

A Review of the Antibacterial Properties of Chitosan Nanocomposites Containing Metal Nanoparticles for Using in Wound Healing

Polymerization

Quarterly, 2024

Volume 13, Number 4

Pages 42-53

ISSN: 2252-0449

Mohammad Hosein Karami^{1,4}, Majid Abdouss^{1*}, Mohammad Reza Kalae^{2,4}, and Omid Moradi³

1. Department of Chemistry, Amirkabir University of Technology, P.O. Box 15875-4413, Tehran, Iran

2. Department of Polymer Engineering, Faculty of Engineering, South Tehran Branch, Islamic Azad University, P.O. Box 19585-466, Tehran, Iran

3. Department of Chemistry, Shahre-Qods Branch, Islamic Azad University, P.O. Box 37515-374, Tehran, Iran

4. NanoTechnology Research Center, South Tehran Branch, Islamic Azad University, P.O. Box 15847-43311, Tehran, Iran

Received: 6 December 2022, Accepted: 18 April 2023

Abstract

Chitosan (CS) as a natural polymer has been widely studied in the field of wound healing due to its useful properties including non-toxicity, excellent biological properties, biodegradability and promotion of collagen deposition. However, low mechanical strength and moderate antibacterial properties are disadvantages that limit its further clinical application. Chitosan is a copolymer with a linear chain of diglucosamine and N-acetyl beta-glucosamine, which is produced by deacetylation of chitin. The deacetylation leads to the formation of cationic amine groups, which is actually a prerequisite for the antibacterial function of chitosan. Many researchers have adopted the use of nanotechnology, especially metal nanoparticles (MNPs), in order to improve the mechanical strength and specific antibacterial properties of chitosan composites with promising results. In addition, chitosan naturally acts as a reducing agent for metal nanoparticles, which can also reduce cytotoxicity. Therefore, chitosan in combination with metal nanoparticles exhibits antibacterial activity, excellent mechanical strength and anti-inflammatory properties and has great potential to accelerate the wound healing process. It is worth mentioning that the mechanism of action of metal nanoparticles is dose-dependent and excessive concentration can cause significant cytotoxicity. The loading efficiency and release rate of metal nanoparticles changes according to the manufacturing process. Hence, further investigation of dosage and preparation methods is a necessary prerequisite for clinical applications.

Key Words

chitosan,
metal nanoparticles,
cytotoxicity,
bacteriostatic,
wound healing

(*) To whom correspondence should be addressed.
E-mail: phdabdouss44@aut.ac.ir

مروری بر خواص ضدباکتری نانوکامپوزیت‌های کیتوسان دارای نانوذرات فلزی برای استفاده در التیام زخم

بسپارش
فصلنامه علمی
سال سیزدهم، شماره ۴،
صفحه ۵۳-۴۲، ۱۴۰۲
ISSN: 2252-0449

محمدحسین کرمی^{۱،*}، مجید عبدوس^{۲،*}، محمدرضا کلایی^{۳،۴}، امید مرادی^۳

۱- تهران، دانشگاه صنعتی امیرکبیر، دانشکده شیمی، صندوق پستی ۴۴۱۳-۱۵۸۷۵

۲- تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران جنوب، دانشکده فنی و مهندسی، گروه مهندسی پلیمر،

صندوق پستی ۴۶۶-۱۹۵۸۵

۳- تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهر قدس، گروه شیمی، صندوق پستی ۳۷۴-۳۷۵۱۵

۴- تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران جنوب، مرکز تحقیقات فناوری نانو، صندوق پستی ۴۳۳۱-۱۵۸۴۷

دریافت: ۱۴۰۱/۹/۱۵، پذیرش: ۱۴۰۲/۱/۲۹

کیتوسان (CS) به‌عنوان پلیمری طبیعی به‌دلیل خواص مفید آن شامل عدم سمیت، خواص زیستی عالی، زیست‌تخریب‌پذیری و پیشبرد رسوب کلاژن در زمینه التیام زخم بسیار مطالعه شده است. با این حال، استحکام مکانیکی ضعیف و خواص ضدباکتری متوسط از معایبی هستند که کاربرد بالینی بیشتر آن را محدود می‌کند. کیتوسان کوپلیمری با زنجیر خطی از دی‌گلوکز آمین و N-استیل بتادی‌گلوکز آمین است که با استیل‌زدایی کیتین تولید می‌شود. استیل‌زدایی به تشکیل گروه‌های آمین کاتیونی منجر می‌شود که در واقع پیش‌نیازی برای عملکرد ضدباکتری کیتوسان است. بسیاری از پژوهشگران استفاده از نانوفناوری به‌ویژه نانوذرات فلزی (MNPs) را به‌منظور بهبود استحکام مکانیکی و خواص ضدباکتری خاص کامپوزیت‌های کیتوسان با نتایج امیدبخش اتخاذ کرده‌اند. افزون بر این، کیتوسان به‌طور طبیعی به‌عنوان عامل کاهش‌دهنده برای نانوذرات فلزی عمل می‌کند که می‌تواند سمیت سلولی را نیز کاهش دهد. بنابراین کیتوسان در ترکیب با نانوذرات فلزی، فعالیت ضدباکتری، استحکام مکانیکی عالی و خواص ضدالتهابی نشان می‌دهد و قابلیت بالقوه زیادی برای شتاب‌دهی به فرایند التیام زخم دارد. شایان ذکر است، سازوکار عمل نانوذرات فلزی به‌دُر وابسته است و غلظت بیش از حد می‌تواند سمیت سلولی درخور توجهی ایجاد کند. بازده بارگذاری و سرعت آزادسازی نانوذرات فلزی با توجه به فرایند ساخت تغییر می‌کند. از این رو، بررسی بیشتر دُزبندی و روش‌های آماده‌سازی، پیش‌شرط ضروری برای کاربردهای بالینی است.

چکیده



محمدحسین کرمی



مجید عبدوس



محمدرضا کلایی



امید مرادی

واژگان کلیدی

کیتوسان،
نانوذرات فلزی،
سمیت سلولی،
باکتری‌ایستانت،
التیام زخم

مقدمه

پوست به‌عنوان بزرگ‌ترین اندام خارجی بدن انسان، نقش اساسی در محافظت از بدن در برابر آسیب‌های مکانیکی و تهاجم میکروبی دارد. پوست از اپیدرم، درم و بافت زیرجلدی (subcutaneous tissue) تشکیل شده است و آسیب به یک پارچگی پوست به تشکیل زخم منجر می‌شود. بسته به عمق آسیب، زخم‌های پوستی را می‌توان به دسته‌های نقص سطحی، آسیب جزئی یا آسیب با ضخامت کامل طبقه‌بندی کرد [۱].

