

**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ**



**Α΄ ΠΡΟΠΑΙΔΕΥΤΙΚΗ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ ΚΑΙ ΕΙΔΙΚΗ ΝΟΣΟΛΟΓΙΑ
ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ ΛΑΪΚΟ
ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: Π.Π. ΣΦΗΚΑΚΗΣ**

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΣΑΚΧΑΡΩΔΗΣ ΔΙΑΒΗΤΗΣ ΚΑΙ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ»**

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**«ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΚΑΙ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΥΔΡΟΓΕΛΗΣ ΜΕ
ΕΓΚΛΩΒΙΣΜΕΝΗ ΙΝΔΟΜΕΘΑΚΙΝΗ. ΤΟΠΙΚΗ ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΣΕ
ΔΙΑΒΗΤΙΚΟ ΕΛΚΟΣ»**

ΣΤΕΦΑΝΙΑ ΣΚΟΥΡΣΗ ΣΙΓΑΝΟΥ

**ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ: ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ ΔΕΜΕΤΖΟΣ, ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ
ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ, ΕΚΠΑ**

ΑΘΗΝΑ 2020

ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ



**Α΄ ΠΡΟΠΑΙΔΕΥΤΙΚΗ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ ΚΑΙ ΕΙΔΙΚΗ ΝΟΣΟΛΟΓΙΑ
ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ ΛΑΪΚΟ
ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: Π.Π. ΣΦΗΚΑΚΗΣ**

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΣΑΚΧΑΡΩΔΗΣ ΔΙΑΒΗΤΗΣ ΚΑΙ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ»**

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**«ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΚΑΙ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΥΔΡΟΓΕΛΗΣ ΜΕ
ΕΓΚΛΩΒΙΣΜΕΝΗ ΙΝΔΟΜΕΘΑΚΙΝΗ. ΤΟΠΙΚΗ ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΣΕ
ΔΙΑΒΗΤΙΚΟ ΕΛΚΟΣ»**

ΣΤΕΦΑΝΙΑ ΣΚΟΥΡΣΗ ΣΙΓΑΝΟΥ

**ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ: ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ ΔΕΜΕΤΖΟΣ, ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ
ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ, ΕΚΠΑ**

ΑΘΗΝΑ 2020

ΣΤΕΦΑΝΙΑ ΣΚΟΥΡΣΗ ΣΙΓΑΝΟΥ

ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΚΑΙ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΥΔΡΟΓΕΛΗΣ ΜΕ ΕΓΚΛΩΒΙΣΜΕΝΗ ΙΝΔΟΜΕΘΑΚΙΝΗ. ΤΟΠΙΚΗ ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΣΕ ΔΙΑΒΗΤΙΚΟ ΕΛΚΟΣ

2 ΙΟΥΝΙΟΥ 2020

ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗΣ

1. Επιβλέπων καθηγητής

Κωνσταντίνος Δεμέτζος,

Καθηγητής Φαρμακευτικής Νανοτεχνολογίας, Τμήματος Φαρμακευτικής, Εθνικού
και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών

2. Μέλος τριμελούς επιτροπής

Νικόλαος Τεντολούρης,

Καθηγητής Παθολογίας, Τμήματος Ιατρικής, Εθνικού και Καποδιστριακού
Πανεπιστημίου Αθηνών

3. Μέλος τριμελούς επιτροπής

Νικόλαος Δρακούλης,

Επίκουρος Καθηγητής Φαρμακευτικής Τεχνολογίας, Τμήματος Φαρμακευτικής,
Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να εκφράσω τις ειλικρινείς και θερμές ευχαριστίες μου:

Στον επιβλέποντα καθηγητή της εργασίας, Κωνσταντίνο Δεμέτσο, Καθηγητή Φαρμακευτικής Νανοτεχνολογίας, του Τμήματος Φαρμακευτικής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών, για την ανάθεση του θέματος και για την ευκαιρία που μου προσέφερε να εργασθώ στα εργαστήρια της Φαρμακευτικής Τεχνολογίας της Φαρμακευτικής Σχολής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών, αλλά και για την καθοδήγησή του, τις εύστοχες παρατηρήσεις, και τη βοήθεια του σε όλα τα στάδια εκπόνησης της παρούσας διπλωματικής εργασίας.

Στον κ. Νικόλαο Τεντολούρη, Καθηγητή Παθολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών, μέλος της τριμελούς εξεταστικής επιτροπής για τις επικοδομητικές συμβουλές του και την καθοδήγησή του για την επιλογή του θέματος της διπλωματικής εργασίας.

Στον κ. Νικόλαο Δρακούλη, Επίκουρο Καθηγητή Φαρμακευτικής Τεχνολογίας του Τμήματος Φαρμακευτικής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών, μέλος της τριμελούς εξεταστικής επιτροπής για τις εύστοχες παρατηρήσεις του και συμβουλές του.

Στον κ. Μιχαήλ Ράλλη, Επίκουρο Καθηγητή Φαρμακευτικής Τεχνολογίας του Τμήματος Φαρμακευτικής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών, για την παροχή του κεραμιδίου που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα διπλωματική εργασία.

Την υποψήφια διδάκτορα Μαρία Χουντουλέση του Εργαστηρίου Φαρμακευτικής Νανοτεχνολογίας του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών για την πολύτιμη βοήθειά της, τη συνεχή καθοδήγηση, τις συμβουλές της και την άψογη συνεργασία καθ' όλη τη διάρκεια της εκπόνησης της παρούσας διπλωματικής εργασίας.

Τέλος, δε θα μπορούσα να παραλείψω την οικογένειά μου και όλους εκείνους που με στήριξαν ηθικά και βοήθησαν ψυχολογικά και όχι μόνο, καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης και συγγραφής της διπλωματικής εργασίας.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	9
SUMMARY	10
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	12
1.1. Αντικείμενο - Σκοπός	14
1.2. Υλικό.....	14
1.3. Μεθοδολογία	14
1.4. Διάρθρωση Διπλωματικής Εργασίας	15
2. ΣΑΚΧΑΡΩΔΗΣ ΔΙΑΒΗΤΗΣ.....	17
2.1. Ανατομία και φυσιολογία	17
2.1.1. Το ενδοκρινές πάγκρεας	17
2.1.2. Ινσουλίνη	18
2.2. Ορισμός του Σακχαρώδη Διαβήτη	20
2.3. Επιδημιολογία του Σακχαρώδη Διαβήτη.....	21
2.4. Ταξινόμηση Σακχαρώδη Διαβήτη	22
2.4.1. Σακχαρώδης διαβήτης τύπου 1.....	22
2.4.2. Σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2.....	23
2.4.3. Σακχαρώδης διαβήτης Κύησης	24
2.4.4. Άλλοι ειδικοί τύποι Σακχαρώδους Διαβήτη.....	24
2.5. Παθοφυσιολογία Σακχαρώδη Διαβήτη.....	25
2.6. Παράγοντες κινδύνου εμφάνισης Σακχαρώδη Διαβήτη	25
2.7. Κλινική εικόνα Σακχαρώδη Διαβήτη.....	26
2.8. Διάγνωση Σακχαρώδη Διαβήτη	27
2.9. Θεραπεία Σακχαρώδη Διαβήτη	28
2.9.1. Βασικές αρχές.....	28
2.9.2. Διαιτητική Αγωγή.....	29
2.9.3. Σωματική Άσκηση	30
2.9.4. Εκπαίδευση.....	31
2.9.5. Φαρμακευτική Αγωγή.....	31
2.10. Επιπλοκές Σακχαρώδη Διαβήτη.....	32
2.10.1. Οξείες επιπλοκές Σακχαρώδη Διαβήτη.....	32
2.10.2. Χρόνιες επιπλοκές Σακχαρώδη Διαβήτη.....	33
3. ΔΙΑΒΗΤΙΚΟ ΠΟΔΙ	38
3.1. Ορισμός του Διαβητικού Ποδιού	38
3.2. Επιδημιολογικά στοιχεία του Διαβητικού Ποδιού	39
3.3. Αιτιοπαθογένεια του Διαβητικού Ποδιού	39
3.4. Ταξινόμηση του Διαβητικού Ποδιού	42
3.5. Κλινική εξέταση και εργαστηριακός έλεγχος του Διαβητικού Ποδιού	43

3.5.1.	Εξέταση του έλκους	43
3.5.2.	Νευρολογική εξέταση	44
3.5.3.	Εργαστηριακό έλεγχος.....	44
4.	ΕΓΚΛΩΒΙΣΜΟΣ ΙΝΔΟΜΕΘΑΚΙΝΗΣ ΣΕ «ΕΞΥΠΝΗ ΥΔΡΟΓΕΛΗ» ΓΙΑ ΔΙΑΔΕΡΜΙΚΗ ΧΡΗΣΗ ΣΕ ΔΙΑΒΗΤΙΚΟ ΕΛΚΟΣ.....	45
4.1.	Διαδερμική Χορήγηση	45
4.1.1.	Ορισμός	45
4.1.2.	Χρήση στη θεραπευτική.....	45
4.2.	Υδρογέλες	46
4.2.1.	Ταξινόμηση Υδρογελών	47
4.2.2.	Χαρακτηριστικά υδρογελών	51
4.2.3.	Πολυμερή.....	51
4.3.	Λιποσώματα	59
4.3.1.	Γενικά.....	59
4.3.2.	Φυσικοχημικά και Βιολογικά χαρακτηριστικά των λιποσωμάτων	62
4.3.3.	Λειτουργικότητα των λιποσωμάτων	64
4.3.4.	advanced Drug Delivery nanosystems (aDDnSs).....	65
4.3.5.	Ceramides	66
4.4.	Ινδομεθακίνη	67
4.4.1.	Γενικά.....	67
4.4.2.	Μηχανισμός δράσης ινδομεθακίνης	68
4.4.3.	Ενδείξεις και Αντενδείξεις ως προς τη χρήση της ινδομεθακίνης	69
4.4.4.	Ανεπιθύμητες ενέργειες ινδομεθακίνης	70
5.	ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΥΠΟΘΕΣΗ – ΣΚΟΠΟΣ ΠΑΡΟΥΣΑΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ.....	72
6.	ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ	74
6.1.	Υλικά	74
6.2.	Μέθοδος παρασκευής απλών υδρογελών.....	77
6.3.	Μέθοδος ανάστροφου σωλήνα για τον προσδιορισμό της θερμοκρασίας μετάβασης φάσης των παρασκευασθείσων υδρογελών	79
6.4.	Υπολογισμός του χρόνου που απαιτείται για τη μετάβαση στην κατάσταση της γέλης.....	80
6.5.	Παρασκευή και φυσικοχημικός προσδιορισμός των κενών λιποσωμάτων DMPC:CER1:P407, καθώς και των λιποσωμάτων DMPC:CER1:P407:IND.....	81
6.6.	Μέθοδος παρασκευής υδρογελών με εγκλωβισμένα λιποσώματα	87
6.7.	Μελέτη αποσάθρωσης (erosion study) της υδρογέλης με εγκλωβισμένα λιποσώματα DMPC:CER1:IND	89
7.	ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ	91
8.	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	92
8.1.	Αποτελέσματα από την παρασκευή και τη φυσικοχημική αξιολόγηση των λιποσωμάτων.....	92

8.2. Αποτελέσματα από τη θερμοκρασία μετάβασης των παρασκευασθέντων υδρογελών	93
8.3. Αποτελέσματα του χρόνου μετάβασης από την υγρή φάση στη φάση γέλης	95
8.4. Αποτελέσματα της μελέτης αποσάθρωσης της παρασκευασθείσας υδρογέλης P407 (25%) + DMPC:CER1:IND (9:1:1)	96
9. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	97
9.1. Σύνοψη των αποτελεσμάτων από την παρασκευή και τη φυσικοχημική αξιολόγηση των λιποσωμάτων.....	97
9.2. Σύνοψη των αποτελεσμάτων από τη θερμοκρασία μετάβασης φάσης των παρασκευασθεισών υδρογελών.....	97
9.3. Σύνοψη αποτελεσμάτων από το χρόνο μετάβασης από την υγρή φάση στη φάση γέλης	99
9.4. Σύνοψη αποτελεσμάτων από τη μελέτη αποσάθρωσης της παρασκευασθείσας υδρογέλης	99
10. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	103
BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	105

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο σακχαρώδης διαβήτης είναι μια χρόνια νόσος που χρειάζεται συνεχή ιατρική φροντίδα. Η αυξανόμενη συχνότητα του διαβήτη επιφέρει αύξηση των ασθενών με χρόνιες επιπλοκές. Το διαβητικό πόδι αποτελεί μια από τις συχνότερες επιπλοκές του σακχαρώδους διαβήτη, κατά την οποία παρατηρούνται δερματικές και οστικές βλάβες στα κάτω άκρα. Οι βλάβες αυτές περιλαμβάνουν εξελκώσεις με φλεγμονή των ιστών ή και γαγγραινώδεις αλλοιώσεις, οι οποίες, εάν δεν αντιμετωπιστούν έγκαιρα, μπορούν να οδηγήσουν σε ακρωτηριασμό των κάτω άκρων. Η εφαρμογή επιθεμάτων αποτελεί καινοτομία στην αντιμετώπιση των διαβητικών ελκών, με τις υδρογέλες να αποτελούν την πιο δημοφιλή επιλογή. Παρόλα αυτά, υπάρχουν περιορισμοί στη χρήση τους, καθώς δε μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε φλεγμαίνοντα έλκη, και υπάρχει ανάγκη δημιουργίας πιο εξελιγμένων συστημάτων για αποτελεσματικότερη θεραπεία. Οι υδρογέλες, εκτός από την ενυδάτωση που προσφέρουν, μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως συστήματα μεταφοράς φαρμάκων, ελέγχοντας την αποδέσμευσή τους. Στην παρούσα εργασία σχεδιάστηκε και αναπτύχθηκε μια υδρογέλη από πολυμερές Poloxamer P407, στην οποία εγκλωβίσθηκε ινδομεθακίνη, ένα μη στεροειδές αντιφλεγμονώδες φάρμακο, με σκοπό την τοπική χορήγηση σε διαβητικό έλκος. Πιο συγκεκριμένα, αφού αναπτύχθηκε μια λιποσωματική φόρμουλα, στην οποία ενσωματώθηκαν κεραμίδια ως επιπλέον παράγοντα ενυδάτωσης, εγκλωβίσθηκε επιτυχώς η ινδομεθακίνη, και ακολούθως ενσωματώθηκαν τα λιποσώματα στην υδρογέλη. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, παρατηρήθηκε ότι η παρασκευασθείσα υδρογέλη είχε κατάλληλη θερμοκρασία μετάβασης φάσης στους 37°C και η πλήρης αποσάθρωσή της πραγματοποιήθηκε σε 3 ώρες, επομένως θα προσφέρει παρατεταμένη ενυδάτωση και ελεγχόμενη αποδέσμευση του φαρμάκου. Συμπεραίνουμε λοιπόν, ότι η παρασκευασθείσα υδρογέλη θα ευνοήσει την τοπική χορήγηση στο διαβητικό έλκος και αναμένεται να διερευνηθεί η θεραπευτική της χρήση περαιτέρω.

Λέξεις-κλειδιά: Σακχαρώδης Διαβήτης, Διαβητικό Πόδι, Διαβητικό έλκος, Υδρογέλη, Λιπόσωμα, Κεραμίδιο, Ινδομεθακίνη

SUMMARY

Diabetes Melitus is a chronic disease which requires constant medical care. The growing incidence of diabetes increases the number of patients with chronic complications. The Diabetic Foot is one of the most frequent complication of the disease, where dermatological and bone damages in the lower limbs are observed. These damages include ulcerations, inflammations of the tissues or even gangrenous deformations, which could lead to the amputation of the lower limbs if not treated on time. The application of patches constitutes innovation in the treatment of diabetic ulcers and hydrogels are the most popular option. However, there are limitations to their use, as they cannot be used on inflamed ulcers, and thus it is necessary to create advanced systems for more effective treatment. Hydrogels, in addition to their provided hydration, they can be used as controlled drug delivery systems. A hydrogel from polymer Poloxamer P407 was designed and developed, where indomethacin was loaded, a non-steroidal anti-inflammatory drug, in order to be topically administrated in diabetic ulcers. More specifically, first was developed a liposomal formula, where ceramides were incorporated as an additional moisturizing agent, then indomethacin was successfully trapped, and subsequently the liposomes were incorporated into the hydrogel. According to the results, it was observed that the prepared hydrogel performed suitable phase transition at 37°C and complete erosion within 3 hours, therefore will offer prolonged hydration and drug controlled release. We therefore conclude that the prepared hydrogel will favor the local administration in diabetic ulcers and we expect its therapeutic use to be further investigated.

Keywords: Diabetes Melitus, Diabetic Foot, Diabetic ulcer, Hydrogel, Liposome, Ceramides, Indomethacin

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο Σακχαρώδης Διαβήτης είναι ένα σύνδρομο με ετερογενές και πολυπαραγοντικό υπόστρωμα, που χαρακτηρίζεται από διαταραχή του μεταβολισμού των υδατανθράκων, λιπών και πρωτεϊνών, η οποία οφείλεται σε έλλειψη ινσουλίνης (πλήρη ή μερική), σε ελάττωση της βιολογικής δραστηρότητάς της στους περιφερικούς ιστούς-στόχους ή και στα δύο.

Ο Σακχαρώδης Διαβήτης, ιδιαίτερα ο διαβήτης τύπου 2 αποτελεί σοβαρό πρόβλημα δημόσιας υγείας λόγω του υψηλού επιπολασμού του, με αποτέλεσμα εκατομμύρια ατόμων σε όλο τον κόσμο να πάσχουν από τη μεταβολική αυτή πάθηση. Το αυξανόμενο προσδόκιμο επιβίωσης, η αστικοποίηση και ο τρόπος ζωής σύμφωνα με τα δυτικά πρότυπα είναι υπεύθυνα για την αύξηση του πληθυσμού των ασθενών με διαβήτη τύπου 2. Χρειάζεται συνεχή ιατρική φροντίδα και από την πλευρά του ασθενούς αυτοδιαχείριση, εκπαίδευση και υποστήριξη για να προληφθούν οξείες επιπλοκές και να μειωθεί ο κίνδυνος των μακροπρόθεσμων επιπλοκών.

Οι επιπλοκές του Σακχαρώδη Διαβήτη ταξινομούνται σε μικροαγγειακές (διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια, διαβητική νεφροπάθεια και διαβητική νευροπάθεια) και μακροαγγειακές (ισχαιμική καρδιοπάθεια, περιφερική αγγειακή νόσο, αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο). Υπάρχουν αρκετές ενδείξεις ότι η έγκαιρη αποκατάσταση συνθηκών ευγλυκαιμίας προφυλάσσει το διαβητικό ασθενή από αυτές ή τουλάχιστον απομακρύνει το χρόνο εγκατάστασής τους ή την εξέλιξη των πρώιμων βλαβών.

Μία σοβαρή επιπλοκή του Σακχαρώδη Διαβήτη θεωρείται το Διαβητικό Πόδι. Ορίζεται ως το σύνολο των κλινικών συνδρομών όπου η νευροπάθεια, η ισχαιμία και η λοίμωξη επιφέρουν καταστροφή ιστών, σημαντική νοσηρότητα και πιθανό ακρωτηριασμό. Οι δύο κύριες βλάβες που εμφανίζονται είναι το διαβητικό έλκος και η γάγγραινα.

Παράγοντες προδιάθεσης του διαβητικού έλκους είναι η περιφερική νευροπάθεια, η αγγειοπάθεια, δυσμορφίες του ποδιού και το τραύμα στο άκρο.

Δυστυχώς, πολλές φορές οι ασθενείς με Σακχαρώδη Διαβήτη αρνούνται να αποδεχθούν την πολυπλοκότητα της πάθησής τους και αποτυγχάνουν να προλάβουν τις επιπλοκές, συμπεριλαμβανομένου του διαβητικού ποδιού. Η κατάλληλη και έγκαιρη αντιμετώπιση μπορεί να μειώσει, καθυστερήσει ή και να αποτρέψει καταστάσεις όπως ακρωτηριασμό, λοίμωξη και άλλα.

Μια καινοτομία στην αντιμετώπιση των διαβητικών ελκών είναι η καθημερινή εφαρμογή των επιθεμάτων. Ιδανικά, τα επιθέματα πρέπει να έχουν τις εξής ιδιότητες: ενυδατικές ιδιότητες, ενεργοποίηση αυξητικών επουλωτικών παραγόντων, αντιμικροβιακές ιδιότητες, σωστή οξυγόνωση, προαγωγή αυτόλυσης, μακρύ χρόνο δράσης, υψηλή αποτελεσματικότητα και βελτιωμένες φαρμακολογικές ιδιότητες. Προς το παρόν, κανένα επίθεμα δεν ικανοποιεί πλήρως τις παραπάνω ιδιότητες. Η επιλογή και χρήση των επιθεμάτων βασίζεται στα χαρακτηριστικά του έλκους. Οι υδρογέλες αποτελούν την πιο δημοφιλή επιλογή για όλους τους τύπους των διαβητικών ελκών, με εξαίρεση τα φλεγμαίνοντα έλκη, και προσφέρουν τη μεγαλύτερη δυναμική.

Οι υδρογέλες που χρησιμοποιούνται στη θεραπεία του διαβητικού έλκους αποτελούνται από αδιάλυτα αλληλεπικαλυπτόμενα πολυμερή (πολοξαμερή, κυτταρίνη) και έως 96% νερό. Απορροφούν το εξίδρωμα από τα έλκη και τα εφυγραίνουν και βοηθούν στην αυτόλυση. Η μη αποτελεσματικότητά του στα φλεγμαίνοντα έλκη τονίζει την ανάγκη αναβάθμισης των ιδιοτήτων που μπορεί να έχει η υδρογέλη ως μεταφορέας μη στεροειδών αντιφλεγμονωδών φαρμάκων.

1.1. Αντικείμενο - Σκοπός

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι ο σχεδιασμός και η ανάπτυξη υδρογέλης με εγκλωβισμένη ινδομεθακίνη με στόχο την τοπική εφαρμογή σε διαβητικό έλκος.

1.2. Υλικό

Η υψηλή συγγένεια των υδρογελών με το νερό τους δίνει φυσικές ιδιότητες που μοιάζουν με ζωντανούς ιστούς, όπως να είναι συμπαγείς και να έχουν χαμηλή διεπιφανειακή τάση με υδατικά μέσα, και τις καθιστά κατάλληλες για ευρεία εφαρμογή σε φαρμακευτικούς και βιοϊατρικούς τομείς ως τοπικά συστήματα αποθήκης in situ (localized depot systems) για μεταφορά φαρμάκων. Ειδικότερα, οι υδρογέλες έχουν χρησιμοποιηθεί εκτεταμένα για την προστασία φαρμάκων από εχθρικά περιβάλλοντα, αλλά επίσης για ελεγχόμενη αποδέσμευση φαρμάκων μεταβάλλοντας την περιβαλλοντική τους κατάσταση (pH, θερμοκρασία, μαγνητική κ.λπ.). Αυτά τα είδη υδρογελών που ανταποκρίνονται στα ερεθίσματα ονομάζονται «έξυπνες υδρογέλες». Τα μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα, όπως η ινδομεθακίνη που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα εργασία, είναι υδρόφοβα φάρμακα, γι' αυτό ευνοείται ο εγκλωβισμός τους σε λιποσωμιακές φόρμουλες, οι οποίες αποτελούνται από κλειστές σφαιρικές δομές λιπιδικών διπλοστιβάδων, οι οποίες με τη σειρά τους ευνοούν την καλύτερη ενσωμάτωση του φαρμάκου στην υδρογέλη.

1.3. Μεθοδολογία

Αρχικά, αναπτύχθηκαν και ελέγχθηκαν τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των λιποσωμάτων που παρασκευάστηκαν με Φασματοσκοπία Συσχέτισης Φωτονίων.

Έπειτα, παρασκευάστηκαν 3 υδρογέλες με διαφορετική συγκέντρωση πολυμερούς με την κρύα μέθοδο και διερευνήθηκε η επίδραση της συγκέντρωσης του πολυμερούς στην υδρογέλη ελέγχοντας τη θερμοκρασία μετάβασης από την υγρή στη φάση γέλης με τη μέθοδο του ανάστροφου σωλήνα. Τέλος, ενσωματώθηκε το λιπόσωμα στην υδρογέλη και πραγματοποιήθηκε μελέτη αποσάθρωσης για να ελεγχθεί ο χρόνος που θα χρειαστεί μέχρι να καταστραφεί.

1.4. Διάρθρωση Διπλωματικής Εργασίας

Η εργασία αποτελείται από δέκα κεφάλαια.

Στο 2^ο Κεφάλαιο αναλύεται θεωρητικά η ανατομία και η φυσιολογία του παγκρέατος, ο ορισμός του Σακχαρώδη Διαβήτη, η επιδημιολογία, η παθοφυσιολογία, η ταξινόμηση, η κλινική εικόνα, η διάγνωση, η θεραπεία και οι επιπλοκές του Σακχαρώδη Διαβήτη.

Στο 3^ο Κεφάλαιο αναλύεται το σύνδρομο του διαβητικού ποδιού, η επιδημιολογία του, η αυτοπαθογένειά του, η ταξινόμησή του και η κλινική εξέταση που πραγματοποιείται.

Στο 4^ο Κεφάλαιο αναλύονται τα πλεονεκτήματα της διαδερμικής χορήγησης και η τεχνολογική πλατφόρμα που παρασκευάστηκε. Αναφέρονται τα χαρακτηριστικά των υδρογελών και τα πλεονεκτήματά τους ως φορείς φαρμάκων, τα πολυμερή από τα οποία παρασκευάστηκε η υδρογέλη και οι θερμοευαίσθητες ιδιότητές τους, τα λιποσώματα στα οποία εγκλωβίσθηκαν κεραμίδια, τα οποία αποτελούν παράγοντες ενυδάτωσης, και το βιοδραστικό μόριο που χρησιμοποιήθηκε, η ινδομεθακίνη.

Στο 5^ο Κεφάλαιο αναφέρεται με σαφήνεια ο σκοπός της παρούσας εργασίας.

Στο 6^ο Κεφάλαιο αναφέρονται αναλυτικά τα υλικά που χρησιμοποιήθηκαν και η μεθοδολογία των πειραμάτων που ακολουθήθηκε.

Στο 7^ο Κεφάλαιο παρουσιάζεται η στατιστική ανάλυση που χρησιμοποιήθηκε για την ανάλυση των δεδομένων που συλλέχθηκαν.

Στο 8^ο Κεφάλαιο παρατίθενται τα αποτελέσματα της διπλωματικής εργασίας.

Στο 9^ο Κεφάλαιο γίνεται ελεύθερος σχολιασμός και αξιολόγηση των αποτελεσμάτων σε σχέση με τις υποθέσεις που είχαν διατυπωθεί στην αρχή της έρευνας.

Στο 10^ο Κεφάλαιο αναφέρονται τα σημαντικότερα πορίσματα.

2. ΣΑΚΧΑΡΩΔΗΣ ΔΙΑΒΗΤΗΣ

2.1. Ανατομία και φυσιολογία

2.1.1. Το ενδοκρινές πάγκρεας

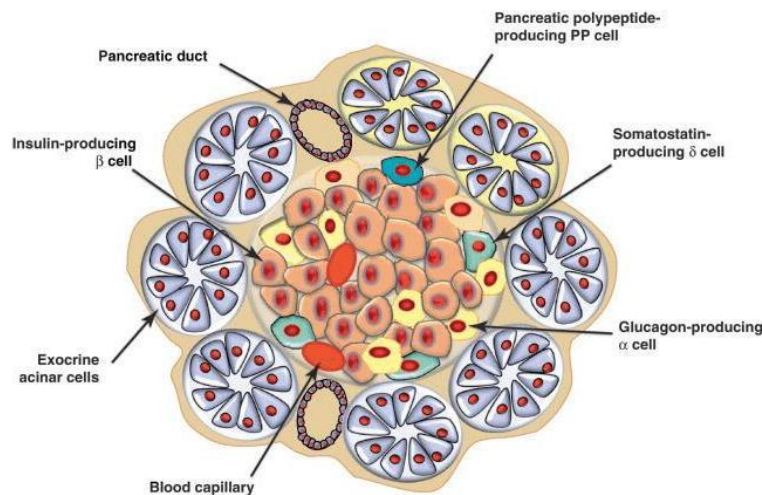
Το πάγκρεας ασκεί εξωκρινική και ενδοκρινική λειτουργία, οι οποίες επιτελούνται από διαφορετικές ομάδες κυττάρων. Η ενδοκρινής μοίρα περιορίζεται σε μικρές αθροίσεις αδενικού ιστού, τα νησίδια του Langerhans, περίπου 300 μm σε διάμετρο, και αποτελεί το 2% της παγκρεατικής μάζας. Εκκρίνει δύο σημαντικές πεπτιδικές ορμόνες που σχετίζονται με τη ρύθμιση της γλυκόζης στο αίμα, την ινσουλίνη και τη γλυκαγόνη [1].

Κάθε παγκρεατικό νησίδιο αποτελείται από 2.500 περίπου εξειδικευμένα επιθηλιακά κύτταρα στον εξωκρινή ιστό. Έχουν ταυτοποιηθεί τέσσερις κύριοι τύποι κυττάρων **(Εικόνα 1)**:

1. Τα α-κύτταρα: αποτελούν το 20% περίπου των νησιδιακών κυττάρων. Είναι τα μεγαλύτερα κύτταρα, βρίσκονται στα εξωτερικά όρια του νησιδίου και παράγουν τη γλυκαγόνη.
2. Τα β-κύτταρα: είναι μικρότερα αλλά περισσότερα (70% περίπου), κατέχουν το κεντρικό τμήμα του νησιδίου και παράγουν την ινσουλίνη.
3. Τα δ-κύτταρα: αποτελούν το 5% περίπου των κυττάρων και κατανέμονται στην περιφέρεια του νησιδίου. Παράγουν τη σωματοστατίνη, η οποία ασκεί ανασταλτική παρακρινική δράση στα υπόλοιπα νησιδιακά κύτταρα επηρεάζοντας έτσι την έκκριση τόσο της ινσουλίνης όσο και της γλυκαγόνης.
4. Τα PP-κύτταρα: αποτελούν μία πολύ μικρή μερίδα των νησιδιακών κυττάρων (1%), εντοπίζονται κυρίως στην κεφαλή του παγκρέατος και εκκρίνουν το παγκρεατικό

πολυπεπτίδιο. Ο λειτουργικός ρόλος του πεπτιδίου αυτού συνίσταται στην έκκριση των άλλων παγκρεατικών ορμονών, αλλά δεν έχει κατανοηθεί πλήρως [1].

