



Effect of Arginine on Skin Wound Healing in Male Wistar Rats

Sanaz Khodadadi ¹, Abdollah Amini ², Soheila Salmasi ³, Seyed Mohammadreza Seyed Abolghasemi ⁴, Mohammad Javadi ⁵, Atarodsadat Mostafavinia ⁶✉

1. Department of Anatomy & Cognitive Neurosciences, Faculty of Medicine, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
E-mail: sanazkhodadadi98@gmail.com
2. Department of Biology and Anatomical Sciences, Faculty of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
E-mail: d.amini2008@yahoo.com
3. Department of Anatomy & Cognitive Neurosciences, Faculty of Medicine, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
E-mail: soheila.salma30@gmail.com
4. Department of Anatomy & Cognitive Neurosciences, Faculty of Medicine, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
E-mail: sed.mhmadrza.abg.6@gmail.com
5. Department of Anatomy & Cognitive Neurosciences, Faculty of Medicine, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
E-mail: mohammadjavady81@gmail.com
6. **Corresponding Author**, Department of Anatomy & Cognitive Neurosciences, Faculty of Medicine, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
E-mail: a.mostafavinia@gmail.com

Article Info

Article type:

Research

Article history:

Received:

08 Aug 2025

Received in revised form:

13 Sep 2025

Accepted:

14 Jan 2026

Published online:

19 Apr 2026

Keywords:

*L-Arginine,
Skin Wound Healing,
Stereology Technique,
Rat*

ABSTRACT

Introduction: Arginine is an essential amino acid synthesized from citrulline in healthy individuals and modulates immune function, hormone secretion, and endothelial performance. Arginine and its active metabolites can influence all stages of wound healing, including collagen production, cell proliferation, and immune enhancement.

Methods: In this study, 24 adult male Wistar rats, with an average weight of 200-250 grams, were anesthetized through intramuscular injection of a ketamine-xylazine mixture. A skin incision, 15 mm in diameter. The rats were divided into four groups: control, 2% topical arginine, 5% topical arginine, and injection arginine, with each group consisting of six rats. After 15 days, the rats were sacrificed and the tissue samples were fixed in 10% formalin. After the tissue processing, stereological studies were performed using a light microscope.

Results: In this study, number of fibroblast cells in injection arginine group decreased compared to control, 2% and 5% topical arginine groups. Also, dermis volume in injection arginine group decreased significantly compared to 2% and 5% topical arginine groups and control group, but dermis volume in 2% topical arginine group increased compared to control group.

Conclusion: This study shows a significant difference in the wound healing effect of topical arginine compared to injection arginine.

Cite this article: Khodadadi S, Amini A, Salmasi S, Seyed Abolghasemi SM, Javadi M, Mostafavinia A. Effect of Arginine on Skin Wound Healing in Male Wistar Rats. Journal of Modern Approaches in Education Management and Health Sciences. 2026; 03 (01): 24-34. [Doi: 10.22034/edus.2025.567793.1080](https://doi.org/10.22034/edus.2025.567793.1080)

Journal of Modern Approaches in Education Management and Health Sciences is licensed under CC BY-NC 4.0.

| Web site: <https://www.eduhealthsci.ir> | Email: eduhealthsci@gmail.com.

© The Author(s).

| Publisher: Academic Center for Education, Culture and Research (ACECR), Mazandaran Branch, Mazandaran, Iran.





Extended Abstract

Introduction

Wound healing is a complex, dynamic, and highly regulated biological process that involves a coordinated interaction between cells, growth factors, cytokines, and extracellular matrix components. This process occurs in several overlapping phases, including hemostasis, inflammation, proliferation, and tissue remodeling. Any disruption in these stages may lead to delayed healing, chronic wounds, or excessive scarring. Therefore, identifying nutritional and pharmacological agents that can positively modulate wound healing has become a major focus of experimental and clinical research. Arginine is a semi-essential amino acid that plays a pivotal role in various physiological processes, particularly during periods of metabolic stress such as trauma, surgery, and tissue injury. Although arginine can be synthesized endogenously from citrulline under normal conditions, its demand significantly increases during wound healing, rendering it conditionally essential. Arginine serves as a precursor for several biologically active molecules, including nitric oxide (NO), polyamines, and proline, all of which are critically involved in tissue repair mechanisms. Nitric oxide regulates vascular tone, angiogenesis, immune response, and collagen synthesis, while polyamines are essential for cell proliferation and differentiation. Several experimental studies have demonstrated that arginine supplementation can enhance wound healing by stimulating fibroblast proliferation, collagen deposition, and neovascularization. Additionally, arginine has been shown to improve immune function by enhancing lymphocyte activity and macrophage-mediated responses, which are crucial during the inflammatory phase of wound repair. Despite these promising findings, the optimal route of arginine administration remains controversial. Systemic administration through injection may lead to altered metabolic pathways or imbalanced nitric oxide production, whereas topical application allows for localized delivery directly at the wound site, potentially maximizing its beneficial effects while minimizing systemic complications. Animal models, particularly Wistar rats, are widely used in wound healing research due to their well-characterized physiology and reproducibility. These models provide valuable insight into the cellular and structural changes occurring during tissue repair and allow for precise histological and stereological assessments. Given the limited comparative data on the effects of topical versus injectable arginine on skin wound healing, the present study aimed to evaluate and compare the impact of different concentrations of topical arginine and injectable arginine on wound healing parameters in male Wistar rats. By assessing fibroblast cell density and dermal volume through stereological analysis, this study seeks to clarify whether localized topical application of arginine offers superior healing outcomes compared to systemic administration.

Methods

In this study, 24 adult male Wistar rats, with an average weight of 200-250 grams, were anesthetized through intramuscular injection of a ketamine-xylazine mixture. A skin incision, 15 mm in diameter. The rats were divided into four groups: control, 2% topical arginine, 5% topical arginine, and injection arginine, with each group consisting of six rats. After 15 days, the rats were sacrificed and the tissue samples were fixed in 10% formalin. After the tissue processing, stereological studies were performed using a light microscope.

Results

In this study, number of fibroblast cells in injection arginine group decreased compared to control, 2% and 5% topical arginine groups. Also, dermis volume in injection arginine group decreased significantly compared to 2% and 5% topical arginine groups and control group, but dermis volume in 2% topical arginine group increased compared to control group.

