مقاله تحقیقی

مجله دانشگاه علوم پزشکی بابل

دوره بیستم، شمارهٔ ۱۰، مهر ۱۳۹۷، صفحه ۱۳-۷

بررسی تاثیر داربست نانو فیبر پلی کاپرولاکتون– ژلاتین (PCL) بر عملکرد درمانی سلول های بنیادی خونساز

فریبا ظفری (PhD)[۱]، احسان مغانلو (MSc)[۲و۳]، مرتضی صادقی (PhD)[۴]، مصطفی خفائی (MSc)[۴]، مهرداد بختیاری (PhD)[۵]، شهرام تیموریان (PhD)[*۳]

۱-مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران

۲-گروه میکروب شناسی و ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

۳-مرکز تحقیقات عفونی کودکان، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۴-مرکز تحقیقات ژنتیک انسانی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه اله، تهران، ایران

۵-گروه آناتومی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

دریافت: ۹۶/۱۱/۳۰، اصلاح: ۹۷/۲/۳۰، پذیرش: ۹۷/۳/۲۱

خلاصه

سابقه و هدف: سلولهای بنیادی هماتوپوئتیک یکی از گزینه های جدید درمان زخم های پوستی هستند. اخیرا با استفاده از داربست های نانو چشم انداز جدیدی در استفاده بهتر از سلول های بنیادی ایجاد شده است، این مطالعه به منظور بررسی تاثیر داربست نانو فیبر پلی کاپرولاکتون- ژلاتین (PCL) در عملکرد درمانی سلول های بنیادی هماتوپوئتیک انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی ۱۵ موش نژاد BALB/c به سه گروه پنج تائی شامل گروه کنترل، گروه تحت تزریق سلولهای بنیادی در محل زخم (گروه سلول) و گروه دریافت کننده سلول+نانو داربست PCL تقسیم شدند. نانو داربست PCL- ژلاتین توسط روش الکتروریسی تهیه شد، بعد از رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین پارامترهای ترمیم اپیدرم و تشکیل فولیکول مو در محل زخم توسط میکروسکوپ فلورسنت و نرم افزارهای Image J وSPSS بررسی شد.

یافته ها: در روز ۲۸ بعد از پیوند بیشترین و کمترین ضخامت اپیدرم به ترتیب در گروه سلول+داربست و گروه کنترل مشاهده شد که به ترتیب برابر با ۱۰/۵±۰/۳ و ۲۷/۳±۰/۹ میکرومتر بود که تفاوت معنی دار بود ($p<۰/۰۵$). همچنین بیشترین و کم ترین تعداد فولیکول مو در گروه سلول+داربست و گروه کنترل مشاهده شد که به ترتیب برابر با ۵/۲±۰/۲ و۴/۲±۰/۳ بود که تفاوت بین دو گروه معنی دار بود ($p<۰/۰۱$).

نتیجه گیری: نانو داربست PCL– ژلاتین باعث افزایش قابل توجه کارائی درمانی سلول های هماتوپوئتیک در محل زخم ها می شود.

واژه‌های کلیدی: سلول های بنیادی خونساز، نانو فیبر، ترمیم زخم.

مقدمه

یکی از مهمترین محدودیت های استفاده درمانی از سلول های بنیادی عدم کنترل تمایز این سلول ها به سمت بافت های خاص است که این محدودیت از تفاوت فیزیکی محیط خارج بدن نسبت به محیط داخلی بدن حاصل می‌شود. در بافت های بدن محیط ۳ بعدی طبیعی بافت شبکه ای از فیبرها با منافذ نانومتری ایجاد می‌کند که تماس بین سلول ها را برقرار می‌کنند و از طرفی دسترسی سلول ها را به اکسیژن، هورمون ها و مواد غذایی تسهیل می‌کند، جهت برطرف کردن این مشکل در سال های اخیر در مهندسی بافت استفاده از داربست های مصنوعی برای شبیه سازی محیط طبیعی سه بعدی داخل بافت های بدن مد نظر قرار گرفته است (۲و۱). مبنای مهندسی بافت ترکیب سلول‌ها با یک ساختار ماتریکس طبیعی یا مصنوعی برای ایجاد یک ساختار سه بعدی زنده شبیه محیط طبیعی داخل بافت مورد نظر است (۴و۳). در مهندسی بافت برای دستیابی به ساختار مناسب و عملکردی چهار پارامتر اصلی مد نظر است که عبارتند از داربست سه بعدی، فاکتورهای رشد سلولی، ماتریکس خارج سلولی و نوع سلول مورد استفاده است (۶و۵) در بین این فاکتورها داربست سه بعدی نقش ساماندهی رشد و تمایز و محافظت از سلول ها را به عهده دارد که جنس و ساختار داربست نقش مهمی در این امر ایفا میکند. داربست ها با تقلید از شبکه ماتریکس خارج سلولی (Extra Cellular Matix) و شبیه سازی آن محیطی مناسب برای عملکردهای مختلف سلولی از جمله چسبندگی، مهاجرت، تزاید و تمایز را فراهم می کنند (۷). داربست

