

نقش پروتئینها و عوامل مؤثر در ترمیم زخم

مقدمه

ترمیم زخم فرآیند بازسازی ساختاری و عملکردی بافت‌های صدمه‌دیده است. ترمیم زخم از جهاتی دارای اهمیت بسیار است به‌دلیل اینکه پوست اولین عامل محافظت از بدن در مقابل عوامل بیرونی است. صدمه به پوست می‌تواند منجر به آلودگی و برهم‌زدن هموستاز بدن شود. مکانیسم‌های ترمیمی بعد از زخم عبارت‌اند از هموستاز، التهاب، تکثیر و بازسازی که این مراحل می‌توانند با یکدیگر هم‌پوشانی داشته باشند. در طی فاز التهابی، نفوذپذیری رگی و جذب سلولی افزایش می‌یابد، منوسیت‌ها به ماکروفاژها تمایز می‌یابند. بعد از چند روز از ترمیم زخم، فاز تکثیر آغاز می‌شود. در این فاز، فیبروبلاست‌ها و کلاژن‌ها در بافت تکثیر پیدا می‌کنند. فاز بازسازی منجر به ترمیم کلاژن و انقباض و کشیدگی زخم می‌شود. تعدادی از پروتئین‌ها در فرآیند ترمیم زخم نقش دارند که عبارت‌اند از: فاکتور رشد فیبروبلاستی bFGF، آکلودین، کلودین-۱، سایتوکاین‌های ضدالتهابی، پروتئین‌های اتصال محکم (Tight-Junction proteins)، اینترلوکین ۶ (IL6)، اینترلوکین ۴ (IL4)، TNF- α ، P53، TGF β (transforming growth factor beta3)، Fibulin- β ، IL1، HSP90. با توجه به اهمیت ترمیم زخم و اینکه پروتئین‌ها نقش مهمی در فرآیند ترمیم زخم ایفا می‌کنند، در این مقاله پروتئین‌ها و سایر عوامل مؤثر در ترمیم زخم به‌ویژه سلول‌های بنیادی مورد مطالعه قرار گرفت که رویکرد مفیدی در جهت بهبود روش‌های ترمیم زخم است. از طرفی در زمینه بهبود ترمیم زخم عوامل سیستمیک و محلی وجود دارد که با بررسی این موارد می‌توان عوامل تأثیرگذار و لزوم کنترل این عوامل را مورد توجه قرار داد.

واژگان کلیدی: ترمیم زخم، پروتئین، سلول‌های بنیادی، پوست، فاکتورهای سیستمیک و محلی

درسا قوبدل نژاد^۱ مینا سادات نادری^۲ سید مهدی طبایی^۳

۱. دانشجوی بیوتکنولوژی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

۲. استادیار بیوفیزیک، گروه پژوهشی ترمیم نوری، مرکز تحقیقات لیزر در پزشکی، پژوهشکده یارا، جهاد دانشگاهی واحد علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۳. استادیار پوست‌ومو، گروه پژوهشی ترمیم نوری، مرکز تحقیقات لیزر در پزشکی، پژوهشکده یارا، جهاد دانشگاهی واحد علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

نویسنده مسئول: مینا سادات نادری، تلفن: ۰۲۱۶۶۴۹۰۷۶۴
پست الکترونیک: minanaderi@hotmail.com

مقدمه

پوست بزرگ‌ترین عضو بدن پستانداران و اولین سد حفاظتی در برابر عوامل بیماری‌زا است. به‌همین دلیل التیام زخم‌های ایجاد شده در پوست از اهمیت بسیاری برخوردار است. روند بهبود زخم متشکل از چهار مرحله مجزا است که می‌توانند با یکدیگر همپوشانی داشته باشند این مراحل عبارت‌اند از: هموستاز، التهاب، تکثیر، و بازسازی بافت [۱]. این فازها و توابع بیوفیزیولوژیکی آن‌ها باید در یک زمان مشخص ظاهر شوند و برای یک دوره خاص با شدت بهینه ادامه یابد. عوامل متعددی وجود دارد که می‌توانند بر روند زخم تأثیر بگذارند که این عوامل می‌توانند بر یک یا چند فاز در فرآیند بهبود زخم اثر بگذارند و مراحل هر فاز باید به‌گونه‌ای دقیق و منظم صورت بگیرند. وقفه‌ها و یا طولانی شدن در روند می‌تواند منجر به تأخیر بهبود زخم یا ایجاد زخم‌های مزمن شود. بیشتر زخم‌های مزمن به ایسکمی، دیابت و فشار خون مرتبط هستند.

در طول مراحل مختلف ترمیم زخم، فاکتورها و پروتئین‌های مختلفی نقش دارند. در سال‌های اخیر، روش‌های جدید در مطالعه پروتئین‌های درگیر در ترمیم زخم منجر به افزایش دانش ما در این زمینه شده است. در این مقاله مروری به معرفی پروتئین‌های درگیر و همچنین عوامل مؤثر در فرآیند ترمیم زخم از جمله سلول‌های بنیادی، عوامل سیستمیک و محلی پرداخته شده است. این مطالعات بنیادی می‌توانند رویکرد جدیدی را در جهت بهبود و کنترل فرآیند ترمیم زخم ارائه دهند.

روش بررسی

این مطالعه یک مطالعه مروری است و داده‌ها با جستجو در بانک‌های اطلاعاتی و مطالعه مقالات متعددی که در ارتباط با پروتئین‌های درگیر در ترمیم زخم بودند، جمع‌آوری شدند. در مبحث ترمیم زخم علاوه بر پروتئین‌ها عوامل مؤثر دیگری از قبیل تأثیر سلول‌های بنیادی و همچنین تأثیر عوامل سیستمیک و محلی وجود دارد که جستجو و جمع‌آوری گردید.

۱. فرآیند بهبود زخم

فرآیند بهبود زخم به‌صورت طبیعی شامل مراحل مختلف هموستاز، التهاب، تکثیر و بازسازی است.

• هموستاز: این فرآیند شامل مراحل زیر است:

۱. انقباضات عروقی

۲. تجمع پلاکت‌ها، تشکیل گرانول‌ها و تشکیل فیبرین (ترومبوز)

• التهاب: این فرآیند شامل مراحل زیر است:

۱. نفوذ نوتروفیل‌ها

۲. نفوذ مونوسیت‌ها و تمایز به ماکروفاژها

۳. نفوذ لنفوسیت

• تکثیر: این فرآیند شامل مراحل زیر است:

۱. اپیتلیالیزاسیون

۲. آنژیوژنز

۳. سنتز کلاژن

۴. تشکیل ECM

• بازسازی بافت: این فرآیند شامل مراحل زیر است:

۱. بازسازی کلاژن

۲. بلوغ عروقی و رگرسیون

فاز اول هموستاز بلافاصله پس از زخم با انقباض عروق و تشکیل لخته‌های فیبرین شروع می‌شود. بافت اطراف زخم، پروتئین‌های التهابی و فاکتورهای رشد مانند فاکتور رشد (TGF- β), فاکتور رشد پلاکتی (PDGF), فاکتور رشد فیبروبلاست (FGF) و فاکتور رشد اپیدرمی (EGF) را منتشر می‌کند. هنگامی که خونریزی کنترل می‌شود، سلول‌های التهابی به موضع زخم مهاجرت می‌کنند (شیمیوتاکتیک) و فاز التهابی را افزایش می‌دهند که توسط نفوذ متوالی نوتروفیل‌ها، ماکروفاژها و لنفوسیت‌ها مشخص می‌شود [۱-۳].

یک عملکرد حیاتی نوتروفیل‌ها برداشتن میکروب‌های مهاجم و سلول‌های باقی‌مانده در ناحیه زخم است و از آسیب‌های جانبی نوتروفیل‌ها تولید پروتازها و گونه‌های واکنش‌پذیر (ROS) است. ماکروفاژها نقش بسیار مهمی را در بهبود زخم ایفا می‌کنند. در زخم اولیه ماکروفاژها سیتوکین‌ها را آزاد می‌کنند که واکنش التهابی را با فعال کردن لکوسیت‌ها ترویج می‌دهند. ماکروفاژ همچنین مسئول القاء و پاکسازی سلول‌های آپوپتوتیک (از جمله نوتروفیل‌ها) است. همان‌طور که ماکروفاژها این سلول‌های آپوپتوز را روشن می‌کنند، آن‌ها به حالتی تبدیل می‌شوند که کراتینوسیت‌ها، فیبروبلاست‌ها و آنژیوژنز را تحریک می‌کنند که ترویج بازسازی بافت‌ها را بهبود می‌بخشد. به این ترتیب، ماکروفاژها بستر انتقال زخم را به مرحله تکثیر بهبود می‌بخشند [۴ و ۵].

لنفوسیت‌های T به دنبال مهاجرت ماکروفاژها به محل زخم مهاجرت می‌کنند و در طول مرحله اولیه تکثیر در حال تغییر هستند. مطالعات متعدد نشان می‌دهد که کاهش غلظت T-cell در محل زخم موجب بهبود زخم می‌شود، درحالی‌که دیگر گزارش‌ها حاکی از آن است که سلول‌های CD4⁺ (سلول‌های کمکی) در بهبود زخم نقش دارند و سلول‌های CD8⁺ (T-suppressor-cytotoxic cells) نقش مهمی در بهبود زخم‌ها دارند [۶ و ۷]. جالب توجه است. مطالعات اخیر در موش‌ها نشان داده است که در صورت عدم وجود لنفوسیت T, B تشکیل اسکار کاهش می‌یابد [۸].

فاز تکثیر به‌طور کلی با فاز التهابی همراه است و با تکثیر و مهاجرت اپیتلیال به ماتریکس داخل زخم (اپیتلیالیزاسیون مجدد) مشخص

سیتوکین‌های مختلف و عوامل رشد می‌شود.

