

اثر القاء کنندگی ژل آلوئه‌ورا بر بیان ژن TGF- β در زخم‌های پوستی موش سوری

حمیرا جعفرزاده^۱، دکتر مهران عربی^۲، نرگس نجفی^{۳*}، دکتر علی محمد احدی^۳

۱- کارشناس ارشد فیزیولوژی جانوری، گروه زیست شناسی، دانشگاه شهرکرد، ۲- دانشیار، بخش فیزیولوژی جانوری، گروه زیست شناسی، دانشگاه شهرکرد.

۳- استادیار، گروه ژنتیک، دانشگاه شهرکرد.

چکیده

زمینه و هدف: گیاه آلوئه‌ورا (*Aloe barbadensis M.*) از جمله گیاهان استوایی است که به طور سنتی در ترمیم زخم استفاده می‌شود. این مطالعه به منظور تعیین اثر القاء کنندگی ژل آلوئه‌ورا بر بیان ژن TGF- β در زخم‌های پوستی موش سوری انجام شد. **روش بررسی:** در این مطالعه تجربی ۳۶ سر موش نر سوری BALB/c به ۳ گروه ۱۲ تایی شامل کنترل منفی (پوست سالم)، کنترل کاذب (شم، زخم با تیمار سرم فیزیولوژیک) و درمانی (زخم با تیمار ژل آلوئه‌ورا) تقسیم شدند. روی پشت موش‌ها دو زخم یکسان به قطر ۱۰±۲ میلی‌متر با برداشت کامل پوست در ناحیه خاجی ایجاد گردید. در گروه درمانی، روزانه یک بار ۲ گرم از ژل آلوئه‌ورا به صورت یک لایه نازک بر روی سطح زخم‌ها (بدون بانداژ) به مدت ۱۶ روز قرار داده شد. پس از روزهای ۸ و ۱۶ برای تعیین میزان بیان ژن عامل رشد تغییر شکل دهنده بتا (TGF- β) به کمک RT-PCR و نیز محتوی پراکسیداسیون لیپیدی (LPO) با اندازه‌گیری میزان مالونیل دی‌آلدید از پوست و سرم خون موش‌ها نمونه‌برداری به عمل آمد.

یافته‌ها: عصاره ژل آلوئه‌ورا سبب افزایش بیان ژن TGF- β در پوست زخم‌دار موش‌های گروه درمان شده با ژل آلوئه‌ورا نسبت به سایر گروه‌ها گردید ($P < 0/05$). تیمار با ژل آلوئه‌ورا موجب کاهش معنی‌دار مالونیل دی‌آلدید در سرم خون موش‌ها در مقایسه با دیگر گروه‌ها شد ($P < 0/05$).

نتیجه‌گیری: ژل آلوئه‌ورا با القاء بیان ژن عامل رشد TGF- β و نیز کاهش میزان پراکسیداسیون لیپیدها می‌تواند نقش محوری در پروسه ترمیم زخم‌های برشی داشته باشد.

کلید واژه‌ها: پوست، زخم برشی، آلوئه‌ورا، ژن TGF- β ، مالونیل دی‌آلدید، موش

* نویسنده مسؤول: نرگس نجفی، پست الکترونیکی na1365na@gmail.com

نشانی: شهرکرد، دانشگاه شهرکرد، گروه زیست شناسی، تلفن و نمابر ۰۳۸۱-۴۴۲۴۴۱۹

وصول مقاله: ۹۲/۴/۸، اصلاح نهایی: ۹۲/۶/۲۴، پذیرش مقاله: ۹۲/۶/۳۱

مقدمه

(TGF- β) اشاره نمود. TGF- β متعاقب آسیب به بافت‌ها توسط دگرانولاسیون پلاکت‌های محل زخم آزاد می‌شود (۴). نقش TGF- β در پاسخ ترمیمی زخم به غلظت آن بستگی دارد. TGF فعال در غلظت‌های پایین باعث جذب سلول‌های آماسی و فیبروسیت‌ها به محل زخم می‌شود؛ ولی غلظت بالای آن در مرحله بعد مونوسیت‌ها را فعال کرده که سبب آزادسازی عوامل رشد و تحریک فیبروسیت‌ها می‌گردد تا ماتریکس تولید شده و باعث خودالقایی TGF- β شود (۵). TGF- β از یک سو باعث کاهش التهاب و آماس از طریق ممانعت از تکثیر و فعال شدن لنفوسیت‌ها، ماکروفاژها و سایر لکوسیت‌ها در موضع شده و از سوی دیگر باعث تسریع روند التیام می‌شود. همچنین TGF- β با افزایش دادن ترشح PDGF (platelet drive growth factor) بر قدرت میتوز سلول‌ها

پس از ایجاد زخم پوستی پاسخ‌های التهابی و افزایش تولید کلاژن توسط سلول‌های ناحیه درم آغاز شده و به دنبال آن بافت اپی‌تلیالی بازآرایی می‌گردد. این فرایندی فیزیولوژیک بوده و بسیاری از عوامل از جمله عوامل رشد و سیتوکاین‌ها در چگونگی روند آن دخیل هستند. هدف از درمان زخم نیز بهبود آن در کوتاه‌ترین زمان ممکن با حداقل درد و ناراحتی و اسکار برای بیمار است (۳-۱). عوامل رشد پروتئین‌هایی با وزن مولکولی زیاد هستند که توسط بسیاری از سلول‌ها تولید شده و به محض ترشح با عملکردهای اتوکراین و پاراکراین خودآبخاری فرایندهای سلولی مختلف را آغاز می‌کنند. عوامل رشد مختلفی در روند ترمیم زخم اثرگذارند که از آن جمله می‌توان به عوامل رشد تغییرشکل‌یافته

می گردد (۱۹).

