

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ - ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

ΠΜΣ ΒΑΣΙΚΩΝ ΒΙΟΙΑΤΡΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

**ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ : ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΜΗΧΑΝΙΚΗΣ,
ΓΟΝΙΔΙΑΚΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ ΚΑΙ ΒΛΑΣΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ**

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΔΙΠΛΩΜΑ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ

**Η ΧΡΗΣΗ ΙΚΡΙΩΜΑΤΩΝ ΥΔΡΟΓΕΛΗΣ ΣΤΗΝ ΜΗΧΑΝΙΚΗ
ΙΣΤΩΝ ΚΑΙ ΣΕ ΚΑΙΝΟΤΟΜΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΧΟΡΗΓΗΣΗΣ
ΦΑΡΜΑΚΩΝ**

Βασίλειος Χ. Καγιάς

Επιβλέπων: Κούκλης Παναγιώτης

Επίκουρος Καθηγητής

ΦΕΒΡΟΥΑΡΙΟΣ 2019

ΙΩΑΝΝΙΝΑ

«Η έγκριση του Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης από το Τμήμα Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα Ν.5343/32, άρθρο 202, παράγραφος 2 (νομική κατοχύρωση του Ιατρικού Τμήματος)».

**THE USE OF HYDROGEL SCAFFOLDS IN TISSUE
ENGINEERING AND NOVEL DRUG DELIVERY SYSTEMS**

ΚΑΓΙΑΣ ΒΑΣΙΛΕΙΟΣ

**Η ΧΡΗΣΗ ΙΚΡΙΩΜΑΤΩΝ ΥΔΡΟΓΕΛΗΣ ΣΤΗΝ ΜΗΧΑΝΙΚΗ ΙΣΤΩΝ ΚΑΙ ΣΕ
ΚΑΙΝΟΤΟΜΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΧΟΡΗΓΗΣΗΣ ΦΑΡΜΑΚΩΝ**

19 ΦΕΒΡΟΥΑΡΙΟΥ 2019

ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗΣ

1. Επιβλέπων καθηγητής

Κούκλης Παναγιώτης,

Επίκουρος Καθηγητής Γενικής Βιολογίας

2. Μέλος επιτροπής

Χαράλαμπος Αγγελίδης,

Καθηγητής Γενικής Βιολογίας

3. Μέλος επιτροπής

Βεζυράκη Πατρόνα,

Καθηγήτρια Φυσιολογίας

Ο Διευθυντής του ΠΜΣ

Αγγελίδης Χαράλαμπος, Καθηγητής

Δήλωση μη λογοκλοπής

Δηλώνω υπεύθυνα και γνωρίζοντας τις κυρώσεις του Ν. 2121/1993 περί Πνευματικής Ιδιοκτησίας, ότι η παρούσα μεταπτυχιακή εργασία δεν αποτελεί προϊόν αντιγραφής ούτε προέρχεται από ανάθεση σε τρίτους. Όλες οι πηγές που χρησιμοποιήθηκαν (κάθε είδους, μορφής και προέλευσης) για τη συγγραφή της περιλαμβάνονται στις βιβλιογραφικές αναφορές.

ΚΑΓΙΑΣ ΒΑΣΙΛΕΙΟΣ

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα Μεταπτυχιακή Διατριβή εκπονήθηκε στο πλαίσιο του Μεταπτυχιακού Προγράμματος Σπουδών “Βασικές Βιοϊατρικές Επιστήμες” με κατεύθυνση “ Εφαρμοσμένη Γενετική Μηχανική, Γονιδιακή Θεραπεία και Βλαστικά Κύτταρα” του τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.

Άμεσος επιβλέπων ήταν ο Επίκουρος Καθηγητής της Γενικής Βιολογίας κος Κούκλης Παναγιώτης στον οποίο οφείλω ιδιαίτερες ευχαριστίες για την ανάθεση του θέματος αυτής της Μεταπτυχιακής Διατριβής. Η συνεχής παρουσία του, η καθοδήγηση του, οι πολύτιμες συμβουλές του και η προσφορά των βαθύτατων επιστημονικών του γνώσεων υπήρξαν αρωγός και οδηγός για την ολοκλήρωση αυτής της εργασίας.

Θερμές ευχαριστίες θα ήθελα να απευθύνω και στα μέλη της εξεταστικής επιτροπής, κο. Χαράλαμπο Αγγελίδη, Καθηγητή Γενικής Βιολογίας του τμήματος Ιατρικής και στην κα. Βεζυράκη Πατρώνα, Καθηγήτρια Φυσιολογίας του τμήματος Ιατρικής για την δυνατότητα που μου έδωσαν να συμμετάσχω σε αυτό το Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών, το ενδιαφέρον τους και τις πολύτιμες συμβουλές τους καθ’ όλη την διάρκεια του Προγράμματος.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω την Διευθύντρια του Αιματολογικού Εργαστηρίου του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Ιωαννίνων κα. Τσαούση Χριστίνα για την αμέριστη συμπαράσταση και ενθάρρυνση που μου προσέφερε από την αρχή της προσπάθειας αυτής.

Τέλος τις πιο θερμές και ιδιαίτερες ευχαριστίες τις οφείλω στην σύζυγό μου Βέτα και στα παιδιά μου Χριστόφορο, Αντώνη και Ελένη που αγκάλιασαν από την πρώτη στιγμή αυτήν την επιλογή και με βοήθησαν με κάθε τρόπο ώστε να ευοδωθεί αυτή η προσπάθεια.

Ιωάννινα 2019

Βασίλειος Χ. Καγιάς

Στον πατέρα μου Χριστόφορο

**Μόνο με το να προκαλούμε τον εαυτό μας να κάνει
περισσότερα μπορούμε να πλησιάσουμε το βέλτιστο μας.**

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι Υδρογέλες ανήκουν στην κατηγορία των πολυμερών υλικών και το κύριο χαρακτηριστικό τους είναι η ικανότητα τους να απορροφούν μεγάλες ποσότητες H₂O (ή άλλων υγρών) ενώ ταυτόχρονα διατηρούν το σχήμα τους και την δομική τους ακεραιότητα. Επιδεικνύουν εξαιρετική βιοσυμβατότητα και η προσομοίωση τους με την εξωκυττάρια μήτρα (ECM) είναι μεγάλη. Οι πηγές προέλευσης τους μπορεί να είναι είτε φυσικές είτε τεχνητές και πολλά από τα χαρακτηριστικά τους εμφανίζουν βελτίωση αν συνδυαστούν με άλλα υλικά. Τα πολυμερή αυτά υλικά βρίσκουν εφαρμογή σε πολλούς τομείς της καθημερινής ζωής του ανθρώπου συμπεριλαμβάνοντας πεδία όπως η κοσμετολογία, η υγιεινή και τα οικιακά προϊόντα αλλά και σε πιο εξειδικευμένα πεδία όπως η Μηχανική Ιστών, η Αναγεννητική Ιατρική, η Φαρμακευτική και πλήθος άλλων βιοϊατρικών εφαρμογών. Η χρήση τους ως ικρίωματα (αλλά και ως οχήματα μεταφοράς κυττάρων και μορίων βιολογικού ενδιαφέροντος) στην Μηχανική Ιστών και στην Αναγεννητική Ιατρική είναι ένας από τους λόγους που η ανάπτυξη και εξέλιξη τους τις τελευταίες δεκαετίες είναι πραγματικά εντυπωσιακή. Από την άλλη πλευρά η χρήση τους σε εξελιγμένα και καινοτόμα συστήματα χορήγησης φαρμάκων αφήνει πολλές υποσχέσεις όσον αφορά την ελεγχόμενη και στοχευμένη χορήγηση θεραπευτικών παραγόντων απαραίτητων για την θεραπεία και αντιμετώπιση πολλών ασθενειών που ταλαιπωρούν τον άνθρωπο.

Λέξεις κλειδιά: Υδρογέλες, Μηχανική Ιστών, ικρίωματα, εξωκυττάριος μήτρα, συστήματα χορήγησης φαρμάκων.

ABSTRACT

Hydrogels belong to the class of polymeric materials and their main feature is their ability to absorb large amounts of H₂O (or other fluids) while maintaining their shape and structural integrity. They show excellent biocompatibility and their extracellular matrix (ECM) simulation is great. Their sources of origin may be either natural or artificial, and many of their features are improved if combined with other materials. These polymeric materials find application in many areas of everyday life including fields such as cosmetology, hygiene and household products, as well as in more specialized fields such as Tissue Engineering, Regenerative Medicine, Pharmacy and a variety of other biomedical applications. Their use as scaffolds (as well as cell transport vehicles and molecules of biological interest) in tissue engineering and regenerative medicine is one of the reasons why their development and evolution over the last few decades is truly impressive. On the other hand, their use in sophisticated and innovative drug delivery systems leaves many promises regarding the controlled and targeted delivery of therapeutic agents necessary for the treatment and management of many diseases that affect humans.

Key words: Hydrogels, Tissue Engineering, scaffolds, extracellular matrix, drug delivery systems.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	iii
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	vii
ABSTRACT.....	viii
ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ	x
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ.....	xii
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ ΚΑΙ ΣΧΗΜΑΤΩΝ	xiii
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	xix
1. Μηχανική Ιστών – Ικριώματα.....	1
1.1 Ιστορική αναδρομή	1
1.2 Ικριώματα.....	11
1.2.1 Χαρακτηριστικά ικριωμάτων	14
1.2.2 Τεχνικές κατασκευής ικριωμάτων	16
1.2.3 Υλικά που χρησιμοποιούνται στην κατασκευή ικριωμάτων.....	21
2. Υδρογέλες	26
2.1 Γενικά στοιχεία	26
2.2 Ταξινόμηση υδρογελών	32
2.3 Χαρακτηριστικά υδρογελών	39
2.4 Τεχνικές και μέθοδοι σύνθεσης υδρογελών.....	41
2.5 Οι υδρογέλες στην Μηχανική Ιστών.....	43
2.6 Μεταβλητές σχεδιασμού ικριωμάτων υδρογέλης.....	46
2.7 Κριτήρια και μεταβλητές σχεδιασμού ικριωμάτων υδρογέλης για την Μηχανική ιστών	48
2.8 Τεχνικές κατασκευής ικριωμάτων υδρογέλης για χρήση στην Μηχανική Ιστών	56
2.9 Εφαρμογές των ικριωμάτων υδρογέλης στην Μηχανική Ιστών και στην Αναγεννητική Ιατρική	64
3. Καινοτόμα συστήματα χορήγησης φαρμάκων και υδρογέλες.....	71
3.1 Υδρογέλες για εφαρμογή στο δέρμα.....	77
3.2 Χορήγηση θεραπευτικών παραγόντων από 3D εκτυπωμένες υδρογέλες	78
3.3 Χορήγηση θεραπευτικών παραγόντων από συστήματα χορήγησης φαρμάκων που χρησιμοποιούν νανογέλες	79
3.4 Χορήγηση θεραπευτικών παραγόντων από συστήματα χορήγησης φαρμάκων που χρησιμοποιούν υδρογέλες που ανταποκρίνονται σε ερέθισμα.....	84
3.5 Χορήγηση θεραπευτικών παραγόντων από συστήματα χορήγησης φαρμάκων που βασίζονται σε in situ σχηματιζόμενες υδρογέλες	86

3.6 Χορήγηση θεραπευτικών παραγόντων από συστήματα χορήγησης φαρμάκων που βασίζονται σε Βιομιμητικές υδρογέλες	87
3.7 Συστήματα χορήγησης φαρμάκων βασισμένα σε υδρογέλες που χρησιμοποιούνται σε μολυσματικές ασθένειες και τραυματισμούς	90
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	95
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ.....	97
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ – BIBLIOGRAPHIC REFERENCES.....	102

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1.2.2.1 Βασικές λειτουργίες της ECM, οι αντίστοιχες λειτουργίες των ικριωμάτων της Μηχανικής Ιστών τα αρχιτεκτονικά, μηχανικά και βιολογικά χαρακτηριστικά τους...18-19	
Πίνακας 1.2.2.2 Χαρακτηριστικά διαφορετικών προσεγγίσεων ικριωμάτων στη Μηχανική Ιστών.....20-21	
Πίνακας 2.2.1 Συγκριτικά χαρακτηριστικά SAPs και SPHs.....39	
Πίνακας 2.5.1 Επισήμανση σημαντικών ιδιοτήτων και χαρακτηριστικών των Υδρογελών για την Μηχανική Ιστών.....44	
Πίνακας 2.5.2 Σημαντικά πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα των υδρογελών ως μήτρες στην Μηχανική Ιστών.....45	
Πίνακας 3.1 Εξέλιξη συστημάτων ελεγχόμενης χορήγησης φαρμάκων από το 1950.....72	
Πίνακας 3.4.1 Χορήγηση ποικιλίας φαρμάκων μέσω διαφορετικού συστήματος χορήγησης υδρογέλης.....84	
Πίνακας 3.6.1 Περίληψη των μελετών σχετικά με τις βιομιμητικές υδρογέλες στις εφαρμογές χορήγησης φαρμάκων.....87-89	

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ ΚΑΙ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Εικόνα 1.1.1 Ο Δρ. Charles Vacanti αύξησε τον ανθρώπινο χόνδρο στο Πανεπιστήμιο της Μασαχουσέτης, το έφτιαξε σε σχήμα αυτιού και στη συνέχεια το εμφύτευσε σε τρωκτικό.....	3
Εικόνα 1.1.2 Τραχεία κατασκευασμένη με την Μηχανική ιστών για εμφύτευση (2011).....	4
Εικόνα 1.1.3 Εικόνα ενός μικρού ανθρώπινου ήπατος κατασκευασμένου με την Μηχανική Ιστών στο άκρο ενός χεριού με γάντια.....	4
Εικόνα 1.1.4 Εικόνα εμφυτεύματος ανθρώπινου ωτός.....	5
Εικόνα 1.1.5 Αιμοφόρο αγγείο κατασκευασμένο με την Μηχανική Ιστών που παράγεται από ανθρώπινα κύτταρα.	5
Εικόνα 1.1.6 Arligraf (τεχνητό δέρμα αποτελούμενο από δύο στρώσεις κυττάρων που δεν περιέχει αδένες, αιμοφόρα αγγεία ή θύλακες τριχών).....	6
Εικόνα 1.1.7 Οι εικόνες ηλεκτρονικής μικροσκοπίας σάρωσης επιβεβαιώνουν την εναπόθεση μιας εξωκυτταρικής μήτρας που ενσωματώνει κύτταρα, πιθανώς τόσο από στρωματική όσο και από αιματική προέλευση.....	6
Εικόνα 1.1.8 Διαφάνεια των τεσσάρων τύπων υποκατάστατων που κατασκευάστηκαν με την τεχνική της αυτοσυναρμολόγησης της Μηχανικής Ιστών.....	7
Εικόνα 1.1.9 Σχηματική αναπαράσταση οδοντικής αναδόμησης μέσω προσέγγισης με την Μηχανική Ιστών.....	7
Εικόνα 1.1.10 Βιοδιασπώμενα ικριώματα στήθους, τα οποία προσαρμόζονται σε ασθενείς κατασκευασμένα με την τεχνολογία σάρωσης 3-D, σχεδιασμό με υπολογιστή και τρισδιάστατη εκτύπωση	8
Εικόνα 1.1.11 Οστό κατασκευασμένο με την τεχνολογία της Μηχανικής Ιστών με λειτουργικό μυελό	8
Εικόνα 1.1.12 Μικροσκοπικά νευρωνικά δίκτυα (Micro-TENNs), που αποτελούνται από διακεκριμένους νευρωνικούς πληθυσμούς με μακρές αξονικές οδούς μέσα σε βιοσυμβατή μικρο-στήλη.....	9

Εικόνα 1.1.13 Μακροσκοπική ανάλυση της καρδιακής βαλβίδας κατασκευασμένης με Μηχανική Ιστών βασισμένη σε βλαστοκύτταρα που προέρχονται από λιπώδη ιστό μετά από 4 εβδομάδες καλλιέργειας στο σύστημα βιοαντιδραστήρων στελεχών.....	9
Εικόνα 1.1.14 Μια απλοποιημένη επισκόπηση των γενικών μεθόδων που χρησιμοποιούνται στην Αναγεννητική Ιατρική	11
Εικόνα 1.2.1 Βασική έννοια της μηχανικής ιστών. Τα ανόργανα ικρίωματα που βασίζονται σε βιοδραστικό γυαλί μπορούν να χρησιμεύσουν ως υποστηρικτική πορώδης δομή 3D για τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των κυττάρων.....	12
Εικόνα 1.2.2.1 Σχηματικό διάγραμμα που δείχνει διαφορετικές προσεγγίσεις ικρίωμάτων στη Μηχανική Ιστών.....	20
Σχήμα 1.2.3.1 Γενικές κατηγορίες Βιοϋλικών.....	23
Εικόνα 1.2.3.1 Μικρογραφίες SEM: (a) Χιτοζάνη 50× (b) Κολλαγόνο – Χιτοζάνη 50× (c) Χιτοζάνη 150× (d) Κολλαγόνο – Χιτοζάνη 150×	24
Εικόνα 1.2.3.2 In vitro σχηματισμός μικροκυψελίδων από ενδοθηλιακά κύτταρα στο σκελετό CG.....	24
Εικόνα 1.2.3.3 Συγκριτικές εικόνες SEM (scanning electron microscope) του (α) ικρίωματος κολλαγόνου - GAG (CG) (β) υδροξυαπατίτη (HA) και (γ) σκελετού σύνθετου κολλαγόνου-HA (C-HA).....	25
Εικόνα 1.2.3.4 Συντοπιστική μικρογραφία που δείχνει κύτταρα οστεοβλαστών (πράσινο) συνδεδεμένα σε ένα πολύ πορώδες σκελετό κολλαγόνου-GAG (κόκκινο).....	25
Εικόνα 2.1.1 Αυτή η νέα φυλή έξυπνων βιοϋλικών θα μπορούσε να δημιουργήσει συναρπαστικές ευκαιρίες στην υγειονομική περίθαλψη, τη βιομηχανία και την επιστημονική έρευνα.....	26
Σχήμα 2.1.1 Ιστόγραμμα που δείχνει την αύξηση των δημοσιεύσεων που σχετίζονται με τον όρο “υδρογέλες” κατά την διάρκεια των τελευταίων 33 ετών σύμφωνα με το ISI Web of Science.....	27
Σχήμα 2.1.2 Συνολικός αριθμός δημοσιεύσεων σχετικά με την «Μηχανική Ιστών» και την υδρογέλη, τη «Μηχανική Ιστών» και αγγειακή, αγγειοποιητική ή αγγειοποίηση.....	27

Εικόνα 2.1.2 Μια σχηματική παρουσίαση μιας γέλης βυθισμένης σε ένα διαλύτη.....	28
Εικόνα 2.1.3 Σχηματική δομή υδρογέλης με αλυσίδες υδρόφιλου πολυμερούς συνδεδεμένες μέσω σημείων διασύνδεσης ή πολυμερή διασυνδέσεως.....	32
Εικόνα 2.2.1 Design and characterization of hybrid hydrogels composed of imogolite fibrous nanotubular clay and hyaluronic acid.....	33
Εικόνα 2.2.2 Σχηματική απεικόνιση του σχηματισμού IPN.....	34
Εικόνα 2.2.3 3 Σχηματική απεικόνιση μεθόδων για το σχηματισμό φυσικώς διασυνδεδεμένων υδρογελών.....	36
Σχήμα 2.2.1 Κατηγοριοποίηση υδρογελών με βάση το ερέθισμα ανταπόκρισης.....	37
Εικόνα 2.2.4 Η απόκριση των νέων υβριδικών υδρογελών που περιέχουν ssDNA ως παράγοντα δημιουργίας διασύνδεσης στο ssDNA.....	38
Σχήμα 2.4.1 Τεχνικές σύνθεσης υδρογέλης που έχουν φυσική ή χημική διασύνδεση.....	42
Εικόνα 2.6.1 Μοντέλο σύνθετης δομής 3D της φυσικής εξωκυτταρικής μήτρας και των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των κυττάρων και των συστατικών της εξωκυτταρικής μήτρας...	47
Εικόνα 2.7.1 Συμβατικές τεχνικές για τον μηχανικό χαρακτηρισμό υδρογελών.....	51
Σχήμα 2.7.1 Σχηματική αναπαράσταση της βασικής αρχής του τεστ εσοχής ενός δείγματος υδρογέλης.....	51
Εικόνα 2.7.2 Hydrogel-sample-holder-and-sphere-for-long-focal-microscope-system.....	52
Εικόνα 2.7.3 Images of cell seeded a alginate b agarose and c collagen hydrogels under spherical indentation recorded by the long focal imaging system (scalebar = 1 mm).....	52
Εικόνα 2.7.4 Μερικές προσεγγίσεις για επιλεκτική ενίσχυση των επιφανειακών χαρακτηριστικών των ικριωμάτων υδρογέλης ως προς την αύξηση της πρόσδεσης των επιφανειακών κυττάρων και την ελεγχόμενη απελευθέρωση ρυθμιστικών παραγόντων ανάπτυξης.....	53
Εικόνα 2.7.5 Σχηματική απεικόνιση του σχηματισμού αιμοφόρων αγγείων.....	55
Εικόνα 2.8.1 Εικόνες SEM ενός ξηρανθέντος με κατάψυξη δείγματος υδρογέλης-άγαρ.....	57

Εικόνα 2.8.2 Σχηματική αναπαράσταση ηλεκτροσυσσωμάτωσης για τη δημιουργία ινδικών δομών σε συνθετικά ικρίωματα.....	60
Εικόνα 2.8.3 Σχέδιο της διαδικασίας μικροδιαμόρφωσης για την κατασκευή υδρογελών GelMA.....	61
Εικόνα 2.8.4 Η τεχνολογία Lab-on-a-Printer που χρησιμοποιείται για τη δημιουργία μηνίσκου.....	62
Εικόνα 2.8.5 Σχηματική απεικόνιση τεχνικής αυτοσυναρμολόγησης υδρογέλης και πιθανές χρήσεις.....	63
Εικόνα 2.8.6 Η παρασκευή πολυεπίπεδων υδρογελών και οι βιοϊατρικές εφαρμογές τους...	64
Εικόνα 2.9.1 Η δομή των υδρογελών HA που παρατηρήθηκε χρησιμοποιώντας ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης.....	65
Εικόνα 2.9.2 Εικόνα ηλεκτρονικού μικροσκοπίου σάρωσης του πορώδους ικρίωματος ιστών με κανάλια αγγείωσης.....	67
Εικόνα 2.9.3 Κατασκευή σκελετού υδρογέλης PEG-DA με εκμαγείο ICC και λειτουργικοποίηση ColI.....	68
Εικόνα 2.9.4 Η υδρογέλη δεξτράνης ως θεραπευτική μέθοδο.....	70
Σχήμα 3.1 Επισκόπηση της ανάπτυξης του συστήματος χορήγησης φαρμάκων από τη βασική έρευνα έως τις κλινικές εφαρμογές.....	73
Εικόνα 3.1 Σχηματική αναπαράσταση υδρογέλης σε διογκωμένη ή συρρικνούμενη κατάσταση για απελευθέρωση φαρμάκου.....	74
Εικόνα 3.2 Απελευθέρωση φαρμάκου από μήτρα (δισκίο) κατασκευασμένη από διογκώσιμο υδρογέλη.....	75
Εικόνα 3.3 Γενική σχηματική παρασκευή υδρογελών.....	76
Εικόνα 3.2.1 Ταξινόμηση διαφορετικών τεχνικών 3D εκτύπωσης.....	78
Εικόνα 3.7.1 Νανογέλες που βασίζονται σε πεπτίδια για εμβόλια DNA HIV.....	90

Εικόνα 3.7.2 Δομές νανογελών (A) AP-NG1, (B) AP-NG2 και (C) παρασκευή AP-νανο-AZT σκευάσματος.....	91
Εικόνα 3.7.3 Η έννοια των ενζυμικώς αντιδραστικών anti-HIV υδρογελών για παρατεταμένη απελευθέρωση anti-HIV φαρμάκων.....	91
Εικόνα 3.7.4. Εργαστηριακό τεστ με υδρογέλη για την διάγνωση και επιτήρηση της ελονοσίας.....	92
Εικόνα 3.7.5 Σχηματική απεικόνιση των πιθανών μελλοντικών προοπτικών ενός σε μικρογραφία ηλεκτροχημικού ανιχνευτή του ιού Ebola που εμπλέκει νανογέλες για εφαρμογές POC.....	92

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η εξέλιξη που σημειώθηκε τις τελευταίες δεκαετίες σε επιστήμες που σχετίζονται με την υγεία του ανθρώπου υπήρξε αλματώδης. Έτσι τομείς όπως η Ιατρική, η Μοριακή Βιολογία, η Φαρμακευτική και η Βιοχημεία συμμετέχουν σε έναν μαραθώνιο ανακαλύψεων, εξελίξεων και καινοτομιών χωρίς, ευτυχώς, ορατό τέλος. Παράλληλα την ίδια ανάπτυξη γνωρίζουν και τομείς που δεν σχετίζονται άμεσα με την υγεία και πεδία όπως η Μηχανική, η Αρχιτεκτονική Σχεδίαση Αντικειμένων, και η Επιστήμη των Υλικών παρουσιάζουν τις δικές του εξελίξεις και προόδους. Αυτή ακριβώς η παράλληλη εξέλιξη των σχετικών και των λιγότερο σχετικών με την υγεία επιστημονικών πεδίων και κυρίως η σύγκλιση τους οδήγησε στην επίλυση πολλών προβλημάτων που αφορούν είτε το διαγνωστικό είτε το θεραπευτικό επίπεδο.

Αυτό επιτεύχθηκε μέσω της χρήσης νέων στρατηγικών και προσεγγίσεων αλλά και με την χρήση νέων υλικών και μεθόδων. Υλικά που άλλοτε εμφανίζονται ως νέες ανακαλύψεις και δημιουργίες αλλά και υλικά που ήταν γνωστά για μεγάλο χρονικό διάστημα και που η εξέλιξη διαφόρων επιστημονικών πεδίων τους έδωσε την δυνατότητα να εκδηλώσουν και να αναπτύξουν πολλές πτυχές των ιδιοτήτων τους. Τα υλικά αυτά, είτε φυσικής είτε χημικής προέλευσης, με τις βελτιωμένες ιδιότητες τους βρήκαν αμέσως θέση στα πειράματα και στις έρευνες. Στην κατηγορία αυτή ανήκουν και οι Υδρογέλες οι οποίες λόγω των ιδιαίτερων και πολύπλευρων ιδιοτήτων τους αποτελούν αντικείμενο έντονης ερευνητικής δραστηριότητας.

Οι τομείς οι οποίοι προσπάθησαν να εντάξουν και να χρησιμοποιήσουν Υδρογέλες στις εφαρμογές τους είναι αρκετοί και ανάμεσά τους συμπεριλαμβάνονται η Μηχανική Ιστών και η Φαρμακευτική. Τα ικρίωματα (scaffolds) που χρησιμοποιεί η Μηχανική Ιστών και τα συστήματα χορήγησης φαρμάκων (drug delivery systems) που εξελίσσει η Φαρμακευτική και βασίζονται σε Υδρογέλες αποτελούν μόνο ένα τμήμα των εφαρμογών τους.

Η ποικιλία της προέλευσης και της δομής τους, η εξαιρετική βιοσυμβατότητα τους, οι παραμετροποιήσιμες ιδιότητες τους, η ικανότητα συνδυασμού τους με άλλα φυσικά ή τεχνητά υλικά, η ποικιλία μεθόδων παραγωγής τους και αρκετά άλλα στοιχεία είναι αυτά που έδωσαν στις Υδρογέλες μια προνομακή θέση στην έρευνα των επιστημών υγείας (και όχι μόνο). Και το γεγονός ότι με τα τωρινά δεδομένα φαίνεται να υπάρχει αρκετό πεδίο έρευνας και πολύ μεγάλα περιθώρια ανάπτυξης και εξέλιξης δίνει ώθηση στους επιστήμονες να επιμείνουν αλλά και να διευρύνουν τους πειραματικούς ορίζοντες που περιλαμβάνουν τα υλικά αυτά.

1. Μηχανική Ιστών – Ικριώματα

1.1 Ιστορική αναδρομή

Οι ιστοί του ανθρωπίνου σώματος είναι συνεχώς εκτεθειμένοι σε καταστάσεις όπως οι ασθένειες, οι τραυματισμοί, αλλά και ο φυσιολογικός βιολογικός εκφυλισμός που έχουν ως αποτέλεσμα την ανάγκη για την επισκευή, την επιδιόρθωση ή την αναγέννησή τους. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελούν οι αναρίθμητες καθημερινές χειρουργικές επεμβάσεις που πραγματοποιούνται για την επιδιόρθωση ή την αντικατάσταση των ιστών που έχουν υποστεί βλάβη ή φθορά. [1]

Η αντιμετώπιση αυτών των καταστάσεων γίνεται κυρίως με μεταμόσχευση ιστού από μια θέση σε μια άλλη του ίδιου του ασθενούς (αυτόλογη) ή ιστού από ένα άτομο σε ένα άλλο (ετερόλογη). Η ιδέα της αντικατάστασης ιστού με άλλον ιστό ή οργάνου με όργανο από άλλο άτομο (ή και είδος) έχει ηλικία όσο και η ανθρωπότητα. Είτε πρόκειται για μυθολογικές αναφορές (το ήπαρ του Προμηθέα ανανεωνόταν διαρκώς) είτε για αναφορές θαυμάτων (μνημονεύεται η μεταμόσχευση ενός άκρου από νεκρό άτομο σε άτομο με σηψαιμία από τους αγίους Κοσμά και Δαμιανό) η πορεία της ανθρωπότητας είναι γεμάτη από αυτές. Ινδοί ιατροί εκτελούσαν επιτυχημένες μεταμοσχεύσεις μύτης από το 1000 π.χ. .Τον 16ο αιώνα στο πρόσωπο ενός Καθηγητή Χειρουργικής και Ανατομίας στο Πανεπιστήμιο της Μπολόνια, τον Gasparo Tagliacozzi (1564-1599), στο έργο του “De Custorum Chirurgia per Insitionem” που εκδόθηκε το 1597 περιγράφεται η αντικατάσταση μιας μύτης που είχε κατασκευάσει ο ίδιος από το αντιβράχιο. Οι μεταμοσχεύσεις δοντιών ήταν κοινή πρακτική στην Αγγλία στα μέσα του 18^{ου} αιώνα και για μικρό χρονικό διάστημα δημοφιλής στις αποικίες της στην Αμερική ώσπου ανακαλύφθηκε ότι πιθανόν με τον τρόπο αυτό να μεταδίδεται η σύφιλη και η φυματίωση. [1,2,3]

Οι πολλά υποσχόμενες αυτές θεραπείες υπήρξαν επαναστατικές και ταυτόχρονα σωτήριες για τους ασθενείς. Τα προβλήματα όμως που αναδείχθηκαν και συνόδευαν αυτές τις τεχνικές ήταν πολλά και ενίοτε ανυπέβλητα. Τα αυτόλογα μοσχεύματα συνοδεύονται από ανατομικούς περιορισμούς, επώδυνη συγκομιδή και επηρεάζονται από καταστάσεις που έχουν να κάνουν με την νοσηρότητα του δότη λόγω λοίμωξης ή τραυματισμού. Από την άλλη πλευρά η αναζήτηση ετερόλογων μοσχευμάτων οδηγεί σε προβλήματα που σχετίζονται με την ανεπάρκεια αυτών των μοσχευμάτων (πολλοί οι δέκτες αλλά λίγοι οι δότες), την πιθανότητα ανοσολογικής απόρριψης του μοσχεύματος από τον δέκτη αλλά και

τον κίνδυνο μεταμόσχευσης παθογόνων παραγόντων (εισαγωγή μόλυνσης ή και ασθένειας στον δέκτη του μοσχεύματος). [1,4]

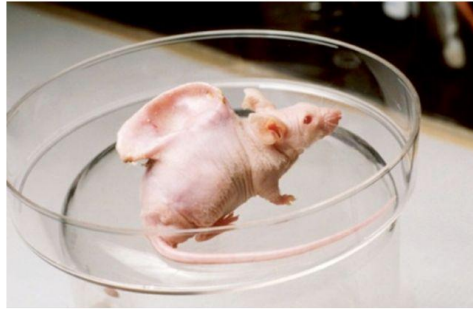
Μια εναλλακτική που ήρθε να συμπληρώσει τις προσπάθειες αυτές φιλοδοξώντας να δώσει λύση στα παραπάνω προβλήματα προσεγγίζοντας τα από μια άλλη οπτική είναι η **Μηχανική Ιστών** η οποία αποτελεί ένα σχετικά νέο διεπιστημονικό πεδίο. Θα μπορούσε να πει κανείς ότι το νέο αυτό πεδίο ήρθε για να δώσει επιστημονική υπόσταση σε μία πρακτική με πανάρχαιες καταβολές. Το νέο αυτό πεδίο συγκεντρώνει και αναμιγνύει ειδικούς και γνώσεις από την κλινική ιατρική, την μηχανολογία, την γενετική, την βιολογία, την επιστήμη των υλικών αλλά και άλλους κλάδους, σχετικούς τόσο με την μηχανική όσο και με τις βιολογικές επιστήμες. [1] Η Μηχανική Ιστών αναδύθηκε ως μια νέα μέθοδος η οποία συνδυάζει κύτταρα, υποστρώματα και βιοενεργούς παράγοντες προκειμένου να “κατασκευάσει” νέους λειτουργικούς ιστούς οι οποίοι και θα αντικαταστήσουν τον κατεστραμμένο ιστό. [4]

Ο όρος Μηχανική Ιστών έχει χρησιμοποιηθεί κατά καιρούς από πολλούς και με διαφορετικές ερμηνείες. Επισήμως όμως θα μπορούσε κανείς να οριοθετήσει την σύνταξη του όρου σε ένα εργαστήριο του NSF (National Science Foundation) το 1988 και αρχικά σήμαινε “ την εφαρμογή αρχών και μεθόδων της μηχανικής και των βιοεπιστημών προς την θεμελιώδη κατανόηση των σχέσεων δομής-λειτουργίας σε φυσιολογικούς και παθολογικούς ιστούς θηλαστικών και ανάπτυξης βιολογικών υποκατάστατων για την αποκατάσταση, διατήρηση ή βελτίωση της λειτουργίας των ιστών”. [1]

Η βασική ιδέα του ορισμού αυτού είναι η χρησιμοποίηση ζωντανών κυττάρων μαζί με τα εξωκυττάρια προϊόντα τους για την ανάπτυξη βιολογικών υποκατάστατων τα οποία θα αντικαταστήσουν τα αδρανή εμφυτεύματα. Στον ορισμό αυτό περιλαμβάνονται διαδικασίες στις οποίες τα υποκατάστατα μπορεί να αποτελούνται από κύτταρα σε ελαιώρημα, κύτταρα πάνω σε ειδικά βιοϋλικά ή ακόμη και κύτταρα με τα εξωκυττάρια προϊόντα τους. Παρ’ όλα αυτά η ευρεία επίγνωση του όρου Μηχανική Ιστών και η χρήση του ως ένα ενοποιημένο σχέδιο για ένα ευρύ πεδίο ταυτόχρονων “γραμμών” έρευνας ανάγεται σε μια έκδοση των Langer και Vacanti στο Science. [5] Οι Robert Langer και Joseph Vacanti το 1993 περιέγραψαν την Μηχανική Ιστών ως “ένα διεπιστημονικό πεδίο που συνδυάζει πτυχές της βιολογίας, της ιατρικής, της μηχανικής και της επιστήμης των υλικών με σκοπό την ανάπτυξη βιολογικών υποκατάστατων που θα αποκαθιστούν, διατηρούν ή βελτιώνουν την λειτουργία ενός ιστού ή ενός ολόκληρου κατεστραμμένου οργάνου”. [6]

The Beginning.....

Charles Vacanti & Robert Langer (1997)



Εικόνα 1.1.1. Ο Δρ. Charles Vacanti αύξησε τον ανθρώπινο χόνδρο στο Πανεπιστήμιο της Μασαχουσέτης, το έφτιαξε σε σχήμα αυτιού και στη συνέχεια το εμφύτευσε σε τρωκτικό.

Οι περισσότεροι ορισμοί της Μηχανικής Ιστών καλύπτουν ένα ευρύ φάσμα εφαρμογών, πρακτικά όμως ο όρος έχει συνδεθεί στενά με την επιδιόρθωση ή αντικατάσταση τμημάτων ή ολόκληρων ιστών. Παράλληλα η δυναμική του νέου αυτού πεδίου υπήρξε η αιτία για νέες ανακαλύψεις σε πολλούς τομείς της επιστήμης και της τεχνολογίας. Έτσι λόγω χάρη κατέστη δυνατή η παραγωγή νέων μοντέλων για την μελέτη της ανθρώπινης φυσιολογίας . Όσα περισσότερα ανακαλύπτουμε για την αναδόμηση των ιστών στο εργαστήριο τόσο περισσότερα μαθαίνουμε για τον ρόλο της δομής και της συναρμογής των ιστών στην Φυσιολογία. Ο όρος εφαρμόζεται επίσης και σε περιπτώσεις εκτέλεσης συγκεκριμένων βιοχημικών δοκιμασιών και λειτουργιών με την χρησιμοποίηση κυττάρων εντός ενός τεχνητού συστήματος υποστήριξης. [7] Εκτός όμως από τις ιατρικές εφαρμογές της η Μηχανική Ιστών μπορεί να χρησιμοποιηθεί και σε θεραπευτικές εφαρμογές. Παραδείγματα τέτοιων εφαρμογών είναι η χρήση ιστών ως βιοαισθητήρες για την ανίχνευση βιολογικών ή χημικών παραγόντων απειλής και η χρήση ιστών για την δοκιμή της τοξικότητας ενός πειραματικού φάρμακου. [8]

Οι εφαρμογές και οι δυνατότητες της Μηχανικής Ιστών καλύπτουν ένα ευρύ πεδίο της ανθρώπινης ζωής και δραστηριότητας και συνεχώς επεκτείνονται. Ενδεικτικά θα μπορούσε κανείς να αναφέρει:

Τεχνητό πάγκρεας : Η έρευνα περιλαμβάνει τη χρήση κυττάρων – νησίδων για την παραγωγή και ρύθμιση της ινσουλίνης, ειδικά σε περιπτώσεις διαβητικών ατόμων.

Καρδιά αρουραίου (Doris Taylor, 2008)

Βιο-τεχνητή τραχεία: Η πρώτη εφαρμογή της αναγεννητικής ιατρικής στην μεταμόσχευση ενός βιο-τεχνητού οργάνου.

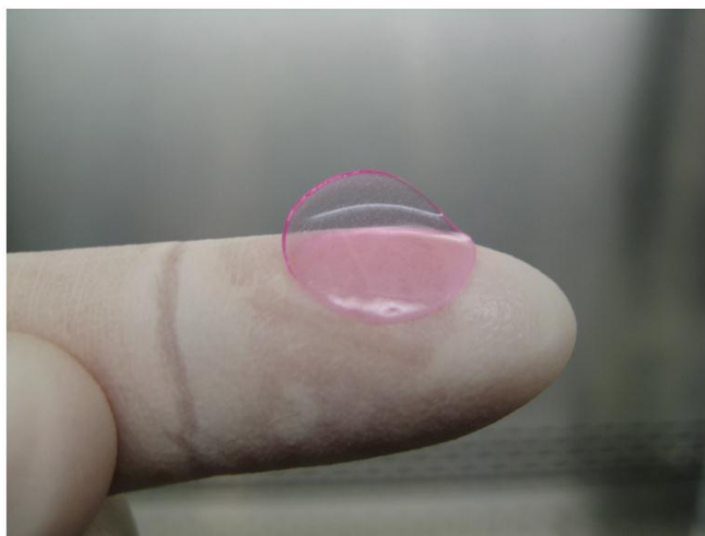


Εικόνα 1.1.2. Τραχεία κατασκευασμένη με την Μηχανική Ιστών για εμφύτευση (2011).

In vitro κρέας : Εδώδιμος τεχνητός ζωικός μυς καλλιεργημένος “in vitro”.

Τεχνητές κύστες : Ο Anthony Atala (Wake Forest University) μεταμόσχευσε με επιτυχία κύστες που αναπτύχθηκαν τεχνητά σε 7 από τους 20 εθελοντές που πήραν μέρος στο πείραμα.

Βιο-τεχνητή συσκευή συκωτιού : συσκευές ηπατικής υποστήριξης, που χρησιμοποιούν ζωντανά ηπατικά κύτταρα.



Εικόνα 1.1.3. Εικόνα ενός μικρού ανθρώπινου ήπατος κατασκευασμένου με την Μηχανική Ιστών στο άκρο ενός χεριού με γάντια. Ένα μίνι βιοτεχνοποιημένο ανθρώπινο ήπαρ που μπορεί να εμφυτευθεί σε ποντίκια. (Sangeeta Bhatia, MIT).

Χόνδρος : Ιστός ανεπτυγμένος στο εργαστήριο χρησιμοποιήθηκε επιτυχώς για την επιδιόρθωση χόνδρου του γόνατου αλλά και του αυτιού.

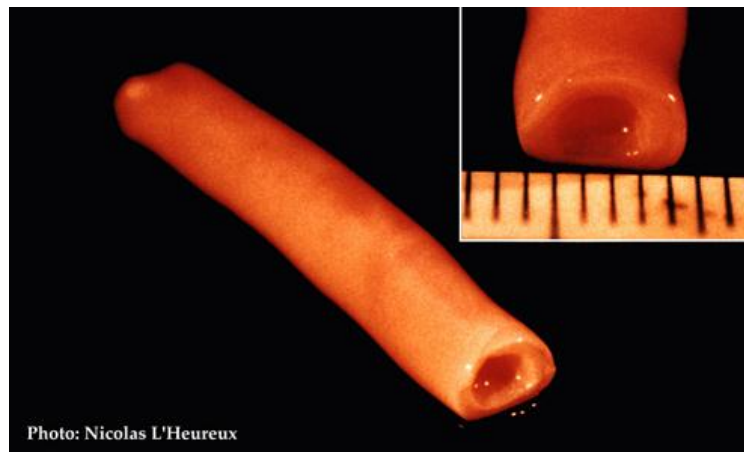


Εικόνα 1.1.4. Εικόνα εμφυτεύματος ανθρώπινου ωτός.

Χόνδρος χωρίς ικρίωμα : Χόνδρος που παράχθηκε χωρίς τη χρήση εξωγενούς ικριαματικού υλικού. Σε αυτή τη μεθοδολογία, όλο το υλικό κατασκευής είναι κυτταρικό ή παράγεται απευθείας από τα κύτταρα.

Αεραγωγός (αναπνευστική οδός)

Τεχνητό αγγείο



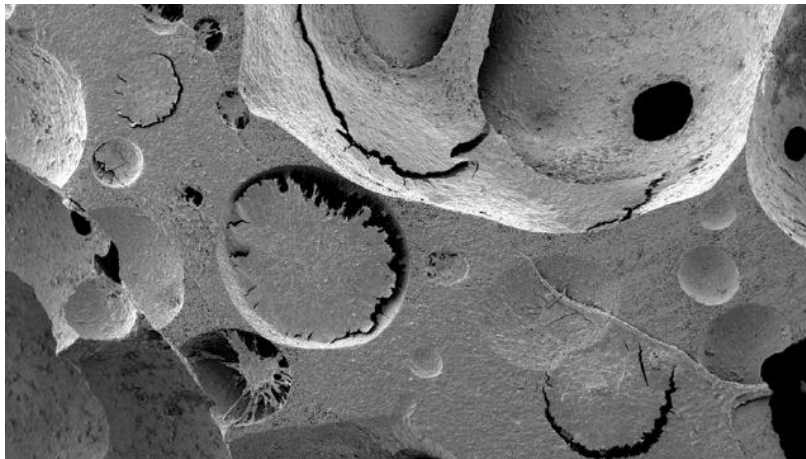
Εικόνα 1.1.5. Αιμοφόρο αγγείο κατασκευασμένο με την Μηχανική Ιστών που παράγεται από ανθρώπινα κύτταρα. (Το αγγείο περιέχει και τα τρία στρώματα που απαντώνται στα κανονικά αιμοφόρα αγγεία. (adventitia, media and endothelium. L'Heureux N. et al. FASEB Journal. 1998;12 (1): 47-56,).

Τεχνητό δέρμα από κατασκευασμένα ανθρώπινα κύτταρα δέρματος ενσωματωμένα σε κολλαγόνο



Εικόνα 1.1.6. Apligraf (τεχνητό δέρμα αποτελούμενο από δύο στρώσεις κυττάρων που δεν περιέχει αδένες, αιμοφόρα αγγεία ή θύλακες τριχών.)

Τεχνητός μυελός των οστών

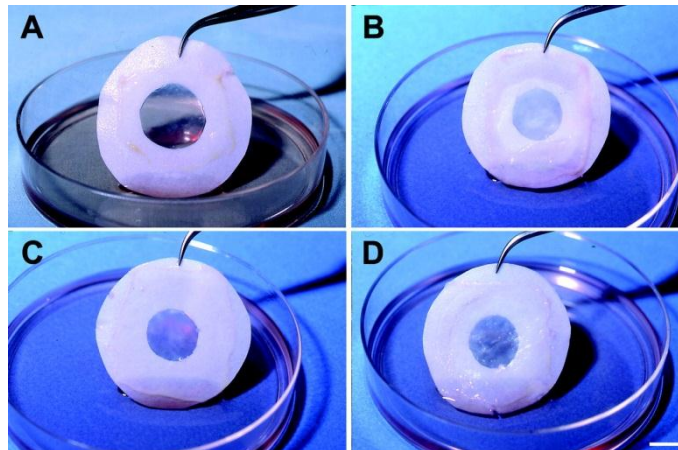


Εικόνα 1.1.7. Οι εικόνες ηλεκτρονικής μικροσκοπίας σάρωσης επιβεβαιώνουν την εναπόθεση μιας εξωκυτταρικής μήτρας που ενσωματώνει κύτταρα, πιθανώς τόσο από στρωματική όσο και από αιματική προέλευση (University of Basel).

Εργαστηριακά κατασκευασμένοι κόλποι (για 4 έφηβες με σύνδρομο Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser (MRKH). Η κατάσταση είναι μια σπάνια γενετική διαταραχή στην οποία ο κόλπος και η μήτρα δεν αναπτύσσονται σωστά ή καθόλου).

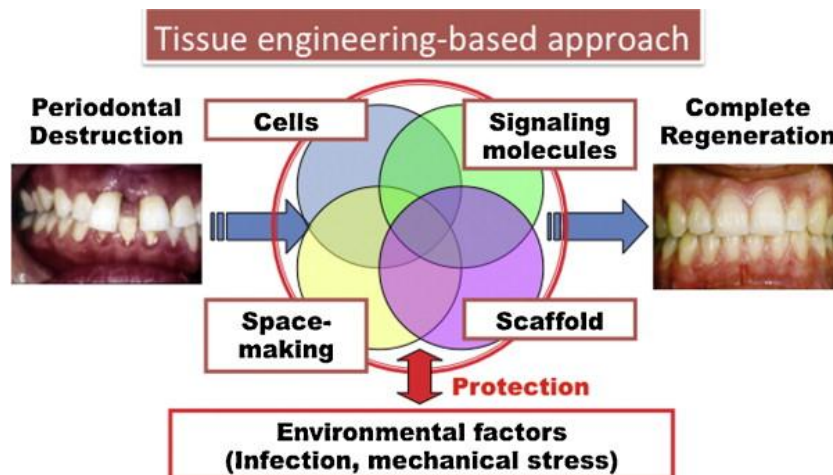
Μοντελοποίηση της ανθρώπινης Φυσιολογίας: η γεφύρωση του κενού που υπάρχει μεταξύ των δισδιάστατων (2D) καλλιεργειών και των ζωικών μοντέλων από τα τρισδιάστατα (3D) μοντέλα που παράγει η Μηχανική Ιστών ανοίγει νέους ορίζοντες στην βιολογία και την βιοϊατρική έρευνα επόμενης γενιάς.

