

Aljinatın biyomedikal alanlarda kullanımı

¹Sinem Uğur¹, ¹Erkan Uğurlu¹, ²Eyüp İlker Saygılı², ³Önder Duysak³, ³Selin Sayın^{3*}

*Corresponding author: selin.sayin@iste.edu.tr

Received: 08.03.2022

Accepted: 20.06.2022

Affiliations

¹İskenderun Teknik Üniversitesi, Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Anabilim Dalı, 31200, İskenderun, Hatay, TÜRKİYE

²Sanko Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, 27090, Gaziantep, TÜRKİYE

³İskenderun Teknik Üniversitesi, Deniz Bilimleri ve Teknolojisi Fakültesi, 31200, İskenderun, Hatay, TÜRKİYE

Anahtar Kelimeler

Aljinat
Hidrojel
Biyoteknoloji
Biyomateryal
Doku mühendisliği

Keywords

Alginate
Hydrogel
Biotechnology
Biomaterial
Tissue engineering

Giriş

Biyomalzemeler geleneksel olarak inert ve konakçıda biyolojik sistemlerle etkileşime girmeyecek şekilde tasarlanmıştır. Doğal kaynaklardan üretilmiş olan materyaller, biyomalzeme olarak sıklıkla hastalık veya travmayla kaybolan dokuların yerini almak için kullanılmıştır. Bununla birlikte, yirminci yüzyılın başlarından bu yana, doğal olarak üretilmiş malzemelere kıyasla daha iyi performansları ve sürdürülebilir kaynak özellikleri nedeniyle bu malzemelerin yerini sentetik polimerler, seramikler ve metal alaşımları almaya başlamıştır

ÖZET

Aljinat, biyoyumluluk ve jelasyon kolaylığı gibi elverişli özelliklerinden dolayı biyomedikal, farmasötik, mühendislik gibi birçok uygulama alanlarına kolayca entegre edilebilen bir biyomalzemedir. Aljinat polimerleri, farmasötik tabanlı birçok uygulamada, doku mühendisliği (dokulardaki hücre dışı matrislere yapısal benzerliği koruması) uygulamaları kapsamında kullanılmaktadır. Bu derleme çalışmasında, aljinat, kimyasal yapısı, genel özellikleri, aljinat kaynakları morfolojik özellikleri, ekstraksiyon yöntemleri, özellikle biyomedikal alanda kullanımı hakkında bilgiler verilmesi amaçlanmıştır.

Alginate in usage biomedical areas

ABSTRACT

Alginate is a biomaterial that can be easily integrated into many application areas such as biomedical, pharmaceutical, engineering, due to its favorable properties such as biocompatibility and ease of gelation. Alginate polymers are used in tissue engineering (preserving structural similarity in tissues to extracellular matrices) applications in many pharmaceutical-based applications. In this review study, it is aimed to give information about alginate, its chemical structure, general properties, morphological properties of alginate sources, extraction methods, especially its use in the biomedical field.

(Ratner ve Bryant, 2004; Huebsch ve Mooney, 2009). Biyomateryal, vücudun herhangi bir dokusu ve organında biyomalzemelerin kullanım sınırlarını değerlendirmek, tedavi etmek, arttırmak veya değiştirmek için biyolojik sistemler ile ara yüz oluşturma amaçlı bir malzeme olarak tanımlanmaktadır. Yeni biyomalzemeler vücut dokularının hücre dışı matrislerinde bulunan birçok fonksiyonu taklit etmektedir. Bunun sebebi konakçı yanıtını çok iyi bir şekilde düzenleyip tanımlayabilmektedir. Doğal olarak üretilmiş materyaller doğal biyoyumlulukları nedeniyle son zamanlarda oldukça dikkat çekmektedir (Williams, 2009).

Cite this article as

Uğur, S., Uğurlu, E., Saygılı, E. İ., Duysak, Ö. & Sayın, S. (2022). Alginate in usage biomedical areas. *Marine and Life Sciences*, 4(1): 91-99. (in Turkish)

Kahverengi alglerin bir yapı taşı olan aljinat biyopolimerleri β (1-4)-D- mannuronik asit ve α -(1-4)-L- guluronik asit yapısında bir heteropolisakkarittir. Bu polimer, biyoyumlu, düşük toksisiteli, düşük maliyetli olmasının yanında Ca^{+2} , Na^{+2} gibi iki değerliğe sahip katyonlar ile birlikte kullanıldığında hafif jelasyon oluşturması gibi birçok özelliklerinden dolayı çeşitli biyomedikal alanlarda kullanılmaktadır (Gombotz ve Wee, 1998). Bunlara ek olarak, aljinat, hücreler ve proteinler gibi çeşitli biyomoleküllerin iletilmesinde-tutulmasında matriks olarak kullanılabilen, organik çözücü kullanılmadan oda sıcaklığında kapsülasyon oluşturabilen bir polimerdir (Andersen ve ark., 2012). Aljinatın matriks içinde durağan bir sulu ortamın varlığına (Huebsch ve Mooney, 2009), normal fizyolojik durumda biyobozunabilirliğine (Suzuki ve ark., 1998), biyomalzemelerin ve makromoleküllerin yüksek difüzyonuna izin veren gözenekli jel oluşumuna (Charter ve ark., 2015), gözeneklerin basit bir kaplama prosedürü ile kolayca kontrol edilebilme gibi özelliklerine sahip olması kullanım alanlarını oldukça geniş tutmaktadır (Liu ve ark., 1998). Ayrıca, uzun yıllardan beri gıda endüstrisinde yoğunlaştırıcı, jelleştirici ajan ve koloidal stabilizör, aynı zamanda çeşitli protein ve hücre dağılımı ve/veya tutulmasında kullanılmakta olan bileşenlerdir.

Aljinatlar, yara iyileşmesinde, nemli bir mikro ortam sağlamak, yara bölgesindeki enfeksiyonu azaltmakta, iyileşmeyi kolaylaştırmakta ve hızlandırmaktadır. Kimyasal ilaçlardan makromoleküler proteinlere kadar çeşitli ilaç molekülleri -çapraz bağlayıcı tiplerine ve çapraz bağlama yöntemlerine bağlı olarak aljinat jelleri yardımıyla kontrollü bir şekilde salınabilmektedir (Langer ve Vacanti, 1993). Ayrıca aljinat jelleri, vücuda oral olarak alınabilmesi, enjekte edilebilmesi gibi farmasötik uygulamalarda kullanılmaktadır.

Bu derleme çalışmasında, aljinat, kimyasal yapısı, genel özellikleri, aljinat kaynakları morfolojik özellikleri, ekstraksiyon yöntemleri, özellikle biyomedikal alanda kullanımı hakkında bilgiler verilmesi amaçlanmıştır.