در مطالعه‌ای تجویز خوراکی و موضعی آلونته‌ورا سبب افزایش قدرت کشش زخم‌های ایجاد شده در پشت موش‌ها گردید (۱۴). با وجود تحقیقات متعدد بر روی اثرات گیاه آلونته‌ورا بر ترمیم زخم هنوز ابهاماتی در این زمینه وجود دارد. تاکنون بررسی‌های اثر آلونته‌ورا بر میزان پراکسیداسیون لیپیدی و نیز بررسی مولکولی در مورد اثر گیاه آلونته‌ورا بر میزان بیان ژن TGF- β در ناحیه زخم موش به روش RT-PCR انجام نشده است. این مطالعه به منظور تعیین اثر القاء کنندگی ژل آلونته‌ورا بر بیان ژن TGF- β در زخم‌های پوستی موش سوری انجام شد.

روش بررسی

این مطالعه تجربی روی ۳۶ سر موش سوری نر نژاد BALB/c در محدوده وزنی 22 ± 2 گرم در سال ۱۳۸۹ انجام شد. موش‌ها از دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد خریداری و به حیوانخانه دانشگاه شهرکرد انتقال یافتند.

پروتکل اصول کار بر روی حیوانات آزمایشگاهی رعایت گردید. موش‌ها در شرایط دمایی 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۵۰ درصدی، دوره روشنایی - تاریکی ۱۲ ساعته با دسترسی آزادانه به آب و غذا در قفس‌های معجزا نگهداری شدند.

گیاه آلونته‌ورا (هرباریم ۱۱۴) از مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد که قبلاً توسط متخصصین مربوطه مورد تایید قرار گرفته بود؛ تهیه شد. به منظور تهیه ژل از برگ‌های تازه گیاه (ترجیحاً برگ‌های بیرونی) استفاده شد. سپس با ایجاد یک برش طولی در برگ، آن را به مدت ۱۵ دقیقه به صورت عمود در ظرفی قرار دادیم تا محتویات شیرابه گیاه خارج گردید. سپس با شی نوک تیزی بدون آن که قسمت‌های سبز برگ جدا شوند؛ ژل درون برگ استخراج گردید. در ادامه ژل حاصل به طور کامل با دستگاه هم‌ژنایزر مخلوط گردید و به صورت خالص (۱۰۰ درصد) هر بار ۲ گرم برای تیمار موش‌ها استفاده شد.

موش‌ها در ۳ گروه ۱۲ تایی کنترل منفی (بدون زخم)، کنترل کاذب (شم، زخم و تیمار با سرم فیزیولوژیک) و گروه درمانی (زخم و تیمار با موسیلاژ آلونته‌ورا) قرار داده شدند.

موش‌ها با کمک ترکیب دارویی شامل کتامین، زایلازین، آسپارامازین و دیازپام بیهوش شدند و بر روی پشت هر موش دو زخم مدور و مساوی به قطر 2 ± 10 میلی‌متر با برداشت ضخامت کامل پوست (Full-thickness) (جدا کردن کامل با عمق اپیدرم و هیپودرم) در ناحیه خاجی و در دو طرف ستون مهره‌ها ایجاد گردید. روز ایجاد زخم‌ها، روز صفر در نظر گرفته شد.

در گروه شم روزانه یک بار در یک ساعت مشخص میزان ۲۰ میکرولیتر سرم فیزیولوژیک به مدت ۱۶ روز بر روی زخم‌ها استعمال

اثر غیرمستقیم می‌گذارد. همچنین موجب کموتاکسی فیبروبلاست‌ها شده و میزان ترشح کلاژن و فیبرونکتین توسط آنها را می‌افزاید و مانع تخریب ماتریکس خارج سلولی توسط متالوپروتئینازها می‌شود. به‌طور خلاصه TGF- β فیروژن را در روند ترمیم تحریک می‌کند. به طوری که در محل زخم موجب تحریک آنژیوژنز، تکثیر فیبروبلاست‌ها، تمایز میوفیبروبلاست‌ها و شکل‌گیری ماتریکس خارج سلولی می‌گردد (۶).

پراکسیداسیون لیپیدها (LPO) به عنوان یکی از فرایندهای فیزیولوژیکی در غشای بسیاری از سلول‌های بدن جانوران معرفی شده است. چنانچه میزان تولید و گسترش LPO به طور غیرطبیعی افزایش یابد؛ محصولات نهایی LPO با آسیب‌رسانی به ساختارهای بیوشیمیایی سلول‌ها و بافت‌های بدن موجب غیرفعال‌سازی و در نهایت در صورت عدم جلوگیری از گسترش تولید این محصولات، موجب مرگ سلولی خواهند شد. از جمله محصولات نهایی LPO در بافت‌های بدن جانوران به‌ویژه در سرم خون آنان ترکیب مالونیل‌دی‌آلدیید (Malonyldialdehyde: MDA) است که به سرعت با پروتئین‌ها و نیز DNA واکنش داده و پیوندهای بیوشیمیایی در جهت غیرفعال‌سازی آنان برقرار خواهد نمود (۷). ایجاد زخم در بافت‌های بدن جانوران منجر به افزایش میزان LPO و نیز MDA در بافت موردنظر شده است. چنانچه میزان LPO در محل زخم به میزان زیاد افزایش یابد؛ منجر به کاهش روند ترمیم زخم خواهد شد (۸و۷).

