

## کاربرد ژل کیتوسان تغییر یافته با نانو ذرات نقره در زخم سوختگی درجه دو در موش

دکتر محمد جواد فاطمی\*، سهیلا نادری قره قشلاق\*\*، دکتر شیلا صفائیان\*\*\*، دکتر علیرضا صرافزاده\*\*\*\*

### چکیده:

**زمینه و هدف:** در جهان هر ساله صدها هزار نفر به دلیل آسیب‌های سوختگی نیاز به بستری شدن در بیمارستان دارند. تسریع بهبودی و پیشگیری از عفونت از اهداف درمان موضعی زخم سوختگی می‌باشد. ممانعت از انتقال میکروارگانیسم‌ها و حذف ترشحات زخم از جمله ویژگی‌های پانسمان ایده‌آل است. هدف ما در این مطالعه بررسی اثر ژل کیتوسان تغییر یافته با نانو ذرات نقره در زخم درجه دو سوختگی می‌باشد.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه تجربی تعداد ۳۶ موش سوری مذکر با وزن  $40 \pm 5$  گرم به طور تصادفی به ۴ گروه تقسیم شدند. زخم موش‌ها در گروه اول با کرم سیلورسولفادیازین، گروه دوم با ژل کیتوسان تغییر یافته با نانو ذرات نقره، گروه سوم با ژل کیتوسان و گروه چهارم بدون دارو پانسمان شدند. در روزهای ۱، ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ از محلی که سوختگی ایجاد شده بود از هر گروه روی سه موش بیوپسی به عمل آمد و نمونه‌ها تحت بررسی هیستوپاتولوژی قرار گرفتند و همچنین میزان فیبروبلاست در گروه‌های مختلف با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یکطرفه ارزیابی گردید.

**یافته‌ها:** میانگین تعداد سلول‌های فیبروبلاستی در گروه مداوا شده با ژل کیتوسان تغییر یافته با نانو ذرات نقره اختلاف معنی‌داری ( $P=0.017$ ) با گروه‌های مداوا شده با ژل کیتوسان بدون نانو ذرات نقره و سولفادیازین نقره و بدون استفاده از دارو را نشان دادند. گروه مداوا شده با ژل کیتوسان تغییر یافته با نانو ذرات نقره بیشترین سلول‌های فیبروبلاستی را دارا بود. همچنین زخم سوختگی در گروه مداوا شده با ژل کیتوسان تغییر یافته با نانو ذرات نقره نسبت به سایر گروه‌ها یک هفته زودتر بهبود یافتند.

**نتیجه‌گیری:** بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه می‌توان ژل کیتوسان تغییر یافته با نانو ذرات نقره را به عنوان کاندید مناسبی جهت درمان سوختگی درجه دو به کار برد.

### واژه‌های کلیدی: کیتوسان، نانو ذرات نقره، زخم سوختگی

نویسنده پاسخگو: سهیلا نادری قره قشلاق

تلفن: ۸۸۸۴۲۷۵

E-mail: soheila\_naderi2@yahoo

\* دانشیار گروه جراحی پلاستیک و ترمیمی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، مرکز تحقیقات سوختگی

\*\* دانشجوی دکتری گروه بیولوژی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران

\*\*\* دانشیار گروه بیولوژی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال

\*\*\*\* متخصص آسیب‌شناسی تشریحی و بالینی، گروه آسیب‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات

درمانی شهید بهشتی

تاریخ وصول: ۱۳۹۴/۰۳/۱۶

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۸/۰۲

## زمینه و هدف

ترمیم پوست، یک زمینه بسیار مهم مهندسی بافت مخصوصاً در مورد سوختگی‌های توسعه یافته است. در شرایطی که درمان‌های رایج در تحریک بازسازی پوست به اندازه کافی رضایت‌بخش و کارآمد نیستند.<sup>۵</sup> در جهان هر ساله صدها هزار نفر به دلیل آسیب‌های سوختگی نیاز به بستری شدن در بیمارستان دارند.<sup>۲۰</sup>

پس از یک سوختگی شدید، سطح آسیب دیده نسبت به باکتری‌ها آسیب‌پذیر می‌شود که به علت کاهش سد محافظتی پوست می‌باشد.<sup>۲۴</sup> پوست نقش مهمی در هموستاز و پیشگیری از تهاجم میکروارگانیسم‌ها ایفا می‌کند. در صورت آسیب پوستی، پوشاندن سریع زخم با پانسمان امری ضروری است. حفظ محیط مرطوب در محل زخم، ایجاد تهویه هوا، ممانعت از انتقال میکروارگانیسم‌ها و حذف ترشحات زخم از جمله ویژگی‌های پانسمان ایده‌آل است همچنین پانسمان باید سمی و آلرژی‌زا نباشد. (حسین نژاد، ۱۳۸۹)

بهبود زخم‌های سوختگی‌های شامل احیاء روپوست‌سازی، تکثیر فیبروبلاستی و سنتز و پیدایش رگ‌های خونی می‌باشد.<sup>۱</sup> با توجه به مطالب گفته شده کیتوسان یک کاندیدای امیدبخش برای بیمار سوختگی است کیتوسان می‌تواند فیلم‌های زخم، جاذب آب، سازگار با محیط زیست تشکیل دهد که این فیلم‌ها می‌توانند مستقیماً بر روی سوختگی تشکیل شوند. همچنین کیتوسان به دلیل گردش خوب، عدم ایجاد درد، تأثیرات ضد باکتریایی و داشتن پتانسیل در پخش به عنوان داروی موضعی مناسب می‌باشد.<sup>۱۶</sup> مزیت دیگر کیتوسان این است که اجازه می‌دهد اکسیژن به خوبی نفوذ کند و به طور طبیعی توسط آنزیم‌های بدن تجزیه می‌شوند.<sup>۲۶ و ۸</sup>

