



A Review of Fibrin Applications and Its Derivatives in Wound Healing and Tissue Engineering

ARTICLE INFO

Article Type

Analytical Review

Authors

Hasannia Sh.¹ MD,
Bahri M.² PhD,
Gashtasbi F.³ MSc,
Dabirmanesh B.^{*2} PhD

How to cite this article

Hasannia Sh, Bahri M, Gashtasbi F, Dabirmanesh B. A Review of Fibrin Applications and Its Derivatives in Wound Healing and Tissue Engineering. Modares Journal of Biotechnology. 2020;11(3):265-272.

ABSTRACT

Fibrinogen is a major component of the coagulation cascade following tissue damage and rapidly forms an insoluble fibrin scaffold. Fibrin is a filamentous biopolymer that naturally forms from fibrinogen polymerization during blood clotting. After tissue damage and coagulation cascade initiation, soluble fibrinogen polymerization by thrombin enzyme begins and forms an insoluble fibrin network and blood clots with platelets. This fibrin network is crucial for the development of homeostasis after tissue damage. This biopolymer also plays a key role in wound healing as a temporary scaffold and due to its unique structural properties and physiological function, it is used in reconstructive medicine. Fibrin is able to absorb extracellular matrix proteins (ECM) such as fibronectin and growth factors. The main types of fibrin scaffolds like platelet-rich fibrin (PRF) and platelet-rich plasma (PRP) are being used as autologous biomaterials in reconstructive medicine, wound healing, orthopedics, and skin reconstruction and cosmetic sciences. Fibrin derivatives and degradation products also play an important role in the process of wound healing by stimulating cell infiltration and tissue regeneration and they are being widely used in developing new products as a biological material for over a century.

Keywords Fibrin; Homeostasis; Wound Healing; Tissue Engineering

¹Nova Teb Research Laboratory, Dental Equipment and Biomaterials Incubation Center" and "Faculty of Medicine", Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

²Department of Biochemistry, Faculty of Biological Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

³Nova Teb Research Laboratory, Dental Equipment and Biomaterials Incubation Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

*Correspondence

Address: Faculty of Biological Sciences, Tarbiat Modares University, Jalal e Al Ahmad Street, Tehran, Iran.
Postal Code: 14115-175
Phone: +98 (21) 82883428
Fax: +98 (21) 82884717
dabirmanesh@modares.ac.ir

Article History

Received: March 29, 2020

Accepted: June 29, 2020

ePublished: September 20, 2020

CITATION LINKS

[1] Fibrin structure and wound healing [2] The molecular physiology and pathology of fibrin structure/function [3] Peptides and proteins as biomaterials for tissue regeneration and repair [4] Mechanisms of fibrin polymerization and clinical implications [5] Fibrin-based biomaterials: Modulation of macroscopic properties through rational design at the molecular level [6] Fibrin formation, structure and properties [7] The molecular origins of the mechanical properties of fibrin [8] Nanostructure of the fibrin clot [9] Platelet-rich fibrin and its emerging therapeutic benefits for musculoskeletal injury treatment [10] Effect of the function of polymorphonuclear leukocytes and interleukin-1 beta on wound healing in patients with diabetic foot infections [11] Confocal laser microscopy: Principles and applications in medicine, biology, and the food sciences [12] Wound healing-A literature review [13] Molecular biology of wound healing [14] A multifunctional fusion peptide for tethering to hydroxyapatite and selective capture of bone morphogenetic protein from extracellular milieu [15] Heparin-binding domain of fibrin (ogen) binds growth factors and promotes tissue repair when incorporated within a synthetic matrix [16] Fibrin as a scaffold for cardiac tissue engineering [17] Fibrinogen and fibrin based micro and nano scaffolds incorporated with drugs, proteins, cells and genes for therapeutic biomedical applications [18] Biomaterials for stem cell engineering and biomanufacturing [19] Fibrin network structure and clot mechanical properties are altered by incorporation of erythrocytes [20] Novel aspects of fibrin (ogen) fragments during inflammation [21] Fibrin regulation of interleukin-8 gene expression in human vascular endothelial cells [22] Fibrinogen stimulates in vitro angiogenesis by choroidal endothelial cells via autocrine VEGF [23] Fibrin gels and their clinical and bioengineering applications

مروری بر کاربرد فیبرین و مشتقات آن در ترمیم زخم و مهندسی بافت

شهریار حسینیاء MD

"آزمایشگاه تحقیقاتی نواطب، مرکز رشد علوم دندانی" و "دانشکده پزشکی"،
دانشگاه علوم پزشکی تهران، ایران

مینا بحری PhD

گروه بیوشیمی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

فاطمه گشتاسبی MSc

آزمایشگاه تحقیقاتی نواطب، مرکز رشد علوم دندانی، دانشگاه علوم پزشکی تهران،
تهران، ایران

بهاره دبیرمنش PhD

گروه بیوشیمی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

چکیده

فیبرینوژن یکی از اجزای اصلی آبشار انعقادی است و به دنبال آسیب بافت، به سرعت داربست نامحلول فیبرینی را تشکیل می‌دهد. فیبرین یک زیست‌پلیمر رشته‌ای است که به‌طور طبیعی در هنگام لخته‌شدن خون از پلیمریزاسیون فیبرینوژن تشکیل می‌شود. پس از آسیب‌های بافتی و شروع آبشار انعقادی، پلیمریزاسیون فیبرینوژن محلول توسط آنزیم ترومبین در یک شبکه فیبرین نامحلول آغاز و با همراهی پلاکت‌ها، لخته خون را تشکیل می‌دهند. این شبکه فیبرین برای ایجاد هموستاز پس از آسیب بافتی بسیار حایز اهمیت است. این زیست‌پلیمر بدن همچنین به‌عنوان یک داربست موقت در ترمیم زخم نقش اصلی را ایفا می‌کند و به‌دلیل ویژگی ساختاری و عملکرد فیزیولوژیک منحصر به فرد خود، در پزشکی بازساختی مورد استفاده قرار می‌گیرد. فیبرین قادر به انتقال پروتئین‌های ماتریکس خارج سلولی (ECM) مانند فیبرونکتین و فاکتورهای رشد است. انواع داربست‌های اصلی فیبرینی مانند فیبرین غنی از پلاکت (PRF) و پلاسمای غنی از پلاکت (PRP) به‌عنوان زیست‌مواد اتولوگ در پزشکی بازساختی، ترمیم زخم، ارتوپدی و درمان‌های بازسازی و زیبایی پوست مورد استفاده قرار می‌گیرند. مشتقات و محصولات تخریب فیبرین نیز با تحریک نفوذ سلول‌ها و بازسازی بافت، نقش مهمی در روند ترمیم زخم ایفا می‌کنند و آنها به‌طور گسترده به‌عنوان ماده بیولوژیکی در توسعه محصولات جدید برای بیش از یک قرن مورد استفاده قرار گرفته‌اند.

