



Semnan University of Medical Sciences

KOOMESH

Journal of Semnan University of Medical Sciences

Volume 21, Issue 3 (Summer 2019), 395- 578

ISSN: 1608-7046

Full text of all articles indexed in:

Scopus, Index Copernicus, SID, CABI (UK), EMRO, Iranmedex, Magiran, ISC, Embase

ترمیم سریع زخم پوستی در موش‌های دیابتی با استفاده از نانو داربست پلی کاپرولاکتون - ژلاتین

فریبا ظفری^۱ (Ph.D)، مرتضی صادقی^۲ (Ph.D)، مهرداد بختیاری^۳ (Ph.D)، شهرام تیموریان^۴ (Ph.D)

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

۲- مرکز تحقیقات ژنتیک انسانی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا...، تهران، ایران

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

۴- گروه ژنتیک پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۱/۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۷/۲۵

shahram.teimourian@yahoo.com

نویسنده مسئول، تلفن: ۰۲۱-۲۶۴۰۳۲۹۲

چکیده

هدف: نانو داربست‌های سه بعدی با ایجاد محیط مشابه بافت‌های بدن چشم انداز جدیدی در کشت سلول و ترمیم بافت ایجاد کرده‌اند. هدف این مطالعه، بررسی اثر داربست نانو فیبر زیست تخریب پلی کاپرولاکتون (PCL) در ترمیم زخم‌های دیابتی بود.

مواد و روش‌ها: داربست نانو - PCL ژلاتین به روش الکتروریسی سنتز شد. در پوست پشت ۱۵ موش آزمایشگاهی زخم پوستی دایره‌ای به قطر ۶ میلی‌متری ایجاد شد و موش‌ها به ۳ گروه فاقد دیابت (Sham)، گروه دیابتی بدون دریافت داربست نانو (Control)، گروه دیابتی دریافت کننده داربست نانو (Scaffold) تقسیم شدند. سطح زخم و میزان ترمیم زخم در ۳ گروه مورد مطالعه در روزهای ۷ و ۱۴ بعد از پیوند سلول با استفاده از رنگ آمیزی H&E و نرم افزارهای Image J و SPSS بررسی شد.

یافته‌ها: در بررسی سطح زخم در روز ۷ کوچک‌ترین و بیش‌ترین سطح زخم به ترتیب در گروه Scaffold و Control مشاهده شد ($P < 0/04$). در روز ۱۴ کوچک‌ترین و بیش‌ترین سطح زخم به ترتیب در گروه Sham و Control مشاهده شد ($P < 0/00$). در بررسی درصد بهبودی زخم در روز ۷ و ۱۴ بیش‌ترین درصد بهبودی به ترتیب در گروه Scaffold و Sham مشاهده شد و در روز ۱۴ تفاوت معنی داری بین این دو گروه وجود نداشت ($P < 0/04$).

نتیجه‌گیری: نانو داربست پلی کاپرولاکتون سازگاری مناسبی با زخم‌های پوستی در موش دارد و می‌تواند سرعت و میزان ترمیم زخم در موش‌های دیابتی را افزایش دهد. واژه‌های کلیدی: پلی کاپرولاکتون، دیابت شیرین، زخم، موش

مقدمه

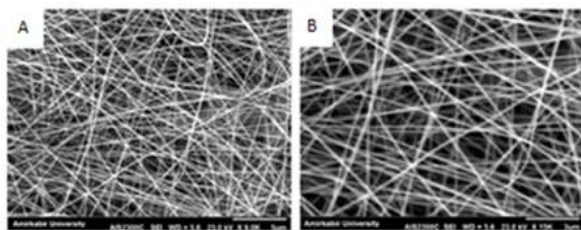
طبق گزارشات جهانی در دنیا سالانه حدود ۸۲۰۰۰ قطع عضو ناشی از پیشروی و عدم درمان زخم‌ها در بیماران دیابتی اتفاق می‌افتد [۱،۲]. ترمیم زخم یک فرایند پیچیده و چند مرحله‌ای است و شامل چهار فاز اصلی هئموستازی، التهاب، تکثیر و بازسازی می‌شود از دیدگاه سلولی این فرایندها با هماهنگی پیچیده بین سلول‌های مختلف، فاکتورهای رشد و سایتوکاین‌ها اتفاق می‌افتد [۳،۴]. اختلال جریان خون ناشی از میکروآنژیوپاتی و اختلال سیستم ایمنی ناشی از هیپرگلیسمی باعث عفونت و تاخیر در ترمیم زخم‌های بیماران دیابتی می‌شود [۵] از علل اصلی نارسائی در ترمیم زخم در بیماران دیابتی می‌توان به التهاب مزمن

