



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**

**ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ**

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ**

**ΜΑΣΤΟΡΑΚΗΣ ΠΑΝΑΓΙΩΤΗΣ ΤΟΥ ΜΙΧΑΗΛ**

# **ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ**

**ΜΟΡΙΑΚΗ ΓΕΝΕΤΙΚΗ**

**ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ**

**ΛΑΡΙΣΑ 2025**

**Ανάπτυξη καινοτόμων ινωδών μεμβρανών  
βιοαποικοδομήσιμου πολυμερούς με  
ενθυλάκωση ρητίνης από *Pistacia  
lentiscus var. chia* (Μαστίχα Χίου)**

**Development of innovative fibrous  
membranes formed by biodegradable  
polymer and encapsulated resin of *Pistacia  
lentiscus var. chia* (Chios Mastic Gum)**

**ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

**ΜΑΡΡΑΣ ΣΩΤΗΡΙΟΣ**, ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟ ΔΙΔΑΚΤΙΚΟ ΠΡΟΣΩΠΙΚΟ, ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΔΟΜΙΚΗΣ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΗΣ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ, ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ, ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ (ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ)

**ΨΑΡΡΑ ΑΝΝΑ-ΜΑΡΙΑ**, ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΡΙΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ, ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΔΟΜΙΚΗΣ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΗΣ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ, ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ, ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

**ΤΣΙΒΙΝΤΖΕΛΗΣ ΙΩΑΝΝΗΣ**, ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΗΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ, ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΕΙΑΣ, ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ, ΑΡΙΣΤΟΤΕΛΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η Μαστίχα Χίου (CMG) αποτελεί την αρωματική ρητίνη που παράγεται από τα μαστιχόδεντρα (*Pistacia lentiscus* var. *Chia*) και αξιοποιείται σε πολλαπλούς τομείς για περισσότερες από 2,5 χιλιετίες. Πρόσφατες μελέτες έχουν αναδείξει τις ποικίλες ευεργετικές βιολογικές δράσεις, τόσο της ρητίνης, όσο και παραγώγων της, αυξάνοντας το ενδιαφέρον για την αξιοποίησή της σε ιατροφαρμακευτικά προϊόντα. Η ηλεκτροστατική ινοποίηση συνιστά μια απλή και οικονομική μέθοδο για την ανάπτυξη καινοτόμων προϊόντων και επιτρέπει την ενθυλάκωση ουσιών με διάφορες δράσεις. Μέσω αυτής της τεχνικής παράγονται μεμβράνες, οι οποίες αποτελούνται από ίνες πολυμερούς ιδιαίτερα μικρής διαμέτρου και διακρίνονται από υψηλό πορώδες και αναλογία επιφάνειας-όγκου. Τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά τους επιτρέπουν τη χρήση τους σε πληθώρα εφαρμογών, που εκτείνονται από την περιβαλλοντική προστασία, την ενέργεια και τη σύνθεση υφασμάτων, έως την επούλωση πληγών, την ιστομηχανική και την στοχευμένη και ελεγχόμενη χορήγηση φαρμάκων. Στην παρούσα εργασία διάφορες συγκεντρώσεις Μαστίχας Χίου ενθυλακώθηκαν με επιτυχία σε ίνες του βιοαποικοδομήσιμου και βιοσυμβατού πολυμερούς πολυε-καπρολακτόνη (PCL) με τη μέθοδο της ηλεκτροστατικής ινοποίησης, με στόχο την ανάπτυξη νέων ιατροτεχνολογικών προϊόντων με πιθανές φαρμακευτικές, βιοϊατρικές και καλλυντικοτεχνικές εφαρμογές. Το ακριβές ποσοστό ενθυλάκωσης εξετάστηκε με φασματοφωτομετρία υπεριώδους-ορατού και προέκυψε ότι επιτεύχθηκε υψηλός βαθμός ενθυλάκωσης ( $\approx 87\text{-}88\%$ ). Έλεγχος της μορφολογίας των ινών με ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης (SEM) έδειξε ότι η αύξηση του ποσοστού της ρητίνης έχει ως αποτέλεσμα τη μικρή αύξηση της διαμέτρου των ινών. Η θερμική συμπεριφορά των σύνθετων ινωδών μεμβρανών που παρασκευάστηκαν εξετάστηκε μέσω θερμοσταθμικής ανάλυσης (TGA) και διαφορικής θερμιδομετρίας σάρωσης (DSC). Προέκυψε ότι η ενσωμάτωση της ρητίνης δεν διαφοροποιεί σημαντικά τα θερμικά χαρακτηριστικά του πολυμερούς, γεγονός που υποδηλώνει την έλλειψη ισχυρής αλληλεπίδρασης μεταξύ των δύο συστατικών, επομένως δεν αναμένεται να επηρεαστεί η βιοδραστικότητα της μαστίχας. Η κυτταροτοξικότητα των ινών ελέγχθηκε με τη δοκιμασία MTT σε ανθρώπινα εμβρυικά κύτταρα νεφρού HEK-293 και σε κύτταρα ανθρώπινου ηπατοκαρκινώματος HepG2. Παρατηρήθηκε ότι υψηλές συγκεντρώσεις μαστίχας περιορίζουν την ανάπτυξη των κυττάρων HEK293, ενώ ανάλογα ήταν τα αποτελέσματα για την καρκινική σειρά, όπου η κυτταρική βιωσιμότητα εμφανίζεται αντιστρόφως ανάλογη της συγκέντρωσης της μαστίχας.