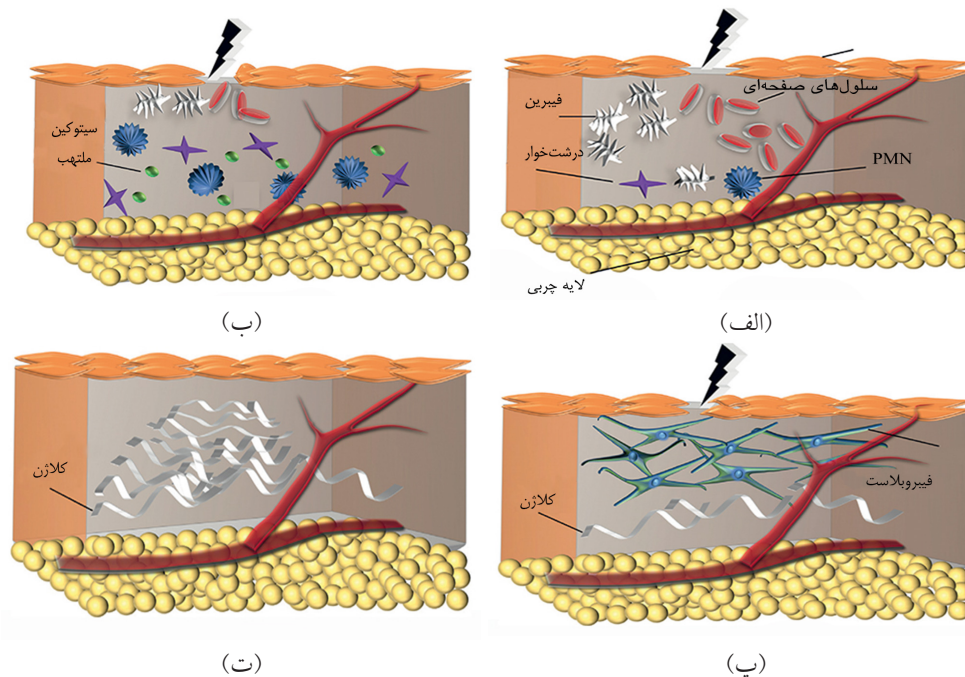
التیام زخم شامل چهار مرحله است: بندآمدن خونریزی (haemostatic)، پاسخ التهابی سلول در مرحله تکثیر و بازسازی الیاف کلاژن. در طول مرحله بندآمدن خونریزی، پلاکت‌ها و لخته فیبرین، لخته‌های خون (thrombi) را تشکیل می‌دهند که باعث کاهش پوست زخمی می‌شوند و از خونریزی بیشتر جلوگیری می‌کنند [۲]. در عین حال، پلاکت‌ها می‌توانند شیمی‌آرایی (chemotaxis) را در سلول‌های التهابی مانند گویچه‌های سفید چندشکل‌هسته‌ای (polymorphonuclear leucocytes) و سلول‌های درون‌رگی (endothelial) با آزادکردن عوامل رشد القا کنند. فاز التهابی با نفوذ سلول‌های ایمنی، عمدتاً هسته‌دوست‌های اولیه و درشت‌خوارهای تأخیری برای مقاومت در برابر مواد خارجی و فراهم کردن شرایط مطلوب برای تکثیر بعدی فیبروبلاست‌ها مشخص می‌شود. پس از آن مرحله، تکثیر سلولی رخ می‌دهد که در آن فیبروبلاست‌ها به‌سرعت در پاسخ به رشدهای مختلف و جداشدن تارهای کلاژنی

تقسیم می‌شوند [۳]. با رشد و تکمیل الیاف کلاژن، مرحله بازسازی به پایان می‌رسد که مرحله نهایی است.

اگرچه بافت اپیدرمی به‌طور طبیعی خودالتیام است، اما فرایند التیام ممکن است به‌دلیل عمق بیش از حد زخم با شکست مواجه شود. اگر زخم پوستی با عوامل بیماری‌زای خارجی آلوده شود، در هر یک از مراحل پیش‌گفته به سطح زیادی از مراقبت و درمان بالینی نیاز است که بی‌شک هزینه و منابع درخور توجهی خواهد داشت. بدین دلیل تهیه پانسمان زخم برای بهبود سریع زخم بسیار ضروری است [۴]. زخم‌پوش ایده‌آل باید دارای ویژگی‌هایی مانند غیرسمی و غیرمحرک‌بودن، زیست‌تخریب‌پذیری در بدن، خواص ضدباکتری برای جلوگیری از عفونت زخم، رطوبت و نفوذپذیری خوب هوا برای جلوگیری از تغییرات مکرر و استحکام مکانیکی کافی برای جلوگیری از چروکیدگی باشد.

پلیمرهای طبیعی از جمله پلیمرهای پلی‌ساکاریدی طبیعی (مانند آلژینات، هیالورونیک اسید، نشاسته، کیتوسان و سلولوز) و پروتئین‌های طبیعی (مانند فیبروئین ابریشم، کراتین، ژلاتین و کلاژن) به‌دلیل خواص زیستی عالی آن‌ها، به‌طور گسترده به‌عنوان مواد ترمیم‌کننده زخم توسعه یافته‌اند. تمرکز پژوهش‌های پیشین درباره کیتوسان، دومین پلی‌ساکارید فراوان موجود در طبیعت است [۵].

مطالعات نشان داد، زخم‌پوش‌های تهیه‌شده از کیتوسان می‌توانند رسوب کلاژن و رگ‌زایی را شتاب دهند و پاسخ‌های التهابی را نیز مهار کنند. شکل ۱، مراحل التیام زخم را نشان می‌دهد. کیتوسان



شکل ۱- (الف) مرحله بندآمدن خونریزی، (ب) مرحله پاسخ التهابی، (پ) سلول در مرحله تکثیر و (ت) بازسازی الیاف کلاژن [۵].



شکل ۲- ساختار کیتوسان [۷].

کمی در این باره انجام شده است. در این مقاله، زخم‌پوش‌های نانوکامپوزیت‌های کیتوسان دارای نانوذرات فلزی مفید برای کنترل عفونت و فرایند التیام زخم بررسی می‌شوند. در ابتدا مزایا و معایب کیتوسان و نانوذرات فلزی در بهبود زخم، که پیش‌نیاز ساخت سامانه‌هاست، مرور شده و در ادامه، نمونه‌های شناخته‌شده نانوکامپوزیت‌های حاوی نانوذرات فلزی بررسی می‌شوند [۱۰].

کاربردهای کیتوسان

زخم‌پوش‌ها

کیتوسان ویژگی‌های لازم یک ماده ایده‌آل برای بهبود زخم‌ها را دارد و از چشم‌انداز خوبی در کاربردهای پزشکی برخوردار است. این ماده، افزون بر زیست‌سازگاری ذاتی و غیرسمی بودن، دارای آثار ضدباکتری مؤثر، التیام‌بخشی، بندآوری خون و دردزدایی (analgesic) بوده که با گروه آمینی کاتیونی مرتبط است [۱۱]. در پژوهشی، اثر استیل‌زدایی بر التیام زخم مطالعه شد. نتایج آزمون‌های درون‌تنی نشان داد، هرچه درجه استیل‌زدایی بیشتر باشد، سرعت التیام سطح زخم بیشتر است. همچنین، کیتوسان می‌تواند در آماده‌سازی انواع مختلف زخم‌پوش‌ها از جمله هیدروژل‌ها، لیاف، غشاها، داربست‌ها و اسفنج‌ها برای انواع مختلف زخم‌ها استفاده شود که برای کاربردهای بالینی مناسب است. در جدول ۱، انواع زخم‌پوش‌ها معرفی شده‌اند [۱۱-۱۳].

