

بررسی اثربخشی ترکیب ژل صبرزرد (*Aloe vera L.*) با عصاره هیدروآتانولی پوست میوه پسته کوهی (*Pistacia atlantica Desf.*) بر روند التیام زخم برشی - برداشتی در موش آزمایشگاهی دیابتی

سیاوش ابراهیمی^۱، محمدرضا فرهپور^{۲*} و محمدصائب نجار^۱

۱- دانش آموخته دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، واحد ارومیه، دانشگاه آزاد اسلامی، ارومیه، ایران

۲- نویسنده مسئول، استادیار، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، واحد ارومیه، دانشگاه آزاد اسلامی، ارومیه، ایران

پست الکترونیک: mrf78s@gmail.com

تاریخ دریافت: فروردین ۱۳۹۷

تاریخ اصلاح نهایی: تیر ۱۳۹۷

تاریخ پذیرش: مرداد ۱۳۹۷

چکیده

تأخیر در روند التیام زخم، یکی از عوارض دیابت است. بنابراین، از دیدگاه درمانی، تلاش برای پیدا کردن ترکیب‌های مؤثر در افزایش سرعت روند التیام زخم، بسیار مهم است. این مطالعه به منظور بررسی اثرهای ترکیب ژل گیاه صبرزرد (*Aloe vera L.*) و عصاره هیدروآتانولی پوست میوه پسته کوهی (*Pistacia atlantica Desf.*) بر روند التیام زخم در ۵۴ سر موش مبتلا به دیابت نوع ۲ تجربی انجام گردید. یک زخم تمام ضخامت برشی توسط پانچ بیوپسی ۶ میلی‌متری بر پوست ناحیه پشت هر موش ایجاد شد. همه موش‌ها به سه گروه دارونما، ژل صبرزرد ۵٪ (w/w) و ترکیب ژل صبرزرد ۵٪ با عصاره هیدروآتانولی پوست میوه پسته کوهی ۵٪ (w/w) تقسیم شدند. سرعت بسته شدن زخم در روزهای ۴، ۸، ۱۲ و ۱۶ اندازه‌گیری شد. به لحاظ آسیب شناختی، روند ترمیم زخم از نظر میزان ادم، نفوذ سلولی، نوزایش عروقی و رسوب کلاژن بین گروه‌ها مقایسه گردید. میزان انقباض زخم در گروه‌های درمانی نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری ($P < 0/05$) را نشان داد. میزان ادم در هر دو گروه درمانی نسبت به گروه کنترل کاهش یافت، در حالی که نوزایش عروقی، نفوذ فیبروبلاست‌ها و تولید کلاژن افزایش نشان داد؛ به طوری که این افزایش در گروه درمانی با پماد ترکیبی از میزان بالاتری برخوردار بود. نتایج این مطالعه نشان داد که تجویز موضعی ترکیب ژل صبرزرد ۵٪ با عصاره هیدروآتانولی پوست میوه پسته کوهی ۵٪ التیام زخم تمام ضخامت برشی پوست را در موش‌های دیابتی نوع ۲ با کاهش میزان التهاب بافتی و افزایش تولید کلاژن و نوسازی بافت پوششی بهبود می‌بخشد و می‌تواند به‌عنوان یک داروی جدید مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: ژل صبر زرد (*Aloe vera L.*)، پسته کوهی (*Pistacia atlantica Desf.*)، عصاره هیدروآتانولی، زخم پوست، دیابت، موش.

مقدمه

ایجاد عوارضی از جمله تخریب عصب (نورویاتی)، ضعف سیستم ایمنی، باریک شدن سرخرگ‌ها (میکروآتریویاتی) و در نتیجه بروز زخم و تأخیر طولانی مدت در فرایند بهبود

دیابت یک بیماری مزمن است که در آن بدن قادر به استفاده از قند خون از طریق طبیعی نیست. این بیماری سبب

مختلفی از جمله پلی ساکارید گلوکومانان، کربوکسی پیتیدازها، گلوکز و انواع ویتامین‌ها موجب بروز خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدباکتریایی، ضدقارچی و ضد التهابی موجب افزایش سرعت ترمیم انواع زخم‌های ناشی از بریدگی و سوختگی می‌گردد (Oryan et al., 2016; Moghbel et al., 2007). همچنین در مطالعه قلبی Aghaei و Farahpour (۲۰۱۶) گزارش کردند که پماد آلوه‌ورای ۵٪ در ترکیب با عصاره شنبلیله موجب کاهش التهاب و افزایش تولید کلاژن و به‌طور کلی افزایش سرعت التیام زخم‌های برشی-برداشتی در حیوانات دیابتی شد.

با توجه به اثرهای مفید و متعدد پوست میوه پسته کوهی و ژل صبر زرد، در این مطالعه اثر تجویز موضعی ترکیب عصاره هیدروالکلی پوست میوه پسته کوهی با ژل صبر زرد بر ترمیم زخم برشی-برداشتی تجربی تمام ضخامت پوست در موش آزمایشگاهی دیابتی بررسی شد.

