NCMBJ
Research article

New Cell Mol Biotech
j.12/48 , 2022

Scan online to view this article

The effect of *Sargassum ilicifolium* extract on *TGFβ1* and *VEGFA* gene expression during on skin linear wound healing in rats

Niloofar Cheraghi, Mitra Heidari Nasrabadi*

Department of Biology, Faculty of Life Sciences, Parand Branch, Islamic Azad university,parand,iran

Abstract

Aim and Background: *Sargassum ilicifolium* is a multicellular brown algae that contains beta-carotene and fucoxanthin pigments, soluble acids of immune stimulants such as phycocyanin, polysaccharide, iron, zinc and essential amino acids, which promote safety. In this study, the effect of *Sargassum iliisifolium* algae extract on linear wound healing percentage and its effect on *TGF β 1* and *VEGFA* gene expression in rats were investigated.

Material and Methods: This research is an experimental study that was performed in the laboratory of Parand University of Medical Sciences. For this study, 30 male Wistar rats weighing 180 gr were used and 2 cm deep linear dermis was created from the neck to the waist of rats. Mice were divided into 3 groups of ten: The control group,The group received alpha ointment as a positive control drug and The group algae extract of *Sargassum iliisifolium*. The groups were examined for both wound size and expression of *VEGFA* and *TGFB1* genes.

Results: The alpha group had a 10.38 fold increase in *TGFB1* gene expression compared to the control group, with a probability value of P <0.001. Compared with the algal group and the control group, it had a 5.39 increase in gene expression with a probability equal to P <0.001 . Also in assessing *VGEFA* gene expression :the alpha group significantly increased from the control group by 1.86 times the increase in gene expression with a probability value of p <0.044 , the *sargassum* algae group compared to the control group by 1.70 There is significant difference between the increase in expression and the probability value of p <0.040 . In terms of the percentage of wound healing, it shows that: the control group, reduced the wound length from 2 cm to 0.64 cm, the alpha group reduced the wound length from 2 cm to 0.5 cm and *sargassum* algae, the amount of wound has been reduced from 2 cm to 0.3 cm

Conclusion: *Sargassum iliisifolium* algae extract due to its antibacterial, anti-inflammatory, antioxidant and antimicrobial properties and due to the presence of alginate in it biometrically heals wounds. Available in the market, however, *sargassum* algae extract make a significant difference in increasing the expression of *TGFβ1* and *VEFGA* gene .*sargasum* algae extract may use as a wound healer to heal skin damages.

Keywords: Injury, *Sargassum*, algae, *TGFβ1*, *VEGFA*, Real time PCR , Iau Science.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1401.12.48.3.2]

Corresponding author:
Department of Biology, Faculty of Life Sciences, Parand Branch, Islamic Azad university,parand,iran
Email: Heydarimitra45@gmail.com

مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی مولکولی
دوره ۱۲ - شماره۴۸ - پاییز۱۴۰۱
NCMBJ
مقاله پژوهشی

برای مشاهده این مقاله به صورت آنلاین اسکن کنید

تأثیر عصاره جلبک *سارگاسوم ایلیسیفولیوم* بر میزان بیان ژن *TGFβ1* و *VEGFA* در خلال ترمیم زخم خطی پوستی در رت

نیلوفر چراغی، میترا حیدری نصر آبادی*

گروه زیست-شناسی، دانشکده علوم زیستی، واحد پرند، دانشگاه آزاد اسلامی، پرند، ایران.

چکیده

سابقه و هدف: *سارگاسوم ایلیسیفولیوم* جلبک قهوه‌ای پرسلولی دریایی است که دارای رنگدانه‌های بتاکاروتین و فوکوگزانتین، اسیدهای حلال مواد محرک ایمنی مانند فیکوسیانین، پلی‌ساکارید، آهن، روی و اسیدهای آمینه ضروری است که سبب ارتقا ایمنی می‌گردد. در این پژوهش اثر عصاره جلبک *سارگاسوم* روی درصد بهبودی زخم خطی و تأثیر آن بر میزان بیان ژن *TGFβ۱* و *VEGFA* در رت بررسی شد.

مواد و روش‌ها: این پژوهش یک نوع مطالعه تجربی است که در آزمایشگاه دانشکده علوم زیستی پرند انجام شد. جهت انجام این مطالعه از ۳۰ سر رت نر، نژاد witasr به وزن ۱۸۰ گرم استفاده شد و از گردن به سمت کمر رت‌ها به طول ۲ سانتی‌متر به عمق درم زخم (Linear) ایجاد شد و موش‌ها به ۳ گروه ده‌تایی تقسیم شدند: گروه کنترل، گروه پماد آلفا به‌عنوان گروه کنترل مثبت و گروه پماد عصاره جلبک *سارگاسوم*. گروه‌ها هم از لحاظ اندازهٔ طول زخم و هم بیان دو ژن *VEGFA* و *TGFβ1* با استفاده از تکنیک Real time PCR مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته‌ها: گروه آلفا نسبت‌به گروه کنترل افزایش بیان ژن *TGFβ1* به میزان ۱۰/۳۸ برابر با احتمال P<۰/۰۰۱ داشته است، در مقایسهٔ گروه جلبک با گروه کنترل ۵/۳۹ برابر افزایش بیان ژن با احتمال P<۰/۰۰۱ داشته است. در ارزیابی بیان ژن *VGEFA*: گروه آلفا نسبت‌به گروه کنترل ۱/۸۶ برابر افزایش بیان ژن بااحتمال p< ۰/۰۴۴ و گروه جلبک *سارگاسوم* نسبت‌به گروه کنترل با۱/۷۰ برابر افزایش بیان ژن با احتمال p<۰/۰۴۰ مشاهده شد. از لحاظ درصد اندازه بهبود زخم: در گروه کنترل اندازهٔ طول زخم از ۲ cm به ۰/٦٤ cm، در گروه آلفا اندازهٔ طول زخم از ۲ cm به ۰/۵ cmو گروه جلبک *سارگاسوم* اندازهٔ زخم از۲ cm به ۰/۳ cm کاهش یافته است. نتایج نشان داد که از لحاظ اندازهٔ درصد بهبودی زخم پماد جلبک نسبت‌به پماد آلفا موجود در بازار از نظر بیومتری مؤثرتر بوده است، هم‌چنین با استفاده از Real time PCR تأیید شد که عصاره جلبک *سارگاسوم* سبب افزایش معنادار بیان ژن *TGFβ1* و*VEGFA* در مقایسه با گروه کنترل می شود.

نتیجه‌گیری: عصاره جلبک *سارگاسوم* به‌علت خواص ضد باکتریایی، ضد التهابی، آنتی اکسیدانی و به‌علت وجود آلژینات در آن از لحاظ بیومتری در فرآیند بهبود زخم مؤثر است، حتی نسبت‌به پماد آلفا موجود در بازار عملکرد بهتری داشته است و با توجه‌به اثر آن در افزایش معنادار بیان ژن *TGFβ1* و *VEGFA* پیشنهاد می‌شود این عصاره دارای توانایی برای درمان زخم است.

واژگان کلیدی: جراحت،جلبک *سارگاسوم*،*TGFβ1*،*VEGFA*،Real time PCR، Iau Science .

مقدمه

پوست از جمله بزرگترین بافت‌های بدن است که دائم در طول زندگی در حال گسترش و نوسازی است. پوست عملکردهای زیادی شامل تنظیم حرارت، هدایت حس‌های فیزیکی و عمل به‌عنوان سد مکانیکی برای حفاظت بدن در مقابل هجوم میکروارگانیسم‌ها و عوامل مضر محیطی از قبیل تابش اشعه، آسیب‌های مکانیکی و سوختگی‌های گرمایی و شیمیایی دارد (۱). در این بین ایجاد یک زخم می‌تواند منجر به جراحت پوستی شود. زخم یا جراحت در دانش پزشکی، آسیبی است که در آن پوست خراشیده، پاره، بریده، سوراخ یا

نویسنده مسئول:
گروه زیست-شناسی، دانشکده علوم زیستی، واحد پرند، دانشگاه آزاد اسلامی، پرند، ایران.
پست الکترونیکی: Heydarimitra45@gmail.com
تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۱/۰۶
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۲/۲۱

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.22285458.1401.12.48.3.2]

