

The effect of human placenta extracellular matrix on diabetic wound healing in an animal model

Elham Sadat Afraz^{1*}, Hanieh Mani²

1. Department of Oral Medicine, School of Dentistry, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran
2. Department of Biology, Faculty of Modern Sciences and Technologies, Tehran Medical Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

* Corresponding author e-mail: efraz75@gmail.com

Citation: Afraz ES, Mani H. The effects of human placenta extracellular matrix on diabetic wound healing in animal model. *Daneshvar Medicine* 2022; 30(3):1-9.
doi:10.22070/DANESHMED.2022.15750.1168

Abstract

Background and Objective: Many studies have shown that placenta derivatives can play a role in wound healing; however, the exact role of the placenta extracellular matrix in skin wound healing is unclear. Accordingly, the present study investigated the effects of placental extracellular matrix on diabetic wound healing in an animal model.

Materials and Methods: In this experimental-laboratory study, human placenta was decellularized and extracellular matrix was prepared. Streptozotocin induced diabetic male Wistar rats were divided into two groups: control group (n=9) and group treated with placental extracellular matrix (n=9). Wounds with a diameter of 0.8 cm were created in the back of rats. On days 0, 7, 14 and 21 the wound area was measured using ImageJ software. Two-way repeated-measures ANOVA was used to compare wound area between groups.

Results: Wound area significantly decreased on the 14th and 21st days after treatment compared to the first day of experiment in control and treatment groups. Unlike the treatment group, the wound area was not significantly different 7 days after treatment compared to the first day of experiment in control group. There was more reduction in wound area on day 21 in treatment group than the group treated with acellular placenta.

Conclusion: The extracellular matrix has a significant role in accelerating the healing process of skin wounds in diabetic cases in an animal model. The findings of this study can be applied to the treatment plan of skin wounds in diabetic patients.

Keywords: Extracellular matrix, Diabetic wound

Received: 21 May 2022

Last revised: 09 Aug 2022

Accepted: 18 Aug 2022

بررسی اثرات ماتریکس خارج سلولی جفت انسانی بر التیام زخم دیابتی در مدل حیوانی

نویسندگان: الهام سادات افراز^{۱*}، هانیه مانی^۲

۱- گروه بیماری های دهان و فک و صورت، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم

پزشکی سمنان، سمنان، ایران

۲- گروه زیست شناسی، دانشکده علوم و فناوری های نوین، واحد علوم پزشکی تهران،

دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

Email: eafraz75@gmail.com

*نویسنده مسئول: الهام سادات افراز

چکیده

مقدمه و هدف: مطالعات بسیاری نشان داده اند که مشتقات جفت می توانند در التیام زخم نقش داشته باشند؛ در عین حال، نقش دقیق ماتریکس خارج سلولی جفت در التیام زخم پوستی واضح نیست. بر این اساس مطالعه حاضر به بررسی اثرات ماتریکس خارج سلولی جفت بر التیام زخم دیابتی در مدل حیوانی پرداخته است.

مواد و روش ها: طی این تحقیق تجربی-آزمایشگاهی جفت انسانی آسلولار شده و ماتریکس خارج سلولی تهیه گردید. موشهای صحرایی نر نژاد ویستار پس از القای دیابت به وسیله استریپتوزوتوسین به دو گروه کنترل (۹ سر) و گروه تیمار با ماتریکس خارج سلولی جفت (۹ سر) تقسیم بندی شدند. سپس زخم هایی به قطر ۰/۸ سانتی متر در ناحیه پشت موش ها ایجاد شد. در روزهای ۰، ۷، ۱۴ و ۲۱ سطح زخم با استفاده از نرم افزار Image J اندازه گیری شد. جهت مقایسه مساحت زخم میان گروهها از آزمون تحلیل واریانس اندازه های مکرر دو عاملی استفاده شد.

نتایج: مساحت زخم در گروههای کنترل و تیمار در روزهای ۱۴ و ۲۱ پس از تیمار نسبت به اولین روز ترجمه دچار کاهش معناداری شد. بر خلاف گروه تیمار، مساحت زخم در گروه کنترل در روز ۷ نسبت به روز صفر تفاوت معناداری نداشت. کاهش مساحت زخم در روز ۲۱ در گروه تیمار با جفت آسلولار نسبت به گروه کنترل به صورت معناداری بیشتر بود.