## Λέξεις-Κλειδιά:

Ηλεκτροστατική ινοποίηση, Μαστίχα Χίου, Ενθυλάκωση, Ινώδεις Μεμβράνες, Αντικαρκινικές ιδιότητες

## ABSTRACT

Chios Mastic Gum (CMG) is the aromatic resin produced by mastiha trees (*Pistacia lentiscus* var. *Chia*) that has been utilized in multiple fields for more than 2.500 years. Recent studies have demonstrated the various biological activities of both the resin and its products, raising interest in its potential utilization in healthcare products. Electrospinning is a simple and economic technique for producing innovative products, by encapsulating compounds with various properties. As a result, ultrathin fibers are produced and form a porous membrane with high surface area-to-volume ratio. These unique properties are the reason electrospun membranes are used in numerous fields, ranging from environment and sustainability, energy and fabric production to wound healing, tissue engineering and drug delivery. In this study, various quantities of CMG were successfully encapsulated in electrospun fibers of the biodegradable and biocompatible polymer poly- $\epsilon$ -caprolactone (PCL), in order to develop new medical devices with potential biomedical, pharmaceutical and cosmetics applications. The exact percentage of encapsulation was investigated through UV-Vis spectroscopy and the results indicate a very high encapsulation efficiency ( $\approx 87$ -88%). The analysis of fibers' morphology through scanning electron microscope (SEM) showed that increment of CMG concentration led to a small increase of fiber diameter. Studies of the thermal behavior of the electrospun membranes were conducted through thermogravimetric analysis (TGA) and differential scanning calorimetry (DSC). It was evident that the encapsulation of the resin didn't affect significantly the thermal characteristics of the polymer, which indicates that there are no strong interactions between the membrane contents. As a result, no significant effect on mastic gum's bioactivity is expected. The cytotoxicity of the fibers was assessed through MTT assay on Human embryonic kidney 293 cells (HEK293) and human liver cancer cell line HepG2. Higher concentrations of mastic gum limited the proliferation of HEK293 cells. Similar results were observed in HepG2 cells, in which the cell viability was inversely proportional to mastic gum concentration.

