

## واژه‌های کلیدی:

پلیمر حساس به دما،  
مهندسی بافت،  
پلوگزامر

# مروری بر هیدروژل‌های تزریق‌پذیر حساس به دما: خصوصیات و کاربرد در مهندسی-بافت

منوچهر وثوقی<sup>۱\*</sup>، مهدی فرخی<sup>۲</sup>، شاهین بنکدار<sup>۳</sup>، آناهیتا دانشور<sup>۳</sup>

۱ تهران، دانشگاه صنعتی شریف، دانشکده مهندسی شیمی

۲ تهران، انستیتو پاستور ایران، بخش بانک سلولی

۳ تهران، دانشگاه صنعتی شریف، پژوهشکده علوم و فناوری نانو

## چکیده ...

هیدروژل‌های تزریقی تخریب‌پذیر، به‌طور گسترده در زمینه‌های متنوع پزشکی دارویی از جمله تهیه زخم‌پوش‌ها، مهندسی بافت و تهیه محمل‌های رسانش دارو/سلول و عوامل رشد مورد استفاده قرار گرفته‌اند. بالاخص، طی دهه گذشته، کاربرد هیدروژل‌های تزریق‌پذیر حساس به دما، با توجه به ویژگی‌هایی از جمله انتقال فاز از حالت محلول به ژل در پاسخ به محرک خارجی، قابلیت شبیه‌سازی محیط ماتریس خارج سلولی به‌لحاظ ویژگی‌های فیزیکی-شیمیایی و زیستی (برای سلول‌ها)، وجود مقادیر زیاد آب در ساختار، ایجاد بستری متخلخل برای کاشت و تکثیر سلول‌ها و قابلیت انطباق مناسب با نقص‌های نامنظم به‌عنوان روش درمان کم‌تهاجمی، توجه قابل‌ملاحظه‌ای را به خود جلب کرده‌است. این سامانه‌های آب‌دوست پلیمری، پیش از استفاده، به‌صورت محلول آبی و سیال هستند؛ ولی پس از تزریق، تحت شرایط فیزیولوژیک، ضمن انتقال فاز به‌سرعت ژل می‌شوند. در این مقاله، ویژگی‌ها، مزایا و سازوکار ژل شدن هیدروژل‌های تزریق‌پذیر حساس به دما به‌طور خلاصه بیان شده، پس از مرور بخشی از مطالعات صورت گرفته در زمینه کاربردهای این سامانه‌ها در حوزه مهندسی بافت طی سال‌های اخیر، چالش‌های موجود در این حوزه مطرح می‌شود.

\*پست الکترونیکی مسئول مکاتبات:

Vosoughi@sharif.edu

## ۱ مقدمه

هیدروژل‌ها، شبکه سه‌بعدی از اتصالات عرضی پلیمرهای آب‌دوست‌اند و قابلیت حفظ مقادیر زیاد آب و حلال‌های زیستی در ساختارشان را دارند. این ساختارها، با قابلیت ذخیره و رهایش کنترل‌شده مولکول‌های زیستی و دارو، ضمن ایجاد سمیت حداقلی برای سلول‌ها، کاربرد گسترده‌ای در زمینه سامانه‌های دارورسانی، کشت بافت، طب ترمیمی و زخم‌بندها پیدا کرده‌اند [۱].

برای تهیه این ساختارها، گستره وسیعی از پلیمرهای طبیعی آب‌دوست آنیونی (هیالورونیک‌اسید، آلژینیک-اسید، کندرویتین‌سولفات، دکستران‌سولفات و پکتین)، کاتیونی (کیتوسان، پلی‌لازین)، خنثی (دکستران، آگاروز)، پلیمرهای دوگانه‌دوست (کلاژن، ژلاتین، کربوکسی‌متیل‌کیتین و فیبرین)، پلیمرهای سنتزی (پلی‌اتیلن‌گلیکول، پلی‌لاکتیک‌اسید، پلی‌کاپرولاکتام و...) یا تلفیقی از پلیمرهای سنتزی و طبیعی مورد استفاده قرار گرفته‌اند. هیدروژل‌ها، بر اساس فرایند ژل شدن به دو دسته ژل‌شونده در محیط زیستی به صورت درجا (In Situ) و ژل‌شونده در خارج از محیط زیستی (Ex Situ) تقسیم‌بندی می‌شوند. هیدروژل‌های درجا، تزریق‌پذیرند، به این معنا که در فاز آبی محلول و سیالند؛ اما پس از تزریق، تحت شرایط فیزیولوژیک به سرعت ژل می‌شوند [۲].

از جمله مزایای هیدروژل‌های تزریق‌پذیر می‌توان به موارد زیر اشاره کرد (۱) شکل‌پذیری داربست هیدروژلی متناسب با هندسه و شکل نقص ایجاد شده خصوصاً در بافت هدف با دسترسی محدود. (۲) غیرتهاجمی بودن این روش درمانی، منجر به تقلیل رنج و درد بیماران، ریسک عفونت، کوتاه شدن مدت زمان بستری و در نتیجه کاهش هزینه‌های درمانی خواهد شد (۳) ماهیت و ساختار این سامانه‌ها، امکان بارگذاری عوامل دارویی، سلول‌ها و مولکول‌های زیست‌فعال در فاز محلول را به دو روش پیش‌ترکیب (قبل از تزریق) یا ترکیب هم‌زمان با تزریق ضمن توزیع یکنواخت عوامل بارگذاری شده در ساختار نهایی داربست، به همراه خواهد داشت [۳].

## ۲ مولفه‌های ضروری در طراحی هیدروژل‌های تزریق‌پذیر

از جمله خصوصیات پلیمرهای مورد استفاده در سامانه‌های تزریق‌پذیر می‌توان به موارد زیر اشاره کرد:

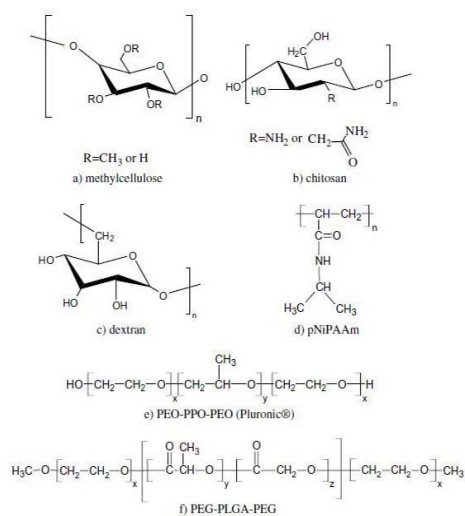
(۱) زیست‌تخریب‌پذیری: در حالت ایده‌آل باید نرخ تخریب‌پذیری داربست با نرخ ترمیم بافت جدید متناسب باشد که این موضوع بسته به نوع بافت هدف، مهندسی می‌شود.

