

Andamios de quitosano con L-Arginina para su aplicación en salud dental

L-Arginine Chitosan Scaffolds For Oral Health Applications

Enxerto L-arginina para á aplicação na Saúde Oral

Santiago Herrera-Guardiola¹
Mayra Eliana Valencia²

Recibido: 28 de abril de 2021

Aprobado: 22 de mayo de 2021

Publicado: 12 de julio de 2021

Cómo citar este artículo:

Santiago Herrera-Guardiola, Mayra Eliana Valencia. Andamios de quitosano con L-arginina para su aplicación en salud dental. Revista Nacional de Odontología. (2021); 17(2), 1-21.
doi: <https://doi.org/10.16925/2357-4607.2021.02.07>

Artículo de revisión. <https://doi.org/10.16925/2357-4607.2021.02.07>

¹ Estudiante de Maestría en Ciencias Odontológicas, Universidad del Valle, Cali – Colombia.

Correo electrónico: santiago.ortodonciaestetica@gmail.com

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0877-6909>

² Doctorado en Ingeniería, Grupo de Materiales Compuestos, Escuela de Ingeniería de Materiales, Universidad del Valle, Cali - Colombia.

Correo electrónico: alencia.mayra@correounivalle.edu.co

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9001-2045>

Resumen

Los andamios son usados actualmente en salud para dar soporte estructural a tejidos, guiar el crecimiento celular, controlar colonias bacterianas y promover procesos metabólicos. Se ha planteado varios métodos de conformado y dependiendo de sus características físicas pueden ser aplicadas a diferentes enfoques en áreas de salud. La siguiente revisión ilustra cómo han influido los avances de los andamios (scaffolds) de quitosano en el ámbito de bioingeniería y salud, su relación con aminoácidos, métodos de elaboración de hidrogeles, y cuáles serían sus principales beneficios para una terapéutica según objetivos de los tratamientos contemporáneos en odontología. Se realizó una revisión en las bases de datos Scopus y Web of Science y se tuvieron en cuenta 23 artículos originales de investigaciones in-vitro, de modelo animal, cohortes, ensayos clínicos aleatorizados. Se concluye que los andamios de quitosano son propicios para ser usados en tejidos, y dependiendo de su grado de desacetilación y peso molecular pueden ser útiles para diferentes objetivos biológicos. No existe un protocolo establecido y no se pudo encontrar una relación de efectividad entre el peso molecular o su grado de desacetilación con la función biológica a evaluar. Se requiere mayor investigación para poder aplicarlo a las diferentes especialidades odontológicas.

Palabras clave: quitosano, andamios de tejido, arginina, odontología, hidrogeles.

Abstract

Scaffolds are used in health specialties to bring structural support in tissues, guide cellular grow, control bacterial colonies and promote metabolic process. It has been reported several forming methods and depending on the physical characteristics of the scaffold could be applied in different health specialties. The following review elucidate the advances of the chitosan scaffold in bioengineering and health, it's relation with amino acids as Arginine, hydrogel processing methods and finally the benefits to bring a proper treatment in actual dentistry. 23 original papers were used in the review; from in vitro reports, cohorts, RCT's and animals' investigations. The use of chitosan scaffolds could be applied on tissues, but the desacetylation degree (DD) and the molecular weight specify the biological target. Has been reported different synthesis protocols, and there's no proved relationship between the molecular weight or its DD with the biological function. It's important to investigate more about the chitosan scaffolds to apply into dental specialties.

Keywords: Chitosan; Tissue scaffold; Arginine; Dentistry; Hydrogels

Resumo

Atualmente, os scaffolds são utilizados na saúde para fornecer suporte estrutural aos tecidos, orientar o crescimento celular, controlar colônias bacterianas e promover processos metabólicos. Vários métodos de conformação têm sido propostos e, dependendo de suas características físicas, podem ser aplicados a diferentes abordagens na área da saúde. A revisão a seguir ilustra como os avanços nos scaffolds de quitosana influenciaram o campo da bioengenharia e da saúde, sua relação com aminoácidos, métodos de produção de hidrogel e quais seriam seus principais benefícios para a terapêutica de acordo com os objetivos do tratamento. Foi realizada uma revisão nas bases de dados Scopus e Web of Science e foram considerados 23 artigos originais de pesquisas in vitro, modelos animais, coortes e ensaios clínicos randomizados. Conclui-se que os scaffolds de quitosana são propícios para serem utilizados em tecidos e, dependendo do seu grau de desacetilação e peso molecular, podem ser úteis para diferentes objetivos biológicos. Não há protocolo estabelecido e não foi possível encontrar uma relação efetiva entre o peso molecular ou seu grau de desacetilação com a função biológica a ser avaliada. Mais pesquisas são necessárias para poder aplicá-lo às diferentes especialidades odontológicas.

Palavras-chave: quitosana, scaffolds teciduais, arginina, odontologia, hidrogéis.

1. Introducción

El quitosano es un co-polímero tipo amino-polisacárido compuesto por una estructura D-glucosamina y otra N-acetil-D-glucosamina (1), y es obtenido mediante desacetilación de la quitina. A pesar que el quitosano presenta muy buenas propiedades biológicas, se ha experimentado la mezcla con diferentes aminoácidos para mejorar sus propiedades fisicoquímicas, mucoadhesión y solubilidad, y desarrollar productos seguros y eficientes (2)(3). Los hidrogéles son una red de cadenas que forman un polímero hidrofílico capaz de absorber agua y son estables ante la presencia de saliva (1). Hidrogeles de quitosano son usados como agentes liberadores de fármacos en distintas áreas de la medicina por la alta eficiencia en la liberación de elementos terapéuticos en sitios específicos (siendo la piel su principal lugar de acción) (4), dado que evitan el efecto de la primera fase metabólica del medicamento. Específicamente en la acción transdérmica hay una ventaja para el paciente y es un control de la tasa de liberación del fármaco, de igual forma, puede retirarse o interrumpirse el efecto farmacéutico si se elimina el gel (1)(2)(4).

Los avances tecnológicos en el área de salud, publicados en reportes *in vitro* y modelos animales, han promovido el uso actual de andamios o "scaffolds" para lograr una mayor efectividad en los tratamientos (5).

El uso de andamios de quitosano se ha extendido en áreas como cirugía cardiovascular, neurología y dermatología, dado que se es más precisa la distribución del componente reparativo de la gran mayoría de los hidrogeles (6) y en estos campos se encuentra que los hidrogeles compuestos por quitosano, confieren una mayor angiogénesis (7), promueven la cicatrización (8) y diferenciación celular, aumentan la matriz extracelular ósea y el linaje celular osteoblástico y osteoclastico, y bactericida (9).

