

طراحی یک نانو ترکیب گیاهی جدید از کدوخلوایی برای ترمیم سوختگی پوست در موش‌های سوری نر از نژاد آلبینو: یک شیوه جدید نانو برای ترمیم پوست

نوشین نقش^{*}، فاطمه ابوطالبی، سمیرا کرم سیچانی

گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد فلاورجان، اصفهان، ایران.

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۱/۱۲/۱۶

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۱/۰۹/۱۲

چکیده

زمینه و هدف: کدوخلوایی، یکی از گیاهان سنتی دارویی با خواص آنتی اکسیدانی و ترمیم کنندگی ضایعات پوستی می‌باشد. در این تحقیق، به بررسی یک نانو ترکیب گیاهی جدید از کدوخلوایی و نانو سیلیور در ترمیم سوختگی پوستی در موش‌های سوری نر، پرداخته شده است.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق، موش‌های سوری نر از نژاد آلبینو، به ترتیب در ۸ گروه ۸ تایی، نانوذرات نقره با غلظت‌های ppm ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ و عصاره هیدروآتانولی ۷۰٪، ۵۰٪ و ۲۵٪ از کدوخلوایی و گروه ترکیبی که نانوذرات نقره ppm ۱۲۵ و عصاره اتانولی کدوخلوایی ۲۵٪ و گروه هشتم به عنوان شاهد آب مقطر دوبار تقطیر به صورت پوستی دریافت کردند. سپس، ۲۸ روز بعد از تیمار، قطر سوختگی اندازه‌گیری و در گروه‌های مختلف با آزمون‌های t-test و ANOVA مقایسه شد.

نتایج: نتایج نشان می‌دهد که بیشترین تاثیر ترمیمی و بهبود سوختگی، در موش‌های سوری نر به صورت تماسی در گروه عصاره ۷۰٪ هیدروآتانولی کدوخلوایی بعد از ۲۸ روز دیده شده که میانگین قطر سوختگی از $1/16 \pm 0/46$ cm به میزان صفر سانتی‌متر و $0/12 \pm 0/23$ cm به ترتیب در گروه‌های عصاره ۷۰٪ هیدروآتانولی و گروه ترکیبی رسیده است که در مقایسه با شاهد، کاهش معنی‌دار یافته است ($p \leq 0/01$).

نتیجه‌گیری: در این پروژه، تاثیر ترکیب نانوذرات نقره-عصاره هیدروآتانولی کدوخلوایی در ترمیم سوختگی، بیشتر از تاثیر تک‌تک آن‌ها بوده که نشان‌دهنده وجود اثرات ترمیمی سینرژیک این دو ماده در نانو کامپوزیت گیاهی موجود می‌باشد.

کلمات کلیدی: خلوایی، نانوذرات نقره، زخم، موش سوری.

مقدمه

یکی از مشکلات بزرگی که طب جدید، با وجود امتیازهای ظاهری نسبت به طب سنتی، با خود به ارمغان آورده، مصرف روزافزون داروهای شیمیایی است. این مسئله با گذشت زمان شکل حادثری به خود می‌گیرد. امروزه باید متناسب با پیشرفت علم و تکنولوژی، از گیاهان دارویی نیز بهره گرفت. تاریخچه مصرف داروهای گیاهی در درمان بیماری‌ها، به سالیان نخستین زندگی بشر بر می‌گردد. میزان استفاده از داروهای گیاهی در کشورهای همچون هند و چین با حدود بیش از ۷۰ درصد در بالاترین مقدار قرار دارد. متأسفانه، در ایران این نسبت در حد بسیار پایینی است، به طوری که در دهه ۱۳۸۰-۱۳۷۰ کمتر از ۱ درصد و در حال حاضر، در حدود ۵ درصد می‌باشد. یکی از گیاهان با کاربرد دارویی، کدوخلوایی، با نام علمی *Cucurbita pepo* از خانواده Cucurbitaceae می‌باشد. این گیاه یک ساله، با ساقه‌های خوابیده بر سطح خاک، برگ‌های تخم مرغی پهن با اندازه ۱۵ تا ۳۰ سانتیمتر و گل‌های زرد پررنگ و تک جنس مشخص می‌شود (۱). ترکیبات موجود در این گیاه، پارا آمینوبنزوئیک

اسید، پلی‌ساکاریدها، پروتئین، پیتیدها و استرول‌ها می‌باشند که از ترکیبات فعال از نظر بیولوژیکی به شمار می‌روند. آلکالوئید، اسید پالمیتیک، اولئیک، لینولئیک و فلاونوئیدها نیز در کدوخلوایی فراوان می‌باشند. برگ‌های کدوخلوایی نیز حاوی ترکیباتی مانند ترکیبات فنولی و 11E-octadecatrienoic acid می‌باشند. تحقیقات نشان می‌دهند که این پروتئین‌ها و پلی‌ساکاریدها دارای اثرات ضد باکتریایی (Antiba-trial effects)، کاهنده کلسترول، ضد جهش (Antimutagen agents)، ضد سرطان، ضد التهاب و دارای اثرات آنتی اکسیدانی، تعدیل‌کنندگی سیستم ایمنی (Immunomodulatory) و کرم‌کشی هستند (۲، ۱). اغلب گونه‌های کدو دارای مقدار قابل ملاحظه‌ای از استرهای زانتوفیل می‌باشند. دانه‌های کدوخلوایی، منبع غنی از پروتئین، فیتواسترول و ویتامین‌های با خاصیت آنتی اکسیدانی مانند توکوفرول، اسیدهای چرب غیراشباع و مواد معدنی، مانند روی، می‌باشند. مشخص شده است که روغن دانه کدوخلوایی، در درمان هیپرپلازی خوش‌خیم پروستات و ناهنجاری‌های ادراری مفید می‌باشد. به‌علاوه، دانه‌های کدوخلوایی

