

بررسی اثر نانو ذره‌های نقره پوشش داده شده با افشره گیاه شیرین بیان بر بهبود زخم سوختگی درجه دو

زهرا شکیبا

کارشناس ارشد بیوشیمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکز

چکیده

پوست نقش ایمنی مهمی در محافظت از بدن در برابر عوامل بیماری‌زا و از دست دادن بیش از حد آب دارد. عملکردهای دیگر آن عایق، تنظیم دما، حس، سنتز ویتامین D و محافظت از فولات ویتامین B است. پوست آسیب‌دیده شدید سعی می‌کند با تشکیل بافت اسکار بهبود یابد. این اغلب تغییر رنگ و رنگدانه دارد. افشره آبی گیاه شیرین بیان، ساخت نانوذره‌های نقره و نانوذره‌های نقره آمیخته با افشره گیاه شیرین بیان و آزمون‌های SEM, FTIR, XRD و اسپکتروفوتومتری برای تایید ساخت نانوذره‌ها انجام گردید. هدف این پژوهش بررسی اثر نانو ذره‌های نقره پوشش داده شده با افشره گیاه شیرین بیان بر بهبود زخم سوختگی درجه دو است. این پژوهش به شکل تجربی و در چهار چوب یک طرح تصادفی و دو سویه کور در بخش جراحی و آزمایشگاه بیوشیمی دانشکده دامپزشکی انجام گرفت. شمار ۷۲ سر موش سوری نر برنا با وزن ۲۰ تا ۲۵ گرم از مرکز پرورش حیوان‌های آزمایشگاهی دانشگاه شهرکرد فراهم و در قفس‌های فلزی ویژه در شرایط استاندارد 22 ± 1 درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۵۵ تا ۵۶ درصد، چرخه روشنایی ۱۲ ساعت نور ۱۲ ساعت تاریکی بر اساس دستورکارهای بین‌المللی و کمیته اصول اخلاق در پژوهش دانشگاه نگهداری شدند. بر این اساس استفاده از گیاه داروی شیرین بیان برای ساخت و پوشش دهی نانو ذره‌های نقره سودمند بوده است که گمان می‌رود با دارا بودن ویژگی‌های پاد آماسی، بهبود رگ زائی و شکل‌گیری بافت پوششی از یک سو و ویژگی‌های پاد میکروبی و جلوگیری از عفونی شدن زخم، سبب بهبود فرایند بازسازی می‌شود و با نانوذره‌های نقره اثر هم افزائی دارد.

واژگان کلیدی: سوختگی درجه ۲، سنتز سبز، نانوذره‌های نقره، افشره شیرین بیان

مقدمه

بهبود زخم (به انگلیسی: wound healing) یک فرایند پیچیده است که در آن پوست (یا یکی دیگر از ارگان بافت) خود را پس از آسیب تعمیر می‌کند. ترمیم زخم در یک جدول زمانی گسسته از ویژگی‌های فیزیکی (مراحل) که روند ترمیم پس از ضربه را تشکیل می‌دهند به تصویر کشیده شده است. در پوست آسیب ندیده، اپیدرم (لایه سطحی) و درم (لایه عمیق تر) یک سد محافظتی در برابر محیط خارجی ایجاد می‌کنند. با شکستن سد، توالی تنظیم شده ای از رویدادهای بیوشیمیایی برای ترمیم آسیب به حرکت در می‌آید. این روند به مراحل قابل پیش بینی تقسیم می‌شود: لخته شدن خون (هموستاز)، التهاب، رشد بافت (تکثیر سلول) و بازسازی بافت (بلوغ و تمایز سلول). لخته شدن خون را می‌توان به جای یک مرحله جداگانه، بخشی از مرحله التهاب در نظر گرفت. زخم عمیق روی پا با بخیه‌ها در طی پنج هفته بهبود می‌یابد. روند ترمیم زخم نه تنها پیچیده بلکه شکننده است و در معرض قطع یا شکست منجر به تشکیل زخم‌های مزمن غیر قابل بهبود است. عواملی که در بهبود زخم‌های مزمن نقش دارند دیابت، بیماری وریدی یا شریانی، عفونت و کمبود متابولیک در سنین بالا است. ترمیم زخم سوختگی فرایندی پیچیده است که نیازمند مدیریت دقیق در هر مرحله است. درک این مراحل می‌تواند به بهبود کیفیت درمان و کاهش عوارض کمک کند. رعایت اصول بهداشتی، تغذیه مناسب، و کنترل عفونت در کنار مراقبت‌های حرفه‌ای از زخم، روند بهبودی را تسریع کرده و به بازسازی کامل پوست کمک می‌کند. نانومواد بنیادین مورد استفاده برای درمان زخم به شکل نانوذره ها، نانوکامپوزیت ها، پوشش ها و داربست ها هستند. به طور کلی دو گونه بنیادین از نانوذره ها (Nano Particles: NPs) در درمان زخم استفاده می‌شوند، یکی نانوذره هائی که دارای ویژگی‌های ذاتی برای کمک که به بسته شدن زخم ها هستند و دیگری نانوذره هائی که به عنوان تراپر هائی برای رساندن سازه های دارویی استفاده می شوند [۶]. کلاژن پروتئین بنیادین بافت برون سلولی در بدن است که بیشتر در استخوان، تاندون و پوست جای دارد. این ماده از غلظت بالایی از هیدروکسی پرولین شکل گیری شده است که شاخص بیوشیمیایی ویژه ای از درونمایه (محتوای) کلاژن در بافت، افزایش شمار سلولی و رسوب برای بهبود زخم سوختگی است [۲۶] درونمایه هیدروکسی پرولین نشان‌دهنده افزایش ساخت کلاژن، افزایش شمار و رسوب سلولی است که به نوبه خود سبب به بهبود زخم می شود [۲۷-۲۸].

مبانی نظری

گیاه شیرین بیان

شیرین‌بیان نام علمی *Glycyrrhiza glabra* گیاهی خودرو از تیره سبزی‌آساها، بومی جنوب اروپا، شمال آفریقا و نواحی معتدل آسیا است. برگ‌های آن مرکب است و از ۴ تا ۷ زوج برگ به اضافه یک برگچه انتهایی تشکیل یافته‌است که به سبب ترشح شیر، چسبنده‌اند. گل‌هایش مایل به آبی و میوه‌اش شامل ۵ تا ۶ دانه مایل به قهوه‌ای است. ریشه و ساقه زیرزمینی آن مصرف دارویی دارد. ریشه‌ها و پاجوش‌های این گیاه دارای پوستی قهوه‌ای‌رنگ یا سیاه و مغز زردرنگ است.

نام دیگر شیرین‌بیان در فارسی، مَهْک است. در گویش اصفهان و طب سنتی قدیم به مجو (mej-jo) نیز شهرت دارد و در مناطق بختیاری به آن میجی می‌گویند. در متون کهن کشاورزی به شیرین‌بیان، سوس گفته می‌شود و ریشه آن را اصل سوس گویند. در کتاب معرفت فلاحه می‌خوانیم که: «و اگر اصل سوس را در آب بجوشند و تخم خربزه در آن آغشته کنند و بعد از آن زراعت کنند از کرم محفوظ ماند».

در اکثر نقاط ایران نظیر لارستان، آذربایجان، بختیاری و در استان اصفهان منطقه فریدن و شهرستان اقلید و در دشت نهاوند اراضی روستای کرک به فراوانی می‌روید بیشتر ریشه اش و برای مصارف دارویی برداشت می‌شود.

زخم

زخم به هرگونه آسیبی گفته میشود که به طور معمول در پوست و سایر اندام ها ایجاد شده، سبب برهم زدن ساختار و کارکرد طبیعی یک بافت میشود. هرچند هیچ دسته بندی استاندارد برای دسته بندی زخم ها وجود ندارد، با این حال، روش‌های

گوناگونی برای دسته بندی زخم‌ها وجود دارد که به بیان زخم بر اساس مدیریت و بهبود نهایی آن، کمک می‌کنند. سازه‌هایی که بیشترین ارزش را در ارزیابی دارند پگ. نگی آسیب ایجاد کننده زخم، زمان، حاد یا مزمن (کهنه) بودن، و عمق آسیب به پوست و بافت‌های زیرین هستند. این سازه‌ها همگی اثر چشم‌گیری بر توانایی زخم برای بازسازی با یا بدون دست‌ورزی جراحی خواهند داشت. [۳۶]

زخم‌ها بر اساس گستردگی، میزان راهیابی در پوست و عفونت دسته بندی میشود. به طور کلی زخم‌ها را میتوان در دو دسته فراگیر زخم‌های باز و بسته جای داد. زخم‌های باز مانند بریدگی، دریدگی، سوراخ‌شدگی و سوختگی است زخم بسته مواردی مانند کوفتگی و خون‌مردگی ناشی از آسیب شدید است.

سوختگی

زخم‌های سوختگی به طور جداگانه دسته بندی می‌شوند و بر اساس اندازه، با در نظر گرفتن سطح و ژرفای آسیب وارد شده به پوست دسته بندی می‌شوند. سطح زخم مهم است زیرا موجب از دست دادن مایع از راه اپیدرم آسیب دیده میشود به طوریکه در صورت گسترده بودن سطح سوختگی، ممکن است نیازمند مایع درمانی برای جبران آن باشد.

آسیب شناسی زخم سوختگی

بر اساس ساختار اناتومی گفته شده پوست، آسیب حرارتی ممکن است با شکل دهی سه منطقه هم مرکز، سبب آسیب بافت شود [۳۹]. در آسیب دیدگی‌های شدیدتر، در مرکز زخم، جایگاه انعقادی (خون‌بندی) (coagulation) دیده می‌شود. بیرون از بخش خون‌بندی، بخش سکون یا ایستا (stasis) و فراتر از بخش ایستا، بخش پرخونی (hyperemia) قرار دارد.

درجه ۱

این زخم سوختگی ملایم‌ترین و سطحی‌ترین نوع سوختگی است که در آن تنها لایه خارجی پوست (اپیدرم) از بین رفته و به طور معمول در اثر برخورد دراز مدت با پرتو بنفش یا تماس کم با گرمای نزدیک به ۴۰ تا ۵۵ درجه سانتیگراد رخ میدهد.

درجه ۲

این نوع سوختگی ناشی از دمای بالاتر نسبت به گونه پیشین و دمای نزدیک به ۵۰-۶۵ درجه سانتیگراد است. این زخم شدت میانه‌ای دارد و در کنار اپیدرم، بخشی از درم را نیز درگیر میکند ولی نزدیک به درم باقی مانده، بافت‌های زیرین آن سالم می‌مانند. سازه‌ها گوناگونی همچون ریختن مایع داغ بر روی پوست و یا زبانه‌های آتش می‌توانند سبب این گونه سوختگی شوند.

درجه ۳

این سوختگی به شکل تمام ضخامت است و در آن تمامی لایه‌های پوست دچار آسیب میشوند، به طوریکه ممکن است آسیب به بافت‌های زیرپوست رسیده، چربی، ماهیچه و حتی استخوان را درگیر کند.

درجه ۴

این سوختگی ناشی از الکتریسیته و یا برخورد با دماهای بالا به وجود می‌آید. اندازه آسیب آنقدر بالاست که تا استخوان پیش رفته و خطر بریدن و جدا شدن اندام آسیب دیده وجود دارد. نمای بیرونی زخم خشک، گیلانی رنگ تا ذغالی است.

فناوری نانو

نانومواد گوناگونی مورد استفاده برای درمان زخم به صورت نانو ذره‌ها، نانوکامپوزیت‌ها، پوشش‌ها و داربست‌ها هستند. دو گ، نه بنیادین از نانو ذره‌ها به طور معمول در درمان زخم استفاده می‌شوند، یکی نانو ذره‌های که دارای ویژگی‌های ذاتی هستند که به بسته شدن زخم کمک می‌کنند و دیگری نانو ذره‌هایی که به عنوان تراور برای دارورسانی استفاده می‌شود. گروه اول را می‌توان به نانومواد فلزی/اکسید فلزی و نانومواد غیرفلزی دسته بندی کرد [۱۵].

ساخت سبز نانوذره های نقره

برای رویارویی با این نارسائی و کاستی ها، امروزه روش های "ساخت سبز" توجه زیادی را در پژوهش و گسترش دانش و فناوری نانومواد به خود جلب کرده است. ساخت سبز نانومواد، از راه ساماندهی، پایش، پاک سازی و اصلاح و ویرایش فرآیند اصلاح ساخته می شوند که کاهش آسیب های محیط زیستی را در پی دارد. بنابراین، برخی از پایه های نخستین "ساخت سبز" را می توان با چندین فراسنجه مانند آسیب زساندن به کمترین اندازه، کاهش آلودگی و استفاده از حلال ها و مواد کمکی ایمن تر (یا غیر سمی) و همچنین مواد اولیه برگشت پذیر توضیح داد. "ساخت سبز" برای جلوگیری از ساخت فراورده های کناری جانبی ناخواسته یا آسیب رسان از ره روش های ساخت قابل اعتماد، پایدار و سازگار با محیط زیست کوشش می نماید با استفاده از سامانه حلال های غیر سمی و منابع طبیعی مانند سامانه های آلی به این هدف بایسته دست یابد.

کاربرد داروهای گیاهی

گیاهان دارویی با داشتن ماده (بن مایه) کارآمد ویژه در درمان یا پیشگیری از بروز بیماری استفاده می شوند. به طور معمول نمی توان همه بخش های یک گیاه را دارویی دانست. در بیشتر موارد، ماده کارآمد یک گیاه در اندامی ویژه ای انباشته می شود. از گیاهان دارویی میتوان به شکل های گوناگونی استفاده کرد. امروزه با آگاهی از پیامدهای مصرفی داروهای شیمیایی، پژوهشگران رو به داروها و ترکیب های طبیعی آورده اند و مصرف داروهای گیاهی رو به افزایش است. در این میان بسیاری از داروهای سنتی برای درمان بیماری های پوستی تجویز میگردد به طوریکه یک سوم داروهای پزشکی سنتی برای بیماری های پوستی است. [۱۰۱] بر اساس گوناگونی آب و هوا در ایران، گیاهان گوناگونی در بخش های گوناگون کشور می روید که کارکردهای دارویی فراوانی داشته اند و از دیرباز تا به امروز در درمانگری سنتی مورد استفاده قرار میگیرد. یکی از این گیاهان، شیرین بیان است که پژوهش های گذشته نقش کارآمد این گیاه را به روشنی نشان داده است.

کاربردهای دارویی و درمانی گیاه شیرین بیان

بررسی کاربردهای پزشکی *Glycyrrhiza glabra* و ترکیب های آن پژوهش های فراوانی نشان داده شده اند. شیرین بیان به دلیل کاربردهای دارویی فراوانی مانند پاد آماس، پاد زخم، پاد باکتری، پاد قارچ، پاد ویروسی، پاد حساسیت و برانگیختن ایمنی دارد. شیرین بیان همچنین به عنوان داروی نسخه ای برای درمان بیماری های مختلف در ژاپن به شکل های گوناگون به کار می رود.

مواد و روش ها

ساخت نانوذره نقره پوشش داده شده با افشره آبی شیرین بیان

به ۲۵ میلی لیتر محلول ۰/۰۲۵ مولار نیترات نقره ($AgNO_3$) بدون آب، ۱۰ میلی لیتر افشره ریشه شیرین افزوده می شد. در ادامه ۲۵ میلی لیتر از محلول سدیم کربنات ۰/۵ مولار قطره قطره با استفاده از بورت به محلول (آبگونه) افزوده می شد تا به آرامی دگرگونی رنگ محلول به رنگ به قهوه ای آغاز شود. سپس محلول با استفاده از حمام اولتراسونیک به خوبی همگن شده، در ادامه برای ۲۴ ساعت روی همزن با حرارت ۷۵ درجه سانتی گراد قرار می گرفت. محلول به دست آمده با کاغذ صافی، پالایش می شد و نانوذره ها برای خشک شدن به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۶۰ درجه در آون و برای آبیگری کامل به مدت یک ساعت در دمای ۲۰۰ درجه سانتیگراد در کوره قرار می گرفت.