آنژیوژنز اشاره به تشکیل مویرگ‌های جدید از عروق قبلی است که برای بهبود زخم ضروری است. آنژیوژنز یکی از مهم‌ترین وقایع در بهبود زخم است. $Ang-1$ ، $Ang-2$ و $VEGF\alpha$ محرک‌های آنژیوژنیک هستند و در روند بهبود زخم نقش اساسی ایفا می‌کنند. معاینه بافت‌شناسی و ارزیابی تشکیل شبکه سلولی اندوتلیال نشان می‌دهند که MSC ها می‌تواند در ترشح $Ang-1$ ، $Ang-2$ و $VEGF\alpha$ دخیل باشند [۱۷].

MSCs در روند بهبود زخم در سه مرحله نقش دارند: التهاب، تکثیر و بازسازی. MSC ها در مکانیسم‌های مهم از جمله مدولاسیون پاسخ ایمنی ناشی از عوامل ضدالتهابی مانند $TNF\alpha$ و $IFNc$ و افزایش غلظت عوامل ضدالتهابی از جمله اینترلوکین ۱۰ و اینترلوکین ۴ تأثیر مستقیم دارند که می‌تواند برای بهبود زخم‌ها به‌خصوص در موارد مزمن استفاده شود [۱۸]. علاوه بر این، مطالعات نشان داده است که MSC ها واسطه‌های بهبود زخم را نظیر عوامل رشد، سیتوکین‌ها و کیموکی‌ها مخصوصاً $VEGF-\beta$ و $PDGF$ را ترشح می‌کنند [۱۹، ۲۰، ۲۱]. علاوه بر این، آن‌ها میتوزن‌هایی را تولید می‌کنند که باعث افزایش پرولازیت کراتینوسیت، فیبروبلاست‌های پوست و سلول‌های اندوتلیال [۲۲ و ۲۳] مطالعات بر روی موش‌های دیابتی نشان داده‌اند که MSC ها سبب افزایش اپیتلیالیزاسیون و آنژیوژنز می‌شوند و بنابراین ترمیم زخم را تسهیل می‌کنند. علاوه بر این، انتقال MSC ها روی سطح زخم‌های عمیق سوختگی باعث کاهش سلول‌های التهابی، تشکیل عروق جدید و تشکیل گرانول در بافت می‌شود [۲۴].

۳. فاکتورهای محلی و سیستمیک مؤثر در ترمیم‌کننده زخم

فاکتورهای ترمیم‌کننده زخم را به‌طور کلی می‌توان به محلی و سیستمیک طبقه‌بندی کرد. فاکتورهای محلی آن‌هایی هستند که به‌طور مستقیم بر خصوصیات زخم تأثیر می‌گذارند از قبیل: اکسیژن، عفونت، جسم خارجی و نارسایی وریدی. درحالی‌که عوامل سیستمیک، وضعیت سلامتی عمومی یا فردی بیمار است که بر توانایی او در بهبود تأثیر می‌گذارد و از طریق اثرهای موضعی بر روند بهبود زخم اثر می‌گذارند از عوامل سیستمیک مؤثر بر روند ترمیم و بهبود زخم می‌توان به سن و جنسیت، هورمون‌های جنسی، استرس، ایسکمی، چاقی، مصرف دخانیات، الکل و بیماری‌هایی از قبیل دیابت، کلونید، فیبروز، بیماری‌های ارثی و زردی اشاره کرد.

۳-۱. فاکتورهای محلی مؤثر در ترمیم زخم

• اکسیژن

اکسیژن برای متابولیسم سلول‌ها به‌خصوص تولید انرژی با استفاده از ATP مهم است و تقریباً برای تمام پروسه‌های ترمیم زخم بسیار مهم

می‌شود. در ترمیم، فیبروبلاست‌ها و سلول‌های اندوتلیال موجب رشد مویرگی، تشکیل کلاژن و تشکیل بافت گرانول در محل آسیب می‌شوند. در داخل زخم، فیبروبلاست‌ها منجر به تولید کلاژن می‌شوند و همچنین گلیکوزامینوگلیکان‌ها و پروتئوگلیکان‌ها را تشکیل می‌دهند که جزء اصلی ماتریکس خارج سلولی (ECM) هستند. پس از تکثیر شدید و سنتز ECM، بهبود زخم وارد مرحله نهایی می‌شود که می‌تواند سال‌ها ادامه یابد. در این مرحله، مویرگ‌های جدید تولید می‌شوند که تراکم عروقی زخم را به حالت عادی بازمی‌گرداند. یکی از ویژگی‌های مهم فاز بازسازی، بازسازی ECM است که احتمالاً توسط فیبروبلاست‌های انقباضی (myofibroblasts) که در زخم ظاهر می‌گردند، متأثر می‌شوند [۳۱ و ۳].

۲. نقش سلول‌های بنیادی در ترمیم زخم

نقش سلول‌های بنیادی در بهبود زخم‌های پوستی و بازسازی بافت، توجه محققان بسیاری را به‌خود اختصاص داده است و تمرکز آن‌ها بر نقش سلول‌های بنیادی بالغ مانند سلول‌های بنیادی اپیدرمال و سلول‌های بنیادی مغز استخوان (BMDCs) است. سلول‌های بنیادی اپیدرمال در ناحیه فولیکول‌های مو و در لایه اپیدرم است و باعث ایجاد کراتینوسیت‌هایی می‌شوند که موجب اپیتلیالیزاسیون مجدد زخم‌ها می‌شوند. پوست طبیعی نیز یک عضو هدف برای BMDCs است. دو جمعیت اصلی سلول‌های بنیادی در مغز استخوان وجود دارد: سلول‌های بنیادی خونساز (HSC) و سلول‌های بنیادی مزانشیمی (MSC).

BM-MSCs ها قادر به تمایز به انواع مختلف سلول‌ها از جمله آدیپوسیت‌ها، استئوبلاست‌ها، کندروسیت‌ها، فیبروبلاست‌ها و کراتینوسیت‌ها هستند [۹ و ۱۰]. سلول‌های پیش‌ساز اندوتلیال (EPC) که از سلول HSC حاصل شده‌اند، سلول‌های کلیدی هستند که در فرآیند تولید سلول‌های عصبی همکاری می‌کنند. هم BM-MSCs ها و هم EPC ها در فرآیند ترمیم زخم پوستی نقش دارند [۹، ۱۱ و ۱۲]. چندین سلول مختلف در روند فرآیند زخم دخالت دارند و همان‌طور که در بالا توضیح داده شد، فعالیت سلولی هر نوع سلول خاص ممکن است در مراحل مختلف ترمیم نیز متفاوت باشد.

MSCs سیتوکین‌ها تولید و ترشح می‌کنند که سیتوکین‌ها به‌عنوان توابع اصلی در بهبود زخم به‌شمار می‌روند. MSC ها اثرهای متعددی در بهبود زخم‌ها دارند و باعث افزایش کلاژن، تکثیر و مهاجرت و ترشح آن در فیبروبلاست‌های پوست می‌شوند. عوامل آزاد شده از MSC ها، کراتینوسیت‌ها و فیبروبلاست‌های پوستی را فعال می‌کنند و از طریق مکانیسم پاراکرین به بهبود زخم کمک می‌کنند. MSC ها می‌توانند در بهبود زخم نقش دوگانه ایفا کنند: اول، تمایز سلول‌ها است مانند فیبروبلاست‌ها، اپیتلیوم و کراتینوسیت‌ها [۱۳-۱۶] و در مرحله دوم، اثرهای ناشی از مکانیسم پاراکرین باعث افزایش آنژیوژنز، نئوواسکولاریزاسیون، اپیتلیالیزاسیون، سنتز کلاژن و در نهایت بهبود زخم از طریق آزادسازی

التهاب بخش طبیعی از روند بهبود زخم است و برای حذف میکروارگانیسم‌های آلوده مهم است. با این وجود، در صورت عدم پاکسازی کامل میکروبی، التهاب ممکن است طولانی شود. هر دو عامل باکتری و اندوتوکسین می‌توانند منجر به افزایش طولانی مدت سیتوکین‌های ضدالتهابی مانند اینترلوکین-۱ (IL-1) و TNF- α شوند و فاز التهابی را طولانی‌تر کنند. اگر این امر ادامه یابد، زخم ممکن است به فاز مزمن وارد شود و نتواند بهبود یابد. التهاب طولانی منجر به افزایش سطح متالوپروتئیناز ماتریکس (MMPs) می‌شود که جزء خانواده پروتئازها است و توانایی تخریب ماتریکس خارج سلولی را دارد. در کنار افزایش محتوای پروتئاز، سطح مهارکننده‌های پروتئاز به‌طور طبیعی کاهش می‌یابد. این تغییر در تعادل پروتئاز می‌تواند فاکتورهای رشد در زخم‌های مزمن را به سرعت کاهش دهد [۲۷ و ۲۸]. همانند سایر فرآیندهای عفونی، باکتری‌ها در زخم‌های آلوده به‌صورت بیوفیلم‌ها (جوامع پیچیده‌ای از باکتری‌های جمع‌شده در یک ماتریکس پلی‌ساکارید خارج سلولی) ظاهر می‌شوند [۲۷]. بیوفیلم‌ها باعث توسعه محیط‌های حفاظت‌شده می‌شوند و به درمان‌های معمول آنتی‌بیوتیک مقاوم‌تر می‌شوند. از باکتری‌های رایج در زخم‌های عفونی و غیرعفونی می‌توان به استافیلوکوک اورئوس (S. aureus)، پseudomonas آئروژینوزا (P. aeruginosa) و استرپتوکوک‌های بتاهمولیتیک اشاره کرد [۲۷ و ۲۹].

به‌نظر می‌رسد P. aeruginosa و استافیلوکوک نقش مهمی در عفونت باکتریایی در زخم‌ها ایفا می‌کنند. احتمالاً بسیاری از زخم‌های مزمن به علت وجود بیوفیلم‌های حاوی P. aeruginosa التیام نمی‌یابند، بنابراین باکتری‌ها را از فعالیت فاگوسیت‌کننده‌ها از جمله نوتروفیل‌های چند هسته‌ای (PMNs) محافظت می‌کنند. این مکانیزم می‌تواند شکست آنتی‌بیوتیک‌ها را به‌عنوان درمان برای زخم‌های مزمن توضیح دهد [۳۰].