* نویسنده مسئول: نوشین نقش، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد فلاورجان، اصفهان، ایران. تلفن: ۰۹۱۳۲۰۰۹۲۷۶
Email: Naghsh@iaufala.ac.ir

سلامتی و محیط باشند و منجر به سمیت بالای نانو ذرات نقره شوند (۶ و ۷). از طرفی، اگر این تاثیر سمی بر بقایای سلول‌های مرده در زخم‌های پوستی اعمال شود، در ترمیم سوختگی‌ها و ضایعات پوستی می‌تواند موثر واقع شود؛ اما، از آنجایی که تاثیر این نانو ذرات به صورت هوشمند نبوده و بر تمام سلول‌ها اثر دارند، شاید بتوان با تغییر فرمولاسیون آن‌ها و یا ترکیب این مواد با عصاره‌های گیاهی و طراحی نانو کپسول‌های گیاهی، اثرات مضر آن‌ها را کاهش، و اثرات مفید آن‌ها را تشدید نمود. لذا، در این تحقیق به بررسی مقایسه اثرات نانو سیلور تنها و ترکیب نانو سیلور با عصاره هیدروآلکلی کدو حلواپی در ترمیم زخم‌های ناشی از سوختگی پوستی در موش‌های سوری نر از نژاد آلبینو پرداخته شده است. با توجه به شباهت ساختاری بدن موش و انسان، ممکن است در صورت وجود اثرات ترمیمی به مزایای ترکیبی، از نانو کامپوزیت مزبور جهت رفع ضایعات پوستی در انسان استفاده نمود.

مواد و روش‌ها

ایجاد سوختگی در موش‌ها: در این پروژه، از موش‌های سوری نر استفاده شد. میانگین وزن این موش‌ها، 30 ± 5 بود. به منظور ایجاد سوختگی در پوست موش‌ها، ابتدا با قیچی و تیغ بیستوری شماره ۱۵ محل ایجاد سوختگی واقع در پشت حیوان، نزدیک ستون فقرات کاملاً تراشیده شد و پس از ضدعفونی محل با الکل اتیلیک، عمل بیهوشی با استفاده از تزریق مخلوط کتامین 50 mg/kg و زایلازین 5 mg/kg به صورت داخل صفاقی ایجاد گردید. سپس دایره فلزی به قطر ۲ سانتیمتر تا 100°C درجه سانتیگراد حرارت داده شد و پس از اطمینان از بیهوشی به مدت ۱۰ ثانیه روی پوست حیوان قرار گرفت. با استفاده از قلم روان نويس و ورق شفاف، محیط زخم در روز صفر رسم گردیده و با استفاده از کاغذ میلی‌متری، مساحت زخم در روز صفر اندازه‌گیری شد. در ضمن تمام مراحل آزمایش با رعایت اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی و توسط تکنسین متخصص، انجام پذیرفت.

گروه‌های آزمایشی: جهت بررسی تاثیرات تماسی ترکیبات فوق، ۸ گروه آزمایشی در نظر گرفته شد که در هر گروه ۸ موش قرار داشتند. به پوست گروه اول، 0.5 سی‌سی از نانوذرات نقره با غلظت 500 ppm ، به پوست گروه دوم، 0.5 سی‌سی از نانوذرات نقره با غلظت 250 ppm ، به پوست گروه سوم، 0.5 سی‌سی از نانوذرات نقره با غلظت 125 ppm ، به پوست گروه چهارم، 0.5 سی‌سی از عصاره اتانولی 70% کدو حلواپی، مالیده شد. به پوست گروه پنجم، 0.5 سی‌سی از عصاره اتانولی 50% کدو حلواپی و به پوست گروه ششم، 0.5 سی‌سی از عصاره اتانولی 25% کدو حلواپی مالیده شد. همچنین، پوست گروه هفتم، 0.5 سی‌سی از مخلوط نانوذرات نقره با غلظت 125 ppm و عصاره اتانولی کدو حلواپی 25% تماس داده شد. گروه هشتم، که در حکم گروه کنترل بودند، بعد از ایجاد سوختگی، فقط با آب مقطر دوبار تقطیر، تیمار شدند.

