

Polymerization
Quarterly, 2022
Volume 12, Number 3
Pages 30-41
ISSN: 2252-0449

A Review on In Situ Forming Systems for Wound Healing

Sara Janghorban-Laricheh and Moslem Tavakol*

Department of Chemical and Polymer Engineering, Yazd University, Postal Code
8915818411, Yazd, Iran

Received: 25 September 2021, Accepted: 22 December 2021

Abstract

In situ forming systems are liquid or viscous injectable materials that after being injected into the body, due to mixing with reactive substances or in response to new conditions (temperature, pH, presence of special molecules or ions, visible or ultraviolet light radiation), they formed a semi-solid material or gel. In the recent years, due to the unique characteristics of in situ forming systems, preparation and investigation of these systems for wound healing have gained increasing attentions. In addition to easy and non-invasive injection of in situ forming systems, these materials can completely fill irregular wound defects and adhere to the wound edge tissues. Also these materials can simultaneously act as a controlled drug delivery system, cell carrier/tissue scaffold, hemostatic agent and tissue-adhesive. Until now, several physical, chemical and enzymatically cross-linking methods have been used to prepare in situ forming systems/hydrogels. In this review, various emerging and innovative approaches being developed and utilized for the preparation of in situ forming systems/hydrogels for wound dressing are reviewed. Also challenges and future prospects of these systems are discussed.

Key Words

in situ forming system,
crosslinking method,
wound healing,
hydrogel,
wound dressing

(*) To whom correspondence should be addressed.
E-mail: m.tavakol@yazd.ac.ir

مروری بر سامانه‌های تشکیل‌شونده درجا برای التیام زخم

سارا جانقربان لاریجه، مسلم توکل*

یزد، دانشگاه یزد، گروه مهندسی شیمی و پلیمر، کد پستی ۸۹۱۵۸۱۸۴۱۱

دریافت: ۱۴۰۰/۷/۳، پذیرش: ۱۴۰۰/۱۰/۱

سامانه‌های تشکیل‌شونده درجا، مایع یا مواد گران‌رو تزریق‌پذیری هستند که پس از استفاده با تزریق به بدن، به دلیل اختلاط با مواد واکنش‌پذیر یا در پاسخ به شرایط جدید (دما، pH، وجود برخی مولکول‌ها یا یون‌ها، تابش نور مرئی یا فرابنفش)، به شکل شبه‌جامد یا ژل درمی‌آیند. در سال‌های اخیر، با توجه به ویژگی‌های منحصر به فرد این سامانه‌ها، تولید و ارزیابی کاربرد آن‌ها برای کمک به التیام زخم مورد توجه فزاینده قرار گرفته است. افزون بر آسانی و غیرتهاجمی بودن استفاده از سامانه‌های تشکیل‌شونده درجا، این سامانه‌ها می‌توانند به‌طور کامل آسیب‌های نامنظم زخم را پر و با لبه‌های زخم ارتباط برقرار کنند. افزون بر این، آن‌ها می‌توانند به‌طور هم‌زمان در نقش عامل کنترل رهایش دارو، حامل یاخته-داربست مهندسی بافت، عامل بندآورنده خونریزی، چسب بافت یا حائل بافت عمل کنند. تاکنون، سازوکارهای مختلف شبکه‌ای‌شدن با واکنش‌های شیمیایی، آنزیمی یا برهم‌کنش‌های فیزیکی برای تولید سامانه‌ها-هیدروژل‌های تشکیل‌شونده درجا استفاده شده است. در این مطالعه، انواع راهکارهای نوین به‌کارگرفته‌شده برای تولید سامانه‌های تشکیل‌شونده درجا و استفاده از آن‌ها به‌عنوان زخم‌پوش مرور شده و به مزایا و معایب و چشم‌انداز پیش روی این مواد پرداخته شده است.

چکیده



سارا جانقربان لاریجه



مسلم توکل

واژگان کلیدی

سامانه تشکیل‌شونده درجا،
روش شبکه‌ای‌شدن،
التیام زخم،
هیدروژل،
زخم‌پوش

مقدمه

کمک به ترمیم زخم‌های ناشی از آسیب‌های بیرونی، دیابت، جراحی و سوختگی، همواره مورد توجه پژوهشگران حوزه پزشکی بوده است. هرچند زخم‌های جزئی‌تر، بدون کمک عوامل درمانی توسط بدن ترمیم می‌شوند، زخم‌های خاص و بزرگ‌تر برای التیام نیاز به کمک‌های درمانی دارند. یکی از اهداف اصلی التیام زخم، کاهش مدت زمان بهبود آن و ایجاد عوارض جانبی کمتر است. تاکنون پانسمان‌های متفاوتی برای بهبود زخم استفاده شده‌اند. پانسمان‌های سنتی رایج مانند گاز و پنبه، با وجود دردسترس بودن و ارزانی بسیاری از ویژگی‌های یک پانسمان مطلوب را ندارند [۱]. در سال‌های اخیر، همراه با توسعه نگرش متخصصان نسبت به التیام زخم، استفاده از پانسمان‌های نوین که مراحل اساسی التیام را همراهی می‌کنند، مورد توجه قرار گرفته است. برخی زخم‌پوش‌های نوین که تعدادی از آن‌ها نیز وارد بازار شده‌اند، شامل هیدروکلوئیدها، آلژینات‌ها، هیدروژل‌ها، اسفنج‌ها و نانوالیاف هستند. برای توسعه کارایی این زخم‌پوش‌ها، ممکن است مواد دارای فعالیت ضدمیکروبی، ضداکسنده‌های طبیعی، عوامل رشد، مهارکننده‌های پروتئاز و غیره در آن‌ها بارگذاری شوند. در سال‌های اخیر، انواع نوین‌تری از زخم‌پوش‌ها مانند انواع تولیدشده با کمک زیست‌چاپ، پاشش یاخته‌ای، چسب‌های زیستی و سامانه‌ها-هیدروژل‌های تشکیل‌شونده درجا برای کمک به التیام زخم توسعه یافته‌اند [۲].

هیدروژل‌ها به دلیل داشتن مقدار زیادی آب در ساختار، رفتار گران‌روکشسان دارند و دارای ویژگی‌های مشابه با بافت‌های زیستی هستند. هیدروژل‌ها به دلیل زیست‌سازگاری، شباهت ساختاری به ماتریس برون‌یاخته‌ای و غیره برای کاربردهای زیست‌پزشکی مناسب هستند. سامانه‌ها و هیدروژل‌های تشکیل‌شونده درجا، در شرایط محیطی به شکل مایع یا ماده گران‌رو به بدن تزریق می‌شوند و پس از قرارگیری در شرایط بدن، به واسطه تغییر در شرایط محیطی مانند دما، pH، قدرت یونی، وجود برخی مولکول‌ها، تابش نور مرئی یا فرابنفش و غیره به صورت ذرات جامد یا ژل درمی‌آیند. سامانه‌های تشکیل‌شونده درجا به دلیل شکل‌گیری در شرایط متعارف، نبود نیاز به جراحی برای کاشت سامانه، امکان بارگذاری دارو یا یاخته در محلول پیش‌ساز و ایجاد رخ‌نمای رهایش طولانی‌مدت و تقریباً یکنواخت، گزینه مناسبی برای دارورسانی، مهندسی بافت، زخم‌پوش و غیره هستند. از مزیت‌های دیگر این سامانه‌ها آن است که می‌توانند فضای خالی و پستی و بلندی موضع

آسیب‌دیده را به طور کامل پر کنند و ضمن تشکیل، چسبندگی مناسبی با بافت اطراف فضای آسیب‌دیده ایجاد و به بسته‌شدن لبه‌های زخم کمک کنند. افزون بر این، به دلیل ارتباط مستقیم با زخم و دارابودن ساختار مناسب می‌توانند مانند داربست موقت شرایط رشد و تکثیر یاخته‌های پوستی و تشکیل بافت را فراهم کنند. این مزیت‌ها موجب افزایش توجه دانشمندان به استفاده از آن‌ها در التیام زخم شده است [۴-۲]. تاکنون مطالعات گسترده‌ای برای تهیه این سامانه‌ها از پلیمرهای سنتزی-طبیعی با روش‌های مختلف شبکه‌ای‌شدن فیزیکی و شیمیایی انجام شده و ارزیابی استفاده از آن‌ها به عنوان زخم‌پوش در چند سال اخیر قوت گرفته است. در این مقاله، پس از معرفی مختصر زخم‌پوش‌های سنتی و نوین، ضمن بحث درباره سامانه‌های تشکیل‌شونده درجا، استفاده از آن‌ها برای کمک به التیام زخم بررسی شده است.

