Journal of Torbat Heydariyeh University of Medical Sciences
2025, Volume 13, No. 1: 33-45.

Original article

Comparative study of hydro-alcoholic extract effects from Marigold, Aloe vera, and Castor on L929 cell proliferation

Malihe Hosseini Soumaiegi[1], Maha Masoudi[2], Mohammad Esmail Ahmadyar[3], Hassan Fazelinejad [4,5], Raheleh Rahbarian[6], Davod Ilbeigi[7], Mohammad Ali Fahmidehkar[7]

1. Department of Biology, Payame Noor University, Mashhad, Iran
2. Vice Chancellery of Education and Research, Torbat Heydariyeh University of Medical Sciences, Torbat Heydariyeh, Iran
3. Student Research Committee, Torbat Heydariyeh University of Medical Sciences, Torbat Heydariyeh, Iran
4. Department of Biology, Hakim Sabzevari University, Sabzevar, Iran
5. Research Core of Cognitive Sciences and Aging Studies, Hakim Sabzevari University, Sabzevar, Iran
6. Department of Biology, Payame Noor University, Tehran, Iran
7. Department of Clinical Biochemistry, School of Medicine, Torbat Heydariyeh University of Medical Sciences, Torbat Heydariyeh, Iran

Corresponding author: Mohammad Ali Fahmidehkar, Department of Clinical Biochemistry, School of Medicine, Torbat Heydariyeh University of Medical Sciences, Torbat Heydariyeh, Iran. e-mail: fahmidehkarma@gmail.com

Submitted: 25 July 2024 Accepted: 1 February 2025

Keywords:

Wound, L929 cell line, Aloe vera, Castor, Marigold

Abstract

Background & Aim: The skin is important for protection against water loss, hemorrhage, and microbial invasion. Growing interest in medicinal plants in the world is due to their reduced side effects, lower financial cost, outstanding therapeutic benefits, and the focus of the World Health Organization on the development of medicinal plant cultivation industries. This study was aimed to compare the effects of hydro-alcoholic extract of Aloe vera, Castor, and Marigold on the proliferation and growth of L929 cells.

Methods: L929 cells were grown in the standard medium of RPMI 1640, followed by incubation of varying concentrations of different hydro-alcoholic extracts. Initially, IC_{50} values for each extract were determined using the MTT assay. Cell proliferation was then assessed at concentrations much lower than the IC_{50} in the form of both MTT and wound healing assays. Data analysis was performed using SPSS software version 26 and the level of significance was set at 5%.

Results: Maximum cell proliferation was obtained using the MTT assay at concentrations of the extract of 1 mg/ml. The mean cell counts and proliferation rates at 48 hours after treatment with Aloe vera, Castor, and Marigold were 0.61±0.006, 0.57±0.007, and 0.55±0.006, respectively, with statistically significant increases compared to the control group (0.45±0.006) ($P<0.05$). Regarding the migration and wound healing outcomes, the average wound width at 48 hours after Aloe vera and Castor treatment was 50.54 ± 3.26 and 57.82 ± 4.12, respectively, which were significantly less than that of the control group (68.92 ± 2.73) ($P < 0.05$).

Conclusion: Since Aloe vera showed better effects on L929 cell growth than other tested extracts, it would be advantageous to incorporate Aloe vera into the pharmaceutical formulations for wound healing treatment purposes.

How to Cite this Article: Hosseini Soumaiegi M, Masoudi M, Ahmadiyar MI, Fazeli Nejad H, Rahbarian R, Ilbeigi D, Fahmidehkar MA. Comparative study of hydro-alcoholic extract effects from Marigold, Aloe vera, and Castor on L929 cell proliferation. Journal of Torbat Heydariyeh University of Medical Sciences. 2025;13(1):33-45. DOI: 10.61882/jmsthums.13.1.33

Copyright © 2025 Journal of Torbat Heydariyeh University of Medical Sciences. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Noncommercial 4.0 International License (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cite.

مجله دانشگاه علوم پزشکی تربت‌حیدریه
دوره ۱۳. شماره ۱. بهار ۱۴۰۴

مقاله پژوهشی

مقایسه اثر عصاره هیدروالکلی گل همیشه بهار، آلوئه ورا و کرچک بر روند تکثیر سلول‌های L929

ملیحه حسینی صومعه‌گی[۱]، مها مسعودی[۲]، محمد اسماعیل احمدیار[۳]، حسن فاضلی‌نژاد[۴و۵]، راهله رهباریان[۶]، داود ایل‌بیگی[۷]، محمدعلی فهمیده کار[۷]

۱. گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، مشهد، ایران
۲. معاونت آموزشی و پژوهشی، دانشگاه علوم پزشکی تربت حیدریه، تربت حیدریه، ایران
۳. کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی تربت‌حیدریه، تربت‌حیدریه، ایران
۴. گروه زیست‌شناسی، دانشگاه حکیم سبزواری، سبزوار، ایران
۵. هسته پژوهشی علوم شناختی و مطالعات سالمندی، دانشگاه حکیم سبزواری، سبزوار، ایران
۶. گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران
۷. گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تربت‌حیدریه، تربت‌حیدریه، ایران

تاریخ دریافت:
۱۴۰۳/۰۵/۰۴
تاریخ پذیرش:
۱۴۰۳/۱۱/۱۳

کلیدواژه‌ها:
زخم، رده سلولی L929، آلوئه ورا، کرچک، همیشه بهار

تمامی حقوق نشر برای دانشگاه علوم پزشکی تربت‌حیدریه محفوظ است.

چکیده

زمینه و هدف: پوست برای محافظت در برابر از دست دادن آب، خونریزی و مقابله با میکروارگانیسم‌ها حیاتی است. علت توجه و روآوری به استفاده از گیاهان دارویی در جهان عوارض جانبی کمتر، کاهش بار مالی، اثرات درمانی قابل‌توجه و توسعه صنایع وابسته به کشت گیاهان دارویی توسط سازمان بهداشت جهانی می‌باشد. این مطالعه با هدف مقایسه اثر عصاره‌های هیدروالکلی گیاه آلوئه‌ورا، کرچک و همیشه بهار بر تکثیر و رشد سلول‌های L929 انجام شد.

روش‌ها: سلول‌های L929 در محیط کشت RPMI 1640 کشت داده شد. سپس در غلظت‌های متفاوتی از عصاره‌های هیدروالکلی مختلف انکوبه شدند. ابتدا با روش MTT assay میزان IC_{50} برای هر عصاره محاسبه گردید. سپس در غلظت‌های بسیار پایین‌تر از IC_{50} عصاره‌ها میزان تکثیر سلولی با روش MTT assay و Wound healing assay مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج: با استفاده از روش MTT assay در غلظت ۱ mg/ml از عصاره‌ها، بیشترین اثر بر تکثیر سلول‌ها مشاهده گردید، به طوریکه میزان تکثیر و تعداد سلول‌های L929 ۴۸ ساعت بعد از تیمار با آلوئه‌ورا، کرچک و همیشه بهار به ترتیب ۰/۰۰۶ ± ۰/۶۱، ۰/۰۰۷ ± ۰/۵۷ و ۰/۰۰۶± ۰/۵۵ گزارش گردید که به طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل (۰/۰۰۶ ± ۰/۴۵) بود (P<۰/۰۵). در بررسی اثر بر مهاجرت و بهبود زخم، میانگین اندازه عرض خراش، ۴۸ ساعت بعد از تیمار با آلوئه‌ورا و کرچک به ترتیب ۳/۲۶ ± ۵۰/۵۴ و ۴/۱۲ ± ۵۷/۸۲ گزارش گردید که در مقایسه با گروه کنترل (۲/۷۳ ± ۶۸/۹۲) کاهش معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵).

