



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ

**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ &
ΠΡΟΝΟΙΑΣ**

**ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΟΜΕΑΣ ΙΑΤΡΙΚΩΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΩΝ**



ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΑΙΜΟΣΥΜΒΑΤΟΤΗΤΑ ΝΑΝΟΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ



ΣΥΓΓΡΑΦΕΑΣ

ΕΙΡΗΝΗ ΣΩΤΗΡΙΑ ΛΟΛΑ

A.M.: 20678163

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ

ΒΑΣΙΛΕΙΟΣ ΜΠΙΡΤΣΑΣ PhD

**ΑΚΑΔΗΜΑΙΚΟΣ ΥΠΟΤΡΟΦΟΣ,
ΠΑΔΑ**

ΑΙΓΑΛΕΩ, ΑΘΗΝΑ 2024



UNIVERSITY OF WEST ATTICA

**FACULTY OF HEALTH & CARE
SCIENCES**

**DEPARTMENT OF BIOMEDICAL
SCIENCES**

**DIVISION OF MEDICAL
LABORATORIES**



DIPLOMA THESIS

NAOSYSTEMS HEMOCOMPATIBILITY



AUTHOR

EIRINI SOTIRIA LOLA

C.N.: 20678163

SUPERVISOR

VASSILIOS BIRTSAS PhD

**ACADEMIC SCHOLAR
ASSISTANT, UNIWA**

AIGALEO, ATHENS 2024



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ

**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ &
ΠΡΟΝΟΙΑΣ**

**ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΟΜΕΑΣ ΙΑΤΡΙΚΩΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΩΝ**



ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΑΙΜΟΣΥΜΒΑΤΟΤΗΤΑ ΝΑΝΟΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ

**ΜΕΛΗ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ ΣΥΜΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΟΜΕΝΟΥ ΚΑΙ ΤΟΥ
ΕΙΣΗΓΗΤΗ**

Η διπλωματική εργασία εξετάστηκε επιτυχώς από την κάτωθι εξεταστική επιτροπή:

ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ	ΒΑΘΜΙΔΑ/ΙΔΙΟΤΗΤΑ	ΨΗΦΙΑΚΗ ΥΠΟΓΡΑΦΗ
ΒΑΣΙΛΕΙΟΣ ΜΠΙΡΤΣΑΣ	ΑΚΑΔΗΜΑΪΚΟΣ ΥΠΟΤΡΟΦΟΣ	
ΑΝΑΣΤΑΣΙΟΣ ΚΡΙΕΜΠΑΡΔΗΣ	ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ	
ΔΡΥΛΛΗΣ ΓΕΩΡΓΙΟΣ	ΕΠΙΚΟΥΡΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ	

ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΓΡΑΦΕΑ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Η κάτωθι υπογεγραμμένη **ΛΟΛΑ ΕΙΡΗΝΗ ΣΩΤΗΡΙΑ** του **ΙΩΑΝΝΗ**, με αριθμό μητρώου **20678163** 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



Εισηγητής: Βασίλειος Μπίρτσας
Ακαδημαϊκός Υπότροφος

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΕΙΚΟΝΩΝ	8
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΠΙΝΑΚΩΝ.....	8
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ	8
ΠΡΟΛΟΓΟΣ.....	9
ΣΥΧΝΕΣ ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ	10
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	12
ABSTRACT	13
A) ΕΙΣΑΓΩΓΗ	14
1 ^ο ΜΕΡΟΣ: Ερυθρά Αιμοσφαίρια	15
1. ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ.....	15
2. ΕΡΥΘΡΑ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΑ.....	15
2.1 Αιμοποίηση και Ερυθροποίηση	15
2.2 Λειτουργία Ερυθρών	19
2.3 Μορφολογία Ερυθρών Αιμοσφαιρίων.....	20
2.3.1 Ρόλος και Δομή Μεμβράνης.....	20
2.3.2 Ρόλος και Δομή Μεμβρανικού Κυτταροσκελετού.....	23
2.3.3 Αλληλεπίδραση Μεμβράνης και Κυτταροσκελετού	24
2.4 Παθολογικά Ερυθρά Αιμοσφαίρια	25
3. ΑΙΜΟΛΥΣΗ	27
2 ^ο ΜΕΡΟΣ: NPs	28
1. ΝΑΝΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ & ΝΑΝΟΙΑΤΡΙΚΗ.....	28
1.1 Η Ιστορία της Νανοτεχνολογίας.....	28
1.2 Η Νανοτεχνολογία και η Νανοϊατρική στην Σύγχρονη Εποχή	29
2. NPs ΣΤΗΝ ΝΑΝΟΪΑΤΡΙΚΗ.....	30
2.1 Χαρακτηριστικά	30
2.1.1 Μέγεθος	30
2.1.2 Επιφάνεια.....	30
2.1.3 Χημεία Επιφάνειας.....	30
2.1.4 Σχήμα.....	31
2.1.5 Ικανότητα Στόχευσης.....	31
2.1.5.1 Ενεργητική Στόχευση.....	31
2.1.5.2 Παθητική Στόχευση	31
2.1.6 Μαγνητικές και Οπτικές Ιδιότητες	31
2.2 Κατηγοριοποίηση.....	32

2.2.1	Ανόργανα NPs.....	32
2.2.2	Οργανικά NPs	32
2.2.3	NPs που έχουν ως βάση τον Άνθρακα.....	32
2.3	Εφαρμογές στην Βιοϊατρική	33
2.3.1	Καρκίνος	33
2.3.2	Ιατρική - Διαγνωστική Απεικόνιση	34
2.3.3	Αναγεννητική Ιατρική και Ανάπλαση Ιστών	34
2.3.4	Γονιδιακές Θεραπείες.....	34
2.3.5	Νευροεκφυλιστικές Διαταραχές.....	35
2.3.6	Μικροβιακή Αντοχή στα Φάρμακα	35
3.	ΠΟΛΥΜΕΡΙΚΑ NPs (PNPs).....	37
4.	ΑΛΓΙΝΙΚΟ ΟΞΥ	40
4.1.	Πρόελευση και Ιδιότητες	40
4.2	Ιδιότητες Αλγινικών NPs	40
4.3	Αλγινικά NPs ως Φορείς	41
5.	ΧΡΥΣΙΝΗ	43
5.1	Πρόελευση και δομή	43
5.2	Φαρμακολογικές και Θεραπευτικές δράσεις.....	44
5.2.1	Αντικαρκινικές	44
5.2.2	Αντιφλεγμονώδεις.....	44
5.2.3	Καρδιοαγγειακές και Αντιυπερλιπιδεμικές.....	44
5.2.4	Αντιδιαβητικές.....	45
5.2.5	Αντιαλλεργικές	45
5.2.6	Ηπατοπροστατευτικές.....	45
5.2.7	Αναπαραγωγικές	45
5.2.8	Νευρικές	46
5.2.9	Αγχολυτικές και Αντικαταθλιπτικές	46
5.2.10	Ιδιότητες κατά της Παχυσαρκίας.....	46
5.3	Περιορισμοί Χρυσίνης και NPs	46
3 ^ο	ΜΕΡΟΣ: ΑΙΜΟΣΥΜΒΑΤΟΤΗΤΑ NPs	48
1.	ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ NPs	48
2.	ΑΙΜΟΣΥΜΒΑΤΟΤΗΤΑ.....	49
2.1	Επίδραση Nps στα Ερυθρά Αιμοσφαίρια.....	49
3.	ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ – ΑΙΜΟΣΥΜΒΑΤΟΤΗΤΑ NPs ΑΛΓΙΝΙΚΟΥ	51
4.	ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ – ΑΙΜΟΣΥΜΒΑΤΟΤΗΤΑ ΧΡΥΣΙΝΗΣ.....	52
B)	ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	53

1. ΣΚΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ.....	53
2. ΥΛΙΚΑ & ΜΕΘΟΔΟΙ.....	53
2.1 Τεστ Ωσμωτικής Αντίστασης.....	53
2.2 Δοκιμασία Κρυοαιμόλυσης	54
2.3 Χρώση May-Grunwald-Giemsa και Μικροσκοπική Παρατήρηση RBCs	55
3. ΣΥΛΛΟΓΗ & ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ.....	57
Γ) ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΕΡΕΥΝΑΣ	58
1. Αιματολογική Ανάλυση	58
2. Ωσμωτική Αντίσταση.....	60
3. Δοκιμασία Κρυοαιμόλυσης	61
4. Χρώση και Μικροσκόπηση RBCs.....	62
Δ) ΣΥΖΗΤΗΣΗ & ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	64
1. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	64
2. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	65
Ε) ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	66

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1: Σχηματική αναπαράσταση αιμοποίησης (Ανατύπωση από Ginzburg et al., 2023)	17
Εικόνα 2: Σχηματική αναπαράσταση ερυθροποίησης (Ανατύπωση από Ju et al., 2024)	18
Εικόνα 3: Ερυθροβλαστική Νησίδα (Ανατύπωση από Chasis & Mohandas, 2008)	19
Figure 4: Μορφολογία RBC και δομή της Hb (Ανατύπωση από Banerjee & Aniyery, 2017)	20
Εικόνα 5: Σχηματική αναπαράσταση λιπιδικής διπλοστοιβιάς RBCs (Ανατύπωση από Stevens-Hernandez & Bruce, 2022)	22
Εικόνα 6: Σχηματικό μοντέλο της ερυθροκυτταρικής μεμβράνης (Ανατύπωση από Gregg et al., 2019)	25
Εικόνα 7: Ποσοστά παθολογικών μορφολογιών RBCs στο αίμα (Marchi et al., 2022)	26
Εικόνα 8: Παθολογικές Μορφολογίες RBCs (Marchi et al., 2022)	27
Εικόνα 9: Κύπελλο του Λυκούργου (Freestone et al., 2007)	29
Εικόνα 10: Διαφορετικοί τρόποι συσχέτισης των φαρμάκων με τις νανοκάψουλες και τις νανοσφαίρες (Ανατύπωση από Zielińska et al., 2020)	38
Εικόνα 11: Εφαρμογές PNPs στην Βιοϊατρική (Ανατύπωση από Bhardwaj & Jangde, 2023)	38
Εικόνα 12: Πλεονεκτήματα nps Αλγινικού (Ανατύπωση από Lakkakula et al., 2022)	41
Εικόνα 13: Αριστερά η τυπική δομή των φλαβονών, δεξιά η δομή της Χρυσίνης (Rodríguez-Landa et al., 2022)	43
Εικόνα 14: Χαρακτηριστικά των nps που επιδρούν στα RBCs (Ανατύπωση από Yedgar et al., 2022)	50
Εικόνα 15: Οι επιδράσεις των nps στα RBCs (Ανατύπωση από S. Yadav & Maurya, 2022)	51
Εικόνα 16: Εικόνες που συλλέχτηκαν κατά την μικροσκόπηση των επιχρισμάτων	62

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1: Διαμεμβρανικές πρωτεΐνες: είδη και λειτουργίες	22
Πίνακας 2: Αιματολογικοί δείκτες αιμοδοτών	58

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ

Διάγραμμα 1: Διαγραμματική απεικόνιση των αιματολογικών δεικτών RDW, MCV, MCH και MCHC των RBCs μετά την επώαση με νανοσμήματα	60
Διάγραμμα 2: Διαγραμματική απεικόνιση της αιμόλυσης των RBCs κατά την δοκιμασία της ωσμωτικής ευθραυστότητας μετά την επώαση με νανοσμήματα	61
Διάγραμμα 3: Διαγραμματική απεικόνιση της αιμόλυσης των RBCs κατά την δοκιμασία της κρυσταλλοποίησης μετά την επώαση με νανοσμήματα	62
Διάγραμμα 4: Διαγραμματική απεικόνιση της παρουσίας ακανθοκυττάρων κατά την μικροσκόπηση	63

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η ερευνητική πτυχιακή εργασία εκπονήθηκε το εαρινό εξάμηνο του 2024 στο Ερευνητικό Εργαστήριο Αξιοπιστίας και Ποιοτικού Ελέγχου στην Εργαστηριακή Αιματολογία του τμήματος των Βιοϊατρικών Επιστημών του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τους καθηγητές που με βοηθήσαν όλο αυτό το διάστημα της πτυχιακής εργασίας. Αρχικά τον επιβλέποντα καθηγητή μου, **κ. Βασίλειο Μπίρτσα**, Ακαδημαϊκό Υπότροφο του τμήματος, για την αμέριστη βοήθεια του κατά την συγγραφή της πτυχιακής εργασίας.

Επίσης, θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στον Καθηγητή και Διευθυντή του Ερευνητικού Εργαστηρίου Αξιοπιστίας και Ποιοτικού Ελέγχου στην Εργαστηριακή Αιματολογία - HemQcR, **κ. Αναστάσιο Κριεμπάρδη**, για την ευκαιρία που μου έδωσε να εκπονήσω την πτυχιακή μου εργασία στο εργαστήριο και την πολύτιμη εκπαίδευση που μου παρείχε ως προς το πειραματικό σκέλος της εργασίας.

Θα ήθελα κατά αυτόν τον τρόπο να ευχαριστήσω και τον κ. Γεώργιο Δρύλλη για την συμμετοχή του στην τριμελή επιτροπή εξέτασης της πτυχιακής μου εργασίας.

Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Ακαδημαϊκό Υπότροφο και Μεταδιδακτορικό Ερευνητή κ. Σωτήριο Φόρτη για την καθοδήγηση στο εργαστήριο και τις στοχευμένες παρατηρήσεις του, ιδίως στην παρουσίαση των στατιστικών δεδομένων – αποτελεσμάτων και την Υποψήφια Διδάκτορα κ. Μαρία Ασπασία Κοσμά. Οι δύο τελευταίοι βρίσκονταν συνεχώς δίπλα μου και πρόσφεραν την πολύτιμη γνώση και βοήθειά τους όλο αυτό το διάστημα στις πειραματικές διαδικασίες.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την **οικογένεια** μου και τους συμφοιτητές μου **Λύμπερτη, Ναταλία και Βαγγέλη** για την καθημερινή ψυχολογική υποστήριξη που μου πρόσφεραν όλο αυτόν τον καιρό.

ΣΥΧΝΕΣ ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ

NPs	Νανοσωματίδια <i>(Nanoparticles)</i>	Hb	Αιμοσφαρίνη <i>(Hemoglobin)</i>
RBCs	Ερυθρά Αιμοσφαίρια ή Ερυθροκύτταρα <i>(Red Blood Cells)</i>	Rets	Δικτυοερυθροκύτταρα <i>(Reticulocytes)</i>
PLTs	Αιμοπετάλια <i>(Platelets)</i>	O₂	Οξυγόνο <i>(Oxygen)</i>
WBCs	Λευκά Αιμοσφαίρια <i>(White Blood Cells)</i>	CO₂	Διοξείδιο του άνθρακα <i>(Carbon dioxide)</i>
HSCs	Στελεχιαία Αιμοποιητικά Κύτταρα <i>(Hematopoietic stem cell)</i>	PS	Φωσφατιδυλοσερίνη <i>(Phosphatidylserine)</i>
PEs	Πρωτογενείς ερυθροβλάστες <i>(Primitive erythroblasts)</i>	PC	Φωσφατιδυλοχολίνη <i>(Phosphatidylcholines)</i>
EMPs	Ερυθρομυελοειδείς πρόγονοι <i>(Erythro-myeloid progenitors)</i>	SM	Σφινγκομυελίνη <i>(Sphingomyelin)</i>
MPPs	Πολυδύναμοι πρόγονοι <i>(Multipotent progenitor)</i>	PE	Φωσφατιδυλαιθανολαμίνη <i>(Phosphatidylethanolamine)</i>
CMP	Κοινός μυελοειδής πρόγονος <i>(Common myeloid progenitor)</i>	BBB	Αιματοεγκεφαλικός Φραγμός <i>(Blood – Brain Barrier)</i>

CLP	Κοινός λεμφικός πρόγονος (<i>Common lymphoid progenitor</i>)	PNPs	Πολυμερικά Νανοσωματίδια (<i>Polymeric Nanoparticles</i>)
MEP	Πρόγονος μεγακαρυοκυττάρων - ερυθροκυττάρων (<i>Megakaryocyte-erythroid progenitor cell</i>)	TNF-A	Παράγοντας Νέκρωσης Όγκων (<i>Tumor necrosis factor A</i>)
GMP	Πρόγονος κοκκιοκυττάρων – μακροφάγων (<i>Granulocyte -macrophage progenitor</i>)	PLGA	Πολύ λακτι-κο-γλυκολικό οξύ (<i>Poly(lactic-co-glycolic) acid</i>)
BFU - E	Burst-forming unit erythroid	MCV	Μέσος όγκος ερυθροκυττάρων (<i>Mean corpuscular volume</i>)
CFU - E	Colony-forming unit erythroid	RDW	Δείκτης εύρους κατανομής ερυθροκυττάρων (<i>Red cell distribution width</i>)
ProE	Προερυθροβλάστης (<i>Proerythroblast</i>)	MCH	Μέση περιεκτικότητα αιμοσφαιρίνης (<i>Mean corpuscular hemoglobin</i>)
EBI	Ερυθροβλαστικές Νησίδες (<i>Erythroblastic islands</i>)	MCHC	Μέση πυκνότητα αιμοσφαιρίνης (<i>Mean corpuscular hemoglobin concentration</i>)
Ortho E	Οξεόφιλοι Ερυθροβλάστες (<i>Orthochromatophilic erythroblasts</i>)	PBS	Αλατούχο φωσφορικό ρυθμιστικό διάλυμα (<i>Phosphate Buffer Saline</i>)

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα νανοσωματίδια χρησιμοποιούνται για την πρόληψη, διάγνωση και θεραπεία ασθενειών, χάρη στην ικανότητα έγκλησης ουσιών, όπως φαρμακευτικών ουσιών. Ωστόσο, κάθε νέο νανοσωματίδιο που κατασκευάζεται πρέπει να ερευνάζεται ως προς την βιοσυμβατότητα του και τις πιθανές τοξικές επιδράσεις στον οργανισμό. Η συμβατότητα τους με το αίμα (αιμοσυμβατότητα) είναι μεγάλης σημασίας, καθώς το αίμα είναι ο πρώτος ιστός με τον οποίο έρχονται σε επαφή κατά την είσοδό τους στον οργανισμό.

Τα πολυμερικά νανοσωματίδια, δηλαδή νανοσωματίδια κατασκευασμένα από φυσικά ή συνθετικά πολυμερικά νανοϋλικά, εμφανίζουν μεγάλα ποσοστά συμβατότητας. Συγκεκριμένα τα νανοσωματίδια αλγινικού οξέος εμπίπτουν στην κατηγορία φυσικών πολυμερικών. Είναι γνωστά για την πολύ μικρή τοξικότητά τους και για την ικανότητα τους να εγκλείουν ουσίες και να τις απελευθερώνουν ελεγχόμενα. Τέτοιες ουσίες είναι η χρυσίνη, η οποία είναι φυσική φλαβόνη και διαθέτει πλήθος φαρμακευτικών ιδιοτήτων, όπως αντικαρκινικές ιδιότητες.

Σκοπός της παρούσας πτυχιακής εργασίας είναι η μελέτη της συμβατότητας του νανοσυστήματος πολυμερικών νανοσωματιδίων αλγινικού οξέος με εγκλωβισμένη χρυσίνη με τα ερυθρά αιμοσφαίρια. Η αιμοσυμβατότητα των νανοσωματιδίων αξιολογήθηκε ως προς τα ποσοστά αιμόλυσης (λύση των ερυθροκυττάρων και απελευθέρωση της αιμοσφαιρίνης στο πλάσμα) και την μορφολογία των ερυθρών, μετά από επώσεις του αίματος υγιών ανθρώπων με το παραπάνω νανোসύστημα. Συγκεκριμένα, έγινε αιματολογική ανάλυση και αξιολόγηση των δοτών, δοκιμασίες ωσμωτικής αντίστασης και κρυσταλλοποίησης, καθώς και χρώση May – Grunwald - Giemsa και μικροσκόπηση επιχρισμάτων αίματος πριν και μετά από τετράωρη επώαση με τα νανোসυστήματα.

Από τα αποτελέσματα που προέκυψαν, συμπεραίνεται ότι το παραπάνω νανোসύστημα και τα επιμέρους τμήματα του δεν προκαλούν αιμόλυση, παρά μόνο κάποιες μικρές αυξήσεις του MCV και μικρές μειώσεις των MCH και MCHC εντός των φυσιολογικών ορίων. Ακόμη, παρατηρήθηκε ότι κατά την παρουσία του νανোসυστήματος και κυρίως του αλγινικού οξέος, τα ερυθροκύτταρα χάνουν την φυσιολογική μορφή τους και μετατρέπονται σε ακανθοκύτταρα σε μικρό ποσοστό, χωρίς αυτό να είναι ικανό να προκαλέσει ποικιλοκυττάρωση. Προκύπτει κατά αυτόν τον τρόπο ότι το νανোসύστημα είναι αιμοσυμβατό με τα ερυθρά αιμοσφαίρια.

Λέξεις κλειδιά: *ερυθροκύτταρο, νανοσωματίδια, αλγινικό οξύ, χρυσίνη, αιμόλυση*

ABSTRACT

Nanoparticles are used for the prevention, diagnosis and treatment of diseases due to their ability to enclose substances such as pharmaceuticals. However, every new nanoparticle that is manufactured must be investigated for its biocompatibility and potential toxic effects on the body. The compatibility of nanoparticles with blood (hemocompatibility) is of great importance, as blood is the first tissue with which they come into contact upon entering the body.

Polymeric nanoparticles, i.e. nanoparticles made of natural or synthetic polymeric nanomaterials, show high rates of compatibility. Specifically, alginic acid nanoparticles fall into the category of natural polymers. They are known for their very low toxicity and their ability to encapsulate substances and release them in a controlled manner. Such substances are chrysin, which is a natural flavone and has a number of medicinal properties, including anti-cancer properties.

The purpose of this thesis is to study the compatibility of the nanosystem of alginic acid polymeric nanoparticles with encapsulated chrysin with red blood cells. The hemocompatibility of the nanoparticles was evaluated in terms of hemolysis rates (lysis of erythrocytes and release of hemoglobin into the plasma) and erythrocyte morphology, after incubating the blood of healthy people with the nanosystem. In particular, hematological analysis and evaluation of the donors, osmotic resistance and cryohemolysis tests, as well as May - Grumwald - Giemsa staining and microscopy of blood smears before and after a four-hour incubation with the nanosystem were performed.

From the obtained results, it is concluded that the nanosystem and its individual parts do not cause hemolysis, except for some small increases in MCV and small decreases in MCH and MCHC within normal limits. Furthermore, it was observed that in the presence of the nanosystem, especially alginic acid, erythrocytes lose their normal shape and turn into acanthocytes to a small extent, without causing poikilocytosis. Thus, it appears that the nanosystem is hemocompatible with red blood cells.

Keywords: *red blood cell, nanoparticle, alginic acid, chrysin, hemolysis*

A) ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1^ο ΜΕΡΟΣ: Ερυθρά Αιμοσφαίρια

1. ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ

Το αίμα αποτελεί σημαντικό συνδετικό ιστό του ανθρώπινου σώματος και αποτελείται από τα κυτταρικά στοιχεία και το πλάσμα. Συγκεκριμένα, τα κύτταρα χωρίζονται σε τρεις βασικές κατηγορίες: τα αιμοπετάλια (PLTs), τα λευκά αιμοσφαίρια ή λευκοκύτταρα (WBCs) και τα **ερυθρά αιμοσφαίρια ή ερυθροκύτταρα (RBCs)** (De La Harpe et al., 2019). Η τάξη των WBCs χωρίζεται σε τρεις επιμέρους υποομάδες: τα κοκκιοκύτταρα, τα λεμφοκύτταρα και τα μονοκύτταρα. Στα κοκκιοκύτταρα περιλαμβάνονται τα ηωσινόφιλα, τα βασεόφιλα και τα πολυμορφοπύρρηνα ουδετερόφιλα και στα λεμφοκύτταρα τα T-, B- λεμφοκύτταρα και τα κύτταρα φυσικοί φονείς (NK κύτταρα) (Brody, 2016).

Κάθε ομάδα κυττάρων έχει μια μοναδική φυσική και χημική δομή, που τους επιτρέπει να επιτελούν τις σημαντικές λειτουργίες τους στο οργανισμό (De La Harpe et al., 2019). Τα WBCs ευθύνονται για την άμυνα του οργανισμού και το ανοσοποιητικό, ενώ τα PLTs για την αιμόσταση (Rieger & Schroeder, 2012). Παρακάτω γίνεται εκτενής αναφορά στα RBCs.

2. ΕΡΥΘΡΑ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΑ

Τα RBCs αποτελούν την πολυπληθέστερη ομάδα κυττάρων στον ανθρώπινο οργανισμό (D'Alessandro et al., 2023). Αυτό εξηγείται από την καθημερινή παραγωγή περίπου διακοσίων δισεκατομμυρίων (2×10^{11}) RBCs από τον μυελό των οστών (Caulier & Sankaran, 2022). Επιτελούν κρίσιμες και ζωτικής σημασίας λειτουργίες, παρόλο που στερούνται των περισσότερων οργανιδίων τους (Himbert & Rheinstädter, 2022a). Η λειτουργική μορφή των RBCs επέρχεται μέσα από την διαδικασία της ερυθροποίησης, κατά την οποία υφίστανται υψηλό βαθμό διαφοροποίησης (Tang & Wang, 2023).

2.1 Αιμοποίηση και Ερυθροποίηση

Κατά την *αιμοποίηση* παράγονται όλα τα κύτταρα του αίματος καθιστώντας την μια σύνθετη διαδικασία. Η *ερυθροποίηση* αφορά την διαδικασία κατά την οποία τα RBCs παράγονται στο μυελό των οστών. Περιλαμβάνει την διαφοροποίηση των στελεχιαίων αιμοποιητικών κυττάρων (**HSCs**) στα ώριμα RBCs. Η παραπάνω διαδικασία είναι σύνθετη, καθώς ρυθμίζεται από πλήθος παραγόντων, όπως κυτοκίνες, αυξητικούς παράγοντες και ορμόνες. Ξεκινάει από την εμβρυική ζωή, εμφανίζοντας όμως διαφορές σε σχέση με αυτήν που λαμβάνει χώρα στους ενήλικους οργανισμούς (Tang & Wang, 2023).

Κατά την εμβρυική ζωή

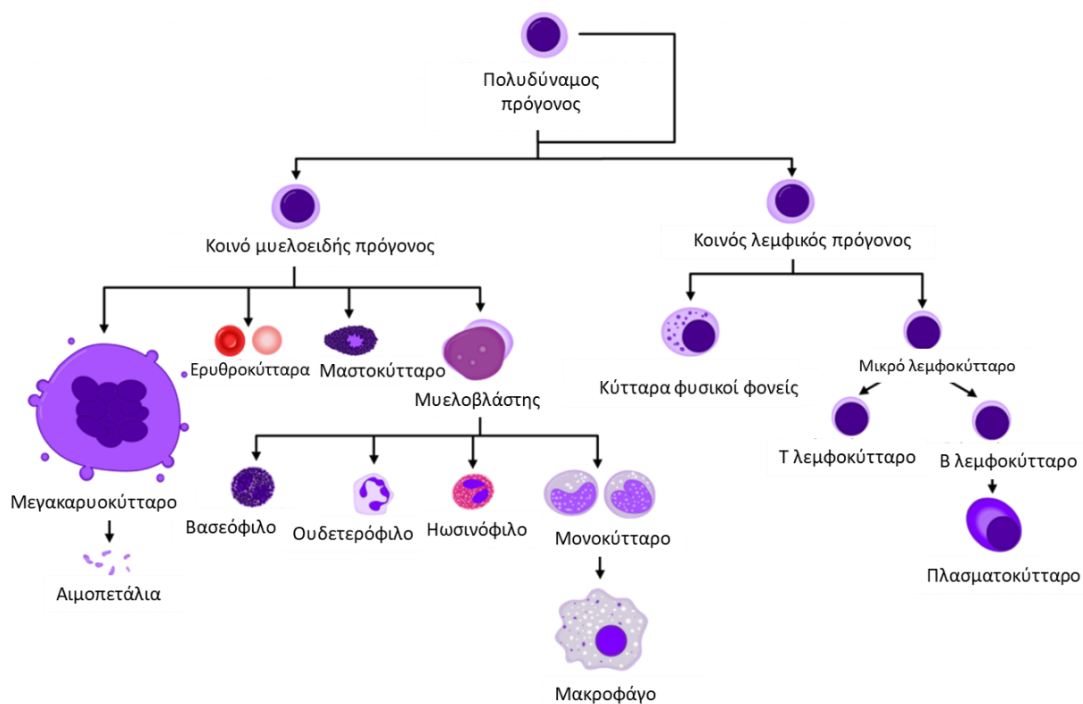
Στα έμβρυα η ερυθροποίηση διεξάγεται σε διαφορετικούς ιστούς και όργανα του εμβρύου, ανάλογα το στάδιο ανάπτυξής του.

Η ερυθροποίηση ξεκινάει αρχικά στον λεκιθικό ασκό και επιτελείται εκεί μόνο κατά τις πρώτες εβδομάδες της κύησης (Tang & Wang, 2023). Σε πρώτο χρόνο, στις αιμοποιητικές νησίδες παράγονται οι πρωτογενείς ερυθροβλάστες (PEs) και τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Οι PEs είναι υπεύθυνοι για την παραγωγή της εμβρυικής αιμοσφαιρίνης και διαθέτουν πυρήνα, αλλά δεν έχουν μεγάλη διάρκεια ζωής. Σε δεύτερο χρόνο, παράγονται στις νησίδες οι ερυθρομυελοειδείς πρόγονοι (EMPs). Σε τρίτο χρόνο, τα κύτταρα του μεσοδέρματος εισέρχονται στον ασκό και αλληλοεπιδρούν με τα κύτταρα του ενδοδέρματος. Η αλληλεπίδραση αυτή είναι απαραίτητη για την έναρξη της ερυθροποίησης (Dzierzak & Philipsen, 2013), καθώς σχηματίζεται το κοιλιακό τοίχωμα της ραχιαίας αορτής και παράγονται τα HSCs μετά από διαφοροποιήσεις (Nandakumar et al., 2016). Αυτά διαθέτουν μεγάλη δυνατότητα διαφοροποίησης και αυτοανανέωσης (Rieger & Schroeder, 2012).

