

PIOTR MAZUREK^{1, B-F}, SEBASTIAN KULIŃSKI^{1, B-F}, JERZY GOSK^{2, A, B, E, F}

Możliwości wykorzystania chityny i chitozanu w leczeniu ran

The Possibilities of Using a Chitin and Chitosan in Wounds Treatment

¹ Klinika Chirurgii Urazowej i Chirurgii Ręki Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego we Wrocławiu, Wrocław, Polska

² Katedra Chirurgii Urazowej, Klinika Chirurgii Urazowej i Chirurgii Ręki Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu, Wrocław, Polska

A – koncepcja i projekt badania; B – gromadzenie i/lub zestawianie danych; C – analiza i interpretacja danych;
D – napisanie artykułu; E – krytyczne zrecenzowanie artykułu; F – zatwierdzenie ostatecznej wersji artykułu

Streszczenie

Chityna i chitozan są wielocukrami pochodzenia naturalnego. W pracy omówiono możliwości wykorzystania chityny i chitozanu w praktyce klinicznej i badaniach eksperymentalnych. Przedstawiono dostępne w obrocie komercyjnym opatrunki zbudowane na bazie chityny i chitozanu. Opisano ponadto główne kierunki rozwoju w zastosowaniu chityny i chitozanu w leczeniu różnego rodzaju ran i główne właściwości tych polimerów oraz podkreślono ich przydatność jako środków hamujących krwawienie, materiałów opatrunków i substytutów skóry (**Polim. Med. 2013, 43, 4, 297–302**).

Słowa kluczowe: chityna, chitozan, opatrunek, aktywność biologiczna, leczenie ran.

Abstract

Chitin and chitosan are natural polysaccharides. In this study, we presented the possibilities of using chitin and chitosan in medical practice and experimental studies. Chitin and chitosan, based wound dressings available as commercial products, were presented. The directions of future progress in employment chitin and chitosan in treatment of many kinds of wounds were also described. In this study, the main properties of these polymers were established. The usefulness of the chitin and chitosan as hemostatic products, wound dressing and skin substitutes was emphasized (**Polim. Med. 2013, 43, 4, 297–302**).

Key words: chitin, chitosan, wound dressing, biological activity, wounds treatment.

Chityna jest liniowym homopolimerem zbudowanym z N-acetylo-D-glukozaminy połączonej wiązaniami 1,4 β . Ten wielocukier stanowi element składowy egzoszkieletu skorupiaków [1, 2]. Chitozan uzyskuje się w wyniku częściowej deacetylacji chityny. Jest to polisacharyd zbudowany z części deacetylowanej (β -(1,4)-D-glukozamina) i części acetylowanej (N-acetylo-D-glukozamina) [1, 3]. Oba związki są nietoksyczne, biokompatybilne i biodegradowalne [1, 4]. Stosunkowo łatwo poddają się obróbce z możliwością tworzenia różnych form oraz są modyfikowalne chemicznie i enzymatycznie [4–6]. Te podstawowe właściwości sprawiają, że zarówno chityna, jak i chitozan znajdują szerokie zastosowanie w medycynie oraz różnych gałę-

ziach przemysłu [1, 6]. Jednym z kierunków badań jest wykorzystanie tych wielocukrów jako składowych materiałów opatrunkowych [1, 2, 4, 7].

W latach 60. XX w. praca Wintera rzuciła nowe światło na rolę materiału opatrunkowego w procesie tworzenia optymalnego środowiska do gojenia rany [8]. Oznaczało to w konsekwencji przejście do aktywnej formy opatrunku chroniącego ranę przed zakażeniem bakteryjnym i sprzyjającego procesom naprawczym [9]. Dość szybko zwrócono uwagę, że chityna, a zwłaszcza jej deacetylowana postać, ma wiele korzystnych właściwości, które mogą być wykorzystane w tworzeniu bioaktywnych opatrunków [4, 5]. Wśród najistotniejszych cech chitozanu Muzzarelli wymienia: „działanie chemo-