نتیجه‌گیری: ازآنجایی‌که تأثیر آلوئه‌ورا نسبت به دیگر عصاره‌های مورد مطالعه بر روی رشد سلول‌های L929 بیشتر و بهتر بود، استفاده از آلوئه‌ورا در ترکیبات دارویی، جهت ترمیم زخم، می‌تواند مفید باشد.

نویسنده مسئول: محمدعلی فهمیده کار ، تربت‌حیدریه، دانشگاه علوم پزشکی تربت‌حیدریه، دانشکده پزشکی، گروه بیوشیمی بالینی
آدرس پست الکترونیک: fahmidehkarma@gmail.com

مقدمه

پوست بزرگ‌ترین اندام بدن است که از اندام‌های احشایی دربرابر عفونت ایجادشده توسط میکروب‌ها محافظت می‌کند (۱). حفظ یکپارچگی پوست در انسان و حیوانات برای محافظت دربرابر از دست دادن آب، خونریزی و مقابله با ورود میکروارگانیسم ها حیاتی است. بهبود و ترمیم زخم انسان و حیوانات تکامل یافته، یک مکانیسم کاملاً پیچیده و پیشرفته دارد (۲). مکانیسم ترمیم زخم برای بازیابی بافت ازدست‌رفته و حفظ هموستاز بافت الزامی است (۱). سلول‌هایی مانند فیبروبلاست ها، کرایتینوسیت ها، ماکروفاژها و سایر سلول‌های سیستم ایمنی بدن به‌سرعت تکثیر یافته و به سمت زخم مهاجرت کرده و سلول‌های زخمی روند پیچیده بهبودی را شروع می‌کنند. فیبروبلاست ها بیشترین و اصلی‌ترین سلول‌های موجود در بافت می‌باشند که درطی ترمیم زخم در تولید ماتریکس خارج سلولی (ECM) و کلاژن نقش دارند (۳, ٤). ترمیم زخم به طور کلاسیک به چهار مرحله اصلی ساده شده است: هموستاز، التهاب، تکثیر و بازسازی پوست، که منجر به ترمیم معماری و فیزیولوژیک پس از آسیب می‌شود (٥).

سلول‌های فیبروبلاست در بسیاری از بافت‌های بدن به‌صورت گسترده‌ای حضور دارند. این سلول‌ها با توجه به ویژگی‌های ژنتیکی و قدرت تکثیری و تمایزی بسیار قابل‌توجه، نقش مهمی درسیستم ایمنی بدن ایفا می‌نمایند. سلول‌های فیبروبلاست با تولید و ترشح کلاژن که منبع اصلی ماتریکس خارج سلولی است، نقش مهمی درایجاد استحکام بافتی دارند. براین اساس، سلول‌های فیبروبلاست درترمیم زخم نیز تأثیر دارند. همچنین این سلول‌ها دررفع التهاب نیز نقش آفرین هستند (٦, ٧). در این راستا، رده سلولی L929 از رده سلولی مشهور فیبروبلاستی است، که به‌صورت گسترده‌ای درمطالعات مربوط به بررسی تکثیر و زنده‌مانی سلول‌های فیبروبلاستی مورداستفاده قرار می‌گیرد (۸, ۹).

در سال‌های اخیر تأثیر عصاره‌های مختلف گیاهی در درمان بیماری‌ها موردتوجه قرارگرفته است. گیاهان دارویی در درمان آسیب‌های بافتی و تومورها دارای تاریخچه طولانی هستند و در روند بهبود و توسعه دارو های امروزی نقش بسزایی داشته اند. گیاهانی همچون گل همیشه بهار (Calendula officinalisl)، کرچک (Ricinus Communis) و آلوئه ورا (Aloe Vera) در صنعت داروسازی به کار گرفته شده اند. گل همیشه بهار حاوی مقادیر کم اسانس روغنی فرار، ساپونین، رزین، اسیدهای عالی، ماده‌ای به نام کالندولین (Calendulin)، صمغ، مواد لعابی، آلبومین، اینولین، اسید سالیسیلیک، اسید لوریک، اسید پالمتیک و کلسترول می‌باشد. گل‌ها حاوی اسانس بوده،که اجزای مهم آن شامل منتون (Menthone)، ایزومنتون (Isomentone)، گاماترپنین (Gammaterpene)، الفامورولن (Alfamorulen)، کاریوفیلن (Caryophyllene) می‌باشد. مهم‌ترین مواد مؤثر این گیاه را فلاونوئیدهای محلول درآب (یک درصد وزن گل خشک) تشکیل می‌دهند. از مواد دیگر آن می‌توان کاروتنوئیدها را نام برد (۱۰). روغن همیشه بهار درتولید کرم‌های ترکیبی استفاده می‌شود، که این روغن برای کمک به بهبودی پوست‌های خشن، ملتهب، خارش‌دار و بهبود اگزمای پوستی مفید است. چنانچه این روغن تحت فشار سرد استخراج گردد، تأثیر ضد تورم خواهد داشت (۱۱). در گیاه کرچک اسیدهای چرب زیادی وجود دارد، ازجمله اسید ریسینولئیک (Ricinoleic acid) (یک اسید چرب هیدروکسی غیراشباع) که مهم‌ترین اسید چرب موجود درروغن کرچک است. روغن کرچک دارای ریسینولین (Ricinoline) می‌باشد، که گلیسرید اسید ریسینولییک است. روغن کرچک دارای خواصی همچون کاهش تورم و التهاب، درمان زخم‌ها، مرطوب‌کننده پوست، افزایش گردش خون، درمان عفونت قارچی، درمان آفتاب‌سوختگی، تسکین زخم دهان و غیره می‌باشد (۱۲). برگ‌های گیاه آلوئه ورا حاوی ژل و شیرابه هستند، که ژل این گیاه ترکیبات مختلف ازجمله اسیدآمینه و فلاونوئیدها را دارا می‌باشد. استرول‌های موجود در گیاه عامل ضدالتهاب هستند. همچنین دارای خواص ضدعفونی‌کننده

می‌باشند. ازجمله هورمون‌های موجود در آلوئه ورا اکسین (auxin) و جیبرلین (Gibberellin) می‌باشند، که این هورمون‌ها درالتیام زخم و خاصیت ضدالتهابی بودن آلوئه ورا نقش دارند (۱۳). آنتراکینون های موجود درآلوئه ورا دارای خاصیت ضد درد، ضد قارچ، ضد باکتری، ضدویروس و ضد سم می‌باشند. از ۸ اسیدآمینه ضروری بدن انسان ۷ اسید آمینه در این گیاه موجود است که در ساختمان پروتئین و ایجاد بافت نقش دارند (۱٤). پلی ساکاریدهای موجود در این گیاه رشد و ترمیم پوست را تحریک می کند. باارزش‌ترین خواص آلوئه ورا جلوگیری از ایجاد ضایعات پوستی و ترمیم پوست آسیب دیده می‌باشد. پس از بروز زخم فرآیند التهاب، تغییر وضعیت سیستم ایمنی و همچنین فرآیند ترمیم پوست فعال می‌شود. ارائه فرآورده‌ای که بتواند فرآیند فوق رادر جهت ترمیم مطلوب قرار دهد، بسیار مفید خواهد بود (۱۵). با توجه به موارد ذکرشده در این تحقیق سعی بر این است که اثر عصاره‌های هیدروالکلی گیاه آلوئه ورا، کرچک و همیشه بهار بر تکثیر سلول‌های فیبروبلاستی L929 که می‌توانند در بهبود زخم تأثیر داشته باشند مورد ارزیابی قرار گیرد.