Περίπου κατά την 6^η – 8^η εβδομάδα της κύησης, τα HSCs και τα EMPs μεταναστεύουν στο ήπαρ και στο σπλήνα. Τα δύο όργανα παράγουν την πρωτεΐνη ερυθροποιητίνη, η οποία είναι βασικός ρυθμιστής της ερυθροποίησης. Κατά την 10^η – 28^η το ήπαρ αποτελεί το κύριο όργανο της ερυθροποίησης, ενώ ο σπλήνας παράγει RBCs κυρίως στο δεύτερο τρίμηνο της κύησης. Από το τέλος του δευτέρου τριμήνου, τα HSCs αρχίζουν να μεταναστεύουν στον μυελό των οστών, μέρος το οποίο αποτελεί την τελική θέση της ερυθροποίησης μετά την γέννηση (Nandakumar et al., 2016; Tang & Wang, 2023).

Κατά την ενήλικη ζωή

Τα HSCs έχοντας εγκατασταθεί στον μυελό των οστών, διαφοροποιούνται προς όλες τις σειρές κυττάρων αίματος. Κατά την *αιμοποίηση*, ο υποπληθισμός των HSCs, LT – HSCs διαφοροποιείται σε ST – HSCs, τα οποία με την σειρά τους διαφοροποιούνται στους πολυδύναμους προγόνους (MPPs). Τα MPPs έχουν δύο επιλογές: είτε να ακολουθήσουν την οδό της μυελογενούς σειράς είτε την οδό της λεμφικής. Έτσι, μπορούν να διαφοροποιηθούν στον κοινό μυελοειδή πρόγονο (CMP) ή στον κοινό λεμφικό πρόγονο (CLP). Τα CMP διαφοροποιούνται ξανά είτε σε προγόνους των μεγακαρουκυττάρων – RBCs (MEP) είτε σε προγόνους κοκκιοκυττάρων - μακροφάγων (GMP). Από τα MEP θα προκύψουν τα μεγακαρουκύτταρα (από τα οποία θα προκύψουν με την σειρά τους τα PLTs) και τα RBCs. Τα GMP διαφοροποιούνται σε κοκκιοκύτταρα ή μονοκύτταρα. Τα CLP διαφοροποιούνται σε B, T - λεμφοκύτταρα, NK και δενδριτικά κύτταρα (Rieger & Schroeder, 2012).



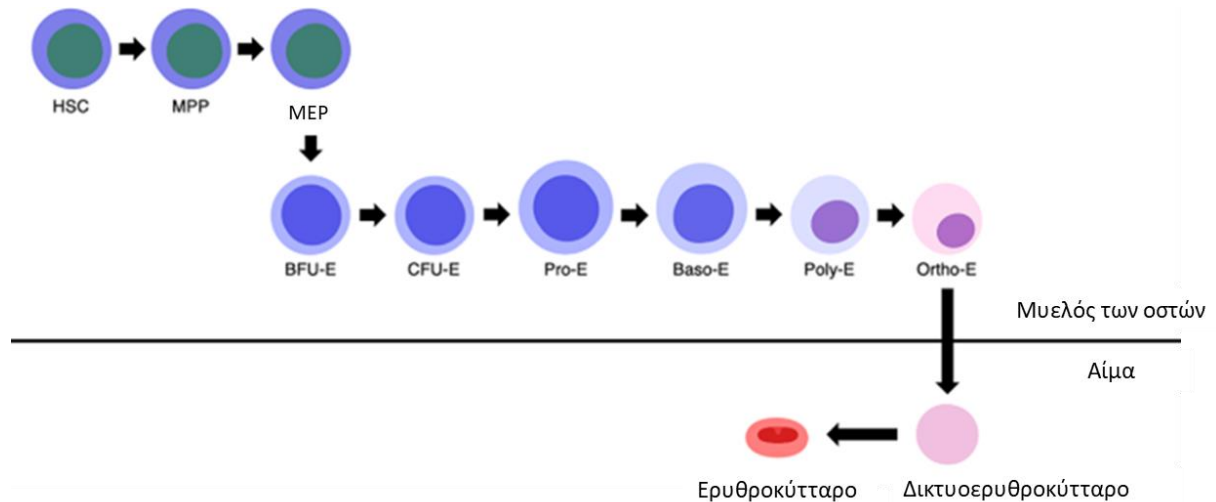
Εικόνα 1: Σχηματική αναπαράσταση ατμοποίησης (Ανατύπωση από Ginzburg et al., 2023)

Η *ερυθροποίηση* αποτελεί μια πολυσύνθετη διαδικασία, η οποία διαρκεί περίπου 14 μέρες και διαδραματίζεται στον μυελό των οστών (Tang & Wang, 2023). Ξεκινάει όταν τα MEP διαφοροποιούνται σε κύτταρα burst-forming unit erythroid (BFU-E) (Zivot et al., 2018). Τα BFU-Es είναι μη ώριμα κύτταρα, τα οποία διαφοροποιούνται στα ώριμα κύτταρα colony-forming unit erythroid (CFU-E) (Dzierzak & Philipsen, 2013). Και τα δύο είδη κυττάρων σχηματίζουν αποικίες, με τις αποικίες των BFU-Es να είναι συγκριτικά μεγαλύτερες. Επίσης, τα BFU-Es μπορούν να βρεθούν φυσιολογικά και στην κυκλοφορία του αίματος, ενώ τα CFU-Es μόνο σε παθολογικές καταστάσεις (Nandakumar et al., 2016).

Έπειτα, τα CFU-Es διαφοροποιούνται στους προερυθροβλάστες (pro-E), οι οποίοι είναι εμπύρνηοι, περιέχουν ενεργά μιτοχόνδρια και αποτελούν το πρώτο αναγνωρίσιμο κύτταρο της ερυθράς σειράς (Zivot et al., 2018). Εισέρχονται στις ερυθροβλαστικές νησίδες (EBI) (Yeo et al., 2019), όπου διαφοροποιούνται διαδοχικά σε βασεόφιλους (Bas-E), πολυχρωματόφιλους (Poly-E) και οξεόφιλους (Ortho-E) ερυθροβλάστες. Το στάδιο αυτό χαρακτηρίζεται από την διαδοχική μείωση του μεγέθους των κυττάρων, την αυξημένη παραγωγή αιμοσφαιρίνης (Hb) και την συμπύκνωση του πυρήνα, ο οποίος και αποβάλλεται στους Ortho-Es. Μετά την αποβολή του πυρήνα, δημιουργούνται τα δικτυοερυθροκύτταρα - ΔΕΚ(Rets) (Zivot et al., 2018).

Τα ΔΕΚ είναι τα κύτταρα τα οποία θα διαμορφωθούν σε ώριμα RBCs. Περιέχουν υπολείμματα ριβονουκλεϊκού οξέος (RNA), είναι μεγαλύτερα σε όγκο σε σχέση με τα ώριμα RBCs, αλλά έχουν μικρότερη συγκέντρωση Hb. Μετά από ένα σύντομο

διάστημα που περνούν στο μυελό των οστών απελευθερώνονται στο αίμα, στο οποίο παραμένουν τέσσερις μέρες (Lombardi et al., 2013). Εκεί η μεμβράνη τους αναδιαμορφώνεται, αποκτούν το χαρακτηριστικό σχήμα του αμφίκιουλου δίσκου των ώριμων RBCs και διαμορφώνονται στα τελικά ώριμα RBCs (Zivot et al., 2018).

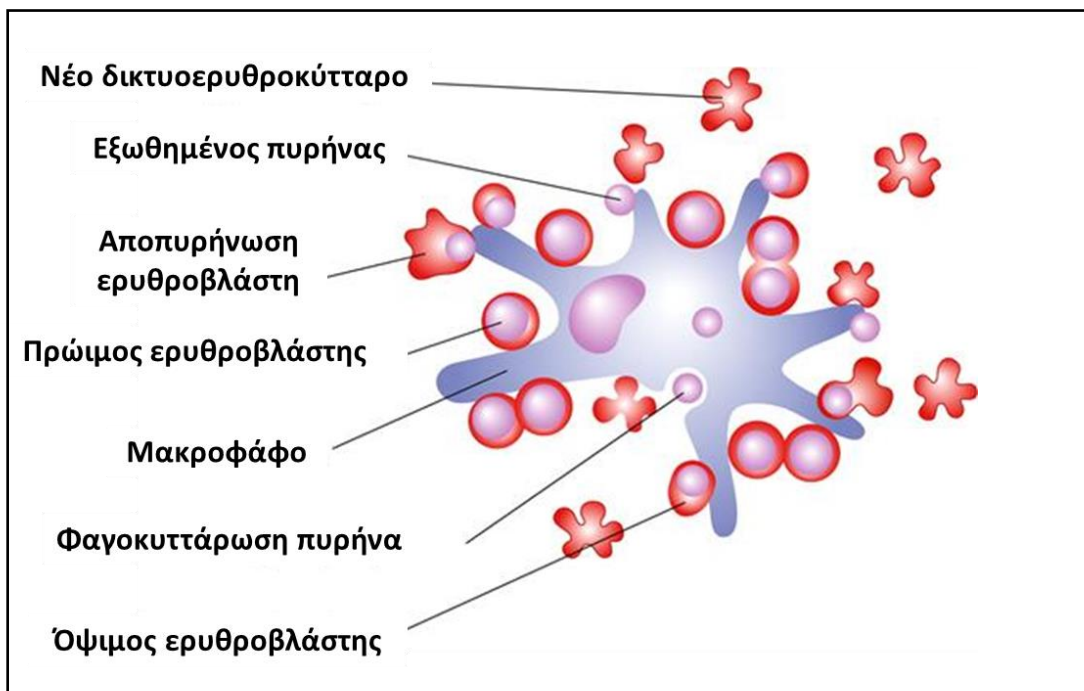


Εικόνα 2: Σχηματική αναπαράσταση ερυθροποίησης (Ανατύπωση από Ju et al., 2024)

Ερυθροβλαστικές Νησίδες (EBI)

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, οι Pro-Es εισέρχονται στις EBI, όπου παραμένουν μέχρι να διαφύγουν στην κυκλοφορία του αίματος ως Rets. Οι συγκεκριμένες δομές είναι σημαντικές για την ερυθροποίηση. Περιέχουν ένα μακροφάγο, γύρω από το οποίο συγκεντρώνονται και προσκολλώνται ερυθροειδή κύτταρα σε διάφορα στάδια (Yeo et al., 2019). Δημιουργούνται έτσι σημαντικές αλληλεπιδράσεις για την επιβίωση και διαφοροποίηση των ερυθροειδών.

Το μακροφάγο φαγοκυτταρώνει τους πυρήνες και τα οργανίδια που αποβάλλονται από τους Ortho-Es (Zivot et al., 2018). Παρέχει σίδηρο για την σύνθεση της αίμης, τρανσφερίνες, κυτοκίνες και παράγοντες ανάπτυξης που υποβοηθούν την ερυθροποίηση. Δυσλειτουργία ή καταστροφή των EBIs μπορεί να προκαλέσει προβλήματα στην ερυθροποίηση ή αναιμία (Tang & Wang, 2023).



Εικόνα 3: Ερυθροβλαστική Νησίδα (Ανατύπωση από Chasis & Mohandas, 2008)

2.2 Λειτουργία Ερυθρών

Τα RBCs έχουν ως κύρια λειτουργία την *μεταφορά του οξυγόνου (O_2)*. Συγκεκριμένα μεταφέρουν O_2 προς τους ιστούς από τους πνεύμονες και απομακρύνουν το διοξείδιο του άνθρακα (CO_2) προς τους πνεύμονες από τους ιστούς. Υπεύθυνη για την συγκεκριμένη λειτουργία είναι η Hb.

Η Hb είναι τετραμερής πρωτεΐνη και αποτελείται από δύο ζευγάρια πολυπεπτιδικών αλυσίδων (α και β), με την κάθε αλυσίδα να περιέχει και ένα μόριο αίμης. Στο μόριο της αίμης εντοπίζεται η θέση σύνδεσης με το O_2 . Ο συνδυασμός των ζευγών διαφέρει στα έμβρυα και στους ενήλικες. Τα ζεύγη που συναντώνται στα έμβρυα, εμφανίζουν μεγαλύτερη συγγένεια με τις ομάδες του O_2 , επιτρέποντας την ανταλλαγή αερίων κατά μήκος του πλακούντα, και κατά επέκταση την αναπνοή στο έμβρυο (Peter Klinken, 2002).

Ακόμη, τα RBCs εμπλέκονται ενεργά και σε άλλες λειτουργίες όπως στην έκκριση, μεταφορά και αποθήκευση του νιτρικού οξειδίου (NO), στην ρύθμιση του pH του αίματος χάρη στην μεταφορά των αερίων και στον έλεγχο του αγγειακού τόνου (Aoki, 2017; Cortese-Krott, 2023; Gajecki et al., 2022).

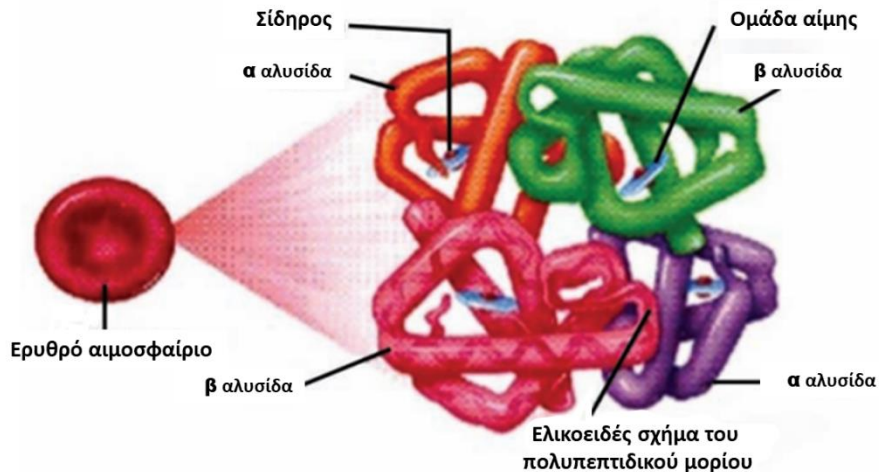


Figure 4: Μορφολογία RBC και δομή της Hb (Ανατύπωση από Banerjee & Aniyery, 2017)

2.3 Μορφολογία Ερυθρών Αιμοσφαιρίων

Τα ερυθρά αιμοσφαίρια είναι σημαντικά κύτταρα για τον μεταβολισμό όλων των θηλαστικών, συμπεριλαμβανομένου του ανθρώπου. Καθημερινά παράγονται δισεκατομμύρια και έχουν διάρκεια ζωής περίπου 120 ημερών (Dzierzak & Philipsen, 2013). Οι ώριμες μορφές των RBCs έχουν δισκοειδές σχήμα, διάμετρο 6 – 8 μm και δεν διαθέτουν οργανίδια, παραδείγματος χάρη πυρήνα και μιτοχόνδρια, υποδηλώνοντας την απλή δομή του κυττάρου. Διαθέτει διπλή λιπιδική μεμβράνη, η οποία συνδέεται με τον μεμβρανικό κυτταροσκελετό. Ως αποτέλεσμα, το κύτταρο είναι ευέλικτο, ελαστικό και ανθεκτικό στο στρες. Αλλαγές στην δομή των RBCs έχουν συνδεθεί με παθολογικές καταστάσεις (Anastasiadi et al., 2024; Himbert & Rheinstädter, 2022b).

2.3.1 Ρόλος και Δομή Μεμβράνης

Η μεμβράνη των RBCs έχει δυσδιάστατη δομή, η οποία αποτελείται από την λιπιδική διπλοστοιβάδα και τον μεμβρανικό σκελετό. Η λιπιδική διπλοστοιβάδα περιλαμβάνει πλήθος φωσφολιπιδίων, σφιγγολιπιδίων, χοληστερόλης και πρωτεϊνών ενσωματωμένων στην μεμβράνη (H. Li & Lykotrafitis, 2014). Συγκεκριμένα αποτελείται από 19,5% νερού, 39,5% πρωτεϊνών, 35,1% λιπιδίων και 5,8% υδατανθράκων (de Oliveira & Saldanha, 2010).

Λιπίδια Μεμβράνης

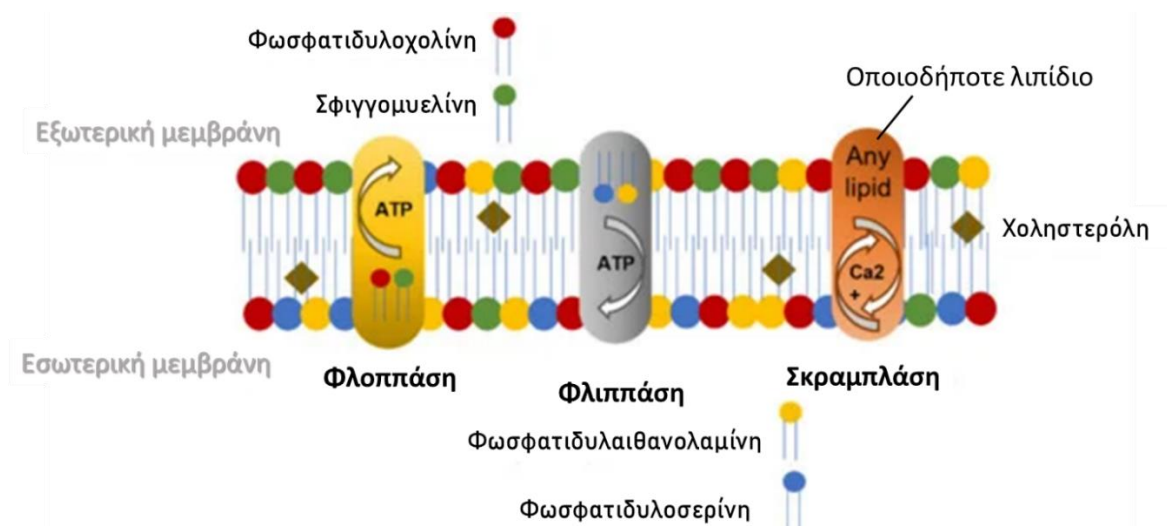
Η λιπιδική διπλοστοιβάδα έχει πάχος 5nm και αποτελείται από ίσες αναλογίες χοληστερόλης και φωσφολιπιδίων (Himbert & Rheinstädter, 2022a; Mohandas & Gallagher, 2008). Τα κύρια φωσφολιπίδια που εντοπίζονται είναι η φωσφατιδυλοσερίνη (PS), η φωσφατιδυλοχολίνη (PC), η σφιγγομυελίνη (SM) και η φωσφατιδυλαιθανολαμίνη (PE) και άλλα δευτερεύοντα (de Oliveira & Saldanha, 2010). Η χοληστερόλη κατανέμεται ισόποσα μεταξύ των δύο στοιβάδων, σε αντίθεση με την

ασύμμετρη κατανομή των τεσσάρων κύριων φωσφολιπιδίων (γνωστή και ως trans ασυμμετρία) (de Oliveira & Saldanha, 2010; Mohandas & Gallagher, 2008).

Η PC και η SM βρίσκονται στην εξωτερική στοιβάδα, ενώ η PS, η περισσότερη PE και μικρά ποσοστά φωσφοϊνοσιτιδίων στην εσωτερική στοιβάδα. Τα φωσφολιπίδια έχουν την τάση να κινούνται μεταξύ των στοιβάδων, απειλώντας την δομή της διπλοστοιβάδας. Κατά αυτόν τον τρόπο, η ασυμμετρία διατηρείται από τις πρωτεΐνες φλιππάσες, φλοππάσες και σκραμπλάσες. Οι φλιππάσες μεταφέρουν τα φωσφολιπίδια στην εσωτερική στοιβάδα από την εξωτερική και οι φλοππάσες από στην εξωτερική την εσωτερική. Για τις ενέργειες αυτές απαιτείται η κατανάλωση ενέργειας (ATP). Ωστόσο, οι σκραμπλάσες μεταφέρουν τα φωσφολιπίδια και προς τις δύο κατευθύνσεις ανάλογα με τις βαθμίδες των συγκεντρώσεών τους και την συγκέντρωση ιόντων ασβεστίου (Ca^{2+}), χωρίς να καταναλώνουν ενέργεια (Mohandas & Gallagher, 2008).

Η ασύμμετρη κατανομή είναι μεγάλης λειτουργικής σημασίας για τα RBCs, καθώς η έκθεση της PS στην εξωτερική στοιβάδα οδηγεί σε κυτταρικό θάνατο και απόπτωση (de Oliveira & Saldanha, 2010). Ακόμη, τα μακροφάγα μπορούν να αναγνωρίσουν την PS και να φαγοκυτταρώσουν τα RBCs. Αυτό υποδηλώνει το πόσο σημαντικό είναι να διατηρείται η PS στην εσωτερική στοιβάδα, ώστε να είναι δυνατή η επιβίωση των RBCs από τα μακροφάγα του ενδοθηλιακού συστήματος (Mohandas & Gallagher, 2008). Εκτός των παραπάνω αποτελεσμάτων της εξωτερικής έκθεσης της PS, μπορεί να προκληθεί πρόβλημα και στην κυκλοφορία του αίματος, αφού τα RBCs γίνονται επιρρεπή στην προσκόλλησή τους στα τοιχώματα του αγγειακού ενδοθηλίου (Setty et al., 2002).

Τα λιπίδια της μεμβράνης συμμετέχουν επίσης και σε ορισμένα σηματοδοτικά μονοπάτια σε συνεργασία με πρωτεΐνες της μεμβράνης, ρυθμίζοντας έτσι την λειτουργία της μεμβράνης. Στην οργάνωση των μορίων των παραπάνω μονοπατιών βοηθούν και οι λιπιδικές σχεδίες, οι οποίες αποτελούν μικροδομές χοληστερόλης και σφιγγολιπιδίων (Mohandas & Gallagher, 2008).



Πρωτεΐνες Μembrάνης

Οι πρωτεΐνες της μεμβράνης χωρίζονται ανάλογα με την ευκολία απομόνωσή τους από την μεμβράνη και διακρίνονται σε δύο κατηγορίες. Οι πρωτεΐνες της πρώτης κατηγορίας απομονώνονται δυσκολότερα συγκριτικά με αυτές της δεύτερης, με ισχυρά αντιδραστήρια, τα οποία είναι συχνά απορρυπαντικά. Αυτές είναι οι διαμεμβρανικές πρωτεΐνες, οι οποίες διαπερνούν το λιπιδική διπλοστοιβάδα, αλληλοεπιδρώντας με τον υδρόφοβο λιπιδικό πυρήνα. Οι πρωτεΐνες που ανήκουν στην δεύτερη κατηγορία απομονώνονται εύκολα με διαλύματα υψηλής ή χαμηλής συγκέντρωσης σε άλατα, και διαλύματα με υψηλό pH. Αυτές είναι οι περιφερικές πρωτεΐνες, οι οποίες δεν διαπερνούν την διπλοστοιβάδα και αλληλοεπιδρούν μόνο με τις διαμεμβρανικές πρωτεΐνες και με τα επιφανειακά λιπίδια της μεμβράνης (de Oliveira & Saldanha, 2010; Gallagher, 2012).

Οι **διαμεμβρανικές πρωτεΐνες** εμφανίζουν μεγάλη ετερογένεια ως προς την λειτουργικότητά τους. Μερικές είναι μεταφορικές πρωτεΐνες, άλλες υποδοχείς σηματοδότησης και άλλες είναι πρωτεΐνες προσκόλλησης, που δρουν κατά τις αλληλεπιδράσεις των RBCs με άλλα κύτταρα συμπεριλαμβανομένου των ενδοθηλιακών κυττάρων. Τέλος, υπάρχουν πρωτεΐνες για τις οποίες δεν έχει διευκρινιστεί ακόμα η λειτουργία τους (Mohandas & Gallagher, 2008).

Στον παρακάτω πίνακα αναφέρονται οι σημαντικότερες διαμεμβρανικές πρωτεΐνες, καθώς και οι λειτουργίες τους.

Πίνακας 1: Διαμεμβρανικές πρωτεΐνες: είδη και λειτουργίες (Gallagher, 2012; Mohandas & Gallagher, 2008; Pechlivanidou et al., 2023; Pretini et al., 2019)		
Όνομα πρωτεΐνης	Είδος	Λειτουργία
Ζώνη 3 (Band 3)	Πρωτεΐνες Μεταφορείς	Μεταφορέας ιόντων, διατηρεί τις αλληλεπιδράσεις των πρωτεϊνών, σημείο πρόσδεσης για ένζυμα, Hb, σκελετικές πρωτεΐνες
Μεταφορέας Γλυκόζης 1 (Glut 1)	Πρωτεΐνες Μεταφορείς	Μεταφορέας γλυκόζης και L-δεϋδροασκορβικού οξέος
Συνμεταφορείς Na ⁺ -K ⁺ , K ⁺ -Cl ⁻ , Na ⁺ - Cl ⁻ , Na ⁺ - K ⁺ - 2Cl ⁻ , Na ⁺ - K ⁺ - ATPάση, Ca ²⁺ ATPάση	Πρωτεΐνες Μεταφορείς	Μεταφορείς Ιόντων, διατήρηση της ισορροπίας μεταξύ ενδοκυττάρων και εξωκυττάρων συστατικών
Υδατοπορίνη 1	Πρωτεΐνες Μεταφορείς	Μεταφορέας νερού, ρυθμίζει τον όγκο του κυττάρου αποτρέποντας την αιμόλυση
Πρωτεΐνη Αντιγόνου Kidd	Πρωτεΐνες Μεταφορείς	Μεταφορέας Ουρίας

Σύμπλεγμα Rh/RhAG	Πρωτεΐνες Μεταφορείς	Οι πρώτες μεταφέρουν CO ₂ και NH ₄ ⁺ , οι δεύτερες είναι κανάλι αερίων για την μεταφορά CO ₂ και NH ₃
Κανάλι Gardos	Πρωτεΐνες Μεταφορείς	Κανάλι καλίου το οποίο ενεργοποιείται από το ασβέστιο
PIEZO 1	Πρωτεΐνες Μεταφορείς	Μη ειδικό κανάλι ιόντων, διατηρεί την ομοιόσταση του όγκου των RBCs
Γλυκοφορίνες (GP) A, B, C, D, E	Πρωτεΐνες Σηματοδότησης	Προσδίδουν αρνητική φόρτιση στην επιφάνεια των RBCs, υποδοχείς σηματοδότησης μικροβίων, ιών και ομάδων αίματος
ICAM – 4	Πρωτεΐνες Προσκόλλησης	Σημαντικός ρόλος στις αλληλεπιδράσεις και στην προσκόλληση των κυττάρων στην ομοιόσταση και την θρόμβωση

Έχουν βρεθεί περισσότερες από 50 πρωτεΐνες συμπεριλαμβανομένου των παραπάνω (παραδείγματος χάρη η p55) (Pretini et al., 2019). Άλλες είναι διάφορες κινάσες, πρωτεΐνες του συμπληρώματος, υποδοχείς τρανσφερίνης, ινσουλίνης και ορμονών (Gallagher, 2012).

Οι **περιφερικές πρωτεΐνες** δομούν τον μεμβρανικό σκελετό. Οι κύριες πρωτεΐνες είναι η ακτίνη, η α- και η β- σπεκτρίνη, η δεματίνη, η αγκυρίνη, η τροπομυοσίνη, η τροπομοντουλίνη, η πρωτεΐνη 4.1R και η αδουσίνη (Mohandas & Gallagher, 2008).

2.3.2 Ρόλος και Δομή Μεμβρανικού Κυτταροσκελετού

Ο **μεμβρανικός σκελετός** αποτελεί δίκτυο νηματίων που βρίσκεται κάτω και παράλληλα από την μεμβράνη (N. Li et al., 2023). Συνδέεται με την μεμβράνη μέσω της σύνδεσής του με τις διαμεμβρανικές πρωτεΐνες (Kabaso et al., 2010; N. Li et al., 2023). Έχει δισδιάστατη (2D) δομή και αποτελείται κυρίως από ίνες σπεκτρίνης. Επιτελεί σημαντικές λειτουργίες για το κύτταρο, καθώς υποστηρίζει μηχανικά την δομή της μεμβράνης, διαμεσολαβεί στην επικοινωνία μεμβράνης και κυτταροσκελετού και ρυθμίζει την απόκριση του κυττάρου σε σηματοδοτικά μονοπάτια (N. Li et al., 2023).

Το δίκτυο του κυτταροσκελετού είναι δικτυωτό και συγκεκριμένα εξαγωνικό. Η εξαγωνική μορφή δημιουργείται λόγω παρουσίας τριγώνων πρωτεϊνών. Κάθε πλευρά του τριγώνου σχηματίζεται από ένα τετραμερές, το οποίο αποτελεί την βασική δομική μονάδα του δικτύου του κυτταροσκελετού. Αυτό αποτελείται από τριπλές έλικες αντιπαράλληλων ετεροδιμερών α- και β- σπεκτρίνης (Risinger & Kalfa, 2020). Το αντιπαράλληλο ετεροδιμερές προκύπτει από την ισχυρή σύνδεση του C-άκρου της β-σπεκτρίνης και του N-άκρου της α-σπεκτρίνης. Στο άλλο άκρο, τα διμερή συνδέονται με το σύμπλεγμα F-ακτίνης και πρωτεΐνης 4.1R, η οποία ενισχύει την σύνδεση της

ακτίνης με την σπεκτρίνη. Οι πρωτεΐνες τροπομοντουλίνη και αδουσίνη καλύπτουν τα άκρα της ακτίνης.