تهیه نانوذرات: نانوذرات نقره کروی با میانگین قطر 10 نانومتر و با غلظت 500 ppm استوک از شرکت زیست-شیمی-آزمایش-رشد خریداری شدند. تهیه نانوذرات نقره، با روش شیمیایی و با استفاده از احیای سیترات انجام پذیرفت. سپس با روش سری رقت (Serial dilution)، از استوک اصلی، رقت‌های مورد نظر تهیه گشت.

تهیه عصاره‌های گیاهی: ابتدا 40 گرم از پودر خشک شده و الک

باعث مهار تجمع و تشکیل کریستال‌ها در مثنه می‌شوند و در نتیجه، از تشکیل سنگ‌های مثنه جلوگیری می‌کنند. همچنین، در مطالعات بر روی حیوانات مشخص شده که روغن دانه کدو حلواپی باعث کاهش فشار خون شده و کلسترول را کاهش می‌دهد. اثرات کاهنده گلوکز خون هم در روغن دانه‌های کدو مشخص شده است. رژیم‌های غنی از دانه کدو حلواپی، باعث کاهش ابتلا به سرطان‌های ریه، کولورکتال، روده و سینه می‌شود. حضور مولکول‌های آنتی‌اکسیدان و ضد التهاب در دانه‌های کدو حلواپی، می‌تواند اثرات فوق‌الذکر برای دانه‌های کدو حلواپی را ثابت کند. لیپوآکسیژناز، آنزیمی است که باعث ایجاد ترکیبات واسطه التهابی می‌شود. خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گل‌های ماده و نر کدو حلواپی، روغن و آرد دانه‌های آن مشخص شده است. ترکیبات فنولی در عصاره دانه کدو حلواپی، باعث مهار پراکسیداسیون لیپیدها می‌شوند. این ترکیبات، رادیکال‌های آزاد را نیز مهار می‌کنند (۳). اسیدهای چربی که به‌طور عمده در روغن دانه کدو حلواپی یافت می‌شوند شامل پالمیتیک، استئاریک، لینولئیک و اولئیک اسید می‌باشند (۳، ۴). از طرفی، امروزه کاربرد نانوتکنولوژی در علوم مختلف بسیار دیده می‌شود. استفاده از نانوذرات نقره، یکی از پرکاربردترین موارد استفاده از نانوتکنولوژی دارو رسانی (Drug delivery) می‌باشد. در فناوری نانو نقره، موادی متشکل از یون‌های نقره به صورت کلونیدی در محلولی به شکل سوسپانسیون قرار دارند. یون‌های نقره به دلیل اندازه کوچک، سطح تماس بیشتری با فضای بیرون داشته و تاثیر بیشتری بر محیط می‌گذارند. این نانوذرات دارای خاصیت ضد باکتریایی، ضد قارچی و ضد ویروسی می‌باشند. این در حالی است که نقره، به خودی خود، دارای خاصیت بسیار کمتر و یا فاقد آن است. این خاصیت دوگانه ذرات نانو، در مقایسه با ذرات ماکروی نقره به دلیل اثر افزایش سطح در نتیجه افزایش واکنش پذیری ماده و پیروی ماده از فیزیک و شیمی کوانتوم در حالت نانو است (۵، ۶). به این معنا که در مقیاس نانو، رفتار سطوح بر رفتار توده‌ای چیره می‌گردد و قوانین فیزیک کوانتومی وارد صحنه شده و ویژگی‌های ذاتی ماده مانند دمای ذوب، رفتار مغناطیسی و رنگ ماده تغییر می‌کند. واژه سطح، معمولاً برای مشخص کردن ناحیه مرزی یک فاز مایع، جامد و گاز به کار می‌رود. عمق لایه سطحی، برابر با حدود دو فاصله اتمی است و پایین‌تر از این عمق، مکان و انرژی اتم‌ها به‌طور اندکی تحت تاثیر قرار می‌گیرند (۷، ۸). از نانو سیلور، به عنوان دارو می‌توان در درمان بیماری‌های پوستی، آکنه، انواع جراحات و سوختگی‌ها، بیماری‌های باکتریایی و قارچی، بیماری‌های گوارشی، بیماری‌های جنسی و ایدز استفاده نمود. نانو نقره ماده‌ای با سمیت بالا است که با تولید گونه‌های آزاد اکسیژن همراه است. بسیاری از مطالعات آزمایشگاهی (in vitro)، وابسته به دوز بودن آن را تایید کرده‌اند. در حال حاضر، هیچ همبستگی مستقیمی بین مارکرهای بیولوژیک در داخل بدن (in vivo) موجودات زنده و سطح پوست آن‌ها و تاثیر نانو ذرات مختلف بر آن‌ها وجود ندارد (۶). با توجه به کاربرد بسیار زیاد نانو ذرات نقره در نانوتکنولوژی نوین و نقش آن‌ها در بسته‌بندی مواد و کاربردهای پزشکی این ذرات در کشور ما، کاربرد این نانو ذره مثل شمشیر دولبه است. از طرفی، یون‌های نقره طی چندین رویداد بیولوژیک مثل اتصال با غشای سلولی و جذب به دیواره سلولی، نفوذپذیری غشای سلول‌های زنده را تغییر داده و با تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن، آنزیم‌های سلولی را غیرفعال می‌کند. این ویژگی‌ها ممکن است دارای تاثیرات منفی بر

