

Polymerization
Quarterly, 2023
Volume 13, Number 1
Pages 53-64
ISSN: 2252-0449

Electrospun Asymmetric Multilayer Membranes and Cell-Incorporated Constructs: Two Strategies to Accelerate Skin Wound Healing

Firoozeh Kavosh Tehrani, Mehdi Sheikhi, and Fatemeh Rafiemanzelat*

Polymer Chemistry Research Laboratory, Department of Chemistry, University of Isfahan,
Postal Code 81746-73441, Isfahan, Iran

Received: 29 Nov 2021, Accepted: 7 April 2022

Abstract

Wound healing is a complex process, and in some cases, it is accompanied by persistent inflammation, cell dysfunction, and angiogenesis limitations, which leads to long-term medical care, high cost, and poor quality of treatment. The use of antibiotics, dressings, and skin alternatives are current methods of wound healing treatments. However, the existing wound dressings are not yet capable of fully restoring all the structural and functional characteristics of the skin. Therefore, the development of asymmetric membranes with the ability to mimic the structure and function of the human skin multilayers has been considered as more efficient structures in facilitating wound healing as well as skin tissue engineering. Wet or dry/wet phase inversion, supercritical carbon dioxide (scCO₂) phase inversion, and electrospinning of polymer solutions are the common methods for the fabrication of multilayer structures. Among these, the electrospinning technique, due to its ease and versatility, the possibility of using different polymers, and the possibility of tailoring dressings in terms of specific structures of skin layers is promising. Another generation of emerging therapies is based on loading cells with the potential of wound healing acceleration. In the first part of this review, the last research done on polymers used in asymmetric structures are discussed and then the electrospun structures containing special cells are reviewed.

Key Words

wound healing,
dressing,
asymmetric membrane,
electrospinning,
cell

(*) To whom correspondence should be addressed.
E-mail: frafiemanzelat@chem.ui.ac.ir

غشاهای الکتروریسی شده چندلایه‌ای نامتقارن و سازه‌های حاوی یاخته: دو راهبرد برای شتاب‌دهی التیام زخم‌های پوست

بسپارش
فصلنامه علمی
سال سیزدهم، شماره ۱،
صفحه ۶۴-۵۳، ۱۴۰۲
ISSN: 2252-0449

فیروزه کاوش طهرانی، مهدی شیخی، فاطمه رفیع منزلت*

اصفهان، دانشگاه اصفهان، دانشکده شیمی، گروه شیمی پلیمر، کد پستی ۸۱۷۴۶۷۳۴۴۱

دریافت: ۱۴۰۰/۹/۸، پذیرش: ۱۴۰۱/۱/۱۸

التیام زخم فرایند پیچیده‌ای بوده و در برخی موارد همراه با التهاب مداوم، اختلال عملکرد یاخته و اختلال در رگ‌زایی است که به افت کیفیت درمان منجر می‌شود. استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها، پانسمان‌ها و استفاده از جایگزین‌های پوستی از روش‌های مرسوم درمان زخم به‌شمار می‌روند. با وجود تمام تلاش‌هایی که تاکنون انجام شده است، در حال حاضر پانسمان‌های زخم موجود هنوز قابلیت بازیابی کامل تمام ویژگی‌های ساختاری و عملکردی پوست را ندارند. از این رو، استفاده از غشاهای نامتقارن با قابلیت تقلید ساختار و عملکرد چندلایه پوست انسان، به‌عنوان سازه‌های کارا تر در تسهیل التیام زخم و همچنین مهندسی بافت پوست مورد توجه قرار گرفته است. وارونگی‌های فاز تر یا خشک-تر، به کمک کربن دی‌اکسید ابربحرانی (scCO_2) و الکتروریسی الیاف پلیمری از روش‌های تولید این نوع از غشاهای چندلایه است. در این میان، مطالعات زیادی درباره روش الکتروریسی به‌دلیل سهولت و تنوع، امکان استفاده از پلیمرهای مختلف و ساخت پانسمان‌های متناسب با ساختار ویژه هر لایه از پوست انجام شده است. نسل دیگر روش‌های درمانی در حال ظهور برپایه بارگذاری یاخته‌های دارای قابلیت بالقوه التیام زخم در ساختارهای الکتروریسی‌شده بوده که نتایج نویدبخشی داشته است. در بخش نخست این مقاله، پژوهش‌های انجام‌شده درباره پلیمرهای استفاده‌شده در سازه‌های نامتقارن گردآوری شده و سپس سازه‌های الکتروریسی‌شده حاوی یاخته‌های ویژه مرور شده است. بدیهی است، آشنایی با عملکرد پلیمرها و آخرین روش‌های درمانی برای التیام زخم می‌تواند برای پژوهشگران این عرصه لازم و یاری‌دهنده باشد.

چکیده



فیروزه کاوش طهرانی



مهدی شیخی



فاطمه رفیع منزلت

واژگان کلیدی

التیام زخم،
پانسمان،
غشای نامتقارن،
الکتروریسی،
یاخته

مقدمه

پوست بزرگ‌ترین اندام در مهره‌داران است که یک‌دهم توده بدن آن‌ها را تشکیل می‌دهد. این بخش دارای ساختار سه‌لایه‌ای پیچیده شامل اپیدرم، درم و هیپودرم است که در هنگام بروز آسیب‌های فیزیکی به‌طور ذاتی و خودبه‌خود بازسازی می‌شود. این اندام پیچیده، بیرونی‌ترین سد محافظ بدن است که از اندام‌های داخلی در برابر عوامل بیماری‌زای میکروبی، تنش‌های مکانیکی و شیمیایی محافظت کرده و با تنظیم دمای بدن و جلوگیری از هدررفت آب، نقش مؤثری را در سلامتی بدن ایفا می‌کند. افزون بر این، پوست در تشخیص حسی و فرایندهای مربوط به ایمنی بدن اهمیت دارد [۱]. با این حال، اختلالات ژنتیکی، ترومای حاد، زخم‌های مزمن (مانند زخم‌های وریدی، دیابتی و فشاری) یا حتی جراحی و مداخلات بیرونی موجب ازدست‌رفتن یک پارچگی پوست می‌شود.

زخم‌های مزمن به‌عنوان شایع‌ترین علت تخریب پوست، می‌توانند به ایجاد زخم‌های عمیق و گسترده منجر شوند که نه تنها تهدیدی برای ایمنی بدن محسوب شده، بلکه با هدررفت مایعات و تشکیل اسکار، در نهایت موجب ناتوانی در خورتوجه یا حتی مرگ بیمار می‌شود [۲]. فرایند بهبود زخم واکنش زیستی طبیعی به آسیب بافتی است که در چهار مرحله با مشارکت یاخته‌های مختلف، سیتوکین‌ها، ترکیبات واسطه و سامانه عروقی انجام می‌شود. این فرایند شامل فازهای هموستاز، التهاب، تکثیر (proliferation) و بازسازی (remodeling) است که در زمانی خاص و توالی مناسب انجام می‌شوند. این مراحل لازم است در مدت زمان مناسب با پیشرفت کامل همراه باشند تا روند التیام زخم به‌طور کامل انجام شود. فرایند التیام برای همه زخم‌ها یکسان است، اما سرعت آن بسته به نوع زخم، سن، سامانه ایمنی بدن انسان و شرایط درمان می‌تواند متفاوت باشد [۳]. نقش هریک از این مراحل به‌طور مختصر در زیر اشاره می‌شود.

هموستاز: هموستاز از دو کلمه هایمو به معنی "خون" و استاز به معنی "سکون" تشکیل شده است که در واقع نشانگر عمل متوقف‌شدن است. هموستاز به‌صورت یک واکنش پیچیده و فوری نسبت به رگ خونی آسیب‌دیده در موضع زخم تعریف شده که با انقباض عروق و تشکیل لخته (plug) موجب جلوگیری از خونریزی می‌شود. در این مرحله به‌محض ایجاد ضایعه، موضع زخم در معرض تجمع پلاکت‌ها قرار می‌گیرد و با دانه‌زدایی (degranulation) و آزادشدن سیتوکین‌ها و عوامل رشد، شرایط لازم برای ایجاد لخته فراهم می‌شود. این فاز در حدود یک روز ادامه دارد [۴].

التهاب: فاز دوم در روند بهبود زخم مرحله دفاعی یا التهابی است

که با درد، تورم، قرمز شدن پوست و افزایش گرما در موضع همراه است. هدف از این مرحله، جلوگیری از ورود آلودگی، کنترل خونریزی، تخریب باکتری‌ها و بقایای آن‌هاست که در آماده‌سازی بستر زخم برای رشد بافت جدید نقش دارد. این فاز معمولاً تا سه روز ادامه می‌یابد [۵].