En la práctica odontológica los esfuerzos están dados en las áreas de endodoncia y periodoncia donde se han reportado novedosos avances para promover una mayor efectividad en regeneración pulpar (10)(11)(12)(13), en injertos óseos (14) y control de infecciones (9). Por su parte, la tendencia actual de los procesos de ortodoncia es que se disminuyan los tiempos de tratamiento, así mismo, evitar en gran medida los efectos deletéreos del movimiento dental controlado. En cuanto a las posibilidades de aceleración del movimiento existen múltiples enfoques, entre los cuales se encuentran la estimulación por vibración (15)(16)(17), láser de baja intensidad (18)(19), múltiples enfoques quirúrgicos (piezosición, corticotomía, o cirugías para generar Fenómeno de Aceleración Regional-RAP) (20)(21)(22) y actualmente se ha reportado que hay variaciones genéticas que favorecen el movimiento dental, pero así mismo hay efectos deletéreos sobre las raíces dentales (23). Sin embargo, existe una posible vía no quirúrgica, sin aplicación de radiación, ésta es mediante el uso de hidrogeles

que promueven la estimulación con fármacos que contienen precursores de Óxido Nítrico como mediadores para eliminar los posibles efectos adversos. Por tal motivo es de gran importancia esclarecer el papel de los elementos usados en las técnicas no quirúrgicas de aceleración del movimiento; interacción con los diferentes tipos de células, metabolismo, y seguridad del medicamento.

El objetivo de la siguiente revisión es dilucidar cómo han influido los avances de los andamios (scaffolds) en el ámbito de bioingeniería y salud, su relación con aminoácidos como la arginina, el conformado de hidrogeles, y cuáles serían sus principales beneficios para una terapéutica más acorde con los objetivos de los tratamientos contemporáneos en odontología.

2. Materiales y métodos

Se utilizó la ecuación de búsqueda con las palabras clave *Scaffold And Chitosan And L-Arginine And Dental And "Nitric Oxide"* en los motores de búsqueda Scopus y Web of Science. Solamente se tuvieron en cuenta los artículos originales de investigaciones *in vitro*, de modelo animal, cohortes, ensayos clínicos aleatorizados. Se excluyeron los reportes de casos, capítulos de libro o cartas al editor, artículos de revisión / metaanálisis. Se obtuvieron inicialmente 76 artículos, se descartaron de primera medida los artículos duplicados y acto seguido se aplicaron los criterios de inclusión y exclusión. Finalmente, al realizar los filtros se aceptaron 43 artículos, 23 obtenidos mediante el motor de búsqueda de Scopus y 18 de Web of Science. Todos estos artículos son presentados en la figura 1 y descritos en la tabla 1.

Los artículos escogidos fueron clasificados para determinar los efectos de la aplicación de los hidrogeles según el grupo de células objetivos; los tiempos de investigación; tipo de biomodelos si llegase a tener o reportes en humanos. De igual forma se clasificaron los hidrogeles dependiendo del aminoácido, método de conformado y concentración de liberación del óxido nítrico o la concentración del aminoácido.

Los andamios de quitosano están en gran medida asociados a la aplicación en ingeniería tisular para ciertos procesos biológicos como la cicatrización, la angiogénesis (neoformación de vasos sanguíneos), y la reparación de tejidos.

No obstante, se ha planteado el uso de andamios para la liberación de medicamentos o fármacos que están directamente asociadas a ciertos tipos celulares (24).

Todos los enfoques están dirigidos directa o indirectamente a mejorar o acelerar procesos de restauración de tejidos o cicatrización donde se encuentran asociados varios procesos biológicos; Angiogénesis, aumento de interleuquinas y

marcadores pro-inflamatorios, proliferación de macrófagos y células asociadas al proceso inflamatorio.

BIOINGENIERÍA – ANDAMIOS

Los andamios son una tendencia actual en bioingeniería, donde se centran los esfuerzos en el soporte de estructuras biológicas como transplantes o implantes (25). Los andamios se encuentran como hidrogeles, láminas, esponjas o mallas fibrilares. En la revisión efectuada se encontraron 33 artículos de hidrogeles, 4 de membranas/láminas y 2 reportes en solución, los cuales son mostrados en la tabla 1.

El andamio es una estructura que debe, en principio, dar un soporte a los tejidos circundantes y permitir la adhesión celular y una mayor interconexión entre las células. Su conformado se realiza generalmente a temperatura ambiente; sin embargo, Scialla y col, reportan que las membranas que son tratadas con quitosano mejoran y aumentan dichas funciones, en especial si se realiza un protocolo de calentamiento – enfriamiento y luego se adicionan aminoácidos como la L-arginina, dando diferencias significativas cuando se exponen a campos magnéticos (26). Los andamios se pueden obtener a partir de materiales como el alginato, fucoídano(27), hidroxiapatita (28), bioglass (29), y fibras de polielectrolitos interfaciales de complejación (30), siendo el quitosano el más reportado y usado posiblemente por su accesibilidad y estabilidad.

Una vez disuelto el quitosano en soluciones acuosas de ácido acético o ácido poliláctico(31), se le pueden añadir excipientes que mejoren sus propiedades biológicas como son los aminoácidos(32), oligosacáridos (33), o sales (34). Nitti y col reportan el uso de aminoácidos como la L-arginina, siendo ésta una molécula que genera dos efectos; el primero bioquímico de estabilidad en la estructura del andamio que produce una mayor capacidad de unión y polimerización entre los elementos del andamio; y un efecto biológico otorgándole a los fibroblastos una mayor capacidad de biocompatibilidad y modulador de las interacciones entre las células objetivo y el andamio (25). Aldana y col reportan, en contraste, que láminas de quitosano con un lado dendronizado en fibroblastos y macrófagos no estimulan o producen un perfil inflamatorio en dichas células durante las 48 horas del estudio; sin embargo, si hay un perfil alternativo del metabolismo de la L-Arginina en los macrófagos mejorando la proliferación celular y cicatrización de tejidos (35). Susanthy y col reportan, por el contrario, que al adicionar glucosa al hidrogel de quitosano se reduce la resistencia mecánica y razón de gelación (34). Sin embargo, el agregar la glucosa antes o después del proceso de esterilización pueden llegar a tener diferentes efectos en el hidrogel; si se agrega antes conlleva a una reacción Mailard o efecto de bronceado (browning

effect), mientras que al agregarlo después se incrementa la cantidad de moléculas de agua libre (34).

La diferenciación celular, es un proceso biológico útil para promover el crecimiento de tejidos o aumento de la actividad metabólica celular. Nie y col reportan en modelo animal el uso de hidrogeles de quitosano con beta-Galactosa. La secreción de óxido nítrico en las células embrionarias de tejido endotelial produce un efecto de diferenciación tisular sin requerir de factores extrínsecos, pero debe tener una concentración mínima de 0.5 ug/ml de beta-Galactosa para obtener el óxido nítrico necesario (36). Así mismo Gurumurthy y col reportan un efecto osteogénico de diferenciación celular con la aplicación de andamios de compuestos con bioglass en comparación con los andamios de colágeno y polipéptidos de elastina (29). Dichos procesos aseguran un linaje celular y un crecimiento de los tejidos, siendo un ámbito terapéutico actual de gran relevancia por la necesidad de aumentar el metabolismo y recambio celular en tratamientos de injertos (37), implantes o posibles procesos de ortodoncia. Zhang y col emplearon hidrogeles de quitosano que liberaban óxido nítrico para evaluar el potencial angiogénico y de diferenciación de células endoteliales, dichos resultados aumentan la tasa de supervivencia de injertos (37).