نتیجه گیری: ماتریکس خارج سلولی دارای نقش مهمی در فرآیند تسریع التیام زخم پوستی در موارد دیابت در مدل حیوانی می باشد. یافته های این پژوهش می توانند در حوزه طراحی درمان زخم پوستی در بیماران دیابتی کاربرد داشته باشند.

واژه های کلیدی: ماتریکس خارج سلولی، زخم دیابتی

مقاله پژوهشی

دریافت: ۱۴۰۱/۰۲/۳۱

آخرین اصلاح ها: ۱۴۰۱/۰۵/۱۸

پذیرش: ۱۴۰۱/۰۵/۲۷

مقدمه

باتوجه به شیوع گسترده دیابت در جهان و همچنین شیوع قابل توجه زخم‌های دیابتی مزمن که بهبودی سریعی ندارند (۱۵) و نیز عوارض گسترده بالینی، اجتماعی و اقتصادی حاصل از ابتلا به دیابت و زخم‌های دیابتی و دیر بهبودی این زخمها (۱) و همچنین نظر بر اینکه عمده مطالعات قبلی معطوف به بررسی اثرات سلول‌های بنیادی بر التیام زخم‌های دیابتی بوده و تحقیقات محدودی در حوزه اثرات ماتریکس خارج سلولی بر بهبود زخم‌های دیابتی انجام گرفته است؛ بر این اساس، پژوهش حاضر به بررسی ماتریکس خارج سلولی بافت جفت بر التیام زخم‌های دیابتی در مدل حیوانی می‌پردازد و نتایج حاصل از این پژوهش دارای اهمیت ویژه‌ای در حوزه ترمیم زخم‌های دیابتی بوده و می‌تواند در روش‌های التیام زخم دیابتی مورد توجه قرار گیرند.

مواد و روش‌ها

طی این تحقیق تجربی-آزمایشگاهی که به تایید کمیته عالی اخلاق در پژوهش انجمن بین‌المللی دانشمندان (IAS) رسید، جفت انسانی با رضایت کامل پس از زایمان سزارین اهدا شدند. همه اهداکنندگان مورد آزمایش قرار گرفتند و عاری از بیماری‌های عفونی از جمله ویروس نقص ایمنی انسانی (HIV)، ویروس T-لنفوتروفیک انسانی (HTLV)، هپاتیت B و C و سیفلیس بودند. نمونه جفت چندین بار با آب مقطر شسته شد تا اجزای خون خارج شوند. مخلوط بافت/آب (۲:۱) به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق با استفاده از مخلوط کن (شرکت صنعتی شینیل) همگن شد. عصاره جفت به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد و لایه بالای حاوی بقایای خون دور ریخته شد. سوسپانسیون ماتریکس خارج سلولی چندین بار شسته شده و به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. متعاقباً، سوسپانسیون با سدیم دودسیل سولفات ۰/۵ درصد (Sigma؛ SDS) (رقیق شده ۱:۱) به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق در حمام آب لرزان (Taitec) تحت تیمار قرار گرفت. سوسپانسیون حاصل سانتریفیوژ شده و با آب مقطر به مدت ۴ روز در دمای اتاق و تحت تکان دادن شستشو گردید تا زمانی که SDS باقیمانده حذف شود. سپس سوسپانسیون با مخلوطی از

زخم‌های دیابتی نوعی از زخم‌ها هستند که در مبتلایان دیابتی یا هرگز بهبود پیدا نکرده یا به درستی بهبود پیدا نمی‌کند و از این نظر ممکن است مشکلات جدی به بار آورند (۲،۱). زخم‌های دیابتی می‌توانند تحت تاثیر ماتریکس خارج سلولی ترمیم یابند. ماتریکس خارج سلولی یک شبکه از کلاژن و آنزیم و گلیکوپروتئین و هیدروکسی آپاتیت است که از سلول‌ها پشتیبانی می‌کند (۳،۴). ماتریکس خارج سلولی در جایگزینی بافت، بازسازی و ترمیم بافت به واسطه سلول‌های بنیادی نقش دارد (۵). در این راستا مطالعات انجام شده نشانگر آنند که ماکرومولکول‌های ماتریکس خارج سلولی با بهبود زخم در ارتباط می‌باشد (۶). همچنین نتایج پژوهشی حاکی از آنند که فرایند ترمیم زخم را می‌توان به مجموعه‌ای از تعاملات بین سلولی و سایتو کاین‌ها و ماتریکس خارج سلولی نسبت داد (۷-۹).

