

Research Paper

Biological Effects of Combining Ethanol Extract of Mord Leaf With Olive Oil on the Expression of Selected Growth Factors in Wound Healing of Male BALB/c Mice



Farkhondeh Nemati^{1*}, Rohullah Abdullahpour², Samaneh Soleymani Rad¹, Hajar Poorali¹, Fatemeh Ghahari¹

1. Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Qaemshahr Branch, Islamic Azad University, Qaemshahr, Iran.
2. Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, Qaemshahr Branch, Islamic Azad University, Qaemshahr, Iran.



Citation Nemati F, Abdullahpour R, Soleymani Rad S, Poorali H, Ghahari F. [Biological Effects of Combining Ethanol Extract of Mord Leaf With Olive Oil on the Expression of Selected Growth Factors in Wound Healing of Male BALB/c Mice (Persian)]. *Qom Univ Med Sci J.* 2023; 17:E2732.1. <https://doi.org/10.32598/qums.17.2732.1>

doi <https://doi.org/10.32598/qums.17.2732.1>



Received: 10 Oct 2022
Accepted: 19 Feb 2023
Available Online: 06 Nov 2023

Keywords:
Myrtus communis,
Wound healing, Olive
oil, Genetics

ABSTRACT

Background and Objectives: Antibiotic treatment is used to reduce the bioburden of wounds. Medicinal plants can be an alternative method for wound treatment. This study aims to investigate the effects of *Myrtus communis* (Mord) leaf extract combined with olive oil on the wound healing process and the expression of vascular endothelial growth factor (VEGF), epidermal growth factor (EGF), fibroblast growth factor-1 (FGF-1) and insulin-like growth factor-1 (IGF-1) genes in BALB/c mice.

Methods The Mord leaf extract was mixed with olive oil in a volume ratio of 1:1. Thirty-six BALB/c male mice were divided into three groups of 12, including control, saline, and experimental. Then a 1×1 cm incision was made in their skin. On days 5, 10, 15, four mice from each group were randomly sacrificed and their skin samples were collected from the wound site. The real-time PCR method was used to measure the expression of four genes in the wound site. Statistical analysis was done by the analysis of variance and Tukey's post hoc test. P<0.05 was considered statistically significant.

Results The Mord leaf extract combined with olive oil increased the expression of VEGF, EGF, FGF-1, and IGF-1 genes (P<0.05). The effect was higher on the 15th day of the experiment.

Conclusion The increase in the expression of VEGF, EGF, FGF-1, and IGF-1 genes due to the treatment using the combination of Mord leaf extract and olive oil can accelerate the wound healing process.

* Corresponding Author:

Farkhondeh Nemati, PhD.

Address: Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Qaemshahr Branch, Islamic Azad University, Qaemshahr, Iran.

Tel: +98 (911) 3140559

E-Mail: farkhondehnemati@gmail.com



Copyright © 2023 Qom University of Medical Sciences.
This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>).
Noncommercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.

Extended Abstract

Introduction

Wound healing, which begins as a reaction to the tissue injury and continues until the injured tissue is repaired, is a set of physiological processes involved in the secretion of growth factors and cytokines. The growth factors bind to the receptors from their family, and then, by affecting the family of protein kinases in the membrane, they start to repair the tissue. Despite the existence of modern methods for wound healing, the wound healing process has not yet reached the desired result such that, in some chronic diseases, wound healing has become one of the challenges. Therefore, researchers are looking for new compounds to accelerate the process of wound healing. *Myrtus communis* (Mord) with its antimicrobial, anti-inflammatory, and antiseptic effects, can accelerate the wound healing process. Olive oil is also used in traditional medicine to treat wounds and contains high amounts of vitamins A, D, K, and E, which are the main source of protection against free radicals. In this study, we aim to investigate the effect of combining Mord leaf extract and olive oil on the expression of vascular endothelial growth factor (VEGF), epidermal growth factor (EGF), fibroblast growth factor-1 (FGF-1), and insulin-like growth factor-1 (IGF-1), genes in the process of wound healing in BALB/c mice.

Methods

The ethanolic extract of Mord leaf was mixed with olive oil in a volume ratio of 1:1. The samples were 36 Balb/c male mice divided into three groups of 12, including control, saline, and experimental. A 1×1 cm incision was made in the skin of mice in the saline and experimental groups. In the experimental group, the wound was treated with the prepared ointment once a day. After that, on days 5, 10, and 15, four mice from each group were randomly sacrificed, and the skin of the wound healing site was taken from the cut area. The real-time PCR method was used to check the expression of the genes in the wound site. The statistical analysis was performed using analysis of variance in R software, and the pairwise comparison of the means was done using Tukey's test. $P < 0.05$ was considered statistically significant.

Results

The result of real-time PCR products showed that the EGF gene had 198 base pairs (bp); the VEGF and IGF-1 genes had 189 bp, the FGF-1 gene had 122 bp, and the

Hypoxanthine Phosphoribosyltransferase (HPRT) gene had 131 bp on the agarose gel. The results of measuring the expression of VEGF, EGF, FGF-1, and IGF-1 genes by real-time PCR method showed a significant increase in these genes in the experimental group received the combination of Mord leaf extract and olive oil after 5, 10, and 15 days compared to the saline and control groups ($P < 0.05$). The highest increase was observed on day 15 for all four genes. The comparison of the expression of four genes showed that the treatment by the Mord leaf extract + olive oil had the greatest effectiveness in increasing the expression of the FGF-1 gene (by 1098.37) compared to other genes.

Conclusion

The results of the present study showed that the combination of the ethanolic extract of Mord leaf with olive oil for wound healing led to an increase in the expression of VEGF, EGF, FGF-1, and IGF-1 and these genes acted as an important role in the healing of skin wounds in mice. The results of this study indicate that the combination of Mord leaf extract and olive oil is effective in accelerating the wound healing process.

Ethical Considerations

Compliance with ethical guidelines

This study was approved by the research ethics committee of [Mazandaran University of Medical Sciences](#) (Code: IR.MAZUMS.REC.1400.539).

Funding

This research received no specific grant from any funding agency in the public, commercial, or not-for-profit sectors

Authors contributions

The authors contributed equally to preparing this paper.

Conflicts of interest

The authors declared no conflict of interest.

This Page Intentionally Left Blank

مقاله پژوهشی

ارتباط اثرات بیولوژیکی برگ مورد و روغن زیتون با بیان ژن‌های مرتبط با التیام زخم در موش‌های آزمایشگاهی

* فرخنده نعمتی^۱، روح‌الله عبدالله‌پور^۲، سمانه سلیمانی راد^۱، هاجر پورعلی^۱، فاطمه قهاری^۱

۱. گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد قائم‌شهر، دانشگاه آزاد اسلامی، قائم‌شهر، ایران.

۲. گروه علوم جانوری، دانشکده کشاورزی، واحد قائم‌شهر، دانشگاه آزاد اسلامی، قائم‌شهر، ایران.

Citation: Nematı F, Abdullahpour R, Soleymani Rad S, Poorali H, Ghahari F. [Biological Effects of Combining Ethanol Extract of Mord Leaf With Olive Oil on the Expression of Selected Growth Factors in Wound Healing of Male BALB/c Mice (Persian)]. Qom Univ Med Sci J. 2023; 17:E2732.1. <https://doi.org/10.32598/qums.17.2732.1>doi: <https://doi.org/10.32598/qums.17.2732.1>

چکیده

تاریخ دریافت: ۱۸ مهر ۱۴۰۱

تاریخ پذیرش: ۳۰ بهمن ۱۴۰۱

تاریخ انتشار: ۱۵ آبان ۱۴۰۲

زمینه و هدف: از درمان آنتی‌بیوتیکی برای کاهش بار زیستی زخم استفاده می‌شود. گیاهان دارویی می‌توانند یک روش جایگزین برای درمان زخم باشند. هدف از این مطالعه، بررسی تأثیر ترکیب عصاره برگ مورد و روغن زیتون بر بیان ژن‌های فاکتورهای رشد آندوتلیال عروقی، اپیدرمال، فیبروبلاستی-۱ و شبه‌انسولینی-۱ در روند بهبود زخم در موش‌های Bab/c است.

