



Materiali per “Soft Tissue”: Polimeri di Origine Naturale



POLISACCARIDI



I polisaccaridi



I polisaccaridi sono la classe piu' abbondante di biopolimeri naturali. Sono sintetizzati da piante, animali e microorganismi

Nelle piante cositutiscono fino al 90 % del peso secco. Negli animali la loro percentuale e' minore ma svolgono funzioni essenziali per la vita.

Funzioni:

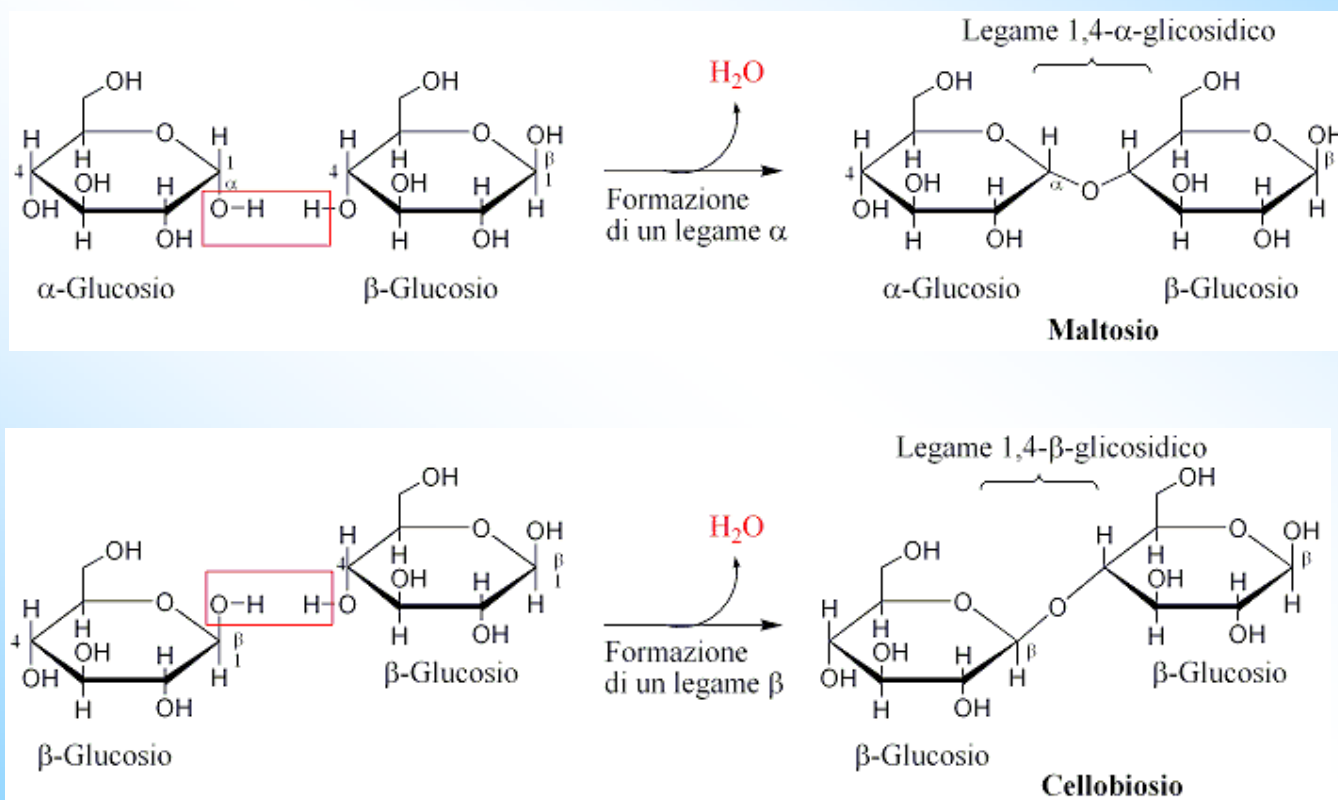
Deposito (es. Glucosio)

Strutturale (es Cellulosa)

Riconoscimento ed Adesione (es. Glicosamminoglicani)

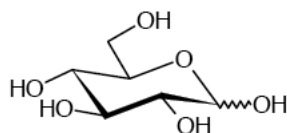
I polisaccaridi

I polisaccaridi sono formati da monosaccaridi legati tra loro da legami glicosidici. La diversa composizione monosaccaridica, il tipo di legame, il peso molecolare e la forma delle catene determina le loro proprietà fisiche quali la solubilità, la capacità di generare gel, proprietà di superficie

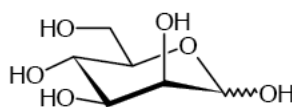




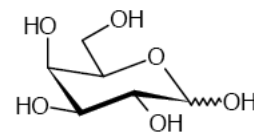
Monosaccharide structures found most commonly in polysaccharides



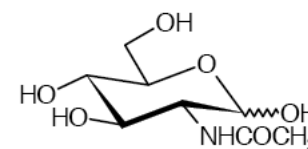
D-glucose
Glc



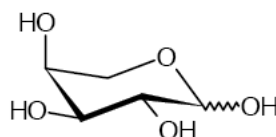
D-mannose
Man



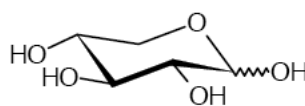
D-galactose
Gal



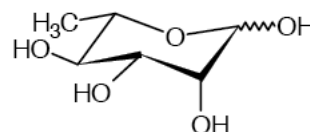
2-acetamido-2-deoxy-D-glucose
GlcNAc



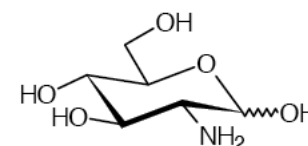
L-arabinose
Ara



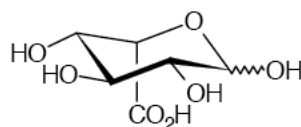
D-xylose
Xyl



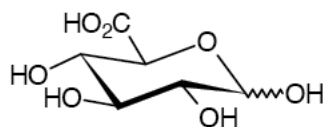
L-rhamnose
Rha



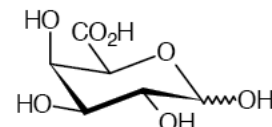
2-amino-2-deoxy-D-glucose
GlcN



L-iduronic acid
IdoA



D-glucuronic acid
GlcA



D-galacturonic acid
GalA



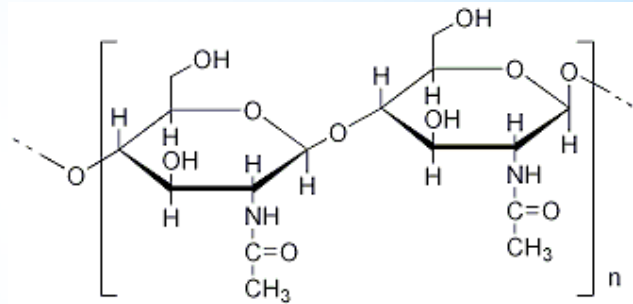
I polisaccaridi di origine animale

I polisaccaridi di origine animale piu' utilizzati in applicazioni di ingegneria tissutale sono:

Chitina e Chitosano

Acido ialuronico

Chitina



La chitina e' un polisaccaride naturale formato da residui di N-Acetil-D-glucosamina legati mediante legame β 1-4. Costituisce l'esoscheletro di crostacei ed insetti e la parete cellulari di funghi e lieviti.

E' insolubile nella maggior parte dei solventi organici e questa caratteristica rende molto difficile il suo utilizzo tal quale e la sua caratterizzazione chimico-fisica.

Ha una bassa tossicita' e risulta inerte nel tratto gastrointestinale dei mammiferi.

E' biodegradata ad opera di chitinasi e dai lisozimi



Chitina come materiale per l'Ingegneria Tissutale



Available online at www.sciencedirect.com

SCIENCE @ DIRECT®

Biomaterials 26 (2005) 4624–4632

Biomaterials

www.elsevier.com/locate/biomaterials

Chitin-based tubes for tissue engineering in the nervous system

Thomas Freier^{a,b}, Rivelino Montenegro^c, Hui Shan Koh^{a,b}, Molly S. Shoichet^{a,b,d,*}

^aDepartment of Chemical Engineering and Applied Chemistry, University of Toronto, 200 College Street, Toronto, Ont., Canada M5S 3E5

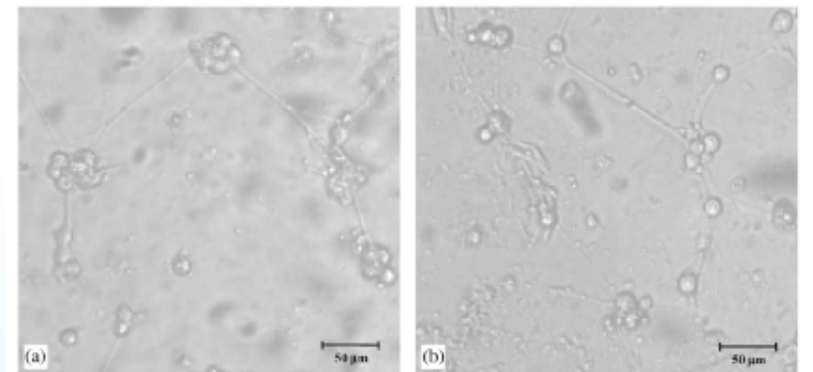
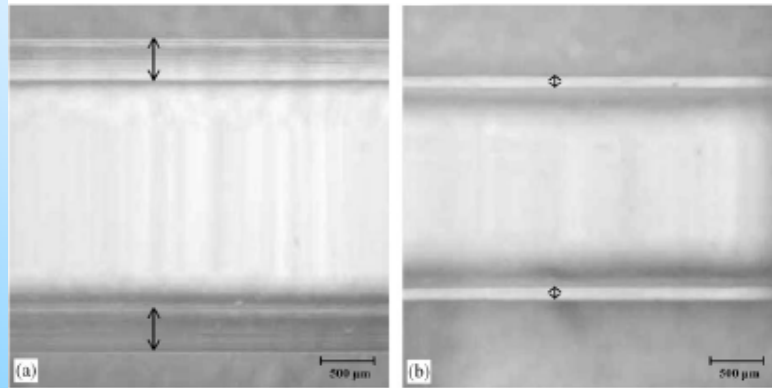
^bInstitute of Biomaterials and Biomedical Engineering, 4 Taddle Creek Road, Room 407, Toronto, Ont., Canada M5S 3G9

^cmatREGEN Corp., 200 College Street, Room 28, Toronto, Ont., Canada M5S 1A1

^dDepartment of Chemistry, University of Toronto, 80 St. George Street, Toronto, Ont., Canada M5S 3H6

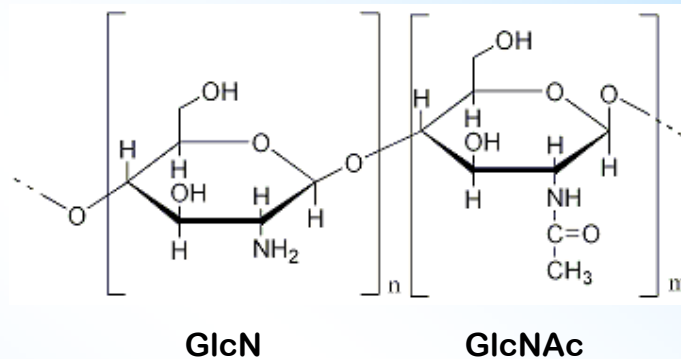
Received 13 August 2004; accepted 30 November 2004

Available online 13 January 2005



Higher amine content (lower degree of acetylation) leads to higher number of cells on material surface and longer neurites extensions.

Chitosano



$n > 40\%$

E' la forma totalmente o parzialmente deacetilata della chitina, ottenuta mediante idrolisi alcalina ad alta temperatura.

E' parzialmente solubile in acidi diluiti (es. Acido acetico)

Tipicamente I chitosani commerciali hanno grado di deacetilazione compreso tra 70 e 95% e pesi molecolari tra 10 e 1000 kDa.

Le proprieta' quali biodegradabilita' e biofunzionalita' dipendono dal grado di deacetilazione.

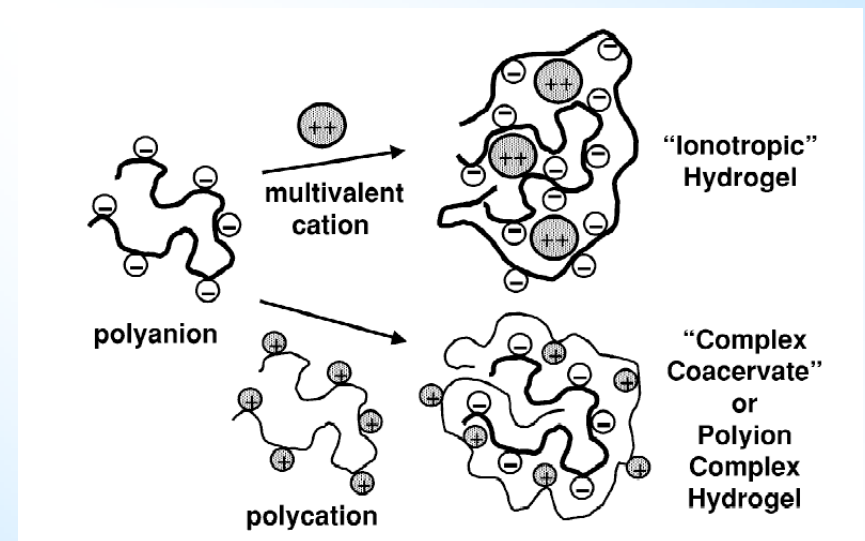
La presenza di gruppi amminici e idrossilici lo rende suscettibile di funzionalizzazione chimica.

