ترمیم زخم‌های جراحی و سوختگی با پانسمان‌های حاوی بره موم/هیالورونیک اسید/نشاسته/پلی یورتان

فاطمه پودینه حاجی پور*، دکتر علیرضا فیض بخش**، دکتر لاله ملک نیا***، دکتر ایمان آهنیان****

چکیده:

درشت‌مولکول‌های زیستی مانند پلی‌ساکاریدها و پروتئین‌ها به دلیل زیست‌سازگاری و تخریب‌پذیری مناسب، گزینه‌های ایده‌آلی برای استفاده در مهندسی بافت پوست، هم در شرایط آزمایشگاهی و هم در داخل بدن، محسوب می‌شوند. با وجود پژوهش‌های فراوانی که در این زمینه انجام شده، به ساخت داربستی با خواص آنتی باکتریال و زیست‌سازگاری مطلوب نیاز است. هدف از این مطالعه، ساخت و ارزیابی یک داربست به روش الکتروریسی هسته - پوسته برای مهندسی بافت پوست است. در این ساختار، پلی‌یورتان نقش پوسته را ایفا می‌کند و مخلوطی از نشاسته عصاره بره موم و اسید هیالورونیک هسته را تشکیل می‌دهد. مورفولوژی داربست با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی و میکروسکوپ الکترونی عبوری مشخص شد. خواص فیزیکی و مکانیکی داربست، از جمله زاویه تماس، مدول یانگ و کرنش در شکست، مورد ارزیابی قرار گرفتند. فعالیت ضدباکتریایی داربست در برابر استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیا کلی بررسی شد. سمیت سلولی داربست با استفاده از سلول‌های فیبروبلاست ارزیابی شد. اثربخشی داربست در بهبود زخم در شرایط درون‌تنی نیز مورد بررسی قرار گرفت. تصاویر میکروسکوپی نشان داد که ساختار هسته-پوسته با موفقیت شکل گرفته است. زاویه تماس داربست 56/7 درجه بود که نشان‌دهنده خواص آب‌دوست مناسب برای اتصال سلولی است. آزمایش‌های مکانیکی، مدول یانگ 8/12 مگاپاسکال و کرنش در شکست 46 درصد را نشان دادند که بیانگر تعادل بهینه بین استحکام مکانیکی و انعطاف‌پذیری است. داربست فعالیت ضد میکروبی قوی در برابر استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیا کلی از خود نشان داد. ارزیابی‌های سمیت سلولی هیچ‌گونه سمیتی را نشان نداد و چسبندگی و تکثیر سلول‌های فیبروبلاست بر روی داربست افزایش یافت. مطالعات انجام شده در شرایط درون‌تنی، پتانسیل داربست در مهندسی بافت را تأیید کرده و بهبود زخم را نشان دادند. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که داربست الکتروریسی شده با پوسته پلی‌یورتان و هسته نشاسته/عصاره بره موم / اسید هیالورونیک، یک پلتفرم چندمنظوره و امیدوارکننده برای کاربردهای پیشرفته مهندسی بافت پوست و پزشکی بازساختی است.

واژه‌های کلیدی: پانسمان، هیالورونیک اسید، پلی یورتان، الکتروریسی، نشاسته

* دانشجوی دکتری مهندسی پزشکی، گروه مهندسی پزشکی، واحد بین المللی کیش، دانشگاه آزاد اسلامی، جزیره کیش

** استادیار گروه شیمی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی

*** استادیار گروه مهندسی پزشکی، واحد تهران جنوب، دانشگاه آزاد اسلامی

**** استادیار گروه مهندسی برق، واحد تهران جنوب، دانشگاه آزاد اسلامی

تاریخ وصول: 1403/07/21

تاریخ پذیرش: 1403/12/21

نویسندهٔ پاسخگو: دکتر علیرضا فیض بخش

تلفن: 05433222508

E-mail: Ali.fb1973@yahoo.com

زمینه و هدف

پوست، بزرگترین اندام بدن انسان، نقش حیاتی در محافظت از اندام‌های داخلی در برابر تهدیدات مختلف محیطی از جمله آسیب‌های فیزیکی، شیمیایی و مکانیکی نقش دارد.[1و2] علاوه بر این، به عنوان بیرونی‌ترین لایه برای تبادل اکسیژن با محیط عمل می‌کند و اکسیژن کافی را به بافت‌های زیرین می‌رساند.[3-8] پوست همچنین دفع سموم را از طریق تعرق تسهیل می‌کند. در صورت آسیب دیدگی، زخم‌ها ایجاد می‌شوند و در صورت عدم درمان، می‌توانند منجر به نکروز شوند.[9-13]

الکتروریسی یک تکنیک همه کاره در مهندسی بافت پوست است که امکان ساخت داربست‌های نانوالیافی را با تقلید از ماتریکس خارج سلولی فراهم می‌کند و چسبندگی، تکثیر و تمایز سلول را افزایش می‌دهد.[14و15] این داربست‌ها را می‌توان با عوامل فعال زیستی مانند فاکتورهای رشد یا ترکیبات ضد میکروبی برای بهبود زخم و بازسازی بافت بارگیری کرد.[16و17] سطح بالای الیاف الکتروریسی شده و خواص قابل تنظیم آنها را به کاندیداهای ایده‌آل برای تبدیل می‌کند. الکتروریسی یک تکنیک همه کاره در مهندسی بافت پوست است که اجازه می‌دهد تا ساخت داربست‌های نانوالیافی با تقلید از ماتریکس خارج سلولی و ارتقاء سلولی چسبندگی، تکثیر و تمایز انجام شود.[14و15] این داربست‌ها را می‌توان با زیست فعال بارگذاری کرد. عواملی مانند فاکتورهای رشد یا ترکیبات ضد میکروبی برای بهبود زخم و بافت بازسازی موثر هستند.[16و17] سطح بالای الیاف الکتروریسی شده و ویژگی‌های قابل تنظیم آنها باعث می‌شود که این دسته از مواد کاندیدای ایده‌آل برای کاربرد در مراقبت‌های پیشرفته زخم و درمان‌های بازسازی پوست باشند.[18-20] نشاسته، یک پلیمر طبیعی، فراوان و کم هزینه، بسیار زیست سازگار است و زیست تخریب‌پذیر، آن را به یک ماده با ارزش در مهندسی بافت تبدیل می‌کند.[20-23] مطالعات نشان دادند که نشاسته تکثیر، چسبندگی و تمایز سلولی را افزایش می‌دهد و به آن کمک می‌کند. به طور قابل توجهی برای بهبود زخم و نشاسته پیشرفت‌های اخیر در الکتروریسی انجام شده است ساخت داربست‌های مبتنی بر نشاسته را فعال کرد، اگرچه چالش‌ها به دلیل شاخه‌دار بودن همچنان وجود دارد ساختار آمیلوپکتین نشاسته، که تشکیل فیبر را پیچیده می‌کند.[24-27] با وجود این چالش‌ها، محققان به کشف پتانسیل داربست‌های نانوالیاف مبتنی بر نشاسته ادامه می‌دهند. با این حال، نشاسته محدودیت‌های خاصی دارد در الکتروریسی از جمله استحکام مکانیکی ضعیف، ناپایداری حرارتی، آبگریزی و پردازش دشوار که در مطالعات مختلف به آن پرداخته شده است.[25و28-30]

پلی یورتان‌ها، پلیمرهای متشکل از گروه‌های یورتان که از واکنش بین ایزوسیانات و الکل تشکیل شده‌اند، گروه‌ها به دلیل ویژگی‌های فیزیکی و بیولوژیکی چندمنظوره جذاب هستند.[18و19] با وجود مزایای این دسته از پلیمرها، نرخ آهسته تخریب و زیست‌سازگاری نسبی کم آن‌ها، کاربردشان در مهندسی بافت پوست را محدود کرده است.

اسید هیالورونیک، پلی ساکارید طبیعی دیگر، از واحدهای دی ساکارید تکرار شونده تشکیل شده است و در بیشتر بافت‌های حیوانی، جایی که به صورت محلول بسیار چسبناک وجود دارد.[31و32] هیالورونیک اسید نقش مهمی در ساختار و سازماندهی ماتریکس خارج سلولی ایفا کرده و حضور آن کمک به حفظ فضاهای خارج سلولی، انتقال یون‌ها و مواد مغذی کرده و از هیدراتاسیون بافت حمایت می‌کند.[33]

علاوه بر این، بره موم عصاره، یک ماده صمغی طبیعی و غنی از ترکیبات زیست فعال مانند فلاونوئیدها است. اسیدهای فنولیک و ترپنوئیدها که آنتی اکسیدان قوی، ضد التهابی و خواص ضد میکروبی در مهندسی بافت، به ویژه برای نشاسته E، این مـولفه‌ها ترویج می‌کنند بهبود سریعتر با تحریک تکثیر سلولی، افزایش سنتز کلاژن و کاهش التهاب، آن را به یک کاندید عالی برای کاربردهای احیا کننده تبدیل می‌کند.[34و35]

الکتروریسی پوسته - هسته تکنیکی است که ساخت الیاف در مقیاس نانو با قطر کوچک را امکان‌پذیر ساخته و از این طریق می‌توان داربست‌های متخلخل و سه بعدی شبیه به ماتریکس خارج سلولی تولید کرد.[17و36-38] این داربست‌ها با نشاسته E بسیار مرتبط هستند، زیرا تخلخل آنها از اکسیژن پشتیبانی می‌کند و تبادل رطوبت، برای بازسازی بافت ضروری است.[39] هنگامی که ویسکوزیته محلول الکتروریسی کم است، می‌توان مخلوط چندین پلیمر را به کار برده یا به طور متناوب، از الکتروریسی پوسته - هسته برای پوشاندن یک پلیمـر در پلیمـر دیگر استفاده کرد. این روش اجازه می‌دهد تا از محلول‌های جداگانه بدون حلال مشترک استفاده شود. همچنین، این امکان را فراهم می‌کند که آزادسازی کنترل‌شده دو دارو یا عامل زیست فعال به طور

همزمان صورت گیرد.[40-45] به طور خلاصه، هدف از این پژوهش، توسعه یک داربست جدید به روش الکتروریسی هسته - پوسته با خواص مطلوب (زیست‌سازگاری، خواص مکانیکی مناسب، فعالیت ضدباکتریایی و توانایی بهبود زخم) برای استفاده در مهندسی بافت پوست و ترمیم زخم‌های پوستی است.

به طور دقیق‌تر، اهداف این پژوهش عبارت بودند از:

ساخت داربست هسته - پوسته: ایجاد یک داربست با استفاده از روش الکتروریسی هسته - پوسته که در آن پلی‌یورتان پوسته و ترکیبی از نشاسته، عصاره بره موم و اسید هیالورونیک هسته را تشکیل دهند.

مشخصه‌یابی داربست: بررسی ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و مکانیکی داربست ساخته شده. این شامل ارزیابی مورفولوژی، خواص آب‌دوستی (زاویه تماس)، استحکام مکانیکی (مدول یانگ و کرنش در شکست) و دیگر ویژگی‌های مرتبط است.

بررسی خواص ضدباکتریایی: ارزیابی توانایی داربست در مهار رشد باکتری‌های مضر رایج در عفونت‌های پوستی، به ویژه استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیا کلی.

ارزیابی سمیت سلولی: تعیین اینکه آیا داربست برای سلول‌های انسانی سمی است یا خیر. این کار با استفاده از سلول‌های فیبروبلاست انجام شد و میزان چسبندگی و تکثیر سلول‌ها روی داربست بررسی شد.

ارزیابی اثربخشی در بهبود زخم (درون‌تنی): بررسی پتانسیل داربست در تسریع فرایند بهبود زخم در یک مدل حیوانی (مطالعات درون‌تنی).

مواد و روش‌ها

این مطالعه به بررسی پتانسیل داربست‌های الکتروریسی شده هسته - پوسته در ترمیم زخم‌های جراحی و سوختگی می‌پردازد. این پژوهش در دو فاز آزمایشگاهی و درون‌تنی انجام شده و هدف آن مقایسه کارایی داربست‌های مختلف با ترکیبات متفاوت در فرآیند ترمیم زخم است.

در بخش درون‌تنی، از موش‌های رت ماده نژاد ویستار به عنوان جمعیت مورد مطالعه استفاده شد. این موش‌ها به سه گروه تقسیم شدند که هر گروه شامل شش نمونه بود؛ گروه اول (داربست پلی یورتان/نشاسته)، گروه دوم (داربست پلی یورتان/نشاسته/هیالورونیک اسید) و گروه سوم (داربست پلی یورتان/نشاسته/هیالورونیک اسید-بره موم) را دریافت کردند. در بخش آزمایشگاهی نیز از سلول‌های فیبروبلاست موش استفاده شد.

روش‌های به کار رفته در این مطالعه شامل مراحل زیر است: ابتدا داربست‌های الکتروریسی هسته - پوسته با استفاده از روش الکتروریسی هسته - پوسته و با ترکیبات مختلف پلی یورتان، نشاسته، هیالورونیک اسید و بره موم ساخته شدند. سپس این داربست‌ها با استفاده از روش‌های مختلفی مشخصه‌یابی شدند. از میکروسکوپ الکترونی روبشی و میکروسکوپ الکترونی عبوری برای ارزیابی مورفولوژی، از طیف‌سنجی برای تعیین ترکیب شیمیایی، از دستگاه آزمون کششی برای اندازه‌گیری خواص مکانیکی (مدول یانگ و کرنش در شکست) و از آنالیز گرماسنجی برای تعیین خواص حرارتی استفاده شد. همچنین، زاویه تماس آب برای تعیین میزان آب‌دوستی و میزان جذب آب و کاهش وزن برای ارزیابی جذب و تجزیه داربست در محیط محلول نمکی بافر فسفات اندازه‌گیری شد. فعالیت ضدباکتریایی داربست‌ها نیز با استفاده از آزمون منطقه‌ی مهار علیه باکتری‌های نشاسته استافیلوکوکوس ارئوس و سودوموناس آئروژینوزوا ارزیابی گردید.