Conclusion

The findings of the present study demonstrate that the route of arginine administration plays a critical role in its effectiveness on skin wound healing. Notably, topical application of arginine, particularly at concentrations of 2% and 5%, showed more favorable outcomes compared to injectable arginine. Rats treated with topical arginine exhibited increased dermal volume and a more desirable cellular profile, suggesting enhanced tissue regeneration and structural restoration at the wound site. In contrast, injectable arginine resulted in a reduction in fibroblast cell numbers and a significant decrease in dermal volume when compared to both the control group and topical arginine-treated groups. These findings indicate that systemic administration of arginine may not adequately support local wound repair processes and may even interfere with normal healing mechanisms. One possible explanation is the excessive or dysregulated production of nitric oxide following systemic arginine administration, which can impair fibroblast activity and collagen synthesis when present at high levels. Additionally, systemic metabolism of arginine may limit its availability at the wound site, reducing its therapeutic efficacy. The increase in dermal volume observed in the 2% topical arginine group compared to the control group highlights the potential of low-dose topical arginine as a safe and effective intervention for enhancing skin repair. Topical delivery ensures direct exposure of wound tissues to arginine, promoting fibroblast function,



extracellular matrix formation, and angiogenesis without systemic side effects. Interestingly, although the 5% topical arginine group showed improvements, the results suggest that moderate concentrations may be more optimal, emphasizing the importance of dosage in topical treatments. Overall, this study supports the hypothesis that topical arginine application is more beneficial than injectable arginine in promoting effective wound healing in male Wistar rats. These results have important implications for the development of arginine-based topical formulations for clinical wound management. However, further studies are warranted to investigate the molecular mechanisms underlying these effects and to determine the optimal concentration, duration, and formulation for topical arginine use. Future research involving clinical trials may help translate these findings into practical therapeutic strategies for improving wound healing outcomes in humans.

Ethical Considerations

The present study was approved by the Ethics Code Committee of Tehran Islamic Azad University of Medical Sciences with the ethics code IR.IAU.TMU.REC.1402.112.

Funding

This research received no specific grant from any funding agency.

Authors' contribution

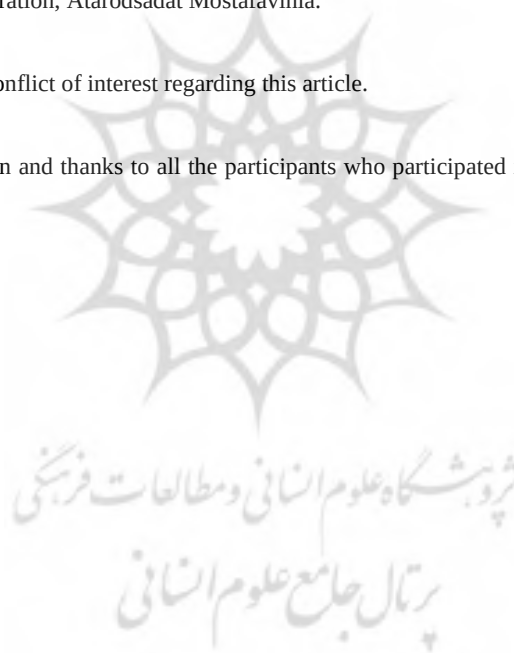
Conceptualization, Atarodsadat Mostafavinia; Methodology, Soheila Salmasi; Analysis, Sanaz Khodadadi; Investigation, Abdollah Amini; Data Curation, Soheila Salmasi; Writing - Original Draft Preparation, Seyed Mohammadreza Seyed Abolghasemi; Supervision, Mohammad Javadi; Project Administration, Atarodsadat Mostafavinia.

Conflict of interest

The authors declare that there is no conflict of interest regarding this article.

Acknowledgments

The authors express their appreciation and thanks to all the participants who participated in the exercises and cooperated with great patience in all stages of the study.





بررسی اثر آرژنین بر ترمیم زخم پوستی در موش صحرایی نر نژاد ویستار

ساناز خدادادی^۱، عبدالله امینی^۲، سهیلا سلماسی^۳، سیدمحمد رضا سیدابولقاسمی^۴، محمد جوادی^۵،
عطاردالسادات مصطفوی نیا^۶✉

۱. گروه علوم تشریحی و اعصاب شناختی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران، تهران، ایران. رایانامه: sanazkhodadadi98@gmail.com
۲. گروه بیولوژی و علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران. رایانامه: d.amini2008@yahoo.com
۳. گروه علوم تشریحی و اعصاب شناختی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران، تهران، ایران. رایانامه: soheila.salma30@gmail.com
۴. گروه علوم تشریحی و اعصاب شناختی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران، تهران، ایران. رایانامه: sed.mhmadrza.abg.6@gmail.com
۵. گروه علوم تشریحی و اعصاب شناختی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران، تهران، ایران. رایانامه: mohammadjavady81@gmail.com
۶. نویسنده مسئول، گروه علوم تشریحی و اعصاب شناختی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران، تهران، ایران. رایانامه: a.mostafavinia@gmail.com

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله پژوهشی	مقدمه: آرژنین یک آمینو اسید ضروری است که از سیتروکالین در انسان سالم تولید می‌شود و عملکرد ایمنی، ترشح هورمون و عملکرد اندوتلیال را تعدیل می‌کند. آرژنین و متابولیت‌های فعال آن می‌توانند بر تمام مراحل بهبود زخم شامل تولید کلاژن، تکثیر سلولی و بهبود ایمنی اثرگذار باشند.
تاریخ دریافت:	روش پژوهش: در این مطالعه ۳۴ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با وزن متوسط ۲۰۰-۲۵۰ گرم با تزریق مخلوطی از کتامین و زایلازین به صورت داخل عضلانی بیهوش شدند. سپس یک برش پوستی به قطر ۱۵ میلی‌متر داده شد. موش‌ها در چهار گروه کنترل، آرژنین موضعی ۲ درصد، آرژنین موضعی ۵ درصد و آرژنین تزریقی و هر گروه شامل ۶ سر قرار گرفتند. بعد از ۱۵ روز، موش‌ها قربانی شده و نمونه بافتی در فرمالین ۱۰ درصد فیکس شد. بعد از مراحل پردازش بافت، به وسیله میکروسکوپ نوری مطالعات استریولوژی انجام شد.
تاریخ بازنگری:	یافته‌ها: در این مطالعه، تعداد سلول‌های فیبروبلاست در گروه آرژنین تزریقی در مقایسه با گروه کنترل، آرژنین موضعی ۲٪ و ۵٪ کاهش داشته است. همچنین حجم درم در گروه آرژنین تزریقی در مقایسه با گروه آرژنین موضعی ۲٪ و ۵٪ و کنترل کاهش معنی‌داری داشته است، اما حجم درم در گروه آرژنین موضعی ۲٪ در مقایسه با گروه کنترل افزایش داشته است.
تاریخ پذیرش:	نتیجه‌گیری: این تحقیق تفاوت‌های معنی‌داری را در اثرات ترمیم زخم آرژنین موضعی در مقایسه با آرژنین تزریقی نشان می‌دهد.
تاریخ انتشار:	
کلیدواژه‌ها:	
ال آرژنین،	
ترمیم زخم پوستی،	
تکنیک استریولوژی،	
موش صحرایی.	

