

Development of Tissue Engineering Scaffolds for Cancer Cell Cultures

Seyede Maryam Valizadeh Otahsara¹,
Hassan Dariushnejad²,
Amir Mellati³,
Elham Hasanzadeh³,
Mozhgan Abasi³,
Pedram Ebrahimnejad⁴

¹ PhD Student in Medical Biotechnology, School of Advanced Technologies in Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

² Assistant Professor, Department of Medical Biotechnology, Faculty of Medicine, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, Iran

³ Assistant Professor, Department of Tissue Engineering and Applied Cell Sciences, Faculty of Advanced Technologies in Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

⁴ Associate Professor, Department of Pharmaceutics, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received February 13, 2023 ; Accepted May 20, 2023)

Abstract

The cell culture technique is one of the tools used in cellular and molecular biology such as cancer cell culture, regenerative medicine, and drug discovery. In recent years, three-dimensional (3D) cell culture has gained attention in cancer research. Scaffolds are porous structures that are used in 3D cell culture to mimic the 3D architecture of tissues and provide more accurate information about tumor cells, extracellular matrix (ECM), and tumor characteristics. These scaffolds are based on synthetic polymers or ECM components and can promote the signaling pathways, survival, and proliferation of cancer cells. Natural and synthetic polymers, hydrogels and microspheres can be used to make 3D scaffolds. 3D cancer cell culture technology can improve cancer treatment. This review article discusses recent advances in the field of scaffold-based 3D models in cancer tissues.

Keywords: three-dimensional cell culture, scaffold, cancer, hydrogel, extracellular matrix, tissue engineering, microfluidic systems, 3D printing, microspheres, organoid

J Mazandaran Univ Med Sci 2023; 33 (222): 185-213 (Persian).

Corresponding Author: Mozhgan Abasi - Faculty of Advanced Technologies in Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran **and Pedram Ebrahimnejad** - Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran. (E-mail: mozhgan.abasi@yahoo.com, pedram.ebrahimnejad@gmail.com)

توسعه داربست‌های مهندسی بافت به منظور کشت سلول‌های سرطانی

سیده مریم ولی زاده اطاقسرا^۱

حسن داریوش نژاد^۲

امیر ملتی^۳

الهام حسن زاده^۳

مژگان عباسی^۳

پدرام ابراهیم نژاد^۴

چکیده

تکنیک کشت سلول یکی از ابزارهایی است که در مطالعات زیست سلولی و مولکولی مانند کشت سلول‌های سرطانی، پزشکی بازساختی و طراحی دارو مورد استفاده قرار می‌گیرد. در سال‌های اخیر، کشت سلول سه بعدی در تحقیقات سرطان مورد توجه قرار گرفته است. داربست‌ها، ساختارهای متخلخلی هستند که در کشت سلول سه بعدی استفاده شده و توانایی شبیه‌سازی محیط سه بعدی بافت‌های سرطانی را دارند و اطلاعات دقیق تری از بهمکنش سلول‌های توموری، سلول با ماتریکس خارج سلولی و همچنین ویژگی‌های توموری می‌دهند. این داربست‌ها بر پایه پلیمرهای سنتزی و یا اجزای ماتریکس خارج سلولی هستند و می‌توانند مسیرهای پیام‌رسانی، بقا و تکثیر سلول‌های سرطانی را تقویت کنند. پلیمرهای طبیعی و سنتزی، هیدروژل‌ها، میکروسفرها می‌توانند برای ساخت داربست‌های سه بعدی مورد استفاده قرار گیرند. تکنولوژی کشت سلول‌های سه بعدی سرطان می‌تواند باعث پیشرفت در مسیر درمان سرطان شود. این مقاله مروری به پیشرفت‌های اخیر در حوزه مدل‌های سه بعدی مبتنی بر داربست در بافت‌های سرطانی اشاره می‌کند.

واژه‌های کلیدی: کشت سه بعدی، داربست، سرطان، هیدروژل، ماتریکس خارج سلولی، مهندسی بافت، سیستم‌های میکروسیالی، چاپگرهای ۳ بعدی، میکروسفر، ارگانوئید

مقدمه

از دهه‌های گذشته استفاده از کشت دو بعدی سلول (Two-dimensional (2D) cell culture) مرسوم بوده است (۲،۱). اغلب سلول‌ها در محیط *In vitro* در مدل‌های دو بعدی کشت سلولی در پلیت‌هایی از جنس پلی‌استیرن و سطوح شیشه‌ای کشت داده می‌شدند (۵-۳). امروزه مدل‌های پیشرفته کشت سلولی سه بعدی (Three-dimensional (3D) cell culture) به‌عنوان داربست‌های سلولی استفاده می‌شود. داربست‌ها ساختارهایی هستند که در تکنیک کشت سلول سه بعدی و مهندسی بافت از آن‌ها استفاده می‌شود. کشت سلولی سه بعدی برای مطالعات درباره‌ی مورفولوژی، تمایز و تکثیر سلولی، پاسخ به محرک‌ها و متابولیسم داروها استفاده می‌شود (۶،۷).

از دهه‌های گذشته استفاده از کشت دو بعدی سلول (Two-dimensional (2D) cell culture) مرسوم بوده است (۲،۱). اغلب سلول‌ها در محیط *In vitro* در مدل‌های دو بعدی کشت سلولی در پلیت‌هایی از جنس پلی‌استیرن و سطوح شیشه‌ای کشت داده می‌شدند (۵-۳). امروزه مدل‌های پیشرفته کشت سلولی سه بعدی

مؤلف مسئول: مژگان عباسی - ساری: کیلومتر ۱۷ جاده فرح‌آباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم، دانشکده فناوری‌های نوین پزشکی E-mail: mozhgan.abasi@yahoo.com

و پدرام ابراهیم نژاد - ساری: کیلومتر ۱۷ جاده فرح‌آباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم، دانشکده داروسازی E-mail: pedram.abrahimnejad@gmail.com

۱. دکتری تخصصی بیوتکنولوژی پزشکی، دانشکده فناوری‌های نوین، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۲. استادیار، گروه آموزشی زیست فناوری پزشکی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، لرستان، ایران

۳. استادیار، گروه آموزشی مهندسی بافت و سلول‌های کاربردی، دانشکده فناوری‌های نوین پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۴. دانشیار، گروه فارماسیوتیکس، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۱/۲۴ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۴۰۱/۱۲/۱ تاریخ تصویب: ۱۴۰۲/۲/۳۰

in vitro، مدل‌های حیوانی و کارآزمایی‌های بالینی می‌باشد (۲۵،۲۴،۹). به دلیل عدم شبیه‌سازی TME در کشت دو بعدی و مدل‌های حیوانی، هم‌چنین هزینه بالای این مدل‌ها، این دو مدل امروزه کم‌تر مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۳). به همین دلیل انواع داربست‌های سه بعدی برای تحقیقات سرطان مورد توجه قرار گرفته‌اند (۲۶). تفاوت‌های کشت سلولی در محیط دو بعدی و محیط سه بعدی در جدول شماره ۱، آورده شده است.

امروزه از داربست‌های مختلف مهندسی بافت برای مدل‌سازی تومورهای انسانی در شرایط in vitro استفاده می‌شود (تصویر شماره ۱) (۳۹،۳۸).

خواص شیمیایی و فیزیکی مواد تشکیل دهنده داربست بر روی ویژگی‌های سلول تأثیر می‌گذارد، بنابراین در هنگام انتخاب یک داربست برای یک کاربرد خاص باید ویژگی‌های فیزیکی مواد مثل میزان تخلخل، پایداری، زیست تخریب‌پذیری، زیست سازگاری و امکان اتصال سلول را در نظر گرفت (۴۱،۴۰). هیدروژل‌ها، میکروذرات‌ها و سایر داربست‌های پلیمری انواعی از داربست‌های سه بعدی مورد استفاده در تحقیقات سرطان می‌باشند (۴۲). کشت سه بعدی هم‌چنین شرایط لازم برای تجمع سلول‌ها و ایجاد ساختار اسفروئیدی که برای بررسی سلول‌های سرطانی استفاده می‌شود را ایجاد می‌کند (۴۴،۴۳). در این مقاله مروری پیشرفت‌های اخیر در حوزه مدل‌های سه بعدی مبتنی بر داربست‌های مهندسی بافت در حوزه سرطان مورد بررسی قرار گرفته است که می‌تواند به دست آوردهای شگرفی در درمان سرطان منجر شود.

در محیط بدن، سلول‌های سرطانی با ماتریکس خارج سلولی (Extracellular matrix: ECM)، برهمکنش دارند. مولکول‌های ECM شامل پروتئین‌ها، گلیکوپروتئین‌ها، پروتئوگلیکان و فاکتورهای رشد مختلفی می‌باشد (۸-۱۰). سلول‌ها در محیط سه بعدی نسبت به محیط دو بعدی به دلیل برهمکنش با ECM و تفاوت در ریزمحیط توموری (Tumor microenvironment: TME) در تکتیر، مقاومت دارویی، متابولیسم و بیان گیرنده‌های سطحی تفاوت دارند (۱۱-۱۶). به طور مثال سلول‌های محیط کشت دو بعدی به دلیل عدم شبیه‌سازی TME و تفاوت در گیرنده‌های سطحی سلول نسبت به داروها حساس‌تر هستند و به داروهای مختلف به طور متفاوتی پاسخ می‌دهند (۱۷-۲۰). TME از سلول‌های سرطانی، فیبروبلاست‌های مرتبط با سرطان (cancer-associated fibroblasts: CAFs)، سلول‌های اندوتلیال، رگ‌های خونی و سلول‌های ایمنی تشکیل شده است که در ECM تعبیه شده‌اند و بر روی رشد سلول‌ها اثر می‌گذارد (۲۲،۲۱). فناوری‌های کشت سلول مبتنی بر داربست، ساختارهایی را ایجاد می‌کنند که TME را شبیه سازی کرده تا سلول‌ها بتوانند رشد، مهاجرت و تمایز پیدا کنند (۲۰). مدل‌های کشت سلول سه بعدی نسبت به مدل‌های کشت سلول دو بعدی ریزمحیط سلول‌های سرطانی را به طور صحیح‌تری نشان می‌دهند و دارای دسترسی محدودتر به فاکتورهای رشد و اکسیژن می‌باشد (۲۳). تحقیقات در زمینه سرطان شامل کشت دو بعدی و سه بعدی سلول‌های سرطانی در محیط

جدول شماره ۱: تفاوت کشت سلولی دو بعدی و سه بعدی

ویژگی‌های مهم	کشت سلول دو بعدی	کشت سلول سه بعدی	منبع
محل رشد سلول‌ها	در فلاسک سلولی و اتصال به سطح پلاستیکی کشت داده می‌شوند.	سلول‌ها در پلیت‌های Tnon-adherent در مواد ژل مانند و یاد داربست‌ها کشت داده می‌شوند.	(۲۸،۲۷،۸)
دسترسی به مواد غذایی	سلول‌ها در معرض میزان زیادی از اکسیژن، مواد مغذی و متابولیت‌ها و مولکول‌های پیام‌رسان قرار دارند.	سلول‌ها مانند شرایط in vivo به صورت متغیر به اکسیژن، مواد مغذی، متابولیت‌ها و مولکول‌های پیام‌رسان دسترسی دارند.	(۲۹،۲۷،۸)
نوعی ارتباط سلول‌ها	سلول‌ها در توده توموری فاقد اتصالات سلول-سلول و سلول-ECM اند.	سلول‌ها با یکدیگر و با ECM در ارتباطاتند.	(۳۰-۳۲)
متابولیسم و حساسیت به داروها	سلول‌ها معمولاً مقاومت کمی به داروها دارند. داروها به خوبی متابولیزه نمی‌شوند.	سلول‌ها مقاومت بیشتری به داروها نشان می‌دهند. داروها کمی بهتر متابولیزه می‌شوند. هم‌چنین اثرات داروها به صورت درستی نشان داده می‌شوند.	(۳۴،۳۳،۱۶)
تکتیر سلولی	سلول‌ها با سرعت غیرطبیعی و زیاد تکتیر می‌شوند.	براساس نوع سلول و داربست مورد استفاده سرعت رشد متغیر است.	(۳۶،۳۵،۱۶)
آپاپتوز	داروها می‌توانند آپاپتوز را در سلول‌ها تحریک کنند.	سلول‌ها مقاومت بیشتری نسبت به داروهای القاکننده آپاپتوز نشان می‌دهند.	(۳۷)
سطح بیان پروتئین‌ها و ژن‌ها	در مقایسه با شرایط in vivo بیان پروتئین‌ها و ژن‌ها متفاوت است.	بیان پروتئین‌ها و ژن‌ها مشابه با حالت in vivo است.	(۳۶،۱۶)

سنتزی زیست تخریب پذیر که در داربست‌های سه بعدی مورد استفاده قرار می‌گیرند (PCL) Polycaprolactone، (PEG) poly lactic-co-glycolic acid (PLGA)، Poly ethylene glycol (PLA) و poly lactic acid بوده که توسط سازمان غذا و داروی آمریکا برای دارورسانی و استفاده به عنوان مواد ساختاری در بدن انسان مورد تاییداند (۵۹-۵۴). مزیت پلیمرهای سنتزی در دسترس بودن، قیمت کم، مناسب بودن برای بازسازی ساختار مشخصی از بافت در مقیاس بزرگ و انعطاف پذیری آن هاست. هم‌چنین داربست‌های بر پایه پلیمرهای سنتزی مانند Polyvinyl alcohol (PVA) و Polyvinylpyrrolidone (PVP) به دلیل فراهم کردن قدرت مکانیکی و پایداری بیش‌تر نسبت به داربست‌های طبیعی برتری دارند (۶۲-۶۰).

Zhan و همکاران نوعی از داربست حاوی دارو (Drug-eluting) از جنس (polyglycolide-co-trimethylene carbonate (PGA-TMC) و ژلاتین را به‌وسیله تکنیک الکترورسی طراحی کردند و از این داربست برای دارورسانی داروی FOLFIRINOX به سلول‌های سرطانی پانکراس استفاده کردند. بعد از سه هفته، سلول‌های سرطانی پانکراس کشت داده شده روی داربست Drug-eluting در مقایسه با سلول‌های کشت داده شده روی داربست non-eluting و پلیت کشت دو بعدی دچار توقف تکثیر و آپوپتوز شده‌اند. بنابراین داربست Drug-eluting به‌وسیله‌ی القای آپاپتوز در سلول‌های سرطانی پانکراس از تومورزایی جلوگیری کرده است. هم‌چنین استفاده از این داربست به‌دلیل رهایی داروی FOLFIRINOX باعث جلوگیری از متاستاز به سلول‌های کبدی شده است. دارورسانی به وسیله‌ی داربست Drug-eluting موجب کاهش دوز دارو و اثرات جانبی آن و عدم تغییر در کارایی دارو شده است. نتایج این مطالعه می‌تواند یک راهکار مناسب و امید بخش برای درمان سرطان پانکراس بعد از جراحی باشد (۶۳). Rabie و همکاران با استفاده از تکنیک الکترورسی یک داربست نانورشته‌ای موثر و ارزان برای کشت



تصویر شماره ۱: انواع داربست‌های مورد استفاده در مهندسی بافت سلول‌های سرطانی

داربست‌های پلیمری در تحقیقات سرطان

۱- داربست‌های رشته‌ای

داربست‌های مورد استفاده در تحقیقات سرطان می‌بایست شرایط هتروژن TME را شبیه‌سازی کنند. داربست‌های رشته‌ای برای بازسازی ساختار رشته‌ای ECM به کار گرفته می‌شوند (۴۵). داربست‌ها می‌توانند منشأ طبیعی یا سنتزی داشته باشند. داربست‌های متشکل از پلیمرهای طبیعی برای کشت سلول، دارورسانی و بازسازی بافت‌ها استفاده می‌شوند (۴۶، ۴۷). پلیمرهای طبیعی مانند فیبروئین ابریشم (Silk Fibroin: SF)، کلاژن (Collagen)، کیتوزان (Chitosan)، آلژینات (Alginate) و هیالورونیک اسید (Hyaluronic Acid: HA) می‌باشند. این مواد دارای زیست سازگاری زیاد و سمیت کم هستند (۵۱-۴۸). برای ساخت داربست‌های مورد استفاده در کشت سلول‌های سه بعدی از تکنیک‌های Freeze-drying، Solvent-Casting Particulate Leaching، 3Dprinting و الکترورسی (Electrospinning) استفاده می‌شود. در روش الکترورسی که تکنیکی ساده و سریع می‌باشد، از میدان الکتریکی ولتاژ بالا که به یک محلول پلیمری وارد می‌شود، استفاده می‌شود (۵۲، ۵۳). از مهم‌ترین پلیمرهای

EMT و بیان مارکرهای مرتبط با CAFها شده است (۶۶). Polonio-Alcalá و همکاران سلول‌های MDA-MB-231 را روی داربستی از پلیمر PLA کشت دادند. سلول‌ها در مقایسه با کشت دو بعدی میزان رشد بیش‌تری را نشان دادند. هم‌چنین فعال‌سازی STAT3 نیز افزایش داشته که با توانایی خودنوزایی سلول‌های بنیادی سرطان پستان ارتباط دارد (۶۷). داربست‌های رشته‌ای که از ترکیب دو پلیمر ایجاد می‌شوند، برای تحقیق در مورد بسیاری از سرطان‌ها به کار گرفته می‌شود. این داربست‌ها در مقایسه با داربست رشته‌ای سنتزی، ارتباط بین سلول و ECM را بهتر نشان می‌دهد. فیبرونکتین یکی از فراوان‌ترین پروتئین‌های ECM است که در بسیاری از سرطان‌ها افزایش بیان داشته است (۶۸).