کلیدواژه‌ها: فیبرین، هموستاز، ترمیم زخم، مهندسی بافت

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۱/۱۰

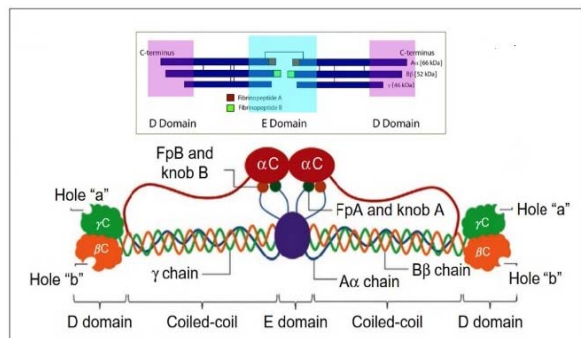
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۴/۰۹

*نویسنده مسئول: dabirmanesh@modares.ac.ir

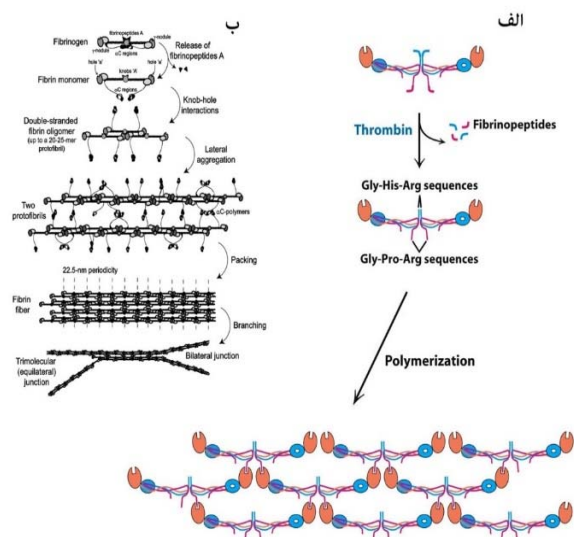
مقدمه

فیبرینوژن یک ماکرومولکول گلیکوپروتئینی بزرگ با وزن مولکولی ۳۴۰ کیلو دالتونی و دراز، متشکل از سه زنجیره پلی‌پپتیدی α ، β و γ است که به‌صورت دو تراimer ($\alpha\alpha\beta\beta\gamma$) توسط ۲۹ پیوند دی‌سولفید به هم وصل می‌شوند، به گونه‌ای که نواحی C-ترمینال هر شش زنجیره پلی‌پپتیدی در مرکز تشکیل دومین E و C-ترمینال هر سه پلی‌پپتید، تشکیل دومین D را در دو انتها می‌دهند (شکل ۱) [1]. بدین ترتیب دومین مرکزی E در هر دو طرف به دومین بیرونی D به واسطه یک ناحیه پیچ‌خورده (Coiled-coil) وصل می‌شود [2].

درواقع، مناطق Coiled-coil تقریباً به‌طور مساوی بین دومین‌های E و D تقسیم می‌شوند. قسمت‌های دیستال مناطق D از C-ترمینال زنجیره‌های β و γ تشکیل شده است (به ترتیب به‌عنوان دومین‌های β C و γ C شناخته می‌شوند). دومین‌های α C در نزدیکی دومین E و هم به‌صورت بین مولکولی تعامل داشته باشند [3]. دومین‌های E و D با محصولات تخریب آنزیمی فیبرین مطابقت دارد، چراکه پس از تخریب کامل پروتئولیتیک توسط پلاسمین به دست می‌آیند. همه این دومین‌های فیبرینوژن حاوی جایگاه‌های اتصال‌دهنده هستند و نقش مهمی در تبدیل فیبرینوژن به فیبرین و توسعه شبکه فیبرین دارند. دومین E در طی شروع فرآیند انعقاد خون، به جایگاه فعال ترومبین متصل می‌شود و در نتیجه فعالیت پروتئولیتیک آنزیمی ترومبین، فیبرینوژن (FPA) با طول ۱۶ اسیدآمینه از زنجیره‌های α A و فیبرینوژن (FPB) با ۱۵ اسیدآمینه از زنجیره‌های β B فیبرینوژن، فرآیند پلیمریزاسیون فیبرین را آغاز می‌کند (شکل ۲) [3].



شکل ۱) ساختار ماکرومولکول فیبرینوژن



شکل ۲) پلیمریزاسیون فیبرین؛ الف) فیبرینوژن پپتیدها توسط ترومبین از زنجیره‌های α و β جدا می‌شوند و توالی Gly-Pro-Arg تشکیل شده با مکمل خود در زنجیره γ برهم‌کنش می‌دهد؛ ب) شکل‌گیری فیبرین از طریق میان‌کنش‌های درون مولکولی و بین مولکولی پروتو فیبریل‌های فیبرینی [4]

از نظر فیزیولوژیکی فعال می‌شوند. میان‌کنش‌های بین دومین‌های αC طی پلیمریزاسیون و اتصال عرضی فاکتور XIIIa باعث افزایش تجمع جانبی پروتوفیبریل‌ها و منجر به لخته‌های متشکل از الیاف ضخیم و متراکم و همچنین باعث مهار پروتئولیز لخته فیبرینی به وسیله پلاسمین می‌شود. میزان و درجه تجمع جانبی که در یک شبکه فیبرین رخ می‌دهد نیز می‌تواند توسط کلسیم تحت تاثیر قرار گیرد. مولکول‌های فیبرینوژن حاوی دو ناحیه برای اتصال به یون‌های Ca^{+2} هستند، یک سایت $\gamma 1$ با میل بالا و یک سایت $\gamma 2$ با میل اتصال پایینی که به پایداری مولکول فیبرینوژن کمک می‌کند و اجازه می‌دهد فرآیند پلیمریزاسیون رخ دهد. غلظت بالای یون‌های کلسیم میزان و درجه تجمع جانبی را افزایش می‌دهد و در نتیجه فیبرهای ضخیم بیشتری در شبکه فیبرین ایجاد می‌شوند[3].

انشعاب پروتوفیبریل‌های فیبرین از طریق دو مکانیزم متفاوت شامل اتصالات دوطرفه و سه مولکولی، یا اتصالات متقارن اتفاق می‌افتد. اتصالات دوطرفه زمانی ایجاد می‌شوند که دو پروتوفیبریل تحت تجمع جانبی قرار بگیرند، سپس مجدداً به دو پروتوفیبریل مجزا تقسیم می‌شوند، در حالی که اتصالات یک‌طرفه زمانی تشکیل می‌شوند که یک پروتوفیبریل فقط یک برآمدگی γ در انتهای یک پروتوفیبریل جداگانه اتصال پیدا کند و به این ترتیب به هر دو مولکول پروتوفیبریل اجازه می‌دهد تا در دو مسیر خطی پلیمریزه و دراز شوند. انشعاب دوطرفه، هنگامی که سرعت آزاد شدن فیبرینوپیتیدها سریع باشد، لخته‌های نسبتاً سفت و سخت ایجاد می‌کند. شبکه‌های فیبرین بسیار شاخه‌ای حاوی الیاف نسبتاً نازک هستند، زیرا الیاف ضخیم‌تر دارای نقاط کمتری برای ایجاد انشعاب هستند، این نشان می‌دهد که انشعاب با جمع‌شدن جانبی رقابت می‌کند. هنگامی که شاخه‌ها، فضای بین شبکه سه‌بعدی لخته فیبرینی را پر می‌کنند، یک لخته فیبرینی نامحلول تشکیل می‌شود. نقطه ژل‌شدن این لخته نسبتاً زود هنگام در فرآیند پلیمریزاسیون رخ می‌دهد، هنگامی که تنها ۱۵ تا ۲۰٪ فیبرینوژن موجود در شبکه وارد شده باشد[4, 5].