پذیرش ساخت نانوذره ها و بررسی ویژگی های آن ها

اسپکتروفتومتری UV

در گام اول برای پذیرش شکل گیری نانو ذره ها از روش اسپکتروفتومتری استفاده می شود. این روش در برخی موارد داده های ارزشمندی را در مورد نانو ذره ها می تواند ارائه کند. نانو ذره ها نقره، دارای ویژگی های نوری بی همتایی هستند که سبب می شود جذب و نشر نوری به شکا کارامدی رخ دهد و با طول موج های ویژه ای میانکنش دهد. در نانو ذره ها نقره، نوار رسانایی و باند

(نوار) ظرفیت بسیار نزدیک هستند و الکترون ها آزادانه حرکت می کنند. این الکترون های آزاد به دلیل داشتن نوسان جمعی، یک نوار تشدید پلاسمون سطحی (Surface plasmon resonance:SRP) ایجاد می کنند. بنابراین طول موج بیشینه جذب مربوط به SRP است. این طول موج برای نانو ذره ها نقره در بازه ۴۰۰ تا ۴۵۰ نانومتر است [۱۰۸]. در این پژوهش برای اطمینان از شکل گیری نانو ذره ها نقره، پس از ساخت، رقت یک صدم از آنها فراهم شده و بوسیله روش اسپکتروفتومتری مورد بررسی قرار می گیرد.

طرح ریزی پژوهش حیوانی

این پژوهش به شکل تجربی و در چهار چوب یک طرح تصادفی و دو سویه کور در بخش جراحی و آزمایشگاه بیوشیمی دانشکده دامپزشکی انجام گرفت. شمار ۷۲ سر موش سوری نر برنا با وزن ۲۰ تا ۲۵ گرم از مرکز پرورش حیوان های آزمایشگاهی دانشگاه شهرکرد فراهم و در قفس های فلزی ویژه در شرایط استاندارد 22 ± 1 درجه سانتی گراد، رطوبت نسبی ۵۵ تا ۵۶ درصد، چرخه روشنایی ۱۲ ساعت نور ۱۲ ساعت تاریکی بر اساس دستورکارهای بین المللی و کمیته اصول اخلاق در پژوهش دانشگاه نگهداری شدند. در زمان انجام آزمایش حیوان ها دسترسی آزاد به آب تمیز و تازه و غذای پلت ویژه موش صحرایی داشته اند. پس از گذشت یک هفته برای سازگاری با شرایط آزمایشگاه، حیوان ها به صورت اتفاقی در ۶ گروه مساوی قرار داده شد و در همه گروه ها به روش استاندارد سوختگی درجه ۲ ایجاد شد. [۱۱۳]

گروه یک: بر روی زخم سوختگی پوستی، پماد اوسرین به تنهایی استفاده شد
گروه دو: بر روی زخم سوختگی پوستی، پماد ۰/۱ درصد دارای نانوذره ها نقره پوشش داده شده با افشره شیرین بیان استفاده شد.
گروه سه: بر روی زخم سوختگی پوستی، پماد ۵ درصد دارای افشره ریشه شیرین بیان استفاده شد.
گروه چهار: بر روی زخم سوختگی پوستی، پماد ۰/۱ درصد دارای نانوذره های نقره استفاده شد.
گروه پنج: بر روی زخم سوختگی پوستی، پماد سیلور سولفادیازین استفاده شد. (گروه کنترل استاندارد)
گروه شش: بر روی زخم سوختگی پوستی، هیچ ماده ای استفاده نشد. (گروه کنترل)
دوره درمانی در همه گروه ها ۲۱ روز خواهد بود و درمان روزانه دو بار در ساعت های ۸ و ۲۰ به کمک سوپ استریل انجام می گرفت.

القاء سوختگی پوستی درجه ۲:

موش های آزمایشگاهی با استفاده از تزریق داخل صفاقی کتامین (50 mg/kg) و زایلازین (5 mg/g) بیهوش شده، سپس در حالت گماری جناغی قرار گرفته، موهای پشت آنها کوتاه و پوست به روش معمول و گندزدایی، آماده جراحی می شدند. سپس در سطحی دایره شکل از پوست پشت موش ها با قطر یک سانتی متر با استفاده از تماس ۱۰ ثانیه ای میله فلزی استوانه ای شکل داغ شده در آب جوش در پشت موش ها، سوختگی درجه ۲ ایجاد شد. پس از ایجاد سوختگی، برای جلوگیری از شوک، ۱ میلی لیتر نرمال سالین به روش داخل صفاقی به موش ها تزریق شد.

برای اطمینان از ایجاد سوختگی درجه ۲، یکی از موش ها را به روش انسانی با تزریق درون صفاقی دوز 150 mg/kg از داروی پنتوباریتال سدیم کشته شده، پس از نمونه برداری و آمادش بافتی، زخم ایجاد شده از دیدگاه پاتولوژی مورد بررسی قرار گرفت و درجه سوختگی پذیرفته شد. در ادامه موش ها به قفس های تکی انتقال یافته و به صورت روزانه نگهداری فردی و پیرامونی از جمله بررسی حفظ زخم، غذادهی و دسترسی آزادانه به آب و غذا، جایگزینی بستر، دما و رطوبت استاندارد از آن ها انجام شد. روز ایجاد سوختگی صفر و زمان نمونه گیری بافتی برای ارزیابی بیوشیمیایی و بافتی روزهای ۳، ۷، ۱۴ و ۲۱ پس از القاء سوختگی تجربی و با بیهوشی کامل صورت گرفته و در هر زمان نمونه گیری، ۳ موش از هر گروه به صورت تصادفی برگزیده شد.

روش سنجش بهبودی زخم:

برای اندازه گیری درصد بهبودی زخم، اندازه گیری سطح سوختگی پوستی به میلی متر مربع از نخستین روز ایجاد زخم، آغاز و تا پایان دوره ادامه یافت. برای این کار، یک طلق روشن تمیز روی محل زخم گذاشته شد و با مژیک بازه زخم مشخص شد. سپس طرح های به دست آمده بوسیله نرم افزار Image J مورد پردازش قرار گرفت، مساحت (گستره) آن اندازه گیری شد. برای سنجش درصد بازسازی زخم ها از فرمول زیر استفاده شد [۱۱۴].

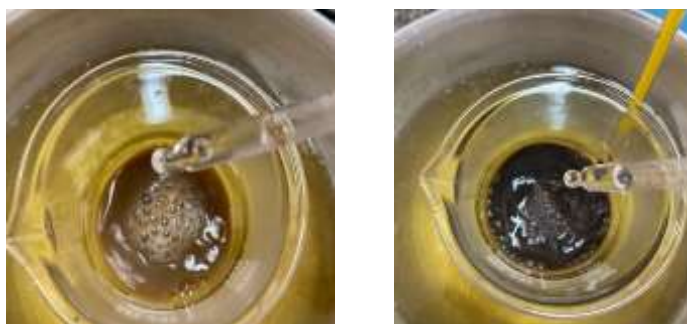
$$۱۰۰ \times \text{سطح زخم در روز اول} / \text{سطح زخم در روز مورد نظر} = \text{درصد زخم}$$

درصد زخم - ۱۰۰ = درصد بهبودی

ساخت نانوذره های نقره با افشره شیرین بیان:

دگرگونی رنگ در نانوذره های نقره، از نارنجی به قهوه ای تیره ناشی از دگرگونی pH بیانگر ساخته شدن نانوذره های نقره در محیط است. در این پژوهش نخست افشره شیرین بیان به رنگ نارنجی و نیترات نقره بی رنگ بود که پس از آمیخته شدن، به رنگ کرم، و پس از با ساماندهی pH با سدیم بی کربنات قلیایی، به رنگ قهوه ای تیره دگرگون شد که بیان گر شکل گیری نانوذره ها می باشد.

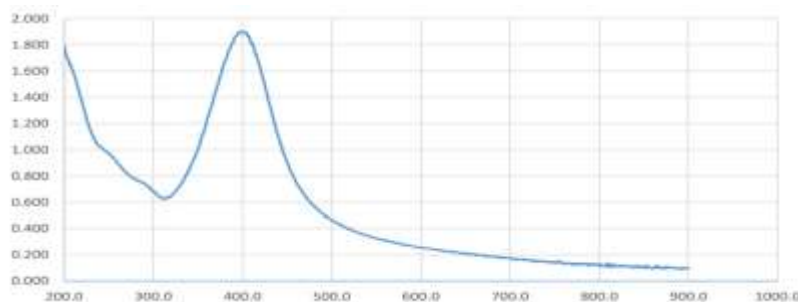
نگاره ۱: دگرگونی رنگ محلول نیترات نقره آمیخته با افشره شیرین بیان (چپ) و شکل گیری نانوذره های نقره



(راست)

ارزیابی نانوذره های نقره:**نتیجه بررسی با اسپکتروفتومتری UV-VIS**

شکل گیری نانوذره های در محلول آبی بوسیله طیف سنجی مرئی فرابنفش و در طول موج بین ۲۰۰ تا ۶۰۰ نشان داده شد. بیشینه جذب در ۴۰۰ نانومتر دیده شد که ویژگی نانوذره های نقره است. [۱۱۶] بر اساس نمودار، بیشینه جذب برای نانوذره های نقره به صورت ویژه در طول موج ۴۰۰ نانومتر با شدت بالایی دیده شد. وجود این بیشینه جذب در طول موج ۴۰۰ نانومتر، بیانگر بودن نانوذره های نقره و دیده شدن تنها یک بیشینه جذب و صاف نشانه درصد خلوص بالای نانو ذره می باشد.



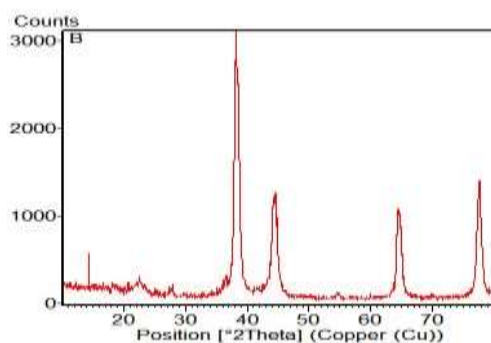
نمودار ۱: نمودار فرابنفش نانوذره های نقره در طول موج ۴۰۰ نانومتر

شناسایی نانو ذره ها نقره پوشش داده شده با افشره گیاه شیرین بیان Liquorice-AgO

بعد از ساخت نانو کاتالیست Liquorice-AgO فراهم شده ساختار نانوذره های ساخته شده بوسیله آنالیزهای XRD، SEM، FTIR شناسایی گردید.

بررسی آنالیز XRD نانو ذره ها نقره پوشش داده شده با افشره گیاه شیرین بیان Liquorice-AgO

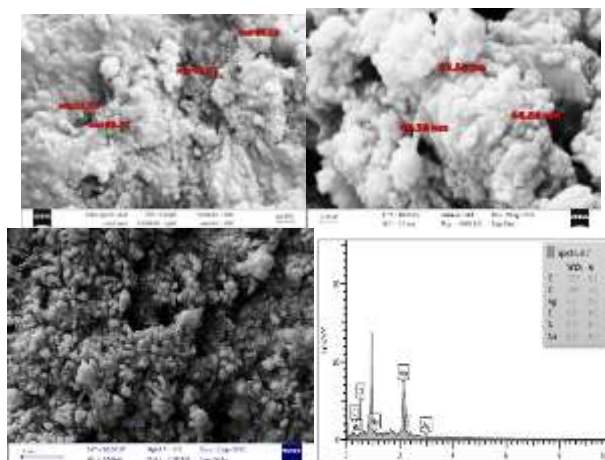
نقطه های اوج اشکار شده در $2\theta=38.49^\circ$ ، $2\theta=44.37^\circ$ ، $2\theta=64.56^\circ$ ، $2\theta=77.51^\circ$ به ترتیب با مراجع با شماره کدهای ۱۱۱، ۲۰۰، ۲۲۰، ۳۱۱ که مربوط به کریستال های اکسید نقره هستند، هماهنگ هستند. میانگین اندازه ی ذره ها با استفاده از معادله ی دبی شرر اندازه گیری شد. بر اساس قله های با بیشترین شدت برای نانو ذره ها اکسید نقره، برابر با ۴۰ نانومتر می باشد.



نمودار ۲: واکاوی XRD نانو ذره ها نقره پوشش داده شده با افشره شیرین بیان

بررسی نگاره میکروسکوپ الکترونی گسیل میدانی (Field emission scanning electron microscopy: FESEM) شیرین بیان و نانوذره های Liquorice-AgO

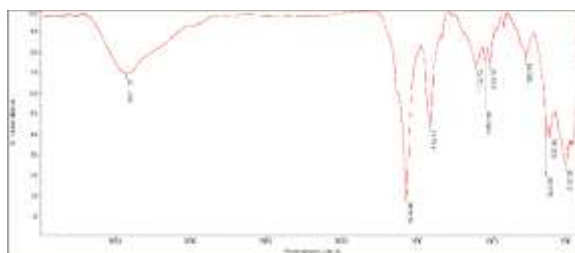
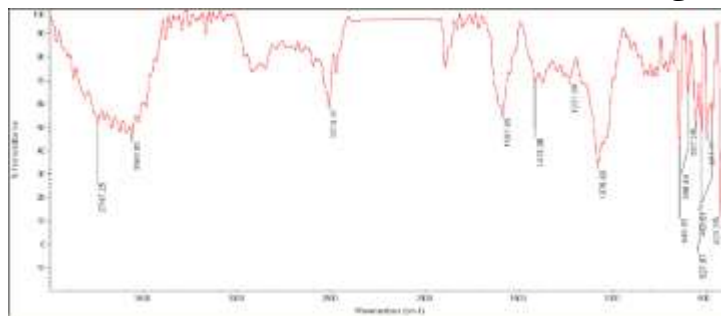
نگاره (۴) نگاره های میکروسکوپی و نتایج EDS شیرین بیان و نانو ذره ها نقره پوشش داده شده با افشره شیرین بیان Liquorice-AgO را نشان می دهد. آنالیز (واکاوی) FESEM بودن نانو ذره ها کروی اکسید نقره با انباشتگی اندک و میانگین ذره های کمتر از ۴۰ نانومتر را نشان می دهد. واکاوی عنصری نانو ذره ها نقره پوشش داده شده با افشره گیاه شیرین بیان، بودن عناصر مربوط به هر یک را بدون حضور عناصر اضافی دیگر نشان می دهد. همچنین مقدار نقره موجود در نانوذره های ۶،۷ درصد وزن به دست آمد.



نگاره ۲: نگاره میکروسکوپی FESEM نانوذره های Liquorice-AgO (نگاره های بالا و پایین چپ) نانوذره هایی Liquorice-AgO (نگاره پایین راست)

بررسی طیف فروسرخ افشره شیرین بیان و Liquorice-AgO

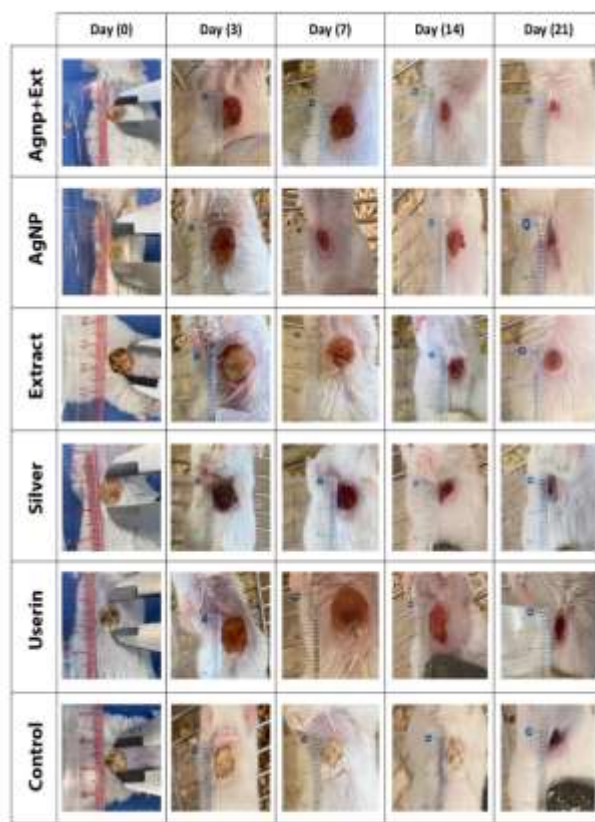
در طیف فروسرخ مربوط به شیرین بیان، نقطه اوج آشکار شده در ناحیه در 3563 cm^{-1} و 3747 cm^{-1} مربوط به نوسان های کششی گروه هیدروکسیل (O-H) و نقطه اوج آشکار شده در 1587 cm^{-1} مربوط به گروه کربونیل (C=O) می باشد. اما در طیف فروسرخ مربوط به شیرین بیان اکسید نقره، پیک مربوط به نوسان های کششی O-H در 3431 cm^{-1} و نقطه اوج مربوط به C=O در 1574 cm^{-1} آشکار شده است (نگاره ۵) که به دلیل کنوردیننه شدن نانو ذره ها نقره بر روی شیرین بیان، نقطه های اوج در بسامد پایین تر و با شدت خیلی کمتری آشکار شده اند.