مواد و روش‌ها

نحوه آماده‌سازی عصاره پوست میوه پسته کوهی و ژل

صبر زرد

پوست میوه پسته کوهی از منطقه دره قاسملو در اطراف شهر ارومیه جمع‌آوری گردید و پس از تأیید توسط گروه گیاه‌شناسی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان غربی، در سایه خشکانیده، پودر شده و به‌روش خیس کردن عصاره‌گیری شد. در این مطالعه، ۱۵۰ گرم از پودر پسته کوهی در ۶۰۰ میلی‌لیتر از محلول هیدروآتانولیک برای مدت زمان ۹۶ ساعت در دمای اتاق به حالت معلق درآورده شد (Farahpour et al., 2015; Bonab & Farahpour, 2017). سپس مخلوط در ابتدا از یک پارچه کتان و به‌دنبال آن از کاغذ صافی (واتمن شماره ۱) عبور داده شده و فیلتر گردید. عصاره تصفیه شده در فر قرار داده شد تا در ۴۰ درجه سانتی‌گراد خشک شود. عصاره خالص خشک شده پوست میوه پسته کوهی و ژل برگ گیاه صبر زرد بدست آمده برای مدت زمان ۱۰ روز در یخچال در

می‌شود (Bonab & Farahpour, Kolluru et al., 2012). درمان معمول زخم‌های دیابتی معمولاً از طریق تزریق انسولین به فرد بیمار، شست‌شو و کاربرد داروهای از قبیل آنژی پارس، درماهیل و پماد آلفا می‌باشد. اما با توجه به تفاوت‌های فردی، نحوه استفاده و همچنین پیچیدگی روند ترمیم زخم از نظر سرعت و کیفیت بافت التیامی و به‌ویژه کاهش خون‌رسانی و ورود گلوکز به داخل سلول‌های آسیب‌دیده در افراد دیابتی، در سال‌های اخیر تحقیقات فراوانی برای یافت و معرفی داروهای با منشأ طبیعی انجام شده است (Papanas et al., 2011).

پسته کوهی (*Pistacia atlantica*)، درخت کوچکی از تیره پسته‌ای‌ها (Anacardiaceae) است که در ایران در ارتفاعات زاگرس تا بلوچستان و کردستان می‌روید (Farahpour et al., 2015). گزارش‌های متعددی نشان داده‌اند که عصاره پسته کوهی به‌دلیل دارا بودن مقادیر فراوانی از ترکیب‌های شیمیایی از جمله آلفا-پینن، لیمونن، بتا-میرسن، اولئیک‌اسید و پالمیتیک‌اسید دارای خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدباکتریایی، ضدقارچی و ضدالتهابی می‌باشد (Farahpour et al., 2015; Mahmoudvand et al., 2016; Asadollahzadeh & Shamspur, 2013). همچنین گزارش‌ها نشان داده‌اند که عصاره پوست میوه پسته کوهی با دوز درمانی ۵٪ به تنهایی موجب افزایش سرعت التیام زخم‌های برشی-برداشتی در حیوانات غیردیابتی (Farahpour et al., 2015)، دیابتی (Bonab & Farahpour, 2017) و زخم‌های نوع سوختگی در موش‌های صحرائی (Hagdoost et al., 2013) می‌گردد.

صبر زرد یا آلوه‌ورا (*Aloe barbadensis* Miller) گیاهی از راسته مارچوبه‌ای‌ها و تیره سریشیان (Asphodelaceae) است. اغلب این گیاهان فاقد ساقه بوده و یا ساقه بسیار کوتاهی دارند. برگ‌های آن نیزه‌ای، کلفت و گوشتی با لبه‌های دندانه‌دار و به‌رنگ سبز تا خاکستری می‌باشد که از دیرباز برای اهداف مختلف پزشکی مورد استفاده قرار می‌گیرند. مطالعات متعدد نشان می‌دهند که ژل غلیظ و شفاف داخل برگ این گیاه با دارا بودن ترکیب‌های

موش‌ها با پلست تغذیه شدند و به آب و غذا (پلست) دسترسی آزاد داشتند.

روش القاء بیهوشی و ایجاد زخم

ایجاد بیهوشی عمومی با تزریق ترکیب زایلازین هیدروکلراید ۲٪ (۵۰ mg/kg) و کتامین هیدروکلراید ۵٪ (۱۰ mg/kg) به صورت داخل صفاقی انجام گردید. سپس موش‌ها به صورت شکمی روی میز جراحی قرار داده شده و سطح پشتی موش‌ها آماده‌سازی جراحی شد و یک زخم دایره‌ای شکل تمام ضخامت با استفاده از پنچ بیوپسی استریل به قطر شش میلی‌متر در محل بین دو کتف ایجاد شد. پس از ایجاد زخم، تمامی موش‌ها به‌طور تصادفی به سه گروه هجده‌تایی (گروه کنترل دیابتی و دو گروه درمانی توسط پمادهای حاوی ژل آلونئ ورا ۵٪ (AO) و ترکیب ژل آلونئ ورا ۵٪ با عصاره هیدروآلکلی پوست میوه پسته کوهی ۵٪ (APO) تقسیم شدند و هر گروه سه زیرگروه شش‌تایی (گروه‌های نمونه‌برداری در روزهای چهارم، هشتم و شانزدهم) را داشت. پمادهای درمانی به شکل وزنی-وزنی (w/w) از ترکیب ۵ گرم عصاره در ۹۵ گرم پایه پماد تجاری (۲۵٪ اوسرین + ۷۵٪ وازلین) آماده شدند (Farahpour et al., 2015; Bonab & Farahpour, 2017).

اندازه‌گیری سطح زخم

به منظور اندازه‌گیری سطح زخم، از شش سر موش قرار گرفته در گروه نمونه‌برداری بافتی در روز چهاردهم استفاده شد. بدین ترتیب که در روزهای ۴، ۸، ۱۲ و ۱۶ هر موش بیهوش شده در وضعیت خوابیده بر روی شکم قرار داده شد و بعد حاشیه زخم بر روی یک کاغذ شفاف ترسیم شد. برای به حداقل رسانیدن میزان خطا، ترسیم حاشیه کل هر زخم، در هر موش، سه بار تکرار شد و میانگین آن محاسبه شد (Farahpour et al., 2015; Bonab & Farahpour, 2017).