تخریب هیدروژل‌ها و شکست پیوندها از طریق روش‌های آب‌کافت یا آنزیمی صورت می‌گیرد. هیدروژل‌های سنتزی عموماً به روش آب‌کافت تخریب می‌شوند؛ درحالی‌که سرعت تخریب در فرایند آنزیمی بستگی به تعداد جایگاه‌های با پیوند قابل شکست در ساختار داربست و مقدار آنزیم موجود در محیط دارد.

(۲) تزریق‌پذیری و عوامل موثر در ژل شدن: به منظور کاهش درد تزریق، از سوزن‌هایی با سرهای نازک استفاده می‌شود و لازم است محلول تزریق‌شونده، گرانیوی (Viscosity) کمی داشته باشد. غلظت اولیه درشت مولکول‌های به کاررفته به عنوان پیش‌ماده می‌تواند میزان تراکم اتصالات عرضی موجود در شبکه و در نتیجه گرانیوی کلی محلول را متأثر کند. ترکیب، غلظت آغازگر و وزن مولکولی اتصال‌دهنده عرضی به کاررفته نیز از جمله سایر موارد مهم در تعیین گرانیوی محلول است. علاوه بر این، نیروی لازم برای تزریق محلول متناسب با سرعت تزریق، اندازه سوزن و محل انجام تزریق تنظیم می‌شود. به منظور جلوگیری از آسیب بافت‌های مجاور بافت هدف و حفظ حیات سلول و گونه‌های زیست‌فعال موجود در محلول تزریق شده، لازم است فرایند ژل شدن در شرایط فیزیولوژیک انجام و از مصرف حلال‌های آلی سمی یا انجام واکنش در شرایط سخت پرهیز شود. علاوه بر این ضروری است داربست پس از تشکیل، چسبندگی خوبی با بافت اطراف محل تزریق داشته باشد و زمان ژل شدن باید متناسب با بافت هدف بهینه شود. طولانی یا کوتاه شدن زمان ژل شدن به ترتیب سبب نفوذ محلول تزریق شده به بافت اطراف محل تزریق یا کمبود زمان برای تزریق و در نتیجه ایجاد محدودیت در عملکرد جراح می‌شود.

(۳) زیست‌سازگاری و سمیت سلولی: معمولاً پلیمرهای با منشأ طبیعی زیست‌سازگاری مناسبی دارند؛ در حالی که استفاده از پلیمرهای سنتزی ممکن است سبب بروز پاسخ ایمنی شود. از این رو بررسی میزان سمیت سلولی اجزای تشکیل‌دهنده داربست از جمله مونومرهای سازنده، اتصال‌دهنده‌های عرضی، گروه‌های عاملی و آغازگرها ضروری است. به علاوه ضمن انجام واکنش‌های شیمیایی، احتمال تشکیل محصول جانبی یا نشت پیش‌ماده‌های واکنش‌نداده و اجزای تخریب‌شده ساختار داربست به بافت اطراف، مطرح است که این امر باعث تشدید سمیت سلولی می‌شود.

(۴) پاسخ سلولی: به منظور ایجاد حمایت مکانیکی کافی و تنظیم رفتار سلولی، مواد مورد استفاده در زمینه مهندسی بافت باید به خوبی، رفتار ماتریس خارج سلولی را همانندسازی کنند. متأسفانه به استثنای کلاژن، اکثر سلول‌ها، گیرنده سلولی مناسب



شکل ۱ ساختار شیمیایی برخی پلیمرهای حساس به دما [۴].

مشترک پلیمرهای حساس به دما، پارامتری به نام (CST) یا «دمای بحرانی محلول» (Critical Solution Temperature)، معرف دمایی است که محلول پلیمری با غلظت مشخص فرایند جدایش فاز به سمت ژل شدن را آغاز می‌کند. بر مبنای پارامتر CST دو نوع رفتار در ژل‌های حساس به دما مشاهده شده است. دسته اول رفتار (LCSTs: Lower Critical Solution Temperature) که در دمای پایین‌تر از دمای بحرانی، پلیمر در فاز محلول بوده و با افزایش دما، نامحلول و نهایتاً ژل می‌شود. دسته دوم رفتار (UCSTs: Upper Critical Solution Temperature) که در دمای بالاتر از دمای بحرانی پلیمرها محلولند و با کاهش دما فرایند تغییر فاز رخ می‌دهد [۵]. شکل ۲ طرح‌واره‌ای از نمودارهای انتقال فاز در پلیمرهای حساس به دما را نمایش می‌دهد [۶].

### ۲-۳ معرفی پلیمرهای LCST

رفتار LCST در پلیمرها، ناشی از برقراری نوعی تعادل ویژه بین بخش‌های آب‌دوست/آب‌گریز موجود در ساختار مونومرها و در حقیقت نشان‌دهنده توانایی پلیمر در تشکیل پیوند هیدروژنی با مولکول‌های آب است. بر مبنای مطالعات گزارش شده، افزودن مونومرهای آب‌دوست و آب‌گریز به کوپلیمرها به ترتیب با افزایش و کاهش تعداد پیوندهای هیدروژنی، منجر به زیاد و کم شدن دمای انتقال فاز در محلول پلیمرهای LCST می‌شود [۷]. تنوع زیاد پلیمرهای LCST با دمای انتقال فاز نزدیک به دمای بدن انسان زمینه کاربرد آن‌ها در حوزه زیست‌دارویی را فراهم کرده است. در این بین، پلیمرهای چندبلوکی، ترکیبات

برای اتصال به پلیمرهای به کار رفته در تهیه هیدروژل‌ها را ندارند و چسبندگی سلولی با داربست کم است. برای رفع این مشکل، اتصال کووالان توالی پپتیدی یا پروتئین ماتریس خارج سلولی به زنجیره پلیمری روش متداولی است. توالی آرژینی گلی‌کیلاسپارتیک اسید (RGD) پپتیدی رایج در مطالعات انجام شده با این روش است که از پروتئین ماتریس خارج سلولی (ECM) استخراج می‌شود.

