مقاله پژوهشی

ارمغان دانش، مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج
دوره ۲۲، شماره۲، خرداد و تیر ۱۳۹۶(شماره پی در پی۱۲۱)

تأثیر عصاره جوانه گندم بر روی ساختار بافتی پوست متعاقب تزریق استات سرب در موش صحرایی

حمید رضا مرادی[۱]، حسن مروتی[۱*]، مسعود ادیب مرادی[۱]، حسین نجف زاده ورزی[۲]

[۱]گروه بافت‌شناسی، دانشگاه تهران، تهران، ایران، [۲]گروه فارماکولوژی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

تاریخ وصول : ۱۳۹۵/۵/۱۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۳/۱

چکیده

زمینه و هدف: پوست به طور مداوم در مواجهه با آلودگی‌های زیست‌محیطی از قبیل فلزات سنگین (سرب) می‌باشد. گیاهان دارویی برای درمان ناراحتی‌ها و دردها مورد توجه بشر بوده‌اند. جوانه گندم یکی از گیاهان داروئی می‌باشد که غنی از ویتامین‌ها، مواد معدنی و ترکیب‌های آنتی‌اکسیدانی قوی می‌باشد. هدف از این مطالعه بررسی تأثیر عصاره جوانه گندم بر روی ساختار بافتی پوست به دنبال تزریق استات سرب در موش صحرایی بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی ۳۰ سر موش صحرایی در ۶ گروه به‌طور تصادفی تقسیم شدند؛ گروه کنترل دریافت کننده سرم فیزیولوژی به مقدار ۱ میلی‌لیتر بر کیلوگرم به‌صورت داخل صفاقی، گروه دریافت کننده استات سرب با دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌صورت داخل صفاقی، گروه‌های دریافت کننده‌ی عصاره جوانه گندم با دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌صورت گاواژ، گروه‌های دریافت کننده سرب ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌صورت داخل صفاقی هم زمان با عصاره جوانه با دوزهای ۱۰۰ یا ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌صورت گاواژ. پس از ۵ هفته، نمونه‌های پوست ناحیه پشتی و نیز خون برای مطالعه‌های بافت‌شناسی و ارزیابی سرم جمع‌آوری شدند. نمونه‌های سرم برای فعالیت آنتی‌اکسیدانی(AOA) با استفاده از روش فعالیت پاداکسایشی آهن احیا شده(FRAP) و ارزیابی پراکسیداسیون لیپیدها به وسیله اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدئید(MDA) مورد بررسی قرار گرفتند. به روش استاندارد و معمول تهیه مقاطع بافتی برش‌هایی به ضخامت ۶ـ۵ میکرومتر تهیه و پس از رنگ‌آمیزی‌های هماتوکسیلین- ائوزین، سافرانین و تری‌کروماسون با استفاده از لنز دیجیتال داینو لیت و نرم افزار داینو کاپچر۲ مورد مطالعه بافت‌شناسی قرار گرفتند.

یافته‌ها: سرب موجب کاهش معنی‌دار ضخامت کل پوست، لایه‌های درم و هیپودرم، تعداد و حداکثر عمق فولیکول‌های مو و ضخامت غلاف اپی‌درمی ریشه مو در مقایسه با گروه کنترل شد($p< ۰/۰۵$). تعداد فولیکول‌های مو و غدد سباسه در گروه جوانه گندم ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌نسبت گروه کنترل افزایش معنی‌دار داشت ($p<۰/۰۰۱$). جوانه گندم وابسته به دوز هم‌زمان با سرب موجب افزایش معنی‌دار ضخامت غلاف اپیدرمی ریشه مو ($p< ۰/۰۱$) و افزایش غیرمعنی‌دار عمق فولیکول‌های مو در مقایسه با گروه سرب شد. غلظت MDA در گروه سرب در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌دار نشان داد($p< ۰/۰۱$). غلظت AOA در گروه جوانه ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در مقایسه با سایر گروه‌های مطالعه افزایش معنی‌دار داشت ($p< ۰/۰۰۱$).

نتیجه‌گیری: یافته‌ها نشان داد که سرب دارای اثرات منفی بر ساختار بافتی پوست می‌باشد. عصاره جوانه گندم ۲۰۰ **میلی‌گرم بر کیلوگرم** توانست اثرات سمی سرب را مهار نماید و موجب افزایش طراوت و شادابی پوست شود.

واژه‌های کلیدی: پوست، جوانه گندم، سرب، بافت شناسی، موش صحرایی

[*] **نویسنده مسئول: حسن مروتی**، تهران، دانشگاه تهران، گروه بافت شناسی

Email: hmorovvati@ut.ac.ir

مقدمه

پوست به‌عنوان یک مانع یا سد بین محیط داخل و خارج بدن قرار دارد و از بدن در برابر آسیب‌های مواد مضر شیمیایی، فیزیکی و مکانیکی محافظت می‌کند. هم‌چنین، پوست به‌عنوان بخش ضروری از سیستم ایمنی بدن ایفای نقش می‌کند. در بسیاری از مسمومیت‌ها از قبیل مسمومیت با فلزات سنگین، علایم و نشانه‌های اولیه آن از طریق پوست ظاهر می‌گردد. پوست به‌طور مداوم در مواجهه با عوامل و آلودگی‌های خارجی و داخلی است که ممکن است ساختار و عملکرد پوست را تغییر دهد (۱). از جمله آلودگی‌های زیست محیطی، وجود فلزات سنگین می‌باشد (۲). فلزات سنگین توانایی تولید گونه‌های فعال اکسیژن، کربن، سولفور، نیتروژن را دارند که منجر به اختلال عملکرد سلول از جمله کاهش فعالیت آنزیم‌ها تخریب لایه‌های لیپید و DNA می‌گردد. سرب مشهورترین فلز سنگین سمی است(۳). سرب موجود در هوا از احتراق بنزین سرب‌دار در وسایل نقلیه حاصل می‌گردد که یکی از منابع اصلی آلودگی در کشورهای در حال توسعه است. آلودگی در شهرهای با جمعیت بالا و تراکم ترافیک سنگین بیشتر است(۲). در این، بین افرادی هم‌چون کارگران معادن سرب، ذوب فلز، کارخانه باطری‌سازی و کارگران سایر شغل‌های مرتبط نیز وجود دارند که در مواجهه شغلی با سرب هستند. شواهد نشان می‌دهد که مواجهه با سرب موجب افزایش انواع گونه‌های فعال اکسیژن(**ROS**)[1] و پراکسیداسیون لیپید و در نتیجه منجر به آسیب بافتی می‌گردد(۴ و۳). مکانیسمی دقیق برای چگونگی تأثیر منفی سرب بر روی اندام‌های بدن بالاخص نحوه تأثیرگذارتر آن از طریق تماس یا تزریق و یا خوراکی وجود ندارد. هم‌چنین، در مورد مکانیسم دقیق آن اختلاف نظر وجود دارد(۳). هنوز مطالعه‌ای در مورد اثرات فلزات سنگین از قبیل سرب بر روی ساختار بافتی پوست و نیز تأثیر عصاره جوانه گندم بر روی آن انجام نشده است.

