–15.

جدول ۱- گروه‌های شاهد مورد مطالعه در هفته های مختلف (طول زخم به میلی متر).

ردیف	گروههای شاهد	تعداد موش	مساحت زخم در آغاز مطالعه	هفته اول	هفته دوم	هفته سوم	هفته چهارم	هفته پنجم
۱	درمان پایه با متانول	۱۰	٤/۱±۲/٤	٤/۱±٤۱/٤	٤/۲±٤۹/٤	٤/۱±٥۸/٤	٥/۱±۰۲/٥	٥/۲±۳۱/۷
۲	درمان با گلوکانتیم	۱۰	٤/۱±۳۸/٤	٤/۱±٦/٤	٤/۱±۹۱/٤	٥/۱±۰۱/٥	٤/۱±۱۲/٤	۱±٤

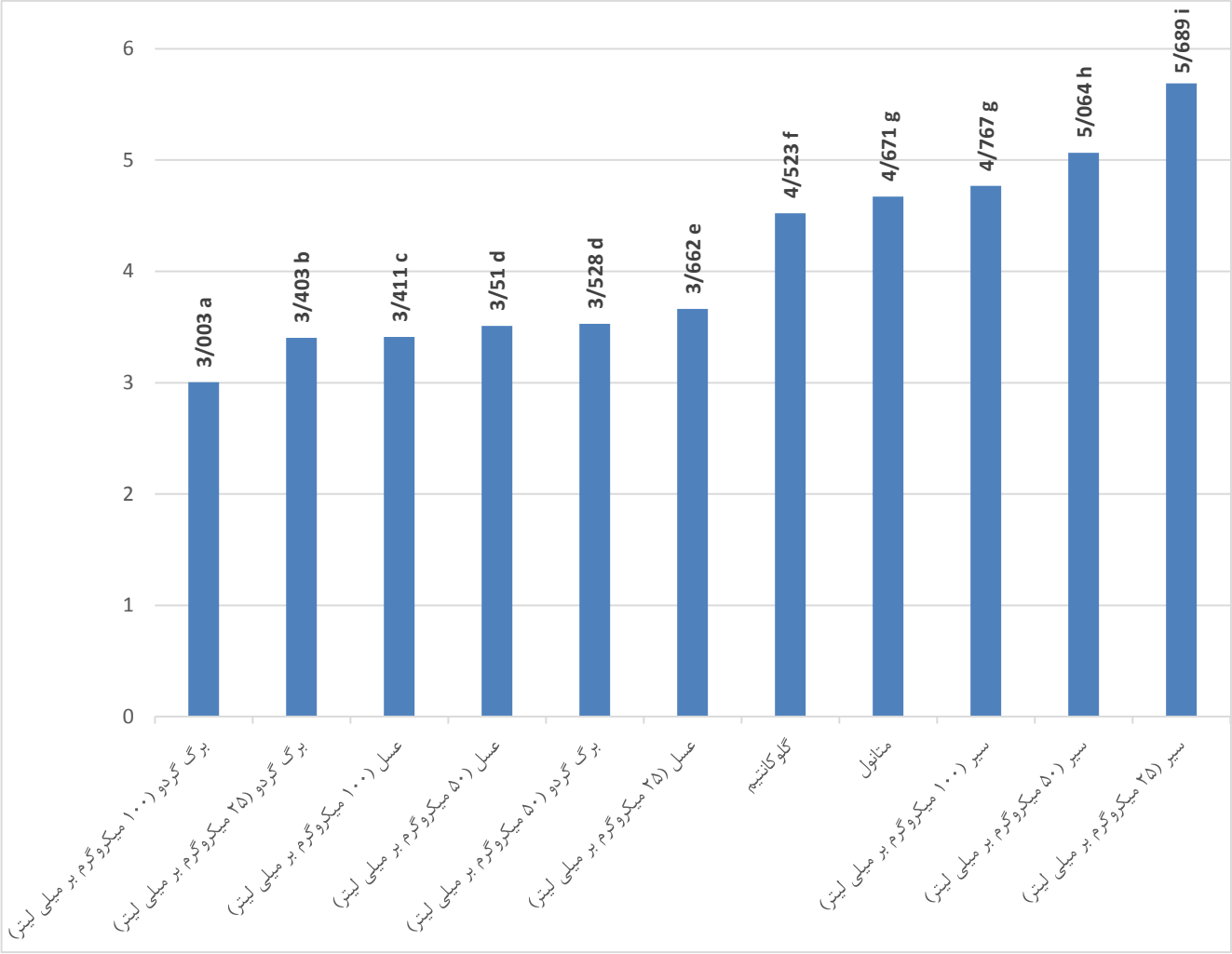
X ±SD: میانگین ± انحراف معیار مساحت زخم.