روش‌ها

تهیه عصاره

این مطالعه مورد تأیید کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی تربت‌حیدریه قرارگرفته و کد اخلاق آن IR.THUMS.REC.1402.005 می‌باشد. بعد از جمع‌آوری گیاهان آلوئه ورا، کرچک و گل همیشه بهار و تائید توسط متخصص گیاه‌شناسی در بخش تحقیقات گیاه‌پزشکی مشهد، تمامی گیاهان در سایه و جریان هوا خشک شده و توسط آسیاب برقی آسیاب شدند. عصاره هیدروالکلی گیاهان موردمطالعه توسط شرکت ولاکسر واقع در دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی مشهد با استفاده از روش سوکسوله تهیه گردید. در ابتدا ۱۰۰ گرم از پودر گیاهان در داخل کارتوش های ساخته شده از کاغذ صافی معمولی ریخته شده و در دستگاه سوکسوله قرار گرفتند و سپس ۳۰۰ میلی لیتر مخلوط آب مقطر و متانول به آن اضافه گردید. بعد از گذشت ۱۲ ساعت عصاره به داخل ظرف‌های شیشه‌ای ریخته شده و در آون با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲٤ ساعت قرار گرفت تا رطوبت باقی‌مانده در عصاره کاملاً خارج گردد و سپس برای جلوگیری از جذب رطوبت و یا آلودگی در یخچال نگهداری شدند.

کشت سلول

رده سلولی L929 به‌صورت فلاسک از انستیتو پاستور ایران تهیه و در محیط کشت RPMI 1640 با نام تجاری Roswell Park Memorial Institute medium حاوی ۱۰ ٪ سرم جنین گاوی (FBS) و ۱٪ آنتی بیوتیک کشت داده شد. محیط کشت RPMI 1640 از شرکت ایده زیست، تهیه و به‌منظور کامل شدن آن جهت استفاده در پژوهش به محلول RPMI 1640 با حجم ۵۰۰ میلی‌لیتر، ۵ میلی‌لیتر از محلول دو آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین و پنی‌سیلین و ۵۰ میلی‌لیتر سرم گوساله (FBS) اضافه و در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید، سپس سلول‌ها درانکوباتور CO_2 دار (۵٪) و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردیدند، تعویض محیط کشت هر ۲ روز یک‌بار انجام گردید (۱٦).

بررسی اثرسیتوتوکسیک به روش MTT

در این پژوهش اثر سیتوتوکسیک عصاره‌های تهیه‌شده بر روی رده سلولی L929 با روش رنگ سنجیMTT و از طریق مقایسه با گروه کنترل بررسی شد. بر اساس این روش کریستال‌های زردرنگ تترازولویم در واکنش با آنزیم سوکسینات دهیدروژناز میتوکندری موجود در سلول‌های زنده احیا و شکسته شده و کریستال‌های بنفش‌رنگ فورماران را ایجاد می‌کند. این کریستال‌ها با استفاده از DMSO کمپلکس بنفش‌رنگی را ایجاد می‌کنند که قابل رنگ سنجی می‌باشند. برای انجام این تست در ابتدا تعداد ۱۰۰۰۰ سلول در هر چاهک از پلیت های ۹٦ خانه کشت داده شد. برای هر گروه سه چاهک در نظر گرفته شد. بعد از ۲٤ ساعت سلول‌های هر چاهک با غلظت‌های مختلف عصاره‌ها (۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) تیمار شدند.

چاهک مربوط به گروه کنترل هیچ عصاره‌ای دریافت نکرد. سلول‌های تیمار شده به مدت ۷۲ ساعت انکوبه شدند. سپس ۲۰ میکرولیتر محلول MTTبه هر چاهک اضافه و به مدت ۳ ساعت انکوبه شد. ۱۰۰ میکرولیتر DMSO به چاهک ها اضافه گردید و جذب نوری درطول موج ۵۷۰ نانومتر با دستگاه میکروپلیت ریدر درسه بازه زمانی سنجیده شد. چاهک حاوی سلول و فاقد عصاره به‌عنوان کنترل مثبت و چاهک حاوی محیط کشت و فاقد سلول به‌عنوان بلانک در نظر گرفته شدند. درصد بقای سلول‌ها براساس فرمول زیر محاسبه گردید. در ابتدا برای حذف خطای احتمالی میزان جذب نمونه بلانک از جذب نمونه تیمار شده و نمونه کنترل کم گردید سپس جذب نمونه‌های تیمار شده بر نمونه‌های کنترل تقسیم گردید و میزان بقای سلولی هر یک از چاهک ها از طریق معادله ۱ تعیین شد (۱۷).

معادله ۱: درصد بقای سلولی= (جذب نمونه بلانک – جذب نمونه تیمار شده) / (جذب نمونه بلانک – جذب نمونه کنترل) × ۱۰۰

تست خراش (Wound healing assay)

با استفاده از این روش میزان تکثیر سلول‌ها بعد از ایجاد خراش در سطح سلول‌های کشت‌شده تخمین زده می‌شود. سلول‌ها به تعداد ۱۵×۱۰^{٤} در پلیت های ٦ خانه کشت شدند. بعدازاینکه ۹۰ درصد پلیت ها پر از سلول گردید با نوک سمپلر خراشی در سطح سلول‌ها ایجاد کرده و سلول‌های جداشده را با PBS شسته و تخلیه نموده، سپس محیط کشت تازه به همراه غلظت مناسب (غلظت ۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر) عصاره‌ها به هر پلیت اضافه گردید و محیط کشت در فواصل منظم تعویض گردید و در بازه‌های زمانی ۰، ٢٤، ٤٨ و ۷۲ ساعت بعد از ایجاد خراش از محل خراش تصویربرداری صورت گرفت. مهاجرت سلول‌ها با استفاده از تصاویر گرفته‌شده و محاسبه با نرم‌افزار Toup View بر طبق معادله زیر بررسی گردید و به‌صورت درصد گزارش گردید. جهت بررسی تکرارپذیر بودن آزمایش‌ها به‌طور مستقل دو بار دیگر تکرار گردیدند.

معادله ۲:

$$\text{مهاجرت سلولی} = \frac{W_{do} - W_{dt}}{W_{do}}$$

W_{do}فاصله بین مرزهای خراش، بلافاصله بعد از ایجاد خراش و W_{dt} فاصله بین دو مرز خراش، پس از بازه زمانی موردنظر است.