Versatilita' nell'essere processato in forme diverse (fibre, spugne, membrane, idrogeli, beads)

Idrogeli Fisici a base di Chitosano

A $\text{pH} < 6$ i gruppi amminici liberi sono protonati ed il chitosano risulta solubile in soluzioni acide diluite.
L'alta densità di carica + in soluzione permette la formazione di complessi ionici insolubili con diverse specie di polianioni dando origine a idrogeli fisici.

This material gel by reacting with their counterions (*ionotropic*) or with another polymer that is oppositely charged (*complex coacervate or polyion*)





Scaffolds a base di Chitosano



Biomaterials 20 (1999) 1133–1142

Biomaterials

Porous chitosan scaffolds for tissue engineering

Sundararajan V. Madihally, Howard W.T. Matthew*

Department of Chemical Engineering & Materials Science, Wayne State University, 5050 Anthony Wayne Drive, Detroit, MI 48202, USA

Received 9 November 1998; accepted 13 January 1999

Scaffolds porosi di chitosano con diverse geometrie e porosita' sono preparati per congelamento e liofilizzazione controllata di soluzioni di chitosano e gels

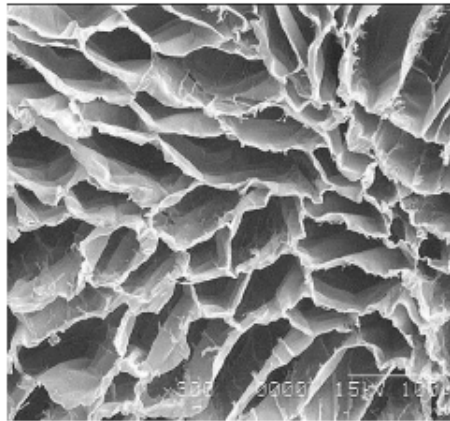
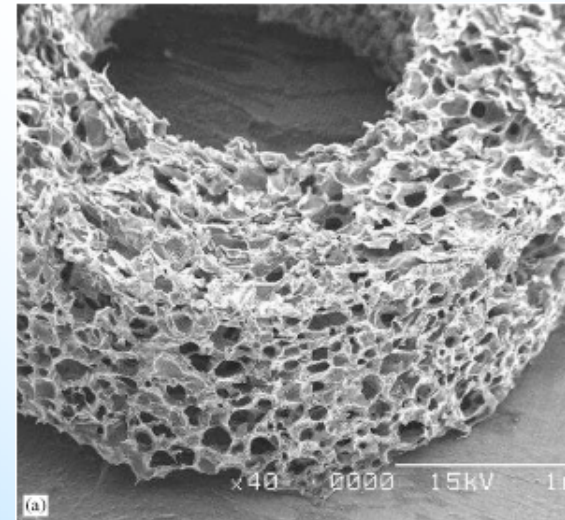


Fig. 3. SEM image of a bulk scaffold frozen in a planar geometry. A 2% chitosan solution was frozen in a shallow polystyrene dish by contact with dry ice. The lyophilized sample was sectioned parallel to the sample plane.





Scaffolds a base di Chitosano



Scaffolds porosi si possono ottenere anche per Internal Bubbling Process (IBP) mediante aggiunta di CaCO_3 .

La struttura altamente interconnessa dei pori che si generano e' importante per una buona colonizzazione delle cellule e per la loro migrazione nell'interno del supporto.

Scaffolds di chitosano sono degradati in vivo mediante idrolisi enzimatica (lisozimi)

Il tempo di degradazione e' inversamente proporzionale al grado di deacetilazione.



Nanofibre a base di Chitosano



Available online at www.sciencedirect.com

SCIENCE @ DIRECT®

Biomaterials 26 (2005) 6176–6184

Biomaterials

www.elsevier.com/locate/biomaterials

Electrospun chitosan-based nanofibers and their cellular compatibility

Narayan Bhattarai^a, Dennis Edmondson^a, Omid Veis^a, Frederick A. Matsen^b,
Miqin Zhang^{a,b,*}

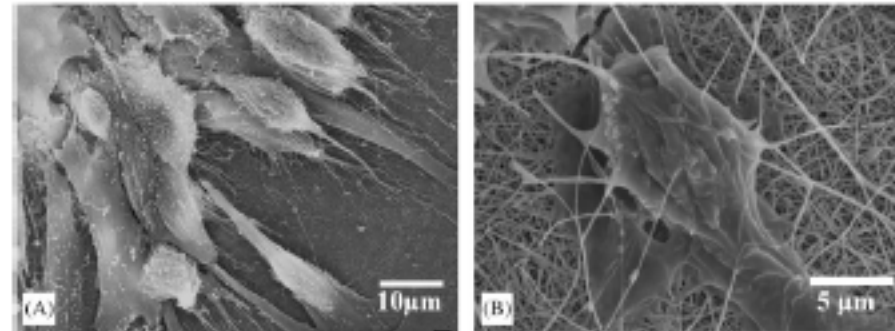
^aDepartment of Materials Science & Engineering, University of Washington, Seattle, WA 98195-2120, USA

^bDepartment of Orthopaedics and Sports Medicine, University of Washington, Seattle, WA 98195-6300, USA

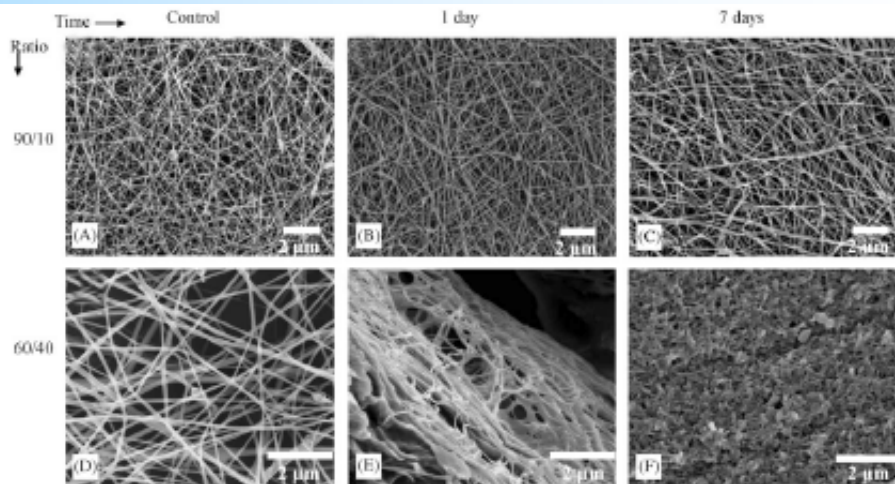
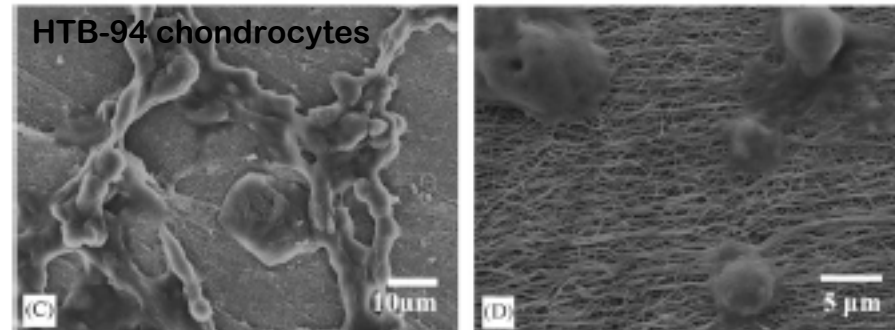
Received 4 January 2005; accepted 23 March 2005

Available online 10 May 2005

MG63 osteoblast



HTB-94 chondrocytes





Applicazioni del Chitosano: Pelle



Lo scopo dell'ingegneria tissutale della pelle e' di produrre rapidamente costrutti che permettano una completa rigenerazione della pelle e delle sue funzioni: barriera, formazione di pigmentazione per la protezione contro le radiazioni UV, termoregolazione, funzione meccanica ed estetica

Il ruolo dei sostituti della pelle e' quello di promuovere la rigenerazione delle ferite stimolando la produzione di diverse citochine. L'uso di sostituti contenenti fibroblasti accelera il processo di guarigione mediante la produzione di citochine che favoriscono il differenziamento e la rigenerazione del derma e la produzione di collagene.



Applicazioni del Chitosano: Pelle



Ueno et al 1999: (Chitosan-cotton) accelera il processo di guarigione promuovendo l'infiltrazione di cellule polimorfonucleate (PMN), evento essenziale per una rapida guarigione delle ferite.

Mizuno et al 2003: incorporazione di bFGF in supporti di chitosano promuove la rigenerazione della pelle.

Howling et al 2001: il chitosano ad alto grado di deacetilazione e' piu' biologicamente attivo rispetto a quello con minor grado o alla chitina. Questo grazie all'interazione elettrostatica del chitosano con I GAG (anionici)



Applicazioni del Chitosano: Cartilagine



L'ingegneria tissutale della cartilagine prevede l'isolamento dei condrociti articolari (o dei precursori), la loro espansione in vitro e la successiva semina su appropriati supporti biocompatibili che vengono poi impiantati.

La scelta del materiale e' fondamentale in quanto e' stato dimostrato che la ECM della cartilagine ha componenti come il collagene di tipo II e I GAG che regolano l'espressione del fenotipo dei condrociti.

Le somiglianze strutturali del chitosano con vari GAG della cartilagine articolare lo rende un materiale di elezione per questa applicazione.

L'ipotesi di molti autori e' che il chitosano e i suoi prodotti di degradazione possono essere utilizzati nella sintesi di componenti della matrice articolare quali condroitina, condroitina-solfato, dermatano e keratan- solfato e acido ialuronico.



Applicazioni del Chitosano: Cartilagine



Lu et al. 1999: dimostrano che una soluzione di chitosano iniettata nella cavita' articolare del ginocchio di ratto promuove un aumento significativo della densita' di condrociti nella cartilagine articolare, favorendo il processo di rigenerazione.

Sechriest et al 2000: la formazione di complessi insolubili tra chitosano e condroitin solfato protegge quest'ultimo dall'idrolisi e favorisce l'adesione dei condrociti, il mantenimento del loro fenotipo e la sintesi di collagene.

Yamane et al 2005: la coniugazione di chitosano con acido ialuronico origina una matrice biomimetica per i condrociti che sono in grado di aderire, proliferare e sintetizzare aggregati e collagene di tipo II.



Applicazioni del Chitosano: FEGATO



BAL (bioartificial liver) - trattamento della perdita di attività epatica fulminante. Il plasma del paziente è fatto passare mediante circolazione extracorporea attraverso un bioreattore contenente cellule epatiche metabolicamente attive.

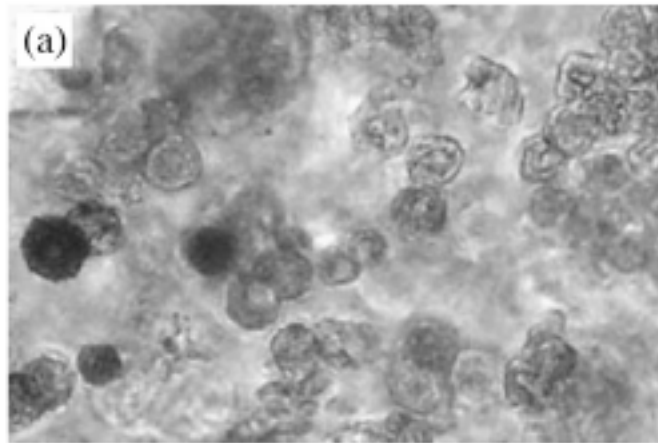
Gli epatociti sono cellule polarizzate che devono mantenersi tali anche in coltura per poter mantenere il loro fenotipo epatocitario.

Gli scaffold tridimensionali porosi sono molto promettenti come supporti per l'adesione e la crescita degli epatociti.

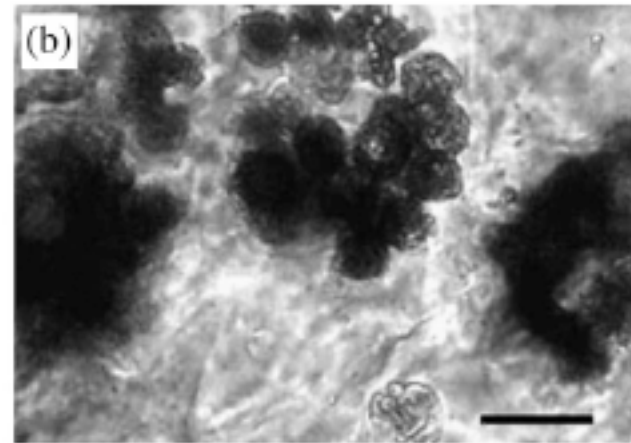
Applicazioni del Chitosano: FEGATO



Molto promettenti si sono rivelati scaffold a base di alginati e chitosano galattosilato, in grado quindi di interagire selettivamente con il recettore delle asialoglicoproteine (ASGP-R) presente sugli epatociti favorendo la formazione di sferoidi (Kim et al 2008).