۵) خواص مکانیکی و میزان تخلخل: عملکرد مکانیکی بهینه داربست در گرو کنترل پارامترهایی مثل خاصیت ارتجاعی، تراکم‌پذیری، رفتار گرانبوکشان و استحکام کششی مواد تشکیل‌دهنده آن است. در مورد هیدروژل‌ها، این خصوصیات از استحکام زنجیره‌های پلیمری، ماهیت اتصال‌دهنده عرضی به کاررفته و دما و pH ژل شدن متأثر می‌شود. از سوی دیگر با افزایش درجه تخلخل، از سفتی داربست به‌طور مشهودی کاسته می‌شود. میزان فضاهای خالی موجود در داربست بر رشد سلولی، رگ‌زایی و تبادل مواد غذایی و ضایعات سلولی اثرگذار است. محلول‌های پلیمری پس از طی فرایندهای شیمیایی/فیزیکی ژل می‌شوند. در اتصال عرضی شیمیایی با استفاده از واکنش‌های نوری، آنزیمی، واکنش افزایش مایکل و... بین رشته‌های پلیمری پیوند کووالانسی ایجاد و میزان خواص مکانیکی ساختار ژل نهایی بهبود می‌یابد. در اتصال عرضی فیزیکی، ژل شدن ضمن برهم‌کنش‌های یونی، میزبان-مهمان یا در پاسخ به محرک‌هایی مثل تغییرات دما و pH رخ می‌دهد. از جمله مزایای این روش، عدم استفاده از کاتالیزور یا اتصال‌دهنده‌های عرضی سمی و انجام‌پذیر بودن واکنش در شرایط ملایم است [۲].

### ۳ معرفی هیدروژل‌های حساس به دما

هیدروژل‌های حساس به دما گروهی از هیدروژل‌های شبکه‌ای شونده به‌روشن فیزیکی هستند که طی دهه‌های اخیر به دلیل سهولت استفاده و زمان کوتاه ژل شدن مورد توجه قرار گرفته‌اند. پلیمرهای حساس به دما با منشأ طبیعی (سلولز، کیتوسان، ژلاتین و مشتقات آن‌ها) یا منشأ سنتزی (پلی‌ان‌ایزوپروپیل‌اکریل‌آمید (pNIPAAm) و پلیمرهای چندبلوکی (Block Copolymers) شامل (PEO/PPO/PEO) (PEO/PCL/PEO)، و (PEG/PLGA/PEG) و... هستند. ساختار شیمیایی برخی از این ترکیبات در شکل ۱ مشاهده می‌شود [۴].

### ۳-۱ نمودارهای فاز

چگونگی تغییر فاز غلظت‌های مختلف محلول پلیمری متأثر از تغییرات دما، در قالب نمودارهای فاز مطالعه می‌شود. وجه

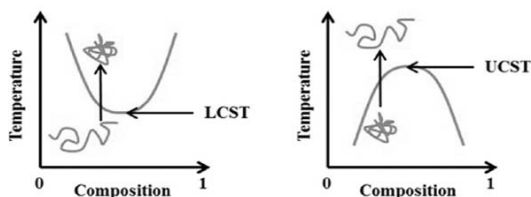
که در دمای بالاتر از دمای بحرانی به صورت محلول پایدار در حلال رفتار کنند چالش مهمی است. دمای انتقال فاز در این پلیمرها به شدت نسبت به شرایط محیط واکنش از جمله تغییر pH، حضور الکترولیت‌ها، قدرت یونی گونه‌ها و همچنین وزن مولکولی و غلظت پلیمر موجود در محلول، حساسیت نشان داده و رسیدن به رفتار پایدار حرارتی در این مواد دشوار است [۸]. ژلاتین شناخته شده ترین زیست پلیمر زیست سازگار، با رفتار UCST است. این پروتئین، شکل واسرشته (Denatured) کلاژن با دمای انتقال فاز در محدوده  $25-35^{\circ}\text{C}$  است. با توجه به پایین بودن پایداری حرارتی و مکانیکی این ترکیب و وفور گروه‌های عاملی با قابلیت اصلاح شیمیایی در ساختار آن، عموماً این ماده به صورت ترکیب با سایر پلیمرها به کار می‌رود تا دمای ژل شدن محلول به محدوده  $37^{\circ}\text{C}$  ارتقا یابد [۱۱]. آگاروز پلی‌ساکاریدی مستخرج از جلبک دریایی است که در محدوده دما  $30-40^{\circ}\text{C}$  از فاز محلول به ژل انتقال می‌یابد. دمای انتقال فاز متأثر از غلظت پلیمر موجود در محلول، وزن مولکولی پلیمر و ساختار آن تغییر می‌کند. این ترکیب خواص جالبی برای استفاده در چاپگرهای زیستی نشان داده و هیدروژل‌های آن در غلظت‌های پایین تهیه شده‌اند [۱۲].

#### ۴ سازوکار ژل شدن در سامانه‌های LCST

به‌طور کلی این سازوکار، مبتنی بر افزایش برهم‌کنش‌های آب‌گریز، فشردگی و درهم‌تنیدگی میسل‌ها و در نهایت رشد ساختارها در اثر جاذبه بخش‌های آب‌گریز نسبت به یکدیگر است. خصیصه مشترک پلیمرهای حساس به دما، وجود گروه‌های آب‌گریز متیل، اتیل، پروپیل و ... در ساختار آن‌هاست. به‌طورکلی، انواع برهم‌کنش‌های محتمل در محلول آبی پلیمرها شامل برهم‌کنش پلیمر-پلیمر، برهم‌کنش پلیمر-آب و برهم‌کنش مابین مولکول‌های آب می‌شود. در دمای کم‌تر از دمای LCST پلیمر محلول بوده، با افزایش دما و غلبه خاصیت آب‌گریزی، محلول ژل می‌شود. از دیدگاه ترمودینامیک، این تغییر انحلال‌پذیری با تغییر دما، با عبارت انرژی آزاد گیبس اختلال توضیح داده شده است. افزایش دمای محیط سبب منفی شدن انرژی آزاد سامانه و در نتیجه کاهش تمایل برهم‌کنش پلیمر-آب و افزایش برهم‌کنش مابین زنجیره‌های پلیمری می‌شود.