تکثیر: هنگامی که محیط زخم عاری از هرگونه آلودگی شود، التیام زخم وارد این فاز می‌شود. این فاز خود شامل سه مرحله پرکردن زخم، فشردن سازی لبه‌های زخم به یکدیگر و پوشش‌دهی آن است. در مرحله تکثیر، کلاژن‌ها که جزء پروتئین‌های اساسی برای تمام مراحل التیام زخم هستند، نقش بسزایی را ایفا می‌کنند [۴].

بازسازی: آخرین مرحله از فرایند التیام زخم، مرحله بازسازی است. در این مرحله، ساختار ماتریس کلاژنی تقویت می‌شود، کلاژن نوع ۳ به نوع ۱ تبدیل شده و پیوستگی بافت جدید به بافت قدیمی برقرار می‌شود. باگذشت زمان، بافت جدید استحکام و انعطاف خود را به‌دست می‌آورد. کلاژن‌های جدید در ساختار کلاژنی منظم چیده و جای‌گذاری می‌شوند که در نهایت موجب تشکیل اپیدرم جدید می‌شوند. به‌طور کلی، این مرحله بلوغ کامل بافت است و اسکار تشکیل می‌شود [۴].

روش‌های درمانی برای آسیب‌های پوستی به نوع، عمق و اندازه زخم بستگی دارد. در صورت بروز ضایعات کوچک مانند آسیب سطحی یا با ضخیم‌شدن جزئی پوست، زخم طی ۲ تا ۳ هفته تحت درمان‌های معمول بهبود می‌یابد. با این حال، التیام زخم‌های مزمن مانند سوختگی هم‌چنان چالشی برای پژوهشگران بالینی باقی‌مانده است. زیرا این‌گونه ضایعات با آسیب شدید به رگ‌های خونی در بافت زیرین پوست همراه است. زخم‌های دیابتی نیز در سطح یاخته‌ای و مولکولی روند متفاوتی از التیام زخم طبیعی دارند و از مرحله التهاب یا تکثیر به مرحله بعدی بهبود پیش نمی‌روند. افزون بر این، توازن ماتریس خارج‌یاخته‌ای (ECM)، ارتباطات یاخته‌ای، عوامل رشد دخیل در بهبود طبیعی زخم در زخم‌های مزمن دیابتی به‌طور کامل از میان می‌رود و تمام این موارد به تأخیر در روند بهبود منجر می‌شود [۶].

در میان انواع روش‌های درمانی، پانسمان‌های برپایه الیاف الکتریسی شده به دلیل نسبت سطح به حجم زیاد و شباهت‌های ریزساختاری (شکل‌شناسی) با ECM و همچنین قابلیت آن‌ها در جذب ترشحات، نفوذپذیری گاز و تسهیل فرایندهای یاخته‌ای از قبیل چسبندگی یاخته‌ای، مهاجرت و تکثیر آن به‌عنوان یک گزینه کارآمد برای پانسمان زخم مورد توجه هستند [۷]. کلاژن I یکی از اجزای اصلی ECM پوست بوده و دارای ساختار سه‌بعدی

می‌شوند. در کار حاضر، پیشرفت‌های اخیر ساخت شبکه‌های نانوالیاف پلیمری الکترورسی شده با دو رویکرد یادشده گردآوری شده است. در بخش نخست، غشاهای نامتقارن از دیدگاه پلیمرهای به کاررفته و آشنایی با پژوهش‌های جاری معرفی شده و سپس نقش داربست‌های حاوی یاخته در التیام زخم‌های پوست بحث می‌شود.

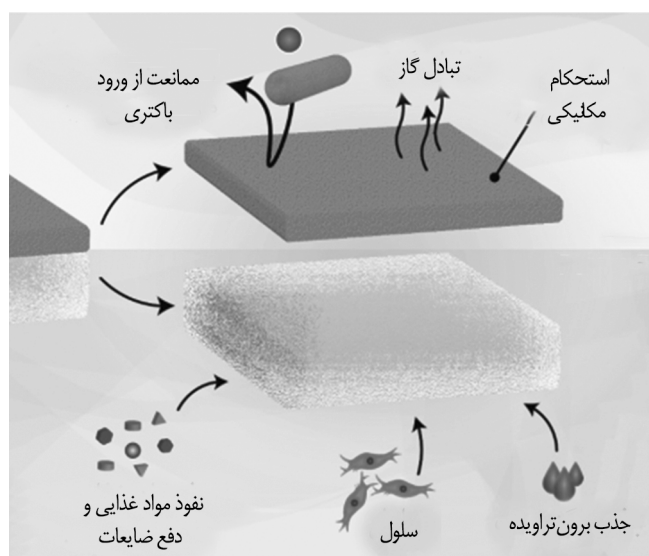
غشاهای الکترورسی شده نامتقارن

روش‌ها و پلیمرهای به کاررفته

غشاهای نامتقارن، شبکه‌های سه‌بعدی متشکل از دو لایه هستند که شباهت زیادی با پوست طبیعی دارند. این غشاها به دلیل ظرفیت ذاتی آن‌ها برای شبیه‌سازی لایه‌های اپیدرم و درم پوست به عنوان پانسمان‌های ایده‌آل برای زخم در حال ظهور هستند [۱۱]. لایه بیرونی غشاهای نامتقارن، ماتریس متراکم کم‌تخلخل با منافذ کوچک (یعنی کمتر از اندازه باکتری) و ماهیت آب‌گریز بوده که تقلیدی از لایه اپیدرم پوست را به نمایش می‌گذارد (شکل ۱). برخلاف لایه فوقانی، لایه زیرین از مواد آب‌دوست و ساختاری با تخلخل زیاد و منافذ بزرگ تشکیل شده است که مهاجرت، چسبندگی و تکثیر یاخته، جذب ترشحات زخم و همچنین فراهم کردن محیط مرطوب را تسهیل می‌کند [۱۲]. در این زمینه، تلاش‌ها به بهینه‌سازی ماهیت پلیمرهای استفاده‌شده، کنترل تخلخل و سرعت تخریب، میزان آب‌دوستی و چسبندگی، ایجاد خواص ضدباکتری و بارگذاری عوامل درمانی معطوف شده است. اولین غشای نامتقارن پلی‌یورتانی برپایه بوتان‌دی‌ال، ۴،۱-بوتان‌دی‌ایزوسیانات،

رشته‌ای در ابعاد nm ۵۰۰-۵۰ است. از این رو، در مقایسه با سایر پوشش‌ها مانند فیلم‌ها، هیدروژل‌ها و کلوئیدها، نانوالیاف الکترورسی شده با قطر الیاف مشابه با کلاژن پوست می‌تواند از لحاظ فیزیکی زیست‌تقلیدی برای بازسازی پوست فراهم کرده و چسبیدن و تکثیر یاخته‌های کراتینوسیت و فیبروبلاست پوست را تسهیل کند. توپوگرافی، استحکام مکانیکی و تخلخل سازه‌های الکترورسی شده نیز محیط مناسبی برای یاخته‌های فعال در فرایند بهبود ایجاد می‌کند و در نتیجه موجب تسهیل چشمگیر بهبود زخم می‌شود. با این حال، کارایی سازه‌های الکترورسی شده به دلیل عدم انطباق خواص مکانیکی با بافت و عدم شبیه‌سازی ساختار پیچیده و ناهمسان‌گردی پوست و همچنین فراهم نکردن عملکردهای ویژه مانند تحریک الکتریکی و امکان تشکیل اسکار با محدودیت مواجه است. نسل نوین سازه‌های الکترورسی شده، غشاهای چندلایه‌ای نامتقارن هستند که با هدف شبیه‌سازی هرچه بیشتر آناتومی پوست و تسریع در روند بهبودی زخم طراحی شده‌اند [۸]. نخستین بار، Sourirajan و Loeb این پیکربندی را با هدف توسعه غشاهای استر سلولوزی برای نمک‌زدایی آب دریا معرفی کردند. اکنون این غشاها در طیف گسترده‌ای از کاربردهای مهم صنعتی مانند اسمز معکوس، صافش، دیالیز، جداسازی گاز و پانسمان زخم استفاده می‌شوند [۹]. در حالی که اکثر پانسمان‌های تجاری متشکل از یک لایه با عملکرد محدود هستند، غشاهای نامتقارن ساختار پیچیده و عملکرد هوشمندانه‌تری دارند. غشاهای نامتقارن، ماتریس‌های سه‌بعدی متشکل از دولایه (چندلایه) هستند که شباهت زیادی با پوست طبیعی دارند و در عین حال از زخم در برابر نفوذ باکتری، کم‌آبی و تجمع ترشحات محافظت می‌کنند. به‌طور ویژه، لایه بیرونی پوست ساختار متراکم‌تری دارد و حاوی ریز منافذ به هم پیوسته است که می‌تواند از تهاجم باکتری جلوگیری کند. پیکربندی غشاهای نامتقارن نیز متشکل از لایه ریزمتخلخل متراکم یا آب‌گریز است که از نفوذ باکتری‌ها جلوگیری می‌کند. همچنین، دارای یک لایه درشت‌متخلخل پایینی است که امکان جذب ترشحات، تبادل گازی، مهاجرت و تکثیر یاخته‌ها را فراهم می‌کند [۱۰].