جدول ۲- ااندازه طول زخم پس از درمان با غلظت‌های مختلف در زمان‌های مختلف (طول زخم به میلی متر).

غلظت	گروههای درمانی	تعداد موش	مساحت زخم در آغاز مطالعه	هفته اول	هفته دوم	هفته سوم	هفته چهارم	هفته پنجم
۲۵ میلی گرم	سیر	۱۰	٤/۱±۲۹/٤	٤/۱±٤۹/٤	٥/۲±۲۱/٥	٥/۲±۹۱/٥	٦/۲±۹۹/٦	۷/۲±۲۹/۷
۲۵ میلی گرم	برگ گردو	۱۰	٤/۱±۰۳/٤	٤/۰±۰۰/٤	۳/۱±۰۸/۳	۳/۱±۱/۳	۳/۱±۱٥/۳	۳/۱±۰۰/۳
۲۵ میلی گرم	عسل	۱۰	٤/۱±۳۸/٤	٤/۱±۰۷/٤	۳/۱±۸/۳	۳/۱±٥/۳	۳/۱±۲/۳	۲/۱±۹۷/۲
۵۰ میلی گرم	سیر	۱۰	٤/۱±۱۲/٤	٤/۱±٤۸/٤	٤/۱±۹۹/٤	٥/۱±۳۰/٥	٥/۲±۳۹/٥	٦/۲±۱/٦
۵۰ میلی گرم	برگ گردو	۱۰	٤/۱±۰۸/٤	۳/۱±۷/۳	۳/۱±۷/۳	۳/۱±۷/۳	۳/۰±۰۰/۳	۳/۱±۹۷/۲
۵۰ میلی گرم	عسل	۱۰	٤/۱±۱٥/٤	٤/۱±۰۲/٤	۳/۱±٦/۳	۳/۱±۳/۳	۳/۰±۰۰/۳	۲/۱±۹/۲
۱۰۰ میلی گرم	سیر	۱۰	٤/۱±۱٥/٤	٤/۱±۱٤/٤	٤/۱±٦/٤	٤/۱±۹۳/٤	٥/۱±۰۰/٥	٥/۱±۷/٥
۱۰۰ میلی گرم	برگ گردو	۱۰	٤/۱±۲۹/٤	۳/۱±۱/۳	۳/۱±۰۱/۳	۲/۱±۹٦/۲	۲/۱±٥/۲	۲/۰±۱۲/۲

۱۰۰ میلی گرم	عسل	۱۰	٤/۱±۱۵/٤	۳/۱±۹۹/۳	۳/۱±۵/۳	۳/۱±۰۱/۳	۲/۱±۹۵/۲	۲/۱±۸۵/۲

X ±SD: میانگین ± انحراف معیار مساحت زخم.



شکل ۱- میانگین قطر زخم در موش‌های تیمار شده با گروه‌های شاهد، عسل و عصاره های گیاهی.

(میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند از نظر آماری دارای اختلاف معنی داری نمی‌باشند).