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad (1)$$

در معادله ۱ منفی شدن تغییرات انرژی آزاد گیبس، ناشی از



شکل ۲ طرح‌واره‌ای از نمودارهای انتقال فاز در پلیمرهای حساس به دما [۶]

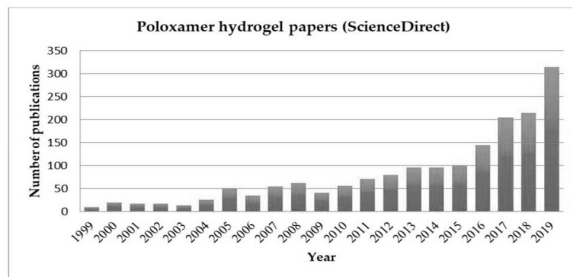
pNiPAAm و مشتقات آن‌ها سهم بیشتری در پژوهش‌ها به خود اختصاص داده‌اند [۸].

pNiPAAm دمای انتقال فاز در محدوده  $32^{\circ}\text{C}$  دارد و این دما به شدت به وزن مولکولی، ساختار پلیمر و حضور افزودنی‌هایی مثل نمک‌ها، فعال‌سطح‌ها و سایر حلال‌ها در محیط واکنش وابسته است. در محدوده دمای بالاتر از دمای انتقال فاز، بر اثر برهم‌کنش‌های آب‌گریز و تغییر شکل رشته‌های پلیمری از ساختار خطی به حلقوی و کروی محلول به تدریج کدر می‌شود [۵]. از آن‌جا که دمای بهینه سامانه‌های ره‌ایش دارو، در بازه دمایی  $37-42^{\circ}\text{C}$  تعریف شده استفاده از این نوع پلیمر، به‌تنهایی گزینه مناسبی برای کاربردهای دارورسانی نبوده و افزایش دمای ژل شدن با استفاده از اصلاح شیمیایی ساختار با پلیمرهای آب‌دوست، راهکار رایجی است [۹].

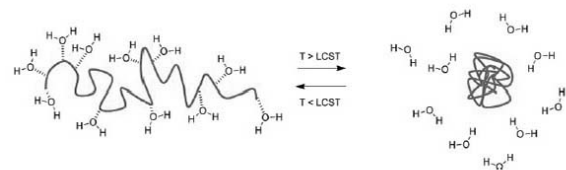
پلوگزامرها (Poloxamers) گروهی از پلیمرهای چندبلوکی غیریونی، متشکل از واحدهای PEO-PPO-PEO و از جمله پلیمرهای حساس به دما هستند. در اثر ایجاد تغییر در طول بخش آب‌دوست و آب‌گریز، وزن مولکولی و خواص پلیمر سنتزی تغییر می‌کند. درجه‌بندی‌های مختلفی از این ماده به صورت تجاری وجود دارد. محلول پلوگزامر، در غلظت‌های بالاتر از غلظت بحرانی میسلی شدن (Critical Micelle Concentration: CMC) و در دماهای بالاتر از دمای انتقال فاز، ژل می‌شود. این ساختارهای متنوع، کاربردهای گسترده‌ای در حوزه مهندسی بافت از جمله ترمیم بافت استخوان، ترمیم بافت عصبی، رگ‌زایی و ترمیم زخم پیدا کرده‌اند. علاوه بر این به دلیل سمیت کم به‌عنوان حاملی مناسب در سامانه‌های ژن و دارورسانی مطرح شده‌اند [۱۰].

#### ۳-۳ معرفی پلیمرهای UCST

پلیمرهای UCST در مقایسه با LCST‌ها تنوع و سهم کم‌تری در زمینه مطالعات زیست‌دارویی دارند [۹]. اساساً تهیه پلیمرهایی



شکل ۴ مقالات چاپ شده با کلید واژه «هیدروژل‌های با پایه پلوگرامر» در پایگاه داده‌ای Science Direct طی ۲۰ سال اخیر [۱۳].



شکل ۳ طرح‌واره‌ای از تغییر جهت گیری فضایی زنجیره پلیمر با رفتار LCST از حالت مارپیچ به کروی در اثر افزایش دما [۶].

از چالش برانگیزترین معضلات بالینی در زمینه ارتوپدی است [۱۴]. نبود سلول‌های پیش‌ساز و شبکه‌های عروقی در این بافت، ترمیم ذاتی آن را با محدودیت همراه کرده است. طی سالیان اخیر بررسی کاربرد احتمالی هیدروژل‌های تزریق‌پذیر در این زمینه برای بسیاری از پژوهشگران جالب توجه بوده است. گروه بنکدار و همکاران، داربست هیدروژلی نانوکامپوزیتی تزریق‌پذیری را طراحی کردند که در آن Pluronic F127 پس از عامل‌دار شدن با گروه‌های اسیدی به پلیمر کیتوسان، پیوند خورده و در ادامه این هم‌بسیار (Copolymer) با استفاده از (Genipin) با پروتئین کراتین به صورت شبکه هیدروژلی شبکه‌ای شده است و برای تقویت خواص مکانیکی این ساختار، نانوذرات (LAPONITE) استفاده شده است. مطابق با نتایج، اتصالات عرضی ساختار، شبکه هیدروژلی پایدار و همگن، با سختی قابل قبول ایجاد کرده که ویژگی‌های فیزیکی-شیمیایی آن، از جمله نسبت تورم، زیست‌تخریب‌پذیری و میزان تخلخل با تغییر غلظت و ترکیب اجزای مورد استفاده قابل تنظیم است. به طور مثال وجود نانوذرات (LP) در این ساختار، بدون ایجاد مشکل بقای سلولی در مطالعات برون‌تنی، مدول الاستیک و پایداری زیستی هیدروژل را ۶ برابر افزایش داده، این سامانه به طور بالقوه قابلیت استفاده در بازسازی بافت آسیب دیده را نشان می‌دهد [۱۵]. در مطالعه دیگری، هیدروژل‌های حساس به دما به عنوان داربست سه‌بعدی برای رشد و تکثیر سلول‌های غضروفی یا عاملی در جهت تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به سمت تشکیل غضروف مورد بررسی قرار گرفته‌اند. در این کار، سلول‌های استرومایی مغز استخوان (Bone Marrow Stromal Cells) در هیدروژل با ساختار PLGA-PEG-PLGA بارگذاری شد و بر اساس نتایج به دست آمده در بررسی برون‌تنی، افزایش بیان نشانگرهای غضروفی و محتوای گلیکوزآمینوگلیکان موید تمایز سلول‌های بنیادین به سمت تشکیل بافت غضروف است [۱۶].