استناد: خدادادی، ساناز؛ امینی، عبدالله؛ سلماسی، سهیلا؛ سیدابولقاسمی، سیدمحمد رضا؛ جوادی، محمد؛ عطاردالسادات، مصطفوی نیا. بررسی اثر آرژنین بر ترمیم

زخم پوستی در موش صحرایی نر نژاد ویستار. نشریه رویکردهای نوین در مدیریت آموزش و علوم سلامت. ۱۴۰۵؛ ۰۳ (۰۱): ۳۴-۳۴. Doi: 10.22034/edus.2025.567793.1080



دسترسی به این نشریه علمی، رایگان است و حق مالکیت فکری خود را بر اساس لایسنس کپی‌رایت کامنز (CC BY-NC 4.0) به نویسندگان واگذار کرده است.

| آدرس نشریه: <https://www.eduhealthsci.ir> | ایمیل: eduhealthsci@gmail.com

ناشر: جهاد دانشگاهی واحد استان مازندران.

مقدمه

پوست و غشاهای مخاطی به عنوان اولین خط دفاعی، بدن را در برابر پاتوژن‌های خارجی و آسیب‌های فیزیکی و شیمیایی محافظت می‌کنند. با این حال، این بافت‌ها که شامل سلول‌های اپیتلیال، سلول‌های ایمنی و ... بوده نسبتاً شکننده هستند (۱). زخم به عنوان اختلال در پیوستگی فیزیکی بافت‌های عملکردی شناخته می‌شود به طور کلی، زخم‌ها به آسیب بافت‌ها تا ضخامت ۶ میلیمتر اشاره می‌کنند که شامل تخریب درم و رگ‌های خونی است که در آن فرآیند التیام پیچیده و طولانی است (۲).

التیام زخم فرآیند پیچیده‌ای است که شامل برهم‌کنش میان انواع مختلفی از سلول‌ها، فاکتورهای رشد و ترکیبات ماتریکس می‌باشد (۳). این برهم‌کنش‌ها شامل وقایع منظم مولکولی و بیولوژیکی از قبیل مهاجرت و تکثیر سلول‌ها از جمله فیبروبلاست، سلول‌های اندوتلیال و کراتینوسیت‌ها، رسوب ماتریکس خارج سلولی، تشکیل بافت گرانوله، تعدیل واکنش‌های التهابی و غیره است (۴). با وجود پیشرفت در علم پزشکی و افزایش درک فرایندهای سلولی و مولکولی وقایع زیستی، امروزه زخم‌های پوستی همچنان به عنوان یک بحران برای سلامت انسان مطرح می‌باشند (۵).

فرآیند التیام بلافاصله پس از جراحی آغاز می‌شود کل روند ترمیم زخم شامل ۳ مرحله است: التهاب، تشکیل بافت جدید و بازسازی. فاز التهابی، که ۱ تا ۵ روز طول می‌کشد، اولین پاسخ بدن به آسیب است. پاسخ التهابی تا روز سوم کاهش می‌یابد و با نبود نوتروفیل‌ها در محل زخم مشخص می‌شود. در طول فاز رشد، فیبروبلاست‌ها، کراتینوسیت‌ها و سلول‌های عروقی اندوتلیال به مهاجرت در پاسخ به عوامل رشد ترشح‌شده توسط ماکروفاژها ادامه می‌دهند (۶). مرحله بلوغ یا بازسازی، که می‌تواند چندین ماه طول بکشد، با پایان تکثیر سلولی و نئوواسکولاریزاسیون آغاز می‌شود. در این مرحله، سنتز ماتریکس زخم جدید و تجزیه اجزای ماتریکس خارج سلولی به تعادل می‌رسد (۷). درمان‌های فعلی زخم با ارزیابی علت زخم و رویکرد بیمار محور برای مدیریت عوامل سیستمیک و سبک زندگی آغاز می‌شود. مطالعات تجربی، دانش جدیدی را در مورد پاتولوژی مرتبط با پیوندهای مولکولی و سلولی زخم فراهم می‌کنند. این امر به نوبه خود راه‌های جدیدی را برای پیشگیری و مداخله درمانی در آینده ارائه می‌دهد (۸).