Τα γειτονικά νησιδιακά κύτταρα είναι μεταβολικά και ηλεκτρικά συνδεδεμένα, μέσω συνδέσεων χάσματος, εξασφαλίζοντας έτσι τη συγχρονισμένη έκκριση των ορμονών. Συμπαθητικές και παρασυμπαθητικές νευρικές ίνες καταλήγουν κοντά στα κύτταρα όλων των τύπων [1].

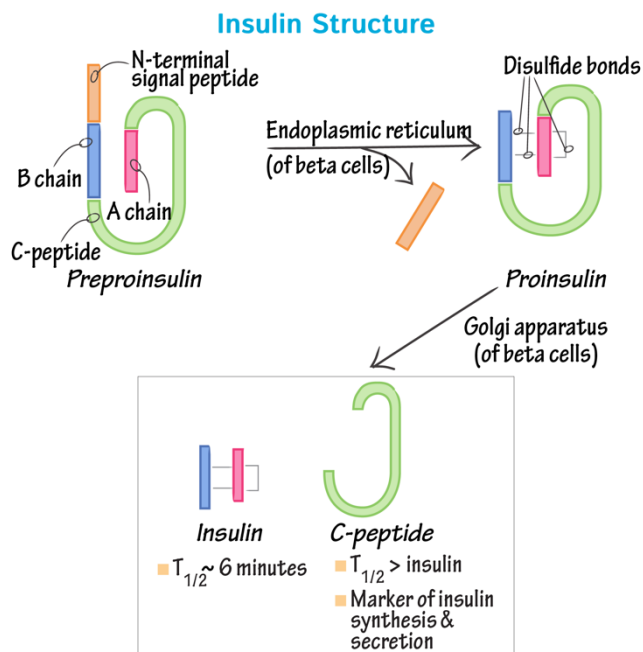


Εικόνα 1. Στο κέντρο απεικονίζεται το παγκρεατικό νησίδιο, με τα πολυπληθή β-κύτταρα, τα α-κύτταρα, τα δ-κύτταρα και τα PP-κύτταρα. Στην περιφέρεια, διακρίνονται τα κύτταρα της εξωκρινής μοίρας του παγκρέατος

2.1.2. Ινσουλίνη

Η ινσουλίνη είναι ένα πολυπεπτίδιο 51 αμινοξέων, το οποίο συντίθεται στα β-κύτταρα ως ένα πρόδρομο μόριο, την προϊνσουλίνη, που προέρχεται με τη σειρά της από ένα μεγαλύτερο μόριο, την προ-προϊνσουλίνη. Η αναδιπλωμένη δομή της προϊνσουλίνης αποτελείται από μία α-αλυσίδα και μία β-αλυσίδα, οι οποίες συνδέονται με δύο δισουλφιδικές γέφυρες και από ένα ενδιάμεσο συνδετικό πεπτίδιο 31 αμινοξέων, το C-πεπτίδιο. Επιπρόσθετα, υπάρχει ένας δισουλφιδικός δεσμός στην α-αλυσίδα. Μετά τη σύνθεσή της, η προϊνσουλίνη αποθηκεύεται μέσα σε εκκριτικά κοκκία του

κυτταροπλάσματος, που βρίσκονται κοντά στην κυτταρική μεμβράνη, όπου πεπτιδάσες αποκόβουν το C-πεπτίδιο με αποτέλεσμα να αποδίδονται ισομοριακές ποσότητες ινσουλίνης και C-πεπτιδίου στην κυκλοφορία (**Εικόνα 2**) [2].



Εικόνα 2. Συνθετική πορεία παραγωγής ινσουλίνης στον οργανισμό

Η απελευθέρωση της ινσουλίνης, μαζί με ίσο αριθμό μορίων C-πεπτιδίου και μικρής ποσότητας προϊνσουλίνη, γίνεται με εξωκύτταρωση μέσω ενός μηχανισμού που εξαρτάται από το ασβέστιο. Όταν απελευθερωθεί μέσα στην πυλαία κυκλοφορία, μεταβολίζεται ταχέως από το ήπαρ και τους νεφρούς με χρόνο ημιζωής στο πλάσμα 5-10 λεπτά περίπου. Η ανίχνευση του C-πεπτιδίου στο αίμα χρησιμοποιείται ως δείκτης της δραστηριότητας των β-κυττάρων στα άτομα με διαβήτη [2].

Ένας από τους βασικούς φυσιολογικούς παράγοντες της έκκρισης ινσουλίνης από τα β-κύτταρα είναι το επίπεδο της γλυκόζης που κυκλοφορεί στο αίμα. Αύξηση του επιπέδου γλυκόζης (>75-80 mg/dl) διεγείρει τη σύνθεση και την έκκριση ινσουλίνης μέσω μηχανισμού άμεσης παλίνδρομης ρύθμισης. Η έκκριση της ινσουλίνης ακολουθεί ένα χαρακτηριστικό διφασικό πρότυπο (πρώιμης και όψιμης φάσης) ως ανταπόκριση

στη συνεχή διέγερση από τη γλυκόζη. Το γεγονός αυτό αποδεικνύει ότι υπάρχουν τουλάχιστον δύο δεξαμενές αποθήκευσης της ινσουλίνης μέσα στα κύτταρα [2].

Η ινσουλίνη θεωρείται μία αναβολική ορμόνη που διεγείρει την αποθήκευση της ενέργειας των τροφών με τη μορφή γλυκογόνου, πρωτεϊνών και λιπιδίων (τριγλυκεριδίων), ενώ καταστέλλει τον καταβολισμό των αποθηκευμένων θρεπτικών ουσιών. Τα κύρια όργανα-στόχοι της ινσουλίνης είναι το ήπαρ, οι μύες και ο λιπώδης ιστός, δηλαδή τα όργανα που έχουν εξειδίκευση στην αποθήκευση ενέργειας. Μερικά όργανα του σώματος, όπως ο νεφρός ή ο εγκέφαλος, είναι λιγότερο ή και καθόλου ευαίσθητα στην ορμόνη αυτή [1].

2.2. Ορισμός του Σακχαρώδη Διαβήτη

Ο Σακχαρώδης Διαβήτης, ως νοσολογική οντότητα έχει αναγνωριστεί από την αρχαιότητα. Η ονομασία διαβήτης δόθηκε στη νόσο λόγω της εκτεταμένης διούρησης που προκαλεί, ενώ η ονομασία σακχαρώδης προήλθε από το λατινικό *melitus* που σημαίνει «γλυκαθέν με μέλι» και περιγράφει την παρουσία του σακχάρου στα ούρα. Συγκεκριμένα, ο Αρεταίος το 200 μ. Χ. έγραψε « Το επίθετο διαβήτης έχει αποδοθεί στη νόσο επειδή μοιάζει σαν να περνάει νερό μέσα από ένα σιφώνιο» [3].

Κεντρική διαταραχή του Σακχαρώδη Διαβήτη είναι η έλλειψη της ινσουλίνης, η οποία εκκρίνεται από το πάγκρεας και ρυθμίζει το μεταβολισμό των υδατανθράκων, των πρωτεϊνών και των λιπών [4].

Ο Σακχαρώδης Διαβήτης (ΣΔ) είναι ένα σύνδρομο με ετερογενές και πολυπαραγοντικό υπόστρωμα. Χαρακτηρίζεται από διαταραχή του μεταβολισμού των υδατανθράκων, λιπών και πρωτεϊνών, η οποία οφείλεται στην έλλειψη ινσουλίνης. Η έλλειψη μπορεί να είναι πλήρης, μερική ή σχετική. Ως σχετική χαρακτηρίζεται η έλλειψη ινσουλίνης, όταν, παρά τα αυξημένα επίπεδά της στο αίμα, δεν επαρκεί για την κάλυψη των

αναγκών του μεταβολισμού, λόγω παρεμπόδισης της δράσης της στους περιφερικούς ιστούς (αντίσταση στην ινσουλίνη). Η κύρια έκφραση της διαταραχής του μεταβολισμού στο ΣΔ είναι η αύξηση των επιπέδων γλυκόζης στο αίμα [1].

2.3. Επιδημιολογία του Σακχαρώδη Διαβήτη

Ένας σημαντικός αριθμός ασθενών αγνοεί ότι πάσχει από διαβήτη. Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (ΠΟΥ), περίπου 150 εκατομμύρια άνθρωποι πάσχουν από ΣΔ και ο αριθμός αυτός αναμένεται ότι θα διπλασιαστεί περίπου το 2025 λόγω της αύξησης του πληθυσμού, του γήρατος, της παχυσαρκίας και της αστάθειας στον καθημερινό τρόπο ζωής [5].

Παρατηρήσεις από περιγραφικές μελέτες αποδεικνύουν ότι ο δυτικός τρόπος ζωής συνδέεται με την υψηλή επίπτωση διαβήτη μέσα από αλληλεπιδράσεις στο σωματικό βάρος και στην αρτηριακή πίεση. Επιπλέον, δίαιτες που περιλαμβάνουν δημητριακά, ελάχιστη κατανάλωση οινοπνεύματος και ακόρεστα λίπη συνδέονται με χαμηλό κίνδυνο εμφάνισης ΣΔ. Μια τέτοια διαίτα είναι η μεσογειακή, η οποία συγκεντρώνει ιδιαίτερο ενδιαφέρον τις δύο τελευταίες δεκαετίες [5].

Το μέσο σταθμισμένο συνολικό ετήσιο κόστος θεραπείας του ασθενούς με ΣΔ τύπου 2 ανέρχεται σε 1.297,30€ σε τιμές του 2007, χωρίς να υπολογίζονται οι πιθανές επιπλοκές. Ωστόσο, το ποσό αυτό διαφοροποιείται αν λάβουμε υπόψη το βαθμό ρύθμισης του ασθενούς και είναι κατά 59,5% υψηλότερο για τους μη ρυθμισμένους ασθενείς, γεγονός που αποδίδεται στην εντατικότερη χρήση υπηρεσιών υγείας τόσο για εργαστηριακές εξετάσεις όσο και για επισκέψεις σε ιατρούς και φαρμακευτική περίθαλψη. Το μέσο συνολικό ετήσιο κόστος θεραπείας του ασθενούς με ΣΔ τύπου 2 για όλα τα σκευάσματα που σχετίζονται με τον ΣΔ αυξήθηκε κατά 221,1% το 2006 συγκριτικά με το 1998 και κατά 16,4% το 2012 έναντι του 2006.

Η υπογλυκαιμία είναι μια συνήθης επιπλοκή του ΣΔ και ο ασθενής μπορεί να χρειαστεί και νοσηλεία. Η μέση διάρκεια νοσηλείας ενός υπογλυκαιμικού επεισοδίου είναι 3,86 ημέρες, ενώ το μέσο κόστος νοσηλείας ανέρχεται στα 345,67€ [6].

2.4. Ταξινόμηση Σακχαρώδη Διαβήτη

2.4.1. Σακχαρώδης διαβήτης τύπου 1

Οφείλεται σε καταστροφή των β-κυττάρων που συνήθως οδηγεί σε πλήρη έλλειψη ινσουλίνης. Τυπικά, η νόσος εμφανίζεται σε νέα, μη παχύσαρκα άτομα, κατά την παιδική ηλικία ή την εφηβεία, αν και μπορεί να προσβάλλει και ενήλικες οποιασδήποτε ηλικίας [1].

➤ **Ανοσολογικός Σακχαρώδης διαβήτης**

Αυτός ο τύπος ΣΔ που αφορά μόνο το 5-10% των ασθενών με ΣΔ και παλαιότερα αναφερόταν ως ινσουλινοεξαρτώμενος ΣΔ, ΣΔ τύπου Ι ή νεανικός ΣΔ, προκαλείται από αυτοάνοση καταστροφή των β-κυττάρων του παγκρέατος. Σε αυτόν τον τύπο ΣΔ, η συχνότητα καταστροφής των β-κυττάρων ποικίλλει από ταχεία, ιδίως σε νηπιακή και παιδική ηλικία, μέχρι βραδεία, ιδίως στους ενήλικες. Σε μερικούς ασθενείς, ιδίως παιδιά και έφηβους, η κετοξέωση αποτελεί την πρώτη κλινική εκδήλωση του ΣΔ [7].

➤ **Ιδιοπαθής Σακχαρώδης διαβήτης**

Σε μερικές μορφές ΣΔ τύπου 1 δεν ανευρίσκεται αιτιολογικός παράγοντας. Κάποιοι από αυτούς τους ασθενείς παρουσιάζουν μόνιμη ινσουλινοπενία και έχουν προδιάθεση για κετοξέωση, χωρίς όμως αυτοάνοσο υπόβαθρο. Αποτελούν μειονότητα των ασθενών με ΣΔ τύπου 1 και οι περισσότεροι είναι αφρικάνικης ή ασιατικής καταγωγής [1].

2.4.2. Σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2

Οφείλεται σε σταδιακή μείωση της επαρκούς ανταπόκρισης των β-κυττάρων στην έκκριση της ινσουλίνης που απαιτείται για την αντιμετώπιση των μεταβολικών αναγκών. Περιλαμβάνει όλο το φάσμα συνδυασμών από την κατ' εξοχήν αντίσταση στην ινσουλίνη με σχετικά μικρή έλλειψη ινσουλίνης μέχρι τη σημαντική μείωση της έκκρισης ινσουλίνης με μικρότερη αντίσταση. Στην Ευρώπη ο επιπολασμός του κυμαίνεται 5-10% (Κατσίκη και συν., 2010).

Αυτός ο τύπος ΣΔ που αφορά περίπου το 85% των ασθενών με ΣΔ, και παλαιότερα αναφερόταν ως μη ινσουλινοεξαρτώμενος ΣΔ, ή ΣΔ των ενηλίκων, χαρακτηρίζεται κυρίως από αντίσταση στη δράση της ινσουλίνης με συνοδό σχετική (και όχι πλήρη) ανεπάρκεια έκκρισης ινσουλίνης. Αρχικά οι ασθενείς δεν χρήζουν ινσουλινοθεραπείας για την επιβίωση τους. Τα αίτια αυτού του τύπου ΣΔ ποικίλλουν, χωρίς να μπορούν να διευκρινισθούν πλήρως, ωστόσο δεν παρατηρείται αυτοάνοση καταστροφή των β-κυττάρων, ούτε ανευρίσκονται οι αιτιολογικοί παράγοντες των υπολοίπων τύπων ΣΔ [4].

Η πλειονότητα των ασθενών με ΣΔ τύπου 2 είναι υπέρβαροι. Είναι γνωστό ότι η παχυσαρκία ενοχοποιείται για πρόκληση κάποιου βαθμού ινσουλινοαντίστασης. Επίσης, ασθενείς φυσιολογικού σωματικού βάρους μπορεί να παρουσιάζουν αυξημένη κατανομή του λίπους στην κοιλιακή χώρα. Η κετοξέωση σπάνια εμφανίζεται αυτόματα, ενώ συνήθως προκαλείται από συνυπάρχουσα παθολογική διεργασία, όπως λοίμωξη. Η διάγνωση συχνά καθυστερεί για πολλά χρόνια, καθώς η υπεργλυκαιμία εγκαθίσταται βαθμιαία και στα αρχικά στάδια δεν είναι τόσο σοβαρή ώστε να προκαλέσει την κλασική κλινική εικόνα του ΣΔ που θα θέσει την υπόνοια παρουσίας της νόσου. Ωστόσο, οι ασθενείς ήδη βρίσκονται σε κίνδυνο ανάπτυξης μακροαγγειακών και μικροαγγειακών επιπλοκών [4].

Ο κίνδυνος εμφάνισης ΣΔ τύπου 2 αυξάνεται με την πρόοδο της ηλικίας, το βαθμό παχυσαρκίας και την έλλειψη σωματικής άσκησης. Πιο συχνά εμφανίζεται στις γυναίκες με ιστορικό ΣΔ κύησης και ασθενείς με αρτηριακή υπέρταση ή δυσλιπιδαιμία, Στο ΣΔ τύπου 2 η κληρονομικότητα διαδραματίζει σημαντικό ρόλο [4].

2.4.3. Σακχαρώδης διαβήτης Κύησης (ΣΔΚ)

Αποτελεί ΣΔ που εμφανίζεται κατά τη διάρκεια της κύησης και είναι αποτέλεσμα των διαβητογόνων επιδράσεων των ορμονών της κύησης σε γυναίκες που αδυνατούν να τις αντιμετωπίσουν. Οι γυναίκες αυτές θα εμφάνιζαν πιθανώς ΣΔ, με την αύξηση του βάρους τους ή με την πρόοδο της ηλικίας. Η συχνότητα του ΣΔΚ υπολογίζεται περίπου στο 18% και αντανακλά εκείνη του ΣΔ2 στο γενικό πληθυσμό. Έχει παρατηρηθεί προοδευτική αύξηση της επίπτωσης του ΣΔΚ τα τελευταία χρόνια λόγω του σύγχρονου τρόπου ζωής [1].

2.4.4. Άλλοι ειδικοί τύποι Σακχαρώδους Διαβήτη

Οφείλονται σε άλλα αίτια, όπως γενετικές διαταραχές που συνδέονται με τη λειτουργικότητα των β-κυττάρων ή τη δράση της ινσουλίνης, νόσους της εξωκρινούς μοίρας του παγκρέατος, έκθεση σε φάρμακα, χημικές ουσίες, τοξίνες κ.ά. Για παράδειγμα ο διαβήτης τύπου MODY είναι ετερογενής νόσος όσον αφορά τις κλινικές εκδηλώσεις, τη γενετική και την παθοφυσιολογία του. Μέχρι στιγμής έχουν εντοπιστεί μεταλλάξεις σε 6 τουλάχιστον γονίδια, τα οποία, εκτός από το πάγκρεας, εκφράζονται και σε άλλους ιστούς οδηγώντας σε διαφορετικούς φαινοτύπους [1].

2.5. Παθοφυσιολογία Σακχαρώδη Διαβήτη

Ποικιλία παθογενετικών μηχανισμών εμπλέκεται στην ανάπτυξη του ΣΔ, συμπεριλαμβανομένων της αυτοάνοσης καταστροφής των β-κυττάρων του παγκρέατος, με επακόλουθο την ινσουλινοανεπάρκεια, και των διαταραχών που οδηγούν σε ινσουλινοαντίσταση. Οι διαταραχές του μεταβολισμού των υδατανθράκων, του λίπους και των πρωτεϊνών που παρατηρούνται στο ΣΔ προέρχονται από την ανεπαρκή δράση της ινσουλίνης στους ιστούς-στόχους, είτε λόγω ανεπαρκούς έκκρισης της, είτε λόγω ελαττωμένης ανταπόκρισης των ιστών στην κυκλοφορούσα ινσουλίνη σε ένα ή περισσότερα σημεία των πολύπλοκων οδών δράσης της ορμόνης. Συχνά οι προαναφερθείσες διαταραχές συνυπάρχουν στον ίδιο ασθενή, χωρίς να μπορεί να καθοριστεί με σαφήνεια ποια διαταραχή αποτελεί την κύρια αιτία της υπεργλυκαιμίας [4].

2.6. Παράγοντες κινδύνου εμφάνισης Σακχαρώδη Διαβήτη

Οι παράγοντες κινδύνου, οι οποίοι σχετίζονται με την εμφάνιση της νόσου δύνανται να κατηγοριοποιηθούν σε τροποποιήσιμους και μη τροποποιήσιμους παράγοντες, αναλόγως της δυνατότητας ή μη πρόληψής τους.

a) Τροποποιήσιμοι παράγοντες κινδύνου

- Παχυσαρκία και υπερβολικό σωματικό βάρος
- Διατροφή με υψηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά και χαμηλή σε ίνες
- Υψηλή αρτηριακή πίεση και υψηλή χοληστερόλη
- Ιστορικό διαβήτη κύησης (δεδομένου ότι η παχυσαρκία αποτελεί παράγοντα κινδύνου εμφάνισης του διαβήτη κύησης) [8].

b) Μη τροποποιήσιμοι παράγοντες κινδύνου

- Εθνικότητα
- Ηλικία
- Οικογενειακό ιστορικό διαβήτη
- Ιστορικό διαβήτη κύησης (δεδομένου ότι παράγοντες κινδύνου εμφάνισης του διαβήτη κύησης αποτελούν και μη τροποποιήσιμοι παράγοντες κινδύνου όπως φυλή/εθνικότητα ή ύπαρξη οικογενειακού ιστορικού) [8].

2.7. Κλινική εικόνα Σακχαρώδη Διαβήτη

Συνοπτικά, οι κλασικές εκδηλώσεις του ΣΔ τύπου 1 είναι η πολυουρία, η πολυδιψία και η πολυφαγία, συνοδευόμενες από απώλεια βάρους, κακουχία και κόπωση. Αναλόγως του βαθμού έλλειψης ινσουλίνης, οι εκδηλώσεις ποικίλλουν από ήπιες έως σοβαρές. Οι ασθενείς με ΣΔ τύπου 1 χρειάζονται εξωγενή πηγή ινσουλίνης για να διατηρηθούν στη ζωή [4].

Οι ασθενείς με ΣΔ τύπου 2 βιώνουν βραδεία έναρξη των συμπτωμάτων και συχνά δεν αντιλαμβάνονται τη νόσο μέχρι να αναζητήσουν ιατρική βοήθεια για κάποιο άλλο πρόβλημα. Η υπεργλυκαιμία στον ΣΔ τύπου 2, συνήθως, δεν είναι τόσο σοβαρή όπως στον ΣΔ τύπου 1, αλλά παρατηρούνται παρόμοια συμπτώματα, ειδικά πολυουρία και πολυδιψία. Η πολυφαγία δεν παρατηρείται συχνά και η απώλεια βάρους είναι ασυνήθης. Άλλες εκδηλώσεις ως αποτελέσματα της υπεργλυκαιμίας είναι η θόλωση της όρασης, η κόπωση, οι παραισθησίες και οι δερματικές λοιμώξεις [4].

2.8. Διάγνωση Σακχαρώδη Διαβήτη

Οι ακόλουθες εξετάσεις χρησιμοποιούνται για την παρακολούθηση της ρύθμισης του ΣΔ:

- Γλυκόζη αίματος νηστείας. Η εξέταση αυτή ζητείται συχνά, ειδικά όταν ο ασθενής παρουσιάζει συμπτώματα υπογλυκαιμίας ή υπεργλυκαιμίας. Τα φυσιολογικά όρια της γλυκόζης αίματος νηστείας ως επί το πλείστον είναι 70 έως 110 mg/dL.
- Γλυκοζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη (HbA1c). Η εξέταση αυτή προσδιορίζει το μέσο επίπεδο γλυκόζης κατά τους 2 έως 3 προηγούμενους μήνες. Όταν η γλυκοζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη είναι αυξημένη ή η ρύθμιση της είναι άτακτη, η γλυκόζη ενώνεται με το μόριο της αιμοσφαιρίνης και παραμένει ενωμένη για όλο το διάστημα της ζωής της αιμοσφαιρίνης, το οποίο είναι περίπου 120 ημέρες. Τα φυσιολογικά επίπεδα ποικίλλουν αναλόγως της χρησιμοποιούμενης εργαστηριακής μεθόδου, αλλά τιμές μεγαλύτερες από 7% έως 9% θεωρούνται αυξημένες [4].

Η διάγνωση του ΣΔ βασίζεται στον προσδιορισμό των επιπέδων της γλυκόζης αίματος νηστείας, της γλυκόζης αίματος 2 ώρες μετά από τη λήψη 75 gr γλυκόζης, της γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης (HbA1c) καθώς και μίας τυχαίας μέτρησης γλυκόζης αίματος. Ασθενείς με διαταραγμένη γλυκόζη νηστείας (100-126 mg/dl) ή διαταραχή ανοχής στη γλυκόζη (140-200 mg/dl) έχουν αυξημένο κίνδυνο να αναπτύξουν στο μέλλον διαβήτη καθώς και αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο. Υπολογίζεται ότι περίπου 25% των ατόμων με διαταραχή γλυκόζης νηστείας θα αναπτύξουν διαβήτη στα επόμενα 2.5 χρόνια [1].

Πίνακας 1: Κριτήρια διάγνωσης σακχαρώδη διαβήτη [1].

Αρκεί ένα από τα κάτωθι κριτήρια για τη διάγνωση του Σακχαρώδη Διαβήτη	
ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ	ΣΑΚΧΑΡΩΔΗΣ ΔΙΑΒΗΤΗΣ
Γλυκόζη αίματος νηστείας (χωρίς θερμιδική πρόσληψη για τουλάχιστον 8 ώρες)	$\geq 126 \frac{mg}{dl}$ (επιβεβαίωση τουλάχιστον 2 φορές)
Γλυκόζη αίματος 2 ώρες μετά τη λήψη 75gr άνυδρης γλυκόζης	$\geq 200 \frac{mg}{dl}$
HbA _{1c}	$\geq 6,5\%$ (πρέπει να πραγματοποιείται σε αξιόπιστο εργαστήριο)
Τυχαία γλυκόζη αίματος	$\geq 200 \frac{mg}{dl}$ (όταν συνοδεύεται από συμπτώματα υπεργλυκαιμίας)

2.9. Θεραπεία Σακχαρώδη Διαβήτη

2.9.1. Βασικές αρχές

Σε κάποιους ασθενείς με ΣΔ μπορεί να επιτευχθεί ικανοποιητικός γλυκαιμικός έλεγχος με απώλεια βάρους, άσκηση ή/ και χρήση από του στόματος υπογλυκαιμικών παραγόντων. Αυτοί οι ασθενείς δεν χρήζουν ινσουλινοθεραπείας. Επίσης, ασθενείς με υπολειμματική έκκριση ινσουλίνης που χρειάζονται όμως, εξωγενή χορήγηση ινσουλίνης για την επίτευξη ευγλυκαιμίας μπορούν να επιβιώσουν χωρίς τη λήψη ινσουλίνης. Αντίθετα, ασθενείς με εκτεταμένη καταστροφή των β-κυττάρων, και κατά συνέπεια με απουσία έκκρισης ινσουλίνης, χρήζουν ινσουλινοθεραπείας για την επιβίωση τους. Η βαρύτητα αυτής της μεταβολικής διαταραχής δύναται να αυξηθεί, να μετριαστεί ή να παραμείνει σταθερή. Επομένως, ο βαθμός υπεργλυκαιμίας αντανακλά τη βαρύτητα της εκάστοτε υποκείμενης παθολογικής διεργασίας και την αποτελεσματικότητα της θεραπείας της και όχι τη φύση της [4].

Η θεραπεία υποκατάστασης με ινσουλίνη αποτελεί τον ακρογωνιαίο λίθο στην αντιμετώπιση του ΣΔ1. Σκοπός της θεραπείας είναι η διατήρηση των επιπέδων γλυκόζης αίματος στα φυσιολογικά όρια κατά τρόπο παρόμοιο με το φυσιολογικό πρότυπο της ενδογενούς έκκρισης της ινσουλίνης [9, 11].

Η καλή γλυκαιμική ρύθμιση μειώνει τον κίνδυνο ανάπτυξης των χρόνιων επιπλοκών του διαβήτη και συγκεκριμένα της διαβητικής αμφιβληστροειδοπάθειας, νεφροπάθειας, νευροπάθειας και των καρδιαγγειακών συμβαμάτων. Επίσης, έχει αποδειχθεί ότι στους ασθενείς με ρυθμισμένο διαβήτη από την αρχή της εμφάνισης της νόσου τους ο κίνδυνος επιπλοκών μειώνεται για χρόνια, ακόμη και όταν η ρύθμισή τους χειροτερεύσει. Το γεγονός αυτό εισήγαγε τη έννοια της μεταβολικής μνήμης και ανέδειξε την αξία της όσο το δυνατόν έγκαιρης ρύθμισης του γλυκαιμικού ελέγχου [1].

2.9.2. Διαιτητική Αγωγή

Οι υδατάνθρακες είναι ο κύριος παράγοντας που επηρεάζει τα επίπεδα της γλυκόζης αίματος, αλλά ταυτόχρονα είναι απαραίτητοι, οπότε απαιτείται ιδιαίτερη προσοχή από τους ασθενείς σχετικά με το είδος και την ποσότητα των υδατανθράκων που καταναλώνουν. Παράλληλα, χρειάζεται προσοχή στην πρόσληψη άλατος και λιπαρών τροφών προκειμένου να διατηρηθούν η αρτηριακή πίεση και τα λιπίδια του αίματος σε φυσιολογικά επίπεδα. Κύριος σκοπός της διαιτητικής αγωγής είναι το άτομο με ΣΔ να έχει μία υγιεινή διατροφή [9, 10].

Οι γενικές διαιτητικές οδηγίες που πρέπει να παρέχονται στα άτομα με ΣΔ περιλαμβάνουν:

1. Λήψη κανονικών γευμάτων
2. Αποφυγή ζάχαρης και ζαχαρούχων τροφών
3. Κατανάλωση κυρίως σύνθετων υδατανθράκων
4. Αυξημένη κατανάλωση φρούτων και πράσινων λαχανικών
5. Κατανάλωση ψαριών (τουλάχιστον 2 φορές την εβδομάδα)
6. Περιορισμός λιπαρών γευμάτων και ιδιαίτερα των κορεσμένων λιπών
7. Περιορισμένη πρόσληψη μαγειρικού άλατος (≤ 6 gr καθημερινά)
8. Περιορισμένη χρήση αλκοόλ [9].

2.9.3. Σωματική Άσκηση

Η άσκηση βοηθά στον έλεγχο του σωματικού βάρους και στη δημιουργία αισθήματος ευεξίας. Πρέπει να τονισθεί ότι κατά τη διάρκεια της άσκησης οι μύες καταναλώνουν γλυκόζη χωρίς την ανάγκη ινσουλίνης. Το γεγονός αυτό μπορεί να επηρεάσει τα επίπεδα γλυκόζης αίματος. Οι ασθενείς με ΣΔ1 πρέπει να ελέγχουν τις συγκεντρώσεις γλυκόζης αίματος πριν, κατά τη διάρκεια και μετά την άσκηση [9].

