تأثیر عصاره آلوئه‌ورا و نانوذرات سنتزشده سبز در کاهش التهاب در پسوریازیس: یک مطالعه *in vitro*

هوشنگ نعمتی
مظفر خزاعی
مهری ناظری
مریم بزرگی

مرکز تحقیقات باروری و ناباروری، پژوهشکده فناوری سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

زمینه و هدف: پسوریازیس یک بیماری التهابی پوستی مزمن، تحت‌تأثیر فاکتورهای ژنتیکی و مبتنی‌بر ایمنی است که با التهاب پوست همراه است. ژل آلوئه‌ورا به‌طور سنتی برای درمان بیماری‌های پوستی ازجمله پسوریازیس استفاده می‌شود.

روش اجرا: در این مطالعه عصاره اتانولی ژل آلوئه‌ورا برای فعالیت ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی در سلول‌های A431 مشتق‌شده از پوست مورد ارزیابی قرار گرفت. در ابتدا پس از تهیه عصاره و در مرحله بعد سنتز سبز نانوذرات طلا با استفاده از عصاره، تأثیر آن‌ها را در بیان ژن‌های التهابی و هم‌چنین خاصیت آنتی‌اکسیدانی بررسی شد.

یافته‌ها: استفاده از غلظت‌های مختلف عصاره آلوئه‌ورا سبب افزایش نسبی در سطوح بیان EGFR و Nrf2 و کاهش بیان ژن‌های التهابی NF-κB، TNF-α و IL-6 در سلول‌های A431 پوست شد؛ اما تأثیر نانوذرات سنتزشده در مقایسه با عصاره آلوئه‌ورا در تغییر بیان ژن‌های سیگنالینگ و التهابی بیشتر بود.

نتیجه‌گیری: عصاره و نانوذرات سنتزشده خاصیت آنتی‌اکسیدانی داشتند و هم‌چنین سبب کاهش بیان ژن‌های التهابی در سلول‌ها شدند؛ البته تأثیر نانوذرات نسبت به عصاره در کاهش ژن‌های التهابی خیلی بیشتر بود.

کلیدواژه‌ها: پسوریازیس، آلوئه‌ورا، نانوذرات، بیان ژن

دریافت مقاله: ۱۴۰۰/۱۲/۱۳ پذیرش مقاله: ۱۴۰۱/۰۱/۲۵

پوست و زیبایی؛ بهار ۱۴۰۱، دوره ۱۳ (۱): ۳۹-۲۹

نویسنده مسئول:
هوشنگ نعمتی

کرمانشاه، بلوار پرستار، دانشکده پزشکی
پست الکترونیک:
hnemati@kums.ac.ir

تعارض منافع: اعلام نشده است.

مقدمه

پسوریازیس یک بیماری التهابی پوستی مزمن، تحت‌تأثیر فاکتورهای ژنتیکی و مبتنی‌بر ایمنی است که حدود ۱ تا ۳ درصد از جمعیت جهان را تحت‌تأثیر قرار می‌دهد. به‌عنوان یک اختلال خودایمنی، هیچ آزمایش تشخیصی برای شناسایی پسوریازیس در دسترس نیست[۱و۲].

پسوریازیس یک بیماری پوستی التهابی مزمن است که مفاصل را نیز درگیر می‌کند و با سایر بیماری‌های همراه مانند چاقی و بیماری‌های عروقی همراه است. ۶۵ تا ۸۰ درصد از تمام بیماران پسوریازیس به شکل خفیف پسوریازیس مبتلا هستند و از محصولات موضعی استفاده می‌کنند[۳]. درمان‌های موضعی باید ضایعات پوستی کوچک را پاک و از عود پلاک‌های پسوریازیس جلوگیری کنند و عوارض جانبی نداشته باشند یا فقط حداقل عوارض جانبی داشته باشند. مؤثرترین ترکیبات موضعی کورتیکواستروئیدها و دیترانول مولکول کوچک مشتق از آنتراسن هستند. با این حال، استفاده طولانی‌مدت از کورتیکواستروئیدهای موضعی ممکن است منجر به شکنندگی پوست شود؛ بنابراین نیاز زیادی به ترکیبات موضعی ایمن و مؤثر جدید وجود دارد. در این مطالعه تأثیر عصاره آلوئه‌ورا در کاهش التهابات پوستی ازطریق تغییر در

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-10-27]

[DOR: 20.1001.1.20087470.1401.13.1.5.3]

سیگنالینگ مولکولی فاکتورهای التهابی و هم‌چنین خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاه آلوئه‌ورا را در سلول‌های A431 مشتق‌شده از پوست بررسی کنیم.

NF-kB یکی از مهم‌ترین تنظیم‌کننده‌های بیان ژن پیش‌التهابی است. سنتز سیتوکین‌هایی مانند فاکتور نکروز تومور a-(TNF)، اینترلوکین 1b-(IL)، IL-6 و IL-8 توسط NF-kB انجام می‌شود. در پسوریازیس، تمایز و تکثیر کراتینوسیتی می‌تواند توسط بسیاری از فاکتورهای رونویسی سیتوکین و واسطه‌های التهابی آزادشده از سلول‌های التهابی مزمن که این ضایعات را همراهی می‌کنند، تعدیل و تنظیم شود. ازآنجایی که NF-kB بیان ژن سیتوکین را تنظیم می‌کند، این احتمال وجود دارد که NF-kB یکی از عوامل کلیدی در پاتوژنز بیماری باشد[۴و۵]. درمان‌های موجود با عوارض جانبی خفیف تا شدید از تحریک پوست گرفته تا سمیت کبدی و سمیت کلیوی همراه است.