بهبود زخم پوستی شامل مراحل هم‌پوشانی، تشکیل لخته خون، التهاب و بازسازی است. بازسازی نیز از طریق عوامل رشد و ماتریکس خارج سلولی انجام می‌شود (۱۰). در واقع فاکتورهای رشد عامل مهمی برای درمان زخم‌های پوستی است و ماتریکس خارج سلولی این فاکتورهای رشد را مدیریت و تنظیم می‌کند (۱۱). بافت جفت به دلیل داشتن اجزای فراوان ماتریکس خارج سلولی و فاکتور رشد از جمله منابع مهم جهت استحصال ماتریکس خارج سلولی است (۱۲). همچنین جفت منبع غنی از سلول‌های بنیادی همراه با ماتریکس خارج سلولی است که در مهندسی بافت نقش موثری ایفا می‌نماید (۱۳). برخلاف یافته‌های تحقیقاتی که موید اثرات ماتریکس خارج سلولی بافت جفت بر بهبود زخم دیابتی می‌باشند، برخی نتایج نشان داده‌اند که بهبود زخم دیابتی با استفاده از ماتریکس خارج سلولی با مشکل مواجه می‌شود و در این راستا تحقیق انجام شده در خصوص استفاده از ماتریکس خارج سلولی بافت جفت نشان داده است که غشای جفت که حاوی ماتریکس خارج سلولی است به دلیل ماندگاری کوتاه و خطر انتقال بیماری می‌تواند مشکلاتی را ایجاد نماید (۱۴).

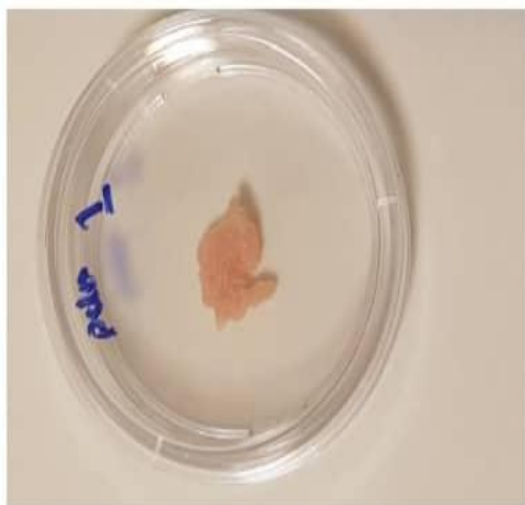
شده و مساحت زخم با استفاده از نرم افزار Image J اندازه گیری شد.

تجزیه و تحلیل آماری

با استفاده از نرم افزار SPSS17 ابتدا آزمون کولموگروف-اسمیرنوف جهت اطمینان از توزیع طبیعی داده‌ها اجرا گردید و پس از اطمینان از توزیع طبیعی داده‌ها، آزمون تحلیل واریانس اندازه‌های مکرر دو عاملی مورد استفاده قرار گرفت. اختلاف بین گروهها در سطح $p < 0.05$ معنادار در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج حاصل از بررسی مشاهده ظاهری بافت جفت آسلولار نشانگر رنگ و ظاهر بافت بدون سلول بود (شکل ۱). از سویی، تصویر میکروسکوپ الکترونی تایید کننده بافت جفت آسلولار (ماتریکس خارج سلولی جفت) بود (شکل ۲).



شکل ۱. مشاهده ظاهری بافت جفت آسلولار. همچنان که در شکل دیده می‌شود، نمونه دارای ظاهر شفاف و بیرنگ می‌باشد که نشانگر آسلولار شدن بافت است.

۰/۲ درصد (Sigma؛ DNase (2000 U و ۲۰۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر (RNase (Sigma) به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد تحت تیمار قرار گرفت. محصولات نهایی سانتریفیوژ شده و به مدت ۲ روز با آب مقطر کاملاً شسته شدند. سوسپانسیون بدست آمده (جفت آسلولار یا همان ماتریکس خارج سلولی) با آب مقطر به طور همگن به نسبت ۲:۱ (v/v) مخلوط شده و در دمای ۷۰- درجه سانتی گراد منجمد گردید و در انجماد خشک شد. حداقل ۴۸ ساعت ورق‌های سلول‌زدایی شده ماتریکس خارج سلولی (قطر ۱۵ میلی‌متر و ضخامت ۱۰ میلی‌متر) توسط گاز اتیلن اکساید استریل شده و با ۱۰ میلی‌لیتر سالیین بافر فسفات به مدت ۵ دقیقه قبل از قرار گیری بر روی زخم هیدراته شدند (۱۸-۱۶).