مطالعات انجام شده نشان دادند که بهبود سریع زخم به وسیله کیتوسان تحت تأثیر همکاری با مواد پانسمانی می‌باشد که این مواد پانسمانی شامل عامل‌های ضدباکتریایی، نمک‌های اسیدی جلبک، ژلاتین یا هیارین می‌باشند.<sup>۲۳</sup> از طرف دیگر به علت فعالیت ضد باکتریایی قوی ذرات نانو نقره، پوششی از آن در بافت‌های مختلف به کار می‌رود. نقره جهت عملکرد ضد میکروبی متمایز در برابر دامنه وسیعی از باکتری‌ها و مخمر، قارچ‌ها، و ویروس‌ها در میان سایر فلزات نقره کاربرد پزشکی وسیع‌تری دارد. نقره از طریق ایجاد اختلال در زنجیره تنفسی سیتوکروم‌ها و نیز اتصال به DNA

و ممانعت از تکثیر آن، اعمال ضد میکروبی خود را ایفا می‌کنند (حسین نژاد، ۱۳۸۹).

نانو ذرات نقره به دلیل قابلیت پذیرش خوب توسط بیمار، داشتن سمیت کمتر و نفوذپذیری خوب در بافت سوخته و طیف وسیعی از فعالیت در برابر بیشتر میکروارگانیسم‌ها مخصوصاً میکروارگانیسم‌های گرم منفی عرضه می‌شود.<sup>۴</sup> اخیراً گزارشی در مورد کامپوزیتی از کیتین و نانو ذرات نقره برای ترمیم زخم‌ها منتشر شده است که نشان می‌دهد این کامپوزیت خاصیت ضدباکتری بالا و همچنین سازگاری زیادی با پوست دارد.<sup>۱۵</sup>

کیتوسان، یک پلیمر خطی (۴→۱)  $\alpha$  است که به ۲ - آمینو - ۲ - دی اکسی - D -  $\beta$  - گلوکز پیرانوز متصل شده و به آسانی از استیل زدایی کیتین به دست می‌آید و واحدهای ساختاری سخت پوستان از جمله خرچنگ و میگو می‌باشد. سالیانه مقدار زیادی از این آبیان در ایران صید می‌شوند که این صید، انبوهی از ضایعات را به همراه دارد. کیتین بخش عمده ضایعات پوسته‌ای سخت پوستان دریایی را تشکیل می‌دهد، بنابراین با وجود منابع غنی در کشور از جمله در خلیج فارس، تاکنون اقدامی در جهت بهره‌برداری در سطح کلان صورت نگرفته است.

در این تحقیق به دلیل وجود منابع غنی و قابل بهره‌برداری در کشور که می‌توان به لحاظ اقتصادی از آن در جهت درآمدزایی و کارآفرینی در سطح کلان و ارزآوری استفاده کرد و همچنین به دلیل عدم وجود تحقیقات انجام شده پیرامون موضوع در کشور و عدم وجود دارو به صورت ژل برای سوختگی‌های عمقی، به بررسی اثر ژل کیتوسان تغییر یافته با نانوذرات نقره در سوختگی در موش پرداخته شده است.

تاکنون هیچ مطالعه‌ای در رابطه با ژل کیتوسان به همراه نانوسیلور و همچنین روش بررسی بهبود زخم سوختگی از طریق اندازه‌گیری لایه سلول‌های فیبروبلاستی به روش ایمنوهیستوشیمی صورت نگرفته است.

هدف ما در این مطالعه بررسی اثر ژل کیتوسان تغییر یافته با نانو ذرات نقره بر ترمیم و روند بهبودی ناحیه سوختگی درجه دو بوده است.

## مواد و روش‌ها

## تهیه ژل‌های کیتوسان

کیتوسان از شرکت Chitosan Orbital تهیه گردید که دارای وزن مولکولی متوسط و ویژگی‌های ۰.۸۵٪ - ۰.۷۵٪ استیل‌زدایی شده کیتوسان می‌باشد و طبق روش Nascimento ژل کیتوسان با نانو ذرات نقره تهیه شد.<sup>۱۶</sup>

## مدل سوختگی

در این مطالعه، ۳۶ عدد موش سوری مذکر با وزن  $40 \pm 5$  گرم مورد استفاده قرار گرفتند که حیوانات با آب و غذای کافی در قفس‌های مجزا نگهداری شدند و موهای قسمت خلف آنها تراشیده شد و سپس هر موش به وسیله کلروفرم نیمه بی‌هوش گردید. برای ایجاد سوختگی یک قطعه فلزی مربع شکل داغ با ابعاد  $1 \times 1$  سانتی‌متر که به آن وزنه ۵۰ گرمی متصل گردیده بود به مدت ۵ ثانیه روی پوست قرار گرفت که قبلاً در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد در آون حرارت داده شده بود. فشاری که روی پوست به کار رفته شده بود برای همه حیوانات یکسان بود که سوختگی درجه دو ایجاد گردید. پس از عمل سوزاندن درد با استامینوفن تسکین داده شد.<sup>۱۶</sup>

## طرح درمان سوختگی

حیوانات به ۴ گروه تقسیم شدند: گروه (۱): زخم موش‌ها ( $n=9$ ) با کرم تجاری سولفادیازین نقره مداوا شدند، گروه (۲): زخم موش‌ها ( $n=9$ ) با ژل کیتوسان تغییر یافته با نانوذرات نقره مداوا شدند، گروه (۳): زخم موش‌ها ( $n=9$ ) با کیتوسان مداوا شدند، گروه (۴): زخم موش‌ها ( $n=9$ ) بدون دارو بهبود یافتند.