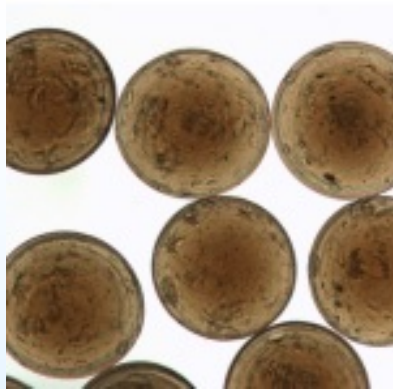


alginate

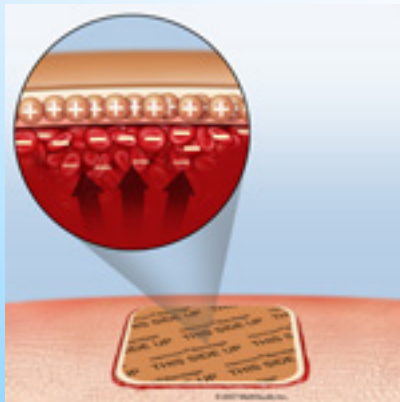


Alginate/chitosanogal.

Prodotti Commerciali a Base di Chitosano

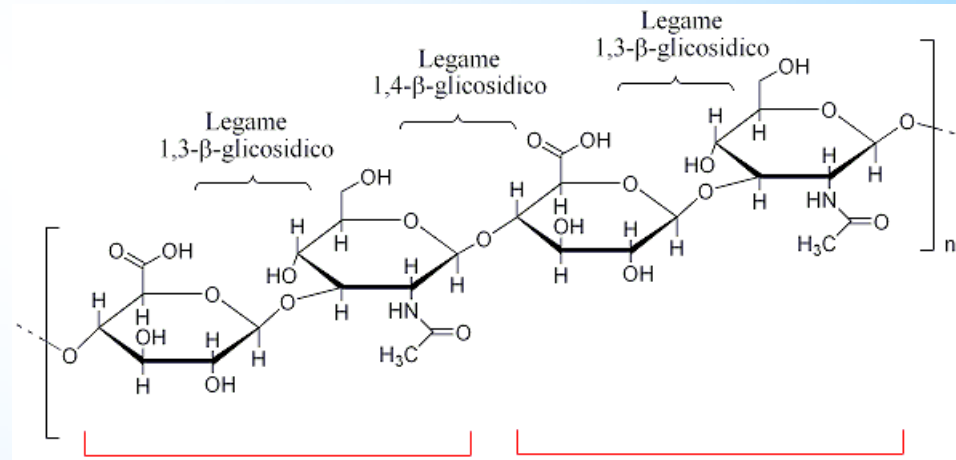


geniaBeads CN (Genialab): hydrogel beads for entrapment and release of various substances



HemCon bandage (HemCon Medical Technology): Chitosan positive charges attract red blood cells (negatively charged) which create a seal over the wound since they are drawn into the bandage, forming a tight coherent seal. Moreover it acts as antibacterial barrier. Time to hemostasis is reduced.

Acido ialuronico



L'acido ialuronico (HA) e' un biopolimero naturale la cui struttura molecolare e' altamente conservata nelle diverse specie di mammiferi.

E' composto da una unita' base di 2 monosaccaridi, l'acido glucuronico e la N-acetil-glucosamina. E' una molecola lineare non ramificata appartenente alla classe dei Glicosamminoglicani (GAG) e si ritrova nel tessuto connettivo, nei fluidi sinoviali nel corpo vitreo dell'occhio. In vivo si trova sottoforma di polianione.

Negli animali si ritrova sulla superficie dei fibroblasti che lo estrudono nella ECM insieme al suo recettore (CD-44). I fibroblasti producono anche la ialuronidasi che degrada l'acido ialuronico e riesono ad internalizzare sia l'HA che i suoi prodotti di degradazione.

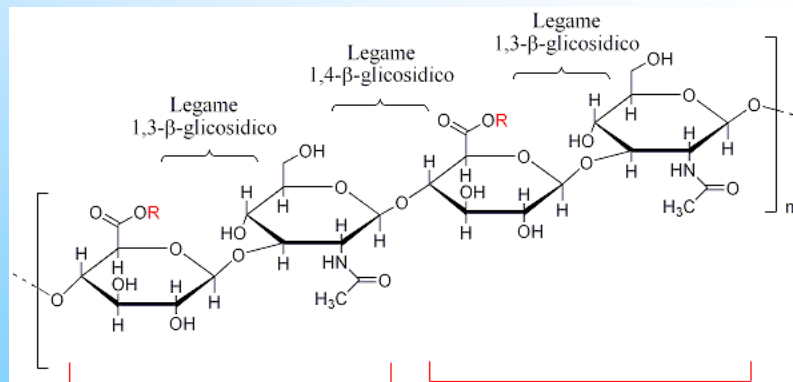
Proprieta' dell' Acido ialuronico



HA da origine a gel viscoelastici con proprieta' lubrificanti e "shock absorber". La stabilita' in acqua dei gel a base di HA e' tuttavia limitata pertanto viene modificato chimicamente per produrre esteri che permettono la reticolazione del polimero.

Esteri dell'alcol benzilico ed etilico sono prodotti commerciali noti come HYAFF 11 e HYAFF 7 prodotti dalla Fidia.

L'esterificazione determina una diminuzione della solubilita' in acqua per la diminuzione della carica negativa e l'introduzione di molecole idrofobe che interagendo tra loro determinano una maggiore rigidita' della molecola.



R= etile, benzile etc

Acido ialuronico Commerciale

Viene ottenuto da diverse fonti quali il cordone ombelicale, la cresta di gallo, i fluidi sinoviali o il corpo vitreo.

Inoltre puo' essere prodotti su larga scala attraverso la fermentazione microbica di batteri quali *Streptococci* dando origine ad un prodotto con caratteristiche altamente riproducibili che non presenta rischi di patogeni animali.

Table 1 Common tissue engineered products available at the time of writing

Acellular dermal replacements			Cellular dermal replacements		
Composition	Uses/Limitations	Source	Composition	Uses/Limitations	Source
De-epidermalised dermis			Whole skin		
Whole skin with cellular content removed by enzymatic digestion	Abnormal basement membrane profile, limited barrier function	National skin banks	Allogenic cadaver skin	Cuono technique, allogenic cells cause rejection	National skin banks
Integra®			TransCyte®		
Bovine collagen IV with chondroitin-6-sulphate, covered in silicone layer	Dermal matrix/scaffold with full barrier function	Integra Life Sciences Corp www.integra-ls.com	Nylon matrix cultured with neonatal fibroblasts <i>in vitro</i> before being frozen	Viable cellular dermal scaffold. No significant barrier function.	Smith & Nephew www.dermagraft.com
HYAFF® technologies, eg HYALOMATRIX®			Dermagraft®		
Hyaluronic acid (HA)-derived matrices with variable esterification for chemical stability. May be covered with silicone membrane.	Dermal matrix/scaffold of hyaluronan. Silicone membrane (where present) provides barrier function	Fidia Advanced Biopolymers srl	Polyglactic acid matrix with neonatal fibroblasts and keratinocytes	Lethally-treated (frozen) cellular product with developed dermis but no barrier function.	Smith & Nephew www.dermagraft.com
			HYAFF® technologies; HYALOGRAFT-3D®		
			Esterified hyaluronic acid matrix with fibroblasts	Living cellular product with good barrier function (silicone membrane) and developed dermis	Fidia Advanced Biopolymers srl
			Apligraf®		
			Collagen matrix with neonatal fibroblasts and keratinocytes	Living cellular product with good barrier function and developed dermis	Organogenesis Inc www.apligraf.com

Applicazioni dell'acido ialuronico: Pelle Artificiale

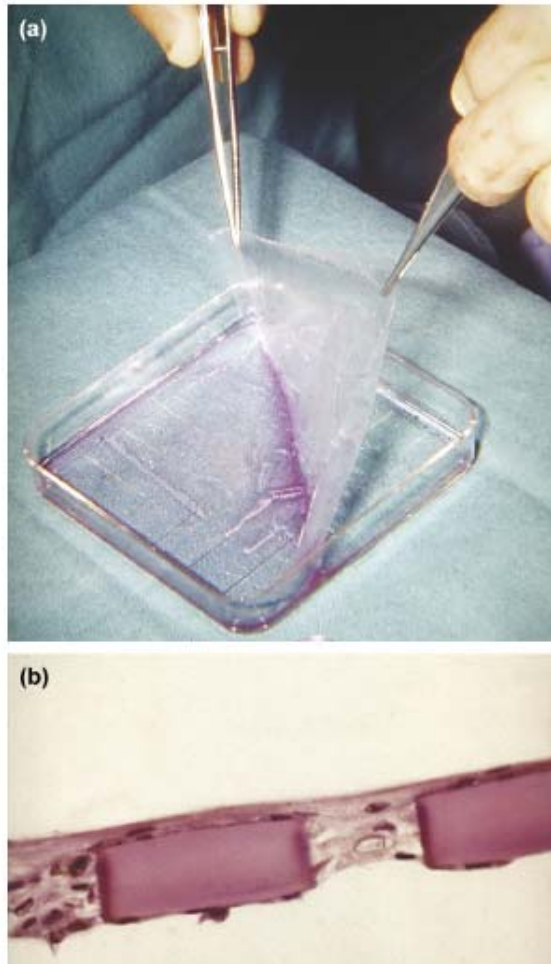


Figure 2 Laserskin®: (a) raw material, (b) photomicrograph of populated material demonstrating cells migrating through pores.

Laserskin (Fidia Advanced Biopolymers):

E' il primo esempio di applicazione commerciale dell'HA per il trasferimento di cheratinociti nel trattamento di ferite.

Si tratta di una membrana di HA esterificato con fori di 40-500 μm prodotti con laser. Su questa membrana vengono fatti aderire cheratinociti che riescono a migrare attraverso i pori nella ferita.

La co-cultura dei cheratinociti con fibroblasti ha dimostrato un miglioramento nella guarigione di ferite croniche o da ustioni.

La degradazione dell'estere benzilico HYAFF11 qui utilizzato da origine ad HA che viene metabolizzato attraverso i pathway fisiologici.

Applicazioni dell'acido ialuronico: Cartilagine



Biomaterials 23 (2002) 1187–1195

www.elsevier.com/locate/biomaterials

Biomaterials

Evidence for redifferentiation of human chondrocytes grown on a hyaluronan-based biomaterial (HYAFF®-11): molecular, immunohistochemical and ultrastructural analysis

Brunella Grigolo^a, Gina Lisignoli^a, Anna Piacentini^a, Mauro Fiorini^a, Pietro Gobbi^b, Giovanni Mazzotti^b, Manuela Duca^c, Alessandra Pavesio^c, Andrea Facchini^{a,d,*}

^a Laboratorio di Immunologia e Genetica, Istituto di Ricerca Correlata Patti, Istituto Ortopedico Rizzoli, Via di Barbiano 1/10, 40136 Bologna, Italy

^b Unità Complessa di Scienze Anatomiche Umane e Fisiopatologia dell'Apparato Locomotore, Università di Bologna Via Invernizzi 48, 40126 Bologna, Italy

^c Fidia Advanced Biopolymers, Via Ponte della Fabbrica 3/A, 35031 Abano Terme, Padova, Italy

^d Dipartimento di Medicina Interna e Gastroenterologia, Università di Bologna, Via Massarenti 9, 40138 Bologna, Italy

Received 2 January 2001; accepted 22 June 2001

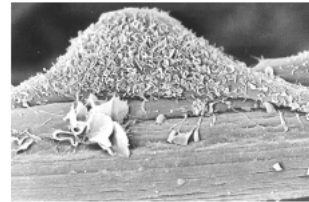


Fig. 2. Field emission in lens scanning microscopy (FESEM). Image of chondrocytes 24 h after seeding on HYAFF®-11. The round cell shape near the nucleus is evident (x 4000).

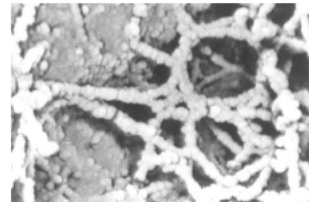


Fig. 3. The same image as Fig. 2. At higher magnification the presence of a filamentous secretion is evident. The surface arrangement of this secretion is characterized by the repetitive and regular alignment of globular structures (x 120,000).

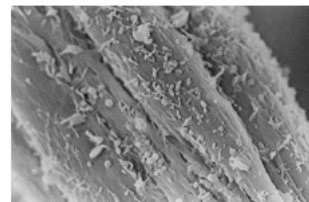


Fig. 4. Chondrocytes on HYAFF®-11 4 days after seeding. The complete masking of the substratum by the cells is clearly detectable. A reduction of membrane specialization is also evident (x 3500).