القای دیابت در موشهای صحرایی

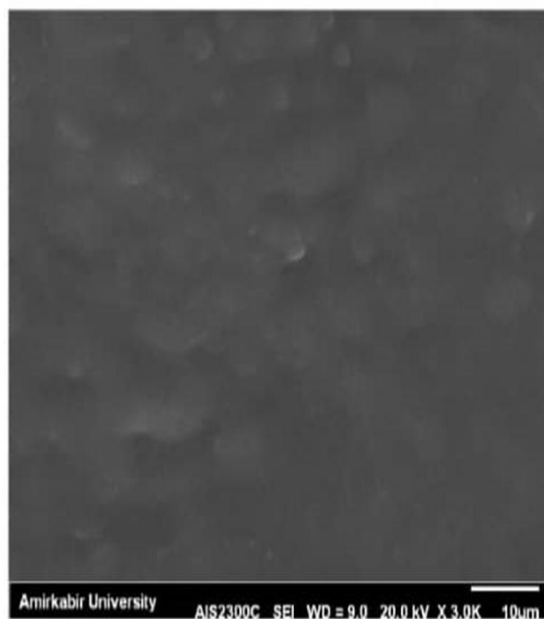
به موش‌ها یک دوز ۵۰ میلی گرم/کیلو گرم استرپتوزوتوسین به صورت داخل صفاقی تزریق گردید. ۴ روز پس از تزریق سطح گلوکز در نمونه خون گرفته شده از دم، با استفاده از گلوکومتر اندازه‌گیری شد. موش‌هایی که میزان گلوکز خون آن‌ها بیش از ۲۴۶ میلی گرم/دسی لیتر بود، به عنوان موش‌های دیابتی در نظر گرفته شدند.

ایجاد زخم در موش‌های دیابتی

پس از القای دیابت در موش‌ها، برای ایجاد زخم پوست قسمت پشتی بدن با استفاده از الکل و بتادین ضدعفونی و موبری شد. پس از بیهوش کردن موش‌ها با کتامین (۱۰۰ میلی گرم برای هرکیلوگرم وزن) و زایلازین (۱۰ میلی گرم برای هرکیلوگرم وزن)، با استفاده از پانچ ۰/۸ میلی متری زخمی به ضخامت اپیدرم و درم ایجاد شد. سپس ناحیه زخم با نرمال سالیین تمیز و پانسمان شد (۱۷، ۱۲).

گروه بندی موش‌های دیابتی و ارزیابی التیام زخم

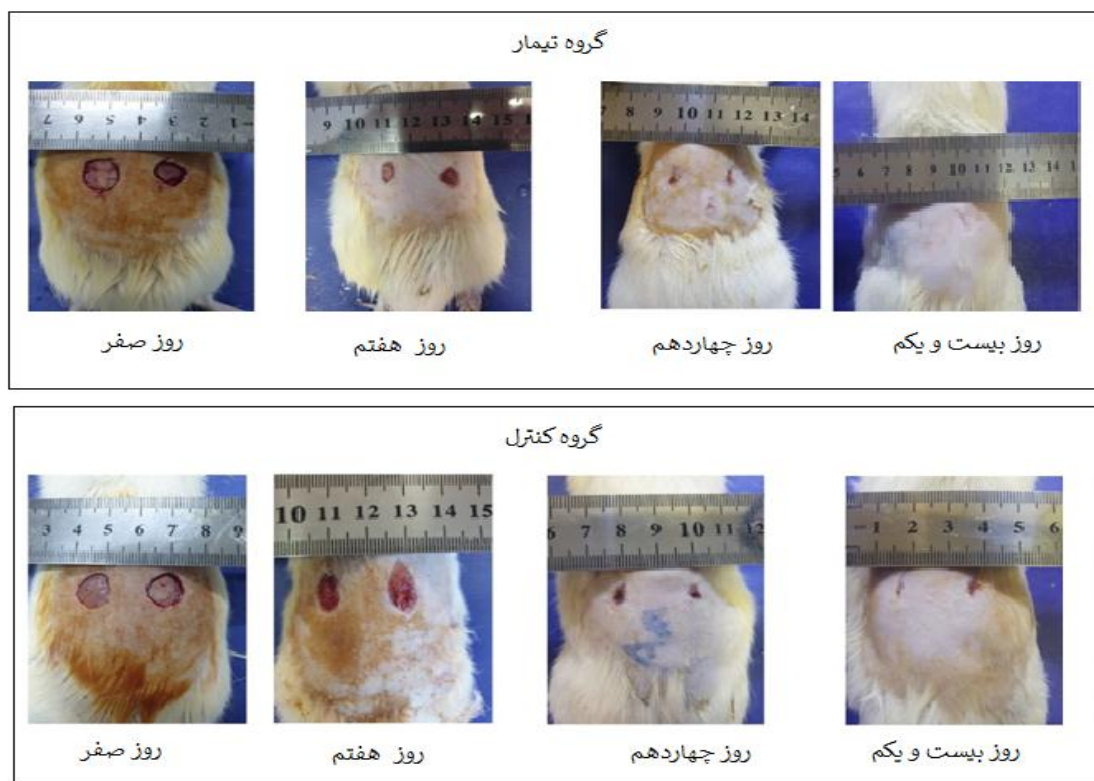
موش‌های دیابتی به ۲ گروه ۹ سری شامل کنترل (موش‌هایی که در آنها زخم ایجاد شد ولی ورقه ماتریکس خارج سلولی بر روی زخم قرار نگرفت) و گروه تیمار (موش‌هایی که زخم ایجاد شد و ورقه ماتریکس خارج سلولی بر روی زخم قرار داده شد)، تقسیم بندی شدند و در روزهای مورد مطالعه (۰، ۷، ۱۴ و ۲۱) از نظر مورفولوژی زخم و مساحت زخم مورد بررسی قرار گرفتند. جهت بررسی مساحت زخم از زخمها عکسبرداری



