Review Article

Polymerization
Quarterly, 2024
Volume 14, Number 4
Pages 12-28
ISSN: 2252-0449

A Review on Various Methods for Preparation of Self-healing Hydrogels based on Gelatin for Biological Applications

Zahra Ajali and Zahra Mohamadnia*

Department of Chemistry, Institute for Advanced Studies in Basic Sciences (IASBS),

P.O. Box 45137-66731, Zanjan, Iran

Received: 1 July 2024, Accepted: 7 October 2024

Abstract

Hydrogels are insoluble and three-dimensional polymer networks that have high water absorption and are used as an extracellular matrix for biomedical applications due to their appropriate elasticity and network structure. Self-healing is a property that enables the material to heal damages spontaneously and automatically and return to its normal state. This feature increases the useful life of materials and preserves their main functional properties. Different types of natural, synthetic, and semi-synthetic polymers can be used to prepare self-healing hydrogels. Gelatin is a natural polymer with a protein structure, hydrophilic, biocompatible and biodegradable, and consists of a sequence of eighteen types of amino acids such as glycine, proline, hydroxyproline, alanine, etc., which are connected by peptide bonds. Gelatin is obtained from hydrolyzing collagen that makes up most of the proteins in skin, bone, and cartilage. Due to its suitable biocompatibility, biodegradability, lack of immune response, the ability to modify and prepare numerous derivatives, and its commercial availability, gelatin has been able to be very efficient in preparing a variety of self-healing hydrogels with various applications. In this article, the preparation and application of different types of gelatin-based self-healing hydrogels in various biological fields such as the preparation of tissue engineering scaffolds, drug delivery, motion sensors, wound dressings for the repair of infectious and diabetic wounds, 3D printing for the preparation of scaffolds, sustained protein release, and adhesives used in laparoscopic surgeries have been reviewed.

Key Words

**hhydrogel,
gelatin,
self-healing,
natural polymer,
biomedical**

(*) To whom correspondence should be addressed.
E-mail: z.mohamadnia@iasbs.ac.ir

مقاله مروری

بسپارش
فصلنامه علمی
سال چهاردهم، شماره ۴،
صفحه ۲۸-۱۲، ۱۴۰۳
ISSN: 2252-0449

مروری بر روش‌های مختلف تهیه هیدروژل‌های خودترمیم برپایهٔ ژلاتین برای کاربردهای زیستی

زهرا اجلی و زهرا محمدنیا*

زنجان، دانشگاه تحصیلات تکمیلی علوم پایه زنجان، دانشکده شیمی، صندوق پستی ۴۵۱۳۷-۶۶۷۳۱

دریافت: ۱۴۰۳/۴/۱۱، پذیرش: ۱۴۰۳/۷/۱۶

چکیده

هیدروژل‌ها شبکه‌های پلیمری نامحلول و سه‌بعدی دارای اتصالات عرضی هستند که قابلیت جذب آب زیادی دارند. این مواد به‌دلیل داشتن کشسانی مناسب و ساختار شبکه‌ای به‌عنوان ماتریس برون‌سلولی برای کاربردهای زیستپزشکی استفاده می‌شوند. خودترمیمی خاصیتی است که به ماده قابلیت بهبود ذاتی و خودکار آسیب‌ها و بازگشت به حالت عادی را می‌بخشد. این ویژگی عمر مفید مواد را افزایش می‌دهد و خواص عملکردی اصلی آن‌ها را حفظ می‌کند. برای تهیهٔ هیدروژل‌های خودترمیم می‌توان از انواع مختلف پلیمرهای طبیعی، سنتزی و نیمهسنتزی استفاده کرد. ژلاتین، پلیمری طبیعی با ساختار پروتئینی، آب‌دوست، زیست‌سازگار و زیست‌تخریب‌پذیر است. این پلیمر از توالی هجده نوع آمینواسید چون گلایسین، پرولین، هیدروکسی پرولین، آلانین و غیره تشکیل شده است که با پیوندهای پپتیدی به‌هم متصل شده‌اند. ژلاتین از آب‌کافت کلاژن حاصل می‌شود. کلاژن نوعی بافت پیوندی است که بخش اعظم پروتئین‌های پوست، استخوان و غضروف را تشکیل می‌دهد. ژلاتین به‌دلیل زیست‌سازگاری مناسب، زیستتخریب‌پذیری، عدم ایجاد پاسخ ایمنی، اصلاح‌پذیری، قابلیت تهیه مشتقات متعدد و دسترس‌پذیری تجاری در تهیه انواع هیدروژل‌های خوترمیم با کاربردهای مختلف می‌تواند کارآمد باشد. در این مقاله، تهیه و کاربرد انواع مختلف هیدروژل‌های خودترمیم برپایهٔ ژلاتین در زمینه‌های زیستی مختلف مانند تهیهٔ داربست‌های مهندسی بافت، دارورسانی، حسگرهای حرکتی، زخم‌پوش برای ترمیم زخم‌های عفونی و دیابتی، چاپ سه‌بعدی برای تهیه داربست، رهایش پایدار پروتئین، چسب‌های به‌کاررفته در جراحی‌های لاپاراسکوپی مرور شده است.



زهرا اجلی



زهرا محمدنیا

واژگان کلیدی

هیدروژل،
ژلاتین،
خودترمیم،
پلیمر طبیعی،
زیست‌پزشکی

* مسئول مکاتبات، پیام‌نگار:
z.mohamadnia@iasbs.ac.ir

مقدمه

هیدروژل‌ها از نظر فیزیولوژیکی محیط مشابهی برای رشد سلول فراهم می‌کنند و اغلب برای تقلید از ماتریس برون‌سلولی (ECM) استفاده می‌شوند. سلول‌ها با ماتریس برون‌سلولی یا ساختارهای ECM مانند، تعامل می‌کنند و بازسازی می‌شوند تا به رفتارهای سلولی مختلف مانند تکثیر، مهاجرت و تمایز دست یابند [۱]. هیدروژل‌های خودترمیم برای ترمیم باید دارای خواص عملکردی متنوع از جمله زیست‌سازگاری خوب، خواص مکانیکی و عملکردهای زیستی ویژه باشند. هیدروژل‌های خودترمیم که براساس راهبردهای مختلف زیستی طراحی شده‌اند، می‌توانند دارای عملکردهای زیستی مختلف باشند. پلیمرهای طبیعی، به‌دلیل آب‌دوستی عالی، زیست‌سازگاری، تجزیه‌پذیری و خواص زیستی منحصربه‌فرد، نامزدهای بالقوه‌ای برای تهیه هیدروژل‌های خودترمیم هستند [۲،۳]. بااینحال، برای هیدروژل‌های خودترمیم که می‌توانند بدون نیاز به محرک‌های خارجی خود را ترمیم کنند، معمولاً ارزیابی رفتار خودترمیمی با پایش ماکروسکوپی فرایند ترمیم و همچنین با کمی کردن عملکرد ترمیم آن‌ها مهم است. تاکنون، راهبردهای متعدد مبتنی بر ارزیابی کیفی یا کمی برای تخمین عملکرد خودترمیمی هیدروژل‌های خودترمیم به‌کار گرفته شده است [٤].

هیدروژل

هیدروژل‌ها شبکه‌های پلیمری نامحلول و سهبعدی دارای اتصالات عرضی هستند که قابلیت جذب آب زیادی دارند و به‌دلیل داشتن کشسانی مناسب و ساختار شبکه‌ای به‌عنوان ماتریس برون‌سلولی برای کاربردهای زیست‌پزشکی استفاده می‌شوند [۵].

هیدروژل‌های خودترمیم

خودترمیمی خاصیتی است که به ماده قابلیت بهبود ذاتی و خودکار آسیب‌ها و بازگشت به حالت عادی را می‌بخشد. ایجاد موادی که این قابلیت را دارند، نه تنها می‌تواند طول عمر یک ماده را افزایش دهد، بلکه خواص مکانیکی اولیه آن را نیز بازسازی یا حفظ می‌کند. افزون‌براین، مواد خودترمیم با جلوگیری از آسیب ناشی از تجمع ترک‌ها یا شکست به افزایش دوام در کاربردهای خاص منجر شوند. در حالت ایده‌آل، هیدروژل‌های خودترمیم باید از مواد و فنون ارزان‌قیمت، غیرسمی و غیرخطرناک تولید شوند و از نظر کاربرد زودتر از موعد تخریب نشوند [۵]. همچنین، هیدروژل‌های خودترمیم باید دارای ویژگی‌های زیر باشند:

الف- به آسیب به‌طور مستقل (بدون محرک خارجی) و سریع پاسخ دهند.

ب- به آسیب‌ها از مقیاس میکرو تا ماکرو پاسخ دهند.

ج- دارای خواص مکانیکی، رئولوژیکی و زیست‌سازگاری مناسب باشند.

د- خواص مکانیکی و رئولوژیکی اولیه خود را پس از خودترمیمی حفظ کنند [٦].

فرایندهای خودترمیمی

خودترمیمی با استفاده از عوامل ترمیم در ماتریس پلیمری

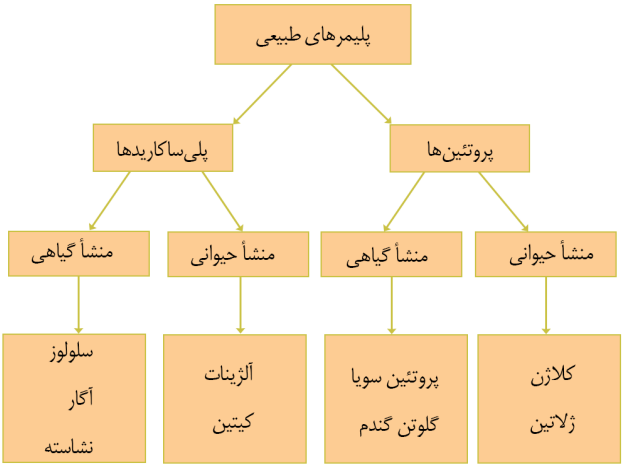
درابتدا از پلیمرهای خودترمیم به همراه عامل ترمیم استفاده می‌شد. در این سازوکار، عوامل واکنش‌پذیر مایع مانند مونومرها، کاتالیزگرها و عوامل پخت درون میکروکپسول‌ها، الیاف توخالی یا کانال‌ها در سامانه پلیمری و در حین مرحله ساخت، جاگذاری می‌شوند. به هنگام ایجاد ترک، این محفظه‌ها شکافته می‌شوند و واکنشگر با کمک نیروی مویینگی درون ترک را پر می‌کند. واکنشگر در مجاورت کاتالیزگرهای ازپیش توزیع‌شده، استحکام می‌یابد و ترک را ترمیم می‌کند. اما به‌دلیل برگشت‌ناپذیری، فرایند ترمیم فقط یک بار انجام می‌شود. پژوهشگران برای غلبه بر این محدودیت روی تهیه موادی متمرکز شده‌اند که دارای خودترمیمی ذاتی هستند و می‌توانند به‌طور مکرر ترمیم شوند.

خودترمیمی ذاتی

در خودترمیمی ذاتی نیز سامانه‌هایی بررسی شده‌اند که می‌توانند با استفاده از آثار حافظهٔ شکلی و برهمکنش‌های برگشت‌پذیر ترمیم شوند.

آثار حافظهٔ شکلی

خودترمیمی به‌کمک آثار حافظهٔ شکلی، مانند بسته شدن زخم در برگ‌ها، معمولاً در سامانه‌های زیستی مشاهده می‌شود. در دهه ۱۹٤۰، اثر حافظهٔ شکلی در پلیمرهای سنتزی کشف شد و برای اولین بار در مواد دندانی (رزین متاکریلیک استر) استفاده شد. در دهه ۱۹٦۰ این کشف با توسعه پلی‌اتیلنی دنبال شد که در اثر گرما منقبض می‌شد و در لوله‌ها و فیلم‌ها و سایر کاربردها قابل استفاده بود. اگر پلیمرها به‌درستی طراحی شوند، می‌توانند شکل دائمی را به خاطر بسپارند و می‌توان این‌گونه پلیمرها را برای ایجاد یک شکل موقت دستکاری کرد. اگر شرایط مناسبی به‌وسیلهٔ محرک‌های بیرونی و درونی مثلا نور و گرما یا تغییرشکل ایجاد شود، پلیمر به شکل اولیه خود تبدیل می‌شود [۷].



شکل ۱- طبقه‌بندی انواع پلیمرهای طبیعی برپایهٔ پروتئین‌ها و پلی‌ساکاریدها [۸].