دریده شود یا به‌علت یک تروما با این‌که پوست سالم مانده ولی در زیر آن آثار قرمزی یا کبودی دیده شود (۲) در حال حاضر از داروها و پمادهای متعددی برای ترمیم زخم‌های باز استفاده می‌شود که هر کدام نواقص و محدودیت‌ها و اثرات جانبی متعددی دارند. از آنجائی‌که جلبک‌ها از گیاهانی هستند که در طب سنتی مورد استفاده فراوان داشته و به‌عنوان تسکین‌دهنده درد، ضداسپاسم و ضد التهاب کاربرد دارند. مطالعه‌های متعدد نشان داده است که منابع دریایی مختلف از قدرت ضد ویروسی و ضد قارچی و ضدباکتریایی بسیار خوبی برخوردارند به همین جهت تحقیقات به‌منظور دستیابی منابع نوین دارویی با منشاء دریایی که خواص ضد میکروبی دارند (۳) اهمیت فراوانی دارد از سوی دیگر جلبک‌ها به‌عنوان بخش مهمی از فلور سواحل جزر و مدی و تولیدکنندگان اولیه اکوسیستم‌های دریایی هستند که تنوع آن‌ها در نواحی جزر و مدی اقیانوس‌ها و دریاها تابع عوامل جغرافیایی و اقلیمی حاکم بر آن مناطق است. گزارش شده است که میزان تولیدات اولیه در بسترهای مرجانی و جلبکی می‌تواند از میزان تولیدات اولیه در جنگل‌های پرباران مناطق حاره‌ای تجاوز نماید. این منابع پر ارزش بیولوژیکی دارای کاربردهای گوناگون است که استفاده از جلبک‌ها به عنوان غذا و دارو بیش از سایر جنبه‌ها نظر انسان را به خود جلب کرده است (۴).

جلبک‌های دریایی از سه خانواده جلبک‌های سبز، جلبک‌های قرمز و جلبک‌های قهوه‌ای در فصول مختلفی از سال در سواحل جزر و مدی ایران یافت می‌شوند. متأسفانه در کشور ایران مطالعه‌های کمی روی خواص زیست فعال این منابع ارزشمند انجام گرفته است و مطالعه-های متعدد زیست فناوری در این زمینه ضروری است (۵).

جلبک‌های قهوه‌ای یا فئوفیت‌ها (phaeophyceae) کلاس ناهمگون Heterogeneous و بزرگی از جلبک‌ها را تشکیل می‌دهند که شامل Diatom و chrysophytes نیز می‌شوند. رنگ قهوه‌ای فئوفیت‌ها حاصل رنگدانه‌های کاروتنوئید و فوکوزانتین هستند. تاکنون مطالعه‌های متعددی در مورد طبقه‌بندی جلبک‌های قهوه‌ای انجام گرفته است. در حال حاضر، این جلبک‌ها در بیش از ۲۰۰۰ گونه در حدود ۳۰۰ جنس، حداقل ۵۰ خانواده و ۱۹ راسته توصیف شده‌اند (۶). اکوسیستم‌های بین جزر و مدی یکی از مهم‌ترین زیستگاه‌ها برای رشد جلبک‌های قهوه‌ای به‌شمار می-روند. این مناطق زیستگاه‌های ارزشمندی برای انواع موجودات زنده هستند. براساس گزارش‌های به‌دست آمده تعداد ۹ خانواده، ۲۷ جنس و به‌طور تقریبی ۸۰ گونه از جلبک‌های قهوه‌ای در ایران شناسایی شده است (۷).

ترکیب‌های ارزشمند رنگدانه‌های، فوکوزانتین (Fucoxanthin) که نمونه غالب کارتنوئید در جلبک-های قهوه‌ای است که کاربرد زیستی فراوانی به‌عنوان ضد چاقی، آنتی‌اکسیدان و هم‌چنین ضد التهاب دارد (۸).

جلبک قهوه‌ای *سارگاسوم* (phaeaphyceae sargassum) به‌عنوان گونه با پراکنش جغرافیایی گسترده در نواحی گرمسیری و معتدله دارای پیچیده-ترین طبقه‌بندی و غنی‌ترین گونه‌ها در بین جلبک‌های قهوه‌ای است. تاکنون ۳۳۶ گونه از جنس *سارگاسوم* شناسایی شده‌اند (۹). در مناطق پایین جزر و مدی و نواحی کم عمق زیر جزر و مدی گونه‌های *سارگاسوم* به‌عنوان بسترهای مناسب نوزادگاهی و تغذیه‌ای بسیاری از ریزموجودات نقش مهمی را ایفا می‌کنند. سیستم طبقه‌بندی اولیه که توسط Agardh ارائه گردید. شامل ۵ زیرجنس هستند که خود به بخش-های کوچکتری نیز تقسیم شده است. که شامل Bactrophycus J.G. ،Arthrophycus j ،Agardh phyllotrica (Areschony) J.Agardh, Agardh schizophycus و Sargassum J.Agradh، .J.Agardh هستند (۱۰). علی‌رغم مطالعه‌های گسترده، هنوز این جنس به بررسی‌های تکمیلی و بازنگری تاکسونو- میکی نیاز دارد. در حال حاضر، بیش از ۳۴۰ گونه به‌عنوان گونه اخیر در بانک اطلاعاتی جلبک‌ها نام‌گذاری شده‌اند (۹). از تحقیقاتی که تاکنون در منطقه سواحل خلیج فارس و دریای عمان در مورد شناسایی جلبک‌های قهوه‌ای *سارگاسوم* انجام شده است شامل مطالعه Borgesen (۱۹۳۹) است که تعداد ۲۶ گونه از جلبک قهوه‌ای را تا سطح جنس شناسایی نمود. تعداد ۶ گونه *سارگاسوم* نیز توسطSohrabipour و همکاران در سال (۱۹۹۹) از سواحل استان هرمزگان گزارش گردید (۱۱). به‌تازگی نیز تعداد ۱۹ گونه از جلبک‌های *سارگاسوم* توسط *Shams* و همکاران (۲۰۱۳) از سواحل جنوبی ایران گزارش شده است (۱۲). در طبقه‌بندی سنتی به منظور شناسایی ماکرو جلبک‌ها از ویژگی‌های

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1401.12.48.3.2]

ریخت‌شناسی مانند قلاب، پایه نگه‌دارنده، محور ساقه، شکل برگ و نوع کیسه هوا استفاده می‌شود (۱۳).

با وجود تحقیقات متعدد برروی اثرات جلبک ها بر ترمیم زخم هنوز ابهاماتی دراین زمینه وجود دارد.تاکنون بررسی های اثر جلبک *سارگاسوم ایلیسیفولیوم* ازلحاظ مورفومتری و نیز بررسی مولکولی درمورد اثر عصاره ی جلبک *سارگاسوم* برمیزان بیان ژن *TGFβ1* و*VEGFA*در ناحیه زخم رت به روش Real time PCR انجام نشده است.این مطالعه به منظوربررسی تأثیر عصاره جلبک *سارگاسوم* در روند ترمیم زخم‌های برشی در رت ها و ارتباط آن با میزان بیان ژن *TGFβ1*و*VEGFA*در محل زخم است و هدف کاربردی این تحقیق بررسی اثرات بالینی آن در انواع زخم‌ها است که در زمینهٔ داروسازی و پزشکی مورد استفاده قرار بگیرد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش تجربی در آزمایشگاه مرکز تحقیقاتی پژوهشگاه دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج) به‌خصوص مرکز تحقیقات بیولوژی و مولکولی و هم‌چنین آزمایشگاه دانشگاه آزاد اسلامی واحد پرند براساس رعایت اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی، مورد تصویب کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد پرند طراحی و انجام شد. در این بررسی ۳۰ سر رت نر نژاد Wistar بالغ با وزن حدود ۱۸۰ گرم استفاده شدند. حیوانات در شرایط استاندارد آزمایشگاهی در دمای محیط ۲۳ تا ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد و ۱۲ ساعت نور- تاریکی با مقادیر کافی و قابل دسترس آب و غذا نگهداری شدند. بعد از ۲۱ روز سازش رت‌ها مورد جراحی قرار گرفتند. حیوانات به‌صورت تصادفی به سه گروه تقسیم شدند:

گروه اول تمامی رت‌ها بدون هیچ گونه تیمار تنها آب و غذا دریافت کردند، گروه دوم رت‌ها تحت درمان با پماد آلفا قرار گرفتند که به‌مدت ۱۰ روز هر روز یک بار به مقدار ۱ گرم پماد به‌صورت موضعی بر روی زخم استفاده شد و گروه سوم، گروه زخم تحت درمان با پماد عصاره جلبک *سارگاسوم ایلیسیفولیوم* بودند که به‌مدت ۱۰ روز هر روز یک بار به مقدار ۱ گرم به‌صورت موضعی پماد جلبک بر روی زخم استفاده شد. جلبک *سارگاسوم* از جزر و مد دریای بوشهر جمع آوری و با آب مقطر طی ۳ مرحله کامل شستشو داده شد و جهت خشک شدن به‌مدت چهار روز در دمای ۶۰ درجهٔ سانتی‌گراد قرار گرفت و سپس آسیاب شدند. ۵۰ گرم از پودر جلبک به ۱۵۰۰ میلی‌لیتر الکل به‌نسبت (۱ به ۳) اضافه شد و ۷۲ ساعت در انکوباتور شیکر دار با دمای۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد قرار داده شد. بعد از زمان ذکر شده با عبور دادن از کاغذ صافی تورنسل در انکوباتور ۳۷ درجه قرار داده شد تا الکل به‌طور کامل تبخیر شود. رسوب جلبک استریل موجود در کف بشر برای ساخت پماد مورد استفاده قرار گرفت که مقدار عصاره جلبک ≤۵ گرم شد. در ساخت این پماد مدنظر تحقیق (پماد ۲درصد) از ۱۹۶ گرم اُسرین و ۴ گرم جلبک *سارگاسوم* استفاده و سپس پماد در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شد. قفس‌ها روزانه برای پیشگیری از عفونت زخم موش‌ها تمیز شده و برای بررسی میزان بهبود زخم در ۳ گروه، ابعاد زخم و مساحت آن به‌مدت ۱۰ روز با خط‌کش اندازه‌گیری شد و هر روز با دوربین دیجیتال با فاصله معین از روی پایه عکس‌برداری و سپس برای محاسبهٔ مساحت زخم جهت بررسی مورفومتریک از نرم‌افزار آنالیز تصاویر فرآیند التیام زخم (Motic image) استفاده شد. جراحی در اتاق عمل در شرایط استرلیزه شده انجام شد و رت‌ها به‌وسیله کتامین و زایلازین به‌نسبت (۳ به ۷) به هر رت ۲۰۰ میکرولیتر (لاندا) بی‌هوش شدند. موی کمر رت‌ها تراشیده و در قسمت کمر به اندازه ۲ سانتی‌متر زخم خطی (linear) به عمق درم با تیغ جراحی ایجاد شد. در روز دهم که زخم به‌طور تقریبی بسته شد بعد از گذشت ۲۴ ساعت از آخرین جلسه استفاده از پماد، موش‌ها به‌وسیله کتامین و زایلازین به همان نسبت قبل بی‌هوش شدند و محل زخم به ابعاد ۲cm × ۲cm جدا شد و سپس توسط یخ خشک به یخچال ۸۰- درجه سانتی‌گراد جهت انجام کارهای مولکولی منتقل شد.

در این مطالعه به‌منظور بررسی‌های مولکولی از تکنیک Real time PCR جهت ارزیابی بیان ژن‌های *TGFβ1* و *VEGFA* استفاده شد. به طور خلاصه در ابتدا کل RNA محل زخم با استفاده از کیت mxcell استخراج شد. سپس جهت تعیین کمیت آن از دستگاه اسپکتروفتومتر نانو دراپ(Thermo ND-1000 SCIENTIFIC,Wilmington,DE) استفاده شد. تمام محلول‌ها قبل از استفاده به‌خوبی به‌هم زده شدند. سپس با کمک سمپلر حجم کمی از نمونه برداشته شد و بر روی سطح آشکارسازی قرار داده شد بازوی دستگاه را بسته و اندازه‌گیری نمونه با استفاده از نرم‌افزار متصل‌به کامپیوتر انجام شد. در پایان

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1401.12.48.3.2]

اندازه‌گیری بازوی دستگاه باز و قسمت بالا و پایین پدال استریل شد.در این مرحله نمونه‌هایی با طول موج ۲۶۰ به ۲۸۰ نانومولار با غلظت ۱/۷ تا ۲/۲ مولار مورد تأیید بودند، یعنی نمونه عاری از آلودگی پروتئینی ومواد آلی دیگر هستند. جهت بررسی کیفی RNA از روش الکترو -فورز روی ژل آگارز استفاده شد.پس از بررسی کمیت و کیفت RNA استخراج شده ساخت cDNA توسط کیت MX cell انجام شد.(جدول۱)

جدول ۱. مواد موجود جهت سنتز CDNA

RNA	$\frac{10\ ng - 5\ \mu g\ total\ RNA}{1\ ng - 0/5\ \mu g\ mRNn}$
پرایمر	۱ μL oligo Dt ۱ μL Random hexamer ۱۵-۲۰ pmoles sequence – specific primer
DEPC water to	۱۴ μL

ترکیب به‌مدت ۵ دقیقه در دمای ۶۵ درجهٔ سانتی‌گراد حرارت داده شد، سپس به‌سرعت بر روی یخ خنک و اسپین گردید. سپس به هر میکروتیوب طبق جدول از مواد اضافه و سپس ورتکس و اسپین شد. سپس درب را بسته و طبق دستور العمل دمایی در زیر ترمو سایکلر قرار داده شد. به‌مدت ۶۰ دقیقه در دما ۵۰ درجهٔ سانتی‌گراد انکوبه شد. سپس در دمای ۹۵ درجهٔ سانتی‌گراد به‌مدت ۵ دقیقه قرار داده شد تا آنزیم RT غیر فعال گردد. هم‌چنین برای طراحی پرایمر از نرم-افزار Alelid 7 استفاده شد و پس از Blast شدن و تعیین صحت کیفیت پرایمرهای طراحی شده جهت سنتز، توالی این پرایمرها به شرکت سیناکلون سفارش داده شد (جدول ۲).

جدول ۲. توالی آغازگرها

نام ژن	**توالی پرایمر**	سایز محصول	دمای ذوب
GAPDH forward	CAAGTTCAACGGCACAGTCA	102 bp	۵۷/۳۰
GAPDH Reverse	CCCCATTTGATGTTAGCGGG		۵۹/۳۵
TGFβ1 forward	CGCCTGCAGAGATTCAAGTC	183 bp	۵۹/۳۵
TGFβ1 Reverse	GCCCTGTATTCCGTCTCCTT		۵۹/۳۵
VEGFA forward	ATCATGCGGATCAAACCTCACC	80 bp	۶۰/۲۵
VEGFA Reverse	GGTCTGCATTCACATCTGCTATGC		۶۰/۷۲

پس از طراحی پرایمرها، واکنش PCR به حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر شامل: ۱۰میکرولیتر (master mix Ampliqon)، ۰/۵میکرولیتر از هر پرایمر، ۱ میکرولیتر از DNAالگو(۱۰نانوگرم) و ۸ میکرولیتر آب دوبار تقطیر شده با استفاده از گرادیانت ترموسایکلر (اپندورف آلمان) و با برنامه دمایی طبق (جدول۳) انجام شد. سپس محصول PCR روی ژل آگارز ۱/۵درصد جدا و پس از رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید، با استفاده از دستگاه ژل داک مشاهده و تصویربرداری انجام شد.

جدول۳. برنامه دماهای استفاده شده در دستگاه ترموسایکلر

۹۵ درجه سانتی‌گراد	۱۵ دقیقه	۱ سیکل
۹۵ درجه سانتی‌گراد	۲۰ ثانیه	۴۰ سیکل
از ۵۶ تا ۶۲ درجه سانتی‌گراد	۲۵ ثانیه	
۷۲ درجه سانتی‌گراد	۳۰ ثانیه	
۷۲ درجه سانتی‌گراد	۵ دقیقه	۱ سیکل

جهت ست آپ کردن تمام پرایمرها ۳ درجه بالاتر از دمای Tm و ۳ درجه پایین‌تر از دمای Tm و هم‌چنین خود دمای Tm امتحان شد. به این صورت‌که برای هر کدام از دماها، PCR توسط دستگاه ترموسایکلر انجام شد. پس از انجام الکتروفورز روی ژل آگارز دمای اصلی هر پرایمر جهت انجام دقیق تکنیک Real time PCR انتخاب شد.

جهت انجام Real time PCR به‌منظور اندازه‌گیری بیان ژن‌ها، حجم نهایی برای هر واکنش ۲۵ میکرولیتر شامل، ۱۳ میکرولیتر مستر میکس سایبرگرین (Real Q Plus 2x Master mix Green) ، ۸ میکرولیتر PCR grade water، ۱ میکرولیتر از هر پرایمر و ۲ میکرولیتر cDNA استفاده شد. تکثیر قطعه مورد نظر در دستگاه Gene 6000 Rotro با برنامهٔ دمایی در (جدول۳) انجام شد. برای محاسبه میزان بیان و اختلاف بیان ژن‌ها از نرم‌افزار Genex6 و برای ترسیم

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1401.12.48.3.2]

نمودار از نرم‌افزار Graph Pad Prim 7 استفاده شد. جهت بررسی آماری از آزمون آماری آنالیز واریانس یک راهه‌ANOVA و آزمون تعقیبی توکی(Tukey) استفاده شد.

