INSO
16488
1st. Edition
Aug.2013

جمهوری اسلامی ایران
Islamic Republic of Iran
سازمان ملی استاندارد ایران
Iranian National Standardization Organization

استاندارد ملی ایران
۱۶۴۸۸
چاپ اول
مرداد ۱۳۹۲

توصیف هیدروژل‌های مورد استفاده در پزشکی ترمیمی - راهنما

Characterization of hydrogels used in regenerative medicine - Guidance

ICS:11.120.10

به نام خدا

آشنایی با سازمان ملی استاندارد ایران

مؤسسهٔ استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران به موجب بند یک مادهٔ۳ قانون اصلاح قوانین و مقررات مؤسسهٔ استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، مصوب بهمن ماه ۱۳۷۱ تنها مرجع رسمی‌کشور است که وظیفه تعیین، تدوین و نشر استانداردهای ملی (رسمی) ایران را به عهده دارد.

نام موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران به موجب یکصد و پنجاه و دومین جلسه شورای عالی اداری مورخ ۹۰/۶/۲۹ به سازمان ملی استاندارد ایران تغییر و طی نامه شماره ۲۰۶/۳۵۸۳۸ جهت اجرا ابلاغ شده است.

تدوین استاندارد در حوزه های مختلف در کمیسیون‌های فنی مرکب از کارشناسان مؤسسه* صاحب نظران مراکز و مؤسسات علمی، پژوهشی، تولیدی و اقتصادی آگاه و مرتبط انجام می‌شود وکوششی همگام با مصالح ملی و با توجه به شرایط تولیدی، فناوری و تجاری است که از مشارکت آگاهانه و منصفانهٔ صاحبان حق و نفع، شامل تولیدکنندگان، مصرف‌کنندگان، صادرکنندگان و وارد کنندگان، مراکز علمی و تخصصی، نهادها، سازمان‌های دولتی و غیر دولتی حاصل می‌شود .پیش‌نویس استانداردهای ملی ایران برای نظرخواهی به مراجع ذی نفع و اعضای کمیسیون های فنی مربوط ارسال می‌شود و پس از دریافت نظرها و پیشنهادها در کمیتهٔ ملی مرتبط با آن رشته طرح و در صورت تصویب به عنوان استاندارد ملی (رسمی) ایران چاپ و منتشر می‌شود.

پیش نویس استانداردهایی که مؤسسات و سازمان‌های علاقه‌مند و ذیصلاح نیز با رعایت ضوابط تعیین شده تهیه می‌کنند درکمیتهٔ ملی طرح و بررسی و درصورت تصویب، به عنوان استاندارد ملی ایران چاپ و منتشر می‌شود .بدین ترتیب، استانداردهایی ملی تلقی می‌شود که بر اساس مفاد نوشته شده در استاندارد ملی ایران شمارهٔ ۵ تدوین و در کمیتهٔ ملی استاندارد مربوط که سازمان استاندارد تشکیل می‌دهد به تصویب رسیده باشد.

سازمان ملی استاندارد ایران از اعضای اصلی سازمان بین المللی استاندارد[1] (ISO) کمیسیون بین المللی الکتروتکنیک (IEC)[2] و سازمان بین المللی اندازه شناسی قانونی (OIML)[3] است و به عنوان تنها رابط[4] کمیسیون کدکس غذایی[5](CAC) در کشور فعالیت می‌کند. در تدوین استانداردهای ملی ایران ضمن توجه به شرایط کلی و نیازمندی‌های خاص کشور، از آخرین پیشرفت‌های علمی، فنی و صنعتی جهان و استانداردهای بین‌المللی بهره‌گیری می‌شود.

سازمان ملی استاندارد ایران می‌تواند با رعایت موازین پیش‌بینی شده در قانون، برای حمایت از مصرف‌کنندگان، حفظ سلامت و ایمنی فردی و عمومی، حصول اطمینان از کیفیت محصولات و ملاحظات زیست محیطی و اقتصادی، اجرای بعضی از استانداردهای ملی ایران را برای محصولات تولیدی داخل کشور و/ یا اقلام وارداتی، با تصویب شورای عالی استاندارد، اجباری نماید. سازمان می‌تواند به منظور حفظ بازارهای بین المللی برای محصولات کشور، اجرای استاندارد کالاهای صادراتی و درجه‌بندی آن را اجباری نماید. همچنین برای اطمینان بخشیدن به استفاده کنندگان از خدمات سازمان‌ها و مؤسسات فعال در زمینهٔ مشاوره، آموزش، بازرسی، ممیزی و صدورگواهی سیستم‌های مدیریت کیفیت و مدیریت زیست‌محیطی، آزمایشگاه ها و مراکز کالیبراسیون (واسنجی) وسایل سنجش، مؤسسهٔ استاندارد این گونه سازمان‌ها و مؤسسات را بر اساس ضوابط نظام تأیید صلاحیت ایران ارزیابی می‌کند و در صورت احراز شرایط لازم، گواهینامهٔ تأیید صلاحیت به آن ها اعطا و بر عملکرد آن‌ها نظارت می‌کند. ترویج دستگاه بین المللی یکاها، کالیبراسیون (واسنجی) وسایل سنجش، تعیین عیار فلزات گرانبها و انجام تحقیقات کاربردی برای ارتقای سطح استانداردهای ملی ایران از دیگر وظایف این سازمان است.

1-International organization for Standardization
2-International Electro technical Commission
3-International Organization for Legal Metrology (Organization International de Metrologie Legal)
4-Contact point
5-Codex Alimentarius Commission

کمیسیون فنی تدوین استاندارد

" توصیف هیدروژل‌های مورد استفاده در پزشکی ترمیمی – راهنما "

رئیس:	**سمت و/ یا نمایندگی**
ولی‌پور، جواد (دکترای شیمی تجزیه)	شرکت اندیشه خلاق صنعتی شیمی
دبیر:	
حسین‌زاده، ملیحه (دکترای حرفه‌ای پزشکی)	شرکت اسلوب آفرینان آریا آذربایجان
اعضاء (به ترتیب حروف الفباء):	
اخیاری، شهاب (فوق‌لیسانس شیمی فیزیک)	اداره کل استاندارد آذربایجان شرقی
بیات ماکو، روشنک (فوق‌لیسانس بیوشیمی)	دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز
حیدری، نوید (دانشجوی دکترای پزشکی)	کارشناس
سالک‌زمانی، سحر (دانشجوی دکترای پزشکی)	کارشناس
سالک‌زمانی، مریم (فوق‌لیسانس علوم تغذیه)	اداره کل استاندارد استان آذربایجان شرقی
مبین، هایده (دکترای میکروبیولوژی)	دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز
معینیان، سید شهاب (فوق لیسانس شیمی)	پژوهشگاه استاندارد

همت‌جو، یوسف
(فوق‌لیسانس بهداشت حرفه‌ای
مرکز بهداشت استان آذربایجان شرقی

یحیوی، اتابک
(لیسانس علوم تغذیه)
شبکه بهداشت و درمان جلفا

فهرست مندرجات

عنوان	صفحه
آشنایی با سازمان ملی استاندارد ایران	ب
کمیسیون فنی تدوین استاندارد	ج
پیش‌گفتار	ه
مقدمه	و
۱ هدف و دامنه کاربرد	۱
۲ مراجع الزامی	۱
۳ اصطلاحات و تعاریف	۲
۴ عوامل کلیدی برای توصیف هیدروژل‌ها	۴
۵ خواص بیولوژیکی	۷
۶ سینتیک	۷
۷ پایداری فیزیکی و شیمیایی	۱۱
۸ انتقال جرم	۱۴
پیوست الف (اطلاعاتی) معرفی روش‌های آزمون برای توصیف هیدروژل‌ها	۱۷
پیوست ب (اطلاعاتی) کتابنامه	۱۹

پیش گفتار

استاندارد" توصیف هیدروژل‌های مورد استفاده در پزشکی ترمیمی – راهنما " که پیش‌نویس آن درکمیسیون‌های فنی مربوط توسط شرکت اسلوب آفرینان آریا آذربایجان تهیه و تدوین شده و در سیصد و نود و یکمین اجلاسیه کمیتهٔ ملی استاندارد مهندسی پزشکی مورخ ۹۱/۱۲/۱۳ مورد تصویب قرار گرفته است، اینک به استناد بند یک مادهٔ ۳ قانون اصلاح قوانین و مقررات سازمان ملی استاندارد ایران، مصوب بهمن ماه ۱۳۷۱، به عنوان استاندارد ملی ایران منتشر می‌شود.

برای حفظ همگامی و هماهنگی با تحولات و پیشرفت‌های ملی و جهانی در زمینهٔ صنایع، علوم و خدمات، استانداردهای ملی ایران در مواقع لزوم تجدید نظر خواهد شد و هر پیشنهادی که برای اصلاح و تکمیل این استانداردها ارائه شود، هنگام تجدید نظر در کمیسیون فنی مربوط مورد توجه قرار خواهد گرفت. بنابراین، باید همواره از آخرین تجدیدنظر استانداردهای ملی استفاده کرد.

منبع و مأخذی که برای تهیهٔ این استاندارد مورد استفاده قرار گرفته به شرح زیر است:

ASTM F 2900: 2011, Standard guide for characterization of hydrogels used in regenerative medicine

مقدمه

هیدروژل‌ها[1] شبکه‌های پلیمری متورم‌شونده[2] در آب هستند که آب را در فضاهای بین ماکرومولکول‌ها[3] نگه می‌دارند و تمامیت[4] ساختاری جامدات را در نتیجه وجود اتصالات عمودی[5] حفظ می‌کنند. هیدروژل‌ها عمدتا در پزشکی ترمیمی[6] به عنوان جایگزین‌های ماتریس[7]، ابزار تحویل داروها و/یا مواد بیولوژیکی، و محیط‌هایی برای کشت سلولی به کار می‌روند. در این کاربردها، کارایی[8] هیدروژل به توانایی آن در حمایت از نفوذ گازهای حل‌شده، مواد مغذی و مواد زیست‌فعال[9]؛ حفظ رشد و مهاجرت سلولی؛ تخریب[10]، رهاسازی[11] داروها و/یا مواد بیولوژیکی با سرعتی مناسب و حفظ شکل آن‌ها بستگی دارد.