آنالیز آماری

به‌منظور آنالیز آماری، با استفاده از نرم‌افزار SPSS 20، ابتدا توزیع طبیعی داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف موردبررسی قرارگرفت و پس از اطمینان از توزیع طبیعی داده‌ها، از آزمون آماری آناالیز واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی بنفرونی (Bonferroni) جهت مقایسه زنده‌مانی میان گروه‌ها استفاده گردید. سطح معنی‌داری دراین مطالعه ۰/۰۵ در نظرگرفته شد.

نتایج

درصد زنده ماندن سلول‌ها با روش رنگ سنجی MTT با غلظت‌های مختلف عصاره هیدروالکلی گیاه آلوئه ورا، کرچک و گل همیشه بهار

اثر سمیت گیاه آلوئه ورا بر روی سلول‌های L929 با استفاده از روش رنگ سنجی به‌وسیله MTT بررسی گردید. جذب نوری ثبت‌شده‌ی چاهک‌هایی که سلول‌ها در آن با غلظت‌های مختلف عصاره‌ی گیاه آلوئه ورا تیمارگردیده بودند، با جذب نوری چاهک های شاهد (سلول هایی که هیچ تیماری دریافت نکرده بودند) مقایسه شد و درصد سلول‌های زنده محاسبه گردید. با استفاده از نرم‌افزار ED_{50} plus مشاهده شد که برای عصاره آلوئه ورا در غلظت حدود ٤٨ میکروگرم بر میلی‌لیتر میزان زنده‌مانی سلول‌ها ۵۰ درصد بود. در نمودار ۱ میزان زنده‌مانی سلول‌ها در سه غلظت ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر ارائه گردیده است. نتایج نشان داد که غلظت‌های کمتر از ۲۵ میکروگرم می‌تواند میزان بقای سلول‌ها را افزایش دهد و در غلظت ۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر هیچ سلولی از بین نمی‌رود به همین دلیل این دوز برای آزمایش‌ها و بررسی‌های

بعدی استفاده گردید. برای عصاره کرچک در غلظت حدود ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر میزان زنده‌مانی سلول‌ها ۵۰ درصد بود. در نمودار ۲ میزان زنده‌مانی سلول‌ها در سه غلظت ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر ارائه گردیده است. نتایج نشان داد که غلظت‌های کمتر از ۲۵ میکروگرم می‌تواند میزان بقای سلول‌ها را افزایش دهد و در غلظت ۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر هیچ سلولی از بین نمی‌رود به همین دلیل این دوز برای آزمایش‌ها و بررسی‌های بعدی استفاده گردید. برای عصاره گل همیشه بهار همان‌طور که در نمودار ۳ ارائه‌شده با افزایش غلظت میزان زنده‌مانی سلول‌ها کاهش یافت. در غلظت ۲۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر ۵۰ درصد سلول‌های L929 باقی ماندند و در غلظت ۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر میزان زنده‌مانی سلول‌ها ۱۰۰ درصد گزارش گردید به همین دلیل این غلظت برای بررسی‌های بعدی مورداستفاده قرار گرفت (جدول ۱).

مقایسه‌ی تأثیر عصاره‌های هیدروالکلی گیاهان آلوئه ورا، کرچک و همیشه بهار بر تکثیر سلول‌ها با روش رنگ سنجی MTT

مقایسه‌ی اثر عصاره‌های هیدروالکلی گیاهان آلوئه ورا، کرچک و همیشه بهار بر میزان تکثیر سلول های L929 بعد از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت با استفاده از روش MTT، در نمودار ٤ نشان داده شده است. بعد از ۲٤ ساعت میزان تکثیر سلول‌ها در گروه آلوئه ورا ۳۹/۰۱±۰/۰، در گروه تیمار شده با کرچک ۳٦/۰۱±۰/۰ و در گروه تیمار شده با همیشه بهار ۳۳/۰۱±۰/۰گزارش گردید. بعد از ٤۸ ساعت میزان تکثیر سلول‌ها در گروه‌های تیمار شده با آلوئه ورا، کرچک و همیشه بهار به ترتیب ۰/۰۰٦±۰/٦۱، ۰/۰۰۷±۰/۵۷ و ۰/۰۰٦±۰/۵۵گزارش گردید، این یافته ها نشان داد که اثر عصاره هیدروالکلی آلوئه‌ورا و کرچک به‌طور معنی‌داری سبب افزایش میزان تکثیر و رشد سلول‌ها در مقایسه با گروه کنترل (بعد از ۲٤ ساعت: ۰/۰۱±۰/۳٤ و بعد از ٤۸ ساعت ۰/۰۰٦±۰/٤۵) می‌شود (P<۰/۰۵) اثر عصاره هیدروالکلی آلوئه‌ورا بر تکثیر سلول‌ها نیز به‌طور معنی‌داری بیشتر از عصاره هیدروالکلی کرچک می‌باشد (P<۰/۰۵).

جدول ۱: مقایسه زنده‌مانی سلول‌ها در گروه‌های مختلف

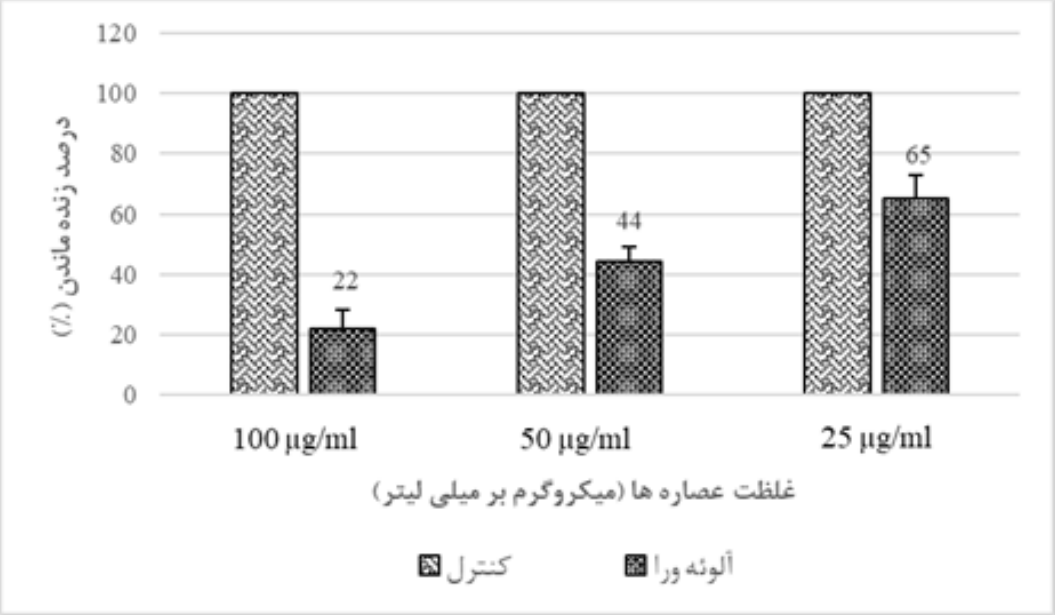
گروه	غلظت	میانگین	انحراف معیار	P value*
تیمار شده با آلوئه ورا	۱۰۰µg/ml	۲۲	٦/۰۲	۰/۰۰۰۸
	۵۰µg/ml	٤٤	۵/۲	۰/۰۰۲
	۲۵µg/ml	٦۵	۷/٦	۰/۰۰۱
تیمار شده با کرچک	۱۰۰µg/ml	٤۱	۲/۰۸	۰/۰۰۰۳
	۵۰µg/ml	۵۰	۲/۰۸	۰/۰۰۰٤
	۲۵µg/ml	۵۵	۹/۷	۰/۰۰۹
تیمار شده با همیشه بهار	۱۰۰µg/ml	۸	۱/۰۳	۰/۰۰۰۰۲
	۵۰µg/ml	۳٤	۵/۰۷	۰/۰۰۰۹
	۲۵µg/ml	۵۲	۳/۰۵	۰/۰۰٦
کنترل	۱۰۰µg/ml	۱۰۰	۰/۱	–
	۵۰µg/ml	۱۰۰	۰/۱	–
	۲۵µg/ml	۱۰۰	۰/۱	–