۳-۲. فاکتورهای سیستمیک مؤثر بر بهبود زخم

۳-۲-۱. سن

افراد سالمند (افراد بالای ۶۰ سال) سریع‌تر از هر گروه سنی دیگر طبق نتایج تحقیقات WHO (سازمان بهداشت جهانی) تحت تأثیر فرآیند زخم قرار می‌گیرند. افزایش سن یک خطر عمده در بهبود زخم‌ها است. بسیاری از مطالعات بالینی و حیوانی در سطح سلولی و مولکولی تأثیر سن را در تأخیر بهبود زخم مورد بررسی قرار داده‌اند. به‌طور کلی مشاهده شده است که در سالمندان اثر پیری موجب تأخیر زمانی و کیفیت در بهبود زخم می‌شود [۳۱ و ۳۲]. بهبود زخم در سالمندان با تأخیر در پاسخ التهابی تغییر همراه است و منجر به تأخیر در نفوذ T-cell به ناحیه زخم، تغییرات در تولید و کاهش توان فاگوسیتوز ماکروفاژها می‌شود [۳۳].

۳-۲-۲. هورمون‌های جنسی افراد سالمند

هورمون‌های جنسی در بهبود زخم نقش دارند. تحقیقات نشان داده‌اند که مردان سالمند در مقایسه با زنان سالمند بهبود زخم‌های

است. اکسیژن مانع از عفونت، باعث ایجاد آنژیوژنز، افزایش تمایز کراتینو سیت، مهاجرت و اپیتلیالیزاسیون مجدد می‌شود، تکثیر فیبروبلاست و سنتز کلاژن را افزایش می‌دهد و باعث انقباض زخم می‌شود. علاوه بر این، سطح تولید سوپراکسید (عامل کلیدی برای تخریب اکسیداتیو پاتوژن‌ها) توسط لکوسیت‌های چند هسته‌ای به شدت به سطوح اکسیژن بستگی دارد.

هیپوکسی موقت پس از آسیب باعث بهبود زخم می‌شود، اما هیپوکسی طولانی‌مدت و یا مزمن ترمیم زخم را کند می‌کند. در زخم‌های حاد، هیپوکسی به‌عنوان یک سیگنال عمل می‌کند که جنبه‌های بسیاری از روند بهبود زخم را تحریک می‌کند. هیپوکسی می‌تواند تولید سیتوکین و فاکتور رشد را از ماکروفاژها، کراتینوسیت‌ها و فیبروبلاست‌ها ایجاد کند. سیتوکین‌هایی که در پاسخ به هیپوکسی تولید می‌شوند عبارت‌اند از: PDGF، TGF- β ، VEGF و فاکتور نکروز تومور α (TNF- α). قابل ذکر است که سیتوکین‌ها مهم‌ترین عوامل تکثیر، مهاجرت و شیموتاکتیک سلولی و آنژیوژنز در فرآیند بهبود زخم هستند. در فرآیند طبیعی بهبود زخم، ROS مانند هیدروژن پراکسید (H_2O_2) و سوپراکسید (O_2) به‌عنوان پیام‌رسان سلولی برای تحریک فرآیندهای کلیدی بهبود زخم از جمله تحرک سلول، ترشح سیتوکین‌ها از جمله انتقال PDGF و آنژیوژنز عمل می‌کنند. هر دو هیپوکسی و هایپروکسی تولید ROS را افزایش می‌دهند، اما افزایش سطح ROS دارای اثرهای مضر از جمله آسیب به بافت‌ها می‌شود.

به‌طور خلاصه، در صورتی که سطح اکسیژن در حالت بهینه باشد، توانایی بهبود زخم را دارد. هیپوکسی عوامل دخیل در بهبود زخم را تحریک می‌کند از جمله تحریک فاکتورهای رشد و آنژیوژنز، در حالی که اکسیژن برای حفظ روند بهبود ضروری است. یکی از گزینه‌های درمانی HBOT است که گاهی اوقات بر هیپوکسی بافت غلبه دارد [۲۵ و ۲۶]. با وجود اینکه HBOT^۱ می‌تواند یک درمان مؤثر برای زخم‌های هیپوکسی باشد، اما استفاده از آن محدود است.

• عفونت‌ها

هنگامی که پوست مجروح می‌شود، میکروارگانیسم‌هایی که به‌طور معمول در سطح پوست وجود دارند، می‌توانند به بافت‌های زیرین دسترسی پیدا کنند. میزان عفونت و تکثیر میکروارگانیسم‌ها براساس آلودگی، کلونیزاسیون، عفونت محلی یا عفونت مهاجم طبقه‌بندی می‌شود. آلودگی وجود میکروارگانیسم‌هایی است که در زخم تکثیر نمی‌شوند. در حالی که کلونیزاسیون به‌عنوان حضور میکروارگانیسم‌های تکثیرشونده بر روی زخم بدون آسیب بافت اطلاق می‌شود. عفونت موضعی/کلونیزاسیون بحرانی مرحله‌ای است که در آن میکروارگانیسم‌ها تکثیر می‌شوند و بافت محلی شروع به واکنش می‌کند. عفونت‌های مهاجم به‌عنوان وجود میکروارگانیسم‌های تکثیرشونده در زخم همراه با آسیب‌هایی به میزبان تعریف شده است [۲۷].

1. Hyperbaric Oxygen Therapy

گسترده‌ای برای درمان التهاب و آرتریست روماتوئید و برای کنترل درد استفاده می‌شود. آسپرین با دوز پایین به علت عملکرد ضد پلاکتی آن معمولاً به‌عنوان یک درمان پیشگیرانه برای بیماری‌های قلبی-عروقی، اما نه به‌عنوان یک داروی ضدالتهابی، استفاده می‌شود [۴۲].

داروهای شیمی‌درمانی

اکثر داروهای شیمی‌درمانی برای جلوگیری از متابولیسم سلولی، تقسیم سلولی سریع و آنژیوژنز طراحی شده‌اند و بنابراین بسیاری از مسیرهایی را که برای بهبود زخم مناسب هستند، مهار می‌کنند [۴۳].

۳-۲-۶. چاقی

پرفیوژن ضعیف باعث آسیب‌پذیری بیشتر بافت می‌شود. علاوه بر این، مشکل یا ناتوانی افراد چاق در تغییر وضعیت خود باعث افزایش خطر آسیب‌های ذکر شده می‌شود. علاوه بر این، پوشانده شدن پوست منجر به رشد میکروارگاناسم‌ها در مناطق مرطوب می‌شود و به عفونت و تجزیه بافت کمک می‌کند. اصطکاک ناشی از تماس پوست بر پوست موجب زخم می‌شود. این عوامل افراد چاق را به سمت بهبود ضعیف زخم‌های پوستی هدایت می‌کند [۴۴ و ۴۵].

۳-۲-۷. مصرف الکل

شواهد بالینی و آزمایش‌های حیوانی نشان داده‌اند که مصرف الکل بروز عفونت را افزایش می‌دهد [۴۶ و ۴۷]. اگرچه اثرهای دقیق به الگوی تماس با الکل بستگی دارد (به‌عنوان مثال میزان مصرف، مدت‌زمان مصرف، زمان قرار گرفتن در معرض الکل و خروج الکل). بررسی اخیر در مورد تغییرات الکل ناشی از سیستم دفاعی میزبان پس از آسیب‌های تخریبی نشان می‌دهد که به‌طور کلی، قرار گرفتن در معرض الکل در کوتاه‌مدت باعث آزاد شدن سیتوکین التهابی می‌شود. میزان بالای آلودگی پس از آسیب با کاهش کارایی نوتروفیل و عملکرد فاگوسیتوز کننده‌ها در مواجهه با الکل همراه است [۴۸].

۳-۲-۸. استعمال دخانیات

تحقیقات نشان داده است که سیگار کشیدن خطر ابتلا به بیماری قلبی و عروقی، سکتته مغزی، بیماری مزمن ریوی و بسیاری از انواع سرطان را افزایش می‌دهد. به‌همین ترتیب، اثرات منفی سیگار کشیدن بر نتایج زخم به مدت طولانی شناخته شده است [۴۹-۵۱]. بعد از عمل، بیمارانی که سیگار می‌کشند، تأخیر در بهبود زخم و افزایش عوارض مختلف مانند عفونت، پارگی زخم، نشت انستوموتیک، نکروز زخم و فلپ، اپیدرمولیز و کاهش قدرت کشش زخم‌ها را نشان می‌دهند [۵۲ و ۵۳].

Chan LK, Withey S, Butler PE (۲۰۰۶). Smoking and wound healing problems in reduction mammoplasty: is the introduction of urine nicotine testing justified? *Ann Plast Surg* ۵۶:۱۱۱-۱۱۵.

حاد با تأخیر همراه است. توضیح جزئی این است که استروژن‌های زن (استرون و 17β استرادیول)، آندروژن‌های مردانه (تستوسترون و $\alpha-5$ دی هیدروتستوسترون، DHT و DHEA) اثرهای قابل توجهی بر روند بهبود زخم دارند [۳۴]. اخیراً یافته شده است که تفاوت‌های بیان ژن در زخم‌های افراد سالخورده و افراد جوان تقریباً به‌طور انحصاری توسط استروژن تنظیم می‌شود. استروژن از طریق تنظیم بیان تعدادی از ژن‌های مرتبط با بازسازی، تولید ماتریکس، مهار پروتئاز و عملکرد اپیدرمی عمدتاً بر التهاب تأثیر می‌گذارد. مطالعات نشان می‌دهد که استروژن می‌تواند اختلالات مربوط به سن را بهبود بخشد، در حالی که آندروژن‌ها مانع بهبود زخم‌های پوستی می‌شوند [۳۴ و ۳۵].

۳-۲-۳. اضطراب

استرس تأثیر زیادی بر سلامت انسان و رفتار اجتماعی دارد. دلیل بسیاری از بیماری‌ها مانند بیماری‌های قلبی-عروقی، سرطان، بهبود زخم و دیابت استرس است. مطالعات متعدد تأیید کرده‌اند که استرس منجر به اختلال در تعادل ایمنی نوروآندوکراین می‌شود [۳۶ و ۳۷]. بررسی‌های پاتوفیزیولوژی استرس نشان می‌دهد که استرس از طریق کاهش تنظیم سیستم ایمنی که عمدتاً از طریق محور هیپوتالاموس-هیپوفیزی آدرنال (HPA) و غده فوق کلیوی و سیستم عصبی سمپاتیک موجب اختلال می‌شود [۳۸ و ۳۹].

