



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ**

**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ & ΠΡΟΝΟΙΑΣ**

**ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ**

**ΤΟΜΕΑΣ ΙΑΤΡΙΚΩΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΩΝ**



## **ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΔΕΙΚΤΩΝ ΑΙΜΟΛΥΣΗΣ ΥΠΟ ΤΗΝ**

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΝΑΝΟΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ**



**ΣΥΓΓΡΑΦΕΑΣ:**

**ΜΠΕΚΙΑΡΙ ΝΑΤΑΛΙΑ**

**Α.Μ.:20678208**

**ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ:**

**ΦΟΡΤΗΣ ΣΩΤΗΡΙΟΣ**

**ΑΚΑΔΗΜΑΪΚΟΣ ΥΠΟΤΡΟΦΟΣ, ΠΑΔΑ**



**UNIVERSITY OF WEST ATTICA**

**FACULTY OF HEALTH & CARE SCIENCES**

**DEPARTMENT OF BIOMEDICAL SCIENCES**

**DIVISION OF MEDICAL LABORATORIES**



**THESIS**

**LABORATORY STUDY OF HEMOLYSIS MARKERS UNDER THE INFLUENCE  
OF NANOSYSTEMS**



**WRITER:**

**BEKIARI NATALIA**

**Candidate number: 20678208**

**SUPERVISOR:**

**FORTIS SOTIRIOS**

**ACADEMIC ASSISTANT, UNIWA**



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ**

**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ & ΠΡΟΝΟΙΑΣ**

**ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ**

**ΤΟΜΕΑΣ ΙΑΤΡΙΚΩΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΩΝ**



**ΜΕΛΗ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ ΣΥΜΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΟΜΕΝΟΥ ΚΑΙ ΤΟΥ  
ΕΙΣΗΓΗΤΗ**

<b>ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ</b>	<b>ΒΑΘΜΙΔΑ/ΙΔΙΟΤΗΤΑ</b>	<b>ΨΗΦΙΑΚΗ ΥΠΟΓΡΑΦΗ</b>
<i>ΚΡΙΕΜΠΑΡΔΗΣ ΑΝΑΣΤΑΣΙΟΣ</i>	<i>ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ</i>	
<i>ΦΟΡΤΗΣ ΣΩΤΗΡΙΟΣ</i>	<i>ΑΚΑΔΗΜΑΪΚΟΣ ΥΠΟΤΡΟΦΟΣ</i>	
<i>ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΔΡΥΛΛΗΣ</i>	<i>ΕΠΙΚΟΥΡΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ</i>	

## *ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΓΡΑΦΕΑ*

Η κάτωθι υπογεγραμμένη ΜΠΕΚΙΑΡΙ ΝΑΤΑΛΙΑ του ΝΤΟΥΡΙΜ, με αριθμό μητρώου 20678208 φοιτήτρια του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής της Σχολής ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΠΡΟΝΟΙΑΣ του Τμήματος ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ , δηλώνω υπεύθυνα ότι:

«Είμαι συγγραφέας αυτής της διπλωματικής 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».

Η Δηλούσα

Μπεκιάρι Ναταλία



## *Περίληψη*

Τα ερυθρά αιμοσφαίρια, τα οποία διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στη μεταφορά οξυγόνου στους ιστούς, αποτελούν την πολυπληθέστερη ομάδα των κυττάρων του αίματος. Λόγω της υψηλής συγκέντρωσής τους στον οργανισμό, τα ερυθρά αιμοσφαίρια αλληλοεπιδρούν εκτενώς με ποικίλες βιολογικές δομές, επηρεάζοντας σημαντικά πολλές φυσιολογικές διαδικασίες. Έτσι κρίνεται αναγκαία η μελέτη της συμβατότητας καθώς και της απουσίας τοξικότητας στα διάφορα υλικά προκειμένου να εξασφαλιστεί η ασφάλεια και η αποτελεσματικότητα στη χρήση τους.

Το αλγινικό οξύ, ένα φυσικό πολυμερές που χρησιμοποιείται ευρέως σε φαρμακευτικά και ιατρικά προϊόντα λόγω της ικανότητάς του να ενθυλακώνει διάφορα φαρμακευτικά μόρια και από την άλλη η χρυσίνη, ένα φυσικό φλαβονοειδές με αντιοξειδωτικές και αντικαρκινικές ιδιότητες, ενσωματώνονται σε νανοσυστήματα ως φορείς φαρμάκων για τη μελέτη της αλληλεπίδρασής τους με τα ερυθρά αιμοσφαίρια. Η ενσωμάτωση τους σε νανοσυστήματα αποσκοπεί στην ελεγχόμενη απελευθέρωση τους στο σώμα, μεγιστοποιώντας την αποτελεσματικότητα και μειώνοντας τις πιθανές παρενέργειες στον οργανισμό.

Ο σκοπός της μελέτης αφορά την αξιολόγηση των νανοσυστημάτων ως προς την πρόκληση αιμόλυσης, δηλαδή την απελευθέρωση αιμοσφαιρίνης στο πλάσμα λόγω καταστροφή της ερυθροκυτταρικής μεμβράνης. Έτσι, μελετήθηκε η ελεύθερη αιμοσφαιρίνη πλάσματος και η μηχανική αντίσταση της ερυθροκυτταρικής μεμβράνης των ερυθρών, κάτι που θα υποδείξει πιθανές ανεπιθύμητες αντιδράσεις όταν τα νανοσυστήματα αυτά χρησιμοποιούνται σε βιοϊατρικές εφαρμογές. Τα αποτελέσματα της μελέτης δείχνουν ότι η αιμόλυση είναι περιορισμένη, υποδηλώνοντας καλή αιμοσυμβατότητα των νανοσυστημάτων και χαμηλή τοξικότητα του αλγινικού οξέος και της χρυσίνης, καθιστώντας τα κατάλληλα για περαιτέρω έρευνα και πιθανή χρήση σε θεραπευτικές εφαρμογές.

**Λέξεις κλειδιά:** ερυθροκύτταρο, αιμόλυση, νανοσύστημα, αλγινικό οξύ, χρυσίνη, αιμοσυμβατότητα, τοξικότητα

## *Abstract*

Red blood cells, which play a critical role in transporting oxygen to tissues, are the most numerous groups of blood cells. Due to their high concentration in the body, red blood cells interact extensively with a variety of biological structures, significantly influencing many physiological processes. Thus, it is necessary to study the compatibility and the absence of toxicity in the various materials in order to ensure safety and efficacy in their use.

Alginic acid, a natural polymer widely used in pharmaceutical and medical products due to its ability to encapsulate various drug molecules and on the other hand chrysin, a natural flavonoid with antioxidant and anticancer properties, are incorporated into nanosystems as drug carriers to study their interaction with red blood cells. Their incorporation into nanosystems aims at their controlled release into the body, maximising efficacy and reducing potential side effects in the body.

The purpose of the study is to evaluate whether these nanosystems can cause hemolysis, the procedure in which hemoglobin is released into plasma due to destruction of the erythrocyte membrane. Thus, plasma free hemoglobin and the mechanical resistance of the erythrocyte membrane of red blood cells were studied, which will indicate possible adverse reactions when these nanosystems are used in biomedical applications. The results of the study show that hemolysis is limited, suggesting good hemocompatibility of the nanosystems and low toxicity of alginic acid and chrysin, making them suitable for further research and possible use in therapeutic applications.

**Keywords:** erythrocyte, hemolysis, nanosystems, alginic acid, chrysin, hemocompatibility, toxicity.

## *Περιεχόμενα*

ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΓΡΑΦΕΑ.....	4
Περίληψη .....	5
Abstract.....	6
ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ.....	10
ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ ΕΙΚΟΝΩΝ .....	11
ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ.....	12
A. RBCs .....	13
A1. Γενικά για το αίμα .....	13
A1.1. Άμορφα συστατικά αίματος-Πλάσμα .....	14
A1.2. Έμμορφα Συστατικά Αίματος .....	15
A1.3. Αιμοπετάλια.....	15
A1.4 Λευκά Αιμοσφαίρια.....	15
A2. Ερυθρά Αιμοσφαίρια.....	16
Λειτουργία Ερυθρών Αιμοσφαιρίων .....	17
A3. Αιμοποίηση-Ερυθροποίηση .....	18
A4. Ερυθροκυτταρική Μεμβράνη.....	19
A4.1. Λιπιδική διπλοστιβάδα.....	20
A4.2 Πρωτεΐνες Ερυθροκυτταρικής Μεμβράνης .....	21
A4.2.1. Διαμεμβρανικές Πρωτεΐνες.....	21
A4.2.1.A. Κανάλι Ιόντων PIEZO1 & Κανάλι Gardos.....	22
A4.2.1.B. Ζώνη 3 .....	23
A4.3. Περιφερειακές Μεμβρανικές Πρωτεΐνες.....	23

A4.3.1. CD47.....	24
A4.3.2. Στοματίνη.....	25
A5. Κυτταροσκελετός.....	25
A5.1. Σπεκτρίνη.....	25
A5.2. Ακτίνη.....	26
A6. Αιμοσφαιρίνη .....	27
Ελεύθερη Αιμοσφαιρίνη.....	28
A7. Αιμόλυση .....	28
Μηχανική Ευθραυστότητα .....	29
B. NPs & Συμβατότητα .....	30
B1. Νανοτεχνολογία.....	30
B1.1. Νανοσωματίδια .....	30
B1.2. Φορείς Φαρμάκων.....	31
B1.3. Κατηγοριοποίηση NPs .....	32
B2. Πολυμερικά NPs .....	34
B2.1. Αλγινικό οξύ.....	35
B2.2. Χημική Δομή Αλγινικού .....	36
B2.3. Παράγοντες που επηρεάζουν της ιδιότητες του αλγινικού.....	36
B2.4. Ιδιότητες Αλγινικού Οξέος.....	38
B3. Χρυσίνη .....	39
B3.1. Βιολογικές Ιδιότητες Χρυσίνης.....	41
B3.2. Εγκλωβισμός Χρυσίνης.....	43
B4. NPs & Καρκίνος.....	44
B5. Τοξικότητα NPs .....	45



B6. Αιμοσυμβατότητα & NPs .....	47
Γ. Υλικά & Μέθοδοι:.....	51
Γ1. Σκοπός Εργασίας .....	51
Γ2. Όργανα & Αντιδραστήρια .....	51
Γ2.1. Συσκευές & Όργανα .....	51
Γ2.2. Χημικά Αντιδραστήρια .....	51
Γ2.3. Αναλώσιμα .....	52
Γ3. Προετοιμασία Δειγμάτων .....	52
Γ4. Εργαστηριακές Μέθοδοι.....	53
Γ4.1. Μέτρηση Ελεύθερης Αιμοσφαιρίνης ( Free Hb) – Κατά Harboe .....	53
Γ4.2. Μέτρηση Μηχανικής Ευθραυστότητας ( MFI):.....	53
Γ4.3. Στατιστική Επεξεργασία .....	54
Δ. Αποτελέσματα .....	55
Δ1. Αιματολογικό προφίλ .....	55
Δ2. Ελεύθερη Αιμοσφαιρίνη.....	57
Δ3. Μηχανική Αιμόλυση .....	58
Δ4. RDW, MCV, MCH & MCHC.....	59
Ε. Συζήτηση-Συμπεράσματα .....	61
Στ. Βιβλιογραφικές Αναφορές .....	64
Διαγράμματα & Πίνακες.....	75

## *ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ*

Η παρούσα ερευνητική εργασία πραγματοποιήθηκε την περίοδο Μάρτιος– Σεπτέμβριος 2024 στα πλαίσια εκπόνησης της διπλωματικής μου εργασίας στο Εργαστήριο Αξιοπιστίας και Ποιοτικού Ελέγχου (HemQcR) που ανήκει στο τμήμα των Βιοιατρικών Επιστημών του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής.

Ένα ιδιαίτερο ευχαριστώ στον κύριο Κριεμπάρδη Αναστάσιο, Υπεύθυνο του Εργαστηρίου, και στον Επιβλέποντα Καθηγητή μου, Φόρτη Σωτήριο, για την καθοδήγηση τους και για την εμπιστοσύνη που μου έδειξαν για να εκπονήσω την διπλωματική μου. Η εμπειρία αυτή ήταν πολύτιμη για την εξέλιξή μου. Παράλληλα, θα ήθελα να ευχαριστήσω την μεταπτυχιακή φοιτήτρια Κοσμά Μαρία-Ασπασία για την υποστήριξη και τη βοήθεια στο εργαστήριο. Η συνεργασία μας και η πολύτιμη συνεισφορά σου ήταν ανεκτίμητες για την πρόοδο της έρευνάς μου.

Στη συνέχεια, ευχαριστώ τους συμφοιτητές μου Λύμπερτη, Ειρήνη και Βαγγέλη που ήταν μαζί μου και έκαναν την καθημερινότητα πιο όμορφη. Τέλος, ευχαριστώ από καρδιάς την οικογένεια μου που δεν έλειψαν λεπτό από δίπλα μου και δεν σταμάτησαν ποτέ να με στηρίζουν και να μου δίνουν κουράγιο σε αυτό το όμορφο ταξίδι.

## ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ ΕΙΚΟΝΩΝ

**Εικόνα 1:** Διαχωρισμός στοιχείων αίματος σε ζώνες.....

**Σφάλμα! Δεν έχει οριστεί σελιδοδείκτης.**

**Εικόνα 2:** Ηλεκτρονική μικρογραφία σάρωσης ερυθροκυττάρων με φυσιολογικό σχήμα σε χαμηλή μεγέθυνση 2500x. Αναδιατύπωση από (Mustafa et al., 2016).....

**Σφάλμα! Δεν έχει οριστεί σελιδοδείκτης.**

**Εικόνα 3:** Απεικόνιση μιας τομής ενός αγγείου με όλες τις πιθανές κυτταρικές συνιστώσες. Αναδιατύπωση από (Pretini et al., 2019).....**Σφάλμα! Δεν έχει οριστεί**

**σελιδοδείκτης.**

**Εικόνα 4:** Απεικόνιση λιπιδικής διπλοστιβάδας. Αναδιατύπωση από (Pretini et al., 2019).....**Σφάλμα! Δεν έχει οριστεί σελιδοδείκτης.**

**Εικόνα 5:** Σχηματική αναπαράσταση της δομής της μεμβράνης των ερυθρών αιμοσφαιρίων (RBC) με τα κύρια λειτουργικά συστατικά. Αναδιατύπωση από (Y. Kim et al., 2017).....**Σφάλμα! Δεν έχει οριστεί σελιδοδείκτης.**

**Εικόνα 6:** Ρύθμιση της διαδικασίας φαγοκυττάρωσης μέσω της σύνδεσης CD47-SIRPα. Η αλληλεπίδραση του CD47 με το SIRPα στέλνει το σήμα «μη με καταβροχθίσεις», επιτρέποντας έτσι στα καρκινικά κύτταρα να αποφύγουν τη φαγοκυττάρωση από τους μακροφάγα. Αναδιατύπωση από (Huang et al., 2020).....

**Σφάλμα! Δεν έχει οριστεί σελιδοδείκτης.**

**Εικόνα 7:** Απεικόνιση Μορίου Αιμοσφαιρίνης. Αναδιατύπωση από (Ahmed et al., 2020)..

**Σφάλμα! Δεν έχει οριστεί σελιδοδείκτης.**

**Εικόνα 8:** Σχηματική απεικόνιση διαφόρων νανοσωματιδίων ανόργανης βάσης, νανοσωματιδίων με βάση τον άνθρακα, νανοσωματιδίων με βάση τα λιπίδια και πολυμερών νανοσωματιδίων.

Αναδιατύπωση από (Xu et al., 2022).....

**Σφάλμα! Δεν έχει οριστεί σελιδοδείκτης.4**

**Εικόνα 9:** Χημική δομή αλγινικού οξέος. Αναδιατύπωση από (Bibi et al., 2019).....

**Σφάλμα! Δεν έχει οριστεί σελιδοδείκτης.**

**Εικόνα 10:** Απεικόνιση των θεραπευτικών ιδιοτήτων της χρυσίνης. Αναδιατύπωση από (Mani & Natesan, 2018)..... 40

O <sub>2</sub>	Οξυγόνο	PE	Φωσφατιδυλαιθανολαμίνη
CO <sub>2</sub>	Διοξείδιο του άνθρακα	IL	Ιντερλευκίνες
Hb	Αιμοσφαιρίνη	PC	Φωσφατιδυλοχολίνη
MFI	Δείκτης μηχανικής ευθραυστότητας	SM	Σφιγγομυελίνη
NPs	Νανοσωματίδια	EPO	Ερυθροποιητίνη
PI, PIP, PIP2	Φωσφοϊνοσιτίδια	Hct	Αιματοκρίτης
RBCs	Ερυθρά αιμοσφαίρια	PS	Φωσφατιδυλοσερίνη
RT	Θερμοκρασία Δωματίου	TPO	Θρομβοποιητίνη

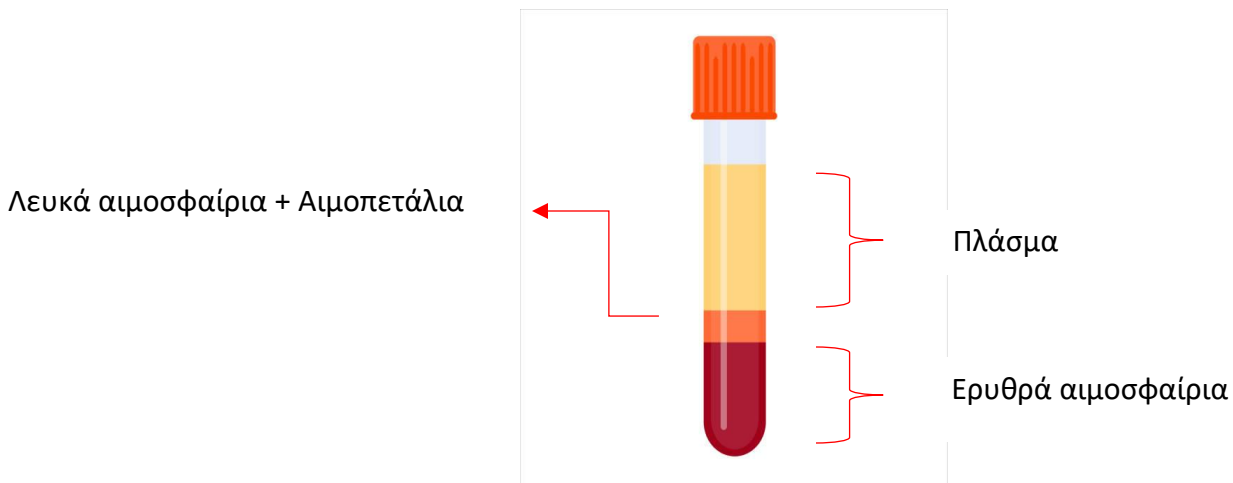
**Εικόνα 11:** Χημική δομή χρυσίνης. Αναδιατύπωση από (S. Kim et al., 2023).....41

## ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

## A. RBCs

### A1. Γενικά για το αίμα

Το αίμα είναι συνδετικός ιστός ερυθρού χρώματος που απαντάται στο καρδιαγγειακό σύστημα των πολυκύτταρων οργανισμών. Αποτελείται από το πλάσμα και τα έμμορφα συστατικά του , όπου είναι τα αιμοπετάλια, τα ερυθρά και τα λευκά αιμοσφαίρια. Σε περίπτωση που ένα σωληνάριο με αίμα αφεθεί σε ηρεμία για λίγη ώρα, παρατηρούμε σαφή διαχωρισμό καθώς στον πυθμένα θα καθιζάνουν τα ερυθρά αιμοσφαίρια με το χαρακτηριστικό κόκκινο χρώμα, στην επιφάνεια θα προκύψει μία στοιβάδα υποκίτρινου χρώματος που θα περιέχει το πλάσμα ενώ το ενδιάμεσο στρώμα αποτελείται από τα λευκά αιμοσφαίρια και τα αιμοπετάλια (Laura Dean, n.d.; Silverthorn, 2018).



**Εικόνα 1:** Διαχωρισμός στοιχείων αίματος σε ζώνες.

Ο ζωντανός αυτός ιστός βοηθάει στη σωστή λειτουργία του οργανισμού. Ένας από τους ρόλους του είναι η μεταφορά οξυγόνου και θρεπτικών συστατικών στα κύτταρα του οργανισμού, προκειμένου να επιτελέσουν τις βασικές λειτουργίες τους αλλά και η απομάκρυνση των παραπροϊόντων του μεταβολισμού τους, λόγω χάρη διοξείδιο του άνθρακα. Επιπλέον, δίνεται η δυνατότητα μέσω της κυκλοφορίας του αίματος η διασπορά κυττάρων ανοσίας σε περιόδους λοίμωξης προκειμένου να επιτευχθεί ανοσία (Bryk & Wiśniewski, 2017).

### *Α1.1. Άμορφα συστατικά αίματος-Πλάσμα*

Το πλάσμα αποτελεί το 7% του σωματικού βάρους ενός φυσιολογικού ατόμου ενώ ταυτόχρονα αντιπροσωπεύει περίπου το 50% της ποσότητας του ολικού αίματος. Περίπου 92% του εξωκυττάριου αυτού υγρού είναι νερό ενώ το υπόλοιπο 8% ανόργανα στοιχεία και πρωτεΐνες (Trejo-Soto et al., 2022). Το χρώμα του είναι υποκίτρινο λόγω αποδόμησης της αιμοσφαιρίνης και απελευθέρωση της χολερυθρίνης.

Οι λευκωματίνες ή αλλιώς αλβουμίνες, παράγονται στο ήπαρ και λειτουργούν ως μεταφορείς λιπαρών οξέων και στεροειδών ορμονών. Επιπλέον, συμβάλλουν στη ρύθμιση της ωσμωτικής πίεσης του αίματος, διατηρώντας σταθερό τον όγκο και την πίεσή του. Από την άλλη πλευρά οι σφαιρίνες διακρίνονται σε τρεις κατηγορίες: α, β και γ. Οι α και β σφαιρίνες, επίσης παραγόμενες από το ήπαρ, μεταφέρουν σίδηρο, λιπίδια και βιταμίνες στα κύτταρα και συμβάλλουν όπως και οι αλβουμίνες στην ωσμωτική πίεση του αίματος. Οι γ σφαιρίνες, γνωστές και ως ανοσοσφαιρίνες, παράγονται από τα πλασματοκύτταρα και είναι σημαντικές για την άμυνα του οργανισμού. Η τρίτη κατηγορία πρωτεϊνών του πλάσματος, το ινωδογόνο, παράγεται από το ήπαρ και είναι υπεύθυνη για την πήξη του αίματος (Kirk et al., 2014).

Όλες οι πρωτεΐνες ιδιαίτερα όμως το ινωδογόνο δημιουργούν συσσωματώματα ερυθρών, γνωστά ως Rouleaux, ο οποίος σχηματισμός είναι σημαντικός επειδή προκαλεί το ιξώδες του αίματος να εξαρτάται από το ρυθμό διάτμησης στον οποίο εκτίθεται (Trejo-Soto et al., 2022).

### *A1.2. Έμμορφα Συστατικά Αίματος*

Από την άλλη πλευρά, τα έμμορφα στοιχεία του αίματος που παράγονται στον μυελό των οστών με την διαδικασία της αιμοποίησης, είναι τα ερυθρά αιμοσφαίρια, τα λευκά αιμοσφαίρια και τα αιμοπετάλια. Τα λευκά αιμοσφαίρια παράλληλα διαφοροποιούνται σε 5 υποκατηγορίες: ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρρηνα, ηωσινόφιλα, λεμφοκύτταρα, μονοκύτταρα και βασεόφιλα (Silverthorn, 2018).