▣ این مقاله حاصل پایان نامه فریبا ظفری دانشجوی دکتری رشته آناتومی دانشگاه علوم پزشکی ایران می باشد.

* مسئول مقاله: دکتر شهرام تیموریان

آدرس: تهران، دانشگاه علوم پزشکی ایران، گروه ژنتیک پزشکی. تلفن: ۸۶۷۰۳۲۵۲-۰۲۱

E-mail: sh.teimourian@yahoo.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1397.20.10.1.7]

[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.20.10.7]

های نانو فیبر پلی کاپرولاکتون (PolyCaproLactone) پلی استرهای زیست تخریب و زیست سازگار دوگانه دوستی هستند که به دلیل میزان سمیت کمتر برای سلول ها استفاده آنها در مهندسی بافت مورد توجه است (۱۱-۸). در چندین مطالعه گزارش شده است که کشت سلول های بنیادی بر روی داربست سه بعدی مصنوعی باعث تمایز و طول عمر بهتر این سلول ها با توجه به ساختار و جنس داربست می‌شود (۱۳و۱۲). گزارشات اخیر نشان میدهد که سلول های بنیادی هماتوپوئتیک در برخی بافت های افراد بالغ از جمله مغز استخوان، طحال و خون وجود دارند (۱۵و۱۴). از طرفی این سلول ها قابلیت تمایز به سلول‌های اپیتلیال در حین ترمیم زخم را دارند و با افزایش قابل توجه در تولید ماتریکس کلاژنی در محل زخم سبب القاء روند رگزائی و بهبود خون رسانی و در نتیجه سبب زودتر بسته شدن زخم و بهبود روند درمان خواهند شد (۱۷و۱۶).

سلول های بنیادی CD93 یک زیر گروه جدید از سلول های بنیادی هماتوپوئتیک است که از خون و مغز استخوان افراد بالغ قابل جداسازی است و اخیرا قابلیت های تبدیل آن به سلول های عصبی و سلول های پوستی گزارش شده است (۱۹و۱۸). با توجه به امکان تخلیص سلول های CD93 از خون افراد بالغ و از طرفی نقش نانو داربست ها در بهبود عملکرد درمانی سلول های بنیادی لزوم انجام یک مطالعه برای بررسی تاثیر نانو داربست ها در عملکرد درمانی این سلول ها احساس میشود. لذا این مطالعه به منظور بررسی تاثیر داربست مصنوعیPCL-ژلاتین در عملکرد درمانی سلول های بنیادی CD93 بر روی زخم های پوستی موش انجام شد.

مواد و روش ها

این مطالعه تجربی پس از تصویب در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی قزوین با کد اخلاق IR.BMSU.RBC.177 انجام شد. سلول های بنیادی CD93 قبلا توسط محققین از مغز قرمز استخوان موش جداسازی شده و توسط دستگاه FACS SORTER تائید شده بودند (۲۰). جهت کشت سلول ها از محیط کشت Stem span استفاده، سلول ها پس از کشت در انکوباتور با ۳۷ درجه سانتیگراد و CO2 ۵٪ نگهداری شدند.