عامل ضدباکتری

زخم‌ها در طول فرایند التیام مستعد عفونت هستند و عمل ریزاندامگان می‌تواند به تأخیر در التیام زخم‌های کیتوسان منجر شود، بنابراین خاصیت ضدباکتری زخم‌پوش‌ها بسیار مهم است. سازوکار دقیق خواص ضد میکروب به‌طور کامل درک نشده است. مطالعات مختلف چند فرضیه را مطرح کرده‌اند که به‌طور کلی در میان آن‌ها تعدادی پذیرفته شده‌اند. سازوکارهای قابل بررسی شامل ترکیب گروه‌های آمینی کاتیونی در کیتوسان و فسفولیپیدهای آنیونی در سطح باکتری بوده که تجزیه سلولی را افزایش می‌دهد که در شکل ۳ نشان داده شده است [۱۴].

برخی از پژوهشگران پیشنهاد کرده‌اند، کیتوسان به‌ویژه مشتقات با وزن مولکولی کم به باکتری حمله می‌کند، در نتیجه اتصال به DNA به RNA رونوشت (transcription) شده و به‌وسیله آن RNA برای تولید پروتئین‌ها استفاده می‌شود و ترجمه را بازمی‌دارد. احتمال دیگر این است که کیتوسان با استفاده از برهم‌کنش پیوند فلز با یون‌های دوظرفیتی در دیواره سلولی باکتری از انجام وظایف

کوپلیمری با زنجیر خطی از دی‌گلوکوز آمین و N-استیل بتادی گلوکوز آمین است که از استیل‌زدایی کیتین تولید می‌شود. دی‌استیل‌زدایی به تشکیل گروه‌های آمین کاتیونی منجر می‌شود که در واقع پیش‌نیازی برای عملکرد ضدباکتری کیتوسان است. متأسفانه عوامل گوناگونی خواص ضدباکتری کیتوسان را محدود می‌کند. بنابراین، بسیاری از پژوهش‌های اخیر بر بهینه‌سازی فعالیت ضد میکروبی زخم‌پوش‌های تهیه‌شده از کیتوسان تمرکز یافته‌اند [۶].

در پژوهشی، رهائش داروی جنتامایسین و پوشش کیتوسانی آن بررسی شد. در حالی که سایر مطالعات، افزودن نانوذرات فلزی به کیتوسان را پیشنهاد کرده‌اند. برخی پژوهشگران کیتوسان را با غلظت‌های مختلف نانوقره ترکیب کردند که نتایج، حاکی از ایجاد خواص ضدباکتری طولانی‌مدت بود. افزون بر این، گزارش‌هایی از افزودن ترکیبات و عصاره‌های طبیعی برای باکتری‌ایستانی (bacteriostatic) کیتوسان وجود دارد. در شکل ۲، ساختار کیتوسان نشان داده شده است [۷].

در پژوهشی دیگر، زخم‌پوشی با کیتوسان و عسل طراحی و آزمون شد. آزمون‌های ضدباکتری نشان داد، زخم‌پوش طراحی شده خواص ضدباکتری بهتری نسبت به زخم‌پوش‌های بدون عسل دارد. نانوذرات فلزی (MNP) به‌طور گسترده در زخم‌پوش‌ها به کار می‌روند. همچنین به دلیل خواص فیزیکی و شیمیایی منحصر به فرد آن‌ها، آثار ترمیمی مفیدی در بهبود زخم‌ها نشان می‌دهند. سامانه‌های نانوکامپوزیتی ایده‌آل با عملکرد ترمیمی افزایش‌یافته را می‌توان با ترکیب نانومواد فلزی در پلیمرهای طبیعی طراحی کرد [۸]. این سامانه‌ها به دو دلیل عمده در زمینه التیام زخم مورد توجه قرار گرفته‌اند: وجود نانوذرات فلزی به‌طور درخور توجهی خواص فیزیکی و فعالیت‌های ضدباکتری پلیمرهای طبیعی را افزایش می‌دهد. همچنین، سمیت سلولی نانومواد فلزی به‌طور درخور توجه به هنگام استفاده در پلیمر طبیعی، کاهش می‌یابد.

در حال حاضر، کاربرد بالقوه نقره، طلا، مس و روی اکسید (ZnO) در زمینه زخم‌پوش‌ها نشان داده شده است [۹]. مقالات متعددی درباره زخم‌پوش‌ها و استفاده از نانوکامپوزیت‌های کیتوسان حاوی نانوذرات فلزی منتشر شده است. با این حال، بررسی‌های نسبتاً

جدول ۱- کاربرد نانوکامپوزیت‌های کیتوسان برای بهبود زخم‌ها.

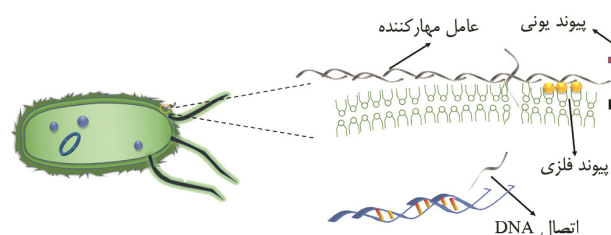
مرجع	اندازه نانوذرات	نتیجه	هدف طراحی	ماتریس	نوع نانوذرات
۱۲	۲-۱۰ nm	ضدباکتری، جذب آب خوب، خواص مکانیکی عالی و نداشتن سمیت سلولی فیبروبلاست	داربست	ژلاتین-کیتوسان	نقره
۱۳	-	عدم داشتن سمیت سلولی فیبروبلاست و خواص ضدباکتری	فیلم	سدیم آلزینات-سلولوز-کیتوسان	مس
۱۴	میانگین اندازه حفره‌های داربست ۸۰-۱۲۰ μm	تسریع فرایند التیام زخم، تکثیر فیبروبلاست‌ها و نورگ‌زایی (neovascularization)	داربست	کلاژن-کیتوسان	نقره
۱۳	۱۱۰۶-۲۸ nm	نسبت تورم بیشتر، استحکام کششی کمتر و ازدیاد طول تا پارگی بهتر	فیلم	موکسی فلوکسازین بارگذاری شده در کیتوسان	نقره
۱۵	۳-۳۵ nm و اندازه حفره‌ها ۵۰-۸۰ μm	خواص عالی تورم و حبس آب، عدم سمیت سلولی در سلول‌های L929	اسفنج	پلی ساکارید-کیتوسان	نقره
۱۶	۷-۵۰ nm میانگین آن‌ها در محصول ۳۵ nm	فعالیت ضدباکتری مناسب و زنده‌مانی سلول‌ها تا ۹۰٪	فیلم	کیتوسان	نقره
۱۷	اندازه کیتوسان و نانوقره ۱۹۰ nm تا ۲۰۰ nm	فعالیت ضداکسندگی بیشتر، اثر سمیت سلولی کم در برابر سلول‌های تخمدان همستر چینی، بهبود درخور توجه زخم در موش‌ها	هیدروژل	پلی وینیل الکل-کیتوسان	نقره
۱۸	-	کاهش درخور توجه سلول‌های التهابی در بررسی بافت‌شناسی	هیدروژل	پلی وینیل الکل-گرافن-کیتوسان	نقره
۱۹	میانگین اندازه نانوذرات < ۵۰۰ nm	بند آمدن شدن خونریزی در موش‌ها	نانوالیاف	پلی وینیل الکل-هیدروکسی آپاتیت-کیتوسان	نقره و مس
۱۶	-	نیتریک اکسید آزاد شده، بهبود زخم	فیلم	کلاژن	مس
۱۷	-	تسریع در التیام زخم‌های سوختگی در موش‌ها	نانوالیاف	کلاژن-کیتوسان	روی اکسید
۱۸	حجم حفره ۱۰۰ μm تا ۳۰۰ μm	کمک به ساخت سریع سلول‌های پوست همراه با رشد کلاژن	هیدروژل	کراتین-کیتوسان	روی اکسید
۱۷	اندازه محصول نهایی ۳۴/۲۷۹ nm	بهبود سریع تر زخم‌های دیابتی	نانوالیاف	کیتوسان-پلی وینیل الکل	روی اکسید