مکانیزم مولکولی پلیمریزاسیون فیبرین طیف گسترده‌ای از معماری‌های شبکه‌ای فیبرین را ایجاد می‌کند. نوع ساختار شبکه‌ای لخته‌های فیبرینی روی پایداری لخته، ویژگی‌های تخریب و همچنین خواص مکانیکی آن تاثیر می‌گذارد و این ویژگی‌ها به نوبه خود می‌تواند روی رفتار سلولی در محیط زخم نقش موثری داشته باشد[7]. علاوه بر این، پلیمریزاسیون فیبرین و خاصیت لخته‌شدن حاصل می‌تواند خود تحت تاثیر عوامل مختلفی چون تنوعات مختلف ژنتیکی مانند انواع اختلالات در حین ویرایش mRNA فیبرینوژن و یا وجود پلی‌مورفیسم‌های متفاوت، شرایط محیطی و یونی در محلی که پلیمریزاسیون در آن اتفاق می‌افتد، فعل و انفعالات سلولی و سایر اثرات فیزیولوژیکی و جریان هیدرودینامیکی خون در محل تشکیل لخته قرار گیرد[8].

نقش فیبرین در ترمیم زخم

فیبرینوژن و فیبرین نقش مهمی در تشکیل لخته خون، فیبرینولیز،

بعد از هضم آنزیمی فیبرینوژن و آزادسازی فیبرینوپیتیدهای A و B از زنجیره‌های α و β ، به ترتیب نواحی knob A و knob B از دو زنجیره α و β در دسترس قرار می‌گیرند تا با منافذ مکمل a و b که به ترتیب در C- ترمینال زنجیره‌های γ و β قرار دارند میان‌کنش دهند. برای ایجاد منافذ a و b نیازی به واکنش آنزیمی نیست تا به پپتیدهای مربوطه متصل شوند و بنابراین این منافذ همیشه می‌توانند با نواحی knob A و knob B زنجیره‌های α و β میان‌کنش دهند. ناحیه knob A از ناحیه N- ترمینال خود دارای توالی Gly-Pro-Arg (GPR) و مکمل منفذ a در زنجیره γ است. میان‌کنش موتیف knob A و منفذ a بسیار زیاد است و به نظر می‌رسد سهم اصلی را در پلیمریزاسیون فیبرین ایفا کند. این میان‌کنش در پلیمریزاسیون فیبرین در حضور غلظت‌های زیاد یک توالی سنتتیک شبیه به موتیف knob A شامل توالی Gly-Pro-Arg-Pro (GPRP) مهار می‌شود. توالی اصلی موتیف knob A شامل اسیدهای آمینه Gly-Pro-Arg-Val (GPRV) است. از طرفی موتیف knob B در ناحیه N- ترمینال به ترتیب از Gly-His-Arg-Pro (GHRP) تشکیل شده و مکمل ناحیه b در زنجیره β است. اگرچه میان‌کنش موتیف knob B با ناحیه b در پلیمریزاسیون فیبرین از میان‌کنش knob A با a تاثیر کمتری داشته باشد ولی نشان داده شده است که این میان‌کنش باعث تجمع جانبی لخته و افزایش حساسیت به تخریب لخته فیبرینی می‌شود. علاوه بر پیوندهای اخیر، میان‌کنش‌های جانبی دیگر (وابسته به یون کلسیم) باعث استحکام بیشتر لخته فیبرینی می‌شوند و می‌توانند به‌عنوان داربست مقاوم برای تجمع و حمایت پلاکت‌ها و سایر سلول‌ها در محل زخم عمل کند. غلظت بالای یون‌های کلسیم، میزان تراکم میان‌کنش جانبی را افزایش می‌دهد و در نتیجه فیبرهای ضخیم‌تر در شبکه فیبرین ایجاد می‌شوند[4, 5]. آزاد شدن FPA منجر به تولید دو مولکول مونومر فیبرین می‌شود که سپس از طریق میان‌کنش A:a به یکدیگر باعث تشکیل شکل دوتایی فیبرین می‌شود. این نوع میان‌کنش باعث تشکیل انواع اشکال دو و سه‌تایی با الگوهای تکراری ۲۲/۵ نانومتری می‌شود. افزودن طولی مونومرهای فیبرین به اشکال دوتایی و سه‌تایی از طریق میان‌کنش knob-hole منجر به تشکیل الیگومرها و در نهایت طولانی‌تر شدن آن و تشکیل ساختار پروتوفیبریل‌ها می‌شود. میان‌کنش‌های ضعیف D-D بین دومین‌های D از رشته‌های منفرد فیبرین نیز در طول شکل‌گیری پروتوفیبریل تشکیل می‌شوند و در بلند شدن رشته‌های فیبرین نقش دارند. پروتوفیبریل‌های فیبرین با تجمعات جانبی باعث تشکیل رشته‌های ضخیم فیبرین می‌شوند. مکانیزم دقیق این تجمعات جانبی پروتوفیبریل‌ها تاکنون به‌طور کامل مشخص نشده است. با این حال، این تراکم پروتوفیبریلی احتمالاً توسط میان‌کنش بین B:b و مناطق αC ایجاد می‌شود. نواحی αC ، که به C- ترمینال زنجیره‌های A α مولکول فیبرینوژن اشاره دارد، در طول پلیمریزاسیون فیبرین با یکدیگر میان‌کنش دارند و به دنبال این خودتجمعی از طریق زیردومین‌های N- ترمینال خود

افتاده‌اند، تحت تاثیر قرار گیرند^[9]. مونوسیت‌های خون محیطی ترشح‌شده به محل زخم و ماکروفاژها نیز منبع سنتز و آزادسازی فاکتورهای رشد هستند. علاوه بر این، فاکتورهای رشد می‌توانند توسط سلول‌های پارانشیمی آسیب‌دیده و فعال نیز ترشح شوند. ماتریکس موقت فیبرین نیز تشکیل بافت گرانولی را تحریک می‌کند. هنگامی که فیبروبلاست‌ها و سلول‌های اندوتلیال، گیرنده‌های مناسب اینتگرینی را در سطح خود بیان کنند، به لخته غنی از فیبرین/فیبرونکتین در فضای زخم حمله می‌کنند و ماتریکس خارج سلولی دایمی را سنتز می‌کنند^[1,10]. بنابراین شبکه فیبرینی نه تنها به عنوان محل به دام‌اندازی گلبول‌های قرمز و پلاکت‌ها برای قطع خونریزی است بلکه می‌تواند تکیه‌گاهی برای اتصال بسیاری از سلول‌های دیگر دخیل در ترمیم و بستری موقت ولی کارآمد برای تشکیل ماتریکس خارج سلولی باشد. به دلیل همین ویژگی داربست فیبرینی است که از آن در دو داربست اتولوگ شامل فیبرین غنی از پلاکت (PRF) و پلاسمای غنی از پلاکت (PRP) که به‌طور گسترده در ترمیم زخم و بازسازی بافت به کار می‌روند، استفاده می‌شود^[9].

