

## بهبود جراحات پوستی و انجام تست‌های حیوانی، سلولی و آزمایشگاهی با ساخت اسکفلد نشاسته/هیالورونیک اسید / ژل رویال با pu

دکتر مهدی موحدی\*، دکتر آزاده آصف نژاد\*\*، دکتر محمد رفیعی نیا\*\*\*، دکتر محمد تقی خراسانی\*\*\*\*

### چکیده:

**زمینه و هدف:** اسکفلدهای (داربست‌ها) موجود توانایی محافظت از صدمات و آلودگی‌ها به وسیله میکرواورگانسیم‌ها به صورت ایده‌آل را ندارند. هدف از انجام این پژوهش ساخت اسکفلد PU - نشاسته، ژل رویال و هیالورونیک اسید با انجام تست‌های سلولی و آزمایشگاهی می‌باشد، در نهایت به داربستی دست یافت که دارای ویژگی‌های مناسب بیولوژیکی برای درمان جراحات پوستی باشد.

**مواد و روش‌ها:** برای ساخت داربست نانوالیافی، ابتدا 10% وزنی/وزنی PU در دمای محیط به مدت 2 ساعت حل شده است. ژل رویال در نسبت‌های 3، 6 و 8%، نشاسته و هیالورونیک اسید (1% وزنی/وزنی) به محلول PU اضافه شد و الکترورسی انجام شد. برای بررسی مورفولوژی نانوالیاف از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) بهره گرفته شد. به منظور ارزیابی بیولوژیکی آزمون برون تن و در نهایت آزمون درون تن انجام گردید. داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار (MEAN $\pm$ SD) به دست آمده و برای تحلیل آماری از نرم‌افزار SPSS (ویرایش 16) استفاده گردید و از آزمون آماری واریانس یک طرفه (ANOVA) استفاده شد، سطح معنی دار بودن اختلافات با  $P < 0/05$  محاسبه گردید.

**یافته‌ها:** با افزودن ژل رویال، ویسکوزیته محلول افزایش یافته و قطر الیاف الکترورسی بیشتر شده است. سلول‌های فیبروبلاست L929 بر روی داربست پلی یورتان، نشاسته، ژل رویال و هیالورونیک اسید تکثیر بسیار بهتری نسبت به داربست پلی یورتان - نشاسته، هیالورونیک اسید نشان داد. مطالعات حیوانی نشان می‌دهد درصد بهبودی در گروه تحت درمان با داربست پلی یورتان - نشاسته، حاوی هیالورونیک اسید و ژل رویال از روز هفتم تا چهاردهم بعد از جراحی بیشتر از درصد بهبودی زخم در گروه‌های دیگر و گروه کنترل معنادار می‌باشد.

**نتیجه‌گیری:** داربست الکترورسی شده پلی یورتان و نشاسته با محتوی 1 درصد وزنی هیالورونیک اسید و 6 درصد حجمی ژل رویال از نظر بیولوژیکی مناسب برای استفاده در بافت پوست به منظور ترمیم زخم می‌باشد. ژل رویال تکثیر سلولی را بهبود بخشیده و افزودن آن به داربست چسبندگی سلولی داربست را نیز بیشتر نمود. یافته‌های این مطالعه نشان می‌دهد استفاده از این داربست الکترورسی شده می‌تواند برای ترمیم کنندگی زخم مؤثر واقع گردد.

### واژه‌های کلیدی: پلی یورتان، هیالورونیک اسید، ژل رویال، اسکفلد زخم، مهندسی بافت پوست

نویسنده پاسخگو: دکتر آزاده آصف نژاد  
تلفن: 02144867550

E-mail: asefnejad\_azadeh@yahoo.com

\* دکترای گروه بیومواد، مهندسی پزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

\*\* استادیار گروه بیومواد، مهندسی پزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

\*\*\* استاد گروه بیومواد، دانشکده فناوری‌های نوین، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، ایران

\*\*\*\* دانشیار گروه پلیمرهای زیست سازگار، پژوهشگاه پلیمر و پتروشیمی ایران

تاریخ وصول: 1399/06/01

تاریخ پذیرش: 1399/11/04

## زمینه و هدف

انتقال محلول‌های یونی و مواد غذایی و نگهداری شرایط هیدراسیون بافت می‌باشد. غلظت‌های هیالورونیک اسید در شرایطی که پدیده‌های تکثیر، بازسازی و ترمیم بافت انجام می‌شود، افزایش می‌یابد.<sup>7</sup> هیالورونیک اسید بصورت مشهودی با پروتئین‌های موجود در ECM، در گیرنده‌های سطح سلول و با سیتوزول سلول پیوند می‌خورد. این واکنش‌های لیگاند - پروتئین در تثبیت ECM غضروف، تنظیم چسبندگی و حرکت سلول، هدایت پدیده‌های تکثیر و مجزا شدن و در فعالیت فاکتورهای رشد، بسیار مهم هستند.<sup>9-6</sup>