رسپتور فاکتور رشد اپیدرمی (EGFR; ErbB-1; HER1) یک پروتئین غشایی است که به‌عنوان رسپتور جهت اعضای خانواده فاکتور رشد اپیدرمال (EGF) عمل می‌کند. گیرنده فاکتور رشد اپیدرمی یکی از گیرنده‌های خانواده ErbB از اعضای زیرگروه خانواده تیروزین کینازها می‌باشد. در بسیاری از انواع سرطان، جهش‌هایی که بر بیان یا فعالیت EGFR تأثیر می‌گذارد، می‌توانند موجب سرطان شوند. سیگنالینگ EGFR در بیماری‌های التهابی مانند پسوریازیس، اگزما و آترواسکلروز دخیل می‌باشد. نشان داده شده است که EGFR نقش مهمی در تمایز فیبروبلاست به میوفیبروبلاست با واسطه TGF-beta1 دارد، پایداری میوفیبروبلاست در بافت‌ها می‌تواند به فیبروز بافتی پیشرونده منجر شود و باعث آسیب‌رساندن به بافت یا عملکرد ارگان‌ها شود (مثلاً پوست‌های هیپرتروفی، سیروز کبدی، فیبروز کبدی و بیماری مزمن کلیه)[۶-۸].

آلوئه‌ورا گیاهی چندساله از خانواده *Liliaceae* است. آلوئه‌ورا از سال ۱۷۵۰ قبل از میلاد به‌صورت درمانی مورد استفاده قرار گرفته است و خواص مختلف زیادی به ژل داخلی و بی‌رنگ برگ نسبت داده شده است ازاین‌رو، امروزه ژل آلوئه‌ورا یک عنصر آشنا در طیف وسیعی از محصولات موجود بهداشتی و آرایشی ازجمله محصولات ضدآفتاب و لوسیون‌های پوست خشک است.

ژل آلوئه‌ورا معمولاً به‌عنوان یک درمان کمکی در طب گیاهی برای اختلالات مختلف مانند دیابت، سرطان و هم‌چنین برای بهبود عملکرد دستگاه گوارش، التیام زخم‌ها و اثرات ضدمیکروبی و ضدالتهابی استفاده می‌شود و پرکاربردترین نشانه برای بیماری پوستی و کمک به بهبود زخم در سوختگی‌ها و برش‌ها است[۹]. سنتز نانوذرات کروی طلا به روش سنتز سبز با استفاده عصاره گیاهی به‌عنوان احیاکننده مسیر جدیدی در سنتز نانوذرات ایجاد کرده است که عوارض کمتری نسبت به روش شیمیایی دارد؛ بنابراین ما یک مطالعه تحقیقاتی را برای ارزیابی فعالیت ضدالتهابی عصاره اتانولی ژل آلوئه‌ورا و هم‌چنین نانوذرات کروی طلا سنتزشده به روش سبز طراحی کرده‌ایم.

روش اجرا

عصاره الکلی (اتانولی) از برگ‌های تازه آلوئه‌ورا تهیه شد. احراز هویت گیاه در گروه علوم گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه رازی کرمانشاه انجام شد. سپس، مواد گیاهی تازه با آب مقطر استریل شسته شد، نمونه گیاه با اتانول ۵۰ درصد به نسبت ۱:۱۰ (۱۰۰ گرم در ۱ لیتر حلال) مخلوط شد و به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد تکان داده شد.

پس از تکان‌دادن، مخلوط گیاه اتانول با کاغذ صافی واتمن شماره ۱ (سیگما آلدریچ) فیلتر، با یک اواپراتور چرخشی (Stroglass، ایتالیا) در خلأ در دمای ثابت ۵۰ درجه سانتی‌گراد تغلیظ و سپس در یک لیوفیلیزر (Vacuum Gauge, USA) لیوفیلیز شد. عصاره در

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-10-27]

[DOR: 20.1001.1.20087470.1401.13.1.5.3]

ظروف تیره محکم بسته‌شده در فریزر در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. نانوذرات طلا با استفاده از عصاره ژل سنتز شدند که به‌عنوان یک عامل کاهش‌دهنده و تثبیت‌کننده عمل می‌کرد. نانوذرات طلا با استفاده از ۱ میلی‌مولار هیدروژن تتراکلروآورات (HAuCl4) سنتز شدند. به ۵ میلی‌لیتر نمک فلزی مناسب، ۲۰ میلی لیتر عصاره ژل آلوئه‌ورا اضافه شد. واکنش در دمای ۲±۳۲ درجه سانتی‌گراد در pH ۶/۹ و تحت استیرر ثابت با دور ۲۴۰ در دقیقه انجام شد. احیای $Au3+$ به ^{o}Au با تغییر رنگ از زرد روشن به قرمز و قرمز پررنگ مشاهده شد. اندازه متوسط ذرات (قطر هیدرودینامیکی) و توزیع اندازه ذرات و پتانسیل zeta توسط دستگاه Zeta sizer، (Malvern Instruments Ltd-USA) اندازه‌گیری شد.

کشت سلولی

اثر عصاره آلوئه‌ورا بر روی سلول‌های پوست A431 انسانی به‌دست‌آمده از مرکز انستیتو پاستور ایران بررسی شد. سلول‌ها در DMEM (Dubeccos Modified Eagle Medium) حاوی ۱۰٪ FBS (جیپکو، آلمان)، پنی‌سیلین ــ استرپتومایسین (۱۰۰ واحد در میلی‌لیتر) کشت و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در یک اتمسفر مرطوب با ۵٪ CO_2 انکوبه شدند.

سنجش بقای سلولی

زنده‌ماندن سلولی و فعالیت ضدتکثیر عصاره آلوئه‌ورا برروی سلول‌های A431 و با استفاده از MTT (۳ ـ (۴،۵ ـ دی‌متیل‌تیازول ۲ ـ ایل) ـ ۲،۵ ـ دی‌فنیل تترازولیوم برومید) شرکت سیگما آلدریچ (آمریکا) ارزیابی شد.

