

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

فصلنامه علمی - پژوهشی علوم طبی دانشگاه خاتم النبیین^(ص)

دانشکده‌های علوم طبی

سال نهم، شماره هژدهم، زمستان ۱۴۰۳

شناسه

صاحب امتیاز: دانشگاه خاتم النبیین^(ص)

مدیرمسئول: حسین رضایی

سردبیر: داود حسینی

هیأت تحریریه

دکتر محمد لطیف نظری

عضو هیأت علمی پوهنځی طب پوهنتون خاتم النبیین^(ص)

دکتر موسی بشیر

عضو هیأت علمی پوهنځی طب پوهنتون خاتم النبیین^(ص)

دکتر سروش میری

عضو هیأت علمی پوهنځی طب دندان پوهنتون خاتم النبیین^(ص)

دکتر نصیر احمد احمدی

عضو هیأت علمی پوهنځی طب دندان پوهنتون خاتم النبیین^(ص)

میثم سجادی

عضو هیأت علمی پوهنځی تکنالوژی طبی پوهنتون خاتم النبیین^(ص)

دکتر سید حسین موسوی

مرکز تحقیقات علوم طبی پوهنتون غالب

مصطفی انصاری

دیارتمنت فیزیولوژی، پوهنځی پزشکی، پوهنتون علوم پزشکی تربت حیدریه

محمد حسین صداقت

دیارتمنت باکتری شناسی، پوهنځی طب پوهنتون تربت مدرس

غلام یحیی امیری

عضو هیات علمی پوهنځی طب معالجوی، پوهنتون غالب

فاطمه کاظمی

دیارتمنت بیوتکنولوژی میکروبی، پوهنتون الزهرا-ایران

ویراستار فنی: مرتضی حیدری

صفحه‌آرا و طراح جلد: مجتبی احمدی

آدرس: دانشگاه خاتم النبیین^(ص)، سرک دارالامان، کابل، افغانستان

تلفن: ۰۷۰۶۷۲۹۱۹۳

وبسایت: www.knu.edu.af

ایمیل: KJMS@knu.edu.af

ISSN: ۲۹۵۷-۶۳۴۲

یادداشت: هر گونه استفاده از محتویات این فصلنامه، تنها با ذکر منبع مجاز است.

مجله در ویرایش صوری و محتوایی مقالات مختار است.

فهرست مطالب

۷.....	آمیلوئید بیتا و آلزایمر: مروری در مطالعات حیوانی
۱۱.....	شششتوی کانال‌های دندانی و بررسی باکتری‌های مقاوم در ایجاد عفونت دندانی
۲۱.....	بررسی روش‌های اندازه‌گیری ظرفیت انتی‌اکسیدانی نباتات طبی
۳۱.....	انواع بیوسنسورها و کاربرد آن‌ها در تشخیص میکروارگانیسم‌ها
۴۵.....	بررسی اثرات عصاره آبی زعفران افغانستان بر علائم ترک مورفین در موش‌های صحرایی
۶۳.....	بررسی ترکیبات کیمیاوی و کاربرد طبی شیلاجیت در ترمیم زخم

سخن آغازین

پژوهش، زیربنای تولید علم و شاخصی بنیادین در تعالی نظام‌های علمی و اجتماعی به‌شمار می‌رود. دانشگاه‌ها به‌عنوان نهادهای مرجع علمی، نقش محوری در هدایت فرایند تولید دانش، پرورش تفکر انتقادی، و پاسخ‌گویی به نیازهای واقعی جامعه ایفا می‌نمایند. از این منظر، اهتمام به پژوهش، توسعه فرهنگ تحقیق، و حمایت از فعالیت‌های علمی استادان و پژوهشگران، از اهم وظایف هر نهاد علمی معتبر تلقی می‌گردد.

با توجه به ضرورت‌های روزافزون جامعه علمی و نیاز مبرم کشور عزیز ما افغانستان به تولید دانش بومی، کاربردی و مبتنی بر شواهد، دانشگاه خاتم‌النبین (ص) در مسیر گسترش و نهادینه‌سازی پژوهش، اقدامات ارزنده‌ای را در سطح ملی پی‌ریزی نموده است. این دانشگاه به‌عنوان یکی از پیشگامان حوزه تحقیق در کشور، نقش برجسته‌ای در حمایت از تحقیقات علمی ایفا می‌کند.

فصلنامه علمی پژوهشی «علوم طبی» این دانشگاه، در راستای تحقق این رسالت علمی، در هر شماره مقالات علمی پژوهشگران گرامی را در محورهای متنوع علوم طبی می‌پذیرد. بدین وسیله از استادان، محققان و اندیشمندان ارجمند دعوت به‌عمل می‌آید تا با ارسال آثار پژوهشی خویش، ما را در مسیر ارتقاء علمی و پژوهشی کشور یاری فرمایند.

داود حسینی

سردبیر فصلنامه علمی-پژوهشی علوم طبی

Alzheimer's Disease and the Beta Amyloid: A review of animal studies

Aqdas Bayat¹, Sayed Yousof Mousavi^{2*}

¹ Neuroscience research center, Kavosh institute, Kabul, Afghanistan

^{2*} Assistant Professor, Ph.D. Physiology, Faculty of Medicine, Khatam Al-Nabieen University, Darulaman street, Kabul, Afghanistan

E-mail: Mousavi.knurtc@knu.edu.af; Phone: +93(0)796850084

Abstract

Introduction: Loss of ability to perform daily activities, impairment of cognition and memory impairments are the clinical symptoms of Alzheimer's disease (the most common form of dementia). There are two neuropathological signs for diagnosis of Alzheimer's disease: 1. extracellular deposition of peptide A; 2. accumulation of phosphorylated tau in neurofibrillary tangles in neurons. Beta Amyloid that originally called A4 amyloid protein, is one of the most important insoluble brain peptides studied in neuroscience.

Methods: The data of this study were collected from original and scientific articles published in databases such as PubMed, Science Direct, Web of Science, Scopus, and Google Scholar and were included in the study based on the eligibility criteria.

Results: In this review study, 3 main articles of experimental animal studies that are about the effect of beta-amyloid on Alzheimer's disease were investigated. The findings showed that beta-amyloid deposited in different areas of the brain and causes various disorders. Beta-amyloid in different doses has different effects on the brain. The increase in amyloid levels can have various reasons.

Conclusion: The results obtained from these studies showed that the effects of beta amyloid are dose-dependent and dependent on the frequency of intrahippocampal injection, and we can point to that it causes tissue destruction and reduced enzyme activity in different brain areas.

Keywords: Alzheimer, Dementia, β -Amyloid, Amyloidosis, Neurodegenerative disease.

آمیلوید بیتا و آلزایمر: مروری در مطالعات حیوانی

اقدس بیات^۱، سیدیوسف موسوی^{*۲}

^۱ مرکز تحقیقات علوم اعصاب، مؤسسه‌ی کاوش، کابل، افغانستان

^{*۲} نویسنده‌ی مسؤول: استادیار (پوهندوی)، دکترای فیزیولوژی، دیپارتمنت فیزیولوژی، پوهنځی طب معالجوی، پوهنتون

خاتم‌النبین (ص)، کابل، افغانستان

تلفن: ۰۸۴۷۹۶۸۵۰۰ (+۹۳)، ایمیل: Mousavi.knurtc@knu.edu.af

چکیده

مقدمه: از دست دادن توانایی انجام فعالیت‌های روزمره، اختلال در شناخت و حافظه از جمله علائم کلینیکی آلزایمر (شایع‌ترین شکل زوال عقل) می‌باشند. برای تشخیص آلزایمر دو نشانه آسیب‌شناختی عصبی وجود دارد: رسوب خارج حجروی پپتاید A و تجمع تاو فسفوریله‌شده در گره‌های نوروفیبریلاری موجود در نیورون‌ها. آمیلوید بیتا که در اصل به عنوان پروتئین آمیلوید A β نامیده می‌شود، یکی از مهم‌ترین پپتایدهای نامحلول اصلی مغز است که در علوم اعصاب به عنوان یک شاخص مورد بررسی قرار می‌گیرد.

روش‌ها: اطلاعات این مطالعه، از مقالات اصلی و علمی منتشرشده در پایگاه‌های اطلاعاتی مانند: Pub med, web of science, Scopus, Science direct و Google Scholar جمع‌آوری شد و براساس معیارهای واجد شرایط، وارد مطالعه گردیدند.

نتایج: در این مرور، ۳ مقاله اصلی از نوع مطالعه تجربی حیوانی که روی نقش آمیلوید بیتا بر آلزایمر انجام شده بود، بررسی صورت گرفت. نتایج نشان دادند که آمیلوید بیتا در نواحی مختلف مغز رسوب کرده و همین امر، سبب ایجاد اختلالات مختلف مغزی می‌شود. آمیلوید بیتا در دوزهای مختلف، دارای تأثیرات متفاوت بر مغز می‌باشد. منشأ و افزایش سطح آمیلوید می‌تواند دلایل مختلفی داشته باشد.

بحث: نتایج به‌دست آمده از این مطالعات، نشان دادند که تأثیرات آمیلوید بیتا وابسته به دوز و دفعات تزریق داخل هاپیوکامپی است. از پیامدهای آن می‌توان به تخریب بافت و کاهش عملکرد انزایم‌های نواحی مختلف مغز اشاره کرد.

واژه‌های کلیدی: آلزایمر، زوال عقل، آمیلوید بیتا، آمیلویدوزس، نورودژنراتیو.

۱. مقدمه

از دست دادن توانایی انجام فعالیت‌های روزمره، اختلال در شناخت و حافظه از جمله علائم کلینیکی مهم در آلزایمر می‌باشند (۱,۲). دو نشانه نیوروپاتولوژیکی که برای تشخیص آلزایمر تأیید شده، عبارت از رسوب خارج حجروی پپتاید A و تجمع تاو فسفوریله‌شده در گره‌های نیوروفیبریلاری موجود در نیورون‌ها می‌باشند (۳,۴). این اختلال به شکل ارثی (به دلیل ایجاد جهش در یکی از پیش-سازهای پروتئین آمیلوئید یا جن‌های پرسنیلین-۱/۲) و تأخیری ایجاد می‌شود (۵,۶). آلزایمر نوع ارثی که ۱-۶ فیصد آلزایمر را در نزد افراد تشکیل می‌دهد، زودتر از آلزایمر نوع تأخیری با علائم کلینیکی شدیدتر بروز پیدا می‌کند (۷). با وجود این، نوع تأخیری آن، شایع-ترین نوع آلزایمر بوده، افراد را در سنین بالاتر از ۶۵ سال درگیر می‌نماید (۸,۹). آمیلوئید بیتا که در اصل به عنوان پروتئین آمیلوئید A β نامیده می‌شود، یکی از مهم‌ترین پپتایدهای نامحلول اصلی مغز است که در علوم اعصاب مورد بررسی قرار می‌گیرد (۹,۱۰). در ابتدا، آمیلوئید بیتا به شکل پلاک‌های آمیلوئید در پارانشیم مغز رسوب کرده و بعداً در کورتکس و هایپوکامپ منتشر می‌شود (۱۱,۱)، پس از رسوب و انتشار، آمیلوئید بیتا منجر به ازدست رفتن سیناپس‌ها، مرگ حجرات مغزی و آتروفی مغز می‌گردد (۱۲,۱۳). آمیلوئید بیتا، که یکی از پروتئین‌های درون‌زای مؤثر در بقای نیورون‌ها است، در هنگام آسیب حجروی به عنوان عامل محافظتی وارد عمل شده و به‌طور ثانویه

در ایجاد آلزایمر سهم می‌گیرد (۱۴,۱۵). به دلیل این که رسوب پروتئین آمیلوئید بیتا سبب ایجاد آلزایمر می‌شود، با جلوگیری از این رسوب می‌توان مانع از ایجاد این بیماری شد. نبود مطالعات کافی دست اول، یکی از نقایص مرتبط با این مطالعات به حساب می‌آید. هدف این مرور را، جمع‌بندی مطالعات اصلی انجام‌شده در مورد نقش آمیلوئید بیتا در ایجاد آلزایمر تشکیل می‌هد.

۲. مواد و روش‌ها

در این مطالعه، جستجو به صورت گسترده در پایگاه‌های اطلاعاتی مانند PubMed, Web of science, Scopus, Science direct و scholar انجام شد. مقالاتی که مرتبط با موضوع، به زبان انگلیسی و در محدوده سال‌های ۱۹۹۰-۲۰۲۲ بودند، با استفاده از کلید واژه‌های (Alzheimer OR Dementia OR sclerosis OR Alzheimer Disease) AND (beta peptides OR Amyloid beta Peptides OR Amyloid OR Alzheimer beta Protein OR beta Amyloid Protein OR Protein A4) انتخاب و وارد مطالعه شدند.

۳. نتایج

نتایج مطالعات انجام شده روی نقش آمیلوئید بیتا در ایجاد آلزایمر، به صورت خلاصه در زیر شرح داده شده است.

۳-۱. آمیلوئید بیتا و آلزایمر

مطالعه‌ای دست اولی بر روی موش‌های نر از نوع اسپراگ دالی با وزن تقریبی ۲۵۰-۳۵۰ گرم انجام شد. قبل از تزریق داخل هایپوکمپی آمیلوئید بیتا، ابتدا با

مغزی موش‌های گروه آمیلوید بیتا، حفرات مغزی بزرگ، ایجاد سوراخ‌ها و از بین رفتن انساج در هایپوکامپ دریافت گردید (۱۶)

طی یک مطالعه دیگر، از موش‌های ویستار نر با وزن تقریبی ۲۸۰-۳۲۰ گرم استفاده شد. در این بررسی، پس از ساخت آمیلوید بیتای مصنوعی و حل نمودن آن با استونایتیل ۳۵ فصد و اسید تری‌فلوآستیک ۰/۱ فیصد، محلول را از طریق کنول جاگذاری شده در بطن چپ، به شکل آهسته تزریق کردند. گروه‌های این مطالعه شامل؛ گروه سالم، گروه دریافت‌کننده آمیلوید بیتا به مدت یک‌روز و گروه دریافت‌کننده آمیلوید بیتا به صورت دوامدار می‌باشند. تست واترمیز، در روز-های ۹-۱۳ پس از شروع تزریق، انجام شد. در این تست، مدت زمان دریافت سکو توسط موش‌ها ثبت و چنین دریافت گردید که مدت زمان تأخیر در موش-های گروهی که آمیلوید بیتا را به صورت دوامدار دریافت می‌کردند، بیش‌تر از موش‌های گروه دریافت‌کننده آمیلوید بیتا به مدت یک روز، است. پس از بررسی‌های رفتاری، ارزیابی بافتی را بالای هر سه موش از هر دو گروه دریافت‌کننده انجام دادند و برای ارزیابی فعالیت استیل‌کولین‌ترانسفراز، از هر گروه به تعداد چهار موش را سر بردند. نتایج به دست آمده، تجمع آمیلوید بیتا را در هایپوکامپ و قشر مغز و کاهش فعالیت استیل‌کولین‌ترانسفراز را در قشر پیشانی و هایپوکامپ نشان می‌دهند (۱۷).

استفاده از تزریق داخل صفاقی اکویتی‌سین به مقدار ۶/۳ میلی‌لیتر بر کیلوگرم، نزد موش‌ها بی‌هوشی ایجاد کردند. در مرحله بعد، برای موش‌های گروه سالم، سه دوز از آب دو بار تقطیر شده (ddH_2O^1) به مقدار ۱ میکرولیتر در هر تزریق و برای موش‌های گروه تداوی، آمیلوید محلول در آب دو بار تقطیر شده (ddH_2O) به مقدار ۱-۳ میکرولیتر، در نواحی هایپوکامپ پشتی تزریق گردید. پس از تزریق ماده بی‌هوش‌کننده، موش‌ها براساس مقدار دوز دریافتی آمیلوید بیتا، به دو گروه تک دوز و دو دوز تقسیم شدند. موش‌های گروه تک‌دوز، آمیلوید را چند دقیقه پس از تزریق ماده بی‌هوش‌کننده دریافت کردند، در-حالی‌که موش‌های گروه دو دوز، دوز ابتدایی را چند دقیقه پس از تزریق ماده بی‌هوش‌کننده و دوز دومی را یک هفته پس از دوز اول دریافت کردند. یک هفته پس از دریافت آخرین دوز آمیلوید بیتا، حافظه فضایی موش‌ها با استفاده از تست موریس واترمیز، طی پنج آزمایشی که به مدت هفت روز طول کشید، مورد بررسی قرار گرفت و چنین دریافت‌اند که شناسایی سکو توسط موش‌های گروه سالم سریع‌تر از گروه آمیلوید بیتا صورت می‌گیرد. پس از بررسی رفتاری موش‌ها، بررسی انساج نواحی لوکوس سرولئوس انجام شده، نتایج به دست آمده آسیب ناچیز را در نواحی مورد نظر مغز موش‌های گروه سالمی که دوزهای تداوی ddH_2O را به شکل تک دوز یا دو دوز دریافت کرده‌اند، نشان می‌دهند. درحالی‌که در انساج

¹ Double distilled water

۲-۳ آمیلوید بیتا و نقص حافظه

در یک مطالعه، از ۴۵ سر موش نر از نژاد ویستار، با وزن ۳۵۰-۳۰۰ گرم و سن ۸-۹ هفته استفاده شد. موش-ها به گروه‌های سالم، کنترل، آمیلوید بیتا و ان-میتایل-دی-آسپارتیت تقسیم شدند. در ابتدا با استفاده از کتامین و زایلزن تمام موش‌ها بی‌هوش گردیدند. دقایقی بعد با استفاده از سرنج در سه ناحیه‌ای از قشر آنتورینال گروه کنترل به مقدار نیاز سالین، برای گروه آمیلوید بیتا 10^{-4} میلی از آمیلوید بیتا و برای گروه ان-میتایل-دی-آسپاراتات، $0/04$ میلی از ان-میتایل-دی-آسپاراتات تزریق گردید. بررسی‌های رفتاری با استفاده از تست میدان باز (رفتار اکتشافی و اضطراب)، تست شناخت اشیاء (بررسی حافظه شناختی)، موریس واترمیز (بررسی حافظه فضایی و یادگیری) و وای میز (بررسی حافظه کوتاه مدت) انجام شد. در تست میدان باز که در روز دهم پس از جراحی انجام شد، مجموعه فاصله پیموده شده و مدت زمانی که موش در منطقه محیطی سپری کرده بود، را ارزیابی نمودند. محققین، هیچ گونه تفاوت قابل توجهی را در رفتار اکتشافی و اضطراب گروه‌ها دریافت نکردند. تست شناخت اشیاء نیز در روز دهم و به دنبال تست میدان باز انجام و لمس شی با بینی به عنوان کشف شی در نظر گرفته شد. نتایج نشان داد که گروه‌های کنترل و سالم، شی جدید را نسبت به گروه‌های آمیلوید بیتا و ان-میتایل-دی-آسپاراتات، سریع‌تر دریافت می‌کنند و این شاخص نشان‌دهنده عملکرد بهتر حافظه شناختی در موش‌های گروه کنترل و سالم

می‌باشد. تست موریس واترمیز در روزهای ۱۲-۱۶ پس از جراحی انجام شد. در این تست، مدت زمان دریافت سکو به واسطه موش‌ها ثبت گردید. نتایج مشخص کرد که یادگیری در گروه‌های آمیلوید بیتا و ان-میتایل-دی-آسپاراتات به کندی صورت می‌گیرد؛ زیرا دریافت سکو توسط گروه‌های آمیلوید بیتا و ان-میتایل-دی-آسپاراتات، نسبت به گروه‌های کنترل و سالم با تأخیر صورت گرفت. تست وای میز، در روز هفدهم پس از جراحی انجام و تعداد دفعات ورود موش‌ها در هر یک از بازوها ثبت گردید. از این بررسی چنین دریافتند که شدت انگیزه برای کشف، در تمام گروه‌ها یکسان است. بعد از انجام تست‌های رفتاری، بین روزهای ۲۰-۲۳ بعد از انجام جراحی، موش‌های گروه‌های آمیلوید بیتا و کنترل سر بریده شدند و بافت مغزهای‌شان جهت بررسی عکس‌العمل‌های التهابی و وجود ماده رسوبی در بافت قشر آنتورنال مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج به-دست آمده نشان داد که در مغز موش‌های گروه آمیلوید بیتا، تعدادی از حجرات آستروسایتی آسیب دیده، به دلیل ایجاد عکس‌العمل‌های التهابی شروع به رشد و افزایش حجم کرده‌اند. هم‌چنان، رسوب آمیلوید بیتا در نواحی‌ای که تزریق آمیلوید صورت گرفته بود، به مقدار بیش‌تر و در قشر آنتورنال به مقدار کم‌تر مشاهده شد (۱۸).

۴. بحث

این بررسی، به منظور تعیین وضعیت فعلی دانش درمورد نقش آمیلوید بیتا در آلزایمر انجام شد. در

(۲۷). تعداد کمی از مطالعات در مورد نقش آمیلوئید بیتا در حافظه و یادگیری وجود دارد. دورنان و همکاران (۲۸) گزارش کرده‌اند که در تست موریس-واترمیز موش‌هایی که تزریق داخل هایپوکامپی آمیلوئید بیتا داشتند، کاهش یادگیری فضایی ایجاد نشده است. چنین نیز گزارش شده که تزریق آمیلوئید به شکل تک‌دوز نیز نقص رفتاری را ایجاد نمی‌تواند. مطالعاتی نیز وجود دارند که بیان می‌کنند که تزریق تک‌دوز آمیلوئید بیتا در مقایسه با تزریق چنددوز آن، نمی‌تواند سبب ایجاد ضایعات بافت مغز و از بین رفتن سیستم عصبی شود (۲۸،۲۹). مکانیزمی که آمیلوئید بیتا توسط آن اختلالات رفتاری را ایجاد می‌کند، به صورت دقیق مشخص نیست، اما ممکن است ناشی از نقص عملکرد نیوروترانسمترهای نواحی ساب‌کورتیکال و لوکوس سرولئوس باشد (۳۰). حافظه شناختی با یک‌پارچگی ساختار لوب تمپورال داخلی (شامل نواحی هایپوکامپ و پاراهایپوکامپ) مرتبط است (۳۱،۳۲). مطالعات قبلی نشان می‌دهند که ضایعات نسجی در قشر انتورنال سبب نقص حافظه شناختی در موش‌ها می‌شود (۳۳-۳۵). در مطالعه‌ای انجام شده توسط سیپوز (۱۸) و همکاران نیز چنین دریافت گردید. مطالعاتی که روی حافظه فضایی انجام شده‌اند، نشان می‌دهد که نواحی سالم هایپوکامپ در ایجاد حافظه فضایی، نقش گسترده‌ای داشته و در صورت ایجاد ضایعات در هایپوکامپ و یا نواحی مجاور آن، روی این حافظه تاثیر می‌گذارد (۳۶). طی تحقیقات انجام شده توسط سیپوز و

مطالعات مورد بررسی، به بررسی نقش آمیلوئید بیتای تزریقی (در یک دوز تا چندین دوز) روی رفتار، حافظه و یادگیری پرداخته شده است. آمیلوئید بیتا که در اصل به عنوان پروتئین آمیلوئید A β نامیده می‌شود، یکی از مهم‌ترین پپتیدهای نامحلول اصلی مغز بوده که در علوم اعصاب مورد بررسی قرار می‌گیرد. از همان ابتدا، آمیلوئید بیتا به عنوان یک "مالیکول بد" در نظر گرفته شد که باعث ایجاد فرضیه‌ی آبشار بیتا آمیلوئید گردید (۱۹). به دلیل وجود درجه بالایی از ورق بیتا-پلیسه‌شده در مالیکول پپتاید، پپتیدهای کوچک با هم متصل شده و سبب ایجاد آمیلوئید در نسج مأووف می‌گردند (۲۰). در افراد سالم و یا افرادی که دچار جهش ارثی در انزایم‌های تبدیل‌کننده پیش-ساز آمیلوئید شده باشند، پپتاید آمیلوئید ممکن است از سیروم وارد نسج مغز شده و سبب ایجاد آلزایمر گردد. حداقل ۸ نوع پروتئین‌های پلاسما می‌توانند طی مراحل غیرطبیعی سبب تولید پپتاید آمیلوئید شوند (۲۱-۲۳). در افرادی که دچار آلزایمر هستند، ضایعات آمیلوئیدی به یکی از اشکال مثلاً؛ گره‌های نیوروفیبریلاری، پلاک‌های سنایل و یا آمیلوئیدهای عروقی دیده می‌شود (۲۴،۲۵). دو نوع اخیر ضایعات به دلیل رسوب خارج حجروی آمیلوئید بیتا و نوع نیوروفیبریلاری به دلیل رسوب داخل حجروی آمیلوئید ایجاد می‌شوند (۲۶). اطلاعات جمع-آوری شده طی ۳ الی ۴ سال، نشان می‌دهند که رسوب داخل و خارج حجروی آمیلوئید، یکی از اولین اتفاقاتی است که در مغز مبتلایان آلزایمر واقع می‌شود

همکاران، چنین دریافت شد که قشر انتورنال در ایجاد حافظه فضایی و یادگیری نقش داشته و در صورت ایجاد آسیب در نواحی فوق، سرعت یادگیری کاهش می‌یابد (۱۸)

نتیجه‌گیری

مکانیزمی که توسط آن آمیلوئید بیتا سبب ایجاد نقایص رفتاری می‌شود، به‌صورت دقیق مشخص نیست، اما ممکن است که نقایص به‌دلیل ایجاد ضایعات بافتی در هایپوکامپ و ایجاد تغییرات در عملکرد نیوروترانسmitterها در نواحی ساب‌کورتیکال ایجاد شوند. چنین دریافت شد که تزریق آمیلوئید بیتا-ی مصنوعی سبب ایجاد ضایعات نسجی مشابه به ضایعات نسجی ایجاد شده توسط آمیلوئید بیتای درون‌زا، کاهش فعالیت انزایم استیل‌کولین‌ترانسفراز در قشر پیشانی و هایپوکامپ و کاهش انزایم‌های نواحی لوکوس سروئوس به‌مقدار کم می‌گردد.

تغییرات فوق منجر به نقص در یادگیری می‌شود. انجام مطالعات بیش‌تر جهت دریافت تأثیرات آمیلوئید بیتای مصنوعی و نیز نقش آمیلوئید بیتا در ایجاد آلزایمر نیاز است.

پیشنهادهات

براساس نتایج به‌دست آمده از این تحقیق، پیشنهاد می‌گردد تا بررسی و تحقیق بیش‌تر روی نقش آمیلوئید بیتا در ایجاد آلزایمر صورت گیرد. علاوه بر-این، بهتر است روی سایر عوامل ایجاد کننده آلزایمر نیز مطالعات دست اول انجام شوند تا با به‌دست آوردن اطلاعات دقیق، شیوه‌های مناسب جهت وقایه و تداوی این اختلال دریافت گردد. در صورت امکان و دسترسی به نیروی انسانی این مطالعات باید روی افراد دچار آلزایمر صورت گیرند.