شکل ۲. تصویر میکروسکوپ الکترونی بافت جفت آسلولاز. همچنان که در شکل دیده می شود، نمونه فاقد سلول بوده و بنابراین ماهیت ماتریکس خارج سلولی دارد.

ارزیابی ترمیم زخم

مشاهده ظاهری التیام زخم نشان داد که التیام زخم در گروه تیمار نسبت به گروه کنترل با سرعت بیشتری انجام گرفت (شکل ۳).



شکل ۳. مشاهده ظاهری زخم در روزهای صفر (روز ایجاد زخم) و ۷، ۱۴ و ۲۱ پس از تیمار در موش‌های صحرایی نر دیابتی کنترل و تیمار

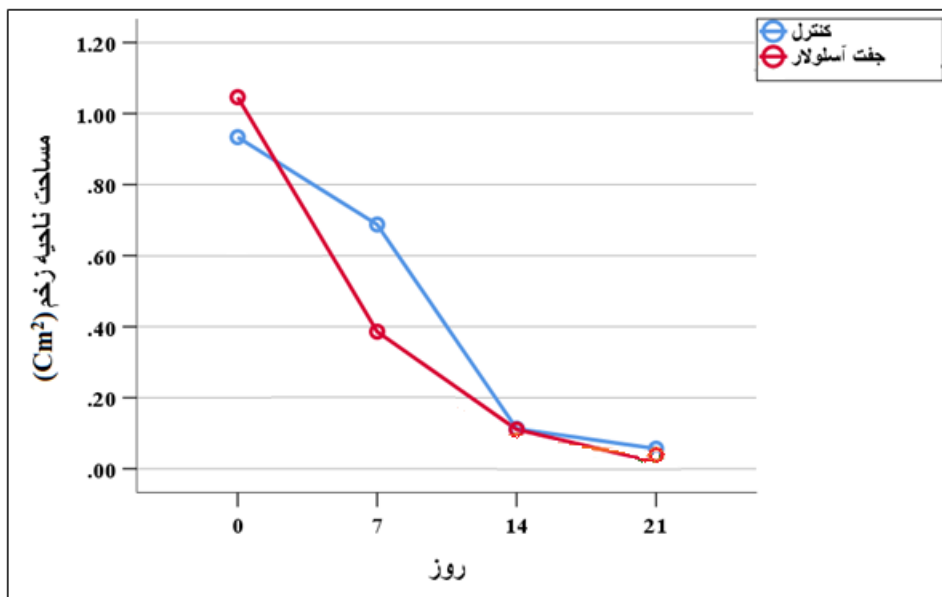
در روز ۷ نسبت به روز صفر تفاوت معناداری نداشت، در گروه تیمار با جفت آسلولار مساحت زخم در روز هفتم نسبت به روز صفر دچار کاهش معناداری گردید و این امر نشانگر التیام سریعتر زخم در گروه تیمار با جفت آسلولار نسبت به گروه کنترل بود (جدول ۱ و نمودار ۱).