روش بررسی: عصاره مورد و روغن زیتون به نسبت ۱:۱ تهیه شد. ۳۶ موش نر نژاد Bab/c به ۳ گروه ۱۲ تایی شامل گروه کنترل، سالین و آزمایش تقسیم شدند. سپس برشی به اندازه ۱×۱ در پوست ایجاد شد. سطح زخم روزی یک بار با تیمار موردنظر پوشانده شد. در روزهای ۵، ۱۰ و ۱۵، ۴ موش از هر گروه به‌طور تصادفی انتخاب و از ناحیه برش، نمونه‌های پوستی گرفته شد. برای بررسی میزان بیان ژن‌ها در محل زخم از روش RT-PCR استفاده شد. آنالیز آماری با روش تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها با روش توکی انجام شد. نمودارها در محیط اکسل ترسیم و مقدار $P < 0.05$ معنادار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد عصاره مورد و روغن زیتون سبب افزایش بیان ژن‌های فاکتورهای رشد آندوتلیال عروقی، اپیدرمال، فیبروبلاستی-۱ و شبه‌انسولینی-۱ می‌شود. البته تأثیر عصاره برگ مورد و روغن زیتون در روز ۱۵ آزمایش به بیشینه خود رسید.

نتیجه‌گیری: افزایش بیان ژن‌های فاکتورهای رشد آندوتلیال عروقی، اپیدرمال، فیبروبلاستی-۱ و شبه‌انسولینی-۱ در اثر تیمار با ترکیب عصاره مورد و روغن زیتون باعث تسریع در فرایند التیام زخم شد.

کلیدواژه‌ها:

بیان ژن، التیام زخم، روغن زیتون

* نویسنده مسئول:

فرخنده نعمتی

نشانی: ایران، قائم‌شهر، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قائم‌شهر، دانشکده علوم پایه، گروه زیست‌شناسی.

تلفن: ۳۱۴۰۵۵۹ (۹۱۱) ۹۸+

رایانامه: farkhondehnemati@gmail.com

Copyright © 2023 Qom University of Medical Sciences.

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>).

Noncommercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.

مقدمه

رشد در پوست است که میزان بیان آن به طور قابل توجهی با میزان ترمیم زخم در ارتباط است [۱۷].

خانواده فاکتور رشد فیبروبلاستی-۱^۴ از مؤثرترین فاکتورهای شرکت کننده در مراحل ترمیم زخم هستند که به طور عمده توسط سلول های پوستی نظیر فیبروبلاست ها و کراتینوسیت ها و همچنین برخی سلول های دیگر نظیر سلول های آندوتلیال و عضله صاف بیان می شوند. مهم ترین نقش این فاکتور رشد تأثیر تحریکی آن ها بر سلول های سنتز کننده کلاژن برای تنظیم تولید و بازسازی اجزای ماتریکس خارج سلولی است. همچنین این فاکتورها می توانند بر روند مهاجرتی سلول های فیبروبلاست به لبه های زخم مؤثر باشند [۱۸]. با وجود پیشرفت روش های نوین در ترمیم زخم، هنوز روند التیام زخم به نتیجه مطلوب نرسیده و در برخی بیماری ها و اختلالات مزمن، ترمیم زخم به یکی از چالش های علم پزشکی تبدیل شده است و محققان به دنبال ترکیبات جدید برای تسریع در فرایند التیام زخم هستند [۹].

تحقیقات نشان داده است که بسیاری از گیاهان دارویی و مواد بیولوژیک می توانند برای درمان زخم ها مفید باشند. از جمله این گیاهان دارویی که در طب باستانی بسیار مورد توجه بوده، گیاه مُورد^۵ است. این گیاه با دارا بودن اثرات ضد میکروبی، ضد التهابی، آنتی سپتیک و ضداحتقانی موجب تسریع در فرایند التیام زخم می شود [۹، ۱۰]. روغن زیتون در طب سنتی در درمان زخم ها استفاده می شود و مقادیر زیادی از ویتامین های A، D، E دارد که منبع اصلی محافظت در برابر رادیکال های آزاد است [۱۱].

در مطالعه قبلی ما مشخص شد که تیمار با ترکیب عصاره اتانولی برگ گیاه مُورد و روغن زیتون موجب افزایش معناداری در درصد بهبود زخم می شود [۱۲]. در پژوهش حاضر به بررسی تأثیر ترکیب عصاره برگ مُورد و روغن زیتون بر بیان ژن های فاکتورهای رشد آندوتلیال عروقی، اپیدرمال، فیبروبلاستی-۱ و شبه انسولین-۱ در روند بهبود زخم در موش های کوچک آزمایشگاهی نژاد balb/c می پردازیم.

مواد و روش ها

آماده سازی عصاره برگ مُورد

۱۰۰ گرم از پودر برگ مُورد به مدت ۳ روز در ۱۰۰۰ میلی لیتر اتانول ۹۶ درصد درون یک ارلن خیسانده شد. پس از ۳ روز عصاره ها را با کاغذ صافی واتمن شماره ۱ و قیف جدا کرده و برای پراندن اتانول در محلول مورد نظر از دستگاه روتاری استفاده شد. برای به دست آوردن یک عصاره غلیظ تر، محلول به مدت چند روز در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه قرار داده شد. عصاره

ترمیم زخم که در پاسخ به زخم شروع شده و تا اصلاح بافت آسیب دیده ادامه می یابد، مجموعه ای از فرایندهای فیزیولوژیکی بوده که طی آن سلول ها و ترشحات مختلف سلولی، به ویژه فاکتورهای رشد و بسیاری از سیتوکین ها وارد عمل می شوند. فاکتورهای رشد برای عملکرد خود به رسپتورهای خانواده خود متصل شده و به دنبال آن با اثر بر خانواده پروتئین کینازهای درون غشایی مراحل ترمیم را آغاز می کنند [۱].

فاکتور رشد اپیدرمال^۱ در ابتدا از عصاره غدد بزاقی موش به عنوان یک عامل تسریع کننده بهبود زخم قرنیه جدا شد، اما به زودی مشخص شد که در واقع، یک فاکتور رشد عمومی است که موجب اعمال مختلفی، از جمله مهاجرت سلولی و تکثیر طیف گسترده ای از سلول ها می شود. گیرنده فاکتور رشد اپیدرمی انسانی یک گیرنده فاکتور رشد با فعالیت ذاتی تیروزین کیناز است. این گیرنده به طور گسترده در بسیاری از انواع سلول ها، از جمله دودمان اپیتلیال و مزانشیمی بیان می شود و اتوفسفوریلاسیون آن موجب فعال شدن تعداد زیادی مولکول های هدف پایین دست می شود [۲].