Το σύμπλοκο της σπεκτρίνης, ακτίνης και πρωτεΐνης 4.1R (σύμπλεγμα ζεύξης) και η σύνδεση των ετεροδιμερών σπεκτρίνης παίζει σημαντικό ρόλο για την σταθερότητα της μεμβράνης απέναντι στις πιέσεις που δέχεται στο κυκλοφοριακό σύστημα (Mohandas & Gallagher, 2008).

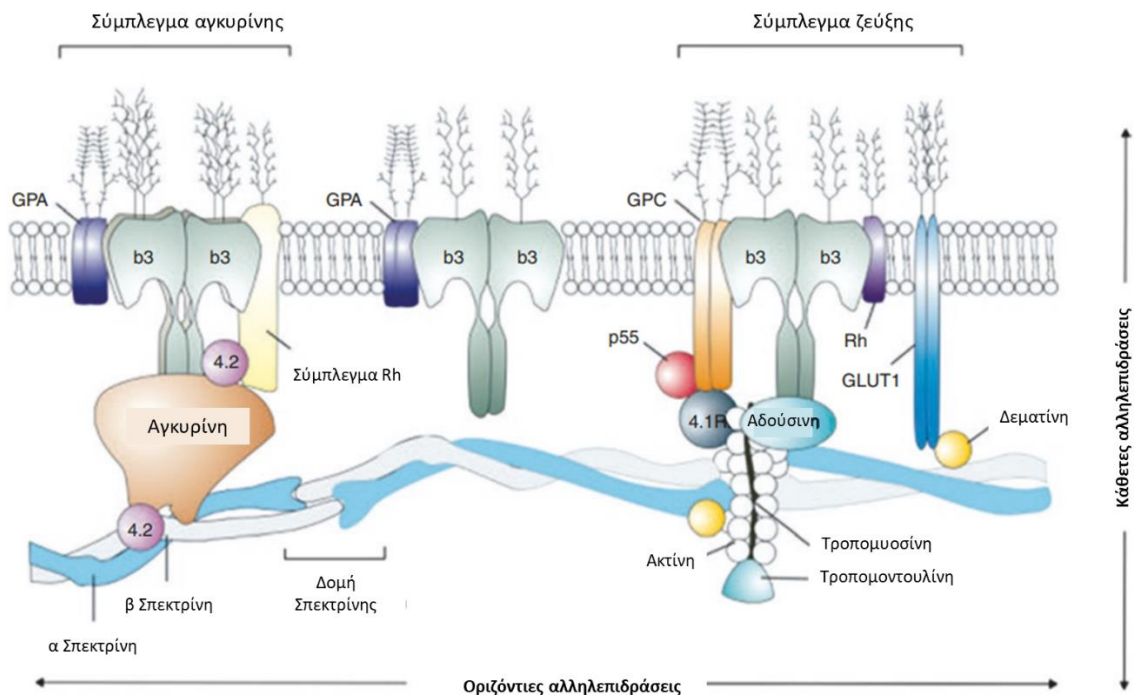
2.3.3 Αλληλεπίδραση Μεμβράνης και Κυτταροσκελετού

Η μεμβράνη και ο κυτταροσκελετός των RBCs είναι στενά συνδεδεμένοι, χάρη σε κατακόρυφες συνδέσεις που υπάρχουν μεταξύ των πρωτεϊνών. Η δομή αυτή επιτρέπει στα ερυθρά να είναι ελαστικά ως προς το σχήμα και να επιβιώνουν στην κυκλοφορία του αίματος, όταν διαπερνούν τα στενά τριχοειδή αγγεία. Η σύνδεση της διπλοστοιβιάδας των λιπιδίων και του κυτταροσκελετού γίνεται χάρη σε δύο συμπλέγματα: στο σύμπλεγμα της αγκυρίνης και στο σύμπλεγμα ζεύξης.

Στο **σύμπλεγμα της αγκυρίνης** η αγκυρίνη συνδέει την β-σπεκτρίνη με την Ζώνη 3 και με το RhAG (διαμεμβρανικές πρωτεΐνες). Υπολογίζεται ότι περιέχονται στο σύμπλεγμα μία πρωτεΐνη αγκυρίνης, δύο διμερή ή ετεροδιμερή γλυκοφορινών A ή B, ένα σύμπλεγμα Rh (τριμερές RhAG συνδεδεμένο με RhD και RhCE), ένα τετραμερές πρωτεΐνης ζώνης 3 και δύο μόρια 4.2 πρωτεΐνης. Στο σύμπλεγμα συμμετέχουν και άλλα πρωτεϊνικά μόρια τα οποία παίζουν μικρότερο ρόλο κυρίως στα δημιουργούμενα (από τις αλληλεπιδράσεις των πρωτεϊνών) υποσυμπλέγματα. Σε περίπτωση μεταλλάξεων των γονιδίων που εκφράζουν σημαντικές πρωτεΐνες του συμπλέγματος αγκυρίνης, μπορούν να προκληθούν ανωμαλίες στην δομή των RBCs, όπως είναι η κληρονομική σφαιροκυττάρωση.

Στο **σύμπλεγμα ζεύξης** συμμετέχουν πολλές πρωτεΐνες και εντοπίζονται πολλές συνδέσεις. Η πρωτεΐνη 4.1R συνδέεται με την με την ζώνη 3, η πρωτεΐνη 4.2 συνδέεται στην περιοχή EF του άκρου της σπεκτρίνης και η αδουσίνη συνδέεται με την ζώνη 3, φέρνοντας κοντά την τελευταία με την ακτίνη. Στο σύμπλεγμα αυτό συμμετέχουν και άλλες πρωτεΐνες, όπως οι γλυκοφορίνες A, C, D, οι πρωτεΐνες – μεταφορείς γλυκόζης, η στοματίνη, η δεματίνη, η πρωτεΐνη p55, οι πρωτεΐνες Kell και οι πρωτεΐνες DARC/Duffy. Ωστόσο, η ακριβής στοιχειομετρία των πρωτεϊνών του συμπλέγματος παραμένει ασαφής (Lux, 2016).

Η πρωτεΐνη ζώνης 3 αποτελεί κεντρικό σημείο και των δύο συμπλεγμάτων. Τα συμπλέγματα βρίσκονται σε κοντινές τοποθεσίες στην μεμβράνη, με αποτέλεσμα να συναγωνίζονται και συχνά να συγκρούονται (ειδικά κατά την παραμόρφωση των RBCs) για την πρόσδεση στην πρωτεΐνη αυτή. Συνεπώς, τα δύο συμπλέγματα συνδέονται σε διαφορετικούς πληθυσμούς της ζώνης 3 και πιθανώς ανταλλάζουν μερικές κοινές πρωτεΐνες μεταξύ τους, όπως την πρωτεΐνη 4.1R και την αδουσίνη (Nigra et al., 2020).



Εικόνα 6: Σχηματικό μοντέλο της ερυθροκυτταρικής μεμβράνης (Ανατύπωση από Gregg et al., 2019)

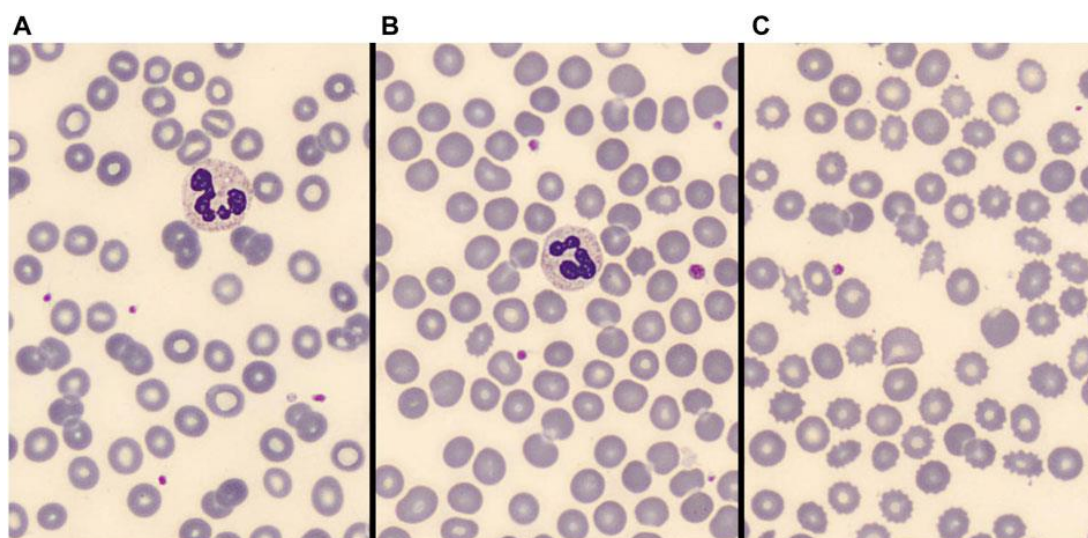
2.4 Παθολογικά Ερυθρά Αιμοσφαίρια

Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω τα ερυθρά αιμοσφαίρια είναι ευέλικτα και ανθεκτικά στο στρες που υποβάλλονται κατά την ροή τους στα αγγεία μικρής διαμέτρου. Υφίστανται μορφολογικά πρόσκαιρες παραμορφώσεις, οι οποίες τους επιτρέπουν να επιβιώνουν κατά την ροή τους. Ωστόσο, στα ερυθρά μπορούν να εμφανιστούν και παθολογικές παραμορφώσεις που μπορούν να συνδεθούν με ασθένειες, όπως είναι οι κληρονομικές ασθένειες και ο διαβήτης. Τα χαρακτηριστικά που μπορούν να μεταβληθούν είναι το σχήμα, το μέγεθος, το χρώμα και το περιεχόμενο των ερυθρών αιμοσφαιρίων (Samson Adewoyin et al., 2019; Tomaiuolo, 2014). Συγκεκριμένα, η διαταραχή που αφορά το σχήμα είναι γνωστή ως ποικιλοκυττάρωση, ενώ αυτή που αφορά το μέγεθος των ερυθρών αιμοσφαιρίων ανισοκυττάρωση.

Η **ανισοκυττάρωση** συνδέεται με αναιμίες και παρατηρείται σε αυτήν αυξημένη ή μειωμένη διάμετρος των RBCs ($>$ ή $<$ 6 - 8 μm). Η διαταραχή της μειωμένης διαμέτρου ονομάζεται μικροκυττάρωση, ενώ της αυξημένης διαμέτρου μακροκυττάρωση. Παράμετροι της γενικής εξέτασης αίματος που βοηθούν στην διάγνωση της ανισοκυττάρωσης είναι ο μέσος όγκος των ερυθροκυττάρων (MCV) και ο δείκτης εύρους κατανομής των ερυθροκυττάρων (RDW) (Samson Adewoyin et al., 2019).

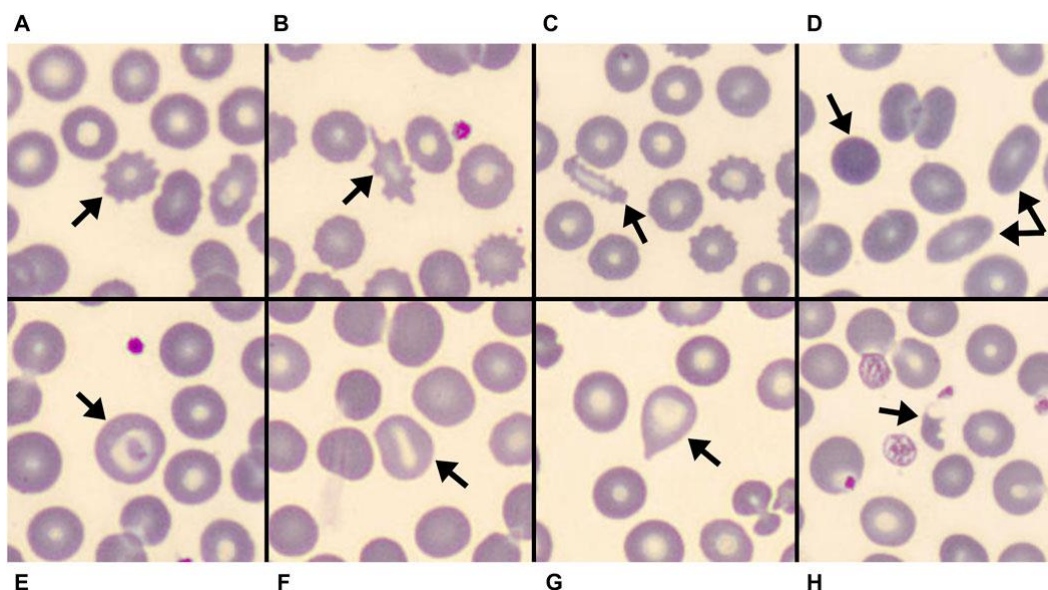
Η **ποικιλοκυττάρωση** σχετίζεται με την παρουσία $\geq 10\%$ ερυθρών μη φυσιολογικού σχήματος στο αίμα. Μπορεί να οφείλεται σε κληρονομικές παθολογίες, παραδείγματος χάρη λόγω θαλασσαιμίας και κληρονομικής σφαιροκυττάρωσης ή

επίκτητες, παραδείγματος χάρη λόγω μεγαλοβλαστικής αναιμίας και ανεπάρκειας βιταμίνης Β-12. Υπάρχουν πολλοί τύποι ποικιλοκυττάρωσης ανάλογα με το σχήμα των κυττάρων. Συναντώνται σφαιροκύτταρα, ακανθοκύτταρα, δακρυοκύτταρα, σχιστοκύτταρα, ελιπτοκύτταρα, εχινοκύτταρα, δρεπανοκύτταρα, κωδοκύτταρα, λεπτοκύτταρα και στοματοκύτταρα. Μπορούν επίσης να συνυπάρχουν διαφορετικοί τύποι τέτοιων κυττάρων στο αίμα. Παράμετροι της γενικής εξέτασης αίματος που βοηθούν στην διάγνωση της ποικιλοκυττάρωσης είναι ο MCV, η μέση πυκνότητα αιμοσφαιρίνης (MCHC) και η μέση περιεκτικότητα αιμοσφαιρίνης (MCH). Επίσης, απαραίτητη είναι και η μικροσκόπηση επιχρίσματος αίματος για την ταυτοποίηση του τύπου ποικιλοκυττάρωσης (Bandaru et al., 2024).



Εικόνα 7: Ποσοστά παθολογικών μορφολογιών RBCs στο αίμα A) 0% παθολογικά RBCs, B) <10% παθολογικά RBCs, C) >10% παθολογικά RBCs -Ποικιλοκυττάρωση (Marchi et al., 2022)

- Ακανθοκύτταρα: είναι παθολογικά RBCs που εμφανίζουν ακανθώδεις προεξοχές στην κυτταροπλασματική μεμβράνη. Οι προεξοχές δημιουργούνται λόγω μεταβολών των λιπιδίων και πρωτεϊνών της μεμβράνης και εμφανίζουν ποικιλία αναφορικά με το μέγεθος και το σχήμα. Λόγω αυτής τους της μορφολογίας παγιδεύονται πιο εύκολα από τον σπλήνα και καταστρέφονται, οδηγώντας σε αναιμία. Αποτελούν σύμπτωμα ασθενειών της μυελοδυσπλασίας, της αλκοολικής κίρρωσης του ήπατος, της νευρικής ανορεξίας, του υποθυρεοειδισμού και της αβηταλιποπρωτεϊναιμίας. Μπορούν επίσης να εμφανιστούν στο αίμα και λόγω λήψης φαρμακευτικής αγωγής (Bandaru et al., 2024; P. R. Shah et al., 2024).



Εικόνα 8: Παθολογικές Μορφολογίες RBCs, A) Εχινικότταρο, B) Ακανθοκύτταρο, C) Ελιπτοκύτταρο, D) Σφαιροκύτταρο και δύο Ελιπτοκύτταρα, E) Κωδοκύτταρο, F) Στοματοκύτταρο, G) Δακρυοκύτταρο, H) Σχιστοκύτταρο (Marchi et al., 2022)

3. ΑΙΜΟΛΥΣΗ

Ως αιμόλυση ορίζεται η διάρρηξη της μεμβράνης των ερυθρών και η απελευθέρωση της αιμοσφαιρίνης και των υπόλοιπων εσωτερικών στοιχείων τους στο πλάσμα (Heigerman et al., 2017). Παθολογικά η αιμόλυση συνδέεται με την αιμολυτική αναιμία, κατά την οποία τα RBCs καταστρέφονται γρηγορότερα από τον ρυθμό που αναγεννούνται από τον μυελό των οστών. Η αιμόλυση μπορεί να γίνεται ενδοαγγειακά (τα RBCs καταστρέφονται μέσα στα αγγεία) ή εξωαγγειακά (τα RBCs καταστρέφονται στο ήπαρ ή στον σπλήνα). Εκτός από γενετικές διαταραχές που μπορούν να οδηγήσουν σε αιμόλυση, ενοχοποιούνται λοιμώξεις, αυτοάνοσες παθήσεις, δηλητήρια και τοξικά για το αίμα στοιχεία (Dhaliwal et al., 2004).

2^ο ΜΕΡΟΣ: NPs

1. NANOTEΧΝΟΛΟΓΙΑ & NANOΙΑΤΡΙΚΗ

1.1 Η Ιστορία της Νανοτεχνολογίας

Ο όρος Νανοτεχνολογία αναφέρεται για πρώτη φορά το 1959 (Afzal et al., 2022). Ο νομπελίστας Richard Feynman (Khan et al., 2019), ήταν ο πρώτος επιστήμονας που μίλησε για αυτήν, με την διάλεξή του στο ετήσιο συνέδριο της Αμερικανικής Εταιρεία Φυσικής (Bayda et al., 2020). Η διάλεξη με τίτλο «There's Plenty of Room at the Bottom» απατέλεσε – κατά κάποιον τρόπο - επανάσταση στον χώρο της τεχνολογίας και της έρευνας σε όλους τους σχετιζόμενους τομείς (Khan et al., 2019). Αργότερα, το 1974 ο επιστήμονας Norio Taniguchi έδωσε τον πρώτο επίσημο ορισμό για την Νανοτεχνολογία (Mehnath et al., 2021), ο οποίος αναγραφόταν στην έρευνα του «On the Basic Concept of 'Nanotechnology'», τονίζοντας ότι «Η νανοτεχνολογία συνίσταται κυρίως στην επεξεργασία του διαχωρισμού, της ενοποίησης και της παραμόρφωσης υλικών από ένα άτομο ή ένα μόριο» (Sandhu, 2006).

Σήμερα από την Εθνική Αρχή Νανοτεχνολογίας (NNI) των Ηνωμένων Πολιτειών Αμερικής προσδιορίζεται η Νανοτεχνολογία ως «η κατανόηση και ο έλεγχος της ύλης σε κλίμακα νανομέτρων (διαστάσεων περίπου 1 έως 100 nm), όπου μοναδικά φαινόμενα επιτρέπουν καινοτόμες εφαρμογές». Το μέγεθος της κλίμακας είναι ιδιαίτερα μικρό, αλλά γίνεται ευκολότερα αντιληπτό με την μετατροπή του μεγέθους του πάχους της σελίδας σε κλίμακα νανομέτρων, το οποίο είναι 100.000nm παχύ (=0.01mm) (*National Nanotechnology Initiative - About Nanotechnology, n.d.*).

Παρόλο που η έννοια της νανοτεχνολογίας διατυπώθηκε τον 20^ο αιώνα, η σύνθεση νανοσωματιδίων (*nps*) (σωματίδια τα οποία έχουν τουλάχιστον μία διάσταση κάτω των 100 nm) (Contera et al., 2021) και η χρήση τους, σύμφωνα με δεδομένα ιστορικά - χρονολογούνται ήδη από τον 14^ο και 13^ο αιώνα π.Χ. στην Αίγυπτο και στην Μεσοποταμία. Την εποχή εκείνη συνέθεταν μεταλλικά *nps* με χημικές μεθόδους, τα οποία χρησιμοποιούσαν στην κατασκευή γυαλιού. Αυτή θεωρείται η αρχή της εποχής σύνθεσης μεταλλικών *nps* (Jeevanandam et al., 2018).

Λίγο αργότερα οι Αιγύπτιοι συνέθεσαν μέσω χημικών διαδικασιών, βαφές για μαλλιά (Walter et al., 2006), αλλά και το χαρακτηριστικό μπλε Αιγυπτιακό χρώμα (Johnson-McDaniel et al., 2013). Το πρώτο πρόκυπτε από την χημική σύνθεση *nps* μόλυβδου, ενώ το δεύτερο από μείγμα *nps* γυαλιού και χαλαζία. Έχουν βρεθεί και άλλα δείγματα χρήσης *nps* στην τέχνη όπως το χρωματιστό κόκκινο γυαλί από χαλκό στην Ιταλία (Artioli et al., 2008) και το κέλτικό κόκκινο σμάλτο από χαλκό και οξειδία του (Brun et al., 1991), που χρονολογούνται αρκετούς αιώνες π.Χ.

Το πιο γνωστό όμως αρχαίο έργο στο οποίο χρησιμοποιήθηκαν μεταλλικά *nps* χρονολογείται από τον 4ο αιώνα μ.Χ. και είναι το Κύπελλο του Λυκούργου. Φιλοτεχνήθηκε από τους Ρωμαίους και αποτελείται από διχρωμικό γυαλί όπως χαρακτηριστικά φαίνεται στην εικόνα 9 (Jeevanandam et al., 2018).

Τα ηρς χρησιμοποιήθηκαν αργότερα κατά τον Μεσαίωνα στα παράθυρα των εκκλησιών, στην διακόσμηση γυάλινων σκευών από περιοχές που επικρατεί το Ισλάμ και στην Δαμασκό τον 9^ο - 17^ο αιώνα και 13^ο - 18^ο αντίστοιχα, και στην Αναγεννησιακή κεραμική τον 16^ο αιώνα στην Ιταλία. Συνεπώς, τα ηρς χρησιμοποιούνταν ευρέως από τους καλλιτέχνες τους προηγούμενους αιώνες, παρόλο που τα ηρς και η νανοτεχνολογία δεν υπήρχαν ως έννοιες (Bayda et al., 2020).



Εικόνα 9: Κύπελλο του Λυκούργου (Freestone et al., 2007)

1.2 Η Νανοτεχνολογία και η Νανοϊατρική στην Σύγχρονη Εποχή

Με αφετηρία την δεκαετία του '80 (Contera et al., 2021) η Νανοτεχνολογία άρχισε να εφαρμόζεται σε πολλά επιστημονικά πεδία, καθώς οι ερευνητές αντιλήφθηκαν ότι το μέγεθος μπορεί να επηρεάσει τις φυσικές - χημικές ιδιότητες μίας ουσίας (Khan et al., 2019). Έτσι, σήμερα συναντάμε εφαρμογές της μεταξύ πολλών άλλων στην βιομηχανία τροφίμων και καλλυντικών (βελτίωση βιοδιαθεσιμότητας θρεπτικών συστατικών, ηρς ως πρόσθετα συστατικά), στο πεδίο της γεωργίας και υγιεινής του περιβάλλοντος (καθαρισμός υδάτων και μεταφορά φυτοφαρμάκων), καθώς στο πεδίο της τεχνολογίας (ρομποτική) (Rambaran & Schirhagl, 2022). Μπορεί να βοηθήσει επίσης στην αντιμετώπιση καίριων προβλημάτων, συμπεριλαμβανομένου περιβαλλοντικών και ενεργειακών κρίσεων (Kargozar & Mozafari, 2018).

Αντίστοιχα, η χρήση της νέας αυτής τεχνολογίας, βρήκε πολλές εφαρμογές και στον τομέα της ιατρικής, δημιουργώντας το πεδίο της Νανοϊατρικής. Ο συγκεκριμένος τομέας στηρίζεται στην εφαρμογή της νανοτεχνολογίας στην πρόληψη, διάγνωση και θεραπεία ασθενειών (Hua et al., 2018) Η εφαρμογή αυτή κρίνεται ιδιαίτερα επιτυχημένη, καθώς η ποιότητα ζωής των ανθρώπων βελτιώθηκε και αναβαθμίστηκε τις τελευταίες δεκαετίες χάρη σε αυτή όπως εκτενώς αναφέρεται στη συνέχεια (Malik et al., 2023; Sharma et al., 2021).

2. NPs ΣΤΗΝ ΝΑΝΟΪΑΤΡΙΚΗ

Τα nps είναι σωματίδια τα οποία έχουν μέγεθος <100nm σε τουλάχιστον μία διάσταση, όπως αναφέρθηκε και παραπάνω (Sharma et al., 2021). Ανάλογα με το σχήμα και την δομή τους μπορεί να έχουν μηδέν, μία, δύο ή τρεις διαστάσεις (Khan et al., 2019). Παράγονται φυσικά ή συνθετικά μέσω χημικών, φυσικών, βιολογικών ή μηχανικών διεργασιών (Contera et al., 2021). Οι φυσικές και χημικές ιδιότητες κάθε nps (De La Harpe et al., 2019) σε συνδυασμό με την δομή τους (μέγεθος, σχήμα, φόρτιση της επιφάνειας), τα καθιστούν μοναδικά και καθορίζουν την συμπεριφορά τους με άλλα βιολογικά μόρια (Yedgar et al., 2022).

2.1 Χαρακτηριστικά

2.1.1 Μέγεθος

Το ιδιαίτερα μικρό μέγεθος των nps τους επιτρέπει να φτάνουν σε περιοχές του σώματος που σωματίδια άλλων μεγεθών και ουσίες αδυνατούν. Μπορούν δηλαδή να διαπερνούν φυσικούς φραγμούς του σώματος, όπως είναι ο αιματοεγκεφαλικός φραγμός (Blood Brain Barrier - BBB), ο πλακούντας, τα μακροφάγα. Μπορούν επίσης να περνούν από τους πνεύμονες στο αίμα και να φτάνουν με σχετική ευκολία στη πλειονότητα των ζωτικών οργάνων (Cho et al., 2008; Contera et al., 2021; Sharma et al., 2021). Ακόμη, έχουν τη δυνατότητα να εισχωρούν μέσα στα κύτταρα περνώντας διαμέσου της κυτταρικής μεμβράνης και να εισέρχονται με αυτόν τον τρόπο στα κυτταρικά οργανίδια και στο εσωτερικό του πυρήνα τους (De Jong & Borm, 2008; Sharma et al., 2021).

2.1.2 Επιφάνεια

Η αναλογία επιφάνειας προς μάζα των nps είναι αρκετά μεγαλύτερη σε σχέση με αυτή άλλων σωματιδίων. Η συγκριτικά μεγαλύτερη και λειτουργική επιφάνεια τους τους δίνει την δυνατότητα να προσδένουν συστατικά όπως φάρμακα, πρωτεΐνες και βιολογικούς ανιχνευτές, να τα απορροφούν και να τα μεταφέρουν (De Jong & Borm, 2008).

2.1.3 Χημεία Επιφάνειας

Η χημεία της επιφάνειας παίζει σημαντικό ρόλο στην αλληλεπίδραση των nps με τα βιολογικά συστήματα (Altammar, 2023). Αναφέρεται στο ηλεκτρικό φορτίο της επιφάνειας και σε πιθανές χημικές ομάδες που είναι προσδεμένες σε αυτήν (Yusuf et al., 2023). Το ηλεκτρικό φορτίο επηρεάζει την φαγοκυττάρωση, τον οψωνισμό, την βιοκατανομή των nps, καθώς και την κυκλοφορία τους στο αίμα (Zahin et al., 2020). Για παράδειγμα, τα nps με υδρόφιλες επιφάνειες καταφέρνουν να διαφύγουν από τα μακροφάγα του δικτυοενδοθηλιακού συστήματος (Cho et al., 2008). Η χημεία μπορεί να τροποποιηθεί μηχανικά, προσθέτοντας αντιδραστικές ομάδες ή μόρια όπως αντισώματα και έτσι να ελεγχθούν οι αλληλεπιδράσεις και η συμπεριφορά των nps (Altammar, 2023; Yusuf et al., 2023).

2.1.4 Σχήμα

Το σχήμα των ηρς αποτελεί ένα πολύ σημαντικό χαρακτηριστικό τους, καθώς μπορεί να καθορίσει και τις εφαρμογές του, ανεξαιρέτως αν θα χρησιμοποιηθεί ως φορέας φαρμάκων ή όχι. Το σχήμα τους μπορεί να επιδράσει με ποικίλους τρόπους στα κύτταρα, όπως να προκαλέσει κυτταρικό θάνατο, αλλαγές στον μεταβολισμό, στην διαφοροποίηση και την ανάπτυξη του κυττάρου. Αξίζει να σημειωθεί ότι υφίσταται πληθώρα σχημάτων όπως σφαιρικά, ελλειψοειδή, κυβικά, πολυεδρικά, αλυσιδωτά, κυλινδρικά (Kladko et al., 2021).

2.1.5 Ικανότητα Στόχευσης

Τα ηρς έχουν την δυνατότητα να στοχεύουν συγκεκριμένους ιστούς, κύτταρα ή ενδοκυτταρικά στοιχεία, βελτιώνοντας την δραστικότητάς της ουσίας που μεταφέρεται από αυτά (Altammar, 2023). Η στόχευση μπορεί να γίνει με ενεργητικό ή παθητικό τρόπο και τα ηρς τροποποιούνται μηχανικά αναλόγως (Cho et al., 2008).