*P value مربوط به مقایسه گروه‌ها با گروه کنترل می‌باشد

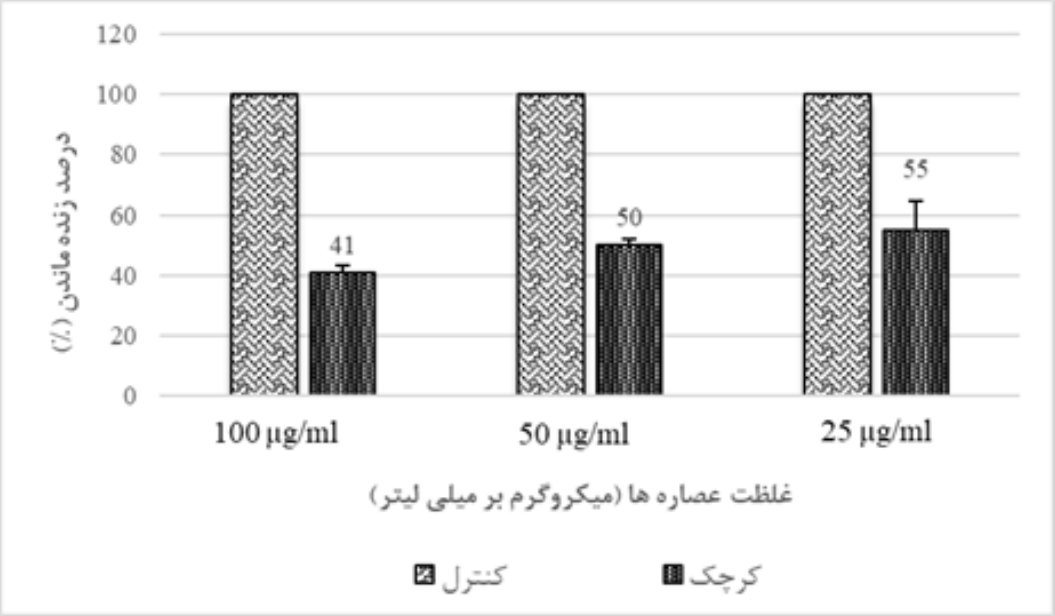
مقایسه‌ی تأثیر عصاره‌های هیدروالکلی گیاهان آلوئه ورا، کرچک و همیشه بهار بر تکثیر سلول‌ها با روش تست خراش

همان‌طور که در شکل ۱ نشان داده‌شده است میزان عرض خراش ایجادشده در ٤۸ و ۷۲ ساعت بعد از تیمار سلول‌ها کاهش‌یافته است که نشان‌دهنده رشد و تکثیر بهتر سلول‌ها می‌باشد. ٤۸ ساعت بعد از تیمار، میانگین اندازه عرض خراش در گروه تیمار شده با آلوئه ورا ۳/۲٦±۵۰/۵٤، در گروه تیمار شده با کرچک ٤/۱۲±۵۷/۸۲ و در گروه تیمار شده با همیشه بهار ۱/۵٦±۷۰/۹٤ گزارش گردید که گروه‌های آلوئه ورا و کرچک در مقایسه با گروه کنترل (۲/۷۳±٦۸/۹۲) کاهش معنی‌داری را نشان دادند (P<۰/۰۵). در زمان ۷۲ ساعت تأثیر عصاره‌ها در مقایسه با گروه کنترل بیشتر بوده و باعث کاهش بیشتر عرض خراش شدند و میانگین اندازه عرض خراش در گروه تیمار شده با آلوئه ورا ۱/۵۳±۱۳/۲۰، در گروه تیمار شده با کرچک ۰/۸۳±۲۸/۸۰ و در گروه تیمار شده با همیشه بهار ۱/۹٦±۳۳/٦۰ گزارش گردید و گروه‌های آلوئه ورا و کرچک در

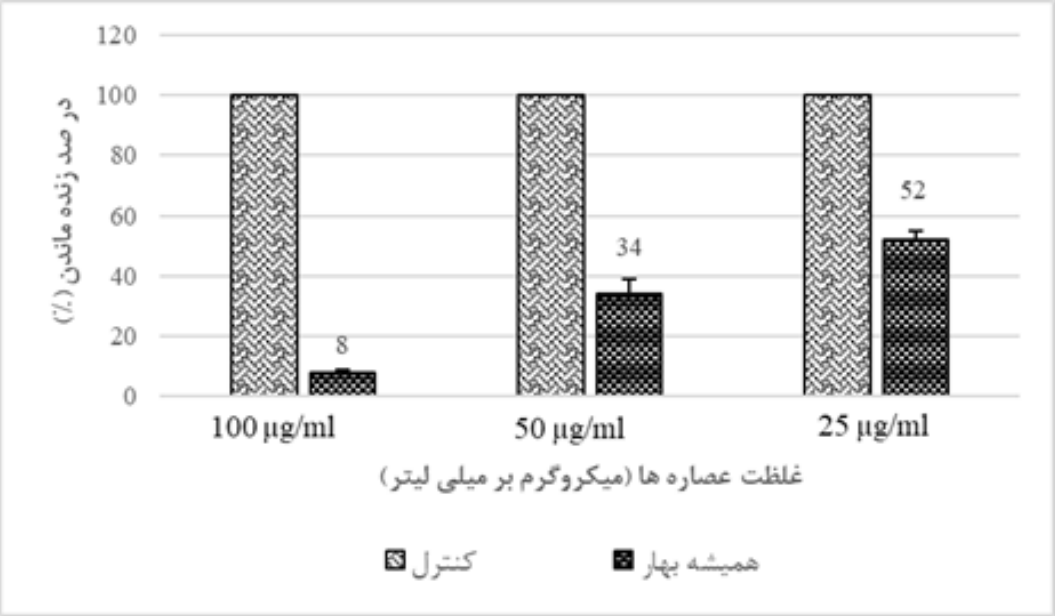
مقایسه با گروه کنترل (۳۵/۹۸±۳/۴۵) کاهش معنی‌داری را نشان دادند (P<۰/۰۵). همچنین نتایج نشان داد تأثیر آلوئه ورا بر کاهش عرض خراش بیشتر از عصاره‌های کرچک و همیشه بهار بود.