wabiące i zdolność do aktywacji makrofagów i neutrofilii, stymulację aktywności komórkowej, np. fibroblastów, właściwości antybakteryjne, wychwytywanie czynników wzrostu, pobudzanie produkcji cytokin oraz sprzyjanie procesom angiogenezy” [4]. Pighinelli i Kucharska zwracają uwagę na: „unikalny kationowy charakter związku oraz jego hydrofilność” [5]. Wszystkie te cechy w konsekwencji sprawiają, że chitozan sprzyja procesowi gojenia ran, pobudza tworzenie tkanki ziarninowej i reepitelizację oraz ogranicza tworzenie blizny [4, 5]. Chitozan podlega biodegradacji pod wpływem lizozymu i innych enzymów [5]. Częściowo zhydrolizowany chitozan ma zdolność hamowania aktywności i ekspresji MMP-2 (metoloproteinazy 2) w fibroblastach ludzkiej skóry, a proces ten odbywa się poprzez zmniejszenie ekspresji genu [4]. Dzięki temu chitozan zmniejsza intensywność hydrolizy przez MMP-2 kolagenu typu IV stanowiącego istotną składową błon podstawnych [4]. Pewne formy chitozanu, np. karboksymetyl chitozanu, wpływają na wytworzenie innych odmian kolagenu. Jak wykazały badania Chena et al. karboksymetyl chitozanu hamuje sekrecję kolagenu typu I w fibroblastach keloidu, zmieniając tym samym stosunek kolagenu typu I i III, pozostając jednocześnie bez wpływu na sekrecję kolagenu typu I i III przez fibroblasty prawidłowej skóry [10].

Zastosowania kliniczne

Produkty z chitozanu i chityny mogą występować w różnych formach (proszek, włókna, gąbka, żel) i spełniać różne role (opatrunk, substytut skóry, środek hamujący krwawienie). Do obrotu są dopuszczone produkty wykonane z chityny lub chitozanu. Każdy z nich ma swoje określone przeznaczenie. Do hamowania krwawienia w praktyce klinicznej wykorzystuje się: Syvek-Patch® (Marine Polymer Technologies), HemCon® (HemCon), ChitoFlex® (HemCon), Chito-Seal® (Abbott), Clo-Sur® (Scion Cardiovascular), TraumaStat® (Ore-Medix), Tromboguard® (Tricomed SA), Excel Arrest® (Hemostasis LLC Co.) [4].

Pierwszy z wymienionych jest wykonany z mikrowłókien chitynowych pochodzących z hodowanego w warunkach aseptycznych okrzemka *Thalassiosira fluviatilis*. Działanie preparatu polega na aglutynacji czerwonych ciałek krwi, aktywacji płytek i wspomaganiu tworzenia żelu fibrynowego [11]. Pozostałe preparaty, poza Excel Arrest®, są wykonane z chitozanu. HemCon® to liofilizowana sól octowa chitozanu, a ChitoFlex® ulepszona pod względem poręczności forma tego samego preparatu. TraumaStat® to preparat zbudowany z liofilizowanego chitozanu, polietylenu i wysokoporowatej krzemionki [4].

Chitosan Skin® produkowany przez Hainan Xinlong Non-Wovens Industry jest materiałem zastępczym skóry, wiele innych preparatów znajduje natomiast zastosowanie jako materiały opatrunkowe w leczeniu ran urazo-

wych, odleżyn i przewlekłych owrzodzeń [4]. Beschitin® (Urtica) uzyskiwany z chityny jest stosowany w leczeniu ran urazowych. Ten materiał opatrunkowy ma zdolność pobudzania wczesnego ziarninowania i zapobiega tworzeniu blizny. Używany jest na rynku japońskim od ponad 20 lat. Na tym samym rynku są stosowane takie materiały, jak: Chitipack S® (Eisai Co.) i Chitipack P® (Eisai Co.), które okazują się przydatne w leczeniu rozległych ran urazowych, szczególnie tych z dużymi ubytkami tkanek. Oba preparaty są produkowane z chityny w odróżnieniu od materiału Chitopack C® (Eisai Co.), którego podstawę stanowi chitozan o strukturze przypominającej bawełnę. Chitopack C® ma zdolność pobudzania przebudowy tkanki podskórnej i prawidłowej regeneracji skóry. W leczeniu przewlekłych ran, owrzodzeń i odleżyn niezwykle przydatne są preparaty typu: Tegasorb® (3M) i Vulsorb® (Tesla-Pharma), oba zbudowane na bazie chitozanu, w przypadku drugiego preparatu dodatkowo połączonego z kolagenem. W preparacie Chitodine® właściwości antybakteryjne samego chitozanu zostały wzmożone poprzez dodanie jodyny [4].