در سال‌های اخیر، علاقه و پژوهش زیادی در مورد گیاهان دارویی و مواد طبیعی که خواص آنتی‌اکسیدانی و دارویی دارند، وجود داشته است. جوانه گندم یکی از گیاهانی است که جایگاه و سابقه بس طولانی در فرهنگ و تغذیه مردم ایران دارد. جوانه گندم یک ماده مغذی با ترکیب‌های فراسودمند و ارزش غذایی بالا می‌باشد(۵). جوانه گندم دارای آنزیم‌های ردوکس مانند کاتالاز، پراکسیداز و غنی از اجزای آنتی‌اکسیدانی از قبیل؛ اسیدهای فنولی، توکوفرول، آلکیلوریزورسینول‌ها، اسیدهای آمینوفنول، وانیلیک اسید و آمینوبنزوئیک‌ها می‌باشد. این موارد در اشکال آزاد و باند شده تنوع دارند و آنتی‌اکسیدان‌های قوی با قابلیت جذب قوی هستند. هم‌چنین، آن‌ها دارای خواص دارویی قوی می‌باشند و به صورت مطلوب و تازه در بازار وجود دارند. در سال‌های اخیر، جوانه گندم در برخی کشورهای اروپایی، آمریکا و هند به‌عنوان یک غذای سالم به‌طور

1- Reactive Oxygen Species(ROS)

وسیعی عرضه می‌شود(۷ و۶). توکوفرول‌ها آنتی‌اکسیدان‌های قوی محلول در چربی هستند و جوانه گندم غنی‌ترین منبع شناخته شده توکوفرول (ویتامین E) با منشأ گیاهی است(۸). خواص ضدسرطان(۹)، ضددیابت(۱۰)، ضدجهش (۱۱)، آنتی‌هیپرگلیسمی(۱۲) و آنتی اکسیدانی(۳) جوانه گندم در شرایط زنده نشان داده شده است. گزارش شده است که ترکیب های آنتی‌اکسیدانی جدا شده از جوانه گندم در شرایط آزمایشگاهی از آسیب اکسیداتیو DNA جلوگیری می‌کنند(۱۳). بنابراین، علاقه و هدف این مطالعه بر روی جوانه گندم تمرکز دارد. به ندرت مطالعه‌ای در مورد تأثیرات گیاهان دارویی، مواد معدنی و ویتامین‌ها بر روی ساختار بافتی پوست انجام شده است. بدین منظور، این مطالعه بررسی نقش محافظتی عصاره هیدروالکلی جوانه گندم بر روی ساختار بافت‌شناسی و هیستوشیمی پوست موش‌های صحرایی مواجهه شده با سرب بود.

روش بررسی

این مطالعه تجربی بر روی ۳۰ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار و به ظاهر سالم با میانگین وزنی ۲۰±۲۲۰ گرم انجام شد. یک روز قبل از شروع آزمایش، موش‌های صحرایی به طور تصادفی به ۶ گروه تقسیم شدند. در هر گروه ۵ سر موش صحرایی که در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی در دمای ۲۵-۲۳ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. آب و غذای مورد نیاز حیوان نیز به صورت آزاد در دسترس قرار داده شدند. حیوانات به مدت یک هفته به منظور سازش با شرایط محیطی نگهداری شدند. دستورالعمل اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران رعایت گردید.

گوه‌های مورد مطالعه شامل؛ گروه کنترل با تزریق روزانه داخل صفاقی سرم فیزیولوژی به مقدار ۱ میلی‌لیتر بر کیلوگرم، گروه دریافت کننده استات سرب با دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌صورت تزریق روزانه داخل صفاقی(۳ و ۱۴)، گروه دریافت کننده عصاره جوانه گندم به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم روزانه به‌صورت خوراکی، گروه دریافت کننده عصاره جوانه گندم به میزان ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم روزانه به‌صورت خوراکی، گروه دریافت کننده استات سرب با دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌صورت تزریق روزانه داخل صفاقی هم‌زمان با عصاره جوانه گندم به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌صورت خوراکی و گروه دریافت کننده استات سرب با دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌صورت تزریق روزانه داخل صفاقی هم‌زمان با عصاره جوانه گندم به میزان ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌صورت خوراکی.

این آزمایش به مدت ۵ هفته به طول انجامید. پس از این مدت، نمونه‌های خونی(برای انجام آزمایش های سرمی) گرفته شد و موش‌ها با رعایت ملاحظات اخلاقی به وسیله کلروفرم آسان کشی شدند. نمونه‌های پوست از قسمت پشتی(Dorsal) حیوانات برداشته و در محلول فیکساتیو فرمالین بافر

۱۰ درصد قرار داده شدند. به منظور مطالعه میکروسکوپی نمونه‌های پایدار شده به روش استاندارد تهیه مقاطع بافتی پارافینی، برش‌هایی با ضخامت ۶-۵ میکرومتر تهیه و با استفاده از روش هماتوکسیلین و ائوزین(H&E) و تری‌کروماسون و سافرانین رنگ‌آمیزی و مورد مطالعه هیستومورفومتری قرار گرفتند. در بخش بافت‌شناسی نیز با استفاده از میکروسکوپ نوری و لنز دیجیتال داینو لیت و نرم افزار داینو کاپچر۲[1]، ساختار بافت‌شناسی پوست از نظر ضخامت کل پوست، لایه‌های اپی‌درم، درم و هیپودرم، ضخامت غلاف اپی‌درمی ریشه مو، حداکثر عمق فولیکول‌ها و نهایتاً تعداد فولیکول‌های مو و تعداد غدد سباسه مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفتند(۱۵). نمونه‌های خون در g × ۴۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شدند. سپس سرم آن‌ها جدا گردید. نمونه‌های سرم برای فعالیت آنتی‌اکسیدانی(AOA)[2] با استفاده از روش فعالیت پاداکسایشی آهن احیا شده(FRAP)[3] و ارزیابی پراکسیداسیون لیپیدها به وسیله اندازه‌گیری مالون دی‌آلدئید(MDA)[4] مورد بررسی قرار گرفتند. روش FRAP بر اساس توان احیاء کنندگی آهن سه ظرفیتی می‌باشد. هم‌چنین، اساس اندازه‌گیری مالون دی‌آلدئید بر پایه واکنش با تیوباربیتوریک اسید، استخراج با بوتانول نرمال، اندازه‌گیری جذب با روش اسپکتروفتومتری و مقایسه جذب با منحنی استاندارد می‌باشد. به طور خلاصه، ۰/۵ میلی‌لیتر از سرم را با ۳ میلی‌لیتر اسید فسفوریک (۱ درصد با حجم برابر) مخلوط شد و سپس به‌وسیله ورتکس با هم مخلوط شدند، ۲۰ میلی‌لیتر از تیوباربیتوریک اسید با غلظت ۶/۷ گرم بر لیتر به نمونه‌ها اضافه شدند. نمونه‌ها در حرارت ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۴۵ دقیقه قرار گرفتند و بعد از قرار دادن در یخ سرد شدند. سپس ۳ میلی‌لیتر ان- بوتانل به نمونه‌ها اضافه شد. مقدار جذب نوری به وسیله اسپکتروفوتومتری اندازه‌گیری شد و بر اساس منحنی کالیبراسیون استاندارد MDA محاسبه شد (۱۷ و ۱۶). عصاره هیدروالکلی جوانه گندم با استفاده از روش حجمی یا ماسراسیون در مرکز تحقیقات فارماکولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز تهیه شد. عمل خیساندن یک روش قدیمی و رایج که به وسیله آب یا حلال‌های مختلف صورت می‌گیرد. بدین منظور پودر جوانه گندم داخل یک ظرف دهان گشاد ریخته شد و به آن به نسبت ۱ به ۳ اتانول ۷۰ درجه سانتی‌گراد اضافه گردید. در ظرف محکم بسته شده و به مدت ۳ روز در محل ثابت قرار گرفت. در این فاصله محتویات داخل ظرف گهگاهی هم زده می‌شد. عصاره صاف شده با استفاده از دستگاه دوار تقطیر در خلا، تغلیظ شده تا حلال آن جدا گردد و عصاره غلیظ به‌دست آید. در نهایت به کمک آب مقطر و ترازوی با دقت ۰/۱ میلی‌گرم، محلول‌های ۱۰۰، ۲۰۰ میلی‌گرمی عصاره تهیه گردید و نهایتاً به وسیله گاواژ به حیوانات خورانده شد.

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزارSPSS و آزمون‌های آماری آنوا و توکی تجزیه تحلیل شدند.