En la línea celular ósea, Yoon y col compararon un hidrogel de glicol con quitosano y glicidil metacrilato con precursores de formación ósea como lo son la BMP-2 (proteína morfogenética ósea -2) y TGF- β 1, siendo el hidrogel de glicol con quitosano el mejor para potenciar la diferenciación ósea y el crecimiento de células *in vitro* e *in vivo* (38). Así mismo Song y col hicieron un test para probar la eficacia de un hidrogel de quitosano con colágeno y precursoras de BMP-2 y microesferas de gelatinasa, siendo útil para la liberación constante de BMP-2 y su posibilidad de regenerar hueso o cubrir defectos óseos de gran tamaño que no pueden ser tratados con las técnicas de regeneración convencionales(39); encontrando que con un andamio de quitosano con 1% de tripolifosfato, la proteína morfogenética ósea-2 puede tener adecuados resultados en laboratorio con cultivos de osteoblastos, siendo un andamio viable para continuar con fase en modelo animal y humano (40)(41).

En cuanto a las características del quitosano empleado en estas investigaciones, o elementos secundarios, según los reportes, se han empleado quitosanos con grados de desacetilación entre 75 y 96%, en concentraciones que varían entre 1 - 20%; encontrándose que concentraciones inferiores generan una solución muy fluida, mientras que concentraciones mayores incrementan la porosidad y rigidez (42)(43).

ANGIOGÉNESIS

La angiogénesis es un proceso donde se forman nuevos vasos sanguíneos (44), y es la clave para que procesos, como la cicatrización o reparación de heridas y osificación, se puedan llevar a cabo (44). Todos los procesos biológicos son capaces de realizarse gracias a los nuevos vasos sanguíneos que entregan oxígeno y componentes requeridos para la actividad metabólica proinflamatoria. En la medida que se formen más vasos sanguíneos se puede lograr una mayor efectividad en la reparación de tejidos y formación ósea (45)(46) (47)(7).

Con respecto a los procesos de angiogénesis, la siguiente revisión constó de publicaciones *in vitro* de cultivos celulares, y solamente hubo un reporte en animales. Los ensayos *in vitro* muestran una mayor permeabilidad de vasos y diferenciación celular más acelerada (45)(46) (47)(7)(48); sin embargo, lo que difiere en todos los estudios es la concentración del quitosano, el grado de desacetilación (DD) y el peso molecular (M_w) que está asociado con la viscosidad. Kocak y col elaboraron hidrogeles a partir de quitosano con M_w entre 100 – 300 KDa, en concentraciones entre 5-6% en solución de ácido acético. La muestra con 5% mostró mayor eficiencia con respecto a la angiogénesis (48).

Albaghdadi y col (49), usaron una concentración de quitosano de bajo peso molecular de 100 mg / ml de solución con un proceso de activación previa por luz en la caracterización de cultivo celular de arterias porcinas, obteniéndose un efecto de soporte y de angiogénesis sobre el cultivo realizado en condiciones *ex viva*.

Swarnalatha y col, se realizaron andamios con quitosano con M_w entre 100-150 kDa y 87% de DD. El andamio se preparó a partir de una solución al 4% de quitosano en ácido poliláctico obteniéndose el efecto de angiogénesis endotelial; sin embargo, la adición de colágeno al andamio ocasiona una mayor biocompatibilidad y viabilidad celular (31).

De los reportes en biomodelos, Aussel y col, realizaron un estudio *in vitro* e *in vivo*, donde se implantaron de manera subcutánea discos de quitosano en ratas Wistar hembras, lográndose una modulación de la respuesta inflamatoria a favor de los macrófagos de fenotipo M2; y a nivel *in vitro* se obtuvo una función óptima de las células endoteliales al estar en contacto con el hidrogel de quitosano, tal y como fuesen fisiológicamente. Estos resultados apoyan el uso de andamios de hidrogel de quitosano para tratamientos vasculares e ingeniería vascular (50).

Se puede evidenciar por consiguiente que andamios basados en quitosano cargados con óxido nítrico inducen un proceso más apresurado en la neoformación de los vasos sanguíneos estimulado por la llegada de citoquinas (factores inductores) pro-inflamatorias pero no hay un patrón donde se demuestre que la concentración del

quitosano acelere o disminuya el proceso inflamatorio. Con respecto a la porosidad de la membrana o el hidrogel se tiene que una mayor porosidad genera una mayor interconexión y aceleración en la neo formación de vasos sanguíneos (50)(31)(47)(49).

CICATRIZACIÓN

Los procesos de cicatrización surgen después de una injuria o herida sobre los tejidos; estos generan un proceso de inflamación para establecer una cantidad suficiente de células que median un posible acceso de elementos infecciosos y logran una mayor permeabilidad de vasos sanguíneos que traen consigo citoquinas y moléculas que posibilitan una regeneración de los tejidos. Es por lo anterior que lograr aumentar la capacidad resolutive o disminuir los tiempos de cicatrización son imperantes en enfoques terapéuticos modernos. En general el uso de precursores del óxido nítrico o mediadores proinflamatorios deben ser evaluados con cautela, dadas las implicaciones que pueden generarse si se sobrepasan los niveles de concentración y se genera un evento adverso (32).

En la primera línea de evaluación están los procesos de viabilidad celular y citotoxicidad, en donde a partir de pruebas como el test de MTT, se relacionan los andamios con diferentes líneas celulares en un ambiente controlado (*in-vitro*) y se observan los posibles efectos sobre las mismas. En fibroblastos, se han realizado pruebas con andamios a 24, 48 y 72 horas, resultando un proceso normal sin toxicidad, pero confiriéndole mejorías en sus propiedades mecánicas de resistencia a tensión. Al añadirle aminoácidos como la L-Arginina, los fibroblastos tuvieron una mayor viabilidad en comparación con el ácido glutámico y la lisina (32). Así mismo en células endoteliales umbilicales venosas humanas se observó en 24, 48 y 72 horas una mayor concentración de óxido nítrico usando un hidrogel de quitosano con un método de síntesis de temperatura reversa, siendo estos valores significativos y promisorios para mejorar el ambiente pro inflamatorio / curativo (51). Dichos aumentos en las concentraciones de óxido nítrico en la zona de cicatrización, promueven la diferenciación celular y en el caso del tejido óseo hay una activación del proceso de diferenciación de condroblastos, que por osificación endocondral promueve la maduración de osteoblastos y éstos a su vez logran llevar a cabo la calcificación del tejido cartilaginoso para obtener hueso (46).

