



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ  
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΠΡΟΝΟΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ**

**Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών  
«Προχωρημένη Αισθητική και Κοσμητολογία: Ανάπτυξη, Ποιοτικός  
Έλεγχος και Ασφάλεια νέων καλλυντικών προϊόντων»**

**Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία  
Ενώσεις θαλάσσιας προέλευσης με πιθανή εφαρμογή ως επουλωτικοί  
παράγοντες**

**Της  
Νεκταρίας-Ιωάννας Κάρμα**

**A.M 212203**

Παρουσιάστηκε για τη μερική εκπλήρωση των υποχρεώσεων για την απονομή του  
Μεταπτυχιακού Τίτλου Σπουδών στο Τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών  
του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής

**Επιβλέπων:** Δρ. Μέλλου Φωτεινή, MSc, PhD Chem, Ακαδημαϊκός Υπότροφος Τμήματος  
Βιοϊατρικών Επιστημών/Κατεύθυνση Αισθητικής και Κοσμητολογίας/ΠαΔΑ  
ΑΘΗΝΑ, 2023



**UNIVERSITY OF WEST ATTICA  
SCHOOL OF HEALTH AND CARE SCIENCES  
DEPARTMENT OF BIOMEDICAL SCIENCES**

**Master of Science in  
Advanced Aesthetics and Cosmetic Science: Development-Quality  
Control and Safety of new cosmetic products**

**Master Thesis  
Compounds of marine origin with possible application as healing agents**

**By  
Nektaria-Ioanna Karma  
Registration Number 212203**

Presented for the partial fulfillment of the obligations for the award of the  
Master's Degree in the Department of Biomedical Sciences  
of the University of West Attica

**Supervisor:** Dr. Mellou Fotini, MSc, PhD Chem, Academic Scholar of the Department of  
Biomedical Sciences/Sector of Aesthetics and Cosmetic Science/UNIWA  
Athens, 2023

**Τίτλος εργασίας  
Ενώσεις θαλάσσιας προέλευσης με πιθανή εφαρμογή ως επουλωτικοί παράγοντες**

**Μέλη Εξεταστικής Επιτροπής συμπεριλαμβανομένου και του Εισηγητή**

Η μεταπτυχιακή διπλωματική εργασία εξετάστηκε επιτυχώς από την κάτωθι Εξεταστική Επιτροπή:

Α/α	ΟΝΟΜΑ ΕΠΩΝΥΜΟ	ΒΑΘΜΙΔΑ/ΙΔΙΟΤΗΤΑ	ΨΗΦΙΑΚΗ ΥΠΟΓΡΑΦΗ
	Μέλλου Φωτεινή	MSc, PhD Chem, Ακαδημαϊκή Υπότροφος Τμήματος Βιοϊατρικών Επιστημών/Κατεύθυνση Αισθητικής και Κοσμητολογίας/ΠαΔΑ	
	Παπαγεωργίου Σπυρίδων	Επίκουρος Καθηγητής Τμήματος Βιοϊατρικών Επιστημών/ΠαΔΑ	
	Παπαδόπουλος Απόστολος	Λέκτορας Τμήματος Βιοϊατρικών Επιστημών/ΠαΔΑ	

## ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΓΡΑΦΕΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Η κάτωθι υπογεγραμμένη Νεκταρία-Ιωάννα Κάρμα του Γεωργίου, με αριθμό μητρώου 212203 φοιτήτρια του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών «Προχωρημένη Αισθητική και Κοσμητολογία: Ανάπτυξη, Ποιοτικός Έλεγχος και Ασφάλεια νέων καλλυντικών προϊόντων» του Τμήματος Βιοϊατρικών Επιστημών της Σχολής Επαγγελματιών Υγείας & Πρόνοιας του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής, δηλώνω ότι:

«Είμαι συγγραφέας αυτής της μεταπτυχιακής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχα για την προετοιμασία της, είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες έκανα χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνω ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από μένα αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μου, όσο και του Ιδρύματος.

Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μου ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του πτυχίου μου».

*\*Επιθυμώ την απαγόρευση πρόσβασης στο πλήρες κείμενο της εργασίας μου μέχρι ..... και έπειτα από αίτηση μου στη Βιβλιοθήκη και έγκριση του επιβλέποντα καθηγητή.*

Η Δηλούσα

Νεκταρία-Ιωάννα Κάρμα – Μεταπτυχιακή Φοιτήτρια

**\* Ονοματεπώνυμο /Ιδιότητα**  
**Ψηφιακή Υπογραφή Επιβλέποντα**  
(Υπογραφή)



Πνευματική ιδιοκτησία © 2023 Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής  
Όλα τα δικαιώματα διατηρούνται

Copyright © 2023 University of West Attica  
All rights reserved

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τίτλος: Ενώσεις θαλάσσιας προέλευσης με πιθανή εφαρμογή ως επουλωτικοί παράγοντες

Νεκταρία-Ιωάννα Κάρμα

Τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών

Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής, 2023

Είναι γνωστό πως τα θαλάσσια περιβάλλοντα βρίθουν ποικιλίας οργανισμών, πλούσιων σε μεταβολίτες, που σε πολλές περιπτώσεις δεν απαντώνται στα χερσαία οικοσυστήματα. Το γεγονός αυτό, σε συνδυασμό με την εκτεταμένη ανάπτυξη των οργανισμών στο υδάτινο περιβάλλον, τους καθιστά εξαιρετική πρώτη ύλη προς αξιοποίηση στους τομείς της Φαρμακευτικής, της Διατροφολογίας και της Κοσμητολογίας. Συγκεκριμένα, σε επίπεδο Κοσμητολογίας, συστατικά θαλάσσιας προέλευσης συμπεριλαμβάνονται εδώ και δεκαετίες στις συνθέσεις προϊόντων, με πλήθος δράσεων.

Στην παρούσα εργασία, γίνεται εκτενής αναφορά για τη χρήση συστατικών, προερχόμενων από οργανισμούς και μικροοργανισμούς του θαλάσσιου περιβάλλοντος, στην επούλωση πληγών, είτε με την ενεργή συμμετοχή σε κάποιο από τα στάδια της επουλωτικής διαδικασίας, είτε με τη συμβολή με μηχανικό τρόπο στη σύγκλιση του τραύματος, ως συστατικά σε επιθέματα πληγών. Παράλληλα, επισημαίνονται πλεονεκτήματα των συστατικών αυτών, παρουσιάζονται τρόποι για την αποτελεσματικότερη ενσωμάτωσή τους στα καλλυντικά και ιατροτεχνολογικά προϊόντα, με στόχο τη βελτίωση της απόδοσής τους, καθώς και μελέτες που έχουν διεξαχθεί, σχετικά με τη δραστηριότητα των συστατικών αυτών στην επούλωση των πληγών. Τέλος, γίνεται λόγος για τη σταθερότητα, τους περιορισμούς και τις προκλήσεις στη χρήση τους, θίγεται το ζήτημα της ασφάλειας κατά την εφαρμογή τους, καθώς και το νομοθετικό πλαίσιο στο οποίο υπάγονται.

**Λέξεις κλειδιά:** θαλάσσιοι οργανισμοί, επουλωτική δράση, επιθέματα πληγών, ιατροτεχνολογικά προϊόντα

## ABSTRACT

### Compounds of marine origin with possible application as healing agents

Nektaria-Ioanna Karma  
Department of Biomedical Sciences  
University of West Attica, 2023

It is well established that marine organisms consist of a great plethora of active compounds that appear exclusively in the marine environment, while having the ability of being vastly reproduced, irrespective of the existing conditions. As a result, marine organisms can be used in many scientific fields, including the ones of Pharmaceutics, Nutrition and Cosmetic Science. As for the latter, marine ingredients have been successfully included in cosmetic formulations for many decades, providing them with numerous benefits for the skin.

In the present thesis, the contribution of marine compounds in wound healing is being thoroughly discussed, both as active ingredients in suitable formulations, designed to contribute in different stages of skin regeneration and restoration and also indirectly, as a tool in facilitating wound closure as part of a wound dressing. Additionally, advantages of these marine ingredients are being presented, as well as, ways of incorporating them effectively in formulations and medical device products, so as to ameliorate their performance. Numerous studies have been referenced, showcasing their efficacy in wound healing. Finally, important data in regards to their stability, limitations and challenges to their use, safety issues and the existing legislative framework are extensively mentioned.

**Keywords:** marine organisms, wound healing, wound dressing, medical device products

## Αφιέρωση

Στην αγαπημένη μου γιαγιά-νονά που με βλέπει από ψηλά...



## Ευχαριστίες

Θα ήθελα να ευχαριστήσω την επιβλέπουσά μου, κυρία Μέλλου Φωτεινή, για την καθοδήγηση και την ενθάρρυνση, σε όλο το διάστημα της συνεργασίας μας, πάντοτε ανθρώπινα και με θετική διάθεση, καθώς και τους αξιότιμους καθηγητές της τριμελούς εξεταστικής επιτροπής της εργασίας μου, κυρίους Παπαγεωργίου Σπυρίδωνα και Παπαδόπουλο Απόστολο.

Θερμές ευχαριστίες στη Διευθύντρια του ΠΜΣ, κυρία Βαρβαρέσου Αθανασία, σε όλο το Διοικητικό και Επιστημονικό Προσωπικό του Τμήματος και στους εξωτερικούς συνεργάτες, για την απρόσκοπτη λειτουργία και την επιτυχή διεκπεραίωση του Προγράμματος Σπουδών. Ιδιαίτερη αναφορά στην κυρία Γαρδίκη Βασιλική, για τη συνολική συνεισφορά της στο Μεταπτυχιακό.

Τέλος, ένα μεγάλο ευχαριστώ στους γονείς μου, για την υποστήριξη καθ' όλη τη διάρκεια των σπουδών μου, την πίστη τους στην προσπάθειά μου και την απεριόριστη αγάπη τους.





# Βιογραφικό CV

**Νεκταρία-Ιωάννα Κάρμα**

Μεταπτυχιακός Τίτλος Σπουδών  
«Προχωρημένη Αισθητική και Κοσμητολογία: Ανάπτυξη, Ποιοτικός Έλεγχος και Ασφάλεια νέων καλλυντικών προϊόντων»

**Τίτλος:**

Ενώσεις θαλάσσιας προέλευσης με πιθανή εφαρμογή ως  
επουλωτικοί παράγοντες

**Επιστημονικό Πεδίο:**

Κοσμητολογία

**Βιογραφικά Στοιχεία:**

Ημερομηνία Γέννησης: 09/01/1993

**Προσωπικά Στοιχεία:**

Διεύθυνση: Αγησιλάου 51, Άνω Γλυφάδα

E-mail: karma.ioanna@yahoo.gr

**Εκπαίδευση:**

Απόφοιτη του Τμήματος Αισθητικής και  
Κοσμητολογίας του ΤΕΙ Αθήνας (2015) με  
βαθμό πτυχίου «Άριστα»

Απόφοιτη του Τμήματος Φαρμακευτικής του  
ΕΚΠΑ (2021) με βαθμό πτυχίου «Λίαν Καλώς»

Εκπλήρωσε τις απαιτήσεις για το Μεταπτυχιακό Τίτλο Σπουδών «Προχωρημένη Αισθητική και Κοσμητολογία: Ανάπτυξη, Ποιοτικός Έλεγχος και Ασφάλεια νέων καλλυντικών προϊόντων» στο Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής, Σχολή Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας, Τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών, τον Αύγουστο, 2023.

ΕΓΚΡΙΣΗ ΕΠΙΒΛΕΠΟΝΤΟΣ: ΦΩΤΕΙΝΗ ΜΕΛΛΟΥ

## Πίνακας περιεχομένων

Περίληψη.....	1
Abstract.....	2
Αφιέρωση.....	3
Ευχαριστίες.....	4
Βιογραφικό CV.....	5
Κατάλογος Σχημάτων.....	9
Κατάλογος Εικόνων.....	10
1. Εισαγωγή και Σκοπός Εργασίας.....	11
2. Επούλωση.....	13
2.1. Μηχανισμοί επούλωσης.....	13
2.2. Παράγοντες που επιδρούν στην επούλωση.....	15
2.3. Φυσικά προϊόντα για την επούλωση του δέρματος.....	17
3. Καλλυντικά με συστατικά θαλάσσιας προέλευσης.....	19
3.1. Πλεονέκτημα συστατικών θαλάσσιας προέλευσης.....	20
3.2. Επούλωση πληγών & αντιφλεγμονώδης δράση.....	21
4. Οργανισμοί και μικροοργανισμοί θαλάσσιας προέλευσης.....	22
4.1. Συστατικά από θαλάσσια αγγούρια.....	22
4.1.1. Σταθερότητα συστατικών θαλάσσιων αγγουριών.....	24
4.1.2. Επεξεργασία με υπέρηχους.....	25
4.1.3. Ασφάλεια/Τοξικότητα συστατικών θαλάσσιων αγγουριών.....	25
4.2. Συστατικά από θαλάσσια σφουγγάρια.....	26
4.2.1. Ασφάλεια/Τοξικότητα συστατικών θαλάσσιων σφουγγαριών.....	27
4.3. Μικροοργανισμοί και επούλωση.....	27
4.3.1. Βακτήρια.....	27
4.3.1.1. <i>Micrococcus</i> sp. στην επούλωση.....	27
4.3.1.2. Κυανοβακτήρια στην επούλωση.....	28
4.3.1.2.1. Επιδράσεις στην επουλωτική διαδικασία.....	29
4.3.1.2.2. Ασφάλεια/Τοξικότητα κυανοβακτηρίων.....	29
4.3.2. Παράσιτα.....	29
4.3.2.1. <i>Ceratothoa oestroides</i> .....	29
4.3.2.1.1. Ασφάλεια/Τοξικότητα <i>C. oestroides</i> .....	31
4.4. Θαλάσσια σκουλήκια.....	31
4.4.1. <i>Diopatra clarepedii</i> .....	31
4.4.1.1. Ασφάλεια/Τοξικότητα <i>D. clarepedii</i> .....	32
4.4.2. <i>Arenicola marina</i> (M101).....	32
4.4.2.1. Ιδιότητες M101.....	33
4.4.2.2. M101 ως εξωκυτταρικός μεταφορέας.....	33
4.4.2.3. Ασφάλεια/Τοξικότητα <i>A. marina</i> .....	33
5. Κατηγορίες συστατικών θαλάσσιας προέλευσης.....	35
5.1. Αντιοξειδωτικά θαλάσσιας προέλευσης.....	35
5.1.1. Ασταξανθίνη.....	35
5.1.1.1. Δράσεις ασταξανθίνης.....	37
5.1.1.2. Επουλωτική δράση ασταξανθίνης.....	38
5.1.1.3. Σταθερότητα ασταξανθίνης.....	38

5.1.1.4.	Συστήματα μεταφοράς για τοπική εφαρμογή.....	38
5.1.1.4.1.	Λιποσώματα.....	38
5.1.1.4.2.	Μικρο-Γαλακτώματα.....	39
5.1.1.4.3.	Συστήματα σωματιδίων.....	39
5.1.1.4.4.	Κυκλοδεξτρίνες (CDs).....	39
5.1.1.4.5.	Φίλμ.....	39
5.1.1.5.	Ασφάλεια/Τοξικότητα ασταξανθίνης.....	40
5.2.	Πολυσακχαρίτες θαλάσσιας προέλευσης.....	40
5.2.1.	Θαλάσσιοι πολυσακχαρίτες ως συστήματα μεταφοράς φαρμάκων.....	40
5.2.1.1.	Εφαρμογές στην μηχανική των ιστών.....	40
5.2.2.	Πολυσακχαρίτες από φύκη ως επουλωτικά πληγών.....	40
5.2.2.1.	Πολυσακχαρίτης από <i>Falkenbergia rufolanosa</i> (FRP).....	40
5.2.2.2.	Πηκτίνη από Σπιρουλίνα (SmP).....	41
5.2.2.2.1.	Ασφάλεια/Τοξικότητα SmP.....	42
5.2.3.	Πολυσακχαρίτες από φύκη στην ανάπτυξη επιθεμάτων πληγών.....	43
5.2.3.1.	Κατηγορίες πολυσακχαριτών.....	44
5.2.3.1.1.	Καρραγεννάνες.....	44
5.2.3.1.1.1.	Σταθερότητα καρραγεννανών.....	46
5.2.3.1.2.	Ουλβάνες.....	46
5.2.3.1.2.1.	Σταθερότητα ουλβανών.....	48
5.2.3.1.2.2.	Ασφάλεια/Τοξικότητα ουλβανών.....	48
5.2.3.1.3.	Αλγινικά άλατα.....	49
5.2.3.1.3.1.	Ασφάλεια/Τοξικότητα αλγινικών αλάτων.....	52
5.2.3.1.4.	Φουκοϊδάνες.....	53
5.3.	Πεπτίδια θαλάσσιας προέλευσης.....	55
5.3.1.	Επινεσιδίνη-1.....	55
5.3.1.1.	Επουλωτική δράση Επινεσιδίνης-1.....	55
5.3.1.2.	Σταθερότητα Επινεσιδίνης-1.....	56
5.3.2.	Apratyramide.....	57
5.3.3.	Θαλάσσιο κολλαγόνο.....	58
5.3.3.1.	Κολλαγόνο από κατάλοιπα ψαριών.....	58
5.3.3.2.	Κολλαγόνο από εχινόδερμα.....	59
5.3.3.3.	Κολλαγόνο από μέδουσες.....	59
5.3.3.4.	Πλεονεκτήματα και περιορισμοί στη χρήση κολλαγόνου.....	60
5.3.3.5.	Εφαρμογές κολλαγόνου στην επούλωση και στην αντιγήρανση.....	61
5.3.3.6.	Εξαγωγή κολλαγόνου.....	62
5.3.3.6.1.	Μέθοδοι εξαγωγής κολλαγόνου.....	63
5.3.3.6.2.	Προκατεργασία.....	64
5.3.3.6.3.	Διαδικασία εξαγωγής.....	64
5.3.3.6.3.1.	Μέθοδος διαλυτότητας σε οξύ (ASC).....	65
5.3.3.6.3.2.	Μέθοδος διαλυτότητας σε πεψίνη (PSC).....	65
5.3.3.6.3.3.	Μέθοδος υπερήχων.....	65
5.3.3.7.	Μέθοδοι χαρακτηρισμού κολλαγόνου.....	65
5.3.3.8.	Ιδιότητες κολλαγόνου.....	66
5.3.3.9.	Μηχανική των ιστών και επούλωση.....	66
5.3.3.10.	Σταθερότητα θαλάσσιου κολλαγόνου.....	67

5.3.3.11.	Ασφάλεια/Τοξικότητα θαλάσσιου κολλαγόνου.....	67
5.4.	Αμινοπολυσακχαρίτες θαλάσσιας προέλευσης.....	68
5.4.1.	Χιτοζάνη.....	68
5.4.1.1.	Ιδιότητες χιτοζάνης.....	69
5.4.1.2.	Επουλωτικές ιδιότητες χιτοζάνης.....	70
5.4.1.3.	Σταθερότητα χιτοζάνης.....	71
5.4.1.4.	Χρήση νανοσωματιδίων (NPs) στη διαχείριση τραυμάτων.....	72
5.4.1.4.1.	Πλεονεκτήματα NPs χιτοζάνης στην επούλωση πληγών.....	73
5.4.1.5.	Χιτοζάνη εμπλουτισμένη με Ag.....	73
5.4.1.6.	Ασφάλεια/Τοξικότητα χιτοζάνης.....	74
5.4.2.	Σύμπλοκο αλγινικά άλατα – HELPs.....	75
5.4.3.	Νανοσωματίδια φουκοϊδάνης-χιτοζάνης.....	76
6.	Προκλήσεις και Ευκαιρίες για συστατικά θαλάσσιας προέλευσης.....	77
7.	Νομοθετικό Πλαίσιο για συστατικά θαλάσσιας προέλευσης.....	79
8.	Συμπεράσματα και Προοπτικές.....	83
8.1.	Συμπεράσματα.....	83
8.2.	Προοπτικές.....	88
9.	Βιβλιογραφία.....	90

## Κατάλογος Σχημάτων

Σχήμα 1. Δομές σαργκαφουράνης (Α), εικοσιδιεξαενοϊκού οξέος (Β), εικοσιπεντανοϊκού οξέος (Γ) και φουκοϊδάνης (Δ) (Πηγή: <https://www.mdpi.com/1420-3049/25/11/2536>)

Σχήμα 2. Δομική ποικιλομορφία θεικών πολυσακχαριτών από φύκη: τμήματα από καρραγεννάνες (Πηγή: <https://www.mdpi.com/2227-9059/8/9/301>)

Σχήμα 3. Δομική ποικιλομορφία θεικών πολυσακχαριτών από φύκη: κύριοι επαναλαμβανόμενοι δισακχαρίτες που σχηματίζουν τις ουλβάνες  
Αριστερά: β-D-γλυκουρονικό οξύ (1→4) -α-L-ραμνόζη-3-θεική  
Δεξιά: α-D-γλυκουρονικό οξύ (1→4) -α-L-ραμνόζη-3-θεική (Πηγή: <https://www.mdpi.com/2227-9059/8/9/301>)

Σχήμα 4. Δομική ποικιλομορφία αλγινικών θεικών πολυσακχαριτών: α-1-γουλουρονικό και β-d-μαννουρονικό αλγινικά τμήματα (Πηγή: <https://www.mdpi.com/2227-9059/8/9/301>)

Σχήμα 5. Δομική ποικιλομορφία θεικών πολυσακχαριτών από φύκη: θραύσματα φουκοϊδανών (Πηγή: <https://www.mdpi.com/2227-9059/8/9/301>)

## Κατάλογος Εικόνων

Εικ. 1. Οπτικά ισομερή ασταξανθίνης (Πηγή:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924224422001649>)

Εικ. 2. Κύριες πηγές ασταξανθίνης (Πηγή:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924224422001649>)

Εικ. 3. (Α) Δομή του apratyramide (Β) ESIMS κατακερματισμός του apratyramide

(Πηγή: <https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/acscchembio.7b00827>)

Εικ. 4. Σχηματική διαδικασία για εξαγωγή κολλαγόνου από θαλάσσιες πηγές. Σε όλες τις μεθόδους περιλαμβάνεται ως αρχικό βήμα ο διαχωρισμός των συστατικών σε χρήσιμα και άχρηστα. Τα θαλάσσια παραπροϊόντα μειώνονται σε μέγεθος ώστε να διευκολυνθεί η απομάκρυνση των μη κολλαγονικών πρωτεϊνών, λιπιδίων, χρωστικών, υπολειμμάτων κυττάρων και μεταλλικών στοιχείων (προ επεξεργασίας). Ακολουθεί η όξινη κατεργασία (ASC) και προαιρετικά η ενζυμική κατεργασία (PSC) για την εξαγωγή μορίων κολλαγόνου, τα οποία τελικώς λαμβάνονται μετά από καθίζηση αλάτων, διάλυση και λυοφιλοποίηση. (Πηγή:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0928493119346892>)

Εικ. 5. Διαδικασία παρασκευής χιτίνης και χιτοζάνης (Πηγή:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861720300138>)

Εικ. 6. Παράγοντες που επιδρούν στη σταθερότητα προϊόντων με βάση τη χιτοζάνη (Πηγή:

<https://www.mdpi.com/1660-3397/13/4/1819>)

Εικ. 7. Απεικόνιση της χρήσης NPs στην επούλωση πληγών (Πηγή:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1818087622000411>)

# 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΚΑΙ ΣΚΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Οι πληγές συνιστούν φυσικούς τραυματισμούς, ως αποτέλεσμα της λύσης της γενετικής, ανατομικής ή λειτουργικής συνέχειας, ενός ζώντος ιστού, εξωτερικά ή εσωτερικά. Μια προσβολή φυσικής, χημικής, θερμικής, μικροβιακής ή ανοσολογικής φύσης στον ιστό οδηγεί στην εμφάνιση της πληγής. Ένα ανοιχτό τραύμα προκύπτει όταν η επιδερμίδα υποστεί ρωγμή, τομή ή διάτρηση, ενώ ένα κλειστό τραύμα εμφανίζεται ως επίπτωση άσκησης αμβλείας δύναμης στην επιδερμίδα. Έγκαυμα παρουσιάζεται μετά την επίδραση φωτιάς, θερμότητας, χημικών ουσιών, ηλεκτρισμού ή ηλιακής ακτινοβολίας. Η κατηγοριοποίηση των πληγών σε οξείες και χρόνιες γίνεται με βάση την έκτασή τους και τη χρονική διάρκεια που απαιτείται για την επούλωση αυτών. Μία οξεία πληγή αποτελεί έναν επιδερμικό τραυματισμό που συμβαίνει απρόσμενα, λόγω ενός ατυχήματος ή μιας εγχείρησης και συνήθως απαιτεί 8-12 εβδομάδες για να ολοκληρωθεί η επουλωτική διαδικασία αυτής, ανάλογα με το μέγεθος, το βάθος και το βαθμό φθοράς της επιδερμίδας και του χορίου. Μια χρόνια πληγή, από την άλλη, δεν ακολουθεί τα φυσιολογικά στάδια επούλωσης και δεν μπορεί να αποκατασταθεί με τρόπο έγκαιρο και τακτικό. Τα πιο κοινά αίτια εμφάνισης χρόνιων πληγών είναι τα έλκη ποδιών και τα εγκαύματα. (1)

Σκοπός της παρούσας βιβλιογραφικής ανασκόπησης είναι να εξεταστεί η ύπαρξη συστατικών θαλάσσιας προέλευσης που επιδρούν αποτελεσματικά στην επούλωση. Αρχικά, γίνεται μια εκτενής αναφορά των φάσεων επουλωτικού μηχανισμού και των παραγόντων που τον επηρεάζουν. Ακολουθεί η αναλυτική παρουσίαση των συστατικών θαλάσσιας προέλευσης από οργανισμούς και μικροοργανισμούς, καθώς και επιμέρους κατηγοριοποίηση των συστατικών αυτών, επισημαίνεται ο τρόπος με τον οποίο αυτά συμμετέχουν στα στάδια της επούλωσης, καθώς και η δράση τους στην αποκατάσταση του τραυματισμένου δέρματος, ως συστατικά σε επιθέματα πληγών ή σε συνθέσεις σκευασμάτων για τοπική εφαρμογή. Αναφέρεται πλήθος μελετών που διεξήχθησαν, με στόχο να αποδείξουν την αποτελεσματικότητα των βιοδραστικών μορίων, προερχόμενων από θαλάσσια οικοσυστήματα, στην επούλωση πληγών, σημειώνονται δυσκολίες και προβλήματα, σχετικά με τη σταθερότητα των ουσιών και προτείνονται τρόποι για τη βελτίωση αυτών, ώστε να εξασφαλιστεί η επιτυχία της εκάστοτε χορηγούμενης αγωγής. Επιπλέον, γίνεται λόγος σχετικά με τους προβληματισμούς και τις ανησυχίες που αφορούν στην ασφάλεια χρήσης και στην ενδεχόμενη τοξικότητα των χημικών ενώσεων από το θαλάσσιο περιβάλλον, καθώς και για την οικολογική επίπτωση

που επιφέρει η χρήση των συστατικών αυτών. Τέλος, δίνεται έμφαση στο νομοθετικό πλαίσιο που διέπει αυτές τις δραστικές ουσίες, ώστε να επιτρέπεται η ενσωμάτωσή τους σε προϊόντα Κοσμητολογίας και διατυπώνονται συμπεράσματα και προοπτικές για περαιτέρω διερεύνηση στο μέλλον.





## 2. ΕΠΟΥΛΩΣΗ

Η επούλωση ορίζεται ως:

- ο φυσικός μηχανισμός επιδιόρθωσης μετά από κάποιο τραυματισμό
- η αλληλουχία πολύπλοκων κυτταρικών διαδικασιών που στοχεύουν στην επανόρθωση της επιφάνειας, την επανασύσταση και την αποκατάσταση της ισχύος στην τάση
- η συστηματική διεργασία που διεκπεραιώνεται σε τρεις φάσεις: φλεγμονής, πολλαπλασιασμού και ωρίμανσης.

Μετά την πρόκληση βλάβης η επιστροφή στην αρχική κατάσταση δεν είναι ποτέ πλήρης. Στα θηλαστικά δεν υπάρχει καμία δυνατότητα αναγέννησης οργάνων. Εξαιρούνται οι βλάβες που αφορούν οστά και ήπαρ. Όλοι οι ανθρώπινοι ιστοί, πλην των δοντιών, μπορούν να τεθούν σε κατάσταση επούλωσης, μέσω κοινής διαδικασίας που στοχεύει στο να περιοριστεί η βλάβη και να αποκατασταθούν δομικά και λειτουργικά οι πάσχοντες ιστοί. (1)

### 2.1. ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΕΠΟΥΛΩΣΗΣ

Η διαδικασία επούλωσης συνίσταται από ένα πολύπλοκο μηχανισμό που επηρεάζεται από πλήθος παραγόντων και ενώσεων. Η επούλωση επιδερμικών πληγών είναι ένα σημαντικό βήμα στην αποκατάσταση των τραυμάτων, λόγω της απαραίτητης λειτουργίας της επιδερμίδας ως φυσικού, χημικού και βακτηριακού φραγμού. (2)

#### 2.1.1. Επιδερμική επούλωση

Το κυρίως μέρος μιας επιδερμικής πληγής μπορεί να εκτείνεται μέχρι και το χόριο, ενώ τα άκρα της πληγής φυσιολογικά προκαλούν ελαφριά βλάβη στα επιφανειακά κύτταρα της επιδερμίδας. Ως επιδερμικά τραύματα θεωρούνται η απόξεση και το έγκαυμα πρώτου και δεύτερου βαθμού. Τα κύτταρα στο σημείο του τραύματος αποκρίνονται στη βλάβη με το να διακόπτουν την επαφή τους με τη βασική στιβάδα, να αυξάνονται σε μέγεθος και να μετακινούνται σαν σεντόνι κατά μήκος της πληγής, προτού συναντήσουν τα αναπτυσσόμενα κύτταρα της απέναντι μεριάς. Η αναστολή επαφής εμποδίζει την επ' αόριστον μετανάστευση των επιδερμικών κυττάρων, όσο αρχίζουν να πλησιάζουν. Αυτή η διαδικασία υφίσταται διακοπή μόνο όταν διατηρείται η επαφή ανάμεσα στα κύτταρα και τα άλλα επιδερμικά κύτταρα εκατέρωθεν. Ταυτόχρονα, με τη μετανάστευση ορισμένων κυττάρων της βασικής στιβάδας, τα στατικά βλαστοκύτταρα της στιβάδας διαιρούνται για να αντικαταστήσουν τα «ξενιτεμένα» και αυτή η διαδικασία συνεχίζεται,

έως ότου η πληγή επουλωθεί. Έπειτα, ακολουθεί διαίρεση της επιδερμίδας στις επιμέρους στιβάδες κι ως εκ τούτου αυξάνεται το πάχος του χορίου. (3)

### **2.1.2. Εις βάθος επούλωση**

Περιλαμβάνει 3 φάσεις:

Φάση φλεγμονής, Φάση πολλαπλασιασμού, Φάση ωρίμανσης

#### **2.1.2.1. Φάση φλεγμονής (4)**

Τα στάδια που την αποτελούν είναι:

A. Αγγειοσύσπαση (5 ως 10 λεπτά): Συμμετέχουν οι παράγοντες X, VII & VIIa. Παρατηρείται ενεργοποίηση θρομβίνης, μετατροπή ινωδογόνου σε ινώδες και σχηματισμός θρόμβου.

B. Αγγειοδιαστολή (ως 48 ώρες): Συμμετέχουν οι προσταγλανδίνες, η ισταμίνη, η βραδυκινίνη, τα λευκοτριένια, καθώς και τα ουδετερόφιλα, τα οποία είναι τα επικρατέστερα κύτταρα το πρώτο 48ωρο, αλλά η παρουσία τους δεν είναι αναγκαία στην εξέλιξη της επούλωσης. Μέσω διαφορετικών βιοχημικών μονοπατιών προκαλείται αύξηση της αγγειακής διαπερατότητας. Τέλος, οι σχηματιζόμενες ελεύθερες ρίζες O<sub>2</sub> συμβάλλουν στον καθαρισμό του τραύματος από βακτήρια και νεκρώματα.

Γ. Κινητικότητα μακροφάγων (πρώιμη φάση, 0 ως 72 ώρες): Τα μακροφάγα επιτελούν φαγοκυττάρωση, ενεργοποιούν κολλαγεννάσες και ελαστάσες και επιδρούν στη χημειοταξία και τον πολλαπλασιασμό με τελικό αποτέλεσμα την αγγειογένεση. Είναι τα κύτταρα που κυριαρχούν στην πρώιμη φάση της επούλωσης και σε περίπτωση απουσίας τους η επούλωση καθυστερεί και παρουσιάζει διαταραχές.

#### **2.1.2.2. Φάση πολλαπλασιασμού (5)**

Τα στάδια που την αποτελούν είναι:

A. Επιθηλιοποίηση (1<sup>η</sup> ως 14<sup>η</sup> ημέρα): Τα κύτταρα της επιδερμίδας υφίστανται δομικές αλλαγές, καθώς διαφοροποιούνται και μεταναστεύουν από τη βασική στιβάδα προς τις ανώτερες στιβάδες της επιδερμίδας. Η επιθηλιοποίηση ευνοείται από την κρίσιμη υγρασία του τραύματος.

B. Ινοπλασία (3<sup>η</sup> ως 21<sup>η</sup> ημέρα): Οι ινοβλάστες με την παρουσία O<sub>2</sub>, Fe και βιταμίνης C παράγουν κολλαγόνο τύπου I (80%) και III (κυρίαρχο στην πρώιμη επούλωση και στα έμβρυα), αλλά και ελαστίνη, ινωδονεκτίνη, γλυκοζαμινογλυκάνες και πρωτεάσες.

Γ. Συστολή (έναρξη με τη σύνθεση κολλαγόνου, 3<sup>η</sup> ως 21<sup>η</sup> ημέρα): Μέχρι 0,75mm/μέρα Εξαρτάται από το σχήμα τραύματος και την ελαστικότητα των ιστών. Φτάνει στο μέγιστο αποτέλεσμα την 5<sup>η</sup> ως τη 15<sup>η</sup> μέρα και συνιστά αποτέλεσμα σύσπασης των μυοϊνοβλαστών.

### 2.1.2.3. *Φάση ωρίμανσης – Remodelling* (έναρξη στις 21 ημέρες – διάρκεια ως 2 έτη) (6)

Το κολλαγόνο ΙΙ αντικαθίσταται από κολλαγόνο Ι και η οργάνωση του κολλαγόνου μειώνει το πάχος της ουλής. Οι γλυκοζαμινογλυκάνες αντικαθίστανται από πρωτεογλυκάνες & υαλουρονικό οξύ. Γίνεται επαναρρόφηση νερού από την ουλή. Η αντοχή στην τάση είναι η μέγιστη τάση που δεν προκαλεί τη διάσπαση του τραύματος ανά μονάδα επιφανείας. Η μέγιστη αντοχή στην τάση ενός τραύματος καταγράφεται 60 ημέρες μετά τον τραυματισμό. Ένα επουλωμένο τραύμα φθάνει περίπου το 80% της αντοχής στην τάση του ακέραιου ιστού.

## 2.2. ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΙΔΡΟΥΝ ΣΤΗΝ ΕΠΟΥΛΩΣΗ

### 2.2.1. Τοπικοί

#### 2.2.1.1. Θερμοκρασία

Έχει επίπτωση σε επίπεδο αιματικής παροχής τοπικά και στην εξαγγείωση λεμφοκυττάρων. Με βάση τα δεδομένα *in vitro* έρευνας που ασχολήθηκε με το κατά πόσο η θερμότητα επιδρά στην ταχύτητα πραγματοποίησης των χημικών αντιδράσεων, καταδεικνύεται ότι η υποθερμία δρα ενισχυτικά στην πολυμορφική χημειοταξία, τη φαγοκυττάρωση και τον πολλαπλασιασμό των ινοβλαστών. (7) Σε επίπεδο φυσιολογίας, η υψηλότερη θερμοκρασία σε οξείες πληγές δείχνει να βελτιώνει την τοπική παροχή αίματος στο χόριο, να αυξάνει την υποδερμική πίεση οξυγόνου και ως εκ τούτου να καθιστά θετικές τις συνθήκες για την επούλωση της πληγής. (8)

#### 2.2.1.2. Επιμόλυνση

Καθώς η επιδερμίδα έχει υποστεί φθορά λόγω τραύματος, οι μικροοργανισμοί που εγκλωβίζονται στην επιφάνεια αποκτούν πρόσβαση στους υποκείμενους ιστούς. Η κατάσταση μόλυνσης και διάδοσης των μικροοργανισμών είναι αυτή που θα καθορίσει τον τοπικό ή επεμβατικό χαρακτήρα της επιμόλυνσης. (9) Η επιμόλυνση αφορά στην εμφάνιση μη αναπαραγόμενων μικροβίων στην πληγή, ενώ αν πρόκειται για παρουσία αναπαραγόμενων μικροβίων, τότε γίνεται λόγος για αποικισμό. (1)

### 2.2.1.3. Οξυγόνωση

Το οξυγόνο ασκεί σημαντικό ρόλο σχεδόν σε όλες τις διαδικασίες επούλωσης, καθώς και στο μεταβολισμό των κυττάρων. Διευκολύνει τη συστολή της πληγής, συμβάλλει στην αποφυγή πρόκλησης φλεγμονής, προκαλεί αγγειογένεση, αυξάνει τη διαφοροποίηση κερατινοκυττάρων, τη μετανάστευση αυτών και την επανεπιθηλιοποίηση. (10) Η επούλωση πυροδοτείται από την προσωρινή υποξία μετά το ατύχημα, αλλά παρατεταμένη ή χρόνια υποξία καθυστερεί την επούλωση. (11)

## 2.2.2. Συστημικοί

### 2.2.2.1. Ηλικία

Όσο μεγαλύτερη η ηλικία του ατόμου, τόσο αυξάνεται το ρίσκο για υπέρμετρη επούλωση. Κατά την εμβρυϊκή επούλωση πραγματοποιείται ανάπλαση της νευροαγγειακής και δερματικής αρχιτεκτονικής. Η πιθανότητα παραγωγής ουλών εμφανίζεται αυξημένη στην επιδερμίδα των εμβρύων, συγκρινόμενη με αυτή στους ενήλικες, ενώ επίσης, φαίνεται στις εμβρυϊκές πληγές να εμπλέκονται λιγότερα κύτταρα φλεγμονής συγκριτικά με τους ενήλικες. (12)

### 2.2.2.2. Διαβήτης

Πρόκειται για πολυπαραγοντική διαταραχή του μεταβολισμού, την οποία εκδηλώνουν κοντά στα 340 εκατομμύρια άνθρωποι σε παγκόσμιο επίπεδο και το 20% αυτών των περιστατικών αναπτύσσει διαβητικό έλκος στα κάτω άκρα. Προηγούμενες μελέτες αναφέρουν ότι αυξημένα ποσοστά γλυκόζης οδηγούν στην παραγωγή προϊόντων AGEs (Advanced Glycation End Products) κι αυτό εμποδίζει την επούλωση, καθυστερώντας τα στάδια φλεγμονής και πολλαπλασιασμού της επουλωτικής διαδικασίας. (13)

### 2.2.2.3. Ορμόνες φύλου

Στις γυναίκες ο υποδόριος ιστός εμφανίζεται παχύτερος, ενώ οι άνδρες παρουσιάζουν μεγαλύτερο πάχος στην επιδερμίδα, καθώς και υψηλότερη πυκνότητα κολλαγόνου. Με βάση κλινική μελέτη που πραγματοποιήθηκε, το ανδρικό φύλο παρουσιάζει διαφορές στην απόκριση και φαίνεται να απαιτείται μεγαλύτερο χρονικό διάστημα για την αποκατάσταση σοβαρών τραυματισμών, συγκριτικά με το γυναικείο φύλο. Το γεγονός αυτό υποδηλώνει ότι ο διαφορετικός ρυθμός επούλωσης μπορεί να εξαρτάται και από το είδος του ιστού. (14)

#### 2.2.2.4. Γενετικός παράγοντας

Ορισμένες κληρονομικές διαταραχές, όπως το σύνδρομο Down, έχουν αναφερθεί ότι συμβάλλουν σε μη φυσιολογική και καθυστερημένη επούλωση. (15) Η χρωμοσωμική ανωμαλία γνωστή ως σύνδρομο Klinefelter, που χαρακτηρίζεται από την παρουσία ενός επιπλέον X χρωμοσώματος, φαίνεται να παρουσιάζει μεγαλύτερη συχνότητα εμφάνισης κιρσών και θρομβώσεων, όπως και φλεβικών ελκών, ως συνέπεια μετα-θρομβωτικού συνδρόμου, πυροδοτούμενου από υψηλά επίπεδα αναστολέα ινωδόλυσης PAI-1 κι ως εκ τούτου περιορισμένη ινωδόλυση. (16)

#### 2.2.2.5. Αυτοάνοσα νοσήματα

Οι ασθενείς με αυτοάνοσα νοσήματα χρειάζονται μεγαλύτερο χρόνο για επούλωση τραυμάτων σε σχέση με τον υγιή πληθυσμό. Για παράδειγμα, η ρευματοειδής αρθρίτιδα (P.A.) φαίνεται να δημιουργεί προδιάθεση στους ασθενείς για την κατ' εξακολούθηση εκδήλωση ελκών στα κάτω άκρα. Στη P.A., η εμφάνιση ελκών άκρου ποδός αποτελεί συχνό φαινόμενο και όσο αυξάνει ο χρόνος που απαιτείται για την επούλωσή τους, τόσο μεγαλύτερος γίνεται ο κίνδυνος για επιμόλυνση. (17)

## 2.3. ΦΥΣΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΠΟΥΛΩΣΗ ΤΟΥ ΔΕΡΜΑΤΟΣ

Η δερματική επούλωση είναι μια σύνθετη διαδικασία και η διακοπή της μπορεί να οδηγήσει σε σημαντική νοσηρότητα, όπως χρόνιες πληγές, μόλυνση και σχηματισμό ουλών. Προϊόντα φυσικής προέλευσης έχουν χρησιμοποιηθεί για τις αντιοξειδωτικές, αντιφλεγμονώδεις, αντιακές και αναπλαστικές τους ιδιότητες στην αποκατάσταση πληγών. Εκχυλίσματα φυτών, αλλά και ουσίες φυτικής προέλευσης περιέχουν συστατικά που ενισχύουν την επανεπιθηλιοποίηση και την παραγωγή κολλαγόνου, συμβάλλοντας έτσι στην επούλωση. (18)

Παραδείγματα τέτοιων ουσιών που δρουν επουλωτικά αποτελούν τα ακόλουθα:

- Aloe Vera (*Aloe Barbadensis* Mill., οικ. *Asphodelaceae*):

Χρησιμοποιείται το gel από το εσωτερικό των φύλλων του φυτού, με ποικιλία αντιμικροβιακών και αντιφλεγμονωδών στοιχείων που διεγείρουν την απελευθέρωση πλήθους αυξητικών παραγόντων. Δρα στην επούλωση σοβαρών χειρουργικών τομών, εγκαυμάτων, καθώς και σε έλκη από πίεση. Σε μελέτες που

πραγματοποιήθηκαν (19), δεν αναφέρθηκαν ανεπιθύμητες ενέργειες από τοπική χρήση Aloe Vera.

○ Banana leaf (*Musa acuminata*, οικ. *Musaceae*):

Ως επιθέματα πληγών για εγκαύματα. Παρουσίασαν μεγαλύτερο ποσοστό επανεπιθηλίωσης σε σχέση με γάζες βαζελίνης. (20, 21) Δεν έχουν αναφερθεί περιστατικά αλλεργικών ή ερεθιστικών αντιδράσεων.

○ Tree barks:

Είναι πλούσια σε συστατικά με αντιμικροβιακή, αντιφλεγμονώδη και στυπτική δράση, όπως φυτικές πολυφαινόλες και ταννίνες. Υδατικό εκχύλισμα από *Choerospondias axillaris* αποδείχθηκε ότι επιταχύνει τη σύγκλιση πληγών και μειώνει την πιθανότητα επιμόλυνσης, σε σύγκριση με γάζες με φυσιολογικό ορό. Υδατικό εκχύλισμα *Rhizophora mangle* αποδείχθηκε ότι βελτιώνει το χρόνο επούλωσης σοβαρών χειρουργικών τομών και αφθωδών ελκών, χωρίς επιμόλυνση. (22, 23)

○ Πρόπολη:

Οι μέλισσες τη χρησιμοποιούν για τη συγκολλητική της ιδιότητα, ενώ διαθέτει αντιοξειδωτική και αντιφλεγμονώδη δράση. Αποδείχθηκε καλύτερη στη σύγκλιση πληγών σε σχέση με σουλφαδιαζίνη αργύρου. (24)

○ Μέλι:

Φέρει ποικιλία σε αντιφλεγμονώδεις, αντιοξειδωτικές, αντιμικροβιακές, ωσμωτικές ιδιότητες και χρησιμοποιείται σε εγκαύματα, πληγές και έλκη από την αρχαιότητα. Συγκεκριμένα, το μέλι manuka παρουσιάζει ισχυρή δράση κατά του ανθεκτικού σε μεθισιλίνη *S. aureus* (MRSA) και του ανθεκτικού σε βανκομυκίνη εντερόκοκκου. (25) Έχει χρησιμοποιηθεί εγκεκριμένο από τον FDA εμπορικό σκεύασμα με μέλι manuka (MEDIHONEY®) ως το πρώτο φυσικής προέλευσης προϊόν που έχει εγκριθεί για επούλωση πληγών.



### 3. ΚΑΛΛΥΝΤΙΚΑ ΜΕ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΘΑΛΑΣΣΙΑΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ

Με βάση τον κανονισμό EC N° 1223/2009, ως καλλυντικά ορίζονται προϊόντα των οποίων η εφαρμογή γίνεται στα εξωτερικά μέρη του σώματος, όπως η επιδερμίδα, τα μαλλιά, τα νύχια, τα χείλη και τα εξωτερικά γεννητικά όργανα, καθώς επίσης στα δόντια και στο βλεννογόνο της στοματικής κοιλότητας, με αποκλειστικό και κύριο στόχο τον καθαρισμό, τον αρωματισμό, την προστασία ή αλλαγή στην εμφάνιση, τη διόρθωση σωματικών οσμών ή τη διατήρηση σε καλή κατάσταση. (26)

Ως φάρμακο ορίζεται κάθε ουσία ή συνδυασμός ουσιών που χαρακτηρίζεται ως έχουσα θεραπευτικές ή προληπτικές ιδιότητες έναντι ασθενειών ανθρώπων ή κάθε ουσία ή συνδυασμός ουσιών, δυνάμενη να χρησιμοποιηθεί ή να χορηγηθεί σε άνθρωπο με σκοπό είτε να αποκατασταθούν, να διορθωθούν ή να τροποποιηθούν φυσιολογικές λειτουργίες με την άσκηση φαρμακολογικής, ανοσολογικής ή μεταβολικής δράσης είτε να γίνει ιατρική διάγνωση. (26)

Τις τελευταίες δεκαετίες έχει αναπτυχθεί η έννοια των δερμοκαλλυντικών (cosmeceuticals). Πρόκειται για προϊόντα που ανήκουν στη γκριζα ζώνη ανάμεσα στα καλλυντικά και στα φάρμακα-μη φάρμακα. Πιο συγκεκριμένα, έχουν τοπική δράση, επικουρική σε πολλές φαρμακευτικές αγωγές, συνδυάζουν μια ιδιότητα καλλυντικού προϊόντος με μια δερματολογική δράση, και τα περιεχόμενα σε αυτά ενεργά συστατικά πιθανόν τροποποιούν τις βιοχημικές διαδικασίες του δέρματος, με κύριο στόχο τη βελτίωση ή συντήρηση των κλινικών σημείων μιας κατάστασης που μπορεί να θεωρηθεί ως «πάθηση-μη πάθηση». (27)

Ως ιατροτεχνολογικό προϊόν ορίζεται κάθε όργανο, εξοπλισμός, υλικό ή άλλο είδος, το οποίο χρησιμοποιείται μόνο ή σε συνδυασμό και προορίζεται από τον κατασκευαστή του να χρησιμοποιείται στον άνθρωπο για διάφορους σκοπούς μέσα στους οποίους και η διάγνωση, παρακολούθηση, θεραπεία, ανακούφιση ή επανόρθωση τραύματος (Κανονισμός ΕΟΦ). (28) Κάποια από τα υλικά που θα αναλυθούν στην παρούσα εργασία αξιώνουν τέτοιες ιδιότητες και συνεπώς ανήκουν στην κατηγορία των ιατροτεχνολογικών προϊόντων.