دمای 4°C - (زمان شروع آزمایش بالینی) نگهداری شد. همچنین پس از تأیید برگ گیاه صبر زرد توسط گروه گیاه‌شناسی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان غربی، ژل از داخل برگ جدا شده و توسط همزن برقی همزده شد تا به مایع یکدست تبدیل شد.

روش ایجاد دیابت

به منظور ایجاد دیابت، داروی استرپتوزوتوسین در سیترات بافر دارای اسیدیته $4/5$ حل شده و مقدار $0/1$ میلی‌لیتر (دوز 60 میلی‌گرم بر کیلوگرم) تزریق داخل صفاقی) به هر موش برای 5 روز متوالی تزریق شد. پس از گذشت یک هفته، میزان قند خون توسط گلوکومتر از طریق ورید دمی اندازه‌گیری شد و در صورت افزایش قند خون به بالای 300 میلی‌گرم بر کی‌والان، بروز گلوکزآوری و تأیید ابتلاء به عارضه دیابت، تحت جراحی قرار گرفتند (Bonab Garraude et al., 2012; & Farahpour, 2017).

حیوانات مورد مطالعه

تمام شیوه‌های استفاده شده در این مطالعه براساس مجوز اخلاق کار با حیوانات به شماره مصوبه 25819 است. در این تحقیق از 54 سر موش آزمایشگاهی نر بالغ با محدوده سنی $12-10$ هفته و محدوده وزنی 27 ± 2 گرم، تهیه شده از دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه استفاده شد. این حیوانات به مرکز پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشکده دامپزشکی منتقل و در قفس‌های استاندارد نگهداری موش تحت شرایط نوردی کنترل شده 12 ساعت روشنایی و 12 ساعت تاریکی و دمای ثابت 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. حیوانات قبل از انجام مطالعات به مدت یک هفته دوره تطابق را گذراندند تا تأثیر منفی استرس ناشی از محیط ناآشنا بر روی نتایج مطالعه مورد نظر به حداقل برسد.

آسیب‌شناختی بافتی

و قالب‌گیری نمونه‌های بافتی در پارافین (بلوک‌زنی)، مقاطعی به ضخامت ۵ میکرون توسط میکروتوم تهیه و به‌روش تری‌کروم ماسون رنگ‌آمیزی گردید (Farahpour et al., 2015; Bonab & Farahpour, 2017). براساس جدول ۱ پارامترهای آسیب‌شناختی نشان‌دهنده پیشرفت ترمیم زخم براساس امتیازدهی گزارش شد.

در روزهای چهارم، هشتم و شانزدهم بعد از ایجاد زخم، پس از القاء بیهوشی عمومی یک تکه تمام ضخامت از بافت جلدی شامل ۲ میلی‌متر از حاشیه پوست سالم به‌همراه بخشی از بافت جوانه‌ای، جدا شده و بلافاصله در داخل ظرف حاوی فرمالین بافر ۱۰٪ قرار داده شد. پس از تثبیت

جدول ۱- پارامترهای آسیب‌شناختی نشان‌دهنده پیشرفت ترمیم زخم و نحوه رتبه‌بندی آنها

درجه‌بندی	ادم	سلول‌های التهابی	نوزایش عروقی	فیبروبلاست و فیبروسیت	ساخت و رسوب کلاژن
-	عدم حضور	عدم حضور	عدم حضور	عدم حضور	عدم حضور
+	خفیف (اطراف بافت)	خفیف (اطراف بافت)	خفیف (بافت زیر جلد)	خفیف (اطراف بافت)	خفیف
++	خفیف (بافت جوانه‌ای)	خفیف (بافت جوانه‌ای)	خفیف (بافت جوانه‌ای)	خفیف (بافت جوانه‌ای)	متوسط
+++	متوسط (بافت جوانه‌ای)	متوسط (بافت جوانه‌ای)	متوسط (بافت جوانه‌ای)	متوسط (بافت جوانه‌ای)	زیاد
++++	بارز (بافت جوانه‌ای)	بارز (بافت جوانه‌ای)	بارز (بافت جوانه‌ای)	بارز (بافت جوانه‌ای)	تشکیل باندهای کلاژنی

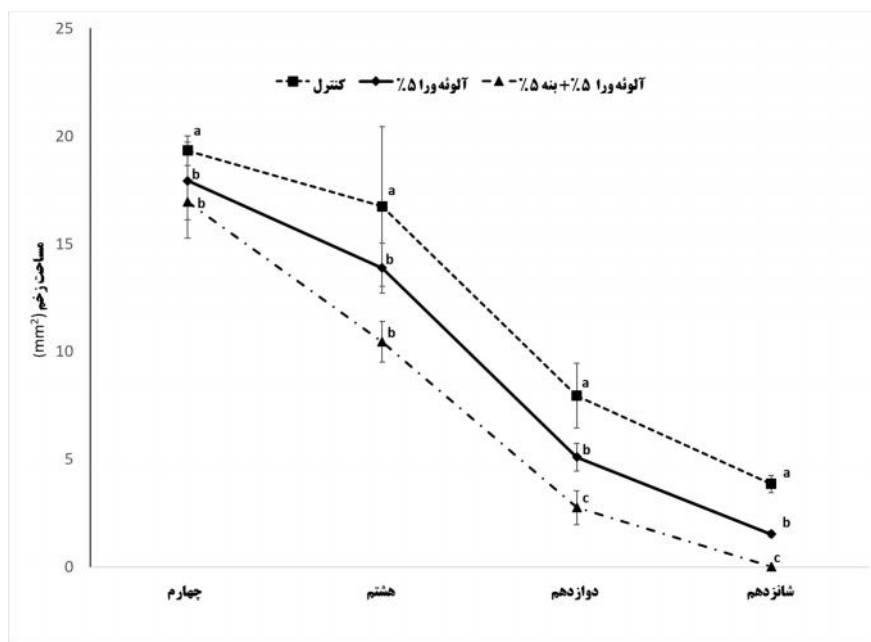
تحلیل آماری داده‌ها

اطلاعات بدست‌آمده از اندازه‌گیری سطح زخم‌ها با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه (ANOVA)، مورد واکاوی آماری قرار گرفتند. تفاوت در سطح $P < 0.05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد. یافته‌ها به‌صورت میانگین \pm انحراف معیار (Mean \pm SD) نشان داده شدند.