1-Digital Lens and Dino Capture 2 Software
2-Antioxidant Activity (AOA)
3- Ferric Reduction Antioxidant Power (FRAP)
4- Malondialdehyde (MDA)

یافته‌ها

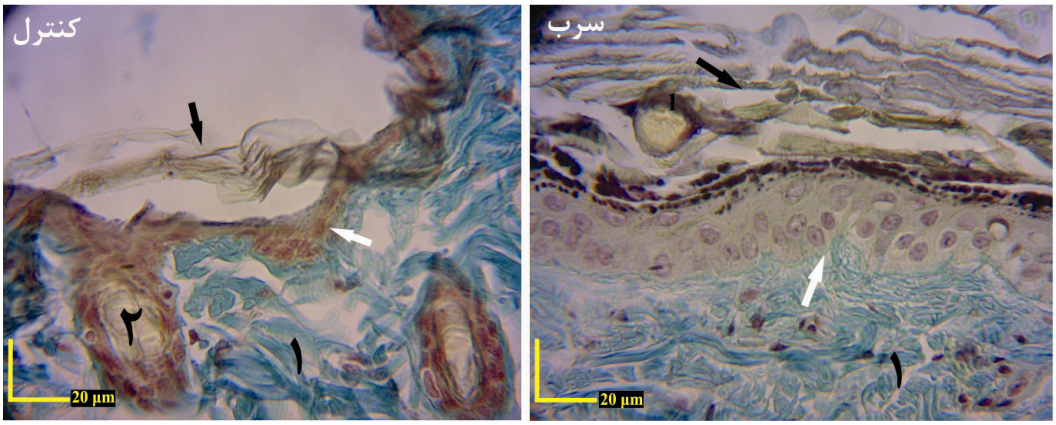
ارزیابی **بافت‌شناسی** برش‌های بافتی پوست نشان دهنده کاهش معنی‌دار ضخامت کل پوست در گروه‌های دریافت کننده سرب در مقایسه با سایر گروه‌ها می‌باشد($p<0/01$). در مقابل، گروه‌های جوانه گندم وابسته به دوز دارای بیشترین ضخامت کل پوست در بین گروه‌های مطالعه بودند. بیشترین ضخامت اپی‌درم در گروه سرب مشاهده گردید. در مقابل، کمترین ضخامت اپی‌درم در گروه‌های جوانه ۲۰۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دیده شد که این کاهش در مقایسه با سایر گروه‌ها معنی‌دار بود($p<0/001$)(جدول ۱). بررسی بافت شناسی برش‌های بافتی پوست در گروه کنترل نشان داد که سه لایه تشکیل دهنده پوست حالت طبیعی داشتند. به طوری‌که لایه اپی‌درم دارای ضخامت بسیار کم با یک ردیف از سلول‌های بازال و دو یا سه ردیف از سلول‌های خاردار و طبقه شاخی ناچیز تشکیل شده بود. لایه درم زیر لایه اپی‌درم قرار داشت. این لایه بیشترین ضخامت پوست را تشکیل داده بود. هم‌چنین، دارای پراکندگی نسبتاً زیادی از رشته‌های بافت همبندی به همراه سلول‌های بافت همبندی(اکثریت شامل فیبروبلاست‌ها) بود. لابه‌لای این بافت رشته‌های همبندی فولیکول‌های مو و غدد سباسه با پراکندگی یک‌دستی قرار داشتند(**شکل** ۱). همان‌طور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود، نتایج بافت‌شناسی حاکی از کاهش ضخامت لایه درم در گروه سرب در مقایسه با گروه کنترل بود. به طوری‌که این کاهش از لحاظ آماری معنی‌دار بود($p<0/05$). ضخامت لایه درم در گروه‌های هم‌زمان سرب با عصاره جوانه ۲۰۰ یا ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌دار نشان داد($p<0/05$)(جدول ۱). بررسی‌های هیستولوژی به وسیله رنگ‌آمیزی‌های اختصاصی تری‌کروماسون و سافرانین نیز نشان دهنده تراکم کم محتوای کلاژن در لایه درم موش‌های مواجهه شده با سرب بودند. هم‌چنین، نتایج این رنگ‌آمیزی‌ها حاکی از بی‌نظمی و تزاید سلولی در لایه اپی‌درم گروه‌های دریافت کننده سرب بودند(تصاویر ۱ و ۲). در مقابل، این اختلالات ساختاری در لایه‌های پوست تحت تأثیر وابسته به دوز جوانه گندم کاهش چشمگیری را نشان دادند(**شکل** ۲). کمترین ضخامت لایه هیپودرم در گروه‌های دریافت کننده سرب مشاهده گردید که در مقایسه با سایر گروه‌ها معنی‌دار بودند($p< 0/001$). نکته قابل توجه در نتایج بافت‌شناسی افزایش ضخامت کل پوست در گروه‌های دریافت کننده عصاره جوانه به علت افزایش در ضخامت لایه‌های درم و هیپودرم بود. در حالی‌که لایه اپی‌درم در این گروه‌ها در مقایسه با سایر گروه‌ها کاهش معنی‌دار را نشان دادند(جدول ۱). بررسی مشخصه‌های ضمایم پوست نشان دهنده کاهش معنی‌دار تعداد فولیکول مو در گروه‌های دریافت کننده سرب بود($p<0/001$). بیشترین تعداد فولیکول مو نیز در گروه‌های عصاره جوانه ۲۰۰ یا ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مشاهده گردید. تعداد فولیکول‌های مو در گروه عصاره جوانه ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در مقایسه با گروه کنترل

معنی‌دار بود($p<0/001$)(نمودار ۱). بررسی آماری داده‌های به دست آمده نشان داد که هیچ اختلاف معنی‌داری در تغییرات مشخصه تعداد غدد سباسه در بین گروه‌ها وجود ندارد. به جز این که گروه عصاره جوانه ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم افزایش معنی‌دار تعداد غدد سباسه را در مقایسه با سایر گروه‌ها نشان داد($p<0/001$)(نمودار ۲). عمق فولیکول‌های مو در گروه‌های عصاره جوانه وابسته به دوز دارای بیشترین عمق معنی‌دار($p<0/05$) و در گروه‌های دریافت کننده سرب دارای کمترین عمق معنی‌دار($p<0/001$) در مقایسه با دیگر گروه‌های مطالعه بودند(نمودار ۳). ضخامت غلاف اپی‌درمی ریشه مو در گروه سرب کاهش معنی‌دار در مقایسه با سایر گروه‌های مطالعه نشان داد($p<0/01$). در مقابل، تحت تأثیر عصاره جوانه گندم افزایش معنی‌دار ضخامت غلاف اپی‌درمی ریشه مو در مقایسه با سایر گروه‌های مطالعه دیده شد($p<0/01$)(نمودار۴).

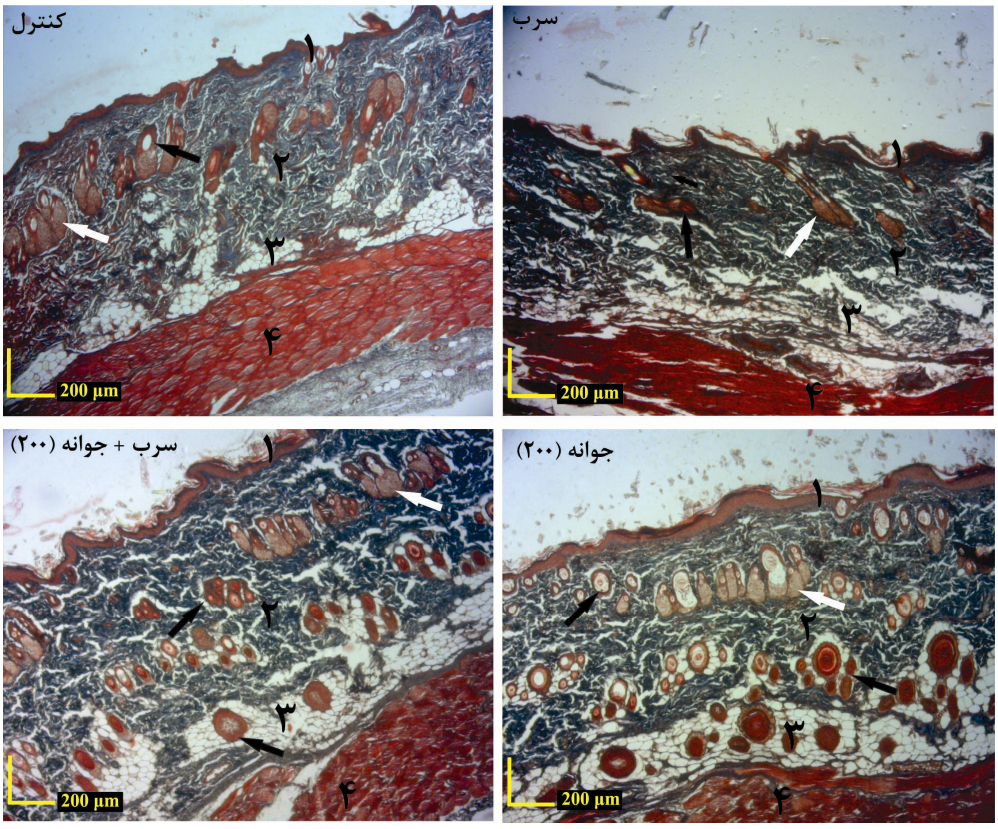
غلظت MDA در گروه سرب در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌دار نشان داد($p<0/01$). کمترین غلظت MDA در گروه‌های عصاره جوانه ۲۰۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دیده شد که این کاهش در مقایسه با گروه‌های دریافت کننده سرب معنی‌دار بودند($p<0/01$)، ولی در مقایسه با گروه کنترل کاهش غیر معنی‌دار نشان دادند(نمودار ۵). نتایج AOA نشان داد که تحت تأثیر عصاره جوانه گندم فعالیت آنتی‌اکسیدانی در مقایسه با سایر گروه‌های مطالعه افزایش می‌یابد. بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی در گروه عصاره جوانه ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دیده شد که در مقایسه با سایر گروه‌های مطالعه معنی‌دار بود($p<0/001$). فعالیت آنتی‌اکسیدانی در گروه عصاره جوانه ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در مقایسه با گروه کنترل افزایش نشان داد و از لحاظ آماری این افزایش معنی‌دار نبود. فعالیت آنتی‌اکسیدانی در گروه‌های دریافت کننده سرب در مقایسه با سایر گروه‌ها کاهش معنی‌دار نشان داد($p<0/001$) (نمودار ۶).