انواع زخم‌پوش‌های سنتی و نوین استفاده‌شده در التیام زخم

زخم‌پوش‌های سنتی

از گذشته تاکنون، گاز نخی بافته‌شده یا مخلوط بافته‌شده ریون یا سایر الیاف مانند پلی‌استر یا پنبه، متداول‌ترین و ارزان‌ترین پانسمان در بازار شناخته می‌شوند. در گذشته فرض می‌شد، اگر زخم خشک و باز نگه‌داشته شود، روند التیام آن سریع‌تر و مؤثرتر است. با وجود اینکه هنوز هم برخی متخصصان معتقدند گاز سترون به اندازه زخم‌بندهای جدید مؤثر و مفید است، مطالعات نشان می‌دهد، التیام زخم با پانسمان‌های مرطوب عموماً سریع‌تر از پانسمان‌های خشک انجام می‌شود. استفاده از گاز سترون مضراتی از قبیل خشک‌شدن زخم، چسبیدن به آن و دردکشیدن بیمار هنگام تعویض دارد. آن‌ها سدهای خوبی در برابر عبور و رشد باکتری‌ها نیستند [۱،۲].

زخم‌پوش‌های نوین

یک پانسمان زخم مطلوب باید محیط اطراف زخم را مرطوب نگه دارد، موجب کاهش درد بیمار شود، انتقال بخار و گاز را به خوبی انجام دهد، ترشحات اضافی را حذف کند، خشکی زخم را متوقف سازد، رشد باکتری‌ها را از طریق ایجاد مقاومت در برابر نفوذ عوامل بیرونی متوقف و ترشح عامل رشد و سنتز کلاژن را تحریک کند و از زخم به طور مکانیکی حفاظت کند [۵،۱]. بر این اساس، زخم‌پوش‌های نوینی به بازار ارائه شده که در ادامه به برخی از آن‌ها اشاره شده است.

الیاف سدیم آلژینات شبکه‌ای‌شده به وسیله کلسیم از نمک‌های

سامانه‌های تشکیل‌شونده درجا

سامانه‌های تشکیل‌شونده درجا، سیالات تزریق‌پذیری هستند که با کمترین حالت هجومی، به موضع بدنی مدنظر تزریق و پس از تزریق به واسطه تغییرات شرایط محیطی یا مخلوط‌شدن با مواد شبکه‌ساز تبدیل به ژل می‌شوند. این سامانه‌ها برای قرارگرفتن درجا به جراحی نیاز ندارند، عامل‌های درمانی مختلف شامل دارو یا یاخته می‌توانند، پیش از تزریق، به محلول-سیال پیش‌ساز اضافه شوند و همچنین ماهیت سیالی آن‌ها، باعث می‌شود به خوبی محل عارضه و پستی و بلندی و حفره‌های داخلی زخم را پر و با لبه‌های زخم ارتباط برقرار کنند. افزون بر این، ضخامت و حجم مورد استفاده می‌تواند به وسیله استفاده‌کننده تنظیم شود [۸]. این سامانه‌ها می‌توانند به صورت هم‌زمان، نقش عامل جلوگیری از خونریزی، عامل کنترل رهایش دارو یا داربست یاخته‌ای، چسب بافتی و زخم‌پوش را ارائه دهند. افزون بر این، به دلیل ارتباط مستقیم با زخم و دارابودن ساختار مناسب می‌توانند مانند یک داربست موقت شرایط رشد و تکثیر یاخته‌های پوستی و تشکیل بافت را فراهم کنند. به هر حال، نیاز به ابزار اختلاط و تزریق در مورد برخی سامانه‌ها، امکان پخش درجا و اطراف زخم پیش از تشکیل ژل و امکان رهش انفجاری دارو و غیره از مشکلات عمده این سامانه‌هاست. سامانه‌های تشکیل‌شونده درجا از نظر سازوکار تشکیل شبکه به ژل‌های فیزیکی و شیمیایی و موارد دیگر مانند خمیرهای ترموپلاست و جدایش فازی تقسیم می‌شوند.

سامانه‌های تشکیل‌شونده در جای شبکه‌ای شده فیزیکی

از سازوکارهای شبکه‌ای‌شدن فیزیکی می‌توان ژل‌شدن در اثر تغییر دما و pH براساس برهم‌کنش‌های آب‌گریز، ژل‌شدن یونی، خودگردایش و کمپلکس‌شدن فضایی را نام برد [۸، ۹]. برهم‌کنش الکتروستاتیک ایجادشده میان زنجیر پلیمری یک پلیمر باردار و یک پلیمر یا یون دارای بار مخالف، می‌تواند موجب تشکیل هیدروژل شبکه‌ای‌شده فیزیکی در شرایط دمای محیط و pH فیزیولوژیک شود. پایداری و رفتار رئولوژیکی هیدروژل‌های یونی وابستگی زیادی به وجود یون‌ها و pH محیط دارد که استفاده درون‌تنی آن‌ها را با چالش روبه‌رو می‌سازد. در یک پژوهش، اختلاط محلول کیتوسان عامل‌دارشده با کندروتین سولفات و محلول کیتوسان موجب تشکیل نوعی هیدروژل متخلخل و گران‌روکشسان در موضع زخم شده است. این هیدروژل قابلیت همراهی با تکثیر یاخته‌های پوستی و برون‌پوستی را داشت [۱۰]. ایجاد اتصالات

آلژینیک اسید موجود در جلبک قهوه‌ای ساخته می‌شوند. در ابتدا، این پانسمان به شکل ماده خشک است، اما در تماس با زخم با جذب رطوبت به نوعی ژل مرطوب تبدیل می‌شود. این زخم‌پوش، برای زخم‌های با ترشحات زیاد و در فازهای التهابی و همچنین برای دبریدمان (debridement) زخم مفید است. ولی در زخم‌های با ترشحات کم یا خشک، ژل تشکیل نمی‌شود و ممکن است ماده به بافت گرانوله بچسبد و باعث تروما شود.

پانسمان‌های هیدروکلوئیدی شامل یک لایه داخلی چسبنده، یک توده ضخیم جاذب هیدروکلوئیدی و پوشش خارجی نازک مقاوم به آب و نفوذناپذیر در برابر باکتری هستند. توده هیدروکلوئید از پلی‌ساکاریدها (مانند کربوکسی متیل سلولوز یا پکتین) و ژلاتین ساخته شده که با جذب ترشحات زخم متورم می‌شود. این زخم‌پوش‌ها برای زخم‌های دارای ترشحات کم و متوسط استفاده می‌شوند، ولی برای زخم‌های دارای ترشحات زیاد مناسب نیستند. جلوگیری از آلودگی، حفظ رطوبت سطح زخم و جذب ترشحات آن از مزایا و احتمال ایجاد بوی ناخوشایند و عفونت بی‌هوازی از معایب این زخم‌پوش‌هاست [۶].

کلاژن از کاربردی‌ترین پلیمرهای طبیعی است و بخش عمده انواع بافت‌های بدن را تشکیل می‌دهد. پانسمان‌های کلاژنی که به شکل پد، ژل، غشاهای متخلخل و نامتخلخل، ذرات و اسفنج ساخته می‌شوند، ترشحات را جذب و با فراهم‌ساختن محیط مرطوب و قرارگیری کلاژن تازه شکل‌گرفته در بستر زخم به ترمیم آن کمک می‌کنند. کلاژن باعث تحریک فیبروبلاست و درشت‌خوارها شده و به عنوان ماتریس موقت برای رشد یاخته‌های سازنده بافت پوست عمل می‌کند. اسفنج‌های کلاژنی آغشته به جتتامایسین به مدت طولانی در جراحی ارتوپدی و بافت نرم انسانی استفاده شده‌اند [۷].

هیدروژل‌ها معمولاً به شکل ورقه در التیام زخم استفاده می‌شوند. ورقه‌های هیدروژل، زمانی که روی زخم خشک استفاده می‌شوند، آن را مرطوب و محیط مناسبی برای ترمیم زخم ایجاد می‌کنند. هیدروژل‌ها با ایجاد محیط مرطوب و کاهش دمای زخم، باعث کاهش درد در بافت‌های آسیب‌دیده با تابش و سوختگی‌های سطحی و نیز التهاب می‌شوند. ورقه‌های هیدروژل، معمولاً به سطح زخم نمی‌چسبند و به راحتی از روی زخم کنده می‌شوند. همچنین به دلیل شفافیت، امکان مشاهده سطح زخم بدون برداشتن زخم‌پوش را فراهم می‌کنند. هیدروژل‌ها برای زخم‌های خشک و سوختگی‌ها استفاده می‌شوند و برای زخم‌های عفونی و دارای ترشحات زیاد مناسب نیستند.