### *A1.3. Αιμοπετάλια*

Αρχικά τα αιμοπετάλια ή αλλιώς θρομβοκύτταρα είναι απύρρηνα κύτταρα μεγέθους 2-3 mm που προέρχονται από θραύσματα των μεγακαρυοκυττάρων. Έχουν αμφίκυρτη δισκοειδή μορφή όπως υποδηλώνει και το όνομα τους ενώ παράλληλα είναι άχρωμα. Ανιχνεύονται μέσα στην κυκλοφορία του αίματος και στον σπλήνα ο οποίος λειτουργεί σαν μια φυσική αποθήκη ενώ το όριο ζωής τους είναι 10 ημέρες (Olia et al., 2016). Πρωταρχικός τους ρόλος είναι η συμμετοχή τους στην Πρωτογενή Αιμόσταση, βοηθώντας στη δημιουργία θρόμβου προς αποφυγή αιμορραγίας. Ο φυσιολογικός αριθμός αιμοπεταλίων στο αίμα είναι  $150-450 \times 10^9/L$  στο S.I (Fung et al., 2019).

### *A1.4 Λευκά Αιμοσφαίρια*

Στη συνέχεια έχουμε τα λευκά αιμοσφαίρια ή λευκοκύτταρα που όπως αναφέρθηκε και παραπάνω υπάρχουν 5 διαφορετικές κατηγορίες. Είναι κύτταρα λευκού χρώματος που το μέγεθος και το σχήμα ποικίλλει ανάλογα με την κατηγορία. Παράγονται και αυτά στον μυελό των οστών και ανιχνεύονται πέρα από το αίμα και στο λεμφικό ιστό. Ο φυσιολογικός συνολικός αριθμός των λευκοκυττάρων είναι  $4,3-11,3 \times 10^9/L$  στο S.I (Fung et al., 2019). Τα κύτταρα αυτά είναι υπεύθυνα για την ανοσοβιολογική απόκριση του οργανισμού, προστατεύοντας τον από την εισβολή παθογόνων μικροοργανισμών, όπως είναι τα βακτήρια, τα παράσιτα και οι ιοί αλλά και στην περίπτωση που ο εισβολέας έχει εγκατασταθεί βοηθάει στην καταπολέμηση της λοίμωξης. Έτσι, όταν ένα άτομο έχει αυξημένο αριθμό λευκών αιμοσφαιρίων χρήζει αναζήτησης για τυχόν λοίμωξη, φλεγμονή ή και λευχαιμία. Πέρα από την κατηγοριοποίηση που αναφέρθηκε

παραπάνω μπορούμε να ομαδοποιήσουμε τα κύτταρα και σε 2 κατηγορίες αναλόγως την ύπαρξη κοκκίων στο κυτταρόπλασμα τους έπειτα από ειδική χρώση: στα κοκκιοκύτταρα που κατατάσσονται τα πολυμορφοπύρρηνα ουδετερόφιλα, τα βασεόφιλα και τα ηωσινόφιλα και στα ακοκκιοκύτταρα που κατατάσσονται τα λεμφοκύτταρα και τα μονοκύτταρα.

Αρχικά η μεγαλύτερη αριθμητικά κατηγορία λευκών αιμοσφαιρίων είναι τα ουδετερόφιλα που αποτελούν το 40-75% των λευκοκυττάρων. Τα κύτταρα αυτά έχουν διάμετρο 9-15 μm και έχουν πολύλοβο πυρήνα ο οποίος μπορεί να διαχωριστεί σε 3 έως και 5 τμήματα ακανόνιστου μεγέθους. Για τον λόγο αυτό ονομάζονται επίσης και πολυμορφοπύρρηνα ουδετερόφιλα. Η επόμενη κατηγορία με ποσοστό ανίχνευσης 20-40% είναι τα λεμφοκύτταρα. Η διάμετρος του μπορεί να είναι 7-8 ή 12-18 μm ενώ διαφοροποιούνται σε 3 κατηγορίες: T-λεμφοκύτταρα και B-λεμφοκύτταρα και φυσικά δολοφόνα κύτταρα. Άλλη ομάδα είναι τα μονοκύτταρα όπου αποτελούν το 2-8% με διάμετρο 12-20 μm. Είναι ακοκκιοκύτταρα όπως και τα λεμφοκύτταρα ενώ γίνονται λειτουργικά μόνο όταν εγκαταλείψουν το αίμα. Έπειτα έχουμε τα ηωσινόφιλα όπου αποτελούν το 1-4% με διάμετρο 9-15 μm. Έχουν λοβωτούς πυρήνες με κοκκία που είναι τους είναι μεγάλα, σφαιρικά, με πορτοκαλί εμφάνιση. Τέλος, είναι τα βασεόφιλα με ποσοστό ανίχνευσης 0,4% και διάμετρο 2-16 μm. Τα μεγάλα αυτά κύτταρα επάγονται στην κατηγορία των κοκκιοκυττάρων και έχουν το χαρακτηριστικό μπλε χρώμα (Prinyakurt & Pluempitiwiriyawej, 2015; Tigner et al., 2024).

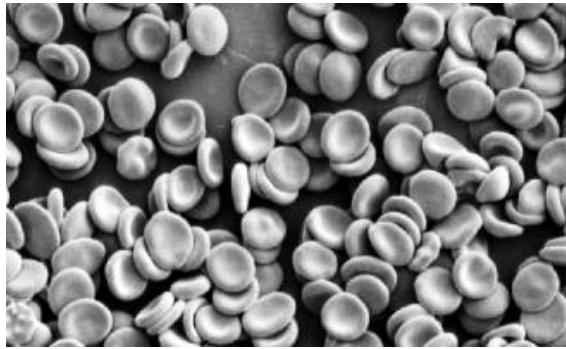
## *A2. Ερυθρά Αιμοσφαίρια*

Τα ερυθρά αιμοσφαίρια ή αλλιώς ερυθροκύτταρα (RBC) είναι η ομάδα κυττάρων με την μεγαλύτερη συγκέντρωση στο αίμα που όπως προιδεάζει και το όνομα έχουν ερυθρό χρώμα. Συνήθως η διάρκεια ζωής τους είναι  $120 \pm 20$  ημέρες ενώ ο αριθμός τους διαφέρει μεταξύ των δύο φύλων. Πιο αναλυτικά στα αρσενικά άτομα ο αριθμός των ερυθρών υπολογίζεται στο  $4.7 \times 10^6$  με  $6.1 \times 10^6$  ενώ στα θηλυκά άτομα  $4.2 \times 10^6$  to  $5.4 \times 10^6$  (Dzierzak & Philipsen, 2013). Η αναιμία εμφανίζεται όταν τα επίπεδα των ερυθρών αιμοσφαιρίων στον οργανισμό είναι χαμηλά, οδηγώντας σε συμπτώματα όπως αδυναμία, κόπωση και άλλα υγειονομικά προβλήματα. Κάθε δευτερόλεπτο παράγονται περίπου 2 με 3 εκατομμύρια ερυθρά από τον



μυελό των οστών και απελευθερώνονται στην κυκλοφορία τους προκειμένου να υλοποιήσουν διάφορες λειτουργίες.

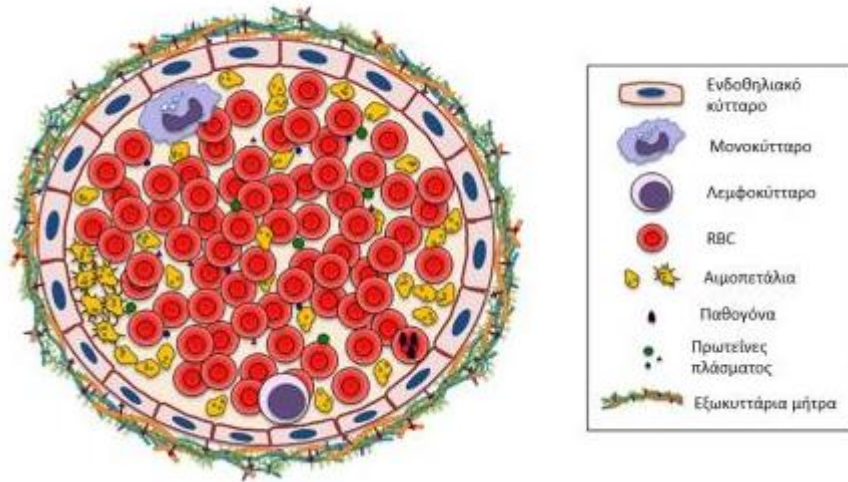
Η μορφή τους είναι δισκοειδής και αμφίκοιλη, γεγονός που τους επιτρέπει να αλλάζουν σχήμα ως απάντηση στις ωσμωτικές μεταβολές του αίματος (Silverthorn, 2018). Μελέτες έχουν δείξει ότι στα αρσενικά άτομα το μέγεθος του ερυθρού αιμοσφαιρίου μπορεί να είναι έως και 20% μεγαλύτερο σε σύγκριση με τα θηλυκά άτομα (Trejo-Soto et al., 2022).



*Εικόνα 2: Ηλεκτρονική μικρογραφία σάρωσης ερυθροκυττάρων με φυσιολογικό σχήμα σε χαμηλή μεγέθυνση 2500x. Αναδιατύπωση από (Mustafa et al., 2016).*

### *Λειτουργία Ερυθρών Αιμοσφαιρίων*

Παρά το γεγονός ότι τα ερυθρά αιμοσφαίρια δεν διαθέτουν οργανίδια ή πυρήνα, παίζουν καθοριστικό ρόλο στον ανθρώπινο οργανισμό (Antonelou et al., 2022). Η κύρια λειτουργία τους είναι η μεταφορά  $O_2$  από τους πνεύμονες σε όλα τα κύτταρα προκειμένου να επιτελέσουν τις λειτουργίες τους αλλά και την απομάκρυνση του  $CO_2$  από τον οργανισμό. Έτσι, προκειμένου να μεταφέρουν όσο περισσότερο  $O_2$  μπορούν, τα ώριμα ερυθροκύτταρα των ανθρώπων δεν διαθέτουν πυρήνα (Dean Laura, n.d.). Σε αυτή την λειτουργία συμμετέχει ενεργά η αιμοσφαιρίνη, η οποία είναι μια πρωτεΐνη που ανιχνεύεται περιφερικά στα ερυθροκύτταρα. Η πρωτεΐνη αυτή συνδέεται με το οξυγόνο και βοηθάει στην μεταφορά του προς τα κύτταρα ενώ παράλληλα είναι υπεύθυνη για το ερυθρό χρώμα του αίματος (Ahmed et al., 2020).



**Εικόνα 3:** Απεικόνιση μιας τομής ενός αγγείου με όλες τις πιθανές κυτταρικές συνιστώσες. Αναδιατύπωση από (Pretini et al., 2019).

### *A3. Αιμοποίηση-Ερυθροποίηση*

Με τον όρο αιμοποίηση εννοούμε την διαδικασία παραγωγής των κυττάρων του αίματος. Η διαδικασία αυτή λαμβάνει χώρα στο κεντρικό όργανο αιμοποίησης, τον μυελό των οστών με τη δράση διάφορων κυτταροκινών και παραγόντων διέγερσης αποικιών. Οι κυτταροκίνες είναι πρωτεΐνες που απελευθερώνονται από ένα κύτταρο και επιδρούν στην αύξηση κάποιου άλλου γειτονικού κυττάρου με πιο γνωστές τις ιντερλευκίνες (IL), την ερυθροποιητίνη (EPO) και την θρομβοποιητίνη (TPO) (Silverthorn, 2018).

Η διαδικασία αυτή ξεκινάει κατά την διάρκεια της εμβρυϊκής ανάπτυξης και ακολουθεί τον άνθρωπο για όλη του την ζωή. Όλα τα κύτταρα του αίματος έχουν προέλθει από αλληπάλληλες διαφοροποιήσεις ενός πολυδύναμου αιμοποιητικού βλαστοκυττάρου. Η διαδικασία αυτή λαμβάνει χώρα σε ένα τρισδιάστατο δίκτυο, το οποίο αποτελείται από κύτταρα μεσεγχυματικής, νευρικής και αγγειακής προέλευσης. Τα κύτταρα αυτά σχηματίζουν ένα ικρίωμα υποστήριξης για την ανάπτυξη και ωρίμανση των ερυθροβλαστών, των πρόδρομων ερυθρών αιμοσφαιρίων δηλαδή. Κατά την ωρίμανση των ερυθροβλαστών, τα κύτταρα περνούν

από διάφορα στάδια: βασεόφιλοι ερυθροβλάστες, πολυχρωματόφιλοι ερυθροβλάστες και ορθοχρωματικοί ερυθροβλάστες.

Στο τελικό στάδιο, οι ορθοχρωματικοί ερυθροβλάστες χάνουν τον πυρήνα τους μέσω της εκπυρήνωσης, σχηματίζοντας δικτυοερυθροκύτταρα. Έπειτα εντός 24 ωρών τα δικτυοερυθροκύτταρα διέρχονται από το μυελό των οστών στη κυκλοφορία του αίματος και μετατρέπονται σε ώριμα ερυθροκύτταρα με αποτέλεσμα να υπόκεινται σε απώλεια περίπου 20% της πλασματικής μεμβράνης τους καθώς και των βασικών οργανιδίων, όπως τα μιτοχόνδρια και τα ριβοσώματα. Έτσι, αποκτούν το χαρακτηριστικό αμφίκυκλο δισκοειδές σχήμα με διάμετρο 7μm. Εν κατακλείδι, η μορφή αυτή δίνει τη δυνατότητα στα ερυθρά να παραμορφώνονται και να αυξάνουν την ελαστικότητά τους. Ως εκ τούτου, η μεμβράνη των ερυθροκυττάρων είναι ο καθοριστικός παράγοντας που δίνει στα κύτταρα την δυνατότητα διέλευσης μέσα στα στενά τριχοειδή αγγεία (Pretini et al., 2019; Silverthorn, 2018).

#### *A4. Ερυθροκυτταρική Μεμβράνη*

Τα ερυθροκύτταρα διαθέτουν έναν είδος μεμβράνης, την κυτταροπλασματική, η οποία διαχωρίζει το εσωτερικό του κυττάρου από το εξωτερικό περιβάλλον. Καθώς είναι το μόνο δομικό συστατικό του κυττάρου, διαθέτει μηχανικές ιδιότητες όπως ανθεκτικότητα και ευκαμψία σε περιπτώσεις όπου χρήζει αναγκαία η παραμόρφωση. Αν και αντιπροσωπεύει μόνο το 1% του μη πυρηνικού ερυθροκυττάρου, είναι απαραίτητη για την διατήρηση της ακεραιότητας του κυττάρου. Η μεμβράνη αυτή αποτελείται από είναι μία ασύμμετρη λιπιδική διπλοστιβάδα που αποτελείται από πρωτεΐνες και λιπίδια, αποτελώντας ένα άριστο μοντέλο «ρευστού μωσαϊκού» και από τον κυτταροσκελετό, ο οποίος είναι ένα κλειστό, δύο διαστάσεων δίκτυο από τετραμερή σπεκτρίνης.

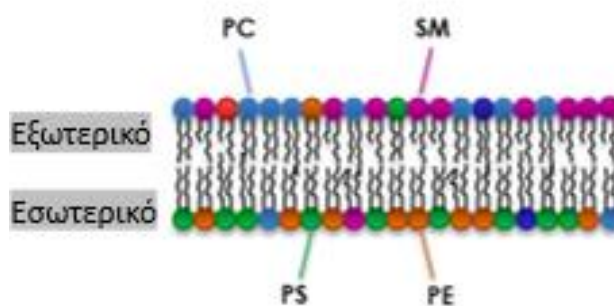
Βάσει αυτού του μοντέλου, οι μεμβρανικές πρωτεΐνες αποτελούν μια ετερογενή ομάδα σφαιρικών μορίων με αμφίφυλη δομή. Οι ιονικές και πολικές ομάδες των πρωτεϊνών εκτείνονται προς την υδατική φάση, ενώ οι μη πολικές ομάδες βρίσκονται κυρίως ενσωματωμένες στο υδρόφοβο εσωτερικό της μεμβράνης. Αυτά τα μόρια ενσωματώνονται σε

μα μήτρα φωσφολιπιδίων, η οποία είναι οργανωμένη ως μια ρευστή διπλοστιβάδα. Μολονότι ένα μικρό ποσοστό των λιπιδίων μπορεί να αλληλεπιδρά ειδικά με τις μεμβρανικές πρωτεΐνες, η ρευστή μωσαϊκή δομή μοιάζει με μια δισδιάστατη διάταξη διαλυμένων λιποπρωτεϊνών στο ιξώδες διάλυμα φωσφολιπιδίων (Singer & Nicolson, 1972).

#### *A4.1. Λιπιδική διπλοστιβάδα*

Η λιπιδική διπλοστιβάδα όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, αποτελείται από δύο στρώματα λιπιδίων, τα οποία έχουν υδρόφιλες κεφαλές που κοιτάζουν προς τα έξω και υδρόφοβες ουρές που κοιτάζουν προς τα μέσα. Αυτός ο σχεδιασμός επιτρέπει στη διπλοστιβάδα να λειτουργεί ως επιλεκτικό εμπόδιο, επιτρέποντας τη μετακίνηση συγκεκριμένων ουσιών ενώ κρατά άλλες εκτός. Τα λιπίδια που συμμετέχουν είναι η χοληστερόλη και τα φωσφολιπίδια σε ίση αναλογία (Mohandas & Gallagher, 2008).

Υπάρχουν 4 διαφορετικά φωσφολιπίδια που κατανέμονται ασύμμετρα στα 2 στρώματα σε σύγκριση με την χοληστερόλη: Η σφιγγομυελίνη (sphingomyelin, SM), η φωσφατιδυλοχολίνη (phosphatidylcholin, PC), η φωσφατιδυλοσερίνη (phosphatidylserine, PS) και η φωσφατιδυλαιθανολαμίνη (phosphatidylethanolamine, PE). Οι δύο πρώτες ανιχνεύονται στην εξωτερική μεμβράνη με ποσοστό 23% και 27% αντίστοιχα ενώ η φωσφατιδυλοσερίνη και η φωσφατιδυλαιθανολαμίνη ανιχνεύονται στην εσωτερική μεμβράνη με ποσοστό 15% και 30%. Στην εσωτερική μεμβράνη ανιχνεύονται και τα φωσφοϊνοσιτίδια (PI,PIP,PIP<sub>2</sub>) σε ποσοστό 5% (Pretini et al., 2019). Η διπλοστιβάδα απεικονίζεται σχηματικά στην **Εικόνα 4**.



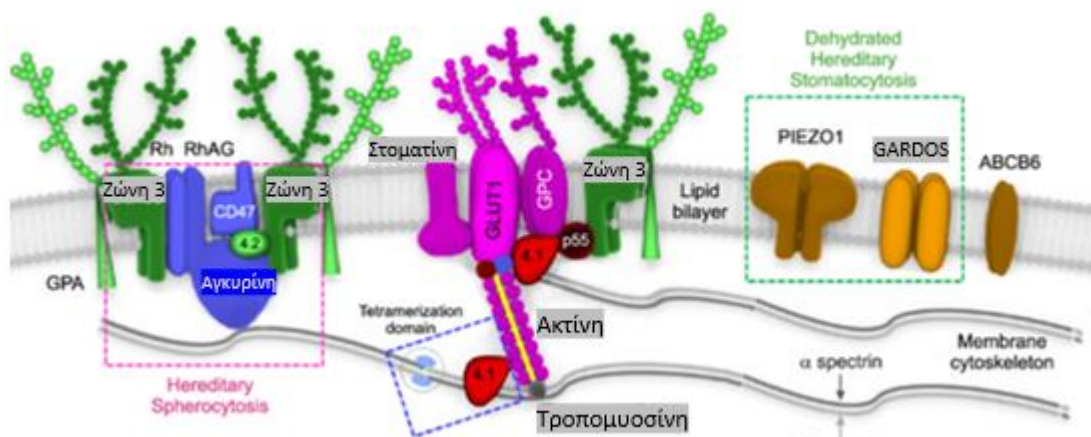
**Εικόνα 4:** Απεικόνιση λιπιδικής διπλοστιβάδας.

Αναδιατύπωση από (Pretini et al., 2019).

Τα παραπάνω λιπίδια μεταφέρονται με την βοήθεια κάποιων πρωτεϊνών της στοιβάδας, οι οποίες είναι οι φλιππάσες, οι φλοππάσες και σκραμπλάσες. Η ασύμμετρη κατανομή των λιπιδίων έχει σημαντική κλινική σημασία για το ερυθρό αιμοσφαίριο. Η PS όπως αναφέρθηκε, είναι λιπίδιο στο εσωτερικό στρώμα αν μεταφερθεί στο εξωτερικό στρώμα όμως ανιχνεύεται ως αποπτωτικός δείκτης και φαγοκυτταρώνονται από τα μακροφάγα (Hankins et al., 2015).

#### A4.2 Πρωτεΐνες Ερυθροκυτταρικής Μembrάνης

Οι πρωτεΐνες της ερυθροκυτταρικής μεμβράνης κατατάσσονται σε 3 κατηγορίες ανάλογα την τοποθεσία τους. Έτσι, έχουμε τις διαμεμβρανικές, τις περιφερειακές και τις μεμβρανοσυνδεδεμένες.



**Εικόνα 5:** Σχηματική αναπαράσταση της δομής της μεμβράνης των ερυθρών αιμοσφαιρίων (RBCs) με τα κύρια λειτουργικά συστατικά. Αναδιατύπωση από (Y. Kim et al., 2017).

##### A4.2.1. Διαμεμβρανικές Πρωτεΐνες

Στις διαμεμβρανικές πρωτεΐνες εντάσσονται το κανάλι κατιόντων PIEZO 1, η πρωτεΐνη ζώνη 3 ή διάυλος ανταλλαγής κατιόντων (Band 3), το κανάλι Gardos, η γλυκοπρωτεΐνη του αντιγόνου Rhesus (RhAg), ο μεταφορέας γλυκόζης (GLUT1), το διακυτταρικό μόριο προσκόλλησης 4 (ICAM-

4), η υδατοπορίνη (AQP1), τα αντιγόνα Kidd, οι γλυκοφορίνες A,B,C,D, η γλυκοπρωτεΐνη Landsteiner-Wiener (LW) και οι ATPάση  $\text{Na}^+\text{-K}^+$ , ATPάση  $\text{Ca}^{2+}$  (Mohandas & Gallagher, 2008a).

Οι παραπάνω πρωτεΐνες συμβάλλουν στην δομική σταθερότητα των ερυθρών και δρουν ως μεταφορείς ιόντων, σημάτων αλλά και αποβλήτων. Παράλληλα, αλληλοεπιδρούν με άλλα κύτταρα του αίματος ενώ μεγάλο μέρος αυτών των πρωτεϊνών καθορίζουν τα διάφορα αντιγόνα των ομάδων αίματος.

#### *A4.2.1.A. Κανάλι Ιόντων PIEZO1 & Κανάλι Gardos*

Οι μηχανικά ευαίσθητοι διάυλοι ιόντων PIEZO είναι μεμβρανικές πρωτεΐνες που σχηματίζουν έναν πόρο που επιτρέπει τη διέλευση ιόντων. Έχουν διατηρηθεί κατά την εξέλιξη και παίζουν σημαντικό ρόλο στη φυσιολογική λειτουργία των ζωντανών κυττάρων και οργανισμών (Zhou & Martinac, 2023). Το Piezo1 είναι ένας μηχανικής μεταγωγής ευέλικτος διάυλος για την έναρξη της σηματοδότησης  $\text{Ca}^{2+}$  σε διάφορους μη διεγέρσιμους τύπους κυττάρων, όπου μετατρέπει τις μηχανικές δυνάμεις σε βιολογικά σήματα (Jiang et al., 2021). Η μοναδική δομή τους επιτρέπει την άμεση απόκριση σε μηχανικά ερεθίσματα, με αποτέλεσμα την άνοιγμα ή το κλείσιμο του καναλιού σε απόκριση σε αλλαγές της τάσης στη μεμβράνη. Έτσι, δημιουργούνται ηλεκτρικά σήματα, τα οποία είναι κρίσιμα για βιολογικές δραστηριότητες όπως διατήρηση της ομοιόστασης των ερυθροκυττάρων (Bagriantsev et al., 2014).