مطالعات متعددی در خصوص اثرات گیاهان بر ترمیم زخم برشی و سوختگی انجام شده است (۹-۱۱).

گیاه آلونته‌ورا یا صبر زرد (*Aloe barbadensis* Miller) با ظاهری شبیه کاکتوس، گیاهی گوشتی و آبدار بوده و برگ‌های آن حاوی بافت ژل مانند هستند. مطالعات متعددی در خصوص اثرات ترمیمی این گیاه انجام شده است (۱۷-۱۱). ژل این گیاه حاوی ترکیبات مختلفی از جمله پلی‌ساکارید گلوکومانان، کربوکسی پپتیدازها، منیزیم، زینک، کلسیم، گلوکز، کلسترول، سالیسیلیک اسید، پروستاگلندین‌ها، ویتامین A، C و E و لیگنین‌ها، استرول‌های گیاهی و آمینواسیدها و آنزیم‌هایی شامل آلیاز، آلکالین، فسفاتاز، آمیلاز، برادی کیناز، کربوکسی پپتیداز، کاتالاز، سلولاز، لیپاز و پراکسیداز است (۱۸). خاصیت ترمیم‌کنندگی آن بیشتر مربوط به ترکیبی به نام گلوکومانان است که غنی از پلی‌ساکاریدهایی مانند مانوز است. گلوکومانان بر گیرنده‌های عامل رشد فیبروبلاست اثر گذاشته و فعالیت و تکثیر آن را تحریک می‌کند که به نوبه خود سبب افزایش تولید کلاژن می‌شود. ژل آلونته‌ورا نه تنها میزان کلاژن زخم را افزایش می‌دهد؛ بلکه ضمن تغییر ترکیب کلاژن، اتصالات عرضی کلاژن را افزایش داده و در نتیجه سبب تسریع در بهبود زخم

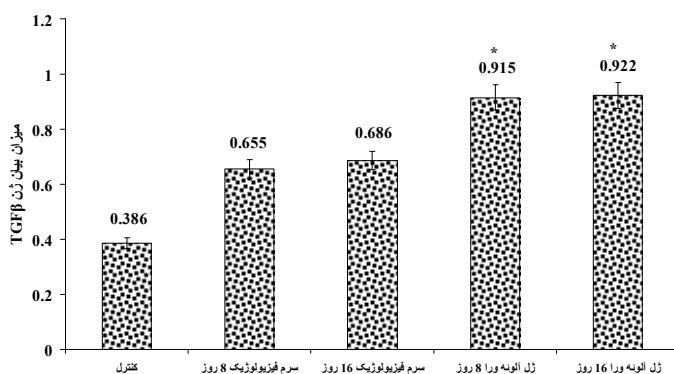
با دور ۲۵۰۰g انجام شد. سوپرناتانت حاصله به نسبت ۱:۱ با محلول یک درصد TBA (Thiobarbituric acid) رقیق گردید. مجموعه حاصله در درون لوله‌های آزمایش جدید و در دمای حدود ۹۰ درجه سانتی‌گراد در داخل دستگاه بن‌ماری برای مدت ده دقیقه قرار داده شد. پس از خارج نمودن و سرد کردن لوله‌ها در دمای اتاق محتوی هر لوله به کیووت منتقل شد و میزان جذب نوری آن در طول موج ۵۳۵ nm به کمک روش اسپکتروفوتومتری (شرکت Jenway، انگلستان) اندازه‌گیری شد. نمونه‌گیری‌ها به روش کاملاً تصادفی انجام گردید.

داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS-16 و آنالیز واریانس با اندازه‌گیری‌های مکرر تجزیه و تحلیل شدند و مقادیر به صورت میانگین و انحراف معیار بیان شدند. سطح معنی داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

تیمار آلونورا در دو دوره زمانی ۸ و ۱۶ روزه و در مقایسه با گروه شم و کنترل منفی، افزایش معنی‌داری را در میزان بیان ژن TGF β سبب گردید (شکل‌های ۲و).

نتایج میزان بیان ژن TGF- β در ناحیه زخم در گروه‌های تیمار با آلونوره و گروه‌های شم و کنترل به کمک ریشه دوم نرمال شده و همچنین با استفاده از روش KS نرمال‌سنجی شد. تیمار با آلونوره و در دو دوره زمانی ۸ و ۱۶ روز پس از ایجاد زخم در مقایسه با گروه‌های شم و گروه کنترل افزایش معنی‌داری را سبب گردید ($P < 0/05$). نتایج بیان ژن در گروه‌های تیمار با آلونوره و به مدت ۸ و ۱۶ روز نسبت به هم و گروه‌های شم در دو دوره زمانی ۸ و ۱۶ روز نسبت به هم اختلاف آماری معنی‌داری نشان ندادند (نمودار یک).