Κερατοειδής χιτώνας



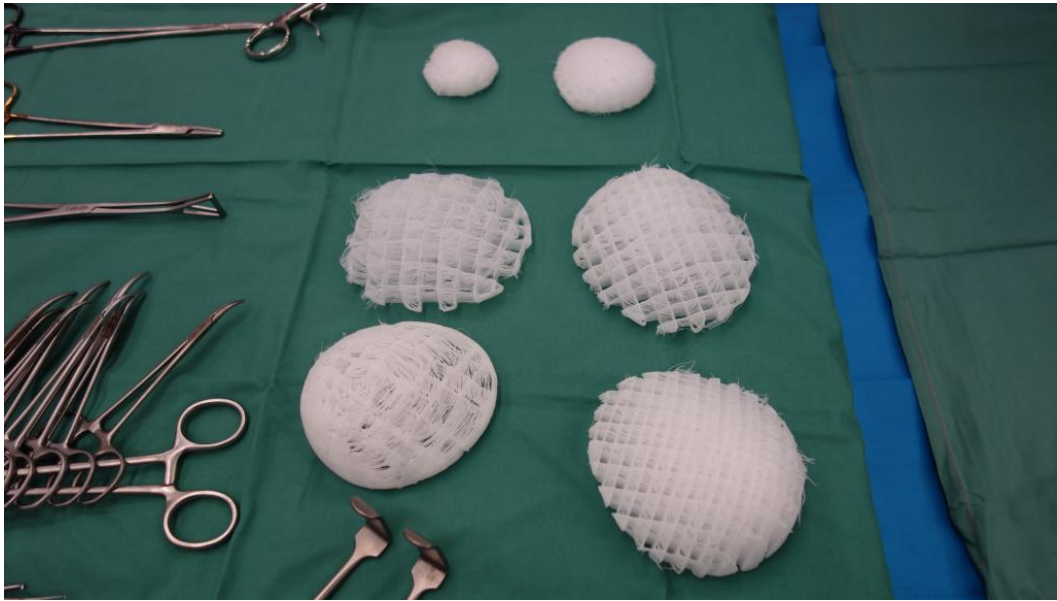
Εικόνα 1.1.8. Διαφάνεια των τεσσάρων τύπων υποκατάστατων που κατασκευάστηκαν με την τεχνική της αυτοσυναρμολόγησης της Μηχανικής Ιστών. (A) Ανασηματισμένος κερατοειδής χιτώνας (CC). (B) Ανασυνδυσασμένο δέρμα (SS). (C, D) Ετεροτυπικοί ιστοί κατασκευασμένοι με ινοβλάστες δέρματος (C) και επιθηλιακά κύτταρα κερατοειδούς (SC). (Δ) Ινοβλάστες κερατοειδούς και επιθηλιακά κύτταρα δέρματος (CS). (ARVO JOURNALS, Impact of Cell Source on Human Cornea Reconstructed by Tissue Engineering, 2009)

Περιοδοντική



Εικόνα 1.1.9. Σχηματική αναπαράσταση οδοντικής αναδόμησης μέσω προσέγγισης με την Μηχανική Ιστών.

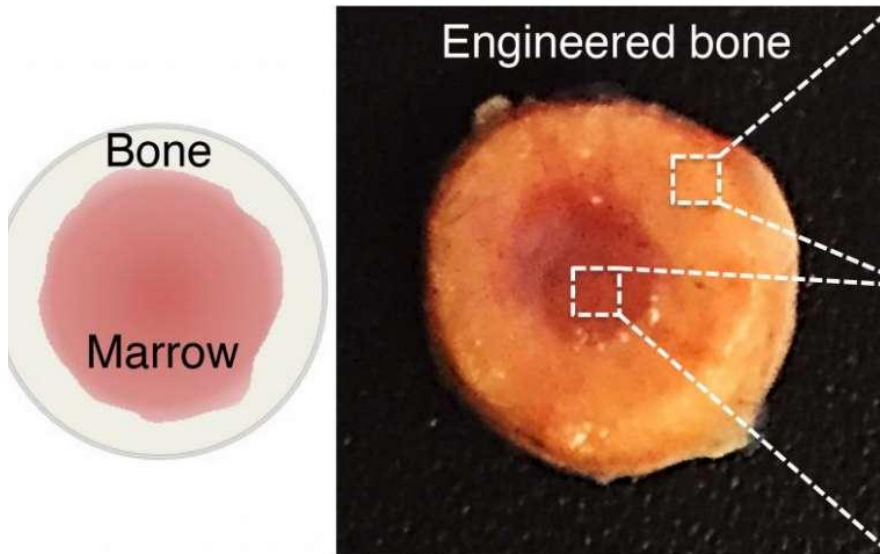
Αυξητική – Αναδομητική στήθους



Εικόνα 1.1.10. Βιοδιασπώμενα ικρίωματα στήθους, τα οποία προσαρμόζονται σε ασθενείς κατασκευασμένα με τεχνολογία σάρωσης 3-D, σχεδιασμό με υπολογιστή και εκτύπωση 3D. (Translational Research Institute Australia)

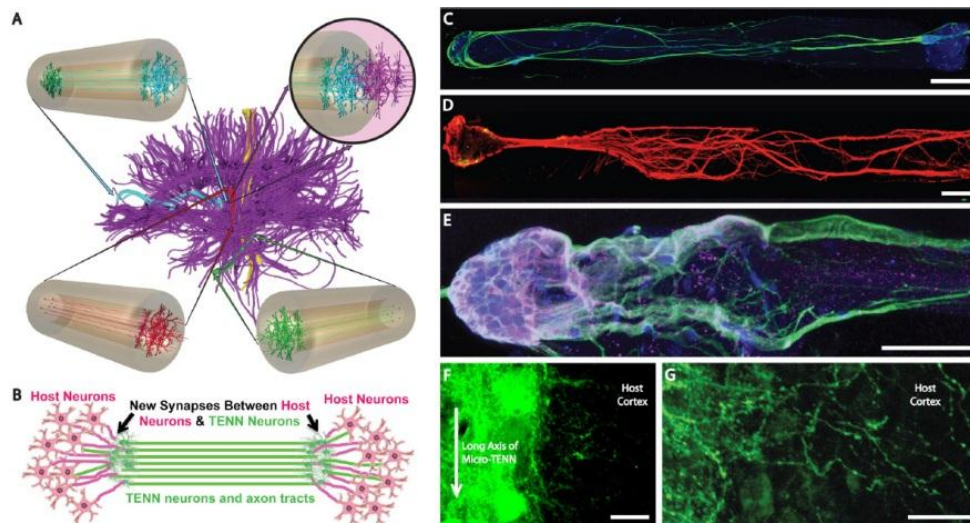
Φάρμακα: η δημιουργία τρισδιάστατων (3D) μοντέλων χρησιμοποιείται ευρέως για την ανάλυση της επίδρασης ενός φαρμάκου, την βελτίωση της αποτελεσματικότητάς του, την εκτίμηση του προφίλ ασφαλείας του κ.λ.π

Τεχνητό οστό



Εικόνα 1.1.11. Οστό κατασκευασμένο με την Μηχανική Ιστών με λειτουργικό μωλό (εργαστήριο Varghese, UC San Diego)

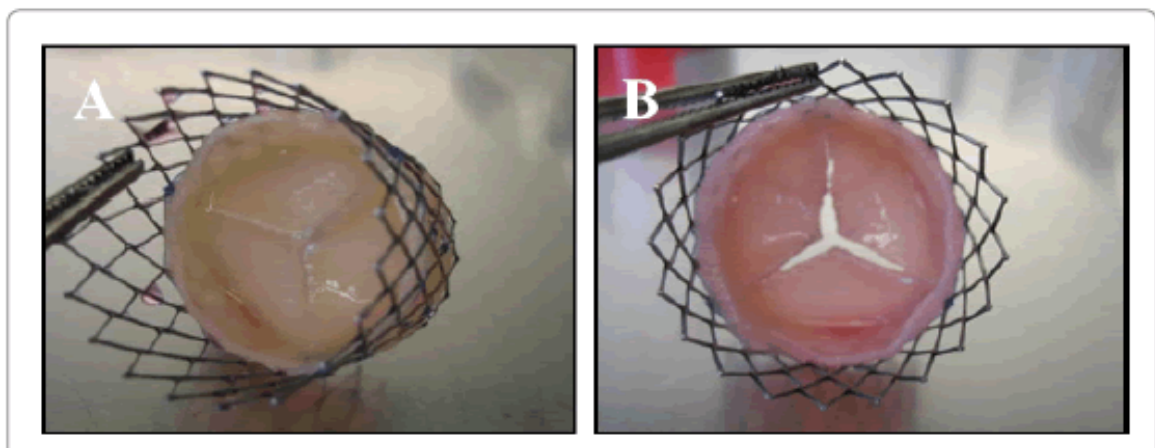
Νευρικά δίκτυα (Micro-TENNs)



Εικόνα 1.1.12. Μικροσκοπικά νευρωνικά δίκτυα (Micro-TENNs), που αποτελούνται από διακεκριμένους νευρωνικούς πληθυσμούς με μακρές αξονικές οδούς μέσα σε βιοσυμβατή μικρο-στήλη. (Neural Regeneration Research 10(5):679, May 2015, Restoring nervous system structure and function using tissue engineered living scaffolds).

Στοματική βλεννογόνος κατασκευασμένη με την Μηχανική Ιστών

Καρδιακός ιστός – Καρδιακές βαλβίδες



Εικόνα 1.1.13. Μακροσκοπική ανάλυση της καρδιακής βαλβίδας κατασκευασμένης με Μηχανική Ιστών βασισμένη σε βλαστοκύτταρα που προέρχονται από λιπώδη ιστό μετά από 4 εβδομάδες καλλιέργειας στο σύστημα βιοαντιδραστήρων στελεχών: Καρδιακή βαλβίδα ενσωματωμένη στο νάρθηκα Nitinol (A). Μετά την ανατομή των συγχωνευμένων φύλλων (B) αποκαλύφθηκε ελαφρά ανάσχυση τους. (Journal of Tissue Science & Engineering, Adipose Derived Tissue Engineered Heart Valve, September 24, 2015).

Κρασιοπροσωπική Αναδόμηση

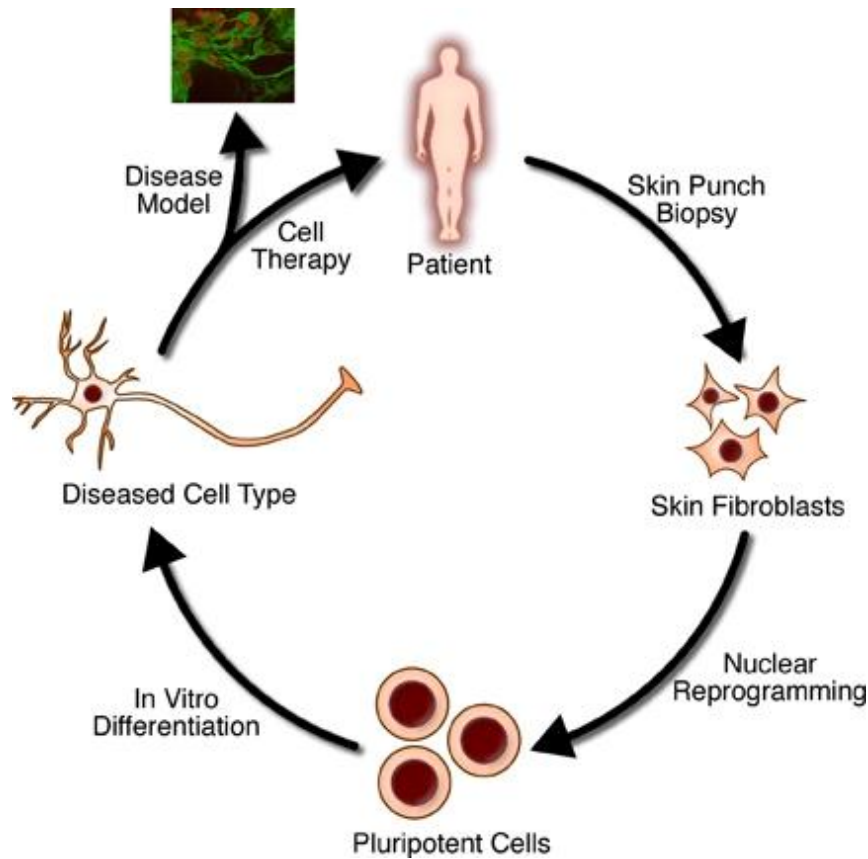
Τένοντες – Σύνδεσμοι - Μηνίσκος

Τεχνητό πέος – Ακροβυστία

Καρκίνος: η δημιουργία τρισδιάστατων (3D) μοντέλων που αναπαριστούν με μεγάλη ακρίβεια το μικροπεριβάλλον του όγκου είναι μείζονος σημασίας για την μελέτη του όγκου εστιάζοντας κυρίως στις διαδικασίες μετάστασης και διήθησης. [7,9]

Αναφορά τέλος πρέπει να γίνει και στον όρο Αναγεννητική Ιατρική , αναφερόμενος και ως Επανορθωτική Ιατρική, ο οποίος φαίνεται να έχει “εφευρεθεί” από τον William Haseltine το 2001. Η αντίληψη του Haseltine τοποθετεί την Μηχανική Ιστών ως μια «φάση» της Αναγεννητικής Ιατρικής, όχι ως συνώνυμο της, δίνοντας έμφαση στην in vitro κατασκευή ανθρώπινων οργάνων για εμφύτευση χρησιμοποιώντας εξειδικευμένα βιοσυμβατά υλικά, σηματοδοτικά μόρια και ενήλικα ανθρώπινα κύτταρα. [5] Η Αναγεννητική Ιατρική είναι ένα ευρύ πεδίο που περιλαμβάνει την Μηχανική Ιστών αλλά ενσωματώνει επίσης και την έρευνα για “αυτοθεραπεία” όπου το σώμα χρησιμοποιώντας τα δικά του συστήματα και μερικές φορές και την βοήθεια ξένων βιολογικών υλικών αναδημιουργεί ιστούς και όργανα. [7] Πρακτικά όμως λίγες είναι οι διακρίσεις ανάμεσα στον όρο του Haseltine για την Αναγεννητική Ιατρική και τις άλλες ερμηνείες της Μηχανικής Ιστών. [5] Οι δυο αυτοί όροι έχουν γίνει σε μεγάλο βαθμό εναλλάξιμοι καθώς το πεδίο της Αναγεννητικής Ιατρικής φιλοδοξεί να εστιάσει σε οριστικές θεραπείες σύνθετων και συχνά μακροχρόνιων ασθενειών δίνοντας έμφαση στην χρήση βλαστικών κυττάρων για την παραγωγή ιστών. [7,8]

Ο ενθουσιασμός που προήλθε από τις επιτυχημένες κλινικές μελέτες και δοκιμές, περισσότερο από 30 χρόνια πριν, οι οποίες αφορούσαν ιστό δέρματος δημιουργημένο από την Μηχανική Ιστών ήταν μεγάλος. Από τότε έχουν γίνει πολλά και μεγάλα βήματα που ενίσχυσαν τις ικανότητες της Μηχανικής Ιστών (αλλά και της Αναγεννητικής Ιατρικής). Η Μηχανική Ιστών γενικά στηρίζεται κυρίως στην χρήση κυττάρων που έχουν υποβληθεί σε διαδικασίες καλλιέργειας. Δεδομένου του γεγονότος ότι τα ζωντανά κύτταρα δύσκολα μπορούν να καταταγούν σε κάποια συγκεκριμένη υπάρχουσα κατηγορία ιατρικών προϊόντων, η χρήση τους δημιούργησε μια μεγάλη πρόκληση τόσο σε επίπεδο ρυθμιστικών αρχών όσο και σε επίπεδο οικονομικών και εμπορικών οντοτήτων. Αυτού του είδους οι προβληματισμοί εξακολουθούν ακόμη και σήμερα να είναι υπό εξέταση.

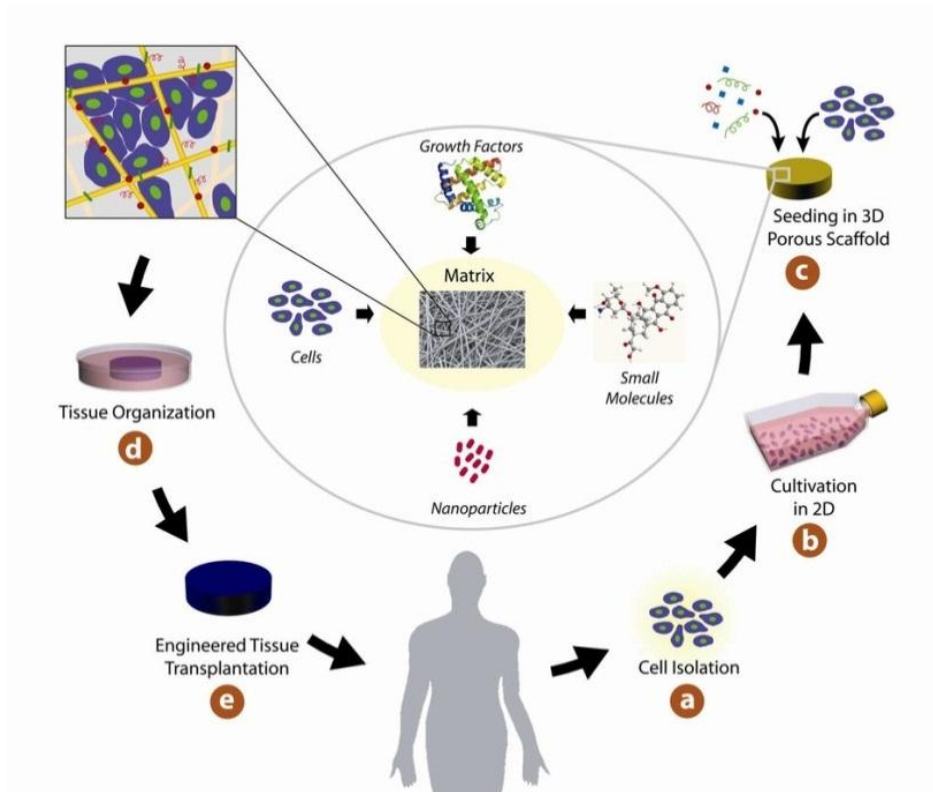


Εικόνα 1.1.14. Μια απλοποιημένη επισκόπηση των γενικών μεθόδων που χρησιμοποιούνται στην Αναγεννητική Ιατρική. Η παραγωγή κυτταρικών θεραπειών απαιτεί τη βελτιστοποίηση τεσσάρων βαθμίδων: πρώτον, απομόνωση και καλλιέργεια κυττάρων που μπορούν εύκολα να ληφθούν από έναν ασθενή με μη επεμβατικό τρόπο. Δεύτερον, ο επαναπρογραμματισμός αυτών των κυττάρων σε πολυδύναμη κατάσταση. Τρίτον, η κατευθυνόμενη διαφοροποίηση αυτών των ειδικών για τον ασθενή πολυδύναμων κυττάρων στον κυτταρικό τύπο που σχετίζεται με τη νόσο τους. Και, τέταρτον, τεχνικές για την αποκατάσταση οποιωνδήποτε εγγενών γενετικών ελαττωμάτων που προκαλούν ασθένεια και μεταμόσχευση των επισκευασμένων, διαφοροποιημένων κυττάρων στον ασθενή. Συγκεκριμένα, αυτά τα κύτταρα ασθενών που σχετίζονται με τη νόσο μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν για τη μοντελοποίηση νόσων in vitro, οι οποίες μπορούν να δώσουν νέες γνώσεις για τους μηχανισμούς της νόσου και την ανακάλυψη φαρμάκων. (Rodolfa, K.T., Inducing pluripotency, September 30, 2008), StemBook, ed. The Stem Cell Research Community.)

1.2 Ικριώματα

Η ιδέα πίσω από την Μηχανική Ιστών είναι η αναπαραγωγή ενός ιστού στόχου μέσω της μίμησης της αναπτυξιακής ή αναγεννητικής διαδικασίας του ιστού αυτού. [10] Συνοπτικά η Μηχανική Ιστών ενσωματώνει βιολογικά συστατικά, όπως κύτταρα και αναπτυξιακούς παράγοντες, με φυσικά ή τεχνητά υλικά χρησιμοποιώντας αρχές της μηχανικής. Αν ήθελε κάποιος να περιγράψει με λίγα λόγια την βασική διαδικασία αυτή θα συνίστατο στην «σπορά» ανθρώπινων κυττάρων πάνω σε αυτά τα φυσικά /τεχνητά υλικά και την επώαση

τους σε ειδικά καλλιεργητικά μέσα που περιέχουν ανάμεσα στα άλλα και αναπτυξιακούς παράγοντες.



Εικόνα 1.2.1. Βασική έννοια της Μηχανικής Ιστών. Τα ανόργανα ικρίωματα που βασίζονται σε βιοδραστικό γυαλί μπορούν να χρησιμεύσουν ως υποστηρικτική πορώδης δομή 3D για τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των κυττάρων. (Bioactive Glass Derived Scaffolds with Therapeutic Ion Releasing Capability for Bone Tissue Engineering, Thesis, 2014)

Η καλλιέργεια αυτή θα είχε ως αποτέλεσμα την διέγερση των κυττάρων και την ώθηση τους προς ανάπτυξη και πολλαπλασιασμό. Η εξάπλωση των κυττάρων πάνω σε αυτά τα υλικά θα οδηγούσε στην δημιουργία του ζητούμενου ιστού. Ο ιστός αυτός στην συνέχεια θα εμφυτευθεί στο ανθρώπινο σώμα. Μετά την εμφύτευση η τύχη του υλικού αυτού εξαρτάται από παράγοντες όπως το είδος του ιστού που φιλοξενεί, η θέση εμφύτευσης κ.α. (το υλικό αυτό μπορεί να απορροφηθεί, να διασπαστεί κ.ο.κ). Τα υλικά αυτά που χρησιμοποιούνται για την «σπορά» των κυττάρων μπορούν να προέρθουν από πολλές φυσικές ή τεχνητές πηγές και ονομάζονται **ικρίωματα (scaffolds)**. [11]

Οι εξελίξεις στον τομέα της Ιατρικής που ασχολείται με την επιδιόρθωση – αντικατάσταση ιστών (ή και ολόκληρων οργάνων) οδηγούνται ταχέως από την χρήση συνθετικών εμφυτευμάτων και μοσχευμάτων σε μια διαφορετική προσέγγιση, αυτής που προσφέρει η Μηχανική Ιστών. Εδώ πλέον χρησιμοποιούνται αποικοδομήσιμα πορώδη υλικά

(τα ικρίωματα) στα οποία “εμφυτεύονται” κύτταρα ή βιολογικά μόρια προκειμένου να επιτευχθεί η αναγέννηση των ιστών. [4] Τα ικρίωματα λοιπόν αποτελούν βασικό κομμάτι και συστατικό της Μηχανικής Ιστών. Πρόκειται για τρισδιάστατες (3D) δομές στις οποίες “εμβολιάζονται” αρχικά τα κύτταρα και ως στόχο τους έχουν να παρέχουν μια προσωρινή μηχανική ακεραιότητα και στήριξη στο πάσχον σημείο έως ότου ο ιστός που έχει υποστεί βλάβη να επιδιορθωθεί ή να αναγεννηθεί και η λειτουργία του να αποκατασταθεί. [6]

Είναι υλικά που έχουν σχεδιαστεί ειδικά ώστε να προκαλέσουν τις συγκεκριμένες κυτταρικές αλλαγές που θα οδηγήσουν τελικά στο σχηματισμό του νέου λειτουργικού σκοπού. Τα ικρίωματα μιμούνται την εξωκυττάρια μήτρα (Extra Cellular Matrix-ECM) του φυσικού ιστού επιτρέποντας με αυτόν τον τρόπο στα κύτταρα που φιλοξενούν να επηρεάσουν με συγκεκριμένο τρόπο το δικό τους μικροπεριβάλλον. [7]

Στις κλασσικές κυτταρικές καλλιέργειες, όπως στις δισδιάστατες (2D) καλλιέργειες σε ένα τρυβλίο, ο αρχικός ρυθμός ανάπτυξης των κυττάρων είναι υψηλός αλλά ο πολλαπλασιασμός τους θα σταματήσει όταν τα κύτταρα έρθουν σε επαφή μεταξύ τους. Οι τρισδιάστατες (3D) κατασκευές εξαιτίας των μεγαλύτερων επιφανειών, σε σχέση με τις (2D) καλλιέργειες, που προσφέρουν για προσκόλληση και ανάπτυξη υπερνικούν τους περιορισμούς για παροχή οξυγόνου και θρεπτικών υλικών που υπάρχουν στις (2D) καλλιέργειες. Επειδή προσομοιάζουν στην κατασκευή και λειτουργία των ιστών του σώματος είναι προτιμητέες. Η διάχυση των θρεπτικών ουσιών, του οξυγόνου και των βιοενεργών παραγόντων στις (3D) κατασκευές επιτρέπουν την επιβίωση μεγαλύτερων αριθμών κυττάρων για εκτεταμένες χρονικές περιόδους. [12]

Ένα ιδανικό ικρίωμα θα παράσχει το αρχικό πλαίσιο και την απαιτούμενη αρχική στήριξη στα κύτταρα που φιλοξενεί επιτρέποντας και ωθώντας αυτά να προσκολληθούν, πολλαπλασιαστούν και διαφοροποιηθούν σχηματίζοντας και την ECM. Το κάθε ικρίωμα απαιτεί ειδικό σχεδιασμό και χαρακτηρίζεται από συγκεκριμένες ιδιότητες οι οποίες θα παίξουν σημαντικό ρόλο στην αποστολή για την οποία δημιουργήθηκε. Πρόκειται για ιδιότητες που αφορούν την επιφανειακή τοπογραφία, την μικροκατασκευή του (αριθμός, μέγεθος, πυκνότητα και σχήμα πόρων, διασυνδεσιμότητα, ειδική επιφάνεια κλπ.), μηχανικές ιδιότητες αλλά και χημικές (διαβρεξιμότητα, σκληρότητα και μαλακή φύση, τραχύτητα κλπ.). Οι ιδιότητες αυτές παίξουν σημαντικό ρόλο και έχει βρεθεί ότι μπορούν να επηρεάσουν διάφορες κυτταρικές λειτουργίες όπως η προσκόλληση, η ανάπτυξη και η διαφοροποίηση. Θα

επηρεάσουν επίσης και την βιοενεργότητα του ικριώματος που θα χρησιμοποιηθεί in vivo για την αναγέννηση του ιστού (πχ. δέρμα , χόνδρος περιφερικά νεύρα κλπ).

Προσπαθώντας λοιπόν να κατασκευάσουμε ένα ικριώμα με σκοπό να το χρησιμοποιήσουμε στην Μηχανική Ιστών έγινε σαφές ότι η κατανόηση της κυτταρικής συμπεριφοράς και αντίδρασης σε εξωκυττάρια τρισδιάστατες (3D) δομές ήταν μείζονος σημασίας προκειμένου να δημιουργήσουμε τα βέλτιστα βιοενεργά ικριώματα. Σημαντική βοήθεια προς αυτή την κατεύθυνση αποτελεί ο έλεγχος και η αναδιαμόρφωση της κυτταρικής συμπεριφοράς με την “ρύθμιση” του τοπικού μικροπεριβάλλοντος που έχει δημιουργηθεί με την Μηχανική Ιστών. [13]

1.2.1 Χαρακτηριστικά ικριωμάτων

Γίνεται σαφές επομένως πως η επιλογή και κατασκευή ενός ικριώματος είναι πολύ σημαντική, για να επιτραπεί στα κύτταρα που φιλοξενεί να συμπεριφερθούν με τον επιθυμητό δια εμάς τρόπο ώστε να δημιουργηθεί ο ιστός ή το όργανο με το συγκεκριμένο σχήμα και μέγεθος. [4] Προκειμένου λοιπόν τα ικριώματα να εκπληρώσουν τον σκοπό τους θα πρέπει εκτός των κατά περίπτωση ειδικών προδιαγραφών να πληρούν και ορισμένες βασικές προδιαγραφές και απαιτήσεις.

1. Τα ικριώματα θα πρέπει να έχουν ΒΙΟΣΥΜΒΑΤΟΤΗΤΑ για να αποφευχθούν ανεπιθύμητες ιστικές αντιδράσεις στο εμφύτευμα. Μετά την εμφύτευση το ικριώμα πρέπει να προκαλεί αμελητέα ανοσολογική αντίδραση προκειμένου να αποφευχθεί η πρόκληση σοβαρής φλεγμονώδους αντίδρασης η οποία θα είχε σαν αποτέλεσμα την μείωση της επούλωσης ή ακόμη και την απόρριψη του εμφυτεύματος.

2. Η ΕΛΕΓΧΟΜΕΝΗ ΒΙΟΑΠΟΙΚΟΔΟΜΗΣΙΜΟΤΗΤΑ είναι σημαντική για την σωστή ενίσχυση του σχηματισμού νέου ιστού. Ο στόχος της Μηχανικής Ιστών είναι να επιτρέψει στα ίδια τα κύτταρα του σώματος σταδιακά να αντικαταστήσουν το εμφυτευμένο ικριώμα το οποίο δεν προορίζεται για μόνιμο και η σταδιακή του αποδόμηση έχει σκοπό να επιτρέψει στα κύτταρα να παράξουν την δική τους εξωκυττάρια μήτρα (Extra Cellular Matrix - ECM). Τα προϊόντα αυτής της αποδόμησης θα πρέπει να μην είναι τοξικά και να αποβάλλονται από το σώμα χωρίς παρεμβολή σε άλλα όργανα.

3. ΔΙΑΣΥΝΔΕΔΕΜΕΝΟΙ ΠΟΡΟΙ με το σωστό ΜΕΓΕΘΟΣ, ΣΧΗΜΑ και ΠΡΟΣΑΝΑΤΟΛΙΣΜΟ είναι απαραίτητοι για την υποστήριξη της διείσδυσης και αγγείωσης των κυττάρων.

4. Το ικρίωμα θα πρέπει να διαθέτει εξαιρετική ΕΠΙΦΑΝΕΙΑΚΗ ΧΗΜΕΙΑ ώστε να επιτραπεί η προσκόλληση, η μετανάστευση, ο πολλαπλασιασμός και η διαφοροποίηση των κυττάρων.
5. Επαρκείς ΜΗΧΑΝΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ είναι απαραίτητες για την διατήρηση της δομής και λειτουργίας αμέσως μετά την εμφύτευση αλλά και κατά την αναδιαμόρφωση του εμφυτεύματος. Ιδανικά το ικρίωμα θα πρέπει να επιδεικνύει μηχανικές ιδιότητες συμβατές με την ανατομική θέση για την οποία προορίζεται και από πρακτικής άποψης να διαθέτει αντοχή στους χειρουργικούς χειρισμούς. Το γεγονός αυτό είναι εξίσου σημαντικό για όλους τους ιστούς αλλά δημιουργεί ιδιαίτερες προκλήσεις στις ορθοπεδικές και καρδιαγγειακές εφαρμογές όπου οι απαιτήσεις για την παράγωγή ικριωμάτων υπόκεινται σε πολλές και ειδικές προδιαγραφές.
6. Ο ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΣ ΕΞΩΚΥΤΤΑΡΙΑΣ ΜΗΤΡΑΣ μέσω της προώθησης των κυτταρικών λειτουργιών και η ικανότητα παροχής των διακυτταρικών σημάτων είναι σημαντικό χαρακτηριστικό ενός ικριώματος.
7. Η ΑΠΟΚΤΗΣΗ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΙΔΙΟΤΗΤΩΝ, αμέσως μετά την εμφύτευση, προκειμένου να παράσχει στα κύτταρα το βέλτιστο περιβάλλον, να παραδώσει επαγωγικά μόρια ή κύτταρα στην θέση επισκευής καθώς και τα απαραίτητα στοιχεία που θα ελέγξουν την δομή και λειτουργία του νέου ιστού.
8. Τα ικρίωματα που χρησιμοποιεί η Μηχανική Ιστών θα πρέπει επίσης να ΜΙΜΟΥΝΤΑΙ εν μέρει την δομή και την λειτουργία της εξωκυττάριας μήτρας.
9. Στα χαρακτηριστικά των ικριωμάτων θα μπορούσε να προσθέσει κανείς και την παράμετρο της ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΤΑΣΚΕΥΗΣ. Ένα ικρίωμα, ένας ιστός, ή μια κατασκευή που έχει δημιουργηθεί με την Μηχανική Ιστών για να είναι κλινικά αλλά και εμπορικά βιώσιμο θα πρέπει, εκτός των προδιαγραφών που αυτό θα πρέπει να τηρεί, να είναι αποδοτικό από πλευράς κόστους και η παραγωγή του να δύναται να κλιμακωθεί από το επίπεδο έρευνας ενός εργαστηρίου τουλάχιστον σε μικρές παρτίδες παράγωγης. Από την στιγμή που η κατεύθυνση των κλινικών ιατρών κλίνει προς την αποφυγή χειρουργικών χειρισμών προκειμένου να γίνει η συγκομιδή των κυττάρων για την in vitro καλλιέργεια πριν την εμφύτευση, ο τρόπος με τον οποίο το προϊόν θα γίνει διαθέσιμο σε αυτούς παίζει βασικό ρόλο. Βέβαια υπάρχουν περιπτώσεις που αυτό δεν είναι δυνατόν να αποφευχθεί.

10. Τέλος μείζονος σημασίας αποτελεί και η ΕΠΙΛΟΓΗ ΤΟΥ ΒΙΟΥΛΙΚΟΥ από το οποίο θα κατασκευαστεί το ικρίωμα και το οποίο είναι εξαρτώμενο από όλα τα παραπάνω (και όχι μόνο) κριτήρια. Με τον όρο βιοϋλικό η ESB (European Society for Biomaterials) το 1976 προσδιόρισε “ ένα μη βιώσιμο υλικό που χρησιμοποιείται σε μια ιατρική συσκευή, προορισμένη να αλληλεπιδρά με βιολογικά συστήματα”. Κατόπιν αυτός ο ορισμός διαμορφώθηκε από την ESB ως “ ένα υλικό που έχει σκοπό να έχει διεπαφή με βιολογικά συστήματα για να αξιολογεί, θεραπεύει, αυξάνει ή αντικαθιστά οποιονδήποτε ιστό, όργανο ή λειτουργία του σώματος. Η αντίληψη της απλής αλληλεπίδρασης άλλαξε και μετακινήθηκε προς την πλευρά του επηρεασμού βιολογικών διαδικασιών καταδεικνύοντας πως το πεδίο των βιοϋλικών έχει εξελιχθεί. [1,4]

1.2.2 Τεχνικές κατασκευής ικριωμάτων

Τα κύτταρα, οι ιστοί και τα όργανα στο ανθρώπινο σώμα είναι οργανωμένα σε τρισδιάστατη αρχιτεκτονική. Προκειμένου λοιπόν η κατανομή, η προσκόλληση, η ανάπτυξη, ο πολλαπλασιασμός και η διαφοροποίηση των κύτταρων σε τρισδιάστατο χώρο να οδηγήσει σε λειτουργικούς ιστούς και όργανα, τα ικρίωματα θα πρέπει να κατασκευάζονται με διαφορετική τεχνολογία. Έχουν αναπτυχθεί αρκετές τεχνικές κατασκευής ικριωμάτων για χρήση στην Μηχανική Ιστών, και συνεχώς προστίθενται νέες, κάθε μια εκ των οποίων με τα δικά της μειονεκτήματα και πλεονεκτήματα. Στις τεχνικές αυτές περιλαμβάνονται:

- Solvent Casting (Χύτευση διαλυτών)
- Particulate Leaching (Εκπλυση σωματιδίων)
- Textile Technologies (Τεχνικές υφαντουργίας)
- Phase Separation (Διαχωρισμός φάσης)
- Electrospinning (Ηλεκτροσυσσωμάτωση)
- Gas Foaming (Αφρισμός αερίων)
- Porogen leaching (Πορωγενής έκπλυση)
- Fiber Mesh (Τεχνική πλέγματος ινών)
- Fiber Bonding (Τεχνική συναρμολόγησης ινών)
- Autoassembly (Αυτοσυναρμολόγηση)

- Nanofiber Assembly (Συναρμολόγηση νανοϊνών)
- Rapid prototyping (ή αλλιώς Solid Free form Formation – SFF) που περιλαμβάνει μεθόδους όπως είναι η 3D εκτύπωση (three dimension printing), stereolithography (στερεολιθογραφία), selective laser sintering (επιλεκτική σύντηξη λέιζερ), indirect casting (IC – έμμεση χύτευση), fused deposition molding (συντηγμένη χύτευση εναπόθεσης) κλπ.
- Melt Molding (Χύτευση με τήξη)
- Membrane Lamination (Ελασματοποίηση μεμβράνης)
- Freeze drying (Τεχνική Λυοφιλοποίησης)
- CAD/CAM Technologies
- Thermally Induced Phase Separation (TIPS) (Θερμοεπαγώμενος Διαχωρισμός Φάσης)
- Emulsification (Γαλακτωματοποίηση) [4,14]

Στις παραπάνω τεχνικές προστίθενται διαρκώς και καινούριες καθώς οι εξελίξεις τόσο στον τομέα της μηχανικής όσο και στον τομέα της επιστήμης των υλικών είναι πραγματικά ραγδαίες. Καμία όμως τεχνική δεν στερείται μειονεκτημάτων τα οποία αντισταθμίζονται εν μέρει ή κάποτε και ολικά από τον συνδυασμό της με άλλη/ες τεχνική/ες. Τα πιο συνήθη μειονεκτήματα σχετίζονται με ανεπαρκείς μηχανικές ιδιότητες, δυσκολίες στον έλεγχο της ακριβούς μορφολογίας του ικριώματος, έλλειψη δομικής σταθερότητας, ανεπαρκή διασυνδεσιμότητα των πόρων, μη επιθυμητό μέγεθος πόρων, περιορισμένος αριθμός υλικών που προσφέρονται για την μέθοδο αυτή, πολύ υψηλό κόστος υλικών ή/και εξοπλισμού, πολύπλοκες παράμετροι σχεδιασμού κλπ. Από την άλλη πλεονεκτήματα όπως η μεγάλη επιφάνεια για την προσκόλληση των κυττάρων, η ταχεία διάχυση των θρεπτικών παραγόντων, η παροχή τρισδιάστατης μήτρας, ο έλεγχος του μεγέθους και της γεωμετρίας των πόρων, η σταθερότητα της βιοενεργότητας, η υψηλή αναλογία επιφάνειας σε σχέση με τον όγκο του ικριώματος κ.α. είναι χαρακτηριστικά μιας ή περισσότερων μεθόδων.

Με εξαίρεση τα κύτταρα του αίματος σχεδόν όλα τα υπόλοιπα κύτταρα των ιστών του ανθρώπου βρίσκονται αγκιστρωμένα σε μια στερεή μήτρα η οποία όπως έχουμε αναφέρει καλείται Εξωκυττάρια Μήτρα (ECM). Ο ρόλος της ECM είναι πολύπλοκος και ταυτόχρονα πολύ σημαντικός και η προσπάθεια κατανόησης της αποστολής της δεν έχει ακόμη ολοκληρωθεί. Υπάρχουν αρκετοί τύποι ECM και χαρακτηρίζονται αφενός μεν από την

ύπαρξη πολλών συστατικών αφετέρου δε από την ιστοειδική τους σύνθεση. Στον παρακάτω πίνακα αναφέρονται οι πέντε (5) πιο βασικές λειτουργίες της ECM, οι αντίστοιχες λειτουργίες των ικριωμάτων που προορίζονται για την Μηχανική Ιστών καθώς και τα αρχιτεκτονικά, μηχανικά και βιολογικά χαρακτηριστικά τους. [15]

Λειτουργίες της εξωκυτταρικής μήτρας (ECM) σε φυσικούς ιστούς και των ικριωμάτων σε μηχανικούς ιστούς

Λειτουργίες της ECM σε φυσικούς ιστούς	Ανάλογες λειτουργίες ικριωμάτων σε μηχανικούς ιστούς	Αρχιτεκτονικά, βιολογικά και μηχανικά χαρακτηριστικά των ικριωμάτων
1. Παρέχει δομική υποστήριξη για τη διαμόρφωση των κυττάρων	Παρέχει δομική υποστήριξη για εξωγενώς εφαρμοζόμενα κύτταρα για προσκόλληση, ανάπτυξη, μετανάστευση και διαφοροποίηση in vitro και in vivo	Βιοϋλικά με θέσεις δέσμωσης για κύτταρα, πορώδη δομή με διασυνδεσιμότητα για κυτταρική μετανάστευση και για διάχυση θρεπτικών συστατικών, προσωρινή αντίσταση στη βιοαποικοδόμηση κατά την εμφύτευση
2. Συμβάλλει στις μηχανικές ιδιότητες των ιστών	Παρέχει το σχήμα και τη μηχανική σταθερότητα στο ελάττωμα ιστού και δίνει την ανελαστικότητα και ακαμψία στους μηχανικούς ιστούς	Βιολογικά υλικά με επαρκείς μηχανικές ιδιότητες γεμίζοντας τον κενό χώρο του ελαττώματος και προσομοιάζοντας εκείνο του φυσικού ιστού
3. Παρέχει βιοδραστικά στοιχεία για τα κύτταρα να ανταποκρίνονται στο μικροπεριβάλλον τους	Αλληλεπιδρά με τα κύτταρα ενεργά για να διευκολύνει δραστηριότητες όπως ο πολλαπλασιασμός και η διαφοροποίηση	Βιολογικά στοιχεία όπως θέσεις δεσμεύσεως κυττάρων, φυσικά στοιχεία όπως η τοπογραφία της επιφάνειας

Λειτουργίες της εξωκυτταρικής μήτρας (ECM) σε φυσικούς ιστούς και των ικριωμάτων σε μηχανικούς ιστούς

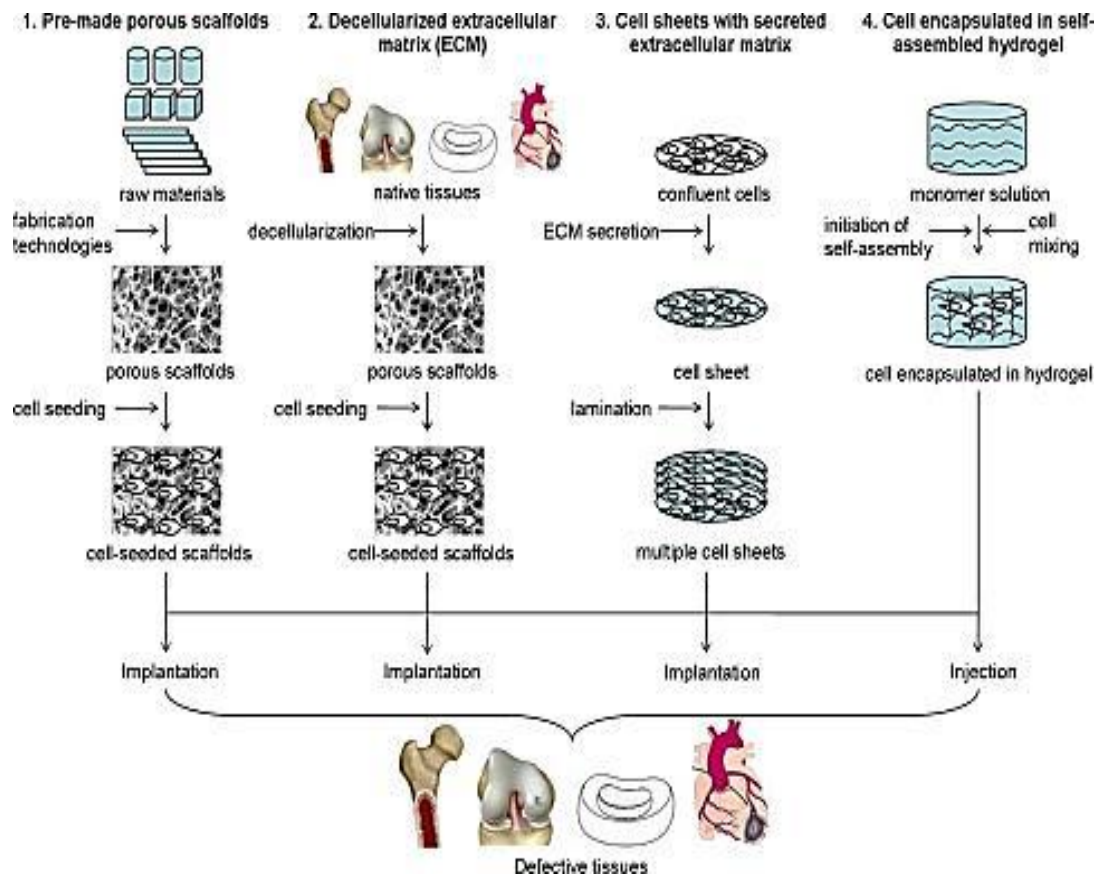
4. Δρα ως δεξαμενή αυξητικών παραγόντων και ενισχύει τις ενέργειές τους	Εξυπηρετεί ως όχημα μεταφοράς και δεξαμενή για εξωγενώς εφαρμοσμένους παράγοντες διέγερσης ανάπτυξης	Μικροδομές και άλλοι παράγοντες μήτρας που διατηρούν βιοδραστικούς παράγοντες στο ικρίωμα
5. Παρέχει ένα ευέλικτο φυσικό περιβάλλον για να επιτρέψει την αναδιαμόρφωση ως απάντηση σε δυναμικές διεργασίες ιστών όπως η επούλωση πληγών	Παρέχει κενό όγκο για αγγείωση και νέο σχηματισμό ιστού κατά τη διάρκεια της αναδιαμόρφωσης	Πορώδεις μικροδομές για διάχυση θρεπτικών ουσιών και μεταβολιτών, σχεδιασμός μήτρας με ελεγχόμενους μηχανισμούς και ποσοστά αποικοδόμησης, βιοϋλικά και τα υποβαθμισμένα προϊόντα τους με αποδεκτή συμβατότητα με τους ιστούς

Πίνακας 1.2.2.1. Βασικές λειτουργίες της ECM, οι αντίστοιχες λειτουργίες των ικριωμάτων της Μηχανικής Ιστών τα αρχιτεκτονικά, μηχανικά και βιολογικά χαρακτηριστικά τους. [15]

Ποιο θα ήταν όμως το ιδανικό ικρίωμα που θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί στην Μηχανική Ιστών; Η απάντηση στο ερώτημα αυτό είναι ότι το ιδανικό ικρίωμα για έναν ιστό κατασκευασμένο με την Μηχανική Ιστών θα ήταν αυτό το οποίο θα είχε ακριβώς την φύση και θα επιδείκνυε τις ίδιες ιδιότητες με την ECM του ιστού – στόχου στην γηγενή της κατάσταση. Η πολυπλοκότητα, οι διαφορετικές λειτουργίες που εκτελεί αλλά και η δυναμική μιας ECM είναι οι παράγοντες που κάνουν δύσκολο για ένα ικρίωμα από οποιοδήποτε υλικό να την μιμηθεί ακριβώς. [15]

Και ακριβώς οι παραπάνω λόγοι ήταν αυτοί οι οποίοι επέβαλαν κατά την εξέλιξη της Μηχανικής Ιστών και την ανάγκη προσέγγισης της κατασκευής ενός ικριώματος όχι μονόπλευρα αλλά από διαφορετικές κατευθύνσεις. Οι προσεγγίσεις αυτές παρουσιάζουν αρκετές διαφορές μεταξύ τους αλλά η ποικιλία στις μεθόδους κατασκευής ικριωμάτων που δεν αδρανοποιούν την δραστικότητα των βιοενεργών μορίων θα πρέπει να είναι ο οδηγός για την συνετή χρήση τους. Κάθε μια από αυτές μπορεί να χρησιμοποιηθεί είτε μόνη της είτε σε

συνδυασμό με κάποια άλλη ή άλλες παρουσιάζοντας συγκεκριμένα πλεονεκτήματα αλλά και μειονεκτήματα και απευθύνεται σε συγκεκριμένες βιοϊατρικές εφαρμογές. [15]



Εικόνα 1.2.2.1 Σχηματικό διάγραμμα που δείχνει διαφορετικές προσεγγίσεις κριωμάτων στη μηχανική ιστών.[15]

Χαρακτηριστικά διαφορετικών προσεγγίσεων κριωμάτων στη μηχανική ιστών

Προσέγγιση κριώματος	(1) Προπαρασκευασμένα πορώδη κριώματα για σπορά κυττάρων	(2) Αποκυτταρωμένη εξωκυτταρική μήτρα για σπορά κυττάρων	(3) Συρρέοντα κύτταρα με εκκρινόμενη εξωκυτταρική μήτρα	(4) Κύτταρα ενθυλακωμένα σε αυτοσυναρμολογημένη υδρογέλη
Πρώτες ύλες	Συνθετικά ή φυσικά βιοϋλικά	Αλλογενείς ή ξενογονικοί ιστοί	Κύτταρα	Συνθετικά ή φυσικά βιοϋλικά ικανά να αυτοσυναρμολογούνται σε υδρογέλες
Τεχνολογία επεξεργασίας/κατασκευής	Ενσωμάτωση πορογόνων σε στερεά υλικά, τεχνολογίες κατασκευής SFF, τεχνικές με υφαντές ή μη υφασμένες ίνες	Τεχνολογίες αποκυτταροποίησης	Έκκριση εξωκυττάριας μήτρα από τα συρρέοντα κύτταρα	Έναρξη διαδικασίας αυτοσυναρμο-λόγησης από παραμέτρους όπως το pH και η θερμοκρασία