۳-۲-۴. دیابت

دیابت بر صدها میلیون نفر در سراسر جهان تأثیر می‌گذارد. افراد دیابتی در بهبودی زخم‌های حاد، دچار اختلال می‌شوند. علاوه بر این، این جمعیت مستعد ابتلا به زخم‌های پای دیابتی مزمن (DFU) هستند که در ۱۵ درصد افراد مبتلا به دیابت بروز می‌کند. DFU ها یک عارضه جدی برای دیابت هستند و ۸۴ درصد از افراد مبتلا را وادار به قطع پای دیابتی می‌کنند [۴۰].

۳-۲-۵. داروها

بسیاری از داروها مانند داروهایی که باعث تشکیل لخته یا عملکرد پلاکتی می‌شوند یا واکنش‌های التهابی و تکثیر سلولی، توانایی تأثیر در بهبود زخم را دارند. از جمله داروهای مورد استفاده که تأثیر قابل توجهی در بهبود دارند، استروئیدهای گلوکوکورتیکوئیدی، داروهای ضدالتهابی غیراستروئیدی و داروهای شیمی‌درمانی را می‌توان نام برد.

گلوکوکورتیکوئیدها

استروئیدها گلوکوکورتیکوئیدها سیستمیک (GC) اغلب به‌عنوان عوامل ضدالتهابی مورد استفاده قرار می‌گیرند که از طریق اثرات ضدالتهابی و سرکوب واکنش‌های سلولی زخم از جمله تکثیر فیبروبلاست و سنتز کلاژن باعث جلوگیری از بهبود زخم می‌شوند [۴۱].

داروهای ضدالتهابی غیراستروئیدی

داروهای ضدالتهابی غیراستروئیدی (NSAIDs) مانند ایبوپروفن به‌طور

۹-۲-۳. تغذیه

برای بیش از ۱۰۰ سال، تغذیه به‌عنوان عامل مهمی شناخته شده است که بر بهبود زخم تأثیر می‌گذارد. واضح است که سوء تغذیه و یا کمبود مواد مغذی خاص می‌تواند تأثیر عمیقی بر بهبود زخم پس از ضربه و جراحی داشته باشد. بیماران مبتلا به زخم مزمن اغلب نیاز به مواد مغذی خاصی دارند. انرژی، کربوهیدرات، پروتئین، چربی، ویتامین و متابولیسم مواد معدنی همه می‌توانند روند بهبود را تحت تأثیر قرار دهند [۵۴].

۴. پروتئین‌های دخیل در مکانیسم ترمیم زخم

پروتئین‌های متعددی در پروسه ترمیم زخم دخیل هستند که متداول‌ترین آن‌ها عبارت‌اند از:

• اینترلوکین ۶ (IL6)

• Recombinant Leucine-Rich Repeat Flightless Interacting Protein-1 (LRRFIP-1)

• Hepatocyte growth factor (HGF) / basic fibroblast growth factor (bFGF)

• Tight-Junction

• Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)

• Fibulin-5

• Transforming growth factor beta (TGFβ)

• اینترلوکین ۴ (IL4)

• اینترلوکین ۶ (IL6)

تصور می‌شود نقش پاسخ التهابی که قبل از بهبود زخم‌ها ایجاد می‌شود، در ارتباط با بروز عفونت و از بین بردن بقایای سلولی است. با این حال، شواهد نشان می‌دهد که سیتوکین‌های التهابی نیز ممکن است در تعدیل فرآیند بهبود زخم نقش داشته باشند و تعدادی از مطالعات نشان می‌دهد که عوامل ضدالتهابی، مانند گلوکوکورتیکوئید، به‌طور قابل توجهی در بهبود زخم پوستی مؤثر است [۵۵ و ۵۶]. در میان چنین سیتوکین‌های ضدالتهابی، اینترلوکین ۶ (IL6) واسطه اصلی واکنش میزبان به آسیب بافتی است [۵۷ و ۵۸].

IL6 همچنین با تعدادی از بیماری‌های مزمن پاتولوژیک پوست از جمله پسوریازیس [۵۹]، اسکلرودرما [۶۰] و لوپوس اریتماتوز سیستمیک (SLE) همراه است. IL6 باعث انتشار فاکتور رشد کراتینوسیت می‌شود [۵۹].

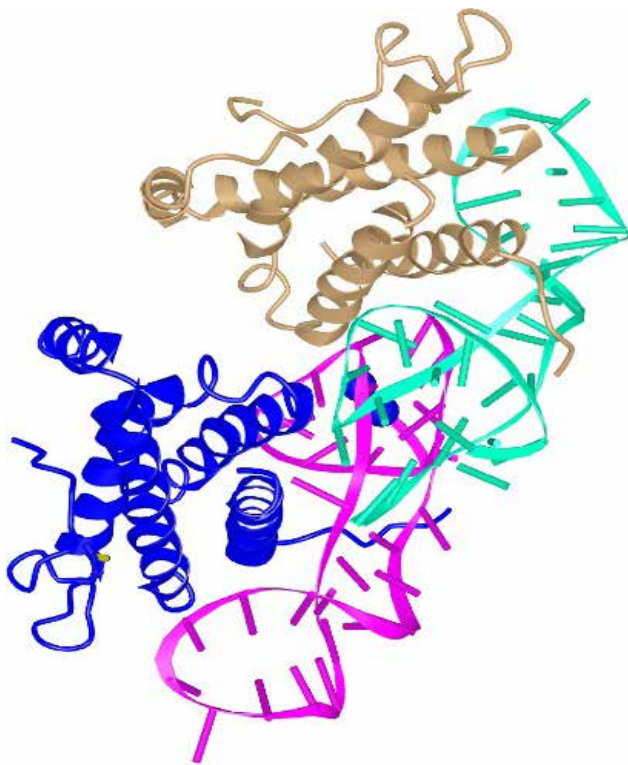
IL6 ممکن است به‌طور غیر مستقیم از طریق مدولاسیون عوامل رشد

یا گیرنده‌های آن‌ها به بهبود زخم کمک کند. در این راستا IL6 فاکتور رشد کراتینوسیت (KGF) را در فیبروبلاست‌ها [۶۱ و ۶۲] و گیرنده‌های اپیدرمی (EGF) در کراتینوسیت‌های کشت‌شده منجر می‌شود [۶۳]. بهبود زخم‌های مزمن مانند زخم‌های مرتبط با دیابت و یا سرکوب ایمنی، یک هدف ناپایدار بوده است. به‌نظر می‌رسد زخم‌های مزمن ناشی از دیابت و درمان با گلوکوکورتیکوئید منجر به تغییرات متعددی از قبیل تغییر بیان سیتوکین‌ها و افزایش فعالیت MMP می‌شوند. در طی بهبود زخم طبیعی ماتریکس متالوپروتئینازها (MMP) ترشح می‌شود [۶۴] و افزایش فعالیت این پروتئینازها باعث تأخیر در بهبود زخم با مهار رسوب کلاژن ماتریکس و بازسازی بافت می‌شود. یکی دیگر از ویژگی‌های زخم‌های مزمن، کاهش میزان سیتوکین‌های خاصی است. بیان این سیتوکین‌های ضدالتهابی مانند فاکتور نکروز تومور (TNFα)، IL1 و IL6 از طریق درمان گلوکوکورتیکوئید مهار می‌شود [۶۵] و کاهش سطح IL6 در محل زخم منجر به تأخیر در روند بهبود زخم می‌شود [۶۶].

• Recombinant Leucine-Rich Repeat Flightless Interacting Protein-1 (1-LRRFIP)

1-LRRFIP به‌نام Fli 1 شناخته شده است [۶۷]. Fli 1 یک تنظیم‌کننده منفی در فرآیند بهبود زخم‌ها است که بر التهاب زخم و مکانیسم سنتز کلاژن اثر می‌گذارد [۶۸ و ۶۹].

1-LRRFIP به‌طور گسترده‌ای در بافت‌های جنینی بیان می‌شود، در



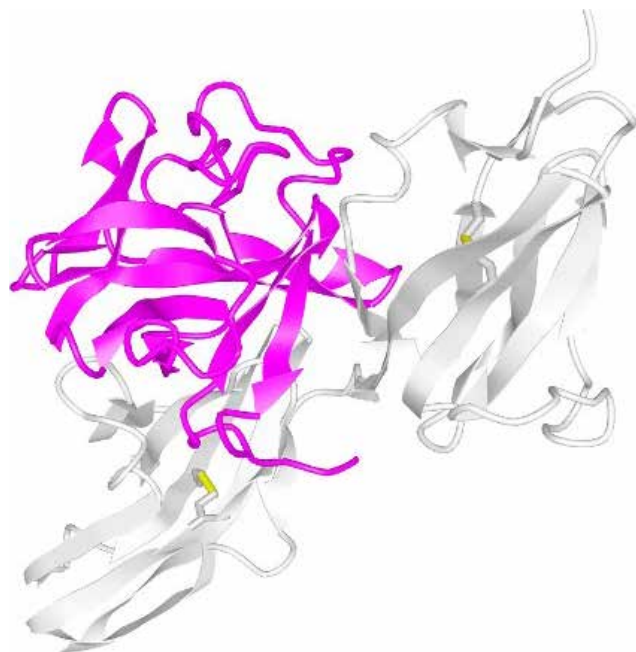
شکل ۱: اینترلوکین ۶ (IL6)

آنژیوژنیک، آنژیوپروتکتیک (angiogenic, angioprotective, antiapoptotic and antifibrotic) است [۸۰ و ۸۱]. آپوپتوز نقش مهمی در تنظیم درمان زخم دارد. کاهش تعداد سلول‌ها در فازهای مختلف بهبود عمدتاً به دلیل آپوپتوز است. HGF دارای اثر antifibrotic قوی است در نتیجه از شکل‌گیری اسکار جلوگیری می‌کند [۸۲-۸۵].