به‌طور خلاصه، سلول‌ها با تراکم ^{4}۱۰×۱ سلول در چاهک در پلیت ۹۶ چاهک در سه تکرار کشت شدند. پس از ۲۴ ساعت، محیط کشت رویی دور ریخته شد و ۱۰۰ میکرولیتر از محیط کشت DMEM (جیپکو، آلمان) حاوی غلظت ۵، ۵۰۰، ۱۰۰، ۲۰۰۰ و ۴۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر عصاره آلوئه‌ورا جایگزین شد. سپس پلیت‌ها در انکوباتور مرطوب‌شده در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌ترتیب به‌مدت ۲۴، ۳۶ و ۴۸ ساعت انکوبه شدند. در ادامه، محیط کشت در هر چاهک دور ریخته شد و با ۱۰۰ میکرولیتر MTT (۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) در PBS (سیگما آلدریچ ـ آمریکا) جایگزین شد و به مدت ۴-۳ ساعت انکوبه شد.

محلول MTT برداشته شد و (سیگما آلدریچ، آمریکا) DMSO برای حل‌کردن بلورهای فورمازان اضافه شد و به‌مدت ۱۰ ثانیه به‌آرامی حرکت دورانی داده شد و سپس میزان جذب با استفاده از الیزا ریدر Bio-Rad (Biorad, USA) در طول موج ۵۷۰ نانومتر ثبت شد. درصد زنده‌ماندن سلول‌ها ازطریق فرمول زیر محاسبه شد:

$$\text{درصد زنده مانی} = AT/AC \times 100$$

که در آن AT میزان جذب در سلول‌های تیمار شده و AC میزان جذب در سلول‌های کنترل است

سنجش تکه‌تکه‌شدن DNA

به‌طور خلاصه، سلول‌های A431 تیمارشده با آلوئه‌ورا (^{5}۱۰×۵) و نانوذرات سنتزشده طلا توسط بافری حاوی ۵ میلی‌مولار EDTA، ۰/۵ درصد تریتون X-100 و ۱۰ میلی‌مولار تریس لیز شدند. سلول‌ها پس از ۳۰ دقیقه انکوباسیون روی یخ در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد (۱۸ دقیقه، ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه) سانتریفیوژ شدند. پس از حذف مایع رویی، حجم مساوی فنل ـ کلروفرم و محلول ایزوآمیل الکل (۲۵:۲۴:۱) اضافه شد و DNA از مایع رویی جدا شد. درنهایت، الکتروفورز ژل آگارز برای جداسازی DNA در تمامی گروه‌ها انجام شد.

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (Real-time PCR)

ابتدا طبق دستورالعمل سازنده، RNA کل از سلول‌های A431 با استفاده از کیت استخراج RNX-plus (سیناژن، تهران، ایران) استخراج شد. خلوص و کیفیت RNA جداشده توسط نانودراپ

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-10-27]

[DOR: 20.1001.1.20087470.1401.13.1.5.3]

(ترموفیشر امریکا)، به‌عنوان نسبت ۲۸۰:۲۶۰ ۲-۱/۸ و با استفاده از ژل آگارز استاندارد ۱٪ اندازه‌گیری شد. سپس، براساس کتابچه راهنمای سازنده، کیت سنتز Complementary DNA (cDNA) فرمنتاز (یکتاتجهیز، ایران) برای سنتز DNA مکمل (cDNA) استفاده شد و سپس سیستم Real-Time PCR (روش، آلمان) برای بررسی بیان ژن با استفاده از SYBR Green PCR Master Mix (یکتاتجهیز، ایران) براساس پروتکل سازنده استفاده شد. جدول ۱ توالی پرایمرهای مورداستفاده در Real Time PCR (Rt- PCR) را نشان می‌دهد و GAPDH یک ژن مرجع داخلی درنظرگرفته‌شد. درنهایت، تغییرات بیان ژن بین سلول‌های کنترل و تیمارشده با استفاده از روش (۲-△△Ct) محاسبه شد[۱۰].

سنجش آنتی‌اکسیدانی DPPH

اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره ازطریق اندازه‌گیری فعالیت DPPH بررسی شد. ابتدا ۳ میلی‌گرم از نمونه لیوفیلیزه در اتانول ۸۰ درصد (۱ میلی‌لیتر) ورتکس، فراصوت و با دور g ۱۰۰۰۰ سانتریفیوژ و پس از آن مایع رویی جمع‌آوری شد. سپس ۲۵ میکرولیتر عصاره در غلظت‌های ۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر به ۰/۵ میلی‌لیتر DPPH 0.01 میلی‌مولار در متانول اضافه شد. سپس مخلوط‌ها تکان داده‌شده و به‌مدت ۳۰ دقیقه در محیط تاریک نگهداری می‌شوند.

با استفاده از اسپکتروفتومتر (شیماتزو، ژاپن)، میزان جذب هر نمونه در برابر متانول (به‌صورت خالی) در طول موج ۵۱۵ نانومتر ثبت شد. جذب محلول DPPH به‌عنوان شاهد ثبت شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی با فرمول زیر محاسبه شد:

فعالیت آنتی‌اکسیدانی (٪) = (Ac-As/Ac) × 100

Ac میزان جذب کنترل و As میزان جذب مخلوط واکنش است.

جدول ۱: توالی پرایمرهای مورداستفاده در RT-qPCR.

Gene	Primer sequences (5′ to 3′)
EGFR	F: 5′-AACACCCTGGTCTGGAAGTACG-3′ 5′-TCGTTGGACAGCCTTCAAGACC-3′
Nrf2	F: 5′-CACATCCAGTCAGAAACCAGTGG-3′ R: 5′-GGAATGTCTGCGCCAAAAGCTG-3′
NF-κB	F: 5′-CCCACGAGCTTGTAGGAAAGG-3′ R: 5′-CTGGATGCGCTGACTGATAG-3′
TNF-α	F: 5′-GATGGACTCACCAGGTGAG-3′ R: 5′-CTCATGGTGTCCTTTCCAGG-3′
IL-6	F: 5′-CCAGAACAGATTTGAGAG-3′ R: 5′-CTACATTTGCCGAAGAGC-3′
GAPDH	F: 5′-ACACCCACTCCTCCACCTTTG-3′ R: 5′-CCACCACCCTGTTGCTGTAG-3′

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل با استفاده از نسخه ۲۱ نرم‌افزار SPSS و با استفاده از آزمون تی مستقل و من ـ ویتنی انجام شد. داده‌ها به‌صورت میانگین±خطای استاندارد میانگین (SEM) گزارش شدند. سطح معنی‌داری $p>0/05$ تعیین و تمام آزمایشات سه‌بار تکرار شد.