آرژنین یک آمینواسید ضروری است که از سیترولین در انسان سالم تولید می‌شود. براساس بررسی‌های قبلی نشان داده شده است که آرژنین عملکرد ایمنی، ترشح هورمون و عملکرد اندوتلیال را تعدیل می‌کند و همچنین یک پیش ماده برای سنتز پرولین در آزمایش‌های حیوانی و انسانی است (۹). منابع آرژنین ممکن است به صورت بیرونی (رژیم غذایی) و یا درونی (از گردش پروتئین کل بدن، سنتز روده و یا سنتز ابتدایی) باشند. بیشتر آرژنین پلاسما از متابولیسم پروتئین و گردش خون ناشی می‌شود. کلیه جایگاه اصلی سنتز آرژنین خالص است که حدود ۶۰٪ از این ذخیره را تشکیل می‌دهد. سیترولین به عنوان ماده اصلی عمل می‌کند و در روده کوچک از متابولیسم آمینواسیدهای غذایی مثل گلوتامین و گلوتامات تشکیل می‌شود. از روده، سیترولین به لوله‌های مجاور منتقل می‌شود که در آن به آرژنین تبدیل می‌شود و به جریان خون آزاد می‌شود. سنتز ابتدایی آرژنین تنها ۱۵ - ۵٪ از عرضه درونی را تشکیل می‌دهد و نقش مهمی در هموستاز آرژنین انسان بالغ ندارد (۱۰). دو مسیر در ترمیم زخم وجود دارد که شامل آرژنین است: (الف) مسیر آرژیناز است که با تجزیه آرژنین، پلی‌آمین‌ها و همچنین اورنیتین و پرولین تولید می‌شود که برای بهبود زخم لازم است و اورنیتین نقش کلیدی در تولید کلاژن و ساخت پلی‌آمین ایفا می‌کند. (ب) نیتریک اکساید القایی (NO) یا مسیر iNOS، که آرژنین پیش ماده تولید نیتریک اکساید است. NO نقش کلیدی در بهبود زخم ایفا می‌کند زیرا تکثیر سلولی، ساخت کلاژن و ایجاد انقباض در زخم را تنظیم می‌کند (۱۱). در نتیجه آرژنین و متابولیت‌های فعال آن می‌تواند بر تمام مراحل بهبود زخم شامل تولید کلاژن، پرولیفراسیون سلولی و بهبود ایمنی اثرگذار باشد (۱۲).

عوامل متعددی با مکمل سازی آرژینین در بهبود زخم نقش دارند. NOx به میزان بیشتری در محل زخم نسبت به بافت های غیر زخمی تولید می شود همانطور که با حضور نیتريت و نیترات نشان داده می شود، که هر دو محصولات نهایی مشتق شده از NOx پایدار هستند. NO از هر سه ایزوفرم NOS، در انواع سلول های مرتبط با ترمیم زخم تولید می شود. اینها شامل پلاکت ها (iNOS, nNOS)، سلول های چند هسته ای (iNOS)، سلول های اندوتلیال (eNOS)، کراتینوسیت ها (iNOS, eNOS) و همچنین ماکروفاژها (iNOS) و فیبروبلاست ها (iNOS, eNOS) هستند. ماکروفاژها کمی پس از جراحی ظاهر می شوند، به سیتوکین های موضعی مانند IL1, TNF و IFN پاسخ می دهند، و آبشار التهابی لازم برای بهبود را فعال می کنند. سطح نیتريك اکساید در زخم ها تقریباً ۲۴ ساعت پس از جراحی به حداکثر می رسد. پس از آن تولید پایدار، با یک کاهش آهسته پایدار تا ۱۰ روز ادامه می یابد. همچنین NO می تواند بیان سیتوکین در زخم ها را تعدیل کند. IL8 یک مولکول جاذب شیمیایی است که منطقه پروموتور ژن آن توسط NO فعال می شود. در حالت فیدبک منفی، IL8 می تواند بیان iNOS را در سلول های چند هسته ای سرکوب کند (۱۳). همچنین TGF1 را فعال می کند، علاوه بر این، بیان جاذب شیمیایی منوسیت پروتئین ۱ (MCP1) در پاسخ به NO در شرایط آزمایشگاهی، همانند IL6، کاهش می یابد. به نوبه خود، TGF1 تولید NO را سرکوب می کند. تولید IL1 در حضور NO افزایش می یابد. در نتیجه، فرض بر این است که NO ممکن است در تنظیم فاز التهابی ترمیم زخم پس از جراحی نقش داشته باشد (۱۴). همچنین آرژیناز نقش کلیدی در فرآیند التیام زخم بازی می کند. در پنج روز اول پس از زخم، iNOS آنزیم غالب در محل زخم است. با کاهش فعالیت iNOS، فعالیت آرژیناز افزایش می یابد. افزایش فعالیت آرژیناز مربوط به سرعت بالای سنتز کلاژن و تقاضا برای هیدروکسی پرولین در زخم است. همچنین آرژینین در تولید اوره و اورنیتین وابسته به آرژیناز مصرف می شود. متعاقباً اورنیتین به هیدروکسی پرولین و پرولین، از اجزای اساسی کلاژن و التیام زخم تبدیل می شود. اورنیتین همچنین برای سنتز پلی آمین در تکثیر سلولی استفاده می شود. iNOS بیان شده توسط ماکروفاژها می توانند با تنظیم بیان ژن ماکروفاژها، تمایز و فعالیت التهابی آنها را تنظیم کند (۱۵). بر اساس عملکرد و کارایی آرژینین، این تحقیق به دنبال تعیین تأثیر آرژینین بر ترمیم زخم پوستی در موش صحرایی نر نژاد ویستار از طریق تکنیک استریولوژی است.

روش شناسی

۲۴ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار به وزن تقریبی ۲۲۰ تا ۲۵۰ گرم از انستیتو پاستور ایران خریداری شد و به مدت ۲ هفته در حیوانخانه محل تحقیق (گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی) نگهداری شدند تا با شرایط حیوانخانه خو بگیرند. مطالعه حاضر با کد اخلاق IR.IAU.TMU.REC.1402.112 در کمیته کد اخلاق دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران به تصویب رسید. موش ها درون قفس های انفرادی تمیز با دسترسی آزاد به آب و خوراک موش نگهداری شدند دمای حیوانخانه در حدود ۲۲ درجه سانتیگراد و سیکل روشنایی ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی کنترل شد. موش ها با تزریق مخلوطی از کتامین ۵۰ mg/kg و زایلازین ۵ mg/kg به صورت داخل عضلانی بیهوش شدند. سپس موی پشت آنها در ناحیه توراسیک فوقانی تراشیده شد و به وسیله بتادین و الکل ۷۰ درصد ضد عفونی شد. برش پوستی در قسمت مذکور به قطر ۱۵ میلی متر با ضخامت کامل پوست و شامل عضله جلدی با اسکالپل نمره ۱۵ برش داده شد. موش ها به طور تصادفی در چهار گروه کنترل، آرژینین موضعی ۲ درصد، آرژینین موضعی ۵ درصد و آرژینین تزریقی و هر گروه شامل ۶ سر قرار گرفتند.