Το κανάλι Gardos, επίσης γνωστό ως KCNN4, είναι κανάλι καλίου που ενεργοποιείται από ασβέστιο και βρίσκεται σε μικρό αριθμό στη μεμβράνη των ερυθρών αιμοσφαιρίων, περίπου 10 κανάλια ανά κύτταρο. Παίζει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση του όγκου των ερυθροκυττάρων. Το κανάλι Gardos ενεργοποιείται από την πρωτεΐνη PIEZO1, όπου όπως αναφέρθηκε και παραπάνω αυξάνει τα επίπεδα ενδοκυττάρου ασβεστίου, επιτρέποντας στα κύτταρα να ανταποκρίνονται σε μηχανικά ερεθίσματα (Cahalan et al., 2015; Gallagher, 2017; Pretini et al., 2019).

Συνοψίζοντας, τα κανάλια ιόντων PIEZO1 και Gardos είναι κρίσιμα για την κανονική λειτουργία των κυττάρων και την προσαρμογή σε περιβαλλοντικές αλλαγές.

### *A4.2.1.B. Ζώνη 3*

Η ζώνη 3 ή ανταλλάκτης ιόντων 1 (AE1) είναι η κύρια γλυκοπρωτεΐνη της μεμβράνης των ερυθροκυττάρων με μοριακό βάρος 100 kDa. Η κύρια λειτουργία της πρωτεΐνης αυτής είναι η ανταλλαγή χλωριούχων ( $\text{Cl}^-$ ) και διττανθρακικών ιόντων ( $\text{HCO}_3^-$ ), διευκολύνοντας έτσι την αποτελεσματική αναπνοή. Στους ιστούς, το διοξείδιο του άνθρακα ( $\text{CO}_2$ ) μετατρέπεται σε διττανθρακικό από την καρβονική ανυδράση II (CAII)(Reithmeier et al., 2016). Στους πνεύμονες, αυτή η διαδικασία αντιστρέφεται, επιτρέποντας την αποβολή του  $\text{CO}_2$  κατά την εκπνοή. Η ζώνη 3 περιλαμβάνει ένα N-τελικό κυτταροπλασματικό τμήμα, που προσδένεται στον κυτταροσκελετό και τη δεοξυαιμοσφαιρίνη, και ένα C-τελικό τμήμα που λειτουργεί ως κανάλι ανταλλαγής ανιόντων. Η ζώνη 3 διαδραματίζει επίσης σημαντικό ρόλο στην απομάκρυνση παλαιών ερυθρών αιμοσφαιρίων μέσω αναγνώρισης αντιγόνων από μακροφάγα (Pretini et al., 2019). Το οργανωτικό της μοντέλο περιλαμβάνει επίσης τη σύνδεση γλυκολυτικών ενζύμων, σχηματίζοντας ένα μεταβολικό σύμπλεγμα που ενισχύει την παραγωγή ATP υπό υποξικές συνθήκες (Lux, 2016).

Συνοψίζοντας, η ζώνη 3 είναι ουσιαστική για την ομοιόσταση και τη λειτουργία των ερυθρών αιμοσφαιρίων, με επιπτώσεις στη φυσιολογία και παθοφυσιολογία διαφόρων αιματολογικών και μεταβολικών διαταραχών.

### *A4.3. Περιφερειακές Μεμβρανικές Πρωτεΐνες*

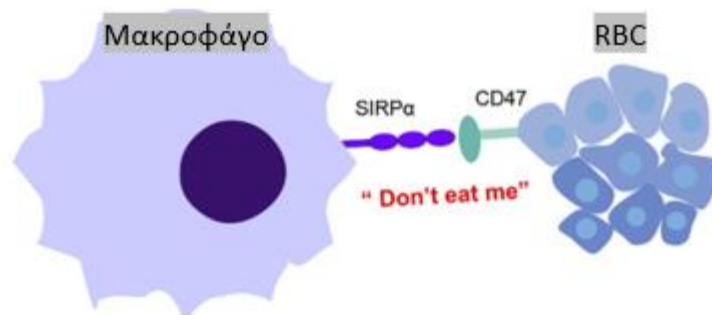
Στις περιφερειακές μεμβρανικές πρωτεΐνες κατατάσσονται οι πρωτεΐνες CD47 και η στοματίνη. Αυτές οι πρωτεΐνες δεν διαπερνούν την κυτταρική μεμβράνη αλλά προσδένονται στην εσωτερική πλευρά της, προσδίδοντας δομική ακεραιότητα και ευκαμψία στα ερυθρά αιμοσφαίρια.



### A4.3.1. CD47

Η μεμβρανική πρωτεΐνη CD47 είναι ρυθμιστικός παράγοντας, αναστέλλοντας την φαγοκυττάρωση των ερυθροκυττάρων από τα μακροφάγα. Έχοντας έλθει σε επαφή με τον υποδοχέα SIRPα (Signal Regulatory Protein Alpha) που βρίσκεται στην επιφάνεια των μακροφάγων, αποστέλλει σήμα «don't eat me» (Εικόνα 6) (Burger et al., 2012). Αυτή η σχέση βοηθά στη διατήρηση της αυτοανοχής και προστατεύει τα υγιή κύτταρα από την καταστροφή αλλά και την πρόληψη της αιμολυτικής αναιμίας.

Η CD47 λειτουργεί ως δείκτης του "εαυτού" στα ερυθρά αιμοσφαίρια, βοηθώντας το ανοσοποιητικό σύστημα να διακρίνει ξένα κύτταρα από τα κύτταρα του ίδιου του οργανισμού. Αντίθετα, ερυθρά αιμοσφαίρια χωρίς CD47 απομακρύνονται ταχέως από την κυκλοφορία, δείχνοντας ότι η απουσία CD47 σηματοδοτεί την καταστροφή των κυττάρων ως "ξένα". Αυτή η λειτουργία υποδηλώνει ότι τα μακροφάγα αξιοποιούν την παρουσία του CD47 για να αποφασίσουν αν θα καταστρέψουν τα κύτταρα (Oldenborg et al., 2000).



**Εικόνα 6:** Ρύθμιση της διαδικασίας φαγοκυττάρωσης μέσω της σύνδεσης CD47-SIRPα. Η αλληλεπίδραση του CD47 με το SIRPα στέλνει το σήμα "μη με καταβροχθίσεις", επιτρέποντας έτσι στα καρκινικά κύτταρα να αποφύγουν την φαγοκυττάρωση από τα μακροφάγα. Αναδιατύπωση από (Huang et al., 2020).



#### *A4.3.2. Στοματίνη*

Η στοματίνη είναι μια πρωτεΐνη της μεμβράνης που παίζει καθοριστικό ρόλο στη ρύθμιση της λειτουργίας των διαύλων ιόντων που ανιχνεύουν οξύ, οι οποίοι είναι σημαντικοί για την αίσθηση του πόνου και την απόκριση σε μεταβολές του εξωκυτταρικού pH (Brand et al., 2012). Παράλληλα, συμμετέχει στην ρύθμιση της διαπερατότητας της μεμβράνης και στη διατήρηση της ακεραιότητάς της.

Η στοματίνη σχηματίζει ολιγομερή και όπως αναφέρθηκε και παραπάνω αλληλεπιδρά με διάφορους διαύλους ιόντων, επηρεάζοντας τη λειτουργία τους. Έτσι, θεωρείται σημαντικός ρυθμιστής της κυτταρικής ομοιόστασης αλλά και της κυτταρική ανάπτυξης και διαφοροποίησης. Έχει προταθεί ότι λειτουργεί ως αρνητικός ρυθμιστής της δραστηριότητας των διαύλων ιόντων και ταυτόχρονα παρέχει στο κύτταρο τη δυνατότητα να ανιχνεύει και να αντιδρά σε μηχανικά και χημικά ερεθίσματα (Lapatsina et al., 2012)

#### *A5. Κυτταροσκελετός*

Ο κυτταροσκελετός σχηματίζεται από τις περιφερειακές πρωτεΐνες σχηματίζοντας ένα πλέγμα πάχους 40 έως 90-nm, το οποίο επιστρώνει την εσωτερική επιφάνεια της μεμβράνης. Ο σκελετός αυτός αποτελείται κυρίως από τη σπεκτρίνη, την ακτίνη και τις πρωτεΐνες που συνδέονται με αυτήν (τροπομυοσίνη, τροπομοντουλίνη, δεματίνη και αδουσίνη), την πρωτεΐνη 4.1R και την ανκυρίνη (Lux, 2016). Ο σκελετός της μεμβράνης αποτελείται από τετραμερή σπεκτρίνης που συνδέονται με νημάτια ακτίνης, δημιουργώντας μια εξαγωνική διάταξη. Αυτή η διάταξη περιέχει σύμπλοκα σύνδεσης και ανκυρίνης, τα οποία βοηθούν στη σύνδεση της μεμβράνης με τον κυτταροσκελετό. Το σύμπλοκο ανκυρίνης συνδέει την ανκυρίνη και τη β-σπεκτρίνη με τη ζώνη 3 και τη RhAG στη μεμβράνη των ερυθροκυττάρων (Kriebardis et al., 2007; Pretini et al., 2019).

#### *A5.1. Σπεκτρίνη*

Η ερυθροκυτταρική σπεκτρίνη είναι μια ευέλικτη πρωτεΐνη που αποτελείται από δύο αλυσίδες, την α- και τη β-, οι οποίες είναι τοποθετημένες αντιπαράλληλα. Αυτές οι αλυσίδες περιέχουν

τριπλές ελικοειδείς επαναλήψεις και δημιουργούν ετεροδιμερή μέσω ισχυρής αλληλεπίδρασης. Το τετραμερές σχήμα της σπεκτρίνης είναι θεμελιώδες για το δισδιάστατο σκελετικό δίκτυο των ερυθροκυττάρων, ενώ η διαμόρφωση αυτή μπορεί να επηρεαστεί από παραμόρφωση της μεμβράνης. Στο άκρο της "κεφαλής", η σπεκτρίνη συνδέεται με αγκυρίνη-1 και στο άκρο της "ουράς" προσδένεται με πρωτεΐνες όπως η 4.1R και η 4.2, καθώς και με νημάτια ακτίνης, δημιουργώντας μια σταθερή δομή. Το μήκος των νηματίων ακτίνης φαίνεται να ρυθμίζεται από την τροπομουσίνη, ενώ κάθε νήμα περιλαμβάνει συνήθως 14 έως 16 μονομερή. Αυτή η πολύπλοκη δομή είναι κρίσιμη για τη διατήρηση της ακεραιότητας και της λειτουργίας των ερυθροκυττάρων (Lux, 2016; Mohandas & Gallagher, 2008a).

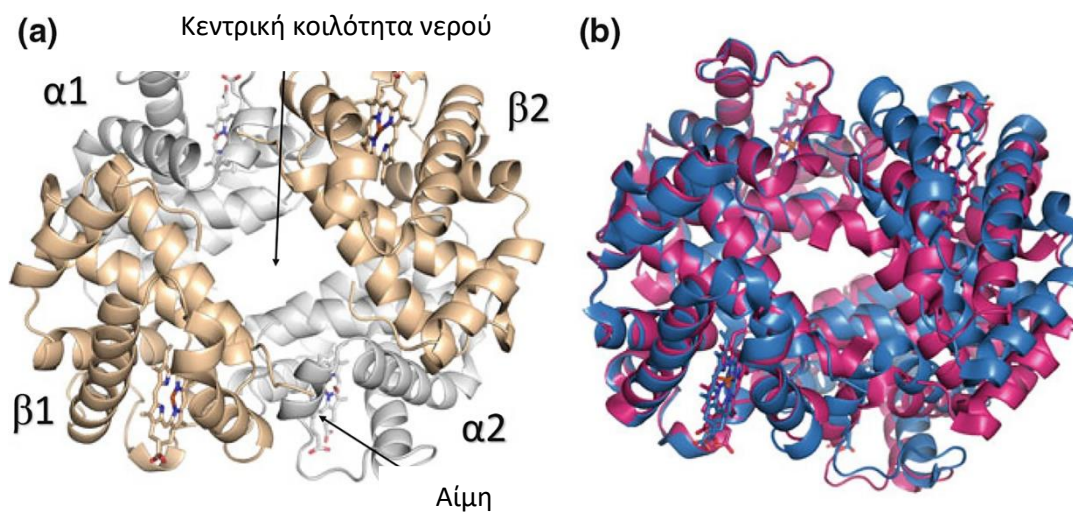
### *A5.2. Ακτίνη*

Τα ερυθρά αιμοσφαίρια περιέχουν μικρά νημάτια μη μυϊκής ακτίνης, τα οποία έχουν διπλή έλικα και είναι τοποθετημένα σχεδόν παράλληλα με τη μεμβράνη. Σε κάθε ερυθροκύτταρο βρίσκονται περίπου 30.000 έως 40.000 από αυτά τα πρωτονημάτια, καθένα από τα οποία περιλαμβάνει 6 έως 8 μονομερή ακτίνης ανά σκέλος. Αυτά τα νημάτια είναι απαραίτητα για τη διατήρηση της δομικής ακεραιότητας και της ευκαμψίας της μεμβράνης (Lux, 2016). Αν και η διαδικασία σχηματισμού τους δεν είναι πλήρως κατανοητή, έρευνες υποδεικνύουν ότι οι πρωτεΐνες GTPάσες Rac1 και Rac2, καθώς και η πρωτεΐνη Hem-1, έχουν σημαντικό ρόλο στη συναρμολόγηση των νηματίων ακτίνης.

Τα νημάτια ακτίνης σχηματίζουν σύμπλοκα με διάφορες πρωτεΐνες του κυτταροσκελετού όπως η σπεκτρίνη και η πρωτεΐνη 4.1R, παρέχοντας δομική σταθερότητα και αντοχή στη μεμβράνη. Το μήκος αυτών των νηματίων, ρυθμίζεται από την τροπομουσίνη. Η αλληλεπίδραση της ακτίνης με το N-τελικό άκρο της β-σπεκτρίνης είναι ασθενής, αλλά ενισχύεται σημαντικά από την πρωτεΐνη 4.1R, ενώ η αδουσίνη και η τροπομοντουλίνη καλύπτουν τα αντίθετα άκρα των νηματίων, προσφέροντας πρόσθετη σταθερότητα. Αυτός ο συνδυασμός πρωτεϊνών συμβάλλει στην πρόληψη του κατακερματισμού της μεμβράνης όταν τα ερυθροκύτταρα υφίστανται υψηλές διατμητικές τάσεις στη κυκλοφορία του αίματος .

## Α6. Αιμοσφαιρίνη

Η αιμοσφαιρίνη όπως αναφέρθηκε και παραπάνω είναι οξυγόνο-δεσμευτική πρωτεΐνη που αποτελεί βασικό στοιχείο των ερυθροκυττάρων ενώ παράλληλα έχει σημαντικό ρόλο στη διατήρηση της φυσιολογικής ισορροπίας των επιπέδων του  $O_2$  και του  $CO_2$  στο αίμα. Περίπου το 98% του συνολικού οξυγόνου στο αίμα συνδέεται με την αιμοσφαιρίνη, ενώ μόνο το 2% διαλύεται απευθείας στο πλάσμα. Η Hb αποτελείται από 4 πολυπεπτιδικές αλυσίδες ανά δύο όμοιες που έχουν πολλά κοινά χαρακτηριστικά στο μέγεθος και στην δομή. Κάθε μια αλυσίδα είναι τυλιγμένη σε μια ομάδα αίμης με σιδηροδεσμευτικές ιδιότητες. Η ομάδα αυτή περιέχει ένα δακτύλιο πορφυρίνης με ένα άτομο σιδήρου στο κέντρο, στο οποίο συνδέεται το μόριο του οξυγόνου. Έτσι, δίνεται η δυνατότητα σε κάθε αιμοσφαιρίνη να μεταφέρει τέσσερα μόρια οξυγόνου. Τέλος, κατά προσέγγιση το 70% του ολικού σιδήρου σε έναν ανθρώπινο οργανισμό βρίσκεται στις ομάδες αίμης (Silverthorn, 2018).



**Εικόνα 7:** Απεικόνιση μορίου αιμοσφαιρίνης. Αναδιατύπωση από (Ahmed et al., 2020).

Υπάρχουν 4 διαφορετικές κατηγορίες σφαιρινών: άλφα, βήτα, γάμμα και δέλτα. Η ανάλυση της αιμοσφαιρίνης στο αίμα παρουσιάζει τρία διαφορετικά πρότυπα φυσιολογικής αιμοσφαιρίνης σε έναν ενήλικα. Αυτά είναι η Hb A (95 έως 98%) που περιέχει δύο άλφα και δύο βήτα αλυσίδες, η Hb A2 (2% έως 3%) που περιέχει δύο άλφα και δύο δέλτα αλυσίδες και η Hb F (λιγότερο από

1%) που περιέχει δύο άλφα και δύο γάμμα αλυσίδες (Barbalato, n.d.). Η ποσότητα της ελεύθερης αιμοσφαιρίνης κυμαίνεται από 12 -16 γραμμάρια ανά 100 ml αίματος στις γυναίκες, από 14-18 γραμμάρια ανά 100 ml αίματος στους άνδρες ενώ η έλλειψή της προκαλεί αναιμία (Paoli et al., 1996).

### *Ελεύθερη Αιμοσφαιρίνη*

Η αιμοσφαιρίνη έχει μοριακό βάρος 62,6 kD και αποτελεί μια τετραμερή πρωτεΐνη που συγκροτείται από 2 α και 2 β υπομονάδες. Το τετραμερές αυτό, ισορροπεί με το διμερές αβ ενώ η περαιτέρω διάσπαση σε μονομερή ανιχνεύεται δύσκολα σε φυσιολογικές συνθήκες. Στον ανθρώπινο οργανισμό, η αιμοσφαιρίνη περιορίζεται στενά στα ενδοκυτταρικά διαμερίσματα των ερυθρών αιμοσφαιρίων. Η συγκέντρωση της CPH (cell-free plasma hemoglobin ) σε υγιείς ανθρώπους κυμαίνεται από 6 ως 34 mg/L. Όταν η αιμοσφαιρίνη απομακρύνεται από το πλάσμα, δεσμεύει την πρωτεΐνη σαρωτή της αιμοσφαιρίνης που ονομάζεται απτοσφαιρίνη, και έπειτα, αναγνωρίζεται αυτό το σύμπλοκο από το CD163 στην επιφάνεια των μονοκύτταρων, ακολουθεί εσωτερικήυση μέσω της ενδοκυττάρωσης και στο τέλος, αποικοδόμηση. Η ικανότητα δέσμευσης της απτοσφαιρίνης με την αιμοσφαιρίνη είναι 0,7 – 1,5 g/L (Hulko et al., 2015).

Η αιμοσφαιρίνη πλάσματος χωρίς κύτταρα (CPH) στον ανθρώπινο οργανισμό προκαλείται όχι μόνο από τη διάσπαση των ερυθρών αιμοσφαιρίων αλλά και από την εξάντληση της απτοσφαιρίνης. Η απτοσφαιρίνη είναι η πρωτεΐνη πλάσματος η οποία είναι ικανή να σαρώνει και να δεσμεύει την CPH. Αυτό είναι πιθανό να συμβεί κυρίως σε περιπτώσεις μαζικής αιμόλυσης όπου μειώνεται η ικανότητα σύνδεσης της απτοσφαιρίνης και η CPH φιλτράρεται μέσω των σπειραμάτων, μια διαδικασία γνωστή και ως σπειραματική διήθηση πρωτεΐνης (Cucchiari et al., 2018).

### *A7. Αιμόλυση*

Με την πάροδο των χρόνων έχουν πραγματοποιηθεί πολυάριθμες μελέτες σχετικά με τις διαταραχές του αίματος προκειμένου να υπάρξει κατανόηση και εξάλειψη των επιπλοκών αυτών. Ένας από του δείκτες ανίχνευσης in vivo ή in vitro είναι η αιμόλυση, η οποία εκδηλώνεται

από σπασμένα, υπερβολικά τεντωμένα, υπερθερμασμένα ή πρόωρα γερασμένα ερυθρά αιμοσφαίρια με απελευθέρωση αιμοσφαιρίνης(Whitson et al., 2014). Κλινικά εκδηλώνεται με συμπτώματα όπως αναιμία, αίσθημα κόπωσης, ίκτερος, αιματουρία και νεφρική ανεπάρκεια (Sharira et al., 2001). Πέρα από τη βλάβη στα νεφρά, οι συνέπειες της μηχανικής αιμόλυσης μπορεί επίσης να είναι υπερπηκτικότητα, αιμορραγία, θρόμβωση και νευρολογικά προβλήματα όπως εγκεφαλικό και αλλαγές στη διανοητική κατάσταση. Επιπλέον, η απελευθέρωση αιμοσφαιρίνης στο πλάσμα από καταστροφή ερυθρών αιμοσφαιρίων μπορεί να προκαλέσει τοξικές επιδράσεις στο καρδιαγγειακό σύστημα. Αυτό συμβαίνει λόγω της δέσμευσης του μονοξειδίου του αζώτου από την αιμοσφαιρίνη, μια ουσία που βοηθά στη χαλάρωση των αιμοφόρων αγγείων, προκαλώντας αγγειοσυσπασση, υπέρταση, νεφρική βλάβη και ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων (Olia et al., 2016).

### *Μηχανική Ευθραυστότητα*

Η μηχανική αιμόλυση αποτελεί έναν σημαντικό τομέα μελέτης, καθώς αναφέρεται στην καταστροφή των ερυθρών αιμοσφαιρίων λόγω μηχανικών δυνάμεων, που έχει ως αποτέλεσμα την απελευθέρωση της αιμοσφαιρίνης στο πλάσμα.

Μία προσέγγιση για την αξιολόγηση της μηχανικής αιμόλυσης των ερυθρών αιμοσφαιρίων είναι η μέτρηση της Μηχανικής Ευθραυστότητας (Mechanical Fragility ή MF). Αυτή η μέθοδος πραγματοποιείται με την χρήση μεταλλικών σφαιριδίων, όπου προκαλούν μηχανικό στρες στα ερυθροκύτταρα, διασπώντας την ερυθροκυτταρική μεμβράνη. Έτσι, η ποσότητα της ελεύθερης αιμοσφαιρίνης μετράται μετά από τη μηχανική καταπόνηση του αίματος με τα σφαιρίδια για συγκεκριμένη χρονική διάρκεια και υπολογίζεται ο δείκτης μηχανικής ευθραυστότητας (MFI) (Gu et al., 2005).

## *B. NPs & Συμβατότητα*

### *B1. Νανοτεχνολογία*

Ο 21ος αιώνας έχει χαρακτηριστεί ως ένας αιώνας μεγάλων τεχνολογικών προόδων και γρήγορων κοινωνικών αλλαγών. Μία αξιοσημείωτη τεχνολογική πρόοδο είναι η ανάπτυξη της Νανοτεχνολογίας, τομέας με σημαντικές εφαρμογές στην βιολογία, την ιατρική, την φαρμακευτική, την κοσμητολογία αλλά και σε διάφορους κλάδους της βιομηχανικής παραγωγής. Σαν έννοια είχε ειπωθεί από τον Αμερικανό φυσικό Richard Feynman κατά τη διάρκεια τη ετήσιας συνάντησης της Αμερικανικής Φυσικής Ιστορίας. Η Νανοτεχνολογία είναι η επιστήμη που θεωρείται πως στη σημερινή εποχή είναι μια από τις πιο συνιστώμενες επιλογές που θα συμβάλουν στην επίλυση πολλών καθημερινών αναγκών μέσω των εφαρμογών της. Ο τομέας αυτός ασχολείται με σωματίδια σε διαστάσεις νανοκλίμακας (Bayda et al., 2019; Najahi-Missaoui et al., 2020).

#### *B1.1. Νανοσωματίδια*

Τα Νανοσωματίδια (NPs) αποτελούν μικρού μεγέθους στερεά σωματίδια, βιοαποικοδομήσιμα ή μη. Το μέγεθος τους κυμαίνεται μεταξύ 1 και 100 nm, δηλαδή από 1 δισεκατομμυριοστό έως μερικές δεκάδες δισεκατομμυριοστού του μέτρου (Farokhzad & Langer, 2009).