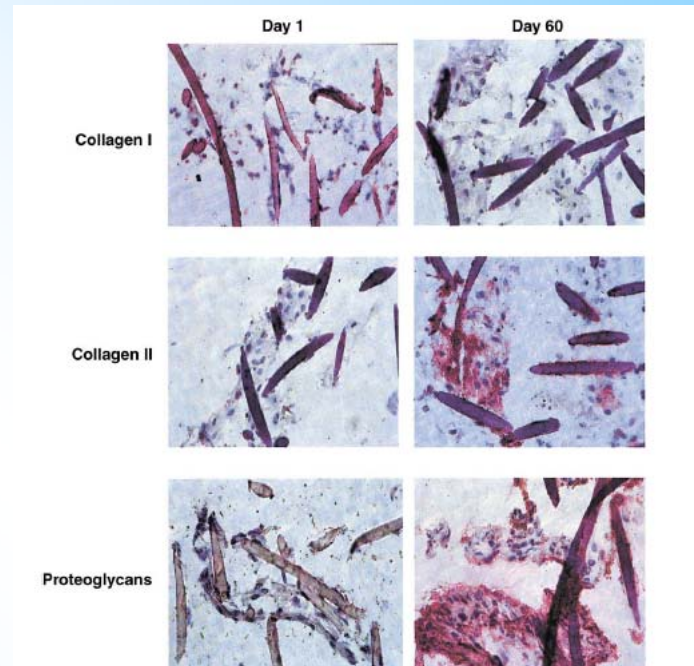


Fig. 10. Collagen I (upper panel), collagen II (middle panel), proteoglycans (lower panel) immunostaining of chondrocytes seeded on HYAFF®-11: 1 day and 60 days. The images are from one representative patient. Collagen types I, II and proteoglycans were developed using new fuchsin (red color or positive stain).

Condrociti umani cresciuti su scaffolds di HA sono in grado di proliferare e produrre collagene di tipo I e II in vitro. Questo sistema maturato in vitro quando impiantato in vivo ha dato ottimi risultati anche nei trials clinici sull'uomo.



Altre Applicazioni dell'acido ialuronico



L'HA ialuronico (spesso esterificato) ed usato in combinazione con diversi tipi di polimeri naturali e/o sintetici e' utilizzato anche in studi che riguardano l'ingegneria tissutale del fegato, dell'uretra, del glomerulo e delle cellule gliali.

E' inoltre utilizzato nella preparazione di sistemi per il rilascio controllato di farmaci e/o principi attivi.



Polisaccaridi di Origine Vegetale e Microbica.



Amido

Cellulosa

Alginati

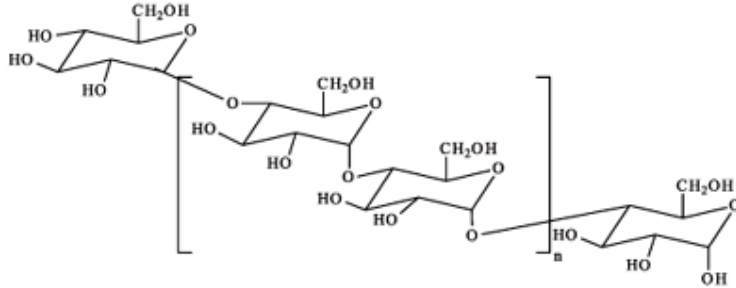
Agarosio

Carragenine

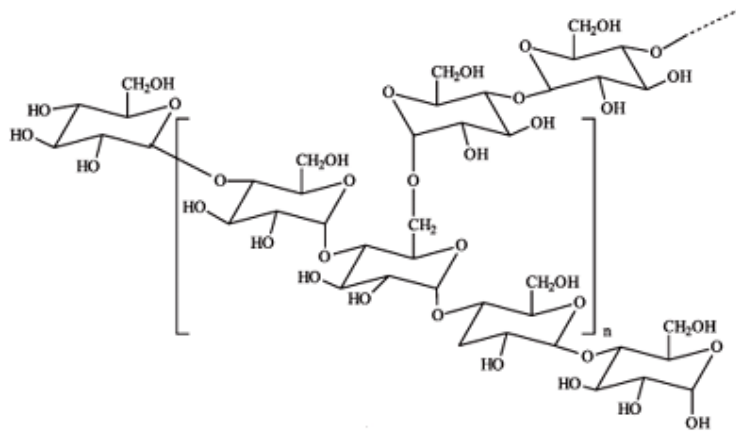
Destrano

Pullulano

Amido



Amylose



Amylopectine

L'amido e' uno dei polimeri naturali piu' promettenti grazie alla sua biodegradabilita', abbondanza in natura e ottenimento da fonti rinnovabili.

E' sintetizzato dalle piante che lo immagazzinano nei cloroplasti sottoforma di granuli, come fonte di riserva energetica.

I granuli sono costituiti dal 20-30% di amilosio e dal 70-80% di amilopectina

Amilosio: polimero lineare di glucosio legato mediante legami α 1-4 (left-handed helix)

Amylopectina: polimero ramificato di glucosio legato mediante legami α 1-4 e ramificazioni con legami α 1-6

L'amido nell'Ingegneria Tissutale



L'amido tal quale e' molto difficile da lavorare in quando molto fragile. Per la sua lavorazione vengono aggiunti plastificanti tra cui l'acqua, o alcoli a basso peso molecolare.

E' strategia comune inoltre quella di preparare miscele di 1 o piu' polimeri sintetici o naturali quali: Poli(caprolattone), Poli(etilene), Polisaccaridi, Proteine.

I prodotti di degradazione sono biocompatibili e danno origine a oligosaccaridi che vengono metabolizzati per produrre energia.

Starch-based matrices/scaffolds for drug and cell delivery described for different tissue engineering applications

Polymer(s)/carrier/ scaffold structure	TE application	Active biomolecule	Encapsulated/seeded cell type (source)	Animal model	References
Starch-based porous scaffolds	Bone	Non-steroid anti-inflammatory agent	—	—	[174]
Starch-based microparticles	Bone	Non-steroid anti-inflammatory agent	—	—	[180]
Starch-based microparticles	Bone	Corticosteroids	—	—	[181]
Starch-based microparticles	Bone	PDGF	—	—	[182]
Starch-based microparticles	Bone		Osteoblasts	—	[186]
Starch-based fiber mesh scaffolds	Bone		Bone marrow stromal cells	—	[187]
Starch-based fiber mesh scaffolds	Vascularization		Micro (HPMEC-ST1.6R) and macrovascular (HUVEC) endothelial cells	—	[185]

L'amido nell'Ingegneria Tissutale

JOURNAL OF MATERIALS SCIENCE: MATERIALS IN MEDICINE 16 (2005) 81–92

Surface modification of starch based blends using potassium permanganate-nitric acid system and its effect on the adhesion and proliferation of osteoblast-like cells

I. PASHKULEVA^{1,2}, A. P. MARQUES^{1,2}, F. VAZ³, R. L. REIS^{1,2,*}

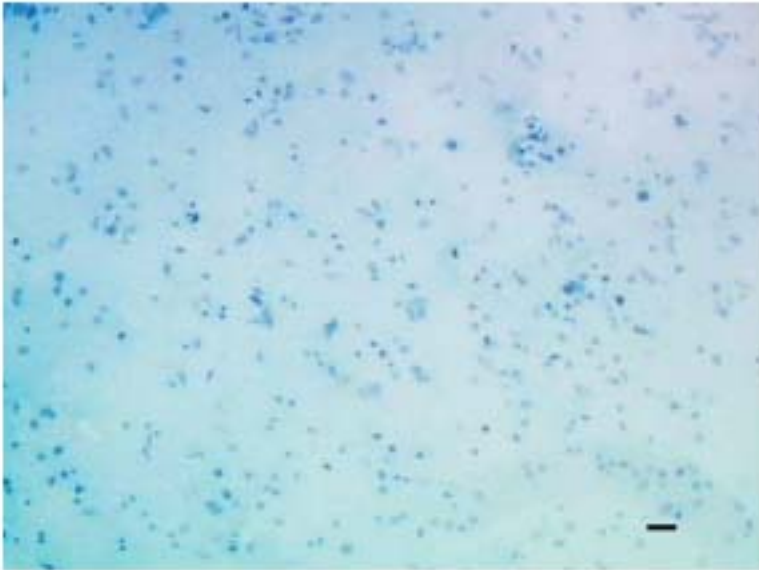
¹Department of Polymer Engineering, University of Minho, Campus de Azurém, 4800-058 Guimarães, Portugal

²3B's Research Group—Biomaterials, Biodegradables and Biomimetics, University of Minho, Campus de Gualtar, 4710-057 Braga, Portugal

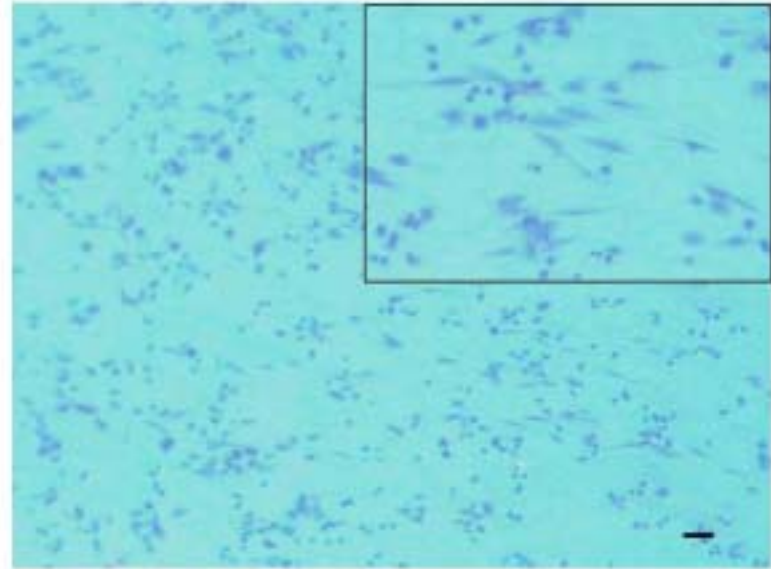
³Department of Physics, University of Minho, Campus de Azurém, 4800-058 Guimarães, Portugal

E-mail: rgreis@dep.uminho.pt

Miscele a base di amido sono modificate e rese piu' idrofile favorendo l'adesione e la proliferazione di osteoblasti.



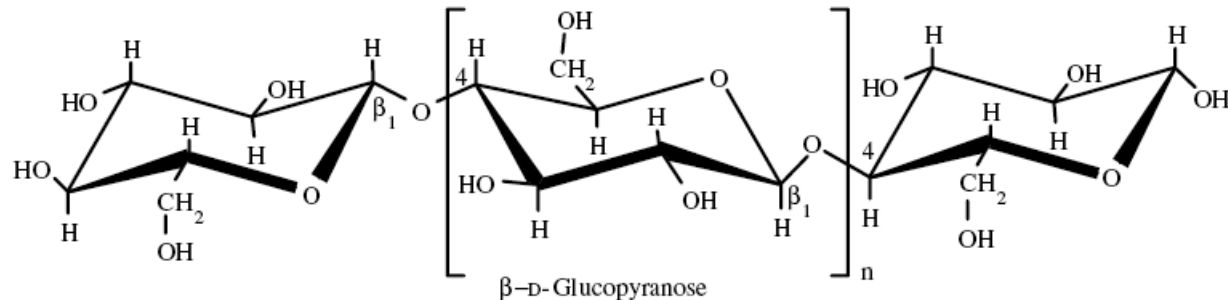
Amido



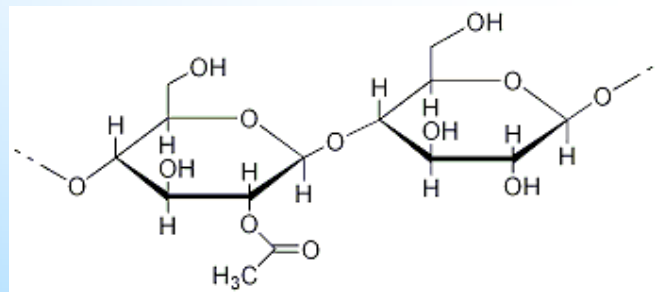
Amido modificato

Cellulosa

La cellulosa e' la componente strutturale primaria delle pareti cellulari delle piante ed e' un polimero lineare del glucosio legato da legami glicosidici β 1-4. E' altamente idrofila ma insolubile in acqua



I derivati della cellulosa come cellulosa rigenerata, acetato di cellulosa (CA) e carbossimetilcellulosa trovano applicazioni nell'ingegneria dei tessuti.