Η χορήγηση ινσουλίνης, λόγω κάποιου γεύματος, πριν από την άσκηση πρέπει να είναι μειωμένη κατά 20-30% για την αποφυγή υπογλυκαιμίας. Επιπλέον, εύκολα απορροφήσιμοι υδατάνθρακες πρέπει να λαμβάνονται 15-30 λεπτά πριν την άσκηση καθώς και κατά τη διάρκειά της. Τέλος, υπάρχει ο κίνδυνος καθυστερημένης υπογλυκαιμίας 4-8 ώρες μετά την άσκηση λόγω ανεφοδιασμού των άδειων αποθηκών γλυκογόνου. Ο κίνδυνος αυτός μπορεί να αποφευχθεί με την κατανάλωση βραδέως απορροφούμενων υδατανθράκων αμέσως μετά την άσκηση [9].

Σε ασθενείς με ΣΔ2 η επιβλεπόμενη άσκηση μειώνει τα επίπεδα της γλυκόζης, το οξειδωτικό στρες και τον κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακής νόσου και βελτιώνει την

καρδιοαναπνευστική λειτουργία. Αποτελεί, επομένως, μέρος της θεραπευτικής αντιμετώπισης του διαβήτη [11].

2.9.4. Εκπαίδευση

Η φροντίδα ενός ατόμου με ΣΔ 1 ή ΣΔ 2 απαιτεί συνεργασία πολλών ειδικοτήτων. Κεντρική σημασία για την επιτυχία αυτής της συνεργασίας έχει η συμμετοχή, η συνεργασία και ο ενθουσιασμός του ασθενούς, που είναι απαραίτητα συστατικά για τη βέλτιστη αντιμετώπιση του διαβήτη. Τα μέλη της ομάδας που ασχολούνται με τον διαβητικό ασθενή είναι ο γιατρός πρωτοβάθμιας φροντίδας και /ή ο ενδοκρινολόγος ή διαβητολόγος, ένας διπλωματούχος νοσηλευτής ειδικός στο διαβήτη και ένας διατροφολόγος. Επιπλέον, όταν εμφανιστούν οι επιπλοκές του ΣΔ, είναι απαραίτητη η συνδρομή επαγγελματιών με εμπειρία στις υποειδικότητες που σχετίζονται με τις επιπλοκές του ΣΔ (π.χ. νευρολόγος, νεφρολόγος, αγγειοχειρουργός, καρδιολόγος, οφθαλμίατρος και ποδίατρος) [9].

2.9.5. Φαρμακευτική Αγωγή

Η επιλογή μίας συγκεκριμένης κατηγορίας αντιδιαβητικών δισκίων ή του συνδυασμού αυτών εξαρτάται από τον τρόπο δράσης τους, την αποτελεσματικότητά τους στη μείωση των επιπέδων της γλυκόζης, τις εξωγλυκαιμικές τους ιδιότητες, την ασφάλεια και τις παρενέργειές τους, την ευκολία χρήσης τους και το κόστος. Οι φαρμακευτικοί παράγοντες που χρησιμοποιούνται στη θεραπεία του ΣΔ2, εκτός της ινσουλίνης, διακρίνονται στις παρακάτω κατηγορίες:

1. Ευαισθητοποιητές της ινσουλίνης: διγουανίδια και θειαζολιδινεδιόνες
2. Ινσουλινοεκκριταγωγά φάρμακα: σουλφονουρίες και μεγλιτινίδες
3. Ινκρετίνες: Ανάλογα GLP-1 και αναστολείς DPP-4
4. Φάρμακα που επηρεάζουν την απορρόφηση της γλυκόζης: αναστολείς της α-γλυκοσιδάσης
5. Φάρμακα που αναστέλλουν την επαναρρόφηση της γλυκόζης από τους νεφρούς: αναστολείς των συμμεταφορέων νατρίου-γλυκόζης τύπου 2 [9, 11].

2.10. Επιπλοκές Σακχαρώδη Διαβήτη

2.10.1. Οξείες επιπλοκές Σακχαρώδη Διαβήτη

➤ Υπογλυκαιμία

Η θεραπεία του ΣΔ εστιάζεται στην επίτευξη ευγλυκαιμίας, τόσο σε κατάσταση νηστείας όσο και μεταγευματικά. Ωστόσο, οι υπάρχουσες αντιδιαβητικές αγωγές, ινσουλίνη και ινσουλινοεκκριτικά δισκία, έχουν ως αποτέλεσμα την πρόκληση υπογλυκαιμίας. Τα υπογλυκαιμικά επεισόδια αποτελούν συχνά οδυνηρή κατάσταση για τα διαβητικά άτομα, είτε λόγω των αρχικών συμπτωμάτων που προκαλεί η χαμηλή συγκέντρωση γλυκόζης πλάσματος, είτε λόγω της διαταραχής της λειτουργίας του εγκεφάλου που εμφανίζεται όταν τα επίπεδα γλυκόζης πλάσματος δεν επαρκούν για την τροφοδοσία των εγκεφαλικών κυττάρων [12].

➤ Διαβητική κετοξέωση και η υπεργλυκαιμική υπερωσμωτική κατάσταση

Η διαβητική κετοξέωση και η υπεργλυκαιμική υπερωσμωτική κατάσταση είναι οξείες επιπλοκές του διαβήτη. Η διαβητική κετοξέωση είχε θεωρηθεί στο παρελθόν χαρακτηριστική διαταραχή του ΣΔ1, αλλά συμβαίνει επίσης σε άτομα στα οποία

απουσιάζουν τα ανοσολογικά χαρακτηριστικά του ΣΔ2 και τα οποία μπορούν επομένως να υποβληθούν σε θεραπεία με υπογλυκαιμικά φάρμακα από το στόμα. Η υπεργλυκαιμική υπερωσμωτική κατάσταση παρατηρείται κατά κύριο λόγο σε άτομα με ΣΔ τύπου 2. Και οι δύο διαταραχές συνδέονται με απόλυτη ή σχετική ανεπάρκεια ινσουλίνης, μείωση του δραστικού όγκου και διαταραχές της οξεοβασικής ισορροπίας. Η διαβητική κετοξέωση και η υπεργλυκαιμική υπερωσμωτική κατάσταση αποτελούν διαφορετικές καταστάσεις σε υπεργλυκαιμία, με ή χωρίς κέτωση. Και οι δύο διαταραχές συσχετίζονται με δυνητικά σοβαρές επιπλοκές αν δεν διαγνωστούν και αντιμετωπιστούν έγκαιρα [13].

2.10.2. Χρόνιες επιπλοκές Σακχαρώδη Διαβήτη

Η χρόνια υπεργλυκαιμία επηρεάζει τα μεγάλα και τα μικρά αγγεία της κυκλοφορίας. Οι μακροαγγειακές επιπλοκές είναι αποτέλεσμα βλάβης των μεγάλων αγγείων και μπορεί να οδηγήσουν σε έμφραγμα του μυοκαρδίου, εγκεφαλικό επεισόδιο και περιφερική αρτηριακή νόσο. Οι μικροαγγειακές επιπλοκές είναι αποτέλεσμα βλάβης των μικρών αγγείων και επηρεάζει όργανα που εξαρτώνται από μία λειτουργική μικροκυκλοφορία όπως οι νεφροί, το νευρικό σύστημα και ο αμφιβληστροειδής χιτώνας των οφθαλμών. Η αρτηριακή θρόμβωση αποτελεί την κύρια αιτία καρδιαγγειακής νοσηρότητας και θνησιμότητας στο βιομηχανοποιημένο κόσμο και ο διαβήτης τον κυριότερο παράγοντα κινδύνου. Ως αρτηριακή θρόμβωση ορίζεται η ρήξη μίας αθηρωματικής πλάκας σε μία αρτηρία και ο σχηματισμός αιμοπεταλιακού θρόμβου. Οι κύριες κλινικές εκδηλώσεις της είναι ο αιφνίδιος καρδιακός θάνατος, το έμφραγμα του μυοκαρδίου, το ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο και η περιφερική αρτηριακή ισχαιμία. Σχεδόν το 80% των θανάτων μεταξύ των ασθενών με διαβήτη οφείλεται στη θρόμβωση των αρτηριών [1].

Από την άλλη μεριά, η μικροαγγειακή νόσος επηρεάζει τα αρτηρίδια, τα τριχοειδή και τα φλεβίδια. Οι παθοανατομικές αλλοιώσεις στη μικροκυκλοφορία μπορεί να αλλάξουν την αιμάτωση διάφορων οργάνων. Για το λόγο αυτό, όργανα που εξαρτώνται από την παροχή αίματος, όπως ο αμφιβληστροειδής, οι νεφροί, και το περιφερικό νευρικό σύστημα είναι ιδιαίτερος ευάλωτα και βλάβη στη μικροκυκλοφορία τους οδηγεί στην εμφάνιση διαβητικής αμφιβληστροειδοπάθειας, νεφροπάθειας και νευροπάθειας αντίστοιχα [1, 11].

Πολλές από τις πρώιμες παθολογικές αλλοιώσεις που προκαλούνται από την υπεργλυκαιμία εκδηλώνονται στα αγγειακά κύτταρα που εκτίθενται άμεσα στα υψηλά επίπεδα της γλυκόζης και δε διαθέτουν το μηχανισμό ρύθμισης των ενδοκυττάρων συγκεντρώσεων γλυκόζης. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελούν τα ενδοθηλιακά κύτταρα και τα λεία μυϊκά κύτταρα στη μακροκυκλοφορία καθώς και τα ενδοθηλιακά κύτταρα, τα περικύτταρα (αμφιβληστροειδοπάθεια) και ποδοκύτταρα (νεφροπάθεια) στη μικροκυκλοφορία [1].

➤ Στεφανιαία Νόσος

Η στεφανιαία νόσος είναι ο κύριος παράγοντας κινδύνου για την πρόκληση οξέος εμφράγματος του μυοκαρδίου στους διαβητικούς, ειδικά στους μεσήλικες και τους ηλικιωμένους με ΣΔ τύπου 2. Η στεφανιαία νόσος είναι η συνηθέστερη αιτία θανάτου των διαβητικών και ευθύνεται για το 40% έως 60% των θανάτων από κάθε αιτία [1].

➤ Αρτηριακή Υπέρταση

Η αρτηριακή υπέρταση (ΑΠ > 140/90 mmHg) αποτελεί συχνή επιπλοκή του ΣΔ. Προσβάλλει 20% έως 60% του συνόλου των διαβητικών και αποτελεί μείζονα παράγοντα κινδύνου καρδιαγγειακής νόσου και μικροαγγειακών επιπλοκών, όπως αμφιβληστροειδοπάθειας και νεφροπάθειας. Η αρτηριακή υπέρταση είναι δυνατόν να

αντιμετωπισθεί με μείωση του σωματικού βάρους, άσκηση, καθώς και με μείωση της πρόσληψης νατρίου και της κατανάλωσης οινοπνευματωδών. Εάν αυτά τα μέτρα δεν επαρκούν, είναι αναγκαία η θεραπεία με αντιυπερτασικά φάρμακα [1].

➤ Αγγειακό Εγκεφαλικό Επεισόδιο

Οι διαβητικοί, ειδικά οι ηλικιωμένοι με ΣΔ τύπου 2, έχουν 2 έως 6 φορές μεγαλύτερη πιθανότητα να υποστούν αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο (ΑΕΕ). Αν και είναι άγνωστη η ακριβής σχέση μεταξύ του ΣΔ και των ΑΕΕ, η αρτηριακή υπέρταση (παράγοντας κινδύνου των ΑΕΕ) αποτελεί σύνηθες πρόβλημα των διαβητικών. Επίσης, η αθηροσκλήρυνση των εγκεφαλικών αγγείων εμφανίζεται σε μικρότερη ηλικία και είναι περισσότερο εκτεταμένη στους διαβητικούς [1].

➤ Διαβητική Αμφιβληστροειδοπάθεια

Ο οφθαλμός επηρεάζεται σημαντικά και σχετικά νωρίς από το διαβήτη, ενώ οι βλάβες αφορούν όλη τη δομή του, με κύρια εκδήλωση τη διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια. Η διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια είναι μικροαγγειοπάθεια που προσβάλλει τα προτριχοειδικά αρτηρίδια, τα τριχοειδή και τα μετατριχοειδικά φλεβίδια του αγγειακού δικτύου στον αμφιβληστροειδή. Χαρακτηρίζεται από αυξημένη τοιχωματική τριχοειδική διαβατότητα, όσο και από μικροαγγειακή απόφραξη [1].

Ο μόνος τρόπος για να αποφύγει ο ασθενής την οφθαλμική νόσο είναι η καλή ρύθμιση των επιπέδων γλυκόζης, η οποία επιβραδύνει την έναρξη και επηρεάζει την εξέλιξη της διαβητικής αμφιβληστροειδοπάθειας. Ταυτόχρονα, η καλή ρύθμιση της αρτηριακής υπέρτασης, της δυσλιπιδαιμίας, της νεφροπάθειας, της καρδιακής ανεπάρκειας και της αναιμίας, που χαρακτηρίζουν τους ασθενείς με διαβήτη, αποτελεί προϋπόθεση για την καλή πορεία της διαβητικής αμφιβληστροειδοπάθειας. Τέλος, πολύ σημαντικό ρόλο διαδραματίζει ο σωστός και τακτικός οφθαλμολογικός έλεγχος των ασθενών [1].

➤ Διαβητική Νεφροπάθεια

Ο διαβήτης προκαλεί αλλαγές στη δομή των νεφρών. Η κλασική σπειραματοσκλήρυνση χαρακτηρίζεται από πάχυνση της βασικής μεμβράνης, διάχυτη μεσαγγειακή σκλήρυνση, υαλίνωση και μικροανευρίσματα. Διαβητική νεφροπάθεια εμφανίζουν οι διαβητικοί ασθενείς σε ποσοστό τουλάχιστον 40%, ακόμη και όταν έχουν φυσιολογικά επίπεδα γλυκόζης για μεγάλο χρονικό διάστημα [14].

Οι κύριοι τροποποιήσιμοι παράγοντες για την ανάπτυξη και εξέλιξη της διαβητικής νεφροπάθειας σε άτομα με γενετική προδιάθεση είναι η εμμένουσα υπεργλυκαιμία και η υπέρταση. Άλλοι πιθανοί παράγοντες κινδύνου είναι η σπειραματική υπερδιήθηση, το κάπνισμα, η δυσλιπιδαιμία καθώς και διαιτητικοί παράγοντες [14].

Η καλή γλυκαιμική ρύθμιση μειώνει σημαντικά τον κίνδυνο ανάπτυξης της μικροαλβουμινουρίας, τόσο στα άτομα με ΣΔ1 όσο και με ΣΔ2. Σημαντικό ρόλο στην πρόληψη της διαβητικής νεφροπάθειας διαδραματίζει, όμως, και η ρύθμιση της αρτηριακής υπέρτασης με φάρμακα που μπλοκάρουν το σύστημα ρενίνης-αγγειοτενσίνης-αλδοστερόνης. Η αντιμετώπιση της εγκατεστημένης διαβητικής νεφροπάθειας περιλαμβάνει την καλή γλυκαιμική ρύθμιση, τη χορήγηση αναστολέων του υποδοχέα ή του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτενσίνης, χαμηλή σε πρωτεΐνη δίαιτα και ρύθμιση της δυσλιπιδαιμίας [14].

➤ Διαβητική Νευροπάθεια

Ως διαβητική νευροπάθεια ορίζεται η παρουσία συμπτωμάτων ή/και σημείων δυσλειτουργίας των περιφερικών νεύρων σε άτομα με διαβήτη, αφού πρώτα αποκλεισθούν άλλα αίτια. Η συχνότητά της κυμαίνεται μεταξύ 10-90% στους διαβητικούς ασθενείς και εξαρτάται από τη διάρκεια και τη ρύθμιση του διαβήτη. Συνήθως απαιτούνται 5-10 χρόνια ανεπαρκούς γλυκαιμικής ρύθμισης για την κλινική εμφάνιση της [15].

Η διαβητική νευροπάθεια προκαλεί ποικιλία αισθητικών και κινητικών συμπτωμάτων καθώς και συμπτωμάτων από το αυτόνομο νευρικό σύστημα:

- Αισθητικά συμπτώματα, τα οποία είναι αρνητικά ή θετικά, διάχυτα ή εστιακά.
- Κινητικά προβλήματα που περιλαμβάνουν άπω, εγγύς ή πιο εντοπισμένη εστιακή αδυναμία.
- Αυτόνομη νευροπάθεια, η οποία μπορεί να επηρεάσει οποιοδήποτε όργανο που νευρώνεται από το αυτόνομο νευρικό σύστημα, όπως η καρδιά, το γαστρεντερικό και ουρογεννητικό σύστημα, οι οφθαλμοί και το δέρμα [15].

Όπως και με τις άλλες χρόνιες επιπλοκές του διαβήτη, το πρώτο βήμα για την πρόληψη και την αντιμετώπιση της διαβητικής νευροπάθειας είναι η καλή και σταθερή, χωρίς διακυμάνσεις, γλυκαιμική ρύθμιση. Επίσης, σημαντικό ρόλο παίζει και η ρύθμιση της δυσλιπιδαιμίας και της υπέρτασης [15].

3. ΔΙΑΒΗΤΙΚΟ ΠΟΔΙ

3.1. Ορισμός του Διαβητικού Ποδιού

Οι ασθενείς που πάσχουν από ΣΔ παρουσιάζουν δευτεροπαθείς επιπλοκές από την προσβολή των αρτηριών και των νεύρων. Ανάλογα με την εντόπιση του προσβαλλόμενου αρτηριακού δικτύου, εκδηλώνεται ως αμφιβληστροειδοπάθεια, νεφροπάθεια, αθηροσκλήρωση των μεσαίων και μεγάλων αρτηριών των κάτω άκρων και διαταραχές της μικροκυκλοφορίας. Ο συνδυασμός των διαταραχών της αιμάτωσης και της νεύρωσης των κάτω άκρων αυξάνει σημαντικά την επίπτωση του «διαβητικού ποδιού» [16].

Οι επιπλοκές των κάτω άκρων σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη είναι πολύ συχνές και κατατάσσονται ως η κύρια αιτία πρόκλησης κινητικών προβλημάτων, αναπηρίας και εισαγωγής στο νοσοκομείο. Τα έλκη σηματοδοτούν την αρχή μιας ιδιαίτερης φάσης της ζωής των διαβητικών επειδή απειλούν την υγεία και την ακεραιότητα των ποδιών τους και συνήθως αποτελούν το πρώτο βήμα για τον ακρωτηριασμό τους [17, 18].

«Διαβητικό πόδι» ονομάζουμε το πόδι ενός διαβητικού ασθενούς που έχει τον δυνητικό κίνδυνο επιπλοκών, οι οποίες περιλαμβάνουν φλεγμονή, εξέλκωση και /ή καταστροφή εν τω βάθει ιστών και συνδέονται με νευρολογικές διαταραχές, ποικίλου βαθμού περιφερική αγγειακή νόσο και /ή μεταβολικές επιπλοκές του διαβήτη [19].

Τα έλκη των διαβητικών ποδιών διακρίνονται σε 3 τύπους: νευροπαθητικά, ισχαιμικά και νευροϊσχαιμικά. Ανατομικά, η κατανομή τους είναι: περίπου το 50% των έλκων εντοπίζεται στα δάχτυλα, το 30-40% στις πελματιαίες επιφάνειες των άπω κεφαλών των μεταταρσίων, περίπου το 10-15% στη ράχη του ποδιού και το 5-10% στον αστράγαλο, ενώ πάνω από το 10% εντοπίζονται σε πολλαπλές θέσεις [18, 20].

3.2. Επιδημιολογικά στοιχεία του Διαβητικού Ποδιού

Το διαβητικό έλκος αποτελεί την πλέον συχνή αιτία για εισαγωγή διαβητικών στο νοσοκομείο στις ΗΠΑ και Βρετανία. Στην πλειοψηφία του είναι νευροπαθητικής αιτιολογίας (45-50%), ενώ συχνά (έως και 45%) είναι μεικτής αιτιολογίας (νευροϊσχαιμικό) και σπανιότερα αμιγώς ισχαιμικό (κατ' άλλους έως 10%) [21].

Ο επιπολασμός του έλκους ποικίλλει σε διάφορες πληθυσμιακές μελέτες μεταξύ 2-10%. Η μέση διάρκεια νοσηλείας διαβητικών με έλκος είναι 59% μεγαλύτερη απ' ό,τι των διαβητικών χωρίς έλκος, οι ακρωτηριασμοί στα διαβητικά άτομα είναι 15-40 φορές περισσότεροι απ' ό,τι στα μη διαβητικά, ενώ στους άνδρες είναι 50% περισσότεροι απ' ό,τι στις γυναίκες [19].

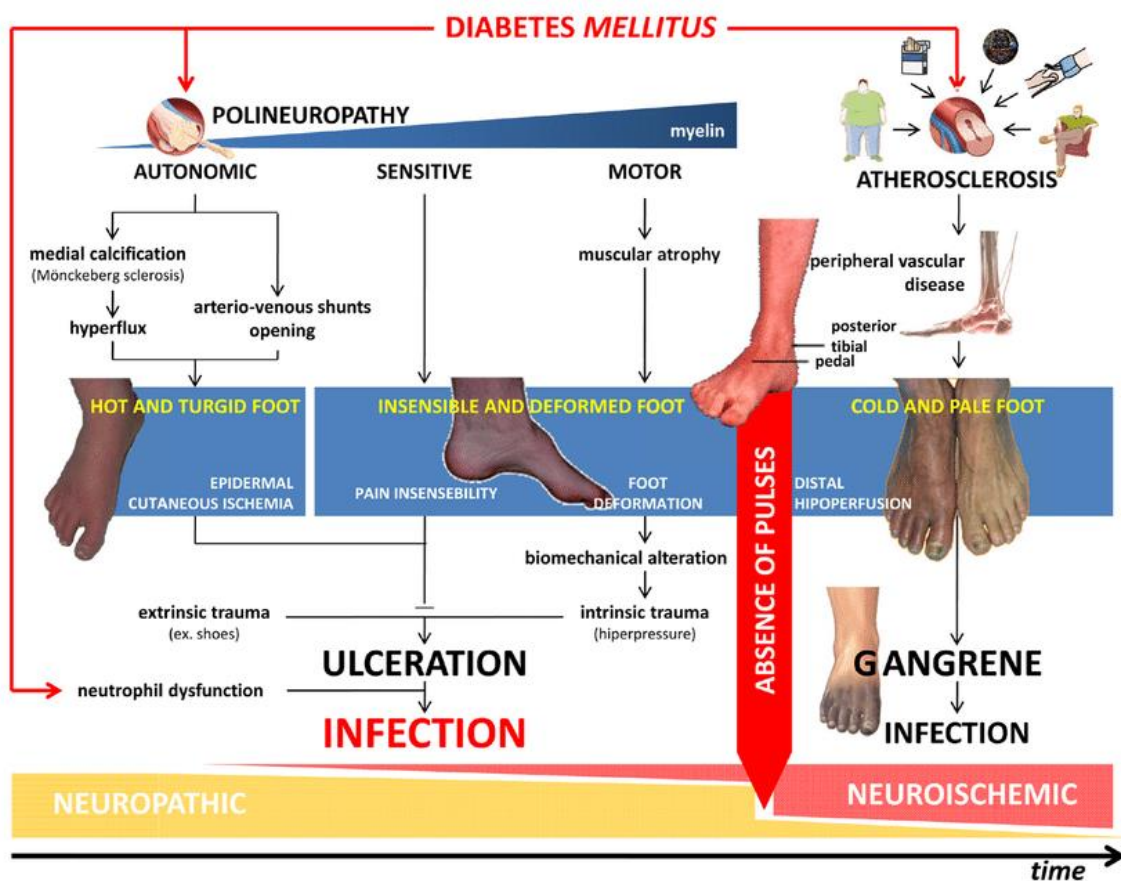
3.3. Αιτιοπαθογένεια του Διαβητικού Ποδιού

Η ανάπτυξη ενός διαβητικού έλκους αποτελεί σύνθετη διαδικασία. Κύρια αιτία του είναι η περιφερική αισθητικοκινητική διαβητική νευροπάθεια και η νευροπάθεια του αυτόνομου νευρικού συστήματος. Σημαντική, επίσης, είναι η συμβολή της περιφερικής αρτηριοπάθειας. Απαραίτητη προϋπόθεση, όμως, για την εκδήλωση του έλκους είναι ο τραυματισμός, που μπορεί να είναι ενδογενής (υπερκερατώσεις, τυλώδης ιστός) ή εξωγενής (τραυματισμός, έγκαυμα) και ο οποίος, σε συνδυασμό με τους παραπάνω παράγοντες κινδύνου, προκαλεί την εξέλκωση [1].

Στους ασθενείς με βαριά περιφερική νευροπάθεια η αίσθηση του πόνου, της θερμοκρασίας και της πίεσης είναι μειωμένη, με αποτέλεσμα να δυσκολεύονται να αντιληφθούν τα βλαπτικά ερεθίσματα στα οποία εκτίθενται τα άκρα τους. Η συνυπάρχουσα απώλεια της εν τω βάθει αισθητικότητας και η βλάβη των κινητικών νεύρων μπορεί να οδηγήσει σε αλλαγή της ανατομίας του ποδιού και παθολογικό

βάδισμα, με αποτέλεσμα περιοχές του πέλματος, όπως η πελματιαία επιφάνεια του μεγάλου δακτύλου και οι κεφαλές των μεταταρσίων, να δέχονται μεγάλη πίεση. Τέλος, η προσβολή του κολλαγόνου των αρθρώσεων, μέσω γλυκοζυλίωσης, μειώνει την κινητικότητα των αρθρώσεων επιβαρύνοντας το πρόβλημα. Οι περιοχές που δέχονται μεγάλες πιέσεις αναπτύσσουν τελικά αντιδραστική υπερκεράτωση της επιδερμίδας, η οποία, λειτουργώντας ως ξένο σώμα, αποτελεί ενδογενή παράγοντα τραυματισμού. Άλλοι παράγοντες που συμβάλλουν στην αύξηση του κινδύνου για εξέλκωση είναι η ξηροδερμία, λόγω δυσλειτουργίας των ιδρωτοποιών αδένων από την προσβολή του αυτόνομου νευρικού συστήματος ή λόγω της μειωμένης παροχής οξυγόνου από τη διαταραγμένη μικροκυκλοφορία [1].

Οι διαταραχές στη μικροκυκλοφορία και στο μεταβολισμό της γλυκόζης σε ενδοκυττάριο επίπεδο, οδηγούν στην ανάπτυξη της νευροπάθειας. Τα έλκη αναπτύσσονται πολύ συχνότερα στις κορυφές των δακτύλων των ποδιών, στις πελματιαίες επιφάνειες των κεφαλών των μεταταρσίων και σε περιοχές που συχνά προηγείται ο σχηματισμός τύλου [20].



Εικόνα 3. Παθοφυσιολογία διαβητικού έλκους. Η νευροπάθεια (με αλλαγές σε κίνηση, αίσθηση, και αυτόνομες λειτουργίες) παίζει τον κεντρικό ρόλο και προκαλεί έλκη που οφείλονται σε τραύμα ή υπερβολική πίεση σε ένα παραμορφωμένο πόδι χωρίς ευαισθησία. Μόλις το προστατευτικό στρώμα του δέρματος σπάσει, οι βαθύτεροι ιστοί εκτίθενται σε βακτηριακό αποικισμό. Η μόλυνση διευκολύνεται από το ΣΔ που σχετίζεται με ανοσολογικά ελλείμματα [22].

Ο συνδυασμός εξέλκωσης και σήψης επί εδάφους νευροϊσχαιμικού ποδιού ενέχει μεγάλο κίνδυνο να οδηγήσει σε γάγγραινα. Σε τέτοιες περιπτώσεις, πρώιμος αγγειοχειρουργικός έλεγχος και αντιμετώπιση κρίνονται απαραίτητα προκειμένου να μειωθεί η πιθανότητα ακρωτηριασμού του σκέλους και φυσικά ο ασθενής να διαφύγει τον κίνδυνο επιδείνωσης της σηπτικής κατάστασης [20].

Το διαβητικό πόδι είναι το αποτέλεσμα ενός συνδυασμού νευροπάθειας και ισχαιμίας. Η νευροπάθεια αφορά στο αισθητικό και κινητικό σκέλος του νευρικού συστήματος,

αλλά και στο αυτόνομο νευρικό σύστημα. Η απώλεια της προστατευτικής αισθητικότητας οδηγεί σε καταπονήσεις και τέλος κακώσεις του ποδιού που περνούν απαρατήρητες. Η απώλεια του κινητικού ελέγχου των μικρών μυών των ποδιών οδηγεί σε παραμόρφωση των ονύχων του ποδιού. Η αυτόνομη νευροπάθεια οδηγεί σε αγγειοκινητικές διαταραχές και εστιακά σε αρτηριοφλεβώδεις επικοινωνίες, γεγονός που επηρεάζει την τριχοειδική αιμάτωση [20].

Οι αγγειακές διαταραχές δύναται να αφορούν τόσο στα μικρά όσο και στα μεγάλα αγγεία οδηγώντας σε διαταραχές της μικροκυκλοφορίας. Άλλοι παράγοντες που δύναται να επιδεινώσουν τόσο τη συχνότητα εμφάνισης όσο και την πρόγνωση των διαβητικών ελκών είναι η συνυπάρχουσα πολλές φορές μειωμένη όραση λόγω της διαβητικής αμφιβληστροειδοπάθειας, η μειωμένη κινητικότητα των αρθρώσεων, η εκφύλιση των αγγείων του εγκεφάλου και τα περιφερικά οιδήματα. Στους διαβητικούς ασθενείς με εξελκώσεις στο κάτω άκρο, η διαδικασία της επούλωσης επηρεάζεται εξαιτίας της διαταραχής στη δράση των ινοβλαστών, των τοπικά δρώντων αυξητικών παραγόντων, της μειωμένης δράσης των κυτοκινών και των ανωμαλιών της σύνθεσης της εξωκυττάριας ουσίας [20].