Jordahl و همکاران یک داربست شبکه‌ای با استفاده از فیبرونکتین رشته‌ای (fibrillar fibronectin: fFn) و پلیمر PLGA طراحی کردند. سلول‌های سرطانی پستان گرفته شده از بیماران در این داربست کشت داده شدند که نسبت به کشت دو بعدی باعث افزایش تکثیر، مهاجم سلول‌های سرطانی شده است. هم‌چنین با افزایش بیان مارکرهای مزانشیمی و کاهش بیان مارکرهای اپی‌تلیالی، کشت سه بعدی در مقایسه با کشت دو بعدی باعث افزایش القای EMT در سلول‌های سرطانی پستان شده و هم‌چنین به گسترش تعداد سلول‌های سرطانی سینه مشتق شده از بیمار در *in vitro* کمک می‌کند (۶۹).

Lu و همکاران یک داربست ترکیبی رشته‌ای دو عملکردی را با استفاده از تکنیک الکتروروسی طراحی کردند. این داربست از دو بخش (LHAp) layered nanohydroxyapatite و PLGA تشکیل شده و داروی Doxorubicin (DOX) در LHAp قرار داده شده است. به منظور افزایش رشد و چسبندگی سلولی روی داربست، پوششی از جنس Polydopamine (PDA) قرار گرفته است که موجب تشکیل داربست PDA@DH/PLGA می‌شود. این داربست به منظور دستیابی به دو هدف مهار رشد سلول‌های سرطانی استئوسارکوما MG-63 و

سلول‌های سرطانی پستان MCF-7 طراحی کردند. این داربست متشکل از کیتوزان و Poly ethylene oxide بوده است که در دو غلظت C2P1 (2wt% CS) و C4P1 (4wt% CS) سنتز شدند. در طی ۱۴ روز، حیات و تکثیر سلول‌های سرطانی پستان بررسی شدند. سلول‌های MCF-7 در کشت سلولی دو بعدی بعد از ۷ روز شروع به مرگ کرده اما در داربست نانورشته‌ای در هفته‌ی دوم کشت هم‌چنان به تکثیر خود ادامه دادند. سلول‌های MCF-7 کشت شده در داربست C2P1 ابتدا تشکیل اسفروئید داده و در حدود ۱۰ روز بعد با تجمع در کنار هم تشکیل ریز بافت‌های سه بعدی سرطان پستان را دادند. تشکیل خودبخودی ریز محیط سه بعدی یک گام مهم در در ایجاد و غربالگری داروها نیز می‌باشد (۶۴). Permild و همکاران با استفاده از داربست رشته‌ای سه بعدی متخلخل از پلیمر PCL، رشته‌های کلاژن موجود در ECM را شبیه‌سازی کردند. نتایج تست MTT نشان داده است که این داربست‌های رشته‌ای برای سلول‌ها سمیت نداشته‌اند. نتایج آنالیزهای میکروسکوپی نشان دادند که رده سلول‌های طبیعی و سرطانی به درون این داربست نفوذ کرده و تشکیل اسفروئید می‌دهند. با توجه به رشد و تکثیر مناسب سلول‌ها در این داربست‌ها، این مدل کشت سه بعدی می‌تواند برای همکشتی سلول‌های سرطانی و طبیعی به منظور بررسی اثر سلول‌های استرومایی روی پیشرفت سرطان نیز استفاده شود (۶۵). Dondajewska و همکاران رده سلول‌های سرطانی پستان موشی EMT6 و سلول‌های فیبروبلاست موشی NJH3T3 را روی داربست رشته‌ای از جنس فیبروئین ابریشم کشت دادند. این پلیمر توانایی زیست سازگاری و زیست تخریب‌پذیری را دارد. نتایج آنالیز بیان ژن‌های تکثیری و تست Almar Blue نشان می‌دهند که سلول‌های سرطانی در اثر همکشتی با سلول‌های فیبروبلاست رشد کم‌تری در مقایسه با رشد سلول‌های سرطانی به صورت جداگانه نشان می‌دهند. همکشتی سلول‌ها در مقایسه با کشت سلول‌های سرطانی در مدل دو بعدی باعث القای ژن‌های درگیر در

نتایج این مطالعه نشان دادند فیروبلاست‌ها به وسیله تولید سایتوکاین‌های TGF- β و IL-10 می‌توانند فعال شدن سلول‌های T را مهار کنند. هم‌چنین میزان تولید سایتوکاین TNF- α به‌عنوان فعال‌کننده سلول‌های T در همکشتی سه نوع سلول با هم در مقایسه با همکشتی سلول‌های T و سلول‌های توموری پستان کاهش می‌یابد. این نتیجه نشان‌دهنده این است که فیروبلاست‌ها باعث سرکوب سیستم ایمنی می‌شوند. این داربست می‌تواند باعث شناسایی عملکرد TAFها در تنظیم پاسخ ایمنی در سرطان سینه شود (۷۲). داربست CA به‌دلیل زیست‌سازگاری و عدم تحریک سیستم ایمنی اجزای پلیمری خود می‌تواند به‌عنوان یک داربست مناسب مورد استفاده قرار گیرد (۷۳). هم‌چنین داربست‌های دو عملکردی در سرطان استخوان دارای دو عملکرد حذف سلول‌های سرطانی و هم‌چنین ایجاد مجدد سلول‌های استخوانی هستند. Hou و همکاران یک داربست دو عملکردی با استفاده از رشته‌های PCL و گرافن (Graphene) برای درمان سرطان استخوان بازسازی آن تولید کردند. گرافن به‌عنوان آنالوگ فیزیکی اجزای ECM مانند رشته‌های کلاژن عمل می‌کنند (۷۴). در این داربست لایه بیرونی PCL و لایه درونی گرافن بوده است. گرافن می‌تواند پشتیبانی فیزیکی را ایجاد کند و بر روی سلول‌های سرطانی استخوان Saos-2 اثر مهارتی دارد. لایه PCL می‌تواند به‌وسیله به‌کارگیری سلول‌ها طبیعی و افزایش اتصالات سلولی، تکثیر و تمایز استخوان را بازسازی کند. این داربست یک رویکرد بالینی جدید برای درمان سرطان استخوان و بازسازی آن می‌باشد (۷۵). FENG و همکاران سلول‌های سرطانی پستان MCF-7 را بر روی داربست رشته‌ای از پلیمر PCL کشت دادند. در این تحقیق مشخص شد که کشت سلول‌ها در این داربست در مقایسه با کشت سلول در پلیت، با افزایش بیان مارکرهای سلول‌های بنیادی OCT3/4 و SOX2 همراه بوده است. هم‌چنین تعداد سلول‌های بنیادی سرطانی تشکیل شده به صورت اسفروئید افزایش پیدا می‌کنند. با توجه به این

هم‌چنین بازسازی مجدد استخوان مورد بررسی قرار گرفته است. پوشش PDA روی داربست موجب افزایش آزادسازی کنترل‌شده‌ی داروی DOX شد که به آزادسازی طولانی مدت دارو کمک کرده و باعث کاهش سمیت دارو بر علیه سلول‌های نرمال می‌شود. هم‌چنین داربست PDA@DH/PLGA باعث افزایش بیش‌تر نوسازی استخوان بعد از Tumorectomy می‌شود. با استفاده از نتایج به‌دست آمده داربست PDA@DH/PLGA یک ماده‌ی زیستی مناسب برای درمان تومور استخوان می‌باشد (۷۰). در مطالعه بعدی این گروه، به منظور بهبود اثرات درمانی، با استفاده از تکنیک الکتروروسی از کمپلکس siRNA علیه Bcl-2 و Polyethyleneimine (PEI) در داربست رشته‌ای DOX@LHAp/PLGA (DOX/HP) به همراه پوشش PDA استفاده کردند. داربست طراحی شده DOX/HPPP/siRNA برای بررسی اثرات سمیت در سلول‌های سرطانی تخمدان ES2 و سرطان پستان MCF-7 استفاده شد. به‌دلیل حضور PEI، رهایی siRNA و DOX وابسته به pH بوده و در pH 5.6 میزان بیش‌تری از داروها آزاد می‌شوند. داربست DOX/HPPP/siRNA اثرات ضدتوموری بیش‌تری علیه سلول‌های سرطانی ES2 و MCF-7 نسبت به داربست DOX/HP در محیط *in vivo* و *in vitro* دارد که نشان‌دهنده‌ی کارایی بیش‌تر استفاده از داروی ترکیبی بر علیه تومور می‌باشد. هم‌چنین این داربست در مدل *in vivo* سمیتی برای اندام‌های حیاتی مانند کبد، قلب و شش ندارد و یک سیستم دارورسانی کاملاً ایمن و موثر برای عدم عود مجدد تومور بعد از جراحی تومور می‌باشد (۷۱). Phan-Lai و همکاران به منظور بررسی ارتباط و برهمکنش سلولی بین لنفوسیت‌های T، سلول‌های توموری پستان موشی و فیروبلاست‌های مرتبط با سرطان (Tumor-associated fibroblasts: TAF)، از داربست رشته‌ای ترکیبی کیتوزان و آلژینات (chitosan-alginate: CA) استفاده کردند. در این داربست سلول‌ها به‌صورت همکشتی کشت داده شدند.

نقش مهمی در فرایند EMT ایفا می‌کند (۸۵-۸۳). هیدروژل سنتزی می‌تواند از پلیمرهای PLA, PVA, PEG, Poly PHEMA (hydroxyethyl methacrylate), (PAA) Polyacrylic acid و هم‌چنین از ژلاتین متیل-آکریلامید (Gelatin methacryloyl (GelMA ساخته شوند که در طی فرآیند سنتز این هیدروژل‌ها، قابلیت کنترل کردن مواد وجود داشته و می‌توان ویژگی‌های هیدروژل‌ها را تنظیم کرد (۱۶، ۷۸، ۸۶). این هیدروژل‌ها ارزان بوده و مواد سازنده آن‌ها تخریب پذیرند (۸۷، ۸۸). GelMA و ماتریژل هیدروژل‌هایی هستند که باعث تقویت تکثیر سه بعدی سلول‌های سرطانی شده و اجازه‌ی نفوذ مواد مغذی را به درون شبکه‌ی پلیمری می‌دهند (۸۹، ۹۰). هیدروژل‌ها به دلیل دارا بودن خواصی مانند زیست سازگاری و چسبندگی معمولاً باعث ایجاد شکل‌های مختلف سلولی مانند اسفروئیدها می‌شود که این اشکال در محیط‌های *in vivo* دیده می‌شوند (۹۱). Chittasupho و همکاران از هیدروژل ساخته شده از ژلاتین و همکاران Sodium carboxymethyl cellulose (SCMC) برای دارورسانی DOX به سلول‌های سرطانی ریه A549 استفاده کردند. SCMC یک پلی‌ساکارید محلول در آب تغییر شکل یافته است که به‌طور گسترده برای دارورسانی استفاده می‌شود. این داربست هیدروژلی می‌تواند به‌عنوان یک رویکرد برای دارورسانی به سلول‌های سرطانی ریه مورد استفاده قرار گیرد (۹۲). Pal و همکاران سلول‌های سرطانی معده MKN47 و سلول‌های سرطانی پستان MDA-MB-231 را روی مدل داربست سه بعدی ترکیبی تشکیل شده از دو ترکیب پلیمر PLGA و هیدروژل GelMA کشت دادند. سلول‌ها رفتار هتروژنی را از خود نشان داده که در آن بعضی سلول‌ها رشد بیش‌تری را نشان دادند، بعضی سلول‌ها دچار EMT شده و تعداد کمی از سلول‌ها فنوتیپ سلول‌های بنیادی سرطانی را نشان دادند. هتروژن بودن سلول‌های کشت داده شده در این داربست، آن را به یک مدل ارزشمند و قابل توجه برای تحقیقات سرطان تبدیل کرده است (۹۳).

که سلول‌های بنیادی سرطانی عامل مقاومت دارویی و عود مجدد سرطان می‌باشد، بنابراین افزایش میزان سلول‌های بنیادی سرطانی نشان‌دهنده‌ی تقویت بدخیمی در این سلول‌ها بوده و این داربست‌ها می‌تواند برای غربالگری داروهای ضد سرطانی و سلول‌های بنیادی سرطانی مورد استفاده قرار گیرند (۷۶).

۲- داربست‌های هیدروژلی

هیدروژل‌ها ساختارهای سه بعدی می‌باشند که از زنجیره‌های پلیمری آبدوست تشکیل شده و دارای ساختار و ویژگی‌های مشخص هستند که از طریق اتصالات بین مولکولی و یا اتصالات عرضی بین رشته‌ای به وجود می‌آیند. انواع مختلفی از هیدروژل‌ها براساس ویژگی‌هایی مانند نوع اتصالات عرضی، منشا پلیمرهای سازنده، روش آماده‌سازی، ساختار فیزیکی و بار آن‌ها وجود دارد (۷۷، ۷۸). به دلیل قابلیت جای دادن فاکتورهای محلول مثل سایتوکاین‌ها، فاکتورهای رشد و شبیه‌سازی محیط ECM، این داربست‌ها برای تحقیقات زیست پزشکی و سرطان کاربرد دارند (۱۶). هیدروژل‌ها می‌تواند طبیعی و یا سنتزی باشند. هیدروژل‌های طبیعی از کلاژن، فیبرینوزن، هیالورونیک اسید، ژلاتین، کیتوزان و ماتریژل ساخته می‌شوند و به دلیل این‌که از منابع طبیعی برگرفته می‌شوند، معمولاً زیست سازگارند، اما می‌تواند به هنگام ورود به بدن پاسخ ایمنی فرد را برانگیزند (۱۸، ۷۹، ۸۰). ماتریژل از کلاژن، لامینین و چندین فاکتورهای رشد تشکیل شده است و گزینه مناسبی برای مطالعه کشت سلول سه بعدی در محیط *in vivo* است (۸۱). پروتئین کلاژن برای ساختار و عملکرد ECM لازم است و به همین دلیل برای کشت سلولی سه بعدی در محیط *in vitro* به‌طور گسترده مورد استفاده قرار می‌گیرد (۸۲، ۸۳). کلاژن از طریق اینتگرین با سلول‌ها برهمکنش داشته و تکثیر، مهاجرت و تمایز سلولی و پاسخ به رویکردهای درمانی از جمله شیمی درمانی، ایمونوتراپی و پرتودرمانی را تنظیم می‌کند و هم‌چنین

Liu و همکاران رده‌های سلولی سرطان تخمدان OV-206 و OV-NC را بر روی داربست هیدروژلی از جنس کلاژن تیپ I کشت دادند و مشاهده کردند که سلول‌ها به تدریج به اسفروئیدهای چند سلولی تبدیل شده و زنده‌مانی سلول‌ها و هم‌چنین بیان مارکرهای EMT مانند ویمنتین، فیرونکتین و N-Cadherin افزایش یافته است. هم‌چنین مسیرهای پیام‌رسانی WNT و TGF- β /SMAD نیز برای القای EMT افزایش یافته است (۹۴). Pradhan و همکاران هیدروژل PEG-fibrinogen را به عنوان یک داربست بالقوه برای کشت سلول‌های سرطانی پستان طراحی کردند. سه رده سلولی سرطان پستان MCF-7، SK-BR-3 و MDA-MB-231 کشت شده در هیدروژل، تکثیر بالا و تغییرات مورفولوژی مانند تغییرات در شکل کلنی و ایجاد فنوتیپ مهاجمی را نشان دادند (۹۵).