Badania doświadczalne

Skuteczność poszczególnych preparatów służących do hamowania krwawień była oceniana również w warunkach doświadczalnych. Gustafson et al. oceniali skuteczność preparatu HemCon® w zestawieniu z opatrunkiem gazowym, które służyły do tamowania krwawienia z tętnicy udowej świni. W przeprowadzonym na 14 zwierzętach doświadczeniu wykazano, że skuteczność HemCon® po 30 minutach wynosiła 100%, a po 4 godzinach 84%. Zastosowanie kompresów gazowych skutkowało hemostazą po 30 minutach w 21%, a po 4 godzinach tylko w 7% przypadków. Autorzy stosowali w doświadczeniu ¼ standardowego wyrobu o wymiarach 10 × 10 cm. Według Gustafsona et al. podstawowym utrudnieniem w użyciu preparatu HemCon® była jego sztywność i wyjściowy brak elastyczności. Utrudniało to w znaczący sposób aplikację materiału i jego właściwe umiejscowienie nad krwawiącym naczyniem [12]. Zdaniem autorów HemCon® wymagał wstępnego przygotowania poprzez jego zwijanie, co powodowało „zmiękczenie” materiału. Na problem nieporęczności preparatu HemCon® zwracali również uwagę inni autorzy [13, 14]. Englehart z zespołem porównywali właściwości hemostatyczne HemCon®, opatrunku gazowego i TraumaStat®. W modelu doświadczalnym na świniach, po przecięciu tętnicy i żyły udowej, po 30 sekundach krwawienia stosowano jeden z trzech badanych materiałów z uciskiem trwającym 5 minut. Po użyciu preparatu TraumaStat® autorzy obserwowali jedno niepowodzenie, po zastosowaniu kompresów z gazy 5 niepowodzeń i aż 8 po użyciu preparatu HemCon®. Zdaniem autorów najmniejsza skuteczność

HemCon[®] wynikała z trudności z upakowaniem sztywnego materiału do rany, co było prostsze w przypadku kompresów gazowych [13]. Englehart z zespołem najlepsze efekty hemostatyczne uzyskał po zastosowaniu TraumaStat[®]. Produkt ten jest zbudowany z włókien krzemionkowych połączonych z polietylenem i pokrywanych pochodnymi chitozanu. Zaletą TraumaStat[®] jest jego bardzo duża powierzchnia osiągana dzięki porowatej strukturze, tak że 1 gram substancji zapewnia powierzchnię ok. 110 m² [13]. Chitozan zapewnia właściwe przyleganie opatrunku do naczyń, a krzemionka aktywuje wewnętrzną drogę krzepnięcia [13]. Zastrzeżenia pod adresem preparatu HemCon[®] zgłaszane przez różnych autorów [12–14] sprawiły, że wyprodukowano zmodyfikowaną formę preparatu hamującego krwawienie pod nazwą ChitoFlex[®] przeznaczonego do hamowania ciężkich krwawień [4]. Ma on zdolność do przylegania do powierzchni tkanek z wytworzeniem elastycznej bariery stabilizującej ranę [4].