Available online at www.sciencedirect.com

SCIENCE @ DIRECT®

Biomaterials 25 (2004) 5753–5762

Biomaterials

www.elsevier.com/locate/biomaterials

Functional cardiac cell constructs on cellulose-based scaffolding

Emilia Entcheva^{a,b,*}, Harold Bien^a, Lihong Yin^a, Chiung-Yin Chung^a, Melissa Farrell^a, Yordan Kostov^{c,*}

^aDepartment of Biomedical Engineering, Stony Brook University, HSC T18-030, Stony Brook, NY 11794, USA

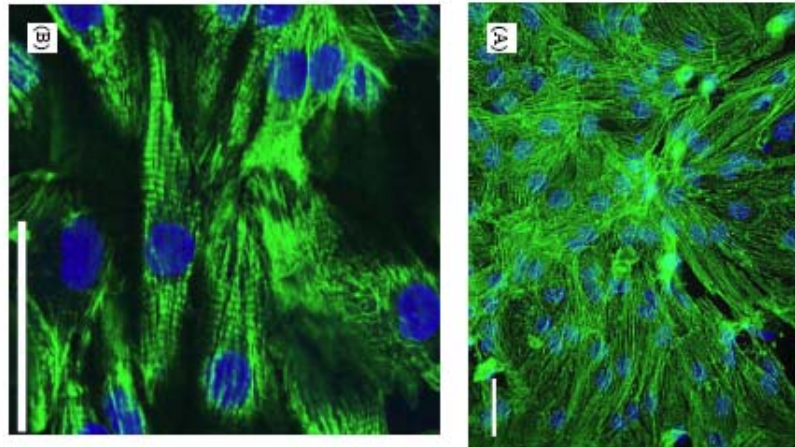
^bDepartment of Physiology and Biophysics, Stony Brook University, Stony Brook, NY 11794, USA

^cDepartment of Chemical and Biochemical Engineering, University of Maryland, Baltimore County, USA

Received 31 July 2003; accepted 20 January 2004

Scaffolds di acetato di cellulosa e cellulosa rigenerata sono in grado di sostenere l'adesione e proliferazione di cellule cardiache mature e funzionali (mioblasti cardiaci)

Fig. 3. Cytoskeleton maturity in C₄-grown myocytes. A and B shows well-packed myocytes at two different scales. F-actin is fluorescently labeled in green, nuclei—in blue using DAPI (A) or TOTO-3 (B). Scale bar is 50 μm.





Available online at www.sciencedirect.com

SCIENCE @ DIRECT®

Biomaterials 26 (2005) 419–431

Biomaterials

www.elsevier.com/locate/biomaterials

Bacterial cellulose as a potential scaffold for tissue engineering of cartilage

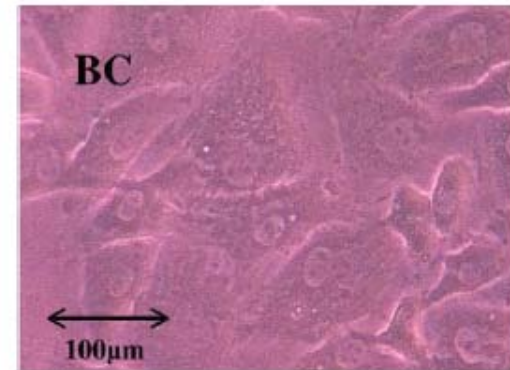
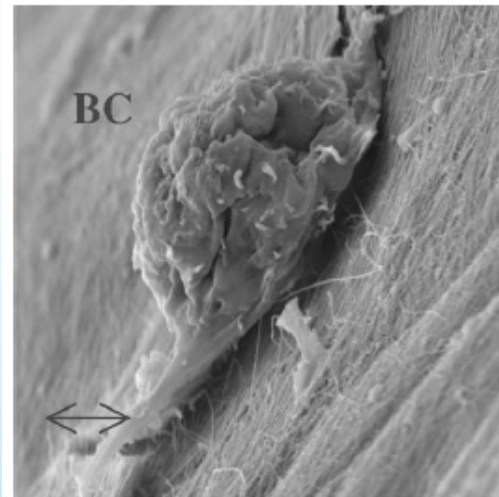
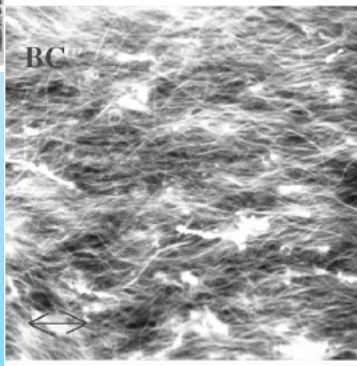
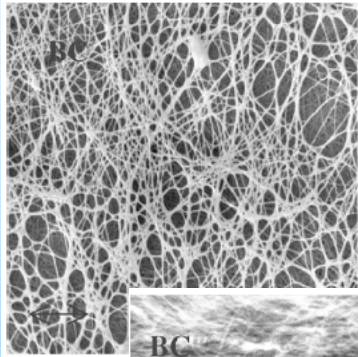
A. Svensson^{a,b}, E. Nicklasson^{b,c}, T. Harrah^a, B. Panilaitis^a, D.L. Kaplan^a,
M. Brittberg^c, P. Gatenholm^{b,*}

^a Department of Chemical and Biological Engineering, Tufts University, Boston, MA 02155, USA

^b Department of Material and Surface Chemistry/Biopolymer Technology, Chalmers University of Technology, SE-412 96 Gothenburg, Sweden

^c Department of Orthopaedics, Cartilage Research Unit, Göteborg University, Kungälv Hospital, SE-434 80 Kungälv, Sweden

Received 11 June 2003; accepted 19 February 2004



La cellulosa ottenuta da microorganismi permette l'adesione e la proliferazione di condrociti bovini e la sintesi di collagene di tipo II.



Alginato

Gli alginati sono tra i polimeri polisaccaridici più studiati per applicazioni di ingegneria tissutale.

Sono abbondanti in natura e costituiscono la componente strutturale delle alghe marroni e la capsula polisaccaridica di alcuni batteri del suolo.

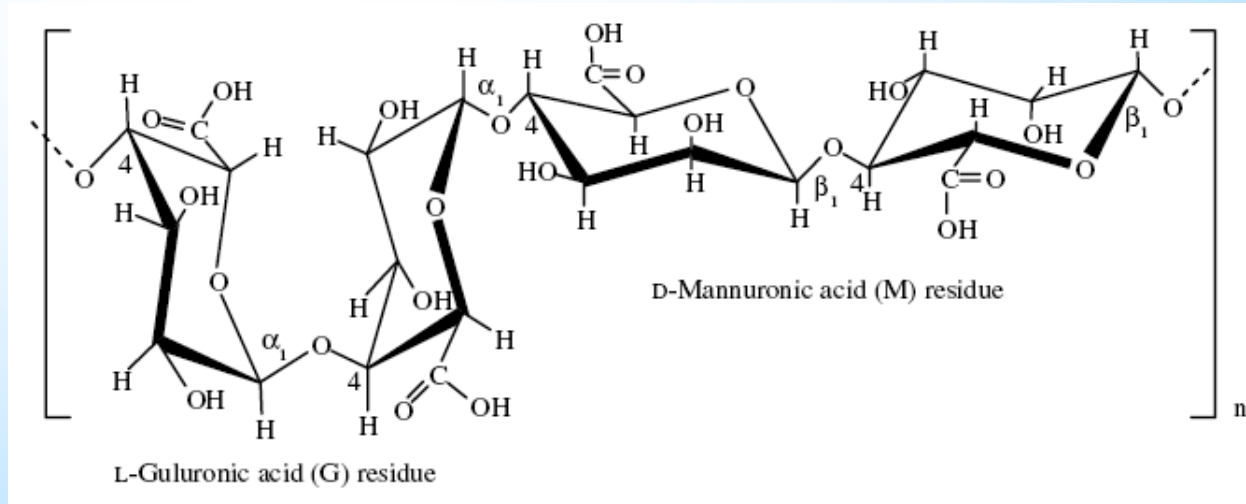
Le specie di alghe da cui si estraggono gli alginati commerciali sono la *Laminaria hyperborean*, l'*Ascophyllum nodosum* e la *Macrocystis pyrifera* dove l'alginato rappresenta il 40% del peso secco.

Gli alginati batterici sono estratti principalmente da *Azotobacter vinelandii* e *Pseudomonas*.



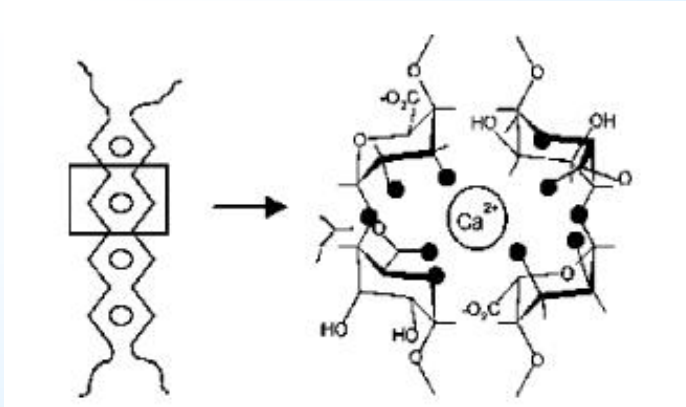
Alginato: Struttura Chimica

Gli alginati sono copolimeri a blocchi composti da regioni di acido β -D-mannuronico (M) e regioni di acido α -L-gulonico (G).



La lunghezza dei blocchi M e G e la loro distribuzione lungo la catena polimerica dipende dalla fonte da cui sono estratti.

Idrogeli Fisici a base di Alginato



Gli alginati vanno incontro a gelazione reversibile in soluzioni acquose attraverso l'interazione con cationi divalenti (tipicamente Ca^{2+}) che interagiscono in modo cooperativo con i blocchi G di catene adiacenti creando ponti ionici intercatena

Il network che si forma e' descritto come "egg-box model" e dipende dalla frequenza e dalla lunghezza dei blocchi G e dal tipo e concentrazione dei cationi utilizzati.

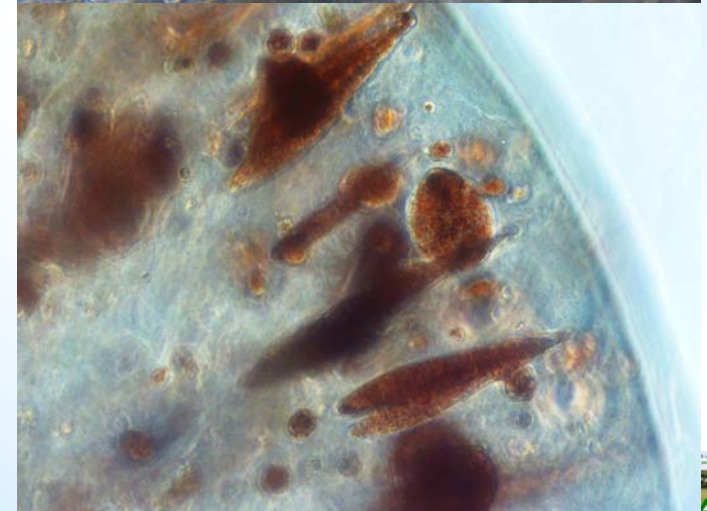
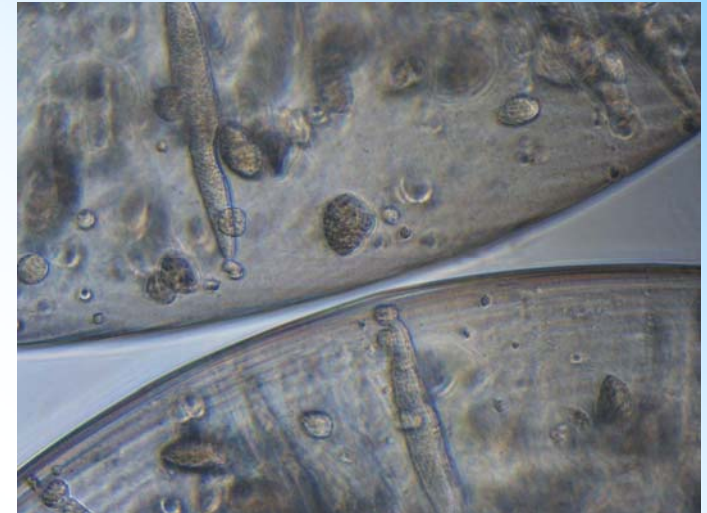
Gli alginati ricchi in blocchi G danno origine a idrogeli piu' resistenti e porosi che mantengono la loro integrita' per tempi piu' lunghi ed hanno un grado di rigonfiamento minore.

Beads di Alginato per Incapsulamento di Cellule

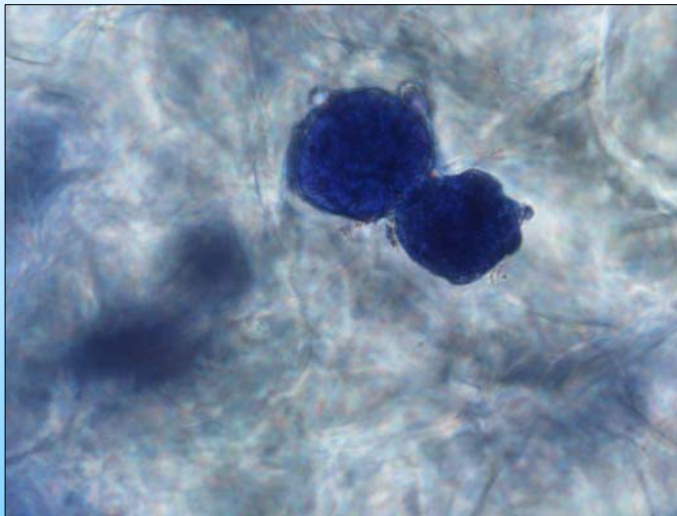
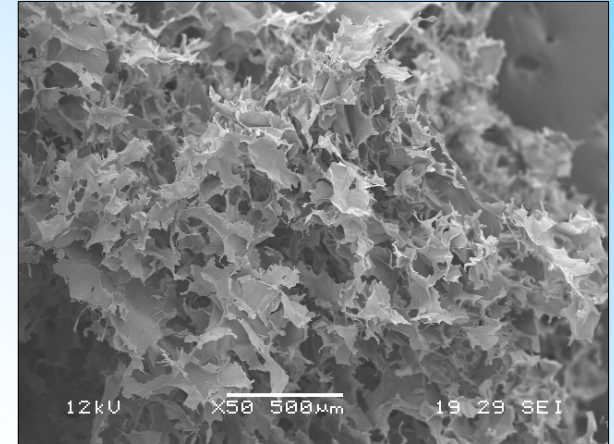
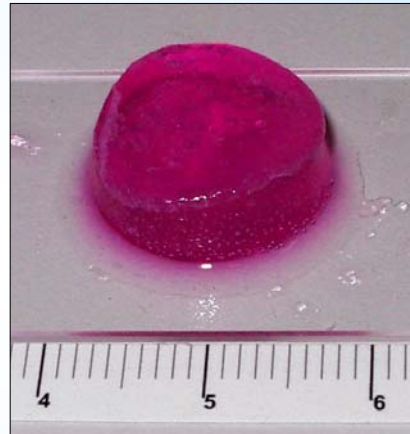
Tipicamente questi materiali sono utilizzati per incapsulare cellule.