1. Iadecola C, Gorelick PB. Converging pathogenic mechanisms in vascular and neurodegenerative dementia. *Stroke*. 2003;34(2):335-337 .
2. Saito S, Ihara M. New therapeutic approaches for Alzheimer's disease and cerebral amyloid angiopathy. *Frontiers in aging neuroscience*. 2014;6:290 .
3. Querfurth HW, LaFerla FM. Mechanisms of disease. *N Engl J Med*. 2010;362(4):329-44 .
4. Weller RO, Subash M, Preston SD, Mazanti I, Carare RO. SYMPOSIUM: clearance of A β from the brain in Alzheimer's disease: perivascular drainage of amyloid- β peptides from the brain and its failure in cerebral amyloid angiopathy and Alzheimer's disease. *Brain Pathol*. 2008;18(2):253-266 .
5. Cai Y, An SS, Kim S. Mutations in presenilin 2 and its implications in Alzheimer's disease and other dementia-associated disorders. *Clin Interv Aging*. 2015;14:1163-1172 .
6. Kelleher III RJ, Shen J. Presenilin-1 mutations and Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2017;114(4):629-631 .
7. Bekris LM, Yu CE, Bird TD, Tsuang DW. Genetics of Alzheimer disease. *J Geriatr Psychiatry Neurol*. 2010;23(4):213-227 .
8. Biffi A, Greenberg SM. Cerebral amyloid angiopathy: a systematic review. *J Clin Neurol*. 2011;7(1):1-9 .
9. Masters CL, Simms G, Weinman NA, Multhaup G, McDonald BL, Beyreuther K. Amyloid plaque core protein in Alzheimer disease and Down syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1985;82(12):4245-4249 .
10. Glenner GG, Wong CW. Alzheimer's disease: initial report of the purification and characterization of a novel cerebrovascular amyloid protein. *Biochem Biophys Res Commun*. 1984;120(3):885-890 .
11. Thal DR, Rüb U, Orantes M, Braak H. Phases of A β -deposition in the human brain and its relevance for the development of AD. *Neurology*. 2002;58(12):1791-1800 .
12. Hunter JM, Kwan J, Malek-Ahmadi M, Maarouf CL, Kokjohn TA, Belden C, Sabbagh MN, Beach TG, Roher AE. Morphological and pathological evolution of the brain microcirculation in aging and Alzheimer's disease. *PloS one*. 2012;7(5):e36893 .
13. O'Brien RJ, Wong PC. Amyloid precursor protein processing and Alzheimer's disease. *Annu Rev Neurosci*. 2011;34(1):185-204 .
14. Regland B, Gottfries CG. The role of amyloid β -protein in Alzheimer's disease. *Lancet*. 1992;340(8817):467-469 .
15. Whitson JS, Glabe CG, Shintani E, Abcar A, Cotman CW. β -Amyloid protein promotes neuritic branching in hippocampal cultures. *Neurosci Lett*. 1990;110(3):319-324 .
16. Chen SY, Wright JW, Barnes CD. The neurochemical and behavioral effects of β -amyloid peptide (25-35). *Brain Res*. 1996;720(1-2):54-60. Vol. 720, RESEARCH ELSEVIER Brain Research .
17. Nitta A, Itoh A, Hasegawa T, Nabeshima T. β -Amyloid protein-induced Alzheimer's disease animal model. *Neurosci Lett*. 1994;170(1):63-66. Vol. 170, Neuroscience Letters .
18. Sipos E, Kurunczi A, Kasza A, Horváth J, Felszeghy K, Laroche S, Toldi J, Parducz A, Penke B, Penke Z. β -Amyloid pathology in the entorhinal cortex of rats induces memory deficits: Implications for Alzheimer's disease. *Neuroscience*. 2007;147(1):28-36 .
19. Hardy JA, Higgins GA. Alzheimer's disease: the amyloid cascade hypothesis. *Science*. 1992;256(5054):184-185 .
20. Glenner GG, Eanes ED, Bladen HA, Linke RP, Termine JD. β -pleated sheet fibrils a comparison of native amyloid with synthetic protein fibrils. *J Histochem Cytochem*. 1974;22(12):1141-1158 .
21. Westermark P, Wernstedt C, Wilander E, Hayden DW, O'Brien TD, Johnson KH. Amyloid fibrils in human insulinoma and islets of Langerhans of the diabetic cat are derived from a neuropeptide-like protein also present in normal islet cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1987;84(11):3881-3885 .
22. Glenner GG, Ein D, Eanes ED, Bladen HA, Terry W, Page DL. Creation of " amyloid" fibrils from Bence Jones proteins in vitro. *Science*. 1971;174(4010):712-714 .
23. Ghiso J, Jansson O, Frangione B. Amyloid fibrils in hereditary cerebral hemorrhage with amyloidosis of Icelandic type is a variant of

- gamma-trace basic protein (cystatin C). *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1986;83(9):2974-2978 .
24. Masters CL, Multhaup G, Simms G, Pottgiesser J, Martins RN, Beyreuther K. Neuronal origin of a cerebral amyloid: neurofibrillary tangles of Alzheimer's disease contain the same protein as the amyloid of plaque cores and blood vessels. *EMBO J*. 1985;4(11):2757-2763 .
25. Tomlinson BE, Corsellis JA, Adams JH, Duchen LW. *Greenfield's neuropathology*. Edward Arnold, London. 1984;951:1025 .
26. Selkoe DJ. Altered structural proteins in plaques and tangles: what do they tell us about the biology of Alzheimer's disease?. *Neurobiol Aging*. 1986;7(6):425-432 .
27. Pardridge WM, Vinters HV, Yang J, Eisenberg J, Choi TB, Tourtellotte WW, Huebner V, Shively JE. Amyloid angiopathy of Alzheimer's disease: Amino acid composition and partial sequence of a 4,200-dalton peptide isolated from cortical microvessels. *J Neurochem*. 1987;49(5):1394-1401 .
28. Dornan WA, Kang DE, McCampbell A, Kang EE. Bilateral injections of β A (25-35)+ IBO into the hippocampus disrupts acquisition of spatial learning in the rat. *Neuroreport*. 1993;5(2):165-168 .
29. Winkler J, Connor DJ, Frautschy SA, Behl C, Waite JJ, Cole GM, Thal LJ. Lack of long-term effects after β -amyloid protein injections in rat brain. *Neurobiol Aging*. 1994;15(5):601-607 .
30. Chen SY, Harding JW, Barnes CD. Neuropathology of synthetic β -amyloid peptide analogs in vivo. *Brain Res*. 1996;715(1-2):44-50 .
31. Mumby DG. Perspectives on object-recognition memory following hippocampal damage: lessons from studies in rats. *Behav Brain Res*. 2001;127(1-2):159-181 .
32. Squire LR, Stark CE, Clark RE. The medial temporal lobe. *Annu Rev Neurosci*. 2004;27(1):279-306 .
33. Galani R, Weiss I, Cassel JC, Kelche C. Spatial memory, habituation, and reactions to spatial and nonspatial changes in rats with selective lesions of the hippocampus, the entorhinal cortex or the subiculum. *Behav Brain Res*. 1998;(1-2):1-12 .
34. Mumby DG, Pinel JP. Rhinal cortex lesions and object recognition in rats. *Behav Neurosci*. 1994;108(1):11-18 .
35. Parron C, Poucet B, Save E. Entorhinal cortex lesions impair the use of distal but not proximal landmarks during place navigation in the rat. *Behav Brain Res*. 2004;154(2):345-352 .
36. Aggleton JP, Vann SD, Oswald CJ, Good M. Identifying cortical inputs to the rat hippocampus that subserve allocentric spatial processes: a simple problem with a complex answer. *Hippocampus*. 2000;10(4):466-474 .

Irrigation of dental canals and investigation of resistant bacteria in causing dental infections

Adam Khan Alipour^{1*}

1. Department of Chemistry and Biochemistry, Faculty of Medical Laboratory Technology, Khatam al-Nabieen University, Kabul, Afghanistan

*Email: amirjanalipour802@gmail.com Phone: 0747072764

Abstract:

Dental canals, as vital and complex structures within teeth, play a crucial role in maintaining oral and dental health. These canals, which contain pulp, blood vessels, and nerves, provide a unique and sensitive environment that is highly susceptible to bacterial infections. Root canal infections are typically caused by the penetration of bacteria into these structures, which can lead to serious issues such as pulp inflammation, necrosis, and even tooth loss. Studies have shown that more than 50 species of bacteria can inhabit an infected root canal, which highlights the significant challenges associated with treatment. One of the most effective measures in root canal treatment is the process of irrigation, which plays a key role in removing microorganisms and organic debris. The choice of irrigant (such as sodium hypochlorite or chlorhexidine), the techniques employed, and modern tools for irrigation have a significant impact on the success of treatment. However, resistant bacterial biofilms that form deep within the root canal system can cause persistent and complex infections. These biofilms, due to their protective structure, exhibit high resistance to disinfectants. Therefore, the development and application of advanced and effective methods for irrigating and disinfecting dental canals are of paramount importance. Utilizing new technologies, combined with a deeper understanding of microbial behavior, can enhance treatment outcomes and reduce recurrent infections, ultimately contributing to improved oral and dental health.

Keywords: dental canal irrigation, root canal infections, endodontic disinfectants, irrigation.

شستشوی کانال‌های دندانی و بررسی باکتری‌های مقاوم در ایجاد عفونت دندانی

آدم خان علیپور^{۱*}

دیپارتمنت کیمیا و بیوشیمی، پوهنحی تکنالوژی طبی، پوهنتون خاتم النبیین (ص)، کابل، افغانستان

ایمیل: amirjanalipour802@gmail.com تماس: ۰۷۴۷۰۷۲۷۶۴

چکیده:

کانال‌های دندانی به عنوان ساختارهای حیاتی و پیچیده در دندان‌ها، نقشی کلیدی در حفظ سلامت دهان و دندان دارند. این کانال‌ها که حاوی پالپ، اوعیه خونی و اعصاب هستند، محیطی منحصر به فرد و حساس را فراهم می‌کنند که به راحتی تحت تأثیر عفونت‌های باکتریایی قرار می‌گیرد. عفونت‌های کانال ریشه معمولاً ناشی از نفوذ باکتری‌ها به داخل این ساختارها بوده و می‌توانند منجر به مشکلات جدی مانند التهاب پالپ، نکروز و حتی از دست دادن دندان شوند. مطالعات نشان داده‌اند که بیش از ۵۰ گونه باکتری می‌توانند در یک کانال ریشه‌ای آلوده وجود داشته باشند که این تنوع میکروبی، چالش‌های قابل توجهی برای تداوی ایجاد می‌کند. یکی از مؤثرترین اقدامات در تداوی کانال‌های ریشه، فرآیند اریگیشن یا شستشوی کانال است که نقش مهمی در حذف میکروارگانیسم‌ها و بقایای آلی دارد. انتخاب ماده اریگانت (مانند هایپوکلریت سدیم یا کلرهگزیدین)، تکنیک‌های مورد استفاده و ابزارهای مدرن برای شستشو، تأثیر چشمگیری بر موفقیت تداوی دارند. با این حال، بیوفیلم‌های مقاوم باکتریایی که در عمق سیستم کانال ریشه تشکیل می‌شوند، می‌توانند عفونت‌های مداوم و پیچیده‌ای ایجاد کنند. این بیوفیلم‌ها به دلیل ساختار محافظتی خود، مقاومت بالایی در برابر مواد ضد عفونی‌کننده نشان می‌دهند. بنابراین، توسعه و به کارگیری روش‌های پیشرفته و مؤثر برای اریگیشن و ضد عفونی کانال‌های دندانی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. استفاده از فناوری‌های جدید، همراه با درک عمیق‌تر از رفتار میکروبی، می‌تواند به بهبود نتایج تداوی و کاهش عفونت‌های مکرر کمک کند، و در نهایت سلامت دهان و دندان را به طور مؤثری ارتقا دهد.

واژه‌های کلیدی: شستشوی کانال دندان، عفونت‌های کانال ریشه، محلول‌های ضد عفونی اندودنتیک، اریگیشن.

۱. مقدمه

کانال‌های دندانی به عنوان ساختارهای حیاتی و پیچیده در داخل دندان‌ها، نقش کلیدی در سلامت دهان و دندان دارند. این کانال‌ها، حاوی پالپ و اعصاب بوده و به دلیل محیط خاص خود، مستعد ابتلا به عفونت‌های باکتریایی هستند. حضور میکروارگانیسم‌های متنوع، به ویژه در شرایط بی‌هوازی، به پیچیدگی تداوی کانال‌های ریشه می‌افزاید. گونه‌های باکتریایی مانند *Enterococcus faecalis*، *Streptococcus*، *Actinomyces* و *Fusobacterium* از شایع‌ترین عوامل ایجاد عفونت‌های کانال‌های دندانی هستند که در صورت عدم تداوی مناسب می‌توانند منجر به امراض مانند پالپیت و پریودنتیت پری اپیکال شوند (۱،۲).

اهمیت تداوی عفونت‌های کانال‌های دندانی به دلیل تأثیر مستقیم آن‌ها بر حفظ دندان و جلوگیری از پیشرفت به شرایط پیچیده‌تر، غیرقابل انکار است. این عفونت‌ها می‌توانند به ساختارهای اطراف گسترش یافته و حتی سلامت عمومی فرد را به خطر بیندازند. با پیشرفت‌های علمی و تکنولوژیکی، تکنیک‌ها و مواد جدیدی برای مدیریت بهتر این عفونت‌ها معرفی شده‌اند که نیازمند بررسی دقیق و جامع هستند. عفونت‌های کانال‌های دندانی یکی از مشکلات شایع در تداوی اندودنتیک است. مطالعات اپیدمیولوژیک نشان می‌دهند که این عفونت‌ها به دلیل عوامل مختلفی از جمله پیچیدگی سیستم کانال ریشه، بیوفیلیم باکتریایی و مقاومت میکروبی، تداوی را به چالش

می‌کشند. حضور بیش از ۵۰ گونه باکتری در یک کانال ریشه‌ای گزارش شده است که این تنوع میکروبی، اهمیت انتخاب روش‌های مناسب برای تمیز کردن و ضدعفونی کانال‌ها را افزایش می‌دهد (۳،۴). مطالعات گذشته نشان می‌دهد که تکنیک‌ها و مواد مختلفی برای شستشوی کانال‌های دندانی استفاده شده است. هاپوکلریت سدیم (NaOCl) به دلیل خواص ضدباکتریایی قوی و توانایی حل کردن انساج آلی، به عنوان استاندارد طلایی شناخته می‌شود (۵). در کنار آن، استفاده از کلرهگزیدین به دلیل فعالیت ضدباکتریایی وسیع‌الطیف و EDTA به منظور حذف لایه اسمیر مورد توجه می‌باشد (۶، ۷). در سال‌های اخیر، تکنولوژی‌های نوینی مانند دستگاه‌های اولتراسونیک و لیزر به عنوان مکمل‌های مؤثر برای افزایش کارایی آبیاری مطرح شده‌اند (۸، ۹). همچنین، استفاده از شوینده‌های گیاهی به دلیل زیست‌سازگاری و ایمنی بالا، به تدریج جایگاه ویژه‌ای در تحقیقات پیدا کرده است (۱۰). با توجه به این موارد، انجام مطالعات مروری جامع به منظور بررسی و تحلیل روش‌های مختلف شستشوی کانال‌های دندانی و مدیریت عفونت‌های مرتبط، ضرورت دارد. این مطالعه مروری با هدف بررسی اثر بخشی تکنیک‌ها و مواد مختلف شستشو، شناسایی چالش‌ها و ارائه پیشنهادات برای بهبود نتایج تداوی تدوین شده است.

۲. روش‌ها

این مطالعه مروری با هدف تحلیل روش‌های مختلف شستشوی کانال‌های دندانی و مدیریت عفونت‌های

دسته‌بندی شدند. این دسته‌بندی به درک بهتر از نقاط قوت و ضعف هر روش کمک کرد. در نهایت، تحلیل اطلاعات به صورت کیفی انجام شد. اطلاعات به دست آمده از مطالعات مختلف مقایسه شدند تا تصویری جامع و دقیق از روش‌های مؤثر در شستشوی کانال دندان به دست آید. تمرکز اصلی تحلیل بر شناسایی راهکارهای نوآورانه، ارزیابی زیست‌سازگاری محلول‌ها و مدیریت چالش‌های موجود در تداوی کانال‌های دندانی بود. نتایج این مطالعه می‌تواند به بهبود روش‌های اندودنتیک و کاهش عفونت‌های مکرر کمک کند.

۳. نتایج و بحث

عفونت‌های کانال ریشه یکی از مهم‌ترین عوامل شکست تداوی اندودنتیک و بروز پریودنتیت اپیکال محسوب می‌شوند. مطالعات نشان داده‌اند که این عفونت‌ها عمدتاً توسط میکروارگانیسم‌های بی‌هوازی ایجاد شده و در محیط‌های بسته و کم‌اکسیجن تکثیر می‌یابند. از جمله شایع‌ترین باکتری‌های دخیل در این عفونت‌ها می‌توان به استرپتوکوکوس‌ها (*Streptococcus spp*) اشاره کرد که به‌ویژه گونه‌های *Streptococcus mutans* و *Streptococcus sanguinis* در مراحل اولیه پوسیدگی دندان و پیشرفت عفونت‌های پالپ دندانی نقش دارند. علاوه بر این، پورفیروموناس جینجیوالیس (*Porphyromonas gingivalis*) به‌عنوان یک باکتری بی‌هوازی گرم-منفی، عامل رایج عفونت‌های مزمن کانال ریشه محسوب می‌شود که به دلیل تولید

مرتبط انجام شده است. در این مطالعه، تلاش شده تا با بررسی مقالات و منابع علمی معتبر، دیدگاهی جامع در مورد محلول‌های شستشو، تکنیک‌های نوین و چالش‌های مرتبط با این حوزه ارائه شود. روش کار شامل چهار مرحله اصلی بوده است که در ادامه توضیح داده می‌شود.

در مرحله اول، انتخاب منابع علمی معتبر صورت گرفت. برای این منظور، مقالات تحقیقی و مروری از پایگاه‌های اطلاعاتی معتبر نظیر PubMed، Scopus و Web of Science جستجو و انتخاب شدند. بازه زمانی انتخاب مقالات بین سال‌های ۲۰۰۰ تا ۲۰۲۳ در نظر گرفته شد و کلیدواژه‌هایی مانند "شستشوی کانال دندان"، "عفونت‌های کانال ریشه" و "محلول‌های ضدعفونی اندودنتیک" برای جستجو استفاده شدند. در مرحله دوم، معیارهای ورود و خروج مقالات تعریف شد. مقالات مرتبط با موضوع اصلی که به بررسی اثربخشی محلول‌های شستشو، تکنولوژی‌های نوین و چالش‌های مرتبط پرداخته بودند، وارد مطالعه شدند. همچنین، مقالاتی که به زبان انگلیسی یا فارسی منتشر شده و از متدولوژی علمی و قابل اعتماد برخوردار بودند، مورد بررسی قرار گرفتند. مقالاتی که فاقد این معیارها بودند، از مطالعه حذف شدند. در مرحله سوم، دسته‌بندی اطلاعات به دست آمده انجام شد. اطلاعات استخراج‌شده بر اساس موضوعات اصلی شامل انواع محلول‌های شستشو، تکنیک‌های پیشرفته، اثرات زیست‌سازگاری محلول‌ها و چالش‌های کلینیکی در تداوی کانال‌های دندانی

انزایم‌های پروتئولیتیک، موجب تخریب انساج اطراف ریشه می‌شود (۱۱). در کنار این عوامل، فوزوباکتریوم نوکلئاتوم (*Fusobacterium nucleatum*) نیز نقش مهمی در ایجاد بیوفیلم‌های مقاوم در کانال‌های دندان‌ای ایفا کرده و از طریق اتصال به سایر باکتری‌ها، امکان تکثیر بیشتر عوامل بیماری‌زا را فراهم می‌کند. اکتینومایسس‌ها (*Actinomyces spp*) نیز معمولاً در عفونت‌های پایدار و مقاوم مشاهده شده و می‌توانند منجر به تشکیل گرانولوماهای مزمن شوند. در نهایت، انتروکوکوس فکالیس (*Enterococcus faecalis*) به عنوان یکی از مهم‌ترین باکتری‌های عامل عفونت‌های ثانویه در تداوی اندودنتیک شناخته شده است. این باکتری به دلیل مقاومت بالا در برابر محلول‌های ضدعفونی‌کننده و بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌ها، نقش مهمی در عدم موفقیت تداوی ریشه دارد (۱۱).

برای تداوی عفونت‌های کانال دندان‌ی، ترکیبی از روش‌های مختلف به کار گرفته می‌شود که شامل شستشوی کانال، ضدعفونی، پر کردن و در برخی موارد مداخلات جراحی یا مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها می‌شود. تداوی ریشه (Root Canal Therapy) به عنوان یک روش اصلی شامل سه مرحله اساسی است. ابتدا با استفاده از ابزارهای مکانیکی و محلول‌های شستشو مانند هایپوکلریت سدیم (NaOCl)، بقایای انساج عفونی و میکروب‌ها از داخل کانال حذف می‌شوند. سپس در مرحله ضدعفونی، مواد بیواکتیو مانند کلسیم هایدروکساید برای کاهش بار میکروبی و ایجاد محیطی قلیایی که

رشد باکتری‌ها را مهار کند، مورد استفاده قرار می‌گیرند. در نهایت، پر کردن کانال با موادی مانند گوتا‌پرکا و سیلرهای بیواکتیو انجام می‌شود تا از نفوذ مجدد میکروب‌ها به داخل کانال جلوگیری شود (۱۲). در مواردی که عفونت گسترش یافته و تداوی‌های معمول مؤثر نباشند و تجویز آنتی‌بیوتیک ممکن است ضرورت یابد. در شرایط حاد، مانند آبسه‌های وسیع، دواهای مانند آموکسی‌سیلین یا مترونیدازول برای کنترل عفونت سیستمیک تجویز می‌شوند. با این حال، تجویز بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌ها به دلیل افزایش مقاومت میکروبی، باید با احتیاط صورت گیرد (۱۲). در شرایطی که عفونت به صورت پایدار باقی بماند یا تداوی ریشه نتواند عفونت را به طور کامل از بین ببرند، ممکن است جراحی اپیکوکتومی (Apicoectomy) انجام شود. این روش شامل برداشتن نوک ریشه و تخلیه انساج عفونی اطراف آن است و معمولاً در مواردی به کار می‌رود که عفونت در انتهای ریشه باقی مانده و باعث بروز التهاب مداوم شده باشد (۱۲).

چالش اصلی در تداوی عفونت‌های کانال ریشه، مقاومت برخی از باکتری‌ها و قارچ‌ها نسبت به تداوی‌های ضدعفونی‌کننده است. در میان این عوامل، *Enterococcus faecalis* و *Candida albicans* به دلیل توانایی زنده ماندن در شرایط نامطلوب، تشکیل بیوفیلم‌های مقاوم و تحمل بالا در برابر مواد ضدعفونی‌کننده، از مهم‌ترین عوامل شکست تداوی اندودنتیک محسوب می‌شوند (۱۳).

گسترده‌ای برای ارتقای کارایی مواد و تکنیک‌های ضد عفونی انجام شده است. روش‌های مدرن مانند اریگیشن اولتراسونیک و استفاده از لیزر، همراه با مواد نوآورانه‌ای نظیر بیوسرامیک‌ها و محلول‌های گیاهی، توانسته‌اند اثربخشی بیشتری در مقابله با باکتری‌های مقاوم نشان دهند (۱۸). شناخت ویژگی‌های این باکتری‌ها و محدودیت‌های روش‌های موجود، نقش مهمی در بهبود تداوی اندودنتیک ایفا می‌کند. مطالعات متعددی اهمیت اریگیشن در کنترل عفونت‌های کانال ریشه را نشان داده‌اند و بر نقش عوامل مختلفی مانند نوع ماده اریگانت، تکنیک‌های شستشو و چالش‌های مربوط به حذف کامل میکروارگانیسم‌ها تأکید دارند (۱۹، ۲۰، ۲۱). روش‌های نوین مانند لیزر Nd:YAG و اولتراسونیک غیرفعال نیز به‌طور گسترده مورد بررسی قرار گرفته‌اند. لیزر Nd:YAG قابلیت نفوذ به عمق دنتین را داشته و قادر است باکتری‌های مقاوم را از بین ببرد. تحقیقات Huang و همکاران نشان داده است که این روش به میزان قابل توجهی بار میکروبی را کاهش می‌دهد (۲۲، ۲۳). عفونت‌های پایدار کانال ریشه معمولاً ناشی از تجمع بیوفیلم‌های مقاوم در عمق سیستم کانال بوده و تداوی آن‌ها مستلزم استفاده از استراتژی‌های دقیق‌تر است (۲۴).

از میان مواد ضد عفونی‌کننده، سدیم هایپوکلریت به عنوان یکی از مؤثرترین اریگانت‌ها شناخته شده است. این ماده توانایی حل کردن انساج نکروتیک و از بین بردن طیف گسترده‌ای از میکروارگانیسم‌ها را

شستشوی کانال یا اریگیشن یکی از مراحل حیاتی در درمان اندودنتیک محسوب می‌شود که با هدف حذف باکتری‌ها، دبری‌های آلی و لایه اسمیر انجام می‌گردد (۱۴). با این حال، برخی از میکروارگانیسم‌ها به دلیل توانایی نفوذ به توبول‌های عاجی، تشکیل بیوفیلم‌های مقاوم، و تطبیق‌پذیری با شرایط محیطی نامطلوب، حتی پس از شستشو نیز زنده باقی می‌مانند. این مسئله باعث می‌شود که برخی از روش‌های تداوی متداول کارایی کافی نداشته باشند و نیاز به استفاده از محلول‌های شستشوی پیشرفته‌تر و مواد بیواکتیو بیشتر احساس شود (۱۴، ۱۵). به‌طور کلی، موفقیت در تداوی عفونت‌های کانال دندانی مستلزم استفاده از روش‌های ضد عفونی مؤثر، کنترل بیوفیلم‌های مقاوم و انتخاب تکنیک‌های تداوی مناسب است. ترکیب روش‌های تداوی مکانیکی، ضد عفونی‌کننده، استفاده از مواد پرکننده مناسب و در موارد خاص، جراحی اپیکواکتومی می‌تواند به بهبود موفقیت تداوی اندودنتیک و کاهش احتمال عود مجدد عفونت کمک کند.

بیوفیلم‌های باکتریایی از جمله چالش‌های اساسی در تداوی عفونت‌های کانال ریشه محسوب می‌شوند، زیرا به‌عنوان یک سد فیزیکی، مانع نفوذ کامل مواد ضد عفونی‌کننده به عمق ساختار دندانی می‌شوند. برخی از مواد رایج مانند سدیم هایپوکلریت و کلرهگزیدین، علی‌رغم اثرات ضد میکروبی قوی، توانایی حذف کامل این میکروارگانیسم‌های مقاوم را ندارند (۱۶، ۱۷). در سال‌های اخیر، تحقیقات

نتیجه‌گیری

مطالعات متعدد نشان داده‌اند که هیچ ماده یا روشی به تنهایی نمی‌تواند تمامی نیازهای تداوی اندودنتیک را برآورده کند. به عنوان مثال، ترکیب سدیم هاپوکلریت و EDTA به طور موثری لایه اسمیر و باکتری‌های عمقی را حذف می‌کند، اما ممکن است به ساختار دنتین آسیب برساند. از سوی دیگر، استفاده از کلرگزیدین و مواد طبیعی ممکن است سمیت کمتری داشته باشد، اما اثربخشی کلی آن‌ها در برابر بیوفیلم‌های پیچیده هنوز به بررسی بیشتری نیاز دارد. پیشرفت‌های تصویربرداری مانند CBCT نیز در بهبود دقت تشخیص و برنامه‌ریزی تداوی مؤثر بوده‌اند. این فناوری متخصصین اجازه می‌دهد تا پیچیدگی‌های کانال ریشه و مشکلات احتمالی مانند ترک‌ها یا کانال‌های اضافی را بهتر شناسایی کنند. این درک بهتر از ساختار کانال، به انتخاب بهتر اریگانت‌ها و تکنیک‌های تداوی کمک می‌کند. در مجموع، ترکیب مواد کیمیاوی، تکنیک‌های پیشرفته مانند لیزر و اولتراسونیک، و استفاده از مواد بیوسرامیکی و طبیعی، رویکرد جامعی برای مقابله با چالش‌های تداوی کانال ریشه ارائه می‌دهد. تحقیقات آینده باید بر روی بهینه‌سازی این ترکیبات و ارزیابی طولانی‌مدت اثربخشی و ایمنی آن‌ها تمرکز کند.