2.1.5.1 Ενεργητική Στόχευση

Στην περίπτωση αυτή, τα ηρς τροποποιούνται μηχανικά και εμπλουτίζονται με προσδέτες στόχευσης (ligands) στην επιφάνεια τους. Οι προσδέτες στόχευσης θα μπορούσαν να είναι βιομόρια όπως παραδείγματος χάρη νουκλεϊκά οξέα, και πεπτίδια. Τα βιομόρια διαθέτουν την ικανότητα αναγνώρισης και πρόσδεσης συγκεκριμένων επιφανειακών υποδοχέων των επιθυμητών κυττάρων. Αυτό επιτυγχάνεται λόγω της υψηλής χημικής συγγένειας προσδέτη - υποδοχέα. Το κύριο πλεονέκτημα της ενεργητικής στόχευσης είναι η αύξηση της ειδικής αλληλεπίδρασης των ηρς με τα επιθυμητά ασθενή κύτταρα, μειώνοντας τις μη ειδικές αλληλεπιδράσεις με άλλα κύτταρα του οργανισμού (Narum et al., 2020).

2.1.5.2 Παθητική Στόχευση

Στην περίπτωση αυτή, η στόχευση οφείλεται στην συσσώρευση των ηρς στον ιστό που ασθενεί. Η συσσώρευση των ηρς προκαλείται από διαφορετική παθολογία ανάλογα την ασθένεια. Για παράδειγμα, στον καρκίνο και σε φλεγμονώδεις καταστάσεις, τα ηρς συσσωρεύονται στους επιθυμητούς ιστούς εξαιτίας του φαινομένου της Ενισχυμένης Διαπερατότητας και Κατακράτησης (Ujjwal et al., 2022). Το φαινόμενο αυτό είναι παθοφυσιολογικής φύσεως και αφορά την δυνατότητα προοδευτικής συσσώρευσης μακρομοριακών ενώσεων (Wu J., 2021) σε ιστούς που διαθέτουν αυξημένη αγγειακή διαπερατότητα. Έτσι, είναι δυνατή η συσσώρευση ηρς που φέρουν φαρμακευτικές ουσίες στην περιοχή που νοσεί (Maheshwari et al., 2019).

2.1.6 Μαγνητικές και Οπτικές Ιδιότητες

Κάποια ηρς εμφανίζουν μαγνητικές ιδιότητες όταν εφαρμόζεται εξωτερικό μαγνητικό πεδίο (Ali et al., 2021). Κατά αυτόν τον τρόπο οι ιδιότητες τους είναι ιδιαίτερα χρήσιμες στην μαγνητική τομογραφία και στην μεταφορά φαρμάκων (Mørup et al., 2017).

Άλλα ηρς εμφανίζουν μοναδικές οπτικές ιδιότητες, που εξαρτώνται από το υλικό κατασκευής, το μέγεθος, το σχήμα και το περιβάλλον χώρο του ηρς (Pratap & Soni, 2021). Εκπέμπουν χαρακτηριστικά χρώματα στο ορατό φάσμα, κάτι που επιτρέπει την απεικόνισή και διάκρισή τους (Altammar, 2023). Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι

όταν τα nps συσσωρεύονται εμφανίζουν διαφορετικές οπτικές ιδιότητες, σε σχέση με ένα απομονωμένο σωματίδιο (Pratap & Soni, 2021).

2.2 Κατηγοριοποίηση

2.2.1 Ανόργανα NPs

Η κατηγορία περιλαμβάνει nps που δεν είναι αποτελούνται από οργανικά υλικά και άτομα άνθρακα. Τέτοια nps είναι τα μεταλλικά, τα κεραμικά και οι ημιαγωγικά.

- ❖ Τα **μεταλλικά nps** χρησιμοποιούνται πολύ συχνά σε βιοϊατρικές εφαρμογές, καθώς εμφανίζουν σημαντικές ηλεκτρικές, οπτικές, θερμικές και αντιβακτηριακές ιδιότητες. Τα κυριότερα μέταλλα που χρησιμοποιούνται στην σύνθεση nps είναι ο χρυσός, ο άργυρος, το αλουμίνιο, ο σίδηρος, το κοβάλτιο, ο ψευδάργυρος και ο χαλκός (Mekuye & Abera, 2023; M. R. Shah et al., 2022).
- ❖ Τα **κεραμικά nps** βρίσκουν εφαρμογή στην βιοϊατρική λόγω υψηλής σταθερότητας της δομής τους και της μεγάλης χωρητικότητας που έχουν για φόρτωση και μεταφορά ουσιών. Αποτελούνται από ανόργανα στερεά υλικά όπως καρβίδια, ανθρακικά, οξειδία και φωσφορικά μετάλλων και μεταλλοειδών, όπως τιτάνιο και ασβέστιο (Joudeh & Linke, 2022).
- ❖ Τα **ημιαγωγικά nps** αποτελούνται από ημιαγωγικά υλικά, τα οποία εμφανίζουν ίδιες ιδιότητες με αυτές των μετάλλων και των μονωτών (Joudeh & Linke, 2022; Mekuye & Abera, 2023).

2.2.2 Οργανικά NPs

Στην κατηγορία αυτή περιλαμβάνονται nps που αποτελούνται από πολυμερή, πρωτεΐνες, υδατάνθρακες, λιπίδια και οποιοδήποτε άλλο οργανικό συστατικό. Μερικά από τα πιο κοινά nps είναι τα δένδριμερή, τα λιποσωμικά, τα πρωτεϊνικά συμπλέγματα, τα πολυμερικά nps και τα μικκύλια. Συνήθως είναι βιοδιασπώμενα και μη δεν τοξικά και για αυτούς τους λόγους προτιμώνται στην βιοϊατρική (Joudeh & Linke, 2022).

2.2.3 NPs που έχουν ως βάση τον Άνθρακα

Τα πρώτα ανθρακικά nps ανακαλύφθηκαν την δεκαετία του 1980. Τα κυριότερα είδη nps που περιλαμβάνουν είναι το γραφένιο, οι νανοσωλήνες άνθρακα, τα φουλερένια και τα ανθρακικά nps. Εμφανίζουν εξαιρετικές ηλεκτρικές, μηχανικές και θερμικές ιδιότητες, υψηλά ποσοστά βιοσυμβατότητας και χαμηλή τοξικότητα, με αποτέλεσμα να εφαρμόζονται τόσο στην διάγνωση όσο και στην θεραπεία διάφορων παθολογιών (Holmannova et al., 2022).

2.3 Εφαρμογές στην Βιοϊατρική

Ο τομέας της νανοϊατρικής, δηλαδή ο χώρος όπου τα ηνρs χρησιμοποιούνται στην πρόληψη, στην διάγνωση και στην θεραπεία έχει ανθίσει τα τελευταία χρόνια (Wolfram et al., 2015). Πλέον η νανοτεχνολογία και κατά επέκταση τα ηνρs συναντώνται σε πολλές εξετάσεις και θεραπείες ασθενειών διαφόρων παθολογιών. Οι παθολογίες αυτές περιλαμβάνουν νόσους όπως ο καρκίνος (De La Harpe et al., 2019), η φυματίωση (Contera et al., 2021), ο ιός HIV που προκαλεί το AIDS (Zahin et al., 2020), καρδιαγγειολογικά νοσήματα (Afzal et al., 2022), μεταβολικά (Dodero et al., 2021) και αυτοάνοσες νόσους (Sindhvani & Chan, 2021) και νευροεκφυλιστικές ασθένειες (Yedgar et al., 2022). Ακόμη, χρησιμοποιούνται στην ανάπλαση ιστών, στην απεικόνιση ιστών – κυττάρων (Hua et al., 2018), στην εξέλιξη διαγνωστικών εργαλείων και ανοσοτεχνικών (Khan et al., 2019), στα εμβόλια (Sindhvani & Chan, 2021), σε αντιμικροβιακές εφαρμογές, στις γονιδιακές θεραπείες (Malik et al., 2023) και ως επενδύσεις καθετήρων (Cho et al., 2008). Παρακάτω αναλύονται μερικές από τις εφαρμογές τους.

2.3.1 Καρκίνος

Ο καρκίνος αποτελεί μία ασθένεια που προκαλεί εκατομμύρια θανάτους παγκοσμίως κάθε χρόνο, όπως τονίζει ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας σε εκθέσεις του (Piña-Sánchez et al., 2021). Μέσω της νανοτεχνολογίας έχει βελτιωθεί η διάγνωση και η θεραπεία της ασθένεια αυτής (Dodero et al., 2021). Οι παραδοσιακές χημειοθεραπευτικές προσεγγίσεις των ασθενών υστερούν στην μη ειδική κατανομή στο σώμα. Δηλαδή δεν κατανέμονται μόνο στην περιοχή του όγκου, επηρεάζοντας ταυτόχρονα καρκινικά και υγιή κύτταρα, με αποτέλεσμα να μειώνεται η δόση του φαρμάκου που προορίζεται για την ασθενή περιοχή (Cho et al., 2008). Με την χρήση ηνρs και άλλων βιολογικών μορίων όπως είναι τα αντισώματα και οι κυτταροτοξικοί παράγοντες, είναι δυνατή η καλύτερη στόχευση των όγκων, βελτιώνοντας έτσι την επίδοση των χημειοθεραπευτικών φαρμάκων. Χάρη στην ιδιότητα των ηνρs να μεταφέρουν ουσίες, μπορούν να μεταφερθούν θεραπευτικές ουσίες στην περιοχή του όγκου και να ασκήσουν αντικαρκινικές ιδιότητες σε αυτήν, τροποποιώντας βιολογικές διαδικασίες, όπως την αυτοφαγία, τον μεταβολισμό ή το οξειδωτικό στρες (Bayda et al., 2020). Μέχρι σήμερα έχουν ήδη εγκριθεί δεκαπέντε αντικαρκινικά νανοφάρμακα, με τα περισσότερα να αφορούν λιποσωμικά ηνρs που περιέχουν χημειοθεραπευτικές ουσίες. Το πρώτο λιποσωμικό ηνρs που εγκρίθηκε ήταν το Doxil και περιείχε την ουσία της δοξουριβικίνης, το οποίο χρησιμοποιείται ως θεραπεία δεύτερης γραμμής κατά του καρκίνου των ωοθηκών και του σαρκώματος Καπόσι (Sindhvani & Chan, 2021). Επίσης, μπορούν να χρησιμοποιηθούν και στις φωτοθερμικές θεραπείες κατά του καρκίνου (Khan et al., 2019). Τα ηνρs εντοπίζουν την κακοήθεια, εισχωρούν στο εσωτερικό της και χάρη στην ιδιότητα τους να απορροφούν το φως και να το μετατρέπουν σε θερμότητα, προκαλούν υπερθερμία στα καρκινικά κύτταρα (Chandra et al., 2020).

2.3.2 Ιατρική- Διαγνωστική Απεικόνιση

Τα ηρς παίζουν σημαντικό ρόλο και στην απεικόνιση. Δίνουν την δυνατότητα ανίχνευσης αλλαγών του ιστού σε κυτταρικό επίπεδο, λειτουργώντας ως εργαλείο έγκαιρης ανίχνευσης (Sim & Wong, 2021). Τα σωματίδια αυτά χρησιμοποιούνται ως παράγοντες αντίθεσης στην ιατρική απεικόνιση, ώστε να διαφοροποιούνται οι παθολογικές βλάβες από τον φυσιολογικό ιστό. Αυτό το επιτυγχάνουν για παράδειγμα στην μαγνητική τομογραφία με την μεταφορά εξειδικευμένων ανιχνευτών στην περιοχή – ιστό που νοσεί, εφόσον βέβαια υπάρχει παθολογία (Fan et al., 2023). Χρησιμοποιούνται σε πολλές απεικονιστικές τεχνικές όπως ακτίνες Χ, στον υπέρηχο, στην αξονική, μαγνητική και στην ποζιτρονική τομογραφία και στην απεικόνιση φθορισμού. Οι εφαρμογές των ηρς βοηθούν στην απεικόνιση των κακοηθειών, μεταστάσεων και της αγγειογένεσης στους αναπτυσσόμενους όγκους, της αθηροσκλήρωσης και των αθηρωματικών πλακών, πνευμονικές φλεγμονές, εύρεση θρόμβων, απεικόνιση λεμφαδένων, ροής του αίματος, παρακολούθηση της μεταφοράς φαρμάκων, ανίχνευση γονιδίων και παρακολούθηση της δραστηριότητας των πρωτεασών. Ωστόσο, τα περισσότερα ηρς που προορίζονται για την απεικόνιση βρίσκονται ακόμα σε πειραματικό στάδιο, καθώς λίγα από αυτά έχουν ελεγχθεί σε ανθρώπους (Xiangjun Hana et al., 2019).

2.3.3 Αναγεννητική Ιατρική και Ανάπλαση Ιστών

Η αναγεννητική ιατρική στοχεύει στην αντικατάσταση κατεστραμμένων ιστών ή οργάνων λόγω ασθενειών, τραύματος ή συγγενών ανωμαλιών (Mao & Mooney, 2015). Η ανάπλαση των ιστών αποτελεί μία περίπλοκη κυτταρική διαδικασία που περιλαμβάνει την αλληλεπίδραση πολλών παραγόντων, όπως αυξητικούς παράγοντες, χημοκίνες, κυτοκίνες, γονίδια και άλλα μόρια. Η απελευθέρωση φαρμάκων, πρωτεϊνών και γονιδίων στους ιστούς αυτούς μπορεί να επιταχύνει τοπικά την ανάπλαση, προάγοντας τον πολλαπλασιασμό και την διαφοροποίηση των κυττάρων (Chandra et al., 2020). Τα ηρς έχουν την δυνατότητα να προβαίνουν σε ελεγχόμενη απελευθέρωση των μορίων, μεταφέροντας στους απαιτούμενους ιστούς με μεγαλύτερη ακρίβεια (Mansour et al., 2023).

2.3.4 Γονιδιακές Θεραπείες

Η νανοτεχνολογία και τα ηρς έχουν βρει εφαρμογή και στις γονιδιακές θεραπείες (Tian et al., 2021a). Οι γονιδιακές θεραπείες διορθώνουν, αντικαθιστούν ή και αλλάζουν την λειτουργία των γονιδίων, ώστε να αντιμετωπιστούν ασθένειες και γενετικές διαταραχές. Τα ηρς ως φορείς των νουκλεϊκών οξέων, καταφέρνουν να διαπερνούν τους φυσιολογικούς φραγμούς του οργανισμού, προστατεύοντάς τα από αποικοδόμηση και απελευθερώνοντας τα στα κύτταρα – στόχους (Mirón-Barroso et al., 2021). Επίσης, τα ηρς χρησιμεύουν και ως φορείς του συστήματος CRISPR/Cas9, το οποίο αποτελεί μέρος των γονιδιακών θεραπειών (Sindhvani & Chan, 2021).

2.3.5 Νευροεκφυλιστικές Διαταραχές

Οι νευροεκφυλιστικές διαταραχές επηρεάζουν εκατομμύρια ανθρώπους παγκοσμίως και μάλιστα ο αριθμός των ανθρώπων που πλήττονται από αυτές αναμένεται τα επόμενα χρόνια να πολλαπλασιασθεί (Asefy et al., 2021), με σημαντικότερες αιτίες την αύξηση του προσδόκιμου ζωής, την ύπαρξη γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων. Οι διαταραχές αυτές σχετίζονται με την βαθμιαία εκφύλιση των νευρώνων και των αξόνων του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος (ΚΝΣ), κάτι που οδηγεί σε δυσλειτουργικά κύτταρα και κατά επέκταση σε κυτταρικό θάνατο. Υπάρχουν περισσότερες από 600 διαφορετικές νευρολογικές διαταραχές (Mistretta et al., 2023), κυριότερες εξ αυτών θεωρούνται οι νόσοι Parkinson, Alzheimer, και η αμυοτροφική πλευρική σκλήρυνση. Μέχρι σήμερα δεν έχει βρεθεί αποτελεσματική διαθέσιμη θεραπεία, παρά μόνο φαρμακευτικές αγωγές που ανακουφίζουν από τα συμπτώματα (Jagaran & Singh, 2021). Το μεγαλύτερο πρόβλημα που αντιμετωπίζεται σε τέτοιου είδους θεραπείες είναι η αρκετά μικρή ποσότητα του φαρμάκου που φτάνει στις πληγείσες περιοχές του εγκεφάλου, εξαιτίας του BBB. Τα ηρs όμως χάρη στο μικρό τους μέγεθος, έχουν την ικανότητα να διαπερνούν τον BBB και να αποδεσμεύουν τις φαρμακευτικές ουσίες στις επιθυμητές περιοχές, βελτιώνοντας την απόδοσή τους (Mistretta et al., 2023). Επίσης, σε περιπτώσεις νόσων όπως στη νόσος του Huntington και το σύνδρομο του Rett, τα ηρs μεταφέρουν γονίδια και όχι φαρμακευτικά μόρια, καθώς δεν ανταποκρίνεται ο οργανισμός στα τελευταία. Τα ηρs παίζουν σημαντικό ρόλο στην μεταφορά των γονιδίων στον εγκέφαλο, γιατί εκτός από την ικανότητα να διαπερνούν τον BBB, προστατεύουν τα γονίδια από τις ενδονουκλεάσες που θα τα κατέστρεφαν (Joseph et al., 2023). Ηρs που προορίζονται για τις παραπάνω χρήσεις βρίσκονται ακόμη στο στάδιο των κλινικών δοκιμών, καθώς πρέπει να ελεγχθεί η πιθανή τοξικότητά τους ως προς το Κεντρικό Νευρικό Σύστημα (Duan et al., 2023).

2.3.6 Μικροβιακή Αντοχή στα Φάρμακα

Η μικροβιακή αντοχή επέρχεται όταν τα μικρόβια δεν ανταποκρίνονται πλέον σε θεραπείες. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα φάρμακα και αντιβιοτικά να μην είναι τόσο αποτελεσματικά κατά των μολύνσεων και πιθανόν αδύνατον να προσφέρουν αποτελεσματικές θεραπείες, αυξάνοντας κατ' αυτόν τον τρόπο την μετάδοση των ασθενειών και οδηγώντας μέχρι και στον θάνατο ιδίως ευπαθείς πληθυσμιακές ομάδες (Murray et al., 2022). Πρόκειται κατά συνέπεια για ένα σημαντικό πρόβλημα δημόσιας υγείας, με αντικατοπτρισμό στο μέλλον, καθώς υπολογίζεται ότι μέχρι το 2050 θα έχουν προκληθεί δέκα εκατομμύρια θάνατοι εξαιτίας αυτού (Gupta et al., 2019). Η ραγδαία αύξηση της αντοχής αυτής οφείλεται κατά κύριο λόγο στην αλόγιστη χρήση των αντιβιοτικών (Ventola, 2015). Μία από τις καλύτερες διαθέσιμες επιλογές που υπάρχουν για να καταπολεμηθεί η αντοχή, είναι η χρήση της νανοτεχνολογίας στην μεταφορά των αντιβιοτικών. Τα ηρs αυξάνουν την αποτελεσματικότητα των φαρμάκων, αυξάνοντας την συσσώρευση τους στους ασθενείς ιστούς και μειώνοντας την αποσύνθεσή τους πριν φτάσουν σε αυτούς. Επίσης, μπορούν και μεταφέρουν την ιδανική ποσότητα της φαρμακευτικής ουσίας στο σημείο – στόχο, διαπερνώντας μικροβιακούς φραγμούς όπως είναι η

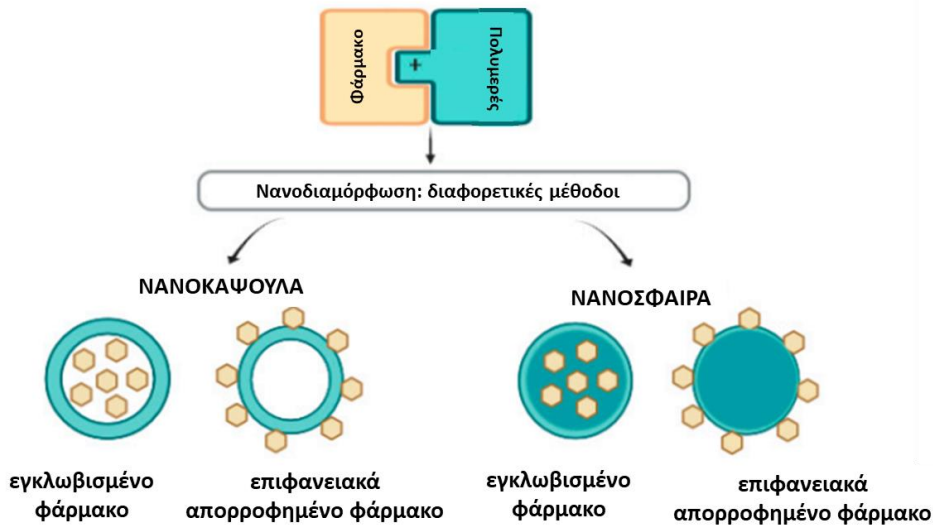
βιομεμβράνη που σχηματίζουν τα βακτήρια και το κυτταρικό τοίχωμα των μικροβίων. Οι αντιμικροβιακές ιδιότητες που εμφανίζουν οι φορείς έγκειται στην καταστροφή του κυτταρικού τοιχώματος και της κυτταρικής μεμβράνης, στην παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS), στην καταστροφή βιομεμβράνης και στην δέσμευση και καταστροφή του ενδοκυτταρικού περιεχομένου των μικροβίων (Hetta et al., 2023). Προς το παρόν δεν έχουν εγκριθεί ακόμα τα ηρs για κλινική χρήση, καθώς πρέπει να ερευνηθεί η αλληλεπίδραση τους με τα κύτταρα και του ιστούς του οργανισμού και η πιθανότητα πρόκλησης τοξικότητας (Lee et al., 2019).

3. ΠΟΛΥΜΕΡΙΚΑ NPs (PNPs)

Τα PNPs είναι στερεά κολλοειδή σωματίδια, τα οποία παρασκευάζονται από φυσικά και συνθετικά μακρομοριακά πολυμερικά νανοϋλικά (Jiang et al., 2017; Kamali et al., 2022; H. K. S. Yadav et al., 2019). Οι βασικοί τύποι PNPs είναι οι νανοσφαίρες και οι νανοκάψουλες, οι οποίες διαθέτουν διαφορετικές μορφολογικές δομές (Kamali et al., 2022). Οι νανοσφαίρες έχουν σφαιρικό σχήμα, όπως υποδηλώνει και το όνομα τους, με στερεή πολυμερική δομή. Οι νανοκάψουλες αποτελούνται από λεπτό πολυμερικό φάκελο πάχους περίπου 5nm, ο οποίος περιβάλλει τον ρευστό ελαιώδη του πυρήνα (Zielińska et al., 2020). Στα συνθετικά πολυμερή συγκαταλέγονται το πολυλακτίδιο και το πολύ λακτι-κο-γλυκολικό οξύ (PLGA), ενώ στα φυσικά η χιτοσίνη, η αλβουμίνη, η ζελατίνη και το αλγινικό (Kamali et al., 2022). Τα κύρια πλεονεκτήματα τους είναι ότι:

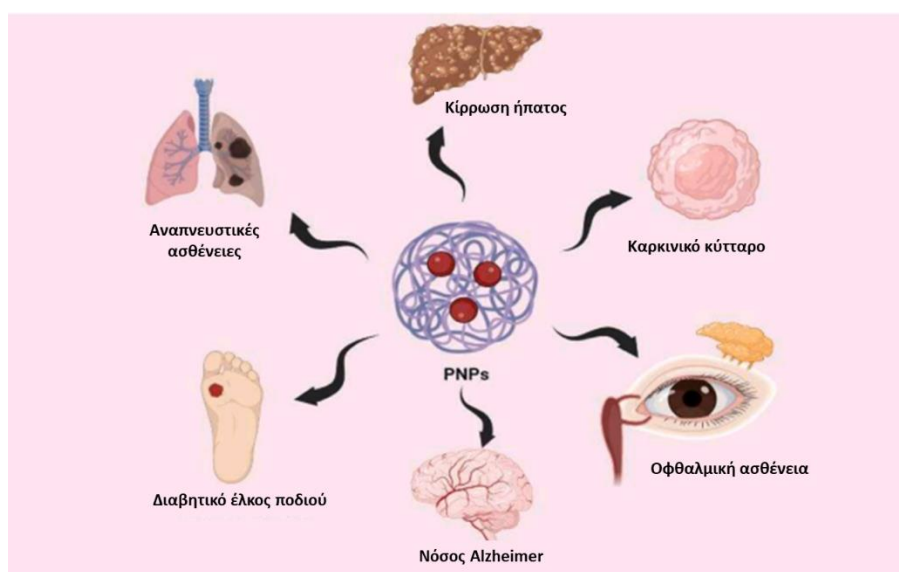
- επιτρέπουν την ελεγχόμενη και παρατεταμένη απελευθέρωση των ουσιών που μεταφέρουν (Sharma et al., 2021),
- προστατεύουν τις ουσίες που μεταφέρουν από εξωτερικούς παράγοντες όπως είναι η ενζυματική αποικοδόμηση και
- μπορούν να τροποποιηθούν επιφανειακά με προσδέτες στόχευσης, ώστε να μπορούν να στοχεύσουν συγκεκριμένα σημεία (Peltonen et al., 2020).

Τα PNPs εμφανίζουν επίσης μεγάλα ποσοστά βιοδιάσπασης μέσα στο ανθρώπινο σώμα, βιοσυμβατότητας – χαμηλή τοξικότητας, καθώς και σταθερότητας σε βιολογικά υγρά (Ahmed et al., 2022; Liu & Feng, 2015). Κατά αυτόν τον τρόπο αποτελούν μια έξυπνη επιλογή για την χρήση τους ως φορείς φαρμάκων (Ahmed et al., 2022). Τα φάρμακα μπορούν εγκλωβιστούν από τον φορέα και να διασπαρθούν εντός της πολυμερικής μήτρας των νανοσφαιρών και του ρευστού πυρήνα των νανοκάψουλων. Μπορούν επίσης να προσροφηθούν στην εξωτερική επιφάνεια των νανοκάψουλων και των νανοσφαιρών με φυσικό ή χημικό τρόπο (H. K. S. Yadav et al., 2019; Zielińska et al., 2020). Η ποσότητα της φαρμακευτικής ουσίας που προσλαμβάνουν τα PNPs επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες όπως τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του φαρμάκου και του np, το pH του μέσου στο οποίο είναι διαλυμένο το φάρμακο, καθώς και αν το φάρμακο θα προστεθεί πριν ή μετά την κατασκευή του np (Zielińska et al., 2020).



Εικόνα 10: Διαφορετικοί τρόποι συσχέτισης των φαρμάκων με τις νανοκάψουλες και τις νανοσφαίρες (Ανατύπωση από Zielińska et al., 2020)

Η χρήση πολυμερικού τύπου ηρς έχει αυξηθεί μετά την έγκριση των πρώτων συζευγμένων πολυμερικών (Ningthoujam, 2022). Η γλυκόλη πολυαιθυλενίου (PEG) συζευγμένη με απαμινάση αδενοσίνης (ADA) και το πολύ στυρένιο μηλεινικού οξέος συζευγμένο με νεοκαρζινοστατίνη αποτελούν τα πρώτα συζεύγματα πολυμερικών τα οποία έχουν εγκριθεί κλινικά και αναπτύχθηκαν από τα τέλη του προηγούμενου αιώνα (Maeda et al., 1985; Ningthoujam, 2022). Το πρώτο χρησιμοποιείται σε γονιδιακές θεραπείες ενώ το δεύτερο σε θεραπεία κατά του καρκίνου του ήπατος (Maeda et al., 1985; Secord & Hartog, 2022). Ακόμη, έχουν κατασκευαστεί και άλλα PNPs – φορείς φαρμάκων για καρκινικές, ηπατικές οφθαλμικές, διαβητικές, αναπνευστικές και νευροεκφυλιστικές ασθένειες (Bhardwaj & Jangde, 2023).



Εικόνα 11: Εφαρμογές PNPs στην Βιοϊατρική (Ανατύπωση από Bhardwaj & Jangde, 2023)

Παρόλο όμως των πολλών προκλινικών μελετών που διεξάγονται σχετικά με τις εφαρμογές nrs στην ιατρική, οι μελέτες που καταφέρνουν να περάσουν στις κλινικές μελέτες είναι αρκετά πιο λίγες. Οι περιορισμοί που προκύπτουν οφείλονται κυρίως στο περιορισμένο σχήμα, στην χημεία της επιφάνειας, στις ηλεκτρομαγνητικές ιδιότητες και στα μεγάλα μεγέθους συσσωματώματα των nrs (Ningthoujam, 2022).

4. ΑΛΓΙΝΙΚΟ ΟΞΥ

4.1. Προέλευση και Ιδιότητες

Το αλγινικό οξύ είναι φυσικός ανιονικός γραμμικός πολυσακχαρίτης χωρίς διακλαδώσεις και αποτελεί το πιο άφθονο φυσικό θαλάσσιο βιοπολυμερές του κόσμου (Guo et al., 2020; Hasnain et al., 2020). Ανακαλύφθηκε στα τέλη του 19^{ου} αιώνα και η εμπορική του μορφή αποτελεί εκχύλισμα που προέρχεται από τα κυτταρικά τοιχώματα και τους ενδοκυττάριους χώρους των φαιών φυκιών (*Ascophyllum nodosum*, *Macrocystis pyrifera*, *Laminaria japonica*, *Laminaria digitata*, και *Laminaria hyperborea*) (Bibi et al., 2019; Lakkakula et al., 2022). Το αλγινικό οξύ δεν προκύπτει ως άμεσο εκχύλισμα από τα φύκη, αλλά απαιτείται χημική κατεργασία. Αρχικά τα φύκη πλένονται, μουσκεύονται και προστίθεται σε αυτά ανθρακικό νάτριο. Η ουσία που προκύπτει φιλτράρεται με χλωριούχο νάτριο ή ασβέστιο, παράγοντας το αλγινικό άλας. Μετά από κατεργασία του με υδροχλώριο, το άλας μετατρέπεται σε αλγινικό οξύ (Rinaudo, 2008). Το αλγινικό μπορεί να προκύψει βέβαια και από βακτηριακή βιοσύνθεση, όπως από τα βακτήρια της Ψευδομονάδας και του Αζωτοβακτηρίου (Bibi et al., 2019).