3.4. Ταξινόμηση του Διαβητικού Ποδιού

Πολλά συστήματα κατάταξης των διαβητικών ελκών και των λοιμώξεων έχουν προταθεί και χρησιμοποιηθεί, χωρίς να υπάρχει προς το παρόν ένα μόνο αποδεκτό σύστημα ταξινόμησης. Το πιο πρόσφατο σύστημα ταξινόμησης είναι αυτό της Αμερικάνικης Εταιρεία Λοιμώξεων (IDSA), το οποίο περιλαμβάνει τέσσερα στάδια διαστρωμάτωσης της λοίμωξης (**Πίνακας 2**) και έχει καλή προγνωστική αξία στο κλινικό αποτέλεσμα.

Πίνακας 2: Σύστημα ταξινόμησης Αμερικάνικης Εταιρεία Λοιμώξεων (IDSA) [30].

Στάδια Pedis	Περιγραφή	Αναλυτικά στοιχεία	Χαρακτηρισμός κατά IDSA
1	Απουσία λοίμωξης	Απουσία συμπτωμάτων/σημείων λοίμωξης	Απουσία λοίμωξης
2	Λοίμωξη που αφορά μόνο δέρμα και υποδόριο ιστό	Τουλάχιστον 2 από: -οίδημα ή σκληρία -ερύθημα < 2 εκ. -ευαισθησία ή πόνος -θερμότητα -πυόρροια	Ήπια (mild)
3	Εκτεταμένη κυτταρίτιδα ή λοίμωξη επεκτεινόμενη βαθύτερα από το δέρμα και τον υποδόριο ιστό	Ερύθημα > 2 εκ και 1 από τα παραπάνω ή σημεία λοίμωξης των δομών κάτωθεν του δέρματος και του υποδόριου ιστού (απόστημα, οστεομυελίτιδα, σηπτική αρθρίτιδα, απονευρωσίτιδα κτλ.)	Μέτρια (moderate)
4	Λοίμωξη συνοδευόμενη από σύνδρομο συστηματικής φλεγμονώδους απάντησης (SIRS)	Οποιαδήποτε λοίμωξη με τουλ. 2 από: -πυρετός/υποθερμία -ταχυκαρδία -υποκαπνία -λευκοκυττάρωση/λευκοπενία -άωρες μορφές λευκών στην περιφέρεια	Σοβαρή (severe)

3.5. Κλινική εξέταση και εργαστηριακός έλεγχος του Διαβητικού Ποδιού

3.5.1. Εξέταση του έλκους

Με αποστειρωμένο τρόπο πραγματοποιείται η αξιολόγηση του έλκους ως προς τη θέση, το μέγεθος, το σχήμα, το βάθος, τη βάση και τα περιθώρια του έλκους. Η παρουσία του κοκκιώδους ιστού πρέπει να εξετάζεται για να προσδιοριστεί επακόλουθη διαχείριση. Η διάγνωση λοίμωξης των μαλακών ιστών σε ασθενείς με διαβήτη είναι μερικές φορές δύσκολη, καθώς τα σημεία φλεγμονής του υπερκείμενου έλκους μπορεί να απουσιάζουν. Η μόλυνση που έχει διαγνωστεί κυρίως βασίζεται στην

παρουσία των κλινικών σημείων και συμπτωμάτων, όπως ερυθρότητα, θερμότητα, ευαισθησία, πυώδεις εκκρίσεις και πυρετός [24, 29].

3.5.2. Νευρολογική εξέταση

Ένα διαπασών 128 Hz μπορεί να χρησιμοποιηθεί για δοκιμή για δονητική αίσθηση πάνω στην άκρη του μεγάλου δακτύλου, αφού οι μεταβολικές νευροπάθειες είναι πιο σοβαρές περιφερικά. Επίσης θα πρέπει να ελεγχθεί η αίσθηση στον πόνο [24, 29].

3.5.3. Εργαστηριακό έλεγχος

Η συνήθης διαδικασία περιλαμβάνει τη μέτρηση του επιπέδου γλυκόζης στο αίμα και στα ούρα για γλυκόζη και κετόνες. Άλλες μετρήσεις που πρέπει να γίνουν είναι η ουρία αίματος, οι ηλεκτρολύτες, τα επίπεδα κρεατινίνης, η γλυκοζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη (HbA1c). Η τελευταία είναι σημαντικό να μετρηθεί για τον συνολικό έλεγχο της γλυκαιμίας του ασθενούς, καθώς η HbA1c δείχνει τη μέση τιμή του σακχάρου στο αίμα τις προηγούμενες εβδομάδες έως μήνες. Έλεγχος της ηπατικής και νεφρικής λειτουργίας είναι αναγκαίος για την παρακολούθηση του μεταβολισμού του ασθενούς [24, 29].

4. ΕΓΚΛΩΒΙΣΜΟΣ ΙΝΔΟΜΕΘΑΚΙΝΗΣ ΣΕ «ΕΞΥΠΝΗ ΥΔΡΟΓΕΛΗ» ΓΙΑ ΔΙΑΔΕΡΜΙΚΗ ΧΡΗΣΗ ΣΕ ΔΙΑΒΗΤΙΚΟ ΕΛΚΟΣ

4.1. Διαδερμική Χορήγηση

4.1.1. Ορισμός

Υπάρχει σημαντικό ενδιαφέρον για το δέρμα ως χώρος εφαρμογής φαρμάκων, τόσο για τοπικό, όσο και για συστηματικό αποτέλεσμα. Εντούτοις, το δέρμα, ιδιαίτερα η κεράτινη στιβάδα, δημιουργεί ένα τρομερό εμπόδιο στη διείσδυση του φαρμάκου, περιορίζοντας, έτσι, την τοπική και τη διαδερμική βιοδιαθεσιμότητα. Οι τεχνικές ενίσχυσης της διείσδυσης του δέρματος αναπτύχθηκαν για να βελτιώσουν τη βιοδιαθεσιμότητα και να αυξήσουν το φάσμα των φαρμάκων για τα οποία η τοπική και η διαδερμική παροχή είναι βιώσιμη επιλογή [25].

4.1.2. Χρήση στη Θεραπευτική

Η διαδερμική χορήγηση των φαρμάκων θεωρείται ένας ενδιαφέρον υποψήφιος για μεταφορά φαρμάκων, καθώς διαθέτει εξαιρετικά πλεονεκτήματα, όπως παράκαμψη του φαινομένου πρώτης διόδου, παράταση της απελευθέρωσης του φαρμάκου και καλύτερη συμμόρφωση του ασθενούς. Σημαντική πρόοδος έχει γίνει τις περασμένες δεκαετίες στη μεταφορά φαρμάκων μέσω στοχευμένης διαπερατότητας διαπερνώντας το φραγμό του δέρματος. Η μεγαλύτερη πρόκληση στη διαδερμική χορήγηση είναι η εξωτερική στιβάδα του δέρματος, η κεράτινη στιβάδα, η οποία έχει 8-15 μm πάχος και έχει οργανωμένη δομή. Για να ενισχυθεί η διαπερατότητα του δέρματος, η συνηθέστερη προσέγγιση είναι η εφαρμογή χημικών ενισχυτών διείσδυσης για να

επιτρέψουν στο δέρμα να είναι διαπερατό στα επιθυμητά φάρμακα ξεπερνώντας το φραγμό του δέρματος. Παρόλα αυτά, αυτή η προσέγγιση είναι προβληματική γιατί προκαλείται ερεθισμός ή τοξικότητα στα ζωντανά κύτταρα σε εσωτερικές στιβάδες.

Γι' αυτό το λόγο, έχουν προταθεί και αναπτυχθεί νέοι υποψήφιοι για ενίσχυση της διαπερατότητας όπως υπέρηχοι, ιοντοφόρτωση κ.α. Επιπροσθέτως, έχουν αναπτυχθεί συστήματα διαμόρφωσης- φορείς, όπως μήτρες «έξυπνων» υδρογελών, συστήματα διασποράς (λιποσώματα) στα οποία αρχικά δόθηκε έμφαση στη διείσδυση μέσω της στιβάδας του δέρματος αλλά παραμελήθηκε η δυσκολία του φορέα να απελευθερώσει το φάρμακο. Τέλος, ο νέος στόχος στη διαδερμική χορήγηση είναι η ανάπτυξη συστημάτων με δομή πορώδους καναλιού, στα οποία το φάρμακο θα εγκλωβίζεται και θα μεταφέρεται στη στοχευμένη τοποθεσία και θα ενισχύεται η διαδερμική απελευθέρωση και βιοδιαθεσιμότητα των φαρμάκων χωρίς τη χρήση χημικών ενισχυτών [26, 27, 28].

4.2. Υδρογέλες

Οι υδρογέλες είναι διασυνδεδεμένα (cross-linked) τρισδιάστατα δίκτυα αποτελούμενα από αλυσίδες πολυμερών ικανές να διογκώνονται και να συγκρατούν μεγάλα ποσά υγρής φάσης σε ένα ομογενές ημιστερεό σύστημα. Η ικανότητα των υδρογελών να απορροφούν το νερό προκύπτει από υδρόφιλες λειτουργικές ομάδες συνδεδεμένες με τον πολυμερικό σκελετό, ενώ η αντοχή τους στη διάλυση προκύπτει από τις διασυνδέσεις μεταξύ αλυσίδων δικτύου [31, 32].

Η υψηλή συγγένεια των υδρογελών με το νερό τους δίνει φυσικές ιδιότητες που μοιάζουν με ζωντανούς ιστούς, όπως να είναι συμπαγείς και να έχουν χαμηλή διεπιφανειακή τάση με υδατικά μέσα, και τις καθιστά κατάλληλες για ευρεία εφαρμογή σε φαρμακευτικούς και βιοϊατρικούς τομείς ως τοπικά συστήματα αποθήκης *in situ*

(localized depot systems) για μεταφορά φαρμάκων. Ειδικότερα, οι υδρογέλες έχουν χρησιμοποιηθεί εκτεταμένα για την προστασία φαρμάκων από εχθρικά περιβάλλοντα, αλλά επίσης για ελεγχόμενη αποδέσμευση φαρμάκων μεταβάλλοντας την περιβαλλοντική τους κατάσταση (pH, θερμοκρασία, μαγνητική κ.λπ.) (**Εικόνα 4**). Αυτά τα είδη υδρογέλων που ανταποκρίνονται στα ερεθίσματα ονομάζονται «έξυπνες υδρογέλες».



Εικόνα 4. Διάφορες υδρογέλες ανταποκρινόμενες σε ερεθίσματα του περιβάλλοντος κι η δράση τους στη μεταφορά φαρμάκων

4.2.1. Ταξινόμηση Υδρογελών

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

a) *Βάσει πηγής προέλευσης.* Διαχωρισμός σε τρεις βασικές ομάδες ανάλογα τη φυσική, συνθετική ή υβριδική προέλευση. Στις φυσικές υδρογέλες περιλαμβάνονται υλικά όπως κολλαγόνο, υαλουρονικό οξύ, κυτταρίνη, κ.α. Στις συνθετικές απαντώνται υλικά όπως Polyethylene glycol (PEG), Poly(acrylic acid) (PAA), κ.α.

Οι υβριδικές υδρογέλες ορίζονται ως ενυδατωμένα πολυμερικά δίκτυα φυσικά ή ομοιοπολικά συνδεδεμένα μεταξύ και/ή με νανοσωματίδια ή νανοδομές. [33, 34, 35].

b) *Βάσει πολυμερικής σύνθεσης*. Η μέθοδος προετοιμασίας οδηγεί στο σχηματισμό διαφορετικών ομάδων υδρογελών. Έτσι διακρίνονται σε:

- i. Ομοπολυμερείς υδρογέλες, όταν προέρχονται από ένα είδος μονομερούς που αποτελεί τη βασική δομική μονάδα.
- ii. Συμπολυμερείς υδρογέλες, όταν αποτελούνται από δύο ή περισσότερα διαφορετικά είδη μονομερούς με τουλάχιστον ένα υδρόφιλο συστατικό
- iii. Πολύ-πολυμερείς υδρογέλες, όταν προέρχονται από σχηματισμό δύο πολυμερών με διασυνδέσεις συστατικά, φυσικά ή συνθετικά, ανεξάρτητα μεταξύ τους που περιέχονται σε μορφή δικτύου [33, 36, 37].

c) *Βάσει διαμόρφωσης*. Με βάση τη φυσική τους δομή και τη χημική τους σύνθεση διακρίνονται σε:

- i. Άμορφες υδρογέλες (μη κρυσταλλικές)
- ii. Ημι-κρυσταλλικές
- iii. Κρυσταλλικές

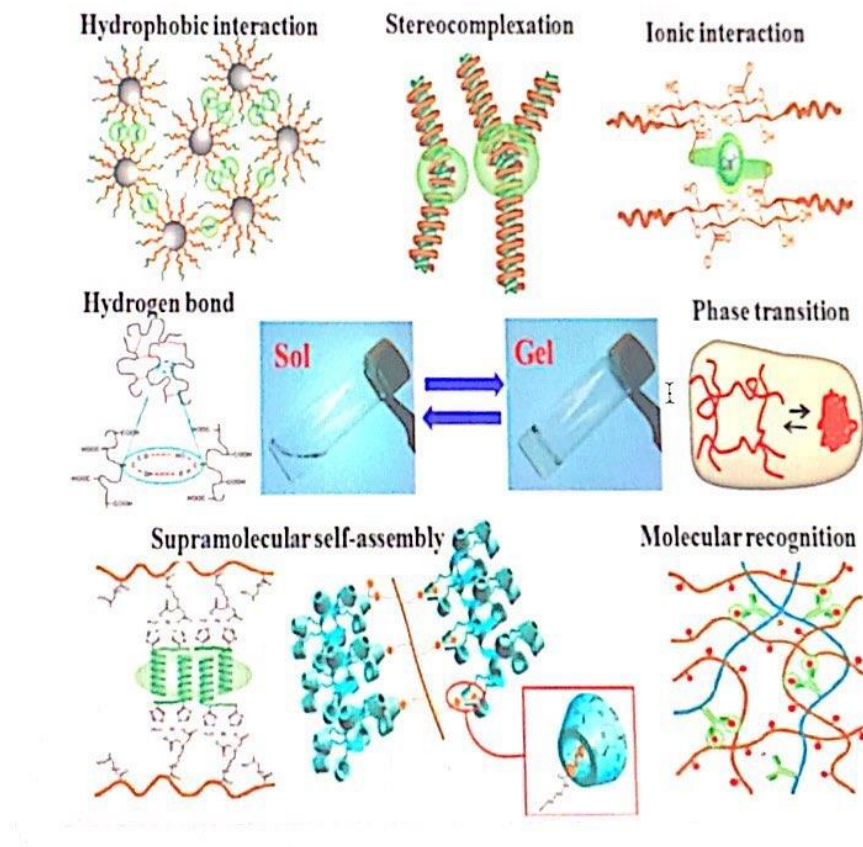
d) *Βάσει φυσικής εμφάνισης*. Μπορούν να εμφανίζονται ως μικροσφαιρίδια, ως φιλμ ή μήτρες ανάλογα τη μέθοδο πολυμερισμού [33, 37].

e) *Βάσει βιοδιασπασιμότητας*. Χωρίζονται σε βιοδιασπώμενες και μη βιοδιασπώμενες.

f) *Βάσει τύπου διασύνδεσης*. Σε δίκτυα που υπάρχουν χημικές διασυνδέσεις παρατηρούνται μόνιμες ομοιοπολικές συνδέσεις ενώ αντίθετα στα φυσικώς διασυνδεδεμένα δίκτυα οι συνδέσεις είναι παροδικές/αντιστρεπτές και οφείλονται είτε σε φυσικές αλληλεπιδράσεις (ιονικές, υδρόφοβες) είτε σε πλεγμένες αλυσίδες πολυμερών.

g) *Βάσει ηλεκτρικού φορτίου και δικτύου*. Προκύπτουν τέσσερις κατηγορίες:

- i. Μη-ιονικές (ουδέτερες)
 - ii. Ιονικές (κατιονικές/ανιονικές)
 - iii. Αμφοτερικοί ηλεκτρολύτες, που περιλαμβάνουν όξινες και βασικές ομάδες
 - iv. Αμφιτεριονικοί, όταν περιλαμβάνονται σε κάθε δομική μονάδα τόσο ανιονικές όσο και κατιονικές ομάδες.
- h) *Βάσει φυσικών ιδιοτήτων τους.* Κατηγοριοποιούνται σε συμβατές υδρογέλες και «έξυπνες» υδρογέλες. Οι τελευταίες είναι σχεδιασμένες έτσι ώστε αλλαγές στις εξωτερικές περιβαλλοντικές συνθήκες να προκαλούν ελεγχόμενες αντιδράσεις, οι οποίες αφορούν την μηχανική τους αντοχή, τη δομή κατασκευής τους, τη διαπερατότητά τους, τη συμπεριφορά της διόγκωσης ή της συρρίκνωσης κλπ. Οι αλλαγές αυτές προκαλούνται από πληθώρα ερεθισμάτων εξωτερικά, φυσικά, χημικά, μηχανικά (θερμοκρασία, ιοντική ισχύς, πίεση, pH κα) (**Εικόνα 5**) [33, 38, 39].



Εικόνα 5. Σχηματική απεικόνιση μεθόδων για το σχηματισμό φυσικώς διασυνδεδεμένων υδρογελών [39].

Στην παρούσα εργασία θα μελετηθούν οι ιδιότητες θερμο-ευαίσθητων υδρογελών, ως συστήματα μεταφοράς φαρμάκων. Δύο τύποι θερμο-ευαίσθητων υδρογελών υπάρχουν που υφίστανται ζελατινοποίηση είτε με ψύξη κάτω από την ανώτερη κρίσιμη θερμοκρασία ζελατινοποίησης (UCGT), είτε με θέρμανση πάνω από την κατώτερη κρίσιμη θερμοκρασία ζελατινοποίησης (LCGT). Οι υδρογέλες με LCGT συμπεριφορά και μετάβαση υγρής φάσης σε φάση γέλης στους 37 °C έχουν αποκτήσει ενδιαφέρον σε βιοϊατρικούς τομείς, ως φορείς για κύτταρα, φάρμακα και βιομόρια, καθώς επιτρέπουν τον εγκλεισμό σε ήπιες συνθήκες (θερμοκρασία ≤ 37 °C) [40].

4.2.2. Χαρακτηριστικά υδρογελών

Τα βασικά χαρακτηριστικά που οφείλει να έχει μια υδρογέλη για να θεωρηθεί ιδανική είναι τα κάτωθι:

- a) Να διατηρεί εύκολα λιπόφιλα και υδρόφιλα φάρμακα και να μην εμποδίζει την απελευθέρωσή τους
- b) Να μη διαμορφώνει ομοιοπολικούς δεσμούς με τη βλεννίνη
- c) Φωτο-σταθερή
- d) Μετά τη διόγκωση να παραμένει pH ουδέτερη
- e) Να εμποδίζει τη δράση τοπικών ενζύμων και να προωθεί την απορρόφηση των φαρμάκων
- f) Να προσκολλάται όσο το δυνατόν πιο γρήγορα σε βιολογικούς ιστούς
- g) Άχρωμη, άοσμη, ατοξική
- h) Χαμηλό κόστος.

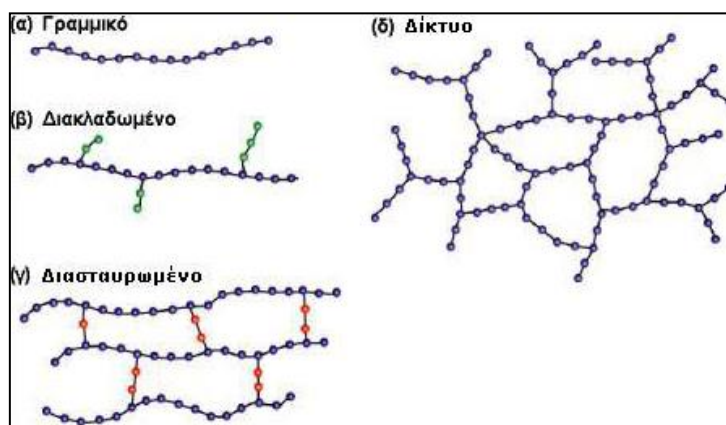
Καμία υδρογέλη δεν ικανοποιεί ταυτόχρονα όλες τις προδιαγραφές. Πρακτικά επιτυγχάνουν το μέγιστο δυνατό επίπεδο κάποιων χαρακτηριστικών [33].

4.2.3. Πολυμερή

➤ Κατάταξη πολυμερών

Τα πολυμερή είναι ουσίες υψηλού μοριακού βάρους, οι οποίες αποτελούνται από επαναλαμβανόμενες μονάδες, τα μονομερή, τα οποία συνδέονται σε μακριά αλυσίδα. Οι δομικές μονάδες της αλυσίδας συνδέονται μεταξύ τους με ομοιοπολικούς δεσμούς, ενώ οι ίδιες οι αλυσίδες-μακρομόρια αλληλοσυνδέονται είτε με απλούς δεσμούς υδρογόνου ή van der Waals (φυσικοί δεσμοί), είτε με crosslinks, και είναι υπεύθυνες

για τη δομή και συνεπαγωγικά τις ιδιότητες του πολυμερούς. Τα πολυμερικά μόρια μπορεί να είναι γραμμικά (α) ή διακλαδισμένα (β) ενώ διακριτές γραμμικές ή διακλαδισμένες αλυσίδες μπορούν να συνδεθούν με ομοιοπολικούς δεσμούς προς διασταυρωμένα (γ) και δικτυωμένα πολυμερή (δ) (**Εικόνα 6**).

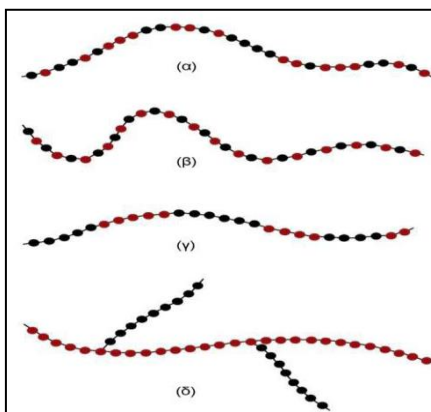


Εικόνα 6. Μοριακές δομές πολυμερών

Τα πολυμερή χωρίζονται επίσης σε ομοπολυμερή (homopolymers), όπου τα μονομερή από τα οποία αποτελούνται είναι όλα πανομοιότυπα και σε συμπολυμερή (copolymers), όπου υπάρχουν περισσότερα του ενός τύπου μονομερή. Ως προς τη σύνθεση τους, τα συμπολυμερή μπορεί να είναι:

- **Τυχαία** (random copolymers), με τυχαία κατανομή των μονομερών κατά μήκος της αλυσίδας.
- **Εναλλασσόμενα** (alternating copolymers), με εναλλαγή δύο μονομερών με απόλυτη κανονικότητα.
- **Συμπολυμερή κατά συστάδες** (block copolymers), δηλαδή γραμμικά μακρομόρια αποτελούμενα από εναλλασσόμενες συστάδες (blocks) ομοπολυμερών. Υπάρχουν δισυσταδικά (AB diblocks) και τρισυσταδικά (ABA ή BAB triblocks).

- **Εμβολιασμένα** (graft copolymers), όπου κατά μήκος μιας αλυσίδας ομοπολυμερούς «εμβολιάζονται» ως διακλαδώσεις μακρομόρια άλλου ομοπολυμερούς (**Εικόνα 7**) [41, 42].



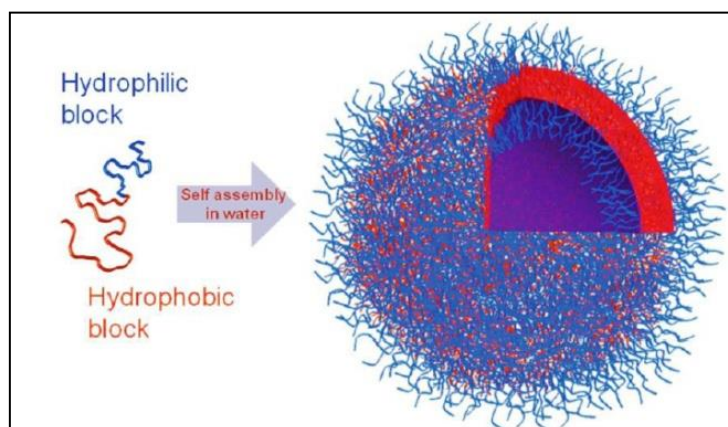
Εικόνα 7. Δομές συμπολυμερών (α) τυχαία, (β) εναλλασσόμενα, (γ) κατά συστάδες, (δ) εμβολιασμένα.

➤ Ιδιότητες συμπολυμερών κατά συστάδες

Τα συμπολυμερή κατά συστάδες έχουν αποκτήσει μεγάλο ενδιαφέρον, λόγω της ποικιλίας και των δυνατοτήτων που προσφέρουν στο σχεδιασμό μακρομορίων. Οι ερευνητές μπορούν να έχουν τον έλεγχο των μακρομοριακών χαρακτηριστικών τους, όπως το μέγεθος των συστάδων, την αρχιτεκτονική τους, τη μοριακή πολυδιασπορά, ενώ ανέπτυξαν ειδικές διαδικασίες σύνθεσης γνωστές ως "ζωντανός πολυμερισμός" (living polymerization). Μέσω αυτών των μεθόδων μπορεί να δημιουργηθεί μεγάλη ποικιλία αρχιτεκτονικών.

Μια από τις μοναδικές τους ιδιότητες είναι ο σχηματισμός πολυμεροσωμάτων, τα οποία προκύπτουν, όταν αμφίφιλα συσταδικά συμπολυμερή αυτό-συναρμολογούνται (self-assemble) σε πολυμερικά κυστίδια (μεγέθους από 10nm έως 10μm), τα οποία στο εσωτερικό και το εξωτερικό της κύστης είναι υδρόφιλα, ενώ στην πολυμερική διπλοστοιβάδα είναι υδρόφοβα (**Εικόνα 8**). Η ικανότητά τους να εγκλωβίζουν

υδρόφιλα, αλλά και να ενσωματώνουν και υδρόφοβα βιοδραστικά μόρια, τα καθιστά ελκυστικά συστήματα για τη μεταφορά τους. Ακόμη, μπορούν με κατάλληλες προσθήκες βιο-υλικών, να ανταποκρίνονται σε εξωτερικά ερεθίσματα (θερμοκρασία, pH, ιοντική ισχύς, φως), να μεταφέρουν εκτός από βιοδραστικά μόρια, πρωτεΐνες, DNA και αντισώματα, καθώς και να χρησιμοποιούνται σε απεικονιστικές μεθόδους (NIR, MRI) [41].



Εικόνα 8. Σχηματική αναπαράσταση της αυτό-συναρμολόγησης αμφίφιλων δισυσταδικών συμπολυμερών σε ένα πολυμερόσωμα, παρουσία νερού.

➤ "Έξυπνα" πολυμερή που αποκρίνονται σε εξωτερικά ερεθίσματα (stimuli-responsive polymers)

Τα "έξυπνα" πολυμερή (smart) συμμετέχουν σε μεγάλο βαθμό σε ποικίλες εφαρμογές. Συγκεκριμένα, τα "έξυπνα" πολυμερικά συστήματα μεταφοράς φαρμακομορίων μπορούν να χαρακτηριστούν ως ευφυή συστήματα, ικανά να αποδεσμεύουν το περιεχόμενό τους σε κατάλληλο χρόνο και τόπο, σε απάντηση συγκεκριμένων φυσιολογικών ερεθισμάτων. Ένα ευαίσθητο ή "έξυπνο" (smart) πολυμερές υφίσταται μια απότομη αλλαγή των φυσικών του ιδιοτήτων σε απάντηση μικρών περιβαλλοντικών ερεθισμάτων (**Πίνακας 3**). Τα πολυμερή αυτά αποκαλούνται επίσης

ευφυή, επειδή παρουσιάζουν μικρές αλλαγές, που συμβαίνουν ως απόκριση σε ένα εξωτερικό ερέθισμα, μέχρι αυτό να φθάσει σε ένα κρίσιμο σημείο, ενώ παράλληλα έχουν την ικανότητα να επιστρέψουν στην αρχική τους κατάσταση μόλις το ερέθισμα διακοπεί [43].

Πίνακας 3: Διάφορα ερεθίσματα και αποκρινόμενα υλικά [43].

Περιβαλλοντικό ερέθισμα	Αποκρινόμενο υλικό
Θερμοκρασία	Poloxamers Poly(N-alkylacrylamide)s Poly(N-vinylspropylactam)s Cellulose, Xyloglucan, Chitosan
pH	Poly(methacrylicacid)s Poly(vinylpyridine)s Poly(vinylimidazole)s
Ακτινοβολία	Modified poly(acrylamide)s
Ηλεκτρικό πεδίο	Sulfonated polystyrenes Poly(thiophene)s Poly(ethyloxazoline)
Υπέρηχοι	Ethylenevinylacetate

Τα πολυμερή αυτά παρουσιάζουν μια μη γραμμική απόκριση σε μικρά ερεθίσματα, οδηγώντας σε αξιοσημείωτη μακροσκοπική μεταβολή της δομής ή των ιδιοτήτων τους. Οι μεταβολές αυτές είναι αναστρέψιμες και συμπεριλαμβάνουν αλλαγές κατάστασης, σχήματος, διαλυτότητας, αγωγιμότητας, αλληλεπιδράσεις διαλυτών, καθώς και υδρόφιλες/λιπόφιλες ισορροπίες. Οι κινητήριες δυνάμεις πίσω από αυτές τις μεταβάσεις περιλαμβάνουν εξουδετέρωση των φορτισμένων ομάδων με την προσθήκη αντίθετα φορτισμένων πολυμερών ή με μετατόπιση του pH και την αλλαγή στην υδρόφιλη / λιπόφιλη ισορροπία ή με μεταβολές στην σύνδεση υδρογόνου λόγω αύξησης ή μείωσης της θερμοκρασίας.