محدودیت‌های زیادی نیز دارد. این محدودیت‌ها شامل pH کم، درجه زیاد استیل‌دار کردن و وزن مولکولی کم است. بسیاری از مطالعات بر امکان‌پذیری بهینه‌سازی خواص ضدباکتری کیتوسان از طریق اصلاحات گوناگون پیشنهادی، تمرکز کرده‌اند. برای مثال، در پژوهشی فرض شد که پیوند سطحی مولکول‌های جنتامایسین، خواص ضدباکتری کیتوسان را بهبود می‌بخشد. در پژوهش دیگری نیز نوعی فیلم کیتوسان طراحی شد که از قابلیت بهبود خواص ضد میکروب برخوردار بود [۱۴].

قابلیت التیام زخم

التیام زخم، فرایند پیچیده و طولانی است که طی آن زخم به تدریج کوچک می‌شود، سلول‌ها به طور مداوم تکثیر می‌شوند و الیاف کلاژن

طبیعی سلول‌ها جلوگیری کند [۱۹]. فرضیه نهایی این است که کیتوسان به‌عنوان عامل بازدارنده عمل می‌کند. در این صورت، غشایی را بر سطح باکتری تشکیل می‌دهد که از ورود مواد مغذی و اکسیژن به سلول جلوگیری می‌کند [۲۰]. اگرچه ثابت شده است، کیتوسان دارای خواص ضدباکتری مطلوبی است، اما



شکل ۳- فرضیه سازوکار باکتری‌ایستاد در کیتوسان [۱۴].

به تدریج رسوب می‌کنند. کیتوسان چسبندگی بافتی قوی نشان می‌دهد که ساختار سه‌بعدی منطقی برای تکثیر سلول‌ها فراهم می‌کند. افزون بر این پس از تخریب، کیتوسان ممکن است ماده‌ای آزاد کند که باعث تکثیر فیبروبلاست‌ها و سنتز کلاژن شود. کیتوسان می‌تواند از نظر بالینی برای رفع نیازهای افراد مختلف و دستیابی به آثار درمانی بهتر به شکل‌های مختلف طراحی و آماده شود [۲۱].

بندآوری خونریزی

دستیابی به بندآمدن خونریزی در اولین فرصت پس از سلامت پوست ضروری است. تاکنون، مطالعات متعدد تأیید کرده‌اند، کیتوسان عملکرد بندآوری خونریزی عالی هم در شرایط تجربی برون‌تنی و درون‌تنی نشان داده است [۲۲]. ویژگی‌های بندآمدن خونریزی احتمالاً به بار مثبت کیتوسان وابسته است که می‌تواند به سرعت از پیوند عرضی با غشای دارای بار منفی سرخ‌گویچه (erythrocyte) پشتیبانی کند. این کار به اتصال محکم به سطح زخم منجر می‌شود که مستقل از لخته شدن خون است. این فرایند از دو مسیر داخلی و خارجی موجب تبدیل فیبرینوژن به فیبرین، فعال شدن عوامل انعقاد و تجمع پلاکت‌ها می‌شود. افزون بر این گزارش‌ها نشان می‌دهد، کیتوسان می‌تواند جذب پلاکت‌ها شود که به فعال‌سازی پلاکت و ترومبوز منجر می‌شود. اگرچه مشاهدات تجربی و بالینی درباره کارایی کیتوسان در بندآوری خونریزی وجود دارد. اثر وزن مولکولی، غلظت و سایر عوامل بر بهبود فعالیت بندآوری خونریزی کیتوسان هنوز مشخص نیست، از این رو این چالش‌ها به فرایند بهینه‌سازی کیتوسان کمک می‌کند [۲۳].

دردزدایی

هنگامی که Ohshima در سال ۱۹۸۷ کیتوسان را به عنوان زخم‌پوش به‌طور بالینی، این ماده به‌طور غیرمنتظره عالی عمل کرد. در نتیجه، بسیاری از مطالعات سازوکار بالقوه این اثر را بررسی کرده‌اند. مطالعات نشان داده‌اند، جذب عوامل التهابی مانند برادی‌کینین (bradykinin) در کیتوسان با تسکین درد همراه بوده است [۲۱]. برادی‌کینین، ماده‌ای میانجی مربوط به درد است. برخی پژوهشگران به بررسی عملکرد دردزدایی کیتوسان در موش صحرائی اسکال‌دین پرداختند. آن‌ها کیتوسان را با برادی‌کینین و ۵-هیدروکسی‌تریپتوفان اصلاح کردند. نتایج نشان داد، غلظت کیتوسان اصلاح‌شده در مقایسه با کیتوسان اصلاح‌نشده کمتر است. کیتوسان می‌تواند پروتون‌ها را از استیک اسید جذب کند که احتمالاً با درد همراه است. همچنین، افزودن کیتوسان به‌طور بالقوه باعث کاهش pH به دلیل اسیدینگی

کیتوسان می‌شود. با این حال، سازوکارهای خاص کیتوسان هنوز نیازمند مطالعه بیشتری است. با وجود مزایای یادشده، معایب و محدودیت‌های کیتوسان شامل استحکام مکانیکی کم و خواص ضدباکتری متوسط است [۲۴].

در بسیاری از مطالعات، تلاش برای افزایش استحکام مکانیکی کیتوسان با روش اصلاح شیمیایی انجام شده است. در پژوهشی مشاهده شد، کیتوسان اصلاح‌شده با آرژینین به دلیل وجود پیوندهای پپتیدی استحکام مکانیکی بهتری نسبت به کیتوسان اصلاح‌نشده دارد [۲۵]. در مطالعه‌ای استحکام مکانیکی کیتوسان با افزودن نانوذرات نقره به آن افزایش یافت. افزون بر این در پژوهش‌های متعدد به منظور بهبود خواص ضدباکتری، کیتوسان به مولکول‌های کاتیونی پیوند زده شد تا اثر بار مثبت افزایش یابد. همچنین، کیتوسان‌ها به عنوان عامل ضد میکروبی (antimicrobial agents) در آنتی‌بیوتیک‌ها، نانوذرات فلزی و آنتی‌بیوتیک‌های طبیعی استفاده شده است. بنابراین، افزودن نانوذرات فلزی می‌تواند معایب کیتوسان را کاهش دهد. راهبردهای بیان‌شده در این مقاله، ایده‌های جدید و روش‌های درمانی بهبودیافته‌ای را برای ساخت مواد ایده‌آل برای زخم‌پوش‌ها فراهم کرده است [۲۶].