Aljinat ve Özellikleri

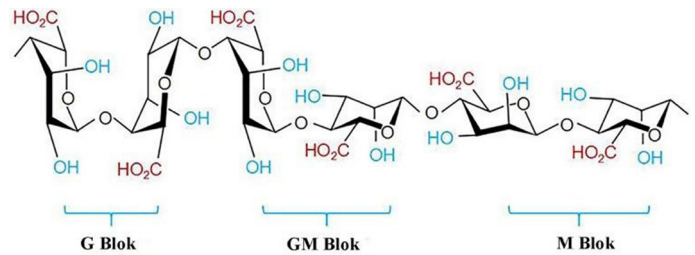
Aljinat kaynakları

Ticari olarak temin edilebilen aljinat tipik olarak sulu NaOH çözeltileriyle muamele edilerek *Laminaria hyperborea*, *Laminaria digitata*, *Laminaria japonica*, *Ascophyllum nodosum* ve *Macrocystis pyrifera* dahil kahverengi alglerin (Phaeophyceae) hücre duvarından ekstrakte edilen (Rinaudo, 2008), belirli toprak bakterileri *Azotobacter* ve *Pseudomonas* tarafından ekstraselular matriks olarak üretilen, poliuronik bir sakkarittir (Khong ve ark., 2013). Kuru ağırlık bazında aljinat içerikleri *A. nodosum* için %22-30, *L. digitata* için %25-44'tür (Qin, 2008). Bakteriyal aljinat *Azotobacter* ve *Pseudomonas*'tan üretilmektedir. Aljinat biyosentezi, genellikle öncü substratın sentezine, polimerizasyon ve

sitoplazmik membran transferine, periplazmik transfer ve modifikasyonuna ve dış zardan dışarıya aktarılması gibi süreçleri kapsamaktadır. Bakterilerde aljinat biyosentezinin düzenlenmesindeki son gelişmeler ve bakteri modifikasyonunun göreceli kolaylığı, ihtiyaca yönelik özellikler ve biyomedikal uygulamalarda geniş uygulamalarla aljinat üretimini mümkün kılabilir (Remminghorst ve Rehm, 2006).

Aljinatın kimyasal özellikleri

Aljinat β -D-mannuronik asit (M) ve α -L-gluronik asit (G) gibi fonksiyonel bileşenlerine ayrılabilen, düşük maliyetli, biyoyumlu ve biyoparçalanabilir lineer bir polimerdir. İlk olarak 12 Ocak 1881 tarihli patent ile Stanford tarafından tanımlanmıştır. 1926 yılında, aljinik asitin bir bileşeni olarak keşfedilen, sonrasında ise α -L-guluronik ve β -D-mannuronik kalıntılarından oluşan ikili kopolimer olarak kabul edilmiştir (Draget ve ark., 2005). Yapısındaki G ve M kısımları heterojen ya da homojen sekanslar olarak rastgele olabilmekte, dağılımı ve kimyasal yapısı elde edildiği kaynağa göre değişiklik göstermektedir. Aljinat molekülü, bileşimindeki üronik asit arasındaki bağların doğasından ötürü, selüloz gibi β 1,4 olarak belirtilmiştir (Moe ve ark., 1995). L-guluronat kalıntısı tanımlanmadan önce, D-mannuronat, aljinatın ana bileşeni olarak kabul ediliyordu. Manganez ve kalsiyum tuzları ile fraksiyonel çökeltme ile daha sonraları, aljinatların aslında blok kopolimerler olduğunu ve guluronatın mannuronata oranının doğal kaynağa bağlı olarak değiştiği belirlenmiştir (Haug, 1959). Dallanmamış ikili kopolimer ailesinden olan aljinatlar, değişen bileşimi ve sekansı, (1,4) bağlı β -D-mannuronik asit (M) ve onun C5 epimeri olan α -L-gluronik asitten (G) oluşmakta, polimer zincirinde M blokları, G blokları ve MG bloklarının uzun dizilerinin birbiriyle bağlanması da olabilmektedir (Moe, 1995). Aljinatın artık (1,4) - β -D-mannuronik (M) ve α -L-guluronik (G) bloklarını içeren kopolimerler ailesi olduğu bilinmektedir (Tonnesen ve Karlsen, 2002). Şekil 1 de β -D-mannuronik asit (M) ve α -L-gluronik asit (G) kimyasal yapıları gösterilmektedir.



Şekil 1. Aljinik asitin yapısı

Figure 1. Structure of alginic acid

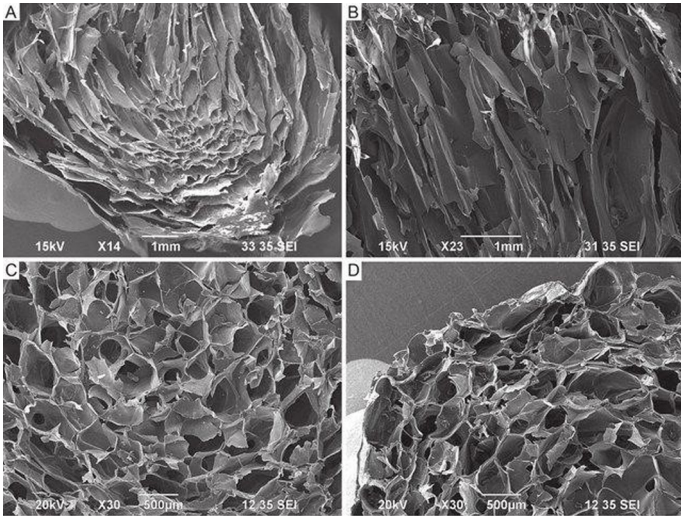
Aljinatın ve oluşturulan hidrojelatin fiziksel özelliklerini bileşimi, dizilimi, G-blok uzunluğu ve moleküler ağırlığı gibi faktörler etkilemektedir. Aljinat jellerinin mekanik özellikleri tipik olarak G-bloğunun uzunluğu ve moleküler

ağırlığı artırılarak belirlenebilmektedir (George ve Abraham, 2006). Farklı aljinat kaynaklarının polimerlere bir dizi kimyasal özellik sağladığı belirtilmektedir.

Aljinat, polimerlerin hidrojen ve elektrostatik bağlanmasına izin vererek münisile etkileşmesine ve serbest karboksil gruplarından kaynaklanan mukoadhesiv özelliklere sahiptir (Haugstad ve ark., 2015). Sadece iyonize karboksil grupları mukozal doku ile etkileşime girebildiğinden çevresel pH'ın aljinat çözünürlüğü ve sonuç olarak mukoadhesiv özellikleri üzerinde güçlü bir etkisi vardır. Çözünür aljinat, polimer matriksi yoluyla çözücünün nüfuz etmesini kolaylaştırır, bu da mukoadhesiv bağların güçlendirilmesinden sorumlu daha viskoz ve yapışkan jel yapısının oluşmasına neden olur (Mythri ve ark., 2011).

Aljinatın morfolojik özellikleri

Aljinatlar, algal hücre duvarlarında bulunan yapısal bileşenlerinden olan bir polisakkarittir (Silva ve Mooney, 2010). Aljinatların gözenekli yapısı ve doğal dokuları taklit edebilme özellikleri sayesinde doku mühendisliğinde iskelet yapı olarak kullanılmaktadır (Xu ve ark., 2017) (Şekil 2).



Şekil 2. Aljinat iskelet yapısının SEM görüntüsü (Coluccino ve ark., 2016)

Figure 2. SEM image of the alginate skeleton structure (Coluccino et al., 2016)

Aljinatın moleküler ağırlığının artırılması, elde edilen jellerin fiziksel özelliklerini geliştirebilmektedir. Bununla birlikte, moleküler ağırlığı yüksek polimerden oluşturulan bir aljinat çözeltisinin yoğunluğu daha fazla olmaktadır (LeRoux ve ark., 1999). Molekül ağırlığının manipülasyonu ve dağılımı bağımsız olarak jel öncesi çözelti viskozitesini ve jelleşme sonrası sertliğini kontrol edebilmektedir. Jellerin elastik modülü, yüksek ve düşük moleküler ağırlıklı aljinat polimerlerinin bir kombinasyonu kullanılarak çözeltinin viskozitesi minimum düzeyde artarken, elastik özellikleri önemli ölçüde artırılabilir (Kong ve ark., 2002).