HepG2 loaded alginate Beads



Scaffolds di Alginato



HepG2 sferoids into alginate based scaffolds

Applicazioni Alginato in Ingegneria Tissutale

Table 7

Alginate-based matrices/scaffolds for drug and cell delivery described for different tissue engineering applications

Polymer(s)/carrier/ scaffold structure	TE application	Active biomolecule	Encapsulated/seeded cell type (source)	Animal model	References
Alginate-chitosan fibers	Not defined	Dexamethasone, PDGF-BB	—	—	[140]
Alginate hydrogel	Bone/cartilage	BMP-2 gene	Bone marrow stromal cells	Mouse femoral muscle	[21]
Alginate beads	Cartilage	BMP-2	Human articular chondrocytes	—	[197]
Alginate beads	Cartilage	IGF-1, TGF- β 2 and FGF-2	Bovine articular chondrocytes	—	[198]
Alginate beads	Cartilage	rhOP-1 (medium)	Bovine articular chondrocytes	—	[199]
Alginate hydrogel and film	Cartilage	FGF-2 and TGF- β (medium)	Rabbit periosteal explants	—	[188,200]
Alginate beads	Cartilage	BMP-2,4,5,6,7	Chondrocytes (transfected)	Nude mice subcutaneous implantation	[201]
Alginate beads	Cartilage	TGF- β	—	Rabbit knee osteochondral defects	[202]
Alginate hydrogel	Cartilage	TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3 or BMP-2	Bovine synovium-derived progenitor cells	—	[203]
Alginate beads	Cartilage	Human platelet supernatant	Human articular chondrocytes	—	[204]
Alginate beads	Cartilage	Porcine platelet-rich plasma	Porcine articular chondrocytes	—	[205]
Alginate beads	Vascularization	bFGF, VEGF, EGF	—	Rat myocardial infarction	[206]
Alginate hydrogel	Vascularization	VEGF and bFGF	—	Nude mice subcutaneous implantation	[207]
Alginate beads with bioactive glass	Vascularization	VEGF conditioned medium	Human CCD-18Co fibroblast cells and HDMECA	—	[208]
Alginate gels in PP and PS hollow-fibers	Vascularization	Endothelial cell growth supplement	—	Rat subcutaneous implantation	[209]
Alginate beads	Peripheral nerve regeneration	BDNF	—	Rat sciatic nerve	[210]
Alginate hydrogels with RGD-containing peptides	Bone	BMP-2 and TGF- β 3	Rat bone marrow stromal cells	Nude mice subcutaneous implantation	[211]
Alginate hydrogel	Intervertebral disc	TGF- β 1	Human intervertebral disc cells	—	[29,30,212]
Alginate beads and disks	Cartilage	—	Human adipose-derived adult stem cells	Nude mice subcutaneous implantation	[48,213]
Alginate hydrogel	Cartilage	Glucose (medium)	Cattle articular chondrocytes	—	[214]
Alginate freeze-dried sponges and combined with hyaluronic acid	Cartilage	—	Rat chondrocytes	Rat full-thickness cartilage defect	[215]
Alginate hydrogel in Ethisorb210	Cartilage	—	Bovine articular chondrocytes	Nude mice subcutaneous implantation	[216]
Alginate hydrogel	Cartilage	—	Bovine articular chondrocytes	—	[101,194]
Alginate gel alone and in PGA-PLA pads	Cartilage	—	Rabbit rib chondro-progenitor cells	Rabbit knee osteochondral defects	[217]
Alginate-chitosan microcapsules	Bone/cartilage	—	Human bone marrow cells and human articular chondrocytes	Nude mice subcutaneous implantation	[218]
Oxidized alginate injectable hydrogel	Liver	—	Rat hepatocytes	—	[189]
Alginate beads	Pancreas	—	Murine insulinoma β TC3 cells	—	[193]



Available online at www.sciencedirect.com

SCIENCE @ DIRECT®

Biomaterials 25 (2004) 887–894

Biomaterials

www.elsevier.com/locate/biomaterials

A rapid-curing alginate gel system: utility in periosteum-derived cartilage tissue engineering

Molly M. Stevens^a, Hala F. Qanadilo^a, Robert Langer^a, V. Prasad Shastri^{b,*}

^aDepartment of Chemical Engineering, Massachusetts Institute of Technology (MIT), 45 Carleton Street, Cambridge, MA 02139, USA

^bDepartment of Materials Science and Engineering, School of Medicine, University of Pennsylvania, 3231 Walnut Street, Philadelphia, PA 19104, USA

Received 16 March 2003; accepted 14 July 2003

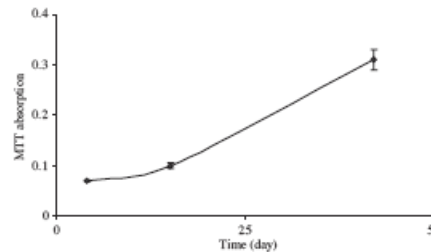
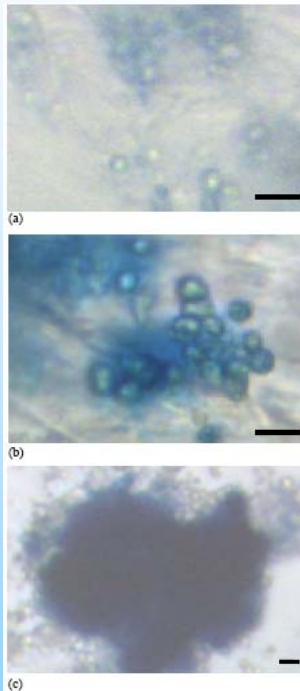
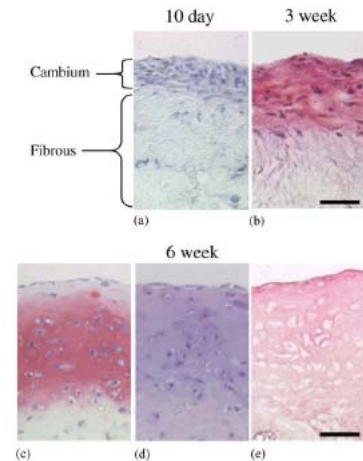


Fig. 3. Growth curve for chondrocytes cultured in alginate gel prepared by mixing 2% (w/v) G2 and 75 mM CaCl_2 solutions. The MTT absorption was measured at 570 nm.



Idrogeli fisici di alginato e CaCl_2 supportano la condrogenesi derivata dal periostio con produzione di cartilagine ialina e collagene di tipo II.



Prodotti Commerciali a Base di Alginato

Prodotti per il trattamento di ferite: Nu-Derm (J&J)



Ingegneria Tissutale della Cartilagine Articular Engineering LCC-USA

New Cartilage Products from Articular Engineering

AE Cartilage Products offer:

- Standardized testing platform
- Strict quality control
- Lot-to-lot consistency

Ordering Information

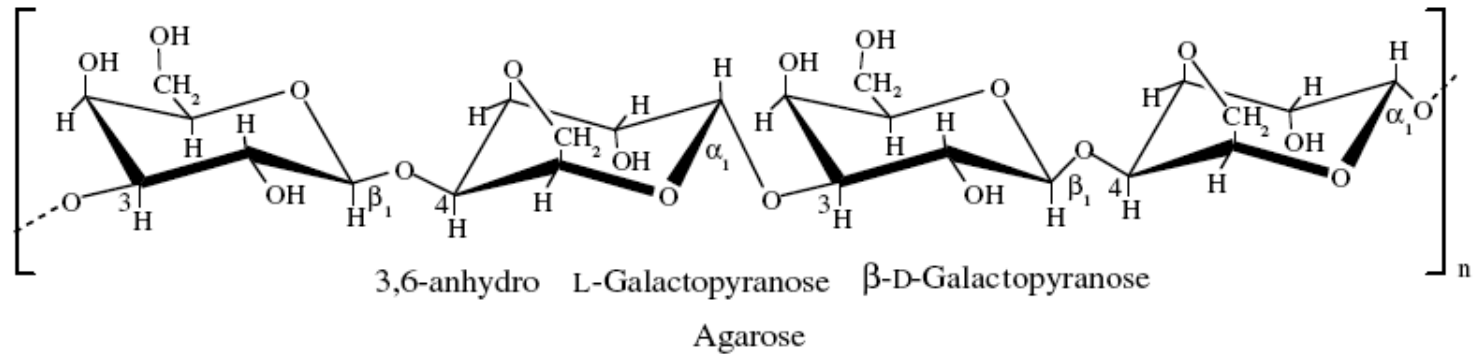
Description	Format	Cat. No.
AE Engineered Tissue, ARC™ Cartilage		
Bovine Engineered Tissue, ARC™ Cartilage	any format	CDD-B-1000
Human Engineered Tissue, ARC™ Cartilage	any format	CDD-H-2000
Human Engineered Tissue, ARC™ Cartilage, OA+	any format	CDD-H-2001
Human Engineered Tissue, ARC™ Cartilage, RA+	any format	CDD-H-2002

Source: Bovine metacarpophalangeal joint; Bovine Stifle Joint, Human knee joint

Description: ARC™ Cartilage is an engineered tissue prepared via the alginate-recovered-chondrocyte or ARC™ method. The ARC™ method is a 2-step process in which chondrocytes are first cultured in a suspension of alginate beads, promoting a rich extracellular matrix. In the second step cells are seeded on a semi-porous membrane to form a three dimensional tissue. The engineered tissue retains many of the characteristics of native cartilage, yet is highly homogenous, both between sample-to-sample and lot-to-lot. ARC™ Cartilage is sliced into 3x3mm squares for culture in 12-, 24-, 48- or 96-well plates (other formats available).

Usage: ARC™ Cartilage can be used in place of other cartilage systems including explant and monolayer cultures. ARC™ Cartilage is ideal for drug screening and testing of growth factors, hormones or chemical compounds.

Agarosio



Polisaccaride estratto dalle alghe rosse, in cui l'unita' strutturale e' L-galattosil-3,6-anidro-L-galattosio. Forma gel termoreversibili, e' biocompatibile ed inerte.

Freeze-dried agarose scaffolds with uniaxial channels stimulate and guide linear axonal growth following spinal cord injury

Shula Stokols^a, Mark H. Tuszynski^{b,c,*}

^aDepartment of Bioengineering, University of California–San Diego, La Jolla, CA 92093, USA