هیدروژل‌های به کار رفته در پزشکی ترمیمی می‌توانند از پلیمرهای مشتق‌شده به طور طبیعی (برای مثال آلژینات، کیتوزان[12] و کلاژن)، پلیمرهای مشتق‌شده به طور مصنوعی (برای مثال پلی‌اتیلن گلیکول [13](PEG)، پلی‌وینیل الکل [14](PVA)، یا ترکیبی از هر دو (برای مثال PVA با کیتوزان یا ژلاتین)تشکیل شده باشند. در مصارف بالینی، آن‌ها با یا بدون افزودن داروها و/یا مواد بیولوژیکی به درون بدن تزریق یا کاشته[15] می‌شوند.

در روش‌های آزمون توصیف‌شده در این استاندارد، به جز یک مورد، از نمونه‌های هیدراته[16] استفاده می‌شود. در تعیین محتوای آب در هیدروژل لازم است که نمونه‌ها خشک شوند. عموما توصیه می‌شود که هیدروژل‌هایی که برای این هدف خشک شده‌اند، برای آزمون بعدی مجددا هیدراته نشوند. این توصیه به این سبب است که احتمال زیادی وجود دارد که فرایند "خشک شدن-هیدراته شدن مجدد" برای بیشتر سیستم‌های هیدروژلی، با ایجاد تغییرات احتمالی در ساختار آن‌ها، نتایج نامطلوب برجای بگذارد.

1- Hydrogels
2-Water-swollen
3-Macromolecules
4-Integrity
5-Cross-links
6- Regenerative medicine
7-Matrix
8-Efficacy
9-Bioactive
10-Degrade
11-Release
12- Chitosan
13- Polyethylene glycol
14- Polyvinyl alcohol
15-Implant
16-Hydrated

توصیف[1] هیدروژل‌های مورد استفاده در پزشکی ترمیمی – راهنما

۱ هدف و دامنه کاربرد

هدف از تدوین این استاندارد، تعیین راهنما، برای توصیف (تعیین مشخصات) هیدروژل‌های مورد استفاده در پزشکی ترمیمی است. در این استاندارد روش‌های ارزیابی خواص بیولوژیکی هیدروژل، سینتیک[2] تشکیل، تخریب و رهاسازی عامل[3]، پایداری فیزیکی و شیمیایی و ظرفیت‌های انتقال ماده توصیف می‌شود.

ارزیابی ریزساختار هیدروژل‌ها (برای مثال ریخت‌شناسی[4] ماتریس، ساختار شبکه‌های ماکرومولکولی و صورت‌بندی (کنفورماسیون)[5] زنجیره در دامنه کاربرد این استاندارد قرار ندارد.

در جدول ۱ مشخصه‌های[6] کلیدی هیدروژل‌های مورد استفاده در پزشکی ترمیمی نشان داده شده است.

۲ مراجع الزامی

مدارک الزامی زیر حاوی مقرراتی است که در متن این استاندارد ملی ایران به آن‌ها ارجاع داده شده است. بدین ترتیب آن مقررات جزئی از این استاندارد ملی ایران محسوب می‌شود.

درصورتی که به مدرکی با ذکر تاریخ انتشار ارجاع داده شده باشد، اصلاحیه‌ها و تجدیدنظرهای بعدی آن مورد نظر این استاندارد ملی ایران نیست. در مورد مدارکی که بدون ذکر تاریخ انتشار به آن‌ها ارجاع داده شده است، همواره آخرین تجدید نظر و اصلاحیه‌های بعدی آن‌ها مورد نظر است.

استفاده از مراجع زیر برای کاربرد استاندارد الزامی است:

2-1 ASTM D4516, Practice for Standardizing Reverse Osmosis Performance Data
2-2 ASTM F748, Practice for Selecting Generic Biological Test Methods for Materials and Devices
2-3 ASTM F895, Test Method for Agar Diffusion Cell Culture Screening for Cytotoxicity
2-4 ASTM F2027, Guide for Characterization and Testing of Raw or Starting Biomaterials for Tissue-Engineered Medical Products
2-5 ASTM F2064, Guide for Characterization and Testing of Alginates as Starting Materials Intended for Use in Biomedical and Tissue-Engineered Medical Products pplication
2-6 ASTM F2103, Guide for Characterization and Testing of Chitosan Salts as Starting Materials Intended for Use in Biomedical and Tissue-Engineered Medical Product Applications
2-7 ASTM F2150, Guide for Characterization and Testing of Biomaterial Scaffolds Used in Tissue-Engineered Medical Products
2-8 ASTM F2214, Test Method for In Situ Determination of Network Parameters of Crosslinked Ultra High Molecular Weight Polyethylene (UHMWPE)

1-Characterization
2-Kinetics
3-Agent
4-Morphology
5-Conformation
6-Attributes

2-9 ASTM F2315, Guide for Immobilization or Encapsulation of Living Cells or Tissue in Alginate Gels
2-10 ASTM F2347, Guide for Characterization and Testing of Hyaluronan as Starting Materials Intended for Use in Biomedical and Tissue Engineered Medical Product Applications
2-11 ASTM F2383, Guide for Assessment of Adventitious Agents in Tissue Engineered Medical Products (TEMPs)
2-12 ASTM F2450, Guide for Assessing Microstructure of Polymeric Scaffolds for Use in Tissue-Engineered Medical Products
2-13 ASTM F2739, Guide for Quantitating Cell Viability Within Biomaterial Scaffolds

۳ اصطلاحات و تعاریف

دراین استاندارد، اصطلاحات و تعاریف زیر به کار می‌رود:

۳-۱

عوامل اتفاقی[1]

منظور از عوامل اتفاقی، آلودگی‌های میکروبی یا عفونی دیگر ایجاد شده به صورت ناخواسته می‌باشد. در تولید محصولات پزشکی حاصل از مهندسی بافتی [2](TEMPs)، این مواد ممکن است به صورت ناخواسته در طول فرایند تولید یا در محصول نهایی یا هر دو وارد شوند.

۳-۲

سازگاری زیستی[3]

توانایی یک ماده بیگانه[4] در تامین کارکرد[5] مورد نظر با یک پاسخ مناسب ارگانیسم میزبان، سازگاری زیستی زیستی نامیده می‌شود.

۳-۳

رسانایی[6]

خاصیت قابلیت یک ماده (در این مورد، آب و یون‌های حل‌شده) در انتقال الکتریسیته، رسانایی نامیده می‌شود.

یادآوری ۱– رسانایی معکوس مقاومت است.

یادآوری ۲– رسانایی با استفاده از یک رسانایی‌سنج اندازه‌گیری می‌شود.

یادآوری ۳ – واحدهای رسانایی زیمنس بر متر (Sm^{-1}) است.

۳-۴

هیدروژل

یک شبکه سه بعدی از زنجیره‌های پلیمری که آب را در داخل فضاهای بین ماکرومولکول‌ها حفظ می‌کنند.

1-Adventitious agents
2- Tissue Engineered Medical Products
3-Biocompatibility
4-Foreign
5-Function
6-Conductivity

۵-۳

ضریب هدررفت (ویسکوز)[1]

معیار کمّی هدررفت انرژی تعریف‌شده به عنوان نسبت تنش ۹۰ درجه خارج فازی با کرنش‌های نوسانی[2] بر بزرگی کرنش، ضریب هدررفت نامیده می‌شود.

۶-۳

خواص مکانیکی

خواصی از ماده که با واکنش الاستیک و غیر الاستیک، هنگام اعمال و آزاد شدن نیروها مربوط هستند. این خواص اغلب برحسب رابطه نهادی[3] بین تنش‌ها، کرنش‌ها و میزان[4] کرنش توصیف می‌شود.

۷-۳

گذردهی[5]

خاصیت یک ماده استنتاج‌شده از نسبت گذرایی[6]، *Yp*، صورت‌بندی الکترود معین جداشده توسط آن ماده به به گذرایی صورت‌بندی الکترود مشابه جداشده به وسیله خلا یا هوا برای بیشتر اهداف عملی، *Yv*، گذردهی نامیده می‌شود.

۸-۳

پزشکی ترمیمی

شاخه‌ای از علم پزشکی که اصول بیولوژی ترمیمی را برای بازگرداندن یا تولید مجدد ساختار و کارکرد سلول‌ها، بافت‌ها و اعضای انسانی که به طور کافی بازیابی نمی‌شوند، به کار می‌برد.

۹-۳

ضریب استراحت[7]

ضریب یک ماده تعیین‌شده با استفاده از آزمون کنترل‌شده کرنش (استراحت) در دمای T و زمان t ضریب استراحت نامیده می‌شود و ممکن است با استفاده از زمان کاهش یافته به عنوان $E(T_{ref,\xi})$ نیز بیان شود.

۱۰-۳

ضریب الاستیک[8]

معیار کمّی خواص الاستیک تعریف‌شده به عنوان نسبت تنش، هم فاز با کرنش[9]، به بزرگی کرنش، ضریب ذخیرش نامیده می‌شود.

1- Loss (viscous) modulus
2-Oscillating strains
3-Constitutive
4-Rate
5- Permittivity
6-Admittance
7-Relaxation modulus
8-Storage
9-In-phase with strain

۳-۱۱

تانژانت دلتا[1]

منظور از تانژانت دلتا، نسبت ضریب ویسکوز (هدررفت) به ضریب الاستیک در تغییرشکل سینوسی[2] است. به به لحاظ ریاضی، تانژانت زاویه هدررفت، δ.