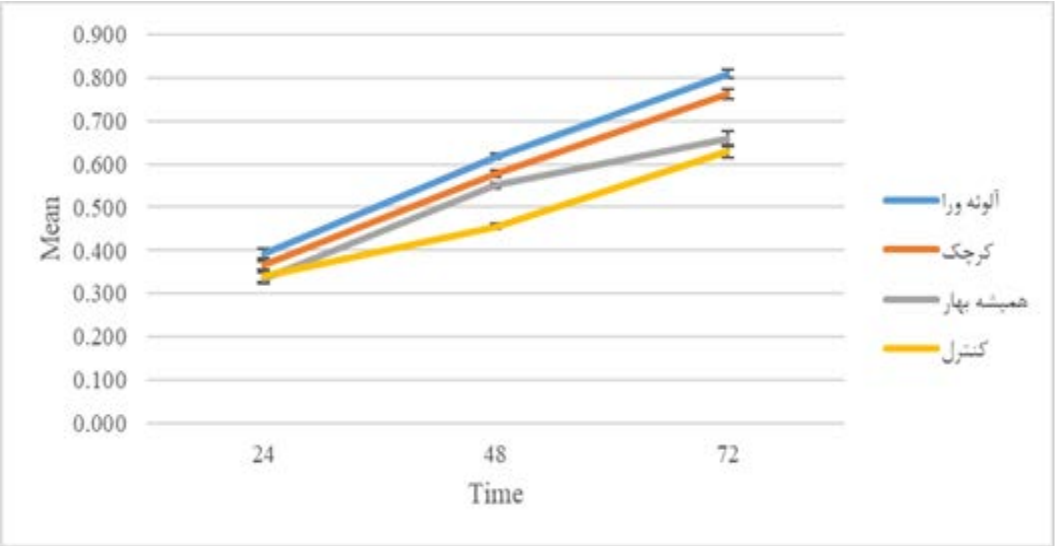
نمودار ۱: مقایسه اثر غلظت‌های مختلف عصاره‌ی هیدروالکلی گیاه آلوئه ورا بر زنده ماندن سلول‌ها(p<0.05) با استفاده از روش MTT. اندازه گیری ها به‌صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش گردید.



نمودار ۲: مقایسه اثر غلظت‌های مختلف عصاره‌ی هیدروالکلی گیاه کرچک بر زنده ماندن سلول‌ها (p<0.05) با استفاده از روش MTT. اندازه‌گیری‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش گردید.



نمودار ۳: مقایسه اثر غلظت‌های مختلف عصاره‌ی هیدروالکلی گل همیشه بهار بر زنده ماندن سلول‌ها ($p<0.05$) با استفاده از روش MTT. اندازه‌گیری‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش گردید



نمودار ۴: مقایسه‌ی اثر عصاره‌های هیدروالکلی گیاهان آلوئه ورا، کرچک و همیشه بهار بر تکثیر سلول‌های L929 بعد از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت با استفاده از روش MTT؛ مقادیر به‌صورت میانگین ± انحراف معیار می‌باشد ($p<0.05$).

بحث

در این مطالعه تلاش گردید تا اثر عصاره‌های هیدروالکلی گیاه آلوئه‌ورا، کرچک و همیشه بهار را بر تکثیر و رشد سلول‌های L929 مورد ارزیابی قرار گیرد و تأثیر این گیاهان بر روند بهبود زخم و ایجاد خراش در سطح سلول‌های L929 موردبررسی قرار گیرد. روند ترمیم زخم یکی از پیچیده‌ترین فرآیندهای فیزیولوژیک بوده که طی آن سلول‌ها و ترشحات مختلف سلولی به‌ویژه فاکتورهای رشد و بسیاری از سیتوکین‌ها وارد عمل می‌شوند (۱۸). با توجه به اهمیت این موضوع و این‌که عدم درمان مناسب و به‌موقع زخم های باز پوستی ممکن است، به عفونت‌های موضعی، ایجاد چسبندگی وحتی سرطان منجر شود و از سوی دیگر داروهای شیمیایی موجود در بازار علاوه بر عدم اثربخشی مناسب، می‌توانند

سبب ایجاد عوارض جانبی شوند، لذا به نظر می‌رسد روی آوردن به طب سنتی در جوامع بشری بیش‌ازپیش رواج یافته است (۱۹).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که عصاره‌های آلوئه ورا، گل همیشه بهار و کرچک تأثیر خوبی بر رشد و تکثیر سلول‌های رده L929 داشت اما تأثیر عصاره آلوئه ورا بیشتر بود. علاوه بر آن اندازه خراش ایجادشده در سطح سلول‌های تیمار شده با عصاره‌ها کمتر شد و این کاهش اندازه برای گروه دریافت کننده آلوئه ورا بیشتر و محسوس‌تر گزارش گردید. مطالعه‌ای درسال ۲۰۰۹ توسط Manoj و همکاران انجام گرفت و در این مطالعه به بررسی اثر ژرم پلاسم های آلوئه ورا بر روی رشد و تکثیر سلول‌های L929 پرداختند و میزان بهبود زخم‌ها را با استفاده از آزمون خراش موردمطالعه قراردادند. آن‌ها گزارش کردند که ژرم پلاسم‌های گیاه آلوئه‌ورا قادر به ترویج تکثیر سلولی به‌صورت وابسته به دوز بودند و سلول‌های تیمار شده با آلوئه ورا مهاجرت بهتری در قسمت خراش ایجادشده داشتند (۲۰). این مطالعه نتایج مطالعه ما را تائید می‌کند.

شکل ۱: مقایسه‌ی اثر عصاره‌های هیدروالکلی گیاهان آلوئه‌ورا، کرچک و همیشه بهار با استفاده از روش بررسی بهبود زخم، در خراش ایجادشده در پلیت سلول‌های L929 کشت داده شده، بعد از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت

مطالعه‌ای توسط ملک حسینی در سال ۲۰۱۳ بر روی ٦٤ نفر بیمار با زخم سوختگی درجه ۲ انجام دادند. آن‌ها ٦٤ نفر را در دو گروه ۳۲ نفره تقسیم کردند. یک گروه تحت درمان با ژل آلوئه ورا قرار گرفتند. گروه دوم که گروه شاهد بود تحت

درمان با کرم سیلور سولفادیازین ۱ درصد قرار گرفتند. نتایج حاصله نشان داد اندازه زخم با گذشت زمان کاهش می‌یابد اما کاهش اندازه زخم برای گروه دریافت‌کننده ژل آلوئه ورا بیشتر بود. در این مطالعه گزارش شد که ژل آلوئه ورا موجب تسریع در بهبودی زخم سوختگی درجه ۲ می‌شود (۲۱).