نمودار ۳: طیف فروسرخ به شیرین بیان (بالا) و شیرین بیان-اکسید نقره (پایین)

ارزیابی ماکروسکوپی (چشمی) گستره زخم

همانگونه که در بخش روش کار گفته شد، برای ارزیابی نمای روند بهبودی زخم، در روزهای نمونه گیری با استفاده از طلق تمیز و شفاف قطر زخم اندازه گیری می شد و به کمک نرم افزار Image J گستره زخم سنجیده شده، سپس به صورت درصد بهبودی زخم و مورد مقایسه قرار گرفت. نتیجه این مقایسه در نگاره زیر، به شکل درصد بهبودی زخم نشان داده شده است.



نگاره ۳: ارزیابی ماکروسکوپی (چشمی) مساحت زخم در گروه های مختلف در روزهای ۳، ۷، ۱۴ و ۲۱

درصد بهبودی:

پس از سپری شدن دوره درمانی و اندازه گیری مساحت های زخم با نرم افزار ImageJ درصد بهبودی زخم اندازه گیری شد که در جدول ۱ نشان داده می شود. همان گونه که در جدول دیده می شود، سنجش درصد بهبودی ها نشان داده شد که در روز ۳، گروه درمانی نانوذره های نقره آمیخته با افشره گیاه بیشترین بهبودی را نشان داده است که با گروه کنترل و درمانی سیلور سولفودیازین اختلاف آماری معنی داری ($p < 0.05$) دارد. از سوی دیگر، گروه افشره نیز در این روز با گروه سیلور سولفودیازین و کنترل اختلاف آماری معنی داری دارد ($p < 0.05$).

در روز ۷ درصد بهبودی زخم بین گروه های درمانی با نانوذره های نقره آمیخته با افشره گیاه اوسرین و سیلورسولفودیازین اختلاف آماری معنی داری ($p < 0.05$) با گروه کنترل وجود داشته است، درحالیکه گروه سیلورسولفادیازین بیشترین درصد بهبودی را نشان داده است ولی با گروه نانوذره های نقره آمیخته با افشره گیاه تفاوت آماری معنی داری ندارد ($p > 0.05$).

در روز ۱۴ گروه های سیلور سولفودیازین و نانوذره های نقره آمیخته با افشره گیاه اختلاف آماری معنی داری ($p < 0.05$) نسبت به گروه کنترل دیده میشود و نیز این دو به ترتیب بیشترین بهبودی بالایی را از خود نشان داده اند. در همان حال بین گروه های کنترل، اوسرین، نانوذره های نقره و گروه نانوذره های نقره به همراه افشره نسبت به سیلور سولفودیازین اختلاف معنی داری دیده می شود ($p < 0.05$).

در روز ۲۱ درصد بهبودی زخم در گروه نانوذره های نقره آمیخته با افشره گیاه، نانو ذره ها نقره و سیلور سولفودیازین اختلاف آماری معنی داری ($p < 0.05$) نسبت به گروه کنترل داشته است. درحالیکه درصد بهبودی در گروه سیلورسولفادیازین در مقایسه با گروه نقره آمیخته با افشره گیاه اختلاف آماری معنی دار از خود نشان نمی دهد ($p > 0.05$).

جدول ۱: درصد بهبودی زخم های سوختگی در روز های مورد مطالعه در گروه های مختلف

حرف a نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه کنترل است. حرف b نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه نانوذره نقره و عصاره است. حرف c نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه نانوذره نقره است. حرف d نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه سیلورسولفادیازین است. داده های به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار نشان داده می شود ($p < 0.05$)

گروه ها	۳ روز	۷ روز	۱۴ روز	۲۱ روز
کنترل	14.13 ± 2.15	28.28 ± 2.38	48.77 ± 1.07	
اوسرین	9.93 ± 1.08	19.52 ± 2.53^{ab}	38.34 ± 2.50^{ab}	
نانو ذره نقره	17.04 ± 1.24	30.48 ± 2.79^{bc}	48.77 ± 1.07	
نانو ذره عصاره	9.90 ± 2.19^{ad}	28.90 ± 2.06^{ad}	48.77 ± 1.07	
عصاره	9.90 ± 2.19^{ad}	28.90 ± 2.06^{ad}	48.77 ± 1.07	
سیلورسولفادیازین	15.17 ± 1.28	30.48 ± 2.79^{bc}	48.77 ± 1.07	

ارزیابی میزان هیدروکسی پرولین:

همانگونه که در جدول ۲ نشان می دهد، در روز ۳ میزان هیدروکسی پرولین در بین گروه ها اختلاف آماری معنی داری دیده نشد ($p > 0.05$). در روز ۷ گروه های سیلورسولفودیازین و نانوذره های نقره آمیخته با افشره گیاه بیشترین میزان هیدروکسی پرولین را داشته اند و هیدروکسی پرولین در این دو گروه به صورت معنی داری ($p < 0.05$) از گروه کنترل بیشتر بوده است. در روز ۷ همچنین گروه های نانوذره های نقره، کنترل، اوسرین و افشره نیز اختلاف آماری معنی داری با گروه سیلور سولفودیازین داشته اند ($p < 0.05$).

در روز ۱۴ میزان هیدروکسی پرولین در گروه اوسرین و افشره، اختلاف آماری معنی داری با گروه کنترل دیده میشود ($p < 0.05$). از سوی دیگر در این روز میزان هیدروکسی پرولین در گروه های درمانی اختلاف آماری معنی داری با گروه کنترل وجود نداشته است ($p > 0.05$).

در روز ۲۱ در گروه سیلور سولفودیازین میزان هیدروکسی پرولین به شکل معنی داری از گروه کنترل بیشتر بوده است ($p < 0.05$), همچنین دو گروه نانوذره های نقره و اوسرین به صورت معنی داری با گروه سیلور سولفودیازین اختلاف دارند ($p < 0.05$).

جدول ۲: میانگین و انحراف معیار میزان هیدروکسی پرولین (میکروگرم بر میلی گرم بافت)

در روزهای مورد مطالعه در گروه های مختلف. *نشان دهنده اختلاف آماری هر گروه در مقایسه با گروه کنترل در هر ستون است. حرف a نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه نانو ذره ها آمیخته با افشره است ($p < 0.05$). حرف b نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه سیلورسولفادیازین است ($p < 0.05$).

گروه ها	۳ روز	۷ روز	۱۴ روز	۲۱ روز
کنترل	8.80 ± 1.07	18.28 ± 2.07	27.77 ± 2.06	38.34 ± 2.50
اوسرین	9.90 ± 2.19	19.52 ± 2.53^{ab}	28.90 ± 2.06^{ab}	38.34 ± 2.50^{ab}
نانوذره نقره	17.04 ± 1.24	30.48 ± 2.79^{bc}	48.77 ± 1.07	48.77 ± 1.07
نانوذره نقره با عصاره	9.90 ± 2.19	28.90 ± 2.06^{ad}	48.77 ± 1.07	48.77 ± 1.07
عصاره	9.90 ± 2.19	28.90 ± 2.06^{ad}	48.77 ± 1.07	48.77 ± 1.07
سیلورسولفادیازین	15.17 ± 1.28	30.48 ± 2.79^{bc}	48.77 ± 1.07	48.77 ± 1.07

سنجش سازه نکرز دهنده توموری آلفا (TNF- α)

در جدول شماره ۳ میانگین و انحراف معیار میزان فاکتور نکروز دهنده تومور آلفا ($TNF-\alpha$) بر اساس پیکوگرم/میلی گرم پروتئین، در هموژنات بافت زخم در گروه‌های گوناگون در روزهای ۳، ۷، ۱۴ و ۲۱ نمایش داده می‌شود. بر اساس این جدول در روز ۳ در گروه‌های درمانی نانوذره نقره آمیخته با افشره شیرین بیان، سیلورسولفادیازین و افشره نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری دیده می‌شود ($p < 0.05$). همچنین در این روز، در دو گروه نانوذره نقره آمیخته با افشره شیرین بیان و سیلورسولفادیازین کاهش معنی‌داری در میانگین فاکتور نکروز دهنده تومور آلفا نسبت به گروه اوسرین به چشم می‌خورد ($p < 0.05$).

در روز ۷، بین گروه‌های درمانی نانوذره نقره آمیخته با افشره شیرین بیان، افشره و گروه سیلورسولفادیازین با گروه کنترل، کاهش معنی‌داری در میانگین فاکتور نکروز دهنده تومور آلفا وجود دارد ($p < 0.05$). در روز ۱۴ در گروه‌های درمانی نانوذره نقره با افشره، سیلور سولفادیازین و کنترل اختلاف و کاهش معنی‌داری در میانگین فاکتور نکروز دهنده تومور آلفا در مقایسه با گروه اوسرین نشان داده است ($p < 0.05$). در روز ۲۱ اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های مختلف وجود ندارد ($p > 0.05$).

مقایسه درون گروهی گروه نانوذره نقره آمیخته با افشره شیرین بیان کاهش معنی‌داری را در گروه ۱۴ نسبت به روز ۳ نشان می‌دهد ($p < 0.05$)، در حالیکه در گروه سیلورسولفادیازین اختلاف معنی‌داری بین روزهای درمانی دیده نمی‌شود ($p > 0.05$). در گروه کنترل کاهش معنی‌داری در گروه ۷ و ۱۴ نسبت به روز ۳ دیده می‌شود ($p < 0.05$). در گروه نانوذره نقره روز ۳ با روزهای ۱۴، ۷ و ۲۱ کاهش معنی‌داری دیده می‌شود. ($p < 0.05$) در گروه افشره کاهش معنی‌داری در روز ۱۴ نسبت به روز ۳ و ۷ ($p < 0.05$) در گروه اوسرین در همه روزها کاهش معنی‌داری نسبت به روز ۳ دیده شد. ($p < 0.05$)

جدول ۳: میانگین و انحراف معیار میزان فاکتور نکروز دهنده تومور آلفا ($TNF-\alpha$)، (پیکوگرم/میلی گرم پروتئین) در گروه‌های مختلف در روزهای مختلف. *نشان دهنده اختلاف آماری هر گروه در مقایسه با گروه کنترل در هر ستون است. حرف a نشان دهنده اختلاف معنی‌دار با گروه نانوذره ها آمیخته با افشره است ($p < 0.05$). حرف b نشان دهنده اختلاف معنی‌دار با گروه سیلورسولفادیازین است ($p < 0.05$).

گروه‌ها	روز ۳	روز ۷	روز ۱۴	روز ۲۱
کنترل	475.45 ± 31.19	192.55 ± 14.7	143.08 ± 10.78	150.45 ± 12.18
اوسرین	482.12 ± 12.82	183.88 ± 12.41	211.41 ± 5.7^{ab}	132.06 ± 13.78
نانوذره نقره	$220.31 \pm 10.01^*$	$150.14 \pm 9.87^*$	152.40 ± 5.71	147.19 ± 11.78
نانوذره نقره با عصاره	$142.04 \pm 11.52^*$	$150.44 \pm 10^*$	121.28 ± 10.13	132.66 ± 18.80
عصاره	$161.04 \pm 14.24^*$	161.77 ± 9.21	122.61 ± 8.59	128.66 ± 8.80
سیلورسولفادیازین	$176.80 \pm 10.2^*$	$120.22 \pm 10^*$	140.04 ± 10	145.32 ± 10.22

سنجش IL-6

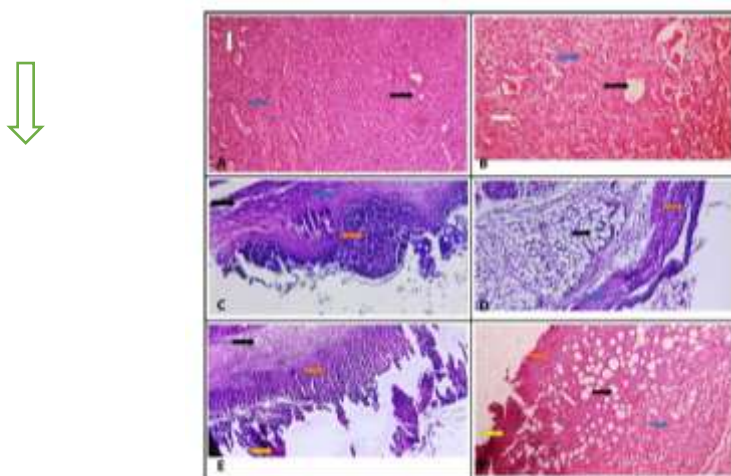
در جدول شماره ۴ میانگین و انحراف معیار میزان اینترلوکین شش ($IL-6$) بر اساس پیکوگرم/میلی گرم پروتئین، در هموژنات بافت زخم در گروه‌های گوناگون در روزهای ۳، ۷، ۱۴ و ۲۱ نمایش داده می‌شود. بر اساس این جدول در روز ۳ بین گروه‌های درمانی نانوذره نقره آمیخته با افشره شیرین بیان و اوسرین کاهش معنی‌داری دیده می‌شود ($p < 0.05$). در روز ۷ بین گروه‌های درمانی نانوذره نقره آمیخته با افشره شیرین بیان و نانوذره نقره کاهش معنی‌داری مشاهده نشده است. ($p > 0.05$). مقایسه درون گروهی در گروه نانوذره آمیخته با افشره شیرین بیان کاهش معنی‌داری را در روز ۲۱ نسبت به روز ۳ نشان می‌دهد. ($p < 0.05$). مقایسه درون گروهی در گروه سیلورسولفادیازین و نانوذره نقره کاهش معنی‌داری را در روز ۲۱ نسبت به سایر روزهای درمانی نشان داد ($p < 0.05$). مقایسه درون گروهی در گروه کنترل و اوسرین کاهش معنی‌داری را در روز ۲۱ نسبت به روز ۳ و ۷ نشان داد ($p < 0.05$). در گروه درمان شده با افشره در روز ۲۱ کاهش معنی‌داری نسبت به همه روزها دیده شد ($p < 0.05$).

جدول ۴: میانگین و انحراف معیار میزان اینترلوکین شش ($IL-6$)، (پیکوگرم/میلی گرم پروتئین)

در گروه‌های مختلف در روزهای مختلف. *نشان دهنده اختلاف آماری معنی دار در هر گروه در مقایسه با گروه کنترل در هر ستون است. حرف a نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه نانوذره نقره و افشره است. ($P < 0.05$). حرف b نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه سیلور سولفادیازین است ($P < 0.05$).