نتایج حاصل از بررسی مساحت سطح زخم با استفاده از تصویربرداری نشانگر آن بودند که در هر دو گروه کنترل و تیمار با جفت آسلولار مساحت زخم در روزهای ۱۴ و ۲۱ نسبت به روز صفر دچار کاهش معناداری شد. از دیگر سوی، در حالی که مساحت زخم در گروه کنترل و

جدول ۱. مساحت زخم در روزهای صفر، ۷، ۱۴ و ۲۱ در گروههای کنترل و تیمار با جفت آسلولار

گروه	روز	Mean±SEM	Mean±S.D	P1	P2	P3
کنترل	صفر	0.934±0.016	0.934±0.029	-	-	-
	۷	0.688±0.088	0.688±0.153	N.S	-	-
	۱۴	0.113±0.010	0.113±0.017	P<0.01	P<0.05	-
	۲۱	0.057±0.020	0.057±0.036	P<0.001	P<0.05	N.S
جفت آسلولار	صفر	1.046±0.129	1.046±0.223	-	-	-
	۷	0.386±0.019	0.386±0.033	P<0.05	-	-
	۱۴	0.111±0.010	0.111±0.018	P<0.05	P<0.01	-
	۲۱	0.019±0.004	0.019±0.008	P<0.05	P<0.01	P<0.01

NS بیانگر عدم اختلاف معنادار می باشد. P1، P2 و P3 به ترتیب بیانگر اختلاف معنادار در مقایسه با روزهای صفر، ۷ و ۱۴ می باشد.



نمودار ۱. مساحت زخم در روزهای صفر، ۷، ۱۴ و ۲۱ در گروههای کنترل و تیمار با جفت آسلولار

اثرات قابل توجهی در تسریع التیام زخم می باشد. موافق با این یافته پژوهش های دیگری نیز نشان داده اند که ماتریکس خارج سلولی در سرعت بخشیدن به زخم های پوستی نقش دارد و در این راستا نتایج حاصل از مطالعه انجام گرفته در خصوص ترمیم زخم تمام ضخامت پوست با استفاده از جفت انسانی نشانگر آن است که جفت انسانی حاوی مولکول های فعال زیستی و اجزای ماتریکس

بحث

مطالعات بسیاری نشان داده اند که سلول های بنیادی، اهمیت قابل توجهی در حوزه ترمیم زخم دارا می باشند، گرچه نتایج در مورد اثرات التیامی ماتریکس خارج سلولی بر زخم های پوستی محدود و یا در مواردی به صورت قابل ملاحظه ای متناقض می باشند. نتایج تحقیق حاضر نشان می دهند که ماتریکس خارج سلولی (جفت آسلولار) دارای

و مهارکننده‌های پروتئاز که نقش مهمی در روند بهبود زخم دارند در این بافتها مشاهده شده است (۸). از طرف دیگر یکی از موارد بسیار مهم دیگر در تسریع التیام زخم قدرت رگ‌زایی می‌باشد. در این راستا، مطالعات نشان می‌دهند که ماتریکس خارج سلولی دارای اثر رگ‌زایی قابل توجهی است و بر این مبنا می‌تواند در ترمیم پوست آسیب دیده نقش مهمی داشته باشد (۲۳). اگر چه در مقابل، برخی یافته‌های پژوهشی نشان داده‌اند که استفاده از جفت و ماتریکس خارج سلولی جفت جهت التیام زخم دارای نقاط ضعف قابل توجهی است و در این خصوص نتایج حاصل از مطالعه انجام گرفته درباره‌ی غشای جفتی منجمد شده برای درمان زخم‌های مزمن بیانگر آن است ماندگاری سلول‌های زنده در ماتریکس خارج سلولی بسیار کوتاه است و زمان کافی برای انجام آزمایش‌های مربوطه وجود ندارد و باعث ایجاد آلودگی در محیط کشت شده و نتایج مطلوبی به دست نمی‌آید (۱۴).

این مطالعه در محدوده بررسی اثرات ماتریکس خارج سلولی در حیطه بهبود و التیام زخم انجام گرفته و از نظر بررسی بیان ژنها و فاکتورهای سلولی و مولکولی موثر در التیام زخم دارای محدودیت‌های می‌باشد. محققین این طرح امیدوارند در ادامه این پژوهش امکان مطالعه در خصوص بیان ژنها و فاکتورهای سلولی و مولکولی موثر در التیام زخم فراهم آید.