مواد خودترمیم با برهم‌کنش‌های برگشت‌پذیر

در این دسته از مواد از دو رویکرد اساسی زیر استفاده می‌شود:

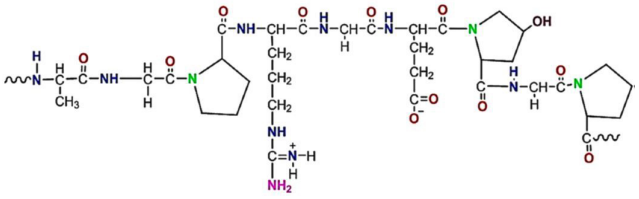
الف- پیوندهای کووالانسی پویا (اتصالات عرضی شیمیایی): پیوندهای دی‌سولفیدی، استر بورات، واکنش دیلز-آلدر و بازهای شیف؛

ب- پیوندهای غیرکووالانسی (اتصالات عرضی فیزیکی): پیوندهای مهمان-میزبان، هیدروژنی، π-π و فلز لیگاند [۵].

برای تهیه هیدروژل‌های خودترمیم می‌توان از انواع مختلف پلیمرهای طبیعی، سنتزی و نیمه‌سنتزی استفاده کرد [۸]. هیدروژل‌های پلیمری سنتزی را می‌توان براساس مشخصات ساخت، اما ممکن است دارای فعالیت زیستی کم، ویژگی‌های مکانیکی ضعیف و تکثیر سلولی غیرقابل‌توجه باشند. استفاده از آن‌ها در کاربردهای زیست‌پزشکی به‌دلیل سمیت، تجزیه‌ناپذیری، سازگاری سلولی کم و فرایند تولید گران محدود است [۹]. بنابراین، هیدروژل‌های برپایهٔ پلیمر طبیعی به‌دلیل زیست‌سازگاری، زیست‌تخریب‌پذیری، ماهیت غیرسمی، جنبه اقتصادی و دسترس‌پذیری به‌طور گسترده در کاربردهای زیستپزشکی استفاده می‌شوند، اما دارای ویژگی‌های مکانیکی ضعیفی هستند. در شکل ۱، طبقه‌بندی انواع پلیمرهای طبیعی با منشأ حیوانی و گیاهی آورده شده است [۸].

پلیمر طبیعی ژلاتین

ژلاتین را می‌توان از منابع طبیعی مختلف مانند پوست ماهی، خارپشت دریایی، چتردریایی و بیشتر از پوست و استخوان گاو و خوک استخراج کرد [۱۰]. تفاوت جزئی میان ژلاتین‌های به‌دست آمده از منابع مختلف در ترکیب اسید آمینهٔ‌آن‌هاست. ساختار



شکل ۲- ساختار شیمیایی ژلاتین [۱۱].

شیمیایی ژلاتین مطابق شکل ۲ است [۱۱]. ژلاتین، توسط اکثر آنزیم‌های پروتئین‌کافتی (proteolytic) آبکافت می‌شود تا یک پپتید یا اجزای اسید آمینه را تشکیل دهد [۱۲]. ژلاتین پلی‌پپتیدی با وزن مولکولی زیاد است که از تخریب فیزیکی و شیمیایی کلاژن به‌دست می‌آید. ساختار شیمیایی ژلاتین از توالی خطی اسید آمینه‌هایی چون گلایسین (۲۶٪ تا ۳۴٪)، پرولین (۱۰٪ تا ۱۸٪) و هیدروکسی پرولین (۷٪ تا ۱۵٪) تشکیل شده است. سایر اسید آمینه‌های مهم عبارت از آلانین ۸٪ تا ۱۱٪)، آرژنین (۸٪ تا ۹٪)، آسپارتیک اسید (۶٪ تا ۷٪) وگلوتامیک اسید (۱۰٪ تا ۱۲٪) و مقدار آب متغیر (۶٪ تا ۹٪) است [۱۳]. ازآنجاکه اسیدهای آمینه از اجزای اساسی تشکیل‌دهنده ژلاتین هستند در ادامه به طبقه‌بندی اسیدهای آمینه براساس ماهیت زنجیر جانبی به‌طور مختصر اشاره می‌شود.

طبقه‌بندی اسیدهای‌آمینه براساس ماهیت زنجیرهای جانبی

اسیدهای آمینه با زنجیرهای جانبی غیرقطبی

در ساختار پلی‌پپتیدها هشت آمینواسید با زنجیرهای جانبی غیرقطبی وجود دارد. گلایسین، آلانین و پرولین زنجیرهای جانبی کوچک، غیرقطبی و آب‌گریزی ضعیف دارند. فنیل‌آلانین، والین، لوسین، ایزولوسین و متیونین زنجیرهای جانبی بلندتری دارند و به‌شدت آب‌گریز هستند.

اسیدهای آمینه با زنجیرهای جانبی قطبی و بی‌بار

در زنجیرهای پلی‌پپتیدی هشت آمینواسید با زنجیرهای جانبی قطبی و بی‌بار وجود دارد. سرین و ترئونین دارای گروه‌های هیدروکسیل، آسپاراژین و گلوتامین دارای گروه‌های آمیدی، هیستیدین و تریپتوفان دارای گروه‌های آمین آروماتیک، سیستئین دارای یک گروه سولفیدریل و تیروزین دارای گروه فنولی در زنجیر جانبی هستند.

اسیدهای آمینه با زنجیر جانبی قطبی و باردار

چهار آمینواسید با زنجیرهای جانبی قطبی و باردار وجود دارد. آسپارتیک اسید و گلوتامیک اسید دارای گروه کربوکسیل در زنجیر جانبی هستند که این گروه‌ها در pH=۷/٤ کاملاً یونی می‌شوند.

آرژنین و لیزین دارای گروه‌های آمین در زنجیر جانبی هستند. این گروه‌ها در pH=۷/٤ به‌طور کامل پروتون می‌شوند [۱۳].

تهیه ژلاتین

تهیه ژلاتین شامل پنج مرحله است که در ادامه شرح داده می‌شوند.

آماده‌سازی نمونه

مواد خام اولیه (پوست یا استخوان حیوانات) با دستگاه‌های ویژه به قطعات کوچک تبدیل می‌شوند. این مواد در مخازن، شست‌وشو داده می‌شوند تا عاری از هرگونه چربی و گوشت شوند. سپس به محل خشک‌کن‌های صنعتی منتقل و در دمای ۱۰۰ °C به مدت ۳۰ min گرما داده می‌شوند.

روش اسیدی و بازی

مواد آماده‌شده از مرحله پیش در محلول اسیدی یا قلیایی به مدت ۵ روز قرار می‌گیرند تا عاری از ناخالصی شوند. در روش اسیدی، معمولاً از پوست خوک و ماهی استفاده می‌شود. در این روش، کلاژن در محلول هیدروکلریک اسید ٤٪ حل شده و به‌تدریج گرما داده می‌شود تا از دمای ۵۰ °C تا دمای جوش تجزیه شود. ژلاتین حاصل دارای نقطه ایزوالکتریک pH =۷-۹/۵ است. در روش قلیایی از شاخ حیوانات استفاده می‌شود. محلول قلیایی به‌کاررفته در این روش کربنات سدیم یا پتاسیم با pH بیش از ۷ است. درواقع، روش قلیایی برای حذف مقدار اضافی نمک است، بنابراین باید از صافی‌های قوی استفاده شود. ژلاتین حاصل با این روش دارای نقطه ایزوالکتریک pH =۵/۱-٤/۸ است و کاهش دادن مدت عمل‌آوری موجب تولید ژلاتین با نقطه ایزوالکتریک ٦ و بیشتر می‌شود.

استخراج و صافش

در این مرحله، ژلاتین در آب گرم گرما داده می‌شود تا به‌شکل محلول از سایر مواد جدا شود. مایع حاصل در دمای ۱٤۰ °C گرما داده می‌شود تا سترون شود. بنابراین محلول حاوی ژلاتین به روش فراصافش و تبادل یون کاملاً تمیز می‌شود.

تغلیظ و خشک‌کردن

در این مرحله با تبخیرآب اضافه ازطریق خلأ، محلولی غلیظ و گران‌رو به‌دست می‌آید. محلول حاصل عاری از هرگونه میکروب است، زیرا ژلاتین غلیظ‌شده دوباره به روش فراصافش سترون می‌شود. سپس، محلول گرم ژلاتین خنک شده و با عبور از محفظه هوای گرم خشک می‌شود.

آسیاب‌کردن و بسته‌بندی

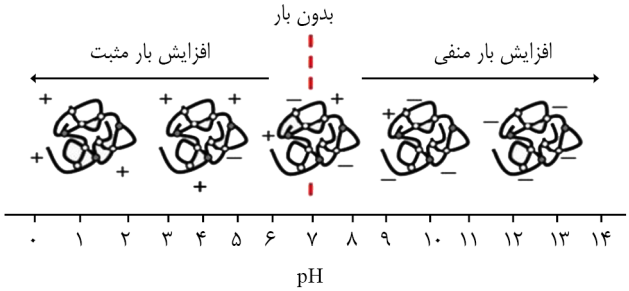
در این مرحله، ژلاتین حاصل آسیاب شده و سپس افزودنی‌های مجاز به آن اضافه و بسته‌بندی می‌شود [۱۳].

خواص ژلاتین

از نظر فیزیکی، ژلاتین ماده‌ای بی‌رنگ، بی‌مزه و غیرمعطر با شفافیت کافی است. بسته به استفاده می‌توان آن را به‌شکل ورقه، پولک یا پودر درشت تهیه کرد. در دمای ۳۵ °C تا ٤۰ °C، ژلاتین می‌تواند ۵ تا ۱۰ برابر وزن خود آب جذب کند و در صورت حل‌شدن در محلول‌ها، ژل تشکیل دهد. استحکام و گران‌روی این ژل در دمای بیش از ٤۰ °C، به‌طور پیوسته کاهش می‌یابد. این کاهش با تغییر pH، آنزیم‌ها و اعمال باکتری تسریع میشود [۱۱].

ژلاتین، مطابق با نظریه پروتئین‌کافت برونستد-لوری، نوعی الکترولیت دوخصلتی است، زیرا حاوی گروه‌های اسیدی و بازی بوده که قابلیت تیتر کردن کمی را در محلول‌های آبی مانند β-کربوکسیلیک آسپارتیک اسید، β-کربوکسیلیک گلوتامیک اسید، β-ایمیدازول هیستیدین، ε-آمین لیزین، δ-گوانیدین آرژنین، و فنول-هیدروکسیل تیروزین دارند. افزون‌براین، اگرچه ژلاتین ترکیب الکتریکی خنثی بوده، اما در واقع در محلول‌های آبی به شکل یون دوقطبی است. بنابراین، کاملاً طبیعی است که دارای یک نقطه به اصطلاح ایزوالکتریک باشد که در آن بارهای مثبت گروه‌های انتهایی NH_3^+ با بارهای منفی گروه‌های انتهایی COO- خنثی می‌شوند. نقطه ایزوالکتریک ژلاتین قلیایی (نوع B) در محدوده pH= ۸/٤-۱/۵ است. مشخص است که در این pH، همه گروه‌های اصلی دارای بار مثبت هستند و مولکول‌های ژلاتین به‌دلیل پروتون‌زدایی بیشتر (و نه همه) گروه‌های کربوکسیل، دارای همان تعداد بار منفی هستند. ژلاتین اسیدی (نوع A)، دارای نقطه ایزوالکتریک در محدوده pH= ۵/۹-۷ است. دراینحالت، تمام گروه‌های کربوکسیل پروتوندار می‌شوند و بار آن‌ها به‌وسیلهٔ بار مثبت گوانیدین و اکثر گروه‌های آمینو متعادل می‌شود (شکل ۳) [۱۲].

ژلاتین فاقد چربی و کلسترول است، پروتئین زیادی دارد و همچنین دارای قدرت امولسیون‌کنندگی قوی است. این ماده می‌تواند تجمع شیر و سایر پروتئین‌ها را به اسید معده پس از ورود به معده محدود کند که برای هضم غذا مفید است. هنگامی‌که ژلاتین در دمای ۳۷ °C است ترکیب مارپیچ سه‌گانه دوباره به حالت پیچه بازمی‌گردد و ژلاتین به‌طور برگشت‌پذیر به حالت محلول درمی‌آید [۱٤]. شبکهٔ فیزیکی ژلاتین معمولا با پیوند هیدروژنی به‌هم متصل شده است، بنابراین ژل‌های فیزیکی ژلاتین در دمای فیزیولوژیکی و



شکل ۳- تصویری از زنجیرهای ژلاتینی در pHهای مختلف [۱۳].

بیشتر به‌دلیل برگشت‌پذیری گرمایی پایدار نیستند [۱۵]. این مسئله استفاده از ژلاتین را برای مهندسی بافت یا دارورسانی محدود می‌کند، جایی که ژل‌ها باید برای مدت معینی پیش از حل شدن پایدار باشند. درنتیجه اتصالات عرضی شیمیایی یا آنزیمی برای حل این مشکل و تثبیت ژل‌های ژلاتین ارجحیت بیشتری دارد [۱۶].

هیدروژل‌های برپایهٔ ژلاتین

انواع مختلف ژلاتین قابلیت تشکیل هیدروژل‌های فیزیکی و شیمیایی هستند. این ژل‌ها می‌توانند شبکه دائمی خود را نگه دارند. خواص فیزیکی و مکانیکی نهایی ژل‌ها با استفاده از روش‌های مختلف ساخت تغییر می‌کنند.

