

## تأثیر عصاره آلوئه‌ورا و نانوذرات سنتز شده 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

نویسنده مسئول:  
هوشنگ نعمتی

کرمانشاه، بلوار پرستار، دانشکده پزشکی  
پست الکترونیک:

hnemati@kums.ac.ir

تعارض منافع: اعلام نشده است.

**زمینه و هدف:** پسوریازیس یک بیماری التهابی پوستی مزمن، تحت تأثیر فاکتورهای ژنتیکی و مبتنی بر ایمنی است که با التهاب پوست همراه است. ژل آلوئه‌ورا به‌طور سنتی برای درمان بیماری‌های پوستی از جمله پسوریازیس استفاده می‌شود.

**روش اجرا:** در این مطالعه عصاره اتانولی ژل آلوئه‌ورا برای فعالیت ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی در سلول‌های A431 مشتق شده 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- $\kappa$ B، TNF- $\alpha$  و IL-6 در سلول‌های A431 پوست شد؛ اما تأثیر نانوذرات سنتز شده در مقایسه با عصاره آلوئه‌ورا در تغییر بیان ژن‌های سیگنالینگ و التهابی بیشتر بود.

**نتیجه‌گیری:** عصاره و نانوذرات سنتز شده 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): ۲۹-۳۹

### مقدمه

موضعی استفاده می‌کنند<sup>۳</sup>. 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 از طریق تغییر در

پسوریازیس یک بیماری التهابی پوستی مزمن، تحت تأثیر فاکتورهای ژنتیکی و مبتنی بر ایمنی است که حدود ۱ تا ۳ درصد از جمعیت جهان را تحت تأثیر قرار می‌دهد. به‌عنوان یک اختلال خودایمنی، هیچ آزمایش تشخیصی برای شناسایی پسوریازیس در دسترس نیست<sup>۱</sup>.

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

است. آلوئه‌ورا از سال ۱۷۵۰ قبل از میلاد به صورت درمانی مورد استفاده قرار گرفته است و خواص مختلف زیادی به ژل داخلی و بی‌رنگ برگ نسبت داده شده است از این رو، امروزه ژل آلوئه‌ورا یک عنصر آشنا در طیف وسیعی از محصولات موجود بهداشتی و آرایشی از جمله محصولات ضدآفتاب و لوسیون‌های پوست خشک است.

ژل آلوئه‌ورا معمولاً به عنوان یک درمان کمکی در طب گیاهی برای اختلالات مختلف مانند دیابت، سرطان و هم‌چنین برای بهبود عملکرد دستگاه گوارش، التیام زخم‌ها و اثرات ضد میکروبی و ضد التهابی استفاده می‌شود و پرکاربردترین نشانه برای بیماری پوستی و کمک به بهبود زخم در سوختگی‌ها و برش‌ها است.<sup>۹</sup> سنتز نانوذرات کروی طلا به روش سنتز سبز با استفاده عصاره گیاهی به عنوان احیا کننده 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 ضد التهابی عصاره اتانولی ژل آلوئه‌ورا و هم‌چنین نانوذرات کروی طلا سنتز شده 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 تکان دادن، مخلوط گیاه اتانول با کاغذ صافی واتمن شماره ۱ (سیگما آلد ریچ) فیلتر، با یک اواپراتور چرخشی (Stroglass، ایتالیا) در خلأ در دمای ثابت ۵۰ درجه سانتی‌گراد تغلیظ و سپس در یک لیوفیلایزر (Vacuum Gauge, USA) لیوفیلایز شد. عصاره در

سیگنالینگ مولکولی فاکتورهای التهابی و هم‌چنین خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاه آلوئه‌ورا را در سلول‌های A431 مشتق شده 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 پسروریازیس، تمایز و تکثیر کراتینوسیتی می‌تواند توسط بسیاری از فاکتورهای رونویسی سیتوکین و واسطه‌های التهابی آزاد شده از سلول‌های التهابی مزمن که این ضایعات را همراهی می‌کنند، تعدیل و تنظیم شود. از آنجایی که NF-kB بیان ژن سیتوکین را تنظیم می‌کند، این احتمال وجود دارد که NF-kB یکی از عوامل کلیدی در پاتوژنز بیماری باشد<sup>۱۰</sup>. درمان‌های موجود با عوارض جانبی خفیف تا شدید از تحریک پوست گرفته تا سمیت کبدی و سمیت کلیوی همراه است.