Pietramaggiore et al. w modelu doświadczalnym na myszach wykazali, że zastosowanie membrany z chityny skutkuje szybkim zamknięciem rany pełnej grubości poprzez wyraźne zintensyfikowanie procesu angiogenezy [15]. Pobudzenie procesu angiogenezy jest jednym z głównych celów w procesie gojenia rany [16]. Jedną z możliwości jest zwiększenie w środowisku rany poziomu czynników sprzyjających angiogenezie, takich jak: bFGF (*basic fibroblast growth factor*), VEGF (*vascular endothelial growth factor*), PDGF (*platelet-derived growth factor*) [16]. Obara et al. w badaniu doświadczalnym na diabetycznych myszach stosowali opatrunek z chitozanu wzbogaconego o FGF-2 (*fibroblast growth factor 2*) [17]. Czynniki ten stymuluje proliferację fibroblastów i komórek endotelialnych [17]. W miarę biodegradacji chitozanu dochodziło do uwalniania FGF-2, co zdaniem autorów wpływało korzystnie na gojenie rany u zwierząt doświadczalnych [17].

Jak zauważa Guo et al. czynniki wzmagające angiogenezę są wrażliwe i stosunkowo niestabilne, tak więc ich bezpośrednia aplikacja do rany w formie opatrunku ma bardzo ograniczone znaczenie [16]. Dążeniem badaczy z Zhejiang University w Hangzhou (Chiny) było stworzenie substytutu skóry zapewniającego wysoki poziom czynników sprzyjających angiogenezie przez cały okres gojenia rany [16]. Pierwotnie uzyskali materiał zastępczy skóry w formie gąbki zbudowanej z kolagenu i chitozanu połączonych wiązaniami krzyżowymi oraz pokryty silikonowym pseudonaskórkiem. Gąbka kolagenowo-chitozanowa miała średnią wielkość porów około 150 µm, porowatość 95% [18]. Badania eksperymentalne wykazały, że substytut ten posiada zdolność do indukowania regeneracji skóry w ranach ciętych z zadowalającą angiogenezą po 3–4 tygodniach [19]. Kolejnym etapem było zastosowanie plazmidu DNA kodującego wytwarzanie VEGF jako uzupełnienia badanego wcześniej materiału zastępczego skóry [20]. Autorzy wykazali wyraźne wzmocnienie angiogenezy w procesie

gojenia ran ciętych [20]. Ostatecznym wyzwaniem była ocena przydatności opisanego substytutu skóry uzupełnionego kompleksami N, N, N-trimetylochlorek chitozanu (TMC)/plazmid DNA o wymiarach około 200 nm w leczeniu ran oparzeniowych [16].

Rany oparzeniowe są poważnym problemem terapeutycznym. Cechuje je dynamiczny charakter oraz ryzyko zwiększenia obszaru uszkodzenia w miarę upływu czasu [16]. Charakterystyczne dla ran oparzeniowych jest uszkodzenie naczyń i zaburzenia przepływu naczyniowego zarówno w obszarze bezpośrednio oparzoną, jak i tkankach sąsiadujących [21]. Rany oparzeniowe trudno ulegają rewaskularyzacji i wykazują większą skłonność do powikłań infekcyjnych [16].

W modelu doświadczalnym na świniach Guo et al. uzyskiwali ranę oparzeniową na grzbiecie zwierzęcia poprzez przyłożenie rozgrzanego do 99°C cylindra przez 70 sekund. Ranę wycinano do powięzi po 24 godzinach [16]. Wyniki eksperymentu wykazały, że po zastosowaniu substytutu skóry z kompleksami TMC/plazmid DNA obserwowano największą liczbę nowo uformowanych i dojrzałych naczyń krwionośnych w porównaniu do pozostałych badanych grup. Jedynie po zastosowaniu tego substytutu było możliwe już po 14 dniach położenie cienkiego przeszczepu skóry na prawidłowo ukrwione podłoże w ranie. Istotnym spostrzeżeniem autorów było również stwierdzenie, że sama obecność plazmidu DNA nie gwarantuje znaczącego wpływu na angiogenezę, lecz dla pobudzenia tworzenia i dojrzewania naczyń najbardziej korzystne jest działanie kompleksu zawierającego kationowy TMC i plazmid DNA [16].