اتصال‌عرضی فیزیکی ژل‌ها

اتصال عرضی فیزیکی ژل‌ها را می‌توان ازطریق تابش پرانرژی، روش‌های پلاسما و گرماآب‌زدایی انجام داد.

الف- روش تابش‌دهی: در روش تابش پرانرژی گسست زنجیرهای پلیمری ژلاتین رخ می‌دهد، درنتیجه رادیکال‌های آزاد برای ایجاد پیوند میان زنجیرهای پلیمری ژلاتین تشکیل می‌شوند [۱۷].

ب- روش پلاسما: هنگامی که از پلاسما برای اتصال عرضی محلول‌های ژلاتین در هیدروژل‌ها استفاده می‌شود، واکنش رادیکال‌های آزاد رخ می‌دهد. رادیکال‌های آزاد (به‌عنوان مثال، هیدروکسیل‌ها) تشکیل می‌شوند تا درنهایت پیوندهای عرضی میان زنجیرهای پلیمری ایجاد شود [۱۸].

ج- روش گرماآب‌زدایی: سازوکار گرماآب‌زدایی به‌طور درخور توجهی با موارد قبلی متفاوت است. این کار با استفاده از دمای زیاد در خلأ به‌مدت چند روز انجام می‌شود که باعث حذف مولکول‌های آب از ژلاتین می‌شود. این روش باعث ایجاد اتصالات عرضی بین‌مولکولی در ژلاتین برای تشکیل یک هیدروژل می‌شود [۱۹]. هیدروژل‌های تشکیل‌شده فیزیکی ژلاتین در دمای بدن ناپایدار می‌مانند. برای غلبه بر این ناپایداری، اتصال عرضی شیمیایی را می‌توان پیش یا پس از اصلاح گروه‌های جانبی معرفی کرد. اتصالات عرضی شیمیایی باعث ایجاد پیوندهای کووالانسی بین زنجیرهای پلیمری می‌شود و همچنین به تشکیل هیدروژل‌های قوی با خواص فیزیکی و مکانیکی قابل پیش‌بینی کمک می‌کند [۲۰]. فنون متمایز متعددی برای اتصال عرضی فیزیکی و شیمیایی هیدروژل‌ها مانند اتصال عرضی با آلدهیدها، واکنش‌های افزایشی و تراکمی، تابش و اتصال عرضی به‌کمک آنزیمها، استفاده شده است. در میان این روش‌ها، اتصال عرضی با آلدهیدها و واکنش تراکمی دو فن پرکاربرد برای تشکیل هیدروژل با اتصال عرضی شیمیایی هستند [۱۱].

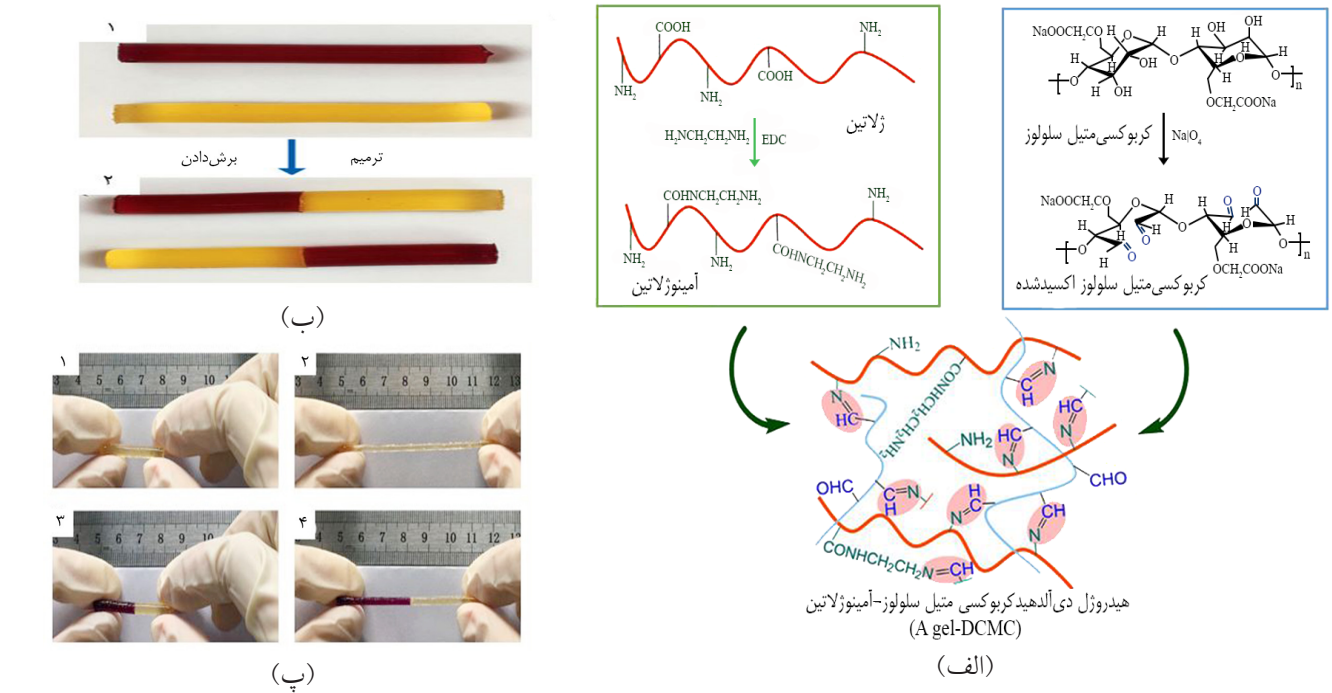
انواع کاربردهای ژلاتین

ژلاتین به‌دلیل قابلیت فیلم‌شدن عالی و ارزش غذایی فوق‌العاده می‌تواند به‌عنوان فیلم خوراکی و ماده پوشش‌دهنده محصولات غذایی استفاده شود. مصرف خوراکی ژلاتین می‌تواند سلامت استخوان و مفاصل را بهبود ببخشد. همچنین، غذاهای مختلف تهیه‌شده از محصولات کلاژن و ژلاتین به‌طور گسترده در زمینه مراقبت از پوست استفاده می‌شوند. ژلاتین معمولاً به‌عنوان عامل ژل‌کننده برای محصولات آرایشی و بهداشتی مانند شامپو، ضدآفتاب، لوسیون بدن، افشانهٔ مو و کرم صورت استفاده می‌شود [۱۶]. ژلاتین در صنعت پزشکی برای تهیه هیدروژل‌ها، روکش قرص‌های کپسول، نانوالیاف و افزودنی‌های دارویی استفاده می‌شود. همچنین برای نگهداری بلورهای هالید نقره در یک امولسیون در فیلم‌ها و کاغذهای عکاسی به‌کار می‌رود. بیشتر ژلاتین عکاسی از نوع B تولید می‌شود. ژلاتین ارتباط نزدیکی با چسب استخوان دارد و به‌عنوان چسب در سر کبریت و سمباده استفاده می‌شود. نتایج مطالعهٔ انجام‌شده در دانشگاه بال استیت نشان داد، مکمل ژلاتین درد و سفتی مفصل زانو را در ورزشکاران ازبین می‌برد. به‌دلیل زیست‌سازگاری، سهولت اصلاح و قیمت کم، ژلاتین در بسیاری از کاربردهای زیست‌پزشکی مانند پانسمان زخم، اندام‌های مصنوعی و داربست موقت برای بافت‌های آسیب‌دیده استفاده می‌شود [۱۳].

برخی از کاربردهای زیستی هیدروژل‌های خودترمیم برپایهٔ ژلاتین

هیدروژل خودترمیم شونده و زیست‌سازگار برپایهٔ ژلاتین اصلاح‌شده با اتیلن دی‌آمین برای مهندسی بافت و دارورسانی

هیدروژل‌های خودترمیم برای زمینه‌های زیستی و زیست‌پزشکی بسیار جذاب‌اند. پیوندهای ایمین حاصل از واکنش باز شیف نوعی پیوند کووالانسی پویاست که معمولاً برای ساخت هیدروژل‌های خودترمیم استفاده می‌شود. در سال ۲۰۱۹، Lei و همکاران هیدروژل

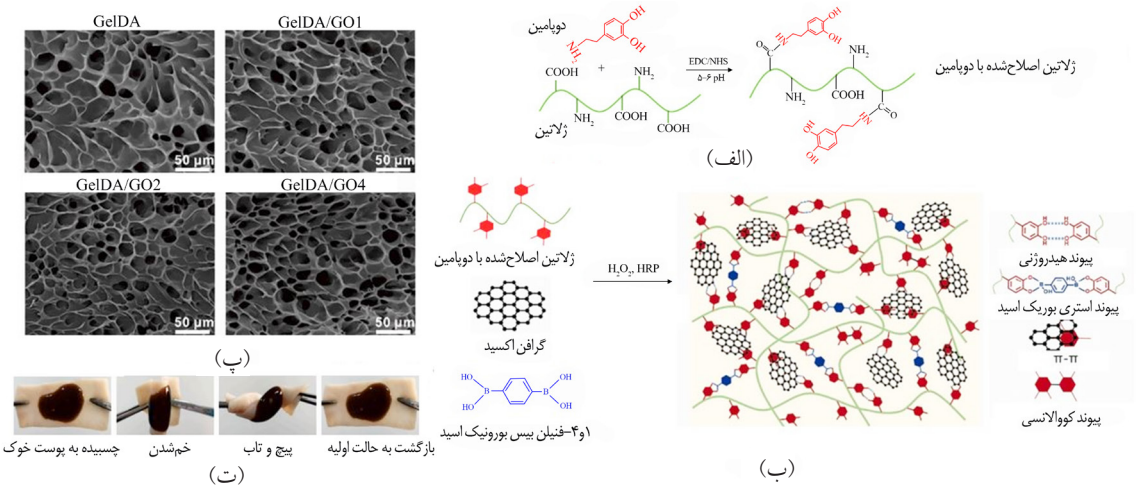


شکل ٤- (الف) مسیر ساخت هیدروژل ژلاتین خودترمیم Agel-DCMC، (ب) برش و اتصال مجدد هیدروژل خودترمیم و (پ) کشش دستی هیدروژل اصلی و هیدروژل ترمیم‌شده [٢١].

ژلاتین با قابلیت خودترمیمی براساس واکنش باز شیف تهیه کردند. برای ساخت این هیدروژل ابتدا ژلاتین با اتیلن دی‌آمین واکنش داده شد تا گروههای آمینی آن افزایش یابد. سپس، کربوکسی‌متیل سلولوز در مجاورت سدیم پریودات اکسید شد. محصول تشکیل‌شده، دی‌آلدهید کربوکسی‌متیل سلولوز (DCMC)، برای ایجاد اتصال عرضی با آمینوژلاتین (Agel) برای ساخت هیدروژل ژلاتین با قابلیت خودترمیمی استفاده شد. در شکل ٤الف تصویری از مسیر سنتز هیدروژل نشان داده شده است. هیدروژل تهیه‌شده به‌دلیل ایجاد پیوندهای برگشت‌پذیر ایمینی میان آمینوژلاتین و دی‌آلدهیدکربوکسی‌متیل سلولوز، قابلیت خودترمیمی خوبی نشان داد. همچنین، هیدروژل خودترمیم حاصل به‌دلیل خون‌سازگاری و سازگاری سلولی ایده‌آل، چشم‌اندازی برای کاربرد آن در زمینه‌های زیست‌پزشکی، مانند سلول‌های تزریقی، دارورسانی و داربست مهندسی بافت نشان داد. عملکرد مکانیکی برای تشخیص قابلیت خودترمیمی هیدروژل Agel-DCMC بررسی شد. شکل ٤ب برش و اتصال مجدد هیدروژل‌های خودترمیم را نشان می‌دهد. آن‌ها نمونه‌های میله‌ای‌شکل را با و بدون رنگ‌آمیزی به دو قسمت تقسیم و مجدد به‌هم متصل کردند. سپس، نمونه‌ها را در دمای ٣٧ °C برای مدت معینی گرم‌خانه‌گذاری کردند. شکل ٤ج کشش دستی هیدروژل اصلی و هیدروژل ترمیم‌شده (به‌مدت ٣٠ min) را نشان می‌دهد که پس از ترمیم هیدروژل می‌تواند کشش درخور توجهی را تحمل کند [٢١].