بحث

انسان‌ها در طول زندگی در مواجهه با انواع مختلفی از آلودگی‌های زیست محیطی قرار دارند. سرب یک آلاینده زیست محیطی و صنعتی است که با مشکلات بهداشتی در سراسر دنیا همراه است(۱۴). در سال‌های اخیر تأثیر منفی عوامل شیمیایی محیطی بر روی اندام‌های مختلف بدن مورد توجه زیادی قرار گرفته است. یکی از عوامل خطرناک محیطی، اشعه فرابنفش می‌باشد که در مطالعه های مختلف اثرات منفی آن بر روی پوست نشان داده شده است. بوئلزما و همکاران بیان کردند که اشعه فرابنفش موجب التهاب، پیکنوزه شدن کراتینوسیت‌ها، پیری پوست و همئوستازی نامتوازن اپی‌درمی می‌شود(۱). نتایج مطالعه حاضر، نشان دهنده افزایش ضخامت اپی‌درم (تکثیر سلولی) تحت تأثیر سرب بود.



شکل ۱: ساختار بافتی پوست موش صحرایی (رنگ آمیزی سافرانین). تزاید سلولی و افزایش ضخامت اپی‌درم(پیکان‌های سفید) در گروه سرب در مقایسه با گروه کنترل قابل توجه است. بیشتر بودن ضخامت لایه شاخی(پیکان‌های سیاه) و وجود تجمع پیگامنت‌های ملانین در سطح لایه اپی‌درم گروه سرب قابل توجه است. ۱: لایه درم و ۲: فولیکول مو.

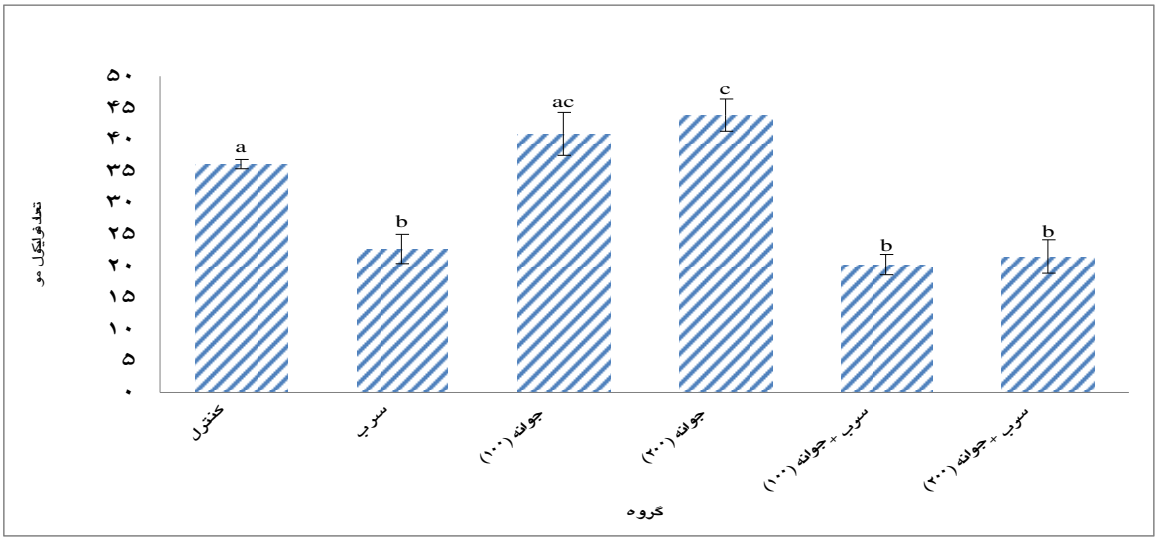


شکل ۲: ساختار بافتی پوست موش صحرایی (رنگ آمیزی تری‌کروماسون). کاهش فولیکول‌های مو(پیکان‌های سیاه)، تراکم کم کلاژن و ضخامت کم لایه درم(۲) در گروه سرب در مقایسه با گروه کنترل و سایر گروه‌های مطالعه قابل مشاهده است. تحت تأثیر عصاره جوانه با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم افزایش تعداد فولیکول‌های مو(پیکان‌های سیاه)، غدد سباسه (پیکان‌های سفید) و تراکم کلاژن در لایه درم (۲) در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد، ۱: لایه اپی‌درم، ۳: لایه هیپودرم و ۴: طبقه عضلانی. اعداد داخل پرانتز برحسب میلی‌گرم بر کیلوگرم می‌باشند

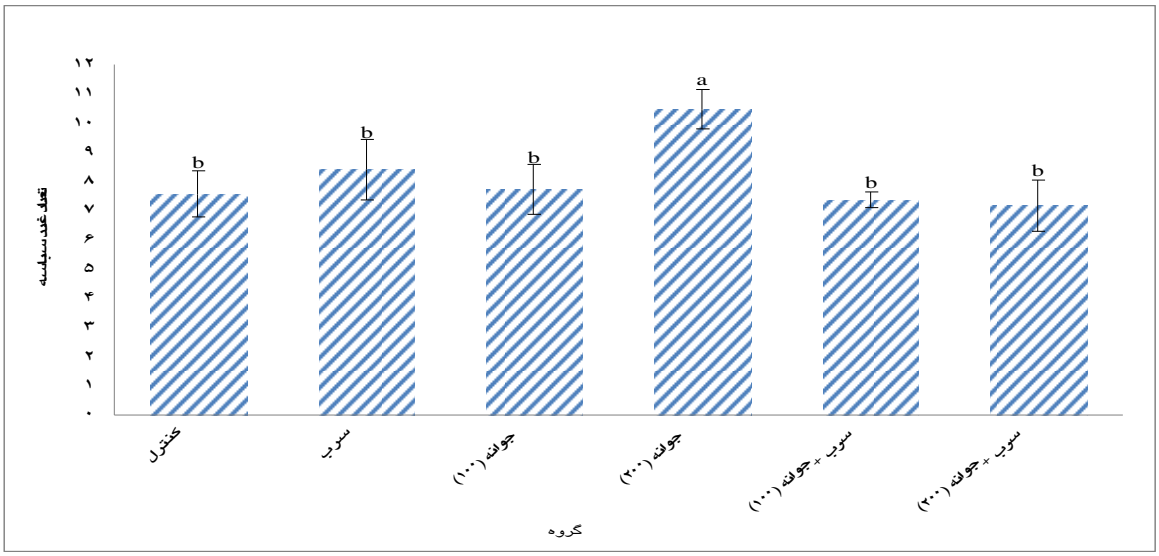
جدول ۱: میانگین± انحراف معیار مشخصه‌های بافت‌شناسی پوست در گروه‌های مطالعه.