نتایج

نتایج حاصل از بررسی میزان اندازه مساحت زخم در گروه‌های مورد آزمایش نتایج حاصل از بررسی اندازه مساحت ماکروسکوپی و

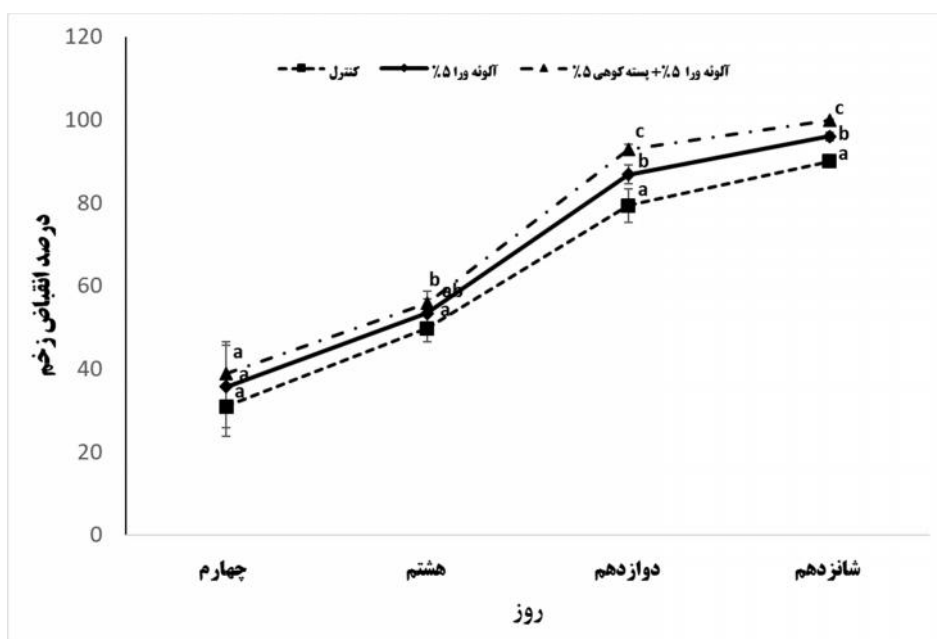
درصد انقباض زخم‌ها توسط کاغذ شفاف (در روزهای مختلف) در شکل‌های ۱ و ۲ نشان داده شده است. براساس نتایج بدست‌آمده مساحت سطح زخم (شکل ۱) و درصد انقباض (شکل ۲) در موش‌های قرار گرفته در هر دو گروه درمانی در مقایسه با گروه کنترل، در تمامی روزهای اندازه‌گیری، به شکل معنی‌داری به ترتیب کاهش و افزایش یافته است ($P < 0.05$). نکته جالب توجه اینکه نتایج مقایسه دو گروه درمانی با یکدیگر نشان داد که مساحت سطح زخم در موش‌های قرار گرفته در گروه درمانی با فرمولاسیون ترکیبی APO در مقایسه با گروه AO در روزهای ۱۲ و ۱۶ اندازه‌گیری، به شکل معنی‌داری ($P < 0.05$) به ترتیب کاهش (شکل ۱) و افزایش (شکل ۲) بیشتری را نشان می‌دهد.



شکل ۱- متوسط اندازه مساحت زخم (براساس میلی مترمربع) در گروه‌های مورد آزمایش

کلیه داده‌ها براساس میانگین ± انحراف معیار ارائه شده است.

نکته: a, b و c تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های مشخص شده می‌باشد ($P < 0.05$).



شکل ۲- متوسط میزان انقباض زخم در گروه‌های مورد آزمایش

کلیه داده‌ها براساس میانگین ± انحراف معیار ارائه شده است.

نکته: a, b و c تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های مشخص شده در همان روز می‌باشد ($P < 0.05$).