نمودار ۱: میزان بیان ژن TGF β بین گروه‌های تیمار شده با سرم فیزیولوژیک و ژل آلونوره و طی ۸ و ۱۶ روز
* $P < 0/05$ (مقایسه شده با گروه کنترل کاذب «شم»)

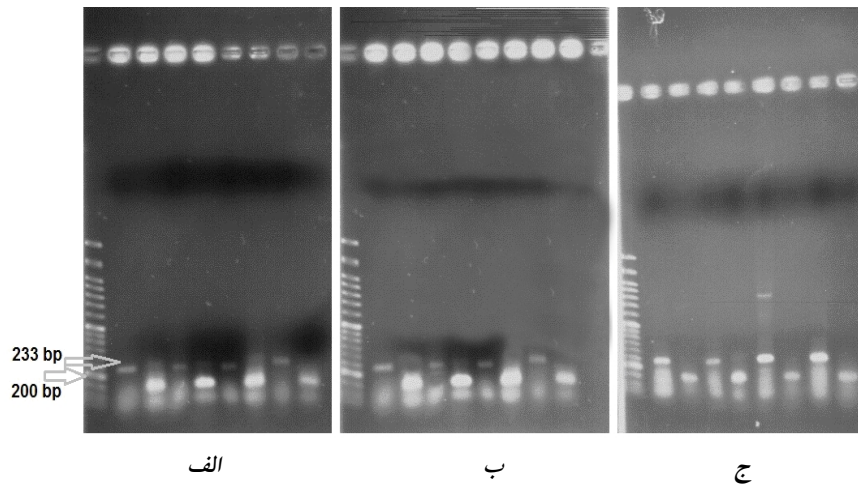
با توجه به جدول یک در خصوص میزان تغییرات پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی در روزهای ۸ و ۱۶ پس از ایجاد زخم، نتایج بیانگر میزان تغییرات MDA به عنوان محصول نهایی پراکسیداسیون لیپیدها

شد. در گروه درمانی روزانه یک بار مقدار ۲ گرم از ژل آلونوره و به صورت یک لایه نازک بر روی سطح زخم‌ها (بدون بانداژ) به مدت ۱۶ روز قرار داده شد. برای بررسی‌های مولکولی پس از روز ۸ و ۱۶ از ایجاد زخم، نمونه‌گیری پوست ناحیه زخم انجام شد. برای بررسی میزان پراکسیداسیون لیپیدی پس از روز ۸ و ۱۶ از ایجاد زخم، پس از بیهوش کردن موش با کلروفورم به کمک سرنگ انسولینی از قلب هر موش حدود ۲ میلی‌لیتر خون گرفته شد.

برای بررسی‌های مولکولی از روش واکنش پلی‌مریزاسیون معکوس (RT-PCR) به منظور ارزیابی میزان بیان ژن TGF- β استفاده شد. در ابتدا کل RNA سلولی محل زخم‌ها با استفاده از کیت RNX-plus (شرکت سیناژن، ایران) استخراج گردید. پس از بررسی کیفیت RNA استخراج شده توسط الکتروفورز ژل آگاروز و انجام UV اسپکتوفوتومتری، cDNA ساخته شد. از RNAهای استخراج شده با استفاده از کیت RT-universal نسخه‌برداری معکوس به انجام رسید. cDNAهای تولید شده به عنوان الگو برای انجام PCR مورد استفاده قرار گرفتند. دناتوراسیون اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت سه دقیقه و دناتوراسیون بعدی به مدت ۳۰ ثانیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد، آنیلینگ به مدت ۳۰ ثانیه در دمای ۵۹ درجه سانتی‌گراد و مرحله طویل شدن در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۵ ثانیه انجام شد. به منظور بررسی میزان بیان ژن TGF- β پرایمرهای اختصاصی این ژن با مشخصات زیر طراحی گردید.

اندازه باند	توالی پرایمر	ژن
۲۳۳	5-CTACACACACCAGGACCATG-3	F-TGF- β
۲۳۳	5-AATGCGTCCAGGTTCTTCC-3	R-TGF- β

در انتهای کار محصول PCR روی ژل آگاروز جدا شد و پس از رنگ آمیزی با اتیدیوم پروماید با استفاده از دستگاه ژل داگ (شرکت uvitec، فرانسه) مشاهده و تصویربرداری به انجام رسید. برای بررسی میزان بیان ژن موردنظر از نرم‌افزار UV-TEACH استفاده شد. این نرم‌افزار پس از شناسایی باندها به ارزشیابی شدت باندها پرداخت و میزان شدت باند به کمک یک عدد مشخص شد. برای بررسی میزان پراکسیداسیون لیپیدی (LPO) تغییرات میزان مالونیل‌دی‌آلدیید (MDA) به عنوان محصول نهایی این روند به کمک روش پیشنهادی Buege و Aust مورد سنجش قرار گرفت (۲۰). در ابتدا نمونه‌های سرم خون اخذ شده از موش‌ها به کمک محلول ۱۰ درصد TCA (Trichloroacetic acid) سرد و به نسبت ۱:۳ رقیق شد. سپس به کمک دستگاه ورتکس به مدت دو دقیقه به خوبی مخلوط گردید. در مرحله بعد به مدت یک دقیقه سانتریفیوژ



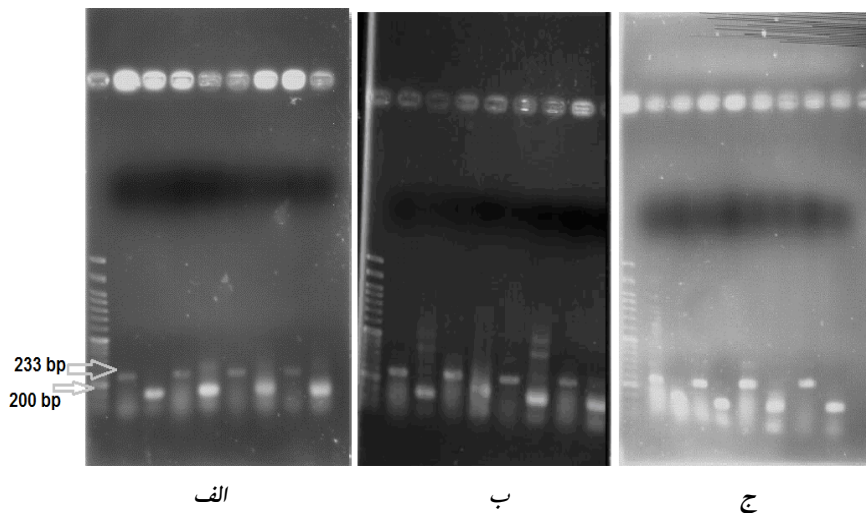
شکل ۲: RT-PCR بر روی RNA استخراج شده از پوست موش و بررسی میزان بیان ژن $TGF\beta$ در ناحیه ترمیم زخم پس از ۱۶ روز از ایجاد زخم.