Στρατηγική για συνδυασμό με κύτταρα	Σπορά	Σπορά	Κύτταρα που υπάρχουν πριν από την έκκριση εξωκυττάριας μήτρας	Κύτταρα που υπάρχουν πριν από την αυτο- συναρμο-λόγηση
Στρατηγική για μεταφορά σε ιστούς ξενιστή	Εμφύτευση	Εμφύτευση	Εμφύτευση	Ένεση
Πλεονεκτήματα	Πιο διαφοροποιημένες επιλογές για υλικά, ακριβής σχεδίαση για τη μικροδομή και την αρχιτεκτονική	Περισσότερα ικρίωματα που προσομοιάζουν τη φύση όσον αφορά τη σύνθεση και τις μηχανικές ιδιότητες	Η εξωκυττάρια μήτρα που εκκρίνεται από το κύτταρο είναι βιοσυμβατή	Ενέσιμη, γρήγορη και απλή διαδικασία σε ένα βήμα. οικεία κύτταρα και αλληλεπιδράσεις υλικών
Μειονεκτήματα	Χρονοβόρα διαδικασία σποράς κυττάρων. ανομοιογενής κατανομή κυττάρων	Ανομοιογενής κατανομή κυττάρων, δυσκολία στη συγκράτηση όλων των εξωκυττάριας ουσιών, ανοσογονικότητα μετά την ατελής αποκυτταροποίηση	Χρειάζονται πολλαπλές ελασματοποιήσεις	Μαλακές δομές
Προτιμώμενες εφαρμογές	Τόσο μαλακοί όσο και σκληροί ιστοί. Ιστοί φέροντες φορτίο	Ιστοί με υψηλή περιεκτικότητα σε ECM. Ιστοί φέροντες φορτίο	Ιστούς με υψηλή κυτταρική, επιθηλιακούς ιστούς, ενδοθηλιακούς ιστούς, ιστούς λεπτού στρώματος	Μαλακοί ιστοί

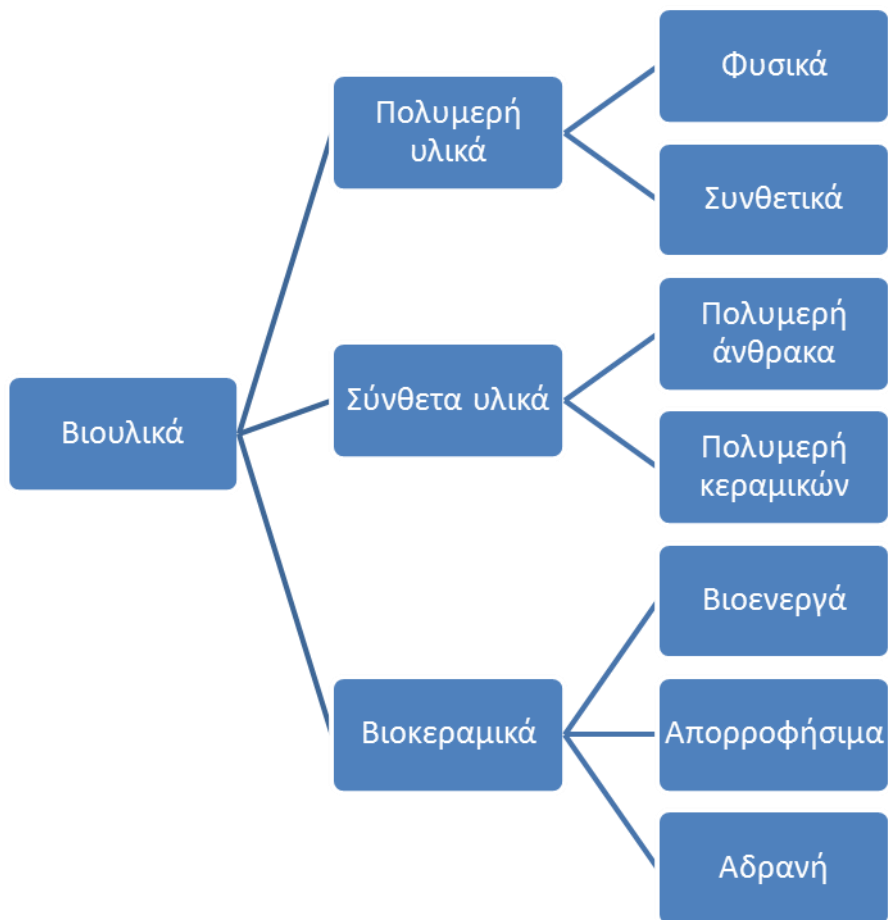
Πίνακας 1.2.2.2 Χαρακτηριστικά διαφορετικών προσεγγίσεων ικρίωμάτων στη μηχανική ιστών. [15]

1.2.3 Υλικά που χρησιμοποιούνται στην κατασκευή ικρίωμάτων

Η επιλογή του υλικού από το οποίο θα κατασκευαστεί ένα ικρίωμα αλλά και σχεδιασμός του ο οποίος θα ρυθμίσει τον πολλαπλασιασμό και την διαφοροποίηση των κυττάρων που αυτό φέρει είναι κομβικής σημασίας. Και αυτό γιατί τα υλικά που χρησιμοποιούνται στην Μηχανική Ιστών πρέπει να είναι χημικώς λειτουργικά προκειμένου να προάγουν την αναγέννηση του ιστού όπως κάνει και η ECM. [12]

Πολλοί τύποι βιοϋλικών μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην παραγωγή 3D ικριωμάτων. Τα υλικά αυτά εκτός της υψηλής ιστοσυμβατότητας που πρέπει να επιδεικνύουν θα πρέπει να είναι μη αντιγονικά, μη καρκινογόνα και μη μεταλλαξιογόνα. Οι ιδιότητες αυτές έχουν σημαντική επίδραση στο ικρίωμα από την στιγμή που αυτό είναι που θα πρέπει να προάγει τις βιολογικές διαδικασίες όπως η ανάπτυξη, ο πολλαπλασιασμός και η διαφοροποίηση των κυττάρων του. Κατά κύριο λόγο τα βιοϋλικά που χρησιμοποιούνται σήμερα στην Μηχανική Ιστών ανήκουν στις κατηγορίες των βιοκεραμικών, των πολυμερών και των συνθετών υλικών (σχήμα 1.2.3.1). [6]

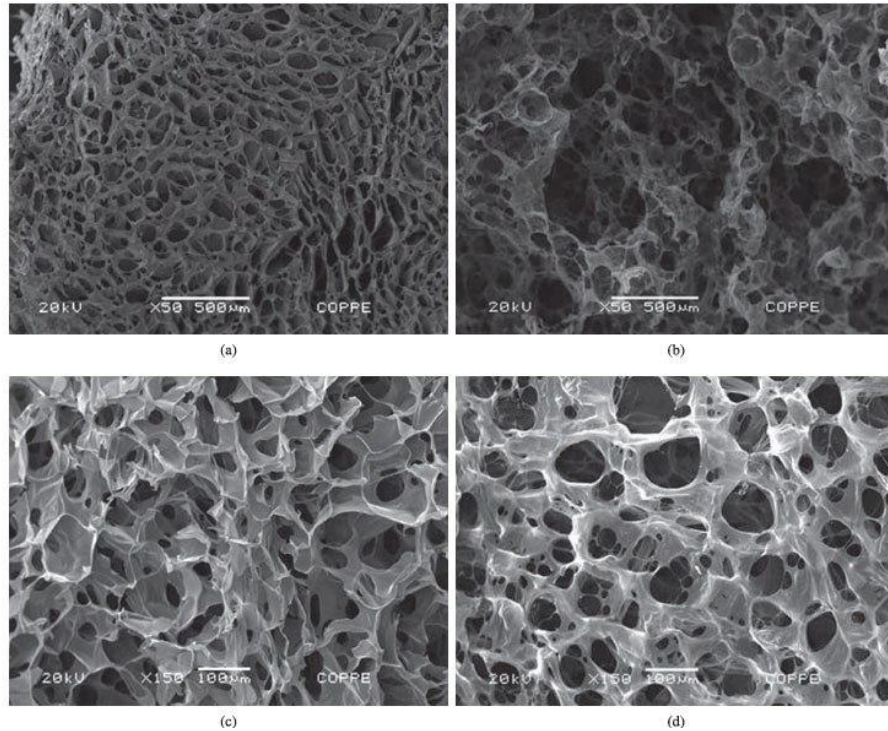
Αν και οι συνήθεις επιλογές είναι τα κεραμικά και τα πολυμερή τα τελευταία χρόνια παρατηρείται μια αύξηση της χρήσης των υλικών που ανήκουν στα σύνθετα. Πάνω από το 30% των βιοϋλικών που χρησιμοποιείται τώρα στην κατασκευή των ικριωμάτων είναι σύνθετα υλικά. Αυτό έχει να κάνει κυρίως με την βιομημητική προσέγγιση του κάθε ικριώματος. Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι τα ικρίωματα από πολυμερή υλικά τα οποία εκτός από τα ανεπαρκή μηχανικά χαρακτηριστικά τους (μηχανική αντοχή, σκληρότητα, Young's Modulus κλπ) εμφανίζουν και χαμηλή βιοενεργότητα. Το πρόβλημα αυτό φαίνεται να διορθώνεται με την προσθήκη κεραμικών υλικών όπως ο υδροξυαπατίτης (HA). Φαίνεται πως ο συνδυασμός ελαστικού πολυμερούς με βιοκεραμικό υλικό υποστηρίζει και προάγει την αναγέννηση του ιστού. [6] Συνθετικά πολυμερή όπως το Polystyrene, το PLA, το PGA έχουν χρησιμοποιηθεί για την κατασκευή ικριωμάτων αλλά παρόλη την επιτυχία τους τα υλικά αυτά εγείρουν και ανησυχίες που αφορούν την απόρριψη λόγω μειωμένης βιοενεργητικής ή την διαδικασία διάσπασής τους. Για παράδειγμα το PGA διασπάται με υδρόλυση που οδηγεί στην δημιουργία CO₂ το οποίο τοπικά μειώνει το pH γεγονός που μπορεί να οδηγήσει στην κυτταρική και ιστική νέκρωση. [1]



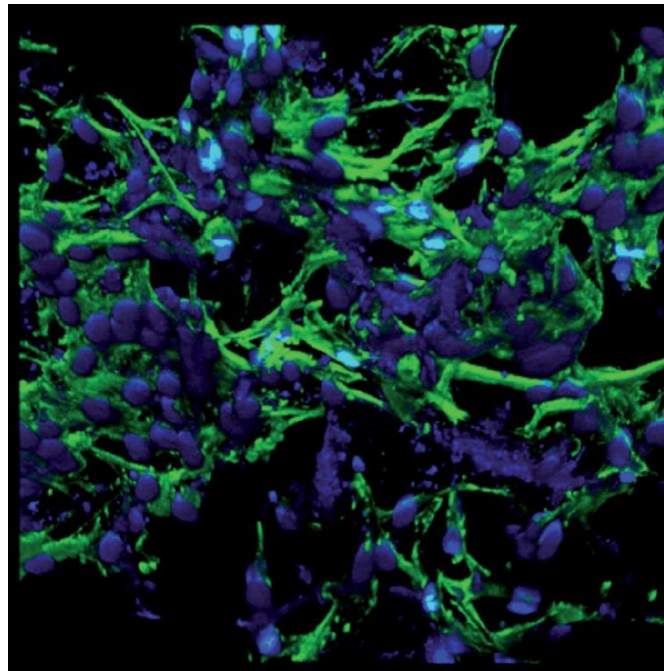
Σχήμα 1.2.3.1: Γενικές κατηγορίες Βιοϋλικών. [6]

Τα ικρίσματα που παράγονται από σύνθετα υλικά εκτός από τα διαφορετικά υλικά από τα οποία προκύπτουν δημιουργούνται από τον προσεκτικό συνδυασμό δύο ή και περισσότερων μεθόδων κατασκευής. Έτσι δημιουργούνται χωρικά ικρίσματα με διαφορετικές ιδιότητες και ως εκ τούτου διαφοροποιημένες εφαρμογές .

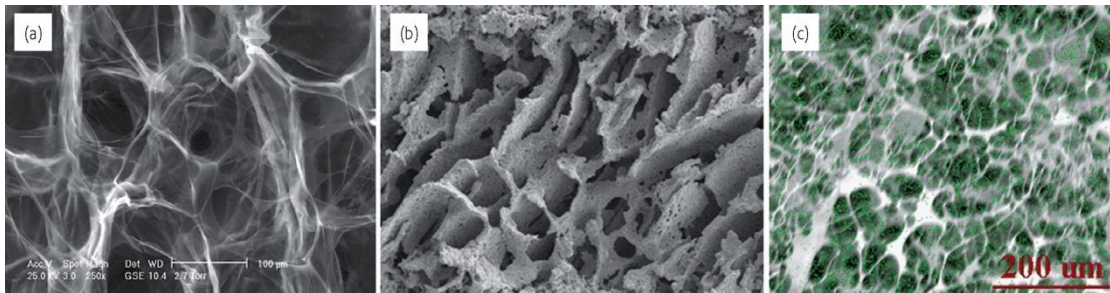
Εντούτοις το γεγονός ότι κάθε κατηγορία υλικού ή υλικών παρουσιάζει συγκεκριμένα πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα παραμένει και αυτό δημιουργεί διαρκώς νέες προκλήσεις στους ερευνητές.



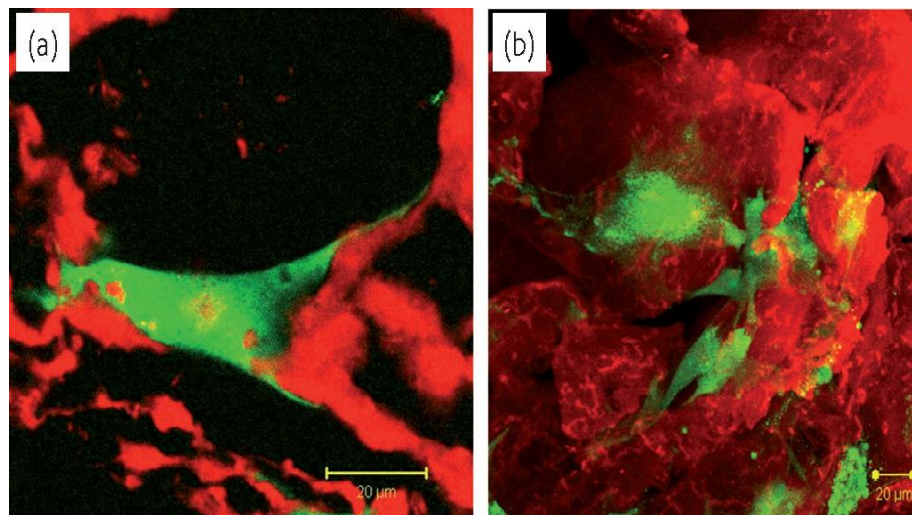
Εικόνα 1.2.3.1 Μικρογραφίες SEM: (a)Χιτοζάνη 50× (b) Κολλαγόνο – Χιτοζάνη 50× (c) Χιτοζανη 150× (d) Κολλαγόνο – Χιτοζάνη 150× (Cytocompatibility of Chitosan and Collagen-Chitosan Scaffolds for Tissue Engineering, *Polímeros* 21(1):1-6 · December 2010)



Εικόνα 1.2.3.2 In vitro σχηματισμός μικροκυβελίδων από ενδοθηλιακά κύτταρα στο σκελετό CG. Σε αυτή την εικόνα, κατασκευάσματα με σπόρους κυττάρου επισημάνθηκαν με AlexaFluor 488 Φαλλοϊδίνη (η οποία κηλιδώνει το κυτταροσκελετό των κυττάρων πράσινο) και DAPI (που κηλιδώνει τον κυτταρικό πυρήνα μώβ). Στη συνέχεια παρατηρήθηκε σχηματισμός σκελετού χρησιμοποιώντας απεικόνιση πολλαπλών φωτονίων. [1]



Εικόνα 1.2.3.3 Συγκριτικές εικόνες SEM (scanning electron microscope) του (α) ικρίωματος κολλαγόνου - GAG (CG) (β) υδροξυαπατίτη (HA) και (γ) σκελετού σύνθετου κολλαγόνου-HA (CHA). Το υψηλό πορώδες του ικρίωματος CG, το οποίο προάγει τη βελτιωμένη διήθηση κυττάρων και αγγείωση, είναι εμφανές. Το μειονέκτημα είναι ότι έχει κακές μηχανικές ιδιότητες. Το ικρίωμα HA έχει καλύτερες μηχανικές ιδιότητες αλλά χαμηλότερη ικανότητα για διήθηση κυττάρων και αγγείωση. Με την παραγωγή ενός ικρίωματος CHA (c), είναι δυνατόν να ξεπεραστούν τα προβλήματα και με τα δύο υλικά διατηρώντας παράλληλα τα θετικά τους χαρακτηριστικά. Το υψηλό πορώδες του ικρίωματος CHA και η ομοιόμορφη κατανομή των σωματιδίων HA (πράσινες κουκκίδες) μπορεί να φανεί καθαρά. [1]



Εικόνα 1.2.3.4 Συντοπιστική μικρογραφία που δείχνει κύτταρα οστεοβλαστών (πράσινο) συνδεδεμένα σε ένα πολύ πορώδες σκελετό κολλαγόνου-GAG (κόκκινο). Ο μηχανισμός με τον οποίο τα κύτταρα προσκολλώνται σε βιοϋλικά και ικρίωματα για μηχανική ιστών είναι κρίσιμης σημασίας για την επιτυχή αναγέννηση ιστών. [1]

2. Υδρογέλες

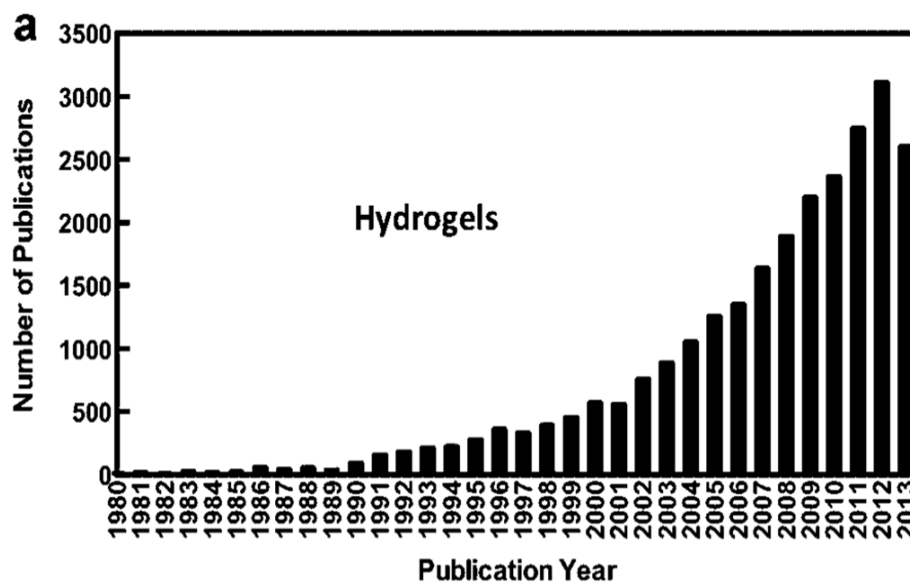
2.1 Γενικά στοιχεία

Μια ενδιαφέρουσα ομάδα σύνθετων υλικών που συνεχώς προσελκύει όλο και περισσότερους ερευνητές είναι οι ΥΔΡΟΓΕΛΕΣ οι οποίες ανήκουν στην κατηγορία των πολυμερών που αποτελούν και την πλειοψηφία των βιοϋλικών. Έχοντας επιδείξει μεγάλη βιοσυμβατότητα και ομοιότητα με συστατικά των ιστών του σώματος λογίζονται ως μια ομάδα υλικών που υπόσχεται πολλά στον τομέα των βιοϋλικών αλλά και της Μηχανικής Ιστών. [16]

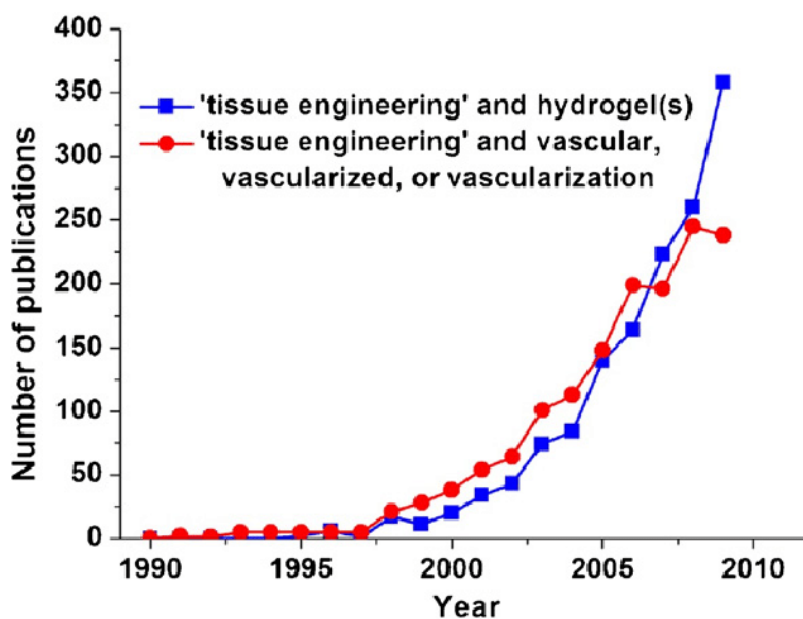


Εικόνα 2.1.1 Αυτή η νέα φυλή έξυπνων βιοϋλικών θα μπορούσε να δημιουργήσει συναρπαστικές ευκαιρίες στην υγειονομική περίθαλψη, τη βιομηχανία και την επιστημονική έρευνα. (Shyni Varghese)

Οι υδρογέλες έχουν υπάρξει ως αντικείμενο έρευνας τα τελευταία 50 χρόνια με συνεχώς αυξανόμενη τάση εξαιτίας του γεγονότος ότι διαπιστώνεται η δυνατότητα εφαρμογής τους σε πολλά πεδία ερευνών. [17]



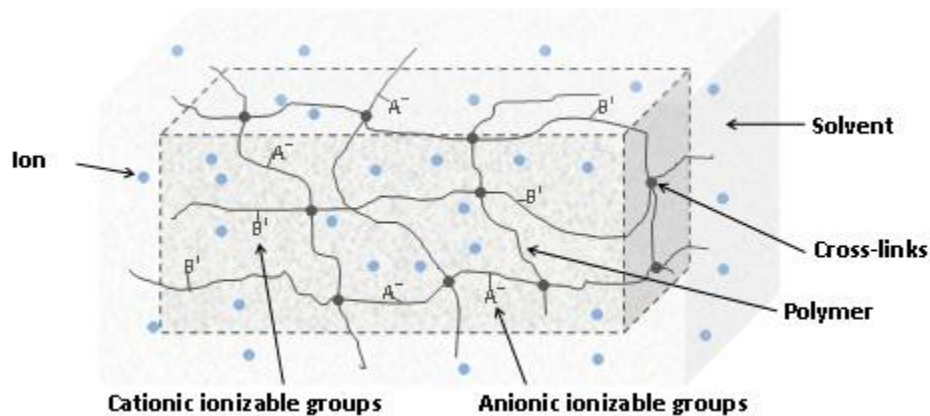
Σχήμα 2.1.1 Ιστόγραμμα που δείχνει την αύξηση των δημοσιεύσεων που σχετίζονται με τον όρο “υδρογέλες” κατά την διάρκεια των τελευταίων 33 ετών σύμφωνα με το ISI Web of Science (δεδομένα που αποκτήθηκαν τον Νοέμβριο του 2013). [23]



Σχήμα 2.1.2 Συνολικός αριθμός δημοσιεύσεων σχετικά με την «μηχανική ιστών» και την υδρογέλη, τη «μηχανική ιστών» και αγγειακή, αγγειοποιητική ή αγγειοποίηση. (Science Citation Index Expanded [SCI-EXPANDED].)

Στο πέρασμα του χρόνου έχουν δοθεί πολλές περιγραφές και πολλοί ορισμοί ως προς το τι είναι οι υδρογέλες. Σύμφωνα με τους Lee, Kwon και Park ο όρος ανάγεται σε ένα άρθρο του 1894 στο οποίο περιγράφεται ένα υλικό (επρόκειτο για ένα κολλοειδές πήκτωμα

κατασκευασμένο από ανόργανα άλατα) το οποίο δεν ήταν υδρογέλη σύμφωνα με τις περιγραφές που χρησιμοποιούνται σήμερα. Ο πιο κοινός ορισμός που απαντάται σήμερα ορίζει τις υδρογέλες ως “ένα διογκούμενο από νερό και διασυνδεδεμένο πολυμερές δίκτυο που παράγεται από την απλή αντίδραση ενός ή περισσότερων μονομερών”. Κατά άλλους “πρόκειται για πολυμερές υλικό που επιδεικνύει ικανότητα να διογκώνεται διατηρώντας ένα μεγάλο μέρος νερού μέσα στην δομή του, αλλά είναι αδιάλυτο στο νερό”. Συχνά συναντάται στην βιβλιογραφία και ο ορισμός ότι “πρόκειται για τρισδιάστατα (3D) βιοϋλικά με την ικανότητα να απορροφούν μεγάλες ποσότητες νερού ενώ διατηρούν την διαστασιακή τους σταθερότητα ”. Αντιλαμβάνεται κανείς ότι οι ορισμοί παρά τις όποιες διαφορές τους αναφέρουν ως βασικό χαρακτηριστικό την ικανότητα αυτών των υλικών να απορροφούν μεγάλες ποσότητες νερού (αλλά και άλλων υγρών). [16,17,18] Σχηματίζονται από αλυσίδες πολυμερών συνδεδεμένων με σταυροειδείς δεσμούς μέσω μιας πληθώρας μηχανισμών. Η πλειοψηφία των μεθόδων φυσικής ζελατινοποίησης (γελοποίησης) εξαρτάται από τις εγγενείς ιδιότητες των πολυμερών. Η εξάρτηση αυτή περιορίζει την ικανότητα ρύθμισης των χαρακτηριστικών των υδρογελών αλλά είναι εύκολο να επιτευχθεί και να αντιστραφεί. Οι χημικές προσεγγίσεις ζελατινοποίησης επιτρέπουν την ελεγχόμενη διαχείριση της διαδικασίας με έναν πιο δυναμικά καθορισμένο τρόπο. [19]



Εικόνα 2.1.2 Μια σχηματική παρουσίαση μιας γέλης βυθισμένης σε ένα διαλύτη. [26]

Το πρώτο πάντως υλικό με διασυνδεδεμένο δίκτυο που εμφανίστηκε στην βιβλιογραφία και περιγράφεται από τις τυπικές ιδιότητες των υδρογελών (της υψηλής συγγένειας με το H_2O) είναι η poly-hydroxyethylmethacrylate (pHEMA) και εντοπίζεται πολύ αργότερα, το 1960. Δημιουργήθηκε με τον φιλόδοξο για την εποχή εκείνη, σκοπό να χρησιμοποιηθεί σε εφαρμογές που απαιτούσαν μόνιμη επαφή του υλικού με τους ιστούς.

Στην πραγματικότητα οι υδρογέλες είναι τα πρώτα υλικά που αναπτύχθηκαν για χρήσεις μέσα στον ασθενή. [18]

Μια παρανόηση που συναντάμε συχνά είναι αυτή που αφορά την χρήση του όρου γέλη στην θέση του όρου υδρογέλη και αντίστροφα. Οι γέλες είναι ημι-στερεά υλικά με εμφάνιση που προσομοιάζει περισσότερο προς μια στερεή παρά προς μια υγρή κατάσταση. Δημιουργούνται από υδρόφιλα πολυμερή που περιλαμβάνουν μικρές ποσότητες στερεών κατανεμημένες (διασκορπισμένες) σε σχετικά μεγάλες ποσότητες H_2O . Οι υδρογέλες δημιουργούνται και αυτές από υδρόφιλα πολυμερή των οποίων όμως οι αλυσίδες διασυνδέονται και αυτό τις οδηγεί να διογκώνονται διατηρώντας την 3D δομή τους χωρίς να διαλύονται. Η εγγενής αυτή διασύνδεση αποτελεί και το κύριο χαρακτηριστικό μιας υδρογέλης και την διαχωρίζει από μια γέλη. [20]

Από ιστορικής άποψης οι υδρογέλες μπορούν να διακριθούν σε τρεις γενιές:

- η πρώτη γενιά περιλαμβάνει ένα ευρύ πεδίο διαδικασιών διασύνδεσης που περιλαμβάνει την χημική τροποποίηση ενός μονομερούς ή ενός πολυμερούς με έναν εναρκτή. Σκοπός ήταν η δημιουργία υλικών που χαρακτηρίζονται από απλή λογική, καλές μηχανικές ιδιότητες και υψηλή διόγκωση.

- στη δεύτερη γενιά (χρονικά θα μπορούσε να τοποθετηθεί στην δεκαετία του '70) η προσπάθεια επικεντρώνεται στην δημιουργία υλικών ικανών να ανταποκρίνονται σε κατάλληλα ερεθίσματα όπως σε συγκεκριμένα μόρια του διαλύματος, το pH, η διακύμανση της θερμοκρασίας κ.α. Αυτά τα ερεθίσματα θα μπορούσαν να γίνουν εκμεταλλεύσιμα για να προκαλέσουν διαδικασίες όπως ο πολυμερισμός του υλικού, ο σχηματισμός πόρων *in situ*, η απελευθέρωση φαρμακευτικών (ή άλλων) ουσιών κλπ. Η προσπάθεια αυτή οδήγησε, ανάμεσα και στα άλλα, στην ανάπτυξη των λεγόμενων “έξυπνων” υδρογελών (smart hydrogels). Πρόκειται για πολυμερείς μήτρες με ένα ευρύ φάσμα από ρυθμιζόμενες ιδιότητες και ερεθίσματα ενεργοποίησης.

- τέλος η τρίτη γενιά αναλώνεται στην διερεύνηση και ανάπτυξη στερεών σύνθετων υλικών (π.χ. PEG - PLA αντίδραση) και υδρογελών διασυνδεδεμένων με άλλες φυσικές αλληλεπιδράσεις (π.χ. κυκλοδεξτρίνες). [18]

Εξαιτίας του υδροφιλικού τους χαρακτήρα και της βιοσυμβατότητάς τους οι υδρογέλες κέρδισαν το ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας και τα βήματα προόδου και ανάπτυξης είναι συνεχή [μικροκάψουλες αλγινικού ασβεστίου για ενθυλάκωση κυττάρων

(Lim, Sun – 1980), ενσωμάτωση φυσικών πολυμερών όπως το κολλαγόνο και ο χόνδρος καρχαρία για χρήση ως τεχνητά επιθέματα σε εγκαύματα (Yannas and coworkers – 1989) κ.ο.κ.]. [19] Επίσης ιδιότητες όπως η φυσική τους προσομοίωση με ιστούς, η υψηλή διαπερατότητα τους σε μικρού μεγέθους μόρια και η απελευθέρωση εγκλωβισμένων μορίων με ελεγχόμενο τρόπο τις κατέστησαν αντικείμενο έρευνας πολλών βιοϊατρικών πεδίων. [16]

Η ικανότητα των υδρογελών να απορροφούν H_2O οφείλεται στην ύπαρξη υδρόφιλων ομάδων που συνδέονται με την πολυμερική “ραχοκοκαλιά” η δε αντίσταση τους στην διάλυση προέρχεται από τις διασυνδέσεις μεταξύ των αλυσίδων του δικτύου. [17] Το φαινόμενο της διόγκωσης μιας υδρογέλης μπορεί να περιγραφεί από έναν μηχανισμό που περιλαμβάνει τρία βήματα. Αρχικά οι πολικές υδρόφιλες ομάδες της υδρογέλης αλληλεπιδρούν με το H_2O (πρωτογενές δεσμευμένο H_2O) και λόγω της διάχυσης των μορίων του H_2O στο δίκτυο του πολυμερούς αρχίζει η ενυδάτωση του. Κατόπιν το H_2O αλληλεπιδρά με τις υδρόφοβες ομάδες του δικτύου και μας δίνει το λεγόμενο δευτερογενές δεσμευμένο H_2O . Το διασυνδεδεμένο δίκτυο των πολυμερών που αποτελούν την υδρογέλη σχηματίζει ένα πλέγμα του οποίου οι κοιλότητες θα γεμίσουν με H_2O . Δυνάμεις που προέρχονται από το φυσικώς ή χημικώς διασυνδεδεμένο δίκτυο και σχετίζονται με τις ιξωδοελαστικές ιδιότητες προκαλούν την επιπλέον απορρόφηση H_2O που ονομάζεται ελεύθερο. [21] Η ποσότητα του H_2O που απορροφούν σχετίζεται με την ύπαρξη συγκεκριμένων ομάδων όπως –COOH, -OH, -CONH₂, -CONH, -SO₃H. Στις μεταβλητές που επηρεάζουν το ισοζύγιο προσθήκης H_2O προστίθενται η οσμωτική πίεση, η θερμοκρασία, το τριχοειδικό φαινόμενο, η ιοντική ισχύς του H_2O και το είδος διασύνδεσης των αλυσίδων του δικτύου. [16]

Απουσία σημείων διασύνδεσης οι υδροφιλικές γραμμικές αλυσίδες πολυμερών διαλύονται στο H_2O λόγω της θερμοδυναμικής συμβατότητας μεταξύ τους. Αντίθετα στην παρουσία σημείων διασύνδεσης η διαλυτότητα αντισταθμίζεται από την δύναμη επαναφοράς που επάγεται από τα σημεία διασύνδεσης του δικτύου. Η διόγκωση φτάνει σε ένα σημείο ισορροπίας όταν αυτές οι δυνάμεις εξισωθούν. [16] Ανάλογα με τις ιδιότητες των πολυμερών που χρησιμοποιούνται στην κατασκευή των υδρογελών, την φύση και την πυκνότητα των συνδέσεων του δικτύου οι δομές αυτές όταν βρίσκονται στην φάση ισορροπίας περιέχουν ποικίλες ποσότητες H_2O . Τυπικά στην κατάσταση διόγκωσης η μάζα του H_2O που υπάρχει στην υδρογέλη είναι πολύ υψηλότερη της μάζας του πολυμερούς. Για την επίτευξη υψηλού βαθμού διόγκωσης στην πράξη συνηθίζεται η χρήση συνθετικών πολυμερών που είναι υδατοδιαλυτά όταν είναι στην μη-διασυνδεδεμένη μορφή τους. [17]

Ο έλεγχος της δομής του δικτύου της υδρογέλης είναι σημαντικός διότι επιτρέπει τον σωστό σχεδιασμό και χαρακτηρισμό της αποικοδόμησης του ικριώματος, την διάχυση βιοενεργών μορίων και τη μετανάστευση των κυττάρων μέσω του δικτύου. Τέσσερις σημαντικές παραμέτρους διόγκωσης έχουν χρησιμοποιηθεί για τον ορισμό της δικτυακής δομής των υδρογελών:

- Ο λόγος διόγκωσης (Q), συμπεριλαμβανομένου του λόγου διόγκωσης μάζας (Q_m) και τον λόγο διόγκωσης όγκου (Q_v)
- Το κλάσμα όγκου πολυμερούς στην κατάσταση διόγκωσης ($U_{2,s}$)
- Το αριθμητικό μέσο μοριακό βάρος μεταξύ των εγκάρσιων δεσμών (M_c)
- Το μέγεθος του πλέγματος του δικτύου (ξ).

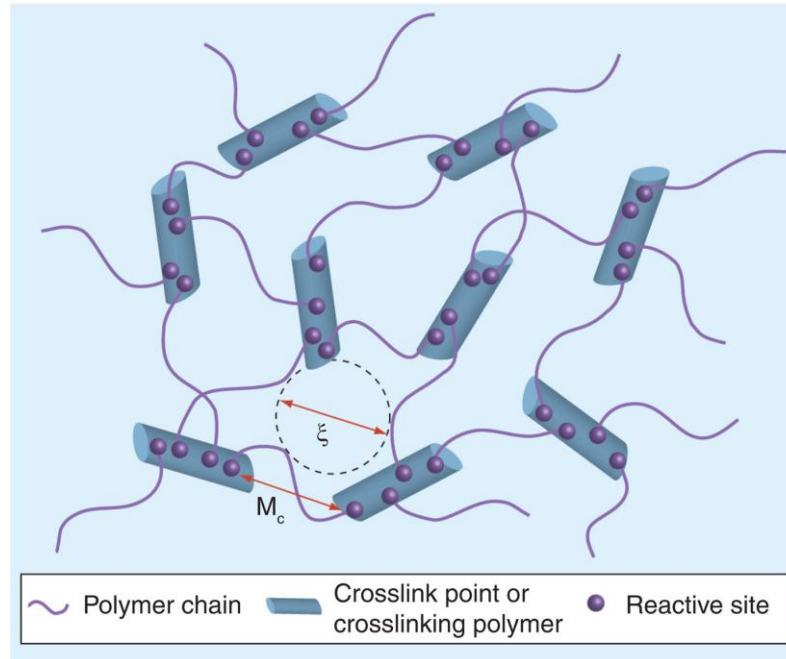
Οι παράμετροι αυτοί μπορούν να οριστούν από τις ακόλουθες εξισώσεις:

$$Q_m = (W_g - W_p) / W_p \quad (\text{Εξίσωση 1}), \quad Q_v = V_g / V_p = (Q_m + 1) \rho_2 / \rho_1 \quad (\text{Εξίσωση 2}),$$

$$U_{2,s} = V_p / V_g = Q_v^{-1} \quad (\text{Εξίσωση 3}), \quad M_c = M_0 / 2X \quad (\text{Εξίσωση 4}),$$

$$\xi = U_{2,s}^{-1/3} (\gamma^2_0)^{1/2} = Q_v^{1/3} (\gamma^2_0)^{1/2} \quad (\text{Εξίσωση 5})$$

όπου W_g είναι το βάρος της διογκωμένης γέλης σε ισορροπία, W_p είναι το βάρος του πολυμερούς, V_p είναι ο όγκος του πολυμερούς, V_g είναι ο όγκος της διογκωμένης γέλης σε ισορροπία, ρ_1 είναι η πυκνότητα διαλύτη, ρ_2 είναι το M_0 είναι η πυκνότητα πολυμερούς, το μοριακό βάρος του πολυμερούς η επαναλαμβανόμενη μονάδα, το X είναι ο βαθμός εγκάρσιας σύνδεσης και $(\gamma^2_0)^{1/2}$ είναι η μέση τετραγωνική ρίζα της από άκρη σε άκρη απόστασης των αλυσίδων δικτύου μεταξύ δύο παρακείμενων σταυροδεσμών στην κατάσταση ισορροπίας. Q και $U_{2,s}$ μπορεί να μετρηθεί από πειράματα διόγκωσης (εξισώσεις 1-3), ενώ M_c και ξ μπορεί να υπολογιστούν είτε από την διόγκωση ισορροπίας ή τις θεωρίες ελαστικότητας (εξισώσεις 4-5). [22]



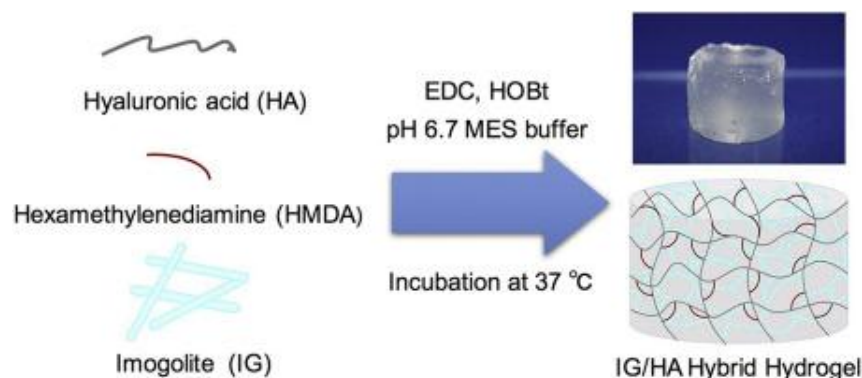
Εκόνα 2.1.3. Σχηματική δομή υδρογέλης με αλυσίδες υδρόφιλου πολυμερούς συνδεδεμένες μέσω σημεία διασύνδεσης ή πολυμερή διασυνδέσεως. Το M_c αντιπροσωπεύει το μέσο αριθμητικό μοριακό βάρος μεταξύ δύο παρακείμενων σταυροδεσμών, το οποίο σχετίζεται με το βαθμό εγκάρσιας σύνδεσης. το ξ αντιπροσωπεύει το μέγεθος του πλέγματος δικτύου και είναι ενδεικτικό της απόστασης μεταξύ διαδοχικών σημείων σταυρωτής σύνδεσης. [22]

2.2 Ταξινόμηση υδρογελών

Η ταξινόμηση των υδρογελών μπορεί να γίνει επί πολλών διαφορετικών βάσεων. Έτσι προκύπτει:

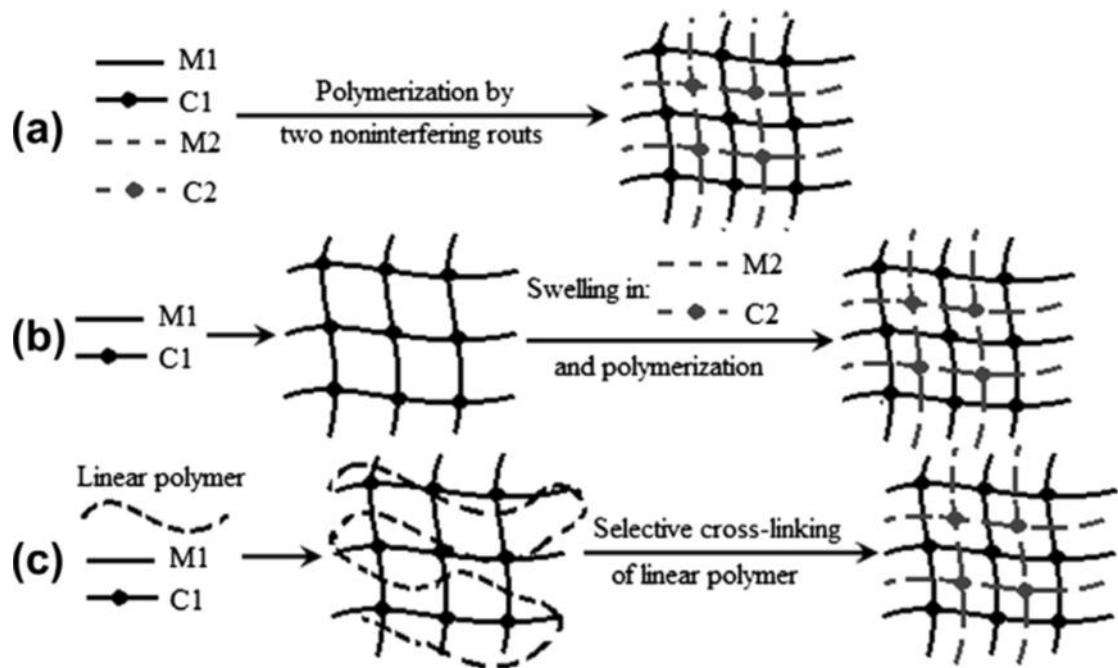
1. Ταξινόμηση βάσει της πηγής προέλευσης. Οι υδρογέλες χωρίζονται σε δυο βασικές ομάδες ανάλογα με την φυσική ή την συνθετική τους προέλευση. Σε αυτές μπορεί να προστεθεί και μια τρίτη ομάδα η υβριδική που προκύπτει από την σύνθεση των άλλων δυο κατηγοριών. Στις φυσικές υδρογέλες περιλαμβάνονται υλικά όπως το κολλαγόνο, το υαλουρονικό οξύ (HA), η φιβρίνη, το matrigel καθώς και παράγωγα φυσικών υλικών όπως η χιτοζάνη, άλατα του αλγινικού οξέος κλπ. Επειδή αποτελούν συστατικά της ECM in vivo είναι οι πιο φυσιολογικές υδρογέλες. Στις συνθετικές απαντώνται υλικά όπως Polyethylene glycol (PEG), Poly(acrylic acid) (PAA), κ.α. κάθε μια με τα πλεονεκτήματα και με τα μειονεκτήματα της. Έτσι για παράδειγμα οι PEG υδρογέλες είναι ελκυστικές ως ικρίωματα επειδή παρέχουν 3D περιβάλλον αλλά από την άλλη πλευρά δεν εκδηλώνουν βιολογική δραστηριότητα διότι δεν είναι προσκολλητικές από την φύση τους. Οι υβριδικές υδρογέλες

μπορούν να οριστούν ως ενυδατωμένα πολυμερή δίκτυα είτε φυσικά είτε ομοιοπολικά συνδεδεμένα μεταξύ τους και/ή με νανοσωματίδια ή νανοδομές. [17,18,23,24]



Εικόνα 2.2.1 Design and characterization of hybrid hydrogels composed of imogolite fibrous nanotubular clay and hyaluronic acid. (Park K-L., Ma W., Higaki Y., Takahara A. j.polymer.2016)

2. Ταξινόμηση βάσει της πολυμερικής σύνθεσης. Η μέθοδος προετοιμασίας οδηγεί στον σχηματισμό σημαντικών ομάδων υδρογελών. Έτσι διακρίνουμε : α) Ομοπολυμερείς υδρογέλες – αναφέρονται σε δίκτυα που προέρχονται από ένα είδος μονομερούς που είναι η βασική δομική μονάδα. Οι Ομοπολυμερείς υδρογέλες μπορεί να έχουν διασυνδεδεμένη σκελετική κατασκευή εξαρτώμενη από την φύση του μονομερούς και την τεχνική πολυμερισμού. β) Συμπολυμερείς υδρογέλες – αποτελούνται από δυο ή περισσότερα διαφορετικά είδη μονομερούς με τουλάχιστον ένα υδρόφιλο συστατικό διατεταγμένο σε τυχαία, σταθερή ή εναλλασσόμενη διαμόρφωση πάνω στην αλυσίδα του πολυμερούς δικτύου. γ) Πολυ-πολυμερείς υδρογέλες – σχηματίζονται από δυο πολυμερή με διασυνδέσεις συστατικά, φυσικά ή συνθετικά, ανεξάρτητα μεταξύ τους που περιέχονται σε μορφή δικτύου. Μια σημαντική τάξη αυτών των υδρογελών είναι οι IPNs (Interpenetrating polymer network) και οι s-IPNs (semi-interpenetrating polymer networks) όπου το ένα συστατικό είναι ένα διασυνδεδεμένο πολυμερές και το άλλο ένα πολυμερές χωρίς διασυνδέσεις. Ο σκοπός των δυο συστατικών είναι να παράσχουν ρυθμιζόμενες φυσικές ιδιότητες ή ανταπόκριση σε ερεθίσματα. IPNs μπορούν να παρασκευαστούν με τρεις τρόπους που παρουσιάζονται στην εικόνα 2.2.2. [17,25,26]



Εικόνα 2.2.2 Σχηματική απεικόνιση του σχηματισμού IPN: (α) ταυτόχρονη στρατηγική. (β) διαδοχική στρατηγική. (γ) επιλεκτική σταυροσύνδεση γραμμικού πολυμερούς εγκλωβισμένου σε ημι-IPN. (Dragan ES. Design and applications of interpenetrating polymer network hydrogels. A review. Chemical Engineering Journal 243. 2014;572–590)

3. Ταξινόμηση βάσει διαμόρφωσης. Με βάση την φυσική τους δομή και την χημική τους σύνθεση διακρίνονται σε: Άμορφες υδρογέλες (μη κρυσταλλικές) β) Ημικρυσταλλικές (μίγμα κρυσταλλικών και άμορφων φάσεων) γ) Κρυσταλλικές

4. Ταξινόμηση βάσει φυσικής εμφάνισης. Οι υδρογέλες μπορούν να εμφανίζονται ως μικροσφαιρίδια, ως φιλμ ή μήτρες ανάλογα με την μέθοδο πολυμερισμού που χρησιμοποιήθηκε στην διαδικασία. Η υπόθεση που γίνεται προσφάτως κάνει λόγο για αποτελεσματικότερη διεργασία κυτταρικής διαφοροποίησης και ανάπτυξης σε λεπτά φιλμ υδρογέλης πιθανώς λόγω ενισχυμένης μεταφοράς μάζας. [17,26]

5. Ταξινόμηση βάσει της βιοδιασπασιμότητάς τους. Χωρίζονται σε βιοδιασπώμενες και σε μη βιοδιασπώμενες.

6. Ταξινόμηση βάσει του τύπου διασύνδεσης. Διακρίνονται σε δυο κατηγορίες ανάλογα με το αν η φύση της διασύνδεσης τους είναι φυσική ή χημική. Στα δίκτυα που υπάρχουν χημικές διασυνδέσεις εντοπίζουμε **μόνιμες** ομοιοπολικές συνδέσεις ενώ αντίθετα στα φυσικώς διασυνδεδεμένα δίκτυα οι συνδέσεις είναι **παροδικές** και οφείλονται είτε σε φυσικές αλληλεπιδράσεις (όπως δεσμοί H₂ ιονικές ή υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις) είτε σε πλεγμένες αλυσίδες πολυμερών. Οι φυσικές ονομάζονται και αντιστρεπτές.