Kontynuacją badań nad możliwościami wykorzystania terapii genowej w regulacji procesów gojenia skóry było użycie wyżej opisanego substytutu skóry wzbogaconego kompleksami TMC/siRNA (*small interfering RNA*) [22]. W tym przypadku działanie siRNA miało polegać na wyciszeniu funkcji genu odpowiedzialnego za wytwarzanie TGF-β₁ (*transforming growth factor β₁*) [22]. Według obserwacji Metcalfe i Fergusona w ranach embrionów stwierdza się zmniejszone stężenie TGF-β₁, TGF-β₂ i PDGF, przy zwiększonym poziomie TGF-β₃ [23]. Tylko we wczesnym okresie życia płodowego skóra ludzkiego ciała posiada pełne zdolności regeneracyjne [7, 23]. W późniejszych okresach życia nadmierny poziom aktywności TGF-β₁ skutkuje nagromadzeniem składowych macierzy pozakomórkowej, co w konsekwencji prowadzi do tworzenia blizny [23]. Zmniejszenie stężenia tej proteiny zdaniem Liu et al. może mieć istotny wpływ na zredukowanie bliznowacenia w procesie gojenia skóry [22]. Przeprowadzone badania eksperymentalne na zwierzętach wykazały, że w ranach na grzbiecie świń leczonych opisanym substytutem skóry obserwowano mniejsze stężenie TGF-β₁. Autorzy zwracają uwagę, że mechanizm obniżenia poziomu TGF-β₁ może być spowodowany zarówno rezerwarową funkcją substytutu skóry dla siRNA, jak i przerwaniem „autoindukcyjnego” efektu pobudza-

nia wytwarzania TGF- β_1 [22]. Zahamowanie ekspresji TGF- β_1 w eksperymencie przeprowadzonym przez Liu et al. trwało około 30 dni po operacji. Zastosowanie nowego substytutu skóry doprowadziło do powstania po 73 dniach skóry przypominającej strukturą normalną tkankę [22].

Wiele korzystnych właściwości chitozanu skłania badaczy do prób łączenia tego polimeru pochodzenia naturalnego z innymi związkami (np. ze srebrem) mającymi zdolność wpływu na proces gojenia rany. Lu et al. opracowali opatrunek złożony z nanokrystalicznego srebra i chitozanu, który stosowali w leczeniu ran niepełnej grubości na grzbiecie szczura. Rany obejmowały około 10–13% powierzchni ciała zwierzęcia. Jako grupy kontrolne stosowano opatrunki z samego chitozanu oraz ze srebrzanem sulfadiazyny. Po 10 i 13 dniach autorzy oceniali obszar niewygojonej skóry oraz obecność naskórka. Średni czas gojenia po zastosowaniu opatrunków z chitozanu i srebra był krótszy o prawie 4 dni w porównaniu do pozostałych grup i tylko w tej grupie obserwowano obecność naskórka [1]. Zastosowanie przez Lu et al. nanosrebra zamiast jego formy jonowej było istotne z kilku względów. Nanosrebro jest mniej wrażliwe na wpływ czynników środowiska oraz wykazuje większą aktywność antybakteryjną w tym samym stężeniu [1]. Jak wykazały badania Dunna i Edwards-Jonesa srebro w formie jonowej jest szybko inaktywowane, a utrzymanie dużego stężenia wymaga częstej zmiany opatrunków [24]. Zwiększa to dyskomfort pacjenta z powodu dolegliwości bólowych oraz ryzyko nadmiernej ogólnoustrojowej adsorpcji srebra [24]. Porównując stężenie srebra w surowicy krwi Lu et al. stwierdzili w grupie, w której stosowano opatrunek z chitozanu i nanosrebra zdecydowanie mniejsze jego stężenie w stosunku do grupy, w której stosowano srebrzan sulfadiazyny. W pierwszej grupie stężenie srebra po 13 dniach wracało do normy, w drugiej natomiast po 13 dniach było 5-krotnie większe niż norma [1].