Ajınat Ekstraksiyonları

Alglerden aljinat ekstraksiyon işlemi genellikle kurutulmuş ham maddenin seyreltilmiş mineral asit muamelesi ile başlayan çok aşamalı bir prosedürdür (Sachan ve ark., 2009). Aljinatlar, seyreltilmiş mineral asit ile muamele edildikten sonra laminarin ve fucoidin gibi nötr homopolisakkaritleri uzaklaştırmak için kurutulmuş ve öğütülmüş alglerden ekstrakte edilmektedir. Aynı zamanda, alkalik toprak katyonları H⁺ ile değiştirilmektedir. Aljinat daha sonra 10'un altındaki bir pH'ta sodyum karbonat ilave edilerek çözünmeyen protonlu formdan çözünür sodyum tuzuna dönüştürülmektedir. Ekstraksiyondan sonra, aljinat daha fazla saflaştırılabilmekte ve daha sonra bir tuza veya aside dönüştürülebilmektedir (Sutherland, 1991). Ticari aljinat sadece alg kaynaklarından elde edilmektedir, ancak aljinatın daha çok tanımlanmış fizikokimyasal özelliklerini sağlamak için mikrobiyal fermentasyon ile alternatif üretim araştırılmaktadır (Remminghorst and Rehm, 2006).

Aljinatın Biyomedikal Alanda Kullanımı

Aljinatlar uzun yıllardan beri gıda alanında kullanılmakta olup, son yıllarda biyomedikal alandaki uygulamaları artış göstermiş ve bu da malzemenin önemini daha da artırmıştır. Polimer yapıdaki aljinatlar biyoyumluluğu ve biyodegradasyon yeteneği sayesinde doku mühendisliğinde, tıp ve farmasötik alanlarında da kullanım potansiyeline sahiptir.

Aljinatın farmasötik uygulamalarda kullanımı

Aljinat jelleri, moleküler ağırlığı düşük ilaçların verilmesinde ilaç ile aljinat arasındaki birincil veya ikincil bağın ve ilaç salınım kinetiklerini düzenlemek için kullanılabileceğinin yararlı olduğu düşünülmektedir (Boontheekul ve ark., 2005). Aljinat jeller tipik olarak nano porlara sahiptir ve küçük moleküllerin jel boyunca hızlı difüzyonunu sağlamaktadır. Bununla birlikte hem kalsiyum iyonları hem de adipik asit dihidrazit (C₆H₁₄N₄O₂) ile kısmen oksitlenmiş aljinattan oluşturulan tanecikli yapılara katıldığı ve artan çapraz bağ sayısı nedeniyle uzun süreli bir salınım neden olduğu bildirilmiştir (Maiti ve ark., 2009). Antikanser ajanların kontrollü ve lokalize verilmesi de kısmen oksitlenmiş aljinat jelleri kullanılarak gerçekleştirilmektedir. Birden fazla ilaç, ilacın kimyasal yapısını, katılımını ve salınım kinetiğini önemli ölçüde değiştireceğinden, eşzamanlı veya sıralı uygulamalarda aljinat bazlı jellere yüklenebilmektedir. Örneğin, metotreksat (aljinat ile etkileşimli olmayan) difüzyonla hızlı bir şekilde salınırken, aljinata kovalent bağla bağlanan doksorubisin çapraz bağlayıcının kimyasal hidrolizi ile salınmaktadır. Aljinata iyonik olarak bağlı olan mitoksantron sadece jelin ayrılmasından sonra serbest kalmaktadır (Bouhadir ve ark., 2001).

Proteinden oluşan ilaçlar günümüzde yaygın olarak kullanılmaktadır. Proteinlerin ilaç iletim sisteminde, salınımına kadar olan sürede korunmalarını sağlayacak yapılar aljinat ile elde edilebilmektedir (Lee ve ark., 2003). Aljinatların hidrofilik ve porlu yapısı sayesinde proteinlerin aljinattan salınmaları hızlı bir şekilde olmaktadır. Vasküler endotelial büyüme faktörü ya da temel fibroblast büyüme faktörü gibi heparin bağlayan büyüme faktörleri, aynı şekilde geri dönüşümlü, sürekli ve lokalize salınımına izin veren, aljinat hidrojenlerine bağlanma sergilemektedirler (Lee ve ark., 2003; Silva ve Mooney, 2010). Protein salınımını, kısmen degradasyon reaksiyonuna bağlı hale getirmek için jellerin degradasyon oranının değiştirilmesi (örneğin, kısmen oksitlenmiş aljinatın kullanılması) ile kolayca manipüle edilebilmektedir (Silva ve Mooney, 2010).

Yara örtü malzemesi olarak aljinatın kullanımı

Yara iyileşmesi süreci hemostaz, iltihaplanma, göç, çoğalma ve yeniden modelleme olmak üzere beş aşamada gerçekleşmektedir (Eming ve ark., 2014; Frykberg ve Banks, 2015). Ciltte bir yaralanma olduğunda hemostaz ve iltihaplanma meydana gelmektedir. Fibrinojen olarak bilinen cildin bağ dokusunun büyük bir bileşeni, kanamayı durdurmak için eksüdaların ve yaradaki kanın pıhtılaşmasına yardımcı olmaktadır (Zahedi ve ark., 2010; Eming ve ark., 2014; Frykberg ve Banks, 2015). Enflamatuar faz, yaranın enkazdan arındırıldığı ve fagositik hücreler tarafından proteazların ve reaktif oksijen türlerinin salınmasının bir sonucu olarak bakteriyel enfeksiyondan korunduğu hemostaz fazı ile eşzamanlı olarak ortaya çıkmaktadır. Kan monositleri, yara bölgesinde, hasarlı kan damarlarını onarmak için büyüme faktörlerini ve fibroblastları, endotel hücrelerini ve keratinositleri alan sitokinleri serbest bırakarak doku makrofajlarına ayrılmaktadır (Frykberg ve Banks, 2015). Göç aşamasında, epitel hücreler ölü hücreleri değiştirmek için yara bölgesine doğru hareket etmektedir. Proliferasyon aşamasında, yara tamamen granülasyon dokularının oluşumuyla epitel ile kaplanmaktadır. Son aşama, fibroblastların yaranın yüzeyini yeni bir cilt tabakası olarak tamamen kapladığı dokunun yeniden modellenmesidir (Frykberg ve Banks, 2015). Bu aşamaya olgunlaşma aşaması da denmektedir (Guo ve DiPietro, 2010; Frykberg ve Banks, 2015).

Aljinat yara örtüleri, kalsiyum, magnezyum, baryum, kurşun, kadmiyum, kobalt, çinko, nikel, manganez, stronsiyum iyonları ile jel haline getirilebilmektedir (Yin ve ark., 2015; Topuz ve ark., 2012). Aljinat yara örtüleri kuru formda yara sıvısını absorbe edebilmekte ve fizyolojik olarak nemli bir ortamda kuru bir yara sağlayabilen ve bakteriyel enfeksiyonları en aza indirgeyen jeller oluşturabilmekte, böylece hızlı bir şekilde yeniden epitelizasyon ve granülasyon dokusu oluşumunu teşvik edebilmektedir. Aljinatın immünojenik

etkisi, M-bloğu miktarından kaynaklanmaktadır. Yüksek M bloğu içeren aljinat, yüksek G bloğuna sahip aljinat ile karşılaştırıldığında sitokin üretimini indüklemektedir (Szekalska ve ark., 2016).