فاکتور رشد شبه انسولین-۲^۱ نقش مهمی در بهبود زخم از طریق سازوکارهای متعدد دارد. به عنوان یک عامل کموتاکتیک برای سلول های آندوتلیال عمل می کند، تکثیر و مهاجرت کراتینوسیت ها و فیبروبلاست ها را تحریک می کند و استحکام زخم را افزایش می دهد [۳]. چندین مطالعه دیگر نشان داده اند که فاکتور رشد شبه انسولین-۱ به ترمیم انواع بافت ها کمک می کند. پاسکوالینا و همکاران [۴] توانایی فاکتور رشد شبه انسولین-۱ را برای ترمیم بافت ماهیچه ای اسکلتی و زوئی و همکاران [۵] در بافت میوکارد نشان دادند. به اعتقاد محققان، هورمون رشد به طور مستقیم در تحریک رشد شرکت نمی کند. بدین ترتیب که هورمون رشد باعث می شود کبد (و به میزان بسیار کمتر سایر بافت ها) چند پروتئین کوچک موسوم به فاکتور رشد شبه انسولین-۱ تولید کند که ضمن داشتن آثار آنابولیک، موجب رشد بافتی و افزایش حجم و قدرت عضلانی می شود.

فاکتور رشد شبه انسولین-۱ در روند آنژیوژنز دخیل است. آنژیوژنز یکی از جنبه های مهم فرایند ترمیم زخم است که در آن عروق خونی جدید رشد می کند. فرایند آنژیوژنز نقش بازسازی و مرمت رگ های خونی را در بافت های آسیب دیده دارد و علاوه بر اکسیژن و مواد غذایی مورد نیاز برای حمایت از رشد و عملکرد سلول ها، هورمون ها و فاکتورهای رشد را به محل زخم هدایت می کند [۶]. فاکتور رشد آندوتلیال عروقی^۲ یکی از فاکتورهای

1. Epidermal Growth Factor (EGF)
2. Insulin-Like Growth Factor 1 (IGF-1)
3. Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)

4. Fibroblast Growth Factor 1 (FGF-1)
5. Myrtus Communis

RNA شرکت سیناکولون با نام تجاری RNX_Plus (Aryogen Biopharma Complex, Karaj, Iran) و بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد. کیفیت RNA استخراج شده با بردن نمونه روی ژل آگارز ۱ درصد تعیین شد. کیفیت RNA حاصله با توجه به پرننگی و وضوح باندها تعیین شد.

همچنین برای بررسی کمی RNA استخراج شده با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر نوری، جذب نوری نمونه در طول موج ۲۶۰ تقسیم بر جذب نوری نمونه در طول موج ۲۸۰ خوانده شد و نمونه‌های با جذب ۱/۵ تا ۲ انتخاب شدند. RNAهای استخراج شده بلافاصله برای انجام مرحله نسخه‌برداری معکوس و ساخت و تولید cDNA توسط کیت شرکت سیناکولون بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده استفاده شد. نمونه‌ها برای ادامه مراحل کار در دمای ۲۰- درجه نگهداری شد.

طراحی پرایمر

پرایمرها برای تکثیر بخشی از قطعات مورد نظر ژن‌های فاکتورهای رشد فیبروبلاستی-۱، اپیدرمال، آندوتلیال عروقی و شبه‌انسولین-۱ و هیپوگزانتین فسفو ریبوزیل ترانسفراز طراحی شد. این پرایمرها طوری طراحی شدند که بتوانند قطعاتی به طول ۱۸۹ جفت‌باز برای ژن فاکتور رشد شبه‌انسولین-۱، ۱۲۲ جفت‌باز برای ژن فاکتور رشد فیبروبلاستی-۱، ۱۹۸ جفت‌باز برای ژن فاکتور رشد اپیدرمال، ۱۸۹ جفت‌باز برای ژن فاکتور رشد آندوتلیال عروقی و ۱۳۱ جفت‌باز برای ژن هیپوگزانتین فسفو ریبوزیل ترانسفراز را تکثیر کنند (جدول شماره ۱).

واکنش Real Time PCR

واکنش PCR برای هر یک از ژن‌های مورد نظر انجام شد (جدول شماره ۲). برنامه دناتوراسیون (۹۵ درجه سانتی‌گراد برای ۱۰ دقیقه)، یک برنامه تقویت ۴ مرحله‌ای با ۴۰ تکرار و یک برنامه منحنی ذوب فلورسنس (۶۰ تا ۹۵ درجه سانتی‌گراد با حرارتی به اندازه 0/010c/s و میزان لازم فلورسنس) و در نهایت، برنامه خنک‌سازی تا دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد پس از انجام PCR در شرایط بهینه شده برای هر مولکول (تعداد چرخه، دمای اتصال آغازگرها و بافرها)، محصول PCR روی ژل آگارز ۱ درصد الکتروفورز شد تا اطمینان حاصل شود که واکنش قطعه DNA تقویت شده‌ای از اندازه مورد انتظار را دارد.

برای ارزیابی محصولات PCR به روش الکتروفورز روی ژل آگارز تعیین کیفیت محصولات حاصله انجام شد. برای اندازه‌گیری بیان ژن‌های فاکتورهای رشد فیبروبلاستی-۱، اپیدرمال، آندوتلیال عروقی و شبه‌انسولین-۱ تکثیر ژن توسط واکنش PCR Real time با استفاده از مستر میکس سایبرگرین (Applied Biosystems, Foster City, CA)، 7300 انجام شد.

غلیظ به دست آمده برای محافظت از اکسیداسیون، درون ظروف تیره‌رنگ به همراه روکشی از کاغذ آلومینیوم و در دمای ۰ تا ۴ درجه نگهداری شد. عصاره برگ گیاه مورد به نسبت حجمی ۱ به ۱ با روغن زیتون ترکیب شد.

حیوانات آزمایشگاهی

برای انجام این آزمایش از ۳۶ موش نر سوری در محدوده وزنی ۳۵ تا ۴۵ گرم استفاده شد و با شرایط آزمایشگاهی مناسب در شرایط استاندارد ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی و نیز رطوبت نسبی مناسب هوا و دمای 22 ± 2 نگهداری شدند تا با محیط سازگار شوند.

روش ایجاد زخم

برای ایجاد زخم در موش‌ها، با رعایت حقوق حیوانات و از طریق تزریق صفاقی از ماده کتامین زایلازین با نسبت ۱:۱۰ به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن برای بیهوشی موش‌ها استفاده شد. موهای ناحیه‌ای که برای ایجاد زخم در نظر گرفته شد در پشت حیوان کامل با تیغ تراشیده شد و پوست این ناحیه با الکل ۷۰ درصد استریل شد. سپس با استفاده از تیغ استریل و رعایت همه اصول جراحی، زخم 1×1 سانتی‌متری در پشت حیوان ایجاد شد.

گروه‌بندی موش‌ها و درمان زخم با عصاره برگ مورد

پس از ایجاد زخم، در این مرحله حیوانات به صورت تصادفی به ۳ گروه ۱۲ تایی تقسیم شدند: گروه اول، گروه کنترل بود که هیچ نوع زخمی در بدن موش‌ها ایجاد نشد. گروه دوم که گروه مورد مطالعه ما هستند، زخم در پشت آن‌ها ایجاد شد و روزانه یک نوبت به مدت ۱۵ روز با پماد تهیه شده از ترکیب عصاره برگ مورد و روغن زیتون تیمار شدند. گروه سوم نیز مانند گروه دوم، زخم در بدن آن‌ها ایجاد شد و روزانه یک نوبت با استفاده از نرمال سالین تیمار شدند.