7. Ταξινόμηση βάσει του ηλεκτρικού φορτίου του δικτύου. Από την ταξινόμηση αυτή προκύπτουν τέσσερις κατηγορίες ανάλογα με την παρουσία ή απουσία ηλεκτρικού φορτίου που εντοπίζεται στις διασυνδεδεμένες αλυσίδες:

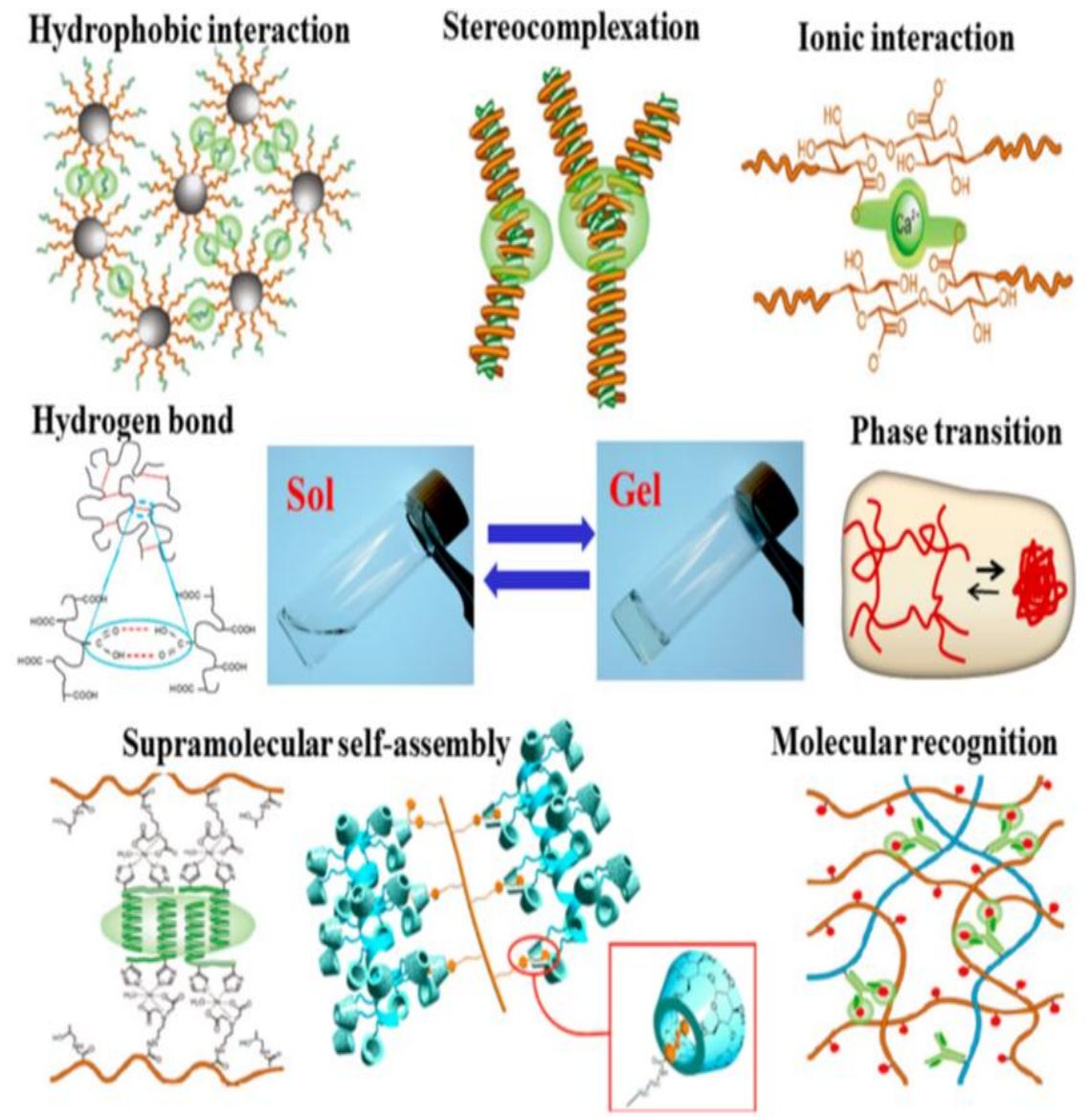
α) Μη – ιονικές (ουδέτερες)

β) Ιονικές (κατιονικές- ανιονικές)

γ) Αμφοτερικοί ηλεκτρολύτες (αμφολυτικοί) περιλαμβάνοντας όξινες και βασικές ομάδες

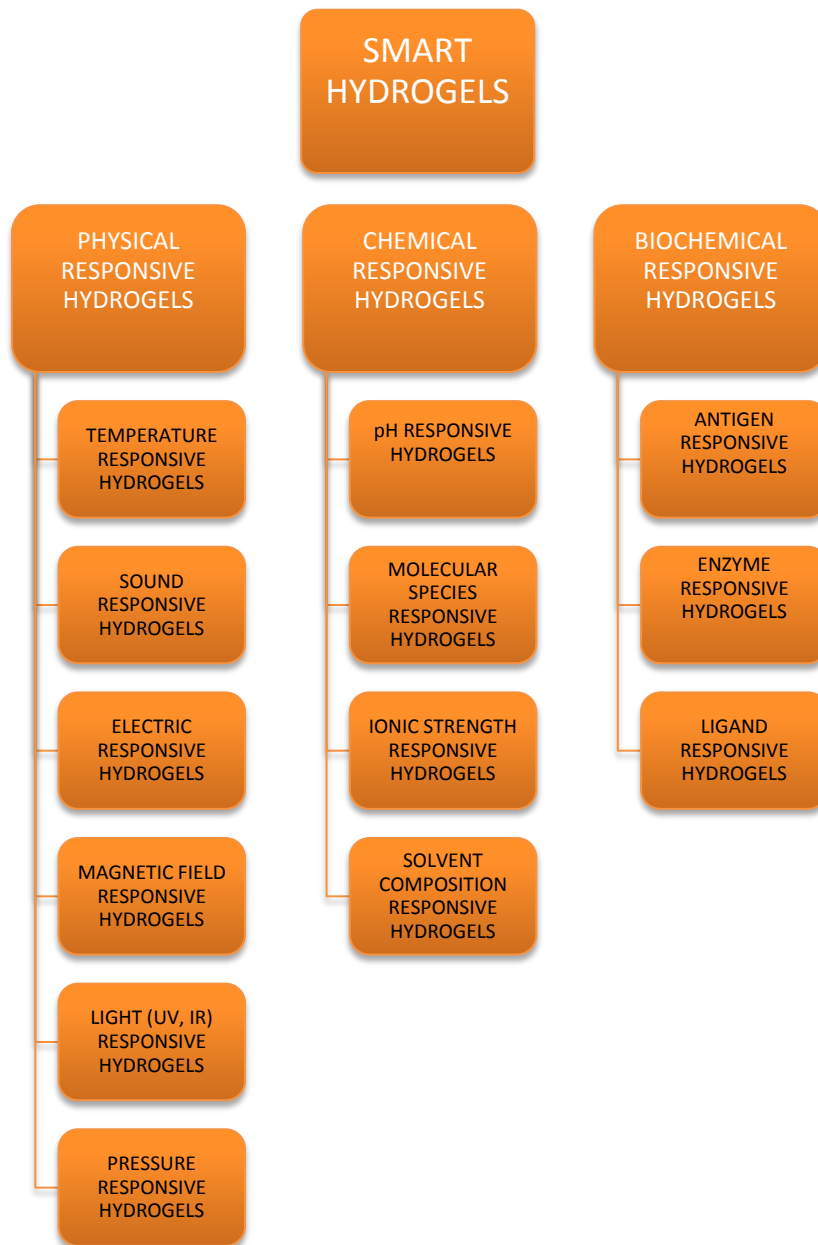
δ) Αμφιτεριονικοί, περιλαμβάνοντας σε κάθε δομική επαναλαμβανόμενη μονάδα τόσο ανιονικές όσο και κατιονικές ομάδες.

8. Ταξινόμηση βάσει των φυσικών ιδιοτήτων τους. Κατηγοριοποιούνται σε συμβατικές υδρογέλες και στις αποκαλούμενες “έξυπνες” υδρογέλες. Οι τελευταίες συναντώνται επίσης και με ονομασίες όπως “ευφυείς” υδρογέλες, περιβαλλοντικά ευαίσθητες υδρογέλες κ.α. Οι υδρογέλες που προκύπτουν με βάση την τελευταία ταξινόμηση είναι σχεδιασμένες με τέτοιο τρόπο ώστε αλλαγές στις εξωτερικές περιβαλλοντικές συνθήκες να προκαλούν ελεγχόμενες αντιδράσεις. Οι αντιδράσεις αυτές μπορεί να αφορούν την μηχανική αντοχή τους, την δομή της κατασκευής τους, την διαπερατότητα τους, την συμπεριφορά της διόγκωσης ή της συρρίκνωσης κ.λπ. . Οι αλλαγές αυτές που επιφέρουν τις πιο πάνω αντιδράσεις προκαλούνται από μια πληθώρα ερεθισμάτων εξωτερικά, φυσικά, χημικά, μηχανικά (θερμοκρασία, pH, ιοντική ισχύς, ενζυματική δραστηριότητα, πίεση, σύνθεση διαλύτη κ.α. [εικόνα 2.2.3]) και οδηγούν σε μια περαιτέρω κατηγοριοποίηση των αποκαλούμενων “έξυπνων” υδρογελών. (σχήμα 2.2.1) [16,17,27]



Εικόνα 2.2.3 Σχηματική απεικόνιση μεθόδων για το σχηματισμό φυσικώς διασυνδεδεμένων υδρογελών. [27]

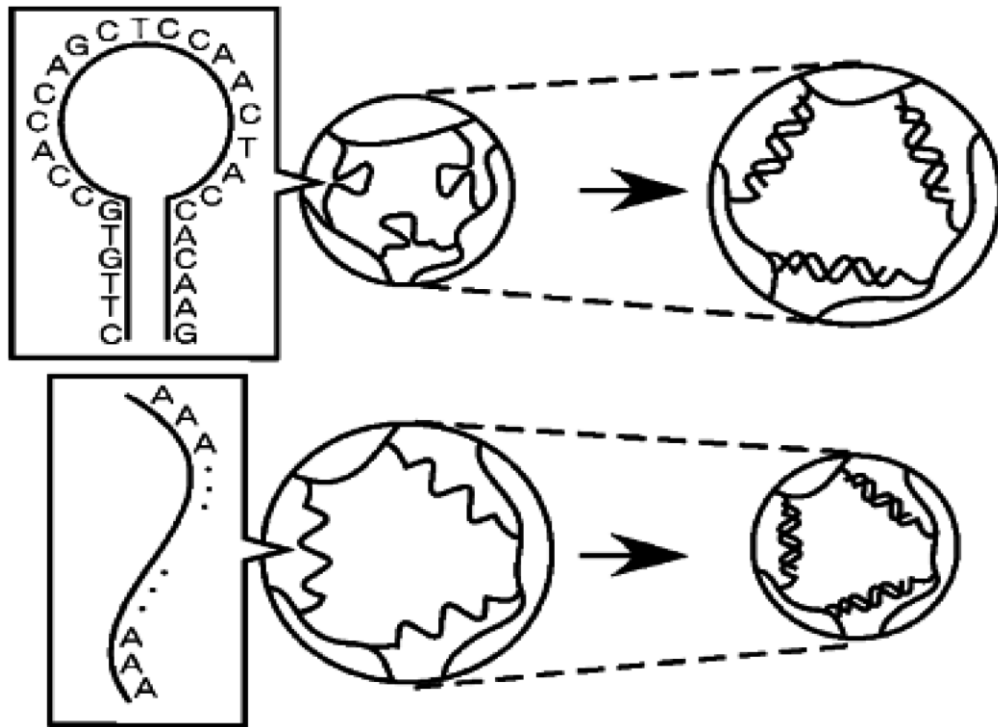
Ουσιαστικά κάθε ουσία, μόριο ή ερέθισμα που μπορεί να προκαλέσει αντίδραση σε μια υδρογέλη μπορεί να δημιουργήσει μια νέα κατηγορία “έξυπνης” υδρογέλης.



Σχήμα 2.2.1 Κατηγοριοποίηση υδρογελών με βάση το ερέθισμα ανταπόκρισης.

Έτσι για παράδειγμα μια νέα προσέγγιση ασχολείται με τις υδρογέλες που αντιδρούν στο DNA. Μια εργασία (Maeda and co.) αναφέρεται σε υδρογέλες που αντιδρούν σε DNA (DNA – responsive hydrogels) και οι όποιες μόνο συρρικνώνονται με την προσθήκη ssDNA (single stranded DNA). Στο συγκεκριμένο βιοϋλικό χρησιμοποιήθηκε υδρογέλη πολυακρυλαμιδίου (polyAAm) η οποία περιείχε εμβόλιμα τμήματα ssDNA (ή συζευγμένο ssDNA – polyAAm σε ένα semi-IPN δίκτυο). Σε αντίθεση με τις κλασσικές υδρογέλες που

αντιδρούν σε αυτού του είδους τα ερεθίσματα η σύζευξη διατηρεί το πλεονέκτημα της χρήσης του, με καλά χαρακτηρισμένες ιδιότητες διαμόρφωσης, συζευγμένου ssDNA παρέχοντας δυνατότητες σε εφαρμογές ανίχνευσης DNA ή σε εφαρμογές ενεργοποιητών που πυροδοτούνται από το DNA. (εικόνα 2.2.4) [28]



Εικόνα 2.2.4 Η απόκριση των νέων υβριδικών υδρογελών που περιέχουν ssDNA ως παράγοντα δημιουργίας διασύνδεσης στο ssDNA. [28]

Αναφορά τέλος πρέπει να γίνει και σε δυο άλλες κατηγορίες υδρογέλης, τα υπεραπορροφητικά πολυμερή (SuperAbsorbent Polymers) και τις υπερπορώδεις υδρογέλες (SuperPorous Hydrogels). Τα SAPs όπως και τα SPHs δομικά είναι υδρόφιλα διασυνδεδεμένα πολυμερή με ικανότητα απορρόφησης σημαντικών ποσοτήτων νερού ή υδατικών υγρών (10-100 φορές το αρχικό τους βάρος), σε σχετικά μικρά χρονικά διαστήματα. Ο ρυθμός απορρόφησης των SAPs εξαρτάται από τα υλικά που χρησιμοποιούνται και την διαδικασία παραγωγής και κυμαίνεται από τμήματα λεπτών έως και ώρες. Η γρήγορη διόγκωση οφείλεται κυρίως στο μικρό μέγεθος του τελικού προϊόντος. Αντίθετα η κινητική διόγκωσης των SPHs είναι πάντα ταχύτερη ανεξαρτήτως του μεγέθους του τελικού προϊόντος. Αν και τα δυο είδη υδρογέλης είναι πορώδη όταν συγκρίνονται μεταξύ τους διαφέρουν. (Πίνακας 2.2.1) [17]

General features of super absorbent (SAPs) and super porous (SPHs) hydrogels.

Point of comparison	SAPs	SPHs
Commonly used monomer	Acrylamide, acrylic acid, salts of acrylic acid including sodium and potassium acrylates	Acrylamide, acrylic acid, salts of acrylic acid including sodium and sulfopropyl acrylates, 2-hydroxyethyl methacrylate
Method of synthesis	Bulk, solution, inverse-suspension	Mostly aqueous solution
Initiating system	Thermal, redox	Mostly redox
Porous structure	Random closed to semi open cells	Interconnected open cells
Final product	Particles	Any shape including particles, sheet, film, rod.
Applications	Where high swelling, fast-medium rate of swelling is required	Where size-independent high and very fast swelling is required

Πίνακας 2.2.1 Συγκριτικά γενικά χαρακτηριστικά SAPs και SPHs. [17]

2.3 Χαρακτηριστικά υδρογελών

Αν επιθυμούσε κάποιος να αναφερθεί στα χαρακτηριστικά που θα όφειλε να έχει μια υδρογέλη ώστε να θεωρείται ιδανική τότε θα έπρεπε οπωσδήποτε να συμπεριλάβει:

- α) την μέγιστη χωρητικότητα απορρόφησης
- β) την μέγιστη απορροφητικότητα υπό φορτίο (AUL)
- γ) επιθυμητός ρυθμός απορρόφησης ανάλογα με τις απαιτήσεις της εφαρμογής για την οποία προορίζεται
- δ) την υψηλότερη βιοποικοδομησιμότητα δίχως τον σχηματισμό τοξικών προϊόντων που ακολουθούν την διάσπαση
- ε) το χαμηλότερο δυνατό διαλυτό περιεχόμενο και υπολειπόμενο μονομερές
- στ) φωτο – σταθερότητα
- ζ) μετά την διόγκωση να παραμένει pH – ουδέτερη
- η) άχρωμη, άοσμη και απολύτως μη τοξική
- θ) την υψηλότερη ανθεκτικότητα και σταθερότητα στο περιβάλλον διόγκωσης αλλά και στις συνθήκες αποθήκευσης
- ι) την ικανότητα επαναβρεξιμότητας (re-wetting) εφόσον απαιτείται. Η υδρογέλη θα πρέπει να είναι σε θέση να αποδώσει το απορροφηθέν διάλυμα ή να το διατηρήσει (αναλόγως την εφαρμογή)
- κ) χαμηλό κόστος

Προφανώς καμία υδρογέλη δεν μπορεί να ικανοποιεί ταυτόχρονα όλες τις παραπάνω (και όχι μόνο) προδιαγραφές. Πρακτικά οι υδρογέλες που επιτυγχάνουν το μέγιστο δυνατό επίπεδο κάποιων εκ των χαρακτηριστικών υστερούν στα υπόλοιπα. Επιβάλλεται λοιπόν οι μεταβλητές παραγωγής της υδρογέλης να βελτιστοποιηθούν με τέτοιο τρόπο ώστε να ισορροπήσουν με τις ιδιότητες που θα επιτευχθούν. [17]

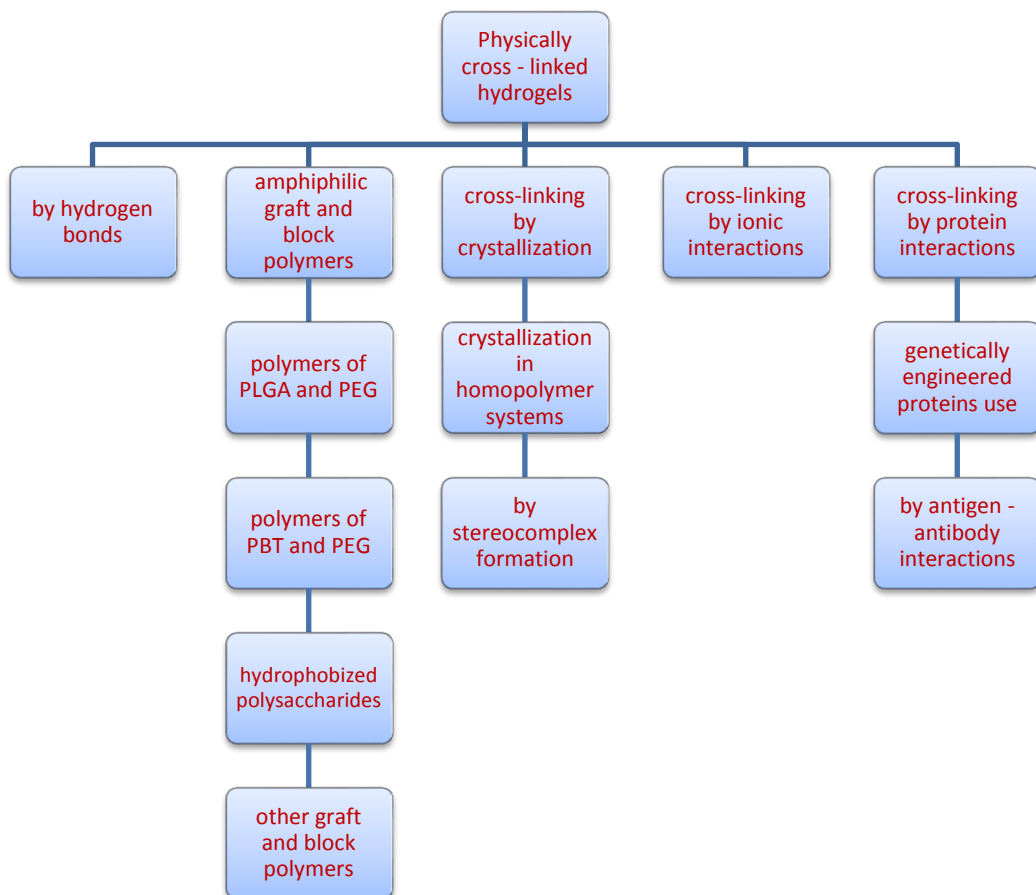
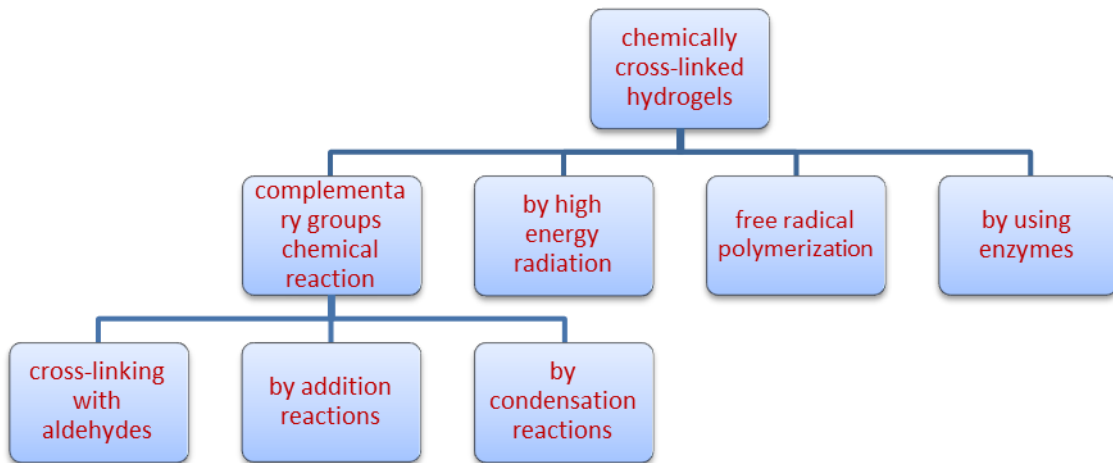
Ιδιότητες όπως η καλή διαπερατότητα σε O₂, η υψηλή βιοσυμβατότητα, η ευκολία διαμόρφωσης της επιφάνειας με την χρήση συγκεκριμένων βιομορίων, η μικροπορώδης κατασκευή, ο ελάχιστος ερεθισμός των περιβαλλόντων ιστών μετά την εμφύτευση, οι φυσικές ιδιότητες προσομοίωσης (αίσθηση σαν του ιστού, μαλακή φύση), η καλή επικόλληση των κυττάρων, η χαμηλή απορρόφηση πρωτεϊνών αλλά και άλλες είναι υπεύθυνες για το γεγονός ότι οι υδρογέλες θεωρήθηκαν ως ιδανικά βιοϋλικά για πολλά πεδία. [16]

Έτσι βρίσκουν πεδίο εφαρμογής σε τομείς και πεδία όπως η γεωργία, οικιακές χρήσεις (πάνες, αποσμητικά χώρου), η κοσμετολογία (αρώματα), περιβαλλοντικές εφαρμογές (φιλτράρισμα H_2O , συστήματα απορρύπανσης), προσθετικά τροφών, διαγνωστικά συστήματα, βιοαισθητήρες, φακοί επαφής, τεχνητό χιόνι, καλλιέργειες βακτηρίων, 3D καλλιέργειες, διαχωρισμός βιομορίων ή κυττάρων, ιατρικές εφαρμογές (ανοσοθεραπεία, πλαστική χειρουργική, εμβολιασμός, επιθέματα επούλωσης τραυμάτων) και φυσικά στην Αναγεννητική Ιατρική και στην Μηχανική Ιστών. [17,18]

2.4 Τεχνικές και μέθοδοι σύνθεσης υδρογελών

Εξ' ορισμού οι υδρογέλες είναι ένα υδρόφιλο πολυμερικό δίκτυο διασυνδεδεμένο με τέτοιο τρόπο ώστε να αποδίδει μια δομή που παρουσιάζει ελαστικότητα. Έτσι θα μπορούσε να πει κανείς ότι όποια μέθοδος χρησιμοποιείται για την παραγωγή διασυνδεδεμένων πολυμερών κατά αντιστοιχία μπορεί να χρησιμοποιηθεί και για την παραγωγή υδρογέλης. Υδατοδιαλυτά γραμμικά πολυμερή, φυσικά ή τεχνητά, διασυνδέονται για να σχηματίσουν μια υδρογέλη με αρκετούς τρόπους όπως: α) σύνδεση πολυμερικών αλυσίδων μέσω χημικής αντίδρασης β) μέσω φυσικών αλληλεπιδράσεων (σχηματισμός κρυστάλλων, στατικός ηλεκτρισμός κ.α.) γ) χρήση ιονίζουσας ακτινοβολίας για την δημιουργία ελευθέρων ριζών οι οποίες ανασυνδυάζονται ως σημεία διασύνδεσης. [17]

Οι υδρογέλες συνήθως παράγονται με την χρήση πολωμένων μονομερών και αναλόγως των υλικών που θα χρησιμοποιηθούν αρχικά διακρίνονται σε φυσικά πολυμερείς υδρογέλες, σε συνθετικές πολυμερείς υδρογέλες και σε συνδυασμούς των δυο παραπάνω. Σε γενικές γραμμές τα τρία βασικά κομμάτια που θα χρησιμοποιηθούν για την παρασκευή της υδρογέλης είναι τα μονομερή, ο εναρκτής και ο διασυνδέτης. Νερό ή άλλα υδατικά διαλύματα μπορούν να χρησιμοποιηθούν προκειμένου να ελεγχθούν οι ιδιότητες της παραγόμενης υδρογέλης καθώς και η θερμοκρασία πολυμερισμού. Κατόπιν το σύστημα θα πρέπει να εκπλυθεί ώστε να απομακρυνθούν μονομερή που δεν πολυμερίστηκαν, παραπροϊόντα της αντίδρασης πολυμερισμού, εναρκτές, συνδέτες κ.λπ. [17] Στις μεν φυσικές η διάλυση και η αποδόμηση πριν την χρήση οφείλεται σε φυσικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των πολυμερών αλυσίδων, ενώ στις χημικές οφείλεται στους ομοιοπολικούς δεσμούς μεταξύ των πολυμερών αλυσίδων. [29] Στα παρακάτω σχήματα αναφέρονται μερικές τεχνικές σύνθεσης υδρογέλης που έχουν φυσική ή χημική διασύνδεση.



Σχήμα 2.4.1 Τεχνικές σύνθεσης υδρογέλης που έχουν φυσική ή χημική διασύνδεση.

Το γεγονός ότι οι υδρογέλες είναι ένα υλικό που προορίζεται να χρησιμοποιηθεί, ανάμεσα στα άλλα, ως μήτρα για την ενθυλάκωση ζωντανών κυττάρων αλλά και για την ελεγχόμενη απελευθέρωση ενεργοποιημένων πρωτεϊνών για φαρμακευτικούς σκοπούς εξηγεί και το ότι οι μέθοδοι σύνθεσης τους αποτελούν ένα πεδίο συνεχούς έρευνας και εξέλιξης. Έχουν αναπτυχθεί και είναι διαθέσιμες για εφαρμογή αρκετές μέθοδοι παραγωγής διασυνδεδεμένων υδρογελών. Παρόλα ταύτα η ανάγκη για επινόηση νέων μεθόδων υφίσταται προκειμένου να αντιμετωπιστούν οι νέες προκλήσεις που εμφανίζονται συνεχώς.

2.5 Οι υδρογέλες στην Μηχανική Ιστών

Η αντικατάσταση απολεσθέντος ιστού ή οργάνου υπήρξε διαχρονικά μια αναγκαιότητα, ένα πρόβλημα αλλά ταυτόχρονα και μια πρόκληση. Οι προϋπάρχουσες προσεγγίσεις της μεταμόσχευσης και της εμφύτευσης συμπληρώθηκαν από την Μηχανική Ιστών. Έτσι τα προβλήματα ανοσογονικότητας και έλλειψης υλικού για μεταμόσχευση όπως και τα προβλήματα βιοσυμβατότητας των εμφυτεύσεων οδήγησαν, μέσω της Μηχανικής Ιστών, προς μια άλλη κατεύθυνση με διαφορετικό τελικό σκοπό, την δημιουργία αυτόλογου ιστού. [18]

Με κατά μια πιο γενική έννοια η Μηχανική Ιστών αναζητά να δημιουργήσει “ζώντα” τμήματα που θα αντικαταστήσουν τα αντίστοιχα βεβλαμμένα τμήματα του ανθρώπινου οργανισμού. Πολλές από τις στρατηγικές της Μηχανικής Ιστών βασίζονται στην χρήση ικριωμάτων που έχουν συντεθεί από κάποιο υλικό. Τα ικριώματα αυτά έχουν σκοπό να μιμηθούν την ECM, ώστε τα κύτταρα που φιλοξενούν να οργανωθούν σε 3D δομές και παρουσία των κατάλληλων ερεθισμάτων, αλλά και άλλων παραγόντων, να πολλαπλασιαστούν, να διαφοροποιηθούν και εν τέλει να οδηγήσουν στον σχηματισμό του επιθυμητού ιστού. [30]

Για τον σκοπό αυτό η Μηχανική Ιστών χρησιμοποιεί πλήθος υλικών για την κατασκευή ικριωμάτων, φυσικής ή τεχνητής προέλευσης, ανάμεσα στα οποία είναι και οι υδρογέλες. Πρόκειται, όπως έχει ήδη αναφερθεί, για υλικά που σχηματίζουν 3D πολυμερή ικριώματα με κύριο χαρακτηριστικό τους την ικανότητα διόγκωσης λόγω απορρόφησης H_2O . Χρησιμοποιούνται σε αρκετές εφαρμογές της Μηχανικής Ιστών και αποτελούν ανοικτό πεδίο έρευνας κυρίως ως μήτρες. Αναλόγως της εφαρμογής για την οποία προορίζονται εμφανίζουν τροποποιημένα χαρακτηριστικά. Έτσι μπορεί να περιέχουν μεγάλους πόρους που θα ευνοήσουν την εγκατάσταση και διαμονή των κυττάρων ή να προορίζονται για

αποικοδόμηση και διάσπαση απελευθερώνοντας παράγοντες ανάπτυξης ή άλλα βιολογικά μόρια. [18]

Type of Hydrogel	Molecular structures	Composition of Hydrogel	Important Properties
<ul style="list-style-type: none"> • Physical • Chemical 	<ul style="list-style-type: none"> • Linear polymers • Block copolymers • Graft copolymers • Interpenetrating networks (IPNs) • Polyblends 	<ul style="list-style-type: none"> • Natural polymers and their derivatives • Synthetic polymers • Combinations of natural and synthetic polymers 	<ul style="list-style-type: none"> • Degradability • Injectability • Mechanical strength • Ease of handling • Shape and surface/volume ratio (sheets, cylinders, spheres) • Closed/open pores • Water content and character • Chemical modification (e.g. having attached cell adhesion ligands) • Addition of cells and/or drugs • Sterilizability

Πίνακας 2.5.1 Επισημάνση σημαντικών ιδιοτήτων και χαρακτηριστικών των Υδρογελών για την Μηχανική Ιστών. [18]

Ως υλικά είναι συνήθως βιοαποικοδομήσιμα, με αρκετά μεγάλη βιοσυμβατότητα, προσομοιάζουν σε αρκετούς ιστούς με την φυσική (γηγενή) ECM ως προς τις μηχανικές και δομικές ιδιότητες της, είναι πορώδη για διάχυση θρεπτικών ουσιών αλλά και την απομάκρυνση αποβλήτων και μπορούν να τοποθετηθούν χρησιμοποιώντας τον μικρότερο δυνατό επεμβατικό τρόπο. Από την άλλη πλευρά παρουσιάζουν ασθενείς μηχανικές ιδιότητες προκαλώντας δυσκολίες στον χειρισμό τους, τίθονται θέματα αποστείρωσης κ.α. Στον πίνακα 2.5.2 αναφέρονται μερικά σημαντικά πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα των υδρογελών ως μήτρες για την Μηχανική Ιστών.

Advantages	Disadvantages
<ul style="list-style-type: none"> • Aqueous environment can protect cells and fragile drugs (peptides, proteins, oligonucleotides, DNA) • Good transport of nutrient to cells and products from cells • May be easily modified with cell adhesion ligands • Can be injected in-vivo as a liquid that gels at body temperature • Usually biocompatible 	<ul style="list-style-type: none"> • Can be hard to handle • Usually mechanically weak • May be difficult to load drugs and cells and then crosslink in-vitro as a prefabricated matrix • May be difficult to sterilize

Πίνακας 2.5.2 Σημαντικά πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα των υδρογελών ως μήτρες στην Μηχανική Ιστών.[18]

Για την παραγωγή ικριωμάτων για χρήση στην Μηχανική Ιστών μπορούν να χρησιμοποιηθούν τόσο φυσικές (αγαρόζη, χιτοζάνη, κολλαγόνο, matrigel, φμπρίνη,

ζελατίνη, υαλουρονικό οξύ κ.α.) όσο και συνθετικές υδρογέλες (PEO, PNIPAAm, PVA, PAA, P[PF-co-EG] κ.α.) αλλά και υβρίδια αυτών (υβριδικές υδρογέλες με βάση CMP και πολυ (αιθυλενογλυκόλη) [PEG], υδρογέλες με ενσωματωμένα σωματίδια για δομικό έλεγχο , υβριδικές υδρογέλες μιμούμενες την ελαστίνη κ.α.). [16,18]

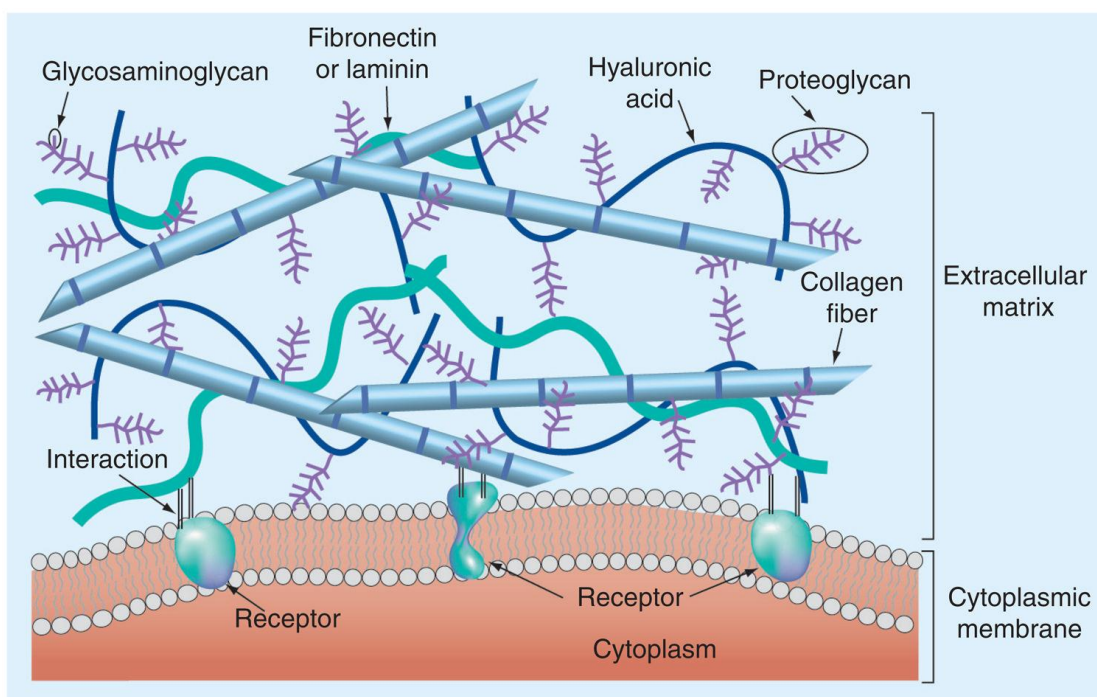
2.6 Μεταβλητές σχεδιασμού ικριωμάτων υδρογέλης

Τα τελευταία χρόνια εξαιτίας της μεγάλης εξέλιξης που γνωρίζουν πεδία όπως η μοριακή βιολογία, η επιστήμη των υλικών, οι τεχνολογίες και κατασκευές σε επίπεδο micro και nano κλίμακας οδήγησαν στον σχεδιασμό και την παραγωγή νέων πιο πολύπλοκων υδρογελών. Κατέστη έτσι δυνατό να σχεδιαστούν και να συντεθούν υδρογέλες με ενισχυμένες βιολογικές, χημικές, μηχανικές και άλλες ιδιότητες. [31]

Οι υδρογέλες μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην Μηχανική Ιστών είτε αμέσως μετά την κατασκευή τους είτε αφού πρώτα διαμορφωθούν ως ικριώματα. Η ιδιότητα τους να προσομοιάζουν και να μιμούνται σε πολύ μεγάλο βαθμό τις ιδιότητες των γηγενών ιστών καθώς και την δυνατότητα οι ιδιότητες αυτές να μπορούν να τροποποιηθούν αναλόγως της εφαρμογής για την οποία προορίζονται τις καθίστα πολύ σημαντικά υλικά για την παραγωγή ικριωμάτων. Τα κύτταρα που θα χρησιμοποιηθούν μαζί με το ικρίωμα της υδρογέλης μπορούν να είναι είτε σε μορφή εναιωρήματος μέσα στην υδρογέλη είτε προσκολλημένα στο 3D πλαίσιο της. Αναλόγως της προσέγγισης που θα επιλεγεί η ύπαρξη ή όχι επιπλέον παραγόντων που θα βοηθήσουν ή θα ενισχύσουν κάποιες βιολογικές λειτουργίες των κυττάρων είναι απαραίτητη. Για παράδειγμα έχει βρεθεί ότι η ενσωμάτωση της πεπτιδικής αλληλουχίας RGD (αργινίνη – λυσίνη – ασπαρτικό οξύ) υποβοηθά και διευκολύνει την κυτταρική προσκόλληση. Ικριώματα υδρογέλης στα οποία συμπεριλήφθησαν αυτές οι αλληλουχίες έδειξαν ενισχυμένες ιδιότητες των κυττάρων που φιλοξενούσαν και αφορούσαν την μετανάστευση, την διαφοροποίηση την αύξηση και την οργάνωση σε εφαρμογές αναγέννησης ιστού. [20]

Η ECM είναι το εξωκυττάριο συστατικό των γηγενών ιστών και παρέχει στα κύτταρα που περιβάλλει δομική και μηχανική στήριξη καθώς και πλήθος άλλων σημαντικών και πολύπλοκων λειτουργιών. Πρόκειται για μια 3D υδρόφιλη μήτρα με δυο μεγάλες στέρεες δομές, τις ίνες κολλαγόνου και τα ινίδια πρωτεογλυκάνης (αποτελούμενα από πρωτεΐνες και υαλουρονικό οξύ). Οι δυο αυτές δομές μαζί με το “παγιδευμένο” ενδιάμεσο υγρό – που ομοιάζει με το πλάσμα αλλά η συγκέντρωσή του σε πρωτεΐνες είναι χαμηλότερη – είναι υπεύθυνες για την όψη και την ομοιομορφία της ECM ως μια γέλης. Υποδοχείς κυττάρων

δέχονται συνεχώς σήματα ενώ ταυτόχρονα τα κύτταρα στέλνουν σήματα προς τα έξω για την συνεχή και ενεργή κατασκευή και αποικοδόμηση του μικροπεριβάλλοντός τους προκειμένου αυτό να αναδιαμορφωθεί. Έτσι η ECM δρα όχι μόνο ως δομική και στηρικτική μονάδα των κυττάρων που περιβάλλει αλλά και ως ένα δυναμικό και βιοενεργό περιβάλλον που διαμεσολαβεί κυτταρικές λειτουργίες. Προκειμένου λοιπόν τα ικρίωματα υδρογέλης να μιμηθούν την ECM και κατά επέκταση να προάγουν τον σχηματισμό νέου ιστού (που είναι και ο κύριος σκοπός τους) οφείλουν να ανταποκριθούν σε μια πλειάδα κριτηρίων και απαιτήσεων σχεδιασμού τα οποία αν μη τι άλλο καταδεικνύουν και την δυσκολία που έχει η σύνθεση ενός τέτοιου ικρίωματος. [22]



Εικόνα 2.6.1 Μοντέλο σύνθετης δομής 3D της φυσικής εξωκυτταρικής μήτρας και των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των κυττάρων και των συστατικών της εξωκυτταρικής μήτρας. Οι πρωτεΐνες εξωκυτταρικής μήτρας όπως το κολλαγόνο, η λαμινίνη και η φιβρονεκτίνη ενσωματώνονται πολύ αρνητικά φορτισμένες πολυσακχαρίτες πλούσιες σε γλυκάνες, συμπεριλαμβανομένων των γλυκοζαμινογλυκανών και πρωτεογλυκάνες. Τα συστατικά της εξωκυτταρικής μήτρας παρέχουν περιοχές κυτταρικής προσκόλλησης για δεσμευτικούς κυτταροεπιφανειακούς υποδοχείς, όπως οι ενδογενείς, οι σελεκτίνες, το CD44 και η συνδεκίνη. [22]

2.7 Κριτήρια και μεταβλητές σχεδιασμού ικριωμάτων υδρογέλης για την Μηχανική Ιστών

Προκειμένου οι υδρογέλες να ανταποκριθούν στον ρόλο τους ως ικριώματα για χρήση στην Μηχανική Ιστών ο σχεδιασμός και η κατασκευή τους πρέπει να είναι συμβατός με μια πλειάδα παραμέτρων που σχετίζονται με το περιβάλλον στο οποίο θα τοποθετηθεί το εμφύτευμα, τη επιλογή του υλικού που θα χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή του αλλά και τις φυσικοχημικές και βιολογικές ιδιότητες που αυτό πρέπει να επιδειξεί. [20,30] Παραδοσιακές παράμετροι που θα πρέπει να ληφθούν υπόψη είναι το μοριακό βάρος των πολυμερών, η συγκέντρωση του πολυμερούς, η θερμοδυναμική σταθερά ισορροπίας (K_{eq}) καθώς και οι σταθερές κινητικής ταχύτητας των φυσικών αλληλεπιδράσεων. [32] Επίσης παράμετροι που θα πρέπει να ληφθούν υπόψη είναι αυτές οι οποίες αφορούν την λειτουργία του ικριώματος αφού αυτό τοποθετηθεί στο πάσχον σημείο όπως για παράδειγμα η συμπεριφορά του ως προς την μεταφορά ή μετακίνηση αερίων, μορίων, κυττάρων και τοξικών ουσιών που παράγονται ως προϊόντα αντιδράσεων που συμβαίνουν μέσα στο ικριώμα. Επιπλέον θα πρέπει κατά τον σχεδιασμό, κατασκευή και ανάπτυξη ικριωμάτων από υδρογέλη να συνυπολογίζονται και μεταβλητές όπως η διαθεσιμότητα και η προσβασιμότητα τους από τους ασθενείς αλλά ακόμη και η εμπορική έναντι της ιατρικής τους αξίας (value for money). Ικριώματα κατασκευασμένα με υλικά και μεθόδους υψηλού κόστους δεν μπορούν να είναι προσβάσιμα από μεγάλη μερίδα ασθενών και κατά επέκταση η εμπορική τους αξία (αντίθετα με την ιατρική τους) μειώνεται δραστικά. [20,30]

1. ΒΙΟΣΥΜΒΑΤΟΤΗΤΑ

Μια από τις πιο βασικές παραμέτρους που πρέπει να λαμβάνονται υπόψη κατά την επιλογή του υλικού που θα χρησιμοποιηθεί στην κατασκευή ικριώματος από υδρογέλη είναι η βιοσυμβατότητα. Με τον όρο αυτό εννοούμε ότι η τοποθέτηση του εμφυτεύματος δεν θα προκαλέσει κανενός τύπου αντιδράσεις από τον γηγενή περιβάλλοντα ιστό όπως ανοσολογικές, φλεγμονώδεις, τοξικές ή άλλες αλλά ακόμη και αν αυτές προκληθούν να είναι αμελητέες και εξαιρετικά περιορισμένες.

Από την στιγμή της εμφύτευσης του το ικριώμα είναι σε συνεχή επαφή και αλληλεπίδραση με τον ιστό που το περιβάλλει προάγοντας την κυτταρική αναγέννηση και την επούλωση. Κατά την κατασκευή λοιπόν ενός ικριώματος υδρογέλης πρέπει να δοθεί εξαιρετική προσοχή στην χρήση χημικών ή τοξικών ουσιών που θα χρησιμοποιηθούν στην διαδικασία του πολυμερισμού είτε πρόκειται για συνθετική υδρογέλη είτε για διασύνδεση

φυσικών πολυμερών ειδικά αν οι αντιδράσεις πολυμερισμού δεν είναι 100%. Ουσίες όπως μονομερή που δεν πολυμερίστηκαν, χημικοί σταθεροποιητές, γαλακτωματοποιητές και άλλες είναι εξαιρετικά επικίνδυνες αν διαρρεύσουν ή παραμείνουν ως υπολείμματα στο πλέγμα του ικρίωματος θέτοντας σε κίνδυνο τα κύτταρα που φιλοξενεί ή και τον παραγόμενο από αυτά ιστό. Για παράδειγμα μερικές εφαρμογές της Μηχανικής Ιστών προϋποθέτουν την *in situ* γελοποίηση (gelation) όπου κάποια από τα χρησιμοποιούμενα υλικά κατά την εισαγωγή τους στο σώμα είναι σε μια προ-πολυμερισμένη κατάσταση.

Επομένως ένα ικρίωμα υδρογέλης που προορίζεται για χρήση στην Μηχανική Ιστών πρέπει να καθαρίζεται προσεκτικά από υπολείμματα επικινδύνων ουσιών πριν χρησιμοποιηθεί. Υπάρχουν διαθέσιμες αρκετές τεχνικές καθαρισμού όπως η διάλυση, η εντατική έκπλυση με κάποιο διαλύτη, η φυγοκέντρωση, διάφορα φίλτρα κ.α. [20]

2. ΒΙΟΑΠΟΙΚΟΔΟΜΗΣΗ

Σκοπός ενός ικρίωματος είναι ανάμεσα στα άλλα και η παροχή ενός μηχανικά σταθερού περιβάλλοντος ώστε τα κύτταρα που υπάρχουν σε αυτό να πολλαπλασιαστούν, να μεταναστεύσουν και εν τέλει να δημιουργήσουν ιστό. Όταν αυτό επιτευχθεί το ικρίωμα οδηγείται σε αποικοδόμηση. Ιδανικά ο ρυθμός αποικοδόμησης του ικρίωματος θα πρέπει να αντικατοπτρίζει τον ρυθμό δημιουργίας του νέου ιστού ή τον ελεγχόμενο ρυθμό απελευθέρωσης βιοενεργών μορίων. Άρα ο ρυθμός και η ένταση της αποικοδόμησης είναι σχεδιαστικά κριτήρια ενός ικρίωματος υδρογέλης. Η σημασία της παραμέτρου αυτής έχειδειχθεί μέσω πειραμάτων με κύτταρα ενθυλακωμένα σε ικρίωματα υδρογέλης. Τα πειράματα αυτά έδειξαν διαφορετική συμπεριφορά αυτών των κυττάρων αναλόγως αν το ικρίωμα ήταν αποικοδομήσιμο ή όχι. Κύτταρα σε αποικοδομήσιμα ικρίωματα έδειχναν καλή κατανομή, ενεργό πολλαπλασιασμό, μετανάστευση ακόμη και αύξηση της παραγωγής ECM. Αντίθετα κύτταρα που υπήρχαν σε μη αποικοδομήσιμα ικρίωματα σε βάθος χρόνου εμφάνισαν μείωση του πληθυσμού τους, μείωση του ρυθμού πολλαπλασιασμού τους και συσώρευση.