Τα νανοσωματίδια (NPs) αυτά χρησιμοποιούνται για την χορήγηση φαρμάκων, εμβολίων αλλά και σε διαγνωστικό επίπεδο καθώς έχουν την ικανότητα να εγκλωβίζουν φάρμακα ή και βιομόρια στο εσωτερικό τους ή τα τελευταία μπορούν να απορροφηθούν στην επιφάνεια των νανοσωματιδίων (Zahin et al., 2020). Η αυξημένη χρήση των νανοσυστημάτων σε διάφορους τομείς ευθύνεται στο μικρό τους μέγεθος και την μεγάλη επιφάνεια επαφής (Najahi-Missaoui et al., 2020). Αυτό εξηγείται καθώς όταν το μέγεθος ενός υλικού μειώνεται στην νανοκλίμακα οι

ιδιότητες τους, βιολογικές, φυσικές και χημικές διαφέρουν συγκριτικά με τα μόρια από όπου προέρχονται. Οι διαφοροποιήσεις αυτές οφείλονται στην αύξηση της επιφάνειας ως προς τον όγκο, στην μείωση του διαθέσιμου χώρου και στην αύξηση της επιφανειακής ενέργειας. Έτσι, τα νανοσωματίδια εμφανίζουν βελτιωμένες ιδιότητες όπως μεγαλύτερη αντοχή στην υψηλή θερμοκρασία, στην οξείδωση και την διάβρωση (Pinto Reis et al., 2006).

### *B1.2. Φορείς Φαρμάκων*

Τα νανοσωματίδια χρησιμοποιούνται σαν φορείς φαρμάκων καθώς παρουσιάζουν σημαντικά πλεονεκτήματα. Το φάρμακο μπορεί να είναι εγκλωβισμένο, διαλυμένο, προσαρτημένο ή ενθυλακωμένο σε ένα νανοσωματίδιο (Mohanraj & Chen, 2007).

Αρχικά εμφανίζουν υψηλή ευελιξία και εξειδίκευση στους ιστούς στόχους καθιστώντας τα ιδανικά για χορήγηση θεραπευτικής αγωγής. Παράλληλα, το μέγεθος, τα χαρακτηριστικά των σωματιδίων και οι επιφανειακές τους ιδιότητες μπορούν να τροποποιηθούν εύκολα, ώστε να επιτευχθεί είτε παθητική είτε ενεργητική στόχευση του φαρμάκου μετά από παρεντερική χορήγηση (Zahin et al., 2020).

Ταυτόχρονα, ελέγχουν και διατηρούν την απελευθέρωση του φαρμάκου κατά τη διάρκεια της μεταφοράς και στο σημείο εντοπισμού, τροποποιώντας την οργανική κατανομή και την επακόλουθη κάθαρση του φαρμάκου. Με αυτόν τον τρόπο, επιτυγχάνεται αύξηση της θεραπευτικής αποτελεσματικότητας και μείωση των παρενεργειών. Έτσι, περιορίζεται η διαρροή του φαρμάκου κατά την διάρκεια της κινητικότητας των μορίων. Τέλος, κάποια μπορεί να διαθέτουν σύστημα ανίχνευσης της θέσης απελευθέρωσης του φαρμάκου καθώς και σύστημα παρακολούθησης της αποτελεσματικότητας του θεραπευτικού παράγοντα *in vivo* (Lee & Mooney, 2012).

Επιπλέον, η ενισχυμένη υδατοδιαλυτότητα που παρέχουν τα νανοσωματίδια βελτιώνει τη βιοδιαθεσιμότητα των φαρμάκων, καθιστώντας τα πιο αποτελεσματικά (Soni & Yadav, 2015). Ο αυξημένος χρόνος ημιζωής των φαρμάκων *in vivo* που επιτυγχάνεται μέσω της χρήσης νανοσωματιδίων οδηγεί σε παρατεταμένη θεραπευτική δράση και συνεπώς σε μειωμένη συχνότητα χορήγησης και δοσολογίας (Shi et al., 2017). Τέλος, η χρήση νανοσωματιδίων



συμβάλλει στη μείωση της ανοσογονικότητας, αποφεύγοντας ανεπιθύμητες ανοσολογικές αντιδράσεις στον οργανισμό, ενώ επιτυγχάνεται πιο ισχυρή και αποτελεσματική θεραπεία (Salama et al., 2023). Αυτά τα χαρακτηριστικά καθιστούν τα νανοσωματίδια μια υποσχόμενη τεχνολογία για την ανάπτυξη πιο αποτελεσματικών και ασφαλών φαρμακευτικών θεραπειών.

### *B1.3. Κατηγοριοποίηση NPs*

Τα νανοσωματίδια μπορούν να κατηγοριοποιηθούν με βάση τη σύνθεση τους, τη δομή τους, το σχήμα τους, την προέλευση αλλά και την εφαρμογή τους (Khan et al., 2019). Ο κάθε τύπος ταξινόμησης βοηθάει στην ανάδειξη μιας διαφορετικής πτυχής των σωματιδίων αυτών, δίνοντας στους ερευνητές τη δυνατότητα να επικεντρωθούν στα χαρακτηριστικά που είναι πιο σημαντικά για την επιλογή των στόχων τους. Η μορφολογία τους μπορεί να διαφέρει από σφαιρικά, ραβδοειδή, σε σχήμα σωλήνα, όμοιο με φύλλο και ακανόνιστου μεγέθους.

Τα νανοσωματίδια που χρησιμοποιούνται για την διάγνωση και θεραπεία διαφοροποιούνται σε κατηγορίες ανάλογα τη σύνθεση τους. Έτσι, υπάρχουν 3 κατηγορίες: τα οργανικά, τα ανόργανα και αυτά με βάση τον άνθρακα. Τα οργανικά σωματίδια, έχουν διακριτά πλεονεκτήματα έναντι πολλών ενδοφλέβια χορηγούμενων φαρμακευτικών και βιολογικών παραγόντων ενώ τα ανόργανα (Anselmo & Mitragotri, 2016).

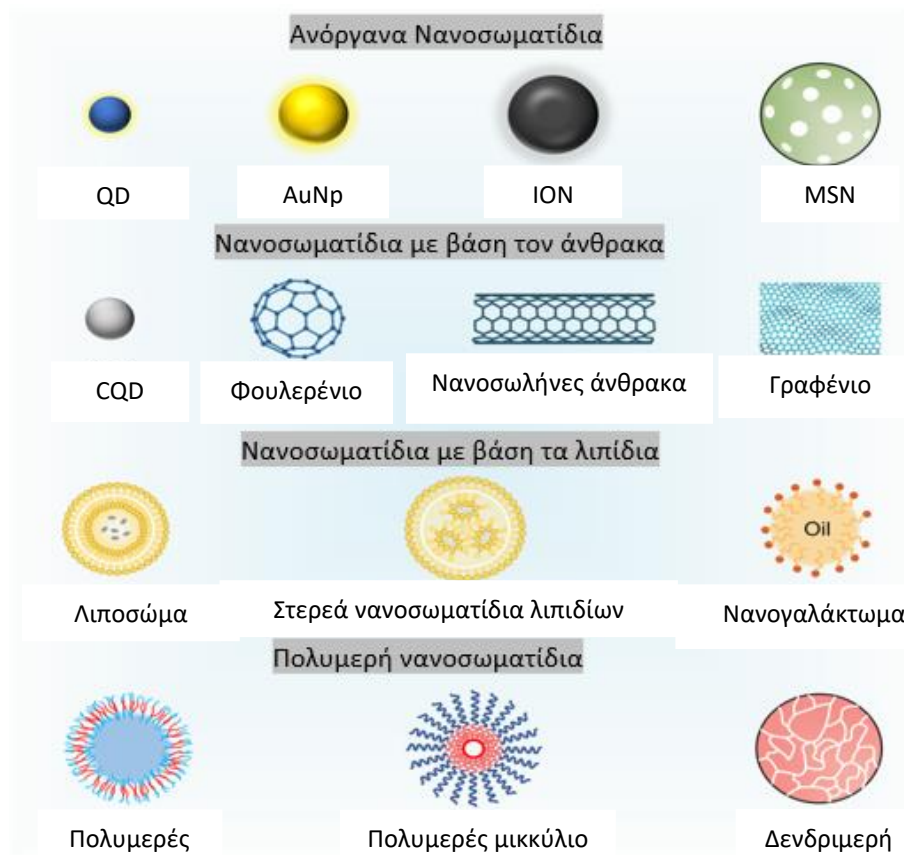
Ανόργανα: Αυτή η κατηγορία περιλαμβάνει νανοσωματίδια (NP) μη οργανικής φύσης, όπως τα μεταλλικά, κεραμικά και ημιαγωγικά NPs. Τα μεταλλικά NPs είναι μονομεταλλικά, διμεταλλικά ή πολυμεταλλικά, με μοναδικές οπτικές και ηλεκτρικές ιδιότητες. Αυτές οι ιδιότητες τα καθιστούν κρίσιμα για εφαρμογές σε φυσική, χημεία και βιοϊατρική. Τα ημιαγωγικά NPs, με ευρεία χάσματα ζώνης, είναι σημαντικά στη φωτοκατάλυση και τις ηλεκτρονικές συσκευές. Τα κεραμικά NPs, ανόργανα στερεά όπως ανθρακικά και οξείδια, διακρίνονται για τη σταθερότητά τους και χρησιμοποιούνται σε βιοϊατρική, κατάλυση και οπτοηλεκτρονικά.

NPs με βάση τον άνθρακα: Αυτή η κατηγορία περιλαμβάνει νανοσωματίδια (NP) αποκλειστικά από άτομα άνθρακα, όπως τα φουλερένια, τα νανοσωματίδια αιθάλης και οι κβαντικές τελείες άνθρακα. Τα φουλερένια, είναι μόρια άνθρακα με συμμετρική δομή κλειστού κλωβού. Τα



νανοσωματίδια αιθάλης είναι συσσωματώματα σφαιρικών σωματιδίων, ενώ οι κβαντικές τελείες είναι NP με μέγεθος κάτω των 10 nm. Αυτά τα NPs συνδυάζουν τις ιδιότητες των sp<sup>2</sup>-υβριδισμένων δεσμών με μοναδικές φυσικοχημικές ιδιότητες, καθιστώντας τα ιδανικά για εφαρμογές όπως η χορήγηση φαρμάκων, η αποθήκευση ενέργειας, οι φωτοβολταϊκές συσκευές και η περιβαλλοντική ανίχνευση. Τα πιο σύνθετα NPs, όπως τα νανοδιαμάντια, χρησιμοποιούνται επίσης στη φαρμακευτική και τη μηχανική ιστών λόγω της βιοσυμβατότητάς τους.

Οργανικά: Αυτή η κατηγορία περιλαμβάνει νανοσωματίδια (NP) που αποτελούνται από πρωτεΐνες, υδατάνθρακες, λιπίδια, πολυμερή ή άλλες οργανικές ενώσεις. Τα πιο αντιπροσωπευτικά παραδείγματα αυτής της κατηγορίας περιλαμβάνουν τα δενδριμερή, τα λιποσώματα, τα μικκύλια και τα πρωτεϊνικά σύμπλοκα, όπως η φερριτίνη. Αυτά τα νανοσωματίδια χαρακτηρίζονται από τη μη τοξικότητα και τη βιοδιασπασιμότητά τους. Τα οργανικά νανοσωματίδια είναι ευαίσθητα σε θερμική και ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία, όπως η θερμότητα και το φως. Επιπλέον, συχνά σχηματίζονται μέσω μη ομοιοπολικών διαμοριακών αλληλεπιδράσεων, κάτι που τα καθιστά πιο ασταθή στη φύση και διευκολύνει την αποβολή τους από τον οργανισμό. Σήμερα, τα οργανικά νανοσωματίδια χρησιμοποιούνται κυρίως στον τομέα της βιοϊατρικής, ειδικότερα στη στοχευμένη χορήγηση φαρμάκων και στη θεραπεία του καρκίνου (Joudeh & Linke, 2022).



**Εικόνα 8:** Σχηματική απεικόνιση διαφόρων νανοσωματιδίων ανόργανης βάσης, νανοσωματιδίων με βάση των άνθρακα, νανοσωματιδίων με βάση τα λιπίδια και πολυμερών νανοσωματιδίων. Αναδιατύπωση από (Xu et al., 2022).

## ***B2. Πολυμερικά NPs***

Συνήθως, τα νανοσωματίδια οργανικής βάσης αναφέρονται στη βιβλιογραφία με τον ειδικό όρο πολυμερικά νανοσωματίδια (PNP). Αυτά συνήθως αποτελούνται από νανοσφαιρίδια ή νανοκάψουλες. Τα νανοσφαιρίδια είναι σωματίδια μήτρας, στα οποία η συνολική μάζα είναι γενικά στερεή, και άλλα μόρια προσροφώνται στην εξωτερική επιφάνεια της σφαίρας. Στην περίπτωση των νανοκαψουλών, η στερεά μάζα είναι πλήρως εγκλωβισμένη μέσα στο σωματίδιο (Khan et al., 2019).

Τα πολυμερικά νανοσωματίδια είναι κατάλληλα για την ενθυλάκωση τόσο υδρόφοβων όσο και υδρόφιλων φαρμάκων και μπορούν να σχεδιαστούν ώστε να απελευθερώνουν τα φάρμακα με ελεγχόμενο τρόπο. Οι μελέτες φαρμακοκινητικής έχουν δείξει ότι αυξάνουν τη διάρκεια παραμονής του φαρμάκου στον οργανισμό και την συγκέντρωσή του, αυξάνοντας τον χρόνο

που παραμένει στην κυκλοφορία του αίματος. Παράλληλα, μειώνουν την τοξικότητα στα νεφρά και το ήπαρ, έχουν χαμηλότερες καρδιαγγειακές επιδράσεις και μειώνουν την πρόσληψη από τα μακροφάγα (Begines et al., 2020).

### *B2.1. Αλγινικό οξύ*

Το αλγινικό οξύ είναι ένας βιολογικός πολυσακχαρίτης αρνητικής πολικότητας, που προέρχεται από φύκη καφέ χρώματος, γνωστά ως Phaeophyceae (Bibi et al., 2019). Το γραμμικό αυτό πολυμερές έχει κεντρίσει το ενδιαφέρον λόγω των πολυάριθμων φυσικοχημικών ιδιοτήτων που διαθέτει αλλά και το ευρύ φάσμα εφαρμογών που καλύπτει. Τα κύρια γένη αλγών είναι το *Laminaria*, το *Macrocystis*, το *Ascophyllum*, το *Ecklonia* και το *Fucus*.

Αυτά τα φύκη βρίσκονται συνήθως σε ψυχρά θαλάσσια νερά και συλλέγονται για την εξαγωγή αλγινικού οξέος, το οποίο έχει πολλές βιομηχανικές και ιατρικές εφαρμογές, όπως στη βιομηχανία τροφίμων, στα φαρμακευτικά προϊόντα και στα καλλυντικά.

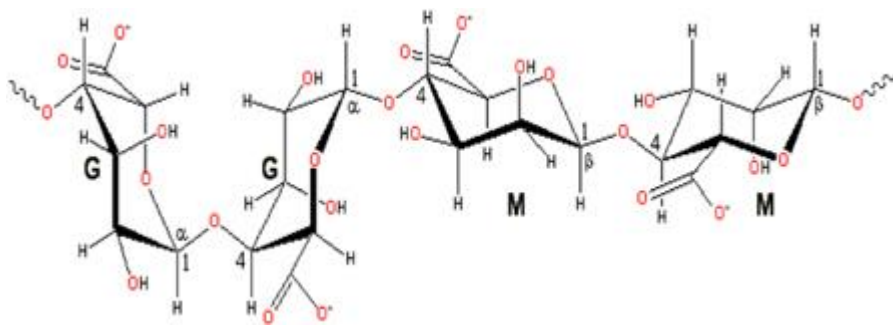
Κανονικά ανιχνεύεται στο κυτταρόπλασμα των αλγών με διάφορες μορφές όπως αλγινικό κάλιο, μαγνήσιο, ασβέστιο και αλγινικό νάτριο όπου είναι και το απόσταγμα που αντλείται από τα φύκια. Πλέον, με την πρόοδο της τεχνολογίας και τις διαδικασίες της ζύμωσης από βακτήρια, παράγεται αλγινικό οξύ με καλύτερες ιδιότητες από ότι το αλγινικό οξύ που προκύπτει από βιομηχανική εκχύλιση (Guo et al., 2020). Προς το παρόν, βρίσκονται σε διαδικασία κατασκευής περισσότερες από 200 διαφορετικές ποικιλίες αλγινικών ενώσεων, με μοριακό βάρος που κυμαίνεται από 32.000 έως 400.000 g/mol<sup>-1</sup> (Bibi et al., 2019). Η διαδικασία της βιοσύνθεσης του αλγινικού περιλαμβάνει διάφορα στάδια, τα οποία είναι: η σύνθεση του πρόδρομου υποστρώματος, ο πολυμερισμός, η μεταφορά μέσω της κυτταροπλασματικής μεμβράνης, η περιπλασματική μεταφορά και τροποποίηση, καθώς και η εξαγωγή μέσω της εξωτερικής μεμβράνης (Severino et al., 2019).

Το εκχύλισμα διηθείται και προστίθεται χλωριούχο νάτριο ή ασβέστιο στο διήθημα για να καθιζάνει το αλγινικό. Μέσω της επεξεργασίας με αραιό HCl, το άλας αλγινικού μπορεί να μετατραπεί σε αλγινικό οξύ. Μετά την καθαρισμό και τη μετατροπή, παράγεται υδατοδιαλυτό αλγινικό νάτριο σε μορφή σκόνης. Επομένως, μετά την εξαγωγή από την πηγή φυκιών, μέσω

μιας χημικής διαδικασίας, το αλγινικό μετατρέπεται σε αλγινικό νάτριο (NaAlg) (Severino et al., 2019).

### *B2.2. Χημική Δομή Αλγινικού*

Το αλγινικό νάτριο αποτελείται από δύο δομικά ισομερή υπολείμματα γλυκάνης : β-d-μαννουρονικό οξύ (M) και α-l-γλουρονικό οξύ (G). Στο αλγινικό, τα μονομερή M και G συνδέονται είτε ομοιογενώς είτε ετερογενώς μέσω 1-4 γλυκοζιτικών δεσμών, σχηματίζοντας γραμμικά διμερή εντός του μεγαλύτερου πολυμερούς: τα ομοδιμερή GG και MM, καθώς και τα ετεροδιμερή MG/GM. Η αναλογία σε M και G προσδιορίζει τη μοριακή δομή του (Sanchez-Ballester et al., 2021).



*Εικόνα 9: Χημική δομή αλγινικού οξέος. Αναδιατύπωση από (Bibi et al., 2019).*

### *B2.3. Παράγοντες που επηρεάζουν της ιδιότητες του αλγινικού*

Οι παράγοντες που παίζουν καθοριστικό ρόλο στις φυσικές ιδιότητες στο αλγινικό είναι όπως αναφέρθηκε παραπάνω η αναλογία M/G, το μοριακό βάρος, η αλληλουχία και το μήκος του G μπλοκ. Είναι γνωστό ότι ένα μεγάλο μοριακό βάρος μπορεί να βελτιώσει τις φυσικές ιδιότητες των πηκτωμάτων. Ωστόσο, ένα αλγινικό διάλυμα που περιέχει πολυμερές υψηλού μοριακού βάρους έχει μεγάλο ιξώδες και είναι δύσκολο να επεξεργαστεί (Severino et al., 2019).

Το ιξώδες μεταβάλλεται ανάλογα με την περιεκτικότητα σε μονομερή G και κατά κύριο λόγο , με το μοριακό βάρος του πολυμερούς. Ορισμένες έρευνες δείχνουν ότι όσο υψηλότερη είναι η περιεκτικότητα σε G, τόσο μικρότερη είναι η ευκαμψία της σχηματιζόμενης γέλης. Ωστόσο, είναι γνωστό ότι η υψηλή περιεκτικότητα σε G οδηγεί σε σωματίδια με μεγαλύτερη διάμετρο καθώς και σε πηκτές με υψηλό πορώδες. Από την άλλη πλευρά, η υψηλή περιεκτικότητα σε M έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή ασθενέστερων, ελαστικότερων και σταθερότερων πηκτωμάτων (Severino et al., 2019). Σε διαλύματα υψηλού ιξώδους τα κύτταρα ή οι πρωτεΐνες μπορεί να υποστούν ζημιές λόγω των υψηλών δυνάμεων κατά την ανάμειξη και την ένεση στο σώμα. Χρησιμοποιώντας έναν συνδυασμό αλγινικών πολυμερών υψηλού και χαμηλού μοριακού βάρους, μπορεί να βελτιωθεί η ελαστικότητα των πηκτωμάτων, ενώ το ιξώδες του διαλύματος αυξάνεται μόνο ελαφρώς.

Το αλγινικό άλας είναι όπως αναφέρθηκε και παραπάνω αρνητικά φορτισμένο και υδρόφιλο, όπου έχει την ικανότητα να διαλύεται στο νερό αλλά όχι σε διαλύτες οργανικής προέλευσης και στην αιθανόλη. Από την άλλη πλευρά το αλγινικό οξύ διαλύεται σε διαλύματα όπου το pH τους είναι πάνω από 7, τα οποία έχουν μεγάλο ιξώδες. Όταν αντιδρά με ουσίες που περιέχουν ιόντα αλκαλικών μετάλλων, αργιλίου ή μαγνησίου, σχηματίζει αλγινικά άλατα που διαλύονται στο νερό. Ωστόσο, τα άλατα με τα υπόλοιπα άλλα μέταλλα δεν διαλύονται στο νερό. Οι αρνητικά φορτισμένες ομάδες στο αλγινικό το κάνουν ευαίσθητο στην παρουσία ιόντων.

Το αλγινικό νάτριο είναι συμβατό με αρνητικά φορτισμένα μόρια. Έχει παρατηρηθεί ότι διαλύεται αργά σε κρύο νερό, σχηματίζοντας ένα παχύρρευστο διάλυμα ενώ ταυτόχρονα παραμένει αδιάλυτο σε αλκοόλη, σε διαλύματα με περισσότερο από 30% αλκοόλη και σε άλλους οργανικούς διαλύτες, καθώς και σε οξέα με  $\text{pH} < 3,0$ . Είναι πιο σταθερό όταν βρίσκεται σε μορφή ξηρής σκόνης σε σχέση με όταν είναι σε διάλυμα. Όσον αφορά την αντοχή σε οξύ, το αλγινικό νάτριο θα σχηματίσει σταδιακά γέλη αλγινικού οξέος όταν το pH μειωθεί, ενώ όταν το pH αυξηθεί, θα διαλυθεί η γέλη και θα επανέλθει το αρχικό ιξώδες. Στην περίπτωση των αλκαλίων, το αλγινικό νάτριο μπορεί να αντέξει μικρό διάστημα σε διάλυμα όπου το  $\text{pH} > 11$ , αλλά παραμονή μεγαλύτερου χρονικού διαστήματος έχει ως επίπτωση μείωση του ιξώδους. Τέλος, το αλγινικό νάτριο μπορεί να αντέξει βραχυπρόθεσμα αποστείρωση σε υψηλές θερμοκρασίες, ενώ η μακροχρόνια έκθεση σε υψηλές θερμοκρασίες θα μειώσει το ιξώδες του.

Η διαλυτότητα του αλγινικού επηρεάζεται από το pH του περιβάλλοντος. Όταν το pH είναι κάτω από τις τιμές 3,38 και 3,65- που αντιστοιχούν στις τιμές pKa του μαννουρονικού και του γλουρονικού οξέος-το αλγινικό καθιζάνει, σχηματίζοντας αδιάλυτο αλγινικό οξύ. Σε υψηλότερο pH, το αλγινικό έχει αρνητικό φορτίο και είναι σταθερό σε pH 5,0 έως 10, αποτρέποντας την αποκαρβοξυλίωσή του. Το αλγινικό είναι χημικά ευέλικτο και το ιζώδες του αυξάνεται καθώς το pH μειώνεται.