Murphy و همکاران از هیدروژل‌های PEG برای کشت سلول‌های سرطان پستان MCF-7 استفاده کردند و آن‌ها را با سلول‌های کشت شده در هیدروژل‌های ماتریژل از نظر زنده‌مانی و چسبندگی مقایسه کردند؛ ولی هیچ‌گونه تفاوتی در آن‌ها مشاهده نشد اما تکثیر سلولی در هیدروژل PEG به‌طور قابل توجهی افزایش یافت (۹۶).

از انواع دیگر هیدروژل‌ها، هیدروژل‌های پپتیدی سنتزی هستند. این هیدروژل‌ها بر پایه پپتیدهای کوچک بوده که می‌توانند به‌عنوان داربست‌های سه بعدی برای مطالعات مهندسی بافت، کشت سلول و دارورسانی مورد استفاده قرار گیرند. یکی از برتری‌های هیدروژل‌های پپتیدی سنتزی امکان ایجاد تغییرات آسان در داربست‌های هیدروژلی به وسیله تغییرات آمینواسیدی، کوتاه کردن توالی پپتیدی و یا افزودن اپی‌توپ‌های عملکردی به زنجیره‌های پپتیدی می‌باشد (۹۸، ۹۷).

هیدروژل‌های سنتزی توانایی برانگیختن پاسخ سلولی شبیه‌سازی صحیح ECM را ندارند. با اتصال کووالانسی یا غیر کووالانسی پپتیدهای متصل شونده سلولی به هیدروژل‌ها، آن‌ها می‌توانند به سلول‌ها متصل شده و پاسخ

سلولی را برانگیزانند (۱۰۱-۹۹). از پپتیدهای متصل شونده به سلول، توالی‌های (YIGSR) Tyr-Ile-Gly-Ser-Arg و (IKVAV) le-Lys-Val-Ala-Val مشتق از لامینین و (LDV) Leu-Asp-Val و (RGD) Arg-Gly-Asp مشتق شده از فیرونکتین می‌باشند (۹۷، ۱۰۲، ۱۰۳). پپتیدهای RGD و YIGSR می‌توانند اتصالات بین سلول و ترکیبات دیگر را تقویت کنند. هم‌چنین پپتید IKVAV می‌تواند باعث تسهیل چسبندگی سلول، رشد تومور و تهاجم آن شود (۱۰۴، ۱۰۵). بعضی از هیدروژل‌های سنتزی پپتیدی از نوع h9e و RADA16، Fmoc-FF، EAK16 و RADA16 می‌باشند که می‌توانند هر کدام به‌عنوان یک داربست سه بعدی بالقوه مورد استفاده قرار گیرند (۱۰۲، ۱۰۸، ۱۰۶). بنابر مطالعه Song و همکاران رده‌های سلولی تخمدان HO-8910PM در هیدروژل‌های پپتیدی RADA16 که از اسید آمینه‌های طبیعی تشکیل شده‌اند، در مقایسه با کشت دو بعدی رشد و تکثیر قابل توجهی را نشان می‌دهند. هم‌چنین این سلول‌ها بیان بالایی از Integrin-b1، E-cadherin و N-cadherin را نشان می‌دهند. سلول‌های کشت شده در این مدل نسبت به مدل دو بعدی مقاومت بیش‌تری را نسبت به داروی Cisplatin نشان می‌دهند (۱۰۹).

Balion و همکاران داربست هیدروژلی از جنس PEG به همراه پپتیدهای (CLP) Collagen-like peptide و پپتیدهای RGD به‌عنوان شبیه‌ساز فیرونکتین و یا IKVAV به‌عنوان شبیه‌ساز لامینین را تولید کردند. سلول‌های گلیوبلاستوما انسانی HROG36، سلول‌های سرطان ملانوما انسانی A375 و سلول‌های سرطانی گلیوما رت C6 بر روی این هیدروژل‌ها کشت داده شدند. نتایج نشان دادند هیدروژل PEG-CLP-RGD در مقایسه با داربست PEG-CLP باعث افزایش تهاجم و تکثیر سلول‌های HROG36 و A375 می‌شود. هم‌چنین هیدروژل PEG-CLP-IKVAV در مقایسه با داربست PEG-CLP موجب افزایش رشد و تکثیر سلول‌های سرطانی گلیوما رت C6 می‌شود. این مطالعه نقش پپتیدهای مختلف را در میزان تکثیر و تهاجم سلول‌های سرطانی نشان می‌دهد

که منعکس کننده نقش ECM در میزان رشد سلول‌های توموری می‌باشد (۱۱۰).

دارورسانی به وسیله حامل‌های هیدروژل‌های تزریقی: بر اساس پاسخ به محرک‌های بیرونی، هیدروژل‌ها به دو دسته‌ی هیدروژل‌های ساده و هیدروژل‌های هوشمند تقسیم‌بندی می‌شوند (۱۱۱). هیدروژل‌های ساده به تغییرات محیطی حساس نیستند اما هیدروژل‌های هوشمند به عواملی مانند نور، دما، pH و الکتروسیته حساسیت نشان می‌دهند (۱۱۲). هیدروژل‌های حساس به دما مانند هیدروژل‌های بر پایه هیالورونیک اسید (HA)، PEG، PLGA، PEG-PCL-PEG (PECE) و کوپلیمر PECT می‌باشند. این نوع هیدروژل‌ها در دارورسانی اهمیت و کاربرد زیادی دارند (۱۱۳، ۱۱۴). هیدروژل‌های تزریقی با تحریک محرک‌های خارجی دچار تغییر حالت شده و به حالت ژل در می‌آیند و می‌توانند داروهای ضد سرطانی را آزاد کنند (۱۱۵). داروهای شیمی درمانی، آنتی‌بادی‌های مونوکلونال و سایتوکاین‌ها از جمله داروهایی هستند که توسط هیدروژل‌ها به وسیله‌ی تزریق سرنگ وارد محل هدف می‌شوند. از محدودیت‌های این سیستم می‌توان به عدم کارایی مناسب درمانی این سیستم دارورسانی در سرطان‌های متاستازی و سرطان‌هایی که دارای عود مجدد می‌شوند، اشاره کرد. این سیستم‌های درمانی بیش‌تر محدود به مراحل ابتدایی سرطان‌ها می‌شوند (۱۱۶). داروها در دارورسانی مرسوم نیاز به دوز بالا و تکرار تزریق دارد، به همین دلیل شیوه‌های نوین دارورسانی مانند استفاده از حامل‌های پلیمری در دارورسانی مورد توجه قرار گرفته‌اند. هیدروژل‌ها آزادسازی داروها را به صورت دقیق کنترل کرده و باعث انتقال هدفمند دارو می‌شوند (۱۲۰-۱۱۷).

Pesoa و همکاران داروی Paclitaxel (PTX) را با استفاده از میکروذرات PLGA و هیدروژل کیتوزان به بافت سرطانی پستان موشی M23-4p در مدل حیوانی به صورت درون توموری تزریق کردند. میزان سمیت دارو

بر مدل حیوانی و اثر آن بر حجم تومور با استفاده از اندازه‌گیری زنده مانی، وزن حیوان و حجم تومور آن بررسی شد. نتایج نشان دادند که تزریق درون توموری میکروذرات حاوی داروی PTX در مقایسه با تزریق دارو به صورت جداگانه باعث افزایش مدت زنده مانی و کاهش حجم تومور در مدل حیوانی شده است. این ترکیبات هیدروژلی در کنار داروی PTX باعث دارورسانی به شیوه کنترل شده می‌شود و در مقایسه با تزریق دارو همراه با هیدروژل کیتوزان اثر طولانی مدت دارو را سبب می‌شود (۱۱۹، ۱۲۱).

Sheu و همکاران دو داروی DOX و Docetaxel (DOC) را به صورت دارورسانی همزمان توسط هیدروژل حساس به حرارت از جنس هیالورونیک اسید به مدل حیوانی سرطانی کولورکتال CT-26 به صورت درون توموری تزریق کردند. با اندازه‌گیری حجم تومور و وزن مدل حیوانی، تزریق دو دارو به صورت همزمان در مقایسه با تزریق جداگانه داروها باعث کاهش حجم تومور و افزایش کارایی این سیستم دارورسانی می‌شود. هم‌چنین با بررسی میزان غلظت دارو در اندام‌های حیاتی بدن مدل حیوانی مشاهده شده است که اثرات جانبی داروها بعد از تزریق همزمان دو دارو در مقایسه با تزریق جداگانه داروها کاهش می‌یابد (۱۲۲). Huang و همکاران داروی DOX را با استفاده از هیدروژل PECT در دو محیط *in vitro* و *in vivo* به بافت‌های سرطانی HepG2 تزریق کردند. بعد از تزریق هیدروژل PECT حاوی DOX به سلول‌های توموری، با استفاده از تست CCK-8 در محیط *in vitro* تعداد سلول‌های سرطانی در مقایسه با تزریق دارو به طور جداگانه، به میزان زیاد کاهش یافته که نشان‌دهنده دارورسانی موثر و آزادسازی پیوسته این دارو در اطراف بافت توموری است. هم‌چنین در طی ۳۰ روز اندازه تومور در مدل حیوانی ایجاد شده با تزریق هیدروژل حاوی دارو در مقایسه با سلول‌هایی که داروی DOX را به صورت جداگانه دریافت کردند به مقدار زیادی کاهش پیدا کرده است.

این شیوه‌ی درمانی می‌تواند یک راه امید بخش برای درمان سرطان باشد (۱۲۳، ۱۲۴).

۳- ارگانوئیدها

ارگانوئیدها (Organoid) ساختار و تجمعات چند سلولی سه بعدی هستند که دچار فرایند خود سازماندهی و خود بازآرایی شده و پیچیدگی‌های ساختاری و عملکردی بافتی که از آن مشتق شده‌اند را شبیه‌سازی می‌کنند. این ساختارها از انواع سلول‌های بنیادی، سلول‌های سرطانی، سلول‌های پیش‌ساز و سلول‌های تمایز یافته تشکیل می‌شوند و کاربردهای مهمی در کشف دارو، پزشکی شخصی و سلول درمانی دارند (۴۱، ۱۳۰-۱۲۵). ارگانوئیدها به‌طور معمول در داربست‌هایی از جنس هیدروژل مانند ماتریژل‌ها کشت داده می‌شود و برای مطالعه تکامل و بیماری‌های انسانی استفاده می‌شوند (۱۳۱، ۱۳۲). علاوه بر ارگانوئیدها، ساختاری سه بعدی به نام توموروئید وجود دارد که از بافت‌های سرطانی بیمار مشتق می‌شوند. این ساختارهای شبه توموری می‌توانند یک شرایط مناسب برای کشت سه بعدی سلول‌های سرطانی برگرفته از فرد بیمار را ایجاد کنند که توانایی کشت طولانی مدت را داشته و برای مطالعات ژنتیکی و حساسیت داروها مناسب است (۱۳۶-۱۳۳). در حال حاضر مدل‌های ارگانوئید مختلفی برای مطالعه بر روی سرطان‌های مختلف مانند پستان، کبد، ریه، پروستات، معده، کولورکتال، تخمدان، سر و گردن، پانکراس وجود دارد (۱۳۵، ۱۴۹-۱۳۷).

Kazama و همکاران از نمونه‌های جراحی شده‌ی کلیه‌ی توموری، مدل توموروئید را ایجاد کردند و نشان دادند که بافت‌های توموری کلیه بیماران مبتلا به سرطان و توموروئیدهای برگرفته از آن از لحاظ بافت شناسی، برهمکنش‌های سلولی و تغییرات ژنتیکی مانند جهش در ژن Bcl-2 شباهت‌های زیادی به هم دارند. هم‌چنین این توموروئیدها به‌عنوان مدل‌های شبیه‌ساز بیماری، پاسخ‌های متفاوتی به داروهای ضد سرطانی مانند pazopanib و cabozantinib می‌دهند. این رویکرد جدید به آزمایش

گزینه‌های درمانی در پزشکی شخصی بیماران مبتلا به سرطان کمک خواهد کرد (۱۵۰).

Ravi و همکاران داربست رشته‌ای به نام 3P تشکیل شده از پلیمرهای PLA، PLGA و (mPEG) mono-methoxypolyethylene glycol را به‌وسیله‌ی تکنیک الکتروریسی طراحی کردند. سلول‌های سرطانی ریه، پروستات، پستان، تخمدان و ملانوما روی این داربست کشت داده شدند و تشکیل تجمعی از سلول‌های توموری را داده‌اند. این داربست‌ها ECM را شبیه‌سازی کرده که باعث تسهیل تشکیل توموروئید می‌شود. هم‌چنین توموروئیدهای تشکیل شده در مقایسه با سلول‌های سرطانی کشت داده شده در کشت دو بعدی در مقابل داروهای ضد سرطانی مقاومت بیش‌تری نشان می‌دادند. داربست 3P باعث القای EMT به‌وسیله افزایش بیان ویمنتین و کاهش بیان E-cadherin در سلول‌های سرطانی شده است. این داربست به‌عنوان یک بستر مناسب برای کشت بیوپسی‌های بیماران سرطانی، درمان شخصی بیماران و هم‌چنین آزمایشات داروهای ضد سرطانی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۵۱). Nanki و همکاران ارگانوئیدهایی از زیرگونه‌های مختلف سرطان تخمدان را در ماتریژل کشت دادند. این ارگانوئیدها از بیماران مبتلا به سرطان تخمدان گرفته شد و میزان جهش‌ها و ویژگی‌های بافت شناسی آن‌ها با تومورهای اصلی مقایسه شدند. نتایج نشان دادند تومورهای هر زیرگونه و ارگانوئید برگرفته از آن تغییرات ژنتیکی یکسانی را دارا می‌باشند. هم‌چنین با استفاده از رنگ آمیزی H&E مشخص شد که تومورها و ارگانوئیدهای مربوط به آن ویژگی‌های بافت شناسی مشابهی دارند. با توجه به این که پاسخ‌های افراد مبتلا به سرطان به داروهای شیمی درمانی متفاوت است، ارگانوئیدهای حاصل از تومورهای فرد می‌تواند برای غربالگری دارو بسیار حائز اهمیت باشد. در این مطالعه میزان مقاومت دارویی ارگانوئیدهای حاصل از زیرگونه clear cell (CCC-1) سرطان تخمدان به داروی paclitaxel نسبت به ارگانوئیدهای سایر

زیرگونه‌ها بیش تر بوده است. از محدودیت‌های ارگانوئیدها می‌توان به عدم حضور ریزمحیط توموری مانند سلول‌های ایمنی، رگ‌های خونی و فیروبلاست‌ها اشاره کرد (۱۴۴).