تلاش‌هایی که در حال حاضر در این زمینه در حال انجام است، مبتنی بر استفاده از پلیمرهای زیست‌فعال و دستیابی به پیکربندی مطلوب برای تسهیل فرایند التیام زخم و مهندسی بافت پوست است. رویکرد دیگری که امروزه پژوهش‌های مرتبط را به خود معطوف کرده است، طراحی و مهندسی نانوالیاف الکترورسی شده حامل یاخته، به‌ویژه یاخته‌های بنیادی است که با هدف دستیابی به سازه‌هایی چندمنظوره، زمینه‌های پژوهشی جاری را شامل



شکل ۱- طراحی از عملکردهای اصلی هر دو لایه بالا و پایین در یک غشای نامتقارن [۱۲].

دارای ساختار ساده یا مشبک داشته و ثابت یا چرخان باشد) میسر می‌شود. در نتیجه، طراحی غشا با توپوگرافی و ساختار سه‌بعدی مناسب برحسب کاربرد هدف امکان‌پذیر است [۱۸]. ساخت غشاهای نامتقارن نیز با تجمع لایه‌به‌لایه الیاف مختلف انجام‌پذیر است. به عبارتی، با تشکیل لایه روی یک لایه از پیش تولید شده، ساختاری حاصل می‌شود که لایه‌های اپیدرم و درم پوست را شبیه‌سازی می‌کند. در ارزیابی کیفی پژوهش‌های انجام شده، قابل‌استنباط است که نوع پلیمرهای استفاده شده، پیکربندی و مواد درمانی بارگذاری شده، عوامل اصلی در موفقیت به‌کارگیری غشا نسبت به نمونه دیگر است. گستره وسیعی از پلیمرها از قبیل آلون‌ه‌ورا (AV)، β -گلوکان استات و بوتیرات، کیتوسان (CS) و مشتقات آن، پلی‌دی‌اکسانون، پلی (کاپرولاکتون)، پلی (هیدروکسی بوتیرات)، پلی‌وینیلیدن فلوئورید و سایر موارد برای ساخت غشاهای نامتقارن استفاده شده‌اند که در ادامه به مهم‌ترین آن‌ها اشاره می‌شود که گزارش‌های زیادی را به‌خود اختصاص داده‌اند.

پلی (کاپرولاکتون)

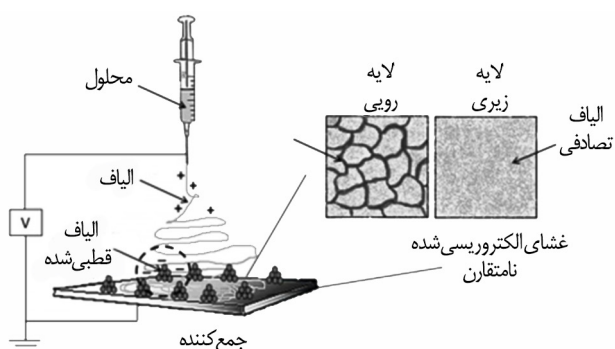
الیاف پلی (کاپرولاکتون) (PCL) به‌دلیل خواص مکانیکی زیاد، به‌طور معمول در لایه‌بندی بخش بیرونی غشا استفاده می‌شود تا سبب مقاومت مکانیکی مناسبی در غشای الکترووریسی نامتقارن شود. Reis و همکاران فرایند تولید غشاهای سه‌بعدی PCL را با هندسه نامتقارن، همان‌طور که در شکل ۲ نشان داده شده است، طراحی و گزارش کردند [۱۹]. فرایند خودگردایش که از نیروهای الکتروستاتیکی میان الیاف قطبی ناشی می‌شود به آرایش فشرده الیاف در سمت بالای نمونه منجر شده و در نهایت لایه متراکمی برای محافظت از زخم حاصل می‌شود. الیاف موجود در لایه زیرین نیز آرایش تصادفی دارد و با جذب ترشحات زخم و تسهیل

e-کاپرولاکتون و پلی‌اتیلن گلیکول (PEG) سنتز شد. مشاهده شد، خاصیت آب‌دوستی این مواد موجب جذب پلاکت‌ها و در نتیجه تسهیل فرایند انعقاد می‌شود [۱۳].

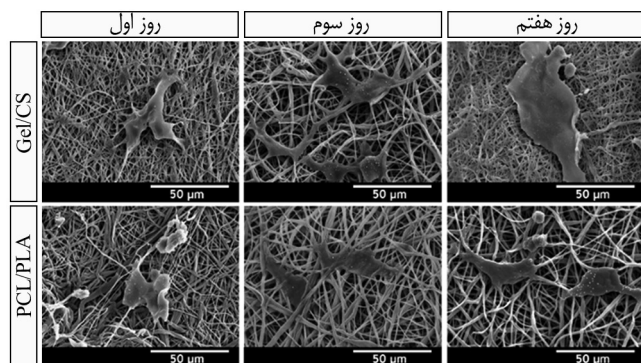
از روش‌های مرسوم تولید غشاهای نامتقارن، وارونگی فاز خشک-تر، وارونگی فاز به‌کمک کربن دی‌اکسید ابربحرانی (scCO_2) و الکترووریسی محلول‌های پلیمری هستند. در روش وارونگی فاز، ساختار نامتقارنی از رسوب محلول پلیمری در ضدحلال حاصل می‌شود که در آن لایه متراکمی بر لایه متخلخل تشکیل می‌شود [۱۰].

Marcano و همکاران از پلی (هیدروکسی آلکانوات) و پلی (وینیل پیرولیدون) (PVP) در N-متیل-۲-پیرولیدون نوار نازکی را روی سطح ایجاد کردند و با غوطه‌وری در آب، ساختار نامتقارنی تشکیل دادند. غلظت PVP نقش مؤثری در تشکیل ساختار متقارن، اندازه حفره و چگالی آن داشت [۱۴]. ساختارهای تشکیل شده با روش وارونگی فاز، دارای یک لایه رویی نازک، ناهمگن و با نقص ساختاری بودند. این ساختارها در جلوگیری از تبخیر بیش از حد آب و محافظت در برابر عوامل خارجی، عملکرد مطلوبی ندارند که مانع از کارایی آن‌ها در ارتقای فرایند بهبود زخم می‌شود [۱۵]. روش دیگر، وارونگی فاز به‌کمک کربن دی‌اکسید ابربحرانی است که به‌عنوان نوعی فناوری سبز برای تولید غشاهای نامتقارن استفاده شده است [۱۶]. در این روش، ساخت غشا از طریق رسوب یک محلول پلیمری در شرایط ابربحرانی CO_2 انجام شده و در نتیجه می‌توان خواص نامتقارن را با تنظیم غلظت محلول، نسبت ضدحلال به حلال، فشار، دما و سرعت کاهش فشار برحسب کاربرد بهینه کرد. به‌عنوان مزیت اصلی، این روش امکان جایگزینی حلال‌های آلی معمولی با scCO_2 را میسر می‌سازد که با محیط زیست سازگار است و زیست‌سازگاری پانسمان‌های تولید شده را افزایش می‌دهد [۱۷]. از سوی دیگر، دستیابی به شرایط ابربحرانی نیاز به استفاده از تجهیزات تخصصی و پرهزینه دارد که مانع از تجاری‌سازی فرایند تولید و انتقال به کلینیک می‌شود.

الکترووریسی، روش کارایی برای تهیه الیاف پلیمری است که سازوکار و مزایا و معایب آن در منابع گردآوری شده است [۱۸]. ویژگی‌های محلول تغذیه (از قبیل غلظت، گرانی، کشش سطحی، فراریت حلال و رسانش)، شرایط محیطی (مانند دما و رطوبت) و عوامل فرایندی (ولتاژ و جریان محلول) از عوامل اثرگذار بر ساختارهای پلیمری حاصل است. افزون بر این، امکان کنترل توپوگرافی الیاف با انتخاب مناسب سوسوزن (به‌عنوان مثال، هم‌محوری، چندجتی و چندسیالی هم‌محور) و جمع‌کننده (می‌تواند



شکل ۲- غشای نامتقارن سه‌بعدی الکترووریسی شده براساس آرایش الیاف PCL [۱۹].