فیزیکی میان زوج‌های مکمل پیوندیافته با زنجیرهای پلیمری مانند زوج گیرنده و لیگاند، زوج پادتن-پادگن و نیز خودگردایش پپتیدها می‌تواند برای تولید سامانه‌های تشکیل‌شونده درجا با سازوکار خودگردایش استفاده شود. عملکرد ویژه واکنش‌های مکمل یادشده از مزیت‌های این سامانه‌ها و احتمال بروز واکنش‌های ایمنی از مشکلات استفاده از آنهاست. پپتیدهای خودگردایشی، زنجیرهای کوتاه آمینواسیدی هستند که وقتی در معرض سیالات زیستی قرار می‌گیرند به دلیل ایجاد برهم‌کنش‌های یونی، آب‌گریز یا پیوندهای هیدروژنی به شکل الیاف، ذرات یا وزیکول درمی‌آیند. این پپتیدها ممکن است به شکل طبیعی موجود باشند یا به صورت نو ترکیب تولید شوند. هیدروژل‌های تولیدشده از پپتید RADA16 از جمله سامانه‌های تشکیل‌شونده درجایی هستند که برای کمک به التیام زخم استفاده شده‌اند [۹].

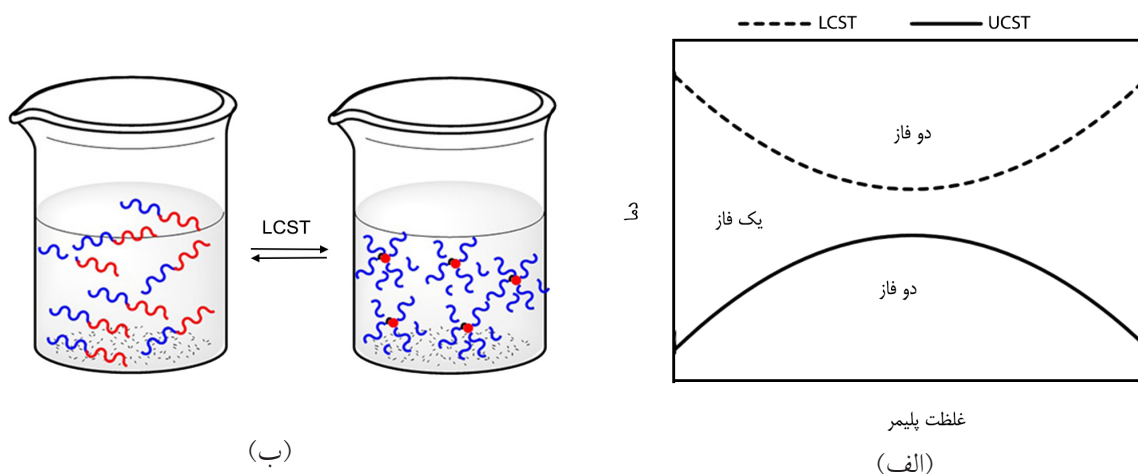
ویژگی حساسیت به دمای محلول برخی پلیمرهای طبیعی یا سنتزی به تعادل میان گروه‌های آب‌دوست و آب‌گریز در ساختار آنها برمی‌گردد. این ویژگی موجب می‌شود تا این پلیمرها در یک محدوده دمایی محلول باشند و در محدوده دمایی بیشتر یا کمتر بسته به غلظت، به شکل میسل یا ژل‌های فیزیکی درآیند. پلیمرهای با حل‌پذیری حساس به گرما به دو دسته دارای دمای بحرانی بالایی انحلال (UCST) و دمای بحرانی پایینی انحلال (LCST) تقسیم‌بندی می‌شوند. نوع اول (مانند آگاروز و کاراگینان) در دمای بیش از دمای بحرانی محلول تک‌فازی است و در دمای کمتر دوفازی می‌شود. نوع دوم مانند پلی (N-ایزوپروپیل آکریل آمید) و پلی (N-وینیل کاپرولاکتام) در دمای کمتر از دمای بحرانی محلول هستند و با افزایش دما دوفازی شده و تبدیل به ژل-رسوب

می‌شوند. نمایی از رفتار حل‌پذیری حساس به دمای پلیمرها در شکل ۱ نشان داده شده است.

نوعی از پلیمر حساس به دما که در دمای محیط و کمتر از آن محلول بوده و در دمای بدن تبدیل به ژل می‌شود، برای تولید سامانه تشکیل‌شونده درجا مفید است. برای کنترل دمای تغییر فاز پلیمرهای حساس به دما و همچنین توسعه زیست‌سازگاری آنها، کوپلیمرشدن پیوندی یا دسته‌ای این پلیمرها (یا مونومر آنها) با پلیمرهای سنتزی (یا مونومر آنها) یا پلیمرهای طبیعی، موضوع بسیاری از پژوهش‌های حوزه زیست‌پزشکی بوده است. در یک کار پژوهشی، با پیوند زنی ایزوپروپیل آکریل آمید به آلژینات به عنوان جزء حساس به دما، زخم‌پوش هیدروژلی تشکیل‌شونده درجای حساس به دما تولید و در التیام زخم ارزیابی شد. برای افزایش کارایی هیدروژل، کورکومین به محلول پیش‌ساز اضافه شد. دمای ژل شدن و خواص ژل حاصل با کنترل طول شاخه پیوندیافته و غلظت و pH محلول پلیمری تنظیم‌پذیر بود. هیدروژل یادشده با کمک به جمع شدن زخم و نیز به دلیل اثرهای ضد اکسندگی، کاهش التهاب و افزایش کلاژن‌زایی موجب بهبود روند التیام زخم شد [۱۲].

سامانه‌های تشکیل‌شونده درجا با سازوکار شیمیایی

تشکیل هیدروژل شبکه‌ای شده شیمیایی، نتیجه ایجاد پیوند کووالانسی میان زنجیرهای پلیمری است. به طور کلی، ژل‌های شیمیایی دارای استحکام مکانیکی و پایداری بیشتری نسبت به ژل‌های فیزیکی هستند. از سازوکارهای شبکه‌ای شدن شیمیایی می‌توان به پلیمرشدن و شبکه‌ای شدن القاشده با نور، گرما و تابش فرابنفش، اتصال کووالانسی میان گروه‌های عاملی واکنش‌پذیر و

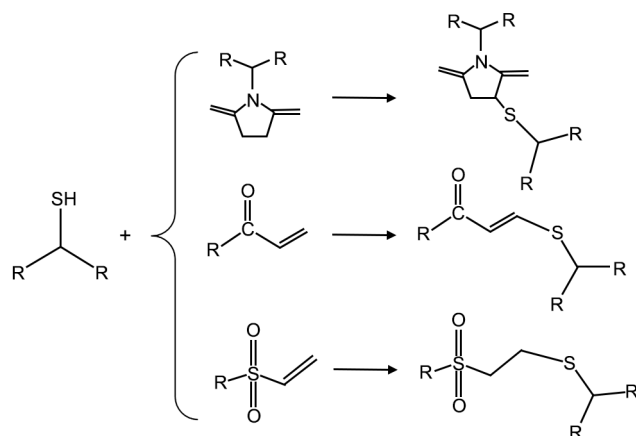


شکل ۱- (الف) نمایی از رفتار حل‌پذیری پلیمرهای حساس به دما و (ب) توضیح چگونگی تغییر فاز و ژل شدن یک کوپلیمر دسته‌ای دوواحدی دارای LCST [۱۱].

سازوکارهای زیست شیمیایی مانند ژل شدن آنزیمی اشاره کرد [۹].

پلیمر شدن و شبکه‌ای شدن در جای نوری

در پلیمر شدن و شبکه‌ای شدن در جای نوری، مونومر، اولیگومر یا پلیمرهای دارای گروه‌های عاملی مانند متاکریلات، آکریلات و فومارات به همراه آغازگر نوری و ماده شبکه‌ای‌کننده به بدن تزریق می‌شوند. آغاز واکنش پلیمر شدن شبکه‌ای شدن بسته به نوع آغازگر، به وسیله تابش نواحی خاصی از طیف نور مانند نور مرئی، تابش فرابنفش یا زیرقرمز نزدیک انجام و موجب تشکیل ژل-پلیمر شبکه‌ای شده در موضع تزریق می‌شود [۱۳]. با وجود واکنش پذیری مناسب و گستردگی کاربرد، نفوذپذیری کم تابش فرابنفش، سمیت آغازگرهای حساس به تابش فرابنفش و رادیکال‌های تولید شده در فرایند و اثرهای جانبی احتمالی تابش فرابنفش از محدودیت‌های استفاده از این روش است. در مقابل، تابش نور مرئی و زیرقرمز نزدیک دارای واکنش پذیری کمتری است، ولی عمق نفوذ بیشتر و سمیت کمتری را نشان می‌دهد. بنابراین، به دلیل مشکلات استفاده از تابش فرابنفش، جایگزینی آغازگرهایی که قابلیت آغاز پلیمر شدن با نور مرئی و زیرقرمز نزدیک را دارند، مورد توجه قرار گرفته است. در برخی کارهای پژوهشی برای تولید زخم‌پوش هیدروژلی تشکیل شونده درجا، محلول ژلاتین یا سایر پلیمرهای زیستی عامل دار شده با گروه متاکریلات در مجاورت آغازگر نوری با تابش فرابنفش پرتودهی شده است. هیدروژل تولید شده دارای استحکام مکانیکی و پایداری مناسب برای استفاده به عنوان زخم‌پوش برای التیام زخم‌های مزمن بود [۹، ۱۴].