Zou و همکاران ارگانوئیدهای برگرفته از تومور بیماران مبتلا به سرطان معده را در ماتریکل کشت دادند. از لحاظ بافت شناسی، تومورهای بیماران و ارگانوئیدهای برگرفته از آن ویژگی‌های بافت شناسی مشابهی را نشان می‌دهند. هم‌چنین با استفاده از رنگ آمیزی، مارکرهای توموری اولیه مانند E-cadherin و LGR5, Ki-67, CEA در ارگانوئیدها، همانند تومورهای اولیه وجود دارد. هم‌چنین نشان داده شد داروی Paclitaxel به فرم لیپوزومی Lipo-PTX در مقایسه با فرم متصل شده به آلبومین Albu-PTX باعث مرگ بیش تر سلول‌ها در ارگانوئید می‌شود. به منظور تایید این فرایند، این دارو در مدل حیوانی سرطانی معده نیز مورد آزمایش قرار گرفت و مشخص شد داروی Lipo-PTX باعث کاهش حجم تومور و افزایش سلول‌های آپاپتوتیک شده است. این نتایج نشان‌دهنده‌ی این است که تشکیل ارگانوئید از سلول‌های سرطانی بیمار می‌تواند یک مدل مشابه با شرایط *in vivo* باشد و استفاده از ارگانوئیدها برای مدل‌سازی بیماری‌ها و انجام تست‌های حساسیت و مقاومت داروها بسیار امید بخش خواهد بود (۱۴۱). Schuth و همکاران ارگانوئیدهای حاصل از تومورهای جراحی شده بیماران مبتلا به سرطان پانکراس را در کنار CAFs به صورت همکشتی در ماتریکل کشت دادند و اثرات CAFs بر ارگانوئید را مورد بررسی قرار دادند. نتایج این مطالعه نشان داد که میزان رشد و تکثیر ارگانوئیدها به صورت همکشتی در مقایسه با کشت جداگانه ارگانوئید افزایش یافته است. هم‌چنین میزان مقاومت دارویی ارگانوئیدهای هم کشت با CAFs نسبت به داروهای PTX, gemcitabine و 5-fluorouracil در مقایسه با ارگانوئیدهایی با کشت جداگانه افزایش یافته است. بنابراین نتایج نشان داد CAFs باعث افزایش رشد و

تکثیر ارگانوئیدهای پانکراس و مقاومت دارویی آن‌ها به داروهای شیمی درمانی شده است. این مدل کشت سه بعدی با همکشتی سلول‌های سرطانی و سلول‌های استرومایی برای مدل سازی برهمکنش‌های سلول-استروما مفید بوده و می‌تواند در تحقیقات مربوط به بررسی اثر داروها بر ریز محیط توموری نیز مورد استفاده قرار گیرد (۱۴۷).

۴- میکروسفرها (Microspheres)

میکروسفرها میکروذرات متخلخل و کروی هستند که قطری بین ۱ تا ۱۰۰۰ میکرومتر دارند که می‌توانند داروها و سلول‌ها را در خود جای دهند و محیط سه بعدی طبیعی بدن را شبیه‌سازی کنند. میکروسفرها به همین دلیل برای مدل‌سازی سلول‌های توموری، مهندسی بافت و بازسازی بافت‌ها می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد (۱۵۲، ۱۵۳). پلیمرهای PLGA و PLA برای ساخت ماتریکس میکروسفرها استفاده می‌شوند (۱۵۴، ۱۵۵). ساخت داربست‌های میکروسفری با افزایش نسبت سطح به حجم و ایجاد حفرات یکسان و مرتبط همراه است (۱۵۶). میکروسفرها تکثیر، چسبندگی، نفوذ و تولید ECM توسط سلول‌ها را تقویت می‌کنند (۱۵۷).

Kuriakose و همکاران از داربست‌های متخلخل و داربست غیرمتخلخل بر پایه میکروذرات (PLGA) poly lactic-co-glycolic acid برای رشد سلول‌های سرطانی ریه A549 استفاده کردند. میکروذرات PLGA با ذرات ژلاتین یا sodium bicarbonate (SBC) یا polyN-isopropylacrylamide (PNIPAAm) ترکیب شدند. هر سه این مواد پایدار و زیست تخریب پذیرند. با استفاده از رنگ آمیزی DAPI و مشاهدات میکروسکوپ SEM و هم‌چنین شمارش سلول‌های روی داربست‌ها، میکروذرات متخلخل PLGA-SBC اتصال بهتر سلول‌های سرطانی به داربست را نشان می‌دهد. هم‌چنین نتایج تست MTS نشان داده است که سلول‌های کشت داده شده روی داربست PLGA-SBC میزان تکثیر سلولی بیش تری

موش انتقال دادند. با استفاده از این داربست سلول‌های CAR T وارد سلول‌های توموری شده و تومور در معرض غلظت بالایی از سلول‌های ایمنی قرار گرفت و موجب از بین رفتن سلول‌های سرطانی می‌شود. استفاده از این داربست باعث کاهش حجم تومورها و افزایش بقای موش‌ها شده است (۱۶۰).

۵- داربست‌های سه‌بعدی چاپ شده توسط چاپگرهای زیستی تکنیک چاپ سه‌بعدی (3DP) 3Dprinting ساختارهای سه‌بعدی مختلف را با کمک کامپیوتر طراحی و ایجاد می‌کند. چاپ زیستی سه‌بعدی 3Dbioprinting (3DBP) یکی از کاربردهای این تکنیک است که به کمک آن داربست‌های سلولی مختلف را تولید می‌شود و محیط توموری را شبیه‌سازی می‌کند (۱۶۱). در تحقیقات سرطان، استفاده از این تکنیک توجهات زیادی را به خود جلب کرده است و برتری‌هایی مانند قابلیت ساخت TME در خارج از بدن مانند شرایط *in vivo* را دارد. مدل‌های سه‌بعدی چاپ شده می‌توانند تحت شرایط فیزیولوژیکی متفاوت مانند pH، دما و درجه هیدراتاسیون مختلف ساخته شوند. 3DBP امکان کنترل ژن‌ها، فاکتورهای رشد و دارورسانی را می‌دهد (۱۶۵-۱۶۲). 3DBP شامل سه بخش جوهر زیستی، چاپگر سه‌بعدی و دستورالعمل‌های چاپ زیستی می‌شود. جوهر زیستی متشکل از یک هیدروژل زیست‌سازگار است که سلول‌های زنده موردنظر در آن تعبیه شده‌اند. این داربست‌ها می‌توانند زمینه را برای چسبندگی و رشد سلول‌ها فراهم کنند و سلول‌ها را از آسیب دیدن در طی فرآیند چاپ حفظ کنند (۱۶۸-۱۶۶). وضوح بالا در طی چاپ سه‌بعدی، قیمت ارزان، در دسترس بودن، قابلیت شبیه‌سازی محیط توموری، نفوذپذیری نسبت به اکسیژن و سازگاری ایمنولوژیکی یک جوهر زیستی مناسب برای شبیه‌سازی ریز محیط توموری بسیار مهم و ضروری است (۱۶۹، ۱۷۰). مطالعات نشان داده‌اند که جوهر زیستی هیدروژلی (Ink-RGD) همراه با توالی

نسبت به سایر داربست‌ها نشان داده و تا ۹ روز بعد از کشت سلول‌ها در روی داربست PLGA-SBC مرگ سلول‌های سرطانی مشاهده نمی‌شود. هم‌چنین برای مطالعات غربالگری دارو، سلول‌های A549 در داربست PLGA-SBC کشت داده شدند و در مقایسه با کشت دو بعدی میزان حساسیت دارویی کم‌تری نشان دادند که نشان‌دهنده تفاوت در پاسخ دارویی در مدل‌های دو بعدی و سه‌بعدی می‌باشد (۳). Dhamecha و همکاران میکروسفرهایی متخلخل از جنس PLGA سنتز و برای مدل‌سازی تومور ریه و هم‌چنین آزمایش شش داروی ضد سرطانی استفاده کردند. این میکروسفر دارای تخلخل‌های یکسان بوده و با کلاژن نوع I پوشش‌دهی شده است، این کار باعث تقویت تکثیر و چسبندگی سلول‌های توموری ریه A549 و سلول‌های فیبروبلاست انسانی MRC-5 می‌شود. این میکروسفر می‌تواند محیط توموری مناسبی را برای تحقیقات غربالگری سرطان در محیط *in vitro* ایجاد کند (۱۵۸).

Fan و همکاران از میکروسفرهای ساخته شده از کopolymer (PLA-PEO-PPO-PEO-PLA) یا Curcumin (PLA-F68-PLA) به‌عنوان حامل داروهای DOC و Polyethyleneoxide-polypropylene oxide-poly ethylene oxide در سرطان روده بزرگ استفاده کردند. (PEO-PPO-PEO) یک کopolymer زیست‌تجزیه‌پذیر محلول در آب است که در دارورسانی کاربرد زیادی دارد. این میکروسفر آزادسازی آهسته این دو دارو در محیط *in vitro* را سبب می‌شود که موجب القای آپاپتوز در سلول‌های سرطانی روده CT26 و L292 شده و کاهش تومورزایی می‌شود. بررسی آپاپتوز با استفاده از تست Annexin-V/PI انجام شد که در آن تعداد سلول‌های سرطانی آپاپتوز شده در صورت انتقال دو دارو به‌صورت هم‌زمان بیش‌تر از انتقال دارو به‌صورت جداگانه بوده است (۱۵۹).

Smiths و همکاران سلول‌های (CAR T) Chimeric antigen receptor T را توسط میکروذراتی از جنس آلزینات و PEG به سلول‌های توموری پانکراس

میزان بیان ژن‌های درگیر در تهاجم مانند Matrix Metalloproteinase 2 (MMP-2) و Matrix Metalloproteinase 9 (MMP-9) در دو گروه سلولی کشت داده شده در داربست و کشت دو بعدی متفاوت بوده است (۱۷۷).

Wang و همکاران با استفاده از داربست هیدروژل از جنس ژلاتین و سدیم آلژینات چاپ شده، مکانیسم رنگ‌زایی سلول‌های سرطانی گلیوبلاستوما GSC23 و U118 را بررسی کردند. هر دو رده سلولی توانایی رنگ‌زایی را دارند و با انتقال سلول‌های کشت داده شده در داربست به مدل حیوانی، در شرایط *in vivo* این سلول‌ها توانایی تولید سلول‌های شبه اندوتلیال را نیز داشتند. هم‌چنین سلول‌های GSC23 در مقایسه با U118 توانایی بیش‌تری برای تشکیل اسفروئید و ترشح VEGF را داشتند. این مدل زیستی چاپ شده توانایی شبیه‌سازی ریز محیط توموری را داشته و می‌تواند برای تحقیقات بیش‌تر در زمینه تومور زایی سرطان گلیوبلاستوما مورد استفاده قرار گیرد (۱۶۶).

Kim و همکاران یک مدل داربست سرطان مثانه با استفاده از هیدروژل GelMA و چاپگر زیستی سه بعدی را ایجاد کردند. رده‌های سلولی سرطانی T24 و 5637 که در داربست‌های سه بعدی چاپ شده کشت داده شده‌اند نسبت به کشت دو بعدی سرعت تکثیر و برهمکنش بین سلولی بیش‌تری را نشان می‌دهند. هم‌چنین این سلول‌ها در کشت‌های دو بعدی نسبت به دو داروی Rapamycin و Bacillus Calmette-Guerin (BCG) حساسیت نشان داده و باعث کاهش تکثیر آن‌ها شده ولی در سلول‌های کشت شده در داربست‌های سه بعدی این نتایج را نشان نمی‌دهند. سلول‌ها در داربست‌های سه بعدی مقاومت دارویی بیش‌تر و حساسیت کم‌تری به داروها نشان می‌دهند (۱۶۸).

سیستم‌های میکروسیالی (Microfluidic systems)

سیستم‌های میکروسیال از حفرات زیادی تشکیل شده و جریان مایعات در این حفرات در مقیاس ۱ تا ۱۰۰۰

(Arg-Gly-Asp) می‌تواند برای 3DBP جهت غربالگری داروهای ضد سرطانی DOX، docetaxel (DTX) و Erlotinib در سلول‌های سرطانی ریه و پستان استفاده می‌شود (۱۷۱). 3DBP نسبت به سایر داربست‌های سه بعدی به سرعت در حال پیشرفت است و ریز محیط بافت توموری را تکثیر می‌کند. تکنیک‌های Extrusion-based bioprinting (EBB)، droplet-based bioprinting (DBB) یا ink-jet bioprinting systems و laser-based bioprinting (LBB) سه روش چاپ زیستی هستند که معمولاً مورد استفاده قرار می‌گیرند. تکنیک EBB جریانی پیوسته از جوهرهای زیستی است که به وسیله نیروی موتوری ربات توزیع می‌شود (۱۷۲). تکنیک LBB با استفاده از رسوب جوهرهای زیستی و توسط لیزر انجام می‌شود که پیچیده‌تر بوده و نیاز به ابزار پیشرفته و کنترل بیش‌تر بر روی فرآیند چاپ زیستی دارد (۱۷۳). تکنیک DBB بر اساس رسوب قطرات جوهرهای زیستی تحت تحریک‌های مکانیکی و یا گرمایی می‌باشد (۱۷۴، ۱۷۵).

Ling و همکاران سلول‌های سرطانی پستان MCF-7 را در داربست سه بعدی چاپ شده با استفاده از هیدروژل‌هایی از جنس ژلاتین کشت دادند. داربست‌ها با کمک PEG به شکل چاهک‌های مقعر طراحی شدند. سلول‌های MCF-7 در طی ۷ روز بعد از کشت، در چاهک‌های ساخته شده از جنس هیدروژل تشکیل اسفروئید سلولی می‌دهند. در این مطالعه برای اولین بار از ژلاتین برای ساخت چاهک با هدف تشکیل اسفروئید سلولی استفاده شده است. 3DBP برای تولید کنترل شده چاهک‌ها و تشکیل اسفروئید به صورت در محل استفاده شده است. در ساخت این داربست‌های چاپ شده از تکنیک EBB استفاده شده است (۱۷۶). Wang و همکاران با استفاده از تکنیک EBB داربست سه بعدی چاپ شده را با استفاده از هیدروژل حاوی سلول‌های سرطانی ریه A549/95-D همراه ژلاتین و سدیم آلژینات طراحی کردند. سلول‌ها در محیط سه بعدی داربست‌ها تهاجم بیش‌تری نسبت به محیط دو بعدی نشان دادند. هم‌چنین

میکرومتر کنترل می‌شوند و یکی از ابزارهای جدید برای شبیه‌سازی رفتار سلول در بافت‌های بدن می‌باشند (۱۷۸، ۱۷۹). در این سیستم‌ها از Polydimethylsiloxane (PDMS) به دلیل شفافیت، عدم واکنش پذیری با مواد دیگر و عدم سمیت استفاده می‌شود (۱۸۰). به‌طور کلی این سیستم حاوی کانال‌هایی بوده که امکان بررسی چندین ریز محیط در کنار هم را داشته و به‌صورت دقیق کنترل می‌شود. این سیستم در مقایسه با مدل‌های حیوانی، محیط داخلی بدن را به دلیل ساختار میکرومتری، امکان جریان مایعات و ایجاد تنش برشی پایدار، بهتر نمایش می‌دهد (۱۸۱). هم‌چنین این سیستم توانایی کشت دو یا چند رده سلولی انسانی را به‌صورت هم‌زمان دارد، به‌همین دلیل می‌توان از آن برای مطالعه ارتباطات بین سلولی استفاده کرد. اتصالات سلولی در فرایندهای EMT و آنژیوژنز بسیار مهم هستند بنابراین این سیستم می‌تواند برای مطالعه متاستاز سرطان و برهمکنش بین سلول‌های توموری و سلول‌های هدف مانند سلول‌های ایمنی و سلول‌های استرومایی بسیار نقش مهمی داشته باشد (۱۸۲، ۱۸۳). هم‌چنین سیستم‌های میکروسیالی در مطالعات توموری، آنالیز سلول، فیزیولوژی انسان و مطالعات غربالگری دارو نیز بسیار اهمیت دارند (۱۷۷، ۱۸۴).

