

Research Article**Comparing the Effect of Galbanic Acid and Chitosan Gel on Pro-Inflammatory Factors in Intra-Abdominal Adhesions after Laparotomy in Rats****Firoozeh Saghaei* , Melika Montazeri, Mahsa Rezvan**

Department of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran

*Corresponding author: f_saghaei@yahoo.com

Received: 18 July 2023

Accepted: 27 August 2023

DOI: 10.22034/ascij.2023.1991709.1514

Abstract

Abdominal adhesions are a common complication after laparotomy (abdominal surgery) that can cause intestinal obstruction, pelvic pain and infertility. Since inflammation plays an effective role in induction of intra-abdominal adhesions and galbanic acid has anti-inflammatory and anti-cancer effects, in the present research, its effect on inhibiting of pro-inflammatory factors such as TNF- α and IL-1 β , in abdominal adhesions after laparotomy was investigated. For this purpose, after anesthetizing and opening the abdomen, adhesion was induced in male wistar rats and, adhesion was induced in male wistar rats, and in one group, 2 cc of chitosan gel was injected in the adhesion induction site and the abdomen was closed, and in one group, galbanic acid (10mg/ kg) was injected intraperitoneally for 7 days. At the end of 7 days, the abdomen was opened again and the abdominal adhesion was observed and a sample was taken from the adhesion sites. RT-PCR method was used to determine the gene expression of pre-inflammatory factors TNF- α and IL-1 β . The results of the study showed that intraperitoneal injection of galbanic acid like chitosan gel effectively reduced the incidence of intra-abdominal adhesions after laparotomy. This effect was accompanied by a decrease in TNF- α and IL-1 β gene expression in both groups, which indicates the anti-inflammatory effect of these two natural substances.

Keyword: Laparotomy, Intra-abdominal adhesions, Inflammatory cytokines, Galbanic acid, Chitosan.

مقاله پژوهشی

مقایسه اثر گالبانیک اسید و ژل کیتوزان بر فاکتورهای پیش‌التهابی در چسبندگی داخل شکمی

پس از لاپاراتومی در موش صحرایی

فیروزه سقایی*، ملیکا منتظری، مهسا رضوان

گروه دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

*مسئول مکاتبات: f_saghaei@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۶/۰۵

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۴/۲۷

DOI: 10.22034/ascij.2023.1991709.1514

چکیده

چسبندگی‌های محوطه بطنی عارضه ای شایع پس از لاپاروتومی (جراحی شکم) بوده که می‌تواند سبب انسداد روده، درد لگن یا نازایی شود. از آنجا که التهاب نقش موثری در القای چسبندگی داخل شکمی دارد و گالبانیک اسید واجد آثار ضد التهاب و ضد سرطان می‌باشد در تحقیق حاضر تاثیر آن بر مهار فاکتورهای پیش‌التهابی موثر در چسبندگی شکمی پس از لاپاروتومی مانند TNF- α و IL-1 β مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور در رت‌های نر نژاد ویستار پس از بیهوشی و باز کردن ناحیه شکم، القای چسبندگی صورت گرفت و در یک گروه ۲ سی‌سی ژل کیتوزان در محل‌القای چسبندگی تزریق و شکم بسته شد و در یک گروه به مدت ۷ روز گالبانیک اسید با دوز ۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم بصورت داخل صفاقی تزریق شد. در پایان ۷ روز، شکم مجدداً بازو وضعیت ایجاد چسبندگی مشاهده و از محل چسبندگی نمونه برداری شد. جهت تعیین میزان بیان ژن فاکتورهای پیش‌التهابی TNF- α و IL-1 β از روش RT-PCR استفاده شد. نتایج مطالعه نشان داد که تزریق داخل صفاقی گالبانیک اسید همانند ژل کیتوزان به طور مؤثری باعث کاهش بروز چسبندگی داخل شکمی بعد از لاپاروتومی شد. این اثر با کاهش بیان ژن TNF- α و IL-1 β در هر دو گروه همراه بود که بیانگر اثر ضد التهاب این دو ماده طبیعی می‌باشد.

کلمات کلیدی: لاپاروتومی، چسبندگی داخل شکمی، سایتوکاین‌های التهابی، گالبانیک اسید، کیتوزان.

مقدمه

هزینه قابل توجهی دارد. در حالت ایده‌آل، با عمل جراحی دقیق و با استفاده از اصول میکروجرراحی می‌شود تا حدودی از چسبندگی جلوگیری کرد (۱۲). علاوه بر این روش‌های متنوعی برای پیشگیری از چسبندگی مانند موانع داخل شکمی و عوامل دارویی مورد تحقیق قرار گرفته‌اند. انواع مختلفی از موانع فیزیکی مانند غشاءهای هیالورونیک اسید، کربوکسی-متیل سلولز و ژل‌های هیالورونیک اسید - کربوکسی متیل سلولز که مکانیسم آنها جلوگیری از تماس بین

چسبندگی به اتصالات فیبری بین بافت‌ها و اندام‌های مجاور اطلاق می‌شود که معمولاً پس از جراحی یا عفونت در هر قسمتی از بدن رخ می‌دهد. میزان بروز چسبندگی بعد از جراحی عمومی شکم بین ۶۷ تا ۹۳ درصد است. چسبندگی‌های داخل شکمی نه تنها باعث درد مزمن لگن و انسداد روده کوچک می‌شوند، بلکه یکی از دلایل اصلی ناباروری نیز هستند. چسبندگی علاوه بر اینکه برای بیماران مبتلا مشکل بزرگی است، برای سیستم مراقبت‌های بهداشتی نیز