LIBERACIÓN DE MEDICAMENTOS

Con respecto a la liberación de medicamentos se han realizado pruebas para incorporar los andamios en terapéuticas farmacológicas localizadas; sin embargo, son

enfoques que no han logrado hacerse en humanos por su falta de evidencia científica. Es de recalcar que "liberación de fármacos" consiste en el proceso de interacción con un tejido o grupo de células localizadas, en el caso del quitosano dicha liberación se da mediante la degradación de este. Uno de los reportes que llama la atención es el enfoque de Miller y col, donde usan hidrogeles en fibras hechas de polielectrolitos interfaciales de complejación (IPC), siendo una técnica que puede lograr reparación de tejido neuronal y generar interconexiones entre fibras por su alta capacidad de soporte en la dirección de reparación neural durante días o meses (30). Esta metodología ha sido propuesta por varios autores (52)(7)(6)(49)(42), y consiste en el uso de andamios que secreten ciertos tipos de elementos farmacéuticos localizados en el sitio de interés, en tratamientos médicos cardiovasculares donde es compleja la interacción célula-fármaco; sin embargo, son estudios *in vitro* que valen la pena continuar su desarrollo. No hay reportes de andamios que sean transportadores de fármacos y lleguen al sitio de intervención, lo que se logra con los andamios es una regulación *in situ* que permite una recuperación o reparación de los tejidos a partir de los elementos que se le puedan adicionar durante la elaboración del mismo (52)(7)(6)(49)(42).

BACTERICIDA

Los efectos bactericidas o de supresión de colonias bacterianas están dados por la liberación en general del quitosano (8)(33)(28)(9). Diferentes investigaciones reportan hidrogeles de quitosano con polietilenglicol, con oligosacáridos y nano-hidroxiapatita. El efecto sobre las colonias bacterianas de los andamios de quitosano con L-arginina está mediado en dos fases; la primera por la liberación del óxido nítrico, que reacciona con el oxígeno y superóxidos para formar intermediarios altamente reactivos que tienen la capacidad de eliminar varios tipos de bacterias. La segunda fase es por efecto de contracción del biofilm de bacterias, dicha contracción aumenta la elasticidad del biofilm pero disminuye la difusión de partículas (33). Los resultados anteriores se han obtenido contra bacterias como *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus mutans*, *Enterococcus faecalis*.

Con respecto a los estudios anteriores, se puede resumir que con respecto al efecto bactericida, los andamios de quitosano son estructuras que tienen la capacidad de controlar de manera eficiente colonias bacterianas sin necesidad de usar antibióticos.

3. Conclusiones

El uso de los andamios de quitosano con L-arginina concede mejorías en las diferentes funciones biológicas estudiadas, comparado el no uso de los mismos; sin embargo, no hay forma de comparar si características como el grado de desacetilación o el peso molecular del quitosano pueden influenciar procesos como la cicatrización, angiogénesis, bactericida o aceleración metabólica.

En los andamios que se adicionan algún aminoácido tienen, en comparación con aquellos que no lo presentan, mejores características en las funciones comparadas.

Se propone el uso de andamios de quitosano con aminoácidos para especialidades en el área de la salud y mejorar dichos procesos metabólicos, pero se propone realizar un mapeo y caracterización para evaluar la efectividad de los diferentes tipos de hidrogeles en las funciones biológicas. En odontología el uso de dichos hidrogeles puede ser muy favorable por tratarse de enfoques poco invasivos.

4. Anexos

ANEXOS

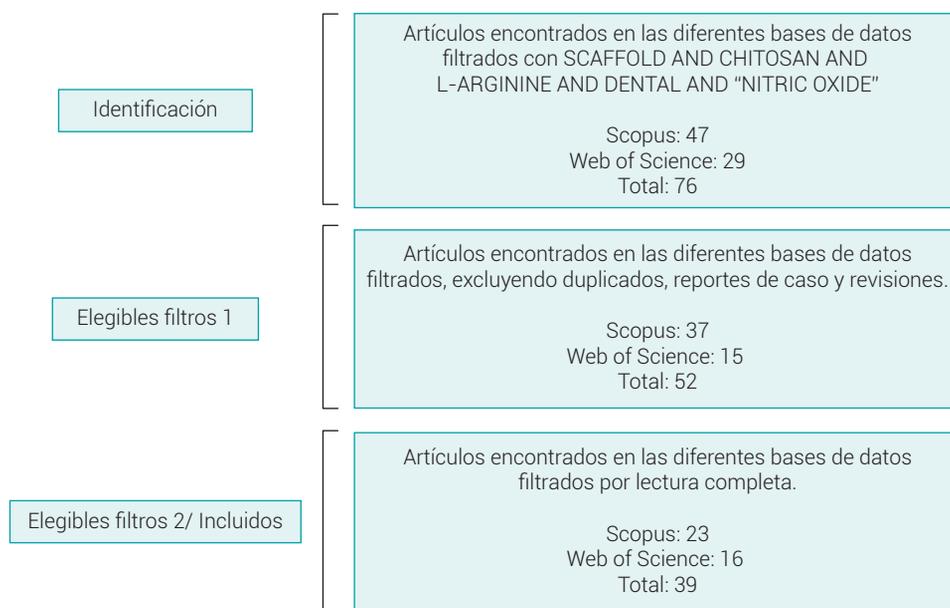


Figura 1. Diagrama de flujo del proceso de búsqueda y selección de artículos durante la revisión de literatura.

Tabla 1. Artículos aceptados para revisión del motor de búsqueda SCOPUS y WEB OF SCIENCE.

Nombre	Autores	Journal	Tipo de estudio	Concentración	Aplicación / Resultados de Interés	Año
Effect of L-Arginine treatment on the in vitro stability of electrospun aligned chitosan nanofiber mats	Nitti P., Gallo N., Palazzo B., Sannino A., Polini A., Verri T., Barca A., Gervaso F.	Polymer Testing	in-vitro	Quitosano de baja viscosidad con 400 kDa. L-arginina	Ingeniería de tejidos	2020
Dendronization of chitosan films: Surface characterization and biological activity	Aldana A.A., Barrios B., Strumia M., Correa S., Martinelli M.	Reactive and Functional Polymers	in-vitro	Quitosano con L-arginina	48 horas de evaluación en macrófagos y fibroblastos	2016
A nitric oxide-releasing hydrogel for enhancing the therapeutic effects of mesenchymal stem cell therapy for hindlimb ischemia	Zhang K., Chen X., Li H., Feng G., Nie Y., Wei Y., Li N., Han Z., Han Z.-C., Kong D., Guo Z., Zhao Q., Li Z.	Acta Biomaterialia	in-vitro; modelo animal	Hidrogel de quitosano	Injertos en células madre	2020
Antibacterial 3D bone scaffolds for tissue engineering application	Pant J., Sundaram J., Goudie M.J., Nguyen D.T., Handa H.	Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials	in-vitro	Nano-hidroxiapatita con quitosano	Efecto bactericida	2019
Cell and tissue responses at the interface with a chitosan hydrogel intended for vascular applications: In vitro and in vivo exploration	Aussel A., Boiziau C., L'Azou B., Siadous R., Delmond S., Montembault A., David L., Bordenave L., Thébaud N.-B.	Biomedical Materials (Bristol)	in-vitro; modelo animal y cell de cordón umbilical	-	Angiogénesis en células de cordón umbilical.	2019
Role of Nitric Oxide-Releasing Chitosan Oligosaccharides on Mucus Viscoelasticity	Reighard K.P., Ehre C., Rushton Z.L., Ahonen M.J.R., Hill D.B., Schoenfisch M.H.	ACS Biomaterials Science and Engineering	in-vitro, experimental cells	Hidrogel de mediano peso 200-800cP con quitosano	Efecto mucolítico; disminuye la adhesión de moco	2017
Bioactive chitosan-based scaffolds with improved properties induced by dextran-grafted nano-maghemite and l-arginine amino acid	Scialla S., Barca A., Palazzo B., D'Amora U., Russo T., Gloria A., De Santis R., Verri T., Sannino A., Ambrosio L., Gervaso F.	Journal of Biomedical Materials Research - Part A	in-vitro, experimental cells y propiedades mecánicas	Quitosano de 85% de desacetilación y del 5-10% hasta el 15% de concentración de hidrogel con L-arg.	Soporte para adhesión y conexión celular.	2019
Biocompatibility of subcutaneously implanted marine macromolecules cross-linked bio-composite scaffold for cartilage tissue engineering applications	Sumayya A.S., Muraleedhara Kurup G.	Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition	In-vitro; modelo animal	Hidrogel de hidroxiapatita, alginato, quitosano y fucoidano.	Aplicación de ingeniería tisular en cartilago	2018