زخم‌ها هر ۲۴ ساعت پانسمان شدند و زخم‌ها تا پایان آزمایشات باز نگه داشته شدند و حیوانات در طی روز از صبح تا زمانی که به طور کامل روپوست‌سازی انجام شود از حیوانات مراقبت به عمل آورده شد.

## روش‌های مطالعات آسیب‌شناسی سوختگی

بعد از اینکه روپوست کاملاً زخمی شد، بیوپسی گرفته شد نمونه‌ها شامل پوست مجاور زخم، حاشیه زخم و زخم روپوستی است. نمونه‌ها برای ۴۸ ساعت قبل از در بر گرفتن پارافین در فرمالین ۱۰٪ قرار گرفتند. بهبود زخم در گروه‌های مختلف از طریق ۴ روش مورد بررسی قرار گرفت که به آنها اشاره می‌کنیم:

(۱) شمارش سلول‌های فیبروبلاست با استفاده از رنگ آمیزی همتوکسیلین ائوزین

(۲) اندازه‌گیری لایه فیبروبلاستی (درم) با استفاده از رنگ آمیزی ایمونوهیستوشیمی

(۳) اندازه‌گیری لایه‌های پوست با استفاده از رنگ آمیزی همتوکسیلین طبق روش

(۴) شکل ظاهری طبق روش

## روش آنالیز آماری

برای انجام آنالیز آماری داده‌ها از نرم افزار، SPSS ویرایش ۱۱/۵ استفاده گردید.

آزمون‌های مورد استفاده در این تحقیق عبارت بودند از:

- آزمون تحلیل اندازه‌گیری‌های مکرر

- آزمون آنالیز واریانس یک طرفه

- آزمون دانکن

## یافته‌ها

به منظور بررسی تأثیر ژل کیتوسان تغییر یافته با نانو ذرات نقره، زخم سوختگی درجه دو با ابعاد  $1 \times 1$  سانتی‌متر در قسمت خلف موش‌ها ایجاد گردید و موش‌ها به مدت ۱ ماه تحت مداوای گروه‌های ژل کیتوسان تغییر یافته با نانوذرات نقره، ژل کیتوسان، سولفادیازین نقره و بدون دارو قرار گرفتند. در روزهای ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ از محلی که سوختگی ایجاد شده بود از هر گروه روی سه موش بیوپسی به عمل آمد. نتایج بررسی روند بهبود زخم سوختگی با استفاده از رنگ‌آمیزی اختصاصی ایمونوهیستوشیمی نشان دادند که گروه مداوا شده با ژل کیتوسان تغییر یافته با نانوذرات نقره و گروه مداوا شده با ژل کیتوسان بیشترین ضخامت لایه فیبروبلاستی را در گروه‌ها نشان دادند و گروه مداوا شده بدون استفاده از دارو کمترین ضخامت لایه فیبروبلاستی را در گروه‌ها نشان دادند. همچنین قطر لایه فیبروبلاستی به روش ایمونو هیستوشیمی اندازه‌گیری شد و نتایج نشان می‌دهد که میان گروه‌های مداوا شده با کیتوسان تغییر یافته با نانو ذرات نقره و گروه مداوا شده با کیتوسان در روز ۱۴ اختلاف معنی‌داری وجود داشت ( $P\text{-value}=0.070$ ). ولی این دو تیمار اختلاف معنی‌داری را با گروه مداوا شده بدون استفاده از دارو نشان داد ( $P\text{-value}=0.137$ ). تصویر ۱ ضخامت لایه فیبروبلاستی در گروه‌های تیمار را نشان می‌دهد.

همچنین نتایج حاصل از میانگین تعداد سلول‌های فیبروبلاستی نشان می‌دهد در میانگین سلول‌های فیبروبلاستی میان گروه‌های مداوا شده با کیتوسان تغییر یافته با نانو ذرات نقره و سولفادیازین نقره و بدون استفاده از دارو در روز ۱۴ سوختگی اختلاف معنی‌داری وجود دارد ( $P\text{-value}=0.017$ ).

نتایج به دست آمده در روند بهبود زخم سوختگی به روش تهیه برش بافتی و رنگ‌آمیزی به روش ائوزین - همتوکسیلین در روز ۱۴ سوختگی نشان داد ضخامت لایه اپی‌درم و درم در گروه مداوا شده با ژل کیتوسان تغییر یافته با نانو ذرات نقره نسبت به سایر گروه‌ها بیشترین ضخامت را دارا می‌باشد که نشان‌دهنده تأثیر بیشتر ژل کیتوسان تغییر یافته با نانو ذرات نقره نسبت به سایر گروه‌ها است ( $P\text{-value}=0.020$ ).