شکل ۳- تصاویر SEM از شکل‌شناسی یاخته‌های NHDF که پس از ۱، ۳ و ۷ روز روی سطوح با ترکیب مختلف چسبیده‌اند [۲۲].

در پژوهش دیگری مشاهده شد، استفاده از پلیمرهای طبیعی همراه با PCL می‌تواند موجب شبیه‌سازی بیشتر غشا با آرایش پوست طبیعی شود. غشای متشکل از PCL و فیبروئین ابریشم (لایه بیرونی) و هیالورونیک اسید و فیبروئین ابریشم (لایه درونی) ویژگی‌های اپیدرم‌گونه، مانند آب‌گریزی، سد فیزیکی در برابر تهاجم ریزاندامگان و مقاومت مکانیکی را نشان می‌دهد. نتایجی از کارایی زیستی غشای یادشده گزارش نشده است [۲۴].

خاصیت آب‌گریزی لایه بیرونی نقش بسیار چشمگیری در کاهش میزان عفونت به‌ویژه در زخم‌های دیابتی دارد. با این حال، طراحی لایه‌ای ابرآب‌گریز برپایه پلیمرهای زیست‌سازگار کار دشواری است. در این راستا، Yu و همکاران، لایه آب‌گریز بیرونی را با الکتروریسی PCL روی قالب دارای حفره‌های میکرونی تهیه کردند. لایه درونی از ژلاتین حاوی پیوگلیتازون (Gel-pio) تهیه شد (شکل ۴). لایه بیرونی آب‌گریز با ساختار سلسله مراتبی قابلیت بسیاری در جلوگیری از چسبندگی باکتری‌ها نشان داد. لایه داخلی آب‌دوست با ساختار نانوالیافی و ژلاتینی زیست‌سازگاری، تکثیر یاخته‌ای، مهاجرت و رگ‌زایی را افزایش داد [۲۵].

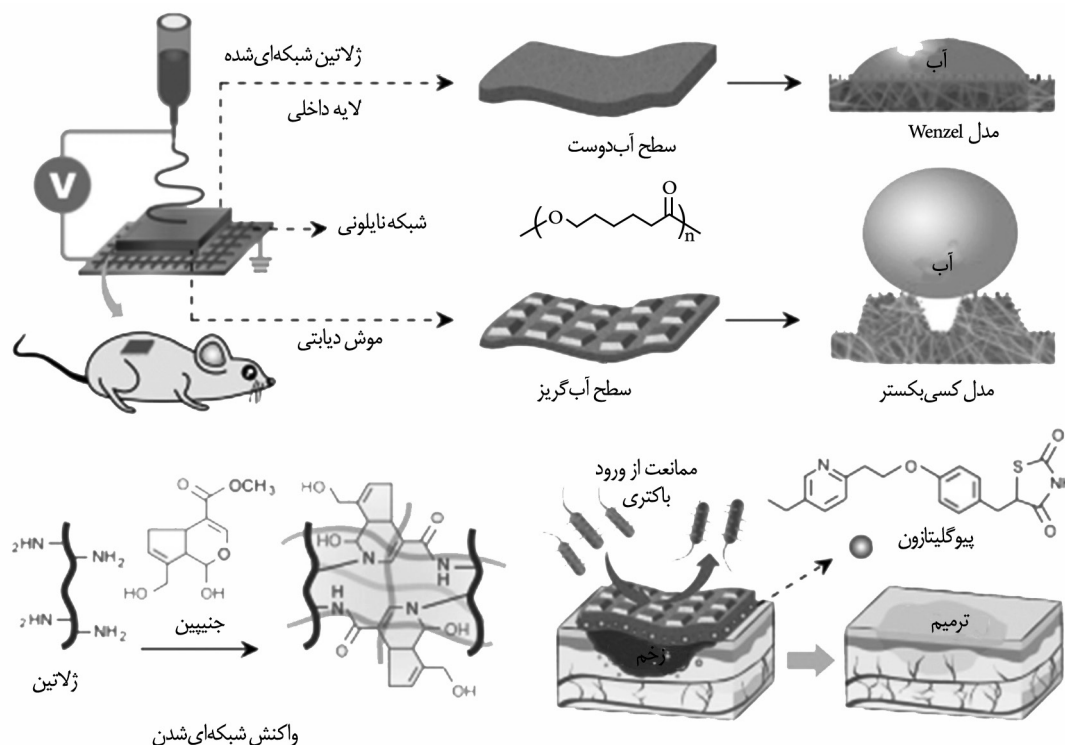
جدا از مزایای ساختاری غشاهای الکتروریسی‌شده نامتقارن، نانوالیاف موجود در ساختار آن‌ها می‌تواند حامی برای عوامل زیست‌فعال به‌منظور ارتقای فرایند بهبود زخم باشند. رهایش ترکیبات پیش‌گفته از نانوالیاف به‌طور عمده به سه طریق واجذب از سطح، نفوذ و تخریب الیاف انجام می‌شود. واجذب از سطح سرعت بیشتر و رهایش ناگهانی دارد. بارگذاری عوامل درمانی را می‌توان پیش از فرایند الکتروریسی (مانند آمیخته‌سازی، فرایند هم‌محور و امولسیون) یا پس از آن (مانند جذب فیزیکی، تجمع لایه‌به‌لایه و تثبیت شیمیایی) انجام داد. از سوی دیگر، نانوالیاف هسته-پوسته، عوامل درمانی را درون هسته نانوالیاف محصور

مهاجرت یاخته‌ها بستر مناسبی برای تماس اولیه غشا با پوست فراهم می‌کند.

Chanda و همکاران نوعی ساختار الکتروریسی نامتقارن برپایه CS، PCL و هیالورونیک اسید (HA) تهیه کردند که ضمن پایداری مکانیکی، ظرفیت زیادی برای فراهم کردن محیط مرطوب برای زخم نشان داد. غشای نامتقارن CS-PCL/HA دارای الیافی با قطر متوسط 362 ± 236 nm بود که مشابه الیاف کلاژنی موجود در ECM است (۵۰ nm تا ۵۰۰ nm) [۲۰]. Miguel و همکاران نیز با استفاده از دستگاه الکتروریسی، غشاهای نامتقارن برپایه PCL، CS و AV تولید کردند که لایه بالایی آن‌ها برپایه PCL (به‌منظور تقلید از اپیدرم) بود و لایه پایینی از CS و AV تشکیل می‌شد. نتایج نشان داد، لایه رویی دارای تخلخل کم و خواص مکانیکی بسیار مطلوبی است. لایه متخلخل زیرین که ساختار لایه درم را شبیه‌سازی می‌کند، موجب افزایش چسبندگی و تکثیر یاخته‌های فیبروبلاست می‌شود که در تولید اجزای ECM نقش داشته و نقش محوری در روند بهبود دارند. همچنین، لایه بالایی متراکم از نفوذ باکتری جلوگیری می‌کند و لایه زیرین به‌دلیل ماهیت ترکیبی آن از رشد *E. coli* و *S. aureus* در محل زخم جلوگیری می‌کند [۲۱].

در مطالعه دیگری، ساخت غشای با لایه محافظ از جنس PCL و پلی‌لاکتیک اسید (با قطر الیاف $691 \mu m$) گزارش شد. لایه زیرین از ترکیب ژلاتین و کیتوسان عامل‌دارشده با گروه وینیل (با قطر الیاف $477 \mu m$) بود و با وجود شبکه‌ای شدن نوری، سرعت تخریب بیشتری نسبت به لایه رویی نشان داد. نتایج حاکی از آن بود که غشاهای تولیدشده می‌توانند محیط مرطوبی را در موضع زخم ایجاد کنند. افزون بر این، چسبندگی یاخته‌های فیبروبلاست و گسترش و تکثیر در سطح غشاها، مناسب بودن آن‌ها را برای کاربردهای پانسمان زخم مشخص می‌کند (شکل ۳) [۲۲].

ترکیب PCL با پلیمرهای زیست‌فعالی مانند آلژینات می‌تواند گزینه مناسبی برای طراحی پانسمان‌های نانوالیافی باشد. با این حال، آلژینات فرایندپذیری کمی دارد و برای ایجاد استحکام نیازمند شبکه‌ای شدن است. استفاده از پلیمرهای کمکی و شبکه‌ای کردن دو راهکار برای رفع چالش مزبور است که می‌تواند اثر منفی بر زیست‌سازگاری نمونه داشته باشد. Doderer و همکاران، غشای نامتقارنی را طراحی کردند که لایه بیرونی آن از جنس PCL و لایه درونی از جنس آلژینات حاوی نانوذرات روی اکسید بود که به‌عنوان عامل شبکه‌ای‌کننده زیست‌سازگار استفاده شد. پایداری غشا به اندازه‌ای بود که می‌توان پلیمر کمکی پلی(اتیلن اکسید) را پیش از اعمال روی زخم با شست‌وشو حذف کرد [۲۳].