در ادامه، آزمون‌های برون تن شامل کشت سلول‌های فیبروبلاست بر روی داربست‌ها و اندازه‌گیری زنده‌مانی سلولی با آزمون فعالیت متابولیکی سلول انجام شد. چسبندگی سلول‌ها نیز با استفاده از میکروسکوپ میکروسکوپ الکترونی روبشی مشاهده گردید. مطالعه درون تن بر روی موش‌های رت با طراحی زیر انجام شد:

- گروه 1) پلی یورتان/نشاسته: موش‌های رتی که زخم‌های آن‌ها با داربست پلی یورتان/نشاسته تیمار شد.
- گروه 2) پلی یورتان/نشاسته: موش‌های رتی که زخم‌های آن‌ها با داربست پلی یورتان/نشاسته تیمار شد.
- گروه 3) پلی یورتان/نشاسته/هیالورونیک اسید-بره موم: موش‌های رتی که زخم‌های آن‌ها با داربست پلی یورتان/نشاسته هیالورونیک اسید-بره موم تیمار شد.
- گروه کنترل: زخم‌های ایجاد شده در موش‌ها با گاز استریل (پانسمان استاندارد) تیمار شد.

هر گروه شامل 6 موش بود. در فاز درون تن، زخم‌های دایره‌ای بر روی پوست پشتی موش‌های رت ایجاد شده و با داربست‌های ساخته شده یا گاز استریل (گروه کنترل) درمان

شدند. میزان بهبود زخم از طریق اندازه‌گیری قطر زخم در روزهای 1، 7 و 14 ارزیابی شد. در نهایت، نمونه‌های بافت پوستی با استفاده از میکروسکوپ نوری پس از رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین مورد بررسی هیستولوژیک قرار گرفتند. داده‌ها نیز با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند.

2.1. تهیه داربست‌های پلی یورتان / نشاسته / هیالورونیک اسید - بره موم

ابتدا پلی یورتان در دی متیل فرمالدهید با نسبت 12 درصد وزنی حل شد. تحت هم زدن مغناطیسی در دمای 25 درجه سانتیگراد، منجر به یک محلول شفاف و همگن می‌شود. به طور جداگانه، نشاسته 9 درصد وزنی به طور کامل در آب مقطر در دمای 90 درجه سانتیگراد حل شد. متعاقباً، هیالورونیک اسید (1 درصد وزنی) و بره موم (1 درصد وزنی) در دمای 25 درجه سانتیگراد حل شده و به نشاسته اضافه شدند.

راه حل برای ساختار هسته - پوسته، پلی یورتان به عنوان پوسته و هسته نشاسته، هیالورونیک اسید و بره موم انتخاب شدند. مواد، به ترتیب. محلول‌های پلی یورتان، پلی یورتان/نشاسته، پلی یورتان/نشاسته - هیالورونیک اسید و پلی یورتان/نشاسته/هیالورونیک اسید - بره موم بارگذاری شدند به سرنگ‌های جداگانه متصل به یک دستگاه الکتروریسی هسته - پوسته. نرخ جریان کنترل شد به طور مستقل با استفاده از پمپ‌های سرنگ. قطر سوزن‌های داخلی و خارجی 1/6 میلی‌متر بود و به ترتیب 2/0 میلی‌متر. داربست‌های الکتروریسی شده روی فویل آلومینیومی جمع‌آوری شدند کلکتورها در دمای اتاق (25 درجه سانتیگراد) و به مدت 24 ساعت در دمای اتاق خشک می‌شوند.

مراحل زیر برای متقاطع‌سازی ساختارهای هسته - پوسته با استفاده از بخار گلوترالدئید (محلول آبی 20%) به مدت 24 ساعت انجام شد تا مقاومت در برابر آب افزایش یابد. پس از متقاطع‌سازی، ساختارها به‌طور کامل با آب دو بار تقطیر شسته شدند تا گلوترالدئید اضافی حذف شود و سپس به مدت 4 ساعت در کوره وکیوم خشک شدند.

متن زیر به ارزیابی و توصیف داربست‌های فیبری می‌پردازد:

2.2 توصیف داربست‌های فیبری

2.2.1 ارزیابی مورفولوژی

مورفولوژی داربست‌های الکتروریسی شده با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی میکروسکوپ الکترونی روبشی در ولتاژ 15 کیلوولت بررسی شد. نمونه‌ها با نوار چسب دوطرفه روی پایه‌های فلزی نصب و با یک لایه نانومقیاس طلا از طریق اسپاترینگ پوشش داده شدند. قطر و توزیع الیاف با استفاده از نرم‌افزار ایمیج جی از میانگین 100 الیاف اندازه‌گیری شده تحلیل شد.

میکروسکوپ الکترونی عبوری برای تأیید ساختار هسته - پوسته استفاده شد. شبکه‌های مسی پوشش داده شده با کربن در طول الکتروریسی روی جمع‌کننده قرار داده شدند و یک لایه منفرد از الیاف برای تحلیل میکروسکوپ الکترونی عبوری رسوب داده شد.

2.2.2 طیف‌سنجی

طیف‌سنجی مادون قرمز با بازتاب کل تضعیف شده برای تجزیه و تحلیل ترکیب شیمیایی داربست‌ها به کار گرفته شد. طیف‌ها در محدوده‌ای از 400 تا 4000 سانتی‌متر معکوس ثبت شدند، با استفاده از یک تنظیمات تک بازتابی با کریستال الماس. در مجموع، 64 اسکن با دقت مشخص جمع‌آوری شد و اصلاحات آب و کربن دی اکسید اعمال گردید.

2.2.3 ارزیابی مکانیکی

خواص مکانیکی با استفاده از دستگاه آزمون کششی و با یک سلول بار 50 نیوتون در دمای محیط ارزیابی شد. نمونه‌ها به ابعاد 30 × 10 میلی‌متر مربع به تعداد 6 عدد تحت سرعت پیشروی 5 میلی‌متر در دقیقه آزمایش شدند. تنش کششی و میزان کشش تا شکست ثبت و اندازه‌گیری شدند.

2.2.4 ارزیابی حرارتی

رفتار حرارتی داربست‌ها با استفاده از تحلیل گرماسنجی مورد ارزیابی قرار گرفت. این آزمون از دمای 25 درجه سانتی‌گراد تا 600 درجه سانتی‌گراد با نرخ گرمایش 10 درجه سانتی‌گراد در دقیقه انجام شد تا تأثیر هیالورونیک اسید (هیدروکسی آپاتیت) و بره موم (پلی اتیلن) بر ثبات حرارتی داربست‌ها مشخص شود.

2.2.5 اندازه‌گیری زاویه تماس

اندازه‌گیری زاویه تماس آب با استفاده از روش قطره سسیل انجام شد. یک قطره 0/5 میکرو لیتر از آب بر روی هر 6 نمـونه قـرار داده شد و زاویه تمـاس آب پس از 15 ثانیه در دمـای اتاق ثبت شد تا میزان آبدوستی داربست‌ها ارزیابی شود.

2.2.6 اندازه‌گیری جذب آب و کاهش وزن

داربست‌ها به ابعاد 10 × 10 میلی‌متر مربع در محلول نمکی بافر فسفات (محلول نمکی بافر فسفات، پتانسیل هیدروژن 7/4) به مدت 24 ساعت در دمای اتاق غوطه‌ور شدند تا جذب آب اندازه‌گیری شود. داربست‌ها قبل از غوطه‌وری وزن‌کشی شدند و پس از انکوباسیون و نسبت درصد جذب آب با استفاده از معادله زیر محاسبه گردید:

$$WU\ (\%) = (W_t - W_0)/W_0 \times 100$$ (معادله 2-1)

این معادله درصد افزایش وزن ناشی از جذب آب را محاسبه می‌کند.

برای اندازه‌گیری کاهش وزن، داربست‌ها به ابعاد 10 × 10 میلی‌متر مربع به مدت 28 روز در محلول نمکی بافر فسفات (محلول نمکی بافر فسفات) قرار داده شدند. نمونه‌ها قبل از خشک‌شدن و پس از خشک‌شدن وزن‌کشی شدند تا نرخ تجزیه با استفاده از معادله زیر محاسبه شود:

$$Weight\ Loss\ (\%) = (W_i - W_d)/W_d \times 100$$
(معادله 2-2)

2.2.7. فعالیت ضدباکتری

فعالیت ضدباکتری نمونه‌ها علیه باکتری‌های سودوموناس آئروژینـوزوا (گرم منفی) و نشاسته استافیوکوکوس ارئوس با استفاده از روش منطقه مهار مورد آزمایش قرار گرفت. در این روش، نمـونه‌هایی که شامل پلی اتیلن بودند و نمونه‌هایی که فاقد آن بودند، بر روی صفحات آگار مغذی قرار داده شدند که پیش‌تر با باکتری‌ها تلقیح شده بودند. سپس صفحات به مدت یک شب در دمای مناسب انکوبه شدند.

پس از انکوباسیون، نواحی مهار رشد باکتری اندازه‌گیری شد و نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار ثبت گردید. این اندازه‌گیری‌ها اجازه می‌دهند تا اثرات آنتی‌باکتریایی مواد مختلف، با یا بدون بره موم، بر روی رشد باکتری‌ها تحلیل و مقایسه شود.

نتایج حاصل از این آزمایش می‌تواند در ارزیابی قابلیت‌های ضدباکتریایی داربست‌ها و ممکن است به توسعه مواد جدید برای کاربردهای پزشکی کمک کند.

2.3 آزمون چسبندگی سلول

فیبروبلاست‌های موشی (سلول‌های L929) بر روی داربست‌ها کشت داده شدند تا چسبندگی و تکثیر سلول‌ها ارزیابی شود. داربست‌های الکتروریسی شده با 70% اتانول و تابش یولترا وایولت استریل شدند. سلول‌های فیبروبلاست (1×10^5 سلول/چاهک) بر روی داربست‌ها در یک صفحه 24 چاهکی کاشته شدند و در دمای 37 درجه سانتیگراد و 5 درصد کربن دی اکسید انکوبه شدند. آزمون سنجش زنده‌مانی سلول در روزهای 1، 3 و 7 برای ارزیابی زنده‌مانی سلول‌ها انجام شد. جذب نور با استفاده از دستگاه میکروپلیت‌خوان بایوتک اندازه‌گیری شد.

برای آنالیز میکروسکوپ الکترونی روبشی، سلول‌ها با 3% گلوتارالدئید ثابت شدند و با محلول‌های اتانول با غلظت‌های متغیر (50% تا 100%) خشک شدند. داربست‌ها با هگزامتیل دی سیلازین درمان شدند و به مدت 24 ساعت در یک کوره خلاء خشک شدند قبل از مشاهده میکروسکوپ الکترونی روبشی.

2.4 مطالعات درون‌زادی

آزمایش‌های حیوانی با رعایت مطالعات قبلی انجام شد.[40] موش‌های رت (6–8 هفته سن، 180–200 گرم) به سه گروه دو عددی تقسیم شدند: پلی یورتان/ نشاسته، پلی یورتان/ نشاسته و پلی یورتان/ نشاسته/هیالورونیک اسید-بره موم. زخم‌های دایره‌ای (18 میلی‌متر قطر) به روی پوست پشتی موش‌ها تحت بی‌هوشی ایجاد شد. زخم‌ها با داربست‌ها یا گاز استریل (کنترل) درمان شدند و به مدت 1، 7 و 14 روز برای بهبودی تحت نظر قرار گرفتند با استفاده از کولیس دیجیتال.

2.4.1 ارزیابی هیستولوژیک

در روز 14، موش‌ها قربانی شدند و نمونه‌های پوستی در 10% فـرمالین برای 24 ساعـت ثابت شدند. مقاطع (به ضخامت 4 میکرون) تهیه و با هماتوکسیلین و ائوزین

رنگ‌آمیزی شدند و تحت میکروسکوپ نوری دیجیتال مورد بررسی قرار گرفتند.

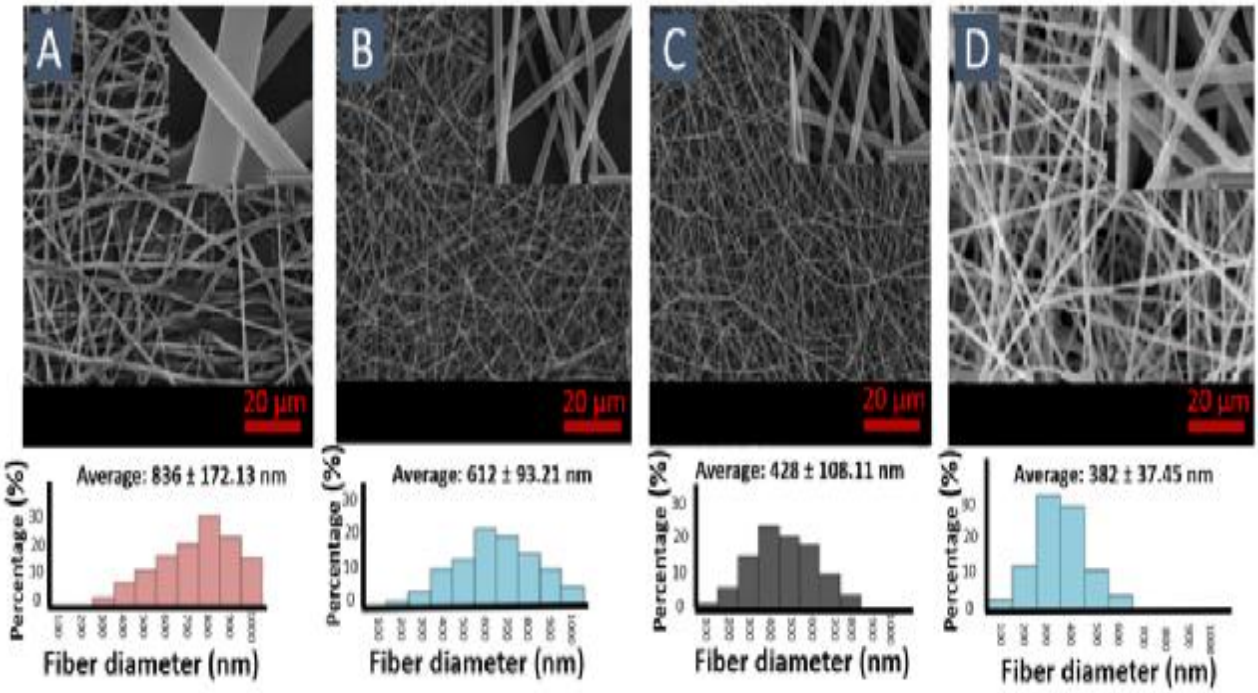
2.5 آنالیز آماری

تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم افزار IBM SPSS Statistics 27.0.1 و آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) انجام شد. داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شدند، در این مطالعه، مقادیر $P < 0.05$ به معنی وجود تفاوت قابل‌توجه در نتایج مقایسه‌ای بین گروه‌ها است.