میان‌کنش سلول‌ها و پلاکت‌ها با فیبرین

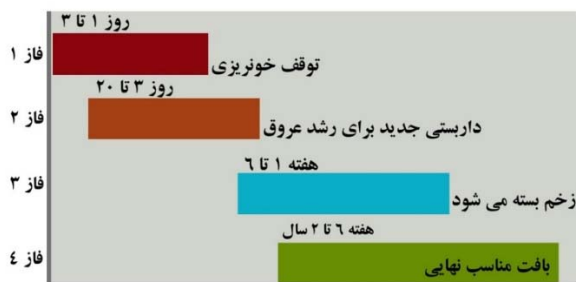
فیبرین و فیبرینوژن به‌عنوان مولکول‌های اتصال در بسیاری از انواع میان‌کنش‌های سلولی نقش دارند. همچنین به‌عنوان یک ماتریکس موقتی مهم در محل‌های آسیب، التهاب یا عفونت عمل می‌کنند، به‌طوری که در بستر آنها سلول‌ها می‌توانند تکثیر، سازمان‌دهی و عملکردهای تخصصی در جهت ترمیم زخم را انجام دهند. در این ارتباط ثابت شده است داربست‌های پوشش‌داده‌شده با فیبرین و فیبرینوژن می‌توانند با قابلیت بالایی به سلول‌های اندوتلیال، سلول‌های عضله صاف، کراتینوسیت‌ها و لکوسیت‌ها متصل شوند. این سلول‌ها می‌توانند به‌طور مستقیم به فیبرین و فیبرینوژن از طریق گیرنده‌های اینتگرینی سطح سلول و گیرنده‌های غیراینتگرینی (به‌عنوان مثال VE-کاده‌رین، I-CAM-1، پی-سلکتین و GPIIb/IIIa) متصل شوند. اینتگرین‌ها، مولکول‌های چسبده سلولی با توالی بین غشایی و یک تنوع زیاد در بخش اکتودومین هستند که از یک زیرواحد α و یک زیرواحد β بتا با قابلیت اتصال به فیبرین و فیبرینوژن تشکیل شده‌اند. زیرواحدهای اینتگرینی در لکوسیت‌ها $\alpha_M\beta_2$ ، در پلاکت‌ها $\alpha_{IIb}\beta_3$ و در سلول‌های اندوتلیال و فیبروبلاست‌ها شامل انواع $\alpha_v\beta_3$ ، $\alpha_v\beta_5$ و $\alpha_5\beta_1$ هستند. جمع‌شدگی یا انقباض لخته به وسیله سلول‌های هسته‌دار برای ترمیم مناسب زخم بسیار ضروری است. اتصال بخش‌های $\alpha_5\beta_1$ اینتگرین در پلاکت‌ها به فیبرینوژن در لخته خونی باعث جمع‌شدگی فیبرین و تغییر شکل سلول‌های پلاکت می‌شود. این پدیده در مورد سایر انواع اکتودومین‌های اینتگرین در سلول‌های دیگر نیز در چندین مطالعه ثابت شده است^[1,11].

بخش‌های خاصی از فیبرین می‌توانند با سلول‌های مختلف اتصال برقرار کنند. فیبرینوژن یک پروتئین فاز حاد است و سنتز آن در مراحل اولیه التهاب یا در پاسخ به درمان اینترلوکین ۶ و گلوکوکورتیکوئیدها افزایش می‌یابد. نسخه‌برداری هر سه زنجیره

میان‌کنش‌های سلولی و ماتریکس، التهاب، ترمیم زخم، رگ‌زایی (آنژیوژنز) و نئوپلازی دارند. مشارکت فیبرین و فیبرینوژن در این فرآیندها تا حد زیادی نه‌تنها به خصوصیات فیبرین (و فیبرینوژن) برمی‌گردد، بلکه همچنین به میان‌کنش‌های بین جایگاه‌های خاص اتصال روی فیبرین (فیبرینوژن)، پروآنزیم‌ها، فاکتورهای ایجاد لخته، مهارکننده‌های آنزیم و گیرنده‌های سلولی نیز وابسته است. نتیجه ترمیم زخم تا حد زیادی به ساختار فیبرین مانند ضخامت الیاف فیبرینی در لخته، تعداد نقاط انشعابی در شبکه فیبرینی، تخلخل و نفوذپذیری بستگی دارد. اتصال فیبرین (فیبرینوژن) به پروتئین‌های پلاکت‌های هموستاز و همچنین سلول‌های مختلف مانند سلول‌های رگی (اندوتلیال)، سلول‌های عضلانی صاف، فیبروبلاست‌ها، لکوسیت‌ها و کراتینوسیت‌ها در فرآیند ترمیم زخم ضروری است. فیبرینوژن با دو وزن مولکولی بالا و پایین، دو نوع طبیعی از فیبرین در بدن است، که عوامل مهم در پدیده آنژیوژنز هستند و در تحریک رشد سلولی، میزان لخته‌شدن و خصوصیات پلیمریزاسیون فیبرین با یکدیگر تفاوت دارند. داربست لخته فیبرینی به‌عنوان عامل مسدودکننده خون و سطح زخم به‌عنوان یک ماتریکس تحریک‌کننده ترمیم بسیار مورد بررسی قرار گرفته و نقش آن برای هدایت سلول‌های درگیر در ترمیم کاملاً ثابت شده است^[1].