Το αλγινικό διαθέτει πολλές και μοναδικές ιδιότητες: είναι βιοσυμβατό και βιοδιασπώμενο υλικό, ελάχιστα έως καθόλου τοξικό, βλενοκολλητικό, υδατοδιαλυτό, ευρέως διαθέσιμο και φθινό. Επίσης, διαθέτει ιδιότητες ζελατινοποίησης και πύκνωσης (Dodero et al., 2021), με αποτέλεσμα να χρησιμοποιείται ευρέως ως συντηρητικό στα τρόφιμα στην βιομηχανία τροφίμων (Hasnain et al., 2020). Βρίσκει εφαρμογές και σε άλλα πεδία ως καταλύτης στην οργανική χημεία, στον καθαρισμό του νερού από βαρέα μέταλλα και στην συσκευασία τροφίμων (οικολογικές και βιοδιασπώμενες συσκευασίες). Στον τομέα της υγείας έχουν αναφερθεί οι αντιφλεγμονώδεις, αντιοξειδωτικές, αντιαναφυλαξιακές και ανοσοτροποποιητικές δράσεις του, όπως έχουν δείξει έρευνες (Guo et al., 2020). Ακόμη, διαθέτει πολλές δραστικές ομάδες στην δομή του, με αποτέλεσμα να μπορεί να τροποποιηθεί εύκολα χημικά (Hasnain et al., 2020). Η πληθώρα των φυσικοχημικών και βιολογικών ιδιοτήτων του αλγινικού, το καθιστά κατάλληλο για την δημιουργία νανοσυστημάτων, όπως nps, νανοτζέλ και νανομικκυλίων (Lakkakula et al., 2022). Τα νανοσυστήματα αυτά είναι ιδανικά για την χρήση τους ως φορείς φαρμάκων, ορμονών πεπτιδίων και γονιδίων, με αποτέλεσμα να βρίσκουν εφαρμογή και στον τομέα της φαρμακευτικής – βιοϊατρικής (Dodero et al., 2021; Lakkakula et al., 2022).

4.2 Ιδιότητες Αλγινικών NPs

Εκτός από τις παραπάνω ιδιότητες του αλγινικού που αναφέρθηκαν, τα nps αλγινικού εμφανίζουν και περαιτέρω ιδιότητες. Επιτρέπουν την μεταφορά και απελευθέρωση ουσιών κλίμακας νανομέτρων απευθείας στο σημείο ενδιαφέροντος, με ελεγχόμενο τρόπο και ρυθμό, χωρίς να τροποποιείται η δομή των ουσιών (Dodero et al., 2021; Lakkakula et al., 2022). Λόγω της έγκλησης της ουσίας στο nρ, αυτή προστατεύεται

από το περιβάλλον και τα στοιχεία του που μπορούν να την αποικοδομήσουν και να εμποδίσουν την απορρόφηση της από τον επιθυμητό ιστό. Αυτό βελτιώνει την βιοδιαθεσιμότητα της ουσίας, την διαλυτότητα των υδροφοβικών ουσιών και παρατείνει την διάρκεια ημιζωής στην περίπτωση των φαρμάκων, μειώνοντας την ανάγκη για μεγαλύτερη φαρμακευτική δόση και κατά επέκταση τις παρενέργειες και την τοξικότητα που μπορεί αυτή να επιφέρει (Dodero et al., 2021; Rajaraksha et al., 2024). Μια ακόμα σημαντική ιδιότητα, είναι η δυνατότητα συνδυασμού του πολυσακχαρίτη αυτού με άλλα φυσικά και συνθετικά πολυμερή, οργανικά και ανόργανα πρόσθετα και βιοδραστικές ουσίες (Dodero et al., 2021).



Εικόνα 12: Πλεονεκτήματα nps Αλγινικού (Ανατύπωση από Lakkakula et al., 2022)

4.3 Αλγινικά NPs ως Φορείς

Οι εφαρμογές των αλγινικών nps ως φορείς είναι πολλές. Έχουν χρησιμοποιηθεί ως φορείς φαρμάκων κατά της φυματίωσης. Στην περίπτωση αυτή, ερευνήθηκε και διαπιστώθηκε ότι όταν χορηγήθηκε το φάρμακο σε ελεύθερη μορφή (δηλαδή χωρίς φορέα) αποβλήθηκε από τον οργανισμό εντός 12 - 24 ωρών. Αντίθετα, όταν χορηγήθηκε το φάρμακο ενσωματωμένο σε φορέα, παρέμεινε στον οργανισμό 7 - 11 μέρες, χάρη στα αλγινικά nps. Χρησιμοποιούνται και ως φορείς χημικοθεραπευτικών φαρμάκων κατά του καρκίνου. Η εμφάνιση αντίστασης του οργανισμού σε τέτοιες θεραπείες είναι ένα συχνό φαινόμενο, όπως και οι παρενέργειες που προκαλούνται

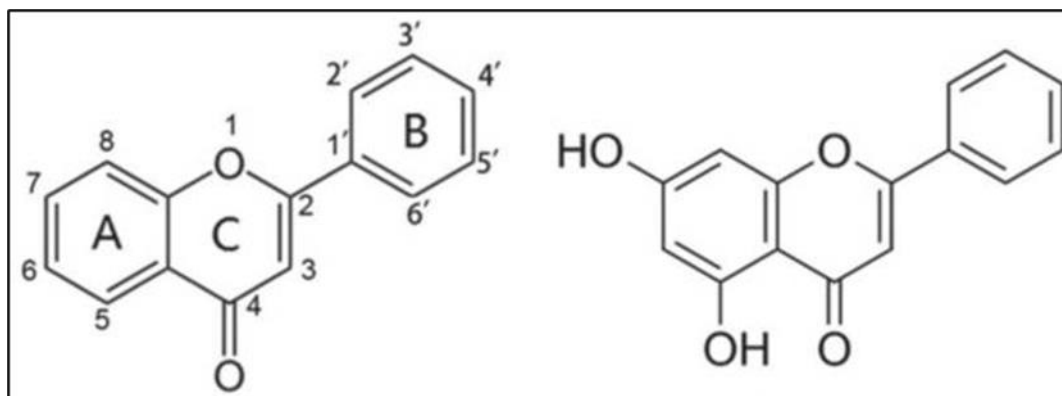
στους φυσιολογικούς ιστούς. Οι φορείς αυτοί μπορούν να μειώσουν τις παρενέργειες των φαρμάκων, να τα απελευθερώσουν στο επιθυμητό σημείο με ακρίβεια και να βελτιώσουν την επίδρασή τους. Η ακρίβεια στην μεταφορά και απελευθέρωση ισχύει και στην περίπτωση μεταφοράς γονιδίων, με το πλεονέκτημα ότι δεν προκαλείται ανοσολογική απόκριση. Τέλος, τα αλγινικά ηρs χρησιμοποιούνται και σε θεραπείες διαβητικών. Η συγκεκριμένη αγωγή επιτρέπει την χορήγηση ινσουλίνης εγκλεισμένης σε ηρs δια του στόματος, αποφεύγοντας τις καθημερινές ενέσεις για ιατρικούς ή προσωπικούς λόγους (Lakkakula et al., 2022).

5. ΧΡΥΣΙΝΗ

5.1 Προέλευση και δομή

Τα φλαβονοειδή αποτελούν την μεγαλύτερη ομάδα δευτερογενών μεταβολιτών των φυτών (Moghadam et al., 2020). Είναι ειδικοί μεταβολίτες που περιέχουν μεγάλες ομάδες χημικών ενώσεων χαμηλού μοριακού βάρους, τις πολυφαινολικές ενώσεις (Mani & Natesan, 2018). Συναντώνται σε φυτά, φρούτα και λαχανικά, καθώς και σε φαρμακευτικά φυτά εμφανίζοντας έτσι φαρμακευτικές ιδιότητες (Naz et al., 2019). Η διατροφική πρόσληψη των φλαβονοειδών από τον άνθρωπο εκτιμάται ότι είναι 50 – 800mg την ημέρα (Moghadam et al., 2020).

Η χρυσίνη (5,7 – διυδροξυφλαβόνη) ανήκει στις φλαβόνες, οι οποίες είναι υποκατηγορία των φλαβονοειδών. Η χρυσίνη διαθέτει έναν σκελετό από 15 άνθρακες. Αποτελείται από δύο δακτυλίους βενζολίου (A,B) και ένα ετεροκυκλικό δακτύλιο που περιέχει μία ομάδα οξυγόνου. Ο ετεροκυκλικός δακτύλιος C δεν διαθέτει υδροξύλιο στην θέση C3, αλλά διπλό δεσμό μεταξύ C2-C3 και καρβονυλική ομάδα στο C4, κάτι που συνδέεται στενά με τις αντιοξειδωτικές ιδιότητες της χρυσίνης (Naz et al., 2019). Η δομή αυτή είναι η τυπική δομή των φλαβονών, με την διαφορά ότι στην χρυσίνη εντοπίζονται ομάδες υδροξυλίου στον πέμπτο και έβδομο άνθρακα του δακτυλίου A. Αξίζει να σημειωθεί ότι η χρυσίνη παράγεται από το αμινοξύ φαινυλαλανίνη, μέσω ενζυμικών διεργασιών (Mani & Natesan, 2018).



Εικόνα 13: Αριστερά η τυπική δομή των φλαβονών, δεξιά η δομή της Χρυσίνης (Rodríguez-Landa et al., 2022)

Εντοπίζεται στο εκχύλισμα του μπλε λουλουδιού του πάθους (*Passiflora caerulea*), στα φρούτα του πάθους (passion fruit), στο μέλι, στην πρόπολη, στα μανιτάρια, στο φαρμακευτικό φυτό *Radix scutellariae* (Naz et al., 2019) και στο χαμομήλι (Ragab et al., 2022). Η πρόπολη χρησιμοποιείται ήδη από το 300 π.Χ. σε θεραπείες και προϊόντα, καθώς διαθέτει πληθώρα ιδιοτήτων όπως αντιφλεγμονώδεις, αντισηπτικές, αναισθητικές και αντιοξειδωτικές. Η περιεκτικότητα της πρόπολης σε χρυσίνη αντιστοιχεί σε 28g/l. Το μέλι αναλόγως του υλικού προέλευσής του, έχει διαφορετική περιεκτικότητα σε χρυσίνη. Για παράδειγμα το μέλι του δάσους έχει

περιεκτικότητα 5,30 mg/kg, ενώ το μέλι μελιτώματος 0,10 mg/kg. Και αυτό με την σειρά του περιέχει ποικίλα συστατικά όπως φλαβονοειδή, βιταμίνες, αντιοξειδωτικές ουσίες, πρωτεΐνες και μέταλλα. Το μπλε λουλούδι του πάθους προέρχεται από την Βραζιλία και χρησιμοποιείται ως αντισπασμωδικό και καταπραϊντικό μέσο, ως θεραπεία για τις αυπνίες και ως αντιμικροβιακό μέσο κατά της πνευμονίας. Η περιεκτικότητά του σε χρυσίνη ανέρχεται σε 0,012 – 0,120 mg/ml (Mani & Natesan, 2018).

5.2 Φαρμακολογικές και Θεραπευτικές δράσεις

Η χρυσίνη διαθέτει πλήθος θεραπευτικών και φαρμακευτικών ιδιοτήτων, από αντιφλεγμονώδεις και αντικαρκινικές δράσεις, έως αντικαταθλιπτικές και αγχολυτικές (Mani & Natesan, 2018). Οι δράσεις τις αυτές, καθώς και οι αντιοξειδωτικές δράσεις που εμφανίζει οφείλονται κατά κύριο λόγο στην δομή της ουσίας (Naz et al., 2019). Παρακάτω αναφέρονται περιληπτικά οι κυριότερες δράσεις της, οι οποίες ωστόσο έχουν προκύψει από μελέτες σε πειραματόζωα.

5.2.1 Αντικαρκινικές

Από την αρχαιότητα οι άνθρωποι χρησιμοποιούσαν φυτά, και κατά επέκταση τις χημικές ουσίες που περιέχουν, ως προληπτικά και θεραπευτικά μέσα κατά του καρκίνου. Η πρακτική αυτή επιβεβαιώνεται σήμερα από την ανάδειξη της υψηλής κατανάλωσης φρούτων και λαχανικών ως παράγοντα χαμηλού κινδύνου για την ανάπτυξη πολλών τύπων καρκίνου, ύστερα από επιδημιολογικές μελέτες. Τα φλαβονοειδή που περιέχονται στα λαχανικά και τα φρούτα θεωρούνται υπεύθυνα για την παραπάνω συσχέτιση. Συγκεκριμένα, η χρυσίνη εμποδίζει την ανάπτυξη των όγκων μειώνοντας την κυτταρική διαίρεση των καρκινικών κυττάρων και επάγοντας την απόπτωση τους (Mani & Natesan, 2018). Εκτός της απόπτωσης μπορεί να ενεργοποιήσει και την αυτοφαγία στα καρκινικά κύτταρα καταστέλλοντας την εξέλιξη του καρκίνου, αλλά και την μετάστασή του σε άλλα ζωτικά όργανα. Συμπερασματικά, η χρυσίνη επηρεάζει τις μοριακές οδούς και τους μοριακούς μηχανισμούς που εμπλέκονται στον καρκίνο, παρεμποδίζοντάς τους (Moghadam et al., 2020).

5.2.2 Αντιφλεγμονώδεις

Η φλεγμονή από τις κυτοκίνες συνδέεται άμεσα με πολλές χρόνιες νόσους. Η χρυσίνη μπορεί να περιορίσει τις φλεγμονές αυτές, ώστε να μειωθεί η καταστροφική δράση των μακροφάγων, των ουδετερόφιλων και των υπόλοιπων φλεγμονωδών αποκρίσεων του ανοσοποιητικού. Αυτό το καταφέρνει καταστέλλοντας την απελευθέρωση κυτοκινών και την δράση του ενζύμου της κυκλοοξυγενάσης (Naz et al., 2019).

5.2.3 Καρδιοαγγειακές και Αντιυπερλιπιδεμικές

Η χρυσίνη είναι αποτελεσματική κατά των καρδιαγγειακών παθήσεων, όπως έχει αποδειχτεί μετά από έρευνες σε πειραματόζωα. Στις παθήσεις αυτές περιλαμβάνεται το οξειδωτικό στρες, τις θρομβώσεις, τις φλεγμονές, την αθηροσκλήρωση και την

υπέρταση. Η χρυσίνη ρυθμίζει τα κυτταρικά μονοπάτια σηματοδότησης που προάγουν τους μηχανισμούς της οξειδωσης, της συσσώρευσης PLTs, της φλεγμονής και της δυσλειτουργίας αγγειακών ενδοθηλιακών κυττάρων, προστατεύοντας έτσι το καρδιαγγειακό σύστημα (Farkhondeh et al., 2019).

Ακόμη, μειώνει την συγκέντρωση των λιπιδίων του ορού στα ποντίκια χάρη στις αντιοξειδωτικές ιδιότητές της. Συγκεκριμένα εμποδίζει την αύξηση των τριγλυκεριδίων, της ολικής χοληστερόλης και της μη-HDL χοληστερόλης του ορού. Λόγω της δράσης της θα μπορούσε να δοθεί ως συμπληρωματική θεραπεία σε ασθενείς με δυσλιπιδαιμία, καθώς η ασθένεια αυτή αποτελεί μεγάλο παράγοντα κινδύνου για την εμφάνιση στεφανιαίας νόσου στις γυναίκες (Zarzecki et al., 2014).

5.2.4 Αντιδιαβητικές

Ο σακχαρώδης διαβήτης αναφέρεται σε μία ομάδα μεταβολικών διαταραχών που χαρακτηρίζονται από υπεργλυκαιμία, λόγω ελαττωματικής έκκρισης ή/και δράσης της ινσουλίνης. Η υπεργλυκαιμία ευθύνεται κατά κύριο λόγο για τις καρδιαγγειακές βλάβες που προκαλούνται στον διαβήτη (Mani & Natesan, 2018). Η χρυσίνη μπορεί να καταστείλει τα μεταβολικά μονοπάτια της καρδιακής μυοπάθειας, όπως επίσης και αυτά της δυσλιπιδαιμίας και της αμφιβληστροειδοπάθειας (Naz et al., 2019). Ακόμη προκύπτει από έρευνες ότι η χρυσίνη αποτρέπει την εξέλιξη της διαβητικής νεφροπάθειας στα αρουραίους με διαβήτη τύπου II καταστέλλοντας το μεταβολικό μονοπάτι του Παράγοντα Νέκρωσης Όγκων α (TNF- α) (Mani & Natesan, 2018).

5.2.5 Αντιαλλεργικές

Η χρυσίνη έχει την ικανότητα να περιορίζει την απελευθέρωση της ισταμίνης και να αναστέλλει τις φλεγμονώδεις κυτοκίνες μέσω της ρύθμισης του ενδοκυτταρικού ασβεστίου και της καταστολής της κασπάσης-1 και της NF- κ B αντίστοιχα. Έτσι θα μπορούσε να συμβάλλει στην πρόληψη και θεραπεία αλλεργικών διαταραχών και αντιδράσεων για τις οποίες ευθύνονται τα μαστοκύτταρα, όπως είναι η συστηματική και η τοπική αναφυλαξία και το άσθμα (Bae et al., 2011).

5.2.6 Ηπατοπροστατευτικές

Σε μελέτες που έγιναν σε αρουραίους διαπιστώθηκε ότι η χρυσίνη μειώνει την ασπαρτική αμινοτρανσφεράση (SGOT/AST), την αμινοτρανσφεράση αλανίνης (SGPT/ALT) και τον TNF- α , κάτι που εμποδίζει την επέκταση της στεάτωσης, την νέκρωση του ήπατος, την αλλοίωση της δομής των ηπατοκυττάρων και μειώνει την φλεγμονή στο ήπαρ (Naz et al., 2019).

5.2.7 Αναπαραγωγικές

Η χρυσίνη βελτιώνει τις παραμέτρους και συνεπώς την ποιότητα του σπέρματος των αρσενικών ενήλικων αρουραίων που εμφανίζουν κισσοκήλες (Missassi et al., 2017), καθώς και προστατεύει από την καλοήγη υπερπλασία προστάτη που υπάγεται από την τεστοστερόνη (Naz et al., 2019). Αυξάνει την τεστοστερόνη, βελτιώνει τις παραμέτρους του σπέρματος και αποτρέπει τις οξειδωτικές βλάβες που προκαλούνται από τοξικά χημικά (Missassi et al., 2017). Ακόμη, αυξάνει τον αριθμό

των ωοθυλακίων στους θηλυκούς αρουραίους (Naz et al., 2019) και χρησιμεύει στην θεραπεία της Πρόωρης Ωοθηκικής Ανεπάρκειας (X. Li et al., 2022).

5.2.8 Νευρικές

Η χρυσίνη προστατεύει τον εγκέφαλο από το οξειδωτικό στρες αυξάνοντας τα επίπεδα αντιοξειδωτικών ενζύμων και από την εμφάνιση νευροδιεγερτικών ιστοπαθολογιών (Naz et al., 2019). Μειώνει επίσης τον θάνατο των νευρωνικών κυττάρων, εμποδίζοντας την κυτταρική απόπτωση. Ακόμη, βελτιώνει την μνήμη, δρώντας ως αντιγηραντικός παράγοντας για τον εγκέφαλο σε πειράματα που έγιναν σε ποντίκια (Mani & Natesan, 2018).

5.2.9 Αγχολυτικές και Αντικαταθλιπτικές

Η δράση της χρυσίνης εντοπίζεται σε μερικά συστήματα των νευροδιαβιβαστών, όπου ενεργοποιεί νευροτροφικούς παράγοντες και ρυθμίζει το οξειδωτικό στρες, τις φλεγμονώδεις και αποπτωτικές οδούς σηματοδότησης. Έτσι υποστηρίζει την καταπολέμηση της κατάθλιψης και του άγχους σε ποντίκια και αρουραίους. Ωστόσο, θα μπορούσε να αξιολογηθεί και σε ανθρώπους και να αποτελέσει συμπληρωματική θεραπεία για τους ασθενείς (Rodríguez-Landa et al., 2022).

5.2.10 Ιδιότητες κατά της Παχυσαρκίας

Η χρυσίνη μπορεί να βελτιώσει τα επίπεδα πρωτεϊνών και ενζύμων που εμπλέκονται στον κυτταρικό μεταβολισμό και στην κυτταρική ενέργεια, να αυξήσει την οξειδωση του λίπους, την θερμογένεση, την λιπόλυση και να μειώσει την λιπογένεση (Naz et al., 2019).

5.3 Περιορισμοί Χρυσίνης και NPs

Η χρυσίνη παρά τις ιδιότητες που διαθέτει, εμφανίζει και περιορισμούς ως προς την χρήση της. Μετά από κατανάλωσή της δια του στόματος εμφανίζει χαμηλή βιοδιαθεσιμότητα, λόγω χαμηλής απορρόφησής της από το έντερο, του γρήγορου μεταβολισμού της, της αποικοδόμησης και απέκκρισής της (Farkhondeh et al., 2019). Έχει επίσης χαμηλή υδατοδιαλυτότητα και βιολογική σταθερότητα (Ragab et al., 2022). Η χρυσίνη καταλύεται κυρίως από μονοπάτια σύζευξης, όπως από αυτό της γλυκουρονιδίωσης και της θείωσης, με την τελευταία να εμφανίζει μεγαλύτερη ανασταλτική δράση κατά της χρυσίνης. Μικρές ποσότητες των μεταβολιτών αυτών ανευρίσκονται στο πλάσμα, στα ούρα, στα κόπρανα και στην χολή, μετά από μία μόνο δόση χρυσίνης 5mg/kg σε πειραματόζωα και παρομοίως και σε ανθρώπους. Συνεπώς, αποδεικνύεται ότι η χρυσίνη μεταβολίζεται και αποβάλλεται συστηματικά από τον οργανισμό (Mani & Natesan, 2018).

Ένας τρόπος για να αυξηθεί η βιοδιαθεσιμότητα της χρυσίνης είναι η έγκλησή της σε κατάλληλους φορείς φαρμάκων (Eatemadi et al., 2016). Τα nps ως φορείς μπορούν να τροποποιήσουν χαρακτηριστικά των φαρμακευτικών ουσιών που εγκλείουν, όπως να τα κάνουν περισσότερο υδατοδιαλυτά. Πολλά είδη nps έχουν χρησιμοποιηθεί ως

φορείς, με τους πολυμερικούς φορείς να κεντρίζουν την προσοχή λόγω των φυσικών και βιολογικών ιδιοτήτων που διαθέτουν (Ragab et al., 2022). Σε έρευνα που προηγήθηκε, αποδείχτηκε ότι η ενσωμάτωση της χρυσίνης σε συνθετικά πολυμερικά ηνrs (πολυ-αιθυλενογλυκόλη (PEG) και PLGA) αυξάνει την κυτταροτοξικότητά της ως προς τα καρκινικά κύτταρα και όχι τα φυσιολογικά κύτταρα, σε σχέση με την δράση της ελεύθερης χρυσίνης (Eatemadi et al., 2016).

3^ο ΜΕΡΟΣ: ΑΙΜΟΣΥΜΒΑΤΟΤΗΤΑ NPs

1. ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ NPs

Τα nps εμφανίζουν πληθώρα οφελών στην μεταφορά φαρμάκων χάρη στις μοναδικές τους ιδιότητες, κάτι που υποδηλώνει η ευρεία χρήση τους στον τομέα της βιοϊατρικής. Ωστόσο, κρίνεται αναγκαία η εστίαση της έρευνας στην πιθανή τοξικότητα των nps, ώστε να εξασφαλιστεί η ασφάλειά τους για τον άνθρωπο (Contera et al., 2021).

Οι αλληλεπιδράσεις των nps με τους ζωντανούς οργανισμούς, αλλά και το φυσικό περιβάλλον είναι περίπλοκες, και αυτό είναι ένα συμπέρασμα που προέκυψε μετά από 20 χρόνια ερευνών σχετικά με την τοξικότητα τους (Contera et al., 2021). Έχει δειχθεί ότι μπορεί να παίζουν ρόλο στην εμφάνιση κάποιων ασθενειών και κυτταρικών λειτουργιών, όπως είναι η κυτταρική απόπτωση, η φλεγμονή, το άσθμα, οι χρόνιες αναπνευστικές ασθένειες, η πνευμονική εμβολή και η πνευμονική ίνωση, και η καρκινογένεση (Contera et al., 2021; Darbasizadeh et al., 2022).

Οι εκτενείς μελέτες που γίνονται πάνω στο πεδίο αυτό, οδήγησαν στην δημιουργία ενός νέου ερευνητικού πεδίου, αυτού της Νανοτοξικολογίας. Το πεδίο αυτό μελετά αναλυτικά ποιες ιδιότητες των νανοϋλικών προκαλούν τοξικότητα και θα έπρεπε να αποφευχθούν, με σκοπό να αναπτυχθούν ασφαλή νανοϋλικά για ιατρικούς σκοπούς (Contera et al., 2021). Οι ιδιότητες των nps που προκαλούν κυτταροτοξικές επιδράσεις δεν μπορούν να προβλεφθούν από την ανάλυση του νανοϋλικού, συνεπώς είναι απαραίτητη η εκτίμηση της τοξικότητας του μέσα από μελέτες. Επίσης, δεν πρέπει να γίνονται γενικευμένες θεωρήσεις για την ασφάλεια των nps, καθώς κάθε np είναι διαφορετικό ως προς την δομή του, αλλά και το υλικό κατασκευής.

Ένας από τους μηχανισμούς επαγωγής ειδικής για τα όργανα τοξικότητας, είναι η ικανότητα των nps να συσσωρεύονται στα όργανα. Η ειδική για τα όργανα τοξικότητα εξαρτάται από την οδό εισόδου των nps στον οργανισμό, αλλά και από την κατανομή τους σε αυτόν. Οδοί εισόδου για τα nps είναι η εισπνοή, η κατάποση και η δερματική επαφή. Η έκθεση του οργανισμού στα nps δεν είναι απαραίτητα εκούσια, αλλά μπορεί να είναι και ακούσια, μέσω της εισπνοής και της δερματικής επαφής σε βιομηχανικά και κατασκευαστικά περιβάλλοντα εργασίας. Όταν τα nps μπουν στην κυκλοφορία του αίματος, κατανέμονται στον οργανισμό και μπορούν να συσσωρευτούν σε διάφορα όργανα, όπως στους πνεύμονες, στα νεφρά, στον σπλήνα και στο ήπαρ. Μπορούν ακόμη να συσσωρευτούν και στον εγκέφαλο εφόσον έχουν το κατάλληλο μέγεθος για να διαπεράσουν τον BBB.

Εκτός από την συσσώρευση των nps στα όργανα, η τοξικότητα των nps εξαρτάται και από τα χαρακτηριστικά που έχει το καθένα. Η χημεία της επιφάνειάς τους επηρεάζει την κατανομή τους στον οργανισμό, αλλά και την κάθαρση του οργανισμού από αυτά.

Η φόρτιση της επιφάνειας του ηρ επηρεάζει την φαρμακοκινητική του φαρμάκου που περιέχεται σε αυτό. Έτσι, μπορεί να εμφανίζονται τοξικές ιδιότητες του φαρμάκου που στην ελεύθερη μορφή του δεν διαθέτει. Το μέγεθος των ηρs επηρεάζει την κατανομή τους, τις κυτταρικές αλληλεπιδράσεις που έχουν με κύτταρα, πρωτεΐνες και μακρομόρια, καθώς και τον χρόνο ημιζωής τους στην συστηματική κυκλοφορία.

Η σημασία των ερευνών περί της τοξικότητας των ηρs είναι πολύ μεγάλη, καθώς μπορεί να οδηγήσει μέχρι και σε αναθεώρηση ήδη εγκεκριμένων ηρs. Για παράδειγμα, το Doxil ήταν το πρώτο λιποσωμικό ηρ που εγκρίθηκε από την Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων των ΗΠΑ (FDA) για χημειοθεραπευτική χρήση. Πλέον όμως υπάρχουν έρευνες που το συσχετίζουν με την ανάπτυξη του συνδρόμου χεριού και ποδιού, το οποίο αποτελεί δερματική διαταραχή. Ακόμη, ασθενείς ανέπτυξαν δερματικό ακανθοκυτταρικό καρκίνωμα, μετά από επαναλαμβανόμενη θεραπεία με το Doxil. Ωστόσο, οι έρευνες δεν έχουν ξεκαθαρίσει αν τα παραπάνω αποτελούν αποτελέσματα του λιποσωμικού φορέα, του φαρμάκου ή και των δύο (Wolfram et al., 2015).

2. ΑΙΜΟΣΥΜΒΑΤΟΤΗΤΑ

Με την είσοδο των ηρs στον οργανισμό και πριν αυτά φτάσουν στα όργανα στόχους, συναντούν το αίμα, καθιστώντας το τον πρώτο ιστό με τον οποίο έρχονται σε επαφή και αναδεικνύοντας τον ως την πιο σημαντική οδό μεταφοράς (Tian et al., 2021a). Αυτό εξηγείται καθώς χάρη στο αίμα τα ηρs μεταφέρονται και κατανέμονται σε άλλες οδούς, ώστε να φτάσουν στο σημείο – στόχο τους (De La Harpe et al., 2019). Συνεπώς, η αλληλεπίδραση των ηρs με το αίμα και τα συστατικά του κρίνεται αναπόφευκτη, προσδίδοντας μεγάλη σημασία στην ύπαρξη αιμοσυμβατότητας (Fortis et al., 2024; Tian et al., 2021b).