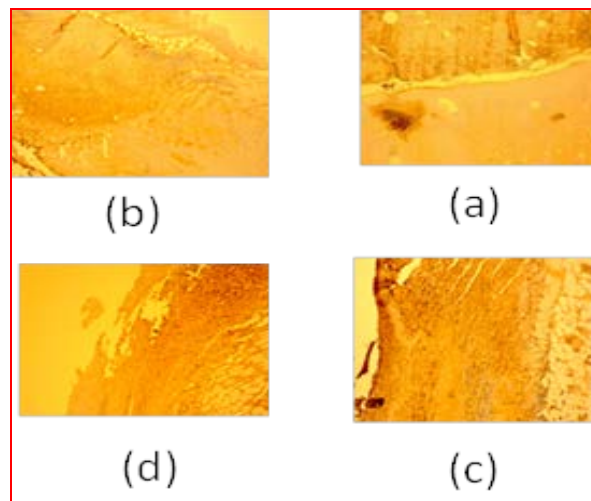
نتایج به دست آمده در روند بهبود زخم سوختگی به روش تهیه برش بافتی و رنگ‌آمیزی به روش ائوزین - همتوکسیلین نشان داد، اپیدرم در روز ۲۱ سوختگی در گروه بهبود یافته بدون استفاده از دارو بیشترین ضخامت را داراست و گروه مداوا شده با کیتوسان تغییر یافته با نانو ذرات نقره کمترین ضخامت را داراست ( $P\text{-value}=0.000$ ).

نتایج بررسی بهبود بر اساس شکل ظاهری زخم در جدول ۱ نشان داده شده است. در میان گروه‌ها زمان‌های بهبود متفاوتی از نظر ظاهری مشاهده نگردید.

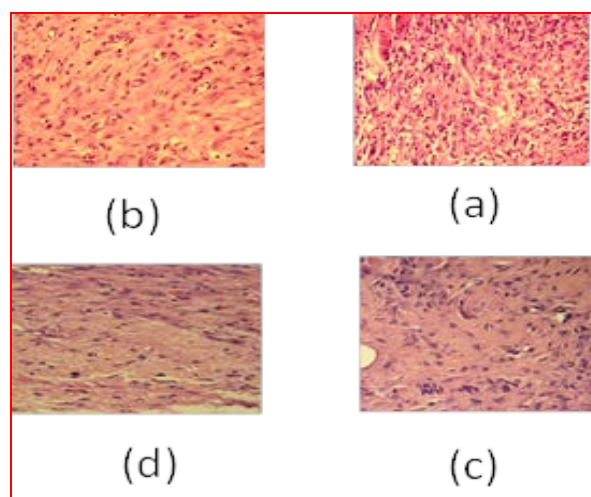
### بحث و نتیجه‌گیری

سوختگی، یکی از مباحث بسیار مهم به عنوان یک فرآیند بیماری با دوره درمان طولانی مدت در سراسر جهان به ویژه در کشورهای توسعه یافته مطرح است.<sup>۱۱</sup> زخم‌های سوختگی به دلیل مستعد بودن به عفونت دارای پروسه‌های بهبود می‌باشند.<sup>۲</sup> پروسه بهبود سوختگی‌های پوست، شامل مراحل رویوست‌سازی، تکثیر فیبروبلاستی و سنتز و پیدایش رگ‌های خونی می‌باشد. تحقیقات زیادی در زمینه عوامل تسریع‌کننده بهبود سوختگی توسط محققان انجام شده است.<sup>۱</sup> چندین مطالعه در رابطه با اثرات تسریع‌کننده بهبود زخم باز به وسیله کیتین و کیتوسان مورد بررسی قرار گرفته است. به منظور بررسی اثرات ژل کیتوسان به همراه نانو ذرات نقره آزمون تجربی انجام گرفت.<sup>۶-۱</sup>

نتایج بررسی روند بهبود زخم سوختگی، تأثیر تیمارها روی سلول‌های فیبروبلاستی نشان دادند که گروه مداوا شده با ژل کیتوسان تغییر یافته با نانو ذرات نقره بیشترین سلول‌های فیبروبلاستی را دارا بود و گروه مداوا شده بدون استفاده از دارو کمترین تعداد سلول‌های فیبروبلاستی را دارا بود. تصویر ۲ نشان دهنده سلول‌های فیبروبلاستی در گروه‌های تیمار می‌باشد.



تصویر ۱- لایه فیبروبلاستی در گروه‌های تیمار (a) گروه مداوا شده با ژل کیتوسان تغییر یافته با نانو ذرات نقره، (b) گروه مداوا شده با کیتوسان، (c) گروه مداوا شده با سولفادیازین نقره، (d) گروه مداوا شده بدون استفاده از دارو



تصویر ۲ - سلول‌های فیبروبلاستی (a) گروه مداوا شده با کیتوسان تغییر یافته با نانو ذرات نقره، (b) گروه مداوا شده با کیتوسان، (c) گروه مداوا شده با کرم تجاری سولفادیازین نقره، (d) گروه مداوا شده بدون استفاده از دارو

جدول ۱- مقایسه میزان فیبروبلاست در در گروه‌های تیمار: (گروه مداوا شده با ژل کیتوسان تغییر یافته با نانو ذرات نقره) گروه مداوا شده با کیتوسان، گروه مداوا شده با سولفادیازین نقره، گروه مداوا شده بدون استفاده از دارو

متغیر	گروه	تعداد	میانگین	انحراف استاندارد	خطا	سطح معناداری
زیلاست	کیتوسان	۵	۷۲۰	۱۴۸/۳۲۴	۶۶/۳۳	۰/۰۱۷
	نانو کیتوسان	۵	۸۳۰	۱۰۳/۶۸۲	۴۶/۳۷	
	سولفادیازین نقره	۵	۶۵۲	۱۶۷/۶۹۰	۷۴/۹۹	
	بدون دارو	۵	۵۱۵	۱۲۴/۴۹۹	۵۵/۶۸	

و گروه مداوا شده با کیتوسان در روز ۱۴ اختلاف معنی‌داری وجود ندارد ( $P < 0.05$ )، ولی این دو تیمار اختلاف معنی‌داری را با گروه مداوا شده بدون استفاده از دارو نشان می‌دهند.