نانو داربست فیبر پلی کاپرولاکتون (PCL): نانو داربست پلی کاپرولاکتون به روش الکتروریسی با سرعت ml/h ۰/۵ و ولتاژ ۲۵ کیلو ولت تهیه شد. بعد از ساخت داربست جهت افزایش چسبندگی و رشد سلول ها گروه های فعال دارای اکسیژن به روش Plasmatreatment توسط دستگاه پلاسما جنراتور (Plasma Generator 3230 Germany) روی سطح پلیمرها القاء شد. در مرحله آخر قطر الیاف داربست ساخته شده توسط میکروسکوپ الکترونی (SEM S-416 Hitachi, Japan) بررسی شد و داربست های تهیه شده جهت استریل سازی به مدت ۴۵ دقیقه تحت تابش نور UV قرار گرفتند (شکل۱).

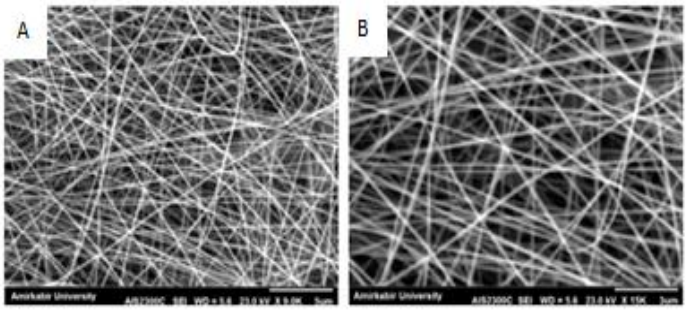
تهیه حیوان آزمایشی: در این مطالعه از ۱۵ موش سوری بالغ با وزن حدود ۲۵-۳۰ گرم در حیوانات به ۳ گروه ۵ تائی استفاده شد. شامل: گروه I گروه موش های بدون دریافت سلول (Control)، گروه II موش های تحت تزریق سلول های HSC در محل زخم (2×10^6 سلول)، گروه III موش های تحت پیوند سلول+داربست(Cell+ Scaffold) می باشد. بعد از بیهوش کردن حیوانات موهای ناحیه پشت حیوان تراشیده شد و بعد از شستشو با بتادین به وسیله پانچ پوستی دایره ای به قطر شش میلیمتر و عمق دو میلیمتر از پوست با ضخامت کامل از لایه زیرین جدا شد و بعد از انجام پیوند محل زخم پانسمان شد سپس موش ها به مرکز تکثیر و نگهداری حیوانات آزمایشگاه منتقل و در شرایط استاندارد و یکسان نگهداری شدند.

رنگ آمیزی هماتوکسیلین H&E و ایمونو هیستوشیمی (IHC): به منظور مشاهده و ارزیابی سلول های بافت همبند برای اندازه گیری میزان ضخامت اپیدرم، تعداد فولیکول های مو و تعداد عروق خونی از رنگ آمیزیH&E با استفاده از هماتوکسیلین و ائوزین (شرکت Merck آلمان) طبق پروتکل استاندارد انجام شد(۲۱). به منظور بررسی حضور سلول های CD93 پیوند شده در محل آسیب تست ایمونوهیستوشیمی طبق پروتوکل استاندارد شرکت سیگما انجام شد. بعد از آماده سازی بافت ها مستقیما توسط میکروسکوپ فلورسنت Olympus BH2-(RFL-T3) و نرم افزار OLYSIA Bio Report Soft Imaging System مشاهده و حضور سلول های CD93 نشاندار شده در بافت محل ترمیم اثبات شد. داده با استفاده از آزمون آماری T-Test تجزیه و تحلیل شدند و $p<۰/۰۵$ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

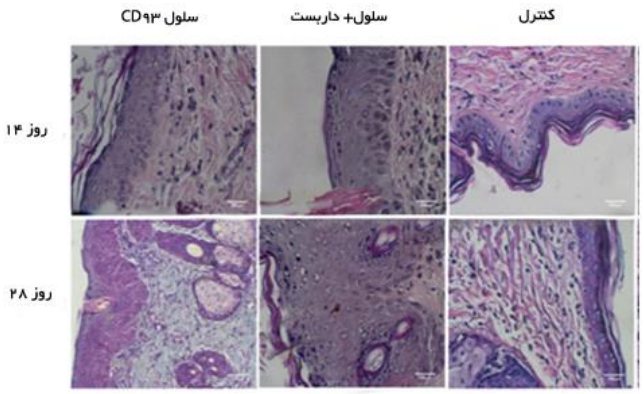
میزان بقاء سلول های بنیادی CD93 در محل زخم: تصاویر میکروسکوپ فلورسنت حاصل از بررسی و ردیابی سلول های بنیادی خونسازCD93 در روزهای هفت، چهارده و بیست و هشتم روز بعد از پیوند سلول ها بروی زخم حاکی از حضور و زنده بودن جمعیت متعادل بالغ بر ۵۰٪ سلول های بنیادی CD93 در محل زخم بود و این سلول ها تا روز ۲۸ بعد از پیوند در محل زخم مشاهده شدند.