Τα κύρια οφέλη των έξυπνων συστημάτων μεταφοράς φαρμακομορίων με βάση τα πολυμερή περιλαμβάνουν μειωμένη συχνότητα δόσολογίας, ευκολία παρασκευής, διατήρηση της επιθυμητής θεραπευτικής συγκέντρωσης με μια μόνο δόση (single dose), παρατεταμένη αποδέσμευση του ενσωματωμένου φαρμακομορίου, περιορισμό των παράπλευρων ανεπιθύμητων ενεργειών, καθώς και βελτιωμένη σταθερότητα. Τα εντυπωσιακά χαρακτηριστικά των "έξυπνων" πολυμερών οφείλονται στην ευελιξία τους και τη ρυθμιζόμενη ευαισθησία τους. Η σημαντικότερη αδυναμία, ωστόσο, όλων των εξωτερικά διεγερόμενων-ευαίσθητων πολυμερών αποτελεί ο αργός χρόνος απόκρισης. Η ευελιξία των πολυμερικών υλικών και η δυνατότητα της συνδυαστικής σύνθεσής τους μπορεί να βοηθήσει στη ρύθμιση της ευαισθησίας τους, ώστε να παρουσιάζουν ένα στενό εύρος απόκρισης στο ερέθισμα, ενώ η ανάπτυξη των "έξυπνων" πολυμερικών συστημάτων μπορεί να οδηγήσει σε περισσότερο ακριβή και προγραμματισμένη μεταφορά των φαρμακομορίων.

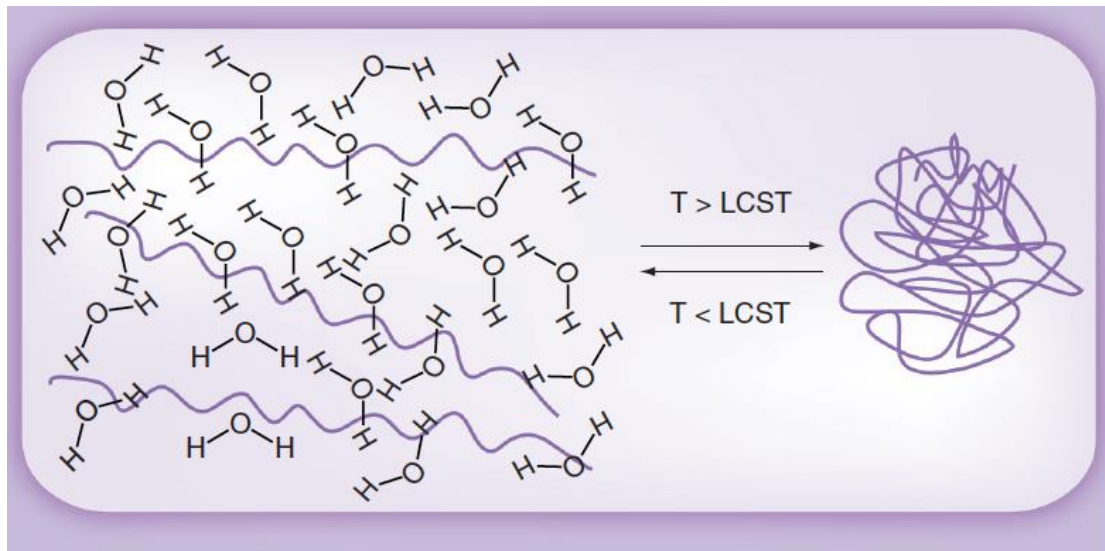
Οι αποκρίσεις των "έξυπνων" πολυμερών μπορεί να είναι διαφόρων τύπων. Η απόκριση στα φυσικά ή χημικά ερεθίσματα περιορίζεται στην καταστροφή και το σχηματισμό διάφορων δευτερογενών δυνάμεων, συμπεριλαμβανομένων των δεσμών υδρογόνου, υδρόφοβων δυνάμεων, δυνάμεων van der Waals και ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων. Οι χημικές εκδηλώσεις περιλαμβάνουν απλές αντιδράσεις, όπως οξείδωση, εξουδετέρωση, αναγωγή και υδρόλυση τμημάτων, που συνδέονται με την αλυσίδα του πολυμερούς. Σε ορισμένες περιπτώσεις, παρουσιάζεται δραματική διαμορφωτική αλλαγή στην πολυμερική δομή, π.χ. αποικοδόμηση της πολυμερικής δομής, που οφείλεται σε μη αναστρέψιμη θραύση δεσμών ως απόκριση στο εξωτερικό ερέθισμα.

Το "έξυπνο" πολυμερές είναι σημαντικό να παρουσιάζει ιδιότητες όπως βιοαποικοδομησιμότητα και βιοσυμβατότητα, δυνατότητα ελεγχόμενης αποδέσμευσης, σταθερότητα, καθώς και υψηλή ικανότητα φόρτωσης των

φαρμακομορίων, ενώ πρέπει να απέχει από συστηματική τοξικότητα, ανοσογονικότητα, καρκινογένεση και αναπαραγωγική τοξικότητα [43, 44, 47].

➤ Θερμο-ευαίσθητα πολυμερή

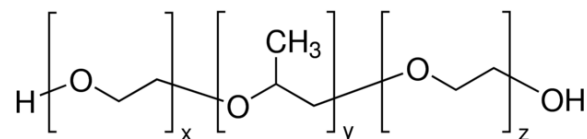
Στην παρούσα εργασία θα διερευνηθούν τα θερμο-ευαίσθητα πολυμερή. Μία ιδιάζουσα ιδιότητα αυτών των πολυμερών είναι η θερμο-πηκτική ιδιότητά τους, λόγω της ιδιότητάς τους να αυτο-οργανώνονται σε μικκύλια σε ένα υδατικό διάλυμα. Η διαδικασία μικκυλίωσης εξαρτάται από δύο σημαντικούς παράγοντες, την κρίσιμη μικκυλιακή συγκέντρωση (critical micelle concentration – CMC) και την κρίσιμη μικκυλιακή θερμοκρασία (critical micelle temperature – CMT) ή την χαμηλότερη κρίσιμη θερμοκρασία διάλυσης (Lower Critical Solution Temperature – LCST). Η μικκυλίωση είναι το πρώτο βήμα για να μετατραπούν σε γέλες επειδή το φυσικό πακετάρισμα των μικκυλίων είναι θεμελιώδες. Η μετατροπή σε γέλη είναι αναστρέψιμη και εξαρτάται από τη θερμοκρασία μετάβασης διαλύματος σε γέλη (Tsol-gel). Κάτω από αυτή την τιμή τα θερμο-ευαίσθητα πολυμερή είναι σε κατάσταση διόγκωσης και πλήρους διάλυσης, ενώ πάνω από αυτή τη θερμοκρασία είναι αφυδατωμένα και αδιάλυτα (**Εικόνα 9**). Αρκετά θερμο-ευαίσθητα πολυμερή που σχηματίζουν μικκύλια έχουν περιγραφεί στη βιβλιογραφία μεταξύ των οποίων, το πολυ(N-ισοπροπυλακρυλαμίδιο) [poly(N-isopropylacrylamide) (pNIPAAm)], το πολυ(υδροξυπροπυλμεθακρυλαμίδιο-γαλακτικό {poly (hydroxypropyl methacrylamide-lactate) [p(HPMAM-Lac_n)]} και τα Poloxamer (Pluronic). Τα προαναφερθέντα είναι τα πιο συχνά μελετημένα και μερικές φαρμακευτικές φόρμουλες που βασίζονται σε θερμο-ευαίσθητα πολυμερή βρίσκονται στο στάδιο των κλινικών δοκιμών [45, 46, 48, 49].



Εικόνα 9. Συμπεριφορά πολυμερών στην χαμηλότερη κρίσιμη θερμοκρασία διάλυσης (Lower Critical Solution Temperature – LCST)

➤ Poloxamer

Το πολυμερές που θα αναλυθεί στην διπλωματική εργασία είναι το Poloxamer 407 (Pluronic® F127). Είναι συνθετικό συμπολυμερές που αποτελείται από poly(ethylene oxide) -b- poly(propylene oxide)-b- poly(ethylene oxide) (PEO-PPO-PEO).



Εικόνα 10. Χημική δομή του συμπολυμερούς κατά συστάδες Poloxamer 407, όπου x και y τα μήκη των PEO και PPO αλύσεων, αντίστοιχα.

Σε υδατικά διαλύματα, ο αμφίφυλος χαρακτήρας του συμπολυμερούς οδηγεί το μακρομόριο να αυτό-οργανώνεται σε μικκύλια, με έναν εσωτερικό υδροφοβικό πυρήνα και ένα εξωτερικό υδρόφιλο κέλυφος [50].

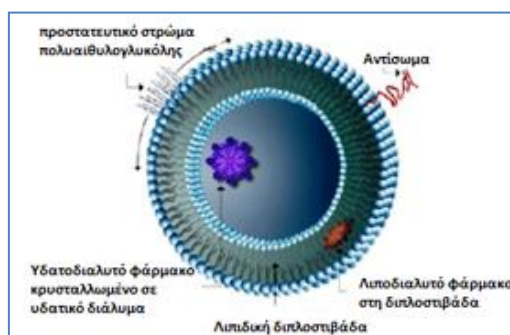
Οι υδρογέλες με βάση το Poloxamer 407 παρουσιάζουν «θερμο-αντιστρέψιμη μετάβαση στην κατάσταση γέλης» [50] για επαρκώς συμπυκνωμένα δείγματα.

Παρουσιάζουν θερμοκρασία μετάβαση φάσης sol-gel στους 37°C (φυσιολογική θερμοκρασία σώματος) και μετάβαση gel-sol στους 50°C, δημιουργώντας έτσι θερμοαντιστρέψιμες γέλες. Ένας από τους μηχανισμούς που έχει προταθεί γι' αυτή τη συμπεριφορά σχετίζεται με αλλαγές στις μικκυλιακές ιδιότητες [51, 52, 53].

4.3. Λιποσώματα

4.3.1. Γενικά

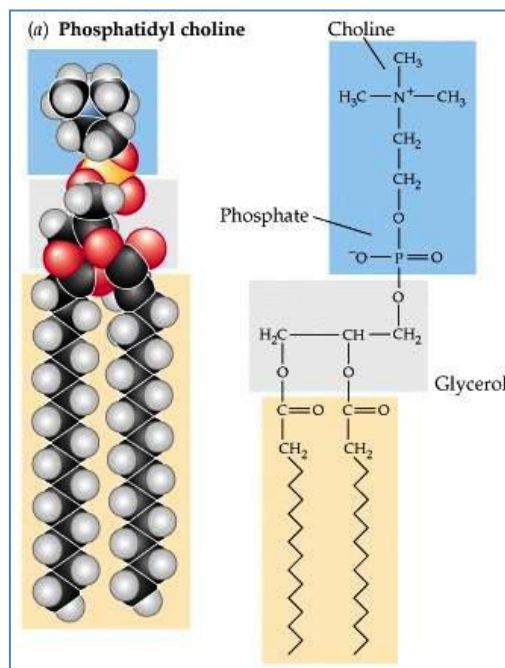
Ως λιποσώματα ορίζονται οι κλειστές σφαιρικές δομές μιας ή περισσοτέρων λιπιδικών διπλοστιβάδων (**Εικόνα 11**), οι οποίες περικλείουν το μέσο διασποράς των φωσφολιπιδίων. Ο σχηματισμός αυτός προσδίδει στα λιποσώματα την πολύτιμη ιδιότητα να αποτελούνται τόσο από υδρόφοβο όσο και υδρόφιλο εσωτερικό περιβάλλον, το οποίο καθορίζεται από τις λιπιδικές αλυσίδες των φωσφολιπιδίων και το υδατικό μέσο διασποράς αντίστοιχα.



Εικόνα 11. Δομή λιποσώματος

Το γεγονός ότι, τα φωσφολιπίδια είναι αμφίφιλες οργανικές ενώσεις (**Εικόνα 12**) και αποτελούν το δομικό υλικό της κυτταρικής μεμβράνης, προσδίδει στα λιποσώματα την απαραίτητη βιοσυμβατότητα. Η λιπιδικής σύστασης μεμβράνη εσωκλείει τον υδατικό

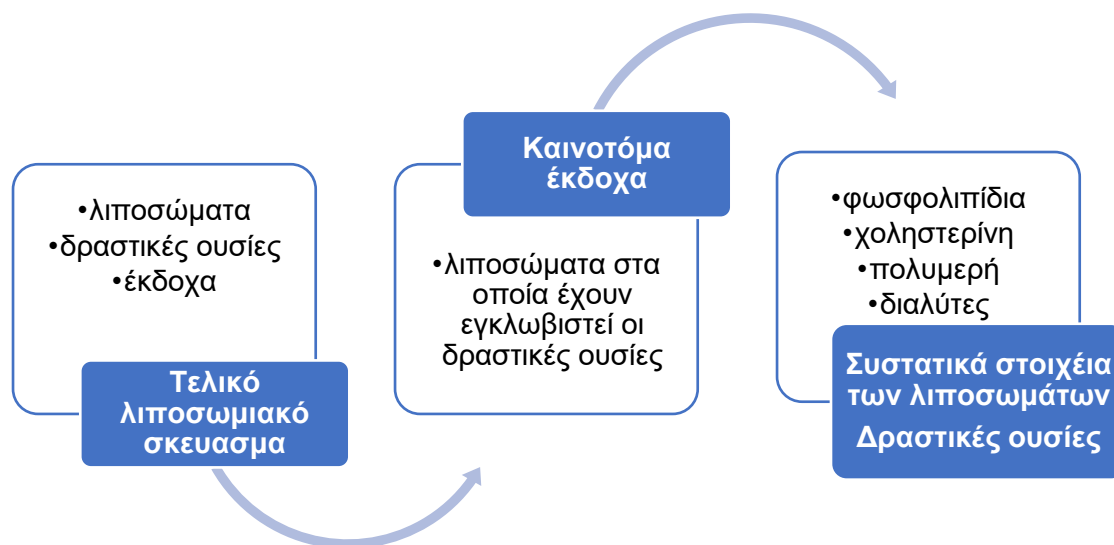
πυρήνα, όπου εγκλωβίζονται υδρόφιλα μόρια, ενώ τα λιπόφιλα μόρια ενσωματώνονται στην ίδια τη μεμβράνη [54, 55].



Εικόνα 12. Δομή φωσφολιπιδίου φωσφατιδυλοχολίνης.

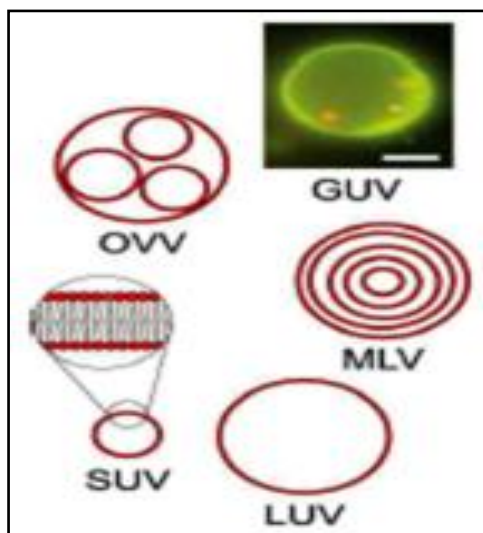
Στις πρώτες ύλες των λιποσωμακών συστημάτων συγκαταλέγονται, εκτός από τα συστατικά των λιποσωμάτων (π.χ. φωσφολιπίδια), οι δραστικές ουσίες, που πρόκειται να εγκλειστούν και οποιοδήποτε άλλο έκδοχο (π.χ. χοληστερόλη κ.τ.λ.) απαιτείται για την τελική σύνθεση του λιποσωμακού σκευάσματος. Σύμφωνα όμως με την τελευταία βιβλιογραφία, και ο λιποσωμακός φορέας αυτός καθ' εαυτός θεωρείται έκδοχο, καθώς δεν αποτελεί την τελική μορφή του σκευάσματος, αλλά παρασκευάζεται κατά τη διαδικασία της προ-μορφοποίησης (pre-formulation), και μαζί με τα υπόλοιπα έκδοχα που προστίθενται μετά, συνθέτουν την τελική μορφή του λιποσωμακού σκευάσματος (**Εικόνα 13**). Μάλιστα, θεωρείται καινοτόμο έκδοχο (innovative excipient) σε σχέση με τη συστηματική προσέγγιση άλλων πιο παραδοσιακών εκδόχων π.χ. λακτόζη. Είναι δε εξαιρετικά σημαντικός ο έλεγχος της καθαρότητας (purity) όλων των πρώτων υλών,

συμβατικών και καινοτόμων, των λιποσωματικών σκευασμάτων, μέσω διαδικασιών που υφίστανται πιστοποίηση (process validation).



Εικόνα 13. Διαδικασία προ-μορφοποίησης με στόχο το τελικό λιποσωματικό σκεύασμα.

Τα λιποσώματα, ανάλογα το μέγεθός τους και τον αριθμό των διπλοστοιβάδων τους, μπορούν να ταξινομηθούν σε πολυκουστιδικά λιποσώματα (Multi Vesicular Vesicles, MVVs), πολυστοιβαδικά λιποσώματα (Multi Lamellar Vesicles/ MLVs, 500-5000nm), μεγάλα μονοστοιβαδικά λιποσώματα (Large Unilamellar Vesicles/ LUVs, 200-800nm) και μικρά μονοστοιβαδικά λιποσώματα (Small Unilamellar Vesicles/ SUVs, ~100nm) **(Εικόνα 14)** [41].



Εικόνα 14. Κατάταξη με βάση μέγεθος/ στοιβάδες.

4.3.2. Φυσικοχημικά και Βιολογικά χαρακτηριστικά των λιποσωμάτων

Τα λιποσώματα προορίζονται για διάφορες θεραπευτικές εφαρμογές και χορήγηση στον άνθρωπο, και γι' αυτό κατά την παρασκευαστική διεργασία και πριν τη χρήση τους, πρέπει πάντα να ελέγχονται οι φυσικές, χημικές και βιολογικές ιδιότητες, που έχουν επίδραση στις φυσιολογικές λειτουργίες του οργανισμού. Μερικές από τις βασικότερες ιδιότητες αυτές συνοψίζονται στον **Πίνακα 4**, μαζί με τις αντίστοιχες μεθόδους, που χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό των ιδιοτήτων αυτών.

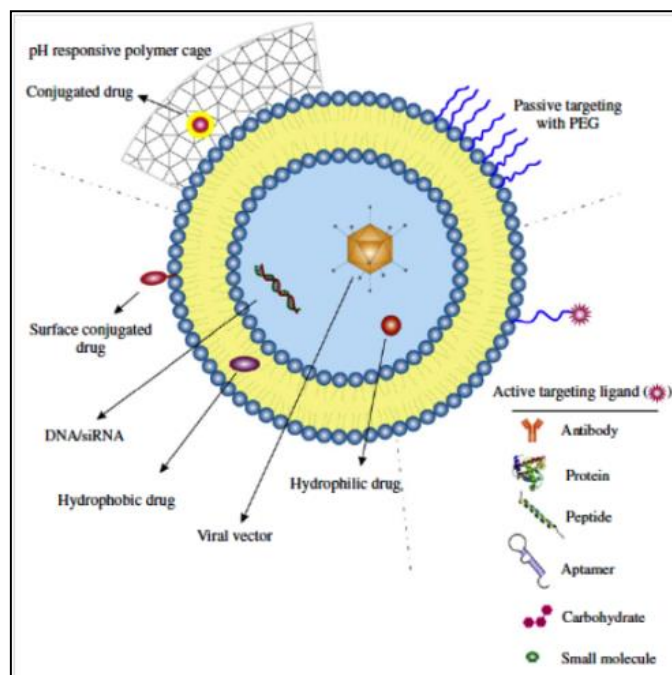
Πίνακας 4: Φυσικά, χημικά, βιολογικά χαρακτηριστικά λιποσωμάτων και οι μέθοδοι/όργανα με τα οποία μετρώνται [41, 56, 57, 58, 59, 60].

Χαρακτηριστικά Λιποσωμάτων	Μέθοδοι
Φυσικά Χαρακτηριστικά Λιποσωμάτων	
Σχήμα και μορφολογία επιφάνειας	Near-field scanning optical microscopy (NSOM), Scanning electron microscopy(SEM), Transmission electron microscopy (TEM), Scanning tunneling microscopy (STM), Atomic force microscopy (AFM), X-ray diffraction (XRD) και Small-angle X-ray scattering (SAXS).
Μέγεθος	Dynamic light scattering (DLS), Raman scattering (RS), Surface enhanced Raman(SERS), Near-field scanning optical microscopy (NSOM), Scanning electron microscopy(SEM), Transmission electron microscopy (TEM), Scanning tunneling microscopy (STM), Atomic force microscopy (AFM), Nuclear magnetic resonance (NMR), X-ray diffraction (XRD) και Small-angle X-ray scattering (SAXS)
ζ -δυναμικό	Electrophoretic Light Scattering (ELS)
Ποσοστό ελεύθερου βιοδραστικού μορίου %	Φυγοκέντρηση με στήλη διαχωρισμού, χρωματογραφία ανταλλαγής ιόντων, ραδιοσήμανση
Αποδέσμευση βιοδραστικού μορίου	Διάχυση των κυττάρων/ διαπίδυση
Ωσμωτικότητα	Ωσμίμετρο
Χημικά Χαρακτηριστικά Λιποσωμάτων	
Συγκέντρωση φωσφολιπιδίου	Μέθοδος Barlett, Μέθοδος Stewart, HPLC
Συγκέντρωση χοληστερόλης	Μέθοδος με χρήση οξειδάσης της χοληστερόλης και HPLC
Υπεροξειδωση των φωσφολιπιδίων	Απορρόφηση UV, GLC
Υδρόλυση φωσφολιπιδίων, Αυτοοξειδωση χοληστερόλης	HPLC, TLC-FID, GC-LC
Βιολογικά Χαρακτηριστικά Λιποσωμάτων	
Στειρότητα	Αερόβιες ή Αναερόβιες καλλιέργειες
Πυρετογένεση	Limulus Amebocyte Lysate (LAL) test
Τοξικότητα στα ζώα	Παρακολούθηση ποσοστών επιβίωσης, ιστολογίας και παθολογίας

4.3.3. Λειτουργικότητα των λιποσωμάτων

Τα λιποσώματα θεωρούνται ως ένα από τα πιο εξελιγμένα συστήματα μεταφοράς φαρμακομορίων. Παρουσιάζουν εξαιρετικά υψηλή θεραπευτική αποτελεσματικότητα, απουσία ανοσογονικότητας, δυνατότητα στοχευμένης μεταφοράς φαρμακομορίων αποκλειστικά σε παθογόνους ιστούς, προστασία των περιεχομένων μορίων από το περιβάλλον του οργανισμού, καθώς και περιορισμό των τοξικών παράπλευρων ανεπιθύμητων ενεργειών. Ωστόσο, τα συμβατικά λιποσώματα εξακολουθούν να παρουσιάζουν ορισμένα μειονεκτήματα, όπως η γρήγορη αναγνώριση και πρόσληψη από το δικτυοενδοθηλιακό σύστημα (reticuloendothelial system, RES), γεγονός που μειώνει το χρόνο ζωής τους στο πλάσμα, καθώς και η αποδόμηση τους από τα ένζυμα του λυσοσώματος, μετά την είσοδό τους στο κύτταρο. Τα γεγονότα αυτά μειώνουν το ποσοστό του περιεχόμενου βιοδραστικού μορίου που παραλαμβάνεται τελικώς από το κύτταρο, με αποτέλεσμα τη μείωση της βιοδιαθεσιμότητας του μορίου.

Τα παραπάνω μειονεκτήματα οδήγησαν στην ανάπτυξη περισσότερο εξελιγμένων μορφών λιποσωμάτων, μέσω της τροποποίησης της δομής τους, όπως με την προσθήκη αλυσίδων πολυμερών στην επιφάνειά τους (στερεοχημικά σταθεροποιημένα λιποσώματα/ stealth liposomes), αντισωμάτων και διαφόρων ειδών μακρομορίων επιφανείας [61, 62]. Τα επιμέρους αυτά στοιχεία προσδίδουν στα λιποσώματα επιπλέον ικανότητες, εκτός από τη μεταφορά φαρμακομορίων. Έτσι λοιπόν, χρησιμοποιούνται στην παρασκευή λιποσωμιακών εμβολίων, στη μεταφορά γονιδίων/ νουκλεϊκών οξέων (γονιδιακή θεραπεία), ως διαγνωστικά μέσα σε απεικονιστικές μεθόδους π.χ. μαγνητική τομογραφία, καθώς και στην κοσμητολογία. Ιδανική δε είναι η επίτευξη της δημιουργίας πολύ-λειτουργικών λιποσωμάτων, όπως π.χ. η δομή που παρουσιάζεται στην **Εικόνα 15**.



Εικόνα 15. Πολύ- λειτουργικό λιπόσωμα.

4.3.4. advanced Drug Delivery nanosystems (aDDnSs)

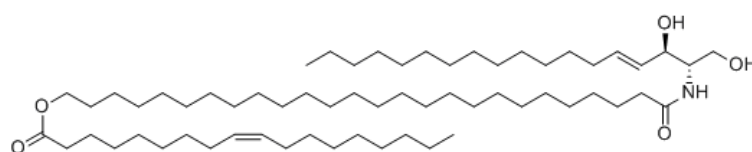
Στην ειδική αυτή κατηγορία ανήκουν νανοσυστήματα συμπεριλαμβανομένων και των λιποσωμάτων, τα οποία αφ' ενός χαρακτηρίζονται από ρυθμιστική ελεγχόμενη αποδέσμευση του περιεχομένου (modulatory controlled release), αφ' ετέρου από μίξη περισσότερων του ενός νανοσυστημάτων (advanced ≠ conventional όπου δεν υπάρχει μίξη). Περαιτέρω ταξινόμηση γίνεται με βάση τη φύση των βιο-υλικών που χρησιμοποιήθηκαν στην παρασκευή των aDDnSs. Εάν η φύση είναι ίδια για όλα τα υλικά χαρακτηρίζονται υβριδικά, εάν όμως είναι διαφορετική, όπως π.χ. λιπίδια και πολυμερή, χαρακτηρίζονται χιμαιρικά [63, 64, 65, 66].

4.3.5. Ceramides

Τα Ceramides ή κεραμίδια ανήκουν στα σφιγγολιπίδια. Τα σφιγγολιπίδια είναι μια ομάδα λιπιδίων που αποτελούνται από σφιγγοειδή βάση, η οποία διαμορφώνεται από τη συμπύκνωση ενός αμινοξέος και ενός λιπαρού οξέος [67, 68]. Τέσσερις τύποι λιπαρών οξέων (esterified ω -hydroxy [EO], ω -hydroxy [O], α -hydroxy [A] και non-hydroxy [N] fatty acids) και τέσσερις τύποι σφιγγοειδών βασών (sphingosine [S], 6-hydroxysphingosine [H] και dihydrosphingosine [DS] phytosphingosine [P]) δημιουργούν 16 τάξεις κεραμιδίων, οι οποίες έχουν ταυτοποιηθεί στην κεράτινη στοιβάδα [69]. Τα κεραμίδια διαφοροποιούνται από το μήκος του λιπαρού οξέος ή της σφιγγοειδούς βάσης.

Εκτός από το ρόλο που διαδραματίζουν στη δομική λειτουργία της επιδερμίδας, τα σφιγγολιπίδια έχουν σημαίνοντα ρόλο στην επιδερμική σηματοδότηση. Τα κεραμίδια ρυθμίζουν διαδικασίες όπως πολλαπλασιασμό, διαφοροποίηση και απόπτωση των κερατινοκυττάρων [70]. In vitro μελέτες έδειξαν ότι η προσθήκη κεραμιδίων σε καλλιέργειες ανθρώπινων κερατινοκυττάρων ενισχύουν τον πολλαπλασιασμό και προάγουν την επιδιόρθωση των πληγών ενισχύοντας τη μετανάστευση και τον πολλαπλασιασμό των κερατινοκυττάρων στις απογυμνωμένες περιοχές από μονοστιβάδες κερατινοκυττάρων [71].

Το κεραμίδιο που χρησιμοποιήθηκε στην πειραματική διαδικασία είναι το CER1 N-[26-oleoyloxy hexacosanoyl]-D-erythro-sphingosine (**Εικόνα 16**)



Εικόνα 16. Χημική δομή του CER1

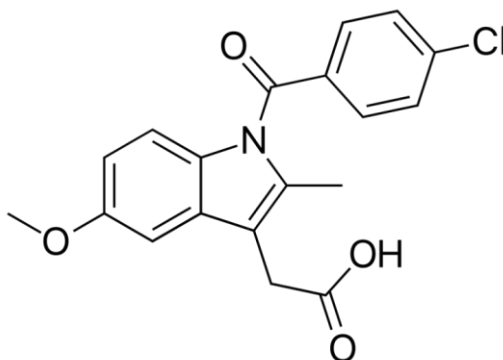
Η επιλογή του κεραμιδίου δεν ήταν τυχαία. Αναμένεται να αυξήσει τη σταθερότητα του λιποσωμιακού συστήματος που θα παρασκευασθεί και λόγω των άνωθεν ιδιοτήτων του (πολλαπλασιασμό, διαφοροποίηση και απόπτωση των κερατινοκυττάρων) να ενισχύσει την επούλωση του έλκους [72, 73].

4.4. Ινδομεθακίνη

4.4.1. Γενικά

Η ινδομεθακίνη είναι ένα μη στεροειδές αντιφλεγμονώδες φάρμακο (ΜΣΑΦ) με αντιφλεγμονώδεις, αναλγητικές και αντιπυρετικές ιδιότητες. Στην κατηγορία των ΜΣΑΦ ανήκουν φάρμακα διάφορης χημικής δομής. Πρόκειται συνήθως για ασθενή οργανικά οξέα, που συνδέονται σε υψηλό ποσοστό με τις πρωτεΐνες του πλάσματος. Η ινδομεθακίνη είναι παράγωγο του ινδολο-οξικού οξέος και έχει ονομασία κατά IUPAC 2-[1-(4-chlorobenzoyl)-5-methoxy-2-methylindol-3-yl]acetic acid [74]. Η φαρμακολογική δράση της ινδομεθακίνης δεν είναι πλήρως κατανοητή, ωστόσο, πιστεύεται ότι μεσολαβείται μέσω ισχυρής και μη εκλεκτικής αναστολής του ενζύμου της κυκλοοξυγενάσης (COX) που είναι το κύριο ένζυμο, το οποίο είναι υπεύθυνο για την κατάλυση του περιοριστικού ρυθμού στη βιοσύνθεση των προσταγλανδινών και της θρομβοξάνης μέσω του μονοπατιού του αραχιδονικού οξέος (AA). Ανακαλύφθηκε για πρώτη φορά το 1963 και εγκρίθηκε για πρώτη φορά στις ΗΠΑ από τον FDA (Food and Drug Administration) το 1965 [75], μαζί με άλλα παράγωγα του οξικού οξέος, όπως δικλοφαινάκη, σουλιντάκη που αναπτύχθηκαν επίσης κατά τη διάρκεια της δεκαετίας του 1960 [74]. Έκτοτε, η ινδομεθακίνη έχει μελετηθεί εκτενώς σε κλινικές δοκιμές ως ένα από τα πιο ισχυρά ΜΣΑΦ στην παρεμπόδιση σύνθεσης προσταγλανδίνης και ήταν

από τα πρώτα ΜΣΑΦ που ανταποκρίθηκαν στη συμπτωματική θεραπεία της ημικρανίας και για τους πονοκεφάλους [74].