Η αποικοδόμηση του ικρίωματος θα επιτευχθεί με διάφορους τρόπους όπως η ενσωμάτωση τμημάτων στις πολυμερισμένες αλυσίδες που θα διασπαστούν με την πάροδο του χρόνου ή η δημιουργία διασυνδέσεων που μπορούν να διαλυθούν. Όσον αφορά τα βιοαποικοδομήσιμα ικρίωματα υδρογέλης η προσέγγιση διάσπασης αφορά βιολογικές διαδικασίες όπως η ενζυματική πέψη, η υδρόλυση και η ενσωμάτωση φυσικώς βιοδιασπώμενων συστατικών της ECM όπως το κολλαγόνο, η φιμπρονεκτίνη και το υαλουρονικό οξύ. Έχει αναφερθεί και η αποικοδόμηση ικριωμάτων καθοδηγούμενη από

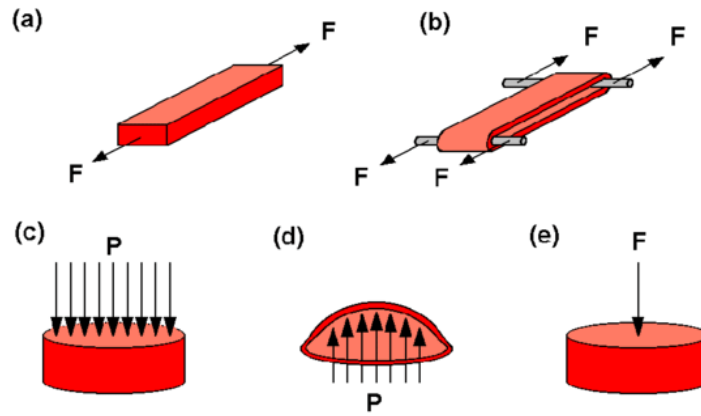
κύτταρα. Βέβαια υπάρχουν και εφαρμογές της Μηχανικής Ιστών όπως η αντικατάσταση κερατοειδούς ή ο αρθρικός χόνδρος όπου η μοναδική και κατάλληλη επιλογή είναι ένα μόνιμο ή ημι-μόνιμο ικρίωμα. [20,30]

3. ΜΗΧΑΝΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ

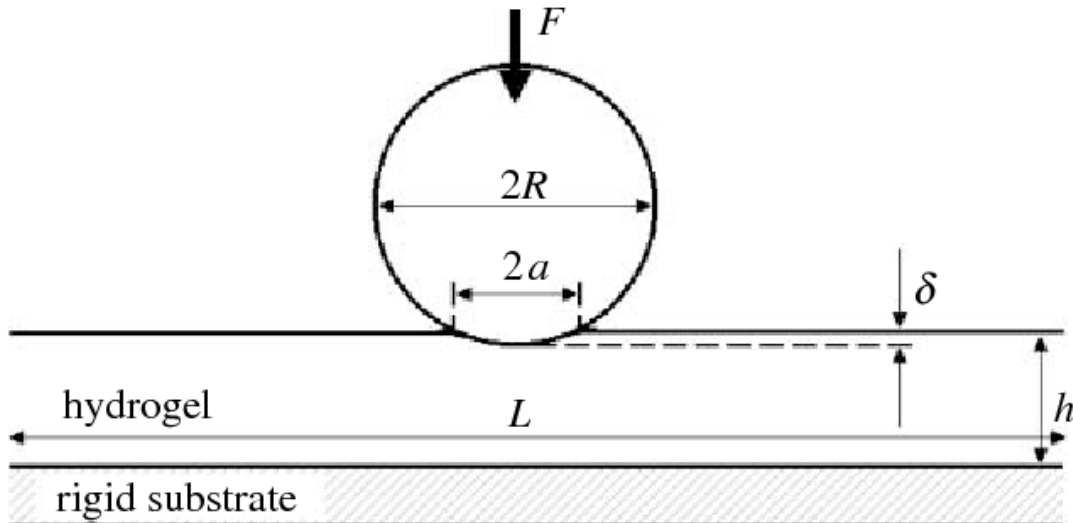
Οι μηχανικές ιδιότητες ενός ικριώματος υδρογέλης για χρήση στην Μηχανική Ιστών παίζουν σημαντικό ρόλο για την παραγωγή νέου ιστού. Οι ιδιότητες αυτές έχουν ιδιαίτερη σημασία τόσο σε μακροσκοπικό όσο και σε μικροσκοπικό επίπεδο. Μακροσκοπικά το ικρίωμα της υδρογέλης θα πρέπει να ανταπεξέρχεται σε φορτίο παρέχοντας σταθερότητα στους ανασχηματιζόμενους ιστούς διατηρώντας την χωρική και δομική ακεραιότητα του. Επιπλέον θα πρέπει να είναι ικανό να μεταδίδει και να διανέμει με σωστό τρόπο αυτό το φορτίο στους περιβάλλοντες ιστούς και κύτταρα. Μικροσκοπικά διαδικασίες όπως η ανάπτυξη και η διαφοροποίηση και τελικά ο σχηματισμός νέου ιστού εξαρτώνται σε πολύ μεγάλο βαθμό από τις μηχανικές επιδράσεις που δέχονται τα κύτταρα. Είναι γνωστό ότι η ECM ενός συγκεκριμένου ιστού παρέχει στα κύτταρα της ορισμένου βαθμού τάση η οποία εξαρτάται από το είδος του ιστού και αλλάζει σε περίπτωση βλάβης. Η αλλαγή αυτής της ισομετρικής ισορροπίας οδηγεί και σε αντιδράσεις εκ μέρους των κυττάρων που εκτείνονται από μορφολογικές αλλοιώσεις έως και αλλαγές στην γενετική έκφραση.

Από τα παραπάνω γίνεται αντιληπτό ότι η παραγωγή ικριωμάτων υδρογέλης υπόκειται σε ιστοειδικά μηχανικά χαρακτηριστικά. Το ικρίωμα θα πρέπει να επιδεικνύει ικανά μηχανικά χαρακτηριστικά όπως η μηχανική αντοχή, η ελαστικότητα, η ικανότητα διόγκωσης, η ιξωδοελαστική συμπεριφορά, η αντοχή στον εφελκυσμό, η συμπιεστικότητα, η ακαμψία, η πυκνότητα των δεσμών του διασυνδεδεμένου δικτύου πολυμερών κ.α. [20,30] Γενικά τα ικρίωματα υδρογέλης εμφανίζουν “φτωχές” μηχανικές ιδιότητες γεγονός που οφείλεται σε αρκετούς παράγοντες ανάμεσα στους οποίους είναι το μεγάλο ποσοστό H₂O που περιέχουν και η τυχαία διάταξη των ινών που σχηματίζουν τα πολυμερή. Φαίνεται ότι η ενσωμάτωση κυττάρων στο ικρίωμα αυξάνει την μηχανική αντοχή του και αυτό οφείλεται στην αναδιοργάνωση των ινών, την παραγωγή προϊόντων ECM κ.α. Υπάρχουν αρκετές μέθοδοι ελέγχου των μηχανικών ιδιοτήτων των ικριωμάτων υδρογέλης αλλά λίγες μπορούν να εφαρμοστούν σε αυτά που φέρουν κύτταρα. Μπορούμε να αναφέρουμε την αντοχή σε εφελκυσμό (extensimetry, strip extensimetry, tensile testing), το τεστ συμπίεσης (compression test), το τεστ εσοχής (indentation test), bulge test, η συμπερίληψη σφαιρικής μπάλας (spherical ball inclusion), η αναρρόφηση με μικροπιπέτα (micropipette aspiration),

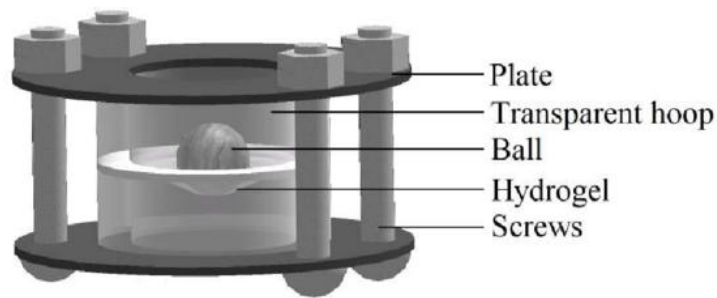
Long Focal Microscopy Based Spherical Microindentation, Optical Coherence Tomography Based Spherical Microindentation και άλλες. [33]



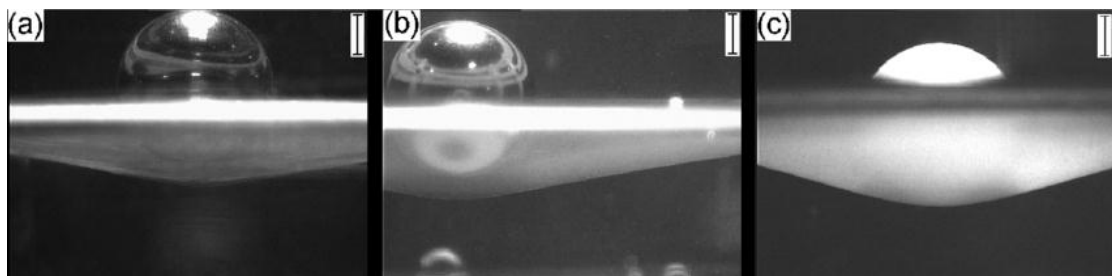
Εικόνα 2.7.1 Συμβατικές τεχνικές για τον μηχανικό χαρακτηρισμό υδρογελών: (a) strip extensometry; (b) ring extensometry; (c) compression test; (d) bulge test; (e) indentation (F = force, P = pressure). [33]



Σχήμα 2.7.1 Σχηματική αναπαράσταση της βασικής αρχής του τεστ εσοχής ενός δείγματος υδρογέλης. (A novel optical coherence tomography-based micro-indentation technique for mechanical characterization of hydrogels, Journal of The Royal Society Interface. 2008;4(17):1169-73).



Εικόνα 2.7.2 Hydrogel-sample-holder-and-sphere-for-long-focal-microscope-system. [33]



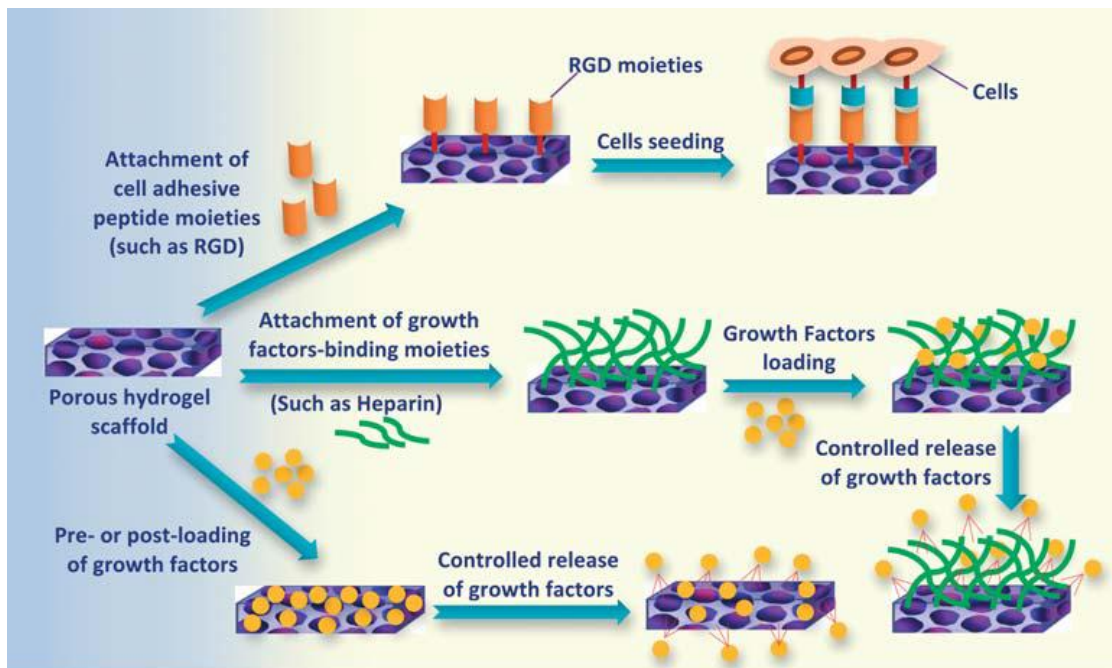
Εικόνα 2.7.3 Images-of-cell-seeded-a-alginate-b-agarose-and-c-collagen-hydrogels-under spherical indentation recorded by the long focal imaging system (scalebar = 1 mm). [33]

4. ΜΕΓΕΘΟΣ ΠΟΡΩΝ ΚΑΙ ΠΟΡΩΔΗΣ ΕΚΤΑΣΗ

Τα ικρίωματα υδρογέλης που χρησιμοποιούνται στην Μηχανική Ιστών διακρίνονται για την υψηλή πορώδη κατασκευή τους η οποία αποδίδει στο ικρίωμα μεγάλες επιφάνειες σε σχέση με τον όγκο του. Οι επιφάνειες αυτές είναι απαραίτητες ώστε η αύξηση των κυττάρων, η διανομή τους, η μετανάστευση αλλά και η αγγείωση του νεοσχηματιζόμενου ιστού να διευκολυνθούν. Παράμετροι που παίζουν σημαντικό ρόλο στην κατασκευή ενός ικρίωματος υδρογέλης είναι ο αριθμός των πόρων, το μέγεθος τους, η πυκνότητα τους, ο όγκος τους, η κατανομή τους, το σχήμα τους, η διασυνδεσιμότητά τους, ο βαθμός τραχύτητας εσωτερικά του πόρου. Κάθε μια από τις παραμέτρους αυτές επηρεάζει θετικά ή αρνητικά τον σχηματισμό νέου ιστού αναλόγως των κυττάρων που φιλοξενεί το ικρίωμα. Η επίδραση τους είναι ποικίλη και μπορεί να αφορά την κυτταρική διείσδυση, την παραγωγή ECM, την αγγείωση, την μεταφορά O₂ και θρεπτικών ουσιών κ.α. Αναδεικνύεται έτσι και πάλι η ανάγκη για κατασκευή ενός ικρίωματος με ιστοειδικά χαρακτηριστικά. [20]

5. ΕΠΙΦΑΝΕΙΑΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

Τα περισσότερα είδη κυττάρων που χρησιμοποιούνται στις εφαρμογές της Μηχανικής Ιστών βασίζονται αρχικά στην καλή προσκόλληση τους στην επιφάνεια του ικριώματος που τα φιλοξενεί. Επειδή λοιπόν η πρώτη τους επαφή είναι με την επιφάνεια του ικριώματος και από την επαφή αυτή θα εξαρτηθεί σε μεγάλο βαθμό η προσκόλληση και ο πολλαπλασιασμός τους τα χαρακτηριστικά της επιφάνειας αποκτούν ουσιώδη χαρακτήρα. Χαρακτηριστικά όπως φυσικοχημικά και τοπογραφικά θα παίξουν σημαντικό και πρωτεύοντα ρόλο στην ανάπτυξη των κυττάρων και άρα στη δημιουργία του νέου ιστού. Ικρίωματα υδρογέλης που προσφέρουν μεγάλες επιφάνειες εμφανίζονται να πλεονεκτούν ειδικά σε περιπτώσεις όπου απαιτείται ο αριθμός των κυττάρων να φτάσει σε υψηλούς αριθμούς. Εξέλιξη των χαρακτηριστικών αυτών είναι εφικτή μέσω αρκετών διαφορετικών προσεγγίσεων όπως η κινητοποίηση μορίων προσκόλλησης (EGF, bFGF, RGD peptides, κολλαγόνο, κ.α.) και η εναπόθεση λεπτού φιλμ. Με τον τρόπο αυτό επιτυγχάνεται για παράδειγμα η ενίσχυση ιδιοτήτων όπως η συμβατότητα (τα κύτταρα αναγνωρίζουν ειδικά το ικρίωμα). Τα μόρια προσκόλλησης μπορούν να είναι ομοιοπολικά συνδεδεμένα, να απορροφούνται ηλεκτροστατικά ή να αυτο-συναρμολογούνται στην επιφάνεια της υδρογέλης. [20]



Εικόνα 2.7.4 Μερικές προσεγγίσεις για επιλεκτική ενίσχυση των επιφανειακών χαρακτηριστικών των ικριωμάτων υδρογέλης ως προς την αύξηση της πρόσδεσης των επιφανειακών κυττάρων και την ελεγχόμενη απελευθέρωση ρυθμιστικών παραγόντων ανάπτυξης. [20]

6. ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΜΕΤΑΦΟΡΑΣ

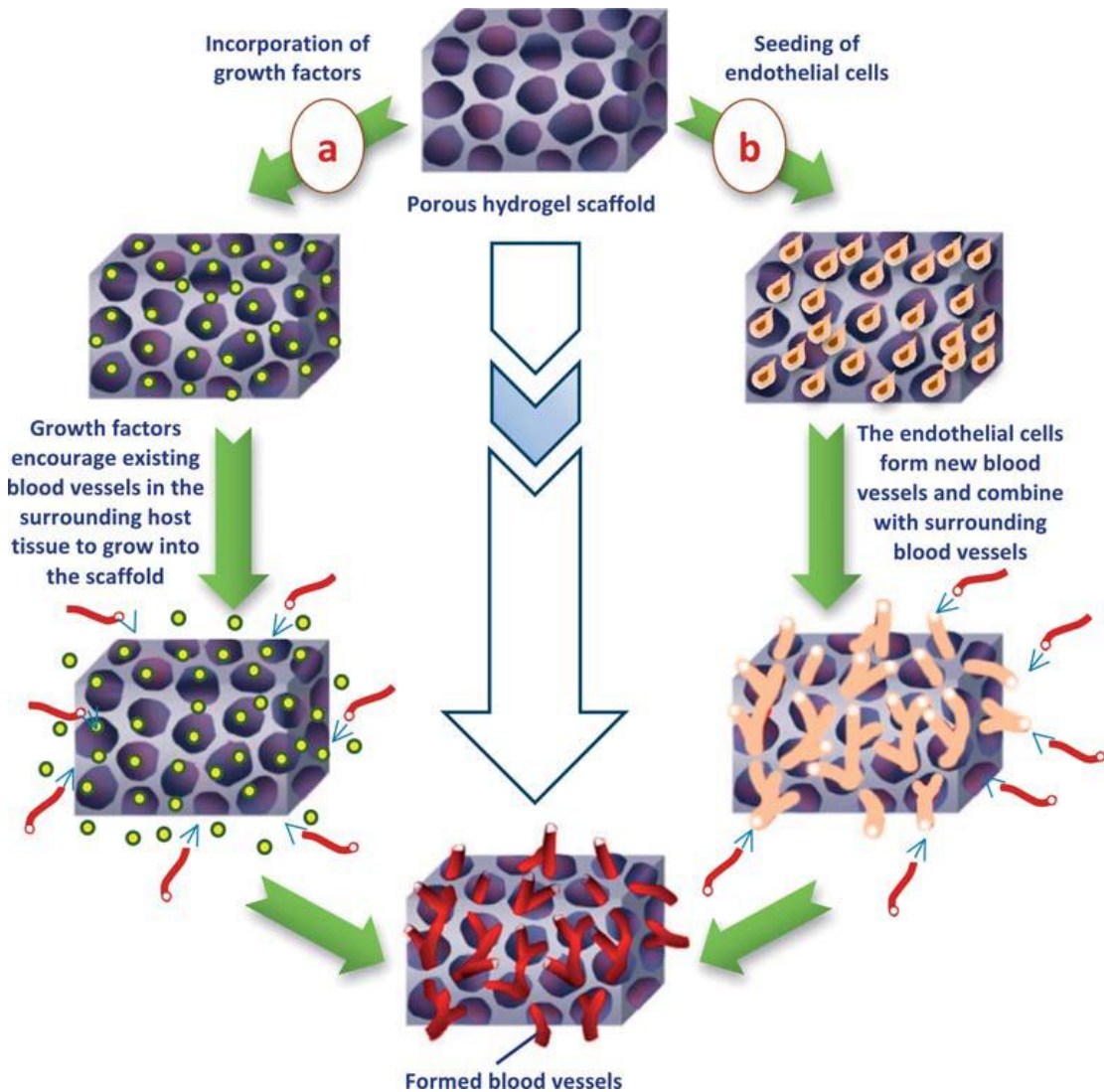
Η επιτυχία στην κατασκευή ενός ικρίωματος συμβαδίζει και με την συμβολή του στην επιτυχή μεταφορά θρεπτικών ουσιών, αερίων, κυττάρων, πρωτεϊνών, παραγόντων ανάπτυξης αλλά και αποβλήτων μέσα ή έξω από το ικρίωμα. Ιδιότητες που βοηθούν την μεταφορά όπως η διάχυση υπόκεινται στην επίδραση αρκετών παραγόντων όπως το υλικό του ικρίωματος, τα μοριακά χαρακτηριστικά του και διάφορες άλλες αλληλεπιδράσεις. Ανάλογα με την εφαρμογή για την οποία προορίζεται το ικρίωμα υδρογέλης διαμορφώνονται και οι μεταβλητές που θα επηρεάσουν και τις ιδιότητες μεταφοράς (π.χ. φορτισμένα πολυμερή, υδροδιαλυτοί δεσμοί). [30]

7. ΑΓΓΕΙΩΣΗ

Ένα σημαντικό πρόβλημα αλλά και μια σημαντική πρόκληση που έχει να αντιμετωπίσει η Μηχανική Ιστών είναι ο σχηματισμός αγγείων αίματος στον νέο ιστό (neovascularization). Τα αγγεία αυτά είναι σημαντικά για την επιβίωση του ιστού διότι μέσω αυτών θα γίνει η μεταφορά θρεπτικών ουσιών προς τον νέο ιστό αλλά και η εξάλειψη της επίδρασης των απόβλητων μέσω της απομάκρυνσης τους από τα αγγεία (φαινόμενο διάχυσης). Έτσι στην κατασκευή ικριωμάτων υδρογέλης προκειμένου να ευνοείται ο σχηματισμός νέων αγγείων πρέπει να λαμβάνονται υπόψη παράμετροι όπως το μέγεθος των πόρων και η έκταση τους αλλά και η αναδιαμόρφωση του αγγειακού συστήματος που θα συμβεί κατά την διαδικασία ωρίμανσης του νέου ιστού. Σε γενικές γραμμές δυο προσεγγίσεις υπάρχουν για την διευκόλυνση αγγείωσης σε ένα ικρίωμα κατασκευασμένο με την Μηχανική Ιστών. Η μια προσέγγιση περιλαμβάνει την ενσωμάτωση στο ικρίωμα της υδρογέλης παραγόντων που βοηθούν την αγγείωση (vasculogenic growth factors) και οι οποίοι έχουν σκοπό την προαγωγή της αγγειογένεσης των παρακείμενων ιστών ώστε τα νέα αγγεία να εισέλθουν και στο ικρίωμα. Η δεύτερη προσέγγιση χρησιμοποιεί ενδοθηλιακά κύτταρα που θα τοποθετηθούν στο ικρίωμα της υδρογέλης.

Ταυτόχρονα όμως ερευνώνται και άλλες πιθανές στρατηγικές όπως για παράδειγμα η χρήση προγονικών ενδοθηλιακών κυττάρων (endothelial progenitor cells, EPCs) εμφανίζοντας υποσχόμενα αποτελέσματα. Υδρογέλες κατασκευασμένες από HA βρέθηκε να διατηρούν τα EPCs αδιαφοροποίητα έως ότου επιτευχθεί αγγειακή διαφοροποίηση. Βέβαια στρατηγικές όπως αυτή έχουν να αντιμετωπίσουν και θέματα όπως ο μεγάλος χρόνος που απαιτείται, σε σχέση με τον χρόνο ζωής των κυττάρων, για να αναπτυχθούν τα νέα αγγεία

που θα εισέλθουν στο ικρίωμα, ο αριθμός των κυκλοφορούντων EPCs, η απόσταση των κυττάρων από τα αγγεία κ.α. [20]



Εικόνα 2.7.5 Σχηματική απεικόνιση του σχηματισμού αιμοφόρων αγγείων που ενθαρρύνεται είτε (α) από ενσωμάτωση ρυθμιστικών αυξητικών παραγόντων ή (β) μέσω σποράς ενδοθηλιακών κυττάρων στο σκελετό πορώδους υδρογέλης. [20]

Η χρήση ικριωμάτων υδρογέλης στην Μηχανική Ιστών γνωρίζει μια αρκετά μεγάλη πρόοδο τις τελευταίες δεκαετίες. Αιτίες για αυτό είναι κάποιες μοναδικές ιδιότητες που εμφανίζουν οι υδρογέλες όπως η πολύ καλή βιοσυμβατότητα που επιδεικνύουν, η συμφύης ομοιότητα τους με την ECM, οι πολλές τεχνικές κατασκευής τους, το πλήθος των διαθέσιμων φυσικών ή συνθετικών υλικών που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την δημιουργία τους, η μεγάλη δυνατότητα παραμετροποίησης τους είτε ως 2D είτε ως 3D δίκτυα κ.α. Έτσι ικρίωματα υδρογέλης έχουν χρησιμοποιηθεί με μεγάλη επιτυχία σε ιατρικές εφαρμογές (τμήματα τραχείας, κύστεις κατασκευασμένες με την Μηχανική Ιστών κλπ).

Εντούτοις αρκετές προκλήσεις μένουν να αντιμετωπιστούν συμπεριλαμβανομένων των φτωχών μηχανικών ιδιοτήτων τους (μακρο- και μικροσκοπικά), της μικρής διείσδυσης των κυττάρων και της μη ομαλής “σποράς” τους στα ικρίωματα υδρογελών λόγω έλλειψης χώρο-χρονικών ελέγχων, των δυσκολιών που αντιμετωπίζουν αυτές όταν χρησιμοποιούνται για την παράγωγη σύνθετων ιστών με πολλά είδη κυττάρων και ECM με συγκεκριμένες συνθέσεις (αντίθετα με τις περιπτώσεις που χρησιμοποιείται ένα είδος κυττάρου και η υδρογέλη επιδεικνύει πολύ καλά αποτελέσματα) αλλά και της έλλειψης δικτύου μικροαγγείων των ιστών που δημιουργήθηκαν και η οποία οδηγεί στην απώλεια της βιωσιμότητάς τους. [20]

2.8 Τεχνικές κατασκευής ικριωμάτων υδρογέλης για χρήση στην Μηχανική Ιστών

Οι μέθοδοι κατασκευής ικριωμάτων υδρογέλης καταλαμβάνουν αρκετά μεγάλο χώρο στο πεδίο έρευνας που αφορούν γενικότερα τις υδρογέλες. Πιο κάτω αναφέρονται ενδεικτικά μερικές τεχνικές κατασκευής άλλες εκ των οποίων έχουν χρησιμοποιηθεί σε προγενέστερες χρονικές περιόδους – στην συνέχεια εξελίχθηκαν και χρησιμοποιούνται ακόμη και σήμερα – και άλλες είναι πολύ πιο καινούριες και βασίζονται σε τεχνολογίες οι οποίες είναι πλέον εφικτές χάρη στην τεχνολογική έξαρση που γνωρίζουν τομείς όπως οι υπολογιστές, η μοριακή βιολογία, η επιστήμη των υλικών, η μηχανική κ.α. [7]

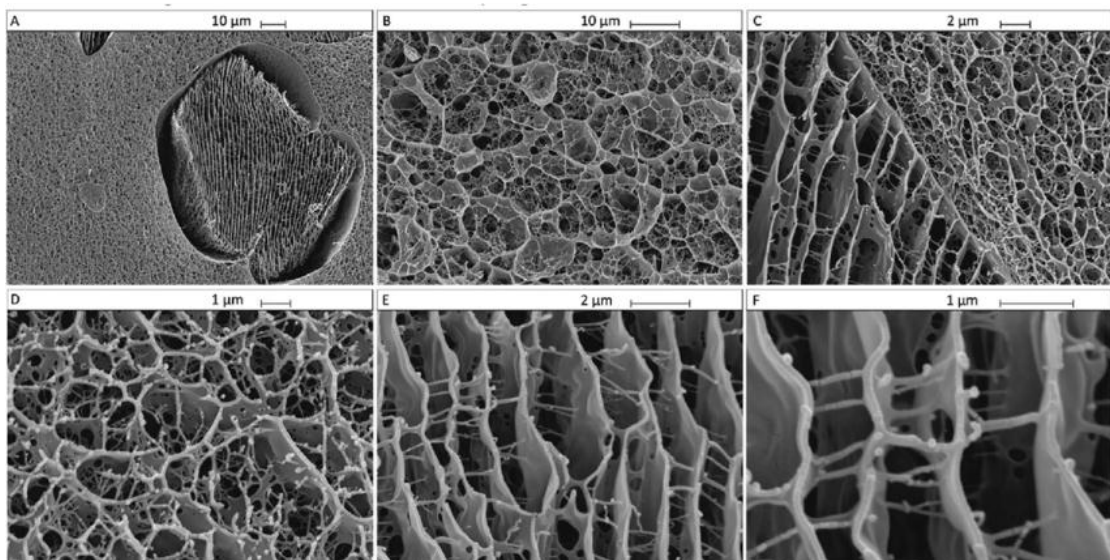
Emulsification - Γαλακτωματοποίηση

Η γαλακτωματοποίηση είναι η συνηθέστερα χρησιμοποιούμενη τεχνική για την κατασκευή υδρογέλης νανο- και μικροσωματιδίων. Η διαδικασία γαλακτωματοποίησης περιλαμβάνει ανάδευση ενός πολυφασικού μίγματος για τη δημιουργία μικρών υδατικών σταγονιδίων προδρόμων υδρογέλης μέσα σε ένα υδρόφοβο μέσο (όπως έλαιο ή οργανικό διαλύτη). Τα σταγονίδια πρόδρομης υδρογέλης μπορούν να διασυνδεθούν χρησιμοποιώντας διαφορετικούς μηχανισμούς για να παράγουν σφαιρικές νανο- ή μικρογέλες. Η γαλακτωματοποίηση μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ανάπτυξη σωματιδίων γέλης από ένα ευρύ φάσμα φυσικών και συνθετικών πολυμερών όπως η χιτοζάνη, το πολυγαλακτικό οξύ, το πολυγαλακτικό-συν-γλυκολικό οξύ, το κολλαγόνο, η αγαρόζη και το αλγινικό. Η γαλακτωματοποίηση μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί για την ενθυλάκωση εμβρυϊκών βλαστικών κυττάρων (ESC) εντός μικροσωματιδίων υδρογέλης ως καλλιέργεια *in vitro*, για την ανάπτυξη περισσότερο ελεγχόμενων περιβαλλόντων για διαφοροποίηση. Το κύριο πλεονέκτημα της διαδικασίας γαλακτωματοποίησης είναι η ευκολία με την οποία μπορεί να

χρησιμοποιηθεί για την ανάπτυξη σωματιδίων γέλης. Εντούτοις, η γαλακτωματοποίηση έχει επίσης ορισμένους δυνητικούς περιορισμούς. Για παράδειγμα, το σχήμα των κατασκευασμένων πηκτωμάτων περιορίζεται σε σφαίρες και παρά την ικανότητα ελέγχου των μεγεθών που προκύπτουν, θα υπάρχει πάντοτε μια ευρεία κατανομή μεγέθους σωματιδίων. [20]

Lyophilization (Freeze drying) - Λυοφιλοποίηση

Η λυοφιλοποίηση εξαρτάται από την ταχεία ψύξη ενός δείγματος για την παραγωγή θερμοδυναμικής αστάθειας μέσα σε αυτό, οδηγώντας σε ένα είδος διαχωρισμού φάσεων. Αυτό ακολουθείται από (υπό κενό) εξάχνωση του διαλύτη, αφήνοντας πίσω κενά και πόρους. Αυτή η προσέγγιση έχει χρησιμοποιηθεί εκτεταμένα για την παραγωγή πορωδών μητρών υδρογέλης για μηχανική ιστών. Παρά την καταλληλότητα της λυοφιλοποίησης για την κατασκευή πορωδών ικριωμάτων, αυτή η τεχνική επιδεικνύει μια δυσκολία στην ακριβή ρύθμιση του μεγέθους των πόρων, χρειάζεται σχετικά μεγάλο χρόνο επεξεργασίας και έχει σχετικά χαμηλά μηχανικά χαρακτηριστικά. Επιπλέον, η λυοφιλοποίηση συχνά οδηγεί στο σχηματισμό ενός επιφανειακού “δέρματος”, εξαιτίας της κατάρρευσης της μήτρας στη διασύνδεση ικριώματος-αέρα ως αποτέλεσμα της αλλαγής της επιφανειακής τάσης που συμβαίνει κατά την εξάτμιση του διαλύτη. [20]



Εικόνα 2.8.1 Εικόνες SEM ενός ξηρανθέντος με κατάψυξη δείγματος υδρογέλης-άγαρ (1,0-1,0% w/v). (An ultra melt-resistant hydrogel from food grade carbohydrates. RSC Advances. 2017;7(72):45535-45544).

Emulsification-lyophilization / Γαλακτωματοποίηση – Λυοφιλοποίηση

Σε αυτή την τεχνική κατασκευής, τα πολυμερικά γαλακτώματα που αποτελούνται από διεσπαρμένη υδατική φάση και οργανικό μέσο διασποράς ή αντιστρόφως, με ένα κατάλληλο βιοαποικοδομήσιμο πολυμερές διαλυμένο στη διασκορπισμένη φάση, λυοφιλοποιούνται για να παραχθούν πορώδη βιοαποικοδομήσιμα ικρίωματα με διαφορετικά μεγέθη πόρων και αλληλοσυνδεσιμότητα. [20]

Solvent casting-leaching / Χύτευση-έκπλυση διαλυτών

Η χύτευση-έκπλυση διαλυτών μπορεί να θεωρηθεί ως η απλούστερη τεχνική για την ανάπτυξη πορώδων ικριωμάτων με σχεδόν ομοιόμορφο μέγεθος πόρων. Η διαδικασία περιλαμβάνει τη χύτευση διαλύματος οργανικού πολυμερούς. Αυτή η προσέγγιση, ωστόσο, έχει κάποιες ελλείψεις, καθώς το προκύπτον ικρίωμα μπορεί να περιέχει υπολειμματικά σωματίδια άλατος. Αυτή η τεχνική μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί μόνο για την ανάπτυξη ικριωμάτων λεπτής μεμβράνης. Για την ανάπτυξη ενός 3D ικριώματος, οι μεμβράνες πορώδους ικριώματος στρώνονται σε πολλαπλά επίπεδα διαφορετικές ανατομικές δομές. [20]

Gas foaming-leaching / Αφρισμός με αέριο

Σε αυτή τη μέθοδο, ένα αναβράζον άλας χρησιμοποιείται ως παράγοντας αφρισμού αερίου για την ανάπτυξη της πορώδους δομής των ικριωμάτων. Ένα πολυμερές πήκτωμα που περιέχει ομοιογενώς διασπαρμένα σωματίδια άλατος όπως διττανθρακικό αμμώνιο χυτεύεται σε ένα κατάλληλο καλούπι, ακολουθούμενο από εμβάπτιση σε ζεστό νερό. Η εξέλιξη των αερίων διοξειδίου του άνθρακα και αμμωνίας, που ακολουθείται από την έκπλυση των υπολειμμάτων σωματιδίων διττανθρακικού αμμωνίου από την στερεοποιούμενη υδρογέλη, οδηγεί στο σχηματισμό μιας πορώδους μήτρας με υψηλή διασύνδεση. [20]

Photolithography / Φωτολιθογραφία

Η τεχνική φωτολιθογραφίας αναπτύχθηκε ιδιαίτερα για εφαρμογές μικρο- και νανοηλεκτρονικής. Πιο πρόσφατα, η φωτολιθογραφία έχει χρησιμοποιηθεί για μια ποικιλία βιοϊατρικών εφαρμογών για την ανάπτυξη μικροσχηματισμένων σκελετών υδρογέλης. Αυτό επιτεύχθηκε εν μέρει με την παρασκευή διαφόρων φυσικών και συνθετικών φωτο-πλεγματοποιήσιμων πολυμερών τα οποία μπορούν να υποβληθούν σε σταυροσύνδεση για να σχηματίσουν υδρογέλες. Η φωτολιθογραφία εξαρτάται από την έκθεση σε λεπτή μεμβράνη φωτο-πλεγματοποιήσιμου πολυμερούς σε υπεριώδες φως μέσω μίας μάσκας. Στη συνέχεια,

καθώς το φως φθάνει στο φωτοευαίσθητο πολυμερές μέσω των διαφανών περιοχών της μάσκας, προκαλεί φωτοαντιδράσεις που διασυνδέουν το πολυμερές. Παρά τη σημασία της φωτολιθογραφίας ως τεχνικής κατασκευής για ικρίωματα υδρογέλης, παρουσιάζει μερικά δυνητικά μειονεκτήματα που περιλαμβάνουν την ανάγκη για φωτοσυσταλλώμενα πολυμερή και τις βλαβερές επιδράσεις του υπεριώδους φωτός στη λειτουργία των κυττάρων, εκτός από την κυτταροτοξικότητα που σχετίζεται με τη χρήση φωτοεκκινητών. Επιπλέον, επειδή η φωτολιθογραφία είναι ουσιαστικά μια μέθοδος 2D, αναπτύσσει μήτρες που μπορεί να απαιτούν περαιτέρω συναρμολόγηση για τη δημιουργία 3D ικριωμάτων. [20]

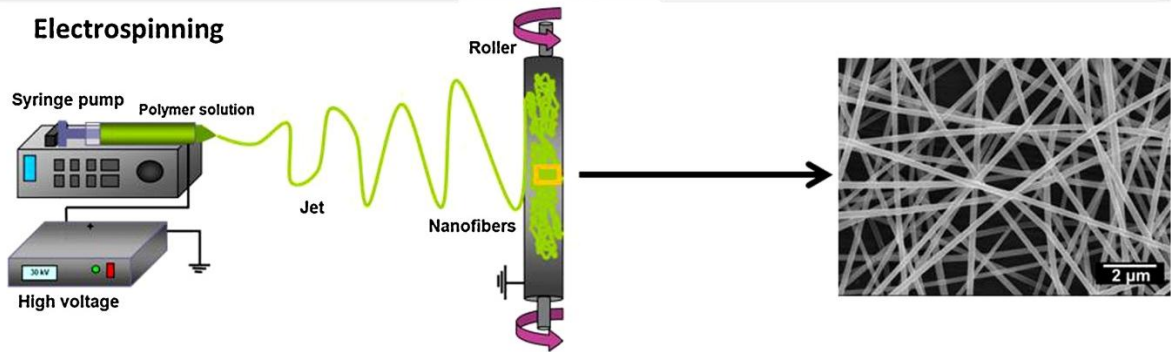
Microfluidic - Μικρορευστομηχανική

Η μικρορευστομηχανική χρησιμοποιήθηκε για να δημιουργήσει μια ποικιλία μικροδομών υδρογέλης, μέσω της δημιουργίας μονοφασικών ή πολυφασικών ροών μέσα σε κανάλια μικρορευστών. Στις περισσότερες περιπτώσεις, τα κύτταρα και οι επιλεγμένοι πρόδρομοι πολυμερούς υδρογέλης αφήνονται να ρέουν διαμέσου μικροκαναλιών που ελέγχουν το προκύπτον σχήμα της αναπτυγμένης υδρογέλης. Ένας συνδυασμός μικρορευστοειδούς και φωτολιθογραφίας χρησιμοποιήθηκε πρόσφατα για την κατασκευή μοναδικών ικριωμάτων υδρογέλης. [20]

Electrospinning – Ηλεκτροσυσσωμάτωση

Είναι μία από τις σημαντικότερες τεχνικές που χρησιμοποιούνται για την κατασκευή διασυνδεδεμένων πορώδων ικριωμάτων για σκοπούς μηχανικής ιστών. Η τεχνική ηλεκτροσυσσωμάτωσης εξαρτάται ειδικότερα από τη χρήση ενός εξωτερικού ηλεκτρικού πεδίου για την έλξη μικροϊνών από ένα φορτισμένο πολυμερές διάλυμα στο τέλος ενός τριχοειδούς σωλήνα. Η φόρτιση του πολυμερούς επιτυγχάνεται με την εφαρμογή μιας υψηλής τάσης και στη συνέχεια τραβιέται ως ένα λεπτό νήμα δέσμης προς μία αντίθετα φορτισμένη πλάκα ή έναν περιστρεφόμενο συλλέκτη σύμφωνα με τον επιθυμητό προσανατολισμό των συλλεχθέντων ινών. Εντούτοις, η χρησιμοποίηση ηλεκτροσυσσωρευμάτων για την ανάπτυξη ικριωμάτων υδρογέλης για μηχανική ιστών εξακολουθεί να είναι περιορισμένη λόγω πολλών μειονεκτημάτων, όπως ο περιορισμένος έλεγχος του πορώδους και του μεγέθους των πόρων, οι σχετικά κακές μηχανικές ιδιότητες και, ειδικότερα, η αδυναμία της τεχνικής να κατασκευάσει σκελετούς 3D υδρογέλης. [20]

(c) **Electrospinning**

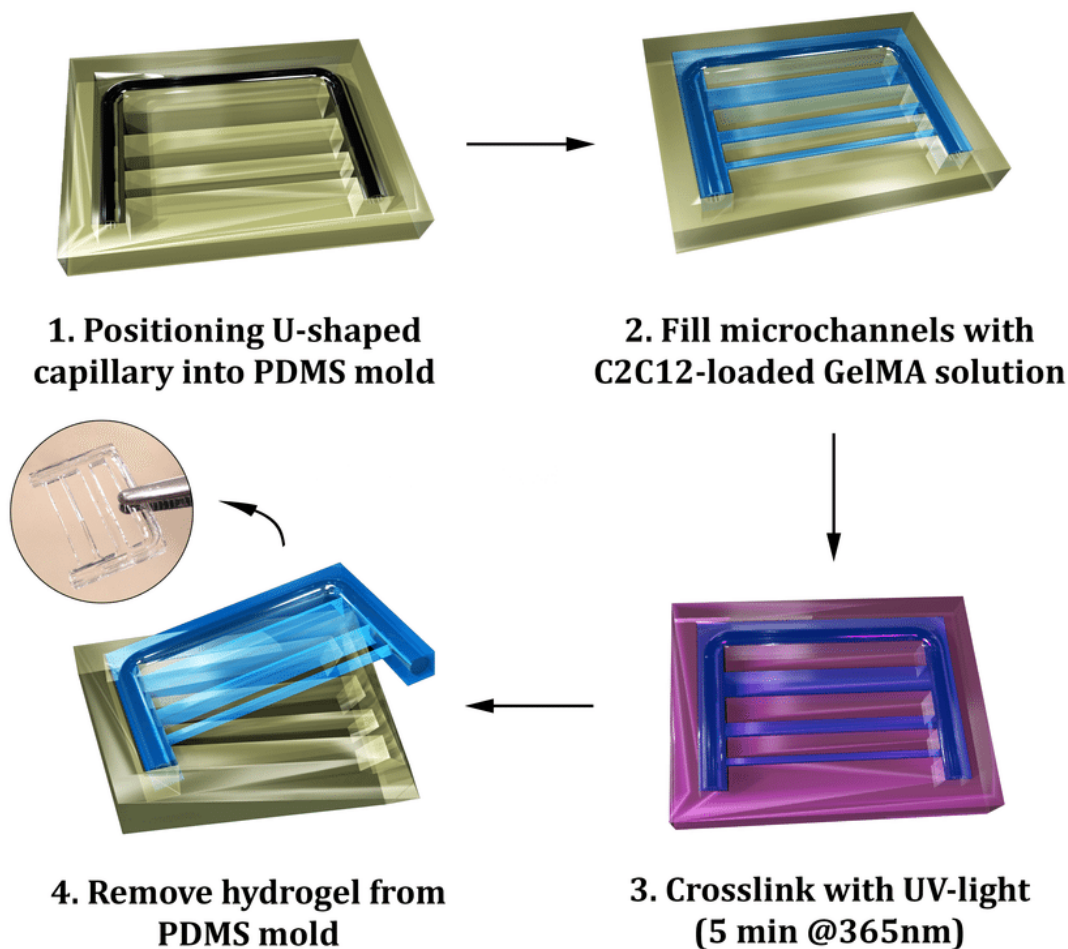


Εικόνα 2.8.2 Σχηματική αναπαράσταση ηλεκτροσυσσωμάτωσης για τη δημιουργία ινδικών δομών σε συνθετικά ικρίώματα. [62]

Micromolding - Μικροδιαμόρφωση

Το Micromolding είναι μια άλλη τεχνική κατασκευής που είναι ικανή να παράγει υδρογέλες με ελεγχόμενο μέγεθος και πορώδες. Αυτή η τεχνική έχει γίνει ιδιαίτερα ελκυστική με την ανάπτυξη της μαλακής λιθογραφίας, η οποία επέτρεψε την εύκολη κατασκευή καλουπιών με βάση πολυ (διμεθυλο σιλοξάνη) από προκατασκευασμένες γκοφρέτες πυριτίου, καθώς και την ανάπτυξη σωματιδίων ναοκλίμακας μικρο-καλουπιού ελεγχόμενης δομής με βάση το φθόριο.

Στην τεχνική αυτή, για να αναπτυχθεί μια μικρο-διαμορφωμένη υδρογέλη, οι πολυμερείς πρόδρομοι υδρογέλης μορφοποιούνται αρχικά σε καλούπια και στη συνέχεια πηκτωματοποιούνται για να παράγουν δομές ποικιλίας σχημάτων, μορφολογιών και μεγεθών. Η Micromolding τεχνική έχει χρησιμοποιηθεί για την κατασκευή μικρο-μηχανικών υδρογελών από διαφορετικά πολυμερή όπως χιτοζάνη, PEG και υαλουρονικό οξύ αλλά όχι από πολυμερή όπως η φιμπρίνη και το αλγινικό τα οποία απαιτούν την προσθήκη παραγόντων γελοποίησης όπως δισθενή και πολυσθενή ιόντα. [20]

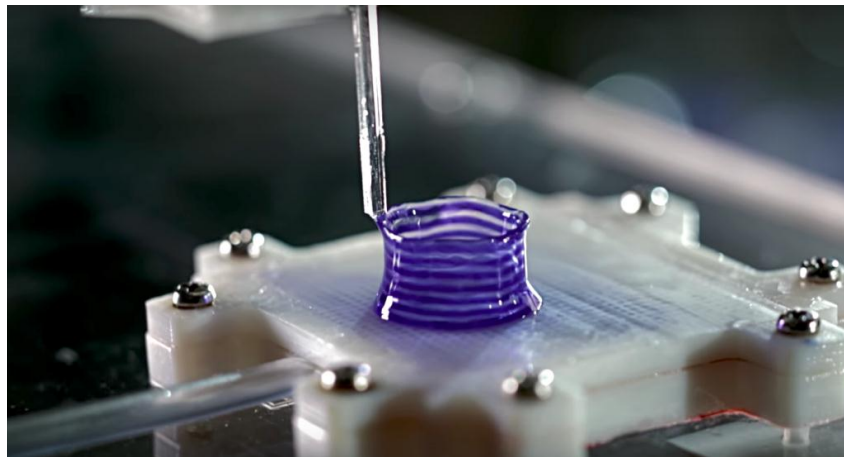


Εικόνα 2.8.3 Σχέδιο της διαδικασίας μικροδιαμόρφωσης για την κατασκευή υδρογέλων GelMA: ένα υάλινο τριχοειδές σχήματος U είναι ενσωματωμένο εντός της υδρογέλης για να ενεργεί ως πλαίσιο στήριξης για τις χορδές υδρογέλης που έχουν διαφορετικές διατομές. [63]

Three-dimensional organ/tissue printing - Τρισδιάστατη εκτύπωση οργάνων /ιστών

Η τρισδιάστατη (3D) εκτύπωση οργάνων / ιστών αποτελεί μια νέα προσέγγιση στην Μηχανική Ιστών και βασίζεται σε εναποθέσεις στρωμάτων ή σταγόνων υδρογέλης με κυψέλες που είναι κυτταρικές. Αυτή η τεχνική που προέρχεται από την τεχνική της ταχείας παραγωγής πρωτοτύπων (Rapid Prototyping) είναι ωφέλιμη για την ανάπτυξη 3D κριωμάτων με προκαθορισμένο εξωτερικό σχήμα και εσωτερική μορφολογία, καθώς και με συγκεκριμένη τοποθέτηση κυττάρων. Σε αυτή την τεχνική ένας υπολογιστικά-υποβοηθούμενος σχεδιασμός του εμφυτεύματος μεταφράζεται από την μηχανή ταχείας κατασκευής πρωτότυπου σε ένα πολυστρωματικό, κυψελωτό κατασκεύασμα υδρογέλης με

προκαθορισμένο εξωτερικό σχήμα και εσωτερική μορφολογία, για χρήση είτε σε ένα *in vitro* μοντέλο είτε *in vivo* μεταμόσχευση. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί με τη χρήση πολλαπλών κεφαλών εκτύπωσης, καθένα από τα οποία περιέχει έναν συγκεκριμένο κυτταρικό τύπο ή /και υδρογέλη, που επιτρέπει την εκτύπωση ετερογενούς κατασκευής. Στην 3D εκτύπωση οργάνων / ιστών, η χρήση ικριωμάτων υδρογέλης είναι σημαντική καθώς αυτά παρέχουν μια μήτρα υποστήριξης για τα ενσωματωμένα κύτταρα με ένα πολύ ενυδατωμένο μικροπεριβάλλον που ρυθμίζεται με τη διάχυση θρεπτικών ουσιών και οξυγόνου. Γενικά, οι κύριες απαιτήσεις μιας υδρογέλης για εκτύπωση 3D οργάνων περιλαμβάνουν: (α) μη κυτταροτοξικότητα, (β) διατήρηση του τυπωμένου σχήματος και της εσωτερικής μορφολογίας μετά την εναπόθεση, (γ) παροχή επαρκούς σταθερότητας και μηχανικών χαρακτηριστικών για *in vitro* καλλιέργεια και *in vivo* εμφύτευση, (δ) διατήρηση της κυτταρικής βιωσιμότητας και λειτουργίας, και (ε) εύκολο χειρισμό των εκτυπωμένων ικριωμάτων. Οι περισσότερες από αυτές τις υδρογέλες εντούτοις έδειξαν κάποιες αδυναμίες όπως έλλειψη συγκολλητικών / βιομιμητικών αλληλουχιών, περιορισμένα μηχανικά χαρακτηριστικά και αστάθεια στην καλλιέργεια. Οι υδρογέλες έχουν χρησιμοποιηθεί μέσω τεχνικής 3D εκτύπωσης οργάνων / ιστών για την ανάπτυξη σωληνοειδών δομών φορτωμένων με ενδοθηλιακά κύτταρα και για το σχεδιασμό διαφόρων συστημάτων συν-καλλιέργειας. [20]

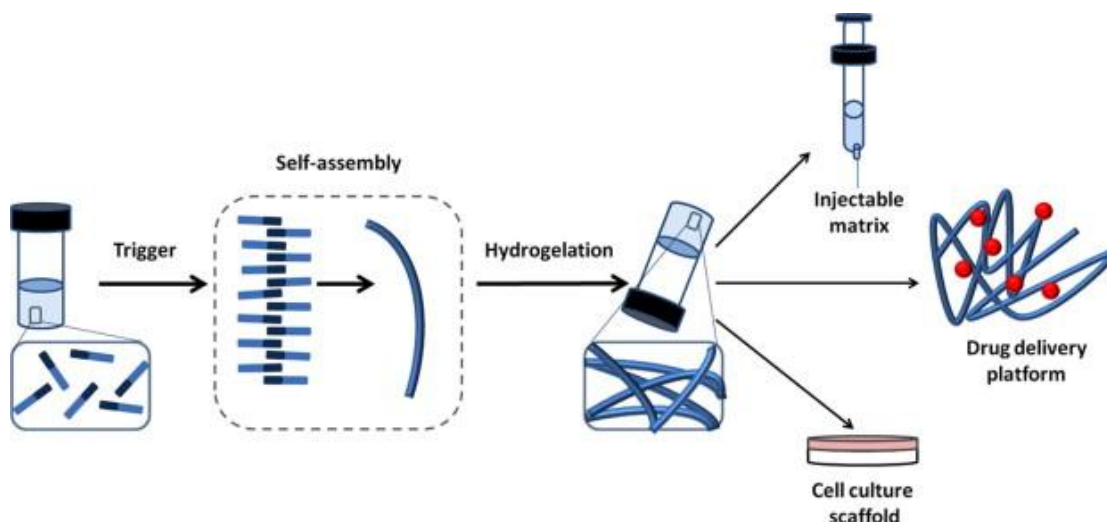


Εικόνα 2.8.4 Η τεχνολογία Lab-on-a-Printer που χρησιμοποιείται για τη δημιουργία μηνίσκου (εικόνα μέσω της Aspect Biosystems).