۳-۱۲

برش‌نگاری[3]

روش رادیولوژیکی که یک تصویر از سطح انتخابی در یک شیء را با کنار گذاشتن ساختارهایی که بیرون از سطح مورد نظر قرار گرفته‌اند، فراهم می‌آورد.

۴ عوامل کلیدی برای توصیف هیدروژل‌ها

۴-۱ در پزشکی ترمیمی، هیدروژل‌ها می‌توانند همراه داروها یا مواد بیولوژیکی، یا هر دو (برای مثال به عنوان ابزار تحویل دارو یا کپسوله‌کردن[4] سلول) یا بدون آن‌ها (برای مثال به عنوان داربست‌ها[5] یا حصارهای[6] حصارهای[6] بافتی) به کار روند. هر چند توصیف هیدروژل‌های نیازمند لحاظ‌شدن ترکیب و کاربرد انحصاری هیدروژل است، ولی برخی الزامات عمومی مشترک به شرح زیر وجود دارند:

۴-۱-۱ هیدروژل‌ها باید سازگاری زیستی داشته باشند.

۴-۱-۲ ویژگی‌های مکانیکی هیدروژل‌ها باید آن‌ها را برای کاربردهای بالینی مورد نظر، سازگار کند.

۴-۱-۳ هیدروژل‌ها باید قابلیت متورم‌شوندگی و تخریب بالقوه در میزانی که نیازهای کاربرد بالینی مورد نظر آن‌ها را تامین سازد، داشته باشند.

۴-۱-۴ هیدروژل‌ها باید به اندازه کافی نفوذپذیر باشند تا موارد زیر ارتقا یابد:

الف ـ زیست‌پذیری سلولی[7]؛

ب ـ انتقال مواد مغذی و مواد زاید؛ یا

پ ـ رهاسازی عوامل درمانی یا تلفیقی از آن‌ها.

۴-۱-۵ هیدروژل‌ها، در تلفیق با داروها یا مواد بیولوژیکی از جمله هر گونه سلول‌های کاشته‌شده[8] یا کپسوله‌شده، نبایستی به طرز منفی ویژگی‌های عملکردی داروها یا مواد بیولوژیکی را در طول برهم‌کنش‌های[9] فیزیکی یا بیولوژیکی ناشی از حضور خود تحت تاثیر قرار دهند.

۴-۱-۶ سهولت دستورزی و تحویل نیز باید در نظر گرفته شوند، زیرا این موضوع اهمیت زیادی برای کاربرد بالینی دارد.

1-Tan delta
2-Sinusoidal deformation
3-Tomography
4-Encapsulation
5-Scaffolds
6-Barriers
7-Viability
8-Seeded
9-Interactions

جدول ۱ – عوامل و مشخصه‌های کلیدی برای توصیف هیدروژل‌ها

	عوامل کلیدی در توصیف هیدروژل‌ها			
	خواص بیولوژیکی (بندهای۴ و ۵)	سینتیک (بند ۶)	پایداری فیزیکی و شیمیایی (بند ۷)	انتقال ماده (بند ۸)
	سازگاری زیستی ISO 10993) (ASTM F895	زمان تشکیل ژل (ASTM F2315)	پایداری محیطی (ASTM D4516)	مهاجرت سلولی (ASTM F2315)
مشخصه	عوامل اتفاقی ASTM (F2383,ST72, ISO 22442,21 CFR 210, 21 CFR 221, 21 CFR 610, 21 CFR 820)	میزان متورم‌شوندگی (ISO 10993 (ASTM F2214)	خواص مکانیکی (ASTM F2150)	انتقال مواد مغذی و مواد زاید (ASTM F 2450)
	...	تخریب ماتریس (ASTM F 2150)	کپسوله کردن سلول (ASTM F2315)	میزان رهاسازی عوامل زیست‌فعال (ASTM F2450)
یادآوری – نمونه‌ای از استانداردهای مرتبط با عوامل و مشخصه‌ها در جدول ذکر شده است.				

تنوع در ترکیب مواد پلیمر آغازگر[1] به کار رفته در هیدروژل‌ها، روی خواص نهایی آن‌ها تاثیرگذار است. از این این رو، توصیف مواد آغازگر، به ویژه برای پلیمرهای مشتق‌شده از منابع طبیعی به علت تنوع ذاتی[2] ترکیب آن‌ها، امری ضروری است.

یادآوری ۱ - برای آگاهی از توصیف مواد بیولوژیکی آغازگر برای TEMPs به استانداردهای ASTM F2027، ASTM F 2064، ASTM F 2103 و ASTM F 2347مراجعه کنید.

یادآوری ۲- هنگامی که هیدروژل‌های به کار رفته در پزشکی ترمیمی تحت شرایط گسترده تولید آماده می‌شوند، اثر غلظت‌های عوامل جانبی[3] متغیر و اثر شرایط متغیر تولید (برای مثال pH، دما و قدرت یونی) بر روی خواص هیدروژل نهایی باید در نظر گرفته شود و به صورت مناسب اندازه‌گیری شوند.

۲-۴ درجه اتصال عرضی[4] هیدروژل یک پارامتر مهم تاثیرگذار بر خواص و کارایی فیزیکی هیدروژل است. همبستگی بین استوکیومتری[5] و درجه موثر اتصال عرضی در هیدروژل نهایی یک شاخص اصلی از میزان واکنش است. در برخی موارد تعیین اتصال عرضی حائز اهمیت است و به همین دلیل توصیه

1-Starting
2-Inherent
3-Co-agent
4-Crosslinking
5-Stoichiometric

می‌شود که تخمینی از درصد مواد قابل استخراج پس از تشکیل ژل[1] انجام شود و به عنوان شاخص برای کارایی اتصال عرضی به کار رود و اطلاعاتی را در بازه مواد نشت‌پذیر[2] بالقوه مضر فراهم سازد.

۴-۳ فرایندهای سترون‌سازی می‌توانند بر خواص هیدروژل یا هر جزء فعال یا غیرفعال اضافه‌شده، یا هر دو (برای مثال دارو) تاثیر بگذارند، به همین دلیل باید حین توصیف داده‌ها در نظر گرفته شوند. برای ارزیابی صحیح خواص داده‌های توصیف هیدروژل، توصیه می‌شود که خلاصه سترون‌سازی فراهم شود.

یادآوری۱ ـ برای آگاهی‌های بیشتر درباره راهبردهای سترون‌سازی به استاندارد ASTM F2150 مراجعه کنید.

یادآوری۲ ـ لازم است خاطر نشان شود که روش سترون‌سازی خاص ممکن است برای بعضی از هیدروژل‌ها قابل استفاده نباشد. در این صورت، تدارک هیدروژل‌های غیرسترون در محیطی حاوی عوامل ضد میکروبی یا تولید هیدروژل‌های تحت شرایط آسپتیک ممکن است همراه با کنترل‌های اضافی مثل کاهش بار میکروبی[3] و آزمون سترون بودن لحاظ شود.

۴-۴ ارزیابی پاسخ هیدروژل به شرایط "در بدن"[4]، با استفاده از مدل‌های مناسب "خارج از بدن"[5] ممکن ممکن است. عواملی که باید در این مدل‌ها لحاظ شوند، عبارتند از:

الف ـ بارگذاری مکانیکی ویژه بافت؛

ب ـ فعالیت متابولیکی ویژه بافت؛

پ ـ pH ویژه بافت؛

ت ـ شیمی مربوط به محل کاشت؛

ث ـ دما؛

ج ـ محتوای اکسیژن؛ و

چ ـ انواع موجود سلول ویژه بافت.

برای مثال، آزمون هیدروژل‌های دارای اتصالات عرضی یونی که مستعد مبادله یون در طول کاشت هستند (برای مثال آلژینات‌های دارای اتصالات عرضی با Ca^{2+}) بایستی در محیطی مشابه محیط فیزیولوژیکی دست‌کم از نظر محتوای الکترولیتیک و اسمولاریته و شیمی مربوط از قبیل تحویل کاتیون دو ظرفیتی انجام شود.

در مورد هیدروژل‌های حساس به دما، دمای تشکیل ژلِ هیدروژل کلید ارزیابی کارکرد " در بدن" است و آزمون‌ها باید در دمای $37\ ^{\circ}C$ انجام شوند. برای ژل‌های کاشته‌شده در مایع بینابینی[6]، بافت‌های چربی و غیره غیره به کار می‌روند، علاوه بر برقراری یک تعادل الکترولیتیکی فیزیولوژیکی مرتبط، آزمون باید در سرم یا دست‌کم در حضور پروتئین‌ها و لیپیدها و غیره انجام شود.

۴-۵ پایداری هیدروژل در طول ذخیره و انتقال باید در نظر گرفته شود. ممکن است لازم باشد تا هیدروژل در یک محیط کنترل‌شده با عواملی از قبیل دما و pH، نگهداری شود.

1-Percent post-gelation extractables
2-Leachables
3-Bioburden
4-In-vivo
5-Ex-vivo
6-Interstitial

۶-۴ برای ارزیابی کافی، مناسب بودن هیدروژل مورد نظر برای استفاده در پزشکی ترمیمی، لازم است که عوامل کلیدی مذکور در جدول ۱ در نظر گرفته شوند. هر عامل می‌تواند از طریق اندازه‌گیری خواص مختلف هیدروژل مشروح در بندهای زیر، ارزیابی شود.

۵ خواص بیولوژیکی

۵-۱ سازگاری زیستی

سازگاری زیستی محصول هیدروژل باید تعیین شود.

یادآوری ۱- در حال حاضر هیچ استانداردی برای توصیف پروتکل‌های اختصاصی برای هیدروژل‌ها وجود ندارد.

یادآوری ۲ - در استانداردهای ASTM F748 یا ISO 10993 اطلاعاتی درباره روش‌های آزمون یافت می‌شود.

۵-۲ عوامل اتفاقی

هیدروژل‌های حاوی پلیمرهای مشتق‌شده از منابع طبیعی و هیدروژل‌هایی که حاوی مواد بیولوژیکی هستند باید از نظر ایمنی مرتبط با عوامل اتفاقی و محصولات جانبی آن‌ها ارزیابی شوند.