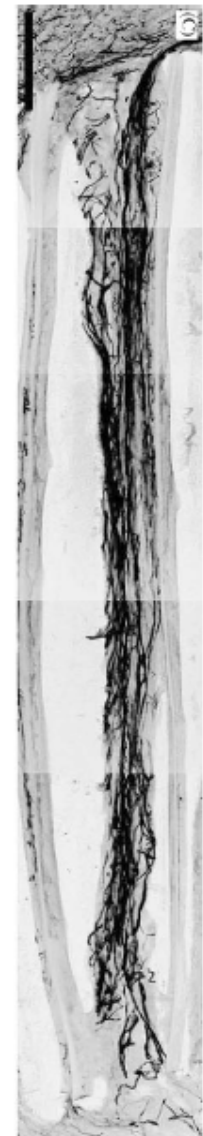
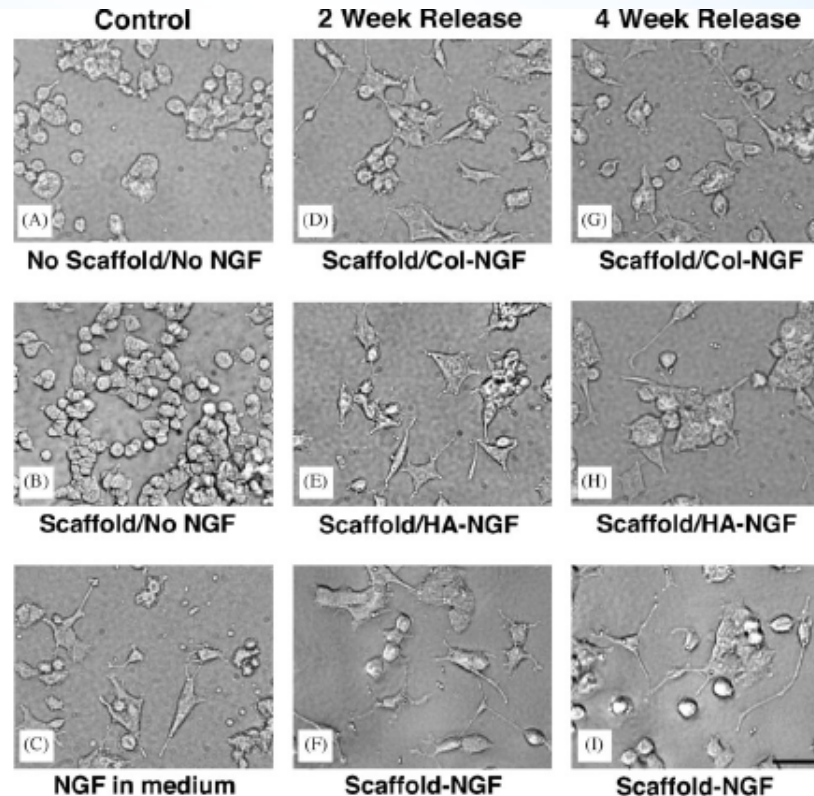
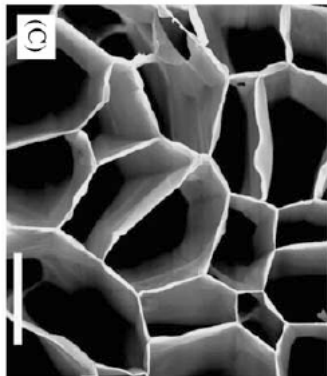
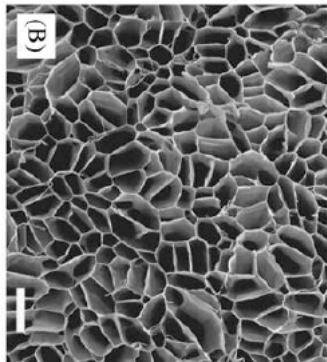
^bDepartment of Neuroscience, University of California–San Diego, La Jolla, CA 92093, USA

^cVeterans Affairs Medical Center, San Diego, CA 92161, USA

Received 29 June 2005; accepted 30 June 2005

Available online 15 August 2005

Gel di agarosio porosi mediante ottenuti mediante freeze-drying caricati con fattori di crescita per la crescita fibre nervose





Available online at www.sciencedirect.com

SCIENCE @ DIRECT®

Biomaterials 27 (2006) 371–376

Biomaterials

www.elsevier.com/locate/biomaterials

Three-dimensional culture of human disc cells within agarose or a collagen sponge: assessment of proteoglycan production

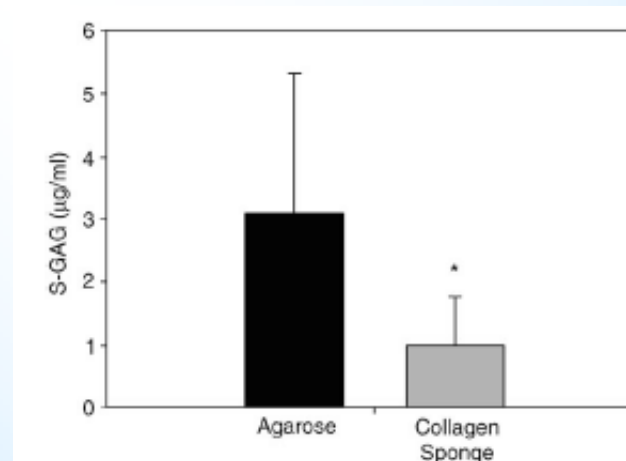
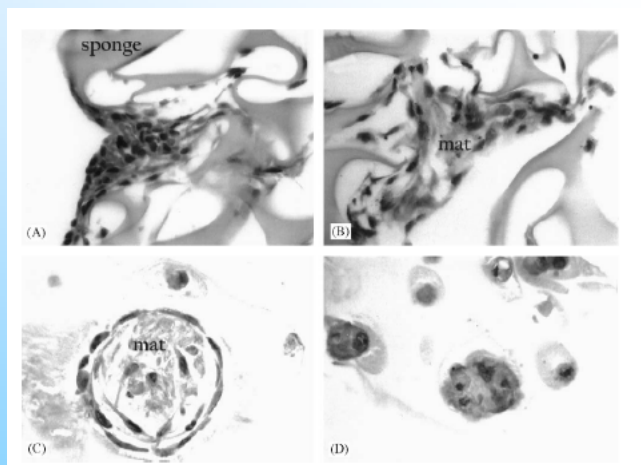
Helen E. Gruber*, Gretchen L. Hoelscher, Kelly Leslie, Jane A. Ingram, Edward N. Hanley Jr

Department of Orthopaedic Surgery, Carolinas Medical Center, Cannon Building, 3rd floor, P.O. Box 32861, Charlotte, NC 28232, USA

Received 27 June 2005; accepted 30 June 2005

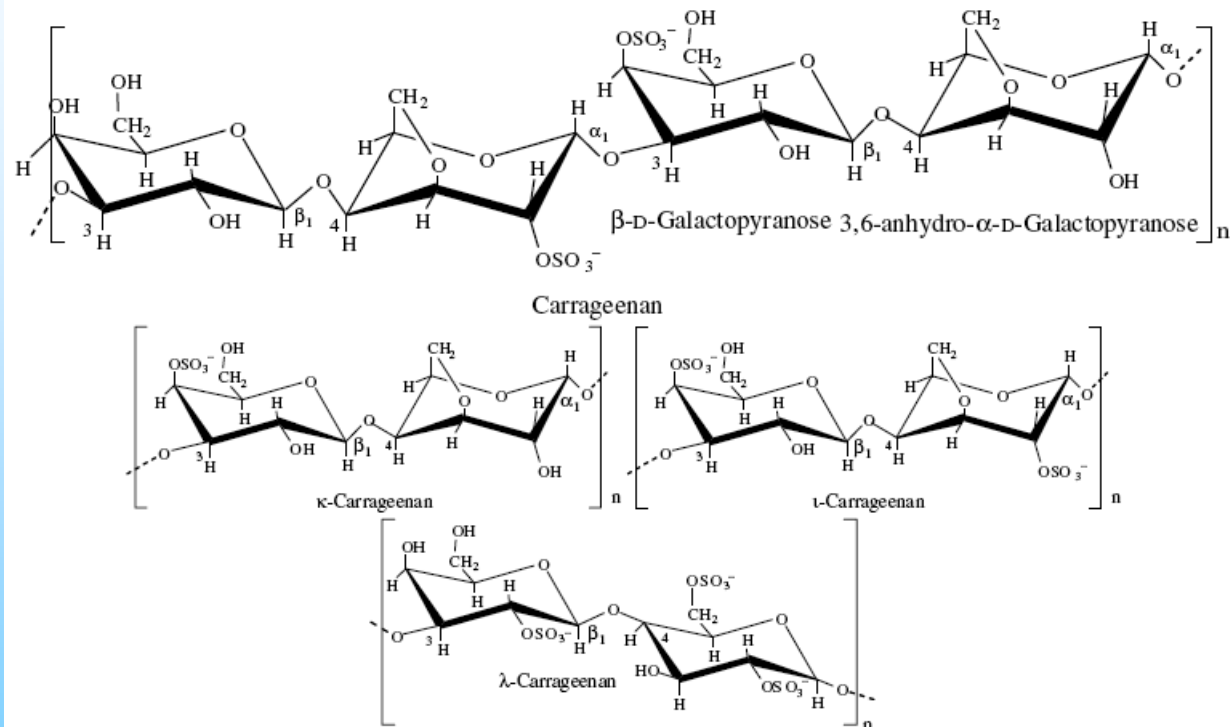
Available online 11 August 2005

Crescita di cellule umane del disco intervertebrale e produzione di proteoglicani su spugne di collagene o agarosio. Le cellule nell'agarosio proliferano di meno rispetto al collagene ma producono piu' proteoglicani,



Carragenine

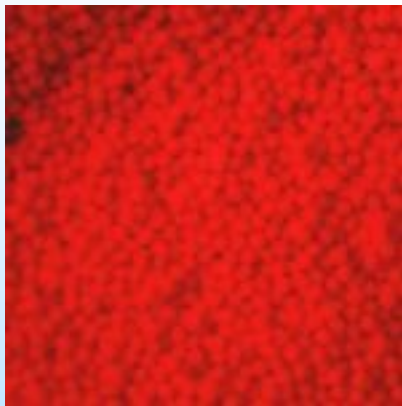
Le carragenine sono polisaccaridi lineari solfatati estratti dalle pareti cellulari di alcune alghe rosse (*Rhodophyceae*). Strutturalmente sono formate da β -D-galattosio solfato e α -D-galattosio 3,6 anidro con legami β 1-4 e α 1-3. In base al pattern di gruppi solfonici presenti si identificano 3 tipi: κ , ι , λ . A T ambiente formano gel che sono termoreversibili con potassio o sodio ed hanno proprieta' tixotropiche





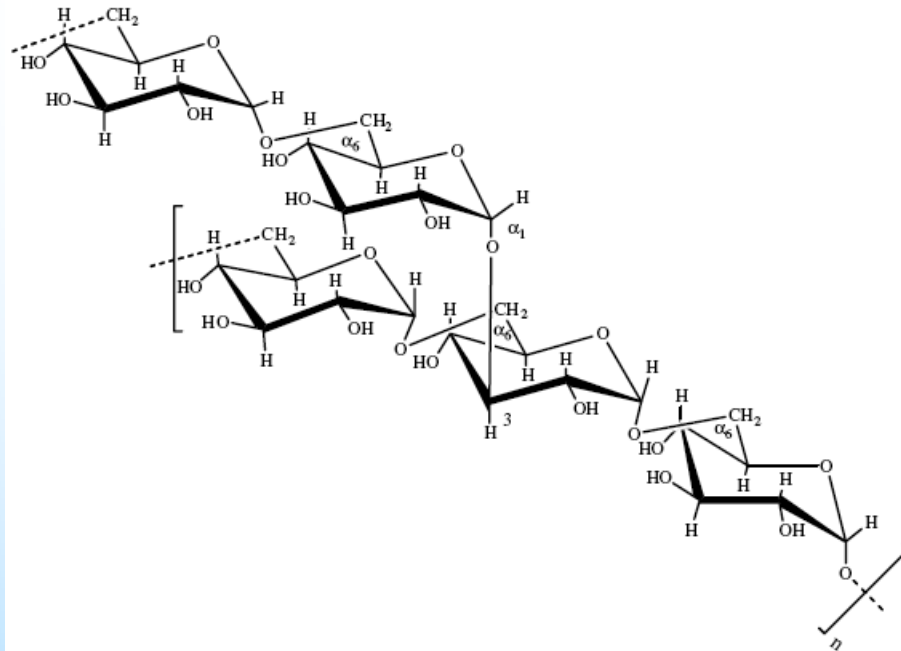
Applicazioni delle Carragenine

Tipicamente questi gel sono utilizzati nell'industria alimentare. In ambito biomedico trovano applicazioni per l'incapsulamento di cellule e per i sistemi a rilascio controllato.



Genialab produce un prodotto commerciale genia-Beads CG che sono particelle che possono essere caricate con pigmenti.

Destrano



Il destrano e' un polimero ramificato ad alto peso molecolare prodotto da diverse specie batteriche a partire dal saccarosio mediante l'azione dell'enzima destransucrasi.

E' costituito da D-glucosio legato mediante legami α 1-6 con ramificazione con legami α 1-3.

E' biocompatibile e biodegradabile.

E' utilizzato come sostituto del sangue e plasma expander.