نانوکامپوزیت‌های فلزی بر پایه کیتوسان

در حال حاضر، توسعه سریع نانوفناوری سنتز آسان‌تر نانوکامپوزیت‌ها را برای استفاده در التیام زخم فراهم کرده است. افزون بر این، نانوذرات فلزی مانند نقره، مس و روی اکسید چشم‌انداز خوبی را برای بهبود زخم نشان داده‌اند. ماتریس‌های کیتوسان همراه با نانومواد فلزی به‌خوبی در مقالات مطالعه شده‌اند. خواص مکانیکی و باکتری‌ایستانی ماتریس کیتوسان با افزودن نانوذرات فلزی افزایش می‌یابد. همچنین کیتوسان زیست‌فعال از طریق کپسول‌دار شدن، سمیت نانوذرات فلزی را کاهش می‌دهد. نانوذرات فلزی و کیتوسان ممکن است در اشکال مختلف از جمله هیدروژل‌ها، غشاهای لیفی، فیلم‌ها، داربست و اسفنج‌ها ترکیب شوند. به‌طور کلی این هیبرید، نانوکامپوزیت‌های چندعاملی دارای خواص فیزیکی و فعالیت‌های زیستی بهتری در مقایسه با نمونه‌های غیرهیبریدی و تک‌عاملی بوده که در جدول ۱ نشان داده شده است [۲۷].

کیتوسان-نقره

قرن‌ها از نقره به‌طور مستقیم به‌شکل یون‌های نقره برای درمان

نقره می‌تواند بیشترین سرعت ترمیم زخم را در زخم‌پوش‌ها داشته باشد. در مطالعه‌ای، فیلم‌های نانوکامپوزیت نقره حاوی کیتوسان-سریسین با غلظت 0.085 mg/mL تهیه و خواص آن‌ها ارزیابی شد [۲۸]. مشاهده شد، پس از اعمال غشای پوست سوخته روی موش‌ها به مدت هفت روز، هیچ یون نقره‌ای در رگ‌های خونی این حیوان وجود ندارد که نتیجه‌گیری شد، وجود پوشش کیتوسان باعث می‌شود تا سمیت سلولی نانوذرات نقره کاهش یابد.

کیتوسان-مس

مس عنصری ضروری در آنزیم‌ها و انتقال‌دهنده‌های مرتبط با التیام زخم است. مسمومیت سامانه‌ای مس هنگامی رخ می‌دهد که مقادیر زیادی از آن در تماس مستقیم با اپیدرم قرار گیرد و به راحتی به داخل رگ‌های خونی نفوذ کند. پژوهشگران نشان دادند، نانوذرات مس پوشش‌یافته روی کیتوسان، یون‌های مس را به آرامی و مداوم آزاد می‌کنند که در نتیجه واکنش‌های سامانمند سمی ایجاد نمی‌شود [۲۹]. همچنین، 33% از مقدار مس طی 1 h و 54% آن را در مدت 9 h آزاد شد. این پژوهشگران [۱۹] برای اثبات آثار سمیت سلولی و آپوپتوزی (apoptosis) آشکار کیتوسان-مس طراحی شده بر سلول‌های سرطان سینه (MCF7) و سمیت سلولی کمتر آن بر سلول‌های (HEK-293T) غیرسرطانی آزمون‌های زنده‌مانی سلول‌های آزمایشگاهی انجام دادند. مس به عنوان یک نانوذره فلزی معدنی، خواص ضدباکتری عالی نیز دارد. در مطالعه‌ای، غشای لیفی کیتوسان با سولفات مس اصلاح شد تا خواص ضدباکتری آن نسبت به باکتری‌های رایج پوست افزایش یابد. نتایج پژوهش دیگری [۳۰] نشان داد، افزودن نانوذرات مس به طور درخور توجهی عملکرد بازدارنده باکتری را بهبود می‌بخشد که قوی‌ترین اثر آن در غلظت 0.3 mg/mL بود. زمانی که غلظت مس 100 mg/mL باشد، کیتوسان در مجاورت مس می‌تواند اثر کشنده‌ای بر باکتری گرم مثبت مانند *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) و باکتری گرم منفی مانند *Escherichia coli* (*E. coli*) داشته باشد. همچنین، هر دو نمونه کیتوسان و مس به طور جداگانه خواص ضدباکتری نشان ندادند. به طور کلی اعتقاد بر این است که سازوکار ضدباکتری نانوذرات مس لایه پیپتیدوگلیکان را آب‌کافت می‌کند و در نتیجه ساختار سلولی باکتری را از بین می‌برد.

بررسی سازوکارهای اساسی باکتری‌ها به بهینه‌سازی بهتر عملکرد باکتری‌ایستانی منجر می‌شود. همچنین، افزودن نانوذرات مس می‌تواند خواص فیزیکی و شیمیایی کیتوسان را بهبود بخشد. در مطالعه دیگری [۱۵]، داربست‌های متخلخل CS را با نانوذرات

ضایعات پوستی به طور موضعی استفاده شده است. سیلور سولفادیازین به طور درخور توجهی استاندارد طلایی برای درمان سوختگی‌های موضعی به شمار می‌رود. بسیاری از مطالعات در توسعه نانوفناوری نشان داده‌اند، نانوذرات نقره موجب انتشار طولانی‌مدت و کنترل‌شده یون‌های نقره می‌شوند [۲۰]. نانوذرات نقره خواص ضدباکتری قوی دارد که در آزمون‌های درون‌تنی و برون‌تنی مشاهده شده است. مهم‌تر اینکه، نقره آنتی‌بیوتیکی بوده که علیه قارچ‌ها و باکتری‌ها فعال است که از جمله می‌توان به *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) مقاوم به متی‌سیلین (MRSA) و *Enterococcus* مقاوم به وانکومایسین (VRE) اشاره کرد. بازدارندگی زنجیر تنفسی (inhibition of the respiratory chain) یا زنجیر انتقال الکترون و تولید گونه‌های فعال اکسیژن به مرگ سلول منجر شده که موجب اتصال پایدار یون‌های نقره به گوگرد، جزء اصلی زنجیر تنفسی می‌شود [۲۸].

درباره سازوکار اثر ضدباکتری نانوذرات نقره، نظرهای متفاوتی وجود دارد. برخی مطالعات نشان داده‌اند، یون‌های نقره در پوست آسیب‌دیده بسیار فعال‌اند و به راحتی به پروتئین‌های بالقوه منفی مانند DNA متصل می‌شوند. استفاده بی‌رویه از نقره در غلظت‌های کم می‌تواند به ظهور سویه‌های مقاوم منجر شود. مقاومت فشاری نمونه‌ها بیش از 100 برابر نمونه شاهد کیتوسان بود و به $15/95 \text{ MPa}$ رسید. نقره افزون بر خواص ضدباکتری و اثر آن بر استحکام مکانیکی، خواص التیام زخم دیگری نیز دارد.