ژل رویال یکی از محصولات جانبی زنبور عسل است که در تحقیقات متعددی به عنوان ماده ترمیم‌کننده و آنتی‌باکتریال به کار رفته است. تجویز موضعی ژل رویال به طور قابل توجهی باعث افزایش اجزای ماتریکس خارج سلولی در فاز اولیه ترمیم می‌شود.<sup>10</sup>

پلی‌یورتان پلیمری سنتزی است که کاربردهای زیادی در ساخت زخم‌پوش‌ها دارد. پلی‌یورتان استحکام کششی مناسب دارد و محیط را نیز مرطوب نگه می‌دارد.<sup>11</sup> همچنین پلی‌یورتان به عنوان یک سد در برابر باکتری‌ها نیز عمل می‌کند و عبور اکسیژن مناسبی دارد.<sup>12</sup>

هدف از این پژوهش ساخت پانسمان الکتروروسی شده بر پایه پلی‌یورتان می‌باشد که به منظور جلوگیری از عفونت زخم و ترمیم بافت است.

## مواد و روش‌ها

به منظور ساخت محلول الکتروروسی ابتدا 10% وزنی / وزنی پلی‌یورتان و نشاسته در حلال THF/DMF (50:50) در دمای محیط به مدت 2 ساعت حل شده است. سپس، 5/0% وزنی / وزنی از HA در DMF با نسبت 1:1 به محلول فوق افزوده گردید. در ادامه ژل رویال را در نسبت 3%، 6% و 8% به محلول HA-PU به مدت 4 ساعت افزوده گردید تا محلولی با ویسکوزیته بالا و کاملاً یکنواخت تهیه گردد. محلول در سرنگ قرار گرفته و با استفاده از دستگاه الکتروروسی با پارامترهای تحت ولتاژ 18 کیلوولت، سرعت جریان 1 میلی لیتر بر ساعت و فاصله سرسرنج تا جمع‌کننده 20 سانتیمتر انجام می‌گردد.

برای بررسی مورفولوژی داربست‌های پلیمری از نظر اندازه تخلخل‌ها، ارتباط درونی آن‌ها و مشخص شدن قطر

ترمیم یا جایگزینی بافت آسیب دیده همواره از دغدغه‌های اصلی دانشمندان بوده است. در بحث سوختگی‌ها وسعت و عمق زخم به همراه سن بیمار تعیین‌کننده میزان مرگ‌ومیر می‌باشد.<sup>1</sup> به علاوه در سوختگی‌هایی که کل ضخامت پوست را در بر می‌گیرند، عناصر تجدیدکننده به طور کامل از دست رفته‌اند و امکان بازسازی پوست میسر نیست؛ حتی با مش‌های پوستی اتوگرافت، محل‌های اهداء برای پوشش‌دهی کامل در زخم‌های شدید کافی نیستند. پوست مهندسی شده به خصوص در موارد سوختگی بیش از 4 سانتی‌متر برای بستن و درمان زخم، جایگزین گرفت‌های پوستی قدیمی شده است.<sup>2</sup> امروزه مهندسی بافت مهم‌ترین ابزار دانشمندان در تولید بافت‌ها و پروتزهای جایگزین برای ترمیم یا جایگزینی بافت آسیب دیده هستند. در این راستا نانوفناوری و به طور ویژه الکتروروسی به عنوان فناوری تولید نانو الیاف به دلیل ایجاد داربست‌های سه بعدی و متخلخل با مقیاس نانو که بسیار شبیه به ماتریس خارج سلولی بافت طبیعی می‌باشند، بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند.<sup>3</sup> نانو الیاف با داشتن ویژگی‌های منحصر به فرد، قابلیت ایجاد مسیری مناسب برای دریافت فرستادن علائم زیست شیمیایی دارند. بدین ترتیب سلول‌های فیبروبلاست را به لایه پوست رویی جذب کرده و این سلول‌ها اجزای اصلی ماتریس خارج سلولی طبیعی را ترشح می‌کنند. افزون بر این ویژگی‌ها، ساختارهای نانو لیفی برای چسبندگی و تکثیر سلولی بسیار مناسب هستند.<sup>4</sup> علاوه بر اهمیت ایجاد ساختار مناسب مشابه با ماتریس خارج سلولی، نوع زیست‌مواد پلیمری استفاده شده در تولید داربست‌های نانولیفی نیز از اهمیت بسیاری برخوردار است.