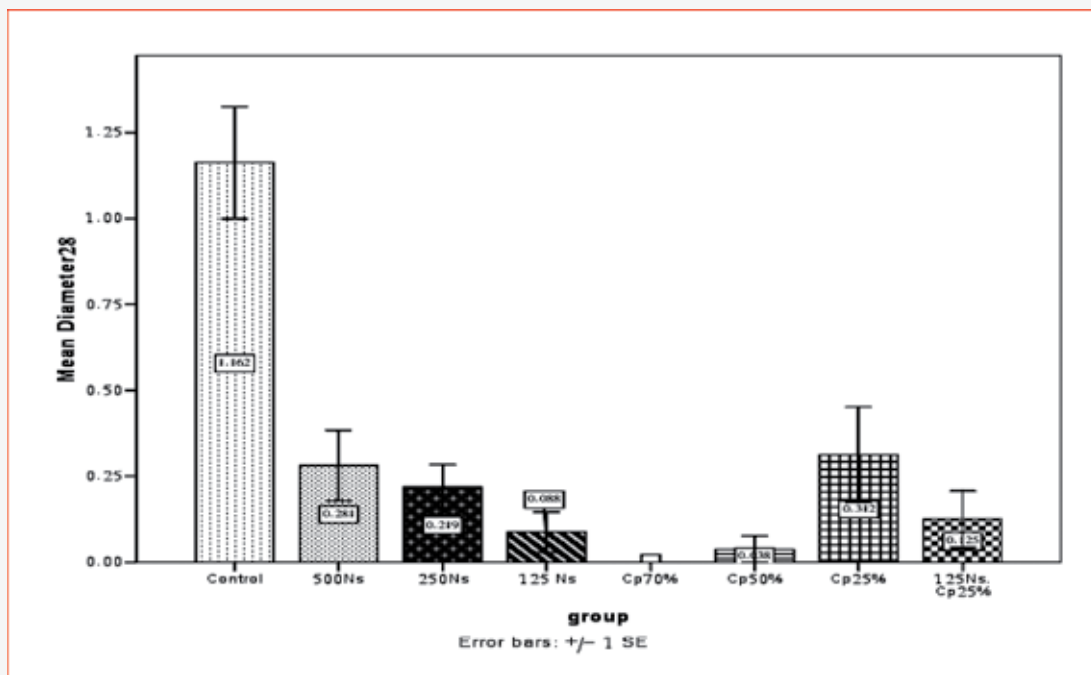
نتایج

در نمودارهای زیر، میانگین قطر زخم گروه‌های مختلف، به تفکیک گروه‌ها، ۲۸ روز پس از تیمار تماسی در غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره (۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ ppm) و عصاره هیدروآتانولی کدوخلوایی (۰.۷۰٪، ۰.۵۰٪ و ۰.۲۵٪)، و گروه ترکیبی کدوخلوایی ۰.۲۵٪ و نانوسیلور ۱۲۵ ppm، با گروه‌های کنترل و شاهد مقایسه گردیده است. نتایج نشان می‌دهد که بیشترین تاثیر ترمیمی و بهبود زخم، در موش‌های سوری، به صورت تماسی در گروه عصاره ۰.۷۰٪ هیدروآتانولی کدوخلوایی بعد از ۲۸ وجود دارد و میانگین قطر زخم از $1/16 \pm 0/46$ cm به میزان صفر میلی‌متر رسیده است ($p \leq 0/01$). سپس، در گروه کدوخلوایی ۰.۵۰٪، که میانگین قطر زخم از $1/16 \pm 0/46$ cm به میزان $0/03 \pm 0/16$ cm رسیده است. سپس، در گروه ترکیبی کدوخلوایی ۰.۲۵٪ و نانوسیلور ۱۲۵ ppm به میزان $0/12 \pm 0/23$ cm کاهش معنی‌دار یافته است (نمودار ۱ و شکل ۱). یافته‌های نمودار ۲ نشان دهنده این است که بیشترین تاثیر در کاهش قطر زخم، مربوط به گروه عصاره ۰.۷۰٪ هیدروآتانولی کدوخلوایی و