نتیجه گیری

در مجموع نتایج حاصل از این پژوهش نشان دادند که ماتریکس خارج سلولی دارای اثر قابل ملاحظه‌ای در تسریع التیام زخم پوستی در نمونه‌های دیابتی می‌باشد. یافته‌های این پژوهش می‌تواند در حوزه درمان زخم پوستی در افراد مبتلا به دیابت کاربرد داشته باشد.

ملاحظات اخلاقی

این تحقیق تجربی-آزمایشگاهی به تایید کمیته عالی اخلاق در پژوهش انجمن بین المللی دانشمندان (IAS) رسیده است.

خارج سلولی و فاکتورهای رشد است و بدین ترتیب می‌تواند محیط مناسبی برای رشد و تمایز سلول‌ها فراهم کند و سبب تسریع بهبود زخم‌های پوستی می‌کند (۱۲). مطالعات انجام شده نشان داده‌اند که استفاده از انواع ماتریکس‌های آسلولار درمال می‌تواند در بهبود زخم‌های دیر بهبود نقش موثری ایفا نماید (۱۹). در تحقیق دیگری نشان داده شده است که ماتریکس آسلولار درمال حاوی سلولهای بنیادی مشتق از بافت چربی می‌تواند سبب تسریع التیام زخم پوستی در مدل حیوانی شود (۲۰). از سویی مطالعات انسانی نیز نشان داده‌اند که استفاده از ماتریکس آسلولار درمال در افراد دیابتی مبتلا به زخم پای غیر عفونی می‌تواند سرعت التیام زخم را تا حد قابل ملاحظه‌ای افزایش دهد (۲۱). همچنین تجربیات آزمایشگاهی نشان داده‌اند که ماتریکس خارج سلولی یک جزء پیچیده، پویا و حیاتی است که می‌تواند به عنوان داربستی برای مورفوژنز بافتی عمل کند و باعث تکثیر سلول‌ها شده و سرعت ترمیم پس از آسیب را افزایش دهد. در واقع ماتریکس خارج سلولی حاوی مقادیر و انواع مختلفی از کلاژن‌ها، مولکول‌های چسبنده، پروتئوگلیکان‌ها، فاکتورهای رشد و سیتوکاین‌ها است که هر یک نقش مهمی در ترمیم بافتی دارد (۵). از سویی آمینو جفت غنی از مواد مغذی بوده و ایمنی‌زایی پایینی دارد و بر این اساس اغلب به عنوان پیوند یا پانسمان برای پوست آسیب دیده استفاده می‌شود. در واقع ماتریکس خارج سلولی حاوی ترکیباتی است که این ترکیبات می‌توانند با گیرنده‌های تیروزین کینازی تعامل داشته و آن‌ها را فعال کنند. این گیرنده‌های تیروزین کینازی خود واسطه‌های قوی جهت تکثیر، مهاجرت و تمایز سلولی می‌باشند (۲۲). بهبود زخم پوستی شامل هم‌پوشانی، تشکیل لخته خون، التهاب، بازسازی است که بازسازی از طریق عوامل رشد و ماتریکس خارج سلولی انجام می‌شود و بهبود زخم پوستی قابل انجام می‌شود (۱۰). از سویی، مطالعه انجام یافته در خصوص شناسای مواد زیستی موجود در بافت کوریون-آمینو جفت انسانی نشان داده است که این بافتها حاوی حاوی کلاژن I و IV، اسید هیالورونیک، پروتئوگلیکان سولفات هپارین، فیبرونکتین و لامینین می‌باشند. علاوه بر این، فاکتورهای رشد، سیتوکاین‌ها، کموکاین‌ها، پروتئازها

شایانی نمودند، تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

تعارض منافع

نویسندگان مقاله اعلام می‌دارند که هیچ گونه تضادی در منافع وجود ندارد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل از طرح پژوهشی مصوب و پشتیبانی مالی انجمن بین‌المللی دانشمندان (IAS) می‌باشد. بدین وسیله از زحمات دکتر حدیث معتمد رستمی و نوشین امینی که در ویرایش نهایی این مقاله کمک