یافته‌ها

تست MTT

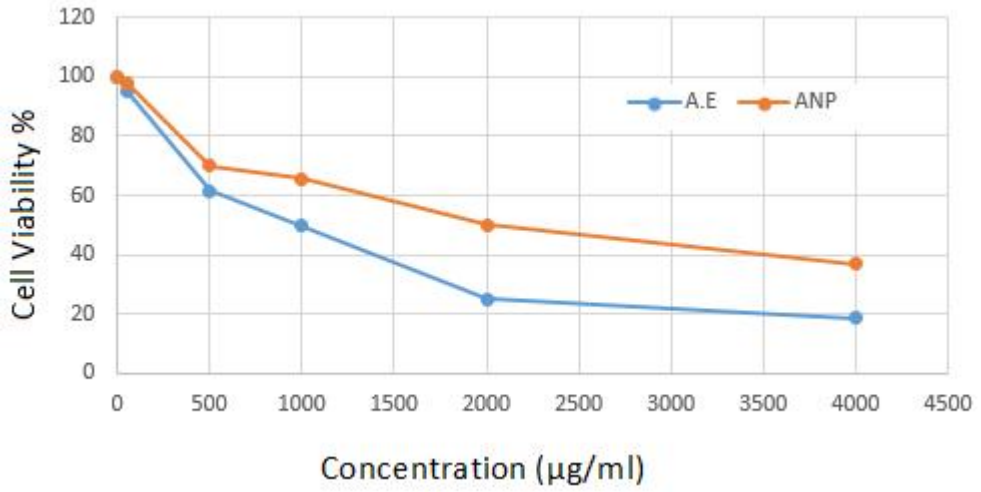
زنده‌ماندن سلول‌های پوست با استفاده از غلظت‌های مختلف عصاره آلوئه‌ورا در ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت انکوباسیون ارزیابی شد. نتایج نشان داد که عصاره تهیه‌شده رشد سلول‌های کراتینوسیت را وابسته به دوز و زمان با مقادیر IC50 حدود ۲۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر پس از ۷۲ ساعت انکوباسیون مهار می‌کند (شکل ۱). بیشترین (۹۵/۵٪) و کمترین (۱۵/۸٪) زنده‌ماندن سلول‌های A431 پس از تیمار با عصاره در دوزهای ۵۰ و ۴۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به‌ترتیب مشاهده شد.

بررسی قطعه‌قطعه‌شدن DNA

قطعه‌قطعه‌شدن DNA برای تعیین اینکه آیا عمل عصاره و نانوذرات با آپوپتوز مرتبط است یا خیر، مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. تخمین درصد قطعه‌قطعه‌شدن DNA (شکل ۲) نشان داد که پس از

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-10-27]

[DOR: 20.1001.1.20087470.1401.13.1.5.3]



شکل ۱: اثر عصاره آلوئه‌ورا (AE) و نانوذره آلوئه‌ورا (ANP) بر زنده‌ماندن سلول‌های A431. زنده‌ماندن سلولی گروه کنترل ۱۰۰ درصد محاسبه شد. داده‌ها به‌عنوان میانگین±انحراف‌معیار ارائه شده است (n=8).

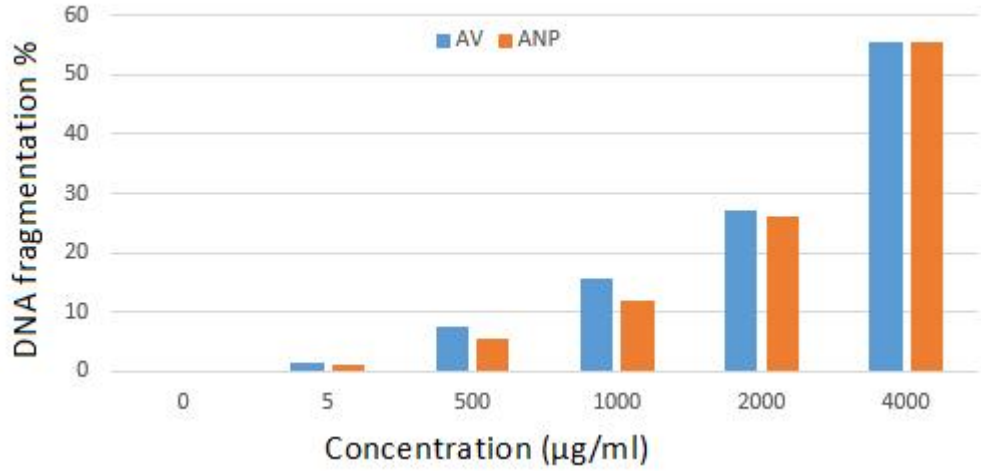
تیمار با عصاره و نانوذرات سنتزشده در غلظت‌های ۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰ و ۴۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به‌مدت ۷۲ ساعت، قطعه‌قطعه‌شدن DNA برای سلول‌های پوست حدود ۱/۳۵، ۷/۳۳، ۱۵/۵، ۲۷ و ۵۵/۷ درصد و ۱/۰۵، ۵/۵، ۱۲، ۲۶ و ۵۵/۵ درصد در مورد عصاره و نانوذرات به‌ترتیب افزایش یافت.

بررسی بیان ژن

تأثیر عصاره بر بیان mRNA ژن‌های مرتبط با سیگنال‌دهی EGFR، Nrf2 و NF-kB و هم‌چنین ژن‌های مربوط به التهاب TNF-α و IL-6، توسط Real-time PCR اندازه‌گیری شد.