اولین پدیده ضروری بعد از ایجاد زخم، ممانعت از خونریزی موضعی است. این عمل از طریق تجمع پلاکتی و با کمک فعال‌شدن آبشار انعقادی به دست می‌آید. تشکیل لخته خون ابتدا باعث قطع خونریزی در محل زخم می‌شود و سپس به‌عنوان داربست موقت برای بهبود زخم تقریباً تا ۴ روز پس از آسیب عمل می‌کند. مویرگ‌های جدید ظاهر گرانولی به بستر زخم می‌دهند. لکوسیت‌ها، فیبروبلاست‌ها و رگ‌های خونی به ناحیه زخم مهاجرت و هر کدام نقش ویژه‌ای را در بهبود زخم ایفا می‌کنند. ماکروفاژها، منبع اصلی و پیوسته سایتوکاین‌ها را فراهم می‌کنند که برای تحریک تشکیل بافت همبند و رگ‌زایی لازم هستند، فرآیندی که رگ‌های خونی جدید از آنهایی که از قبل موجود هستند، تشکیل می‌شود. طی فرآیند رگ‌زایی، غشای پایه عروقی و فیبرین یا ماتریکس بینابینی توسط سلول‌های اندوتلیال (ECs) تخریب می‌شوند که بر روی آنها EC‌ها شروع به مهاجرت به داخل ماتریکس و در آنجا تکثیر پیدا می‌کنند و بدین ترتیب باعث تشکیل مویرگ‌های جدید لوله‌ای‌شکل می‌شود. حضور سلول‌های فیبروبلاست برای تولید یک ماتریکس خارج سلولی جدید (ECM) به‌عنوان یک داربست طبیعی ضروری است، داربستی که برای حمایت از رشد اضافی سلول لازم است. رگ‌های خونی با تهیه اکسیژن و مواد مغذی نقش مهمی در پایداری متابولیسم سلولی دارند. یکپارچگی بافت گرانولی بستگی به وجود مواد فعال بیولوژیکی (به‌عنوان مثال میانجی‌های لیپیدی و فاکتورهای رشد)، فعالیت سلول‌های هدف و محیط ماتریکس خارج سلولی دارد. این فرآیندها هم توسط فاکتورهای رشدی که از پلاسما حاصل می‌شود کنترل و هم می‌توانند از فاکتورهای رشد ترشحاتی از پلاکت‌های فعال‌شده در محل زخم که در شبکه فیبرینی به دام

فعال شده که اکنون گیرنده‌های اینتگرینی $\alpha_{III}\beta_3$ را در سطح خود دارند به رشته‌های فیبرینی متصل می‌شوند و با تشکیل پلاگ پلاکتی باعث حمایت از هموستاز می‌شوند.



شکل ۳ فازهای ترمیم زخم: توالی کلیدی فازهای هم‌پوشانی طی ترمیم در مدل زخم پوستی

شبکه درهم‌بافته فیبرینی علاوه بر کاهش از دست دادن خون در حین هموستاز اولیه، به عنوان یک ماتریکس خارج سلولی موقت در ناحیه زخم به هنگام هموستاز ثانویه و پس از آن عمل می‌کند. لکوسیت‌ها توسط گیرنده‌های اینتگرینی $\alpha_{IIb}\beta_3$ به فیبرین متصل می‌شوند و سلول‌های اندوتلیال نیز به واسطه گیرنده‌های اینتگرینی $\alpha_5\beta_1$ و $\alpha_v\beta_3$ به شبکه فیبرینی در حین آنژیوژنز در محل زخم اتصال می‌یابند. بدین ترتیب لکوسیت‌ها به ناحیه زخم جذب می‌شوند، جایی که مولکول‌های فیبرینوپپتیدهای حاصل از تجزیه پروتئولیتیک فیبرینوژن، محصولات حاصل از تجزیه فیبرین، فیبرونکتین و سایر مواد کموتاکتیک، باعث تنظیم و تعدیل فعالیت آنها می‌شود [1].

فیبرین علاوه بر اینکه از طریق گیرنده‌های اینتگرینی و غیراینتگرینی (مانند کادرفین‌ها و گلیکوپروتئین‌ها) می‌تواند به انواع سلول‌های درگیر در التهاب، آنژیوژنز و ترمیم متصل شود، به دلیل داشتن دومین‌های خاص در توالی خود نیز می‌تواند با تمایل بسیار بالا (با ثابت تفکیک نانومولار) به انواع فاکتورهای رشد که نقش اساسی در پروسه ترمیم زخم ایفا می‌کنند نیز متصل و باعث به دام اندازی این فاکتورها در محل زخم شود. از انواع فاکتورهای رشد که فیبرین قادر است از ناحیه دومین اتصالی به هپارین به آنها متصل شود فاکتور رشد مشتق پلاکتی (PDGF)، فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF)، فاکتور رشد فیبروبلاستی (FGF)، فاکتور رشد اپی‌تلیالی (EGF) و فاکتور رشد تغییردهنده بتا ($TGF-\beta$) هستند. این ویژگی فیبرین اجازه می‌دهد تا بتواند به عنوان یک ماتریکس خارج سلولی موقت در محل زخم بعد از هموستاز باعث توسعه رگ‌زایی و تکثیر سلول‌های درگیر در فرآیند ترمیم شود. طی فرآیند تثبیت فاکتورهای رشد در محل شبکه فیبرینی، عملاً بیشتر فاکتورهای رشد از حالت محلول به حالت متصل‌شده تبدیل می‌شوند و به این ترتیب دچار فرآیند غیرفعال‌سازی نمی‌شوند. قابل ذکر است که بیشتر فاکتورهای رشد دارای نیمه عمر ذاتی پایینی هستند و بنابراین در حالت محلول بسیار سریع غیرفعال می‌شوند. بنابراین شبکه فیبرینی در محل زخم

کاملاً هماهنگ است و مطالعات نشان می‌دهد در سنتز زنجیره بتا محدودیت سرعت دارد و باعث سرعت بیان بالای دو ژن دیگر می‌شود [1].

نواحی C- ترمینال زنجیره‌های $A\alpha$ که دومین‌های α_C نامیده می‌شوند از اسیدهای آمینه ۲۲۱ تا ۶۱۰ تشکیل شده‌اند و نقش قابل توجهی در تنظیم چندین فرآیند را بر عهده دارند. این بخش در شکل‌گیری شبکه فیبرینی، فعال‌سازی فاکتور XIII، تنظیم روند تجزیه فیبرین و اتصال سلولی از طریق اتصال فیبرونکتین و یا موتیف $A\alpha 572-574$ Arg-Gly-Asp (RGD) نقش دارد [1]. زنجیره‌های $A\alpha$ فیبرینوژن حاوی چندین جایگاه برای میان‌کنش با سلول‌های مختلف مانند پلاکت‌ها، مونوسیت‌ها، فیبروبلاست‌ها، سلول‌های اپی‌تلیال و کراتینوسیت‌ها هستند. سلول‌های اندوتلیال نیز از طریق گیرنده‌های غیراینتگرینی مانند VE- کادهرین به ماتریکس فیبرین متصل می‌شوند که در حین آنژیوژنز فیبرینوژن را متصل می‌کنند. گلیکوپروتئین CD44 که به عنوان بخشی از سیستم مکمل برای جلوگیری از عفونت در طول هموستاز فعالیت می‌کند نیز می‌تواند به داربست فیبرینی متصل شود [1].

فیبرین همچنین دارای نواحی مختلف برای اتصال به فاکتورهای رشد از جمله فاکتور رشد فیبروبلاست (FGF)، فاکتور رشد مشتق از پلاکت (PDGF)، فاکتور رشد تغییردهنده بتا ($TGF-\beta$) و فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) است. میان‌کنش‌های بین سلول‌ها و شبکه فیبرینی لخته برای هموستاز و فرآیندهای بعدی در ترمیم زخم‌های ضروری هستند.