نجفی و همکاران درسال ۲۰۱٤ طی مطالعه‌ای که بر روی گیاه آلوئه ورا انجام دادند، اثر ژل آلوئه ورا را بر برخی جنبه‌های مولکولی فرایند بهبود زخم بر روی پوست موش‌های سوری را موردبررسی قراردادند. در این مطالعه موش‌ها به سه گروه تقسیم شدند. گروه اول هیچ زخمی بر روی پوستشان ایجاد نشد. درگروه دوم زخم‌ها با سرم فیزیولوژی شستشو شدند و گروه سوم عصاره ژل آلوئه ورا را دریافت کردند. آن‌ها نشان دادند که عصاره ژل آلوئه ورا سبب افزایش بیان ژن رسپتور فاکتور رشد اپیدرمی (EGF) در پوست‌های زخم دار موش‌های دریافت‌کننده ژل آلوئه ورا گردید. ژل آلوئه ورا با القاء بیان ژن عامل رشد و نیز کاهش میزان پراکسیداسیون لیپیدها می‌تواند نقش محوری در پروسه ترمیم زخم‌های برشی داشته باشند. این مقاله با مطالعات انجام‌شده این تحقیق هم سو هست (۱۵).

یک مطالعه مروری توسط Choi و همکارانش در سال ۲۰۰۳ انجام گرفت که در آن به بررسی ارتباط بین ترکیبات گیاه آلوئه ورا و اثرات بیولوژیکی آن پرداختند. در این مطالعه نشان داده شد که گیاه آلوئه ورا داری ترکیباتی مانند گلیکوپروتئین و ساکارید ها می‌باشد که گلیکوپروتئین ها می‌توانند تکثیر سلولی را القا کنند و باعث افزایش رشد و تکثیر سلول‌ها گردند و از طرفی ساکارید ها نیز می‌توانند باعث افزایش توانایی سیستم ایمنی گردند که هر دو این ترکیبات می‌توانند باعث بهبود زخم گردند (۲۲).

مطالعه ای توسط Nada و همکارانش در سال ۲۰۱۵ انجام گفت که در آن اثر ریسینولئیک اسید که از گیاه کرچک استخراج‌شده بود را بر روی زخم موردبررسی قراردادند و گزارش گردند این ماده به دلیل داشتن خواص آنتی باکتریال و ترمیم کنندگی تأثیر خوبی بر ترمیم زخم‌های ایجادشده داشت، بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که گیاه کرچک به دلیل داشتن ریسینولئیک اسید می‌تواند باعث بهبود زخم گردد (۲۳).

داوری و همکاران درمطالعه‌ای درسال ۲۰۱۸ اثرگیاهان گل اشرفی (گل همیشه بهار)، صبرزرد (آلوئه ورا) و کرچک را بر روند التیام زخم‌های پوستی درموش صحرایی نر بالغ موردبررسی و مطالعه قراردادند. در مطالعه آن‌ها زخم‌های ایجادشده در گروه‌های مختلف تحت درمان عصاره‌های مختلف قرار گرفتند و بعد از ۲۱ روز نمونه‌های بافتی تهیه‌شده موردبررسی قرار گرفتند. آن‌ها گزارش کردند که ژل آلوئه‌ورا حاوی ترکیباتی مانند گلیکوپروتئین‌ها، پلی‌ساکاریدها و اسید سالیسیلیک است. گلیکوپروتئین‌ها با کاهش التهاب و درد، روند بهبود زخم را تسریع می‌کنند. پلی‌ساکاریدها نیز با تحریک رشد و ترمیم پوست، به بازسازی بافت‌های آسیب‌دیده کمک می‌کنند. اسید سالیسیلیک موجود در ژل آلوئه‌ورا دارای خواص ضد باکتریایی است که از عفونت زخم جلوگیری می‌کند؛ بنابراین می‌تواند بهبود زخم‌های پوستی را تسریع کند.

گل همیشه‌بهار حاوی ترکیباتی مانند کاروتنوئیدها، فلاونوئیدها، ساپونین‌ها و گلیکوزیدهای تری‌ترپنی هستند. این ترکیبات دارای خواص ضدالتهابی و ضد میکروبی بوده و می‌توانند به کاهش التهاب و جلوگیری از عفونت در محل زخم کمک کنند. روغن کرچک حاوی ترکیباتی مانند استروئیدها، ساپونین‌ها، فلاونوئیدها و آلکالوئیدها است. این ترکیبات دارای خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد درد، ضدالتهاب و ضد میکروبی هستند.

نتایج آن‌ها نشان داد که اندازه زخم ایجادشده در موش‌های درمان شده با عصاره‌های گل اشرفی، صبر زرد و کرچک نسبت به گروه کنترل کوچک‌تر شد و کاهش اندازه زخم در گروه دریافت‌کننده کرچک از بقیه گروه‌ها بیشتر بود. در مطالعه ما نیز اثر کرچک بر روی اندازه خراش ایجادشده در سطح سلول‌ها بهتر از اثر گل همیشه بهار بود بنابراین این نتیجه بامطالعه ما همسو بود اما اینکه در مطالعه حاضر اثر عصاره کرچک را بر بهبود زخم بیشتر از آلوئه ورا گزارش کرده‌اند با نتایج مطالعه ما همسو نیست (۲٤).

ژل گیاه آلوئه ورا حاوی مواد ضدالتهابی مانند اسید سالیسیلیک و مهارکننده‌های ترومبوکسان است که از انقباض عروقی ممانعت به عمل می‌آورد. این موارد نشان می‌دهد که ژل آلوئه ورا خاصیت ضدالتهابی و افزایش کارایی سیستم ایمنی را دارد. ژل آلوئه ورا با تأثیر بر باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت با اثرات ضدویروسی یا اثر غیرمستقیم آنتی باکتریال، باعث تسریع بهبودی زخم می‌شود (۲۵).

مطالعه‌ی حاضر باهدف مقایسه عصاره هیدروالکلی سه گیاه دارویی آلوئه ورا، کرچک و گل همیشه بهار بر روی بهبود زخم در رده سلولی L929 صورت گرفت. بیشتر مطالعات روی خواص متفاوت و اثرات مختلف این سه گیاه انجام‌شده است؛ اما هیچ‌یکی از مطالعات موجود به بررسی مقایسه اثر سه گیاه دارویی آلوئه ورا، کرچک و گل همیشه بهار بر روی بهبود زخم در سطح سلولی نپرداخته بودند. این درحالی است، که طبق نتایج پژوهش حاضر خواص بهبود زخم ایجادشده در رده سلولی L929 از هرسه گیاه دارویی آلوئه ورا، کرچک و گل همیشه بهار مقایسه گردید.

نتیجه‌گیری

در این مطالعه تأثیر عصاره‌های مختلف بر رشد سلول‌های رده L929 موردبررسی قرار گرفت و با توجه به پتانسیل بالای آلوئه ورا در بهبود خراش ایجاد شده در سلول های رده L929، می‌توان نتیجه گرفت که گیاه آلوئه ورا قادر است، پیشرفت بهبود زخم را نسبت با گیاه کرچک و همیشه بهار، بیشتر تسریع نماید. هرچند گیاه کرچک نیز نسبت به همیشه بهار وکنترل به طور معنی‌داری باعث بهبود خراش در سلول‌ها شده و درنتیجه بهبود زخم را تسریع می‌نماید.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه دوره کارشناسی ارشد بیوشیمی با کد اخلاق (IR.THUMS.REC.1402.005) در دانشگاه علوم پزشکی تربت‌حیدریه هست. بدین‌وسیله از آزمایشگاه جامع تحقیقات که در این طرح همکاری داشتند سپاسگزاری می‌شود.