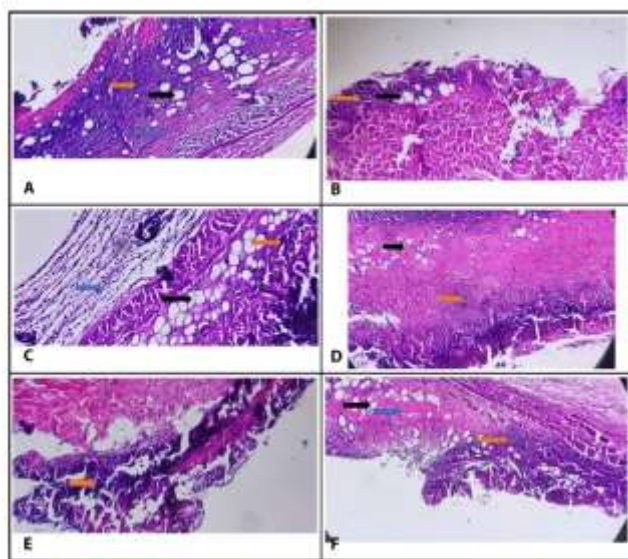
گروه ها	۲ روز	۷ روز	۱۴ روز	۲۱ روز
کنترل	۳۰۳.۵۹±۹.۸۵	۳۴۹.۵۳±۳.۱	۳۳۶.۹۱±۱۲.۳۵	۳۳۶.۸۳±۳۱.۱
اوسرین	۳۵۷.۱۳±۱۳.۱۸*	۳۱۳.۳۸±۱۵.۷	۳۳۰.۵۵±۱۵.۲	۳۴۰.۱۸±۱۰.۹
نانوذره نقره	۳۹۸.۷۳±۱۳.۳۸	۳۳۳.۸۷±۸.۱۹*	۳۳۳.۱۹±۱۴.۸۳	۳۳۳.۸۰±۹.۹۰
نانوذره نقره با عصاره	۳۸۸.۷۳±۱۳.۳۸	۳۳۳.۷۱±۱۰.۵۸	۳۳۹.۵۸±۱۴.۲	۳۳۹.۵۵±۱۴.۳۲
عصاره	۳۳۳.۴۰±۱۳.۳۷	۳۳۳.۰۳±۱۱.۸۳	۳۳۷.۷۸±۱۲.۳۳	۳۰۳.۳۳±۱۴.۲۰
سیلور سولفادیازین	۳۳۳.۰۸±۱۰.۰۲	۳۰۳.۱۳±۱۸.۰۲	۳۰۳.۰۳±۱۰.۰۲	۳۳۳.۳۳±۱۴.۱۳

بررسی آسیب شناسی زخم ها



نگاره ۴: نمای ریزبینی از محل زخم ۳ روز پس از سوختگی.

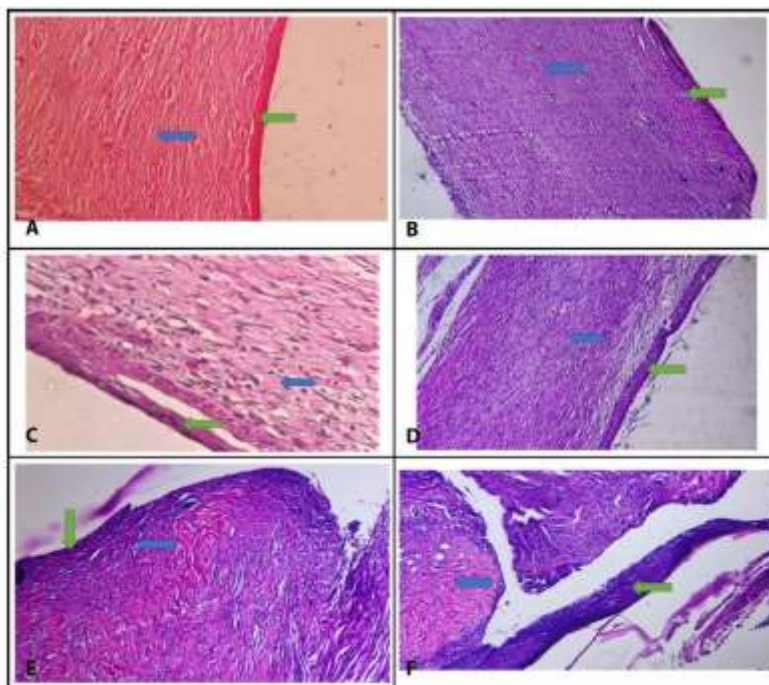
گروه نانوذره آمیخته با افشره (A)، بافت گرانوله پر سلول و کم رشته. دارای رگ های خونی تازه شکل گرفته و ادم. ادم (پیکان مشکی)، عروق تازه تشکیل (پیکان سفید)، رشته های ظریف کلاژن (پیکان آبی). گروه نانوذره نقره (B)، بافت گرانوله پر سلول و کم رشته و دارای ادم (پیکان مشکی)، عروق تازه تشکیل (پیکان سفید)، رشته های ظریف کلاژن (پیکان آبی). گروه افشره (C)، بافت گرانوله پر سلول و کم رشته و دارای ادم (پیکان مشکی)، سلول های آماسی (نوتروفیل ها) (پیکان نارنجی)، رشته های ظریف کلاژن (پیکان آبی). گروه سیلور سولفادیازین (D)، بافت گرانوله پر سلول و کم رشته و دارای ادم (پیکان مشکی)، سلول های آماسی (نوتروفیل ها) (پیکان نارنجی)، رشته های ظریف کلاژن (پیکان آبی). گروه اوسرین (E)، ادم (پیکان مشکی)، سلول های آماسی (نوتروفیل ها) (پیکان نارنجی)، در زیر لخته (پیکان زرد). گروه کنترل (F)، بافت گرانوله پر سلول و کم رشته و دارای ادم. آماسی (نوتروفیل) (پیکان نارنجی)، در زیر لخته و خونریزی (پیکان زرد)، رشته های ظریف کلاژن (پیکان آبی). (هماتوکسیلین آئوزین، بزرگ نمایی 100x).



نگاره ۵: نمای ریزبینی روز ۷ پس از سوختگی.

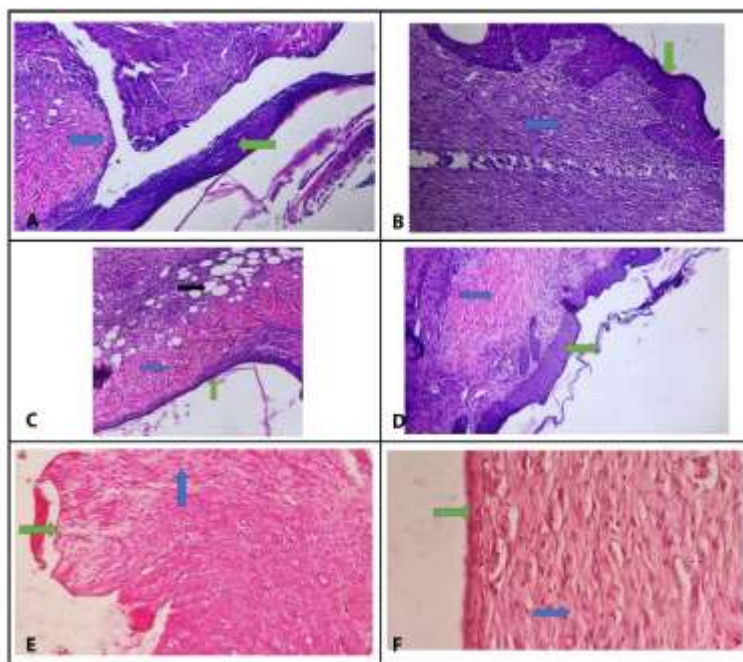
گروه نانوذره آمیخته با افشره (A)، بافت گرانوله پر سلول و کم رشته و دارای ادم. ادم (پیکان مشکی)، سلول‌های آماسی (نوتروفیل‌ها) (پیکان نارنجی)، رشته‌های ظریف کلاژن (پیکان آبی). گروه نانوذره نقره (B)، ادم (پیکان مشکی)، سلول‌های آماسی (نوتروفیل‌ها) (پیکان نارنجی). گروه افشره (C)، ادم (پیکان مشکی)، سلول‌های آماسی (نوتروفیل‌ها) (پیکان نارنجی)، رشته‌های ظریف کلاژن (پیکان آبی). گروه سیلور سولفودیازین (D)، ادم (پیکان مشکی)، سلول‌های آماسی (نوتروفیل‌ها) (پیکان نارنجی). گروه اوسرین (E)، (هماتوکسیلین-اُوزین، بزرگ‌نمایی

(x100)



نگاره ۶ نمای ریزبینی روز ۱۴ پس از سوختگی.

گروه نانوذرده های نقره آمیخته با افشره شیرین بیان (A)، تشکیل اپیتلیوم (پیکان سبز) رشته های ظریف کلاژن (پیکان آبی) گروه نانوذرده نقره (B). عدم تشکیل اپیتلیوم مناسب (پیکان سبز)، رشته های کلاژن (پیکان آبی). گروه افشره (C)، تشکیل اپیتلیوم نازک (پیکان سبز)، رشته های ظریف کلاژن (پیکان آبی). گروه سیلور سولفادیازین (D)، تشکیل اپیتلیوم (پیکان سبز) رشته های ظریف کلاژن (پیکان آبی). گروه اوسرین (E)، عدم تشکیل اپیتلیوم (پیکان سبز)، رشته های نامنظم کلاژن (پیکان آبی). گروه کنترل (F) رشته های نامنظم کلاژن (پیکان آبی)، عدم تشکیل اپیتلیوم مناسب (پیکان سبز). (هماتوکسیلین انوزین، بزرگنمایی 100x).



نگاره ۷: نمای ریزی بینی روز ۲۱ پس از سوختگی.

نانوذره های نقره آمیخته با افشره شیرین بیان (A)، تشکیل اپیتلیوم (پیکان سبز)، رشته های کلاژن (پیکان آبی). گروه نانوذره نقره (B). تشکیل اپیتلیوم نا کامل (پیکان سبز)، رشته های کلاژن (پیکان آبی). گروه افشره (C)، عدم تشکیل اپیتلیوم مناسب (پیکان سبز)، رشته های ظریف کلاژن (پیکان آبی)، ادم (پیکان مشکی). گروه سیلور سولفادیازین (D). تشکیل اپیتلیوم (پیکان سبز)، رشته های ظریف کلاژن (پیکان آبی)، گروه اوسرین (E). عدم تشکیل اپیتلیوم (پیکان سبز)، رشته های ظریف کلاژن (پیکان آبی)، گروه کنترل (F)، عدم تشکیل اپیتلیوم مناسب (پیکان سبز)، رشته های ظریف کلاژن (پیکان آبی). (هماتوکسیلین ائوزین، بزرگ‌نمایی 100x).

امتیازبندی روند بازسازی [۱۱۷]

آماس و ادم:

در روز ۳ گروه های نانوذره های نقره آمیخته با افشره گیاه (AgNP.Ext)، سیلورسولفادیازین و نانو ذره های نقره به صورت معنی داری نسبت به گروه کنترل نشان داده است ($p < 0.05$). در روز ۷ نیز داده های آماری اختلاف معنی دار ($p < 0.05$) گروه های نانوذره های نقره آمیخته با افشره گیاه، سیلورسولفادیازین و نانو ذره های نقره را نسبت به گروه کنترل نشان می‌دهد. در روز ۱۴ تنها گروه سیلورسولفادیازین است که امتیاز آماسی آن به صورت معنی داری از گروه کنترل کمتر بوده است ($p < 0.05$). در روز ۲۱ اختلاف معنی داری بین هیچ یک از گروه ها دیده نشد ($p > 0.05$).

جدول ۵: امتیازبندی آماس و ادم.

حروف همانند در هر ردیف، بیانگر نبودن تفاوت معنی دار در فراسنجه های ادم و آماس بین گروه های مختلف در هر روز است (مقایسه بین گروهی) ($p < 0.05$).

روز	گروه ها					
	Ext	AgNP.Ext	AgNP	اوسرین	سیلورسولفادیازین	کنترل
۳	2 (2-3) ^a	1 (1-2) ^b	1 (1-2) ^b	2 (2-3) ^a	1 (1-2) ^b	2 (2-3) ^a
۷	2 (2-3) ^a	1 (0-1) ^b	1 (0-1) ^b	2 (1-2) ^a	1 (0-1) ^b	2 (1-2) ^a
۱۴	1 (1-2) ^a	1 (0-1) ^{a,b}	1 (0-1) ^{a,b}	1 (1-2) ^a	0 (0-1) ^b	1 (1-2) ^a
۲۱	1 (0-1) ^a	0 (0-0) ^a	0 (0-0) ^a	1 (0-1) ^a	0 (0-0) ^a	0 (0-1) ^a

خونریزی:

در روز ۳، خونریزی در گروه افشره به شکل معنی داری ($p < 0.05$) نسبت به گروه کنترل بیشتر بوده است. ولی بین گروه های دیگر با گروه کنترل اختلاف آماری معنی داری دیده نمی شود ($p > 0.05$). در روز های ۱۴، ۷ و ۲۱ اختلاف معنی داری بین گروه های گوناگون در میزان خونریزی دیده نمی شود ($p > 0.05$).

جدول ۶: امتیازبندی خونریزی

حروف همانند در هر ردیف بیانگر نبودن تفاوت معنی دار در فراسنجه خونریزی بین گروه های مختلف در هر روز است (مقایسه بین گروهی) ($p < 0.05$).

روز	گروه ها					
	عصاره	AgNP.Ext	AgNP	اوسرین	سیلور سولفادیازین	کنترل
۳	2 (1-3) ^{b,c}	1 (0-1) ^a	1 (0-1) ^a	1 (0-1) ^a	2 (0-2) ^{a,c}	0 (0-2) ^a
۷	2 (0-2) ^a	1 (0-1) ^a	0 (0-1) ^a	1 (0-2) ^a	1 (0-1) ^a	0 (0-1) ^a
۱۴	0 (0-0) ^a	0 (0-0) ^a	0 (0-0) ^a	1 (0-1) ^a	0 (0-0) ^a	0 (0-1) ^a
۲۱	0 (0-1) ^a	0 (0-0) ^a	0 (0-0) ^a	0 (0-0) ^a	0 (0-0) ^a	0 (0-0) ^a

بازسازی اپیتلیوم:

در روزهای ۳ و ۷ هیچ اختلاف آماری معنی داری در بازسازی اپیتلیوم بین گروه ها دیده نشده است. ($p > 0.05$). در روز ۱۴ گروه های سیلور سولفادیازین، نانوذره های نقره و نانوذره های نقره آمیخته با افشره گیاه. سبت به گروه کنترل اختلاف آماری معنی داری داشته اند ($p < 0.05$). در روز ۲۱ نیز گروه سیلور سولفادیازین و نانوذره های نقره به صورت معنی داری بازسازی اپیتلیوم بیشتری را نسبت به گروه کنترل نشان دادند ($p < 0.05$).

جدول ۷: امتیازبندی بازسازی اپیتلیوم

حروف همانند بیانگر نبودن تفاوت معنی دار در بازسازی اپی تلیوم بین گروه‌های مختلف بین گروه‌های مختلف در هر روز است (مقایسه بین گروهی) ($p < 0.05$).

گروه ها						روز
عصاره	AgNP.Ext	AgNP	اوسرین	سیلور سولفادیازین	کنترل	
0 (0-0) ^a	0 (0-0) ^a	0 (0-0) ^a	0 (0-0) ^a	0 (0-0) ^a	0 (0-0) ^a	۳
0 (0-0) ^a	0 (0-0) ^a	0 (0-0) ^a	0 (0-0) ^a	0 (0-0) ^a	0 (0-0) ^a	۷
0 (0-1) ^{a,c,d}	0 (1-2) ^{b,d}	0 (1-2) ^{b,c}	0 (0-1) ^a	0 (1-2) ^b	0 (0-1) ^a	۱۴
1 (1-2) ^a	2 (1-3) ^{a,c,d}	3 (2-3) ^{b,d}	1(0-2) ^a	3 (2-3) ^{b,c}	1 (1-2) ^a	۲۱

نظم و جهت-یابی (بازآرایی) رشته‌های کلاژن

در روز ۳ و ۷ تفاوت معنی داری در بین گروه‌ها دیده نشده است ($p > 0.05$). در روز ۱۴، در گروه درمانی سیلورسولفادیازین به طور معنی داری نظم و جهت-یابی رشته‌های کلاژن بهتری نسبت به گروه کنترل دیده شده است. ($p < 0.05$). در روز ۲۱ نیز گروه سیلورسولفادیازین و نانوذره‌های نقره تفاوت معنی داری دیده شده است ($p < 0.05$).

جدول ۸: امتیازبندی نظم و جهت-یابی (بازآرایی) رشته‌های کلاژن

حروف همانند بیانگر نبودن تفاوت معنی دار در نظم و جهت‌یابی رشته‌های کلاژن بین گروه‌های مختلف بین گروه‌های مختلف در هر روز است (مقایسه بین گروهی) ($p < 0.05$).