Song و همکاران سیستم میکروسیالی متشکل از دو لایه PDMS را برای مطالعه و مدل‌سازی برهمکنش بین سلول‌های سرطانی پستان MDA-MB-231 و اندوتلیوم عروقی طراحی کردند. با استفاده از این سیستم مشخص شد که برهمکنش کموکاین CXCL12 بر روی سلول‌های سرطانی پستان با گیرنده کموکاین CXCR4 بر روی سلول‌های اندوتلیال باعث تقویت چسبندگی سلول‌های سرطانی به اندوتلیوم عروقی می‌شوند (۱۸۵). Menon و همکاران دو رده سلولی استرومای مغز استخوان HS5 و سلول‌های سرطان کبد HuH7 را به‌صورت هم‌کشتی به منظور مطالعه برهمکنش سلول توموری و استروما بر روی سیستم میکروسیالی PDMS پوشیده شده با فیرونکتین و ژلاتین کشت دادند. PDMS یک ماده با خاصیت

آبگریزی زیاد بوده که به دلیل این ویژگی تمایل اتصال این سطوح به سلول‌های زنده پایین است. لایه‌ای از فیرونکتین و ژلاتین به منظور افزایش امکان اتصال به سلول، به PDMS اضافه شده است. بعد از هم‌کشتی و امکان ارتباط فیزیکی بین این دو رده سلولی، سلول‌های سرطانی به سمت سلول‌های استرومایی مهاجرت می‌کنند. بعد از ایجاد برهمکنش، سلول‌های توموری رشد و تکثیر زیاد پیدا کرده و موجب مرگ و کاهش تعداد سلول‌های استرومایی می‌شوند (۱۸۶).

Cho و همکاران برای بررسی اثر سایتوکاین التهابی اینترلوکین 6 (IL-6) بر روی سه رده سلول‌های سرطانی پستان MDA-MB-231، MCF-7 و SK-BR-3 از سیستم میکروسیالی PDMS استفاده کردند. این سیستم میکروسیالی ساختار رگ لنفی-بافت-رگ خونی و فرآیند متاستاز را شبیه‌سازی می‌کند. نتایج نشان دادند سلول‌های سرطانی بعد از این که در معرض اینترلوکین 6 قرار گرفتند، دچار EMT شده و خواص تهاجمی بیش‌تری را نشان داده و باعث افزایش فرآیند رگ‌زایی می‌شوند (۱۸۷).

Anguiano و همکاران یک سیستم میکروسیالی که از هیدروژل‌هایی حاوی کلاژن و ماتریژل بود را طراحی و برای مطالعه تهاجم سلول‌های سرطانی ریه H1299 تحت شرایط مختلف استفاده کردند. در این مطالعه فنوتیپ تهاجمی سلول‌های سرطانی ریه در بستر میکروسیالی حاوی هیدروژل‌ها افزایش یافته است. استفاده از این ابزار اجازه‌ی مطالعه در مورد تهاجم سلول‌های سرطانی در ریز محیط‌های توموری مختلف و تعیین اثر داروهای ضد سرطانی را می‌دهد (۱۸۸). Bersini و همکاران با طراحی سیستم میکروسیالی از جنس PDMS، متاستاز سلول‌های سرطان پستان MDA-MB-231 را به استخوان بررسی کردند. در این مطالعه سلول‌های سرطانی پستان به کانال‌های پوشیده شده با سلول‌های اندوتلیالی وارد شد و میزان تهاجم سلول‌های سرطانی به نواحی حاوی ریز محیط مخصوص سلول‌های استخوانی که شامل

مدل‌های (lung-on-chip) و (bone marrow-on-chip) برای بررسی تهاجم سلول‌های سرطانی به اندام‌های هدف متاستاز استفاده می‌شود (۱۹۵، ۱۹۶). هم‌چنین از تراشه‌های میکروسیالی برای بررسی مراحل متاستاز سرطان مانند مرحله Extravasation، Intravasation، رگ‌زایی و تهاجم سلولی استفاده می‌شود (۲۰۰-۱۹۷). در جدول شماره ۲ معایب و مزایای انواع مختلف داربست‌های مورد استفاده در کشت ۳ بعدی سلول‌های سرطانی، ذکر شده است.

بحث

سرطان هم‌چنان یکی از اصلی‌ترین دلایل مرگ و میر در جهان می‌باشد. به همین دلیل رویکردهای جدیدی برای درک بهتر بیولوژی سرطان و روش‌های درمانی جدید بوجود آمده‌اند. سرطان یک بیماری پیچیده است و درک نحوه برهمکنش سلول‌های توموری با یکدیگر و با سایر سلول‌های استرومایی می‌تواند به ایجاد روش‌های درمانی جدید در درمان سرطان کمک کند. علی‌رغم این که کشت دو بعدی سلول بسیار رایج می‌باشد، به دلیل محدودیت‌های این نوع کشت، امروزه مدل‌های سه بعدی برای کشت سلول در تحقیقات بیولوژی مانند مطالعات فیزیولوژی سلولی، بیان پروتئین‌ها و ژن‌ها، پزشکی بازساختی و سرطان مورد استفاده قرار می‌گیرند. پیشرفت‌های اخیر در حوزه کشت سه بعدی سلول‌ها باعث درک بهتر ارتباط سلول‌های توموری با یکدیگر، ارتباط با سایر سلول‌ها و هم‌چنین ویژگی‌های ریز محیط

ماتریکس کلاژنی و سلول‌های تمایز یافته استخوان بود، بررسی شد. نتایج با رنگ‌آمیزی Ki-67 نشان داد که میزان تکثیر و کلونیزه شدن سلول‌های سرطانی در این سیستم بسیار زیاد بوده است و چرخه سلولی بسیار فعال‌تری را دارا می‌باشند (۱۸۹). اندام تراشه‌ها (Organ-on-chip)، دستگاه‌های میکروسیالی هستند که همراه با سلول یا بافت زنده انسانی برای تولید دارو، مدل‌سازی بیماری‌ها و پزشکی شخصی استفاده می‌شوند. در هر اندام تراشه، کانال‌های میکروسیالی توخالی وجود دارند که در آن‌ها سلول‌های زنده انسانی با عروق مصنوعی در ارتباط هستند و در یک پلیمر انعطاف‌پذیر تعبیه شده‌اند (۱۹۰). اندام تراشه‌ها می‌توانند بر محدودیت‌های اسفروئیدها و مدل‌های ارگانوئیدی غلبه کنند زیرا این مدل‌ها ساختارهای اندام مانند دارند (۱۹۱). دو سیستم تراشه‌های کبدی و تراشه‌های قلبی در زمینه اندام تراشه‌ها بسیار مورد توجه است. تراشه کبدی نقش مهمی در بسیاری از جنبه‌های غربالگری دارو دارد (۱۹۲). وارد کردن بافت‌های سرطانی به درون سیستم‌های میکروفیلوئیدی سیستم شبیه‌سازی سرطان روی تراشه (Cancer-on-chip) را ایجاد می‌کند که می‌تواند باعث بازسازی مجدد TME، تسهیل کارایی داروها و درک بهتر رفتار سرطان در محیط *in vivo* شود (۱۹۳). در تحقیقات سرطان، مدل‌های اندام تراشه‌ها برای متاستاز سرطان به‌عنوان یک روش امیدبخش برای مطالعه سرطان می‌تواند استفاده شود (۱۹۴). به‌دلیل این که استخوان و ریه اندام هدف برای متاستاز هستند،

جدول شماره ۲: معایب و مزایای انواع مختلف کشت ۳ بعدی در تحقیقات سرطان

نوع کشت سه بعدی	محدودیت‌ها	مزایا	منبع
داربست رشته‌ای	عدم متابولیسم مناسب بعضی پلیرها در بدن امکان‌سیت و ایمنوتوزن بودن بعضی پلیرها، ماندگاری بالا در بدن و عدم تجزیه‌ی زودهنگام بعضی پلیرها، عدم امکان اتصالات سلولی در بعضی پلیرها، امکان ایجاد التهاب در بدن	فراوانی، قیمت ارزان، زیست‌تخریب‌پذیری و زیست‌سازگاری بالا، سیت کم	(۲۰۱-۲۰۴)
هیدروژل	نامشخص بودن نحوه آزادسازی و متابولیسم در بدن	توانایی جذب آب بالا، زیست‌سازگاری و زیست‌تخریب‌پذیری بالا، ایجاد مقاومت مکانیکی، شایع‌ترین و زیاده‌ترین به دلیل متخلخل بودن	(۲۰۵، ۲۰۴)
هیدروژل‌های تریقی	کارایی درمانی پیش‌تر در مراحل ابتدایی سرطان و عدم کارایی در مراحل	عدم ایجاد عوارض درمانی، بارگذاری بالای دارو در محل هدف، ورود راحت دارو، تزریق آسان به محل هدف، کنترل رهاسازی دارو به صورت پیوسته و طولانی مدت	(۲۰۷، ۲۰۶)
چاپ سه بعدی	عدم شبیه‌سازی زیاد برهمکنش‌های سلولی، وجود استرس‌های گرمایی و مکانیکی در فرآیند چاپ زیستی	مشابهت زیاد با مدل <i>in vivo</i> اندام زیست‌سازگاری، توانایی مدل‌سازی ریز محیط توموری، عدم وجود خاصیت ایمنوتوزن‌نیه، قابل تغییر بودن	(۲۰۸-۲۱۰)
سیستم‌های میکروسیال	امکان وجود نشت جریان به بیرون از سیستم، فرآیند تولید سخت، زمان بر و گران	بالا بودن سرعت فرآیند، نیاز به مقدار کم نمونه، عدم سمیت سیستم، قابل تغییر بودن سیستم، شفاف بودن سیستم و امکان مشاهده‌ی فرآیند به‌صورت Real-time	(۲۱۱-۲۱۳، ۱۹۹)

موجب می‌شود پاسخ‌های درمانی به داروهای شیمی درمانی در فرد به فرد متغیر بوده که خود باعث تغییر کارایی دارو می‌شود. مدل تومورئید با امکان ایجاد استفاده از سلول‌های توموری خود بیمار و کشت آن در محیط مشابه با شرایط بدن و ایجاد تومور، امکان آزمایش داروهای مختلف و غربالگری دارو را می‌دهد تا به وسیله‌ی آن موثرترین دارو انتخاب و در فرایند درمان فرد استفاده شود و بهترین پاسخ درمانی گرفته شود. با وجود مزیت‌های کشت سلولی مبتنی بر داربست‌ها، از محدودیت‌های این روش‌ها می‌توان به گران بودن فرآیند تولید، یافتن روش و مواد مناسب برای سنتز داربست‌ها، توانایی این داربست‌ها در نشان دادن هتروژن بودن تومور، شبیه‌سازی کامل ریز محیط توموری و نشان دادن تغییرات ژنتیکی تومورها مانند جهش‌ها نام برد. با این وجود، مدل‌های کشت سلولی سه بعدی با فراهم کردن شرایط رشد مشابه ریز محیط توموری می‌توانند در درک مسیرهای پیام‌رسانی دخیل در ایجاد و پیشرفت سرطان کمک کنند. در این مقاله مروری بر انواع داربست‌های سه بعدی در کشت سلول‌های سرطانی و مثل‌هایی از کاربرد آن‌ها، بررسی برهمکنش‌های سلولی در سلول‌های سرطانی و اثر داروهای مختلف بر رده‌های سلولی سرطانی مختلف تاکید شده است. با وجود محدودیت‌های کشت‌های سه بعدی، تحقیقات بیش‌تری برای از بین بردن این محدودیت‌ها و تلاش در جهت کارایی بیش‌تر این روش‌ها نیاز است.

References

1. Massumi M, Abasi M, Babaloo H, Terraf P, Safi M, Saeed M, et al. The effect of topography on differentiation fates of matrigel-coated mouse embryonic stem cells cultured on PLGA nanofibrous scaffolds. *Tissue Eng Part A* 2012; 18(5-6): 609-620.
2. Massumi M, Abasi M, Babaloo H, Terraf P, Safi M, Saeed M, et al. The effect of topography on differentiation fates of matrigel-coated mouse embryonic stem cells cultured on PLGA nanofibrous scaffolds. *Tissue Eng Part A* 2012; 18(5-6): 609-620.

توموری شده است. داربست‌های سه بعدی در دارورسانی داروهای ضدسرطانی، شناسایی بیومارکرهای سرطان در حوزه تحقیقات سرطان نیز استفاده می‌شود. داربست‌های پلیمری، هیدروژل‌ها و سیستم‌های میکروسیالی به دلیل فراهم کردن شرایطی مشابه شرایط *in vivo* و شبیه‌سازی ساختار ECM رویکرد مناسب و ایده‌آلی برای تحقیقات سرطان به شمار می‌آیند. استفاده از چاپگرهای سه بعدی و ادغام آن با کشت سه بعدی سلول، باعث پدید آمدن چاپ زیستی سه بعدی شده که امروزه برای تحقیقات در حوزه سرطان مورد استقبال واقع شده است. انواع کشت سلول سه بعدی به درک بهتری از سلول‌های بنیادی سرطان و سلول‌های گردشی سرطان منجر شده که از جنبه‌های مهم تحقیقات سرطان‌اند و باعث کشف درمان‌های نوین و کارآمد سرطان می‌شوند. یکی از اهداف مهم ایجاد مدل‌های سه بعدی داربست‌ها کمک به عدم عود سرطان بعد از شیمی درمانی و جراحی می‌باشد و انتظار می‌رود با تحقیقات بیش‌تر بتوان از بازگشت مجدد تومور جلوگیری کرد. شیمی درمانی در کنار از بین بردن سلول‌های سرطانی با انتشار دارو به صورت سراسری در بدن باعث ایجاد عوارض در سایر سلول‌های سالم می‌شود. از دیگر مزیت‌های وجود داربست‌ها، امکان انتقال هدفمند دارو به تومور و کمک به آزادسازی دارو به صورت پیوسته می‌باشد تا بتواند از عوارض جانبی ناخواسته جلوگیری شود و دوز داروی سمی نیز کاهش پیدا کند. خاصیت هتروژن تومور و تفاوت ریز محیط توموری در هر فرد با فرد دیگر