رِسپتور فاکتور رشید اپیدرمی (EGFR; ErbB-1; HER1) یک پروتئین غشایی است که به عنوان رسپتور جهت اعضای خانواده 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 پسروریازیس، 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)<sup>۸-۶</sup>.

آلوئه‌ورا گیاهی چندساله از خانواده *Liliaceae*

میکروگرم در میلی لیتر عصاره آلوئه‌ورا جایگزین شد. سپس پلیت‌ها در انکوباتور مرطوب‌شده در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به ترتیب به مدت 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 آلدریج - آمریکا) جایگزین شد و به مدت ۳-۴ ساعت انکوبه شد.

محلول MTT برداشته شد و (سیگما آلدریج، آمریکا) DMSO برای حل کردن بلورهای فورمازان اضافه شد و به مدت ۱۰ ثانیه به آرامی 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 زنده ماندن سلول‌ها از طریق فرمول زیر محاسبه شد:

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

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 تیمار شده با آلوئه‌ورا ( $5 \times 10^5$ ) و نانوذرات سنتز شده 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 - کلروفرم و محلول ایزوآمیل‌الکل (۲۵:۲۴:۱) اضافه شد و DNA از مایع رویی جدا شد. در نهایت، الکتروفورز ژل آگارز برای جداسازی DNA در تمامی گروه‌ها انجام شد.

#### واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (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 جدا شده توسط نانودراپ

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 (HAuCl<sub>4</sub>) سنتز شدند. به ۵ میلی‌لیتر نمک فلزی مناسب، ۲۰ میلی‌لیتر عصاره ژل آلوئه‌ورا اضافه شد. واکنش در دمای  $32 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد در pH ۶/۹ و تحت استیرر ثابت با دور ۲۴۰ در دقیقه انجام شد. احیای Au<sup>3+</sup> به Au<sup>0</sup> 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 (Dubecos Modified Eagle Medium) حاوی ۱۰٪ FBS (جیپکو، آلمان)، پنی‌سیلین - استرپتومایسین (۱۰۰ واحد در میلی‌لیتر) کشت و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در یک اتمسفر مرطوب با ۵٪ CO<sub>2</sub> انکوبه شدند.

#### سنجش بقای سلولی

زنده ماندن سلولی و فعالیت ضد تکثیر عصاره آلوئه‌ورا بر روی سلول‌های A431 با استفاده از MTT (۳ - ۴،۵ - دی‌متیل‌تيازول ۲ - ایل) - ۲،۵ - دی‌فنیل تترازولیوم برومید) شرکت سیگما آلدریج (آمریکا) ارزیابی شد.

به‌طور خلاصه، سلول‌ها با تراکم  $1 \times 10^4$  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

متانول اضافه شد. سپس مخلوط‌ها تکان داده شده و به مدت ۳۰ دقیقه در محیط تاریک نگهداری می‌شوند. با استفاده از اسپکتروفتومتر (شیماتزو، ژاپن)، میزان جذب هر نمونه در برابر متانول (به صورت خالی) در طول موج ۵۱۵ نانومتر ثبت شد. جذب محلول DPPH به عنوان شاهد ثبت شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی با فرمول زیر محاسبه شد:

$$\text{فعالیت آنتی‌اکسیدانی } (\%) = \frac{Ac-As}{Ac} \times 100$$

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

### تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل با استفاده از نسخه ۲۱ نرم‌افزار SPSS و با استفاده از آزمون تی مستقل و من - ویتنی انجام شد. داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  خطای استاندارد میانگین (SEM) گزارش شدند. سطح معنی‌داری  $p > 0.05$  تعیین و تمام آزمایشات سه بار تکرار شد.

### یافته‌ها

#### تست MTT

زنده ماندن سلول‌های پوست با استفاده از غلظت‌های مختلف عصاره آلوئه‌ورا در ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت انکوباسیون ارزیابی شد. نتایج نشان داد که عصاره تهیه شده 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٪) زنده ماندن سلول‌های A431 پس از تیمار با عصاره در دوزهای ۵۰ و ۴۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به ترتیب مشاهده شد.