بحث و نتیجه‌گیری

3.1. ویژگی‌های مورفولوژیکی

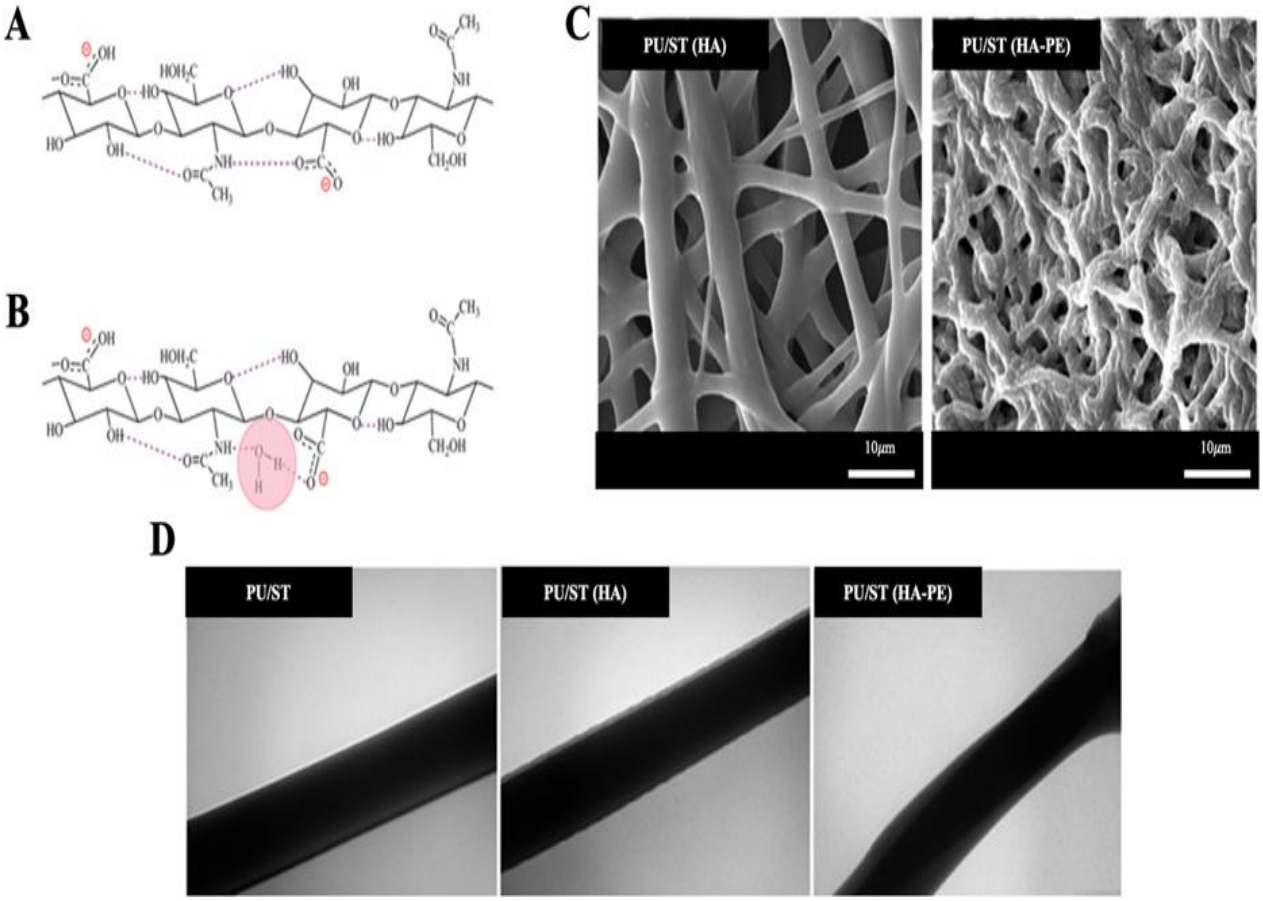
چهار داربست نانوالیافی با موفقیت با استفاده از پارامترهای بهینه الکتروریسی ساخته شدند. میکروگراف‌های میکروسکوپ الکترونی روبشی از داربست‌های تهیه شده در تصویر 1 A ارائه شده است. همانطور که در تصویر 1 (B) و جدول 1 نشان داده شده است، افزودن نشاسته قطر فیبر را از 836 ± 172 نانومتر (برای پلی یورتان خالص) به 612 ± 93 نانومتر کاهش داد. میکروگراف‌های میکروسکوپ الکترونی روبشی در تصویر 1 (D) و جدول 1 نشان‌دهنده تأثیر افزودن بره موم به ساختار هسته است. داربست الکتروریسی پلی یورتان/نشاسته/هیالورونیک اسید - بره موم کاهش قابل توجهی در قطر فیبر را نشان داد، با میانگین 382 ± 37 نانومتر و تخلخل بیشتری در مقایسه با داربست‌های پلی یورتان/نشاسته و پلی یورتان/نشاسته داشت. همانطور که در جدول 1 دیده می‌شود، داربست‌ها دارای منافذ به صورت کامل متصل بودند، با اندازه‌های میانگین منافذ برای داربست‌های پلی یورتان، پلی یورتان/نشاسته، پلی یورتان/نشاسته و پلی یورتان/نشاسته/هیالورونیک اسید-بره موم به ترتیب 1/25 ± 0/2، 1/734 ± 0/2، 3/186 ± 0/4 و 3/674 ± 0/3 میکرومتر بود. تخلخل داربست‌ها با استفاده از نرم‌افزار مطلب تحلیل شد و نتایج در جدول 1 ارائه شده است.



تصویر 1ـ تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی از الیاف الکتروریسی شده: (الف) پلی یورتان، (ب) پلی یورتان/نشاسته، (ج) پلی یورتان/نشاسته و (د) نمونه‌های پلی یورتان/نشاسته/هیالورونیک اسید - بره موم

جدول 1ـ خواص بافتی الیاف الکتروریسی شده

نمونه	اندازه میانگین قطر (نانومتر)	اندازه میانگین منافذ (میکرومتر)	درصد تخلخل
پلی یورتان	172 ± 836	0/2 ± 1/25	83
پلی یورتان /نشاسته	93 ± 612	0/2 ± 1/734	82
پلی یورتان /نشاسته /هیالورونیک اسید	108 ± 428	0/4 ± 3/186	83
پلی یورتان /نشاسته /هیالورونیک اسید –بره موم	37 ± 382	0/3 ± 3/674	85



تصویر 2ـ الف) ساختار شیمیایی هیالورونیک اسید. ب) ساختار شیمیایی هیالورونیک اسید محلول در آب مقطر. ج) تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی از داربست‌های هسته - پوسته پلی یورتان/نشاسته و پلی یورتان/نشاسته/هیالورونیک اسید - بره موم پس از اتصال عرضی. د) تصاویر از نانوالیاف که ساختار پوسته هسته پلی یورتان/نشاسته، پلی یورتان/نشاسته و پلی یورتان/نشاسته/هیالورونیک اسید - بره موم را نشان می‌دهد.

جدول 2ـ خواص کششی مکانیکی الیاف الکتروریسی شده

نمونه	مدول الاستیک (MPa)	مقاومت کششی (MPa)	کرنش در هنگام شکست (%)
پلی یورتان	0/12 ± 5/67	0/57 ± 13/81	32 ± 320
نشاسته	0/08 ± 1/81	0/12 ± 5/83	2 ± 18
پلی یورتان /نشاسته	0/14 ± 3/35	0/17 ± 7/93	28 ± 58
پلی یورتان/نشاسته/هیالورونیک اسید	0/17 ± 3/23	0/28 ± 7/18	19 ± 62
پلی یورتان/نشاسته/هیالورونیک اسید –بره موم	0/21 ± 4/13	0/21 ± 8/12	12 ± 46

3.2. ATR-FTIR

طیف‌سنجی ATR-FTIR برای شناسایی اجزای پلیمری و افزودنی‌ها در داربست‌های الکتروریسی شده استفاده شد (تصویر 3 A).

3.3. خواص مکانیکی

جدول 2 و تصویر 3 (B) خلاصه‌ای از استحکام کششی، کشش در نقطه شکست و مدول یانگ برای داربست‌های الکتروریسی شده از پلی یورتان، نشاسته، پلی یورتان/نشاسته، پلی یورتان/نشاسته با هیالورونیک اسید و پلی یورتان/نشاسته با هر دو هیالورونیک اسید و بره موم ارائه می‌دهد. خواص مکانیکی داربست پلی یورتان استحکام کششی 13/81 ± 0/57 مگاپاسکال و کرنش در نقطه شکست 320 ± 32% را نشان داد. در مقابل، استحکام کششی و کشش در نقطه شکست برای داربست نشاسته به ترتیب 5/83 ± 0/12 مگاپاسکال و 18 ± 2% بود.

3.4. جذب آب

نتایج جذب آب و محلول نمکی بافر به ترتیب در تصاویر 3 (C) و 3 (D) نمایش داده شده‌اند.

3.5. تخریب در محیط کشت

همانطور که در تصویر 4 (A) نشان داده شده است، داربست‌های بدون بره موم) پلی یورتان، پلی یورتان/نشاسته و پلی یورتان/نشاسته (پس از سه هفته غوطه‌وری 93-85% از وزن خود را از دست دادند، در حالی که داربست‌های حاوی بره موم پس از 30 روز، 84% وزن خود را از دست دادند.

3.6 آبدوستی سطح

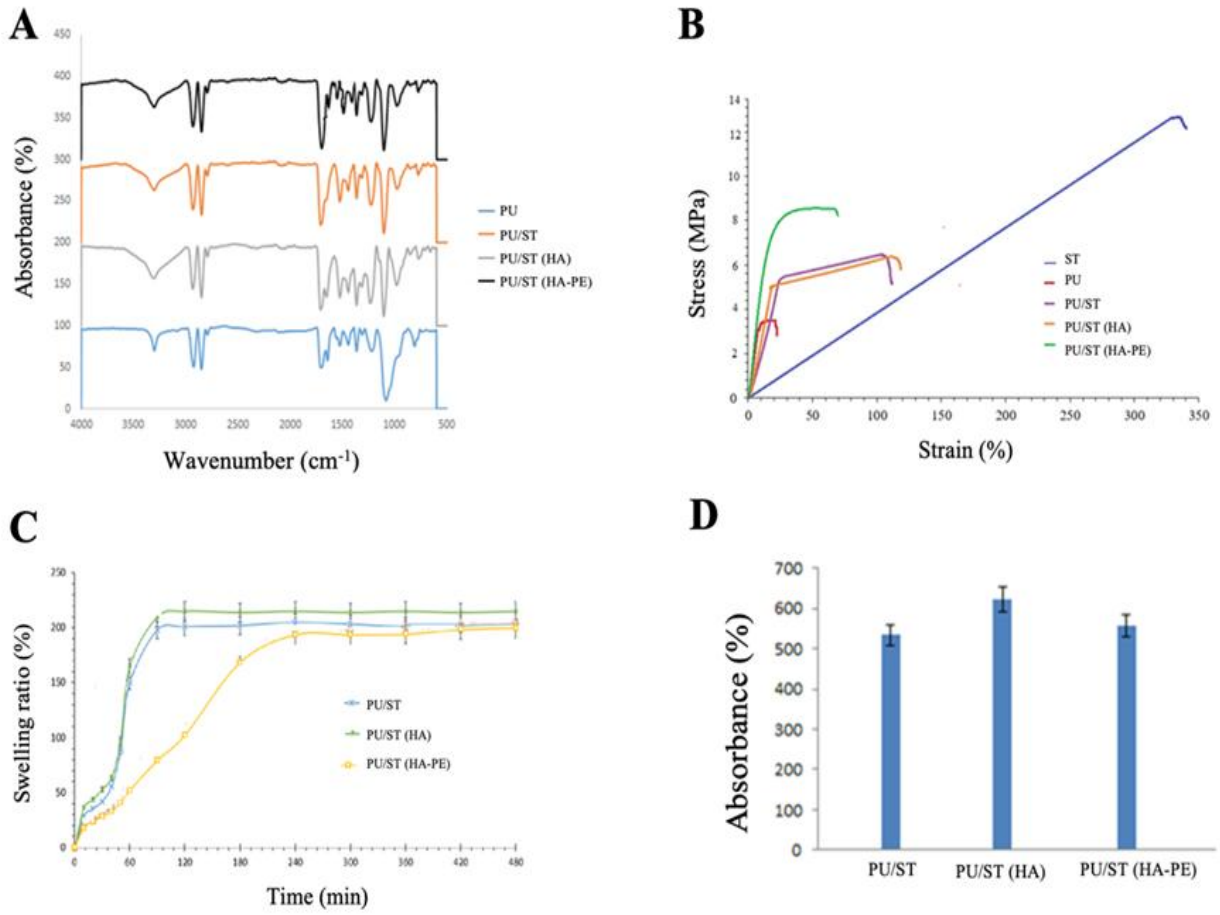
آبدوستی سطح داربست از طریق اندازه‌گیری زوایای تماس ارزیابی شد. تصویر 4 (B) تغییرات زاویه تماس با افزودن هیالورونیک اسید و بره موم به داربست پلی یورتان/نشاسته را نشان می‌دهد. داربست پلی یورتان زاویه تماسی برابر با 113/2 داشت که نشان‌دهنده هیدروفوبیته است. داربست پلی یورتان/نشاسته زاویه تماس کمتری برابر با 61/4 نشان داد که نشان‌دهنده افزایش آبدوستی سطح است. وجود هیالورونیک اسید باعث کاهش بیشتر زاویه تماس به 42/8 شد.