(continúa)

(viene)

Nombre	Autores	Journal	Tipo de estudio	Concentración	Aplicación / Resultados de Interés	Año
Synthesis and characterization of sugar-bearing chitosan derivatives as a scaffold for nitric oxide release	Sun Y., Liu Y.	Advanced Materials Research	In-vitro	Quitosano 92% de desacetilación. Peso molecular de 220-880kDa	Evaluación del desarrollo de transporte para medicamento.	2011
Poly (lactic acid)-chitosan-collagen composite nanofibers as substrates for blood outgrowth endothelial cells	Swarnalatha B., Nair S.L., Shalumon K.T., Milbauer L.C., Jayakumar R., Paul-Prasanth B., Menon K.K., Hebbel R.P., Somani A., Nair S.V.	International Journal of Biological Macromolecules	In-vitro	Quitosano 87% de desacetilación. Peso de 100-150 kDa. El scaffold está al 4% de quitosano con Ácido Poli Láctico	Ayudar a la angiogenesis endotelial.	2013
L-Arginine intercedes bio-crosslinking of a collagen-chitosan 3D-hybrid scaffold for tissue engineering and regeneration:: In silico, in vitro, and in vivo studies	Udhayakumar S., Shankar K.G., Sowndarya S., Venkatesh S., Muralidharan C., Rose C.	RSC Advances	in-vitro; fibroblastos y ratas (evaluación de heridas)	Quitosano al 80% de desacetilación. Colageno tipo I al 2%. El scaffold 2% de quitosano. Aminoácidos (Arg, A, Glu, Lis)	Cicatrización de heridas	2017
3-D culture of human umbilical vein endothelial cells with reversible thermosensitive hydroxybutyl chitosan hydrogel	Wei Y.N., Wang Q.Q., Gao T.T., Kong M., Yang K.K., An Y., Jiang S.Y., Li J., Cheng X.J., Chen X.G.	Journal of Materials Science: Materials in Medicine	in-vitro, experimental cells	Quitosano de 980 kDa y 80% de desacetilación. Hidrogel al 3% de quitosano en síntesis reversa	Cicatrización de heridas	2013
Enhancement of VEGF-mediated angiogenesis by 2- N,6-O-sulfated chitosan-coated hierarchical PLGA scaffolds	Yu Y., Chen J., Chen R., Cao L., Tang W., Lin D., Wang J., Liu C.	ACS Applied Materials and Interfaces	in vitro, experimental cell	Hidrogel de ácido poliláctico cubierto con Quitosano al 0.1%	Ingeniería de tejido y cicatrización.	2015
Photo-initiated grafting of gelatin/N-maleic acyl-chitosan to enhance endothelial cell adhesion, proliferation and function on PLA surface	Zhu A., Zhao F., Ma T.	Acta Biomaterialia	in vitro	Gel ácido poliláctico, N-acetil-maleico con Quitosano al 90% de desacetilación, peso molecular de 20 kDa.	Ingeniería de tejidos vasculares - adhesión celular.	2009
Disruption and eradication of p. Aeruginosa biofilms using nitric oxide-releasing chitosan oligosaccharides	Reighard K.P., Hill D.B., Dixon G.A., Worley B.V., Schoenfish M.H.	Biofouling	in vitro	Quitosano de mediano peso molecular con oligosacáridos.	Efecto antibacterial para P. aeruginosa	2015

(continúa)

(viene)

Nombre	Autores	Journal	Tipo de estudio	Concentración	Aplicación / Resultados de Interés	Año
Antibacterial action of nitric oxide-releasing chitosan oligosaccharides against <i>Pseudomonas aeruginosa</i> under aerobic and anaerobic conditions	Reighard K.P., Schoenfish M.H.	Antimicrobial Agents and Chemotherapy	in vitro	Quitosano de mediano peso molecular con oligosacáridos	Efecto antibacterial para <i>P. aeruginosa</i>	2015
Accelerate Healing of Severe Burn Wounds by Mouse Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell-Seeded Biodegradable Hydrogel Scaffold Synthesized from Arginine-Based Poly(ester amide) and Chitosan	Alapure B.V., Lu Y., He M., Chu C.-C., Peng H., Muhale F., Brewerton Y.-L., Bunnell B., Hong S.	Stem Cells and Development	modelo animal	Hidrogel híbrido de arginina insaturada con base poliéster-amida de peso molecular de 12.93 kg/mol y derivativo de quitosano (GMA)	Regeneración de piel, cicatrización.	2018
Nitric oxide releasing hydrogel promotes endothelial differentiation of mouse embryonic stem cells	Nie Y., Zhang K., Zhang S., Wang D., Han Z., Che Y., Kong D., Zhao Q., Han Z., He Z.-X., Liu N., Ma F., Li Z.	Acta Biomaterialia	modelo animal	Hidrogel de Quitosano controlado por enzima y B-galactosa	Diferenciación celular	2017
A Tailorable In Situ Light-Activated Biodegradable Vascular Scaffold	Albaghdadi M.S., Yang J., Brown J.H., Mansukhani N.A., Ameer G.A., Kibbe M.R.	Advanced Materials Technologies	in vitro	Quitosano de bajo peso molecular 100 mg de quitosano/ ml de solución	Tratamientos vasculares	2017
Immunocompatibility of poly(ethylene glycol)-penetrated alginate-chitosan hydrogels	Radhakrishnan A., Sreekumaran S., Nair J.A., Kurup M.G.	Bioinspired, Biomimetic and Nanobio-materials	in vitro - cultivo cell	Quitosano de alga de bajo peso molecular, 75-85% de desacetilación, hidrogel de 11.7% de quitosano con polisacáridos, alginato.	Biocompatibilidad celular	2018
Chitosan enriched three-dimensional matrix reduces inflammatory and catabolic mediators production by human chondrocytes	Oprenyeszk F., Sanchez C., Dubuc J.-E., Maquet V., Henrist C., Compère P., Henrotin Y.	PLoS ONE	in vitro	Capa de Quitosano de 30,7 KDa y 15,7% de acetilación, de baja viscosidad; después de la polimerización con el alginato queda una concentración de quitosano de 0.6%.	Reparación de cartilago - cell carrier transplantation	2015