Η αιμοσυμβατότητα αναφέρεται στις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των συστατικών του αίματος και ξένων υλικών και στις ανεπιθύμητες επιδράσεις που μπορεί να έχουν τα υλικά αυτά στο αίμα. Στην περίπτωση που τα ηρs δεν είναι αιμοσυμβατά, μπορούν να εισέλθουν στα κύτταρα του αίματος και να επιδράσουν αρνητικά στην δομή και την λειτουργία τους, οδηγώντας σε τοξικά αποτελέσματα (De La Harpe et al., 2019).

Τα ηρs που χρησιμοποιούνται ως φορείς φαρμάκων, σχεδιάζονται με τέτοιο τρόπο ώστε να παρατείνουν την κυκλοφορία των φαρμάκων στο αίμα. Όμως, η παρατεταμένη επαφή των ηρs με το αίμα μπορεί να οδηγήσει σε αρνητικές επιδράσεις, πολλές φορές ακόμη και απειλητικές για την ζωή, όπως δημιουργία θρόμβων, απορρύθμιση των μηχανισμών της πήξης και αιμόλυση (Chen et al., 2018).

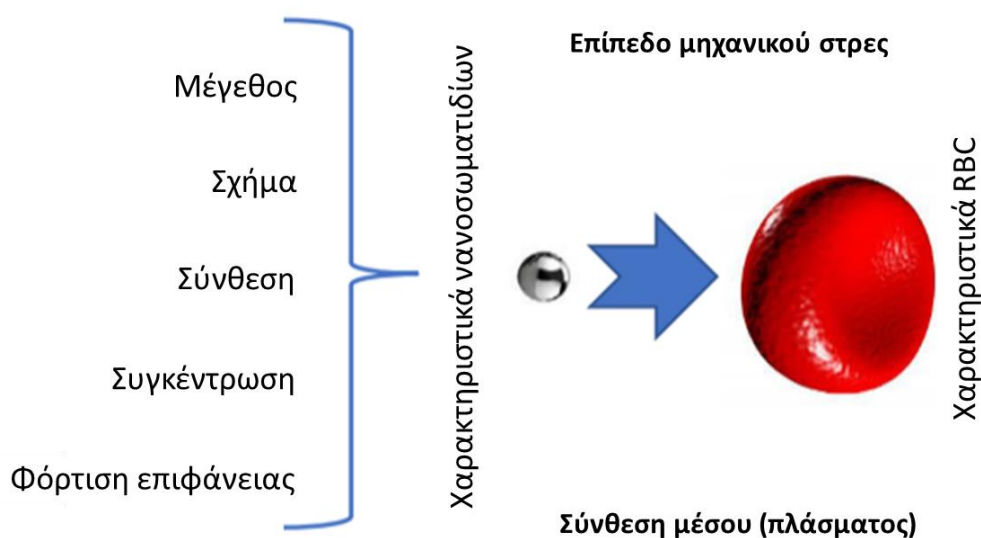
2.1 Επίδραση Nrs στα Ερυθρά Αιμοσφαίρια

Τα RBCs εκτός από τα πολυπληθέστερα κύτταρα του αίματος, αποτελούν και τον πρώτο κυτταρικό τύπο του αίματος που συναντούν τα ηρs (Tian et al., 2021a). Παρόλα

αυτά, οι αλληλεπιδράσεις τους δεν έχουν ακόμα πλήρως κατανοηθεί (Malehmir et al., 2023).

Η άμεση επαφή των nrs με τα RBCs μπορεί να επηρεάσει την δομή της μεμβράνης τους, ακόμα και να την διασπάσει, προκαλώντας αιμόλυση (Yedgar et al., 2022). Κατά αυτό τον τρόπο η αιμόλυση θεωρείται μια από τις σημαντικότερες παραμέτρους αξιολόγησης της αιμοσυμβατότητας (De La Harpe et al., 2019). Χαμηλά ποσοστά αιμόλυσης συνδέονται με υψηλή αιμοσυμβατότητα και το αντίστροφο (Tian et al., 2021a). Πολλά nrs προκαλούν αιμόλυση όπως είναι αυτά του άμορφου πυριτίου, φωσφορικού τριασβεστίου και του αργύρου (De La Harpe et al., 2019).

Η αιμολυτική ικανότητα των nrs εξαρτάται από τα χαρακτηριστικά τους, όπως το σχήμα και την γεωμετρία τους, το μέγεθος, την δομή, την φόρτιση και την χημεία της επιφάνειάς τους, αλλά και από την συγκέντρωσή τους (De La Harpe et al., 2019; Tian et al., 2021a). Το μέγεθος και το σχήμα των nrs σχετίζεται σε μεγάλο βαθμό με την αιμοτοξικότητα. Μπορεί να προκαλείται λόγω ωσμωτικής λύσης εξαιτίας της δημιουργίας πόρων στην ερυθροκυτταρική μεμβράνη, λόγω τοπικής παραμόρφωσης, υπεροξειδωσής λιπιδίων και καταστροφής τμημάτων της μεμβράνης μετά από επαφή με τμήματα οξυγόνου.

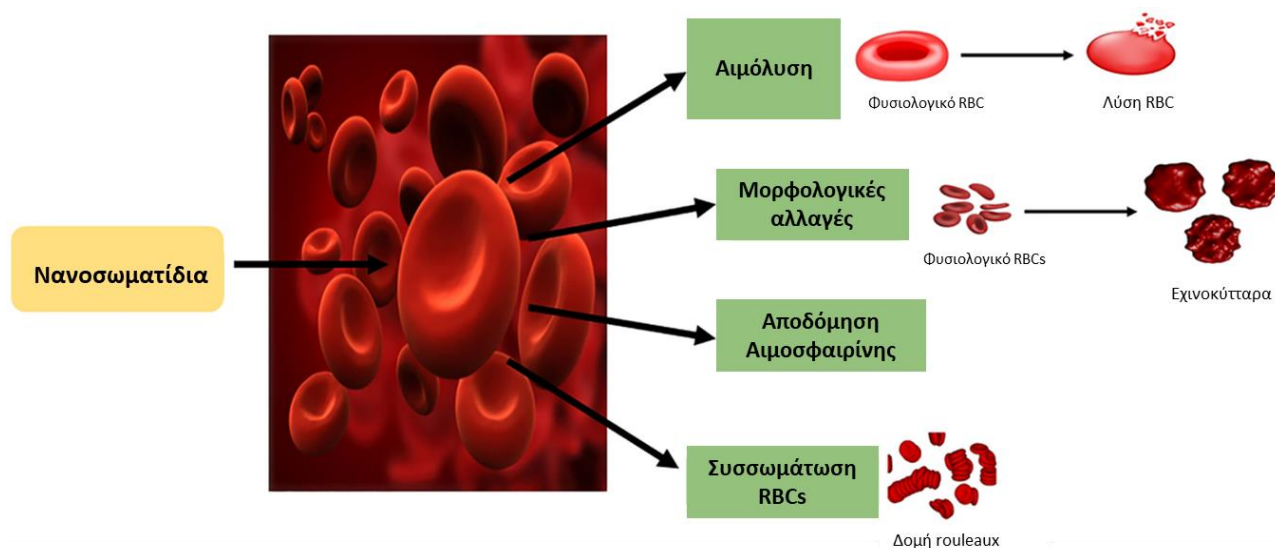


Εικόνα 14: Χαρακτηριστικά των nrs που επιδρούν στα RBCs (Ανατύπωση από Yedgar et al., 2022)

Η χημεία της επιφάνειας των nrs καθορίζει την αλληλεπίδραση τους με τα RBCs. Για παράδειγμα τα κατιονικά δενδριμερή προκαλούν μεγαλύτερα ποσοστά αιμόλυσης συγκριτικά με τα ανιονικά δενδριμερή (Darbasizadeh et al., 2022). Το ίδιο συμπέρασμα έχει προκύψει και για τα κατιονικά nrs του χρυσού και του πολυστυρένιου (De Jong & Borm, 2008). Αν και τα περισσότερα κατιονικά nrs μάλλον προκαλούν μεγαλύτερη τοξικότητα – αιμόλυση στα ερυθρά σε σχέση με τα ανιονικά

ηρs, κρίνεται απαραίτητη η ανεξάρτητη εξέταση κάθε νέου ηρs για την αλληλεπίδραση του με το αίμα (Darbasizadeh et al., 2022).

Η αλληλεπίδραση των ηρs με μεμβρανικές πρωτεΐνες του κυτταροσκελετού, όπως είναι η σπεκτρίνη και η πρωτεΐνη Ζώνη 3, επηρεάζουν την διαπερατότητα, την ακεραιότητα, την ρευστότητα και την παραμορφωσιμότητα της μεμβράνης των ερυθρών. Ως αποτέλεσμα, τα ερυθρά διαρρηγνύονται και προκαλείται αιμόλυση, αύξηση της συσσωμάτωσης τους και μείωση της ικανότητας τους για παραμόρφωση. Ακόμη, η παραμόρφωση της δομής της πρωτεΐνης Ζώνης 3 μπορεί να οδηγήσει σε μετατροπή των RBCs σε εχινοκύτταρα (Tian et al., 2201a).



Εικόνα 15: Οι επιδράσεις των ηρs στα RBCs (Ανατύπωση από S. Yadav & Maurya, 2022)

3. ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ – ΑΙΜΟΣΥΜΒΑΤΟΤΗΤΑ ΝΡs ΑΛΓΙΝΙΚΟΥ

Το αλγινικό οξύ θεωρείται βιοπολυμερές με χαμηλή τοξικότητα. Ωστόσο, αν δεν γίνει σωστά η χημική κατεργασία του όταν απομονώνεται από τα φύκη, το τελικό προϊόν θα είναι χαμηλής καθαρότητας. Θα μπορεί δηλαδή να περιέχει βαριά μέταλλα, ενδοτοξίνες, πρωτεΐνες και πολυφαινολικά στοιχεία, τα οποία οδηγούν σε ανοσολογική απόκριση (Severino et al., 2019). Ακόμη, υπάρχουν νέες έρευνες που δείχνουν ότι είναι τοξικό για το γυναικείο αναπαραγωγικό σύστημα, καθώς μειώνει την παραγωγή οιστρογόνων, αυξάνει το οξειδωτικό στρες και οδηγεί σε απόπτωση και αυτοφαγία των μιτοχονδρίων (Cui et al., 2022).

Σχετικά με τα ηρs αλγινικού οξέος, πολλές έρευνες έδειξαν πως δεν εμφανίζουν τοξικότητα. Στις έρευνες αυτές τα ηρs αλγινικού αποτελούσαν μέρος ενός ευρύτερου νανοσυστήματος, το οποίο περιείχε και θεραπευτική ουσία (Severino et al., 2019).

Παραδείγματος χάρη, νανοσυστήματα αλγινικού συζευγμένα με κουρκουμίνη αποδείχτηκε ότι ήταν αιμοσυμβατά και συνεπώς μη τοξικά, καθώς δεν προκαλούσαν αιμόλυση στα RBCs (Lachowicz et al., 2019). Αξίζει να σημειωθεί ότι για κάθε φυσικοχημική τροποποίηση και συνδυασμό ηρs με άλλα ηρs και φάρμακα, δημιουργείται ένα νέο τοξικολογικό προφίλ για το εκάστοτέ ηρ (Severino et al., 2019).

4. ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ – ΑΙΜΟΣΥΜΒΑΤΟΤΗΤΑ ΧΡΥΣΙΝΗΣ

Η χρυσίνη, όπως αναφέρθηκε και παραπάνω έχει τοξικές επιδράσεις στα παθολογικά κύτταρα, όπως είναι τα καρκινικά, κάτι που υποδηλώνει τις θεραπευτικές ιδιότητες της. Αποτελεί флаβονοειδές το οποίο εντοπίζεται σε πολλά βρώσιμα για τον άνθρωπο προϊόντα. Κατά αυτόν τον τρόπο δεν είναι τοξική για τον οργανισμό, εφόσον όμως προσλαμβάνεται η συνιστώμενη ημερήσια δόση και όχι παραπάνω από αυτήν. Ωστόσο, έρευνες έχουν δείξει ότι μπορεί να προκαλέσει τοξικότητα στο ήπαρ, ακόμα και όταν η καθημερινή πρόσληψη είναι εντός των συνιστώμενων ορίων (Mani & Natesan, 2018; Naz et al., 2019).

Έρευνες υποστηρίζουν ότι η χρυσίνη όπως και άλλα флаβονοειδή, προσδέονται στην επιφάνεια των RBCs και εμποδίζουν την οξειδωση των λιπιδίων της μεμβράνης. Ενισχύεται έτσι η ακεραιότητα της ερυθροκυτταρικής μεμβράνης και η προστασία έναντι στην υποτονική αιμόλυση. Προκύπτει έτσι ότι είναι συμβατή με τα RBCs του αίματος (Chaudhuri et al., 2007).

B) ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΣΚΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Για την έρευνα συγκεντρώθηκαν δείγματα αίματος από 15 υγιή άτομα, ηλικίας 20 έως 48 ετών.

Η έρευνα αυτή ασχολείται με την ποσοτική ανάλυση της αιμόλυσης πριν και μετά από επώαση του αίματος με *πολυμερικά νανοσυστήματα αλγινικού με εγκλωβισμένη χρυσίνη* και την επίδραση αυτών στην μορφολογία των RBCs.

Έχουν χρησιμοποιηθεί το τεστ της ωσμωτικής ευθραυστότητας, η δοκιμασία την κρυσταλλοποίησης και η χρώση και η μικροσκοπική παρατήρηση των RBCs ως μέθοδοι για την αξιολόγηση των παραπάνω.

2. ΥΛΙΚΑ & ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 Τεστ Ωσμωτικής Αντίστασης

Αρχή Μεθόδου

Το τεστ ωσμωτικής αντίστασης βασίζεται στο φαινόμενο της ώσμωσης και χρησιμοποιείται για τον υπολογισμό της αντίστασης των RBCs στην αιμόλυση, όταν αυτά εκτίθενται σε διάφορες ποσότητες αλατούχων διαλυμάτων. Τα διαλύματα αυτά έχουν μικρότερη συγκέντρωση αλάτων συγκριτικά με αυτήν που υπάρχει στο εξωτερικό περιβάλλον των κυττάρων του οργανισμού. Ως αποτέλεσμα, δημιουργείται ένα υπότονο περιβάλλον για τα RBCs, το οποίο οδηγεί στην διόγκωση και κατά επέκταση λύση τους. Η τιμή απορρόφησης που προκύπτει για κάθε δείγμα είναι ανάλογη της αιμόλυσης των RBCs και της απελευθέρωσης της αιμοσφαιρίνης που προκαλείται (Walski et al., 2014).

Υλικά – Αντιδραστήρια

- Φυγόκεντρος
- Φωτόμετρο
- Σωληνάκια
- Πιπέτες
- Αναλυτικός Ζυγός
- Λυοφιλοποιημένο NaCl
- Στατώ
- Water for Injection (WFI)
- Μηχανικός Αναδευτήρας (vortex)
- Ογκομετρικές Φιάλες

- Ποτήρια Ζέσεως

Πειραματική Διαδικασία

1. Προσθήκη 2 ml του εκάστοτε διαλύματος NaCl (0%, 0,4%, 0,45%, 0,5%, 0,55%, 0,6%) στο αντίστοιχο σωληνάριο.
2. Προσθήκη 20 µL ολικού αίματος σε κάθε σωληνάριο.
3. Ανάδευση σε vortex για 1 δευτερόλεπτο (sec).
4. Επώαση για 15 λεπτά (min) σε θερμοκρασία δωματίου (RT).
5. Φυγοκέντρηση στις 1.500 RPM για 5 min.
6. Φωτομέτρηση υπερκείμενου στα 540nm.

Για την εκτίμηση του ποσοστού της αιμόλυσης χρησιμοποιείται ο ακόλουθος τύπος:

$$\% \text{αιμόλυση} = \frac{\text{Abs Sample} - \text{Abs Blank}}{\text{Abs Standard (0\%)} - \text{Abs Blank}} \times 100$$

Στην συνέχεια, κατασκευάστηκε η καμπύλη ωσμωτικής ευθραυστότητας από τα ποσοστά αιμόλυσης με τα αντίστοιχα διαλύματα NaCl. Από το διάγραμμα αυτό υπολογίστηκε η MCF (η μέση ευθραυστότητα των RBCs), η οποία αποτελεί την % συγκέντρωση του διαλύματος NaCl που προκαλεί 50% αιμόλυση.

2.2 Δοκιμασία Κρυοαιμόλυσης

Αρχή Μεθόδου

Η δοκιμασία της κρυοαιμόλυσης χρησιμοποιείται για την διάγνωση της κληρονομικής σφαιροκυττάρωσης (HS). Στην δοκιμασία αυτή, το αίμα επώαζεται με υπέρτονο διάλυμα σε 0 και 37°C, ώστε να προκληθεί αιμόλυση. Οι απότομες εναλλαγές της θερμοκρασίας προκαλούν ρήξη της ερυθροκυτταρικής μεμβράνης. Τα ποσοστά ρήξης των RBCs ατόμων με HS είναι πολύ μεγαλύτερα συγκριτικά με αυτά των υγείων ανθρώπων, καθώς η κληρονομική αυτή διαταραχή επηρεάζει τις συνδέσεις των πρωτεϊνών με τον κυτταροσκελετό και τα καθιστά πολύ εύθραυστα. Συνεπώς, αυξημένα ποσοστά κρυοαιμόλυσης μπορεί να υποδηλώνουν ανωμαλίες στην ερυθροκυτταρική μεμβράνη (Dhanasekaran et al., 2023).

Υλικά – Αντιδραστήρια

- Eppendorfs 1,5mL
- Πιπέτες Pasteur
- Σωληνάρια
- Κυβέττες
- Ψυχόμενη Φυγόκεντρος
- Φωτόμετρο
- Υδατόλουτρο

- Στατώ
- Φυγόκεντρος
- Μηχανικός Αναδευτήρας (vortex)
- Πιπέτες
- Water for Injection (WFI)
- Διάλυμα NaCl 0.9%
- Buffer Σουκρόζης 0,7 M

Πειραματική Διαδικασία

1. Πλύση των δειγμάτων αίματος με διάλυμα NaCl 0.9% για 3 συνεχόμενες φορές, ώστε να δημιουργηθεί ίζημα RBCs (πακεταρισμένα RBCs).
2. Παρασκευή buffer σουκρόζης 0,7M (2ml duplicates για κάθε δείγμα) και επώαση σωληναρίων για 10 min στους 37°C.
3. Προσθήκη 50 µL πακεταρισμένων RBCs σε κάθε duplicate.
4. Ήπια ανάδευση σωληναρίων και επώαση για 10 min στους 37°C.
5. Μεταφορά των σωληναρίων στο πάγο για 10 min και μετέπειτα φυγοκέντρηση σε RT.
6. Φωτομέτρηση υπερκειμένου στα 540 nm.

Για την εκτίμηση του ποσοστού κρυσαιμόλυσης υπολογίστηκε η 100% κρυσαιμόλυση, η οποία επιτυγχάθηκε με την προσθήκη των RBCs σε απιονισμένο νερό.

Τα παραπάνω αποτελέσματα τοποθετήθηκαν στον παρακάτω μαθηματικό τύπο και υπολογίστηκε το ποσοστό της κρυσαιμόλυσης. Το OD του τύπου υποδηλώνει την απορρόφηση των δειγμάτων στα 540nm.

$$\% \text{ κρυσαιμόλυση} = \frac{OD \ 540 \ test}{OD \ 540 \ hemolysate \ (100\%)} \times 5$$

2.3 Χρώση May-Grunwald-Giemsa και Μικροσκοπική Παρατήρηση RBCs

Αρχή Μεθόδου

Η χρώση May-Grunwald-Giemsa αποτελεί χαρακτηριστική χρώση για την αιματολογία. Εκτός από το αίμα, βάφει και άλλα βιολογικά υγρά και ιστούς, όπως το εγκεφαλονωτιαίο υγρό. Στο αίμα βάφει και διαχωρίζει τις κατηγορίες των WBCs. Επίσης, βάφει τα RBCs επιτρέποντας τον υπολογισμό του πλήθους τους, καθώς και την αξιολόγηση της μορφολογίας τους.

Η χρώση αυτή ανήκει στην ομάδα χρώσεων Romanowsky και έχει την ίδια αρχή μεθόδου. Αποτελείται από δύο χρώσεις:

- την χρώση May – Grunwald. Είναι αλκοολούχα και αποτελείται από μπλε του μεθυλενίου και ηωσίνη.
- τη χρώση Giemsa. Είναι αλκοολούχα και αποτελείται από μπλε του μεθυλενίου, ηωσίνη και αζούρ Β.

Οι χρώσεις έχουν διαφορετικές ποσότητες μεθυλενίου και ηωσίνης. Το μπλε του μεθυλενίου είναι θετικά φορτισμένο, οπότε βάφει τα όξινα συστατικά του κυττάρου (πυρήνες, κοκκία βασεόφιλων κοκκιοκυττάρων και το RNA), ενώ η ηωσίνη είναι αρνητικά φορτισμένη οπότε βάφει τα βασικά συστατικά του κυττάρου (Hb, κυτταρόπλασμα, μεμβράνες και κοκκία ηωσινόφιλων κοκκιοκυττάρων) (Piaton et al., 2015).

Υλικά – Αντιδραστήρια

- Αντικειμενοφόρες πλάκες
- Καλυπτρίδες
- Τριχοειδή
- Δοχεία για τις χρωστικές
- Μεθανόλη
- Χρώση May – Grunwald
- Χρώση Giemsa
- Νερό βρύσης
- Μικροσκόπιο
- Κεδρέλαιο

Πειραματική Διαδικασία

Αρχικά επιστρώνουμε σε αντικειμενοφόρο πλάκα μια σταγόνα αίματος του αιμοδότη.

1. Τοποθέτηση της πλάκας σε δοχείο με μεθανόλη για 5 λεπτά και έπειτα απόρριψη της περίσσειας μεθανόλης.
2. Τοποθέτηση της πλάκας σε δοχείο που περιέχει την χρώση May – Grunwald για 4 λεπτά και έπειτα απόρριψη της περίσσειας χρώσης.
3. Τοποθέτηση της πλάκας σε δοχείο που περιέχει την χρώση Giemsa για 15 λεπτά και έπειτα απόρριψη της περίσσειας χρώσης.
4. Έκπλυση της πλάκας με άφθονο νερό βρύσης.
5. Στέγνωμα πλάκας σε θερμοκρασία δωματίου.

Αφού στέγνωσε η χρωστική, τα RBCs παρατηρήθηκαν στο μικροσκόπιο με καταδυτικό φακό x100, κάτω από σταγόνα κεδρελαίου.

3. ΣΥΛΛΟΓΗ & ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Συλλογή

Οι αιμοληψίες πραγματοποιήθηκαν στο χώρο του εργαστηρίου του πανεπιστημίου (ΠΑΔΑ), καθώς τα δείγματα ελήφθησαν από υγιή άτομα ηλικίας 20 – 48 ετών. Η συλλογή του αίματος έγινε σε σωληνάρια με κιτρικά. Από κάθε ασθενή χρειάστηκαν δύο σωληνάρια αίματος για την διεξαγωγή των πειραμάτων.

Προετοιμασία Δειγμάτων

Μετά το τέλος κάθε αιμοληψίας αναγράφηκε πάνω στα σωληνάρια η κωδική ονομασία κάθε δότη. Στην συνέχεια, πραγματοποιήθηκε γενική εξέταση αίματος, για την γνωστοποίηση της κατάστασης υγείας του. Χρησιμοποιήθηκε 1ml αίματος για τα παραπάνω πειράματα πριν την επώαση με νανοσυστήματα, τα οποία αποτελούν τους μάρτυρες (Ctrl).

Το υπόλοιπο αίμα που παρέμεινε στο σωληνάριο, αραιώθηκε με τη χρήση ισότονου διαλύματος PBS (Phosphate Buffer Saline), σε τελικό Hct 20%.

Για την παραπάνω διαδικασία το σωληνάριο φυγοκεντρήθηκε σε θερμοκρασία δωματίου για 10 λεπτά σε 1000 g. Κατά αυτόν τον τρόπο, τα RBCs διαχωρίστηκαν από τα υπόλοιπα συστατικά του αίματος και καθίζησαν. Το πλάσμα και τα WBCs αφαιρέθηκαν με πιπέτα και χρησιμοποιήθηκαν τα πακεταρισμένα RBCs. Πραγματοποιήθηκε αραιώση 1 : 4 με PBS, για την μετατροπή του Hct από 80% σε 20%.

Έπειτα, τοποθετήθηκαν 2,5ml αραιωμένου αίματος σε 4 σωληνάρια. Στα πρώτο σωληνάριο τοποθετήθηκε το αίμα αναμιγμένο με διάλυμα νανοσυστήματος αλγινικού με εγκλωβισμένη χρυσίνη (Nr1), στο δεύτερο αίμα με διάλυμα νανοσωματίδια αλγινικού οξέος (Nr2) και στο τρίτο αίμα με διάλυμα ελεύθερης χρυσίνης (Nr3). Το τέταρτο διάλυμα περιείχε PBS χωρίς κάποιο νανοςύστημα και θα αποτελέσει τον μάρτυρα στους 37°C (Ctrl 37°C). Τέλος, επώαστηκαν σε ξηρό κλίβανο, για 4 ώρες στους 37°C υπό ανακίνηση. Μετά την επώαση, πραγματοποιήθηκε η διεξαγωγή των παραπάνω πειραματικών πρωτοκόλλων

Γ) ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΕΡΕΥΝΑΣ

1. Αιματολογική Ανάλυση

Πραγματοποιήθηκε γενική εξέταση αίματος σε όλους τους αιμοδότες, ώστε να επιβεβαιωθεί ότι οι αιματολογικοί δείκτες τους είναι εντός των φυσιολογικών ορίων. Οι αιματολογικοί δείκτες που ελέγχθηκαν είναι οι εξής: RBCs (πλήθος των ερυθροκυττάρων), Hb (αιμοσφαιρίνη), Hct (αιματοκρίτης), MCV (μέσος όγκος των ερυθροκυττάρων), MCH (μέση περιεκτικότητα αιμοσφαιρίνης), MCHC (μέση πυκνότητα αιμοσφαιρίνης) και RDW (δείκτης εύρους κατανομής των ερυθροκυττάρων). Στον παρακάτω πίνακα επιβεβαιώνονται ότι οι δείκτες είναι εντός του φυσιολογικού εύρους (**Πίνακας 2**).

<u>ΠΙΝΑΚΑΣ ΓΕΝΙΚΩΝ</u>	<u>ΑΙΜΟΔΟΤΕΣ</u>	<u>ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΤΙΜΕΣ</u>
RBCs ($\times 10^6 / \mu\text{l}$)	4,41 \pm 0,52	♂ : 4,2 – 6,4
		♀ : 3,6 – 5
Hb (gr/dl)	13,11 \pm 1,56	♂ : 14 – 17
		♀ : 12 – 16
Hct (%)	38,06 \pm 4,47	♂ : 42 – 52
		♀ : 37 – 47
MCV (fl)	86,54 \pm 2,40	82 – 98
MCH (pg)	29,76 \pm 1,21	26 – 34
MCHC (g/dl)	34,44 \pm 1,08	31 – 37
RDW (CV%)	15,39 \pm 0,88	11,5 – 14,5

Πίνακας 2: Αιματολογικοί δείκτες αιμοδοτών. Οι τιμές που αναγράφονται προκύπτουν από τον μέσο όρο \pm τυπική απόκλιση (SD).

Μετά την επώαση πραγματοποιήθηκε ξανά αιματολογική ανάλυση στα δείγματα. Οι αριθμοί επεξεργάστηκαν με το *GraphPad Prism 8.0.3* και προέκυψε το παρακάτω διάγραμμα (1).

Σχετικά με τον δείκτη **RDW** δεν παρατηρήθηκε κάποια σημαντική στατιστική διαφορά μεταξύ των δειγμάτων με νανοσυστήματα ($Np1$: $15,12 \pm 0,8798$, $Np2$: $15,40 \pm 0,9755$, $Np3$: $15,40 \pm 0,9635$) και των μαρτύρων (μάρτυρα: $15,39 \pm 0,8798$, μάρτυρα των $37^{\circ}C$: $15,29 \pm 0,7112$), το p – value είναι σε όλα $> 0,05$.