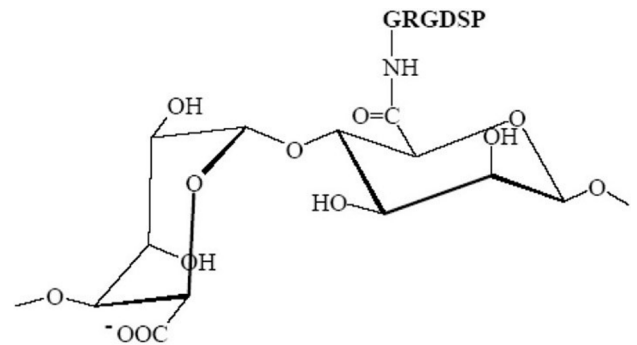
Akut ve kronik yaraların tedavisi, tıbbın birçok yönünde acil bir ihtiyaç olarak bilinmektedir. Aljinat bazlı yara örtüleri birçok avantajlı özellik sunmaktadır. Geleneksel yara örtüleri (örneğin gazlı bezler) esas olarak yara eksüdalarının buharlaşmasına izin verirken patojenlerin yaraya girmesini önleyerek yarayı kuru tutan bir bariyer fonksiyonu sağlamaktadır (Boateng ve ark., 2008). Buna karşılık, modern pansumanlar (aljinat yara örtüleri gibi), nemli bir yara ortamı sağlamakta ve yara iyileşmesini kolaylaştırmaktadır (Queen ve ark., 2004).

Hücre kültüründe aljinat kullanımı

Aljinat jelleri, biyomedikal çalışmalarda memeli hücre kültürü için bir model sistem olarak giderek daha fazla kullanılmaktadır. Bu jeller, 2-B veya daha fazla fizyolojik olarak 3-B kültür sisteminde hizmet verecek şekilde kolaylıkla adapte edilebilmektedir. Aljinat için memeli hücre reseptörlerinin eksikliği, aljinat jellerine düşük protein adsorpsiyonu ile birleştirildiğinde, bu malzemelerin, hücre yapışması için oldukça spesifik, ideal bir boş levha olarak birçok şekilde kullanımına izin vermektedir (Fischbach ve ark., 2009).

Dokuda bulunan ve doğal olarak oluşan 3B hücre ortamları ile karşılaştırıldığında büyük farklılıklar bulunmaktadır. Ancak, in vitro hücre kültürü çalışmalarının çoğu, sert plastik veya cam yüzeylerde tek katmanlı (2B), kolay, rahat ve yüksek hücre canlılığına sahip olmaları nedeniyle kullanılmaktadır (Lee ve ark., 2008). Bununla birlikte, hücreleri yapay, düz ve sert bir yüzeye adapte olmaya zorlandığı takdirde hücre metabolizması değişebilmekte ve işlevselliği azaltabilmektedir (Gevaert, 2012).

Aljinat polimer omurgasına hücre adhezyonu ligandları içeren bir arginin-glisin-aspartik asit (RGD) peptidinin dahil edilmesinin, aljinat bazlı bir substrata hücre adhezyonunu arttırdığı gösterilmiştir (Rowley ve ark., 1999) (Şekil 3).



Şekil 3. RGD-aljinat'ın kimyasal yapısı (Andersen ve ark., 2015)

Figure 3. Chemical structure of RGD-alginate (Andersen et al., 2015)

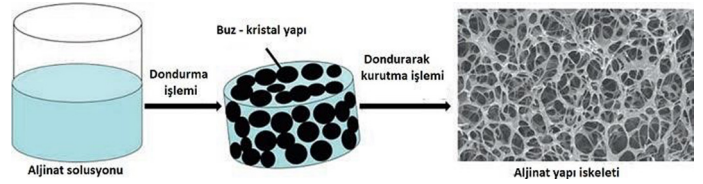
Aljinat jellerinde, ekstrarselüler maktrikse hücre adhezyonundan sorumlu RGD peptitlerinin varlığı, etkileşen miyoblastlar, kondrositler, osteoblastlar, yumurtalık folikülü ve kemik iliği stromal hücrelerin fenotipini kontrol etmesini sağlamaktadır (Wang ve ark., 2003; Hsiong ve ark., 2008; Bidarra ve ark., 2010). Aljinat jellerinde kültürlenmiş miyoblastların yapışması ve çoğalması, modifiye edilmemiş aljinat jellerine kıyasla RGD peptitlerinin aljinat omurgasına kimyasal konjügasyonu ile önemli ölçüde artmaktadır (Rowley ve ark., 1999).

Doku mühendisliğinde aljinat kullanımı

Doku mühendisliği 1990'dan beri geliştirilmekte olan bir alandır (Eslahi ve ark., 2016). Donör organın immünolojik yanıtı veya aşılama dokusunun instabilitesi olmadan dokunun işlevini değiştirmenin yararlı bir yolu olarak görülmektedir. Doku mühendisliği, malzemeler, hücreler ve büyüme faktörleri arasında iş birliğine dayalı bir ilkedir (Lee ve Shin, 2007). Son yıllarda aljinat jellerin vücuttaki çeşitli doku ve organların yenilenmesi için ya da yönlendirilebilen protein veya hücre popülasyonları sağlamak için çeşitli araştırmalar yapıldığı bildirilmiştir (Silva ve Mooney, 2010). Aljinat, biyomateryal olarak ve özellikle doku rejenerasyonu ya da onarımı için destekleyici matriks uygulama sistemi gibi geniş bir uygulama alanına sahip olduğundan ilgi çekicidir. Biyoyumluluk, biyobozunurluk, antijenik olmayan ve şelasyon kabiliyeti bakımından üstün özellikleri nedeniyle, aljinat doku mühendisliği dahil olmak üzere çeşitli biyomedikal uygulamalarda yaygın olarak kullanılmaktadır (Kuo ve Ma, 2001).

Doku mühendisliği için iskelet yapısı

Son on yıllarda, doku mühendisliğinde iskelet yapılarına alternatif gözenekli biyomalzeme bazlı yapılar düşünülmektedir. 3B hidrojel bazlı polimerik iskelet yapıları üretmek için gaz köpüğü, dondurarak kurutma, elektro lif çekimi (electrospinning) ve hızlı prototipleme (bioprinting) gibi teknikler uygulanmaktadır (Li ve Ma, 2004). Geleneksel tekniklerden dondurarak kurutma, aljinat gibi hidrojel bazlı biyomalzemeleri iskelet imalatında kullanılmaktadır. Bir aljinat çözeltisinden, gözenekli, katı, serbest biçimli, yapı iskeletleri iki adımda imal edilebilmektedir: Dondurma ve ardından dondurarak kurutma. Yöntem, sistem içinde faz ayrılmasına ve çözücünün vakum altında süblimleşmesine neden olan boşluklar ile sonuçlanan termal kararsızlıklar oluşturmak için malzemenin donma sıcaklığı altında hızlı bir şekilde soğutulmasına dayanmaktadır (Annabi ve ark., 2010) (Şekil 4). Çeşitli işlem parametreleri arasında, donma sıcaklığı, donma hızı ve liyofilizasyondan önceki dondurma işlemi yer almaktadır. Meydana gelen yapı iskeletlerinin gözenek yapısı (genel gözeneklilik, gözenek boyutu ve gözenek morfolojisi) üzerinde büyük bir etkiye sahiptir (Zamora ve ark., 2002).