منابع

1. Shah SA, Sohail M, Khan S, Minhas MU, de Matas M, Sikstone V, et al. Biopolymer-based biomaterials for accelerated biological macromolecules. 2019;139:975-93.
2. Houeld NN. Shedding light on a new treatment for diabetic wound healing: a review on phototherapy. The Scientific World Journal 2014;2014:398412.
3. Poole JJ, Mostaço-Guidolin LB. Optical microscopy and the extracellular matrix structure: A Review. Cells 2021;10(7):1760.
4. Theocharis AD, Skandalis SS, Gialeli C, Karamanos NK. Extracellular matrix structure. Advanced Drug Delivery Reviews 2016; 97:4-27.
5. Kleinman HK, Philp D, Hoffman MP. Role of the extracellular matrix in morphogenesis. Current Opinion in Biotechnology 2003 ;14(5):526-32.
6. Maquart FX, Monboisse JC. Extracellular matrix and wound healing. Pathologie Biologie 2014;62(2):91-5.
7. Gailit J, Clark RA. Wound repair in the context of extracellular matrix. Current Opinion in Cell Biology 1994;6(5):717-25.
8. Lei J, Priddy LB, Lim JJ, Masee M, Koob TJ. Identification of extracellular matrix components and biological factors in micronized dehydrated human amnion/chorion membrane. Advances in Wound Care 2017 ;6(2):43-53.
9. Rameshbabu AP, Bankoti K, Datta S, Subramani E, Apoorva A, Ghosh P, et al . Silk sponges ornamented with a placenta-derived extracellular matrix augment full-thickness cutaneous wound healing by stimulating neovascularization and cellular migration. ACS Applied Materials & Interfaces 2018;10(20):16977-91.
10. Rousselle P, Montmasson M, Garnier C. Extracellular matrix contribution to skin wound re-epithelialization. Matrix Biology. 2019;75:12-26.
11. Briquez PS, Hubbell JA, Martino MM. Extracellular matrix-inspired growth factor delivery systems for skin wound healing. Advances in Wound Care 2015;4(8):479-89.
12. Choi JS, Kim JD, Yoon HS, Cho YW. Full-thickness skin wound healing using human placenta-derived extracellular matrix containing bioactive molecules. Tissue Engineering Part A 2013 ;19(3-4):329-39.
13. Lobo SE, Leonel LC, Miranda CM, Coelho TM, Ferreira GA, Mess A, et al. The placenta as an organ and a source of stem cells and extracellular matrix: a review. Cells Tissues Organs 2016;201(4):239-52
14. Gibbons GW. Grafix, a cryopreserved placental membrane, for the treatment of chronic/stalled wounds. Advances in Wound Care 2015;4(9):534-44.
15. Shahi SK, Kumar A, Kumar S, Singh SK, Gupta SK, Singh TB. Prevalence of diabetic foot ulcer and associated risk factors in diabetic patients from North India. The Journal of Diabetic Foot Complications 2012;4(3):83-91.
16. Bullard JD, Lei J, Lim JJ, Masee M, Fallon AM, Koob TJ. Evaluation of dehydrated human umbilical cord biological properties for wound care and soft tissue healing. Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials 2019 ;107(4):1035-46
17. Zare S, Nilforuzadeh MA, Ahmadi R, Abkar E. The effect of gelatinous hydrogel containing adipose-derived mesenchymal stem cells on wound

- healing in diabetic male rats. *Armaghane-Danesh* 2021; 26(4): 464-478.
18. Klama-Baryła A, Rojczyk E, Kitala D, Łabuś W, Smętek W, Wilemska-Kucharzewska K. Preparation of placental tissue transplants and their application in skin wound healing and chosen skin bullous diseases-Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis treatment. *International Wound Journal* 2020;17(2):491-507.
 19. Tognetti L, Pianigiani E, Ierardi F, Lorenzini G, Casella D, Liso FG, De Pascalis A, Cinotti E, Rubegni P. The use of human acellular dermal matrices in advanced wound healing and surgical procedures: State of the art. *Dermatologic Therapy* 2021 Jul;34(4):e14987.
 20. Huang SP, Hsu CC, Chang SC, Wang CH, Deng SC, Dai NT, et al. Adipose-derived stem cells seeded on acellular dermal matrix grafts enhance wound healing in a murine model of a full-thickness defect. *Annals of Plastic Surgery* 2012;69(6):656-62.
 21. Guo X, Mu D, Gao F. Efficacy and safety of acellular dermal matrix in diabetic foot ulcer treatment: a systematic review and meta-analysis. *International Journal of Surgery* 2017;40:1-7 .
 22. Tran KT, Griffith L, Wells A. Extracellular matrix signaling through growth factor receptors during wound healing. *Wound Repair and Regeneration* 2004;12(3):262-8.
 23. Liu S, Zhang H, Zhang X, Lu W, Huang X, Xie H. Synergistic angiogenesis promoting effects of extracellular matrix scaffolds and adipose-derived stem cells during wound repair. *Tissue Engineering Part A* 2011 ;17(5-6):725-39.