برای آگاهی از آزمون‌های میکروبی باکتری‌های هوازی و بی‌هوازی، قارچ‌ها، مایکوپلاسما، اندوتوکسین‌ها و ویروس‌ها، به مدرک 21 CFR 610 مراجعه کنید. روش‌های آزمون برای تعیین حضور اندوتوکسین‌های باکتریایی نیز در ST72 ذکر شده است. مجموعه استانداردهای ISO 22442 نیز مفید هستند، زیرا راهنمایی‌هایی را برای مدیریت ریسک مربوط به عوامل خطرزا مثل آلودگی با باکترهای‌ها و ویروس‌ها و موادی که مسئول واکنش‌های تب‌زا[1]، ایمنولوژیک یا سمی هستند، فراهم می‌آورند. بسیاری از خطرات بالقوه برای ایمنی محصول می‌توانند از طریق اعمال راهکارهای خوب ساخت موجود به حداقل برسند (برای مثال 21 CFR 820 ,21 CFR 221 ,21 CFR 210).

۶ سینتیک

۶-۱ سینتیک هیدروژل فرایند تشکیل هیدروژل، تحویل هیدروژل به محل استفاده، تخریب هیدروژل و رهاسازی عوامل فعال را پوشش می‌دهد.

یادآوری ـ در حال حاضر هیچ راهنمایی در مورد نحوه ارزیابی سینتیک هیدروژل‌ها وجود ندارد، هرچند اندازه‌گیری زمان تشکیل ژل، میزان متورم شدن، میزان تخریب، میزان رهاسازی مواد زیست فعال می‌توانند سودمند باشند.

۶-۲ زمان تشکیل ژل

۶-۲-۱ زمان تشکیل ژل، حائز اهمیت عملی به ویژه برای سیستم‌های طراحی‌شده برای تشکیل ژل "در محل"[2] می‌باشد. اگرچه هیچ پروتکلی برای تعیین زمان تشکیل ژل برای هیدروژل‌های به کار رفته در کاربردهای درمانی وجود ندارد، ولی روش‌های به کار رفته در صنایع غذا و پلیمری ممکن است قابل اعمال باشند.

یادآوری ۱ـ به مراجع ۱۱ تا ۱۳ کتابنامه مراجعه کنید.

1-Pyrogenic
2-In-situ

هر دو آزمون‌های بلوم[1] و ساگ[2] که به ترتیب برای ارزیابی کیفیت ژل‌های ژلاتین و پکتین کاربرد دارند، می‌توانند برای ارزیابی زمان تشکیل ژل استفاده شوند.

یادآوری ۲ـ به مراجع ۱۲ و ۱۳ کتابنامه مراجعه کنید.

زمان تشکیل ژل همچنین از طریق استفاده از آزمون‌های ساده مثل آزمون شیب لوله[3] و آزمون توپ در حال سقوط[4] قابل بررسی است.

یادآوری ۳ـ به مراجع ۱۴ و ۱۵ کتابنامه مراجعه کنید.

در آزمایش شیب لوله، یک لوله حاوی هیدروژل به صورت متناوب سر و ته شده و زمان تشکیل ژل به عنوان زمانی که در آن سر و ته کردن لوله منجر به حرکت قابل مشاهده در هیدروژل نمی‌شود، تعیین می‌شود.

آزمون توپ در حال سقوط بر اساس تعیین زمان لازم برای فروافتادن یک توپ در ته ظرف پر شده با هیدروژل انجام می‌شود.

هیچ ابزار تخصصی برای آزمون‌های شیب لوله و توپ در حال سقوط مورد نیاز نیست. باید در انتخاب ژئومتری[5] لوله برای هر دو آزمون دقت کرد، زیرا لوله‌های با کالیبر[6] کوچک می‌توانند نتایج متفاوتی از لوله‌های با کالیبر بزرگ ایجاد کنند.

۶-۲-۲ روش‌های جایگزین با میزان نمونه‌برداری سریع[7]، باید برای هیدروژل‌هایی به کار روند که به سرعت ژله‌ای می‌شوند. تغییرات مونیتورینگ[8] در کدورت نوری و نیز پراکندگی پویا و ایستای نور را می‌توان برای تعیین نقاط ژله‌ای شدن برای بسیاری از هیدروژل‌ها استفاده کرد، چرا که با رسیدن به نقطه ژله‌ای شدن، کدورت و پراکندگی به شکل قابل توجهی افزایش می‌یابد. لازم به ذکر است که تکنیک‌های نوری برای سیستم‌هایی که نور را با قدرت و پیش از رسیدن به نقطه ژله‌ای در اثر نبود سیگنال قابل تشخیص پخش می‌کنند، ممکن است مشکل باشد.

۶-۲-۳ رویکرد جایگزین برای تعیین زمان ژله‌ای شدن یک هیدروژل، پایش زمان تابع تغییرات در خواص مکانیکی است. در عمل، رئومتری نوسانی[9] اغلب برای تعیین خواص مکانیکی استفاده می‌شود. زمان ژله‌ای شدن را می‌توان با چند روش تعیین نمود، برای مثال از طریق نقطه‌ای که ضریب الاستیک در آن بیشتر از ضریب هدررفت است. بسامد مستقل از عامل هدررفت ویسکوالاستیک، تانژانت دلتا، می‌تواند برای نشان دادن تشکیل شبکه به کار رود. علاوه بر این، زمان ژله‌ای شدن می‌تواند از ارزیابی وابستگی نما-قانون[10] ضریب استراحت به دست آید. هنگام انجام مطالعات رئولوژیک روی هیدروژل‌ها باید در بارگذاری نمونه، انتخاب حجم نمونه و انتخاب رئومتری‌های نمونه مورد آزمون دقت کرد. همچنین باید از

1-Bloom
2-Sag
3-Tube tilt test
4-Falling ball test
5-Geometry
6-Bore
7-Fast sampling rates
8-Monitoring
9-Oscillary rheometry
10-Power-law dependence

خشک نشدن نمونه در طول آزمون اطمینان حاصل شود. باید محدود کردن اسلیپاژ[1] بین صفحات و نمونه نیز مد نظر باشد.

رویکردهای متعددی از جمله استفاده کردن از صفحات خشن[2] و بارگذاری نمونه - هنگامی که نمونه در حالت مایع است- و گذاشتن آن برای ژله‌ای شدن در رئومتر وجود دارد. صرف‌نظر از پروتکل به کار رفته برای بارگذاری نمونه، سابقه‌ای از ژئومتری اندازه‌گیری نمونه، بسامد نوسان، دما و شرایط پیش از بارگذاری باید ایجاد شود، چرا که این‌ها روی نتایج به دست آمده تاثیرگذار هستند.

۶-۲-۴ در مورد برخی از هیدروژل‌ها تعیین رئولوژیک برای زمان ژله‌ای شدن به علت ضعف مکانیکی آن‌ها، حساسیت به کرنش و رفتار غیر تعادلی دشوار است. در این موارد، از روش‌های فراصوت استفاده می‌شود چون باعث ایجاد موج‌های مکانیکی کرنشی کوچک در نمونه مورد نظر، می‌شوند (به مراجع ۲۲ تا ۲۴ کتابنامه مراجعه کنید). خصوصا، پخش شدن موج‌های فراصوت تحت تاثیر خواص مکانیکی ماده قرار دارد. در عمل، سرعت پخش و تضعیف[3] فراصوت اندازه‌گیری می‌شود که ضریب الاستیک کمپلکس از آن تعیین می‌شود. طیف‌بینی دی‌الکتریک[4] می‌تواند برخی اطلاعات را درباره تحرک مولکولی آشکار سازد و بدین بدین ترتیب در تعیین زمان ژله‌ای شدن هیدروژل استفاده می‌شود. این نوع طیف‌بینی معمولا شامل اندازه-گیری گذردهی و رسانایی کمپلکس وابسته به بسامد[5] است. برای دستیابی به نتایج قابل اطمینان در هر دو روش (فراصوت و دی‌الکتریک) لازم است از آزمایشگران با مهارت استفاده شود.

۶-۳ میزان متورم شدن

۶-۳-۱ رفتار متورم‌شوندگی هیدروژل‌ها به محیط خارجی آن‌ها بستگی دارد. تغییرات ناگهانی در این رفتار می‌تواند در پاسخ به تغییرات در pH، دما و تشعشعات الکترومغناطیسی (برا مثال نور و تشعشعات گاما) دیده شود. از این رو، ارزیابی میزان متورم شدن هیدروژل به عنوان تابعی از زمان، اهمیت زیادی دارد. این امر به ویژه با در نظر گرفتن بستر فیزیولوژیکی محیط‌هایی که در بدن وجود دارند و چگونگی تغییرات آن‌ها با زمان، حالت بیماری، سن و بین افراد، اهمیت دارد. میزان متورم شدن، در این زمینه، متورم‌شدنی را که به دنبال اتصال عرضی ایجاد می‌شود، لحاظ می‌کند. روش‌های ایجادشده برای ارزیابی میزان متورم شدن در استاندارد ISO 10993-19 ذکر شده است. روش عمده برای ارزیابی میزان متورم شدن هیدروژل، تعیین محتوای آب معادل به عنوان تابع زمان است. در عمل، این کار شامل قرار دادن هیدروژل در یک محلول برای مدت زمان مشخص، و سپس خارج کردن و توزین آن است. این کار را می‌توان در بازه‌ای از پیش تعیین‌شده تکرار کرد. میزان متورم شدن سپس از طریق میزان برداشت ماده[6] هیدروژل تعیین می‌شود. علاوه بر میزان متورم شدن درجه تعادل آن نیز می‌تواند تعیین شود. در این مورد، درجه متورم شدن نوعا به عنوان نسبت حجم متورم شدن یا نسبت وزن آن بیان می‌شود. این پارامترها از نسبت حجم یا وزن هیدروژل

1-Slippage
2-Roughened plates
3-Attenuation
4- Dielectric spectroscopy
5-Frequency dependent complex permittivity and conductivity
6-Mass uptake

با تورم کامل به هیدروژل خشک‌شده تعیین می‌شوند. در اینجا باید از خشک بودن کامل هیدروژل و این که فرایند خشک شدن موجب تخریب هیدروژل نخواهد شد، اطمینان حاصل شود.