زخم، تغییرات ساختاری و ضخیم شدن غشاء پایه مویرگ‌ها، کاهش جریان خون و استعداد بالای عفونت در محل زخم اشاره کرد [۶] به طوری که ایجاد زخم در اندام‌های تحتانی بیماران دیابتی و درمان کند و ناقص این زخم‌ها به یکی از مشکلات اصلی تهدیدکننده حیات در این بیماران تبدیل شده است [۷،۸]. در دهه اخیر استفاده از تکنیک‌های مهندسی بافت و روش‌های درمانی جدید مبتنی بر سلول درمانی چشم‌انداز نوید بخشی در درمان بهتر و سریع‌تر زخم‌های دیابتی و جلوگیری از قطع عضو در این بیماران ایجاد کرده است. در مهندسی بافت سه پارامتر اصلی مد نظر است که عبارتند از نوع سلول، جنس داربست و اتصال مناسب برای رشد سلول‌ها در این محیط سه وجهی، داربست‌های سه بعدی با تقلید

(Germany) روی سطح پلیمرها القاء شد. در مرحله آخر قطر الیاف داربست ساخته شده توسط میکروسکوپ الکترونی (SEM S-416 Hitachi, Japan) بررسی شد (شکل ۱) و داربست‌های تهیه شده جهت استریل‌سازی به مدت ۴۵ دقیقه تحت تابش نور UV قرار گرفت.

تهیه حیوان آزمایشی و ایجاد مدل دیابتی. در این مطالعه از ۱۵ موش سوری بالغ با وزن حدود ۲۵-۳۰ گرم استفاده شد. مدل دیابتی در ۵ موش توسط تزریق داروی استریتوزوتوسین (STZ) (شرکت Sigma آمریکا) به مقدار ۶۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن حیوان به شکل داخل صفاقی ایجاد شد [۱۹]. در ۲۴ ساعت اول بعد از تزریق STZ همراه با غذای فشرده به جای آب معمولی محلول ۵ درصد گلوکز در آب برای حیوان استفاده و پس از ۲۴ ساعت اول آب معمولی به حیوان داده شد. از زمان تزریق دارو بعد از ۷۲ ساعت قند خون برای اثبات دیابت اندازه‌گیری شد اندازه‌گیری قند خون به روش گلوکز اکسیداز و با استفاده کیت مورد نظر انجام شد در این روش قند خون بالاتر از ۳۰۰ میلی‌گرم نشان‌دهنده ابتلا حیوان به دیابت است.

گروه‌بندی حیوانات و ایجاد زخم پوستی. موش‌های مورد مطالعه به ۳ گروه ۵ تایی شامل: گروه I گروه موش‌های سالم فاقد دیابت (Sham)، گروه II موش‌های دیابتی (Control) بدون دریافت داربست، گروه III موش‌های دیابتی تحت پیوند داربست (Scaffold) تقسیم‌بندی شدند بعد از بی‌هوش کردن حیوانات به وسیله کتامین (۵۰ mg/kg) و زیلازین (۵ mg/kg) شرکت Merck آلمان) موهای ناحیه پشت حیوان تراشیده شد و بعد از شستشو با بتادین به وسیله پانچ پوستی دایره‌ای به قطر ۶ میلی‌متر و عمق ۲ میلی‌متر از پوست با ضخامت کامل از لایه زیرین جدا شد. بعد از انجام پیوند محل زخم پانسمان شد و موش‌ها به محیط طبیعی قبلی بازگردانده شدند.