Şekil 4. Aljinatın dondurularak kurutulması (Sun ve Tan, 2013)

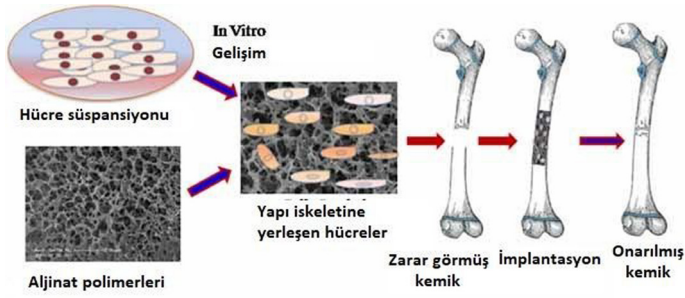
Figure 4. Freezing and drying of the alginate (Sun and Tan, 2013)

Liyofilizasyon tekniği genellikle iyonik olarak çapraz bağlı aljinat hidrojellerinden gözenekli yapı iskeletleri üretmek için kullanılmaktadır (Wang ve ark., 2006; Sarker ve ark., 2015). Bununla birlikte, saf aljinnattan yapı iskeletlerinin, aljinat ağında hücre adezyon motiflerinin eksikliği nedeniyle hücre adezyonunu ve hücre metabolizmasını desteklemek için yeterli biyoyumluluk sağlamadığı iyi bilinmektedir (Sun ve Tan, 2013). Bu nedenle, hücre yapışmasını ve hücre metabolizmasını teşvik etmek için kitosan (Shapiro ve ark., 1997), jelatin (Sapir ve ark., 2011) gibi farklı polimerler, proteinler veya peptitler aljinat ile birleştirilmektedir (Florczyk ve ark., 2011). Aljinat hidrojel bazlı, gözenekli, dondurularak kurutulmuş yapı iskeletleri çoğunlukla kemik ve kırık doku mühendisliği araştırmaları için kullanılmıştır.

Kemik doku mühendisliğinde aljinat

Kemik doku, besin akışının geçişini sağlamanın yanı sıra hücre bağlanması, proliferasyonuna ve doku büyümesine elverişli bir biyolojik ortam sağlamak için birbirine bağlı çok sayıda gözenek yapısına sahip olması gerekmektedir. Kemik doku yapı iskeletleri implantasyon yerindeki kemik dokusu yenilenmesini desteklemek ve hem in vitro hem de in vivo hücre büyümesi sırasında bütünlüğü korumak için yeterli mekanik güce sahip olması gerekmektedir (Chu ve ark., 2002). Aljinat/hidroksiapatit kompozit yapı iskeletleri, internal jelasyon ve ardından gözenekli bir yapı elde etmek üzere dondurarak kurutma prosedürü ile hazırlanmaktadır. Nanopartiküller, laktöz modifiye edilmiş bir kitosan varlığında hazırlanmakta, bu koloidal çözelti, elektrostatik etkileşimlerden faydalanılarak yapı iskeletleri üzerine adsorbe edilmekte ve geçici olarak absorbe edilebilir kemik implantları olarak kullanılmaktadır (Marsich ve ark., 2013) (Şekil 5).

Kitosan/polipirol/aljinat kompozit yapı iskeleti, doku rejenerasyonu için bir substrat olarak işlev görebilmekte ve bir biyoreaktör sistemi ile elektriksel stimülasyon kullanılarak osteojenik hücreler ile birlikte kemik doku mühendisliği için kullanılabilir ve böylece kompozit yapının kemik rejenerasyonundaki rolü değerlendirilebilmektedir (Sajesh ve ark., 2013). Kitosan/aljinat hibrid yapı iskeletleri, geliştirilmiş mekanik mukavemet, yapısal stabilite sergilemiş, yeni kemik oluşumunu ve hızlı vaskülarizasyonu uyardığı bildirilmiştir (Li ve ark., 2005).



Şekil 5. Kemik doku onarımında aljinat polimerleri (Khan ve Ahmad, 2013)

Figure 5. Alginate polymers in bone tissue repair (Khan and Ahmad, 2013)

Kıkırdak doku mühendisliğinde aljinat

Kıkırdak doku fonksiyonlarında alternatif olarak kullanılan ya da dokuyu taklit edebilen biyomateryaller arasında kolajen (Parmar ve ark., 2015), kitosan (Muzzarelli ve ark., 2015), jelatin (Amadori ve ark., 2015), aljinat (Jeon ve ark., 2009), hiyalüronik asit (Palumbo ve ark., 2015), etilen glikol (Wang ve ark., 2017), polikaprolakton (Prabhakar ve ark., 2016) gibi doğal ve sentetik polimerler bulunmaktadır. Aljinat, kıkırdak doku uygulaması için uygun fiziksel özellikleri bünyesinde bulunduran biyolojik olarak parçalanabilen doğal bir polimerdir. Aljinat, kıkırdak rejenerasyon uygulamaları için kapsamlı bir şekilde araştırılmaktadır (Guarino, 2018). Hasarlı kıkırdığın onarımı hâlâ ortopedi alanının karşılaştığı en büyük zorluklardan biridir. Aljinat jellerin, kondrojenik hücrelerin hayvan modellerinde, hasar görmüş kıkırdığı restore etmek için nakledilmesinde yararlı olduğu belirtilmiştir (Chang ve ark., 2001, 2003). İlk çalışmalarda, kalsiyum sülfat ile karıştırılmış bir aljinat çözeltisinde kondrosit süspansiyonu kullanılmış ve önceden şekillendirilmiş kıkırdak üretmek için yüz implantlarının kalıplarına enjekte edilmiştir. Farelerde ve koyunlar üzerinde yapılan 30 haftalık subkütan implantasyon uygulaması sonucunda üç boyutlu yapının korunması ile kıkırdak oluşturduğu, proteoglikan ve kolajen içeriği ile tasarlanmış kıkırdak elastik modülünün doğal kıkırdakta yaklaşık %80 olduğu bildirilmiştir (Chang ve ark., 2001, 2003). Aljinatlar, biyoyumluluk, hücrelerin tutunması için iyi bir iskelet yapısı oluşturma özelliği, biyoçözünürlüğü, düşük maliyeti gibi birçok özelliklerinden dolayı kıkırdak rejenerasyonu için en iyi alternatif bir malzeme olarak kabul edilmektedir (Venkatesan ve ark., 2015).

Sonuç

Aljinat, özellikle yara iyileşmesi, ilaç iletim sistemi, in vitro hücre kültürü ve doku mühendisliği gibi birçok biyomedikal uygulama alanlarında potansiyeli yüksek bir biyomateryal olarak kabul görmektedir. Biyomedikal alanlarda aljinatın en çekici özelliklerinden biyoyumluluk, hafif jelasyon, biyodegradasyon gibi yeni

özelliklere sahip farklı türevlerinin hazırlanması için bazı modifikasyonlar gerekmektedir. Aljinat, bir yara iyileştirici malzemesi ve farmasötik bir bileşen olarak güvenli klinik kullanım geçmişine sahiptir. Kimyasal olarak modifiye edilmiş bir aljinat periodontal rejenerasyonu teşvik etmek için bir taşıyıcı olarak kullanılmaktadır (Sculean ve ark., 2001). Bununla birlikte, diğer hidrojel gibi, aljinat jeller de sınırlı mekanik sertliğe ve genel fiziksel özelliklere sahiptir.

Farklı kimyasal yapılara, moleküler ağırlığa ve çapraz bağlama işlevselliğine sahip moleküller kullanılarak, mevcut çapraz bağlama stratejileri aralığının dikkate alınması, genellikle her uygulama için uygun jeller elde edilmesini sağlamaktadır. Yakın gelecekte, tıpta kullanılan aljinat bazlı malzemelerin önemli ölçüde gelişmesi muhtemeldir. Aljinat jeller, yara iyileştirme uygulamalarında klinik olarak zaten kullanılırken, oldukça pasif bir rol oynamaktadırlar.