به طور کلی یک غشای پوستی ایده‌آل مهندسی بافت باید توانایی کنترل از دست رفتن مایعات و ایجاد رطوبت در محل زخم، جلوگیری از ایجاد عفونت، انقباض‌ها و اسکارها را داشته باشد.<sup>5</sup> به این منظور باید سایز تخلخل‌های غشاء از سطح بدن بیمار به سمت محیط خارج از بدن، کاهش یابد و این باید در صورتی اتفاق بیفتد که ارتباط بین تخلخل‌ها حفظ شود.<sup>6</sup>

هیالورونیک اسید ماده‌ای است که نقش مهمی در ساختار و سازمان‌دهی ماتریس خارج سلولی (ECM) بازی می‌کند، که شامل حفظ و نگهداری فضای خارج سلولی،

آنها با حبه‌های (pellet) مخصوص حیوانات آزمایشگاهی و آب آشامیدنی لوله‌کشی صورت می‌گیرد.

به منظور ایجاد زخم ابتدا موش‌ها توسط تزریق درون صفاقی مخلوط کتامین 75 میلی‌گرم بر کیلوگرم و زایلازین 10 میلی‌گرم بر کیلوگرم انجام می‌شود. موهای پشت حیوان کوتاه شد، سپس دو برش به قطر یک سانتیمتر و به فاصله دو سانتیمتر از ستون مهره‌ها و در سمت چپ و راست (کنترل) آن در شرایط غیر عفونی بعد از آغشته کردن پوست با محلول بتادین، به کمک قیچی ایجاد گردید.

جهت بررسی تأثیرات داربست ساخته شده به 3 گروه آزمایشی نیاز بود. هر گروه شامل 6 موش بود. با استفاده از معادله (1) درصد زخم و درصد بهبودی ارزیابی می‌شود. جهت اندازه‌گیری طول زخم از نرم افزار Image J استفاده می‌شود.

معادله (1)

$$\text{درصد زخم} = \frac{\text{طول زخم در روز X}}{\text{طول زخم در روز اول}} \times 100$$

X: روزی که مساحت زخم اندازه‌گیری شده است.

سپس نتایج به دست آمده در گروه‌های آزمایشی (PU - HA، PU - HA-RJ) و گروه‌های کنترل با یکدیگر مقایسه می‌شوند.

داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار (Mean  $\pm$  SD) به دست آمده و برای تحلیل آماری از نرم‌افزار SPSS (ویرایش 16) استفاده گردید و از آزمون آماری واریانس یک طرفه (ANOVA) استفاده شد، سطح معنی‌دار بودن اختلافات با  $P < 0/005$  محاسبه گردید.

### یافته‌ها

ساختار داربست‌های توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی مورد بررسی قرار گرفت. قطر الیاف داربست‌های پلی یورتانی به وسیله نرم افزار Image J اندازه‌گیری شد قطر الیاف در نمونه‌های PU، PU-HA، PU/HA/3%RJ، PU/HA/6% RJ و PU/HA/8% RJ به ترتیب قطر 175/2، 208/4، 423/3، 546/8 و 926/3 نانومتر مشاهده گردید (تصویر 1).

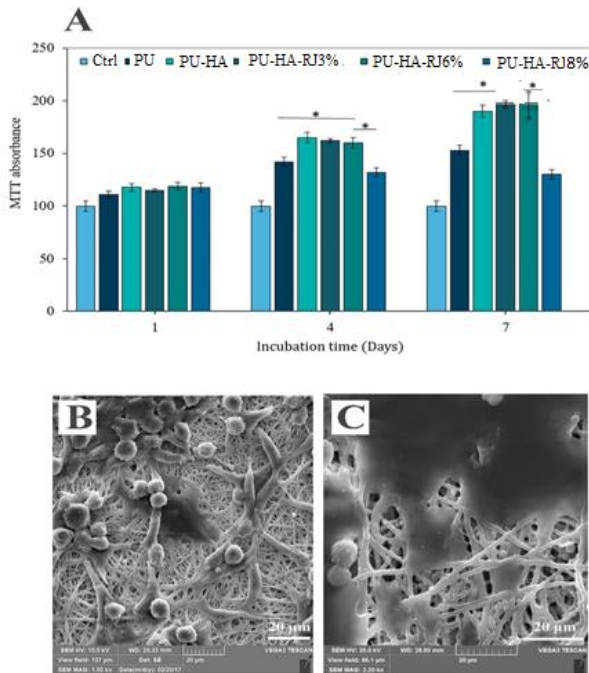
الیاف، نمونه‌هایی با ابعاد  $1 \times 1 \text{ cm}^2$  آماده (برای هر نمونه 3 تکرار) و با طلا پوشش‌دهی و توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) تصاویر آن تهیه شد.