شکل ۱. تصویر نانو داربست تهیه شده از pcl - ژلاتین. تصویر برداری توسط میکروسکوپ الکترونی اسکینینگ مدل S-416 FESEM در ولتاژ ۱۵ کیلو ولت.

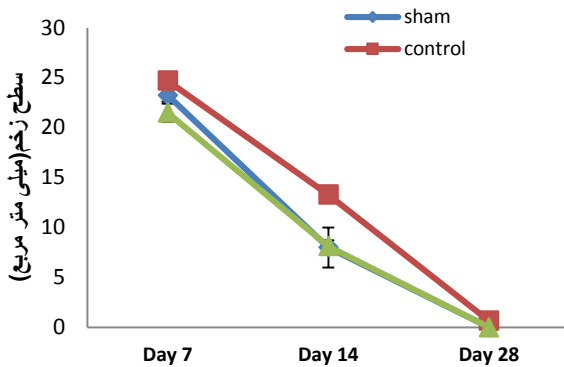
کردن نقش ماتریکس خارج سلولی (ECM) و تقلید محیط داخل بافت‌های طبیعی نقش به سزایی در رشد و تکثیر سلول‌ها و شکل‌گیری بافت‌های جدید دارند [۹]. از نقطه نظر علوم بیولوژیک تمام ارگان‌ها و اعضا بدن از نانو ساختارها تشکیل شده‌اند و به همین دلیل نانوالیاف پتانسیل و سازگاری خوبی برای مصارف بیوپزشکی مانند پروتزها، سیستم‌های رهایش دارو و تولید پوست و ارگان‌های مصنوعی دارند [۱۰]. داربست‌های نانوفیبر با شبیه‌سازی فضای ماتریکس خارج سلولی اطراف سلول‌ها در بافت‌های بدن محیطی مناسبی برای عملکردهای مختلف سلولی از جمله چسبندگی، مهاجرت، تزیاد و تمایز فراهم می‌کنند، در میان داربست‌ها استفاده از داربست‌های زیست تخریب به دلیل داشتن دو خاصیت مهم عدم سمی بودن و هم‌چنین تجزیه کامل توجه بیش‌تری را در تحقیقات مهندسی بافت به خود معطوف کرده‌اند، یکی از مهم‌ترین این داربست‌ها داربست نانوزیست تخریب پلی‌کاپرولاکتین (pcl) است [۱۱-۱۵]. مطالعات بر روی داربست‌های نانو نشان می‌دهد استفاده از داربست‌های نانوفیبر مشابه PCL-ژلاتین باعث رشد و خون‌رسانی بهتر به سلول‌های فیبروبلاست و هم‌چنین تجمع فاکتورهای رشد در محل آسیب می‌شود که همین امر نقش به سزایی در ترمیم زخم دارد [۱۶-۱۸]. با توجه به اهمیت درمان زخم‌های دیابتی و از طرفی کاربرد و اهمیت داربست‌های نانو در بازسازی بافت‌ها و تکثیر سلول‌ها در مطالعه حاضر ما به بررسی کارایی داربست نانوفیبر پلی‌کاپرولاکتین-ژلاتین در درمان زخم‌های پوستی موش‌های دیابتی پرداختیم.

مواد و روش‌ها

تهیه و آماده‌سازی نانوداربست پلی‌کاپرولاکتون (PCL)

نانوداربست pcl - ژلاتین به روش الکترووریسی تهیه شد برای این منظور پودر پلی‌کاپرولاکتیک اسید و کلروفورم (شرکت Merck آلمان) و دی‌متیل فرمامید (DMF- NSC) (شرکت Sigma آمریکا) با نسبت ۱:۹ مخلوط گشت و محلول حاصل داخل سرنگ ۵ ml دارای نازل ۳ سانتی‌متری ۲۱ G کشیده شد و با سرعت ۱/۵ ml/h و ولتاژ ۲۵ کیلوولت بر روس صفحه آلومینیومی در فاصله ۲۰ سانتی‌متری پمپاژ شد. بعد از ساخت داربست جهت افزایش چسبندگی و رشد سلول‌ها گروه‌های فعال دارای اکسیژن به روش Plasma treatment توسط دستگاه پلاسما جنراتور (Plasma Generator 3230).