3.7 خواص حرارتی

پایداری حرارتی داربست‌ها با استفاده از آزمون گرماسنجی مورد بررسی قرار گرفت و نتایج در تصویر 4 (C) نشان داده شده است.

3.8 رهایش عصاره بره موم

تصویر 4 (D) پروفایل رهایش بره موم از داربست‌های پلی یورتان/نشاسته/هیالورونیک اسید - بره موم را در غلظت‌های مختلف بره موم در طی 48 ساعت اول نشان می‌دهد.



تصویر 3ـ الف) طیف ATR-IR داربست‌های الکتروریسی شده. ب) منحنی‌های تنش - کرنش نانوالیاف الکتروریسی شده. ج) متورم شدن تعادل پویا داربست پس از 8 ساعت. و د) جذب محلول نمکی بافر فسفات نمونه‌های الکتروریسی شده پس از 24 ساعت غوطه‌وری در محلول محلول نمکی بافر فسفات در دمای 37 درجه سانتی‌گراد

3.9 فعالیت ضدباکتریایی

خواص میکروبی داربست‌ها در برابر باکتری‌های نشاسته استافیلوکوکوس ارئوس و اشرشیا کولای با استفاده از روش انتشار آگار آزمایش شد. تصویر 5 (A و B) و جدول 3 قطر نواحی مهار را نشان می‌دهند.

3.10 بقا و تکثیر سلول‌های فیبروبلاست

تکثیر سلول‌های فیبروبلاست بر روی داربست‌های تهیه شده به روش الکتروریسی با استفاده از آزمون سنجش زنده‌مانی سلول ارزیابی شد. به منظور ارزیابی سمیت سلولی، داربست‌های پلی یورتان، پلی یورتان/نشاسته، پلی یورتان/نشاسته و پلی یورتان/نشاسته/هیالورونیک اسید-بره موم به مدت هفت روز با سلول انکوبه شدند.

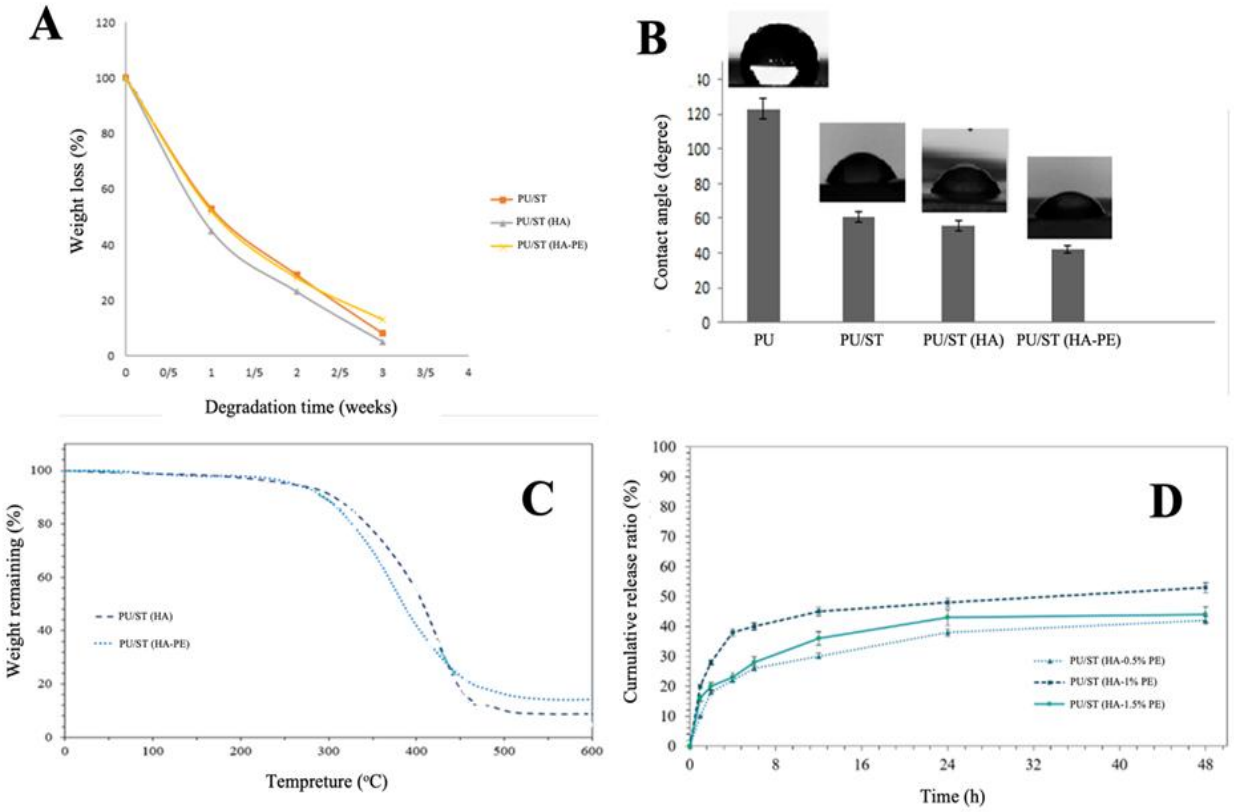
3.11 مطالعات حیوانی

این مطالعه همچنین ویژگی‌های چسبندگی، تکثیر سلول و اثرات بهبودی زخم داربست‌ها را در موش‌های صحرایی نر بالغ ارزیابی کرد (تصویر 6).

3.12 مطالعات بافت‌شناسی

تحلیل بافت‌شناسی نشان داد که پس از 14 روز، تعداد فولیکول‌های مو به طور قابل توجهی در داربست‌های تحت

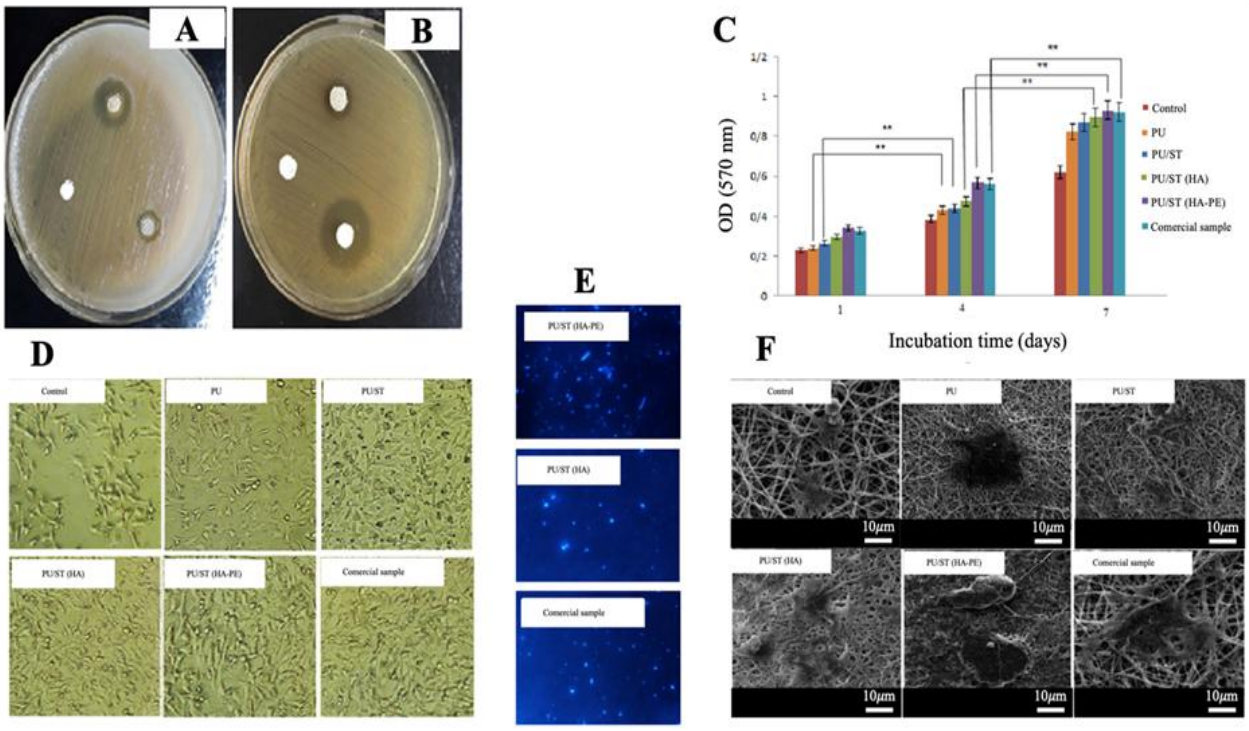
درمان با نمونه‌های الکتروریسی نسبت به گروه کنترل افزایش یافته است. علاوه بر این، تعداد عروق خونی تشکیل شده تا روز 14 در داربست حاوی بره موم نسبت به گروه کنترل بیشتر بود.



تصویر 4ـ الف) مشخصات تخریب نانوالیاف الکتروریسی شده. ب) زوایای تماس با آب حصیرهای نبافته؛ ج) تجزیه و تحلیل گرماسنجی داربست‌های پلی یورتان/نشاسته و پلی یورتان/نشاسته/هیالورونیک اسید - بره موم. د) آزاد شدن عصاره بره موم از نانوالیاف هسته -پوسته الکتروریسی شده در طی 48 ساعت

جدول 3ـ فعالیت ضد میکروبی الیاف الکتروریسی شده و نمونه تجاری با روش ناحیه بازداری

پلی یورتان/ نشاسته /هیالورونیک اسید	پلی یورتان/ نشاسته/هیالورونیک اسید – بره موم	نمونه تجاری	میکروارگانیسم	منطقه مهار (میلی‌متر)
-	0	0/14 ± 5/37	اشرشیای کولای	0/63 ± 1/04
-	0	0/12 ± 5/89	استافیلوکوکوس ارئوس	0/87 ± 1/43



تصویر 5ـ الف) مناطق مهار پلی یورتان/نشاسته، پلی یورتان/نشاسته/هیالورونیک اسید-بره موم، و داربست‌های تجاری علیه استافیلوکوکوس اورئوس. ب) مناطق مهار باکتری اشرشیا کولای پس از 24 ساعت انکوباسیون. ج) نتایج تست سمیت سلولی پلی یورتان، پلی یورتان/نشاسته، پلی یورتان/نشاسته، پلی یورتان/نشاسته/هیالورونیک اسید-بره موم، و داربست‌های تجاری؛ د) تصاویر میکروسکوپ نوری از رشد سلول L929 بر روی داربست‌های مختلف پس از چهار روز کشت. تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی سلول‌های فیبروبلاست L929 کشت شده روی داربست‌های کنترل و تجربی پس از چهار روز

4. بحث

4.1. ویژگی‌های مورفولوژیکی

همانطور که در تصویر 1 نشان داده شده است، فیبرهای پلی یورتان دارای مورفولوژی یکنواخت با تخلخل متصل و بدون تشکیل بید هستند. مهم است به یاد داشت که الکتروریسی نشاسته به تنهایی یک فرایند چالش‌برانگیز است. به عنوان مثال، سالگادو و همکاران[46] نشان دادند که فیبرهای نشاسته تولید شده از طریق الکتروریسی اغلب به دلیل زنجیره‌های پیچیده پلی‌ساکارید در پلیمر طبیعی با مشکلاتی مواجه هستند. این زنجیره‌ها، همراه با پاسخ‌های هیدرودینامیکی و نیروهای دافعه در محلول، می‌توانند بر شکل‌گیری فیبر تأثیر منفی گذاشته و حتی نوک سوزن را مسدود کنند که منجر به فیبرهای ناپیوسته می‌شود. به همین ترتیب، لیو و همکاران[28] دریافتند که تنش سطحی محلول نشاسته می‌تواند باعث بماندن قطرات در نوک سرنگ در حین الکتروریسی شود. در این مطالعه، محلول پلی یورتان (12 درصد وزنی) به عنوان پوسته و محلول نشاسته (9 درصد وزنی) به عنوان هسته استفاده شد. افزودن بره موم ویسکوزیته محلول را کاهش داد که اجازه شکل‌گیری فیبرهای کوچکتر را می‌دهد.[47و48] مشخص شد که تمام داربست‌های الکتروریسی شده دارای تخلخل بیش از 80% در لایه اول هستند که این میزان برای کاربردهای مهندسی بافت به عنوان بهینه در نظر گرفته می‌شود.