یافته‌ها

نتایج بررسی اندازهٔ درصد بهبودی زخم نشان دهندهٔ این است که: گروه کنترل که هیچ درمانی روی آن صورت نگرفته است اندازهٔ طول زخم آن از ۲ سانتی-متر به ۰/۶۴ سانتی‌متر کاهش یافته است، گروه پماد الفا اندازهٔ طول زخم از ۲ سانتی‌متر به ۰/۵ سانتی‌متر کاهش یافته است، ولی پماد جلبک *سارگاسوم* اندازهٔ زخم را از ۲ سانتی‌متر به ۰/۳ سانتی‌متر کاهش داده است، که نشان می‌دهد از لحاظ مورفومتری پماد جلبک نسبت‌به پماد آلفا در بهبود زخم مؤثرتر بوده است (جدول ۴ و ۵) و(شکل ۱، ۲، ۳و ۴).

در این پژوهش برای بررسی کیفیت RNA استخراج شده از روش الکتروفورز روی ژل آگارز۱/۵ درصد استفاده کردیم . وجود باندهای ۱۸s و ۲۸s نشان دهنده کیفیت مطلوب RNA استخراج شده است (شکل ۵).

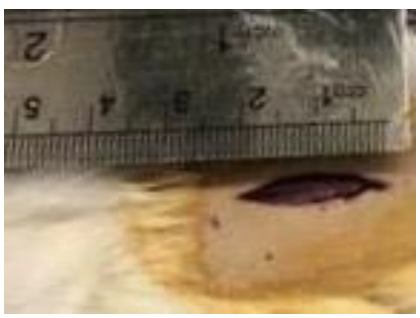
خلوص RNA استخراج شده از طریق نسبت جذب ،در طول موج ۲۶۰ به ۲۸۰ نانومتر در محدوده ۲/۱ – ۱/۷ نشان‌دهنده عدم آلودگی نمونه‌هاست پس از استخراج RNA از بافت پوست رت، تأیید کمی RNA های استخراج شده با استفاده از دستگاه نانودراپ انجام شد. نتایج حاصل نشان داد که نسبت جذب RNA در این طول موج در محدوده‌ی ۲/۱ – ۱/۷ را نشان می‌دهد.در کل این نتیجه حاکی از آن است که RNA استخراجی می تواند با اطمینان در مراحل بعدی مطالعه استفاده شود.

جدول۴. نتایج تحلیل واریانس (ANOVA)

ANOVA					
طول زخم در ۱۰ روز					
	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
بین گروه‌ها	۰/۴۳۵	۲	۰/۲۱۷	۱۳/۴۹۲	۰/۰۰۰
داخل گروه‌ها	۰/۴۰۳	۲۵	۰/۰۱۶		

جدول۵. نتایج مقایسه میانگین آزمون توکی

Group Statistics						
	گروه	تعداد	میانگین	انحراف معیار	Std. Error Mean	P-Value
طول زخم در ۱۰ روز	کنترل	۸	۰/۶۴۲۴	۰/۱۳۹۰۴	۰/۰۴۹۱۶	۰/۰۰۱
	جلبک	۱۰	۰/۳۳۱۷	۰/۱۱۳۶۵	۰/۰۳۵۹۴	
طول زخم در ۱۰ روز	کنترل	۸	۰/۶۴۲۴	۰/۱۳۹۰۴	۰/۰۴۹۱۶	۰/۰۳۹
	آلفا	۱۰	۰/۴۹۹۴	۰/۱۲۹۵۶	۰/۰۴۰۹۷	
طول زخم در ۱۰ روز	آلفا	۱۰	۰/۴۹۹۴	۰/۱۲۹۵۶	۰/۰۴۰۹۷	۰/۰۰۶
	جلبک	۱۰	۰/۳۳۱۷	۰/۱۱۳۶۵	۰/۰۳۵۹۴	



شکل ۱. روز اول جراحی

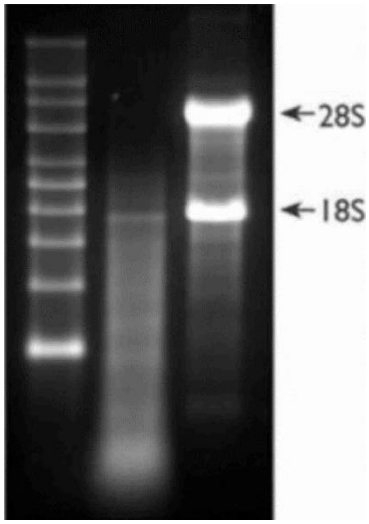
[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1401.12.48.3.2]

شکل ۲. روز هشتم گروه جلبک

شکل ۳. روز هشتم گروه کنترل

شکل ۴. روز هشتم گروه آلفا

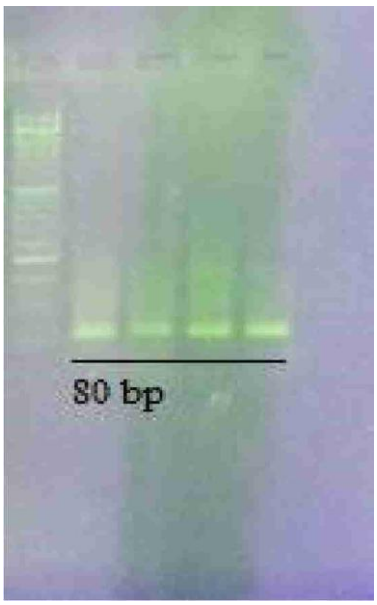


شکل ۵. بررسی میزان کیفی RNA استخراج شده از بافت پوست رت با استفاده از روش الکتروفورز

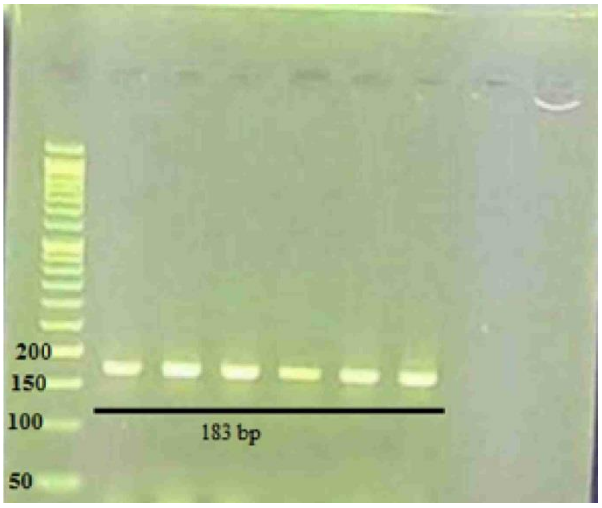
هم‌چنین برای تأیید پرایمرها، PCR معمولی انجام شد و نمونه‌ها بر روی دو ژل آگارز ۱/۵ درصد با سایز مارکر DNA Ladder 50 bp ران شدند. به‌ترتیب bp ۸۰ و bp ۱۸۳ برای ژن‌های *VEGFA* و *TGFβ1* مشهود است. نتایج طیف سنجی cDNAهای تولید شده نشان داد که cDNAها از کیفیت و کمیت مناسبی برخوردارند (شکل ۶ و ۷).

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1401.12.48.3.2]



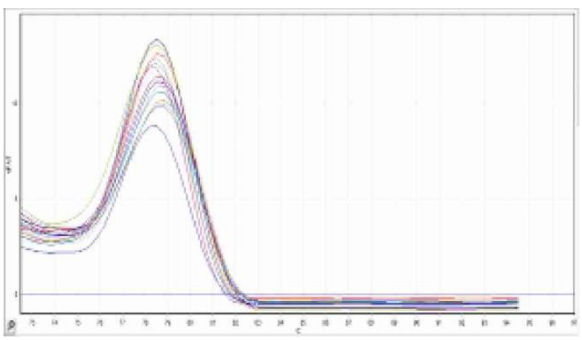
شکل ۶. الکتروفورز محصول تکثیر ژن *VEGFA* روی ژل آگارز ۱/۵درصد



شکل ۷. الکتروفورز محصول تکثیر ژن *TGFB1* روی ژل آگارز ۱/۵درصد.

با توجه‌به این نکته که از رنگ فلورسانت سایبرگرین استفاده شده است در این تحقیق برای بررسی اختصاصیت پرایمرها و رنگ فلورسانس سایبر گرین و اطمینان از تکثیر قطعه‌های اختصاصی و بررسی نبود قطعه‌های غیر اختصاصی در محصول PCR، نمودارهای منحنی ذوب برای ژن‌های *TGFβ1*، *VEGFA* و GAPDH به‌عنوان ژن مرجع رسم شدند (نمودار ۱ و ۲).