نتایج بدست آمده در روند بهبود زخم سوختگی به روش تهیه برش بافتی و رنگ‌آمیزی به روش هماتوکسیلین - ائوزین نشان داد که سلول‌های فیبروبلاستی در روز ۱۴ سوختگی در همه گروه‌ها (گروه مداوا شده با کیتوسان تغییر یافته با نانو ذرات نقره، گروه مداوا شده با کیتوسان، گروه مداوا شده با سولفادیازین نقره، گروه بهبود یافته بدون استفاده از دارو) در لایه درم مشاهده شدند. نتایج نشان دادند که گروه مداوا شده با ژل کیتوسان تغییر یافته با نانو ذرات نقره بیشترین سلول‌های فیبروبلاستی را دارا بوده است که این نشان می‌دهد ژل کیتوسان تغییر یافته با نانو ذرات نقره بیشترین تأثیر را در بهبود زخم سوختگی داشته است و گروه مداوا شده بدون استفاده از دارو کمترین تعداد سلول‌های فیبروبلاستی را دارا بود که نشان‌دهنده پیشرفت کند پروسه بهبود می‌باشد. همچنین نتایج حاصل از میانگین تعداد سلول‌های فیبروبلاستی در لایه درم در روز ۱۴ سوختگی شمارش شدند و نتایج نشان دادند در میانگین سلول‌های فیبروبلاستی بین گروه‌های مداوا شده با کیتوسان تغییر یافته به همراه نانو ذرات نقره و گروه سولفادیازین نقره و بدون استفاده از دارو اختلاف معنی‌داری وجود داشت. همچنین در میانگین سلول‌های فیبروبلاستی بین گروه مداوا شده با کیتوسان (بدون نانو ذرات نقره) و گروه مداوا شده با سولفادیازین نقره و گروه مداوا شده بدون استفاده از دارو اختلاف معنی‌داری وجود داشت. همچنین در میانگین سلول‌های فیبروبلاستی بین گروه مداوا شده با کیتوسان تغییر یافته با نانو ذرات نقره و گروه مداوا شده با کیتوسان (بدون نانو ذرات نقره) اختلاف معنی‌داری وجود نداشت.



تصویر ۳- شکل ظاهری زخم اولین روز سوختگی

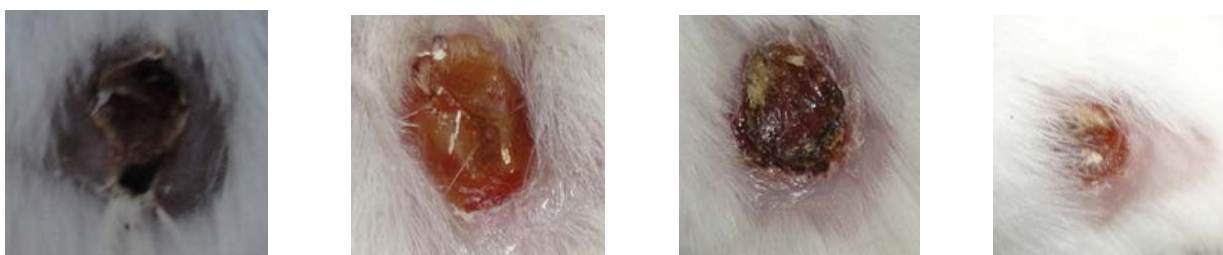
در مطالعه ما کیتوسان به عنوان دارو برای بهبود سوختگی به صورت کاملاً مناسب بود از طرف دیگر نانو ذرات نقره به عنوان عامل آنتی‌میکروبی در بهبود زخم‌ها به ژل کیتوسان افزوده گردید که باعث تسریع پیشرفت پروسه بهبود زخم سوختگی نسبت به سایر گروه‌ها گردید.

نتایج بدست آمده در روند بهبود زخم سوختگی به روش تهیه برش بافتی و رنگ‌آمیزی به روش ایمنوهیستوشیمی در روز ۱۴ سوختگی نشان دادند که گروه مداوا شده با ژل کیتوسان تغییر یافته با نانو ذرات نقره و گروه مداوا شده با ژل کیتوسان بیشترین ضخامت لایه فیبروبلاستی را در گروه‌ها دارا بودند که نشان‌دهنده تأثیر بیشتر ژل کیتوسان در ترمیم سوختگی نسبت به سایر گروه‌ها است و گروه مداوا شده بدون استفاده از دارو کمترین ضخامت لایه فیبروبلاستی را در گروه‌ها نشان دادند که نشان‌دهنده پیشرفت کند پروسه بهبود می‌باشد. همچنین نتایج آماری نشان می‌دهد که میان گروه‌های مداوا شده با کیتوسان تغییر یافته با نانو ذرات نقره