#### *B2.4. Ιδιότητες Αλγινικού Οξέος*

Κάποια από τα πιο σημαντικά χαρακτηριστικά του αλγινικού οξέος είναι η ικανότητα του να διαλύεται στο νερό, η δυνατότητα να σχηματίζει λεπτά στρώματα που έχουν εφαρμογή στις συσκευασίες προϊόντων, η βιοδιασπασιμότητα που το καθιστά φιλικό προς το περιβάλλον και η βιοσυμβατότητα. Η τελευταία ιδιότητα το κάνει ικανό για ιατρικές και φαρμακευτικές εφαρμογές λόγω χάρη φάρμακα και επιδέσμους καθώς είναι συμβατό με τους ιστούς και δεν προκαλεί ανοσοβιολογικές αποκρίσεις. Έτσι, με όλα αυτά τα γνωρίσματα καλύπτει μεγάλο εύρος στη βιομηχανία τροφίμων και στον τομέα της υγειονομικής περίθαλψης (Sanchez-Ballester et al., 2021).

Ταυτόχρονα το αλγινικό οξύ περιέχει και κάποιες βιολογικές ιδιότητες όπως η ικανότητα του να αναστείλει την απελευθέρωση της ισταμίνης στον ορό του αίματος. Επιπρόσθετα οι αντιοξειδωτικές δραστηριότητες που διαθέτει, δημιουργούν μια ασπίδα ασφαλείας στα κύτταρα από τις οξειδωτικές βλάβες που προκαλούν οι ελεύθερες οξειδωτικές ρίζες οξυγόνου (ROS). Τέλος, οι πολυσακχαρίτες συμπεριλαμβανομένου του αλγινικού οξέος έχουν και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες. Έρευνες έχουν δείξει ότι το αλγινικό οξύ μπορεί να αναστέλλει τη διήθηση ουδετερόφιλων, προσφέροντας μια πιθανή θεραπεία για φλεγμονώδη νοσήματα. Ωστόσο, απαιτούνται περαιτέρω μελέτες για να αποσαφηνιστεί ο μηχανισμός δράσης του και πολλές κλινικές δοκιμές για την εφαρμογή του (Guo et al., 2020).

Λόγω των παραπάνω ιδιοτήτων του το καθιστούν ένα από τα πιο κοινά πολυμερή για τον σχηματισμό μικροσωματιδίων. Για να παραχθούν τα νανοϋλικά αλγινικού και να αξιοποιηθούν

για συγκεκριμένες βιοϊατρικές εφαρμογές, χρησιμοποιούνται διάφορες τεχνικές προκειμένου να αναδείξουν την λειτουργικότητα τους όπως η ιοντική ζελατινοποίηση, το γαλάκτωμα αλλά και ηλεκτροκλώση που χρησιμοποιείται ευρέως σε φαρμακευτικές μορφές δοσολογίας. Οι πηκτικές ιδιότητες του αλγινικού, μαζί με την έλλειψη βιολογικής δραστηριότητας, καθιστούν αυτό το πολυσακχαρίτη χρήσιμο στη τροποποιημένη απελευθέρωση φαρμάκων μέσω της διασταύρωσής του με ασβέστιο και άλλα δισθενή ιόντα.

Ωστόσο, το αλγινικό από μόνο του δεν είναι οστεοαγώγιμο, έχει χαμηλή σταθερότητα και δεν αλληλεπιδρά καλά με τις γύρω μήτρες. Επιπρόσθετα, το ακατέργαστο αλγινικό άλας είναι εύθραυστο, με μεγάλη πορώδης δομή, αποσυντίθεται γρήγορα και έχει χαμηλή αποτελεσματικότητα φόρτωσης φαρμάκων με αποτέλεσμα την εκρηκτική απελευθέρωση. Σύμφωνα με μια έκθεση, αυτές οι εκρηκτικές απελευθερώσεις προκαλούν απρόβλεπτη τοξικότητα στη θεραπεία χρόνιων ασθενειών, όπως ο καρκίνος (Lakkakula et al., 2022).

Για να βελτιωθεί η αποτελεσματικότητα παγίδευσης φαρμάκων και να ρυθμιστεί η απελευθέρωση τους, διάφορα συνδεδετικά ενσωματώνονται στη μήτρα του αλγινικού. Με αυτόν τον τρόπο, διάφορες μορφές, όπως πολυμερή και άλλες λειτουργικές ομάδες, συνδέονται με το αλγινικό άλας, αυξάνοντας έτσι την αποτελεσματικότητα φόρτωσης φαρμάκων. Τέτοιες ομάδες είναι ο άνθρακας, τα πληρωτικά μέταλλα και τα μεταλλικά οξείδια, τα πολυμερή και τα κεραμικά σωματίδια (Bibi et al., 2019).

### *B3. Χρυσίνη*

Η χρυσίνη είναι ένα φυσικό φλαβονοειδές με διάφορες θεραπευτικές ιδιότητες. Απαντάται σε αφθονία στο μέλι, στην πρόπολη στο μανιτάρι *Pleurotus ostreatus*, στο φαρμακευτικό φυτό *Radix scutellariae* αλλά και στο φρούτο του πάθους *Passiflora caerulea*. Σε μία κανονική διατροφή για τον άνθρωπο η μέση πρόσληψη φλαβονοειδών είναι 1-2 g/ημέρα (Mani & Natesan, 2018).



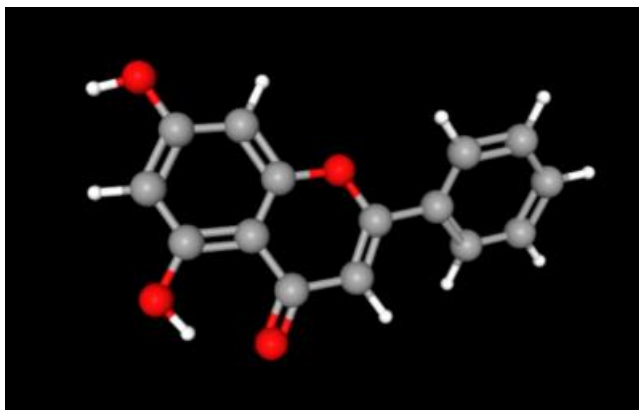
**Εικόνα 10:** Απεικόνιση των θεραπευτικών ιδιοτήτων της χρυσίνης. Αναδιατύπωση από (Mani & Natesan, 2018).

Τα φλαβονοειδή είναι φυσικές ενώσεις που προέρχονται από πολυφαινόλες και εντοπίζονται σε φυτά, όπως τα φρούτα, τα δημητριακά, τα λαχανικά, τα λουλούδια, το τσάι και το κρασί. Αυτές οι φυσικές ενώσεις ανάλογα με τον βαθμό ακόρεστου του κορμού αλλά και με τα πρότυπα υδροξυλίωσης, τους ταξινομούνται σε έξι ομάδες. Τα φλαβονοειδή αποτελούνται από κατηγορίες, όπως οι φλαβόνες, οι φλαβονόλες και οι φλαβάνες (Zeinali et al., 2017).

Η χρυσίνη (5,7-διυδροξυ-2-φαινυλ-4H-χρωμεν-4-όνη) διαθέτει τη χαρακτηριστική δομή της φλαβόνης, η οποία περιλαμβάνει έναν σκελετό με δεκαπέντε άτομα άνθρακα. Ο σκελετός τους αποτελείται από δύο φαινυλικούς δακτυλίους, γνωστούς ως δακτύλιοι Α και Β και από έναν ετεροκυκλικό δακτύλιο πυράνης (C) που περιέχει οξυγόνο. Παρόλο που τα φλαβονοειδή ανήκουν στην ίδια κατηγορία, διαφέρουν στο πρότυπο υποκατάστασης των δακτυλίων Α και Β, οι οποίοι συνδέονται με μια γραμμική αλυσίδα τριών ατόμων άνθρακα. Σε αντίθεση με διάφορα φλαβονοειδή, η χρυσίνη δεν μοιράζεται καμία οξυγόνωση στον δακτύλιο Β (Naz et al., 2019).

Οι κύριοι παράγοντες που συμβάλλουν στην υψηλή αντιοξειδωτική δράση μιας ένωσης είναι η παρουσία καρβονυλικής ομάδας, ο διπλός δεσμός μεταξύ των ατόμων άνθρακα C2 και C3 στον δακτύλιο C, καθώς και η υδροξυλίωση στις θέσεις 3 και 4 του δακτυλίου Β.





*Εικόνα 11: Χημική δομή χρυσίνης.*

*Αναδιατύπωση από (S. Kim et al., 2023).*

### *B3.1. Βιολογικές Ιδιότητες Χρυσίνης*

Διάφορες μελέτες *in vitro* και *in vivo* έχουν δείξει πως η χρυσίνη έχει πολλαπλές βιολογικές δραστηριότητες, όπως αντικαρκινική δράση, αντιφλεγμονώδη, αντιοξειδωτική, αντιδιαβητική, αντι-ική και ηπατοπροστατευτική δράση. Επιπλέον έχει παρατηρηθεί θετική επίδραση στο αναπαραγωγικό σύστημα αλλά και στο ανοσοποιητικό σύστημα, όπου αυξάνει τους πληθυσμούς T και B-κυττάρων (Kasala et al., 2015; Stompor-Gorący et al., 2021; Zeinali et al., 2017).

#### ∇ Αντικαρκινική Δράση:

Η χημειοπροφύλαξη αποτελεί μια καινοτόμο στρατηγική που στοχεύει στην πρόληψη του καρκίνου με ποικίλους τρόπους. Οι μέθοδοι παρέμβασης στην καρκινογένεση περιλαμβάνουν τη ρύθμιση του μεταβολισμού των καρκινογόνων ουσιών, την απομάκρυνση των ελεύθερων ριζών και την τροποποίηση της γονιδιακής έκφρασης που επηρεάζει την απόπτωση και τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων.

Η χρυσίνη έχει αποδειχθεί ότι αναστέλλει την ανάπτυξη όγκων μέσω πολλαπλών μηχανισμών, όπως η πρόληψη ενεργοποίησης προκαρκινογόνων, η ρύθμιση αντιοξειδωτικών και αποτοξινωτικών ενζύμων, και η επαγωγή της απόπτωσης. Επίσης, ενισχύει την κυτταροτοξική δράση άλλων αντικαρκινικών φαρμάκων όταν χρησιμοποιείται σε συνδυασμό, ξεπερνώντας την αντίσταση σε θεραπείες όπως η σισπλατίνη και η δοξορουβικίνη. Η αντικαρκινική δράση της χρυσίνης έχει επιβεβαιωθεί τόσο *in vitro* όσο και *in vivo*. *In vitro* μελέτες έχουν δείξει ότι η χρυσίνη είναι αποτελεσματική σε διάφορες

καρκινικές κυτταρικές σειρές, ενώ in vivo πειράματα σε ζώα δείχνουν ότι αναστέλλει την ανάπτυξη όγκων βελτιώνοντας το οξειδωτικό στρες και τη φλεγμονή.

Παρά το θεραπευτικό δυναμικό της, η χρυσίνη και άλλα φλαβονοειδή έχουν πολύ χαμηλή βιοδιαθεσιμότητα στον άνθρωπο λόγω της κακής απορρόφησης και του ταχέως μεταβολισμού τους. Μια μελέτη έδειξε ότι μετά από λήψη 400 mg χρυσίνης, η συγκέντρωσή της στο αίμα παρέμεινε κάτω από 0,1 μM. (Kasala et al., 2015).

#### ▽ Αντιφλεγμονώδη Δράση:

Οι φλεγμονές και οι προ-φλεγμονώδεις κυτοκίνες συσχετίζονται με χρόνιες ασθένειες. Λόγω του αντιοξειδωτικού και αντιφλεγμονώδους χαρακτήρα, η χρυσίνη δίνει καλά αποτελέσματα σε ανοσοπαθολογικούς και φυσικοχημικούς τραυματισμούς. Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, καταστέλλει τη φλεγμονή στο ανοσοποιητικό σύστημα ενώ παράλληλα, μπορεί να μειώσει τα φλεγμονώδη κύτταρα στον αεραγωγό και τις αλλεργικές αντιδράσεις, όπως το άσθμα (Zeinali et al., 2017).

#### ▽ Αντιδιαβητικές ιδιότητες:

Έρευνες που πραγματοποιήθηκαν σε αρουραίους με διαβήτη τύπου 2, έδειξαν πως η χρυσίνη μείωσε τις επιπτώσεις του σακχαρώδους διαβήτη, αποκαθιστώντας τη νεφρική λειτουργία και την παθολογία. Επιπλέον, η μελέτη αυτή έδειξε τη νεφροπροστατευτική δράση της χρυσίνης καταλήγοντας στο συμπέρασμα πως μπορεί να είναι η πιο αποτελεσματική θεραπευτική ουσία για τη θεραπεία του διαβήτη (Mani & Natesan, 2018).

#### ▽ Ηπατοπροστατευτική Δράση:

Σύμφωνα με πρόσφατες μελέτες, η χρυσίνη έχει ευεργετική δράση στο ήπαρ, προσδίδοντας προστασία στα ηπατικά κύτταρα από τοξικές ουσίες. Προάγει την έκκριση των λιποπρωτεϊνών πολύ χαμηλής πυκνότητας και μειώνει τη συσσώρευση λίπους στο ήπαρ σε περιπτώσεις μη αλκοολικής λιπώδους ηπατικής νόσου. Επίσης, προλαμβάνει την ηπατική νέκρωση.

Η χρυσίνη μειώνει τα επίπεδα των ηπατικών ενζύμων (ALT, AST και ALP), τα οποία είχαν αυξηθεί λόγω της χρήσης παρακεταμόλης. Έχει προστατευτική δράση στα ηπατικά κύτταρα HepG2 που έχουν υποστεί βλάβη από αιθανόλη. Ταυτόχρονα καταστέλλει συγκεκριμένες οδούς σηματοδότησης, όπως τη φωσφορυλίωση ERK1/2, την πυρηνική μετατόπιση του AHR

και την έκφραση διαφόρων ενζύμων. Η χορήγηση της χρυσίνης εμποδίζει την οξειδωτική βλάβη στο ήπαρ και τα νεφρά που προκαλείται από μακροχρόνια κατανάλωση αλκοόλ. Μελέτες σε αρουραίους έδειξαν ότι η χρυσίνη αποκαθιστά τα φυσιολογικά επίπεδα των δεικτών οξειδωτικού στρες. Λόγω των αποδεδειγμένων αντιοξειδωτικών και αντιφλεγμονωδών ιδιοτήτων της, η χρυσίνη αποτελεί πολλά υποσχόμενο παράγοντα για τη θεραπεία της μη αλκοολικής λιπώδους ηπατικής νόσου (Stompor-Gorący et al., 2021).

### *B3.2. Εγκλωβισμός Χρυσίνης*

#### ❖ Εγκλωβισμός χρυσίνης σε αλβουμίνη ορού βοοειδών (BSA)

Αρχικά πραγματοποιήθηκαν μελέτες για τον εγκλωβισμό νανοσωματιδίων αλβουμίνης βόειου ορού φορτωμένο με χρυσίνη, έτσι ώστε να αυξηθεί η διαλυτότητα της και να βελτιωθεί η φαρμακευτικής τους δράση. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα τα νανοσωματίδια έχουν μέσο όρο διάμετρο  $97.5 \pm 5.75\text{nm}$  ενώ το ζ-δυναμικό ήταν  $-11\text{ mV}$ . In vitro αποτελέσματα κυτταροτοξικότητας έδειξαν ότι τα νανοσωματίδια χρυσίνης-αλβουμίνης είναι βιοσυμβατά με κύτταρα HFF2. Επομένως, αυτό ο εγκλωβισμός μπορεί να αποτελέσει ένα νέο σύστημα για την θεραπεία κατά του καρκίνου (Nosrati et al., 2018).

#### ❖ Εγκλωβισμός χρυσίνης σε πολύ-αιθυλογλυκενόλη (PEG)

Καθώς ξεκίνησε η παρασκευή νανοσωματιδίων χρυσίνης με πολύ-αιθυλογλυκενόλη, ταυτόχρονα πραγματοποιήθηκε μελέτη για την βελτιστοποίηση της χορήγησης αντικαρκινικού φαρμάκου δοξορουβικίνης (DOX). Το αντικαρκινικό φάρμακο φορτώθηκε στα νανοσωματίδια, με αποτέλεσμα οι μέσες διαμέτροι τους να είναι κάτω από 200 nm. Το μήκος της αλυσίδας PEG επηρεάζει τον ρυθμό αποδέσμευσης του φαρμάκου, καθώς η μικρότερη σε μέγεθος αλυσίδα PEG είχε ως αποτέλεσμα την ταχύτερη αποδέσμευση. Το σύστημα χρυσίνη-PEG είναι μη τοξικό και για τους ινοβλάστες 3T3 και για τα καρκινικά κύτταρα HepG2 (Zheng et al., 2014).

#### *B4. NPs & Καρκίνος*

Ο καρκίνος είναι μια απειλητική για τη ζωή ασθένεια. Με τον όρο καρκίνο εννοούμε τον ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό και ανάπτυξη ανώμαλων κυττάρων, τα οποία σχηματίζουν ένα μórφωμα γνωστό ως κακοήθη όγκο ή νεόπλασμα. Όταν ο όγκος αυτός γίνει μεγαλύτερος έχει την ικανότητα να κάνει μεταστάσεις σε άλλα μέρη του ανθρώπινου οργανισμού (*What Is Cancer?*, n.d.).

Η καρκινογένεση είναι μια πολύπλοκη διαδικασία, όπου γενετικές και επιγενετικές αλλαγές σταδιακά μετατρέπουν φυσιολογικά κύτταρα σε κακοήθη. Αυτή η πορεία προσφέρει ευκαιρίες παρέμβασης για τη μείωση του κινδύνου καρκίνου. Η χημειοπροφύλαξη, η οποία εισήχθη ως έννοια από τον Michael Sporn το 1976, αποτελεί μια πολλά υποσχόμενη προσέγγιση σε αυτό το πλαίσιο. Αυτή αφορά τη χρήση φυσικών ή συνθετικών ουσιών για την αναστολή, την αναστροφή ή την καθυστέρηση της καρκινογένεσης. Με τη βοήθεια φαρμακοκινητικών δεδομένων, η κατανόηση των *in vivo* φαρμακολογικών και τοξικολογικών επιδράσεων των νέων ενώσεων έχει βελτιωθεί σημαντικά, ενισχύοντας την αποτελεσματικότητα των χημειοπροφυλακτικών στρατηγικών.

Ωστόσο, για την αποτελεσματική αναστολή της εξέλιξης του όγκου, είναι ιδανικό ένα φάρμακο που μπορεί να στοχεύσει πολλαπλές δυσρυθμισμένες πρωτεΐνες. Αν και οι στοχευμένες θεραπείες προσφέρουν σημαντικά πλεονεκτήματα, παρουσιάζουν περιορισμούς, κυρίως λόγω της ανάπτυξης αντίστασης από τα καρκινικά κύτταρα. Οι συνδυαστικές θεραπείες, που περιλαμβάνουν τη χρήση πολλαπλών στοχευμένων παραγόντων ή την ενσωμάτωση τους με παραδοσιακές θεραπείες, προτείνονται ως λύση στο πρόβλημα αυτό (Kasala et al., 2015).

Σε αυτό το πλαίσιο, τα νανοσυστήματα έχουν αναδειχθεί ως μια καινοτόμος και αποτελεσματική στρατηγική για τη θεραπεία του καρκίνου, παρέχοντας στοχευμένες και εξατομικευμένες παρεμβάσεις. Τα νανოსωματίδια λόγω του μικρού τους μεγέθους, αξιοποιούνται ευρέως τόσο στη διάγνωση όσο και στη θεραπεία του καρκίνου, προσφέροντας τη δυνατότητα για ακριβή μεταφορά θεραπευτικών γονιδίων απευθείας στα καρκινικά κύτταρα, ενώ ταυτόχρονα μειώνουν τις ανεπιθύμητες ενέργειες στους υγιείς ιστούς (Zaimy et al., 2017). Τα θεραπευτικά νανოსωματίδια βελτιώνουν σημαντικά τη φαρμακοκινητική των αντικαρκινικών φαρμάκων

καθιστώντας τη θεραπεία πιο ακριβή, αποτελεσματική και με λιγότερες παρενέργειες -αφού περιορίζονται οι συχνές χορηγήσεις (Zhu et al., 2022) - ενώ παράλληλα διασφαλίζουν ότι το φάρμακο θα φτάσει στο σωστό σημείο με τον καλύτερο δυνατό τρόπο (Cho et al., 2008).

Επιπρόσθετα, μπορούν να επηρεάσουν το περιβάλλον των όγκων, το οποίο αποτελείται από διάφορα κύτταρα, αγγεία και χημικές ουσίες που βοηθούν τον όγκο να αναπτυχθεί και να αποφύγει την ανοσολογική απάντηση του οργανισμού. Τα νανοσωματίδια μπορούν να διαταράξουν αυτό το περιβάλλον, καθιστώντας το πιο ευάλωτο στις επιθέσεις του ανοσοποιητικού συστήματος. Αυτό επιτυγχάνεται μέσω της στοχευμένης απελευθέρωσης ανοσοθεραπευτικών παραγόντων, όπως μονοκλωνικά αντισώματα ή ανοσοτροποποιητικές ουσίες, απευθείας στον όγκο. Παράλληλα, τα νανοσωματίδια μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη μεταφορά αντιγόνων που προάγουν την ενεργοποίηση των ανοσοκυττάρων, αυξάνοντας την αποτελεσματικότητα της ανοσολογικής απόκρισης. Έτσι, η ενσωμάτωση των νανοσωματιδίων στην ανοσοθεραπεία επιτρέπει την πιο στοχευμένη και ισχυρή επίθεση στον όγκο, βελτιώνοντας τις πιθανότητες επιτυχούς θεραπείας (Yang et al., 2021).

Συνοψίζοντας, τα νανοσυστήματα αποτελούν ένα σημαντικό εργαλείο στην καταπολέμηση του καρκίνου, προάγοντας στοχευμένες και αποτελεσματικές θεραπείες, με μειωμένο κίνδυνο παρενεργειών, και ανοίγοντας νέους ορίζοντες για μελλοντική έρευνα στον τομέα της ογκολογίας.

### *B5. Τοξικότητα NPs*

Στη σύγχρονη εποχή, τα νανοϋλικά έχουν κατακτήσει την παγκόσμια αγορά, προσφέροντας καινοτόμες λύσεις σε τομείς όπως η ιατρική, η βιομηχανία και η ενέργεια. Οι ιδιότητες τους σε φυσικό και χημικό επίπεδο τους δίνει την δυνατότητα να δράσουν είτε ως φάρμακό είτε ως φορέας μιας θεραπευτικής ουσίας. Από την μία πλευρά γνωρίζουμε τα τεράστια οφέλη που προσφέρουν τα νανοϋλικά καθώς η πλειοψηφία των νανοϋλικών έχουν σχεδιαστεί για να είναι βιοσυμβατά και ασφαλή, όμως ορισμένα μπορούν να προκαλέσουν τοξικότητα, ιδιαίτερα όταν διεισδύουν σε κύτταρα ή αλληλεπιδρούν με το ανοσοποιητικό σύστημα.