Μία νεότερη τάση στα δερμοκαλλυντικά αποτελεί η αναζήτηση συστατικών από το θαλάσσιο περιβάλλον, λόγω των μοναδικών χημικών και βιολογικών ιδιοτήτων τους. Τα συστατικά θαλάσσιας προέλευσης δεν βρίσκουν το ρόλο τους μόνο ως

πηκτωματοποιητές και ρυθμιστές ιξώδους (καρραγεννάνες, άγαρ), αλλά και ως ενεργά συστατικά με ποικιλία δράσεων, μεταξύ των οποίων συγκαταλέγονται οι παρακάτω (26):

- Προαγωγή ενυδάτωσης (εκτοΐνη)
- Αντιμικροβιακή προστασία – Συντήρηση καλλυντικών προϊόντων (trichodin A)
- Χρήση ως χρωστικές (mytiloxanthin)
- Χρήση κατά της τυροσινάσης (κοχικό οξύ)
- Χρήση κατά της ακμής (sargafuran)
- Χρήση ως λευκαντικοί παράγοντες (chrysophanol)
- Προστασία από την υπεριώδη ηλιακή ακτινοβολία (scytonemin, mycosporine-like amino acids -MAAs-)
- Χρήση ως αντιοξειδωτικά & αντιρυτιδικά (ασταξανθίνη, PUFAs)

Στην παρούσα εργασία περιγράφονται οι φυσικοχημικές ιδιότητες και η μελέτη βιολογικής δράσης συστατικών με επουλωτικές και δερματοκοσμητικές ιδιότητες που ενσωματώνονται σε καλλυντικά και ιατροτεχνολογικά προϊόντα.

### **3.1. ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΘΑΛΑΣΣΙΑΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ**

Οι φυσικής προέλευσης δραστικές ουσίες των δερμοκαλλυντικών περιλαμβάνουν βιταμίνες, μέταλλα, ιχνοστοιχεία, φυτοχημικά συστατικά και ένζυμα με τα οποία συντίθενται προϊόντα διάφορων καλλυντικοτεχνικών μορφών, όπως κρέμες, λοσιόν και αλοιφές. Παρουσιάζουν πληθώρα ωφέλιμων χαρακτηριστικών για την υγεία της επιδερμίδας, των μαλλιών, των νυχιών, αλλά και σε κυτταρικό επίπεδο. Ωστόσο, εμφανίζουν και κάποιους περιορισμούς που έχουν να κάνουν με το χρόνο που απαιτείται για την καλλιέργειά των φυτών, αλλά και τη χημική σύσταση του εδάφους, η οποία διαφέρει ανά εποχή και περιοχή, με αποτέλεσμα τα φυτά να μην ευδοκιμούν πάντα και παντού. (29) Αντιθέτως, οι φυτικοί και ζωικοί οργανισμοί, καθώς και οι μικροοργανισμοί της θάλασσας, εμφανίζουν ταχύτατη και πλούσια ανάπτυξη, με υψηλή οικονομική απόδοση, ενώ παράλληλα παράγουν χημικά μόρια που δεν συναντώνται στα χερσαία περιβάλλοντα. Από οργανισμούς, όπως τα μακροφύκη και τα μικροφύκη, έχουν απομονωθεί βιοενεργά συστατικά, κατάλληλα για χρήση στην Κοσμητολογία π.χ. βιταμίνες και μέταλλα, με δράση υπέρ της αντιγήρανσης, καθώς και φλοροταννίνες, πολυσακχαρίτες, καροτενοειδή και άλλες χρωστικές, παράγωγα χιτο-ολιγοσακχαριτών



(COS), ένζυμα και πεπτίδια. (Corinaldesi et al., 2017) Ωστόσο, εγείρεται ανησυχία από την αυξανόμενη εξόρυξη συστατικών θαλάσσιας προέλευσης και τη χρήση μη βιώσιμων μεθόδων για απομόνωση αυτών, με συνέπεια την περαιτέρω αναστάτωση της βιωσιμότητας των υδάτινων οικοσυστημάτων. (29)

### **3.2. ΕΠΟΥΛΩΣΗ ΠΛΗΓΩΝ & ΑΝΤΙΦΛΕΓΜΟΝΩΔΗΣ ΔΡΑΣΗ**

Η επούλωση πληγών, όπως είδαμε παραπάνω, αποτελεί μια σύνθετη διαδικασία ανάπλασης 3 φάσεων και η επιτυχής ολοκλήρωση αυτών οδηγεί στην ομαλή αποκατάσταση του πληγωμένου ιστού, ενώ οποιαδήποτε διακοπή της φυσιολογικής ροής αυτών των διαδικασιών ενδέχεται να οδηγήσει σε καθυστερημένη ή ακόμα και ανεπιτυχή επούλωση. Στην πλειοψηφία τους οι συμβατικές θεραπείες για την αντιμετώπιση τραυμάτων στο δέρμα περιλαμβάνουν τη χρήση μη στεροειδών αντιφλεγμονωδών φαρμάκων (ΜΣΑΦ), ανοσοτροποποιητικών και τοπικών κορτικοστεροειδών, στοχεύοντας στον περιορισμό της φλεγμονής. (30) Ωστόσο, οι συγκεκριμένες φαρμακευτικές αγωγές είναι δυνατό να προκαλέσουν αρνητική επίδραση στην επούλωση, καθώς και να παρουσιάσουν ανεπιθύμητες ενέργειες, όπως ατροφία, οστεοπόρωση, παχυσαρκία και γλαύκωμα. (31)

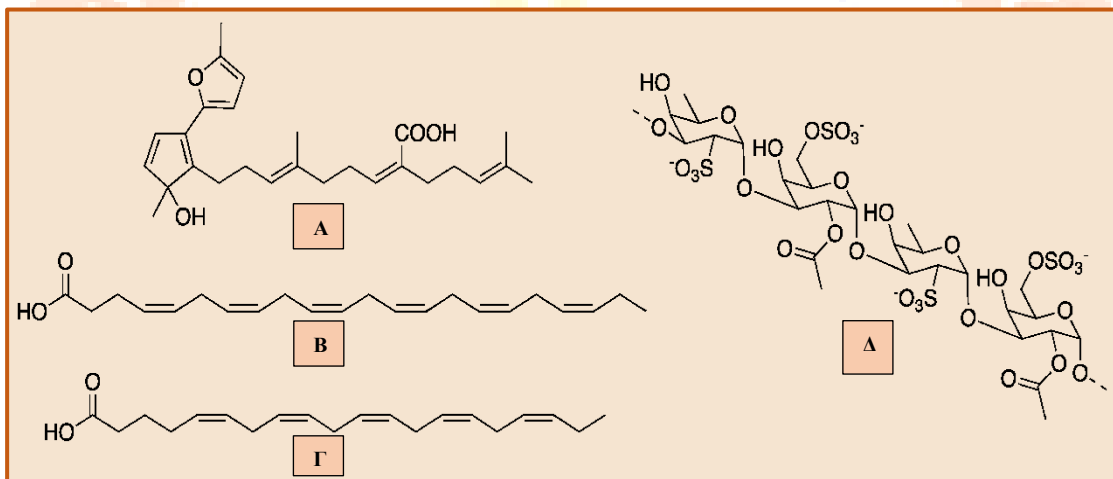
## 4. ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ ΚΑΙ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ ΘΑΛΑΣΣΙΑΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ

### 4.1. ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΑΠΟ ΘΑΛΑΣΣΙΑ ΑΓΓΟΥΡΙΑ

Τα θαλάσσια αγγούρια, γνωστά ως trepang (Ινδονησία), beche-de-mer (Γαλλία) και gamat (Ιταλία) είναι θαλάσσια ασπόνδυλα, ανήκουν στην ομοταξία «Ολοθουροειδή» και ανευρίσκονται στο βυθό των θαλασσών σε όλο τον κόσμο. Έχουν υψηλή εμπορική αξία και χρησιμοποιούνται τόσο ως διατροφικό στοιχείο στην κουλτούρα της Ασίας όσο και ως πολύ δημοφιλές μέσο στην παραδοσιακή ιατρική, με δυνατότητα να ανακουφίσουν την υπέρταση, τη δυσφορία, το άσθμα, την υπεργλυκαιμία και να συμβάλλουν στην επούλωση τραυμάτων. (32) Τα θαλάσσια αγγούρια είναι πλούσια σε χημικές ενώσεις με βιολογική δράση, όπως σαπωνίνες, χονδροϊτίνη,θειικά άλατα, κολλαγόνο, βιταμίνες, αμινοξέα, φαινόλες, τριτερπενικούς γλυκοσίδες, καροτενοειδή, βιοενεργά πεπτίδια, ιχνοστοιχεία, λιπαρά οξέα και ζελατίνη. (33) Παρουσιάζουν δράση αντικαρκινική, αντιοξειδωτική, αντιμικροβιακή, αντιπηκτική, νευροπροστατευτική, οι επουλωτικές δε ιδιότητές τους υπερτερούν έναντι των υπόλοιπων οργανισμών θαλάσσιας προέλευσης. (33-36) Στα εκχυλίσματα θαλάσσιων αγγουριών εμφανίζεται υψηλή περιεκτικότητα σε βιταμίνες Α και βιταμίνες του συμπλέγματος Β (B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub>), καθώς και σημαντικά ποσά μετάλλων (ασβέστιο, μαγνήσιο, σίδηρος, ψευδάργυρος, σελήνιο, γερμάνιο, στρόδιο, χαλκός, μαγγάνιο). Αυτά τα συστατικά είναι ευκόλως απορροφήσιμα, παρέχουν ενυδάτωση και ταυτόχρονα διεγείρουν την ανανέωση των κατεστραμμένων επιδερμικών κυττάρων. (37) Αναφορές στη βιβλιογραφία επισημαίνουν ότι τα θαλάσσια αγγούρια περιέχουν υψηλά ποσά κολλαγόνου σχετικά ασφαλέστερου σε σύγκριση με κολλαγόνο ζωικής προέλευσης, καθώς και ποσότητα μυκοπολυσακχαριτών. (38, 39) Περίπου το 70% των αδιάλυτων ινών κολλαγόνου που συναντώνται στο σώμα των θαλάσσιων αγγουριών αποτελούν συστατικό των πρωτεϊνών αυτών των οργανισμών και μπορούν να υποστούν πηκτωματοποίηση, αν υδρολυθούν. Η διαδικασία της επούλωσης μπορεί να ενισχυθεί από ορισμένους βιοδραστικούς μεταβολίτες που συμβάλλουν στην επανόρθωση των ιστών. Γλυκοζάμινογλυκάνες (GAGs) στον ιστό περιβλήματος των *Stichopus vastus* και *Stichopus hermanni* έχει αναφερθεί πως ασκούν επουλωτική δράση σε αρουραίους (34, 40) Από τα θαλάσσια αγγούρια, το *S. hermanni*, κοινώς γνωστό και ως “gamat emas”, χρησιμοποιείται στην παραδοσιακή ιατρική για πληθώρα παθήσεων, συμπεριλαμβανομένης και της επούλωσης πληγών. (27) *In vivo* μελέτες σε ζώα δείχνουν

ότι, στις πληγές που χρησιμοποιήθηκαν εκχυλίσματα θαλάσσιων αγγουριών, η επούλωση ήταν καλύτερη και αμεσότερη. Η τοπική εφαρμογή αυτών των εκχυλισμάτων σε πληγές που προκλήθηκαν σε ζώα φαίνεται να επιταχύνει το ρυθμό συστολής του τραύματος, γεγονός υψίστης σημασίας για τις φάσεις της επούλωσης. (27) Επιπλέον, μία μελέτη έδειξε ότι η χρήση υδροπηκτώματος βασισμένου στο *S. hermanni* ως επίθεμα πληγών στη διαχείριση εγκαυμάτων, οδήγησε σε σημαντική συστολή του τραύματος τις μέρες 21 και 28 μετά το έγκαυμα, ενώ αντίθετα δεν διαπιστώθηκαν σημαντικές διαφορές τις μέρες 7 και 14 μετά το έγκαυμα. (41) Αυτό το αποτέλεσμα πιθανόν να οφείλεται στην ικανότητα του συγκεκριμένου επιθέματος πληγής να διατηρεί τα ενεργά συστατικά και να καθυστερεί την απελευθέρωσή τους στην τραυματισμένη επιδερμίδα, λειτουργώντας έτσι σε επόμενο στάδιο της διαδικασίας επούλωσης. Το εν λόγω επίθεμα πλεονεκτεί ως προς την ικανότητα να διατηρεί ακινητοποιημένα τα βιοενεργά συστατικά στη μήτρα του υδροπηκτώματος για περισσότερο χρόνο, εξασφαλίζοντας ελεγχόμενη και παρατεταμένη αποδέσμευση. Αυτό το γεγονός θα μπορούσε να επιφέρει ενίσχυση στη δράση του ενσωματωμένου εκχυλίσματος, ενόσω πραγματοποιείται η επανόρθωση του ιστού και συνεπώς, η επιτυχής αλληλεπίδραση του επιθέματος με το τραύμα να φέρει θετικό αποτέλεσμα στην επούλωση σε μεταγενέστερο στάδιο. (41) Ένα άλλο είδος θαλάσσιου αγγουριού, το *S. chloronotus*, φάνηκε να δρα στα αρχικά στάδια της επούλωσης. (36) Η αντιοξειδωτική δράση του υδατικού εκχυλίσματος έδειξε να είναι κατά 80% υψηλότερη του αντίστοιχου οργανικού. (27) Λαμβάνοντας υπόψη ότι η υπερβολική παρουσία ελευθέρων ριζών έχει συσχετιστεί με προβληματική επούλωση, η εξουδετέρωσή τους από τα παρόντα αντιοξειδωτικά στο υδατικό εκχύλισμα, συμβάλλει στην ομαλή επουλωτική διαδικασία. Επιπλέον, η ανάλυση της σύνθεσης των λιπαρών οξέων έδειξε ότι το υδατικό εκχύλισμα περιέχει υψηλότερο ποσό εικοσιδιεξανοϊκού οξέος (DHA) (Σχήμα 1, -B-) συγκριτικά με το οργανικό εκχύλισμα. (27) Υπήρξε η υπόθεση ότι το DHA μπορεί να κινητοποιήσει την παραγωγή κυτοκινών φλεγμονής στις τραυματισμένες περιοχές, βοηθώντας στον έλεγχο της μόλυνσης και προετοιμάζοντας τον ιστό για περαιτέρω επανόρθωση. Αυτό πραγματοποιείται μέσω ενίσχυσης της φαγοκυττάρωσης, επαγωγής της μετανάστευσης κερατινοκυττάρων στα άκρα των πληγών, αύξησης της χημειοταξίας ινοπλαστών και του πολλαπλασιασμού τους, προκαλώντας κατακερματισμό των ECM πρωτεϊνών και ρυθμίζοντας την απελευθέρωση άλλων κυτοκινών και αυξητικών παραγόντων. (27) Εκτός από το DHA και το EPA (εικοσαπεντανοϊκό οξύ) (Σχήμα 1 -Γ-), τα κύρια λιπαρά οξέα στα θαλάσσια αγγούρια παρεμβαίνουν επίσης στη διαδικασία φλεγμονής, επάγοντας την παραγωγή ρεσολβινών

(resolvines), που εμποδίζουν την παραγωγή IL-1β και προτεκτινών (protectines), που εμποδίζουν την παραγωγή IL-1β και TNF-α, μέσω των οδών των COX-2 και 5-LOX. (27) Με βάση μελέτες που πραγματοποιήθηκαν και σε άλλα είδη αγγουριών, ενισχύθηκε η θέση ότι το υδατικό εκχύλισμα παρουσιάζει μεγαλύτερη επουλωτική ικανότητα σε σχέση με το αντίστοιχο οργανικό. Επιπροσθέτως, μελετήθηκε το αντιφλεγμονώδες αποτέλεσμα των θαλάσσιων αγγουριών με την ενσωμάτωση εκχυλίσματός τους σε βάση πηκτώματος Carborol® και την τοπική εφαρμογή τους σε ασθενείς με διαβητικά έλκη ποδιού για 12 εβδομάδες. Τα επίπεδα TNF-α φάνηκαν να παρουσιάζουν σημαντική διαφορά ανάμεσα στην αρχή και στις εβδομάδες 8, 10 και 12. (42) Θεωρήθηκε ότι οι περιεχόμενες σαπωνίνες στο εκχύλισμα θαλάσσιων αγγουριών είναι πιθανό να ευθύνονται για την πρόληψη της επαγόμενης από λιποπολυσακχαρίτες παραγωγής του TNF-α από τον μεταγραφικό παράγοντα NF-kB, ο οποίος εμπλέκεται στη μεταγραφή πολλών γονιδίων που συμμετέχουν στη διαδικασία φλεγμονής. (43, 44)



Σχήμα 1. Δομές σαργκαφουράνης (Α), εικοσιδιεξαενοϊκού οξέος (Β), εικοσιπεντανοϊκού οξέος (Γ) και φουκοϊδάνης (Δ)

#### 4.1.1. Σταθερότητα συστατικών θαλάσσιων αγγουριών

Η θερμική κατεργασία επιδρά σημαντικά στην περιεχόμενη υγρασία των θαλάσσιων αγγουριών. (Wang *et al.*, 2020) Εκτός αυτού, το περιεχόμενο κολλαγόνο μειώνεται κατά την έκθεση σε θερμότητα, ενώ η επεξεργασία σε χαμηλή θερμοκρασία πυροδοτεί ενδοενζυμικές δραστηριότητες, οδηγώντας σε μετατροπή των ινών κολλαγόνου σε σπείρες. (Bi *et al.*, 2016). Κατά την αποθήκευση θαλάσσιων αγγουριών

πραγματοποιείται ακόμα μεγαλύτερη αλλοίωση του κολλαγόνου, που οφείλεται σε οξειδωση και μη ενζυμικό «μαλάκωμα». (Liu et al., 2020, 2021) Επιπλέον, η έκθεση σε θέρμανση επιδρά αρνητικά στους πολυσακχαρίτες και σε μεταλλικά στοιχεία των θαλάσσιων αγγουριών. (45)

#### **4.1.2. Επεξεργασία με υπέρηχους**

Οι υπέρηχοι αποτελούν μια μέθοδο επεξεργασίας ασφαλή, περιβαλλοντικά φιλική, με υψηλή αποτελεσματικότητα και χωρίς την εμφάνιση τοξικών φυσικών αποτελεσμάτων και γι' αυτό χρησιμοποιούνται ευρέως για τη βελτίωση των φυσικοχημικών ιδιοτήτων των πρωτεϊνών. (Zhang et al., 2020; Zhang, Zhao, Lai, Chen, & Yang, 2018)

Οι υπέρηχοι προκαλούν ένα θερμικό και μηχανικό αποτέλεσμα που ονομάζεται σπηλαιώση και ως εκ τούτου καταστρέφονται οι χημικοί δεσμοί (δεσμοί υδρογόνου, ιονικοί δεσμοί, υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις, κλπ.) που είναι υπεύθυνοι για τη διατήρηση της διαμόρφωσης στα μόρια των πρωτεϊνών. Συνέπεια αυτού είναι να χαλαρώνει και να υφίσταται διάταξη η δομή των σπειροειδών πρωτεϊνών. (Sun, Zhang, Zhang, Tian, & Chen, 2020; Wang et al., 2019) (46) Όταν η πρωτεΐνη ξεδιπλώνει, αποκαλύπτονται καινούρια τμήματα ενζυμικών περιοχών, τα οποία αυξάνουν την πιθανότητα επαφής ανάμεσα στο υπόστρωμα και το ένζυμο με αποτέλεσμα την προαγωγή της ενζυμόλυσης και τη βελτίωση στη χρήση της πρωτεΐνης. (Wang et al., 2015; Yang, Li, Li, Oladejo, Ruan, et al., 2017) (46) Αυτό το είδος επεξεργασίας μπορεί να αλλάξει τη δομή πρωτεϊνών στο θαλάσσιο αγγούρι gonad, καθώς και να οδηγήσει στην προώθηση της δομικής αναδίπλωσης, με αύξηση της ισχύος υπερήχου. Η δομή της πλάγιας αλυσίδας επεκτείνεται στο μέγιστο βαθμό, με ισχύ 200 W, με παράλληλη καταστροφή των δεσμών υδρογόνου που διατηρούν την κλαστική δευτεροταγή δομή, οπότε απελευθερώνονται περισσότερες περιοχές για ενζυμόλυση και υδρόφοβες ομάδες (υπολείμματα Trp). (46)

#### **4.1.3. Ασφάλεια/Τοξικότητα συστατικών θαλάσσιων αγγουριών**

Έναν πιθανό κίνδυνο που κρύβεται στη χρήση των θαλάσσιων αγγουριών αποτελεί η παρουσία μικροσκοπικών πλαστικών σωματιδίων μεγέθους 0,1 μm ως 5 mm. Πρόκειται για διαδεδομένους επικίνδυνους ρυπαντές, με κύριο εκπρόσωπο, στα οικοσυστήματα, τις μικροΐνες (MFs). Όπως δείχνουν έρευνες, η είσοδος των MFs στο κολονικό υγρό των θαλάσσιων αγγουριών πραγματοποιείται διαμέσου της αναπνευστικής οδού από το νερό. Ο μηχανισμός τοξικότητας δεν είναι ακόμη γνωστός. Σε μελέτη που πραγματοποιήθηκε

για τη μεταφορά MFs συνθετικού πολυεστέρα, μέσω αναπνευστικής οδού, στο θαλάσσιο αγγούρι *Apostichopus japonicus*, χρησιμοποιήθηκε τεχνική RNA-Seq και τα αποτελέσματα φανέρωσαν ότι οι μικροΐνες προξένησαν μεταβολές στη γονιδιακή έκφραση, όσο η διαδικασία μεταφοράς αυξανόταν. (47)

## 4.2. ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΑΠΟ ΘΑΛΑΣΣΙΑ ΣΦΟΥΓΓΑΡΙΑ

Τα θαλάσσια σφουγγάρια είναι ασπόνδυλοι ζωικοί οργανισμοί, ανήκουν στο φύλο *Porifera* και χαρακτηρίζονται ως τα πιο πρωτόγονα πολυκύτταρα πλάσματα που υπάρχουν εδώ και εκατομμύρια χρόνια στο βυθό του θαλάσσιου οικοσυστήματος. Αποτελούν τεράστια πηγή σύνθεσης νέων βιομορίων, ενώ παρέχουν καταφύγιο για τη διαμονή άλλων οργανισμών και επάγουν πλήθος θαλάσσιων διαδικασιών. (48) Όσον αφορά τους δευτερογενείς μεταβολίτες από θαλάσσια ασπόνδυλα και συγκεκριμένα από θαλάσσια σφουγγάρια, είναι σημαντικό να ληφθεί υπόψη η σχέση αυτών με τους συνδεδεμένους με αυτά μικροοργανισμούς και φυτοπλαγκτόν, καθώς ορισμένοι από τους απομονωμένους βιοενεργούς δευτερογενείς μεταβολίτες θεωρείται ότι παράγονται από λειτουργικές ομάδες ενζύμων, προερχόμενες από τους συνδεδεμένους μικροοργανισμούς. (49) Η σημασία αυτών των μικροοργανισμών είναι ύψιστη, όσον αφορά στη σύνθεση νέων φαρμάκων, δερμοκαλλυντικών και διατροφικών σκευασμάτων, εφόσον συνιστούν ανανεώσιμες πηγές προϊόντων φυσικής προέλευσης. (27, 50) Το γεγονός ότι τα θαλάσσια σφουγγάρια αποτελούν αποθήκες ποικίλων θαλάσσιων μικροοργανισμών διευρύνει τους ορίζοντες για την ανάπτυξη της θαλάσσιας βιοτεχνολογίας. (51) Κάτι τέτοιο γίνεται έκδηλο, καθώς μεγάλη ποικιλία μεταβολιτών με προέλευση από σφουγγάρια εμφανίζουν ομοιότητες με βακτηριακά και μυκητιασικά φυσικά προϊόντα ή συμπεριλαμβάνονται σε κάποια κατηγορία χημικών ενώσεων, προερχόμενη από αυτούς τους μικροοργανισμούς. (52) Ορισμένες αναφορές έχουν επικυρώσει πως κάποιες χημικές ενώσεις, αρχικώς απομονωμένες από εκχυλίσματα θαλάσσιων σφουγγαριών, έχουν στην πραγματικότητα βιοσυντεθεί από μικροοργανισμούς, σχετιζόμενους με σφουγγάρια, εφόσον στο μεσέγχυμα των σφουγγαριών κατοικούν μικρόβια. (52)



#### 4.2.1. Ασφάλεια/Τοξικότητα συστατικών θαλάσσιων σφουγγαριών

Σε αξιολόγηση που πραγματοποιήθηκε στο θαλάσσιο σφουγγάρι *Chondrosia reniformis*, σχετικά με την *in vitro* τοξικότητα, αντιοξειδωτική δραστηριότητα, επουλωτική ικανότητα και φωτοπροστασία των MCHs (Marine Collagen Hydrolysates), διαπιστώθηκε πως τα MCHs δεν παρουσίασαν καμία τοξικότητα, ενώ είχαν υψηλή αντιοξειδωτική δράση με την επαγωγή της εξουδετέρωσης ελευθέρων ριζών, καθώς και δυνατότητα επούλωσης τραυμάτων με την επιτάχυνση της φάσης πολλαπλασιασμού (στάδιο 2 στο μηχανισμό επούλωσης). (53)

### 4.3. ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ ΚΑΙ ΕΠΟΥΛΩΣΗ

#### 4.3.1. Βακτήρια

Πλήθος δευτερογενών μεταβολιτών παραγόμενων από τα θαλάσσια βακτήρια με στόχο τη δική τους άμυνα απέναντι στα αφιλόξενα περιβάλλοντα των ωκεανών αποτελούν μια χρησιμότητα πηγή χημικών ουσιών βιολογικά ενεργών. (54)

Δεν είναι λίγες οι ουσίες με προέλευση από θαλάσσια βακτήρια, οι οποίες χαρακτηρίζονται από ιδιότητες φωτοπροστασίας, αντιγήρανσης, ενυδάτωσης, κατά των μικροβίων και κατά της οξειδωσης, π.χ. αλκαλοειδή, πρωτεΐνες, πεπτίδια, λιπίδια, μυκοσπορίνες, MAAs, γλυκοσίδες και ισοπρενοϊδή. (55)

##### 4.3.1.1 *Micrococcus sp.* στην επούλωση

Μελετήθηκε η επουλωτική ικανότητα των βιοδραστικών μορίων από βακτήρια *Micrococcus sp. OUS9* θαλάσσιας προέλευσης. Παρασκευάστηκε αλοιφή που περιείχε κλάσματα KLUF 10 και KLUF 13 και παρατηρήθηκε η επουλωτική δράση *in vivo* σε μοντέλο τραύματος εκτομής σε αρουραίους με αλφισμό. (56)

Στα πλαίσια του συγκεκριμένου πειράματος, τα κλάσματα KLUF 10 και KLUF 13 χρησιμοποιήθηκαν σε διάφορες περιεκτικότητες από 100 ως 200 mg/kg για την επουλωτική τους ικανότητα. Παρατηρήθηκε σημαντική συστολή του τραύματος στη συγκέντρωση των 200 mg/kg και για τα δύο κλάσματα. Η τοπική εφαρμογή του σκευάσματος ενίσχυσε τη συστολή του τραύματος, συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου των αρουραίων. Συγκεκριμένα, η συστολή ήταν  $298.70 \pm 6.84$  για το KLUF 10 και  $264.02 \pm 6.12$  για το KLUF 13 την 8<sup>η</sup> μέρα. Ωστόσο, έγινε φανερό πως το κλάσμα KLUF 13 εμφάνισε μεγαλύτερο επουλωτικό αποτέλεσμα μετά από 20 μέρες. (56)

Στην αναφερόμενη μελέτη του 2020 έγινε επίσης *in vitro* χρήση κυττάρων L929 κατεργασμένων με 25 µg/mL από κλάσματα KLUF 10 και KLUF 13, τα οποία απομονώθηκαν από βακτήριο *Micrococcus sp. OUS9*, για χρονικό διάστημα 48 ωρών. Ταυτοποιήθηκαν και επικυρώθηκαν με NMR μελέτες οι περιεχόμενοι βιοδραστικοί μεταβολίτες του εκχυλίσματος ως ζεαξανθίνη και 1-(1-(4-μεθοξυφαινυλ)-2-(μεθυλαμινο)αιθυλ)κυκλοεξανόλη. (56) Ακολούθησε η παρατήρηση μετανάστευσης των κυττάρων μετά το πέρας 0, 12, 24 και 48 ωρών, καθώς και του χρόνου που απαιτείται για τη σύγκλιση των πληγών σε μικροσκοπικό επίπεδο. Τα αποτελέσματα κατέδειξαν τη σύγκλιση της πληγής από το κλάσμα KLUF 10 σε ποσοστό 96,29% μέσα σε διάστημα 48 ωρών, ενώ ακολουθεί το κλάσμα KLUF 13 με ποσοστό 94,362%. (56) Σε άλλη έρευνα που πραγματοποιήθηκε το 2019, οι *Shina* και συνεργάτες, επιβεβαίωσαν την πιο άμεση μείωση του ερυθρού χρώματος στην περιοχή του τραύματος, σε σχέση με το τυφλό (control) και την ομάδα που χρησιμοποιούσε αλοιφή φραμυσετίνης (framycetin), ενώ υπέδειξαν την θετική επίδραση στην επουλωτική διαδικασία. (56)

#### 4.3.1.2 Κυανοβακτήρια στην επούλωση

Τα κυανοβακτήρια αποτελούν προκαρυωτικούς φωτοσυνθετικούς οργανισμούς, συχνά αναφερόμενους και ως μικροφύκη (microalgae). Ανευρίσκονται τόσο σε θαλάσσια όσο και σε χερσαία περιβάλλοντα, ενώ διαθέτουν πλήθος βιοτεχνολογικών πλεονεκτημάτων, συγκριτικά με άλλους οργανισμούς (φυτά, μύκητες, βακτήρια), λόγω της μεταβολικής τους πλαστικότητας, η οποία μπορεί να πυροδοτήσει την παραγωγή πολλών χημικών ενώσεων με ποικιλία χρήσεων σε διάφορους τομείς (π.χ. τρόφιμα, ενέργεια, υγεία, βιοϋλικά). (57, 58) Η βιοτεχνολογική συνάφεια των κυανοβακτηρίων ως πηγή χημικών μορίων με βιοϊατρικές εφαρμογές έχει εγείρει το επιστημονικό ενδιαφέρον. Χρωστικές (καροτενοειδή και φυκοβιλίνες), πεπτίδια, λιπαρά οξέα και πολυσακχαρίτες με προέλευση από τα κυανοβακτήρια παρουσιάζουν βιολογική δραστηριότητα με δυνατότητα χρήσης στην παραγωγή φαρμάκων και καλλυντικών (59), καθώς και στην επούλωση πληγών (60), χάρη στις αντιοξειδωτικές, αντιβακτηριακές, αντιαλλεργικές, αναπλαστικές, ανοσοτροποποιητικές και ανοσοδιεγερτικές τους ιδιότητες. (58, 61) Πραγματοποιήθηκε *in vitro* μελέτη σε υδατικό και μεθανολικό εκχύλισμα κυανοβακτηρίων *Balaruc* συγκεντρώσεων 1, 5, 10 και 50 µg/mL για τον καθορισμό των αντιοξειδωτικών, αντιφλεγμονωδών και επουλωτικών ιδιοτήτων.



#### 4.3.1.2.1 Επιδράσεις στην επουλωτική διαδικασία

Τα κύτταρα μεταναστεύουν στα πλαίσια παθολογικών καταστάσεων, όπως είναι οι μεταστάσεις, η αθηροσκλήρωση και η αρθρίτιδα, αλλά και κατά τη διάρκεια φυσιολογικών διαδικασιών, όπως η επούλωση πληγών, όπου πραγματοποιείται μετακίνηση κερατινοκυττάρων, ή η φλεγμονώδης απόκριση και οι ανοσοποιητικές λειτουργίες, όπου παρατηρείται μετακίνηση λευκοκυττάρων. (62) Φαίνεται να επάγεται σε ένα βαθμό η μετανάστευση κερατινοκυττάρων της κυτταρικής σειράς HaCaT από το εκχύλισμα *Aliinostoc sp. PMC 882.14*. Πλήθος εκχυλισμάτων από κυανοβακτήρια έχουν μελετηθεί τα τελευταία χρόνια ως προς την ικανότητά τους για επούλωση πληγών (63, 64), αλλά ο μηχανισμός δράσης για τις περισσότερες χημικές ενώσεις παραμένει ασαφής. Το υδατικό εκχύλισμα του *Aliinostoc sp. PMC 882.14* παρουσίασε επουλωτικό αποτέλεσμα, χωρίς ωστόσο να επάγεται έκκριση του Π-6. Υποθέτουμε ότι ο μηχανισμός δράσης διαφέρει από τη διαδικασία που παρατηρείται στο *Synechococcus elongatus PMC 7942* (65), αλλά ίσως να προσομοιάζει με το μονοπάτι δράσης του δεσφιπεπτιδίου Apratyramide, καθώς προκαλεί την έκκριση αυξητικού παράγοντα. (66)

#### 4.3.1.2.2 Ασφάλεια/Τοξικότητα κυανοβακτηρίων

Ερευνήθηκε η πιθανή κυτταροτοξικότητα των εκχυλισμάτων σε κυτταρική σειρά HaCaT (RAW 264.7) και σε ανθρώπινα PBMCs (Peripheral Blood Mononuclear Cells). Στους δύο τύπους κυττάρων δεν εμφανίστηκε καμία τοξικότητα, ωστόσο στην περισσότερο ευαίσθητη κυτταρική σειρά ποντικών RAW 264.7, έγινε φανερή μία μικρή απώλεια βιωσιμότητας, με τη χρήση ορισμένων εκχυλισμάτων. Συνολικά, καμία κυανοτοξίνη (μικροκυστίνη, ανατοξίνη, σαξιτοξίνη, κυλινδροσπερμοψίνη, νοντουλαρίνη) δεν ταυτοποιήθηκε στα ακατέργαστα εκχυλίσματα και καμία κυανοτοξίνη BGC δεν ανευρέθηκε στα 9 συγκροτήματα γονιδιώματος, υποδηλώνοντας ότι δεν παρουσιάζουν κίνδυνο τοξικότητας και είναι κατάλληλα για θεραπευτικούς σκοπούς. (62)

### 4.3.2 Παράσιτα

#### 4.3.2.1 *Ceratothoa oestroides* στην επούλωση

Το ισόποδο *Ceratothoa oestroides* είναι ένα πρωτανδρικό ερμαφρόδιτο παράσιτο, πρωτίστως ευρισκόμενο στη στοματική κοιλότητα στο λαβράκι *Dicentrarchus labrax* και στην τσιπούρα *Sparus aurata*, προκαλώντας σοβαρές βλάβες και συχνά οδηγώντας στο θάνατο τους οργανισμούς-ξενιστές, ιδίως τα νεαρά ψάρια. Ένα ελαιώδες εκχύλισμα του

*C. oestroides* έδειξε πρόσφατα σημαντική ικανότητα επούλωσης *in vivo*. (67) Οι ερευνητές *Evgenia Sofrona* και συνεργάτες, έδειξαν ότι η πλήρης αποκατάσταση του τραύματος και η επαναφορά της επιδερμίδας σχεδόν στη φυσική της αρχιτεκτονική, χωρίς την παρουσία φλεγμονωδών παραγόντων, συνιστά αποτέλεσμα της τοπικής εφαρμογής του βιοενεργού κλάσματος με αλληλουχία χωριστής πολικότητας (οργανικού και υδατικού) εκχύλισματος του *C. oestroides* σε πληγές ποντικών. (68) Επιπλέον, οι ερευνητές *Meimetí* και συνεργάτες, παρατηρώντας την κλινική εξέταση, την περιοχή με έλκος, τη διαδερμική απώλεια ύδατος (TEWL) και την επιδερμική ενυδάτωση, αντιλήφθηκαν επούλωτικές ιδιότητες, που έγιναν φανερές μετά από 45 μέρες φροντίδας και αυτό το γεγονός οδήγησε σε πλήρη επούλωση στους περισσότερους ασθενείς (61%). (69) Προηγουμένως, ανακάλυψαν ότι η χρήση καινοτόμου θεραπείας με εκχύλισμα *C. oestroides* είχε ως αποτέλεσμα ουσιώδη μείωση στο μέγεθος του έλκους με το πέρασμα του χρόνου. Ξεκινά με πολύ υψηλές τιμές και στην πορεία μειώνεται μετά την επούλωση της πληγής, σηματοδοτώντας την αποκατάσταση του επιδερμικού φραγμού. Το ίδιο ισχύει για το ρυθμό επιδερμικής ενυδάτωσης, ο οποίος αρχίζει χαμηλά και σταδιακά αυξάνεται σε σχεδόν φυσιολογικά επίπεδα μετά την επούλωση του τραύματος. (67) Σε μελέτη περίπτωσης που πραγματοποιήθηκε το 2019 από το τμήμα Φαρμακευτικής του ΕΚΠΑ και αφορούσε στην παρουσία ελκών διαβητικού ποδιού (ΕΔΠ) σε 58χρονο παχύσαρκο άνδρα, καπνιστή, με ιστορικό αρρυθμιστου σακχαρώδη διαβήτη τύπου II, περιφερική νευροπάθεια και λέμφωμα Hodgkin, εφαρμόστηκε αλοιφή με εκχύλισμα *C. oestroides* σε ελαιόλαδο για 5 μήνες, χωρίς κάποια συνοδό αντιβιοτική αγωγή. (67) Για την εκτίμηση της αγωγής με το εκχύλισμα μετρήθηκαν, η διαδερμική απώλεια ύδατος (TEWL) και η επιδερμική ενυδάτωση, ενώ υπήρξε φωτογραφική τεκμηρίωση και επιπεδομετρία. Η κατάσταση των ΕΔΠ του ασθενούς παρουσίαζε προοδευτική βελτίωση στην επούλωση σε κάθε επίσκεψη ελέγχου της πορείας τους. Η ικανότητα επούλωσης της αγωγής μπορεί να θεωρηθεί πολύ υψηλή, παρά τις συννοσηρότητες του ασθενούς, οι οποίες δεν ευνοούν την επούλωτική διαδικασία, όπως π.χ. η ανοσοκαταστολή, το λέμφωμα Hodgkin, ο αρρυθμιστος διαβήτης, η παχυσαρκία, η περιφερική νευροπάθεια, το κάπνισμα και η ανατομική περιοχή της πληγής. (67) Αξίζει να σημειωθεί ότι δεν χρειάστηκε χορήγηση αντιβιοτικών. Η χρήση αυτής της καινοτόμου αγωγής με εκχύλισμα *C. oestroides* συνέβαλε σημαντικά στην προοδευτική μείωση του μεγέθους του έλκους. (67) Η διαδερμική απώλεια ύδατος (TEWL) ακολούθησε μοτίβο επούλωσης, ξεκινώντας από πολύ υψηλές τιμές και φτάνοντας περίπου στα φυσιολογικά πλαίσια μετά τη σύγκλιση της πληγής, φανερώνοντας την επαναφορά του επιδερμικού φραγμού.

Αντίστοιχα, ο ρυθμός δερματικής ενυδάτωσης, ξεκίνησε χαμηλά και κατέληξε σχεδόν στις φυσιολογικές τιμές μετά την επούλωση. (67) Το έλκος διαβητικού ποδιού είναι πολύ δύσκολο στη διαχείριση και αντιμετώπιση, ιδίως σε ασθενείς με άλλες σοβαρές συννοσηρότητες, όπως ανοσοκαταστολή. (70) Αντιβιοτικές θεραπείες, επιθέματα ΕΔΠ, αποσυμφόρηση κάτω άκρων και συχνά χρησιμοποιούμενες εναλλακτικές θεραπείες, όπως VAC (Vacuum Assisted Closure), αυξητικοί παράγοντες, υπερβαρικό οξυγόνο και θεραπείες ινοβλαστών/κερατινοκυττάρων (71-73) μπορούν να βοηθήσουν στη διαχείριση του ΕΔΠ. (72, 74) Αυτές οι μέθοδοι έχουν εγκριθεί ως συμπληρωματικά μέτρα στην αντιμετώπιση του ΕΔΠ και δεν συμπεριλαμβάνονται στις οδηγίες του IWG (International Working Group). Πέντε μήνες μετά την έναρξη της αγωγής με *C. oestroides*, ο ασθενής εμφάνισε πλήρη επούλωση. Στις αιματολογικές εξετάσεις που ακολούθησαν, έγινε φανερή σημαντική μείωση των επιπέδων στους δείκτες φλεγμονής. Δεν παρουσιάστηκε μικροβιακή ανάπτυξη στις καλλιέργειες έλκους, ούτε πριν ούτε μετά τη θεραπεία. Τόσο η κλινική αξιολόγηση όσο και τα αντικειμενικά μέτρα ήταν σε συμφωνία, δείχνοντας πλήρη επούλωση. Εξήχθη, οπότε, ως συμπέρασμα η αποτελεσματικότητα της εφαρμογής της αλοιφής με εκχύλισμα *C. oestroides* σε αυτή την περίπτωση, δίνοντας μια καινούρια πρόταση για τη διαχείριση των νευροπαθθικών ελκών διαβητικού ποδιού, ιδίως σε ασθενείς με σοβαρές συννοσηρότητες.

#### 4.3.2.1.1 Ασφάλεια-Τοξικότητα *C. oestroides*

Θέματα σχετικά με πιθανή τοξικότητα και ενδεχόμενους κινδύνους από τη χρήση *C. oestroides*, καθώς επίσης σημαντικές δυσκολίες συνδεδεμένες με την επιτυχή παρακολούθηση της ασφάλειας, πρέπει να διερευνηθούν περαιτέρω και να αντιμετωπιστούν. (72)

## 4.4 ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΑΠΟ ΘΑΛΑΣΣΙΑ ΣΚΟΥΛΗΚΙΑ

### 4.4.1 *Diopatra clapedii*

Το *Diopatra clapedii*, ευρύτερα γνωστό ως Ruat Sarung, είναι τοπικό θαλάσσιο σκουλήκι που ανευρίσκεται στη δυτική ακτή της περιοχής Peninsula της Μαλαισίας. (75) Διαβίει σε αυτοδημιούργητους σωλήνες. (76) Η μοναδική ικανότητα που εμφανίζει το είδος αυτό στην αναγέννηση του πρόσθιου και οπίσθιου τμήματός του, σε περιπτώσεις τραυματισμού ή αυτό-ακρωτηριασμού, φανερώνει τη συμβολή του στην επουλωτική δράση. (77) Σε μελέτη που πραγματοποιήθηκε για την απόδειξη της επουλωτικής

ικανότητας υδατικού εκχυλίσματος του *D. clarapedii* σε οξείες πληγές σε αρουραίους *Sprague Dawley*, χρησιμοποιήθηκε αλοιφή με συγκεντρώσεις 0.1, 0.5 και 1.0 % w/w, η οποία εφαρμόστηκε τοπικά για χρονικό διάστημα 14 ημερών. (78) Τα αποτελέσματα που προέκυψαν βασίστηκαν σε ανάλυση ιστοπαθολογικών ευρημάτων, παρατήρηση συμπεριφοράς και συστολή χειλέων της πληγής. Το καλύτερο επουλωτικό αποτέλεσμα φάνηκε να το εμφανίζει η αλοιφή με περιεκτικότητα 1% w/w, καθώς παρουσίασε επούλωση σε μικρό χρονικό διάστημα, ενώ ταυτόχρονα παρείχε ανακουφιστική δράση και βελτιωμένη εναπόθεση κολλαγόνου με μειωμένη δημιουργία ουλής, συγκριτικά με άλλα προϊόντα, όπως κοινή αλοιφή του εμπορίου με ακριφλαβίνη (acriflavine) 0.1% w/w και αλοιφή με εκχύλισμα θαλάσσιου αγγουριού (gamat) 15.0% w/w. (78) Επιπλέον, το υδατικό εκχύλισμα του *D. clarapedii* εμφάνισε αντιβακτηριακή δράση κατά του *E. coli* και της *P. aeruginosa* με MIC (Minimum Inhibitory Concentration) 0.4 g/mL, ενώ η ανάλυση με NMR φανέρωσε την παρουσία μεταβολιτών με επουλωτική δράση, όπως αμινοξέα, αρωματικά παράγωγα, οργανικά οξέα και βιταμίνες, γεγονός που αιτιολογεί τη χρήση του εν λόγω εκχυλίσματος στην επούλωση τραυμάτων. (78)

#### 4.4.1.1 Ασφάλεια/Τοξικότητα *D. clarapedii*

Η απουσία μικροβιολογικής επιμόλυνσης, τοπικού ερεθισμού στην επιδερμίδα, όπως και η ποσοτικά ασήμαντη συγκέντρωση βαρέων μετάλλων (< 0.1mg/kg), καθιστούν το συγκεκριμένο υδατικό εκχύλισμα ασφαλές για χρήση. (78)

#### 4.4.2 *Arenicola marina*

Όπως είναι γνωστό, το οξυγόνο είναι υπεύθυνο για την αερόβια αναπνοή και τον κυτταρικό μεταβολισμό. Σε περίπτωση τραυματισμού, προκαλείται οξειδωτικό στρες από τα δραστικά είδη οξυγόνου, με αποτέλεσμα ισχαιμική επαναιμάτωση στην περιοχή του τραύματος (Ischemic Reperfusion Injuries – IRI). Η αιμοσφαιρίνη που προέρχεται από το θαλάσσιο κόκκινο σκουλήκι *Arenicola marina* (M101) φαίνεται να δρα αποτελεσματικά στη μεταφορά οξυγόνου, ενώ ταυτόχρονα φέρει αντιοξειδωτικές, αντιφλεγμονώδεις και αντιβακτηριακές ιδιότητες, που της προσδίδουν σοβαρά θεραπευτικά οφέλη. (79) Το οξειδωτικό στρες θεωρείται ο βασικός παράγοντας για την καταστροφή κυττάρων, την υποξία-επανοξυγόνωση και το επακόλουθο IRI. Προκύπτει από την ανισορροπία στην παραγωγή ROS και την ικανότητα αποτοξίνωσης των προϊόντων αντίδρασης από τα κύτταρα και τους ιστούς. (82-84)

Όπως φαίνεται, η αιμοσφαιρίνη (Hb) που προέρχεται από το *Arenicola marina* (M101) έχει την ικανότητα να μεταφέρει αποτελεσματικά το O<sub>2</sub> *in vivo* (85, 86), χωρίς σημάδια οξειδωσης, υπέρτασης ή αγγειοσυστολής.

#### 4.4.2.1 Ιδιότητες M101

- ο Μπορεί να μεταφέρει ως 156 μόρια O<sub>2</sub> σε κορεσμένη κατάσταση (σε αντιδιαστολή με την ανθρώπινη αιμοσφαιρίνη που μεταφέρει 4), επομένως παρουσιάζει υψηλή ικανότητα σύζευξης με το O<sub>2</sub>, καθώς και αντιοξειδωτική δράση. (79)
- ο Απελευθερώνει το O<sub>2</sub> χωρίς συμπαράγοντες και αποτρέπει τη μείωση νιτροκυανο-τετραζολίου κατά την παρουσία ριζών σουπεροξειδίου, μιμούμενη την ενδογενή δράση της υπεροξειδικής δισμουτάσης (SOD) και βελτιώνοντας το οξειδωτικό στρες. (87)
- ο Δεν εμφανίζει ανοσολογικές, αλλεργικές ή προθρομβωτικές αντιδράσεις κατά την εφαρμογή της, γεγονός που επιβεβαιώνει την ασφάλεια και αποτελεσματικότητά της. (79)

#### 4.4.2.2 M101 ως εξωκυτταρικός μεταφορέας

Σε αντίθεση με τις συμβατικές τεχνικές συντήρησης, η M101 διαθέτει μια μοναδική ικανότητα στο να παρέχει O<sub>2</sub>, σύμφωνα με τις ανάγκες του κυττάρου, ενάντια δηλαδή στην βαθμίδωση και με αυτό τον τρόπο ελαχιστοποιείται ο κίνδυνος εμφάνισης υπεροξίας και οξειδωτικού στρες. (85, 88, 89)

Συμπλήρωμα με M101 ενισχύει την κυτταρική παραγωγή ATP, διατηρώντας τις μεταβολικές διαδικασίες και δρώντας προστατευτικά απέναντι στα μιτοχόνδρια, μέσω της μειωμένης ανάγκης για αλλαγή από τη μιτοχονδριακή αναπνοή σε αναερόβια γλυκόλυση. (79) Η M101 παραμένει σταθερή σε ποικιλία ιονικών συνθέσεων και ωσμωτικότητας και εμφανίζει τις αντιοξειδωτικές (SOD) και μεταφορικές της ιδιότητες. (89) Ως εκ τούτου, βελτιώνεται η ζωτικότητα των οργάνων, προωθείται η οξυγόνωση των ιστών, ενώ διατηρείται η ακεραιότητά τους και ελαττώνεται το IRI, η φλεγμονή και η ίνωση.