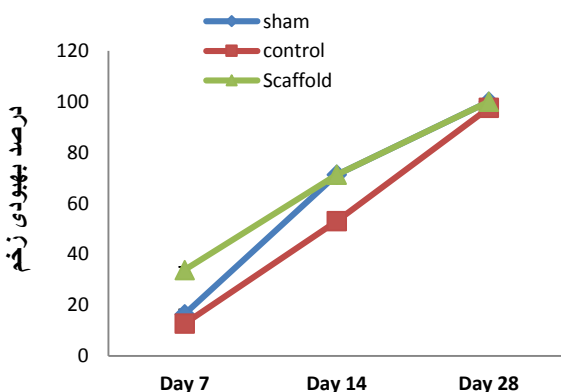
داربست کم‌تر بود این تغییرات در نمونه‌های مورد بررسی در روز ۱۴ نیز به همین روال بود و علی‌رغم افزایش یافتن میزان ضخامت ترمیم در تمام گروه‌ها اما هم‌چنان در گروه درمان شده با داربست و گروه موش‌های غیر دیابتی درصد بهبودی به طور معنی‌داری بیش‌تر بود (شکل ۳، جدول ۲).



شکل ۲. نمودار تغییرات سطح زخم در گروه‌های مورد مطالعه. (Sham): گروه موش‌های فاقد دیابت. (Control): گروه موش‌های دیابتی بدون دریافت داربست. (Scaffold): گروه موش‌های دیابتی دریافت‌کننده داربست pcl - ژلاتین.

جدول ۱. مقایسه سطح زخم در گروه‌های مورد مطالعه در روزهای ۷ و ۱۴ پس از ایجاد زخم

P value	سطح زخم	گروه‌های مورد مقایسه (روز ۷)
۰/۰۸	۲۳/۹ - ۲۴/۵	Sham-Control
۰/۰۷	۲۳/۹ - ۲۳	Sham-Scaffold
۰/۰۴*	۲۴/۵ - ۲۳	Control-Scaffold
P value	سطح زخم	گروه‌های مورد مقایسه (روز ۱۴)
۰/۰۰***	۷/۵ - ۱۳/۸	Sham-Control
۰/۵۰	۷/۵ - ۸	Sham-Scaffold
۰/۰۰***	۱۳/۸ - ۸	Control-Scaffold



شکل ۳. نمودار تغییرات درصد بهبودی زخم در گروه‌های مورد مطالعه. (Sham): گروه موش‌های فاقد دیابت. (Control): گروه موش‌های دیابتی بدون دریافت داربست. (Scaffold): گروه موش‌های دیابتی دریافت‌کننده داربست pcl - ژلاتین.

رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین H&E. به منظور مشاهده و ارزیابی سلول‌های اپیتلیوم و هم‌چنین مشاهده رگ‌های خونی بافت گرانوله و سلول‌های بافت هم‌بند از رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین استفاده شد برای این منظور ابتدا نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در گزلیل I تیار شد و ۵ دقیقه در مجاورت هماتوکسیلین (شرکت Merck آلمان) قرار گرفت بعد از شستشو محلول اسید الکل به آن اضافه شد و مجدداً شستشو صورت گرفت در مرحله بعد نمونه‌ها ۲ دقیقه در مجاور محلول اتوزین (شرکت Merck آلمان) قرار گرفتند و با آب مقطر شستشو داده شدند سپس نمونه‌ها ۵ مرحله توسط الکل‌های ۷۰، ۸۰، ۹۰، ۹۶ و ۱۰۰ درصد آب‌گیری شدند و توسط گزلیل I و II شفاف‌سازی شدند و نهایتاً لام‌های حاصل با استفاده از چسب انتلان به لامل چسبانده شدند.