بزرگ‌تر شدن سهم عبارت  $T\Delta S$  در مقایسه با میزان افزایش عبارت آنتالپی است. با افزایش دما و شکستن پیوندهای هیدروژنی مابین پلیمر و مولکول‌های آب، آنتروپی سامانه افزایش و انرژی آزاد گیبس آن منفی می‌شود و رشته‌های پلیمری نسبت به تشکیل ساختارهای میسلی متمایل می‌شوند. شایان گفتن است با کاهش دما به عنوان عامل محرک ژل شدن، تمام این سازوکار به صورت برگشت‌پذیر منجر به انتقال فاز ژل-محلول خواهد شد [۵-۶]. شکل ۳ طرح‌واره‌ای از این فرایند را به نمایش می‌گذارد [۶].

## ۵ کاربرد سامانه‌های حساس به دما در مهندسی بافت

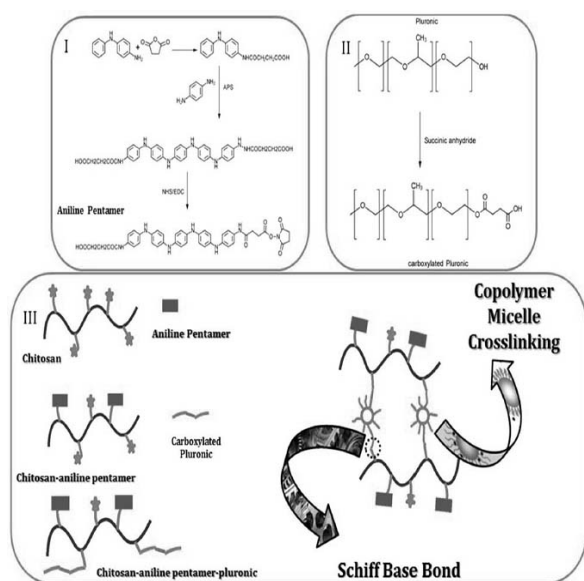
برای دهه‌ها کاربرد پلیمرهای زیست‌تخریب‌پذیر حساس به دما و نانوفناوری در سامانه‌های دارورسانی بررسی شده است. کاربرد هیدروژل‌های بر پایه پلوگرامر در این حوزه از دهه ۱۹۷۰ آغاز شد، هرچند مقاومت کششی کم و مدول یانگ پایین این ساختارها کاربرد عملی آن‌ها را محدود می‌کند. اخیراً بازه متنوعی از روش‌های فرمول‌بندی پوشینه‌داری (Encapsulation) دارو و چگونگی برهم‌کنش این ساختارها با سدهای فیزیولوژیک منتشر شده که موضوع آن‌ها عمدتاً مرتبط با درمان سوختگی‌های پوستی، رهایش هورمون‌ها و پروتئین‌های کوتاه زنجیر، هپارین و داروهای ضدسرطان، ایدز و... است. شکل ۴ تعداد مقالات مرتبط با کاربردهای زیست‌دارویی هیدروژل‌های بر پایه پلوگرامر طی بیست سال گذشته را نشان می‌دهد [۱۳]. در ادامه، بخشی از مطالعات انجام شده در زمینه کاربرد این هیدروژل‌ها در ترمیم بافت مورد بررسی قرار می‌گیرند [۱].

ترمیم بافت غضروف مفصلی و استخوان: غضروف مفصلی، بافت انعطاف‌پذیر و هم‌بندی است که در اثر عوامل مختلف مثل ضربه، جراحت، افزایش سن، بیماری یا ظهور توده‌های سرطانی دچار التهاب و آسیب‌دیدگی می‌شود و ترمیم آن یکی



عامل رشد (VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) به عنوان موثرترین عامل در فرایند رگ‌زایی در ساختار هیدروژل بارگذاری شده است (شکل ۵). انتخاب کیتوسان در این طراحی به دلیل خواص ضد باکتریایی و تشابه رفتاری با خواص ماتریس خارج سلولی بوده، حضور آنیلین و Pluronic F127 به ترتیب، خاصیت رسانایی و تزریق پذیری را در ساختار القا می‌کند. وجود آنیلین در ساختار مذکور علاوه بر این که رهایش هوشمند دارو (در پاسخ به اعمال محرک الکتریکی) و کاهش پارامترهایی نظیر ظرفیت تورمی، نرخ تخریب پذیری و نرخ رهایش دارو را به همراه دارد، سبب افزایش زاویه تماس و افزایش زمان ژل شدن می‌شود. طبق مشاهدات، رهایش پایدار عامل رشد VEGF از ساختار هیدروژل تهیه شده، از لحاظ بافت شناختی عوارض ناشی از اسکمی مغزی را حدود ۷۰٪ نسبت به نمونه شاهد بهبود بخشیده است [۲۱].

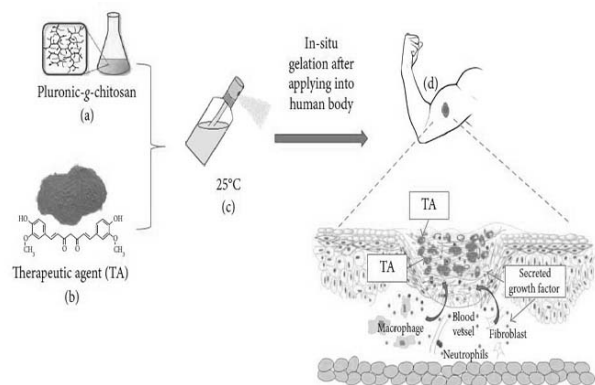
هیدروژل‌های هوشمند پپتیدی، سفتی (Stiffness) مشابه با بافت مغز داشته، هنگام تزریق به سامانه اعصاب مرکزی (CNS)، علاوه بر سمیت کم، یکنواختی قابل قبولی با بافت مغز نشان داده‌اند. در گزارش منتشر شده از تیم تحقیقاتی پتل،



شکل ۵ مسیر سنتز ساختار کیتوسان-آنیلین-پلوگزامر (۱) تهیه (AP) عامل دار شده با گروه کربوکسیلیک اسیدی (۲) تهیه پلوگزامر عامل دار شده با سوکسنیک‌انیدرید (۳) واکنش گروه‌های اسیدی (AP) با آمین‌های موجود در کیتوسان و اتصال پلوگزامر فعال شده با CS-AP. در ادامه افزایش دما و ایجاد سامانه‌های خودآرا در پلوگزامر، سبب شبکه‌ای شدن ساختار می‌شود [۲۱].