Συναρμολόγηση μικρογελών

Ο έλεγχος της κατανομής διαφορετικών τύπων κυττάρων σε ικρίωματα κατασκευασμένα από την Μηχανική Ιστών είναι σημαντική πρόκληση. Επιπλέον, πολλά

όργανα όπως το ήπαρ ή τα νεφρά έχουν πολύπλοκες δομές 3D δομημένες από μικρότερες επαναλαμβανόμενες μονάδες. Ως αποτέλεσμα, οι ερευνητές ενδιαφέρονται να χρησιμοποιήσουν κατευθυνόμενες τεχνικές συναρμολόγησης για το συνδυασμό μικρότερων δομικών στοιχείων μπλοκ για να μιμηθούν τα πολυπλοκότητα των εγγενών ιστών. Αυτές οι προσεγγίσεις "από κάτω προς τα πάνω" ή "σπονδυλωτές" χρησιμοποιούν συγκεκριμένες μικρο-αρχιτεκτονικές δομές (δομικά στοιχεία) για την κατασκευή βιολογικών ιστών μικρού μεγέθους. Αυτά τα μπλοκ θα μπορούσαν να έχουν το σχήμα επίπεδων δομών που μπορούν να στοιβάζονται για να δημιουργήσουν 3D κατασκευή ή μπορεί να είναι υπό τη μορφή ινών που συναρμολογούνται για να σχηματίσουν ένα παρόμοιο ιστό κατασκευές. Για να δημιουργήσουμε και να συναρμολογήσουμε αυτές τις δομικές μονάδες, υπήρξαν αρκετές μέθοδοι όπως η εκτύπωση ιστών, η κατευθυνόμενη συναρμολόγηση ιστών και τεχνικές με βάση ίνες. [20]

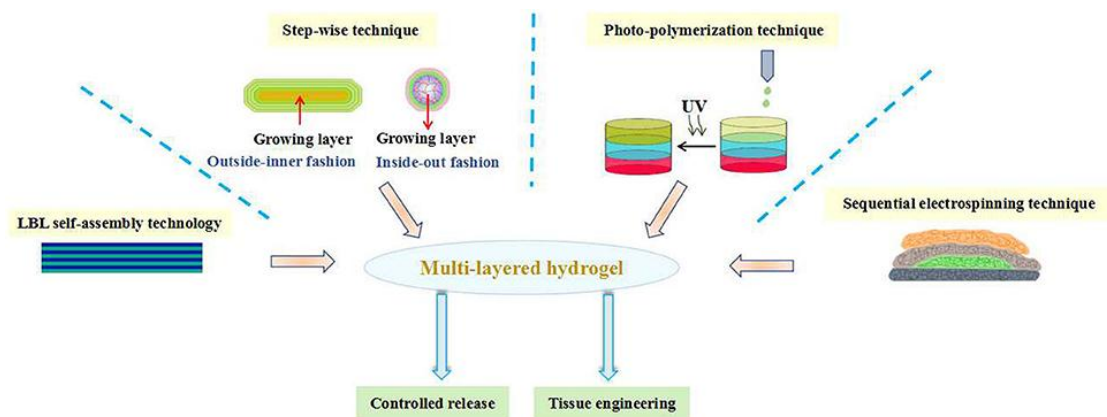


Εικόνα 2.8.5 Σχηματική απεικόνιση τεχνικής αυτοσυναρμολόγησης υδρογέλης και πιθανές χρήσεις. [64]

Layer by Layer Fabrication (LbL) – Εναπόθεση σε στρώσεις

Η εναπόθεση σε στρώση (LbL) είναι μια τεχνική κατασκευής λεπτής μεμβράνης. Οι μεμβράνες σχηματίζονται με εναπόθεση εναλλασσόμενων στρωμάτων αντίθετα φορισμένων υλικών με στάδια πλύσης μεταξύ τους. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί χρησιμοποιώντας διάφορες τεχνικές όπως εμβάπτιση, περιστροφή, ψεκασμό, ηλεκτρομαγνητισμό ή μηχανική ρευστών. Η τεχνική αυτή δείχνει μεγάλο δυναμικό ως προς την δημιουργία πολύπλοκων καρδιακών κατασκευών που χαρακτηρίζονται από βιομιμητική δομική πολυπλοκότητα με καλύτερη κυτταρική οργάνωση και ωρίμανση. Μια LbL τεχνική χρησιμοποιήθηκε για να

κατασκευαστούν φύλλα ECM μεγέθους νανομέτρων από φιβρονεκτίνη και ζελατίνη πάνω σε iPSCs-CM (ανθρώπινοι ιστοί από καρδιομυοκύτταρα (CM) καθοδηγούμενα από επιφάνεια ανθρώπινων iPSCs. [34]



Εικόνα 2.8.6 Η παρασκευή πολυεπίπεδων υδρογελών και οι βιοϊατρικές εφαρμογές τους. (Liu G, Ding Z, Yuan Q, Xie H and Gu Z. (2018) Multi-Layered Hydrogels for Biomedical Applications. Front. Chem. 6:439).

2.9 Εφαρμογές των ικριωμάτων υδρογέλης στην Μηχανική Ιστών και στην Αναγεννητική Ιατρική

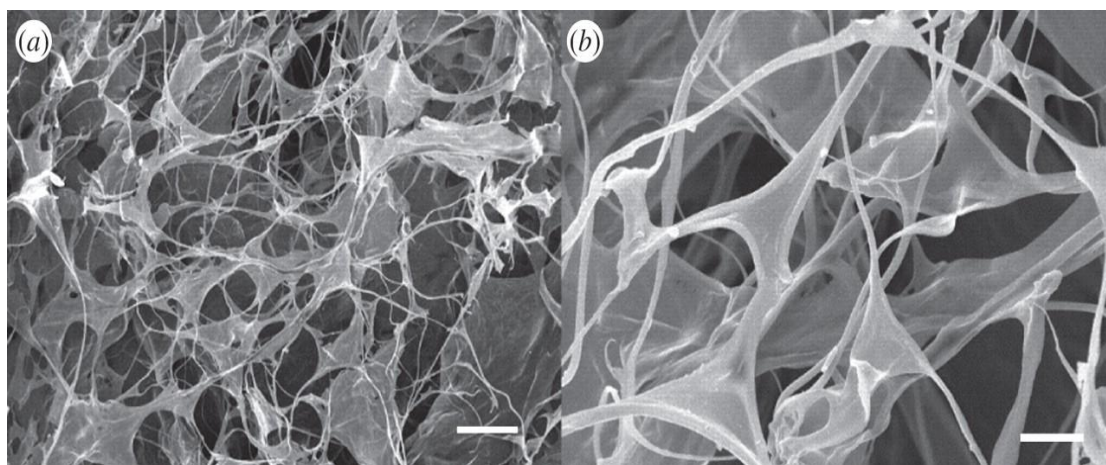
Η μεγάλη επιτυχία αλλά και ο σημαντικός ρόλος των οποίου καλούνται να διαδραματίσουν οι υδρογέλες οφείλεται κατά κύριο λόγο στην μεγάλη ομοιότητα τους με την ECM. Η επίδραση που είχαν πάνω τους πεδία που αναπτύσσονται ταχύτατα (όπως η μοριακή βιολογία και η επιστήμη και μηχανική των υλικών) αλλά και νεοεμφανιζόμενες τεχνολογίες (όπως η νανοτεχνολογία) έδωσε την δυνατότητα για τον χωροχρονικό έλεγχο διαφόρων ιδιοτήτων τους. Έτσι ο έλεγχος πάνω σε ιδιότητες όπως η σταθερότητα και αποικοδόμηση, η ακαμψία, η πορώδης έκταση, η ευαισθησία σε παραμέτρους όπως το pH και η θερμοκρασία αλλά και στις ιδιότητες κυτταρικής προσκόλλησης οδήγησε στην δημιουργία πολύπλοκων βιομιμητικών αρχιτεκτονικών δομών για ιστοειδική αναγέννηση. Επιπλέον ο συνδυασμός με την τεχνολογία των stem cells (SCs) προσδοκάται να οδηγήσει σε υδρογέλες με βελτιστοποιημένες ιδιότητες ως προς την καλύτερη μίμηση του αναπτυξιακού δυναμικού του ιστικού μικροπεριβάλλοντος. [35]

Τα ικριώματα υδρογέλης έχουν βρει μεγάλη εφαρμογή τόσο στην Μηχανική Ιστών όσο και στην Αναγεννητική Ιατρική για την αποκατάσταση και θεραπεία πολλών τύπων ιστών

ανάμεσα στους οποίους ο νευρικός ιστός, ο καρδιακός ιστός, το ήπαρ, το δέρμα και οι μυοσκελετικοί ιστοί.

Νευρικός ιστός

Προκειμένου να επιτευχθεί η αναγέννηση νευρικού ιστού πρέπει να ικανοποιηθούν οι συνθήκες της αξονικής ανάπτυξης, της μετανάστευσης και του σχηματισμού νευρωνικού δικτύου. Η αξονική ανάπτυξη και καθοδήγηση είναι ευαίσθητη σε ποικίλες φυσικοχημικές ιδιότητες του ικριώματος (μηχανικές, ιδιότητες τοπογραφίας κ.α.) αλλά και σε νευρογενικούς παράγοντες ανάπτυξης που μπορούν να προσδεθούν πάνω σε αυτό. Ικρίωματα υδρογέλης στα οποία ενσωματώθηκαν νανοίνες μπορούν να δράσουν ως τοπογραφικά και βιολογικά στοιχεία για την ενίσχυση της νευρικής αναγέννησης. Πρόσφατα χρησιμοποιήθηκαν ικρίωματα υδρογέλης, κατασκευασμένα με την τεχνική της αυτο-συναρμολόγησης, με πεπτίδια (SAP) για την νευρική αναγέννηση εξαιτίας της βιομιμητικής νανοινώδους δομής τους και των νευρογενικών ιδιοτήτων τους. Τέτοια τροποποιημένα ικρίωματα βρέθηκε ότι μπορούν να υποστηρίξουν την διαφοροποίηση νευρικών κύτταρων και αστροκυττάρων χωρίς να υπάρχει ανάγκη ενσωμάτωσης στο ικρίωμα αναπτυξιακών παραγόντων. Εξαιτίας του γεγονότος ότι οι περισσότεροι νευρώνες του κεντρικού νευρικού συστήματος (ΚΝΣ) στερούνται της ικανότητας πολλαπλασιασμού ή αυτο-ανανέωσης η προσοχή επικεντρώθηκε σε κυτταρικές θεραπείες αντικατάστασης. Για τον σκοπό αυτό έχουν χρησιμοποιηθεί από διάφορες ερευνητικές ομάδες ικρίωματα υδρογέλης κατασκευασμένα από υλικά όπως η χιτοζάνη σε συνδυασμό με άλλους παράγοντες στοχεύοντας είτε στην αναγέννηση του νευρικού ιστού είτε στην περιφερική νευρική αναστόμωση. [35,36]



Εικόνα 2.9.1 Η δομή των υδρογελών HA που παρατηρήθηκε χρησιμοποιώντας ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης σε (α) κατώτερη και (β) υψηλότερη μεγέθυνση. (royalsocietypublishing.org)

Καρδιακός ιστός

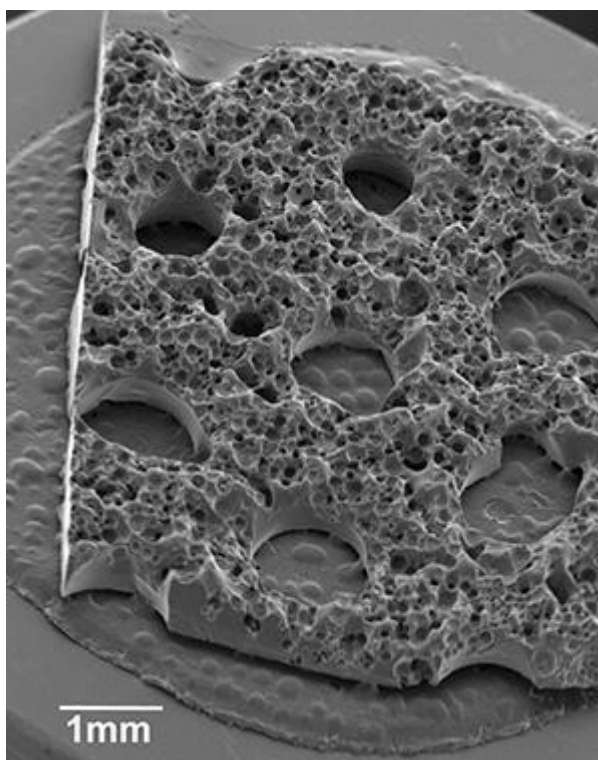
Οι εφαρμογές της Μηχανικής Ιστών για τον καρδιακό ιστό συνδυάζουν τόσο υποστηρικτικές μήτρες (ικριώματα) όσο και κύτταρα. Η περιορισμένη ικανότητα των ενήλικων καρδιομυοκυττάρων για πολλαπλασιασμό είναι υπεύθυνη για την χαμηλή δυνατότητα αναγέννησης που έχει ο καρδιακός ιστός. Η κυκλοφορία του αίματος από την καρδιά επιτυγχάνεται χάρη στην ελικοειδή – ελασματώδη συναρμολόγηση ιεραρχικά οργανωμένων ναοινωδών δομών. Λόγω της μαλακής τους φύσης, των ιξωδοελαστικών ιδιοτήτων τους και των ιστικά προσομοιαζόντων χαρακτηριστικών τους οι υδρογέλες χρησιμοποιούνται στην αναγέννηση του καρδιακού ιστού ως ικριώματα αλλά και για την τροφοδότηση με κύτταρα του εμφραγματικού καρδιακού μυ. Τα ικριώματα αυτά αφενός μεν διατηρούν τα κύτταρα στην περιοχή του εμφράγματος αφετέρου δε προσφέρουν υποστήριξη για την αποκατάσταση της τοιχωματικής πίεσης του μυοκαρδίου, κυτταρική επιβίωση και λειτουργικότητα. Επιπλέον η καρδιά επιτυγχάνει την παλμική συμπεριφορά της μέσω ηλεκτροαγώγιμων δικτύων. Για τον λόγο αυτό οι υδρογέλες που θα χρησιμοποιηθούν για τα ικριώματα θα πρέπει να επιδείξουν παρόμοιες ηλεκτροαγώγιμες ιδιότητες ώστε να επιτευχθεί η λειτουργική αναγέννηση του καρδιακού ιστού.

Για τα ικριώματα υδρογέλης που θα χρησιμοποιηθούν στην αναγέννηση του καρδιακού ιστού υπάρχουν αρκετά διαθέσιμα πολυμερή υλικά τόσο φυσικά (κολλαγόνο, χιτοζάνη, matrigel, HA κ.α.) όσο και συνθετικά (PLA, PLGA, PEG, PAAm, PCL, PU κ.α.). Τα μεν φυσικά πολυμερή λόγω της δομικής ομοιότητας τους με μόρια των βιολογικών οργανισμών μειώνουν την πιθανότητα ανοσολογικής απάντησης όταν εμφυτευτούν in vivo. Από την άλλη η χρήση συνθετικών πολυμερών πλεονεκτεί έναντι των φυσικών διότι πρόκειται για υλικά με προσαρμοζόμενες φυσικοχημικές ιδιότητες αλλά η πιθανή κυτταροτοξικότητα τους είναι μια ανησυχία που περιβάλλει έντονα την χρήση τους σε in vivo εμφυτεύματα. [20,35]

Μυοσκελετικός ιστός

Οι μυοσκελετικές ασθένειες και τραυματισμοί συμπεριλαμβανομένων των παθήσεων και των κακώσεων οστών και χόνδρων ευθύνονται για ένα μεγάλο μέρος της χρόνιας νοσηρότητας. Η χρήση ικριωμάτων υδρογέλης στην αντιμετώπιση αυτών των παθήσεων είναι ευρεία. Εντούτοις η κατασκευή των ικριωμάτων αυτών υπόκειται σε αρκετούς περιορισμούς. Το ικρίωμα θα πρέπει να μιμηθεί τις μηχανικές ιδιότητες του γηγενούς ιστού και αυτό από μόνο του αποτελεί μια πρόκληση διότι κατά κανόνα τα συγκεκριμένα ανατομικά στοιχεία συνήθως έχουν να αντιμετωπίσουν μηχανικές πιέσεις και πιέσεις φορτίων. Προς την

κατεύθυνση αυτή βοήθησαν εξελιγμένες τεχνολογίες, όπως η 3D εκτύπωση, που παρήγαγαν ικριώματα με ενισχυμένες μηχανικές ιδιότητες. Ταυτόχρονα η μεγάλη ετερογένεια που έχουν οι μυοσκελετικοί ιστοί επιβάλλει την τροποποίηση των ικριωμάτων υδρογέλης με την ενσωμάτωση σε αυτά φυσικών ή χημικών παραγόντων με ελεγχόμενο τρόπο. [35]



Εικόνα 2.9.2 Εικόνα ηλεκτρονικού μικροσκοπίου σάρωσης του πορώδους ικριώματος ιστών με κανάλια αγγείωσης. (<http://lunainc.com/bioactive-hydrogels-for-muscle-tissue-engineering/>)

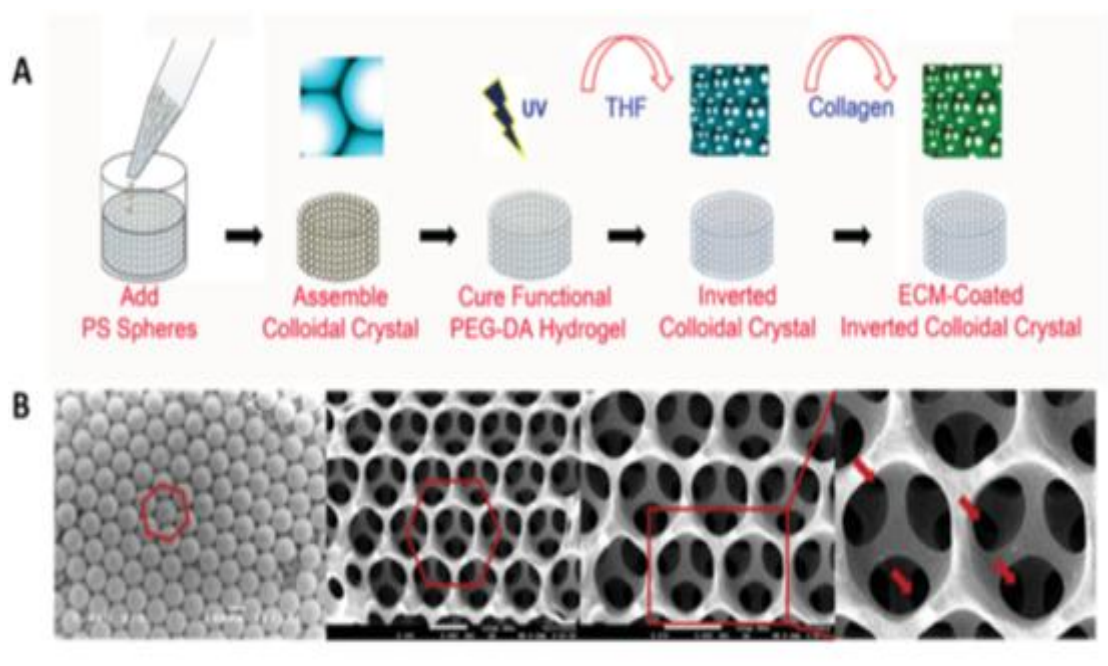
Ήπαρ

Η ηπατική ανεπάρκεια αποτελεί μια εξαιρετικά επικίνδυνη κατάσταση για την ζωή του ανθρώπου και είναι υπεύθυνη για μεγάλο αριθμό θανάτων σε παγκόσμια κλίμακα. Η πρώτη και αποτελεσματικότερη ίσως θεραπεία είναι η μεταμόσχευση. Όπως όμως συμβαίνει και με άλλα όργανα η διαθεσιμότητα των μοσχευμάτων είναι εξαιρετικά περιορισμένη ενώ αντίθετα η ζήτηση αρκετά μεγάλη. Μια εναλλακτική προσέγγιση αποτελεί ο ιστός που δημιουργείται μέσω της Μηχανικής Ιστών. Πορώδη ικριώματα υδρογέλης που αποτελούνται από αλγινικό και GC έχουν αναπτυχθεί και αποδείχθηκαν ικανά να βελτιώνουν την προσκόλληση των ηπατοκυττάρων και να συντηρούν την κυτταρική επιβίωση.

Ένα από τα πιο ελπιδοφόρα 3D ικριώματα αποτελεί μια μικροδομημένη πλατφόρμα υδρογέλης κατασκευασμένης με την τεχνολογία ICC (inverted colloidal crystal) που παρέχει εξαγωνικά συσκευασμένες διασυνδεδεμένες σφαιρικές κοιλότητες προκειμένου να

προωθηθεί η κυτταρική συσσωμάτωση και ο σχηματισμός ενός κυψελοειδούς σφαιροειδούς σε κάθε κοιλότητα. Ένα σημαντικό πλεονέκτημα του συστήματος ICC είναι ότι το μέγεθος των πόρων και το μέγεθος των “λαιμών” μεταξύ των πόρων ελέγχεται από το μέγεθος των σωματιδίων του πορογόνου που χρησιμοποιούνται, τα οποία με τη σειρά τους ελέγχουν το μέγεθος των σφαιροειδών ηπατοκυττάρων που σχηματίζονται.

Η νέα βιοϋλική πλατφόρμα κατευθύνει το συγκρότημα φύλλων πολλαπλών στρώσεων από ηπατοκύτταρα εντός ενός ικριώματος με ICC-εκμαγείο. Ο έλεγχος της πυκνότητας επικάλυψης του Col I στην επιφάνεια του σκελετού PEG, επέτρεψε με τη σειρά του ενισχυμένες αλληλεπιδράσεις κυττάρου-κυττάρου και κυττάρου-ECM. Αυτή η προσέγγιση βοηθάει στην κατανόηση των περιορισμών στο μέγεθος ολόκληρου του ικριώματος. Σε ένα ευρύτερο πλαίσιο, το πορώδες ικριώμα συζευγμένο με ECM μπορεί να χρησιμοποιηθεί για διαφορετικούς τύπους κυττάρων και μπορεί εύκολα να χρησιμοποιηθεί σε σύνδεση με διαφορετικές συνθέσεις πρωτεϊνών ECM με τελικό στόχο την κατασκευή κλινικά εφαρμόσιμων ιστών για χρήση σε αναγέννηση ιστών, μεταμόσχευση, ξеноβιοτική, δοκιμές τοξικότητας και μελέτες ηπατικής νόσου. [36,37]



Εικόνα 2.9.3 Κατασκευή σκελετού υδρογέλης PEG-DA με εκμαγείο ICC και λειτουργικοποίηση ColII. A) Σχηματική απεικόνιση της διαδικασίας κατασκευής των ικριωμάτων ICC. B) μικρογραφίες SEM κolloειδών κρυστάλλων κατασκευασμένων από σφαιρίδια πολυστυρενίου 140 μm (αριστερά) και ικριώμα ICC με διαφορετική μεγέθυνση. Τα κόκκινα βέλη δείχνουν τις διασυνδέσεις μεταξύ των πόρων. [37]

Παράγοντας πλήρωσης χώρου

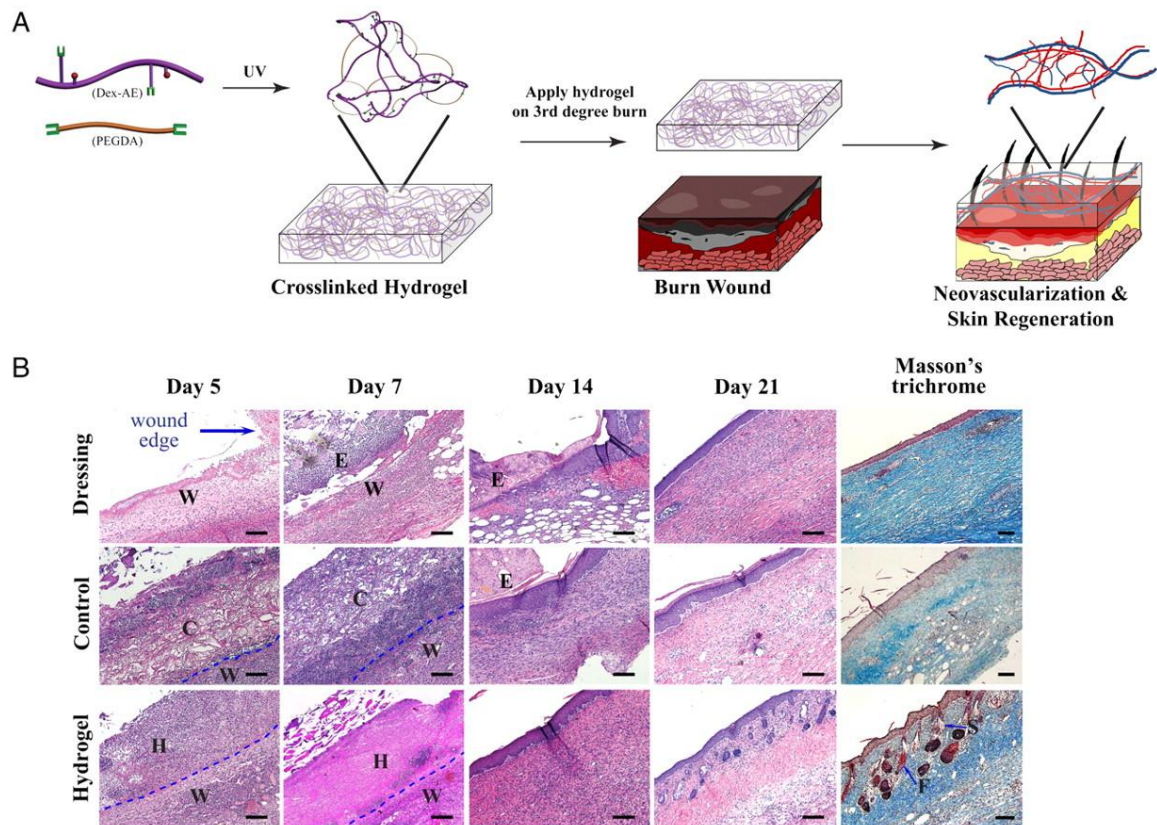
Τα ικρίωματα υδρογέλης πολλές φορές καλούνται να παίξουν και τον ρόλο ενός παράγοντα πλήρωσης χώρου. Στην κατηγορία αυτή περιλαμβάνονται ικρίωματα που είτε θα αποτρέψουν συγκολλήσεις ή αντίθετα θα λειτουργήσουν ως βιοσυγκολλητικά στοιχεία καθώς και αυτά που θα προσφέρουν τον όγκο τους. Οι πιο βασικές σχεδιαστικές απαιτήσεις των ικριωμάτων αυτών είναι η διατήρηση ενός επιθυμητού όγκου και μιας δομικής ακεραιότητας για συγκεκριμένο χρονικό διάστημα. Τέτοιου είδους ικρίωματα βρίσκουν εφαρμογή στην αποτροπή μετεγχειρητικών συγκολλήσεων καθώς και ως βιολογικά συγκολλητικά για μαλακούς ιστούς. Ως παράγοντες όγκου τα ικρίωματα αυτά χρησιμοποιούνται στην αναδομητική χειρουργική, στην πλαστική χειρουργική καθώς και στην θεραπεία παθήσεων όπως η ουρική ακράτεια και η κυστεοουρητηρική παλινδρόμηση. [30]

Δέρμα

Οι τραυματισμοί του δέρματος αποτελούν ένα πολύ συχνό φαινόμενο το οποίο καλούνται να αντιμετωπίσουν όλες οι βαθμίδες ενός συστήματος υγείας σε παγκόσμια κλίμακα. Σε γενικές γραμμές θα μπορούσαμε να τους διαχωρίσουμε σε αυτούς που προκαλούνται από ασθένειες (οξείες ή χρόνιες) και σε αυτούς που οφείλονται σε αίτια όπως οι χειρουργικές επεμβάσεις τα τραύματα και τα εγκαύματα. [37]

Ειδικά για τα εγκαύματα η επιβάρυνση τόσο σε ψυχολογικό όσο και σε οργανικό στρες είναι πολύ μεγάλη. Τα επιφανειακά τραύματα συνήθως επουλώνονται αρκετά γρήγορα αφήνοντας μικρές ή ανεπαίσθητες ουλές. Όταν όμως το έγκαυμα είναι 2^{ου} ή 3^{ου} βαθμού και έχει πλήξει και επηρεάσει μυς, τένοντες ακόμη και τα υποκείμενα οστά τότε δημιουργούνται καταστάσεις εξαιρετικά επώδυνες και επικίνδυνες για την υγεία του ασθενούς. Η ταχεία απώλεια υγρών και ο επηρεασμός βασικών ζωτικών λειτουργιών που εκτελούνται από το δέρμα είναι δυσλειτουργίες που πρέπει να αντιμετωπιστούν γρήγορα και αποτελεσματικά. Βαθιά εγκαύματα απαιτούν αντιμετώπιση με μοσχεύματα τα οποία όμως τόσο σε λειτουργικό όσο και σε αισθητικό αποτέλεσμα απέχουν πολύ από το βέλτιστο αποτέλεσμα. Οι υδρογέλες ως υλικό έχουν βρει εφαρμογή στην αποκατάσταση τέτοιων τραύματων μιας και μπορούν να δράσουν ως όχημα μεταφοράς κυτοκινών, αναπτυξιακών παραγόντων (Growth Factors), κυττάρων και αντιβιοτικών. Μια από τις βασικές ανάγκες για την αντιμετώπιση τέτοιων τραυματισμών είναι η δημιουργία νέων αγγείων καθώς και η αναδιαμόρφωση και η

επέκταση του δικτύου αυτού. Ικρίωματα υδρογέλης που μιμούνται την ECM μπορούν να παρέχουν σε μεγάλο βαθμό δομικά και καθοδηγητικά περιβάλλοντα για την 3D συναρμολόγηση του αγγειακού δικτύου. [38]



Εικόνα 2.9.4 Η υδρογέλη δεξτράνης ως θεραπευτική μέθοδο. (Α) Η υδρογέλη με βάση τη δεξτράνη προωθεί τη νεοαγγειοποίηση: Η ακριβής χειραγώγηση της δομής μας επιτρέπει να επιτύχουμε ταχεία, αποτελεσματική και λειτουργική νεοαγγειοποίηση. (Β) Αντιπροσωπευτικές απεικονίσεις ιστολογικών τμημάτων με χρώση H & E σε χρονικά διαστήματα δείχνουν ότι υδρογέλη δεξτράνης προήγαγε επούλωση τραύματος με πλήρη αναγέννηση δέρματος αποφλοιώσης. Η τριχρωματική χρώση Masson υποδεικνύει διακριτές δομές κολλαγόνου που σχηματίζονται στο δερματικό στρώμα την ημέρα 21. Η άκρη του τραύματος υποδεικνύει το χείλος εκτομής. W, περιοχή πληγής. H, ικρίωμα υδροπηκτώματος. C, ικρίωμα ελέγχου? E, εσχάρα; F, αδένες. S, σμηγματογόνος αδένες. Γραμμές κλίμακας, 100 μm. [38]

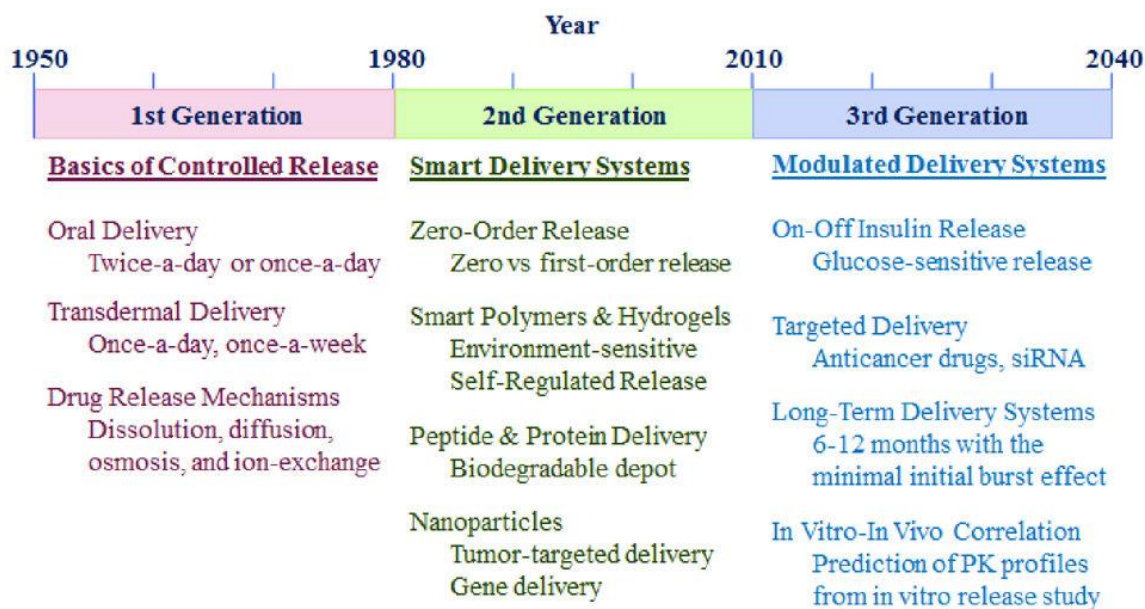
3. Καινοτόμα συστήματα χορήγησης φαρμάκων και υδρογέλες

Η χρήση υδρογελών ως βιοϋλικά έχει βρει εκτεταμένη εφαρμογή σε πολλούς τομείς και η έρευνα και ανάπτυξη τους προσελκύει συνεχώς όλο και περισσότερο το ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας. Οι υδρογέλες χρησιμοποιούνται ευρέως όχι μόνο στην Μηχανική Ιστών και στην Αναγεννητική Ιατρική αλλά και σε πλήθος άλλων βιοϊατρικών και μη επιστημών.

Ένα πεδίο στο οποίο οι υδρογέλες αναγνωρίστηκαν ως ένα χρήσιμο και πολλά υποσχόμενο υλικό είναι και η φαρμακευτική και ειδικά εκείνο το τμήμα της που ασχολείται με την χορήγηση των φαρμάκων (**drug delivery**). Όπως υποδηλώνει και το όνομα με τον όρο αυτό εννοούμε την μέθοδο ή την διαδικασία χορήγησης μιας (ή περισσότερων) φαρμακευτικής ουσίας με σκοπό την επίτευξη ενός επιθυμητού θεραπευτικού αποτελέσματος. Για να επιτευχθεί αυτό στο μέγιστο βαθμό θα πρέπει η φαρμακευτική ουσία να τοποθετηθεί στην σωστή περιοχή, στον σωστό χρόνο και στην σωστή συγκέντρωση. [39]

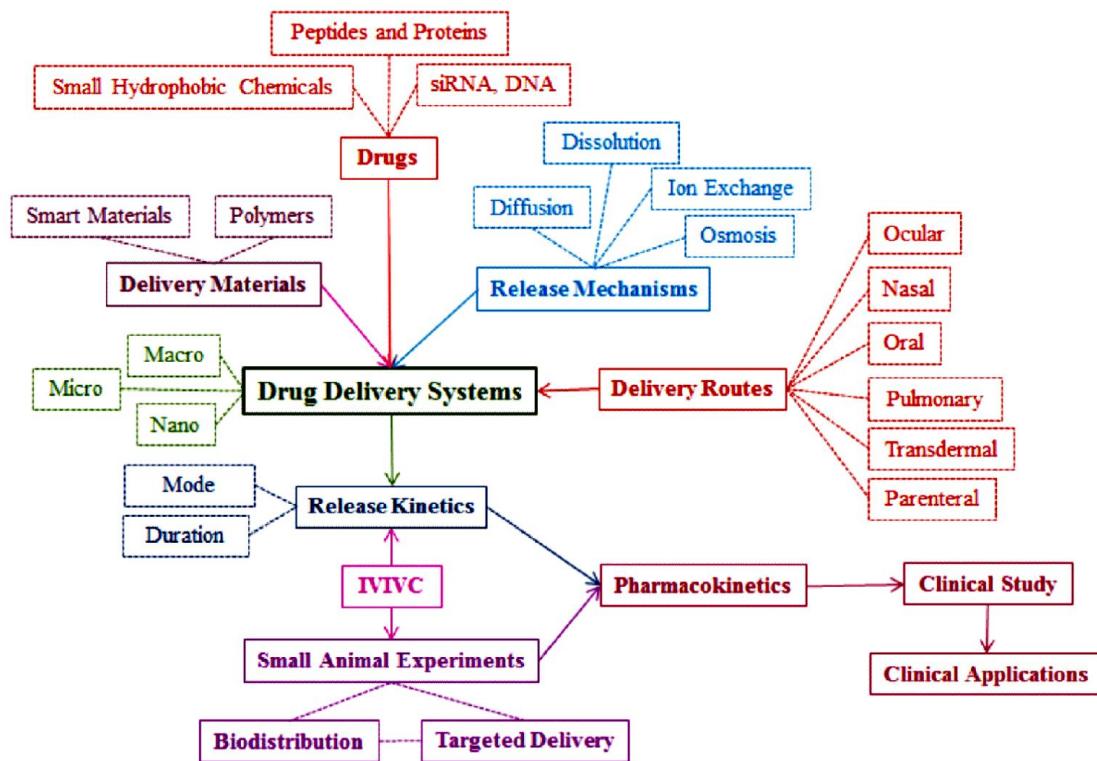
Η πιο παλιά και κλασσική μέθοδος χορήγησης φαρμάκων σε ένα ασθενή είναι διαμέσου των συμβατικών συστημάτων χορήγησης δηλαδή με τις συνήθεις φαρμακομορφές συστηματικής χορήγησης. Με τα συμβατικά αυτά συστήματα χορήγησης μόνο ένα μικρό τμήμα της δόσης των φαρμακομορίων που χορηγείται καταλήγει στον στόχο (κύτταρο, ιστός, όργανο). Επομένως η χορήγηση υψηλών δόσεων φαρμακομορίων πιο συχνά είναι αναγκαία. Αυτό με την σειρά του έχει ως αποτέλεσμα να οδηγούμαστε σε προβλήματα που έχουν να κάνουν με τις παρενέργειες αυτών των μορίων, την τοξικότητα τους αλλά και την ελλιπή συμμόρφωση του ασθενούς στην φαρμακοθεραπεία. Επίσης το υψηλό κόστος και ο αρκετός χρόνος που χρειάζεται η δημιουργία και η σύνθεση ενός νέου φαρμάκου έχει οδηγήσει στην ταυτόχρονη προσπάθεια της βελτίωσης των ήδη υπάρχοντων. Ένας από τους τρόπους βελτίωσης του δείκτη αποτελεσματικότητας είναι και η επινόηση νέων μεθόδων με περισσότερη ελεγχόμενη και στοχευμένη χορήγηση. [40] Για τους λόγους αυτούς η ανάπτυξη νέων και πιο ευέλικτων συστημάτων χορήγησης φαρμάκων έγινε επιτακτική ανάγκη. Η έρευνα οδήγησε σε νεότερα συστήματα χορήγησης όπως είναι τα συστήματα ελεγχόμενης χορήγησης και στόχευσης φαρμάκων (Controlled Drug Delivery Systems – CDDSs και Targeted Drug Delivery Systems – TDDSs). [41] Η υλοποίηση αυτών των προσεγγίσεων κατέστη δυνατή με τον συνδυασμό διαφορετικών πεδίων όπως η μοριακή βιολογία, η επιστήμη των υλικών, η εξέλιξη που γνώρισαν τα πολυμερή, η φαρμακευτική κ.α. [42]

Η τεχνολογία της ελεγχόμενης χορήγησης φαρμάκων έχει γνωρίσει αρκετά μεγάλη ανάπτυξη. Από ιστορικής οπτικής θα μπορούσαμε να χωρίσουμε τα συστήματα αυτά σε τρεις γενιές.



Πίνακας 3.1 Εξέλιξη συστημάτων ελεγχόμενης χορήγησης φαρμάκων από το 1950. [43]

Η πρώτη γενιά επικεντρώνεται στην ανάπτυξη συστημάτων απελευθέρωσης (διαδερμικών και εκ του στόματος) καθώς και στην καθιέρωση των μηχανισμών ελεγχόμενης απελευθέρωσης. Η δεύτερη γενιά θα ασχοληθεί με την ανάπτυξη ακόμα πιο εξελιγμένων συστημάτων όπως τα συστήματα χορήγησης που βασίζονται στην νανοτεχνολογία, τα αυτορυθμιζόμενα συστήματα χορήγησης κ.α. Η τρίτη γενιά δεν είναι ακόμη πλήρως καθορισμένη και αυτά που εμφανίζονται στον πίνακα αντικατοπτρίζουν κυρίως προβλέψεις και στόχους. Μια πιθανή κατηγοριοποίηση της έρευνας για την ανάπτυξη των συστημάτων χορήγησης φαρμάκων που θα οδηγήσει τελικά και σε κλινική εφαρμογή είναι αυτή που φαίνεται στο σχήμα 3.1 [42,43]

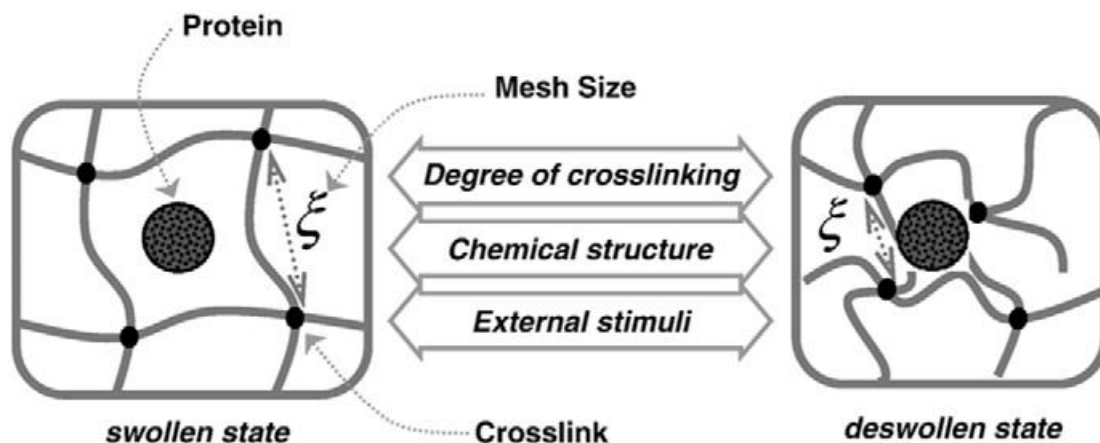


Σχήμα 3.1 Επισκόπηση της ανάπτυξης του συστήματος χορήγησης φαρμάκων από τη βασική έρευνα έως τις κλινικές εφαρμογές. Τα κύρια συστατικά των συστημάτων και διαδικασιών απελευθέρωσης φαρμάκων παρουσιάζονται με έντονη όψη και ένα συμπαγές κουτί, και οι υποτομές κάθε συστατικού φαίνονται σε ένα διακεκομμένο κουτί. (IVTVC: συγγένεια in vitro - in vivo). [43]

Ανάμεσα στους φορείς που χρησιμοποιούνται για την επιτυχή και προσαρμοσμένη μεταφορά φαρμακομορίων είναι τα λιποσώματα, τα μικύλια, τα κυστίδια, τα δενδριμερή, συστήματα διασποράς υγρών κρυστάλλων και τα νανοσωματίδια (όπως οι νανόσφαιρες και οι νανοκάψουλες). Τα πολυμερή υλικά εμφανίζονται στις τεχνολογίες χορήγησης φαρμάκων δεύτερης γενιάς. Στην κατηγορία αυτή ανήκουν, ανάμεσα στα άλλα, συστήματα που πυροδοτούνται από αλλαγές σε περιβαλλοντικούς παράγοντες (όπως το pH και η θερμοκρασία), συστήματα που εμπλέκουν εμφυτεύματα που χρησιμεύουν για την in situ γελοποίηση αλλά και συστήματα βασισμένα στην νανοτεχνολογία που χρησιμοποιεί βιοδιασπώμενα πολυμερή νανοσωματίδια για την μεταφορά DNA σε γενετικές θεραπείες καθώς και για την μεταφορά πεπτιδίων, πρωτεϊνών και γονιδίων. [42,43]

Όπως έχει ήδη αναφερθεί οι υδρογέλες είναι υδρόφιλα τρισδιάστατα διασυνδεδεμένα συστήματα πολυμερών τα οποία είναι ικανά να απορροφήσουν μεγάλες ποσότητες H₂O (ή άλλων υγρών) μεταξύ των αλυσίδων τους. Η ευρεία χρήση τους σε φαρμακευτικές εφαρμογές βασίστηκε σε μερικά κύρια χαρακτηριστικά τους όπως: i) η πολύ καλή βιοσυμβατότητα ii) η ομοιότητα που επιδεικνύουν με την ECM iii) η ελαστικότητα iv) ο χαρακτήρας μαλακού

υλικού που προσομοιάζει με αρκετούς ιστούς του σώματος v) η μικρή επιφανειακή τάση που μειώνει την πιθανότητα μιας ανοσολογικής αντίδρασης vi) τα ειδικά χαρακτηριστικά ορισμένων πολυμερών που χρησιμοποιούνται στην κατασκευή και παραγωγή υδρογελών vii) οι ιδιότητες αποικοδόμησης viii) μηχανικές ιδιότητες ix) η συμμόρφωση με πρωτόκολλα αποστείρωσης. [44,45]

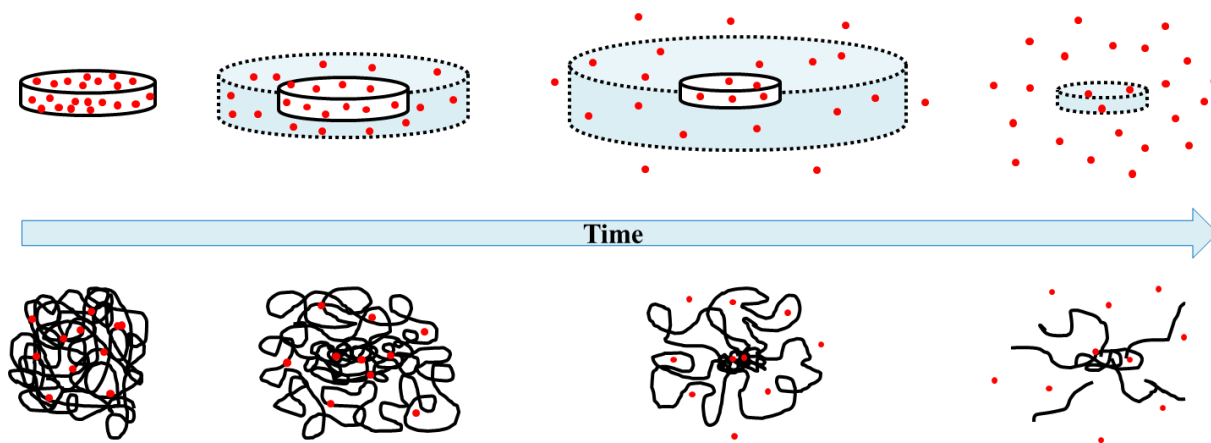


Εικόνα 3.1 Σχηματική αναπαράσταση υδρογέλης σε διογκωμένη ή συρρικνούμενη κατάσταση για απελευθέρωση φαρμάκου. [57]

Οι υδρογέλες που χρησιμοποιήθηκαν αρχικά αποτελούνταν συνήθως από ένα πολυμερές και εξυπηρετούσαν μόνο ένα σκοπό. Η πρόοδος και εξέλιξη που σημειώθηκε στην χημεία των πολυμερών, στην βιοτεχνολογία και στην τεχνολογία επιπέδου nano οδήγησε σε υδρογέλες που επιδεικνύουν εξαιρετικά επίπεδα δομικής οργάνωσης και νέες ιδιότητες οι οποίες είναι παραμετροποιήσιμες σε μεγάλο βαθμό και μπορούν να προσαρμοστούν αναλόγως της εφαρμογής για την οποία προορίζονται. [46]

Ένα CDSS αποσκοπεί στο να δημιουργήσει ένα προσαρμοσμένο προφίλ απελευθέρωσης του φαρμάκου ως συνάρτηση του χρόνου και ως αντίδραση σε εξωτερικά ερεθίσματα ή/και σε ένα συγκεκριμένο περιβάλλον (Targeted Delivery System). Ένας από τους κύριους στόχους ενός τέτοιου συστήματος είναι η επίτευξη σταθερής συγκέντρωσης της δραστικής ουσίας στο πλάσμα. Αυτό επιτυγχάνεται όταν ο ρυθμός με τον οποίο το σώμα καταναλώνει με οποιοδήποτε τρόπο (μεταβολικά, εκκριτικά ή αντιδρώντας με τους στόχους) το φάρμακο είναι ίσος με τον ρυθμό που αυτό απελευθερώνεται από το CDSS. Αυτό με την σειρά του μπορεί να γίνει εφικτό αν το σύστημα είναι ικανό να δώσει μια κινητική απελευθέρωσης μηδενικής τάξης (zero-order release kinetics). Τέτοια συστήματα βασισμένα σε υδρογέλες φαίνεται ότι είναι σε θέση να εκπληρώσουν τους παραπάνω στόχους. [45] Οι πιθανοί μηχανισμοί με τους οποίους αυτό θα γίνει περιλαμβάνουν την διάχυση, είτε μέσω του

περιβλήματος είτε διαμέσου της μήτρας του φορέα, την απορρόφηση του φαρμάκου που βρίσκεται στην επιφάνεια του φορέα ή έχει απορροφηθεί από αυτόν, την διάβρωση της μήτρας του φορέα ή και από έναν συνδυασμό διάχυσης και διάβρωσης. [42]



Εικόνα 3.2 Απελευθέρωση φαρμάκου από μήτρα (δισκίο) κατασκευασμένη από διογκώσιμο υδρογέλη. Περιγράφονται τα φαινόμενα της πρόσληψης νερού, διόγκωσης, χαλάρωση αλυσίδας πολυμερούς, διάχυση φαρμάκου, απομάκρυνση πολυμερούς αλύσου και διάβρωση πολυμερών.[45]

Οι παράγοντες που επηρεάζουν την απελευθέρωση ενός φαρμάκου από ένα τέτοιο σύστημα βασισμένο σε υδρογέλη είναι αρκετοί και ανάμεσα τους πρέπει να υπολογίζονται η τοπική συγκέντρωση του φαρμάκου, τα φαινόμενα που συμβαίνουν κατά την ενυδάτωση της υδρογέλης (πρόσληψη H_2O , διόγκωση, χαλάρωση πουλερικών αλυσίδων, διάχυση του φαρμάκου, το ξέμπλεγμα των αλυσίδων, η διάβρωση του πολυμερούς) αλλά και τα διάφορα άλλα συστατικά του πολυμερούς.