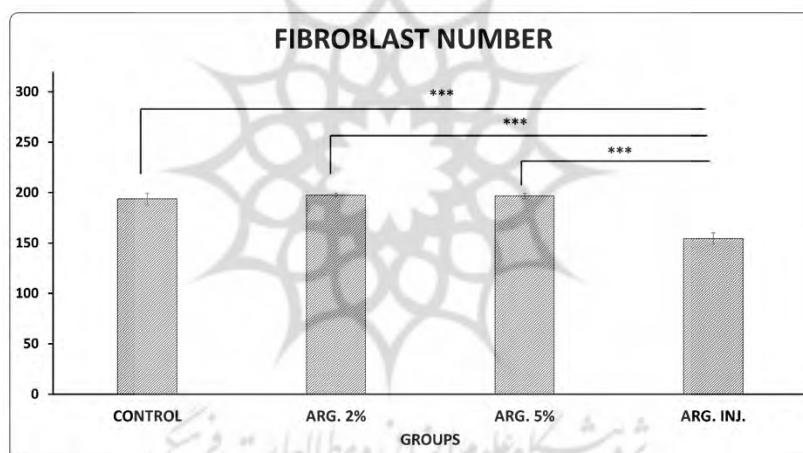
تیمار با آرژینین موضعی در این مطالعه بدین گونه بود که ۲ گرم و ۵ گرم پودر آرژینین را به ترتیب در ۹۸ گرم و ۹۵ گرم اوسرین در شرایط استریل برای ایجاد پماد آرژینین با غلظت ۲ و ۵ درصد حل شد (Sigma Aldrich, USA). ۰/۰۴ گرم از پماد آرژینین به صورت موضعی روی زخم های گروه ۲ و ۳ یک بار در روز به مدت ۱۵ روز استعمال شد.

برای تزریق آرژینین ابتدا ۰/۰۲ گرم پودر آرژینین در ۱۰۰ سی سی آب مقطر در شرایط استریل حل شد، سپس ۲۰ mg/kg از محلول به صورت داخل صفاقی یک بار در روز به گروه ۴ تزریق شد (۱).

در روز ۱۵ بعد از ایجاد زخم، موش‌ها با استنشاق دی اکسید کربن در فضای بسته قربانی شدند و نمونه‌ی بافتی، شامل بستر زخم و پوست اطراف آن برداشته شد و در فرمالین ۱۰ درصد فیکس شد. سپس مراحل پردازش بافت شامل آب‌گیری، جایگزینی الکل با آب، جایگزینی گزلیل با الکل صورت گرفت و بعد از قالب‌گیری، برش‌هایی به ضخامت ۵ μm تهیه و به روش هماتوکسیلین و ائوزین رنگ‌آمیزی شد و به وسیله میکروسکوپ نوری مطالعات استریولوژی انجام شد. در تکنیک استریولوژی برای اندازه‌گیری حجم درم و اپیدرم از روش کاوالیری (Cavalieri's principle) و برای اندازه‌گیری تعداد نوتروفیل‌ها و فیبروبلاست‌ها از روش Physical dissector استفاده شد (۱). از مدل طرح آزمایش تک عاملی (one-way ANOVA) برای تحلیل داده‌های به دست آمده استفاده شد. ملاک قضاوت آماری در سراسر این تحقیق سطح معنی‌داری ۵ درصد بود.

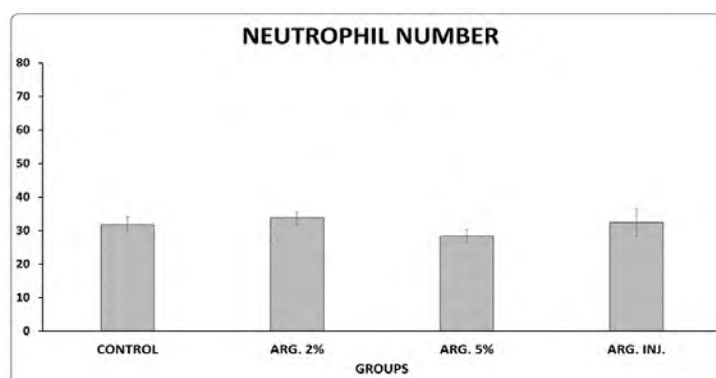
یافته‌ها

نمودار شماره ۱ تعداد فیبروبلاست‌ها در بین گروه‌های مختلف را نشان می‌دهد، همانگونه که ملاحظه می‌شود، تعداد سلول‌های فیبروبلاست در گروه ARG.INJ کاهش داشته است که در مقایسه با گروه کنترل، ARG. ۲٪، و ARG. ۵٪ اختلاف معنی‌داری داشتند ($p < 0.001$).



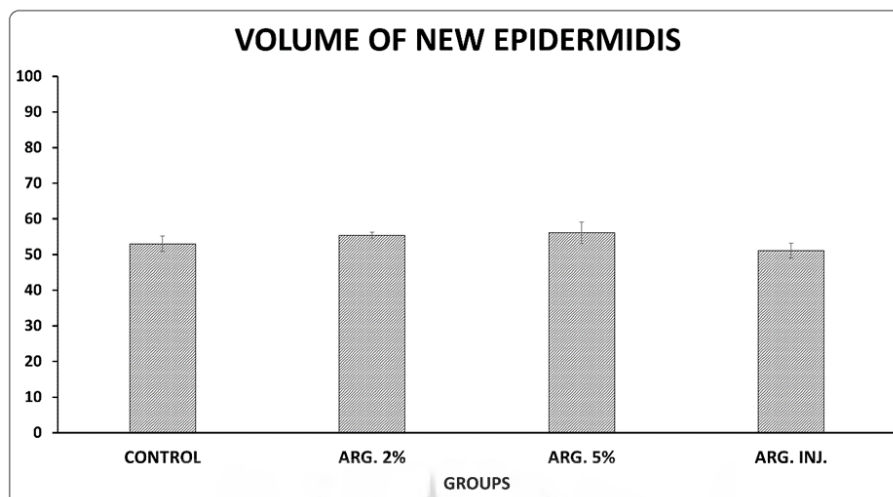
نمودار ۱- تعداد فیبروبلاست‌ها در بین گروه‌های مختلف

نمودار شماره ۲ تعداد نوتروفیل‌ها در گروه‌های مختلف را نشان می‌دهد، همانگونه که ملاحظه می‌شود تعداد سلول‌های نوتروفیل در ۴ گروه اختلاف معنی‌داری نداشتند.