3. Kuriakose AE, Hu W, Nguyen KT, Menon JU. Scaffold-based lung tumor culture on porous PLGA microparticle substrates. *PLoS One* 2019; 14(5): e0217640.
4. Kuriakose AE, Hu W, Nguyen KT, Menon JU. Scaffold-based lung tumor culture on porous PLGA microparticle substrates. *PLoS One* 2019; 14(5): e0217640.
5. Seidi K, Jahanban-Esfahlan R, Abasi M, Abbasi MM. Anti tumoral properties of *Punica granatum* (Pomegranate) seed extract in different human cancer cells. *Asian Pac J Cancer Prev* 2016; 17(3): 1119-1122.
6. Antoni D, Burckel H, Josset E, Noel G. Three-dimensional cell culture: a breakthrough in vivo. *Int J Mol Sci* 2015; 16(3): 5517-5527.
7. Abasi M, Bazi Z, Mohammadi-Yeganeh S, Soleimani M, Haghpanah V, Zargami N, et al. 7SK small nuclear RNA transcription level down-regulates in human tumors and stem cells. *Med Oncol* 2016; 33(11): 128.
8. Breslin S, O'Driscoll L. Three-dimensional cell culture: the missing link in drug discovery. *Drug Discov Today* 2013; 18(5-6): 240-249.
9. Jiang D, Yang Y, Yang X, Wang B, Fan W, Liu Y, et al. The application of elastin-like peptides in cancer, tissue engineering and ocular disease. *OpenNano* 2023; 9: 100113.
10. Suckow MA, Hiles MC. Use of Conditioned Extracellular Matrix as a Tissue-engineered Tumor Matrisome for Prostate Cancer and Melanoma Immunotherapy. *Anticancer Res* 2023; 43(1): 335-341.
11. Carvalho MR, Lima D, Reis RL, Correlo VM, Oliveira JM. Evaluating Biomaterial- and Microfluidic-Based 3D Tumor Models. *Trends Biotechnol* 2015; 33(11): 667-678.
12. Yamada KM, Cukierman E. Modeling Tissue Morphogenesis and Cancer in 3D. *Cell* 2007; 130(4): 601-610.
13. Zarebkohan A, Sheervalilou R, Ghods R, Kundu SC, Gholipourmalekabadi M. Chapter 14-3D scaffold materials for skin cancer modeling. In: Kundu SC, Reis RL, editors. *Biomaterials for 3D Tumor Modeling*. New York: Elsevier; 2020. p. 305-328.
14. Bokhari M, Carnachan RJ, Cameron NR, Przyborski SA. Culture of HepG2 liver cells on three dimensional polystyrene scaffolds enhances cell structure and function during toxicological challenge. *J Anat* 2007; 211(4): 567-576.
15. David L, Dulong V, Le Cerf D, Cazin L, Lamacz M, Vannier JP. Hyaluronan hydrogel: an appropriate three-dimensional model for evaluation of anticancer drug sensitivity. *Acta Biomater* 2008; 4(2): 256-363.
16. Langhans SA. Three-dimensional in vitro cell culture models in drug discovery and drug repositioning. *Front Pharmacol* 2018; 9: 6.
17. Beck JN, Singh A, Rothenberg AR, Elisseeff JH, Ewald AJ. The independent roles of mechanical, structural and adhesion characteristics of 3D hydrogels on the regulation of cancer invasion and dissemination. *Biomaterials* 2013; 34(37): 9486-9495.
18. Dhaliwal A. 3D Cell culture: a review. *Mater Methods* 2012; 2: 162.
19. Cushing MC, Anseth KS. Materials science. Hydrogel cell cultures. *Science* 2007; 316(5828): 1133-1134.
20. Lv D, Hu Z, Lu L, Lu H, Xu X. Three-dimensional cell culture: A powerful tool in tumor research and drug discovery. *Oncol Lett* 2017; 14(6): 6999-7010.
21. Mitchell MJ, Jain RK, Langer R. Engineering and physical sciences in oncology: challenges and opportunities. *Nature reviews Cancer* 2017; 17(11): 659-675.
22. Holle AW, Young JL, Spatz JP. In vitro

- cancer cell-ECM interactions inform in vivo cancer treatment. *Adv Drug Deliv Rev* 2016; 97: 270-279.
23. Keenan TM, Folch A. Biomolecular gradients in cell culture systems. *Lab Chip* 2008; 8(1): 34-57.
 24. Hajdu SI. A note from history: landmarks in history of cancer, part 4. *Cancer* 2012; 118(20): 4914-4928.
 25. Voskoglou-Nomikos T, Pater JL, Seymour L. Clinical predictive value of the in vitro cell line, human xenograft, and mouse allograft preclinical cancer models. *Clin Cancer Res* 2003; 9(11): 4227-4239.
 26. Ji X, Lu H, Zhou Q, Luo K. LARP7 suppresses P-TEFb activity to inhibit breast cancer progression and metastasis. *Elife* 2014; 3: e02907.
 27. Pampaloni F, Reynaud EG, Stelzer EH. The third dimension bridges the gap between cell culture and live tissue. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2007; 8(10): 839-845.
 28. Bazi Z, Bertacchi M, Abasi M, Mohammadi-Yeganeh S, Soleimani M, Wagner N, et al. Rn7SK small nuclear RNA is involved in neuronal differentiation. *J Cell Biochem* 2018; 119(4): 3174-3182.
 29. Frieboes HB, Zheng X, Sun CH, Tromberg B, Gatenby R, Cristini V. An integrated computational/experimental model of tumor invasion. *Cancer Res* 2006; 66(3): 1597-1604.
 30. Gilbert PM, Havenstrite KL, Magnusson KE, Sacco A, Leonardi NA, Kraft P, et al. Substrate elasticity regulates skeletal muscle stem cell self-renewal in culture. *Science* 2010; 329(5995): 1078-1081.
 31. Lee J, Cuddihy MJ, Kotov NA. Three-dimensional cell culture matrices: state of the art. *Tissue Eng Part B Rev* 2008; 14(1): 61-86.
 32. Cawkill D, Eaglestone SS. Evolution of cell-based reagent provision. *Drug Discov Today* 2007; 12(19-20): 820-825.
 33. Hassell BA, Goyal G, Lee E, Sontheimer-Phelps A, Levy O, Chen CS, et al. Human organ chip models recapitulate orthotopic lung cancer growth, therapeutic responses, and tumor dormancy in vitro. *Cell Rep* 2017; 21(2): 508-516.
 34. Imamura Y, Mukohara T, Shimono Y, Funakoshi Y, Chayahara N, Toyoda M, et al. Comparison of 2D-and 3D-culture models as drug-testing platforms in breast cancer. *Oncol Rep* 2015; 33(4): 1837-1843.
 35. Ravi M, Paramesh V, Kaviya S, Anuradha E, Solomon FP. 3D cell culture systems: advantages and applications. *J Cell Physiol* 2015; 230(1): 16-26.
 36. Souza AG, Silva IBB, Campos-Fernandez E, Barcelos LS, Souza JB, Marangoni K, et al. Comparative Assay of 2D and 3D Cell Culture Models: Proliferation, Gene Expression and Anticancer Drug Response. *Curr Pharm Des* 2018; 24(15): 1689-1694.
 37. Costa EC, Moreira AF, de Melo-Diogo D, Gaspar VM, Carvalho MP, Correia IJ. 3D tumor spheroids: an overview on the tools and techniques used for their analysis. *Biotechnol Adv* 2016; 34(8): 1427-1441.
 38. Rhodes NP, Srivastava JK, Smith RF, Longinotti C. Metabolic and histological analysis of mesenchymal stem cells grown in 3-D hyaluronan-based scaffolds. *J Mater Sci Mater Med* 2004; 15(4): 391-395.
 39. Anders M, Hansen R, Ding RX, Rauen KA, Bissell MJ, Korn WM. Disruption of 3D tissue integrity facilitates adenovirus infection by deregulating the coxsackievirus and adenovirus receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100(4): 1943-1948.

40. Caliarì SR, Burdick JA. A practical guide to hydrogels for cell culture. *Nat Methods* 2016; 13(5): 405-414.
41. Shamir ER, Ewald AJ. Three-dimensional organotypic culture: experimental models of mammalian biology and disease. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2014; 15(10): 647-664.
42. Sarkhosh-Inanlou R, Shafiei-Irannejad V, Azizi S, Jouyban A, Ezzati-Nazhad Dolatabadi J, Mobed A, et al. Applications of scaffold-based advanced materials in biomedical sensing. *Trends Analyt Chem* 2021; 143: 116342.
43. Wright MH, Calcagno AM, Salcido CD, Carlson MD, Ambudkar SV, Varticovski L. Brca1 breast tumors contain distinct CD44+/CD24- and CD133+ cells with cancer stem cell characteristics. *Breast Cancer Research* 2008; 10(1): R10.
44. Lantada AD, Sánchez MU, Fernández DF. In silico Tissue Engineering and Cancer Treatment Using Cellular Automata and Hybrid Cellular Automata-Finite Element Models. In *Proceedings of the 16th International Joint Conference on Biomedical Engineering Systems and Technologies*; 2023 Feb 16-18; Portugal: 2023.
45. Xue J, Wu T, Dai Y, Xia Y. Electrospinning and Electrospun Nanofibers: Methods, Materials, and Applications. *Chem Rev* 2019; 119(8): 5298-5415.
46. Huang L, Abdalla AME, Xiao L, Yang G. Biopolymer-Based Microcarriers for Three-Dimensional Cell Culture and Engineered Tissue Formation. *Int J Mol Sci* 2020; 21(5): 1895.
47. Pérez-Pedroza R, Ávila-Ramírez A, Khan Z, Moretti M, Hauser CAE. Supramolecular Biopolymers for Tissue Engineering. *Adv Polym Technol* 2021; 2021: 8815006.
48. Chen JL, Yin Z, Shen WL, Chen X, Heng BC, Zou XH, et al. Efficacy of hESC-MSCs in knitted silk-collagen scaffold for tendon tissue engineering and their roles. *Biomaterials* 2010; 31(36): 9438-9451.
49. Shen W, Chen X, Hu Y, Yin Z, Zhu T, Hu J, et al. Long-term effects of knitted silk-collagen sponge scaffold on anterior cruciate ligament reconstruction and osteoarthritis prevention. *Biomaterials* 2014; 35(28): 8154-8163.
50. De la Riva B, Nowak C, Sánchez E, Hernández A, Schulz-Siegmund M, Pec MK, et al. VEGF-controlled release within a bone defect from alginate/chitosan/PLA-H scaffolds. *Eur J Pharm Biopharm* 2009; 73(1): 50-58.
51. Kogan G, Soltés L, Stern R, Gemeiner P. Hyaluronic acid: a natural biopolymer with a broad range of biomedical and industrial applications. *Biotechnol Lett* 2007; 29(1): 17-25.
52. Jensen C, Teng Y. Is It Time to Start Transitioning From 2D to 3D Cell Culture? *Front Mol Biosci* 2020; 7(33).
53. Wen X, Saijilafu, Luo Z, Yang H, Wang W, Yang L. 6-Biomaterials and scaffolds for the treatment of spinal cord injury. In: Yang L, Bhaduri SB, Webster TJ, editors. *Biomaterials in Translational Medicine*. Cambridge: Academic Press; 2019. p. 117-139.
54. Makadia HK, Siegel SJ. Poly Lactic-co-Glycolic Acid (PLGA) as Biodegradable Controlled Drug Delivery Carrier. *Polymers (Basel)* 2011; 3(3): 1377-1397.
55. Gentile P, Chiono V, Carmagnola I, Hatton PV. An overview of poly(lactic-co-glycolic) acid (PLGA)-based biomaterials for bone tissue engineering. *Int J Mol Sci* 2014; 15(3): 3640-3659.

56. Zhao X, Shan P, Liu H, Li D, Cai P, Li Z, et al. Poly(ethylene glycol)s With a Single Cinnamaldehyde Acetal Unit for Fabricating Acid-Degradable Hydrogel. *Front Chem* 2020; 8: 839.
57. Archer E, Torretti M, Madbouly S. Biodegradable polycaprolactone (PCL) based polymer and composites. *Physical Sciences Reviews* 2021(000010151520200074).
58. Sharifi F, Jahangiri M, Ebrahimnejad P. Synthesis of novel polymeric nanoparticles (methoxy-polyethylene glycol-chitosan/hyaluronic acid) containing 7-ethyl-10-hydroxycamptothecin for colon cancer therapy: in vitro, ex vivo and in vivo investigation. *Artif Cells Nanomed Biotechnol* 2021; 49(1): 367-380.
59. Asgarirad H, Ebrahimnejad P, Mahjoub MA, Jalalian M, Morad H, Ataee R, et al. A promising technology for wound healing; in-vitro and in-vivo evaluation of chitosan nanobiocomposite films containing gentamicin. *J Microencapsul* 2021; 38(2): 100-107.
60. Shoichet MS. Polymer Scaffolds for Biomaterials Applications. *Macromolecules* 2010; 43(2): 581-591.
61. Dhandayuthapani B, Yoshida Y, Maekawa T, Kumar DS. Polymeric Scaffolds in Tissue Engineering Application: A Review. *Int J Polym Sci* 2011; 2011: 290602.
62. Rijal G, Bathula C, Li W. Application of Synthetic Polymeric Scaffolds in Breast Cancer 3D Tissue Cultures and Animal Tumor Models. *Int J Biomater* 2017; 2017: 8074890.
63. Zhan Q, Shen B, Deng X, Chen H, Jin J, Zhang X, et al. Drug-eluting scaffold to deliver chemotherapeutic medication for management of pancreatic cancer after surgery. *Int J Nanomedicine* 2013; 8: 2465-2472.
64. Rabie AMI, Ali ASM, Al-Zeer MA, Barhoum A, El-Hallouty S, Shousha WG, et al. Spontaneous Formation of 3D Breast Cancer Tissues on Electrospun Chitosan/Poly (ethylene oxide) Nanofibrous Scaffolds. *ACS Omega* 2022; 7(2): 2114-2126.
65. Malakpour Permlid A, Roci P, Fredlund E, Fält F, Önell E, Johansson F, et al. Unique animal friendly 3D culturing of human cancer and normal cells. *Toxicol in Vitro* 2019; 60: 51-60.
66. Dondajewska E, Juzwa W, Mackiewicz A, Dams-Kozłowska H. Heterotypic breast cancer model based on a silk fibroin scaffold to study the tumor microenvironment. *Oncotarget* 2017; 9(4): 4935-4950.
67. Polonio-Alcalá E, Rabionet M, Gallardo X, Angelats D, Ciurana J, Ruiz-Martínez S, et al. PLA Electrospun Scaffolds for Three-Dimensional Triple-Negative Breast Cancer Cell Culture. *Polymers (Basel)* 2019; 11(5): 916.
68. Jordahl JH, Solorio L, Sun H, Ramcharan S, Teeple CB, Haley HR, et al. 3D Jet Writing: Functional Microtissues Based on Tessellated Scaffold Architectures. *Adv Mater* 2018; 30(14): e1707196.
69. Jordahl S, Solorio L, Neale DB, McDermott S, Jordahl JH, Fox A, et al. Engineered Fibrillar Fibronectin Networks as Three-Dimensional Tissue Scaffolds. *Adv Mater* 2019; 31(46): e1904580.
70. Lu Y, Wan Y, Gan D, Zhang Q, Luo H, Deng X, et al. Enwrapping Polydopamine on Doxorubicin-Loaded Lamellar Hydroxyapatite/Poly(lactic-co-glycolic acid) Composite Fibers for Inhibiting Bone Tumor Recurrence and Enhancing Bone Regeneration. *ACS Appl Bio Mater* 2021; 4(8): 6036-6045.
71. Zhu X, Yang Z, Gan D, Cui T, Luo H, Wan