#### 4.4.2.3 Ασφάλεια/Τοξικότητα *A. marina*

Σε πρόσφατη μελέτη (2022), ερευνήθηκε η επίδραση του περιβαλλοντικού ρυπαντή ZnO σε νανοδιαστάσεις (nZnO) στο μεταβολισμό του *A. marina*. Το θαλάσσιο σκουλήκι

εκτέθηκε σε μη μολυσμένο παράκτιο ίζημα (τυφλό) και σε ίζημα επιμολυσμένο με 100 ή 1000  $\mu\text{g Zn kg}^{-1}$  από  $\text{nZnO}$ . Έγινε μέτρηση των οξειδωτικών βλαβών (λιπιδική υπεροξειδωση και καρβονύλια πρωτεϊνών) στο σώμα του *A. marina*, ως παραδοσιακών βιοδεικτών για την επιμόλυνση από ναυορυσπαντές. Ακολούθως, πραγματοποιήθηκε προσδιορισμός του προφίλ μεταβολισμού στο κοελομικό υγρό, περιλαμβάνοντας αμινοξέα, τρικαρβοξυλικό οξύ (TCA) και ενδιάμεσα μόρια από τον κύκλο της ουρίας. Διαπιστώθηκε αλλαγή στο μεταβολισμό του θαλάσσιου σκουληκιού, λόγω της έκθεσης σε  $\text{nZnO}$ , με αναστολή στη μεταβολική δραστηριότητα των γλυκονεογενών και αρωματικών αμινοξέων και παρεμπόδιση στη δράση της φουραμάσης, με αποτέλεσμα μεταβολές στον κύκλο του TCA. Αυτές οι τροποποιήσεις επιδρούν αρνητικά στα κεντρικά μεταβολικά μονοπάτια του *A. marina*, δημιουργώντας εμπόδιο στην ανάπτυξη και αναπαραγωγή του οργανισμού αυτού. (90)

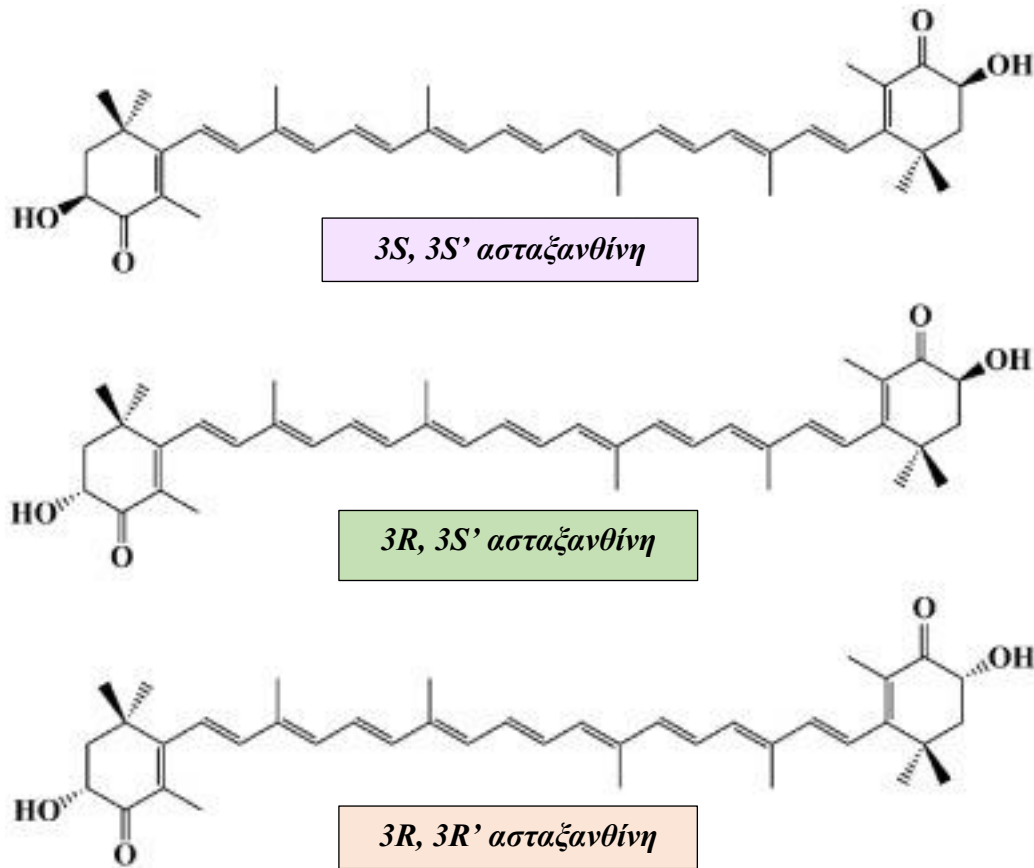


## 5. ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΘΑΛΑΣΣΙΑΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ

### 5.1 ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ ΘΑΛΑΣΣΙΑΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ

#### 5.1.1 Ασταξανθίνη

Η ασταξανθίνη (AXT) είναι ένα πορτοκαλέρυθρο μη ρετινοειδές (non Vitamin A) καροτενοειδές της οικογένειας Ξανθοφύλλων (*Xanthophyll*) το οποίο περιέχει άτομα O, C και H. Κατηγοριοποιείται ως «καθαρό αντιοξειδωτικό», ασφαλές για χρήση. (*Yamashita, 2013*) (91) Αποδείχθηκε η αυξημένη βιολογική δράση της φυσικής ασταξανθίνης έναντι της συνθετικής. (*Capelli, Talbott, & Ding, 2019*) (92) Μάλιστα, η φυσική ασταξανθίνη αποτελεί πιο δραστικό αντιοξειδωτικό σε σχέση με άλλες ουσίες της κατηγορίας, όπως η κανθαξανθίνη, η ζεαξανθίνη, η λουτεΐνη, το ασκορβικό οξύ, η τοκοφερόλη και το β-καροτένιο. (*Capelli, Talbott, & Ding, 2019*) (92) Η ασταξανθίνη ( $C_{40}H_{52}O_4$ ) είναι λιποδιαλυτό πιγμέντο, αδιάλυτο στο νερό με MB 596,84 g/mol και σημείο τήξης 224 °C. Λόγω της παρουσίας δύο χειρόμορφων ατόμων C στο μόριο της ασταξανθίνης υπάρχουν 3 οπτικά ισομερή (3S, 3S'; 3R, 3S'; 3R, 3R'). (*Ambati et al., 2014*) (93) (Εικόνα 1) Οι ελεύθερες μορφές ασταξανθίνης είναι επιρρεπείς σε οξείδωση, γι' αυτό και στη φύση ανευρίσκεται είτε συζευγμένη με πρωτεΐνες είτε εστεροποιημένη με ένα ή δύο λιπαρά οξέα, προς δημιουργία σταθερής ένωσης. (*Ambati et al., 2014; Yuan, Peng, Yin, & Wang, 2011*) (93, 94)



Εικ. 1. Οπτικά ισομερή ασταξανθίνης

Η ασταξανθίνη ανευρίσκεται στη φύση ως συστατικό σε βακτήρια, μύκητες, φύκη, καρκινοειδή και κάποια είδη ψαριών. (Εικόνα 2)





Εικ. 2. Κύριες πηγές ασταξανθίνης

### 5.1.1.1 Δράσεις ασταξανθίνης

Η ασταξανθίνη εμπλέκεται άμεσα ή έμμεσα σε πλήθος βιολογικών μονοπατιών και ως αποτέλεσμα έχει ποικιλία δράσεων. (95)

Συγκεκριμένα, αυτές είναι:

1. Αντιοξειδωτική
2. Αντικαρκινική
3. Νευροπροστατευτική
4. Καρδιοπροστατευτική-Υπολιπιδαιμική
5. Αντιφλεγμονώδης
6. Επουλωτική
7. Ηπατοπροστατευτική
8. Αντιδιαβητική
9. Οστεοπροστατευτική

Πιο αναλυτικά, η ασταξανθίνη επιδρά άμεσα στο αντιοξειδωτικό σύστημα, μέσω του πυρηνικού παράγοντα E<sub>2</sub> (NRF<sub>2</sub>), ρυθμίζει την έκφραση και τα σχετιζόμενα με τον NRF<sub>2</sub> εξαρτώμενα και μη εξαρτώμενα μονοπάτια. Η εξουδετέρωση ελευθέρων ριζών συνιστά μια άμεση δράση της ασταξανθίνης, η οποία πραγματοποιείται μέσω ενεργοποίησης της καταλάσης, της υπεροξειδικής δισμουτάσης (SOD) και των GSH Px (Plasma Glutathione Peroxidase) ενζύμων, με αποτέλεσμα την προστασία των κυττάρων από τη φθορά. Επομένως, συμπεραίνεται ότι οι βιολογικές δραστηριότητες που ασκεί η ασταξανθίνη είναι απόρροια της συμμετοχής της στη διαμόρφωση του αντιοξειδωτικού συστήματος. Η ασταξανθίνη έχει βρεθεί, επίσης, να επιδρά στη διαμόρφωση πολλών πρωτεϊνών, σχετιζόμενων με την υγεία των οστών, όπως η οστεοκαλσίνη, η οστική μορφογενική πρωτεΐνη-2, ο ορός οστεοπρωτεγερίνης (OPG) και ο ορός RANKL. Επιπλέον, παρατηρείται υπορύθμιση στην έκφραση μεσολαβητών φλεγμονής, όπως των TNF-α, COX-2, IL-1β και NF-kB, γεγονός για το οποίο ευθύνεται η ασταξανθίνη. Εκτός αυτού, η ασταξανθίνη φαίνεται να συμμετέχει ενεργά στη διαμόρφωση δεικτών του κυτταρικού κύκλου και της απόπτωσης, συμπεριλαμβανομένων των κυκλίνης D1, BAX, BCL-2 και p53, αλλά και μορίων σηματοδότησης του κυτταρικού κύκλου, όπως MAPKs, JNK, p38, Akt, ERK. Τα παραπάνω δεδομένα πιθανότατα αιτιολογούν τη δράση της ασταξανθίνης ως αντικαρκινικής και αντιφλεγμονώδους ουσίας. (95)

### 5.1.1.2 Επουλωτική δράση ασταξανθίνης

Σε μελέτη που πραγματοποιήθηκε σε ζώα το 2020 με την τοποθέτηση υδροπηκτώματος καροτενοειδούς πλούσιου σε ασταξανθίνη, καταδείχθηκε αύξηση στην περιεκτικότητα κολλαγόνου, αυξημένη αγγειογένεση και αγγείωση, καθώς και αποκατάσταση της επιθηλιοποίησης, με αποτέλεσμα την ενίσχυση της επουλωτικής δράσης. (Hamdi et al., 2020) (96) Το 2019, η ανάπτυξη καινοτόμου σύνθεσης με το όνομα ACF (Astaxanthin Incorporated Collagen Film) εμφάνισε αυξημένη επουλωτική ικανότητα, σε ποσοστό 71%, σε αρουραίους που υπέστησαν γραμμική τομή και εκτομή πλήρους πάχους δέρματος. Η αγωγή με ACF έδειξε βελτιωμένη επούλωση στην πάσχουσα περιοχή, με παρουσία υψηλότερης περιεκτικότητας κολλαγόνου, καλύτερη αγγειογένεση και γρήγορη επιθηλιοποίηση σε μικρό χρονικό διάστημα. (Veeruraj, Liu, Zheng, Wu, & Arumugam, 2019) (97)

### 5.1.1.3 Σταθερότητα ασταξανθίνης

Μια δυσκολία στη χρήση της ασταξανθίνης αποτελεί η έντονη αστάθειά της σε υψηλές θερμοκρασίες, όξινο pH, έκθεση στο οξυγόνο και το φως, όπως επίσης η περιορισμένη διαλυτότητά της στο νερό, η βιοπροσβασιμότητά της και η βιοδιαθεσιμότητά της. (98) (Martínez-Álvarez, Calvo, & Gómez-Estaca, 2020) Ως αποτέλεσμα αυτών, η βιοϊατρική εφαρμογή της ασταξανθίνης, κυρίως σε καθαρή μορφή, δεν ευνοείται. Ένας τρόπος για να διορθωθεί αυτό το πρόβλημα είναι η ενθυλάκωση της ασταξανθίνης με συμβατικές, αλλά και καινοτόμες τεχνικές. Η σταθεροποίησή της σε έλαιο, η μικρο/νανοενθυλάκωση ή η παραγωγή νανογαλακτωμάτων, δείχνει να βελτιώνει σημαντικά τη σταθερότητα, τη βιολογική δραστηριότητα, καθώς και την τεχνολογική λειτουργικότητα. (Calvo, Reynoso, Resnik, Cortés-Jacinto, & Collins, 2020; Honda et al., 2021; Morales et al., 2021) (99-101)

### 5.1.1.4 Συστήματα μεταφοράς για τοπική εφαρμογή

#### 5.1.1.4.1 Λιποσώματα

Πρόκειται για κολλοειδή κυστιδικά συστήματα μεταφοράς, αποτελούμενα από τουλάχιστον μία αμφιφιλική λιπιδική διπλοστιβάδα και υδρόφιλο πυρήνα. (102) Τα λιποσώματα εξασφαλίζουν σταδιακή και στοχευμένη αποδέσμευση, βιοσυμβατότητα, βιοαποικοδομησιμότητα -αν προέρχονται από φυσικά συστατικά-, χαμηλή τοξικότητα, και παράταση διάρκειας ζωής του προϊόντος. (102, 103) Με αυτόν τον τρόπο μπορούν

να ξεπεραστούν προβλήματα χαμηλής υδατοδιαλυτότητας, αστάθειας και βιοδιαθεσιμότητας.

#### 5.1.1.4.2 Μικρο-Γαλακτώματα

Πρόκειται για θερμοδυναμικώς σταθερά διαφανή συστήματα δύο φάσεων, μιας υγρής εξωτερικής και μιας υγρής εσωτερικής, διεσπαρμένης στην πρώτη, με μορφή σταγονιδίων μεγέθους 100 nm-100 μm (μικρογαλακτώματα) και < 100 nm (νανογαλακτώματα). Η παραγωγή μικρογαλακτώματος με γαλακτωματοποιητή Tween 80 και αιθανόλη ως ρυθμιστικό διάλυμα καθυστερεί την αποικοδόμηση της ασταξανθίνης, εξασφαλίζοντας την επιθυμητή σταθερότητα. (104) Η παραγωγή νανογαλακτώματος με καρβοξυμεθυλο-χιτοζάνη έδειξε βελτίωση στη χημική σταθερότητα, την επιδερμική διαπερατότητα, ενώ παρουσίασε χαμηλή κυτταροτοξικότητα. (105)

#### 5.1.1.4.3 Συστήματα σωματιδίων

Πρόκειται για συστήματα μεταφοράς που βασίζονται σε μικρο/νανοσφαιρίδια και μικρο/νανοκάψουλες. Τα σφαιρίδια συνιστούν διασπορές ενεργών συστατικών σε πολυμερικές μήτρες, ενώ οι κάψουλες είναι δεξαμενές με διακριτούς χώρους πυρήνα και τοιχωμάτων. (102) Η μικροενθυλάκωση χρησιμοποιείται εκτενώς σε καλλυντικά προϊόντα, διασφαλίζοντας την προστασία από αποικοδόμηση, την ασφαλή χορήγηση και την ελεγχόμενη και στοχευμένη αποδέσμευση. (106)

#### 5.1.1.4.4 Κυκλοδεξτρίνες (CDs)

Πρόκειται για κυκλικούς πολυσακχαρίτες που δημιουργούν συμπλέγματα ενσωμάτωσης (Inclusion Complexes), κατάλληλα για ασταθή/αδιάλυτα μόρια. Η ενσωμάτωση της ασταξανθίνης τροποποιεί τις χημικές και φυσικές της ιδιότητες, με αύξηση της υδατοδιαλυτότητας και της σταθερότητας. (107) Η χρήση β-κυκλοδεξτρίνης (β-CD) έδειξε μικρή βελτίωση στην υδατοδιαλυτότητα της ασταξανθίνης και υψηλή σταθερότητα στη θερμότητα. (107) Η χρήση υδροξυπροπυλ-β-κυκλοδεξτρίνης (HP-β-CD) κατέστησε φανερή την ακόμα καλύτερη υδατοδιαλυτότητα της ασταξανθίνης, ελαφρά βελτιωμένο τοξικολογικό προφίλ σε σχέση με τη β-CD και προαγωγή της αντιοξειδωτικής δράσης. (108, 109)

#### 5.1.1.4.5 Φιλμ

Πρόκειται για λεπτές διαφανείς μεμβράνες που προσκολλώνται στην επιδερμίδα και εξασφαλίζουν την προαγωγή ενεργών συστατικών. (110) Χρησιμοποιούνται παράγοντες σχηματισμού φιλμ, όπως κολλαγόνο, χιτοζάνη και παράγωγα κυτταρίνης.

Συγκεκριμένα, η χρήση φιλμ κολλαγόνου επιταχύνει σημαντικά την επουλωτική διαδικασία, η οποία ολοκληρώνεται μέσα σε 15 ημέρες. (97)

#### 5.1.1.5 Ασφάλεια/Τοξικότητα ασταξανθίνης

Πρέπει να ληφθεί υπόψη η επιμόλυνση των μικροφυκών με βαρέα μέταλλα.

Λόγω των χαρακτηριστικών ομάδων  $\text{OH}^-$  και  $\text{COO}^-$  στην επιφάνεια των κυττάρων των μικροφυκών, η απορρόφηση των θετικά φορτισμένων βαρέων μετάλλων επιδρά στην ανάπτυξη των μικροφυκών και συνεπώς στην ποιότητα της εξαγόμενης από αυτά ασταξανθίνης. (11, 111)

## 5.2 ΠΟΛΥΣΑΚΧΑΡΙΤΕΣ ΘΑΛΑΣΣΙΑΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ

### 5.2.1 Θαλάσσιοι πολυσακχαρίτες ως συστήματα μεταφοράς φαρμάκων

Πρόκειται για πολυμερικούς υδρογονάνθρακες που σχηματίζονται από επαναλαμβανόμενες μονάδες μονοσακχαριτών, ενωμένων με γλυκοσιδικούς δεσμούς. (113) Η παρουσία πλήθους χημικών δομών, σε συνδυασμό με σημαντικές βιολογικές ιδιότητες, συμπεριλαμβανομένης της βιοσυμβατότητας, βιοαποικοδομησιμότητας, αντιφλεγμονώδους, συγκολλητικής και αντιμικροβιακής δράσης, φαίνεται να χαρακτηρίζει τους θαλάσσιους πολυσακχαρίτες. Το pH και η θερμοκρασία καθορίζουν ιδιότητες, όπως σχήμα, μέγεθος και ανταπόκριση σε ερεθίσματα. (114)

#### 5.2.1.1 Εφαρμογές στην μηχανική των ιστών

Η αγγειογένεση περιλαμβάνει το σχηματισμό νέων αιμοφόρων αγγείων και θεωρείται απαραίτητη για πλήθος φυσιολογικών διαδικασιών, όπως η ανάπτυξη εμβρύων, η αναδόμηση ιστών, η επούλωση πληγών, η μετάσταση και ανάπτυξη επιθετικών όγκων. (114)

### 5.2.2 Πολυσακχαρίτες από φύκη ως επουλωτικά πληγών

#### 5.2.2.1 Πολυσακχαρίτης από *Falkenbergia rufolanosa* (FRP)

Το *Falkenbergia rufolanosa* ανήκει στα Ροδόφυτα, τα οποία ανευρίσκονται στις ακτές της Μεσογείου, την Αυστραλία και τη Νέα Ζηλανδία. (115) Πρόκειται για ένα ετήσιο,

αυτότροφο ερυθρό φύκος, εξαιρετικά πλούσιο σε πολυσακχαρίτες, κυρίως θεικούς. (115) Πραγματοποιήθηκε μελέτη για την αξιολόγηση της συμβατότητας ανάμεσα στις φυσικοχημικές, αντιοξειδωτικές και μορφολογικές ιδιότητες του πολυσακχαρίτη FRP, που λαμβάνεται από το ροδόφυτο *Falkenbergia rufolanosa*, ενισχυμένου με πολυβινυλική αλκοόλη (PVA) σε διάφορες συγκεντρώσεις FRP/PVA: F<sub>1</sub> (70:30), F<sub>2</sub> (50:50), F<sub>3</sub> (30:70) και PVA (100% PVA) και εξετάστηκαν η αντιοξειδωτική ικανότητα *in vitro*, καθώς και τα πιθανά επουλωτικά αποτελέσματα σε αρουραίους με εγκαύματα από laser CO<sub>2</sub> *in vivo*. (116) Η παρατήρηση με φασματομετρία υπερούθρου Fourier (FTIR), ηλεκτρονική μικροσκοπία και χρωματομετρικές παραμέτρους, οδήγησε στη διαπίστωση ότι τα φιλμ με FRP/PVA έχουν εμφάνιση ετερογενή κι ελαφρώς αδιαφανή με τραχιά επιφάνεια. Επίσης, όπως κατέστη φανερό από την περίθλαση με ακτίνες X και την υαλώδη μετάπτωση, η ημικρυσταλλική δομή του φιλμ FRP παρουσίασε μείωση με αυξανόμενα ποσά PVA. (116) Όσον αφορά την αντιοξειδωτική δράση *in vitro*, φανερώθηκε πως η υψηλότερη ανήκει στην F<sub>1</sub>, η οποία προάγει σημαντικά την επούλωση και την επανεπιθηλιοποίηση, μετά από 8 μέρες αγωγής, και μέσα από ιστολογικό έλεγχο διαπιστώθηκε υψηλότερο περιεχόμενο σε κολλαγόνο και υδροξυπρολίνη στην περιοχή της πληγής, συγκριτικά με το τυφλό και τις ομάδες με PVA. (116)

#### 5.2.2.2 Πηκτίνη από Σπιρουλίνα (SmP)

Η Σπιρουλίνα συνιστά ένα τύπο κυανοπράσινου φύκους, πλούσιου σε θρεπτικά και ενεργά συστατικά. (117) Τα δύο κυριότερα είδη Σπιρουλίνα είναι τα κυανοβακτήρια *Spiroulina (Arthrospira) platensis* και *Spiroulina maxima*, τα οποία έχουν δείξει σημαντική ενίσχυση της επουλωτικής διαδικασίας σε *in vivo* και *in vitro* μελέτες. (118, 119) Η πηκτίνη είναι πολυσακχαρίτης αποτελούμενος από πολλές γραμμικές και διακλαδιζόμενες περιοχές. Οι πρώτες περιέχουν μονάδες α-1, 4-D-γαλακτουρονάνης, δημιουργώντας το σκελετό της πηκτίνης, ενώ οι δεύτερες διαθέτουν διαφορετικούς ετεροπολυσακχαρίτες. Έχει διερευνηθεί η χρήση της πηκτίνης σε προϊόντα για την κάλυψη πληγών, την προστασία της επιδερμίδας και σε ικριώματα (scaffolds). (120, 121) Πρόσφατα η επιτυχής απομόνωση πηκτίνης από *S. maxima* (SmP), ως δραστικό συστατικό με ευνοϊκά φυσικοχημικά χαρακτηριστικά, έδωσε το πράσινο φως για την αναζήτηση μιας πιθανής ανοσοτροποποιητικής απάντησης της πηκτίνης σε μοντέλα zebrafish (122) και ποντικών (123). Συγκεκριμένα, πραγματοποιήθηκε μελέτη για τα αποτελέσματα της SmP στον *in vitro* πολλαπλασιασμό και τη μεταναστευτική δραστηριότητα των ανθρώπινων δερματικών ινοβλαστών (HDFs), καθώς και στην *in*



νίνο αναγέννηση και την επουλωτική δραστηριότητα σε ακρωτηριασμένα ουριαία πτερύγια προνύμφης των zebrafish και σε δερματικά τραύματα ενήλικων zebrafish. Ακόμη, ερευνήθηκε η επίδραση της αγωγής με SmP στη μεταγραφική απόκριση γονιδίων-δεικτών για την επούλωση. (124) Στα πλαίσια της συγκεκριμένης μελέτης, προσδιορίστηκε η απουσία κυτταροτοξικότητας για τις χρησιμοποιούμενες συγκεντρώσεις (0.01%, 0.05%, 0.1% και 0.5%) και διαπιστώθηκε η υψηλότερη ικανότητα πολλαπλασιασμού για τις συγκεντρώσεις 0.1% και 0.05%. (125) Εν συντομία, αποδείχτηκε ότι η πηκτίνη θαλάσσιας προέλευσης από *S. maxima* προάγει την *in vitro* αποκατάσταση της πληγής, χωρίς κανένα κυτταροτοξικό επακόλουθο. Η έκθεση σε χαμηλή δόση SmP (50 µg/mL) επάγει την αναγέννηση σε ακρωτηριασμένα ουριαία πτερύγια προνύμφης των zebrafish, χωρίς να προκαλείται τοξικότητα. SmP εφαρμοζόμενη τοπικά (600 µg/ψάρι) σε zebrafish που έχουν υποστεί τραυματισμό, επιταχύνει την επούλωση και αποκαθιστά τη χρώση του δέρματος, χωρίς την πρόκληση υπερβολικής ουλοποίησης. Η μεταγραφική απόκριση σε επίπεδο μυών και νεφρών ήταν σε αρμονία με μελέτες που πραγματοποιήθηκαν σε μοντέλα από άλλα ψάρια και θηλαστικά. Επιπλέον, η ιστολογική και μεταγραφική ανάλυση κατέδειξε ότι το είδος zebrafish αποτελεί ένα εναλλακτικό μοντέλο, αντί των θηλαστικών, για χρήση στις μελέτες προφυλακτικής χορήγησης ουσιών για ανάπλαση. Αυτά τα αποτελέσματα αποδεικνύουν την ικανότητα μελλοντικής αξιοποίησης της SmP για την επούλωση τραυμάτων. (124)

#### 5.2.2.2.1 Ασφάλεια/Τοξικότητα SmP

Κρίνεται αναγκαία η ταυτοποίηση της κυτταροτοξικότητας για την πιθανότητα ανάπτυξης διαμοριακών αλληλεπιδράσεων μεταξύ των κυτάρων. Σε έρευνα που ασχολήθηκε με την κυτταροτοξικότητα και τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό ακατέργαστου εκχυλίσματος από *S. platensis*, χρησιμοποιήθηκαν ανθρώπινα κερατινοκύτταρα (HS2). (125) Οι συγκεντρώσεις κατετάγησαν ως εξής: 0.1>0.05>0.5>0.01% (w/v), με βάση την κυτταρική βιωσιμότητα, γεγονός που καταδεικνύει απουσία κυτταροτοξικότητας, με τα υψηλότερα ποσοστά κυτταρικού πολλαπλασιασμού να εκδηλώνονται στις συγκεντρώσεις 0.1 και 0.05%. Επιπλέον, οι ερευνητές *Syarina* και συνεργάτες (118), κατέστησαν φανερό ότι 50 µg/mL ακατέργαστου εκχυλίσματος *S. platensis* (μεθανολικό, αιθανολικό και υδατικό) δεν παρουσιάζει τοξικότητα στους ανθρώπινους ινοβλάστες και μάλιστα η βιωσιμότητα στα κύτταρα διατηρήθηκε >80%. Στην αναφερόμενη μελέτη του 2020 (124), διαπιστώθηκε

πως η κυτταρική βιωσιμότητα βρίσκεται στο 100% μετά από χειρισμό με  $\leq 300 \mu\text{g/mL}$  της SmP, ενώ ακόμα και με  $500 \mu\text{g/mL}$  η κυτταρική βιωσιμότητα παραμένει  $>80\%$ .

### 5.2.3 Πολυσακχαρίτες από φύκη στην ανάπτυξη επιθεμάτων πληγών

Τις τελευταίες δεκαετίες έχει πραγματοποιηθεί πλήθος ερευνών για να αποσαφηνιστεί η ικανότητα θαλάσσιων βιοπολυμερών (αλγινικά, θεικοί πολυσακχαρίτες από θαλάσσια μαρούλια -ulvans-, χιτοζάνη, χιτίνη, καρραγεννάνες, φουκοϊδάνη κλπ.) να επιδρούν σε ορισμένα στάδια του μηχανισμού επούλωσης. Μέσα από αυτές τις μελέτες αποκαλύφθηκε η σημαντική δυνατότητά τους να αποτρέπουν την πρόκληση φλεγμονής, να ενεργοποιούν τον πολλαπλασιασμό ινοβλαστών και να αναδιαμορφώνουν τους τραυματισμένους ιστούς. (126) Τα θαλάσσια φύκη συνιστούν ένα από τα πλέον αρχέγονα είδη που κατοικούν στον πλανήτη. Είναι φωτοσυνθετικοί οργανισμοί που ταξινομούνται με σύνθετο και ιδιόμορφο τρόπο. Ξεχωρίζουν δύο κύριοι τύποι φυκών: τα μικροφύκη, μονοκύτταροι ευκαρυωτικοί οργανισμοί, γνωστοί ως φυτοπλαγκτόν και τα μακροφύκη, με μεγαλύτερο μέγεθος και περισσότερη ετερογένεια, ευρισκόμενα κυρίως στη διαπαλιρροιακή ζώνη. (126) Οι πολυσακχαρίτες από θαλάσσια φύκη παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον λόγω της υψηλής τους ανθεκτικότητας, της βιολογικής τους δράσης, καθώς και της μεγάλης διαθεσιμότητάς τους. (126) Μέσα στους αιώνες παρατηρήθηκε εκτενής χρήση των φυκών, χάρη στις μοναδικές επουλωτικές τους ιδιότητες. Η εξέλιξη της τεχνολογίας συνέβαλε στην ικανότητα απομόνωσης και καθαρισμού, με αποτέλεσμα οι πολυσακχαρίτες από φύκη να συνιστούν βάση για τη σύνθεση πληθώρας τύπων επιθεμάτων για πληγές. (126)

Τα επιθέματα πληγών αποτελούν υλικά για την ανακούφιση ή/και επανόρθωση τραύματος. Απελευθερώνουν τα βιοενεργά συστατικά που περιέχουν στην περιοχή του τραύματος και με αυτό τον τρόπο συμμετέχουν στην επουλωτική διαδικασία. Στόχος τους είναι να δημιουργήσουν και να διατηρήσουν ένα κατάλληλο περιβάλλον επούλωσης στην επιφάνεια της πληγής, παρέχοντας ισορροπία στο επίπεδο υγρασίας, την επιθυμητή ανταλλαγή αερίων και την εξασφάλιση ιδανικής θερμοκρασίας, μέσω μη αναστρέψιμης δέσμευσης του εξιδρώματος της πληγής. Παράλληλα, εμφανίζουν αντιοξειδωτικές και αντιβακτηριακές ιδιότητες, κινητοποιούν τη μετανάστευση κυττάρων και προσφέρουν τη δυνατότητα μη τραυματικής αφαίρεσής τους, μετά την επούλωση της πληγής. (126) Τα σύγχρονα επιθέματα πληγών ταξινομούνται με βάση την προέλευση των πολυμερών ως



φυσικά και συνθετικά, καθώς και με βάση τον τρόπο δράσης σε παθητικά και αλληλεπιδρώντα (ημι-αποφρακτικά, αποφρακτικά, αποτελούμενα από νανοσωματίδια), συμπεριλαμβανομένων αυτών με βιοενεργά συστατικά φυσικής προέλευσης. Τα αλληλεπιδρώντα επιθέματα πληγών διατίθενται σε μορφή μεμβράνης, αφρού, υδροπηκτώματος και υδροκολλοειδούς. (126) Συγκρινόμενα με τα παραδοσιακά φυσικά επιθέματα πληγών, οι πολυσακχαρίτες φυκών φαίνεται να πλεονεκτούν σε ορισμένα φυσικά και χημικά χαρακτηριστικά, όπως η μηχανική αντοχή, η γαλακτωματοποίηση, οι συγκολλητικές ιδιότητες, η ικανότητα σχηματισμού υδροκολλοειδών και η μη τοξικότητα ως προς τη δυνατότητα επούλωσης. (126) Τις τελευταίες δεκαετίες, συνηθίζεται να χρησιμοποιούνται υδροπηκτώματα πολυσακχαριτών, δηλαδή τρισδιάστατες υδρόφιλες πολυμερικές αλυσίδες, αποτελούμενες από 99% νερό, με προέλευση από φύκη, τόσο στο σχεδιασμό επιθέμάτων πληγών όσο και στην αναδιαμόρφωση των ιστών. (126) Τα συγκεκριμένα πολυμερικά συστήματα χρησιμοποιούνται ενεργά στη διαχείριση πληγών, λόγω της υψηλής βιοσυμβατότητας, της χαμηλής ανοσογονικότητας και κυτταροτοξικότητας, καθώς και της εύκολης λειτουργίας τους. Επιπλέον, η ικανότητα για φυσική και χημική τροποποίηση της δομής τους, τα καθιστά ιδανικό υλικό για την ανάπτυξη υδροπηκτωμάτων, τα οποία δρουν ως φυσικός φραγμός ενάντια στα βακτήρια και μιμούνται την μικροαρχιτεκτονική της εξωκυτταρικής μήτρας του φυσικού ιστού. (126) Η δομική τους ικανότητα για δημιουργία επιθέμάτων πληγών μπορεί να ενισχυθεί με αντιμικροβιακούς και αντιφλεγμονώδεις παράγοντες από συστατικά, όπως χρυσός, άργυρος, οξειδία χαλκού και ψευδαργύρου, αντιβιοτικά, ορμόνες κλπ. (126) Η υψηλή υδροφιλικότητα των πολυσακχαριτών τους καθιστά ιδανικούς για τη διατήρηση υγρασίας στη διαχείριση πληγών. Δρώντας άμεσα στην επουλωτική διαδικασία, συνιστούν απαραίτητο φυσικό βιοϋλικό και χρησιμοποιούνται για την παραγωγή διαφόρων τύπων επιθέμάτων πληγών. (126)

### **5.2.3.1 Κατηγορίες πολυσακχαριτών θαλάσσιας προέλευσης**

#### **5.2.3.1.1 Καρραγεννάνες**

Πρόκειται για μια ομάδαθεικών πολυσακχαριτών υψηλού MB, ανευρισκόμενων σε θαλάσσια φύκη της κατηγορίας Ροδόφυτα. (127, 128). Λόγω της ιδιαίτερης δομής και των ξεχωριστών φυσικών και χημικών ιδιοτήτων, θεωρούνται ως μια πολλά υποσχόμενη πηγή βιοπολυμερών. (Σχήμα 2) (129-132)



Σχήμα 2. Δομική ποικιλομορφία θεικών πολυσακχαριτών από φύκη: τμήματα από καρραγεννάνες

Η δομή αυτών των ανιονικών θεικών πολυσακχαριτών (πολυγαλακτάνες) χαρακτηρίζεται από την εναλλαγή γραμμικών αλυσίδων α-1,3-γαλακτόζης και β-1,4,3,6-ανδρογαλακτόζης με θεικούς εστέρες (15-40 %), παρουσιάζοντας ομοιότητες με τις φυσικές γλυκοζαμινογλυκάνες (GAGs), ενώ εμφανίζουν και υψηλή υδροφιλικότητα. (127-131). Ανάλογα με το βαθμό θείωσης, προκύπτουν 6 τύποι καρραγεννάνων, διαφορετικής διαλυτότητας και πηγής εξαγωγής, με τους πιο μελετημένους να είναι οι τύποι κ-, ι- και λ-. (128, 130, 131) Οι πηκτωματοποιητικές ικανότητες αυτών των πολυσακχαριτών τους καθιστούν ιδανική πρώτη ύλη για την κατασκευή επιθεμάτων πληγών με βάση υδροπηκτώματος. (132, 133) Οι πλέον μελετημένες κ-καρραγεννάνες παρουσιάζουν βιοσυμβατότητα, αιμοστατική και ανοσοτροποποιητική ικανότητα, απαραίτητη για την επούλωση. (128, 134, 135) Βαθμιδωτά υδροπηκτώματα, βασισμένα στις κ-καρραγεννάνες και τη ζελατίνη, παρουσιάζουν πλήθος πλεονεκτημάτων, καθώς και επουλωτικές ιδιότητες, σε σχέση με συμβατικά πολυεπίπεδα ή δικτυωτά ανάλογα. (136) Πολλά υποσχόμενα είναι τα νανοπηκτώματα (nanogels) με θεραπευτικά νανοσωματίδια διαστάσεων μέχρι 100μm, τα οποία ελευθερώνονται ανάλογα με τη θερμοκρασία στην περιοχή της πληγής (37–45 °C), όπως επίσης και τα υδροπηκτώματα, δημιουργούμενα με 3D εκτύπωση, τα οποία φέρουν το επιθυμητό σχήμα και συγκεκριμένες μηχανικές και χημικές ιδιότητες. (136-139) Η χρήση τους γίνεται σε περιπτώσεις όπου είναι επιθυμητή η παρατεταμένη αποδέσμευση αντιμικροβιακών παραγόντων, βιοενεργών μορίων και παραγόντων ανάπτυξης. (137) Χάρη στον αντικό και αντιβακτηριακό τους χαρακτήρα, έχουν εγείρει το ενδιαφέρον για χρήση τους σε βιοεπιθέματα τραυμάτων. (127, 128) Μάλιστα, η βιοδιαθεσιμότητα, η βιοαποικοδομησιμότητα και η καλύτερη επαφή τους με την επιδερμίδα, αποτελούν χαρακτηριστικά που καθιστούν τις καρραγεννάνες προτιμότερες για χρήση σε επιθέματα

πληγών συγκριτικά με τις φουκοϊδάνες. (140) Οι A. V. Nair και συνεργάτες πρόσφατα (2020) μελέτησαν τις επούλωτικές ιδιότητες των υδροπηκτωμάτων β-(1-3) (1-6) γλυκάνης/καρραγεννάνης (139) και διαπίστωσαν ότι η παρουσία καρραγεννάνης στη σύνθεση αυξάνει το πορώδες του υδροπηκτώματος και ενεργοποιεί τη σύνδεση και τον πολλαπλασιασμό των ινοβλαστών, σε πειράματα *in vitro* και *in vivo*, εξασφαλίζοντας ταχύτερη αποκατάσταση της πληγής, σε σχέση με το τυφλό. (139) Σε μελέτη που πραγματοποιήθηκε από τους K. Zeron και συνεργάτες (131) έγινε για πρώτη φορά αναφορά του σχηματισμού ενός συνδυαστικού «έξυπνου» επιθέματος πληγής, αποτελούμενου από pH-ευαίσθητο υδροπήκτωμα με κ-καρραγεννάνη, κόμμι *Ceratonia siliqua* (locust bean) και εκχύλισμα cranberry. Το κόμμι φάνηκε να ενισχύει τις μηχανικές ιδιότητες της καρραγεννάνης, ενώ το πλούσιο σε ανθοκυάνες εκχύλισμα cranberry επέδειξε, εκτός από αντιμικροβιακή δράση και ρόλο δείκτη για την ανίχνευση αλλαγής του pH, σε περίπτωση αλκαλικής αντίδρασης, ενδεικτικής μιας βακτηριακής επιμόλυνσης στο υγρό της πληγής.

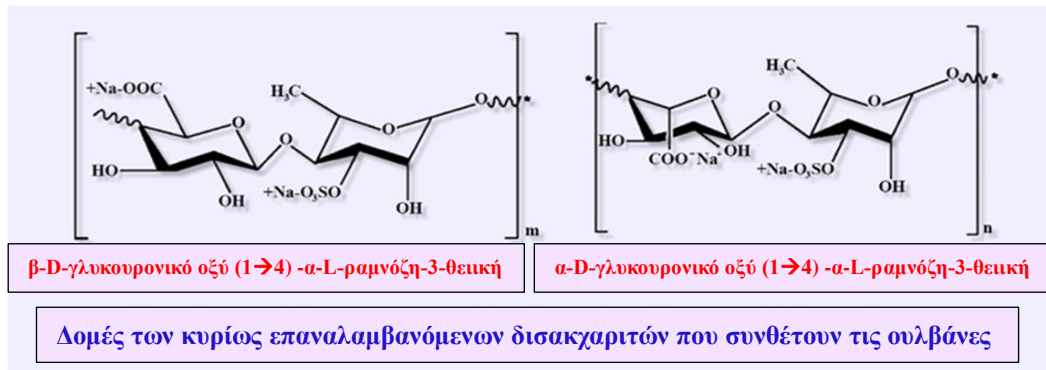
#### 5.2.3.1.1.1 Σταθερότητα καρραγεννανών

Σε πείραμα που πραγματοποιήθηκε με την ανάπτυξη συνθέσεων με ι-καρραγεννάνη και έλαιο argan για να διευκρινιστεί κατά πόσο επιδρούν στη σταθερότητα του προϊόντος, λήφθηκαν μετρήσεις αναφορικά με τις παραμέτρους ιξώδους, συνοχής, σταθερότητας και συνεκτικότητας ως προς την υφή. Διαπιστώθηκε ότι η σύνθεση που περιείχε τη μέγιστη συγκέντρωση καθενός συστατικού (2% για το έλαιο argan και 1% για την ι-καρραγεννάνη) είχε τα πιο ικανοποιητικά αποτελέσματα, με τα δύο συστατικά να δρουν συνεργιστικά μεταξύ τους στη βελτίωση των φυσικοχημικών ιδιοτήτων του προϊόντος, ενώ οι παράμετροι υφής αυτής της σύνθεσης ήταν οι πλέον αποδεκτές κατά την αισθητηριακή αξιολόγηση. (141) Σε άλλη μελέτη, αναπτύχθηκαν συνθέσεις με κ-καρραγεννάνη, σορβιτόλη και γλυκερίνη και εξετάστηκαν οι ιδιότητες διάγκωσης, οι μηχανικές ιδιότητες και η σταθερότητα στα υδροπηκτώματα. Αποδείχθηκε ότι η σύνθεση με τα ιδανικότερα χαρακτηριστικά ήταν αυτή που περιείχε 2% κ-καρραγεννάνη, 20% σορβιτόλη και 1,5% γλυκερίνη. (142)

#### 5.2.3.1.2 Ουλβάνες

Πρόκειται για θεικούς ετεροπολυσακχαρίτες που αποτελούν ένα από τα κύρια βιοπολυμερή, προερχόμενα από τα πράσινα φύκη της τάξης *Ulvales* (περιλαμβάνει τα είδη *Ulva*, *Enteromorpha* και *Utricularia*). Συνιστούν κύριο συστατικό του κυτταρικού

τοιχώματος (45% του ξηρού βάρους του), ενώ παρέχουν ωσμωτική σταθερότητα και κυτταρική προστασία, μαζί με άλλους πολυσακχαρίτες με προέλευση από φύκη π.χ. κυτταρίνη, ξυλογλυκάνη και γλυκουρονάνη. (Σχήμα 3) (129, 143, 144)



Σχήμα 3. Δομική ποικιλομορφία θεικών πολυσακχαριτών από φύκη: κύριοι επαναλαμβανόμενοι δισακχαρίτες που σχηματίζουν τις ουλβάνες  
Αριστερά: β-D-γλυκουρονικό οξύ (1→4) -α-L-ραμνόζη-3-θεική  
Δεξιά: α-D-γλυκουρονικό οξύ (1→4) -α-L-ραμνόζη-3-θεική

Η χημική σύνθεση στις ουλβάνες εξαρτάται σημαντικά από το είδος των φυκών, την εποχή συλλογής αυτών, τις συνθήκες που επικρατούν στο βιότοπο κατά την ανάπτυξή τους και τις μεθόδους εξαγωγής τους. Μία τυπική δομή αυτών των πολυανιονικών ετεροπολυσακχαριτών παρουσιάζεται στη ραμνόζη, την ξυλόζη, τη γλυκόζη, τη γαλακτόζη, τα ουρονικά οξέα (γλυκουρονικό και ιδουρονικό), όπως επίσης στις θεικές και καρβοξυλικές ομάδες δισακχαριτών που χαρακτηρίζονται ως 3-θεική γλυκουροραμνόζη (τύπος Α) και 3-θεική ιδουροραμνόζη (τύπος Β). (127, 145) Οι ουλβάνες είναι σχεδόν αδιάλυτες σε πολικούς οργανικούς διαλύτες κι αυτό αιτιολογεί την υδροφοβικότητα της ραμνόζης. (129, 145-148) Το γεγονός αυτό δημιουργεί εμπόδιο στην ικανότητα για χημικές τροποποιήσεις και ως εκ τούτου στην ευρεία χρήση των ουλβανών σε επιθέματα πληγών. (143, 148, 149) Η παρουσία υψηλού pH στο διάλυμα αυξάνει τις ενδομοριακές δυνάμεις στην περιοχή της πληγής, δίνοντας τη δυνατότητα στο υδροπήκτωμα να αποκτήσει υψηλό ιξώδες. (144, 146, 147) Το συγκεκριμένο χαρακτηριστικό επιτρέπει την τροποποίηση των πηκτωματοποιητικών ιδιοτήτων των πολυσακχαριτών, μέσα από αλλαγές στις δομικές και λειτουργικές σχέσεις αυτών. (144, 145) Η παρουσία ραμνόζης ενισχύει τη βιολογική δράση των ουλβανών, κυρίως σε ότι

αφορά παθολογικές καταστάσεις της επιδερμίδας, ενώ βελτιώνει και τις επούλωτικές ιδιότητες, μειώνοντας την προσκόλληση βακτηρίων στο τραύμα και διεγείροντας τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και τη βιοσύνθεση κολλαγόνου. (144, 150-153) Λαμβάνοντας υπόψη δεδομένα από μελέτες που στηρίζονται σε πειράματα και μοντέλα, γίνονται φανερές η σημαντική αντιοξειδωτική (146, 147, 154), αντιπηκτική (145, 146, 155), αντικαρκινική (144, 148, 149, 156), αντιυπερλιπιδαιμική (144, 146, 154, 156) και ανοσοτροποποιητική (145, 150, 154, 157) βιολογική δράση των ουλβανών, *in vitro* και *in vivo*. Επιπλέον, οι ουλβάνες φέρουν αντικές ιδιότητες. Ως εκ τούτου, χρησιμοποιούνται ως προληπτικοί παράγοντες anti-biofilm, αλλά και στην κατασκευή επιδέσμων για περιποίηση πληγών και αποκατάσταση ιστών. (144, 147, 149, 152, 153) Η ανάπτυξη ενός συμπλέγματος πολυϊοντικού πήκτωματος ουλβανών-χιτοζάνης από τους *K. Kanno* και συνεργάτες, αποτελεί παράδειγμα επιτυχούς χρήσης των φυσικών και χημικών χαρακτηριστικών των ουλβανών, το οποίο έδειξε να εμφανίζει μεγαλύτερη σταθερότητα, συγκριτικά με το πήκτωμα αλγινικού οξέος-χιτοζάνης, τόσο σε όξινο όσο και σε αλκαλικό περιβάλλον. (145)

#### 5.2.3.1.2.1 Σταθερότητα ουλβανών

Η παρουσία θεικών και καρβοξυλικών ομάδων δομικά εμποδίζει την εξασφάλιση της μηχανικής σταθερότητας των υδροπηκτωμάτων, η οποία σχετίζεται με την ενεργητική απορρόφηση νερού και την ανάπτυξη υδρολυτικής αποικοδόμησης. (143, 146, 148) Κατά το σχεδιασμό επιθεμάτων πληγών, αυτά τα δομικά χαρακτηριστικά των ουλβανών απαιτούν από τη μία την προκαταρτική τους τροποποίηση, ώστε αυτές να γίνουν αδιάλυτες και από την άλλη την αύξηση των μηχανικών τους ιδιοτήτων στα υδροπηκτώματα. (146, 148) Για την αποκατάσταση του δεύτερου ζητήματος, δημιουργείται ένα ιονοτροπικό πήκτωμα κατιονικών πολυμερών ή μη οργανικών προσθέτων, όπως βορικό οξύ, χαλκός, ασβέστιο, ψευδάργυρος ή μαγνήσιο. (146, 158)

#### 5.2.3.1.2.2 Ασφάλεια/Τοξικότητα ουλβανών

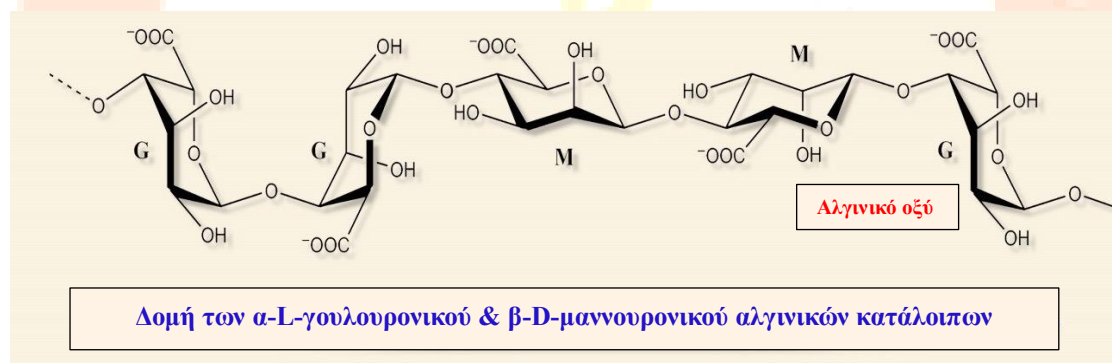
Πραγματοποιήθηκε μελέτη για την κυτταροτοξικότητα των ουλβανών σε κύτταρα, *in vitro* και απευθείας σε πειραματόζωα, *in vivo*. (159, 160) Χρησιμοποιήθηκαν κύτταρα πνεύμονα αρουραίου (159), κύτταρα θηλαστικών L6 (161-163), κερατινοκύτταρα HaCaT και ινοβλάστες 3T3 (164). Η δοκιμασία σε ανθρώπινα κύτταρα L929, μετά από 72 ώρες επαφής, έδειξε ότι οι ουλβάνες είχαν διατηρήσει ενεργό το μεταβολισμό τους,