شکل ۴- الکترووریسی پیوسته PCL بر ریزالگوهای نایلونی در ساخت غشای نامتقارن [۲۵].

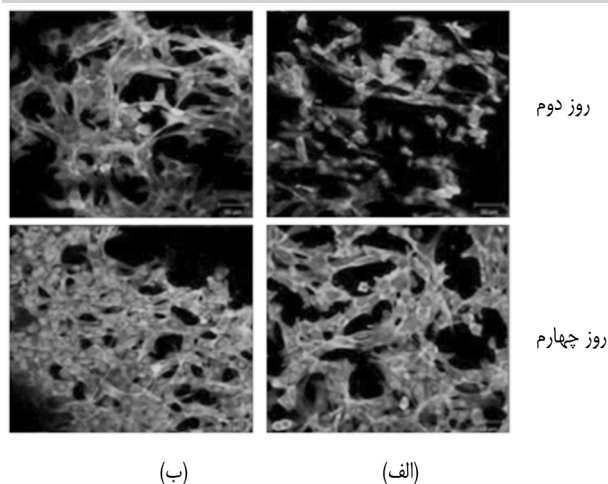
داد، یاخته‌ها به خوبی به سطح الیاف چسبیده و به طور همگن روی نانوالیاف پخش شدند که نشان از سازگاری یاخته‌ای نمونه‌های تهیه شده دارد.

سالیسیلیک اسید نیز عامل دیگری است که افزون بر خاصیت ضد میکروب، به عنوان التیام‌دهنده التهاب نیز استفاده می‌شود. Figueira و همکاران غشای الکترووریسی شده دولایه با لایه بالایی PCL و HA را تولید کردند که دارای خواص مکانیکی، تخلخل و ترشوندگی مناسب بود. این غشا به عنوان مانع فیزیکی در برابر تهدیدات خارجی و ورود عوامل بیگانه به موضع زخم عمل می‌کرد. زئین، CS و سالیسیلیک اسید نیز برای تولید لایه زیرین ترکیب شدند. این لایه با توجه به خواص آن قابلیت چسبندگی یاخته، پهن‌شدگی آن و تکثیر فیبروبلاست انسان را تقویت کرده و در عین حال از رشد ریزاندامگان جلوگیری کند که قابلیت بالقوه غشای حاصل را برای استفاده در کاربرد بهبود زخم تقویت می‌کند [۲۸].

Li و همکاران نیز از داروی ضد میکروب موپروسین و مسکن لیدوکائین به ترتیب در دو لایه اول و دوم از سازه تهیه شده با الیاف PCL استفاده کردند که خواص فیزیکی و شیمیایی (شکل‌شناسی، تخلخل، اندازه منافذ، جذب آب، زاویه تماس، پایداری گرمایی، استحکام کششی و رخ‌نمای رهایش کنترل شده) مناسب برای التیام

می‌کنند که خود در یک لایه پلیمری خارجی محصور شده و در نتیجه آزادسازی دارو با کنترل بیشتر و در زمان طولانی‌تری انجام می‌شود. Zahid و همکاران با هدف شتاب‌دهی به فرایند التیام زخم، غشای الکترووریسی شده PCL-پلی (لاکتیک اسید) غنی شده با α -توکوفرول استات (مشتقی از ویتامین E) را ساختند که افزون بر شتاب‌دهی التیام زخم، قابلیت آسان‌سازی مهاجرت، چسبندگی و تکثیر یاخته‌ای فیبروبلاست NIH3T3 را داشت. افزون بر این، مطالعات انجام شده درباره غشای کوریوآلانتویک جوجه نشان داد، نمونه بارگذاری شده با ویتامین E تعداد عروق خونی بیشتری را نسبت به نمونه فاقد آن نشان می‌دهد [۲۶].

افزون بر عوامل درمانی، ساختارهای نامتقارن حامل عناصر ضدباکتری دسته دیگری از مطالعات را به خود اختصاص داده‌اند. به منظور ساخت ماده پانسمان زخم ضد میکروب با مقاومت مکانیکی مناسب و قابلیت جذب ترشحات و ممانعت از خشک‌شدگی، غشاهای نامتقارن PCL-پلی (وینیل استات) (PVAc) بارگذاری شده با کارواکرول تهیه و معرفی شدند. غشاها از دو لایه تشکیل شدند که لایه بیرونی نوار PCL الکترووریسی شده کم تراکم و نوار دوم ورقه PVAc بود که از تخلخل بیشتری برخوردار بود و در تماس با پوست قابلیت رهاسازی ترکیب ضد میکروب را داشت (شکل ۵) [۲۷]. کشت یاخته‌های فیبروبلاست انسانی HDF نشان



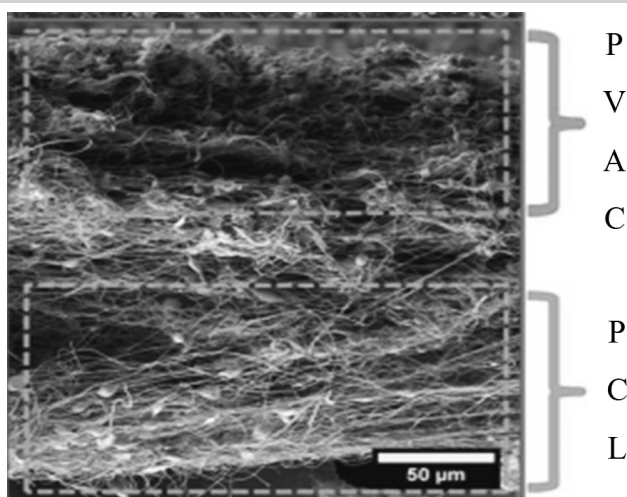
شکل ۶- تصاویر رنگ آمیزی شده با رودامین-DAPI از چسبندگی زیاد یاخته های فیروبلایست روی: (الف) PCL و (ب) PDO [۳۰].

یاخته های HT 1080 در غشای الکتروریسی شده نامتقارن CS/PDLA در مقایسه با سازه تکی PDLA افزایش چشمگیری می یابد. افزون بر این، نتایج آزمون درون تنی حاکی از آن بود، یاخته ها تا عمق $32/5 \mu m$ غشا نفوذ کرده اند و با افزایش تکثیر کراتینوسیت ها و فیروبلایست ها، التیام لایه های اپیدرم و درم آسان می شود. بدین ترتیب، این غشای نامتقارن در مقایسه با پانسمان های تجاری، فیلم PDLA یا سایر الیاف، التیام سریع تر ساختار و عملکرد پوست را امکان پذیر می سازد [۳۱].

سایر پلیمرها

پلیمرهای سنتزی و طبیعی دیگری نیز به عنوان پیکره اصلی غشاهای نامتقارن استفاده شده اند که هر یک قابلیت های منحصر به فردی را نشان می دهند. Wu و همکاران، تولید غشاهای نامتقارن نانوالیافی را با استفاده از خودگردایش پلیمرها و الکتروریسی گزارش کردند. نتایج نشان داد، لایه آب گریز رویی (متشکل از گلوکان بوتیرات آب گریز) قابلیت جلوگیری از نفوذ باکتری و کنترل تبخیر را دارد. در حالی که لایه زیرین (شامل گلوکان استات آب دوست) پایداری آبی خوبی نشان می دهد. همچنین، غشا در مقایسه با پانسمان های تجاری و نمونه کنترل، عملکرد بسیار مطلوبی را در روند بهبود زخم و تشکیل اپیدرم نشان می دهد (شکل ۷) [۳۲].

امینی و همکاران، نوعی غشای نامتقارن دو لایه با خواص مکانیکی بهبود یافته ای را ساختند که متشکل از نانوالیاف پلی وینیلیدن فلوراید (PVDF) برای ایجاد استحکام کششی و نانوالیاف پلی هیدرووکسی بوتیرات-کیتوسان بارگذاری شده با



شکل ۵- تصاویر میکروسکوپ الکترونی از برش عرضی غشای دولایه ای متقارن از PCL و PVAc [۲۷].

زخم را نشان می داد [۲۹]. در پژوهش دیگری Rezk و همکاران، غشای دولایه PCL و پلی دی اکسانون (PDO) را تهیه کردند که لایه درونی حاوی نانوذرات تیتانیم دی اکسید (TiO_2) و داروی تتراسایکلین بود. TiO_2 نقش مهمی در افزایش خواص مکانیکی، اثر ضدباکتری در برابر باکتری های گرم مثبت و گرم منفی، زیست سازگاری و مقاومت در برابر سایش دارد. نتایج آزمون های زیستی حاکی از آن بود که PDO موجب تکثیر و چسبندگی بیشتر یاخته های فیروبلایست می شود (شکل ۶) [۳۰].