#### بررسی قطعه‌قطعه شدن DNA

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

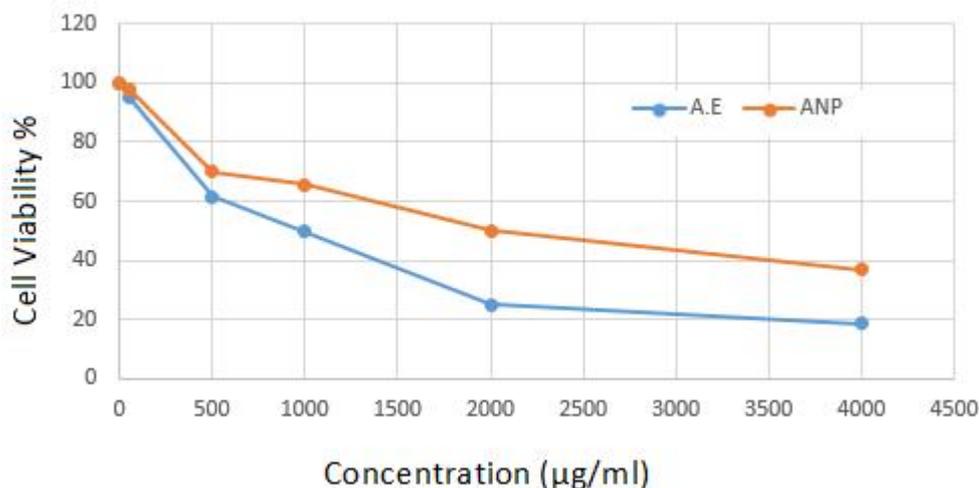
(ترموفیشر امریکا)، به عنوان نسبت ۲۸۰:۲۶۰:۲-۱/۸ و با استفاده از ژل آگارز استاندارد ۱٪ اندازه‌گیری شد. سپس، بر اساس کتابچه راهنمای سازنده، کیت سنتز Complementary DNA (cDNA) فرمنتاز (یکتاتجهیز، ایران) برای سنتز DNA مکمل (cDNA) استفاده شد و سپس سیستم Real-Time PCR (روش، آلمان) برای بررسی بیان ژن با استفاده از SYBR Green PCR Master Mix (یکتاتجهیز، ایران) بر اساس پروتکل سازنده استفاده شد. جدول ۱ توالی پرایمرهای مورد استفاده در Real Time PCR (Rt-PCR) را نشان می‌دهد و GAPDH یک ژن مرجع داخلی در نظر گرفته شد. در نهایت، تغییرات بیان ژن بین سلول‌های کنترل و تیمار شده با استفاده از روش  $(\Delta\Delta Ct)$  محاسبه شد.<sup>۱۰</sup>

#### سنجش آنتی‌اکسیدانی DPPH

اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره از طریق اندازه‌گیری فعالیت DPPH بررسی شد. ابتدا ۳ میلی‌گرم از نمونه لیوفیلیزه در اتانول ۸۰ درصد (۱ میلی‌لیتر) ورتکس، فراصوت و با دور ۱۰۰۰۰ g سانتیفریوژ 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 0.01 DPPH میلی‌مولار در

جدول ۱: توالی پرایمرهای مورد استفاده در RT-qPCR.

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



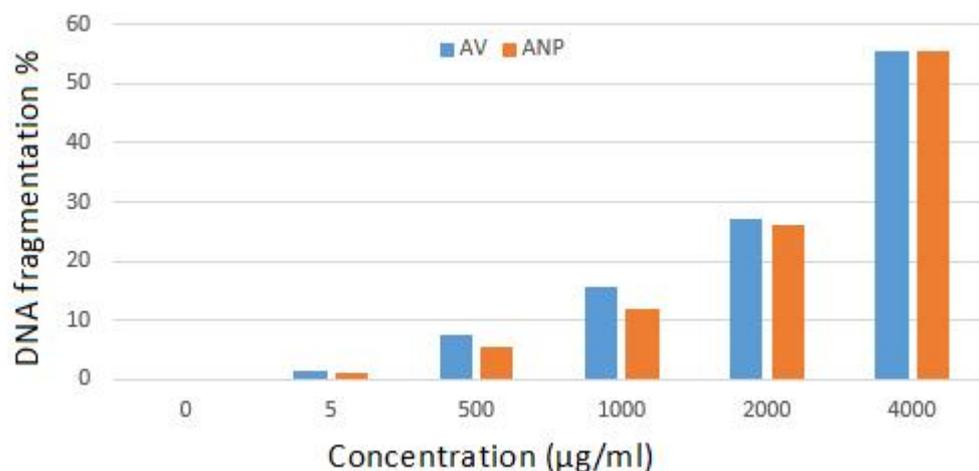
شکل ۱: اثر عصاره آلوئه‌ورا (AE) و نانوذره آلوئه‌ورا (ANP) بر زنده‌ماندن سلول‌های A431. زنده‌ماندن سلولی گروه کنترل ۱۰۰ درصد محاسبه شد. داده‌ها به‌عنوان میانگین  $\pm$  انحراف معیار ارائه شده است (n=8).