هیدروژل خودترمیم برپایهٔ ژلاتین اصلاح‌شده با دوپامین دارای خاصیت رسانایی و چسبندگی برای ترمیم بافت و حسگر حرکتی

ساختار مولکولی ژلاتین حاوی توالی اسیدهای آمینه آرژنین، گلایسین و آسپارژین است که می‌تواند چسبندگی و مهاجرت سلولی را تقویت کند و اصلاح ژلاتین می‌تواند آن را به ماده ترمیم بافت ایده‌آل تبدیل کند. اگرچه بسیاری از هیدروژل‌های ژلاتینی با اتصالات عرضی کووالانسی ساخته شده‌اند، اما همچنان دارای چسبندگی ضعیف و پارگی آسان هستند و استفاده از آن‌ها به‌عنوان چسب بافت یا پانسمان زخم مناسب نیست. بنابراین، ایجاد هیدروژل‌هایی با قابلیت چسبندگی خوب و خودترمیمی برای کاربردهای زیستپزشکی مهم است. در سال ٢٠٢١، Han و همکاران هیدروژلی برپایهٔ ژلاتین با خاصیت چسبندگی، خودترمیمی و رسانایی تهیه کردند. برای ساخت این هیدروژل، ابتدا ژلاتین با دوپامین (DA) برای بهبود چسبندگی و عملکرد بیشتر اصلاح شد. با واکنش گروه‌های کاتکول دوپامین و ٤،١-فنیلن بیس‌بورونیک، پیوند استر بورات تشکیل شد که قابلیت برگشت‌پذیری داشت و موجب ایجاد خواص چسبندگی و خودترمیمی در هیدروژل شد. سپس با افزودن گرافن اکسید (GO) خواص مکانیکی و همچنین



شکل ۵- (الف) مسیر ساخت ژلاتین اصلاح‌شده با دوپامین (GelDA)، (ب) ساخت هیدروژل GelDA/GO، (پ) تصویر SEM از هیدروژل‌های برپایهٔ ژلاتین اصلاح‌شده با دوپامین با مقادیر مختلف ۰، ۱، ۲، و ٤٪ گرافن اکسید و (ت) چسبندگی هیدروژل GelDA/GO به پوست خوک [۲۲].

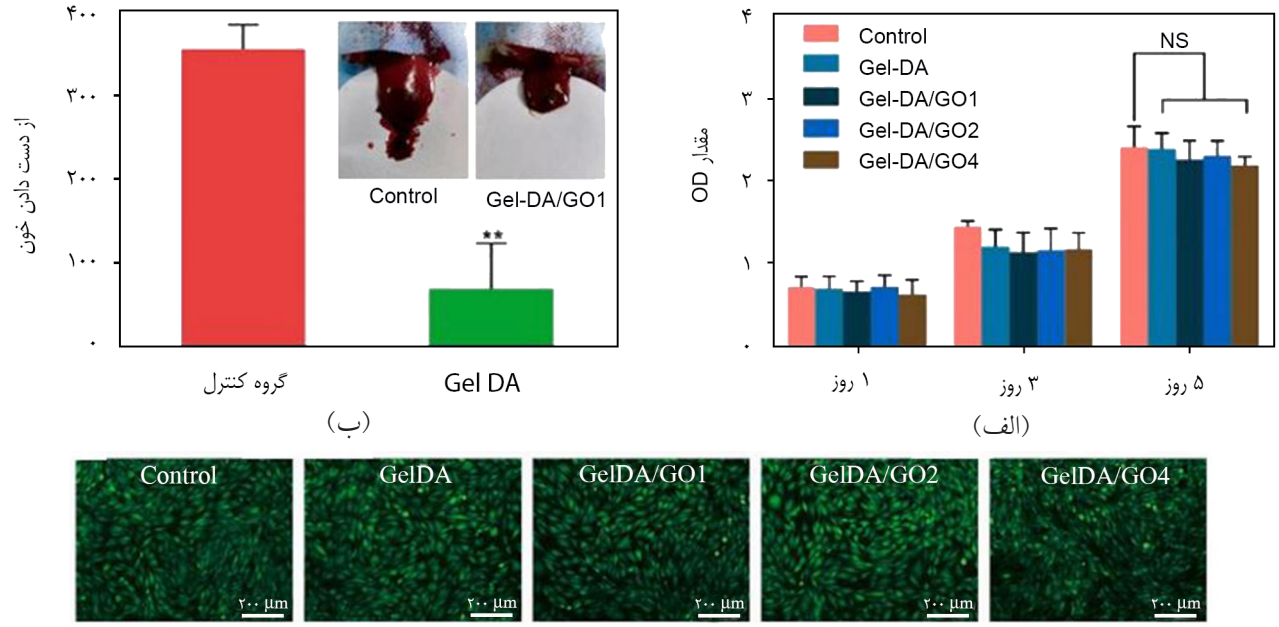
رسانندگی الکتریکی افزایش یافت.

رسانندگی الکتریکی هیدروژل‌ها را قادر می‌سازد تا نیازهای بیشتری مانند هدایت سیگنال‌های الکتریکی فیزیولوژیکی برای ارتقای بهبود زخم یا جمع‌آوری سیگنال‌ها برای نظارت بر وضعیت سلامت را برآورده کنند. در نهایت، هیدروژل GelDA/ GO با شبکه‌ای شدن اکسایشی گروه‌های کاتکول ازطریق سامانهٔ کاتالیزشدهٔ H_2O_2/HRP به‌دست آمد. کاربرد هیدروژل ساخته‌شده در چسب‌های بافتی، پانسمان زخم و دستگاه‌های پوشیدنی است. در شکل ۵الف و ب تصویری از سنتز هیدروژل خودترمیم مشاهده می‌شود. شکل ۵ج تصویر SEM هیدروژل‌های برپایهٔ ژلاتین اصلاح‌شده با دوپامین با مقادیر مختلف ۰، ۱، ۲، و ٤٪ گرافن اکسید را نشان می‌دهد. با افزایش مقدار گرافن اکسید اندازهٔ حفره‌های هیدروژل‌ها کاهش یافت. اندازهٔ حفره‌های هیدروژل‌های GelDA، GelDA/GO1، GelDA/GO2 و GelDA/GO4 به‌ترتیب ۲۶/۱، ۲٤/۳، ۲۱/۲ و ۱۷/۳ µm بود. درنتیجه، افزایش مقدار گرافن اکسید موجب افزایش چگالی اتصالات عرضی و تراکم بیشتر شبکه هیدروژل و کوچک‌تر شدن اندازهٔ تخلخل‌ها شد. در شکل ۵د نحوهٔ چسبندگی هیدروژل بر پوست خوک بررسی شده است و نشان می‌دهد، پس از چند بار خم‌شدن و چرخاندن پوست خوک، هیدروژل همچنان می‌تواند کاملاً به پوست خوک بچسبد [۲۲].

خون‌ایستی اولین و مهم‌ترین گام برای درمان و ترمیم زخم است. پانسمان هیدروژل چسبنده باید به‌سرعت زخم را ببندد تا خون‌ریزی را متوقف کند. آن‌ها خاصیت خون‌ایستی را با مدل خون‌ریزی کبدی موش بررسی کردند. طبق شکل٦ب، میزان خون‌ریزی کبدی درگروه کنترل mg ۲۹/۱۹ ± ۳۵۵/۱۰ بود. خون‌ریزی در گروه هیدروژل Gel/DA یک پنجم گروه کنترل، یعنی mg ٥٤/۰۹ ± ۷۰/۰۷ بود که نشانگر عملکرد خوب خون‌ایستی هیدروژل GelDA در داخل بدن است. سمیت سلولی هیدروژل‌ها و زنده‌مانی سلول‌ها در شرایط آزمایشگاهی با استفاده از روش زنده‌مانی سلولی MTT ارزیابی شد. با توجه به مقادیر چگالی نوری (OD) سلول‌های L ۹۲۹ در طول موج nm ٤۹۰، تفاوت چندانی میان گروه کنترل و هیدروژل GelDA/GO وجود نداشت که نشان می‌دهد، این هیدروژل هیچ سمیت آشکاری ندارد (شکل ٦الف). نتایج رنگ‌آمیزی سلول‌های زنده و مرده در روز پنجم با نتایج MTT مطابقت داشت و هیدروژل GelDA/GO سازگاری سلولی خوبی را نشان داد (شکل ٦ج) [۲۲].

هیدروژل خودترمیم برپایهٔ ژلاتین با خاصیت ضدباکتری برای ترمیم زخم‌های عفونی

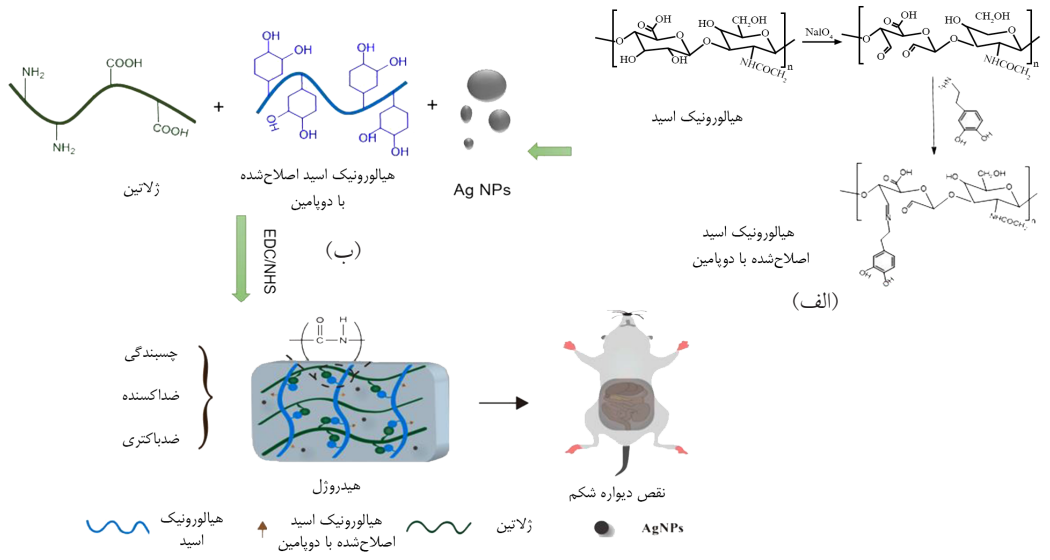
زخم‌های پوستی اغلب با عفونت‌ها و عوارض شدیدی همراه‌اند که چالش درخور توجهی را برای پزشکان ایجاد می‌کنند. پانسمان زخمی که بتواند به‌طور مؤثر از عفونت زخم شکمی جلوگیری کند و باعث بهبود دیواره‌های آسیب‌دیده شکم شود، ضروری است. در سال ۲۰۲۲، Hu و همکاران پانسمان زخم هیدروژلی برپایهٔ هیالورونیک اسید، ژلاتین و نانوذرات نقره تهیه کردند. آن‌ها ابتدا هیالورونیک اسید را با سدیم پریودات برای تشکیل گروه آلدهیدی اکسید کرده و برای افزایش خاصیت چسبندگی و ضداکسندگی آن را با دوپامین اصلاح کردند. سپس، هیالورونیک‌اسید اصلاح‌شده با دوپامین را ازطریق واکنش آمیدی کردن با ژلاتین واکنش دادند. درنهایت برای ایجاد خاصیت ضدباکتری، نانوذرات نقره را به هیدروژل تهیه‌شده اضافه کرده و هیدروژل چندمنظوره مؤثر برای بهبود زخم‌های پوستی و



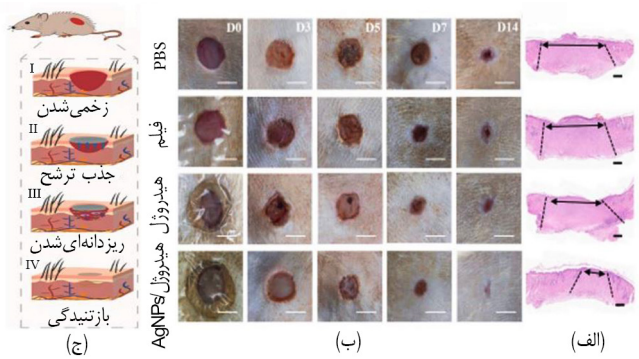
شکل ٦- (الف) قابلیت خون‌ایستی هیدروژل‌های GelDA/GO، (ب) آزمون MTT سلول‌های L ۹۲۹ کشت‌شده با هیدروژل به مدت ۱، ۳ و ۵ روز و (پ) رنگ‌آمیزی سلول‌های L ۹۲۹ در روز پنجم [۲۲].

دیواره شکم ایجاد کردند. در شکل ۷ نمایی از سنتز هیدروژل و عملکرد آن در ترمیم زخم دیواره شکم مشاهده می‌شود [۲۳].

این گروه، اثر هیدروژل بر زخم پوستی و نقص‌های دیواره شکم را در موش صحرایی بررسی کردند. ابتدا با استفاده از قیچی جراحی، نقص پوستی با ضخامت کامل به قطر ۱/۵ cm روی پوست موش ایجاد کردند. آن‌ها هیدروژل تهیه‌شده را روی زخم قرار دادند و در روزهای ۰، ۳، ۵، ۷ و ١٤ عکس‌برداری کردند. در روز سوم هیچ قرمزی، تورم و ترشح در گروه‌های تحت درمان با هیدروژل مشاهده نشد. بنابراین، هیدروژل تهیه شده دارای خواص ضدالتهابی و ضدباکتری است. همچنین گروه‌های تحت درمان، ترمیم بافت



شکل ۷- (الف) اکسایش هیالورونیک اسید و اصلاح آن با دوپامین، (ب) سنتز هیدروژل هیالورونیک اسید اصلاح‌شده با دوپامین و واکنش آمیدی شدن آن با ژلاتین و (پ) هیدروژل چندمنظوره برای ترمیم نقص دیواره شکم [۲۳].