۶-۳-۲ رویکردهای جایگزین، که نیازی به خارج کردن هیدروژل از محلول ندارند، مواردی هستند که ردیابی تغییرات در شکل هیدروژل را در طول زمان دربرمی‌گیرند. تعدادی از روش‌شناسی‌هایی که می‌توان از آن‌ها برای ارزیابی این تغییرات استفاده کرد، عبارتند از: پروب‌های[1] مکانیکی و میکروسکوپی ویدئویی[2] همراه با آنالیز تصویر و حسگرهای مجاورتی[3] (به استاندارد ASTM F2214 مراجعه کنید). روش‌های برش‌نگاری، از جمله نوری، فراصوت و اشعه X، ممکن است در صورتی که سطح هیدروژل به سهولت دستیابی‌پذیر نباشد، لازم شود (برای مثال هنگامی که هیدروژل برای پر کردن ماده متخلخل به کار می‌رود). صرف‌نظر از روش انتخابی برای پایش شکل هیدروژل، این ماده بایستی به صورت دوره‌ای از نظر وجود هر گونه تَرَک که امکان دارد در طول فرایند متورم شدن ایجاد شده باشد، مورد بررسی قرار گیرد، این موضوع بر اعتبار داده‌های به دست‌آمده تاثیرگذار است. اندازه‌گیری‌های رسانایی می‌تواند برای مطالعه متورم شدن در هیدروژل‌های باردار[4] از طریق تعیین محتوای مایع وابسته به رسانایی الکتریکی، به کار رود. انتخاب تکنیک‌های اندازه‌گیری میزان متورم شدن هیدروژل بایستی بر اساس ستبری [5]هیدروژل برای دستورزی و صحت مورد نیاز اندازه‌گیری انجام شود.

۶-۴ تخریب ماتریس

۶-۴-۱ رفتار تخریب، جزء لاینفک عملکرد بسیاری از محصولات هیدروژل است. برای برخی کاربردها، مطلوب‌تر است که هیدروژل با سرعتی متناسب با تشکیل بافت جدید یا با سرعتی کنترل‌شده برای تنظیم رساندن دارو، تخریب شود. در سایر موارد که هیدروژل برای عمل کردن به عنوان یک حصار یا تکیه‌گاه دایمی عمل می‌کند، تخریب مطلوب نیست. مطالعات تخریب باید در شرایطی انجام شوند که پارامترهای "در بدن" را که بر روی رفتار تخریب هیدروژل تاثیر مستقیم دارند، تقلید یا منعکس کنند. همچنین باید توجه لازم به ارزیابی تخریب درمدل‌های پیش ـ بالینی معطوف شود. در انتخاب روش‌های آزمون مناسب بایستی دقت لازم برای مکانیسم اساسی تخریب مبذول شود که شامل هیدرولیز، هضم آنزیمی، تخریب اکسیداتیو، تخریب توده و تخریب سطحی است، چرا که هم میزان اندازه‌گیری و هم حساسیت آن تحت تاثیر موارد یادشده است.

۶-۴-۲ در مقیاس فله‌ای، روش‌های پایش میزان متورم شدن هیدروژل‌ها، برای بررسی تخریب ماتریس هم قابل اعمال است. برای مثال، ارزیابی دوره‌ای هدررفت جرم هیدروژل می‌تواند در کنار تغییرات حجم به کار رود. در اینجا، لازم است توجه شود که آیا روش‌شناسی اندازه‌گیری می‌تواند جرم ماتریس را از جرم آب تفکیک سازد یا نه؟ به طور جایگزین، می‌توان هیدروژل را در یک محلول برای مدت زمان مشخصی قرار داد و تخریب را از تغییرات در pH محلول یا حضور محصولات حاصل از تخریب استنتاج کرد.

1-Probe
2-Video microscopy
3-Proximity sensors
4-Charged
5- Robustness

۶-۴-۳ محصولات حاصل از تخریب ماتریس می‌توانند از طریق استفاده از روش‌های کروماتوگرافی‌های مشروح زیر نیز ارزیابی شوند. در این روش‌ها، مولکول‌های با جرم متفاوت می‌توانند با درجه بالایی از حساسیت از هم جدا شوند.

الف ـ کروماتوگرافی نفوذ ژل [1](GPC)؛

ب ـ کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا [2](HPLC)؛ و

پ ـ کروماتوگرافی مونولیت آفینیته [3](AMC).

۶-۴-۴ تغییرات در ساختار شیمیایی، می‌تواند نشانگر تخریبی باشد که خود از طریق طیف‌بینی مادون قرمز، طیف‌بینی رامان[4] و طیف‌بینی رزونانس مغناطیسی هسته‌ای [5](NMR) قابل بررسی است.

۷ پایداری فیزیکی و شیمیایی

۷-۱ پایداری شکل و ساختار هیدروژل برای عملکرد صحیح بسیاری از محصولات مهم است. ارزیابی پایداری فیزیکی و شیمیایی هیدروژل را می‌توان از طریق اندازه‌گیری خواص هیدروژل (برای مثال متورم شدن، خواص مکانیکی و قابلیت کپسوله کردن سلول‌ها) در پاسخ به تغییرات محیطی (از جمله دما، pH، و شرایط اسمزی)، خواص مکانیکی و قابلیت حمایت از سلول‌ها (برای مثال کاشت سلولی، مهاجرت سلولی، چسبندگی سلولی) ارزیابی کرد. مجددا توصیه می‌شود که پروتکل‌های اندازه‌گیری شامل تعیین مشخصات محیط‌های اندازه‌گیری مناسب مرتبط از نظر بیولوژیکی است.

۷-۲ پایداری محیطی

بیوشیمی و دینامیک گرمایی محیط اطراف که هیدروژل در آن قرار گرفته است، می‌تواند بر پایداری هیدروژل تاثیر بگذارد و این موضوع باید توصیف شود.

۷-۲-۱ برای برخی محصولات هیدروژل، فقدان پایداری اسمزی، عواقب زیان‌باری برای عملکرد آن‌ها دارد. برای چنین سیستم‌هایی، آزمون در محیط‌های اسمزی که با محل کاشته شدن همخوانی دارند، امری ضروری است؛ در غیر این صورت، ریسک حرکت مایع به داخل یا خارج از هیدروژل وجود دارد. همچنین هیدروژل‌هایی نیز وجود دارند که به طور اختصاصی برای تحمل متورم شدن اسمزی طراحی شده‌اند، مثل منبسط‌کننده‌های پرکننده اسمزی فضا. در چنین مواردی، توصیف متورم شدن اسمزی این هیدروژل‌ها مهم است. علاوه بر این، مطالعات مقطعی برای ارزیابی هر گونه تغییرات در محیط منطقه‌ای یا خود ماتریس که ممکن است پایداری اسمزی را به خطر بیندازد، باید انجام شوند. روش‌های توصیف‌شده برای مطالعه متورم شدن هیدروژل برای مطالعه پایداری اسمزی نیز قابل اعمال است (مثلا نبود متورم شدن اضافی نشان‌دهنده پایداری است).

1-Gel permeation chroomatography
2-High-performance liquid chromatography
3-Affinity monolith chromatography
4- Raman spectroscopy
5- Nuclear magnetic resonance

۷-۲-۲ برخی هیدروژل‌ها به طور اختصاصی برای تحمل تغییرات در حالتی که محرک‌های ویژه‌ای (برای مثال تغییرات در pH، قدرت یونی، دما، بارگذاری مکانیکی) اعمال می‌شوند، طراحی شده‌اند. برای این سیستم‌ها، ارزیابی پایداری آن‌ها در محیطی که قرار است به کار روند و قابلیت تولید هر گونه تغییر در حالت تاثیرگذار بر عملکرد آن‌ها، اهمیت زیادی دارد. برای مثال، کارکرد عمده و اصلی برخی داربست‌های قابل تزریق مایع، ژله‌ای شدن در داخل بدن است. روش‌های توصیف‌شده برای مطالعه زمان تشکیل ژل هیدروژل‌ها در ارزیابی پایداری آن‌ها در محیط مورد نظر و تغییرات در فاز هیدروژل در پاسخ به محرک‌های به کار رفته، قابل استفاده است.

۷-۳ خواص مکانیکی

۷-۳-۱ خواص مکانیکی در مطالعه هیدروژل‌های طراحی‌شده برای کارکرد به عنوان حصارهای فیزیکی یا ساختارهای تکیه‌گاهی، یا هر دو اهمیت ویژه‌ای دارند. در نتیجه ضعف ذاتی بسیاری از هیدروژل‌ها، توصیف خواص مکانیکی آن‌ها می‌تواند مشکل‌ساز باشد.

۷-۳-۲ یک رویکرد نسبتا ساده برای بررسی خواص مکانیکی هیدروژل آزمون دندانه‌گذاری[1] است. آزمون‌های دندانه‌گذاری را می‌توان برای مطالعه نیروی مورد نیاز برای حرکت دادن پروب در یک فاصله مشخص در نمونه محصور در یک ظرف ته باز استفاده کرد. برای برخی هیدروژل‌ها، این آزمون‌ها را می‌توان با استفاده از آنالیزورهای بافتی[2] تجاری موجود (که به صورت گسترده در صنعت غذایی از آن‌ها استفاده می‌شود)، انجام داد. با این حال باید توجه داشت که آنالیزورهای بافتی قادر نیستند نیروهای کم پروب را در مورد هیدروژل‌های بسیار ضعیف تفکیک کنند (یعنی نمونه‌هایی که به سهولت شکسته شده و قادر به تحمل وزن خود نیستند). علاوه بر این، در انتخاب ژئومتری پروب به عنوان منطقه تماس باید دقت کرد، چرا که اثر عمده‌ای بر روی نتایج دارد.