شکل دهی و استفاده بهینه از داربست‌های از پیش ساخته، برای رفع نقص‌های استخوانی، امر دشواری است و ایده استفاده از هیدروژل‌های حساس به دما، با وجود ضعف خواص مکانیکی، مورد توجه قرار گرفته است [۱۷]. سلول‌های بنیادی مزانشیمی با منشأ دندانی، قابلیت تمایز به بافت دندانی، چربی و استخوانی را داشته، احتمالاً نسبت به سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان (hBMMSCs)، ظرفیت تمایز و تکثیر بهتری دارند. سلول‌های بنیادی پالپ دندان (DPSCs) به راحتی از محیط دهان قابل استخراج هستند و می‌توان آن‌ها را در نمونه‌های دور انداخته شده از بافت دندانی پیدا کرد. ترکیب این سلول‌ها با داربست با قابلیت حفظ بقای سلولی، بازسازی ترمیمی در حوزه دندان پزشکی را ممکن می‌سازد. در پژوهشی، قابلیت تمایز این دو نوع سلول بنیادی به صورت پوشینه‌دار در بستر هیدروژلی از Pluronic F127 ضمن مطالعات درون تنی بررسی و طبق نتایج مشخص شد این داربست اثر مثبتی در تکثیر و تمایز سلولی نشان داده. به علاوه، این پلیمر دارای مورفولوژی با شبکه متراکم لوله‌ای و شبکه‌ای است که به نفوذپذیری و حلالیت بالای آن کمک می‌کند [۱۸]. در گزارش دیگری، کامپوزیت تزریق پذیر هیدروژلی حاوی ذرات شیشه زیست فعال بر پایه بورات و نانوپودرهای پایه کربن برای استفاده در مهندسی بافت استخوان طراحی شده. بدین منظور، مخلوطی از کوپلیمر Pluronic F127 و ذرات شیشه زیست فعال B3 13-93 در اندازه‌های مختلف (۲/۳، ۱۴ و ۱۵۰ میکرومتر) در محیط آبی تهیه و قابلیت ژل شدن در جای آن‌ها از طریق اندازه‌گیری خواص رئولوژیک ضمن تغییر دما بررسی شد. همچنین گرانیروی این سامانه متأثر از وجود نانوپودر گرافن و نانولوله‌های کربنی افزایش یافته است. همه هیدروژل‌های مطالعه شده شار برشی مناسبی برای تزریق دارند و افزودن نانوذرات به ساختار، نرخ رهایش دارو از سامانه را بهبود بخشیده است [۱۹].

بازسازی نورون‌ها: هیپوکامپ (Hippocampus) بخشی از دستگاه لیمبیک مغز، مرکز یادگیری و حافظه است و به طور ذاتی نسبت به عارضه ایسکمی مغزی (Ischemic Defect)، ناشی از نرسیدن اکسیژن کافی به مغز آسیب پذیر است [۲۰]. گروه فرخی و همکاران، سامانه هیدروژلی سازگار با بافت مغز بر پایه پلوگزامر-کیتوسان/ آنیلین پنتامر (Pluronic-Chitosan/ Aniline Pentamer) طراحی کردند که به لحاظ ویژگی‌های الکتریکی، مکانیکی و الکتروشیمیایی تشابه قابل قبولی با بخش هیپوکامپ نشان داده‌است. در این طراحی گروه‌های عاملی آمین دار موجود در ساختار کیتوسان، با AP و Pluronic F127 عامل دار شده با گروه‌های کربوکسیلیک اسید اصلاح و پس از آن



شکل ۶ هیدروژل نانوکامپوزیتی حامل کورکومین بر پایه کیتوسان پیوند خورده با پلوگرامر (nCur-CP) برای استفاده به عنوان زخم پوش در سوختگی‌های درجه ۲ و ۳ (a) سنتز کوپلیمر Chi-g-Plu از طریق اتصال pluronic F127 با گروه‌های آمینو کیتوسان (b) کورکومین به عنوان داروی ضدالتهاب (c, d) کوپلیمر (nCur-CP) در فاز محلول در دمای محیط که پس از تماس با دمای بیولوژیک، ژل می‌شود [۲۶].

## ۶ جمع بندی و چالش‌های پیش رو

طی ده‌های گذشته، تلاش زیادی در جهت طراحی و بهینه‌سازی هیدروژل‌ها به منظور دست‌یابی به ساختاری با خواص قابل قبول صورت گرفته‌است هرچند، هنوز چالش‌های قابل توجه زیادی در این زمینه برای بررسی باقی مانده است که از جمله آن‌ها می‌توان به موارد زیر اشاره کرد.

هیدروژل‌های زیست تخریب‌پذیر غالباً بر پایه پلیمرهای استری هستند و در اثر تخریب، محصولات جانبی با گروه‌های عاملی اسیدی ایجاد می‌کنند و این امر منجر به کاهش موضعی pH، التهاب بافت‌های مجاور و در نتیجه آسیب به مولکول‌های زیست فعال بارگذاری شده در ساختار ژل می‌شود.

نرخ تخریب‌پذیری هیدروژل، عامل مهمی در کنترل نرخ رهایش مولکول‌های درمانی از آن است. بنابراین برای تأمین رهایش پیوسته این مولکول‌ها باید بین نرخ تخریب در توده و سطح هیدروژل تعادل برقرار شود. این امر از طریق کنترل ترکیب، میزان تبلور و توپولوژی پلیمرها انجام پذیر است [۲۷]. عدم کنترل بر رهایش اولیه و ناگهانی پروتئین‌ها، عامل‌های رشد و مولکول‌های RNA بارگذاری شده در ساختار ژل، سبب کاهش مدت زمان کارآمدی این سامانه‌های حامل می‌شود. بارگذاری مولکول‌های زیست سازگار در نانو ساختارها یا اتصال مستقیم آن‌ها به شبکه پلیمری از جمله راهکارهای توصیه شده در بهبود رهایش پیوسته مولکول‌هاست.