### Keywords:

Electrospinning, Chios Mastic Gum (CMG), Encapsulation, Fibrous Membranes, Anticancer properties

## ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

|                                                               |    |
|---------------------------------------------------------------|----|
| ΠΕΡΙΛΗΨΗ .....                                                | 4  |
| ABSTRACT .....                                                | 5  |
| 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ .....                                             | 9  |
| 1.1 Μαστίχα .....                                             | 9  |
| 1.2 Ευρείες εφαρμογές μαστίχας .....                          | 10 |
| 1.3 Βιολογικές εφαρμογές μαστίχας.....                        | 10 |
| 1.3.1 Αντιβακτηριακές και Αντιμυκητιακές δράσεις .....        | 11 |
| 1.3.2 Αντιοξειδωτικές δράσεις .....                           | 11 |
| 1.3.3 Αντιφλεγμονώδεις δράσεις .....                          | 12 |
| 1.3.4 Καρδιοπροστατευτικές δράσεις.....                       | 14 |
| 1.3.5 Αντι-υπερλιπιδαιμικές και αντιδιαβητικές δράσεις .....  | 14 |
| 1.3.6 Αντικαρκινικές και αντι-πολλαπλασιαστικές δράσεις ..... | 15 |
| 1.3.7 Δράση μαστίχας ενάντια σε δερματικές παθήσεις .....     | 15 |
| 1.4 Ενθυλάκωση .....                                          | 16 |
| 1.4.1 Ενθυλάκωση ουσιών σε πολυμερή .....                     | 16 |
| 1.4.2 Ενθυλάκωση μαστίχας και παραγώγων της .....             | 16 |
| 1.5 Πολυ-ε-καπρολακτόνη (PCL) .....                           | 16 |
| 1.6 Σκοπός .....                                              | 17 |
| 2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ .....                                    | 18 |
| 2.1 Υλικά .....                                               | 18 |
| 2.1.1 Οργανολογία .....                                       | 18 |
| 2.1.2 Αντιδρασθήρια .....                                     | 18 |
| 2.1.3 Αναλώσιμα .....                                         | 19 |
| 2.2 Μέθοδοι .....                                             | 19 |
| 2.2.1 Ηλεκτροστατική ινοποίηση (Electrospinning) .....        | 19 |
| 2.2.2 Ηλεκτρονιακή μικροσκοπία σάρωσης.....                   | 22 |
| 2.2.3 Έλεγχος ποσοστού ενθυλακωμένης ουσίας.....              | 24 |
| 2.2.4 Αναλύσεις θερμικής συμπεριφοράς .....                   | 24 |
| 2.2.4.1 Θερμοσταθμική ανάλυση (TGA) .....                     | 24 |
| 2.2.4.2 Διαφορική θερμιδομετρία σάρωσης (DSC) .....           | 24 |
| 2.2.5 Τεχνικές κυτταροκαλλιέργειών.....                       | 25 |
| 2.2.5.1 Κυτταρική σειρά HEK293 .....                          | 25 |
| 2.2.5.2 Κυτταρική σειρά HepG2 .....                           | 25 |
| 2.2.5.3 Δημιουργία θρεπτικού μέσου.....                       | 25 |
| 2.2.5.4 Απόψυξη Κυττάρων .....                                | 25 |
| 2.2.5.5 Θρυψινοποίηση κυττάρων.....                           | 26 |