Στον δείκτη **MCV** εμφανίστηκαν σημαντικές στατιστικές αποκλίσεις μεταξύ του μάρτυρα και των δειγμάτων με νανοσυστήματα και του μάρτυρα των $37^{\circ}C$. Οι τιμές παραμένουν εντός του φυσιολογικού εύρους, ωστόσο η τιμή του μάρτυρα είναι μειωμένη συγκριτικά με τα άλλα δείγματα. Συγκεκριμένα μεταξύ των:

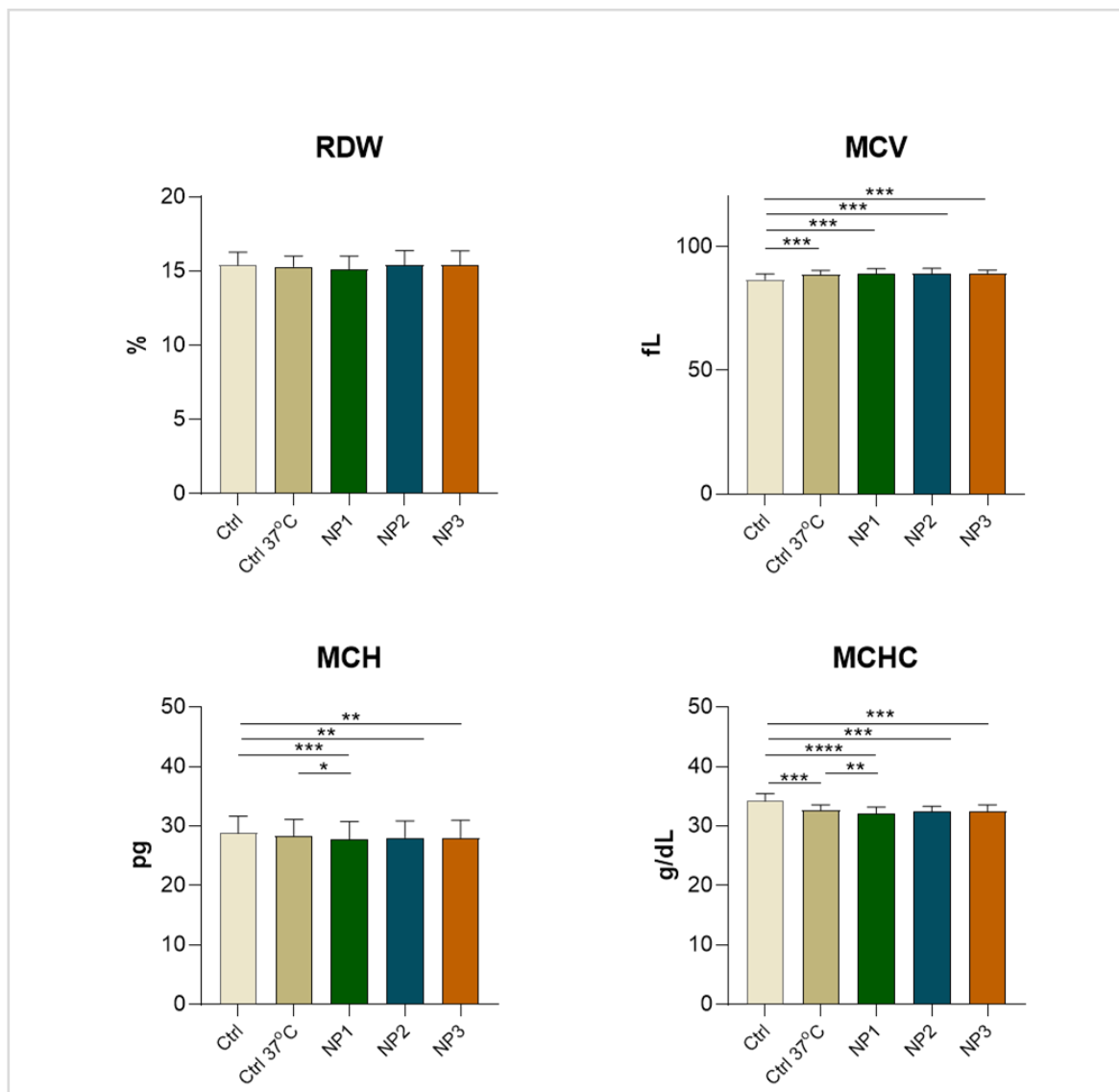
- ✓ Μάρτυρα ($86,54 \pm 2,402$) και Μάρτυρα των $37^{\circ}C$ ($88,62 \pm 2,402$), p – value: $0,0002$ (***)
- ✓ Μάρτυρα και $Np1$ ($89,00 \pm 2,041$), p – value: $0,0005$ (***)
- ✓ Μάρτυρα και $Np2$ ($89,08 \pm 2,060$), p – value: $0,0002$ (***)
- ✓ Μάρτυρα και $Np3$ ($88,85 \pm 1,625$), p – value: $0,0005$ (***)

Σχετικά με τον δείκτη **MCH** εντοπίστηκαν επίσης σημαντικές στατιστικές αποκλίσεις μεταξύ του μάρτυρα και των δειγμάτων με νανοσυστήματα, όπως επίσης μεταξύ του $Np1$ και $Ctrl37^{\circ}C$. Οι τιμές παραμένουν εντός του φυσιολογικού εύρους, ωστόσο η τιμή του μάρτυρα και μάρτυρα των $37^{\circ}C$ είναι αυξημένα συγκριτικά με τα άλλα δείγματα. Συγκεκριμένα μεταξύ των:

- ✓ Μάρτυρα ($28,75 \pm 2,904$) και $Np1$ ($27,75 \pm 2,990$), p – value: $0,0008$ (***)
- ✓ Μάρτυρα και $Np2$ ($28,01 \pm 2,860$), p – value: $0,0055$ (**)
- ✓ Μάρτυρα και $Np3$ ($27,98 \pm 2,990$), p – value: $0,0038$ (**)
- ✓ $Np1$ και μάρτυρα των $37^{\circ}C$ ($28,21 \pm 2,873$), p – value: $0,0245$ (*)

Σχετικά με τον δείκτη **MCHC** εντοπίστηκαν επίσης σημαντικές στατιστικές αποκλίσεις μεταξύ του μάρτυρα και των δειγμάτων με νανοσυστήματα και του μάρτυρα των $37^{\circ}C$, όπως επίσης μεταξύ του $Np1$ και μάρτυρα των $37^{\circ}C$. Οι τιμές παραμένουν εντός του φυσιολογικού εύρους, ωστόσο η τιμή των μάρτυρα είναι αρκετά αυξημένη συγκριτικά με τα άλλα δείγματα. Συγκεκριμένα μεταξύ των:

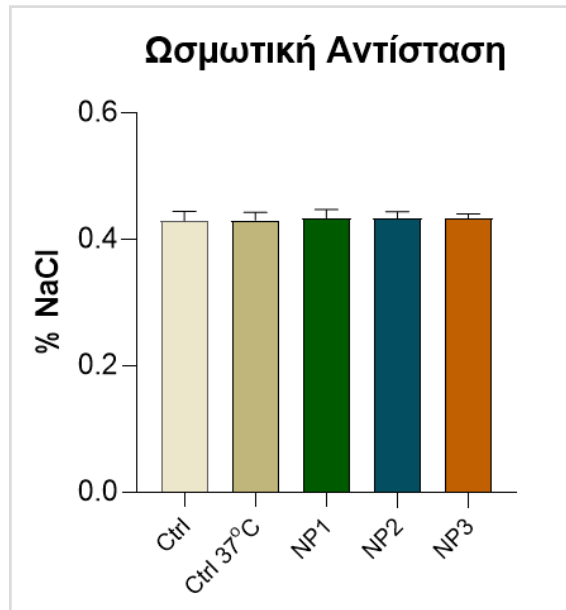
- ✓ Μάρτυρα ($34,17 \pm 1,259$) και μάρτυρα των $37^{\circ}C$ ($32,63 \pm 0,9184$), p – value: $0,0004$ (***)
- ✓ Μάρτυρα και $Np1$ ($32,09 \pm 1,086$), p – value: $<0,0001$ (****)
- ✓ Μάρτυρα και $Np2$ ($32,41 \pm 0,8988$), p – value: $0,0003$ (***)
- ✓ Μάρτυρα και $Np3$ ($32,38 \pm 2,990$), p – value: $0,0004$ (***)
- ✓ $Np1$ και μάρτυρα των $37^{\circ}C$ p – value: $0,0087$ (**)



Διάγραμμα 1: Διαγραμματική απεικόνιση των αιματολογικών δεικτών RDW, MCV, MCH και MCHC των RBCs μετά την επώαση με νανοστήματα. Αντίθετα με τα διαγράμματα των MCV, MCH και MCHC, στο διάγραμμα RDW δεν υπάρχουν σημαντικές στατιστικές αποκλίσεις. Σχετικά με το p - value, όπου *: $p < 0,05$, **: $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ και **** $p < 0,0001$.

2. Ωσμωτική Αντίσταση

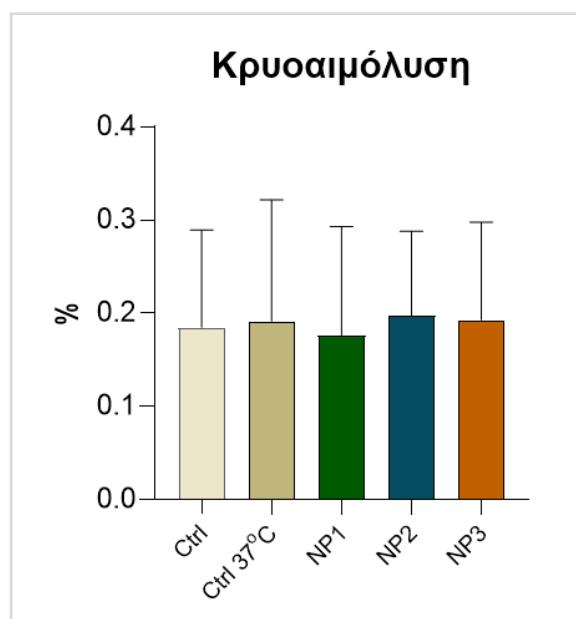
Μετά το πείραμα της ωσμωτικής αντίστασης, τα αριθμητικά αποτελέσματα που προέκυψαν από την φωτομέτρηση επεξεργάστηκαν με το GraphPad Prism 8.0.3 και προέκυψε το παρακάτω γράφημα (**Διάγραμμα 2**). Από τα δεδομένα αυτά δεν παρατηρούνται σημαντικές στατιστικές διαφορές μεταξύ των νανοσυστημάτων και των μαρτύρων. Παρόλο που οι μέσες τιμές των δειγμάτων με νανοσυστήματα ($Np1$: $0,4336 \pm 0,01049$, $Np2$: $0,4332 \pm 0,01049$, $Np3$: $0,4325 \pm 0,00778$) είναι μερικώς αυξημένες συγκριτικά με αυτές των μαρτύρων (*Μάρτυρας*: $0,4293 \pm 0,01510$, *Μάρτυρα των 37°C*: $0,4304 \pm 0,01216$), το p - value είναι σε όλα $> 0,05$.



Διάγραμμα 2: Διαγραμματική απεικόνιση της αιμόλυσης των RBCs κατά την δοκιμασία της ωσμωτικής ευθραυστότητας μετά την επώαση με νανοστήματα. Στο διάγραμμα αυτό δεν παρατηρούνται σημαντικές διαφορές μεταξύ των τιμών.

3. Δοκιμασία Κρυοαιμόλυσης

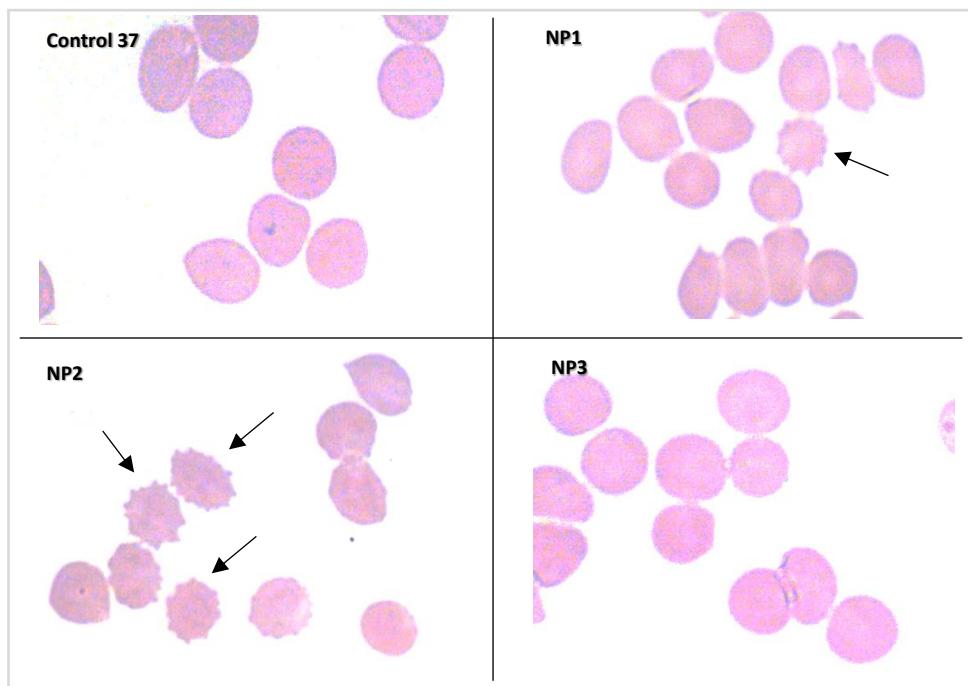
Μετά την της κρυοαιμόλυσης, την φωτομέτρηση και την επεξεργασία των αποτελεσμάτων με *GraphPad Prism 8.0.3*, προέκυψαν τα παρακάτω δεδομένα (Διάγραμμα 3). Παρόλο που οι μέση τιμή του μάρτυρα ($0,1850 \pm 0,1045$) είναι εμφανώς μικρότερη σε σχέση με αυτή του μάρτυρα των 37°C ($0,1914 \pm 0,1304$), *Np2* ($0,1971 \pm 0,0911$), *Np3* ($0,1929 \pm 0,1049$) και μεγαλύτερη από αυτή του *Np1* ($0,1764 \pm 0,1169$), δεν παρατηρείται σημαντική στατιστική διαφορά, με το p – value να είναι $> 0,05$.



Διάγραμμα 3: Διαγραμματική απεικόνιση της αιμόλυσης των RBCs κατά την δοκιμασία της κρυσταλλοποίησης μετά την επώαση με νανοστήματα. Στο διάγραμμα αυτό παρατηρείται μειωμένη αιμόλυση στο δείγμα με το Nr1 συγκριτικά με τα υπόλοιπα δείγματα, χωρίς να είναι στατιστικά σημαντική.

4. Χρώση και Μικροσκόπηση RBCs

Για κάθε αιμοδότη δημιουργήθηκαν από 2 αντικειμενοφόρες πλάκες με επιχρίσματα για τον μάρτυρα των 37°C, Nr1, Nr2, Nr3. Αντικειμενοφόρες πλάκες δεν δημιουργήθηκαν για τον μάρτυρα, καθώς στους υγιείς ανθρώπους δεν ανευρίσκονται παθολογικά RBCs. Για κάθε κατηγορία πάρθηκαν 10 οπτικά πεδία. Σε μερικά από αυτά τα οπτικά πεδία αυτά βρέθηκαν μεγάλος αριθμός παθολογικών μορφών RBCs και συγκεκριμένα ακανθοκυττάρων. Όπως φαίνεται και στις παρακάτω εικόνες ακανθοκύτταρα εμφανίζονται υπό την παρουσία του νανοδομημένου Nr1 και Nr2, ενώ στον μάρτυρα των 37°C και στο Nr3 τα RBCs έχουν φυσιολογική μορφολογία.



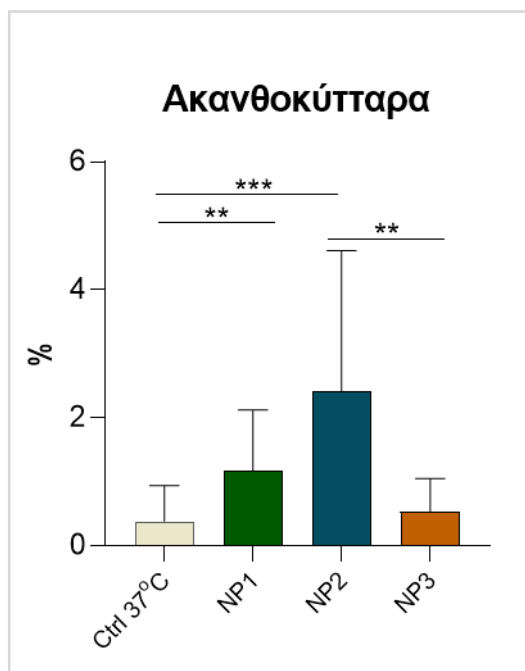
Εικόνα 16: Εικόνες που συλλέχτηκαν κατά την μικροσκόπηση των επιχρισμάτων σε οπτικό πεδίο x100. Στο Nr1 και στο Nr2 παρατηρούνται ακανθοκύτταρα.

Μετά την μικροσκόπηση, τα ακανθοκύτταρα μετρήθηκαν και με την βοήθεια του προγράμματος *GraphPad Prism 8.0.3* προέκυψαν τα παρακάτω στοιχεία (**Διάγραμμα 4**).

Στον μάρτυρα των 37°C ($0,3800 \pm 0,5647$) τα RBCs έχουν φυσιολογική μορφολογία, ενώ μπορεί να υπάρχουν ελάχιστα ακανθοκύτταρα. Το ίδιο ισχύει και για το Nr3

(0,5388 ± 0,5140), όπου εμφανίζεται μια αύξηση στην μέση τιμή, χωρίς όμως να προκύπτει σημαντικά στατιστική διαφορά. Αντίθετα στο *Np1* (1,1720 ± 0,9502) και ειδικά στο *Np2*(2,4120 ± 2,2070), υπάρχει πολύ μεγάλη αύξηση της μέσης τιμής και παρατηρείται στατιστικά μεγάλη διαφορά μεταξύ των:

- Μάρτυρα των 37°C και του *Np1* με p – value: 0,0085 (**)
- Μάρτυρα των 37°C και του *Np2* με p – value: 0,0005 (***)
- *Np2* και του *Np3* με p – value: 0,0010 (**)



Διάγραμμα 4: Διαγραμματική απεικόνιση της παρουσίας ακανθοκυττάρων κατά την μικροσκόπηση. Στο διάγραμμα αυτό παρατηρείται στατιστικά σημαντική αυξημένη παρουσία ακανθοκυττάρων στο *Np1* και *Np2*, συγκριτικά με τα υπόλοιπα δείγματα. Σχετικά με το p – value, όπου **: $p < 0,01$ και όπου ***: $p < 0,001$.

Δ) ΣΥΖΗΤΗΣΗ & ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

1. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η εργασία αυτή αποσκοπεί στην διερεύνηση της αιμοσυμβατότητας των πολυμερικών νανοσωματιδίων αλγινικού οξέος με εγκλωβισμένη χρυσίνη ως προς τρεις παραμέτρους: α) αιματολογική ανάλυση, β) αιμόλυση κατά τις δοκιμασίες της ωσμωτικής αντίστασης και της κρυσταλλοποίησης και γ) μορφολογία των RBCs ύστερα από χρώση και μικροσκόπηση. Παρακάτω ερμηνεύονται και συσχετίζονται τα αποτελέσματα που προέκυψαν με άλλες προγενέστερες έρευνες

Σχετικά με την αιματολογική ανάλυση, παρόλο που υπάρχουν μικρές αυξήσεις ή μειώσεις στους δείκτες RDW, MCV, MCH MCHC, όλοι βρίσκονται εντός του φυσιολογικού εύρους τιμών. Αυτό δείχνει ότι τα νανοσωματίδια δεν επιδρούν στο μέγεθος, τον όγκο των RBCs ή στην περιεκτικότητά τους σε Hb. Τα αποτελέσματα αυτά δεν συμπίπτουν με το αιματολογικό προφίλ ασθενών που έχουν αιμόλυση, καθώς σε αυτήν την περίπτωση παρατηρείται μείωση του MCV και αύξηση των RDW, MCH και MCHC, όπως διαπιστώθηκε από τον de Jonge και τους συνεργάτες τους (de Jonge et al., 2018).

Σχετικά με την αιμόλυση, στην μελέτη των Halevas και των συνεργατών του, το πολυμερικό νανοσύστημα που χρησιμοποιήθηκε και περιείχε εγκλωβισμένη χρυσίνη, καθώς και το νανοσύστημα χωρίς χρυσίνη, εμφάνισε μεγάλη αιμοσυμβατότητα και πολύ μικρά ποσοστά αιμόλυσης (Halevas et al., 2021). Παρόλο που στην έρευνα αυτή δεν χρησιμοποιήθηκαν νανοσωματίδια αλγινικού οξέος, χρησιμοποιήθηκαν επίσης πολυμερικά νανοσωματίδια, συνεπώς μπορεί να υπάρξει συσχέτιση. Στην μελέτη των Di Martino και των συνεργατών του, όπου χρησιμοποιήθηκε νανοσύστημα που περιείχε αλγινικό οξύ, χιτοζάνη και φιλικό οξύ, παρατηρήθηκε χαμηλή αιμολυτική δραστηριότητα σε ποσότητες κάτω των 100 μg/mL (Di Martino et al., 2018). Οι παραπάνω μελέτες συμφωνούν με τα αποτελέσματα που προέκυψαν κατά τις δοκιμασίες της κρυσταλλοποίησης και της ωσμωτικής αντίστασης της παρούσας εργασίας. Ωστόσο, πρέπει να σημειωθεί ότι δεν βρέθηκαν μελέτες που να εξετάζουν την πιθανότητα νανοσωματίδια αλγινικού οξέος να προκαλούν αιμόλυση, αλλά εξετάζονται πάντα ως μέρος νανοσωματίδιατος.

Στην περίπτωση της ελεύθερης χρυσίνης, η μελέτη έδειξε ότι σε αυξημένες συγκεντρώσεις (100-500 μg·mL⁻¹) μπορεί να προκαλέσει αιμόλυση. Ωστόσο, η συγκέντρωση του Nr3 ήταν πολύ χαμηλότερη και δεν παρατηρήθηκε σημαντική στατιστική αύξηση της αιμόλυσης στα πειράματα, συγκριτικά με τα υπόλοιπα δείγματα (Halevas et al., 2021).

Σχετικά με την μορφολογία των RBCs, στις μελέτες των Avsievich και των συνεργατών της, αλλά και του Tsui και των συνεργατών του, τα νανοσωματίδια επιδρούν στην μορφολογία των RBCs, οδηγώντας σε ποικιλοκυττάρωση (Avsievich et al., 2023) (Tsui et al., 2020). Τα νανοσωματίδια που χρησιμοποιούνται δεν είναι πολυμερικά, αλλά

φαίνεται ότι η ποικιλοκυττάρωση είναι μία από τις επιδράσεις μερικών νανοσωματιδίων στα RBCs. Στην πρώτη μελέτη εντοπίστηκαν και άλλα είδη παθολογικών κυττάρων, όπως εχिनοκύτταρα και δακρυοκύτταρα, ενώ τα ακανθοκύτταρα ήταν < 1% των παθολογικών κυττάρων. Στην δεύτερη μελέτη κυριαρχούν τα ακανθοκύτταρα και τα εχινοκύτταρα (Avsievich et al., 2023; Tsui et al., 2020). Στην παρούσα εργασία τα Nr1 και Nr2 φαίνεται ότι επηρεάζουν την μορφολογία των RBCs και συναντάται πλήθος ακανθοκυττάρων, ιδιαίτερα στο Nr2 που περιέχει μόνο νανοσωματίδια αλγινικού οξέος. Παρόλα αυτά, το ποσοστό των ακανθοκυττάρων είναι πολύ χαμηλότερο από το 10% που ορίζεται ως το ελάχιστο ποσοστό παθολογικών κυττάρων για την ποικιλοκυττάρωση (για το Nr1 είναι 1,17% και για το Nr2 είναι για το 2,41%). Συνεπώς, η επίδραση του Nr1 και του Nr2 είναι σημαντική, αλλά όχι αρκετά μεγάλη για να οριστεί ως ποικιλοκυττάρωση.

2. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Συμπερασματικά, τα πολυμερικά νανοσυστήματα αλγινικού με εγκλωβισμένη χρυσίνη και τα επιμέρους τμήματα που το αποτελούν μπορούν να χαρακτηριστούν ως αιμοσυμβατά, για την συγκεκριμένη συγκέντρωση που μελετήθηκε. Αυτό προκύπτει καθώς δεν προκαλείται αιμόλυση των RBCs και δεν μεταβάλλεται η μορφολογία τους σε μεγάλο βαθμό, διατηρώντας τους αιματολογικούς δείκτες RDW, MCV, MCH και MCHC σε φυσιολογικά επίπεδα.

E) ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Afzal, O., Altamimi, A. S. A., Nadeem, M. S., Alzarea, S. I., Almalki, W. H., Tariq, A., Mubeen, B., Murtaza, B. N., Iftikhar, S., Riaz, N., & Kazmi, I. (2022). Nanoparticles in Drug Delivery: From History to Therapeutic Applications. In *Nanomaterials* (Vol. 12, Issue 24). MDPI. <https://doi.org/10.3390/nano12244494>
- Ahmed, A., Arian, M. F., & Khan, M. Q. (2022). Nanomaterials recycling standards. In *Nanomaterials Recycling* (pp. 249–268). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-90982-2.00012-3>
- Ali, A., Shah, T., Ullah, R., Zhou, P., Guo, M., Ovais, M., Tan, Z., & Rui, Y. (2021). Review on Recent Progress in Magnetic Nanoparticles: Synthesis, Characterization, and Diverse Applications. *Frontiers in Chemistry*, 9. <https://doi.org/10.3389/fchem.2021.629054>
- Altammar, K. A. (2023). A review on nanoparticles: characteristics, synthesis, applications, and challenges. *Frontiers in Microbiology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1155622>
- Anastasiadi, A. T., Arvaniti, V.-Z., Hudson, K. E., Kriebardis, A. G., Stathopoulos, C., D'Alessandro, A., Spitalnik, S. L., & Tzounakas, V. L. (2024). Exploring unconventional attributes of red blood cells and their potential applications in biomedicine. *Protein & Cell*, 15(5), 315–330. <https://doi.org/10.1093/procel/pwae001>
- Aoki, T. (2017). A Comprehensive Review of Our Current Understanding of Red Blood Cell (RBC) Glycoproteins. *Membranes*, 7(4), 56. <https://doi.org/10.3390/membranes7040056>
- Artioli, G., Angelini, I., & Polla, A. (2008). Crystals and phase transitions in protohistoric glass materials. *Phase Transitions*, 81(2–3), 233–252. <https://doi.org/10.1080/01411590701514409>
- Asefy, Z., Hoseinnejhada, S., & Ceferov, Z. (2021). Nanoparticles approaches in neurodegenerative diseases diagnosis and treatment. *Neurological Sciences*, 42(7), 2653–2660. <https://doi.org/10.1007/s10072-021-05234-x>
- Bae, Y., Lee, S., & Kim, S.-H. (2011). Chrysin suppresses mast cell-mediated allergic inflammation: Involvement of calcium, caspase-1 and nuclear factor-κB. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 254(1), 56–64. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2011.04.008>
- Bandaru, S. S., Killeen, R. B., & Gupta, V. (2024). *Poikilocytosis*.
- Banerjee, T., & Aniyery, R. B. (2017). Thalassemia and its Management during Pregnancy. *World Journal of Anemia*, 1(1), 5–17. <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10065-0002>
- Bayda, S., Adeel, M., Tuccinardi, T., Cordani, M., & Rizzolio, F. (2020). The history of nanoscience and nanotechnology: From chemical-physical applications to nanomedicine. In *Molecules* (Vol. 25, Issue 1). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/molecules25010112>

- Bhardwaj, H., & Jangde, R. K. (2023). Current updated review on preparation of polymeric nanoparticles for drug delivery and biomedical applications. *Next Nanotechnology*, 2, 100013. <https://doi.org/10.1016/j.nxnano.2023.100013>
- 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>
- Brody, T. (2016). Hematological Cancers. In *Clinical Trials* (pp. 331–376). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804217-5.00018-7>
- Brun, N., Mazerolles, L., & Pernot, M. (1991). Microstructure of opaque red glass containing copper. *Journal of Materials Science Letters*, 10(23), 1418–1420. <https://doi.org/10.1007/BF00735696>
- Caulier, A. L., & Sankaran, V. G. (2022). Molecular and cellular mechanisms that regulate human erythropoiesis. *Blood*, 139(16), 2450–2459. <https://doi.org/10.1182/blood.2021011044>
- Chandra, P. K., Soker, S., & Atala, A. (2020). Tissue engineering: current status and future perspectives. In *Principles of Tissue Engineering* (pp. 1–35). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818422-6.00004-6>
- Chasis, J. A., & Mohandas, N. (2008). Erythroblastic islands: niches for erythropoiesis. *Blood*, 112(3), 470–478. <https://doi.org/10.1182/blood-2008-03-077883>
- 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>
- Chen, L., Glass, J. J., De Rose, R., Sperling, C., Kent, S. J., Houston, Z. H., Fletcher, N. L., Rolfe, B. E., & Thurecht, K. J. (2018). Influence of Charge on Hemocompatibility and Immunoreactivity of Polymeric Nanoparticles. *ACS Applied Bio Materials*, 1(3), 756–767. <https://doi.org/10.1021/acsabm.8b00220>
- Cho, K., Wang, X., Nie, S., Chen, Z., & Shin, D. M. (2008). Therapeutic nanoparticles for drug delivery in cancer. In *Clinical Cancer Research* (Vol. 14, Issue 5, pp. 1310–1316). <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-07-1441>
- Contera, S., De La Serna, J. B., & Tetley, T. D. (2021). Biotechnology, nanotechnology and medicine. In *Emerging Topics in Life Sciences* (Vol. 4, Issue 6, pp. 551–554). Portland Press Ltd. <https://doi.org/10.1042/ETLS20200350>
- Cortese-Krott, M. M. (2023). The Reactive Species Interactome in Red Blood Cells: Oxidants, Antioxidants, and Molecular Targets. *Antioxidants*, 12(9), 1736. <https://doi.org/10.3390/antiox12091736>
- Cui, J., Li, Y., Zhang, W., Qian, H., Zhang, Z., & Xu, K. (2022). Alginic acid induces oxidative stress-mediated hormone secretion disorder, apoptosis and autophagy in mouse granulosa cells and ovaries. *Toxicology*, 467, 153099. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2022.153099>