الف) چاهک ۱، ۳، محصول RT-PCR از RNA استخراج شده از پوست موش بدون زخم با پرایمرهای ژن $TGF-\beta$ چاهک ۲، ۴: محصول RT-PCR از RNA استخراج شده از پوست موش بدون زخم با پرایمرهای اکتین

ب) چاهک ۱، ۳: محصول RT-PCR از RNA استخراج شده از پوست موش (تیمار شده با سرم فیزیولوژیک به مدت ۱۶ روز) با پرایمرهای ژن $TGF-\beta$ چاهک ۲، ۴: محصول RT-PCR از RNA استخراج شده از پوست موش (تیمار شده با سرم فیزیولوژیک به مدت ۱۶ روز) با پرایمرهای اکتین

ج) چاهک ۱، ۳: محصول RT-PCR از RNA استخراج شده از پوست موش (تیمار شده با ژل آلونه ورا به مدت ۱۶ روز) با پرایمرهای ژن $TGF-\beta$ چاهک ۲، ۴، ۶، ۸: محصول RT-PCR از RNA استخراج شده از پوست موش (تیمار شده با موسیلاژ آلونه ورا به مدت ۱۶ روز) با پرایمرهای اکتین

اندازه طول محصول برابر ۲۳۳ جفت باز و (M) مارکر ۵۰ جفت بازی اندازه DNA از شرکت فرمتناز 3MO373 و ژل آگارز ۱۰ درصد



شکل ۱: RT-PCR بر روی RNA استخراج شده از پوست موش و بررسی میزان بیان ژن $TGF\beta$ در ناحیه ترمیم زخم پس از ۸ روز از ایجاد زخم

الف) چاهک ۱، ۳، محصول RT-PCR از RNA استخراج شده از پوست موش بدون زخم با پرایمرهای ژن $TGF-\beta$ چاهک ۲، ۴: محصول RT-PCR از RNA استخراج شده از پوست موش بدون زخم با پرایمرهای اکتین

ب) چاهک ۱، ۳: محصول RT-PCR از RNA استخراج شده از پوست موش (تیمار شده با سرم فیزیولوژیک به مدت ۸ روز) با پرایمرهای ژن $TGF-\beta$ چاهک ۲، ۴: محصول RT-PCR از RNA استخراج شده از پوست موش (تیمار شده با سرم فیزیولوژیک به مدت ۸ روز) با پرایمرهای اکتین

ج) چاهک ۱، ۳: محصول RT-PCR از RNA استخراج شده از پوست موش (تیمار شده با ژل آلونه ورا به مدت ۸ روز) با پرایمرهای ژن $TGF-\beta$ چاهک ۲، ۴، ۶، ۸: محصول RT-PCR از RNA استخراج شده از پوست موش (تیمار شده با موسیلاژ آلونه ورا به مدت ۸ روز) با پرایمرهای اکتین

اندازه طول محصول برابر ۲۳۳ جفت باز و (M) مارکر ۵۰ جفت بازی اندازه DNA از شرکت فرمتناز 3MO373 و ژل آگارز ۱۰ درصد

جدول ۱: میزان سطح سرمی آنزیم مالونیل‌دی‌آلدید موش‌ها در روز ۸ و ۱۶ پس از ایجاد زخم در روزهای صفر، ۸ و ۱۶ گروه‌های کنترل منفی، شام و درمان شده با ژل آلونهورا

گروه‌ها	میانگین و انحراف معیار مدت زمان تیمار (روز)		
	روز صفر	روز ۸	روز ۱۶
کنترل منفی	۱۵/۲۱±۰/۵۲	۱۵/۶۹±۰/۹۲	۱۶/۲۴±۱/۲۵
شام	۱۵/۲۱±۰/۵۲	۲۲/۱۷±۰/۵۳	۲۱±۰/۶۵
ژل آلونهورا	۱۵/۲۱±۰/۵۲	۲۰/۱۲±۰/۶۲	۱۸/۰۱±۰/۹۵
		* ۴۵/۷۵ درصد	* ۳۸/۰۶ درصد
		* ۳۲/۲۸ درصد	* ۱۸/۴ a درصد

واحد اندازه‌گیری بر اساس $n \text{ moles MDA/mg protein}$ است.
 * $P < 0/05$ مقایسه شده با گروه شام (کنترل کاذب) مربوط به همان روز
 * $P < 0/05 a$ مقایسه شده با گروه کنترل منفی (روز صفر)

غیرفعال است؛ ترمیم زخم طولانی مدت بوده و در نهایت نیز به‌طور کامل به انجام نخواهد رسید (۲۵).