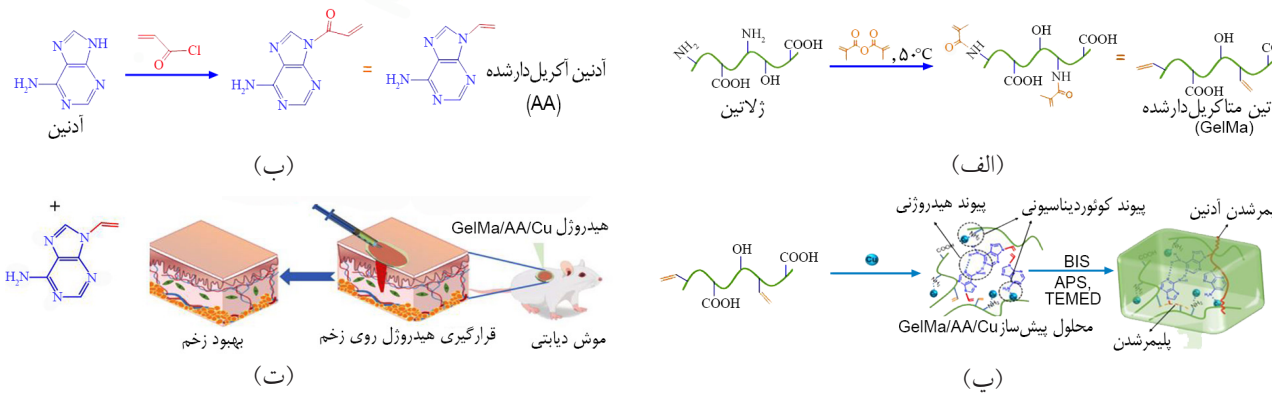
شکل ۸- (الف) مقاطع بافتی رنگ‌آمیزی‌شده، (ب) روند بهبود زخم و (پ) ترمیم زخم‌پوستی ایجادشده روی پوست موش [۲۳].

پوششی، کمترین جای زخم و علائم تشکیل فولیکول مو را نشان دادند. برای درک بیشتر سازوکار بهبود با هیدروژل، بافت زخم را به‌صورت پاتولوژیک برش دادند و سپس با هماتوکسیلین و ائوزین (HE) رنگ‌آمیزی کردند (شکل ۸) [۲۳].

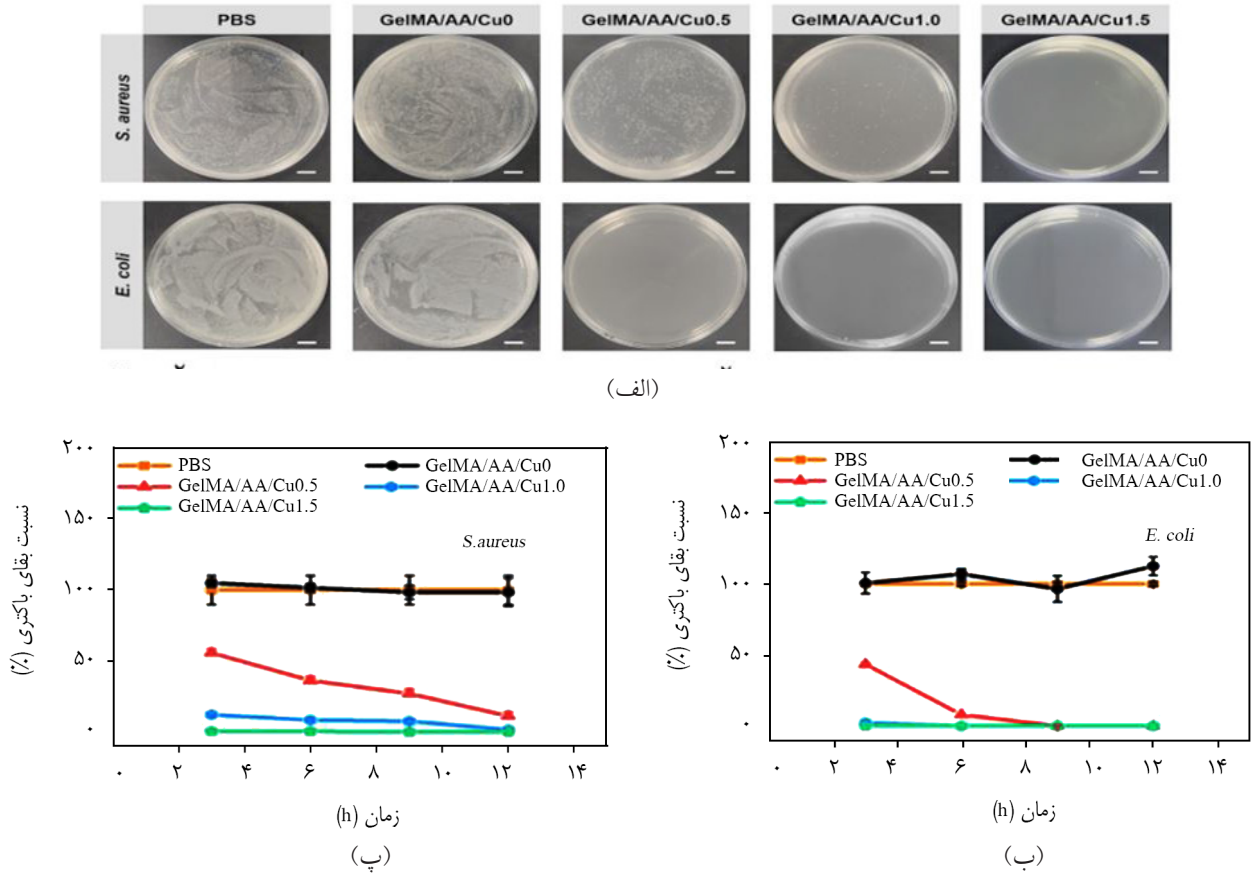
هیدروژل خودترمیم برپایهٔ ژلاتین اصلاح شده با متاکریلیک انیدرید برای ترمیم زخم‌های دیابتی

از دیگر کاربردهای هیدروژل‌های برپایهٔ ژلاتین، استفاده از آن‌ها در پانسمان‌های هیدروژلی برای ترمیم زخم‌های دیابتی است. زخم‌های دیابتی با محیط زخم طولانی‌مدت همراه با التهاب و کاهش رگ‌زایی مشخص می‌شوند. به‌دلیل پیچیدگی بیماری زخم دیابتی، زمان درمان طولانی‌مدت و هزینه درمان پزشکی آن‌ها زیاد است. برای اطمینان از کیفیت زندگی بیماران، کاهش درد و تسریع در بهبود زخم‌ها، اقدامات درمانی مؤثر و فوری مورد نیاز است. رویکردهای معمول برای مدیریت زخم دیابتی شامل پانسمان، کنترل عفونت، ارزیابی عروقی و کنترل قند خون هستند. دراین‌میان، پانسمان‌های زخم هیدروژلی از جمله موارد مهم در مراقبت از زخم‌های دیابتی هستند. در سال ۲۰۲۲، Chen و همکاران هیدروژل خودترمیم، چسبنده و ضدباکتری برپایهٔ ژلاتین متاکریلات (GelMA)، آدنین‌آکریلات (AA) و مس‌کلرید ($CuCl_2$) ازطریق پلیمر شدن رادیکال آزاد، پیوندهای یونی و هیدروژنی برای بهبود زخم دیابتی طراحی کردند. برای تهیه این هیدروژل، ابتدا ژلاتین با متاکریلیک انیدرید اصلاح شد تا خواص مکانیکی و پایداری هیدروژل افزایش یابد (شکل ۹الف). سپس، آدنین با آکریلویل‌کلرید اصلاح و برای افزایش چسبندگی از طریق پلیمر شدن رادیکال آزاد وارد شبکه هیدروژل شد (شکل ۹ب). افزون‌براین برای افزایش خاصیت ضدباکتری، مس را ازطریق کوئوریناسیون Cu^{2+} و گروه‌های آمین ژلاتین و آدنین به وارد هیدروژل GelMA/AA کرده و هیدروژل GelMA/AA/Cu را تهیه کردند (شکل ۹ج). نتایج نشان داد، هیدروژل ساخته‌شده می‌تواند به‌عنوان پانسمان زخم برای بهبود زخم‌های دیابتی کاربرد داشته باشد (شکل۹د) [۲۴].

Chen و همکاران اثر فعالیت ضدباکتری هیدروژل GelMA/AA/Cu با غلظت‌های مختلف مس را بر رشد باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیا کلی بررسی کردند. آن‌ها دریافتند، هیدروژل بدون Cu^{2+} هیچ خاصیت ضدباکتری ندارد. میزان رشد باکتری‌ها برای هیدروژل GelMA/AA/Cu0.5 با افزایش زمان گرم‌خانه‌گذاری کاهش یافت. نسبت زنده‌مانی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس ۱/۱۱% و اشریشیا کلی پس از ۱۲ h گرم‌خانه‌گذاری کاملاً مهار شد. برای هیدروژل GelMa/AA/Cu1 پس از ۳ h گرم‌خانه‌گذاری نیمی از باکتری‌ها کشته شدند. نسبت زنده‌مانی باکتری برای استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیا کلی به‌ترتیب ۷/۵ و ۰ ٪ بود. هیدروژل GelMa/AA/Cu1 توانست



شکل ۹- سنتز (الف) GelMA، (ب) AA، (پ) هیدروژل GelMA/AA/Cu و (ت) تصویری از خواص خون‌ایستی، ضدباکتری، ضدالتهاب و رگ‌زایی در ترمیم زخم دیابت در موش [۲۴].



شکل ۱۰- (الف) خواص ضدباکتری GelMA/AA/Cu با درصدهای Cu مختلف دربرابر باکتری‌های *S. aureus* و *E. coli* و نمودارهای زنده‌مانی (ب) *E.coli* و (پ) *S.aureus* [۲٤].

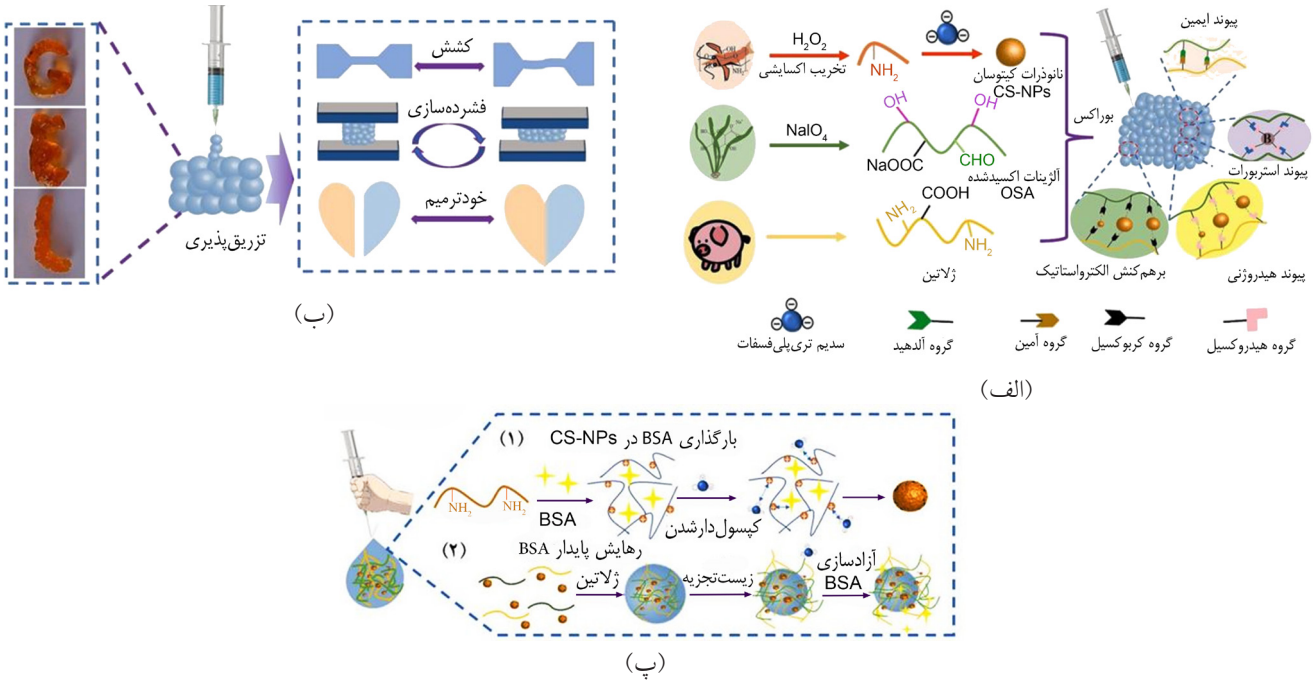
باکتری‌ها را در عرض ۱۲ h به‌طور کامل از بین ببرد. هیدروژل GelMa/AA/Cu ۱,۵ رشد استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیا کلی را پس از ۳ h گرم‌خانه‌گذاری کاملاً مهار کرد و بهترین اثر ضدباکتری را نشان داد. نتایج نشان داد، خواص ضدباکتری هیدروژل‌ها به غلظت Cu^{2+} بستگی دارد و غلظت Cu^{2+} بیشتر به نسبت بقای باکتری کمتری منجر می‌شود (شکل ۱۰) [۲٤].