بافت‌های سرطانی منجر به رگزایی و رشد تومور می‌شود (۱۶). به دلیل نقش $IL-1\beta$ به عنوان میانجی بیماری‌های خود ایمنی، بیشترین اینترلوکین مطالعه شده از خانواده $IL-1$ است (۷). در برخی مطالعات مشخص شده که کاهش فرایند التهاب می‌شوند از چسبندگی داخل شکمی جلوگیری کند مانند استفاده از نانوذرات نقره که موجب کاهش $TNF-a$ در محل چسبندگی و به دنبال آن کاهش وقوع چسبندگی شده است (۲۸) و همچنین تجویز پیرفیندون در موش صحرایی موجب پیشگیری از وقوع چسبندگی پس از جراحی شده است که این امر همراه با کاهش التهاب و میزان $TNF-a$ بوده است (۲). لذا انتخاب و بررسی اثر ترکیباتی که واجد اثر ضد التهاب می‌باشند می‌شوند راهگشای شناخت داروها و روش‌های جدید برای پیشگیری از وقوع چسبندگی داخل شکمی باشد. در این راستا گالبانیک اسید که اصلی‌ترین سزکوئی-ترین کومارینی در گیاهان جنس آبیاسه است انتخاب شد. گالبانیک اسید واجد اثراتی مانند فعالیت پیش آپوپتیک در سلول‌های سرطانی، اثر ضد آنژیوژنز و ضد التهابی و ضد انعقادی می‌باشد (۱۴). همچنین ترکیب طبیعی کیتوزان که پیش از این در پیشگیری از چسبندگی داخل شکمی نیز استفاده شده است، دارای خواص ضد التهاب با کاهش سایتوکاین‌های التهابی می‌باشد (۶، ۳۰). اما تا کنون تاثیر گالبانیک اسید و کیتوزان در مهار چسبندگی شکمی پس از جراحی با رویکرد کاهش فاکتورهای التهابی ($TNF-\alpha$ و $IL-1\beta$) مورد بررسی قرار نگرفته است بنابراین در تحقیق حاضر تاثیر این دو ماده در پیشگیری از روند چسبندگی داخل شکمی پس از جراحی در رت بررسی و مقایسه شد.

مواد و روش‌ها

مواد: زایلازین (شیمی دارو، ایران)، کتامین(شیمی

سطوح آسیب‌دیده می‌باشد، در دسترس هستند (۱۳)، (۲۹). تشکیل باندهای چسبندگی در روند ترمیم بافت پس از جراحی صورت می‌گیرد. مطالعات نشان داده است که پاسخ‌های التهابی و ترشح سایتوکاین‌ها و همچنین هایپوکسی و استرس اکسیداتیو در تشکیل بافت فیروزه سفت و در نتیجه باندهای چسبندگی نقش دارند (۹، ۲۱). التهاب یک مکانیسم پیچیده برای مبارزه با عفونت‌ها و آسیب بافتی و عملکرد مناسب ارگانیسم‌های حیاتی است. التهاب امکان حرکت لکوسیت‌ها از گردش خون به بافت‌های آسیب‌دیده برای حذف عوامل بیماری‌زا، ترمیم بافت و بازگشت به هموستاز را فراهم می‌کند (۲۴). تعامل بین پاسخ‌های التهابی حاد، فیبرینولیز و فعالیت متالوپروتئینازهای ماتریکس و مهارکننده‌های بافتی آنها می‌شوند منجر به چسبندگی صفاقی شود. پس از آسیب صفاقی، واکنش‌های التهابی و تکثیر سلول‌های مزوتلیال آسیب‌دیده آغاز می‌شود و سپس سایتوکاین‌های التهابی مختلف و فاکتورهای رشد ترشح می‌شوند. سایتوکاین‌ها با مشارکت در مسیرهای فیبرینولیتیک و بازسازی ماتریکس خارج سلولی نقش مهمی در تحریک چسبندگی دارند. سطوح سرمی اینترلوکین ۱ بتا ($IL-1\beta$) و فاکتور نکروزدهنده تومور آلفا ($TNF-\alpha$) نشانگرهای قابل اعتماد چسبندگی صفاقی پس از عمل لاپاراتومی هستند (۲۲، ۱۲). $TNF-\alpha$ یک سایتوکاین است که به عنوان یک تنظیم‌کننده اصلی پاسخ‌های التهابی شناخته شده و در پاتوژنز برخی از بیماری‌های التهابی و خود ایمنی نقش دارد. $TNF-\alpha$ از نظر عملکردی موجب ایجاد یک سری مولکول‌های التهابی مختلف، از جمله سایر سایتوکاین‌ها و کموکاین‌ها می‌شود (۱۵). $IL-1\beta$ نیز یک واسطه کلیدی پاسخ‌های التهابی است و توسط چندین نوع سلول در پاسخ به محرک‌های مختلف تولید می‌شود. بیان ژن $IL-1\beta$ و رسپتور آن در

زایلازین ۲ درصد با دوز ۲ میلی‌گرم/کیلوگرم به صورت داخل عضلانی بیهوشی انجام شد (۲۰). سپس رت‌ها را به پشت خوابانده و بعد از ضد عفونی نمودن پوست شکم با بتادین ۱۰ درصد و تراشیدن موهای ناحیه با رعایت شرایط استریل با اسکالپل برشی به طول ۳ سانتی‌متر روی خط وسط شکمی داده شد و توسط گاز استریل خشک ناحیه سکوم و صفاق ۳۰ الی ۳۵ بار ساییده شد تا خونریزی بر روی دیواره سکوم ظاهر گردید (۲۷). سپس در گروه کیتوزان تزریق ۲ سی‌سی ژل کیتوزان در محوطه شکمی انجام شد. در انتهای جراحی، لایه‌های عضلانی شکم با نخ ویکریل ۴/۰ و پوست با نخ نایلون ۴/۰ به صورت بخیه سرتاسری ساده بخیه شد و از اسپری اکسی‌تتراسایکلین برای جلوگیری از عفونت استفاده شد. تزریق روزانه گالبانیک اسید و توئین به مدت یک هفته در دو گروه مجزا انجام شد.