دارد (۲۵). با این حال، اثرات جانبی آن مانند تضعیف دنتین و سمیت حجروی، محققان را به بررسی جایگزین‌های ایمن‌تر سوق داده است (۲۶،۲۷). کلرگزیدین نیز به دلیل خواص قوی ضدباکتریایی، به‌ویژه علیه باکتری‌های گرم مثبت، به‌عنوان جایگزین NaOCl مطرح شده است، اما عدم توانایی در حل کردن انساج یکی از محدودیت‌های اصلی آن محسوب می‌شود (۲۸،۲۹).

EDTA نیز به عنوان یک ماده کمکی، برای حذف لایه اسمیر و افزایش نفوذپذیری دنتین استفاده می‌شود. حذف لایه اسمیر تأثیر بسزایی در بهبود عملکرد مواد ضدعفونی‌کننده دارد، اما مصرف بیش از حد آن می‌تواند موجب تضعیف ساختار دنتین شود. مطالعات نشان داده‌اند که ترکیب EDTA با سدیم هاپوکلریت یا کلرگزیدین، یک اثر هم‌افزایی (سینرجیک) ایجاد کرده و توانایی بیشتری در حذف بیوفیلم‌های پیچیده کانال ریشه دارد (۳۰). از سوی دیگر، اولتراسونیک غیرفعال با افزایش حرکت مایعات و بهبود تماس اریگانت با دیواره‌های کانال، موجب افزایش کارایی ضدعفونی می‌شود. ترکیب این روش با استفاده از مواد ضدعفونی‌کننده مختلف، راهکارهای نوینی برای بهینه‌سازی تداوی اندودنتیک ارائه داده است (۳۱).

1. Siqueira JF. Microbiology of endodontic infections. *Endodontic Topics*. 2005;10(1):3-30.
2. Haapasalo M, Orstavik D. Disinfection by endodontic irrigants. *Endodontics: Principles and Practice*. London: Elsevier; 1987.
3. Nair PN. On the causes of persistent apical periodontitis: a review. *Int Endod J*. 2006;39(4):249-81.
4. Bystrom A, Claesson R, Sundqvist G. The antibacterial action of sodium hypochlorite and the influence of the irrigation technique. *Int Endod J*. 1985;18(4):335-40.
5. Haapasalo M, et al. The effectiveness of sodium hypochlorite in disinfecting root canals. *Int Endod J*. 2000;33(3):248-54.
6. Kahn FH, et al. Chlorhexidine in endodontics: A review. *Aust Endod J*. 2007;33(1):34-40.
7. Zehnder M. Root canal irrigants. *Endodontic Topics*. 2006;13(1):30-43.
8. Sharma S, et al. Efficacy of passive ultrasonic irrigation in endodontics: A comprehensive review. *Int Endod J*. 2022;55(5):451-63.
9. Pimenta MF, et al. Use of laser in endodontics: A review. *J Clin Laser Med Surg*. 2010;28(5):263-70.
10. Bansal R, et al. Effectiveness of herbal irrigants in the management of root canal infection: A review. *J Pharm Bioallied Sci*. 2019;11(1):1-5.
11. Siqueira, J. F., & Rôças, I. N. (2009). "Diversity of Endodontic Microbiota Revisited." *Journal of Dental Research*, 88(11), 969-981.
12. Segura-Egea, J. J., et al. (2017). "Antibiotics in Endodontics: A Review." *International Endodontic Journal*, 50(12), 1169-1184.
13. Schaefer, E., & Walther, W. (2013). "Irrigation of the Root Canal." *Clinical Oral Investigations*.
14. Love, R. M. (2001). "Enterococcus faecalis—a mechanism for its role in endodontic failure." *International Endodontic Journal*.
15. Zehnder, M. (2006). "Root Canal Irrigants." *Endodontic Topics*.
16. Chávez de Paz, L. E. (2007). "The ability of Enterococcus faecalis to survive starvation and disinfection." *Journal of Endodontics*.
17. Stuart, C. H., et al. (2006). "The role of Enterococcus faecalis in endodontic failure." *Journal of Endodontics*.
18. Haapasalo, M., et al. (2010). "Irrigation in endodontics." *Dental Clinics of North America*.
19. Rossi-Fedele, G., et al. (2011). "Antimicrobial effectiveness of root canal medicaments." *Journal of Endodontics*.
20. Prati, C., et al. (2016). "Modern techniques in endodontics." *British Dental Journal*.
21. Gambarini, G., & Gualtieri, M. (2005). "The use of rotary instruments in endodontics". *Endodontic Topics*, 12(1), 1-10.
22. Huang, Y., Jiang, L., & Zhong, J. (2009). "The efficacy of Nd:YAG laser on decontamination of root canal". *Laser Therapy*, 18(4), 215-220.
23. Nair, P. N. R. (2006). "On the causes of persistent apical periodontitis: a review". *International Endodontic Journal*, 39(4), 249-281.
24. Siqueira, J. F. (2005). "Microbiology of endodontic infections". *Endodontic Topics*, 10(1), 3-30.
25. Haapasalo, M., et al. (2000). "The Effectiveness of Sodium Hypochlorite in Disinfecting Root Canals." *International Endodontic Journal*, 33(3), 248-254.

-
26. Klein, M. I., et al. (2021). "Effectiveness of Chlorhexidine and Sodium Hypochlorite in Biofilm Removal: A Systematic Review." *Journal of Endodontics*, 47(3), 345-353.
27. Zehnder, M. (2006). "Root Canal Irrigants." *Endodontic Topics*, 13(1), 30-43.
28. Kahn, F. H., et al. (2007). "Chlorhexidine in Endodontics: A Review." *Australian Endodontal Journal*, 33(1), 34-40.
29. Giuliani, V., et al. (2010). "Chemical and biological properties of irrigants on the root canal system: A review." *International Journal of Dental Hygiene*, 8(3), 133-139.
30. Pérez-Heredia, M., et al. (2019). "The effect of EDTA on dentin permeability and the smear layer: A critical review." *Journal of Endodontics*, 45(1), 7-15.
31. Sharma, S., et al. (2022). "Efficacy of Passive Ultrasonic Irrigation in Endodontics: A Comprehensive Review." *International Endodontic Journal*, 55(5), 451-463.

Investigating the methods of measuring the antioxidant capacity of medicinal plants

Meysam Sajjadi ^{1*}

1. Department of chemistry and biochemistry, faculty of medical laboratory technology, khatam Al-nabieen university

*Email: Sajjadi.knurtc@knu.edu.af Phone: 0787674943

Abstract

Antioxidants are important in protecting cells against damage caused by free radicals and reactive oxygen species. These molecules are directly linked to the development of chronic diseases, such as cancer, cardiovascular diseases, diabetes, and neurodegenerative disorders. Medicinal plants are valuable sources for the prevention and treatment of these diseases because of their rich antioxidant properties. This article reviews methods for measuring the antioxidant capacity of medicinal plants. Common methods for measuring antioxidant capacity include DPPH, ORAC, ABTS, and FRAP, which are used due to their simplicity and high speed for measuring antioxidant capacity compared with more complex methods. These tests are important to investigate compounds that can prevent cellular damage by reducing oxidative stress, which causes many chronic diseases. Measuring antioxidant capacity is an important tool for evaluating the potential for medicinal use in plants. The methods discussed in this article are about examining methods for measuring antioxidant effects and examining the advantages and disadvantages of each, and future research should continuously investigate their mechanisms of action and confirm their clinical effects in valid clinical trials.

Keywords: Antioxidants, medicinal plants, DPPH, ABTS, FRAP, ORAC, neuroprotection, cardiovascular health, cancer.

بررسی روش‌های اندازه‌گیری ظرفیت انتی‌اکسیدانی نباتات طبی

میثم سجادی^{۱*}

۱. دیپارتمنت کیمیا و بیوشیمی، پوهنحی تکنالوژی طبی، پوهنتون خاتم النبیین (ص)، کابل افغانستان

ایمیل: Sajjadi.knurtc@knu.edu.af تلفن: ۰۷۸۷۶۷۴۹۴۳

چکیده

انتی‌اکسیدان‌ها نقش مهمی در محافظت از حجرات در برابر آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیجن ایفا می‌کنند. این مالیکول‌ها به‌طور مستقیم با بروز امراض مزمن مانند سرطان، امراض قلبی-وعایی، دیابت و اختلالات نورودژنراتیو مرتبط هستند. نباتات طبی به دلیل داشتن ترکیبات انتی‌اکسیدانی غنی، منابع ارزشمندی برای پیشگیری و تداوی این امراض به شمار می‌آیند. در این مقاله تلاش شده است روش‌های اندازه‌گیری ظرفیت انتی‌اکسیدانی نباتات طبی آن‌ها بررسی شود. روش‌های رایج برای اندازه‌گیری ظرفیت انتی‌اکسیدانی شامل DPPH، ORAC، ABTS و FRAP هستند که به دلیل سادگی و سرعت بالا برای اندازه‌گیری ظرفیت انتی‌اکسیدانی در مقایسه با روش‌های پیچیده‌تر مورد استفاده قرار می‌گیرند. اهمیت این آزمایشات، بررسی ترکیباتی است که می‌توانند با کاهش استرس اکسیداتیو، که عامل بسیاری از امراض مزمن است، از آسیب‌های حجروی پیشگیری کنند. اندازه‌گیری ظرفیت انتی‌اکسیدانی ابزار مهمی برای ارزیابی پتانسیل استفاده دوايي نباتات بوده است. روش‌های مورد بحث در این مطالعه در خصوص بررسی روش‌های اندازه‌گیری اثرات انتی‌اکسیدانی و بررسی مزیت‌ها و نقاط ضعف هر کدام می‌باشد. تحقیق‌های آینده باید به‌طور مداوم مکانیزم‌های فعالیت آن‌ها را مورد بررسی قرار دهند و اثرات کلینیکی آن‌ها را در آزمایشات کلینیکی معتبر تأیید کنند. واژه‌های کلیدی: انتی‌اکسیدان‌ها، نباتات طبی، DPPH، ABTS، FRAP، ORAC، سلامت قلب و عروق، سرطان.

۱. مقدمه

انتهی اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که می‌توانند به‌طور مؤثر رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیجن (ROS) را که موجب آسیب به حجرات و انساج می‌شوند، خنثی کنند. استرس اکسیداتیو ناشی از این گونه‌ها، به‌ویژه در امراض مزمن مانند امراض قلبی، دیابت، سرطان، و اختلالات عصبی نقش عمده‌ای ایفا می‌کند. بنابراین، اندازه‌گیری ظرفیت انتهی اکسیدانی در مواد غذایی، ادویه، و به‌ویژه نباتات طبی از اهمیت بالایی برخوردار است. نباتات طبی به عنوان منابع غنی از ترکیبات انتهی اکسیدانی شناخته می‌شوند و در تداوی بسیاری از امراض استفاده می‌شوند. در این مطالعه، روش‌های مختلف اندازه‌گیری ظرفیت انتهی اکسیدانی نباتات طبی مورد بررسی قرار می‌گیرد و کاربردهای کلینیکی این ظرفیت‌ها در پیشگیری و تداوی امراض بررسی داده می‌شود (۱،۲).

به طور کلی در مورد استانداردسازی روش‌های اندازه‌گیری ظرفیت انتهی اکسیدانی نباتات، مواد غذایی، میوه‌ها و سایر مواد باید چند نکته در نظر گرفته شود. نکته اول: راهنمایی کلی برای کاربرد هر آزمایش، توصیف دقیق شرایط آزمایش، دستگاه مورد نیاز و پایداری معرف‌ها. نکته دوم: همه روش‌ها باید در چارچوب خود اعتبار سنجی شوند. یعنی باید قابلیت تکرارپذیری و کنترل کیفی داشته باشد. نکته سوم: باید امکان مقایسه معقول بین دواها، مواد غذایی و سایر مواد داشته باشد (۳). از آنجایی که انتهی اکسیدان‌ها ممکن است اثر خود را از طریق مکانیزم‌های مختلفی

از جمله مهار رادیکال‌ها، جداسازی آیون فلزات واسطه، تجزیه هایدروجن پراکساید یا هایدروپراکسایدها، خاموش کردن پرواکسیدان‌های فعال و ترمیم آسیب‌های بیولوژیکی اعمال کنند، باید مشخص شود که کدام عملکرد انتهی اکسیدان‌ها در حال اندازه‌گیری است و بر این اساس، روش سنجش انتهی اکسیدانی باید برای ارزیابی عملکرد انتخاب شود (۴).

۲. دسته‌بندی روش‌های اندازه‌گیری ظرفیت انتهی اکسیدانی بر اساس اصول فیزیکوشیمیایی و مکانیزم‌ها

روش‌های اندازه‌گیری ظرفیت انتهی اکسیدانی را می‌توان به دو دسته اصلی بر اساس مکانیزم تعاملات آن‌ها تقسیم کرد (۴). دسته اول آزمایشات مبتنی بر انتقال الکترون (Electron Transfer) است. این آزمایشات با ارزیابی توانایی انتهی اکسیدان‌ها در انتقال الکترون به یک اکسیدان، میزان قدرت انتهی اکسیدانی نمونه را تعیین می‌کنند. در این روش‌ها، معمولاً تغییر رنگ یا میزان فلورسانس در واکنش اندازه‌گیری شده و به عنوان معیاری برای ظرفیت انتهی اکسیدانی استفاده می‌شود. به عبارت دیگر، هرچه تغییر رنگ یا فلورسانس بیشتر باشد، ظرفیت انتهی اکسیدانی نمونه بالاتر خواهد بود.

از جمله آزمایشات رایج در دسته انتقال الکترون می‌توان به روش‌های مختلفی اشاره کرد که در مطالعات علمی و آزمایش‌های بیوشیمیایی مورد استفاده قرار می‌گیرند. این روش‌ها امکان ارزیابی

۲-۳. آزمون فولین-سیوکالتو : تعیین کل ترکیبات فنولی (TPC)

مبتنی بر انتقال الکترون به معرف فولین-سیوکالتو است و بیشتر برای تعیین مقدار ترکیبات فنولی استفاده می‌شود. در مطالعه‌ای که بر روی ضایعات (پوست و دانه) آووکادو انجام شد، از بین تمام روش‌های بررسی ظرفیت انتی‌اکسیدانی، بیشترین همبستگی و نتایج را TPC نشان داد. لازم به ذکر است که پوست و دانه آووکادو مقدار بسیار زیادی ترکیبات پلی فنل دارد، این نشان دهنده این است که این روش مناسبی برای بررسی ظرفیت انتی‌اکسیدانی نباتاتی است که دارای مقدار زیادی ترکیبات پلی فنل هستند (۷).

۲-۴. آزمون مهار رادیکال DPPH

کاهش رنگ بنفش رادیکال DPPH به رنگ زرد در حضور انتی‌اکسیدان‌ها را اندازه‌گیری می‌کند. از بین روش‌های اندازه‌گیری ظرفیت انتی‌اکسیدانی می‌توان ادعا کرد که DPPH ارزاترین روش می‌باشد. علاوه بر آن روشی سریع می‌باشد و از نظر تکرارپذیری نیز نتایج قابل قبولی ارائه می‌دهد و روشی مناسب برای اندازه‌گیری ظرفیت انتی‌اکسیدانی نباتات طبی می‌باشد (۸).

۳. آزمون‌های مبتنی بر انتقال اتم هایدروجن (HAT)

این روش‌ها توانایی انتی‌اکسیدان‌ها را در اهدا کردن اتم هایدروجن برای خشی‌سازی رادیکال‌های آزاد ارزیابی می‌کنند. این روش‌ها از نظر بیولوژیکی مرتبط‌تر هستند، زیرا شبیه به مکانیزم فعالیت انتی‌اکسیدانی در مهار پراکسیداسیون لیپیدی هستند. برخی از روش‌های مهم در این دسته شامل موارد زیر هستند.

دقیق قدرت انتی‌اکسیدانی را فراهم کرده و به دلیل سادگی اجرا، حساسیت بالا، و توانایی مقایسه میان نمونه‌های مختلف، کاربرد وسیعی در بررسی ترکیبات انتی‌اکسیدانی طبیعی و سنتزی دارند.

۱-۲. آزمون قدرت انتی‌اکسیدانی احیاکنندگی آهن (FRAP)

این روش بر اساس احیای کمپلکس Fe^{3+} -TPTZ (تری‌پیریدیلتری‌آزین) به Fe^{2+} انجام می‌شود که منجر به ایجاد رنگ آبی می‌شود (۵). این روش توسط بنزاین و استراین در سال ۱۹۹۶ معرفی شد که می‌تواند در پایین ظرفیت انتی‌اکسیدانی را اندازه‌گیری کند. رنگی که در اثر تبدیل Fe^{3+} -TPTZ به Fe^{2+} -TPTZ ایجاد می‌شود در طول موج ۵۹۳ نانومتر ایجاد می‌شود. هر چقدر قدرت انتی‌اکسیدانی ماده مورد مطالعه زیاد باشد، تغییر رنگ کمتر خواهد بود (۶).

۲-۲. آزمون ظرفیت انتی‌اکسیدانی معادل ترولوکس ABTS / (TEAC)

در این روش از اسپکتروفوتومتر استفاده می‌شود و رنگ سبز-آبی تولید شده توسط اکساید شدن سوبسترا، اندازه‌گیری می‌شود. این تکنیک در سال ۱۹۹۳ توسط میلر و همکارانش طراحی شد و اساس آن اکساید شدن ABTS به $ABTS^+$ پس از انکوباسیون با مت‌میوگلوبین و H_2O_2 می‌باشد. این تغییر رنگ را توسط اسپکتروفوتومتر در طول موج ۷۵۰ نانومتر می‌توان اندازه‌گیری کرد. هر چه انتی‌اکسیدان مورد مطالعه قویتر باشد، از اکساید شدن ABTS جلوگیری کرده و رنگ کمتری ایجاد می‌شود (۶).

۱-۳. ظرفیت جذب رادیکال اکسیجن (ORAC)

توانایی انتی اکسیدان در مهار اکسیداسیون یک مالیکول فلورسانس (فلورسئین) را در حضور رادیکال‌های پراکسیل ارزیابی می‌کند. کاهش شدت فلورسانس در طول زمان اندازه‌گیری می‌شود به این صورت که هر چه انتی اکسیدان مورد آزمایش قویتر باشد، از مالیکول‌های فلورسانس محافظت بیشتری کرده و محلول خاصیت فلورسانس خود را بیشتر حفظ می‌کند. در غیر اینصورت رادیکال‌های آزاد مالیکول‌های فلورسانس را اکساید کرده و خاصیت فلورسانس کاهش می‌یابد (۹).

۲-۳. پارامتر کل مهار رادیکال‌ها (TRAP)

توانایی کلی یک انتی اکسیدان در خنثی‌سازی رادیکال‌های پراکسیل را بررسی می‌کند. در سال‌های اخیر، استفاده از تکنیک‌های پیشرفته مانند روش‌های الکتروکیمیای و بیوسنسورها برای اندازه‌گیری ظرفیت انتی اکسیدانی نباتات طبی توجه زیادی را به خود جلب کرده است. این روش‌ها می‌توانند اندازه‌گیری‌های دقیق‌تر و سریع‌تری از فعالیت انتی اکسیدانی ارائه دهند.

این روش‌ها می‌توانند با استفاده از الکترودها، تغییرات پتانسیل یا جریان الکتریکی را در تعاملات اکسیدیشن و کاهش ترکیبات انتی اکسیدانی اندازه‌گیری کنند. این تکنیک‌ها معمولاً حساسیت و دقت بالاتری دارند و می‌توانند به‌طور مستقیم به ارزیابی ترکیبات فعال در عصاره‌های نباتی بپردازند (۴). این روش بر اساس واکنش‌های اکسیدیشن و ردوکن الکتروشیمیایی عمل می‌کند، به این صورت که انتی اکسیدان‌ها الکترون‌هایی به سطح الکترودها می‌کنند، عملی که مشابه با فعالیت آن‌ها در خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد است. ظرفیت انتی اکسیدانی با اندازه‌گیری جریان الکتریکی تولید شده در این فرآیند انتقال الکترون تعیین می‌شود. مورنو و همکاران در سال ۲۰۲۲ انجام دادند، ظرفیت انتی اکسیدانی آسکوربیک اسید و گالیک اسید را به روش الکتروکیمیای انجام دادند. در این مطالعه از آیون‌های مس II برای تسهیل در انتقال الکترون بین انتی اکسیدان و الکترودها استفاده شد (۱۰). برای مقایسه انواع روش‌های اندازه‌گیری ظرفیت انتی اکسیدانی در جدول ۱ از جهات مختلف با هم مقایسه شده‌اند (۱۱).

جدول ۱. بررسی معایب و مزایای برخی روش‌های اندازه‌گیری ظرفیت انتی‌اکسیدانی

معایب	مزایا	روش
تفسیر EC50 کمی مشکل است. (EC50 کمترین کم هزینه غلظت نمونه است که بتواند DPPH را مهار کند). برای تعاملات END POINT آن استاندارد زمانی مشخص وجود ندارد.	کم هزینه پروسیجر آسان تعاملات سریع	DPPH
استانداردسازی شده است ولی مقایسه نتایج آزمایش با استاندارد مشکل است. یک مرحله اضافه برای تولید رادیکال آزاد از نمک ABTS باید انجام شود. رادیکال‌های آزاد تولید شده برای زمان طولانی پایدار نیست.	کم هزینه می‌توان از این روش برای ارزیابی اثر Ph بر فعالیت انتی‌اکسیدانی استفاده کرد، زیرا در Ph مشخص انجام می‌شود.	ABTS
هزینه بالا دارد. حساس به Ph است. کمی‌سازی نتایج زمان زیادی نیاز دارد. نتایج آن می‌تواند با تجهیزات مختلف، متفاوت باشد.	پس از استانداردسازی امکان مقایسه وجود دارد. هم شاخص زمان و هم تعامل انتی‌اکسیدانی را در نظر می‌گیرد. باید از انتی‌اکسیدان‌های بیولوژیک استفاده شود.	ORAC
باید از حجم زیادی از ریجنت استفاده شود.	در نمونه‌های نباتی استفاده می‌شود.	FRAP
یک تکنیک پیچیده و زمانبر است که به تجربه و دقت زیادی نیاز دارد.	به تمام انتی‌اکسیدان‌های موجود در نمونه حساس است.	TRAP

۴. بحث و نتیجه‌گیری

این دو روش با هم نتایج مشابه و همبستگی مناسبی داشتند (۱۲). مطالعات نشان داده است که یکی از مناسب‌ترین روش‌ها برای بررسی ظرفیت انتی‌اکسیدانی نباتی که دارای مقادیر زیاد ترکیبات پلی فنل است روش TPC می‌باشد (۷). یکی از پیشرفته‌ترین روش‌ها، اندازه‌گیری ظرفیت انتی‌اکسیدانی به روش الکتروشیمیایی است که توسط الکتروود توان الکترون‌دهی انتی‌اکسیدان مورد آزمایش را اندازه‌گیری می‌کنند. البته این روش نیاز به تجهیزات زیاد دارد از جمله پتانسیواستات، الکتروود GCE اصلاح‌شده، حجرة الکتروشیمیایی، محلول‌های الکتروولیت و انتی‌اکسیدان‌های استاندارد و کمپیوتر

اندازه‌گیری ظرفیت انتی‌اکسیدانی در امراض مختلف ممکن است متفاوت باشد. به عنوان مثال ظرفیت انتی‌اکسیدانی بیماران با عدم کفایه گرده به علت بالا رفتن میزان یوریک اسید در خون افزایش می‌یابد و بلافاصله بعد از همودیالیز کاهش چشمگیری پیدا می‌کند. این رابطه در مریضان مبتلا به امراض قلبی-وعایی برعکس است و ظرفیت انتی‌اکسیدانی در این افراد نسبت به افراد سالم کمتر می‌باشد (۴). ظرفیت انتی‌اکسیدانی در یک مطالعه که توسط جولیا روث و همکاران در سال ۲۰۲۲ انجام شد، از دو روش FRAP و ORAC استفاده شد و نتایج نشان داد که

زعفران در بهبود حافظه و کاهش علائم آلزایمر مؤثر شناخته شده‌اند (۱۵).

دیابت و چاقی با افزایش استرس اکسیداتیو در بدن همراه هستند. انتی‌اکسیدان‌ها می‌توانند با کاهش قند خون و افزایش حساسیت به انسولین به مدیریت این امراض کمک کنند. نباتاتی مانند دارچین و زنجبیل به دلیل اثرات انتی‌اکسیدانی خود در تداوی دیابت نوع ۲ استفاده می‌شوند (۱۶). آسیب ناشی از رادیکال‌های آزاد به حجرات پوستی می‌تواند موجب پیری زودرس و امراض پوستی مانند سرطان پوست شود. ترکیبات انتی‌اکسیدانی مانند ویتامین C و E و پلی‌فنول‌ها می‌توانند با جلوگیری از آسیب به حجرات و تحریک تولید کلاجن، به سلامت پوست کمک کنند. نباتاتی مانند آلوئه‌ورا و چای سبز که در بسیاری از محصولات آرایشی استفاده می‌شوند از این دسته هستند (۱۷). انتی‌اکسیدان‌ها با تقویت مکانیزم‌های دفاعی بدن، می‌توانند سیستم معافیتی را تقویت کرده و از عفونت‌ها جلوگیری کنند. نباتاتی مانند اکیناسه و زنجبیل به دلیل خواص انتی‌اکسیدانی خود در تقویت ایمنی بدن و پیشگیری از امراض عفونی مؤثرند (۱۸). همچنین مطالعات نشان داده است که ظرفیت انتی‌اکسیدانی در مایع منی مردان نابارور نسبت به مردان بارور کمتر است زیرا رادیکال‌های آزاد می‌توانند باعث آسیب به اسپرم‌ها و DNA آن‌ها شود در نتیجه افزایش ظرفیت انتی‌اکسیدانی می‌تواند سبب تقویت باروری در مردان شود (۶).

مجهز به نرم‌افزار مخصوص جهت تحلیل آن نیاز است (۱۰). با این وجود در صورت محدودیت امکانات روش DPPH به عنوان روشی ارزان و در دسترس پیشنهاد می‌شود. نباتات طبی، به خصوص در تداوی امراض مرتبط با استرس اکسیداتیو، نقش مهمی ایفا می‌کند. رادیکال‌های آزاد در ایجاد آسیب به دیواره‌های اوعیه و ایجاد امراض قلبی-وعایی مانند آترواسکلروز مؤثر هستند. ترکیبات انتی‌اکسیدانی موجود در نباتات طبی می‌توانند با کاهش اکسیدیشن LDL و کاهش التهاب سیستمیک، به پیشگیری از امراض قلبی کمک کنند. نباتاتی مانند چای سبز، انگور، و زلزالک به عنوان مکمل‌های انتی‌اکسیدانی در مدیریت امراض قلبی مورد استفاده قرار گرفته‌اند (۱۳).

انتی‌اکسیدان‌ها می‌توانند از بروز جهش‌های جنتیکی و سرطان جلوگیری کنند. در مطالعه‌ای که توسط آگاروال و همکاران در سال ۲۰۰۷ انجام شد، نشان داده شد است که ترکیبات انتی‌اکسیدانی موجود در نباتاتی مانند زردچوبه و چای سبز به ویژه در جلوگیری از رشد تومورها و متاستاز مفید هستند. کورکومین، ماده فعال موجود در زردچوبه، اثرات ضدسرطانی قابل توجهی نشان داده است (۱۴). اختلالات عصبی مانند آلزایمر و پارکینسون به دلیل آسیب ناشی از استرس اکسیداتیو در سیستم عصبی رخ می‌دهند. ترکیبات انتی‌اکسیدانی مانند اسید گالیک و کوئرستین می‌توانند با محافظت از حجرات عصبی و کاهش التهاب مغزی، علائم این امراض را کاهش دهند. نباتاتی مانند جینکوبیلوبا و

نتیجه‌گیری

اندازه‌گیری ظرفیت انتی‌اکسیدانی نباتات طبی یکی از ابزارهای مهم در ارزیابی پتانسیل تداوی این نباتات است. استفاده از روش‌های کیمیاوی و بیوشیمی مختلف می‌تواند به محققان کمک کند تا درک بهتری از اثرات انتی‌اکسیدانی نباتات بدست آورند. همچنین، کاربردهای کلینیکی این ظرفیت‌ها در پیشگیری و تداوی امراض، به‌ویژه امراض مزمن مرتبط با استرس اکسیداتیو، چشم‌اندازهای جدیدی برای تداوی‌های

دارویی طبیعی ایجاد می‌کند. با این حال، برای تایید اثربخشی و ایمنی این ترکیبات، تحقیقات بیشتری مورد نیاز است. اما نکته مهم این است با وجود کاربردهای فراوانی که اندازه‌گیری ظرفیت انتی‌اکسیدانی نباتات دارد، تاکنون روش مرجعی و استاندارد در دنیا برای اندازه‌گیری ظرفیت انتی‌اکسیدانی وجود ندارد و آزمایشات متفاوت و گوناگونی توسط محققین انجام می‌شود (۱۹).