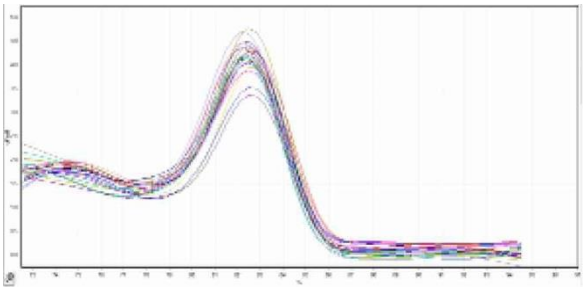
تکثیر مربوط به واکنش Real- time PCR است که نشان دهندهٔ واکنش انجام شده و محصولات تشکیل شده‌اند که تأیید محصولات حاصل شده با منحنی ذوب و الکتروفورز روی ژل آگارز مورد تأیید قرار گرفت (نمودارهای ۳ و ۴ و ۵ و۶).



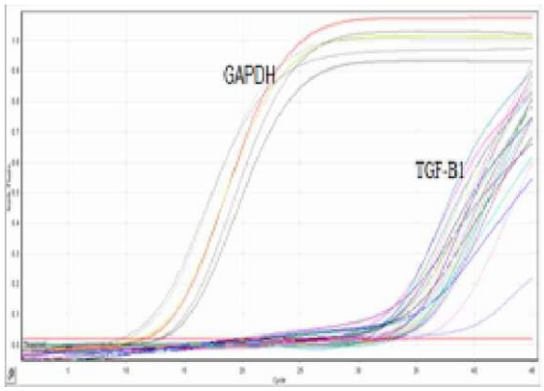
نمودار ۱. منحنی ذوب *TGFβ ۱*

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-04-20]

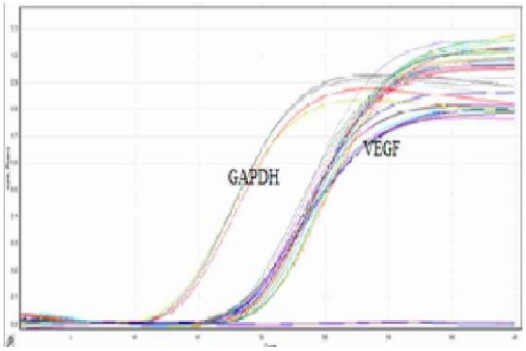
[DOR: 20.1001.1.22285458.1401.12.48.3.2]



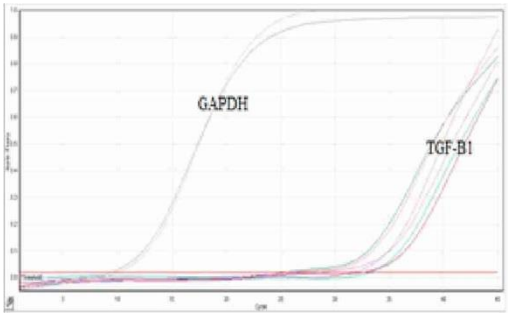
نمودار ۲. منحنی ذوب *VEGFA*



نمودار ۳. تکثیر ژن $TGF\boldsymbol{\beta_1}$



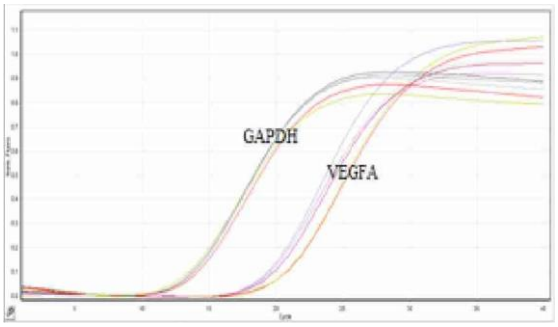
نمودار ۴. تکثیر ژن *VEGFA*



نمودار۵. تکثیر ژن *TGFβ1* به تفکیک گروه‌ها

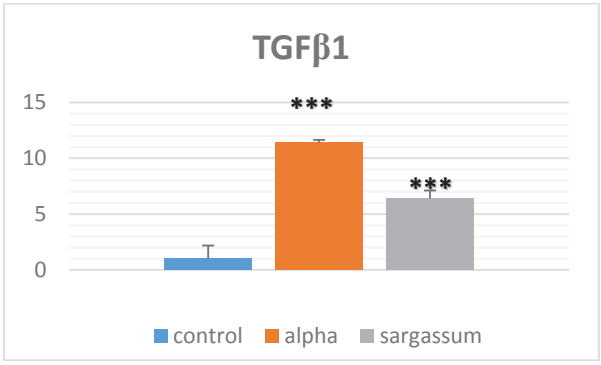
[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1401.12.48.3.2]

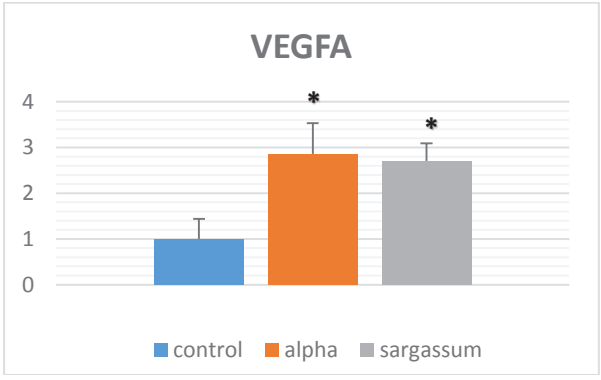


نمودار ۶. تکثیر ژن *VEGFA* به تفکیک گروه‌ها

نتایج کمی ارزیابی بیان ژن *TGFβ1* در سه گروه کنترل، آلفا و جلبک *سارگاسوم* نشان داد: گروه آلفا نسبت‌به گروه کنترل دارای افزایش بیان ژن *TGFβ1* به‌میزان ۱۰/۳۸ برابر است که مقدار احتمال آن برابر است با P<۰/۰۰۱ که این تفاوت معنادار است. در مقایسه گروه جلبک با گروه کنترل ۵/۳۹ برابر افزایش بیان ژن به‌همراه داشته است که میزان احتمال آن برابر است با P<۰/۰۰۱ که این اختلاف معنادار است. در ارزیابی بیان ژن *VGEFA* در بین سه گروه نتایج ذیل حاصل شد: گروه آلفا نسبت‌به گروه کنترل ۱/۸۶ برابر افزایش بیان ژن با مقدار احتمال p<۰/۰۴۴، دارای اختلاف معنادار است و هم‌چنین گروه جلبک *سارگاسوم* نسبت‌به گروه کنترل با ۱/۷۰ برابر افزایش بیان با مقدار احتمال P<۰/۰۴۰، دارای اختلاف معناداری است. از لحاظ فیزیکی اثر جلبک بر روی زخم حتی نسبت‌به گروه آلفا که گروه مقایسه دارویی بود اثر بهتری در بهبود زخم ایفا کرد. هم‌چنین با استفاده از Real time PCR تأیید شد که عصارهٔ جلبک *سارگاسوم* باعث افزایش معنادار بیان ژن *TGFβ1* و *VEGFA* ، یعنی ژن ترمیم کننده پوست و ژن رگ‌زا نسبت‌به گروه کنترل می‌شود (نمودار ۷ و ۸) و (جدول ۶ و ۷).