نمونه‌گیری: پس از تجویز آخرین دوز دارو، رت‌ها به مدت ۲۴ ساعت بدون دریافت غذا نگهداری شده سپس توسط کلروفورم بیهوش شده و بعد از آغشته نمودن پوست شکم با بتادین ۱۰ درصد و با رعایت شرایط استریل برشی به طول ۳ سانتی‌متر روی خط وسط شکمی داده و پس از مشاهده باندهای چسبندگی، از ناحیه ی سکوم و باندهای ایجاد شده تکه برداری انجام شد.

مشاهدات ماکروسکوپی: چسبندگی‌های داخل شکمی ایجاد شده توسط فرد ناآگاه به موضوع تحقیق مشاهده و ثبت شد و فراوانی آنها در مقیاس آماری مورد بررسی قرار گرفت.

روش Real Time PCR برای تعیین $TNF-\alpha$ و $IL1-\beta$: برای بررسی میزان بیان ژن‌های فاکتورهای پیش‌التهابی $TNF-\alpha$ و $IL1-\beta$ در بافت‌ها از روش Real Time PCR استفاده شد. ابتدا از ۱۰۰ میلی‌گرم بافت مورد نظر توتال RNA طبق دستورالعمل کیت

دارو، ایران)، کیتوزان (شرکت البرز نانوتجهیز رایان، ایران)، گالبانیک اسید (شرکت گل اکسیر پارس، ایران CAS Number 3566-55-0)، کیت BIOZOL (Bioer، چین)، کیت cDNA (شرکت یکتا تجهیز، ایران).

گروه‌بندی: تعداد ۲۴ سر رت نر سالم نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم و سن سه ماه از خانه‌ی حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد خریداری و به مدت یک هفته در شرایط مناسب تغذیه، نور و دما محدود ۲۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری و دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند. لازم به ذکر است در کلیه مراحل قوانین و مقررات اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی مبتنی بر دستورالعمل‌های بین‌المللی رعایت شده است. رت‌ها به ۴ گروه ۶ تایی تقسیم شدند. گروه اول (گروه کنترل): جراحی شکمی و القاء چسبندگی و فقط دریافت روزانه ۰/۲ سی‌سی آب مقطر به صورت داخل صفاقی به مدت یک هفته. گروه دوم (گروه کیتوزان): جراحی شکمی و القاء چسبندگی و تجویز دو سی‌سی ژل کیتوزان به عنوان عامل ضد چسبندگی در محل جراحی و دریافت روزانه ۰/۲ سی‌سی آب مقطر به صورت داخل صفاقی به مدت یک هفته. گروه سوم (گروه توئین): جراحی شکمی و القاء چسبندگی و تزریق روزانه ۰/۲ سی‌سی توئین (حلال گالبانیک اسید) به صورت داخل صفاقی به هر موش به مدت یک هفته. گروه چهارم (گروه گالبانیک اسید): جراحی شکمی و القاء چسبندگی و تزریق روزانه گالبانیک اسید با دوز ۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم (حل شده در توئین) به صورت داخل صفاقی به هر موش به مدت یک هفته.

روش القای چسبندگی: یک روز قبل از عمل جراحی و القای چسبندگی غذا از دسترس حیوانات دور شد. ابتدا حیوان را مقید ساخته و به وسیله‌ی دو داروی کتامین ۱۰ درصد با دوز ۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم و

انجام شد (شامل دناتوراسیون در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد به مدت ۱۵ ثانیه، اتصال پرایمر در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد برای مدت ۲۰ ثانیه و گسترش در دمای ۷۲ درجه سانتیگراد برای مدت ۲۵ ثانیه). از ژن β -اکتین به عنوان یک ژن کنترل داخلی استفاده شد. که در جدول ۱ در زیر توالی پرایمرهای TNF- α و IL-1 β را قرار دارد. کارآیی تکثیر قطعات مورد نظر با استفاده از منحنی استاندارد مورد بررسی قرار گرفت و از فرمول $2^{-\Delta\Delta CT}$ جهت برآورد میزان بیان ژن استفاده شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها: برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ استفاده شد. برای بررسی تفاوت چسبندگی بین گروه‌ها از آزمون‌های Chi-Square و Fisher's Test در سطح خطای ۵ درصد استفاده شد. داده‌های بیان ژن با استفاده از تحلیل واریانس یک‌طرفه و سطح معنی‌داری ($p < 0/05$) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

تجاری به روش ترایزول شرکت سیگما استخراج شد. به منظور اطمینان از غلظت مناسب RNA استخراج‌شده، جذب نمونه‌ها با استفاده از دستگاه نانودراپ ۲۰۰۰ (Thermo، آمریکا)، خوانده شد. همچنین کیفیت RNA استخراج شده توسط الکتروفوروز روی ژل آگارز بررسی شد. سنجش کمی برای تعیین غلظت RNA به روش اسپکتوفتومتری انجام شد. به منظور حذف حضور DNA احتمالی در نمونه‌ی RNA استخراج‌شده از کیت DNase I ساخت شرکت سینا ژن استفاده شد. سپس با استفاده از کیت سنتز cDNA (شرکت یکتا تجهیز) توتال RNA به cDNA تبدیل گردید. تکثیر قطعات ژنی با کمک واکنش RT-q PCR و پرایمرهای اختصاصی برای هر ژن انجام شد. برای طراحی پرایمرها از نرم افزار Beacon designer software استفاده شد تمام پرایمرها به صورت اتصال آگزون-آگزون طراحی شد و برای تکثیر DNA ژنومی از ۲۵ نانوگرم cDNA در تیوب‌های جداگانه شد. RT-q PCR در ۴۵ سیکل