در مطالعه Massagué در هنگام بروز آسیب پوستی، مولکول‌های TGF-β۱ با منشأ پلاکتی در محل زخم ظاهر و موجب پیشبرد روند ترمیم زخم شدند (۲۶). TGF-β۱ موجب افزایش قدرت میتوز در فیبروبلاست‌های پوست انسان شده است (۲۷). TGF-β از طریق افزایش بیان عوامل آنژیوژنیک نظیر VEGF در سلول‌های اپی‌تلیالی و فیبروبلاستی موجب افزایش روند آنژیوژنز در بافت‌های مختلف می‌گردد (۲۸ و ۲۹). در محل زخم TGF-β موجب تحریک آنژیوژنز، تکثیر فیبروبلاست‌ها، تمایز میوفیبروبلاست‌ها و شکل‌گیری ماتریکس خارج سلولی می‌گردد (۶). TGF-β۱ موجب تنظیم و افزایش بیان ژنی FGF2 در محل زخم پوستی می‌گردد (۳۰).

کاربرد ژل آلونهورا در مطالعه حاضر موجب افزایش بیان ژنی TGF-β در پوست موش‌های زخمی شد که می‌تواند منجر به تولید بیشتر عوامل رشد دیگر از جمله VEGF و FGF در نواحی زخم شده گردد. به این ترتیب نتیجه اثرات ناشی از عملکرد در ناحیه زخم VEGF شامل پیشبرد روند آنژیوژنز و نقش FGF در بافت‌های زخم شده نظیر آنژیوژنز، تکثیر سلولی و مهاجرت‌های سلولی بیشتر مشخص می‌گردد. ژل آلونهورا با تحریک آزادسازی عوامل رشد نام برده شده و با تامین محیطی مناسب و تحریک کننده در محل زخم موجب فراهم‌سازی مقدمات ترمیم زخم خواهد گردید.

در این مطالعه ایجاد زخم‌های پوستی سبب افزایش معنی‌دار MDA و به عبارتی گسترش LPO در سرم خون موش‌های سوری گردید. در این ارتباط تیمار با آلونهورا موجب کاهش معنی‌دار در غلظت MDA سرم خون موش‌های زخمی گردید. از آنجایی که ایجاد زخم، عامل افزایش دهنده پراکسیداسیون لیپیدها و محصولات نهایی آنهاست و با توجه به این که LPO و محصولات آن (MDA) باعث غیرفعال‌سازی روند‌های بیوشیمیایی سلول‌ها و بافت‌های مختلف طی ترمیم زخم می‌شوند؛ لذا استفاده از داروهای

در روزهای مختلف است. ایجاد زخم به تنهایی در گروه شام موجب افزایش معنی‌دار در میزان MDA سرم خون موش‌ها در روزهای ۸ و ۱۶ پس از ایجاد زخم به ترتیب با مقادیر ۴۵/۷۵ درصد و ۳۸/۰۶ درصد ($P < 0/05$) گردید. تیمار با ژل آلونهورا در مقایسه با گروه شام در روزهای ۸ و ۱۶ پس از ایجاد زخم، سبب کاهش معنی‌دار میزان MDA در سرم خون شد ($P < 0/05$).

بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که ژل گیاه آلونهورا سبب افزایش بیان ژن TGF-β به عنوان یکی از عوامل مهم ترمیم در ناحیه زخم پوستی موش می‌شود.

ترمیم زخم دارای مراحل مختلف التهاب، تکثیر و بازسازی است که هر کدام از آنها خود از مراحل متعدد دیگری تشکیل شده که پاره‌ای از آنها باهم تداخل داشته و به راحتی از هم قابل تفکیک نیستند (۲۱). لذا بهبود کمی و کیفی هر کدام از مراحل می‌تواند منجر به تسریع ترمیم زخم و کاهش عوارض ناشی از آن شود. TGF-β به عنوان یک عامل مهم در روند ترمیم در نظر گرفته می‌شود.

موسبلاژ آلونهورا با داشتن اثرات ضدمیکروبی و ضدالتهابی موجب پیشبرد فرایند ترمیم زخم می‌شود (۲۲). موسبلاژ آلونهورا واجد سیستم‌های آنزیمی آنتی‌اکسیدانی نظیر گلوکوتایون پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز بوده که از طریق خنثی‌سازی اثر رادیکال‌های آزاد تولید شده در محل زخم و با خاصیت ضدالتهابی خود موجب تسریع در روند ترمیم زخم می‌گردند (۲۳ و ۲۴).

اعضای زیرخانواده TGF-β توسط پلاکت‌ها به میزان بسیار زیادی ترشح می‌شود. TGF-β در بافت‌های سالم و به‌ویژه در محل زخم‌ها باعث افزایش و تحریک اپیتلیزاسیون و آنژیوژنز می‌گردد (۲۵). ایزوفرم TGF-β۱ آزاد شده از پلاکت‌ها با جذب شیمیایی نوتروفیل‌ها، ماکروفاژها، فیبروبلاست‌ها و انواع سلول‌های دیگری که سطح TGF-β۱ را افزایش می‌دهند؛ سبب ترمیم زخم می‌شود (۶). تحقیقات نشان داده در موش‌هایی که ژن مولد TGF-β۱ خاموش و