هیدروژل‌های بر پایه PEG-PLAL پوشینه‌دار شده با NGF و BDNF) به عنوان عامل نورون‌زای مشتق‌شده از مغز، رهایش پیوسته‌ای در بازه زمانی بین ۱۲-۱۸ روز داشته‌اند [۲۲]. بهبود و پیش‌گیری از باقی ماندن جای زخم (Scar): بافت پوست در بدن سطح وسیعی دارد و درمان سوختگی‌های پوستی یکی از اصلی‌ترین چالش‌ها در جراحات است. سوختگی‌های پوستی چهارمین دسته از آسیب دیدگی‌های رایجند که معمولاً در پی حوادث رانندگی، آتش‌سوزی و... ایجاد می‌شوند و به دلیل مقاومت باکتریایی، احتمال بروز عفونت، بروز عوارض جانبی و نهایتاً مرگ به طور جدی مطرح است [۲۳-۲۴]. همچنین، زخم‌های مزمن، به دلیل قلیایی بودن pH محیط، نرخ بازسازی کمی دارند. در این رابطه استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در قالب سامانه‌های دارورسانی به عنوان گزینه درمانی مطلوب پیشنهاد شده‌است. در گزارشی زخم‌پوش حاوی عامل رشد EGF و نانوذرات حامل داروی ونکومايسن (Vancomycin) تهیه شدن در شبکه هیدروژل pNiPAAm تهیه شده‌است که علاوه بر خاصیت ترمیمی، خاصیت ضدباکتریایی نیز دارد. در این پروژه ابتدا نانوذرات فیروین ابریشم-سدیم آلزینات (SF-SANPs) به عنوان نانوذرات حساس به pH تهیه و سپس این ذرات به منظور کاهش عفونت باکتریایی با داروی ونکومايسن بارگذاری شده‌اند (SF-SANPs/VANCO). این نانوذرات به محلولی متشکل از پلیمر حساس به دمای pNiPAAm و عامل رشد EGF افزوده، پس از افزایش دما تا محدوده دمای بیولوژیک، سامانه هیدروژلی مورد نظر ایجاد می‌شود. کارکرد این زخم‌بند بر پوست موش‌ها، در موضع آلوده بررسی و مشخص شده نمونه‌های دارای VANCO و EGF، نرخ بهبود زخم و رگرایی و بیان عامل رشد بتای بیش‌تری نسبت به نمونه کنترل داشته‌اند. به بیان دیگر، خواص مناسب فیزیکی-شیمیایی-سلولی این سامانه، منجر به تکثیر و رشد سلول‌های فیروبلاست و کاهش قابل توجه عفونت در موضع زخم شده است [۲۵]. طبق مطالعه‌ای از گروه دنگ، هیدروژل تزریق‌پذیر کامپوزیتی حساس به دما Chi-g-F127 (Chitosan-g-pluronic) حاوی کورکومین تهیه و عملکرد آن در درمان سوختگی‌های درجه ۲ و ۳ مطالعه شده. با واکنش نسبت وزنی بهینه پلوگرامر F127 با گروه‌های آمیدی کیتوسان کوپلیمر تولید و با کورکومین به عنوان داروی ضدالتهاب طبیعی ترکیب می‌شود. این سامانه به سادگی پس از تماس با دمای بیولوژیک در موضع زخم تشکیل ژل شده، در برابر محدوده وسیعی از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی رفتار مناسب نشان می‌دهد (شکل ۶) [۲۶].

بالمقوه کم‌تهاجمی و جایگزینی برای روش‌های جراحی متداول مشهود است. در این مقاله هیدروژل‌های حساس به دما معرفی، مزایا و ویژگی‌های آن‌ها بیان و مواردی از کاربردهای اخیر آن‌ها در حوزه دارورسانی و مهندسی بافت مطرح شد. هنوز چالش‌ها و فرصت‌های پژوهشی فراوانی برای بهبود عملکرد و کاربردی کردن این ساختارها پیش‌روی پژوهشگران وجود دارد و پیشرفت در این حوزه در گرو داشتن درک واضح و صحیحی از رابطه ساختاری-رفتاری پلیمرها و شبکه‌های هیدروژلی هوشمند است. از جمله چالش‌های مطرح در کاربردی کردن این ترکیبات می‌توان به بهبود عواملی نظیر قابلیت زیست‌تخریب پذیری، خواص مکانیکی، زمان ژل شدن، بهبود برهم‌کنش بین پلیمر و مولکول‌های زیست‌فعال اشاره کرد. علاوه بر این، ویژگی‌های ذاتی مولکول‌های زیست‌سازگار و سهولت تأمین آن‌ها، منابع سلولی و فناوری‌های مورد نیاز در این زمینه، از جمله مهم‌ترین عامل‌ها در دست‌یابی به سامانه هیدروژلی تزریق‌پذیر ایده‌آل است.

گزارش‌های متعددی مبنی بر این ادعا وجود دارد که استفاده از داروها یا مولکول‌ها به صورت ترکیبی، سبب افزایش اثر درمانی آن‌ها، خصوصاً در زمینه درمان سرطان می‌شود. بنابراین بررسی اثر هم‌افزایی (Synergistic) داروهای مختلف، بستر مناسبی برای انتخاب درمان بهینه با حداقل عوارض جانبی فراهم می‌آورد.

یکی از سخت‌ترین چالش‌های مطرح، تفاوت بین بررسی‌های انجام‌شده در مدل‌های حیوانی و بدن بیماران است که قابلیت کاربردی کردن و تجاری‌سازی درمان‌های توسعه‌یافته را محدود می‌کند.

استفاده از پلیمرهای چندبلوکی با ساختار پیچیده، احتمالاً طی فرایند تأیید از سوی سازمان جهانی غذا و دارو با دشواری‌های بیش‌تری مواجه خواهند بود و چالش ارائه پلیمرهای ساده با ساختار متعارف همچنان به‌طور جدی موضوعیت دارد [۱].

به‌طور خلاصه، در دهه‌های گذشته هیدروژل‌های تزریق‌پذیر، توجه زیادی را به خود جلب کرده‌اند. به‌طور خاص، مزایای این سامانه‌ها در زمینه مهندسی بافت به‌عنوان روش درمانی