جدول ۱- پرایمرهای مورد استفاده در RT-qPCR

Table 1. Primers used in RT-qPCR

Genes		Primer pair sequence
TNF- α	Forward	5'-CTGGCGTGTTCATCCGTTTC-3'
	Reverse	5'-GGCTCTGAGGAGTAGACGATAA-3'
IL-1 β	Forward	5'-CAACAAAAATGCCTCGTGCTG-3'
	Reverse	5'-TCGTTGCTTGCTCTCCTTGTA-3'
β -actin	Forward	5-CGCAAATTACCCACTCCCGAC-3'
	Reverse	5'-GTAACCTCCCGTTCAGACCAC-3'

نتایج

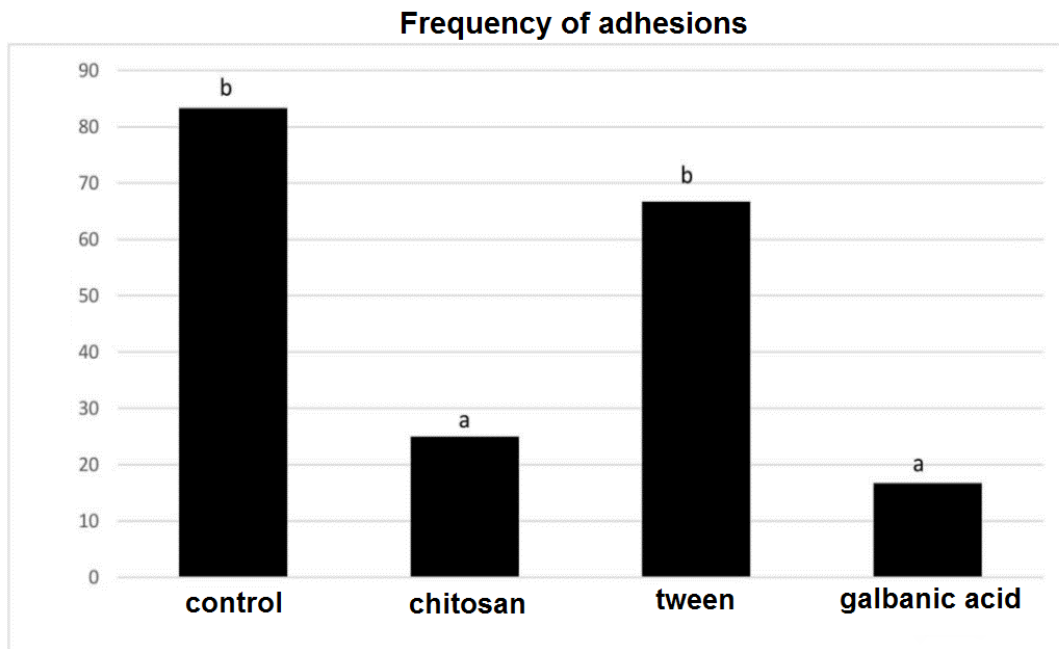
فاقد چسبندگی بود. در گروه چهارم (گالبانیک اسید) در ارت چسبندگی وجود داشت و ۵ رت فاقد چسبندگی بودند. از آنجا که سطح معناداری فیشر ۰/۰۰۱ بدست آمده که کمتر از ۰/۰۵ است. با اطمینان ۹۵ درصد می‌شود نتیجه گرفت شدت چسبندگی در گروه‌های مختلف یکسان نیست. مقایسه فراوانی وقوع

نتایج ماکروسکوپی: در گروه اول (کنترل) که جراحی شکمی و القاء چسبندگی داشتند در پنج مورد چسبندگی وجود داشت و یک رت فاقد چسبندگی بود. در گروه دوم (کیتوزان) در ۲ رت چسبندگی دیده شد و ۴ رت فاقد چسبندگی بودند. در گروه سوم (توئین) در ۴ مورد چسبندگی وجود داشت و دو رت

توئین گرچه کاهش بیان ژن $IL-1\beta$ مشاهده می‌شود اما در مقایسه با دو گروه تیمار یعنی کیتوزان و گالبانیک اسید به لحاظ آماری معنا دار نمی‌باشد (نمودار ۲). نتایج بیان ژن $TNF-\alpha$ در نمودار ۳ مشاهده می‌شود. با تجویز گالبانیک اسید و کیتوزان بیان ژن $TNF-\alpha$ به طور معناداری نسبت گروه کنترل کاهش دارد. تغییرات در گروه توئین نسبت به سایر گروه‌ها معنادار نبوده و نشان‌دهنده این است که توئین اثر خاصی بر القای چسبندگی ندارد.