χωρίς κάποια ένδειξη μείωσης στη βιωσιμότητα. (165) Βρέθηκε ότι η εξαγωγή ουλβανών από το *Ulva sp.* ήταν ασφαλής για τα κύτταρα θηλαστικών L6 ως τυφλό, καθώς ακόμα και στην υψηλότερη συγκέντρωση (10.000 mg/mL), δεν παρουσίασαν κυτταροτοξικότητα ( $IC_{50} < 90$  mg/mL) στα κύτταρα 3T3. (164)

#### 5.2.3.1.3 Αλγινικά άλατα

Πρόκειται για πολυσακχαρίτες προερχόμενους από την τάξη των καφέ φυκών (γένος *Fucus*) και συνιστούν ένα από τα πιο κοινά θαλάσσια βιοπολυμερή. Χρησιμοποιούνται ως πηκτωματοποιητικοί παράγοντες, καθώς και ως τρόφιμα, χημικά και συστατικά βιοτεχνολογικών προϊόντων, με χρήσεις στη φαρμακευτική και ιατρική. (166-168) Τα ξεχωριστά χαρακτηριστικά των συγκεκριμένων μεταβολιτών αποτελούν τη βάση για την παραγωγή νανოსύνθετων επιθεμάτων πληγών. (168-170) Αυτοί οι όξινοι γραμμικοί πολυσακχαρίτες διακρίνονται με βάση τις φυσικές και χημικές τους ιδιότητες σε δύο τύπου ουρονικά οξέα, το L-γουλουρονικό (G) και το D-μαννουρονικό (M), στη μορφή ομο- ή ετερο- πολυμερικού τμήματος. (Σχήμα 4)



Σχήμα 4. Δομική ποικιλομορφία αλγινικών θεικών πολυσακχαριτών: α-L-γουλουρονικό και β-D-μαννουρονικό αλγινικά τμήματα

Για τη δημιουργία υδροπηκτωμάτων από υδατικό διάλυμα αλγινικών γίνεται συνδυασμός με ιονικό παράγοντα διασταυρούμενης σύνδεσης, όπως τα κατιόντα  $Ca^{2+}$ ,  $Ba^{2+}$  ή  $Co^{2+}$ , τα οποία αλληλεπιδρούν με G-θραύσματα των πολυμερικών αλυσίδων. (168). Τα επιθέματα πληγών με αλγινικό ασβέστιο που φέρουν υψηλό περιεχόμενο σε G-θραύσματα πραγματοποιούν ανταλλαγή ιόντων ( $Ca^{2+}-Na^{+}$ ) σε μικρότερα ποσά, με εξίδρωμα που διογκώνεται αργά, αλλά δεν προκαλούν τραυματισμό ή πόνο κατά την αφαίρεση. (171, 172) Ανάλογα επιθέματα με υψηλή περιεκτικότητα σε M-θραύσματα

απορροφούν άμεσα το εξίδρωμα, αλλά απαιτούν ειδική ύγρανση κατά την αφαίρεση. (171-173) Τα ιόντα νατρίου έχουν την ικανότητα σχηματισμού εγκάρσιων δεσμών με τα αλγινικά ιόντα, τα οποία, ως πορώδη επιθέματα, επιτρέπουν τη μηχανική και στοχευμένη αναδόμηση ιστού, δρώντας ως μία σχεδόν άριστη μεμβράνη φραγμού. (174-177) Κατά το σχηματισμό καινοτόμων επιθεμάτων πληγής με νανοσύνθεση, τα πλέον σημαντικά βιολογικά και φαρμακολογικά χαρακτηριστικά περιλαμβάνουν τη βιοσυμβατότητα, τη μη τοξικότητα, τη βιοαποικοδομησιμότητα, καθώς και την αιμοστατική δράση, που σχετίζεται με την απελευθέρωση ιόντων ασβεστίου, τα οποία ενεργοποιούν τα αιμοπετάλια και άλλους παράγοντες σχηματισμού θρόμβων. (167, 168, 178, 179) Οι αποτελεσματικές προθρομβωτικές ιδιότητες, καθώς και η υψηλή αιμοστατική δραστηριότητα των αλγινικών, παρέχουν το βέλτιστο υγρό περιβάλλον στην περιοχή της πληγής, μαζί με καλή απορρόφηση του εξιδρώματος, ενώ παράλληλα επάγεται η ανάπτυξη κοκκιώδους ιστού, μειώνεται η συγκέντρωση προφλεγμονωδών κυτοκινών, παρεμποδίζεται ο σχηματισμός ελευθέρων ριζών και ενισχύεται η αντιμικροβιακή δράση. (167, 168, 178, 180) Αυτό σε κλινικό επίπεδο μεταφράζεται ως μείωση του χρόνου που απαιτείται για την επούλωση και παράταση των διαστημάτων που μεσολαβούν μεταξύ της κάθε περιόδου, η οποία πραγματοποιείται ατραυματικά και ανώδυνα. (168, 178, 179, 181) Η εκτεταμένη χρήση των αλγινικών μαζί με μεταλλικά ιόντα σε υδροπηκτώματα, ως επιθέματα πληγών για τη διαχείριση οξέων και χρόνιων τραυμάτων, όπως διαβητικά έλκη, τραυματικές και εγχειρητικές τομές, αλλά και πληγές κατάκλισης, βασίζεται και σε άλλα χαρακτηριστικά των αλγινικών, που σχετίζονται με το χαμηλό κόστος, την ευρεία διαθεσιμότητα και την υψηλή βιοσυμβατότητά τους. Παραδείγματα τέτοιων επιθεμάτων πληγών αποτελούν τα Algicell<sup>TM</sup>, AlgiSite<sup>TM</sup> M, Comfeel<sup>TM</sup> Plus. (179, 182-185) Επιπλέον, τα επιθέματα φιλμ και αφρού, με βάση τα αλγινικά άλατα, εμφανίζονται πολλά υποσχόμενα, καθώς φαίνεται να βελτιώνουν την επούλωση, μέσω ομαλοποίησης της ανταλλαγής αερίων, και να παρέχουν προστασία από επιμόλυνση, συνδυαζόμενα και με άλλα βιοπολυμερή, αιθέρια έλαια και επιφανειοδραστικές ουσίες, που ενισχύουν τη διασπορά. (180, 183, 184) Πλήθος επιδέσμων με βάση τα αλγινικά είναι διαθέσιμοι στην αγορά φαρμακευτικών προϊόντων, οι οποίοι κυμαίνονται από παραδοσιακά επιθέματα υδροπηκτώματος ως καινοτόμα λυοφιλικά φύλλα και νανοϊνες για πληγές κοιλοτήτων (186-190), ενώ δεν λείπουν οι συνδυασμοί με Zn, Mn, Ag, γλυκερόλη, πολυβινυλική αλκοόλη και άλλα πολυμερή θαλάσσιας προέλευσης. (185, 191-193) Οι *K. Murakami* και συνεργάτες (178) ενσωμάτωσαν τις επουλωτικές ιδιότητες των αλγινικών μαζί με



φουκοϊδάνη, χιτίνη/χιτοζάνη και μιτομυκίνη C σε ένα υδροπήκτωμα επιθέματος πληγής. Τα αποτελέσματα των πειραματικών μελετών έδειξαν ότι πρόκειται για ένα άριστο επίθεμα, που συνδυάζει το χημειοελκτικό αποτέλεσμα στους ινοβλάστες και την προαγωγή του πολλαπλασιασμού τους, μαζί με την επιτάχυνση της επανεπιθηλιοποίησης των ιστών και της κοκκοποίησης που εμφανίζονται κατά την 7<sup>η</sup> ημέρα. Κατά την ανάλυση των επουλωτικών μηχανισμών του συγκεκριμένου επιθέματος, άξια ενδιαφέροντος είναι η συνδυαστικά αποτελεσματική δράση των καφέ φυκών, των πολυσακχαριτών, των αλγινικών και της φουκοϊδάνης, η οποία συμπληρώνεται από την ενισχυμένη μηχανική δύναμη που παρέχουν η χιτίνη και η χιτοζάνη. (188, 194, 195) Στα πλαίσια της Κοσμητολογίας, έχει χρησιμοποιηθεί υδροπήκτωμα με συνδυασμό αλγινικών και υαλουρονικού οξέος. (168, 174, 175, 194, 195) Το παράγωγο υαλουρονικού (hyaluran) συνεισφέρει σημαντικά στην epούλωση, καθώς επιβραδύνει την απελευθέρωση  $Ca^{2+}$ , ρυθμίζει την πηκτωματοποίηση των αλγινικών και παρέχει ενυδάτωση στην πληγή κατά τα αρχικά στάδια της επουλωτικής διαδικασίας, ενώ παράλληλα ενεργοποιεί τον πολλαπλασιασμό και τη μετανάστευση των κερατινοκυττάρων. (177, 194-197) Ωστόσο, παρά την καθ' όλα βιολογική αποτελεσματικότητα του υδροπηκτώματος αλγινικών, η δυσκολία ελέγχου στη διαδικασία σχηματισμού του πηκτώματος οδηγεί στην εμφάνιση ετερογενούς δομής και μη ικανοποιητικής μηχανική ισχύος. (194, 198). Σε πειραματικό μοντέλο, κατέστη φανερό ότι η epούλωση πραγματοποιήθηκε γρηγορότερα σε μείγματα μορφής πηκτώματος που περιείχαν το συνδυασμό αλγινικά-υαλουρονικό οξύ. (194, 195, 199) Παράλληλα, η δομή στο υδροπήκτωμα αλγινικά-hyaluran παρέχει τη δυνατότητα απελευθέρωσης των βιολογικά ενεργών ουσιών απευθείας στην πληγή. (195, 200) Στα πλαίσια της έρευνας των αλγινικών αλάτων ως λειτουργικών και βιοενεργών υλικών για τη φροντίδα και αποκατάσταση πληγών, παρασκευάστηκε υδροπήκτωμα αλγινικών (Alg) με υδρόθειο ( $H_2S$ ) ως επίθεμα και υποβλήθηκε σε αξιολόγηση, σχετικά με τη μορφολογία, τη διόγκωση, την αποικοδόμηση, την ικανότητα απελευθέρωσης ουσιών, καθώς και τη βιολογική και κυτταρική συμβατότητα και την επουλωτική ικανότητα. (201) Ένα λειτουργικό και αποτελεσματικό επίθεμα πληγών χρειάζεται να εμποδίζει την αφυδάτωση της τραυματισμένης περιοχής, διατηρώντας υγρό το περιβάλλον γύρω από το τραύμα, να παρέχει κάλυψη σε ολόκληρη την επιφάνεια της πληγής και να απορροφά τα παραγόμενα υγρά, ενώ παράλληλα να διευκολύνει την αναπλαστική διαδικασία. (201) Στην αναφερόμενη μελέτη (201), έγινε αρχικά προκατεργασία του υδροπηκτώματος αλγινικών μαζί με  $H_2S$  και ακολούθησε χαρακτηρισμός και αξιολόγηση των βιολογικών

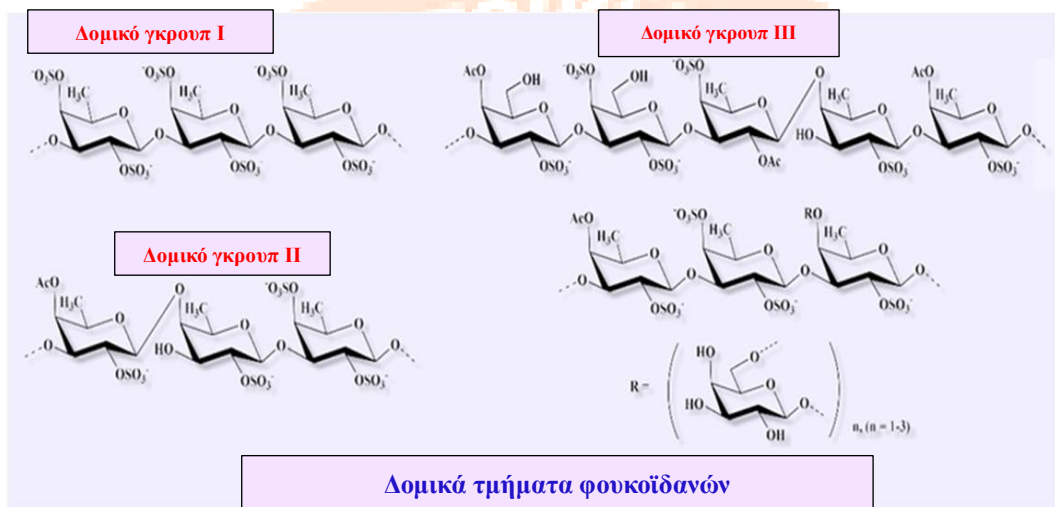
ιδιοτήτων σε επίπεδο *in vitro* και *in vivo*. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το υδροπλήκτωμα παρουσίασε μία πορώδη δομή, με το μέγεθος των πόρων να κυμαίνεται από 50 ως 100  $\mu\text{m}$ , ένα ικανοποιητικό ποσοστό διόγκωσης και αποικοδόμησης, με την απορρόφηση νερού να κινείται στα  $179 \pm 5\%$  του αρχικού ξηρού βάρους μέσα σε 96 ώρες και να πέφτει το 80% του αρχικού ξηρού βάρους μετά από 7 ημέρες, όπως επίσης κι ένα προφίλ απελευθέρωσης φαρμάκου ευεργετικό για τη διαδικασία επούλωσης. (201) Η αξιολόγηση *in vitro* φανέρωσε ότι η βέλτιστη συγκέντρωση  $\text{H}_2\text{S}$  ήταν 0.5% και ότι υψηλότερη συγκέντρωση απέφερε δυσμενείς επιπτώσεις στην ανάπτυξη του κυττάρου και τη διαδικασία επούλωσης, με πρόκληση αιμόλυσης και κυτταροτοξικότητας. Από την *in vivo* μελέτη, κατέστη φανερό ότι κατά τη χρήση αγωγής με Alg/ $\text{H}_2\text{S}$  0.5% λήφθηκε το υψηλότερο ποσοστό αποκατάστασης της πληγής με τιμή  $98 \pm 1.22\%$ . (201) Επιπροσθέτως, ο συνδυασμός αλγινικών με  $\text{H}_2\text{S}$  0.5% φάνηκε να επάγει τη δημιουργία σμηγματογόνων αδένων, τριχοθυλακίων και να ολοκληρώνει την επιθηλιοποίηση, χωρίς την πρόκληση φλεγμονής ή ινοπλασίας, όπως διαπιστώθηκε από την ιστοπαθολογική παρατήρηση. (201) Η *in vitro* κυτταρική ανάπτυξη και το *in vivo* μοντέλο φανέρωσαν, ότι η συνδυαστική χρήση υδροπληκτώματος Alg/ $\text{H}_2\text{S}$  δρα ενισχυτικά σε επίπεδο επούλωσης και επομένως, έχει σημασία να χρησιμοποιηθεί ως λειτουργικό και βιοενεργό υλικό σε επιθέματα πληγών, ενώ ο ακριβής μηχανισμός δράσης παραμένει άγνωστος και χρήζει περαιτέρω διερεύνησης. (201)

#### 5.2.3.1.3.1 Ασφάλεια/Τοξικότητα αλγινικών αλάτων

Τα αλγινικά άλατα, αν και αποτελούν βιοϋλικά με προέλευση από τα καφέ φύκη και ως εκ τούτου είναι πλήρως βιοδιασπώμενα, δεν αποσυντίθενται στο σώμα. Ωστόσο, απελευθερώνουν ιόντα και διασπώνται σε μικρότερα μόρια. Μια χημική τροποποίηση, π.χ. οξείδωση στις αλυσίδες των αλγινικών, μπορεί να συμβάλλει θετικά στην αποσύνθεσή τους. Μειωμένες μηχανικές ιδιότητες και ακαμψία είναι πιθανό να δράσουν ως εμπόδιο στη χρήση των αλγινικών, ιδίως σε ό,τι έχει να κάνει με τη μηχανική σκληρών ιστών. Αλλαγές στο χημικό χαρακτήρα μπορεί να ενισχύσουν τις ιδιότητες του υλικού, αλλά και να επιδράσουν αρνητικά, επιφέροντας τοξικότητα. Στα πλαίσια *in vitro* μελετών, 3D πλατφορμών κυτταρικής καλλιέργειας και σε επίπεδο τοπικής εφαρμογής, παρατηρείται ότι τα αλγινικά άλατα αποτελούν ένα ασφαλές φυσικό βιοϋλικό. (202)

## 5.2.3.1.4 Φουκοϊδάνες

Πρόκειται για βιοπολυμερή ευρισκόμενα μόνο στα καφέ φύκη, τα οποία κατηγοριοποιούνται ως ανιονικοί θειικοί πολυσακχαρίτες. (Σχήμα 5) Ορισμένα θαλάσσια ασπόνδυλα (ιαπωνικό θαλάσσιο αγγούρι -sea urchins-) έχουν την ικανότητα να συνθέτουν παρόμοιους πολυσακχαρίτες. (155, 156) Η δομή αυτών αποτελείται μόνο από υπολείμματα θειικής φουκόζης και είναι τακτική, διαχωρίζοντας αυτούς τους πολυσακχαρίτες από τις φουκοϊδάνες.



Σχήμα 5. Δομική ποικιλομορφία θειικών πολυσακχαριτών από φύκη: θραύσματα φουκοϊδανών

Η χημική σύνθεση, η δομή και οι βιολογικές ιδιότητες τους καθιστούν τις φουκοϊδάνες σημαντικά εξαρτώμενες από τις συνθήκες περιβάλλοντος, την εποχή συγκομιδής τους, το είδος φυκών, καθώς και τις χρησιμοποιούμενες τεχνολογίες για την κλασματική εξαγωγή και τον καθαρισμό τους. (203-207) Το μοτίβο των βιολογικών δραστηριοτήτων στις φουκοϊδάνες καθορίζεται από τις διαφορετικές αναλογίες των δομικών μονοσακχαριτών (φουκόζη, γλυκόζη, γαλακτόζη, ξυλόζη, μαννόζη), των θειικών εστέρων και του ουρονικού οξέος. (178, 203, 208) Η παρουσία θειικών ομάδων καθορίζει τις αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες, μεταξύ των οποίων την ανασταλτική δράση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, την υπεροξειδωση, τη μετανάστευση ουδετερόφιλων, καθώς επίσης τη δράση των φουκοϊδανών ως παράγοντες κυτταρικής αλληλεπίδρασης και αντιπηκτικότητας. (203, 206, 207, 208) Όσον αφορά στο μηχανισμό της αντιπηκτικής δράσης, οι φουκοϊδάνες χαμηλού MB προσομοιάζουν την ηπαρίνη και επάγουν την

παραγωγή κυτοκινών όπως η HGF/SF, η οποία διαδραματίζει ένα σημαντικό ρόλο στη διαδικασία επούλωσης και στην επανεπιθηλιοποίηση, ενώ ακόμα διεγείρει την αγγειογένεση, τη μετανάστευση και τον πολλαπλασιασμό των κερατινοκυττάρων. (209, 210) Σε έρευνα που πραγματοποίησαν οι R. O'Leary και συνεργάτες (211), έγινε φανερό ότι ορισμένες ποικιλίες φουκοϊδανών που προέρχονται από καφέ φύκη του γένους *Fucus* αλληλεπιδρούν ενεργά με τον αυξητικό παράγοντα TGF-β, ο οποίος αποτελεί μια κυτοκίνη με ικανότητα ρύθμισης του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, της διαφοροποίησης, της απόπτωσης, της ανοσολογικής απόκρισης και της επαναδιαμόρφωσης της εξωκυτταρικής μήτρας. Χρησιμοποιήθηκε πειραματικό μοντέλο, όπου προκλήθηκαν με βιοψία διάτρησης, οξείς τραυματισμοί, οι οποίοι προκάλεσαν ταχεία αύξηση επιπέδου του παράγοντα TGF-β, οδηγώντας στο σχηματισμό ουλών στην πληγωμένη περιοχή. Οι φουκοϊδάνες έδειξαν να επάγουν τον πολλαπλασιασμό, με αναστολή της δράσης του TGF-β, αυξάνοντας έτσι σημαντικά την παρουσία ινοβλαστών, καθώς και το σχηματισμό ινώδους μήτρας κολλαγόνου, προάγοντας κατ' αυτόν τον τρόπο την επούλωση της πληγής. Η επουλωτική δράση των φουκοϊδανών σε πληγές από εγκαύματα μελετήθηκε αρχικά από τους M. Kordjazi και συνεργάτες. (203) Άξιο προσοχής είναι το ότι ο βαθμός θείωσης φαίνεται να επιδρά στις αντιπηκτικές, αντιθρομβωτικές, αντιφλεγμονώδεις και αντιοξειδωτικές ιδιότητες αυτών των πολυσακχαριτών (από 32,6% ως 19,0%). Από το βαθμό ενεργοποίησης του πολλαπλασιασμού ινοβλαστών (αναγνωρίζεται ως ο κύριος μηχανισμός), την εναπόθεση κολλαγόνου και την αύξηση του πάχους της επιδερμίδας, διαπιστώθηκε ότι όσο μεγαλύτερο το θειικό περιεχόμενο των πολυσακχαριτών, τόσο εντονότερες οι επουλωτικές ιδιότητές τους. (203) Παρόμοιες μελέτες, που πραγματοποιήθηκαν μεταγενέστερα, επιβεβαίωσαν τα προηγούμενα αποτελέσματα. Εξήχθη, επομένως, το συμπέρασμα ότι οι φουκοϊδάνες χαμηλού MB με υψηλή περιεκτικότητα θεικών, επιταχύνουν την επουλωτική διαδικασία, μέσα από μια σύνθετη και συντονισμένη δραστηριότητα, που βασίζεται στα αντιοξειδωτικά, αντιφλεγμονώδη και αναπτυξιακά χαρακτηριστικά τους. (129, 207, 212, 213) Αυστραλοί ερευνητές χρησιμοποίησαν φουκοϊδάνες προερχόμενες από το φύκος *Fucus vesiculosus* ως βάση για τη δημιουργία επιθεμάτων πληγής, σχεδιάζοντας μία ειδική πολυηλεκτρολυτική πολυεπίπεδη μονάδα, σε συνδυασμό με χιτοζάνη. (208) Όπως αποκαλύφθηκε από τους ερευνητές J. Cashman και A. Charboneau σε πρόσφατες μελέτες, οι φουκοϊδάνες έχουν ισχυρή ικανότητα παρεμποδισμού του σχηματισμού μετεγχειρητικών προσκολλήσεων σε πληγές της κοιλιακής χώρας. (213, 214) Χρησιμοποιήθηκαν επιθέματα πληγής με βάση φιλμ που

περιείχαν φουκοϊδάνες από το *F. vesiculosus* και τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε μοντέλα κουνελιών και αρουραίων. Λόγω της υψηλής συχνότητας εμφάνισης προσκόλλησης των επιθεμάτων, μετά από εγχειρήσεις στην κοιλιακή χώρα και την περιοχή της πυέλου (65-90%), υπάρχει υψηλή ζήτηση για τους συγκεκριμένους πολυσακχαρίτες στα επιθέματα πληγών. (215) Όπως έχει γίνει φανερό, υπάρχει συσχέτιση ανάμεσα στον παθογενετικό μηχανισμό προσκόλλησης και την ενεργοποίηση προσκόλλησης, μέσω μιας τοπικής φλεγμονώδους διαδικασίας, που ρυθμίζεται από την χειρουργική βλάβη στο περιτόναιο και την επερχόμενη εξίδρωση πλάσματος, πλούσιου σε ιώδες, μέσα στην κοιλότητα. (213, 215) Με βάση αυτά τα δεδομένα, προέκυψε το συμπέρασμα ότι οι φουκοϊδάνες συνιστούν τον πιο αποτελεσματικό αντιπροσκολλητικό και μη τοξικό παράγοντα, κατάλληλο για κλινική χρήση. (213, 216)

## 5.3 ΠΕΠΤΙΔΙΑ ΘΑΛΑΣΣΙΑΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ

### 5.3.1 Επινεσιδίνη-1

Πρόκειται για ένα κατιονικό αντιμικροβιακό πεπτιδίο (AMP) που χαρακτηρίζεται από δομή α-έλικας, απουσία δισουλφιδικών δεσμών και προέλευση από το ψάρι *Epinephelus coioides*. (217) Έχουν αναφερθεί 7 λειτουργικές χρήσεις του πεπτιδίου, οι οποίες είναι: αντιβακτηριακή, αντιμυκητιασική, αντική, αντιπρωτοζωική, αντικαρκινική, ανοσοτροποποιητική, καθώς και επουλωτική.

#### 5.3.1.1 Επουλωτική δράση Επινεσιδίνης-1

Για την επουλωτική διαδικασία, υψίστης σημασίας είναι ο πολλαπλασιασμός και η μετανάστευση των επιθηλιακών κυττάρων. (218) Πρόσφατα έγινε αξιολόγηση της Επινεσιδίνης-1, ως προς αυτά τα στοιχεία, με τη χρήση κυτταρικής σειράς HaCaT. Στη χρησιμοποιούμενη συγκέντρωση των 31.25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  δεν παρατηρήθηκε κάποιο κυτταροτοξικό αποτέλεσμα, ενώ αξίζει να σημειωθεί ότι κατά την αγωγή με συγκέντρωση 15.625  $\mu\text{g}/\text{mL}$  υπήρξε αύξηση του αριθμού των κυττάρων, καθώς και της αναλογίας κυττάρων που βρίσκονται ενεργά στη φάση S (στάδιο αντιγραφής). Οπότε, μπορεί να εξαχθεί το συμπέρασμα, ότι η Επινεσιδίνη-1 προάγει τον πολλαπλασιασμό και τη μετανάστευση κυττάρων στην περιοχή της πληγής. (219) Ακόμη, η πραγματοποίηση μελετών σε επιδερμικά έλκη ποντικών και χοίρων από μόλυνση με MRSA (Methicillin Resistant Staphylococcus aureus), κατέδειξε ότι η χρήση του πεπτιδίου συνέβαλε στην ελάττωση του βακτηριακού αποικισμού στην περιοχή της πληγής, ενώ παράλληλα



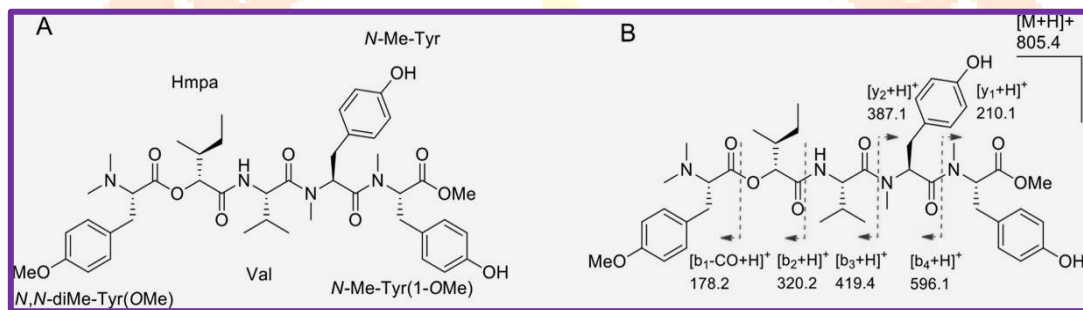
ευνοήθηκε η αγγειογένεση και τη σύγκλιση αυτής. (219, 220) Μάλιστα, με τη χρήση Επινεσιδίνης-1 σε μοντέλο ποντικού με επιδερμικό έλκος επιμολυσμένο από MRSA, παρατηρήθηκε γρηγορότερη συστολή τραύματος συγκριτικά με μη μολυσμένα έλκη, καθώς και με μολυσμένα έλκη στα οποία χορηγήθηκε αγωγή με βανκομυκίνη. Η μελέτη αποδεικνύει ότι η δράση της Επινεσιδίνης-1 κατά του MRSA δεν περιορίζεται μόνο σε αντιμικροβιακό επίπεδο, αλλά και στη ρύθμιση ορισμένων κυτοκινών. Πιο συγκεκριμένα, έγινε φανερό πως η χρήση του πεπτιδίου οδήγησε σε μείωση των προφλεγμονωδών κυτοκινών TNF- $\alpha$ , IL-6 και MCP-1 στον ορό του αίματος, ενώ παράλληλα ρύθμισε την πρόσληψη μονοκυττάρων και την απομάκρυνση των λεμφοκυττάρων στην τραυματισμένη περιοχή κατά την επούλωση. (219) Επίσης, είναι σημαντικό να αναφερθεί, ότι η συνδυαστική αγωγή με Επινεσιδίνη-1 και κολλαγόνο επιφέρει βελτιωμένο επουλωτικό αποτέλεσμα σε σχέση με τη μεμονωμένη χρήση του πεπτιδίου. Αποτελέσματα από άλλες μελέτες επιβεβαιώνουν ότι η Επινεσιδίνη-1 επιταχύνει τη διαδικασία επούλωσης και προφυλάσσει από πιθανή επιμόλυνση και σε έλκη εγκαυμάτων, μολυσμένων με MRSA σε επιδερμίδα χοίρων. Συγκεκριμένα, φάνηκε ότι σε διάστημα 25 ημερών το πεπτίδιο αύξησε την επιθηλιακή δραστηριότητα, την εξωκυττάρια παραγωγή ενώσεων κολλαγόνου, αλλά και την αγγείωση. Παράλληλα η αγωγή με Επινεσιδίνη-1 στους χοίρους έδειξε να προκαλεί καταστολή στη C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP), καθώς και στην προφλεγμονώδη κυτοκίνη IL-6, κάτι που δεν παρατηρήθηκε στην ομάδα των χοίρων που δεν έλαβαν αγωγή. (220)

### **5.3.1.2 Σταθερότητα Επινεσιδίνης-1**

Πραγματοποιήθηκε αξιολόγηση της σταθερότητας υπό διαφορετικές συνθήκες. Παρατηρήθηκε ότι κατά την έκθεση της Επινεσιδίνης-1 σε  $\gamma$ -ακτινοβολία, η αντιμικροβιακή της δράση παρουσίασε μείωση - η ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση (MIC) ήταν 39  $\mu\text{g/mL}$  συγκριτικά με τα 9,7  $\mu\text{g/mL}$  του μη ακτινοβολημένου τυφλού μετά την έκθεση σε MRSA. (221) Άλλον έναν παράγοντα ελάττωσης της αντιμικροβιακής δράσης αποτελεί η αυξημένη θερμοκρασία. Το MIC ήταν 312  $\mu\text{g/mL}$  για έκθεση στο MRSA μετά από θέρμανση 5 λεπτών στους 40 °C, συγκρινόμενο με την ομάδα ελέγχου (τυφλό) στα 9,7  $\mu\text{g/mL}$  στους 25 °C. (221) Παρόλο που η θερμοκρασία και η ακτινοβολία φάνηκε να επιδρούν με αρνητικό τρόπο επί της αντιμικροβιακής ικανότητας του πεπτιδίου, η παρουσία όξινου περιβάλλοντος έδειξε να μην προκαλεί κάποια ουσιαστική επίδραση. Μάλιστα, διαπιστώθηκε ότι σε όξινες συνθήκες μεγιστοποιείται η αντιμικροβιακή δράση. (221)

### 5.3.2 Apratyramide

Μέχρι στιγμής υπάρχει μόνο ένας αυξητικός παράγοντας εγκεκριμένος από τον FDA για την αντιμετώπιση του έλκους διαβητικού ποδιού (ΕΔΠ), ο ανασυνδυασμένος αυξητικός παράγοντας (GF) με προέλευση από αιμοπετάλια, Becaplermin. (222) Ωστόσο, παρατηρείται χαμηλή απορρόφηση κατά την τοπική εφαρμογή GFs, λόγω της πρωτεϊνικής τους φύσης, με αποτέλεσμα να περιορίζεται η εξωγενής χρήση τους. (223-225). Οπότε γίνεται φανερή η ανάγκη για επιλογή εναλλακτικών μεθόδων που θα κινητοποιήσουν τη σύνθεση και έκκριση των ενδογενών GFs στην περιοχή της πληγής. Σε αυτή την περίπτωση είναι δυνατό να βρει εφαρμογή η χρήση του Apratyramide. (Εικόνα 4)



Εικ. 3. (Α) Δομή του Apratyramide (Β) ESIMS κατακερματισμός του Apratyramide

Πρόκειται για ένα γραμμικό δεσπεπτιδίο, δηλαδή πεπτιδίο στο οποίο μία ή περισσότερες αμιδικές ομάδες -CNHR- αντικαθίστανται από τον αντίστοιχο εστέρα -COR-, απομονωμένο από το κυανοβακτήριο *Moorea bouillonii*. (226) Είναι εμπλουτισμένο με τμήματα προεχόμενα από το αμινοξύ τυροσίνη, με επαγωγική δράση προς τον αυξητικό παράγοντα αγγειακού ενδοθηλίου (VEGF-A) και άλλους αυξητικούς παράγοντες (GFs). (227) Το Apratyramide συμβάλλει στη ρύθμιση πλήθους αυξητικών παραγόντων κατά τη μεταγραφή, κινητοποιώντας την έκκριση του VEGF-A, με αυτό να υποδηλώνει την πιθανή ικανότητα του πεπτιδίου για επούλωση. (227) Η απομόνωση του δεσπεπτιδίου πραγματοποιήθηκε με την πρότυπη διαδικασία, χρησιμοποιώντας CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> και MeOH σε αναλογία 2:1 και ακολούθησε διαχωρισμός διαλυτών, χρωματογραφία με silica gel και HPLC αντίστροφης φάσης για καθαρισμό. Στη συνέχεια έγινε συνδυαστική χρήση NMR και MS για να προσδιοριστεί η τελική δομή, μαζί με χειρόμορφη ανάλυση του όξινου υδρολύματος. (227) Πράγματι, η αξιολόγηση της *in vitro* εξέτασης που πραγματοποιήθηκε σε ανθρώπινα κερατινοκύτταρα της κυτταρικής σειράς HaCaT, στα



οποία είχε εφαρμοστεί το εν λόγω δεσμιπεπτίδιο, κατέδειξε μεταγραφή και προαγωγή της έκκρισης του VEGF-A, καθώς και άλλων GFs (PDGFB και bFGF), σχετιζόμενων με την επουλωτική διαδικασία, οπότε έμμεσα υπήρξε επαγωγή της αγγειογένεσης, η οποία επιβεβαιώθηκε μετά από εφαρμογή του Apratyramide *ex vivo*, σε μοντέλο κεράτινης στιβάδας κουνελιών. (227) Διαπιστώθηκε, έτσι, ότι το Apratyramide λειτουργεί με τρόπο επαγωγικό στην έκκριση GFs, παρέχοντας τη δυνατότητα για επιτάχυνση της επουλωτικής διαδικασίας, καθώς και αποκατάσταση σε χρόνια τραύματα. (227)

### 5.3.3 Θαλάσσιο κολλαγόνο

Τις τελευταίες δεκαετίες, οι θαλάσσιοι οργανισμοί έχουν εγείρει το ενδιαφέρον, ως προς την παραγωγή κολλαγόνου. Πιο συγκεκριμένα, η βιομάζα που προέρχεται από τη βιομηχανία επεξεργασίας θαλάσσιων οργανισμών (κατάλοιπα ψαριών και αχινών, ψάρια μικρού μεγέθους και «κατά τύχη» αλιεύματα, όπως μέδουσες, καρχαρίες, αστερίες και σφουγγάρια) δημιουργεί μία σημαντική, αλλά ανεκμετάλλευτη πηγή κολλαγόνου. (228) Η χρήση της βιομάζας που απορρίπτεται και υποχρησιμοποιείται μπορεί να συμβάλλει στη συλλογή κολλαγόνου με βιώσιμο τρόπο, μειώνοντας σημαντικά τον αντίκτυπο αυτής της δραστηριότητας προς το περιβάλλον.

#### 5.3.3.1 Κολλαγόνο από κατάλοιπα ψαριών

Το κολλαγόνο και τα βιοενεργά πεπτίδια που εξάγονται από την επιδερμίδα ψαριών, όπως ο σολομός και ο μπακαλιάρος, παρουσιάζουν καλή ικανότητα στη συγκράτηση νερού, καθιστώντας τα κατάλληλα για χρήση σε ενυδατικές συνθέσεις. (229) Νανοΐνες από ψάρι *Tilapia*/βιοενεργό γυαλί (CoI/BG) έχουν χρησιμοποιηθεί ως επίθεμα πληγής για προφύλαξη από επιμόλυνση, καθώς και για προαγωγή της επούλωσης και της επιδερμικής ανάπλασης, σε μελέτες *in vitro* και *in vivo*. (230) Επίσης, παρασκευάστηκε ένα σύστημα αποδέσμευσης, ελεγχόμενο από ικρίωμα και αποτελούμενο από μικροσφαιρίδια D, L-lactide-co-glycolide acid (PLGA), κολλαγόνο ψαριού, χιτοζάνη και θειική χονδροϊτίνη, με μέθοδο λυοφιλοποίησης (freeze-drying). Το ποσό απελευθέρωσης πρωτεΐνης από το σύστημα αποδέσμευσης φάνηκε να εξαρτάται από το ποσοστό του κολλαγόνου του ψαριού, ενώ διαπιστώθηκε προαγωγή στον πολλαπλασιασμό των ινοβλαστών και την αναδόμηση του επιδερμικού ιστού, καθώς και ικανοποιητική βιοσυμβατότητα. (231)

### 5.3.3.2 Κολλαγόνο από εχινόδερμα

Το κολλαγόνο αυτό προέρχεται από αχινούς και μέδουσες που αποτελούν «κατά λάθος αλιεύματα»/«παρα-αλιεύματα». Διαθέτουν έναν ξεχωριστό συνδετικό ιστό (mutable collagenous tissue – MCT), ο οποίος συνιστά πηγή έμπνευσης για τη σύνθεση «έξυπνων δυναμικών βιοϋλικών», με στόχο τη μηχανική ιστών και ιατρικές εφαρμογές αποκατάστασης. (232, 233) Μπορεί να χρησιμοποιηθεί στην παραγωγή μεμβρανών φραγμού από κολλαγόνο για καθοδηγούμενη αναδιαμόρφωση ιστού (GRT). (234)

### 5.3.3.3 Κολλαγόνο από μέδουσες

Πολλές μελέτες φανερώνουν την ικανότητα για εφαρμογή στην επούλωση, σπόγγων με κολλαγόνο από μέδουσες. Πρόσφατα έγινε εξαγωγή κολλαγόνου τύπου I από τη μέδουσα *Rhopilema Esculentum*, το οποίο προσομοιάζει με το ανθρώπινο. (235) Σε έρευνα που διεξήχθη από τους Cheng και συνεργάτες (2017), διασταυρώθηκε κολλαγόνο προερχόμενο από τη μέδουσα *R. Esculentum* με 1-αιθυλο-3-(3-διμεθυλαμινοπροπυλ)-καρβοδιμίδιο (EDC), προς δημιουργία σπόγγων με αιμοστατικές ιδιότητες, οι οποίοι χρησιμοποιήθηκαν σε αρουραίους με ακρωτηριασμένη ουρά, αποδεικνύοντας, έτσι, την ικανότητα για χρήση των σπόγγων, ως επιθεμάτων τραυμάτων και αιμοστατικών υλικών, με δράση ισχυρότερη από τις γάζες ελέγχου (control gauzes). (236) Επίσης, πεπτίδια που προέρχονται από το κολλαγόνο της *R. esculentum* φαίνεται να έχουν ρόλο στη διαδικασία επούλωσης *in vivo*, προκαλώντας αύξηση στην παραγωγή χημειοτακτικών παραγόντων, όπως TGF-β1 και β-FGF. (237) Παρασκευάστηκαν πορώδη ικρίωματα από κολλαγόνο που προέχεται από τη γιγάντια μέδουσα *Nemopilema nomurai*. Αυτό το κολλαγόνο έδειξε μηδενική κυτταροτοξικότητα και μάλιστα απεδείχθη βιοσυμβατό με τους πρωτεύοντες ανθρώπινους ινοβλάστες (HF) και τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Εκτός αυτού, η κυτταρική βιωσιμότητά του έδειξε να είναι καλύτερη, σε σύγκριση με κολλαγόνο προερχόμενο από τα οστά, τη γλυκάνη, τη ζελατίνη και το υαλουρονικό οξύ. Παράλληλα, εμφυτευόμενο *in vivo*, οδηγούσε σε παρόμοια ανοσολογική απόκριση με το κολλαγόνο του εμπορίου, προερχόμενο από οστά. (238) Επιπλέον, η παραγωγή ενός τρισδιάστατου, έντονα πορώδους ικρίωματος από υβρίδιο κολλαγόνου της *N. nomurai*/υαλουρονικού οξέος, παρείχε τη δυνατότητα για πολλαπλασιασμό των ινοβλαστών σε επιφάνεια μεγάλου πλάτους, χωρίς να υπάρχει παρέμβαση στην κυτταρική βιωσιμότητα. (239) Σε άλλη έρευνα, χρησιμοποιήθηκαν σπόγγοι διασταυρωμένου κολλαγόνου με EDC και μη διασταυρωμένου -και τα δύο από μέδουσα *Rhizostoma pulmo*- και καταδείχθηκε ότι ήταν

καλά ανεκτοί *in vivo*, με υποδόρια εμφύτευση σε μοντέλο αρουραίου, παρόμοια με τους σπόγγους κολλαγόνου από βοοειδή της ομάδας ελέγχου. (240)

#### 5.3.3.4 Πλεονεκτήματα και περιορισμοί στη χρήση κολλαγόνου

Το θαλάσσιο κολλαγόνο παρουσιάζει πληθώρα πλεονεκτημάτων, σε σχέση με αυτό από χερσαίες πηγές. (241)

1. Βρίσκεται σε αφθονία στο θαλάσσιο οικοσύστημα.
2. Δεν υπάρχουν περιορισμοί θρησκευτικής φύσης, σχετικά με την προέλευσή του.
3. Είναι εύκολα προσβάσιμο.
4. Έχουν αναφερθεί λίγες περιπτώσεις τοξικότητας στις χρησιμοποιούμενες αποτελεσματικές δόσεις. Αυτό κρίνεται υψίστης σημασίας, καθώς τα βοοειδή που αποτελούν την κύρια πηγή κολλαγόνου, εμφανίζουν υψηλά ποσοστά μετάδοσης BSE (bovine spongiform encephalopathy) και TSE (transmissible spongiform encephalopathy).
5. Συνιστά λύση φιλική προς το περιβάλλον, καθώς τεράστιες ποσότητες κολλαγόνου από την επιδερμίδα ψαριών, τα οστά τους και τα λέπια τους απορρίπτονται από τη βιομηχανία εκμετάλλευσης ψαριών ως παραπροϊόντα. Κατά συνέπεια, μειώνονται οι ρύποι και δεν βλάπτονται επιπλέον οργανισμοί για την απομόνωση κολλαγόνου.
6. Το θαλάσσιο κολλαγόνο, εκτός από τη χρήση του στη μεταφορά φαρμάκων, την επούλωση, την αντιγήρανση και την αναδιαμόρφωση ιστών, θεωρείται εξίσου αποτελεσματικό με τις ουσίες που έχουν “collagen-like effect”, με αποτελεσματικότητα συγκρίσιμη με το αντιοξειδωτικό BHT.
7. Η σπογγώδης μεμβράνη κολλαγόνου, συγκρινόμενη με μεμβράνη πολυουρεθανίου, παρουσιάζει υψηλότερη επουλωτική ικανότητα και μειωμένο χρόνο επούλωσης.
8. Το θαλάσσιο κολλαγόνο είναι πιο εύκολα υδρολύσιμο από αυτό των θηλαστικών κι αυτό το καθιστά ικανό για περαιτέρω επεξεργασία προς πεπτιδικά παράγωγα.
9. Χάρη στα δομικά και λειτουργικά χαρακτηριστικά του, εξυπηρετεί το ρόλο του φυσικού υποστρώματος για την κυτταρική προσκόλληση, ανάπτυξη και διαφοροποίηση.

Ωστόσο, παρόλο που τα πλεονεκτήματα υπερτερούν σε αριθμό, παρουσιάζονται και ορισμένοι περιορισμοί στη χρήση του θαλάσσιου κολλαγόνου. (241)

1. Είναι λιγότερο θερμικά σταθερό, σε σχέση με το κολλαγόνο των βοοειδών, λόγω λιγότερων υπολειμμάτων προλίνης και υδροξυπρολίνης.
2. Οι περισσότερες μελέτες αποτελεσματικότητας έχουν διεξαχθεί *in vitro* ή σε ζωικά μοντέλα. Χρειάζονται περισσότερα δεδομένα για την αποτελεσματικότητα και τις πιθανές ανεπιθύμητες ενέργειες που αφορούν στην ανθρώπινη επιδερμίδα.