|                                                                                |    |
|--------------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.2.5.6 Ανακαλλιέργεια .....                                                   | 26 |
| 2.2.5.7 Ψύξη κυττάρων .....                                                    | 27 |
| 2.2.5.8 Μέτρηση και Στρώσιμο κυττάρων .....                                    | 27 |
| 2.2.6 Δοκιμασία MTT για τον προσδιορισμό της κυτταροτοξικότητας.....           | 28 |
| 3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....                                                  | 29 |
| 3.1 Παραγωγή σύνθετων μεμβρανών PCL/μαστίχας.....                              | 29 |
| 3.2 Ανάλυση μορφολογίας ινών με ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης (SEM) .....    | 29 |
| 3.3 Έλεγχος του ποσοστού ενθυλακωμένης μαστίχας.....                           | 31 |
| 3.4 Ανάλυση θερμικής συμπεριφοράς ινωδών μεμβρανών .....                       | 32 |
| 3.4.1 Αποτελέσματα θερμοσταθμικής ανάλυσης (TGA) .....                         | 32 |
| 3.4.2 Αποτελέσματα διαφορικής θερμιδομετρίας σάρωσης (DSC) .....               | 34 |
| 3.5 Προσδιορισμός βιοσυμβατότητας ινωδών μεμβρανών με κύτταρα HEK293 .....     | 35 |
| 3.6 Προσδιορισμός αντικαρκινικής δράσης ινωδών μεμβρανών σε κύτταρα HepG2..... | 36 |
| 4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ .....                                                          | 37 |
| 5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....                                                          | 38 |
| ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ .....                                                              | 42 |

## ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ ΓΙΑ ΠΙΝΑΚΕΣ

|                                                                                               |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Πίνακας 1. Οργανολογία.....                                                                   | 18 |
| Πίνακας 2. Αντιδραστήρια .....                                                                | 18 |
| Πίνακας 3. Αναλώσιμα .....                                                                    | 19 |
| Πίνακας 4. Αποτελεσματικότητα ενθυλάκωσης και πραγματικό ποσοστό ενθυλακωμένης μαστίχας ..... | 32 |

## ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ ΓΙΑ ΕΙΚΟΝΕΣ

|                                                                                                    |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Εικόνα 1. Μαστιχόδενδρα στην νότια Χίο. ....                                                       | 9  |
| Εικόνα 2. Δάκρια μαστίχας. ....                                                                    | 9  |
| Εικόνα 3. Δομή πολύ-ε-καπρολακτόνης (PCL). ....                                                    | 17 |
| Εικόνα 4. Σχηματική απεικόνιση των δυνάμεων που συμμετέχουν στον σχηματισμό του κώνου Taylor ..... | 20 |
| Εικόνα 5. Σχηματισμός κώνου Taylor (Khalil et al., 2013). ....                                     | 20 |
| Εικόνα 6. Σχηματική απεικόνιση διάταξης συστήματος ηλεκτροστατικής ισοποίησης. ....                | 21 |
| Εικόνα 7. Σχηματική απεικόνιση ηλεκτρονικού μικροσκοπίου σάρωσης.....                              | 23 |
| Εικόνα 8. Μορφολογία ινών καθαρής PCL.....                                                         | 30 |

|                                                                                                                                                                                        |           |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Εικόνα 9. Μορφολογία ινών δείγματος PCL/3,5CMG. ....</b>                                                                                                                            | <b>30</b> |
| <b>Εικόνα 10. Μορφολογία ινών δείγματος PCL/6,5CMG. ....</b>                                                                                                                           | <b>30</b> |
| <b>Εικόνα 11. Μορφολογία ινών δείγματος PCL/10CMG. ....</b>                                                                                                                            | <b>30</b> |
| <b>Εικόνα 12. Επίδραση της συγκέντρωσης της ενθυλακωμένης μαστίχας στη<br/>διάμετρο των ινών. ....</b>                                                                                 | <b>31</b> |
| <b>Εικόνα 13. Πρότυπη καμπύλη απορρόφησης μαστίχας.....</b>                                                                                                                            | <b>31</b> |
| <b>Εικόνα 14. Επίδραση της συγκέντρωσης της μαστίχας στη θερμική<br/>σταθερότητα των ινωδών μεμβρανών (TGA).....</b>                                                                   | <b>33</b> |
| <b>Εικόνα 15. Θερμογράφημα θερμοσταθμικής ανάλυσης (TGA) καθαρής μαστίχας<br/>.....</b>                                                                                                | <b>33</b> |
| <b>Εικόνα 16. Επίδραση της συγκέντρωσης της μαστίχας στα θερμικά<br/>χαρακτηριστικά των ινωδών μεμβρανών, τα οποία διερευνήθηκαν με<br/>διαφορική θερμιδομετρία σάρωσης (DSC).....</b> | <b>34</b> |
| <b>Εικόνα 17. Αποτελέσματα κυτταροτοξικότητας μεμβρανών PCL/μαστίχας σε<br/>κυτταρική σειρά HEK293. ....</b>                                                                           | <b>35</b> |
| <b>Εικόνα 18. Αποτελέσματα κυτταροτοξικότητας μεμβρανών PCL/μαστίχας στην<br/>καρκινική κυτταρική σειρά HepG2. ....</b>                                                                | <b>36</b> |