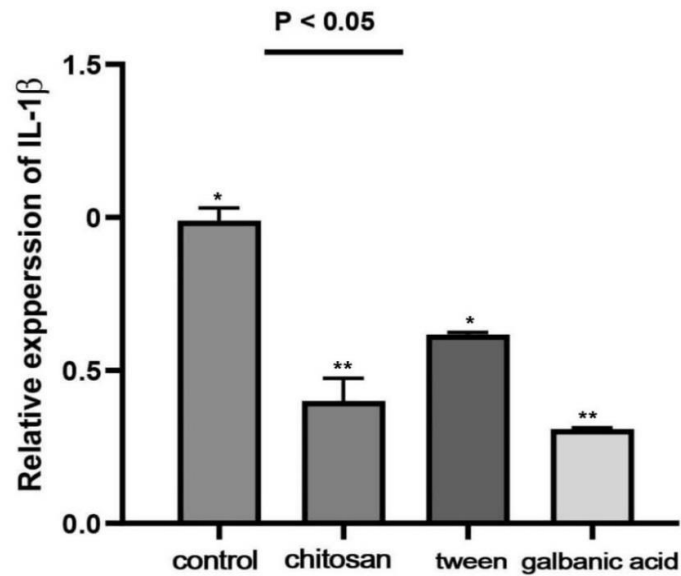
چسبندگی در بین گروه‌های مختلف نشان دهنده کاهش معنا دار چسبندگی در گروه دریافت کننده گالبانیک اسید نسبت به گروه کنترل و گروه توئین می‌باشد. از طرفی کاهش وقوع چسبندگی داخل شکمی در دو گروه کیتوزان و گالبانیک اسید هم ارز است (نمودار ۱).

نتایج آنالیز بیان ژنی: نتایج حاصل از بیان ژن $IL-1\beta$ در گروه‌های مورد نظر نشان دهنده کاهش معنادار بیان این ژن در گروه‌های دریافت کننده گالبانیک اسید و کیتوزان نسبت به گروه کنترل می‌باشد. در گروه



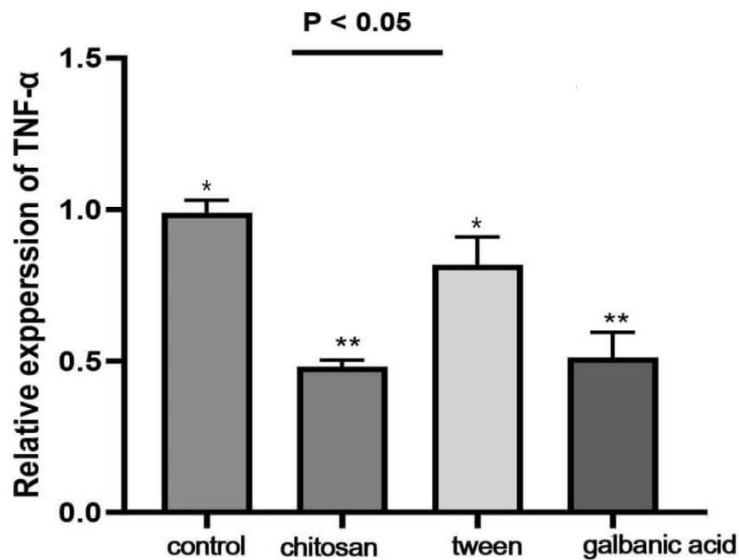
نمودار ۱- فراوانی وقوع چسبندگی در گروه‌های مختلف. حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنادار در بروز چسبندگی

Fig 1. Frequency of occurrence of adhesions in different groups. Similar letters indicate no significant difference in the occurrence of adhesion



نمودار ۲- مقایسه بیان ژن IL-1β در بین گروه‌ها. کاهش معنی‌داری در بیان ژن IL-1β در گروه‌های کیتوزان و گالبانیک اسید نسبت به گروه کنترل مشاهده شد ($p < 0.05$)

Fig 2. Comparison of IL-1β gene expression among groups. A significant decrease in IL-1β gene expression was observed in the chitosan and galbanic acid groups compared to the control group ($p < 0.05$)



نمودار ۳- مقایسه بیان ژن TNF-α در بین گروه‌ها. کاهش معنی‌داری در بیان ژن TNF-α در گروه‌های کیتوزان و گالبانیک اسید نسبت به گروه کنترل مشاهده شد ($p < 0.05$)

Fig 3. Comparison of TNF-α gene expression among groups. A significant decrease in TNF-α gene expression was observed in the chitosan and galbanic acid groups compared to the control group ($p < 0.05$)

بحث

دریافت کننده عصاره گیاه، کاهش قابل توجهی در سایتوکاین‌های پیش التهابی مانند $TNF-\alpha$ و $IL-1\beta$ و فاکتورهای اکسیداتیو مشاهده شد (۲۳). عسل به صورت معناداری موجب کاهش وقوع چسبندگی داخل صفاقی و نمره چسبندگی شده است. در این راستا عسل علاوه بر کاهش فاکتورهای اکسیداتیو، موجب کاهش چشمگیر سایتوکاین‌های التهابی مانند $IL-1\beta$ ، $IL-6$ و $TNF-\alpha$ در محل چسبندگی شده است (۲۲). *Ferula* یک سرده از خانواده *Apiaceae* است و شامل حدود ۱۷۰ گونه از گیاهان گلدار است که عمدتاً بومی منطقه مدیترانه و شرق تا آسیای مرکزی هستند. در ایران، *Ferula spp.* به طور گسترده در طب سنتی استفاده می‌شود. گیاهان فرولا و مشتقات آنها سطح واسطه‌های التهابی را کاهش می‌دهند و اثرات ضد آپوپتوزی دارند. در شرایط تنش اکسیداتیو، این گیاهان و ترکیبات آنها نشانگرهای اکسیداتیو مانند مالون دی آلدئید، گونه‌های فعال اکسیژن و اکسید نیتریک را کاهش می‌دهند اما سوپراکسید دیسموتاز، گلوکاتایون پراکسیداز را افزایش می‌دهند. گیاهان فرولا و ترکیبات آنها نیز با تأثیر بر سایتوکاین‌های مختلف، اثرات تعدیل کننده ایمنی را نشان دادند. علاوه بر این، مطالعات *in vivo* و *in vitro* اثرات کاهنده فشار خون، محافظت کننده عصبی، تقویت کننده حافظه، آنتی‌اکسیدانی، محافظت از کبد، ضد میکروبی، ضد سرطان، ضد سیتوتوکسیک، ضد چاقی و ضد کرم را برای گونه‌های مختلف *Ferula* و ترکیبات آنها نشان داد. تمام این اثرات مفید می‌شوند ناشی از اثرات ضد التهابی، آنتی-اکسیدانی و تعدیل کننده ایمنی این گیاهان و ترکیبات آنها باشد. بر این اساس، اعضای جنس *Ferula* را می‌شود به عنوان درمان بالقوه در برابر شرایط التهابی، استرس اکسیداتیو و اختلالات ایمنی در نظر گرفت