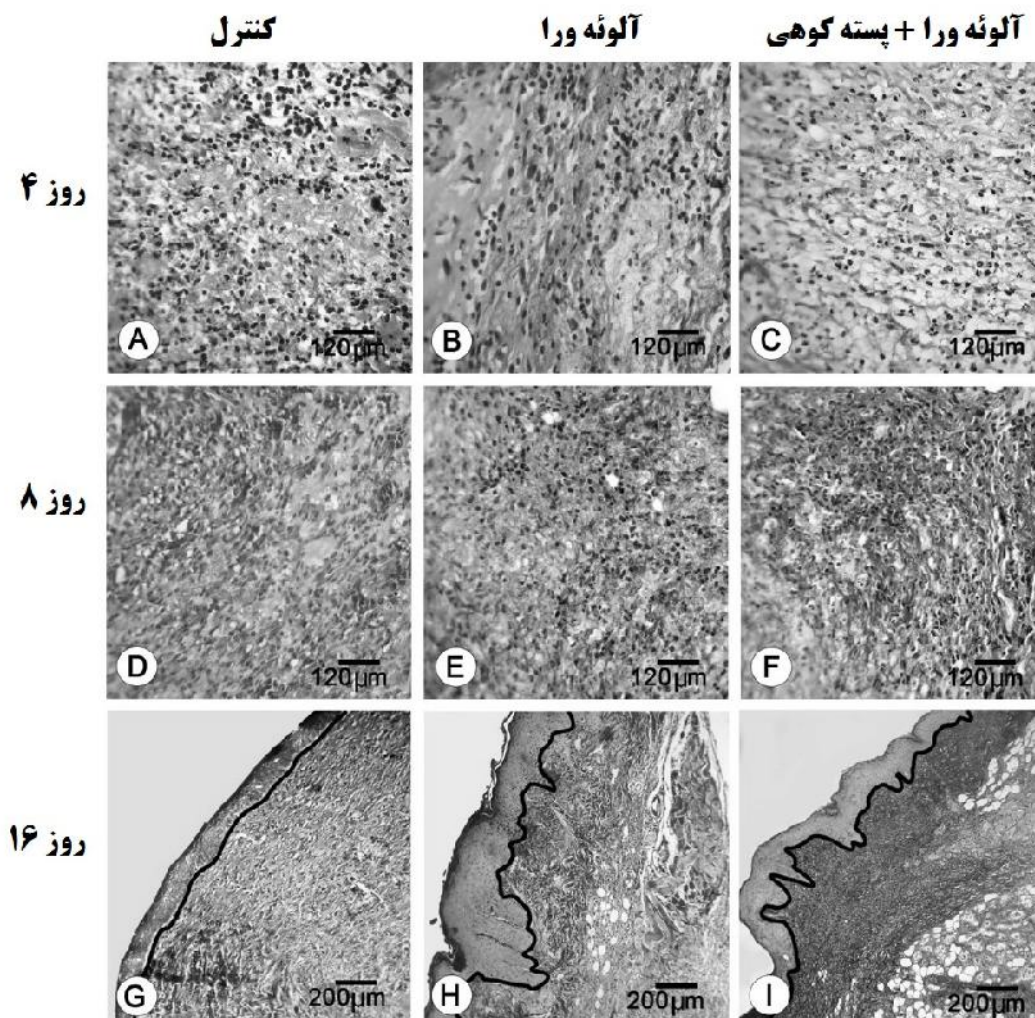
یافته‌های آسیب‌شناختی

تجزیه و تحلیل کیفی یافته‌های حاصل از بررسی نمونه‌های بافتی توسط میکروسکوپ نوری نشان داد که تجویز APO منجر به تسریع کاهش پاسخ التهابی شده است. بررسی میزان ارتشاح سلول‌های ایمنی در محل زخم نیز نشان داد هر دو فرمولاسیون موضعی تجویز شده به ویژه فرمولاسیون ترکیبی منجر به کاهش قابل توجهی در ارتشاح سلول‌های ایمنی بدن در روزهای ۴ و ۸ پس از القاء زخم شده است (شکل ۲). با توجه به نقش اساسی رگ‌زایی در ایجاد بافت گرانول، توزیع عروقی در هر میلی‌متر مربع بافت زخم بررسی شد. تجزیه و تحلیل میکروسکوپی نشان داد که کاربرد موضعی هر دو فرمولاسیون درمانی، به ویژه تجویز APO، موجب افزایش قابل

توجهی در رگ‌زایی در مقایسه با گروه کنترل شد (جدول ۲). همچنین در بررسی میزان تکثیر سلولی و سنتز کلاژن در بافت گرانوله مشخص گردید که تجویز موضعی هر دو فرمولاسیون درمانی، به ویژه فرمولاسیون ترکیبی (APO)، موجب افزایش قابل توجهی در انتشار سلول‌های فیبروبلاست در هر میلی‌متر مربع از بافت گرانوله و سنتز کلاژن در تمامی روزهای نمونه‌برداری پس از ایجاد زخم شد (شکل ۳). تجزیه و تحلیل آسیب‌شناختی (جدول ۲) در مورد تشکیل دوباره بافت پوششی نشان داد که تجویز موضعی هر دو فرمولاسیون درمانی، به ویژه فرمولاسیون ترکیبی (APO)، موجب افزایش قابل توجهی در نوسازی و ضخامت بافت پوششی از روز ۸ بعد از ایجاد زخم شد (شکل ۳).

جدول ۲- نتایج حاصل از ارزیابی کیفی نمونه‌های بافتی در گروه‌های مورد آزمایش

پارامترها	کنترل	پماد آلوئه ورا ۵٪	پماد آلوئه ورا ۵٪ + پسته کوهی ۵٪
روز چهارم			
التهاب بافتی	++++	+++	+++
سلول‌های ایمنی	++++	+++	++
فیبروبلاست	-	+	++
کلاژن	-	+	++
بافت پوششی	-	-	-
روز هشتم			
التهاب بافتی	+++	++	+
سلول‌های ایمنی	+++	+	-
فیبروبلاست	+++	++	+
کلاژن	++	+++	++++
بافت پوششی	+	+	++
روز شانزدهم			
التهاب بافتی	+	-	-
سلول‌های ایمنی	-	-	-
فیبروبلاست	-	-	-
کلاژن	+++	+++++	+++++
بافت پوششی	++	+++	++++



شکل ۳- نمای ریزبینی از بافت زخم در گروه‌ها و روزهای مختلف

همانطور که مشاهده می‌گردد در حیوانات درمان شده اپیدرم به‌طور کامل و به‌خوبی تشکیل شده است. همچنین حجم کلاژن بیشتری در گروه‌های درمان شده به‌ویژه در گروه درمانی ترکیبی رسوب کرده است (رنگ آمیزی تری کروم‌ماسون).