گروه / مشخصه	ضخامت لایه اپی‌درم (میکرومتر)	ضخامت لایه درم (میکرومتر)	ضخامت کل پوست (میکرومتر)	ضخامت لایه هیپودرم (میکرومتر)
کنترل	۳۰/۹ ±۱/۶^{a}	۷۶۵/۷ ±۲/۸^{a}	۱۲۵۰/۸ ±۳۶/۸^{a}	۳۳۵/۱ ±۴۷/۹^{a}
سرب	۳۲/۸ ±۱/۲۵^{ab}	۶۶۱/۳ ±۱۴/۴^{b}	۱۰۶۷/۸ ±۵/۵۷^{c}	۱۹۴/۹ ±۷^{c}
جوانه (۱۰۰)	۲۰/۵ ±۰/۷^{c}	۷۲۵/۲ ±۵۸/۳^{abc}	۱۳۰۳/۷ ±۸۱/۸^{ab}	۳۸۳/۴ ±۳۷/۱^{a}
جوانه (۲۰۰)	۱۹/۵ ±۲/۳^{c}	۷۴۶/۲ ±۴۵/۹^{ac}	۱۳۷۴/۸ ±۶۲/۹^{b}	۳۳۶/۸ ±۹/۲^{a}
سرب + جوانه (۱۰۰)	۲۸/۳ ±۱/۲^{ab}	۶۷۷/۶ ±۱۳/۷^{bc}	۹۲۶۹/۹ ±۲۸^{d}	۱۵۵/۹ ±۶/۴^{bc}
سرب + جوانه (۲۰۰)	۲۸/۶ ±۵/۲^{ab}	۶۶۵/۱ ±۵۷^{b}	۸۵۳/۳ ±۲۳^{d}	۱۳۲/۷ ±۱۰/۵^{b}

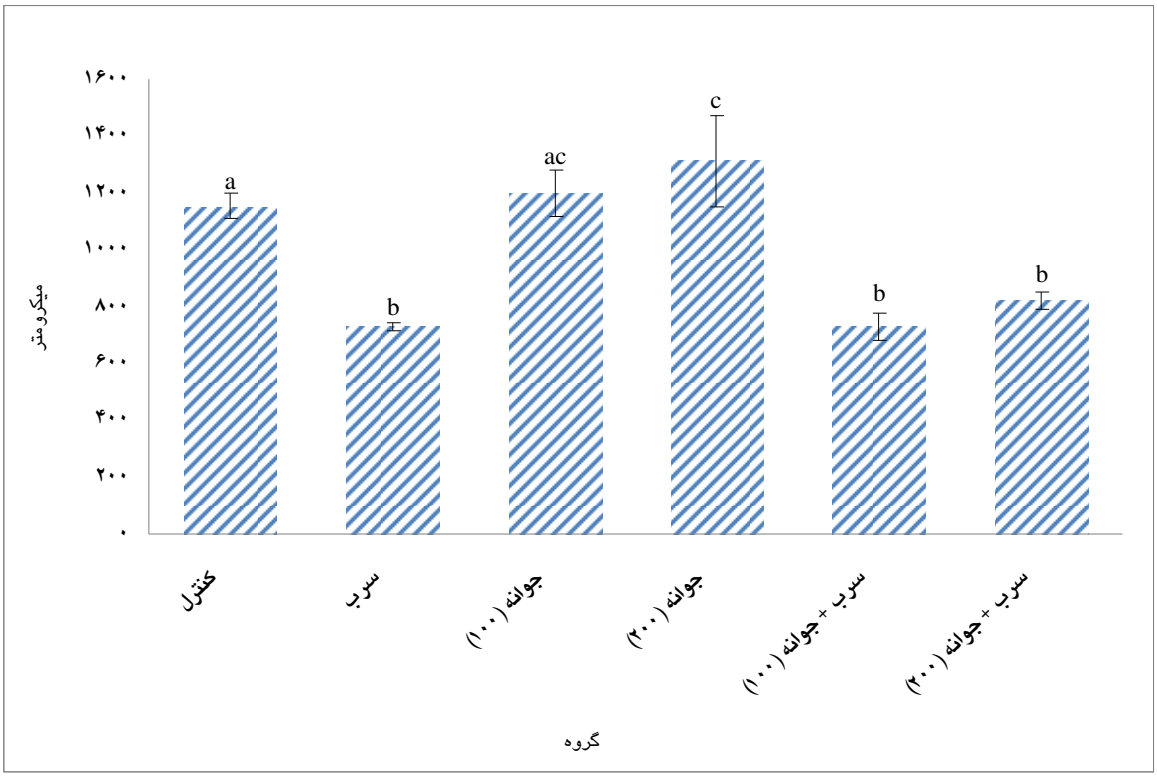
وجود حروف متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های مطالعه می‌باشد ($P < ۰/۰۵$). اعداد داخل پرانتز برحسب میلی‌گرم بر کیلوگرم می‌باشند.



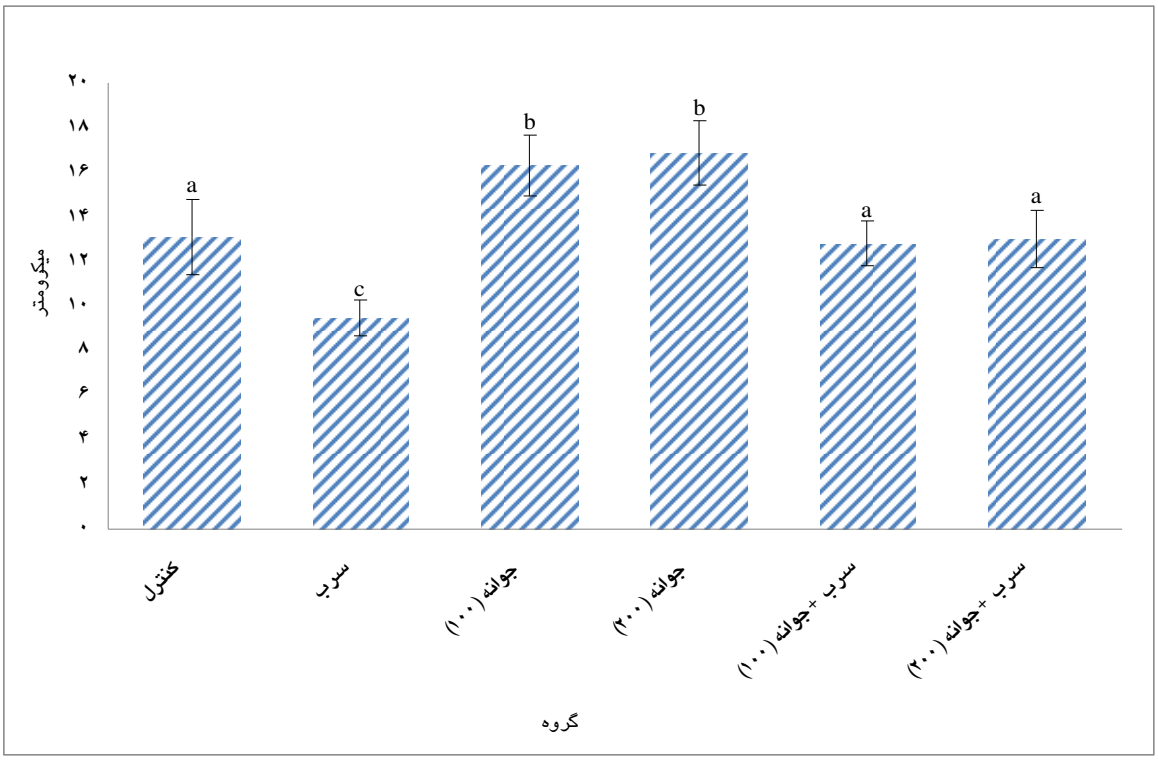
نمودار ۱: میانگین ± انحراف معیار تعداد فولیکول‌های مو در گروه‌های مطالعه. وجود حروف متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های مطالعه می‌باشد($p<۰/۰۵$). اعداد داخل پرانتز برحسب میلی‌گرم بر کیلوگرم می‌باشند