گروه ها						روز
کنترل	سیلور سولفادiazین	اوسرین	AgNP	AgNP.Ext	Ext	
0 (0-1) ^a	0 (0-1) ^a	0 (0-1) ^a	1 (0-1) ^a	1 (0-1) ^a	0 (0-1) ^a	۳
0 (0-1) ^a	1 (1-1) ^a	0 (0-1-) ^a	1 (0-1) ^a	1 (0-1) ^a	0 (0-1) ^a	۷
1 (0-1) ^a	2 (1-2) ^{b,c}	1 (0-1) ^a	1 (1-2) ^{a,c}	1 (1-2) ^{a,c}	1 (0-1) ^a	۱۴
1 (1-2) ^a	3 (2-3) ^{b,c}	1 (0-2) ^a	3 (2-3) ^{b,d}	2 (1-3) ^{a,c,d}	1 (1-2) ^a	۲۱

میزان کلاژن:

در روز ۳ اختلاف آماری معنی داری در هیچ یک از گروه‌ها دیده نشده است ($p > 0.05$). در روز ۷ گروه‌های سیلور سولفادیازین، نانوذره‌های نقره و نانوذره‌های نقره آمیخته با افشره، نسبت به گروه کنترل در میزان کلاژن اختلاف آماری چشمگیری نشان داده اند ($p < 0.05$). در روز ۱۴ گروه‌های سیلور و نانوذره نقره نسبت به گروه کنترل اختلاف آماری معنی داری دیده شده است ($p < 0.05$) ولی بین گروه‌های اوسرین، افشره و نانوذره‌های نقره آمیخته با افشره اختلاف معنی داری با گروه کنترل دیده نشده است ($p > 0.05$). در روز ۲۱ نیز مانند روز ۷ بین گروه‌های سیلور سولفادیازین، نانوذره‌های نقره و نانوذره‌های نقره آمیخته با افشره نسبت به گروه کنترل در میزان کلاژن اختلاف آماری معنی نشان داده است ($p < 0.05$) در حالیکه گروه نانوذره‌های نقره و سیلورسولفادیازین میزان بیشتری از کلاژن دیده شده است.

جدول ۹: امتیازبندی میزان کلاژن

حروف همانند بیانگر نبودن تفاوت معنی دار میزان رشته‌های کلاژن بین گروه‌های مختلف بین گروه‌های مختلف در

هر روز است (مقایسه بین گروهی) ($p < 0.05$)

گروه ها						روز
کنترل	سیلور سولفادiazین	اوسرین	AgNP	AgNP.Ext	Ext	
0 (0-1) ^a	1 (0-1) ^a	0 (0-1) ^a	1 (0-1) ^a	1 (0-1) ^a	0 (0-1) ^a	۳
0 (0-1) ^a	1 (1-2) ^b	0 (0-1) ^a	1 (1-2) ^b	1 (1-1) ^b	0 (0-1) ^a	۷
1 (0-1) ^a	2 (1-2) ^{b,c}	1 (0-1) ^a	2 (1-2) ^{b,d}	1 (1-2) ^{a,c,d}	1 (0-1) ^a	۱۴
1 (1-2) ^a	3 (2-3) ^b	1 (1-2) ^a	3 (2-3) ^b	2 (2-3) ^b	1 (1-2) ^a	۲۱

بحث و نتیجه گیری

هدف از این مطالعه بررسی اثر نانوذره‌های نقره پوشش داده شده با افشره گیاه شیرین بیان بر میزان هیدروکسی پرولین، شاخص‌های آماسی و دگرگونی‌های بافت شناسی-آسیب شناسی در روند بهبودی زخم‌های سوختگی درجه دو در موش سفید آزمایشگاهی بود. هرچند پیشرفت‌های فراوانی در فرایند درمان زخم‌های سوختگی رخ داده است، ولی همچنان فرایند درمان این زخم‌های دارای سختی‌ها و نارسائی‌های ویژه خود می‌باشد. از دیگر سو مصرف بیش از اندزه پادزیست‌ها؛ پایداری پادزیستی، آسیب‌های کبدی و کلیوی، مسمومیت دارویی، نارسائی‌های سامانه ایمنی و ناکارایی درمانی را سبب گردیده است، بر این اساس پژوهش‌گران بدنال استفاده از راه‌های جایگزین برای بهبود و شتاب بخشیدن به روند بهبود زخم و آسیب‌های حاد پوستی می‌باشند [۱۱۸]. در دهه‌های گذشته نگاه‌های زیادی به استفاده از ویژگی‌های کارآمد گیاهان به صورت اسانس یا افشره شده است و برتری‌هایی چون اثرگذاری مناسب، کاهش پیامدهای مصرفی، و ارزان تر، در دسترس تر بودن و بکارگیری آسان آنها، گرایش بیشتر در استفاده از این رهیافت درمانی را به دنبال داشته است. استفاده از گیاهان دارویی برای بهبود و بازسازی زخم، شکاف‌ها و کاستی‌هایی داشته که پژوهش‌های برای برطرف کردن و بهبود آن از روش‌های مهندسی بافت و نانوبیوتکنولوژی کمک گرفته اند [۱۱۹]. نانوبیوتکنولوژی، فرآیند ساخت، دستکاری و قرارگیری نانومواد در اندازه نزدیک ۱۰۰ نانومتر یا کمتر، با هدف بهبود کارکرد فیزیولوژیک بدن و با رویکرد ویژه بوده که نوید چشمگیری برای پیشرفت در حوزه‌های بالینی دارد. نانومواد به دلیل کیفیت‌های وابسته به اندازه، نسبت سطح به حجم بالا و ویژگی‌های نوری بی‌همتا، کاربرد زیادی دارند. طیف گسترده‌ای از مواد برای ساخت نانوذره‌ها استفاده می‌شود، مانند اکسیدهای فلزی، سرامیک‌ها، سیلیکات‌ها، مواد مغناطیسی، نقاط کوانتومی نیمه هادی (Quantum Dots: QDs)، لیپیدها، پلیمرها، دندریمرها و امولسیون‌ها و... نانو ذره‌ها فلزی ویژگی‌های وابسته به اندازه مانند مغناطیس فلورسانس (QDs) یا تخریب کاتولیزورهای نوری NPs اکسید فلز را نشان می‌دهند که کاربردهای بیوتکنولوژیکی در گسترش بهبود و بازسازی بافت، ویژگی‌های گندزدایی، شتاب بخشیدن به فرایندهای درمانی، جذب و رهاسازی دارو و شناسائی و... دارند [۱۲۰]. یک نمونه خوب در گسترش نانومواد، نانو ذره‌ها نقره (AgNPs) هستند. نقره یک سازه پاد میکروبی است که برای سال‌ها بر طیف گسترده‌ای از بیش از ۶۵۰ گونه از ریزاندامگان (میکروارگانیسم‌ها) از دسته‌های گوناگون مانند باکتری‌ها، قارچ‌ها یا ویروس‌ها استفاده می‌شود [۱۲۲، ۱۲۱]. AgNP. ها هم اکنون در برخی از فراوده‌های تجاری وجود دارند، همچنین سرعت فرآیند بهبود زخم را از با برابر سازی (تعدیل) سیتوکین‌های سازنده رشته‌های کلاژن (فیبروژنیک) را افزایش می‌دهند کارکرد پاد میکروبی دارند [۱۲۳]. نقره برای ریزاندامگان سمی است، اما برای سلول‌های حیوانی بسیار کمتر است. به این ترتیب، این ویژگی‌های ذرات نانو ذره‌های نقره ممکن است برای گسترش داروهای قوی‌تر بر سازه‌های بیماری‌زا

سودمند باشد [۱۲۴، ۱۲۵]. نانو ذره ها نقره در فرایند بهبود و بازسازی زخم آزادسازی سیتوکین های پاد آماسی را سامان دهی می کنند و با افزایش سرعت بهبود و بازسازی زخم، شکل گیری جوشگاه (اسکار) را کاهش می دهند [۶]. نانو ذره های نقره با برانگیختن دگرگونی میوفیبروبلاست ها از فیبروبلاست های معمولی، روند بسته شدن و بهبودی زخم را سرعت می بخشند. همچنین، با افزایش شمار و جابجایی کراتینوسیت ها، روند بازسازی اپیدرم را نیز برمی انگیزند [۱۰].

در مورد ویژگی های پاد میکروبی در پژوهش های پیشین کاربرد نانوذره های نقره همراه با تتراسایکلین سبب کاهش چشمگیر بار باکتریایی در لایه های سطحی و ژرف بافت در موش و در پی آن شتابان تر شدن روند بهبودی زخم شده بود. سازوکار بنیادین کارکرد پاد باکتری نانو ذره های نقره ساخت پیوندهای دی سولفیدی با پروتئین های غشای سلولی باکتری یا گروه های تیول آنزیم های گوناگون است که در پایان سبب مرگ برنامه ریزی شده یا آپوپتوز می شود. همچنین، از آنجایی که DNA دارای پیوندهای گوگردی و فسفر است، نانو ذره ها نقره می توانند با فرایند ساخت DNA در هنگام تقسیم سلولی برهمکنش کرده، و از افزایش شمار باکتری ها در زخم جلوگیری کنند [۱۰، ۱۱].

در پژوهشی برای ارزیابی کارکرد پاد میکروبی AgNP در اندازه های گوناگون ۵، ۷، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۳۰، ۵۰، ۶۳، ۸۵ و ۱۰۰ نانومتر نشان داد و اثر مهارکنندگی آنها بر رشد باکتری های اشیریشیا کلی و استافیلوکوکوس اورئوس به اندازه آنها بستگی دارد به گونه ای که با کاهش اندازه نانوذره ها، کارکرد میکروبی به طور چشمگیری افزایش می یافت و در بهترین اثر پادمیکروبی در اندازه های ۵، ۷ و ۱۰ نانومتری دیده شد که می تواند ناشی از افزایش سطح تماس بین نانو ذره ها و سلول های باکتریایی باشد. نگاره های میکروسکوپ الکترونی عبوری این پژوهش نشان داد که نانو ذره ها نقره ۱۰ نانومتری در غشای سلولی وجود داشته، در سلول های باکتریایی درونی شده اند. نخستین برخورد نانو ذره های نقره با غشاء می تواند وارد شدن آنها به درون سلول های باکتریایی و به دنبال آن آزاد شدن یون های نقره را آسان می سازد که با مهار تنفس سلولی و همچنین ساخت گونه های کنشگر اکسیژن (ROS) به مهار افزایش شمار DNA می انجامد. این فرایندها می توانند به صورت موازی رخ دهند و به اثر پاد باکتریایی پرشتاب نانو ذره ها کمک کنند [۱۲۶].

ماپارا و همکاران (۲۰۱۳) بیان داشت نانو ذره ها نقره با دگرگونی نفوذپذیری غشای سلولی جدایه بالینی سودوموناس آئروژینوزا بسیار پایدار در برابر دارو، سبب نشت قندها و پروتئین های باقیمانده در باکتری می شود. نانو ذره های نقره همچنین شتاب پراکسیداسیون لیپیدی را افزایش داده، با مهار آنزیم سوکسینات دهیدروژناز زنجیره تنفسی را از کار انداخته کرده و سبب مرگ سلولی می شوند. در آزمایش های سمیت سلولی، نانو ذره ها هیچ اثر سمی بر سلول های انسانی نشان ندادند، و از این رو گمان می رود نانو ذره ها نقره جایگزین خوبی برای کاربردهای دارویی باشند [۱۲۷].

برخی پژوهش ها اثرهای نانوذره های نقره را در ترکیب با آنتی بیوتیک ها ارزیابی کرده، و اثر پاد میکروبی آنها را در برابر ریراندامگان در همزیستگاه های پلانکتونی نشان داده اند [۱۲۸، ۱۲۹]. هایش و همکاران نشان دادند که نانو ذره ها نقره ۱۰ و ۲۰ نانومتری هم افزایی کارکرد پاد بیوفیلم توبرامایسین را افزایش داده، به همان اندازه زیست توده و زنده مانی آن را کاهش می دهند. ارزش این پژوهش کاهش شانس رخداد پایداری میکروبی و سمیت سلولی در سلول های میزبان هنگام استفاده از غلظت های پایین پادزیست ها همراه با نانوذره ها نقره است [۱۳۰].

در پژوهش بونیل و همکاران (۲۰۱۷)، نانو ذره ها نقره با استفاده از مالتوز AgNP-evil و سیستئین AgNP-Cys در اندازه های بین ۱۰ تا ۲۰ نانومتر ساخته شده و به عنوان قارچ کش پاد کاندیدا آلبیکنس و کاندیدا پاراپسیلویزس استفاده شدند. نتایج نشان داد که اثر پاد قارچی نانوذره های نقره در غلظت ۶۴ برابر کمتر از غلظت فلوکونازول بوده است. این مطالعه نشان داد که نانو ذره ها نقره روی سطح سلول های مخمر نیز اثر گذار هستند و سبب بروز دگرگونی های بزرگی در دیواره سلولی قارچ و پارگی غشای سیتوپلاسمی می شوند [۱۲۴].

لی و همکاران با استفاده از نانوذره های نقره های اصلاح شده با اوسلتامیویر بر رده سلولی MDCK Madin-Darby canine (kidney:MDBK) آلوده به ویروس آنفلوآنزای H_1N_1 قرار داده، بیان داشتند که اثر پاد ویروس نانوذره های نقره می تواند ناشی از تولید گونه های کنشگر اکسیژن و رادیکال های آزاد باشد [۱۳۱].

یکی از راه های هم افزایی و بهبود عملکرد نانوذره ها نقره استفاده از افشره گیاهان دارویی همچون شیرین بیان میباشد. شیرین بیان در فرایند بهبود و بازسازی زخم دارای ویژگی پاد آماسی، انباشت پلاکت های خون، ویژگی پاد اکسیدان، جلوگیری از شکل گیری رادیکال های آزاد، کاهش $TNF-\alpha$ ، NO و $IL-6$ و $IL-1$ و اثر پاد میکروبی می باشد [۲۲-۲۶].

زنگنه و همکاران (۲۰۱۹) در مطالعه ای اثر افشره آبی شیرین بیان بر بهبود و بازسازی زخم را ارزیابی نموده، بیان کردند افشره آبی شیرین بیان مساحت زخم و شمار کل سلول ها را کاهش داده، سبب تنگ شدن رگ های خونی و افزایش فیبروسیت ها، اسکوربیک اسید و هیدروکسی پرولین می شود [۱۳۲].

در این پژوهش شکل گیری نانو ذره ها در محلول آبی بوسیله طیفسنجی مرئی فرابنفش در بازه ۲۰۰ تا ۶۰۰ نانومتر آشکار و با بیشینه جذب در ۴۰۰ نانومتر آشکار گردید که ویژگی نانو ذره ها نقره است. دانگوی و همکاران (۲۰۱۵) در مقایسه روش های شناسائی کارکرد نانو ذره ها نقره بر باکتری های پایدار به چند دارو در شرایط آزمایشگاهی نشان دادند که در طیف سنجی مرئی فرابنفش، بیشینه جذب در بازه ۴۰۰ نانومتر رخ می دهد و این طول موج و پذیرش بودن نانوذره ها نقره در نظر گرفته می شود [۱۳۳].

بحث درصد بهبودی زخم ها:

در این پژوهش، مقایسه درصد بهبودی زخم ها نشان داد که در روز ۳ گروه نانو ذره های نقره آمیخته با افشره شیرین بیان، با گروه کنترل و سیلورسولفادیازین اختلاف معنی داری دارد ($p < 0.05$). گروه اوسرین و افشره نیز در این روز با گروه سیلورسولفادیازین و گروه افشره با گروه کنترل نیز اختلاف معنی دار دارند ($p < 0.05$). در روز ۱۰ تا ۳ گام آماسی بهبود و بازسازی زخم آغاز میشود و این در گروه های دارای افشره شیرین بیان بیشترین کارکرد پاد آماسی دیده شد. نبود اختلاف معنی دار ($p > 0.05$) میان گروه کنترل و گروه دارای نانو ذره ها نقره نشان دهنده این است نانوذره های نقره کارکرد پاد آماسی قوی از ماکروسکوپی بروز نداده اند در حالیکه اختلاف معنی دار با گروه درمان با سیلورسولفادیازین نشان از عملکرد بهتر گروه ترکیبی نانو ذره ها نقره همراه با افشره نسبت به نانوذره های نقره دارد.