نمونه‌برداری برای بررسی میزان بیان ژن

در فاصله هر ۵ روز ۴ حیوان از هر گروه با استفاده از دز کشنده ماده کتامین زایلازین کشته و بیوپسی شدند و پوست ناحیه زخم در حال ترمیم جدا شد. برای بررسی میزان بیان ژن‌های فاکتورهای رشد فیبروبلاستی-۱، اپیدرمال، آندوتلیال عروقی و شبه‌انسولین-۱ از روش Real Time PCR استفاده شد.

استخراج RNA

در این مطالعه برای بررسی‌های مولکولی از تکنیک Real Time PCR برای ارزیابی میزان بیان ژن‌های فاکتورهای رشد فیبروبلاستی-۱، اپیدرمال، آندوتلیال عروقی و شبه‌انسولین-۱ استفاده شد. استخراج RNA با استفاده از کیت‌های استخراج

جدول ۱. توالی آغازگرهای طراحی شده ژنهای فاکتورهای رشد فیبروبلاستی-۱، اپیدرمال، آندوتلیال عروقی، شبه انسولین-۱ و هیپوگزانتین فسفو ریبوزیل ترانسفراز

نام ژن	توالی آغازگرها	طول قطعه (جفت باز)	دمای اتصال
EGF	F: 5'-CCCAGGCAACGTATCAAAGT-3' R: 5'-GGTCATACCCAGAAAGCAA-3'	۱۹۸	۶۰ تا ۵۵
VEGF	F: 5'-TCCTCCTATCTCCACCTATCC-3' R: 5'-GACCAGCCAGCCATACCC-3'	۱۸۹	۶۰ تا ۵۵
FGF-1	F: 5'--CCCTGACCGAGAGGTTCAAC3' R: 5'--GTCCCTTGCCCATCCACG3'	۱۲۲	۶۰ تا ۵۵
IGF-1	F: 5'-AGTACAGCAGAAGTGTGGAGAAGA-3' R: 5'-GGTGTGTGCTTGACTTCTCGT-3'	۱۸۹	۶۰ تا ۵۵
HPRT	F: 5' CACAGGACTAGAACACCTGC-3' R: 5'-GCTGGTGA AAAAGGACCTCT-3'	۱۳۱	۶۰ تا ۵۵

F:Forward, R:Reverse

مجله
 دانشگاه علوم پزشکی قم

دستگاه استخراج شد. داده‌های CT برای تعیین مقدار هر ژن / mRNA موجود نسبت به هر نمونه استفاده شد و تغییر نسبی سطح RNA هدف با استفاده از رابطه $2^{-\Delta\Delta CT}$ (لیواک و اشمیتگن ۲۰۰۱) محاسبه شد.

بررسی تکثیر اختصاصی محصولات Real Tme PCR

برای بررسی اختصاصیت پرایمرهای طراحی شده و حصول اطمینان از تکثیر قطعات اختصاصی هر ژن و عدم حضور محصولات غیراختصاصی و پرایمر دایمر، محصولات نهایی حاصل از Real Tme PCR روی ژل ۱ درصد آگارز بارگذاری و الکتروفورز شدند. در این بررسی، محصولات بارگذاری شده، تنها یک باند (تک‌باند) را روی ژل نشان می‌دهند که می‌توان به اختصاصی بودن پرایمرهای طراحی شده و نبود آلودگی پی برد. همچنین با مشاهده تک‌باند قوی برای هر پرایمر می‌توان استنباط کرد که

تعیین کمیت نسبی در Real time PCR به وسیله اندازه‌گیری افزایش تشعشع فلورسنس در نتیجه اتصال رنگ سایبرگرین انجام شد. اجزای واکنش Real time PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر و غلظت نهایی مواد در جدول شماره ۲ نشان داده شده است.

برنامه حرارتی برای تکثیر ژن‌ها با استفاده از روش Real time PCR مطابق جدول شماره ۳ بود. از هیپوگزانتین فسفو ریبوزیل ترانسفراز به عنوان ژن کنترل استفاده شد. منحنی‌های استاندارد نسبی با رقت‌های سریال تولید شده و همه نمونه‌ها در ۳ نسخه اجرا شدند. توالی آغازگرهای PCR در جدول شماره ۱ ذکر شده است. منحنی ذوب به وسیله اندازه‌گیری تغییرات میزان فلورسنس در زمان‌های مختلف به وسیله دستگاه Real time PCR رسم شد. پس از انجام واکنش تکثیر به روش Relative Quantitative Real time PCR، داده‌های خام به صورت CT از

جدول ۲. اجزای واکنش استاندارد Real time PCR

مواد واکنش	حجم برای یک نمونه
آب دیونیزه	۱۱/۲ میکرولیتر
cDNA	۲ میکرولیتر
منیزیم کلرید	۱/۵ میکرولیتر
پرایمر پیشرو	۰/۱۵ میکرولیتر
پرایمر معکوس	۰/۱۵ میکرولیتر
مخلوط آماده سایبرگرین	۱۰ میکرولیتر
حجم کل	۲۵ میکرولیتر

مجله
 دانشگاه علوم پزشکی قم

جدول ۳. برنامه دمایی تکثیر ژن‌های فاکتورهای رشد فیبروبلاستی-۱، اپیدرمال، آندوتلیال عروقی، شبه‌انسولین-۱ و HPRT با استفاده از روش Real time PCR

دما (بر حسب درجه سانتی‌گراد)					طول دوره (ثانیه)	مراحل سنجش (بخش‌ها)
IGF-1	FGF-1	EGF	VEGF	HPRT		
۹۵	۹۵	۹۵	۹۵	۹۵	۱۵	واسرشته سازی
۵۷	۵۴	۵۳	۵۷/۵	۶۰	۱۰	اتصال آغازگر
۷۲	۷۲	۷۲	۷۲	۷۲	۲۰	گسترش
۸۰	۷۶	۸۸	۸۰	۸۶	۳	جذب فلورسنت

بررسی میزان بیان ژن فاکتور رشد فیبروبلاستی-۱

نتایج حاصل از بررسی میانگین میزان بیان ژن فاکتور رشد فیبروبلاستی-۱ نشان داد که افزایش معناداری در میزان بیان ژن گروه تیمار با ترکیب عصاره برگ مُورد و روغن زیتون پس از ۵، ۱۰ و ۱۵ روز نسبت به گروه تیمار با سالیین و کنترل اتفاق افتاد ($P < 0/05$). بیشترین میزان بیان ژن فاکتور رشد فیبروبلاستی-۱ نیز پس از گذشت ۱۵ روز با تیمار عصاره برگ مُورد و روغن زیتون با میانگین ۱۰۹۸/۳۷ مشاهده شد (تصویر شماره ۲).

بررسی میزان بیان ژن فاکتور رشد شبه‌انسولین-۱

نتایج حاصل از بررسی میانگین میزان بیان ژن فاکتور رشد شبه‌انسولین-۱ نشان داد که افزایش معناداری در میزان بیان ژن گروه تیمار با ترکیب عصاره برگ مُورد و روغن زیتون پس از ۵، ۱۰ و ۱۵ روز نسبت به گروه تیمار با سالیین و کنترل اتفاق افتاد ($P < 0/05$). بیشترین میزان بیان ژن فاکتور رشد شبه‌انسولین-۱ نیز پس از گذشت ۱۵ روز با تیمار عصاره برگ مُورد و روغن زیتون با میانگین ۱۲۴/۰۳ مشاهده شد (تصویر شماره ۲).