نتایج

بررسی سطح زخم در روزهای ۷ و ۱۴. تصاویر تهیه شده از مراحل ترمیم زخم در سه گروه موش مورد مطالعه در روزهای ۷ و ۱۴ با استفاده از نرم‌افزار Image J بررسی و مقایسه شد، در روز ۷ بعد از ایجاد زخم کوچک‌ترین و بزرگ‌ترین سطح زخم به ترتیب مربوط به گروه دریافت‌کننده داربست (Scaffold) و گروه کنترل بود و تفاوت بین سطح زخم این دو گروه معنی‌دار بود ($P < 0/04$). در روز ۱۴ هم‌چنان کم‌ترین سطح زخم مربوط به گروه دریافت‌کننده داربست (Scaffold) و بیش‌ترین سطح زخم مربوط به گروه کنترل بود که تفاوت این دو گروه کاملاً معنی‌دار بود. ($P = 0/00$) هم‌چنین همان‌طور که در شکل ۱ نمایش داده شده است در روز ۱۴ سطح زخم موش‌های سالم فاقد دیابت (Sham) با سطح زخم موش‌های دیابتی دریافت‌کننده داربست یکسان بود که این یافته نشانگر تاثیر مثبت داربست پلی‌کاپرولاکتون در ترمیم سریع‌تر زخم موش‌های دیابتی و بررسی درصد بهبودی زخم در روزهای ۷ و ۱۴. درصد بهبودی زخم در سه گروه مورد مطالعه توسط بررسی لام‌های میکروسکوپی رنگ‌آمیزی شده در روزهای ۷ و ۱۴ اندازه‌گیری شد. در روز ۷ بیش‌ترین و کم‌ترین میزان بهبودی به ترتیب در گروه دریافت‌کننده داربست (Scaffold) و گروه فاقد داربست (Control) مشاهده شد ($P = 0/00$) (جدول ۲). هم‌چنین درصد بهبودی در گروه sham نیز که دلالت بر ترمیم زخم در پوست حیوان سالم است نیز نسبت به گروه‌های درمان شده به واسطه

جدول ۲. مقایسه درصد بهبودی زخم در روزهای ۷ و ۱۴ پس از ایجاد زخم

P value	درصد بهبودی زخم	گروه های مورد مقایسه (روز ۷)
۰/۰۸	۱۸/۷ - ۱۲/۴	Sham-Control
۰/۰۰**	۱۸/۷ - ۴۰/۲	Sham-Scaffold
۰/۰۰**	۱۲/۴ - ۴۰/۲	Control-Scaffold
P value	درصد بهبودی زخم	گروه های مورد مقایسه (روز ۱۴)
۰/۰۰**	۷۵/۰۱ - ۵۳/۵	Sham-Control
۰/۰۴	۷۵/۰۱ - ۷۲/۹	Sham-Scaffold
۰/۰۰**	۵۳/۵ - ۷۲/۹	Control-Scaffold