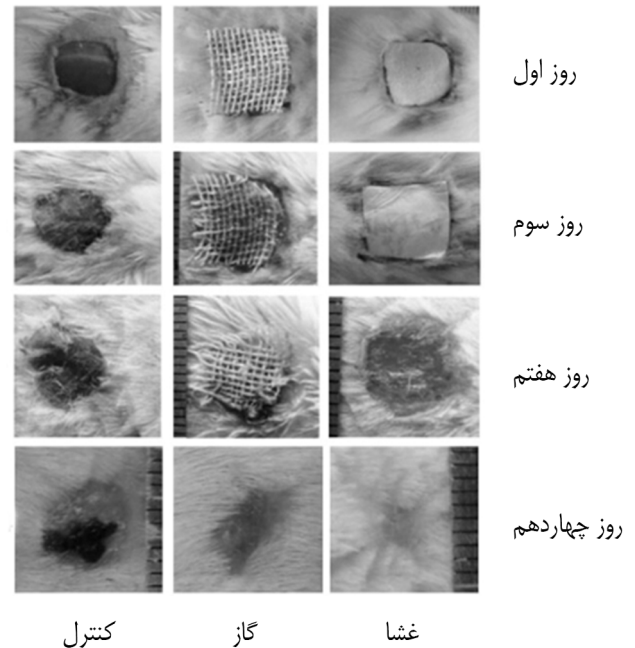
کیتوسان

کیتوسان نوعی پلیمر طبیعی است که از استیل زدایی کیتین به دست می آید. این پلیمر به دلیل خواص ذاتی آن از قبیل فعالیت ضد میکروبی، زیست سازگاری، زیست تخریب پذیری و خواص خون ایستایی، به طور گسترده برای تولید پانسمان زخم مورد توجه قرار گرفته است. سطح CS به وسیله پلاکت ها قابل شناسایی است و در ثانیه های اولیه خونریزی، فرایند انعقاد با جذب بار منفی غشای گلبول های قرمز خون به وسیله گروه های آمین پروتون دار شده CS شروع می شود. در نتیجه، این پلی ساکارید به تسریع تودش (agglutination)، تولید ترومبین و سنتز فیبرین منجر می شود. Chen و همکاران نوعی غشای الکتروریسی نامتقارن را تهیه کردند. ابتدا الیاف پلی (DL-لاکتیک اسید) (PDLA) با قطر متوسط $2/8 \mu m$ روی یک جمع کننده ثابت جمع آوری شد. سپس، لایه بیرونی غشا از الیاف کیتوسان با قطر متوسط 243 nm ، اندازه منافذ کوچک و ساختار متراکم تشکیل یافت. نتایج نشان داد، زنده ماندن و نفوذ

همراه است. این مسئله به مراقبت‌های پزشکی طولانی‌مدت، هزینه زیاد و کیفیت کم فرایند درمان منجر می‌شود. در سال‌های اخیر، یاخته‌درمانی به‌عنوان راهکار بالقوه در فرایند بهبود زخم ظهور کرده است. یاخته‌های بنیادی مانند یاخته‌های بنیادی مزانشیمی، پیش‌ساز اندوتلیال، بنیادی اپیتلیال، بنیادی مشتق از چربی انسان و سایر موارد در قالب روش‌های مهندسی مختلف برای التیام زخم مطالعه شده‌اند که یکی از آن‌ها بارگذاری یاخته در انواع غشاهای الکتروریسی شده است. در ادامه به بررسی پژوهش‌های اخیر در این زمینه پرداخته می‌شود.

از آنجا که اثربخشی کم روش‌های درمانی توسعه‌یافته برای زخم‌های مزمن مانع از دستیابی به روش مطمئن و کارآمد شده است. از این رو، پژوهش‌های درخور توجهی به بارگذاری و استفاده از یاخته‌های بنیادی در درمان زخم معطوف شده است. نقش شفابخش وجود یاخته‌ها در داربست‌های مهندسی بافت به قابلیت آن‌ها در ترشح مواد زیست‌فعال و عواملی نسبت داده می‌شود که می‌تواند تشکیل بافت، رگ‌زایی و کاهش التهاب را افزایش دهد. یاخته‌های بنیادی و پیش‌ساز به‌طور گسترده در مدل‌های حیوانی بهبود زخم مطالعه شده‌اند. به‌نظر می‌رسد، آثار مفید این یاخته‌ها از طریق سازوکارهای متعدد، از جمله به‌کارگیری سایر انواع یاخته‌ها، مانند کراتینوسیت‌ها، درشت‌خوارها و یاخته‌های پیش‌ساز اندوتلیال (EPC) اعمال می‌کنند. همچنین مطالعات نشان می‌دهد، این یاخته‌ها با تولید انواع کلاژن I و III که برای بازسازی ECM حیاتی هستند، منبع یک پارچگی ساختاری و استحکام کششی در بافت در حال بهبود به‌شمار می‌روند.

نسل نوظهور از پانسمان‌های زخم الکتروریسی شده، سازه‌های بارگذاری شده با یاخته هستند که می‌توانند روند بهبود ضایعات بزرگ و زخم‌های مزمن را بهبود بخشند. اگر چه نرخ زیادی از مرگ یاخته در هنگام بارگذاری در داربست و انتقال آن به بدن رخ می‌دهد، اما با توجه به کارایی نهایی درمان‌های برپایه یاخته، این روش به‌عنوان رویکرد امیدبخشی برای بهبود زخم قلمداد می‌شود. Wang و همکاران، بستر زیست‌فعالی برپایه نانوالیاف حاوی کلاژن، پلی‌کاپرولاکتون و شیشه زیست‌فعال را به کمک الکتروریسی تهیه کردند که یاخته‌های پیش‌ساز اندوتلیال روی آن کشت داده شده بود. نتایج آزمایشگاهی نشان داد، با قرارگیری یاخته‌ها روی الیاف، قابلیت زنده‌مانی یاخته‌های پیش‌ساز اندوتلیال و قابلیت رگ‌زایی آن‌ها از طریق سیگنال‌های $Hif-1\alpha/VEGF/SDF-1\alpha$ افزایش می‌یابد. مطالعات بالینی نیز نشان داد، با توجه به افزایش موضعی تعداد یاخته‌ها، تشکیل رگ در محل زخم، تشکیل بافت



شکل ۷- ارزیابی بهبود زخم، نمای میکروسکوپی زخم‌ها در ۰، ۳، ۷ و ۱۴ روز پس از درمان در گروه‌های کنترل، گاز و غشای طراحی شده [۳۲].

جنتامایسین بود که می‌تواند انتخاب عالی برای زخم‌های پس از جراحی باشد. با افزودن لایه PVDF، خواص مکانیکی بهبود چشمگیری، به‌ویژه در استحکام کششی، نشان داد. رهایش جنتامایسین خواص می‌تواند ضدباکتری را فراهم کند. رهایش دارو در ساختارها از سینتیک مرتبه اول و سازوکار Fick پیروی می‌کند [۳۳].

در مطالعه دیگری، ساخت غشاهای دولایه برپایه پلی (L-لاکتید) (PLLA) و سیرسین بارگذاری شده با داروی نیتروفرآزون گزارش شد. ساختار زیست‌سازگار حاصل، نه تنها خاصیت ضدباکتری مطلوبی را نشان داد، بلکه میزان رهایش آن را برحسب مقدار بارگذاری شده در دو لایه می‌توان کنترل کرد. ۱۲ روز پس از استعمال غشا روی زخم، ۹۷٪ از اندازه زخم کاهش یافت. این در حالی است که برای روش‌های مرسوم، میزان کاهش اندازه زخم ۸۴٪ بوده است [۳۴].

ساختارهای الکتروریسی شده بارگذاری شده با یاخته

با وجود تلاش‌های انجام شده در زمینه ارتقای کیفیت پانسمان‌های نانوالیافی، فرایند بهبود زخم به‌ویژه در افراد مبتلا به بیماری‌های ایسکمی، دیابت و فشار خون، زخم‌های مزمن با عوارضی مانند التهاب مداوم، اختلال عملکرد یاخته‌ای و اختلال در رگ‌زایی



شکل ۹- اثر سه نوع سازه مختلف بر پایه کیتوسان در آسان سازی التیام زخم های پوست [۴۰].