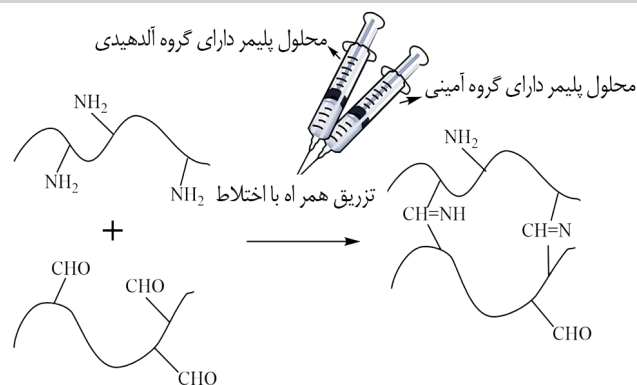
شکل ۲- واکنش افزایش مایکل شامل واکنش گروه تیولی با گروه‌های (مال‌ایمید، آکریلات یا وینیل سولفون) برای تشکیل ژل درجا [۱۵].

واکنش بین پلیمرهای حاوی گروه‌های عاملی واکنش پذیر

تزریق و اختلاط هم‌زمان دو محلول پلیمری حاوی گروه‌های عاملی واکنش پذیر نسبت به هم، موجب تشکیل ژل در موضع تزریق در اثر برقراری پیوند کووالانسی میان گروه‌های عاملی واکنش پذیر می‌شود. در میان واکنش‌های متعدد، تعداد کمی از آن‌ها از نظر سمیت قابل استفاده بوده و از سرعت کافی برای تشکیل درجای هیدروژل پیش از پخش محلول پیش‌ساز در بافت برخوردار هستند. از واکنش‌های استفاده شده، واکنش افزایشی مایکل است. این واکنش میان یک گروه هسته‌دوست مانند تیول و پیوند دوگانه متصل به یک گروه الکترون‌دوست مانند وینیل سولفون، آکریلات یا مال‌ایمید روی درشت‌مولکول‌های پلیمری انجام می‌شود (شکل ۲) [۱۵].

هر چند وینیل سولفون به عنوان ماده کوچک مولکول سمی شناخته می‌شود و می‌تواند به آسانی به سیتوپلاسم یاخته وارد شود و با DNA واکنش دهد، پیوندزنی آن به درشت‌مولکول‌های زیستی با جلوگیری از نفوذ موجب کاهش سمیت آن می‌شود [۱۶]. Peng و همکاران [۱۷] از نوعی هیدروژل تشکیل شونده درجا بر مبنای واکنش افزایشی مایکل میان پلی‌اتیلن گلیکول متاکریلات دار شده و یک پلیمر دارای گروه تیولی (دی‌تیوتریتول) برای التیام زخم استفاده کردند. برای کمک به روند التیام زخم هپارین و عامل رشد، فیبروبلاست (bFGF) به محلول پیش‌ساز هیدروژل اضافه شد. تجزیه و تحلیل‌های حیوانی نشان داد، با استفاده از هیدروژل بارگذاری شده با دارو، رگ‌زایی و تکثیر یاخته در موضع زخم بهتر انجام شده است. در یک کار پژوهشی دیگر، در شرایط اکسایشی تحت غلظت کنترل شده، تانیک اسید به ژلاتین پیوند یافته است. در ادامه، در مجاورت نقره نیترات به عنوان آغازگر، واکنش شبکه‌ای شدن افزایشی مایکل انجام و نوعی چسب زیستی تولید شده است که چسبندگی مناسبی را میان بافت‌های مرطوب در آزمایش‌های برون‌تنی و درون‌تنی نشان داده که دارای خواص ضد میکروبی بوده است [۱۸].

واکنش باز شیف میان گروه‌های آمینی یک پلیمر و گروه آلدیدی پلیمر دیگر (شکل ۳) راه‌کار دیگری است که برای ساخت شبکه تشکیل شونده درجا استفاده شده است. برای ساخت پلیمر دارای گروه آلدیدی، اکسایش پلی‌ساکاریدها به وسیله یک اکسنده قوی مانند سدیم پریدات انجام شده است. گروه آلدید تشکیل شده می‌تواند در واکنش باز شیف با گروه آمینی پلیمرهایی مانند کیتوسان و ژلاتین شرکت کند و موجب تشکیل شبکه شیمیایی درجا شود [۲۰].



شکل ۳- نمای کلی واکنش باز شیف برای تولید هیدروژل تشکیل‌شونده درجا [۱۹].

آزاد و کربوکسامید را کاتالیز می‌کند. پیوند کووالانسی شکل گرفته در برابر تخریب پروتئین‌کافتی بسیار مقاوم و سرعت واکنش ژل شدن در حدود ۲۰-۲ min است. فعالیت دسته‌ای از آنزیم‌های ترانس‌گلوتامیناز به وجود یون کلسیم بستگی دارد و دسته‌ای دیگر برای فعالیت نیازی به وجود این یون ندارند. از این واکنش تاکنون برای تهیه شبکه هیدروژلی و همچنین پیوندزنی مولکول‌های فعال زیستی مانند عوامل رشد به سطح بافت‌ها استفاده شده است [۲۲]. تیروزیناز که با نام فنول اکسیداز هم شناخته می‌شود، آنزیمی است که در مجاورت یون مس، اکسایش فنول‌ها به کوئینون‌های فعال را کاتالیز می‌کند. کوئینون‌های فعال در مجاورت اکسیژن مولکولی با گروه هیدروکسید یا آمین واکنش می‌دهند و اتصال کووالانسی شکل می‌گیرد. نمای کلی این واکنش در شکل ۴الف آورده شده است. نتایج مطالعات درباره تشکیل هیدروژل ژلاتین-کیتوسان به‌وسیله گلوتامیناز و تیروزیناز نشان داده است، سرعت واکنش شیمیایی کاتالیزشده به‌وسیله تیروزیناز نسبت به گلوتامیناز بیشتر است و هیدروژل تشکیل‌شده تخریب‌پذیری بیشتر و استحکام مکانیکی کمتری نسبت به نوع دیگر دارد.

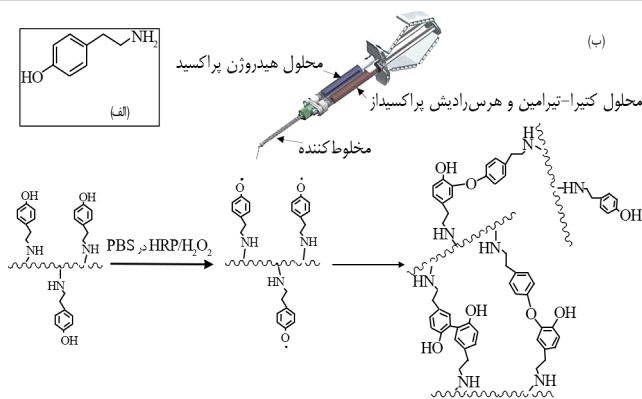
لیزیل اکسیداز در تشکیل و بازساخت شبکه برون‌یاخته‌ای نقش اساسی دارد و گروه آمینی لیزین را به آلدهید اکسید می‌کند. در ادامه گروه آلدهیدی با واکنش با گروه آمینی پروتئین‌ها، موجب شبکه‌ای شدن ماتریس برون‌یاخته‌ای می‌شود. آنزیم لیزیل اکسیداز برای تهیه هیدروژل از پپتیدهای غنی از لیزین استفاده شده است و به‌دلیل فعالیت پیوسته این آنزیم، هیدروژل تشکیل‌شده خواص مکانیکی زیاد و تخریب‌پذیری کمی دارد. آنزیم یادشده با کاتالیز کردن واکنش بین گروه لیزین موجود در پلیمر و گروه آمین اولیه پروتئین‌های بافت موجب تثبیت هیدروژل به بافت اطراف می‌شود [۲۲]. نمایی از واکنش شبکه‌ای شدن با استفاده از لیزیل اکسیداز در شکل ۴ب آورده شده است.