Εικόνα 17. Χημική δομή Ινδομεθακίνης

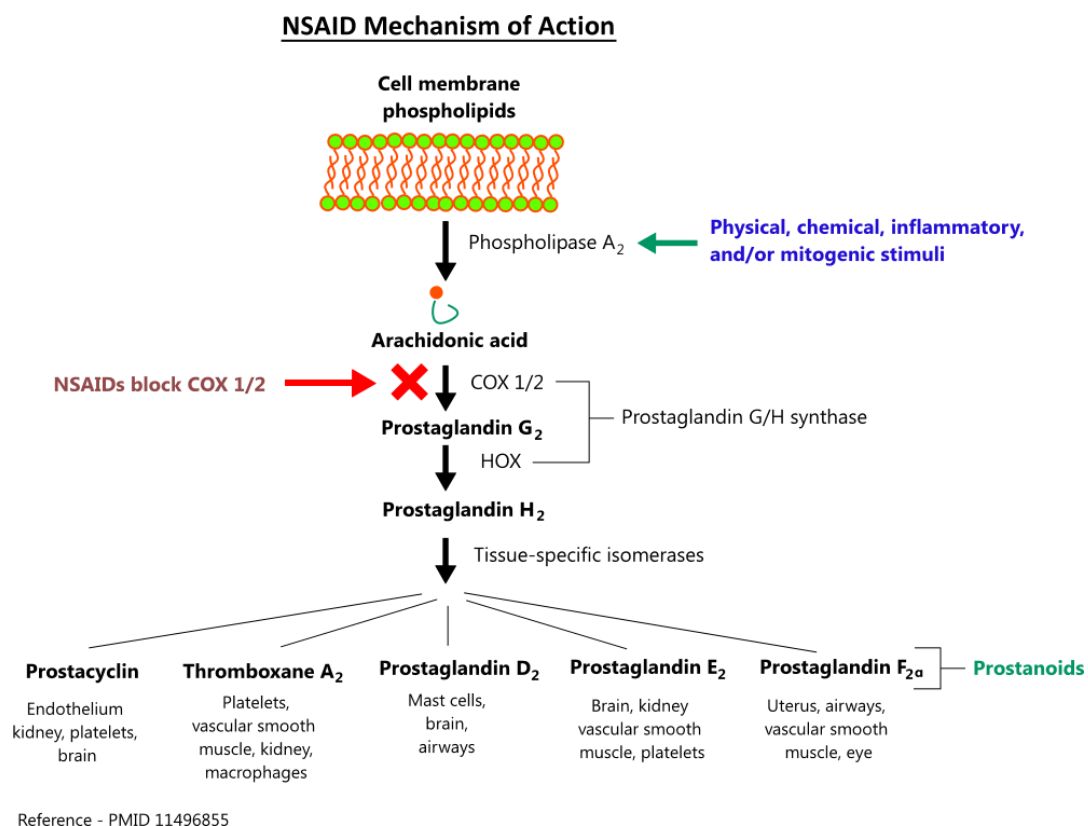
4.4.2. Μηχανισμός δράσης ινδομεθακίνης

Η ινδομεθακίνη είναι ένα μη στεροειδές αντιφλεγμονώδες φάρμακο (ΜΣΑΦ) με αναλγητικές και αντιπυρετικές ιδιότητες, που ασκεί τις φαρμακολογικές τις επιδράσεις αναστέλλοντας τη σύνθεση παραγόντων που εμπλέκονται στον πόνο, τον πυρετό και τη φλεγμονή. Η θεραπευτική της δράση δεν περιλαμβάνει διέγερση υπόφυσης – επινεφριδίων [76].

Είναι ένας αναστρέψιμος μη ειδικός αναστολέας της COX (συνθάση προσταγλανδίνης G). Υπάρχουν δύο ισομορφές της COX: η COX-1 υπάρχει στους περισσότερους ιστούς του σώματος και εμπλέκεται στη σύνθεση των προσταγλανδινών και της θρομβοξανής A₂, ενώ η COX-2 εκφράζεται ως ανταπόκριση σε τραυματισμό ή φλεγμονή. Ακόμη, η COX-1 εμπλέκεται στην προστασία του γαστρικού βλεννογόνου, των αιμοπεταλίων και των νεφρών καταλύοντας τη μετατροπή του αραχιδονικού οξέος σε προσταγλανδίνη (PG) G₂ και την PGG₂ σε PGH₂ [74]. Η COX-2 βρίσκεται στο κεντρικό νευρικό σύστημα, στα νεφρά, στη μήτρα κα. Η COX-2 καταλύει επίσης τη μετατροπή του αραχιδονικού οξέος σε προσταγλανδίνη (PG) G₂ και την PGG₂ σε PGH₂. Στο μονοπάτι που μεσολαβεί η COX-2, η PGH₂ μετατρέπεται περαιτέρω σε

PGE2 και PGI2(προστακυκλίνη). Η PGE2 εμπλέκεται στη μεσολάβηση της φλεγμονής, του πόνου και του πυρετού. Μείωση των επιπέδων της PGE2 οδηγεί σε μειωμένες φλεγμονώδεις αντιδράσεις.

Η ινδομεθακίνη σε αντίθεση με άλλα ΜΣΑΦ, αναστέλλει επίσης τη φωσφολιπάση A2, το ένζυμο που είναι υπεύθυνο για την απελευθέρωση του αραχιδονικού οξέος από τα φωσφολιπίδια (**Εικόνα 18**).



Εικόνα 18. Σχηματική αναπαράσταση μηχανισμού δράσης ινδομεθακίνης

4.4.3. Ενδείξεις και Αντενδείξεις ως προς τη χρήση της ινδομεθακίνης

Η ινδομεθακίνη ενδείκνυται να χρησιμοποιηθεί στις παρακάτω περιπτώσεις και αφορά μόνο ενήλικες (18 ετών και άνω) [74]:

- a. Φλεγμονή, άλγος, οίδημα μετά από ορθοπεδικές παρεμβάσεις
- b. Εκφυλιστική αρθροπάθεια ισχίου
- c. Οσφυαλγία

- d. Οστεοαρθρίτιδα
- e. Ρευματοειδή αρθρίτιδα
- f. Οξεία ουρική αρθρίτιδα
- g. Αγκυλωτική σπονδυλαρθρίτιδα
- h. Δυσμοινόρροια

Η ινδομεθακίνη αντενδείκνυται στις κάτωθι περιπτώσεις:

- a. Σοβαρή νευρική ανεπάρκεια
- b. Σοβαρή καρδιακή ανεπάρκεια
- c. Γαλουχία (εκκρίνεται στο μητρικό γάλα)
- d. Κύηση (δεν έχει τεκμηριωθεί ασφάλεια κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης)
- e. Ιστορικό πεπτικού έλκους ή ενεργό πεπτικό έλκος
- f. Ρινικοί πολύποδες συνοδευόμενοι από αγγειονευρωτικό οίδημα που σχετίζονται με ΜΣΑΦ.

4.4.4. Ανεπιθύμητες ενέργειες ινδομεθακίνης

Οι κύριες ανεπιθύμητες ενέργειες της ινδομεθακίνης είναι οι εξής: ναυτία, έμετο, πονοκέφαλο, ζάλη, διανοητική σύγχυση, αποπροσανατολισμό ή λήθαργο. Ακόμη, έχουν παρατηρηθεί γαστρεντερικό έλκος και γαστρορραγία [77, 78].

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

5. ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΥΠΟΘΕΣΗ – ΣΚΟΠΟΣ ΠΑΡΟΥΣΑΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Η παρούσα εργασία εστιάζει στον ορθολογικό σχεδιασμό και την ανάπτυξη υδρογέλης, στην οποία εγκλωβίστηκε ένα λιπόσωμα, στο οποίο ενσωματώθηκε ένα σφιγγολιπίδιο, το Ceramide 1, καθώς το βιοδραστικό μόριο της ινδομεθακίνης, με σκοπό την τοπική εφαρμογή σε διαβητικό έλκος. Το συμπολυμερές κατά συστάδες που χρησιμοποιήθηκε για την ανάπτυξη της υδρογέλης όσο και τα λιποσώματα, είναι εξελιγμένες και πολλά υποσχόμενες δομές, που μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως συστήματα μεταφοράς φαρμάκων. Ο συνδυασμός αυτών των δυο συστημάτων σε ένα μπορεί να δώσει θερμο-ευαίσθητες υδρογέλες, που φέρουν ιδιότητες και από τα δύο συστήματα και έχουν αναβαθμισμένο χαρακτήρα. Τα κεραμίδια έχουν βιολογικές και δομικές λειτουργίες στην επιδερμίδα, εμπλέκονται σημαντικά στη διατήρηση της λειτουργίας του φραγμού του δέρματος και ρυθμίζουν σημαντικές διεργασίες, όπως ο πολλαπλασιασμός, η διαφοροποίηση και η απόπτωση των κερατινοκυττάρων. Η ινδομεθακίνη είναι ένα μόριο που εμφανίζει προβλήματα διάλυσης και βιοδιαθεσιμότητας οπότε ο επιτυχής εγκλωβισμός του σε ένα σύστημα μεταφοράς βιοδραστικού μορίου προηγμένης τεχνολογίας, όπως τα θερμο-ευαίσθητα λιποσώματα, κρίνουμε ότι θα βελτιώσει τη συμπεριφορά του και οδηγήσει σε παρατεταμένη αποδέσμευση στο έλκος.

Συγκεκριμένα, η παρούσα εργασία αποσκοπεί σε:

- Παρασκευή λιποσωμάτων με προσθήκη σφιγγολιπιδίου και με την προσθήκη της ινδομεθακίνης και σύγκριση των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών των λιποσωμάτων με το δείγμα αναφοράς.
- Παρασκευή υδρογελών με διαφορετική συγκέντρωση πολυμερούς (20%, 25%, 30%), ώστε να διακρίνουμε το ρόλο της ποσότητας του πολυμερούς στη φυσικοχημική συμπεριφορά της υδρογέλης (θερμοκρασία μετάβασης φάσης,

χρόνος που απαιτείται για τη μετατροπή από την υγρή κατάσταση στη φάση της γέλης).

- Εγκλωβισμό των παρασκευασθέντων λιποσωμάτων στην υδρογέλη πολυμερούς και μελέτη της επίδρασης των λιποσωμάτων στα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά της υδρογέλης.
- Σύγκριση των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών των παραπάνω υδρογελών με σκοπό την επιλογή της υδρογέλης με τα χαρακτηριστικά τα οποία την χρήζουν κατάλληλη για τοπική εφαρμογή σε διαβητικό έλκος.
- Παρασκευή της υδρογέλης με ενσωματωμένο λιπόσωμα στο οποίο έχει εγκλωβιστεί η ινδομεθακίνη.
- Μελέτη αποσάθρωσης της τελικής υδρογέλης σε περιβάλλον που να προσομοιάζει τα υγρά του σώματος.

6. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

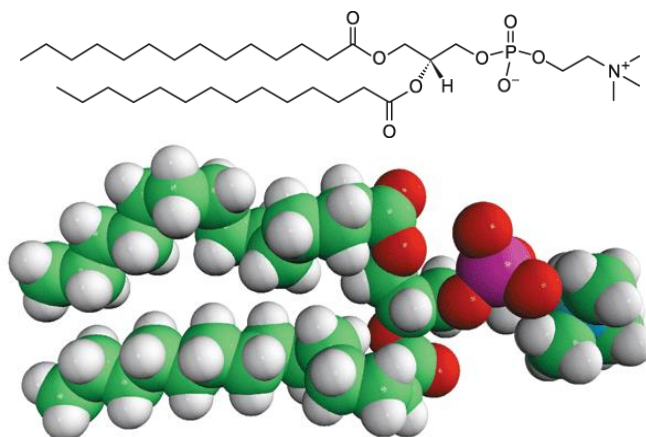
6.1. Υλικά

I. Το φωσφολιπίδιο DMPC

Το φωσφολιπίδιο που χρησιμοποιήθηκε στην πειραματική διαδικασία είναι το DMPC 1,2-dimyristoyl-sn-glycero-3-phosphocholine. Το DMPC έχει την εξής δομή και χαρακτηριστικά:

Πίνακας 5: Χαρακτηριστικά του DMPC (Avanti Polar Lipids Inc.)

Molecular Formula	$C_{36}H_{72}NO_8P$
Molecular Weight	677.93 g/mol
Storage	-20°C
Transition temperature	24°C
Solubility	Soluble in Chloroform, Semi-soluble in water



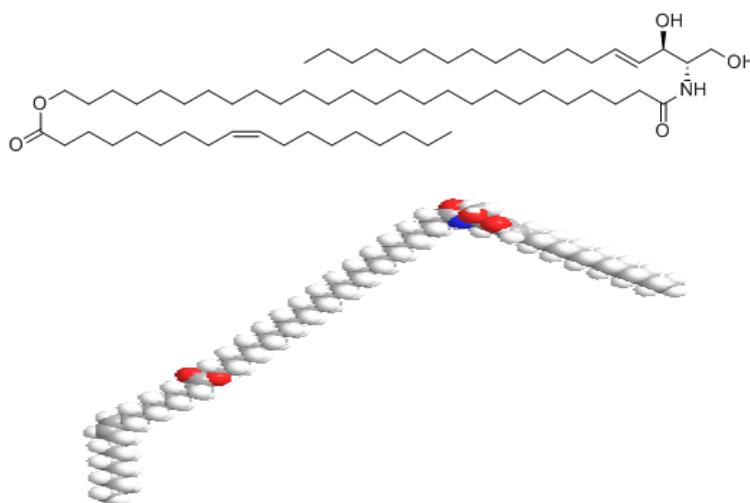
Εικόνα 19. Χημική δομή και μοριακό μοντέλο του DMPC (Avanti Polar Lipids Inc.)

II. Το κεραμίδιο 1 [CER1 (d18:1/26:0/18:1)]

Το κεραμίδιο που χρησιμοποιήθηκε στην πειραματική διαδικασία είναι το CER1 N-[26-oleoyloxy hexacosanoyl]-D-erythro-sphingosine. Το CER1 έχει την εξής δομή και χαρακτηριστικά:

Πίνακας 6: Χαρακτηριστικά του CER1 (Avanti Polar Lipids Inc.)

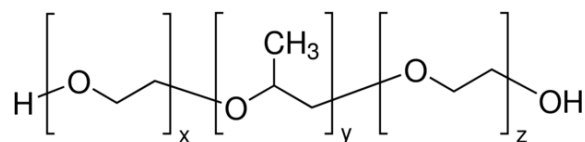
Molecular formula	C ₆₂ H ₁₁₉ NO ₅
Molecular weight	958.61 g/mol
Storage	-20°C



Εικόνα 20. Χημική δομή και μοριακό μοντέλο του CER1

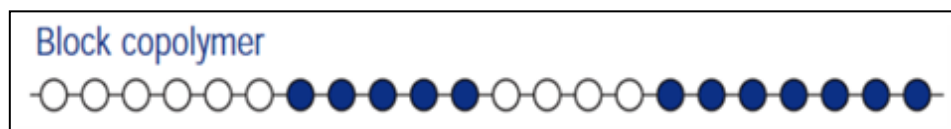
III. Το θερμο-αποκρινόμενο συμπολυμερές κατά συστάδες Pluronic 407

Το θερμο-αποκρινόμενο πολυμερές που χρησιμοποιήθηκε στην πειραματική διαδικασία είναι το συμπολυμερές κατά συστάδες Pluronic 407 Poly(ethylene oxide)-*block*-poly(propylene oxide)-*block*-poly(ethylene oxide) και την κάτωθι δομή:



Εικόνα 21. Χημική δομή του συμπολυμερούς κατά συστάδες Poloxamer 407 (Sigma-Aldrich)

Όπως αναφέρθηκε, το Poloxamer 407 είναι ένα συμπολυμερές κατά συστάδες (block copolymer, τρισυσταδικό). Είναι συμπολυμερές, διότι αποτελείται από δύο μονομερή το αιθυλενοξειδίου και το προπυλενοξειδίου διαφορετικής δομής μεταξύ τους. Είναι ακόμα συμπολυμερές κατά συστάδες (block copolymer), διότι τα διαφορετικά είδη επαναλαμβανόμενων μονάδων εντοπίζονται σε διακριτές συστάδες (blocks), γραμμικά διατεταγμένες και εναλλάξ κατά μήκος της πολυμερικής αλυσίδας, ενωμένες με ομοιοπολικό δεσμό. Ακολουθεί δηλαδή την παρακάτω δομή:



Εικόνα 22. Αναπαράσταση των συμπολυμερών κατά συστάδες

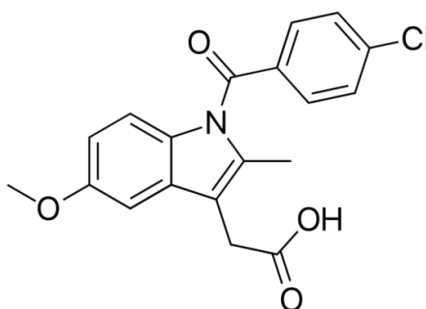
Το συμπολυμερές παρουσιάζει θερμο-αναστρέψιμες ιδιότητες, οι οποίες έχουν ύψιστο ενδιαφέρον για τη βελτιστοποίηση της φαρμακοτεχνικής μορφής, καθώς βρίσκεται σε υγρή κατάσταση σε θερμοκρασία δωματίου, η οποία διευκολύνει τη χορήγηση και όταν ξεπεράσει τη θερμοκρασία μετάβασης φάσης μετατρέπεται σε γέλη, προάγοντας κατ' αυτόν τον τρόπο την παρατεταμένη αποδέσμευση φαρμακευτικών παραγόντων.

IV. Το βιοδραστικό μόριο ινδομεθακίνη/ indomethacin (IND)

Το βιοδραστικό μόριο που χρησιμοποιήθηκε στην πειραματική διαδικασία, είναι η ινδομεθακίνη/ indomethacin (IND) 2-[1-(4-chlorobenzoyl)-5-methoxy-2-methylindol-3-yl]acetic acid με τα ακόλουθα χαρακτηριστικά και χημική δομή:

Πίνακας 7: Χαρακτηριστικά της IND

Molecular formula	C ₁₉ H ₁₆ ClNO ₄
Molecular weight	357.8 g/mol
UV/Vis	λ _{max} = 319 nm
Solvents	Ethanol, acetone, ether (Insoluble in water)
clogP	4.27



Εικόνα 23. Χημική δομή της IND

6.2. Μέθοδος παρασκευής απλών υδρογελών

I. Υλικά

- Water For Injection
- Poly(ethylene glycol)-*block*-poly(propylene glycol)-*block*-poly(ethylene glycol) (Poloxamer 407) in powder, Sigma Aldrich®

II. Όργανα

- Ζυγός (College B154, Mettler-Toledo, Switzerland)
- Μικροσύριγγες 1000μL Hamilton microliter™, syringes (Bonaduz AG, Switzerland)
- Ογκομετρική φιάλη των 10 mL
- Συσκευή ανάδευσης RCT basic IKA labotechnik

III. Παρασκευή διαλυμάτων

Η παρασκευή της υδρογέλης πραγματοποιείται με την κρύα μέθοδο (cold technique). Η θερμοκρασία ορίζεται σε 0-4 °C και επιτυγχάνεται με παγόλουτρο. Αφού προστεθούν 6ml WFI, προστίθεται σταδιακά και υπό συνεχή ανάδευση με τη βοήθεια μαγνητικού αναδευτήρα η ποσότητα του Poloxamer 407 έως ότου διαλυθεί. Μετά την πλήρη διάλυση της ποσότητας αφήνεται το παρασκεύασμα για ακόμη 30 λεπτά να αναδεύεται στους 0-4 °C.

IV. Διαδικασία

Παρασκευάστηκαν 3 συστήματα υδρογελών Poloxamer 407 στις εξής συγκεντρώσεις: 20%, 25% και 30%, με την ανωτέρω διαδικασία. Αναμειγνύονται 6ml WFI με κατάλληλη ποσότητα πολυμερούς ώστε να παραληφθούν οι παραπάνω αναλογίες. Τα δείγματα που παρελήφθησαν, διατηρήθηκαν στο ψυγείο σε θερμοκρασία 4 °C.

6.3. Μέθοδος ανάστροφου σωλήνα για τον προσδιορισμό της θερμοκρασίας μετάβασης φάσης (sol-gel transition phase) των παρασκευασθειών υδρογελών

I. Υλικά

- Παρασκευασθείσες υδρογέλες Plooxamer 407 (παράγραφος 6.2)

II. Όργανα

- Υδατόλουτρο (Buchi Labortechnik)
- Υάλινοι Δοκιμαστικοί σωλήνες
- Μικροσύριγγες 1000μL Hamilton microliterTM, syringes (Bonaduz AG, Switzerland)

III. Διαδικασία

Έγινε μεταφορά 1ml από το διάλυμα των παρασκευασθειών υδρογελών σε δοκιμαστικούς σωλήνες και τοποθετήθηκαν στο υδατόλουτρο, στο οποίο αυξανόταν σταδιακά τη θερμοκρασία (1°C/1min) και ελέγχονταν τα διαλύματα με σκοπό να βρεθεί η θερμοκρασία στην οποία η υδρογέλη μετέβη από την υγρή φάση στη φάση γέλης. Ο έλεγχος διεξαγόταν με στροφή του σωλήνα κατά 90°, ώστε να διαπιστωθεί η ύπαρξη ροής ή όχι. Σημειωνόταν η θερμοκρασία στην οποία παρατηρήθηκε ακινητοποίηση της υδρογέλης για πρώτη φορά.

6.4. Υπολογισμός του χρόνου που απαιτείται για τη μετάβαση στην κατάσταση της γέλης

I. Υλικά

- Παρασκευασθείσες υδρογέλες Poloxamer 407 (παράγραφος 6.2)

II. Όργανα

- Μικροσύριγγες 1000μL Hamilton microliter™, syringes (Bonaduz AG, Switzerland)
- Ογκομετρική φιάλη των 10 ml
- Συσκευή ανάδευσης RCT basic IKA labotechnik

III. Διαδικασία

Έγινε μεταφορά 3ml από το διάλυμα των παρασκευασθεισών υδρογελών σε ογκομετρική φιάλη των 10ml και τοποθετήθηκαν στη συσκευή ανάδευσης στην οποία ορίσθηκε ως θερμοκρασία αυτή που βρέθηκε από τη μέθοδο ανάστροφου σωλήνα. Τοποθετήθηκε μαγνητικός αναδευτήρας εντός του δείγματος και χρονομετρήθηκε σε sec (με χρήση χρονομέτρου ακριβείας), το χρόνο που χρειάστηκε για να μεταβεί η υδρογέλη από την υγρή κατάσταση στην κατάσταση γέλης, δηλαδή το χρόνο μέχρι να ακινητοποιηθεί ο μαγνητικός αναδευτήρας εντός του δείγματος.

6.5. Παρασκευή και φυσικοχημικός προσδιορισμός των κενών λιποσωμάτων DMPC:CER1:P407, καθώς και των λιποσωμάτων DMPC:CER1:P407:IND

I. Υλικά

- Χλωροφόρμιο CHCl₃ (Fischer Chemical)
- Μεθανόλη MeOH (Carlo Erra)
- Αιθανόλη EtOH (Carlo Erra)
- Διάλυμα PBS (Phosphate Buffer Saline) με pH=7.4
- H₂O HPLC (PRO™PS Labconco System)
- 1,2-dimyristoyl-sn-glycero-3-phosphocholine (DMPC): N-[26-oleoyloxy hexacosanoyl]-D-erythro-sphingosine (CER1) σε αναλογία 9:1 (Avanti Polar Lipids Inc., Alabaster, AL, USA)
- Poly(ethylene glycol)-*block*-poly(propylene glycol)-*block*-poly(ethylene glycol) (Poloxamer 407)
- Indomethacin (IND)

II. Όργανα

- Ζυγός (College B154, Mettler-Toledo, Switzerland)
- Μικροσύριγγες 100μL και 1000μL Hamilton microliter™ syringes (Bonaduz AG, Switzerland)
- Περιστρεφόμενη συσκευή εξάτμισης υπό κενό (Laborota 40 A00, Heidolph Instruments)
- Συσκευή Vortex (Velp scientifica)
- Συσκευή λουτρού υπερήχων/ Bath sonication (Elma S₃₀ Emasonic)
- Συσκευή Υπερήχησης με αισθητήρα (UP200s Ultraschallprozessor dr. Hielscher GmbH, Berlin, Germany)

- Κυψελίδες 10x10 x48 mm (Sarstedt, Germany)
- Φασματοφωτόμετρο συσχέτισης φωτονίων (Zetasizer 3000 HAS, Malvern UK)

III. Παρασκευή Διαλυμάτων

Διάλυμα Indomethacin (IND)

Για την παρασκευή του διαλύματος παρακαταθήκης (stock solution) IND, ζυγίζεται η ποσότητα της IND και διαλύεται σε σύστημα διαλυτών μεθανόλη: αιθανόλη 9:1, ώστε η συγκέντρωση ινδομεθακίνης να είναι $c=1$ mg/mL. Ακολουθεί υπερήχηση στη συσκευή λουτρού υπερήχων για 5 min μέχρι πλήρους διάλυσης του στερεού.

IV. Οργανολογία

➤ *Probe Sonicator (Αισθητήρας υπερήχων)*

Μοντέλο: UP 200 S (Ultrasonic processor for stationary operation)

Εταιρεία: Dr Hielscher GmbH

Αρχή λειτουργίας: Από τον αισθητήρα του οργάνου (την ακίδα τιτανίου Ti) γίνεται μεταφορά ενέργειας μέσω των υπερήχων στο δείγμα (π.χ. λιποσωμιακό εναιώρημα). Οι συνθήκες λειτουργίας του οργάνου, δηλαδή η συχνότητα και η ένταση των υπερήχων, ρυθμίζονται ανάλογα με το είδος του δείγματος, μέσω δύο ποτενσιομέτρων από τον χειριστή του οργάνου.

Συνθήκες λειτουργίας:

Εκπεμπόμενη ενέργεια: 200W (150W σε υγρό μέσο)

Ένταση ισχύος εκπεμπόμενης ενέργειας (amplitude): 20% - 100%

Συχνότητα εκπεμπόμενου παλμού: 0.1 -1 κύκλοι/sec (cycle)

Συχνότητα λειτουργίας: 24kHz

Μεταβαλλόμενο εύρος συχνότητας: $\pm 1\text{kHz}$

Συνθήκες λειτουργίας κατά τη διάρκεια των πειραμάτων:

Εκπεμπόμενη ενέργεια: 200W (150W σε υγρό μέσο)

Ένταση ισχύος εκπεμπόμενης ενέργειας(amplitude):100%

Συχνότητα εκπεμπόμενου παλμού: 0.7 κύκλοι/sec (cycle)

Συχνότητα λειτουργίας: 24kHz

Μεταβαλλόμενο εύρος συχνότητας: $\pm 1\text{kHz}$

➤ *Όργανο Φασματοσκοπίας Συσχέτισης Φωτονίων*

Πρόκειται για ένα όργανο μέτρησης της κατανομής του μεγέθους και του ζ-δυναμικού των σωματιδίων.

Μοντέλο: Zetasizer Particle Size and Zeta Potential Analyser 3000

Εταιρεία: Malvern Instruments Ltd.

Αρχή λειτουργίας: Σωματίδια μεγέθους από 1-5000nm μπορούν να μετρηθούν με τη μέθοδο φασματοσκοπίας συσχετισμού φωτονίων (photon correlation spectroscopy – PCS). Ένα από τα χαρακτηριστικά των σωματιδίων είναι ότι βρίσκονται σε συνεχή τυχαία θερμική κίνηση (κίνηση Brown). Αυτή η κίνηση έχει ως αποτέλεσμα, η ένταση του σκεδαζόμενου από τα σωματίδια φωτός να σχηματίζει ένα μοντέλο κινούμενου στίγματος. Αυτή η κινητικότητα ανιχνεύεται ως αλλαγή της έντασης σε σχέση με το χρόνο, από έναν ανιχνευτή και έναν φωτοπολλαπλασιαστή. Τα μεγάλα σωματίδια κινούνται πιο αργά από τα μικρά και συνεπώς ο ρυθμός της διακύμανσης του σκεδαζόμενου φωτός είναι πιο βραδύς. Η φασματοσκοπία συσχετισμού φωτονίων χρησιμοποιεί το ρυθμό μεταβολής των διακυμάνσεων του φωτός, για να προσδιορίσει την κατανομή μεγέθους των σωματιδίων, που προκαλούν το σκεδασμό του φωτός.

Στο όργανο αυτό η παραγωγή της δέσμης του εκπεμπόμενου φωτός γίνεται από λυχνία He-Ne και το μήκος κύματος του φωτός είναι 633nm. Η ακτινοβολία προσπίπτει

στα σωματίδια (π.χ. λιποσώματα), σκεδαζείται και στη συνέχεια, τα σκεδαζόμενα φωτόνια ανιχνεύονται από έναν φωτοπολλαπλασιαστή.

Στο λογισμικό του οργάνου, υπάρχει πρόγραμμα αλγορίθμων, που επεξεργάζεται τις μεταβολές της έντασης του σκεδαζόμενου φωτός και καταλήγει στην κατανομή του μεγέθους των σωματιδίων, που περιέχονται στο δείγμα. Επιπλέον, χρησιμοποιώντας συγκεκριμένη μαθηματική ανάλυση, η οποία συνίσταται από την ISO 13321 διεθνή μέθοδο, προκύπτει και ο μέσος όρος των μεγεθών. Κατά τις μετρήσεις αυτές, το μέγεθος ορίζεται η υδροδυναμική διάμετρος των σωματιδίων – λιποσωμάτων, ενώ ως δείκτης διασποράς το εύρος κατανομής.