بررسی میزان بیان ژن فاکتور رشد اپیدرمال

نتایج حاصل از بررسی میانگین میزان بیان ژن فاکتور رشد اپیدرمال نشان داد که افزایش معناداری در میزان بیان ژن گروه تیمار با ترکیب عصاره برگ مُورد و روغن زیتون پس از ۵، ۱۰ و ۱۵ روز نسبت به گروه تیمار با سالیین و کنترل اتفاق افتاد ($P < 0/05$). بیشترین میزان بیان فاکتور رشد اپیدرمال نیز پس از گذشت ۱۵ روز با تیمار عصاره برگ مُورد و روغن زیتون با میانگین ۶۸/۸۹ مشاهده شد (تصویر شماره ۲).

بررسی میزان بیان ژن فاکتور رشد آندوتلیال عروقی

نتایج حاصل از بررسی میانگین میزان بیان ژن فاکتور رشد آندوتلیال عروقی نشان داد که افزایش معناداری در میزان بیان ژن گروه تیمار با ترکیب عصاره برگ مُورد و روغن زیتون پس

شرایط بهینه برای واکنش PCR وجود داشته و نکات اصلی در طراحی هر پرایمر شامل میزان GC، دمای T_m و اندازه پرایمر به درستی انتخاب شده است که به این ترتیب از تکثیر قطعات غیراختصاصی و پرایمر دایمرها جلوگیری شد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

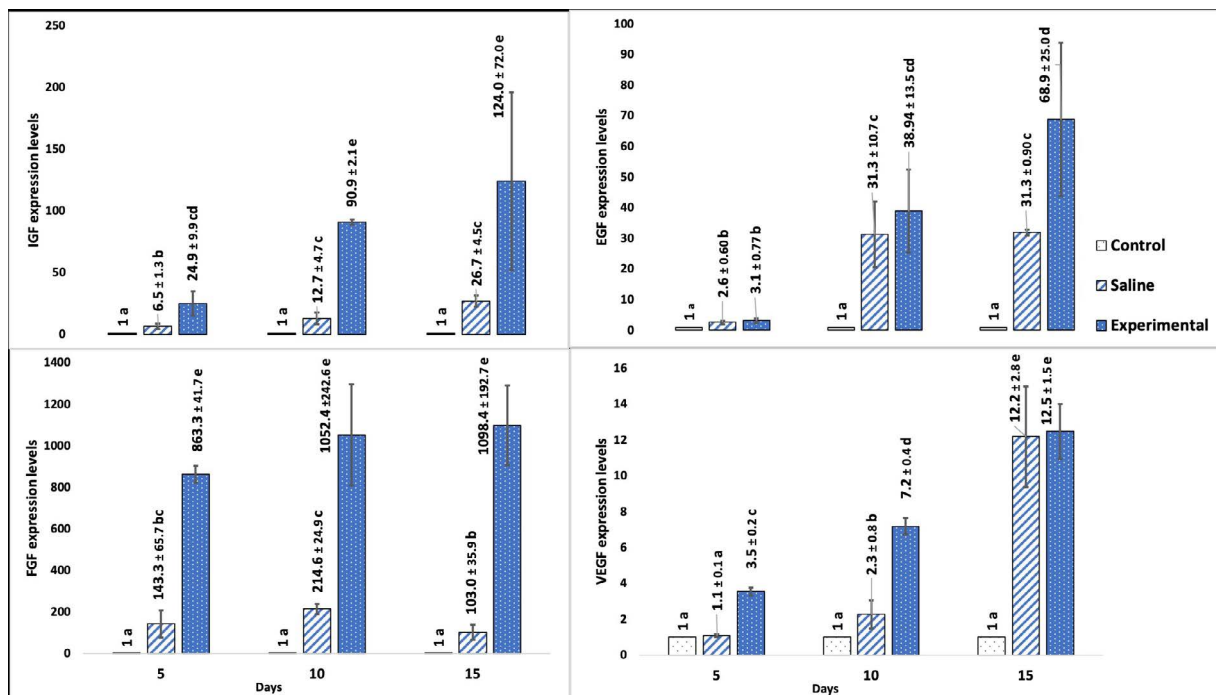
تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از روش تجزیه واریانس در نرم‌افزار R انجام شد. همچنین مقایسه دوبه‌دوی میانگین تیمارها نیز با استفاده از روش توکی انجام شد و گروه‌های دارای اختلاف معنادار با حروف الفبایی متفاوت مشخص شدند. مقدار $P < 0/05$ معنادار در نظر گرفته شد. نمودارها در محیط نرم‌افزار اکسل ترسیم شد.

یافته‌ها

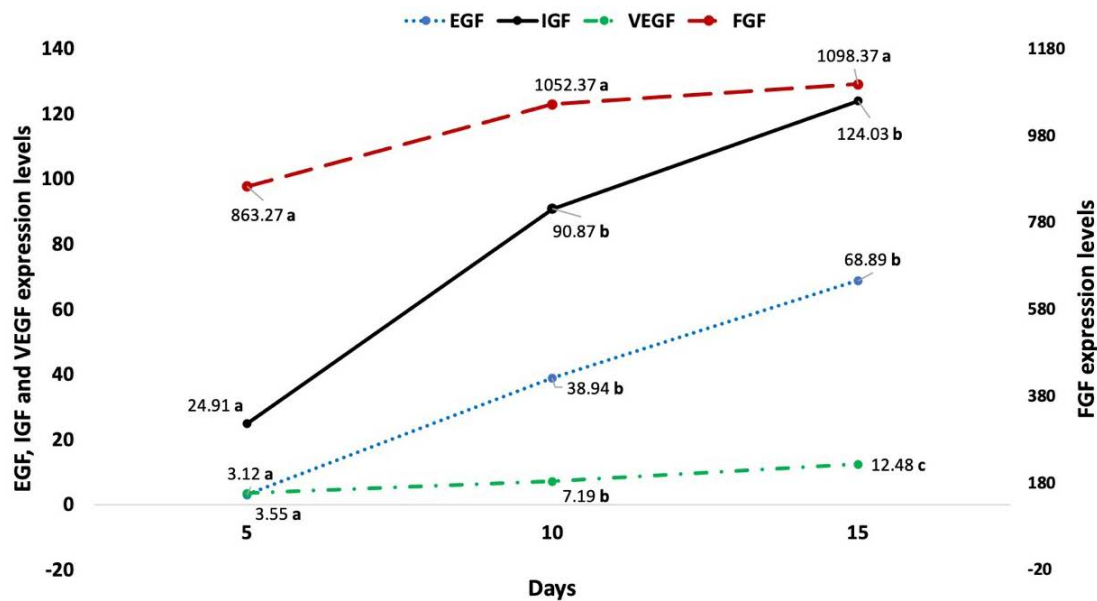
بررسی تکثیر اختصاصی محصولات Real Time PCR

ژن فاکتور رشد اپیدرمال باند ۱۹۸ جفت‌بازی (bp)، ژن فاکتورهای رشد آندوتلیال عروقی و شبه‌انسولین-۱ باند ۱۸۹ جفت‌بازی (bp)، ژن فاکتور رشد فیبروبلاستی-۱ باند ۱۲۲ جفت‌بازی (bp) و همچنین ژن هیپوگزانتین فسفو ریبوزیل ترانسفراز باند ۱۳۱ جفت‌بازی (bp) روی ژل آگارز دارد و از آنجا که این ۵ ژن باند اختصاصی دادند، یعنی تک‌باند روی ژل ظاهر شدند، پس می‌توان نتیجه گرفت که پرایمر دایمر ندارند و پرایمرهای طراحی شده برای این ۳ ژن اختصاصی عمل می‌کنند (تصویر شماره ۱).