تصویر 6ـ تصاویر مقایسه‌ای از اثر ترمیم زخم در گروه‌های مختلف ساختارهای هسته - پوسته و گروه‌های تجاری

با این حال، به دلیل هم‌پوشانی، تخلخل در لایه‌های دوم و سوم به طور قابل‌توجهی کاهش یافت. فرآیند پیوند زنی با بخار گلوتارالدئید ساختار داربست را تغییر داد و شکل غیر قابل حل، همان‌طور که در تصویر 2 مشاهده شد، به وجود آورد. پیوند زنی کمک کرد تا تخلخل داربست حفظ شود و از جمع‌شدگی آن در محیط آبی جلوگیری کند، که این موضوع با یافته‌های پیپر و همکاران[49] همخوانی دارد.

تحلیل میکروسکوپ الکترونی عبوری ساختار هسته - پوسته داربست‌های پلی یورتان/نشاسته، پلی یورتان/نشاسته و پلی یورتان/نشاسته/ هیالورونیک اسید-بره موم را تأیید کرد. همان‌طور که در تصویر 2 (D) نشان داده شده است، فیبرهای پلی یورتان به طور شل دور فیبرهای نشاسته پیچیده شده‌اند و مرز مشخصی بین هسته و پوسته وجود دارد. در همه موارد، نرخ جریان هسته 0/135 لیتر در دقیقه بود، در حالی که نرخ جریان پوسته 0/675 لیتر در دقیقه بود که تشکیل ساختار هسته - پوسته را در تمام نمونه‌های الکتروریسی شده تأیید می‌کند. افزودن هیالورونیک اسید منجر به کاهش قطر فیبر و افزایش نسبت پوسته به هسته شد، زیرا ساختار آنیونی هیالورونیک اسید یک میدان الکتریکی داخلی تولید کرد که کشش فیبر را افزایش داد.[50و51] علاوه بر این، وجود بره موم در ساختار هسته مرز بین هسته و پوسته را بیشتر مشخص کرد. این پدیده به ویسکوزیته پایین‌تر محلول بره موم نسبت به محلول‌های پلی یورتان/نشاسته و پلی یورتان/نشاسته نسبت داده می‌شود.[52]

نتایج مشابهی توسط Surucu و همکاران گزارش شده است، که نشان دادند در فیبرهای هسته - پوسته الکتروریسی شده، قطر هسته به دلیل تفاوت در چگالی مواد، بزرگتر از پوسته است.[53]

4.2. ATR-FTIR

پیک جذبی مشخص برای نشاسته خالص در $3393cm^{-1}$ ظاهر شد که مربوط به باند هیدروکسیل و ارتعاشات کششی پیچیده گروه‌های هیدروکسیل آزاد در ساختار بیوپلیمری است. پیک‌های مشاهده شده در $1369\ cm^{-1}$ به باندهای کربن – هیدروژن - اکسیژن/ کربن – کربن – هیدروژن و کربن – اکسیژن - هیدروژن نسبت داده شدند، در حالی که پیک‌های 1152 و $1027\ cm^{-1}$ به ترتیب مربوط به کشش باندهای کربن - اکسیژن و کربن - کربن هستند.[54و55]

پیک‌های اضافی در محدوده $1200\text{-}1500\ cm^{-1}$ به ارتعاشات خمشی باندهای کربن - هیدروژن و اکسیژن - هیدروژن مربوط می‌شوند. برای هیالورونیک اسید، پیک‌های مشاهده شده در $1610\text{-}1630\ cm^{-1}$ و $945\text{-}955\ cm^{-1}$ به گروه‌های اسید کربوکسیلیک نسبت داده شد. همچنین، پیک‌های $1650\text{-}1700\ cm^{-1}$ و $3200\text{-}3500\ cm^{-1}$ به ارتعاشات باند نیتروژن - هیدروژن مربوط هستند.[54و55]

در مورد پلی یورتان، پیک $3332\ cm^{-1}$ به ارتعاشات متقارن و غیرمتقارن متیلن مربوط می‌شود.[56] برای بره موم، پیک $1545\ cm^{-1}$ نشان‌دهنده ارتعاشات باند نیتروژن – هیدروژن است، در حالی که پیک $1646\ cm^{-1}$ به کشش باند C=O تعلق دارد. پیک $2933\ cm^{-1}$ به باند کششی کربن - هیدروژن گروه‌های متیلن مربوط می‌شود و گروه‌های هیدروکسیل و آمین در $3294\ cm^{-1}$ ظاهر شده‌اند.[57-62]

4.3. خواص مکانیکی

افزودن پلی یورتان به طور قابل توجهی خواص مکانیکی داربست نشاسته را بهبود بخشید، به طوری که داربست هسته - پوسته پلی یورتان/نشاسته به استحکام کششی 7/93 ± 0/17 مگاپاسکال و کشش در نقطه شکست 58 ± 28% دست یافت. یافته‌های مشابهی توسط یانگ و همکاران در مطالعه خود بر روی داربست‌های ابریشم/هیالورونیک اسید گزارش شده است، که در آن هیالورونیک اسید باعث افزایش الاستیسیته اما کاهش استحکام کششی شد.[63و64] با این حال، در مطالعه ما، حضور بره موم استحکام داربست را بهبود بخشید، در حالی که الاستیسیته کاهش یافت، که نتایج آلمدیا و همکاران را تایید می‌کند، که رفتار مشابهی را در داربست‌های کلاژنی با افزودن بره موم برای مهندسی بافت استخوان مشاهده کردند.[65]

4.4. جذب آب

جذب آب یک ویژگی حیاتی برای پانسمان‌های زخم است و بر توانایی داربست در جذب ترشحات زخم و تسهیل تبادل مواد مغذی تأثیر می‌گذارد. همانطور که در تصویر

3 (C) نشـان داده شـده است، رفتـار ورم داربسـت‌های پلی یورتان/نشاسته و پلی یورتان/نشاسته پس از 90 دقیقه پایداری پیدا کرد، در حالی که داربست پلی یورتان/نشاسته/هیالورونیک اسید-بره موم پس از 240 دقیقه به ورم تعادل رسید. زمان طولانی‌تر ورم در داربست‌های حاوی بره موم به وجود اسید آمینه‌های هیدروفوبیک در بره موم نسبت داده می‌شود.[66]

تصویر 3 (D) ظـرفیت جذب محلـول نمکی بافر فسفات پس از 24 ساعت را نشـان می‌دهـد. داربست پلی یورتان/نشاسته بالاترین جذب را با مقدار 625 ± 33% نشـان داد، در حـالی که داربسـت پلی یـورتان تنها 199 ± 2/45% آب را جذب کرد. افـزودن بره موم به داربسـت‌ها جذب محلـول نمـکی بافر فسفات را کمی کاهـش داد و به 558 ± 7/73% رسید، که احتمـالاً به دلیل ساختار آروماتیک فلاونوئیـدهاست که مقـداری هیدروفوبیته را وارد می‌کند.[34] مطالعه‌ای توسط آل استار و همکاران نیز گـزارش داده است که هیالـورونیک اسید رفتار ورم داربسـت‌های مبتنی بر کاراگینـان را بهبـود می‌بخشد و جـذب آب را از طریق تعاملات بین اجزاء افزایش می‌دهد.[66]

4.5. تخریب در محیط کشت

برای ارزیابی پروفایل تجزیه داربست‌ها، نمونه‌ها در محلول نمکی بافر فسفات غوطه‌ور شدند. تجزیه داربست در مهندسی بافت بسیار حیاتی است، زیرا داربست باید به تدریج تجزیه شود تا زمینه‌سازی برای تشکیل بافت جدید فراهم گردد.[67] نرخ کندتر تجزیه که در داربست‌های حاوی بره موم مشاهده شد، می‌تواند به دلیل وجود فلاونوئیدها و سایر ترکیبات فنولی در بره موم باشد که به عنوان عوامل هیدروفوبیک عمل می‌کنند. افزودن هیالورونیک اسید قابلیت تجزیه داربست را افزایش داد، که با یافته‌های هوپینگ و همکاران سازگار است، جایی که شبکه‌های هیالورونیک اسید-کیتوسان پس از 4 هفته تجزیه قابل توجهی را نشان دادند.[68-70]

4.6. آبدوستی سطح

کاهش زاویه تماس نمونه با افزودن هیالورونیک اسید با گروه‌های عاملی آن (هیدروکسیل، کربوکسیل و آمین) ارتباط دارد.[71] افزایش آبدوستی سطح با افزودن بره موم با افزایش انرژی سطح مرتبط است که به بهبود چسبندگی و تکثیر سلول‌ها مرتبط شده است، همان‌طور که توسط Lee و همکاران نشان داده شده است.[72و73] این نتایج نشان می‌دهد که داربست‌های پلی یورتان/نشاسته/هیالورونیک اسید-بره موم می‌توانند شرایط مطلـوبی برای رشد و اتصال سلول ایجاد کنند.

4.7. خواص حرارتی

کاهش وزن داربست‌ها در دمای بین 250-200 °C حداقل بود که ممکن است به توده نزدیک زنجیرهای پلیمری و ماهیـت کـریستالی داربسـت‌ها نسبت داده شود. افزودن بره موم به‌طور جزئی نرخ تجزیه را کاهش داد که ممکن است به ترتیب زنجیرهای پلیمری و کاهش بلورینگی پلیمر نسبت داده شود.[74-77]

4.8. رهایش عصاره بره موم

رهایش بره مـوم در 24 ساعـت اول پایدار بـود و رهایش تجمعی 41/3% برای داربسـت‌های حاوی 0/5% بره مـوم به وزن خشـک پلیمـر ثبت شـد. در غلـظت‌های بالاتر بره موم (1% و 1/5%)، رهایش تجمعی به ترتیب به 79/4% و 55/6% رسید. این پروفایل رهایش برای ترویج آنـژیوژنز و بهبـود زخم در مراحل اولیه بهبودی مطلوب است، به‌ویژه برای زخـم‌های دیابتی که در آن آنژیوژنز مختل است.[78و79]

4.9. خواص ضد باکتریایی

داربست پلی یورتان/نشاسته فعالیت ضدباکتریایی قابل توجهی را از خود نشـان نداد، در حالی که داربسـت‌های پلی یورتان/نشاسته/هیالورونیک اسید-بره موم مهار قابل توجهی را نشان دادند و قطر نواحی مهار به ترتیب 5/89 ± 0/12 میلی‌متر برای اشرشیا کولای و 1/04 ± 0/63 میلی‌متر برای استافیلوکوکوس ارئوس داشتند. اثرات ضدباکتریایی بره موم به وجود فلاونوئیدها و ترکیبات فنولی، و همچنین اسیدهای چرب مانند 10- هیدروکسی- 2 - دکانوئیک اسید نسبت داده می‌شود که به خاطر خواص ضدباکتریایی‌شان شناخته شده‌اند.[80و81]

مطالعات انجام شده توسط هانگ و همکاران و ملیه و همکاران نیز نتایج فعالیت ضدباکتریایی ناشی از این ترکیبات را تأیید می‌کند.[82-84]

4.10. بقا و تکثیر سلول‌های فیبروبلاست

همانطور که در تصویر 5 (C) نشان داده شده است، هیچ‌یک از داربست‌ها سمیت نشان ندادند. به‌طور قابل توجهی، نمونه پلی یورتان/نشاسته/هیالورونیک اسید-بره موم بالاترین میزان رشد سلولی را نشان داد که افزایش معنی‌داری نسبت به گروه‌های دیگر داشت ($P > 0/05$). در میان سایر نمونه‌ها، داربست پلی یورتان/نشاسته پروفرآیند افزایش تعداد سلول‌ها بیشتری نسبت به داربست خالص پلی یورتان نشان داد. مطالعات پیشین توسط گلومار و همکاران[85] این نتایج را تأیید کرده و پیشنهاد کرده‌اند که خواص فیزیکوشیمیایی نشاسته، که یک پلیمر طبیعی است، به تکثیر سلول‌های L929 کمک می‌کند. تصویر 5 (D) همچنین نشان می‌دهد که داربست پلی یورتان/نشاسته نسبت به پلی یورتان/نشاسته، بقای سلولی بیشتری را نشان داده که احتمالاً به دلیل خواص هیدراتاسیون هیالورونیک اسید است که از تجمع فیبروبلاست‌ها حمایت کرده و سمیت را کاهش می‌دهد. هیالورونیک اسید تنها به تسریع رشد سلولی و القای بازسازی بافت کمک نمی‌کند، بلکه تشکیل بافت گرانولاسیون و اپی‌تلیالیزاسیون زخم را نیز تسهیل می‌نماید.[86] لیو و همکاران[87] نیز نتایج مشابهی را مشاهده کردند و اشاره نمودند که هیالورونیک اسید به تکثیر فیبروبلاست‌ها و سازگاری بیولوژیکی کمک می‌کند.

در بین همه داربست‌های آزمایش‌شده، پلی یورتان/نشاسته/هیالورونیک اسید-بره موم بالاترین سطح رشد سلولی را نشان داد. افزودن بره موم تکثیر سلول‌های L929 را افزایش داد که با مطالعات پیشین مونا و همکاران[88] که توانایی بره موم در حمایت از رشد سلول را نشان دادند، همخوانی دارد. هیالورونیک اسید رزادع و همکاران[89] نیز اثرات مثبت بره موم بر رشد و تمایز سلول‌های بنیادی در بافت‌های عصبی را مورد تأکید قرار داده‌اند.