دامله و همکاران (۲۰۱۴) در مطالعه ای ویژگی های دارویی گیاه شیرین بیان را بررسی کرده و بیان نمودند که گلیسیریزیک اسید افشره گیاه، ویژگی پاد آماسی مانند گلوکوکورتیکوئیدها دارد و کارکرد سیکلوکسیژناز و شکل گیری پروستاگلاندین را مهار و به طور غیر مستقیم انباشت پلاکت ها را کاهش میدهد [۱۳۴].

جیتش و همکاران (۲۰۱۷) در ارزیابی کارکرد پاد آماسی افشره شیرین بیان در شرایط آزمایشگاهی بیان داشتند که افشره شیرین بیان هنگامی که با استفاده از روش دنا توره کردن پروتئین با استفاده از آسپرین غربالگری شود، فعالیت پاد آماسی بسیار خوبی از خود نشان می دهد [۱۳۵].

در روز ۷ میان گروه درمان با افشره، گروه درمان با نانو ذره ها نقره و گروه کنترل اختلاف معنی دار دیده نشد ($p > 0.05$) ولی میان گروه نانو ذره ها نقره همراه با افشره و گروه کنترل اختلاف معنی دار وجود داشت ($p < 0.05$). در روز های ۳ تا ۱۲ به طور معمول فرایندهای کوچ (مهاجرت) فیبروبلاست ها، شکل گیری بافت جوانه ای، بهبود و بازسازی اپیتلیوم و جایگیری دسته های کلاژن رخ می دهد. بررسی ماکروسکوپی نشان میدهد که کاربرد همزمان افشره گیاه شیرین بیان و نانو ذره های نقره اثر هم افزائی (سینرژیستی) دارد و می تواند در فرایند افزایش شتابان شمار سلول ها کارآمد باشد.

سیریواتاناستوم و همکاران (۲۰۲۰)، در پژوهشی اثر بهبود و بازسازی زخم افشره ۳ گیاه دربرگیرنده شیرین بیان را بررسی نموده و بیان داشتند افشره شیرین بیان سبب کاهش نیتریک اکساید، گستره زخم، آماس و از همه مهمتر سرعت بخشیدن به روند افزایش شمار سلول ها، دگرگونی (تمایز) آنها و بسته شدن زخم میگردد [۱۳۶].

علمی و همکاران (۲۰۰۷)، در پژوهشی با عنوان توان نهفته درمانی افشره شیرین بیان در بهبود و بازسازی زخم ها در موش صحرایی بیان داشتند که افشره شیرین بیان سبب افزایش چشم گیر شمار فیبروبلاست ها و جوانه های مویرگی، درونمایه کلاژن و استواری کشتی زخم ها می شود و سطح زخم را به شکل چشم گیری کاهش می دهد [۱۳۷].

در روز ۱۴ بین گروه های درمانی افشره شیرین بیان، نانو ذره ها نقره و گروه کنترل اختلاف معنی دار دیده نشد ولی میان گروه نانو ذره ها نقره آمیخته با افشره شیرین بیان و گروه کنترل اختلاف معنی دار وجود داشت. در روز ۱۴ ادامه ی فرایند افزایش شمار سلول ها و همچنین فرایند بازسازی زخم رخ می دهد. واکاوی ماکروسکوپی این پژوهش نشان داد افشره شیرین بیان و نانو ذره ها نقره میتواند در سرعت بخشیدن به بازسازی زخم، افزایش کلاژن در جایگاه زخم و بازآرایی دسته های کلاژن نقش داشته باشد. نکته چشمگیر این است که افزایش شمار فیبروبلاست ها در ابتدای فرایند بهبود و بازسازی سبب افزایش سرعت بهبود و بازسازی در سایر گام های روند بهبودی نیز میگردد. اختلاف معنی دار با گروه درمان با سیلورسولفادیازین نشان از اثربخشی بهتر گروه ترکیبی نانو ذره ها نقره همراه با افشره نسبت به نانو ذره های نقره دارد.

دوعا و همکاران (۲۰۲۱) توانایی افشره شیرین بیان در بهبود و بازسازی زخم را بررسی و بیان داشتند که افشره شیرین بیان با افزایش سطح بیان ژن bFGF، VEGF و TGF- β سبب افزایش رگزایی و کلاژن، روند بهبود زخم را سرعت می بخشد [۹].

در روز ۲۱، بین گروه های درمانی نانو ذره های نقره آمیخته با افشره شیرین بیان، نانو ذره های نقره و گروه کنترل اختلاف معنی داری وجود داشت. در گام آماسی بهبود و بازسازی زخم فرایند بازسازی، کوچک شدن زخم و شکل گیری جوشگاه بیشتر است و نتایج این پژوهش از نقش نانو ذره های نقره در برانگیختن و افزایش سرعت بازسازی زخم حکایت دارد.

فرانکوا و همکاران (۲۰۱۶)، اثر نانو ذره های نقره بر افزایش شمار فیبروبلاست ها و کراتینوسیت ها در بهبود و بازسازی زخم را با بیان این پیش فرض که هر دو نوع سلول برای بهبود زخم در گام های مورد آماس، افزایش شمار سلولی و بازسازی بافت مهم هستند، بررسی نمودند. نتایج آنها نشان داد که نانو ذره های نقره سبب کاهش برخی سایتوکین های آماسی همچون TNF- α و IL-12 و در کنار افزایش سازه های رشد مانند VEGF که بوسیله فیبروبلاست ها و کراتینوسیت ها تراوش میشوند، می گردد [۱۳۸].

اندازه هیدروکسی پرولین:

در روز ۳ بین گروه های درمانی گوناگون اختلاف معنی داری دیده نشد ($p>0/05$) ولی در روز ۷ گروه های سیلورسولفادیازین و نانو ذره های نقره آمیخته با افشره اختلاف معنی داری با گروه کنترل و در روز های ۱۴ و ۲۱ نیز بین گروه نانو ذره های نقره آمیخته با افشره، نانو ذره ها نقره و گروه افشره به تنهایی، نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی داری دیده نشد ($p>0/05$). در روزهای ابتدایی بهبود و بازسازی زخم فرایند آماسی برتر است و رفته رفته با کاهش آماس و بودن فیبروبلاست ها فرایند بهبود و بازسازی آغاز میگردد، از این رو افزایش نیافتن معنی دار کلاژن در روزهای ابتدایی طبیعی است. در فرایند افزایش شمار سلولی با کوچ فیبروبلاست ها، ساخت کلاژن افزایش پیدا می کند و بدلیل هم افزایی برانگیختن ساخت فیبروبلاست ها و کلاژن، اختلاف معنی دار دیده می شود. در پایان گام افزایش شمار سلولی تولید فیبروبلاست ها و به دنبال آن، ساخت کلاژن کاهش می یابد و فرایند بازآرایی زخم آغاز می شود به همین دلیل در روزهای برتر بودن گام آماسی، فرایند بهبود و بازسازی زخم نیز اختلاف معنی دار دیده نمی شود. از سوی دیگر، شیرین بیان دارای نوعی فلاوونوئید به نام گلابریدین است که سبب سرکوب ساخت کلاژن بوسیله فیبروبلاست ها میشود [۲۰].

کلیستور و همکاران (۲۰۱۲)، با بررسی ویژگی های نانوذره ها نقره بر بهبود و بازسازی زخم نشان دادند که نانوذره های نقره از دیدگاه آماری اثر چشمگیری بر روند بهبود دارد. بررسی و واکاوی بافت شناسی نشان داد که نانو ذره های نقره انباشتگی و راه یابی سلول های آماسی، افزایش مشار فیبروبلاست ها و ساخت کلاژن جدید را بهبود می بخشد. اگرچه گمان می رود افزایش شمار فیبروبلاست برای هر دو نوع نانو ذره ها نقره بکار رفته یکسان است، ساخت کلاژن به طور چشمگیری بوسیله Oligo-AgNPs بهبود می یابد [۱۳۹].

ژانگ و همکاران (۲۰۲۲)، با بررسی اثر گلابریدین برگرفته از شیرین بیان را بر پیام ها و فرایندهای بهبود و بازسازی زخم، بیان داشتند که گلابریدین سبب سرکوب سلول های فیبروبلاست و کاهش ساخت کلاژن می گردد [۲۰]. ژانگ و همکاران (۲۰۱۸)، در پژوهشی با استفاده از گیاه توت روباهی در بهبود و بازسازی زخم ناشی از سوختگی بیان داشتند که این گیاه به طور چشمگیری کوچک شدن زخم را بر می انگیزد و زمان شکل گیری اپیتلیوم را کاهش می دهد، که ممکن است ناشی از افزایش ساخت کلاژن باشد، که با افزایش درونمایه هیدروکسی پرولین آشکار می شود [۱۴۰].

سنجش سازه نکروز کننده توموری آلفا $TNF-\alpha$

در روز ۳ بین گروه های درمانی نانوذره نقره آمیخته با افشره شیرین بیان، نانو ذره ها نقره و گروه افشره شیرین بیان با گروه کنترل و در روز ۷، بین گروه های درمانی نانوذره نقره آمیخته با افشره شیرین بیان، نانوذره نقره و گروه سیلورسولفادیازین با گروه کنترل اختلاف و کاهش معنی داری در میانگین سازه نکروز کننده توموری آلفا وجود دارد ($p < 0.05$). در روز ۱۴ و ۲۱ اختلاف معنی داری میان گروه ها دیده نشد ($p > 0.05$). در مقایسه درون گروهی در گروه نانوذره نقره آمیخته با افشره شیرین بیان در روز ۳ با روز ۷ و ۱۴ و ۲۱ اختلاف معنی دار دیده می شود. در فرآیند بهبود و بازسازی زخم تا روز ۳، فرایند آماسی برتر است و بیشترین میزان سازه های آماسی مانند سازه نکروز توموری آلفا مربوط به روزهای نخستین هستند که به آهستگی کاهش می یابد. نانوذره ها نقره و افشره شیرین بیان هر دو دارای ویژگی پاد آماسی هستند، تاجایی که کمترین میزان بیان $TNF-\alpha$ مربوط به گروه نانوذره همراه با افشره است.

رانی و همکاران (۲۰۲۱)، در پژوهشی پیرامون ویژگی های دارویی مواد برگرفته از شیرین بیان، نشان دادند که این گیاه دارای ویژگی پاد آماسی است و سبب کاهش میانجی های های آماسی مانند $TNF-\alpha$ و $IL-1B$ میشود [۴۳]. هانتر و همکاران (۲۰۲۰)، در پژوهشی بر روی رمند آنژیوژنز در مواجهه با داروها و مواد سمی، کارالئی بهبود دهنده و بازسازی نانو ذره های نقره را بررسی نموده، نشان دادند که نانو ذره های نقره سبب کاهش میانجی های های آماسی مانند $TNF-\alpha$ و $IL-1B$ میشوند [۱۴۲].

سنجش $IL-6$

در روز ۳ فقط بین گروه های درمانی، نانوذره های نقره آمیخته با افشره شیرین بیان با گروه اوسرین اختلاف معنی داری داشته و در روز ۷ بین گروه های درمانی نانوذره نقره آمیخته با افشره شیرین بیان و نانوذره های نقره اختلاف معنی داری دیده می شود به طوریکه گروه نانوذره های نقره و افشره سبب کاهش معنی دار این فاکتور آماسی شده است ($p < 0.05$). $IL-6$ از میانجی های آماسی است که در فرایند بهبود و بازسازی زخم در روزهای ابتدایی به شدت بیان می گردد و نقش برانگیزاننده برای فراخوانی، افزایش شمار و دگرگونی فیبروبلاست ها دارد و روند آماس را ساماندهی می کند. در روزهای ۳ و ۷، به دلیل اثر پاد آماسی نانو ذره های نقره و افشره شیرین بیان، به شدت کاهش این واسطه آماسی دیده می شود، در روز ۷ اثر پاد آماسی افشره شیرین بیان آشکار نیست که بیانگر اثر کوتاه مدت این ماده بر آماس است. در روزهای پایانی بهبود و بازسازی زخم بدلیل نبود آماس و میانجی های آماسی، $IL-6$ چندان دیده نمی شود. کونوپ و همکاران (۲۰۱۹)، در پژوهشی با عنوان ارزیابی کراتین پوشش داده شده با نانو ذره

های نقره برای بهبود و بازسازی زخم های دیابتی بیان داشتند که نانو ذره های نقره سبب کاهش بیان IL-6 در موش های درمان شده می گردد [۱۴۳].

ناسان و همکاران (۲۰۲۱)، در مطالعه ای کارائی شیرین بیان بر کاهش اثر سمی داروی جنتامایسین بر کلیه را ارزیابی کرده، نشان دادند در حالیکه که جنتامایسین سبب افزایش IL-6 و IL-1 β می شود، شیرین بیان این میانجی های آماسی را کاهش می دهد [۱۴۴].

هیستوپاتولوژی:

آماس وادم:

در روز ۳ و ۷، میان گروه های درمانی نانوذره نقره آمیخته با افشره شیرین بیان و نانوذره نقره به تنهایی با گروه کنترل اختلاف معنی دار دیده می شود ($p < 0.05$). در روزهای ابتدایی روند بازسازی زخم، فرایند آماسی برتر است، از این رو بدلیل اثر پاد آماسی نانو ذره های نقره و افشره، کاهش آمای بارز می باشد. لقمان شاه و همکاران (۲۰۱۸)، اثر گلیسیریزین موجود در شیرین بیان بر کاهش رگ زایی و آماس را در قرنیه را بررسی کرده، بیان داشتند که گلیسیریزین در کنار ویژگی های پاد توموری، سبب کاهش آماس و میانجی های آماسی می گردد [۱۴۵].

حیدری و همکاران (۲۰۲۱)، در مطالعه ای اثر هیدروژل دارای نانو ذره های نقره در بهبود و بازسازی زخم های ناشی از استافیلوکوکوس اورئوس را بررسی و بیان داشتند که نانو ذره های نقره در کنار ویژگی پادمیکروبی دارای ویژگی پاد آماسی نیز می باشد [۱۴۶].

خونریزی:

در بررسی آسیب شناسی خونریزی در بافت پوست، بین گروه های درمانی گوناگون در روزهای نمونه گیری اختلاف معنی دار دیده نشد ($p > 0.05$) و تنها در روز ۳ میان گروه افشره و سایر گروه ها اختلاف معنیدار وجود داشت که می تواند ناشی از نقش پاد آماسی و پاد خونریزی افشره شیرین بیان باشد [۱۴۵].

بازسازی بافت پوششی:

در روز ۳ و ۷ اختلاف معنی داری بین گروه های درمانی نشد، در روز ۱۴ بین گروه های درمانی نانوذره های نقره و نانو ذره های نقره آمیخته با افشره شیرین بیان با گروه کنترل و در روز ۲۱ بین گروه نانوذره های نقره آمیخته با افشره شیرین بیان با گروه کنترل و سیلورسولفادیازین سولفادیازین و افشره اختلاف معنی داری دیده شد. فرایند بازسازی بافت پوششی در روزهای پایانی بهبود و بازسازی زخم آغاز می شود، در نتیجه در روز های ابتدایی اختلاف آماری معنی داری دیده نمی شود. در روزهای پایانی به دلیل آنکه فرایند آماس در گروه نانوذره های نقره آمیخته با افشره شیرین بیان زودتر پایان می یابد، روند افزایش شمار سلولی و بازسازی زخم سریع تر آغاز می شود و بهبود و بازسازی بهتر و سریعتر انجام می گیرد، به اندازه ای که بین گروه نانوذره های نقره آمیخته با افشره شیرین بیان و سیلورسولفادیازین سولفادیازین نیز اختلاف معنی داری دیده می شود.

سوواناکول و همکاران (۲۰۱۸)، اثر ساخت نانو ذره های نقره با استفاده از گیاه شیرین بیان را بررسی و بیان داشتند که نانو ذره هاس نقره ساخته شده به وسیله افشره های گیاهی، بدون آسیب به رده های سلولی انسان توانائی پاد اکسیدانی، بهبود و بازسازی بافت و استفاده به عنوان رهیافت درمانی را دارا می باشند [۱۴۷].