Real-time PCR اندازه‌گیری شد. این آزمایش‌ها نشان‌دهنده افزایش نسبی در سطوح بیان EGFR و Nrf2 و کاهش بیان NF- $\kappa$ B، TNF- $\alpha$  و IL-6 در سلول‌های A431 تیمار شده 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 سنتز شده باعث تغییر بیان ژن‌ها شده‌اند که این تغییرات تاحدودی با تغییرات بیان ژن‌ها ناشی از عصاره متفاوت بود.

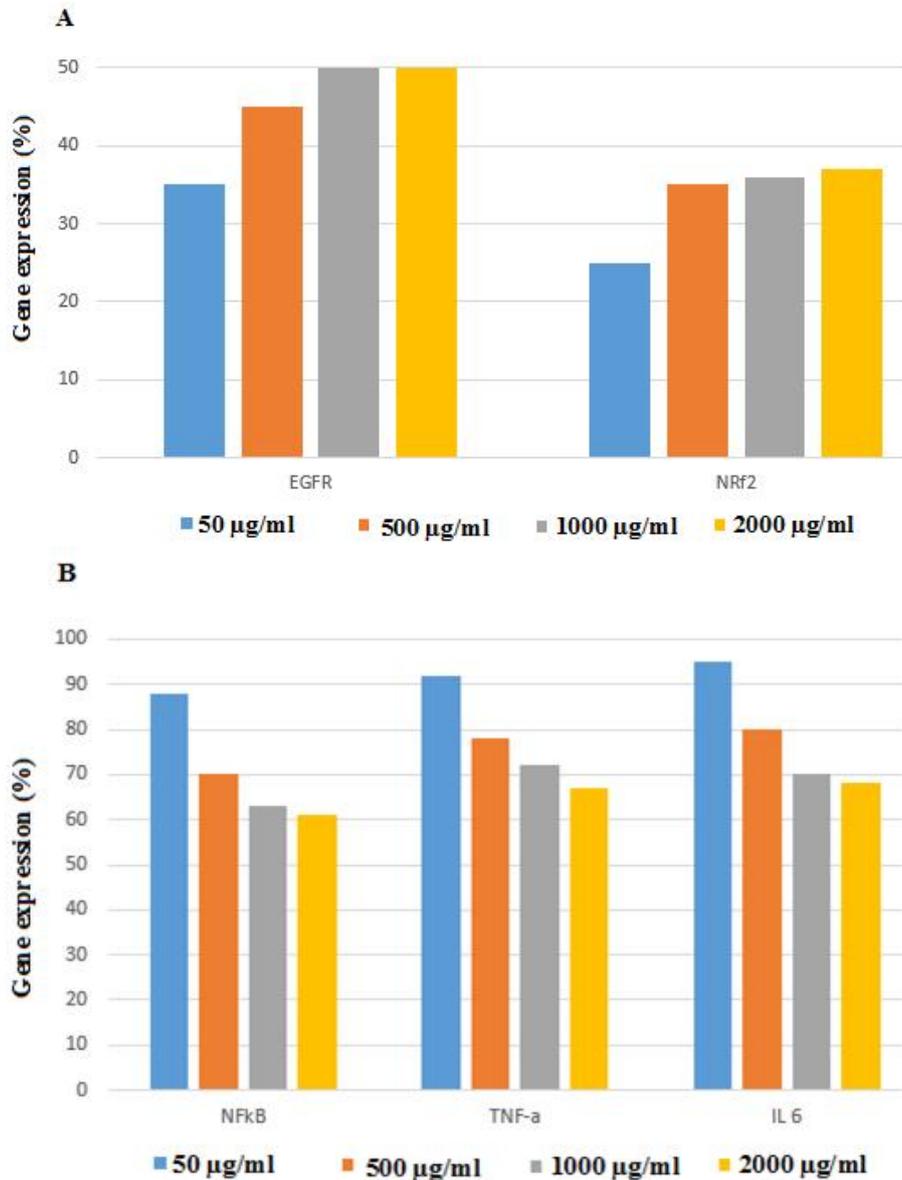
تیمار با عصاره و نانوذرات سنتز شده در غلظت‌های ۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰ و ۴۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به مدت ۷۲ ساعت، قطعه‌قطعه شدن DNA برای سلول‌های پوست حدود ۱/۳۵، ۷/۳۳، ۱۵/۵، ۲۷ و ۵۵/۷ درصد و ۱/۰۵، ۵/۵، ۱۲، ۲۶ و ۵۵/۵ درصد در مورد عصاره و نانوذرات به ترتیب افزایش یافت.