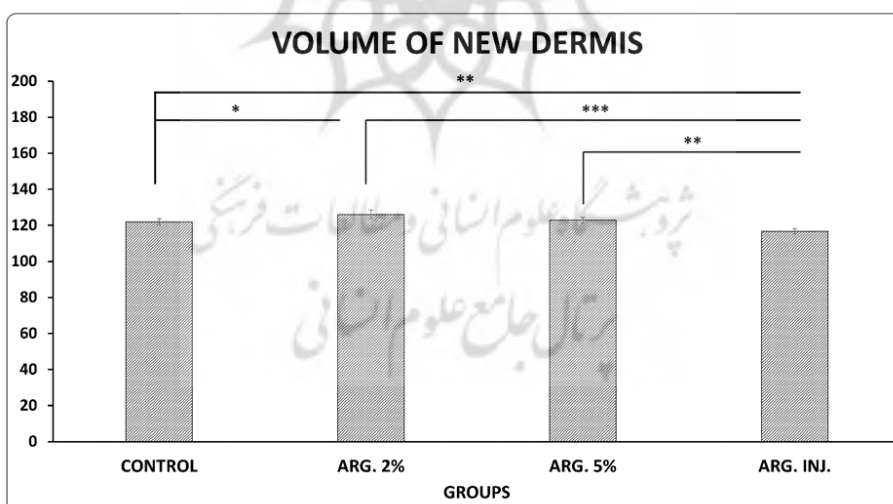
نمودار ۲- تعداد نوتروفیل‌ها در گروه‌های مختلف

نمودار شماره ۳ حجم اپیدرم در گروه‌های مختلف را نشان می‌دهد، همانگونه که ملاحظه می‌شود، از نظر حجم اپیدرم بین ۴ گروه اختلاف معنی‌داری دیده نشد.



نمودار ۳- حجم اپیدرم در گروه‌های مختلف

نمودار شماره ۴، حجم درم در گروه‌های مختلف را نشان می‌دهد. همانگونه که ملاحظه می‌شود، حجم درم در گروه ARG.INJ کاهش داشته است که در مقایسه با گروه کنترل ($p < 0.01$)، ARG. 2% ($p < 0.001$) و ARG. 5% ($p < 0.01$) اختلاف معنی‌داری داشتند. همچنین حجم درم در گروه ARG. 2% افزایش داشته است که در مقایسه با گروه کنترل معنی‌دار بوده است ($p < 0.05$).



نمودار ۴- ارتباط حجم درم در گروه‌های مختلف

بحث

مطالعات زیادی اهمیت آرژینین و افزایش نیاز به آن را در فرآیند ترمیم زخم حاد نشان داده‌اند. دو مسیر در ترمیم زخم وجود دارد که شامل آرژینین است: الف) مسیر آرژیناز که با تجزیه آرژینین پلی‌آمین‌ها و همچنین اورنیتین و پرولین تولید می‌شود که برای بهبود زخم لازم است و اورنیتین نقش کلیدی در تولید کلاژن و ساخت پلی‌آمین ایفا می‌کند. ب) نیتریک اکساید القایی (NO) یا مسیر iNOS، که آرژینین پیش ماده تولید نیتریک اکسید است. NO نقش کلیدی در بهبود زخم ایفا می‌کند

زیرا تکثیر سلولی، ساخت کلاژن و ایجاد انقباض در زخم را تنظیم می‌کند. در نتیجه، آرژنین و متابولیت‌های فعال آن می‌تواند بر تمام مراحل بهبود زخم شامل تولید کلاژن، تکثیر سلولی و بهبود ایمنی اثرگذار باشد. فرآیند ترمیم زخم شامل مجموعه‌ای از رخدادها در اپیدرم و درم است، یعنی ایجاد لخته، التهاب، تولید بافت جدید و بازسازی بافتی. این رخداد نیازمند همکاری انواع سلول‌ها از جمله نوتروفیل‌ها و ماکروفاژها در فرآیند التهاب است که توسط سایر آمینواسیدها و سایتوکین‌ها تنظیم می‌شود. همچنین سلول‌های فیبروبلاست که سلول‌های اصلی در مرحله تولید بافت جدید هستند و با تولید و بازسازی کلاژن در ایجاد ماتریکس خارج سلولی نقش دارد که در فرآیند بهبود زخم و بستن زخم نقش کلیدی دارد. با توجه به نقش کلیدی آرژنین در فرآیند ترمیم زخم و تأثیرات ضد التهابی آن بر آن شدیم که مطالعه‌ای تجربی جهت بررسی تأثیرات آرژنین خوراکی و تزریقی در فرآیند بهبود زخم حاد انجام دهیم. با توجه به یافته‌های این مطالعه استفاده از آرژنین موضعی ۲٪ و ۵٪ و آرژنین تزریقی ارتباط معنی‌داری با تعداد سلول‌های نوتروفیل و حجم اپیدرم نداشت. اما تعداد سلول‌های فیبروبلاست در گروه آرژنین تزریقی در مقایسه با گروه کنترل، آرژنین موضعی ۲٪ و ۵٪ کاهش داشته است. همچنین حجم درم در گروه آرژنین تزریقی در مقایسه با گروه آرژنین موضعی ۲٪ و ۵٪ و کنترل کاهش معنی‌داری داشته است، اما حجم درم در گروه آرژنین موضعی ۲٪ در مقایسه با گروه کنترل افزایش داشته است. جرونیمو (Jeronimo) و همکاران (۲۰۱۶) در مطالعه‌ای نقش ال-آرژنین خوراکی یا موضعی در فرآیند ترمیم زخم جراحی را مورد بررسی قرار دادند. ال-آرژنین به صورت خوراکی و یا موضعی بعد از عمل جراحی مدل لاپاراتومی به موش‌ها تجویز شد. برای ارزیابی زخم‌ها بافت گرانولاسیون، رسوب کلاژن، iNOS و سایتوکین‌ها آنالیز شدند. موش‌های مورد استفاده در این مدل سالم، ایمونوساپرس و یا دیابتی بودند و همه آن‌ها با غلظت‌های مختلف ال-آرژنین و مسیرهای متفاوت تجویز تیمار شدند. در گروه‌های تیمار شده با ال-آرژنین به صورت خوراکی یا موضعی در مقایسه با موش‌های غیر تیمار شده، ترمیم زخم بهبود بخشیده شد. تیمار با Larginine تولید TGF- β و NO را تحریک کرد. تجویز موضعی، بیان IL8 و رسپتور کموکین یک را در سلول‌های زخم کاهش داد اما در تولید TNF- α و IL10 تأثیری نداشت، با این حال، تجویز دهانی، بیان بالاتر iNOS و TGF- β را نشان داد. درمان با ال-آرژنین همچنین بهبود ترمیم زخم را در موش‌های ایمونوساپرس شده و یا دیابتی بهبود بخشید. در این مطالعه نشان دادند تیمار با آرژنین بیان TGF-B را افزایش می‌دهد. در واقع آرژنین باعث تحریک ماکروفاژها و افزایش تولید TGF-B می‌شود که می‌تواند باعث تولید فیبروبلاست و رسوب کلاژن شود (۳). همچنین فوجیوارا (Fujiwara) و همکاران (۲۰۱۴) در مطالعه‌ای به اثربخشی آرژنین در ترمیم زخم و ارتباط آن با افزایش فیبروبلاست پرداختند، نتایج مطالعه نشان داد که آرژنین باعث تکثیر فیبروبلاست و اثرات آنتی آپوپتوتیک سلول‌های فیبروبلاست از طریق فعال‌سازی GPRC6A می‌شود. اما در مطالعه حاضر تعداد سلول‌های فیبروبلاست در گروه آرژنین تزریقی کاهش یافته است (۱۰). اثر بخشی آرژنین در هر دو مطالعه می‌تواند به علت تغییرات سلولی باشد که آرژنین به همراه دارد. به طور خلاصه آرژنین می‌تواند در سنتز آنزیم‌ها، هورمون‌ها و پروتئین‌های ساختاری نقش داشته باشد. همچنین یک آمینواسید عملکردی برای تولید ملکول‌های زیستی مانند نیتریک اکسید و پلی آمین‌ها است و تقویت کننده سیستم ایمنی است که از طریق تحریک تیموس می‌تواند باعث افزایش تعداد لنفوسیت شود. همین امر می‌تواند نکته کلیدی در اثر بخشی آرژنین در بهبود زخم باشد.