تصاویر فلوروسنت که پس از یک روز کشت سلولی گرفته شد (تصویر 5 E) چسبندگی قوی سلول‌ها به نانوالیاف حاوی بره موم را نشان می‌دهد. داربست پلی یورتان/نشاسته/هیالورونیک اسید-بره موم نسبت به داربست‌های پلی یورتان/نشاسته و داربست‌های تجاری، چسبندگی و بقای سلول را به طور مؤثرتری حمایت کرد. این یافته‌ها پتانسیل بره موم را برای افزایش بقا سلولی نشان می‌دهند. تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی که پس از هفت روز کشت سلولی گرفته شده است (تصویر 5 F) به وضوح نشان می‌دهد که سلول‌های فیبروبلاست به خوبی پروفرآیند افزایش تعداد سلول‌ها و به داربست‌های پلی یورتان/نشاسته و پلی یورتان/نشاسته/هیالورونیک اسید-بره موم چسبیده‌اند. داربست حاوی هر دو هیالورونیک اسید و بره موم زیرلایه مناسبی برای رشد فیبروبلاست فراهم کرد، در حالی که تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی نفوذ قابل‌توجهی از سلول‌ها به الیاف داربست را تأیید می‌کند. به‌طور کلی، این نتایج نشان می‌دهد که ترکیب هیالورونیک اسید و بره موم از چسبندگی و تکثیر سلول حمایت کرده و این داربست‌ها را برای کاربردهای مهندسی بافت مناسب می‌سازد.

4.11. مطالعات حیوانی

تصویر 6 نشان می‌دهد که در روز اول، سطح زخم در گروه‌های تحت درمان با داربست تفاوت‌های کمی با گروه کنترل داشت. با این حال، تا روزهای 7 و 14، این تفاوت‌ها به طور قابل توجهی مشهود شد. گروه پلی یورتان/نشاسته/هیالورونیک اسید - بره موم بیشترین بهبودی زخم را تا روز 14 نشان داد و تفاوتی بارزتر نسبت به گروه کنترل داشت.

4.12. مطالعات بافت‌شناسی

بهبودی زخم فرآیند پیچیده‌ای است که شامل چهار مرحله هم‌پوشانی: انعقاد، التهاب، فیبروپلازی و بازسازی بافت می‌باشد. انعقاد به دلیل تنگ شدن عروق و آزادسازی کاته‌کولامین‌ها اتفاق می‌افتد. در مرحله التهابی، سلول‌های فاگوسیتیک به زخم نفوذ می‌کنند. در طول فیبروپلازی، فیبروبلاست‌ها به محل زخم مهاجرت کرده و کلاژن تولید می‌کنند که موجب تقویت زخم می‌شود و آنژیوژنز آغاز می‌گردد. در نهایت، در مرحله بازسازی بافت، بافت ساختار طبیعی خود را دوباره به دست می‌آورد.

مطالعات متعددی بر خواص آنتی‌باکتریال و تأثیرات بهبودی هیالورونیک اسید تأکید کرده‌اند، به ویژه در درمان زخم‌های حاصل از فشار. اوپی و همکاران[90] گزارش دادند که هیالورونیک اسید فرایند اپی‌تلیالیزاسیون و عروق‌سازی را در محل زخم‌ها بهبود می‌بخشد. پارک و همکاران[91] نشان دادند که بره موم با افزایش تولید کلاژن و بهبود روند بهبودی، به تسریع بهبودی زخم کمک می‌کند.

4.13. نتـــایج تحلیـــل واریـــانس و آزمـــون‌هـــای تعقیبی

در این بخش، نتایج تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون‌های تعقیبی که به منظور مقایسه گروه‌ها با گروه شاهد انجام شده است، ارائه می‌شود. تمامی داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف استاندارد گزارش شده‌اند و سطح معناداری بر روی ($P > 0/05$) تنظیم شده است.

1. تحلیل واریانس برای فعالیت ضد میکروبی

فعالیت ضد میکروبی نمونه‌ها از طریق آزمون منطقه مهار بررسی شد. نتایج برای مقایسه فعالیت ضد باکتریایی نمونه‌های مختلف علیه باکتری‌های شاسته استافیلوکوکوس ارئوس و اشرشیای کولای به شرح زیر است:

- نشاسته: استافیوکوکوس ارئوس
  - o پلی یورتان/نشاسته/هیالورونیک اسید-بره موم: 8/12 ± 0/53 میلی متر
  - o پلی یورتان/نشاسته 1/04 ± 0/63 میلی متر
  - o پلی یورتان/نشاسته 7/93 ± 0/02 میلی متر
  - o گروه شاهد: 0 میلی متر

نتایج آنوورا نشان داد که میانگین مناطق مهار در گروه‌های مختلف به طور معناداری متفاوت است ($P > 0/001$). آزمون تعقیبی دانت به کار گرفته شد که مقایسه بین گروه‌های مختلف و گروه شاهد را به وضوح نشان داد. این مقایسه نشان داد که ترکیب پلی یورتان/نشاسته هیالورونیک اسید - بره موم نسبت به سایر گروه‌ها فعالیت ضد باکتریایی بیشتری دارد.

- اشرشیای کولای
  - o پلی یورتان/نشاسته/هیالورونیک اسید-بره موم 5/89 ± 0/12 میلی‌متر
  - o پلی یورتان/نشاسته 1/04 ± 0/63 میلی‌متر
  - o پلی یورتان/نشاسته 7/18 ± 0/12 میلی‌متر
  - o گروه شاهد: 0 میلی متر

در اینجا نیز نتایج **ANOVA** اختلاف معناداری را بین میانگین گروه‌ها ($P > 0/001$) نشان داد. آزمون تعقیبی دوباره به کار گرفته شد و مشخص کرد که گروه پلی یورتان/نشاسته/هیالورونیک اسید-بره موم به ویژه در مقایسه با گروه شاهد و سایر گروه‌ها دارای ناحیه مهار بیشتری است.

2. تحلیل واریانس برای خواص مکانیکی

خواص مکانیکی شامل استحکام کششی و مدول الاستیک به صورت زیر مورد بررسی قرار گرفت:

- استحکام کششی:
  - o پلی یورتان 7/93 ± 0/17 مگاپاسکال
  - o پلی یورتان/نشاسته 7/18 ± 0/12 مگاپاسکال
  - o پلی یورتان/نشاسته 8/12 ± 0/15 مگاپاسکال
  - o پلی یورتان/نشاسته/هیالورونیک اسید-بره موم 8/62 ± 0/10 مگاپاسکال

نتایج نشان‌دهنـــده وجـــود اختلاف معنادار بین گروه‌ها ($P > 0/05$) بود. مطابق با نتایج آزمون تعقیبی دانت، به وضوح مشخص شد که پلی یورتان/نشاسته/هیالورونیک اسید-بره موم دارای بالاترین استحکام کششی است و از این رو می‌تواند به عنوان گزینه‌ای مناسب برای کاربردهای پزشکی احیاکننده معرفی شود.

- مدول الاستیک:

مقادیر مدول الاستیک نیز با استفاده از بررسی شد و اختلاف معنی‌داری بین گروه‌ها نشان داد ($P > 0/05$). این یافته‌ها بر تأثیر ترکیبات مورد استفاده تأکید می‌کند که منجر به بهبود خواص مکانیکی می‌شود.

نتایج تحلیل واریانس نشان‌دهنده اثر مستقیم ترکیبات مختلف بر روی فعالیت ضد میکروبی و خواص مکانیکی داربست‌های الکتروریسی شده است. با توجه به نتایج آزمون‌های تعقیبی مانند آزمون دانت، ما به وضوح تفاوت‌های معناداری را بین گروه‌های مختلف و گروه شاهد مشاهده کردیم. این تحقیق اهمیت انتخاب مواد با خواص بهینه را برای توسعه داربست‌های کارآمد در مهندسی بافت پوست گوشزد می‌کند.

5 . جمع‌بندی

این مطالعه به‌طور موفقیت‌آمیزی داربست‌های نانوفیبری به‌صورت هسته - پوسته، متشکل از پلی یورتان/نشاسته بارگیری‌شده با بره موم را که در دمای اتاق ساخته شده بودند، توسعه داد.

داربست‌های حاصل خواص بیوپتانسیل و هیدروفیلی بسیار خوبی از خود نشان دادند که آن‌ها را به کاندیداهای مناسبی برای کاربردهای پزشکی، به‌ویژه در مهندسی بافت (نشاسته E) تبدیل می‌کند. ساختار منحصر به‌فرد هسته - پوسته فیبرهای الکتروریسی‌شده، آزادسازی پایدار و کنترل‌شده بره موم را در محل زخم تسهیل کرد، که این امر برای تقویت اثرات درمانی در طول یک دوره طولانی بسیار حائز اهمیت است. داربست‌ها توانایی قابل‌توجهی در تسریع فرآیند بهبودی زخم نشان دادند، که با حمایت از تکثیر سلول‌های اپی‌تلیالی و ترویج اپی‌تلیالیزاسیون مستند شد. افزودن بره موم نقش محوری در تقویت خواص بازسازی‌کننده داربست‌ها ایفا کرد و به تشکیل بافت گرانوله و بهبود اپی‌تلیالیزاسیون زخم کمک کرد. این اثر به‌ویژه در داربست‌های پلی یورتان/نشاسته/هیالورونیک اسید-بره موم مشهود بود، که نشان دادند در مراحل اولیه مراقبت از زخم به‌طور مؤثری عمل می‌کنند. آزمایشات درون‌زا (درون تن) همچنین پتانسیل این داربست‌ها را در ترویج بهبودی زخم‌های پوستی تأکید کردند، جایی که نانوفیبرهای پلی یورتان/نشاسته/هیالورونیک اسید-بره موم به‌طور معنی‌داری بهبودی را نسبت به گروه‌های کنترل بهبود بخشیدند. چسبندگی سلولی، تکثیر و بسته‌شدن زخم در این داربست‌ها نشان‌دهنده پتانسیل قوی آن‌ها به‌عنوان گزینه‌های درمانی برای مدیریت پیشرفته زخم‌ها است.

به‌طور کلی، این مطالعه پتانسیل داربست‌های نانوفیبری هسته - پوسته‌ای پلی یورتان/نشاسته/هیالورونیک اسید-بره موم را به‌عنوان مواد نویدبخش برای ترویج بهبودی سریع و مؤثر زخم‌های پوستی روشن می‌کند. توانایی آن‌ها در حفظ آزادسازی عوامل بیواکتیو، همراه با بیوپتانسیل آن‌ها، این داربست‌ها را به کاندیداهایی ارزشمند برای کاربردهای بالینی آینده در مهندسی بافت و پزشکی ترمیمی تبدیل می‌کند. این داربست‌ها رویکردی نوین برای بهبود کیفیت و سرعت بهبودی زخم ارائه می‌دهند و آن‌ها را به یک بستر چندمنظوره برای درمان انواع آسیب‌های پوستی تبدیل می‌کند. تحقیقات و بهینه‌سازی‌های بیشتر می‌توانند راه را برای کاربرد آن‌ها در سناریوهای پیچیده‌تر بهبودی زخم و زمینه‌های پزشکی وسیع‌تر هموار کنند.

References:

1. Kolarsick, Paul AJ, Maria Ann Kolarsick, and Carolyn Goodwin. "Anatomy and physiology of the skin." Journal of the Dermatology Nurses' Association 3, no. 4 (2011): 203-213. DOI: 10.1097/JDN.0b013e3182274a98.
2. Rosli, Nur Liyana, Husniyati Roslan, Eshaifol Azam Omar, Norehan Mokhtar, Nor Hussaini Abdul Hapit, and Nornaimah Asem. "Phytochemical analysis and antioxidant activities of Trigona Apicalis propolis extract." In AIP Conference Proceedings, vol. 1791, no. 1. AIP Publishing, 2016. DOI: 10.1063/1.4968873.
3. Magro FILHO, Osvaldo, and Antonio César Perri de CARVALHO. "Application of propolis to dental sockets and skin wounds." The Journal of Nihon University School of Dentistry 32, no. 1 (1990): 4-13. DOI: 10.2334/josnusd1959.32.4.
4. Venus, M., J. Waterman, and I. McNab, Basic physiology of the skin. Surgery (Oxford), 2010. 28(10): p. 469-472. DOI: https://doi.org/10.1016/j.mpsur.2010.07.011.
5. Ghaee, A., et al., Biomimetic nanocomposite scaffolds based on surface modified PCL-nanofibers containing curcumin embedded in chitosan/gelatin for skin regeneration. Composites Part B: Engineering, 2019. 177: 1-12. DOI: 10.1016/j.compositesb.2019.107339.
6. Celleno, L. and F. Tamburi, Structure and function of the skin, In Nutritional Cosmetics. 2009, Elsevier. p. 3-45. DOI: 10.1016/B978-0-8155-2029-0. 50008-9.
7. Jiang, Xiaodong, Rachael A. Clark, Luzheng Liu, Amy J. Wagers, Robert C. Fuhlbrigge, and Thomas S. Kupper. "Skin infection generates non-migratory memory CD8+ TRM cells providing global skin immunity." Nature 483, no. 7388 (2012): 227-231. DOI: 10.1038/nature10851.
8. Chua, A.W.C., C.F. Saphira, and S.J. Chong, Skin Tissue Engineering in Severe Burns: A Review on Its Therapeutic Applications, Regenerative Medicine and Plastic Surgery. 2019, Springer. p. 117-136. DOI: 10.1007/978-3-030-19962-3-9.
9. Chua, Alvin Wen Choong, Yik Cheong Khoo, Bien Keem Tan, Kok Chai Tan, Chee Liam Foo, and Si Jack Chong. "Skin tissue engineering advances in severe burns: review and therapeutic applications." Burns & trauma 4 (2016). DOI: 10.1186/ s41038-016-0027-y.
10. Kamel, Rami A., Joon Faii Ong, Elof Eriksson, Johan PE Junker, and Edward J. Caterson. "Tissue engineering of skin." Journal of the American College of Surgeons 217, no. 3 (2013): 533-555. DOI: 10.1016/j.jamcollsurg.2013.03.027.
11. Hendrickx, B., J.J. Vranckx, and A. Luttun, Cell-based vascularization strategies for skin tissue engineering. Tissue Engineering Part B: Reviews, 2011. 17(1): p. 13-24. DOI: 10.1089/ten.teb.2010.0315.
12. Shevchenko, R.V., S.L. James, and S.E. James, A review of tissue-engineered skin bioconstructs available for skin reconstruction. Journal of the Royal Society Interface, 2010. 7(43): p. 229-258. DOI: 10.1098/rsif.2009.0403.
13. Naahidi, Sheva, Mousa Jafari, Megan Logan, Yujie Wang, Yongfang Yuan, Hojae Bae, Brian Dixon, and P. Chen. "Bioco Mega Pascal tibility of hydrogel-based scaffolds for tissue engineering applications." Biotechnology advances 35, no. 5 (2017): 530-544. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2017.05.006.
14. Salehi, Amin Orash Mahmoud, Saeed Heidari Keshel, Farshid Sefat, and Lobat Tayebi. "Use of polycaprolactone in corneal tissue engineering: A review." Materials Today Communications 27 (2021): 102402. DOI: 10.1016/j.mtcomm.2021.102402.
15. Jang, Jinah, Jongwan Lee, Young-Joon Seol, Young Hun Jeong, and Dong-Woo Cho. "Improving mechanical properties of alginate hydrogel by reinforcement with ethanol treated polycaprolactone nanofibers." Composites Part B: Engineering 45, no. 1 (2013): 1216-1221. DOI: 10.1016/j.compositesb.2012.09.059.
16. Salehi, Amin Orash Mahmoud, Mohammad Sadegh Nourbakhsh, Mohammad Rafienia, Alireza Baradaran-Rafii, and Saeed Heidari Keshel. "Corneal stromal regeneration by hybrid oriented poly (ε-caprolactone)/lyophilized silk fibroin electrospun scaffold." International Journal of Biological Macromolecules 161 (2020): 377-388. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2020.06.045.
17. Bigham, Ashkan, Amin Orash Mahmoud Salehi, Mohammad Rafienia, Mohammad Reza Salamat, Shahram Rahmati, Maria Grazia Raucci, and Luigi Ambrosio. "Zn-substituted Mg 2SiO4 nanoparticles-incorporated PCL-silk fibroin composite scaffold: A multifunctional platform towards bone tissue regeneration." Materials Science and Engineering: C 127 (2021): 112242. DOI: 10.1016/j.msec.2021.112242.
18. Mi, Hao-Yang, Xin Jing, Brett N. Napiwocki, Breanna S. Hagerty, Guojun Chen, and Lih-Sheng Turng. "Biocoible, degradable thermoplastic polyurethane based on polycaprolactone- block- polytetrahydrofuran- block- polycaprolactone copolymers for soft tissue engineering." Journal of Materials Chemistry B 5, no. 22 (2017): 4137-4151. DOI: 10.1039/ C7TB00419B.
19. Hong, Suk-Min, Jong-Wan Kim, Jonathan C. Knowles, and Myoung-Seon Gong. "Facile preparation of antibacterial, highly elastic silvered