بحث

برای از بین بردن عوامل عفونت‌زا به محل زخم مهاجرت می‌کنند. وجود عوامل عفونت‌زا موجب افزایش تعداد و فعالیت سلول‌های ایمنی با ترشح بیشتر H_2O_2 و انواع اکسیدان‌ها از جمله کلرآمین‌ها و در نتیجه تولید حجم بالاتری از رادیکال‌های آزاد در محل زخم و در نهایت بروز التهاب بافتی بیشتر می‌گردد (Khanna *et al.*, 2002؛ Harper *et al.*, 2014؛ Sen *et al.*, 2002) تا جایی که افزایش بیش از حد اکسیدان‌ها و پراکسیداسیون چربی‌ها

در این مطالعه مشخص شد که ترکیب آلونه‌ورا با عصاره هیدروآتانولی پوست میوه پسته کوهی فرایند بهبود زخم را از طریق افزایش سرعت در میزان کاهش التهاب بافتی و همچنین بهبود و افزایش تکثیر سلول‌های بافت همبند، تنظیم نوزایش عروقی و بازسازی بافت پوششی و در نهایت کوتاه شدن مرحله بلوغ تسریع می‌کند. در مرحله اول ترمیم زخم، پس از ایجاد لخته خونی سلول‌های نوترفیل و ماکروفاژها

نقش اصلی را ایفاء می‌کنند (Stacey؛ Bainbridge, 2013)؛ *et al.*, 2002). در این راستا Farahpour و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند که کاربرد موضعی عصاره هیدروآتانولی پوست میوه پسته کوهی ۵٪ موجب افزایش مهاجرت سلول‌های ایمنی به محل زخم در موش‌های غیردیابتی (Farahpour *et al.*, 2015) و دیابتی (Bonab & Farahpour, 2017) می‌شود. همچنین Liu و همکاران (۲۰۰۶) نشان دادند که ژل آلوئه‌ورا به دلیل دارا بودن حجم بالایی از قند مانوز موجب افزایش فعالیت ماکروفاژها و در نتیجه تولید بیشتر سایتوکین‌ها و انواع فاکتورهای رشد می‌گردد. Moon و همکاران (۱۹۹۹) نشان دادند که ترکیب شیمیایی بتا-سیتوسترول (β -sitosterol) موجود در ژل آلوئه‌ورا نیز موجب افزایش عروق‌زایی در بافت‌های در حال ترمیم می‌شود. Najafi و همکاران (۲۰۱۴) نشان دادند که کاربرد موضعی ژل آلوئه‌ورا موجب افزایش ترشح فاکتور رشد شبه انسولینی در ناحیه زخم پوستی و در نتیجه افزایش سرعت روند التیام زخم می‌شود. ترشح این فاکتور رشد موجب افزایش میزان ترشح و ساخت کلاژن و رشد دوباره بافت پوششی می‌گردد (Najafi *et al.*, 2014). در ارزیابی‌های آسیب‌شناختی این مطالعه مشخص گردید که مهاجرت سلول‌های فیبروبلاست و میزان کلاژن ترشح شده در بافت ترمیمی، در هر دو گروه درمانی، به ویژه گروه درمان شده توسط APO، در مقایسه با گروه کنترل افزایش داشته است.

در ادامه روند التیام، همزمان با همسو شدن رشته‌های کلاژن و کوچک شدن اندازه زخم، سلول‌های بافت پوششی نیز از سمت لبه‌های زخم به سمت مرکز زخم، شروع به ساخت و حرکت می‌کنند (Farahpour & Aghaei, 2016)؛ *et al.*, 2002). این امر به کوچکتر شدن سطح زخم و عوارض ناشی از بزرگی سطح زخم کمک می‌کند. محققان نشان دادند که کاربرد موضعی عصاره هیدروآتانولی پوست میوه پسته کوهی ۵٪ موجب افزایش سرعت انقباض زخم در موش‌های غیردیابتی (Farahpour *et al.*, 2015) و دیابتی (Bonab & Farahpour, 2017) می‌گردد. همچنین

می‌تواند بافت را به سمت نئوپلاستیک شدن هدایت کند (Gupta *et al.*, 2014؛ Kim *et al.*, 1987؛ Niwa *et al.*, 2002). در این زمان کاربرد ترکیب‌های دارای قدرت ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی می‌تواند کمک‌کننده باشد و روند التیام را تسریع نماید (Niwa *et al.*, 1987). در این زمینه چنین می‌توان پیشنهاد کرد که از یکسو عصاره هیدروآتانولی پوست میوه پسته کوهی به دلیل دارا بودن میزان بالایی از ترکیب‌های شیمیایی فلاونوئیدی و فنولی (Farahpour *et al.*, 2005؛ Goli *et al.*, 2015) و از سوی دیگر ژل آلوئه‌ورا به دلیل دارا بودن ترکیب‌های شیمیایی به ویژه میزان بالایی از تانن‌ها و به میزان کمتر ترکیب‌های فنولی (Farahpour & Aghaei, 2016؛ Nejatizadeh, 2013)، دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی، آنتی‌باکتریایی و ضدآنتی‌اکسیدانی بالایی می‌باشد که در کاربرد موضعی از بروز استرس اکسیداتیو و افزایش رادیکال‌های آزاد در بافت جوانه‌ای و بافت‌های در حال ترمیم جلوگیری می‌کنند (Radha & Laxmipriya, 2015)؛ *et al.*, 2013). در بررسی آسیب‌شناختی مشخص شد در هر دو گروه درمانی، به ویژه گروه درمان شده توسط پماد ترکیبی (APO)، میزان التهاب بافتی در مقایسه با گروه کنترل، در تمامی روزهای نمونه‌برداری کاهش یافته است. این امر نشان‌دهنده کوتاه شدن مرحله اول ترمیم زخم، یعنی مرحله التهابی در گروه‌های درمانی می‌باشد و می‌توان دلیل آن را به وجود خاصیت ضدالتهابی هر دو ترکیب گیاهی (Oryan *et al.*, 2007؛ Moghbel *et al.*, 2016)؛ *et al.*, 2016) و همچنین به کاهش تعداد و فعالیت سلول‌های ایمنی التهابی (نوتروفیل‌ها) نسبت داد. به دنبال سلول‌های نوتروفیل، ماکروفاژها نیز به محل زخم مهاجرت می‌کنند و با ترشح انواعی از سایتوکین‌ها و فاکتورهای رشد، موجب تداوم و افزایش سرعت و کیفیت ترمیم با افزایش تعداد و فعالیت سلول‌های فیبروبلاست و سلول‌های بافت پوششی می‌شوند (Gurtner *et al.*, 2008). سلول‌های فیبروبلاست با ساخت و ترشح کلاژن منبع سلولی اصلی در بافت همبند هستند که در ساخت و ترشح کلاژن