این آزمایش‌ها نشان‌دهنده افزایش نسبی در سطوح بیان EGFR و Nrf2 و کاهش بیان NF-κB، TNF-α و IL-6 در سلول‌های A431 تیمارشده با عصاره نسبت به گروه کنترل بود (شکل ۳، A و B).

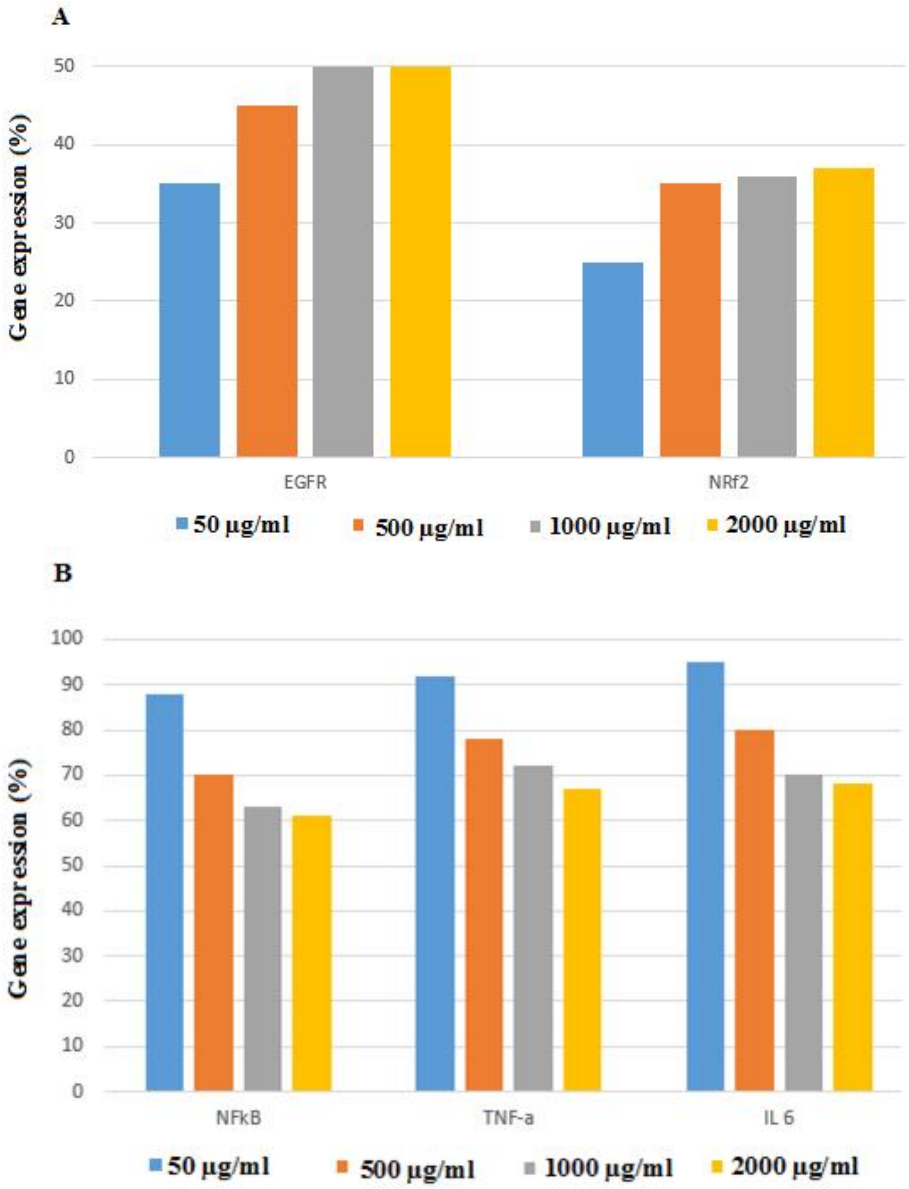
در مرحله بعد تأثیر نانوذرات را در بیان ژن‌ها بررسی کردیم. چنان‌که در شکل ۳، C و D نشان داده شده است، نانوذرات سنتزشده باعث تغییر بیان ژن‌ها شده‌اند که این تغییرات تاحدودی با تغییرات بیان ژن‌ها ناشی از عصاره متفاوت بود.



شکل ۲: تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره (AV) و نانوذرات (ANP) بر روی DNA.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-10-27]

[DOR: 20.1001.1.20087470.1401.13.1.5.3]



شکل ۳: تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره (AV) برروی میزان بیان ژن‌های EGFR، Nrf2، NfkB، TNF-a و IL-6.

سنجش آنتی‌اکسیدانی DPPH

فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل عصاره آلوئه‌ورا با استفاده از روش DPPH بررسی شد و نتایج نشان دادند که عصاره آلوئه‌ورا، خاصیت کاهش رادیکال‌های آزاد با ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی دارد.