آپوپتوز در بازسازی اندام‌ها مانند کبد، ریه و کلیه دخیل است. بنابراین آپوپتوز ممکن است بهبود پوست را سرعت بخشد [۸۶ و ۸۷]. شکل‌گیری اسکار پس از مراحل بهبود زخم‌های پوست نیز می‌تواند با کنترل آپوپتوز توسط عوامل رشد مهار شود [۸۸ و ۸۹]. از سوی دیگر، عامل رشد فیبروبلاست پایه (bFGF) یک میتوز قدرتمند و شیمی‌درمانی برای سلول‌های اندوتلیال و همچنین یک عامل تقویت‌کننده در بهبود زخم است [۹۰ و ۹۱]. bFGF در زخم‌های حاد باعث تسریع آپوپتوز در بافت گرانولی در مرحله اولیه بهبود می‌شود و مرگ سلولی به کاهش زخم در اواخر مرحله بهبود منجر می‌گردد.

• Tight-Junction

اتصالات تنگ (TJs) اتصالات سلولی هستند که برای تشکیل یک مانع بین سلولی در پوست شناخته می‌شوند [۹۲]. پروتئین اتصال (TJ) در تکثیر و تمایز دخیل است. این فرآیندها برای التیام طبیعی زخم ضروری است. زخم‌های مزمن اغلب با ارتباط پروتئین (TJ) کلودین-۱ و اکولودین در حاشیه زخم و یا در بازسازی اپیدرم همراه است. آزمایش‌های مجزا در کراتینوسیت نشان داد که کاهش 1-claudin در محل زخم از طریق تأخیر در مهاجرت و کاهش تکثیر موجب اختلال در بهبود زخم می‌شود. فعال شدن مسیر AKT به‌طور قابل توجهی پس از نابودی



شکل ۳: Hepatocyte growth factor (HGF)/basic fibroblast growth factor (bFGF)

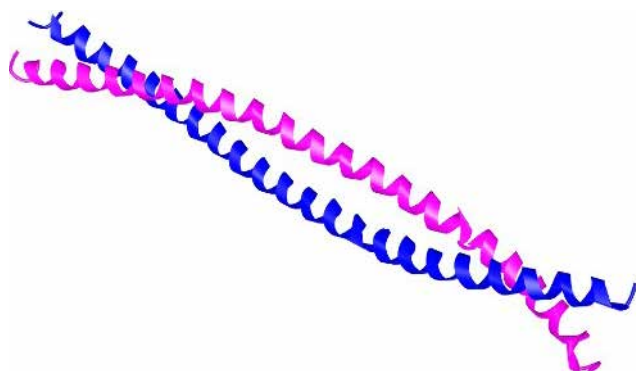
پوست سالم و بالغ بیان کمی دارد و به‌طور عمده به هسته و اسکلت سلولی actin متصل است [۷۰]. گزارش‌های قبلی مربوط به عملکرد 1-LRRFIP بر تنظیم آن در مسیر رونویسی Wnt/ β -catenin متمرکز شده است که به‌عنوان یک عامل مهم برای تکثیر فیبروبلاست‌های مزانشیمال در طی بهبود زخم توصیف شده است [۷۱]. مطالعات نشان داده است که افزایش سطح 1-LRRFIP ممکن است بر رفتار سلول تأثیر بگذارد و سطوح بالای 1-LRRFIP در سرطان‌های کبد و ریه مشاهده شده است زیرا 1-LRRFIP به‌منظور پیشگیری از متاستاز و حمله سلول‌های سرطانی افزایش می‌یابد. خاموش شدن 1-LRRFIP، انتقال اپیتلیال-مزانشیمال را از طریق اثرهای آن بر مسیر سیگنالینگ Wnt/ β -catenin تغییر می‌دهد، در حالی که وجود 1-LRRFIP در سلول‌های سرطانی کبد باعث کاهش رشد سلول‌ها و افزایش آپوپتوز می‌شود [۷۲ و ۷۳].

مطالعات نشان می‌دهد که تغییر سطح 1-LRRFIP ممکن است بر پاسخ‌های مهم سلولی در مراحل تکثیر و بازسازی در مراحل بهبود زخم تأثیر بگذارد. علاوه بر این، 1-LRRFIP به‌عنوان یک حسگر بیولوژیکی DNA مورد نیاز برای تولید اینترفرون بتا (β -IFN) شناسایی شده است در واقع ثابت شده است که β -IFN تکثیر بسیاری از انواع سلول مهم در زخم شامل اندوتلیوم را کنترل می‌کند و اثرات مهاری بر آنژیوژنز زخم دارد [۷۴].

پروتئین 1-LRRFIP، متمرکز بر پاسخ‌های انعقادی و ترشح سیتوکین‌ها است که هر دو در بهبود زود هنگام زخم‌های حاد مهم هستند [۷۵]. علاوه بر این، 1-LRRFIP از طریق اثر متقابل آن با Fli 1 به‌عنوان یک فعال‌کننده رونویسی عمل می‌کند و رونویسی وابسته به بتاکتاتین را تنظیم می‌کند. 1-LRRFIP نیز به‌عنوان یک سرکوبگر α -TNF شناخته شده است [۷۰، ۷۶ و ۷۷]. مطالعات نقش مهمی را برای 1-LRRFIP در تنظیم مسیرهای سیگنال حرکتی برای تنظیم نتایج بهبود زخم شناخته‌اند.

• Hepatocyte growth factor (HGF) / basic fibroblast growth factor (bFGF)

فاکتور رشد هیپاتوسیت (HGF) نقش مهمی را در بازسازی هیپاتوسیت‌ها ایفا می‌کند [۷۸ و ۷۹]. تحقیقات نشان داده است که HGF دارای فعالیت‌های



شکل ۴: Recombinant Leucine-Rich Repeat Flightless Interacting Protein-1

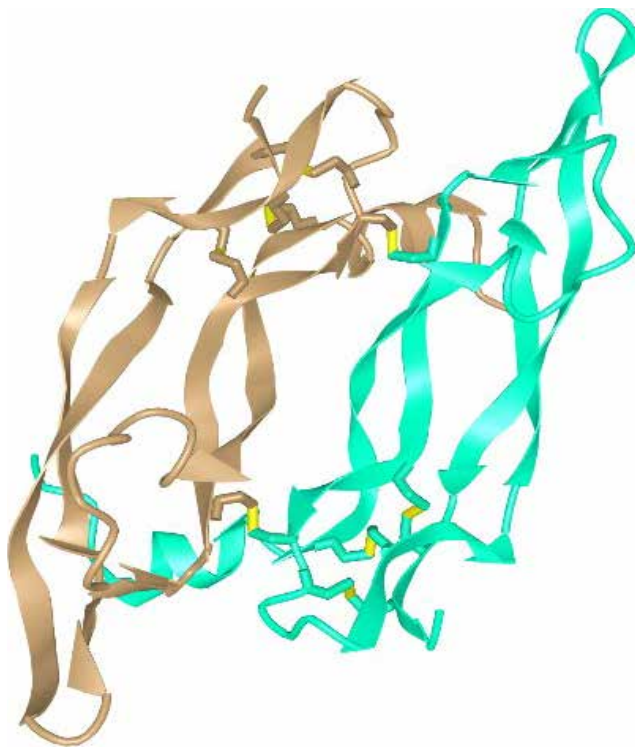
۵ میانجی‌گری شد. نتایج تحقیقات *in vitro* نشان می‌دهد که فیبولین ۵ با اتصال به فاکتور رشد اندوتلیال عروقی موجب مهار آنژیوژنز و سرکوب سیگنالینگ می‌شود [۱۱۵]. نتایج تحقیقات نشان می‌دهد که Fibulin-5 و الیاف الاستیک به‌طور مستقیم در بهبود کوتاه‌مدت زخم دخالت نمی‌کنند. واضح است که اثر طولانی‌مدت عدم وجود فیبولین ۵ بر عملکرد و یکپارچگی پوست بازسازی‌شده باید مورد توجه قرار بگیرد.

با استفاده از نتایج این بررسی‌ها می‌توان بانداژهایی را طراحی کرد که سرعت بهبود زخم را افزایش دهند و از ایجاد اسکار پس از بهبود زخم جلوگیری کنند.

● Transforming growth factor beta (TGFβ)

تحقیقات نشان داده است که سیگنالینگ TGFβ برای حفظ هموستازی و ترمیم آسیب حیاتی است. مهم این است که لیگاندها و گیرنده‌های TGF-B از طریق کراتینوسیت‌های اپیدرمی و فیبروبلاست‌های پوستی بیان می‌شود. باین حال سیگنالینگ TGFβ ممکن است اثرهای متفاوتی بر روی دو نوع سلول داشته باشد. به‌طور کلی TGFβ-1 مانع از proliferation کراتینوسیت‌ها می‌شود درحالی‌که در فیبروبلاست‌های پوستی آن را تحریک می‌کند [۱۱۶].

در مراحل بعدی بهبود زخم، TGFβ در تنظیم مهاجرت کراتینوسیت، آنژیوژنز، تبدیل فیبروبلاست‌ها به میوفیبروبلاست‌ها و تحریک تولید ECM دخیل است [۱۱۷].



شکل ۵: Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)

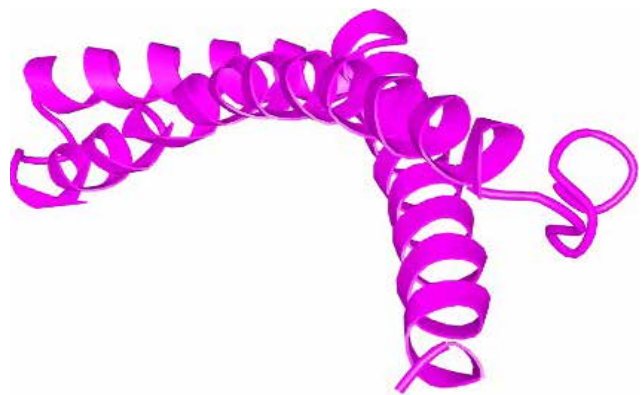
کولدین-۱ کاهش یافت و سطح پروتئین kinase ۲/۱ سیگنال خارج سلولی کاهش یافت. برای هر دو پروتئین تحقیقات نشان داده است که کلودین-۱ و occludin در بازسازی اپیدرمی نقش به‌سزایی دارد. اثبات شده است که کلودین-۱ و occludin در تمایز اپیتلیال دخیل هستند [۹۳ و ۹۴] و کلودین-۱ بر نفوذ و تکثیر کراتینوسیت‌ها دخیل می‌باشند و occludin برای چسبندگی بین سلولی مهم است [۹۵].

● Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)

فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) است. این عمل به‌عنوان میتوز سلولی اندوتلیال [۱۰۱-۹۶]، عامل شیمیایی [۱۰۲ و ۱۰۳] و القاء‌کننده نفوذپذیری عروقی [۱۰۴-۱۱۰] است. VEGF بر چندین مؤلفه بهبود زخم از جمله آنژیوژنز و اپیتلیالیزاسیون و رسوب کلاژن تأثیرگذار است [۱۱۱]. فاکتورهای رشدی توسط اداره غذا و دارو تأیید شده‌اند تا سرعت زخم‌های ناخوشایند را تسریع کنند. استفاده موضعی از فاکتورهای رشد موجب تسریع بهبود زخم می‌شود. از آنجایی که یکی از اثرهای VEGF آنژیوژنز است و آنژیوژنز نقش مهمی در بهبود زخم دارد لذا، در آینده درمان تکی و یا ترکیبی (VEGF) ممکن است در بیماران مبتلا به زخم‌های ناخوشایند استفاده شود.

● Fibulin-5

پروتئین‌های ماتریکس غیرسلولی نقش مهمی در بهبود زخم پوستی به وسیله میانجی‌گری در ماتریس سلول‌ها ایفا می‌کنند. Fibulin-5 یک پروتئین لازم برای اتصال به الاستین است که برای توسعه فیبر الاستیک در داخل بدن حیاتی است [۱۱۲ و ۱۱۳]. سلول‌های الاستوژنیک مختلف مانند فیبروبلاست‌های پوستی، فیبروبلاست‌های ریه و سلول‌های عضلانی، فیبولین ۵ را ترشح می‌کنند و مسئولیت elastogenesis خاص بافت را دارند. به‌تازگی نشان داده شد که بیان بیش‌ازحد Fibulin-5 باعث ایجاد زخم کامل ضخیم با القای تشکیل گرانول‌ها و بازسازی می‌شود [۱۱۴]. با این حال روشن نیست که آیا این اثر به‌دلیل افزایش تولید فیبر الاستیک در بستر زخم بود یا اینکه آیا از طریق دیگر خواص بیولوژیکی فیبولین



شکل ۴: Tight-Junction

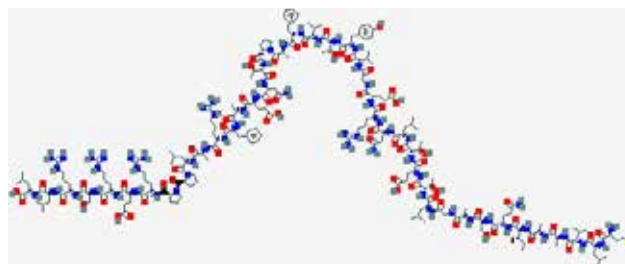
• اینترلوکین ۴ (IL4)

اینترلوکین ۴ یک سایتوکین چندمنظوره است که موجب تحریک فیبروبلاست‌ها به منظور ساخت ماتریکس خارج سلولی (ECM) می‌شود [۱۱۸].

معمولاً حداکثر ۲ تا ۴ روز پس از ایجاد زخم، اینترلوکین ۴ در محل زخم مشاهده می‌شود. بیشتر این سلول‌ها در نزدیکی عروق مویرگی قرار دارند. بیان IL4 پس از ۴ روز به میزان قابل توجهی کاهش می‌یابد و تا ۲۱ روز پس از ایجاد زخم ناپدید می‌شود.

نتیجه‌گیری

در این مقاله ابتدا مراحل و مکانیسم مولکولی فرآیند ترمیم زخم توضیح داده شد و سپس به نقش سلول‌های بنیادی و پروتئین‌های مختلف پرداخته شد. از موارد حایز اهمیت نقش عوامل سیستمیک و محلی تأثیرگذار در روند ترمیم زخم است. با توجه به اینکه وجود اکسیژن برای متابولیسم سلول‌ها لازم و ضروری است، بنابراین این لازم است که میزان و شدت اکسیژن درمورد فرآیند بهبود زخم تحت کنترل قرار گیرد. از عوامل سیستمیک مؤثر می‌توان به عوامل فیزیولوژیکی فرد از قبیل سن، جنس، چاقی، استرس و همچنین مصرف الکل و دخانیات اشاره کرد. با توجه به اینکه بهبود زخم در سالمندان همراه با تأخیر زمانی و کیفیت در بهبود همراه است، بنابراین لازم است که در این افراد مراقبت‌های بیشتری صورت پذیرد. استرس و اضطراب که با پیچیده‌تر شدن جوامع رو به افزایش است، منجر به اختلال در تعادل سیستم ایمنی می‌شود که به نوبه خود فرآیند بهبود زخم را مختل می‌کند. علاوه بر موارد ذکر شده، بیماری دیابت که در دهه‌های اخیر بسیار شایع شده است از عوامل مهم در روند بهبود زخم‌های حاد محسوب می‌شود. تغذیه اهمیت ویژه‌ای در بهبود روند ترمیم زخم دارد به طوری که کمبود مواد مغذی خاص از قبیل ویتامین‌ها و مواد معدنی می‌تواند بر روند بهبود زخم تأثیرگذار باشد. استعمال دخانیات و مصرف الکل نیز از عوامل مخرب در ترمیم زخم عنوان شده است که باید مورد توجه قرار گیرد.



شکل ۶: Transforming growth factor beta (TGFβ)

References:

1. Gosain A, DiPietro LA. Aging and wound healing. *World J Surg* 2004; 28: 321-6.
2. Broughton G 2nd, Janis JE, Attinger CE. The basic science of wound healing (retraction of Witte M., Barbul A. In: *Surg Clin North Am* 1997; 77: 509-28). *Plast Reconstr Surg* 2006; 117(7 Suppl): 12S-34S.
3. Campos AC, Groth AK, Branco AB. Assessment and nutritional aspects of wound healing. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2008; 11: 281-8.
4. Mosser DM, Edwards JP. Exploring the full spectrum of macrophage activation. *Nat Rev Immunol* 2008; 8: 958-69.
5. Meszaros AJ, Reichner JS, Albina JE. Macrophage-induced neutrophil apoptosis. *J Immunol* 2000; 165: 435-41.
6. Swift ME, Kleinman HK, DiPietro LA. Impaired wound repair and delayed angiogenesis in aged mice. *Lab Invest* 1999; 79: 1479-87.
7. Park JE, Barbul A. Understanding the role of immune regulation in wound healing. *Am J Surg* 2004; 187: 1116.
8. Gawronska-Kozak B, Bogacki M, Rim JS, Monroe WT, Manuel JA. Scarless skin repair in immunodeficient mice. *Wound Repair Regen* 2006; 14: 265-76.
9. Rea S, Giles NL, Webb S, Adcroft KF, Evill LM, Strickland DH. Bone marrow-derived cells in the healing burn wound—more than just inflammation. *Burns* 2009; 35: 356-64.
10. Cha J, Falanga V. Stem cells in cutaneous wound healing. *Clin Dermatol* 2007; 25: 73-8.
11. Wu Y, Wang J, Scott PG, Tredget EE. Bone marrow-derived stem cells in wound healing: a review. *Wound Repair Regen* 2007; 15(Suppl 1): S18-S26.
12. Liu ZJ, Velazquez OC. Hyperoxia, endothelial progenitor cell mobilization, and diabetic wound healing. *Antioxid Redox Signal* 2008; 10: 1869-82.
13. Rasulov MF, Vasilchenkov AV, Onishchenko NA. First experience of the use bone marrow mesenchymal stem cells for the treatment of a patient with deep skin burns. *Bull Exp Biol Med*. 2005; 139: 141-4.
14. Kazakos K, Lyras DN, Verettas D, Tilkeridis K, Tryfonidis M. The use of autologous PRP gel as an aid in the management of acute trauma wounds. *Injury*. 2009; 40: 801-5.
15. Liu L, Yu Y, Hou Y. Human umbilical cord mesenchymal stem cells transplantation promotes cutaneous wound healing of severe burned rats. *PLoS ONE*. 2014; 9: e88348.
16. Nie C, Yang D, Xu J, Si Z, Jin X, Zhang J. Locally administered adipose-derived stem cells accelerate wound healing through differentiation and vasculogenesis. *Cell Transplant*. 2011; 20: 205-16.
17. Hosni H, Rashed LA, Mahfouz S. Can mesenchymal stem cells pretreated with platelet rich plasma modulate tissue remodeling in a rat burn? *Biochem Cell Biol*. 2017; 95: 537-48.
18. Singer NG, Caplan AI. Mesenchymal stem cells: mechanisms of inflammation. *Annu Rev Pathol*. 2011; 6: 457478.
19. Gnecci M, Zhang Z, Ni A, Dzau VJ. Paracrine mechanisms in adult stem cell signaling and therapy. *Circ Res*. 2008; 103: 1204-19.
20. Bhasin A, Srivastava MVP, Mohanty S, Vivekanandhan S, Sharma S, Kumaran S, Bhatia R. Paracrine Mechanisms of Intravenous Bone Marrow-Derived Mononuclear Stem Cells in Chronic Ischemic Stroke. *Cerebrovascular Diseases Extra*. 2016; 6: 3.
21. Chen L, Tredget EE, Wu PY, Wu Y. Paracrine factors of mesenchymal stem cells recruit macrophages and endothelial lineage cells and enhance wound healing. *PLoS ONE*. 2008; 3: e1886.
22. Smith AN, Willis E, Chan VT. Mesenchymal stem cells induce dermal fibroblast responses to injury. *Exp Cell Res*. 2010; 316: 48-54.
23. Lee EY, Xia Y, Kim WS. Hypoxia-enhanced wound-healing function of adipose-derived stem cells: increase in stem cell proliferation and up-regulation of VEGF and bFGF. *Wound Repair Regen*. 2009; 17: 540-7.
24. Badiavas EV, Falanga V. Treatment of chronic wounds with bone marrow-derived cells. *Arch Dermatol*. 2003; 139: 510-6.
25. Rodriguez PG, Felix FN, Woodley DT, Shim EK. The role of oxygen in wound healing: a review of the literature. *Dermatol Surg*. 2008; 34: 1159-69.