برخی پژوهشگران دریافته‌اند، نانوذرات نقره بارگذاری شده در داربست کیتوسان-گلیکوزآمینوگلیکان تمایل زیادی برای افزایش تکثیر فیروبلاست‌ها دارند. سطوح اضافی ماتریس متالوپروتئینازها اتصالات رشته و عوامل رشد پیپتیدی را تجزیه می‌کنند و التیام زخم را به تأخیر می‌اندازند [۲۲]. مواد برپایه نقره می‌توانند با کاهش تولید متالوپروتئینازها، التیام زخم را ارتقا دهند. نانوذرات نقره برای سلول‌های کوتیکول و فیروبلاست‌ها و همچنین تجمع نقره در این سلول‌ها سمی هستند و باعث آسیب‌رسانی به کبد، کلیه‌ها و سایر اندام‌های سوخت‌وساز می‌شود. با این حال تا به امروز، توافق محدودی درباره مقدار دُز قابل‌قبول وجود داشته است. در پژوهشی سمیت نانوذرات نقره بررسی شد [۲۷]. نتایج نشان داد، فیلم‌های فیروبلاست اولیه انسانی (HF) کشت‌شده با غلظت بیش از 0.36 wt ، سرعت زنده‌مانی سلولی بیش از 90% نشان می‌دهند. همچنین در پژوهش دیگری، هیدروژل‌های برپایه کیتوسان حاوی غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره تهیه شد. نتایج آزمون‌های درون‌تنی نشان داد، هیدروژل حاوی 30 ppm نانوذرات

مس با استفاده از روش انجماد آماده کردند. در پژوهشی، داربست کیتوسانی با نانوذرات فلزی مس به روش خشک کردن انجمادی طراحی و مشاهده شد، نانوذرات مس باعث افزایش تخلخل سطحی می‌شوند که برای مهندسی بافت مناسب‌تر است. در مطالعه‌ای، استحکام مکانیکی هیدروژل کیتوسان-اتیلن گلیکول با غلظت‌های متفاوت نانوذرات مس ارزیابی شد [۲۴]. نتایج نشان داد، پایداری مکانیکی هیدروژل با افزایش غلظت نانوذرات مس بدون تأثیر بر قابلیت جذب زخم، افزایش می‌یابد. نانوذرات مس می‌تواند به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم سیتوکین‌ها یا عوامل رشد را تحریک کند و التهاب را کاهش دهد. تکثیر فیبروبلاست، رگ‌زایی و رسوب‌دهی کلاژن می‌تواند باعث بهبود زخم‌ها شود. فرایندهای مرتبط در زمینه مطالعات سمیت روی نشان داد، عوامل اصلی مربوط به تولید اکسی رادیکال‌هایی است که باعث تشکیل اکسیژن فعال و در نتیجه اکسایش می‌شود [۳۱].

سمیت وابسته به دُز مس به دلیل انحلال یون‌های مس رخ می‌دهد. این یون‌ها سامانه‌ای را تشکیل می‌دهند که در بافت‌ها تجمع می‌کند و به تولید اکسیژن فعال منجر می‌شود. اگر مس به لایه اپیدرم برسد، سمیت سامانه‌ای می‌تواند هنگامی رخ دهد که مس به‌طور گسترده وارد عروق خونی شود. ادغام مس در ترکیب با کیتوسان سمیت کمتری نشان داده است که حاکی از برهم‌کنش کیتوسان با این ماده است. این سازوکار عمدتاً با دو سازوکار شناخته شده مشخص می‌شود. یکی کاهش یون‌های پتاسیم است که به اختلال در پتانسیل اکسایش-کاهش غشا منجر می‌شود. سازوکار دیگر، آب‌کافت لایه پپتیدوگلیکان است که باعث تغییر فشار اسمزی می‌شود. فعالیت التهابی کیتوسان با وجود مس نهان شده و بیشتر مهار می‌شود و تکثیر و مهاجرت فیبروبلاست‌ها را تحریک می‌کند. مطالعات بافت‌شناسی نشان داد، آنزیم‌های وابسته به مس، پرولیل ۴-هیدروکسیلازها و لیزیل اکسیداز به سنتز کلاژن کمک می‌کنند و مجرای کیتوسان به رسوب‌دهی بیشتر کلاژن در مس برپایه کیتوسان کمک می‌کند. نانوکامپوزیت با تشکیل کلونیدها از بیش‌پروردگی (hypertrophy) جلوگیری می‌کند. بنابراین، خاصیت التیام زخم مس با کیتوسان افزایش می‌یابد [۳۲].

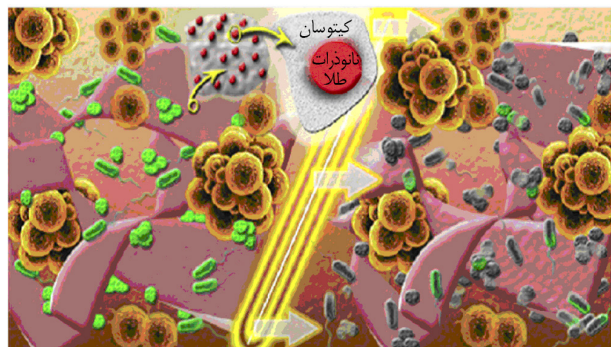
کیتوسان-روی اکسید

از جنبه‌های مهم استفاده از روی اکسید به‌عنوان عامل ضدباکتری این است که ذرات آن برای سلول‌های انسانی سمی نیستند. روی اکسید یکی از ۵ ترکیب روی بوده که اخیراً به‌عنوان ماده بی‌خطر به‌وسیله سازمان دارو و غذای آمریکا تشخیص داده شده

است. در پژوهشی [۱۴] درباره کامپوزیت روی اکسید-کربوکسی متیل کیتوسان نتیجه گرفته شد، با افزایش غلظت کامپوزیت اثر ضد میکروبی علیه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی افزایش می‌یابد. همچنین، کامپوزیت مزبور دارای حفاظت خوبی در برابر تابش فرابنفش (UV) است. بهترین اثر ضد میکروب نیز در برابر باکتری *E. coli* و *S. aureus* در ۶٪ wt تا ۱۰٪ wt نانوذره روی اکسید است. Lee و همکاران، فیلم کیتوسان-نانوذرات روی اکسید-نانوذرات نقره را طراحی کردند. نتایج نشان داد، فیلم مزبور خواص ضدباکتری عالی داشته و مقاومت خوبی نیز در برابر UV دارد. نانوذرات روی اکسید به‌عنوان پرکننده به‌طور مؤثر موجب تقویت خواص پلیمر می‌شود. همچنین، پلیمر کیتوسان از طریق پیوند هیدروژنی با صفحات نانوذرات روی اکسید به‌طور مؤثر واکنش نشان می‌دهند که در نهایت به ایجاد نوعی ساختار به‌هم پیوسته و یکنواخت به‌کمک اتصالات عرضی میان رشته‌های پلیمر منجر می‌شود. نمای سطحی ارائه‌شده از نانوکامپوزیت، این نتایج را تأیید کرد [۱۹]. همچنین این ساختار به هم فشرده و یکنواخت نیز می‌تواند عامل بهبود خواص ضد میکروب به‌وسیله نانوذرات روی اکسید باشد.