نمودار ۷. میزان بیان ژن $TGF\beta_1$ در تیمارهای مختلف



نمودار ۸. میزان بیان ژن *VEGFA* در تیمارهای مختلف

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1401.12.48.3.2]

جدول۶. تجزیه واریانس بیان ژن *TGFβ1* در مورد مطالعه تیمارهای مختلف

گروه	تعداد	Missing	میانگین	Std Dev	SEM
کنترل	۷	۰	۱/۰۰۰	۳/۱۶۳	۱/۱۹۶
آلفا	۵	۰	۱/۳۸۱	۰/۶۱۸	۰/۲۷۶
سارگاسوم	۶	۰	۶/۳۹۶	۱/۷۴۸	۰/۷۱۴
Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
بین گروه‌ها	۲	۳۱۸/۸۹۱	۱۵۹/۴۴۶	۳۱/۱۲۴	< ۰/۰۰۱
Residual	۱۵	۷۶/۸۴۳	۵/۱۲۳		
کل	۱۷	۳۹۵/۷۳۴			
Comparisons for factor					
مقایسه	Diff of Means	T	P	P< ۰/۰۵	
آلفا .کنترل	۱/۳۸۱	۷/۸۳۳	< ۰/۰۰۱	Yes	
سارگاسوم. کنترل	۵/۳۹۶	۴/۲۸۵	۰/۰۰۱	Yes	
آلفا.*سارگاسوم*	۴/۹۸۴	۳/۶۳۷	۰/۰۰۲	Yes	

جدول ۷. تجزیه واریانس بیان ژن *VEGFA* در مورد مطالعه تیمارهای مختلف

گروه	تعداد	Missing	میانگین	Std Dev	SEM
کنترل	۱۰	۰	۱/۰۰۰	۱/۳۹۵	۰/۴۴۱
آلفا	۸	۰	۲/۸۶۱	۱/۸۹۵	۰/۶۷۰
سارگاسوم	۹	۰	۲/۷۰۳	۱/۱۶۲	۰/۳۸۷
Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
بین گروه‌ها	۲	۱۹/۹۹۴	۹/۹۹۷	۴/۴۸۸	۰/۰۲۲
Residual	۲۴	۵۳/۴۶۱	۲/۲۲۸		
کل	۲۶	۷۳/۵۴۵			
Comparisons for factor					
مقایسه	Diff of Means	T	P	P< ۰/۰۵	
آلفا. کنترل	۱/۸۶۱	۲/۶۲۸	۰/۰۴۴	Yes	
سارگاسوم. کنترل	۱/۷۰۳	۲/۴۸۴	۰/۰۴۰	Yes	
آلفا. *سارگاسوم*	۰/۱۵۸	۰/۲۱۷	۰/۸۳۰	No	

بحث

با توجه‌به مطالعه‌های صورت گرفته، جلبک‌ها مخزن پایان-ناپذیر و در حال رشد در صنایع غذایی هستند. با توجه‌به آمار بالای بیماری‌های گوارشی، فشار خون، بیماری‌های قلبی و عروقی انواع سرطان و از همه مهم‌تر مقاومت میکروبی به آنتی‌بیوتیک‌های مصنوعی، جلبک‌ها می‌توانند به‌عنوان دارو و مکمل‌های غذایی مناسب مورد استفاده قرار گیرند و به‌عنوان جایگزین مناسبی برای داروهایی با منشاء مواد شیمیایی مضر که در طولانی مدت عوارض شدیدتری به دنبال دارد و سلامت افراد را به مخاطره می‌اندازد قرار گیرند (۱۴). از این‌رو یافتن داروها و مکمل‌های غذایی بدون عوارض از اهمیت بالایی برخوردار است و از سوی دیگر ایجاد ارزش افزوده در کشور، شناخت پتانسیل‌های بومی است زیرا با تکیه بر پتانسیل‌های بومی دیگر نیازی به واردات نیست و در شرایط امروز کشور ما از اهمیت بالایی برخوردار است به‌همین خاطر ایده‌ای که به ذهن آمد استفاده از جلبک‌های بومی بود که جلبک *سارگاسوم* یکی از آنهاست.

نتایج پژوهش نشان داد که در گروه کنترل که هیچ درمانی روی آن صورت نگرفته است میزان اندازهٔ طول زخم را از ۲ سانتی‌متر به ۰/۶۴ سانتی‌متر کاهش داده است و در گروه پماد آلفا اندازهٔ طول زخم از ۲ سانتی‌متر به ۰/۵ سانتی‌متر کاهش یافته است ولی پماد جلبک *سارگاسوم* اندازهٔ زخم را از ۲ سانتی‌متر به ۰/۳ سانتی‌متر کاهش داده است که نشان می‌دهد از لحاظ مورفومتری پماد جلبک نسبت‌به پماد آلفا در بهبود زخم مؤثرتر بوده است که می‌تواند به دلایل زیر باشد:

ترکیب شیمیایی، تعداد و توالی واحدهای M و G، نوع، گونه، سن جلبک، فصل رشد، منبع بیولوژیکی و شرایط رشد جلبک‌ها بستگی دارد (۱۵). آلژینات در دیوارهٔ سلولی به‌عنوان مخلوطی از کلسیم، پتانسیم وسدیم اسیدآلژنیک وجود دارد که در آن واحدهای بتا دی مانورونیک اسید (M) با پیوندهای ۱ به ۴ به واحدهای آلفا ال گلورونیک اسید (G) متصل شده است. این پلی‌ساکاریدها دارای سه نوع توالی MM، MG، GG هستند و خواص فیزیکی آلژنیاب به نسبت این سه نوع توالی بستگی دارد. به‌طور مثال یکی از ویژگی‌های مشخص آلژنیات سدیم توانایی تشکیل ژل در حضور کاتیون‌های چند قطبی مانند Ca^{2+} است و توانایی تشکیل ژل آلژنیات، با اضافه

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1401.12.48.3.2]

کردن یون‌های کلسیم، مربوط به توالی‌های GG است که شبکه‌ای سه بعدی ژل مانند را به‌وجود می‌آورد که در فرآیند ترمیم زخم نقش دارد (۱۶).

استفاده از پتانسیل‌های بومی و طبیعی کشور مانند سواحل جنوبی ایران، یکی از راه‌های ایجاد ارزش افزوده بالا از مواد کم ارزش است، سواحل جنوبی ایران از جمله خلیج فارس خاستگاه جلبک‌ها است، ماکرو جلبک *سارگاسوم* یکی از گونه-های بومی است. محمدهادی جزینی در مقاله‌ای که به‌تازگی در مجله معتبر منتشر شده است به پتانسیل بالای ماکرو جلبک *سارگاسوم* در تولید آلژینات و اتانول اشاره کرده‌اند و دنبال بررسی اقتصادی تولید و تجاری‌سازی آلژینات هستند. در مطالعه‌هایی که zahang و همکارانش انجام دادند، نشان داد که آلژینات یک پلی‌ساکارید دریایی است که در تمام جلبک‌های قهوه‌ای یافت می‌شود که این ترکیب به‌دلیل داشتن خصوصیت‌های مفید هم‌چون سازگاری زیستی بالا، زیست تخریب‌پذیر بودن، سمیت پایین و خاصیت تشکیل ژل به‌طور گسترده‌ای در بیومتریال پزشکی استفاده می‌شود(۱۷).. با توجه‌به نظریه ترمیم زخم در محیط مرطوب، این ماده گزینه مناسبی برای تهیه پانسمان با ویژگی‌های جدید بوده و تغییرات شیمیایی در گروه‌های کربوکسیل یا هیدروکسیل آلژینات نویدی برای به‌دست آوردن مواد زیستی جدید و مفید است. آلژینات برای تهیه پانسمان هم‌چنین به‌صورت ترکیبی با مواد دیگری چون کیتوزان، کلاژن، فیبرین‌ها و افزودنی تخصصی دیگر به‌کار برده می‌شود و محققان با به‌دست آوردن ترکیب‌های بهینه از این مواد توانسته‌اند پانسمان‌هایی با خصوصیت‌های ویژه و مناسب برای ترمیم زخم‌های خاص و بدخیم تولید کنند (۱۸). با توجه‌به تحقیقات انجام شده در سال‌های اخیر، پانسمان و پوشش‌های زخم‌بندی تهیه شده با این ماده و ترکیب‌های آن نسبت‌به پانسمان‌های معمولی کارایی بهتری در ترمیم سریع‌تر زخم داشته‌اند.

صرف نظر از اهمیت میانکنش‌های سلول و ماتریکس سلول در ترمیم زخم تمامی مراحل ترمیم زخم توسط طیف وسیعی از فاکتورهای رشدی و سیتوکنین‌ها کنترل می‌شود. مطالعه‌های زیادی اثر سودبخش بسیاری از فاکتورهای رشد را مانند فاکتور رشد فیبروپلاستی GF-S و فاکتور ماکروفاژ گرانولویست تحریک کننده کلونی GM-CSF و فاکتور رشد مشتق از پلاکت در فرآیند ترمیم زخم اثبات کرده است (۱۹). با این وجود نقش فاکتورهای رشد داخلی در فرآیند ترمیم تا حدودی مشخص شده است و در اغلب موارد عملکردی که برای هر یک از این فاکتورها پیشنهاد شده است. حاصل از مطالعه‌های آزمایشگاهی و داده‌های کشت سلول بوده است و عملکرد آن‌ها در محیط داخل بدن هنوز تأیید نشده است. به-