- Y, et al. A doxorubicin and siRNA coloaded nanolamellar hydroxyapatite/PLGA electrospun scaffold as a safe antitumor drug delivery system. *Appl Mater Today* 2023; 31: 101759.
72. Phan-Lai V, Florczyk SJ, Kievit FM, Wang K, Gad E, Disis ML, et al. Three-dimensional scaffolds to evaluate tumor associated fibroblast-mediated suppression of breast tumor specific T cells. *Biomacromolecules* 2013; 14(5): 1330-1337.
73. Florczyk SJ, Kim DJ, Wood DL, Zhang M. Influence of processing parameters on pore structure of 3D porous chitosan-alginate polyelectrolyte complex scaffolds. *J Biomed Mater Res A* 2011; 98(4): 614-620.
74. Geetha Bai R, Muthoosamy K, Manickam S, Hilal-Alnaqbi A. Graphene-based 3D scaffolds in tissue engineering: fabrication, applications, and future scope in liver tissue engineering. *Int J Nanomedicine* 2019; 14: 5753-5783.
75. Hou Y, Wang W, Bártolo P. Novel Poly(ϵ -caprolactone)/Graphene Scaffolds for Bone Cancer Treatment and Bone Regeneration. *3D Print Addit Manuf* 2020; 7(5): 222-229.
76. Feng S, Duan X, Lo P-K, Liu S, Liu X, Chen H, et al. Expansion of breast cancer stem cells with fibrous scaffolds. *Integr Biol (Camb)* 2013; 5(5): 768-777.
77. Tibbitt MW, Anseth KS. Hydrogels as extracellular matrix mimics for 3D cell culture. *Biotechnol Bioeng* 2009; 103(4): 655-663.
78. Ullah F, Othman MB, Javed F, Ahmad Z, Md Akil H. Classification, processing and application of hydrogels: A review. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl* 2015; 57: 414-433.
79. Weber LM, He J, Bradley B, Haskins K, Anseth KS. PEG-based hydrogels as an in vitro encapsulation platform for testing controlled beta-cell microenvironments. *Acta Biomater* 2006; 2(1): 1-8.
80. Madduma-Bandarage USK, Madihally SV. Synthetic hydrogels: Synthesis, novel trends, and applications. *J Appl Polym Sci* 2021; 138(19): 50376.
81. Hughes CS, Postovit LM, Lajoie GA. Matrigel: a complex protein mixture required for optimal growth of cell culture. *Proteomics* 2010; 10(9): 1886-1890.
82. Glowacki J, Mizuno S. Collagen scaffolds for tissue engineering. *Biopolymers: Original Research on Biomolecules* 2008; 89(5): 338-344.
83. Pathak A, Kumar S. Biophysical regulation of tumor cell invasion: moving beyond matrix stiffness. *Integr Biol (Camb)* 2011; 3(4): 267-278.
84. Yang XB, Bhatnagar RS, Li S, Oreffo RO. Biomimetic collagen scaffolds for human bone cell growth and differentiation. *Tissue Eng* 2004; 10(7-8): 1148-1159.
85. Kutschka I, Chen IY, Kofidis T, Arai T, von Degenfeld G, Sheikh AY, et al. Collagen matrices enhance survival of transplanted cardiomyoblasts and contribute to functional improvement of ischemic rat hearts. *Circulation* 2006; 114(1 Suppl): I167-173.
86. Baeva LF, Lyle DB, Rios M, Langone JJ, Lightfoote MM. Different molecular weight hyaluronic acid effects on human macrophage interleukin 1 β production. *J Biomed Mater Res A* 2014; 102(2): 305-314.
87. Kraehenbuehl TP, Zammaretti P, Van der Vlies AJ, Schoenmakers RG, Lutolf MP, Jaconi ME, et al. Three-dimensional extracellular matrix-directed cardioprogenitor differentiation: systematic modulation of a synthetic cell-responsive PEG-hydrogel. *Biomaterials* 2008; 29(18): 2757-2766.
88. Weber LM, Hayda KN, Haskins K, Anseth KS. The effects of cell-matrix interactions on

- encapsulated β -cell function within hydrogels functionalized with matrix-derived adhesive peptides. *Biomaterials* 2007; 28(19): 3004-3011.
89. Zhu M, Wang Y, Ferracci G, Zheng J, Cho N-J, Lee BH. Gelatin methacryloyl and its hydrogels with an exceptional degree of controllability and batch-to-batch consistency. *Sci Rep* 2019; 9(1): 6863.
 90. Liu T, Weng W, Zhang Y, Sun X, Yang H. Applications of Gelatin Methacryloyl (GelMA) Hydrogels in Microfluidic Technique-Assisted Tissue Engineering. *Molecules* 2020; 25(22): 5305.
 91. Worthington P, Pochan DJ, Langhans SA. Peptide Hydrogels-Versatile Matrices for 3D Cell Culture in Cancer Medicine. *Front Oncol* 2015; 5: 92.
 92. Chittasupho C, Angklomklew J, Thongnopkoon T, Senavongse W. Biopolymer Hydrogel Scaffolds Containing Doxorubicin as A Localized Drug Delivery System for Inhibiting Lung Cancer Cell Proliferation. *Polymers (Basel)* 2021; 13(20): 3580.
 93. Pal M, Chen H, Lee BH, Lee HJY, Yip YS, Tan SN, et al. Epithelial-mesenchymal transition of cancer cells using bioengineered hybrid scaffold composed of hydrogel/3D-fibrous framework. *Sci Rep* 2019; 9(1): 8997.
 94. Liu M, Zhang X, Long C, Xu H, Cheng X, Chang J, et al. Collagen-based three-dimensional culture microenvironment promotes epithelial to mesenchymal transition and drug resistance of human ovarian cancer in vitro. *RSC Adv* 2018; 8(16): 8910-8919.
 95. Pradhan S, Hassani I, Seeto WJ, Lipke EA. PEG-fibrinogen hydrogels for three-dimensional breast cancer cell culture. *J Biomed Mater Res A* 2017; 105(1): 236-252.
 96. Livingston MK, Morgan MM, Daly WT, Murphy WL, Johnson BP, Beebe DJ, et al. Evaluation of PEG-based hydrogel influence on estrogen receptor driven responses in MCF7 breast cancer cells. *ACS Biomater Sci Eng* 2019; 5(11): 6089-6098.
 97. Branco MC, Sigano DM, Schneider JP. Materials from peptide assembly: towards the treatment of cancer and transmittable disease. *Curr Opin Chem Biol* 2011; 15(3): 427-434.
 98. Li J, Gao Y, Kuang Y, Shi J, Du X, Zhou J, et al. Dephosphorylation of D-peptide derivatives to form biofunctional, supramolecular nanofibers/hydrogels and their potential applications for intracellular imaging and intratumoral chemotherapy. *J Am Chem Soc* 2013; 135(26): 9907-9914.
 99. Dalby MJ, Gadegaard N, Oreffo ROC. Harnessing nanotopography and integrin-matrix interactions to influence stem cell fate. *Nat Mater* 2014; 13(6): 558-569.
 100. Santiago LY, Nowak RW, Peter Rubin J, Marra KG. Peptide-surface modification of poly (caprolactone) with laminin-derived sequences for adipose-derived stem cell applications. *Biomaterials* 2006; 27(15): 2962-2969.
 101. Cambria E, Renggli K, Ahrens CC, Cook CD, Kroll C, Krueger AT, et al. Covalent Modification of Synthetic Hydrogels with Bioactive Proteins via Sortase-Mediated Ligation. *Biomacromolecules* 2015; 16(8): 2316-2326.
 102. Yang Z, Zhao X. A 3D model of ovarian cancer cell lines on peptide nanofiber scaffold to explore the cell-scaffold interaction and chemotherapeutic resistance of anticancer drugs. *Int J Nanomedicine* 2011; 6: 303-310.
 103. Kakinoki S, Nishioka S, Arichi Y, Yamaoka T. Stable and direct coating of fibronectin-derived Leu-Asp-Val peptide on ePTFE using one-pot tyrosine oxidation for endothelial cell

- adhesion. *Colloids and Surf B: Biointerfaces* 2022; 216: 112576.
104. Zhao Z, Vizetto-Duarte C, Moay ZK, Setyawati MI, Rakshit M, Kathawala MH, et al. Composite Hydrogels in Three-Dimensional in vitro Models. *Front Bioeng Biotechnol* 2020; 8: 611.
105. Boateng SY, Lateef SS, Mosley W, Hartman TJ, Hanley L, Russell B. RGD and YIGSR synthetic peptides facilitate cellular adhesion identical to that of laminin and fibronectin but alter the physiology of neonatal cardiac myocytes. *Am J Physiol Cell Physiol* 2005; 288(1): C30-38.
106. Zhang S, Gelain F, Zhao X. Designer self-assembling peptide nanofiber scaffolds for 3D tissue cell cultures. *Semin Cancer Biol* 2005; 15(5): 413-420.
107. Zhou M, Smith AM, Das AK, Hodson NW, Collins RF, Ulijn RV, et al. Self-assembled peptide-based hydrogels as scaffolds for anchorage-dependent cells. *Biomaterials* 2009; 30(13): 2523-2530.
108. Li X, Galliher-Beckley A, Huang H, Sun X, Shi J. Peptide nanofiber hydrogel adjuvanted live virus vaccine enhances cross-protective immunity to porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Vaccine* 2013; 31(41): 4508-4515.
109. Song H, Cai G-h, Liang J, Ao D-s, Wang H, Yang Z-h. Three-dimensional culture and clinical drug responses of a highly metastatic human ovarian cancer HO-8910PM cells in nanofibrous microenvironments of three hydrogel biomaterials. *Journal of Nanobiotechnology* 2020; 18(1): 90.
110. Balion Z, Sipailaite E, Stasyte G, Vailionyte A, Mazetyte-Godiene A, Seskeviciute I, et al. Investigation of Cancer Cell Migration and Proliferation on Synthetic Extracellular Matrix Peptide Hydrogels. *Front Bioeng Biotechnol* 2020; 8: 773.
111. Gu D, O'Connor AJ, G.H. Qiao G, Ladewig K. Hydrogels with smart systems for delivery of hydrophobic drugs. *Expert Opin Drug Deliv* 2017; 14(7): 879-895.
112. Castelletto V, Edwards-Gayle CJC, Greco F, Hamley IW, Seitsonen J, Ruokolainen J. Self-Assembly, Tunable Hydrogel Properties, and Selective Anti-Cancer Activity of a Carnosine-Derived Lipidated Peptide. *ACS Appl Mater Interfaces* 2019; 11(37): 33573-33580.
113. Gong C, Qi T, Wei X, Qu Y, Wu Q, Luo F, et al. Thermosensitive polymeric hydrogels as drug delivery systems. *Curr Med Chem* 2013; 20(1): 79-94.
114. Ebrahimnejad P, Sodagar Taleghani A, Asare-Addo K, Nokhodchi A. An updated review of folate-functionalized nanocarriers: A promising ligand in cancer. *Drug Discov Today* 2022; 27(2): 471-489.
115. Kim J, Choi Y, Kim DH, Yoon HY, Kim K. Injectable Hydrogel-Based Combination Cancer Immunotherapy for Overcoming Localized Therapeutic Efficacy. *Pharmaceutics* 2022; 14(9): 1908.
116. Wolinsky JB, Colson YL, Grinstaff MW. Local drug delivery strategies for cancer treatment: Gels, nanoparticles, polymeric films, rods, and wafers. *J Control Release* 2012; 159(1): 14-26.
117. Hoare TR, Kohane DS. Hydrogels in drug delivery: Progress and challenges. *Polymer* 2008; 49(8): 1993-2007.
118. Li J, Mooney DJ. Designing hydrogels for controlled drug delivery. *Nat Rev Mater* 2016; 1(12): 16071.
119. Pesoa JI, Rico MJ, Rozados VR, Scharovsky OG, Luna JA, Mengatto LN. Paclitaxel delivery

- system based on poly (lactide-co-glycolide) microparticles and chitosan thermo-sensitive gel for mammary adenocarcinoma treatment. *J Pharm Pharmacol* 2018; 70(11): 1494-1502.
120. Kasiński A, Zielińska-Pisklak M, Oledzka E, Sobczak M. Smart Hydrogels-Synthetic Stimuli-Responsive Antitumor Drug Release Systems. *Int J Nanomedicine* 2020; 15: 4541-4572.
121. Ebrahimnejad P, Dinarvand R, Sajadi A, Jafari MR, Movaghari F, Atyabi F. Development and Validation of an Ion-pair HPLC Chromatography for Simultaneous Determination of Lactone and Carboxylate Forms of SN-38 in Nanoparticles. *Journal of Food and Drug Analysis* 2009; 17(4): 246-256.
122. Sheu M-T, Jhan H-J, Su C-Y, Chen L-C, Chang C-E, Liu D-Z, et al. Codelivery of doxorubicin-containing thermosensitive hydrogels incorporated with docetaxel-loaded mixed micelles enhances local cancer therapy. *Colloids Surf B: Biointerfaces* 2016; 143: 260-270.
123. Huang P, Song H, Zhang Y, Liu J, Zhang J, Wang W, et al. Bridging the gap between macroscale drug delivery systems and nanomedicines: a nanoparticle-assembled thermosensitive hydrogel for peritumoral chemotherapy. *ACS Appl Mater Interfaces* 2016; 8(43): 29323-29333.
124. Mohammady H, Dinarvand R, Esfandyari Manesh M, Ebrahimnejad P. Encapsulation of irinotecan in polymeric nanoparticles: Characterization, release kinetic and cytotoxicity evaluation. *Nanomedicine J* 2016; 3(3): 159-168 (Persian).
125. Lancaster MA, Knoblich JA. Organogenesis in a dish: modeling development and disease using organoid technologies. *Science* 2014; 345(6194): 1247125.
126. Kretschmar K, Clevers H. Organoids: Modeling Development and the Stem Cell Niche in a Dish. *Dev Cell* 2016; 38(6): 590-600.
127. Xu H, Lyu X, Yi M, Zhao W, Song Y, Wu K. Organoid technology and applications in cancer research. *J Hematol Oncology* 2018; 11(1): 116.
128. Lancaster MA, Knoblich JA. Generation of cerebral organoids from human pluripotent stem cells. *Nature Protoc* 2014; 9(10): 2329-2340.
129. Kim M, Mun H, Sung CO, Cho EJ, Jeon H-J, Chun S-M, et al. Patient-derived lung cancer organoids as in vitro cancer models for therapeutic screening. *Nat Commun* 2019; 10(1): 3991.
130. Al Shihabi A, Davarifar A, Nguyen HTL, Tavanaie N, Nelson SD, Yanagawa J, et al. Personalized chordoma organoids for drug discovery studies. *Sci Adv* 2022; 8(7): eabl3674.
131. Fatehullah A, Tan SH, Barker N. Organoids as an in vitro model of human development and disease. *Nat Cell Biol* 2016; 18(3): 246-254.
132. Liu F, Huang J, Ning B, Liu Z, Chen S, Zhao W. Drug Discovery via Human-Derived Stem Cell Organoids. *Front Pharmacol* 2016; 7: 334.
133. Xu X, Farach-Carson MC, Jia X. Three-dimensional in vitro tumor models for cancer research and drug evaluation. *Biotechnol Adv* 2014; 32(7): 1256-1268.
134. Stadler M, Walter S, Walzl A, Kramer N, Unger C, Scherzer M, et al. Increased complexity in carcinomas: Analyzing and modeling the interaction of human cancer

- cells with their microenvironment. *Semin Cancer Biol* 2015; 35: 107-124.
135. Yokota E, Iwai M, Yukawa T, Yoshida M, Naomoto Y, Haisa M, et al. Clinical application of a lung cancer organoid (tumoroid) culture system. *NPJ Precis Oncol* 2021; 5(1): 29.
136. Yoon WH, Lee H-R, Kim S, Kim E, Ku JH, Shin K, et al. Use of inkjet-printed single cells to quantify intratumoral heterogeneity. *Biofabrication* 2020; 12(3): 035030.
137. Goldhammer N, Kim J, Timmermans-Wielenga V, Petersen OW. Characterization of organoid cultured human breast cancer. *Breast Cancer Res* 2019; 21: 1-8.
138. Dekkers JF, van Vliet EJ, Sachs N, Rosenbluth JM, Kopper O, Rebel HG, et al. Long-term culture, genetic manipulation and xenotransplantation of human normal and breast cancer organoids. *Nat Protoc* 2021; 16(4): 1936-1965.
139. Nuciforo S, Fofana I, Matter MS, Blumer T, Calabrese D, Boldanova T, et al. Organoid Models of Human Liver Cancers Derived from Tumor Needle Biopsies. *Cell Rep* 2018; 24(5): 1363-1376.
140. Drost J, Karthaus WR, Gao D, Driehuis E, Sawyers CL, Chen Y, et al. Organoid culture systems for prostate epithelial and cancer tissue. *Nat Protoc* 2016; 11(2): 347-358.
141. Zou J, Wang S, Chai N, Yue H, Ye P, Guo P, et al. Construction of gastric cancer patient-derived organoids and their utilization in a comparative study of clinically used paclitaxel nanoformulations. *J Nanobiotechnology* 2022; 20(1): 233.
142. Fujii M, Shimokawa M, Date S, Takano A, Matano M, Nanki K, et al. A colorectal tumor organoid library demonstrates progressive loss of niche factor requirements during tumorigenesis. *Cell Stem Cell* 2016; 18(6): 827-838.
143. Kopper O, De Witte CJ, Löhmußaar K, Valle-Inclan JE, Hami N, Kester L, et al. An organoid platform for ovarian cancer captures intra-and interpatient heterogeneity. *Nat Med* 2019; 25(5): 838-849.
144. Nanki Y, Chiyoda T, Hirasawa A, Ookubo A, Itoh M, Ueno M, et al. Patient-derived ovarian cancer organoids capture the genomic profiles of primary tumours applicable for drug sensitivity and resistance testing. *Sci Rep* 2020; 10(1): 12581.
145. Tanaka N, Osman AA, Takahashi Y, Lindemann A, Patel AA, Zhao M, et al. Head and neck cancer organoids established by modification of the CTOS method can be used to predict in vivo drug sensitivity. *Oral Oncol* 2018; 87: 49-57.
146. Tiriác H, Plenker D, Baker LA, Tuveson DA. Organoid models for translational pancreatic cancer research. *Curr Opin Genet Dev* 2019; 54: 7-11.
147. Schuth S, Le Blanc S, Krieger TG, Jabs J, Schenk M, Giese NA, et al. Patient-specific modeling of stroma-mediated chemoresistance of pancreatic cancer using a three-dimensional organoid-fibroblast co-culture system. *J Exp Clin Cancer Res* 2022; 41(1): 312.
148. Drost J, Clevers H. Organoids in cancer research. *Nat Rev Cancer* 2018; 18(7): 407-418.
149. Xu H, Jiao D, Liu A, Wu K. Tumor organoids: applications in cancer modeling and potentials in precision medicine. *J Hematol Oncol* 2022; 15(1): 58.
150. Kazama A, Anraku T, Kuroki H, Shirono Y, Murata M, Bilim V, et al. Development of patient-derived tumor organoids and a drug testing model for renal cell carcinoma. *Oncol Rep* 2021; 46(4): 226.
151. Girard YK, Wang C, Ravi S, Howell MC, Mallela J, Alibrahim M, et al. A 3D fibrous