## مراجع

- Hoang Thi T. T., Sinh L. H., Huynh D. P., Nguyen D. H., Huynh C., Self-Assemblable Polymer Smart-Blocks for Temperature-Induced Injectable Hydrogel in Biomedical Applications, *Frontiers in Chemistry*, 19, **2020**.
- Park K. M., Park K. D., Injectable Hydrogels: Properties and Applications, *Encyclopedia of Polymer Science and Technology*, 1-16, **2002**.
- Portnov T., Shulimzon T. R., Zilberman M., Injectable Hydrogel-Based Scaffolds for Tissue Engineering Applications, *Reviews in Chemical Engineering*, 1, 91-107, **2017**.
- Klouda L., Mikos A. G., Thermoresponsive Hydrogels in Biomedical Applications, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 1, 34-45, **2008**.
- Matanović M. R., Kristl J., Grabnar P. A., Thermoresponsive Polymers: Insights Into Decisive Hydrogel Characteristics, Mechanisms of Gelation, and Promising Biomedical Applications, *International Journal of Pharmaceutics*, 1-2, 262-275, **2014**.
- Phillips D. J., Gibson M. I., Towards Being Genuinely Smart: Isothermally-Responsive Polymers as Versatile, Programmable Scaffolds for Biologically-Adaptable Materials, *Polymer Chemistry*, 7, 1033-1043, **2015**.
- Huang H., Qi X., Chen Y., Wu Z., Thermo-sensitive Hydrogels for Delivering Bio Therapeutic Molecules: A Review, *Saudi Pharmaceutical Journal*, 7, 990-999, **2019**.
- Bansal K., Upadhyay P., Saraogi G., Rosling A., Rosenholm J., Advances in Thermo-Responsive Polymers Exhibiting Upper Critical Solution Temperature (UCST), *EXPRESS polymer letters*, 11, 974-992, **2019**.
- Guo X., Wang L., Wei X., Zhou S., Polymer-Based Drug Delivery Systems for Cancer Treatment, *Journal of Polymer Science, Part A: Polymer Chemistry*, 22, 3525-3550, **2016**.
- Zarrintaj P., Ramsey J. D., Samadi A., Atoufi Z., Yazdi M. K., Ganjali M. R., Amirabad L. M., Zangene E., Farokhi M., Formela K., Ploxamer: A Versatile Tri-Block Copolymer for Biomedical Applications, *Acta Biomaterialia*, **2020**.
- Eslahi N., Abdorahim M., Simchi A., Smart Polymeric Hydrogels for Cartilage Tissue Engineering: a Review on The Chemistry and Biological Functions, *Biomacromolecules*, 11, 3441-3463, **2016**.
- Altomare L., Bonetti L., Campiglio C. E., De Nardo L., Draghi L., Tana F., Farè S., Biopolymer-Based Strategies in The Design of Smart Medical Devices and Artificial Organs, *International Journal of Artificial Organs*, 6, 337-359, **2018**.
- Russo E., Villa C., Ploxamer Hydrogels for Biomedical Applications, *Pharmaceutics*, 12, 671, **2019**.
- Makris E. A., Gomoll A. H., Malizos K. N., Hu J. C., Athanasiou K. A., Repair and Tissue Engineering Techniques for Articular Cartilage, *Nature Reviews Rheumatology*, 1, 21, **2015**.
- Eslahi N., Simchi A., Mehrjoo M., Shokrgozar M. A., Bonakdar S., Hybrid Cross-Linked Hydrogels Based on Fibrous Protein/Block Copolymers and Layered Silicate Nanoparticles: Tunable Thermosensitivity, Biodegradability and Mechanical Durability, *RSC Advances*, 6, 62944-62957, **2016**.
- Shi K., Wang Y.-L., Qu Y., Liao J.-F., Chu B.-Y., Zhang H.-P., Luo F., Qian Z.-Y., Synthesis, Characterization, and Application of Reversible PDLA-PEG-PDLA Copolymer Thermogels in Vitro and in Vivo, *Scientific Reports*, 19077, **2016**.
- Vagaská B., Bačáková L., Filová E., Balík K., Osteogenic Cells on Bio-Inspired Materials for Bone Tissue Engineering, *Physiological Research*, 3, **2010**.
- Diniz I. M., Chen C., Xu X., Ansari S., Zadeh H. H., Marques M. M., Shi S., Moshaverinia A., Pluronic F-127 Hydrogel As A Promising Scaffold for Encapsulation of Dental-Derived Mesenchymal Stem Cells, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 3, 153, **2015**.
- Deliormanlı A. M., Türk M., Flow Behavior and Drug Release Study of Injectable Pluronic F-127 Hydrogels containing Bioactive Glass and Carbon-Based Nanopowders, *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*, 4, 1184-1196, **2020**.
- Koehl M., Abrous D. N., A New Chapter In The Field of Memory: Adult Hippocampal Neurogenesis, *European Journal of Neuroscience*, 6, 1101-1114, **2011**.
- Nourbakhsh M., Zarrintaj P., Jafari S. H., Hosseini S. M., Aliakbari S., Pourbadie H. G., Naderi N., Zibaii M. I., Gholizadeh S. S., Ramsey J. D., Thomas S., Farokhi M., Saeb M. R., Fabricating An Electroactive Injectable Hydrogel Based on Pluronic-Chitosan/Aniline-Pentamer Containing Angiogenic Factor for Functional Repair of the Hippocampus Ischemia Rat Model, *Materials Science and Engineering C*, 111328, **2020**.
- Patel M., Moon H. J., Jung B. K., Jeong B., Microsphere-Incorporated Hybrid Thermogel for Neuronal Differentiation of Tonsil Derived Mesenchymal Stem Cells, *Advanced Healthcare Materials*, 10, 1565-1574, **2015**.

23. Charlson F. J., Baxter A. J., Dua T., Degenhardt L., Whiteford H. A., Vos T., Excess Mortality From Mental, Neurological And Substance Use Disorders in the Global Burden of Disease Study 2010, *Epidemiology and Psychiatric Sciences*, 2, 121-140, **2015**.
24. Chaney S. B., Ganesh K., Mathew-Steiner S., Stromberg P., Roy S., Sen C. K., Wozniak D. J., Histopathological Comparisons of Staphylococcus Aureus and Pseudomonas Aeruginosa Experimental Infected Porcine Burn Wounds, *Wound Repair and Regeneration*, 3, 541-549, **2017**.
25. Rezaei F., Damoogh S., Reis R. L., Kundu S. C., Mottaghtalab F., Farokhi M., Dual Drug Delivery System Based on pH-Sensitive Silk Fibroin/Alginate Nanoparticles Entrapped in PNIPAM Hydrogel for Treating Severe Infected Burn Wound, *Biofabrication*, 1, 015005, **2020**.
26. Dang L. H., Nguyen T. H., Tran H. L. B., Doan V. N., Tran N. Q., Injectable Nano Curcumin-Formulated Chitosan-g-Pluronic Hydrogel Exhibiting a Great Potential for Burn Treatment, *Journal of Healthcare Engineering*, **2018**.
27. Huynh C. T., Nguyen M. K., Lee D. S., Injectable Block Copolymer Hydrogels: Achievements and Future Challenges for Biomedical Applications, *Macromolecules*, 17, 6629-6636, **2011**.