علاوه برخی آزمایش‌ها نقش مثبت EGF، *TGF*، HB-EGF، *VEGF* را در ترمیم زخم نشان داده است که حاکی از این امر است که این فاکتورهای رشد در فرآیند زخم در داخل بدن دخیل هستند (۲۰). در مطالعه حاضر به‌منظور بررسی میزان بیان ژن $TGF\text{-}\beta_1$ و *VEGFA*، گروه‌های مورد مطالعه تیمارشدند و از آن‌ها نمونهٔ بافتی گرفته شد و از نمونه‌ها RNA استخراج گردید. به‌منظور بررسی میزان بیان ژن با استفاده از تکنیک Real time PCR کمی سازی شدند. نتایج کمی ارزیابی ژن $TGF\beta_1$ در سه گروه کنترل، پماد آلفا و جلبک *سارگاسوم* نشان داد گروه آلفا نسبت‌به گروه کنترل دارای افزایش بیان ژن $TGF\text{-}\beta_1$ به‌میزان ۱۰/۳۸ برابر است که مقدار احتمال ان برابر است با ۰/۰۰۱ > P که این تفاوت معنادار است. در مقایسه گروه جلبک با گروه کنترل ۵/۳۹ برابر افزایش بیان ژن را به‌همراه داشته است. میزان احتمال آن برابر است با ۰/۰۰۱ > Pکه این اختلاف معنادار است. همان-طور که ذکر شد فاکتورهای رشد مختلفی در فرآیند ترمیم زخم نقش دارد شناخته‌ترین آن‌ها فاکتور رشد تغییر شکل-دهنده بتا است که محرک تجدید یا ترمیم بافت است. این فاکتور قدرتمندترین عامل در ترمیم است. هم‌چنین این فاکتور یک تعدیل‌کننده فیبروژنیک (تشکیل بافت هم‌بند) در بدن محسوب می‌شود. گزارش‌هایی وجود دارد که مطرح‌کننده اثر ضد التهابی و تعدیل‌کنندگی فاکتور $TGF\beta_1$ در التهاب پوستی مزمن و حاد است (۲۱) که اثر کلیدی در تظاهرات پوستی و شکایات بیماران از جمله خارش مزمن ایفا می‌کند. بر این اساس Khaheshi و همکاران به منظور ارزیابی نقش احتمال $TGF\beta_1$ در ضایعات پوستی التهابی مزمن ایجاد شده توسط گاز خردل ایزوفرم فاکتور تغییردهنده رشد بتا $TGF\beta_1$ در سطح RNA و پروتئین را مورد بررسی قرار دادند و با گروه کنترل مقایسه کردند. نتایج به‌دست آمده از مطالعه‌های آن‌ها بر عدم بیان ژن $TGF\beta_1$ در ضایعات پوستی جانبازان شیمیایی و متعاقب آن عوارض و تظاهرات بالینی از جمله خارش مزمن را نشان داد (۲۲). اعمال نقش ضد التهابی $TGF\beta$ در مطالعه‌های دیگری که توسط Anthoni و همکارانش در سال ۲۰۰۳ انجام دادند، به بررسی مسیر پیام-رسانی داخل سلولی آن از طریق مولکول‌های Smad مورد تأکید قرار دادند که این گزارش‌ها نیز بر این واقعیت تأکید دارند که $TGF\beta_1$ و مولکول‌های داخل سلول smad پیام-رسان آن نقش ویژه‌ای در تعدیل التهاب در درماتیت تماسی و اتوپیک بر عهده دارند به‌طوری‌که آتش التهابی برافروخته شده توسط سایر سیتوکین‌های التهابی و کموکین‌ها را تعدیل و شاید سرکوب کنند (۲۳).

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1401.12.48.3.2]

در مطالعه‌های جالب دیگری پماد تاکرولیموس به عنوان آزاد - کننده و القاءکننده $TGF\beta_1$ در سلول‌های پوستی مطرح شده است که اعمال ضد التهابی خود را در درمان درماتیت از طریق $TGF\beta_1$ انجام می‌دهد که این یافته‌ها نیز دوباره در نقش تعدیل‌گری و ضد التهابی $TGF\beta_1$ در ضایعات و تظاهرات آن از جمله خارش تأکید دارند (۲۴). روند مشابهی برای IFN-γ, IL-6, VEGF نیز وجود دارد به‌طوری‌که بیان $TGF\beta_1$ در فرآیند ترمیم زخم اسکارهای پرتروفیک و کلوئید افزایش یافته‌اند. مطالعه‌ها نشان داده است که $TGF\beta_1$ نقش مهمی و در فیبروز بافتی و اسکارهای ناشی از جراحت دارد (۲۵). مطالعه‌های درمانی ذکر شده می‌توانند در مطالعه‌های آینده و با هدف قرار دادن مولکول $TGF\beta_1$ و مسیر پیام‌رسان آن در کاهش و یا درمان تظاهرات شایع آزار دهنده و تسریع روند ترمیم زخم پوستی مؤثر واقع گردند. ژن $TGF\beta_1$ سینگال-هایی شیمیایی را تنظیم می‌کند که فعالیت‌های مختلف سلول را درون سلول تنظیم می‌کند از جمله رشد و تقسیم، تکثیر سلول‌ها، بلوغ سلول‌ها برای انجام توابع خاص (تمایز)، حرکت سلولی (تحرک) و سلول‌های کنترل شده مرگ آپوپتوز این ژن هم‌چنین در تشکیل رگ‌های خونی، ایجاد بافت عضلانی و چربی بدن، بهبود زخم‌ها، فرآیند التهابی در سیستم ایمنی بدن نقش دارد (۲۶). در مطالعه حاضر از عصاره جلبک *سارگاسوم* در ترمیم زخم استفاده شد و داده‌ها بیانگر این امر هستند که از لحاظ فیزیکی اثر جلبک بر روی زخم حتی نسبت‌به گروه آلفا که گروه مقاومت دارویی بود اثر بهتری را در بهبود زخم ایفا کرد و نیز افزایش بیان معنادار ژن *TGFβ1* در بافت زخم مشاهده شد. $TGF\beta_1$در فرآیند ترمیم زخم اهمیت دارد و به‌منظور تکثیر فیبروبلاست‌ها، تحریک تشکیل بافت گرانولی، کمک به سنتز ورسوب کلاژن نوع ۱ و ۳ و هم-چنین، افزایش قدرت کششی زخم مورد نیاز است (۲۶).

فاکتور رشد میتوژن اندوتلیال عروقی (VEGF)، کموتاکتیک فاکتور القاء کننده نفوذپذیری عروقی است. *VEGF* از طریق آنژیوژنز، اپیتلیزاسیون و رسوب کلاژن در ترمیم زخم مؤثر بوده است. Yanو همکارانش اثر *VEGF* متصل‌به کلاژن را بر روی زخم تمام ضخامت در موش‌های دیابتی بررسی کردند که در این پژوهش *VEGF* متصل‌به کلاژن اثر بهتری در و اسکولاریزاسیون و ترمیم زخم داشته است(۲۷).

نقش *VEGFA* در ترمیم زخم با مطالعه‌هایی که نشان داد کاهش آن یا تجزیه آن باعث اختلال در ترمیم زخم می‌شود تأیید شد. هم‌چنین تیمار زخم‌های ایسکمی فرآیند ترمیم زخم را سرعت می‌بخشد. نقش *VEGFA* در ترمیم زخم از طریق مطالعه‌هایی که در آن از آنتی‌بادی برعلیه این فاکتور استفاده کرده بودند تأیید شد و مشاهده شد که خنثی کردن *VEGFA* با استفاده از آنتی‌بادی موجب کاهش رگ‌زایی در محل زخم، انباشته شدن مایع زخم و تشکیل بافت گرانوله می‌شود (۲۸). علاوه‌بر *VEGFA*، *PLGF* نیز به‌تازگیً به-عنوان تنظیم کنندۀ رگ‌زایی در فرآیند ترمیم زخم شناخته شد به گونه‌ای که بیان ژن و پروتئین آن در کراتینوسیت‌های مهاجرت‌کننده در محل زخم به‌طور قابل توجهی افزایش می-یابد. هم‌چنین سلول‌های اندوتلیال مویرگ‌های مجاور زخم نیز آن را بیان می‌کنند. هم‌چنین موش‌های ترانس ژنیک که این ژن را بیان نمی‌کنند در فرآیند رگ‌زایی و ترمیم اختلال دارند و ارتباط PLGF و *VEGFA* در این مطالعه‌ها نشان داده شد و بیانگر این است که حضور هر دو فاکتور برای رگ‌زایی به‌طور نرمال در محل زخم ضروری است. مطالعه‌هایی توسط دیگران بیان VEGFD و VEGFC و گیرنده آن‌ها $VEGFR_3$ را نیز در فرآیند ترمیم زخم نشان داده‌اند (۲۹). در مطالعه حاضر به-منظور ارزیابی بیان ژن *VEGFA* در بین سه گروه نتایج ذیل حاصل شد: گروه آلفا نسبت‌به گروه کنترل ۱/۸۶ برابر افزایش بیان ژن با مقدار احتمال $p < ۰/۰۴۴$،دارای اختلاف معناداری است و هم‌چنین گروه جلبک *سارگاسوم* نسبت‌به گروه کنترل ۱/۷۰ برابر افزایش بیان با مقدار احتمال $p < ۰/۰۴۰$، دارای اختلاف معنادار است.