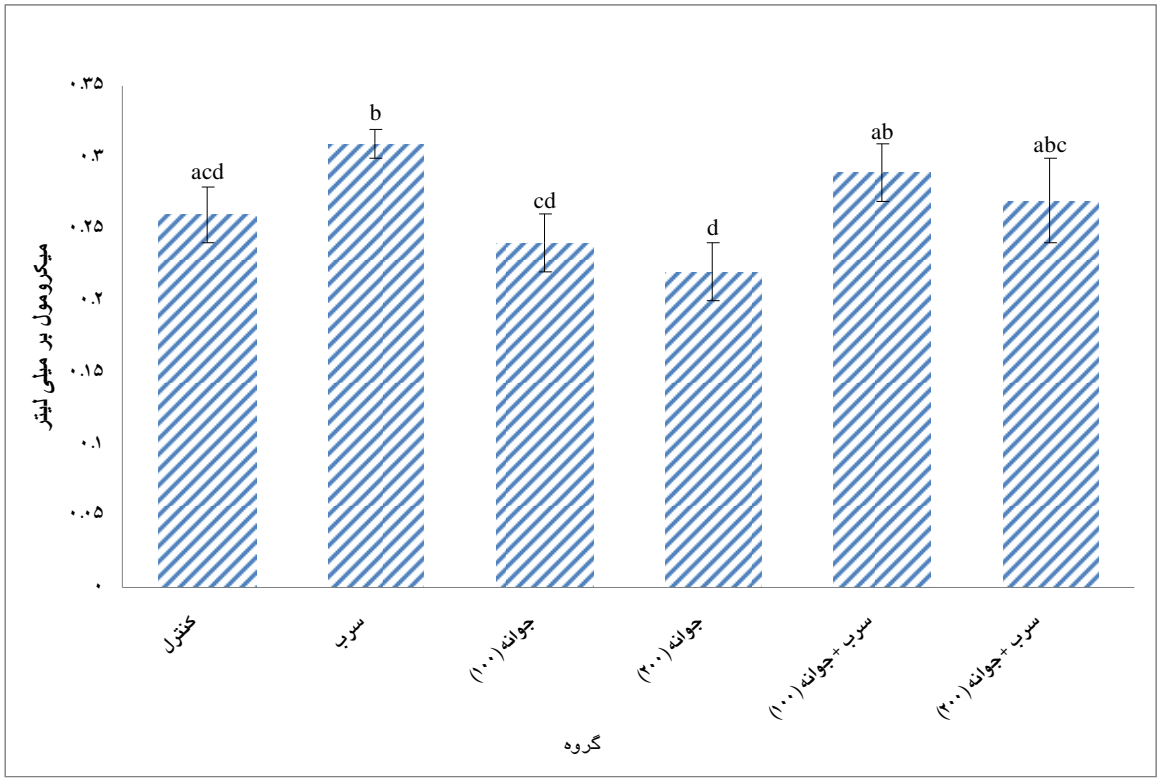
نمودار ۲: میانگین± انحراف معیار تعداد غدد سباسه در گروه‌های مطالعه. وجود حروف متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های مطالعه می‌باشد($p<۰/۰۵$). اعداد داخل پرانتز برحسب میلی‌گرم بر کیلوگرم می‌باشند



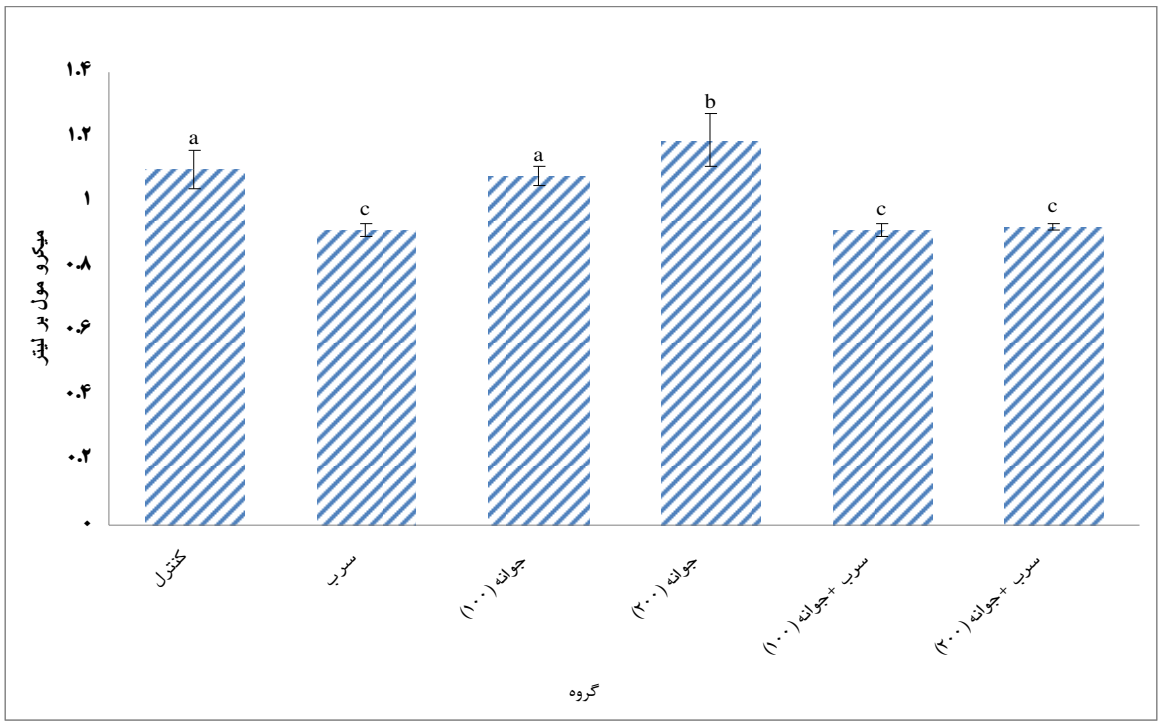
نمودار ۳: میانگین± انحراف معیار حداکثر عمق فولیکول‌های مو در گروه‌های مطالعه. وجود حروف متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های مطالعه می‌باشد($p<۰/۰۵$). اعداد داخل پرانتز برحسب میلی‌گرم بر کیلوگرم می‌باشند



نمودار ۴: میانگین ± انحراف معیار ضخامت غلاف اپیدرمی ریشه مو در گروه‌های مطالعه. وجود حروف متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های مطالعه می‌باشد($p<۰/۰۵$). اعداد داخل پرانتز برحسب میلی‌گرم بر کیلوگرم می‌باشند



نمودار ۵: میانگین± انحراف معیار غلظت MDA سرم در گروه‌های مطالعه. وجود حروف متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های مطالعه می‌باشد($p<۰/۰۵$). اعداد داخل پرانتز برحسب میلی‌گرم بر کیلوگرم می‌باشند



نمودار ۶: میانگین ± انحراف معیار غلظت AOA سرم در گروه‌های مطالعه. وجود حروف متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های مطالعه می‌باشد ($p<۰/۰۵$) . اعداد داخل پرانتز برحسب میلی‌گرم بر کیلوگرم می‌باشند