هیدروژل خودترمیم برپایهٔ ژلاتین و ژلان برای ساخت داربست‌های تزریقی مناسب در بازسازی پوست

از دیگر کاربردهای هیدروژل‌های برپایهٔ ژلاتین، استفاده از آن‌ها در ساخت داربست‌های تزریقی برای بازسازی پوست است. زیرا این هیدروژل‌ها می‌توانند نقص‌های نامنظم را ازطریق درمان‌های جراحی با حداقل تهاجم مانند شکم‌بینی (laparoscopy) پر کنند. در سال ۲۰۱۸، Zheng و همکاران هیدروژل تزریقی برپایهٔ ژلاتین و ژلان با خاصیت تزریقی و خودترمیمی تهیه کردند. برای تهیه این هیدروژل، آن‌ها محلولی از ژلاتین با پودر ژلان (برای ژل‌شدن ژلاتین در دمای بدن) ازطریق کمپلکس الکتروستاتیک تهیه کردند. سپس، تانیک اسید را برای ایجاد خاصیت ضدباکتری به مخلوط اضافه کردند و درنهایت هیدروژل ترکیبی را به‌دست آوردند. هیدروژل تهیه‌شده چسبندگی و مهاجرت سلولی مناسبی نشان داد که می‌تواند در زمینهٔ بهبود زخم و مهندسی بافت کاربرد داشته باشد [۲۵].

هیدروژل نانوکامپوزیت مقاوم، خودترمیم و تزریقی برپایهٔ ژلاتین و سدیم آلژینات برای تحویل پایدار پروتئین

هیدروژل‌های تزریقی و خودترمیم برپایهٔ زیست‌پلیمرها با خواص مکانیکی بالا، قابلیت بالقوه گسترده‌ای برای استفاده در زمینه زیست‌پزشکی دارند. بااینحال، ویژگی خودترمیمی معمولاً با چقرمگی نسبت معکوس دارد. اعطای هم‌زمان این خواص به هیدروژل‌ها چالش برانگیز است. در سال ۲۰۲٤، Gao و همکاران هیدروژل نانوکامپوزیتی تزریقی CS-NPs@OSA-l-Gtn را با عملکرد خودترمیمی عالی و استحکام مکانیکی بالا ازطریق ترکیب نانوذرات کیتوسان(CS-NPs) در شبکه پلیمری پویایی از سدیم

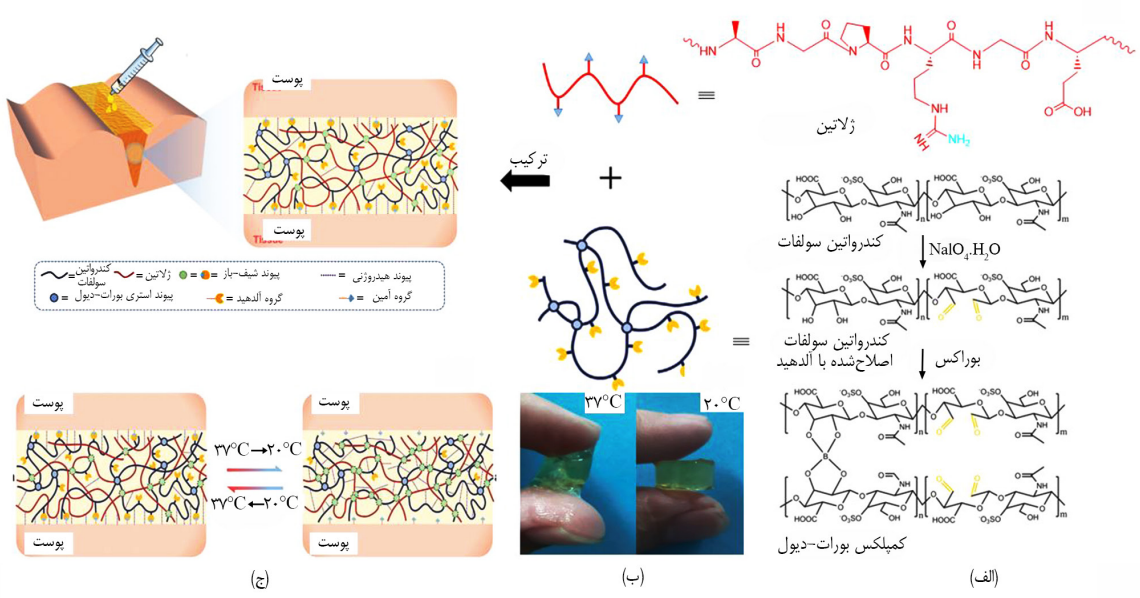


شکل ۱۱- (الف) ساخت هیدروژل تزریقی و خودترمیم، (ب) ترکیب CS-NPs در شبکه پلیمری که به آن قابلیت تزریق و خودترمیمی عالی می‌دهد و (پ) جایگیری BSA در CS-NPها ازطریق (۱) برهم‌کنش‌های الکتروستاتیک و (۲) انتشار پایدار BSA همراه با تورم و تجزیه زیستی هیدروژل [۲۶].

آلژینات اکسیدشده (OSA) و ژلاتین (Gtn) در مجاورت بوراکس تهیه کردند. برهم‌کنش‌های برگشت‌پذیر متعدد شامل پیوندهای کووالانسی پویا (پیوندهای ایمین و استر بورات) و پیوندهای غیرکووالانسی (برهم‌کنش الکتروستاتیک و پیوند هیدروژنی) موجود در هیدروژل به تشکیل هیدروژل نانوکامپوزیتی چندمنظوره با خواص مکانیکی بالا کمک می‌کنند. نانوذرات کیتوسان گنجانده‌شده در ماتریس هیدروژل موجب افزایش خواص مکانیکی هیدروژل و آزادسازی پایدار آلبومین سرم گاوی (BSA) شد (شکل ۱۱) [۲۶].

هیدروژل خودترمیم تزریقی برپایهٔ ژلاتین و کندروئتین سولفات به‌عنوان چسب‌های جراحی در جراحی‌های شکم‌بینی

چسب‌های هیدروژل زیست‌سازگار با خواص چندمنظوره ازجمله قابلیت تزریق، خودترمیمی سریع، جداشدن مناسب از بافت برای جراحی‌های کم‌تهاجمی موردنیاز هستند. چسب‌های جراحی ایده‌آل باید چسبنده، پرکننده فضا، زیست‌سازگار، زیست‌تخریب‌پذیر و ارزان‌قیمت باشند. در سال ۲۰۲۱، Zhou و همکاران چسب هیدروژل زیست‌سازگار خودترمیم تزریقی با چسبندگی برگشت‌پذیر گرمایی برپایهٔ پلیمر طبیعی ژلاتین و کندروئتین سولفات تهیه کردند تا به‌عنوان چسب جراحی برای اتصال مجدد بافت‌های پاره‌شده استفاده شود (شکل ۱۲الف). برای تهیه این هیدروژل کندروئتین سولفات با استفاده از سدیم پریودات اکسید شده، سپس برای ایجاد پیوند باز شیف در مجاورت بوراکس با ژلاتین وارد واکنش شد. پیوندهای باز شیف همراه با پیوندهای هیدروژنی برای هیدروژل چسبندگی به بافت، قابلیت تزریق و خودترمیمی خوبی فراهم کردند. این پژوهشگران، چسبندگی برگشت‌پذیر گرمایی هیدروژل را بررسی کردند. هیدروژل در دمای ۲۰ °C به انگشت نمی‌چسبد، اما در دمای ۳۷ °C به انگشت می‌چسبد (شکل ۱۲ب). زنجیرهای هیدروژل در دمای زیاد به‌دلیل مدول کم و تحرک زیاد، پیوندهای سطحی بیشتری را با بافت ایجاد می‌کنند. درنتیجه در سراسر بافت پخش می‌شوند، عمیقتر به بافت نفوذ می‌کنند و موجب افزایش سطح تماس می‌شوند (شکل ۱۲ج). نتایج نشان داد، چسبندگی هیدروژل Gel-CS ازنظر گرمایی برگشت‌پذیر است و میتواند به‌طور برگشت‌پذیر بین حالت‌های چسبنده و جدایش‌پذیر جابه‌جا شود. هیدروژل به‌دست آمده خودترمیمی خوبی نشان داد و ازطریق سوزن تزریق شد. این هیدروژل در دماهای فیزیولوژیکی چسبندگی قوی به بافت نشان داد که ناشی از برهم‌کنش‌های باز شیف و پیوند هیدروژنی هیدروژل و بافت بود که می‌تواند در دماهای کم ضعیف شود. بنابراین هیدروژل Gel-CS با چسبندگی برگشت‌پذیر



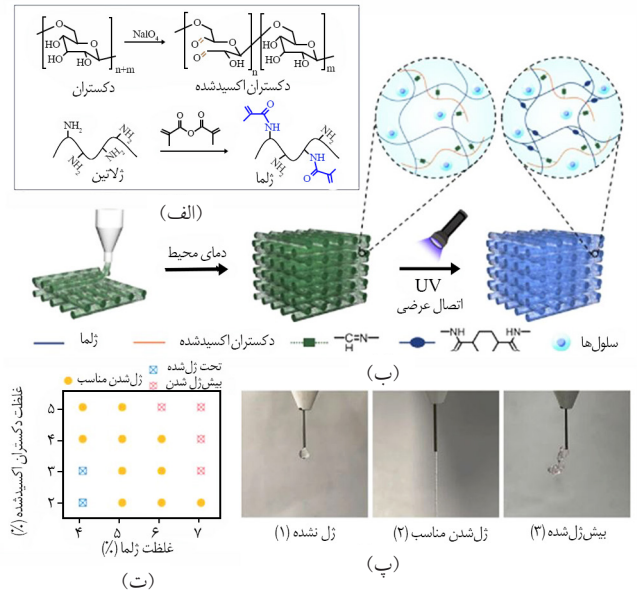
شکل ۱۲- (الف) ساختار هیدروژل Gel-CS تزریقی با قابلیت چسبندگی به بافت، (ب) چسبندگی هیدروژل در دمای ۲۰ و ۳۷ °C به پوست انگشت و (پ) سازوکار چسبندگی هیدروژل در پاسخ به گرما [۲۷].

پاسخگوی گرمایی می‌تواند مزایای بالقوه‌ای در زمینه جراحی‌های کم‌تهاجمی داشته باشد [۲۷].

هیدروژل خودترمیم برپایهٔ ژلاتین اصلاح‌شده با متاکریلیک انیدرید با چاپ‌پذیری سه‌بعدی برای تهیه داربست

یکی از چالش‌های بزرگ، تقاضای زیاد پیوند اعضا برای سلامت انسان است. ساختارهای بافت مهندسی‌شده و اندام‌های مصنوعی به‌عنوان رویکرد جایگزین برای رفع این نیاز پیشنهاد شده است. دستیابی به انواع فناوری‌های تولید زیستی کاربردهای مهندسی بافت به‌سرعت در حال توسعه هستند. در میان آن‌ها چاپ سه‌بعدی به‌طور گسترده به‌عنوان فناوری امیدوارکننده برای ساخت بالقوه سازه‌های پیچیده و حتی سامانه‌های زنده زیستی موردنیاز پذیرفته شده است.