اندازه، نظم و جهت یابی رشته های کلاژن بافتی:

در روز ۳ و ۷ اختلاف معنی داری بین گروه های درمانی دیده نمی شود، ولی در روز ۱۴ بین گروه های نانوذره های نقره آمیخته با افشره شیرین بیان و نانوذره های نقره با گروه کنترل و در روز ۲۱ بین گروه نانوذره های نقره آمیخته با افشره شیرین بیان با گروه کنترل و سیلورسولفادیازین سولفادیازین و افشره اختلاف معنی داری دیده شد. در روز ۲۱ بین گروه نانوذره های نقره و گروه

کنترل اختلاف معنی داری وجود داشته است. فرایند نظم و جهت یابی رشته های کلاژن در گروه درمان با سیلورسولفادیازین نسبت به سایر گروه ها از دیدگاه کارایی بهتر بوده است.

از دیدگاه میزان کلاژن نیز در روز ۳ اختلاف معنی داری بین گروه های درمانی دیده نشد ولی در روز ۷ تنها بین گروه سیلورسولفادیازین و گروه کنترل و در روز ۱۴ بین گروه نانوذره نقره، سیلورسولفادیازین با گروه کنترل اختلاف آماری معنی داری وجود داشت. در روز ۲۱ بین گروه های درمانی نانوذره های نقره آمیخته با افشره شیرین بیان، نانوذره های نقره و گروه کنترل اختلاف معنی دایر دیده شد. بر اساس نتایج، افشره شیرین بیان روی درونمایه و جهت یابی رشته های کلاژن چندان اثر گذار نبوده است، درحالی که اثر نانوذره نقره بر روی کلاژن در نیمه انتهایی بهبود و بازسازی زخم آشکار است. احمدی و همکاران (۲۰۲۰)، اثر نانو ذره های نقره ساخته شده بوسیله گیاه شیرین بیان بر سلول های T در بیماری لوسمی را بررسی کرده، نشان دادند ساخت نانو ذره به کمک افشره گیاه شیرین بیان بر کارایی و اثر گذاری فراورده نهایی اثر گذار است و این نانو ذره دارای ویژگی پاد اکسیدانی و پاد سلول های T می باشد [۱۴۸].

ابدعلی و همکاران (۲۰۱۵)، اثر نانو ذره های نقره بر روی کلیه بلدرچین را بررسی کردند و بیان داشتند که نانو ذره ها نقره سبب کاهش پرخونی، کراتینین، اوره، آماس و آسیب کلیوی می گردد [۱۴۹].

ادیب هاشمی و همکاران (۲۰۱۷)، در پژوهشی اثر نانو ذره ها نقره بر زخم های ناش از استافیلوکوکوس اورئوس در موش را بررسی کرده، نشان دادند که استفاده از نانو ذره های نقره سبب کاهش بافت جوشگاه، افزایش سرعت بهبود و بازسازی زخم و ایجاد شرایط پاک و بی آلودگی (آسپتیک) میگردد [۱۵۰].

نتیجه گیری:

فرآیند بهبود و بازسازی زخم های سوختگی ناهمسان با دیگر آسیب های پوستی است و رفتاری ها و پیچیدگی های ویژه ای دارد، از این رو چنین پژوهش هایی برای دست یابی به رهیافت های درمانی مناسب اهمیت بالایی دارند. نتایج این پژوهش نشان داد که استفاده از گیاه دارویی شیرین بیان هم برای ساخت و پوشش دهی نانو ذره های نقره سودمند است و هم با دارای بودن ویژگی های پاد آماسی، بهبود رگ زائی و شکل گیری بافت پوششی از یک سو و ویژگی های پاد میکروبی از عفونی شدن زخم و به دنبال آن کند شدن روند بازسازی زخم سوختگی جلوگیری می کند و سبب بهبود فرایند بازسازی می شود و با نانوذره های نقره اثر هم افزائی دارد.

فهرست منابع

1. <https://medlineplus.gov/woundsandinjuries.html>
2. Abazari M, Ghaffari A, Rashidzadeh H, Momeni badeleh S, Maleki Y. Current status and future outlook of nano-based systems for burn wound management. Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials. 2020 Jul;108(5):1934-52.
3. Nath, D., & Banerjee, P. (2013). Green nanotechnology—a new hope for medical biology. Environmental toxicology and pharmacology, 36(3), 997-1014.
4. Razavi, M., Salahinejad, E., Fahmy, M., Yazdimamaghani, M., Vashaei, D., & Tayebi, L. (2015). Green chemical and biological synthesis of nanoparticles and their biomedical applications. Green processes for nanotechnology, 207-235.

- 5.Narayanan, K. B., & Sakthivel, N. (2011). Green synthesis of biogenic metal nanoparticles by terrestrial and aquatic phototrophic and heterotrophic eukaryotes and biocompatible agents. *Advances in colloid and interface science*, 169(2), 59-79.
- 6.Hamdan, S., Pastar, I., Drakulich, S., Dikici, E., Tomic-Canic, M., Deo, S., & Daunert, S. (2017). Nanotechnology-driven therapeutic interventions in wound healing: potential uses and applications. *ACS central science*, 3(3), 163-175.
- 7.Shende, P., & Gupta, H. (2020). Formulation and comparative characterization of nanoparticles of curcumin using natural, synthetic and semi-synthetic polymers for wound healing. *Life Sciences*, 253, 117588.
- 8.Jamil, B., Abbasi, R., Abbasi, S., Imran, M., Khan, S. U., Ihsan, A., ... & Imran, M. (2016). Encapsulation of cardamom essential oil in chitosan nano-composites: In-vitro efficacy on antibiotic-resistant bacterial pathogens and cytotoxicity studies. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1580.
- 9.Assar, D. H., Elhabashi, N., Mokhbatly, A. A. A., Ragab, A. E., Elbially, Z. I., Rizk, S. A., ... & Atiba, A. (2021). Wound healing potential of licorice extract in rat model: Antioxidants, histopathological, immunohistochemical and gene expression evidences. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 143, 112151.
- 10.Vijayakumar, V., Samal, S. K., Mohanty, S., & Nayak, S. K. (2019). Recent advancements in biopolymer and metal nanoparticle-based materials in diabetic wound healing management. *International journal of biological macromolecules*, 122, 137-148.
- 11.Ahmadi, M., & Adibhesami, M. (2017). The effect of silver nanoparticles on wounds contaminated with *Pseudomonas aeruginosa* in mice: an experimental study. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*, 16(2), 661
- 12.Rodríguez-León, E., Iñiguez-Palomares, R., Navarro, R. E., Herrera-Urbina, R., Tánori, J., Iñiguez-Palomares, C., & Maldonado, A. (2013). Synthesis of silver nanoparticles using reducing agents obtained from natural sources (*Rumex hymenosepalus* extracts). *Nanoscale research letters*, 8(1), 1-9.
- 13.Abou El-Nour, K. M., Eftaiha, A. A., Al-Warthan, A., & Ammar, R. A. (2010). Synthesis and applications of silver nanoparticles. *Arabian journal of chemistry*, 3(3), 135-140.
- 14.Logeswari, P., Silambarasan, S., & Abraham, J. (2015). Synthesis of silver nanoparticles using plants extract and analysis of their antimicrobial property. *Journal of Saudi Chemical Society*, 19(3), 311-317.
- 15.Ahmed, S., Ahmad, M., Swami, B. L., & Ikram, S. (2016). A review on plants extract mediated synthesis of silver nanoparticles for antimicrobial applications: a green expertise. *Journal of advanced research*, 7(1), 17-28.
- 16.Krithiga, N., Rajalakshmi, A., & Jayachitra, A. (2015). Green synthesis of silver nanoparticles using leaf extracts of *Clitoria ternatea* and *Solanum nigrum* and study of its antibacterial effect against common nosocomial pathogens. *Journal of Nanoscience*, 2015.
- 17.Maliszewska, I., Szewczyk, K., & Waszak, K. (2009). Biological synthesis of silver nanoparticles. In *Journal of Physics: Conference Series* (Vol. 146, No. 1, p. 012025). IOP Publishing.
- 18.Prusty, A. K. (2011). Preparation of silver nanoparticle by microorganism and its application in pharmacy. *Int. J. Biomedical and Advance Research*, 32-37.
- 19.Reddy, G.K. and Enwemeka, C.S., 1996. A simplified method for the analysis of hydroxyproline in biological tissues. *Clinical biochemistry*, 29(3), pp.225-229.

20. Zhang, H., Chen, J., & Cen, Y. (2018). Burn wound healing potential of a polysaccharide from *Sanguisorba officinalis* L. in mice. *International Journal of Biological Macromolecules*, 112, 862-867.
21. Fenwick, G. R., Lutomski, J., & Nieman, C. (1990). Liquorice, *Glycyrrhiza glabra* L.—Composition, uses and analysis. *Food chemistry*, 38(2), 119-143.
22. Blumenthal, M., Goldberg, A., & Brinckmann, J. (2000). Herbal medicine. Expanded commission E monographs. *Integrative Medicine Communications*.
23. Akamatsu, H., Komura, J., Asada, Y., & Niwa, Y. (1991). Mechanism of anti-inflammatory action of glycyrrhizin: effect on neutrophil functions including reactive oxygen species generation. *Planta medica*, 57(02), 119-121.
24. Wang, Z. Y., & Nixon, D. W. (2001). Licorice and cancer. *Nutrition and cancer*, 39(1), 1-11.
25. Nirmala, P., & Selvaraj, T. (2011). Anti-inflammatory and anti-bacterial activities of *Glycyrrhiza glabra* L. *Journal of Agricultural Technology*, 7(3), 815-23.
26. Zargari-Samadnejad, A., Mehrvarz, S., Allizadeh-Naeini, S., & Tanideh, N. (2012). Healing effect of Licorice extract in acetic acid-induced ulcerative colitis in rat. *Research in Pharmaceutical Sciences*, 7(5), 837.
27. ATEŞ, D. A., & TURGAY, Ö. (2003). Antimicrobial activities of various medicinal and commercial plant extracts. *Turkish Journal of Biology*, 27(3), 157-162.
28. Shahmiri, N., Manteghi, F., Sohrabi, B., & Golafshan, S. (2014, November). Green synthesis of BaCrO₄ nanoparticles using *Glycyrrhiza glabra* extract. In *The 18th International Electronic Conference on Synthetic Organic Chemistry*. Multidisciplinary Digital Publishing Institute.
29. E.D.M. Adams, G.G. Goss, S.P. Leys, Freshwater sponges have functional, sealing epithelia with high transepithelial resistance and negative transepithelial potential, *PLoS One* 5 (2010) e15040
۳۰. منتظری م. بافت شناسی پایه، چاپ سوم، جلد اول، تهران، انتشارات ارجمند، ۱۳۷۲؛ صفحات: ۴۹۰-۴۸۶
31. Kim JH, Jung M, Kim HS, Kim YM, Choi EH. Adipose-derived stem cells as a new therapeutic modality for ageing skin. *Experimental dermatology*. 2011 May;20(5):383-7.
32. Midwood KS, Williams LV, Schwarzbauer JE. Tissue repair and the dynamics of the extracellular matrix. *The international journal of biochemistry & cell biology*. 2004 Jun 1;36(6):1031-7.
33. Zomer HD, Trentin AG. Skin wound healing in humans and mice: Challenges in translational research. *Journal of dermatological science*. 2018 Apr 1;90(1):3-12.
34. Tissue Engineering of Skin
35. Arda O, Göksügür N, Tüzün Y. Basic histological structure and functions of facial skin. *Clinics in dermatology*. 2014 Jan 1;32(1):3-13.
36. Percival NJ. Classification of wounds and their management. *Surgery (Oxford)*. 2002 May 1;20(5):114-7.
37. Abazari M, Ghaffari A, Rashidzadeh H, Momeni badeleh S, Maleki Y. Current status and future outlook of nano-based systems for burn wound management. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*. 2020 Jul;108(5):1934-52.
38. Cuttle L, Kempf M, Liu PY, Kravchuk O, Kimble RM. The optimal duration and delay of first aid treatment for deep partial thickness burn injuries. *Burns*. 2010 Aug 1;36(5):673-9
39. Jackson DM. The diagnosis of the depth of burning. *Journal of British Surgery*. 1953 May;40(164):588-96.

40. Gomez R, Cancio LC. Management of burn wounds in the emergency department. *Emergency medicine clinics of North America*. 2007 Feb 1;25(1):135-46.
۴۱. شریعت ا، رنجبر م، پرستاری داخلی جراحی برونر و سودارث. تهران، نشر سالمی، ۱۳۸۲؛ ۱۲۵-۱۲۴
۴۲. عباسپور ع، اورژانس های سوختگی. چاپ دوم، جلد اول، تهران، انتشارات اشارت، دانشگاه تهران، ۱۳۸۶؛ صفحات ۴۴-۴۶
۴۳. مظفریان و. فرهنگ نامهای گیاهان ایران، تهران، انتشارات فرهنگ معاصر، ۱۳۸۶؛ صفحات ۷۴۰-۷۴۲
44. Atiyeh BS, Costagliola M, Hayek SN, Dibo SA. Effect of silver on burn wound infection control and healing: review of the literature. *burns*. 2007 Mar 1;33(2):139-48.
46. Werner S, Smola H, Liao X, Longaker MT, Krieg T, Hofschneider PH, Williams LT. The function of KGF in morphogenesis of epithelium and reepithelialization of wounds. *Science*. 1994 Nov 4;266(5186):819-22.
47. Gupta A, Singh RL, Raghubir R. Antioxidant status during cutaneous wound healing in immunocompromised rats. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 2002 Dec;241(1):1-7.
۴۸. طوسی پ، تظاهرات اصلی و درمان بیماری های پوست، چاپ سوم، جلد اول، تهران، انتشارات سمات، ۱۳۷۲؛ صفحات ۱۸-۲۲
۴۹. بهادری م، آسیب شناسی عمومی، چاپ دوم، جلد اول، تهران انتشارات سهامی چهر: ۱۳۶۸ صفحات ۸۲-۱۰۵
50. Werner S, Smola H, Liao X, Longaker MT, Krieg T, Hofschneider PH, Williams LT. The function of KGF in morphogenesis of epithelium and reepithelialization of wounds. *Science*. 1994 Nov 4;266(5186):819-22.
51. Tiwari VK. Burn wound: how it differs from other wounds? *Indian J Plast Surg*. 2012;45:364-73.
52. Gurtner GC, Werner S, Barrandon Y, Longaker MT. Wound repair and regeneration. *Nature*. 2008 May;453(7193):314-21.
53. Reinke JM, Sorg H. Wound repair and regeneration. *Eur Surg Res*. 2012;49:35-43.
54. Werner S, Krieg T, Smola H. Keratinocyte-fibroblast interactions in wound healing. *Journal of investigative dermatology*. 2007 May 1;127(5):998-1008.
55. Pastar I, Stojadinovic O, Yin NC, Ramirez H, Nusbaum AG, Sawaya A, Patel SB, Khalid L, Isseroff RR, Tomic-Canic M. Epithelialization in wound healing: a comprehensive review. *Advances in wound care*. 2014 Jul 1;3(7):445-64..
56. Widgerow AD. Cellular/extracellular matrix cross-talk in scar evolution and control. *Wound repair and regeneration*. 2011 Mar;19(2):117-33.
57. Singer AJ, Clark RA. Cutaneous wound healing. *N Engl J Med*. 1999;341:738-46.
58. Hinz B. Formation and function of the myofibroblast during tissue repair. *Journal of Investigative Dermatology*. 2007 Mar 1;127(3):526-37.
59. Snowden JM. Wound closure: an analysis of the relative contributions of contraction and epithelialization. *Journal of Surgical Research*. 1984 Dec 1;37(6):453-63.
60. Shih B, Garside E, McGrouther DA, Bayat A. Molecular dissection of abnormal wound healing processes resulting in keloid disease. *Wound repair and regeneration*. 2010 Mar;18(2):139-53.
61. Claudinot S, Nicolas M, Oshima H, Rochat A, Barrandon Y. Long-term renewal of hair follicles from clonogenic multipotent stem cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2005 Oct 11;102(41):14677-82.
62. Ito M, Liu Y, Yang Z, Nguyen J, Liang F, Morris RJ, Cotsarelis G. Stem cells in the hair follicle bulge contribute to wound repair but not to homeostasis of the epidermis. *Nature medicine*. 2005 Dec;11(12):1351-4.