سه فرآیند در ایجاد چسبندگی پس از جراحی دخیل است: الف) مهار سیستم‌های فیبرینولیتیک و تخریب ماتریکس خارج سلولی، ب) القای پاسخ التهابی با تولید سایتوکین‌ها، ج) بروز هیپوکسی بافتی، همراه با افزایش بیان فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) می‌باشد (۹، ۲۳). التهاب در مقیاس بزرگ زمانی رخ می‌دهد که صفاق زخمی شود. سلول‌های التهابی مانند سلول‌های غول پیکر، لنفوسیت‌ها و سلول‌های پلازما و همچنین فیروبلاست‌ها به ناحیه آسیب دیده وارد می‌شوند. علاوه بر این، سایتوکاین‌های التهابی به طور قابل توجهی آزاد می‌شوند. این فرآیندها منجر به ایجاد چسبندگی فیبری می‌شود. استرس اکسیداتیو نیز نقش مهمی در تشکیل چسبندگی دارد (۱). تحقیقات نشان داده است که $IL-1\beta$ نقش مهمی در شروع و توسعه التهاب و تحریک سایتوکاین‌ها دارد (۸). فاکتور نکروز دهنده تومور ($TNF-\alpha$)، که یک سایتوکاین پیش‌التهابی است، در بافت‌های ملتهب تولید می‌شود (۵). در تحقیقی نشان داده شده است وجود سروتونین در محل جراحی در رت باعث تشکیل باندهای چسبندگی می‌گردد که این ناشی از افزایش فاکتورهای التهابی در محل جراحی می‌باشد (۳). مطالعات مختلف نشان می‌دهد که با مهار التهاب می‌شود از ایجاد چسبندگی جلوگیری کرد. قدیری و همکاران نشان دادند که عصاره هسته انار می‌شوند از ایجاد چسبندگی صفاقی جلوگیری کند. آنها این اثر را به اثر ضد التهابی و آنتی‌اکسیدانی دانه‌های انار نسبت دادند. زیرا کاهش چسبندگی با کاهش بیان ژن‌های $TNF-\alpha$ ، $IL-1\beta$ و تحریک فاکتورهای آنتی‌اکسیدانی در محل چسبندگی همراه بود (۱۰). مطالعه بر روی عصاره گیاه رزماری بر مهار چسبندگی پس از جراحی در رت توسط روحبخش و همکاران نیز با رویکرد بررسی فاکتورهای التهابی نشان داد که در گروه‌های

(۱۱). گالبانیک اسید یک سزکوئی‌ترین کومارینی است که از گیاه *Ferula assa-foetida* استخراج می‌شود. این ترکیب نیز آثار فارماکولوژیک متنوعی دارد از جمله اثرات ضد‌رگ‌زایی، القای آپوپتوز، ضدسرطان، آنتی‌اکسیدان و ضد التهاب (۳۱، ۴). یکی از مشتقات گالبانیک اسید به نام متیل‌گالبانات با مهار تولید نیتریک اکساید و کاهش خون‌رسانی به بافت موجب کاهش قابل توجه التهاب شده است (۱۸). همچنین گالبانیک اسید نقش موثری در جذب رادیکال‌های آزاد دارد (۲۵). معمولا پس از ایسکمی بافتی تولید رادیکال‌های آزاد افزایش یافته و فرایند التهاب تحریک می‌شود. گالبانیک اسید با کاهش رادیکال‌های آزاد منجر به مهار تولید سایتوکاین‌ها و $TNF-\alpha$ می‌گردد (۱۷، ۲۶) و بنابر این به نظر می‌رسد از بروز چسبندگی داخل شکمی پیشگیری نماید. نتایج تحقیق حاضر نیز نشان داد بیان ژن‌های فاکتورهای پیش التهابی از جمله $TNF-\alpha$ و $IL-1\beta$ در گروه کنترل همراه با وقوع چسبندگی در ۵ مورد بود. پس از استفاده از گالبانیک اسید، مشاهدات حاکی از کاهش وقوع چسبندگی بود. همچنین بیان ژن‌های $TNF-\alpha$ و $IL-1\beta$ به طور معناداری نسبت به گروه کنترل کاهش داشت که این نتیجه نشان دهنده اثر ضد التهاب گالبانیک اسید می‌باشد و احتمالاً مکانیسم پیشگیری از چسبندگی داخل شکمی توسط این ترکیب بر پایه اثرات ضد التهاب و ضد سایتوکاین آن می‌باشد و با سایر تحقیقات انجام شده در این زمینه همخوانی دارد. کیتوزان یک پلی‌ساکارید طبیعی است که از جنس کیتین می‌باشد و در سیستم‌های دارورسانی استفاده می‌شود زیرا قابلیت نفوذپذیری بالایی دارد. کیتوزان کاربردهای پزشکی متنوعی دارد و از آن به عنوان یک محصول پیشگیری از چسبندگی داخل شکمی استفاده می‌شود. مکانیسمی که توسط آن ژل کیتوزان از چسبندگی جلوگیری می‌کند مهار تکثیر