بررسی ضخامت اپیدرم: در روز ۱۴ بعد از پیوند ضخامت اپیدرم در گروه کنترل ، گروه دریافت کننده سلول و گروه دریافت کننده سلول+ داربست به ترتیب برابر با ۸/۳±۰/۲ ، ۱۳/۸±۰/۶ و ۱۴/۲±۰/۳ میکرومتر بود و تفاوت گروه کنترل و سلول + داربست معنی دار بود ($p<۰/۰۵$). در روز ۲۸ علیرغم افزایش یافتن میزان ضخامت اپیدرم در تمام گروه ها اما همچنان در گروه های درمان شده با سلول و سلول+داربست اپیدرم بیشترین میزان اپیدرم مشاهده شد که به ترتیب برابر با ۲۶/۰۶±۰/۵ و ۲۷/۰۳±۰/۹ میکرومتر بود. در بین تمامی گروه ها بیشترین ضخامت اپیدرم مربوط به گروه سلول + داربست (۲۷/۰۳ میکرومتر) بود (شکل ۲، نمودار ۱ و ۲).

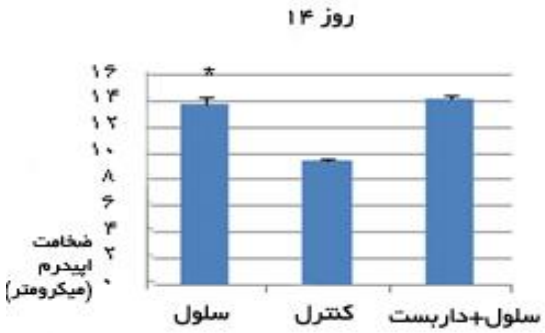


شکل۱. تصویر نانو داربست PCL-Gelatin ساخته شده به روش الکتروریسی، تصویر برداری توسط میکروسکوپ الکترونی اسکنینگ (مدل S-416 FESEM) در ولتاژ ۱۵ کیلو ولت.

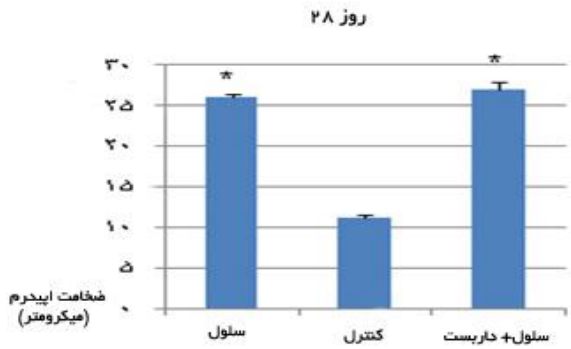
[DOR: 20.1001.1.15614107.1397.20.10.1.7]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.20.10.7]



شکل ۲. بررسی میزان ترمیم اپیدرم و طبقه شاخی توسط رنگ امیزی H&E در گروه های مورد مطالعه. تشکیل اپیدرم مناسب و کامل در گروه سلول+ داربست در روز ۲۸ در شکل مشاهده می‌شود.



نمودار۱. بررسی ضخامت اپیدرم در گروه های مورد مطالعه در روز ۱۴ بعد از ایجاد زخم



نمودار ۲. بررسی ضخامت اپیدرم در گروه های مورد مطالعه در روز ۲۸ بعد از ایجاد زخم

بررسی تعداد فولیکول های مو: در بررسی لام های رنگ آمیزی شده به روش تری‌کروم ماسون در تمامی نمونه ها فولیکول های مو از هفته دوم قابل مشاهده بود. در روز ۱۴ تعداد فولیکول های مو در گروه های کنترل، سلول و گروه سلول+ داربست به ترتیب برابر با ۳±۰/۷، ۳/۶±۰/۴ و ۴/۲±۰/۳ بود. در روز ۲۸ تعداد فولیکول های مو در گروه های کنترل، سلول و گروه سلول+داربست به ترتیب برابر با ۴/۲±۰/۳، ۴/۰۵±۰/۶ و ۵/۲±۰/۲ بود که بیشترین تعداد فولیکل مو مربوط به گروه سلول+ داربست در روز ۲۸ بود (جدول ۱).