گروهی از آنزیم‌ها از جمله فسفاتاز، کیناز، ترمولیزین و بتالاکتاماز با افزودن یا جداکردن گروه‌های عاملی خاص می‌توانند موجب تغییر آب‌دوستی مشتقات پپتیدی دوگانه‌دوست شوند. در ادامه، خودآرایی موجب تشکیل هیدروژل می‌شود. برای مثال، فسفاتاز با کاستن گروه فسفات موجب افزایش آب‌گریزی مشتق پپتیدی می‌شود، در نتیجه در محیط آبی اجزای آب‌گریز به‌شکل شبکه نانوالیاف سه‌بعدی خودآرایی می‌شوند. این آنزیم‌ها به‌دلایلی مانند سرعت ناکافی تشکیل ژل و گران‌قیمتی یا دردسترس نبودن آنزیم به اندازه کافی به‌طور گسترده در تولید هیدروژل‌ها استفاده نشده‌اند. پراکسیدازها دسته گسترده‌ای از آنزیم‌ها هستند که واکنش زیر

Chen و همکاران با تزریق همراه با اختلاط محلول کیتوسان اصلاح‌شده و دکستران اکسیدشده، نوعی پانسمان هیدروژلی تزریق‌پذیر با خواص ترمیم زخم، فعالیت ضدباکتری و چسبندگی بافت طراحی کردند. این هیدروژل در شرایط فیزیولوژیکی از طریق واکنش باز-شیف و برهم‌کنش‌های آب‌گریز تشکیل شد. Jin و همکاران، هیدروژل تزریقی QCS/PF را با اختلاط محلول کیتوسان آمونیوم چهارتایی دارشده (quarternized chitosan, QCS) و محلول Pluronic® F127 (PF127) تهیه کردند. این هیدروژل از طریق واکنش بین گروه‌های آمین دار QCS و گروه‌های آلدهید پلورونیک تشکیل و با بارگذاری داروی کورکومین در ماتریس هیدروژل، باعث بهبود روند التیام زخم شد [۲۱]. Xuan و همکاران [۱۹] برای تولید زخم‌پوش هیدروژلی تشکیل‌شونده درجا، تزریق به‌همراه اختلاط محلول کربوکسی متیل کیتوسان و محلول آلژینات اکسیدشده را انجام دادند. آن‌ها برای اصلاح خواص هیدروژل، نانوالیاف پلی‌متیل متاکریلات عامل‌دارشده با گروه کربوکسی‌متیل را به محلول پیش‌ساز افزودند.

ژل شدن آنزیمی

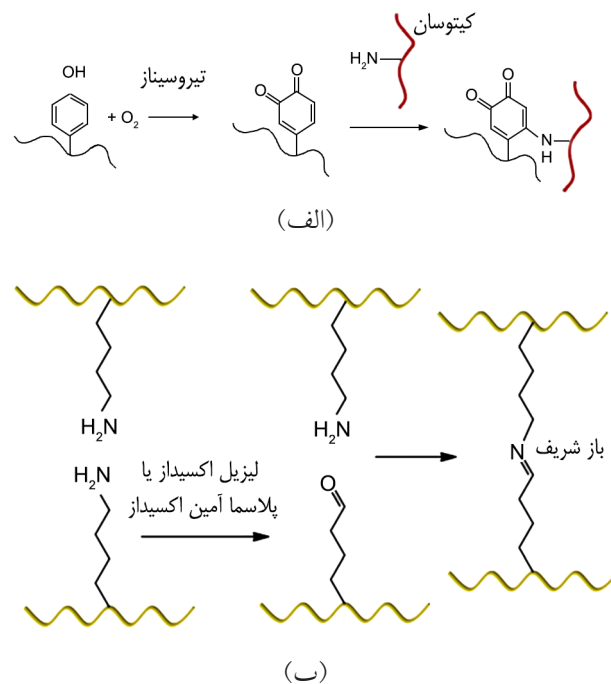
در این فرایند، انجام یک واکنش شیمیایی به‌واسطه فعالیت آنزیمی موجب تشکیل ژل می‌شود. از مزایای ژل شدن آنزیمی، ژل شدن در شرایط متعارف بدن، امکان تنظیم سرعت واکنش و حذف واکنش‌های جانبی به‌دلیل عملکرد اختصاصی آنزیم‌هاست [۲۲]. آنزیم‌های مختلفی تاکنون برای ژل شدن و تشکیل درجای شبکه هیدروژل استفاده شده است. آنزیم‌های ترانس‌گلوتامیناز که به‌عنوان نوعی چسب زیستی شناخته می‌شوند، لخته‌های فیبرینی را تثبیت می‌کنند و پروتئین‌ها را در تقسیم یاخته‌ای شبکه‌ای می‌کنند. این آنزیم‌ها ایجاد پیوند کووالانسی میان گروه‌های آمین



شکل ۵- (الف) ساختار تیرامین و (ب) نمای ساخت هیدروژل تشکیل‌شونده درجای آنزیمی از پلیمر عامل‌دارشده با گروه تیرامینی [۲۳].

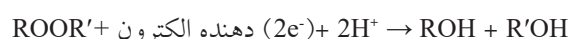
ژلاتین عامل‌دار، تشکیل هیدروژل تشکیل‌شونده درجا انجام شد. برای افزایش رسانندگی الکتریکی هیدروژل، نانولوله‌های کربنی پوشش‌یافته با دوپامین و برای افزایش قدرت باکتری‌کشی، آنتی‌بیوتیک داکسی‌سیلین به ساختار هیدروژل اضافه شد. تجزیه و تحلیل‌های حیوانی نشان داد، بسته‌شدن زخم‌های پوستی ایجادشده و رسوب کلاژن در زمان استفاده از هیدروژل یادشده نسبت به نمونه شاهد در زمان کمتری رخ داده است. Phuong و همکاران [۲۵] با اختلاط محلول ژلاتین عامل‌دارشده با گالیک اسید (GGA) و ژلاتین عامل‌دارشده با هیدروکسی فنیل پروپیونیک (GH)، نوعی زخم‌پوش هیدروژلی تشکیل‌شونده درجا با استفاده از واکنش آنزیمی یادشده تولید کردند. همچنین، Eugene و همکاران [۲۶] ابتدا مشتق محلول در آب پلی‌اتیلن گلیکول-کیتوسان را ساختند و در ادامه تیرامین به ساختار پلیمر عامل‌دار پیوند زده شد. پلیمر عامل‌دارشده با گروه تیرامین با استفاده از سامانه کاتالیزی یادشده درجا تشکیل ژل داد و برای التیام زخم پوستی در موش صحرایی بزرگ استفاده شد. این هیدروژل، چسبندگی زیادی در مقایسه با چسب فیبرین و سیانوآکریلات و تأثیر معناداری بر بهبود زخم نشان داد. با توجه به سمیت هیدروژن پراکسید در غلظت‌های زیاد، در برخی مطالعات از روش‌های غیرمستقیم برای تولید هیدروژن پراکسید استفاده شده است. از این موارد می‌توان به اکسایش گلوکوز به وسیله گلوکوز اکسیداز و اکسایش-کاهش خودبه‌خود گروه‌های تیولی هرس‌رادیخ پراکسیداز در مجاورت غلظت‌های زیاد ۰/۱ M گلوکوز اشاره کرد [۲۷].

تعداد کم مطالعه‌های درون‌تنی، ناپایداری برخی آنزیم‌ها مانند ترانس‌گلوتامیناز و تیروزیناز و محدودیت خواص مکانیکی ژل شکل‌گرفته از چالش‌های پیش روی هیدروژل تشکیل‌شونده



شکل ۴- نمای کلی واکنش شبکه‌ای شدن آنزیمی: (الف) شبکه‌ای شدن ژلاتین و کیتوسان با استفاده از آنزیم تیروزیناز و (ب) شبکه‌ای شدن پروتئین‌ها به وسیله لیزیل اکسیداز [۲۲].