1. Evans G, Miller L. Antioxidant Capacity Determination in Plants and Plant-Derived Products: A Review of Approaches. *Phytochemistry Reviews*. 2016;15(4):567-80.
2. Birben E, Sahiner UM, Saçkesen C, Erzurum SC, Kalayci O. Oxidative Stress and Antioxidant Defense. *The World Allergy Organization journal*. 2012;5:9 - 19.
3. Apak R, Güçlü KG, Özyürek M, Karademir SE. Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric iron reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. 2004;52:7981.
4. Apak R, Özyürek M, Güçlü K, Çapanoğlu E. Antioxidant Activity/Capacity Measurement. 1. Classification, Physicochemical Principles, Mechanisms, and Electron Transfer (ET)-Based Assays. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2016;64 5:997-1027.
5. Rumpf J, Burger R, Schulze M. Statistical evaluation of DPPH, ABTS, FRAP, and Folin-Ciocalteu assays to assess the antioxidant capacity of lignins. *International journal of biological macromolecules*. 2023;123470.
6. Gupta S, Finelli R, Agarwal A, Henkel RR. Total antioxidant capacity—Relevance, methods and clinical implications. *Andrologia*. 2020;53.
7. Lyu X, Ağar OT, Barrow CJ, Dunshea FR, Suleria HAR. Phenolic Compounds Profiling and Their Antioxidant Capacity in the Peel, Pulp, and Seed of Australian Grown Avocado. *Antioxidants*. 2023;12.
8. Yamauchi M, Kitamura Y, Nagano H, Kawatsu J, Gotoh H. DPPH Measurements and Structure—Activity Relationship Studies on the Antioxidant Capacity of Phenols. *Antioxidants*. 2024;13.
9. Asma U, Bertotti ML, Zamaï S, Arnold M, Amorati R, Scampicchio MM. A Kinetic Approach to Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC): Restoring Order to the Antioxidant Activity of Hydroxycinnamic Acids and Fruit Juices. *Antioxidants*. 2024;13.
10. Moreno MT, Mellado JMR, Medina A. Rapid Electrochemical Determination of Antioxidant Capacity Using Glassy Carbon Electrodes Modified with Copper and Polyaniline. Application to Ascorbic and Gallic Acids. *Biointerface Research in Applied Chemistry*. 2022.
11. Williams M, Taylor R. Natural Antioxidant Evaluation: A Review of Detection Methods. *Molecules*. 2022;27(11):3563.
12. Rothe J, Fischer R, Cotterchio C, Gastl MI, Becker T. Analytical determination of antioxidant capacity of hop-derived compounds in beer using specific rapid assays (ORAC, FRAP) and ESR-spectroscopy. *European Food Research and Technology*. 2022;249:81-93.
13. Kris-Etherton PM, Hecker KD, Bonanome A, Coval SM, Binkoski AE, Hilpert KF, et al. Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. *The*

-
- American journal of medicine. 2002;113 Suppl 9B:71S-88S.
14. Aggarwal BB, Sundaram CM, Malani N, Ichikawa H. Curcumin: the Indian solid gold. *Advances in experimental medicine and biology*. 2007;595:1-75.
 15. Ahlemeyer B, Krieglstein J. Neuroprotective effects of Ginkgo biloba extract. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*. 2003;60:1779-92.
 16. Richard, A., Anderson, C., Broadhurst L, Marilyn, et al. Isolation and characterization of polyphenol type-A polymers from cinnamon with insulin-like biological activity. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2004;52 1:65-70.
 17. Militello LG, Hurley R, Cook RL, Danielson EC, DiIulio J, Downs SM, et al. Primary Care Clinicians' Beliefs and Strategies for Managing Chronic Pain in an Era of a National Opioid Epidemic. *Journal of General Internal Medicine*. 2020;35:3542 - 8.
 18. Albahri G, Badran AA, Hijazi A, Daou A, Baydoun E, Nasser M, et al. The Therapeutic Wound Healing Bioactivities of Various Medicinal Plants. *Life*. 2023;13.
 19. Flieger J, Flieger W, Baj J, Maciejewski R. Antioxidants: Classification, Natural Sources, Activity/Capacity Measurements, and Usefulness for the Synthesis of Nanoparticles. *Materials*. 2021;14.

Types of biosensors and their application in the detection of microorganisms

Mohammad Hussain Sadaqat^{1*}

1. Department of Bacteriology, Faculty of Medical Science, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

*E-mail: m.sadaqat@modares.ac.ir Tel: 0781142265

Abstract

Biosensors are devices for measuring the amount of analyte and chemical and biological reactions, which consist of a biological receptor, a transducer, an electronic part, and a display (depending on the type of biosensor). Various biosensors have been designed, the most important of which are optical biosensors, electrochemical and electronic biosensors, and mass-sensitive biosensors. Optical biosensors operate based on changes in the intensity, refraction, and reflection of light incident on a surface containing a bioreceptor and analyte (such as a microorganism), as seen in surface plasmon resonance and evanescent fiber-based biosensors. In fiber-optic biosensors, due to the large size of bacteria, the evanescent wave does not have significant penetration ability, which is increased by designing the optical fiber in a curved and U-shaped shape. In electrochemical and electronic biosensors, an electrode is used that converts the reaction into an electric current when the microorganism is attached to the bioreceptor, and in some cases, it also provides the ability to transmit information wirelessly. Mass-sensitive biosensors depend on the activity of piezoelectric materials, of which quartz is the most important material. Without a target virus or bacteria, the piezoelectric material has a certain oscillation frequency, which changes after the microorganism is attached and its value is measured. Today's standard methods such as culture, ELISA, PCR, and RT-PCR have good sensitivity and specificity but are time-consuming and expensive. In contrast, a biosensor is economically viable, easier to use, and provides instant test results.

Keywords: Biosensor, Microorganism, Detection, Analyte, Bioreceptor.

انواع بیوسنسورها و کاربرد آنها در تشخیص میکروارگانیسم‌ها

محمدحسین صداقت^۱

۱. دیپارتمنت باکتریولوژی، پوهنچی طب، پوهنتون تربیت مدرس، تهران، ایران

*ایمیل: m.sadaqat@modares.ac.ir شماره تماس: ۰۷۸۱۱۴۲۲۶۵

چکیده

بیوسنسورها وسایل سنجش مقدار آنالیت و واکنش‌های کیمیایی و بیولوژیکی هستند که از گیرنده بیولوژیکی، مبدل، بخش الکترونیک و نمایشگر (بسته به نوع بیوسنسور) تشکیل شده است. انواع مختلفی از بیوسنسورها طراحی شده است که مهمترین آنها بیوسنسور نوری، بیوسنسور الکتروشیمیایی، الکترونیک و بیوسنسور حساس به جرم می‌باشند. بیوسنسور نوری براساس تغییرات در شدت، شکست و انعکاس نوری که به سطح دارای گیرنده زیستی و آنالیت (مانند میکروارگانیسم) تابیده می‌شود، فعالیت می‌کند. در بیوسنسورهای رزونانس پلاسمون سطحی و اوانسنت مبتنی بر فایبر نوری دیده می‌شوند. در بیوسنسور فایبر نوری به دلیل اندازه بزرگ باکتری، موج اوانسنت توانایی نفوذ قابل توجه نداشته که با طراحی فایبر نوری به شکل خمیده و U شکل عمق نفوذ موج بیشتر می‌شود. در بیوسنسورهای الکتروشیمیایی و الکترونیک، از الکتروود استفاده می‌شود که حین اتصال میکروارگانیسم به گیرنده، الکتروود این واکنش را تبدیل به جریان الکتریکی می‌کند که در برخی توانایی ارسال اطلاعات به صورت وایرلس را نیز فراهم می‌کنند. بیوسنسور حساس به جرم وابسته به فعالیت مواد پیزو الکتریک است که کوارتز مهمترین ماده است. ماده پیزو الکتریک در حالت عدم وجود وایروس و یا باکتری هدف، فرکانس نوسان معینی داشته که بعد از اتصال میکروارگانیسم فرکانس تغییر کرده و مقدار آن سنجیده می‌شود. روش‌های استاندارد امروزی چون کشت، الایزا، PCR و RT-PCR حساسیت و اختصاصیت خوبی دارند. اما زمان‌بر و قیمت هستند. در مقابل بیوسنسور از نظر اقتصادی به صرفه بوده، کاربری آسانتری داشته و در لحظه نتیجه آزمایش را مشخص می‌کند. واژه‌های کلیدی: بیوسنسور، میکروارگانیسم، تشخیص، آنالیت، گیرنده.

۱. مقدمه

بیوسنسورها یا حسگرهای بیولوژیک وسایلی هستند که واکنش‌های کیمیاوی و بیولوژیکی را اندازه‌گیری می‌کنند. این پروسه از طریق تولید سیگنال‌های متناسب با غلظت آنالیت (ماده‌ای که مقدارش اندازه گرفته می‌شود) صورت می‌گیرد. اجزای مرتبط با بیوسنسورها شامل ۵ بخش است: ۱. آنالیت ۲. گیرنده (Bioreceptor) مانند انتی‌بادی، آنزیم، آپتامر، حجرات و DNA که نقش تشخیص آنالیت را داشته که بعد از تشخیص آن تولید سیگنال‌هایی به شکل نور، گرما و همچنین تغییر Ph، شارژ و جرم می‌کند. ۳. مبدل (Transducer) که شکلی از انرژی را به شکلی دیگر (عمدتاً اپتیکال یا الکتریکی) تبدیل می‌کند. ۴. بخش الکترونیک که وظیفه پروسس سیگنال‌های تبدیل شده و انتقال آن به بخش نمایشگر را بر عهده دارد. ۵. بخش نمایشگر مانند صفحه کمپیوتر و یا پرینتر (۱).

لاند کلاک (Leland Clark) اولین بیوسنسور را در سال ۱۹۵۶ میلادی اختراع کرده است و به همین دلیل او را به عنوان پدر بیوسنسور می‌شناسند. اختراع او به نام الکتروود کلاک، جهت سنجش مقدار اکسیجن خون طراحی شده بود (۲). اما در سال ۱۹۷۷ میلادی واژه بیوسنسور اولین بار توسط کمن (Cammann) استفاده شد. در سال ۱۹۶۲ میلادی، کلاک بیوسنسور الکتروود آنزیم را جهت شناسایی گلوکز ساخت. بعدها تحقیق روی بیوسنسورها گسترش یافت. طوری که در سال‌های ۱۹۶۹ و ۱۹۷۵

بیوسنسورهای جهت تشخیص یوریا و الکل اختراع شدند. مالک و همکاران برای یک بیوسنسور چهار ویژگی مهم گزینش‌پذیری، تکرارپذیری، ثبات و حساسیت را بیان کردند که در عملکرد ایده‌آل آن مؤثر است. مهمترین ویژگی گزینش‌پذیری است. به این معنا که بیوسنسور قابلیت تشخیص آنالیت مورد نظر در یک نمونه که حاوی ترکیبات مشابه و غیر مشابه است را داشته باشد. تکرارپذیری هم به این معنی است که در چند آزمایش تکراری، مقادیر نتایج به دست آمده یکسان و یا نزدیک به هم باشند (۳).

امروزه بیوسنسورهای مختلفی جهت شناسایی میکروارگانیسم‌هایی چون مایکوباکتریوم توبرکلوزیس، ویبریو کلرا، تریپونما پالیدوم و غیره ساخته شده‌اند که در مورد مایکوباکتریوم توبرکلوزیس، شناخته شده‌ترین بیوسنسورها از نوع سنسور نوکلئیک اسید و رزونانس پلاسمون سطحی (surface plasmon resonance=SPR) هستند. علاوه بر این، از بیوسنسورها می‌توان برای تشخیص میکروارگانیسم‌های آلوده کننده آب و غذا مانند اشریشیا کلای و سالمونلاها و همچنین تشخیص میکروارگانیسم‌های مرتبط با زراعت و پرورش دام استفاده کرد (۴). کاربردهای دیگر بیوسنسور، شناسایی بیومارکرهای مرتبط با امراض قلبی، تعیین میزان ترکیبات مختلف موجود در خون از جمله گلوکز، شناسایی بیومارکرهای سرطان و غیره می‌باشند (۵).

۲. مواد و روش‌ها

برای جمع‌آوری اطلاعات این مطالعه، از پایگاه‌های اطلاعاتی مانند PubMed و Sciencedirect و

که می‌توان از آن در تشخیص کلینیکال، کشف دوا، کنترل پروسس غذا و نظارت بر محیط زیست استفاده کرد (۷). بیوسنسور نوری براساس نوع مبدل، انواع مختلفی دارد که به بیوسنسور رزونانس پلاسمون سطحی، بیوسنسور مبتنی بر موج اوانسنت و بیوسنسور لومینسنت می‌توان اشاره کرد (۸).

در بیوسنسور رزونانس پلاسمون سطحی (SPR)، گیرنده مانند انتی‌بادی روی سطحی فلزی مانند طلا قرار می‌گیرد که در زیر سطح فلزی جریانی از نمونه مورد نظر عبور می‌کند. در طرف دیگر سطح فلزی، نور عبور کرده از منشور (Prism) به سطح فلز برخورد کرده و بازتاب می‌کند. در حالت عادی بازتاب نور طول موج و شدت خاصی داشته و در صورتی که آنالیت مورد نظر در نمونه به گیرنده متصل شود، طول موج و شدت تغییر می‌کند که توسط آشکارساز (Detector) شناسایی و کمپیوتر آن را به صورت نمودار نشان می‌دهد (۹، ۱۰). این نوع بیوسنسور نیاز به برچسب جهت تشخیص نداشته و به صورت ریل تایم (یا در لحظه) نتایج را نشان می‌دهد. بیوسنسور SPR در مقایسه با روش‌های معمول تشخیص باکتری‌های پاتوژن مانند کشت باکتری، PCR و الایزا ساده‌تر و سریع‌تر می‌باشد. در مطالعات مختلف، بیوسنسور SPR برای تشخیص باکتری‌هایی چون اش‌ریشیا کلای (سویه O157:H7)، سالمونلا و لیستریا مونوسایتوزنز طراحی شده است (۱۱). در یک روش مبتنی بر SPR، علاوه بر ورق طلا، از لایه نازک گرافن نیز جهت تشخیص DNA

سایت‌های مجلاتی چون Sensors و Materials استفاده شد. برای جستجو، معادل انگلیسی واژگانی مانند "بیوسنسور"، "میکروارگانیزم"، "پاتوژن"، "باکتری"، "وایروس"، "تشخیص" در ترکیب با (عملگر And) واژگان "بیوسنسور نوری"، "رزونانس پلاسمون سطحی"، "اوانسنت"، "فایبر نوری"، "لومینسنت"، "پیزوالکتریک"، "بیوسنسور الکترونیک"، "بیوسنسور الکتروشیمیایی"، "نانوسیم"، "نانوذرات طلا"، "طلا" و "بیوسنسور حساس به جرم" با فیلتر عنوان یا عنوان/چکیده به کار برده شد. فیلتر سال انتشار مقالات از ۲۰۰۵ تا ۲۰۲۵ انتخاب شد. مطالعاتی وارد شدند که به نقش بیوسنسور در تشخیص میکروارگانیزم‌ها و نحوه طراحی آن پرداخته بودند.

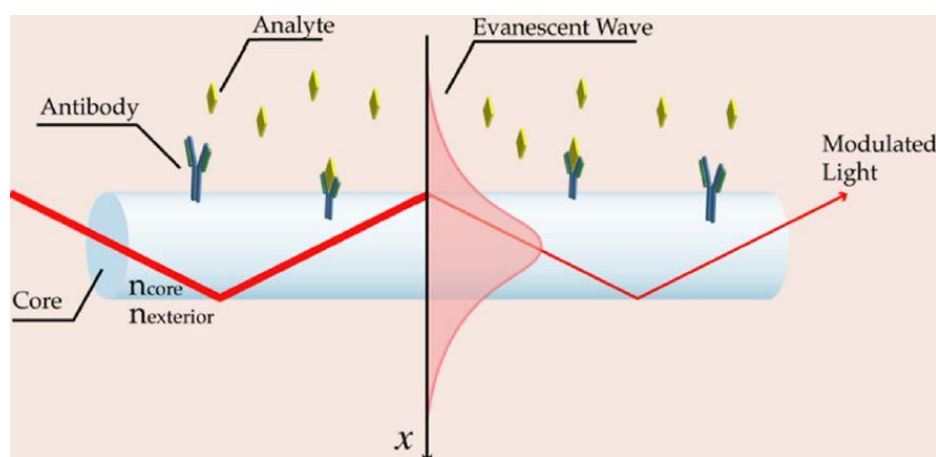
۳. نتایج

۳-۱. بیوسنسورهای نوری (اپتیکال)

این نوع بیوسنسور تغییرات در ویژگی‌های نور مانند ضریب شکست، جذب، فلوئورسنس و پراکندگی نور حاصل واکنش آنالیت و گیرنده را شناسایی و اندازه‌گیری می‌کند. متناسب با غلظت آنالیت و به واسطه گیرنده‌های چون انزایم، انتی‌بادی و غیره، سیگنال تولید شده و پروسس می‌شود (۶). سیگنال نوری در مقایسه با دیگر سیگنال‌های تولید شده (گرمایی، الکتریکال و ...) در دیگر بیوسنسورها، به دلیل داشتن ویژگی‌هایی چون حساسیت بالا، ایمن بودن در برابر اختلال گر خارجی، ثبات و نویز پایین، بیوسنسور نوری را بیشتر مورد توجه قرار می‌دهد. در نتیجه بیوسنسور نوری قابلیت قابل توجهی در تشخیص مواد بیولوژیکی داشته

از آن منعکس می‌شود. در حالی که قسمتی از آن عبور کرده و وارد قسمت محیطی با جنس متفاوت شده و ایجاد موجی الکترومقناطیسی به نام موج اوانسنت می‌کند. در بیوسنسورهای مرتبط، در سطح خارجی فایبر نوری انتی‌بادی قرار داده می‌شود تا به آنالیت در صورت وجود متصل شود. در صورت وجود آنالیت، در نور منعکس شده و همچنین موج اوانسنت تغییر به وجود آمده که توسط دستگاه آنالیز و شناسایی می‌شود. توانایی تشکیل موج اوانسنت در محیط اطراف با افزایش فاصله کاهش می‌یابد (شکل ۱) (۱۳)، بنابراین در صورتی که آنالیت مورد نظر باکتری باشد، از آنجایی که باکتری اندازه بزرگی دارد، موج اوانسنت در حالت عادی توانایی پوشش باکتری را نخواهد داشت. با تغییر در فایبر نوری از حالت صاف و مستقیم به شکل خمیده و U شکل، علاوه بر افزایش عمق موج اوانسنت، شدت آن نیز بیشتر شده که مجموعاً باعث شناسایی بهتر باکتری می‌شوند (۱۵).

مایکوباکتریوم توبرکلوزیس استفاده شده است. در این نوع، گرافن روی طلا قرار می‌گیرد و روی گرافن DNA تک رشته که مکمل DNA مایکوباکتریوم توبرکلوزیس بوده و به لیبیل یا برچسب از نوع طلا نانو اورچین (gold nano urchin = GNu) متصل می‌باشد. لیبیل GNu نقش تقویت کنندگی سیگنال را دارد. DNA روی گرافن به واسطه نیروی $\pi-\pi$ به گرافن متصل است. زمانی که نمونه حاوی DNA مایکوباکتریوم توبرکلوزیس داخل دستگاه جریان پیدا کند و به DNA روی گرافن متصل شود، به دلیل غلبه نیروی پیوند هایدروجنی دو رشته مکمل هم بر نیروی $\pi-\pi$ ، باعث جدا شدن DNA از گرافن شده و شدت سیگنال SPR کاهش می‌یابد. بنابراین در این مدل هر چقدر مقدار DNA مایکوباکتریوم توبرکلوزیس در نمونه بیشتر باشد، شدت SPR کاهش می‌یابد (۱۲). در روش اوانسنت مبتنی بر فایبر نوری، نور داخل فایبر تابیده شده و در هنگام برخورد به دیواره بخشی



شکل ۱. بیوسنسور اوانسنت فایبر نوری. نور تابیده شده به داخل فایبر در برخورد با دیواره منعکس شده و بخشی که از دیواره عبور کرده تشکیل موج اوانسنت می‌دهد. در صورت اتصال آنالیت به انتی‌بادی، تغییرات ایجاد شده در نور منعکس شده و موج اوانسنت سنجش شده و پی به وجود و مقدار آنالیت می‌برند.

بیوسنسورهای لومینسنت عموماً بر اساس فعالیت انزایم لوسیفراز طراحی می‌شوند. لوسیفراز با اکساید کردن مالیکول لوسیفیرین تولید نور می‌کند که توسط دستگاه می‌توان شناسایی کرد (۱۶). مالیکول‌های سیگنالی به نام دیگوانوزین مونوفسفات حلقوی (cyclic di-guanosine monophosphate = c-di-GMP) توسط برخی باکتری‌ها تولید می‌شوند که در تجمع و تشکیل بیوفیلم باکتریایی نقش دارند. Dippel و همکاران بیوسنسور لومینسنتی طراحی کرده‌اند که در آن پروتئین YcgR (به دست آمده از باکتری اش‌ریشیا کلای) به قسمت لوسیفرازی بیوسنسور متصل است. این پروتئین نقش گیرنده را داشته و با چسبیدن به c-di-GMP، این مالیکول را می‌تواند شناسایی کند (۱۷). سم اکراتوکسین (Ochratoxin)، سمی است که توسط قارچ‌ها تولید شده و مواد غذایی را آلوده می‌کند که این برای مصرف کنندگان از نظر صحتی مضر می‌باشد. در تحقیقی توسط Zangheri و همکاران، دستگاهی طراحی شده است که به واسطه مواد لومینسنت و انتی‌بادی ضد اکراتوکسین، این دستگاه توانایی شناسایی سم اکراتوکسین در نمونه‌هایی غذایی مانند قهوه و غیره را دارا است. نکته مورد توجه این است که شناساگر در این مورد تلفن هوشمند می‌باشد که لنز تلفن به این کارتریج متصل شده و با شناسایی رنگ لومینسنت حاصل، مقدار سم اکراتوکسین به دست می‌آید (۱۸).

۲-۳. بیوسنسور الکتروشیمیایی و الکترونیکی

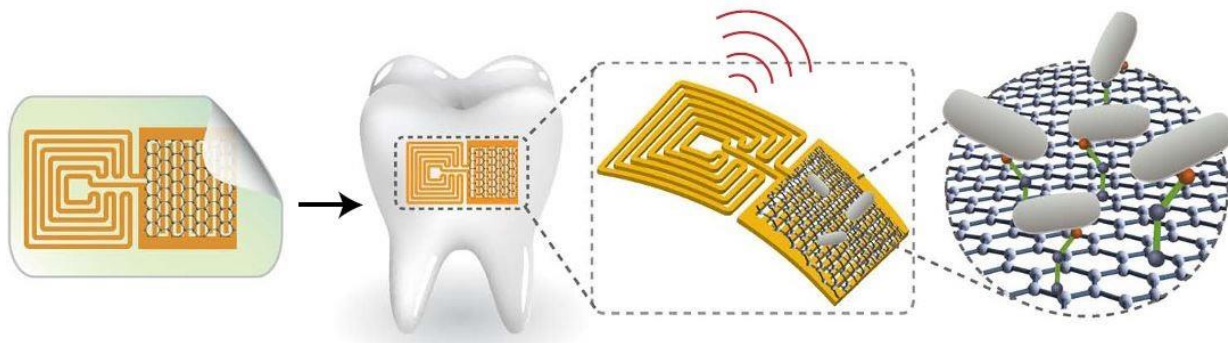
در این نوع بیوسنسورها از الکتروود رسانا و یا نیمه رسانا به عنوان مبدل استفاده می‌شود. قسمت گیرنده مانند دیگر بیوسنسورها انتی‌بادی، پروتئین، آپتامر و ... می‌تواند باشد که در بیوسنسورهای الکتروشیمیایی و الکترونیکی به مبدلی از نوع الکتروود متصل است. الکتروود می‌تواند به شکل مسطح، سیم، فایبر و یا به شکل نانو و جنس آن فلزی (طلا و پلاتینوم)، سرامیک رسانا و نیمه رسانا و ... باشد. طرحی کلی به این صورت است که نمونه حاوی آنالیت یا میکروارگانیزم وارد بیوسنسور می‌شود. بعد از اتصال آنالیت به گیرنده متصل به الکتروود، انرژی الکتریکی تولید شده و توسط دستگاه آنالیز می‌شود. نمونه‌های مختلفی از جمله آب دریاچه، رودخانه و چاه، هوا، انواع مواد غذایی، خون انسان و سایر جانداران را توسط این بیوسنسورها از نظر حضور میکروارگانیزم‌های مریضی‌زا می‌توان بررسی کرد (۱۹).

بیوسنسور الکترونیکی یکبار مصرف توسط Shawkat Ali و همکاران مورد بررسی و توسعه قرار گرفت که قابلیت شناسایی پاتوژن‌های غذایی مانند سالمونلا تیفی موریوم و اش‌ریشیا کلای را دارد. بیوسنسور از الکتروود شانه مانند از جنس نقره تشکیل شده که در فضای بین الکتروودها نیز نانوسیم‌هایی از جنس نقره حضور دارد که حساسیت تشخیص را بالا می‌برد. مجموعه الکتروود و نانوسیم بر روی ورقه نازکی از جنس پلاستیک شفاف و نرم قرار می‌گیرد که این پلاستیک توسط پریتنرهای خاص ساخته می‌شود. زمانی که نمونه‌های حاوی باکتری‌های مختلف با غلظت یکسان روی بیوسنسور ریخته می‌شود، ایمپدانس متفاوتی ایجاد می‌شود که بر اساس ایمپدانس،

نوع باکتری تشخیص داده می‌شود. تشخیص سریع و در لحظه، ارزان بودن، یکبار مصرف و قابل پرینت بودن این نوع بیوسنسور، از مزایای آن می‌باشند (۲۰). در مطالعه دیگری که توسط Yoo انجام شده است نیز به نقش نانوسیم‌ها در افزایش حساسیت قابل توجه بیوسنسورهای الکترونیکی اشاره شده است. نانوسیم این مطالعه از جنس طلا با قطر ۱۰۰ تا ۲۰۰ نانومتر و طول چند میکرومتر بوده که بر روی آن DNAهای مکمل DNA چهار قارچ آسپرژیلوس فومیگاتوس (*Aspergillus fumigatus*)، کاندیدا گلابراترا (*Candida glabrata*)، کاندیدا کروزی (*Candida Krusei*) و کریپتوکوکس نئوفورمنس (*Cryptococcus neoformans*) قرار گرفته است. بنابراین این بیوسنسور در واقع قابلیت تشخیص DNA چهار قارچ ذکر شده را دارد. به دلیل استفاده از نانو تکنولوژی (طراحی نانوسیم) حساسیت بیوسنسور بسیار بالا بوده به اندازه‌ای که حداقل مقدار DNA قابل تشخیص ۱۰۰ فمتو مولار می‌باشد (۲۱).