- D'Alessandro, A., Anastasiadi, A. T., Tzounakas, V. L., Nemkov, T., Reisz, J. A., Kriebardis, A. G., Zimring, J. C., Spitalnik, S. L., & Busch, M. P. (2023). Red Blood Cell Metabolism In Vivo and In Vitro. *Metabolites*, *13*(7), 793. <https://doi.org/10.3390/metabo13070793>
- Darbasizadeh, B., Feyzi-barnaji, B., & Naderi, N. (2022). Toxicity and biocompatibility of nanomaterials: In vivo studies. In *Emerging Nanomaterials and Nano-based Drug Delivery Approaches to Combat Antimicrobial Resistance* (pp. 701–732). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-90792-7.00014-2>
- De Jong, W. H., & Borm, P. J. (2008). Drug delivery and nanoparticles: Applications and hazards. In *International Journal of Nanomedicine* (Vol. 3, Issue 2).
- De La Harpe, K. M., Kondiah, P. P. D., Choonara, Y. E., Marimuthu, T., Du Toit, L. C., & Pillay, V. (2019). The hemocompatibility of nanoparticles: A review of cell-nanoparticle interactions and hemostasis. In *Cells* (Vol. 8, Issue 10). MDPI. <https://doi.org/10.3390/cells8101209>
- de Oliveira, S., & Saldanha, C. (2010). An overview about erythrocyte membrane. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, *44*(1), 63–74. <https://doi.org/10.3233/CH-2010-1253>
- Dhaliwal, G., Cornett, P. A., & Tierney, L. M. (2004). Hemolytic anemia. *American Family Physician*, *69*(11), 2599–2606.
- Dhanasekaran, V., Nair, S. C., Geevar, T., Singh, S., & Mammen, J. J. (2023). Utility of Cryohemolysis Test in the Diagnosis of Hereditary Spherocytosis. *Indian Journal of Hematology and Blood Transfusion*, *39*(3), 499–502. <https://doi.org/10.1007/s12288-022-01615-0>
- Dodero, A., Alberti, S., Gaggero, G., Ferretti, M., Botter, R., Vicini, S., & Castellano, M. (2021). An Up-to-Date Review on Alginate Nanoparticles and Nanofibers for Biomedical and Pharmaceutical Applications. In *Advanced Materials Interfaces* (Vol. 8, Issue 22). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1002/admi.202100809>
- Duan, L., Li, X., Ji, R., Hao, Z., Kong, M., Wen, X., Guan, F., & Ma, S. (2023). Nanoparticle-Based Drug Delivery Systems: An Inspiring Therapeutic Strategy for Neurodegenerative Diseases. *Polymers*, *15*(9), 2196. <https://doi.org/10.3390/polym15092196>
- Dzierzak, E., & Philipsen, S. (2013). Erythropoiesis: Development and Differentiation. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, *3*(4), a011601–a011601. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a011601>
- Eatemadi, A., Daraee, H., Aiyelabegan, H. T., Negahdari, B., Rajeian, B., & Zarghami, N. (2016). Synthesis and Characterization of Chrysin-loaded PCL-PEG-PCL nanoparticle and its effect on breast cancer cell line. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, *84*, 1915–1922. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2016.10.095>
- Fan, Y., Chen, L., Zheng, Y., Li, A., Lin, H., & Gao, J. (2023). Nanoparticle-Based Activatable MRI Probes for Disease Imaging and Monitoring. *Chemical & Biomedical Imaging*, *1*(3), 192–204. <https://doi.org/10.1021/cbmi.3c00024>
- Farkhondeh, T., Samarghandian, S., & Bafandeh, F. (2019). The Cardiovascular Protective Effects of Chrysin: A Narrative Review on Experimental Researches. *Cardiovascular &*

- Hematological Agents in Medicinal Chemistry*, 17(1), 17–27.
<https://doi.org/10.2174/1871525717666190114145137>
- 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>
- Freestone, I., Meeks, N., Sax, M., & Higgitt, C. (2007). The Lycurgus Cup — A Roman nanotechnology. *Gold Bulletin*, 40(4), 270–277. <https://doi.org/10.1007/BF03215599>
- Gajecki, D., Gawryś, J., Szahidewicz-Krupska, E., & Doroszko, A. (2022). Role of Erythrocytes in Nitric Oxide Metabolism and Paracrine Regulation of Endothelial Function. *Antioxidants*, 11(5), 943. <https://doi.org/10.3390/antiox11050943>
- Gallagher, P. G. (2012). Hemolytic Anemias. In *Goldman's Cecil Medicine* (pp. e25–e33). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4377-1604-7.00555-8>
- Ginzburg, Y., An, X., Rivella, S., & Goldfarb, A. (2023). Normal and dysregulated crosstalk between iron metabolism and erythropoiesis. *ELife*, 12.
<https://doi.org/10.7554/eLife.90189>
- Gregg, X., Agarwal, A., & Prchal, J. T. (2019). Congenital Hemolytic Anemias. In *Concise Guide to Hematology* (pp. 59–66). Springer International Publishing.
https://doi.org/10.1007/978-3-319-97873-4_8
- Guo, X., Wang, Y., Qin, Y., Shen, P., & Peng, Q. (2020). Structures, properties and application of alginate acid: A review. In *International Journal of Biological Macromolecules* (Vol. 162, pp. 618–628). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.06.180>
- Gupta, A., Mumtaz, S., Li, C.-H., Hussain, I., & Rotello, V. M. (2019). Combatting antibiotic-resistant bacteria using nanomaterials. *Chemical Society Reviews*, 48(2), 415–427.
<https://doi.org/10.1039/C7CS00748E>
- Hasnain, M. S., Nayak, A. K., Kurakula, M., & Hoda, M. N. (2020). Alginate nanoparticles in drug delivery. In *Alginates in Drug Delivery* (pp. 129–152). Elsevier.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817640-5.00006-6>
- Heireman, L., Van Geel, P., Musger, L., Heylen, E., Uyttenbroeck, W., & Mahieu, B. (2017). Causes, consequences and management of sample hemolysis in the clinical laboratory. *Clinical Biochemistry*, 50(18), 1317–1322.
<https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2017.09.013>
- Hetta, H. F., Ramadan, Y. N., Al-Harbi, A. I., Ahmed, E., Battah, B., Abd Allah, N. H., Zanetti, S., & Donadu, M. G. (2023). Nanotechnology as a Promising Approach to Combat Multidrug Resistant Bacteria: A Comprehensive Review and Future Perspectives. *Biomedicines*, 11(2), 413. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11020413>
- Himbert, S., & Rheinstädter, M. C. (2022a). Structural and mechanical properties of the red blood cell's cytoplasmic membrane seen through the lens of biophysics. *Frontiers in Physiology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fphys.2022.953257>

- Himbert, S., & Rheinstädter, M. C. (2022b). Structural and mechanical properties of the red blood cell's cytoplasmic membrane seen through the lens of biophysics. *Frontiers in Physiology*, *13*. <https://doi.org/10.3389/fphys.2022.953257>
- Holmannova, D., Borsky, P., Svadlakova, T., Borska, L., & Fiala, Z. (2022). Carbon Nanoparticles and Their Biomedical Applications. *Applied Sciences*, *12*(15), 7865. <https://doi.org/10.3390/app12157865>
- Hua, S., de Matos, M. B. C., Metselaar, J. M., & Storm, G. (2018). Current trends and challenges in the clinical translation of nanoparticulate nanomedicines: Pathways for translational development and commercialization. In *Frontiers in Pharmacology* (Vol. 9, Issue JUL). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00790>
- Jagaran, K., & Singh, M. (2021). Nanomedicine for Neurodegenerative Disorders: Focus on Alzheimer's and Parkinson's Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(16), 9082. <https://doi.org/10.3390/ijms22169082>
- Jeevanandam, J., Barhoum, A., Chan, Y. S., Dufresne, A., & Danquah, M. K. (2018). Review on nanoparticles and nanostructured materials: History, sources, toxicity and regulations. In *Beilstein Journal of Nanotechnology* (Vol. 9, Issue 1, pp. 1050–1074). Beilstein-Institut Zur Forderung der Chemischen Wissenschaften. <https://doi.org/10.3762/bjnano.9.98>
- Jiang, T., Jin, K., Liu, X., & Pang, Z. (2017). Nanoparticles for tumor targeting. In *Biopolymer-Based Composites* (pp. 221–267). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-101914-6.00008-9>
- Johnson-McDaniel, D., Barrett, C. A., Sharafi, A., & Salguero, T. T. (2013). Nanoscience of an Ancient Pigment. *Journal of the American Chemical Society*, *135*(5), 1677–1679. <https://doi.org/10.1021/ja310587c>
- Joseph, T., Kar Mahapatra, D., Esmaeili, A., Piszczyk, Ł., Hasanin, M., Kattali, M., Haponiuk, J., & Thomas, S. (2023). Nanoparticles: Taking a Unique Position in Medicine. *Nanomaterials*, *13*(3), 574. <https://doi.org/10.3390/nano13030574>
- 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>
- Ju, H., Sohn, Y., Nam, Y., & Rim, Y. A. (2024). Progresses in overcoming the limitations of in vitro erythropoiesis using human induced pluripotent stem cells. *Stem Cell Research & Therapy*, *15*(1), 142. <https://doi.org/10.1186/s13287-024-03754-9>
- Kabaso, D., Shlomovitz, R., Auth, T., Lew, V. L., & Gov, N. S. (2010). Curling and Local Shape Changes of Red Blood Cell Membranes Driven by Cytoskeletal Reorganization. *Biophysical Journal*, *99*(3), 808–816. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2010.04.067>
- Kamali, H., Nosrati, R., & Malaekheh-Nikouei, B. (2022). Nanostructures and their associated challenges for drug delivery. In *Hybrid Nanomaterials for Drug Delivery* (pp. 1–26). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85754-3.00015-0>
- Kargozar, S., & Mozafari, M. (2018). Nanotechnology and Nanomedicine: Start small, think big. *Materials Today: Proceedings*, *5*(7), 15492–15500.

- Khan, I., Saeed, K., & Khan, I. (2019). Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. In *Arabian Journal of Chemistry* (Vol. 12, Issue 7, pp. 908–931). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2017.05.011>
- Kladko, D. V., Falchevskaya, A. S., Serov, N. S., & Prilepskii, A. Y. (2021). Nanomaterial Shape Influence on Cell Behavior. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(10), 5266. <https://doi.org/10.3390/ijms22105266>
- Lachowicz, D., Karabasz, A., Bzowska, M., Szuwarzyński, M., Karewicz, A., & Nowakowska, M. (2019). Blood-compatible, stable micelles of sodium alginate – Curcumin bioconjugate for anti-cancer applications. *European Polymer Journal*, 113, 208–219. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2019.01.058>
- Lakkakula, J., Roy, A., Krishnamoorthy, K., Alghamdi, S., Almeahmadi, M., Gujarathi, P., Pansare, P., Allahyani, M., Abdulaziz, O., Velhal, K., Khatun, M. C. S., & Hossain, M. J. (2022). Alginate-Based Nanosystems for Therapeutic Applications. In *Journal of Nanomaterials* (Vol. 2022). Hindawi Limited. <https://doi.org/10.1155/2022/6182815>
- Lee, N.-Y., Ko, W.-C., & Hsueh, P.-R. (2019). Nanoparticles in the Treatment of Infections Caused by Multidrug-Resistant Organisms. *Frontiers in Pharmacology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.01153>
- Li, H., & Lykotrafitis, G. (2014). Erythrocyte Membrane Model with Explicit Description of the Lipid Bilayer and the Spectrin Network. *Biophysical Journal*, 107(3), 642–653. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2014.06.031>
- Li, N., Chen, S., Xu, K., He, M.-T., Dong, M.-Q., Zhang, Q. C., & Gao, N. (2023). Structural basis of membrane skeleton organization in red blood cells. *Cell*, 186(9), 1912–1929.e18. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2023.03.017>
- Li, X., Li, X., & Deng, L. (2022). Chrysin reduces inflammation and oxidative stress and improves ovarian function in D-gal-induced premature ovarian failure. *Bioengineered*, 13(4), 8291–8301. <https://doi.org/10.1080/21655979.2021.2005991>
- Liu, Y., & Feng, N. (2015). Nanocarriers for the delivery of active ingredients and fractions extracted from natural products used in traditional Chinese medicine (TCM). *Advances in Colloid and Interface Science*, 221, 60–76. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2015.04.006>
- Lombardi, G., Colombini, A., Lanteri, P., & Banfi, G. (2013). *Reticulocytes in Sports Medicine* (pp. 125–153). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-405211-6.00005-X>
- 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>
- Maeda, H., Ueda, M., Morinaga, T., & Matsumoto, T. (1985). Conjugation of poly(styrene-co-maleic acid) derivatives to the antitumor protein neocarzinostatin: pronounced improvements in pharmacological properties. *Journal of Medicinal Chemistry*, 28(4), 455–461. <https://doi.org/10.1021/jm00382a012>
- Maheshwari, N., Kumar Atreriya, U., Tekade, M., Sharma, M. C., Elhissi, A., & Tekade, R. K. (2019). Guiding Factors and Surface Modification Strategies for Biomaterials in Pharmaceutical Product Development. In *Biomaterials and Bionanotechnology* (pp. 57–87). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814427-5.00003-2>

- Malehmir, S., Esmaili, M. A., Khaksary Mahabady, M., Sobhani-Nasab, A., Atapour, A., Ganjali, M. R., Ghasemi, A., & Moradi Hasan-Abad, A. (2023). A review: hemocompatibility of magnetic nanoparticles and their regenerative medicine, cancer therapy, drug delivery, and bioimaging applications. In *Frontiers in Chemistry* (Vol. 11). Frontiers Media SA. <https://doi.org/10.3389/fchem.2023.1249134>
- Malik, S., Muhammad, K., & Waheed, Y. (2023). Nanotechnology: A Revolution in Modern Industry. In *Molecules* (Vol. 28, Issue 2). MDPI. <https://doi.org/10.3390/molecules28020661>
- 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>
- Mansour, A., Romani, M., Acharya, A. B., Rahman, B., Verron, E., & Badran, Z. (2023). Drug Delivery Systems in Regenerative Medicine: An Updated Review. *Pharmaceutics*, *15*(2), 695. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15020695>
- Mao, A. S., & Mooney, D. J. (2015). Regenerative medicine: Current therapies and future directions. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *112*(47), 14452–14459. <https://doi.org/10.1073/pnas.1508520112>
- Marchi, G., Bozzini, C., Bertolone, L., Dima, F., Busti, F., Castagna, A., Stranieri, C., Fratta Pasini, A. M., Friso, S., Lippi, G., Girelli, D., & Vianello, A. (2022). Red Blood Cell Morphologic Abnormalities in Patients Hospitalized for COVID-19. *Frontiers in Physiology*, *13*. <https://doi.org/10.3389/fphys.2022.932013>
- Mehnath, S., Das, A. K., Verma, S. K., & Jeyaraj, M. (2021). *Biosynthesized/green-synthesized nanomaterials as potential vehicles for delivery of antibiotics/drugs* (pp. 363–432). <https://doi.org/10.1016/bs.coac.2020.12.011>
- Mekuye, B., & Abera, B. (2023). Nanomaterials: An overview of synthesis, classification, characterization, and applications. *Nano Select*, *4*(8), 486–501. <https://doi.org/10.1002/nano.202300038>
- Mirón-Barroso, S., Domènech, E. B., & Trigueros, S. (2021). Nanotechnology-Based Strategies to Overcome Current Barriers in Gene Delivery. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(16), 8537. <https://doi.org/10.3390/ijms22168537>
- Missassi, G., dos Santos Borges, C., de Lima Rosa, J., Villela e Silva, P., da Cunha Martins, A., Barbosa, F., & De Grava Kempinas, W. (2017). Chrysin Administration Protects against Oxidative Damage in Varicocele-Induced Adult Rats. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, *2017*, 1–12. <https://doi.org/10.1155/2017/2172981>
- Mistretta, M., Farini, A., Torrente, Y., & Villa, C. (2023). Multifaceted nanoparticles: emerging mechanisms and therapies in neurodegenerative diseases. *Brain*, *146*(6), 2227–2240. <https://doi.org/10.1093/brain/awad014>
- Moghadam, E. R., Ang, H. L., Asnaf, S. E., Zabolian, A., Saleki, H., Yavari, M., Esmaeili, H., Zarrabi, A., Ashrafzadeh, M., & Kumar, A. P. (2020). Broad-Spectrum Preclinical Antitumor Activity of Chrysin: Current Trends and Future Perspectives. *Biomolecules*, *10*(10), 1374. <https://doi.org/10.3390/biom10101374>

- Mohandas, N., & Gallagher, P. G. (2008). Red cell membrane: past, present, and future. *Blood*, *112*(10), 3939–3948. <https://doi.org/10.1182/blood-2008-07-161166>
- Mørup, S., Frandsen, C., & Hansen, M. F. (2017). *Magnetic properties of nanoparticles* (A. V. Narlikar & Y. Y. Fu, Eds.; Vol. 1). Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/oxfordhb/9780199533053.013.20>
- Murray, C. J. L., Ikuta, K. S., Sharara, F., Swetschinski, L., Robles Aguilar, G., Gray, A., Han, C., Bisignano, C., Rao, P., Wool, E., Johnson, S. C., Browne, A. J., Chipeta, M. G., Fell, F., Hackett, S., Haines-Woodhouse, G., Kashef Hamadani, B. H., Kumaran, E. A. P., McManigal, B., ... Naghavi, M. (2022). Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *The Lancet*, *399*(10325), 629–655. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)02724-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02724-0)
- Nandakumar, S. K., Ulirsch, J. C., & Sankaran, V. G. (2016). Advances in understanding erythropoiesis: evolving perspectives. *British Journal of Haematology*, *173*(2), 206–218. <https://doi.org/10.1111/bjh.13938>
- Narum, S. M., Le, T., Le, D. P., Lee, J. C., Donahue, N. D., Yang, W., & Wilhelm, S. (2020). Passive targeting in nanomedicine: fundamental concepts, body interactions, and clinical potential. In *Nanoparticles for Biomedical Applications* (pp. 37–53). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816662-8.00004-7>
- National Nanotechnology Initiative - About Nanotechnology*. (n.d.).
- Naz, S., Imran, M., Rauf, A., Orhan, I. E., Shariati, M. A., 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>
- Nigra, A. D., Casale, C. H., & Santander, V. S. (2020). Human erythrocytes: cytoskeleton and its origin. *Cellular and Molecular Life Sciences*, *77*(9), 1681–1694. <https://doi.org/10.1007/s00018-019-03346-4>
- Ningthoujam, S. S. (2022). Preclinical, clinical, and patented nanodrug delivery systems. In *Advances in Nanotechnology-Based Drug Delivery Systems* (pp. 343–398). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-88450-1.00003-X>
- Pechlivanidou, M., Xenou, K., Tzanetakos, D., Koutsos, E., Stergiou, C., Andreadou, E., Voumvourakis, K., Giannopoulos, S., Kilidireas, C., Tüzün, E., Tsivgoulis, G., Tzartos, S., & Tzartos, J. (2023). Potential Role of Antibodies against Aquaporin-1 in Patients with Central Nervous System Demyelination. *International Journal of Molecular Sciences*, *24*(16), 12982. <https://doi.org/10.3390/ijms241612982>
- Peltonen, L., Singhal, M., & Hirvonen, J. (2020). Principles of nanosized drug delivery systems. In *Nanoengineered Biomaterials for Advanced Drug Delivery* (pp. 3–25). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102985-5.00001-2>
- Peter Klinken, S. (2002). Red Blood Cells. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, *34*(12), 1513–1518. [https://doi.org/10.1016/S1357-2725\(02\)00087-0](https://doi.org/10.1016/S1357-2725(02)00087-0)
- Piaton, E., Fabre, M., Goubin-Versini, I., Bretz-Grenier, M.-F., Courtade-Saïdi, M., Vincent, S., Belleannée, G., Thivolet, F., Boutonnat, J., Debaque, H., Fleury-Feith, J., Vielh, P.,

- Cochand-Priollet, B., Egelé, C., Bellocq, J.-P., & Michiels, J.-F. (2015). Recommandations techniques et règles de bonne pratique pour la coloration de May-Grünwald-Giemsa : revue de la littérature et apport de l'assurance qualité. *Annales de Pathologie*, 35(4), 294–305. <https://doi.org/10.1016/j.annpat.2015.05.019>
- Piña-Sánchez, P., Chávez-González, A., Ruiz-Tachiquín, M., Vadillo, E., Monroy-García, A., Montesinos, J. J., Grajales, R., Gutiérrez de la Barrera, M., & Mayani, H. (2021). Cancer Biology, Epidemiology, and Treatment in the 21st Century: Current Status and Future Challenges From a Biomedical Perspective. *Cancer Control*, 28, 107327482110387. <https://doi.org/10.1177/1073274821103875>
- Pratap, D., & Soni, S. (2021). Review on the Optical Properties of Nanoparticle Aggregates Towards the Therapeutic Applications. *Plasmonics*, 16(5), 1495–1513. <https://doi.org/10.1007/s11468-021-01443-4>
- 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>
- Ragab, E. M., El Gamal, D. M., Mohamed, T. M., & Khamis, A. A. (2022). Therapeutic potential of chrysin nanoparticle-mediation inhibition of succinate dehydrogenase and ubiquinone oxidoreductase in pancreatic and lung adenocarcinoma. *European Journal of Medical Research*, 27(1), 172. <https://doi.org/10.1186/s40001-022-00803-y>
- Rajapaksha, W., Nicholas, I. H. W., Thoradeniya, T., Karunaratne, D. N., & Karunaratne, V. (2024). Novel alginate nanoparticles for the simultaneous delivery of iron and folate: a potential nano-drug delivery system for anaemic patients. *RSC Pharmaceutics*, 1(2), 259–271. <https://doi.org/10.1039/D3PM00068K>
- Rambaran, T., & Schirhagl, R. (2022). Nanotechnology from lab to industry – a look at current trends. *Nanoscale Advances*, 4(18), 3664–3675. <https://doi.org/10.1039/D2NA00439A>
- Rieger, M. A., & Schroeder, T. (2012). Hematopoiesis. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 4(12), a008250–a008250. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a008250>
- Rinaudo, M. (2008). Main properties and current applications of some polysaccharides as biomaterials. *Polymer International*, 57(3), 397–430. <https://doi.org/10.1002/pi.2378>
- Risinger, M., & Kalfa, T. A. (2020). Red cell membrane disorders: structure meets function. *Blood*, 136(11), 1250–1261. <https://doi.org/10.1182/blood.2019000946>
- Rodríguez-Landa, J. F., German-Ponciano, L. J., Puga-Olguín, A., & Olmos-Vázquez, O. J. (2022). Pharmacological, Neurochemical, and Behavioral Mechanisms Underlying the Anxiolytic- and Antidepressant-like Effects of Flavonoid Chrysin. *Molecules*, 27(11), 3551. <https://doi.org/10.3390/molecules27113551>
- Samson Adewoyin, A., Adeyemi, O., Omolola Davies, N., & Abiola Ogbenna, A. (2019). Erythrocyte Morphology and Its Disorders. In *Erythrocyte*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.86112>
- Sandhu, A. (2006). Who invented nano? *Nature Nanotechnology*, 1(2), 87–87. <https://doi.org/10.1038/nnano.2006.115>

- Secord, E., & Hartog, N. L. (2022). Review of Treatment for Adenosine Deaminase Deficiency (ADA) Severe Combined Immunodeficiency (SCID). *Therapeutics and Clinical Risk Management, Volume 18*, 939–944. <https://doi.org/10.2147/TCRM.S350762>
- Setty, B. N. Y., Kulkarni, S., & Stuart, M. J. (2002). Role of erythrocyte phosphatidylserine in sickle red cell–endothelial adhesion. *Blood, 99*(5), 1564–1571. <https://doi.org/10.1182/blood.V99.5.1564>
- 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>
- Shah, M. R., Imran, M., & Ullah, S. (2022). Nanocarriers in drug delivery: Classification, properties, and targeted drug delivery applications. In *Nanocarriers for Organ-Specific and Localized Drug Delivery* (pp. 1–23). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821093-2.00004-9>
- Shah, P. R., Grewal, U. S., & Hamad, H. (2024). *Acanthocytosis*.
- Sharma, S., Parveen, R., & Chatterji, B. P. (2021). Toxicology of Nanoparticles in Drug Delivery. In *Current Pathobiology Reports* (Vol. 9, Issue 4, pp. 133–144). Springer. <https://doi.org/10.1007/s40139-021-00227-z>
- Sim, S., & Wong, N. K. (2021). Nanotechnology and its use in imaging and drug delivery (Review). *Biomedical Reports, 14*(5). <https://doi.org/10.3892/br.2021.1418>
- Sindhvani, S., & Chan, W. C. W. (2021). Nanotechnology for modern medicine: next step towards clinical translation. In *Journal of Internal Medicine* (Vol. 290, Issue 3, pp. 486–498). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1111/joim.13254>
- Stevens-Hernandez, C. J., & Bruce, L. J. (2022). Reticulocyte Maturation. *Membranes, 12*(3), 311. <https://doi.org/10.3390/membranes12030311>
- Tang, P., & Wang, H. (2023). Regulation of erythropoiesis: emerging concepts and therapeutic implications. *Hematology, 28*(1). <https://doi.org/10.1080/16078454.2023.2250645>
- Tian, Y., Tian, Z., Dong, Y., Wang, X., & Zhan, L. (2021a). Current advances in nanomaterials affecting morphology, structure, and function of erythrocytes. In *RSC Advances* (Vol. 11, Issue 12, pp. 6958–6971). Royal Society of Chemistry. <https://doi.org/10.1039/d0ra10124a>
- Tian, Y., Tian, Z., Dong, Y., Wang, X., & Zhan, L. (2021b). Current advances in nanomaterials affecting morphology, structure, and function of erythrocytes. *RSC Advances, 11*(12), 6958–6971. <https://doi.org/10.1039/D0RA10124A>
- Tomaiuolo, G. (2014). Biomechanical properties of red blood cells in health and disease towards microfluidics. *Biomicrofluidics, 8*(5). <https://doi.org/10.1063/1.4895755>
- Ujjwal, R. R., Maharana, S. K., Handa, M., & Krishna, S. T. V. S. (2022). Potential of nanoparticles as novel therapeutics against Alzheimer’s disease. In *Nanomaterial Drug Delivery for Neurodegenerative Diseases* (pp. 99–117). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85544-0.00015-0>

- Ventola, C. L. (2015). The antibiotic resistance crisis: part 1: causes and threats. *P & T : A Peer-Reviewed Journal for Formulary Management*, 40(4), 277–283.
- Walski, T., Chludzińska, L., Komorowska, M., & Witkiewicz, W. (2014). Individual Osmotic Fragility Distribution: A New Parameter for Determination of the Osmotic Properties of Human Red Blood Cells. *BioMed Research International*, 2014, 1–6. <https://doi.org/10.1155/2014/162102>
- Walter, P., Welcomme, E., Hallégot, P., Zaluzec, N. J., Deeb, C., Castaing, J., Veyssiére, P., Bréniiaux, R., Lévêque, J.-L., & Tsoucaris, G. (2006). Early Use of PbS Nanotechnology for an Ancient Hair Dyeing Formula. *Nano Letters*, 6(10), 2215–2219. <https://doi.org/10.1021/nl061493u>
- Wolfram, J., Zhu, M., Yang, Y., Shen, J., Gentile, E., Paolino, D., Fresta, M., Nie, G., Chen, C., Shen, H., Ferrari, M., & Zhao, Y. (2015). Safety of nanoparticles in medicine. In *Curr Drug Targets* (Vol. 16, Issue 14).
- Wu J. (2021). *The Enhanced Permeability and Retention (EPR) Effect: The Significance of the Concept and Methods to Enhance Its Application*.
- Xiangjun Hana, Ke Xua, Olena Taratulab, & Khashayar Farsadc. (2019). Applications of Nanoparticles in Biomedical Imaging. *Nanoscale*, 11(3), 799–819.
- Yadav, H. K. S., Almokdad, A. A., shaluf, S. I. M., & Debe, M. S. (2019). Polymer-Based Nanomaterials for Drug-Delivery Carriers. In *Nanocarriers for Drug Delivery* (pp. 531–556). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814033-8.00017-5>
- Yadav, S., & Maurya, P. K. (2022). Recent advances in the protective role of metallic nanoparticles in red blood cells. *3 Biotech*, 12(1), 28. <https://doi.org/10.1007/s13205-021-03087-x>
- Yedgar, S., Barshtein, G., & Gural, A. (2022). Hemolytic Activity of Nanoparticles as a Marker of Their Hemocompatibility. In *Micromachines* (Vol. 13, Issue 12). MDPI. <https://doi.org/10.3390/mi13122091>
- Yeo, J. H., Lam, Y. W., & Fraser, S. T. (2019). Cellular dynamics of mammalian red blood cell production in the erythroblastic island niche. *Biophysical Reviews*, 11(6), 873–894. <https://doi.org/10.1007/s12551-019-00579-2>
- Yusuf, A., Almotairy, A. R. Z., Henidi, H., Alshehri, O. Y., & Aldughaim, M. S. (2023). Nanoparticles as Drug Delivery Systems: A Review of the Implication of Nanoparticles' Physicochemical Properties on Responses in Biological Systems. In *Polymers* (Vol. 15, Issue 7). MDPI. <https://doi.org/10.3390/polym15071596>
- Zahin, N., Anwar, R., Tewari, D., Kabir, M. T., Sajid, A., Mathew, B., Uddin, M. 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>
- Zarzecki, M. S., Araujo, S. M., Bortolotto, V. C., de Paula, M. T., Jesse, C. R., & Prigol, M. (2014). Hypolipidemic action of chrysin on Triton WR-1339-induced hyperlipidemia in female C57BL/6 mice. *Toxicology Reports*, 1, 200–208. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2014.02.003>

- Zielińska, A., Carreiró, F., Oliveira, A. M., Neves, A., Pires, B., Venkatesh, D. N., Durazzo, A., Lucarini, M., Eder, P., Silva, A. M., Santini, A., & Souto, E. B. (2020). Polymeric Nanoparticles: Production, Characterization, Toxicology and Ecotoxicology. *Molecules*, 25(16), 3731. <https://doi.org/10.3390/molecules25163731>
- Zivot, A., Lipton, J. M., Narla, A., & Blanc, L. (2018). Erythropoiesis: insights into pathophysiology and treatments in 2017. *Molecular Medicine*, 24(1), 11. <https://doi.org/10.1186/s10020-018-0011-z>