دوراموس (Durmus) و همکاران (۲۰۱۷) اثربخشی آرژنین را در بهبود زخم پوستی با استفاده از کرم (Arginine) ASI در موش صحرایی مورد ارزیابی قرار دادند. موش‌ها با کرم ۴ یا ۱۰ درصد ASI دو بار در روز به مدت‌های مختلف (۵، ۱۰ یا ۱۵ روز) تحت درمان قرار گرفتند. نمونه‌های بیوپسی گرفته شده در مقاطع زمانی مختلف پس از زخم نشان داد که تشکیل بافت گرانولاسیون در گروه‌های تحت درمان با ASI به طور قابل توجهی سریع‌تر از گروه کنترل اتفاق افتاد

($P < 0.05$). علاوه بر این، زخم‌های درمان‌شده با ASI، نواحی بهبود نیافته کوچک‌تر و درصد بیشتری از بهبود کل زخم را نشان دادند. به طور قابل توجهی، سطح بیان عوامل کلیدی درگیر در بهبود زخم، مانند eNOS، iNOS، MMP-2، MMP-9، VEGF، FGF، EGF، NF- κ B و سایتوکین‌ها ($\text{IL1}\beta$ ، TNF- α) در زخم‌های تحت درمان با ASI کاهش یافت. یافته‌های این مطالعه بر مزایای بالقوه پماد ASI موضعی، به‌ویژه در غلظت ۴ درصد، در بهبود زخم تأکید می‌کند (۱۴). با این حال استفاده از آرژینین در ترمیم زخم‌های پوستی و استفاده دارویی از آرژینین به طور گسترده به تعویق افتاده است. از دلایل آن می‌توان به اثرات سرکوب‌کننده تکثیر سلولی در دوزهای بالا، اثرات نامطلوب گوارشی، عوارض دارویی و کاهش حساسیت به انسولین نام برد (۵). لوهه (Loehe) و همکاران (۲۰۰۷) بیان کردند که صرف‌نظر از برخی نتایج مطلوب در مطالعات حیوانی انجام شده، استفاده از آرژینین در غلظت بالا فراتر از میزان آرژینین موجود در مواد غذایی در کارآزمایی‌های بالینی اثر بخشی را در بهبود زخم نشان نداده است و تنها اثر بخشی آن به علت کاهش مشکلات عفونی در بیماران جراحی بدحال است (۱۱).

نتیجه‌گیری

آرژینین یک آمینو اسید ضروری است که از سیترولین در انسان سالم تولید می‌شود. براساس بررسی‌های قبلی، نشان‌داده شده‌است که آرژینین عملکرد ایمنی، ترشح هورمون و عملکرد اندوتلیال را تعدیل می‌کند و همچنین یک پیش ماده برای سنتز پرولین در آزمایش‌های حیوانی و انسانی است. در شرایط عادی بدن، تولید درونزاد آرژینین برای رشد و ترمیم سلولی کافی است. اما در شرایط استرس متابولیک، رشد و بلوغ و زخم، نیاز بدن به آرژینین افزایش می‌یابد. این مطالعه نشان داد که در حالی که آرژینین موضعی (۲٪ و ۵٪) تأثیر قابل توجهی بر تعداد نوتروفیل و حجم اپیدرم نداشتند، آرژینین تزریقی کاهش قابل توجهی در سلول‌های فیبروبلاست و حجم پوست در مقایسه با گروه‌های کنترل و آرژینین موضعی نشان داد. این یافته‌ها تفاوت‌های بالقوه‌ای را در اثرات ترمیم زخم آرژینین موضعی در مقابل تزریقی نشان می‌دهند.

ملاحظات اخلاقی

مطالعه حاضر با کد اخلاق IR.IAU.TMU.REC.1402.112 در کمیته کد اخلاق دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران به تصویب رسید.

حامی مالی

این تحقیق هیچ بودجه‌ای دریافت نکرده است.