تکثیر زیاد سلول‌های اپی‌درم و التهاب خاص پوستی از علایم پسوریازیس می‌باشند. افزایش تکثیر مکرر سلول‌های اپی‌درمی می‌تواند منجر به ایجاد سرطان پوست گردد(۱)، لذا می‌توان نتایج مطالعه حاضر را تحت تأثیر سرب مشابه با پسوریازیس دانست. تقریباً همه مطالعات انجام شده بر روی پوست به پارامترهای تولید چربی و کش‌سانی پوست پرداخته‌اند(۱). به جز تفاوت در ضخامت، تفاوت‌های آناتومیکی و ساختاری بسیار اندکی بین پوست انسان و موش وجود دارد و در واقع درم انسان خیلی ضخیم‌تر از درم موش می‌باشد(۱۸). لازم به توضیح است که تاکنون هیچ مطالعه‌ای از اثرات فلزات سنگین بر روی ساختار پوست انجام نشده است. نتایج مطالعه حاضر حاکی از کاهش معنی‌دار پارامترهای بافت‌شناسی ضخامت لایه هیپودرم، غلاف اپی‌درمی ریشه مو، حداکثر عمق فولیکول‌های مو و تعداد فولیکول مو تحت تأثیر سرب در مقایسه با گروه کنترل بود. گزارش شده است که ضخامت لایه چربی هیپودرم به طورچشمگیری با چرخه مو در ارتباط است. به طوری که در در اواخر آناژن دارای حداکثر ضخامت و در اواخر تلوژن دارای نازک‌ترین و یا فاقد ضخامت است(۱۸)، لذا با توجه به نتایج سرب در مطالعه حاضر می‌توان گفت که احتمالاً سرب حال استراحت (فاز تلوژن) را برای فولیکول و چرخه مو موجب شده است. نتایج سرمی مطالعه حاضر نشان‌دهنده افزایش معنی‌دار سطح MDA و کاهش معنی‌دار AOA در اثر مواجهه با سرب بود. یکی از مکانیسم‌های پاتوژنی مهم در گسترش اختلالات مختلف، تولید ROS می‌باشد. نشان داده شده است که ROS موجب ایجاد عوارض جانبی کوتاه و بلند مدت مانند؛ اریتم، اختلالات کراتینه شدن(ضخیم شدن)، چین و چروک و نهایتاً بروز سرطان پوست می‌گردد(۱۹). این نتایج حاکی از آن است که احتمالاً سرب از طریق مکانیسم استرس اکسیداتیو موجب اختلالات بافتی پوست در مطالعه حاضر شده است. یکی از مکانیسم‌های احتمالی در اثر سرب بر اندام‌های بدن، ایجاد استرس اکسیداتیو گزارش شده است(۳). تعداد فولیکول‌های مو در مطالعه حاضر تحت تأثیر سرب کاهش معنی‌داری داشت. نشان داده شده است که مسمومیت با فلزات سنگین از قبیل آرسنیک، سرب، کادمیوم و جیوه به‌صورت قابل توجهی موجب کاهش تعداد مو می‌گردند. هم‌چنین، آرسنیک موجب هیپرکراتینوزیس و هیپرپیگمانته پوست می‌گردد(۲۰).

با در نظر گرفتن آثار زیان بار سرب بر بخش‌های مختلف بدن و افزایش روز افزون امکان قرار گیری در معرض آلودگی سرب، راهکارهای مختلفی برای خنثی یا کم کردن این آثار زیان بار بررسی شده است. یکی از این راهکارها توجه به تغذیه و مواد غذایی مورد استفاده به ویژه مواد آنتی‌اکسیدانی است. تغذیه مناسب نقش به سزایی در مقابله با مسمومیت ناشی از سرب دارد(۲۱). عملکرد و جذابیت پوست نیز وابسته به تغذیه مناسب می‌باشد. افزایش ضایعات پوستی در پاسخ به کمبودهای تغذیه‌ای ایجاد می‌گردد(۱). در مطالعه حاضر، عصاره

جوانه گندم وابسته به دوز توانست موجب افزایش معنی‌دار تعداد و حداکثر عمق فولیکول‌های مو، تعداد غدد سباسه و کاهش معنی‌دار ضخامت اپی‌درم شود. هم‌چنین، تجویز عصاره جوانه هم‌زمان با سرب در مقایسه با گروه سرب موجب افزایش غیر معنی‌دار ضخامت درم پوست در موش‌های صحرایی گردید. درم لایه‌ای از بافت همبند کلاژن نامنظم متراکم است که به پوست استحکام می‌بخشد و ساختاری محافظ را برای اندام‌ها و عضلات زیرین فراهم می‌کند. هم‌چنین، گزارش شده است که با افزایش سن و پیری پوست در انسان ضخامت این لایه کمتر و نازک می‌شود(۱۸)، لذا افزایش ضخامت آن در مطالعه حاضر در اثر عصاره جوانه گندم نتیجه مفیدی برای حفظ ساختار و استحکام پوست بوده است.

هم‌چنین، این عصاره وابسته به دوز موجب کاهش سطح سرمی MDA و افزایش معنی‌دار AOA گردید. جوانه گندم در میان گیاهان دارویی منحصر به فرد است. به‌طوری‌که غنی از ویتامین‌ها، مواد معدنی، ترکیب های فیتواستروژنی و آنتی‌اکسیدان‌ها می‌باشد. علاوه بر این جوانه گندم در برگیرنده منیزیم، روی، کلسیم، ویتامین E، ویتامین C، اسید فولیک، تیامین، ریبوفلاوین، آهن، نیاسین و B_{12} است(۲۲). گزارش شده است که ترکیب های آنتی‌اکسیدانی، مواد معدنی، اسیدهای چرب ضروری و ویتامین‌ها چه در شرایط سالم و چه در بهبود بیماری‌های پوستی لازم و ضروری می‌باشند. کمبودهای تغذیه‌ای موجب پیری پوست، سرکوب ایمنی، سرطان پوست و افزایش ضخامت اپی‌درم و تحریک تولید ملانین می‌شوند(۱)، لذا می‌توان گفت عصاره جوانه گندم احتمالاً از طریق فعالیت آنتی‌اکسیدانی نقش محافظتی خود را ایفا کرده است. چرخه مو بر اساس مورفولوژی فولیکول‌های مو و در ارتباط با عمق فولیکول مو می‌باشد. به طوریکه در مرحله رشد آن (مرحله آناژن) فولیکول مو عمق بیشتری در مقایسه با مرحله خاموش (مرحله کاتاژن) نفوذ می‌کند. پس هر چه عمق فولیکول مو بیشتر باشد، یعنی در مرحله آناژن و رشد قرار دارد و بالعکس، عمق فولیکول مو در مرحله کاتاژن مو کمتر خواهد بود(۲۳). حال در مطالعه حاضر پارامتر عمق فولیکول‌های مو در گروه‌های دریافت کننده جوانه گندم در مقایسه با گروه کنترل دارای افزایش معنی‌دار در مقدار نفوذ فولیکول در لایه‌های درم و هیپودرم بودند. سبوم ترشحی از غدد سباسه که حاوی اسیدهای چرب، کلسترول و پیش‌سازهای ویتامین D است موجب کاهش نفوذ میکروارگانیسم‌ها از سطح پوست، کاهش تبخیر سطحی، محافظت از مو و موجب نرمی پوست و مو می‌گردد(۱۵). از این رو افزایش تعداد این غدد در اثر جوانه گندم می‌تواند اثرات ذکر شده فوق را موجب شود. از آنجایی که جداسازی ترکیب‌های مختلف جوانه گندم و استفاده از این ترکیب‌ها به‌طور جداگانه، می‌تواند سهم هریک از آن‌ها را مشخص کند، لذا برای بررسی کامل‌تر اثرات عصاره جوانه گندم بر روی بافت پوست، پیشنهاد می‌شود مطالعه های علمی و بالینی بیشتری جهت مشخص کردن مکانیسم و اثرات واقعی درمان با

جوانه گندم در مقابل اثرات مخرب مواد توکسیک از قبیل سرب به عمل آید.

نتیجه‌گیری

در مجموع می‌توان گفت که تجویز سرب با دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم موجب ایجاد استرس اکسیداتیو در ساختار بافتی پوست موش‌های صحرایی می‌گردد. در مقابل، تجویز عصاره جوانه گندم وابسته به دوز توانست اثرات مخرب سرب بر روی بافت پوست را مهار کند، بنابراین، برای مقابله با آلودگی هوا (وجود سرب) به افراد شاغل در محیط‌های کاری که در مواجهه با سرب می‌باشند توصیه می‌شود که سیستم دفاع آنتی اکسیدانی خود را با مصرف جوانه گندم تازه تقویت کنند تا آسیب ناشی از اکسیدان سرب بالاخص در پوست به حداقل ممکن برسد.