Inny rodzaj badań nad zastosowaniem chitozanu jako materiału sprzyjającego procesom gojenia był prowadzony przez badaczy japońskich. Autorzy stworzyli lepki, wodny roztwór chitozanu łącząc go z p-azydkiem kwasu benzoowego i laktozą (Az-CH-LA). Około 2,5% grup aminowych chitozanu zostało połączonych z p-azydkiem kwasu benzoowego, a około 2% zostało podstawionych przez laktozę. Chitozan miał wagę molekularną 800–1000 kDa, a stopień deacetylacji 0,8. Roztwór Az-CH-LA był przekształcany w nierozpuszczalny hydrożel poprzez naświetlanie promieniowaniem ultrafioletowym z odległości 2 cm. Hydrożel ten miał właściwości silnego przylegania do tkanek. Preparat był badany w modelu doświadczalnym na myszach po wykonaniu nacięcia skóry pełnej grubości na grzbiecie zwierzęcia. Po zastosowaniu badanego hydrożelu obserwowano zaawansowane formowanie się tkanki ziarninowej i proces epitelizacji [2]. Zdaniem Ishihary et al. forma hydrożelowa chitozanu jest najbardziej skutecz-

na, ponieważ zapewnia odpowiednią wilgotność [2]. Jak zwracają uwagę autorzy, przylegające do żelu chitozanowego fibroblasty są pobudzane do wydzielania interleukiny 8 (IL-8), która przyspiesza procesy angiogenezy i epitelizacji [2]. Istotnym spostrzeżeniem Ishihary et al. było stwierdzenie, że hydrożel chitozanowy powodował zmniejszenie rozmiarów rany we wczesnym okresie gojenia [2]. W miarę upływu czasu hydrożel chitozanowy podlegał biodegradacji w wyniku działania lizozymu [2].

Kontynuacja badań nad hydrożelem chitozanowym polegała na jego modyfikacji poprzez dodanie *serum-free culture medium* (DMEM/F12). W badaniach na szczurach Kiyozumi i wsp. wykazali, że zmodyfikowany hydrożel jest biokompatybilny i biodegradowalny. Przyspiesza on proces tworzenia nowych naczyń i reepitalizację w ranach skóry pełnej grubości [25]. Kolejny etap badań dotyczył przydatności hydrożelu chitozanowego w leczeniu głębokich oparzeń. Kiyozumi et al. porównywali skuteczność opatrunku hydrożelowego z chitozanu i opatrunku kolagenowego (Terudermis®, Terumo Co.). W obu badanych grupach czas potrzebny do zamknięcia rany był podobny, ale po zastosowaniu opatrunku z chitozanu grubość tkanki ziarninowej była większa [26]. Szybszy był również w tej grupie proces tworzenia nowych naczyń oraz grubsza warstwa wytworzonego naskórka [26]. Zaletą opatrunku chitozanowego była jego szybsza biodegradacja w stosunku do kolagenu, która zdaniem autorów była wynikiem stosowanego jako dodatek podłoża DMEM/F12. Szybsza degradacja hydrożelu spowodowała zmniejszenie liczby neutrofilów w ranie, co w konsekwencji doprowadziło do osłabienia procesów zapalnych i wytworzenia grubszego naskórka [26].

Podsumowanie

Chityna i chitozan są polimerami pochodzenia naturalnego. Mają wiele korzystnych właściwości, które zdecydowanie dominują nad ich słabościami, np. małą wytrzymałością mechaniczną. Jak pokazuje praktyka doświadczalna, jest możliwe modyfikowanie tych cech poprzez właściwe pozyskiwanie materiału z odpowiedniego źródła [3]. Chemiczna i enzymatyczna modyfikowalność chityny i chitozanu czyni z nich materiały dające się łączyć z innymi związkami, niekoniecznie pochodzenia naturalnego [27]. Odpowiednie dobranie składowych preparatu może potęgować korzystne właściwości samego chitozanu, jak i dodanego związku. Zarówno chityna, jak i chitozan mogą służyć jako główna składowa materiałów opatrunkowych, ale również jako nośnik określonych substancji, np. plazmid DNA, siRNA [16, 22]. Okazuje się bowiem, że kationowy charakter chitozanu jest niezwykle istotny dla potęgowania efektu tego typu terapii. Wiele prowadzonych badań doświadczalnych wskazuje na nowe drogi w możliwościach zastosowania chityny i chitozanu w formie aktywnych biologicznie opatrunków w leczeniu różnego rodzaju ran.