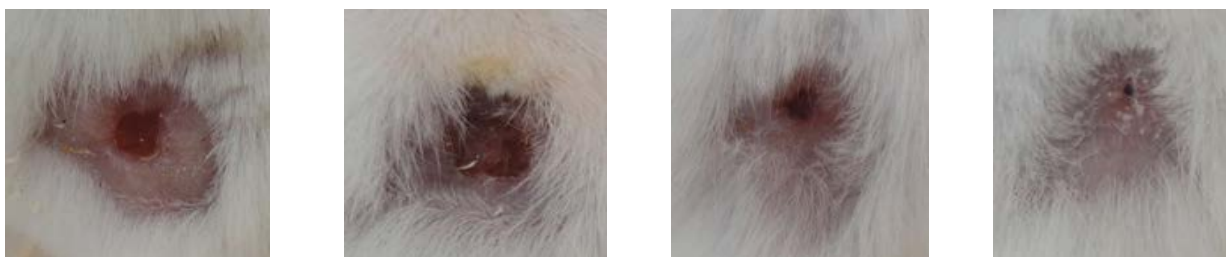
(d) (c) (b) (a)

تصویر ۴- شکل ظاهری زخم در گروه های تیمار در روز هفتم سوختگی: (a) کیتوسان با نانوذرات نقره، (b) کیتوسان، (c) سولفادiazین نقره، (d) بدون دارو



(d) (c) (b) (a)

تصویر ۵- شکل ظاهری زخم در گروه های تیمار در روز ۱۴ سوختگی: (a) کیتوسان با نانوذرات نقره، (b) کیتوسان، (c) سولفادiazین نقره، (d) بدون دارو



(d) (c) (b) (a)

تصویر ۶- شکل ظاهری زخم در گروه های تیمار در روز ۲۱ سوختگی: (a) کیتوسان با نانوذرات نقره، (b) کیتوسان، (c) سولفادiazین، (d) بدون دارو



(d) (c) (b) (a)

تصویر ۷- شکل ظاهری زخم در گروه های تیمار در روز ۲۸ سوختگی: (a) کیتوسان تغییر یافته با نانوذرات، (b) کیتوسان، (c) سولفادiazین نقره، (d) بدون دارو

## جدول ۲- زمان لازم برای روپوست سازی (زمان بهبود) در روز

میانگین مدت زمان بهبود	مدت زمان بهبود (روز) در هر موش به تفکیک			گروه
	موش ۳	موش ۲	موش ۱	
۲۱	۲۴	۲۲	۱۸	گروه (۱)، سولفادیازین نقره
۲۰	۲۳	۲۱	۱۸	گروه (۲)، ژل کیتوسان با نانو ذرات نقره
۲۱	۲۳	۲۱	۱۹	گروه (۳)، ژل کیتوسان بدون نانوذرات نقره
۲۰	۲۳	۱۹	۱۹	گروه (۴)، بدون دارو

۷ و ۱۴ و ۲۱ انجام شده بود. نتایج حاصل از مطالعات آسیب‌شناسی نشان دادند که سلول‌های فیبروبلاستی در گروه مداوا شده با فیلم کیتوسان به همراه Fucoidan نسبت به سایر گروه‌ها زودتر نمایان شدند و بهترین احیاکننده پوست سوخته در بین گروه‌ها بود. همچنین نتایج نشان دادند که گروه مداوا شده با فیلم کیتوسان به همراه Fucoidan پروسه بهبود سریع‌تری نسبت به سایر گروه‌ها داشت.<sup>۲۱</sup>

هاملتون و همکارانش در سال ۲۰۰۶ روی ویژگی‌های فیلم‌های کیتوسان و تأثیر آن در افزایش سلول‌های فیبروبلاستی تحقیق کردند که نتایج نشان داد کیتوسان باعث افزایش سلول‌های فیبروبلاستی گردید که در ارتباط با ویژگی‌های شیمیایی و درجه استیل زدایی کیتوسان بود.<sup>۹</sup>

کوجیمیا و همکارانش در سال ۲۰۰۴ تأثیر کیتین و کیتوسان در سنتز کلاژن در ترمیم سوختگی را مورد بررسی قرار دادند که نتایج نشان داد کیتوسان باعث افزایش سنتز کلاژن گردید.<sup>۱۰</sup>

رابیرو و همکارانش در سال ۲۰۰۹ هیدروژل‌های کیتوسان را به عنوان پوشش زخم سوختگی و تأثیر آن در ترمیم زخم را مورد بررسی قرار دادند که نتایج نشان داد هیدروژل‌های کیتوسان باعث افزایش سلول‌های التهابی و افزایش فعالیت آنها گردید.<sup>۱۹</sup>

بوکارد و همکارانش در سال ۲۰۰۷ از هیدروژل‌های کیتوسان برای احیای پوست سوخته استفاده کردند که نتایج

نتایج بررسی بهبود بر اساس شکل ظاهری زخم در جدول ۲ نشان داده شده است. در میان گروه‌ها زمان‌های بهبود متفاوتی از نظر ظاهری مشاهده نگردید.

با این همه تعداد زیادتر فیبروبلاست از یک طرف باعث ترمیم سریع‌تر زخم می‌شود، ولی از طرف دیگر می‌تواند باعث سنتز بیش از حد کلاژن و ایجاد اسکار هیپرتروفیک و یا کلویید شود که به مطالعات بیشتری در این زمینه نیاز است.