Το ζ-δυναμικό των σωματιδίων που μετρά το όργανο είναι το ζ-δυναμικό της επιφάνειας κάλυψης του σωματιδίου που δημιουργείται μεταξύ του φορτίου του σωματιδίου και του μέσου, και όχι το φορτίο επιφάνειας του σωματιδίου.

Εφαρμογή του δείγματος

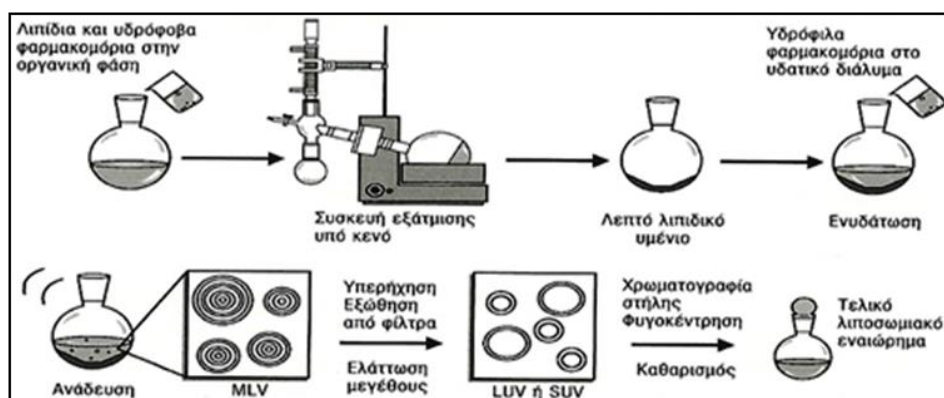
Το δείγμα αραιώνεται με H₂O HPLC καθαρότητας διηθημένο (από φίλτρο Millipore με διάμετρο πόρων 200nm) και

- a) μεταφέρεται σε κυψελίδα μιας χρήσης από πολυστυρένιο. Αυτή τοποθετείται σε ειδική υποδοχή του οργάνου, η οποία κλείνει με καπάκι ώστε να μην διαχέεται το σκεδαζόμενο φως και μετράται το μέγεθος
- b) ενίεται με σταθερό ρυθμό στην ειδική υποδοχή του οργάνου, προς αποφυγή δημιουργίας φυσαλίδων που θα εμπόδιζαν τη σωστή μέτρηση του ζ-δυναμικού, που οδηγεί το λιποσωματικό εναιώρημα στην εσωτερική κυψελίδα του οργάνου και μετράται τα ζ-δυναμικό.

V. Μέθοδος

- Παρασκευή των κενών λιποσωμάτων σύστασης DMPC:CER1(9:1) , καθώς και των λιποσωμάτων σύστασης DMPC:CER1:IND (9:1:1)

Σε όλες τις παρασκευές των λιποσωμάτων χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος ενυδάτωσης του λεπτού υμενίου (**Εικόνα 24**).



Εικόνα 24. Σχηματική παράσταση της μεθόδου ενυδάτωσης λεπτού λιπιδικού υμενίου

1. Παρασκευή λεπτού λιπιδικού υμενίου

Για τα κενά χιμαιρικά λιποσώματα DMPC:CER1, αναμειγνύονται το λιπίδιο DMPC διαλυμένο σε διάλυμα χλωροφορμίου:μεθανόλης (2:1) και το CER1 σε διάλυμα χλωροφορμίου:μεθανόλης (2:1) και αφήνονται 2 λεπτά στο λουτρό υπερήχων σε εσφυρισμένη σφαιρική φιάλη των 100mL, στην εξής μοριακή αναλογία 9:1.

Για τα χιμαιρικά λιποσώματα DMPC:CER1:IND αναμειγνύονται το λιπίδιο DMPC διαλυμένο σε διάλυμα χλωροφορμίου:μεθανόλης (2:1) και το CER1 σε διάλυμα χλωροφορμίου:μεθανόλης (2:1) στην εξής μοριακή αναλογία 9:1. Στη συνέχεια προστίθεται και το διάλυμα της IND σε μεθανόλη: αιθανόλη 9:1 συγκέντρωσης $c=0.5$ mg/mL, ώστε να είναι σε αναλογία 9:1 με το λιπίδιο. Με αυτόν τον τρόπο παραλαμβάνεται την εξής αναλογία 9:1:1.

Η κάθε φιάλη προσαρμόζεται σε περιστρεφόμενη συσκευή εξάτμισης υπό κενό (Rota vapor), ώστε να εξατμιστεί αργά ο διαλύτης, στους 42° C, για 20 min και σε υψηλό ρυθμό περιστροφών, μέχρι το σχηματισμό ομοιογενούς υμενίου. Τα υμένια, που σχηματίστηκαν, αφέθηκαν για τουλάχιστον 24 ώρες στο ψυγείο στους 4° C.

2. Ενυδάτωση του λεπτού λιπιδικού υμενίου

Σε κάθε φιάλη με το υμένιο [DMPC:CER1 και DMPC:CER1:IND] προστίθεται PBS (Phosphate Buffer Saline, pH=7.4), ώστε η τελική συγκέντρωση κολλοειδούς διασποράς να είναι 10 mg/mL. Το κάθε λιπιδικό υμένιο ενυδατώνεται σε PBS. Η ενυδάτωση πραγματοποιείται στο Rotavapor, στους 60°C, σε χαμηλό ρυθμό περιστροφών, για 1 h. Ενδιάμεσα της διαδικασίας ενυδάτωσης, εφαρμοζόταν ισχυρό Vortex στη φιάλη, ώστε να αποκολληθούν πλήρως όλα τα υπολείμματα υμενίου από τα τοιχώματα της και να ενυδατωθεί ολόκληρο το υμένιο.

3. 5min-5min probe sonication

Τα σχηματιζόμενα πολυστοιβαδικά λιποσώματα (MLVs) [DMPC:CER1 και DMPC:CER1:IND] αφήνονται σε ηρεμία για 30 λεπτά, πριν υποβληθούν σε δύο κύκλους υπερήχησης των 5 λεπτών, με διακοπή 5 λεπτών στο ενδιάμεσο, χρησιμοποιώντας αισθητήρα υπερήχησης (πλάτος ταλάντωσης 100%, διάρκεια παλμού 0.7 sec). Τα μονοστοιβαδικά λιποσώματα, που σχηματίζονται με την υπερήχηση, αφήνονται σε ηρεμία για 30 λεπτά.

➤ *Φυσικοχημικός έλεγχος των παρασκευασθέντων λιποσωματικών συστημάτων*

Χρησιμοποιήθηκε φασματοσκοπία συσχέτισης φωτονίων (Dynamic Light Scattering, DLS) για τη μέτρηση μεγέθους και δείκτη πολυδιασποράς, καθώς και ηλεκτροφορητική σκέδαση φωτός (Electrophoretic Light Scattering, ELS) για τη μέτρηση του ζ-δυναμικού. Χρησιμοποιήθηκε το όργανο Zetasizer Particle Size and Zeta Potential Analyser 3000 της Malvern Instruments Ltd.

Το μέγεθος (μέση υδροδυναμική διάμετρος [D_h (nm)] και ο δείκτης πολυδιασποράς (PDI) των λιποσωμάτων μετράται άμεσα μετά την παρασκευή των λιποσωμάτων ως ακολούθως. Αραιώνονται 100μL από το λιποσωματικό εναιώρημα με 2900 μL H₂O HPLC.

Η μέση υδροδυναμική διάμετρος [D_h (nm)] και ο δείκτης πολυδιασποράς (PDI) των λιποσωμάτων μετρώνται με φασματοσκοπία συσχέτισης φωτονίων (Dynamic Light Scattering, DLS). Τα δείγματα σκεδάζονται (633nm) υπό γωνία 90° και οι μετρήσεις πραγματοποιούνται σε θερμοκρασία 25°C.

Τα παρασκευασθέντα λιποσώματα διατηρούνται στο ψυγείο σε θερμοκρασία 4°C.

Πρέπει να σημειωθεί, ότι η τυπική απόκλιση (standard deviation) SD [(SD(D_h), SD(PDI),] και των τριών φυσικοχημικών παραμέτρων (D_h , PDI) υπολογίστηκε ενδοδειγματικά, μετρώντας 3 σετ των 10 μετρήσεων. Τα αποτελέσματα αναλύονται με τη μέθοδο CONTIN του πακέτου λογισμικού MALVERN.

6.6. Μέθοδος παρασκευής υδρογελών με εγκλωβισμένα λιποσώματα

I. Υλικά

- Water For Injection
- Poly(ethylene glycol)-*block*-poly(propylene glycol)-*block*-poly(ethylene glycol) (Poloxamer 407) in powder, Sigma Aldrich®
- παρασκευασθέντα λιποσώματα DMPC:CER1:P407:IND

II. Όργανα

- Ζυγός (College B154, Mettler-Toledo, Switzerland)

- Μικροσύριγγες 1000μL Hamilton microliter™, syringes (Bonaduz AG, Switzerland)
- Ογκομετρική φιάλη των 10 mL
- Συσκευή ανάδευσης RCT basic IKA labotechnik

III. Παρασκευή διαλυμάτων

Η παρασκευή της υδρογέλης πραγματοποιείται με την κρύα μέθοδο (cold technique). Η θερμοκρασία ορίζεται σε 0-4 °C και επιτυγχάνεται με παγόλουτρο. Αφού προστεθούν 3ml WFI, προστίθεται σταδιακά και υπό συνεχή ανάδευση με τη βοήθεια μαγνητικού αναδευτήρα η ποσότητα του Poloxamer 407 έως ότου διαλυθεί. Ακολούθως προστίθενται 3mL από τα παρασκευασθέντα λιποσώματα DMPC:CER1:IND. Μετά την πλήρη διάλυση της ποσότητας του Poloxamer 407 και την πλήρη ανάμειξη με τη λιποσωματική διασπορά αφήνεται το παρασκεύασμα για ακόμη 30 λεπτά να αναδεύεται στους 0-4 °C.

IV. Διαδικασία

Παρασκευάστηκαν 3 συστήματα υδρογελών Poloxamer 407 στις εξής συγκεντρώσεις: 20%, 25% και 30%, με την ανωτέρω διαδικασία. Αναμειγνύονται 6ml WFI με κατάλληλη ποσότητα πολυμερούς ώστε να παραληφθούν οι παραπάνω αναλογίες. Τα δείγματα που παρελήφθησαν, διατηρήθηκαν στο ψυγείο σε θερμοκρασία 4 °C.

Ακολούθησε η αξιολόγηση των υδρογελών με εγκλωβισμένα λιποσώματα, όπως ακριβώς και στην περίπτωση των απλών υδρογελών με τη μέθοδο του ανάστροφου σωλήνα, όπως περιγράφεται στην παράγραφο 2.3.

6.7. Μελέτη αποσάθρωσης (erosion study) της υδρογέλης με εγκλωβισμένα λιποσώματα DMPC:CER1:IND

I. Υλικά

- Διάλυμα PBS (Phosphate Buffer Saline) με pH=7.4

Παρασκευασθείσες υδρογέλες Poloxamer 407 με εγκλωβισμένα λιποσώματα DMPC:CER1:IND

II. Όργανα

- Υδατόλουτρο (Memmert WNB)
- Μικροσύριγγες 100μL και 1000μL Hamilton microliter™ syringes (Bonaduz AG, Switzerland)
- Ζυγός (College B154, Mettler-Toledo, Switzerland)

III. Διαδικασία

Η αποσάθρωση της υδρογέλης μελετήθηκε σε PBS (Phosphate Buffer Saline) με pH=7.4. 1mL από κάθε δείγμα ζυγίστηκε και τοποθετήθηκε σε ποτήρι ζέσεως και τοποθετήθηκε στο υδατόλουτρο στους 37 °C.

Εναποτέθηκαν 3mL PBS στην επιφάνεια της υδρογέλης με προσοχή. Οι συνθήκες της δοκιμασίας αποσάθρωσης ήταν 37 °C και 2.5rpm, ώστε να προσομοιάζεται το ανθρώπινο κύτταρο. Η συνολική μελέτη διήρκησε 3h και τα δείγματα ελήφθησαν στους εξής χρόνους 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.5, 2, 2.5h και 3h.

Κατά τη δειγματοληψία, το μέσο αποσάθρωσης αφαιρείτο με προσοχή και η εναπομένουσα μάζα της υδρογέλης ζυγιζόταν, λαμβάνοντας υπόψη το απόβαρο του ποτηριού ζέσεως.

Η ποσότητα του μέσου αποσάθρωσης που αφαιρούνταν κάθε φορά αναπληρώνονταν με καθαρό μέσο PBS, ώστε να διατηρούνται σταθερές οι συνθήκες δεξαμενής.

Η παραπάνω δοκιμασία αποσάθρωσης διεξήχθη την $t=0$ (ημέρα παρασκευής), ώστε να προληφθεί η διαρροή περιεχομένου.

IV. Υπολογισμοί

$$\% \text{ erosion} = \sum_{t=0}^t \left(\frac{M_0 - M_t}{M_0} \right) \%$$

Όπου, **% erosion**: το αθροιστικό ποσοστό της υδρογέλης που αποσαθρώνεται στο χρόνο **t (h)**,

M_t: η εναπομένουσα μάζα (g) της υδρογέλης που ζυγίζοταν την εκάστοτε χρονική στιγμή **t (h)** που γίνεται η δειγματοληψία,

M₀: η αρχική μάζα (g) της υδρογέλης στο ποτήρι ζέσεως τη χρονική στιγμή **t=0 (h)**.

7. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

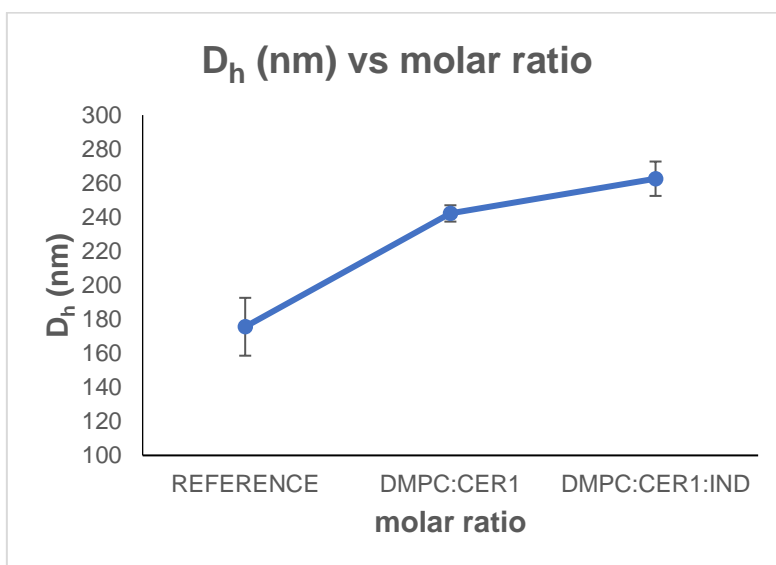
Όλα τα πειράματα για την αξιολόγηση των υδρογελών πραγματοποιήθηκαν εις τριπλούν. Στα αποτελέσματα παρουσιάζεται η μέση τιμή (average) των τριών μετρήσεων και η τυπική απόκλιση (standard deviation, SD). Τα αποτελέσματα επεξεργάστηκαν και αναλύθηκαν στο Microsoft Excel.

8. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

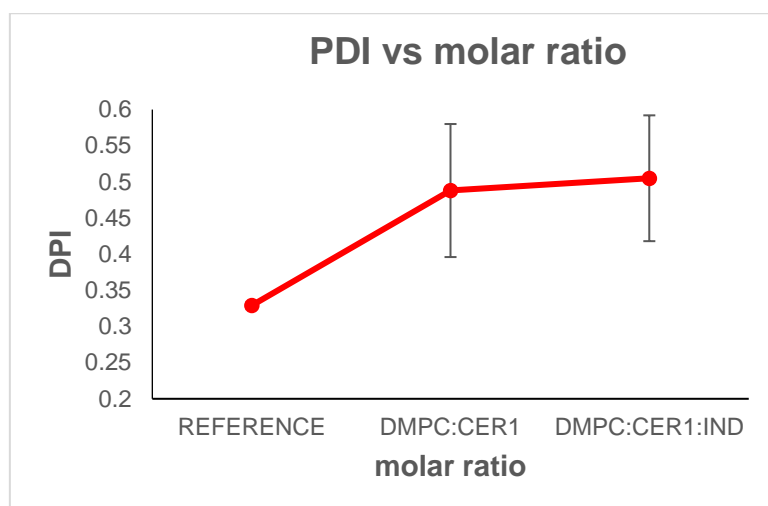
8.1. Αποτελέσματα από την παρασκευή και τη φυσικοχημική αξιολόγηση των λιποσωμάτων

Πίνακας 8:Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των λιποσωμάτων την ημέρα παρασκευής t=0 days (D_h = μέση υδροδυναμική διάμετρος , PDI= δείκτης πολυδιασποράς)

	D_h (nm)	SD (D_h)	PDI	SD (PDI)
DMPC:CER1:IND (9:1:0)	242.2	4.8	0.488	0.005
DMPC:CER1:IND (9:1:1)	262.6	10.1	0.505	0.092
DMPC:CER1:IND(9:0:0)(Reference)	175.6	17	0.329	0.087



Διάγραμμα 1: Μέση υδροδυναμική διάμετρος D_h (nm) των λιποσωμάτων σε συνάρτηση με τη μοριακή αναλογία, την ημέρα παρασκευής t=0 days, σε μέσο διασποράς PBS (Phosphate Buffer Saline) pH=7.4.

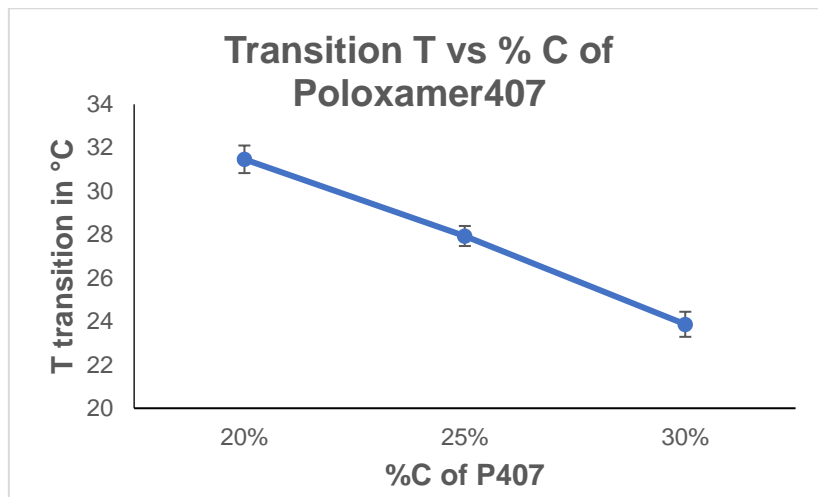


Διάγραμμα 2: Δείκτης πολυδιασποράς PDI των λιποσωμάτων σε συνάρτηση με τη μοριακή αναλογία, την ημέρα παρασκευής t=0 days σε μέσο διασποράς PBS (Phosphate Buffer Saline) pH=7.4.

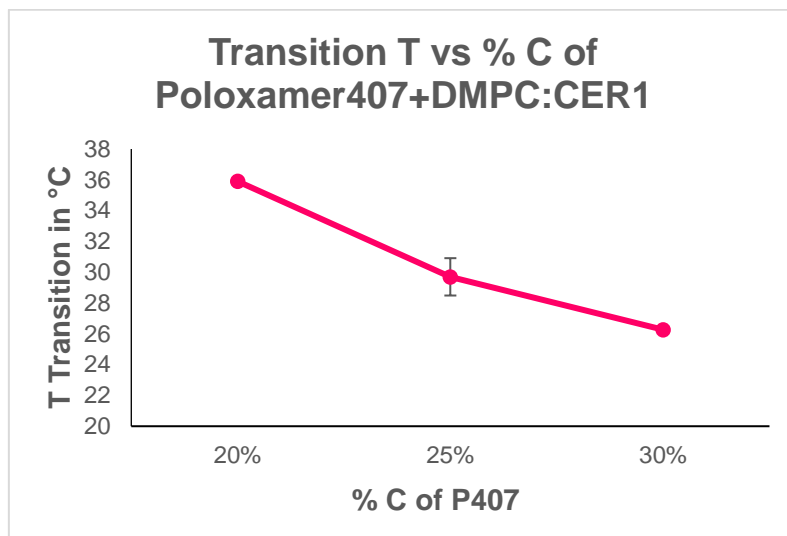
8.2. Αποτελέσματα από τη θερμοκρασία μετάβασης των παρασκευασθέντων υδρογελών

Πίνακας 9: Συγκεντρωτικός πίνακας για την παρουσίαση της θερμοκρασίας μετάβασης ($T_{\text{sol-gel}}$ transition) των απλών υδρογελών που παρασκευάστηκαν και των μεικτών υδρογελών με τα λιπίδια DMPC:CER1

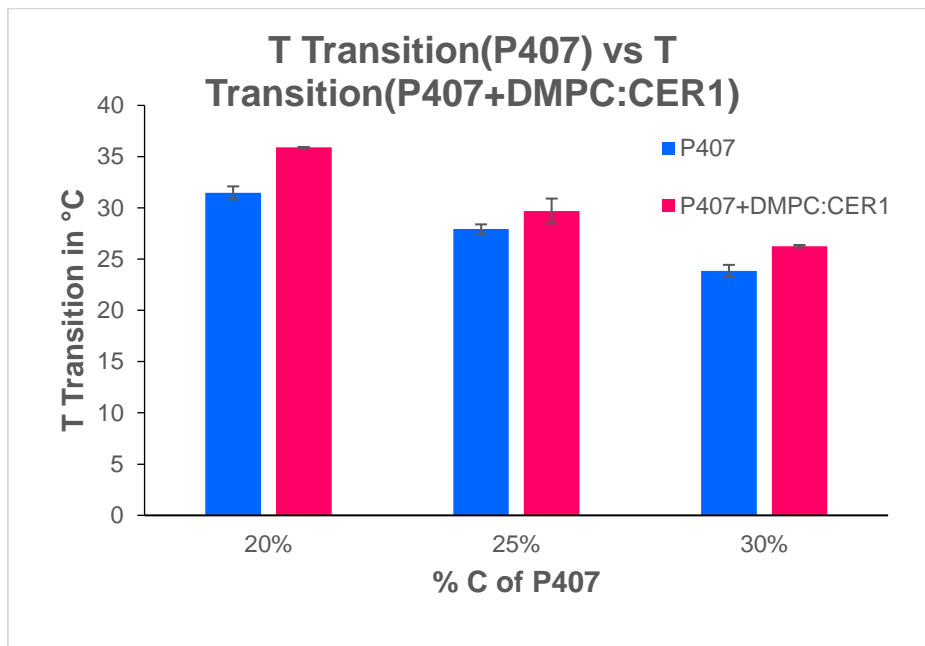
	SD	T_{AVE} (°C)
P407 20%	0.6	31.5
P407 25%	0.5	27.9
P40730%	0.6	23.9
P407 20% + DMPC:CER1	0	35.9
P407 25% + DMPC:CER1	1.2	29.7
P407 30% + DMPC:CER1	0.1	26.3



Διάγραμμα 3: Η θερμοκρασία μετάβασης φάσης στις 3 διαφορετικές συγκεντρώσεις του Poloxamer 407



Διάγραμμα 4: Η θερμοκρασία μετάβασης φάσης στις 3 διαφορετικές συγκεντρώσεις του Poloxamer 407 μετά την προσθήκη του DMPC:CER1



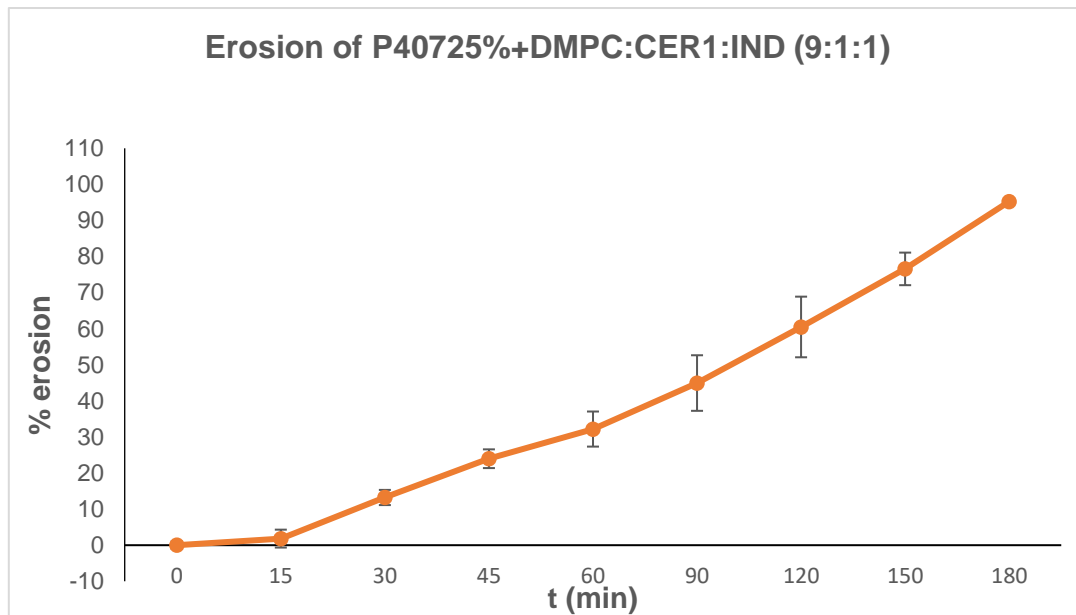
Διάγραμμα 5: Συγκριτικό διάγραμμα στο οποίο φαίνεται η διαφορά στη θερμοκρασία μετάβασης φάσης μεταξύ των απλών υδρογελών και μετά την προσθήκη του DMPC:CER1

8.3. Αποτελέσματα του χρόνου (t) μετάβασης από την υγρή φάση στη φάση γέλης

Πίνακας 10: Συγκριτικός πίνακας για την παρουσίαση του χρόνου που απαιτείται για να μετατραπεί η υδρογέλη από την υγρή φάση στη φάση γέλης. Το πείραμα πραγματοποιήθηκε σε $T = 37\text{ }^{\circ}\text{C}$ για να προσομοιάζει τη θερμοκρασία του δέρματος.

	P407 20%+ DMPC:CER1	P407 25%+ DMPC:CER1	P407 30%+ DMPC:CER1
t(sec)	30	26	17

8.4. Αποτελέσματα της μελέτης αποσάθρωσης της παρασκευασθείσας υδρογέλης P407 (25%) + DMPC:CER1:IND (9:1:1)



Διάγραμμα 6: Η πορεία αποσάθρωσης της υδρογέλης P40725%+DMPC:CER1:IND (9:1:1) σε βάθος 3 ωρών, την ημέρα παρασκευής $t=0$ days, σε μέσο PBS (Phosphate Buffer Saline) με $pH=7.4$ και $T=37^{\circ}C$.

9. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

9.1. Σύνοψη των αποτελεσμάτων από την παρασκευή και τη φυσικοχημική αξιολόγηση των λιποσωμάτων

Οι τιμές του δείκτη πολυδιασποράς PDI ορίζουν την ομοιογένεια του συστήματος. Από 0.1-0.3 θεωρείται το σύστημα ομοιογενές και από 0.3-0.5 σημαίνει ότι το σύστημα είναι μέτρια ομοιογενές. Στην παρούσα εργασία δε ενδιαφέρει να είναι πλήρως ομοιογενές, εφόσον πρόκειται για τοπική χορήγηση.

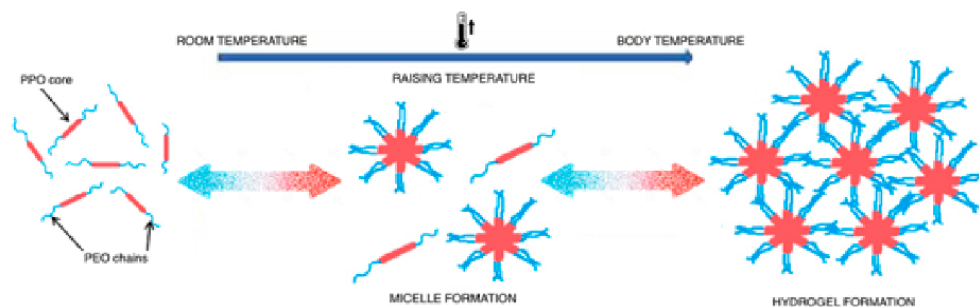
Την ημέρα παρασκευής ($t=0$ days), η D_h των λιποσωμάτων στα οποία είχε εγκλωβιστεί το κεραμίδιο (DMPC:CER1) αλλά και το βιοδραστικό μόριο της ινδομεθακίνης (DMPC:CER1:IND) ήταν μεγαλύτερη από τη D_h της τιμής αναφοράς για το λιπίδιο DMPC.

Όσον αφορά στη μεταβολή του PDI, όλες οι μοριακές αναλογίες είχαν υψηλότερη τιμή σε σχέση με την τιμή αναφοράς. Η προσθήκη του βιοδραστικού μορίου φαίνεται να αυξάνει ακόμα περισσότερο την τιμή του PDI.

9.2. Σύνοψη των αποτελεσμάτων από τη θερμοκρασία μετάβασης φάσης των παρασκευασθεισών υδρογελών

Η θερμοκρασία μετάβασης της υγρής φάσης στη φάση γέλης αποτελεί μια ιδιαίτερα σημαντική παράμετρο για το χαρακτηρισμό της υδρογέλης και για τη χρήση της στη θεραπευτική ως μεταφορέα φαρμάκων όταν προσομοιάζει τη θερμοκρασία του σώματος (37 °C), καθώς κατά την αλλαγή φάσης σε μορφή γέλης προκαλεί παρατεταμένη ενυδάτωση όταν χρησιμοποιείται διαδερμικά και αποδεσμεύει το βιοδραστικό μόριο που έχει επιλεγεί σταδιακά [79].