در علم نانو تکنولوژی، توجه به ساخت موادی است که حداقل یکی از ابعاد آن کمتر از ۱۰۰ نانومتر اندازه داشته باشد. یک ماده در اندازه نانو خواص فیزیکی و شیمیایی متفاوتی در مقایسه با مواد بزرگتر از خود داشته که دلیل آن افزایش نسبت سطح به حجم و اثر کوانتوم وابسته به اندازه می‌باشد. افزایش نسبت سطح به حجم در بیوسنسور متعاقباً باعث افزایش حساسیت به تغییرات شده که به خاطر افزایش سطح درگیر با آنالیت می‌باشد. نانوموادهای مختلفی ساخته شدند که شامل نانوسیم‌ها، کاربن نانوتیوب‌ها و نانوذرات می‌باشند. کاربن نانوتیوب‌ها روش ساخت سخت و کاربری محدودی داشته، اما نانوسیم‌ها آسانتر تولید شده و حساسیت بالایی نیز دارند (۲۲). در میان نانوپارسیکل‌ها، نانوپارسیکل طلا بیشترین استفاده را در بیوسنسورهای الکتروشیمیایی جهت شناسایی پاتوژن‌ها دارند. این به خاطر سازگاری و رسانایی (انتقال سریع الکترون‌ها بین محلول الکترولیتی و مبدل) بالای نانوپارسیکل طلا می‌باشد (۲۴). همچنین در صورتی که نانوپارسیکل طلا جدا از ساختار الکترود استفاده شود، نقش تقویت کنندگی سیگنال تشخیص را می‌تواند داشته باشد. نانوپارسیکل طلا را می‌توان به عنوان مبدل در آزمایشات شناسایی انتی‌جن - انتی‌بادی مانند الایزا به کار برد که علاوه بر نقش مبدل، نانوپارسیکل طلا با اتصال مقادیر بیشتری انتی‌بادی بر روی خود باعث افزایش سطح تشخیص می‌شود (۲۵).

Mannoor و همکاران بیوسنسوری طراحی کرده‌اند که در آن از پیپتاید ضد میکروبی به عنوان گیرنده استفاده شده است. پیپتاید ضد میکروبی بر روی صفحه‌ای از گرافن و طلا قرار گرفته که این صفحه متصل به قطعه‌ای است که ارتباط وایرلس با تلفن همراه و یا سایر دستگاه‌ها برقرار می‌کند. کل این مجموعه ورقه نازک است که بر سطح دندان قرار می‌گیرد. زمانی که باکتری مانند هلیکوباکتر پیلوری بر روی پیپتاید ضد میکروبی (گیرنده) قرار می‌گیرد، بیوسنسور به صورت وایرلس سیگنال می‌فرستد (شکل ۲) (۲۶).



شکل ۲. بیوسنسور الکترونیکی. این نوع بیوسنسور از صفحه نازکی از طلا تشکیل شده که گرافن بر روی آن قرار گرفته است. پیتاید ضد میکروبی روی گرافن، نقش گیرنده را دارد. بعد از اتصال باکتری هلیکوباکتر پیلوری به گیرنده، الکتروده که از جنس طلا است فعال شده و از طریق قسمت ماریچج مانند سیگنال وایرلس به تلفن همراه می‌فرستد و حضور و مقدار باکتری را اطلاع می‌دهد.

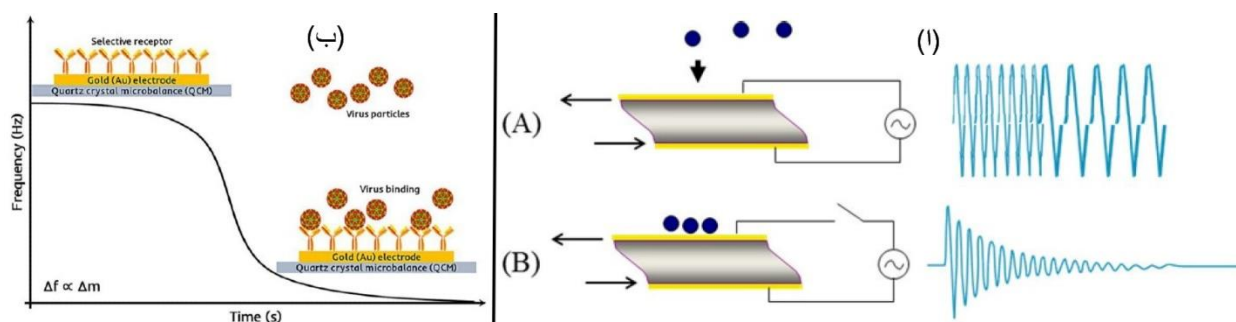
میکروارگانیزم‌ها می‌باشد. اتصال وایروس به انتی‌بادی سطح میکرو الکتروده، باعث تغییرات در ایمپدانس شده و توسط دستگاه اندازه‌گیری می‌شود. حجرات سرخ خون مرغ تمایل به اتصال به وایروس H5N1 دارند. اضافه کردن این حجرات به نمونه، باعث تشکیل کمپلکس بزرگتر از حجرات خونی مرغ، وایروس و انتی‌بادی شده که به تقویت سیگنال ایمپدانس کمک می‌کند (۲۷، ۲۸).

۳-۴. بیوسنسور حساس به جرم

جرم آنالیت مورد نظر در این بیوسنسور به واسطه اثر پیزو الکتریک سنجیده می‌شود که به این دلیل به این نوع بیوسنسورها، بیوسنسور پیزو الکتریک نیز گویند. مکانیزم فعالیت مبدل بیوسنسور حساس به جرم از طریق تبدیل فشار یا نیروی مکانیکی (مانند اثر جرمی آنالیت) به نیروی الکتریکی می‌باشد. به طور دقیقتر بیوسنسور از دو الکتروده تشکیل شده که در بین آن‌ها ماده‌ای با خاصیت پیزو الکتریک قرار دارد. ولتاژ متناوب داده شده به دو الکتروده بیوسنسور باعث تکان خوردن و نوسان ماده پیزو الکتریک شده و فرکانس

نوع دیگری بر اساس سنجش تغییرات ایمپدانس جهت شناسایی وایروس آنفلوانزای پرندگان زیر گروه H5N1 ساخته شده است. وایروس H5N1 باعث آلودگی در پرندگان از جمله مرغ، حیوانات اهلی و همچنین انسان می‌شود. میزان مرگ و میر موارد آلوده شده، در پرندگان ۱۰۰ فیصد و انسان ۶۰ فیصد است. این وایروس سابقه ایجاد پاندمی جهانی و ضررهای اقتصادی قابل توجه را دارد. روش تشخیص استاندارد طلایی برای H5N1، کشت و جداسازی وایروس و rRT-PCR می‌باشد. اما از آنجایی که این روش قیمت است و نیاز به زمان و تجهیزات دارد، روشی مانند سنجش ایمپدانس علاوه بر حساسیت و اختصاصیتی که دارد، سریع نیز انجام می‌شود. در بیوسنسور تشخیص دهنده H5N1 که مطابق با این روش طراحی شده است، از میکرو الکترودهایی از جنس طلا استفاده شده که بر روی آن انتی‌بادی ضد قسمت N1 وایروس قرار گرفته است. انتی‌بادی ضد قسمت H5 وایروس همراه با نمونه وجود دارد که نقش آن جداسازی وایروس از مابقی مالیکول‌ها و

میکروارگانیزم به آن به دلیل جرمی که دارد روی ماده پیزوالکتریک فشار آورده و باعث تغییر و کاهش فرکانس نوسان آن شده و مطابق آن به میزان آنالیت یا میکروارگانیزم پی برده می‌شود (شکل ۳) (۲۹، ۳۰).



شکل ۳. (ا) ماده پیزو الکتریک در بیوسنسور حساس به جرم، زمانی که آنالیت قرار نگرفته است، تحت ولتاژ دستگاه دارای فرکانس نوسان بیشتری است. زمانی که آنالیت شناسایی شد و روی الکترود قرار گرفت، به دلیل افزایش جرم و فشار، فرکانس نوسان ماده پیزو الکتریک کاهش پیدا می‌کند و مطابق با آن مقدار آنالیت سنجش می‌شود (۳۱). (ب) طرح کلی از بیوسنسور حساس به جرم جهت شناسایی وایروس. الکترود از جنس طلا و ماده پیزو الکتریک از کوارتز می‌باشد. با اتصال وایروس به انتی‌بادی روی الکترود و ایجاد جرم بیشتر، فرکانس نوسان کاهش پیدا کرده و مقدار وایروس سنجیده می‌شود (۳۰).

بیوسنسور شناسایی می‌کند. حداقل مقدار باکتری که بیوسنسور از نوع 4-NMBA و 4-TNM توانایی شناسایی دارد به ترتیب ۳.۷ CFU/mL و ۳ CFU/mL می‌باشد (۳۳). در مطالعه دیگری بیوسنسور کوارتزی و دارای گیرنده از نوع انتی‌بادی مونوکلونال جهت شناسایی سالمونلا تیفی موریوم (*Salmonella typhimurium*) طراحی شده بود. علاوه بر این روش که مستقیم است روش‌های دیگر مانند ساندویچ و ساندویچ کونژوگه با نانوپارتیکل طلا نیز استفاده کرده بودند. در روش ساندویچ، انتی‌بادی پلی کلونال ثانویه که آزاد است و متصل به بیوسنسور نیست نیز اضافه می‌شود تا با اتصال به قسمت دیگر باکتری باعث شناسایی دقیق‌تر به خاطر افزایش جرم شود. در

مواد مختلفی اثر پیزو الکتریکی دارند که شامل کوارتز، تورمالین (tourmaline)، لیتیوم نیوبات (lithium niobate)، زینک اکساید و آلومینیوم نیتريد می‌باشد که کوارتز بیشتر رایج است (۳۲). در مطالعه‌ای که توسط Eshun و همکاران انجام شده است، از کوارتز و طلا در صفحه بیوسنسور استفاده شده است. بر روی صفحه بیوسنسور به جای انتی‌بادی، مشتقات قند مانوز مانند ۴-ان-مانوزیل بنزوئیک اسید (4-N-mannosyl benzoic acid = 4-) و ۴-تیوفنیل-ان-مانوز (4-thiophenyl-NMBA) و ۴-تیوفنیل-ان-مانوز (4-thiophenyl-N-mannose = 4-TNM) به کار برده شده است که این قندها به عنوان لیگاند به پپلی نوع ۱ (FimH) /شریشیا کلای متصل شده و این باکتری را در

RT-PCR و غیره، به مرور زمان وسایل تشخیصی چون بیوسنسور در حال مطرح شدن هستند. روش‌های استاندارد نیاز به زمان و هزینه بالا دارند اما بیوسنسور در لحظه (Real time) و با هزینه پایبندی نتیجه آزمایش را مشخص می‌کند. آسان بودن استفاده از بیوسنسور از دیگر مزایای آن است که مثال آن ارسال سیگنال و اطلاعات به صورت وایرلس به تلفن همراه در لحظه تشخیص باکتری و یا استفاده از لنز تلفن همراه در تشخیص رنگ حاصل از واکنش میکروارگانیزم با اجزای بیوسنسور می‌باشد. همچنین نمونه‌های متفاوت از آب دریاچه و رودخانه تا مواد غذایی و نمونه‌های حیوانی و انسانی مانند خون و غیره، قابل استفاده در بیوسنسور هستند که قابلیت آن را نشان می‌دهند.

صورتی که انتی‌بادی ثانویه متصل به نانوپارتیکل طلا باشد، جرم بیشتر شده و حداقل مقدار باکتری که بیوسنسور می‌تواند شناسایی کند کاهش پیدا می‌کند و به عبارتی به مقادیر کمتر باکتری بیوسنسور حساستر می‌شود. به همین خاطر در این مطالعه آستانه (حداقل مقدار) شناسایی در مدل مستقیم 183 CFU/mL ، در مدل ساندویچ 101 CFU/mL و در مدل ساندویچ کوئزوگه با نانوپارتیکل طلا $10-20 \text{ CFU/mL}$ گزارش شده است که بنابراین در مدل آخر بیوسنسور بیشترین حساسیت را دارد (۳۴).

نتیجه‌گیری

امروزه با وجود روش‌های دقیق و استاندارد طلایی (gold standard) جهت تشخیص میکروارگانیزم‌ها، مانند کشت، الایزا، روش‌های مالیکولی چون PCR و

1. Bhalla N, Jolly P, Formisano N, Estrela P. Introduction to biosensors. *Essays in biochemistry*. 2016;60(1):1-8.
2. Heineman WR, Jensen WB, Leland C, Clark Jr. (1918–2005). *Biosensors and Bioelectronics*. 2006;21(8):1403-4.
3. Malik S, Singh J, Goyat R, Saharan Y, Chaudhry V, Umar A, et al. Nanomaterials-based biosensor and their applications: A review. *Heliyon*. 2023;9(9):e19929.
4. Nayak M, Kotian A, Marathe S, Chakravorty D. Detection of microorganisms using biosensors-a smarter way towards detection techniques. *Biosensors & bioelectronics*. 2009;25(4):661-7.
5. Haleem A, Javaid M, Singh RP, Suman R, Rab S. Biosensors applications in medical field: A brief review. *Sensors International*. 2021;2:100100.
6. Garzón V, Pinacho DG, Bustos RH, Garzón G, Bustamante S. Optical Biosensors for Therapeutic Drug Monitoring. *Biosensors*. 2019;9(4).
7. Chen C, Wang J. Optical biosensors: an exhaustive and comprehensive review. *The Analyst*. 2020;145(5):1605-28.
8. Damborský P, Švitel J, Katrlík J. Optical biosensors. *Essays in biochemistry*. 2016;60(1):91-100.
9. Nguyen HH, Park J, Kang S, Kim M. Surface plasmon resonance: a versatile technique for biosensor applications. *Sensors (Basel, Switzerland)*. 2015;15(5):10481-510.
10. Piliarik M, Vaisocherová H, Homola J. Surface plasmon resonance biosensing. *Methods in molecular biology (Clifton, NJ)*. 2009;503:65-88.
11. Huang CJ, Knoll W, Sessitsch A, Dostalek J. SPR bacterial pathogen biosensor: the importance of fluidic conditions and probing depth. *Talanta*. 2014;122:166-71.
12. Prabowo BA, Alom A, Secario MK, Masim FCP, Lai H-C, Hatanaka K, et al. Graphene-based Portable SPR Sensor for the Detection of Mycobacterium tuberculosis DNA Strain. *Procedia Engineering*. 2016;168:541-5.
13. Rafael V-B, Esmeralda R-M, Gabriel H-P. Evolution and Expectations of Enzymatic Biosensors for Pesticides. In: Soundararajan RP, editor. *Pesticides*. Rijeka: IntechOpen; 2012. p. Ch. 14.
14. Soares MS, Vidal M, Santos NF, Costa FM, Marques C, Pereira SO, et al. Immunosensing Based on Optical Fiber Technology: Recent Advances. *Biosensors*. 2021;11(9):305.
15. Bharadwaj R, Sai VV, Thakare K, Dhawangale A, Kundu T, Titus S, et al. Evanescent wave absorbance based fiber optic biosensor for label-free detection of E. coli at 280 nm wavelength. *Biosensors & bioelectronics*. 2011;26(7):3367-70.
16. Yeh HW, Ai HW. Development and Applications of Bioluminescent and Chemiluminescent Reporters and Biosensors. *Annual review of analytical chemistry (Palo Alto, Calif)*. 2019;12(1):129-50.

17. Dippel AB, Anderson WA, Evans RS, Deutsch S, Hammond MC. Chemiluminescent Biosensors for Detection of Second Messenger Cyclic di-GMP. *ACS chemical biology*. 2018;13(7):1872-9.
18. Zangheri M, Di Nardo F, Calabria D, Marchegiani E, Anfossi L, Guardigli M, et al. Smartphone biosensor for point-of-need chemiluminescence detection of ochratoxin A in wine and coffee. *Analytica Chimica Acta*. 2021;1163:338515.
19. Cesewski E, Johnson BN. Electrochemical biosensors for pathogen detection. *Biosensors & bioelectronics*. 2020;159:112214.
20. Ali S, Hassan A, Hassan G, Eun C-H, Bae J, Lee CH, et al. Disposable all-printed electronic biosensor for instantaneous detection and classification of pathogens. *Scientific Reports*. 2018;8(1):5920.
21. Yoo SM, Kang T, Kang H, Lee H, Kang M, Lee SY, et al. Combining a nanowire SERRS sensor and a target recycling reaction for ultrasensitive and multiplex identification of pathogenic fungi. *Small* (Weinheim an der Bergstrasse, Germany). 2011;7(23):3371-6.
22. Wang Z, Lee S, Koo Ki, Kim* K. Nanowire-Based Sensors for Biological and Medical Applications. *IEEE Transactions on NanoBioscience*. 2016;15(3):186-99.
23. Liao Z, Wang J, Zhang P, Zhang Y, Miao Y, Gao S, et al. Recent advances in microfluidic chip integrated electronic biosensors for multiplexed detection. *Biosensors & bioelectronics*. 2018;121:272-80.
24. Vu QK, Tran QH, Vu NP, Anh T-L, Dang TTL, Matteo T, et al. A label-free electrochemical biosensor based on screen-printed electrodes modified with gold nanoparticles for quick detection of bacterial pathogens. *Materials Today Communications*. 2021;26:101726.
25. Davis D, Guo X, Musavi L, Lin C-S, Chen S-H, Wu VC. Gold nanoparticle-modified carbon electrode biosensor for the detection of *Listeria monocytogenes*. *Industrial biotechnology*. 2013;9(1):31-6.
26. Mannoor MS, Tao H, Clayton JD, Sengupta A, Kaplan DL, Naik RR, et al. Graphene-based wireless bacteria detection on tooth enamel. *Nature Communications*. 2012;3(1):763.
27. Lum J, Wang R, Lassiter K, Srinivasan B, Abi-Ghanem D, Berghman L, et al. Rapid detection of avian influenza H5N1 virus using impedance measurement of immuno-reaction coupled with RBC amplification. *Biosensors and Bioelectronics*. 2012;38(1):67-73.
28. Chen Y-S, Huang C-H, Pai P-C, Seo J, Lei KF. A Review on Microfluidics-Based Impedance Biosensors. *Biosensors*. 2023;13(1):83.
29. Pohanka M. Overview of Piezoelectric Biosensors, Immunosensors and DNA Sensors and Their Applications. *Materials* (Basel, Switzerland). 2018;11(3).
30. Afzal A, Mujahid A, Schirhagl R, Bajwa SZ, Latif U, Feroz S. Gravimetric Viral Diagnostics: QCM Based Biosensors for

-
- Early Detection of Viruses. Chemosensors. 2017;5(1):7.
31. McNew CP, Kananizadeh N, Li Y, LeBoeuf EJ. The attachment of colloidal particles to environmentally relevant surfaces and the effect of particle shape. Chemosphere. 2017;168:65-79.
 32. Samota S, Rani R, Chakraverty S, Kaushik A. Biosensors for simplistic detection of pathogenic bacteria: A review with special focus on field-effect transistors. Materials Science in Semiconductor Processing. 2022;141:106404.
 33. Eshun GB, Crapo HA, Yazgan I, Cronmiller L, Sadik OA. Sugar-Lectin Interactions for Direct and Selective Detection of Escherichia coli Bacteria Using QCM Biosensor. Biosensors. 2023;13(3).
 34. Salam F, Uludag Y, Tothill IE. Real-time and sensitive detection of Salmonella Typhimurium using an automated quartz crystal microbalance (QCM) instrument with nanoparticles amplification. Talanta. 2013;115:761-7.

Evaluation of the Effects of Aqueous Extract of Afghan Saffron on Morphine Withdrawal Symptoms in Rats

Elham Akbari^{1*}

1. Neuroscience research center, Kavosh institute, Kabul, Afghanistan

Email: Elhamakbai500@gmail.com Phone: 0701637645

Abstract

Introduction: Substance dependence is a global health concern with significant individual, economic, social, and medical consequences. Despite their efficacy, synthetic pharmacotherapies are often associated with undesirable adverse effects. Due to their lower cost, reduced side effects, and potential therapeutic role at various stages of addiction treatment, medicinal plants have drawn increasing attention from researchers in the field of health sciences. This study aimed to investigate the effects of the aqueous extract of *Crocus sativus* (Afghan saffron) on naloxone-precipitated withdrawal syndrome in morphine-dependent rats.

Materials and Methods: Morphine dependence was induced through subcutaneous administration over seven days in 13 incremental doses. The extract-treated groups received the aqueous saffron extract intraperitoneally at doses of 100, 150, and 200 mg/kg concurrently with morphine. To precipitate withdrawal syndrome, naloxone (3 mg/kg, i.p.) was administered two hours after the final morphine injection, and withdrawal behaviors were observed and recorded for 30 minutes.

Results: The findings demonstrated that the aqueous extract of *Crocus sativus* at doses of 100 and 150 mg/kg significantly attenuated withdrawal symptoms in morphine-dependent rats ($P < 0.05$).

Conclusion: The beneficial effects may be attributed to the extract's modulatory influence on the GABAergic and dopaminergic neurotransmitter systems, as well as its anti-inflammatory and antioxidant properties.

Keywords: *Crocus sativus*, Afghanistan, Morphine Dependence, Withdrawal Syndrome, Rats.

بررسی اثرات عصاره آبی زعفران افغانستان بر علایم ترک مورفین در موش‌های صحرایی

الهام اکبری^{۱*}

^۱ مرکز تحقیقات علوم اعصاب، مؤسسه‌ی کاوش، کابل، افغانستان

*ایمیل: Elhamakbai500@gmail.com تماس: ۰۷۰۱۶۳۷۶۴۵

چکیده

مقدمه: وابستگی به مواد مخدر به عنوان مشکلی جهانی، پیامدهای ناگوار فردی، اقتصادی، اجتماعی و صحتی متعددی را به دنبال دارد. دواهای کیمیاوی با تمام کارایی خود، دارای عوارض جانبی ناگوار و نامطلوبی هستند. نباتات طبی به دلیل داشتن هزینه و عوارض جانبی کم‌تر و نیز تأثیرگذاری بر مراحل مختلف تداوی وابستگی، توجه محققان عرصه سلامت را به خود جلب کرده‌اند. در این مطالعه، اثر عصاره آبی زعفران افغانستان بر سندرم ترک در موش‌های وابسته به مورفین بررسی گردید.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق، وابستگی با تزریق زیرپوستی مورفین به مدت ۷ روز در ۱۳ نوبت در گروه‌های دریافت‌کننده مورفین و عصاره ایجاد شد. گروه‌های عصاره، هم‌زمان با مورفین، عصاره آبی زعفران را با دوزهای ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم/کیلوگرم به صورت داخل صفاقی دریافت کردند. به منظور ایجاد سندرم ترک در موش - های وابسته به مورفین، نالوکسان (با دوز ۳ میلی گرم/کیلوگرم به صورت داخل صفاقی) دو ساعت پس از آخرین تزریق مورفین، تزریق گردید. سپس سندرم ترک به مدت ۳۰ دقیقه در موش‌ها مشاهده و ثبت شد.

نتایج: نتایج به دست آمده نشان دادند که عصاره آبی زعفران افغانستان در دوزهای ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم/کیلوگرم سبب کاهش معنی دار سندرم ترک در موش‌های وابسته به مورفین می‌گردد ($P < 0.05$).

بحث: به نظر می‌رسد که اثرات مثبت عصاره آبی زعفران در کاهش سندرم ترک، ناشی از تأثیر آن بر سیستم‌های نیوروترانسمیتری گاباآرژیک و دوپامینرژیک و نیز اثرات ضد التهابی و ضد اکسیداتی آن باشد.

واژه‌های کلید: زعفران، افغانستان، مورفین، سندرم ترک، موش صحرایی.

۱. مقدمه

در گزارش‌های متعددی آمده که زعفران و سیستم اپیویدی دارای تأثیرات متقابل بر یکدیگر می‌باشند (۱، ۲). مطالعات نشان داده‌اند که زعفران و ترکیبات آن می‌تواند تغییر رفتار ناشی از مورفین را مهار نمایند. هم‌چنین، در مناطق مختلف جغرافیایی ثابت شده که عصاره زعفران، سندرم ترک را در موش‌های نروابسته به مورفین بهبود می‌بخشد (۲). با این حال، هیچ مطالعه‌ای در مورد تأثیر زعفران بومی افغانستان بر سندرم ترک موش‌های وابسته به مورفین صورت نگرفته است. هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثر زعفران افغانستان بر سندرم ترک مورفین می‌باشد. این مطالعه، اثر عصاره آبی زعفران افغانستان را با استفاده از روش مطالعه رفتاری بر سندرم ترک در موش‌های ماده صحرایی وابسته به مورفین بررسی می‌نماید.

وابستگی به اپیویدها یک مشکل جهانی است که پیامدهای ناگوار فردی، اجتماعی، اقتصادی و صحتی متعددی را به دنبال دارد (۳). این مشکل، به صورت اختلال مزمنی تعریف می‌شود که ویژگی آن تظاهر علائم فیزیکی و روان‌شناختی نظیر میل شدید و مصرف نامحدود دوا می‌باشد (۱). اپیویدها دواهای مهم و ضروری در کنترل درد هستند که به طور گسترده‌ای برای کنترل درد حاد و شدید ناشی از تروما، سوختگی‌های وسیع یا جراحی و هم‌چنین درد مزمن استفاده می‌شوند (۳-۵).

مورفین، اپیویدی مهم و یکی از ۴۰ الکالوئید اصلی تریاک است که در سال ۱۸۰۵ میلادی از گیاه

تریاک به دست آمد. این ماده، به عنوان یکی از قویترین ترکیبات ضد درد تریاک شناخته شده و استفاده کلینیکی گسترده‌ای دارد (۴، ۶). با این حال، استفاده طولانی مدت یا مکرر مورفین منجر به کاهش اثر ضد درد و ایجاد مقاومت در برابر آن شده و نیاز به افزایش دوز دوا بیش تر می‌شود. این مقاومت، به تدریج افزایش یافته و سرانجام تحمل و وابستگی به دوا ایجاد خواهد شد (۵، ۷). سندرم ترک در انسان و حیوان وابسته به مورفین، به دنبال قطع مصرف دوا نمایان می‌گردد که به صورت علائمی نظیر کج خلقی، اضطراب و نگرانی، بیم و هراس، درد عضلانی و شکمی، ناامیدی و دل‌سردی، دل‌بندی، اسهال، یبوست، سرکوب سیستم تنفسی، خمیازه‌های مکرر، اشک‌ریزی مکرر، تکرر عرق، بی‌خوابی، ضعف عمومی بدن، عطسه کردن، آبریزش بینی تظاهر می‌نماید (۸، ۹).

گرچه کارشویه‌های مالیکولی وابستگی به مورفین و سندرم ترک تا هنوز به طور کامل شناخته نشده، ولی احتمال می‌رود که پیامدهای رفتاری و عصبی - کیمیاوی آن‌ها ناشی از سازگاری چندین سیستم نیوروترانسمیتری در نواحی متعدد مغز به دنبال تجویز مکرر باشند (۱۰). ارتباط نزدیکی بین این سیستم‌های نیوروترانسمیتری وجود داشته، تغییر در یکی از آن‌ها موجب تغییر در سایر سیستم‌ها نیز خواهد شد (۱۱). به خوبی دانسته شده که تجویز مورفین از طریق

به علاوه سیستم های دوپامینرژیک و گابارژیک، سیستم های نیوروترانسمیتری متعدد دیگری نظیر سیستم های کولینرژیک، سروتونرژیک و نورادرینرژیک نیز نقش مهمی را در ایجاد سندرم ترک ایفا می نمایند (۱۰، ۱۱). از جمله، پیشنهاد شده که تغییر در نیوروبیولوژی نیورون های نورادرینرژیک در لوکوس سرولئوس^۷ در ایجاد علایم ترک دخیل هستند. به طوری که قطع اپیویدها سبب افزایش آزادسازی نوراپی نفرین به وسیله لوکوس سرولئوس می شود (۳). هم چنین، آزادسازی نوراپی نفرین در هسته اکمبنس به وسیله گیرنده های تحریکی و مهارتی دوپامینرژیک تنظیم می گردد (۱۸).