نتایج مربوط به اندازه‌گیری میزان بیان ژن‌های فاکتورهای رشد فیبروبلاستی-۱، اپیدرمال، آندوتلیال عروقی و شبه‌انسولین-۱ با روش Real Time PCR در گروه کنترل، سالیین و ترکیب عصاره مُورد و روغن زیتون در تصویر شماره ۲ نشان داده شده است.



تصویر ۱. میانگین \pm انحراف معیار میزان بیان ژن‌های فاکتورهای رشد فیبروبلاستی-۱، اپیدرمال، آندوتلیال عروقی و شبه‌انسولین-۱ با روش Real Time PCR در گروه کنترل، سالین و ترکیب عصاره مورد و روغن زیتون در روند ترمیم زخم، میانگین‌های دارای حروف الفبایی متفاوت، اختلاف آماری معنادار در سطح ۰/۰۵ دارند.



تصویر ۲. مقایسه میزان بیان ژن‌های فاکتورهای رشد فیبروبلاستی-۱، اپیدرمال، آندوتلیال عروقی و شبه‌انسولین-۱ با روش Real Time PCR تحت تیمار با ترکیب عصاره مورد و روغن زیتون در روند ترمیم زخم، میانگین‌های دارای حروف الفبایی متفاوت، اختلاف آماری معنادار در سطح ۰/۰۵ دارند.

در مطالعه قبلی که نعمتی و همکاران روی ترکیب عصاره برگ مُورد و روغن زیتون بر بهبود زخم پوستی موش‌های Balb/c در مقایسه با کرم سولفادیازین نقره ۱ درصد انجام دادند، نشان داده شد که تیمار با ترکیب عصاره اتانولی برگ گیاه مُورد و روغن زیتون موجب افزایش معناداری در درصد بهبود زخم، ضخامت پوست، قطر فولیکول‌های مو، نسبت به گروه دریافت‌کننده کرم سولفادیازین نقره ۱ درصد شد. همچنین افزایش معناداری در میزان تشکیل کلاژن و رگ‌زایی مشاهده شد.

این نتایج نشان‌دهنده تسریع روند بهبود زخم در نمونه‌های تحت تیمار با ترکیب عصاره مُورد و روغن زیتون بوده است. آن‌ها همچنین نشان دادند استفاده از عصاره برگ مُورد و روغن زیتون باعث تسریع انتقال از مرحله التهابی به مرحله هایپرپلازی فیبروبلاست به‌دلیل افزایش در سنتز کلاژن و عروق خونی می‌شود [۱۲].

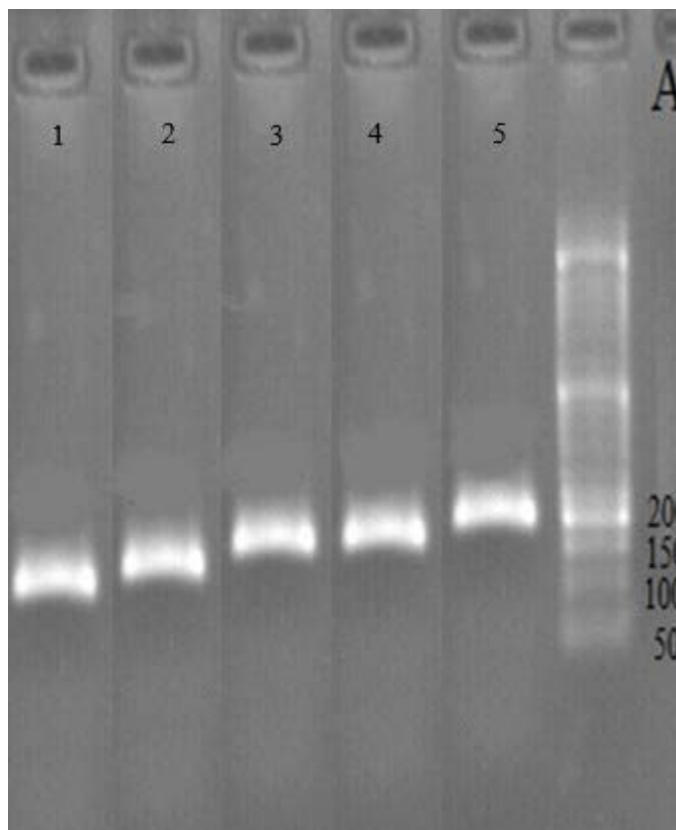
آلم و همکاران در مطالعه خود نشان دادند که تیمار با پماد عصاره برگ مُورد باعث تسریع در آغاز فرایند بهبود شده و باعث افزایش سرعت گذر از فاز التهابی و وارد شدن به فاز فیبروپلازی

از ۵، ۱۰ و ۱۵ روز نسبت به گروه تیمار با سالیین و کنترل اتفاق افتاد ($P < 0/05$). بیشترین میزان بیان ژن فاکتور رشد آندوتلیال عروقی نیز پس از گذشت ۱۵ روز با تیمار عصاره برگ مُورد و روغن زیتون با میانگین ۱۲/۴۸ مشاهده شد (تصویر شماره ۲).

نتایج حاصل از مقایسه میزان بیان ۴ ژن ذکرشده در تصویر شماره ۳ نشان داد که تیمار با ترکیب عصاره مُورد و روغن زیتون بیشترین تأثیر را در افزایش بیان ژن فاکتور رشد فیبروبلاستی-۱ (به مقدار ۱۰۹۸/۳۷) نسبت به سایر ژن‌های اندازه‌گیری شده دارد.

بحث

نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان داد که تیمار با ترکیب عصاره اتانولی برگ مُورد و روغن زیتون در محل زخم، موجب افزایش بیان ژن‌های فاکتورهای رشد آندوتلیال عروقی و شبه‌انسولین-۱ و به‌عنوان عوامل مهم در ترمیم زخم‌های پوستی در موش‌ها شد. نتایج حاصل از این پژوهش نشان می‌دهد ترکیب عصاره برگ مُورد و روغن زیتون در تسریع روند ترمیم زخم‌های پوستی مؤثر است.



تصویر ۳. بررسی تکثیر اختصاصی محصولات Real Time PCR روی ژل آگارز. شماره ۱ مربوط به ژن فاکتور رشد فیبروبلاستی-۱ با طول ۱۲۲ جفت‌باز، شماره ۲ مربوط به ژن هیپوکزانترین فسفو ریبوزیل ترانسفراز با طول ۱۳۱ جفت‌باز، شماره ۳ و ۴ مربوط به ژن فاکتور رشد آندوتلیال عروقی و فاکتور رشد شبه‌انسولین-۱ با طول ۱۸۹ جفت‌باز و شماره ۵ مربوط به ژن فاکتور رشد اپیدرمال با طول ۱۹۸ جفت‌باز است.

و در نهایت در افزایش روند بهبود زخم می‌شود [۱۱۳]. قرب غاز زاده و همکاران و همکاران نشان دادند که پماد گیاه مورد موجب تعدیل التهاب و مانع از تخریب بیشتر بافتی می‌شود و همچنین در مطالعه‌ای که روی تأثیر آلونهورا بر ترمیم زخم انجام دادند، به این نتیجه دست یافتند که خانواده فاکتور رشد اپیدرمی از پلاکت‌ها و ماکروفاژها در محل آسیب و زخم در بافت تولید و ترشح شده و پس از ترشح در روند تقسیم میتوز، اپی‌تلیزاسیون، مهاجرت گلبول‌های سفید به محل زخم و تا حد کمتری در آنژیوژنز و افزایش ترشح رشته‌های کلاژن در محل زخم فعالیت می‌کنند و ژن فاکتور رشد اپیدرمال باعث ترمیم زخم در موش‌های مورد آزمایش می‌شود [۱۱۴].