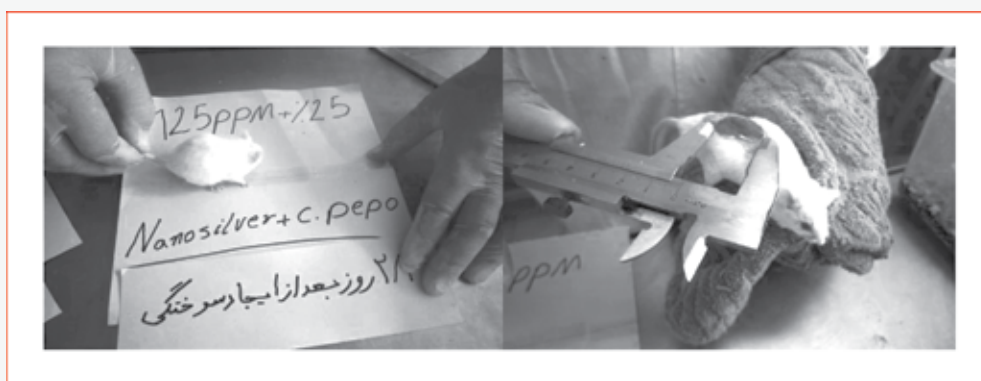
شده میوه کدوخلوایی، به دقت توزین شد. این مواد در کاغذ صافی دستگاه سوکسیله محکم پیچانده شدند. سپس، به بالن ژوژه دستگاه به میزان ۱۷۵ سی‌سی از اتانل خالص ۹۹/۹۹ درجه ریخته و بر روی آن ۷۵ سی‌سی آب مقطر دو بار تقطیر افزوده شد. به دنبال آن، محتویات حاصل، در درجه حرارت ۵۳ درجه به مدت ۴۸ ساعت در دستگاه سوکسیله قرار داده شدند. به منظور تبخیر اتانل، از دستگاه روتاری استفاده شد. با این روش، عصاره اتانولی ۷۰ درصد به دست آمد که با روش سری رقت، از آن عصاره هیدروآتانولی کدوخلوایی ۰.۵۰٪ و ۰.۲۵٪ تهیه شد. مراحل تهیه عصاره در آزمایشگاه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان انجام پذیرفت.

اندازه‌گیری قطر سوختگی و محاسبات آماری: قطر ناحیه

سوخته شده، در روزهای مختلف اندازه‌گیری و میانگین آن در گروه‌های تیمار و کنترل با یکدیگر مقایسه گردید. به منظور مقایسه میانگین‌ها، از آزمون t-test و ANOVA استفاده شد. سنجش آماری داده‌ها با استفاده از برنامه نرم افزاری SPSS ورژن ۱۸ انجام شد و نمودارهای مربوطه، ترسیم گردیدند.



نمودار ۱ - مقایسه میانگین قطر سوختگی در گروه‌های مختلف، ۲۸ روز بعد از تیمار پوستی در موش‌های سوری نر



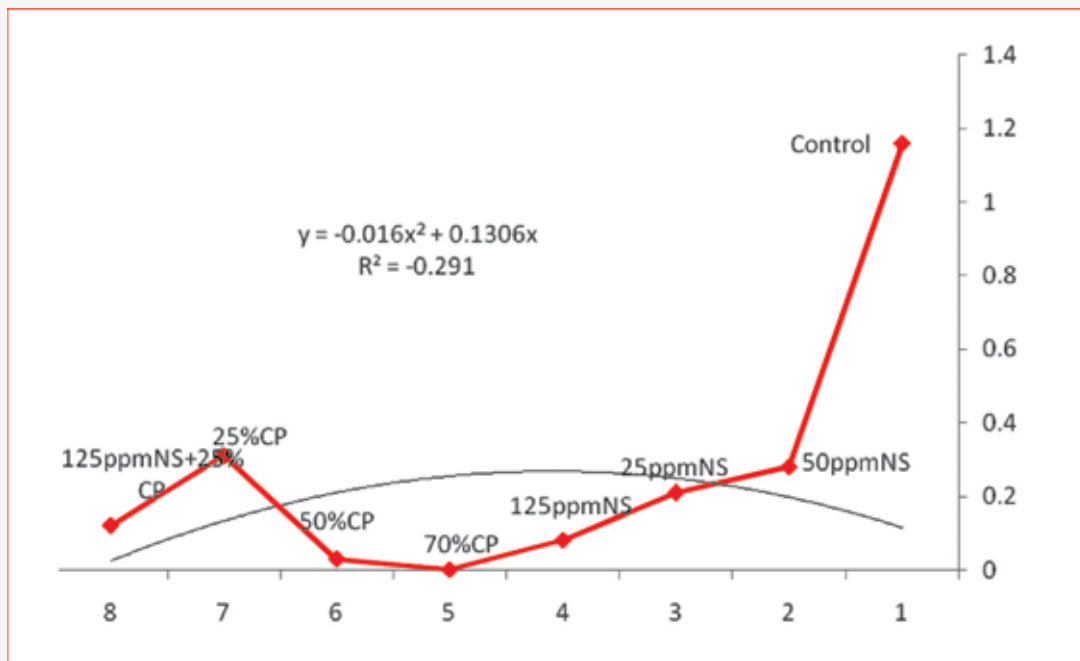
شکل ۱ - مقایسه قطر سوختگی گروه شاهد و ترکیبی ۲۸ روز بعد از ایجاد سوختگی