آزمون سمیت سنجی مطابق استاندارد ISO10993-5 انجام شد.<sup>13</sup> سپس نمونه‌های داربست تهیه شده، در محیط کشت DMEM غوطه‌ور شدند. در این پژوهش از سلول‌های فیبروبلاست L929 استفاده شد. این سلول‌ها به صورت کشت چسبیده از بانک سلولی انسیتو پاستور تهران تهیه و تکثیر شدند. سلول‌ها با چگالی اولیه 5000 سلول در هر محفظه، در یک صفحه 24 محفظه‌ای در معرض محیط کشت حاوی نمونه‌ها قرار گرفتند. آزمون MTT در روزهای 1، 4 و 7 به منظور ارزیابی زیست‌پذیری (میزان بقا) سلول‌ها انجام شد. در هر نقطه زمانی، پس از تخلیه محیط کشت و شستشو با PBS، حدود 400 میکرولیتر محیط کشت همراه با 40 میکرولیتر محلول MTT (5 میلی‌گرم بر میلی لیتر) به هر چاهک کشت اضافه گردید. سپس به مدت 4 ساعت در انکوباتور در دمای 37 درجه سانتیگراد نگهداری شد. بعد از آن، مدیوم به آرامی تخلیه شد و به منظور انحلال فرمازان، 200 میکرولیتر دی متیل سولفوکساید (Dimethylsulfoxide (DMSO)]، به چاهک افزوده گشت. جذب نوری در طول موج 540 نانومتر خوانده شد.

جهت بررسی چسبندگی و مورفولوژی سلول‌ها بر روی داربست‌ها، بعد از 7 روز انکوباسیون نمونه‌ها، محیط کشت از روی آن‌ها تخلیه شد و جهت تثبیت سلول‌های چسبیده محلول گلوترآلدئید 4 درصد به مدت 30 دقیقه بر روی نمونه‌ها ریخته شد. سپس با الکل 50، 70، 90 و 100 درصد شستشو صورت گرفت و در نهایت در الکل 100% به منظور تصویربرداری با میکروسکوپ الکترونی روبشی نگهداری گردید.

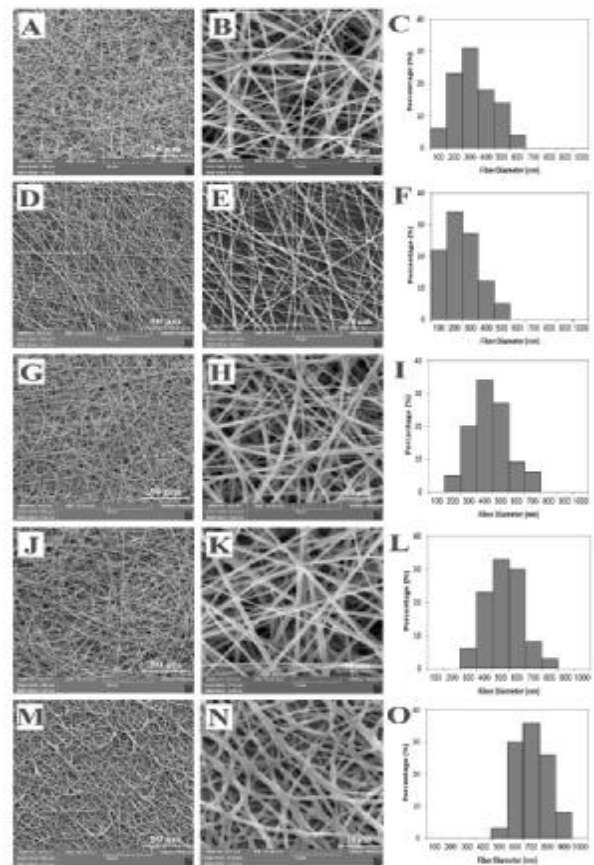
در مطالعه درون تن، از موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار در محدوده وزنی 200 تا 250 گرم استفاده می‌شود. برای حصول اطمینان از عدم وجود هر گونه عفونت در بدن، حیوانات به خوبی مورد معاینه قرار می‌گیرند. موش‌های صحرایی در اتاق حیوانات با شرایط مناسب، درجه حرارت  $22 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی 40 تا 60 درصد و سیکل 12 ساعته روشنایی-تاریکی در شبانه روز در قفس‌های آلومینیومی جداگانه نگهداری می‌شوند و تغذیه

تصویر 3، مشخص شده است، سلول‌های فیبروبلاست به خوبی با الیاف داربست اتصال برقرار کرده‌اند و همچنین نفوذ سلول‌های فیبروبلاست به داخل داربست حاوی ژل رویال به خوبی دیده شده است (تصویر 2).