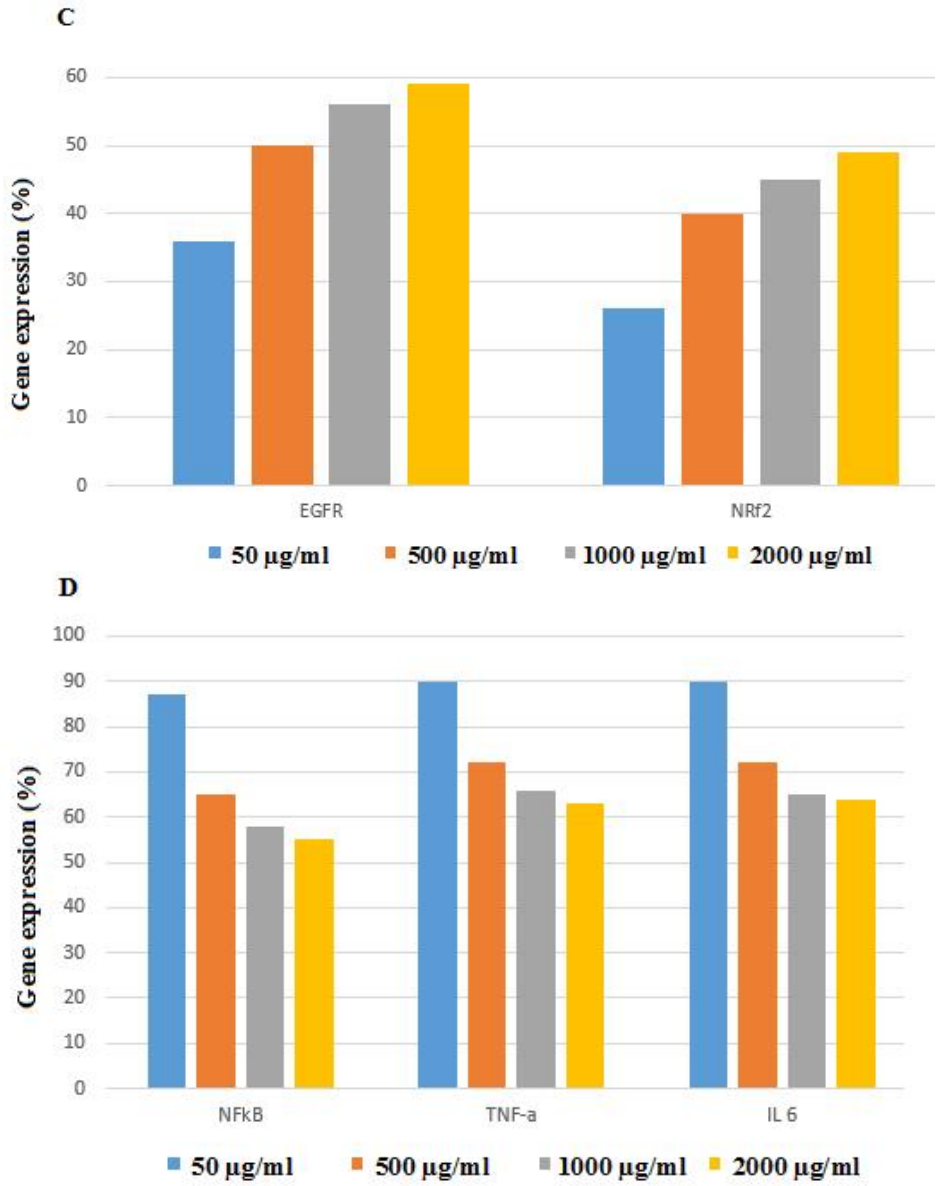
فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره با افزایش غلظت شدت یافت، به‌طوری که حدود ۷۰ درصد اثر آنتی‌اکسیدانی در غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر نشان داه شد. احتمالاً به‌دلیل وجود ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در ترکیب، عصاره فعالیت مهارکنندگی برای DPPH نشان می‌دهد.

بحث

پسوریازیس یک بیماری خودایمنی مزمن است که ۲ تا ۳ درصد از جمعیت جهان را تحت تأثیر قرار می‌دهد و نیاز به درمان مؤثر دارد. مشخصه آن افزایش انتشار اپیدرم است که می‌تواند تا ۱۰ برابر سریع‌تر از حد طبیعی در پسوریازیس با گشادشدن مویرگ‌های

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-10-27]

[DOR: 20.1001.1.20087470.1401.13.1.5.3]



شکل ۳: تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره (AV) برروی میزان بیان ژن‌های EGFR، Nrf2، NfkB، TNF-a و IL-6.

پوستی تکثیر شود. هنگامی که سلول‌های زیرین به سطح پوست می‌رسند و می‌میرند، حجم خالص آن‌ها پلاک‌های قرمز پوشیده‌شده با پوسته‌های سفید ایجاد می‌کند که باعث خارش و پوسته‌پوسته‌شدن پوست، تورم، درد و ضایعات پوستی بدتر می‌شود[۱۱و۱۲].

عوامل متعددی در ایجاد پسوریازیس دخیل هستند؛ سلول‌های T (به‌ویژه Th1 و Th17) به‌شدت در ضایعات پسوریازیس وجود دارند. علاوه‌بر این، TNFα و iNOS که سلول‌های دندریتیک التهابی را تولید می‌کنند، به‌طور گسترده در شدت پسوریازیس دخیل هستند[۱۳-۱۵]. به‌خوبی شناخته شده است که مسیرهای سیگنال‌دهی Nrf2 و NF-kB به تنظیم پاسخ سلولی به التهاب و استرس اکسیداتیو و حفظ هموستاز فیزیولوژیکی ردوکس سلولی کمک می‌کنند[۱۶].

سایتوکاین‌های پیش‌التهابی واسطه‌های مهم التهاب سیستمیک و موضعی هستند و سطوح بالای IL-1، IL-6 و TNF در ضایعات پوستی پسوریازیس و بافت سینوویال بیماران مبتلا به آرتریت پسوریازیس

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-10-27]

[DOR: 20.1001.1.20087470.1401.13.1.5.3]

مشاهده شده است[۱۷].

آلوئه‌ورا یک گیاه شاداب چندساله متعلق به خانواده Aloeaceae (زیرخانواده Asphodelaceae) است. از ۴۰۰ گونه آلوئه، A.vera بیشتر پذیرفته شده است و برای اهداف مختلف پزشکی و زیبایی استفاده می‌شود[۱۸و۱۹].

غربالگری فیتوشیمیایی عصاره برگ آلوئه‌ورا وجود آلکالوئیدها، کربوهیدرات‌ها، گلیکوزیدها، ساپونین‌ها، تری‌ترپن‌ها، استروئیدها، رزین‌ها، فنل‌ها، تانن‌ها، فلاونوئیدها، پروتئین‌ها، اسیدهای آمینه، صمغ‌ها، موسیلاژها، چربی‌ها و روغن‌ها را نشان داد. آلوئه‌ورا می‌تواند منجربه یکپارچگی پوست، حفظ رطوبت، کاهش اریتم و کمک به پیشگیری از زخم‌های پوستی شود[۲۰-۲۲].