در سال ۲۰۲۳، Liu و همکاران هیدروژل زیستی خودترمیم ژلاتین متاکریل‌دارشده GelMa و دکستران اکسیدشده (OD) را براساس پیوندهای دینامیکی باز شیف با قابلیت امکان چاپ مستقیم ساختارهای بافتی پرسلول سه‌بعدی در دمای محیط تهیه کردند. زیست‌جوهرهای هیدروژل با پیوندهای کووالانسی ممکن است در طول اکسترود شدن در فرایند زیست‌چاپ در معرض فشار بشکنند. برای جلوگیری از شکسته‌شدن رشته‌های پلیمری، خاصیت خودترمیمی هیدروژل زیستی برای حفظ پایداری ساختار حیاتی است. برای تهیه این هیدروژل، ابتدا ژلاتین در آب یون‌زدوده حل شده و سپس، متاکریلیک انیدرید به محلول تهیه‌شده اضافه می‌شود. درنهایت برای تنظیم pH=۷ سدیم بی‌کربنات اضافه و محصول با دستگاه مرکزگریز جمع‌آوری شد. محلول رویی با آب یون‌زدوده به‌مدت ٤ روز در دمای ٤٠ °C دیالیز و GelMa به‌شکل اسفنج سفید تولید شد. سپس محلول دکستران در آب یون‌زدوده ریخته شد. pH محلول با سولفوریک اسید روی ۳ تنظیم و با سدیم پریودات اکسید شد. درنهایت، دکستران اکسیدشده طبق شکل ۱۳الف به‌دست آمد. محلولی از GelMa برای زیست‌چاپ در محلولی از OD و لیتیم فنیل(۲،٤،٦-تری‌متیل بنزوئیل)فسفینات (LAP) در بافر نمکی فسفات با هم مخلوط شدند (شکل ۱۳ب). Liu و همکاران چاپ‌پذیری هیدروژل GelMa/OD را با استفاده از فنون مختلف مانند تعیین خواص رئولوژیکی بررسی کردند. طبق شکل ۱۳ج، هنگامی که هیدروژل با وضعیت پیش از ژل‌شدن چاپ می‌شود، می‌توان آن را مانند قطره اکسترود و به محل مدنظر پخش کرد. در حالت ۱، تشکیل ساختار سه‌بعدی دقیق، دشوار است. در حالت ۲، هنگامی که هیدروژل با وضعیت ژل شدن مناسب چاپ می‌شود، می‌توان آن را به‌آرامی از نوک سوزن زیست‌چاپ اکسترود کرد و خطوط قابل تمایز هستند. در حالت ۳، هنگامی که هیدروژل با وضعیت بیش از حد ژل شدن چاپ می‌شود، به‌راحتی شکل‌شناسی شکسته را نشان می‌دهد و درنتیجه رشته‌های نامنظم و پیچ‌خورده ایجاد می‌شود. شکل ۱۳د، وضعیت ژل شدن GelMa/OD را نشان می‌دهد. با توجه به شکل‌شناسی‌های مختلف، سه نوع وضعیت ژل‌شدن پیش از ژل شدن، ژل شدن مناسب و فراژل شدن

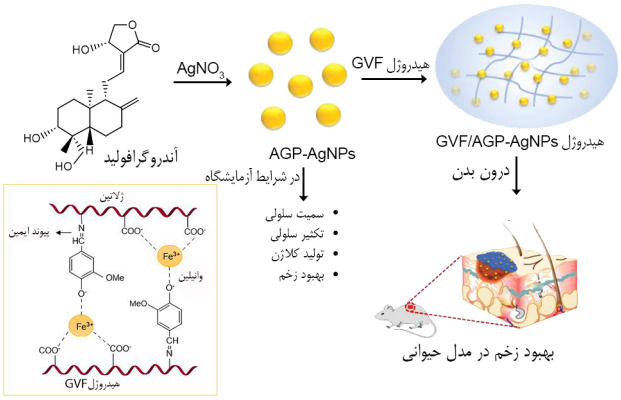


شکل ۱۳- (الف) سنتز GelMa/OD، (ب) زیست‌چاپ GelMa/OD، (پ) ارزیابی قابلیت چاپ فرمول‌بندی‌های مختلف در سه وضعیت ژل‌شدن و (ت) ژل‌شدن GelMa/OD [۲۸].

در طول فرایند اکسترود کردن وجود دارد [۲۸].

هیدروژل خودترمیم دوشبکه‌ای تزریقی و ضدباکتری برای ترمیم زخم

اخیراً، محبوبیت چسب‌های بافت هیدروژلی خودترمیم به‌دلیل قابلیت آن‌ها در دست‌یابی به خون‌ایستی سریع و بسته شدن زخم افزایش یافته است. هیدروژل‌ها راه حلی برای بخیه زدن جراحی بدون نیاز به روش‌های وقت‌گیر یا مهارت‌های ظریف و بدون ایجاد آسیب ثانویه بافتی ارائه می‌دهند. در سال ۲۰۲۳، Talodthaisong و همکاران هیدروژلی برپایهٔ ژلاتین حاوی نانوذرات نقره با خاصیت چسبندگی و ضدباکتری تهیه کردند. نانوذرات نقره (AgNPs) با استفاده از مولکول آندروگرافولید به‌عنوان عامل کاهنده و تثبیت‌کننده به‌دست آمد. آندروگرافولید، یک عامل ضدانگل است که از برگ‌های آندروگرافیس پانیکولاتا (Andrographis paniculata) استخراج می‌شود. وانیلین (٤-هیدروکسی-۳-متوکسی بنزآلدهید) به‌دلیل رایحه غیرسمی و دل‌پذیر آن به‌طور گسترده به‌عنوان عامل طعم‌دهنده در غذاها، نوشیدنی‌ها، لوازم آرایشی و دارویی استفاده می‌شود. اخیراً مشخص شده است، وانیلین به‌دلیل خواص ضداکسندگی، ضدجهش‌زایی، ضدقارچی و ضدباکتری کاربردهای مفید دیگری در صنایع غذایی دارد. Talodthaisong و همکاران برای تهیه این هیدروژل، گروه آلدهیدی وانیلین را با گروه‌های آمینی مولکول‌های ژلاتین واکنش دادند. پیوند باز شیف

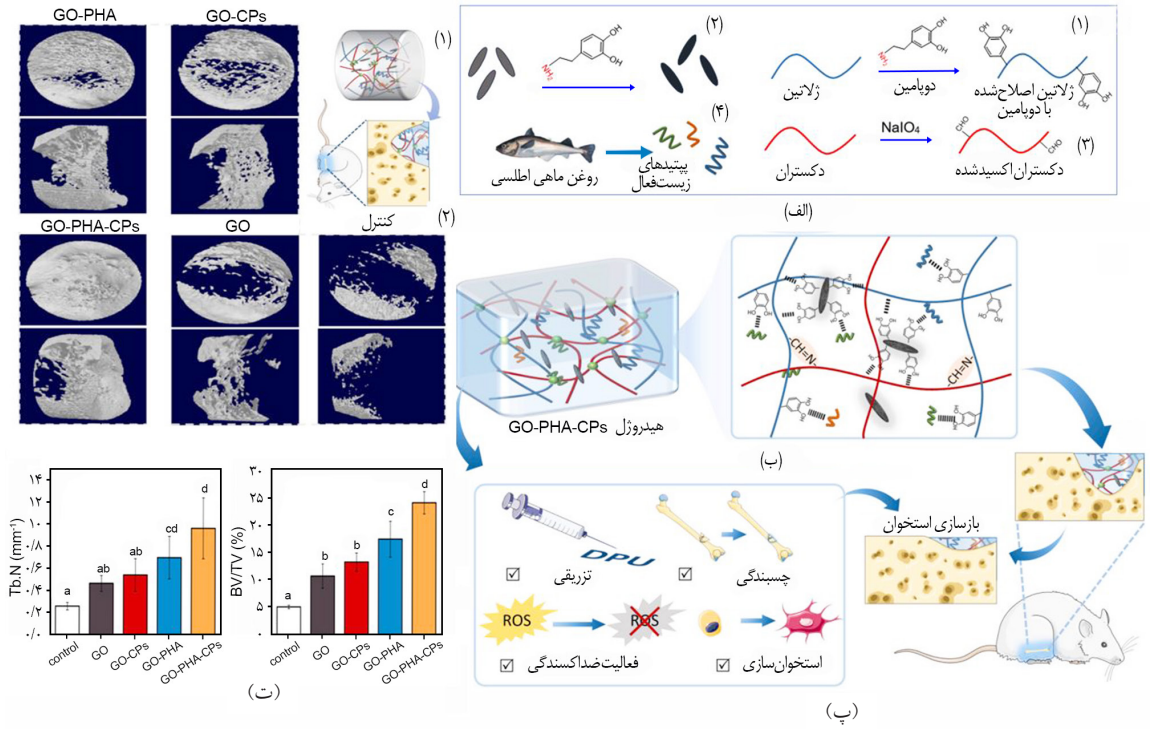


شکل ١٤- ساختار نانوذرات آندروگرافولید-نقره (AGP-AgNPs)، ترکیب آن‌ها با هیدروژل های ژلاتین-وانیلین-Fe^{+3} و تجزیه و تحلیل کاربردهای ترمیم زخم مواد کامپوزیتی در مدل حیوانی [۲۹].

ایجادشده به بازسازی پویا در طول فرایند خودترمیمی منجر شد. همچنین وانیلین می‌تواند پیوند هیدروژنی با گروه‌های هیدروکسیل یا آمینوی یک مولکول ژلاتین دیگر ایجاد کند. گروه‌های آمینی ژلاتین و گروه هیدروکسیل وانیلین نیز پیوند کوئوردیناسیونی یونی با Fe^{+3} ایجاد می‌کنند که باعث ایجاد شبکهٔ هیبریدی با پیوند برگشت‌پذیر می‌شود. ترکیب نانوذرات آندروگرافولید-نقره در هیدروژل خودترمیم موجب تشکیل هیدروژل‌های چندمنظوره با قابلیت تزریق، خودترمیم و ضدباکتری شد (شکل ١٤) [۲۹].

هیدروژل نانوکامپوزیتی تزریقی خودترمیم برپایهٔ دکستران اکسیدشده و ژلاتین اصلاح‌شده با دوپامین برای بازسازی استخوان بدون عامل رشد

مهندسی بافت استخوان (BTE) به‌عنوان زمینه پژوهشی مهمی در پزشکی ترمیمی ظاهر شده است و راهبرد امیدوارکننده‌ای برای درمان بیماری‌های مرتبط با استخوان مانند نقص استخوان، آرتروز یا آسیب مفصلی و غیره ارائه می‌کند. مهندسی بافت استخوان بر کاستی‌های پیوندهای استخوان اتولوگ مانند خطر عفونت غلبه می‌کند که عموماً به‌عنوان روش استاندارد طلایی در درمان بالینی درنظر گرفته می‌شود. دو عنصر حیاتی برای مواد مهندسی بافت استخوان وجود دارد، ازجمله داربست‌های زیست‌موادی که استحکام مکانیکی برای چسبندگی سلولی فراهم می‌کنند و عوامل رشد فعال زیستی یا سلول‌هایی که باعث بازسازی استخوان می‌شوند. اخیراً، هیدروژل‌ها به‌دلیل ساختار شبکه‌ای سه‌بعدی شبیه به ماتریس برون‌سلولی، به‌عنوان زیست‌مواد جدید برای بازسازی استخوان توجه زیادی را جلب کرده‌اند.



شکل ۱۵- سنتز هیدروژل Go-PHA-CPs: (الف) سنتز (۱) Gel-DA، (۲) PHA، (۳) ODex و (٤) CPs؛ (ب) برهم‌کنش‌ها در شبکه هیدروژل با اتصال عرضی دوگانه فیزیکی‌شیمیایی؛ (پ) خواص چندمنظوره هیدروژل GO-PHA-CPs و کاربرد آن در ترمیم استخوان و (ت) ارزیابی درون‌تنی بازسازی استخوان (۱) تصویر نقص استخوان ران موش کاشته‌شده با هیدروژل، (۲) تصاویر micro-CT از نقص‌های استخوان ران موش در ۵ هفته پس از کاشت، تجزیه و تحلیل شکل‌سنجی، (۳) حجم استخوان به حجم بافت و (٤) عدد استخوان تورتیغه‌ای [۳۰].

هیدروژل خودترمیم باتوجه به خواص خودترمیمی بافت طبیعی، می‌تواند به‌طور مستقل آسیب‌های مکانیکی ذاتی را ترمیم کند. بااینحال، ماهیت نرم و شکننده هیدروژل‌های خودترمیم استفاده کنونی آن‌ها را در برخی از کاربردهای مهندسی بافت محدود می‌کند. بهبود خواص مکانیکی هیدروژل‌های خودترمیم باید مورد توجه قرار گیرد. در بسیاری از راهبردهای پیشرو در پژوهش‌ها، یکی از جهت‌گیری‌های پژوهشی که توجه زیادی را جلب کرده است، ساخت هیدروژل‌های نانوکامپوزیتی به‌وسیلهٔ پیوندهای کووالانسی یا غیرکووالانسی پویاست. این کار، نه تنها خواص برجسته اولیه هیدروژل‌ها را حفظ می‌کند، بلکه به آنها خواص مکانیکی ارتقایافته می‌بخشد. درنتیجه، ساخت هیدروژل‌های نانوکامپوزیتی چندمنظوره براساس برهم‌کنش‌های شیمیایی یا فیزیکی پویا راهبرد جامعی برای ایجاد ریزمحیط مطلوب در بازسازی استخوان است.