26. Bishop A. Role of oxygen in wound healing. *J Wound Care*. 2008; 17: 399-402.
27. Edwards R, Harding KG. Bacteria and wound healing. *Curr Opin Infect Dis* 2004; 17: 91-6.
28. Menke NB, Ward KR, Witten TM, Bonchev DG, Diegelmann RF. Impaired wound healing. *Clin Dermatol* 2007; 25: 19-25.
29. Davis SC, Ricotti C, Cazzaniga A, Welsh E, Eaglstein WH, Mertz PM. Microscopic and physiologic evidence for biofilm-associated wound colonization in vivo. *Wound Repair Regen* 2008; 16: 23-9.
30. Bjarnsholt T, Kirketerp-Moller K, Jensen P, Kit M, Kroghfelt K, Phipps R. Why chronic wounds won't heal: a novel hypothesis. *Wound Repair Regen* 2008; 1: 2-10.
31. Keylock KT, Vieira VJ, Wallig MA, DiPietro LA, Schrementi M, Woods JA. Exercise accelerates cutaneous wound healing and decreases wound inflammation in aged mice. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2008; 294: R179-R184.
32. Gosain A, DiPietro LA. Aging and wound healing. *World J Surg* 2004; 28: 321-6.
33. Swift ME, Burns AL, Gray KL, DiPietro LA. Age-related alterations in the inflammatory response to dermal injury. *J Invest Dermatol*. 2001; 117: 1027-35.
34. Gilliver SC, Ashworth JJ, Ashcroft GS. The hormonal regulation of cutaneous wound healing. *Clin Dermatol*. 2007; 25: 56-62.
35. Hardman MJ, Ashcroft GS. Estrogen, not intrinsic aging, is the major regulator of delayed human wound healing in the elderly. *Genome Biol*. 2008; 9: R80.
36. Glaser R, Kiecolt-Glaser JK. Stress-induced immune dysfunction: implications for health. *Nat Rev Immunol*. 2005; 5: 243-51.
37. Vileikyte L. Stress and wound healing. *Clin Dermatol* 25:49-55. Vincent AM, Russell JW, Low P, Feldman EL (2004). Oxidative stress in the pathogenesis of diabetic neuropathy. *Endocr Rev*. 2007; 25: 612-28.
38. Godbout JP, Glaser R. Stress-induced immune dysregulation: implications for wound healing, infectious disease and cancer. *J Neuroimmune Pharmacol*. 2006; 1: 421-7.
39. Boyapati L, Wang HL. The role of stress in periodontal disease and wound healing. *Periodontol* 2007; 44: 195-210.
40. Brem H, Tomic-Canic M. Cellular and molecular basis of wound healing in diabetes. *J Clin Invest*. 2007; 117: 1219-22.
41. Franz MG, Steed DL, Robson MC. Optimizing healing of the acute wound by minimizing complications. *Curr Probl Surg*. 2007; 44: 691-763.
42. Pieringer H, Stuby U, Biesenbach G. Patients with rheumatoid arthritis undergoing surgery: how should we deal with antirheumatic treatment? *Semin Arthritis Rheum*. 2007; 36: 278-86.
43. Waldron DR, Zimmerman-Pope N. Superficial skin wounds. In: *Textbook of small animal surgery*. Slatter DH, editor. NY: Saunders, 2003; pp 260-71.
44. Wilson JA, Clark JJ. Obesity: impediment to postsurgical wound healing. *Adv Skin Wound Care*. 2004; 17: 426-35.
45. Anaya DA, Dellinger EP. The obese surgical patient: a susceptible host for infection. *Surg Infect (Larchmt)* 2006; 7: 473-80.
46. Szabo G, Mandrekar P. A recent perspective on alcohol, immunity, and host defense. *Alcohol Clin Exp Res* 2009; 33: 220-32.
47. Gentilello LM, Cobean RA, Walker AP, Moore EE, Wertz MJ, Dellinger EP. Acute ethanol intoxication increases the risk of infection following penetrating abdominal trauma. *J Trauma* 1993; 34: 669-74.
48. Greiffenstein P, Molina PE. Alcohol-induced alterations on host defense after traumatic injury. *J Trauma* 2008; 64: 230-40.
49. Siana JE, Rex S, Gottrup F. The effect of cigarette smoking on wound healing. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg* 1989; 23: 207-9.
50. Jensen JA, Goodson WH, Hopf HW, Hunt TK. Cigarette smoking decreases tissue oxygen. *Arch Surg* 1991; 126: 1131-4.
51. Ahn C, Mulligan P, Salcido RS. Smoking—the bane of wound healing: biomedical interventions and

social influences. *Adv Skin Wound Care*. 2008; 21: 227-38.

52. Chan LK, Withey S, Butler PE. Smoking and wound healing problems in reduction mammoplasty: is the introduction of urine nicotine testing justified? *Ann Plast Surg*. 2006; 56: 111-5.

53. Barbara V, Daniele A, Graziella A, Alves de O, Lídia A. Duration of smoking cessation for the prevention of surgical wound healing complications. *Rev. esc. enferm. USP*. 2014; 48: 1.

54. Arnold M, Barbul A. Nutrition and wound healing. *Plast Reconstr Surg*. 2006; 117(7 Suppl): 42S-58S.

55. Wahl SM. Glucocorticoids and wound healing. In: *AntiInflammatory Steroid Action. Basic and Clinical Aspects*. R.P. Schleimer, H.N. Claman, and A. Oronsky (eds.) New York: Academic Press, 1989; pp. 280-302.

56. Beer HD, Fassler R, Werner S. Glucocorticoid-regulated gene expression during cutaneous wound repair. *Vitam. Horm*. 2000; 59: 217-39.

57. Sehgal PB. Interleukin-6: molecular pathophysiology. *J. Invest. Dermatol*. 1990; 94: 2S-6S.

58. Vansnick J. Interleukin-6: an overview. *Annu. Rev. Immunol*. 1990; 8: 253-78.

59. Grossman RM, Krueger J, Yourish D, Granelliperno A, Murphy DP. Interleukin 6 is expressed in high levels in psoriatic skin and stimulates proliferation of cultured human keratinocytes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1989; 86: 6367-71.

60. Koch AE, Kronfeld-Harrington LB, Szekecz Z. In situ expression of cytokines and cellular adhesion molecules in the skin of patients with systemic sclerosis. Their role in early and late disease. *Pathobiology*. 1993; 61: 239-46.

61. Chedid M, Rubin JS, Csaky KG. Regulation of keratinocyte growth factor gene expression by interleukin 1. *J. Biol. Chem*. 1994; 269: 10753-7.

62. Brauchle M, Angermeyer K, Hubner G, Werner S. Large induction of keratinocyte growth factor expression by serum growth factors and proinflammatory cytokines in cultured fibroblasts. *Oncogene*. 1994; 9: 3199-204.

63. Oyama N, Sekimata M, Nihei Y, Iwasuki K. Different growth properties in response to epidermal growth factor and interleukin-6 of primary

keratinocytes derived from normal and psoriatic lesional skin. *J. Dermatol. Sci*. 1998; 16: 120-8.

64. Migatti P, Rifkin D, Welgus H. Proteinase and tissue remodeling. In: *The Molecular and Cellular Biology of Wound Repair*. R. Clark (ed.) New York: Plenum Press. 1996; pp. 427-74.

65. Beer HD, Fassler R. Glucocorticoid-regulated gene expression during cutaneous wound repair. *Vitam. Horm*. 2000; 59: 217-39.

66. Fahey TJD, Sadaty A, Jones WGD. Diabetes impairs the late inflammatory response to wound healing. *J. Surg. Res*. 1991; 50: 308-13.

67. Wang T, Chuang TH, Ronni T. Flightless I homolog negatively modulates the tlr pathway. *J. Immunol*. 2006; 176: 1355-62.

68. Cowin AJ, Adams DH, Strudwick XL, Chan H, Hooper JA, Sander GR, Rayner TE, Matthaei KI, Powell BC, Campbell HD. Flightless I deficiency enhances wound repair by increasing cell migration and proliferation. *J. Pathol*. 2007; 211: 572-81.

69. Cowin AJ, Lei N, Franken L, Ruzehaji N, Offenhauser C, Kopecki Z, Murray RZ. Lysosomal secretion of flightless I upon injury has the potential to alter inflammation. *Commun. Integr. Biol*. 2012; 5: 546-9.

70. Lee YH, Stallcup MR. Interplay of fli-i and flap1 for regulation of beta-catenin dependent transcription. *Nucleic Acids Res*. 2006; 34: 5052-9.

71. Zhang DL, Gu LJ, Liu L, Wang CY, Sung CK. Effect of wnt signaling pathway on wound healing. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 2009; 378: 149-51.

72. Douchi D, Ohtsuka H, Ariake K, Masuda K, Kawasaki S, Kawaguchi K, Fukase K, Oikawa M, Motoi F, Naitoh T. Silencing of *lrrfp1* reverses the epithelial-mesenchymal transition via inhibition of the wnt/beta-catenin signaling pathway. *Cancer Lett*. 2015; 365: 132-40.

73. Kawaguchi K, Fukase K, Oikawa M, Motoi F, Naitoh T. Silencing of *lrrfp1* reverses the epithelial-mesenchymal transition via inhibition of the wnt/beta-catenin signaling pathway. *Cancer Lett*. 2015; 365: 132-40.

74. Stout AJ, Gresser I, Thompson WD. Inhibition of wound healing in mice by local interferon alpha/beta injection. *Int. J. Exp. Pathol*. 1993; 74: 79-85.