(continúa)

(viene)

Nombre	Autores	Journal	Tipo de estudio	Concentración	Aplicación / Resultados de Interés	Año
NO, carboxymethyl chitosan enhanced scaffold porosity and biocompatibility under e-beam irradiation at 50kGy	Lee S.-Y., Kamarul T.	International Journal of Biological Macromolecules	in vitro - cultivo cell	Quitosano al 20%	Adhesion celular, crecimiento y biosíntesis de cartilago	2014
In vitro effects of low frequency electromagnetic fields on osteoblast proliferation and maturation in an inflammatory environment	Lin H.-Y., Lin Y.-J.	Bioelectromagnetics	in vitro	Quitosano con 96% de desacetilación, capa de Quitosano al 2% de concentración y 1% de ácido acético	Cicatrización; evitar fibrosis en el proceso	2011
Optimization of collagen-elastin-like polypeptide-bioglass scaffold composition for osteogenic differentiation of adipose-derived stem cells	Gurumurthy, Bhuvanewari; Pal, Pallabi; Griggs, Jason A.; Janorkar, Amol, V	MATERIALIA	in - vitro	Hidrogel de elastina, colageno, y bioglass	linage osteogenico	2020
In-Situ Forming pH and Thermosensitive Injectable Hydrogels to Stimulate Angiogenesis: Potential Candidates for Fast Bone Regeneration Applications	Kocak, FZ; Talari, ACS; Yar, M; Rehman, IU	INTERNATIONAL JOURNAL OF MOLECULAR SCIENCES	in vitro	Quitosano de peso medio molecular 100-300 kDa; hidrogel de 5%-6% de concentración con ácido acético.	angiogénesis	2020
Hydrogel-Coated Dental Device with Adhesion-Inhibiting and Colony-Suppressing Properties	Peng, LY; Chang, L; Si, MT; Lin, JX; Wei, Y; Wang, ST; Liu, HL; Han, B; Jiang, L	ACS APPLIED MATERIALS & INTERFACES	in - vitro	Hidrogel de quitosano y polietileno glicol	bactericida S. mutans	2020
Thyroxine-loaded chitosan/carboxymethyl cellulose/hydroxyapatite hydrogels enhance angiogenesis in in-ovo experiments	Malik, MH; Shahzadi, L; Batoool, R; Safi, SZ; Khan, AS; Khan, AF; Chaudhry, AA; Rehman, IU; Yar, M	INTERNATIONAL JOURNAL OF BIOLOGICAL MACROMOLECULES	In - vitro		angiogenesis	2020
Design and characterization of a chitosan-enriched fibrin hydrogel for human dental pulp regeneration	Ducret, M; Montembault, A; Josse, J; Padeloup, M; Celle, A; Benchrih, R; Mallein-Gerin, F; Alliot-Licht, B; Dauidd, L; Farges, JC	DENTAL MATERIALS	In - vitro	Membranas de milipore impregnadas de Quitosano, acetilación de 1.5+/-0,2%, y peso molecular de 160+/- 10 kg/mol. Hidrogel de fibrina.	regeneración pulpar/ control bacteriano	2019

(continúa)

(viene)

Nombre	Autores	Journal	Tipo de estudio	Concentración	Aplicación / Resultados de Interés	Año
The Cocktail Effect of BMP-2 and TGF-1 Loaded in Visible Light-Cured Glycol Chitosan Hydrogels for the Enhancement of Bone Formation in a Rat Tibial Defect Model	Yoon, SJ; Yoo, Y; Nam, SE; Hyun, H; Lee, DW; Um, S; Kim, SY; Hong, SO; Yang, DH; Chun, HJ	MARINE DRUGS	In - vitro e in - vivo	Hidrogel de quitosano con precursores de BMP2 y TGF-B1	ingeniería de tejidos óseos	2018
Combining electrospun nanofibers with cell-encapsulating hydrogel fibers for neural tissue engineering	Miller, RJ; Chan, CY; Rastogi, A; Grant, AM; White, CM; Bette, N; Schaub, NJ; Corey, JM	JOURNAL OF BIOMATERIALS SCIENCE-POLYMER EDITION	in vitro	Hidrogel con fibras de polielectrolitos interfaciales de complejación (IPC),	regeneración de tejido neural -	2018
Bone morphogenetic protein-2 sustained delivery by hydrogels with microspheres repairs rabbit mandibular defects	Song, WY; Liu, GM; Li, J; Luo, YG	TISSUE ENGINEERING AND REGENERATIVE MEDICINE	in vitro y modelo animal	Hidrogel de Quitosano/ colágeno.--- Quitosano/co-lágeno + BMP-2. --- Quitosano/ colágeno + BMP-2 + microesferas de gelatina.	formación ósea	2016
Significance of Glucose Addition on Chitosan-Glycero-phosphate Hydrogel Properties	Susanthy, D; Sugita, P; Achmad, SS	INDONESIAN JOURNAL OF CHEMISTRY	in vitro	Quitosano de 94,5% desacetilación, peso de $4,54 \times 10^5$ g/mol. Sal disodio pentahidratada β -GP al 98% de pureza. Solución de quitosano al 2,5%	bioingeniería	2015
3D Porous Chitosan Scaffolds Suit Survival and Neural Differentiation of Dental Pulp Stem Cells	Feng, XM; Lu, XH; Huang, D; Xing, J; Feng, GJ; Jin, GH; Yi, X; Li, LR; Lu, YZ; Nie, DK; Chen, X; Zhang, L; Gu, ZF; Zhang, XH	CELLULAR AND MOLECULAR NEUROBIOLOGY	in vitro	Quitosano al 92,3% de desacetilación, peso molecular de 2.2×10^4 disuelto en 10 ml de ácido acético al 1%.	bioingeniería - pulpar	2014
Local delivery of recombinant human bone morphogenetic protein-2 (rhBMP-2) from rhBMP-2/heparin complex fixed to a chitosan scaffold enhances osteoblast behavior	Yun, YP; Yang, DH; Kim, SW; Park, K; Ohe, JY; Lee, BS; Choi, BJ; Kim, SE	TISSUE ENGINEERING AND REGENERATIVE MEDICINE	in vitro	Quitosano al 2% en ácido acético con tripolifosfato al 1%, se añade el complejo de BMP-2/heparina en el andamio.	bioingeniería ósea	2014

(continúa)

(viene)