## *Αλγινικό Οξύ*

Τα άλατα αλγινικού θεωρούνται μη τοξικά, σύμφωνα με πολλές έρευνες, και όταν είναι διασυνδεδεμένα με νάτριο ή ασβέστιο, είναι ασφαλή για τα κύτταρα και δεν προκαλούν βλάβες στα μάτια ή στο δέρμα. Λόγω αυτής της μη τοξικής τους φύσης, τα αλγινικά άλατα έχουν βρει εφαρμογές σε διάφορους τομείς, όπως η ελεγχόμενη και παρατεταμένη απελευθέρωση φαρμάκων, η βιοϊατρική, τα καλλυντικά, η βιομηχανία τροφίμων και η βιομηχανία χαρτιού και χαρτοπολτού. Ειδικότερα, το αλγινικό νάτριο είναι απόλυτα ασφαλές και μη τοξικό για χρήση ως πρόσθετο στα τρόφιμα (Kumar et al., 2024). Βέβαια η τοξικότητα θα πρέπει να εξετάζεται με βάση τις συγκεκριμένες συνθήκες χρήσης, την επεξεργασία του ως νανοϋλικό αλλά και από άλλους παράγοντες.

Η καθαρότητα του αλγινικού οξέος είναι ένας από τους λόγους που μπορεί να εμφανίσει τοξική δράση. Οι ακαθαρσίες που μπορεί να υπάρχουν είτε από την διαδικασία εξαγωγής και επεξεργασίας του είτε από την πηγή του αλγινικού οξέος, μπορούν να οδηγήσουν σε τοξικές αντιδράσεις. Για την αποφυγή τέτοιων προβλημάτων, απαιτείται σχολαστικός έλεγχος της καθαρότητας του υλικού πριν από τη χρήση του σε βιοϊατρικές ή φαρμακευτικές εφαρμογές (Draget et al., 1997). Ένας άλλος παράγοντας είναι η συγκέντρωση και η δοσολογία προκειμένου να αποφευχθούν ανεπιθύμητες αντιδράσεις. Υπερβολικά υψηλές συγκεντρώσεις μπορούν να επιφέρουν τοξικές επιπτώσεις, ιδιαίτερα σε άτομα με ευαίσθητο ανοσοποιητικό ή σε περιπτώσεις παρατεταμένης έκθεσης (Lee & Mooney, 2012). Τέλος, ο τρόπος με τον οποίο επεξεργάζεται το αλγινικό οξύ μπορεί να επηρεάσει τη δράση του. Οι τροποποιήσεις στη φυσικοχημική του συμπεριφορά, όπως η διαλυτότητα ή η αυξημένη επιφάνεια που προκύπτουν έπειτα από επαφή με τα νανοϋλικά, χρειάζονται περαιτέρω μελέτες για την ασφάλεια των προϊόντων. Αυτές οι αλλαγές μπορούν να αλλάξουν την βιοδιαθεσιμότητα και την αλληλεπίδραση του υλικού με βιολογικούς ιστούς, καθιστώντας απαραίτητη την εκτίμηση της πιθανής τοξικότητας μέσω πειραματικών μελετών (SMIDSRÖD & SKJAKBRK, 1990).

## *Χρυσίνη*

Ενώ η χρυσίνη διαθέτει ευεργετικές ιδιότητες λόγω χάρη αντιοξειδωτικές, αντιφλεγμονώδεις και αντικαρκινικές ιδιότητες, υπάρχει αυξανόμενη ανησυχία σχετικά με την πιθανή τοξικότητά της, ιδίως σε περιπτώσεις μακροχρόνιας χρήσης ή έκθεσης σε υψηλές συγκεντρώσεις.

Η χρυσίνη έχει συνδεθεί με ηπατοτοξικές επιδράσεις. Η χρόνια έκθεση στη χρυσίνη οδήγησε σε βλάβες στο ήπαρ, όπως φάνηκε από τις αυξημένες τιμές των ηπατικών ενζύμων σε πειράματα που διεξήχθησαν σε αρουραίους,. Αυτές οι επιδράσεις είναι σημαντικές, διότι υποδεικνύουν ότι η παρατεταμένη χρήση της χρυσίνης σε υψηλές δόσεις μπορεί να προκαλέσει σοβαρά προβλήματα στο ήπαρ (Yao et al., 2021). Στη συνέχεια, η χρυσίνη μπορεί να παρουσιάζει νευροτοξικές ιδιότητες, ειδικά όταν συνδυάζεται με άλλες χημικές ουσίες ή φάρμακα. Οι νευροτοξικές της επιδράσεις έχουν συνδεθεί με την αύξηση του οξειδωτικού στρες και των φλεγμονωδών αντιδράσεων στον εγκέφαλο. Αυτά τα ευρήματα δημιουργούν ανησυχίες σχετικά με την ασφάλεια της χρυσίνης ως διατροφικό συμπλήρωμα ή φαρμακευτικό συστατικό, κυρίως όταν χρησιμοποιείται παράλληλα με άλλες φαρμακευτικές αγωγές (Mishra et al., 2021).

Συνοψίζοντας, ενώ η χρυσίνη προσφέρει αρκετές βιολογικές δράσεις που μπορεί να είναι ωφέλιμες, η τοξικότητά της, είναι ένας τομέας που απαιτεί περαιτέρω έρευνα πριν από την ευρεία χρήση της σε ιατρικές ή διατροφικές εφαρμογές.

## *B6. Αιμοσυμβατότητα & NPs*

Το αίμα είναι η πύλη των νανοσωματιδίων είτε αυτά χορηγούνται ενδοφλεβίως είτε μέσω άλλων οδών προκειμένου να φτάσουν τα όργανα-στόχους. Επομένως η επαφή των νανοσυστημάτων με το αίμα άρα και τα συστατικά του αίματος είναι αναπόφευκτη. Έτσι, η αιμοσυμβατότητα κρίνεται αναγκαία στον σχεδιασμό φαρμάκων (de la Harpe et al., 2019).

Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, μόλις τα NPs έρθουν σε επαφή με το αίμα αλληλοεπιδρούν με τα κύτταρα και τις πρωτεΐνες του αίματος, όπου και οι τελευταίες προσροφώνται άμεσα στην επιφάνεια των NPs. Έπειτα σχηματίζουν μια πρωτεϊνική κορώνα που επηρεάζει σημαντικά την

αλληλεπίδρασή τους με τα συστατικά του αίματος. Η πρωτεϊνική κορώνα είναι ένα στρώμα πρωτεϊνών που σχηματίζεται στην επιφάνεια των νανοσωματιδίων όταν αυτά εισέρχονται σε βιολογικά υγρά, όπως το αίμα. Αυτή η διαδικασία είναι κρίσιμη καθώς επηρεάζει τη βιολογική συμπεριφορά των NPs, και να οδηγήσει σε αιμόλυση, ενεργοποίηση αιμοπεταλίων και σχηματισμό θρόμβων. Τέλος, η πρωτεϊνική κορώνα μπορεί να επηρεάσει τη στόχευση και τη φαρμακοκινητική των NPs, καθώς οι προσκολλημένες πρωτεΐνες μπορούν να καλύψουν τις λειτουργικές ομάδες στην επιφάνεια των νανοσωματιδίων.

Η κορώνα αποτελείται από δύο κύρια στρώματα: το «σκληρό» στρώμα (hard corona), το οποίο προσκολλάται ισχυρά στην επιφάνεια το NPs, και το «μαλακό» στρώμα (soft corona), το οποίο είναι πιο δυναμικό και ευαίσθητο σε αλλαγές στο περιβάλλον. Ο σχηματισμός της πρωτεϊνικής κορώνας μπορεί να επηρεαστεί από πολλούς παράγοντες, όπως το μέγεθος, το σχήμα, και το φορτίο του NP, καθώς και τη σύνθεση του βιολογικού υγρού στο οποίο βυθίζεται (Hajirour et al., 2023).

Η βελτίωση της αιμοσυμβατότητας των νανοϋλικών μπορεί να επιτευχθεί μέσω της τροποποίησης της επιφάνειας των νανοσωματιδίων. Οι στρατηγικές περιλαμβάνουν τη χρήση βιοσυμβατών επιστρώσεων που αποτρέπουν την ανεπιθύμητη προσκόλληση πρωτεϊνών και τη χρήση υλικών που μειώνουν την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων. Έτσι, μπορεί να μειωθούν οι αρνητικές αιματολογικές αντιδράσεις και να βελτιωθεί η θεραπευτική αποτελεσματικότητα των νανοσυστημάτων. Συνοψίζοντας, η αιμοσυμβατότητα των νανοσυστημάτων είναι ζωτικής σημασίας για την ασφαλή και αποτελεσματική χρήση τους στη βιοϊατρική.

### *B6.1. Αλγινικό Οξύ*

Η αιμοσυμβατότητα του αλγινικού οξέος είναι μια καθοριστική παράμετρος για τη χρήση του σε βιοϊατρικές εφαρμογές, όπου η αλληλεπίδραση του υλικού με το αίμα είναι αναπόφευκτη. Συγκεκριμένα, το αλγινικό οξύ παρουσιάζει χαμηλή αιμολυτική δραστηριότητα, γεγονός που υποδεικνύει ότι δεν προκαλεί σημαντική βλάβη στα ερυθρά αιμοσφαίρια κατά την επαφή του με το αίμα. Αυτό είναι ιδιαίτερα σημαντικό για την πρόληψη ανεπιθύμητων αντιδράσεων κατά τη διάρκεια εφαρμογών.



Επιπλέον, οι αντιθρομβωτικές ιδιότητες του αλγινικού οξέος ενισχύουν περαιτέρω τη χρησιμότητά του σε ιατρικές εφαρμογές. Το υλικό αυτό δεν προάγει τον σχηματισμό θρόμβων, γεγονός που μειώνει τον κίνδυνο θρομβώσεων κατά τη χρήση του σε συστήματα που έρχονται σε επαφή με το κυκλοφορικό σύστημα. Η αιμοσυμβατότητα του αλγινικού οξέος, σε συνδυασμό με τις βιοσυμβατές και αντιμικροβιακές του ιδιότητες, καθιστά το υλικό αυτό ιδανικό για χρήση σε συστήματα αιμοκάθαρσης και άλλες ιατρικές εφαρμογές όπου απαιτείται υψηλό επίπεδο ασφάλειας και αποτελεσματικότητας. Συνοψίζοντας, η προσαρμοστικότητα και οι ευεργετικές ιδιότητες του αλγινικού οξέος το καθιστούν έναν από τους πλέον υποσχόμενους βιοϋλικούς για εφαρμογές που σχετίζονται με την ανθρώπινη υγεία (Kumar et al., 2024; Tomić et al., 2023).

### *B6.2. Χρυσίνη*

Στην περίπτωση της χρυσίνης, ενός φυσικού φλαβονοειδούς με γνωστές αντικαρκινικές, αντιοξειδωτικές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες, η διερεύνηση της αιμοσυμβατότητάς της είναι απαραίτητη για την αξιολόγηση της ασφάλειάς της ως θεραπευτικού παράγοντα.

Μελέτες έχουν δείξει ότι η χρυσίνη μπορεί να ενθυλακωθεί σε βιοαποικοδομήσιμα πολυμερή, όπως η πολυ(ε-καπρολακτόνη) (PCL) και η πολυ(3-υδροξυβουτυρικό) (PHB), για την ανάπτυξη φαρμακευτικών μικροσωματιδίων. Αυτά τα μικροσωματίδια στοχεύουν στην ελεγχόμενη απελευθέρωση της χρυσίνης, διασφαλίζοντας τη σταθερότητα και τη βιοδιαθεσιμότητά της. Η αξιολόγηση της αιμοσυμβατότητας αυτών των υλικών είναι απαραίτητη για να διαπιστωθεί εάν η χρυσίνη μπορεί να χρησιμοποιηθεί με ασφάλεια σε κλινικές εφαρμογές.

Η αιμοσυμβατότητα της χρυσίνης και των υλικών που τη φέρουν μπορεί να αξιολογηθεί μέσω διαφόρων πειραματικών προσεγγίσεων, όπως η ανάλυση αιμολυτικών αντιδράσεων, η μέτρηση των επιπέδων προθρομβίνης και ο προσδιορισμός των αντιδράσεων του συμπληρώματος. Τα αποτελέσματα από τέτοιες μελέτες δείχνουν ότι η χρυσίνη, όταν ενσωματώνεται σε PCL και PHB μικροσωματίδια, δεν προκαλεί αιμολυτικές αντιδράσεις ή άλλες αρνητικές επιδράσεις στο αιμοποιητικό σύστημα. Αυτό υποδηλώνει ότι η χρυσίνη, σε συνδυασμό με τα συγκεκριμένα βιοϋλικά, παρουσιάζει καλή αιμοσυμβατότητα.

Συνοψίζοντας, η αιμοσυμβατότητα της χρυσίνης, σε συνδυασμό με τα βιοαποικοδομήσιμα πολυμερή όπως το PCL και το PHB, δείχνει ότι η χρήση της ως θεραπευτικού παράγοντα είναι ασφαλής και υποσχόμενη (Halevas et al., 2021).

## *Γ. Υλικά & Μέθοδοι:*

### *Γ1. Σκοπός Εργασίας*

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν ο υπολογισμός της ελεύθερης αιμοσφαιρίνης πλάσματος καθώς και της μηχανικής αντίστασης των ερυθροκυττάρων έπειτα από επώαση με νανοσυστήματα, σχεδιασμένα ως φορείς φαρμάκων. Έτσι, συλλέχθηκε αίμα από 15 υγιείς αιμοδότες, διαφόρων ηλικιών (20 έως 48 ετών), το οποίο μελετήθηκε πριν και μετά από τετράωρη επώαση με νανοϋλικά.

### *Γ2. Όργανα & Αντιδραστήρια*

#### *Γ2.1. Συσκευές & Όργανα*

- ◆ Αιματολογικός αναλυτής, Convergys X3 NG (Convergent Technologies)
- ◆ Φασματοφωτόμετρο LKB Novaspec
- ◆ Ψυχόμενη Φυγόκεντρος, MIKRO 22R, HETTICH
- ◆ Επιτραπέζια Φυγόκεντρος Thermo Fisher Scientific SL plys seriemicroCL 17
- ◆ Επιτραπέζια Φυγόκεντρος Thermo Fisher Scientific SL PLus Series
- ◆ Πιπέτες Bio – Rad
- ◆ Vortex
- ◆ Ρόδα ανακίνησης-Apelab
- ◆ Επωαστικός κλίβανος, Series B Classic Line, BINDER

#### *Γ2.2. Χημικά Αντιδραστήρια*

- ◆ dH<sub>2</sub>O
- ◆ Phosphate Buffer Saline (PBS) 1x

### *Γ2.3. Αναλώσιμα*

- ◆ Σωληνάρια αιμοληψίας
- ◆ Σωληνάρια ria
- ◆ Cryotubes
- ◆ Eppendorfs όγκου 1,5 mL
- ◆ Μεταλλικά Σφαιρίδια
- ◆ Κυβέτες Φασματοφωτόμετρου
- ◆ Ρύγχοι πιπέτας τύπου Pasteur

### *Γ3. Προετοιμασία Δειγμάτων*

Το πειραματικό μέρος χωρίζεται σε δύο μέρη: πριν και μετά από τετράωρη επώαση. Στο πρώτο σκέλος, ένα σωληνάριο με ολικό αίμα αξιοποιήθηκε και χρησιμοποιήθηκε ως μάρτυρας (control) στην παρατήρηση των επιπέδων αιμόλυσης υπό την επίδραση των νανοσυστημάτων.

Στο δεύτερο σκέλος, τα δείγματα μας αξιολογήθηκαν μετά από τετράωρη επώαση. Αρχικά, το φρέσκο αίμα φυγοκεντρήθηκε σε 1.000 g για 10 λεπτά και αφαιρέθηκε το υπερκείμενο και το buffy coat για να υπάρχουν μόνο συμπυκνωμένα ερυθρά. Έπειτα, τα δείγματα μεταφέρθηκαν σε σωλήνες Falcon και ακολούθησε η πλύση τους με διάλυμα PBS.

Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε η επώαση με τα νανοσυστήματα. Το πρώτο σωληνάριο NP1 περιείχε το νανοσύστημα αλγινικού με την εγκλωβισμένη χρυσίνη διαλυμένα σε PBS, το δεύτερο σωληνάριο NP2 περιείχε το αλγινικό οξύ και το τρίτο σωληνάριο NP3 περιείχε την ελεύθερη χρυσίνη. Το τέταρτο σωληνάριο χρησιμοποιήθηκε ως μάρτυρας (control) μετά την επώαση με τα νανοσυστήματα. Τέλος, τοποθετήθηκαν στον επωαστικό κλίβανο στους 37°C για 4 ώρες με ήπια ανάδευση.

## *Γ4. Εργαστηριακές Μέθοδοι*

### *Γ4.1. Μέτρηση Ελεύθερης Αιμοσφαιρίνης ( Free Hb) – Κατά Harboe:*

Η μέτρηση της ελεύθερης αιμοσφαιρίνης κατά Harboe βασίζεται στο ότι στα 415 nm παρατηρείται η μέγιστη απορρόφηση της οξυ-αιμοσφαιρίνης ενώ οι μετρήσεις στα 380 και 450 nm γίνονται για την αφαίρεση της μέγιστης απορρόφησης. Έτσι, έπειτα από φυγοκέντρηση του δείγματος στα 1000 G για 10 λεπτά και αραιώση του υπερκευμένου, πραγματοποιήθηκε φωτομέτρηση σε 3 διαφορετικά μήκη κύματος (380,415,450). Για τον υπολογισμό της συγκέντρωσης χρησιμοποιήθηκε ο τύπος:

$$Hb (mg/100 ml) = \frac{[(167,2 \times A_{415}) - (83,6 \times A_{380}) - (83,6 \times A_{450}) \times 1/1.000 \times \text{αραιώση} \times 100}{}$$

(Tzounakas et al., 2022)

### *Γ4.2. Μέτρηση Μηχανικής Ευθραυστότητας ( MFI):*

Για τον υπολογισμό της μηχανικής ευθραυστότητας τα ερυθρά αιμοσφαίρια αναδεύτηκαν παρουσία μεταλλικών σφαιριδίων για μια ώρα στην ρόδα, για την πρόκληση μηχανικού στρες. Ακολούθως πραγματοποιήθηκαν δύο φυγοκεντρήσεις στους 4°C υπό διαφορετικές συνθήκες και έγινε μέτρηση της ελεύθερης αιμοσφαιρίνης στο τελικό υπερκείμενο σύμφωνα με τη μέθοδο Harboe. Χρησιμοποιώντας δείγμα με αιματοκρίτη 20%, υπολογίστηκε επίσης η ενδοκυττάρια αιμοσφαιρίνη με τη μέθοδο των διαδοχικών αραιώσεων. Για τον υπολογισμό του δείκτη μηχανικής ευθραυστότητας (MFI, mechanical fragility index), χρησιμοποιήθηκε ο τύπος:

$$MFI \% = \frac{[(\text{Ελεύθερη } Hb_{\text{με σφαιρίδια}} - \text{Ελεύθερη } Hb_{\text{μάρτυρας}}) / (Hb_{20\%} - \text{Ελεύθερη } Hb_{\text{μάρτυρας}}) \times 100}{}$$

(Bouchla et al., 2022)

### *Γ4.3. Στατιστική Επεξεργασία*

Για τη στατιστική ανάλυση των δεδομένων που προέκυψαν αλλά και για τα graphs χρησιμοποιήθηκε GraphPad Prism 8.0.

## *Δ. Αποτελέσματα*

### *Δ1. Αιματολογικό προφίλ*

Όσον αφορά τις μετρήσεις που προέκυψαν από τη γενική εξέταση αίματος, παρατίθενται τα αποτελέσματα στον **Πίνακα 1**. Οι τιμές αυτές προέρχονται από τον μέσο όρο (AVG)  $\pm$  την τυπική απόκλιση (SD).

- Από την αιματολογική ανάλυση που πραγματοποιήθηκε, προέκυψε ότι ο αριθμός των ερυθρών αιμοσφαιρίων (RBCs) ήταν  $4,41 \times 10^6 / \mu\text{l} \pm 0,52$ , δηλαδή εντός των φυσιολογικών ορίων.
- Αντίστοιχα η τιμή της αιμοσφαιρίνης (Hb)  $13,11 \text{ gr/dl} \pm 1,56$  ήταν εντός των φυσιολογικών τιμών.
- Η ανάλυση του αιματοκρίτη (Hct) έδειξε ως μέσο όρο  $38,06\% \pm 4,47$ , εντός των φυσιολογικών ορίων.
- Ο μέσος όγκος ερυθρών (MCV) ήταν  $86,54 \pm 2,40 \text{ fl}$  με φυσιολογικές τιμές 82 – 98.
- Η μέση μάζα αιμοσφαιρίνης ανά ερυθρό αιμοσφαίριο (MCH) με φυσιολογικές τιμές 26 – 34, ήταν  $29,76 \pm 1,21 \text{ pg}$ , άρα εντός φυσιολογικών ορίων.
- Η συγκέντρωση της αιμοσφαιρίνης σε έναν δεδομένο όγκο συσσωρευμένων ερυθρών αιμοσφαιρίων (MCHC) ήταν  $34,44 \pm 1,08 \text{ g/dl}$  με φυσιολογικές τιμές 31 – 37.
- Τέλος, ο μέσος όρος για το πλάτος κατανομής των ερυθρών αιμοσφαιρίων (RDW) ήταν  $15,39 \pm 0,88 \text{ CV}\%$  με φυσιολογικές τιμές εντός των ορίων 11,5 – 14,5.

Συνοψίζοντας, έχοντας συγκρίνει τον μέσο όρο των τιμών των δοτών με τις φυσιολογικές τιμές, παρατηρήθηκε πως όλες ήταν εντός των φυσιολογικών ορίων.

<u>ΠΙΝΑΚΑΣ ΓΕΝΙΚΩΝ</u>	<u>ΔΟΤΕΣ</u>	<u>ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΤΙΜΕΣ</u>
<b>RBCs (x 10<sup>6</sup> / μl)</b>	4,41 ± 0,52	♂ : 4,2 – 6,4
		♀ : 3,6 – 5
<b>Hb (gr/dl)</b>	13,11 ± 1,56	♂ : 14 – 17
		♀ : 12 – 16
<b>Hct (%)</b>	38,06 ± 4,47	♂ : 42 – 52
		♀ : 37 – 47
<b>MCV (fl)</b>	86,54 ± 2,40	82 – 98
<b>MCH (pg)</b>	29,76 ± 1,21	26 – 34
<b>MCHC (g/dl)</b>	34,44 ± 1,08	31 – 37
<b>RDW (CV%)</b>	15,39 ± 0,88	11,5 – 14,5

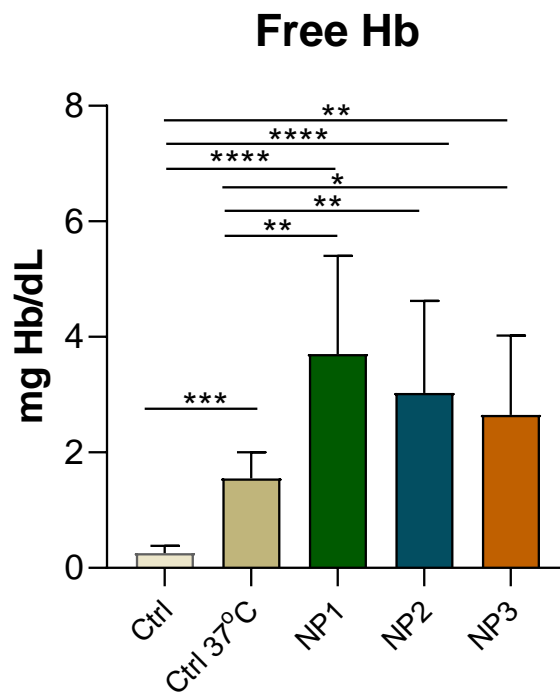
*Πίνακας 1: Αιματολογικοί Δείκτες & Φυσιολογικές τιμές. Από τη σύγκριση τιμών προκύπτει πως οι παράμετροι δεν εμφανίζουν κάποια στατιστική διαφορά και είναι εντός των φυσιολογικών ορίων. Οι τιμές έχουν προκύψει από τον μέσο όρο ± την τυπική απόκλιση.*



## 4.2. Ελεύθερη Αιμοσφαιρίνη

Στο **Διάγραμμα 1** απεικονίζεται η μέση τιμή της ελεύθερης αιμοσφαιρίνης των δειγμάτων στις διαφορετικές συνθήκες επώασης. Η ελεύθερη αιμοσφαιρίνη των μαρτύρων (Ctrl) ήταν  $0,2533 \pm 0,1311$  mg Hb/dL ενώ των μαρτύρων στους  $37^{\circ}\text{C}$  (Ctrl $37^{\circ}\text{C}$ )  $1,552 \pm 0,4500$  mg Hb/dL. Η ελεύθερη αιμοσφαιρίνη ήταν στατιστικά σημαντικά υψηλότερη στο Ctrl $37^{\circ}\text{C}$  ( $p=0,0010$ ). Στατιστικά σημαντικά υψηλότερες ήταν οι τιμές της ελεύθερης αιμοσφαιρίνης μετά την επώαση με το NP1 ( $3,703 \pm 1,699$  mg Hb/dL), το NP2 ( $3,030 \pm 1,596$  mg Hb/dL) και το NP3 ( $2,653 \pm 1,368$  mg Hb/dL) σε σχέση με τους μάρτυρες ( $p<0,0001$ ,  $p<0,0001$  και  $p=0,0020$ , αντίστοιχα).