همچنین ژو و همکاران با مطالعه روی تأثیر فاکتور رشد فیبروبلاستی بنیادی در ترمیم جای زخم به این نتیجه رسیدند که افزایش میزان بیان فاکتور رشد فیبروبلاستی-۱ تأثیر بسزایی در ترمیم جای زخم دارد [۲۱]. خانواده فاکتور رشد اپیدرمال با رگزایی و اپی‌تلیزاسیون رگ ارتباط قوی دارند [۲۲-۲۵]. لیگندهای فاکتور رشد اپیدرمال به گیرنده‌های خود متصل شده و رگزایی و مهاجرت سلول‌های آندوتلیال را در محل زخم افزایش می‌دهند [۲۶]. در مطالعه حاضر، افزایش بیان ژن فاکتور رشد اپیدرمال در روند ترمیم زخم بسیار چشم‌گیر بوده و این تأثیر به‌خصوص در روز ۱۵ آزمایش بیشتر از روزهای دیگر بوده است.

نقش آنتی‌اکسیدانی قوی ویتامین‌های E، A، C و ترکیبات فلاونویدی و عناصری مثل روی، مس و سلنیوم در تسریع ترمیم زخم به کرات ثابت شده است [۲۷]. بر اساس یافته‌های ملگیزو رودریگز و همکاران، زیتون حاوی مقادیر زیادی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی است که حضور این ترکیبات نقش مؤثری در ترمیم بافت‌های تخریب‌شده و التیام زخم‌های پوستی دارد. این امر به خاصیت آنتی‌اکسیدانی پلی‌فنل‌های آن مربوط می‌شود و در خصوص مقاومت در برابر استرس اکسیداتیو (بالا بردن غلظت لیپوپروتئین‌های با دانسیته بالا و پایین آوردن لیپوپروتئین‌های با دانسیته پایین) روغن زیتون مؤثرتر از ترکیباتش به صورت مجزاست [۲۸].

نتیجه‌گیری

یافته‌های پژوهش حاضر نشان‌دهنده تأثیرگذاری چشم‌گیر ترکیب عصاره برگ مورد و روغن زیتون در تسریع دوره ترمیم کامل در محل زخم‌هاست. مطالعات مولکولی در تحقیق حاضر نشان‌دهنده تأثیر مثبت ترکیب عصاره برگ مورد و روغن زیتون بر بیان ژن فاکتور رشد آندوتلیال عروقی، فاکتور رشد اپیدرمال، فاکتور رشد فیبروبلاستی-۱ و فاکتور رشد شبه‌انسولین-۱ در پوست آسیب‌دیده موش‌ها و سرعت ترمیم و بهبود زخم از طریق افزایش بیان فاکتورهای رشد مذکور و خون‌رسانی به محل زخم است.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

این مقاله با شماره ۱۱۶۶۲ و با کد اخلاق IR.MAZUMS. REC.1400.539 به تأیید کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی مازندران رسیده است.

ایشی و همکاران و ویجیوان و همکاران در پژوهش خود که بر رسپتور فاکتور رشد اپیدرمی^۶ انجام دادند، نشان دادند که رسپتور فاکتور رشد اپیدرمی موجب افزایش تکثیر سلولی در محل زخم می‌شود و مقدار رسپتور فاکتور رشد اپیدرمی‌ای که در یک زخم بیان می‌شود، به‌طور قابل‌توجهی با میزان ترمیم زخم در ارتباط است. مشخص شد که فاکتور رشد اپیدرمال رگزایی را از طریق مسیر فسفاتیدیل اینوزیتول ۳-کیناز / پروتئین کیناز (pl3k/Akt) B و سیگنال‌دهی خارج سلولی تنظیم‌کننده 2/1 (ERK1/2) از طریق مسیرهای با واسطه فاکتور رشد آندوتلیال عروقی افزایش می‌دهد [۱۵]. همچنین فاکتور رشد اپیدرمال یک جاذب شیمیایی قوی برای مهاجرت کراتینوسیت‌ها برای اپی‌تلیزاسیون زخم است [۱۶].

باسو و همکاران در مطالعه‌ای که بر میزان انتقال فاکتور رشد بتا و فاکتور رشد شبه‌انسولینی در محل ترمیم زخم پرداختند، به این نتیجه دست یافتند که فاکتور رشد شبه‌انسولینی-۱ همراه با سایر فاکتورهای رشد نظیر فاکتور رشد مشتق از پلاکت‌ها^۷ نقش مهمی در فرایند ترمیم زخم داشته، به‌طوری که باعث افزایش ضخامت درم و اپیدرم می‌شوند [۱۷].

در پژوهش دیگری که بالاجی و همکاران درباره فاکتور رشد شبه‌انسولین-۱ انجام دادند، نشان داده شد که این فاکتور رشد یک کراتینوسیت میتوز است و از طریق مسیر وابسته به فاکتور رشد آندوتلیال عروقی (فاکتور رشد آندوتلیال عروقی) باعث رگزایی و بهبود زخم می‌شود [۱۸]. خانواده فاکتور رشد آندوتلیال عروقی نقش مهمی در نفوذپذیری عروق خونی و اتساع عروق دارد. نشان داده شده است که فاکتور رشد آندوتلیال عروقی رشد عروق خونی جدید را در طول زخم تثبیت می‌کند [۱۹].

خون و عوامل مشتق از خون حاوی فاکتورهای رشد و سیتوکین‌هایی هستند که می‌توانند روند ترمیم زخم طبیعی را بهبود بخشند. انتقال تعداد زیادی از فاکتورهای رشد از قبیل

6. Epidermal Growth Factor Receptor (EGF-R)
7. Platelet-derived growth factor (PDGF)

حامی مالی

این پژوهش هیچ‌گونه کمک مالی از سازمان‌های دولتی، خصوصی و غیرانتفاعی دریافت نکرده است.

مشارکت‌نویسندگان

تمام نویسندگان در طراحی، اجرا و نگارش همه بخش‌های پژوهش حاضر مشارکت داشته‌اند.

تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان، این مقاله تعارض منافع ندارد.