در پژوهشی، زخم‌پوش کیتوسان-پلی‌وینیل الکل-نانوذرات روی اکسید طراحی و تهیه شد [۲۵]. نتایج نشان داد، نمونه نانوکامپوزیت حاوی کیتوسان-پلی‌وینیل الکل-نانوذرات روی اکسید خواص ضدباکتری بهتری نسبت به نمونه کیتوسان-پلی‌وینیل الکل دارد. همچنین نانوکامپوزیت مزبور، گزینه مناسبی برای زخم‌پوش‌هاست. نتایج میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) نیز نشان داد، نانوذرات روی اکسید ساختار بلوری شش‌گوشه دارند. DeSilva و همکاران دریافتند، عملکرد باکتری‌ایستاد تا حد زیادی تحت تأثیر اندازه ذرات است و اگر اندازه ذرات کوچک‌تر باشد، عملکرد آن بهتر می‌شود [۲۶]. در پژوهشی استانکویچ و همکاران به اندازه ذرات و سطوح نانوذرات روی اکسید و عملکرد باکتری‌ایستاد بررسی شدند. نتایج نشان داد که اندازه ذرات مرتبط با عملکرد باکتری‌ایستاد نیست.

Lih و همکاران به بررسی خواص فیزیکی و شیمیایی داربست کیتوسان با نانوذرات روی اکسید پرداختند. نتایج نشان داد، وجود ۱٪ wt از این نوع نانوذرات استحکام کششی داربست را افزایش می‌دهد [۲۷]. در پژوهشی دیگر، هیدروژل کیتوسان-پلی‌وینیل الکل-نانوذرات روی اکسید به‌عنوان زخم‌پوش معرفی شد. این هیدروژل در مقایسه با زخم‌پوش‌های هیدروژلی بدون نانوذرات روی اکسید، بهبود خواصی چون نسبت تورم، سرعت انتقال بخار آب، اندازه منافذ و خواص مکانیکی و گرمایی را نشان داد. با



شکل ۴- فیلم کیتوسان حاوی نانوذرات طلا و بررسی عملکرد آن در زخم‌پوش‌ها.

یعنی کیتوسان، کاهش یافت. فعالیت کیتوسان به‌وسیله گروه‌های آمینی با درجه دی‌استیل‌زدایی بیشتر می‌شود. بار مثبت کیتوسان و برهم‌کنش‌های دیواره سلولی باعث عدم پایداری می‌شوند. سمیت نانوذرات وابسته به برهم‌کنش با کیتوسان است. در شکل ۴، نانوذرات در تماس با مواد زخم‌پوش نشان داده شده است. این زخم‌پوش می‌تواند میکروب‌ها را غیرفعال کند [۳۵]. همچنین در جدول ۲، انواع نانوذرات و ماتریس به‌کاررفته در زخم‌پوش‌ها درج شده است [۳۰-۳۵].

نتیجه‌گیری

پوست به‌عنوان بزرگ‌ترین عضو خارجی بدن انسان، نقش مهمی در حفاظت از بدن در برابر آسیب‌های مکانیکی و تهاجم میکروبی ایفا می‌کند. در این مقاله، افزودن نانوذرات فلزی گوناگون به کیتوسان به‌عنوان روش جدید و امیدوارکننده‌ای برای توسعه کاربردهای بهبود زخم بحث شده است. در بسیاری از مقالات گزارش شده است، ترکیب کیتوسان و نانوذرات فلزی بهتر از استفاده جداگانه از این مواد در بهبود زخم عمل می‌کند. ابتدا از نظر آماده‌سازی، کیتوسان-نانوذرات فلزی را بدون افزودن سایر کاهش‌دهنده‌های سمیت سلولی (مانند سدیم سیترات و سدیم بوروهیدرید) پایدار کرد. افزون بر این، آزادشدن کنترل‌نشده یون‌های فلزی به‌وسیله نانوذرات فلزی و سمیت سلولی بالقوه آن‌ها را می‌توان با میکروکپسول‌دارشدن کیتوسان کاهش داد. در عین حال، خواص ضدباکتری متوسط کیتوسان و استحکام مکانیکی ضعیف آن را می‌توان با اضافه‌کردن نانوذرات فلزی افزایش داد. افزون بر این در بسیاری از مطالعات، تسریع التیام زخم به افزایش رسوب کلاژن، رگ‌زایی و آثار ضدالتهابی هر دو نسبت داده می‌شود. به‌طور

توجه به خواص نوری و نیمه‌رسانایی منحصر به فرد نانوذرات روی اکسید، نور فرابنفش می‌تواند موجب رخداد واکنش‌های نورکاتالیزی برای افزایش خواص باکتری‌ایستانی این نوع نانوذره شود [۲۸-۳۰].

نانوذرات تیتانیم

تیتانیم اکسید به تشکیل رادیکال ابراکسید با جذب الکترون منجر می‌شود که باعث تولید اکسیژن فعال می‌شود. تیتانیم اکسید پس از التهاب مزمن یا اختلال عملکرد میتوکندری و پس از قرارگیری در معرض نور و رطوبت، می‌تواند الکترون‌ها را از اتم‌های همسایه استخراج کرده و رادیکال‌های آنیون هیدروکسیل و ابراکسید ایجاد کند. تیتانیم اکسید به‌دلیل خواص زیستی مطلوب آن، کاربردهای معقولی در التیام زخم یافته است [۳۳]. تیتانیم اکسید در معرض نورکاتالیز با انتشار آهسته یون‌های تیتانیم از تکثیر میکروبی جلوگیری می‌کند و در نتیجه بهبود زخم را سرعت می‌بخشد. تیتانیم اکسید حاوی گرافن الکترورسی‌شده، فعالیت بیشتری نسبت به باکتری گرم منفی *E. coli* نشان داد که احتمالاً به‌علت اکسیژن‌های فعال موجود در آن است.

در پژوهش دیگری، زخم‌پوش پلی‌وینیل الکل و سدیم آلزینات با نانواکسید تیتانیم تهیه شد. نتایج نشان داد، نانواکسید تیتانیم باعث بهبود کارایی زخم‌پوش در برابر میکروب شده است. همچنین این نانوکامپوزیت به‌عنوان زخم‌پوش بر زخم ایجادشده روی موش استفاده شد. نتایج نشان داد، با استفاده از این زخم‌پوش، سلول‌های زنده افزایش می‌یابند. در پژوهش مشابهی، رفتار تخریب گرمایی نمونه پلی‌وینیل الکل با نمونه پلی‌وینیل الکل-آلزینات سدیم-نانوتیتانیم اکسید و کورکومین بررسی شد. نتایج نشان داد، نمونه نانوکامپوزیت در مقایسه با نمونه دیگر، پایداری گرمایی بهتری دارد و دیرتر تخریب می‌شود [۳۴].