بحث و نتیجه گیری

در بافت‌های بدن ماتریکس خارج سلولی (ECM) با ایجاد فضای سه بعدی و فراهم کردن فاکتورهای رشد مختلف نقش به سزایی در تنظیم تکثیر سلولی و هم‌چنین بقا و تمایز سلول‌ها را دارد. استفاده از داربست‌های زیست تخریب سلولی با تقلید عملکردهای بیولوژیکی، شیمیایی و فیزیکی ECM باعث هیپنه شدن رشد و تمایز سلول‌ها در محیط خارج بافتی می‌شود [۲۰، ۲۱]. یکی از عوامل موثر در برطرف ساختن چالش‌های مهندسی بافت هیپنه کردن ساختار و جنس داربست‌ها جهت تکثیر و تمایز سلول‌های بنیادی در هر بافت است در همین راستا استفاده از داربست‌های دارای جنس و ساختار مناسب و فاقد اثرات سمی برای سلول‌ها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است در واقع هرچه داربست ساخته شده تشابه بیشتری به ECM داشته باشد شکل‌گیری مناسب‌تر بافت امکان‌پذیرتر است. در بین انواع داربست‌های سلولی مصنوعی داربست‌های نانوفیبر پلی‌کاپرولاکتون (PCL) به عنوان فرآورده‌های دارویی معرفی شده‌اند و به خاطر دارا بودن خواصی چون غیر سمی بودن، زیست تخریب بودن و قطر فیبرهای مناسب برای کشت سلول‌ها بسیار مورد توجه هستند [۲۲، ۲۳]. بررسی‌های ما بر روی تاثیر داربست نانوفیبر زیست تخریب PCL در ترمیم زخم‌های دیابتی بر روی موش‌های دیابتی و سالم نشانگر افزایش معنی‌دار کاهش سطح زخم در گروه دریافت‌کننده داربست (Scaffold) نسبت به گروه‌های دیگر است. در بررسی درصد بهبودی زخم بیش‌ترین اختلاف به ترتیب مربوط به گروه کنترل و گروه دریافت‌کننده داربست نانو پلی‌کاپرولاکتون (Scaffold) بود که این یافته‌ها همگی نشانگر تاثیر سازنده داربست نانوفیبر پلی‌کاپرولاکتون در سرعت بسته شدن زخم و ترمیم اپیدرم در موش‌های دیابتی است.

Ferreira و همکاران موفق به رشد و تکثیر سلول‌های بنیادی بر روی نانو داربست PCL فیبری شدند و مطالعه این تیم نشان داد که میزان تکثیر سلول‌های بنیادی و اتصال آن‌ها به داربست نانو در محل زخم بسیار کارآمدتر از روش‌های قبلی است و این داربست ترمیم زخم را سرعت می‌بخشد که گزارش این تیم با یافته‌های مطالعه حاضر در یک راستا می‌باشد [۲۴].

Wang و همکاران (۲۰۱۴) گزارش کردند که استفاده از داربست سلولی باعث افزایش چشمگیری در شکل‌گیری لایه‌های ترمیمی کلاژن و اپیدرم در زخم‌ها می‌شود که به نظر می‌رسد دلیل اصلی بهبودی سریع‌تر زخم هنگام استفاده از این نانو داربست همین امر باشد [۲۵]. Dash و همکاران (۲۰۱۸) گزارش کردند یکی از دلایل برتری داربست‌های پلی‌کاپرولاکتون نسبت به پلی‌مرهای سنتتیک دیگر تشکیل میزان مویرگ‌های بیش‌تری بر روی داربست‌های پلی‌کاپرولاکتون نسبت به مواد دیگر باشد [۲۶]. Mir و همکاران (۲۰۱۸) عنوان کردند پلی‌کاپرولاکتون‌ها جاذبی عالی برای فاکتورهای اینتگرین $\beta 1$ هستند و از این طریق سبب برقراری سیگنال رشد برای سلول‌های روی خود می‌شوند [۲۷]. یکی از الزامات بازسازی موفق بافت‌ها و عملکرد بهتر سلول‌های ترمیمی در محل زخم استفاده از داربست سلولی مناسب و سازگار با بافت مورد نظر است [۲۸]. پلی‌کاپرولاکتون ژلاتین‌ها داربست‌های زیست تخریب و زیست سازگاری هستند که اثر سمی برای سلول در آن‌ها گزارش نشده است و با ساختار نانو فیبری خود امکان همانندسازی ماتریکس خارج سلولی را برای رشد بهتر سلول‌های بنیادی محل زخم فراهم می‌سازند [۲۹]. از این رو احتمالاً تجمع سلول‌های بنیادی ترمیم‌کننده زخم در محل داربست و فعالیت بهتر این سلول‌ها در حضور داربست باعث شکل‌گیری لایه‌های ترمیمی کلاژن و اپیدرم در محل زخم و در نتیجه ترمیم بهتر و سریع‌تر زخم می‌شود. طبق یافته‌های این مطالعه استفاده از نانو داربست PCL - ژلاتین باعث بهبود قابل ملاحظه‌ای در زخم موش‌های دیابتی می‌شود از این رو به نظر می‌رسد در آینده بتوان از نانو داربست PCL - ژلاتین به عنوان پانسمان ترمیمی مناسبی برای درمان زخم‌های پوستی در بیماران دیابتی استفاده کرد که اثبات این ادعا نیازمند مطالعات بیش‌تر بعدی بر روی مدل‌های انسانی است.