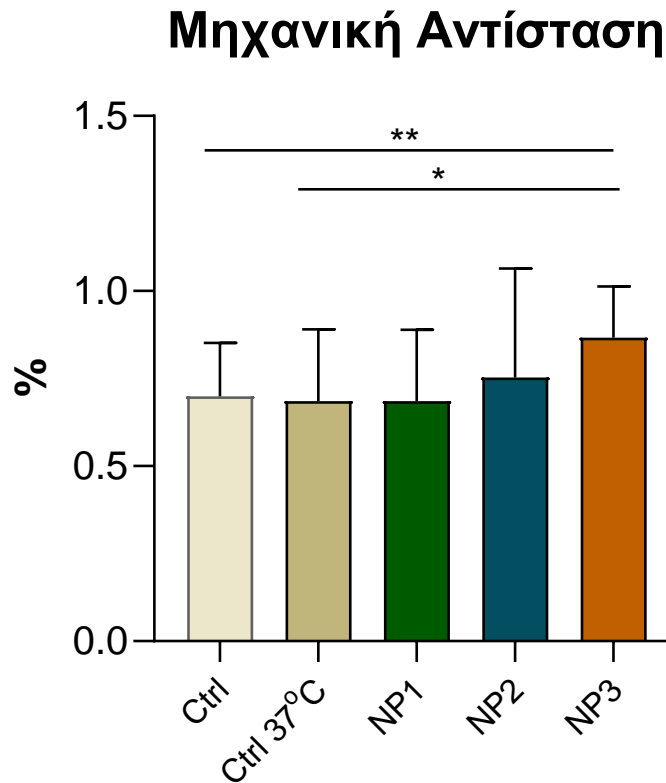
Στατιστικά σημαντικά υψηλότερη βρέθηκε η ελεύθερη αιμοσφαιρίνη μετά την επώαση με τα NPs σε σχέση με τους μάρτυρες στους  $37^{\circ}\text{C}$ . Συγκεκριμένα, η ελεύθερη αιμοσφαιρίνη μετά την επώαση με το NP1 ήταν  $3,703 \pm 1,699$  mg Hb/dL έναντι  $1,552 \pm 0,4500$  mg Hb/dL των μαρτύρων στους  $37^{\circ}\text{C}$  ( $p=0,0020$ ). Παράλληλα, συγκρίνοντας τις τιμές μετά την επώαση με NP2 και NP3 παρατηρείται στατιστικά υψηλότερη τιμή ελεύθερης αιμοσφαιρίνης ( $3,030 \pm 1,596$  mg Hb/dL,  $2,653 \pm 1,68$  mg Hb/dL) σε σχέση με τους μάρτυρες στους  $37^{\circ}\text{C}$  ( $p=0,0020$ ,  $p=0,0156$ , αντίστοιχα).



**Διάγραμμα 1:** Επίπεδα ελεύθερης αιμοσφαιρίνης (Free Hb) στις διαφορετικές συνθήκες επώασης. \*  $p<0,05$ , \*\* $p<0,01$ , \*\*\* $p<0,001$ , \*\*\*\* $p<0,0001$ .

### 43. Μηχανική Αιμόλυση

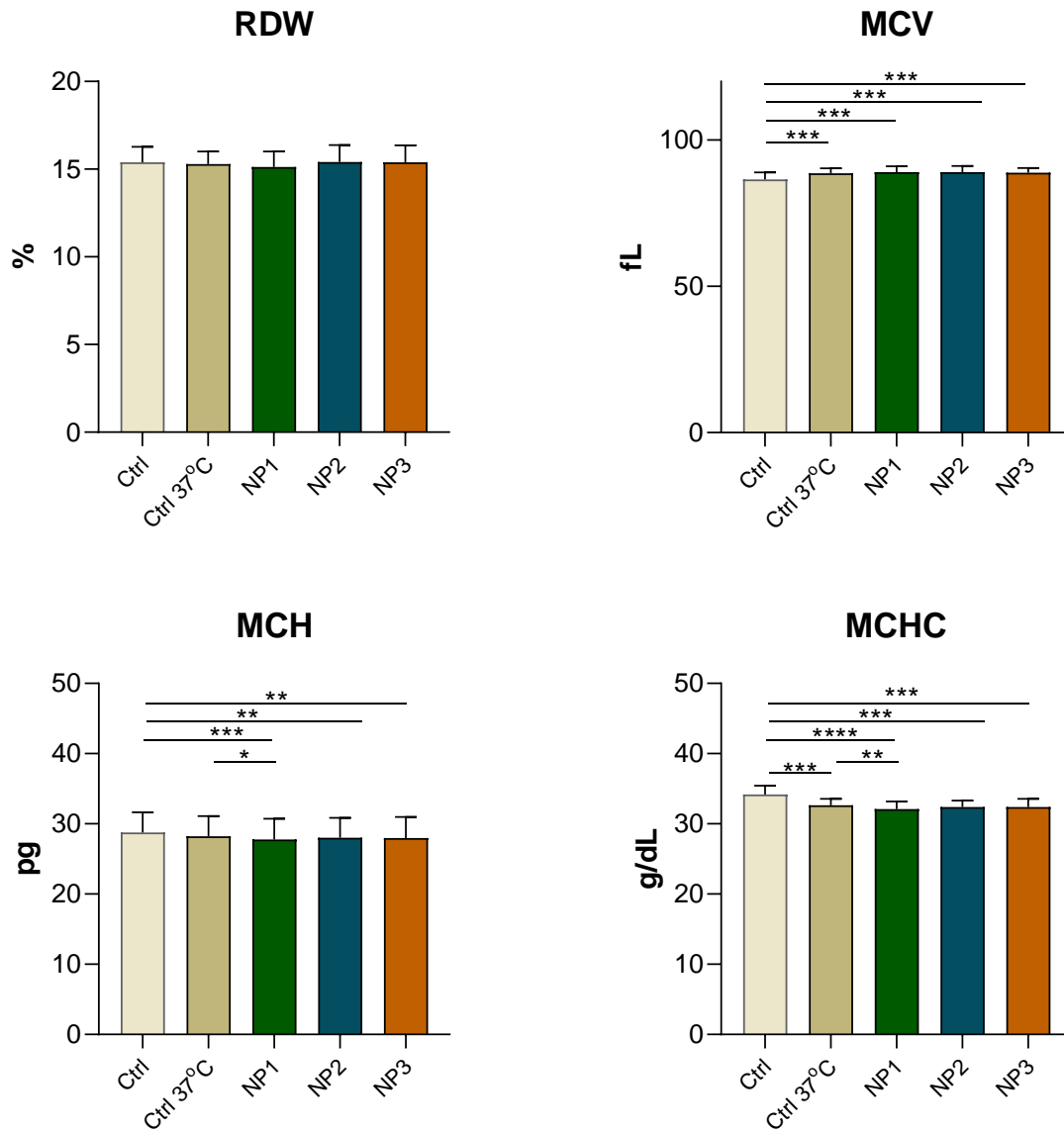
Στο **Διάγραμμα 2** απεικονίζεται η μηχανική αντίσταση των ερυθρών αιμοσφαιρίων σε 5 διαφορετικές συνθήκες επώασης. Στατιστικά σημαντική αύξηση παρατηρήθηκε συγκρίνοντας την τιμή μετά την επώαση με το NP3 με τους μάρτυρες και τους μάρτυρες στους 37°C. Η μηχανική αντίσταση των ερυθρών αιμοσφαιρίων μετά από επώαση με NP3 ήταν  $0,8664\% \pm 0,1469$ . Η μηχανική αντίσταση των ερυθρών αιμοσφαιρίων των μαρτύρων ήταν  $0,6993\% \pm 0,1521$  με στατιστική σημαντική διαφορά  $p=0,0029$  ενώ των μαρτύρων στους 37°C  $0,6850\% \pm 0,2062$  με στατιστική διαφορά  $p=0,0234$ .



**Διάγραμμα 2:** Ποσοστό μηχανικής αντίστασης (MFI) στις διαφορετικές συνθήκες επώασης. \*  $p<0,05$ , \*\* $p<0,01$

#### Δ4. Αιματολογικοί δείκτες

Τέλος στο **Διάγραμμα 3** απεικονίζεται η μέση τιμή των αιματολογικών δεικτών RDW, MCV, MCH και MCHC των controls και των NPs.



**Διάγραμμα 3:** RDW, MCV, MCH, MCHC στις διαφορετικές συνθήκες επώασης. \*  $p < 0,05$ ,

\*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$ , \*\*\*\* $p < 0,0001$

Συγκρίνοντας τα αποτελέσματα του γραφήματος για το RDW μεταξύ των NPs και των μαρτύρων δεν παρατηρήθηκε κάποια σημαντική στατιστική διαφορά. Ενώ, σημαντική στατιστική διαφορά παρατηρήθηκε στη μέση τιμή του MCV των NPs και των μαρτύρων. Η σύγκριση έγινε μεταξύ της μέσης τιμής του MCV των μαρτύρων με τη μέση τιμή του MCV για τους μάρτυρες στους 37°C, και έπειτα από επώαση με NP1, NP2 και NP3. Ο MCV των μαρτύρων στους 37°C ( $88,62 \pm 1,710$  fL) εμφανίστηκε αυξημένος σε σύγκριση με τους μάρτυρες ( $86,54 \pm 2,402$  fL) στατιστική σημαντικότητα,  $p=0,0002$ . Επιπλέον ο MCV μετά την επώαση με NP1 ήταν  $89,00 \pm 2,041$  fL, αυξημένος σε σύγκριση με τους μάρτυρες, εμφανίζοντας διαφορά  $p=0,0005$ . Τέλος, στατιστικά υψηλότερες ήταν οι τιμές του MCV μετά την επώαση με NP2 ( $89,08 \pm 2,060$  fL) και επώαση με NP3 ( $88,85 \pm 1,625$  fL) σε σχέση με τους μάρτυρες με στατιστική σημαντικότητα  $p=0,0002$  και  $p=0,0005$ , αντίστοιχα.

Στατιστικά σημαντικά μειωμένες ήταν οι τιμές του MCH μετά την επώαση με NP1 ( $27,75 \pm 2,990$  pg), NP2 ( $28,01 \pm 2,860$  pg) και NP3 ( $27,98 \pm 2,990$  pg) σε σύγκριση με το MCH των μαρτύρων ( $28,75 \pm 2,904$  pg),  $p=0,0008$ ,  $p=0,0055$  και  $p=0,0038$ , αντίστοιχα. Η μέση τιμή μετά από επώαση με NP1 ( $27,75 \pm 2,990$  pg) ήταν μειωμένη συγκριτικά με το MCH των μαρτύρων στους 37°C ( $28,21 \pm 2,873$  pg),  $p=0,0245$ .

Όσον αφορά τη μέση τιμή του MCHC η μέση τιμή των μαρτύρων ήταν  $34,17 \pm 1,259$  g/dL ενώ των μαρτύρων στους 37°C ήταν μειωμένη  $32,63 \pm 0,9184$  g/dL ( $p=0,0004$ ). Στη συνέχεια, παρόμοια μείωση παρατηρήθηκε και μετά την επώαση με NP1 ( $32,09 \pm 1,086$  g/dL), NP2 ( $32,41 \pm 0,8988$  dL) και NP3 ( $32,38 \pm 1,185$  g/dL) σε σχέση με τους μάρτυρες ( $p<0,0001$ ,  $p=0,0003$  και  $p=0,0004$  αντίστοιχα). Τέλος, η μέση τιμή του MCHC μετά την επώαση με το NP1 ήταν μειωμένη ( $32,09 \pm 1,086$  g/dL) σε σχέση με τους μάρτυρες στους 37°C ( $32,63 \pm 0,9184$  g/dL),  $p=0,0087$ .

### *E. Συζήτηση-Συμπεράσματα*

Η εν λόγω εργασία προσεγγίζει τρεις θεματικές ενότητες, με σκοπό την παρατήρηση των δεικτών αιμόλυσης υπό την επίδραση νανοσυστημάτων. Τα ερυθρά αιμοσφαίρια χρησιμοποιούνται ιδιαίτερα στη βιοϊατρική μηχανική για θεραπευτικούς λόγους και πιο συγκεκριμένα ως φορείς φαρμάκων. Λόγω της χρήσης των ερυθρών ως βιομιμητικοί φορείς, κρίνεται απαραίτητη η περαιτέρω μελέτη. Ο όρος «βιομιμητικοί φορείς» αναφέρεται σε σχεδιασμένους φορείς, οι οποίοι αναπαράγουν τη δομή και τις λειτουργίες των βιολογικών συστημάτων (Wang et al., 2019). Λόγω του ότι τα ερυθρά προέρχονται από κυτταρικές μεμβράνες, προσφέρουν αυξημένη βιοσυμβατότητα, στοχευμένη δράση, παρατεταμένη διάρκεια και ελάχιστες ανοσολογικές αντιδράσεις (Han et al., 2018).

Τα νανοσυστήματα που χρησιμοποιήθηκαν είναι πολυμερή νανοσυστήματα αλγινικού οξέος με εγκλωβισμένη χρυσίνη σχεδιασμένα για φορείς φαρμάκων. Ενώ όπως έχει αναφέρει και ο Chaudhuri (Chaudhuri et al., 2007) διάφορα φλαβονοειδή, όπως η χρυσίνη όπου και χρησιμοποιείται ως φορέας φαρμάκων, έχουν αντιαιμολυτικές επιδράσεις, άλλες έρευνες έχουν αναφέρει διαταραχές στην αιμόσταση που οφείλονται σε μεγάλο βαθμό στις φυσικοχημικές ιδιότητες των NPs (de la Harpe et al., 2019).

Σε πρώτη φάση μελετήθηκαν οι διαφοροποιήσεις στους αιματολογικούς δείκτες έπειτα από τετράωρη επώαση με τα νανοϋλικά. Στη συνέχεια, για να χρησιμοποιηθούν νανοσυστήματα ως φορείς φαρμάκων κρίνεται αναγκαία, όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, η αξιολόγηση της αιμοσυμβατότητας. Αυτό μπορεί να ελεγχθεί μελετώντας την παραμόρφωση της μεμβράνης των ερυθρών και αν το ποσοστό αιμόλυσης θεωρείται τοξικό για τον οργανισμό. Στην παρούσα μελέτη μετρήθηκε το ποσοστό της ελεύθερης αιμοσφαιρίνης πλάσματος (FreeHb) που απελευθερώνεται όταν οι νανοφορείς έρχονται σε επαφή με επιφάνειες ερυθρών αιμοσφαιρίων και μπορεί να ξεκινήσουν ερυθροκυτταρική λύση, όπως πραγματοποιήθηκε και από τον Fortis και τους συνεργάτες του (Fortis et al., 2024). Τέλος, ελέγχεται η αντοχή των ερυθροκυττάρων στο μηχανικό στρες με τη μέτρηση της μηχανικής αντίστασης της μεμβράνης των ερυθροκυττάρων.

Ός προς τους αιματολογικούς δείκτες, η στατιστική ανάλυση έδειξε ότι τα πολυμερή νανοσυστήματα αλγινικού οξέος με εγκλωβισμένη χρυσίνη, δεν επηρέασαν αρνητικά τις παραμέτρους που εξετάστηκαν. Συγκεκριμένα, οι αιματολογικοί δείκτες που αναλύθηκαν περιλαμβάνουν τον μέσο όγκο ερυθρών (MCV), τη μέση μάζα αιμοσφαιρίνης ανά ερυθρό αιμοσφαίριο (MCH), τη συγκέντρωση της αιμοσφαιρίνης σε έναν δεδομένο όγκο συσσωρευμένων ερυθρών αιμοσφαιρίων (MCHC) και τον μέσο όρο για το πλάτος κατανομής των ερυθρών αιμοσφαιρίων (RDW), οι οποίοι παρέμειναν εντός φυσιολογικών ορίων μετά τη χορήγηση των νανοσυστημάτων. Αυτά τα ευρήματα υποδηλώνουν ότι η ενσωμάτωση της χρυσίνης σε πολυμερή νανοσυστήματα αλγινικού οξέος δεν προκαλεί ανεπιθύμητες αιματολογικές διαταραχές, καθιστώντας την τεχνολογία αυτή μια δυνητικά ασφαλή επιλογή για θεραπευτική χρήση. Η έλλειψη αρνητικών επιπτώσεων στους αιματολογικούς δείκτες αποτελεί ένα κρίσιμο βήμα προς την κλινική αξιολόγηση και εφαρμογή αυτών των νανοσυστημάτων.

Στη συνέχεια έχουμε τα αποτελέσματα σχετικά με την ελεύθερη αιμοσφαιρίνη πλάσματος. Η στατιστική ανάλυση έδειξε πως το ποσοστό απελευθέρωσης είχε στατιστική σημαντική διαφορά αλλά ήταν σε σχετικά χαμηλά επίπεδα. Σύμφωνα με το πρότυπο ISO/TR 10993–22:2017 η αιμόλυση 5 % σχετίζεται με αιμολυτικές επιδράσεις, μεταξύ 5 και 2 % έως ελαφρώς αιμολυτικών και κάτω του 2 % με μη αιμολυτικά υλικά (Fortis, Batrinou, Georgatzakou, Tsamesidis, Alvanidis, et al., 2024). Ταυτόχρονα όπως αναφέρουν και οι Jungner et al. η φυσιολογική συγκέντρωση ελεύθερης αιμοσφαιρίνης πλάσματος στον ανθρώπινο οργανισμό είναι <0,05 g/L (Jungner et al., 2022). Επομένως, παρά την εφαρμογή των νανοσυστημάτων με αλγινικό οξύ και χρυσίνη δεν διαταράσσονται οι φυσικοί μηχανισμοί ρύθμισης και αποδόμησης των ερυθρών αιμοσφαιρίων. Η παραμονή της ελεύθερης αιμοσφαιρίνης εντός των φυσιολογικών ορίων διασφαλίζει ότι δεν υπάρχουν κλινικά ανησυχητικές επιπτώσεις, παρά τις διαφοροποιήσεις στην απελευθέρωση. Αυτό το εύρημα είναι ιδιαίτερα σημαντικό, καθώς διασφαλίζει ότι η χρήση νανοσυστημάτων δεν συνεπάγεται με κίνδυνο για την πρόκληση αιμολυτικών επιπλοκών ή άλλων ανεπιθύμητων παρενεργειών (Talebi et al., 2021).

Τέλος, η στατιστική ανάλυση σχετικά με την μηχανική αντίσταση της ερυθροκυτταρικής μεμβράνης των κυττάρων υπό την παρουσία των νανοσυστημάτων, έδειξε πως δεν επηρεάστηκε σημαντικά η συνολική σταθερότητα των ερυθρών αιμοσφαιρίων, καθώς η

μηχανική αντίσταση παρέμεινε εντός φυσιολογικών ορίων. Αυτό σημαίνει ότι, παρά τις διαφοροποιήσεις, τα νανοσυστήματα δεν οδήγησαν σε κυτταρική λύση ή σε διαταραχή της κυτταρικής ακεραιότητας.

Εν κατακλείδι από τα παραπάνω προκύπτει πως τα πολυμερή νανοσυστήματα αλγινικού οξέος και η χρυσίνη αποδεικνύονται υποσχόμενα ως φορείς φαρμάκων με στόχο την ελεγχόμενη χορήγηση τους, ιδιαίτερα στην αντιμετώπιση λευχαιμιών καθώς δεν επηρεάζουν σημαντικά την αιμολυτική δράση των ερυθρών αιμοσφαιρίων. Περαιτέρω διερεύνηση σε μεγαλύτερο δείγμα αιμοδοτών κρίνεται απαραίτητη για την επιβεβαίωση των προκαταρκτικών αυτών αποτελεσμάτων. Παρόλα αυτά, τα αποτελέσματα υποδεικνύουν τη δυνατότητα κλινικής εφαρμογής.

Τα αποτελέσματα αυτής της έρευνας είναι σημαντικά και για την σύγχρονη ιατρική κοινότητα, καθώς οι εφαρμογές αυτών των νανοσυστημάτων μπορεί να επηρεάσουν σημαντικά τη θεραπευτική προσέγγιση σε πολλές παθήσεις, προσφέροντας υποσχόμενα αποτελέσματα για την υγειονομική περίθαλψη και τη βελτίωση της ποιότητας ζωής των ασθενών.