### 5.3.3.5 Εφαρμογές κολλαγόνου στην επούλωση και στην αντιγήρανση

Η επιδερμίδα συνιστά τον πλέον σημαντικό αμυντικό μηχανισμό κατά των παθογόνων μικροοργανισμών, ενώ επιδρά σημαντικά και στην ομοίωση των ιστών. Οι επιδερμικοί τραυματισμοί συνιστούν ένα πολύ κοινό πρόβλημα, το οποίο ωστόσο εμφανίζει δυσκολία στη διαχείρισή του, με αποτέλεσμα να παρουσιάζονται καταστάσεις και επιπλοκές, όπως εγκαύματα, επιμόλυνση και ουλές. (241) Οι χρησιμοποιούμενες μέθοδοι αντιμετώπισης των πληγών έχουν ως στόχο να αποκαταστήσουν την ακεραιότητα στους πληγέντες ιστούς και να διαχειριστούν διαδικασίες, όπως η φλεγμονή, η κυτταρική διαίρεση, η διαφοροποίηση και η αγγείωση. Η διαπερατότητα του ενδοθηλίου επιτρέπει την κυτταρική προσκόλληση και έπονται οι διεργασίες της διαφοροποίησης και της ωρίμανσης. Το θαλάσσιο κολλαγόνο παρουσιάζει σημαντική δράση στην επούλωτική διαδικασία. Η χρήση του μπορεί να γίνει είτε με μορφή πεπτιδίων και υδροξυλικών ιόντων είτε με μορφή ινιδίων, με δομές που μοιάζουν με ικρίωματα. Η παραγωγή πεπτιδίων θαλάσσιου κολλαγόνου μπορεί να πραγματοποιηθεί είτε με χημική είτε με ενζυμική υδρόλυση. Τα μόριά του είναι περισσότερο απορροφήσιμα, λόγω του χαμηλού MB, το οποίο αυξάνει την υδατοδιαλυτότητα του κολλαγόνου. (241) Οι ερευνητές *Hu* και συνεργάτες (242), απέδειξαν ότι η χρήση πεπτιδίων κολλαγόνου θαλάσσιας προέλευσης βελτιώνει τη σύγκλιση πληγών σε συγκεντρώσεις 50 μg/mL, το οποίο αρχίζει 12 ώρες μετά την εφαρμογή της αγωγής, σε *in vitro* δοκιμασία αμυχών. Διαπιστώθηκε ότι η μετανάστευση κυττάρων που εκδηλώνεται στη συγκέντρωση 50μg/mL είναι παρόμοια με εκείνη μετά τη χρήση 10 ng/mL επιδερμικού αυξητικού παράγοντα, ο οποίος έχει καθοριστική συμβολή στην επούλωτική διαδικασία. Επιπροσθέτως, σε πείραμα που πραγματοποιήθηκε σε τραυματισμένη επιδερμίδα κουνελιών, φάνηκε ότι η χρήση πεπτιδίων θαλάσσιου κολλαγόνου από την επιδερμίδα του ψαριού *tilapia*, επιφέρει σημαντικά ταχύτερη

επούλωση, σε σχέση με την ομάδα ελέγχου, μετά από διάστημα 11 ημερών. (242) Σε άλλη μελέτη που πραγματοποιήθηκε από τους Wang και συνεργάτες σε αρουραίους (243), παρατηρήθηκε ότι τα πεπτίδια θαλάσσιου κολλαγόνου (MCPs), με προέλευση από την επιδερμίδα του σολομού, προκαλούν αξιοσημείωτη βελτίωση αντοχής στον εφελκυσμό στην πληγωμένη επιδερμίδα. Επίσης, υπήρξε αύξηση στο ρυθμό πολλαπλασιασμού των ινοβλαστών, καθώς και στην αγγείωση, 7 μέρες μετά την εφαρμογή της αγωγής στους αρουραίους. Εκτός αυτού, οι ομάδες στις οποίες χορηγήθηκε αγωγή με κολλαγόνο, εμφάνισαν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα υδροξυπρολίνης, συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου, με τρόπο-, χρόνο- και δόσο-εξαρτώμενο. (243) Αντίστοιχα αποτελέσματα (επίπεδο σύγκλισης τραύματος, αντοχή στον εφελκυσμό στο σημείο της τομής και κατανομή κολλαγόνου) φάνηκε να παρατήρησαν και οι Zhang και συνεργάτες (244), που χρησιμοποίησαν πεπτίδια θαλάσσιου κολλαγόνου, επίσης, σε αρουραίους. Η ιστολογική ανάλυση έδειξε βελτίωση στις ομάδες, όπου χορηγήθηκε το κολλαγόνο, η οποία αφορούσε την αγγείωση, την επιθηλιοποίηση και τη διήθηση ινοβλαστών. Τόσο η εναπόθεση κολλαγόνου όσο και η ανάπτυξη κοκκιώδους ιστού και υδροξυπρολίνης, η οποία ευνοεί περαιτέρω την απόθεση κολλαγόνου, παρουσίασαν βελτίωση στις εξεταζόμενες ομάδες για τις χρονικές περιόδους 7 και 11 ημερών μετά τον τραυματισμό. (244)

#### 5.3.3.6 Εξαγωγή κολλαγόνου

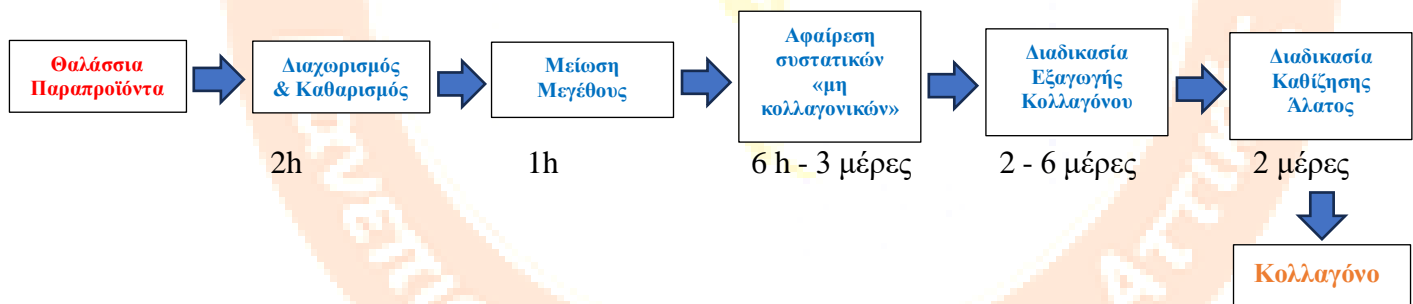
Όσον αφορά στην εξαγωγή του κολλαγόνου από θαλάσσιους οργανισμούς, γίνεται φανερό πως πρόκειται για την πιο πρακτική και ακίνδυνη μέθοδο απόκτησης κολλαγόνου υψηλής ποιότητας. Παραλαμβάνεται, όπως προαναφέρθηκε, από παραπροϊόντα ψαριών, όπως οστά, λέπια, δέρμα και πτερύγια με ένα συνδυασμό μεθόδων βιοεπεξεργασίας. (245) Χάρη στο χαμηλό του MB, το θαλάσσιο κολλαγόνο εξασφαλίζει ένα καλό επίπεδο απορρόφησης έως και 1,5 φορές, ενώ παράλληλα επάγει μια γρηγορότερη αιματική ροή. (246) Φαίνεται πως το κολλαγόνο θαλάσσιας προέλευσης υπερέχει αυτού από τα θηλαστικά αναφορικά με τη μηχανική των ιστών, λόγω της βιοσυμβατότητάς και της βιοαποικοδομησιμότητάς του. (247, 248) Επιπλέον, γίνεται φανερό ότι παρουσιάζονται ομοιότητες ως προς τα περιεχόμενα αμινοξέα και τη βιοσυμβατότητα του θαλάσσιου κολλαγόνου με αυτά που προέρχονται από βοοειδή και χοίρους. Στην πλειοψηφία του το κολλαγόνο θαλάσσιας προέλευσης περιέχει λιγότερη προλίνη και υδροξυπρολίνη, σε σχέση με αυτό από τα θηλαστικά. Κατά συνέπεια, εμφανίζει μειωμένη διασταυρούμενη συμβατότητα και σταθερότητα. Κύριο τύπο κολλαγόνου στο δέρμα των ψαριών αποτελεί ο I κι αυτό φαίνεται να εξαρτάται από το είδος, την ηλικία και την εποχή. (245) Το



κολλαγόνο που προέρχεται από το ψάρι *tilapia* έχει καθαρή απόδοση 40% επί ξηρού βάρους, γεγονός που το καθιστά πολλά υποσχόμενο και ανταγωνιστικό στη βιομηχανία παραγωγής κολλαγόνου. (249, 250) Το κολλαγόνο με προέλευση από ψάρια φαίνεται να συγκρατεί υψηλά ποσά ύδατος (~ 6% μετά από 24 ώρες έκθεση σε ποσοστό υγρασίας 63%) χωρίς να προκαλεί ερεθισμούς, με αποτέλεσμα να είναι κατάλληλο για εφαρμογές στο δέρμα. (251)

#### 5.3.3.6.1 Μέθοδοι εξαγωγής κολλαγόνου

Η μεθοδολογία εξαγωγής κολλαγόνου διαφοροποιείται ανάλογα με τη σύνθεση. Πιο συγκεκριμένα, τα οστά και τα λέπια ψαριών απαιτούν ένα επιπλέον βήμα - απομετάλλωση - για την απομόνωση του κολλαγόνου, καθώς περιέχουν υδροξυαπατίτη και ίνες κολλαγόνου τύπου I. Καθώς τα διάφορα είδη ψαριών φέρουν λέπια με χαρακτηριστική χημική σύνθεση και δομική διαμόρφωση, παρουσιάζεται διαφοροποίηση στη μέθοδο εξαγωγής κολλαγόνου από αυτά. Όλα τα πρωτόκολλα εξαγωγής διαθέτουν 5 κοινά στοιχεία, παρά τις όποιες ιδιαιτερότητες περί βελτιστοποίησης της διαδικασίας και λήψης ειδικών μέτρων προφύλαξης για την εξασφάλιση υψηλότερης απόδοσης παραγωγής και συνοχής με ταυτόχρονη μείωση της πολυπλοκότητας της μεθόδου και του απαιτούμενου χρόνου εξαγωγής. (Εικόνα 4) (240)



Εικ. 4. Σχηματική διαδικασία για εξαγωγή κολλαγόνου από θαλάσσιες πηγές. Σε όλες τις μεθόδους περιλαμβάνεται ως αρχικό βήμα ο διαχωρισμός των συστατικών σε χρήσιμα και άχρηστα. Τα θαλάσσια παραπροϊόντα μειώνονται σε μέγεθος ώστε να διευκολυνθεί η απομάκρυνση των μη κολλαγονικών πρωτεϊνών, λιπιδίων, χρωστικών, υπολειμμάτων κυττάρων και μεταλλικών στοιχείων (προ επεξεργασίας). Ακολουθεί η όξινη κατεργασία (ASC) και προαιρετικά η ενζυμική κατεργασία (PSC) για την εξαγωγή μορίων κολλαγόνου, τα οποία τελικώς λαμβάνονται μετά από καθίξεση αλάτων, διάλυση και λυοφιλοποίηση.



Διαφορετικά πρωτόκολλα καθαρισμού ακολουθούνται για το θαλάσσιο κολλαγόνο και τα παράγωγά του, ανάλογα με την πηγή προέλευσης αυτών (ζελατίνη ή πεπτίδια) (240)

Τα στοιχεία αυτά είναι:

- Διαχωρισμός και καθαρισμός
- Μείωση μεγέθους
- Απομάκρυνση μη κολλαγονικών συστατικών
- Εξαγωγή κολλαγόνου με χρήση όξινης ή ενζυμικής τεχνικής
- Καθίζηση αλάτων και ανάκτηση

Εκτός αυτών, η θερμοκρασία σε όλα τα στάδια πρέπει να διατηρείται στους 4-10 °C, ώστε να μην προκληθεί αποσύνθεση του κολλαγόνου.

#### 5.3.3.6.2 Προκατεργασία

Πραγματοποιείται πλύσιμο, καθαρισμός και μείωση μεγέθους, για περιορισμό της μόλυνσης του δείγματος από μη κολλαγονικά μόρια και χρωστικές, ώστε να μεγιστοποιηθεί η απόδοση και η ποιότητα του εξαγόμενου κολλαγόνου. Χρησιμοποιείται συνήθως ένα ελαφρά όξινο ή αλκαλικό διάλυμα για να αποικοδομηθεί το διακλαδιζόμενο κολλαγόνο από το ζωικό συνδετικό ιστό. Η επεξεργασία με οξύ είναι κατάλληλη για ακατέργαστα υλικά με κολλαγόνο που έχει λιγότερες διακλαδώσεις, επιτρέποντας έτσι την διάσπαση μη ομοιοπολικών δεσμών σε ελεγχόμενη θερμοκρασία. Από την άλλη, η χρήση αλκαλικού διαλύματος γίνεται για τον αποπολυμερισμό των ενδο- και δια-μοριακών διακλαδώσεων σε ογκώδη και σκληρά ακατέργαστα υλικά, με σκοπό την απομάκρυνση μη κολλαγονικών ουσιών. Το υδροξείδιο του νατρίου, το υδροξείδιο του ασβεστίου, το υπεροξείδιο του υδρογόνου και η βουτυλική αλκοόλη είναι ορισμένες χημικές ενώσεις που χρησιμοποιούνται συχνά σε διεργασίες προκατεργασίας. Επίσης, μια άλλη μέθοδος, γνωστή ως απομετάλλωση, χρησιμοποιείται για να εξασφαλίσει την αποτελεσματική εξαγωγή κολλαγόνου από ακατέργαστα υλικά με υψηλή περιεκτικότητα σε μεταλλικά στοιχεία, όπως οστά και λέπια. Η διεργασία αυτή πραγματοποιείται παρουσία διαλύματος EDTA. (245)

#### 5.3.3.6.3 Διαδικασία Εξαγωγής

Στόχος των χρησιμοποιούμενων μεθόδων είναι η καλύτερη συγκράτηση του κολλαγόνου, ώστε να εξασφαλιστεί υψηλότερη απόδοση, ιδίως από βιοϋλικά ψαριών. Η χρησιμοποιούμενη μέθοδος επιδρά στην ποσότητα, αλλά και τις ιδιότητες του

παραγόμενου κολλαγόνου. Κατά τη χημική εξαγωγή κολλαγόνου χρησιμοποιούνται οξέα και βάσεις, ενώ στη βιοχημική εξαγωγή χρησιμοποιούνται ένζυμα ή μικροοργανισμοί, μαζί με οξέα (ένζυμο- οξύ ή μικροοργανισμός-οξύ). Η πιο δημοφιλής μέθοδος είναι ο συνδυασμός ένζυμο-οξύ. Επιλέγονται οργανικά οξέα, όπως κιτρικό, γαλακτικό, χλωροξικό για την όξινη εξαγωγή κολλαγόνου. Την εξαγωγή κολλαγόνου συμπληρώνουν οι διεργασίες της υπερδιήθησης και ομογενοποίησης, ώστε το κολλαγόνο να διατηρεί τη δομή της τριπλής έλικας, η παρακολούθηση απόδοσης ανά παρτίδα και η συνέπεια ποιότητας ανά παρτίδα. (246, 249, 252, 253)

#### 5.3.3.6.3.1 Μέθοδος διαλυτότητας σε οξύ (ASC)

Το κολλαγόνο εξάγεται μόνο με τη χρήση οξέος. Η αντίδραση ανάμεσα στο οξύ και το κολλαγόνο διασπά τις διακλαδώσεις στις έλικες του κολλαγόνου, ενισχύοντας έτσι την ποιότητα του εξαγόμενου κολλαγόνου. Λόγω αυτού, πραγματοποιείται εξαγωγή κολλαγόνου με χρήση διαφορετικών οξέων, ώστε να μεγιστοποιηθεί η εξαγωγή, η καθαρότητα και η απόδοση του κολλαγόνου με αυτή τη μέθοδο. (245)

#### 5.3.3.6.3.2 Μέθοδος διαλυτότητας σε πεψίνη (PSC)

Χρησιμοποιείται συχνά, με την πεψίνη να προστίθεται κατά τη διαδικασία εξαγωγής. (254)

#### 5.3.3.6.3.3 Μέθοδος υπερήχων

Έχει αναφερθεί ότι αυτή η μέθοδος αυξάνει την αποτελεσματικότητα της εξαγωγής κολλαγόνου από βιοϋλικά ψαριών. Ωστόσο, φέρει αρνητική επίδραση επί των φυσικοχημικών και μοριακών χαρακτηριστικών του κολλαγόνου. (253)

### 5.3.3.7 Μέθοδοι χαρακτηρισμού κολλαγόνου

Η φασματοσκοπία υπέρυθρου (FT-IR) χρησιμοποιείται ευρέως για την ανάλυση της δευτεροταγούς δομής των πρωτεϊνών, καθώς δείχνει την απορρόφηση σε κάθε επιμέρους μήκος κύματος σε φάσμα από 500 ως 4000cm<sup>-1</sup>. (255) Στις περισσότερες περιπτώσεις το εξεταζόμενο κολλαγόνο είναι τύπου I.

### 5.3.3.8 Ιδιότητες κολλαγόνου

- ο Τα υδροπηκτώματα κολλαγόνου αποτελούν το καταλληλότερο υλικό για την ανάπτυξη επιθεμάτων πληγών. Χάρη στη βιοσυμβατότητα, τη βιοαποικοδομησιμότητα και την βελτιωμένη ικανότητά του να διεισδύει σε επιφάνειες ελεύθερες λιπιδίων, το κολλαγόνο χρησιμοποιείται ευρέως σε βιοϊατρικές εφαρμογές.
- ο Είναι μη αντιγονικό, ευαίσθητο σε ανταλλαγές αερίων και αδιαπέραστο σε βακτηριακή επιμόλυνση.
- ο Η ευέλικτη και ελαστική του μορφή επιτρέπει να συμμορφώνεται καλά με την τοπογραφία της υποκείμενης επιδερμίδας, ενώ ταυτόχρονα ελαττώνει τον πόνο και το χρόνο που απαιτείται για επούλωση.
- ο Συμμετέχει στο σχηματισμό της εξωκυττάριας μήτρας (ECM), καθώς και στο σχηματισμό/στη μετανάστευση κυττάρων και ιστών.
- ο Προωθεί και βελτιώνει την παραγωγή κερατινοκυττάρων και ινοβλαστών κοντά στην πληγή, γεγονός που συμβάλλει θετικά στην επούλωση. Συγκεκριμένα, το κολλαγόνο από ψάρια διαθέτει αντιφλεγμονώδεις, αντιμικροβιακές και ανοσοτροποποιητικές ιδιότητες, που επιδρούν θετικά στην επουλωτική διαδικασία. (245)

### 5.3.3.9 Μηχανική των ιστών και επούλωση

Η μηχανική των ιστών στοχεύει στην αναγέννηση ή ανακατασκευή μιας ποικιλίας ιστών ή οργάνων, μέσα από τρία στοιχεία: ικρίωμα, κύτταρα και ρυθμιστές. Το ικρίωμα λειτουργεί με μίμηση της εξωκυττάριας μήτρας (ECM) π.χ. δημιουργώντας ένα τρισδιάστατο δίκτυο ινών κολλαγόνου και πρωτεογλυκανών, για παροχή δομικής υποστήριξης στα κύτταρα, μαζί με βιοχημικά και βιομηχανικά σήματα, σημαντικά για τη μορφογένεση, τη διαφοροποίηση και την ομοιόσταση. (240) Όπως έχει αναφερθεί παραπάνω, τα υλικά που χρησιμοποιούνται για την ανάπτυξη των ικριωμάτων οφείλουν να είναι βιοσυμβατά, δηλαδή να μην επιφέρουν κυτταροτοξικότητα ή ανοσολογική απόκριση, καθώς και βιοενεργά. Γι' αυτούς τους λόγους, το κολλαγόνο θεωρείται ένα από τα πλέον κατάλληλα συστατικά, εφόσον προάγει την κυτταρική μετανάστευση, τις αλληλεπιδράσεις κυττάρου-μήτρας και την αναδόμηση των ιστών. (240) Οι ερευνητές Zhou και συνεργάτες (2016) (256, 257), ανέπτυξαν σπόγγους και ηλεκτρικά πλέγματα από το επιδερμικό κολλαγόνο του *tilapia* ως πιθανά επιθέματα πληγών και αναφέρθηκαν επιθυμητά αποτελέσματα *in vitro* και *in vivo*. Πήκτωμα παρασκευασμένο από κολλαγόνο

επιδερμίδας σουπιάς προτάθηκε για τοπική χρήση σε μοντέλο αρουραίου και φάνηκε να βελτιώνει σημαντικά τη σύγκλιση της πληγής σε χρονικό διάστημα 12 ημερών, συγκρινόμενο με ζώα στα οποία χορηγήθηκε η πρότυπη αγωγή. (258)

#### 5.3.3.10 Σταθερότητα θαλάσσιου κολλαγόνου

Η θερμική σταθερότητα του θαλάσσιου κολλαγόνου αποτελεί σημαντική παράμετρο ενδιαφέροντος, καθώς το υλικό/συσκευή πρέπει να είναι συμβατό με τη θερμοκρασία του ανθρώπινου σώματος (~ 37 °C) για αρκετό χρόνο, μέχρις ότου πραγματοποιηθεί η αναγέννηση του ιστού. (240) Όπως έχει αναφερθεί, η θερμοκρασία αποδόμησης του θαλάσσιου κολλαγόνου είναι < 37 °C, οπότε, για να εξασφαλιστεί η θερμική σταθερότητα των ικριωμάτων με θαλάσσιο κολλαγόνο, γίνεται διασταύρωση με χημικές ουσίες, όπως 1-αιθυλ-3-(3-διμεθυλαμινοπροπυλ)-καρβοδιιμίδιο (EDC), γεβιπίνη (GEN), πολυφαινόλη τσαγιού (TP), νορδιϋδρογουαϊαρετικό οξύ (NDGA), διφαινυλοφωσφορυλοαζίδιο (DPPA) και γλουταραλδεϋδη (GTA) και/ή με φυσικές κατεργασίες (δεϋδροθερμική διασταύρωση). (240) Η διασταύρωση χρησιμεύει, επίσης, στην ενίσχυση της μηχανικής αντοχής και ακαμψίας σε ιατροτεχνολογικά σκευάσματα με βάση το κολλαγόνο, καθυστερώντας την αποσύνθεση αυτού. Σχετικά με την επούλωση πληγών, πλήθος μελετών απέδειξαν ότι το κολλαγόνο θαλάσσιας προέλευσης επιταχύνει αποτελεσματικά την επουλωτική διαδικασία και μπορεί να αποτελέσει δερματικό υποκατάστατο για τη θεραπεία σοβαρών τραυμάτων. *In vivo* δοκιμές με σπόγγους κολλαγόνου που βασίζονται στο ASC (μέθοδος διαλυτότητας σε οξύ) ή PSC (μέθοδος διαλυτότητας σε πεψίνη) από την επιδερμίδα του ψαριού *tilapia* έδειξαν βελτιωμένο επουλωτικό αποτέλεσμα σε μοντέλο αρουραίου, με αυξημένο πολλαπλασιασμό ινοβλαστών, σύνθεση κολλαγόνου, επανεπιθηλιοποίηση και δερματική ανασύσταση. (240)

#### 5.3.3.11 Ασφάλεια/Τοξικότητα θαλάσσιου κολλαγόνου

Ο ρόλος των ινοβλαστών στην επουλωτική διαδικασία είναι υψίστης σημασίας, καθώς, όπως γίνεται φανερό από πλήθος μελετών, συμβάλλουν στο να δημιουργηθεί κοκκιώδης ιστός κατά την περίοδο επούλωσης, με τη σύνθεση και έκκριση εξωκυττάρων μητρών, π.χ. ινονεκτίνης, υαλουρονικού οξέος και κολλαγόνου. (259) Έγινε προσδιορισμός της βιοδιαθεσιμότητας και της κυτταροτοξικότητας στα υδροπηκτώματα κολλαγόνου με τη χρήση NIH-3T3 ινοβλαστών, ως εξεταζόμενων κυττάρων. (259) Η βιωσιμότητα των κυττάρων στα εξεταζόμενα υδροπηκτώματα, με διαφορετικές συγκεντρώσεις

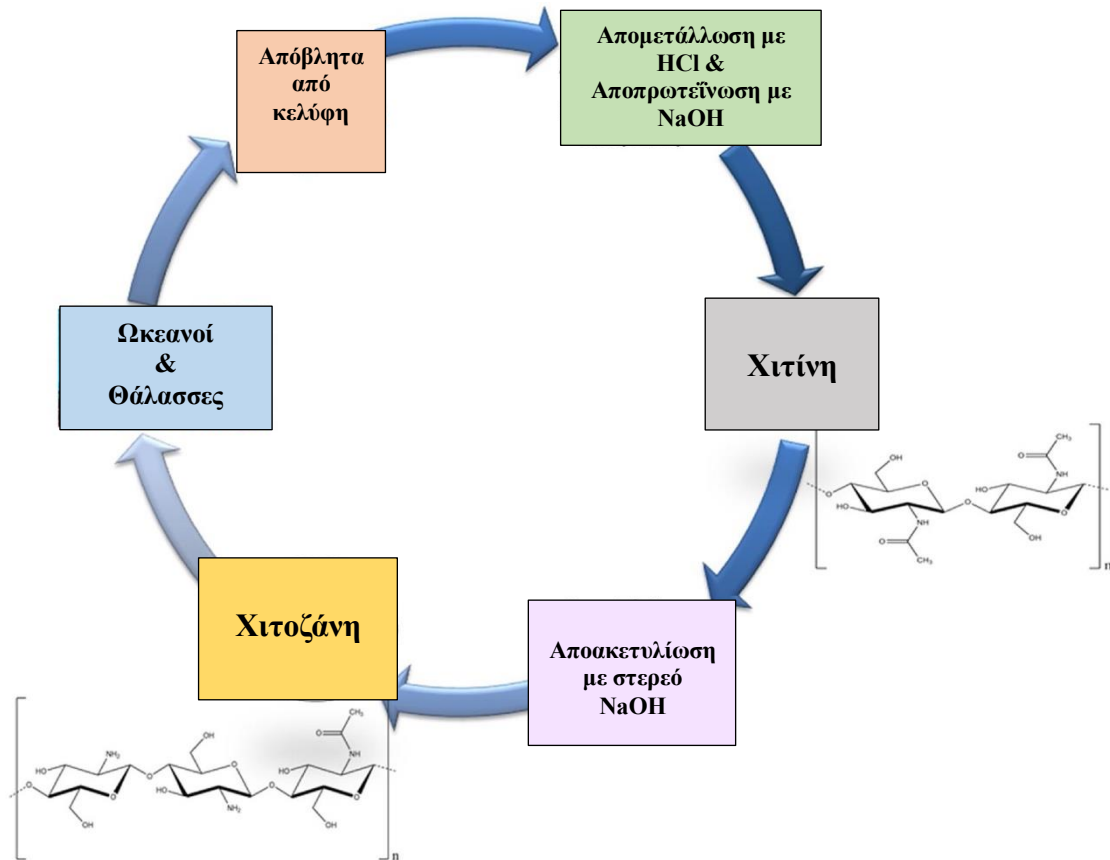
κολλαγόνου, υπέστη ελαφριά πτώση ( $p>0,05$ ) για τις δύο πρώτες μέρες, συγκρινόμενη με τη βιωσιμότητα του τυφλού. Ωστόσο, μετά το πέρας τριών ημερών, παρατηρήθηκε υπέρβαση 100% στο ποσό των επιζώντων κυττάρων του εξεταζόμενου γκρουπ (στα γκρουπ PSC 5 και PSC 15 διαπιστώθηκε ικανή αύξηση,  $p<0,05$ ). (259) Αυτά τα δεδομένα υποδηλώνουν ότι δεν παρουσιάζεται κυτταροτοξικότητα από το εκχύλισμα κολλαγόνου στα υδροπηκτώματα με διαφορετικές PSC, ενώ προάγεται ο πολλαπλασιασμός των ινοβλαστών NIH-3T3, που μπορεί να επιφέρει αποσύνθεση του κολλαγόνου. (259)

## 5.4 ΑΜΙΝΟΠΟΛΥΣΑΚΧΑΡΙΤΕΣ ΘΑΛΑΣΣΙΑΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ

### 5.4.1 Χιτοζάνη

Η χιτοζάνη αποτελεί παράγωγο της χιτίνης, γνωστό επίσης ως αμινοπολυσακχαρίτης. Είναι εξαιρετικώς βιοσυμβατή και βιοαποικοδομήσιμη και φέρει ιδιότητες αντιβακτηριακές και αντικαρκινικές, συμβάλλοντας στην επουλωτική διαδικασία, αλλά και σε πληθώρα άλλων βιολογικών αποτελεσμάτων. Η αντιβακτηριακή της δράση έναντι των Gram(-) και Gram(+) βακτηρίων την καθιστά άριστο πολυμερές για τη σύνθεση και κάλυψη SNPs (Single Nucleotide Polymorphism). Οι κυριότερες υποθέσεις που αναφέρονται στη βιβλιογραφία σχετικά με το μηχανισμό της αντιβακτηριακής δράσης της χιτοζάνης, κάνουν λόγο για διαρροή πρωτεϊνών των βακτηριακών κυττάρων και για αναχαίτιση της ενζυμικής δραστηριότητας. Οι ερευνητές *Attia* και *El Samad* (2015) χρησιμοποιώντας υδροπήκτωμα χιτοζάνης για την αντιμετώπιση πληγών, διαπίστωσαν τη σχεδόν πλήρη υποχώρηση του μηχανισμού στον κύκλο της επούλωσης και έτσι αποκαλύφθηκε η ανάπτυξη επιθηλιοποίησης. Οι *El-Samad* και συνεργάτες παρατήρησαν ότι η τοπική εφαρμογή χιτοζάνης σε διαβητικά ποντίκια που φέρουν εγκαύματα, επιταχύνει τη διαδικασία επούλωσης, ενώ παράλληλα, έχει και αντιβακτηριακή επίδραση, με τη μείωση του αριθμού βακτηριακών αποικιών. Συνεπώς, προστατεύει τα εγκαύματα από πιθανή επιμόλυνση, η οποία θα εμπόδιζε σημαντικά την επούλωση, ιδίως στα διαβητικά ποντίκια. Προετοιμάστηκαν σφουγγάρια αποτελούμενα από κουρκουμίνη/χιτοζάνη/ζελατίνη με διαφορετικές αναλογίες χιτοζάνης και ζελατίνης και παρατηρήθηκε αυξημένη υδατική απορρόφηση, αντιβακτηριακή δράση και σύγκλιση του τραύματος. Τα εν λόγω σφουγγάρια με υψηλότερα ποσά ζελατίνης είχαν γρηγορότερο χρόνο αποδέσμευσης ως και 240 λεπτά (4 ώρες). Με τη χρήση αυτών των

σφουγγαριών παρατηρήθηκε αύξηση της επουλωτικής δράσης, ενισχυμένη παραγωγή κολλαγόνου και αποκατάσταση της πληγής *in vivo*. (Εικόνα 5) (260)



Εικ. 5. Διαδικασία παρασκευής χιτίνης και χιτοζάνης

#### 5.4.1.1 Ιδιότητες χιτοζάνης

Η χιτοζάνη εμφανίζει διαλυτότητα σε αραιά διαλύματα οργανικών οξέων με  $\text{pH} < 6,5$  όπως οξικό, κιτρικό, γαλακτικό και πυρουβικό οξύ. Δεν είναι διαλυτή στο νερό, ωστόσο, λόγω του σχηματισμού πολυηλεκτρολυτών από την ομαδοποίηση αμινοξέων, η χιτοζάνη παρουσιάζει μεγαλύτερη υδατική απορρόφηση από την κυτταρίνη. Η χιτοζάνη διαθέτει πληθώρα μοριακών βαρών (MB) και το γεγονός αυτό επιδρά στις φυσικοχημικές της ιδιότητες, όπως διαλυτότητα, ιξώδες, ελαστικότητα και δομική ανθεκτικότητα. Αξίζει να αναφερθεί ότι η χιτοζάνη μέσου MB φέρει το υψηλότερο ποσοστό αντιμικροβιακών παραγόντων, ενώ η χιτοζάνη με το ελάχιστο MB διαθέτει το μεγαλύτερο αποτρεπτικό αποτέλεσμα ενάντια στη δράση φυτοπαθογόνων. Άλλοι παράγοντες που επιδρούν στην αντιμικροβιακή δράση της χιτοζάνης είναι το pH, η διαλυτότητα και η θερμοκρασία περιβάλλοντος. (260)



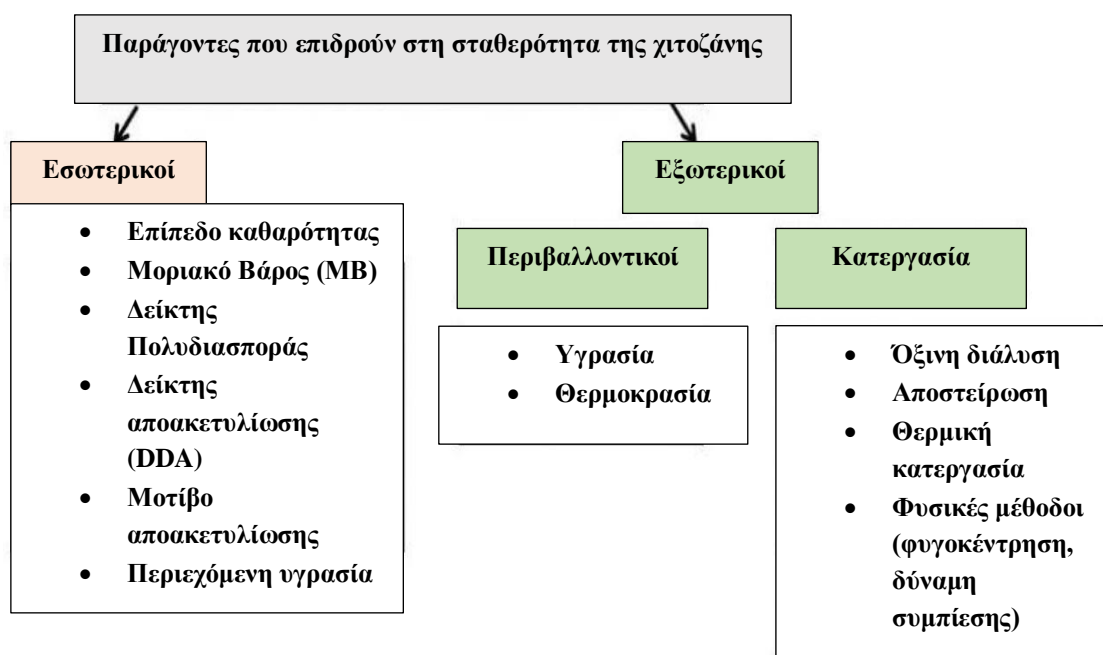
#### 5.4.1.2 *Επουλωτικές ιδιότητες χιτοζάνης*

Η χιτοζάνη φαίνεται να προωθεί την αιμόσταση στην περιοχή του τραύματος, χάρη στις φυσικοχημικές της ιδιότητες και την πολυκατιονική της φύση. Προκαλείται συσσωμάτωση των αρνητικώς φορτισμένων ερυθροκυττάρων και αιμοπεταλίων με πρωτεΐνες πλάσματος, όπως το ινωδογόνο, από τα θετικώς φορτισμένα μόρια χιτοζάνης. (261) Επίσης, η χιτοζάνη προλαμβάνει τη μικροβιακή επιμόλυνση με τη βοήθεια της αλληλεπίδρασης ανάμεσα στην πολυκατιονική αλυσίδα πολυσακχαριτών και τα συστατικά με αρνητικό φορτίο στη βακτηριακή κυτταρική μεμβράνη. Στο αντιμικροβιακό αποτέλεσμα συμβάλλει σε ένα μικρό βαθμό και η παρουσία ιχθών μεταλλικών ιόντων που δρουν ως χηλικοί παράγοντες. Η υπερπαραγωγή ενεργών μορφών οξυγόνου (ROS) γύρω από την πληγή οδηγεί σε άμεση καταστροφή με τη μορφή λιπιδικής υπεροξειδωσίας και τροποποιήσεων του DNA στον περιβάλλοντα ιστό και εμμέσως στην συνεχιζόμενη πρόωθηση απελευθέρωσης προφλεγμονώδους κυτοκίνης. Προκαλείται μείωση των μορίων ROS μέσω της διάθεσης ατόμου H από τις ομάδες -OH και -NH<sub>2</sub> κατά μήκος του πολυμερούς, επιτυγχάνοντας δέσμευση των ελεύθερων ριζών. Οι ισχυροί ενδομοριακοί και διαμοριακοί δεσμοί υδρογόνου εντός και μεταξύ της πολυμερικής αλυσίδας χιτοζάνης περιορίζουν την ικανότητα αντίδρασης των υδροξυλομάδων και αμινομάδων με ελεύθερες ρίζες και ως εκ τούτου η χιτοζάνη παρουσιάζει ήπιες αντιοξειδωτικές ιδιότητες. Αν η φλεγμονή επεκταθεί πέραν των υγιών πλαισίων, επέρχεται διαταραχή στη διαδικασία επούλωσης κι αυτό μπορεί να προξενήσει την εμφάνιση χρόνιων πληγών. (261) Η χιτοζάνη παρουσιάζει χαρακτηριστικά που διεγείρουν το ανοσοποιητικό σύστημα και ρυθμίζουν τόσο τις προφλεγμονώδεις όσο και τις αντιφλεγμονώδεις κυτοκίνες. Η τάση προς προφλεγμονώδη ή αντιφλεγμονώδη δραστηριότητα της χιτοζάνης επηρεάζεται κυρίως από τις φυσικοχημικές της ιδιότητες. Ειδικότερα, η χιτοζάνη υψηλότερου MB θεωρείται ότι ευνοεί την αιμόσταση. Ολιγομερή χιτοζάνης με MB<8,6 kDa δεν προκαλούν σημαντική αιματική συσσώρευση. Επίσης, αύξηση του MB>380 kDa φαίνεται να παρουσιάζει αντίστοιχο αποτέλεσμα. Συγκεκριμένα, η χιτοζάνη χαμηλού MB πλεονεκτεί ως προς το αυξημένο πηλίκo επιφάνεια/όγκος, ενώ η χιτοζάνη υψηλού MB εμφανίζει περισσότερες ομάδες αμινοξέων ικανές για αλληλεπίδραση. Η βέλτιστη συσσώρευση αίματος που προκαλεί η χιτοζάνη μέσου MB δικαιολογεί πιθανώς την ανάγκη για ισορροπία μεταξύ υψηλού και χαμηλού MB. (261) Σε περιβάλλον ουδέτερου pH, τα χαμηλά MB παρουσιάζουν βελτιωμένη αντιβακτηριακή δραστηριότητα. Αντίστοιχα, σε όξινες συνθήκες φαίνεται να ενισχύονται οι αντιβακτηριακές ιδιότητες των υψηλότερων MB. Ο βαθμός ακετυλίωσης

(BA ή Degree of Deacetylation -DDA-) δείχνει να επηρεάζει την αιμόσταση, με το μέσο DDA με τιμές 64-72%, 68% και 75-88% να παρουσιάζει τα καλύτερα αποτελέσματα. Η επίδραση του DDA στην αντιβακτηριακή δράση της χιτοζάνης είναι ακόμα πιο ξεκάθαρη σε σχέση με το MB, με την τρέχουσα βιβλιογραφία να αναφέρει τη συσχέτιση ανάμεσα στην αυξανόμενη δραστηριότητα κατά των βακτηρίων και τον αυξανόμενο DDA. Καθώς αυξάνεται ο DDA, μεγαλώνει και η ποσότητα ομάδων αμινοξέων που είναι διαθέσιμη για ιονισμό, με αποτέλεσμα την αύξηση ολικού θετικού φορτίου στη χιτοζάνη και συνεπώς την ενίσχυση της αντιβακτηριακής της δραστηριότητας. (261)

### 5.4.1.3 Σταθερότητα χιτοζάνης

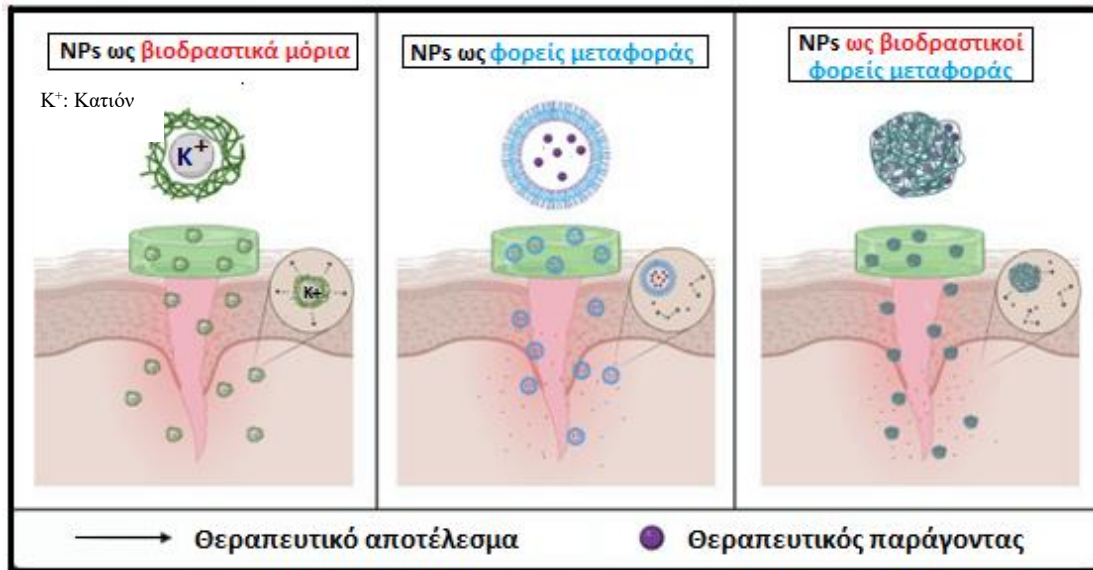
Ενώ η χιτοζάνη αποτελεί ένα ιδιαίτερο και πολύπλευρο συστατικό, με ευρεία χρήση στους τομείς της φαρμακευτικής και της βιοϊατρικής, εμφανίζονται περιορισμένα είδη προϊόντων που την περιέχουν (αιμοστατικά επιθέματα, παρασκευάσματα για επούλωση πληγών και φαρμακευτικά προϊόντα διατροφής -nutraceuticals-). Αυτό πιθανότατα να οφείλεται στην ισχυρά υγροσκοπική φύση της χιτοζάνης και στην ποικιλία MB και κατανομής MB, λόγω εξαγωγής της από πλήθος διαφορετικών οργανισμών, καθώς επίσης και στο βαθμό αποακετυλίωσης (DDA) και το επίπεδο καθαρότητας. Επιπλέον, η χιτοζάνη εμφανίζει έντονη ευαισθησία σε περιβαλλοντικούς παράγοντες και συνθήκες διεργασίας (θέρμανση ή ψύξη), γεγονός που οδηγεί σε πρόκληση πίεσης στη δομή της και κατά συνέπεια πολυμερική αποσύνθεση. (Εικόνα 6) (262)



Εικ. 6. Παράγοντες που επιδρούν στη σταθερότητα προϊόντων με βάση τη χιτοζάνη

#### 5.4.1.4 Χρήση νανοσωματιδίων (NPs) στη διαχείριση τραυμάτων

Τα νανοσωματίδια χρησιμοποιούνται ως μέσο μεταφοράς, καθώς και ως βιοενεργό συστατικό για την επίτευξη βελτιωμένου επουλωτικού αποτελέσματος. (Εικόνα 7) (261)



Εικ. 7. Απεικόνιση της χρήσης NPs στην επούλωση πληγών

Τα NPs ως φορείς μεταφοράς φαρμάκων, μεταφέρουν με επιτυχία ενεργά χημικά μόρια στην περιοχή του τραύματος, συμβάλλοντας στο επουλωτικό αποτέλεσμα. Παρέχουν προστασία και παρατείνουν το χρόνο ημίσειας ζωής ( $t_{1/2}$ ) σε αυξητικούς παράγοντες, ταχώς μεταβολιζόμενους από πρωτεολυτικά ένζυμα, καθώς και στο οξείδιο του αζώτου (NO) που είναι «βραχύβιο» στη φύση. (261) Στα πλαίσια των θεραπευτικών αγωγών επούλωσης, παρέχεται η δυνατότητα αποτελεσματικής και ελεγχόμενης απελευθέρωσης αντιμικροβιακών παραγόντων και φυσικών προϊόντων με τη χρήση των NPs. Παράλληλα, σε αυτά στηρίζεται και η γονιδιακή θεραπεία για την ειδική μεταφορά γενετικού υλικού στο μικροπεριβάλλον του τραύματος. (261) Επιπλέον, κάποια NPs χρησιμοποιούνται για τις εγγενείς αντιβακτηριακές τους ιδιότητες. Έχει πραγματοποιηθεί εκτενής μελέτη σχετικά με τα NPs μετάλλων, όπως του αργύρου (AgNPs), του χρυσού (AuNPs), του οξειδίου του ψευδαργύρου (ZnONPs), του χαλκού (CuNPs), και του σεληνίου (SeNPs), για το συγκεκριμένο σκοπό. Από την άλλη μεριά, βιοενεργά μόρια,

όπως η χιτοζάνη και τα αλγινικά άλατα, καθώς και τα παράγωγα αυτών, χρησιμοποιούνται ως πρώτες ύλες για τη δημιουργία συστημάτων NPs με εξαιρετικές επουλωτικές ιδιότητες. (261)

#### 5.4.1.4.1 Πλεονεκτήματα NPs χιτοζάνης στην επούλωση πληγών

Λόγω του μικρού μεγέθους των σωματιδίων αυτών (<1000 nm) ευνοείται η διείσδυση συστατικών μέσω του επιδερμικού ιστού. Το ισχυρά θετικό φορτίο των πολυμερικών NPs χιτοζάνης προσφέρει σημαντικά πλεονεκτήματα, όπως υψηλή σταθερότητα σύνθεσης χάρη στην πρόληψη δημιουργίας συσσωματωμάτων, καθώς επίσης δυνατότητα αλληλεπίδρασης με αρνητικά φορτισμένες επιφάνειες, π.χ. κύτταρα, μύκητες και βακτήρια. Όπως έχει ήδη αναφερθεί παραπάνω, τα NPs χιτοζάνης μπορούν να παρατείνουν το  $t_{1/2}$  ενός θεραπευτικού παράγοντα, να προσφέρουν ελεγχόμενη αποδέσμευση καθώς και να επιτύχουν στοχευμένη μεταφορά χημικών μορίων. Επίσης, προβλήματα διαλυτότητας αντιμετωπίζονται αποτελεσματικά με τη χρήση NPs χιτοζάνης. (261) Ο υψηλός λόγος επιφάνεια/όγκος δηλώνει την ύπαρξη μεγαλύτερης επιφάνειας διαθέσιμης για αλληλεπίδραση, γεγονός που πυροδοτεί τον επουλωτικό μηχανισμό. Αυτό θα μπορούσε να αξιοποιηθεί θεραπευτικά για την κατανομή μεγαλύτερης ποσότητας επουλωτικών συστατικών στην περιοχή γύρω από την πληγή. Η χρήση NPs χιτοζάνης φαίνεται να ενισχύει την ικανότητα διείσδυσης και κατανομής των ενσωματωμένων σε αυτά θεραπευτικών ενώσεων. Ταυτόχρονα η πιθανή εκδήλωση κυτταρικής τοξικότητας μιας ουσίας σε μεγάλες συγκεντρώσεις περιορίζεται σημαντικά με την ενσωμάτωσή της στα NPs χιτοζάνης, οπότε γίνεται φανερή η βελτίωση ασφάλειας της σύνθεσης. (261)

#### 5.4.1.5 Χιτοζάνη εμπλουτισμένη με Ag

Αναπτύχθηκαν επιθέματα τραυμάτων από υδροξυαιθυλακρυλική χιτοζάνη (HC) και αλγινικό νάτριο (SA) με αντιβακτηριακή δράση, χάρη στην προσθήκη σωματιδίων αργύρου (Ag). Για τη σύνθεση των σωματιδίων Ag σε φιλμ HC/SA εφαρμόστηκε μέθοδος εμβάπτισης μέσω *in situ* χημικής αναγωγής διαλύματος νιτρικού αργύρου (AgNO<sub>3</sub>). Η μέθοδος επικυρώθηκε με τη χρήση τεχνικών FTIR, SEM-EDS, XRD και XRF. Πραγματοποιήθηκε μελέτη, για την επίδραση της προσθήκης Ag σε HC/SA φιλμ διαφορετικής πυκνότητας, τα οποία διασταυρώθηκαν με ασβέστιο (Ca), σε σχέση με τη διόγκωση, τις μηχανικές ιδιότητες, την κυτταροτοξικότητα, την αντιβακτηριακή

ικανότητα και τη συμπεριφορά στην απελευθέρωση δραστικών ουσιών. (262) Τα αποτελέσματα κατέδειξαν ενίσχυση των μηχανικών ιδιοτήτων και υψηλό βαθμό διόγκωσης, σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών, για τα επιθέματα πληγών, εμπλουτισμένα με Ag. Τα φιλμ HC/SA εμπλουτισμένα με Ag εμφάνισαν αντιβακτηριακή δράση κατά των *E. coli* και *S. Aureus*, καθώς και μηδενική τοξικότητα απέναντι στα κύτταρα Vero. Τα προφίλ απελευθέρωσης φαρμάκων των φιλμ εξετάστηκαν *in vitro*, χρησιμοποιώντας παρα-ακετυλαμινο-φαινόλη, ως διαλυτό μοντέλο φαρμάκου. Η αύξηση στη πυκνότητα διασταυρούμενης σύνδεσης και ο εμπλουτισμός με Ag οδήγησαν σε παράταση του ποσοστού απελευθέρωσης του φαρμάκου και μια σχεδόν γραμμική εμφάνιση στα προφίλ των φιλμ. Εξήχθη το συμπέρασμα ότι τα φιλμ HC/SA εμπλουτισμένα με Ag φέρουν μια πολλά υποσχόμενη δυνατότητα στην παραγωγή επιθεμάτων πληγών, με αντιβακτηριακές ιδιότητες και ελεγχόμενη αποδέσμευση φαρμάκου. (262)

#### 5.4.1.6 Ασφάλεια/Τοξικότητα Χιτοζάνης

Σε γενικές γραμμές, η χιτοζάνη θεωρείται ένα μη τοξικό, βιοσυμβατό πολυμερές, το οποίο έχει εγκριθεί από τις αρμόδιες Αρχές για πλήθος εφαρμογών. Ωστόσο, δεν μπορεί να συμπεριληφθεί στα γενικώς αναγνωρισμένα ως ασφαλή (GRAS) υλικά, καθώς τα χαρακτηριστικά της χιτοζάνης, αλλά και οι χημικές τροποποιήσεις που υφίσταται, ενδέχεται να επιδράσουν στο προφίλ της, αναφορικά με την ασφάλεια. Επομένως, δημιουργείται η ανάγκη για αξιολόγηση ασφαλείας ανά περίπτωση σε κάθε προϊόν, παρόλο που στην πλειοψηφία των κοσμητικών εφαρμογών θεωρείται ασφαλής η χρήση της. Όταν η χιτοζάνη συμπεριλαμβάνεται στα συστατικά ενός προϊόντος, υπάρχει το ενδεχόμενο να υποστεί αλλαγές το προφίλ βιοκατανομής άλλων συστατικών της σύνθεσης. Για παράδειγμα, μπορεί τα φορτισμένα σωματίδια της χιτοζάνης να επηρεάσουν τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των κυττάρων. Επομένως, ο αριθμός θετικών φορτίων που περιέχονται στα μόρια χιτοζάνης, ο οποίος εξαρτάται από το MB, το DDA του πολυμερούς και το pH του μέσου, μπορεί να τροποποιήσει τις αλληλεπιδράσεις χιτοζάνης-κυττάρων και μικροπεριβάλλοντος. Ως εκ τούτου, καθίσταται αναγκαίο να ελέγχονται οι παραπάνω παράμετροι για ενδεχόμενη τοξικότητα, κατά τη διαμόρφωση συνθέσεων με χιτοζάνη. Τέλος, η φύση των προϊόντων αυτών καθαυτών, καθώς και ο τρόπος εφαρμογής τους, μπορούν να επιδράσουν στην εμφάνιση τοξικότητας από τη χιτοζάνη. (263)