- Bonab, F.S. and Farahpour, M.R., 2017. Topical co-administration of *Pistacia atlantica* hull and *Quercus infectoria* gall hydroethanolic extract improves wound-healing process. *Comparative Clinical Pathology*, 26(4): 885-892.
- Farahpour, M.R. and Aghaei, M., 2016. Assessment of the effect of co-administration of *Aloe vera* gel and Fenugreek seed hydroethanolic extract on the improvement of full-thickness excisional skin wound healing in diabetic mice. *Veterinary Clinical Pathology*, 9: 285-295.
- Farahpour, M.R., Mirzakhani, N., Doostmohammadi, J. and Ebrahimzadeh, M., 2015. Hydroethanolic *Pistacia atlantica* hulls extract improved wound healing process; evidence for mast cells infiltration, angiogenesis and RNA stability. *International Journal of Surgery*, 17: 88-98.
- Garraude, O., Borhis, G., Badr, G. and Richard, Y., 2012. Revisiting the B-cell compartment in the mouse and humans: more than one B-cell subset exists in the marginal zone and beyond. *BMC Immunology*, 13: 63-71.
- Gupta, A., Singh, R.L. and Raghbir, R., 2002. Antioxidant status during cutaneous wound healing in immunocompromised rats. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 1: 1-7.
- Goli, A.H., Barzegar, M. and Sahari, M.A., 2005. Antioxidant activity and total phenolic compounds of pistachio (*Pistacia atlantica*) hull extracts. *Food Chemistry*, 30: 521-525.
- Gurtner, G.C., Werner, S., Barrandon, Y. and Longaker, M.T., 2008. Wound repair and regeneration. *Nature*, 453: 314-321.
- Haghdoost, F., Baradaran Mahdavi, M.M., Zandifar, A., Sanei, M.H., Zolfaghari, B. and Javanmard, S.H., 2013. *Pistacia atlantica* resin has a dose-dependent effect on angiogenesis and skin burn wound healing in rat. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013: 27-33.
- Harper, D., Young, A. and McNaught, C.E., 2014. The physiology of wound healing. *Surgery*, 32: 445-450.
- Jia, Y., Zhao, G. and Jia, J., 2008. Preliminary evaluation: the effects of *Aloe ferox* Miller and *Aloe arborescens* Miller on wound healing. *Journal of Ethnopharmacology*, 120: 181-189.
- Khanna, S., Venojarvi, M., Roy, S., Sharma, N., Tripathi, P., Bagchi, D., Bagchi, M. and Sen, C.K., 2002. Dermal wound healing properties of redox-active grape seed proanthocyanidins. *Free Radical Biology and Medicine*, 15: 1089-1096.
- Kolluru, G.K., Bir, S.C. and Kevil, C.G., 2012. Endothelial dysfunction and diabetes: effects on angiogenesis, vascular remodeling, and wound

Jia و همکاران (۲۰۰۸) نشان دادند که کاربرد موضعی ژل آلوئه‌ورا موجب انقباض سریع‌تر زخم‌های نوع برشی در حیوانات آزمایشگاهی می‌شود. نتایج حاصل از بررسی میزان اندازه زخم در این مطالعه نیز نشان داد که کاربرد APO موجب افزایش سرعت التیام زخم در موش‌های آزمایشگاهی دیابتی شد.

به‌عنوان نتیجه‌گیری کلی باید گفت که این مطالعه نشان‌دهنده اثرهای مثبت ترکیب ژل صبرزرد با عصاره هیدروآتانولی پوست میوه بسته کوهی در روند ترمیم زخم موش‌های آزمایشگاهی دیابتی از طریق افزایش سرعت در کاهش میزان التهاب بافتی، افزایش تکثیر سلول‌های بافت همبند و بازسازی بافت پوششی و در نهایت کوتاه شدن مدت زمان مورد نیاز برای ترمیم زخم است و می‌تواند به‌عنوان یک ترکیب گیاهی ترمیم‌کننده زخم‌های پوستی مورد استفاده قرار گیرد.

سپاسگزاری

این مطالعه حاصل از طرح تحقیقاتی انجمن علمی دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه، به شماره مصوبه ۲۵۸۱۹ است. نویسندگان این مقاله از حمایت مالی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه و همچنین از کارکنان آزمایشگاه آینده به‌دلیل انجام آزمایش‌های آسیب‌شناختی، کمال تشکر و قدردانی را دارند.

منابع مورد استفاده

- Asadollahzadeh, H. and Shamspur, T., 2013. Chemical composition of the extracts of fruits of *Pistacia atlantica* Desf. from Kerman province in Iran. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 16(2): 243-246.
- Badr, G., 2012. Supplementation with undenatured whey protein during diabetes mellitus improves the healing and closure of diabetic wounds through the rescue of functional long-lived wound macrophages. *Cell Physiology and Biochemistry*, 29: 571-582.
- Bainbridge, P., 2013. Wound healing and the role of fibroblasts. *Journal of Wound Care*, 1: 2-8.