تشکر و قدردانی

در این قسمت از دانشگاه علوم پزشکی ایران به خاطر فراهم کردن امکانات و فضای لازم برای انجام این مطالعه صمیمانه تشکر می‌شود.

منابع

- [15] 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: 1891-1900.
- [16] Powell HM, Boyce ST. Engineered human skin fabricated using electrospun collagen-PCL blends: morphogenesis and mechanical properties. *Tissue Eng Part A* 2009; 15: 2177-2187.
- [17] Powell HM, Supp DM, Boyce ST. Influence of electrospun collagen on wound contraction of engineered skin substitutes. *Biomaterials* 2008; 29: 834-843.
- [18] Zhong SP, Zhang YZ, Lim CT. Tissue scaffolds for skin wound healing and dermal reconstruction. *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol* 2010; 5: 510-525.
- [19] Maharlooei MK, Bagheri M, Solhjoui Z, Jahromi BM, Akrami M, Rohani L, et al. Adipose tissue derived mesenchymal stem cell promotes skin wound healing in diabetic rats. *Diabetes Res Clin Pract* 2011; 93: 228-234.
- [20] Kular JK, Basu SH, Sharma RI. The extracellular matrix: Structure, composition, age-related differences, tools for analysis and applications for tissue engineering. *J Tissue Eng* 2014; 5: 1-17.
- [21] Mei H, Gonzalez S, Deng SX. Extracellular matrix is an important component of limb stem cell niche. *J Funct Biomater* 2012; 3: 879-894.
- [22] Brodbeck WG, Patel J, Voskerician G, Christenson E, Shive MS, Nakayama Y, et al. Biomaterial adherent macrophage apoptosis is increased by hydrophilic and anionic substrates in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 10287-10292.
- [23] Yoshimoto H, Shin YM, Terai H, Vacanti JP. A biodegradable nanofiber scaffold by electrospinning and its potential for bone tissue engineering. *Biomaterials* 2003; 24: 2077-2082.
- [24] 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: 6987-6997.
- [25] 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: 181-186.
- [26] Dash BC, Xu Z, Lin L, Koo A, Ndon S, Berthiaume F, et al. Stem cells and engineered scaffolds for regenerative wound healing. *Bioengineering* 2018; 5: 23.
- [27] Mir M, Najabat Ali M, Barakullah A, Gulzar A, Arshad M, Fatima S, et al. Synthetic polymeric biomaterials for wound healing: a review. *Prog Biomater* 2018; 7: 1-21.
- [28] Waghmare VS, Wadke PR, Dyawanapelly S, Deshpande A, Jain R, Dandekar P. Starch based nanofibrous scaffolds for wound healing applications. *Bioact Mater* 2018; 3: 255-266.
- [29] Dwivedi Ch, Pandey I, Pandey H, Patil S, Mishra Sh B, Pandey AC, et al. In vivo diabetic wound healing with nanofibrous scaffolds modified with gentamicin and recombinant human epidermal growth factor. *J Biomed Mater Res* 2017; 106: 641-651.
- [1] Armstrong DG, Boulton AJ, Bus SA. Diabetic Foot Ulcers and Their Recurrence. *N Engl J Med* 2017; 376: 2367-2375.
- [2] Lau TW, Sahota DS, Lau CH, Chan CM, Lam FC, Ho YY, et al. An in vivo investigation on the wound-healing effect of two medicinal herbs using an animal model with foot ulcer. *Eur Surg Res* 2008; 41: 15-23.
- [3] Diegelmann RF, Evans MC. Wound healing: an overview of acute, fibrotic and delayed healing. *Front Biosci* 2004; 9: 283-289.
- [4] Koh TJ, DiPietro LA. Inflammation and wound healing: the role of the macrophage. *Expert Rev Mol Med* 2011; 11: 13-23.
- [5] Soltany S, Alavy Toussy J, Malek M, Hemmaty H, Maghsoomi Z. Effects of oral pentoxifylline on the healing of foot ulcers in the diabetic patients. *Koomesh* 2014; 16: 8-13. (Persian).
- [6] Taghavi MM, Khaksari M. Acceleration of skin wound healing in chronic diabetic rat by topical application of fish oil. *Koomesh* 2003; 4: 61-73. (Persian).
- [7] Aulivola B1, Hile CN, Hamdan AD, Sheahan MG, Veraldi JR, Skillman JJ, et al. Major lower extremity amputation: outcome of a modern series. *Arch Surg* 2004; 139: 395-399.
- [8] Levin ME. Management of the diabetic foot: preventing amputation. *South Med J* 2002; 95: 10-20.
- [9] Smith LA, Ma PX. Nano-fibrous scaffolds for tissue engineering. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2004; 39: 125-131.
- [10] Hoveizi E, Mohammadi T, Ebrahimi-barough S, Tavakol S. Healing potential of fibroblast cells cultured on a PLA/CS nanofibrous scaffold in skin regeneration in Wistar rat. *Koomesh* 2016; 17: 677-685. (Persian).
- [11] Chewa Sy, Mi R, Hoke A, Leonq KW. The effect of the alignment of electrospun fibrous scaffolds on Schwann cell maturation. *Biomaterials* 2008; 29: 653-661.
- [12] 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: e119.
- [13] Cao H, T Liu, Sy Chew. The application of nanofibrous scaffolds in neural tissue engineering. *Adv Drug Deliv Rev* 2009; 61: 1055-1064.
- [14] Hosseinkhani H, Hosseinkhani M, Hattori SH, Matsuoka R, Kawaguchi N. Micro and nano- scale in vitro 3D culture system for cardiac stem cells. *J Biomed Mater Res B* 2010; 94: 1-8.