فیبروبلاست‌ها است و موجب جداسازی فیزیکی سطوح صفاقی آسیب دیده شده و همچنین دارای خواص هموستاتیک و ضد باکتریایی می‌باشد. اثر هموستاتیک آن می‌شوند از خونریزی پس از جراحی که محرک چسبندگی است جلوگیری کند (۱۹). مطالعات متعددی خواص ضدالتهابی کیتوزان را گزارش کرده‌اند. در مطالعه‌ای که توسط یون و همکاران انجام شده اثر کیتوزان بر سلول‌های RAW 264.7 تحریک شده با لیپولی‌ساکاریدها همراه با کاهش وابسته به دوز بیان ژن‌های سایتوکاین‌های $TNF-\alpha$ و $IL-6$ شده است (۳۰). تجویز روزانه الیگوساکارید کیتوزان در مدل موش‌های مبتلا به آسم موجب کاهش سایتوکاین‌های التهابی و پیش‌التهابی در بافت ریه گردیده است (۶). در تحقیق حاضر اثر کیتوزان در کاهش التهاب و بیان ژن‌های $TNF-\alpha$ و $IL-1\beta$ هم ارز با گالبانیک اسید بوده که موید اثر ضد چسبندگی آن می‌باشد. مقایسه نسبت فراوانی وقوع چسبندگی در گروه کیتوزان با گالبانیک اسید نیز اثر آن را تایید میکند. بنابر این مقایسه اثر دو ترکیب گالبانیک اسید و ژل کیتوزان در پیشگیری از بروز چسبندگی نشان می‌دهد هر دو ماده دارای اثر مشابهی در کاهش وقوع چسبندگی از دیدگاه ماکروسکوپی و ضدالتهابی می‌باشند.

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد گالبانیک اسید می‌شوند از بروز چسبندگی داخل شکمی به طور معناداری پیشگیری کند. این اثر همراه با کاهش بیان ژن فاکتورهای پیش‌التهابی بوده که بیانگر اثر ضد التهاب آن می‌باشد هم چنین ژل کیتوزان به شکل موضعی نیز موجب کاهش وقوع چسبندگی و التهاب گردیده است بنابراین می‌شود به این دو ترکیب به عنوان عوامل ضد چسبندگی داخل شکمی پس از جراحی

IL- 1 family in innate inflammation and acquired immunity. *Immunological Reviews*, 281(1):8-27.

8. Esmailzadeh M., Heidarian E., Shaghghi M., Roshanmehr H., Najafi M., Moradi A., Nouri A. 2020. Gallic acid mitigates diclofenac-induced liver toxicity by modulating oxidative stress and suppressing IL-1 β gene expression in male rats. *Pharmaceutical Biology*, 58(1):590-596.

9. Fatehi H.A., Zarzycki, A.N., Jeon, K., Deniset, J.F. and Fedak, P.W., 2021. Post-operative adhesions: a comprehensive review of mechanisms. *Biomedicines*, 9(8):867- 886.

10. Ghadiri M., Baradaran Rahimi V., Moradi E., Hasanpour M., Clark C.C., Iranshahi M., Rakhshandeh H., Askari V.R. 2021. Standardised pomegranate peel extract lavage prevents postoperative peritoneal adhesion by regulating TGF- β and VEGF levels. *Inflammopharmacology*, 29(3):855-868.

11. Ghasemi Z., Rezaee R., Aslani M.R., Boskabady M.H. 2021. Anti-inflammatory, anti-oxidant, and immunomodulatory activities of the genus *Ferula* and their constituents: A review. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 24(12):1613-1623.

12. Ghobrial S., Ott J., Parry J.P. 2023. An Overview of Postoperative Intraabdominal Adhesions and Their Role on Female Infertility: A Narrative Review. *Journal of Clinical Medicine*, 12(6):1-14.

13. Giusto G., Vercelli C., Iussich S., Audisio A., Morello E., Odore R., Gandini, M. 2016. A pectin-honey hydrogel prevents postoperative intraperitoneal adhesions in a rat model. *BMC Veterinary Research*, 13:1-5.

14. Jafari A., Teymouri M., Nik M.E., Abbasi A., Iranshahi M., Hanafi-Bojd M.Y., Jafari M.R. 2019. Interactive anticancer effect of nanomicellar curcumin and galbanic acid combination therapy with some common chemotherapeutics in colon

اندیشید. گرچه نیاز به تحقیقات گسترده‌تر نیز احساس می‌شود.

منابع

1. Awonuga A.O., Belotte J., Abuanzeh S., Fletcher N.M., Diamond M.P., Saed G.M., 2014. Advances in the pathogenesis of adhesion development: the role of oxidative stress. *Reproductive Sciences*, 21(7):823-836.

2. Bayhan Z., Zeren S., Kocak F.E., Kocak C., Akcılar R., Kargı E., Tiryaki C., Yaylak F., Akcılar A. 2016. Antiadhesive and anti-inflammatory effects of pirfenidone in postoperative intra-abdominal adhesion in an experimental rat model. *Journal of Surgical Research*, 201(2):348-355.

3. Bi J., Zhang S., Du Z., Zhang J., Deng Y., Liu C., Zhang J. 2017. Peripheral serotonin regulates postoperative intra-abdominal adhesion formation in mice. *Scientific Reports*, 7(1):1-12.

4. Chahardoli A., Mavaei M., Shokoohinia Y., Fattahi A. 2023. Galbanic acid, a sesquiterpene coumarin as a novel candidate for the biosynthesis of silver nanoparticles: In vitro hemocompatibility, antiproliferative, antibacterial, antioxidant, and anti-inflammatory properties. *Advanced Powder Technology*, 34(1):574-580.