جدول۱. تعداد فولیکول مو در گروه های مورد مطالعه در روز چهاردهم و بیست و هشتم بعد از پیوند سلول

گروه	تعداد فولیکول مو Mean±SD	زمان (روز)	P-value
کنترل	۳±۰/۷	۱۴	
سلول	۳/۶±۰/۴	۱۴	۰/۰۷
سلول+داربست	۴/۲±۰/۳	۱۴	
کنترل	۴/۲±۳	۲۸	
سلول	۴/۰۵±۰/۶	۲۸	۰/۰۳۷
سلول+داربست	۵/۲±۰/۲	۲۸	

بحث و نتیجه گیری

در این تحقیق کارائی ترمیمی سلول های بنیادی CD93 در حضور نانو داربست پلی کاپرولاکتین ژلاتین افزایش یافت. در بین سه گروه موش های مورد مطالعه، بیشترین ضخامت اپیدرم مربوط به گروهی بود که در آنها سلول های بنیادی CD93 بر روی داربست پلی کاپرولاکتون به عنوان پانسمان پایه رشد یافتند. Ghoroghi و همکاران گزارش کردند بقاء سلول های بنیادی بر روی داربست پلی کاپرولاکتون افزایش می یابد و علت این امر می‌تواند ناشی از ضخامت و جنس مناسب نانو فیبرهای پلی کاپرولاکتون باشد به نظر میرسد نانو فیبرهای پلی-کاپرولاکتون سازنده این داربست با ایجاد ساختار سه بعدی مناسب و مشابه محیط سه بعدی بافت های داخل بدن علاوه بر افزایش نسبت سطح به حجم با دارا بودن خصوصیات هیدورفیلی متعادل منجر به چسبندگی و رشد مناسب سلول ها بر روی این داربست میشوند (۲۲).

در بررسی پارامترهای کلیدی ترمیمی زخم شامل ضخامت اپیدرم و تعداد فولیکول مو ما افزایش معنی داری در گروه درمان شده با سلول و داربست نسبت به گروهی که فقط سلول CD93 در یافت کردند (گروه سلول) و گروه کنترل مشاهده کردیم که این یافته ها همگی با یافته های مطالعه Ghoroghi و همکاران در یک راستا می باشد.در مطالعه ای دیگر Ferreira و همکارانش موفق به رشد و تکثیر سلول های بنیادی خونساز همراه با حمایت سلول های استرومایی بر روی داربست سه بعدی پلی کاپرولاکتون شدند مطالعه این تیم نشان داد که میزان تکثیر سلول ها و اتصال آنها به نانو داربست pcl در محل زخم بسیار کارآمدتر از داربست های دیگر است (۲۳).

Wang و همکارانش در مطالعه ای دیگر نشان دادند که استفاده از داربست سلولی به همراه سلول‌های بنیادی MSC باعث افزایش چشمگیری در بسته شدن سطح زخم و شکل گیری لایه های زخم می‌شود که این یافته ها با یافته های مطالعه حاضر در یک راستا بود (۲۴). یکی از الزامات بازسازی موفق بافت ها و عملکرد بهتر سلول های ترمیمی بر روی محیط های مصنوعی مانند داربست ها عدم حساسیت سلول ها به جنس این داربست ها و عدم سمیت برای سلول‌ها است طبق مطالعات انجام شده پلی کاپرولاکتون ژلاتین داربست های زیست تخریب و زیست سازگاری هستند که تاکنون اثرات سمی برای سلول در آنها گزارش نشده است و بدین ترتیب محیطی ایده آل برای رشد سلول های بنیادی فراهم می‌سازند (۲۵و۲۶). نانو داربست استفاده شده در این مطالعه به روش الکتروریسی دور بالا تهیه شده بود بررسی های اولیه ما در این مطالعه نشانگر زنده ماندن جمعیت مناسب