مرحله ظهور سلول‌های فیبروبلاستی یکی از مهمترین مرحله در پروسه بهبود زخم است. سلول‌های فیبروبلاستی به عنوان سلول‌های بنیادی می‌باشند که در زمان آسیب بافتی مانند زخم، در محل زخم برای بازسازی بافت آسیب دیده نمایان می‌شوند.<sup>۱۳</sup>

ناسیمنتو و همکارانش در سال ۲۰۰۹ ژل کیتوسان را با سولفادیازین نقره ۱٪ در بهبود زخم سوختگی در موش‌ها مورد ارزیابی قرار دادند. در این مطالعه حضور سلول‌های فیبروبلاستی در همه گروه‌ها به روشنی مشاهده گردیده بود. زخم‌های مداوا شده با ژل کیتوسان با سولفادیازین نقره ۱٪ تعداد سلول‌های فیبروبلاستی بیشتری نسبت به سایر گروه‌ها داشت. که این نتیجه با نتایج بدست آمده در تحقیق ما مطابقت دارد.<sup>۱۶</sup>

سزار و همکارانش در سال ۲۰۰۶ در کشور ترکیه فیلم کیتوسان به همراه Fucoidan را برای بهبود سوختگی‌های پوستی مورد بررسی قرار دادند. که نمونه‌برداری در روزهای

یافته با نانو ذرات نقره تعداد سلول‌های فیبروبلاستی بیشتری نسبت به سایر گروه‌های تیمار (مداوا با ژل کیتوسان بدون نانو ذرات نقره، مداوا با کرم تجاری سولفادیازین نقره، بدون استفاده از دارو) تولید کردند و همچنین نتایج نشان دادند در میانگین سلول‌های فیبروبلاستی میان گروه‌های مداوا شده با ژل کیتوسان تغییر یافته با نانو ذرات نقره و سولفادیازین نقره و بدون استفاده از دارو اختلاف معنی‌داری وجود داشت. همچنین در گروه مداوا شده با ژل کیتوسان تغییر یافته با نانو ذرات نقره، اپیتلیاسیون کامل پوست از طریق اندازه‌گیری لایه‌های پوست با استفاده از رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین، در روز ۲۱ سوختگی انجام گرفت و در سایر گروه‌های تیمار اپیتلیاسیون کامل پوست در روز ۲۸ سوختگی انجام گرفت. بنابراین زخم سوختگی در گروه مداوا شده با ژل کیتوسان تغییر یافته با نانو ذرات نقره نسبت به سایر گروه‌ها یک هفته زودتر بهبود یافتند. بنابراین می‌توان ژل کیتوسان تغییر یافته با نانو ذرات نقره را به عنوان کاندید مناسبی جهت درمان سوختگی درجه دوم به کار برد.

نشان داد که مواد کیتوسانی باعث مداوای عالی و احیای خوب بافت سوخته گردید و کیتوسان باعث القاء سلول‌های التهابی دانه دار و افزایش مویرگ‌های خونی و کلاژن در بافت جدید گردید.<sup>۵</sup>

نتایج بدست آمده در روند بهبود زخم سوختگی به روش بررش بافتی و رنگ‌آمیزی به روش ائوزین - هماتوکسیلین در روز ۲۸ سوختگی نشان داد در همه گروه‌ها بجز گروه بهبود یافته بدون استفاده از دارو اپیدرم دارای ضخامت برابر با ضخامت پوست سالم می‌باشد که نشان‌دهنده بهبود کامل زخم می‌باشد. بنابراین نتیجه می‌گیریم که در روز ۲۸ سوختگی همه گروه‌ها بجز گروه بهبود یافته بدون استفاده از دارو کاملاً بهبود یافته‌اند، ولی گروه بهبود یافته بدون استفاده از دارو دارای بیشترین ضخامت می‌باشد که نشان‌دهنده وجود التهاب و کامل نشدن پروسه بهبود می‌باشد.

در این تحقیق اثر ژل کیتوسان تغییر یافته با نانو ذرات نقره در روند ترمیم زخم سوختگی درجه دو مورد بررسی قرار گرفت و این نتایج حاصل شده است: ژل کیتوسان تغییر



**Abstract:**

## **Application of Chitosan Gel Combined with Silver Nanoparticles on Second Degree Burn Wound in a Rat**

*Fatemi M. J. MD<sup>\*</sup>, Naderi Gharagheshlagh S. MSc<sup>\*\*</sup>, Safaeian Sh. MD<sup>\*\*\*</sup>*

*Sarrafszadeh A. MD<sup>\*\*\*\*</sup>*

(Received: 6 May 2015      Accepted: 31 Oct 2015)

**Introduction & Objective:** Every year, hundreds of thousands of people in the world because of the need to stay in hospital burn damages. Accelerate healing and prevent infection of the goals is the topical treatment of burn wounds. Prevent the transmission of microorganisms and remove exudates such as the characteristics of the ideal dressing. The aim of this study was to evaluate the effect of chitosan gel modified with silver nanoparticles in the second degree burn wounds respectively.

**Materials & Methods:** Second degree burn was studied in dorsal aspect of 36 rats. Then the rats were divided in 4 groups: the wound was cared in the group 1 with chitosan gel combined with silver Nano-particle, in the group 2 with chitosan gel without nonosilver particle, in the group 3 with silver sulfadiazine and in the 4<sup>th</sup> group without treatment, as a control group. The healing rat and histopathologic characteristic was evaluated.

**Results:** The healing rat was significantly better in chitosan combined with Nano-silver particle group. Also in histopathologic examination, the fibroblasts counting and re-epithelialization were significantly better in the chitosan combined with Nano-silver groups.

**Conclusions:** Chitosan combined with Nano-silver particle is a very acceptable dressing material, it accelerates wound healing and prevents infection.