Aljinat jellerinden isteğe bağlı ilaç salımı, terapötik hücreler de dâhil olmak üzere birçok ilacın aktif depolarını tasarlamak için kullanılabilirliği düşünülmektedir. Aljinat için uygun hücre etkileşimli özelliklerin eklenmesi, birçok doku mühendisliği uygulamasında da çok önemli olacağı muhtemel uygulamalar arasındadır. Adhezyon ligandlarının tipi ve jellerdeki organizasyonu, hücre fenotipini ve rejenerasyon dokuların fonksiyonunu düzenleyebildikleri için anahtar değişkenlerdir. RGD peptitlerinden bugüne kadar bir hücre adezyon ligandı olarak geniş ölçüde faydalanılmakla birlikte, uygun doku ve organların uygun şekilde üretilmesi için çoklu ligandlar ve çözümler faktörlerden de faydalanabilmektedir.

Mevcut aljinatın temel özelliklerinin bilinmesi ile birlikte, yeni hücre ve doku etkileşimli aljinat jellerinin geliştirilmesi biyomedikal, farmasötik ve mühendislik alanlarındaki ilerlemeleri sağlayabileceği düşünülmektedir. Belirli bir uygulama için tasarlanan doğal kaynaklardan elde edilen sınırlı repertuarın aksine, hassas şekilde kontrol edilebilen kimyasal ve fiziksel özelliklere sahip yeni aljinat sınıflarını tasarlama yeteneği bu malzemelerin kullanımında devrim yaratacaktır.

ETİK STANDARTLARA UYUM

Yazarların Katkısı

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamışlardır.

Çıkar Çatışması

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması olmadığını deklare etmektedir.

Etik Onay

Yazarlar bu tür bir çalışma için resmi etik kurul onayının gerekli olmadığını bildirmektedir.

Kaynaklar

- Amadori, S., Torricelli, P., Panzavolta, S., Parrilli, A., Fini, M. & Bigi, A. (2015). Highly porous gelatin reinforced 3D scaffolds for articular cartilage regeneration. *Macromolecular Bioscience*, 15: 941-952. <https://doi.org/10.1002/mabi.201500014>
- Andersen, T., Strand, B. L., Formo, K., Alsberg, E. & Christensen, B.E. (2012). *Alginates as Biomaterials in Tissue Engineering*. In Carbohydrate Chemistry: Chemical and Biological Approaches, 37: 227-258. <https://doi.org/10.1039/9781849732765-00227>
- Annabi, N., Nichol, J. W. & Zhong, X. (2010). Controlling the porosity and microarchitecture of hydrogels for tissue engineering. *Tissue Engineering Part B: Reviews*, 16: 371-383. <https://doi.org/10.1089/ten.TEB.2009.0639>
- Bidarra, S. J., Barrias, C. C., Barbosa, M. A., Soares, R. & Granja, P. L. (2010). Immobilization of human mesenchymal stem cells within RGD-grafted alginate microspheres and assessment of their angiogenic potential. *Biomacromolecules*, 11: 1956-64. <https://doi.org/10.1021/bm100264a>
- Boateng, J.S., Matthews, K. H., Stevens, H.N.E. & Eccleston, G.M. (2008). Wound healing dressings and drug delivery systems: A review. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 97: 2892-923. <https://doi.org/10.1002/jps.21210>
- Boonthekul, T., Kong, H. J. & Mooney, D. J. (2005). Controlling alginate gel degradation utilizing partial oxidation and bimodal molecular weight distribution. *Biomaterials*, 26: 2455-2465. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2004.06.044>
- Bouhadir, K. H., Alsberg, E. & Mooney, D. J. (2001). Hydrogels for combination delivery of antineoplastic agents. *Biomaterials*, 22: 2625-2633. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(01\)00003-5](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(01)00003-5)
- Chang, S. C. N., Rowley, J. A., Tobias, G., Genes, N. G., Roy, A. K., Mooney, D. J., Vacanti, C. A. & Bonassar, L. J. (2001). Injection molding of chondrocyte/alginate constructs in the shape of facial implants. *Journal of Biomedical Materials Research*, 55: 503-511. [https://doi.org/10.1002/1097-4636\(20010615\)55:4<503::AID-JBM1043>3.0.CO;2-S](https://doi.org/10.1002/1097-4636(20010615)55:4<503::AID-JBM1043>3.0.CO;2-S)
- Chang, S. C. N., Tobias, G., Roy, A. K., Vacanti, C. A. & Bonassar, L. J. (2003). Tissue engineering of autologous cartilage for craniofacial reconstruction by injection molding. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 112: 793-799. <https://doi.org/10.1097/01.PRS.0000069711.31021.94>
- Chater, P. I., Wilcox, M. D., Brownlee, I. A., & Pearson, J. P. (2015). Alginate as a protease inhibitor in vitro and in a model gut system; selective inhibition of pepsin but not trypsin. *Carbohydrate Polymers*, 131: 142-151. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.05.062>
- Chu, T. M., Orton, D. G., Hollister, S. J., Feinberg, S. E. & Halloran, J. W. (2002). Mechanical and in vivo performance of hydroxyapatite implants with controlled architectures. *Biomaterials*, 23: 1283-1293. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(01\)00243-5](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(01)00243-5)
- Coluccino, L., Stagnaro, P., Vassalli, M., & Scaglione, S. (2016). Bioactive TGF-β1/HA alginate-based scaffolds for osteochondral tissue repair: design, realization and multilevel characterization. *Journal of Applied Biomaterials & Functional Materials*, 14(1): 42-52. <https://doi.org/10.5301/jabfm.5000249>
- Draget, K. I., Smidsrød, O., & Skjåk-Bræk, G. (2005). Alginates from algae. In: Polysaccharides and polyamides in the food industry: properties, production, and patents, 1-30.
- Eming, S.A., Martin, P. & Tomic-Canic, M. (2014). Wound repair and regeneration: Mechanisms, signaling, and translation. *Science Translational Medicine*, 6: 265-266. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3009337>
- Eslahi, N., Abdorahim, M. & Simchi, A. (2016). Smart Polymeric Hydrogels for Cartilage Tissue Engineering: A Review on the Chemistry and Biological Functions. *Biomacromolecules*, 17(11): 3441-3463. <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.6b01235>
- Fischbach, C., Kong, H. J., Hsiong, S. X., Evangelista, M. B., Yuen, W., Mooney D. J. (2009). Cancer cell angiogenic capability is regulated by 3D culture and integrin engagement. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106: 399-404. <https://doi.org/10.1073/pnas.0808932106>
- Florczyk, S. J., Kim, D. J., Wood, D. L. & Zhang, M. (2011). Influence of processing parameters on pore structure of 3D porous chitosan-alginate polyelectrolyte complex scaffolds. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 98(A): 614-620. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.33153>
- Frykberg, R. G. & Banks, J. (2015). Challenges in the treatment of chronic wounds. *Advances in Wound Care (New Rochelle)*, 4: 560-582. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.33153>
- George, M., Abraham, T. E. (2006). Polyionic hydrocolloids for the intestinal delivery of protein drugs. *Journal of Controlled Release*, 114: 1-14. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2006.04.017>
- Gevaert, M. (2012). Engineering 3D tissue systems to better mimic human biology. *Bridge*, 42: 48-55.
- Gombotz, W. R. & Wee, S. F. (1998). Protein release from alginate matrices. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 31: 267-285. [https://doi.org/10.1016/S0169-409X\(97\)00124-5](https://doi.org/10.1016/S0169-409X(97)00124-5)
- Guo, S. A. & DiPietro, L. A. (2010). Factors affecting wound healing. *Journal of Dental Research*, 89: 219-229. <https://doi.org/10.1177/0022034509359125>
- Guarino, V. (2018). Alginate processing routes to fabricate bioinspired platforms for tissue engineering and drug delivery. *Alginates and Their Biomedical Applications*, 101-120. https://doi.org/10.1007/978-981-10-6910-9_4
- Haug, A. (1959). Fractionation of alginic acid. *Acta Chemica Scandinavica*, 13: 601-603. <https://doi.org/10.1002/pol.1962.1206016927>
- Haugstad, K. E., Hati, A. G. & Nordgard C. T. (2015). Direct determination of chitosan-mucin interactions using a single molecule strategy: comparison to alginate-mucin interactions. *Polymers*, 7: 161-185. <https://doi.org/10.3390/polym7020161>
- Hsiong, S. X., Carampin, P., Kong, H. J., Lee, K. Y. & Mooney, D. J. (2008). Differentiation stage alters matrix control of stem cells. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 85: 145-56. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.31521>
- Huebsch, N. & Mooney, D. J. (2009). Inspiration and Application in the Evolution of Biomaterials. *Nature*, 462: 426-432. <https://doi.org/10.1038/nature08601>
- Jeon, O., Bouhadir, K. H., Mansour, J. M. & Alsberg, E. (2009). Photocrosslinked Alginate Hydrogels with Tunable Biodegradation Rates and Mechanical Properties. *Biomaterials*, 30: 2724-2734. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2009.01.034>
- Khan, F., & Ahmad, S. R. (2013). Polysaccharides and their derivatives for versatile tissue engineering application. *Macromolecular Bioscience*, 13(4): 395-421. <https://doi.org/10.1002/mabi.201200409>