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که ژل گیاه آلوئه‌ورا موجب پیشبرد هرچه بهتر مراحل ترمیم زخم پوستی می‌گردد. مطالعه تغییرات بیان ژن TGF- β نیز نشان‌دهنده اثر مثبت این ژل بر روند ترمیم و بازآرایی بافتی در زخم‌های پوستی بود و از سوی دیگر در نتایج مربوط به تغییرات میزان پراکسیداسیون لیپیدی در محل زخم نیز همین روند یعنی اثر بهتر گروه‌های تیمار شده با آلوئه‌ورا نشان داده شد. ژل آلوئه‌ورا قادر به القاء بیان ژن عوامل رشد در پوست آسیب دیده جانوران بود. لذا توان ایفای نقش محوری در پروسه ترمیم زخم را خواهد داشت.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه خانم حمیرا جعفرزاده برای اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته فیزیولوژی جانوری از دانشکده علوم دانشگاه شهرکرد بود. بدین وسیله از مدیریت محترم تحصیلات تکمیلی دانشگاه شهرکرد، معاونت محترم پژوهشی دانشگاه شهرکرد به خاطر تامین هزینه و از کارکنان محترم آزمایشگاه‌های فیزیولوژی و ژنتیک به خاطر همکاری صمیمانه در انجام مطالعه تشکر و قدردانی می‌نمایم.

References

- Robson MC, Krizech TJ, Heggers JP. Biology of surgical infection: In: Ravich M, editor. Current problems in surgery. 1st. Chicago, IL: Year Book Medical Publishers. 1973; pp:121-7.
- Stadelmann WK, Digenis AG, Tobin GR. Impediments to wound healing. Am J Surg. 1998 Aug;176(2A Suppl):39S-47S.
- Greenhalgh DG. The role of apoptosis in wound healing. Int J Biochem Cell Biol. 1998 Sep;30(9):1019-30.
- Shi Y, Massagué J. Mechanisms of TGF-beta signaling from cell membrane to the nucleus. Cell. 2003 Jun;113(6):685-700.
- Bradbury DA, Newton R, Zhu YM, Stocks J, Corbett L, Holland ED, Pang LH, Knox AJ. Effect of bradykinin, TGF-beta1, IL-1beta, and hypoxia on COX-2 expression in pulmonary artery smooth muscle cells. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 2002 Oct; 283(4):L717-25.
- Roberts PR, Black KW, Santamauro JT, Zaloga GP. Dietary peptides improve wound healing following surgery. Nutrition. 1998 Mar;14(3):266-9.
- Halliwell B, Gutteridge B. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. Biochem J. 1984 Apr; 219(1): 1-14.
- Halliwell B. Antioxidant characterization. Methodology and mechanism. Biochem Pharmacol. 1995 May;49(10):1341-8.
- Amirkhani Z, Norouzian M, Piryaei A, Ayatollahi SA, Saremi S, Dadpay M. [Biomechanical evaluation of root extracts of *Onosma dichroanthum* Boiss. on skin wound healing in rat]. J Gorgan Uni Med Sci. 2014; 16(1): 55-61. [Article in Persian]
- Jarrahi M, Zahedi Khorasani M, Ajorloo M, Taheriayn AA. [Local effect of *Aloe barbadensis* Miller gel on skin incisional wound healing in rat]. J Gorgan Uni Med Sci. 2009; 11(1):13-17. [Article in Persian]
- Jarrahi M, Emami Abarghoee M. [The effect of hydroalcoholic *matricaria chamomilla* extract on cutaneous burn

که بتوانند تولید LPO را کاهش دهند؛ می‌توانند در تسریع روند ترمیم زخم موثر باشد.

سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی در برخورد با روند LPO و محصولات نهایی آن وارد عمل شده و به این ترتیب با خنثی‌سازی ترکیبات رادیکالی ناشی از گسترش LPO در درون و برون سلول‌ها موجب جلوگیری از بروز آسیب‌های بافتی بیشتر می‌گردد (۳۱). در این ارتباط نمی‌توان به صورت قاطع و مشخص اظهار نمود که مکانیسم کاهش دهنده میزان LPO در سرم خون جانوران تیمار شده با آلوئه‌ورا چیست؟ با این حال می‌توان پیشنهاد نمود که احتمالاً یک یا چند جز از ساختارهای آلوئه‌ورا پس از ورود به گردش عمومی خون بدن موجب تقویت تولید و ترشح سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی از سوی بافت‌های مجاور به محل زخم به درون گردش خون شده‌اند. لذا مطالعات تکمیلی برای روشن‌سازی مکانیسم دقیق کاهش میزان LPO به دنبال تیمار با آلوئه‌ورا در سرم خون حیوانات آزمایشگاهی توصیه می‌شود.

wound healing in albino rats]. J Gorgan Uni Med Sci. 2008; 10 (2): 22-26. [Article in Persian]

12. Vogler BK, Ernst E. Aloe vera: a systematic review of its clinical effectiveness. Br J Gen Pract. 1999 Oct;49(447):823-8.

13. Davis RH, Leitner MG, Russo JM, Byrne ME. Wound healing. Oral and topical activity of Aloe vera. J Am Podiatr Med Assoc. 1989 Nov;79(11):559-62.

14. Heggers JP, Kucukcelebi A, Listengarten D, Stabenau J, Ko F, Broemeling LD, et al. Beneficial effect of Aloe on wound healing in an excisional wound model. J Altern Complement Med. 1996; 2(2):271-7.

15. Rodríguez-Bigas M, Cruz NI, Suárez A. Comparative evaluation of aloe vera in the management of burn wounds in guinea pigs. Plast Reconstr Surg. 1988; 81(3):386-9.

16. Visuthikosol V, Chowchuen B, Sukwanarat Y, Sriurairatana S, Boonpucknavig V. Effect of aloe vera gel to healing of burn wound a clinical and histologic study. J Med Assoc Thai. 1995 Aug; 78(8):403-9.