آبشار انعقادی و فرآیند ترمیم زخم شامل چندین مرحله است که با هم هم‌پوشانی دارند و شامل میان‌کنش‌های سلول- فیبرین است که با میان‌کنش‌های فیبرین پلاکت در حین هموستاز شروع می‌شود. بلافاصله بعد از انعقاد خون، التهاب ایجاد می‌شود. مرحله التهاب، اولین پاسخ بدن به زخم است. زخم یک جراحت به بدن است و بدن با ریختن خون غنی از مواد مغذی در ناحیه آسیب به تروما پاسخ می‌دهد. به همین دلیل است که زخم‌های تازه اغلب متورم، ملتهب (گرم حس می‌شوند) و قرمز رنگ هستند. مرحله بعد از التهاب که قبل از فروکش کردن التهاب شروع می‌شود، مرحله تکثیر سلولی سلول‌های همان بافت و سلول‌های اندوتلیال است. همزمان با تکمیل بازسازی بافت، مرحله نوآرایی که موجب تکوین بافت بالغ و عملکردی می‌شود، شروع می‌شود و با توجه به نوع بافت و وسعت جراحت ممکن است تا سال‌ها به طول انجامد (شکل ۳) [12, 13].

پس از آسیب دیدگی سطح مویرگ‌ها، پلاکت‌های موجود در گردش خون در اثر آسیب فعال و برای تشکیل پلاگ اولیه پلاکتی با شروع آبشار انعقادی (به واسطه جاذدن فیبرینوپپتیدها از مولکول فیبرینوژن) به هم متصل و تجمع می‌شوند. این فرآیند همزمان به عنوان بند آمدن اولیه خون یا هموستاز اولیه شناخته می‌شود. با شروع آبشار انعقادی، فیبرینوژن محلول موجود در جریان خون به یک شبکه فیبرین نامحلول تبدیل می‌شود. سپس پلاکت‌های

با تمایل بالا به این فاکتورها متصل و ضمن تغلیظ موضعی آن در ناحیه زخم و ترمیم، باعث افزایش قابل توجهی در نیمه عمر آنها می‌شود [13-15].

فیبرین، داربست ایده‌آل برای انتقال سلول

اگرچه مواد سرامیکی، فلزی و پلیمری در حال حاضر به‌عنوان داربست‌های متداول در مهندسی بافت و گرافتینگ هستند، با این حال به‌علت اهمیت انتقال ایمن سلول‌های کشت‌شده از محیط در شیشه به در محیط زنده ترجیح کامل این است که به جای آنها از داربست‌هایی همانند هیدروژل‌ها استفاده شود تا شوک‌های ناشی از این انتقال به حداقل رسد و موجب بقای سلول شود. در این ارتباط مشخص شده است که تعلیق سلولی بر پایه مواد زیستی با ویسکوزیته بالاتر نسبت به تعلیق سلول‌ها بر پایه سالین دارای بقای بالاتری است و در محلی که سلول‌ها، ساختمان فضایی مناسب را در این ویسکوزیته و در سه بعد کسب می‌کنند، کمتر دچار آپوپتوز می‌شوند. هیدروژل‌های متفاوتی که از نظر ساختاری با ماتریکس خارج سلولی یکسان هستند، برای این هدف استفاده شده‌اند که شامل هیدروژل‌های کلاژنی، ماتریژل، پپتیدهای خودجمع‌شونده، کیتوزان و آلژینات هستند. از این منظر داربست‌هایی بر پایه فیبرین مثل PRF شاید یکی از بهترین انتخاب‌ها است، چراکه علاوه بر دارابودن ویژگی‌های یک داربست بیواکتیو استاندارد، اتولوگ است و می‌تواند از خود بیمار گرفته شود. بنابراین، این موضوع از منظر بالینی جذاب است، چراکه می‌تواند با کمترین میزان تهاجم در جراحی انتقال یابد. به واسطه ویژگی‌های بیولوژیکی فیبرین، می‌توان از آن به‌عنوان یک سیستم انتقال علامت‌گذاری‌شده برای داروهای خاص، فاکتورهای رشد و لاین‌های سلولی استفاده کرد. برای مثال حضور توالی RDG، در داخل شبکه فیبرین سبب اتصالات سلولی به واسطه گیرنده‌های اینتگرینی می‌شود. علاوه بر این، فیبرین می‌تواند در روش اتولوگ استفاده شود، در حالی که سمی، آلرژیک یا عفونی نیست. کشسان‌بودن بالای ژل فیبرینی نمونه دیگری از کارآمدی بیشتر آن به‌عنوان یک ماتریکس سلولی در مقایسه با دیگر ژل‌های پروتئینی شناخته‌شده است. در حال حاضر انواع متفاوتی از سلول‌ها با هدف احیای بافت‌های ارگان‌های متفاوت مثل پوست، مثانه، نای، غضروف، استخوان و کبد با استفاده از داربست فیبرینی تزریق شده‌اند. فیبرین همچنین می‌تواند در ترکیب با سایر مواد بیولوژیکی چه طبیعی و چه مصنوعی استفاده شود. اخیراً با استفاده از میکروبیدهای کامپوزیتی کیتوزان و فیبرین موفق شده‌اند فیبروبلاست‌های متصل به داربست و پایدار را برای اهداف سلول‌درمانی به وجود آورند [16-18].

تأثیر سلول‌ها بر تشکیل شبکه فیبرین

علاوه بر اینکه فیبرین می‌تواند به‌دلیل ساختار توپولوژیک و توالی‌های اسیدآمین‌های خود روی سلول‌ها تأثیر بگذارد، خود ساختار شبکه فیبرینی نیز از حضور سلول‌ها متأثر می‌شود. اتصال و تجمع پلاکت‌ها در لخته، که طی فرآیند بهبود زخم نسبتاً زود هنگام اتفاق می‌افتد، در مقایسه با الیاف موجود در کل باقیمانده، منجر به

تشکیل الیاف نازک‌تر در مناطقی از فیبرین می‌شود که تعداد پلاکت‌ها بالا است. میان‌کنش بین دومین‌های $\alpha_{IIb}\beta_3$ اینتگرینی غشای پلاکت با فیبرین باعث می‌شود که لخته با گذشت زمان به‌طور فزاینده‌ای متراکم شود، در نتیجه پدیده‌ای به نام جمع‌شدن یا انقباض لخته به وجود می‌آید و این باعث می‌شود که شبکه فیبرینی در این ناحیه به فیبرینولیز که توسط پلاسمینوژن بافتی فعال شده است، مستعد پروتئولیز شود. در حین انقباض لخته، فیبرینوژن در درون لخته به گیرنده‌های اینتگرین $\alpha_5\beta_1$ فیبروبلاست‌ها و سلول‌های اندوتلیال متصل و باعث تکثیر آنها در ماتریکس موقت می‌شود.