تضاد منافع

در این پژوهش هیچ‌گونه تعارض منافعی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

مشارکت نویسندگان

(۱) مفهوم‌پردازی و طراحی مطالعه، یا جمع‌آوری داده‌ها، یا تجزیه‌وتحلیل و تفسیر داده‌ها: محمدعلی فهمیده کار، داود ایل بیگی، ملیحه حسینی صومعه گی، محمد اسماعیل احمدیار، حسن فاضلی نژاد

(۲) تهیه پیش‌نویس مقاله یا بازبینی آن جهت تدوین محتوای اندیشمندانه: مها مسعودی، راهله رهباریان

(۳) تائید نهایی دست‌نوشته پیش از ارسال به مجله: راهله رهباریان، داود ایل بیگی، محمدعلی فهمیده کار

References

1. Bolla SR, Al-Subaie AM, Al-Jindan RY, Balakrishna JP, Ravi PK, Veeraraghavan VP, et al. In vitro wound healing potency of methanolic leaf extract of Aristolochia saccata is possibly mediated by its stimulatory effect on collagen-1 expression. Heliyon. 2019; 5(5):e01648.

https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01648

2. GHaderi R AM. Recent advances in wound healing management. Journal scientific Birjand University of medical sciences. 2014; 21(1):1-19.

URL: http://journal.bums.ac.ir/article-1-1561-en.html

3. Bainbridge P. Wound healing and the role of fibroblasts. Journal of wound care. 2013; 22(8).

https://doi.org/10.12968/jowc.2013.22.8.407

4. Martin P Wound healing--aiming for perfectskin regeneration. Science. 1997; 276(5309):75-81.

https://doi.org/10.1126/science.276.5309.75

5. George Broughton I, Janis JE, Attinger CE. Wound healing: an overview. Plastic and reconstructive surgery. 2006; 117(7S):1e-S-32e-S.

https://doi.org/10.1097/01.prs.0000222562.60260.f9

6. Evans RA, Tian YC, Steadman R, Phillips AO. TGF-β1-mediated fibroblast–myofibroblast terminal differentiation—the role of smad proteins. Experimental cell research. 2003; 282(2):90-100.

https://doi.org/10.1016/S0014-4827(02)00015-0

7. Helary C, Ovtracht L, Coulomb B, Godeau G, Giraud-Guille MM. Dense fibrillar collagen matrices: a model to study myofibroblast behaviour during wound healing. Biomaterials. 2006; 27(25):4443-52.

https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2006.04.005

8. Prendecka M, Mlak R, Jaszek M, Osinska-Jaroszuk M, Jakubiak-Hulicz M, Leibold C, et al. Effect of exopolysaccharide from Ganoderma applanatum on the electrical properties of mouse fibroblast cells line L929 culture using an electric cell-substrate impedance sensing (ECIS)-Preliminary study. Annals of Agricultural and Environmental Medicine. 2016; 23(2).

https://doi.org/10.5604/12321966.1203891

9. Stojkovic R, Ivankovic S, Ivankovic D, Attias L, Mantovani A, Fucic A. Testosterone-induced micronuclei and increased nuclear division rate in L929 cell line expressing the androgen receptor. Toxicology in Vitro. 2015; 29(5):1021-5.

https://doi.org/10.1016/j.tiv.2015.04.007

10. Asghari B, aminian, Ruqiya. Investiga the metabolic content of Different marigold extracts. the first international conference on modern technologies in science; Amol. 2017.

https://civilica.com/doc/673338

11. Givol O, Kornhaber R, Visentin D, Cleary M, Haik J, Harats M. A systematic review of Calendula officinalis extract for wound healing. Wound Repair and Regeneration. 2019; 27(5):548-61.

https://doi.org/10.1111/wrr.12737

12. Nitbani FO, Tjitda PJP, Wogo HE, Detha AIR. Preparation of Ricinoleic Acid from Castor Oil: A Review. Journal of Oleo Science. 2022; 71(6):781-93.

https://doi.org/10.5650/jos.ess21226

13. Hosseini k, Khalil. Investiga ting the chemical and medicinal compounds in the yellow patience plant Aloe vera. 2010.

14. Joseph B, Raj SJ. Pharmacognostic and phytochemical properties of Aloe vera linn an overview. Int J Pharm Sci Rev Res. 2010; 4(2):106-10.

15. Najafi N, Arabi M, Jafarzadeh H. Inducing effect of aloe vera gel extract on epithelial growth factor receptor gene expression in cutaneous wounds of male mice Balb/c. 2014;5(1): 53-16

https://doi.org/10.52547/JCT.5.1.53.

16. Spector DL, Goldman RD, Leinwand LA. Cells: a laboratory manual: Cold Spring Harbor Laboratory Press; 1998.

17. Zare M, Ebrahimi Vosta Kalaee S, Aezi H. Analysis the Cytotoxicity Effects of Hydroalcoholic Extract of Danae Racemosa Plant on Mouse Breast Cancer Cells (4T1) by MTT. Knowledge and Health. 2020; 15(1):49-57.

https://10.22100/jkh.v15i1.2364

18. Najafi N, Arabi M, Jafarzadeh H. The healing power of Aloe vera mucilage: induction of insulin-

like growth factor gene expression and regeneration tissue in mouse damaged skin. Journal of Shahrekord University of Medical Sciences. 2014; 16(2).

19. Alahtavakoli M, Vazirinejad R, Ansari Jaberi A, Negahban T, Mashayekhi H, Nazari M, et al. Effect of Teucrium polium extract on skin wound healing in rat. Hormozgan Medical Journal. 2012; 16(1):17-24.

20. Manoj K, Mishra D, Maity TK, Gupta SD. Screening wound-healing potential of different Aloe vera L. germplasms at the cellular level. Med Aromat Plant Sci Biotechnol. 2009; 3(1):62-4.

21. malekhosseini A, Ghaffarzadegan R, Alizadeh SA, GR, Reza, Haji Agaei R, Ahmadlou M. Effect of aloe vera gel, compared to 1% silver sulfadiazine cream on second-degree burn wound healing. Complementary Medicine Journal. 2013; 3(1):418-28.

22. Choi S, Chung M-H. A review on the relationship between aloe vera components and their biologic effects. Seminars in Integrative Medicine. 2003; 1(1):53-62.

https://doi.org/10.1016/S1543-1150(03)00005-X

23. Nada AA, Hassabo AG, Fayad W, Awad HM, Sleem AA, Shaffie NM, et al. Biomaterials based on essential fatty acids and carbohydrates for chronic wounds. Journal of Applied Pharmaceutical Science. 2015; 5(3):013-21.

https://doi.org/10.7324/JAPS.2015.510.S3

24. Davari S, Hajinezhad M, Samadi K, Eftekhari S. The effect of calendula, aloe and caster on cutaneous wounds healing process in mature male rat. Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences. 2018; 17(2):93-104.

25. Lawrence R, Tripathi P, Jeyakumar E. Isolation, purification and evaluation of antibacterial agents from Aloe vera. Brazilian Journal of Microbiology. 2009; 40:906-15.

https://doi.org/10.1590/S1517-83822009000400023