در این مطالعه ما تأثیر عصاره گیاه‌آلوئه‌ورا را برروی سلول‌های A431 مشتق‌شده از پوست بررسی کردیم. در ابتدا تجزیه و تحلیل MTT نشان داد که این عصاره از رشد سلول‌های A431 به روشی وابسته به زمان و دوز با مقدار IC50 2500 میکروگرم بر میلی‌لیتر پس از ۷۲ ساعت جلوگیری می‌کند. ازطرفی آسیب به DNA سلول‌ها در اثر غلظت‌های بالای عصاره (حدود ۴۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) ایجاد می‌شود.

اخیراً گیاهان طبیعی به‌عنوان منابع مواد فعال بیولوژیکی ازجمله آنتی‌اکسیدان‌ها بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند. مطالعات متعددی بر روی برخی از گیاهان، سبزیجات و میوه‌ها انجام شده است؛ زیرا منابع غنی از آنتی‌اکسیدان‌ها مانند ویتامین A، ویتامین C، ویتامین E، کاروتنوئیدها، ترکیبات پلی‌فنولی و فلاونوئیدها هستند[۲۳] که از آسیب رادیکال‌های آزاد جلوگیری می‌کند و خطر بیماری‌های مزمن را کاهش می‌دهد؛ بنابراین مصرف آنتی‌اکسیدان‌های غذایی از این منابع در پیشگیری از بیماری‌های قلبی ـ عروقی مفید است[۲۴].

جست‌وجو برای آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی جدیدتر، به‌ویژه با منشأ گیاهی از آن زمان افزایش یافته است.

در این مطالعه، عصاره آلوئه‌ورا افزایش وابسته به دوز را در مهار رادیکال‌های آزاد DPPH نشان داد و حداکثر فعالیت آنتی‌اکسیدانی در دوز ۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر یافت شد[۲۵]. در مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۱ اثر آنتی‌اکسیدانی آلوئه‌ورا بررسی شد و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی را حدود ۴۷۱ گزارش کردند که در مطالعه ما با توجه به اینکه غلظت‌های متعدد بررسی شد و به روش DPPH حدود ۵۰۰ نشان داده شد.

در مطالعه‌ای دیگر عصاره آبی آلوئه‌ورا را بررسی کردند و میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی را حدود ۳۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر نشان دادند[۲۶] که با توجه به روش استخراج ممکن است متفاوت باشند.

بیماری‌های خودایمن گاهی با تکثیر بیش از حد سلول‌ها، گسترش عروقی، فعال‌شدن فیبروبلاست‌ها، اینفیلتراسیون سلول‌های ایمنی و تغییر سطح بعضی از سیتوکین‌ها مشخص می‌شوند. تکثیر بیش از حد سلول‌ها می‌تواند به‌علت عدم بالانس بین فاکتورهای رشد مسئول تکثیر سلول‌ها و فعالیت رسپتورهای آن‌ها در سلول‌های درگیر باشد. مهم‌ترین فاکتورها در این مسیر، تکثیر بیش از حد سلول‌ها و بی‌نظمی در سیکل بلوغ آن‌ها و افزایش آنژیوژنز است[۲۶و۲۷]. بیان ژن‌های مرتبط با رشد و تکثیر سلول‌ها و هم‌چنین ژن‌های مرتبط با التهاب، تحت تأثیر فاکتورهای مختلفی قرار می‌گیرند.

در این مطالعه اثر عصاره گیاهی آلوئه‌ورا و همچنین نانوذره سنتز سبزشده با عصاره آلوئه‌ورا برروی میزان بیان ژن‌های مرتبط با رشد و تکثیر سلول‌ها و هم‌چنین فاکتورهای التهابی بررسی شد و درنهایت مشخص شد که عصاره آلوئه‌ورا سبب افزایش بیان ژن‌های مرتبط با رشد سلول‌ها مانند EGFR و ازطرفی سبب کاهش بیان ژن‌های مرتبط با التهاب مانند NF-κB، TNF-α و IL-6 در سلول‌های پوست شدند، تأثیر نانوذرات بیشتر از عصاره بود احتمالاً به‌دلیل نفوذ بهتر و بیشتر نانوذرات سنتزشده به درون سلول‌ها و هم‌چنین پایداری بیشتر نانوذرات در محیط بیرون و

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-10-27]

[DOR: 20.1001.1.20087470.1401.13.1.5.3]

درون سلول‌ها می‌باشد.

عصاره و نانوذرات سنتزشده، خاصیت آنتی‌اکسیدانی داشتند و هم‌چنین سبب کاهش بیان ژن‌های التهابی در سلولها شدند؛ البته تأثیر نانوذرات نسبت به عصاره خیلی بیشتر بود هرچند که این تأثیر در غلظت‌های ۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰ و ۴۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بررسی شدند؛ اما با افزایش غلظت تا حدود ۱۰۰۰ میکروگرم، بیان ژن‌های التهابی کاهش چشمگیر داشتند ولی در غلظت‌های بالاتر میزان تأثیر کاهش یافت. با توجه به شرایط سلول‌ها و ویژگی عصاره و نانوذرات در ورود به سلول‌ها میزان بیان ژن‌ها متغیر بود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از کمال تشکر و قدردانی خود را از مرکز تحقیقات باروری و ناباروری، پژوهشکده فناوری بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه اعلام می‌دارند.