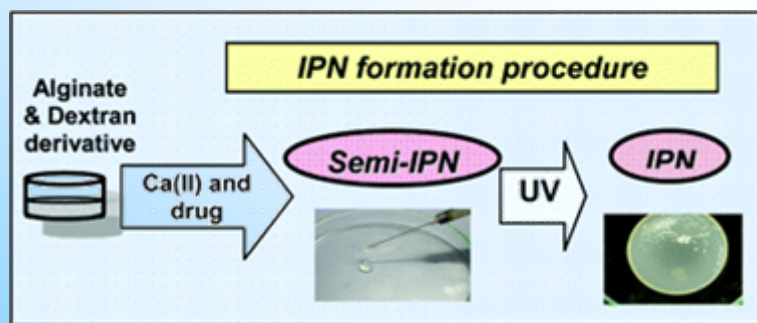
Biomacromolecules 2008, 9, 2014–2020

In Situ Cross-Linkable Novel Alginate-Dextran Methacrylate IPN Hydrogels for Biomedical Applications: Mechanical Characterization and Drug Delivery Properties

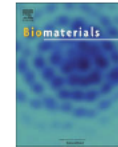
Pietro Matricardi,^{*,†} Marilena Pontoriero,[‡] Tommasina Coviello,[†] Maria Antonietta Casadei,[†] and Franco Alhaique[†]

Department of Chemistry and Technology of Biologically Active Compounds, Faculty of Pharmacy, "Sapienza" University of Rome, P.le Aldo Moro 5, 00185 Rome, Italy, and Department of Clinical and Experimental Medicine, School of Medicine, University "Magna Graecia" of Catanzaro, v.le Europa Loc. Germaneto, 88100 Catanzaro, Italy

Received March 7, 2008; Revised Manuscript Received May 12, 2008



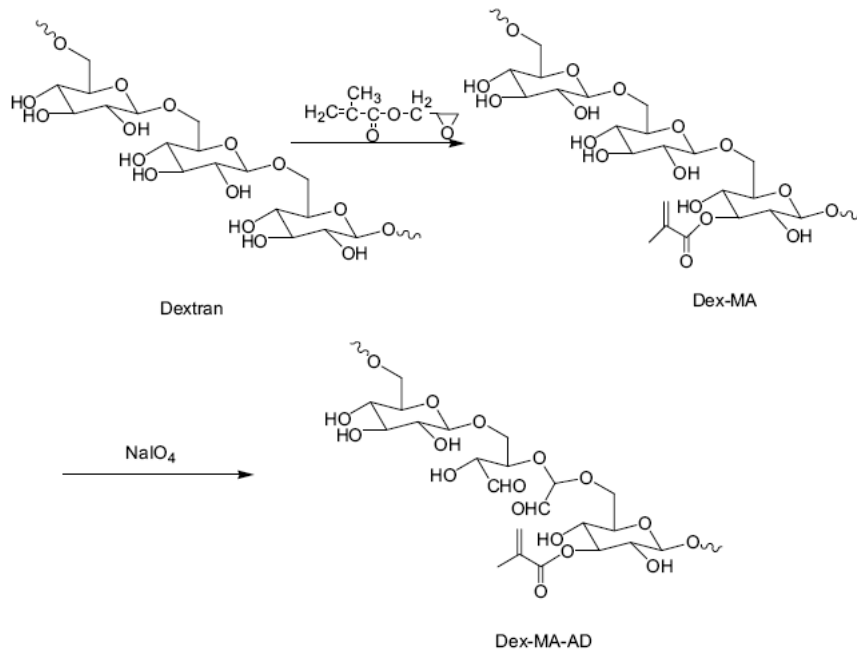
Preparazione di idrogeli a base di alginato e destrano per il rilascio di proteine



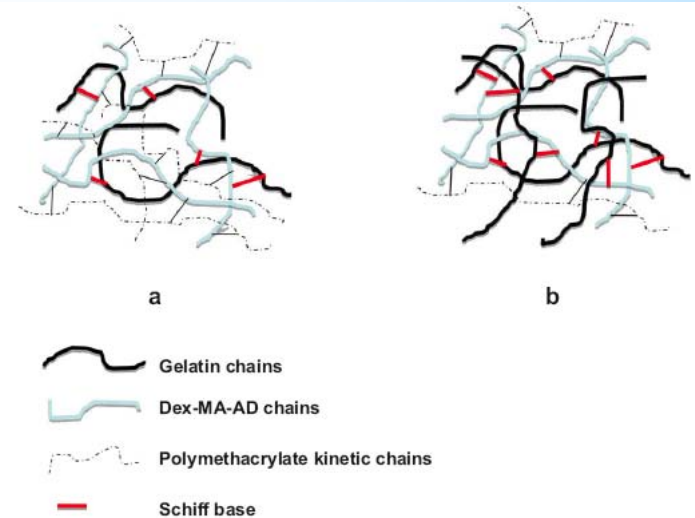
Hydrogel based on interpenetrating polymer networks of dextran and gelatin for vascular tissue engineering

Yunxiao Liu, Mary B. Chan-Park*

School of Chemical and Biomedical Engineering, Nanyang Technological University, 62 Nanyang Drive, Singapore 637459, Singapore



Scheme 1. Synthesis of Dex-MA-AD.



Scheme 2. IPNs hydrogel networks formed by photopolymerization of Dex-MA-AD with low (a) and high (b) amounts of gelatin.



Table 1
Compositions of hydrogels.

Sample	Concentration (mg/ml)		
	Dex-MA-AD	Gelatin	Total
D-A	60	0	60
D-G-2	60	20	80
D-G-4	60	40	100
D-G-6	60	60	120

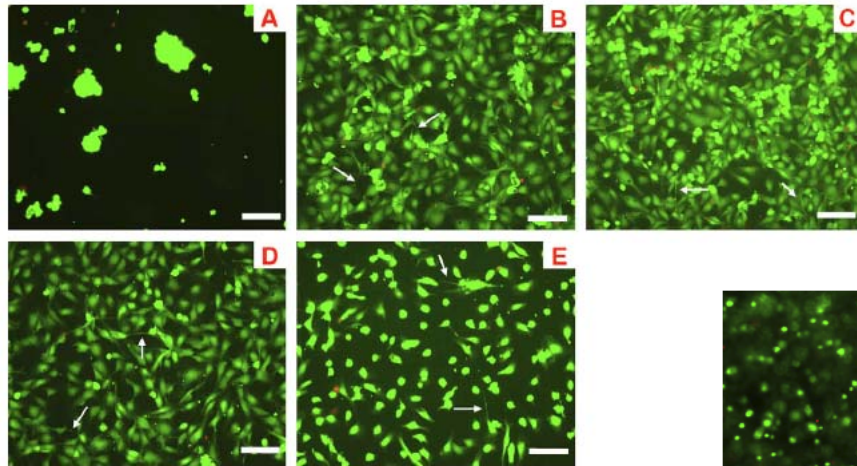


Fig. 8. Fluorescence micrographs of endothelial cells grown on surface of D-M (A), D-G-2 (B), D-G-4 (C), D-G-6 (D) stained green, while dead cells red. Scale bar represents 100 μ m. Cell seeding density: 3×10^4 cells/well.

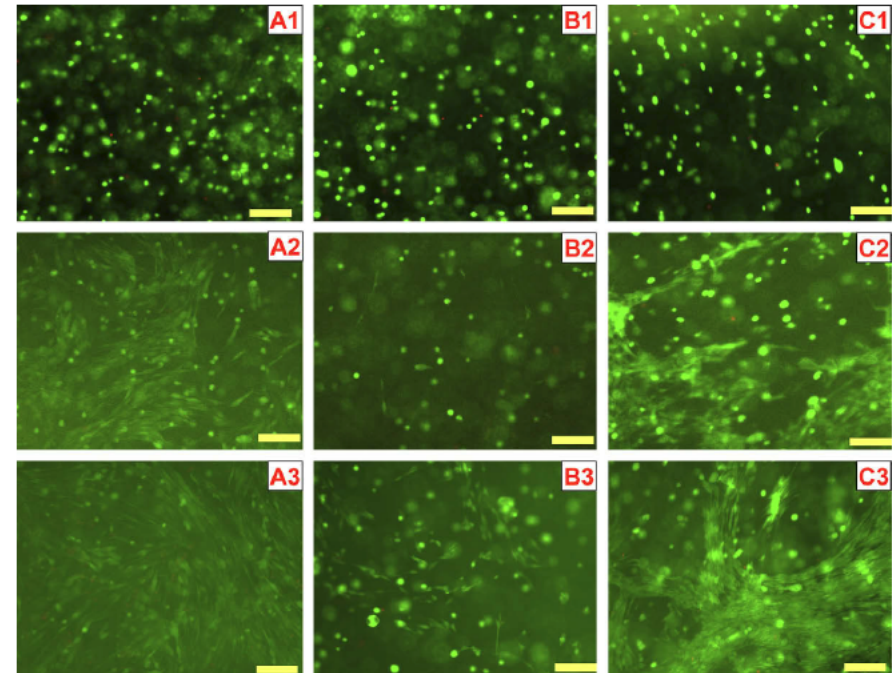
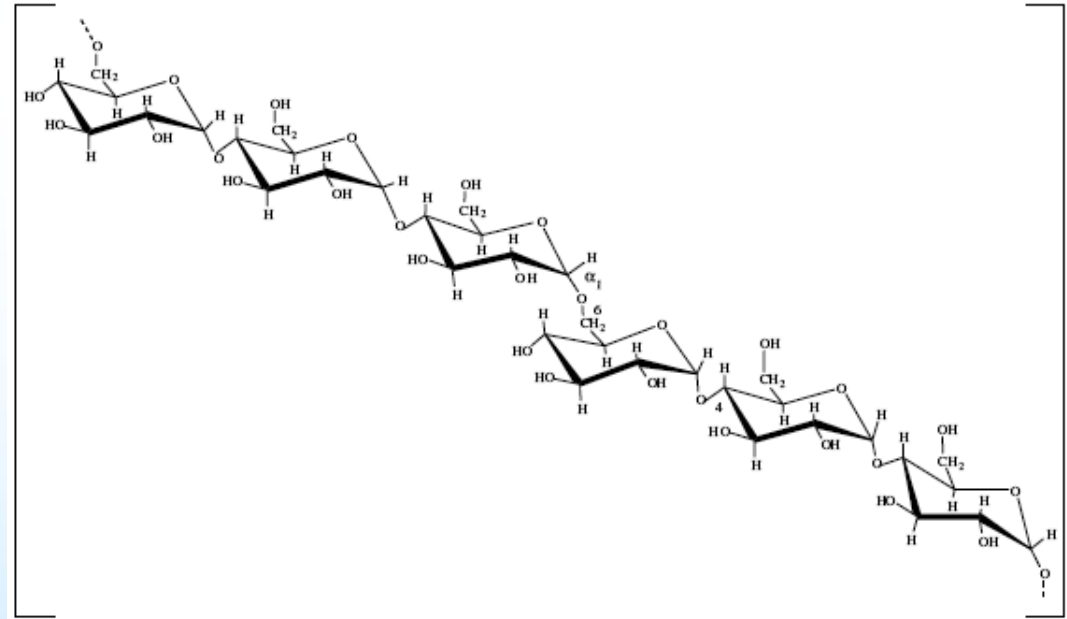


Fig. 11. Fluorescence micrographs of smooth muscle cells encapsulated within D-G-2, D-G-4, and D-G-6 hydrogels (A, B, and C, respectively) using Live/Dead assay. (A1, B1, C1), (A2, B2, C2) and (A3, B3, C3) represent culture for 1 day, 7 days, and 14 days respectively. The living cells are stained green, and the dead cells red. Scale bar represents 100 μ m. Cell seeding density: 4×10^5 cells/ml.

Pullulano



Il pullulano e' un polisaccaride costituiti da unita' di maltotriosio (glucosio α 1-4) unite da legame α 1-6. E' prodotto da funghi quali *Aureobasidium pullulans* a partire dall'amido ed e' altamente solubile in acqua dove forma una soluzione viscosa. E' facilmente modificabile per introdurre gruppi reattivi e modulare la sua solubilita'.



Conjugation of heparin into carboxylated pullulan derivatives as an extracellular matrix for endothelial cell culture

Kun. Na¹, Dongchul Shin², Kyusik Yun³, Keun-Hong Park¹ & Kang Choon Lee^{4,*}

¹College of Pharmacy, Chosun University, 375 Seoseok-Dong Dong-Ku, Kwangju 501-759, Korea

²Department of Materials Science Engineering, Kwangju Institute of Science and Technology, 1 Oryong-Dong, Buk-Ku, Kwangju 500-712, Korea

³BioElectronics Group, Devices & Materials Lab. LG Electronics Institute of Technology (LG Elite), 16 Woomyeon-Dong, Seocho-Ku, Seoul 137-724, Korea

⁴College of Pharmacy, SungKyunKwan University, 300 Chonchon-Dong, Jangsan-Ku Suwon City 440-746, Korea

*Author for correspondence (Fax: +82-62-228-3742; E-mail: kcllee@skku.ac.kr)

Received 22 August 2002; Revisions requested 17 September 2002; Revisions received 2 January 2003; Accepted 3 January 2003

Key words: endothelial cell, heparin, immobilization, pullulan, smooth muscle cell

383

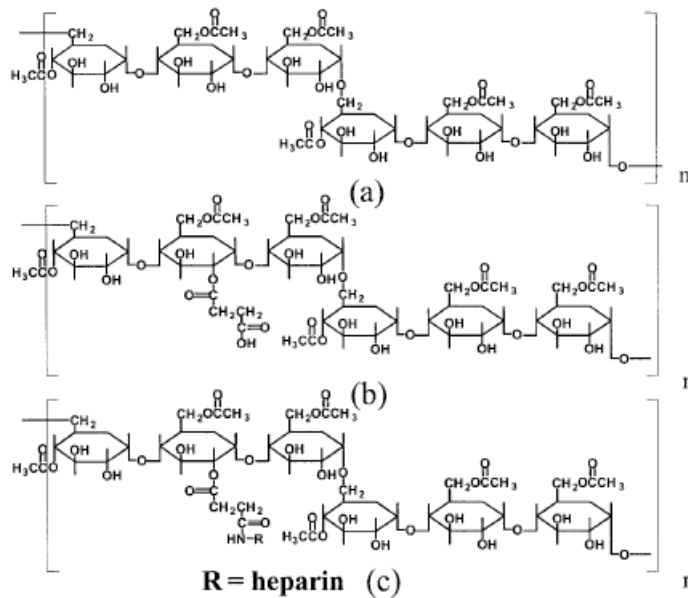


Fig. 1. Chemical structures used in this study. (a) Pullulan acetate (PA), (b) carboxylated pullulan acetate (PA-COOH), and (c) heparin-conjugated pullulan acetate.

Pullulano acetato carbossilato biofunzionalizzato con eparina e' in grado di promuovere l'adesione e proliferazione di cellule endoteliali ed inibire quella delle cellule muscolari lisce.