Piśmiennictwo

- [1] Lu S., Gao W., Gu H.Y.: Construction, application and biosafety of silver nanocrystalline chitosan wound dressing. *Burns* 2008, 34, 623–628.
- [2] Ishihara M., Nakanishi K., Ono K., Sato M., Kikuchi M., Saito Y., Yura H., Matsui T., Hattori H., Uenoyama M., Kurita A.: Photocrosslinkable chitosan as a dressing for wound occlusion and accelerator in healing process. *Biomaterials* 2002, 23, 833–840.
- [3] Yamaguchi I., Itoh S., Suzuki M., Sakane M., Osaka A., Tanaka J.: The chitosan prepared from crab tendon I: the characterization and the mechanical properties. *Biomaterials* 2003, 24, 2031–2036.
- [4] Muzzarelli R.A.: Chitins and chitosans for the repair of wounded skin, nerve, cartilage and bone. *Carbohydr. Polym.* 2009, 76, 167–182.
- [5] Pighinelli L., Kucharska M.: Chitosan-hydroxyapatite composites. *Carbohydr. Polym.* 2013, 93, 256–262.
- [6] Cheng Y.H., Yang S.H., Liu C.C., Gefen A., Lin F.H.: Thermosensitive hydrogel made of ferulic acid-gelatin and chitosan glycerophosphate. *Carbohydr. Polym.* 2013, 92, 1512–1519.
- [7] Gosk J.: Materiały zastępcze skóry – terażniejszość i przyszłość. *Polim. Med.* 2012, 42, 109–114.
- [8] Winter G.D.: Formation of the scab and the rate of epithelization of superficial wounds in the skin of the young domestic pig. *Nature* 1962, 20, 293–294.
- [9] Purna S.K., Babu M.: Collagen based dressings – a review. *Burns* 2000, 26, 54–62.
- [10] Chen X.G., Wang Z., Liu W.S., Park H.J.: The effect of carboxymethyl-chitosan on proliferation and collagen secretion of normal and keloid skin fibroblasts. *Biomaterials* 2002, 23, 4609–4614.
- [11] Palmer B.L., Gantt D.S., Lawrence M.E., Rajab M.H., Dehmer G.J.: Effectiveness and safety of manual hemostasis facilitated by the Syvek-Patch with one hour of bedrest after coronary angiography using six-French catheters. *Am. J. Cardiol.* 2004, 93, 96–97.
- [12] Gustafson S.B., Fulkerson P., Bildfell R., Aguilera L., Hazzard T.M.: Chitosan dressing provides hemostasis in swine femoral arterial injury model. *Prehosp. Emerg. Care* 2007, 11, 172–178.
- [13] Englehart M.S., Cho S.D., Tieu B.H., Morris M.S., Underwood S.J., Karahan A., Muller P.J., Differding J.A., Farrell D.H., Schreiber M.A.: A novel highly porous silica and chitosan-based hemostatic dressing is superior to HemCon and gauze sponges. *J. Trauma* 2008, 65, 884–890.
- [14] Wedmore I., McManus J.G., Pusateri A.E., Holcomb J.B.: A special report on the chitosan-based hemostatic dressing: experience in current combat operations. *J. Trauma* 2006, 60, 655–658.
- [15] Pietramaggiore G., Yang H.J., Scherer S.S., Kaipainen A., Chan R.K., Alperovich M., Newalder J., Demcheva M., Vournakis J.N., Valeri C.R., Hechtman H.B., Orgill D.P.: Effects of poly-N-acetyl glucosamine (pGlcNAc) patch on wound healing in db/db mouse. *J. Trauma* 2008, 64, 803–808.
- [16] Guo R., Xu S., Ma L., Huang A., Gao C.: The healing of full-thickness burns treated by using plasmid DNA encoding VEGF-165 activated collagen-chitosan dermal equivalents. *Biomaterials* 2011, 32, 1019–1031.