5. Chen Q., Zhan Q., Li Y., Sun S., Zhao L., Zhang H., Zhang G. 2017. Schisandra lignan extract protects against carbon tetrachloride-induced liver injury in mice by inhibiting oxidative stress and regulating the NF- κ B and JNK signaling pathways. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2017:1-11.

6. Chung M.J., Park J.K., Park Y.I. 2012. Anti-inflammatory effects of low-molecular weight chitosan oligosaccharides in IgE-antigen complex-stimulated RBL-2H3 cells and asthma model mice. *International Immunopharmacology*, 12(2):453-459.

7. Dinarello C.A. 2018. Overview of the

22. Rahimi V.B., Shirazinia R., Fereydouni N., Zamani P., Darroudi S., Sahebkar A.H., Askari V.R. 2017. Comparison of honey and dextrose solution on post-operative peritoneal adhesion in rat model. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 92:849-855.
23. Roohbakhsh Y., Rahimi V.B., Silakhori, S., Rajabi H., Rahmanian-Devin P., Samzadeh-Kermani A., Rakhshandeh H., Hasanpour M., Iranshahi M., Mousavi S.H., Askari V.R. 2020. Evaluation of the effects of peritoneal lavage with *Rosmarinus officinalis* extract against the prevention of postsurgical-induced peritoneal adhesion. *Planta Medica*, 86(06):405-414.
24. Scotece M., Conde-Aranda J. 2022. Inflammation in Health and Disease: New Insights and Therapeutic Avenues. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(15):83-92.
25. Shirani K., Behravan J., Mosaffa, F., Iranshahi, M., Mehmankhah, B., Razavi-Azarkhiavi K., Karimi G. 2014. Evaluating the effects of galbanic acid on hydrogen peroxide-induced oxidative DNA damage in human lymphocytes. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 4(5):337-342.
26. Sirizi M.A.G., Ghalenoei J.A., Allahtavakoli M., Forouzanfar H., Bagheri, S.M. 2023. Anticancer potential of *Ferula assa-foetida* and its constituents, a powerful plant for cancer therapy. *World Journal of Biological Chemistry*, 14(2):28-39.
27. Wei G., Wu Y., Gao Q., Shen C., Chen Z., Wang K., Yu J., Li X., Sun X. 2018. Gallic acid attenuates postoperative intra-abdominal adhesion by inhibiting inflammatory reaction in a rat model. *Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*, 24:827-838.
28. Wong K.K., Cheung S.O., Huang L., Niu J., Tao C., Ho C.M., Che C.M., Tam P.K. 2009. Further evidence of the anti-inflammatory effects of silver nanoparticles. *ChemMedChem: Chemistry* carcinoma cells. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 9(3):237.
15. Jang D.I., Lee A.H., Shin H.Y., Song H.R., Park J.H., Kang T.B., Lee S.R., Yang S.H. 2021. The role of tumor necrosis factor alpha (TNF- α) in autoimmune disease and current TNF- α inhibitors in therapeutics. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(5):1-16.
16. Kihara T., Toriuchi K., Aoki H., Kakita H., Yamada Y., Aoyama M. 2021. Interleukin-1 β enhances cell adhesion in human endothelial cells via microRNA-1914-5p suppression. *Biochemistry and Biophysics Reports*, 27:101-112.
17. Kim K.H., Lee H.J., Jeong S.J., Lee H.J., Lee E.O., Kim H.S., Zhang Y., Ryu S.Y., Lee M.H., Lü J., Kim S.H. 2011. Galbanic acid isolated from *Ferula assafoetida* exerts in vivo anti-tumor activity in association with anti-angiogenesis and anti-proliferation. *Pharmaceutical Research*, 28:597-609.
18. Kohno S., Murata T., Sugiura A., Ito C., Iranshahi M., Hikita K., Kaneda N. 2011. Methyl galbanate, a novel inhibitor of nitric oxide production in mouse macrophage RAW264. 7 cells. *Journal of natural medicines*, 65:353-359.
19. Lauder C.I., Garcea, G., Strickland, A. and Maddern, G.J. 2011. Use of a modified chitosan-dextran gel to prevent peritoneal adhesions in a rat model. *Journal of Surgical Research*, 171(2):877-882.
20. Lerche P., Aarnes T.K., Covey-Crump G., Taboada F.M., 2016. Handbook of small animal regional anesthesia and analgesia techniques. West Sussex, UK: Wiley Blackwell.
21. Najafian A., Alavi A., Amjadi-Golpayegani K., Dadipour S., Safarimoradabadi A., Fallahi S., Faramarzi A. 2013. Post-surgical adhesion prevention: Vitamin C or *Satureja Khuzestanica*. *Veterinary Clinical Pathology the Quarterly Scientific Journal*, 7(1):1786-1792.

358(3):954-959.

31. Zhang Q., Qiao H., Wu D., Lu H., Liu L., Sang X., Li D., Zhou Y. 2019. Curcumin potentiates the galbanic acid-induced anti-tumor effect in non-small cell lung cancer cells through inhibiting Akt/mTOR signaling pathway. *Life Sciences*, 239:1-14.

Enabling Drug Discovery, 4(7):1129-1135.

29. Yang Y.L., Lee M.T.G., Lee C.C., Su P.I., Chi C.Y., Liu C.H., Wu M.C., Yen Z.S., Chen S.C. 2018. Pentoxifylline decreases post-operative intra-abdominal adhesion formation in an animal model. *PeerJ*, 6:1-18.

30. Yoon H.J., Moon M.E., Park H.S., Im S.Y., Kim Y.H. 2007. Chitosan oligosaccharide (COS) inhibits LPS-induced inflammatory effects in RAW 264.7 macrophage cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*,