مشارکت نویسندگان

مفهوم سازی، عطاردالسادات مصطفوی‌نیا؛ روش شناسی، سهیلا سلماسی؛ تحلیل، ساناز خدادادی؛ تحقیق، عبدالله امینی؛ مدیریت داده‌ها، سهیلا سلماسی؛ نگارش-تهیه پیش‌نویس، سیدمحمد رضا سیدابولقاسمی؛ نظارت، محمد جواد؛ مدیریت پروژه، عطاردالسادات مصطفوی‌نیا.

تعارض منافع

بنابر اظهار نویسنده، این مقاله تعارض منافع ندارد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از تمام شرکت کنندگانی که در این تحقیق شرکت کرده و همچنین تمامی افرادی که در تمام مراحل مطالعه همکاری داشتند، تقدیر و تشکر می‌کنند.

References

1. Leigh B, Desneves K, Rafferty J, Pearce L, King S, Woodward MC, Brown D, Martin R, Crowe TC. The effect of different doses of an arginine-containing supplement on the healing of pressure ulcers. *J Wound Care*. 2012;21(3):150-6. doi: [10.12968/jowc.2012.21.3.150](https://doi.org/10.12968/jowc.2012.21.3.150)
2. Mahdirejei HA, Peeri M, Azarbayjani MA, Fattahi Masrour F. Fluoxetine combined with swimming exercise synergistically reduces lipopolysaccharide-induced depressive-like behavior by normalizing the HPA axis and brain inflammation in mice. *Pharmacol Biochem Behav*. 2023;232:173640. doi: [10.1016/j.pbb.2023.173640](https://doi.org/10.1016/j.pbb.2023.173640)
3. Jerônimo MS, Barros AD, Morital VE, Alves EO, Souza NL, Almeida RM, et al. Oral or topical administration of L-arginine changes the expression of TGF and iNOS and results in early wounds healing. *Acta Cir Bras*. 2016;31(9):586-596. doi: [10.1590/S0102-865020160090000003](https://doi.org/10.1590/S0102-865020160090000003)
4. Mostafavinia A, Bidram M, Gomi Avili A, Mahmanzar M, Karimifard SA, Sajadi E, et al. An improvement in acute wound healing in rats by the synergistic effect of photobiomodulation and arginine. *Lab Anim Res*. 2019;35:28. doi: [10.1186/s42826-019-0025-x](https://doi.org/10.1186/s42826-019-0025-x)
5. Debats IB, Booi DI, Wehrens KM, Cleutjens J, Deutz NE, van de Hogen E, et al. Oral arginine supplementation and the effect on skin graft donor sites: a randomized clinical pilot study. *J Burn Care Res*. 2009;30(3):417-26. doi: [10.1097/BCR.0b013e3181a28c15](https://doi.org/10.1097/BCR.0b013e3181a28c15)
6. Wilkinson HN, Hardman MJ. Wound healing: cellular mechanisms and pathological outcomes. *Open Biol*. 2020;10(9):200223. doi: [10.1098/rsob.200223](https://doi.org/10.1098/rsob.200223)
7. Barros CDS, Coutinho A, Tengan CH. Arginine Supplementation in MELAS Syndrome: What Do We Know about the Mechanisms? *Int J Mol Sci*. 2024;25(7):3629. doi: [10.3390/ijms25073629](https://doi.org/10.3390/ijms25073629)
8. Mao G, Tian S, Shi Y, Yang J, Li H, Tang H, Yang W. Preparation and evaluation of a novel alginate-arginine-zinc ion hydrogel film for skin wound healing. *Carbohydr Polym*. 2023;311:120757. doi: [10.1016/j.carbpol.2023.120757](https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2023.120757)
9. Fujiwara T, Kanazawa S, Ichibori R, Tanigawa T, Magome T, Shingaki K, et al. L-arginine stimulates fibroblast proliferation through the GPRC6A-ERK1/2 and PI3K/Akt pathway. *PLoS One*. 2014;9(3):e92168. doi: [10.1371/journal.pone.0092168](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0092168)
10. Amouzad Mahdirejei H, Peeri M, Azarbayjani MA, Masrour FF. Diazepam and exercise training combination synergistically reduces lipopolysaccharide-induced anxiety-like behavior and oxidative stress in the prefrontal cortex of mice. *Neurotoxicology*. 2023;97:101-108. doi: [10.1016/j.neuro.2023.06.004](https://doi.org/10.1016/j.neuro.2023.06.004)
11. Loehe F, Bruns CJ, Nitsch SM, Angele MK. The role of L-arginine following trauma and blood loss. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2007;10(1):80-7. doi: [10.1097/MCO.0b013e318011bb1b](https://doi.org/10.1097/MCO.0b013e318011bb1b)
12. Kwon KC, Won JG, Seo JH, Kwon OS, Kim EH, Kim MS, et al. Effects of arginine glutamate (RE:pair) on wound healing and skin elasticity improvement after CO2 laser irradiation. *J Cosmet Dermatol*. 2022;21(10):5037-5048. doi: [10.1111/jocd.14957](https://doi.org/10.1111/jocd.14957)
13. Ibrahim RM, Kamoun EA, Badawi NM, El-Moslami SH, Kh M, Salim SA. Cutting-edge biomaterials for advanced biomedical uses: self-gelation of l-arginine-loaded chitosan/PVA/vanillin hydrogel for accelerating topical wound healing and skin regeneration. *RSC Adv*. 2024;14(42):31126-31142. doi: [10.1039/d4ra04430d](https://doi.org/10.1039/d4ra04430d)
14. Durmus AS, Tuzcu M, Ozdemir O, Orhan C, Sahin N, Ozercan IH, et al. Arginine Silicate Inositol Complex Accelerates Cutaneous Wound Healing. *Biol Trace Elem Res*. 2017;177(1):122-131. doi: [10.1007/s12011-016-0857-2](https://doi.org/10.1007/s12011-016-0857-2)
15. Mndlovu H, du Toit LC, Kumar P, Choonara YE. Tannic acid-loaded chitosan-RGD-alginate scaffolds for wound healing and skin regeneration. *Biomed Mater*. 2023;18(4). doi: [10.1088/1748-605X/acce88](https://doi.org/10.1088/1748-605X/acce88)