## Στ. Βιβλιογραφικές Αναφορές

- Ahmed, M. H., Ghatge, M. S., & Safo, M. K. (2020). *Hemoglobin: Structure, Function and Allostery* (pp. 345–382). [https://doi.org/10.1007/978-3-030-41769-7\\_14](https://doi.org/10.1007/978-3-030-41769-7_14)
- Anselmo, A. C., & Mitragotri, S. (2016). Nanoparticles in the clinic. *Bioengineering & Translational Medicine*, 1(1), 10–29. <https://doi.org/10.1002/btm2.10003>
- Antonelou, M. H., D’Alessandro, A., & Kriebardis, A. G. (2022). In Sickness and in Health: Erythrocyte Responses to Stress and Aging. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(13), 6957. <https://doi.org/10.3390/ijms23136957>
- Bagriantsev, S. N., Gracheva, E. O., & Gallagher, P. G. (2014). Piezo Proteins: Regulators of Mechanosensation and Other Cellular Processes. *Journal of Biological Chemistry*, 289(46), 31673–31681. <https://doi.org/10.1074/jbc.R114.612697>
- Barbalato, L. (n.d.). *Histology, Red Blood Cell*.
- Bayda, S., Adeel, M., Tuccinardi, T., Cordani, M., & Rizzolio, F. (2019). The History of Nanoscience and Nanotechnology: From Chemical–Physical Applications to Nanomedicine. *Molecules*, 25(1), 112. <https://doi.org/10.3390/molecules25010112>
- Begines, B., Ortiz, T., Pérez-Aranda, M., Martínez, G., Merinero, M., Argüelles-Arias, F., & Alcudia, A. (2020). Polymeric Nanoparticles for Drug Delivery: Recent Developments and Future Prospects. *Nanomaterials*, 10(7), 1403. <https://doi.org/10.3390/nano10071403>
- Bibi, A., Rehman, S., & Yaseen, A. (2019). Alginate-nanoparticles composites: kinds, reactions and applications. *Materials Research Express*, 6(9), 092001. <https://doi.org/10.1088/2053-1591/ab2016>
- Bouchla, A., Kriebardis, A. G., Georgatzakou, H. T., Fortis, S. P., Thomopoulos, T. P., Lekkakou, L., Markakis, K., Gkotzias, D., Panagiotou, A., Papageorgiou, E. G., Pouliakis, A., Stamoulis, K. E., Papageorgiou, S. G., Pappa, V., & Valsami, S. (2022). Red Blood Cell Abnormalities as the



- Mirror of SARS-CoV-2 Disease Severity: A Pilot Study. *Frontiers in Physiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.825055>
- Brand, J., Smith, E. S. J., Schwefel, D., Lapatsina, L., Poole, K., Omerbašić, D., Kozlenkov, A., Behlke, J., Lewin, G. R., & Daumke, O. (2012). A stomatin dimer modulates the activity of acid-sensing ion channels. *The EMBO Journal*, 31(17), 3635–3646. <https://doi.org/10.1038/emboj.2012.203>
- Bryk, A. H., & Wiśniewski, J. R. (2017). Quantitative Analysis of Human Red Blood Cell Proteome. *Journal of Proteome Research*, 16(8), 2752–2761. <https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.7b00025>
- Burger, P., de Korte, D., van den Berg, T. K., & van Bruggen, R. (2012). CD47 in Erythrocyte Ageing and Clearance &#150; the Dutch Point of View. *Transfusion Medicine and Hemotherapy*, 39(5), 348–352. <https://doi.org/10.1159/000342231>
- Cahalan, S. M., Lukacs, V., Ranade, S. S., Chien, S., Bandell, M., & Patapoutian, A. (2015). Piezo1 links mechanical forces to red blood cell volume. *ELife*, 4. <https://doi.org/10.7554/eLife.07370>
- Chaudhuri, S., Banerjee, A., Basu, K., Sengupta, B., & Sengupta, P. K. (2007). Interaction of flavonoids with red blood cell membrane lipids and proteins: Antioxidant and antihemolytic effects. *International Journal of Biological Macromolecules*, 41(1), 42–48. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2006.12.003>
- Cho, K., Wang, X., Nie, S., Chen, Z. (Georgia), & Shin, D. M. (2008). Therapeutic Nanoparticles for Drug Delivery in Cancer. *Clinical Cancer Research*, 14(5), 1310–1316. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-07-1441>
- Cucchiari, D., Reverter, E., Blasco, M., Molina-Andujar, A., Carpio, A., Sanz, M., Escorsell, A., Fernández, J., & Poch, E. (2018). High cut-off membrane for in-vivo dialysis of free plasma hemoglobin in a patient with massive hemolysis. *BMC Nephrology*, 19(1), 250. <https://doi.org/10.1186/s12882-018-1051-x>

- de la Harpe, K., Kondiah, P., Choonara, Y., Marimuthu, T., du Toit, L., & Pillay, V. (2019). The Hemocompatibility of Nanoparticles: A Review of Cell–Nanoparticle Interactions and Hemostasis. *Cells*, 8(10), 1209. <https://doi.org/10.3390/cells8101209>
- Dean Laura. (n.d.). *Blood Groups and Red Cell Antigens*.
- Draget, K. I., Skjåk-Bræk, G., & Smidsrød, O. (1997). Alginate based new materials. *International Journal of Biological Macromolecules*, 21(1–2), 47–55. [https://doi.org/10.1016/S0141-8130\(97\)00040-8](https://doi.org/10.1016/S0141-8130(97)00040-8)
- Dzierzak, E., & Philipsen, S. (2013). Erythropoiesis: development and differentiation. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 3(4), a011601. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a011601>
- Farokhzad, O. C., & Langer, R. (2009). Impact of Nanotechnology on Drug Delivery. *ACS Nano*, 3(1), 16–20. <https://doi.org/10.1021/nn900002m>
- Fortis, S. P., Batrinou, A., Georgatzakou, H. T., Tsamesidis, I., Albanidis, G., Papageorgiou, E. G., Stamoulis, K., Gkiliopoulos, D., Pouroutzidou, G. K., Theocharidou, A., Kontonasaki, E., & Kriebardis, A. G. (2024). Effect of silica-based mesoporous nanomaterials on human blood cells. *Chemico-Biological Interactions*, 387. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2023.110784>
- Fortis, S. P., Batrinou, A., Georgatzakou, H. T., Tsamesidis, I., Alvanidis, G., Papageorgiou, E. G., Stamoulis, K., Gkiliopoulos, D., Pouroutzidou, G. K., Theocharidou, A., Kontonasaki, E., & Kriebardis, A. G. (2024). Effect of silica-based mesoporous nanomaterials on human blood cells. *Chemico-Biological Interactions*, 387, 110784. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2023.110784>
- Fung, M. K., Eder, A. F., Spitalnik, S. L., & Westhoff, C. M. (2019). *ΑΙΜΟΔΟΣΙΑ-ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΑ*.
- Gallagher, P. G. (2017). Disorders of erythrocyte hydration. *Blood*, 130(25), 2699–2708. <https://doi.org/10.1182/blood-2017-04-590810>

- Gu, L., Smith, W. A., & Chatzimavroudis, G. P. (2005). Mechanical Fragility Calibration of Red Blood Cells. *ASAIO Journal*, 51(3), 194–201. <https://doi.org/10.1097/01.MAT.0000161940.30190.6D>
- Guo, X., Wang, Y., Qin, Y., Shen, P., & Peng, Q. (2020). Structures, properties and application of alginic acid: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 162, 618–628. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.06.180>
- Hajipour, M. J., Safavi-Sohi, R., Sharifi, S., Mahmoud, N., Ashkarran, A. A., Voke, E., Serpooshan, V., Ramezankhani, M., Milani, A. S., Landry, M. P., & Mahmoudi, M. (2023). An Overview of Nanoparticle Protein Corona Literature. *Small*, 19(36). <https://doi.org/10.1002/smll.202301838>
- Halevas, E., Kokotidou, C., Zaimai, E., Moschona, A., Lialiaris, E., Mitraki, A., Lialiaris, T., & Pantazaki, A. (2021). Evaluation of the Hemocompatibility and Anticancer Potential of Poly( $\epsilon$ -Caprolactone) and Poly(3-Hydroxybutyrate) Microcarriers with Encapsulated Chrysin. *Pharmaceutics*, 13(1), 109. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13010109>
- Han, X., Wang, C., & Liu, Z. (2018). Red Blood Cells as Smart Delivery Systems. *Bioconjugate Chemistry*, 29(4), 852–860. <https://doi.org/10.1021/acs.bioconjchem.7b00758>
- Hankins, H. M., Baldrige, R. D., Xu, P., & Graham, T. R. (2015). Role of Flippases, Scramblases and Transfer Proteins in Phosphatidylserine Subcellular Distribution. *Traffic*, 16(1), 35–47. <https://doi.org/10.1111/tra.12233>
- Huang, C.-Y., Ye, Z.-H., Huang, M.-Y., & Lu, J.-J. (2020). Regulation of CD47 expression in cancer cells. *Translational Oncology*, 13(12), 100862. <https://doi.org/10.1016/j.tranon.2020.100862>
- Hulko, M., Kunz, M., Yildirim, M., Homeyer, S., Amon, O., & Krause, B. (2015). Cell-free plasma hemoglobin removal by dialyzers with various permeability profiles. *Scientific Reports*, 5(1), 16367. <https://doi.org/10.1038/srep16367>

- Jiang, Y., Yang, X., Jiang, J., & Xiao, B. (2021). Structural Designs and Mechanogating Mechanisms of the Mechanosensitive Piezo Channels. *Trends in Biochemical Sciences*, 46(6), 472–488. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2021.01.008>
- Joudeh, N., & Linke, D. (2022). Nanoparticle classification, physicochemical properties, characterization, and applications: a comprehensive review for biologists. *Journal of Nanobiotechnology*, 20(1), 262. <https://doi.org/10.1186/s12951-022-01477-8>
- Jungner, Å., Vallius, S., Gram, M., & Ley, D. (2022). Cell-Free Hemoglobin Concentration in Blood Prime Solution Is a Major Determinant of Cell-Free Hemoglobin Exposure during Cardiopulmonary Bypass Circulation in the Newborn. *Journal of Clinical Medicine*, 11(14), 4071. <https://doi.org/10.3390/jcm11144071>
- Kasala, E. R., Bodduluru, L. N., Madana, R. M., V, A. K., Gogoi, R., & Barua, C. C. (2015). Chemopreventive and therapeutic potential of chrysin in cancer: mechanistic perspectives. *Toxicology Letters*, 233(2), 214–225. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2015.01.008>
- Khan, I., Saeed, K., & Khan, I. (2019). Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. *Arabian Journal of Chemistry*, 12(7), 908–931. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2017.05.011>
- Kim, S., Chen, J., Cheng, T., Gindulyte, A., He, J., He, S., Li, Q., Shoemaker, B. A., Thiessen, P. A., Yu, B., Zaslavsky, L., Zhang, J., & Bolton, E. E. (2023). PubChem 2023 update. *Nucleic Acids Research*, 51(D1), D1373–D1380. <https://doi.org/10.1093/nar/gkac956>
- Kim, Y., Park, J., & Kim, M. (2017). Diagnostic approaches for inherited hemolytic anemia in the genetic era. *Blood Research*, 52(2), 84. <https://doi.org/10.5045/br.2017.52.2.84>
- Kirk, F. L., Bandhlish, A., Arora, V., & Brown, C. H. (2014). The colour of plasma. *Canadian Journal of Anesthesia/Journal Canadien d'anesthésie*, 61(2), 209–210. <https://doi.org/10.1007/s12630-013-0078-5>
- Kriebardis, A. G., Antonelou, M. H., Stamoulis, K. E., Economou-Petersen, E., Margaritis, L. H., & Papassideri, I. S. (2007). Progressive oxidation of cytoskeletal proteins and accumulation of

- denatured hemoglobin in stored red cells. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 11(1), 148–155. <https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2007.00008.x>
- Kumar, A., Kothari, A., Kumar, P., Singh, A., Tripathi, K., Gairolla, J., Pai, M., & Ji Omar, B. (2024). *Introduction to Alginate: Biocompatible, Biodegradable, Antimicrobial Nature and Various Applications*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.110650>
- Lakkakula, J., Roy, A., Krishnamoorthy, K., Alghamdi, S., Almeahadi, M., Gujarathi, P., Pansare, P., Allahyani, M., Abdulaziz, O., Velhal, K., Khatun, Most. C. S., & Hossain, Md. J. (2022). Alginate-Based Nanosystems for Therapeutic Applications. *Journal of Nanomaterials*, 2022, 1–11. <https://doi.org/10.1155/2022/6182815>
- Lapatsina, L., Brand, J., Poole, K., Daumke, O., & Lewin, G. R. (2012). Stomatin-domain proteins. *European Journal of Cell Biology*, 91(4), 240–245. <https://doi.org/10.1016/j.ejcb.2011.01.018>
- Laura Dean. (n.d.). *Blood Groups and Red Cell Antigens*.
- Lee, K. Y., & Mooney, D. J. (2012). Alginate: Properties and biomedical applications. *Progress in Polymer Science*, 37(1), 106–126. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2011.06.003>
- Lux, S. E. (2016). Anatomy of the red cell membrane skeleton: unanswered questions. *Blood*, 127(2), 187–199. <https://doi.org/10.1182/blood-2014-12-512772>
- Mani, R., & Natesan, V. (2018). Chrysin: Sources, beneficial pharmacological activities, and molecular mechanism of action. *Phytochemistry*, 145, 187–196. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2017.09.016>
- Mishra, A., Mishra, P. S., Bandopadhyay, R., Khurana, N., Angelopoulou, E., Paudel, Y. N., & Piperi, C. (2021). Neuroprotective Potential of Chrysin: Mechanistic Insights and Therapeutic Potential for Neurological Disorders. *Molecules*, 26(21), 6456. <https://doi.org/10.3390/molecules26216456>
- Mohandas, N., & Gallagher, P. G. (2008a). Red cell membrane: past, present, and future. *Blood*, 112(10), 3939–3948. <https://doi.org/10.1182/blood-2008-07-161166>

- Mohandas, N., & Gallagher, P. G. (2008b). Red cell membrane: past, present, and future. *Blood*, 112(10), 3939–3948. <https://doi.org/10.1182/blood-2008-07-161166>
- Mohanraj, V. J., & Chen, Y. (2007). Nanoparticles - A review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 5(1). <https://doi.org/10.4314/tjpr.v5i1.14634>
- Mustafa, I., Al Marwani, A., Mamdouh Nasr, K., Abdulla Kano, N., & Hadwan, T. (2016). Time Dependent Assessment of Morphological Changes: Leukodepleted Packed Red Blood Cells Stored in SAGM. *BioMed Research International*, 2016, 1–7. <https://doi.org/10.1155/2016/4529434>
- Najahi-Missaoui, W., Arnold, R. D., & Cummings, B. S. (2020). Safe Nanoparticles: Are We There Yet? *International Journal of Molecular Sciences*, 22(1), 385. <https://doi.org/10.3390/ijms22010385>
- Naz, S., Imran, M., Rauf, A., Orhan, I. E., Shariati, M. A., lahtisham-Ul-Haq, IqraYasmin, Shahbaz, M., Qaisrani, T. B., Shah, Z. A., Plygun, S., & Heydari, M. (2019). Chrysin: Pharmacological and therapeutic properties. *Life Sciences*, 235, 116797. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2019.116797>
- Nosrati, H., Rakhshbahar, A., Salehiabar, M., Afroogh, S., Kheiri Manjili, H., Danafar, H., & Davaran, S. (2018). Bovine serum albumin: An efficient biomacromolecule nanocarrier for improving the therapeutic efficacy of chrysin. *Journal of Molecular Liquids*, 271, 639–646. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2018.06.066>
- Oldenborg, P.-A., Zheleznyak, A., Fang, Y.-F., Lagenaur, C. F., Gresham, H. D., & Lindberg, F. P. (2000). Role of CD47 as a Marker of Self on Red Blood Cells. *Science*, 288(5473), 2051–2054. <https://doi.org/10.1126/science.288.5473.2051>
- Olia, S. E., Maul, T. M., Antaki, J. F., & Kameneva, M. V. (2016). Mechanical Blood Trauma in Assisted Circulation: Sublethal RBC Damage Preceding Hemolysis. *The International Journal of Artificial Organs*, 39(4), 150–159. <https://doi.org/10.5301/ijao.5000478>

- Paoli, M., Liddington, R., Tame, J., Wilkinson, A., & Dodson, G. (1996). Crystal Structure of T State Haemoglobin with Oxygen Bound At All Four Haems. *Journal of Molecular Biology*, 256(4), 775–792. <https://doi.org/10.1006/jmbi.1996.0124>
- Pinto Reis, C., Neufeld, R. J., Ribeiro, , António J., & Veiga, F. (2006). Nanoencapsulation I. Methods for preparation of drug-loaded polymeric nanoparticles. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 2(1), 8–21. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2005.12.003>
- Pretini, V., Koenen, M. H., Kaestner, L., Fens, M. H. A. M., Schiffelers, R. M., Bartels, M., & Van Wijk, R. (2019). Red Blood Cells: Chasing Interactions. *Frontiers in Physiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00945>
- Prinyakupt, J., & Pluempitiwiriwawej, C. (2015). Segmentation of white blood cells and comparison of cell morphology by linear and naïve Bayes classifiers. *BioMedical Engineering OnLine*, 14(1), 63. <https://doi.org/10.1186/s12938-015-0037-1>
- Reithmeier, R. A. F., Casey, J. R., Kalli, A. C., Sansom, M. S. P., Alguel, Y., & Iwata, S. (2016). Band 3, the human red cell chloride/bicarbonate anion exchanger (AE1, SLC4A1), in a structural context. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 1858(7), 1507–1532. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2016.03.030>
- Salama, M. M., Aborehab, N. M., El Mahdy, N. M., Zayed, A., & Ezzat, S. M. (2023). Nanotechnology in leukemia: diagnosis, efficient-targeted drug delivery, and clinical trials. *European Journal of Medical Research*, 28(1), 566. <https://doi.org/10.1186/s40001-023-01539-z>
- Sanchez-Ballester, N. M., Bataille, B., & Soulairol, I. (2021). Sodium alginate and alginic acid as pharmaceutical excipients for tablet formulation: Structure-function relationship. *Carbohydrate Polymers*, 270, 118399. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118399>
- Severino, P., da Silva, C. F., Andrade, L. N., de Lima Oliveira, D., Campos, J., & Souto, E. B. (2019). Alginate Nanoparticles for Drug Delivery and Targeting. *Current Pharmaceutical Design*, 25(11), 1312–1334. <https://doi.org/10.2174/1381612825666190425163424>

- Shapira, Y., Bairey, O., Vatury, M., Magen-Nativ, H., Prokocimer, M., & Sagie, A. (2001). Erythropoietin can obviate the need for repeated heart valve replacement in high-risk patients with severe mechanical hemolytic anemia: case reports and literature review. *The Journal of Heart Valve Disease*, *10*(4), 431–435.
- Shi, J., Kantoff, P. W., Wooster, R., & Farokhzad, O. C. (2017). Cancer nanomedicine: progress, challenges and opportunities. *Nature Reviews Cancer*, *17*(1), 20–37. <https://doi.org/10.1038/nrc.2016.108>
- Silverthorn. (2018). *ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ* (8th ed.).
- Singer, S. J., & Nicolson, G. L. (1972). The Fluid Mosaic Model of the Structure of Cell Membranes. *Science*, *175*(4023), 720–731. <https://doi.org/10.1126/science.175.4023.720>
- SMIDSRD, O., & SKJAKBRK, G. (1990). Alginate as immobilization matrix for cells. *Trends in Biotechnology*, *8*, 71–78. [https://doi.org/10.1016/0167-7799\(90\)90139-O](https://doi.org/10.1016/0167-7799(90)90139-O)
- Soni, G., & Yadav, K. S. (2015). Applications of nanoparticles in treatment and diagnosis of leukemia. *Materials Science and Engineering: C*, *47*, 156–164. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2014.10.043>
- Stompor-Gorący, M., Bajek-Bil, A., & Machaczka, M. (2021). Chrysin: Perspectives on Contemporary Status and Future Possibilities as Pro-Health Agent. *Nutrients*, *13*(6), 2038. <https://doi.org/10.3390/nu13062038>
- Talebi, M., Talebi, M., Farkhondeh, T., Simal-Gandara, J., Kopustinskiene, D. M., Bernatoniene, J., & Samarghandian, S. (2021). Emerging cellular and molecular mechanisms underlying anticancer indications of chrysin. *Cancer Cell International*, *21*(1), 214. <https://doi.org/10.1186/s12935-021-01906-y>
- Tigner, A., Ibrahim, S. A., & Murray, I. V. (2024). *Histology, White Blood Cell*.
- Tomić, S. Lj., Babić Radić, M. M., Vuković, J. S., Filipović, V. V., Nikodinovic-Runic, J., & Vukomanović, M. (2023). Alginate-Based Hydrogels and Scaffolds for Biomedical Applications. *Marine Drugs*, *21*(3), 177. <https://doi.org/10.3390/md21030177>



- Trejo-Soto, C., Lázaro, G. R., Pagonabarraga, I., & Hernández-Machado, A. (2022). Microfluidics Approach to the Mechanical Properties of Red Blood Cell Membrane and Their Effect on Blood Rheology. *Membranes*, 12(2), 217. <https://doi.org/10.3390/membranes12020217>
- Tzounakas, V. L., Anastasiadi, A. T., Lekka, M. E., Papageorgiou, E. G., Stamoulis, K., Papassideri, I. S., Kriebardis, A. G., & Antonelou, M. H. (2022). Deciphering the Relationship Between Free and Vesicular Hemoglobin in Stored Red Blood Cell Units. *Frontiers in Physiology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fphys.2022.840995>
- Wang, Y., Zhang, K., Qin, X., Li, T., Qiu, J., Yin, T., Huang, J., McGinty, S., Pontrelli, G., Ren, J., Wang, Q., Wu, W., & Wang, G. (2019). Biomimetic Nanotherapies: Red Blood Cell Based Core–Shell Structured Nanocomplexes for Atherosclerosis Management. *Advanced Science*, 6(12). <https://doi.org/10.1002/advs.201900172>
- What Is Cancer?* (n.d.). National Cancer Institute. Retrieved August 18, 2024, from <https://www.cancer.gov/about-cancer/understanding/what-is-cancer>
- Whitson, B. A., Eckman, P., Kamdar, F., Lacey, A., Shumway, S. J., Liao, K. K., & John, R. (2014). Hemolysis, Pump Thrombus, and Neurologic Events in Continuous-Flow Left Ventricular Assist Device Recipients. *The Annals of Thoracic Surgery*, 97(6), 2097–2103. <https://doi.org/10.1016/j.athoracsur.2014.02.041>
- Xu, H., Li, S., & Liu, Y.-S. (2022). Nanoparticles in the diagnosis and treatment of vascular aging and related diseases. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 7(1), 231. <https://doi.org/10.1038/s41392-022-01082-z>
- Yang, M., Li, J., Gu, P., & Fan, X. (2021). The application of nanoparticles in cancer immunotherapy: Targeting tumor microenvironment. *Bioactive Materials*, 6(7), 1973–1987. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2020.12.010>
- Yao, W., Cheng, J., Kandhare, A. D., Mukherjee-Kandhare, A. A., Bodhankar, S. L., & Lu, G. (2021). Toxicological evaluation of a flavonoid, chrysin: morphological, behavioral, biochemical and histopathological assessments in rats. *Drug and Chemical Toxicology*, 44(6), 601–612. <https://doi.org/10.1080/01480545.2019.1687510>

- Zahin, N., Anwar, R., Tewari, D., Kabir, Md. T., Sajid, A., Mathew, B., Uddin, Md. S., Aleya, L., & Abdel-Daim, M. M. (2020). Nanoparticles and its biomedical applications in health and diseases: special focus on drug delivery. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(16), 19151–19168. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-05211-0>
- Zaimy, M. A., Saffarzadeh, N., Mohammadi, A., Pourghadamyari, H., Izadi, P., Sarli, A., Moghaddam, L. K., Paschehari, S. R., Azizi, H., Torkamandi, S., & Tavakkoly-Bazzaz, J. (2017). New methods in the diagnosis of cancer and gene therapy of cancer based on nanoparticles. *Cancer Gene Therapy*, 24(6), 233–243. <https://doi.org/10.1038/cgt.2017.16>
- Zeinali, M., Rezaee, S. A., & Hosseinzadeh, H. (2017). An overview on immunoregulatory and anti-inflammatory properties of chrysin and flavonoids substances. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 92, 998–1009. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.06.003>
- Zheng, H., Li, S., Pu, Y., Lai, Y., He, B., & Gu, Z. (2014). Nanoparticles generated by PEG-Chrysin conjugates for efficient anticancer drug delivery. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 87(3), 454–460. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2014.03.011>
- Zhou, Z., & Martinac, B. (2023). Mechanisms of PIEZO Channel Inactivation. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(18), 14113. <https://doi.org/10.3390/ijms241814113>
- Zhu, R., Zhang, F., Peng, Y., Xie, T., Wang, Y., & Lan, Y. (2022). Current Progress in Cancer Treatment Using Nanomaterials. *Frontiers in Oncology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.930125>

## Διαγράμματα & Πίνακες

<b>Διάγραμμα 1:</b> Επίπεδα ελεύθερης αιμοσφαιρίνης (Free Hb) στις διαφορετικές συνθήκες επώασης. * $p < 0,05$ , ** $p < 0,01$ , *** $p < 0,001$ , **** $p < 0,0001$ .....	57
<b>Διάγραμμα 2:</b> Ποσοστό μηχανικής αντίστασης (MFI) στις διαφορετικές συνθήκες επώασης. * $p < 0,05$ , ** $p < 0,01$ .....	58
<b>Διάγραμμα 3:</b> RDW, MCV, MCH, MCHC στις διαφορετικές συνθήκες επώασης. * $p < 0,05$ , ** $p < 0,01$ , *** $p < 0,001$ , **** $p < 0,0001$ .....	59

<b>Πίνακας 1:</b> Αιματολογικοί Δείκτες & Φυσιολογικές τιμές. Από τη σύγκριση τιμών προκύπτει πως οι παράμετροι δεν εμφανίζουν κάποια στατιστική διαφορά και είναι εντός των φυσιολογικών ορίων. Οι τιμές έχουν προκύψει από τον μέσο όρο $\pm$ την τυπική απόκλιση. ....	56
---	----