[DOR: 20.1001.1.15614107.1397.20.10.1.7]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.20.10.7]

سلول ها تا روز ۲۸ بعد از پیوند بر روی داربست پلی کاپرولاکتون در محل زخم بود، در مطالعات دیگر گزارش شده نانو داربست های ساخته شده با این روش دارای منافذ بسیار ریزی هستند که سلول ها قادر به نفوذ در داخل این منافذ نیستند و از طرفی این نانو فیبرها باعث افزایش نسبت سطح به حجم و رسیدن بهتر فاکتورهای رشد به سلول ها میشوند (۲۹-۲۷). یکی از عوامل موثر در برطرف ساختن چالش های کشت خارج بافت سلول ها، بهینه کردن ساختار و جنس داربست ها جهت تکثیر و تمایز سلول های بنیادی در هر بافت است در همین راستا استفاده از داربست های دارای جنس و ساختار مناسب و فاقد اثرات سمی برای سلول ها از اهمیت ویژه ای برخوردار است، در واقع هرچه داربست ساخته شده تشابه بیشتری به مشابه ماتریکس خارج سلولی داشته باشد، رشد بهتر سلول ها دست یافتنی تر است. Yoshimoto در مطالعه ای مدعی شد از بین انواع داربست های سلولی مصنوعی داربست های نانوفیبر پلی کاپرولاکتون را می‌توان به عنوان یک فرآورده داروئی بی ضرر برای سلول ها در نظر گرفت و غیر سمی بودن، زیست سازگار بودن و قطر فیبرهای مناسب را سه دلیل اصلی سازگاری بالای سلول های بدن با این داربست دانست (۳۰). طبق یافته های این مطالعه استفاده از نانو داربست پلی کاپرولاکتون به عنوان یک پایه سه بعدی جهت کشت سلولهای بنیادی باعث افزایش کارائی ترمیمی این سلول ها در محل زخم می‌شود. این داربست هیچگونه تاثیر سوئی در بقاء سلول های بنیادی CD93 در محل زخم ندارد این یافته ها نوید بخش امکان درمان کامل زخم ها و حتی رویش کامل موها در محل ترمیم زخم با استفاده همزمان از نانو داربست پلی کاپرولاکتین و سلول های بنیادی در آینده نزدیک است.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی ایران به دلیل حمایت از این تحقیق و از خانم زیبا ملکشاهی به خاطر همکاری در مطالعه روی موش ها، تشکر و قدردانی می‌گردد.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1397.20.10.1.7]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.20.10.7]

An Evaluation of the Effect of Polycaprolactone/Gelatin (Pcl/Gt) Nanofiber Scaffold on the Therapeutic Function of Hematopoietic Stem Cells

F. Zafari (PhD)[1], E. Moghanloo (MSc)[2,3], M. Sadeghi (PhD)[4], M. Khafaei (MSc)[4], M. Bakhtiyari (PhD)[5], Sh. Teimourian (PhD)[3*]

1. Cellular and Molecular Research Center, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, I.R.Iran
2. Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Medicine, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I.R.Iran
3. Pediatrics Infectious Diseases Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, I.R.Iran
4. Human Genetics Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, I.R.Iran
5. Department of Anatomical Sciences, Faculty of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, I.R.Iran

J Babol Univ Med Sci; 20(10); Oct 2018; PP: 7-13
Received: Feb 19th 2018, Revised: May 10th 2018, Accepted: Jun 11th 2018.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Hematopoietic stem cells are one of the new therapeutic options for treating skin ulcers. Recently, a new perspective has been developed to better utilize stem cells using nanofiber scaffolds. The present study was conducted to investigate the effect of polycaprolactone/gelatin (PCL/GT) nanofiber scaffold on the therapeutic function of hematopoietic stem cells.

METHODS: In this experimental study, 15 male BALB / c mice were divided into three groups of five, including the control group, the group receiving stem cells in the wound site (cell group) and the group receiving cell + PCL nanofiber scaffold. PCL/GT nanofiber scaffold was prepared by electrotherapy. After hematoxylin and eosin staining, the parameters of epidermal repair and hair follicle formation in the wound site were evaluated by fluorescence microscope and Image J and SPSS programs.