polyurethane nanofiber fabrics using silver carbamate and their dermal wound healing properties." Journal of biomaterials applications 31, no. 7 (2017): 1026-1038., DOI: 10.1177/0885328216687665.

20. Salama, Ahmed, and Mohamed El-Sakhawy. "Polysaccharides/propolis composite as promising materials with biomedical and packaging applications: A review." Biomass Conversion and Biorefinery 14, no. 4 (2024): 4555-4565. DOI: 10.1007/s13399-022-02814-5.
21. Chhabra, Roha, Vaibhavi Peshattiwar, Tejal Pant, Aparna Deshpande, Deepak Modi, Sadhana Sathaye, Anil Tibrewala, Sathish Dyawanapelly, Ratnesh Jain, and Prajakta Dandekar. "In vivo studies of 3D starch–gelatin scaffolds for full-thickness wound healing." ACS Applied Bio Materials 3, no. 5 (2020): 2920-2929., DOI: 10.1021/acsabm.9b01139.
22. Ounkaew, Artjima, Pornnapa Kasemsiri, Kaewta Jetsrisuparb, Hiroshi Uyama, Yu-I. Hsu, Thidarut Boonmars, Atchara Artchayasawat, Jesper TN Knijnenburg, and Prinya Chindaprasirt. "Synthesis of nanocomposite hydrogel based carboxymethyl starch/polyvinyl alcohol/nanosilver for biomedical materials." Carbohydrate Polymers 248 (2020): 116767., DOI: 10.1016/j.carbpol.2020.116767.
23. Tavakoli, Shima, Mahshid Kharaziha, Shervin Nemati, and Ali Kalateh. "Nanocomposite hydrogel based on carrageenan-coated starch / cellulose nanofibers as a hemorrhage control material." Carbohydrate polymers 251 (2021): 117013. DOI: 10.1016/j.carbpol.2020.117013.
24. Amal, B., B. Veena, V. P. Jayachandran, and Joy Shilpa. "Preparation and characterisation of Punica granatum pericarp aqueous extract loaded chitosan-collagen-starch membrane: role in wound healing process." Journal of Materials Science: Materials in Medicine 26 (2015): 1-9. DOI: 10.1007/s10856-015-5515-2.
25. Hemamalini, T. and V.R.G. Dev, Comprehensive review on electrospinning of starch polymer for biomedical applications. International journal of biological macromolecules, 2018. 106: p. 712-718. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2017.08.079.
26. Yang, Xiao, Wen Liu, Guanghui Xi, Mingshan Wang, Bin Liang, Yifen Shi, Yakai Feng, Xiangkui Ren, and Changcan Shi. "Fabricating antimicrobial peptide-immobilized starch sponges for hemorrhage control and antibacterial treatment." Carbohydrate polymers 222 (2019): 115012. DOI: 10.1016/j.carbpol.2019.115012.
27. Kanani, A.G. and S.H. Bahrami, Review on electrospun nanofibers scaffold and biomedical applications. Trends Biomater Artif Organs, 2010. 24(2): p. 93-115.
28. Liu, Guodong, Zhengbiao Gu, Yan Hong, Li Cheng, and Caiming Li. "Electrospun starch nanofibers: Recent advances, challenges, and strategies for potential pharmaceutical applications." Journal of Controlled Release 252 (2017): 95-107. DOI: 10.1016/j.jconrel.2017.03.016.
29. Kang, Y.O., J.N. Im, and W.H. Park, Morphological and permeable properties of antibacterial double-layered composite nonwovens consisting of microfibers and nanofibers. Composites Part B: Engineering, 2015. 75: p. 256-263. DOI: 10.1016/j.compositesb.2015.01.029.
30. Šateikė, Jurgita, and Rimvydas Milašius. "Influence of modified cationic starch in a mixed poly (vinyl alcohol)/cationic starch solution on the electrospinning process and web structure." Autex Research Journal 20, no. 1 (2020): 69-72. DOI: 10.2478/aut-2019-0010.
31. Koivusalo, Laura, Maija Kauppila, Sumanta Samanta, Vijay Singh Parihar, Tanja Ilmarinen, Susanna Miettinen, Oommen P. Oommen, and Heli Skottman. "Tissue adhesive hyaluronic acid hydrogels for sutureless stem cell delivery and regeneration of corneal epithelium and stroma." Biomaterials 225 (2019): 119516. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2019.119516.
32. Wang, Tzu-Wei, Jui-Sheng Sun, Hsi-Chin Wu, Yang-Hwei Tsuang, Wen-Hsi Wang, and Feng-Huei Lin. "The effect of gelatin–chondroitin sulfate–hyaluronic acid skin substitute on wound healing in SCID mice." Biomaterials 27, no. 33 (2006): 5689-5697. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2006.07.024.
33. Friedrich, E.E. and N.R. Washburn, Transport patterns of anti-TNF-α in burn wounds: Therapeutic implications of hyaluronic acid conjugation. Biomaterials, 2017. 114: p. 10-22. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2016.11.003.
34. Viuda-Martos, M., Y. Ruiz-Navajas, J. Fernández-López, and J. A. Pérez-Álvarez. "Functional properties of honey, propolis, and royal jelly." Journal of food science 73, no. 9 (2008): R117-R124. DOI: 10.1111/j. 1750-3841.2008.00966.x.
35. Da Rosa, Cristiano, Ian Lucas Bueno, Ana Clara Martins Quaresma, and Giovanna Barbarini Longato. "Healing potential of propolis in skin wounds evidenced by clinical studies." Pharmaceuticals 15, no. 9 (2022): 1143. DOI: 10.3390/ ph15091143.
36. Xu, B., et al., Non-linear elasticity of core/shell spun PGS/PLLA fibres and their effect on cell proliferation. Biomaterials, 2013. 34(27): p. 6306-6317. DOI: 10.1016/j.biomaterials. 2013.05.009.
37. Hadisi, Zhina, Mehdi Farokhi, Hamid Reza Bakhsheshi-Rad, Maryam Jahanshahi, Sadegh Hasanpour, Erik Pagan, Alireza Dolatshahi-Pirouz, Yu Shrike Zhang, Subhas C.

Kundu, and Mohsen Akbari. "Hyaluronic acid (HA) based silk fibroin/zinc oxide core–shell electrospun dressing for burn wound management." Macromolecular bioscience 20, no. 4 (2020): 1900328. DOI: 10.1002/mabi.201900328.

38. Xie, Xianrui, Yujie Chen, Xiaoyu Wang, Xiaoqing Xu, Yihong Shen, Ali Aldalbahi, Allison E. Fetz, Gary L. Bowlin, Mohamed El-Newehy, and Xiumei Mo. "Electrospinning nanofiber scaffolds for soft and hard tissue regeneration." Journal of Materials Science & Technology 59 (2020): 243-261. DOI: 10.1016/j.jmst.2020.04.037.
39. Li, Wei, Nazim Cicek, David B. Levin, Sarvesh Logsetty, and Song Liu. "Bacteria-triggered release of a potent biocide from core-shell polyhydroxyalkanoate (PHA)-based nanofibers for wound dressing applications." Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition 31, no. 3 (2020): 394-406. DOI: 10.1080/09205063.2019.1693882.
40. Movahedi, Mehdi, Azadeh Asefnejad, Mohammad Rafienia, and Mohammad Taghi Khorasani. "Potential of novel electrospun core-shell structured polyurethane/starch (hyaluronic acid) nanofibers for skin tissue engineering: In vitro and in vivo evaluation." International journal of biological macromolecules 146 (2020): 627-637. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2019.11.233.
41. Afshar, Shahnoosh, Shiva Rashedi, Hossein Nazockdast, and Malihe Ghazalian. "Preparation and characterization of electrospun poly (lactic acid)-chitosan core-shell nanofibers with a new solvent system." International journal of biological macromolecules 138 (2019): 1130-1137. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2019.07.053.
42. Man, Zhentao, Ling Yin, Zhenxing Shao, Xin Zhang, Xiaoqing Hu, Jingxian Zhu, Linghui Dai et al. "The effects of co-delivery of BMSC-affinity peptide and rhTGF-β1 from coaxial electrospun scaffolds on chondrogenic differentiation." Biomaterials 35, no. 19 (2014): 5250-5260. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2014.03.031.
43. Adeli, H., M.T. Khorasani, and M. Parvazinia, Wound dressing based on electrospun PVA/chitosan/starch nanofibrous mats: Fabrication, antibacterial and cytoco Mega Paskal tibility evaluation and in vitro healing assay. International journal of biological macromolecules, 2019. 122: p. 238-254. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.10.115.
44. Ye, Hongye, Kangyi Zhang, Dan Kai, Zibiao Li, and Xian Jun Loh. "Polyester elastomers for soft tissue engineering." Chemical Society Reviews 47, no. 12 (2018): 4545-4580. DOI: 10.1039/C8CS00161H.
45. Alhosseini, Sanaz Naghavi, Fathollah Moztarzadeh, Masoud Mozafari, Shadnaz Asgari, Masumeh Dodel, Ali Samadikuchaksaraei, Saeid Kargozar, and Newsha Jalali. "Synthesis and characterization of electrospun polyvinyl alcohol nanofibrous scaffolds modified by blending with chitosan for neural tissue engineering." International journal of nanomedicine (2012): 25-34. DOI: 10.2147/IJN.S25376#d1e181.
46. Salgado, A., O.P. Coutinho, and R.L. Reis, Novel starch-based scaffolds for bone tissue engineering: cytotoxicity, cell culture, and protein expression. Tissue engineering, 2004. 10(3-4): p. 465-474. DOI: 10.1089/107632704323061825.
47. Liu, Yang, Guiping Ma, Dawei Fang, Juan Xu, Hongwen Zhang, and Jun Nie. "Effects of solution properties and electric field on the electrospinning of hyaluronic acid." Carbohydrate Polymers 83, no. 2 (2011): 1011-1015. DOI: 10.1016/j.carbpol.2010.08.061.
48. Doshi, Jayesh, and Darrell H. Reneker. "Electrospinning process and applications of electrospun fibers." Journal of electrostatics 35, no. 2-3 (1995): 151-160. DOI: 10. 1016/0304-3886(95)00041-8.
49. Pieper, J. S., A. Oosterhof, Pieter J. Dijkstra, J. H. Veerkamp, and T. H. Van Kuppevelt. "Preparation and characterization of porous crosslinked collagenous matrices containing bioavailable chondroitin sulphate." Biomaterials 20, no. 9 (1999): 847-858. DOI: 10.1016/S0142-9612(98) 00240-3.
50. Zhang, Kuihua, Linpeng Fan, Zhiyong Yan, Qiaozhen Yu, and Xiumei Mo. "Electrospun biomimic nanofibrous scaffolds of silk fibroin/hyaluronic acid for tissue engineering." Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition 23, no. 9 (2012): 1185-1198. DOI: 10.1163/092050611X576963.
51. Chen, Guangkai, Junxia Guo, Jun Nie, and Guiping Ma. "Preparation, characterization, and application of PEO/HA core shell nanofibers based on electric field induced phase separation during electrospinning." Polymer 83 (2016): 12-19. DOI: 10.1016/j.polymer.2015.12.002.
52. Heydari, Parisa, Jaleh Varshosaz, Anousheh Zargar Kharazi, and Saeed Karbasi. "Preparation and evaluation of poly glycerol sebacate/poly hydroxy butyrate core-shell electrospun nanofibers with sequentially release of ciprofloxacin and simvastatin in wound dressings." Polymers for Advanced Technologies 29, no. 6 (2018): 1795-1803. DOI: 10.1002/pat.4286.
53. Surucu, Seda, and Hilal Turkoglu Sasmazel. "Development of core-shell coaxially electrospun composite PCL/chitosan scaffolds." International journal of biological macromolecules 92 (2016): 321-328. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2016.07.013.