تصویر 2- (A) نمودار نتایج حاصل از سنجش MTT، میزان رشد سلول‌ها بر روی داربست‌ها در مقایسه با یکدیگر بعد از 1، 4 و 7 روز از کشت سلولی، (B، C) تصاویر SEM رشد سلول‌های فیبروبلاست بر روی نمونه PU و داربست PU-HA/6%RJ

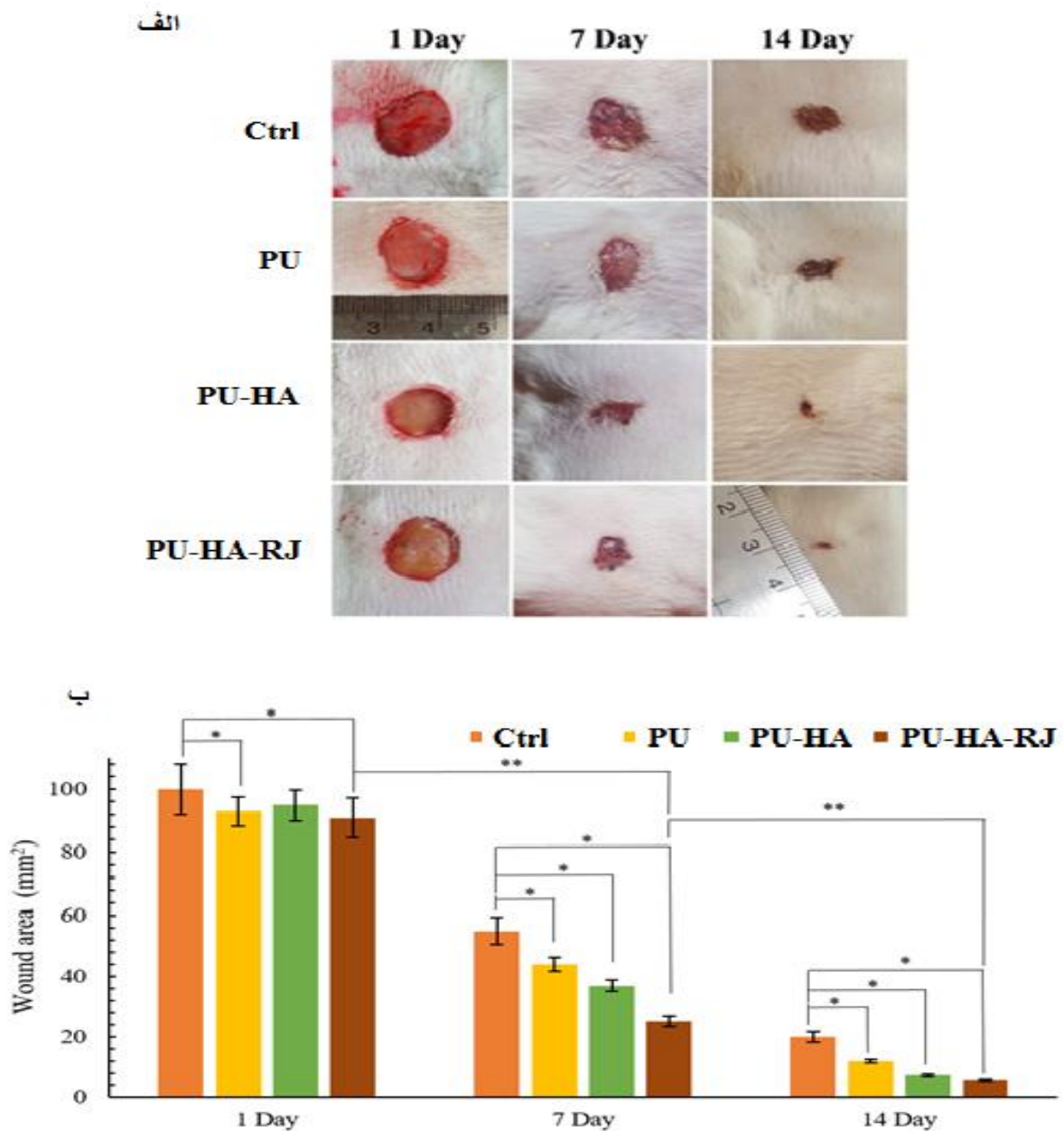
اثر ترمیم زخم داربست‌های پلی یورتان-هیالورنیک اسید و ژل رویال بر روی موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار مورد مطالعه قرار گرفت. در تصویر 3، مشاهده شد سطح زخم در گروه‌های تحت درمان با داربست پلی یورتان در روز اول با سطح زخم در گروه کنترل برابر بوده است. اما در روزهای 7، 14، 21 این اختلاف معنی‌دار بود. بیشترین اختلاف سطح بهبود زخم، در روز هفتم و چهاردهم بین گروه تحت درمان با داربست PU و گروه PU-HA/6%RJ وجود دارد ( $P < 0/005$ ) (تصویر 3).