۷-۳-۳ مطالعات دندانه‌گذاری وابسته به زمان می‌توانند در توصیف خواص مکانیکی هم مفید باشند. مقیاس بررسی می‌تواند از طریق انتخاب مناسب پروب دندانه‌گذاری، گزینش شود. مطالعات نانودندانه‌گذاری[3] و میکرودندانه‌گذاری[4] را می‌توان با استفاده از تجهیزات موجود انجام داد که استفاده از نوک دندانه‌گذار کروی[5] برای نمونه را دربرمی‌گیرد. از یک پروفایل جابجایی - زمان - رمپ - هولد[6] که در آن، آن، بار به کار رفته در مدت زمان مشخصی افزایش یافته است و سپس در یک مقدار ثابت برای مدت زمان معینی نگه داشته شده است، می‌توان استفاده کرد. جابجایی نمونه در طول زمان ثبت می‌شود. نتایج این آزمون‌ها، به ضخامت هیدروژل حساس هستند، با کاهش ضخامت هیدروژل، قابلیت اعتماد نتایج نیز پایین می‌آید. یک رویکرد جایگزین، انجام آزمون‌های فشارش نامحدود[7] است که درآن‌ها یک نمونه هیدروژل بین دو صفحه با اعمال بار مشخصی فشرده می‌شود. معمولا از یک بار نوسانی استفاده می‌شود. در این رویکرد،

1-Indentation testing
2-Texture analyzers
3-Nano-indentation
4-Micro-indentation
5-Spherical indenter tip
6-Ramp-hold displacement-time profile
7-Unconfined compression tests

توصیه می‌شود که پیش‌بار ایستا[1] بر نمونه اعمال شود تا از این که نمونه در طول آزمون تحت فشار قرار دارد، اطمینان حاصل شود. صرف‌نظر از راهبرد اندازه‌گیری به کار رفته، استفاده از مدل فیزیکی درست و مناسب برای تفسیر داده‌های تجربی هنگام برآورد خواص مکانیکی برای مثال آنالیز پروالاستیک[2] و ویسکوالاستیک، اهمیت زیادی دارد.

۷-۳-۴ برای هیدروژل‌های قوی‌تر، آزمون‌های مکانیکی باید با استفاده از آزمون‌های فشارش یا کششی[3] انجام شوند. این مطالعات را می‌توان تحت شرایط ایستا یا پویا و نیز ژئومتری‌های محصور یا نامحصور انجام داد. در قراردادن نمونه‌ها باید دقت لازم اعمال شود. در مورد آزمون‌های کششی، بستن نمونه با گیره می‌تواند مشکل باشد (برای مثال ممکن است استفاده از گیره‌های فشاری[4] ضرورت یابد). همچنین توصیه می‌شود به جای استریپ‌های یک شکل[5]، هیدروژل‌های دمبلی‌شکل[6] تشکیل شوند تا ریسک شکست[7] نمونه در محل اتصال نمونه ـ گیره کاهش یابد.

۷-۳-۵ از رئومتری نیز می‌توان برای توصیف خواص مکانیکی (به بند ۶-۲-۳ مراجعه کنید) هیدروژل، استفاده کرد. در برخی موارد، هیدروژل‌های برای آزمون‌های رئولوژیک یا مکانیکی بسیار ضعیف هستند. در این موارد، روش‌های فراصوت از قبیل سونوالاستوگرافی[8] قابل استفاده هستند چون برای تعیین خواص مکانیکی هیدروژل از طریق اعمال کرنش‌های کوچک، طراحی شده‌اند. سونوالاستوگرافی یک روش تصویربرداری فراصوت است که کرنش را با استفاده از موج‌های شکافنده با دامنه و بسامد پایین[9] به نمونه وارد می‌کند (کمتر از ۰٫۱ mm جابجایی و کمتر از ۱ kHz بسامد). کرنش حاصل در نمونه می‌تواند در زمان واقعی با استفاده از فراصوت داپلر[10] برای تصویربرداری از الگوی لرزشی[11] تعیین شود. به طور جایگزین، خواص مکانیکی را می‌توان از طریق اندازه‌گیری سرعت انتشار فراصوت در نمونه با ضخامت و چگالی مشخص (به بند ۶-۲-۴ مراجعه کنید)، ارزیابی کرد.

۷-۳-۶ تکوین پروتکل‌هایی برای تعیین خواص مکانیکی هیدروژل باید با لحاظ کردن اثرات بارگذاری نمونه، ژئومتری اندازه‌گیری و خشک شدن احتمالی نمونه بر نتایج انجام شود.

۷-۴ کپسوله کردن سلول

۷-۴-۱ کپسوله کردن سلول‌ها در یک هیدروژل در تولید جایگزین‌های سلول و محیط‌هایی برای کشت سه بعدی سلول، اهمیت دارد. جزئیات راهبردها برای کپسوله کردن سلول در هیدروژل‌ها در استاندارد ASTM F2315 ذکر شده است. یک رویکرد برای ارزیابی کپسوله کردن سلول، استفاده از تصویربرداری نوری برای مطالعه محل فضایی سلول‌ها در ماتریس در طول زمان است. انتخاب یک رویکرد تصویربرداری

1-Static preload
2-Poroelastic
3-Tensile
4-Pressure clamps
5-Uniform strips
6-Dumbbell
7-Brakage
8-Sonoelastography
9-Low-amplitude, low-frequency shear waves
10- Doppler
11-Vibration pattern

مناسب باید اساسا به وسیله میزان کدر بودن[1] هیدروژل تعیین شود. در برخی موارد می‌توان سلول‌ها را پیش پیش از ترکیب با هیدروژل به وسیله فلوئورسانس برچسب‌گذاری کرده، سپس تصاویر را بر اساس فلورسانس سلولی تهیه کرد. این کار را می‌توان با استفاده از میکروسکوپ هم‌کانون[2] یا برش‌نگاری وابسته به نور[3] انجام انجام داد. عمق بررسی وابسته به خواص نوری هیدروژل خواهد بود. به طور جایگزین، توانایی سلول‌ها برای مهاجرت از ماتریس می‌تواند با قرار دادن هیدروژل بین دو محفظه سل بویدن[4] تعیین شود. در یکی از محفظه‌ها عامل شیمیایی که موجب افزایش مهاجرت سلولی است، گذاشته می‌شود و در دیگری سلول‌ها. تجمع سلول‌ها در هر محفظه می‌تواند بعدها برای تعیین جمعیت سلولی در هیدروژل و جمعیتی که از درون هیدروژل عبور می‌کنند، پایش شود.

۸ انتقال جرم

۸-۱ انتقال جرم با توانایی سلول‌ها، مواد مغذی و زاید، و عوامل زیست‌فعال برای حرکت درون و در طول یک هیدروژل مرتبط است. در کاربردهای مهندسی بافتی، حفظ زیست‌پذیری (به استاندارد ASTM F2739 مراجعه کنید) و کارآمدی سلولی بیشترین اهمیت را دارند. این مورد عمدتا به توانایی هیدروژل در انتقال محتوای اکسیژن، مواد مغذی اساسی و مولکول‌های زیستی فعال و نیز حذف مواد زاید بستگی دارند. علاوه بر این، افزایش مهاجرت سلولی به درون شبکه برای هیدروژل ممکن است مطلوب باشد. همچنین توصیف انتقال ماده در هیدروژل‌های مورد استفاده برای کنترل رهاسازی دارو، ضروری است. در این مورد، حرکت داروها و مواد بیولوژیکی به خارج از هیدروژل بایستی توصیف شود. برای همه کاربردها، انتقال جرم هیدروژل بایستی در بازه‌ای از اندازه‌ها (برای مثال مولکول‌های کوچک، پروتئین‌ها و سلول‌ها) ارزیابی شود. توصیه می‌شود که رفتارهای انتقالی فعال (برای مثال ناشی از گردش مایعات) و منفعل (برای مثال انتشار) هیدروژل در نظر گرفته شوند. علاوه بر این، نمونه‌ها باید تحت شرایط نشانگر وضعیت نهایی که محصول با آن مواجهه خواهد داشت (برای مثال ژئومتری نمونه، مدت زمان مطالعه و اجزای بیولوژیکی)، آزمون شوند.

۸-۲ مهاجرت سلولی

۸-۲-۱ مهاجرت سلولی به توانایی سلول‌ها در مهاجرت فعال به درون و در طول هیدروژل بستگی دارد. تعدادی از مکانیسم‌های دخیل که باید در نظر گرفته شوند عبارتند از: برهم‌کنش‌های سلول- ماتریس، ساختار ماتریس و گرادیان‌های شیمیایی[5]. سایر عوامل، به ویژه موارد مرتبط با کپسوله کردن سلول‌ها در هیدروژل‌ها در استاندارد ASTM F2315 ذکر شده‌اند. در عمل، مطالعات مهاجرت سلولی را می‌توان از طریق تعدیل‌های سل بویدن، انجام داد (به بند ۷-۴ مراجعه کنید).

1-Opacity
2-Confocal microscopy
3-Optical coherence tomography
4- Boyden Cell
5-Chemical gradients

۸-۲-۲ هیدروژل‌ها می‌توانند در یک سوسپانسیون سلولی قرار گرفته و اندازه‌گیری نفوذ سلولی در ماتریس هیدروژل در طول زمان با استفاده از میکروسکوپ هم کانون انجام شود. به طور جایگزین، هیدروژل می‌تواند تثبیت و با استفاده از یک میکروتوم[1] برای بررسی تصویر به صورت برون‌خطی[2] قطعه‌قطعه شود.