54. Mano, J.F., D. Koniarova, and R. Reis, Thermal properties of thermoplastic starch/synthetic polymer blends with potential biomedical applicability. Journal of materials science: Materials in medicine, 2003. 14(2): p. 127-135. DOI: 10.1023/A: 1022015712170.
55. Koski, C. and S. Bose, Effects of amylose content on the mechanical properties of starch-hydroxyapatite 3D printed bone scaffolds. Additive Manufacturing, 2019. 30: p. 100817. DOI: 10.1016/j.addma.2019.100817.
56. Eskandarinia, Asghar, Amirhosein Kefayat, Mohammad Rafienia, Maria Agheb, Sepehr Navid, and Karim Ebrahimpour. "Cornstarch-based wound dressing incorporated with hyaluronic acid and propolis: In vitro and in vivo studies." Carbohydrate polymers 216 (2019): 25-35. DOI: 10.1016/j.carbpol.2019.03.091.
57. Svečnjak, Lidija, Zvonimir Marijanović, Piotr Okińczyc, Piotr Marek Kuś, and Igor Jerković. "Mediterranean propolis from the adriatic sea islands as a source of natural antioxidants: Comprehensive chemical biodiversity determined by GC-MS, FTIR-ATR, UHPLC-DAD-QqTOF-MS, DPPH and FRAP assay." Antioxidants 9, no. 4 (2020): 337. DOI: 10.3390/antiox9040337.
58. Lim, Jin Ru, Lee Suan Chua, and John Soo. "Study of stingless bee (Heterotrigona itama) propolis using LC-MS/MS and TGA-FTIR." Applied Food Research 3, no. 1 (2023): 100252. DOI: 10.1016/j.afres.2022.100252.
59. Aziz, Saliha, Ali Akbar, Zareen Gul, Muhammad Bilal Sadiq, Jahangir Khan Achakzai, Nazir Ahmad Khan, Abdul Samad, Zia Ur Rehman, and Imran Ali. "Functional potential and chemical profile analysis of propolis oil extracted from propolis of balochistan." Journal of Food Quality 2022, no. 1 (2022): 4782813. DOI: 10.1155/2022/4782813.
60. Sutjarittangtham, Krit, Sirikarn Sanpa, Tawee Tunkasiri, Panuwan Chantawannakul, Uraiwan Intatha, and Sukum Eitssayeam. "Bactericidal effects of propolis/polylactic acid (PLA) nanofibres obtained via electrospinning." Journal of Apicultural Research 53, no. 1 (2014): 109-115. DOI: 10.3896/IBRA.1.53.1.11.
61. da Silva, Cleidiane, Anaclara Prasniewski, Matheus A. Calegari, Vanderlei Aparecido de Lima, and Tatiane LC Oldoni. "Determination of total phenolic compounds and antioxidant activity of ethanolic extracts of propolis using ATR–FT-IR spectroscopy and chemometrics." Food Analytical Methods 11 (2018): 2013-2021. DOI: 10.1007/s12161-018-1161-x.
62. Siripatrawan, Ubonrat, and Waranya Vitchayakitti. "Improving functional properties of chitosan films as active food packaging by incorporating with propolis." Food Hydrocolloids 61 (2016): 695-702. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2016.06.001.
63. Balderas-Cordero, Daniela, Octavio Canales-Alvarez, Roberto Sánchez-Sánchez, Alejandro Cabrera-Wrooman, Maria Margarita Canales-Martinez, and Marco Aurelio Rodriguez-Monroy. "Anti-Inflammatory and Histological Analysis of Skin Wound Healing through Topical Application of Mexican Propolis." International Journal of Molecular Sciences 24, no. 14 (2023): 11831. DOI: 10.3390/ijms241411831.
64. Yang, Wei, Hongjie Xu, Yong Lan, Qiyu Zhu, Yu Liu, Shaoshan Huang, Shengjun Shi, Andrei Hancharou, Bing Tang, and Rui Guo. "Preparation and characterisation of a novel silk fibroin/hyaluronic acid/sodium alginate scaffold for skin repair." International journal of biological macromolecules 130 (2019): 58-67. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2019.02.120.
65. De Almeida, Enrik Barbosa, Juliana Cordeiro Cardoso, Adriana Karla de Lima, Nívia Lucas de Oliveira, Nicodemos Teles de Pontes-Filho, Sônia Oliveira Lima, Isana Carla Leal Souza, and Ricardo Luiz Cavalcanti de Albuquerque-Júnior. "The incorporation of Brazilian propolis into collagen-based dressing films improves dermal burn healing." Journal of ethnopharmacology 147, no. 2 (2013): 419-425. DOI: 10.1016/j.jep.2013.03.031.
66. El-Aassar, M. R., G. F. El Fawal, Elbadawy A. Kamoun, and Moustafa MG Fouda. "Controlled drug release from cross-linked κ-carrageenan/hyaluronic acid membranes." International Journal of Biological Macromolecules 77 (2015): 322-329. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2015.03.055.
67. Agheb, Maria, Mohammad Dinari, Mohammad Rafienia, and Hossein Salehi. "Novel electrospun nanofibers of modified gelatin-tyrosine in cartilage tissue engineering." Materials Science and Engineering: C 71 (2017): 240-251. DOI: 10.1016/j.msec.2016.10.003.
68. Gunatillake, Pathiraja A., Raju Adhikari, and N. Gadegaard. "Biodegradable synthetic polymers for tissue engineering." Eur Cell Mater 5, no. 1 (2003): 1-16.
68. Oellig, Claudia. "Acetonitrile extraction and dual-layer solid phase extraction clean-up for pesticide residue analysis in propolis." Journal of Chromatography A 1445 (2016): 19-26. DOI: 10.1016/j.chroma.2016.03.082.
69. Pastor, Clara, Laura Sánchez-González, Alicia Marcilla, A Mega Packal ro Chiralt, Maite Cháfer, and Chelo González-Martínez. "Quality and safety of table grapes coated with hydroxypropylmethylcellulose edible coatings containing propolis extract." Postharvest Biology and Technology 60, no. 1 (2011): 64-70. DOI: 10.1016/j.postharvbio.2010.11.003.

70. Wang, Wenyu, Xin Jin, Yonghao Zhu, Chengzhang Zhu, Jian Yang, Hongjie Wang, and Tong Lin. "Effect of vapor-phase glutaraldehyde crosslinking on electrospun starch fibers." Carbohydrate polymers 140 (2016): 356-361. DOI: 10.1016/j.carbpol.2015.12.061.
71. Mao, Jin Shu, Yu Ji Yin, and Kang De Yao. "The properties of chitosan–gelatin membranes and scaffolds modified with hyaluronic acid by different methods." Biomaterials 24, no. 9 (2003): 1621-1629. DOI: 10.1016/S0142-9612(02)00549-5.
72. Tan, Huaping, Constance R. Chu, Karin A. Payne, and Kacey G. Marra. "Injectable in situ forming biodegradable chitosan–hyaluronic acid based hydrogels for cartilage tissue engineering." Biomaterials 30, no. 13 (2009): 2499-2506. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2008.12.080.
73. Lee, Eun Ji, Jong Ho Lee, Linhua Jin, Oh Seong Jin, Yong Cheol Shin, Sang Jin Oh, Jaebeom Lee, Suong-Hyu Hyon, and Dong-Wook Han. "Hyaluronic acid/poly (lactic-co-glycolic acid) core/shell fiber meshes loaded with epigallocatechin-3-O-gallate as skin tissue engineering scaffolds." Journal of Nanoscience and Nanotechnology 14, no. 11 (2014): 8458-8463. DOI: 10.1166/jnn.2014.9922.
74. Anjum, Aima Sameen, Eun Jong Son, Jae Hyung Yu, Inshik Ryu, Myung Soo Park, Chang Soon Hwang, Jae Woo Ahn, Joo Young Choi, and Sung Hoon Jeong. "Fabrication of durable hydrophobic porous polyurethane membrane via water droplet induced phase separation for protective textiles." Textile Research Journal 90, no. 11-12 (2020): 1245-1261. DOI: 10.1177/0040517519886059.
75. Trovati, Graziella, Edgar Ap Sanches, Salvador Claro Neto, Yvonne P. Mascarenhas, and Gilberto O. Chierice. "Characterization of polyurethane resins by FTIR, TGA, and XRD." Journal of Applied Polymer Science 115, no. 1 (2010): 263-268. DOI: 10.1002/app.31096.
76. Filip, Daniela, Doina Macocinschi, and Stelian Vlad. "Thermogravimetric study for polyurethane materials for biomedical applications." Composites Part B: Engineering 42, no. 6 (2011): 1474-1479. DOI: 10.1016/j.compositesb.2011.04.050.
77. Ahire, J. J., D. Robertson, D. P. Neveling, A. J. Van Reenen, and L. M. T. Dicks. "Hyaluronic acid-coated poly (d, l-lactide) (PDLLA) nanofibers prepared by electrospinning and coating." Rsc Advances 6, no. 41 (2016): 34791-34796. DOI: 10.1039/C6RA01996J.
78. Arnold, Frank, and David C. West. "Angiogenesis in wound healing." Pharmacology & therapeutics 52, no. 3 (1991): 407-422. DOI: 10.1016/0163-7258(91)90034-J.
79. Duscher, Dominik, Evgenios Neofytou, Victor W. Wong, Zeshaan N. Maan, Robert C. Rennert, Mohammed Inayathullah, Michael Januszyk "Transdermal deferoxamine prevents pressure-induced diabetic ulcers." Proceedings of the National Academy of Sciences 112, no. 1 (2015): 94-99. DOI: 10.1073/pnas.1413445112.
80. Kim, Jeong In, Hem Raj Pant, Hyun-Jaung Sim, Kang Min Lee, and Cheol Sang Kim. "Electrospun propolis/polyurethane composite nanofibers for biomedical applications." Materials Science and Engineering: C 44 (2014): 52-57. DOI: 10.1016/j.msec.2014.07.062.
82. Huang WenZhe, Huang WenZhe, Dai XiaoJun Dai XiaoJun, Liu YanQing Liu YanQing, Zhang ChaoFeng Zhang ChaoFeng, Zhang Mian Zhang Mian, and Wang ZhengTao Wang ZhengTao. "Studies on antibacterial activity of flavonoids and diarylheptanoids from Alpinia katsumadai." (2006): 37-40.
81. Fujiwara, Suguru, Jiro Imai, Mineko Fujiwara, Tomoko Yaeshima, Takuji Kawashima, and Kumpei Kobayashi. "A potent antibacterial protein in royal jelly. Purification and determination of the primary structure of royalisin." Journal of biological chemistry 265, no. 19 (1990): 11333-11337. DOI: 10.1016/S0021-9258(19)38596-5.
82. Marei, N., Development of chitosan 2D film scaffolds and nanoparticles enriched with royal jelly and grape seed extract: Enhanced antibacterial and wound healing activity. 2018.
83. Waghmare, Vijaya Sadashiv, Pallavi Ravindra Wadke, Sathish Dyawanapelly, Aparna Deshpande, Ratnesh Jain, and Prajakta Dandekar. "Starch based nanofibrous scaffolds for wound healing applications." Bioactive materials 3, no. 3 (2018): 255-266. DOI: 10.1016/j.bioactmat.2017.11.006.
84. Voinchet, Véronique, Pascal Vasseur, and Jérôme Kern. "Efficacy and safety of hyaluronic acid in the management of acute wounds." American journal of clinical dermatology 7 (2006): 353-357. DOI: 10.2165/00128071-200607060-00003.
85. Liu, Haifeng, Jinshu Mao, Kangde Yao, Guanghui Yang, Lei Cui, and Yilin Cao. "A study on a chitosan-gelatin-hyaluronic acid scaffold as artificial skin in vitro and its tissue engineering applications." Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition 15, no. 1 (2004): 25-40. DOI: 10.1163/156856204322752219.
86. El-Gayar, Mona H., Khaled M. Aboshanab, Mohammad M. Aboulwafa, and Nadia A. Hassouna. "Antivirulence and wound healing effects of royal jelly and garlic extract for the control of MRSA skin infections." Wound Medicine 13 (2016): 18-27. DOI: 10.1016/j.wndm.2016.05.004.
87. Ebrahimie, M., S. Asgharzadih, H. Shirzad, N. Ebrahimie, M. Hoseini, and M. Rafieian-kopaei. "An evaluation of the influence of royal jelly on differentiation of stem cells into neuronal cells invitro." Journal of Babol University of Medical Sciences 18, no. 3 (2016): 38-44 .

88. Uppal, Rohit, Gita N. Ramaswamy, C. Arnold, Robert Goodband, and Y. Wang. "Hyaluronic acid nanofiber wound dressing-production, characterization, and in vivo behavior." Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials 97, no. 1 (2011): 20-29. DOI: 10.1002/jbm.b.31776.

89. Park, Hye Min, Eunson Hwang, Kwang Gill Lee, Sang-Mi Han, Yunhi Cho, and Sun Yeou Kim. "Royal jelly protects against ultraviolet B-induced photoaging in human skin fibroblasts via enhancing collagen production." Journal of medicinal food 14, no. 9 (2011): 899-906. DOI: 10.1089/jmf.2010.1363.