این متراکم‌شدن کلی شبکه فیبرینی و اتصال سلول‌های تکثیرشونده باعث تغییر شکل سلول می‌شود و اجازه می‌دهد محل زخم به‌طور کامل ترمیم شود. پلاکت‌های موجود در یک شبکه فیبرین همچنین فاکتور IV پلاکتی را آزاد می‌کنند، که باعث کاهش بیشتر تخلخل لخته‌ها و کاهش مدول الاستیک کلی و پلی‌فسفات می‌شود که برای تثبیت لخته و طولانی‌شدن فیبرولیز آن در میان‌کنش با کلسیم لازم است. وجود گلبول‌های قرمز نیز در تشکیل لخته تأثیر می‌گذارد و باعث ایجاد الیاف ضخیم‌تر و افزایش ناهمگونی در شبکه فیبرین می‌شود [1, 19].

فیبرین و التهاب

سنتز مولکول‌های فیبرینوژن حین التهاب از طریق سایتوکاین‌ها از جمله اینترلوکین و گلوکوکورتیکوئیدها تنظیم می‌شود [5, 7]. فیبرین و محصولات ناشی از تخریب فیبرین شامل فیبرینوپپتیدهای شکسته‌شده توسط ترومبین و D-دیمرها، و قطعات D و E که توسط عملکرد آنزیمی پلاسمین جدا شده‌اند، پاسخ‌های التهابی ناشی از زخم را از طریق ویژگی‌های فراخوانی شیمیایی و میان‌کنش با گیرنده اینتگرینی $\alpha_M\beta_2$ که بر روی لکوسیت‌های گردش خون است تحریک می‌کنند و منجر به افزایش سایتوکاین‌ها و مهاجرت لکوسیت‌ها به محیط اطراف زخم می‌شوند [20].

میان‌کنش بین سلول‌های اندوتلیال و فیبرین باعث القای بیان سایتوکاین اینترلوکین-8، یک عامل کموتاکتیک شناخته‌شده برای مهاجرت و فعال‌سازی لکوسیت‌ها می‌شود. فیبرینوژن به‌عنوان یک مولکول واسطه برای اتصال بین لکوسیت‌ها و اندوتلیوم در معرض محل آسیب عمل می‌کند و از طریق میانجی‌گری با ICAM-1 باعث تسهیل اتصال بین این دو می‌شود. فیبرین همچنین باعث انقباض سلول‌های اندوتلیال و از این طریق موجب انتقال ترکیبات مایع و سلول‌های مختلف برای پاسخ ایمنی مناسب در محل زخم می‌شود [21].

فیبرین و آنژیوژن

ماتریکس فیبرینی به‌عنوان یک بستر بسیار موثر برای مهاجرت و هجوم سلول‌های اندوتلیال و تشکیل رگ‌های خونی در محل زخم عمل می‌کند. فاکتورهای رشدی همانند PDGF و $TGF-\beta$ طی چند روز همچنان از لخته فیبرینی آزاد می‌شوند و با فیبرین و فیبرونکتین میان‌کنش می‌دهند و باعث تسهیل تکثیر و مهاجرت

کاربردهای انتقال سلول ایده‌آل می‌کند. عوامل رشد را می‌توان در طول پلیمریزاسیون گنجانده تا در زمان مورد نظر آزاد شوند تا بتوانند عملکردهای سیگنالینگ مثل مهاجرت، تقسیم، تمایز سلولی و فرآیندهایی مثل سنتز پروتئین را شروع کنند. فیبرین همچنین می‌تواند به عنوان وسیله‌ای برای انتقال و تحویل داروهای ضد میکروبی برای جلوگیری از عفونت در محل زخم عمل کند. علاوه بر این، سلول‌هایی مانند پلاکت‌ها یا فیبروبلاست‌ها را می‌توان در سازه‌های فیبرینی در شرایط آزمایشگاهی (ex vivo) طی پلیمریزاسیون کپسوله کرد تا بافت‌های مهندسی‌شده ایجاد شود. از مسیرهای مختلفی برای انتقال فیبرین به بدن استفاده می‌شود، از جمله فیبرین تزریقی که برای پرکردن فضای زخم یا به عنوان فیلرهای زیرپوستی و درون بافتی به صورت پلیمریزه یا غیرپلیمریزه به کار می‌رود [23].

نتیجه‌گیری

زیست‌مواد فیبرینی با قابلیت‌های عملکردی بالایی که دارند به عنوان مواد تزریقی، حامل‌های دارویی و داربست‌های سلولی خصوصاً به عنوان بستر سلولی در چاپ سه‌بعدی برای مهندسی بافت و پزشکی بازساختی مورد استفاده قرار می‌گیرند. اگرچه داربست فیبرینی در شکل ذاتی خود دارای محدودیت‌های زیادی همانند خواص ضعیف مکانیکی در بازسازی بافت استخوانی، احتمال انتقال بیماری به دلیل تمایلات زیستی غیرقابل پیش‌بینی و یا افزودن فاکتورهای هیدروژل‌های فیبرینی است، با این حال تلاش‌های زیادی برای ارتقای قدرت مکانیکی و افزایش طیف کاربردی آن با استفاده از انواع کامپوزیت‌های سنتتیک بیوپلیمری زیست‌فعال همانند پلی‌گلیکولیک اسید و پلی‌لاکتیک کوگلیکولیک اسید انجام داده شده و در حال انجام است.

تشکر و قدردانی: از دانشگاه تربیت مدرس به دلیل تامین منابع مالی تشکر می‌شود.

تأییدیه اخلاقی: موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

تعارض منافع: هیچ‌گونه تعارض منافی وجود ندارد.

سهم نویسندگان: شهریار حسن‌نیا (نویسنده اول)، نگارنده مقدمه/پژوهشگر اصلی/نگارنده بحث (۴۰٪)؛ مینا بحری (نویسنده دوم)، پژوهشگر کمکی (۵٪)؛ فاطمه گشتاسبی (نویسنده سوم)، پژوهشگر کمکی/نگارنده بحث (۵٪)؛ بهاره دبیرمنش (نویسنده چهارم)، روش‌شناس/پژوهشگر اصلی/نگارنده بحث (۴۰٪)

منابع مالی: منابع مالی مطالعه حاضر توسط دانشگاه تربیت مدرس تامین شده است.

منابع

- 1- Laurens N, Koolwijk PD, De Maat MP. Fibrin structure and wound healing. *J Thromb Haemost*. 2006;4(5):932-9.
- 2- Standeven KF, Ariens RA, Grant PJ. The molecular physiology and pathology of fibrin structure/function. *Blood Rev*. 2005;19(5):275-88.

سلول‌های فیبروبلاست به محل زخم می‌شوند. فیبرین همچنین به عنوان داربست عمل می‌کند و باعث تولید پروتئین‌های ECM برای تشکیل عروق جدید می‌شود. وضعیت فیبرینوژن موجود در محل زخم (وزن مولکولی زیاد و وزن مولکولی کم) به عنوان تنظیم‌کننده رگ‌زایی بر آنژیوژنز تاثیر می‌گذارد. حضور فیبرینوژن با وزن مولکولی بالا، وضعیت مطلوبی را برای رشد و تکثیر سلولی فراهم می‌کند، برعکس، محصولات ناشی از تخریب آن که منجر به ایجاد فیبرینوژن با وزن مولکولی کم می‌شوند، به عنوان مهارکننده‌های رگ‌زایی عمل می‌کنند [1, 22].