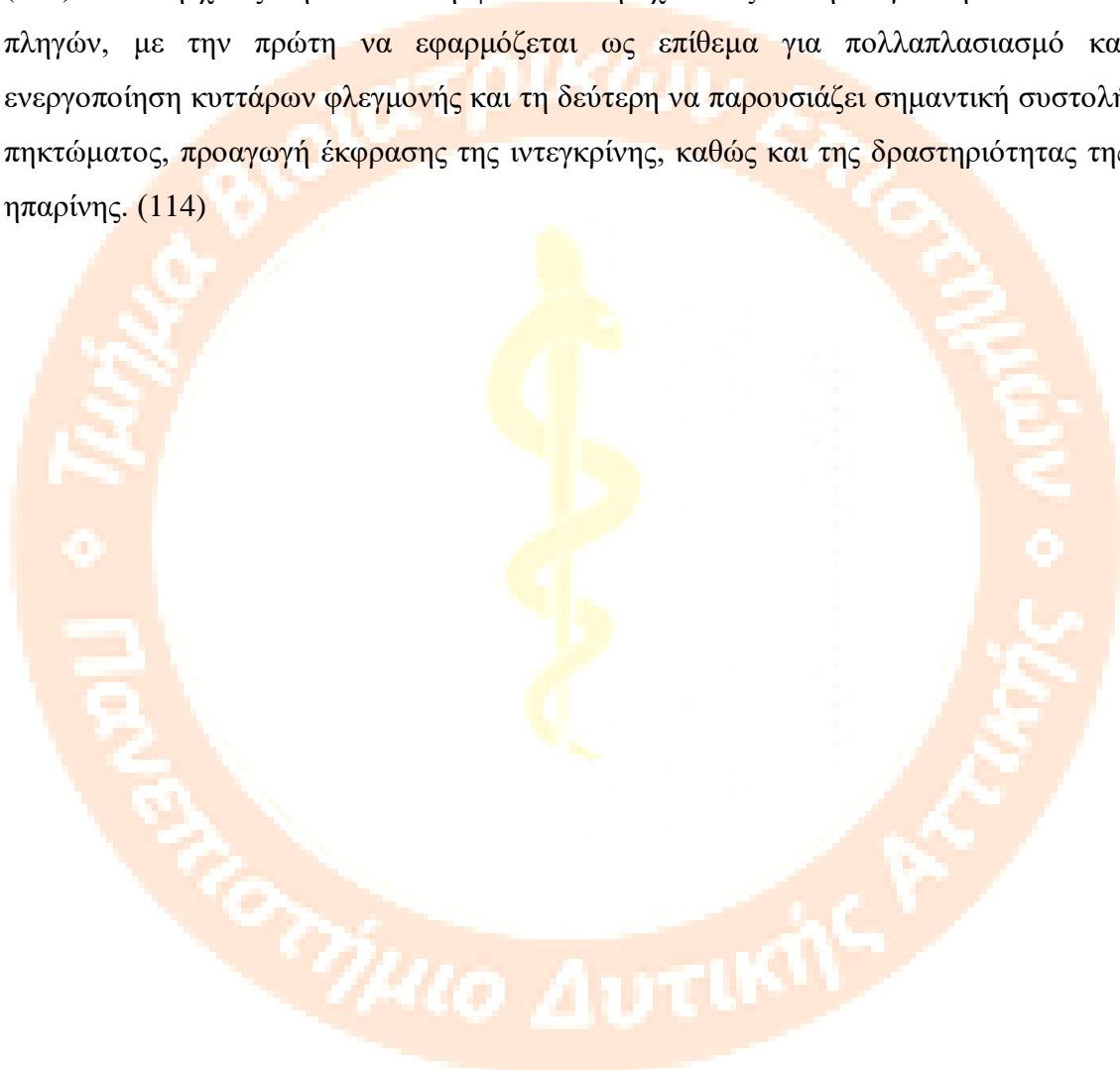
#### **5.4.2 Σύμπλοκο αλγινικά άλατα-πολυπεπτίδιο που μοιάζει με ανθρώπινη ελαστίνη (HELPS)**

Τα πολυπεπτίδια που μιμούνται την ανθρώπινη ελαστίνη (HELPS) αποτελούν μία τάξη βιοεμπνευσμένων πολυπεπτιδίων, ως εναλλακτική λύση στην ελαστίνη ζωικής προέλευσης. Είναι συνθετικά, γενετικώς κωδικοποιημένα βιοπολυμερή, που βασίζονται σε ένα επαναλαμβανόμενο μοτίβο του εξαπεπτιδίου VAPGVG. το οποίο θεωρείται εξαιρετικό συστατικό για τη μεταφορά φαρμάκων και για τη μηχανική ιστών, λόγω της καλής κυτταροσυμβατότητας και βιοσυμβατότητας, της ευκολίας στο χειρισμό, το σχεδιασμό, την παραγωγή και την τροποποίηση. (264) Επιπλέον, η HELP, χάρη στην παρουσία υπολειμμάτων γλουταμίνης και λυσίνης στην πρωταρχική δομή, έχει τη δυνατότητα για διασταύρωση, υπό την επίδραση της τρανσγλουταμίνωσης (TG), προς σχηματισμό σταθερών υδροπηκτωμάτων, χωρίς την απαίτηση χρήσης σκληρών χημικών, όπως γλουταραλδεΐδη ή αναλόγα διασταυρούμενων παραγόντων. Πραγματοποιήθηκε μελέτη, σχετικά με το συνδυασμό της HELP και ενός φυσικού πολυμερούς (ALG), για τη δημιουργία συμπλόκου με ενισχυμένες φυσικοχημικές ιδιότητες. Η έρευνα αυτή στόχευε στην αναζήτηση της αλληλεπίδρασης μεταξύ των δύο συστατικών, καθώς και στην αξιολόγηση της δυνατότητας για σύνθεση εξατομικευμένης πλατφόρμας, ικανής να μεταφέρει πολυλειτουργικούς παράγοντες. Προετοιμάστηκε μια σειρά σταθερών πολυμερικών φιλμ, βασισμένων σε ALG, με διαφορετικές συγκεντρώσεις της HELP, καθιερώνοντας ένα πρωτόκολλο και έγινε ενσωμάτωση κουρκουμίνης (ως ένωσης-μοντέλου) σε αυτά. Πρόκειται για την πρώτη μελέτη, όπου γίνεται αναφορά προετοιμασίας ενός βιοϋλικού, βασισμένου σε ALG και HELP για τη μεταφορά ενός φυσικού προϊόντος. Όπως έγινε φανερό από τη συγκεκριμένη έρευνα, ο σχεδιασμός συμπλόκων είναι εφικτός και τα χαρακτηριστικά των δύο συστατικών μπορούν να ενσωματωθούν με επιτυχία. Η αλληλεπίδραση ανάμεσα στη HELP και τις καρβοξυλομάδες των αλγινικών αλάτων αποδείχθηκε με χρήση φασματοσκοπίας υπερύθρου (FT-IR) και με θερμική ανάλυση. Η παρουσία της HELP στο σύμπλοκο διαδραμάτισε σπουδαίο ρόλο, τόσο στον έλεγχο απελευθέρωσης της κουρκουμίνης, οδηγώντας σε υψηλή αντιοξειδωτική δραστηριότητα, όσο και στη διατήρηση και στην πιθανή ενίσχυση της κυτταροσυμβατότητας στο τελικό υλικό. (264)



### 5.4.3 Νανοσωματίδια φουκοϊδάνης-χιτοζάνης

Η φουκοϊδάνη δρα ως εμπόδιο στην αγγειογένεση. Η επίδραση του MB, αλλά και του περιεχομένου της σε θείο (S), στην αντιπηκτική και αγγειογενετική δράση της, χρησιμοποιείται στην αναστολή των αυξητικών παραγόντων bFGF και VEGF. Οι ερευνητές Yu και συνεργάτες, κατέδειξαν τη σημασία της αναλογίας βάρους στα νανοσωματίδια φουκοϊδάνης-χιτοζάνης, σχετικά με το προφίλ απελευθέρωσης ουσιών. (114) Τόσο η χιτοζάνη όσο και η φουκοϊδάνη έχουν αξιοποιηθεί για την επούλωση πληγών, με την πρώτη να εφαρμόζεται ως επίθεμα για πολλαπλασιασμό και ενεργοποίηση κυττάρων φλεγμονής και τη δεύτερη να παρουσιάζει σημαντική συστολή πηκτώματος, προαγωγή έκφρασης της ιντεγκρίνης, καθώς και της δραστηριότητας της ηπαρίνης. (114)



## 6. ΠΡΟΚΛΗΣΕΙΣ ΚΑΙ ΕΥΚΑΙΡΙΕΣ ΓΙΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΘΑΛΑΣΣΙΑΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ

Όπως αναφέρεται σε άρθρο του 2023 (265), οι σημαντικότερες προκλήσεις που αφορούν στη σύνθεση καλλυντικών προϊόντων με συστατικά θαλάσσια προέλευσης, σχετίζονται με τη συνολική βιωσιμότητα, η οποία περιλαμβάνει την παραγωγική ικανότητα, την περιβαλλοντική τοξικότητα, την οικονομική αξία και τα απόβλητα που προκύπτουν. Οι προκλήσεις αυτές φαίνεται να εγείρονται από το επίπεδο τυποποίησης, την αποτελεσματικότητα, την ιχνηλασιμότητα και μπορεί να χωριστούν σε τρεις κατηγορίες:

- Δυνατότητα πρόσβασης και αποτελεσματικού διαχωρισμού
- Παραγωγή βιοδραστικών ουσιών με βιώσιμο τρόπο και γνώση του τρόπου δράσης αυτών
- Θέματα σχετικά με την εμπορευματοποίηση, όπως διαδικασίες, κόστη και συνεργασίες

Συγκεκριμένα, για τα συστατικά θαλάσσιας προέλευσης, κρίνεται αναγκαία η αξιολόγηση της απουσίας βαρέων μετάλλων, τα οποία ανευρίσκονται φυσιολογικά στο θαλάσσιο οικοσύστημα π.χ. κάδμιο, μόλυβδος, αρσενικό και υδράργυρος, καθώς επίσης της έλλειψης τοξινών και αλλεργιογόνων. (266) Επιπλέον, τα συστατικά θαλάσσιας προέλευσης έρχονται αντιμέτωπα με το ζήτημα του όγκου παραγωγής, καθώς ανευρίσκονται σε μικρές ποσότητες και σε πολλές περιπτώσεις είναι δύσκολο να απομονωθούν από τις εκάστοτε πηγές. Παράλληλα, τίθεται και το θέμα της εξασφάλισης σταθερής ποιότητας των χημικών στοιχείων, καθώς οι συνθήκες περιβάλλοντος δεν είναι σταθερές και αυτό επιφέρει αλλαγές στους εξαγόμενους μεταβολίτες. Για την αντιμετώπιση των προβλημάτων που προκύπτουν, μια χρήσιμη στρατηγική είναι οι ημισυνθέσεις, όπου, συλλέγεται η φυσική πηγή της δραστικής ουσίας και με τη σειρά της, μετατρέπεται στην ουσία ενδιαφέροντος, αντί να γίνεται συλλογή καθαυτής της ουσίας που μας ενδιαφέρει. Η εύρεση πηγών για συστατικά θαλάσσιας προέλευσης συναντά την πρόκληση της περιορισμένης προσβασιμότητας, ιδίως αν πρόκειται για οργανισμούς που διαβιούν στον πυθμένα των ωκεανών. Ωστόσο, με το πέρασμα των ετών, δημιουργήθηκαν τηλεκατευθυνόμενα υποβρύχια οχήματα και σύγχρονος εξοπλισμός για καταδύσεις, παρέχοντας, έτσι, τη δυνατότητα για παρατήρηση και δειγματοληψία θαλάσσιων οργανισμών, που ζουν σε κατά τα άλλα μη προσβάσιμα περιβάλλοντα. (265) Η περιβαλλοντική τοξικότητα που εμφανίζεται από συνθετικά

συστατικά σε προϊόντα προσωπικής φροντίδας και καλλυντικά συνιστά άλλη μια ανησυχία, σχετική με την υψηλή ζήτηση αυτών των προϊόντων παγκοσμίως. Φυσικά συστατικά έχουν προταθεί ως υποκατάστατα συνθετικών, καθώς όταν επιστρέφουν στο περιβάλλον εμφανίζουν μικρότερη επίπτωση. (265) Επιπροσθέτως, η έντονη εμπορευματοποίηση των καλλυντικών προϊόντων εγείρει προβληματισμούς, αναφορικά με την περιβαλλοντική τοξικότητα των χρησιμοποιούμενων υλικών συσκευασίας και τα επακόλουθα απόβλητα, καθώς τα τελευταία έχουν συμβάλει σημαντικά στη χερσαία και θαλάσσια ρύπανση. (265) Όσον αφορά τα θαλάσσια περιβάλλοντα, ο κύριος ρυπαντής φαίνεται να είναι το πλαστικό, αντιπροσωπεύοντας το 50-90 % των θαλάσσιων υπολειμμάτων. Μόνο το 2018 στις Η.Π.Α. 7,9 δις μονάδες πλαστικών υπολειμμάτων προερχόμενων από καλλυντικά και προϊόντα προσωπικής φροντίδας κατέληξαν στη θάλασσα. Πλέον χρησιμοποιούνται ως υλικά συσκευασίας σε καλλυντικά, φυσικής προέλευσης προϊόντα, παραγόμενα με βιώσιμο τρόπο. Ένα τέτοιο παράδειγμα αποτελούν οι κομποστοποιήσιμες συσκευασίες. Επίσης, μπορούν να χρησιμοποιηθούν υλικά θαλάσσιας προέλευσης που δεν δημιουργούν απόβλητα (zero waste) π.χ. φύκη (seaweed) προς παραγωγή βρώσιμων συσκευασιών. Αυτά τα φύκη συνιστούν το κύριο παράδειγμα υλικού συσκευασίας θαλάσσιας προέλευσης, έχοντας υψηλή περιεκτικότητα σε φυτικές ίνες και βιταμίνες, χωρίς την ανάγκη για χρήση συνθετικών χημικών ουσιών. Ωστόσο, μέχρι στιγμής, οι συσκευασίες με βάση τα φύκη βρίσκουν εφαρμογή μόνο στη βιομηχανία τροφίμων. (265)

## 7. ΝΟΜΟΘΕΤΙΚΟ ΠΛΑΙΣΙΟ ΓΙΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΘΑΛΑΣΣΙΑΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ

Τα συστατικά θαλάσσιας προέλευσης παρουσιάζουν πλήθος εφαρμογών, όπως τρόφιμα, συμπληρώματα διατροφής, φάρμακα και καλλυντικά. Όσον αφορά το κομμάτι των συμπληρωμάτων και των φαρμάκων, τα προϊόντα υπόκεινται σε αυστηρά νομοθετικά κριτήρια, ανάλογα με την περιοχή εφαρμογής τους, προκειμένου σε κάθε περίπτωση να εξασφαλίζεται η ποιότητα, η αποτελεσματικότητα και η ασφάλεια. Ο τομέας των καλλυντικών χρειάζεται, επίσης, νομοθετική ρύθμιση, λόγω του δυναμικού, σύνθετου και ταχέως αυξανόμενου ρυθμού ανάπτυξης. Τα νομοθετικά πλαίσια σε παγκόσμιο επίπεδο ακολουθούν μια κοινή γραμμή, αλλά εμφανίζουν και σημαντικές διαφορές. (265) Στις Η.Π.Α. (265), υπάρχουν δύο σημαντικοί νόμοι που αφορούν στα καλλυντικά προϊόντα και η ρύθμισή τους γίνεται από τον Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA) -Federal Food, Drug and Cosmetic Act (FD&C Act) και Fair Packaging and Labeling Act (FPLA). Ο πρώτος αφορά στα τρόφιμα, φάρμακα και καλλυντικά, ενώ ο δεύτερος στη συσκευασία και την ετικέτα του προϊόντος.

Στον Καναδά (265), η Νομοθετική Ρύθμιση για τα Καλλυντικά (Cosmetic Regulation Act, 1977) και η Νομοθετική Ρύθμιση για τα Τρόφιμα και τα Φάρμακα (Food and Drugs Act, 1985) έχουν υποστεί ορισμένες τροποποιήσεις μέσα στα χρόνια.

Στη Βραζιλία (265), ο τομέας των Καλλυντικών ρυθμίζεται από τρεις Αρχές: το Υπουργείο Υγείας, το Πρακτορείο Υγειονομικής Ρύθμισης της Βραζιλίας (ANVISA) και τη Διαχείριση Προϊόντων Υγιεινής, Αρωμάτων, Καλλυντικών και Απολυμαντικών Προϊόντων (GHCOS).

Στην Ιαπωνία (265), τα καλλυντικά προϊόντα βρίσκονται υπό τη ρύθμιση του Νόμου περί Φαρμακευτικών και Ιατρικών Μηχανημάτων (PMDL), από την αρμόδια αρχή, το Υπουργείο Υγείας, Εργασίας και Ευημερίας.

Στην Κίνα (265), υπάρχουν τρεις κύριες Αρχές: η Κρατική Διοίκηση για τη Ρύθμιση Αγοράς (SAMR), η Εθνική Διοίκηση Ιατρικών Προϊόντων (NMPA) και η Γενική Διοίκηση Τελωνείων (GAC). Το 2021 μία νέα Ρυθμιστική Αρχή για τα καλλυντικά (Cosmetic Supervision and Administration Regulation -CSAR-) αντικατέστησε το Cosmetics Hygiene Supervision Regulations (CHSR).

Πολυάριθμοι επικουρικοί κανονισμοί ανακοινώθηκαν, σχετιζόμενοι κυρίως με τις διαδικασίες εγγραφών και κοινοποιήσεων, τις Καλές Κατασκευαστικές Πρακτικές (GMPs) και την παρακολούθηση των ανεπιθύμητων ενεργειών.

Αναφορικά με την Ευρωπαϊκή Αγορά, ο Κανονισμός EC N° 1223/2009, συνιστά το κύριο ρυθμιστικό πλαίσιο που οφείλουν να ακολουθούν τα τελικά καλλυντικά προϊόντα. (267) Σύμφωνα με αυτόν τον Κανονισμό (267), «Κάθε καλλυντικό προϊόν που διατίθεται στην αγορά οφείλει να είναι ασφαλές για την ανθρώπινη υγεία, όταν χρησιμοποιείται κάτω από φυσιολογικές ή εύλογα προβλέψιμες συνθήκες χρήσης.». Αυτός ο κανονισμός λειτουργίας ενισχύει την ασφάλεια και παρέχει ένα ορθολογικό πλαίσιο για όλους τους χειριστές του Τομέα. Όπως είναι γνωστό, η ασφάλεια αποτελεί ένα ζήτημα υψίστης σημασίας για κάθε καλλυντικό, ανεξάρτητα από την πηγή προέλευσης των συστατικών του, συμπεριλαμβανομένων και των θαλάσσιων συστατικών. Για κάθε καλλυντικό προϊόν, κρίνεται υποχρεωτική η Έκθεση Ασφάλειας ενός Καλλυντικού Προϊόντος (CPSR) και συμπεριλαμβάνεται στο Αρχείο Πληροφοριών Προϊόντος (PIF). Το CPSR αποτελείται από δύο τμήματα, τα οποία έχουν υποχρέωση να περιλαμβάνουν τα ακόλουθα: πληροφορίες ασφάλειας καλλυντικού προϊόντος (ΜΕΡΟΣ Α) και αξιολόγηση ασφάλειας καλλυντικού προϊόντος (ΜΕΡΟΣ Β). Τόσο το CPSR όσο και το PIF πρέπει να ενημερώνονται τακτικά.

Σύμφωνα με τον Κανονισμό EC N° 1223/2009 (267), «Η ασφάλεια βασίζεται στη χρήση ασφαλών συστατικών (τοξικολογικό προφίλ, χημική δομή, έκθεση).» και «Ο υπεύθυνος πρέπει, πριν θέσει σε κυκλοφορία ένα καλλυντικό προϊόν στην αγορά, να εξασφαλίσει ότι το εν λόγω καλλυντικό προϊόν έχει υποβληθεί σε αξιολόγηση ασφάλειας, βάσει σχετικών πληροφοριών και έχει ορισθεί μια έκθεση ασφάλειας για αυτό.». Εδώ και πολλά χρόνια, η πραγματοποίηση δοκιμών των καλλυντικών σε ζώα αποτελεί αντικείμενο συζήτησης, καθώς αυτή η πρακτική έχει απαγορευτεί σε πλήθος χωρών. Συνεπώς, η αξιολόγηση της ασφάλειας για τις ακατέργαστες πρώτες ύλες πρέπει να γίνεται με την χρήση εναλλακτικών μεθόδων. Συνιστάται να επιλέγονται *in vitro* τεχνικές δοκιμών και μπορούν να περιλαμβάνουν τον ερεθισμό και τη διαβρωτική ικανότητα για δέρμα και οφθαλμούς, EpiDerm -OECD 439- και EpiOcular -OECD 492- αντίστοιχα, δοκιμασία μεταλλαξιογένεσης/γονιδιοτοξικότητας Ames test -OECD 471- για μεταλλαξιογένεση και χρωμοσωμική ανωμαλία και δοκιμασία OECD 473 για γονιδιοτοξικότητα και τέλος δοκιμασία για φωτοεπαγόμενη τοξικότητα -3T3 NRU-.

Στα πλαίσια *in vivo* μεθόδων αξιολόγησης, χρησιμοποιείται patch test επαναλαμβανόμενης προσβολής σε ανθρώπους (HRIPT). (265) Η αξιολόγηση κινδύνου και έκθεσης για οποιοδήποτε χημικό (τάξης μακρο-, μικρο-, νανο-), το οποίο εισέρχεται στην Ευρωπαϊκή Αγορά υπόκειται στην Κανονιστική Αρχή REACH (Registration, Evaluation and Authorization of Chemicals), σύμφωνα με τον Κανονισμό EC N°

1907/2006. (268) Ο Κανονισμός Ν° 1223/2009 καθορίζει τα όρια στα οποία πρέπει να υπακούουν τα καλλυντικά που παρασκευάζονται, ώστε να τηρούνται οι κανόνες Καλής Παρασκευαστικής Πρακτικής (GMPs). Τα GMPs εξασφαλίζουν ότι η προετοιμασία των καλλυντικών πραγματοποιείται σε ένα καθαρό περιβάλλον και δεν τίθεται θέμα κινδύνου για επιμόλυνση κατά τη διαδικασία παραγωγής. (267) Επιπλέον, τα συστατικά στο τελικό καλλυντικό προϊόν πρέπει να δηλώνονται σύμφωνα με την Παγκόσμια Ονοματολογία Καλλυντικών Συστατικών (INCI System), ενώ πριν την κυκλοφορία τους στην Ευρωπαϊκή αγορά, όλα τα καλλυντικά οφείλουν να αναγράφονται σε μία συγκεντρωτική βάση δεδομένων, την Πύλη Ειδοποιήσεων Καλλυντικών Προϊόντων (CPNP), η οποία τελεί υπό τη διαχείριση της Ευρωπαϊκής Επιτροπής. Με αυτόν τον τρόπο διασφαλίζεται η διαδικτυακή (online) διαθεσιμότητα των πληροφοριών του καλλυντικού στις αρμόδιες Αρχές (κέντρα δηλητηριάσεων ή αντίστοιχα σώματα στην Ε.Ε.), ώστε να μπορεί να υπάρχει εποπτεία της αγοράς και δυνατότητα ανάπτυξης σχεδίου διαχείρισης, σε περίπτωση απρόσμενων επιπλοκών. (265) Αυτός ο Κανονισμός Καλλυντικών της Ε.Ε. περιλαμβάνει, επίσης, μια σειρά από αυστηρούς κανόνες σχετικά με την αναγραφόμενη ετικέτα στον περιέκτη του προϊόντος, τη συσκευασία κι αν αυτό δεν είναι εφικτό, λόγω έλλειψης χώρου, την ύπαρξη ενός φύλλου οδηγιών εντός της συσκευασίας. Ακόμη, ο Κανονισμός αυτός θέτει τις αρχές για την αναγραφή επί της συσκευασίας των σχετικών ισχυρισμών από τους κατασκευαστές. (267) Γενικότερα, ο Φάκελος Καλλυντικών Συστατικών (CID) περιέχει μη επεξεργασμένα δεδομένα όλων των συστατικών (αξιολογώντας την ασφάλειά τους), ένα φύλλο τεχνικών δεδομένων (TDS), ένα φύλλο με δεδομένα για την ασφάλεια των υλικών (MSDS) και δηλώσεις περί αλλεργιογόνων. Ενδέχεται, ακόμη, να περιλαμβάνει πιστοποιητικά αναλύσεων (CoA), πιστοποιητικά συμμόρφωσης, πιστοποιητικά ελεύθερης μορφής και μελέτες αποτελεσματικότητας. (265) Τέλος, όσον αφορά το κανονιστικό καθεστώς για τα Ιατροτεχνολογικά Προϊόντα, ισχύουν τα ακόλουθα: Η Επιτροπή καθορίζει, κατόπιν διαβούλευσης με το Συντονιστικό Όργανο Ιατροτεχνολογικών Προϊόντων (ΣΟΠ) που προβλέπεται στο άρθρο 103 του Κανονισμού ΕΕ 2017/745 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου & του Συμβουλίου – 5/4/2017, μέσω εκτελεστικών πράξεων, κατά πόσον ένα συγκεκριμένο προϊόν ή κατηγορία ή ομάδα προϊόντων εμπίπτει ή δεν εμπίπτει στον ορισμό του «ιατροτεχνολογικού προϊόντος». Οι εν λόγω εκτελεστικές πράξεις εκδίδονται σύμφωνα με τη διαδικασία εξέτασης στην οποία παραπέμπει το άρθρο 114 παράγραφος 3 του παρόντος Κανονισμού. (28) Η Επιτροπή εξασφαλίζει την ανταλλαγή εμπειρογνώσεως μεταξύ κρατών-μελών στους τομείς των ιατροτεχνολογικών προϊόντων, των *in vitro* διαγνωστικών ιατροτεχνολογικών



προϊόντων, των φαρμάκων, των ανθρώπινων ιστών και κυττάρων, των καλλυντικών, των βιοκτόνων, των τροφίμων και, ενδεχομένως, άλλων προϊόντων, με σκοπό τον καθορισμό του κατάλληλου κανονιστικού καθεστώτος ενός προϊόντος ή μιας κατηγορίας ή ομάδας προϊόντων. (28)



## 8. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ

### 8.1 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Όπως αναπτύχθηκε παραπάνω, οι χημικές ενώσεις από οργανισμούς και μικροοργανισμούς του θαλάσσιου περιβάλλοντος έχουν τη δυνατότητα να χρησιμοποιηθούν αποτελεσματικά στην αποκατάσταση του δέρματος κατά την επούλωση πληγών.

Συμπερασματικά, τα θαλάσσια αγγούρια, χάρη στα υψηλά ποσά κολλαγόνου και μυκοπολυσακχαριτών που περιέχουν, αποτελούν μια σπουδαία πρώτη ύλη για ανάπτυξη επουλωτικών συνθέσεων, ιδιαίτερος σε υδατικό εκχύλισμα, για χρήση σε επιθήματα πληγών, αλλά και σε υδροπηκτώματα. Η επεξεργασία με υπερήχους βελτιώνει τις φυσικοχημικές ιδιότητες των περιεχομένων σε αυτά πρωτεϊνών. Ωστόσο, ελλοχεύει ο κίνδυνος παρουσίας μικροσκοπικών πλαστικών σωματιδίων στο σώμα των θαλάσσιων αγγουριών, γεγονός που απαιτεί προσοχή και εκτεταμένο έλεγχο.

Τα θαλάσσια σφουγγάρια συνιστούν αποθήκες θαλάσσιων μικροοργανισμών και τα περιεχόμενα σε αυτά MCHs (marine collagen hydrolysates), δεν παρουσιάζουν κάποια τοξικότητα, ενώ εμφανίζουν ισχυρή αντιοξειδωτική δράση, χρήσιμη στην εξουδετέρωση των ελευθέρων ριζών και στην επιτάχυνση της φάσης πολλαπλασιασμού της επούλωσης. Τα βακτήρια *Micrococcus sp.* περιέχουν τους βιοδραστικούς μεταβολίτες ζεαξανθίνη και 1-(1-(4-μεθοξυφαινυλ)-2-(μεθυλαμινο)αιθυλ)κυκλοεξανόλη, οι οποίοι συμβάλλουν σημαντικά στη συστολή των χειλέων της πληγής. Επιπλέον, τα κυανοβακτήρια φαίνεται να μην παρουσιάζουν κίνδυνο τοξικότητας, καθώς στις αναφερόμενες μελέτες δεν ταυτοποιείται καμία κυανοτοξίνη, καθιστώντας τα ασφαλή για χρήση στην επούλωση.

Η τοπική εφαρμογή του ελαιώδους εκχυλίσματος *C. oestroides*, δείχνει σχεδόν ολική επαναφορά της φυσικής αρχιτεκτονικής του δέρματος στην πρότερη κατάσταση, χωρίς την ανάπτυξη φλεγμονής και χωρίς τη σύγχρονη χορήγηση αντιβιοτικής αγωγής για αποφυγή επιμόλυνσης, αποκαλύπτοντας μια εντυπωσιακή επουλωτική ικανότητα.

Τα θαλάσσια σκουλήκια *D. clareidii* και *A. marina* δίνουν το πράσινο φως για χρήση σε επουλωτικές συνθέσεις, χάρη στην αναγεννητική ικανότητα του πρώτου, σε περιπτώσεις τραυματισμού του ίδιου του ασπόνδυλου και στην αποτελεσματική δράση του δεύτερου στη μεταφορά οξυγόνου ενάντια στη βαθμίδωση, ελαχιστοποιώντας την εμφάνιση ελευθέρων ριζών. Ωστόσο, απαιτείται περαιτέρω διερεύνηση για την ασφάλεια του *A. marina*, λόγω της αλλαγής που προκαλεί στο μεταβολισμό του η έκθεση σε  $nZnO$ .

Η ασταξανθίνη και δη στη φυσική της μορφή, χαρακτηρίζεται ως ένα ισχυρό αντιοξειδωτικό, το οποίο ενσωματωμένο σε φιλμ κολλαγόνου, δείχνει να ευνοεί στην επούλωση, συμβάλλοντας στην καλύτερη αγγειογένεση και γρηγορότερη επιθηλιοποίηση. Η αστάθεια της φυσικής μορφής καταπολεμάται με πλήθος μεθόδων, με τη χρήση κυκλοδεξτρινών και φιλμ να εμφανίζονται ως οι πιο αποτελεσματικές. Η ενδεχόμενη παρουσία βαρέων μετάλλων στις πηγές προέλευσής της, όμως, εγείρει προβληματισμούς σχετικά με τη χρήση της.

Ο πολυσακχαρίτης FRP εμφανίζει υψηλή αντιοξειδωτική δράση, αυξημένα ποσά κολλαγόνου και υδροξυπρολίνης και προάγει την επανεπιθηλιοποίηση και κατ' επέκταση την επουλωτική διαδικασία. Η πηκτίνη SmP συμβάλλει στον πολλαπλασιασμό και τη μεταναστευτική δραστηριότητα των ινοβλαστών, επιδρώντας στην αναγεννητική και επουλωτική ικανότητα, ενώ η χρήση της σε συγκεντρώσεις 0.01%, 0.05%, 0.1% και 0.5% δεν παρουσιάζει κυτταροτοξικότητα, γεγονός που ενθαρρύνει την εφαρμογή της στην επούλωση.

Οι καρραγεννάνες εμφανίζουν ομοιότητες με τις φυσικές γλυκοζαμινογλυκάνες και είναι έντονα υδρόφιλες. Λόγω βιοσυμβατότητας, αιμοστατικής και ανοσοτροποποιητικής ικανότητας, καθώς και των άριστων πηκτωματοποιητικών ιδιοτήτων τους, μπορούν να ενσωματωθούν σε νανοπηκτώματα, υδροπηκτώματα και βιοεπιθέματα τραυμάτων. Η υψηλή βιοδιαθεσιμότητα και βιοαποικοδομησιμότητά τους τις καθιστά καλύτερες ως επίθεμα τραύματος, σε σχέση με τις φουκοϊδάνες. Παρατηρείται καλή σταθερότητα της ι-καρραγεννάνης με argan oil και της κ-καρραγεννάνης με σορβιτόλη και γλυκερίνη.

Οι ουλβάνες ενισχύονται βιολογικά από την παρουσία ραμνόζης, η οποία τις καθιστά σχεδόν αδιάλυτες σε οργανικούς διαλύτες, αλλά βελτιώνει το επουλωτικό και αντιμικροβιακό αποτέλεσμα. Οι θεικές και καρβοξυλικές ομάδες στη δομή των ουλβανών επιδρούν αρνητικά στη σταθερότητα των υδροπηκτωμάτων τους, γεγονός που απαιτεί τη δημιουργία πηκτώματος κατιονικών πολυμερών ή μη οργανικών προσθέτων (π.χ. μέταλλα) για την αποκατάσταση του ζητήματος. Από την άλλη, το πολυϊοντικό πήκτωμα ουλβανών-χιτοζάνης εμφανίζει υψηλή σταθερότητα σε όξινο και αλκαλικό περιβάλλον.

Τα αλγινικά άλατα χρησιμοποιούνται ως πηκτωματοποιητικοί παράγοντες σε συνδυασμό με κατιόντα  $Ca^{2+}$ ,  $Ba^{2+}$  ή  $Co^{2+}$ . Οι προθρομβωτικές ιδιότητες, η αιμοστατική ικανότητα και η αντιμικροβιακή δράση συμβάλλουν στην εκτεταμένη χρήση των αλγινικών αλάτων σε επιθέματα. Τα επιθέματα πληγών με αλγινικό ασβέστιο και G-θραύσματα δεν

προκαλούν τραυματισμό ή πόνο κατά την αφαίρεση. Επιθέματα με υψηλή περιεκτικότητα σε Μ-θραύσματα απαιτούν ειδική ύγρανση κατά την αφαίρεση. Η ευρεία χρήση των αλγινικών αλάτων σε υδροπηκτώματα ευνοείται από το χαμηλό κόστος, την εύκολη διαθεσιμότητα, και την υψηλή βιοσυμβατότητα. Πολλά υποσχόμενα για χρήση στην επούλωση εμφανίζονται τα επιθέματα φιλμ και αφρού με βάση τα αλγινικά άλατα, σε συνδυασμό με άλλα βιοπολυμερή, αιθέρια έλαια και επιφανειοδραστικές ουσίες για καλύτερη διασπορά, ενώ προοπτικές για μελλοντική αξιοποίηση δείχνουν να έχουν το πήκτωμα με συνδυασμό αλγινικών αλάτων και υαλουρονικού οξέος, καθώς και το υδροπήκτωμα με αλγινικά άλατα και H<sub>2</sub>S.

Οι φουκοϊδάνες είναι σημαντικά εξαρτώμενες από τις περιβαλλοντικές συνθήκες, την κλασματική εξαγωγή και τον καθαρισμό τους. Οι αντιφλεγμονώδεις, αντιπηκτικές και αντιθρομβωτικές ιδιότητες καθορίζονται από την παρουσία των θεικών ομάδων. Οι φουκοϊδάνες χαμηλού MB προσομοιάζουν την ηπαρίνη και επάγουν την παραγωγή κυτοκινών με σημαντικό ρόλο στη διαδικασία επούλωσης, την επανεπιθηλιοποίηση, την αγγειογένεση, τη μετανάστευση και τον πολλαπλασιασμό των κερατινοκυττάρων, ενώ η υψηλή περιεκτικότητα θεικών ομάδων επιταχύνει την επουλωτική διαδικασία. Τα παραπάνω καθιστούν τις φουκοϊδάνες άκρως αποτελεσματικό αντιπροσκολλητικό παράγοντα, χωρίς κάποια τοξικότητα και προσφέρουν προοπτική για αξιοποίηση του συστατικού αυτού σε επιθέματα πληγών.

Η Επινεσιδίνη-1 φέρει αντιμικροβιακή δράση κατά του MRSA, αλλά επιδρά και στη μείωση των προφλεγμονωδών κυτοκινών, προάγει τον πολλαπλασιασμό και τη μετανάστευση κυττάρων στην περιοχή της πληγής και δρα συνεργιστικά με το κολλαγόνο στο επουλωτικό αποτέλεσμα, στο πλαίσιο συνδυαστικής αγωγής.

Το Apratyramide κινητοποιεί τη σύνθεση και την έκκριση ενδογενών GFs, επιταχύνοντας την επούλωση, καθώς και την αποκατάσταση χρόνιων τραυμάτων, ενώ έμμεσα επάγει την αγγειογένεση.

Το κολλαγόνο μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως επίθεμα πληγής για προαγωγή της ανάπλασης και προφύλαξη από επιμόλυνση. Η χρήση του μπορεί να γίνει είτε με μορφή πεπτιδίων και υδροξυλικών ιόντων είτε με μορφή ινιδίων, με δομές που μοιάζουν με ικρίωματα. Η παραγωγή πεπτιδίων θαλάσσιου κολλαγόνου μπορεί να πραγματοποιηθεί είτε με χημική είτε με ενζυμική υδρόλυση. Το κολλαγόνο θαλάσσιας προέλευσης επιταχύνει αποτελεσματικά την επουλωτική διαδικασία και μπορεί να αποτελέσει δερματικό υποκατάστατο για τη θεραπεία σοβαρών τραυμάτων. Η θερμοκρασία αποδόμησης του θαλάσσιου κολλαγόνου είναι < 37 °C, οπότε, για να εξασφαλιστεί η

θερμική σταθερότητα των ικριωμάτων με θαλάσσιο κολλαγόνο, γίνεται διασταύρωση με χημικές ουσίες (EDC, GEN, TP, NDGA, DPPA, GTA) και/ή με φυσικές κατεργασίες (δεϋδροθερμική διασταύρωση). Δεν παρουσιάζεται κυτταροτοξικότητα από το εκχύλισμα κολλαγόνου. Τα μόρια του κολλαγόνου είναι περισσότερο απορροφήσιμα, λόγω του χαμηλού MB, το οποίο αυξάνει την υδατοδιαλυτότητά του. Χάρη στο χαμηλό του MB, το θαλάσσιο κολλαγόνο εξασφαλίζει ένα καλό επίπεδο απορρόφησης έως και 1,5 φορές, ενώ, παράλληλα, επάγει μια γρηγορότερη αιματική ροή. Υπερέχει του κολλαγόνου από τα θηλαστικά, αναφορικά με τη μηχανική των ιστών, λόγω της βιοσυμβατότητάς και της βιοαποικοδομησιμότητάς του. Στην πλειοψηφία του, το κολλαγόνο θαλάσσιας προέλευσης περιέχει λιγότερη προλίνη και υδροξυπρολίνη, σε σχέση με αυτό από τα θηλαστικά. Κατά συνέπεια, εμφανίζει μειωμένη διασταυρούμενη συμβατότητα και σταθερότητα. Το κολλαγόνο με προέλευση από ψάρια φαίνεται να συγκρατεί υψηλά ποσά ύδατος, χωρίς να προκαλεί ερεθισμούς, παρέχοντας την προοπτική για εφαρμογές στο δέρμα. Εκτός αυτού, το κολλαγόνο από το ψάρι *tilapia* παρουσιάζει απόδοση 40% επί ξηρού βάρους, γεγονός που θέτει τις βάσεις για μελλοντική του αξιοποίηση στην επούλωση. Κολλαγόνο από τη μέδουσα *R. Esculentum* μαζί με EDC έχει χρησιμοποιηθεί στη σύνθεση αιμοστατικών σπόγγων, ενώ κολλαγόνο από τη μέδουσα *N. nomurai* χρησιμοποιήθηκε σε ικριώματα, έχοντας καλύτερη βιωσιμότητα, συγκριτικά με κολλαγόνο προερχόμενο από οστά, γλυκάνη, ζελατίνη και υαλουρονικό οξύ και παρόμοια ανοσολογική απόκριση με το κολλαγόνο από οστά, που κυκλοφορεί στο εμπόριο. Υβρίδιο κολλαγόνου από *N. nomurai* με υαλουρονικό οξύ δείχνει να προάγει τον πολλαπλασιασμό των ινοβλαστών, χωρίς κυτταροτοξική δράση. Από την άλλη, η δομή του συνδετικού ιστού από εχινόδερμα μπορεί να αποτελέσει πηγή έμπνευσης για τη σύνθεση «έξυπνων δυναμικών βιοϋλικών» με προοπτική αποκατάστασης και αναδόμησης ιστών στην επούλωση.

Η χιτοζάνη είναι εξαιρετικώς βιοσυμβατή και βιοαποικοδομήσιμη και φέρει ιδιότητες αντιβακτηριακές και αντικαρκινικές, καθώς και ικανότητα επανεπιθηλιοποίησης. Η χιτοζάνη φαίνεται να προωθεί την αιμόσταση στην περιοχή του τραύματος, χάρη στις φυσικοχημικές της ιδιότητες και την πολυκατιονική της φύση. Προκαλείται συσσωμάτωση των αρνητικώς φορτισμένων ερυθροκυττάρων και αιμοπεταλίων με πρωτεΐνες πλάσματος, όπως το ινωδογόνο, από τα θετικώς φορτισμένα μόρια της χιτοζάνης. Επίσης, η χιτοζάνη προλαμβάνει τη μικροβιακή επιμόλυνση, με τη βοήθεια της αλληλεπίδρασης ανάμεσα στην πολυκατιονική αλυσίδα πολυσακχαριτών και τα συστατικά με αρνητικό φορτίο στη βακτηριακή κυτταρική μεμβράνη. Οι ισχυροί

ενδομοριακοί και διαμοριακοί δεσμοί υδρογόνου, εντός και μεταξύ της πολυμερικής αλυσίδας της χιτοζάνης, περιορίζουν την ικανότητα αντίδρασης των υδροξυλομάδων και αμινομάδων με ελεύθερες ρίζες και ως εκ τούτου η χιτοζάνη εμφανίζει ήπιες αντιοξειδωτικές ιδιότητες. Εκτός αυτού, χαρακτηριστικά της χιτοζάνης δείχνουν να διεγείρουν το ανοσοποιητικό σύστημα και να ρυθμίζουν τόσο τις προφλεγμονώδεις όσο και τις αντιφλεγμονώδεις κυτοκίνες. Η χιτοζάνη υψηλού MB θεωρείται ότι ευνοεί την αιμόσταση και εμφανίζει περισσότερες ομάδες αμινοξέων, ικανές για αλληλεπίδραση, ενώ η χιτοζάνη χαμηλού MB πλεονεκτεί, ως προς το αυξημένο πηλίκο επιφάνεια/όγκος, με το ελάχιστο MB να διαθέτει το μεγαλύτερο αποτρεπτικό αποτέλεσμα κατά των φυτοπαθογόνων. Η χιτοζάνη μέσου MB, από την άλλη, φέρει το υψηλότερο ποσοστό αντιμικροβιακών παραγόντων και προκαλεί τη βέλτιστη συσσώρευση αίματος, η οποία δικαιολογεί πιθανώς την ανάγκη για ισορροπία μεταξύ υψηλού και χαμηλού MB. Σε περιβάλλον ουδέτερου pH, τα χαμηλά MB παρουσιάζουν βελτιωμένη αντιβακτηριακή δραστηριότητα. Αντίστοιχα, σε όξινες συνθήκες φαίνεται να ενισχύονται οι αντιβακτηριακές ιδιότητες των υψηλότερων MB. Ενίσχυση της αντιβακτηριακής δραστηριότητας παρατηρείται, επίσης, καθώς αυξάνεται ο βαθμός αποακετυλίωσης της χιτοζάνης (DDA), με αποτέλεσμα αύξηση του ολικού θετικού φορτίου της χιτοζάνης και της ποσότητας αμινοξέων που είναι διαθέσιμα για ιονισμό. Λόγω της ισχυρής υγροσκοπικής φύσης της χιτοζάνης, της ποικιλίας και κατανομής MB, των διαφορετικών DDA και του επιπέδου καθαρότητας, καθώς και της έντονης ευαισθησίας σε περιβαλλοντικούς παράγοντες, που οδηγούν σε πολυμερική αποσύνθεση, η χρήση της χιτοζάνης είναι περιορισμένη. Επίσης, δημιουργείται το ενδεχόμενο να υποστεί αλλαγές το προφίλ βιοκατανομής άλλων συστατικών, ως αποτέλεσμα της παρουσίας της χιτοζάνης στη σύνθεση. Τα NPs χιτοζάνης, λόγω του μικρού μεγέθους τους (<1000 nm), εμφανίζουν αυξημένη ικανότητα διείσδυσης των συστατικών, μέσω της επιδερμίδας. Επιπλέον, παρατείνουν το  $t_{1/2}$  ενός θεραπευτικού παράγοντα, προσφέρουν ελεγχόμενη αποδέσμευση και επιτυγχάνουν στοχευμένη μεταφορά χημικών μορίων, ενώ παράλληλα αντιμετωπίζουν αποτελεσματικά πιθανά προβλήματα διαλυτότητας, παρέχοντας υψηλή σταθερότητα. Ακόμη, η παρουσία ισχυρού θετικού φορτίου των NPs προσφέρει τη δυνατότητα αλληλεπίδρασης με αρνητικώς φορτισμένες επιφάνειες. Ο υψηλός λόγος επιφάνεια/όγκος δηλώνει την ύπαρξη μεγαλύτερης επιφάνειας διαθέσιμης για αλληλεπίδραση, πυροδοτώντας το μηχανισμό επούλωσης και παρέχοντας την ευκαιρία για μελλοντική αξιοποίηση των NPs χιτοζάνης σε θεραπευτικό επίπεδο. Επιπλέον, τα φιλμ χιτοζάνης-αλγινικών αλάτων εμπλουτισμένα με Ag φαίνονται πολλά υποσχόμενα



για χρήση στην παραγωγή επιθεμάτων πληγών, ενισχύοντας τις αντιβακτηριακές ιδιότητες και προσφέροντας τη δυνατότητα για ελεγχόμενη αποδέσμευση της δραστικής ουσίας.

Το σύμπλοκο αλγινικά άλατα-HELPS αποτελεί ένα συνθετικό, γενετικώς κωδικοποιημένο βιοπολυμερές, που βασίζεται σε ένα επαναλαμβανόμενο μοτίβο του εξαπεπτιδίου VAPGVG, το οποίο θεωρείται εξαιρετικό συστατικό για τη μεταφορά φαρμάκων και για τη μηχανική ιστών, λόγω της καλής κυτταροσυμβατότητας και βιοσυμβατότητας, της ευκολίας στο χειρισμό, το σχεδιασμό, την παραγωγή και την τροποποίηση. Ο σχεδιασμός συμπλόκων είναι εφικτός και τα χαρακτηριστικά των δύο συστατικών μπορούν να ενσωματωθούν με επιτυχία.

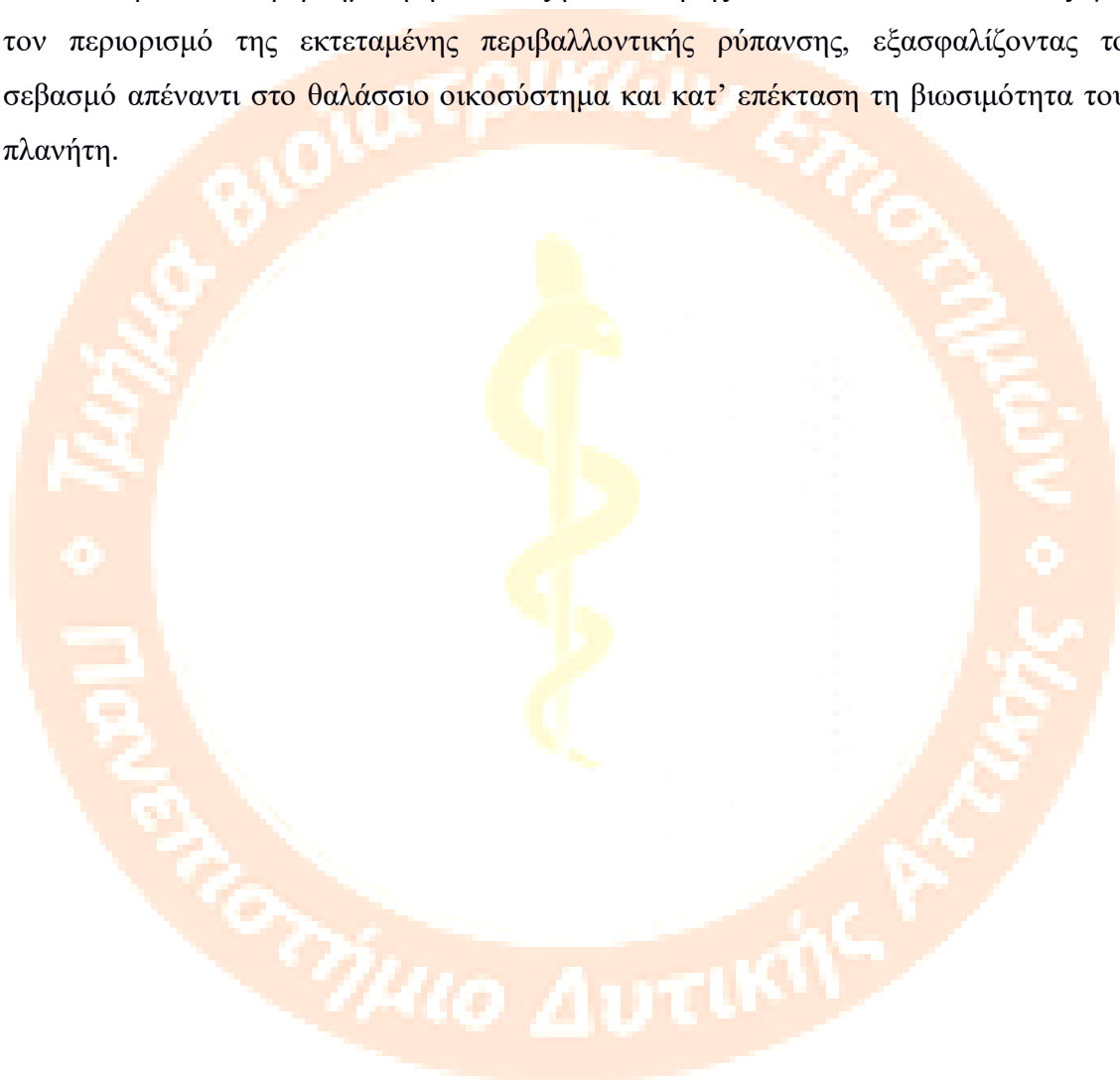
Τα ναοσωματίδια φουκοϊδάνης-χιτοζάνης συνδυάζουν τα οφέλη των δύο επιμέρους συστατικών και αξιοποιούνται στην επούλωση πληγών, με την πρώτη να παρουσιάζει σημαντική συστολή πηκτώματος, προαγωγή έκφρασης της ιντεγκρίνης, καθώς και της δραστηριότητας της ηπαρίνης και τη δεύτερη να εφαρμόζεται ως επίθεμα, για πολλαπλασιασμό και ενεργοποίηση κυττάρων φλεγμονής.