گفت که بدلیل وجود ویتامین E و ترکیبات فنولی در کدوخلوایی، این میوه جالیزی می‌تواند در فرآیند بهبود زخم، تاثیرگذار باشد. از طرفی، برهم‌کنش سلول - سلول و سلول - ماتریکس، در تمامی مراحل ترمیم زخم لازم می‌باشد که این برهم‌کنش‌ها توسط فاکتورهای متعددی از جمله TGF- β , TNF- α , VEGF, FGF, اینترلوکین ۶ و اینترلوکین $\alpha 1$ تنظیم می‌شود. یک راه منطقی برای درمان بهتر سوختگی، این است که واکنش التهابی باعث طولانی شدن عدم تعادل متابولیک می‌شود، را بلوک کنیم. اولین هدف در ترمیم زخم، بسته شدن سریع آن می‌باشد. بنابراین، داروهایی که پاسخ التهابی را تعدیل می‌کنند، درمان مناسبی به نظر می‌رسند. اسیدهای چرب غیراشباع، پیش‌ساز اولیه بسیاری از ترکیبات لیپوئیک‌اند که در واکنش التهابی نقش دارند. n3 و n6، علاوه بر این که در تشکیل ترکیبات لیپوئیک نقش دارند، می‌توانند با n9 در سنتز فسفولیپیدهای غشا نقش داشته باشند. اسیدهای چرب n9 باعث ترمیم سریع زخم می‌شوند (۱۲، ۱۳). به علاوه، ادم هم کمتر و لخته فیبرین نازک‌تر می‌باشد. همچنین، این اسیدهای چرب باعث القای بیان کلاژن نوع ۳ شده و بیان سیکلواکسیژناز ۲ را هم کاهش می‌دهند. به علاوه، افزایش رونویسی از ژن‌های اینترلوکین ۱۰، ۱۷ و فاکتور نکروز دهنده تومور آلفا هم دیده می‌شود. بنابراین، اسیدهای چرب به طور مستقیم بر دوباره سازی (Remodeling) زخم موثر می‌باشند. اسیدهای چرب n9، منجر به کاهش انتشار التهاب در زخم پوست می‌شوند. Cardoso C.R, Favoreto S و همکارانشان

روز بعد از تیمار می‌باشد. همچنین، از آنجایی که گروه ترکیبی فوق، با کمترین غلظت نانوذرات و عصاره تهیه شد و تاثیر این نانوکامپوزیت گیاهی بیشتر از اثر تک تک این مواد بود، می‌توان به این نتیجه رسید که اثرات سینرژیک بین نانوذرات نقره در غلظت ۱۲۵ ppm و عصاره ۲۵٪ هیدروآنانولی کدوخلوایی در ترمیم سوختگی پوستی، در موش‌های سوری نر از نژاد آلبینو وجود دارد.

بحث و نتیجه‌گیری

ما در مطالعه حاضر، به ارزیابی اثرات زمانی و غلظتی عصاره هیدروآنانولی کدوخلوایی و نانوذرات نقره، به صورت تماسی، بر میزان بهبود زخم‌ها و التهاب ناشی از آن و همچنین تغییرات شمارش گلبول‌های خونی در موش‌های سوری نر پرداختیم. یافته‌های آماری حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد که بیشترین تاثیر در کاهش قطر زخم، مربوط به گروه عصاره ۷۰٪ هیدروآنانولی کدوخلوایی در ۲۸ روز بعد از تیمار می‌باشد. همچنین، این نمودار، نشان‌دهنده وجود اثرات سینرژیک بین نانوذرات نقره در غلظت ۱۲۵ ppm و عصاره ۲۵٪ هیدروآنانولی کدوخلوایی می‌باشد. تاثیرات ترکیب دو ماده فوق در کاهش قطر زخم، بیشتر از اثرات تک‌تک آن‌هاست؛ بدین مفهوم که در گروه کنترل، میانگین قطر زخم $1/16 \pm 0/46$ mm بوده که در گروه ۱۲۵ ppm، این رقم به $0/08 \pm 0/16$ mm، در گروه کدوخلوایی ۲۵٪، به $0/31 \pm 0/39$ mm و بالاخره در گروه ترکیبی کدوخلوایی ۲۵٪ و نانوسیلور ۱۲۵ ppm، به میزان $0/12 \pm 0/23$ mm کاهش



شکل ۱ - مقایسه قطر سوختگی گروه شاهد و ترکیبی ۲۸ روز بعد از ایجاد سوختگی

در سال ۲۰۱۱ نشان دادند که در اسید اولئیک موجود در عصاره هیدروآنانولی کدوخلوایی، پاسخ‌های ایمنی و التهابی را در زخم‌ها تعدیل کند (۱۴، ۱۵). همچنین، روند افزایش ترمیم در گروه نانو سیلور ۱۲۵ ppm، احتمالاً به علت عبور این نانوذره در این غلظت

معنی‌دار یافته است (نمودار ۲). تحقیقات بر روی گیاهان دارویی نشان داده است که آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توانند در ترمیم زخم‌ها، استفاده درمانی داشته و بافت‌ها را از آسیب اکسیداتیو حفظ کنند (۹-۱۱). بنابراین، می‌توان

تغییرات ساختمان بافتی عضله اسکلتی در موش‌های صحرایی نر از نژاد ویستار پرداختند. آن‌ها نشان دادند که در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ ppm از نانوذرات نقره، تاثیر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم مزبور ایجاد نشده بود. ولی در غلظت ۴۰۰ ppm، نانوذرات نقره، نظم بافتی عضلات اسکلتی را در مقایسه با گروه شاهد کاهش داده بودند و برخی از میوفیبریل‌ها را پاره کرده بودند (۱۵). به طور کلی، نانوذرات به دو دلیل عمده می‌توانند برای سلامتی مضر باشند؛ اول این‌که بسیار سریع از غشاهای بیولوژیک رد شده و دوم این‌که به دلیل جدید بودن، میزان سمیت آن‌ها هنوز به طور کامل شناخته نشده است و از طرفی سمیت آن‌ها به غلظت و شکل و قطر آن‌ها وابسته است (۱۶، ۱۷).