Rapid repair of skin ulcers in diabetic rats using polycaprolactone /gelatin nanon-fiber scaffold

Fariba Zafari (Ph.D)¹, Morteza Sadeghi (Ph.D)², Mehrdad Bakhtiyari (Ph.D)³, shahram teimourian (Ph.D) *⁴

1- Cellular and Molecular Research Center, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

2 - Human Genetics Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

3- Department of Anatomical sciences, Faculty of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

4- Department of Medical Genetics, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

* Corresponding author. +98 21-26403292 shahram.teimourian@yahoo.com

Received: 22 Jan 2018; Accepted: 17 Oct 2018

Introduction: Three-dimensional nano scaffolds by creating a three-dimensional structure similar to the body tissues have created a new perspective on cell culture and tissue repair. The aim of this study was to investigate the effect of polycaprolactone biodegradation scaffold (PCL) in treatment of diabetic wounds.

Materials and Methods: Nano PCL-Gelatine scaffold was synthesized by electrospun method. A circular wound (6 mm) was created in skin of 15 BALB/c rats and the rats were divided into 3 groups including: Non-diabetic group (sham), Diabetic group without nano scaffold receiving (control) and diabetic group with nano scaffolds (scaffold). Wound surface area and wound healing were evaluated on the 7th and 14th days using H & E staining with Image J and SPSS softwares.

Results: On 7th day, the smallest and highest wound surface was observed in the Scaffold and Control groups respectively ($P < 0.04$). On 14th day, the smallest and highest levels of ulcers were observed in sham and control groups respectively ($P < 0.00$). In the evaluation of wound healing on 7th and 14th days, the highest treatment rates were observed in the Scaffold and sham groups respectively, and on the 14th day there was no significant difference between the two groups (0.40).

Conclusion: Polycaprolactone nano-fiber scaffold has a good compatibility with skin ulcers in rats and it can increase the rate and extent of wound healing in diabetic rats.

Keywords: Polycaprolactone, Diabetes Mellitus, Ulcer, Rats