از آن‌جا که این فاکتورها در طی فرآیند رگ‌زایی در حین تکوین نقش دارند ، پیشنهاد می‌شود که در رگ‌زایی در طی فرآیند ترمیم زخم مؤثرند. بیان ژن *VEGFA* به‌دنبال آسیب در محل زخم توسط کراتینوسیت‌ها و ماکروفاژها افزایش میابد و بیان گیرنده آن نیز در عروق خونی بافت‌های گرانوله شده نشان داده شده است این امر حاکی از این است که *VEGFA* موجب رگ‌زایی در محل زخم از طریق مکانیسم پاراکربنی می‌شود.

نتیجه‌گیری

عصاره جلبک *سارگاسوم ایلیسیفولیوم* به‌علت خواص آنتی-اکسیدانی، ضدالتهابی، ضد باکتریایی و ضد میکروبی که دارد و به‌علت وجود آلژینات در آن از لحاظ بیومتری باعث بهبود زخم می‌شود، عصاره جلبک *سارگاسوم* از لحاظ بیومتری در بهبود زخم نسبت‌به پماد آلفا موجود در بازار عملکرد بهتری داشته است. عصاره جلبک *سارگاسوم* سبب افزایش معنادار بیان ژن *VEGFA* و $TGF\beta_1$ پس از ایجاد زخم نسبت‌به گروه کنترل گردید. براساس نتایج مطالعه حاضر می‌توان عصارۀ این جلبک را به‌عنوان یک ترمیم کننده در ترمیم آسیب‌های پوستی مورد استفاده بهینه قرار داد.

سپاسگزاری

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1401.12.48.3.2]

بدین‌وسیله از سرکار خانم دکتر میترا حیدری نصر آبادی که در تمام مراحل اجرای پایان نامه راهنمای طرح بوده‌اند و کارشناسان محترم آزمایشگاه مرکز تحقیقاتی پژوهشگاه دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج) و دانشگاه آزاد اسلامی واحد پرند به‌خاطر همکاری در تمام مراحل سپاسگزاری می-شود.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1401.12.48.3.2]

منابع

1. Singer, A.J. and M. Simon, *Wound Healing and Skin Substitutes*, in *Stem Cell and Gene-Based Therapy: Frontiers in Regenerative Medicine*. 2006, Springer London: London. 375-393.

2. Schultz, G.S., et al., *Wound bed preparation: a systematic approach to wound management.* Wound Repair and Regeneration, 2003. **11**(s1): S1-S28**.**

3. Nariman F, M.F., Sohrabi Pur J, *Antibacterial activities of four red and brown algae extracts from Hormozgan coasts.* J Sci Azahra uni, 1385: p. 11.

4. Bansemir, A., et al., *Screening of cultivated seaweeds for antibacterial activity against fish pathogenic bacteria.* Aquaculture, 2006. 252(1): 79-84.

5. Sohrabi Pour J, R.R., *warning about the danger destroying valuable genetic resources of the alga flora of the Persian Gulf and the sea of Oman.*

6. Reviers, B., F. Rousseau, and S. Draisma, *Classification of the Phaeophyceae from past to present and current challenges*. 2007, 267-284.

7. Wehr, J.D., R.G. Sheath, and J.P. Kociolek, *Freshwater algae of North America: ecology and classification*. 2015: Elsevier.

8. Indrawati, R., et al., *Encapsulation of brown seaweed pigment by freeze drying: characterization and its stability during storage.* Procedia chemistry, 2015. **14**: 353-360.

9. Guiry, M.D. and G. Guiry, *AlgaeBase.* AlgaeBase, 2008.

10. Ragaza, A.R. and A. Hurtado, *Sargassum Studies in Currimao, Ilocos Norte, Northern Philippines II. Seasonal Variations in Alginate Yield and Viscosity of Sargassum carpophyllum J. Agardh, Sargassum ilicifolium (Turner) C. Agardh and Sargassum siliquosum J. Agardh (Phaeophyta, Sargassaceae).* Botanica Marina - BOT MAR, 1999. **42**: 327-331.

11. Sohrabipour , J.Rabii,R.1999 08 01:A list of marine algae of seashores of Persian and oman sea in the Hormozgan province – Iran.Journ .Bot .8(1):131-162. Tehran.

12. Shams M., Afsharzadeh S., Balali Gh ., Valinassab T .and De Clerck O .2013 12 31 :New records of Sargassum species (Sargassaceae ,Phaeophyta)from the Persian Gulf and oman sea in Iran.- Iran .J.Bot ,19(2):250-258.

13. Camacho, O., et al., *Morphological and molecular assessment of Sargassum (Fucales, Phaeophyceae) from Caribbean Colombia, including the proposal of Sargassum giganteum sp. nov., Sargassum schnetteri comb. nov. and Sargassum section Cladophyllum sect. nov.* Systematics and Biodiversity, 2015. **13**(2): 105-130.

14. Kuznetsova TA, Andryukov BG, Besednova NN, Zaporozhets TS, Kalinin AV. Marine algae polysaccharides as basis for wound dressings, drug delivery, and tissue engineering: A review. J. Marine Science and Engineering. 2020 Jul;8(7):481.

15. Madkour FF, Hassan MM, Abdo W, Khalil WF. Wound healing activity of brown algae plus polyherbal extract in normal and alloxan-induced diabetic rats. J. Advanced Veterinary Research. 2013 Jul 1;3(3):102-8.

16. Hampton S. The role of alginate dressings in wound healing. Diabet Foot. 2004 Dec 22;7(4):162-7

17. Zhang M, Zhao X. Alginate hydrogel dressings for advanced wound management. International J.Biological Macromolecules. 2020 Aug 7.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1401.12.48.3.2]

18. Summa M, Russo D, Penna I, Margaroli N, Bayer IS, Bandiera T, Athanassiou A, Bertorelli R. A biocompatible sodium alginate/povidone iodine film enhances wound healing. European J. Pharmaceutics and Biopharmaceutics. 2018 Jan 1;122:17-24.

19. Barrientos S, Stojadinovic O, Golinko MS, Brem H, Tomic-Canic M. Growth factors and cytokines in wound healing. Wound repair and regeneration. 2008 Sep;16(5):585-601.

20. Pierce GF, Mustoe TA, Altrock BW, Deuel TF, Thomason A. Role of platelet-derived growth factor in wound healing. J. cellular biochemistry. 1991 Apr;45(4):319-26.

21. O'Kane S, Ferguson MW. Transforming growth factor βs and wound healing. The international j. biochemistry & cell biology. 1997 Jan 1;29(1):63-78.

22. Khaheshi, I., et al., Loss of expression of *TGF-β*s and their receptors in chronic skin lesions induced by sulfur mustard as cwith chronic contact dermatitis patients. BMC dermatology, 2011. 11(1): 1-8.

23. Anthoni, M., et al., Transforming growth factor-beta/Smad3 signalling regulates inflammatory responses in a murine model of contact hypersensitivity. The British journal of dermatology, 2008. 159(3): 546-554

24.Lan CC, Fang AH, Wu PH, Wu CS. Tacrolimus abrogates TGF-β1-induced type I collagen production in normal human fibroblasts through suppressing p38 MAPK signalling pathway: implications on treatment of chronic atopic dermatitis lesions. J. the European Academy of Dermatology and Venereology. 2014 Feb;28(2):204.

25. Ramirez H, Patel SB, Pastar I. The role of *TGFβ* signaling in wound epithelialization. Advances in wound care. 2014 Jul 1;3(7):482-91.

26. Mori HM, Kawanami H, Kawahata H, Aoki M.Wound healing potential of lavender oil by acceleration of granulation and wound contraction through induction of TGF-beta in a rat model.BMC Complement Altren Med 2016 ; 16 ;144.

27. Yan, X., et al., Acceleration of diabetic wound healing by collagen-binding vascular endothelial growth factor in diabetic rat model. Diabetes research and clinical practice, 2010. 90(1): 66-72.

28. Wilgus TA, DiPietro LA. Complex roles for VEGF in dermal wound healing. The J. investigative dermatology. 2012 Feb;132(2):493.

30. Zheng Y, Watanabe M, Kuraishi T, Hattori S, Kai C, Shibuya M. Chimeric VEGF-ENZ7/PlGF specifically binding to VEGFR-2 accelerates skin wound healing via enhancement of neovascularization. Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology. 2007 Mar 1;27(3):503-11.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1401.12.48.3.2]