- insulin-like growth factor gene expression and regeneration tissue in mouse damaged skin. *Journal of Shahrekord University of Medical Sciences*, 15: 1-9.
- Nejat-zadeh-Barandozi, F., 2013. Antibacterial activities and antioxidant capacity of *Aloe vera*. *Organic and Medicinal Chemistry Letters*, 3(1): 5.
 - Niwa, Y., Kanoh, T., Sakane, T., Soh, H., Kawai, S. and Miyachi, Y., 1987. The ratio of lipidperoxides to superoxide dismutase activity in the skin lesions of patients with severe skin diseases: an accurate prognostic indicator. *Life sciences literature*, 40(10): 921-927.
 - Oryan, A., Mohammadalipour, A., Moshiri, A. and Tabandeh, M.R., 2016. Topical application of *Aloe vera* accelerated wound healing, modeling, and remodeling: an experimental study. *Annals of Plastic Surgery*, 77(1): 37-46.
 - Papanas, N. and Maltezos, E., 2011. Polyherbal formulation as a therapeutic option to improve wound healing in the diabetic foot. *The Indian Journal of Medical Research*, 134(2): 146-147.
 - Radha, M.H. and Laxmipriya, N.P., 2015. Evaluation of biological properties and clinical effectiveness of *Aloe vera*: A systematic review. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 5(1): 21-26.
 - Sen, C.K., Khanna, S., Gordillo, G., Bagchi, D., Bagchi, M. and Roy, S., 2002. Oxygen, oxidants, and antioxidants in wound healing. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 957(1): 239-249.
 - Stacey, M.C., Wysocki, S.J., Wallace, H.J., Yeoh, S. and Davies, M.J., 2002. Matrix Metalloproteinases (mmp's) In Wound Healing. *Anz Journal of Surgery*, 72: A118.
 - healing. *International Journal of Vascular Medicine*, 2012: 30p.
 - Kim, J.H., Jenrow, K.A. and Brown, S.L., 2014. Mechanisms of radiation-induced normal tissue toxicity and implications for future clinical trials. *Radiation Oncology Journal*, 32: 103-113.
 - Liu, C., Leung, M.Y.K., Koon, J.C.M., Zhu, L.F., Hui, Y.Z., Yu, B. and Fung, K.P., 2006. Macrophage activation by polysaccharide biological response modifier isolated from *Aloe vera* L. var. *chinensis* (Haw.) Berg. *International Immunopharmacology*, 6(11): 1634-1641.
 - Mahmoudvand, H., Kheirandish, F., Ghasemi Kia, M., Tavakoli Kareshk, A. and Yarahmadi, M., 2016. Chemical composition, protoscolicidal effects and acute toxicity of *Pistacia atlantica* Desf. fruit extract. *Natural Product Research*, 30(10): 1208-1211.
 - Moghbel, A., Ghalambor, A. and Allipanah, S., 2007. Wound healing and toxicity evaluation of *Aloe vera* cream on outpatients with second degree burns. *Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 3(3): 157-160.
 - Moon, E.J., Lee, Y.M., Lee, O.H., Lee, M.J., Lee, S.K., Chung, M.H., Park, Y.I., Sung, C.K., Choi, J.S. and Kim, K.W., 1999. A novel angiogenic factor derived from *Aloe vera* gel: β -sitosterol, a plant sterol. *Angiogenesis*, 3(2): 117-123.
 - Nahar, T., Uddin, B., Hossain, S., Sikder, A.M. and Ahmed, S., 2013. *Aloe vera* gel protects liver from oxidative stress-induced damage in experimental rat model. *Journal of Complementary and Integrative Medicine*, 10(1): 47-53.
 - Najafi, N., Arabi, M. and Jafarzadeh, H., 2014. The healing power of *Aloe vera* mucilage: induction of

Efficiency of co-administration of *Aloe vera* L. gel and hydroethanolic extract of *Pistacia atlantica* Desf. on the wound healing process of excisional wound in diabetic mice

S. Ebrahimi¹, M.R. Farahpour^{2*} and M.S. Najjar¹

1- Graduated Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia Branch, Islamic Azad University, Urmia, Iran

2*- Corresponding author, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia Branch, Islamic Azad University, Urmia, Iran, E-mail: mrf78s@gmail.com

Received: March 2018

Revised: June 2018

Accepted: July 2018

Abstract

One of the side effects of diabetes is delay in wound healing process. Thus, the use of effective compounds for fasten the wound healing process is important. The present study was conducted to investigate the combined effects of *Aloe vera* L. gel and hydroethanolic extract of *Pistacia atlantica* Desf. hulls on wound healing process in 54 adult mice with type-2 diabetes. A circle full-thickness excisional wound model was created on the back of each mouse by a 6-mm punch biopsy. The mice were divided into three groups including control group, 5% *Aloe vera* gel (w/w) and a combined of 5% *Aloe vera* gel + 5% *Pistacia atlantica* extract (w/w). Wound closure rate was evaluated at 4, 8, 12 and 16 days. Edema, cellular infiltration, revascularization, and collagen deposition were assessed among groups. Wound contraction ratio was significantly higher in the treated groups in comparison to control group ($P<0.05$). The edema was significantly decreased in the treated groups compared with control group, while fibroblast infiltration, revascularization and collagen deposition were significantly increased in same groups in comparison to control group ($P<0.05$). The best response was observed in the combined group. Results showed that topical administration of 5% *Aloe vera* gel + 5% *Pistacia atlantica* extract, in combined form, accelerated full-thickness excisional wound healing in type 2 diabetic mice by decreasing tissue inflammation and increasing collagen synthesis and re-epithelization and it can be considered as a new drug.

Keywords: *Aloe vera* L. gel, *Pistacia atlantica* Desf. hull, hydroethanolic extract, cutaneous wound, diabetes, rat.