FINDINGS: On day 28 after transplantation, the highest and lowest epidermal thicknesses were observed in the cell + scaffold group and control group, which were 10.5±0.3 and 27.3±0.9 µm, respectively, which was significant ($p<0.05$). Moreover, the highest and lowest number of hair follicles were observed in the cell + scaffold group and control group, respectively; 5.2±0.2 and 4.2±0.3. The difference between the two groups was significant ($p<0.01$)

CONCLUSION: Polycaprolactone / gelatin (PCL/GT) nanofiber scaffold significantly increases the therapeutic function of hematopoietic stem cells in the wound site.

KEY WORDS: *Hematopoietic Stem Cells, Nanofiber, Wound Healing*.

Please cite this article as follows:

Zafari F, Moghanloo E, Sadeghi M, Khafaei M, Bakhtiyari M, Teimourian Sh. An Evaluation of the Effect of Polycaprolactone/Gelatin (Pcl/Gt) Nanofiber Scaffold on the Therapeutic Function of Hematopoietic Stem Cells. J Babol Univ Med Sci. 2018;20(10):7-13.

[*]**Corresponding Author: Sh. Teimourian (PhD)**
Address: Department of Medical Genetics, Iran University of Medical Sciences, Tehran, I.R.Iran
Tel: +98 21 86703252
E-mail: sh.teimourian@yahoo.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1397.20.10.1.7]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.20.10.7]

References

1. Gelain F, Bottai D, Vescovi A, Zhang Sh. Designer self-assembling peptide nanofiber scaffolds for adult mouse neural stem cell 3-dimensional cultures. PLoS One. 2006; 1(1): e119.

2. Cao H, Liu T, Chew Sy. The application of nanofibrous scaffolds in neural tissue engineering. Adv Drug Deliv Rev. 2009; 61(12): 1055-64.

3. Knight MA, Evans GR. Tissue engineering: Progress and challenges. Plast Reconstr Surg 2004;114(2):26-37.

4. Fuchs JR, Nasseri BA, Vacanti JP. Tissue engineering: A 21st century solution to surgical reconstruction. Ann Thorac Surg. 2001;72(2):577-91.

5. Stock UA, Vacanti JP. Tissue engineering: Current state and prospects. Annu Rev Med. 2001;52:443-51.

6. Naughton GK. From lab bench to market: Critical issues in tissue engineering. Ann N Y Acad Sci. 2002;961:372-85.

7. Smith LA, Ma PX. Nano-fibrous scaffolds for tissue engineering. Colloids Surf B Biointerfaces. 2004;39:125-31.

8. Hosseinkhani H, Hosseinkhani M, Hattori S, Matsuoka R, Kawaguchi N. Micro and nano-scale in vitro 3D culture system for cardiac stem cells. J Biomed Mater Res A. 2010; 94(1): 1-8.

9. Yang, F, Murugan R, Ramakrishna S, Wang X, Ma YX, Wang S. Fabrication of nano-structured porous 11. PLLA scaffold intended for nerve tissue engineering. Biomaterials. 2004; 25(10):1891-900.

10. Tabesh H, Amoabediny G, Nik NS, Heydari M, Yosefifard M, Siadat SO, et al. The role of biodegradable engineered scaffolds seeded with Schwann cells for spinal cord regeneration. Neurochem Int. 2009;54(2):73-83.

11. Kweon H, Yoo MK, Park IK, Kim TH, Lee HC, Lee HS, et al. A novel degradable polycaprolactone networks for tissue engineering. Biomaterials. 2003;24(5):801-8.

12. Liu H, Roy K. Biomimetic three-dimensional cultures significantly increase hematopoietic differentiation efficacy of embryonic stem cells. Tissue Eng. 2005; 11(1-2): 319-30.

13. Gerecht-Nir S, Cohen S, Ziskind A, Itskovitz-Eldor J. Three-dimensional porous alginate scaffolds provide a conducive environment for generation of well-vascularized embryoid bodies from human embryonic stem cells. Biotechnol Bioeng. 2004; 88(3): 313-20.