α) Η σύνθεση της φόρμουλας.

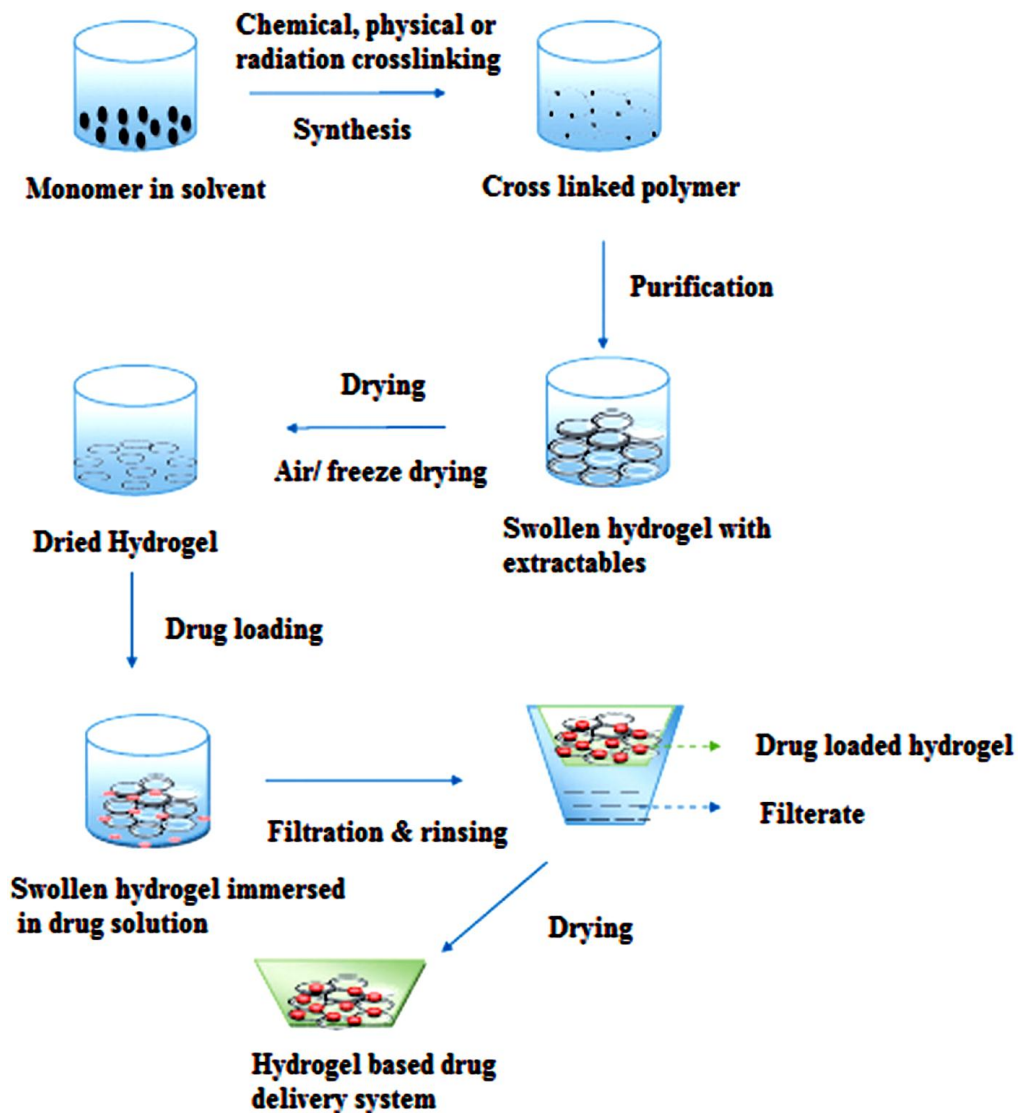
Οι μεταβλητές που χρησιμοποιούνται πιο συχνά για τον έλεγχο και την ρύθμιση της απελευθέρωσης του φαρμάκου είναι η συγκέντρωση του πολυμερούς και το ιξώδες του. Αυτές οι δυο παράμετροι επηρεάζουν την απελευθέρωση τόσο σε κινητικό όσο και σε μηχανιστικό επίπεδο.

β) Οι ιδιότητες του πολυμερούς.

Παράγοντες όπως για παράδειγμα η κατανομή του μεγέθους των σωματιδίων του συστήματος μπορούν να επηρεάσουν το προφίλ απελευθέρωσης. Φυσικά όμως η συμπεριφορά της υδρογέλης στην οποία βασίζεται το CDDS είναι άμεσα εξαρτωμένη από το πολυμερές που θα επιλεγεί για να σχηματίσει την συγκεκριμένη φαρμακευτική φόρμουλα.

γ) Παράγοντες που σχετίζονται με το φάρμακο όπως η διαλυτότητά του, η αρχική δόση και το μέγεθος των σωματιδίων του.

δ) Μέθοδοι και διαδικασίες κατασκευής της φαρμακευτικής φόρμουλας είναι ικανές να επιδράσουν πάνω στις κινητικές απελευθέρωσης των φαρμακομορίων. [45]



Εικόνα 3.3 Γενική σχηματική παρασκευή υδρογελών. [50]

Το κύριο χαρακτηριστικό των υδρογελών, η υδροφιλική τους φύση, είναι η αιτία τόσο για την χρησιμότητα τους σε ότι αφορά την απελευθέρωση υδατοδιαλυτών ενώσεων όσο και για το μειονέκτημα που εμφανίζουν στην άμεση ενθυλάκωση θεραπευτικών παραγόντων με χαμηλή διαλυτότητα. Η ποικιλία στη διαλυτότητα που εμφανίζουν οι θεραπευτικοί παράγοντες (φάρμακα) έθεσε εκτός από έναν προβληματισμό και μια νέα πρόκληση. Η ανάπτυξη νέων στρατηγικών που θα έδιναν λύση στο παραπάνω πρόβλημα κατέστη

αναγκαία. Αυτό οδήγησε στην ανάπτυξη υβριδικών συστημάτων χορήγησης φαρμάκων που είχαν ως χαρακτηριστικό την ενσωμάτωση μικρο ή νανοσωματιδίων στις υδρογέλες. Σήμερα τα CDDSs που βασίζονται σε υδρογέλες χρησιμοποιούν μια πλειάδα κατηγοριών των υλικών αυτών. Έτσι παράμετροι όπως η εφαρμογή για την οποία προορίζεται, το ή τα φάρμακα που ενσωματώνει η υδρογέλη, η ευκολία παραγωγής της και η ενσωμάτωση σε αυτή του κατάλληλου φαρμακομορίου, η επιθυμητή χρονική περίοδος για την οποία απαιτούμε να απελευθερώνεται το φάρμακο αλλά και αρκετοί άλλοι είναι αυτοί που θα καθορίσουν ποια κατηγορία υδρογέλης είναι η καταλληλότερη.

3.1 Υδρογέλες για εφαρμογή στο δέρμα

Οι κλασικές προσεγγίσεις χορήγησης θεραπευτικών παραγόντων περιλαμβάνουν την χορήγηση από του στόματος και την ενέσιμη χορήγηση. Έχει διαπιστωθεί όμως ότι η χορήγηση αυτών των θεραπευτικών παραγόντων δια της δερματικής οδού (είτε με άμεση εφαρμογή πάνω στο δέρμα είτε με εισαγωγή των παραγόντων στην συστηματική κυκλοφορία μετά την διέλευση τους μέσω του δέρματος) είναι εξίσου αποτελεσματική και προσφέρει και κάποια πλεονεκτήματα έναντι των άλλων μεθόδων. Σε αυτά περιλαμβάνεται η ευκολία εφαρμογής, η αποφυγή του ηπατικού μεταβολισμού πρώτης διόδου αλλά και η καλύτερη συμμόρφωση του ασθενούς.

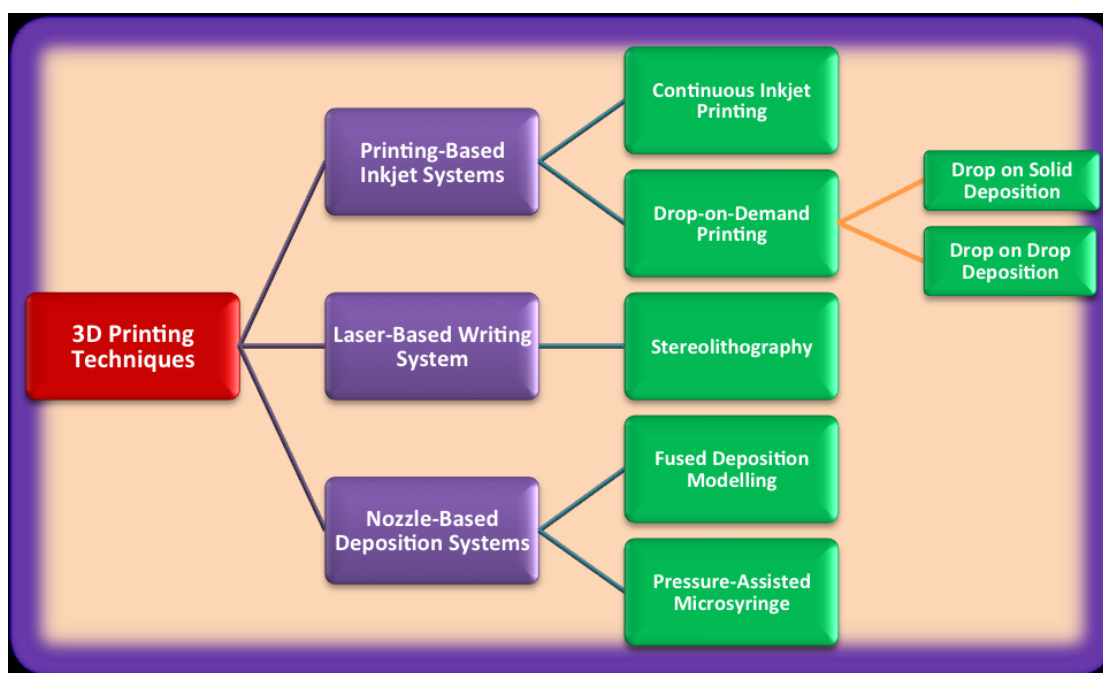
Η πορώδης δομή των υδρογελών είναι μια ιδιότητα που υπόκειται σε ρύθμιση μέσω του ελέγχου της πυκνότητας των δεσμών της μήτρας της υδρογέλης αλλά και της συγγένειας με το υδατικό περιβάλλον στο οποίο η υδρογέλη διογκώνεται. Αυτή ακριβώς η ρυθμιζόμενη δομή τους είναι που θα επιτρέψει την “φόρτωση” του θεραπευτικού παράγοντα αλλά και την επακόλουθη ελεγχόμενη απελευθέρωση του. Ο ρυθμός απελευθέρωσης του θεραπευτικού παράγοντα μέσω του δέρματος θα εξαρτηθεί από τον συντελεστή διάχυσης του.

Οι υδρογέλες σχηματισμού υμενίου (Film Forming Hydrogel – FFH) είναι μια μορφή συστήματος χορήγησης φαρμάκων που βασίζεται στην μετατροπή της υδρογέλης, που θα εφαρμοστεί τοπικά σε ένα τραύμα, σε λεπτό υμένιο (φιλμ). Αυτό επιτυγχάνεται μέσω της εξάτμισης του διαλύτη μετά την εφαρμογή πάνω στην περιοχή του τραύματος. Το σύστημα αυτό εμφανίζει τα πλεονεκτήματα τόσο της υδρογέλης όσο και του υμενίου. Εξαιτίας της πορώδους κατασκευής και της φύσης του υμενίου ο μηχανισμός απελευθέρωσης του φαρμάκου διαφέρει ολοκληρωτικά από αυτόν ενός κλασσικού επιθέματος. Το FFH σύστημα μπορεί να εφαρμοστεί σε οποιαδήποτε περιοχή του σώματος και σε σχέση με τα κλασσικά

επιθέματα τραύματος προσφέρει ευκολότερη χρήση και εφαρμογή καθώς και απλούστερη κατασκευή. [47]

3.2 Χορήγηση θεραπευτικών παραγόντων από 3D εκτυπωμένες υδρογέλες

Η παραγωγή υδρογελών με την μέθοδο της 3D εκτύπωσης με σκοπό να χρησιμοποιηθούν σε CDDSs είναι μια μέθοδος που ως ιδέα ενθουσιάζει την επιστημονική κοινότητα αλλά το πεδίο είναι ακόμη στα πρώτα του βήματα. Ο ενθουσιασμός αυτός προέρχεται από την ευκολία που παρέχει η μέθοδος της 3D εκτύπωσης για την ταχεία παραγωγή δομών με καθορισμένη αρχιτεκτονική. Η “φορτωμένη” με τον θεραπευτικό παράγοντα υδρογέλη θα εναποτίθετο υπό τον έλεγχο υπολογιστή. Θεωρητικά αυτό θα οδηγούσε στον χωροχρονικό έλεγχο της απελευθέρωσης του παράγοντα. Η προσέγγιση αυτή υπόσχεται πολλά αλλά μένουν να ξεπεραστούν δυσκολίες όπως η προσαρμοσμένη μηχανική σταθερότητα, η διατήρηση της βιολογικής δραστηριότητας στην 3D εκτυπωμένη κατασκευή κ.α. [46]



Εικόνα 3.2.1 Ταξινόμηση διαφορετικών τεχνικών 3D εκτύπωσης. [65]

Η τεχνολογία αυτή έχει έρθει με σκοπό να αλλάξει τις ισορροπίες και κατάφερε να βρει αρκετό χώρο σε ορισμένα συστήματα χορήγησης φαρμάκων χωρίς αυτό βέβαια να σημαίνει ότι τα ήδη υπάρχοντα προϊόντα οδεύουν προς αντικατάσταση. Η 3D εκτύπωση έχει βρει εφαρμογή σε ένα ευρύ πεδίο της παράδοσης φαρμακομορίων. Η εξατομικευμένη δοσολογία θα επιτρέψει μεγάλη ευελιξία στην χορήγηση φαρμάκων ιδιαίτερα σε ομάδες με

συγκεκριμένα χαρακτηριστικά και ιδιαιτερότητες (παιδιά, ομάδες υψηλού κινδύνου κ.α.). Δεδομένου του γεγονότος ότι η τεχνολογία αυτή επιτρέπει την φόρτωση των φαρμακομορίων με πολύ μεγάλη ακρίβεια και ομοιομορφία η σύνθεση φαρμάκων με σύνθετα προφίλ απελευθέρωσης θα καταστεί πιο εύκολη. Εξατομικευμένες συσκευές απελευθέρωσης καθώς και εμφυτεύσιμες συσκευές με τροποποιημένα προφίλ απελευθέρωσης έγιναν πραγματικότητα χάρη στην 3D τεχνολογία. Το πεδίο των “πολυχαπιών” – polypills – αποτελεί ένα άλλο παράδειγμα. Ομάδες πληθυσμού όπως είναι οι ηλικιωμένοι είναι υποχρεωμένοι στην λήψη πολλών σε αριθμό και διαφορετικών σε είδος φαρμάκων. Η έννοια του "polypill" σημαίνει ένα μόνο δισκίο το οποίο περιέχει έναν συνδυασμό αρκετών φαρμάκων βελτιώνοντας έτσι την ποιότητα ζωής αλλά και την φαρμακευτική συμμόρφωση του ασθενούς. . Επίσης επιτρέπει την προσαρμογή ενός συγκεκριμένου συνδυασμού φαρμάκων ή απελευθέρωσης φαρμάκων καλύπτοντας με αυτό τον τρόπο τις ατομικές ανάγκες. [65] Τα συστήματα αυτά χορήγησης θεραπευτικών παραγόντων χρησιμοποιούν αρκετά υλικά ανάμεσα στα οποία είναι και μερικές υδρογέλες όπως για παράδειγμα η PVA (Polyvinyl alcohol). Λόγω της υδατοδιαλυτότητάς της, η PVA χρειάζεται να διασυνδεθεί για να σχηματίσει υδρογέλες, καθώς οι σταυροδεσμοί δίνουν τη σταθερότητα στη δομή της υδρογέλης μετά από διόγκωση παρουσία ύδατος ή βιολογικών υγρών. Ο βαθμός εγκάρσιας σύνδεσης προσδιορίζει τις ιδιότητες διαχύσεως και τις βιολογικές ιδιότητες του πολυμερούς.[66]

3.3 Χορήγηση θεραπευτικών παραγόντων από συστήματα χορήγησης φαρμάκων που χρησιμοποιούν νανογέλες

Οι νανογέλες μπορούν να οριστούν ως συστήματα υδρογελών νανομεγέθους με υψηλή διασυνδεσιμότητα και τα οποία είναι είτε μονομερή, τα οποία μπορεί να είναι ιονικά ή μη ιονικά, είτε συμπολυμερισμένα. Το μέγεθος τους ποικίλει από 20 έως 200nm και αυτό ακριβώς το μικροσκοπικό μέγεθος τους επιτρέπει να αποφεύγουν την νεφρική κάθαρση και την παρατεταμένη περίοδο ημίσειας ζωής στον ορό. Μπορούν να τροποποιηθούν χημικά για να ενσωματώνουν πολλά προσδέματα τα οποία μπορούν να χρησιμοποιηθούν για στοχευμένη απελευθέρωση φαρμάκου, απελευθέρωση φαρμάκου σε απόκριση σε διέγερση ή για παρασκευή σύνθετων υλικών.

Εμφανίζουν υψηλή βιοσυμβατότητα και ικανότητα βιοαποικοδόμησης και έτσι η συσσώρευση τους στα όργανα αποφεύγεται. Χαρακτηριστικό των συστημάτων με νανογέλες είναι ότι πολύ μικροί χειρισμοί της υδροφοβικότητας, του επιφανειακού φορτίου και του μεγέθους των σωματιδίων οδηγεί σε σημαντική βελτίωση της διαπερατότητας. Η

ανοσολογική απάντηση που προκαλούν είναι αμελητέα και αυτό αντικατοπτρίζεται από το γεγονός ότι οι μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για να βοηθήσουν τα νανοσωματίδια να αποφύγουν την αναγνώριση από το ανοσοποιητικό σύστημα, και έτσι να παραμείνουν για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα στην κυκλοφορία του αίματος, είναι λίγες και όλες βασίζονται στην ελαχιστοποίηση της δέσμευσης των πρωτεϊνών.

Η κολλοειδής σταθερότητα είναι μια ιδιότητα η οποία πρέπει να εξασφαλιστεί. Ο χειρισμός των νανοσωματιδίων ενέχει πάντα τον κίνδυνο συσσωμάτωσης που θα δημιουργούσε πρόβλημα σε αυτή την ιδιότητα. Αυτό αποφεύγεται με την χρήση διαμορφωτών οι οποίοι θα αλλάζουν το επιφανειακό φορτίο των νανοσωματιδίων έτσι ώστε να αποφευχθεί η συσσωμάτωση στην κυκλοφορία του αίματος με ό, τι αυτό συνεπάγεται.

Η ικανότητα διόγκωσης των νανογελών σε υδατικά μέσα θεωρείται ότι αποτελεί την βασικότερη ιδιότητα που επηρεάζει τον μηχανισμό απελευθέρωσης θεραπευτικών παραγόντων από το σύστημα. Η ικανότητα αυτή σχετίζεται με την δομή των νανογελών καθώς και με περιβαλλοντικές παραμέτρους που επηρεάζουν τις ιδιότητες του υδατικού μέσου.

Οι νανογέλες σε σύγκριση με τις συμβατικές μορφές δοσολογίας εμφανίζουν υψηλότερη ικανότητα φόρτωσης φάρμακου γεγονός που οφείλεται κυρίως στην ιδιότητα διόγκωσης που επιτρέπει την απορρόφηση υψηλών ποσοτήτων H_2O . Άλλοι παράγοντες που θα συμβάλλουν στην υψηλή ικανότητα φόρτωσης είναι το μοριακό βάρος του φαρμάκου, η σύνθεση του, οι πιθανές αλληλεπιδράσεις ανάμεσα στο φάρμακο και στο πολυμερές που χρησιμοποιούμε καθώς και οι διαφορετικές λειτουργικές ομάδες που υπάρχουν σε κάθε τμήμα του πολυμερούς. [48]

Τα CDDSs που βασίζονται σε νανογέλες εμφανίζουν μια σειρά από πλεονεκτήματα έναντι άλλων συστημάτων χορήγησης φαρμάκων μεταξύ των οποίων:

i) Μπορούν να εγχυθούν ενδοφλεβίως και να προσεγγίσουν περιοχές του σώματος οι οποίες δεν είναι εύκολα προσβάσιμες από υδρογέλες μακροσκοπικού επιπέδου. [46,49] Αυτό το επιτυγχάνουν εκμεταλλευόμενες το φαινόμενο ενισχυμένης διαπερατότητας και κατακράτησης (EPR Effect).

ii) Επειδή μπορούν να ληφθούν από τα κύτταρα και να μεταφερθούν με ασφάλεια στο κυτταρόπλασμα είναι ιδανικές για την ενδοκυτταρική απελευθέρωση θεραπευτικών παραγόντων όπως φάρμακα με βάση τα νουκλεϊκά οξέα και τα χημειοθεραπευτικά. Έχουν

περιγραφεί και άλλα συστήματα που βασίζονται σε νανοφορείς όπως μικύλια και λιποσώματα. Συγκρινόμενα όμως με τα συστήματα που χρησιμοποιούν νανογέλες εμφανίζουν μια σειρά από μειονεκτήματα όπως η έλλειψη ελεγχόμενης φόρτωσης φαρμάκου αλλά και περιορισμούς στον τύπο του βιολογικού υλικού που μπορεί να φορτωθεί, φυσική αστάθεια καθώς και περιορισμοί στην σύνθεση των υλικών από τα οποία αποτελούνται. [46]

iii) Οι νανογέλες εμφανίζουν μεγαλύτερο εμβαδό επιφάνειας διασποράς κάτι που αποδεικνύεται πολύ χρήσιμο σε in vivo εφαρμογές. [49]

iv) Είναι αδρανείς στην κυκλοφορία του αίματος και στο εσωτερικό υδατικό περιβάλλον επομένως δεν προκαλούν ανοσολογικές αποκρίσεις από το σώμα. [48]

v) Το εξαιρετικά μικρό μέγεθος τους προσδίδει μια σειρά πλεονεκτημάτων όπως:

- Ταχεία ανταπόκριση σε περιβαλλοντικές αλλαγές , για παράδειγμα αλλαγές στο pH και στη θερμοκρασία.
- Μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την μεταφορά φαρμάκων στο κυτταρόπλασμα των κύτταρων – στόχων, την ενδοκυτταρική απελευθέρωση τους και την αύξηση της χορήγησης των φαρμάκων αυτών μέσω κυτταρικών φραγμών.
- Αποφυγή της νεφρικής κάθαρσης με αποτέλεσμα ο χρόνος ημίσειας ζωής τους στον ορό να αυξάνεται.
- Είναι ικανές να διαπερνούν τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό.
- Αποφεύγουν την δέσμευση τους από το ενδοθηλιακό σύστημα και την καταστροφή τους από τα φαγοκύτταρα. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την παθητική αλλά και την ενεργητική στόχευση του φάρμακου.

vi) Μπορούν να ενθυλακώσουν ευαίσθητες ενώσεις είτε υψηλού είτε χαμηλού Μοριακού Βάρους και να παρατείνουν σημαντικά την δραστηριότητα τους σε βιολογικά περιβάλλοντα.

vii) Εμφανίζουν αυξημένη διείσδυση στο επιθήλιο παθολογικών ιστών όπως φλεγμονώδεις ιστοί, περιοχές έμφραξης και συμπαγείς όγκοι. Έτσι δεδομένου του γεγονότος ότι οι ιστοί ενός όγκου εμφανίζουν υψηλή τριχοειδική διαπερατότητα, περισσότερα νανοσωματίδια θα διαπεράσουν τον ιστό και θα συσσωρευτούν οδηγώντας έτσι και στην αύξηση του θεραπευτικού παράγοντα που φέρουν στο σημείο εκείνο αλλά και στην επιλεκτικότητα της χορήγησης του.

viii) Είναι δεκτικές σε χημικές τροποποιήσεις που θα τους επιτρέψουν να ενσωματώσουν μια ποικιλία προσδετών για στοχευμένη χορήγηση φαρμάκου αλλά και προκαλούμενη απελευθέρωση τους.

ix) Ο θεραπευτικός παράγοντας μπορεί να φορτωθεί εύκολα, αυθόρμητα, δεν απαιτείται η παρουσία του στα αρχικά στάδια παρασκευής και δεν χρειάζονται απαραίτητα χημικές αντιδράσεις.

x) Παρασκευάζονται με απλές μεθόδους και δεν περιλαμβάνουν διαλύτες, χρήση μηχανικής ενέργειας, ομογενοποίηση ή επεξεργασία με υπερήχους.

xi) Σε σύγκριση με άλλα νανοσυστήματα επιτρέπουν την υψηλότερη φόρτωση φαρμάκου γεγονός που οφείλεται στην επίδραση λειτουργικών ομάδων του πολυμερικού δικτύου.

xii) Χορηγούνται από μια ποικιλία οδών συμπεριλαμβανομένης της στοματικής, της ρινικής, της παρεντερικής, της ενδο-οφθαλμικής και της τοπικής οδού χορήγησης.

xiii) Εμφανίζουν υψηλή συγγένεια με υδατικά διαλύματα καθιστώντας αυτές ως ιδανικά οχήματα μεταφοράς και χορήγησης πρωτεϊνών, πεπτιδίων, ογκωδών φαρμάκων και διαφόρων άλλων βιο-μακρομορίων. [48,49]

Οι μέθοδοι παρασκευής των νανογελών είναι σχετικά απλές και όχι ιδιαίτερα δαπανηρές. Είναι όμως δαπανηρή η διαδικασία απομάκρυνσης των διαλυτών και των επιφανειοδραστικών ουσιών. Αυτό ακριβώς αποτελεί και τον κυριότερο περιορισμό στην χρήση τους διότι ακόμη και ίχνη των ουσιών αυτών μπορούν να προκαλέσουν ανεπιθύμητες παρενέργειες. Ανάμεσα στις τεχνικές που χρησιμοποιούνται για την σύνθεση τους περιλαμβάνονται η τεχνική της φωτολιθογραφίας, η τεχνική πολυμερισμού γαλακτώματος, η αντίστροφη τεχνική πολυμερισμού μικρογαλακτώματος, η τεχνική πολυμερισμού διασταυρούμενης σύνδεσης ελευθέρων ριζών.

Η φόρτωση του θεραπευτικού παράγοντα μπορεί να γίνει μέσω των εξής μεθόδων: α) με φυσική παγίδευση β) με ελεγχόμενη αυτοσυναρμολόγηση γ) με ομοιοπολική πρόσδεση βιοδραστικών μορίων.

Οι μηχανισμοί απελευθέρωσης είναι πολλοί και ανάμεσά τους περιλαμβάνονται η απλή διάχυση, η αποικοδόμηση της δομής της νανογέλης, οι αλλαγές στο pH και στην θερμοκρασία και ο φωτισομερισμός. [45,48]

Εφαρμογές των νανογελών

Οι νανογέλες ως υλικά εμφανίζουν πολύπλευρες ιδιότητες γεγονός που τις καθιστά εξαιρετικά οχήματα μεταφοράς όχι μόνο φαρμάκων αλλά και μιας πλειάδας άλλων βιοενεργών μορίων. Χρησιμοποιούνται σε CDDSs με επιτυχία και όχι μόνο με την ιδιότητα του φορέα αλλά και με άλλες ιδιότητες όπως του μοριακού συνοδού (chaperones) για την αντιμετώπιση διαφόρων ασθενειών. Η χρήση τους γίνεται όλο και πιο ευρεία και αφορά και άλλες βιοϊατρικές εφαρμογές και προσεγγίσεις.

- Στην Μηχανική Ιστών ως ικρίωματα για την αναγέννηση οστών.
- Στην χορήγηση εμβολίων
- Σε αυτοάνοσα νοσήματα
- Στην χορήγηση τοπικής αναισθησίας
- Στην θεραπεία του διαβήτη
- Στις νευροεκφυλιστικές ασθένειες
- Στην διαδερμική χορήγηση φαρμάκων
- Ως φορείς αντιφλεγμονωδών φαρμάκων
- Στην οφθαλμολογία
- Ως φορείς φαρμάκων με αντιμικροβιακή και αντιβακτηριδιακή δραστηριότητα
- Στην θεραπεία του καρκίνου και στην στόχευση όγκων. Μια πρόσφατη εξέλιξη στον τομέα αυτό αποτελεί και η φόρτωση siRNA σε συστήματα νανογελών. Η κατηγορία αυτή των υδρογελών υπόσχεται να καλύψει ένα κενό που υπάρχει στην κλινική εφαρμογή του siRNA και το οποίο προέρχεται από μια σειρά παραγόντων όπως η κακή σταθερότητα του siRNA, η χαμηλή κυτταρική πρόσληψη του, ο βραχύς χρόνος ημιζωής του, η αποικοδόμηση του από τα ενδογενή ενζυμα, το μεγάλο μέγεθος του και το υψηλό αρνητικό φορτίο του που το αποτρέπουν να διεισδύσει στις κυτταρικές μεμβράνες.

Συστήματα απελευθέρωσης θεραπευτικών παραγόντων που περιλαμβάνουν νανοσωματίδια ενσωματωμένα σε υδρογέλες μπορούν να επιτρέψουν και να διευκολύνουν την ταυτόχρονη χορήγηση περισσοτέρων του ενός φαρμάκου τα οποία έχουν ποικίλη διαλυτότητα. Με τον τρόπο αυτό επιτυγχάνεται μια θεραπεία συνδυασμού η οποία σε πολλές ασθένειες – όπως ο καρκίνος – έχει επιδείξει αρκετά πλεονεκτήματα και αποδεικνύεται καλύτερη προσέγγιση από αυτήν της θεραπείας με ένα φάρμακο. [46,48,49]

3.4 Χορήγηση θεραπευτικών παραγόντων από συστήματα χορήγησης φαρμάκων που χρησιμοποιούν υδρογέλες που ανταποκρίνονται σε ερέθισμα

Μια άλλη κατηγορία υδρογελών που χρησιμοποιούνται σε CDDSs είναι οι λεγόμενες “έξυπνες” υδρογέλες (smart hydrogels). Το χαρακτηριστικό αυτής της κατηγορίας είναι η άμεση ανταπόκριση τους σε αλλαγές του περιβάλλοντος τους. Μικρές αλλαγές σε ποικιλία εξωτερικών ερεθισμάτων οδηγούν σε ταχεία ανταπόκριση εκ μέρους των υδρογελών αυτών και αλλαγές στην δομή τους. [50]

Τα ερεθίσματα αυτά που θα προκαλέσουν αυτές τις δομικές αλλαγές είναι αρκετά και ανάμεσα τους μπορούμε να συμπεριλάβουμε το pH, την θερμοκρασία, την πίεση, το ηλεκτρικό και μαγνητικό πεδίο, τον ήχο, την σύνθεση του διαλυτικού μέσου και αρκετά άλλα. Τα τελευταία χρόνια έχει κάνει την εμφάνιση της και η χρήση συστημάτων που χρησιμοποιούν υδρογέλες που ανταποκρίνονται σε ένζυμα προκαλώντας έτσι ελεγχόμενη και εντοπισμένη απελευθέρωση θεραπευτικών παραγόντων αναγνωρίζοντας μια κυτταρική απόκριση. [46]

Τέτοια συστήματα χρησιμοποιούν πολλές φορές τις ιδιομορφίες του ανθρώπινου σώματος για να εκπληρώσουν με επιτυχία τον σκοπό τους. Έτσι ένα CDDS που βασίζεται σε υδρογέλη ευαίσθητη στο pH είναι ιδανικό για την χορήγηση φαρμάκου που λαμβάνεται από το στόμα μιας και θα εκμεταλλευτεί την ευρεία μεταβολή του pH κατά μήκος της γαστρεντερικής οδού. (pH σιέλου 6.7-7.5, pH στομάχου 1.0-3.0, pH εντέρου 5.0-8.0). [40]

Οι περιορισμοί που υπάρχουν σε αυτά τα συστήματα αφορούν την χαμηλή μηχανική αντοχή (κύριο πρόβλημα CDDSs που χρησιμοποιούν υδρογέλες από το οποίο μπορεί να προκύψει έκπλυση του φαρμάκου), την δυσκολία στον χειρισμό τους, την πιθανή μη βιοσυμβατότητα των μονομερών και των συνδετών που χρησιμοποιούνται για το δίκτυο, την αποστείρωση, την επιβαλλόμενη κάποιες φορές χρήση μη βιοαποικοδομήσιμων υδρογελών (πρέπει να αφαιρεθούν από το σώμα και αυτό επηρεάζει σε περιπτώσεις που προορίζονται να λειτουργήσουν ως βιοαισθητήρες ή εμφυτεύσιμοι μηχανισμοί απελευθέρωσης φαρμάκου). [50]

Στην κατηγορία των CDDSs που χρησιμοποιούν υδρογέλες που αντιδρούν σε ερεθίσματα μπορούμε να συμπεριλάβουμε και τις IPN υδρογέλες οι οποίες αποτελούν μια υποκατηγορία της γενικής κατηγορίας IPN πολυμερών. [51,52] Σύμφωνα με τον ορισμό που αποδίδει η IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) τα IPN δίκτυα αποτελούνται από δύο ή περισσότερα πολυμερή τα οποία δεν είναι χημικώς διασυνδεδεμένα

αλλά είναι φυσικώς εμπλεγμένα με τέτοιο τρόπο ώστε δεν μπορούν να διαχωριστούν χωρίς την διάσπαση χημικών δεσμών. Οι υδρογέλες αυτές προσφέρουν μια μεγάλη ποικιλία στην διαμόρφωση φυσικών μορφών οι οποίες περιλαμβάνουν τα νανοσωματίδια, τα υμένια (φίλμ) και τις μικρόσφαιρες.

Drug	Therapeutic category	Carrier system	Inference
Insulin	Hypoglycaemic	Hydrogel	Sustain release of insulin
Riboflavin	Corticosteroids	Hydrogel	pH sensitivity to localize drug delivery
Salicylic acid	Anti-seborrheics	Hydrogel	pH sensitive drug delivery system
Amoxicillin, metronidazole	Antimicrobial, antiamoebic	Hydrogel	Stomach-specific drug delivery
Propranolol hydrochloride	Antiadrenergic	Hydrogel	electrically modulated drug delivery
Terbinafine hydrochloride	Antifungal	Hydrogel	Controlled drug delivery system

Πίνακας 3.4.1 Χορήγηση ποικιλίας φαρμάκων μέσω διαφορετικού συστήματος χορήγησης υδρογέλης. [53]

Έχει αναγνωριστεί ότι οι smart hydrogels ως βιοϋλικά επιδεικνύουν εξαιρετική βιοσυμβατότητα και αυτή ακριβώς η ιδιότητα τους τις οδηγεί να λειτουργούν και ως προστατευτικά έναντι των θεραπευτικών παραγόντων που μεταφέρουν. Αυτή η προστασία που περιέχουν προσφέρεται έναντι του in vivo περιβάλλοντος και αφορά ειδικά τα πεπτίδια και τις πρωτεΐνες. Η χρήση τους θα βοηθήσει και θα διευκολύνει την χορήγηση του θεραπευτικού παράγοντα στα πάσχοντα κύτταρα ενώ ταυτόχρονα τα υγιή κύτταρα θα προστατεύονται. [53] Υδρογέλες που αντιδρούν σε πολλαπλά ερεθίσματα παίζουν

πρωτεύοντα ρόλο στην επίτευξη χορήγησης χημειοθεραπευτικών σε ειδικές θέσεις αυξάνοντας με τον τρόπο αυτό την αποτελεσματικότητα του φαρμάκου και περιορίζοντας τις τοξικές παρενέργειες. Τα συστήματα αυτά μπορούν να προγραμματιστούν όχι μόνο να ανιχνεύουν την ύπαρξη ουσιών και μορίων βιολογικού ενδιαφέροντος (π.χ. γλυκόζη) αλλά και να αντιδρούν στην παρουσία τους. Τέτοιες εφαρμογές έχουν δοκιμαστεί στα λεγόμενα συστήματα κλειστής θηλιάς (Closed- Loop Delivery Systems). [52]

3.5 Χορήγηση θεραπευτικών παραγόντων από συστήματα χορήγησης φαρμάκων που βασίζονται σε in situ σχηματιζόμενες υδρογέλες

Οι in situ σχηματιζόμενες υδρογέλες αποτελούν μια άλλη περίπτωση χρήσης υδρογέλης σε συστήματα χορήγησης φαρμάκων. Πρόκειται για ενέσιμα υγρά που εισάγονται στο σώμα με την μικρότερη δυνατή επεμβατική εφαρμογή πριν ακόμη συμβεί η γελοποίηση. Μηχανισμοί που εμπλέκονται στον σχηματισμό τους είναι η αντίδραση σε αλλαγές του pH και της θερμοκρασίας, ιονική ή ομοιοπολική διασύνδεση, ανταλλαγή του διαλύτη ή κρυσταλλοποίηση κ.α.

Η κατηγορία αυτή των υδρογελών αποτελεί μια ελκυστική επιλογή ειδικά για την τοπική χορήγηση θεραπευτικών παραγόντων. Εμφανίζουν μια σειρά πλεονεκτημάτων έναντι των κλασικών προσεγγίσεων (όπως είναι τα προκατασκευασμένα εμφυτεύματα), ιδιαίτερα αυτά που είναι βιοαποικοδομήσιμα. Τέτοια πλεονεκτήματα είναι η μικρότερη επεμβατικότητα και τα μειωμένα επίπεδα πόνου στα πάσχοντα σημεία. Η ρευστή φύση τους εξασφαλίζει την καλή προσαρμογή και συναρμογή με τους περιβάλλοντες ιστούς. Εξέλιξη αυτών των συστημάτων αποτελούν τα συστήματα διπλής γελοποίησης (Dual – gelling Systems) που επιτρέπουν τον συνδυασμό πολυμερών που υφίστανται γελοποίηση λόγω φυσικών αλληλεπιδράσεων και σταθεροποίηση μέσω χημικών αντιδράσεων. Ανάμεσα στα υλικά που χρησιμοποιούνται, με αρκετά καλά αποτελέσματα, για τον σχηματισμό τέτοιων τύπων υδρογέλης είναι η χιτοζάνη, η κελλουλόζη, η δεξτράνη, πολυσακχαρίτες, το κολλαγόνο καθώς και παράγωγα ή συνδυασμοί αυτών.

Αναλόγως του πολυμερούς που θα χρησιμοποιηθεί για τον σχηματισμό μιας in situ υδρογέλης οι εφαρμογές ποικίλουν και περιλαμβάνουν απελευθέρωση φαρμάκου από την ρινική οδό, την οφθαλμική οδό, την διαδερμική οδό, τον σχηματισμό in situ εμφυτευμάτων. Έχει δείχθει ότι ο συνδυασμός φυσικών και συνθετικών πολυμερών αποδίδει καλύτερη σταθερότητα και τέτοιοι συνδυασμοί αποσκοπούν στο να ενισχύσουν την μεταφορά των φαρμακομορίων. [46,54,55]

3.6 Χορήγηση θεραπευτικών παραγόντων από συστήματα χορήγησης φαρμάκων που βασίζονται σε Βιομιμητικές υδρογέλες

Η Βιοϊατρική Μηχανική (Biomedicine Engineering) είναι η εφαρμογή των αρχών της μηχανικής και της σχεδιαστικής φιλοσοφίας στην ιατρική και στην βιολογία για σκοπούς που σχετίζονται με την περίθαλψη (διαγνωστικούς ή/και θεραπευτικούς). Το νέο αυτό διεπιστημονικό πεδίο θεωρείται ότι καθιερώθηκε από τον Αμερικανό εφευρέτη, μηχανικό και Βιοφυσικό Otto Schmitt(1913-1998). [56] Στον επιστήμονα αυτό ανάμεσα στις διάφορες επαναστατικές του εφευρέσεις πιστώνεται και ο όρος “**βιομιμητική**”. Για τον Schmitt “ η βιομιμητική δεν είναι τόσο το αντικείμενο του θέματος όσο μια άποψη. Είναι μια προσέγγιση σε προβλήματα της τεχνολογίας χρησιμοποιώντας την θεωρία και την τεχνολογία των βιολογικών επιστημών”. [57]

Με τον όρο βιομιμητικά υλικά ορίζουμε τα υλικά εκείνα τα οποία αναπτύσσονται χρησιμοποιώντας έμπνευση και ιδέες από την φύση. Τέτοια παραδείγματα υπάρχουν πάρα πολλά και ενδεικτικά μπορούμε να αναφέρουμε την αρχιτεκτονική και δομή της κηρήθρας της κυψέλης των μελισσών, την αντοχή του ιστού της αράχνης, την μηχανική της πτήσης των πτηνών, τον τρόπο που απωθεί το νερό το δέρμα του καρχαρία, την επινόηση του συστήματος Velcro, την υπερυδροφοβικότητα (το φαινόμενο του λωτού), την βιομιμητική αρχιτεκτονική, το καμουφλάζ των κεφαλόποδων. [58]

Αναπόφευκτα αυτού του είδους η τεχνολογία και επιστήμη εισχώρησε και επεκτάθηκε και σε τομείς όπως η ιατρική, η βιολογία και η φαρμακευτική. Υλικά και τεχνικές που χρησιμοποιούνται σε αυτούς τους τομείς έχουν ως στόχο την όσο δυνατόν καλύτερη μίμηση και αναπαραγωγή φυσικών διαδικασιών και διεργασιών για την χρήση τους σε βιοϊατρικές εφαρμογές. Η δομή τόσο σε μακροσκοπικό όσο και σε κυτταρικό και υποκυτταρικό επίπεδο, οι κυτταρικές αλληλεπιδράσεις, η κατανόηση των μηχανισμών αύξησης – διαφοροποίησης – μετανάστευσης - διήθησης, η ρύθμιση του μεταβολισμού, τα σηματοδοτικά μονοπάτια, κυτταρικός θάνατος είναι λειτουργίες και διεργασίες που απαιτούνται να κατανοηθούν πλήρως έτσι ώστε να είναι εφικτή η ανάπτυξη και χρήση βιομιμητικών υλικών. [57]

Οι ιδιότητες των υδρογελών όπως η διόγκωση τους με την απορρόφηση H₂O, η μαλακή φύση τους, η βιοσυμβατότητα τους, η ελαστικότητα τους, η ρυθμιζόμενη πορότητα τους, οι ήπιες συνθήκες γελοποίησης, η δυνατότητα προγραμματισμού της αντίδρασης τους σε ποικιλία χημικών και φυσικών μεταβλητών αλλά και άλλες έδωσαν την δυνατότητα να αναπτυχθούν μήτρες βιομιμητικών υδρογελών για CDDSs. Οι μήτρες αυτές μέσω

τροποποιήσεων όπως η “φόρτωση” βιολογικών τμημάτων στις αδρανείς πολυμερείς αλυσίδες, η προσθήκη θέσεων βιολογικής αναγνώρισης αλλά και η χωροχρονικά ελεγχόμενη ενσωμάτωση στοιχείων όπως πρωτεΐνες και αναπτυξιακοί παράγοντες χρησιμοποιούνται σε συστήματα χορήγησης φαρμάκων με σκοπό την στοχευμένη χορήγηση για θεραπευτικούς σκοπούς όπως η αναγέννηση ιστών. Παρόλο που η κατασκευή βιομιμητικών υδρογέλων για ελεγχόμενη και στοχευμένη χορήγηση θεραπευτικών παραγόντων μπορεί να γίνει από μια μεγάλη ποικιλία υλικών, μεθόδων και ιδεών η τεχνολογία αυτή σε ότι αφορά τις in vivo εφαρμογές είναι περιορισμένη. Η κατανόηση των μηχανισμών μεταφοράς και διάχυσης των φαρμακευτικών ουσιών αλλά και η συμπεριφορά των μητρών αυτών από υδρογέλη (που θα μιμηθούν την ECM) σε βιολογικά συστήματα γέλης από τέτοιες βιομιμητικές υδρογέλες είναι υπό εξέλιξη και αποτελούν προαπαιτούμενο για την επιτυχή εφαρμογή τους σε συστήματα χορήγησης. [57]

Author	Brief title	Highlights
Liang et al.	Protein Diffusion Hydrogels	The diffusion of the biological molecules was optimized agarose hydrogel.
Moschou et al.	Hydrogels Based Proteins	The stimuli-responsive Hydrogels were fabricated by binding protein and its low-affinity ligand.
Moon et al.	Hydrogels Therapeutic Angiogenesis	Biomimetic hydrogels were developed to be enabled to stimulate endothelial cell adhesion.
Fisher et al.	Tight Junction Disruption Hydrogel	Biomimetic peptide-base hydrogels were investigated for oral protein delivery.
Anderson et al.	Gelation Properties Peptide Amphiphiles	The mechanical properties of PAs hydrogels were moderated.