63. Curran TA, Ghahary A. Evidence of a role for fibrocyte and keratinocyte-like cells in the formation of hypertrophic scars. *Journal of Burn Care & Research*. 2013 Mar 1;34(2):227-31.
64. Tabas I, Glass CK. Anti-inflammatory therapy in chronic disease: challenges and opportunities. *Science*. 2013 Jan 11;339(6116):166-72.
65. Arturson G. Forty years in burns research: the postburn inflammatory response. *Burns*. 2000;26(7):599-604.
66. Szpaderska AM, DiPietro LA. Inflammation in surgical wound healing: friend or foe?. *Surgery*. 2005 May 1;137(5):571-3.
67. Franz MG. Optimizing healing of the acute wound by minimizing complications. *Curr Prob Surg*. 2007;44:679-766
68. Stubhaug A, Romundstad L, Kaasa T, Breivik H. Methylprednisolone and ketorolac rapidly reduce hyperalgesia around a skin burn injury and increase pressure pain thresholds. *Acta anaesthesiologica scandinavica*. 2007 Oct;51(9):1138-46.
69. Huang G, Liang B, Liu G, Liu K, Ding Z. Low dose of glucocorticoid decreases the incidence of complications in severely burned patients by attenuating systemic inflammation. *Journal of critical care*. 2015 Apr 1;30(2):436-e7.
70. Janžekovic Z. A new concept in the early excision and immediate grafting of burns. *Journal of Trauma and Acute Care Surgery*. 1970 Dec 1;10(12):1103-8.
71. Edgar DW, Fish JS, Gomez M, Wood FM. Local and systemic treatments for acute edema after burn injury: a systematic review of the literature. *Journal of burn care & research*. 2011 Mar 1;32(2):334-47.
72. Sommer K, Sander AL, Albig M, Weber R, Henrich D, Frank J, Marzi I, Jakob H. Delayed wound repair in sepsis is associated with reduced local pro-inflammatory cytokine expression. *PloS one*. 2013 Sep 25;8(9):e73992..
73. CRAMER LM, McCORMACK RM, CARROLL DB. Progressive partial excision and early grafting in lethal burns. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 1962 Nov 1;30(5):595-9.
74. Engrav LH, Heimbach DM, Reus JL, Harnar TJ, Marvin JA. Early excision and grafting vs. nonoperative treatment of burns of indeterminant depth: a randomized prospective study. *The Journal of trauma*. 1983 Nov 1;23(11):1001-4.
75. George Broughton II, Janis JE, Attinger CE. The basic science of wound healing. *Plastic and reconstructive surgery*. 2006 Jun 1;117(7S):12S-34S.
76. Majno G. The healing hand: man and wound in the ancient world. Harvard University Press; 1991.

۷۷. کلانتری ا. سوختگی ها چاپ دوم جلد اول تهران انتشارات جهاد دانشگاهی ۱۳۷۰ صفحات ۱۵-۳۰.

78. Stockton KA, Harvey J, Kimble RM. A prospective observational study investigating all children presenting to a specialty paediatric burns centre. *Burns*. 2015 May 1;41(3):476-83.
79. Prelack K, Dylewski M, Sheridan RL. Practical guidelines for nutritional management of burn injury and recovery. *burns*. 2007 Feb 1;33(1):14-24.
80. WALKER HL, MASON Jr AD. A standard animal burn. *Journal of Trauma and Acute Care Surgery*. 1968 Nov 1;8(6):1049-51.
81. Huang J, Li Q, Sun D, Lu Y, Su Y, Yang X, Wang H, Wang Y, Shao W, He N, Hong J. Biosynthesis of silver and gold nanoparticles by novel sundried *Cinnamomum camphora* leaf. *Nanotechnology*. 2007 Feb 6;18(10):105104.
82. Narayanan KB, Sakthivel N. Biological synthesis of metal nanoparticles by microbes. *Advances in colloid and interface science*. 2010 Apr 22;156(1-2):1-3.

83. Hoffmann MR, Martin ST, Choi W, Bahnemann DW. Environmental applications of semiconductor photocatalysis. *Chemical reviews*. 1995 Jan;95(1):69-96.
84. Doering WV, Zhao X. Effect on kinetics by deuterium in the 1, 5-hydrogen shift of a cisoid-locked 1, 3 (Z)-pentadiene, 2-methyl-10-methylenebicyclo [4.4. 0] dec-1-ene: evidence for tunneling?. *Journal of the American Chemical Society*. 2006 Jul 19;128(28):9080-5.
85. Kim JS, Kuk E, Yu KN, Kim JH, Park SJ, Lee HJ, Kim SH, Park YK, Park YH, Hwang CY, Kim YK. Antimicrobial effects of silver nanoparticles. *Nanomedicine: Nanotechnology, biology and medicine*. 2007 Mar 1;3(1):95-101.
86. Laurent S, Forge D, Port M, Roch A, Robic C, Vander Elst L, Muller RN. Magnetic iron oxide nanoparticles: synthesis, stabilization, vectorization, physicochemical characterizations, and biological applications. *Chemical reviews*. 2008 Jun 11;108(6):2064-110.
87. Livage J, Henry M, Sanchez C. Sol-gel chemistry of transition metal oxides. *Progress in solid state chemistry*. 1988 Jan 1;18(4):259-341.
88. O'Neal DP, Hirsch LR, Halas NJ, Payne JD, West JL. Photo-thermal tumor ablation in mice using near infrared-absorbing nanoparticles. *Cancer letters*. 2004 Jun 25;209(2):171-6.
89. Oskam G. Metal oxide nanoparticles: synthesis, characterization and application. *Journal of sol-gel science and technology*. 2006 Mar;37(3):161-4.
90. Sastry M, Ahmad A, Khan MI, Kumar R. Biosynthesis of metal nanoparticles using fungi and actinomycete. *Current science*. 2003 Jul 25;162-70.
91. Su XY, Liu PD, Wu H, Gu N. Enhancement of radiosensitization by metal-based nanoparticles in cancer radiation therapy. *Cancer biology & medicine*. 2014 Jun;11(2):86.
92. Cao G. Nanostructures & nanomaterials: synthesis, properties & applications. Imperial college press; 2004.
93. Aguilar Z. Nanomaterials for medical applications. Newnes; 2012 Dec 31.
94. Raveendran P, Fu J, Wallen SL. Completely “green” synthesis and stabilization of metal nanoparticles. *Journal of the American Chemical Society*. 2003 Nov 19;125(46):13940-1
95. Rodríguez-León E, Iñiguez-Palomares R, Navarro RE, Herrera-Urbina R, Tánori J, Iñiguez-Palomares C, Maldonado A. Synthesis of silver nanoparticles using reducing agents obtained from natural sources (*Rumex hymenosepalus* extracts). *Nanoscale research letters*. 2013 Dec;8(1):1-9.
96. Abou El-Nour KM, Eftaiha AA, Al-Warthan A, Ammar RA. Synthesis and applications of silver nanoparticles. *Arabian journal of chemistry*. 2010 Jul 1;3(3):135-40.
97. Fenwick GR, Lutomski J, Nieman C. Liquorice, *Glycyrrhiza glabra* L.—Composition, uses and analysis. *Food chemistry*. 1990 Jan 1;38(2):119-43.
98. Blumenthal M, Goldberg A, Brinckmann J. Herbal medicine. Expanded commission E monographs. *Integrative Medicine Communications*; 2000.
99. Maliszewska I, Szweczyk K, Waszak K. Biological synthesis of silver nanoparticles. In *Journal of Physics: Conference Series* 2009 (Vol. 146, No. 1, p. 012025). IOP Publishing
100. Prusty AK. Preparation of silver nanoparticle by microorganism and its application in pharmacy. *Int. J. Biomedical and Advance Research*. 2011:32-7.
101. Chithra P, Sajithlal GB, Chandrakasan G. Influence of Aloe vera on the glycosaminoglycans in the matrix of healing dermal wounds in rats. *Journal of ethnopharmacology*. 1998 Jan 1;59(3):179-86...
102. Hayashi H, Sudo H. Economic importance of licorice. *Plant Biotechnology*. 2009 Mar 1;26(1):101-4.

103. Karkanis A, Martins N, Petropoulos SA, Ferreira IC. Phytochemical composition, health effects, and crop management of liquorice (*Glycyrrhiza glabra* L.): A medicinal plant. *Food reviews international*. 2018 Feb 17;34(2):182-203.
104. Pandey S, Verma B, Arya P. A review on constituents, pharmacological activities and medicinal uses of *Glycyrrhiza glabra*. *Univers. J. Pharm. Res.* 2017;2(2):26-31.
105. Thakur AK, Raj P. Pharmacological perspective of *Glycyrrhiza glabra* Linn: A mini-review. *J. Anal. Pharm. Res.* 2017;5(5):00156.
- 106.
- 107.
108. Gomes HI, Martins CS, Prior JA. Silver nanoparticles as carriers of anticancer drugs for efficient target treatment of cancer cells. *Nanomaterials*. 2021 Apr;11(4):964.
109. Bunaciu AA, Udriștioiu EG, Aboul-Enein HY. X-ray diffraction: instrumentation and applications. *Critical reviews in analytical chemistry*. 2015 Oct 2;45(4):289-99.
110. Singh P, Singh H, Kim YJ, Mathiyalagan R, Wang C, Yang DC. Extracellular synthesis of silver and gold nanoparticles by *Sporosarcina koreensis* DC4 and their biological applications. *Enzyme and Microbial Technology*. 2016;86:75-83.
111. Tahvilian, R., Zangeneh, M. M., Falahi, H., Sadrjavadi, K., Jalalvand, A. R., & Zangeneh, A. (2019). Green synthesis and chemical characterization of copper nanoparticles using *Allium saralicum* leaves and assessment of their cytotoxicity, antioxidant, antimicrobial, and cutaneous wound healing properties. *Applied organometallic chemistry*, 33(12), e5234.
112. Zangeneh, A., Pooyanmehr, M., Zangeneh, M. M., Moradi, R., Rasad, R., & Kazemi, N. (2019). Therapeutic effects of *Glycyrrhiza glabra* aqueous extract ointment on cutaneous wound healing in Sprague Dawley male rats. *Comparative Clinical Pathology*, 28(5), 1507-1514.
113. Azimzadeh Asiabi P, Ramazani A, Khoobi M, Amin M, Shakoori M, Mirmohammad Sadegh N, Farhadi R. Regenerated silk fibroin-based dressing modified with carnosine-bentonite nanosheets accelerates healing of second-degree burn wound. *Chemical Papers*. 2020 Oct;74(10):3243-57.
114. Krithiga, N., Rajalakshmi, A., & Jayachitra, A. (2015). Green synthesis of silver nanoparticles using leaf extracts of *Clitoria ternatea* and *Solanum nigrum* and study of its antibacterial effect against common nosocomial pathogens. *Journal of Nanoscience*, 2015.
115. Jung T, Schauer U, Heusser C, Neumann C, Rieger C. Detection of intracellular cytokines by flow cytometry. *Journal of immunological methods*. 1993;159(1-2):197-207.
116. Bahuguna G, Kumar A, Mishra NK, Kumar C, Bahlwal A, Chaudhary P, et al. Green synthesis and characterization of silver nanoparticles using aqueous petal extract of the medicinal plant *Combretum indicum*. *Materials Research Express*. 2016;3(7):07500
117. Gupta A, Kumar P. Assessment of the histological state of the healing wound. *Plastic and Aesthetic Research*. 2015 Sep 15;2:239-42
118. Marchant J. When antibiotics turn toxic. *Nature*. 2018 Mar 28;555(7697):431-433.
119. Dan MM, Sarmah P, Vana DR, Dattatreya A. Wound healing: concepts and updates in herbal medicine. *Int J Med Res Health Sci*. 2018 Jan 1;7(1):170-181.
120. Chavda VP. Nanotherapeutics and nanobiotechnology. In *Applications of Targeted Nano Drugs and Delivery Systems* 2019 Jan 1 (pp. 1-13). Elsevier.
121. Ankanna S, Prasad TNVKV, Elumalai EK, Savithramma N. Production of biogenic silver nanoparticles using *Boswellia ovalifoliolata* stem bark. *Dig J Nanomater Biostruct* 2010;5:369e72.

122. Klasen HJ. A historical review of the use of silver in the treatment of burns. II. Renewed interest for silver. *Burns* 2000;26:131e8.
123. Tian J, Wong KKY, Ho C, Lok C, Yu W, Che C, Chiu J, Tam PKH. Topical delivery of silver nanoparticles promotes wound healing. *ChemMedChem* 2007;2:129e36.
124. Bonilla JJA, Guerrero DJP, Sa'ez RGT, Ishida K, Fonseca BB, Rozental S, Lo'pez CCO. Green synthesis of silver nanoparticles using maltose and cysteine and their effect on cell wall envelope shapes and microbial growth of *Candida* spp. *Nanosci Nanotechnol* 2017;17:1729e39.
125. Patra JK, Baek KH. Antibacterial activity and synergistic antibacterial potential of biosynthesized silver nanoparticles against foodborne pathogenic bacteria along with its anticandidal and antioxidant effects. *Front Microbiol* 2017;8
126. Agnihotri S, Mukherji S, Mukherji S. Size-controlled silver nanoparticles synthesized over the range 5e100 nm using the same protocol and their antibacterial efficacy. *RSC Adv* 2014;4:3974e83.
127. Mapara N, Sharma M, Shriram V, Bharadwaj R, Mohite KC, Kumar V. Antimicrobial potentials of *Helicteres isora* silver nanoparticles against extensively drug-resistant (XDR) clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Appl Microbiol Biotechnol* 2015;99:10655e67.
128. Gnanadhas DP, Ben Thomas M, Thomas R, Raichur AM, Chakravorty D. Interaction of silver nanoparticles with serum proteins affects their antimicrobial activity in vivo. *Antimicrob Agents Chemother* 2013;57:4945e55.
129. Patra JK, Baek KH. Antibacterial activity and synergistic antibacterial potential of biosynthesized silver nanoparticles against foodborne pathogenic bacteria along with its anticandidal and antioxidant effects. *Front Microbiol* 2017;8.
130. Habash MB, Goodyear MC, Park AJ, Surette MD, Vis EC, Harris RJ, Khursigara CM. Potentiation of tobramycin by silver nanoparticles against *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Antimicrob Agents Chemother* 2017:00415e7.
131. Li Y, Lin Z, Zhao M, Xu T, Wang C, Hua L, Wang H, Xia H, Zhu B. Silver nanoparticle based codelivery of oseltamivir to inhibit the activity of the H1N1 influenza virus through ROS-mediated signaling pathways. *ACS Appl Mater Interfaces* 2016;8:24385e93.
132. Zangeneh A, Pooyanmehr M, Zangeneh MM, Moradi R, Rasad R, Kazemi N. Therapeutic effects of *Glycyrrhiza glabra* aqueous extract ointment on cutaneous wound healing in Sprague Dawley male rats. *Comparative Clinical Pathology*. 2019 Oct;28(5):1507-14.
133. Cavassin ED, de Figueiredo LF, Otoch JP, Seckler MM, de Oliveira RA, Franco FF, Marangoni VS, Zucolotto V, Levin AS, Costa SF. Comparison of methods to detect the in vitro activity of silver nanoparticles (AgNP) against multidrug resistant bacteria. *Journal of nanobiotechnology*. 2015 Dec;13(1):1-16.
134. Damle M. *Glycyrrhiza glabra* (Liquorice)-a potent medicinal herb. *International journal of herbal medicine*. 2014;2(2):132-136.
135. Jitesh S, Geetha RV. Anti inflammatory activity of *Glycyrrhiza glabra* extract-an in vitro study. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 2017 Apr 1;9(4):451.
136. Siri wattanasatorn M, Itharat A, Thongdeeying P, Ooraikul B. In Vitro Wound healing activities of three most commonly used Thai medicinal plants and their three markers. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2020 Jun 29;2020.
137. MM O. Healing potential of liquorice root extract on dermal wounds in rats.