تصویر 1- تصاویر SEM سطح داربست‌های الکترونیسی شده، A-C داربست PU، D-F داربست PU-HA، G-I داربست PU-HA/3%RJ، J-L داربست PU-HA/6%RJ، M-O داربست PU-HA/8%RJ

برای بررسی تکثیر سلول‌ها بر روی داربست‌ها از آزمون MTT استفاده شد. همان‌طور که در تصویر 2 ملاحظه می‌گردد، رشد و چسبندگی سلول‌ها بر روی داربست PU-HA نسبت به رشد و چسبندگی سلول‌های L929 بر روی داربست PU، بیشتر بوده است ( $P < 0/005$ ). از بین داربست‌های حاوی ژل رویال، نمونه PU-HA/8%RJ بیشترین سمیت سلولی را نشان داده است که در مقایسه با گروه‌های با غلظت‌های کمتر ژل رویال در داربست‌ها، اختلاف معناداری باشد ( $P < 0/005$ ).

تصاویر SEM داربست‌های حاوی ژل رویال پس از 4 روز از کشت سلولی مورد بررسی قرار گرفت. همان‌طور که در



تصویر 3-الف) تصاویر مقایسه‌ای اثر بهبودی زخم در گروه‌های مختلف الکترورسی شده، ب) نمودار بهبود زخم‌های ایجاد شده

ویسکوزیته محلول بیشتر شده، قطر الیاف نیز افزایش یافته است. نمونه حاوی 8% ژل رویال قطر الیاف به دلیل اشباع شدن محلول و بالا رفتن شدید ویسکوزیته، مورفولوژی الیاف نامناسب هست به همین دلیل شرایط را برای یک داربست ایده‌آل فراهم نمی‌کند.

نتیجه تست سمیت MTT بدست آمده از این تحقیق، هیچ سمیتی برای درصدهای 3 درصد و 6 درصد ژل رویال

#### بحث

قطر الیاف داربست‌های حاوی ژل رویال از نمونه‌های بدون ژل رویال، بیشتر است. نتایج نشان می‌دهد با افزودن هیالورنیک اسید قطر الیاف تا حدودی افزایش می‌یابد، اما این تغییر تفاوت معناداری با نمونه پلی یورتانی ندارد. در حالی که با اضافه کردن غلظت‌های مختلف ژل رویال،

و تکثیر سلولی افزایش یافت.<sup>14</sup> در مطالعات ویو و همکارانش، هیدروژل ژلاتین / هیالورونیک اسید در مقایسه با هیدروژل ژلاتین تکثیر سلولی را تقویت کرده و به طور مؤثری باعث ترمیم زخم در مطالعات درون تن گردیده است.<sup>15</sup> البته علاوه بر اثر ژل رویال، اثر هیالورونیک اسید نیز در بهبود زخم مشهود است. در مطالعات متعددی به ویژگی قدرت ترمیم زخم در بستر زخم ژل رویال و هیالورونیک اسید اشاره شده است. اوپال و همکارانش گزارش نموده‌اند که استفاده از هیالورونیک اسید بر روی سرعت اپیتلیزاسیون زخم و همچنین عروق زایی جدید در موضع مؤثر است.<sup>16</sup> پارک و همکارانش، اثر تسریع‌کننده بهبودی زخم را در اثر مصرف ژل رویال بر روی پوست بیان نموده‌اند، آن‌ها نشان داده‌اند که ژل رویال باعث افزایش سرعت ساخت کلاژن شده و بهبودی زودتر حاصل شده است.<sup>17</sup> در مطالعه‌ای دیگر، لین و همکارانش دریافتند ژل رویال تکثیر و مهاجرت سلول‌ها را افزایش داده و اثری بالقوه در ترمیم‌کنندگی زخم دارد.<sup>19</sup>

#### نتیجه‌گیری

با توجه به ارزیابی‌های انجام شده در محیط برون تن و درون تن، می‌توان نتیجه گرفت داربست PU-HA/6%RJ پتانسیل بهره‌گیری در مهندسی بافت پوست را دارد. این داربست می‌تواند به عنوان زخم پوش التیام زخم را بهبود بخشد و تکثیر سلولی با سرعت بیشتری صورت پذیرد.