75. Dai P, Jeong SY, Yu Y, Leng T, Wu W, Xie

- L, Chen X. Modulation of tlr signaling by multiple myd88-interacting partners including leucine-rich repeat fli-i-interacting proteins. *J. Immunol.* 2009; 182: 3450–60.
76. Suriano AR, Sanford AN, Kim N, Oh M, Kennedy S. Gcf2/lrrfp1 represses tumor necrosis factor alpha expression. *Mol. Cell. Biol.* 2005; 25: 9073–81.
77. Shi L, Song L, Fitzgerald M, Maurer K, Bagashev A, Sullivan KE. Noncoding rnas and lrrfp1 regulate tnf expression. *J. Immunol.* 2014; 192: 3057–67.
78. Nakamura T, Nawa K, Ichihara A. partial purification and characterization of hepatocyte growth factor from serum of hepatectomized rats. *Biochem Biophys Res Commun* 1984; 122: 1450–9.
79. Asami O, Ihara I, Shimidzu N, Shimizu S, Tomita Y, Ichihara A, Nakamura T. Purification and characterization of hepatocyte growth factor from injured liver of carbon tetrachloride-treated rats. *J Biochem* 1991; 109: 8–13.
80. Tamura M, Arakaki N, Tsubouchi H, Takada H, Daikuhara Y. Enhancement of human hepatocyte growth factor production by interleukin-1 alpha and -1 beta and tumor necrosis factor-alpha by fibroblasts in culture. *J Biol Chem* 1993; 268: 8140–5.
81. Aoki M, Morishita R, Taniyama Y, Kida I, Moriguchi A, Matsumoto K, Nakamura T, Kaneda Y, Higaki J, Ogihara T. Angiogenesis induced by hepatocyte growth factor in non-regulation of essential transcription factor for angiogenesis, etc. *Gene Ther* 2000; 7: 417–27.
82. Dunsmore SE, Rubin JS, Kovacs SO, Chedid M, Parks WC, Welgus HG. Mechanisms of hepatocyte growth factor stimulation of keratinocyte metalloproteinase production. *J Biol Chem* 1996; 271: 24576–82.
83. Matsumoto K, Nakamura T. Emerging multipotent aspects of hepatocyte growth factor. *J Biochem* 1996; 119: 591–600.
84. Gille J, Khalik M, Koenig M, Kaufmann R. Hepatocyte growth factor/scatter factor (HGF/SF) induces vascular permeability factor (VPF/VEGF) expression by cultured keratinocytes. *J Invest Dermatol* 1998; 111: 1160–5.
85. Patijn GA. Hepatocyte growth factor induces hepatocyte proliferation in vivo and allows for efficient retroviral-mediated gene transfer in mice. *Hepatology* 1989; 28: 707–16.
86. Messadi DV, Le A, Berg S, Jewett A, Wen Z, Kelly P, Bertolami CN. Expression of apoptosis-associated genes by human dermal scar fibroblasts. *Wound Rep Reg* 1999; 7: 511–7.
87. Akasaka Y, Fujita K, Ishikawa Y, Asuwa N, Inuzuka K, Ishihara M, Ito M, Masuda T, Akishima Y, Zhang L, Ito K, Ishii T. Detection of apoptosis in keloids and a comparative study on apoptosis between keloids, hypertrophic scars, normal healed flat scars, and dermatofibroma. *Wound Rep Reg* 2001; 9: 501–6.
88. Nagata M, Takenaka H, Shibagaki R, Kishimoto S. Apoptosis and p53 protein expression increase in the process of burn wound healing in guinea-pig skin. *Br J Dermatol* 1999; 140: 829–38.
89. Hayashi K, Nakamura S, Morishita R, Moriguchi A, Aoki M, Matsumoto K, Nakamura T, Kaneda Y, Sakai N, Ogihara T. In vivo transfer of human hepatocyte growth factor gene accelerates re-endothelialization and inhibits neointimal formation after balloon injury in rat model. *Gene Ther* 2000; 7: 1664–71.
90. Gospodarowicz D. Isolation and characterization of acidic and basic fibroblast growth factor. *Meth Enzymol* 1987; 147: 106–19.
91. Tsuboi R, Rifkin DB. Recombinant basic fibroblast growth factor stimulates wound healing in healing-impaired db/db mice. *J Exp Med* 1990; 172: 245–51.
92. Brandner JM, Zorn-Kruppa M, Yoshida T, Moll I, Beck LA, De Benedetto A. Epidermal tight junctions in health and disease. *Tissue Barriers* 2015; 3: e974451.
93. Saitou M, Furuse M, Sasaki H, Schulzke JD, Fromm M, Takano H, Noda T, Tsukita S. Complex phenotype of mice lacking occludin, a component of tight junction strands. *Mol Biol Cell* 2000; 11: 4131e4142.
94. Gruber R, Börnchen C, Rose K, Daubmann A, Volksdorf T, Wladykowski E, Vidal-Y-Sy S, Peters EM, Danso M, Bouwstra JA, Hennies HC, Moll I, Schmuth M, Brandner JM. Diverse regulation of claudin-1 and claudin-4 in atopic dermatitis. *Am J Pathol* 2015; 185: 2777e2789.
95. Rachow S, Zorn-Kruppa M, Ohnemus U, Kirschner N, Vidal-y-Sy S, von den Driesch P, Bornchen C, Eberle J, Mildner M, Vettorazzi E, Rosenthal R, Moll I, Brandner JM. Occludin is involved in adhesion, apoptosis, differentiation and Ca²⁺-homeostasis of human keratinocytes: implications for tumorigenesis. *PLoS One* 2013; 8: e55116.

96. Ferrara N, Henzel WJ. Pituitary follicular cells secrete a novel heparin-binding growth factor specific for vascular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1989; 161: 851.
97. Plouet J, Schilling J, Gospodarowicz D. Isolation and characterization of a newly identified endothelial cell mitogen produced by AtT-20 cells. *EMBO J* 1989; 8: 3801.
98. Gospodarowicz D, Abraham JA, Schilling J. Isolation and characterization of a vascular endothelial cell mitogen produced by pituitary-derived folliculo stellate cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 7311.
99. Leung DW, Cachianes G, Kuang WJ, Goeddel DV, Ferrara N. Vascular endothelial growth factor is a secreted angiogenic mitogen. *Science* 1989; 246: 1306.
100. Keck PJ, Hauser SD, Krivi G. Vascular permeability factor, an endothelial cell mitogen related to PDGF. *Science* 1989; 246: 1309.
101. Connolly DT, Heuvelman DM, Nelson R. Tumorvascular permeability factor stimulates endothelial cell growth and angiogenesis. *J Clin Invest* 1989; 84: 1470.
102. Yoshida A, Anand-Apte B, Zetter BR. Differential endothelial migration and proliferation to basic fibroblast growth factor and vascular endothelial growth factor. *Growth Factors* 1996; 13: 57.
103. Noiri E, Lee E, Testa J. Podokinesis in endothelial cell migration: role of nitric oxide. *Am J Physiol* 1998; 274: C236.
104. Senger DR, Galli SJ, Dvorak AM, Perruzzi CA, Harvey VS, Dvorak HF. Tumor cells secrete a vascular permeability factor that promotes accumulation of ascites fluid. *Science* 1983; 219: 983.
105. Senger DR, Connolly DT, Van de Water L. Purification and NH₂-terminal amino acid sequence of guinea pig tumorsecreted vascular permeability factor. *Cancer Res* 1990; 50: 1774.
106. Brkovic A, Sirois MG. Vascular permeability induced by VEGF family members in vivo: Role of endogenous PAF and NO synthesis. *J Cell Biochem* 2007; 100: 727.
107. Ferrara N. Molecular and biological properties of vascular endothelial growth factor. *J Mol Med* 1999; 77: 527.
108. Gavard J, Gutkind JS. VEGF controls endothelial-cell permeability by promoting the beta-arrestin-dependent endocytosis of VE-cadherin. *Nat Cell Biol* 2006; 8: 1223.
109. Griffioen AW, Molema G. Angiogenesis: Potentials for pharmacological intervention in the treatment of cancer, cardiovascular diseases, and chronic inflammation. *Pharmacol Rev* 2000; 52: 237.
110. Yamagishi S, Yonekura H, Yamamoto Y. Vascular endothelial growth factor acts as a pericyte mitogen under hypoxic conditions. *Lab Invest* 1999; 79: 501.
111. Stojadinovic OKA, Golinko M, Tomic-Canic M. A novel, non-angiogenic mechanism of VEGF: Stimulation of keratinocyte and fibroblast migration. *Wound Repair Regen* 2007; 15: A30.
112. Nakamura T, Lozano PR, Ikeda Y, Iwanaga Y, Hinek A, Minamisawa S. Fibulin-5/DANCE is essential for elastogenesis in vivo. *Nature* 2002; 415: 171-5.
113. Yanagisawa H, Davis EC, Starcher BC, Ouchi T, Yanagisawa M, Richardson JA. Fibulin-5 is an elastin-binding protein essential for elastic fibre development in vivo. *Nature* 2002; 415: 168-71.
114. Lee MJ, Roy NK, Mogford JE, Schiemann WP, Mustoe TA. Fibulin-5 promotes wound healing in vivo. *J Am Coll Surg* 2004; 199: 403-10.
115. Albig AR, Schiemann WP. Fibulin-5 antagonizes vascular endothelial growth factor (VEGF) signaling and angiogenic sprouting by endothelial cells. *DNA Cell Biol* 2004; 23: 367-79.
116. Sellheyer K, Bickenbach JR, Rothnagel JA, Bundman D, Longley MA, Krieg T, Roche NS, Roberts AB, Roop DR. Inhibition of skin development by overexpression of transforming growth factor beta 1 in the epidermis of transgenic mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1993; 90: 5237-41.
117. Werner S, Grose R. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Physiol. Rev.* 2003; 83: 835-70.
118. Gillery P, Fertin C, Nicolas JF, Chastang F, Kalis B, Banchereau J, Maquart FX. Interleukin-4 stimulates collagen gene expression in human fibroblast monolayer cultures. Potential role in fibrosis. *FEBS Lett* 1992; 302: 231-4.