در سال ۲۰۲۳، Ma و همکاران هیدروژلهای نانوکامپوزیتی Go-PHA-CPs با خواص خودترمیمی، تزریقی، چسبنده، ضداکسندگی و القای استخوان با اتصال عرضی باز شیف تهیه کردند. برای تهیه این هیدروژل، دکستران با سدیم پریودات اکسید و ODex نام‌گذاری شد. سپس، ژلاتین برای ایجاد خاصیت چسبندگی ضداکسندگی با دوپامین اصلاح شد. افزون‌براین، شبکه هیدروژل با وارد کردن نانوهیدروکسی آپاتیت عامل‌دارشده با پلی‌دوپامین (PHA) با بهبود سازگاری سطحی بین ذرات معدنی سفت و سخت و ماتریس هیدروژل انعطاف‌پذیر، تقویت شد. پپتیدهای زیستفعال (CPs) با فعالیت استخوان‌زایی با هیدروژل نانوکامپوزیتی ترکیب شدند (شکل ۱۵).

قابلیت هیدروژل نانوکامپوزیتی Go-PHA-CPs برای پیش‌بری بازسازی استخوان درون بدن در یک مدل نقص استخوان ران موش ارزیابی شد. برای این ارزیابی، یک مدل موش با نقص استخوان رانی به قطر ۳ mm و ارتفاع ۳ mm تهیه شد (شکل ۱۵ت-۱). شکل ۱۵ت-۲ شکل‌شناسی تشکیل استخوان جدید در محل نقص استخوان ران را نشان می‌دهد که به‌وسیلهٔ Mi-cro-CT در مدل بازسازی سه‌بعدی پس از ۵ هفته کاشت هیدروژل به‌دست آمده است. در گروه کنترل بدون کاشتینه، میزان تشکیل استخوان جدید بسیار کم بود. در حالی که گروه‌های کاشته‌شده با هیدروژل تا حدودی باعث تشکیل استخوان جدید شدند. دلیل این است که هیدروژل ، تبادل مواد مغذی را آسان می‌کند و ضایعات متابولیک میان محل نقص و بافت استخوانی اطراف را به‌خوبی

متصل می‌کند. درنتیجه به تکثیر و تمایز سلولی کمک کرده و از تشکیل استخوان جدید پشتیبانی می‌کند. حجم استخوان جدید در گروه هیدروژل Go-PHA-CPs به‌طور درخور توجهی بیش از گروه هیدروژل GO-CPs و گروه هیدروژل GO-PHA بود. این مسئله به اثر هم‌افزایی نانوذرات PHA رسانای استخوانی و CPهای القای استخوانی برای پیش‌بری تشکیل استخوان جدید نسبت داده شد. طبق شکل ۱۵ت–۳، گروه‌های کاشت هیدروژل نسبت حجم استخوان به حجم بافت (BV/TV) بسیار بیشتری نسبت به گروه شاهد خالی داشتند. مقادیر گروه‌های GO-CPs (٪ ۱/٦٦±۱۳/۱٦)، PHA-GO (٪ ۳/۲٤±۱۷/۳٤)، GO-PHA-CPs (٪ ۲/۰۳± ۲۳/۹٤)، به‌طور معناداری بیش از گروه GO (٪ ۲/۱۹±۱۰/٦٥) است. گروه هیدروژل GO–PHA-CPs بیشترین مقدار BV/TV را نشان می‌دهد که نشانگر آن است، نانوذرات PHA به‌طور هم‌افزایی با CPهای زیستفعال برای تقویت استخوان‌سازی عمل می‌کنند. روند مشابهی در نتایج مقادیر کمی‌سازی عدد استخوان تورتیغه‌ای (Tb. N) مشاهده شد (شکل ۱۵د–٤) [۳۰].

نتیجه‌گیری

هیدروژل‌های خودترمیم برپایهٔ ژلاتین می‌توانند در زمینه‌های مختلف پزشکی مانند ترمیم زخم، دارورسانی، مهندسی بافت وغیره بسیار کارآمد باشند که در این مقاله مرور شدند. هیدروژلهای خودترمیم دستیابی به ترمیم خودکار آسیب را فراهم می‌کنند، درنتیجه عمر مفید هیدروژل افزایش می‌یابد و خواص عملکردی اصلی آن حفظ می‌شود. خواص خودترمیمی هیدروژل‌ها از پیوندهای کووالانسی پویا (پیوندهای ایمین، آسیل هیدرازون، دی‌سولفیدی و باز شیف) یا برهم‌کنش‌های فیزیکی (پیوندهای هیدروژنی، برهم‌کنش‌های آب‌گریز و الکتروستاتیک) ناشی می‌شود که شبکه هیدروژل را می‌سازند. اخیراً پلیمر طبیعی ژلاتین به‌دلیل دسترس‌پذیری، زیست‌سازگاری، خواص فیزیکی و شیمیایی قابل تنظیم، خواص زیستی منحصربه‌فرد، مشتقات متعدد اصلاح‌شده آن و روش‌های ساخت جدید هیدروژل‌های ژلاتین مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است. خواص مکانیکی هیدروژل‌های ژلاتین با گران‌روی کم برای چاپ سه‌بعدی به‌عنوان یک ماده زیستی مشکلی برای پژوهشگران در حفظ خواص مکانیکی و قابلیت چاپ ایجاد می‌کند. پژوهشگران برای غلبه بر این محدودیت، افزودن اصلاح‌کننده‌ای مانند آلژینات را پیشنهاد می‌دهند که با افزایش گران‌روی موجب بهبود چاپ‌پذیری می‌شود. استحکام مکانیکی هیدروژل ژلاتین کاربرد آن را در زمینه بازسازی استخوان ممکن می‌سازد. همچنین، ژل‌های فیزیکی ژلاتین که با پیوندهای هیدروژنی به‌هم متصل شده‌اند در دمای فیزیولوژیکی و بیشتر به‌دلیل برگشت‌پذیری گرمایی پایدار نیستند. این مسئله، استفاده از ژلاتین را برای مهندسی بافت یا دارورسانی محدود می‌کند. برای غلبه بر این محدودیت، اتصالات عرضی شیمیایی یا آنزیمی پیشنهاد می‌شود. هیدروژل‌های برپایهٔ ژلاتین، پیشرفت درخور توجهی داشته‌اند، اما دارای کاستی‌های متعددی هستند که نیازمند پژوهش‌های آینده در زمینه زیست‌پزشکی است.

مراجع

1. Xu J., Liu Y., and Hsu S.-H., Hydrogels Based on Schiff Base Linkages for Biomedical Applications, *Molecules*, **24**, 3005, 2019.
2. Yang P., Li Z., Fang B., and Liu L., Self-healing Hydrogels Based on Biological Macromolecules in Wound Healing, *Int. J. Biol. Macromol*., 127612, 2023.
3. Yang P., Ju Y., Hu Y., Xie X., Fang B., and Lei L., Emerging 3D Bioprinting Applications in Plastic Surgery, *Biomater. Res*., **27**, 1, 2023.
4. Ding X., Fan L., Wang L., Zhou M., Wang Y., and Zhao Y., Designing Self-healing Hydrogels for Biomedical Applications, *Mater. Horiz.*, **10**, 3929-3947, 2023.
5. Liu Y. and Hsu S.-H., Synthesis and Biomedical Applications of Self-healing Hydrogels, *Front. Chem*., **6**, 449, 2018.
6. Taylor D.L. and in het Panhuis M., Self-healing Hydrogels, *Adv. Mater*., **28**, 9060-9093, 2016.
7. Wang S. and Urban M.W., Self-healing Polymers, *Nat. Rev. Mater*., **5**, 562-583, 2020.
8. Kaushik K., Sharma R.B., and Agarwal S., Natural Polymers and Their Applications, *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res*., **37**, 30-36, 2016.
9. Mohanto S., Narayana S., Merai KP., Kumar JA., Bhunia A., Hani U. et al., Advancements in Gelatin-Based Hydrogel Systems for Biomedical Applications: A State-of-the-Art Review, *Int. J. Biol. Macromol*., **235**, 127143, 2023.
10. Hermanto S. and Fatimah W., Differentiation of Bovine and

Porcine Gelatin Based on Spectroscopic and Electrophoretic Analysis, *J. Food Pharm. Sci.*, **1**, 2013.

11. Salahuddin B., Wang S., Sangian D., Aziz S., and Gu Q., Hybrid Gelatin Hydrogels in Nanomedicine Applications, *ACS Appl. Bio Mater*., **4**, 2886-2906, 2021.
12. Mikhailov O.V., Gelatin as it is: History and Modernity, *Int. J. Mol. Sci.*, **24**, 3583, 2023.
13. Zandi M., *Studies on the Gelation of Gelatin Solutions and on the Use of Resulting Gels for Medical Scaffolds*, Ph. D Thesis, Duisburg Essen University, 2008.
14. Somboon N., Karrila T., Kaewmanee T., and Karrila S., Properties of Gels from Mixed Agar and Fish Gelatin, *Int. Food Res. J*., **21**, 485, 2014.
15. Guo T., Zhang N., Huang J., Pei Y., Wang F., and Tang K., A Facile Fabrication of Core–Shell Sodium Alginate/Gelatin Beads for Drug Delivery Systems, *Polym. Bull.,* **76**, 87-102, 2019.
16. Alipal J., Pu'Ad NM., Lee T., Nayan N., Sahari N., Basri H. et al., A Review of Gelatin: Properties, Sources, Process, Applications, and Commercialisation, *Mate. Today: Proc*., **42**, 240-250, 2021.
17. Wisotzki E.I., Hennes M., Schuldt C., Engert F., Knolle W., Decker U. et al., Tailoring the Material Properties of Gelatin Hydrogels by High Energy Electron Irradiation. *J. Mater. Chem. B*, **2**, 4297-4309, 2014.
18. Prasertsung I., Damrongsakkul S., and Saito N., Crosslinking of a Gelatin Solutions Induced by Pulsed Electrical Discharges in Solutions, *Plasma Process. Polym*., **10**, 792-797, 2013.
19. Gomes S., Rodrigues G., Martins G., Henriques C., and Silva J., In Vitro Evaluation of Crosslinked Electrospun Fish Gelatin Scaffolds, *Mater. Sci. Eng. C*, **33**, 1219-1227, 2013.
20. Jaipan P., Nguyen A., and Narayan R.J., Gelatin-Based Hydrogels for Biomedical Applications, *MRS Commun*., **7**, 416-426, 2017.
21. Lei J., Li X., Wang S., Yuan L., Ge L., Li D. et al., Facile Fabrication of Biocompatible Gelatin-Based Self-healing Hydrogels, *ACS Appl. Polym. Mater.*, **1**, 1350-1358, 2019.
22. Han K., Bai Q., Wu W., Sun N., Cui N., and Lu T., Gelatin-Based Adhesive Hydrogel with Self-healing, Hemostasis, and Electrical Conductivity, *Int. J. Bio. Macromol*., **183**, 2142-2151, 2021.
23. Hu J., Tao M., Sun F., Chen C., Chen G., and Wang G., Multifunctional Hydrogel Based on Dopamine-Modified Hyaluronic Acid, Gelatin and Silver Nanoparticles for Promoting Abdominal Wall Defect Repair, *Int. J. Bio. Macromol*., **222**, 55-64, 2022.
24. Chen J., He J., Yang Y., Qiao L., Hu J., Zhang J. et al., Antibacterial Adhesive Self-healing Hydrogels to Promote Diabetic Wound Healing, *Acta Biomater.*, **146**, 119-130, 2022.
25. Zheng Y., Liang Y., Zhang D., Sun X., Liang L., Li J. et al., Gelatin-Based Hydrogels Blended with Gellan as an Injectable Wound Dressing, *ACS Omega*, **3**, 4766-4775, 2018.
26. Gao L.T., Chen Y.M., Aziz Y., Wei W., Zhao X.Y., He Y. et al., Tough, Self-healing and Injectable Dynamic Nanocomposite Hydrogel Based on Gelatin and Sodium Alginate, *Carbohydr. Polym*., **330**, 121812, 2024.
27. Zhou L., Dai C., Fan L., Jiang Y., Liu C., Zhou Z. et al., Injectable Self-healing Natural Biopolymer-Based Hydrogel Adhesive with Thermoresponsive Reversible Adhesion for Minimally Invasive Surgery, *Adv. Funct. Mater.*, **31**, 2007457, 2021.
28. Liu Q., Yang J., Wang Y., Wu T., Liang Y., Deng K. et al., Direct 3D Bioprinting of Tough and Antifatigue Cell-Laden Constructs Enabled by a Self-healing Hydrogel Bioink, *Biomacromolecules,* **24**, 2549-2562, 2023.
29. Talodthaisong C., Patramanon R., Thammawithan S., Lapmanee S., Maikaeo L., Sricharoen P. et al., A Shear-Thinning, Self-healing, Dual-Cross Linked Hydrogel Based on Gelatin/Vanillin/Fe3+/AGP-AgNPs: Synthesis, Antibacterial, and Wound-Healing Assessment, *Macromol. Biosci.*, **23**, 2300250, 2023.
30. Ma W., Yang M., Wu C., Wang S., and Du M., Bioinspired Self-healing Injectable Nanocomposite Hydrogels Based on Oxidized Dextran and Gelatin for Growth-Factor-Free Bone Regeneration, *Int. J. Bio. Macromol.*, **251**,126145, 2023.