نشان نداده است و نتایج بدست آمده از نمودار مربوط به تست MTT، افزایش رشد و تکثیر سلول‌ها را در حضور هیالورونیک اسید و ژل رویال نشان می‌دهد. در حالی که استفاده بیشتر از ژل رویال در داربست PU-HA/8%RJ اثر سمیت بر روی سلول داشته است. در این مطالعه بررسی چسبندگی سلولی روی داربست‌های حاوی هیالورونیک اسید و ژل رویال صورت گرفت و اتصال و تکثیر سلول‌های فیبروبلاست بر روی داربست PU-HA/6%RJ نسبت به تکثیر سلول‌ها بر روی داربست الکترورسی شده PU، به معنای رفتار سلولی مناسب ارزیابی گردید؛ و سلول‌های L929 رشد خوبی داشته‌اند. در مطالعات درون تن در روز چهاردهم در گروه سوم که حاوی هیالورونیک اسید و ژل رویال 6 درصد بوده است، روند بهبود زخم 92/21 درصد ارزیابی گردید. در حالی که در گروه کنترل و داربست PU به ترتیب 69/43 و 60/52 درصد است. همچنین روز هفتم درصد بهبودی زخم در گروه PU-HA/6%RJ بیشتر از گروه تحت درمان با داربست PU و داربست PU-HA و گروه کنترل است که بیشترین اختلاف معنی‌دار بین این گروه‌ها در روز چهاردهم بعد از جراحی دیده می‌شود. این نتایج با مطالعات ذاکری و همکارانش همسو می‌باشد. در پژوهش که این گروه انجام دادند، مشخص شده است که حضور هیالورونیک اسید در داربست کیتوسان - ژلاتین، آبدوستی داربست را بهبود بخشیده و در نتیجه آن چسبندگی سلولی

**Abstract:**

## Improvement of Skin injuries and Performance of Animal, Cellular and Clinical Tests by Starch/ HA / Royal Jelly / PU Scaffold Production

Movahedi M. PhD<sup>\*</sup>, Asefnejad A. PhD<sup>\*\*</sup>, Rafienia M. PhD<sup>\*\*\*</sup>, Khorasani M.T. PhD<sup>\*\*\*\*</sup>

(Received: 22 Aug 2020      Accepted: 23 Jan 2021)

**Introduction & Objective:** Existing dressings do not have the ability to protect against damage and contamination by microorganisms ideally. The aim of this study is to obtain a scaffold of polyurethane – starch, royal jelly and hyaluronic acid by electrospinning method and a scaffold with suitable biological properties for wound healing is made.

**Materials & Methods:** To make a nanofiber scaffold, first 10% by weight / weight of polyurethane is dissolved at room temperature for 2 hours. Royal jelly was added to the polyurethane solution in 3, 6 and 8% ratios, starch and hyaluronic acid (1% by weight / weight) and electrospinning was performed. The scaffold prepared were characterized SEM, MTT, cell culture and in-vivo of the scaffolds.

**Results:** With the addition of royal jelly, the viscosity of the solution is increased and the diameter of the electrospun fibers is increased. In the MTT test, L929 fibroblast cells showed much better proliferation on polyurethane – starch - hyaluronic acid - royal jelly than other scaffold. Animal studies show that the percentage of recovery in the group treated with polyurethane-starch, containing hyaluronic acid and royal jelly scaffold from the seventh to the fourteenth day after the injury is higher than the percentage of wound healing in other groups and significant control group.

**Conclusions:** Polyurethane-Starch electrospun scaffold with a content of hyaluronic acid (1% w/w) and Royal Jelly (6%) is prepared which is biologically suitable for use in skin tissue to heal wounds. Royal Jelly improves cell proliferation and adding it to scaffold also increases cellular adhesion to scaffolding. The findings of this study suggest that the use of this electrified scaffold can be effective in wound healing.