Σημαντικά ζητήματα προκύπτουν αναφορικά με τη βιωσιμότητα σε επίπεδο παραγωγής, τοξικότητας για το περιβάλλον, αποβλήτων και οικονομικής αξίας. Απαιτείται αξιολόγηση για την απουσία βαρέων μετάλλων, τοξινών και αλλεργιογόνων και εξασφάλιση ότι η απομόνωση των συστατικών θα γίνεται με τρόπο επαναλήψιμο και βιώσιμο, ώστε η ποιότητα να μένει σταθερή, αλλά και ο περιβαλλοντικός αντίκτυπος να είναι ο κατά το δυνατόν μικρότερος.

## 8.2 ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ

Με βάση τα δεδομένα που διατίθενται μέχρι στιγμής, προκύπτει μία σημαντική ανάγκη για περαιτέρω διερεύνηση των συστατικών θαλάσσιας προέλευσης σε επίπεδο ασφάλειας χρήσης και ενδεχόμενης εμφάνισης τοξικότητας, άμεσα αλλά και σε βάθος χρόνου. Επίσης, όσον αφορά την εφαρμογή και χρήση τους, απαιτείται περαιτέρω διεξαγωγή ερευνών, για την εύρεση των καταλληλότερων καλλυντικοτεχνικών μορφών, ιατροτεχνολογικών προϊόντων ή/και φαρμακευτικών σκευασμάτων, ώστε να αξιοποιηθούν στο μέγιστο βαθμό οι δραστικές ουσίες θαλάσσιας προέλευσης στην επούλωση πληγών. Επιπροσθέτως, απαιτείται η αναζήτηση των βέλτιστων συνδυασμών των βιοδραστικών αυτών ουσιών, για την προαγωγή του μέγιστου επουλωτικού αποτελέσματος στον ελάχιστο δυνατό χρόνο, όπως επίσης και η χρήση κατάλληλων

φορέων, όπου αυτό κρίνεται αναγκαίο, για την εξασφάλιση της μέγιστης σταθερότητας των συστατικών, την ελεγχόμενη ή παρατεταμένη αποδέσμευση, την αποφυγή ανεπιθύμητων ενεργειών/αλληλεπιδράσεων και την αξιοποίηση του πλήρους δυναμικού των ενεργών χημικών ενώσεων, από άποψη αποτελεσματικότητας. Τέλος, θεωρείται απαραίτητο να θεσπιστούν επιπλέον κατάλληλα πρωτόκολλα, ώστε η μελλοντική έρευνα να πραγματοποιηθεί με τη λιγότερη δυνατή περιβαλλοντική επιβάρυνση, ενώ στο ίδιο πλαίσιο, κρίνεται επιβεβλημένη η ανάπτυξη κατάλληλης -zero waste- συσκευασίας, για τον περιορισμό της εκτεταμένης περιβαλλοντικής ρύπανσης, εξασφαλίζοντας το σεβασμό απέναντι στο θαλάσσιο οικοσύστημα και κατ' επέκταση τη βιωσιμότητα του πλανήτη.



## 9. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. S. Guo, L.A. Dipietro  
Factors Affecting Wound Healing  
*Journal of Dental Research.*, (2010), 89(3): 219–229  
Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2903966/>
2. H. Sorg, D.J. Tilkorn, S. Hager, J. Hauser, U. Mirastschijski  
Skin wound healing: an update on the current knowledge and concepts  
*Eur. Surg. Res.*, (2017), 58 (1–2), pp. 81-94  
Available from: <https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-85006305728&origin=inward&txGid=8cdc702507480cde33ae58f8d2e7f288>
3. S. Lodhi, G.P. Vadnere  
Relevance and perspectives of experimental wound models in wound healing research  
*Asian J. Pharm. Clin. Res.*, (2017), 10 (7), pp. 68-75  
Available from: <https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-85021696867&origin=inward&txGid=b9612a2df9ba93b3fda76531d2279712>
4. A.C. Gonzalez, T.F. Costa, Z.A.Andrade, A.R. Medrado  
Wound healing - a literature review  
*An. Bras. De. Dermatol.*, (2016), 91 (5), pp. 614-620  
Available from: <https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-84994682615&origin=inward&txGid=51a07f7f26b98febc5dde3728303aaa4>
5. Latha Satish, Sandeep Kathju  
Cellular and Molecular Characteristics of Scarless versus Fibrotic Wound Healing  
*Dermatology Research and Practice* (2010)  
Available from: <https://www.hindawi.com/journals/drj/2010/790234/>
6. P. Martin, S.J. Leibovich  
Inflammatory cells during wound repair: the good, the bad and the ugly, *Trends in Cell Biology Trends in Cell Biology* (2005), 15(11) 599–607  
Available from: [https://www.cell.com/trends/cell-biology/fulltext/S0962-8924\(05\)00227-8?large\\_figure=true](https://www.cell.com/trends/cell-biology/fulltext/S0962-8924(05)00227-8?large_figure=true)
7. A.A. Romanovsky  
Skin temperature: its role in thermoregulation  
*Acta Physiologica* (2014), Volume 210, Issue 3 p. 498-507  
Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/apha.12231>
8. G. Power, Z. Moore, T. O'Connor  
Measurement of pH, exudate composition and temperature in wound healing: a systematic review  
*J. Wound Care*, (2017), 26 (7), pp. 381-397  
Available from: <https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-85027416704&origin=inward&txGid=5a71cb6ead62d3aab372a6ef90a8cab0>
9. R. Smith, J. Russo, J. Fiegel, N.Brogden  
Antibiotic delivery strategies to treat skin infections when innate antimicrobial defense fails  
*Antibiotics*, (2020), 9 (2)  
Available from: <https://www.mdpi.com/2079-6382/9/2/56>
10. E.M. Tottoli, R. Dorati, I. Genta, E.Chiesa, S. Pisani, B. Conti

Skin wound healing process and new emerging technologies for skin wound care and regeneration

*Pharmaceutics*, (2020), 12 (8)

Available from: [https://www.mdpi.com/789322?trk=organization\\_guest\\_main-feed-card-text](https://www.mdpi.com/789322?trk=organization_guest_main-feed-card-text)

11. L. Gould, P. Abadir, H. Brem, M. Carter, T. Conner-Kerr, J. Davidson, et al.  
Chronic wound repair and healing in older adults: current status and future research, *Wound repair and regeneration: official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society* (2015), 23(1) 1–13  
Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/wrr.12245>
12. P.H. Wang, B.S. Huang, H.C. Horng, C.C. Yeh, Y.J. Chen  
Wound healing  
*J. Chin. Med. Assoc.*, (2018), 81 (2), pp. 94-101  
Available from: <https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-85034833623&origin=inward&txGid=8530f5624a15388fc40e2e8cb9315c38>
13. J.C. Tam, K.M. Lau, C.L. Liu, M.H. To, H.F. Kwok, K.K. Lai, et al.  
The *in vivo* and *in vitro* diabetic wound healing effects of a 2-herb formula and its mechanisms of action  
*J. Ethnopharmacol.*, (2011), 134 (3), pp. 831-838  
Available from: <https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-79954415660&origin=inward&txGid=e6d17a74a87997b5a2f080eee97ae1f8>
14. C.G. Engeland, B. Sabzehei, P.T. Marucha  
Sex hormones and mucosal wound healing, brain, behavior, and immunity  
*Brain Behav. Immun.*, (2009), 23 (5), pp. 629-635  
Available from: <https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-68649085894&origin=inward&txGid=350434a8dfb1e29db0d55b364441c6ca>
15. G. Mik, P.A. Gholve, D.M. Scher, R.F. Widmann, D.W. Green  
Down syndrome: orthopedic issues  
*Curr. Opin. Pediatr.*, (2008), 20 (1), pp. 30-36  
Available from: <https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-38149031008&origin=inward&txGid=2eaac6a7e6cdc3d6f61745f3df534385>
16. S.K. Ballas, Sickle Cell  
Anaemia: progress in pathogenesis and treatment  
*Drugs*, (2002), 62 (8), pp. 1143-1172  
Available from: <https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-0036271425&origin=inward&txGid=08d653c5f7d76425457dfe507f69d20c>
17. J.K. Kiecolt-Glaser, T.J. Loving, J.R. Stowell, W.B. Malarkey, S. Lemeshow, S.L. Dickinson, R. Glaser  
Hostile marital interactions, proinflammatory cytokine production, and wound healing  
*Arch. Gen. Psychiatry*, (2005), 62 (12), pp. 1377-1383  
Available from: <https://jamanetwork.com/journals/jamapsychiatry/article-abstract/209153>
18. Raja K. Sivamani, Brian R. Ma, Lisa N. Wehrli and Emanuel Maverakis  
Phytochemicals and Naturally Derived Substances for Wound Healing  
*Adv Wound Care (New Rochelle)*, (2012) 1(5): 213–217  
Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3839002/>
19. Khorasani G. Hosseinimehr SJ. Azadbakht M. Zamani A. Mahdavi MR.

- Aloe versus silver sulfadiazine creams for second-degree burns: a randomized controlled study.  
*Surg Today*. (2009) 39:587  
Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19562446/>
20. Gore MA. Akolekar D.  
Evaluation of banana leaf dressing for partial thickness burn wounds.  
*Burns*. (2003) 29:487  
Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12880731/>
21. Gore MA. Akolekar D.  
Banana leaf dressing for skin graft donor areas. *Burns*. (2003) 29:483  
Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12880730/>
22. De Armas E. Sarracent Y. Marrero E. Fernandez O. Branford-White C. Efficacy of *Rhizophora mangle* aqueous bark extract (RMABE) in the treatment of aphthous ulcers: a pilot study.  
*Curr Med Res Opin*. (2005) 21:1711  
Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16307690/>
23. Fernandez O. Capdevila JZ. Dalla G. Melchor G.  
Efficacy of *Rhizophora mangle* aqueous bark extract in the healing of open surgical wounds.  
*Fitoterapia*. (2002) 73:564  
Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12490213/>
24. Gregory SR. Piccolo N. Piccolo MT. Piccolo MS. Heggers JP.  
Comparison of propolis skin cream to silver sulfadiazine: a naturopathic alternative to antibiotics in treatment of minor burns.  
*J Altern Complement Med*. (2002) 8:77  
Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11890438/>
25. Cooper RA. Molan PC. Harding KG.  
The sensitivity to honey of Gram-positive cocci of clinical significance isolated from wounds.  
*J Appl Microbiol*. (2002) 93:857  
Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12392533/>
26. Ana Alves, Emilia Sousa, Anake Kijjoa and Madalena Pinto  
Marine-Derived Compounds with Potential Use as Cosmeceuticals and Nutricosmetics  
*Molecules* (2020), 25(11), 2536  
Available from: <https://www.mdpi.com/1420-3049/25/11/2536>
27. Amarendra Pandey; Gurpoornam K. Jatana; Sidharth Sonthalia  
Cosmeceuticals  
*StatPearls Publishing* (2022)  
Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK544223/>
28. Δρ. Παπαγεωργίου Σπ., Δρ. Μέλλου Φ.  
Ορισμοί, Κεφ. 12, σελ 57, §1  
*Σημειώσεις Νομοθεσίας Καλλυντικών & Ιατροτεχνολογικών Προϊόντων*  
ΠαΔΑ, ΣΕΥΠ, Τμ. Βιοϊατρικών Επιστημών, Αισθητική & Κοσμητολογία,  
Αθήνα 2021
29. Ana Alves, Emilia Sousa, Anake Kijjoa and Madalena Pinto  
Marine-Derived Compounds with Potential Use as Cosmeceuticals and Nutricosmetics

- Molecules* (2020), 25(11), 2536  
Available from: <https://www.mdpi.com/1420-3049/25/11/2536>
30. Shivankar Agrawal, Alok Adholeya, Colin J. Barrow and Sunik Kumar Deshmukh  
Marine fungi: An untapped bioresource for future cosmeceuticals  
*Phytochemistry Letters*, (2018), Volume 23, p. 15-20  
Available from:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S187439001730321X>
31. Vos, T., Flaxman, A.D., Naghavi, M., Lozano, R., Michaud, C., Ezzati, M., et al.  
Years lived with disability (YLDs) for 1160 sequelae of 289 diseases and injuries 1990–2010: A systematic analysis for the global burden of disease study 2010.  
*Lancet* (2012) 380, 2163–2196  
Available from: [https://www.thelancet.com/journals/a/article/PIIS0140-6736\(12\)61729-2/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/a/article/PIIS0140-6736(12)61729-2/fulltext)
32. McDonough, A.K., Curtis, J.R., Saag, K.G.  
The epidemiology of glucocorticoid-associated adverse events.  
*Curr. Opin. Rheumatol.* (2008) 20, 131–137  
Available from: [https://journals.lww.com/co-rheumatology/fulltext/2008/03000/The\\_epidemiology\\_of\\_glucocorticoid\\_associated.4.aspx](https://journals.lww.com/co-rheumatology/fulltext/2008/03000/The_epidemiology_of_glucocorticoid_associated.4.aspx)
33. Saeed El-Ashram, Lamia M. El-Samad, Amal A. Basha and Abeer El Wakil  
Naturally-derived targeted therapy for wound healing: Beyond classical strategies  
*Pharmacological Research*, (2021), Volume 170, 105749  
Available from:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1043661821003339>
34. Pangestuti, R.; Arifin, Z.  
Medicinal and health benefit effects of functional sea cucumbers.  
*J. Tradit. Complement. Med.* (2017), 8, 341–351  
Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29992105/>
35. Masre, S.F., Yip, G.W., Sirajudeen, K.N.S., Ghazal, F.C.  
Wound healing activity of total sulfated glycosaminoglycan (GAG) from *Stichopus vastus* and *Stichopus hermanni* integumental tissue in rats  
*Int. J. Mol. Med. Adv. Sci.* (2010), 6, 49–53.  
Available from: <https://medwelljournals.com/abstract/?doi=ijmmas.2010.49.53>
36. Subramaniam, B.S. Amuthan, A., D’Almeida, P.M., Arunkumar, H.D. Efficacy of gamat extract in wound healing in albino wistar rats  
*Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.* (2013), 20, 142–145  
Available from: [https://www.researchgate.net/profile/Arul-Amuthan/publication/236673100\\_Efficacy\\_of\\_Gamat\\_Extract\\_in\\_Wound\\_Healing\\_in\\_Albino\\_Wistar\\_Rats/links/57835d7608ae27395a2f65ec/Efficacy-of-Gamat-Extract-in-Wound-Healing-in-Albino-Wistar-Rats.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Arul-Amuthan/publication/236673100_Efficacy_of_Gamat_Extract_in_Wound_Healing_in_Albino_Wistar_Rats/links/57835d7608ae27395a2f65ec/Efficacy-of-Gamat-Extract-in-Wound-Healing-in-Albino-Wistar-Rats.pdf)
37. Mazliadiyana, M., Nazrun, A.S., Isa, N.M.  
Optimum dose of sea cucumber (*Stichopus chloronotus*) extract for wound healing.  
*Med. Health* (2017), 12, 83–89



- Available from:  
[http://medicineandhealthukm.com/sites/medicineandhealthukm.com/files/article/2017/9\\_mazliadiyana\\_et\\_al\\_pdf\\_73379.pdf](http://medicineandhealthukm.com/sites/medicineandhealthukm.com/files/article/2017/9_mazliadiyana_et_al_pdf_73379.pdf)
38. Siahaan, E., Pangestuti, R., Munandar, H., Kim, S.-K.  
 Cosmeceuticals Properties of Sea Cucumbers: Prospects and Trends.  
*Cosmetics* (2017), 4, 26  
 Available from: <https://www.mdpi.com/2079-9284/4/3/26>
  39. Pallela, R., Na-Young, Y., Kim, S.K.  
 Anti-photoaging and photoprotective compounds derived from marine organisms.  
*Mar. Drugs* (2010), 8, 1189–1202  
 Available from: <https://www.mdpi.com/1660-3397/8/4/1189>
  40. Rastogi, R.P., Richa Sinha, R.P., Singh, S.P., Häder, D.P.  
 Photoprotective compounds from marine organisms.  
*J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* (2010), 37, 537–558  
 Available from: <https://www.mdpi.com/1660-3397/15/10/326>
  41. Masre, S.F., Yip, G.W., Sirajudeen, K.N., Ghazali, F.C.  
 Quantitative analysis of sulphated glycosaminoglycans content of Malaysian sea cucumber *Stichopus hermanni* and *Stichopus vastus*.  
*Nat. Prod. Res.* (2012), 26, 684–689  
 Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21859370/>
  42. Zohdi, R.M., Zakaria, Z.A.B., Yusof, N., Mustapha, N.M., Abdullah, M.N.H.  
 Sea cucumber (*Stichopus hermannii*) based hydrogel to treat burn wounds in rats.  
*J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.* (2011), 98, 30–37  
 Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21504052/>
  43. Haryanto, H., Ogai, K., Suriadi, S., Nakagami, G., Oe, M., Nakatani, T., et al., A prospective observational study using sea cucumber and honey as topical therapy for diabetic foot ulcers in Indonesia.  
*J. Wellness Health Care* (2017), 41, 41–56  
 Available from: <https://repo.stikmuhtk.ac.id/jspui/handle/123456789/56>
  44. Janakiram, N.B., Mohammed, A., Rao, C.V.  
 Sea cucumbers metabolites as potent anti-cancer agents.  
*Mar. Drugs* (2015), 13, 2909–2923  
 Available from: <https://www.mdpi.com/1660-3397/13/5/2909>
  45. El Barky, A.R., Ali, E., Mohamed, T.M.  
 Marine sea cucumber saponins and diabetes.  
*Austin Pancreat Disord.* (2017), 1, 1002  
 Available from: <https://austinpublishinggroup.com/pancreatic-disorders/fulltext/pancreas-v1-id1002.php>
  46. Xinru Fan, Yongsheng Ma, Meng Li, Ying Li, Xue Sang, Qiancheng Zhao  
 Thermal treatments and their influence on physicochemical properties of sea cucumbers: a comprehensive review  
*International Journal of Food Science & Technology.* (2022), Volume 57, Issue 9 p. 5790-5800  
 Available from: <https://ifst.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/ijfs.15922>
  47. Haijing Li, Yifan Hu, Xinhuai Zhao, Wei Wan, Xin Du, Baohua Kong, Xiufang Xia

- Effects of different ultrasound powers on the structure and stability of protein from sea cucumber gonad  
*LWT.* (2021), Volume 137, 110403  
 Available from:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S002364382031392X>
48. Mohamed Mohsen, Lina Sun, Chenggang Lin, Da Huo, Hongsheng Yang  
 Mechanism underlying the toxicity of the microplastic fibre transfer in the sea cucumber *Apostichopus japonicus*  
*Journal of Hazardous Materials.* (2021), Volume 416, 125858  
 Available from:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304389421008220>
49. Komal Anjum, Syed Qamar Abbas, Sayed Asmat Ali Shah, Najeeb Akhter, Sundas Batool and Syed Shams ul Hassan  
 Marine Sponges as a Drug Treasure  
*Biomol Ther* (2016) 24(4), 347-362  
 Available from: <https://koreascience.kr/article/JAKO201620340445805.pdf>
50. Kennedy, J., Baker, P., Piper, C., Cotter, P.D., Walsh, M., Mooij, M.J., et al.  
 Isolation and analysis of bacteria with antimicrobial activities from the marine sponge *Haliclona simulans* collected from Irish waters.  
*Mar. Biotechnol.* (2009), 11, 384–396  
 Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10126-008-9154-1>
51. Rahman, H., Austin, B., Mitchell, W.J., Morris, P.C., Jamieson, D.J., Adams, D.R., et al.  
 Novel anti-infective compounds from marine bacteria  
*Mar. Drugs* (2010), 8, 498–518  
 Available from: <https://www.mdpi.com/1660-3397/8/3/498>
52. Selvin, J., Shanmughapriya, S., Gandhimathi, R., Seghal Kiran, G., Rajeetha Ravji, T., Natarajaseenivasan, K., Hema, T.A.  
 Optimization and production of novel antimicrobial agents from sponge associated marine actinomycetes *Nocardopsis dassonvillei* MAD08.  
*Appl. Microbiol. Biotechnol.* (2009), 83, 435–445.  
 Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00253-009-1878-y>
53. Mehubub, M.F., Lei, J., Franco, C., Zhang, W.  
 Marine sponge derived natural products between 2001 and 2010: Trends and opportunities for discovery of bioactives.  
*Mar. Drugs* (2014), 12, 4539–4577  
 Available from: <https://www.mdpi.com/1660-3397/12/8/4539>
54. Pozzolini, M., Millo, E., Oliveri, C., Mirata, S., Salis, A., Damonte, G., et al.  
 Elicited ROS scavenging activity, photoprotective, and wound-healing properties of collagen-derived peptides from the marine sponge *Chondrosia reniformis*.  
*Mar. Drugs* (2018), 16, 465  
 Available from: <https://www.mdpi.com/1660-3397/16/12/465>
55. Bhatnagar, I., Kim, S.K.  
 Immense essence of excellence: Marine microbial bioactive compounds.  
*Mar. Drugs* (2010), 8, 2673–2701  
 Available from: <https://www.mdpi.com/1660-3397/8/10/2673>
56. Imhoff, J.F., Labes, A., Wiese, J.

- Bio-mining the microbial treasures of the ocean: New natural products.  
*Biotechnol. Adv.* (2011), 29, 468–482  
Available from:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0734975011000346>
57. K. Shanthi Kumari, Pabba Shivakrishna, V.S. Ramakrishna Ganduri  
Wound healing Activities of the bioactive compounds from *Micrococcus* sp. OUS9 isolated from marine water  
*Saudi Journal of Biological Sciences* (2020), Volume 27, Issue 9, p. 2398-2402  
Available from:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1319562X20301832>
58. G. Romano, M. Costantini, C. Sansone, C. Lauritano, N. Ruocco, A. Ianora  
Marine microorganisms as a promising and sustainable source of bioactive molecules  
*Marine Environmental Research* (2017), Volume 128, p. 58-59  
Available from:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0141113616300630>
59. Çağla Yarkent, Ceren Gürlek, Suphi S. Oncel  
Potential of microalgal compounds in trending natural cosmetics: A review  
*Sustainable Chemistry and Pharmacy* (2020), Volume 17, 100304  
Available from:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2352554120301169>
60. Bahareh Nowruzi, Gisoo Sarvari, Saúl Blanco  
The cosmetic application of cyanobacterial secondary metabolites  
*Algal Research* (2020), Volume 49, 101959  
Available from:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2211926419311786>
61. Michelle Pedroza Jorge, Cristiana Madjarof, Ana Lúcia Tasca Gois Ruiz, Alik Teixeira Fernandes, Rodney Alexandre Ferreira Rodrigues, Ilza Maria de Oliveira Sousa et al.  
Evaluation of wound healing properties of *Arrabidaea chica* Verlot extract  
*Journal of Ethnopharmacology* (2008), Volume 118, Issue 3, p. 361-366  
Available from:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378874108002213>
62. Déborah Simões, Sónia P. Miguel, Maximiano P. Ribeiro, Paula Coutinho, António G. Mendonça, Ilídio J. Correia  
Recent advances on antimicrobial wound dressing: A review  
*European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* (2018), Volume 127, p. 130-141
63. Justine Demay, Sébastien Halary, Adeline Knittel-Obrecht, Pascal Villa, Charlotte Duval, Sahima HAMLAOUI et al.  
Anti-Inflammatory, Antioxidant, and Wound-Healing Properties of Cyanobacteria from Thermal Mud of Balaruc-Les-Bains, France: A Multi-Approach Study  
*Biomolecules* (2021), Volume 11, Issue 1, 0028  
Available from: <https://www.mdpi.com/2218-273X/11/1/28>
64. Sevimli Gur, C., Kiraz Erdogan, D., Onbasilar, I., Atilla, P., Cakar, N., Gurhan, I.D.

- In vitro* and *in vivo* investigations of the wound healing effect of crude Spirulina extract and C-phycoerythrin  
*J. Med. Plants Res.* (2013), 7, 425–433  
 Available from:  
[https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/72343331/article1380698692\\_Gur\\_et\\_al-libre.pdf?1634111602=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DIn\\_vitro\\_and\\_in\\_vivo\\_investigations\\_of\\_t.pdf&Expires=1689506515&Signature=Cop7SjiooNe9eo8HAYNDN0LGgJMBuXDCtrNcK~4D1WOpnk59DsMSxiXi1qAnZvFTzhcBwhX4wH5I2EUkAtHBA~z~e~JMBf1I-lm7~NPE5cyZvdlqjaJ2m0TKMWvW7OyKIj13jcb-Ah-kwoR8IEDIrcICVhAkZqHHykwfePFD2MTybtFH8zfCUuYqmCdxjVgbgU5imgzNpb7yOqsaSk1EQP9F7yBA~nTGGu3AbmBZC~kodoxGQLoSR5bqyuvwG9~pALX1BcrnZNaRmCWp2PxVOi1OD9VoZY-wM118pRFjqub7T~ZiCMoJBMUQKbT4VCZrvAqFP3-tw1qIR~PdPMLg\\_&Key-Pair-Id=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA](https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/72343331/article1380698692_Gur_et_al-libre.pdf?1634111602=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DIn_vitro_and_in_vivo_investigations_of_t.pdf&Expires=1689506515&Signature=Cop7SjiooNe9eo8HAYNDN0LGgJMBuXDCtrNcK~4D1WOpnk59DsMSxiXi1qAnZvFTzhcBwhX4wH5I2EUkAtHBA~z~e~JMBf1I-lm7~NPE5cyZvdlqjaJ2m0TKMWvW7OyKIj13jcb-Ah-kwoR8IEDIrcICVhAkZqHHykwfePFD2MTybtFH8zfCUuYqmCdxjVgbgU5imgzNpb7yOqsaSk1EQP9F7yBA~nTGGu3AbmBZC~kodoxGQLoSR5bqyuvwG9~pALX1BcrnZNaRmCWp2PxVOi1OD9VoZY-wM118pRFjqub7T~ZiCMoJBMUQKbT4VCZrvAqFP3-tw1qIR~PdPMLg_&Key-Pair-Id=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA)
65. Sarkar, P., Stefi, R.V., Pasupuleti, M., Paray, B.A., Al-Sadoon, M.K., Arockiaraj, J. Antioxidant molecular mechanism of adenosyl homocysteinase from cyanobacteria and its wound healing process in fibroblast cells.  
*Mol. Biol. Rep.* (2020), 47, 1821–1834  
 Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11033-020-05276-y>
66. Yin, H., Chen, C.Y., Liu, Y.W., Tan, Y.J., Deng, Z.L., Yang, F., et al. Synechococcus elongatus PCC7942 secretes extracellular vesicles to accelerate cutaneous wound healing by promoting angiogenesis  
*Theranostics* (2019), 9, 2678–2693  
 Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6525994/>
67. Cai, W., Salvador-Reyes, L.A., Zhang, W., Chen, Q.Y., Matthew, S., Ratnayake, R., et al. Apratyramide, a Marine-Derived Peptidic Stimulator of VEGF-A and Other Growth Factors with Potential Application in Wound Healing.  
*ACS Chem. Biol.* (2018), 13, 91–99  
 Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29205032/>
68. E. Meimeti, N. Tentolouris, C. Loupa, V. Roussis, M. Rallis Marine isopod ceratothoa oestroides extract: a novel treatment for diabetic foot ulcers? case report of an immunosuppressed patient  
*Med. Arch.* (2019), 73 (2), pp. 131-133  
 Available from: <https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-85071282165&origin=inward&txGid=d118e978516bc64ac46003699ce66633>
69. E. Sofrona, L.A. Tziveleka, M. Harizani, P. Koroli, I. Sfiniadakis, V. Roussis, M. Rallis, E. Ioannou  
*In vivo* evaluation of the wound healing activity of extracts and bioactive constituents of the marine isopod ceratothoa oestroides  
*Mar. Drugs* (2020), 18 (4)  
 Available from: <https://www.mdpi.com/1660-3397/18/4/219>
70. E. Meimeti, N. Tentolouris, C. Manes, C. Loupa, X. Provatopoulou, D. Mostrato, A. Vitsos, V. Roussis, L. Tzouveleki, V. Miriagou, M. Rallis  
 Ointments containing Ceratothoa oestroides extract: evaluation of their healing potential in the treatment of diabetic foot ulcers  
*Wound Repair Regen* (2020), 28 (2), pp. 234-241

- Available from: <https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-85076427361&origin=inward&txGid=97f7f0c30feb4fab6f192b64ae2f898b>
71. Olszewski WL, Jain P, Zaleska M, Stelmach E, Swoboda E.  
Chronic lower limb wounds evoke systemic response of the lymphatic (immune) system  
*Indian J Plast Surg* (2012) 45(2): 255-260  
Available from: <https://www.thieme-connect.com/products/ejournals/abstract/10.4103/0970-0358.101289>
  72. Kateel R, Augustine AJ, Ullal S, Prabhu S, Bhat R, Adhikari P.  
Development and validation of health related quality of life questionnaire (Indian scenario) in diabetic foot ulcer patients  
*Diabetes Metab Syndr* (2017), Suppl 2: S651-S653  
Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1871402117301005>
  73. Munter KC, Meaume S, Augustin M, Senet P, Kerihuel JC.  
The reality of routine practice: a pooled data analysis on chronic wounds treated with TLC-NOSF wound dressings  
*J Wound Care* (2017) (Sup2): S4-S15  
Available from: <https://www.magonlinelibrary.com/doi/abs/10.12968/jowc.2017.26.Sup7.S24>
  74. Ontario Health Quality  
Hyperbaric Oxygen Therapy for the Treatment of Diabetic Foot Ulcers: A Health Technology Assessment.  
*Ont Health Technol Assess Ser* (2017), 17(5): 1-142. pmc5448854
  75. Adeghate J, Nurulain S, Tekes K, Feher E, Kalasz H, Adeghate E.  
Novel biological therapies for the treatment of diabetic foot ulcers  
*Expert Opin Biol Ther* (2017) (8): 979-987  
Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/14712598.2017.1333596>
  76. I. Idris and A. Arshad  
Checklist of polychaetous annelids in Malaysia with redescription of two commercially exploited species  
*Asian Journal of Animal and Veterinary Advances* (2013), vol. 8, no. 3, pp. 409–436  
Available from: [https://www.researchgate.net/profile/Izwandy-Idris/publication/263132479\\_Checklist\\_of\\_Polychaetous\\_Annelids\\_in\\_Malaysia\\_with\\_Redescription\\_of\\_Two\\_Commercially\\_Exploited\\_Species/links/00b7d53a0108b3c7b3000000/Checklist-of-Polychaetous-Annelids-in-Malaysia-with-Redescription-of-Two-Commercially-Exploited-Species.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Izwandy-Idris/publication/263132479_Checklist_of_Polychaetous_Annelids_in_Malaysia_with_Redescription_of_Two_Commercially_Exploited_Species/links/00b7d53a0108b3c7b3000000/Checklist-of-Polychaetous-Annelids-in-Malaysia-with-Redescription-of-Two-Commercially-Exploited-Species.pdf)
  77. A. Pires, C. Velez, E. Figueira, A. M. V. M. Soares, and R. Freitas  
Effects of sediment contamination on physiological and biochemical responses of the polychaete *Diopatra neapolitana*, an exploited natural resource  
*Marine Pollution Bulletin* (2017), vol. 119, no. 1, pp. 119–131  
Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0025326X17302205>
  78. M. B. P. Otegui, K. M. Brauko, and P. R. Pagliosa  
Matching ecological functioning with polychaete morphology: consistency patterns along sedimentary habitats  
*Journal of Sea Research* (2016), vol. 114, pp. 13–21



- Available from:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1385110116300703>
79. Nor 'Awatif Che Soh, Hannah Syahirah Rapi, Nurul Shahirah Mohd Azam, Ramesh Kumar Santhanam, Suvik Assaw, Mohd Nizam Haron, et al. Acute Wound Healing Potential of Marine Worm, *Diopatra claparedii* Grube, 1878 Aqueous Extract on Sprague Dawley Rats *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* (2020), Article ID 6688084, 14 pages  
 Available from:  
<https://downloads.hindawi.com/journals/ecam/2020/6688084.pdf>
80. Fareeha Batool, Eric Delpy, Franck Zal, Elisabeth Leize-Zal and Olivier Huck Therapeutic Potential of Hemoglobin Derived from the Marine Worm *Arenicola marina* (M101): A Literature Review of a Breakthrough Innovation *Marine Drugs* (2021), Volume 19, Issue 7, 0376  
 Available from: <https://www.mdpi.com/1660-3397/19/7/376>
81. Liaudet, L., Szabó, G., Szabó, C. Oxidative stress and regional ischemia-reperfusion injury: The peroxynitrite-poly(ADP-ribose) polymerase connection *Coron. Artery Dis.* (2003), *14*, 115–122  
 Available from: [https://journals.lww.com/coronary-artery/Fulltext/2003/04000/Oxidative\\_stress\\_and\\_regional\\_ischemia\\_reperfusion.4.aspx](https://journals.lww.com/coronary-artery/Fulltext/2003/04000/Oxidative_stress_and_regional_ischemia_reperfusion.4.aspx)
82. Szabó, G., Soós, P., Bährle, S., Zsengellér, Z., Flechtenmacher, C., Hagl, S., Szabó, C. Role of poly(ADP-ribose) polymerase activation in the pathogenesis of cardiopulmonary dysfunction in a canine model of cardiopulmonary bypass. *Eur. J. Cardio-Thoracic Surg* (2004), *25*, 825–832  
 Available from: <https://academic.oup.com/ejcts/article/25/5/825/458678>
83. Van Golen, R.F., Reiniers, M.J., Vrisekoop, N., Zuurbier, C.J., Olthof, P.B., van Rheenen, J., et al. The Mechanisms and Physiological Relevance of Glycocalyx Degradation in Hepatic Ischemia/Reperfusion Injury *Antioxid. Redox Signal* (2014), *21*, 1098–1118  
 Available from: <https://www.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/ars.2013.5751>
84. Ivanovic, Z. Stem cell evolutionary paradigm and cell engineering *Transfus. Clin. Biol.* (2017), *24*, 251–255  
 Available from:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1246782017300666>
85. Wong, H.-S., Dighe, P.A., Mezera, V., Monternier, P.-A., Brand, M.D. Production of superoxide and hydrogen peroxide from specific mitochondrial sites under different bioenergetic conditions *J. Biol. Chem.* (2017), *292*, 16804–16809  
 Available from: [https://www.jbc.org/article/S0021-9258\(20\)33915-6/abstract](https://www.jbc.org/article/S0021-9258(20)33915-6/abstract)
86. Le Gall, T., Polard, V., Rousselot, M., Lotte, A., Raouane, M., Lehn, P., et al. *In vivo* biodistribution and oxygenation potential of a new generation of oxygen carrier *J. Biotechnol.* (2014), *187*, 1–9



- Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25034433/>
87. Moon-Massat, P., Mullah, S.H.-E.-R., Abutarboush, R., Saha, B.K., Pappas, G., Haque, A., et al.  
Cerebral Vasoactivity and Oxygenation with Oxygen Carrier M101 in Rats  
*J. Neurotrauma* (2017), 34, 2812–2822  
Available from: <https://www.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/neu.2015.3908>
88. Lewis, C.J., Ross, J.D.  
Hemoglobin-based oxygen carriers: An update on their continued potential for military application.  
*J. Trauma Acute Care Surg.* (2014), 77, S216–S221  
Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24770558/>
89. Thuillier, R., Delpy, E., Matillon, X., Kaminski, J., Kasil, A., Soussi, D., et al.  
Preventing acute kidney injury during transplantation: The application of novel oxygen carriers.  
*Expert Opin. Investig. Drugs* (2019), 28, 643–657  
Available from:  
<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/13543784.2019.1628217>
90. Rousselot, M., Delpy, E., Drieu La Rochelle, C., Lagente, V., Pirow, R., Rees, J.-F., et al.  
Arenicola marina extracellular hemoglobin: A new promising blood substitute.  
*Biotechnol. J.* (2006), 1, 333–345  
Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/biot.200500049>
91. Torben Bruhns, Stefan Timm, Inna M. Sokolova  
Metabolomics-based assessment of nanoparticles (nZnO) toxicity in an infaunal marine annelid, the lugworm *Arenicola marina* (Annelida: Sedentaria)  
*Science of the Total Environment* (2023), Volume 858, Part 2, 160039  
Available from:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S004896972207139X>
92. E. Yamashita  
Astaxanthin as a medical food  
*Functional Foods in Health and Disease* (2013), 3 (7), pp. 254-258  
Available from: <https://ffhdj.com/index.php/ffhd/article/view/49>
93. B. Capelli, S. Talbott, L. Ding  
Astaxanthin sources: Suitability for human health and nutrition  
*Functional Foods in Health and Disease* (2019) 9 (6), pp. 430-445  
Available from: <https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-85075759429&origin=inward&txGid=de3b9e570be3a6d4464d9f73848eb930>
94. R.R. Ambati, P.S. Moi, S. Ravi, R.G. Aswathanarayana  
Astaxanthin: Sources, extraction, stability, biological activities and its commercial applications - a review  
*Marine Drugs* (2014) 12 (1), pp. 128-152  
Available from: <https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-84892855353&origin=inward&txGid=7641e51c445239e6a14ecd54815b229c>
95. J. Yuan, J. Peng, K. Yin, J. Wang  
Potential health-promoting effects of astaxanthin: A high-value carotenoid mostly from microalgae  
*Molecular Nutrition & Food Research* (2011) 55 (1), pp. 150-165

- Available from: <https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-78650923595&origin=inward&txGid=4fd1d40ed7453d301ef8867fb1f13081>
96. P.A. Aneesh, K.K. Ajeeshkumar, R.G.Kumar Lekshmi, R. Anandan, C.N. Ravishankar, Suseela Mathew  
Bioactivities of astaxanthin from natural sources, augmenting its biomedical potential: A review  
*Trends in Food Science and Technology* (2022), Volume 125, p. 81-90  
Available from:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924224422001649#bbib87>
97. M. Hamdi, A. Feki, S. Bardaa, S. Li, S. Nagarajan, M. Mellouli, et al.  
A novel blue crab chitosan/protein composite hydrogel enriched with carotenoids endowed with distinguished wound healing capability: *In vitro* characterization and *in vivo* assessment  
*Materials Science and Engineering* (2020) C, 113  
Available from:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0928493119337762?via%3Dihub>
98. A. Veeruraj, L. Liu, J. Zheng, J. Wu, M. Arumugam  
Evaluation of astaxanthin incorporated collagen film developed from the outer skin waste of squid *Doryteuthis singhalensis* for wound healing and tissue regenerative applications  
*Materials Science and Engineering* (2019) C, 95, pp. 29-42  
Available from:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0928493118305927?via%3Dihub>
99. Ó. Martínez-Álvarez, M.M. Calvo, J. Gómez-Estaca  
Recent advances in astaxanthin micro/nanoencapsulation to improve its stability and functionality as a food ingredient  
*Marine Drugs* (2020) 18 (8), p. 406  
Available from: <https://www.mdpi.com/1660-3397/18/8/406>
100. N.S. Calvo, C.M. Reynoso, S. Resnik, E. Cortés-Jacinto, P. Collins  
Thermal stability of astaxanthin in oils for its use in fish food technology  
*Animal Feed Science and Technology* (2020), 270, Article 114668  
Available from: <https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-85091929655&origin=inward&txGid=8518ea104ba374d110b5626baeb5f3eb>
101. M. Honda, H. Kageyama, T. Hibino, Y. Osawa, Y. Kawashima, K. Hirasawa, et al.  
Evaluation and improvement of storage stability of astaxanthin isomers in oils and fats  
*Food Chemistry* (2021), 352, Article 129371  
Available from: <https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-85102083004&origin=inward&txGid=2fb9c6d5cdd639d3a50ef22cb16e0af1>
102. E. Morales, C. Burgos-  
Díaz, R.N. Zúñiga, J. Jorkowski, M. Quilaqueo, M. Rubilar  
Influence of O/W emulsion interfacial ionic membranes on the encapsulation efficiency and storage stability of powder microencapsulated astaxanthin  
*Food and Bioproducts Processing* (2021), 126, pp. 143-154  
Available from: <https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-85099517555&origin=inward&txGid=eb27616cd68b69488094cab631e2ed2d>

103. Costa, R., Santos, L.  
Delivery systems for cosmetics—From manufacturing to the skin of natural antioxidants  
*Powder Technol.* (2017), 322, 402–416  
Available from:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0032591017306320>
104. Tan, C., Zhang, Y., Abbas, S., Feng, B., Zhang, X., Xia, S.  
Modulation of the carotenoid bioaccessibility through liposomal encapsulation  
*Colloids Surfaces B Biointerfaces* (2014), 123, 692–700  
Available from:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0927776514005426>
105. Zhou, Q., Xu, J., Yang, S., Xue, Y., Zhang, T., Wang, J., Xue, C.  
The effect of various antioxidants on the degradation of o/w microemulsions containing esterified astaxanthins from *Haematococcus pluvialis*  
*J. Oleo Sci.* (2015), 64, 515–525  
Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25843284/>
106. Hong, L., Zhou, C.L., Chen, F.P., Han, D., Wang, C.Y., Li, J.X., et al.  
Development of a carboxymethyl chitosan functionalized nanoemulsion formulation for increasing aqueous solubility, stability and skin permeability of astaxanthin using low-energy method  
*J. Microencapsul.* (2017), 34, 707–721  
Available from:  
<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/02652048.2017.1373154>
107. Casanova, F.; Santos, L.  
Encapsulation of cosmetic active ingredients for topical application—a review  
*J. Microencapsul.* (2016), 33, 1–17  
Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26612271/>
108. Chen, X., Chen, R., Guo, Z., Li, C., Li, P.  
The preparation and stability of the inclusion complex of astaxanthin with  $\beta$ -cyclodextrin  
*Food Chem.* (2007), 101, 1580–1584  
Available from:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814606003311>
109. Zuluaga, M., Barzegari, A., Letourneur, D., Gueguen, V., Pavon-Djavid, G.  
Oxidative Stress Regulation on Endothelial Cells by Hydrophilic Astaxanthin Complex: Chemical, Biological, and Molecular Antioxidant Activity Evaluation  
*Oxid. Med. Cell. Longev.* (2017), 8073798  
Available from: <https://www.hindawi.com/journals/omcl/2017/8073798/>
110. Gould, S., Scott, R.C.  
2-Hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin (HP- $\beta$ -CD): A toxicology review  
*Food Chem. Toxicol.* (2005), 43, 1451–1459  
Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16018907/>
111. Kathe, K., Kathpalia, H.  
Film forming systems for topical and transdermal drug delivery.  
*Asian J. Pharm. Sci.* (2017), 12, 487–497  
Available from:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1818087617301538>
112. Q. Lu, L. Yang, X. Deng

- Critical thoughts on the application of microalgae in aquaculture industry  
*Aquaculture* (2020), 528, p. 735538  
Available from: <https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-85085977155&origin=inward&txGid=6f114a02212e75135b0fbbb591cbe26f>
113. K. Suresh Kumar, H.-U. Dahms, E.-J. Won, J.-S. Lee, K.-H. Shin  
Microalgae – a promising tool for heavy metal remediation  
*Ecotoxicol. Environ. Saf.* (2015), 113, pp. 329-352  
Available from: <https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-84918780779&origin=inward&txGid=fc908aad6c9fd55cf5034c4c095ba2ae>
114. Raemdonck, K., Martens, T.F., Braeckmans, K., Demeester, J., De Smedt, S.C.  
Polysaccharide-based nucleic acid nanoformulations  
*Adv. Drug Deliv. Rev.* (2013), 65, 1123–1147  
Available from:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0169409X13001051>
115. Ana Isabel Barbosa, Ana Joyce Coutinho, Sofia A. Costa Lima, Salette Reis  
Marine Polysaccharides in Pharmaceutical Applications: Fucoidan and Chitosan as Key Players in the Drug Delivery Match Field  
*Marine drugs* (2019), Volume 17, Issue 12, 0654  
Available from: <https://www.mdpi.com/1660-3397/17/12/654>
116. C. Haslin, M. Lahaye, M. Pellegrini  
Chemical composition and structure of sulphated water-soluble cell-wall polysaccharides from the gametic, carposporic and tetrasporic stages of *asparagopsis armata harvey* (rhodophyta, bonnemaisoniaceae)  
*Bot. Mar.* (2000), 43 et al.  
Available from:  
<https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/BOT.2000.048/html>
117. Amal Feki, Sana Bardaa, Sawssan Hajji, Naourez Ktari, Marwa Hamdi, Naourez Chabchoub et al.  
*Falkenbergia rufolanosa* polysaccharide – Poly(vinyl alcohol) composite films: A promising wound healing agent against dermal laser burns in rats  
*International Journal of Biological Macromolecules* (2020), Volume 144, p. 954-966  
Available from:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813019372058>
118. M.N. Somchit, N.A. Mohamed, Z. Ahmad, Z.A. Zakaria, L. Shamsuddin, M.Z. Omar-Fauzee, A.A. Kadir  
Anti-inflammatory and anti-pyretic properties of *Spirulina platensis* and *Spirulina lonar*: a comparative study  
*Pak. J. Pharm. Sci.* (2014), 27, pp. 1277-1280  
Available from: <https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-84907845899&origin=inward&txGid=b1c04171423bc58e0b4ce4ddd1dfa2f4>
119. P.N.A. Syarina, G. Karthivashan, F. Abas, P. Arulselvan, S. Fakurazi  
Wound healing potential of *Spirulina platensis* extracts on human dermal fibroblast cells  
*EXCLI J* (2015), 14, pp. 385-393  
Available from: <https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-84925088950&origin=inward&txGid=fb86033270d3ea6a81bf61b105d18852>
120. A.D. Bachstetter, J. Jernberg, A. Schlunk, J.L. Vila, et al.