نانوذرات طلا

طلا به‌دلیل سنتز آسان، ماهیت بی‌اثر و عملکرد آسان، کاربردهای زیادی یافته است. سمیت مربوط به نانوذرات طلا در مقایسه با سایر نانوذرات مانند نقره، روی اکسید و تیتانیم اکسید به میزان درخور توجهی کم است. طلا با قطر متوسط ۱۰ nm با سنتز سبز تهیه و زمانی که با استفاده از کیتوسان با وزن مولکولی متوسط ترکیب شد، به‌عنوان عامل تثبیت‌کننده بهتر عمل کرد. فیلم‌های برپایه کیتوسان حاوی نانوذرات طلا با فعالیت ضدباکتری زیاد تهیه شد. سمیت سلولی عمدتاً با پوشش سطحی با پلیمر زیست‌تخریب‌پذیر و غیرسمی،

جدول ۲- انواع نانوذرات و خواص زخم پوش [۳۰-۳۵].

نوع نانوذرات	ماتریس	نام آزمون ریزاندامگان	خواص
نقره	کربونیل آمینوآسید- کیتوسان	<i>P. aeruginosa-S. aureus-E. coli</i>	ضدمیکروب
نقره	کیتوسان- نشاسته	<i>P. aeruginosa-S. aureus-E. coli</i>	افزایش خواص مکانیکی و ضدمیکروب
نقره	کیتوسان- پلیوینیل الکل	<i>E. coli</i>	ضدمیکروب
نقره	کربوکسی متیل کیتوسان- پلی وینیل الکل	<i>E. coli</i>	ضدمیکروب
نقره	ژل کیتوسان	<i>P. aeruginosa</i> مقاوم به متیسیلین- <i>S. aureus</i>	باکتری کش
نقره	کیتوسان- هیالورونیک اسید	<i>P. aeruginosa-Klebsiella-S. aureus</i>	ضدمیکروب
طلا	کیتوسان فیلم	<i>P. aeruginosa-S. aureus</i>	عامل پایدار ساز
طلا	فیلم کیتوسان- کلونید	-	تکثیر کراتینوسیت بیشتر
مس	نانوکامپوزیت کیتوسان	-	رشد و تکثیر سلولی فیبروبلاست
روی اکسید	نانوکامپوزیت کیتوسان	<i>S. aureus-E. coli</i>	ضدمیکروب
روی اکسید	هیدروژل کیتوسان	<i>S. aureus-E. coli</i>	ضدمیکروب
روی اکسید	آلژینات و کیتوسان	<i>S. aureus- Klebsiella-E. coli</i>	ضدمیکروب
تیتانیم اکسید- کیتوسان	کلاژن	-	ضدمیکروب
تیتانیم اکسید	کیتوسان- پلی وینیل پیرولیدون	<i>P. aeruginosa-S. aureus-E. coli- B. subtilis</i>	ضدباکتری
تیتانیم اکسید	کیتوسان- پکتین	<i>A. niger-S. aureus-E. coli</i>	ضدمیکروب، بهبود زخم و اپیدرم

آماده سازی، پیش شرطی ضروری برای کاربردهای بالینی است. با وجود واکنش های شیمیایی بین کیتوسان و نانوذرات فلزی، عملکرد آن ها بر اساس کلاته سازی ترکیب یک یون فلزی و یک مولکول یا یون است. این ترکیب شامل ایجاد پیوند بین یک لیگاند و یک یون فلزی در مرکز و الکترواستاتیک است. متأسفانه، این برهم کنش ها در سطح مولکولی بررسی محدود شده است. به طور کلی، نانوکامپوزیت ها آینده امیدبخشی در زمینه التیام زخم ها دارند و در نهایت باید با پژوهش ها و بهینه سازی مداوم، انتظارات پزشکان و نیازهای بیماران را برآورده سازند.

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, *Basparesh*, **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.
6. Zahedi P., Rezaeian I., RanaeiSiadat 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.
 7. Wang K., Pan S., Qi Z., Xia P., Xu H., Kong W., Li H., Xue P., Yang X., and Fu C., Recent Advances in Chitosan-Based Metal Nanocomposites for Wound Healing Applications, *Adv. Mater. Sci. Eng.*, **2020**, Article ID 3827912, 1-13, 2020.
 8. Ruel-Gariepy E. and Leroux J.-C., In Situ Forming Hydrogels: Review of Temperature-Sensitive Systems, *Europ. J. Pharm. Biopharm.*, **58**, 409-426, 2004.
 9. 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.
 10. Sharma S., Madhyaṣṭha H., Laxmi Swetha K., Maravajjala K.S., Singh A., Madhyaṣṭha R. et al., 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. Caṣtillo L., Caṣtro-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. et al., 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. et al., Development of Tannin-Inspired Antimicrobial Bioadhesives, *Acta Biomater.*, **72**, 35-44, 2018.
 19. 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.
 20. 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.
 21. 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.
 22. Karami M.H., Kalae M.R., Khajavi R., Moradi O., and Zaarei D., Thermal Degradation Kinetics of Epoxy Resin Modified with Elastomeric Nanoparticles, *Adv. Compos. Hybrid. Mater.*, **5**, 390-401, 2022.
 23. Karami M.H., Kalae M.R., Mazinani S., Shakiba M., Shafiei Navid S., Abdouss M. et al., Curing Kinetics Modeling of Epoxy Modified by Fully Vulcanized Elastomer Nanoparticles Using Rheometry Method, *Molecul.*, **27**, 2870, 2022.
 24. Karami M.H., Abdouss M., Kalae M.R., and Moradi O., Application of Hydrogel Nanocomposites in Biotechnology: A Review Study, *Iran Polymer Technology, Research and Development*, In Press, 2023.
 25. Le Thi P., Lee Y., Tran D.L., Thi T.T.H., Kang J.I., Park K.M. et al., 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**, 3261-3269, 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. et al., 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.

- et al., Production of Hollow Bacterial Cellulose Microspheres Using Microfluidics to Form an Injectable Porous Scaffold for Wound Healing, *Adv. Healthc. Mater.*, **5**, 2983-2992, 2016.
31. Joseph S.M., Krishnamoorthy S., Paranthaman R., Moses J.A., and Anandharamakrishnan C.A., Review on Source-Specific Chemistry, Functionality, and Applications of Chitin and Chitosan, *Carbohydr. Polym. Technol. Appl.*, **2**, 100036, 2021.
32. Issera W.M.J.C., Rathnayake S.I., Abeyrathne E.D.N.S., and Nam K.C., An Improved Extraction and Purification Method for Obtaining High-Quality Chitin and Chitosan from Blue Swimmer (Portunus Pelagicus) Crab Shell Waste, *Food Sci. Biotechnol.*, **30**, 1645-1655, 2021.
33. Machalowski T., Wysokowski M., Tsurkan M.V., Galli R., Schimpf C., Rafaja D. et al., Spider Chitin: An Ultrafast Microwave-Assisted Method for Chitin Isolation from Caribena Versicolor Spider Molt Cuticle, *Molecules*, **24**, 3736, 2019.
34. Ahmad S.I., Ahmad R., Shoeb Khan M., Kant R., Shahid S., Gautam L. et al., Chitin and Its Derivatives: Structural Properties and Biomedical Applications, *Int. J. Biol. Macromol.*, **164**, 526-539, 2020.
35. Dave U., Somanader E., Baharlouei P., Pham L., and Rahman M.A., Applications of Chitin in Medical, Environmental, and Agricultural Industries, *J. Mar. Sci. Eng.*, **9**, 1173, 2021.