### بررسی بیان ژن

تأثیر عصاره بر بیان mRNA ژن‌های مرتبط با سیگنال‌دهی EGFR، Nrf2 و NF- $\kappa$ B و هم‌چنین ژن‌های مربوط به التهاب TNF- $\alpha$  و IL-6 توسط



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



شکل ۳: تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره (AV) بر روی میزان بیان ژن‌های EGFR, Nrf2, NfκB, TNF-α و IL-6.

آنتی‌اکسیدانی در ترکیب، عصاره فعالیت مهارکنندگی برای DPPH نشان می‌دهد.

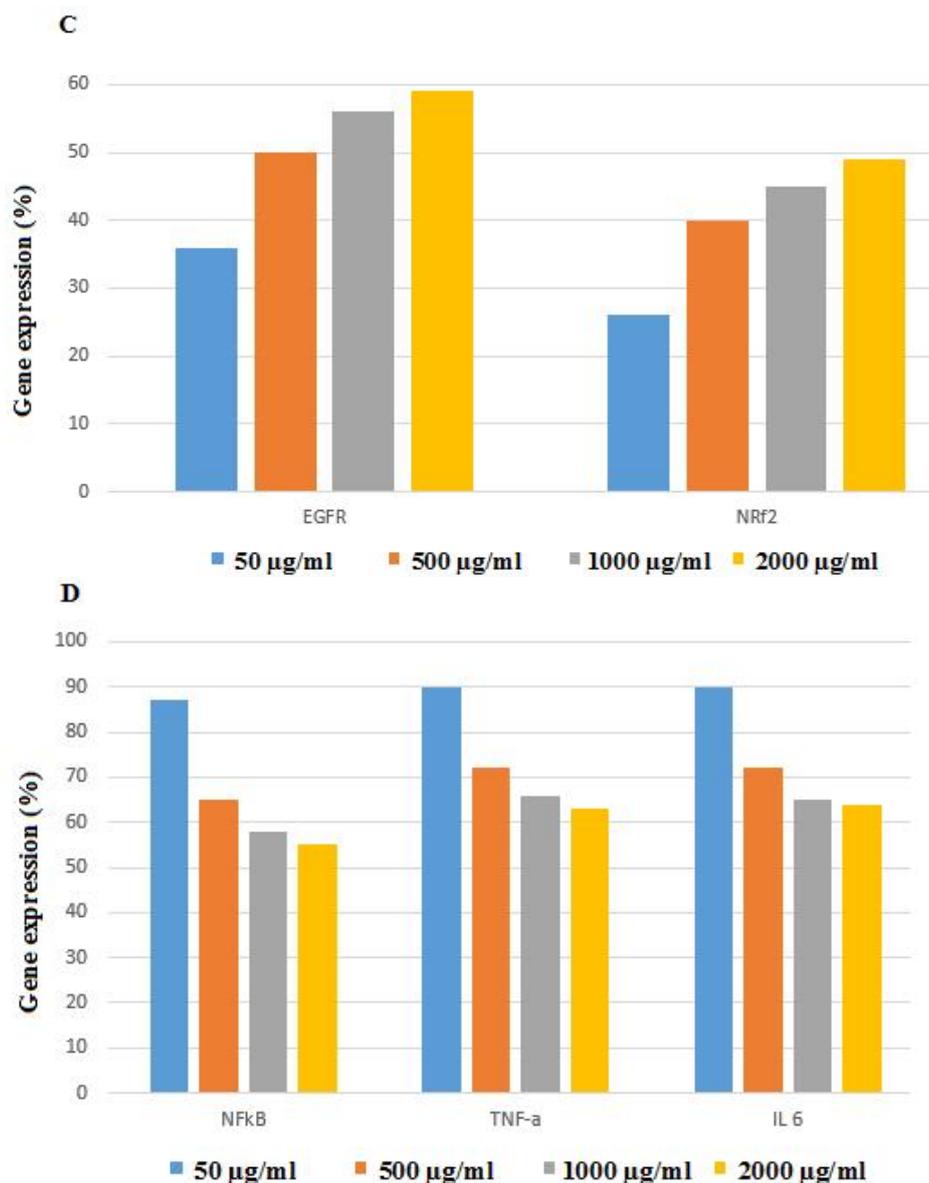
### بحث

پسروریازیس 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 پسروریازیس با گشادشدن مویرگ‌های

### 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، به طوری که حدود ۷۰ درصد اثر آنتی‌اکسیدانی در غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر نشان داده شد. احتمالاً به دلیل وجود ترکیبات



شکل ۳: تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره (AV) بر روی میزان بیان ژن‌های EGFR, Nrf2, Nfkb, TNF-a و IL-6.

تولید می‌کنند، به‌طور گسترده در شدت پسوریازیس دخیل هستند<sup>۱۳-۱۵</sup>. 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<sup>۱۶</sup>. 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

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<sup>۱۱،۱۲</sup>.

عوامل متعددی در ایجاد پسوریازیس دخیل هستند؛ سلول‌های T (به‌ویژه Th1 و Th17) به‌شدت در ضایعات پسوریازیس وجود دارند. علاوه‌بر این، TNF و iNOS که سلول‌های دندریتیک التهابی را

مشاهده شده است<sup>۱۷</sup>.

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<sup>۱۸،۱۹</sup>.

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

در این مطالعه ما تأثیر عصاره گیاه آلوئه‌ورا را بر روی سلول‌های A431 مشتق شده 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. از طرفی آسیب به DNA سلول‌ها در اثر غلظت‌های بالای عصاره (حدود ۴۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) ایجاد می‌شود.