Οι υδρογέλες με βάση το Pluronic 407 παρουσιάζουν «θερμο-αντιστρέψιμη μετάβαση στην κατάσταση γέλης» [50] για επαρκώς συμπυκνωμένα δείγματα. Παρουσιάζουν θερμοκρασία μετάβαση φάσης sol-gel στους 37°C (φυσιολογική θερμοκρασία σώματος) και μετάβαση gel-sol στους 50°C, δημιουργώντας έτσι θερμοαντιστρέψιμες γέλες. Ένας από τους μηχανισμούς που έχει προταθεί γι' αυτή τη συμπεριφορά σχετίζεται με αλλαγές στις μικκυλιακές ιδιότητες [51].



Εικόνα 25. Σχηματική αναπαράσταση του σχηματισμού υδρογέλης [51].

Από τη βιβλιογραφία αναμένεται να υπάρχει μείωση στη θερμοκρασία μετάβασης φάσης όσο αυξάνεται η συγκέντρωση του πολυμερούς, λόγω μεγαλύτερου ιξώδους και μεγαλύτερης ικανότητας πακεταρίσματος (packaging) του πολυμερούς [79]. Πράγματι, η υπόθεση βγαίνει σωστή, και παρατηρήθηκε ότι όσο αυξάνεται η συγκέντρωση του πολυμερούς τόσο μειώνεται η θερμοκρασία στην οποία η υδρογέλη μεταβαίνει στη φάση της γέλης (**Διάγραμμα 3**).

Όσον αφορά στις υδρογέλες στις οποίες προστέθηκε το λιπόσωμα (DMPC:CER1), η βιβλιογραφία αναφέρει ότι η ενσωμάτωση λιποσωμάτων και άλλων πολυμερών αυξάνει τη θερμοκρασία μετάβασης φάσης της υδρογέλης που αποτελείται από Pluronic 407 κοντά στους 37 °C [80].

Πράγματι, η θερμοκρασία μετάβασης φάσης έχει αυξηθεί σημαντικά και η υπόθεση βγαίνει σωστή. Παρατηρήθηκε λοιπόν ότι η θερμοκρασία έχει αυξηθεί σε σχέση με τις απλές υδρογέλες (**Διάγραμμα 5**), και ότι ακολουθεί ανάλογη πορεία με μείωση της

θερμοκρασίας μετάβασης φάσης όσο αυξάνεται η συγκέντρωση του πολυμερούς (Διάγραμμα 4).

9.3. Σύνοψη αποτελεσμάτων από το χρόνο μετάβασης από την υγρή φάση στη φάση γέλης

Ο χρόνος που χρειάζεται μια υδρογέλη να μεταβεί από την υγρή φάση στη φάση γέλης είναι καθοριστικός για την επιλογή αυτής ως μεταφορέα φαρμάκων. Όσο πιο γρήγορα συμβαίνει η μετάβαση τόσο πιο δύσκολη στο χειρισμό είναι η υδρογέλη και επομένως πρέπει να απορριφθεί ως σύστημα μεταφοράς φαρμάκων.

Από τη βιβλιογραφία αναμένεται να χρειαστεί λιγότερος χρόνος για την μετάβαση από την υγρή φάση στη φάση της γέλης όσο μεγαλύτερη είναι η συγκέντρωση του πολυμερούς λόγω μεγαλύτερου ιξώδους [79].

Πράγματι, αυτό παρατηρήθηκε στα πειράματα που πραγματοποιήθηκαν. Όσο μεγαλύτερη συγκέντρωση είχε το πολυμερές τόσο πιο ακαριαία μετατρεπόταν σε γέλη (Πίνακας 10).

9.4. Σύνοψη αποτελεσμάτων από τη μελέτη αποσάθρωσης της παρασκευασθείσας υδρογέλης

Οι υδρογέλες αξιοποιούνται ως συστήματα για ελεγχόμενη αποδέσμευση φαρμάκων, μειώνοντας τον αριθμό των χορηγήσεων του φαρμάκου, αποφεύγοντας τις παρενέργειες και την ακαριαία τοξικότητα που μπορεί να προκαλέσει το φάρμακο που έχει ενσωματωθεί [51].

Χάρη στη αρχιτεκτονική «πυρήνα-κελύφους» (core-shell) του πολυμερούς Poloxamer P407, ο υδρόφοβος πυρήνας μπορεί να λειτουργήσει ως θέση φόρτωσης της

λιποσωμιακής φόρμουλας που παρασκευάσθηκε, δημιουργώντας φυσικές ή χημικές αλληλεπιδράσεις. Οι ιδιότητες του εξωτερικού κελύφους και του εσωτερικού πυρήνα επηρεάζουν την αποδέσμευση του φαρμάκου, οδηγώντας είτε σε άμεση είτε σε παρατεταμένη αποδέσμευση [51].

Η επιλογή της κατάλληλης υδρογέλης για το πείραμα έγινε βάσει των εξής παραγόντων, η T sol-gel πρέπει να προσομοιάζει τη θερμοκρασία του σώματος, εφόσον πρόκειται για τοπική εφαρμογή στο δέρμα και ο χρόνος μετάβασης φάσης οφείλει να κυμαίνεται μεταξύ 20-25 sec για να μετατρέπεται σε γέλη την κατάλληλη χρονική στιγμή και να αρχίζει τη δράση της και να μην καθυστερήσει πολύ η αποσάθρωσή της και προκαλέσει δυσφορία στον ασθενή και δε συμμορφώνεται σωστά.

Βάσει των αποτελεσμάτων στις παραγράφους 8.2 και 8.3 επιλέχθηκε η υδρογέλη με την αναλογία P407 25% + DMPC:CER1:IND (9:1:1).

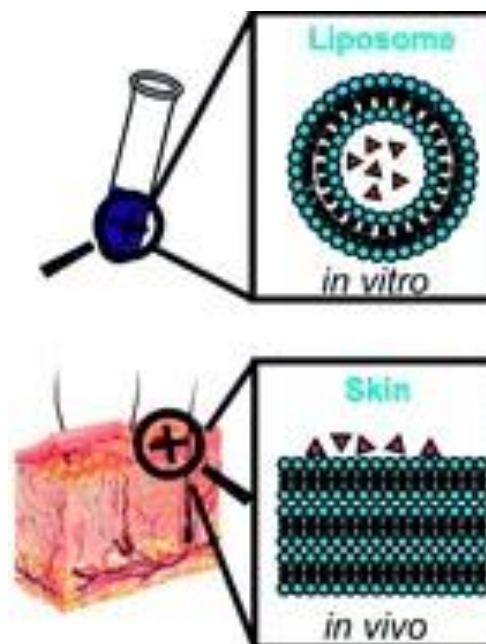
Οι λόγοι που απορρίφθηκε η υδρογέλη με συγκέντρωση 30% είναι γιατί μετατρέπεται σε γέλη στους 25 °C και σε πολύ σύντομο διάστημα (17sec) και θα δυσκόλευε στην τοπική χρήση στο έλκος, γιατί μπορεί να καταστρεφόταν πριν τη χορήγηση.

Η υδρογέλη με τη συγκέντρωση 20% απορρίφθηκε παρότι η θερμοκρασία μετάβασης φάσης της προσομοιάζει τη θερμοκρασία του σώματος γιατί καθυστερεί να μετατραπεί σε γέλη.

Η διαδερμική χορήγηση φαρμάκων με τη χρήση υδρογελών αποτελεί μια έγκυρη εναλλακτική λύση για την *per os* και την παρεντερική οδό επειδή προσφέρει πολλά πλεονεκτήματα: αποφυγή φαινομένου πρώτης διόδου, καλύτερη συμμόρφωση από τον ασθενή και εύκολη πρόσβαση. Γενικά, στις υδρογέλες είναι σημαντική η προσθήκη ενισχυτών που να έχουν την ικανότητα να διευκολύνουν τη διέλευση του φαρμάκου μέσω της κεράτινης στιβάδας (πάχος 10-15μm), τον κύριο φραγμό στη διείσδυση των φαρμάκων στην κυκλοφορία [51].

Η πλήρης αποσάθρωση της υδρογέλης πραγματοποιείται σταδιακά σε βάθος 3 ωρών, επιτρέποντας τη σταδιακή ενυδάτωση του έλκους. Η προσθήκη των κεραμιδίων, τα οποία αποτελούν σημαντικά στοιχεία του φραγμού του δέρματος και εμπλέκονται στην πρόληψη της διαδερμικής απώλειας νερού, ενισχύει το ρόλο της υδρογέλης στην ενυδάτωση του έλκους [81].

Ακόμη, ο εγκλωβισμός της ινδομεθακίνης στο λιπόσωμα εμποδίζει την ακαριαία τοξικότητα που θα προκαλούσε η άμεση επαφή του φαρμάκου με το έλκος, ενώ παράλληλα το λιπόσωμα, σαν φορέας μεταφοράς του φαρμακομορίου, καθώς προσομοιάζει την δομή της κεράτινης στιβάδας (**Εικόνα 26**), αυξάνει τη διαπερατότητα της κεράτινης στιβάδας διευκολύνοντας την εκλεκτική δράση της ινδομεθακίνης στο σημείο της φλεγμονής [82].



Εικόνα 26. Ομοιότητα στην κατανομή των λιπιδίων μεταξύ λιποσωμάτων και κεράτινης στιβάδας [25].

Επειδή το μήκος κύματος της ινδομεθακίνης αλληλεπικαλύπτεται από τα υπόλοιπα υλικά δε μπόρεσε να ποσοτικοποιηθεί η ποσότητα της ινδομεθακίνης που

αποδεσμεύεται από την υδρογέλη. Ωστόσο, αφού πραγματοποιήθηκε πλήρης αποσάθρωση της υδρογέλης στις 3 ώρες, συνέβη και πλήρης αποδέσμευση της ινδομεθακίνης εντός των 3 ωρών.

10. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Ο φυσικοχημικός έλεγχος των λιποσωμάτων έδειξε ότι παρασκευάσθηκαν μετρίως ομοιογενή λιποσώματα, τα οποία είναι κατάλληλα για τοπική χρήση σε έλκος και ότι ο συνδυασμός DMPC:CER1 δίνει σταθερότερη διασπορά των λιποσωμάτων.

Ακόμη, εγκλωβίσθηκαν τα λιποσώματα στην υδρογέλη επιτυχώς, καθώς δεν υπήρχαν ιζήματα στην τελική μορφή της υδρογέλης.

Όσον αφορά στην υδρογέλη, παρατηρήθηκε ότι όσο αυξάνεται η συγκέντρωση του πολυμερούς τόσο μειώνεται η θερμοκρασία και ο χρόνος μετάβασης στη φάση γέλης.

Τα λιποσώματα αυξάνουν τη θερμοκρασία μετάβασης στη φάση γέλης, η οποία προσομοιάζει τη θερμοκρασία του σώματος και είναι κατάλληλη για τοπική εφαρμογή σε έλκος.

Τέλος, η πλήρης αποσάθρωση της υδρογέλης στις 3 ώρες δίνει τη δυνατότητα για παρατεταμένη ενυδάτωση του έλκους και για ελεγχόμενη αποδέσμευση του φαρμάκου, μειώνοντας την πιθανότητα να προκαλέσει η ινδομεθακίνη ακαριαία τοξικότητα λόγω τοπικής χορήγησης, ευνοώντας την επούλωση του διαβητικού έλκους γιατί ως μη στεροειδές αντιφλεγμονώδες πιθανόν να καταστείλει τις προ-φλεγμονώδεις κυτταροκίνες που δυσχεραίνουν την επούλωση του διαβητικού έλκους.

Το κεραμίδιο που χρησιμοποιήθηκε παρατείνει την ενυδάτωση στο σημείο εφαρμογής και ενισχύει τον πολλαπλασιασμό των κερατινοκυττάρων, άρα μπορεί να ευνοήσει την επούλωση του έλκους.

Καταλήγοντας, η υδρογέλη που παρασκευάσθηκε έχει χαρακτηριστικά που θα ευνοήσει στην τοπική χορήγηση στο διαβητικό έλκος. Δημιουργήθηκε μια νέα τεχνολογική πλατφόρμα, για μεταφορά όχι μόνο ινδομεθακίνης αλλά και άλλων φαρμάκων και φαρμακευτικών προϊόντων, καθώς η ινδομεθακίνη αποτέλεσε drug-

model. Μελλοντικά, θα μπορούσε να διερευνηθεί η θεραπευτική της χρήση και να εξακριβωθεί σε ποιο στάδιο του διαβητικού έλκους θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Τσατσούλης Α., Σύγχρονο Εγχειρίδιο Ενδοκρινολογίας. [ηλεκτρ. Βιβλι.] Σύνδεσμος Ελληνικών Ακαδημαϊκών Βιβλιοθηκών Αθήνα. 2015. Διαθέσιμο στο <https://repository.kallipos.gr/pdfviewer/web/viewer.html?file=/bitstream/11419/4458/9/%ce%a3%cf%8d%ce%b3%cf%87%cf%81%ce%bf%ce%bd%ce%bf%20%ce%95%ce%b3%cf%87%ce%b5%ce%b9%cf%81%ce%af%ce%b4%ce%b9%ce%bf%20%ce%95%ce%bd%ce%b4%ce%bf%ce%ba%cf%81%ce%b9%ce%bd%ce%bf%ce%bb%ce%bf%ce%b3%ce%af%ce%b1%cf%82.pdf> (τελευταία πρόσβαση στις 3/5/2020).
2. McGeown J.G. Συνοπτική φυσιολογία του ανθρώπου. Π.Χ. Πασχαλίδης, Αθήνα, 2009
3. Πολυκανδριώτη Μ, Καλογιάννη Α. Η συμβολή της ενημέρωσης στο σακχαρώδη διαβήτη τύπου ΙΙ. Βήμα Ασκληπιού 2008;7:152–161 27.
4. Κατσίκη Ν., Ηλιάδης Φ., Ζαντίδης Α., Διδάγγελος Τ. Σακχαρώδης διαβήτης: Διάγνωση και ταξινόμηση. Διαβητολογικά Χρονικά, 2010, 23(1):76-87
5. Panagiotakos DB, Pitsavos C, Chrysohoou C, Stefanadis C: The epidemiology of type 2 diabetes mellitus in Greek adults: the ATTICA study. Diabet Med, 2005;22: 1581–1588.
6. Παπαζαφειροπούλου Α, Καρδαρά Μ, Μπούσμπουλας Σ, Παππάς Σ. Κόστος νοσηλείας υπογλυκαιμικού επεισοδίου σε άτομα με ΣΔτ2. Αρχεία Ελληνικής Ιατρικής, 2013;30: 628-9.
7. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes-2015: summary of revisions. In Standards of Medical Care in Diabetes—2015. Diabetes Care 2015;38(Suppl. 1):S4

8. Τσιάντου Β, Καραμπλή Ε, Πάβη Ε, Κυριόπουλος Γ. Πρόληψη, διάγνωση και διαχείριση του Σακχαρώδους Διαβήτη στην Ελλάδα: μια βιβλιογραφική ανασκόπηση. *Ελληνικά Διαβητολογικά Χρονικά*, 2014;27(4):190-201
9. Powers A. Σακχαρώδης Διαβήτης στο: *Harrisons Principles of Internal Medicine*. Επιμελητής: Μουτσόπουλος Χ. Επιστημονικές Εκδόσεις Παρισιάνου Α.Ε. Αθήνα 2010
10. Ντζιού Ε, Καστορίνη Χ, Παναγιωτάκος Δ. Διατροφικά πρότυπα και σακχαρώδης διαβήτης. *Ελληνική Επιθεώρηση Διαιτολογίας- Διατροφής* . 2010;(2):78–86
11. Ελληνική Διαβητολογική Εταιρεία). Κατευθυντήριες οδηγίες για τη διαχείριση διαβητικού ασθενούς, 2018, από: Ελληνική Διαβητολογική Εταιρεία). Κατευθυντήριες οδηγίες για τη διαχείριση διαβητικού ασθενούς, 2018, από: <https://www.ede.gr/wp-content/uploads/2017/odigies.pdf>
12. Παπαζαφειροπούλου Α, Παππά Σ. Σακχαρώδης διαβήτης και ποιότητα ζωής. *Ελληνικά Διαβητολογικά Χρονικά*,2014; 27(2):77-83
13. Westerberg D. Diabetic Ketoacidosis: Evaluation and Treatment. *American Family Physician*, 2013;87(5):337-346.
14. Παλέτας Κ. Από τον σακχαρώδη διαβήτη στη διαβητική νεφρική νόσο. *Ελληνικά Διαβητολογικά Χρονικά*, 2014; 27(1):27-34.
15. Διδάγγελος Τ. Στρατηγικές αντιμετώπισης διαβητικής νευροπάθειας. *Ελληνικά Διαβητολογικά Χρονικά*, 2011; 24(4):235-244.
16. Καμπίτση Μ. Διαβητικό πόδι – Ο ρόλος του νοσηλευτή στη διαχείριση της φροντίδας του διαβητικού ποδιού. *Επιστημονικά Χρονικά*, 2011;16(2): 82-86.
17. Bloomgarden Z. The Diabetic foot. *Diabetes Care*, 2008;31:372-76.
18. Shao M, Hussain Z, Thu HE, et al. Emerging trends in therapeutic algorithm of chronic wound healers: recent advances in drug delivery systems, concepts-to-

- clinical application and future prospects. *Critical Reviews. Therapeutic Drug Carrier Systems*, 2017;34:387-452.
19. Λιμενόπουλος Β. Στοιχεία επιδημιολογίας, κόστος και επιτεύγματα από την οργανωμένη πρόληψη και αντιμετώπιση του διαβητικού ποδιού. *Ελληνικά Διαβητολογικά Χρονικά*, 2011;24(2):104-112.
20. Παπαδόπουλος Ο., Καρυπίδης Δ., Κονοφάος Π., Χρυσοστομίδης Χ., Χάμψας Γ., Κωστόπουλος Ε., Φραγκούλης Μ. Σύνδρομο διαβητικού ποδιού: ο ρόλος της Πλαστικής Χειρουργικής στη σύνθετη θεραπευτική προσέγγιση. *Ελληνική Αγγειοχειρουργική*, 2019;15:21-39.
21. Apelqvist J., Tennvall GR. The Global Impact. Counting the costs of the diabetic foot. *Diabetes Voice*, 2009;50: Special Issue: 8-10.
22. Mendes J., Neves J. Diabetic Foot Infections: Current Diagnosis and Treatment. *The Journal of Diabetic Foot Complications*, 2012; 4(2):26-45
23. www.woundinternational.com
24. Singh S., Pai D., Yuhhui C. Diabetic Foot Ulcer – Diagnosis and Management. *Clinical Research on Foot & Ankle*, 2013;1(3):2-9
25. Patel D, Chaudhary S A, Parmar B, Bhura N. Transdermal Drug Delivery System: A review, *The Pharma Innovation*, 2012;1(4):66-75.
26. Cevc, G. Transfersomes, liposomes and other lipid suspensions on the skin: permeation enhancement, vesicle penetration, and transdermal drug delivery. *Critical Review. Therapeutic Drug Carrier Systems*, 1996;13:257–388
27. Shabbir M, Nagra U, Zaman M, Asif M, Kashif B. Lipid Vesicles and Nanoparticles for Non-invasive Topical and Transdermal Drug Delivery. *Current Pharmaceutical Design*. 2020; DOI: <https://doi.org/10.2174/1381612826666200114090659>

28. Desmet, E.; Van Gele, M.; Lambert, J. Topically applied lipid- and surfactant-based nanoparticles in the treatment of skin disorders. *Expert Opinion Drug Delivery*, 2016;14:109–122
29. Zhang P, Lu J, Jing Y, Tang S, Zhu B. Global epidemiology of diabetic foot ulceration: a systematic review and meta-analysis *Annals of medicine*, 2017; 49: 106–116. DOI: <https://doi.org/10.1080/07853890.2016.1231932>
30. Γκέκα Μ, Παπανικολάου Σ, Δώνου Α, Βογιατζόγλου Ε, Λαφογιάννη Σ. Λοιμώξεις PEDIS 4: απειλητικές για τη ζωή που συχνά υποεκτιμούνται. *Ελληνικά Διαβητολογικά Χρονικά*, 2018;31(1): 44-51
31. Ahmed E. Hydrogel: Preparation, characterization, and applications: A review. *Journal of Advanced Research*, 2015;6(2):105-121
32. Buwalda S.J, Boere K.W, Dijkstra P.J, Feijen J, Vermonden T, Hennink W.E. Hydrogels in a historical perspective: From simple networks to smart materials. *Journal of controlled Release* 2014;190:254–273.
33. 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.
34. Gaharwar A.K., Peppas N.A., Khademhosseini A. Nanocomposite hydrogels for biomedical applications. *Biotechnology Bioengineering* 2014;111(3): 441–453.
35. Ergenc T. I. and Kizilel S., “ Recent advances in the modeling of PEG hydrogel membranes for biomedical applications,” in *Biomedical Engineering, Trends in Material Science*, edited by Laskovski A. N. (InTech, Vienna, Austria, 2011), Chap. 14, pp. 307–346.
36. 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: Intech Open;2016:131-158

37. 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.
38. Patel, A.; Mequanint, K. Hydrogel biomaterials. In *Biomedical Engineering-Frontiers and Challenges*; InTech: London, UK, 2011.
39. 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;5:2054-213.
40. Gioffredi, E.; Boffito, M.; Calzone, S.; Giannitelli, S.M.; Rainer, A.; Trombetta, M.; Mozetic, P.; Chiono, V. Pluronic F127 hydrogel characterization and biofabrication in cellularized constructs for tissue engineering applications. *Procedia CIRP*, 2016;49, 125–132.
41. Δεμέτζος Κ. Φαρμακευτική Νανοτεχνολογία Βασικές Αρχές και Πρακτικές Εφαρμογές. Επιστημονικές Εκδόσεις Παρισιάνου Α.Ε. Αθήνα, Ελλάδα, 2014.
42. Florence A., Attwood D. *Physical Pharmacy*. Pharmaceutical Press, London, UK, 2008
43. Honey P.J., Rijo J., Anju A., Anoop K.R. Smart polymers for the controlled delivery of drugs – a concise overview. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 2014; 4(2): 120–127
44. Zhu Y., Yang B., Chen S., Du J. Polymer vesicles: Mechanism, preparation, application, and responsive behavior. *Progress in Polymer Science*, 2017; 64: 1–22
45. Almeida, M.; Magalhães, M.; Veiga, F.; Figueiras, A. Poloxamers, poloxamines and polymeric micelles: Definition, structure and therapeutic applications in cancer. *Journal of Polymer Research*, 2018; 25, 31.

46. Gandhi, A.; Paul, A.; Sen, S.O.; Sen, K.K. Studies on thermoresponsive polymers: Phase behaviour, drug delivery and biomedical. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2015;10(2):99–107.
47. Aguilar, M.R.; Elvira, C.; Gallardo, A.; Vázquez, B.; Román, J.S. Smart polymers and their applications as biomaterials. *Topics in Tissue Engineering*, 2007;3:1–2
48. Almeida H, Amaral H, Lobão P. Temperature and pH stimuli-responsive polymers and their applications in controlled and self-regulated drug delivery. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 2012;02(06):1-10
49. Roy D, Brooks W, Sumerlin, B. New directions in thermoresponsive polymers. *Chemical Society Reviews*, 2013;42:7214–7243
50. Alexandridis, P.; Holzwarth, J.F.; Hatton, T.A. Micellization of Poly(Ethylene Oxide)-Poly(Propylene Oxide)-Poly(Ethylene Oxide) Triblock Copolymers in Aqueous-Solutions-Thermodynamics of Copolymer Association. *Macromolecules*, 1994;27, 2414–2425.
51. Russo, E.; Villa, C. Pluronic Hydrogels for Biomedical Applications. *Pharmaceutics*, 2019;11, 671. [Google Scholar] [CrossRef]
52. Gioffredi, E.; Boffito, M.; Calzone, S.; Maria Giannitelli, S.; Rainer, A.; Trombetta, M.; Mozetic, P.; Chiono, V. Pluronic F127 hydrogel characterization and biofabrication in cellularized constructs for tissue engineering applications. *Procedia CIRP*, 2016;49:125–132.
53. Jalaal M, Cottrell G, Balmforth N, Stoeber B. On the rheology of Pluronic F127 aqueous solutions. *Journal of Rheology*, 2017;61:139–146
54. Bangham A.D., Standish M.M., Watkins J.C. Diffusion of univalent ions across the lamellae of swollen phospholipids. *Journal of Molecular Biology*, 1965; 13: 238–252.

55. Allen TM, Cullis PR. Liposomal drug delivery systems: From concept to clinical applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2013; 65: 36–48.
56. Sriram V., Rhodes C.T. Preparation and characterization of liposomes as therapeutic delivery systems: a review. *Pharmaceutics Acta Helvetiae*, 1995; 70: 95–111.
57. Elizondo E., Cabrera E.M.I., Cordoba A., Sala S., Veciana J. and Ventosa N. Liposomes and Other Vesicular Systems: Structural Characteristics, Methods of Preparation, and Use in Nanomedicine. *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, 2011; 104: 1–52.
58. Lin P., Lin S., Wang C.P., Sridhar R. Techniques for physicochemical characterization of nanomaterials. *Biotechnology Advances*, 2014; 32: 711–726.
59. Patil Y.P., Jadhav S. Novel methods for liposome preparation. *Chemistry and Physics of Lipids*, 2014; 177: 8–18.
60. Nogueira E., Gomes A.C., Preto A., Cavaco-Paulo A. Design of liposomal formulations for cell targeting. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2015; 136: 514–526.
61. Sharma R.A., Gescher A.J., Steward W.P. Curcumin: The story so far. *European Journal of Cancer*, 2005; 41: 1955–1968.
62. Vasir K., Jaspreet K., Reddy K. M., Labhasetwar D.V. Nanosystems in Drug Targeting: Opportunities and Challenges. *Current Nanoscience*, 2005; 47: 47–64
63. Demetzos C. and Pippa N. Advanced drug delivery nanosystems (aDDnSs): a mini-review. *Drug Delivery*, 2014; 21(4): 250–257.
64. Eloy JO, Souza M, Petrilli R, Barcellos JPA Lee RJ, Marchetti JM. Liposomes as carriers of hydrophilic small molecule drugs: Strategies to enhance

- encapsulation and delivery. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2014; 123: 345–363.
65. Ganta S, Devalapally H, Shahiwala A, Amiji M. A review of stimuli-responsive nanocarriers for drug and gene delivery. *Journal of Controlled Release*, 2008; 126: 187–204.
66. Li T, Takeoka S. 3-Smart Liposomes for Drug Delivery. In *Smart Nanoparticles for Biomedicine*, 2018:31-47
67. Airola MV, Hannun YA. Sphingolipid metabolism and neutral sphingomyelinases. *Handbook of Experimental Pharmacology* 2014; 215:57–76. doi: <https://doi.org/10.1007/s00018-014-1778-x>
68. Khavandgar Z, Murshed M. Sphingolipid metabolism and its role in the skeletal tissues. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2015;72(5):959–69. doi: <https://doi.org/10.1007/s00018-014-1778-x>
69. t'Kindt R, Jorge L, Dumont E, Couturon P, David F, Sandra P, et al. Profiling and characterizing skin ceramides using reversed-phase liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry. *Analytical Chemistry*. 2012;84(1):403–11. doi: 10.1021/ac202646v
70. Gonzalez-Cabrera PJ, Brown S, Studer SM, Rosen H. S1P signaling: new therapies and opportunities. *F1000Prime Report*, 2014;1(6):109. doi: 10.12703/P6-109
71. Park YH, Jang WH, Seo JA, Park M, Lee TR, Park YH, et al. Decrease of ceramides with very long-chain fatty acids and downregulation of elongases in a murine atopic dermatitis model. *Journal of Investigative Dermatology*. 2012;132(2):476–9. doi: 10.1038/jid.2011.333.
72. Li Q, Fang H, Dang E, Wang G. The role of ceramides in skin homeostasis and inflammatory skin diseases. *Journal of Dermatological Science*, 2019;97:2–8

73. Kendall A, Kiezel-Tsugunova M, Brownbridge L, Harwood J, Nicolaou A. Lipid functions in skin: Differential effects of n-3 polyunsaturated fatty acids on cutaneous ceramides, in a human skin organ culture model. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 2017;1859(9): 1679–1689 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2017.03.016>
74. Lucas S: The Pharmacology of Indomethacin. *Headache*. 2016 Feb;56(2):436-46. doi: <https://doi.org/10.1111/head.12769>
75. Hart, F.; Boardman, P. Indomethacin: A New non-steroid anti-inflammatory agent. *British medical journal*, 1963;2, 965–970.
76. FDA Label Indomethacin Capsules (25 mg) [Link] https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2019/016059s100lbl.pdf
77. Alvan G, Orme M, Bertilsson L, Ekstrand R, Palmer L: Pharmacokinetics of indomethacin. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 1975;18(3):364-73. Doi <https://doi.org/10.1002/cpt1975183364>
78. Nalamachu S, Wortmann R: Role of indomethacin in acute pain and inflammation management: a review of the literature. *Postgraduate medicine*, 2014;126(4):92-7. <https://doi.org/10.3810/pgm.2014.07.2787>
79. Giuliano, E.; Paolino, D.; Fresta, M.; Cosco, D. Mucosal Applications of Poloxamer 407-Based Hydrogels: An Overview. *Pharmaceutics*, 2018, 10, 159 doi: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics10030159>.
80. Chatterjee, S.; Hui, P.C.-I.; Kan, C.-W. Thermo-responsive hydrogels and their biomedical applications: Special insight into their applications in textile based transdermal therapy. *Polymers-Basel* 2018, 10, 480. Doi <https://doi.org/10.3390/polym10050480>

81. Borodzicz S, Rudnicka L, Mirowska-Guze D, Cudnoch-Jedrzejewska A. The role of epidermal sphingolipids in dermatologic diseases. *Lipids in Health and Disease*, 2016;15:13 DOI 10.1186/s12944-016-0178-7
82. Tokudome Y, Saito Y, Sato F, Kikuchi M, Hinokitani T, Goto K. Preparation and characterization of ceramide-based liposomes with high fusion activity and high membrane fluidity. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2009;73:92–96