17. Jia Y, Zhao G, Jia J. Preliminary evaluation: the effects of Aloe ferox Miller and Aloe arborescens Miller on wound healing. J Ethnopharmacol. 2008 Nov;120(2):181-9.

18. Hamman JH, Viljoen AM. Use of Aloe vera for increasing the bioavailability of poorly absorbable drugs. SA patent application. Tshwane University of Technology. PCT/ZA2009/000012. 2008; pp: 15-42.

19. Boudreau MD, Beland FA. An evaluation of the biological and toxicological properties of Aloe barbadensis (miller), Aloe vera. J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev. 2006 Apr;24(1):103-54.

20. Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. Methods Enzymol. 1978;52:302-10.

21. Champion RH, Burton JL, Burns DA, Breathnach SM. Textbook of dermatology. 6th. Oxford: Blackwell Science. 1998; pp: 337-9.
22. Kashanian M, Lakeh MM, Ghasemi A, Noori S. Evaluation of the effect of vitamin E on pelvic pain reduction in women suffering from primary dysmenorrhea. *J Reprod Med*. 2013 Jan-Feb;58(1-2):34-8.
23. Somboonwong J, Thanamitramanee S, Jariyapongskul A, Patumraj S. Therapeutic effects of Aloe vera on cutaneous microcirculation and wound healing in second degree burn model in rats. *J Med Assoc Thai*. 2000 Apr;83(4):417-25.
24. Hajhashemi V, Ghannadi A, Heidari AH. Anti-inflammatory and wound healing activities of Aloe littoralis in rats. *Res Pharm Sci*. 2012 Apr;7(2):73-8.
25. Henry G, Garner WL. Inflammatory mediators in wound healing. *Surg Clin North Am*. 2003 Jun;83(3):483-507.
26. Massagué J. The transforming growth factor-beta family. *Annu Rev Cell Biol*. 1990;6:597-641.
27. Postlethwaite AE, Keski-Oja J, Moses HL, Kang AH. Stimulation of the chemotactic migration of human fibroblasts by transforming growth factor beta. *J Exp Med*. 1987 Jan;165(1): 251-6.
28. Pertovaara L, Kaipainen A, Mustonen T, Orpana A, Ferrara N, Saksela O, et al. Vascular endothelial growth factor is induced in response to transforming growth factor-beta in fibroblastic and epithelial cells. *J Biol Chem*. 1994 Mar; 269(9):6271-4.
29. Sánchez-Elsner T, Botella LM, Velasco B, Corbí A, Attisano L, Bernabéu C. Synergistic cooperation between hypoxia and transforming growth factor-beta pathways on human vascular endothelial growth factor gene expression. *J Biol Chem*. 2001 Oct;276(42):38527-35.
30. Song QH, Klepeis VE, Nugent MA, Trinkaus-Randall V. TGF-β1 regulates TGF-β1 and FGF-2 mRNA expression during fibroblast wound healing. *Mol Pathol*. Jun 2002; 55(3): 164-76.
31. Rasal V, Arulmozhi S, Purnima A, Sridhar Y. Wound healing and antioxidant activities of Morinda citrifolia leaf extract in rat. *Iranian Journal Pharmacology and Therapeutics (IJPT)*. 2008; 7(1): 49-52.

Original Paper

Effect of *Aloe vera* gel on TGF- β gene expression in incisional skin wound in BALB/c mice

Jafarzadeh H (M.Sc)¹, Arabi M (Ph.D)², Najafi N (M.Sc)*¹, Ahadi AM (Ph.D)³

¹M.Sc in Animal Physiology, Department of Biology, Shahrekord University, Shahrekord, Iran. ²Ph.D in Animal Physiology, Department of Biology, Shahrekord University, Shahrekord, Iran. ³Ph.D in Genetic, Department of Genetic, Shahrekord University, Shahrekord, Iran.

Abstract

Background and Objective: *Aloe vera* (*Aloe barbadensis* M.) as a medicinal herb is practiced in wound healing. This study was carried out to assess the effect of *Aloe vera* gel (mucilage) on TGF- β gene expression in incisional skin wound in BALB/c mice.

Method: In this experimental study, 36 BALB/c male mice with weight range 22 \pm 2 gr were allocated equally into negative control (no wound), sham-operated (wound treated with physiological serum) and treatment (wound treated with *Aloe vera* gel). Two equal full-thickness skin wounds of 10 \pm 2mm were made on either side of the vertebral column in the sacral region. The animals in the treatment group were received daily, 2 gram of *Aloe vera* gel (without any bandage) as a thin layer for a period of 16 days. On 8th and 16th post wounding day, TGF- β gene expression in incisional wounds and Malonyldialdehyde (as end-product of lipid peroxidation) in serum samples was measured using RT-PCR and spectrophotometry methods, respectively.

Results: TGF- β gene expression in incisional skin wound increased in *Aloe vera* gel treated group in compared to negative control and sham-operated groups ($P < 0.05$). Malonyldialdehyde concentration was significantly reduced in *Aloe vera* treated group in comparison with negative control and sham-operated groups.

Conclusion: *Aloe vera* gel can induce growth factor TGF- β gene expression and reducing the lipid peroxidation content can play an important role in incisional skin wound healing process.

Keywords: Skin, Incisional wound, *Aloe vera*, TGF- β gene, Malonyldialdehyde, Mouse

* Corresponding Author: Najafi N (M.Sc), E-mail: na1365na@gmail.com

Received 29 Jun 2013

Revised 15 Sep 2013

Accepted 22 Sep 2013