تقدیر و تشکر

بدین وسیله بر خود لازم می‌دانیم از معاونت پژوهشی دانشگاه تهران به خاطر حمایت مالی این پژوهش تقدیر و تشکر نماییم.

REFERENCES

1.Boelsma E, Hendriks HF, Roza L. Nutritional skin care: health effects of micronutrients and fatty acids. Am J Clin Nutr 2001; 73(5): 853-64.
2.Sokol RZ. Hormonal effects of lead acetate in the male rat: mechanism of action. Biol Reprod 1987; 37(5): 1135-8.
3.Adibmoradi M, Morovvati H, Moradi HR, Sheybani MT, Amoli JS, Hesari AK, et al. Protective effects of wheat sprout on testicular toxicity in male rats exposed to lead. Reprod Syst Sex Disord 2015; 4: 1-9.
4.Vaziri ND, Sica DA. Lead-induced hypertension: role of oxidative stress. Curr Hypertens Rep 2004; 6(4): 314-20.
5.Zhu KX, Zhou HM, Qian HF. Comparative study of chemical composition and physicochemical properties of defatted wheat germ flour and its protein isolate. J Food Biochem 2006; 30(3): 329-41.
6.Dexter J, Wood P. Recent applications of debranning of wheat before milling. Trends Food Sci Technol 1996; 7(2): 35-41.
7.Kulkarni SD, Tilak J, Acharya R, Rajurkar NS, Devasagayam T, Reddy A. Evaluation of the antioxidant activity of wheatgrass (*Triticum aestivum L.*) as a function of growth under different conditions. PTR 2006; 20(3): 218-27.
8.Eisenmenger M, Dunford NT. Bioactive components of commercial and supercritical carbon dioxide processed wheat germ oil. J Am Oil Chem Soc 2008; 85(1): 55-61.
9.Bonfili L, Amici M, Cecarini V, Cuccioloni M, Tacconi R, Angeletti M, et al. Wheat sprout extract-induced apoptosis in human cancer cells by proteasomes modulation. Biochimie 2009; 91(9): 1131-44.
10.Mohan Y, Jesuthankaraj GN, Ramasamy TN. Antidiabetic and antioxidant properties of *Triticum aestivum* in streptozotocin-induced diabetic rats. Adv Pharmacol Sci 2013; 2013: 1-9.
11.Peryt B, Szymcyzyk T, Lesca P. Mechanism of antimutagenicity of wheat sprout extracts. Mutat Res Fund Mol Mech Mut 1992; 269(2): 201-15.
12.Lee S, Lee Y, Lee H, Kim D. Anti-oxidative and anti-hyperglycemia effects of *Triticum aestivum* wheat sprout water extracts on the streptozotocin-induced diabetic mice. Korean J Pharm 2009; 40(4): 1-8.
13.Falcioni G, Fedeli D, Tiano L, Calzuola I, Mancinelli L, Marsili V, et al. Antioxidant activity of wheat sprouts extract in vitro: inhibition of DNA oxidative damage. J food Sci 2002; 67(8): 2918-22.
14.Hamadouche NA, Sadi N, Kharoubi O, Slimani M, Aoues A. The protective effect of vitamin E against genotoxicity of lead acetate intraperitoneal administration in male rat. Arch Biol Sci 2013; 65(4):1435-45.
15.Adibmoradi M, Moradi HR, Hesari AK, Adibmoradi G. Study of histomorphometric changes in adult rat's skin following injection of PRP and PPP. JVR 2016; 71(1): 1-8.
16.Kheradmand A, Alirezaei M, Dezfoulian O. Cadmium-induced oxidative stress in the rat testes: protective effects of betaine. Int J Pept Res Ther 2013; 19(4): 337-44.
17.Koracevic D, Koracevic G, Djordjevic V, Andrejevic S, Cosic V. Method for the measurement of antioxidant activity in human fluids. J clin pathol 2001; 54(5): 356-61.
18.Treuting PM, Dintzis SM. Comparative anatomy and histology: A Mouse and Human Atlas. 1th ed. London: Academic Press; 2011; 1-9, 433-47.
19.Nachbar F, Korting H. The role of vitamin E in normal and damaged skin. J Mol Med 1995; 73(1): 7-17.
20.Graeme KA, Pollack CV. Heavy Metal Toxicity, Part I: Arsenic and Mercury. J Emerg Med 1998; 16(1): 45-56.
21.Hsu PC, Guo YL. Antioxidant nutrients and lead toxicity. Toxicol 2002; 180(1): 33-44.
22.Singh N, Verma P, Pandey B. Therapeutic potential of organic *Triticum aestivum linn.*(wheat grass) in prevention and treatment of chronic diseases: An overview. Int J Pharm Sci Drug Res 2012; 4(1): 10-14.
23.Ikawa A, Ishii Y, Suzuki K, Yasoshima A, Suzuki N, Nakayama H, et al. Age-related changes in the dorsal skin histology in Mini and Wistar rats. Histol Histopathol 2002; 17(2): 419-26.

Armaghane-danesh, Yasuj University of Medical Sciences Journal (YUMSJ)

Original Article

The Effect of Wheat Sprout Extract on Skin Injury Following Injection of Lead Acetate in Rat

Moradi HR[1], Morovvati H[1*], Adibmoradi M[1], Najafzadeh Varzi H[2]

[1]Department of Basic Sciences, University of Tehran, Iran, [2]Department of Basic Sciences, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

Received: 9 Aug 2016 Accepted: 22 May 2017

Abstract

Background & aim: Skin is constantly exposed to environmental contaminants such as heavy metals (lead).Medicinal plants have been concern for the treatment of of human pain. and pain. Wheat Sprout is one of medicinal plants which are rich in vitamins, minerals and powerful antioxidant compounds respectively. The aim of this study was to evaluate the effect of wheat Sprout extract on tissue texture following injection of lead acetate in rats.

Methods: Thirty healthy adult Wistar rats were divided randomly into six groups: Control group received 1 ml/kg/day of normal saline, group 2 received 20 mg/kg/day of lead acetate intraperitoneally respectively, group 3 and group 4 received 100 mg/kg/day and 200 mg/kg/day of wheat sprout extract by gavage feeding, group 5 and group 6 received 100 mg/kg/day and 200 mg/kg/day of wheat sprout extract by gavage feeding along with 20 mg/kg/day of lead acetate intraperitoneally. After five weeks, skin tissue of dorsal region and blood samples were collected for histomorphometric studies and serum assessment. Serum samples were tested for determining antioxidant activity (AOA) based on power ferric reduction antioxidant (FRAP) assay and peroxidation of lipids by measuring malondialdehyde (MDA). The 5 to 6 µm thickness sections were made using paraffin embedding method after stained by hematoxylin and eosin, safranin and masson trichrome. For microscopic study, Dino-Lite digital lens and Dino Capture 2 Software were used.

Results: The lead significantly decreased the total thickness of the skin, the dermal layer, hypoderm, the number and maximum depth of hair follicles and the epidermis pod thickness of the hair root compared with the control group ($p < 0.05$). A significant increase was seen in numbers of sebaceous glands and hair follicles in group receiving 200 mg/kg/day of wheat sprout, compared to that in control group ($P < 0.001$). Wheat sprout simultaneously with lead increased the epidermis sheath thickness of the root ($p < 0.01$) but no significant increase was seen in the depth of hair follicles in comparison with the lead group.MDA level showed a significant increase in lead group, compared to control group ($P < 0.01$). AOA level showed a significant increase in wheat sprout (200 mg/kg/day) group, compared to other groups ($P < 0.001$).

Conclusion: The results showed that lead can induce negative effects in skin tissues. Wheat sprout extract (200 mg/kg/day) can inhibit toxic effects of lead in skin tissues and that leads to refreshing in skin.

Keywords: Skin, Wheat Sprout, Lead, Histology, Rat

[*]**Corresponding Author: Morovvati H**, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Iran
Email: hmorovvati@ut.ac.ir

Please cite this article as follows:
Moradi HR, Morovvati H, Adibmoradi M, Najafzadeh Varzi H. The Effect of Wheat Sprout Extract on Skin Injury Following Injection of Lead Acetate in Rat. Armaghane-danesh 2017; 22 (2): 161-175.