- scaffold inducing tumoroids: a platform for anticancer drug development. *PLoS One* 2013; 8(10): e75345.
152. Fang J, Zhang Y, Yan S, Liu Z, He S, Cui L, et al. Poly (L-glutamic acid)/chitosan polyelectrolyte complex porous microspheres as cell microcarriers for cartilage regeneration. *Acta Biomater* 2014; 10(1): 276-288.
153. Leong W, Wang DA. Cell-laden Polymeric Microspheres for Biomedical Applications. *Trends Biotechnol* 2015; 33(11): 653-666.
154. Mukherjee PK, Harwansh RK, Bhattacharyya S. Chapter 10-Bioavailability of Herbal Products: Approach Toward Improved Pharmacokinetics. In: Mukherjee PK, editor. *Evidence-Based Validation of Herbal Medicine*. Boston: Elsevier; 2015. p. 217-245.
155. Gupta V, Khan Y, Berkland CJ, Laurencin CT, Detamore MS. Microsphere-Based Scaffolds in Regenerative Engineering. *Annu Rev Biomed Eng* 2017; 19(1): 135-161.
156. Choi SW, Zhang Y, Xia Y. Three-dimensional scaffolds for tissue engineering: the importance of uniformity in pore size and structure. *Langmuir* 2010; 26(24): 19001-19006.
157. Horning JL, Sahoo SK, Vijayaraghavalu S, Dimitrijevic S, Vasir JK, Jain TK, et al. 3-D tumor model for in vitro evaluation of anticancer drugs. *Mol Pharm* 2008; 5(5): 849-862.
158. Dhamecha D, Le D, Movsas R, Gonsalves A, Menon JU. Porous Polymeric Microspheres With Controllable Pore Diameters for Tissue Engineered Lung Tumor Model Development. *Front Bioeng Biotechnol* 2020; 8: 799.
159. Fan R, Li X, Deng J, Gao X, Zhou L, Zheng Y, et al. Dual Drug Loaded Biodegradable Nanofibrous Microsphere for Improving Anti-Colon Cancer Activity. *Sci Rep* 2016; 6(1): 28373.
160. Smith TT, Moffett HF, Stephan SB, Opel CF, Dumigan AG, Jiang X, et al. Biopolymers codelivering engineered T cells and STING agonists can eliminate heterogeneous tumors. *J Clin Invest* 2017; 127(6): 2176-2191.
161. Do AV, Khorsand B, Geary SM, Salem AK. 3D printing of scaffolds for tissue regeneration applications. *Adv Healthc Mater* 2015; 4(12): 1742-1762.
162. Radhakrishnan J, Varadaraj S, Dash SK, Sharma A, Verma RS. Organotypic cancer tissue models for drug screening: 3D constructs, bioprinting and microfluidic chips. *Drug Discov Today* 2020; 25(5): 879-890.
163. Tiwari AP, Thorat ND, Priel S, Patil RM, Rohiwal S, Townley H. Bioink: a 3D-bioprinting tool for anticancer drug discovery and cancer management. *Drug Discov Today* 2021; 26(7): 1574-1590.
164. Tetsuka H, Shin SR. Materials and technical innovations in 3D printing in biomedical applications. *J Mater Chem B* 2020; 8(15): 2930-2950.
165. Peng W, Unutmaz D, Ozbolat IT. Bioprinting towards Physiologically Relevant Tissue Models for Pharmaceuticals. *Trends Biotechnol* 2016; 34(9): 722-732.
166. Wang X, Li X, Ding J, Long X, Zhang H, Zhang X, et al. 3D bioprinted glioma microenvironment for glioma vascularization. *J Biomed Mater Res A* 2021; 109(6): 915-925.
167. Groll J, Burdick JA, Cho DW, Derby B, Gelinsky M, Heilshorn SC, et al. A definition of bioinks and their distinction from biomaterial inks. *Biofabrication* 2018; 11(1): 013001.
168. Kim MJ, Chi BH, Yoo JJ, Ju YM, Whang YM, Chang IH. Structure establishment of three-dimensional (3D) cell culture printing model for bladder cancer. *PLoS One* 2019; 14(10): e0223689.

169. Gungor-Ozkerim PS, Inci I, Zhang YS, Khademhosseini A, Dokmeci MR. Bioinks for 3D bioprinting: an overview. *Biomater Sci* 2018; 6(5): 915-946.
170. Gopinathan J, Noh I. Recent trends in bioinks for 3D printing. *Biomater Res* 2018; 22(1): 1-15.
171. Gebeyehu A, Surapaneni SK, Huang J, Mondal A, Wang VZ, Haruna NF, et al. Polysaccharide hydrogel based 3D printed tumor models for chemotherapeutic drug screening. *Sci Rep* 2021; 11(1): 372.
172. Ling K, Huang G, Liu J, Zhang X, Ma Y, Lu T, et al. Bioprinting-based high-throughput fabrication of three-dimensional MCF-7 human breast cancer cellular spheroids. *Engineering* 2015; 1(2): 269-274.
173. Leberfinger AN, Dinda S, Wu Y, Koduru SV, Ozbolat V, Ravnic DJ, et al. Bioprinting functional tissues. *Acta Biomate* 2019; 95: 32-49.
174. Xu F, Celli J, Rizvi I, Moon S, Hasan T, Demirci U. A three-dimensional in vitro ovarian cancer coculture model using a high-throughput cell patterning platform. *Biotechnol J* 2011; 6(2): 204-212.
175. Wu Y, Woodbine L, Carr AM. 3D Printed Calcium Phosphate Cement (CPC) Scaffolds for Anti-Cancer Drug Delivery. *Pharmaceutics* 2020; 12(11): 1077.
176. Ling K, Huang G, Liu J, Zhang X, Ma Y, Lu T, et al. Bioprinting-Based High-Throughput Fabrication of Three- Dimensional MCF-7 Human Breast Cancer Cellular Spheroids. *Engineering* 2015; 1(2): 269-274.
177. Wang X, Zhang X, Dai X, Wang X, Li X, Diao J, et al. Tumor-like Lung Cancer Model Based on 3D Bioprinting. *3 Biotech* 2018; 8(12): 501.
178. Mondadori C, Crippa M, Moretti M, Candrian C, Lopa S, Arrigoni C. Advanced Microfluidic Models of Cancer and Immune Cell Extravasation: A Systematic Review of the Literature. *Front Bioeng Biotechnol* 2020; 8: 907.
179. Sodagar Taleghani A, Ebrahimnejad P, Heydarinasab A, Akbarzadeh A. Adsorption and controlled release of iron-chelating drug from the amino-terminated PAMAM/ordered mesoporous silica hybrid materials. *J Drug Deliv Sci Technol* 2020; 56: 101579.
180. Jo B-H, Van Lerberghe LM, Motsegood KM, Beebe DJ. Three-dimensional micro-channel fabrication in polydimethylsiloxane (PDMS) elastomer. *J Microelectromech Syst* 2000; 9(1): 76-81.
181. Esch EW, Bahinski A, Huh D. Organs-on-chips at the frontiers of drug discovery. *Nat Rev Drug Discov* 2015; 14(4): 248-260.
182. Cho H-Y, Choi J-H, Kim K-J, Shin M, Choi J-W. Microfluidic System to Analyze the Effects of Interleukin 6 on Lymphatic Breast Cancer Metastasis. *Front Bioeng Biotechnol* 2021; 8: 611802.
183. Li W, Khan M, Mao S, Feng S, Lin J-M. Advances in tumor-endothelial cells co-culture and interaction on microfluidics. *J Pharm Anal* 2018; 8(4): 210-218.
184. Virumbrales-Muñoz M, Ayuso JM. From microfluidics to microphysiological systems: Past, present, and future. *Organs-on-a-Chip* 2022; 4: 100015.
185. Song JW, Cavnar SP, Walker AC, Luker KE, Gupta M, Tung Y-C, et al. Microfluidic endothelium for studying the intravascular adhesion of metastatic breast cancer cells. *PLoS One* 2009; 4(6): e5756 .
186. Menon NV, Chuah YJ, Cao B, Lim M, Kang

- Y. A microfluidic co-culture system to monitor tumor-stromal interactions on a chip. *Biomicrofluidics* 2014; 8(6): 064118 .
187. Cho HY, Choi JH, Kim KJ, Shin M, Choi JW. Microfluidic System to Analyze the Effects of Interleukin 6 on Lymphatic Breast Cancer Metastasis. *Front Bioeng Biotechnol* 2020; 8: 611802.
188. Anguiano M, Castilla C, Maška M, Ederra C, Peláez R, Morales X, et al. Characterization of three-dimensional cancer cell migration in mixed collagen-Matrigel scaffolds using microfluidics and image analysis. *PLoS One* 2017; 12(2): e0171417.
189. Bersini S, Jeon JS, Dubini G, Arrigoni C, Chung S, Charest JL, et al. A microfluidic 3D in vitro model for specificity of breast cancer metastasis to bone. *Biomaterials* 2014; 35(8): 2454-2461.
190. Yu F, Choudhury D. Microfluidic bioprinting for organ-on-a-chip models. *Drug Discov Today* 2019; 24(6): 1248-1257.
191. Vickerman V, Blundo J, Chung S, Kamm R. Design, fabrication and implementation of a novel multi-parameter control microfluidic platform for three-dimensional cell culture and real-time imaging. *Lab Chip* 2008; 8(9): 1468-1477.
192. Skardal A, Shupe T, Atala A. Organoid-on-a-chip and body-on-a-chip systems for drug screening and disease modeling. *Drug Discov Today* 2016; 21(9): 1399-1411.
193. Sun W, Luo Z, Lee J, Kim HJ, Lee K, Tebon P, et al. Organ-on-a-Chip for Cancer and Immune Organs Modeling. *Adv Healthc Mater* 2019; 8(4): e1801363.
194. Zhang B, Montgomery M, Chamberlain MD, Ogawa S, Korolj A, Pahnke A, et al. Biodegradable scaffold with built-in vasculature for organ-on-a-chip engineering and direct surgical anastomosis. *Nat Mater* 2016; 15(6): 669-678.
195. Huh D, Matthews BD, Mammoto A, Montoya-Zavala M, Hsin HY, Ingber DE. Reconstituting organ-level lung functions on a chip. *Science* 2010; 328(5986): 1662-1668.
196. Torisawa YS, Spina CS, Mammoto T, Mammoto A, Weaver JC, Tat T, et al. Bone marrow-on-a-chip replicates hematopoietic niche physiology in vitro. *Nat Methods* 2014; 11(6): 663-669.
197. Zervantonakis IK, Hughes-Alford SK, Charest JL, Condeelis JS, Gertler FB, Kamm RD. Three-dimensional microfluidic model for tumor cell intravasation and endothelial barrier function. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012; 109(34): 13515-13520.
198. Jeon JS, Bersini S, Gilardi M, Dubini G, Charest JL, Moretti M, et al. Human 3D vascularized organotypic microfluidic assays to study breast cancer cell extravasation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2015; 112(1): 214-219.
199. Vickerman V, Kamm RD. Mechanism of a flow-gated angiogenesis switch: early signaling events at cell-matrix and cell-cell junctions. *Integr Biol (Camb)* 2012; 4(8): 863-874.
200. Sung KE, Yang N, Pehlke C, Keely PJ, Eliceiri KW, Friedl A, et al. Transition to invasion in breast cancer: a microfluidic in vitro model enables examination of spatial and temporal effects. *Integr Biol (Camb)* 2011; 3(4): 439-450.
201. Cipitria A, Skelton A, Dargaville T, Dalton P, Huttmacher D. Design, fabrication and characterization of PCL electrospun scaffolds—a review. *J Mater Chem* 2011; 21(26): 9419-9453.
202. Lasprilla AJ, Martinez GA, Lunelli BH, Jardini AL, Maciel Filho R. Poly-lactic acid synthesis for application in biomedical

- devices—A review. *Biotechnol Adv* 2012; 30(1): 321-328.
203. Cheng Z, Teoh S-H. Surface modification of ultra thin poly (ϵ -caprolactone) films using acrylic acid and collagen. *Biomaterials* 2004; 25(11): 1991-2001.
204. Stratton S, Shelke NB, Hoshino K, Rudraiah S, Kumbar SG. Bioactive polymeric scaffolds for tissue engineering. *Bioact Mater* 2016; 1(2): 93-108.
205. Ma J, Wang B, Shao H, Zhang S, Chen X, Li F, et al. Hydrogels for localized chemotherapy of liver cancer: a possible strategy for improved and safe liver cancer treatment. *Drug Deliv* 2022; 29(1): 1457-1476.
206. Singh A, Peppas NA. Hydrogels and scaffolds for immunomodulation. *Adv Mater* 2014; 26(38): 6530-6541.
207. Kim J, Choi Y, Yang S, Lee J, Choi J, Moon Y, et al. Sustained and Long-Term Release of Doxorubicin from PLGA Nanoparticles for Eliciting Anti-Tumor Immune Responses. *Pharmaceutics* 2022; 14(3): 474.
208. Bishop ES, Mostafa S, Pakvasa M, Luu HH, Lee MJ, Wolf JM, et al. 3-D bioprinting technologies in tissue engineering and regenerative medicine: Current and future trends. *Genes Dis* 2017; 4(4): 185-195.
209. Irvine SA, Venkatraman SS. Bioprinting and differentiation of stem cells. *Molecules* 2016; 21(9): 1188.
210. Murphy SV, Atala A. 3D bioprinting of tissues and organs. *Nat Biotechnol* 2014; 32(8): 773-785.
211. Fujii T. PDMS-based microfluidic devices for biomedical applications. *Microelectron Eng* 2002; 61: 907-914.
212. McDonald JC, Metallo SJ, Whitesides GM. Fabrication of a configurable, single-use microfluidic device. *Anal Chem* 2001; 73(23): 5645-6550.
213. Chen C, Mehl BT, Munshi AS, Townsend AD, Spence DM, Martin RS. 3D-printed Microfluidic Devices: Fabrication, Advantages and Limitations-a Mini Review. *Anal Methods* 2016; 8(31): 6005-6012.