تداوی وابستگی به مورفین از گذشته ها بدین سو به عنوان مشکلی جدی مطرح بوده است. تظاهر سندرم ترک و عدم تداوی کامل، یکی از مشکلات شایع می باشد. گرچه ادویه برای تداوی و پیشگیری از وابستگی و سندرم ترک استفاده می شوند، ولی مطالعات چند دهه اخیر نشان داده اند که دواهای صنعتی مورد استفاده برای تداوی این سندرم، عوارض جانبی ناگوار و نامطلوبی را به همراه داشته و مؤثریت چندانی ندارند. از سویی دیگر، خوشبختانه نباتات طبی دارای مواد مؤثره طبیعی می باشند که می توانند با هزینه و عوارض جانبی کم تر، بر فعالیت های بیوشیمیایی بدن، از جمله بر سندرم ترک و تداوی وابستگی تأثیر بگذارند (۱۹).

گیرنده های اپیویدی میو^۱ در نیورون های گابارژیک ماده سیاه^۲ و ناحیه تگمتال شکمی^۳، بر نیورون های دوپامینی تأثیر می گذارد. اگونیست های گیرنده های میو، آزادسازی گابا را مهار نموده و لذا سبب برداشت اثرات مهاری از نیورون های دوپامینرژیک می شوند، بدین وسیله فعالیت نیورون های دوپامینرژیک افزایش می یابد. شواهد نشان داده اند که اثرات تقویتی اپیویدها در اصل به وسیله گیرنده های گابا B در نیورون های دوپامینرژیک وساطت می شود. نیورون های دوپامینی ناحیه تگمتال شکمی، نقشی مرکزی را در بروز رفتارهای برانگیختگی، فرآیند ذاتی ترک و ایجاد وابستگی ایفا می نمایند. در مقابل، فعالیت حجرات دوپامینی ناحیه تگمتال شکمی طی ترک مورفین، به طور چشم گیری کم می شود. چنین پیشنهاد شده که افزایش آزادسازی و فعالیت گابا پس از ترک مورفین، سبب مهار فعالیت حجرات دوپامینی و کاهش دوپامین در هسته اکمبنس^۴ می گردد. این اعمال که در نیورون های بینابینی گابا رخ می دهند، در ایجاد علایم رفتاری ترک مورفین دخیل اند. به علاوه سیستم گابارژیک ناحیه تگمتال شکمی، سیستم گابارژیک کمپلکس امیگدالوئید^۵ نیز در ترک مورفین دخیل است، زیرا هسته مرکزی امیگدال^۶ که جنبه های برانگیختگی ترک مورفین را وساطت می کند، به وسیله نیورون های گابارژیک منشأ گرفته از هسته سرخ استریاتر مینالیس تنظیم می گردد (۱۲-۱۷).

⁵ Amigdaloid complex

⁶ Central nucleus of amigdala

⁷ Locus coeruleus

¹ μ -opioid receptor

² Substantia nigra

³ Ventral tegmental area

⁴ Nucleus accumbens

یکی از نباتات طبی مفید و معروف، گیاه زعفران با نام علمی *Crocus sativus L.* می‌باشد. این گیاه از خانواده Iridaceae بوده و جنس *Crocus*، حدود ۹۰ گونه دارد. این گیاه علفی و چند ساله که به‌عنوان پادشاه دواهای جهان نیز معروف است، بومی کشورهای جنوب غربی آسیا می‌باشد (۲۰-۲۲). امروزه، این گیاه به‌طور عمده در کشورهای افغانستان، ایران، یونان، اسپانیا، ایتالیا و هند یافت می‌شود (۲۲، ۲۳). زعفران دارای سه ترکیب کلیدی شناخته‌شده، از جمله کروسین^۱، پیکروکروسین^۲ و سافرانال^۳ می‌باشد. گزارش شده است که این سه جزء، به‌ترتیب مسوول رنگ، طعم و عطر زعفران هستند (۲۳). سایر ترکیبات کیمیاوی زعفران شامل بیش از ۱۵۰ نوع روغن فرار، روغن‌های غیرفرار از جمله کاروتنوئیدها، لکوپین و کاروتین‌های الفا و بیتا و ترکیبات معطر می‌باشند. همچنین، ویتامین‌هایی نظیر ریوفلاوین و تیامین نیز در ترکیب زعفران وجود دارند (۲۲).

اثرات فارماکولوژیکی زعفران شامل کاهش قند خون (۲۴، ۲۵)، کاهش چربی و کلسترول خون (۲۶)، ضد میکروب (۲۷، ۲۸)، دیورتیک (۲۹)، ضد افسردگی (۳۰)، جلوگیری از تخریب حافظه (۳۱)، ضد درد (۳۲)، ضد التهاب و ضد اکسیدانت (۳۳) و کاهش سندرم ترک مورفین (۲) می‌باشند. مطالعات متعددی در مناطق مختلف جغرافیایی در مورد تأثیر عصاره زعفران و ترکیبات جداشده از آن بر جنبه‌های مختلف وابستگی به مورفین صورت گرفته است، این

مطالعات نشان داده‌اند که عصاره‌ی گیاه زعفران و نیز ترکیب کروسین آن در پیش‌گیری از سندرم ترک در موش‌های وابسته به مورفین و کاهش درد مؤثراند (۲، ۳۴). با این حال، تحقیقات نشان داده‌اند که شرایط آب و هوایی و نیز موقعیت جغرافیایی نباتات بر مقدار ترکیبات و در نتیجه بر کیفیت تأثیر مؤثر است (۳۵، ۳۶)، لذا سوال پیش می‌آید که زعفران افغانستان با وجود تأثیرپذیری از شرایط آب و هوایی، چه تأثیری بر سندرم ترک در موش‌های صحرایی وابسته به مورفین خواهد داشت. تحقیق حاضر به حل این پرسش می‌پردازد، به‌طوری‌که اثر عصاره آبی زعفران افغانستان را با استفاده از روش رفتاری شمارش علائم ترک ناشی از تزریق نالوکسان در موش‌های ماده‌ی صحرایی بررسی می‌نماید.

۲. مواد و روش‌ها

مواد مورد نیاز و روش انجام این مطالعه به شرح زیر است:

۲-۱. مواد

مواد و وسایل مورد نیاز برای این مطالعه شامل مورفین‌هایدروکلوراید (idol ilaç Dolum San. and Tic. A.S. Topkapı-iSTANBUL)، نالوکسان‌هایدرو-کلوراید (toliddaru Pharma. Co. Tehran-Iran)، زعفران (خواجه‌سربر هرات) و سلندر شیشه‌ی می-باشند.

³ Safranal

¹ Crucin

² Picrocrucin

کنترل، به ترتیب نرمال سالین و مورفین دریافت نمودند. گروه‌های باقی‌مانده با دریافت دوزهای ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره به صورت داخل صفاقی، به ترتیب گروه‌های سوم تا پنجم را تشکیل دادند.

۲-۲-۲. روش عصاره‌گیری: گیاه زعفران به صورت تازه از منطقه خواجه سربر ولایت هرات جمع‌آوری گردید. سپس به دور از نور آفتاب در محیط لابراتوار خشک شده و پودر گردید. عصاره آبی گیاه زعفران با روش خیساندن آماده شد. به طوری که ۴ گرم از پودر کلالة زعفران در ۵۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر خیسانده شده و به مدت ۷۲ ساعت در دمای اتاق نگهداری گردید. سپس قسمت سوپرناتانت با استفاده از ستریفیوژ جدا شد. در این مرحله، محلول از فیلتر واتمن عبور داده شده و در ظرف‌های شیشه‌ساعت در آون با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گرید گذاشته شد تا آب آن تبخیر گردد. عصاره‌ی به دست آمده، عصاره‌ی تام مورد استفاده در تحقیق بود (۲، ۳۸).

۲-۲-۳. ایجاد وابستگی به مورفین: مورفین-هایدروکلوراید به مدت هفت روز با دوزهای افزایشی به موش-ها تزریق شد. موش-ها در روزهای اول تا ششم به ترتیب ۲/۵، ۲/۵، ۵، ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم/کیلوگرم روزانه دو بار و در روز هفتم تک دوز ۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم مورفین را به صورت زیرپوستی دریافت نمودند (۳۹).

۱-۱-۲. حیوانات: در این مطالعه از موش‌های ماده صحرایی سفید نژاد اسپراگ با وزن تقریبی ۱۵۰-۲۰۰ گرم استفاده شد. ۳۰ سر موش از میان جمعیت موش‌های سالم موجود در حیوان‌خانه مرکز پژوهش و فن‌آوری دانشگاه خاتم‌النبین^(ص) انتخاب گردیدند. تمامی موش‌ها در قفسه‌های مخصوص پلاکسی‌گلاس با ابعاد ۳۰×۴۰×۱۵ سانتی‌متر و در محیطی با شرایط کنترل شده در دوره‌های تکراری ۱۲ ساعت روشنی و ۱۲ ساعت تاریکی (چرخه روشنی ساعت ۷ صبح شروع می‌شود)، با دمای تقریبی 23 ± 2 درجه سانتی-گرید نگهداری شده و از نظر دسترسی به آب و غذا محدودیتی نداشتند. نگهداری حیوانات و رفتار با آن‌ها مطابق با راهنمای اخلاقی ذکر شده در ویرایش هشتم کتاب راهنمای انستیتوت ملی سلامت^۱ (NIH) برای نگهداری و استفاده از حیوانات تجربی^۲ (۳۷) و زیر نظر کمیته اخلاق دانشگاه خاتم‌النبین^(ص) صورت گرفت. تمام حیوانات با احتیاط همدل گردیدند تا اعمال استرس ناخواسته به کم‌ترین حد برسد.

۲-۲. روش‌ها

زیر عنوان روش‌ها به گروه‌های آزمایشی، روش عصاره‌گیری، ایجاد وابستگی، سنجش سندرم ترک وابستگی، پروتکل انجام آزمایش و تحلیل آماری پرداخته می‌شود.

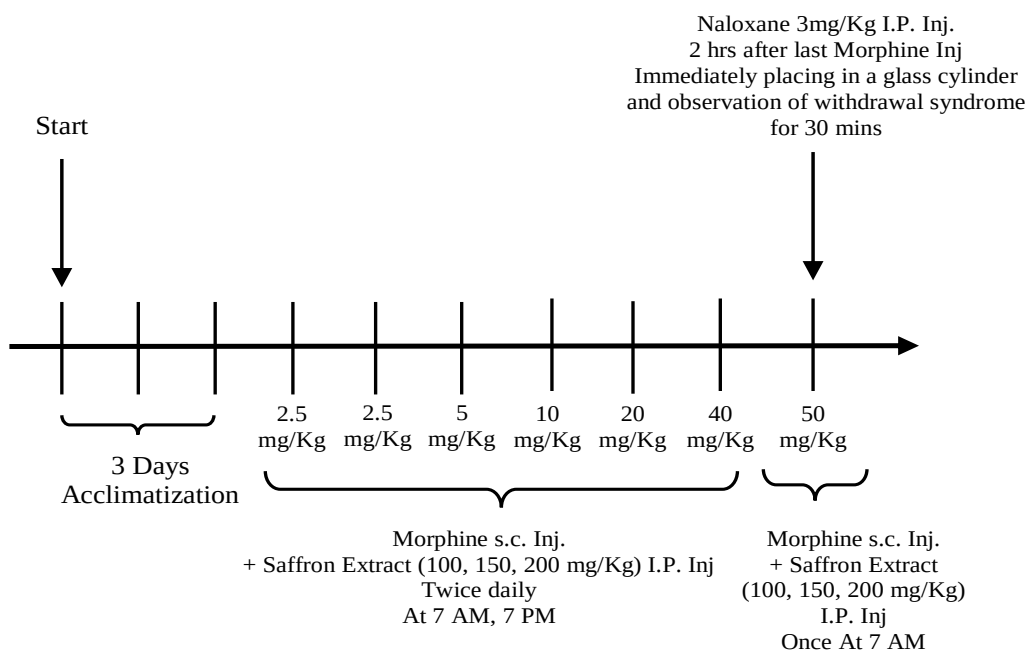
۱-۲-۲. گروه‌های آزمایشی: موش‌ها به طور تصادفی به پنج گروه که هر گروه شامل شش سر موش بود، تقسیم شدند. گروه‌های اول و دوم به عنوان گروه‌های

² National Institutes of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals, 8th edition, 2011

¹ National Institutes of Health

علائمی نظیر پرش، ایستادن روی دو پا، دندان قروچه، افتادگی پلک و نظایر آن در موش-ها مشاهده گردیدند. علائم کمی (ایستادن روی دو پا و دندان قروچه) شمارش شده و علامت کیفی (افتادگی پلک) نمره-دهی شد (۴۰).

۲-۲-۴. ایجاد و سنجش سندرم ترک مورفین: دو ساعت پس از تزریق آخرین دوز مورفین، به همه گروه‌ها (به جز گروه دریافت‌کننده نرمال‌سالین)، نالوکسان با دوز ۳ میلی‌گرم/کیلوگرم به صورت داخل صفاقی تزریق گردید. سپس هر موش بلافاصله به مدت ۳۰ دقیقه در سیلندر شیشه‌ای قرار داده شد و



شکل ۱. تایم‌لاین آزمایش گروه‌های دریافت‌کننده عصاره‌ی آبی زعفران با دوزهای ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم

۳. نتایج

۳-۱. اثرات زعفران بر ایستادن روی دو پا: چنانچه در شکل ۲A نشان داده شده، در مقایسه داده‌های به دست آمده از گروه‌های کنترل و مورفین از نظر تعداد ایستادن روی دو پا، گروه مورفین نشان از افزایش تعداد این علامت به دنبال تزریق نالوکسان دارد. میانگین تعداد ایستادن روی دو پا در گروه کنترل و مورفین، به ترتیب ۷/۶۶۷ و ۱۷/۰۰ به دست

۲-۲-۶. تحلیل آماری: تحلیل آماری اطلاعات

به دست آمده توسط نرم‌افزار گراف‌پدپریزم^۱ (ورژن ۶/۰۷) انجام شد. برای مقایسه داده‌های به دست آمده از دو گروه، از آزمون آماری T-test و برای مقایسه داده‌های به دست آمده از چند گروه، از آزمون آماری One-Way ANOVA استفاده گردید. در تمام آزمایشات انجام شده توسط این نرم‌افزار، سطح معنی‌داری $P < 0.05$ در نظر گرفته شد.

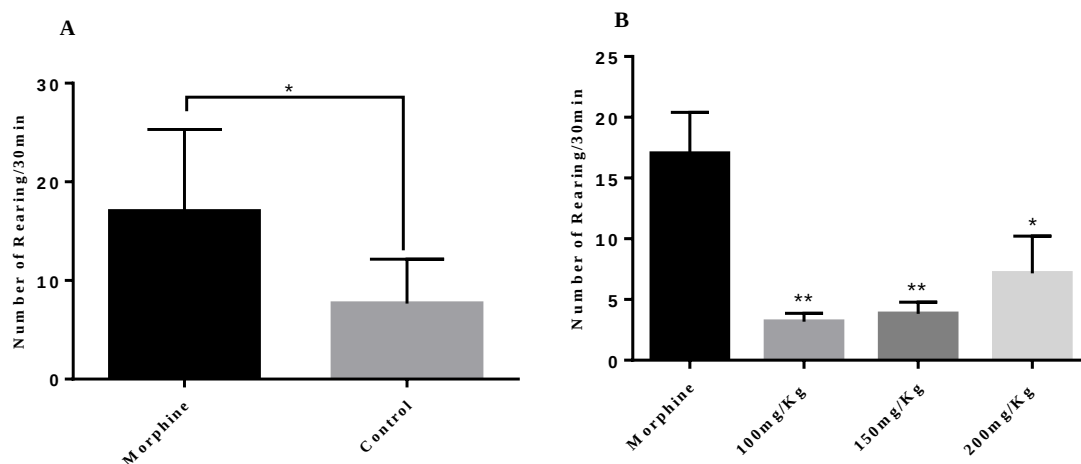
¹ Graph pad Prism 6.07

آمد که از نگاه آماری معنی دار است. به همین ترتیب، چنانچه در شکل ۲B دیده می شود، تعداد ایستادن روی دو پا در گروه های دریافت کننده عصاره در مقایسه با گروه مورفین تا حد زیادی کاهش یافته است. میانگین تعداد این علامت در گروه مورفین، ۱۷/۰۰ و در گروه های دریافت کننده ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم/کیلوگرم عصاره به ترتیب ۳/۱۶۷، ۳/۸۳۳ و ۷/۱۶۷ می باشد. از نظر آزمون آماری تحلیل واریانس یک طرفه، داده های به دست آمده از کل گروه های دریافت کننده عصاره به طور کلی تفاوت معنی داری با گروه مورفین دارند ($P\text{-value} = ۰/۰۰۱۷$). دیده می شود که تفاوت بین گروه کنترل و هر کدام از گروه های دریافت کننده ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم/کیلوگرم عصاره، از نظر آماری معنی دار است ($P < ۰/۰۵$). تفاوت میان میانگین داده های به دست آمده از گروه مورفین و گروه های دریافت کننده ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم/کیلوگرم عصاره، به ترتیب ۱۳/۸۳، ۱۳/۱۷ و ۹/۸۳۳ می باشد.

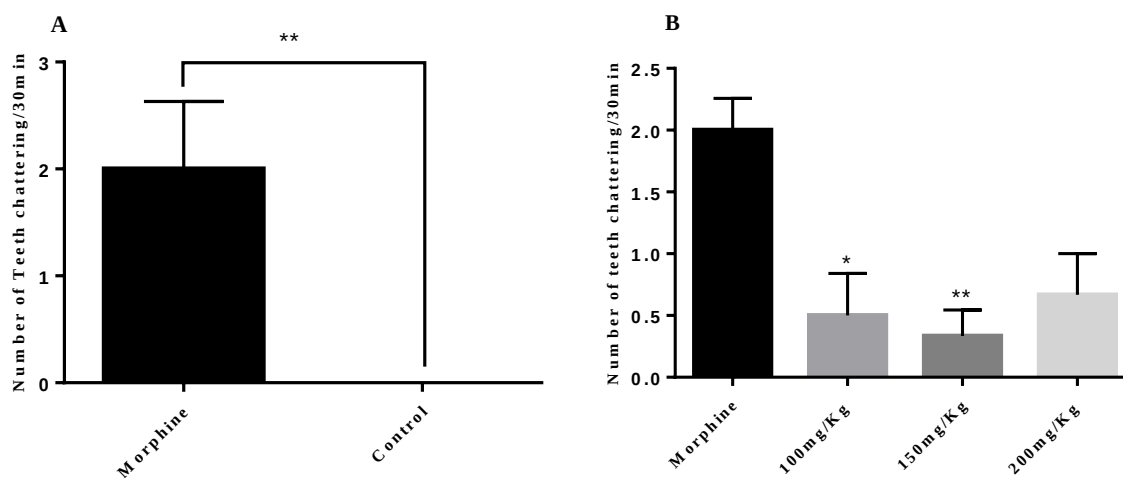
۳-۲. اثرات زعفران بر تعداد دندان قروچه: چنانچه در شکل ۳A نشان داده شده، در مقایسه داده های به دست آمده از گروه های کنترل و مورفین از نظر تعداد دندان قروچه، گروه مورفین نشان از افزایش تعداد این علامت به دنبال تزریق نالوکسان دارد. میانگین تعداد دندان قروچه در گروه کنترل و مورفین، به ترتیب ۰/۰ و ۲/۰۰۰ به دست آمد. تفاوت میان داده های به دست آمده از این دو گروه از نظر آزمون آماری T معنی دار است ($P\text{-value} = ۰/۰۰۲۲$). به همین ترتیب، چنانچه در شکل ۳B دیده می شود، تعداد دندان قروچه در گروه های دریافت کننده عصاره در مقایسه با گروه

مورفین تا حد زیادی کاهش یافته است. میانگین تعداد این علامت در گروه مورفین، ۲/۰۰۰ و در گروه های دریافت کننده ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم/کیلوگرم عصاره به ترتیب ۰/۵۰۰، ۰/۳۳۳ و ۰/۶۶۶۷ می باشد. از نظر آزمون آماری تحلیل واریانس یک طرفه، تفاوت بین داده های به دست آمده از گروه های دریافت کننده ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم/کیلوگرم عصاره در مقایسه با گروه مورفین، اختلاف معنی دار وجود دارد ($P\text{-value} = ۰/۰۱۲۱$). دیده می شود که تفاوت معنی دار بین گروه کنترل و گروه های دریافت کننده ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم/کیلوگرم عصاره، وجود دارد ($P < ۰/۰۵$). با این حال، دیده می شود که تفاوت بین گروه کنترل و گروه دریافت کننده ۲۰۰ میلی گرم/کیلوگرم عصاره با وجود داشتن تفاوت ظاهری، از نظر آماری معنی داری نمی باشد ($P > ۰/۰۵$). تفاوت میان میانگین داده های به دست آمده از گروه مورفین و گروه های دریافت کننده ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم/کیلوگرم عصاره، به ترتیب ۱۰/۲۵، ۱۱/۲۵ و ۸/۸۳۳ به دست آمد.

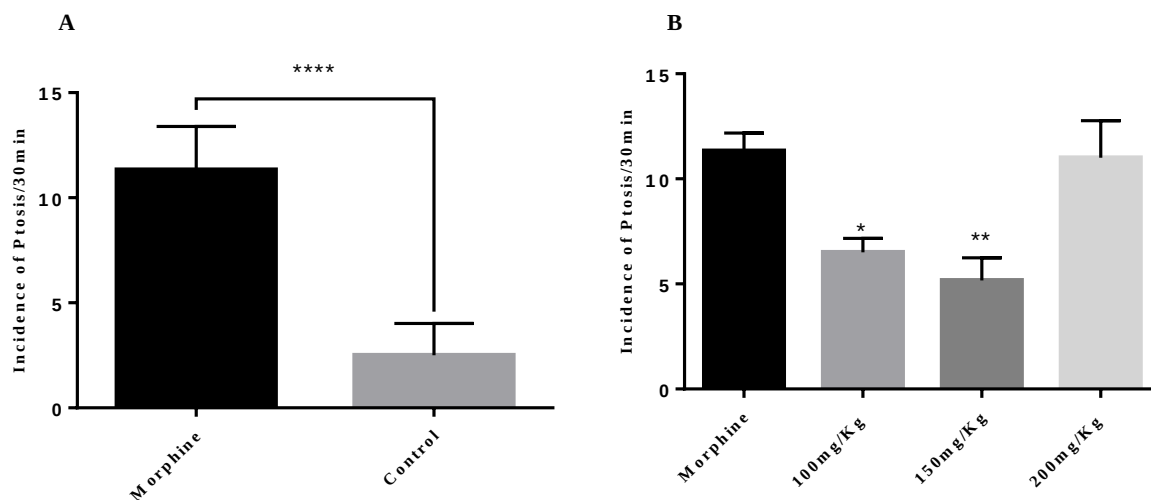
۳-۳. اثرات زعفران میزان وقوع افتادگی پلک: چنانچه در شکل ۴A نشان داده شده، در مقایسه داده های به دست آمده از گروه های کنترل و مورفین از نظر میزان وقوع افتادگی پلک، گروه مورفین نشان از افزایش وقوع این علامت به دنبال تزریق نالوکسان دارد. میانگین میزان وقوع افتادگی پلک



شکل ۲. اثرات زعفران بر تعداد ایستادن روی دو پا A. در مقایسه داده‌های به‌دست‌آمده از گروه کنترل و گروه مورفین مشاهده می‌شود که تعداد ایستادن روی دو پا در گروه مورفین نسبت به گروه کنترل بیش‌تر است، به‌طوری که تفاوت بین آن‌ها از نظر آماری معنی‌دار می‌باشد ($P < 0.05$). A. مقایسه داده‌های به‌دست‌آمده از گروه کنترل و گروه‌های دریافت‌کننده ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره نشان می‌دهد که تعداد ایستادن روی پا در گروه‌های دریافت‌کننده عصاره نسبت به گروه مورفین به‌طور معنی‌داری کاهش یافته است ($P < 0.05$).



شکل ۳. اثرات زعفران بر تعداد دندان‌قروچه A. در مقایسه داده‌های به‌دست‌آمده از گروه کنترل و گروه مورفین مشاهده می‌شود که تعداد دندان‌قروچه در گروه مورفین نسبت به گروه کنترل بیش‌تر است، به‌طوری که تفاوت بین آن‌ها از نظر آماری معنی‌دار می‌باشد ($P < 0.05$). A. مقایسه داده‌های به‌دست‌آمده از گروه کنترل و گروه‌های دریافت‌کننده ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره نشان می‌دهد که تعداد دندان‌قروچه در گروه‌های دریافت‌کننده عصاره نسبت به گروه مورفین به‌طور معنی‌داری کاهش یافته است ($P < 0.05$).



شکل ۴. اثرات زعفران بر میزان وقوع افتادگی پلک. A. در مقایسه داده‌های به‌دست‌آمده از گروه کنترل و گروه مورفین مشاهده می‌شود که میزان وقوع افتادگی پلک در گروه مورفین نسبت به گروه کنترل بیش‌تر است، به‌طوری که تفاوت بین آن‌ها از نظر آماری معنی‌دار می‌باشد ($P < 0.05$). A. مقایسه داده‌های به‌دست‌آمده از گروه کنترل و گروه‌های دریافت‌کننده ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره نشان می‌دهد که میزان افتادگی پلک در گروه‌های دریافت‌کننده عصاره نسبت به گروه مورفین به‌طور معنی‌داری کاهش یافته است ($P < 0.05$).

در گروه کنترل و مورفین، به‌ترتیب ۲/۵۰۰۰ و ۱۱/۳۳ به‌دست آمد. تفاوت میان داده‌های به‌دست‌آمده از این دو گروه از نظر آزمون آماری T معنی‌دار می‌باشد ($P\text{-value} = 0.0001$). به‌همین ترتیب، چنانچه در شکل ۴B دیده می‌شود، میزان وقوع افتادگی پلک در گروه‌های دریافت‌کننده عصاره در مقایسه با گروه مورفین تا حد زیادی کاهش یافته است. میانگین میزان وقوع این علامت در گروه مورفین، ۱۱/۳۳ و در گروه‌های دریافت‌کننده ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره به‌ترتیب ۶/۵۰۰، ۵/۱۶۷ و ۱۱/۰۰ می‌باشد. از نظر آزمون آماری تحلیل واریانس یک‌طرفه، داده‌های به‌دست‌آمده از کل گروه‌های دریافت‌کننده عصاره به‌طور کلی تفاوت معنی‌داری با گروه مورفین دارند ($P\text{-value} = 0.0019$). تفاوت بین داده‌های به‌دست‌آمده از گروه مورفین و هر کدام از گروه‌های دریافت‌کننده ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره، به‌ترتیب یک ستاره و دو ستاره از نظر آماری معنی‌دار می‌باشد ($P < 0.05$). با این‌حال، دیده می‌شود که تفاوت بین گروه کنترل و گروه دریافت‌کننده ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره به سطح معنی‌داری نرسیده است ($P > 0.05$). تفاوت میان میانگین داده‌های به‌دست‌آمده از گروه مورفین و گروه‌های دریافت‌کننده ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره، به‌ترتیب ۴/۸۳۳، ۶/۱۶۷ و ۰/۳۳۳۳ می‌باشد.