References

1. Vogler BK, Ernst E. Aloe vera: A systematic review of its clinical effectiveness. Br J Gen Pract 1999. 49: 823-28.
2. Greaves MW, Weinstein GD. Treatment of psoriasis. N Engl J Med 1995; 332: 581-8.
3. Melnikova, I. Psoriasis market. Nat Rev Drug Discov 2009; 8: 767-68.
4. Pahl HL. Activators and target genes of Rel/NF-kappaB transcription factors. Oncogene 1999; 18: 6853-66.
5. Kawashima K, Doi H, Ito Y, et al. Evaluation of cell death and proliferation in psoriatic epidermis. J Dermatol Sci 2004; 35: 207-14.
6. Vecchione L, Jacobs B, Normanno N, et al. EGFR-targeted therapy. Exp Cell Res 2011; 317: 2765-71.
7. Ciardiello F, Tortora G. EGFR antagonists in cancer treatment. N Engl J Med 2008;358: 1160-74.
8. Fiske WH, Threadgill D, Coffey RJ. ERBBs in the gastrointestinal tract: recent progress and new perspectives. Exp Cell Res 2009; 315: 583-601.
9. Trivedi PC. Herbal medicine: Traditional practices. Aavishkar Publishers, Distributors 2006.
10. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2-δδct method. Methods 2001; 25: 402-08.
11. Baliwag J, Barnes DH, Johnston A. Cytokines in psoriasis. Cytokine 2015; 73: 342-50.
12. MacDonald A, Burden A. Psoriasis: Advances in pathophysiology and management. Postgrad Med J 2007; 83, 690-97.
13. Al Robaee AA . Molecular genetics of Psoriasis (principles, technology,gene location, genetic polymorphism and gene expression). Int J Health Sci 2010; 4: 103.
14. Harden JL, Krueger JG, Bowcock, A. M. The immunogenetics of psoriasis: a comprehensive review. J Autoimmun 2015; 64: 66-73.
15. Woo YR, Cho DH, Park HJ. Molecular mechanisms and management of a cutaneous inflammatory disorder: psoriasis. Int J Mol Sci 2017;18: 2684.
16. Saha S, Buttari B, Panieri E, et al. An overview of Nrf2 signaling pathway and its role in inflammation. Molecules 2020; 25: 5474.
17. Van Kuijk AW, Tak PP. Synovitis in psoriatic arthritis: immunohistochemistry, comparisons with rheumatoid arthritis, and effects of therapy. Curr Rheumatol Rep 2011;13: 353-59.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-10-27]

[DOR: 20.1001.1.20087470.1401.13.1.5.3]

18. U. Eggli, “Illustrated Handbook of Succulent plants: Monocotyledons,” Springer, 2001. Edition Number 1. 56715-25.
19. Grindlay D, Reynolds T. The Aloe vera phenomenon: A review of the properties and modern uses of the leaf parenchyma gel. J Ethno Pharmacol 1986; 16: 117-51.
20. Christaki EV, Florou-Paneri PC. Aloe vera: A plant for many uses. J Food Agric Environ 2010; 8: 245-49.
21. Dat AD, Poon F, Pham KB, et al. Aloe vera for treating acute and chronic wounds. Cochrane Database Syst Rev 2012; 2: 008762.
22. Ghaffarzadegan R, Alizadeh SA, Ghaffarzadegan R, et al. Effect of aloe vera gel, compared to 1% silver sulfadiazine cream on second-degree burn wound healing. J Complement Med Res 2013; 3: 418-28.
23. Martínez-Ortiz J, Fung T, Baylin A, et al. Dietary patterns and risk of nonfatal acute myocardial infarction in Costa Rican adults. Eur J Clin Nutr 2006; 60: 770-77.
24. Cao Y, Huynh Q, Kapoor N, et al. Associations between dietary patterns and cardiometabolic risk factors-A longitudinal analysis among high-risk individuals for diabetes in Kerala, India. Nutrients 2022; 14: 662.
25. Kammoun M, Miladi S, Ben Ali Y, et all. In vitro study of the PLA2 inhibition and antioxidant activities of Aloe vera leaf skin extracts. Lipids Health Dis 2011; 11:10: 30.
26. Nicholson RI, Gee JM, Harper ME. EGFR and cancer prognosis. Eur J Cancer 2001; 37: 4: S9-15.
27. Huang SM, Harari PM. Epidermal growth factor receptor inhibition in cancer therapy: Biology, rationale and preliminary clinical results. Invest New Drug 1999; 17: 259-69.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-10-27]

[DOR: 20.1001.1.20087470.1401.13.1.5.3]

The effect of aloe vera extract and synthesized green nanoparticles on reducing inflammation in psoriasis: an *in vitro* study

Houshang Nemati, PhD
Mozafar Khazaei, PhD
Mehri Nazeri, MSc
Maryam Bozorgi, MSc

Fertility and Infertility Research Center, Health Technology Institute, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

Received: Mar 04, 2022
Accepted: Apr 14, 2022
Pages: 29-39

Background and Aim: Psoriasis is a chronic inflammatory skin disease, influenced by genetic and immune-based factors that is associated with skin inflammation. Aloe vera gel is traditionally used to treat skin diseases including psoriasis.

Methods: In this study, ethanolic extract of aloe vera gel was evaluated for its anti-inflammatory and antioxidant activity in skin-derived A431 cells. First, after preparing the extract and then the green synthesis of gold nanoparticles using the extract, their effect on the expression of inflammatory genes as well as their antioxidant properties were investigated.

Results: The use of different concentrations of aloe vera extract caused a relative increase in EGFR and Nrf2 expression levels and decreased expression of NF-κB, TNF-α and IL-6 inflammatory genes in A431 skin cells. But the effect of synthesized nanoparticles was greater than aloe vera extract in altering the expression of signaling and inflammatory genes.

Conclusion: The synthesized extracts and nanoparticles had antioxidant properties and also reduced the expression of inflammatory genes in cells. However, the effect of nanoparticles was much greater than that of extracts in reducing inflammatory genes.

Keywords: psoriasis, aloe vera, nanoparticles, gene expression

Corresponding Author:
Houshang Nemati, PhD

Nurse Blvd., School of Medicine, Kermanshah, Iran
Email: hnemati@kums.ac.ir

Conflict of interest: None to declare

Copyright © 2022 Published by Tehran University of Medical Sciences.
This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/). Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-10-27]

[DOR: 20.1001.1.20087470.1401.13.1.5.3]