***Key Words: Polyurethane, Hyaluronic Acid, Royal Jelly, Wound Dressing, Skin Tissue Engineering***

\* PhD of Department of Biomedical Engineering, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

\*\* Assistant Professor of Department Biomedical Engineering, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

\*\*\* Professor of Biomaterials, Tissue Engineering and Nanotechnology, School of Advanced Medical Technologies, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

\*\*\*\* Associate Professor of Biomaterial, Iran Polymer and Petrochemical Institute, Tehran, Iran

## References:

1. Talikowska M, Fu X, Lisak G. Application of conducting polymers to wound care and skin tissue engineering: A review. *Biosensors and Bioelectronics*. 2019.
2. Shevchenko RV, James SL, James SE. A review of tissue-engineered skin bioconstructs available for skin reconstruction. *Journal of the Royal Society Interface*. 2010; 7(43): 229-58.
3. Nair LS, Laurencin CT. Biodegradable polymers as biomaterials. *Progress in polymer science*. 2007; 32(8): 762-98.
4. Chen J-P, Chang G-Y, Chen J-K. Electrospun collagen/chitosan nanofibrous membrane as wound dressing. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2008; 313: 183-8.
5. Kamel RA, Ong JF, Eriksson E, Junker JP, Cateson EJ. Tissue engineering of skin. *Journal of the American College of Surgeons*. 2013; 217(3): 533-55.
6. AB Hamid N, Bakar ABA, Mohamed M. Phytochemical Analysis and GC-MS Profile of Royal Jelly from Selected Areas in Malaysia.
7. Hemshekhar M, Thushara RM, Chandranayaka S, Sherman LS, Kemparaju K, Girish KS. Emerging roles of hyaluronic acid bioscaffolds in tissue engineering and regenerative medicine. *International journal of biological macromolecules*. 2016; 86: 917-28.
8. Baier Leach J, Bivens KA, Patrick Jr CW, Schmidt CE. Photocrosslinked hyaluronic acid hydrogels: natural, biodegradable tissue engineering scaffolds. *Biotechnology and bioengineering*. 2003; 82(5): 578-89.
9. Fakhari A, Berklund C. Applications and emerging trends of hyaluronic acid in tissue engineering, as a dermal filler and in osteoarthritis treatment. *Acta biomaterialia*. 2013; 9(7): 7081-92.
10. Moon JH, Lee MY, Chung Y-J, Rhee C-K, Lee SJ. Effect of Topical Propolis on Wound Healing Process After Tonsillectomy: Randomized Controlled Study. *Clinical and experimental otorhinolaryngology*. 2018; 11(2): 146.
11. Sadeghianmaryan A, Karimi Y, Naghieh S, Sardroud HA, Gorji M, Chen X. Electrospinning of Scaffolds from the Polycaprolactone / Polyurethane Composite with Graphene Oxide for Skin Tissue Engineering. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 2019: 1-12.
12. Khodabakhshi D, Eskandarinia A, Kefayat A, Rafienia M, Navid S, Karbasi S, et al. In vitro and in vivo performance of a propolis-coated polyurethane wound dressing with high porosity and antibacterial efficacy. *Colloids and surfaces B, Biointerfaces*. 2019 Mar 6; 178: 84-177: PubMed PMID: 30856587. Epub 2019/03/12. eng.
13. Shababdoust A, Zandi M, Ehsani M, Shokrollahi P, Foudazi R. Controlled curcumin release from nanofibers based on amphiphilic-block segmented polyurethanes. *International Journal of Pharmaceutics*. 2. 575: 118947: 20.
14. Bazmandeh AZ, Mirzaei E, Fadaie M, Shirian S, Ghasemi Y. Dual spinneret electrospun nanofibrous/gel structure of chitosan-gelatin/chitosan-hyaluronic acid as a wound dressing: In-vitro and in-vivo studies. *International journal of biological macromolecules*. 2020; 162: 359-73.
15. Wu S, Deng L, Hsia H, Xu K, He Y, Huang Q, et al. Evaluation of gelatin-hyaluronic acid composite hydrogels for accelerating wound healing. *Journal of Biomaterials Applications*. 2017; 31(10): 1380-90.
16. Uppal R, Ramaswamy GN, Arnold C, Goodband R, Wang Y. Hyaluronic acid nanofiber wound dressing-production, characterization, and in vivo behavior. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*. 2011; 97(1): 20-9.
17. De Almeida EB, Cardoso JC, de Lima AK, de Oliveira NL, de Pontes-Filho NT, Lima SO, et al. The incorporation of Brazilian propolis into collagen-based dressing films improves dermal burn healing. *Journal of ethnopharmacology*. 2013; 147(2): 419-25.
18. Park HM, Hwang E, Lee KG, Han S-M, Cho Y, Kim SY. Royal jelly protects against ultraviolet B-induced photoaging in human skin fibroblasts via enhancing collagen production. *Journal of Medicinal Food*. 2011; 14(9): 899-906.
19. Lin Y, Shao Q, Zhang M, Lu C, Fleming J, Su S. Royal jelly-derived proteins enhance proliferation and migration of human epidermal keratinocytes in an in vitro scratch wound model. *BMC complementary and alternative medicine*. 2019; 19(1): 175.