در گروه کنترل و مورفین، به‌ترتیب ۲/۵۰۰۰ و ۱۱/۳۳ به‌دست آمد. تفاوت میان داده‌های به‌دست‌آمده از این دو گروه از نظر آزمون آماری T معنی‌دار می‌باشد ($P\text{-value} = 0.0001$). به‌همین ترتیب، چنانچه در شکل ۴B دیده می‌شود، میزان وقوع افتادگی پلک در گروه‌های دریافت‌کننده عصاره در مقایسه با گروه مورفین تا حد زیادی کاهش یافته است. میانگین میزان وقوع این علامت در گروه مورفین، ۱۱/۳۳ و در گروه‌های دریافت‌کننده ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره به‌ترتیب ۶/۵۰۰، ۵/۱۶۷ و ۱۱/۰۰ می‌باشد. از نظر آزمون آماری تحلیل واریانس یک‌طرفه، داده‌های به‌دست‌آمده از کل گروه‌های دریافت‌کننده عصاره به‌طور کلی تفاوت معنی‌داری با گروه مورفین دارند

۴. بحث

تداوی وابستگی به اپیوئیدها یک عمل برنامه‌ریزی شده است (۱۹). ایجاد استراتژی‌های درمانی، نقشی اساسی را در کاهش خطرات ناشی از افراد و جامعه‌ی وابسته به اپیوئید ایفا می‌نماید (۴۱). رویکردهای متعددی از جمله رویکرد فارموکولوژیک، سایکولوژیک و اجتماعی برای درمان وابستگی ایجاد شده‌اند (۱۹). یکی از روش‌های پیشنهاد شده، تداوی فارموکولوژیک سندرم ترک است که برای ایجاد یک سیستم مؤثر و جامع ضروری می‌باشد (۴۱). نباتات زیادی وجود دارند که به دلیل داشتن ترکیبات مهم و مؤثر، دارای تأثیرات فارموکولوژیک در تداوی سندرم ترک وابسته به مورفین هستند (۱۹). زعفران، یکی از نباتاتی است که دارای خواص فراوان بوده و تأثیرات زیادی بر سیستم‌های مختلف بدن دارد. در این مطالعه، اثر تزریق داخل صفاقی عصاره آبی زعفران افغانستان بر سندرم ترک در موش‌های صحرایی وابسته به مورفین بررسی شد. نتایج حاکی از آن هستند که عصاره آبی زعفران، سندرم ترک را نسبت به گروه مورفین به‌طور معنی‌داری کاهش داده است. با این حال، این تأثیر با افزایش دوز عصاره افزایش نیافت. به‌طوری‌که عصاره آبی زعفران در دوزهای ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم سبب کاهش علائم ترک گردید، ولی این تأثیر کاهندگی در دوز ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم کم‌تر شد.

چنانچه حسین‌زاده و همکاران نیز نشان دادند که عصاره آبی زعفران و نیز ترکیب کروسین آن سبب کاهش سندرم ترک می‌گردد و مطالعه مذکور مؤید نتایج مطالعه حاضر است (۲). با این حال، تفاوتی در دوز مؤثر عصاره آبی زعفران ایران و زعفران افغانستان دیده می‌شود. عصاره آبی زعفران ایران، سندرم ترک را در موش‌های سوری وابسته به مورفین در دوزهای ۸۰، ۱۶۰ و ۳۲۰ میلی‌گرم/کیلوگرم کاهش داده و این تأثیر کاهندگی با افزایش دوز، بیش‌تر شد (۲). به‌نظر می‌رسد که این تفاوت در دوز مؤثر، ناشی از ترکیب متفاوت زعفران افغانستان باشد. از آن‌جا که ترکیب سافرانال زعفران سبب تشدید سندرم ترک در موش‌های وابسته به مورفین می‌گردد (۲)، احتمال می‌رود که مقدار این ترکیب در زعفران افغانستان بیش‌تر باشد و اثر آن در دوزهای بالاتر متباز شده، از اثر کاهندگی عصاره‌ی آبی زعفران بر سندرم ترک بکاهد.

مطالعاتی در مورد نقش سیستم‌های نیوروترانسمیتری در کاهش سندرم ترک صورت گرفته است. چنانچه مطالعاتی نشان داده‌اند که آگونیست‌های گیرنده‌های گابا^۱ با فعال‌نمودن گیرنده‌های گابا A و گابا B در نیورون‌های بینایی پیش-ساینپسی گاباژژیک، آزادسازی گابا را کاهش می‌دهند، بدین وسیله نیورون‌های دوپامینرژیک از مهار گابا آزاد شده و آزادسازی دوپامین در هسته اکمبنس و نیز فعالیت نیورونی گاباژژیک افزایش می‌یابد. همچنین، فعال‌شدن گیرنده‌های گابا علائم ترک

¹ GABA receptors agonists

اگونیست‌های گیرنده‌ی D2 در بخش خارجی هسته اکمبنس، سندرم ترک ناشی از نالوکسان را مهار و تزریق اگونیست‌های گیرنده‌ی D1 سندرم ترک را تشدید می‌کند. با توجه به این‌که افزایش فعالیت نوراپی نفرین با ترک اپیویدها همراه است، احتمالاً اثرات ادویه دوپامینرژیک بر ترک اپیویدها به دلیل تعدیل آزادسازی نوراپی نفرین باشد (۱۸).

از آن‌جا که مطالعه مالیکولی در مورد اثر زعفران بر سندرم ترک موش‌های وابسته به مورفین صورت نگرفته، نمی‌توان دلیل قطعی برای این اثر ارایه نمود. با این حال، در مطالعه مروری خزدیر و همکاران در مورد اثرات زعفران و اجزای آن بر سیستم عصبی، چنین نتیجه‌گیری شده که کاهش علائم ترک بر اثر زعفران احتمالاً ناشی از ارتباط متقابل بین سیستم گابا، زعفران و سیستم اپیویدی باشد (۴۲). به عبارتی، چنین احتمال می‌رود که زعفران از طریق تأثیرگذاری بر سیستم گاباارژیک و گیرنده‌های گابا سبب کاهش سندرم ترک شده باشد. با قرارداد مطالب فوق در کنار یکدیگر، می‌توان چنین برداشت نمود که عصاره آبی زعفران به‌طور غیرمستقیم از طریق سیستم گاباارژیک عمل نموده، آزادسازی گابا را کاهش می‌دهد. در نتیجه، از طریق سیستم گاباارژیک موجب افزایش آزادسازی دوپامین در هسته اکمبنس می‌گردد. به علاوه، چنانچه اتحادی و همکاران در مطالعه‌ای نشان دادند، عصاره آبی زعفران خود همچنین می‌تواند مستقیماً سبب افزایش غلظت دوپامین در مغز گردد

مورفین را با افزایش سطح دوپامین مرکزی کم می‌کند. در نتیجه، چنین پیشنهاد می‌شود که فعال‌سازی گیرنده‌های گابا ممکن است علائم ترک مورفین را از طریق افزایش آزادسازی دوپامین در هسته‌ی اکمبنس کاهش دهد (۱۷).

به علاوه، در مطالعه الکتروفیزیولوژیک برش‌های مغزی موش‌های صحرایی، نشان داده شد که دوپامین از طریق تأثیر بر گیرنده‌های دوپامینی، در تعدیل آزادسازی نوراپی نفرین در هسته اکمبنس نقش دارد. استطلاات دوپامینی از ناحیه تگمنتال شکمی به هسته اکمبنس وارد شده‌اند. همچنین، بخش خارجی هسته اکمبنس، استطلاات متراکمی حاوی نوراپی نفرین را که عمدتاً از هسته مسیر منزوی^۱ منشأ می‌گیرند، دریافت می‌کند. گیرنده‌های دوپامینرژیک تعدیل‌کننده آزادسازی نوراپی نفرین، احتمالاً در پایانه‌های عصبی نیورون‌هایی که از هسته مسیر منزوی منشأ می‌گیرند، وجود دارند. بنابراین، دوپامین ممکن است به‌طور غیرمستقیم از طریق تعدیل انتقال عصبی تحریکی یا مهاری بر آزادسازی نوراپی نفرین از هسته اکمبنس تأثیر بگذارد. چنانچه نشان داده شده که فعال‌شدن گیرنده‌ی D1 سبب تحریک آزادسازی نوراپی نفرین و فعال‌شدن گیرنده‌ی D2 موجب مهار آزادسازی آن می‌گردد. به همین دلیل، ارتباط بین سیستم‌های نوراپی نفرین و دوپامینرژیک هسته اکمبنس ممکن است در برخی پدیده‌ها نظیر سندرم ترک اپیویدها دخیل باشد. چنانچه نشان داده شده که تزریق

¹ Nucleus tractus solitarius

تأثیرگذاری عصاره و ترکیبات آن بر فرآیندهای التهاب و استرس اکسیداتیو باشد.

۵. نتیجه گیری

به طور خلاصه، می توان چنین برداشت نمود که عصاره آبی زعفران افغانستان در دوزهای پایین تر موجب کاهش سندرم ترک در موش های صحرایی وابسته به مورفین می شود. کاهش اثر آن در دوزهای بالاتر ممکن است به دلیل بیش تر بودن ترکیب ساfranال در زعفران این منطقه باشد. به نظر می رسد که اثرات مثبت عصاره آبی زعفران در کاهش سندرم ترک، ناشی از تأثیر آن بر سیستم های نیورو ترانسمیتری گاباژئیک و دوپامینرژیک و نیز اثرات ضد التهابی و ضد اکسیدانتي آن باشد.

۶. پیشنهادات

با توجه به نتیجه به دست آمده از این مطالعه، پیشنهاد می گردد میزان و نوع ترکیبات زعفران بومی افغانستان مشخص شده، مطالعات رفتاری بیش تری روی ترکیبات جدا شده از زعفران افغانستان بر سندرم ترک و نیز مطالعات الکتروفیزیولوژیک در مورد کارشیوه های تأثیر این گیاه بر سندرم ترک صورت گیرد.

(۴۳). لذا غلظت بالای دوپامین در هسته اکمبنس چه به طور مستقیم یا چه از طریق سیستم نیورو ترانسمیتری گابا، توسط گیرنده دوپامینی این ناحیه بر آزاد سازی نوراپی نفرین تأثیر می گذارد. با توجه به این که دوپامین آزاد شده از نیورون های هسته اکمبنس ترجیحا به علت موقعیت متفاوت گیرنده ها در پایانه های عصبی، با گیرنده های D2 واکنش می دهد (۱۸)، احتمال می رود که دوپامین از طریق گیرنده های D2 آزاد سازی نوراپی نفرین را کاهش داده و لذا موجب کاهش سندرم ترک گردد.

به علاوه، مطالعات نشان داده اند که فرآیندهای التهابی و استرس اکسیداتیو تا حد زیادی طی ترک مورفین تشدید می یابند. هم چنین، نباتات طبی زیادی به دلیل داشتن نقش ضد التهابی و یا ضد اکسیدانتي و با تأثیر گذاری روی فرآیندهای التهاب و استرس اکسیداتیو موجب کاهش سندرم ترک می گردند (۵، ۱۹). از سویی دیگر، نشان داده شده که عصاره زعفران و ترکیبات آن دارای اثرات ضد التهابی و نیز ضد اکسیدانتي می باشند (۲۵، ۳۳، ۴۴). بنابراین، احتمال می رود که تأثیر کاهندگی عصاره آبی زعفران بر سندرم ترک در موش های صحرایی وابسته به مورفین، هم چنین ناشی از

References:

1. Yaribeygi H, Sahraei H, Mohammadi AR, Meftahi GH. Saffron (*Crocus sativus* L.) and morphine dependence: A systematic review article. *Am J Biol Life Sci.* 2014; 2(2): 41-45.
2. Hosseinzadeh H, Jahanian Z. Effect of *Crocus sativus* L.(saffron) stigma and its constituents, crocin and safranal, on morphine withdrawal syndrome in mice. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives.* 2010; 24(5): 726-730.
3. Motaghinejad M, Fatima S, Banifazl S, Bangash MY, Karimian M. Study of the effects of controlled morphine administration for treatment of anxiety, depression and cognition impairment in morphine-addicted rats. *Adv Biomed Res.* 2016; 5.
4. Ghafari S, Roshandel D, Golalipour MJ. Effect of intrauterine morphine sulfate exposure on cerebellar histomorphological changes in neonatal mice. *Folia Neuropathol.* 2011; 49(4): 328-334.
5. De Guglielmo G, Kallupi M, Scuppa G, Stopponi S, Demopulos G, Gaitanaris G, et al. Analgesic tolerance to morphine is regulated by PPAR γ . *Br J Pharmacol.* 2014; 171(23): 5407-5416.
6. Pacifici GM. Metabolism and pharmacokinetics of morphine in neonates: A review. *Clinics.* 2016; 71(8): 474-480.
7. Wu XP, She RX, Yang YP, Xing ZM, Chen HW, Zhang YW. MicroRNA-365 alleviates morphine analgesic tolerance via the inactivation of the ERK/CREB signaling pathway by negatively targeting β -arrestin2. *J Biomed sci.* 2018; 25(1): 10.
8. Ujcikova H, Brejchova J, Vosahlikova M, Kagan D, Dlouha K, Sýkora J, et al. Opioid-receptor (OR) signaling cascades in rat cerebral cortex and model cell lines: the role of plasma membrane structure. *Physiol Res.* 2014; 63: S165.
9. Gowing L, Ali R, White JM. Opioid antagonists with minimal sedation for opioid withdrawal. *Cochrane Database Syst Rev.* 2009(4).
10. Neugebauer NM, Einstein EB, Lopez MB, McClure-Belgey TD, Mineur YS, Picciotto MR. Morphine dependence and withdrawal induced changes in cholinergic signaling. *Pharmacol Biochem Behav.* 2013; 109: 77-83.
11. Lelevich SV, Lelevich VV, Novokshonov AA. Neurotransmitter mechanisms of morphine withdrawal syndrome. *Bull Exp Biol Med.* 2009; 148(2): 184.
12. Vihavainen T, Relander TR, Levisika R, Airavaara M, Tuominen RK, Ahtee L, et al. Chronic nicotine modifies the effects of morphine on extracellular striatal dopamine and ventral tegmental GABA. *J Neurochem.* 2008; 107(3): 844-854.
13. Jalabert M, Bourdy R, Courtin J, Veinante P, Manzoni OJ, Barrot M, et al. Neuronal circuits underlying acute morphine action on dopamine neurons. *Proc Natl Acad Sci.* 2011; 108(39): 16446-16450.
14. Madhavan A, He L, Stuber GD, Bonci A, Whistler JL. μ -opioid receptor endocytosis prevents adaptations in

- ventral tegmental area gaba transmission induced naloxone-precipitated morphine withdrawal. *J Neurosci.* 2010; 30(9): 3276-3286.
15. Bonci A, Williams JT. Increased probability of GABA release during withdrawal from morphine. *J Neurosci.* 1997; 17(2): 796-803.
16. Dian sl, Kemmling AK, Balerio GN. Baclofen reestablishes striatal and cortical dopamine concentrations during naloxone-precipitated withdrawal. *Neurochemist int.* 2003; 42(4): 293-298.
17. Lee JH, Kim HY, Jang EY, Choi SH, Han CH, Lee NH, et al. Effect of acupuncture on naloxone-precipitated withdrawal syndrome in morphine-experienced rats: the mediation of GABA receptors. *Neurosci lett.* 2011; 504(3): 301-305.
18. Vanderschuren LJ, Wardeh G, De Vries TJ, Mulder AH, Schoffelmeer AN. Opposing role of dopamine D1 and D2 receptors in modulation of rat nucleus accumbens noradrenaline release. *J Neurosci.* 1999; 19(10): 4123-4131.
19. Ebrahimie M, Bahmani M, Shirzad H, Rafieian-Kopaei M, Saki K. A review study on the effect of Iranian herbal medicines on opioid withdrawal syndrome. *J Evid Based Complement Alternat Med.* 2015; 20(4): 302-309.
20. Moshiri M, Vahabzadeh M, Hosseinzadeh H. Clinical applications of saffron (*Crocus sativus*) and its constituents: a review. *Drug Res.* 2015; 65(6): 287-295.
21. Cusano E, Consonni R, Petrakis EA, Astraka K, Cagliani LR, Polissiou MG. Integrated analytical methodology to investigate bioactive compounds in *Crocus sativus* L. flowers. *Phytochem Anal.* 2018.
22. Dar RA, Shahnawaz M, Malik SB, Sangale MK, Ade AB, Qazi PH. Cultivation, taxonomy, chemical composition and medical importance of *Crocus sativus*. *J Phytopharmacol* 2017; 6(6): 256-358.
23. Baba SA, Malik AH, Wani ZA, Mohiuddin T, Shah Z, Abbas N, et al. Phytochemical analysis and antioxidant activity of different tissue types of *Crocus sativus* and oxidative stress alleviating potential of saffron extract in plants, bacteria, and yeast. *S Afr J Bot.* 2015; 99: 80-87.
24. Christodoulou E, Kadoglou NP, Stasinopoulou M, Konstandi OA, Kenoutis C, Kakazanis ZI, et al. *Crocus sativus* L. aqueous extract reduces atherogenesis, increases atherosclerotic plaque stability and improves glucose control in diabetic atherosclerotic animals. *Atheroscler.* 2018; 268: 207-214.
25. Samarghandian S, Azimi-Nezhad M, Farkhondeh T. Immunomodulatory and antioxidant effects of saffron aqueous extract (*Crocus sativus* L.) on streptozotocin-induced diabetes in rats. *Indian Heart J.* 2017; 69(2): 151-159.
26. Vakili S, Savardashtaki A, Moghaddam MA, Nowrouzi P, Shirazi MK, Ebrahimi G. The effects of saffron consumption on lipid profile, liver enzymes, and oxidative stress in male hamsters with high fat diet. *Trends Pharm Sci.* 2017; 3(3): 201-208.
27. Carradori S, Chimenti P, Fazzari M, Granese A, Angiolella L. Antimicrobial activity, synergism and inhibition of germ

- tube formation by *Crocus sativus*-derived compounds against *Candida* spp. *J Enzyme Inhib Med Chem*. 2016; 31(sup2): 189-193.
28. De Monte C, Bizzarri B, Gidaro MC, Carradori S, Mollica A, Luisi G, et al. Bioactive compounds of *Crocus sativus* L. and their semi-synthetic derivatives as promising anti-*Helicobacter pylori*, anti-malarial and anti-leishmanial agents. *J Enzyme Inhib Med Chem*. 2015; 30(6): 1027-1033.
29. Shariatifar N, Shoeibi S, Sani MJ, Jamshidi AH, Zarei A, Mehdizade A, et al. Study on diuretic activity of saffron (stigma of *Crocus sativus* L.) Aqueous extract in rat. *J Adv Pharm technol Res*. 2014; 5(1): 17.
30. Amin B, Nakhsaz A, Hosseinzadeh H. Evaluation of the antidepressant-like effects of acute and sub-acute administration of crocin and crocetin in mice. *Avicenna J phytomed*. 2015; 5(5): 458.
31. [31] Pitsikas N. The effect of *Crocus sativus* L. and its constituents on memory: basic studies and clinical applications. *Evi Based Complement Alternat Med*. 2015; 2015.
32. Amin B, Hosseini S, Hosseinzadeh H. Enhancement of antinociceptive effect by co-administration of Amitriptyline and *Crocus Sativus* in a rat model of neuropathic pain. *Iran J Pharm Res: IJPR*. 2017; 16(1): 187.
33. Boskabady MH, Farkhondeh T. Antiinflammatory, antioxidant, and immunomodulatory effects of *Crocus sativus* L. and its main constituents. *Phytother Res*. 2016; 30(7): 1072-1094.
34. Al-Snafi AE. The pharmacology of *Crocus sativus*-A review. *IOSR J Pharm*. 2016; 6(6): 8-38.
35. Kumar R, Kaur M, Silakari O. Chemistry and biological activities of thioacridines/thioacridones. *Mini-rev med chem*. 2013; 13(8):1220-1230.
36. Jaime AY, Remsberg CM, Takemoto JK, Vega-Villa KR, Andrews PK, Sayre CL, et al. Polyphenols and flavonoids: an overview.
37. National Research council. Guide for the care and use of Laboratory animals. Washington DC: National Academies press; 2010.
38. Khorasani G, Hosseinimehr SJ, Zamani P, Ghasemi M, Ahmadi A. The effect of saffron (*Crocus sativus*) extract for healing of second-degree burn wounds in rats. *Keio J Med*. 2008; 57(4): 190-195.
39. Gomaa A, Hashem T, Mohamed M, Ashry E. *Matricaria chamomilla* extract inhibits both development of morphine dependence and expression of abstinence syndrome in rats. *J Pharmacol sci*. 2003; 92(1): 50-55.
40. Rubrino T, Massi P, Vigano D, Fuzio D, Parolaro D. Long-term treatment with SR141716A, the CB1 receptor antagonist, influences morphine withdrawal syndrome. *Life sci*. 200; 66(22): 2213-2219.
41. Cain SM, Ahn S, Garcia E, Zhang Y, Waheed Z, Tyson JR, et al. Heantos-4, a natural plant extract used in the treatment of drug addiction, modulates T-type calcium channels and thalamocortical burst-firing. *Mol Brain*. 2016; 9(1): 94.
42. Khazdair MR, Boskabady MH, Hosseini M, Rezaee R, Tsatsakis AM. The effects

-
- of *Crocus sativus* (saffron) and its constituents on nervous system: A review. *Avicenna J Phytomed.* 2015; 5(5): 376.
43. Ettehad H, Mojabi SN, Ranjbaran M, Shams J, Sahraei H, Hedayati M, et al. Aqueous extract of saffron (*Crocus sativus*) increases brain dopamine and glutamate concentrations in rats. *J Behav Brain Sci*, 2013; 3: 315-319.
44. Hosseinzadeh H, Younesi HM. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Crocus sativus* L. stigma and petal extracts in mice. *BMC pharmacol.* 2002; 2(1): 7.

Analysis of the Chemical Composition and Medicinal Applications of Shilajit in Wound Healing

Ali shir Haidari ^{1*}, Ghulam Yahya Amiry ²

1. Department of basic Sciences, Faculty of Stomatology, Ghalib University, Kabul, Afghanistan.

2. Department of Para clinic, Faculty of Medical Sciences, Ghalib University, Kabul, Afghanistan

***Email:** alishirhaidari986@gmail.com **Phone:** 0777798507

Abstract:

One of the important topics in today's society is wound healing and management. Despite advancements in wound healing and the use of various dressings, this issue remains a significant challenge in healthcare facilities and among the public. Many individuals seek natural solutions for treating their wounds and injuries due to concerns about the side effects of chemical substances. One substance that has been of interest since ancient times is shilajit. Shilajit is a natural substance that is obtained as blackish-brown deposits from mountainous regions such as Nepal, the Himalayas, and Afghanistan. This substance, rich in minerals, vitamins, and essential elements, has numerous medicinal applications. In traditional medicine, shilajit has been used to enhance physical strength, improve bone function, increase energy, and boost sexual vitality. Recent scientific studies have shown that shilajit can play a significant role in accelerating wound healing. This effect is attributed to the presence of antioxidant and anti-inflammatory compounds in its composition, which can help reduce inflammation and prevent infection. Additionally, shilajit accelerates the wound healing process by stimulating the production of new skin cells and improving local blood circulation. Research on animal models and cell cultures has also confirmed the positive impact of shilajit on wound healing and the regeneration of damaged tissues. These studies have demonstrated that the topical or oral use of this substance can aid in the improvement of chronic and acute wounds. Therefore, shilajit is emerging as a natural and effective option in wound management and can serve as a suitable alternative to some existing chemical methods.

Keywords: Shilajit, Wound healing, Minerals, Chemical compounds.

بررسی ترکیبات کیمیاوی و کاربرد طبی شیلاجیت در ترمیم زخم

علی شیر حیدری^{۱*}، غلام یحیی امیری^۲

۱. دیپارتمنت علوم پایه، دانشکده ستوماتولوژی، پوهنتون غالب، کابل، افغانستان.

۲. دیپارتمنت پاراکلینیک، دانشکده طب معالجوی، پوهنتون غالب، کابل، افغانستان.

*ایمیل: alishirhaidari986@gmail.com تماس: ۰۷۷۷۷۹۸۵۰۷

چکیده

یکی از موضوعات مهم در جامعه امروز، ترمیم و مدیریت زخم است. باوجود پیشرفت‌هایی که در زمینه ترمیم زخم و استفاده از زخم‌پوش‌های مختلف صورت گرفته، این مسئله همچنان از چالش‌های بزرگ در مراکز صحتی و بین مردم به شمار می‌رود. بسیاری از افراد به دلیل نگرانی از عوارض مواد کیمیاوی، به جستجوی راه‌حل‌های طبیعی برای درمان زخم و جراحات خویش می‌پردازند. یکی از موادی که از گذشته‌های دور مورد توجه بوده، شیلاجیت یا موملایی است. شیلاجیت یک ماده طبیعی است که به شکل رسوبات سیاه‌رنگ از میان سنگ‌های کوهستانی در مناطقی چون نپال، هیمالیا و افغانستان به دست می‌آید. این ماده که غنی از مواد معدنی، ویتامین‌ها و عناصر حیاتی می‌باشد، کاربردهای طبی متعددی دارد. در طب سنتی، از شیلاجیت برای تقویت قوای جسمانی، بهبود عملکرد استخوان‌ها، افزایش انرژی و تقویت قوای جنسی استفاده می‌شده است. مطالعات جدید علمی نشان داده است که شیلاجیت می‌تواند نقش مؤثری در تسریع ترمیم زخم داشته باشد. این تأثیر به دلیل وجود مواد آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی در ترکیب آن است که می‌تواند به کاهش التهاب و جلوگیری از عفونت کمک کند. علاوه بر این، شیلاجیت با تحریک تولید حشرات جدید پوستی و بهبود جریان خون موضعی، روند ترمیم زخم را سرعت می‌بخشد. تحقیقات روی مدل‌های حیوانی و کشت حشرات نیز تأثیر مثبت شیلاجیت را در ترمیم زخم و بازسازی بافت‌های آسیب‌دیده تأیید کرده‌اند. این مطالعات نشان داده‌اند که استفاده موضعی یا خوراکی این ماده می‌تواند به بهبود زخم‌های مزمن و حاد کمک کند. در نتیجه، شیلاجیت به عنوان یک گزینه طبیعی و مؤثر در زمینه مدیریت زخم مطرح است و می‌تواند جایگزینی مناسب برای برخی از روش‌های کیمیاوی موجود باشد. واژه‌های کلیدی: شیلاجیت، ترمیم زخم، مواد معدنی، ترکیبات کیمیاوی.

۱. مقدمه

پوست خارجی ترین و بزرگترین عضوی بدن است که از لایه‌های اپیدرم، درم و هایپودرم تشکیل شده است و وظایف مهمی دارد. از مهمترین وظایف پوست می‌توان به نقش آن در زیبایی، حفاظت در برابر میکروارگانیسم‌ها، تنظیم درجه حرارت بدن و... نام برد. زخم عبارت است از هرگونه دخالت در انسجام لایه‌های پوست یا انساج زیرین آن که ممکن است باز یا بدون شکاف به لایه‌های زیرین باشد (۱). التیام زخم یک عملیه پیچیده است که در نتیجه انقباض و بسته شدن انساج آسیب دیده و باز شدن عملکرد محافظتی پوست صورت می‌گیرد. فرآیند ترمیم یا بهبود کامل زخم به عوامل زیادی مانند: زخم پوش‌ها، توجه و مراقبتی که صرف زخم می‌شود، منشاء زخم و سایر عوامل بستگی دارد. زمانی که پوست آسیب می‌بیند، بدن مجموعه‌ای از مکانیزم‌های خودکار را برای ترمیم انساج آسیب دیده به راه می‌اندازد. این وقایع یا مراحل بهبود به صورت چهار مرحله بهم متصل بوده و همپوشانی کامل دارند. این چهار مرحله عبارتند از: هموستازی، التهاب، تکثیر و تغییر شکل نسج می‌باشد. ارتقاء این مراحل به نوع زخم، شرایط پاتولوژیکی و نوع مواد زخم‌پوش بستگی دارد (۲، ۳).