Nombre	Autores	Journal	Tipo de estudio	Concentración	Aplicación / Resultados de Interés	Año
Glycol Chitin-based Thermoresponsive Hydrogel Scaffold Supplemented with Enamel Matrix Derivative Promotes Odontogenic Differentiation of Human Dental Pulp Cells	Park, SJ; Li, ZZ; Hwang, IN; Huh, KM; Min, KS	JOURNAL OF ENDODONTICS	in vitro		bioingeniería dental pulpa	2013
The Effect of Bone Morphogenic Protein-2 (BMP-2)-Immobilizing Heparinized-Chitosan Scaffolds for Enhanced Osteoblast Activity	Yun, YP; Kim, SE; Kang, EY; Kim, HJ; Park, K; Song, HR	TISSUE ENGINEERING AND REGENERATIVE MEDICINE				2013
Human bone marrow stem cell-encapsulating calcium phosphate scaffolds for bone repair	Weir, MD; Xu, HHK	ACTA BIOMATERIALIA				2010
Injectable and strong nano-apatite scaffolds for cell/growth factor delivery and bone regeneration	Xu, HHK; Weir, MD; Simon, CG	DENTAL MATERIALS				2008

Referencias

1. Kumar T, Thakur A, Alexander A, Badwaik H, Tripathi DK. Modified chitosan hydrogels as drug delivery and tissue engineering systems: present status and applications. *Acta Pharm Sin B*. 2012; 2(5):439–49.
2. Crini A, Badot P. *Application of chitosan, a natural aminopolysaccharide, for dye removal from aqueous solutions by adsorption processes using batch studies: A review of recent literature*. 2008; 33:399–447.
3. Gallardo MGC, Barbosa RC, Fook MVL, Sabino MA. Synthesis and characterization of a novel biomaterial based on chitosan modified with amino acids. *Rev Mater*. 2019;24(3).
4. Escobar-sierra DM, Perea-mesa YP. Manufacturing and evaluation of Chitosan , PVA and Aloe Vera hydrogels for skin applications • Fabricación y evaluación de hidrogeles de Quitosano. *PVA y Aloe Vera para aplicaciones cutáneas*. 2017; 84(203):134–42.

5. Haugen HJ, Basu P, Sukul M, Mano JF, Reseland JE. Injectable biomaterials for dental tissue regeneration. *Int J Mol Sci.* 2020;21(10).
6. Alapure B V., Lu Y, He M, Chu CC, Peng H, Muhale F, et al. Accelerate Healing of Severe Burn Wounds by Mouse Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell-Seeded Biodegradable Hydrogel Scaffold Synthesized from Arginine-Based Poly(ester amide) and Chitosan. *Stem Cells Dev.* 2018; 27(23):1605–20.
7. Yu Y, Chen J, Chen R, Cao L, Tang W, Lin D, et al. Enhancement of VEGF-mediated angiogenesis by 2- N,6-O-sulfated chitosan-coated hierarchical PLGA scaffolds. *ACS Appl Mater Interfaces.* 2015; 7(18):9982–90.
8. Reighard KP, Schoenfisch MH. Antibacterial action of nitric oxide-releasing chitosan oligosaccharides against *Pseudomonas aeruginosa* under aerobic and anaerobic conditions. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015; 59(10):6506–13.
9. Peng L, Chang L, Si M, Lin J, Wei Y, Wang S, et al. Hydrogel-Coated Dental Device with Adhesion-Inhibiting and Colony-Suppressing Properties. *ACS Appl Mater Interfaces.* 2020; 12(8):9718–25.
10. Fukushima KA, Marques MM, Tedesco TK, Carvalho GL, Gonçalves F, Caballero-Flores H, et al. Screening of hydrogel-based scaffolds for dental pulp regeneration—A systematic review. *Arch Oral Biol.* 2019; 98:182–94.
11. Zein N, Harmouch E, Lutz J, Grado GF De, Kuchler-bopp S, Clauss F, et al. *Polymer-Based Instructive Scaffolds for Endodontic Regeneration* :1–18.
12. Ducret M, Montembault A, Josse J, Padeloup M, Celle A, Benchrih R, et al. Design and characterization of a chitosan-enriched fibrin hydrogel for human dental pulp regeneration. *Dent Mater.* 2019; 35(4):523–33.
13. Feng X, Lu X, Huang D, Xing J, Feng G, Jin G, et al. 3D porous chitosan scaffolds suit survival and neural differentiation of dental pulp stem cells. *Cell Mol Neurobiol.* 2014; 34(6):859–70.
14. Huang K, Ou Q, Xie Y, Chen X, Fang Y, Huang C, et al. Halloysite Nanotube Based Scaffold for Enhanced Bone Regeneration. *ACS Biomater Sci Eng.* 2019; 5(8):4037–47.
15. Jing D, Xiao J, Li X, Li Y, Zhao Z. The effectiveness of vibrational stimulus to accelerate orthodontic tooth movement: A systematic review. *BMC Oral Health.* 2017; 17(1):1–9.

16. Aldosari MAM. Effects of vibration forces on maxillary expansion and orthodontic tooth movement. *ProQuest Diss Theses*. 2015; (August):84.
17. Ellingson LC. *The effect of mechanical vibration on pain and rate of tooth movement during initial orthodontic alignment*. University of Nebraska Medical Center; 2017.
18. Genc G, Kocadereli I, Tasar F, Kilinc K, El S, Sarkarati B. Effect of low-level laser therapy (LLLT) on orthodontic tooth movement. *Lasers Med Sci*. 2013; 28(1):41–7.
19. Domínguez A, Clarkson A, Lopez R. An In Vitro Study of the Reaction of Periodontal and Gingival Fibroblasts to Low-level Laser Irradiation: A Pilot Study. *J Oral Laser Appl*. 2008; 8(January 2008):235–44.
20. Wilko MT, Wilko WM, Pulver JJ, Bissada NF, Bouquot JE. Accelerated osteogenic orthodontics technique: a 1-stage surgically facilitated rapid orthodontic technique with alveolar augmentation. *J Oral Maxillofac Surg*. 2009; 69(10):2149–59.
21. Raja BA, Reddy YM, Sreekanth CA., Reddy BVV, Raj GKP, Reddy R. Speedy Orthodontics: A Comprehensive Review. *Int J Oral Heal Med Res*. 2016; 2(6):121–4.
22. Aristizábal-P JF. *Accelerated orthodontics and express transit orthodontics (ETO)[®], a contemporary concept of high efficiency Ortodoncia acelerada y ortodoncia de transito expreso (OTE)[®], un concepto contemporáneo de alta eficiencia*. 2014; 27(1):56–73.
23. Iglesias-Linares A, Morford LA, Hartsfield JK. Bone Density and Dental External Apical Root Resorption. *Curr Osteoporos Rep*. 2016; 14(6):292–309.
24. Wan WK, Yang L, Padavan DT. Use of degradable and nondegradable nanomaterials for controlled release. *Nanomedicine*. 2007; 2(4):483–509.
25. Nitti P, Gallo N, Palazzo B, Sannino A, Polini A, Verri T, et al. Effect of L-Arginine treatment on the in vitro stability of electrospun aligned chitosan nanofiber mats. *Polym Test*. 2020; 91:106758.
26. Scialla S, Barca A, Palazzo B, D'Amora U, Russo T, Gloria A, et al. Bioactive chitosan-based scaffolds with improved properties induced by dextran-grafted nano-maghemite and l-arginine amino acid. *J Biomed Mater Res - Part A*. 2019; 107(6):1244–52.
27. Sumayya AS, Muraleedhara Kurup G. Biocompatibility of subcutaneously implanted marine macromolecules cross-linked bio-composite scaffold for cartilage tissue engineering applications. *J Biomater Sci Polym Ed*. 2018; 29(3):257–76.