(PRP) برای بهبود زخم های دیابتی گزارش شده است. بدین منظور، الیاف ژلاتین تهیه شده و با اعمال بخار گلو تار آلد هید شبکه ای شدن آن انجام شد. یاخته های hPDMSCs روی الیاف کشت داده شده و نتایج آزمایشگاهی حاکی از افزایش چشمگیر میزان hPDMSCs کشت یافته بر بستر نانوالیاف پس از ۷ روز بود. مطالعات بالینی نیز نشانگر کاهش زخم در بستر نانوالیاف حاوی hPDMSCs به مقدار ۷۱٪ بود اما نمونه کنترل که فاقد اعمال پانسمان بود، تنها ۳۶٪ بهبود یافت [۳۸]. به طور مشابه، Paul و همکاران گزارش کردند، ساختارهای حاوی یاخته فیرو بلاست F344 موجب بازسازی بیشتر پوست نسبت به سازه بدون آن می شود [۳۹].

Victor و همکاران، نیز پژوهش جامعی درباره میزان تشکیل درم و اپیدرم انجام دادند. آن ها با استفاده از پلیمر کیتوسان به سه طریق فیلم، نانوالیاف و اسفنج زخم پوش هایی را تهیه کردند و سپس یاخته های اولیه انسانی را روی آن ها کشت دادند. نتایج نشان داد، نمونه نانوالیاف وقتی به عنوان پانسمان زخم استفاده می شود، موجب بازسازی سریع تر هر دو بخش اپیدرم و درم می شود. همچنین بستر بسیار مناسب تری برای چسبندگی، رشد و تمایز سه نوع یاخته اصلی پوست (کراتینوسیت ها، فیرو بلاست ها و اندوتلیال) نسبت به دو ساختار فیلم و اسفنج فراهم می آورد (شکل ۹) [۴۰].

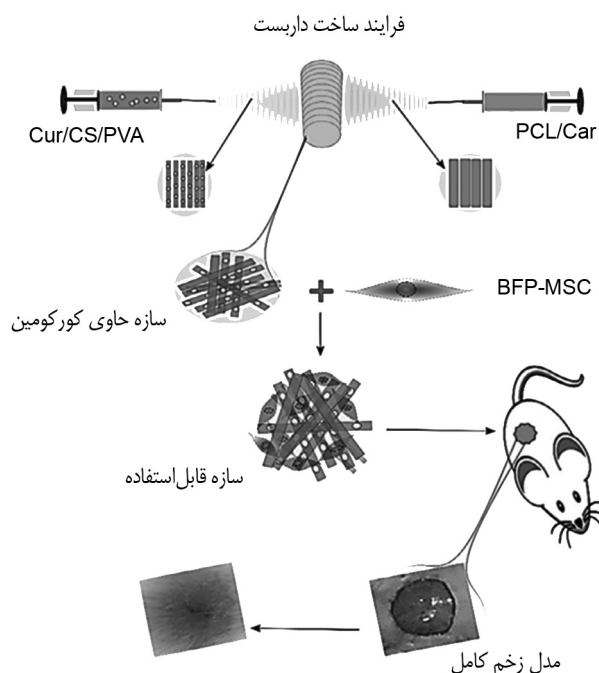
نتیجه گیری

ضایعات پوستی حاد و مزمن از مشکلات اساسی در حوزه سلامت در سراسر جهان است. در این زمینه، غشاهای الکتروریسی شده نامتقارن به عنوان پانسمان های نویدبخش برای زخم ها توسعه یافته اند. این ساختارها به طور معمول از دو لایه مختلف تشکیل شده اند. یک لایه اپیدرم مانند با ساختار متراکم که حفاظت و پایداری مکانیکی ایجاد می کند. لایه دیگر درم مانند با ساختار سست و متخلخل که مهاجرت و تکثیر یاخته و رگ زایی را

همبند و سنتز کلاژن، ترمیم زخم و متعلقات پوستی سریع انجام می شود [۳۵].

در مطالعه دیگری، یاخته های بنیادی مشتق از چربی انسانی (hASCs) روی دو بستر از نانوالیاف پلی (لاکتید-کو-گلیکولید) کشت داده شدند که یکی به صورت هم راستا و دیگری به طور تصادفی تهیه شده بودند. نتایج آزمایشگاهی نشان داد، میزان زنده ماندی یاخته ها در نانوالیاف هم راستا نسبت به تصادفی بسیار بیشتر است. همچنین مطالعات بالینی حاکی از آن بود، ساختار حاوی یاخته در مقایسه با نمونه بدون یاخته روند بهتری در درمان زخم پوست و افزایش تکثیر یاخته های فیرو بلاست دارد [۳۶]. گلچین و همکاران در پژوهش دیگری با به کارگیری الکتروریسی دوطرفه، زخم پوشی بر پایه نانوالیاف حاوی یاخته های BFP-MSCs برای درمان زخم طراحی کردند. از یک سمت پلیمرهای کیتوسان-پلی وینیل الکل-کورکومین الکتروریسی شده و در سمت دیگر پلی کاپرولاکتون حاوی کربوپل الکتروریسی شد. سپس یاخته های BFP-MSCs روی نانوالیاف کشت داده شدند (شکل ۸). استفاده از کورکومین شتاب دهنده بهبود زخم، کاهش فاز التهابی، تکثیر بافت و تولید کلاژن را به همراه داشت و بارگذاری یاخته ها باعث تسریع درمان زخم شد [۳۷].

استفاده از نانوالیاف حاوی یاخته های بنیادی مزانشیمی برگرفته از جفت انسانی (hPDMSCs) به همراه پلاسمای غنی از پلاکت



شکل ۸- طرح فرایند ساخت الیاف حاوی یاخته و بررسی اثر آن بر زخم [۳۷].

پانسمان زخم بررسی شد. این ساختارها با توجه به قابلیت‌هایی که در بررسی‌های آزمایشگاهی نشان داده‌اند، می‌توانند جایگزین مناسبی برای پانسمان‌های تجاری باشند. در کار حاضر تلاش شد تا نتایج پژوهش‌های اخیر در زمینه طراحی سازه‌های مختلف گردآوری شود و مجموعه مفیدی برای پژوهشگران در این زمینه فراهم آید. تغییر پیکربندی لایه‌های استفاده‌شده، طراحی سازه‌های چندلایه‌ای حاوی یاخته‌های مختلف در لایه‌های آن و ساخت سازه‌های حساس به محرک می‌تواند از جمله پژوهش‌های آتی باشند.

مراجع

- Pereira R.F. and Bartolo P.J., Traditional Therapies for Skin Wound Healing, *Adv. Wound Care*, **5**, 208-229, 2016.
- Rosique R.G., Rosique M.J., and Farina Junior J.A., Curbing Inflammation in Skin Wound Healing: A Review, *Int. J. Inflam.*, **38**, 1-10, 2015.
- Geerligs M., Oomens C., Ackermans P., Baaijens F., and Peters G., Linear Shear Response of the Upper Skin Layers, *Biorheology*, **48**, 229-245, 2011.
- Iacob A.T., Drăgan M., Ionescu O.M., Profire L., Fica A., Andronescu E., and Lupașcu D., An Overview of Biopolymeric Electrospun Nanofibers Based on Polysaccharides for Wound Healing Management, *Pharmaceutics*, **12**, 983-987, 2020.
- Ambekar R.S. and Kandasubramanian B., Advancements in Nanofibers for Wound Dressing: A Review, *Eur. Polym. J.*, **117**, 304-336, 2019.
- Miguel S.P., Figueira D.R., Simões D., Ribeiro M.P., Coutinho P., Ferreira P., and Correia I.J., Electrospun Polymeric Nanofibres as Wound Dressings: A Review, *Colloids Surf. B*, **169**, 60-71, 2018.
- Mulholland E.J., Electrospun Biomaterials in the Treatment and Prevention of Scars in Skin Wound Healing, *Front. Bioeng.*, **8**, 481-496, 2020.
- Yu B., He C., Wang W., Ren Y., Yang J., Guo S., and Shi X., Asymmetric Wetttable Composite Wound Dressing Prepared by Electrospinning with Bioinspired Micropatterning Enhances Diabetic Wound Healing, *ACS Appl. Bio Mater.*, **3**, 5383-5394, 2020.
- Loeb S. and Sourirajan S., Sea Water Demineralization by Means of an Osmotic Membrane, *Adv. Chem.*, **9**, 117-132, 1962.
- Mousavi S.M., Zarei M., Hashemi S.A., Ramakrishna S., Chiang W.H., Lai C.W., and Shokripour M., Asymmetric Membranes: A Potential Scaffold for Wound Healing Applications, *Symmetry*, **12**, 1100-1118, 2020.
- Wang S., Yan F., Ren P., Li Y., Wu Q., Fang X., and Wang C., Incorporation of Metal-Organic Frameworks into Electrospun Chitosan/Poly(vinyl alcohol) Nanofibrous Membrane with Enhanced Antibacterial Activity for Wound Dressing Application, *Int. J. Biol.*, **158**, 9-17, 2020.
- Graça M.F., De Melo-Diogo D., Correia I.J., and Moreira A.F., Electrospun Asymmetric Membranes as Promising Wound Dressings: A Review, *Pharmaceutics*, **13**, 183-208, 2021.
- Broekema F.I., Van Oeveren W., Zuidema J., Visscher S.H., and Bos R.R., In Vitro Analysis of Polyurethane Foam as a Topical Hemostatic Agent, *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, **22**, 1081-1086, 2011.
- Marcano A., Bou Haidar N., Marais S., Valleton J.M., and Duncan A.C., Designing Biodegradable PHA-Based 3D Scaffolds with Antibiofilm Properties for Wound Dressings: Optimization of the Microstructure/Nanostructure, *ACS Biomater. Sci. Eng.*, **3**, 3654-3661, 2017.
- Sun A.C., Kosar W., Zhang Y., and Feng X., A Study of Thermodynamics and Kinetics Pertinent to Formation of PVDF Membranes by Phase Inversion, *Desalination*, **309**, 156-164, 2013.
- Cardea S., Sessa M., and Reverchon E., Supercritical Phase Inversion to form Drug-Loaded Poly(vinylidene fluoride-co-hexafluoropropylene) Membranes, *Ind. Eng. Chem. Res.*, **49**, 2783-2789, 2010.
- Temtem M., Casimiro T., and Aguiar-Ricardo A., Solvent Power and Depressurization Rate Effects in the Formation of Polysulfone Membranes with CO₂-Assisted Phase Inversion Method, *J. Membr. Sci.*, **283**, 244-252, 2006.
- Ahmed F.E., Lalia B.S., and Hashaikh R., A Review on Electrospinning for Membrane Fabrication: Challenges and Applications, *Desalination*, **356**, 15-30, 2015.
- Reis T.C., Correia I.J., and Aguiar-Ricardo A., Electrodynamical Tailoring of Self-Assembled Three-Dimensional Electro-