***Key Words: Chitosan, Silver Nanoparticles, Burn Wound***

\* Associate Professor of Plastic & Reconstructive Surgery, Burn Research Center, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

\*\* Ph.D Student in Marine Biology, University of Marine Science and Technology, Islamic Azad University, Science and Research Branch of Tehran, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

\*\*\* Assistant Professor of Marine Biology, University of Marine Science and Technology, Islamic Azad University, Tehran North Branch, Tehran, Iran

\*\*\*\* Anatomical and Clinical Pathologist, Department of Pathology, Faculty of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

## References:

1. Alemdaroglu, Ceren, et al. "An investigation on burn wound healing in rats with chitosan gel formulation containing epidermal growth factor. "Burns 32.3 (2006): 319-327.
2. Alsarra, Ibrahim A. "Chitosan topical gel formulation in the management of burn wounds. "International journal of biological macromolecules 45.1 (2009): 16-21.
3. Azad, Abul Kalam, et al. "Chitosan membrane as a wound healing dressing: Characterization and clinical application." Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials 69.2 (2004): 216-222.
4. Azevedo, Eduardo P., et al. "Mechanical properties and release studies of chitosan films impregnated with silver sulfadiazine." Journal of applied polymer science 102.4 (2006): 3462-3470.
5. Boucard, Nadège, et al. "The use of physical hydrogels of chitosan for skin regeneration following third-degree burns." Biomaterials 28.24 (2007): 3478-3488.
6. Dutta, Pradip Kumar, M. N. V. Ravikumar, and Joydeep Dutta. "Chitin and chitosan for versatile applications." Journal of Macromolecular Science, Part C: Polymer Reviews 42.3 (2002): 307-354.
7. Dutta, Pradip Kumar, Joydeep Dutta, and V. S. Tripathi. "Chitin and chitosan: Chemistry, properties and applications." Journal of Scientific and Industrial Research 63.1 (2004): 20-31.
8. Dai, Tianhong, et al. "Chitosan preparations for wounds and burns: antimicrobial and wound-healing effects." (2011): 857-879.
9. Hamilton, V., et al. "Characterization of chitosan films and effects on fibroblast cell attachment and proliferation. "Journal of Materials Science: Materials in Medicine 17.12 (2006): 1373-1381.
10. KOJIMA, Kazuo, et al. "Effects of chitin and chitosan on collagen synthesis in wound healing. "Journal of Veterinary Medical Science 66.12 (2004): 1595-1598.
11. Koide, S. S. "Chitin-chitosan: properties, benefits and risks. "Nutrition Research 18.6 (1998): 1091-1101.
12. Li, Q., et al. "Applications and properties of chitosan." Journal of Bioactive and Compatible Polymers 7.4 (1992): 370-397.
13. Martin, Paul. "Wound healing-aiming for perfect skin regeneration. "Science 276.5309 (1997): 75-81.
14. Mehendale, Felicity, and Paul Martin. "The cellular and molecular events of wound healing. "Cutaneous wound healing (2001): 15-37.
15. Madhumathi, K., et al. "Development of novel chitin/nanosilver composite scaffolds for wound dressing applications. "Journal of Materials Science: Materials in Medicine 21.2 (2010): 807-813.
16. Nascimento, Ednaldo Gomes do, et al. "Evaluation of chitosan gel with 1% silver sulfadiazine as an alternative for burn wound treatment in rats. "Acta Cirurgica Brasileira 24.6 (2009): 460-465.
17. Okamoto, Y et al. "Effects of Chitosan on Experimental Abscess with Staphylococcus aureus in Dogs. "Journal of Veterinary Medical Science 57.4 (1995): 765-767.
18. Qi, Lifeng, and Zirong Xu. "Lead sorption from aqueous solutions on chitosan nanoparticles." Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects 251.1 (2004): 183-190.
19. Ribeiro, Maximiano P., et al. "Development of a new chitosan hydrogel for wound dressing. "Wound repair and regeneration 17.6 (2009): 817-824.
20. Robson, Martin C., et al. "Maintenance of wound bacterial balance. "The American journal of surgery 178.5 (1999): 399-402.
21. Sezer, Ali Demir, et al. "Chitosan film containing fucoidan as a wound dressing for dermal burn healing: preparation and in vitro/in vivo evaluation." AAPS Pharm Sci Tech 8.2 (2007): E94-E101.
22. Thirunavukkarasu, N., K. Dhinamala, and R. Moses Inbaraj. "Production of chitin from two marine stomatopods Oratosquilla spp. (Crustacea). "Journal of Chemical and Pharmaceutical Research 3.1 (2011): 353-359.
23. Ueno, Hiroshi, et al. "Evaluation effects of chitosan for the extracellular matrix production by fibroblasts and the growth factors production by macrophages. "Biomaterials 22.15 (2001): 2125-2130.
24. Ward, R. Scott, and Jeffrey R. Saffle. "Topical agents in burn and wound care. "Physical Therapy 75.6 (1995): 526-538.
25. Wassermann, D. "[Criteria for burn severity. Epidemiology. prevention, organization of management]. "Pathologie-biologie 50.2 (2002): 65-73.
26. Wang, Wei, et al. "Acceleration of diabetic wound healing with chitosan-crosslinked collagen sponge containing recombinant human acidic fibroblast growth factor in healing-impaired STZ diabetic rats. "Life sciences 82.3 (2008): 190-204.
27. Wang, Tao, et al. "Hydrogel sheets of chitosan, honey and gelatin as burn wound dressings. "Carbohydrate Polymers 88.1 (2012): 75-83.