References

- [1] Kebriti K, Naderi MS, Tabaie SM, Hesami Tackloul S. [Herbal medicine efficiency in wound healing (Persian)]. *J Lasers Med.* 2020; 16(4):41-32. [\[Link\]](#)
- [2] Alvites R, Branquinho M, Sousa AC, Lopes B, Sousa P, Maurício AC. Mesenchymal stem/stromal cells and their paracrine activity-immunomodulation mechanisms and how to influence the therapeutic potential. *Pharmaceutics.* 2022; 14(2):381. [\[DOI:10.3390/pharmaceutics14020381\]](#) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)
- [3] Garoufalia Z, Papadopetraki A, Karatza E, Vardakostas D, Philippou A, Kouraklis G, et al. Insulin-like growth factor-I and wound healing, a potential answer to non-healing wounds: A systematic review of the literature and future perspectives. *Biomed Rep.* 2021; 15(2):66. [\[DOI:10.3892/br.2021.1442\]](#) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)
- [4] Scala P, Rehak L, Giudice V, Ciaglia E, Puca AA, Selleri C, et al. Stem cell and macrophage roles in skeletal muscle regenerative medicine. *Int J Mol Sci.* 2021; 22(19):10867. [\[DOI:10.3390/ijms221910867\]](#) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)
- [5] Garoufalia Z, Papadopetraki A, Karatza E, Vardakostas D, Philippou A, Kouraklis G, et al. Insulin-like growth factor-I and wound healing, a potential answer to non-healing wounds: A systematic review of the literature and future perspectives. *Biomed Rep.* 2021; 15(2):66. [\[DOI:10.3892/br.2021.1442\]](#) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)
- [6] Blanco-Fernandez B, Castaño O, Mateos-Timoneda MÁ, Engel E, Pérez-Amodio S. Nanotechnology approaches in chronic wound healing. *Adv Wound Care.* 2021; 10(5):234-56. [\[DOI:10.1089/wound.2019.1094\]](#) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)
- [7] Zhu Y, Wang Y, Jia Y, Xu J, Chai Y. Roxadustat promotes angiogenesis through HIF-1 α /VEGF/VEGFR2 signaling and accelerates cutaneous wound healing in diabetic rats. *Wound Repair Regen.* 2019; 27(4):324-34. [\[DOI:10.1111/wrr.12708\]](#) [\[PMID\]](#)
- [8] Haj Ebrahimi Z, Naderi MS, Tabaie SM. [Study of gene expression and nanotechnology in wound healing process (Persian)]. *J Lasers Med.* 2016; 13(2 & 3):50-63. [\[Link\]](#)
- [9] Rezaie A, Mohajeri D, Khamene B, Nazeri M, Shishehgar R, Zakhireh S. Effect of myrtus communis on healing of the experimental skin wounds on rats and its comparison with zinc oxide. *Curr Res J Biol Sci.* 2012; 4(2):176-85. [\[Link\]](#)
- [10] Goli M, Samare Mousavi S, Rahbarian R, Rajabiyan M. [The effect of crocin and safranal components of saffron on skin wound healing in streptozotocin-induced diabetic rat (Persian)]. *Jundishapur Sci Med J.* 2022; 21(1):42-53. [\[DOI:10.32598/JSMJ.21.1.2358\]](#)
- [11] Massoud D, Fouda MMA, Sarhan M, Salama SG, Khalifa HS. Topical application of Aloe gel and/or olive oil combination promotes the wound healing properties of streptozotocin-induced diabetic rats. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2022; 29(39):59727-35. [\[DOI:10.1007/s11356-022-20100-9\]](#) [\[PMID\]](#)
- [12] Nemati F, Ataee R, Gorji F, Houseini ST, Lotfvarzi A, Bagheri Hashem Abad A. [The effect of combining mord (Myrtus communis) leaf extract and olive oil (Olea europaea) in comparison with silver sulfadiazine cream on skin wound healing in Balb/c mice (Persian)]. *Sci Res Q J Biol Sci Iran.* 2022; 16(4):15-24. [\[link\]](#)
- [13] Aleem M, Anis M. Therapeutic potential of Habb-ul-Aas (Myrtus communis Linn.) with unani perspective and modern pharmacology: A review. *J Pharmacogn Phytochemistry.* 2021; 10(1):910-23. [\[DOI:10.22271/phyto.2021.v10.i1m.13452\]](#)
- [14] Gharaboghaz MNZ, Farahpour MR, Saghaie S. Topical co-administration of Teucrium polium hydroethanolic extract and Aloe vera gel triggered wound healing by accelerating cell proliferation in diabetic mouse model. *Biomed Pharmacother.* 2020; 127:110189. [\[DOI:10.1016/j.biopha.2020.110189\]](#) [\[PMID\]](#)
- [15] Ishii T, Warabi E, Mann GE. Mechanisms underlying unidirectional laminar shear stress-mediated Nrf2 activation in endothelial cells: Amplification of low shear stress signaling by primary cilia. *Redox Biol.* 2021; 46:102103. [\[DOI:10.1016/j.redox.2021.102103\]](#) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)
- [16] Vijayan A, Sabareeswaran A, Vinod Kumar GS. PEG grafted chitosan scaffold for dual growth factor delivery for enhanced wound healing. *Sci Rep.* 2019; 9(1):19165. [\[DOI:10.1038/s41598-019-55214-7\]](#) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)
- [17] Basu S, Goswami AG, David LE, Mudge E. Psychological stress on wound healing: A silent player in a complex background. *Int J Low Extrem Wounds.* 2022; 15347346221077571. [\[DOI:10.1177/15347346221077571\]](#) [\[PMID\]](#)
- [18] Balaji S, LeSaint M, Bhattacharya SS, Moles C, Dhamija Y, Kidd M, et al. Adenoviral-mediated gene transfer of insulin-like growth factor 1 enhances wound healing and induces angiogenesis. *J Surg Res.* 2014; 190(1):367-77. [\[DOI:10.1016/j.jss.2014.02.051\]](#) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)
- [19] Johnson T, Zhao L, Manuel G, Taylor H, Liu D. Approaches to therapeutic angiogenesis for ischemic heart disease. *J Mol Med.* 2019; 97(2):141-51. [\[DOI:10.1007/s00109-018-1729-3\]](#) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)
- [20] Zhang Y, Wang ZL, Deng ZP, Wang ZL, Song F, Zhu LL. Emerging delivery strategies of platelet-rich plasma with hydrogels for wound healing. *Adv Polym Technol.* 2022; 2022:1-11. [\[DOI:10.1155/2022/5446291\]](#)
- [21] Zhu J, Zhang M, Gao Y, Qin X, Zhang T, Cui W, et al. Tetrahedral framework nucleic acids promote scarless healing of cutaneous wounds via the AKT-signaling pathway. *Signal Transduct Target Ther.* 2020; 5(1):120. [\[DOI:10.1038/s41392-020-0173-3\]](#) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)
- [22] Koike Y, Yozaki M, Utani A, Murota H. Fibroblast growth factor 2 accelerates the epithelial-mesenchymal transition in keratinocytes during wound healing process. *Sci Rep.* 2020; 10(1):18545. [\[DOI:10.1038/s41598-020-75584-7\]](#) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)
- [23] Tottoli EM, Dorati R, Genta I, Chiesa E, Pisani S, Conti B. Skin wound healing process and new emerging technologies for skin wound care and regeneration. *Pharmaceutics.* 2020; 12(8):735. [\[DOI:10.3390/pharmaceutics12080735\]](#) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)
- [24] Bártolo I, Reis RL, Marques AP, Cerqueira MT. Keratinocyte growth factor-based strategies for wound re-epithelialization. *Tissue Eng Part B Rev.* 2022; 28(3):665-76. [\[DOI:10.1089/ten.teb.2021.0030\]](#) [\[PMID\]](#)

- [25] Blaber SI, Diaz J, Blaber M. Accelerated healing in NONcN-ZO10/LtJ type 2 diabetic mice by FGF-1. *Wound Repair Regen.* 2015; 23(4):538-49. [DOI:10.1111/wrr.12305] [PMID]
- [26] Ronca R, Giacomini A, Rusnati M, Presta M. The potential of fibroblast growth factor/fibroblast growth factor receptor signaling as a therapeutic target in tumor angiogenesis. *Expert Opin Ther Targets.* 2015; 19(10):1361-77. [DOI:10.1517/14728222.2015.1062475] [PMID]
- [27] Michalak M, Pierzak M, Kręcisz B, Suliga E. Bioactive compounds for skin health: A review. *Nutrients.* 2021; 13(1):203. [DOI:10.3390/nu13010203] [PMID] [PMCID]
- [28] Melguizo-Rodríguez L, de Luna-Bertos E, Ramos-Torrecillas J, Illescas-Montesa R, Costela-Ruiz VJ, García-Martínez O. Potential effects of phenolic compounds that can be found in olive oil on wound healing. *Foods.* 2021; 10(7):1642. [DOI:10.3390/foods10071642] [PMID] [PMCID]