شیلاجیت یک ترکیب طبیعی است که از تجزیه مواد نباتی و معدنی در سنگ‌ها و سخره‌های کوه‌های هیمالیا و دیگر مناطق کوهستانی به دست می‌آید. این

ماده به دلیل خواص متعددی که دارد، از هزاران سال پیش در طب سنتی هند و چین مورد استفاده قرار می‌گیرد. خاصیت بارز هایپوگلیسمی پودر شیلاجیت، نقشی کلیدی در تنظیم قند خون و پروفایل‌های لیپیدی افراد دیابتی ایفا می‌کند. بخصوص هنگامی که به همراه ادویه دیابتی مصرف شود. این ترکیب موجب تحریک تولید انسولین از حجرات β پانکراس می‌شود. به این ترتیب، تجزیه نشایسته به گلوکز کاهش یافته و در پی آن، سطح قندخون کاهش می‌یابد. از دیرباز، پودر شیلاجیت به عنوان یک دوی سنتی برای افزایش عملکرد مغز شناخته شده است. وجود مالیکول‌های کوچک فعال به نام دی بنزو-آلفا پیرون مانع تجزیه مواد کیمیای ضروری برای حافظه می‌شود. بنابراین، ظرفیت حافظه، تمرکز، آرامش و هوشیاری فرد را بهبود می‌بخشد (۴).

خواص ضدالتهابی و خلوص بالای شیلاجیت، به مهار باکتری‌های مضر کمک کرده و از رشد باکتری‌ها در روده جلوگیری می‌کند. به علاوه، به دلیل خاصیت ملین قوی و اثرات پریستالتیک، با نرم کردن مدفوع و تسهیل عبور آن از روده، به‌طور مؤثر از یبوست جلوگیری می‌نماید. پودر شیلاجیت به دلیل ترکیبات معدنی منحصر به فرد، اثرات مثبت بر سلامت قلب دارد، سرشار از انتی‌اکسیدان‌ها و خواص محافظ قلب می‌باشد. با آرام کردن ذهن، این پودر سیستم قلب را ریلکس کرده و برای مریضان که از اریتمی و تپش قلب رنج می‌برند، بسیار سودمند است. پودر شیلاجیت، به دلیل اثرات ترمیمی‌اش، مشهور است.

عملکردهای حجرات کمک کرده و منجر به افزایش انرژی و بهبود وضعیت خستگی می‌شود (۷).
خواص ضد التهابی و ترکیبات فعال موجود در شیلاجیت، در تداوی و بهبود زخم‌های مختلف مانند کولیت اولسراتیو، زخم معده و زخم‌های شانکر اهمیت ویژه‌ای دارد و به بازسازی انساج و تسهیل فرایند ترمیم زخم کمک می‌نماید. در سال‌های اخیر، تحقیقات علمی جدید نشان داده است که شیلاجیت دارای اثرات گسترده‌ای در ترمیم زخم و التیام جراحات‌ها است (۸).

۲. ساختار فیزیکی

شیلاجیت ماده‌ای چسبناک و مقاوم با ظاهری براق توصیف شده است. این ماده به راحتی در آب، الکل و استون حل می‌شود. با این حال، در دمای محیط، سخت و شکننده باقی مانده و برش آن به قطعات کوچک دشوار است. نمونه‌های شیلاجیت از مناطق مختلف زمین دارای خواص فیزیکی مشابه و ترکیب کیمیاوی کیفی هستند. اما در نسبت درصد اجزا به‌طور چشمگیری متفاوت‌اند (۹). خواص فیزیکی مانند حلالیت و pH یکی از آزمایش‌های حیاتی و الزامی برای استاندارد سازی است. مشخص شده است که تقریباً ۳۰-۵۰٪ وزن شیلاجیت در آب حل می‌شود. در حالی که قسمت باقی‌مانده شامل مواد معدنی و بقایای نباتی است که بسته به سطح خلوص متفاوت است. مطالعات نشان می‌دهند که فقط حدود ۶۰٪ از شیلاجیت خام در آب حل می‌شود. مقادیر pH برای محلول‌های آبی ۱٪ شیلاجیت بستگی به منبع

این ترکیب نه تنها در ترمیم و بازسازی انساج مؤثر است، بلکه با فعالیت انتی‌اکسیدانی قوی خود، از آسیب حجروی محافظت کرده و در نتیجه روند پیری انساج قلب، ریه‌ها، کبد و پوست را کند می‌سازد (۵).
وجود فولیک اسید این ماده نیز بدن را در برابر آسیب رادیکال‌های آزاد محافظت می‌کند. وجود انتی‌اکسیدان‌ها به حفظ نسبت متعادل کلسیم در استخوان‌ها کمک کرده و موجب افزایش استحکام آن‌ها می‌گردد. همچنین، شیلاجیت سیستم معافیت بدن را تقویت کرده و از عفونت‌ها جلوگیری می‌نماید. این پودر به عنوان یک ترکیب سنتی می‌تواند میل جنسی و باروری را در مردان تقویت کند. خواص قوی آن نه تنها به کاهش استرس و اضطراب ذهنی کمک می‌کند، بلکه با افزایش تولید تستوسترون، باروری و میل جنسی را بهبود و تولید هورمون‌های مردانه از جمله تستوسترون و هورمون لوتئین ساز را بهبود می‌بخشد. در نهایت، کیفیت و تحرک اسپرم را افزایش می‌دهد. شیلاجیت به دلیل داشتن مقادیر بالای مواد فعال بیولوژیکی، گزینه‌ای برای تسکین درد و التهاب ناشی از آرتروز می‌باشد. کم‌خونی، که به عنوان کاهش تعداد حجرات سرخ خون یا هموگلوبین شناخته می‌شود، می‌تواند با وجود مقادیر بالای اسید هیومیک و آهن در این پودر بهبود یابد و به تداوی کم‌خونی فقر آهن کمک کند (۶). نهایتاً، برای افرادی که با سندرم خستگی مزمن دست و پنجه نرم می‌کنند، مواد معدنی موجود در شیلاجیت به بهبود

جغرافیایی دارد. منحنی‌های تحلیل حرارتی هم زمان بین ران‌های مختلف نشان‌دهنده عدم یکنواختی بین نمونه‌ها بوده تفاوت‌های قابل توجهی در دماهای بالاتر از نظر شدت و الگوهای سیگنال مشاهده گردیده است (۱۰).

۳. ترکیبات کیمیاوی شیلاجیت

شیلاجیت دارای ترکیبات متعددی است. این ترکیبات شامل مواد معدنی، امینواسیدها، دیترپن‌ها، فولوات‌ها و مواد انتی‌اکسیدانی هستند. مهم‌ترین ترکیبات کیمیاوی شیلاجیت عبارتند از:

۳-۱. **فولیک اسید:** فولیک اسید نوعی ویتامین ب می‌باشد که در ساخت حجرات جدید کمک می‌کند. در واقع فولیک اسید و فولات هر دو ویتامین ب۹ می‌باشند. با این تفاوت که اسید فولیک در بدن ساخته می‌شود در حالی که فولات شکل طبیعی آن است و در برخی از غذاها یافت می‌شود. فولیک اسید از طریق ادرار دفع می‌شود و باید با خوردن غذاهای غنی از فولات یا مصرف دواها حاوی فولیک اسید جایگزین شود (۱۱). فولیک اسید به عنوان یکی از ترکیبات اصلی شیلاجیت، به تقویت سیستم معفیت بدن و افزایش توان حجرات در فرآیند ترمیم زخم کمک می‌کند (۵).

۳-۲. **امینو اسید:** امینواسیدها نقش حیاتی و کلیدی در فرآیند ترمیم زخم دارند. این ترکیبات نه تنها به عنوان واحد ساختمانی پروتئین‌ها، بلکه به عنوان عوامل متابولیکی و سیگنالی نیز عمل می‌کنند. امینو اسیدهای خاصی مانند گلايسين، پرولين و

لايزين برای ساخت کلاجن که جزء اصلی نسج همبند است، ضروری هستند (۱۲). کلاجن به قدرت و انعطاف‌پذیری زخم کمک می‌کند و همچنان فیبروبلاست‌ها که مسئول تولید ماتریکس خارج حجروی و ترمیم نسج آسیب دیده‌اند. برخی از امینو اسیدها می‌توانند فعالیت این حجرات را افزایش دهند. برخی دیگر از امینو اسیدها به کاهش التهاب کمک کرده که این امر برای تسریع روند ترمیم بسیار مهم است. امینو اسیدها منبع انرژی هستند که می‌توانند توسط حجرات در زمان نیاز مورد استفاده قرار گیرند، مخصوصاً هنگام وجود آسیب یا جراحت، بعضی از امینو اسیدها مانند آرژنین می‌تواند تولید فاکتورهای رشد را تحریک کنند که برای تکثیر حجوی و بهبود زخم ضروری هستند. با توجه به نقش متعدد امینو اسیدها، تأمین آن‌ها از طریق تغذیه مناسب یا مکمل‌های خاص می‌تواند فرآیند ترمیم زخم را تسریع کرده و کیفیت تداوی را افزایش دهد. طبق تحقیقات انجام شده شیلاجیت مقدار قابل توجه امینو اسید را در ترکیب خویش داشته از این رو در روند ترمیم زخم مفید می‌باشد (۱۳، ۱۴).

۳-۳. **مواد معدنی:** شیلاجیت غنی از مواد معدنی مانند کلسیم، مگنیزیم، زینک، آهن و مس است که این مواد برای حفظ سلامت پوست و تسریع ترمیم زخم‌ها ضروری هستند (۱۳، ۱۵).

۳-۴. **ترکیبات فنولی:** به دلیل خواص ضد میکروبی و ضد عفونی‌کننده، از عفونت در زخم‌ها جلوگیری می‌کنند (۱۶). در فرآیند ترمیم زخم، ترکیبات

کمک کند و پوست را جوان تر و شاداب تر نماید. تأثیرات ضد التهابی شیلاجیت نیز به حفظ سلامت پوست و جلوگیری از آسیب های محیطی کمک می کند. به این ترتیب، استفاده منظم از شیلاجیت می تواند به عنوان یک مکمل طبیعی در محصولات مراقبت از پوست، به تقویت کلاجن سازی و بهبود ظاهر پوست کمک شایانی نماید. شیلاجیت به دلیل دارا بودن امینواسید ضروری مانند پرولین و گلیسین، در تحریک تولید کلاجن نقش بسزایی دارد (۱۹).

در یک مطالعه لابراتواری که برای بررسی اثر شیلاجیت بر بسته شدن زخم حجروی رباط پریدنتال انسانی (hPDL) انجام گردیده است، زنده ماندن حجرات با استفاده از آزمون کاهش (MTT) در معرض ۲۴ ساعته شیلاجیت ارزیابی شد. با استفاده از میکروسکوپ فاز کنتراست معکوس، تغییرات مورفولوژیکی ارزیابی گردیده آزمایش التیام زخم در شرایط لابراتواری برای ارزیابی بهبود زخم در تک لایه های حجروی hPDL زخمی به مدت ۲۴ ساعت در حضور یا عدم حضور شیلاجیت مورد استفاده قرار گرفت. ماتریکس متالوپروتئیناز-در حجرات hPDL تیمار شده با شیلاجیت با استفاده از روش ایمونوسوربنت متصل به انزیم (ELISA) اندازه گیری و ارزیابی سمیت حجروی شیلاجیت بر روی حجرات hPDL نشان داد که دوزهای بالای ۳ میلی گرم در میلی لیتر هیچ اثر نامطلوبی نداشته و بقای حجرات را حفظ می کند که نشان دهنده یک اثر محرک احتمالی بر رشد حجرات است. زنده ماندن حجرات

شیلاجیت می تواند از طریق مکانیزم های مختلفی به تسریع ترمیم کمک کنند (۱۷).

۴. مهمترین اثرات شلاجیت در ترمیم زخم

۴-۱. تقویت کلاجن سازی

کلاجن سازی یکی از مهمترین فرآیندهای ترمیم زخم است که موجب استحکام و یکپارچگی پوست و انساج می شود. در زبان یونانی کلاجن به معنای تولید کننده چسب است. این چسب طبیعی در واقع پروتئینی است که فیبرهای سفید پوست، تاندون ها، استخوان ها، غضروف ها و انساج ارتباطی را تشکیل می دهد (۱۸). این ترکیب همچنین در مواد جلاتینی بدن مانند زجاجیه چشم نیز وجود دارد. کلاجن ۵ نوع دارد و حدود ۸۰٪ وزن انساج ارتباطی را در بر می گیرد. شیلاجیت، یک ترکیب نباتی و معدنی ارزشمند، به عنوان یک ماده مهم در فرآیند کلاجن سازی شناخته می شود. کلاجن نقش بسزایی در حفظ جوانی و استحکام انساج دارد. شیلاجیت حاوی مقادیر بالایی از مواد مغذی، ویتامین ها و مواد معدنی است که برای سنتز کلاجن ضروری هستند. این ترکیب سرشار از انتی اکسیدان ها و مواد فعال نظیر اسید فولیک و دی بنزو-آلفا پیرون می باشد که به تقویت و محافظت از حجرات پوست کمک می کند. این مواد به تحریک تولید کلاجن در فیرو بلاست ها (حجرات مسئول تولید کلاجن) کمک می کنند و به احیای انساج آسیب دیده پوست و بهبود الاستیکی بودن آن می انجامد علاوه بر این، شیلاجیت می تواند به کاهش چین و چروک ها و خطوط ریز

با دوزهای بیش از ۴ میلی گرم در میلی لیتر به طور قابل توجهی کاهش داشته که نشان دهنده سمیت حجروی در غلظت های بالاتر است. با توجه به سنجش ترمیم زخم خراشیده، تجویز شیلاجیت در دوزهای ۲ و ۳ میلی گرم بر میلی لیتر باعث تسریع بهبود زخم و بهبود مهاجرت حجروی در حجرات hPDL شد شیلاجیت با افزایش بیان جین های دخیل در سنتز کلاجن، زنجیره آلفا ۱ کلاجن نوع ۱ (COL1A1) و سایتوکین های پیش التهابی، تومور نکروز فکتور الفا (TNF- α) و اینترلوکین-۱-بتا، یک پاسخ التهابی کنترل شده را ارتقا داد و از بهبود رباط پریدونتال حمایت کرد. علاوه بر این، شیلاجیت سطح پروتئین MMP2 و MMP9، دو آنزیم مهم دخیل در بازسازی نسج را افزایش داد. حجرات hPDL تیمار شده با شیلاجیت افزایش قابل توجهی در تکثیر حجروی داشته و هیچ فعالیت آپوپتوز قابل تشخیصی را نشان ندادند. این تحقیق نشان دهنده شواهد جدیدی است که شیلاجیت مهاجرت و تکثیر حجرات را افزایش می دهد که به نوبه خود باعث بسته شدن زخم می شود. با توجه به این نتایج، شیلاجیت بازسازی نسج را بهبود بخشیده، بهبود زخم را تسریع و رشد حجرات لیگامان پریدونتال را تحریک می کند (۲۰).

۲-۴. کاهش التهاب

التهاب یکی از مراحل اولیه ترمیم زخم است. اما التهاب مزمن می تواند مانع از ترمیم صحیح شود. ترکیبات ضد التهابی موجود در شیلاجیت از جمله دیترین ها و فولوات ها، می توانند التهاب را کاهش داده

و روند ترمیم را تسریع کنند. این ویژگی باعث می شود که شیلاجیت به عنوان یک ماده ضد التهابی در تداوی زخم های مزمن و پیچیده مؤثر باشد (۲۱). (۲۲). شیلاجیت به دلیل وجود ترکیبات فنولی و انتی اکسیدانی، خواص ضد میکروبی دارد که از عفونت زخم ها جلوگیری می کند. این ویژگی ها از اهمیت بالایی در بهبود و ترمیم زخم ها برخوردارند به ویژه، شیلاجیت به عنوان یک ضد عفونت طبیعی در کاهش خطر عفونت های مؤثر شناخته شده است (۲۳). شیلاجیت به دلیل خواص بازسازی کننده ای که دارد، می تواند به تسریع در بازسازی انساج آسیب دیده کمک کند. این ویژگی موجب کاهش زمان ترمیم و کاهش خطر بروز عوارض ناشی از زخم های مزمن می شود. شیلاجیت به عنوان یک مکمل طبیعی و غنی از مواد معدنی و ترکیبات ارگانیک، می تواند به تقویت سیستم معافیتی بدن کمک کند. این ماده دارای ترکیبات انتی اکسیدانی است که به مبارزه با رادیکال های آزاد کمک کرده و از آسیب به حجرات معافیت جلوگیری می کند. همچنین، مصرف شیلاجیت می تواند به تحریک تولید حجرات سفید خون که برای پاسخ معافیتی مؤثر ضروری هستند، کمک کند و به بهبود عملکرد لنفوسایت ها، به ویژه لنفوسایت های T و B که نقش مهمی در پاسخ معافیتی دارند، یاری رساند. شیلاجیت قادر است فعالیت سیستم معافیتی را تنظیم کند و از واکنش های معافیتی بیش از حد یا ناکافی جلوگیری کند. خواص ضد التهابی این ترکیب نیز به کاهش التهاب در بدن و

in vivo انجام گردیده است. در این مطالعه عصاره نباتی با ادویه دیابتی تجاری شناخته شده (آمینوگوانیدین، گلی بن کلایمید و انسولین) در کنترل هایپرگلیسمی ناشی از استرپتوزوتوسین و فعال سازی واسطه های التهابی در داخل بدن مقایسه گردید. عصاره های نباتی، سنجش مهار آنیون سوپراکساید، سنجش فسفومولیبیدات (ظرفیت کل انتی اکسیدانی)، سنجش مهار رادیکال هاییدروکسیل، تعیین کمیت گلیکاسیون هموگلوبین، وزن بدن، پروفایل لپیدی، بیان جن پیش التهابی ژل الکتروپاتوژیس و آگاروز نشان داد که عصاره های طبیعی خصوصاً شیلاجیت ظرفیت انتی اکسیدانی قابل توجهی دارند و گلیکوزیلاسیون هموگلوبین را به صورت وابسته به دوز در شرایط لابراتواری مهار می کنند. عصاره ها اثرات واضحی بر سطح گلوکز و چربی خون، وزن بدن و بیان جن پیش التهابی نشان دادند (۲۶).

۳-۴. اثر شیلاجیت بر رگ زایی و گردش خون

کلمه رگ زایی به معنی ایجاد مویرگ های جدید از اوعه موجود است. می توان رگ زایی را یک فرآیند ضروری در فیزیولوژی بدن دانست که با واسطه تعادل بین فاکتورهای القاکننده و مهارکننده رگ زایی تنظیم می گردد و در صورتی که این تعادل از بین برود، زمینه برای بروز برخی امراض از جمله رشد و متاستاز تومور فراهم می شود. این فرآیند نیازمند تکثیر فعال حجرات اندوتلیال است. به این صورت که تشکیل رگ های فعال، مستلزم تعامل هماهنگ بین حجرات اندوتلیال، ماتریکس خارج حجروی و

جلوگیری از امراض و عفونت ها کمک می کند. با افزایش سطح انرژی و کاهش خستگی، شیلاجیت به بهبود عملکرد کلی سیستم معافیتی کمک کرده و این موضوع به ویژه در زمان خستگی اهمیت دارد. علاوه بر این، شیلاجیت حاوی مواد معدنی و ویتامین هایی مانند زینک، آهن و ویتامین C است که برای تقویت سیستم معافیتی ضروری به شمار می روند. برخی تحقیقات نشان می دهند که شیلاجیت می تواند به حفظ تعادل فلور روده کمک کند، که تأثیر مستقیمی بر عملکرد سیستم معافیتی دارد، زیرا مقدار زیادی از حجرات ایمنی در روده ها قرار دارند. همچنین، شیلاجیت به تسریع فرآیند بهبود زخم کمک می کند و به این ترتیب سیستم ایمنی انرژی و منابع کمتری را برای مبارزه با عفونت ها مصرف می کند. نهایتاً، این ترکیب می تواند به افزایش جذب مواد مغذی از غذاها کمک کند که این امر نیز به بهبود عملکرد سیستم معافیتی می انجامد (۲۴، ۲۵).

مطالعه ای که در سال ۲۰۱۹ انجام شده است نشان داده است که استفاده از شیلاجیت موجب تسریع در فرآیند ترمیم زخم ها شده و تجزیه و تحلیل مسیر، جن های القایی شیلاجیت مرتبط با مهاجرت حجرات اندوتلیال، رشد اوعیه خونی و ECM را شناسایی کرد (۲۴). مطالعه ای دیگر که با هدف ارزیابی اثر انتی اکسیدانی و ضد دیابتی چند مکمل غذایی مانند آرتوکارپوس هتروفیلوس (جک فروت خام)، زیا مایس (ابریشم ذرت)، سیزیگیوم کومینی (آلو سیاه) و شیلاجیت (آسفالتوم سیاه) در شرایط in vitro

نتیجه‌گیری

شیلاجیت با ترکیبات کیمیاوی منحصر به فرد خود، اثرات فراوانی در ترمیم زخم‌ها دارد. این ماده طبیعی می‌تواند از طریق افزایش تولید کلاجن، کاهش التهاب، جلوگیری از عفونت و تسریع در بازسازی نسج، به بهبود و ترمیم زخم‌ها کمک کند. با توجه به اثرات مثبت شیلاجیت در مطالعات کلینیکی و تجربی، این ماده می‌تواند به عنوان یک گزینه مؤثر در ترمیم زخم‌ها مورد استفاده قرار گیرد.

حجرات احاطه کننده آن‌ها می‌باشد. مهمترین محرک‌های فیزیولوژیکی رگ‌زایی ایسکمی نسجی، هایپوکسی و التهاب هستند. علاوه بر آن برخی از فاکتورهای اختصاصی از قبیل فاکتور رشد رگی، سایتوکاین‌های التهابی، مالیکول‌های نیتریک اکساید، رگ‌زایی را تحریک و یا مهار می‌کنند (۲۷). شیلاجیت با ترکیبات کیمیاوی خاص خویش باعث خون‌رسانی بهتر و تشکیل رگ‌های خونی جدید گردیده که از این طریق باعث تسریع در روند بهبود زخم می‌گردد (۲۸).

1. Rodrigues M, Kosaric N, Bonham CA, Gurtner GC. Wound healing: a cellular perspective. *Physiological reviews*. 2019;99(1):665-706.
2. Strecker-McGraw MK, Jones TR, Baer DG. Soft tissue wounds and principles of healing. *Emergency medicine clinics of North America*. 2007;25(1):1-22.
3. Tottoli EM, Dorati R, Genta I, Chiesa E, Pisani S, Conti B. Skin wound healing process and new emerging technologies for skin wound care and regeneration. *Pharmaceutics*. 2020;12(8):735.
4. Jaiswal AK, Bhattacharya S. Effects of Shilajit on memory, anxiety and brain monoamines in rats. *Indian Journal of Pharmacology*. 1992;24(1):12-7.
5. Pant K, Singh B, Thakur N. Shilajit: A humic matter panacea for cancer. 2012.
6. Trivedi N, Mazumdar B, Bhatt J, Hemavathi K. Effect of shilajit on blood glucose and lipid profile in alloxan-induced diabetic rats. *Indian journal of pharmacology*. 2004;36(6):373-6.
7. Meena H, Pandey H, Arya M, Ahmed Z. Shilajit: A panacea for high-altitude problems. *International journal of Ayurveda research*. 2023;11(1):1-12.
8. Leśków N, Karp Z, Banaszewski M, Popielska K, Grześkowiak M, Mikołajski J, et al. Characteristics and cellular mechanism of the wound healing process in the oral mucosa. *Medical Journal of Cell Biology*. 2023;11(1):1-12.
9. Pandey PS. Shilajit-a wonder drug of ayurveda: an overview. *Int J Pharm Sci Rev Res*. 2019;59(1):140-3.
10. Pandey PS. Shilajit-a wonder drug of ayurveda: an overview. *Int J Pharm Sci Rev Res*. 2019;59(1):140-3.
11. Donnelly JG. Folic acid. *Critical reviews in clinical laboratory sciences*. 2001;38(3):183-223.
12. Akram M, Asif H, Uzair M, Akhtar N, Madni A, Shah SA, et al. Amino acids: A review article. *Journal of Medicinal Plants Research*. 2011;5(17):3997-4000.
13. Mishra T, Dhaliwal HS, Singh K, Singh N. Shilajit (Mumie): Current Status of Biochemical, Therapeutic and Clinical Advances. *Current Nutrition & Food Science*. 2019;15(2):104-20.
14. Corsetti G, D'Antona G, Dioguardi FS, Rezzani R. Topical application of dressing with amino acids improves cutaneous wound healing in aged rats. *Acta histochemica*. 2010;112(5):497-507.
15. Kavalukas SL, Barbul A. Nutrition and wound healing: an update. *Plastic and reconstructive surgery*. 2011;127:38S-43S.
16. Lee S, Ryu H, Whang W. Development of simultaneous analysis method for multi-compounds content of new Shilajit using HPLC-UV and the cognitive enhancing effect: Mongolian Shilajit. *Natural Product Communications*. 2021;16(7):1934578X211030433.
17. Lopes FB, Sarandy MM, Novaes RD, Valacchi G, Gonçalves RV. OxInflammatory responses in the wound healing process: a systematic review. *Antioxidants*. 2024;13(7):823.
18. Shoulders MD, Raines RT. Collagen structure and stability. *Annual review of biochemistry*. 2009;78(1):929-58.
19. Al-Shudiefat AA-RS, Alzyoud JA. Shilajit (Mumie) A natural Product with Antihyperglycemic, Anti-obesity, Antioxidant, and AntiInflammatory properties for a potential treatment of diabetes mellitus. *Jordan Journal of Biological Sciences*. 2024;17(1).
20. Alqarni A, Hosmani J, Meer RM, Alqarni A, Alumudh A, Perumal E, et al. The effects of Shilajit on periodontal ligament cells in wound healing: a comprehensive in vitro study. *BMC Complementary Medicine and Therapies*. 2025;25(1):1-12.

21. Ezhilarasi SSV, Kothandaraman R, Nesamani R, Balasubramanian S, Mahalaxmi S. In vitro assessment of cytotoxicity and anti-inflammatory properties of shilajit nutraceutical: A preliminary study. *Journal of Interdisciplinary Dentistry*. 2020;10(1):24-8.
22. Ghazaazi Firozsalari F, Shahrokhi N, Khaksari Hadad M, Asadikaram G, Atashbar J. Effect of Shilajit on the levels of pro-inflammatory and anti-inflammation cytokines in hepatic injury in male rats. *Journal of Mazandaran University of Medical Sciences*. 2018;28(159):1-13.
23. Elahi S, Mohamadi Sani A, Sarabi-Jamab M. Physicochemical, antioxidant and antimicrobial characteristics of two types of mummies (shilajit). *Journal of Food Measurement and Characterization*. 2024;1-10.
24. Das A, S. El Masry M, Gnyawali SC, Ghatak S, Singh K, Stewart R, et al. Skin transcriptome of middle-aged women supplemented with natural herbo-mineral shilajit shows induction of microvascular and extracellular matrix mechanisms. *Journal of the American College of Nutrition*. 2019;38(6):526-36.
25. Stohs SJ, Singh K, Das A, Roy S, Sen CK. Energy and health benefits of Shilajit. *Sustained Energy for Enhanced Human Functions and Activity*: Elsevier; 2017. p. 187-204.
26. Vemuri SK, Banala RR, Katragunta K, Madhuri V, Raju K, Annareddy VGR, et al. Antioxidant, anti-inflammatory and anti-diabetic efficiency of Indian medicinal plants against streptozotocin induced diabetes in male Wistar rats. *Free Radicals and Antioxidants*. 2018;8(2):141-8.
27. Patan S. Vasculogenesis and angiogenesis. *Angiogenesis in brain tumors*. 2004:3-32.
28. Sharma P, Jha J, Shrinivas V, Dwivedi L, Suresh P, Sinha M. Shilajit: evaluation of its effects on blood chemistry of normal human subjects. *Ancient science of life*. 2003;23(2):114-9.