- Khong, T. T., Aarstad, O. A., Skjåk-Bræk, G., Draget, K. I., Vårum, K. J. (2013). Gelling concept combining chitosan and alginate proof of principle. *Biomacromolecules*, 14: 2765-2771. <https://doi.org/10.1021/bm400610b>
- Kong, H. J., Lee, K. Y. & Mooney, D. J. (2002). Decoupling the dependence of rheological/mechanical properties of hydrogels from solids concentration. *Polymer*, 43: 6239-6246. [https://doi.org/10.1016/S0032-3861\(02\)00559-1](https://doi.org/10.1016/S0032-3861(02)00559-1)
- Kuo, C. K. & Ma, P. X. (2001). Ionically crosslinked alginate hydrogels as scaffolds for tissue engineering: Part 1. Structure, gelation rate and mechanical properties. *Biomaterials*, 22: 511-521. [https://doi.org/10.1016/s0142-9612\(00\)00201-5](https://doi.org/10.1016/s0142-9612(00)00201-5)
- Langer, R. & Vacanti, J. P. (1993). Tissue engineering. *Science*, 260: 920-926. <https://doi.org/10.1126/science.8493529>
- Lee, K. Y. & Mooney, D. J. (2001). Hydrogels for tissue engineering. *Chemical Reviews*, 101: 1869-1879. <https://doi.org/10.1021/cr000108x>
- Lee, K.Y., Peters, M.C. & Mooney, D.J. (2003). Comparison of vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor on angiogenesis in SCID mice. *Journal of Controlled Release*, 87: 49-56. [https://doi.org/10.1016/s0168-3659\(02\)00349-8](https://doi.org/10.1016/s0168-3659(02)00349-8)
- Lee, J., Cuddihy, M. J. & Kotov, N. A. (2008). Three-dimensional cell culture matrices: State of the Art. *Tissue Engineering*, 14: 61-86. <https://doi.org/10.1089/teb.2007.0150>
- Lee, S. H. & Shin, H. (2007). Matrices and scaffolds for delivery of bioactive molecules in bone and cartilage tissue engineering. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 59: 339-359. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2007.03.016>
- LeRoux, M. A., Guilak, F. & Setton, L. A. (1999). Compressive and shear properties of alginate gel: effects of sodium ions and alginate concentration. *Journal of Biomedical Materials Research*, 47: 46-53. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4636\(199910\)47:1<46::AID-JBM6>3.0.CO;2-N](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4636(199910)47:1<46::AID-JBM6>3.0.CO;2-N)
- Li, Z., Ramay, H.R., Hauch, K.D., Xiao, D. & Zhang, M. (2005). Chitosan alginate hybrid scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials*, 26: 3919-3928. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2004.09.062>
- Liu, H., Lee, Y. W., & Dean, M. (1998). Re-expression of differentiated proteoglycan phenotype by dedifferentiated human chondrocytes during culture in alginate beads. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1425(3): 505-515. [https://doi.org/10.1016/S0304-4165\(98\)00105-6](https://doi.org/10.1016/S0304-4165(98)00105-6)
- Liu, X., Ma, X. (2004). Polymeric scaffolds for bone tissue engineering. *Annals of Biomedical Engineering*, 32: 477-486. <https://doi.org/10.1023/B:ABME.0000017544.36001.8e>
- Liu, Z., Li, J., Nie, S., Liu, H., Ding, P. & Pan, W. (2006). Study of an alginate/HPMC-based in situ gelling ophthalmic delivery system for gatifloxacin. *International Journal of Pharmaceutics*, 315(1-2): 12-17. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2006.01.029>
- Maiti, S., Singha, K., Ray, S., Dey, P. & Sa, B. (2009). Adipic acid dihydrazide treated partially oxidized alginate beads for sustained oral delivery of flurbiprofen. *Pharmaceutical Development and Technology*, 14: 461-470. <https://doi.org/10.1080/10837450802712658>
- Marsich, E., Bellomo, F., Turco, G., Travan, A., Donati, I., Paoletti, S. (2013). Nanocomposite scaffolds for bone tissue engineering containing silver nanoparticles: preparation, characterization and biological properties. *Journal of Materials Science. Materials in Medicine*, 24: 1799-1807. <https://doi.org/10.1007/s10856-013-4923-4>
- Moe, S. T. (1995). Alginates. *Food polysaccharides and their applications*, 245-286.
- Muzzarelli, R., El Mehtedi, M., Bottegoni, C., Aquili, A. & Gigante, A. (2015). Genipin crosslinked chitosan gels and scaffolds for tissue engineering and regeneration of cartilage and bone. *Marine Drugs*, 13: 7314-7338. <https://doi.org/10.3390/md13127068>
- Mythri, G., Kavitha, K., Kumar, M. R. & Singh, S. D. (2011). Novel mucoadhesive polymers-a review. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 1: 37-42.
- Palumbo, F.S., Fiorica, C., Di Stefano, M., Pitarresi, G., Gulino, A., Agnello, S. & Giammona, G. (2015). In situ forming hydrogels of hyaluronic acid and inulin derivatives for cartilage regeneration. *Carbohydrate Polymers*, 122: 408-416. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.11.002>
- Parmar, P. A., Chow, L. W., StPierre, J. P., Horejs, C. M., Peng, Y. Y., Werkmeister, J. A., Ramshaw, J. A. M., Stevens, M. M. (2015). Collagen-mimetic peptide-modifiable hydrogels for articular cartilage regeneration. *Biomaterials*, 54: 213-225. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2015.02.079>
- Prabhakar, A., Lynch, A. P. & Ahearne, M. (2016). Self-assembled infrapatellar fat-pad progenitor cells on a polyε-caprolactone film for cartilage regeneration. *Artificial Organs*, 40: 376-384. <https://doi.org/10.1111/aor.12565>
- Qin, Y. (2008). Alginate fibres: an overview of the production processes and applications in wound management. *Polymer International*, 57: 171-180. <https://doi.org/10.1002/pi.2296>
- Queen, D., Orsted, H., Sanada, H. & Sussman G. (2004). A dressing history. *International Wound Journal*, 1: 59-77. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4801.2004.0009.x>
- Ratner, B. D. & Bryant, S. J. (2004). Biomaterials: where we have been and where we are going? *Annual Review of Biomedical Engineering*, 6: 41-75. <https://doi.org/10.1146/annurev.bioeng.6.040803.140027>
- Remminghorst, U. & Rehm, B. H. A. (2006). Bacterial alginates: from biosynthesis to applications. *Biotechnology Letters*, 28, 1701-1712. <https://doi.org/10.1007/s10529-006-9156-x>
- Rinaudo, M. (2008). Main properties and current applications of some polysaccharides as biomaterials. *Polymer International*, 57: 397-430. <https://doi.org/10.1002/pi.2378>
- Rowley, J. A., Madlambayan, G. & Mooney, D. J. (1999). Alginate hydrogels as synthetic materials. *Biomaterials*, 20: 45-53. [https://doi.org/10.1016/s0142-9612\(98\)00107-0](https://doi.org/10.1016/s0142-9612(98)00107-0)
- Sapir, Y., Kryukov, O. & Cohen, S. (2011). Integration of multiple cell-matrix interactions into alginate scaffolds for promoting cardiac tissue regeneration. *Biomaterials*, 32: 1838-1847. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2010.11.008>
- Sachan, K. N., Pushkar, S., Jha, A. & Bhattacharya, A. (2009). Sodium alginate: the wonder polymer for controlled drug delivery. *Journal of Pharmacy Research*, 2:(8) 1191-1199.
- Sajesh, K. M., Jayakumar, R., Nair, S. V. & Chennazhi, K. P. (2013). Biocompatible conducting chitosan/polypyrrole-alginate composite scaffold for bone tissue engineering. *International Journal of Biological Macromolecules*, 62: 465-471. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.09.028>
- Sarker, B., Hum, J., Nazhat, S. N., Boccaccini, A. R. (2015). Combining collagen and bioactive glasses for bone tissue engineering: a review. *Advanced Healthcare*