- [17] Obara K., Ishihara M., Ishizuka T., Fujita M., Ozeki Y., Maehara T., Saito Y., Yura H., Matsui T., Hattori H., Kikuchi M., Kurita A.: Photocrosslinkable chitosan hydrogel containing fibroblast growth factor-2 stimulates wound healing in healing-impaired db/db mice. *Biomaterials* 2003, 24, 3437–3444.
- [18] Shi Y., Ma L., Zhou J., Mao Z., Gao C.: Collagen/chitosan-silicone membrane bilayer scaffold as a dermal equivalent. *Polym. Adv. Technol.* 2005, 16, 789–794.
- [19] Ma L., Shi Y., Chen Y., Zhao H., Gao C., Han C.: *In vitro* and *in vivo* biological performance of collagen-chitosan/silicone membrane bilayer dermal equivalent. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 2007, 18, 2185–2191.
- [20] Guo R., Xu S., Ma L., Huang A., Gao C.: Enhanced angiogenesis of gene-activated dermal equivalent for treatment of full thickness incisional wounds in a porcine model. *Biomaterials* 2010, 31, 7308–7320.
- [21] Zawacki B.E.: Reversal of capillary stasis and prevention of necrosis in burns. *Ann. Surg.* 1974, 180, 98–102.
- [22] Liu X., Ma L., Liang J., Zhang B., Teng J., Gao C.: RNAi functionalized collagen-chitosan/silicone membrane bilayer dermal equivalent for full-thickness skin regeneration with inhibited scarring. *Biomaterials* 2013, 34, 2038–2048.
- [23] Metcalfe A.D., Ferguson M.W.J.: Tissue engineering of replacement skin: the crossroads of biomaterials, wound healing, embryonic development, stem cells and regeneration. *J.R. Soc. Interface* 2007, 4, 413–437.
- [24] Dunn K., Edwards-Jones V.: The role of Acticoat™ with nanocrystalline silver in the management of burns. *Burns* 2004, 30, S1–S9.
- [25] Kiyozumi T., Kanatani Y., Ishihara M., Saitoh D., Shimizu J., Yura H., Suzuki S., Okada Y., Kikuchi M.: Medium (DMEM/F12)-containing chitosan hydrogel as adhesive and dressing in autologous skin grafts and accelerator in the healing process. *J. Biomed. Mater. Res. B. Appl. Biomater.* 2006, 79, 129–136.
- [26] Kiyozumi T., Kanatani Y., Ishihara M., Saitoh D., Shimizu J., Yura H., Suzuki S., Okada Y., Kikuchi M.: The effect of chitosan hydrogel containing DMEM/F12 medium on full-thickness skin defects after deep dermal burn. *Burns* 2007, 33, 642–648.
- [27] Nillesen S.T., Geutjes P.J., Wismans R., Schalkwijk J., Daamen W.F., van Kuppevelt T.H.: Increased angiogenesis and blood vessel maturation in acellular collagen-heparin scaffolds containing both FGF2 and VEGF. *Biomaterials* 2007, 28, 1123–1131.

Adres do korespondencji:

Piotr Mazurek
Katedra Chirurgii Urazowej, Klinika Chirurgii Urazowej i Chirurgii Ręki
Uniwersytet Medyczny
ul. Borowska 213
50-556 Wrocław
tel. 71 734 38 00
faks. 71 734 38 09
e-mail: chiruraz@umed.wroc.pl

Konflikt interesów: nie występuje.

Praca wpłynęła do Redakcji: 12.11.2013 r.

Po recenzji: 29.01.2014 r.

Zaakceptowano do druku: 29.01.2014 r.

Received: 12.11.2013

Revised: 29.01.2014

Accepted: 29.01.2014