با این حال، لازم است تحقیقات بیشتری در زمینه اثر این ذرات بر اندام‌ها و فاکتورهای خونی دیگر به طور گسترده‌تر انجام شود. همچنین، استفاده از موش‌های آزمایشگاهی به عنوان مدل‌های حیوانی و نحوه‌های مختلف تیمار و نانوذرات با ترکیبات و قطره‌های مختلف، افق‌های نوینی از تحقیقات آینده جهت بررسی کاربردهای نانوتکنولوژی در فیزیولوژی را نمایان می‌کند. با توجه به شباهت فیزیولوژیک موش و بدن انسان، نتایج به دست آمده از این پروژه قابل تعمیم به انسان می‌باشد. از طرفی، وجود اثرات سینرژیک بین نانوذرات نقره در غلظت ۱۲۵ ppm و عصاره ۷۰٪ هیدروآتانولی کدوخلوایی در این پروژه، نشان دهنده طراحی یک نانوکامپوزیت گیاهی (Plant nanocomposite) برای بهبود و ترمیم زخم ناشی از سوختگی در موش‌های سوری نر می‌باشد. با انجام آزمایش‌های بالینی و توکسیکولوژی دقیق، می‌توان از این نانوترکیب گیاهی برای درمان زخم ناشی از سوختگی در انسان نیز استفاده نمود.

کم از پوست بوده که به تسریع روند التهاب و به دنبال آن آغاز روند ترمیم کمک کرده است. در غلظت‌های بالا (Overdose) مثل ۵۰۰ ppm، نانوذرات نقره قبل از ورود به پوست، احتمالاً به یکدیگر چسبیده و تولید توده (Bulk) می‌کنند که بر خلاف ابعاد نانو عمل کرده و نفوذپذیری آن در غشای سلول‌ها کاهش می‌یابد (۱۶، ۱۷). Susan W.P در سال ۲۰۰۹ نشان داد که با تغییرات قطر و غلظت نانوذرات، توزیع آن‌ها در بافت‌های بدن و اثراتشان متفاوت می‌گردد (۱۳). Jung JH و Ji JH، در سال ۲۰۰۷ به بررسی تاثیرات خوراکی نانوذرات نقره با قطر ۶۰ نانومتر بر روی رت‌های نر پرداختند (۱۴). این دانشمندان نشان دادند که گلبول‌های سفید تک هسته، به علت افزایش آپوپتوز، کاهش یافته بود. دلیل این مکانیسم را شاید بتوان به تغییرات قطر نانو سیلور آن‌ها و متفاوت بودن شیوه تیمار با نانو سیلور نسبت داد. یک مکانیسم محتمل برای تسریع بهبود زخم ناشی از سوختگی پوستی در موش‌ها، افزایش آپوپتوز سلول‌های آسیب دیده در محل سوختگی و تسریع روند ترمیم می‌باشد. محققان توانسته‌اند با آزمایش‌های گوناگون، ساختار ترکیبی متفاوتی از بعضی از نانوذرات تهیه نمایند. با ورود ترکیبات عصاره‌های گیاهی به نانوذرات نقره، می‌توان از اثرات سمی نانوذرات کاست. همچنین نانو ذرات نقره، زمینه را برای ورود عصاره‌های اتانولی گیاهان به داخل سلول‌ها فراهم می‌آورند.

با توجه به یافته‌های حاصل از این تحقیق و گزارش‌های بدست آمده از محققین دیگر، می‌توان نتیجه گرفت که کاربرد نانوذرات نقره در شرایط *in vivo* در مقادیر مختلف در زمینه‌های پزشکی سمیت، ممکن است باعث ایجاد اختلالات خاصی در بدن گردد. نقش و همکاران در سال ۲۰۱۳، به بررسی نقش نانوذرات نقره کروی با میانگین قطر ۱۰ نانومتر بر روی آنزیم فسفوفروکتوکیناز سرم و

