

«Νανοπορώδη υμένια ως επικάλυψη σε καρδιαγγειακά εμφυτεύματα με την τεχνική του Spraying: ανάπτυξη και χαρακτηρισμός»

Η παρούσα διπλωματική εργασία πραγματεύεται την ανάπτυξη νανοπορωδών λεπτών υμενίων από βιοαποικοδομήσιμα πολυμερή με τη μέθοδο του ψεκασμού (Spray Coating Deposition) στα πλαίσια του πεδίου της Στοχευμένης Θεραπείας (Targeted Delivery) και συγκεκριμένα για εφαρμογές σε καρδιαγγειακά εμφυτεύματα. Απώτερος σκοπός ήταν η δημιουργία ενός βιομιμητικού νανοπορώδους υλικού που να μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως πλατφόρμα μεταφοράς φαρμάκων για την επικάλυψη καρδιαγγειακών εμφυτευμάτων. Είναι πλέον γνωστό ότι τα βιοδιασπώμενα πολυμερή χρησιμοποιούνται ευρέως στα συστήματα ελεγχόμενης παροχής και στοχευμένης μεταφοράς φαρμάκων. Τις τελευταίες δεκαετίες, η πρώτη επιλογή στη συντριπτική πλειονότητα των ασθενών τόσο σε σταθερή στεφανιαία νόσο όσο και στα οξεία στεφανιαία σύνδρομα είναι η εμφύτευση ενδοπροθέσεων που αποδεσμεύουν φάρμακα (Drug Eluting Stents, DES). Μετα-αναλύσεις έχουν δείξει καλύτερη μακροπρόθεσμη κλινική έκβαση των DES σε σύγκριση με τις μη επικαλυμμένες ενδοπροθέσεις (Bare Metal Stents, BMS). Καινοτομία της μελέτης αυτής αποτελεί η δημιουργία πολυμερικών υμενίων με τη τεχνική του spray coating deposition και η δημιουργία νανοπόρων, το μέγεθος και το πλήθος των οποίων ελέγχεται από τις πειραματικές συνθήκες. Τα δομικά χαρακτηριστικά των λεπτών υμενίων επηρεάζουν την κυτταρική συμπεριφορά και πρέπει να πληρούν συγκεκριμένες κατασκευαστικές προϋποθέσεις για να αναστείλουν την κυτταρική προσκόλληση, τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση παραγόντων του αίματος που ενεργοποιούνται στην τοποθέτηση ξένου σώματος στα αγγεία, όπως μία μεταλλική ενδοπρόθεση. Η μέθοδος εναπόθεσης με ψεκασμό (Spraying Deposition) αποτελεί μία κοινή μέθοδος για την κατασκευή επικαλύψεων σε βιομηχανική κλίμακα. Πολυμερικά λεπτά υμένια με διαφορετικές αναλογίες και σε διαφορετικές συνθήκες ανάπτυξης μελετήθηκαν προκειμένου να συγκριθούν ως προς την κυτταρική προσκόλληση και πολλαπλασιασμό. Συγκεκριμένα, χρησιμοποιήθηκαν η Πολύ-καπρολακτόνη (Poly-caprolactone, PCL) και το Πολύ-(γαλακτικό-συν-γλυκολικό οξύ (Poly lactide-co-glycolyte acid, PLGA) στις αναλογίες (65:35, 75:25) και από χημικές ουσίες με αντιαιμοπεταλιακή δράση, τη Διπυριδαμόλη (Dipyridamole, DPM) και την Κουρκουμίνη (Curcumin, CCM).

Στο πρώτο στάδιο, για την παρασκευή των λεπτών υμενίων δοκιμάστηκαν πολυμερικά διαλύματα σε διάφορες συγκεντρώσεις (20:80, 25:75, 30:70), ώστε να βρεθεί η βέλτιστη για κάθε πολυμερές. Στο δεύτερο στάδιο έγινε ανάπτυξη διστρωματικών πολυμερικών υμενίων της βέλτιστης αναλογίας πολυμερών {PCL, PLGA (65:35), PLGA(75:25)} με διαφορετικές συνθήκες ψεκασμού. Η βελτιστοποίηση των συνθηκών ανάπτυξης λεπτών υμενίων, αποδείχτηκε πως αφορά κυρίως τη συγκέντρωση του πολυμερούς, την απόσταση οπής αερογράφου-επιφάνειας και την εφαρμοζόμενη πίεση εναπόθεσης υλικού στην επιφάνεια. Διαπιστώθηκε πως τόσο η απόσταση όσο και η πίεση ψεκασμού του υλικού

επηρεάζει το μέγεθος και το πλήθος των νανοπόρων που σχηματίζονται. Ακολούθησε μελέτη αποδέσμευσης των φαρμάκων από τα πολυμερικά υμένια σε PBS στους 37°C για 60 ημέρες, που απέδειξε το προφίλ αποδέσμευσης των φαρμάκων από τα πολυμερικά υμένια με τη βέλτιστη αναλογία πολυμερών και ανάπτυξη τους στις βέλτιστες συνθήκες ψεκασμού. Και στις δύο περιπτώσεις υπάρχει αρχικά το burst release, το οποίο όμως παρουσιάζει διαφορετικό ποσοστό αποδέσμευσης φαρμάκου που αποδεσμεύεται, ενώ η δεύτερη φάση χαρακτηρίζεται από ένα στάδιο πιο χαμηλής αποδέσμευσης που μπορούμε να το ορίσουμε ως “lag phase”. Τα λεπτά υμένια μελετήθηκαν, επίσης, ως προς την βιολογική απόκριση τους σε κυτταρικές σειρές. Ειδικότερα, τα βλαστικά κύτταρα οδοντικής σειράς (stem cells) καλλιεργήθηκαν στην επιφάνεια των λεπτών υμενίων για τρία χρονικά διαστήματα (24hrs, 4 μέρες, 6 μέρες), κι έγινε ποσοτική εκτίμηση των κυττάρων που αναπτύχθηκαν με την εφαρμογή του MTT πρωτόκολλου. Για την ολοκλήρωση της κυτταρικής μελέτης ελήφθησαν εικόνες με την Ηλεκτρονική Μικροσκοπία Σάρωσης (SEM) και με το οπτικό μικροσκόπιο. Τόσο από τη μελέτη MTT όσο και από τις εικόνες SEM διαπιστώνουμε διαφορετικά συμπεράσματα για την συμπεριφορά των υμενίων σε σχέση με την ανάπτυξη των κυτταρικών πληθυσμών.