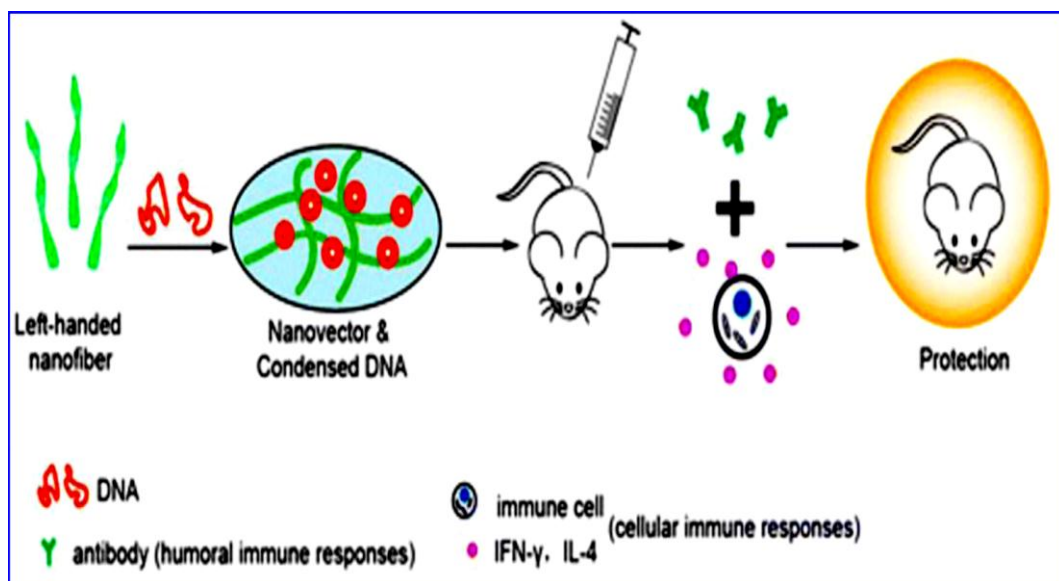
Orive et al.	Cell-hydrogel Drug Delivery	Biomimetic cell-hydrogel capsules were designed for the Long-term efficacy of immobilized cells.
Bozzini et al.	Cross-linking Human Recombinant Elastin (HELP)	The biomimetic HELP hydrogel was fabricated by enzymatic cross-linking.
Ravi et al.	Coupling Peptide Protein Polymer	The RGD-modified ELP hydrogels were utilized to mimic cellular microenvironment.
Xue et al.	Facile Green Fabrication Hydrogel	A simple Physically method of cross-linking was used to produce a biomimetic GT-S hydrogel.
Zhao et al.	Polysaccharide Antibiotics Delivery	A biomimetic antibiotic-loaded hydrogel was fabricated for wound dressing.
Kim et al.	Hydrogel Tissue Regeneration	Biomimetic hybrid hydrogels were biomineralized of for binding calcium ions.
Huh et al.	Biomineralized Biomimetic Hydrogels	Biomimetic hybrid hydrogels were biomineralized of for binding calcium ions.
Boffito et al.	Novel Thermosensitive Hydrogels	A thermoresponsive hydrogel was fabricated for in situ injectable drug delivery systems.

Πίνακας 3.6.1 Περίληψη των μελετών σχετικά με τις βιομιμητικές υδρογέλες στις εφαρμογές παράδοσης φαρμάκων. [57]

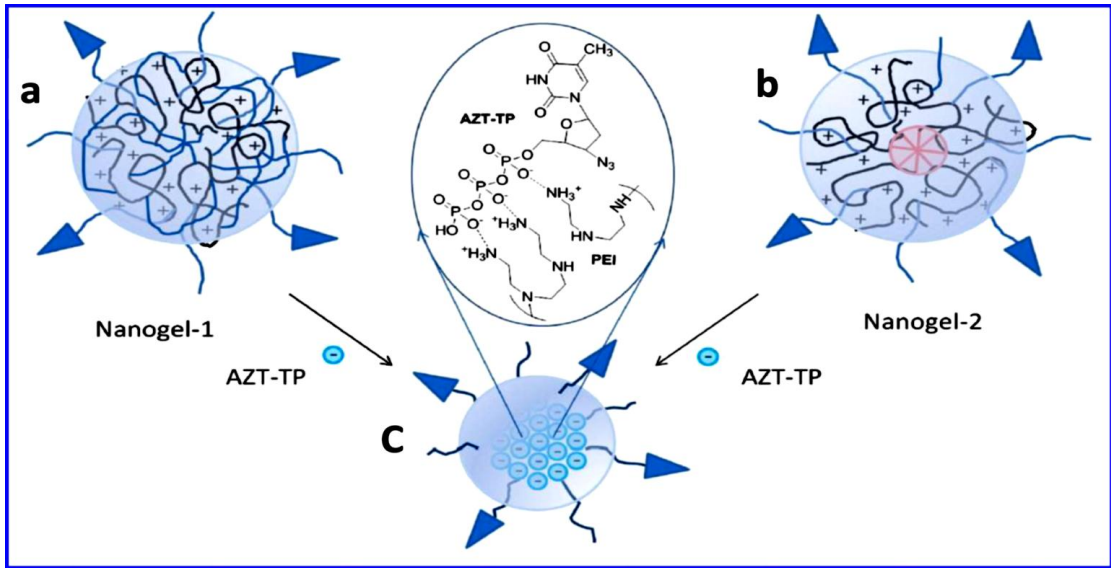
3.7 Συστήματα χορήγησης φαρμάκων βασισμένα σε υδρογέλες που χρησιμοποιούνται σε μολυσματικές ασθένειες και τραυματισμούς

Η χρήση CDDSs και TDDSs που βασίζονται σε υδρογέλες είναι πλέον αρκετά διαδεδομένη και το ενδιαφέρον εστιάζεται στο πως αυτά τα συστήματα θα γίνουν πιο ευέλικτα και αποτελεσματικά. Το εύρος των εφαρμογών τους είναι τεράστιο και συνεχώς μεγαλώνει. Ενδεικτικό της επέκτασης και ανάπτυξης τους είναι η χρήση αυτών των συστημάτων για την αντιμετώπιση μολυσματικών ασθενειών αλλά και τραυματισμών.

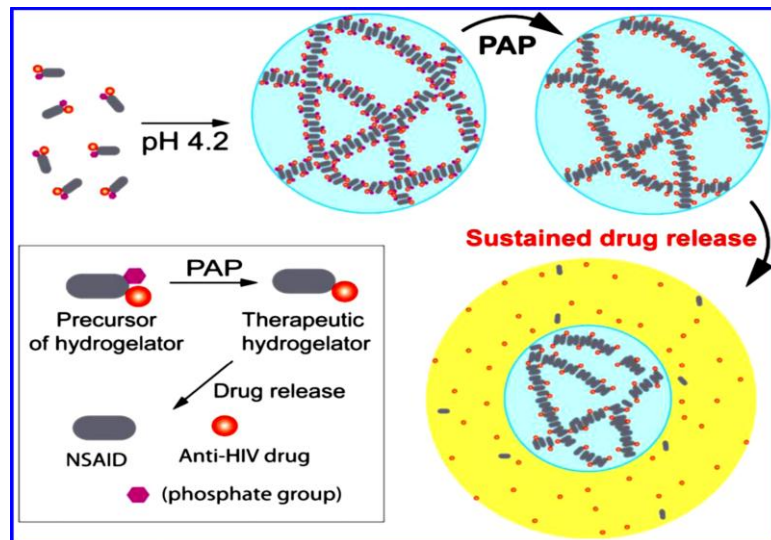
Αρκετές μελέτες έχουν γίνει και αρκετές είναι ακόμη υπό εξέλιξη που αφορούν την χρήση CDDSs με βάση τις υδρογέλες για την χορήγηση φαρμακομοριών σε ασθενείς που πάσχουν από HIV. Ιδιαίτερη έμφαση έχει δοθεί σε συστήματα που χρησιμοποιούν νανογέλες. Έως σήμερα δεν έχει σημειωθεί στις κλινικές δόκιμες κάτι πολύ αξιοσημείωτο από τέτοια συστήματα που χρησιμοποιούν συμβατικά πολυμερή γεγονός που υποδηλώνει την ανάγκη σχεδιασμού και ανάπτυξης νέων αντί-HIV γελών. [59]



Εικόνα 3.7.1 Νανογέλες που βασίζονται σε πεπτίδια για εμβόλια DNA HIV. [59]



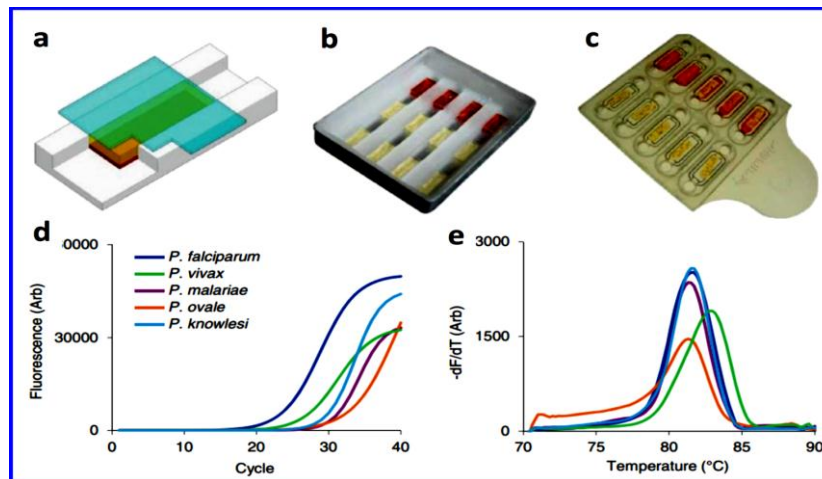
Εικόνα 3.7.2 Δομές νανογελών (Α) AP-NG1, (Β) AP-NG2 και (C) παρασκευή AP-νανο-AZT σκευάσματος. Το ένθετο παρουσιάζει πολυιοντικό σύμπλοκο μεταξύ φορτισμένων φωσφορικών ομάδων AZT-TP και αμινομάδων PEI. [59]



Εικόνα 3.7.3 Η έννοια των ενζυμικά αντιδραστικών anti-HIV υδρογελών για παρατεταμένη απελευθέρωση anti-HIV φαρμάκων. [59]

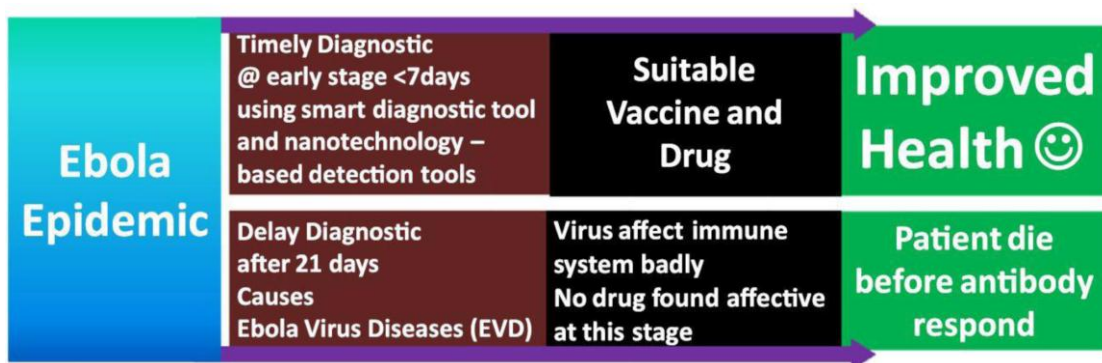
Σε αντίθεση με την περίπτωση του HIV, συστήματα που χρησιμοποιούν υδρογέλες και προορίζονται για την χορήγηση αντι-ελονοσιακών φαρμάκων έχουν επιδείξει καλά

αποτελέσματα. Η τεχνολογία αυτή βρίσκει εφαρμογή τόσο στην θεραπεία της νόσου (χορήγηση φαρμάκων) όσο και στην διάγνωση. Ειδικά τεστ που βασίζονται σε αποξηραμένη υδρογέλη συνοδευόμενα από όλα τα απαραίτητα αντιδραστήρια έχουν αναπτυχθεί για την εκτέλεση μιας PCR ειδικής για το πλασμώδιο. Πλεονεκτήματα αυτών των τεστ είναι το χαμηλό κόστος, η αποθήκευση σε θερμοκρασίες δωματίου, η κατά περίπτωση ενυδάτωση της υδρογέλης από μη επεξεργασμένο αίμα καθώς και η υψηλή ευαισθησία που δείχνουν.



Εικόνα 3.7.4 Εργαστηριακό τεστ με υδρογέλη για την διάγνωση και επιτήρηση της ελονοσίας. [59]

Η χορήγηση μέσω εισπνοής PLGA μικροσφαιρών (MS) “φορτωμένων” με τον αντιφυματικό παράγοντα rifampicin (RFP-PLGA MS) έδειξε ότι μπορεί να αποτελέσει ένα πολύτιμο σύστημα χορήγησης για την διαχείριση της φυματίωσης. Μολυσματικοί παράγοντες συνηθισμένοι (όπως ο ιός της γρίπης) αλλά και σπάνιοι (όπως ο ιός Ebola) αποτελούν επίσης πεδία ενεργής έρευνας για τέτοιου είδους συστήματα. [59]



Εικόνα 3.7.5 Σχηματική απεικόνιση των πιθανών μελλοντικών προοπτικών ενός σε μικρογραφία ηλεκτροχημικού ανιχνευτή του ιού Ebola που εμπλέκει νανογέλες για εφαρμογές POC. [59]

Οι τραυματισμοί και κυρίως αυτοί που οδηγούν σε μερική ή ολική αναπηρία ποικίλου βαθμού είναι ένα άλλο πεδίο εφαρμογής συστημάτων χορήγησης με υδρογέλη. Μια τέτοια περίπτωση αποτελούν και οι αναπηρίες που οφείλονται σε τραυματισμό του νωτιαίου μυελού. Ο τραυματισμός του νωτιαίου μυελού έχει μια παθοφυσιολογία που ξεχωρίζει διότι περιλαμβάνει εκτός από τον αρχικό τραυματισμό και μια σειρά επακόλουθων βιοχημικών διεργασιών που με την σειρά τους μπορούν να προκαλέσουν σημαντικές βλάβες.

Η μη ικανοποιητική αποτελεσματικότητα που έδειξαν σε κλινικές δοκιμές μοριακές και κυτταρικές θεραπείες οδήγησε στην ανάγκη ανάπτυξης νέων πολύπλευρων θεραπευτικών προσεγγίσεων που χρησιμοποιούν νευροπροστατευτικούς και νευροαναγεννητικούς παράγοντες σε συνδυασμό με βελτιωμένα CDDSs. Οι προσεγγίσεις αυτές θα προσπαθήσουν να υπερβούν τους τωρινούς φραγμούς και να οδηγήσουν σε αποτελεσματική θεραπεία. Τέτοια CDDSs – hydrogel based είναι κάποια από τα εργαλεία που δοκιμάζονται σε τέτοιου είδους τραυματισμούς. [60]

Την τελευταία δεκαετία, έχουν καταβληθεί τεράστιες προσπάθειες για την ανάπτυξη τεχνολογιών τοπικής χορήγησης φαρμάκων, συμπεριλαμβανομένων συζυγών πολυμερούς-φαρμάκου, νανοσωματιδίων και υδρογελών. Στα πλαίσια αυτά εμφανίζονται και συνθέσεις υδρογέλης με υλικά όπως τα δενδριμερή. Τα δενδριμερή έχουν μελετηθεί ενεργά για την ανάπτυξη στοχευμένων θεραπειών για τον καρκίνο χάρη στα καλά καθορισμένα δομικά χαρακτηριστικά και ιδιότητες νανοκλίμακας. Η χρησιμοποίηση δενδριμερών και πολυμερών ως δομικών στοιχείων για τη σύνθεση υδρογελών έχει προσελκύσει αρκετά μεγάλη προσοχή για διάφορες εφαρμογές. Οι πλατφόρμες αυτές είναι ενδιαφέρουσες διότι προσφέρουν σε υψηλό βαθμό διαμορφωσιμότητα και λειτουργικότητα. Τέτοιου είδους συνδυασμοί έχουν δείξει σημαντικά αποτελέσματα σε δοκιμές με ζώα (σημαντική καταστολή του καρκίνου και βελτιωμένη επιβίωση που οφειλόταν σε προαγωγή του κυτταρικού θανάτου των καρκινικών κυττάρων, στην μείωση του πολλαπλασιασμού αυτών των κυττάρων αλλά και στην μείωση της αγγειογένεσης). [61]

Η πρόοδος που έχει σημειωθεί στην έρευνα για τις υδρογέλες που χρησιμοποιούνται σε συστήματα χορήγησης φαρμάκων είναι σημαντική. Η βελτίωση των ιδιοτήτων τους, ο επιτυχής συνδυασμός τους είτε με άλλα πολυμερή είτε με άλλα μικρο ή/και μακρομορια βιολογικού ενδιαφέροντος, οι καινοτομίες που χρησιμοποιήθηκαν στον σχεδιασμό και την κατασκευή τους έδωσαν την δυνατότητα στα συστήματα χορήγησης να επεκτείνουν τις δυνατότητες τους αυξάνοντας το εύρος και τις κινητικές απελευθέρωσης. Παρ' όλη όμως την

πρόοδο που έχει σημειωθεί υπάρχουν ακόμη ερωτήματα που μένει να απαντηθούν και προκλήσεις που πρέπει να υπερκεραστούν ώστε η κλινική εφαρμογή των υδρογελών που χρησιμοποιούνται για χορήγηση θεραπευτικών παραγόντων να βελτιωθεί. Οι προκλήσεις αυτές αφορούν ένα ευρύ πεδίο θεμάτων όπως οι συνθήκες πολυμερισμού των υδρογελών και τα υπολειπόμενα τους, τα υλικά που θα χρησιμοποιηθούν για τον σχηματισμό τους, η βελτίωση της βιοσυμβατότητας τους, η αύξηση και η επέκταση του αριθμού και του είδους των μορίων που αυτές μεταφέρουν, ο καλύτερος έλεγχος του ρυθμού και της χωροχρονικής απελευθέρωσης των φαρμακομορίων, η μεγαλύτερη προστασία αυτών των μορίων έναντι των συστημάτων άμυνας του οργανισμού και πολλές άλλες.

Οποιαδήποτε πρόοδος σε ένα ή περισσότερα από τα παραπάνω ζητήματα αυτόματα θα οδηγήσει στην επέκταση του δυναμικού των συστημάτων χορήγησης που βασίζονται σε υδρογέλες και στην επιτυχημένη χορήγηση, στην επιθυμητή θέση και με τον επιθυμητό τρόπο και ρυθμό, της νέας γενιάς φαρμάκων. Και ο πιθανότερος τρόπος για να συμβεί αυτό, όπως άλλωστε έχει γίνει και σε πολλούς άλλους τομείς της επιστήμης και έρευνας, είναι η σύγκλιση επιστημονικών πεδίων – κάποτε διακριτών – ώστε να οδηγηθούμε στην μελλοντική εξέλιξη του σχεδιασμού υδρογελών που χρησιμοποιούνται στα συστήματα χορήγησης φαρμάκων.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η έρευνα που ξεκίνησε πριν μερικές δεκαετίες, και συνεχίζεται ακόμη, πάνω στις υδρογέλες μετέτρεψε αυτά τα απλά πολυμερή υλικά σε υλικά πολλαπλών χρήσεων, έξυπνα και ποικίλως παραμετροποιήσιμα. Από την μια πλευρά τα υλικά αυτά έχουν ήδη έναν καθιερωμένο ρόλο σε προϊόντα της καθημερινότητας του ανθρώπου όπως είναι τα προϊόντα υγιεινής, οφθαλμολογικά προϊόντα (φακοί επαφής) καθώς και σε πεδία της απλής και συνήθους ιατρικής περίθαλψης (επίδεση και επούλωση τραυμάτων και εγκαυμάτων). Από την άλλη πλευρά η παρουσία τους σε εμπορικά προϊόντα που άπτονται πεδίων όπως είναι η Μηχανική Ιστών και τα συστήματα χορήγησης φαρμάκων είναι αρκετά περιορισμένη. Αν προσπαθήσει κάποιος να σχηματίσει μια αναλογία ανάμεσα στον αριθμό των ερευνών που γίνονται για τις υδρογέλες ως πιθανά προϊόντα για χρήση στην κλινική πράξη και στον αριθμό των εμπορικών προϊόντων στα οποία τελικά μεταφράζονται αυτές οι έρευνες θα έχει μια εικόνα μάλλον αποθαρρυντική.

Τα ενθαρρυντικά σημεία όμως για να συνεχιστεί η έρευνα είναι αρκετά. Αυτό που διαφαίνεται από την συνεχιζόμενη έρευνα είναι ότι το δυναμικό των υδρογελών δεν έχει ακόμη διερευνηθεί πλήρως. Παράγοντες και μεταβλητές που δεν επέτρεπαν έως τώρα την μεγαλύτερη διεξόδυση τους σε τομείς όπως η Αναγεννητική Ιατρική, η Μηχανική Ιστών και τα συστήματα χορήγησης φαρμάκων δείχνουν να αντιμετωπίζονται. Η πρόοδος των υδρογελών ως λειτουργικά βιοϋλικά είναι σημαντική. Αποτρεπτικά στοιχεία όπως η τοξικότητα των παραγόντων διασύνδεσης, οι περιορισμοί σχηματισμού τους υπό φυσιολογικές συνθήκες και το υψηλό κατά περίπτωση κόστος παραγωγής τους έχουν πλέον αντιμετωπιστεί με αρκετή επιτυχία. Η αναδυόμενη γνώση που προέρχεται από ταυτόχρονα εξελίξιμες επιστήμες όπως είναι οι επιστήμες των υλικών και των υπολογιστών προσφέρουν σημαντική βοήθεια. Αρωγός σε αυτή την προσπάθεια αποτελεί και η πρόοδος που έχει συντελεστεί και στις βιολογικές επιστήμες και ιδιαίτερα σε αυτές που μας βοήθησαν να κατανοήσουμε και να εμβαθύνουμε στις βιολογικές – βιοχημικές διεργασίες όχι απλά σε μικροσκοπικό αλλά σε νανοσκοπικό πλέον επίπεδο. Αποτέλεσμα αυτής της συνέργειας είναι η δημιουργία υλικών με συνδυασμό ιδιοτήτων και η ανάπτυξη στρατηγικών και θεραπειών ελάχιστα ή και καθόλου επεμβατικών. Ο δρόμος όμως που απομένει να διανυθεί και οι προκλήσεις που πρέπει να αντιμετωπιστούν και να ξεπεραστούν, παρά τις πολλά υποσχόμενες και ευεργετικές ιδιότητες των υδρογελών, για να οδηγηθούμε σε ευρεία κλινική μετάφραση παραμένει μακρύς.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

ΣΥΝΤΟΜΕΥΣΕΙΣ ΚΑΙ ΕΠΕΞΗΓΗΣΕΙΣ ΟΡΩΝ

ECM (Extra Cellular Matrix): Εξωκυττάριος μήτρα: Ο εξωκυττάριος χώρος ή εξωκυττάρια μήτρα που περιβάλλει τα κύτταρα και ταυτόχρονα υποστηρίζει την ανάπτυξή τους εντός των ιστών. Αποτελεί ένα πολύπλοκο δίκτυο μακρομορίων που περιλαμβάνει δομικές πρωτεΐνες, (π.χ. κολλαγόνο και ελαστίνη), δομικά και λειτουργικά σύμπλοκα μεγαλομόρια, (π.χ. πρωτεογλυκάνες και υαλουρονικό), και ειδικές πρωτεΐνες, (π.χ. λαμινίνη και ινονεκτίνη). Το δίκτυο αυτό πέρα από το δομικό του ρόλο ο οποίος κυρίως εστιάζεται στη δημιουργία υποστρώματος ανάπτυξης των κυττάρων παίζει σημαντικότερο ρυθμιστικό ρόλο, αλληλεπιδρώντας με τα κύτταρα, σε σημαντικές κυτταρικές λειτουργίες, όπως η αναγνώριση μεταξύ των κυττάρων, η κυτταρική προσκόλληση, η μετανάστευση, ο πολλαπλασιασμός και η διαφοροποίηση. Οι ευδιάκριτες αυτές κυτταρικές λειτουργίες είναι συνάρτηση της σύστασης και της δομικής οργάνωσης των μακρομορίων του εξωκυττάριου δικτύου.

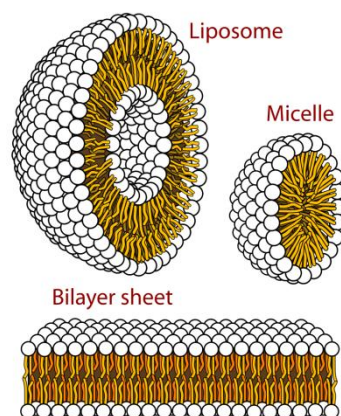
EPR Effect (Enhanced Permeability and Retention effect): Η επίδραση ενισχυμένης διαπερατότητας και κατακράτησης (EPR) είναι μια αμφιλεγόμενη ιδέα με την οποία τα μόρια συγκεκριμένων μεγεθών (συνήθως λιποσώματα, νανοσωματίδια και μακρομοριακά φάρμακα) τείνουν να συσσωρεύονται στον ιστό όγκου πολύ περισσότερο από ό, τι κάνουν σε φυσιολογικούς ιστούς. Η γενική εξήγηση που δίνεται για αυτό το φαινόμενο είναι ότι, προκειμένου τα καρκινικά κύτταρα να αναπτυχθούν γρήγορα, πρέπει να διεγείρουν την παραγωγή αιμοφόρων αγγείων. Το φαινόμενο EPR χρησιμοποιείται συνήθως για να περιγράψει τη χορήγηση νανοσωματιδίων και λιποσώματος σε ιστό καρκίνου .

MATRIGEL: Το Matrigel είναι η εμπορική ονομασία για ένα μίγμα ζελατινώδους πρωτεΐνης που εκκρίνεται από κύτταρα σαρκώματος ποντικού Engelbreth-Holm-Swarm (EHS) που παράγονται και διατίθενται στο εμπόριο από την Corning Life Sciences και την BD Biosciences. Η Trevigen, Inc. εμπορεύεται τη δική της έκδοση υπό την εμπορική ονομασία Cultrex BME. Το Matrigel μοιάζει με το περίπλοκο εξωκυτταρικό περιβάλλον που βρίσκεται σε πολλούς ιστούς και χρησιμοποιείται από τους βιολόγους κυττάρων ως υπόστρωμα (μήτρα βασικής μεμβράνης) για την καλλιέργεια κυττάρων.

SiRNA: Ο όρος παρεμβολή RNA (RNAi) σχεδιάστηκε για να περιγράψει έναν κυτταρικό μηχανισμό που χρησιμοποιεί τη γονιδιακή DNA αλληλουχία του γονιδίου για να το απενεργοποιήσει, μια διαδικασία που οι ερευνητές καλούν σιγή (silencing) . Σε μια ευρεία ποικιλία οργανισμών, συμπεριλαμβανομένων των ζώων, των φυτών και των μυκήτων, το

RNAi ενεργοποιείται από δίκλωνο RNA (dsRNA). Κατά τη διάρκεια του RNAi, μεγάλο dsRNA κόβεται ή "τεμαχίζεται" σε μικρά θραύσματα μήκους περίπου 21 νουκλεοτιδίων από ένα ένζυμο που ονομάζεται "Dicer". Αυτά τα μικρά θραύσματα, που αναφέρονται ως μικρά παρεμβατικά RNA (siRNA), δεσμεύονται με πρωτεΐνες από μια ειδική οικογένεια: τις πρωτεΐνες Argonaute. Μετά τη δέσμευση σε μία πρωτεΐνη Argonaute, απομακρύνεται ένας κλώνος του dsRNA, αφήνοντας τον υπόλοιπο κλώνο να είναι δεσμευμένος σε αλληλουχίες στόχου αγγελιαφόρου RNA σύμφωνα με τους κανόνες του ζεύγους βάσεων. Αφού συνδεθεί, η πρωτεΐνη Argonaute μπορεί είτε να διασπάσει το αγγελιοφόρο RNA, να την καταστρέψει ή να στρατολογήσει βοηθητικούς παράγοντες για να ρυθμίσει την αλληλουχία στόχο με άλλους τρόπους.

ΜΙΚΥΛΙΑ: Ένα μικύλιο είναι ένα συσσωμάτωμα (ή υπερμοριακό συγκρότημα) επιφανειοδραστικών μορίων που διασκορπίζονται σε ένα υγρό κolloειδές. Ένα τυπικό μικύλιο σε υδατικό διάλυμα σχηματίζει ένα συσσωμάτωμα με τις υδρόφιλες περιοχές της "κεφαλής" σε επαφή με τον περιβάλλοντα διαλύτη, απομονώνοντας τις υδρόφοβες περιοχές μιας "ουράς" στο κέντρο των μικυλλίων. Αυτή η φάση προκαλείται από τη συμπεριφορά συσσώρευσης λιπιδίων μιας ουράς σε μια διπλή στρώση. Η δυσκολία πλήρωσης όλου του όγκου του εσωτερικού μιας διπλοστοιβάδας, ενώ η προσαρμογή της περιοχής ανά ομάδα κεφαλής που "εξαναγκάζεται" στο μόριο με την ενυδάτωση της ομάδας λιπιδικών κεφαλών, οδηγεί στο σχηματισμό του μικυλλίου.

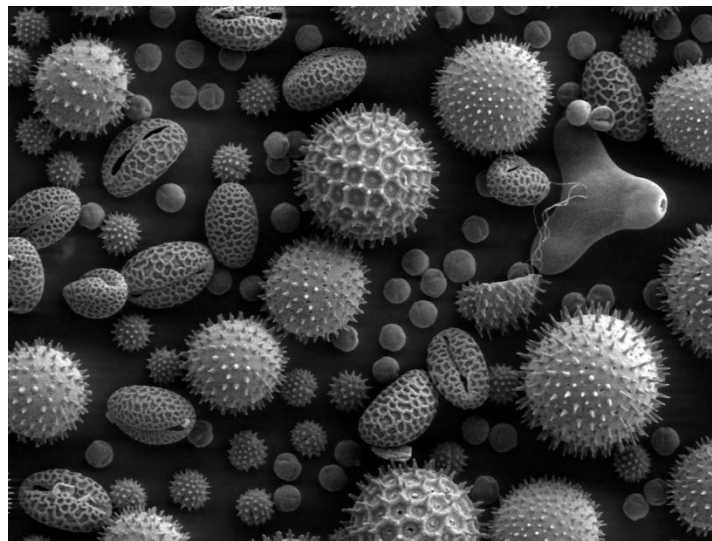


ΑΙΜΑΤΟΕΓΚΕΦΑΛΙΚΟΣ ΦΡΑΓΜΟΣ: Ο αιματοεγκεφαλικός φραγμός (Blood–Brain Barrier BBB) είναι ο κυτταρικός φραγμός που περιορίζει την είσοδο ουσιών στον εγκέφαλο. Ο αιματοεγκεφαλικός φραγμός παρεμβάλλεται μεταξύ του αίματος και του κεντρικού νευρικού συστήματος (εγκεφάλου και νωτιαίου μυελού). Χρησιμεύει για να διατηρεί το περιβάλλον του διάμεσου υγρού, ώστε να εξασφαλίζεται η καλύτερη δυνατή λειτουργικότητα

των νευρώνων. Συνίσταται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα των τριχοειδών αγγείων με περίπλοκο δίκτυο από στεγανές συνδέσεις και πόδια αστροκυττάρων (αστρογλοιακά κύτταρα) που ακουμπούν στο ενδοθήλιο και τη βασική του μεμβράνη.

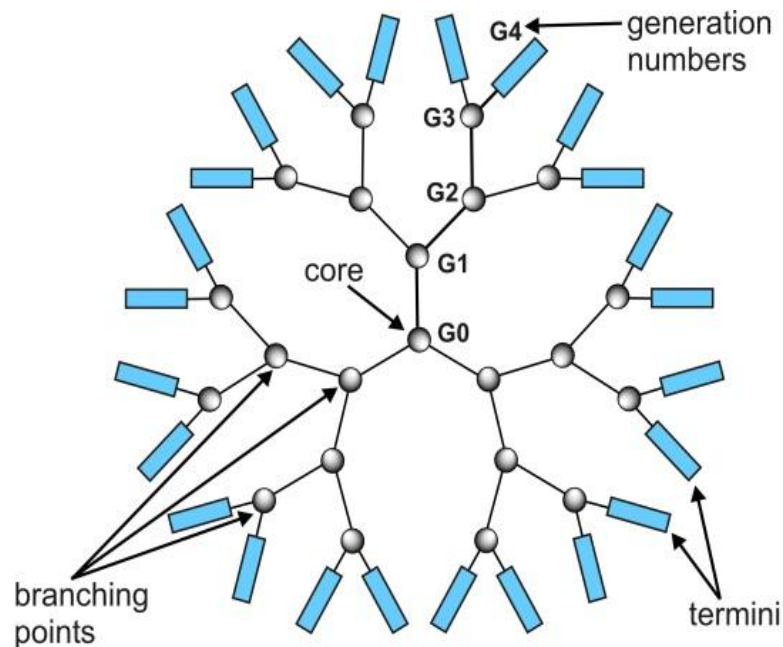


SEM: Ένα ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (SEM) είναι ένας τύπος ηλεκτρονικού μικροσκοπίου που παράγει εικόνες ενός δείγματος με σάρωση της επιφάνειας με εστιασμένη δέσμη ηλεκτρονίων. Τα ηλεκτρόνια αλληλεπιδρούν με τα άτομα στο δείγμα, παράγοντας διάφορα σήματα που περιέχουν πληροφορίες σχετικά με την επιφανειακή τοπογραφία και τη σύνθεση του δείγματος. Η δέσμη ηλεκτρονίων σαρώνεται σε ένα σχέδιο ράστερ σάρωσης και η θέση της δέσμης συνδυάζεται με το σήμα που ανιχνεύεται για να παράγει μια εικόνα. Το SEM μπορεί να επιτύχει ανάλυση μεγαλύτερη από 1 νανόμετρο. (μια σάρωση ράστερ ή σάρωση με ράστερ είναι το ορθογώνιο μοτίβο της σύλληψης και ανακατασκευής της εικόνας)



YOUNG's MODULUS: ή Young modulus (συντελεστής Young) είναι μια μηχανική ιδιότητα που μετρά την ακαμψία ενός στερεού υλικού. Καθορίζει τη σχέση μεταξύ της τάσης (stress) (δύναμη ανά μονάδα επιφάνειας) και της τάσης (strain) (αναλογική παραμόρφωση) σε ένα υλικό στο γραμμικό ελαστικό καθεστώς μιας μονοαξονικής παραμόρφωσης. Ο όρος συντελεστής είναι το μειωτικό του λατινικού όρου modus που σημαίνει μέτρηση.

ΔΕΝΔΡΙΜΕΡΗ: Τα δενδριμερή είναι επαναλαμβανόμενα διακλαδισμένα μόρια. Το όνομα προέρχεται από την ελληνική λέξη δένδρον. Ένα δενδριμερές είναι τυπικά συμμετρικό γύρω από τον πυρήνα και υιοθετεί συχνά μια σφαιρική τρισδιάστατη μορφολογία.



DENDRIMER

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ – BIBLIOGRAPHIC REFERENCES

- [1] Fergal J. O'Brien. Biomaterials & scaffolds for tissue engineering. *Materials Today* 2011;14(3):88-95.
- [2] Saltzman, Mark W. *Tissue Engineering: Engineering Principles for the Design of Replacement Organs and Tissues*. 1st Edition. Oxford University Press; 2004.
- [3] Lanza R, Langer R, Vacanti J. *Principles of Tissue Engineering*. 3rd Edition. Academic Press; 2007.
- [4] Subia B, Kundu J, Kundu SC. *Biomaterial Scaffold Fabrication Techniques for Potential Tissue Engineering Applications*. Tissue Engineering. Daniel Eberli: InTech; 2010
- [5] Lal B., Viola J., Grad, O. The Emergence of Tissue Engineering as a Research Field. The National Science Foundation. *Emergence and Evolution of a Shared Concept*, 2003:18-24. Available from: URL <https://www.nsf.gov/pubs/2004/nsf0450/start.htm>.
- [6] Pluta K., Malina D., Sobczak-Kupiec, A. Scaffolds for tissue engineering. *Technical Transactions [Chemistry]* 2015;(1-Ch):89-97.
- [7] Tissue engineering. [Ανακτήθηκε 18 Δεκεμβρίου 2018]. Available from: URL:https://en.wikipedia.org/wiki/Tissue_engineering.
- [8] Tissue Engineering and Regenerative Medicine. National Institute of Biomedical Imaging and Bioengineering. [Ανακτήθηκε 19 Ιουλίου 2018]. Available from: URL:<https://www.nibib.nih.gov/science-education/science-topics/tissue-engineering-and-regenerative-medicine>.
- [9] Castells-Sala C., et.al. Current Applications of Tissue Engineering in Biomedicine. *J Biochip Tissue* 2013;chipS2:004.
- [10] Kagami, H., Agata, H., Kato, R., Matsuoka, F., Tojo, A. Fundamental Technological Developments Required for Increased Availability of Tissue Engineering. *Regenerative Medicine and Tissue Engineering - Cells and Biomaterials*. Daniel Eberli: IntechOpen;2011
- [11] Kara Rogers. Tissue engineering, [Ανακτήθηκε 25 Νοεμβρίου 2018]. Available from: URL: <https://www.britannica.com/science/tissue-engineering>

- [12] Hosseinkhani M., Mehrabani D., Karimfar M.H., Bakhtiyari S., Manafi A., Shirazi R. Tissue Engineered Scaffolds in Regenerative Medicine. *World Journal of Plastic Surgery* 2014;3(1): 3-7.
- [13] Chang H-I., Wang Y. Cell Responses to Surface and Architecture of Tissue Engineering Scaffolds. *Regenerative Medicine and Tissue Engineering - Cells and Biomaterials*. Daniel Eberli: InTech;2011.
- [14] Scaffolds in tissue engineering. [Ανακτήθηκε 20 Οκτωβρίου 2018]. Available from: URL:https://www.wikilectures.eu/w/Scaffolds_in_tissue_engineering.
- [15] Chan B.P., Leong K.W. Scaffolding in tissue engineering: general approaches and tissue-specific considerations. *European Spine Journal* 2008;17(Suppl 4):467-479.
- [16] Patel A., Mequanint K. Hydrogel Biomaterials. *Biomedical Engineering - Frontiers and Challenges*. Reza Fazel: IntechOpen;2011.
- [17] Ahmed E.M. Hydrogel: Preparation, characterization, and applications: A review. *Journal of Advanced Research, Cairo University*. 2015;6:105–121.
- [18] Chirani N., Yahia L'H., Gritsch L., Motta F.L., Chirani S., Faré S. History and Applications of Hydrogels. *Journal of Biomedical Sciences*. 2015;4(2):13.
- [19] Zhang Y.S., Khademhosseini A. Advances in engineering hydrogels. *Science*.2017; May 05; 356(6337).
- [20] El-Sherbiny I.M., Yacoub M.H. Hydrogel scaffolds for tissue engineering: Progress and challenges. *Global Cardiology Science and Practice*. 2013;38:316-342.
- [21] Σκουλάς Δ. Σύνθεση αποκρίσιμων πολυμερών για τον εγκλωβισμό και μεταφορά φαρμάκων για τον καρκίνο του παγκρέατος. Αθήνα, Ph. D thesis, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Σχολή Θετικών Επιστημών, Τμήμα Χημείας. 2017.
- [22] Zhu J., Marchant R.E. Design properties of hydrogel tissue-engineering scaffolds. *Expert Rev Med Devices*. 2011; (5): 607–626.
- [23] Gaharwar A.K., Peppas N.A., Khademhosseini A. Nanocomposite hydrogels for biomedical applications. *Biotechnol Bioeng*. 2014;111(3): 441–453.

- [24] Ergenc T.I., Kizilel S. Recent Advances in the Modeling of PEG Hydrogel Membranes for Biomedical Applications. *Biomedical Engineering. Trends in Materials Science*. Anthony Laskovski: InTech; 2011 .
- [25] Bi X., Liang A. In Situ-Forming Cross-linking Hydrogel Systems: Chemistry and Biomedical Applications. *Emerging Concepts in Analysis and Applications of Hydrogels*. Sutapa Biswas Majee: IntechOpen;2016:131-158.
- [26] Kazakov S.V. Hydrogel Films on Optical Fiber Core: Properties, Challenges, and Prospects for Future Applications. *New Polymers for Special Applications*. Ailton De Souza Gomes: InTech;2012:25-70.
- [27] Zhao F., Yao D., Guo R., Deng L., Dong A., Zhang J. Composites of Polymer Hydrogels and Nanoparticulate Systems for Biomedical and Pharmaceutical Applications. *Nanomaterials* . 2015;5:2054-2130.
- [28] Chai Q., Jiao Y., Yu X. Hydrogels for Biomedical Applications: Their Characteristics and the Mechanisms behind Them. *Gels*. 2017; 3(6).
- [29] Akhtar M.F., Hanif M., Ranjha N.M. Methods of synthesis of hydrogels . . . A review. *Saudi Pharmaceutical Journal* .2016;24:554–559.
- [30] Drury J.L., Mooney D.J. Hydrogels for tissue engineering: scaffold design variables and applications. *Biomaterials*. 2003;24:4337–4351.
- [31] Annabi N., et al. 25th Anniversary Article: Rational Design and Applications of Hydrogels in Regenerative Medicine. *Adv Mater*. 2014;26(1): 85–124.
- [32] Wang H., Heilshorn S.C. Adaptable Hydrogel Networks with Reversible Linkages for Tissue Engineering. *Adv Mater*. 2015; 27(25): 3717–3736.
- [33] Ahearne M., Yang Y., Liu K-K. Mechanical Characterisation of Hydrogels for Tissue Engineering Applications. *Topics in Tissue Engineering*. Eds. Ashammakhi N, Reis R, & Chiellini F. 2008;4.
- [34] Yang J.M., Olanrele O.S., Zhang X., Hsu C.C. Fabrication of Hydrogel Biomaterials for Biomedical Applications. *Novel Biomaterials for Regenerative Medicine, Advances in Experimental Medicine and Biology* 1077. 2018;197-224.

- [35] Xiaofei Guan X., et. al. Development of hydrogels for regenerative engineering. *Biotechnol J.* 2017;12(5).
- [36] Girin T.K., Thakur A., Alexander A., Badwaik A.H., Tripathi D.K. Modified chitosan hydrogels as drug delivery and tissue engineering systems: present status and applications. *Acta Pharmaceutica Sinica B.* 2012;2(5):439–449.
- [37] Kim M.H., Kumar S.K., Shirahama H., Seo, J., Lee J-H., Zhdanov V.P., Cho N-J. Biofunctionalized Hydrogel Microscaffolds Promote 3D Hepatic Sheet Morphology. *Macromolecular Bioscience.* 2016;16:314–321.
- [38] Sun G., et. al. Dextran hydrogel scaffolds enhance angiogenic responses and promote complete skin regeneration during burn wound healing. *PNAS.* 2011;108(52): 20976–20981.
- [39] Gandhi A, Paul A, Sen S.O, Sen K.K. Studies on thermoresponsive polymers: Phase behaviour, drug delivery and Biomedical applications. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences.* 2015;10(2):99-107.
- [40] Rizwan M., et al. pH Sensitive Hydrogels in Drug Delivery: Brief History, Properties, Swelling, and Release Mechanism, Material Selection and Applications. *Polymers.* 2017;9(4): 137.
- [41] Κωνσταντίνος Αυγουστάκης. Νεότερα Συστήματα Χορήγησης Φαρμάκων. [Ανακτήθηκε 12 Δεκεμβρίου 2018] Available from: URL: http://www.psef.gr/static/files/Avgoustakis_Konstantinos.pdf
- [42] Rastogi, A. Novel Drug Delivery System. *Pharmatutor –Art-1652.* Ανακτήθηκε 7 Δεκεμβρίου 2018 από <https://www.pharmatutor.org/articles/novel-drug-delivery-system>.
- [43] Park K. The Controlled Drug Delivery Systems: Past Forward and Future Back. *J Control Release.* 2014;190:3–8.
- [44] Parhi R. Cross-Linked Hydrogel for Pharmaceutical Applications: A Review. *Advanced Pharmaceutical Bulletin.* 2017;7(4):515-530.
- [45] Caccavo D., Cascone S., Lamberti G., Barba A.A., Larsson A. Swellable Hydrogel-based Systems for Controlled Drug Delivery. *Smart Drug Delivery System.* Ali Demir Sezer: IntechOpen:2016.

- [46] Buwalda S.J., Vermonden T., Hennink W.E. Hydrogels for Therapeutic Delivery: Current Developments and Future Directions. *Biomacromolecules*. 2017;18:316–330.
- [47] Silna E.A., Krishnakumar K., Nair S.K., Anoop Narayanan V., Dineshkumar B. Hydrogels in topical drug delivery – A review. *International Journal of Innovative Drug Discovery*. 2016;6(2):87-93.
- [48] Yadav H.K.S., Al Halabi N.A., Alsalloum G.A. Nanogels as Novel Drug Delivery Systems - A Review. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Research*. 2017;1:5.
- [49] Soni G., Yadav KS. Nanogels as potential nanomedicine carrier for treatment of cancer: A mini review of the state of the art. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 2016;24:133-139.
- [50] Sood N., Bhardwaj A., Mehta S., Mehta A. Stimuli responsive hydrogels in drug delivery and tissue engineering. *Drug Delivery*. 2016;23(3):748-770.
- [51] Lohani A., Singh G., Bhattacharya S.S., Verma A. Interpenetrating Polymer Networks as Innovative Drug Delivery Systems. *Journal of Drug Delivery*. 2014;Article ID 583612.
- [52] Knipe J.M., Peppas N.A. Multi-responsive hydrogels for drug delivery and tissue engineering applications. *Regenerative Biomaterials*. 2014;1(1):57–65.
- [53] Sakthivel M., Franklin D.S., Guhanathan S. Intelligent Hydrogels for Controlled Drug Delivery System: A Review. *International Journal of Frontiers in Science and Technology*. 2015;3(2):37-47.
- [54] Liu L., Gao Q., Lu X., Zhou H. In situ forming hydrogels based on chitosan for drug delivery and tissue regeneration. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences II*. 2016;673–683.
- [55] Deepthi S., Jose J. Novel hydrogel-based ocular drug delivery system for the treatment of conjunctivitis. *International Ophthalmology*. 2018.
- [56] Otto Schmitt. [Ανακτήθηκε 10 Δεκεμβρίου 2018]. Available from: URL:https://en.wikipedia.org/wiki/Otto_Schmitt.
- [57] Sheikhpour M., Barani L., Kasaeian A. Biomimetics in drug delivery systems: A critical review. *Journal of Controlled Release*. 2017;253:97–109.

- [58] Biomimetics. [Ανακτήθηκε 10 Δεκεμβρίου 2018]. Available from: URL:<https://en.wikipedia.org/wiki/Biomimetics>.
- [59] Vashist A. et. Al. Recent trends on hydrogels based drug delivery systems for infectious diseases. *Biomaterial Science*. 2016;4(11):1535–1553.
- [60] Wang Q., et. Al. Novel multi-drug delivery hydrogel using scar-homing liposomes improves spinal cord injury repair. *Theranostics* . 2018;8(16):4429-4446.
- [61] Xu L., Cooper RC., Wang J., Yeudall W.A., Yang H. Synthesis and Application of Injectable Bioorthogonal Dendrimer Hydrogels for Local Drug Delivery. *ACS Biomaterial Science & Engineering*. 2017;3(8):1641–1653.
- [62] Wang X., Ding B., Li B. Biomimetic electrospun nanofibrous structures for tissue engineering. *Materials Today*. 2013;16(6):229-241.
- [63] Costantini M., et.al. Engineering muscle networks in 3D GelMA hydrogels: influence of mechanical stiffness and geometrical confinement.. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2017;5:22.
- [64] Fichman G., Gazit E. Self-assembly of short peptides to form hydrogels: Design of building blocks, physical properties and technological applications. *Acta Biomaterialia*. 2014;10(4):1671-1682.
- [65] Kotta S., Nair A., Alsabeelah N. 3D Printing Technology in Drug Delivery: Recent Progress and Application. *Current Pharmaceutical Design*. 2018;24:1-10
- [66] Konta AA., García-Piña M., Serrano DR. Personalised 3D Printed Medicines. Which Techniques and Polymers Are More Successful? *Bioengineering (Basel)*. 2017;4(4):79.