را کاتالیز می‌کنند. تعداد گسترده‌ای از این خانواده می‌توانند روی هیدروژن پراکسید عمل کنند:



هرس‌رادیخ پراکسیداز (horseradish peroxidase) و پراکسیداز سویا، آنزیم‌هایی با منشأ گیاهی هستند که به‌طور رایج در تهیه هیدروژل‌ها استفاده شده‌اند. هرس‌رادیخ پراکسیداز، پروتئینی تک‌زنجیری از نوع بتاست. این آنزیم بارها برای اتصال مشتقات دارای گروه فنولی در مجاورت هیدروژن پراکسید استفاده شده است. هم‌تافت ایجادشده در اثر ترکیب آنزیم هرس‌رادیخ پراکسیداز با هیدروژن پراکسید می‌تواند گروه‌های فنولی را به شکل رادیکال آزاد درآورد. در ادامه با واکنش میان رادیکال‌های آزاد، شبکه‌ای شدن رخ می‌دهد. نمای کلی واکنش ژل شدن آنزیمی محلول کثیرای عامل‌دارشده با تیرامین در شکل ۵ آورده شده است. Liang و همکاران [۲۴] برای تولید زخم‌پوش هیدروژلی تشکیل‌شونده درجا، دوپامین را که دارای گروه‌های فنولی و فعالیت ضداکسندگی است به زنجیر ژلاتین پیوند زدند. با اختلاط محلول هیدروژن پراکسید-هرس‌رادیخ پراکسیداز و محلول

درجای آنزیمی است. پایداری و دسترسی آنزیم‌ها می‌تواند با توسعه آنزیم‌های نو ترکیب بهبود یابد. خواص مکانیکی ضعیف برخی هیدروژل‌ها می‌تواند با ترکیب انواع آنزیم‌ها، پس از انتخاب و تنظیم مواد، توسعه یابد. هرس رادیش پراکسیداز به علت پایداری زیاد، خالص سازی آسان، دردسترس بودن چه به شکل گیاهی و چه نوع نو ترکیب، گزینه مناسبی در میان آنزیم‌هاست. اما، پژوهش‌های در زمینه تولید آنزیم‌هایی مانند تیروزیناز نو ترکیب با خواص ژل‌کنندگی مناسب نیز در حال انجام است.

شبکه‌ای شدن برگرفته از پروتئین‌های صدف دریایی و گروه‌های تیروزینی

برخی پژوهشگران تلاش کردند از سازوکاری که صدف دریایی برای چسبیدن به سطوح استفاده می‌کند، برای تولید سامانه‌های تشکیل‌شونده درجا و چسب‌های زیستی استفاده کنند. این مجموعه شامل ۶ پروتئین مختلف که پروتئین‌های چسب صدف دوکپه‌ای (mussel adhesive proteins, MAP) هستند، به همراه ماده دارای گروه فنولی کتکول است. گروه کتکول، حلقه ۶ کربنی غیراشباع دارای ۲ یا تعداد بیشتری گروه هیدروکسی فنولی ۴،۳-دی هیدروکسی فنیل آلانین یا دوپامین است. چون دوپامین می‌تواند اثرهای جانبی بر سامانه عصبی داشته باشد، استفاده از پلی‌فنول‌های گیاهی مانند تانن‌ها پیشنهاد شد که دارای تعداد زیادی گروه پیروگالول یا کتکول هستند. این ترکیبات عموماً دردسترس، ارزان، تا حد زیادی ایمن و دارای خاصیت ضد میکروبی و ضد اکسند هستند. یکی از این ترکیبات، تانیک اسید است.

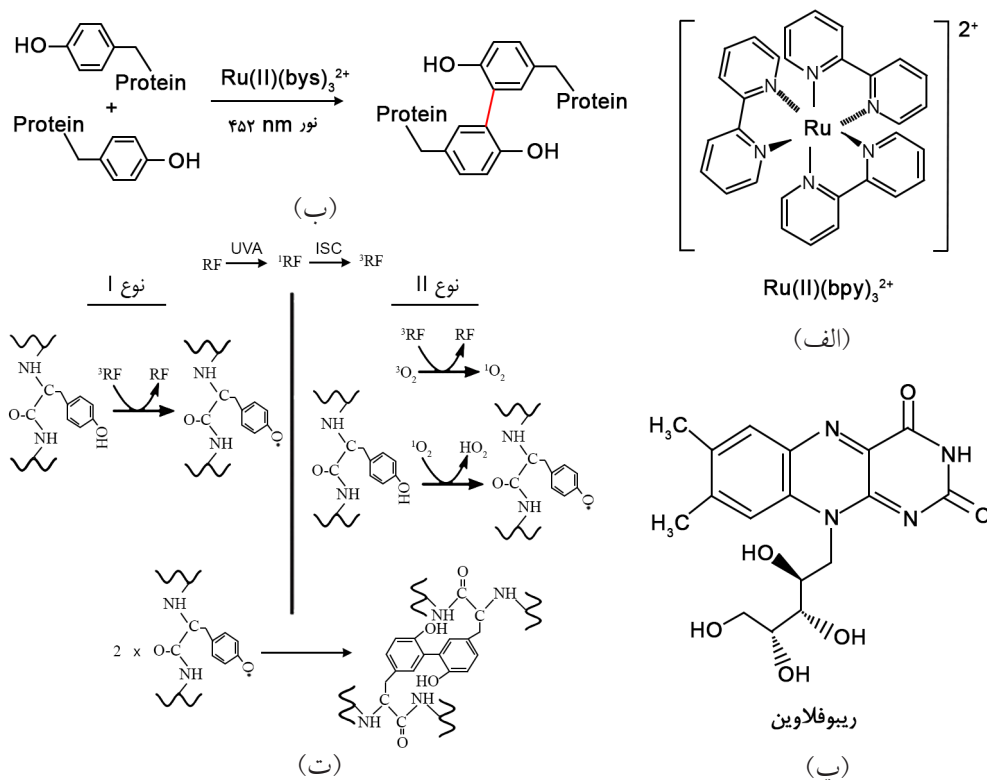
این ماده با داشتن ۵ بازوی پلی‌فنولی، امکان ایجاد ساختار شبکه پلیمری شامل اتصالات کووالانسی با گروه آمینی پپتیدها و پروتئین‌ها یا اتصالات فیزیکی شامل برهم‌کنش‌های هیدروژنی، یونی و آب‌گریز را فراهم می‌کند. از سوی دیگر، در صورتی که گروه‌های پیروگالول اکسید شوند، می‌توانند به‌طور شیمیایی با بافت‌ها پیوند برقرار کنند. بزرگ‌ترین مشکل استفاده از تانیک اسید، تعداد زیاد برهم‌کنش‌های غیرکووالانسی ایجاد شده است که به کلوخه‌ای شدن و تشکیل ژل-هیدروژل غیریکنواخت منجر می‌شود [۲، ۱۸]. با توجه به دشواری استخراج پروتئین‌های مسئول اتصالات از صدف دریایی، در یک کار پژوهشی این پروتئین‌ها به شکل نو ترکیب تولید شدند. در ادامه نیاز بود تا با استفاده از یک واکنش آنزیمی، پروتئین‌های متصل به دوپامین تولید شوند، اما این واکنش بازدهی کمی دارد. بنابراین پژوهشگران تلاش کردند، بدون استفاده از دوپامین از واکنش شبکه‌ای شدن نوری برای اتصال شیمیایی

گروه‌های تیروزینی و شبکه‌ای شدن استفاده کنند. برای مثال، در یک طرح پژوهشی MPA نو ترکیب تولیدی به وسیله باکتری، به همراه کمپلکس روتینیم ($(\text{Ru(II)bpy}_3^{2+})$ و سدیم پرسولفات مخلوط و به مدت ۶۰ s تحت نور لامپ دندانه‌پزشکی (۶۰ nm) و 1200 mW/cm^2 قرار گرفت. هیدروژل تشکیل شده که LAMBA نام دارد در آزمون‌های حیوانی در مدت زمان کمتر از ۶۰ s زخم‌های دارای خونریزی و باز را بست و در ادامه با کمترین التهاب بازسازی بافت را همراهی کرد [۲۸]. مزیت این سامانه نسبت به بسیاری از چسب‌های موجود، چسبندگی مناسب آن به بافت‌های مرطوب و زیست‌سازگاری آن است. تیروزین دارای یک گروه فنولی است که واکنش‌پذیری اکسایشی دارد. شبکه‌ای شدن بین تیروزین و تشکیل پیوند دی‌تیروزین در ارگانسیم‌های مختلف در اثر پیری، تنش‌های اکسایشی و غیره رخ می‌دهد. همچنین، شبکه‌های اتصالات دی‌تیروزینی نیز در موارد مختلف مانند بال‌های سنجاقک، فیبرین ابریشم، کوتیکول ملخ و غیره مشاهده شده است. این پیوندهای دی‌تیروزینی به توسعه ویژگی‌های کشسانی و طول عمر خستگی درازمدت منجر می‌شود. پروتئین‌های دارای گروه‌های تیروزینی می‌توانند با استفاده از واکنش‌های آنزیمی، فتون و شبکه‌ای شدن نوری، تشکیل پیوندهای دی‌تیروزینی دهند. این پیوندها پایداری ساختاری و خواص فیزیکی مناسبی برای استفاده در درازمدت دارند. شبکه‌ای شدن نوری در دما و شرایط محیطی و بدون نیاز به حلال‌ها و آغازگرهای شیمیایی سمی انجام می‌شود. برای تشکیل پیوندهای دی‌تیروزینی راه‌های مختلف پیشنهاد شده‌اند:

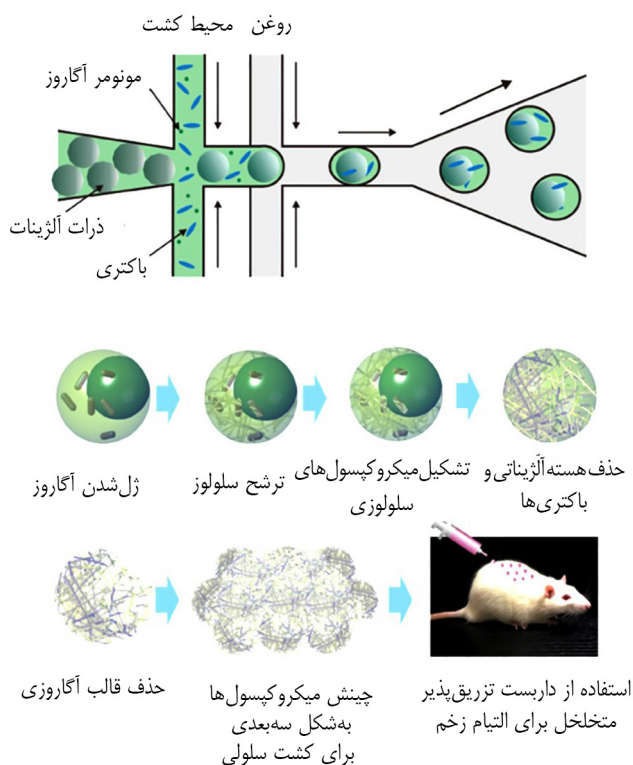
الف- تابش فرابنفش بدون استفاده از هیچ افزودنی می‌تواند موجب اکسایش نوری تیروزین و در ادامه شبکه‌ای شدن پپتیدهای دارای گروه تیروزینی شود. این واکنش در پلیمرهای کوتاه‌زنجیر کارایی بیشتری نشان داده است.

ب- نور مرئی می‌تواند موجب فعال شدن فعالیت کاتالیزی اکسایش-کاهش نوری شود. در این میان، کمپلکس پلی‌پیریدین روتینیم به‌خاطر پایداری زیاد در دمای محیط، زمان زیاد برانگیختگی نوری و دردسترس بودن به‌طور تجاری، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. در این واکنش که نمای کلی آن در شکل ۶ ب نشان داده شده است، وقتی کمپلکس روتینیم در برابر نور مرئی قرار می‌گیرد، یک الکترون به پرسولفات منتقل می‌شود که گروه‌های تیروزینی را اکسید می‌کند. سمیت نسبی روتینیم، استفاده درون‌تنی آن را چالش برانگیز می‌کند.

پ- ریوفلاوین و برخی مشتقات آن مانند ریوفلاوین ۵-فسفات یا فلاوین مونونوکلئوتید و فلاوین آدنین‌دی‌نوکلئوتید قابلیت آن را دارند



شکل ۶- برخی واکنش‌های شبکه‌ای شدن نوری پلیمرهای دارای گروه تیروزین: (الف) و (ب) ساختار کمپلکس روتنیم و سازوکار تشکیل ژل درجا در مجاورت این ماده و (پ) و (ت) ساختار ریوفلاوین و سازوکار تشکیل ژل درجای نوری در مجاورت این ماده [۲۹].



شکل ۷- نمایی از فرایند تشکیل میکروذرات متخلخل سلولوزی تزریق‌پذیر برای ترمیم زخم [۳۰].

تا در برابر نور یا تابش فرابنفش، به عنوان آغازگر نورشیمیایی موجب ایجاد اتصالات دی‌تیروزینی شوند. نمای کلی این واکنش در شکل ۶د نشان داده شده است. نقطه قوت فلاوین مونونوکلوئید نسبت به ریوفلاوین، حل‌پذیری بیشتر آن در آب است. واکنش ایمن تشکیل پیوندهای دی‌تیروزینی در مجاورت کاتالیزگرهای ریوفلاوینی و عدم سمیت این مواد، نقطه قوت این واکنشگرها برای تولید زخم‌پوش‌های هیدروژلی و استفاده از آن‌ها در التیام زخم است [۲۹].

هیدروژل‌های تشکیل‌شونده درجای برپایه میکروذرات متخلخل

محدودیت اندازه و میزان تخلخل در هیدروژل‌های تشکیل‌شونده درجا و همچنین مشکلات مربوط به عدم همخوانی زمان زیست‌تجزیه داربست با زمان تکثیر یاخته‌ها، موجب شد تا برخی پژوهشگران در راستای ساخت سامانه‌های تشکیل‌شونده درجا، در نتیجه برهم‌کنش بین میکروذرات متخلخل از پیش تولیدشده پژوهش کنند. برای این کار، میکروذرات یادشده به وسیله ابزارهای ریزسیالی ساخته و در ادامه به محل زخم تزریق می‌شوند.

برهم‌کنش میان میکروذرات در موضع زخم موجب تشکیل درجای ژل می‌شود. نمای کلی این فرایند در شکل ۷ نشان داده شده

است. تخلخل و خواص کنترل‌شده این سامانه، موجب بهبود فرایند رشد و تکثیر بافته‌ها و ترشح ماتریس برون‌باخته‌ای و درنهایت بهبود روند التیام زخم می‌شود. در پژوهشی با استفاده از فرایند ریزسیالی و کشت باکتریایی، میکروگوی‌های توخالی سلولوز باکتریایی تولید و به‌عنوان یک سامانه تزریق‌پذیر برای بهبود روند التیام زخم استفاده شد. استفاده از این زخم‌پوش، موجب بهبود روند التیام زخم‌های ایجادشده بر پوست موش‌های صحرایی بزرگ شد [۳۰].

نتیجه‌گیری

سامانه‌های تشکیل‌شونده درجا می‌توانند در شرایط محیطی به‌شکل مایع یا ماده‌گران‌رو به بدن تزریق شوند و پس از قرارگیری در شرایط بدن به‌واسطه تغییر در شرایط محیطی مانند دما، pH، قدرت یونی، وجود برخی مولکول‌ها، تابش نور و غیره به‌شکل ذرات جامد یا ژل درآیند. هیدروژل‌های تشکیل‌شونده درجا، ضمن تزریق آسان و غیرتهاجمی، قابلیت آن را دارند تا به‌شکل فضای خالی زخم درآمده و تمام فضا را پرکنند، به‌خوبی با بافت‌های اطراف ارتباط برقرار کنند و دارو-یاخته را در موضع عارضه کپسولی کنند. افزون بر این، آن‌ها از قابلیت عمل کردن هم‌زمان در نقش عامل بندآورنده

خونریزی، چسب بافتی و غیره نیز برخوردارند و مانند یک داربست موقت شرایط رشد و تکثیر بافته‌های ترمیم‌کننده بافت پوست را فراهم آورند. برای تشکیل درجای هیدروژل از واکنش‌های مختلف شیمیایی و زیست‌شیمیایی یا برهم‌کنش‌های فیزیکی استفاده می‌شود. در این میان، انواعی از هیدروژل‌ها بسیار مفیدند که با واکنش‌های دارای سمیت کم تشکیل می‌شوند. این واکنش‌ها اغلب از واکنش‌های موجود در بدن انسان یا سایر موجودات الهام گرفته شده‌اند. در روش‌های ژل‌شدن نوری، به‌دلیل نفوذپذیری کم تابش فرابنفش، سمیت آغازگرها و رادیکال‌های تولیدشده و اثرهای جانبی احتمالی تابش فرابنفش، جایگزینی آغازگرهایی که قابلیت آغاز پلیمرشدن با نور مرئی و زیرقرمز نزدیک را دارند، مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است. از میان روش‌های آنزیمی، هرس رادیش پراکسیداز به‌علت پایداری زیاد، خالص‌سازی آسان، دردسترس بودن چه به‌شکل گیاهی و چه نوترکیب، گزینه مناسبی است. اما پژوهش‌های در زمینه تولید آنزیم‌هایی مانند تیروزیناز نوترکیب با خواص ژل‌کنندگی مناسب نیز در حال انجام است. همچنین، میکروذرات شبکه‌ای‌شونده درجای تولیدی با استفاده از ریزسیال‌ها، دارای قابلیت بالقوه زیادی برای کمک به التیام زخم هستند. درنهایت برای غلبه بر چالش‌های موجود در زمینه استفاده درون‌تنی از سامانه‌های یادشده و توسعه خواص آن‌ها، هنوز نیاز به مطالعه و پژوهش گسترده‌تر وجود دارد.