اخیراً گیاهان طبیعی به‌عنوان منابع مواد فعال بیولوژیکی از جمله 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<sup>۲۳</sup> 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 - عروقی مفید است<sup>۲۴</sup>.

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<sup>۲۵</sup>. 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<sup>۲۶</sup> که با توجه به روش استخراج ممکن است متفاوت باشند.

بیماری‌های خودایمن گاهی با تکثیر بیش از حد سلول‌ها، گسترش عروقی، فعال شدن فیبروبلاست‌ها، اینفیلتراسیون سلول‌های ایمنی و تغییر سطح بعضی از سیتوکین‌ها مشخص می‌شوند. تکثیر بیش از حد سلول‌ها می‌تواند به علت 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<sup>۲۶،۲۷</sup>. 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 سبز شده با عصاره آلوئه‌ورا بر روی میزان بیان ژن‌های مرتبط با رشد و تکثیر سلول‌ها و هم‌چنین فاکتورهای التهابی بررسی شد و در نهایت مشخص شد که عصاره آلوئه‌ورا سبب افزایش بیان ژن‌های مرتبط با رشد سلول‌ها مانند EGFR و از طرفی سبب کاهش بیان ژن‌های مرتبط با التهاب مانند NF- $\kappa$ B، TNF- $\alpha$  و IL-6 در سلول‌های پوست شدند، تأثیر نانوذرات بیشتر از عصاره بود احتمالاً به دلیل نفوذ بهتر و بیشتر نانوذرات سنتز شده به درون سلول‌ها و هم‌چنین پایداری بیشتر نانوذرات در محیط بیرون و

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.

درون سلول‌ها می‌باشد. عصاره و نانوذرات سنتز شده، 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

### 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- $\Delta\Delta$  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.

18. U. Egli, "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. Ghaffarzagdegan R, Alizadeh SA, Ghaffarzagdegan 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 al. 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.

# 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- $\kappa$ B, TNF- $\alpha$  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.

2022, Volume 13, Number 1