کاربردهای بالینی فیبرین و مشتقات آن

فیبرین به دلیل نقش اساسی در لخته‌شدن خون و ترمیم زخم، تقریباً یک قرن است که به عنوان یک عامل خون‌ساز آگروژنی و در حال حاضر به طور معمول در برنامه‌های پزشکی مورد استفاده قرار می‌گیرد. خواص مکانیکی فیبرین در ابتدای خونریزی در محل زخم، منجر به بسته‌شدن آن می‌شود و ازدست‌رفتن خون را به حداقل می‌رساند و سدی در برابر عفونت‌های میکروبی ایجاد و یک داربست مش‌مانند قابل تجزیه ایده‌آل را برای شروع فرآیندهای سلولی در طی ترمیم زخم تشکیل می‌دهد. علاوه بر خصوصیات هموستاتیک فیبرین، نقش آن در بازسازی بافت پس از آسیب و درجه بالایی تنظیم‌پذیری آن باعث می‌شود که به عنوان یک زیست‌مواد همه‌کاره با طیف کاربردی گسترده‌ای برای تسهیل ترمیم زخم، مهندسی بافت و بازسازی و انتقال مواد زیستی مورد استفاده قرار گیرد. شکل ۴ انواع کاربردهای بیولوژیکی زیست‌مواد بر پایه فیبرین را نشان می‌دهد. همان‌طور که در این شکل نشان داده شده است، داربست‌های فیبرینی اساساً دو کاربرد شامل بهبود زخم و انتقال مواد زیستی دارند [23].



شکل ۴) انواع کاربردهای زیست‌مواد بر پایه فیبرین

ساختار شبکه فیبرین برای دستیابی به انواع خواص مکانیکی قابل تنظیم است. قطر، میزان انشعاب و اندازه منافذ داربست فیبرینی می‌تواند با تغییر غلظت فیبرینوژن و ترومبین و همچنین با ترکیب پروتئین‌های اصلاح‌شده یا پروتئین‌هایی مانند فیبرونکتین یا فاکتور XIII تغییر یابد. ماهیت قابل تخریب فیبرین نیز آن را برای

- 14- Bahri M, Hasannia S, Dabirmanesh B, Moshaverinia A, Zadeh HH. A multifunctional fusion peptide for tethering to hydroxyapatite and selective capture of bone morphogenetic protein from extracellular milieu. *J Biomed Mater Res Part A*. 2020;108(7):1459-66.
- 15- Martino MM, Briquez PS, Ranga A, Lutolf MP, Hubbell JA. Heparin-binding domain of fibrin (ogen) binds growth factors and promotes tissue repair when incorporated within a synthetic matrix. *Proc Natl Acad Sci*. 2013;110(12):4563-8.
- 16- Barsotti MC, Felice F, Balbarini A, Di Stefano R. Fibrin as a scaffold for cardiac tissue engineering. *Biotechnol Appl Biochem*. 2011;58(5):301-10.
- 17- Rajangam T, An SS. Fibrinogen and fibrin based micro and nano scaffolds incorporated with drugs, proteins, cells and genes for therapeutic biomedical applications. *Int J Nanomed*. 2013;8:3641-62.
- 18- Xu Y, Chen Ch, Hellwarth PB, Bao X. Biomaterials for stem cell engineering and biomanufacturing. *Bioact Mater*. 2019;4:366-79.
- 19- Gersh KC, Nagaswami Ch, Weisel JW. Fibrin network structure and clot mechanical properties are altered by incorporation of erythrocytes. *Thromb Haemost*. 2009;102(6):1169-75.
- 20- Jennewein C, Tran N, Paulus P, Ellinghaus P, Eble JA, Zacharowski K. Novel aspects of fibrin (ogen) fragments during inflammation. *Mol Med*. 2011;17(5-6):568-73.
- 21- Qi J, Goralnick S, Kreutzer DL. Fibrin regulation of interleukin-8 gene expression in human vascular endothelial cells. *Blood*. 1997;90(9):3595-602.
- 22- Shiose S, Hata Y, Noda Y, Sassa Y, Takeda A, Yoshikawa H, et al. Fibrinogen stimulates in vitro angiogenesis by choroidal endothelial cells via autocrine VEGF. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2004;242(9):777-83.
- 23- Janmey PA, Winer JP, Weisel JW. Fibrin gels and their clinical and bioengineering applications. *J Royal Soc Interface*. 2009;6(30):1-10.
- 3- Barbosa M, Martins MC. Peptides and proteins as biomaterials for tissue regeneration and repair. 1st Edition. Sawston: Woodhead Publishing; 2017.
- 4- Weisel JW, Litvinov RI. Mechanisms of fibrin polymerization and clinical implications. *Blood J Am Soc Hematol*. 2013;121(10):1712-9.
- 5- Brown AC, Barker TH. Fibrin-based biomaterials: Modulation of macroscopic properties through rational design at the molecular level. *Acta Biomater*. 2014;10(4):1502-14.
- 6- Weisel JW, Litvinov RI. Fibrin formation, structure and properties. In: Parry DA, Squire JM, editors. *Fibrous proteins: Structures and mechanisms*. Cham: Springer; 2017. pp. 405-56.
- 7- Falvo MR, Gorkun OV, Lord ST. The molecular origins of the mechanical properties of fibrin. *Biophys Chem*. 2010;152(1-3):15-20.
- 8- Yeromonahos C, Polack B, Caton F. Nanostructure of the fibrin clot. *Biophys J*. 2010;99(7):2018-27.
- 9- Grecu AF, Reclaru L, Ardelean LC, Nica O, Ciucă EM, Ciurea ME. Platelet-rich fibrin and its emerging therapeutic benefits for musculoskeletal injury treatment. *Medicina*. 2019;55(5):141.
- 10- Oncul O, Yildiz S, Gurer US, Yeniiz E, Qyrdedi T, Top C, et al. Effect of the function of polymorphonuclear leukocytes and interleukin-1 beta on wound healing in patients with diabetic foot infections. *J Infect*. 2007;54(3):250-6.
- 11- Lagali N, editor. *Confocal laser microscopy: Principles and applications in medicine, biology, and the food sciences*. Norderstedt: BoD-Books on Demand; 2013.
- 12- Gonzalez AC, Costa TF, Andrade ZD, Medrado AR. Wound healing-A literature review. *Anais Brasileiros De Dermatologia*. 2016;91(5):614-20.
- 13- Ganapathy N, Venkataraman SS, Daniel R, Aravind RJ, Kumarakrishnan VB. Molecular biology of wound healing. *J Pharm Bioallied Sci*. 2012;4(Suppl 2):S334-7.