مراجع

- Alipour H., Koosha M., Sarraf Shirazi M.J., and Jebali A., Modern Commercial Wound Dressings and Introducing New Wound Dressings for Wound Healing: A Review, *Polymerization (persian)*, **6**, 65-80, 2017.
- Chouhan D., Dey N., Bhardwaj N., and Mandal B.B., Emerging and Innovative Approaches for Wound Healing and Skin Regeneration: Current Status and Advances, *Biomaterials*, **216**, 119267, 2019.
- Yang J.A., Yeom J., Hwang B.W., Hoffman A.S., and Hahn S.K., In Situ Forming Injectable Hydrogels for Regenerative Medicine, *Prog. Polym. Sci.*, **39**, 1973-1986, 2014.
- Hosseini M. and Mobedi H., Injectable In Situ Forming Drug Delivery Systems Based on Biodegradable Polymers, *Polymerization (persian)*, **6**, 3-12, 2016.
- Kamoun E.A., Kenawy E.-R.S., and Chen X., A Review on Polymeric Hydrogel Membranes for Wound Dressing Applications: PVA-Based Hydrogel Dressings, *J. Am. Acad. Derm.*, **8**, 217-233, 2017.
- Zahedi P., Rezaeian I., Ranaei-Siadat S.O., Jafari S.H., and Supaphol P., A Review on Wound Dressings with an Emphasis on Electrospun Nanofibrous Polymeric Bandages, *Polym. Adv. Technol.*, **21**, 77-95, 2010.
- Wood R., Williams R., and Hughes L., Foam Elastomer Dressing in the Management of Open Granulating Wounds: Experience with 250 Patients, *J. Brit. Surg.*, **64**, 554-557, 1977.
- Ruel-Gariepy E. and Leroux J.-C., In Situ Forming Hydrogels-Review of Temperature-Sensitive Systems, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **58**, 409-426, 2004.
- Dimatteo R., Darling N.J., and Segura T., In Situ Forming Injectable Hydrogels for Drug Delivery and Wound Repair, *Adv. Drug. Deliv. Rev.*, **127**, 167-184, 2018.
- Sharma S., Madhyaṣṭha H., Laxmi Swetha K., Maravajjala K.S., Singh A., Madhyaṣṭha R., Nakajima Y., and Roy A., Development of an In Situ Forming, Self-Healing Scaffold for

- Dermal Wound Healing: in-Vitro and In Vivo Studies, *Mater. Sci. Eng. C*, **128**, 112263, 2021.
11. Castillo L., Castro-Alpizar J.A., Lopretti M., and Vega Baudrit J., Exploration of Bioengineered Scaffolds Composed of Thermo-responsive Polymers for Drug Delivery in Wound Healing, *Int. J. Mol. Sci.*, **22**, 1408, 2021.
 12. Zakerikhoob M., Abbasi S., Yousefi G., Mokhtari M., and Noorbakhsh M.S., Curcumin-Incorporated Crosslinked Sodium Alginate-g-Poly(N-isopropyl acrylamide) Thermo-responsive Hydrogel as an In Situ Forming Injectable Dressing for Wound Healing: In Vitro Characterization and In Vivo Evaluation, *Carbohydr. Polym.*, **271**, 118434, 2021.
 13. Corrente F., Amara H.M.A., Pacelli S., Paolicelli P., and Casadei M.A., Novel Injectable and In Situ Cross-Linkable Hydrogels of Dextran Methacrylate and Scleroglucan Derivatives: Preparation and Characterization, *Carbohydr. Polym.*, **92**, 1033-1039, 2013.
 14. Eke G., Mangir N., Hasirci N., MacNeil S., and Hasirci V., Development of a UV Crosslinked Biodegradable Hydrogel Containing Adipose Derived Stem Cells to Promote Vascularization for Skin Wounds and Tissue Engineering, *Biomaterials*, **129**, 188-198, 2017.
 15. Moradian A., Zandi M., Behzadnasab M., and Pezeshki-Modaress M., Synthesis Methods of In Situ Forming Injectable Hydrogels and Their Applications in Tissue Engineering: A Review, *Iran. J. Polym. Sci. Technol.*, **33**, 95-113, 2020.
 16. Pratt A.B., Weber F.E., Schmoekel H.G., Müller R., and Hubbell J.A., Synthetic Extracellular Matrices for In Situ Tissue Engineering, *Biotechnol. Bioeng.*, **86**, 27-36, 2004.
 17. Peng J., Zhao H., Tu C., Xu Z., Ye L., Zhao L., Gu Z., Zhao D., Zhang J., and Feng Z., In Situ Hydrogel Dressing Loaded with Heparin and Basic Fibroblast Growth Factor for Accelerating Wound Healing in Rat, *Mater. Sci. Eng. C*, **116**, 111169, 2020.
 18. Guo J., Sun W., Kim J.P., Lu X., Li Q., Lin M., Mrowczynski O., Rizk E.B., Cheng J., Qian G., and Yang J., Development of Tannin-Inspired Antimicrobial Bioadhesives, *Acta Biomater.*, **72**, 35-44, 2018.
 19. Xuan H., Wu S., Fei S., Li B., Yang Y., and Yuan H., Injectable Nanofiber-Polysaccharide Self-healing Hydrogels for Wound Healing, *Mater. Sci. Eng. C*, **128**, 112264, 2021.
 20. Maia J., Ferreira L., Carvalho R., Ramos M.A., and Gil M.H., Synthesis and Characterization of New Injectable and Degradable Dextran-Based Hydrogels, *Polymer*, **46**, 9604-9614, 2005.
 21. Qu J., Zhao X., Liang Y., Zhang T., Ma P.X., and Guo B., Antibacterial Adhesive Injectable Hydrogels with Rapid Self-healing, Extensibility and Compressibility as Wound Dressing for Joints Skin Wound Healing, *Biomaterials*, **183**, 185-199, 2018.
 22. Moreira Teixeira L.S., Feijen J., van Blitterswijk C.A., Dijkstra P.J., and Karperien M., Enzyme-Catalyzed Crosslinkable Hydrogels: Emerging Strategies for Tissue Engineering, *Biomaterials*, **33**, 1281-1290, 2012.
 23. Tavakol M., Vasheghani-Farahani E., Mohammadifar M.A., Soleimani M., and Hashemi-Najafabadi S., Synthesis and Characterization of an In Situ Forming Hydrogel Using Tyramine Conjugated High Methoxyl Gum Tragacanth, *J. Biomater. Appl.*, **30**, 1016-1025, 2016.
 24. Liang Y., Zhao X., Hu T., Han Y., and Guo B., Mussel-Inspired, Antibacterial, Conductive, Antioxidant, Injectable Composite Hydrogel Wound Dressing to Promote the Regeneration of Infected Skin, *J. Coll. Interf. Sci.*, **556**, 514-528, 2019.
 25. Le Thi P., Lee Y., Tran D.L., Thi T.T.H., Kang J.I., Park K.M., and Park K.D., In Situ Forming and Reactive Oxygen Species-Scavenging Gelatin Hydrogels for Enhancing Wound Healing Efficacy, *Acta Biomater.*, **103**, 142-152, 2020.
 26. Lih E., Lee J.S., Park K., and Park K., Rapidly Curable Chitosan-PEG Hydrogels as Tissue Adhesives for Hemostasis and Wound Healing, *Acta Biomater.*, **8**, 3261-9, 2012.
 27. Sakai S. and Nakahata M., Horseradish Peroxidase Catalyzed Hydrogelation for Biomedical, Biopharmaceutical, and Biofabrication Applications, *Chem. Asian. J.*, **12**, 3098-3109, 2017.
 28. Jeon E.Y., Hwang B.H., Yang Y.J., Kim B.J., Choi B.-H., Jung G.Y., and Cha H.J., Rapidly Light-Activated Surgical Protein Glue Inspired by Mussel Adhesion and Insect Structural Crosslinking, *Biomaterials*, **67**, 11-19, 2015.
 29. Liu C., Hua J., Ng P.F., and Fei B., Photochemistry of Bioinspired Dityrosine Crosslinking, *J. Mater. Sci. Technol.*, **63**, 182-191, 2021.
 30. Yu J., Huang T.R., Lim Z.H., Luo R., Pasula R.R., Liao L.D., Lim S., and Chen C.H., Production of Hollow Bacterial Cellulose Microspheres Using Microfluidics to Form an Injectable Porous Scaffold for Wound Healing, *Adv. Healthc. Mater.*, **5**, 2983-2992, 2016.