۸-۳ انتقال مواد مغذی و زاید

۸-۳-۱ انتشار، یک مکانیسم اصلی برای انتقال غیرفعال حل‌شونده‌های[3] کوچک همچون مواد مغذی و زاید در هیدروژل‌هاست. در برخی موارد، حرکت توسط جریان افزایش می‌یابد (برای مثال، هنگامی که ماده دستخوش تنش دوره‌ای ناشی از حرکت بدن قرار بگیرد، این مساله رخ می‌دهد). اندازه‌گیری انتقال مواد مغذی و زاید را می‌توان با استفاده از روش‌هایی برای تعیین عبور درون یا در طول هیدروژل، انجام داد. دستگاه‌های ساده دو محفظه‌ای[4] (محفظه‌های انتشار) به طور گسترده‌ای در مطالعه انتقال مواد مغذی و زاید در هیدروژل‌ها به کار می‌رود. این اندازه‌گیری‌ها را می‌توان تحت شرایط ایستا (انتشار غیرفعال) یا با گردش مایع مثبت (انتقال فعال) در طول هیدروژل انجام داد.

۸-۳-۲ یک روش سودمند برای مطالعه انتشار یون‌ها در طول یک هیدروژل، اندازه‌گیری رسانایی الکتریکی هیدروژل است (به مراجع ۴۳ و ۴۴ کتابنامه مراجعه کنید). سایر مطالعات حرکت مواد مغذی را از طریق اندازه‌گیری تغییرات چگالی نوری هیدروژل در طول زمان یا از طریق اشعه فرابنفش و طیف‌بینی جذب مرئی آن، پایش می‌کنند. در این مطالعات، مواد مغذی کلیدی می‌توانند با رنگ‌های نوری[5] ترکیب شوند. روش‌های های پیشرفته‌تر دیگر مانند بازیابی فلورسانس پس از سفیدشویی عکس (FRAP)[6] که خود شامل اندازه-گیری بازیابی فلورسانس پس از سفیدشویی عکس است و روش‌های NMR که از گرادیان فیلد پالسی[7] تحریک شده توسط توالی اکوی پالس[8] برای اندازه‌گیری انتشار انتقالی[9] آب در هیدروژل استفاده می‌کنند، فراهم هستند. برای بیشتر کاربران، یک محفظه انتشار ساده، اندازه‌گیری‌های جذب نوری یا رسانایی الکتریکی، اطلاعات کافی را برای مطالعه انتقال مواد مغذی و زاید فراهم می‌آورند.

۸-۴ میزان رهاسازی عوامل زیست‌فعال

۸-۴-۱ در مصارفی که هیدروژل‌ها به عنوان وسیله تحویل عوامل زیست‌فعال به کار می‌روند، میزان رهاسازی این عوامل باید مطالعه شوند. در عمل، پروفایل آزادسازی عوامل می‌تواند با میزان متورم شدن، چگالی اتصالات عرضی، میل ترکیبی عامل برای پیوند [10] با ماتریس و میزان تخریب کنترل شود. تحویل در مورد هیدروژل‌های طبیعی، اغلب با عمل تخریبی ، تعدیل می‌شود، که کنترل آن مشکل است. هیدروژل‌های ساخته‌شده از پلیمرهای مصنوعی کنترل شیمیایی و انعطاف‌پذیری بیشتری دارند. از همین رو، برای تولید

1- Microtoming
2- Offline
3-Solutes
4-Twin chambered devices
5-Optical dyes
6-Fluorescence Recovery After Photobleaching
7-Pulsed field gradient
8-Echo pulse sequence
9-Translational
10-Agent binding affinity

سیستم‌هایی که رهاسازی اولیه و به دنبال آن تحویل محدود انجام می‌شود، شیمی مناسب می‌تواند طراحی شود.

۸-۴-۲ پروتکل‌های اندازه‌گیری باید سرعت رهاشدن عوامل و مدت آن را در نظر بگیرند. علاوه بر این، توصیه می‌شود که مطالعات در شرایط تقلیدکننده محیط " در بدن" و شرایط مدل‌های پیش ـ بالینی مرتبط، انجام شوند. روش‌های آزمون در عمل، می‌توانند دربرگیرنده گذاشتن هیدروژل‌ها در محلول بیوشیمیایی که ترکیب آن در طول زمان آنالیز می‌شود، باشد. این کار می‌تواند به صورت ارزیابی دوره‌ای حجم‌هایی از محلول فله یا اندازه‌گیری‌های غیر تهاجمی[1] محلول مزبور (برای مثال اندازه‌گیری‌های فلورسانس) انجام شود. در مورد هیدروژل‌هایی که یک رهاسازی انفجاری را ایجاد می‌کنند، اندازه‌گیری‌های دوره‌ای ترکیب محلول فله باید در دفعات بیشتری نسبت به آن‌هایی که رهاسازی محدود دارند، انجام شود. علاوه بر این، ممکن است انجام بررسی‌های فعالیت زیستی برای ارزیابی اثرات نامطلوب بر روی عوامل زیست‌فعال کپسوله‌شده ناشی از رهاسازی انفجاری ضرورت یابد.

1-Non-invasive

پیوست الف

(اطلاعاتی)

معرفی روش‌های آزمون برای توصیف هیدروژل‌ها

در این پیوست، جدولی برای معرفی روش‌های آزمون مذکور در این استاندارد ذکر شده است.

برای هر مشخصه هیدروژل، تعدادی روش آزمون وجود دارند که ممکن است برای توصیف هیدروژل‌های به کار رفته در پزشکی ترمیمی به کار روند. در انتخاب روش مناسب باید دقت شود تا از تکرارپذیری و تجدیدپذیری داده‌ها اطمینان حاصل شود.

موارد مشروح زیر نیز می‌تواند در انتخاب روش‌های مناسب برای آزمون کمک‌کننده باشد:

الف ـ۱ داده‌های کمّی قابل حصول؛

الف ـ۲ غیرتهاجمی بودن روش؛

الف ـ۳ مناسب بودن روش برای مطالعه هیدروژل‌های ضعیف و چگونگی حساسیت داده‌های حاصل با تغییر آزمایشگران، تغییرپذیری تجهیزات و ژئومتری نمونه.

جدول الف ۱ـ روش‌های آزمون مورد نظر و مناسب بودن برای توصیف (تعیین مشخصات) هیدروژل

مشخصه	جنبه	روش‌های آزمون	نتایج کمّی	روش غیرتهاجمی	مناسب برای هیدروژل‌های ضعیف	حساسیت بالا به تغییر آزمایشگران	حساسیت بالا به تغییرپذیری تجهیزات	حساسیت بالا به ژئومتری
خواص بیولوژیکی	عوامل اتفاقی	سنجش‌های PCR، آزمون‌های سترون بودن	Y	N	Y	Y	N	N
		آزمون اندوتوکسین باکتریایی	Y	N	Y	Y	N	N
سینتیک	زمان تشکیل ژل	آزمون شیب نمونه، آزمون سقوط توپ	Y	Y	Y	N	Y	Y
		کدورت نوری، پخش	Y	Y	Y	N	N	N
		رئولوژی	Y	N	N	Y	Y	Y
		روش‌های فراصوت و طیف‌بینی دی‌الکتریک	Y	Y	Y	Y	Y	N
	میزان متورم شدن	مطالعه محتوای حلال اکی والان	Y	N	Y	Y	N	Y
		میکروسکوپی ویدئویی	Y	Y	Y	Y	N	N
		اندازه‌گیری رسانایی	Y	Y	Y	Y	N	N
	تخریب ماتریس	اندازه‌گیری هدررفت جرم	Y	N	Y	Y	N	N
		آزمون مکانیکی	Y	N	N	Y	Y	Y
		طیف‌بینی نوری و NMR	Y	Y	Y	N	N	N
	میزان رهاسازی زیست‌فعال	طیف‌بینی نوری	Y	Y	Y	N	N	N
		آنالیز بیوشیمیایی از حجم‌ها	Y	N	Y	Y	N	N
	میزان تغییر فاز ماده	آزمون شیب نمونه، آزمون سقوط توپ	Y	Y	Y	N	Y	Y
		کدورت نوری، پخش	Y	Y	Y	N	N	N
		رئولوژی	Y	N	N	Y	Y	Y
		روش‌های فراصوت و طیف‌بینی دی‌الکتریک	Y	Y	Y	Y	Y	N

جدول الف ۱ــ روش‌های آزمون مورد نظر و مناسب بودن برای توصیف (تعیین مشخصات) هیدروژل ــ ادامه

مشخصه	جنبه	روش‌های آزمون	نتایج کمّی	روش غیرتهاجمی	مناسب برای هیدروژل‌های ضعیف	حساسیت بالا به تغییر آزمایشگران	حساسیت بالا به تغییرپذیری تجهیزات	حساسیت بالا به ژئومتری
پایداری فیزیکی و شیمیایی	پایداری اسمزی	مطالعه محتوای حلال اکی والان	Y	N	Y	Y	N	N
		میکروسکوپی ویدئویی	Y	Y	Y	Y	N	N
		اندازه‌گیری رسانایی	Y	Y	Y	Y	N	N
	خواص مکانیکی	آزمون دندانه‌گذاری	Y	N	N	Y	Y	Y
		آزمون کششی/هم‌فشارش	Y	N	N	Y	Y	Y
		رئولوژی	Y	N	N	Y	Y	Y
		سونوالاستوگرافی	Y	Y	Y	Y	N	N
	کپسوله کردن سلول	میکروسکوپی نوری	N	Y	Y	Y	Y	N
		سل بویدن تعدیل شده	Y	N	N	Y	Y	Y
انتقال جرم	مهاجرت سلول	میکروسکوپی نوری	N	Y	Y	Y	Y	N
		سل بویدن تعدیل شده	Y	N	N	Y	Y	Y
	انتقال مواد مغذی و زاید	محفظه انتشار	Y	N	N	Y	Y	Y
		مطالعات چگالی نوری	Y	Y	Y	N	N	N
		کروماتوگرافی	Y	N	Y	Y	N	Y
		روش NMR	Y	Y	Y	N	N	N
	رهاسازی مواد زیست‌فعال	محفظه انتشار	Y	N	N	Y	Y	Y
		آنالیز بیوشیمیایی حجم‌ها	Y	N	Y	Y	N	N