14. Borue X, Lee S, Grove J, Herzog EL, Harris R, Diflo T, et al. Bone marrow-derived cells contribute to epithelial engraftment during wound healing. Am J Pathol. 2004; 165(5): 1767-72

15. Nakagawa, H., S. Akita, Fukui M, Fujii T, Akino K. Human mesenchymal stem cells successfully improve skin-substitute wound healing. Br J Dermatol. 2005;153(1): 29-36.

16. Ichioka S, Kouraba S, Sekiya N, Ohura N, Nakatsuka T. Bone marrow-impregnated collagen matrix for wound healing: experimental evaluation in a microcirculatory model of angiogenesis, and clinical experience. Br J Plast Surg. 2005;58(8): 1124-30.

17. Wettstein R, Savic M, Pierer G, Scheufler O, Haug M, Halter J, et al. Progenitor cell therapy for sacral pressure sore: a pilot study with a novel human chronic wound model. Stem Cell Res Ther. 2014; 5(1): 18.

18. Goolsby J, Marty MC, Heletz D, Chiappelli J, Tashko G, Yarnell D, et al. Hematopoietic progenitors express neural genes. Proc Natl Acad Sci U S A, 2003; 100(25): 14926-31.

19. Jack RM, Lowenstein BA, Nicholson-Weller A. Regulation of C1q receptor expression on human polymorphonuclear leukocytes. J Immunol. 1994; 153(1): 262-9.

20. Zafari F, Sadeghi M, Moghanloo E, Bakhtiyari M. Assessment of CD93 Stem Cell Growth and Survival on Three-Dimensional Biodegradable PCL-Gelatin Scaffold. J Mazandaran Univ Med Sci. 2017; 26(144): 211-8.

21. Cardiff RD1, Miller CH1, Munn RJ1. Manual hematoxylin and eosin staining of mouse tissue sections. Cold Spring Harb Protoc 2014; 2(6): 655-8.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1397.20.10.1.7]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.20.10.7]

22. Ghoroghi FM, Hejazian LB, Esmaielzade B, Dodel M, Roudbari M, Nobakht M. Evaluation of the effect of NT-3 and biodegradable poly-L-lactic acid nanofiber scaffolds on differentiation of rat hair follicle stem cells into neural cells in vitro. J Mol Neurosci 2013; 51:318-27.
23. Ferreira MS, Jahnen-Dechent W, Labude N, Bovi M, Hieronymus T, Zenke M, et al. Cord blood-hematopoietic stem cell expansion in 3D fibrin scaffolds with stromal support. Biomaterials. 2012; 33(29): 6987-97.
24. Wang H, Yan X, Shen L, Li Sh, Lin Y, Wang SH, et al. Acceleration of wound healing in acute full-thickness skin wounds using a collagen-binding peptide with an affinity for MSCs. Burns Trauma. 2014; 2(4):181-6.
25. Jiang Y, Chen B, Liu Y, Zhufu Z, Yan X, Hou X, et al. Effect of collagen scaffold with adipose-derived stromal vascular fraction cells on diabetic wound healing: A study in a diabetic porcine model. Tissue Eng Regen Med. 2013;10(4):192-9.
26. Flaim CJ, Chien S, Bhatia SN. An extracellular matrix microarray for probing cellular differentiation. Nat Methods. 2005; 2(2): 119-25.
27. He W, Ma Z, Yong T, Teo WE, Ramakrishna S. Fabrication of collagen-coated biodegradable polymer nanofibers mesh and its potential for endothelial cells growth. Biomaterials. 2005; 26(36): 7606-15.
28. Townsend-Nicholson A, Jayasinghe SN. Cell electrospinning: a unique biotechnique for encapsulating living organisms for generating active biological microthreads/scaffolds. Biomacromolecules. 2006; 7(12): 3364-9.
29. Boland ED, Telemco TA, Simpson DG, Wnek GE, Bowlin GL. Utilizing acid pretreatment and electrospinning to improve biocompatibility of poly (glycolic acid) for tissue engineering. J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2004; 71(1): 144-52.
30. Yoshimoto H, Shin YM, Terai H, Vacanti JP. A biodegradable nanofiber scaffold by electrospinning and its potential for bone tissue engineering. Biomaterials. 2003; 24(12): 2077-82.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1397.20.10.1.7]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.20.10.7]