- pun Constructs, *Nanoscale*, **5**, 7528-7536, 2013.
20. Chanda A., Adhikari J., Ghosh A., Chowdhury S.R., Thomas S., Datta P., and Saha, P., Electrospun Chitosan/Polycaprolactone-Hyaluronic Acid Bilayered Scaffold for Potential Wound Healing Applications, *Int. J. Biol. Macromol.*, **116**, 774-785, 2018.
21. Miguel S.P., Ribeiro M.P., Coutinho P., and Correia I.J., Electrospun Polycaprolactone/Aloe Vera_Chitosan Nanofibrous Asymmetric Membranes Aimed for Wound Healing Applications, *Polymers*, **9**, 183-207, 2017.
22. Alves P., Santos M., Mendes S., Miguel S.P., de Sá K.D., Cabral C.S.D., and Ferreira P., Photocrosslinkable Nanofibrous Asymmetric Membrane Designed for Wound Dressing, *Polymers*, **11**, 653-671, 2019.
23. Doderio A., Alloisio M., Castellano M., and Vicini S., Multilayer Alginate-Polycaprolactone Electrospun Membranes as Skin Wound Patches with Drug Delivery Abilities, *ACS Appl. Mater.*, **12**, 31162-31171, 2020.
24. Miguel S.P., Simões D., Moreira A.F., Sequeira R.S., and Correia I.J., Production and Characterization of Electrospun Silk Fibroin Based Asymmetric Membranes for Wound Dressing Applications, *Int. J. Biol. Macromol.*, **121**, 524-535, 2019.
25. Yu B., He C., Wang W., Ren Y., Yang J., Guo S., and Shi X., Asymmetric Wettable Composite Wound Dressing Prepared by Electrospinning with Bioinspired Micropatterning Enhances Diabetic Wound Healing, *ACS Appl. Bio Mater.*, **3**, 5383-5394, 2020.
26. Zahid S., Khalid H., Ikram F., Iqbal H., Samie M., Shahzadi L., and Rehman I., Bi-layered α -Tocopherol Acetate Loaded Membranes for Potential Wound Healing and Skin Regeneration, *Mater. Sci. Eng. C*, **101**, 438-447, 2019.
27. Aragon J., Costa C., Coelho I., Mendoza G., Aguiar-Ricardo A., and Irušta S., Electrospun Asymmetric Membranes for Wound Dressing Applications, *Mater. Sci. Eng. C*, **103**, 109822-109834, 2019.
28. Figueira D.R., Miguel S.P., de Sá K.D., and Correia I.J., Production and Characterization of Polycaprolactone-Hyaluronic Acid/Chitosan-Zein Electrospun Bilayer Nanofibrous Membrane for Tissue Regeneration, *Int. J. Biol. Macromol.*, **93**, 1100-1110, 2016.
29. Li X., Wang C., Yang S., Liu P., and Zhang B., Electrospun PCL/Mupirocin and Chitosan/Lidocaine Hydrochloride Multifunctional Double Layer Nanofibrous Scaffolds for Wound Dressing Applications, *Int. J. Nanomed.*, **13**, 5287-5299, 2018.
30. Rezk A.I., Lee J.Y., Son B.C., Park C.H., and Kim C.S., Bi-layered Nanofibers Membrane Loaded with Titanium Oxide and Tetracycline as Controlled Drug Delivery System for Wound Dressing Applications, *Polymers*, **11**, 1602-1613, 2019.
31. Chen S.H., Chang Y., Lee K.R., and Lai J.Y., A Three-Dimensional Dual-Layer Nano/Microfibrous Structure of Electrospun Chitosan/Poly(D,L-lactide) Membrane for the Improvement of Cytocompatibility, *J. Membr. Sci.*, **450**, 224-234, 2014.
32. Wu C., Chen T., Xin Y., Zhang Z., Ren Z., Lei J., and Tang S., Nanofibrous Asymmetric Membranes Self-Organized from Chemically Heterogeneous Electrospun Mats for Skin Tissue Engineering, *Biomed. Mater.*, **11**, 035019-035032, 2016.
33. Amini F., Semnani D., Karbasi S., and Banitaba S.N., A Novel Bilayer Drug-Loaded Wound Dressing of PVDF and PHB/Chitosan Nanofibers Applicable for Post-Surgical Ulcers, *Int. J. Polym. Mater.*, **68**, 772-777, 2019.
34. Zhao R., Li X., Sun B., Tong Y., Jiang Z., and Wang C., Nitrofurazone-Loaded Electrospun PLLA/Sericin-Based Dual-Layer Fiber Mats for Wound Dressing Applications, *RSC Adv.*, **5**, 16940-16949, 2015.
35. Wang C., Wang Q., Gao W., Zhang Z., Lou Y., Jin H., and Mao C., Highly Efficient Local Delivery of Endothelial Progenitor Cells Significantly Potentiates Angiogenesis and Full-Thickness Wound Healing, *Acta Biomaterialia*, **69**, 156-169, 2018.
36. Tang K.C., Yang K.C., Lin C.W., Chen Y.K., Lu T.Y., Chen H.Y., and Yu J., Human Adipose-Derived Stem Cell Secreted Extracellular Matrix Incorporated into Electrospun Poly (Lactic-Co-Glycolic Acid) Nanofibrous Dressing for Enhancing Wound Healing, *Polymers*, **11**, 1609-1622, 2019.
37. Golchin A., Hosseinzadeh S., Jouybar A., Staji M., Soleimani M., Ardeshirylajimi A., and Khojasteh A., Wound Healing Improvement by Curcumin-Loaded Electrospun Nanofibers and BFP-MSCs as a Bioactive Dressing, *Polym. Adv. Technol.*, **31**, 1519-1531, 2020.
38. Meamar R., Ghasemi-Mobarakeh L., Norouzi M.R., Siavash M., Hamblin M.R., and Fesharaki M., Improved Wound Healing of Diabetic Foot Ulcers Using Human Placenta-Derived Mesenchymal Stem Cells in Gelatin Electrospun Nanofibrous Scaffolds Plus a Platelet-Rich Plasma Gel: A Randomized Clinical Trial, *Int. Immunopharmacol.*, **101**, 108282-10850, 2021.
39. Bonvallet P.P., Schultz M.J., Mitchell E.H., Bain J.L., Culpepper B.K., Thomas S.J., and Bellis S.L., Microporous Dermal-Mimetic Electrospun Scaffolds Preseeded with Fibroblasts Promote Tissue Regeneration in Full-Thickness Skin Wounds, *PLoS One*, **10**, 0122359-0122371, 2015.
40. Tchemtchoua V.T., Atanasova G., Aqil A., Filée P., Garbacki N., Vanhootehem O., and Colige A., Development of a Chitosan Nanofibrillar Scaffold for Skin Repair and Regeneration, *Biomacromolecules*, **12**, 3194-3204, 2011.