پیوست ب

(اطلاعاتی)

کتابنامه

[1] Peppas, N. A., Hydrogels in Medicine and Pharmacy, Vol. I-III, 1987, Boca Raton, FL: CRC Press.
[2] Kopecek, J., “Hydrogel biomaterials: A smart future?,” Biomaterials, Vol 28, No. 34, 2007, pp. 5185–5192.
[3] Ratner, B. D., et al., Biomaterials Science, An introduction to materials in medicine, 2nd ed., 2004: Elsevier Academic Press.
[4] Slaughter, B. V., et al., “Hydrogels in regenerative medicine,” Advanced Materials, Vol 21, 2009, pp. 3307–3329.
[5] Peppas, N. A., et al., “Hydrogels in Biology and Medicine: From molecular principles to bionanotechnology,” Advanced Materials, Vol 18, No. 11, 2006, pp. 1345–1360.
[6] Liu, Y., et al., “Physically crosslinked composite hydrogels of PVA with natural macromolecules: Structure, mechanical properties, and endothelial cell compatibility,” Journal of Biomedical Materials research: Part B, Vol 90, No. 2, 2009, pp. 492–502.
[7] Peppas, N. A., Biomedical Applications of Hydrogels Handbook, ed. K. Park, R.M. Ottenbrite, and T. Okano. 2010: Springer.
[8] Temenoff, J. S. and Mikos, A. G.,“ Injectable biodegradable materials for orthopedic tissue engineering,” Biomaterials, Vol 21, 2000, pp. 2405–2412.
[9] Bruck, S.D., “Aspects of three types of hydrogels for biomedical applications,” Journal of biomedical materials research, Vol 7, 1973, pp. 387–404.
[10] Furth, M. E., Atala, A., and Van Dyke, M. E., “Smart biomaterials for tissue engineering and regenerative medicine,” Biomaterials, Vol 28, 2007, pp. 5068–5073.
[11] Bromberg, L., et al., “Bioadhesive properties and rheology of polyether-modified poly(acrylic acid) hydrogels,” International Journal of Pharmaceutics, Vol 282, No. 1–2, 2004, pp. 45–60.
[12] Baker, G. L., et al., “Pectin standardization - final report of the IFT committee,” Food Technology, Vol 13, 1959, pp. 496–500.
[13] Bloom, O. T., “Machine for testing jelly strength of glues, gelatins, and the like,” in US Patent Office 1540979, 1925.
[14] Tanodekaew, S., et al., “Gelation of aqueous solutions of diblock copolymers of ethylene oxide and D,L-lactide,” Macromolecular Chemistry and Physics, Vol 198, 1997, pp. 3385–3395.
[15] Yoshida, T., et al., “Annealing induced gelation of xanthan/water systems,” Polymer, Vol 39, No. 5, 1998, pp. 1119–1122.
[16] Liu, W., et al., “A rapid temperature-responsive sol-gel reversible poly(N-isopropylacrylamide)-g-methylcellulose copolymer hydrogel,” Biomaterials, Vol 25, 2004, pp. 3005–3012.
[17] Michels, B. and Watson, G., “Dynamics of Micelles of Poly(ethylene oxide)-Poly(propylene oxide)-Poly(ethylene oxide) block copolymers in aqueous solutions,” Langmuir, Vol 13, 1997, pp. 3111–3118.
[18] Yu, G. E., et al., “Micellisation and gelation of triblock copoly(oxyethylene/oxypropylene/oxyethylene), F127,” Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions, Vol 88, No. 17, 1992, pp. 2537–2544.
[19] Kavanagh, G. M. and Ross-Murphy, S. B., “Rheological characterisation of polymer gels,” Progress in Polymer Science, Vol 23, 1998, pp. 533–562.

[20] Park, M. J. and Char, K., “Phase behaviour of a PEO-PPO-PEO triblock copolymer in aqueous solutions: two gelation mechanisms,” Macromolecular Research, Vol 10, No. 6, 2002, pp. 325–331.
[21] Ramachandran, S., Tseng, Y., and Yu, Y. B., “Repeated rapid shear-responsiveness of peptide hydrogels with tunable shear modulus,” Biomacromolecules, Vol 2005, No. 6, 2005, pp. 3.
[22] Lionetto, F., Sannino, A., and Maffezzoli, A., “Ultrasonic monitoring of the network formation in superabsorbent cellulose based hydrogels,”Polymer, Vol 46, No. 6, 2005, pp. 1796–1803.
[23] Mather, M. L., et al., “Ultrasonic absorption in polymer gel dosimeters,” Ultrasonics, Vol 41, No. 7, 2003, pp. 551–559.
[24] Norisuye, T., et al., “Ultrasonic investigation of the gelation process of poly(acrylamide) gels,” Macromolecular Symposia, Vol 242, 2006, pp. 208–215.
[25] Havriliak, S. and Havriliak, S. J., Dielectric and Mechanical Relaxation in Materials, 1997, New York: Hanser.
[26] Song, M. J., et al., “Dielectric behaviour during sol-gel transition of PEO-PPO-PEO triblock copolymer aqueous solutions,” Polymer Bulletin, Vol 43, 2000, pp. 497–504.
[27] Jeong, B. and Gutowska, A., “Lessons from nature: stimuli responsive polymers and their biomedical applications,” Trends in Biotechnology, Vol 7, 2002, pp. 305–311.
[28] Jeong, B., Kim, S. W., and Bae, Y. H., “Thermosensitive sol-gel reversible hydrogels,” Advanced Drug Delivery Reviews, Vol 54, 2002, pp. 37–51.
[29] Mano, J. F., “Stimuli-Responsive Polymeric Systems for Biomedical Applications,” Advanced Engineering Materials, Vol 10, No. 6, 2008, pp. 515–527.
[30] Peppas, N. A. and Huang, Y., “Polymer and gels as molecular recognition agents,” Pharmaceutical Research, Vol 19, No. 5, 2002, pp. 578–587.
[31] Wang, D., et al., “Synthesis and charaterization of a novel degradable phosphate-containing hydrogel,” Biomaterials, Vol 24, 2003, pp. 3969–3980.
[32] Lesho, M. J. and Sheppard, N. F., “A method for studying swelling kinetics based on measurement of electrical conductivity,” Polymer Gels and Networks, Vol 5, No. 6, 1997, pp. 503–523.
[33] Burdick, J. A., Lovestead, T. M., and Anseth, K. S., “Kinetic Chain Lengths in Highly Cross-Linked Networks Formed by the Photoinitiated Polymerization of Divinyl Monomers:â[permil] A Gel Permeation Chromatography Investigation,” Biomacromolecules, Vol 4, No. 1, 2002, pp. 149–156.
[34] Snyder, L. R., Kirkland, J. J., and Dolan, J. W., Introduction to Modern Liquid Chromatography, 2009: John Wiley and Sons, pp. 912.
[35] Rangan, M. and David, S. H., “Affinity monolith chromatography,” Journal of Separation Science, Vol 29, No. 12, 2006, pp. 1686–1704.
[36] Khatua, D., Maiti, R., and Dey, J., “A supramolecular hydrogel that responds to biologically relevant stimuli,” Chemical Communications, 2006, pp. 4903–4905.
[37] Shankar, B. V. and Patnaik, A., “A New pH and Thermo-Responsive Chiral Hydrogel for Stimulated Release,” Journal of Physical Chemistry B, Vol 111, 2007, pp. 9294–9300.
[38] Baena, J. R. and Lendl, B., “Raman spectroscopy in chemical bioanalysis,” Current Opinion in Chemical Biology, Vol 8, No. 5, 2004, pp. 534–539.
[39] Hench, L. L. and West, J. K., “The Sol-Gel Process,” Chemical Reviews, Vol 90, 1990, pp. 33–72.
[40] Galli, M., et al., “Viscoelastic and poroelastic mechanical characterization of hydrated gels,” Journal of Materials Research, Vol 24, No. 3, 2009, pp. 973–979.

[41] Taylor, L. S., et al., “Three-dimensional sonoelastography: principles and practices,” Physics in Medicine and Biology, Vol 45, 2000, pp. 1477–1494.
[42] Gobin, A. S. and West, J. L.,“ Cell migration through defined, synthetic ECM analogs,” FASEB J., Vol 16, No. 7, 2002, pp. 751–753.
[43] Yong Gu, W., et al., “Diffusivity of Ions in Agarose Gels and Intervertebral Disc: Effect of Porosity,” Annals of Biomedical Engineering, Vol 32, No. 12, 2005, pp. 1710–1717.
[44] Sheppard, N. F., et al., “Electrical conductivity of pH-responsive hydrogels,” Journal of biomaterials science, polymer edition, Vol 8, No. 5, 1997, pp. 349–362.
[45] Li, R. H., Altreuter, D. H., and Gentile, F. T., “Transport characterization of hydrogel matrices for cell encapsulation,” Biotechnology and Bioengineering, Vol 50, 1999, pp. 365–373.
[46] Ohtsuka, A. and Watanabe, T., “The network structure of gellan gum hydrogels based on the structural parameters by the analysis of the restricted diffusion of water,” Carbohydrate polymers, Vol 30, 1996, pp. 135–140.
[47] Huang, X. and Brazel, C. S., “On the importance and mechanisms of burst release in matrix-controlled drug delivery systems,” Journal of Controlled Release, Vol 73, No. 2–3, 2001, pp. 121–136.
[48] Zhang, X. Z.,Wu, D. Q., and Chu, C. C., “Synthesis, characterization and controlled drug release of thermosensitive IPN-PNIPAAm hydrogels,” Biomaterials, Vol 25, No. 17, 2004, pp. 3793–3805.