28. Pant J, Sundaram J, Goudie MJ, Nguyen DT, Handa H. Antibacterial 3D bone scaffolds for tissue engineering application. *J Biomed Mater Res - Part B Appl Biomater*. 2019; 107(4):1068–78.
29. Gurumurthy B, Pal P, Griggs JA, Janorkar A V. Optimization of collagen-elastin-like polypeptide-bioglass scaffold composition for osteogenic differentiation of adipose-derived stem cells. *Materialia*. 2020; 9(July 2019):100572.
30. Miller RJ, Chan CY, Rastogi A, Grant AM, White CM, Bette N, et al. Combining electrospun nanofibers with cell-encapsulating hydrogel fibers for neural tissue engineering. *J Biomater Sci Polym Ed*. 2018; 29(13):1625–42.
31. Swarnalatha B, Nair SL, Shalumon KT, Milbauer LC, Jayakumar R, Paul-Prasanth B, et al. Poly (lactic acid)-chitosan-collagen composite nanofibers as substrates for blood outgrowth endothelial cells. *Int J Biol Macromol*. 2013; 58:220–4.
32. Udhayakumar S, Shankar KG, Sowndarya S, Venkatesh S, Muralidharan C, Rose C. L-Arginine intercedes bio-crosslinking of a collagen-chitosan 3D-hybrid scaffold for tissue engineering and regeneration: In silico, in vitro, and in vivo studies. *RSC Adv*. 2017; 7(40):25070–88.
33. Reighard KP, Hill DB, Dixon GA, Worley B V., Schoenfisch MH. Disruption and eradication of *P. aeruginosa* biofilms using nitric oxide-releasing chitosan oligosaccharides. *Biofouling*. 2015; 31(9):775–87.
34. Susanthi D, Sugita P, Achmadi SS. Significance of glucose addition on chitosan-glycerophosphate hydrogel properties. *Indones J Chem*. 2016; 16(1):65–71.
35. Aldana AA, Barrios B, Strumia M, Correa S, Martinelli M. Dendronization of chitosan films: Surface characterization and biological activity. *React Funct Polym*. 2016; 100:18–25.
36. Nie Y, Zhang K, Zhang S, Wang D, Han Z, Che Y, et al. Nitric oxide releasing hydrogel promotes endothelial differentiation of mouse embryonic stem cells. *Acta Biomater*. 2017; 63:190–9.
37. Zhang K, Chen X, Li H, Feng G, Nie Y, Wei Y, et al. A nitric oxide-releasing hydrogel for enhancing the therapeutic effects of mesenchymal stem cell therapy for hindlimb ischemia. *Acta Biomater*. 2020; 113(xxxx):289–304.
38. Yoon SJ, Yoo Y, Nam SE, Hyun H, Lee DW, Um S, et al. The cocktail effect of BMP-2 and TGF- β 1 loaded in visible light-cured glycol chitosan hydrogels for the enhancement of bone formation in a rat tibial defect model. *Mar Drugs*. 2018; 16(10):1–15.

39. Song WY, Liu GM, Li J, Luo YG. Bone morphogenetic protein-2 sustained delivery by hydrogels with microspheres repairs rabbit mandibular defects. *Tissue Eng Regen Med*. 2016; 13(6):750–61.
40. Yun YP, Yang DH, Kim SW, Park K, Ohe JY, Lee BS, et al. Local delivery of recombinant human bone morphogenetic protein-2 (rhBMP-2) from rhBMP-2/heparin complex fixed to a chitosan scaffold enhances osteoblast behavior. *Tissue Eng Regen Med*. 2014; 11(2):163–70.
41. Yun YP, Kim SE, Kang EY, Kim HJ, Park K, Song HR. The effect of bone morphogenetic protein-2 (BMP-2)-immobilizing heparinized-chitosan scaffolds for enhanced osteoblast activity. *Tissue Eng Regen Med*. 2013; 10(3):122–30.
42. Oprenyesz F, Sanchez C, Dubuc JE, Maquet V, Henrist C, Compère P, et al. Chitosan enriched three-dimensional matrix reduces inflammatory and catabolic mediators production by human chondrocytes. *PLoS One*. 2015; 10(5):1–17.
43. Lee SY, Kamarul T. NO, carboxymethyl chitosan enhanced scaffold porosity and biocompatibility under e-beam irradiation at 50kGy. *Int J Biol Macromol*. 2014; 64:115–22.
44. Hankenson KD, Dishowitz M, Gray C, Schenker M. Angiogenesis in bone regeneration. *Injury*. 2011; 42(6):556–61.
45. Malik MH, Shahzadi L, Batool R, Safi SZ, Khan AS, Khan AF, et al. Thyroxine-loaded chitosan/carboxymethyl cellulose/hydroxyapatite hydrogels enhance angiogenesis in in-ovo experiments. *Int J Biol Macromol*. 2020; 145:1162–70.
46. Lin HY, Lin YJ. In vitro effects of low frequency electromagnetic fields on osteoblast proliferation and maturation in an inflammatory environment. *Bioelectromagnetics*. 2011; 32(7):552–60.
47. Zhu A, Zhao F, Ma T. Photo-initiated grafting of gelatin/N-maleic acyl-chitosan to enhance endothelial cell adhesion, proliferation and function on PLA surface. *Acta Biomater*. 2009; 5(6):2033–44.
48. Kocak FZ, Talari ACS, Yar M, Rehman IU. In-situ forming pH and thermosensitive injectable hydrogels to stimulate angiogenesis: Potential candidates for fast bone regeneration applications. *Int J Mol Sci*. 2020; 21(5):1–26.
49. Albaghdadi MS, Yang J, Brown JH, Mansukhani NA, Ameer GA, Kibbe MR. A Tailorable In Situ Light-Activated Biodegradable Vascular Scaffold. *Adv Mater Technol*. 2017; 2(4).

50. Aussel A, Boiziau C, L'Azou B, Siadous R, Delmond S, Montembault A, et al. Cell and tissue responses at the interface with a chitosan hydrogel intended for vascular applications: in vitro and in vivo exploration. *Biomed Mater.* 2019;1–25.
51. Wei YN, Wang QQ, Gao TT, Kong M, Yang KK, An Y, et al. 3-D culture of human umbilical vein endothelial cells with reversible thermosensitive hydroxybutyl chitosan hydrogel. *J Mater Sci Mater Med.* 2013;24(7):1781–7.
52. Sun Y, Liu Y. Synthesis and characterization of sugar-bearing chitosan derivatives as a scaffold for nitric oxide release. *Adv Mater Res.* 2011;160–162:1083–9.