- Materials*, 4: 176-194. <https://doi.org/10.1002/adhm.201400302>
- Sculean, A., Auschill, T. M., Donos, N., Brex, M. & Arweiler, N. B. (2001). Effect of an enamel matrix protein on ex vivo dental plaque vitality. *Journal of Clinical Periodontology*, 28: 1074-1078. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2001.281113.x>
- Sergeeva, A., Vikulina, A. S. & Volodkin, D. (2019). Porous alginate scaffolds assembled using vaterite CaCO₃ crystals. *Micromachines (Basel)*, 10(6): 357. <https://doi.org/10.3390/mi10060357>
- Shapiro, L. & Cohen, S. (1997). Novel alginate sponges for cell culture and transplantation. *Biomaterials*, 18: 583-590. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(96\)00181-0](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(96)00181-0)
- Silva, E. A. & Mooney, D. J. (2010). Effects of VEGF temporal and spatial presentation on angiogenesis. *Biomaterials*, 31: 1235-1241. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2009.10.052>
- Sun, J. & Tan, H. (2013). Alginate-based biomaterials for regenerative medicine applications. *Materials (Basel)*, 6: 1285-1309. <https://doi.org/10.3390/ma6041285>
- Sutherland, I.W. (1991). Alginates, in: D. Byrom (Ed.), *Biomaterials; Novel Materials from Biological Sources* (pp. 309-331). Stockton: New York.
- Suzuki, T., Yamaguchi, T., & Ishida, M. (1998). Immobilization of *Prototheca zopfii* in calcium-alginate beads for the degradation of hydrocarbons. *Process Biochemistry*, 33(5): 541-546. [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(98\)00022-3](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(98)00022-3)
- Szekalska, M., Puciłowska, A., Szymanska, E., Ciosek, P. & Winnicka, K. (2016). Alginate: Current use and future perspectives in pharmaceutical and biomedical applications. *International Journal of Polymer Science*, 8: 1-17. <https://doi.org/10.1155/2016/7697031>
- Taylor, C., Pearson, J.P., Draget, K.I., Dettmar, P.W. & Smidsrod, O. (2005). Rheological characterisation of mixed gels of mucin and alginate. *Carbohydrate Polymers*, 59: 189-195. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2004.09.009>
- Tonnesen, H. H. & Karlsen, J. (2002). Alginate in drug delivery systems. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 28: 621-630. <https://doi.org/10.1081/DDC-120003853>
- Topuz, F., Henke, A., Richtering, W. & Groll, J. (2012). Magnesium ions and alginate do form hydrogels: A rheological study. *Soft Matter*, 8: 4877-4881. <https://doi.org/10.1039/C2SM07465F>
- Venkatesan, J., Bhatnagar, I., Manivasagan, P., Kang, K. H. & Kim, S. K. (2015). Alginate composites for bone tissue engineering: a review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 72: 269-281. <https://doi.org/10.1039/C2SM07465F>
- Wang, L., Shelton, R.M., Cooper, P.R., Lawson, M., Triffitt, J.T. & Barralet, J.E. (2003). Evaluation of sodium alginate for bone marrow cell tissue engineering. *Biomaterials*, 24: 3475-3481. [https://doi.org/10.1016/s0142-9612\(03\)00167-4](https://doi.org/10.1016/s0142-9612(03)00167-4)
- Wang, Y., Yang, C., Chen, X., Zhao, N. (2006). Development and characterization of novel biomimetic composite scaffolds based on bioglass-collagen-hyaluronic acid phosphatidylserine for tissue engineering applications. *Macromolecular Materials and Engineering*, 291: 254-262. <https://doi.org/10.1002/mame.200500381>
- Wang, J., Zhang, F., Tsang, W.P., Wan, C. & Wu, C. (2017). Fabrication of injectable high strength hydrogel based on 4-arm star peg for cartilage tissue engineering. *Biomaterials*, 120: 11-21. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2016.12.015>
- Williams, D. F. (2009). On the nature of biomaterials. *Biomaterials*, 30: 5897-5909. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2009.07.027>
- Xu, S. Y., Huang, X. & Cheong, K. L. (2017). Recent advances in marine algae polysaccharides: isolation, structure and activities. *Marine Drugs*, 15: 388. <https://doi.org/10.3390/md15120388>
- Yin, M., Xu, F., Ding, H., Tan, F., Song, F. & Wang, J. (2015). Incorporation of magnesium ions into photo-crosslinked alginate hydrogel enhanced cell adhesion ability. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 9: 1088-1092. <https://doi.org/10.1002/term.2011>
- Zahedi, P., Rezaeian, I., Ranaei-Siadat, S. O., Jafari, S. H. & Supaphol, P. (2010). A review on wound dressings with an emphasis on electrospun nanofibrous polymeric bandages. *Polymers for Advanced Technologies*, 21: 77-95. <https://doi.org/10.1002/pat.1625>
- Zmora, S., Glicklis, R. & Cohen, S. (2002). Tailoring the pore architecture in 3-D alginate scaffolds by controlling the freezing regime during fabrication. *Biomaterials*, 23: 4087-4094. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(02\)00146-1](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(02)00146-1)