- Spirulina promotes stem cell genesis and protects against LPS induced declines in neural stem cell proliferation  
*PloS One* (2010), 5, pp. 1-12  
 Available from:  
<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0010496>
121. M. Tummalapalli, M. Berthet, B. Verrier, B.L. Deopura, M.S. Alam, B. Gupta  
 Composite wound dressings of pectin and gelatin with aloe vera and curcumin as bioactive agents  
*Int. J. Biol. Macromol.* (2016), 82, pp. 104-113  
 Available from: <https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-84958532361&origin=inward&txGid=126800927e478023ce767abce0e01087>
122. G. Giusto, C. Vercelli, F. Comino, V. Caramello, M. Tursi, M. Gandini  
 A new, easy-to-make pectin-honey hydrogel enhances wound healing in rats  
*BMC Compl. Alternative Med.* (2017), 17, pp. 2-7  
 Available from:  
<https://bmccomplementmedtherapies.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12906-017-1769-1>
123. S.L. Edirisinghe, S.H.S. Dananjaya, C. Nikapitiya, T.D. Liyanage, et al.  
 Novel pectin isolated from *Spirulina maxima* enhances the disease resistance and immune responses in zebrafish against *Edwardsiella piscicida* and *Aeromonas hydrophila*  
*Fish Shellfish Immunol.* (2019), 94, pp. 558-565  
 Available from: <https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-85072562304&origin=inward&txGid=19ad5209d257961e2ff7eff63a1cdcd4>
124. H.P.S.U. Chandrarathna, T.D. Liyanage, S.L. Edirisinghe, S.H.S. Dananjaya, et al.  
 Marine microalgae, *Spirulina maxima*-derived modified pectin and modified pectin nanoparticles modulate the gut microbiota and trigger immune responses in mice  
*Mar. Drugs* (2019), 175, pp. 1-15  
 Available from: <https://www.mdpi.com/1660-3397/18/3/175>
125. S.L. Edirisinghe, D.C. Rajapaksha, Chamilani Nikapitiya, Chulhong Oh, Kyoung-Ah Lee, Do-Hyung Kang, Mahanama De Zoysa  
*Spirulina maxima* derived marine pectin promotes the *in vitro* and *in vivo* regeneration and wound healing in zebrafish  
*Fish & Shellfish Immunology* (2020), Volume 107, Part A, p. 414-425  
 Available from:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1050464820306744>
126. S. Gunes, S. Tamburaci, M.C. Dalay, I.D. Gurhan  
*In vitro* evaluation of *Spirulina platensis* extract incorporated skin cream with its wound healing and antioxidant activities  
*Pharm. Biol.* (2017), 55, pp. 1824-183  
 Available from: <https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-85044125584&origin=inward&txGid=114dd87692c30f7fce2f88f789fcc29c>
127. Boris G. Andryukov, Natalya N. Besednova, Tatyana A. Kuznetsova, Tatyana S. Zaporozhets, Svetlana P. Ermakova, Tatiana N. Zvyagintseva, et al.  
 Sulfated Polysaccharides from Marine Algae as a Basis of Modern Biotechnologies for Creating Wound Dressings: Current Achievements and Future Prospects



- Biomedicines* (2020), Volume 8, Issue 9, 0301  
Available from: <https://www.mdpi.com/2227-9059/8/9/301>
128. Besednova, N.N., Smolina, T.P., Andryukov, B.G., Kuznetsova, T.A., Mikhailov, V.V., Zvyagintseva, T.N.  
Exopolysaccharides of marine bacteria: Prospects for use in medicine.  
*Antibiot. chemother.* (2018), 63, 67–78  
Available from: [https://www.antibiotics-chemotherapy.ru/jour/article/view/100/0?locale=en\\_US](https://www.antibiotics-chemotherapy.ru/jour/article/view/100/0?locale=en_US)
129. Levendosky, K. Mizenina, O., Martinelli, E., Jean-Pierre, N., Kizima, L., Rodriguez, A., et al.  
Griffithsin and Carrageenan Combination To Target Herpes Simplex Virus 2 and Human Papillomavirus.  
*Antimicrob. Agents Chemother.* (2015), 59, 7290–7298  
Available from: <https://journals.asm.org/doi/abs/10.1128/aac.01816-15>
130. Kim, S.K., Chojnacka, K.  
Marine Algae Extracts. Process, Product and Application; Kim, S.K., Chojnacka, K.  
*Eds.; Wiley: Weinheim, Germany*, (2015), Volume 2, 724p  
Available from:  
[https://books.google.gr/books?hl=el&lr=&id=LhB1BgAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR5&ots=qzRXRLIrdZ&sig=XGrOOH99IxV-4XwauoehKmpw6ds&redir\\_esc=y#v=onepage&q&f=false](https://books.google.gr/books?hl=el&lr=&id=LhB1BgAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR5&ots=qzRXRLIrdZ&sig=XGrOOH99IxV-4XwauoehKmpw6ds&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false)
131. Derby, N., Lal, M., Aravantinou, M., Kizima, L., Barnable, P., Rodriguez, A., et al.  
Griffithsin carrageenan fast dissolving inserts prevent SHIV HSV-2 and HPV infections *in vivo*.  
*Nat. Commun.* (2018), 9, 3881  
Available from: <https://www.nature.com/articles/s41467-018-06349-0>
132. Zepon, K.M., Martins, M.M., Marques, M.S., Heckler, J.M., Morisso, F.D.P., Moreira, M.G., et al  
Smart wound dressing based on κ-carrageenan/locust bean gum/cranberry extract for monitoring bacterial infections.  
*Carbohydr. Polym.* (2019), 206, 362–370  
Available from:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S014486171831347X>
133. Yegappan, R., Selvaprithiviraj, V., Amirthalingam, S., Jayakumar, R.  
Carrageenan based hydrogels for drug delivery, tissue engineering and wound healing.  
*Carbohydr. Polym.* (2018), 198, 385–400  
Available from:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861718307410>
134. Shankar, S., Teng, X., Li, G., Rhim, J.-W.  
Preparation, characterization, and antimicrobial activity of gelatin/ZnO nanocomposite films.  
*Food Hydrocoll.* (2015), 45, 264–271  
Available from:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X1400438X>
135. Zia, K.M., Tabasum, S., Nasif, M., Sultan, N., Aslam, N., Noreen, A., Zuber, M.



- A review on synthesis, properties and applications of natural polymer-based carrageenan blends and composites.  
*Int. J. Boil. Macromol.* (2017), 96, 282–301  
Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27914965/>
136. Kuznetsova, T.A., Andryukov, B.G., Besednova, N.N., Zaporozhets, T.S., Kalinin, A.V.  
Marine Algae Polysaccharides as Basis for Wound Dressings, Drug Delivery, and Tissue Engineering: A Review.  
*J. Mar. Sci. Eng.* (2020), 8, 481  
Available from: <https://www.mdpi.com/2077-1312/8/7/481>
137. Kumar, V.; Chaudhary, B.; Sharma, V.; Verma, K.  
Radiation Effects in Polymeric Materials  
(Eds.) Springer: Cham, Switzerland (2019), 412p  
Available from: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/978-3-030-05770-1.pdf>
138. Tytgat, L., Van Damme, L., Arevalo, M.D.P.O., Declercq, H., Thienpont, H., Otteveare, H., et al.  
Extrusion-based 3D printing of photo-crosslinkable gelatin and κ-carrageenan hydrogel blends for adipose tissue regeneration.  
*Int. J. Boil. Macromol.* (2019), 140, 929–938  
Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31422191/>
139. Li, H., Tan, Y.J., Li, L.  
A strategy for strong interface bonding by 3D bioprinting of oppositely charged κ-carrageenan and gelatin hydrogels.  
*Carbohydr. Polym.* (2018), 198, 261–269  
Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30092999/>
140. Lokhande, G., Carrow, J.K., Thakur, T., Xavier, J.R., Parani, M., Bayless, K.J., Gaharwar, A.K.  
Nanoengineered injectable hydrogels from kappa-carrageenan and two-dimensional nanosilicates for wound healing application.  
*Acta Biomater.* (2018), 70, 35–47  
Available from:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1742706118300564?via%3Dihub>
141. Disha N. Moholkar, Priyadarshani S. Sadalage, Diana Peixoto, Ana Cláudia Paiva-Santos, Kiran D. Pawar  
Recent advances in biopolymer-based formulations for wound healing applications  
*European Polymer Journal* (2021), Volume 160, 110784  
Available from:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014305721005188#b0615>
142. Victor Hugo Pacagnelli Infante, Patricia Campos  
Application of factorial design in the development of cosmetic formulations with carrageenan and argan oil  
*International Journal of Design and Nature* (2021), 8 (1)  
Available from:  
[https://www.researchgate.net/publication/354210099\\_Application\\_of\\_factorial\\_design\\_in\\_the\\_development\\_of\\_cosmetic\\_formulations\\_with\\_carrageenan\\_and\\_argan\\_oil](https://www.researchgate.net/publication/354210099_Application_of_factorial_design_in_the_development_of_cosmetic_formulations_with_carrageenan_and_argan_oil)

143. J. Kozłowska, K. Pauter, A. Sionkowska  
Carrageenan-based hydrogels: Effect of sorbitol and glycerin on the stability, swelling and mechanical properties  
*Polymer Testing* (2018), Volume 67, p. 7-11  
Available from:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0142941817316689>
144. Tziveleka, L.-A., Ioannou, E., Roussis, V.  
Ulvan, a bioactive marine sulphated polysaccharide as a key constituent of hybrid biomaterials: A review.  
*Carbohydr. Polym.* (2019), 218, 355–370  
Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31221340/>
145. Manivasagan, P., Oh, J.  
Marine polysaccharide-based nanomaterials as a novel source of nanobiotechnological applications  
*Int. J. Boil. Macromol.* (2016), 82, 315–327  
Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26523336/>
146. Kanno, K., Akiyoshi, K., Nakatsuka, T., Watabe, Y., Yukimura, S., Ishihara, H., et al.  
Biocompatible Hydrogel from a Green Tide-Forming Chlorophyta  
*J. Sustain. Dev.* (2012), 5, 38–45  
Available from:  
<https://pdfs.semanticscholar.org/6551/8c0d9db664cce4f510da0c38a01054eaa49d.pdf>
147. Alves, A., Pinho, E.D., Neves, N., Sousa, R.A., Reis, R.L.  
Processing ulvan into 2D structures: Cross-linked ulvan membranes as new biomaterials for drug delivery applications  
*Int. J. Pharm.* (2012), 426, 76–81  
Available from:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378517312000555>
148. Toskas, G., Hund, R.-D., Laourine, E., Cherif, C., Smyrniotopoulos, V., Roussis, V.  
Nanofibers based on polysaccharides from the green seaweed *Ulva Rigida*  
*Carbohydr. Polym.* 2011, 84, 1093–1102  
Available from:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861711000063>
149. Kidgell, J.T., Magnusson, M., De Nys, R., Glasson, C.R.  
Ulvan: A systematic review of extraction, composition and function.  
*Algal Res.* (2019), 39, 101422  
Available from:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211926418308373>
150. Mata, L., Magnusson, M., Paul, N.A., De Nys, R.  
The intensive land-based production of the green seaweeds *Derbesia tenuissima* and *Ulva ohnoi*: Biomass and bioproducts.  
*J. Appl. Phycol.* (2016), 28, 365–375  
Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10811-015-0561-1>
151. Nardelli, A., Chiozzini, V.G., Braga, E.S., Chow, F.  
Integrated multi-trophic farming system between the green seaweed *Ulva lactuca*, mussel, and fish: A production and bioremediation solution.  
*J. Appl. Phycol.* (2018), 31, 847–856

- Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10811-018-1581-4>
152. Adrien, A., Bonnet, A., Dufour, D., Baudouin, S., Maugard, T., Bridiau, N.  
Pilot production of ulvans from *Ulva* sp. and their effects on hyaluronan and collagen production in cultured dermal fibroblasts.  
*Carbohydr. Polym.* (2017), *157*, 1306–1314  
Available from:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861716312796>
153. Hardouin, K., Bedoux, G., Burlot, A.-S., Donnay-Moreno, C., Bergé, J.-P., Nyvall-Collén, P., Bourgougnon, N.  
Enzyme-assisted extraction (EAE) for the production of antiviral and antioxidant extracts from the green seaweed *Ulva armoricana* (Ulvales, Ulvophyceae).  
*Algal Res.* (2016), *16*, 233–239  
Available from:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211926416300935>
154. Rizk, M.Z., El-Sherbiny, M., Borai, I.H., Ezz, M.K., Aly, H.F., Matloub, A.A., et al.  
Sulphated polysaccharides (SPS) from the green alga *Ulva fasciata* extract modulates liver and kidney function in high fat diet-induced hypercholesterolemic rats.  
*Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* (2016), *8*, 43–55  
Available from: [https://www.researchgate.net/profile/Abdel-Razik-Farrag/publication/304886783\\_Sulphated\\_polysaccharides\\_SPS\\_from\\_the\\_green\\_alga\\_ulva\\_fasciata\\_extract\\_modulates\\_liver\\_and\\_kidney\\_function\\_in\\_high\\_fat\\_diet-induced\\_hypercholesterolemic\\_rats/links/592de51d0f7e9beee733a8be/Sulphated-polysaccharides-SPS-from-the-green-alga-ulva-fasciata-extract-modulates-liver-and-kidney-function-in-high-fat-diet-induced-hypercholesterolemic-rats.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Abdel-Razik-Farrag/publication/304886783_Sulphated_polysaccharides_SPS_from_the_green_alga_ulva_fasciata_extract_modulates_liver_and_kidney_function_in_high_fat_diet-induced_hypercholesterolemic_rats/links/592de51d0f7e9beee733a8be/Sulphated-polysaccharides-SPS-from-the-green-alga-ulva-fasciata-extract-modulates-liver-and-kidney-function-in-high-fat-diet-induced-hypercholesterolemic-rats.pdf)
155. Jiao, G., Yu, G., Zhang, J., Ewart, H.S.  
Chemical Structures and Bioactivities of Sulfated Polysaccharides from Marine Algae.  
*Mar. Drugs* (2011), *9*, 196–223  
Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21566795/>
156. Yuri Khotimchenko, Denis N. Silachev, Vladimir Katanaev  
Marine Natural Products from the Russian Pacific as Sources of Drugs for Neurodegenerative Diseases  
*Marine Drugs* (2022), Volume 20, Issue 11, 0708  
Available from: <https://www.mdpi.com/1660-3397/20/11/708>
157. Besednova, N.N., Smolina, T.P., Andryukov, B.G., Kuznetsova, T.A., Mikhailov, V.V., Zvyagintseva, T.N.  
Exopolysaccharides of marine bacteria: Prospects for use in medicine.  
*Antibiot. chemother.* (2018), *63*, 67–78  
Available from: [https://www.antibiotics-chemotherapy.ru/jour/article/view/100/0?locale=en\\_US](https://www.antibiotics-chemotherapy.ru/jour/article/view/100/0?locale=en_US)
158. Kuznetsova, T.A., Besednova, N.N., Somova, L.M., Makarenkova, I.D., Plekhova, N.G., Drobot, E.I., et al.  
Experimental evaluation of the effectiveness of wound dressings based on biologically active substances from marine hydrobionts.  
*Russ. J. Mar. Boil.* (2016), *42*, 427–432

- Available from: <https://link.springer.com/article/10.1134/S1063074016050059>
159. Glasson, C.R.K., Sims, I.M., Carnachan, S.M., De Nys, R., Magnusson, M.  
A cascading biorefinery process targeting sulfated polysaccharides (ulvan) from *Ulva ohnoi*.  
*Algal Res.* (2017), 27, 383–391  
Available from:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211926417302400>
160. Alves, A., Sousa, R.A., Reis, R.L.  
*In vitro* cytotoxicity assessment of ulvan, a polysaccharide extracted from green algae.  
*Phyther. Res.* (2013), 27, 1143–1148  
Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/ptr.4843>
161. Peasura, N., Laohakunjit, N., Kerdchoechuen, O., Vongsawasdi, P., Chao, L.K.  
Assessment of biochemical and immunomodulatory activity of sulphated polysaccharides from *Ulva intestinalis*.  
*Int. J. Biol. Macromol.* (2016), 91, 269–277  
Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27212215/>
162. Costa, C., Alves, A., Pinto, P.R., Sousa, R.A., Borges Da Silva, E.A., Reis, R.L., Rodrigues, A.E.  
Characterization of ulvan extracts to assess the effect of different steps in the extraction procedure.  
*Carbohydr. Polym.* (2012), 88, 537–546  
Available from:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861711011581>
163. Vonthron-Sénécheau, C., Kaiser, M., Devambe, I., Vastel, A. Mussio, I., Rusig, A.M.  
Antiprotozoal activities of organic extracts from french marine seaweeds.  
*Mar. Drugs* (2011), 9, 922–933  
Available from: <https://www.mdpi.com/1660-3397/9/6/922>
164. Spavieri, J., Allmendinger, A., Kaiser, M., Itoe, M.A., Blunden, G., Mota, M.M., Tasdemir, D.  
Assessment of dual life stage antiplasmodial activity of British seaweeds.  
*Mar. Drugs* (2013), 11, 4019–4034  
Available from: <https://www.mdpi.com/1660-3397/11/10/4019>
165. Botta, A., Martínez, V., Mitjans, M., Balboa, E., Conde, E., Vinardell, M.P.  
Erythrocytes and cell line-based assays to evaluate the cytoprotective activity of antioxidant components obtained from natural sources.  
*Toxicol. In Vitro* (2014), 28, 120–124  
Available from:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0887233313002592>
166. Barros, A.A.A., Alves, A., Nunes, C., Coimbra, M.A., Pires, R.A., Reis, R.L.  
Carboxymethylation of ulvan and chitosan and their use as polymeric components of bone cements.  
*Acta Biomater.* (2013), 9, 9086–9097  
Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23816652/>
167. Abasalizadeh, F., Moghaddam, S.V., Alizadeh, E., Akbari, E., Kashani, E., Fazljou, S.M.B., et al.

- Alginate-based hydrogels as drug delivery vehicles in cancer treatment and their applications in wound dressing and 3D bioprinting.  
*J. Boil. Eng.* (2020), 14, 1–22  
Available from: <https://link.springer.com/article/10.1186/s13036-020-0227-7>
168. Williams, C.  
Kaltostat.  
*Br. J. Nurs.* (1994), 3, 965–96  
Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7994152/>
169. Aderibigbe, B., Buyana, B.  
Alginate in Wound Dressings.  
*Pharmaceutics* (2018), 10, 42  
Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29614804/>
170. Kaiser, D., Hafner, J., Mayer, D., French, L.E., Läubli, S.  
Alginate dressing and polyurethane film versus paraffin gauze in the treatment of split-thickness skin graft donor sites: A randomized controlled pilot study.  
*Adv. Ski. Wound Care* (2013), 26, 67–73  
Available from:  
[https://journals.lww.com/aswcjournal/Fulltext/2013/02000/Alginate\\_Dressing\\_and\\_Polyurethane\\_Film\\_Versus.8.aspx](https://journals.lww.com/aswcjournal/Fulltext/2013/02000/Alginate_Dressing_and_Polyurethane_Film_Versus.8.aspx)
171. Lee, K.Y., Mooney, D.J.  
Alginate: Properties and biomedical applications.  
*Prog. Polym. Sci.* (2012), 37, 106–126  
Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22125349/>
172. Kamoun, E.A., Kenawy, E.-R.S., Chen, X.  
A review on polymeric hydrogel membranes for wound dressing applications: PVA-based hydrogel dressings.  
*J. Adv. Res.* (2017), 8, 217–233  
Available from:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2090123217300243>
173. Straccia, M.C., D’Ayala, G.G., Romano, I., Oliva, A., Laurienzo, P. Alginate Hydrogels Coated with Chitosan for Wound Dressing.  
*Mar. Drugs* (2015), 13, 2890–2908  
Available from: <https://www.mdpi.com/1660-3397/13/5/2890>
174. Ching, S.H., Bansal, N., Bhandari, B.  
Alginate gel particles—A review of production techniques and physical properties.  
*Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* (2017), 57, 1133–1152  
Available from:  
<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10408398.2014.965773>
175. Boateng, J.S., Matthews, K.H., Stevens, H.N., Eccleston, G.M.  
Wound Healing Dressings and Drug Delivery Systems: A Review.  
*J. Pharm. Sci.* (2008), 97, 2892–2923  
Available from:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022354916326521>
176. Gurtner, G.C., Werner, S., Barrandon, Y., Longaker, M.T.  
Wound repair and regeneration.  
*Nature* (2008), 453, 314–321  
Available from: <https://www.nature.com/articles/nature07039>
177. Boateng, J.S., Catanzano, O.

- Advanced Therapeutic Dressings for Effective Wound Healing—A Review.  
*J. Pharm. Sci.* (2015), *104*, 3653–3680  
 Available from:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0022354916301538>
178. Boateng, J.S., Burgos-Amador, R., Okeke, O., Pawar, H.  
 Composite alginate and gelatin-based bio-polymeric wafers containing silver sulfadiazine for wound healing.  
*Int. J. Boil. Macromol.* (2015), *79*, 63–71  
 Available from:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S014181301500286X>
179. Murakami, K., Ishihara, M., Aoki, H., Nakamura, S., Nakamura, S.-I., Yanagibayashi, S., et al.  
 Enhanced healing of mitomycin C-treated healing-impaired wounds in rats with hydrosheets composed of chitin/chitosan, fucoidan, and alginate as wound dressings.  
*Wound Repair Regen.* (2010), *18*, 478–485  
 Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1524-475X.2010.00606.x>
180. Williams, C.  
 Role of CarboFlex in the nursing management of wound odour.  
*Br. J. Nurs.* (2001), *10*, 122–125  
 Available from:  
<https://www.magonlinelibrary.com/doi/abs/10.12968/bjon.2001.10.2.5395>
181. Lee, S.M., Park, I.K., Kim, Y.S., Kim, H.J., Moon, H., Mueller, S., Jeong, Y.-I.  
 Physical, morphological, and wound healing properties of a polyurethane foam-film dressing.  
*Biomater. Res.* (2016), *20*, 15  
 Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27274861/>
182. Thomas, S.  
 Alginate dressings in surgery and wound management—Part 1.  
*J. Wound Care* (2000), *9*, 56–60  
 Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11933281/>
183. Stoica, A.E., Chircov, C., Stoica, A.E.  
 Nanomaterials for Wound Dressings: An Up-to-Date Overview.  
*Molecules* (2020), *25*, 2699  
 Available from: <https://www.mdpi.com/1420-3049/25/11/2699>
184. Fertah, M., Belfkira, A., Dahmane, E.M., Taourirte, M., Brouillette, F.  
 Extraction and characterization of sodium alginate from Moroccan *Laminaria digitata* brown seaweed.  
*Arab. J. Chem.* (2017), *10*, S3707–S3714  
 Available from:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1878535214000793>
185. Fan, C., Pek, C.H., Por, Y.C., Lim, G.J.S.  
 Biobrane dressing for paediatric burns in Singapore: A retrospective review.  
*Singap. Med. J.* (2018), *59*, 360–365  
 Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29297087/>
186. McBride, C., Kimble, R., Stockton, K.



- Prospective randomised controlled trial of Algisite™ M, Cuticerin™, and Sorbact® as donor site dressings in paediatric split-thickness skin grafts.  
*Burn. Trauma* (2018), 6, 33  
Available from:  
<https://academic.oup.com/burnstrauma/article/doi/10.1186/s41038-018-0135-y/5680439>
187. Sahana, T.G., Rekha, P.D.  
Biopolymers: Applications in wound healing and skin tissue engineering.  
*Mol. Boil. Rep.* (2018), 45, 2857–2867  
Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30094529/>
188. Sahana, T., Rekha, P.  
A bioactive exopolysaccharide from marine bacteria *Alteromonas* sp. PRIM-28 and its role in cell proliferation and wound healing *in vitro*.  
*Int. J. Boil. Macromol.* (2019), 131, 10–18  
Available from:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813019302582>
189. Thomas, S.  
Alginate dressings in surgery and wound management: Part 2.  
*J. Wound Care* (2000), 9, 115–119  
Available from:  
<https://www.magonlineibrary.com/doi/pdf/10.12968/jowc.2000.9.3.25959>
190. Totty, J.P., Bua, N., Smith, G., Harwood, A., Carradice, D., Wallace, T., Chetter, I.  
Dialkylcarbamoyl chloride (DACC)-coated dressings in the management and prevention of wound infection: A systematic review.  
*J. Wound Care* (2017), 26, 107–114  
Available from:  
<https://www.magonlineibrary.com/doi/abs/10.12968/jowc.2017.26.3.107>
191. Thomas, S.  
Alginate dressings in surgery and wound management: Part 3.  
*J. Wound Care* (2000), 9, 163–166  
Available from:  
<https://www.magonlineibrary.com/doi/pdf/10.12968/jowc.2000.9.4.25973>
192. Hiro, M.E., Pierpont, Y.N., Ko, F., Wright, T.E., Robson, M.C., Payne, W.G.  
Comparative Evaluation of Silver-Containing Antimicrobial Dressings on *In Vitro* and *In Vivo* Processes of Wound Healing.  
*Eplasty* (2012), 12, e4  
Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3471607/>
193. Pires, A.L.R., Motta, L.D.A., Dias, A.M., De Sousa, H.C., Moraes, Â.M., Braga, M.E.M.  
Towards wound dressings with improved properties: Effects of poly(dimethylsiloxane) on chitosan-alginate films loaded with thymol and beta-carotene.  
*Mater. Sci. Eng. C* (2018), 93, 595–605  
Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30274091/>
194. Rezvanian, M., Amin, M.C.I.M., Ng, S.-F.  
Development and physicochemical characterization of alginate composite film loaded with simvastatin as a potential wound dressing.  
*Carbohydr. Polym.* (2016), 137, 295–304

- Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26686133/>
195. Fallacara, A., Baldini, E., Manfredini, S., Vertuani, S.  
Hyaluronic Acid in the Third Millennium.  
*Polymers (Basel)* (2018), *10*, 701  
Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30960626/>
196. Catanzano, O., D'Esposito, V., Acierno, S., Ambrosio, M., De Caro, C.,  
Avagliano, C., et al.  
Alginate–hyaluronan composite hydrogels accelerate wound healing process.  
*Carbohydr. Polym.* (2015), *131*, 407–414  
Available from:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861715005159>
197. Hajiali, H., Summa, M., Russo, D., Armirotti, A., Brunetti, V., Bertorelli, R., et  
al.  
Alginate-lavender nanofibers with antibacterial and anti-inflammatory activity to  
effectively promote burn healing.  
*J. Mater. Chem. B* (2016), *4*, 1686–1695  
Available from: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2016/tb/c5tb02174j>
198. Hu, C., Gong, R.H., Zhou, F.-L.  
Electrospun sodium alginate/polyethylene oxide fibers and nanocoated yarns.  
*Int. J. Polym. Sci.* (2015), *2015*, 1–12  
Available from: <https://www.hindawi.com/journals/ijps/2015/126041/>
199. Jayakumar, R., Kumar, P.S., Mohandas, A., Lakshmanan, V.-K., Biswas, R., Pt,  
S.K., Raja, B.  
Exploration of alginate hydrogel/nano zinc oxide composite bandages for  
infected wounds.  
*Int. J. Nanomed.* (2015), *10*, 53–66  
Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.2147/IJN.S79981>
200. Xie, H., Chen, X., Shen, X., He, Y., Chen, W., Luo, Q., et al. Preparation of  
chitosan-collagen-alginate composite dressing and its promoting effects on  
wound healing.  
*Int. J. Boil. Macromol.* (2018), *107*, 93–104  
Available from:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813017306438>
201. Li, S., Li, L., Guo, C., Qin, H., Yu, X.  
A promising wound dressing material with excellent cytocompatibility and  
proangiogenesis action for wound healing: Strontium loaded Silk  
fibroin/Sodium alginate (SF/SA) blend films.  
*Int. J. Boil. Macromol.* (2017), *104*, 969–978  
Available from:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813017314356>
202. Simin Nazarnezhada, Ghasem Abbaszadeh-Goudarzi, Hadi Samadian,  
Mehdi Khaksari, Jila Majidi Ghatar, Hossein Khastar et al.  
Alginate hydrogel containing hydrogen sulfide as the functional wound dressing  
material: *In vitro* and *in vivo* study  
*International Journal of Biological Macromolecules* (2020), Volume 164, p.  
3323-3331  
Available from:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813020343324>

203. Ghosh M, Halperin-Sternfeld M, Grinberg I, Adler-Abramovich L. Injectable alginate-peptide composite hydrogel as a scaffold for bone tissue regeneration. *Nanomaterials* (2019), 9(4):2-3  
Available from: [https://books.google.gr/books?hl=el&lr=&id=PYJbEAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA69&dq=alginate+safety+in+cosmetics&ots=0BUm8 DmTw&sig=X JpjRXfEmYv4VjYsy1CXMIDLEI&redir\\_esc=y#v=onepage&q=alginate%20safety%20in%20cosmetics&f=false](https://books.google.gr/books?hl=el&lr=&id=PYJbEAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA69&dq=alginate+safety+in+cosmetics&ots=0BUm8 DmTw&sig=X JpjRXfEmYv4VjYsy1CXMIDLEI&redir_esc=y#v=onepage&q=alginate%20safety%20in%20cosmetics&f=false)
204. Kordjazi, M., Shabanpour, B., Zabihi, E., Faramarzi, M.A., Feizi, F., Gavlighi, H.A., et al. Sulfated Polysaccharides Purified from Two Species of Padina Improve Collagen and Epidermis Formation in the Rat. *Int. J. Mol. Cell. Med.* (2013), 2, 156–163  
Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24551807/>
205. Dobrinčić, A., Balbino, S., Zorić, Z., Pedisić, S., Kovačević, D.B., Garofulić, I.E., Dragović-Uzelac, V. Advanced Technologies for the Extraction of Marine Brown Algal Polysaccharides. *Mar. Drugs* (2020), 18, 168  
Available from: <https://www.mdpi.com/1660-3397/18/3/168>
206. Li, B., Lu, F., Wei, X., Zhao, R. Fucoidan: Structure and Bioactivity. *Molecules* (2008), 13, 1671–1695  
Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18794778/>
207. Luthuli, S., Wu, S., Cheng, Y., Zheng, X., Wu, M., Tong, H. Therapeutic Effects of Fucoidan: A Review on Recent Studies. *Mar. Drugs* (2019), 17, 487  
Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31438588/>
208. Zayed, A., Ulber, R. Fucoidans: Downstream Processes and Recent Applications. *Mar. Drugs* (2020), 18, 170  
Available from: <https://www.mdpi.com/1660-3397/18/3/170>
209. Benbow, N.L., Webber, J.L., Karpinić, S., Krasowska, M., Ferri, J.K., Beattie, D.A. The influence of polyanion molecular weight on polyelectrolyte multilayers at surfaces: Protein adsorption and protein—polysaccharide complexation/stripping on natural polysaccharide films on solid supports. *Phys. Chem. Chem. Phys.* (2017), 19, 23790–23801  
Available from: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2017/cp/c7cp02599h>
210. Nakamura, T., Mizuno, S. The discovery of Hepatocyte Growth Factor (HGF) and its significance for cell biology, life sciences and clinical medicine. *Proc. Jpn. Acad. Ser. B* (2010), 86, 588–610  
Available from: [https://www.jstage.jst.go.jp/article/pjab/86/6/86\\_6\\_588/article](https://www.jstage.jst.go.jp/article/pjab/86/6/86_6_588/article)
211. Lin, X.Y., Wang, H., Tan, Y. [Role of Hepatocyte Growth Factor in Wound Repair]. *Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao* (2018), 40, 822–826

- Available from: <https://europepmc.org/article/med/30606395>
212. O’Leary, R., Rerek, M., Wood, E.J.  
Fucoidan modulates the effect of transforming growth factor (TGF)-beta1 on fibroblast proliferation and wound repopulation in *in vitro* models of dermal wound repair.  
*Boil. Pharm. Bull.* (2004), 27, 266–270  
Available from: [https://www.jstage.jst.go.jp/article/bpb/27/2/27\\_2\\_266/article/-char/ja/](https://www.jstage.jst.go.jp/article/bpb/27/2/27_2_266/article/-char/ja/)
213. Park, J.-H., Choi, S.-H., Park, S.-J., Lee, Y.J., Park, J.H., Song, P.H., et al.  
Promoting Wound Healing Using Low Molecular Weight Fucoidan in a Full-Thickness Dermal Excision Rat Model.  
*Mar. Drugs* (2017), 15, 112  
Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28387729/>
214. Charboneau, A.J., Delaney, J.P., Beilman, G.  
Fucoidans inhibit the formation of post-operative abdominal adhesions in a rat model [published correction appears in PLoS One. 2019; 14(1): e0211371].  
*PLoS ONE* (2018), 13, e0207797  
Available from:  
<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0207797>
215. Cashman, J.D., Kennah, E., Shuto, A., Winternitz, C., Springate, C.M. Fucoidan Film Safely Inhibits Surgical Adhesions in a Rat Model.  
*J. Surg. Res.* (2011), 171, 495–503  
Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20638689/>
216. Okabayashi, K., Ashrafian, H., Zacharakis, E., Hasegawa, H., Kitagawa, Y., Athanasiou, T., Darzi, A.  
Adhesions after abdominal surgery: A systematic review of the incidence, distribution and severity.  
*Surg. Today* (2014), 44, 405–420  
Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23657643/>
217. Chollet, L., Saboural, P., Chauvierre, C., Villemin, J.-N., Letourneur, D., Chaubet, F.  
Fucoidans in Nanomedicine.  
*Mar. Drugs* (2016), 14, 145  
Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27483292/>
218. Yang J, Yan R, Roy A, Xu D, Poisson J, Zhang Y.  
The I-TASSER suite: protein structure and function prediction.  
*Nat Methods* (2015), 12(1):7  
Available from: <https://www.nature.com/articles/nmeth.3213>
219. Tomic-Canic M, Wong LL, Smola H.  
The epithelialisation phase in wound healing: options to enhance wound closure.  
*J Wound Care* (2018), 27(10):646–58  
Available from:  
<https://www.magonlineibrary.com/doi/abs/10.12968/jowc.2018.27.10.646>
220. Huang H-N, Rajanbabu V, Pan C-Y, Chan Y-L, Wu C-J, Chen J-Y.  
Use of the antimicrobial peptide Epinecidin-1 to protect against MRSA infection in mice with skin injuries.  
*Biomaterials* (2013), 34(38):10319–27

- Available from:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0142961213011204>
221. Huang H-N, Pan C-Y, Wu H-Y, Chen J-Y.  
 Antimicrobial peptide Epinecidin-1 promotes complete skin regeneration of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*-infected burn wounds in a swine model.  
*Oncotarget* (2017), 8(13):21067  
 Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5400566/>
222. Huang H-N, Wu C-J, Chen J-Y.  
 The effects of GAMMA irradiation sterilization, temperature, and PH on the antimicrobial activity of EPINECIDIN-1.  
*J Mar Sci Technol* (2017), 25(3):352–7  
 Available from: <https://jmstt.ntou.edu.tw/journal/vol25/iss3/11/>
223. Barrientos, S., Brem, H., Stojadinovic, O., Tomic-Canic, M.  
 Clinical application of growth factors and cytokines in wound healing  
*Wound Repair Regen* (2014), 22, 569– 578  
 Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24942811/>
224. Dou, C., Lay, F., Ansari, A. M., Rees, D. J., Ahmed, A. K., Kovbasnjuk, et al.  
 Strengthening the skin with topical delivery of keratinocyte growth factor-1 using a novel DNA plasmid  
*Mol. Ther.* (2014), 22, 752– 761  
 Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24434934>
225. Kryger, Z., Zhang, F., Dogan, T., Cheng, C., Lineaweaver, W. C., Buncke, H. J.  
 The effects of VEGF on survival of a random flap in the rat: examination of various routes of administration  
*Br. J. Plast. Surg.* (2000), 53, 234– 239  
 Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10738331>
226. Andrews, S. N., Jeong, E., and Prausnitz, M. R.  
 Transdermal delivery of molecules is limited by full epidermis, not just stratum corneum  
*Pharm. Res.* (2013), 30, 1099– 1109  
 Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11095-012-0946-7>
227. Kusam Lata Rana, Divjot Kour, Tanvir Kaur, Rubee Devi, Chandranandani Negi, Ajar Nath Yadav, et al.  
 11 - Endophytic fungi from medicinal plants: biodiversity and biotechnological applications  
*Microbial Endophytes* (2020), p. 273-305  
 Available from:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780128196540000119>
228. Weijing Cai, Lilibeth A. Salvador-Reyes, Wei Zhang, Qi-Yin Chen, Susan Matthew, Ranjala Ratnayake et al.  
 Apratyramide, a Marine-Derived Peptidic Stimulator of VEGF-A and Other Growth Factors with Potential Application in Wound Healing  
*ACS Chem. Biol.* (2018), 13 (1): 91-99  
 Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29205032/>
229. Daniela Coppola, Maria Oliviero, Giovanni Andrea Vitale, Chiara Lauritano, Isabella D’Ambra, Salvatore Iannace, Dotatella De Pascale



- Marine Collagen from Alternative and Sustainable Sources: Extraction, Processing and Applications  
*Marine Drugs* (2020), Volume 18, Issue 4, 0214  
 Available from: <https://www.mdpi.com/1660-3397/18/4/214>
230. Alves, A., Marques, A., Martins, E., Silva, T., Reis, R.L.  
 Cosmetic Potential of Marine Fish Skin Collagen.  
*Cosmetics* (2017), 4, 39  
 Available from: <https://www.mdpi.com/2079-9284/4/4/39>
231. Zhou, T., Sui, B., Mo, X., Sun, J.  
 Multifunctional and biomimetic fish collagen/bioactive glass nanofibers: Fabrication, antibacterial activity and inducing skin regeneration *in vitro* and *in vivo*.  
*Int. J. Nanomed.* (2017), 12, 3495  
 Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.2147/IJN.S132459>
232. Cao, H., Chen, M.-M., Liu, Y., Liu, Y.-Y. Huang, Y.-Q. Wang, J.-H., et al.  
 Fish collagen-based scaffold containing PLGA microspheres for controlled growth factor delivery in skin tissue engineering.  
*Colloids Surf. B Biointerfaces* (2015), 136, 1098–1106  
 Available from:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0927776515302538>
233. Barbaglio, A., Tricarico, S., Ribeiro, A., Ribeiro, C., Sugni, M., Di Benedetto, C., et al.  
 The mechanically adaptive connective tissue of echinoderms: Its potential for bio-innovation in applied technology and ecology.  
*Mar. Environ. Res.* (2012), 76, 108–113  
 Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21864892/>
234. Barbaglio, A., Tricarico, S., Di benedetto, C., Fassini, D., Lima, A., Ribeiro, A., et al.  
 The smart connective tissue of echinoderms: A materializing promise for biotech applications.  
*Cah. Biol. Mar.* (2013), 54, 713–720  
 Available from: [https://www.researchgate.net/profile/Dario-Fassini/publication/256971763\\_The\\_smart\\_connective\\_tissue\\_of\\_echinoderms\\_a\\_materializing\\_promise\\_for\\_biotech\\_applications/links/54dc93950cf25b09b9124a79/The-smart-connective-tissue-of-echinoderms-a-materializing-promise-for-biotech-applications.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Dario-Fassini/publication/256971763_The_smart_connective_tissue_of_echinoderms_a_materializing_promise_for_biotech_applications/links/54dc93950cf25b09b9124a79/The-smart-connective-tissue-of-echinoderms-a-materializing-promise-for-biotech-applications.pdf)
235. Ferrario, C., Leggio, L., Leone, R., Di benedetto, C., Guidetti, L., Coccè, V., et al.  
 Marine-derived collagen biomaterials from echinoderm connective tissues.  
*Mar. Environ. Res.* (2016), 128, 46–57  
 Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27063846/>
236. Felician, F.F., Xia, C., Qi, W., Xu, H.  
 Collagen from Marine Biological Sources and Medical Applications.  
*Chem. Biodivers.* (2018), 15, e1700557  
 Available from:  
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/cbdv.201700557>
237. Cheng, X., Shao, Z., Li, C., Yu, L., Raja, M.A., Liu, C.  
 Isolation, Characterization and Evaluation of Collagen from Jellyfish *Rhopilema esculentum* Kishinouye for Use in Hemostatic Applications.



- PLoS ONE* (2017), 12, e0169731  
Available from:  
<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0169731>
238. Felician, F.F., Yu, R.H., Li, M.Z., Li, C.J., Chen, H.Q., Jiang, Y., et al. The wound healing potential of collagen peptides derived from the jellyfish *Rhopilema esculentum*.  
*Chin. J. Traumatol.* (2019), 22, 12–20  
Available from: <https://mednexus.org/doi/abs/10.1016/j.cjte.2018.10.004>
239. Song, E., Yeon Kim, S., Chun, T., Byun, H.J., Lee, Y.M.  
Collagen scaffolds derived from a marine source and their biocompatibility.  
*Biomaterials* (2006), 27, 2951–2961  
Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16457878/>
240. Jeong, S.I., Kim, S.Y., Cho, S.K., Chong, M.S., Kim, K.S., Kim, H., et al.  
Tissue-engineered vascular grafts composed of marine collagen and PLGA fibers using pulsatile perfusion bioreactors.  
*Biomaterials* (2007), 28, 1115–1122  
Available from:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0142961206009161>
241. Luca Salvatore, Nunzia Gallo, Maria Lucia Natali, Lorena Campa, Paola lunette, Marta Madaghiele, et al.  
Marine collagen and its derivatives: Versatile and sustainable bio-resources for healthcare  
*Materials Science and Engineering: C* (2020), Volume 113, 110963  
Available from:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0928493119346892>
242. Sarah Geahchan, Parnian Baharlouei, Azizur Rahman  
Marine Collagen: A Promising Biomaterial for Wound Healing, Skin Anti-Aging, and Bone Regeneration  
*Marine drugs* (2022), Volume 20, Issue 1, 0061  
Available from: <https://www.mdpi.com/1660-3397/20/1/61>
243. Hu, Z., Yang, P., Zhou, C., Li, S., Hong, P.  
Marine Collagen Peptides from the Skin of Nile Tilapia (*Oreochromis Niloticus*): Characterization and Wound Healing Evaluation.  
*Mar. Drugs* (2017), 15, 102  
Available from: <https://www.mdpi.com/1660-3397/15/4/102>
244. Wang, J., Xu, M., Liang, R., Zhao, M., Zhang, Z., Li, Y.  
Oral Administration of Marine Collagen Peptides Prepared from Chum Salmon (*Oncorhynchus Keta*) Improves Wound Healing Following Cesarean Section in Rats.  
*Food Nutr. Res.* (2015), 59, 26411  
Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.3402/fnr.v59.26411>
245. Zhang, Z., Wang, J., Ding, Y., Dai, X., Li, Y.  
Oral Administration of Marine Collagen Peptides from Chum Salmon Skin Enhances Cutaneous Wound Healing and Angiogenesis in Rats.  
*J. Sci. Food Agric.* (2011), 91, 2173–2179  
Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jsfa.4435>
246. Siti Nur Hazwani Olsan, Cheng Xue Li, Rossita Shapawi, Ruzaidi Azli Mohd Mokhtar, Wan Norhana Md. Noordin, Nurul Huda

- Extraction and Characterization of Bioactive Fish By-Product Collagen as Promising for Potential Wound Healing Agent in Pharmaceutical Applications: Current Trend and Future Perspective  
*International Journal of Food Science* (2022), Volume 2022, Article ID 9437878, 10 pages  
Available from: <https://downloads.hindawi.com/journals/ijfs/2022/9437878.pdf>
247. T. R. L. Senadheera, D. Dave, and F. Shahidi,  
Sea cucumber derived type I collagen: a comprehensive review,  
*Marine Drugs*, (2020), Vol. 18, no. 9, pp. 471–513  
Available from: <https://www.mdpi.com/1660-3397/18/9/471>
248. B. Li  
Beneficial effects of collagen hydrolysate: a review on recent developments  
*Biomedical Journal of Scientific & Technical Research*, (2017), Vol. 1, no. 2  
Available from: [https://www.researchgate.net/profile/Hongdong-Song/publication/321183813\\_Beneficial\\_Effects\\_of\\_Collagen\\_Hydrolysate\\_A\\_Review\\_on\\_Recent\\_Developments/links/5a14da1d458515005213118a/Beneficial-Effects-of-Collagen-Hydrolysate-A-Review-on-Recent-Developments.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Hongdong-Song/publication/321183813_Beneficial_Effects_of_Collagen_Hydrolysate_A_Review_on_Recent_Developments/links/5a14da1d458515005213118a/Beneficial-Effects-of-Collagen-Hydrolysate-A-Review-on-Recent-Developments.pdf)
249. Z. I. Elbially, A. Atiba, A. Abdelnaby et al.  
Collagen extract obtained from Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) skin accelerates wound healing in rat model via up regulating VEGF, bFGF, and  $\alpha$ -SMA genes expression  
*BMC veterinary research*, (2020), Vol. 16, no. 1, p. 352  
Available from: <https://bmcvetres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12917-020-02566-2>
250. Z. Song, H. Liu, L. Chen et al.  
Characterization and comparison of collagen extracted from the skin of the Nile tilapia by fermentation and chemical pretreatment  
*Food Chemistry*, (2021), Vol. 340, article 128139  
Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S030881462032001X>
251. Z. I. Elbially, A. Atiba, A. Abdelnaby et al.  
Collagen extract obtained from Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) skin accelerates wound healing in rat model via up regulating VEGF, bFGF, and  $\alpha$ -SMA genes expression  
*BMC veterinary research*, (2020), Vol. 16, no. 1, p. 352  
Available from: <https://bmcvetres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12917-020-02566-2>
252. M. H. Cumming, B. Hall, and K. Hofman  
Isolation and characterisation of major and minor collagens from hyaline cartilage of hoki (*Macruronus novaezelandiae*)  
*Marine Drugs*, (2019), Vol. 17, no. 4, p. 223  
Available from: <https://www.mdpi.com/1660-3397/17/4/223>
253. N. T. Chinh, V. Q. Manh, V. Q. Trung et al.  
Characterization of collagen derived from tropical freshwater carp fish scale wastes and its amino acid sequence  
*Natural Product Communications*, (2019), Vol. 14, no. 7  
Available from: <https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1177/1934578X19866288>

254. T. Petcharat, S. Benjakul, S. Karnjanapratum, and S. Nalinanon Ultrasound-assisted extraction of collagen from clown featherback (*Chitala ornata*) skin: yield and molecular characteristics  
*Journal of the Science of Food and Agriculture*, (2021), Vol. 101, no. 2, pp. 648–658  
Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/jsfa.10677>
255. R. Ahmed, M. Haq, and B. S. Chun  
Characterization of marine derived collagen extracted from the by-products of big- eye tuna (*Thunnus obesus*)  
*International Journal of Biological Macromolecules*, (2019), Vol. 135, pp. 668–676  
Available from:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813019310700>
256. X. Dong, P. Shen, M. Yu, C. Yu, B. Zhu, and H. Qi  
Epigallocatechin gallate protected molecular structure of collagen fibers in sea cucumber *Apostichopus japonicus* body wall during thermal treatment  
*LWT*, (2020), Vol. 123, article 109076  
Available from:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643820300645>
257. T. Zhou, N. Wang, Y. Xue, T. Ding, X. Liu, X. Mo, J. Sun  
Development of biomimetic tilapia collagen nanofibers for skin regeneration through inducing keratinocytes differentiation and collagen synthesis of dermal fibroblasts  
*ACS Appl. Mater. Interfaces*, (2015), 7 (5), pp. 3253-3262  
Available from:  
[https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/am507990m?casa\\_token=eivJs6kity4AAA-AA:LRYym9vi6DFuYLoPt37hmzvK887XmZ4F3MgSbgTj3VEXPlzA9ZIK-GsSQWzXb-LYTKdGN7ewTD9](https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/am507990m?casa_token=eivJs6kity4AAA-AA:LRYym9vi6DFuYLoPt37hmzvK887XmZ4F3MgSbgTj3VEXPlzA9ZIK-GsSQWzXb-LYTKdGN7ewTD9)
258. T. Zhou, N. Wang, Y. Xue, T. Ding, X. Liu, X. Mo, J. Sun  
Electrospun tilapia collagen nanofibers accelerating wound healing via inducing keratinocytes proliferation and differentiation  
*Colloids Surf. B*, (2016), 143, pp. 415-422  
Available from:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0927776516302089>
259. M. Jridi, S. Bardaa, D. Moalla, T. Rebaïi, N. Souissi, Z. Sahnoun, M. Nasri  
Microstructure, rheological and wound healing properties of collagen-based gel from cuttlefish skin  
*Int. J. Biol. Macromol.*, (2015), 77, pp. 369-374  
Available from:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0141813015001725>
260. Baosheng Ge, Haonan Wang, Jie Li, Hengheng Liu, Yonghao Yin, NaiLi Zhang, Song Qin  
Comprehensive Assessment of Nile Tilapia Skin (*Oreochromis niloticus*) Collagen Hydrogels for Wound Dressings  
*Marine Drugs* (2020), Volume 18, Issue 4, 0178  
Available from: <https://www.mdpi.com/1660-3397/18/4/178>
261. Saeed El-Ashram, Lamia M. El-Samad, Amal A. Basha, Abeer El Wakil  
Naturally-derived targeted therapy for wound healing: Beyond classical strategies

- Pharmacological Research (2021), Volume 170, 105749  
Available from:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1043661821003339>
262. Hooi Leong Loo, Bey Hing Goh, Learn-Han Lee, Lay Hong Chuah  
Application of chitosan-based nanoparticles in skin wound healing  
*Asian Journal of Pharmaceutical Sciences* (2022), Volume 17, Issue 3, p. 299-332  
Available from:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1818087622000411>
263. Emilia Szymańska, Katarzyna Winnicka  
Stability of Chitosan—A Challenge for Pharmaceutical and Biomedical Applications  
*Marine Drugs* (2015), Volume 13, Issue 4, 1819  
Available from: <https://www.mdpi.com/1660-3397/13/4/1819>
264. Eduardo Guzmán Solís, Francisco Ortega, Ramón González Rubio  
Chitosan: A Promising Multifunctional Cosmetic Ingredient for Skin and Hair Care  
*Cosmetics* (2022), Volume 9, Issue 5, 0099  
Available from: <https://www.mdpi.com/2079-9284/9/5/99>
265. Carlo Bergonzi, Giovanna Gomez d'Ayala, Lisa Elviri, Paola Laurienzo, Antonella Bandiera, Ovidio Catanzano  
Alginate/human elastin-like polypeptide composite films with antioxidant properties for potential wound healing application  
*International Journal of Biological Macromolecules* (2020), Volume 164, p. 586-596  
Available from:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813020338381>
266. Sara Fonseca, Mariana Neves Amaral, Catarina Reis, Luísa Custódio  
Marine Natural Products as Innovative Cosmetic Ingredients  
*Marine Drugs* (2023), Volume 21, Issue 3, 0170  
Available from: <https://www.mdpi.com/1660-3397/21/3/170#B134-marinedrugs-21-00170>
267. Thiagarasaiyar, K., Goh, B.-H., Jeon, Y.-J., Yow, Y.-Y.  
Algae metabolites in cosmeceutical: An overview of current applications and challenges.  
*Mar. Drugs* (2020), 18, 323  
Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32575468/>
268. Internal Market, Industry, Entrepreneurship and SMEs  
Available online: [https://single-market-economy.ec.europa.eu/sectors/cosmetics/legislation\\_en](https://single-market-economy.ec.europa.eu/sectors/cosmetics/legislation_en)
269. Zero Waste Packaging Saves You More Than You Think.  
Available online: <https://www.billerud.com/managed-packaging/knowledge-center/articles/zero-waste-packaging-saves-money>