References

- Xanthopoulou MN, Nomikos T, Fragopoulou E, Antonopoulou S. Antioxidant and lipoxigenase inhibitory activities of pumpkin seed extracts. *FRI*. 2009; 42:641-646.
- Younisa UMH, Ghirmayb S, Al-Shihry SS. African Cucurbita pepo L. properties of seed and variability in fatty acid composition of seed oil. *PC*. 2000; 54(1): 71-75.
- Caili F, Haijun T, Tongyi C, Yi L, Quanhong L. Some properties of an acidic protein-bound polysaccharide from the fruit of pumpkin. *FC*. 2007; 100 :944-947.
- Hori K, Martin TG, Rainey P. Believe it or not--silver still poison veterinary and Human. *Toxicol*. 2002;44(5):291-292.
- Bhainsa KC, D'Souza SF. Development of a preliminary. Biosynthesis of silver nanoparticles using the fungus *Aspergillus fumigatus*. *BI*. 2006; 47:160-164.
- Braydich-Stolle L, Hussain S, Schlager JJ, Hofmann M. In Vitro Cytotoxicity of Nanoparticles in Mammalian Germline Stem Cells. *TS*. 2005;88(2):412-419.
- Pericin D, Krimer V, Trivic S, Radulovic L. The distribution of phenolic acids in pumpkin's hull-less seed, skin, oil cake meal, dehulled kernel and hull. *FC*. 2009; 113: 50-456.
- Sezik E, Yesilada E, Honda G, Takaishi Y, Takeda Y, Tanaka T. Traditional medicine in Turkey X. Folk medicine in Central Anatolia. *JEN*. 2001;75:95-115.
- Naghsh N, Valian S, Madani H. Investigation of Beta cells specific apoptosis on the plasma free fatty acids level. *IJBMB*. 2005;1(1):15-16.
- Moudgil BM, Roberts SM. Designing a strategies for safety evaluation of nanomaterials. Part nano-interface in a microfluidic chip to probe living VI. Characterization of nanoscale particles for cells: challenges and perspectives. *TSU*. 2006;103:6419-6424.
- Seoa JS, Burri BJ, Quana Z, Neidlinger TR. Extraction and chromatography of carotenoids from pumpkin. *JCH*. A. 2005;1073:371-375.
- Cardosoa CR, Favoreto S, OliveirLL, Vancim JO, Barbana GB, Ferraza DB, et al. Oleic acid modulation of the immune response in wound healing: A new approach for skin repair. *Immun*. 2011;216:409-415.
- Susan WP, Williw GM, Maaik Van J. Nanosilver a review of available data and knowledge gaps in human and en-



vironmental risk assessment. NT. 2009;3(2):109-138.

14- Muthu IS, Selvaraj BM, Kalimuthu K, Sangiliyandi K. Antitumor activity of silver nanoparticles in Dalton's lymphoma ascites tumor model. IJN. 2010;5:753-762.

15- Naghsh N, Mashayekh A, Khodadadi S. Effects of Silver Nanoparticle on Phosphocreatine kinase and Histological Changes of Skeletal Muscle Tissue in Male Wistar Rat.

JMUMS. 2013; 22(97):36-41.

16- Stebounova L, Adamcakova-Dodd A, Sung Kim J. Nanosilver induces minimal lung toxicity or inflammation in a subacute murine inhalation model. PFT. 2011;8(5):1-12.

17- AshaRaniPV, KahMunGL, PrakashHande M. Cytotoxicity and genotoxicity of silver nanoparticles in human cells. ACS N. 2009; 3(2):279-290.



Original Article

Title: Designing a New Nano-Plant Composite of Cucurbita pepo for Wound Repair of Skin in Male Albino Mice: A New Nano Approach for Skin Repair

Naghsh N*, Aboutalebi F, Karam Seychani S

Department of Biology, Falavarjan Branch , Islamic Azad University, Isfahan, Iran.

Received: 02 Dec 2012

Accepted: 06 Mar 2013

Abstract

Background & Objective: The *Cucurbita pepo* is one of plants that are functional in traditional therapy. This plant has anti-oxidant and skin damage repair properties. This study investigated the effect of Cucurbita pepo nano silver as a new nano-plant composition in wound repair skin in male mice.

Materials & Methods: In this investigation, male albino mice were placed in 8 groups, each containing 8 animals. Group I–VIII were treated with nano silver (500, 250, and 125 ppm concentrations and different concentrations of extracts [70%, 50%, and 25%]) and the control group received a mixture of 25% *Cucurbita pepo* extract (125 ppm) nano silver. The eighth group, as control, was treated with sterile deionizer water after the induction of wound skin. The average diameter of the wounds was measured 28 days after treatment in the control and treatment groups. These data were analyzed using the t-test and ANOVA statistical method.

Results: The results of this study showed that ethanol extraction (80%) has its highest repair effect 28 days post treatment. The average diameter of the wounds in the control group was 1.16 ± 0.46 cm, which was decreased to 0 cm and 0.12 ± 0.23 cm in the ethanol extract (70%) of the Cucurbita pepo and component groups, respectively (p value ≤ 0.01).

Conclusion: In this project, nano silver-Cucurbita pepo ethanol extraction for wound repair in albino male mice was more effective than single materials. These findings show that the repair synergic effects are between alcoholic extract and nano silver in this nano composite.

Keywords: *Cucurbita pepo*, Nano silver, Wound, Mice

* **Corresponding author:** Naghsh Nooshin, Department of Biology, Falavarjan Branch , Islamic Azad University, Isfahan, Iran.

Tel: +98 9132009276

Email: Naghsh@iaufala.ac.ir