# 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

## 1.1 Μαστίχα

Η μαστίχα είναι η αρωματική ρητίνη που παράγεται από τα μαστιχόδενδρα (*Pistacia lentiscus* var. *Chia*), τα οποία ανήκουν στην οικογένεια *Anacardiaceae*. Παρ' όλο που τα μαστιχόδενδρα αναπτύσσονται στην ευρύτερη περιοχή της Μεσογείου, η ρητίνη καλλιεργείται αποκλειστικά στο νησί της Χίου, και μάλιστα μόνο στο νότιο τμήμα του νησιού. Τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά και η οικονομική αξία της μαστίχας οδήγησαν σε προσπάθειες καλλιέργειάς της σε διαφορετικές περιοχές, οι οποίες, ωστόσο, ήταν αναποτελεσματικές. Το 1997, το αιθέριο έλαιο της μαστίχας αναγνωρίστηκε ως προϊόν Προστατευόμενης Ονομασίας Προέλευσης (Π.Ο.Π.) από την Ευρωπαϊκή Ένωση (European Commission, 1997), ενώ το 2014, οι παραδοσιακές μέθοδοι για την καλλιέργεια και τη συλλογή της μαστίχας εισήχθησαν στον Αντιπροσωπευτικό Κατάλογο Στοιχείων της Άυλης Πολιτιστικής Κληρονομιάς της UNESCO (Unesco, 2014).



**Εικόνα 1.** Μαστιχόδενδρα στην νότια Χίο. Η λευκή σκόνη κάτω από το δένδρο είναι ανθρακικό ασβέστιο, το οποίο βελτιώνει τα ποιοτικά χαρακτηριστικά της μαστίχας.



**Εικόνα 2.** Δάκρια μαστίχας. Απελευθερώνονται από το δένδρο, έπειτα από δημιουργία τομών 10-15 mm και βάθους 2-3 mm.

Εκτός από τη ρητίνη, ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν και ορισμένα παράγωγά της:

- **Μαστιχέλαιο:** Συνιστά το αιθέριο έλαιο, το οποίο παράγεται μέσω απόσταξης της ρητίνης.
- **Μαστιχόνερο:** Παράγεται ταυτόχρονα με το μαστιχέλαιο κατά την απόσταξη.
- **Κωλοφώνιο:** Αποτελεί τα υπολείμματα που προκύπτουν μετά την απόσταξη και περιλαμβάνει όλα τα συστατικά, εκτός των πτητικών.

Η μαστίχα αποτελεί ένα μείγμα διαφορετικών συστατικών [περισσότερα από 120 (Ottaria *et al.*, 2023)], ο συνδυασμός των οποίων της προσδίδει τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά της. Η ακριβής χημική σύσταση δεν μπορεί να προσδιοριστεί, καθώς επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες, όπως η ηλικία του μαστιχόδενδρου και της ρητίνης, ο τρόπος αποθήκευσής της και συλλογής της. Τα συστατικά της μαστίχας μπορούν να διακριθούν σε τρεις κύριες κατηγορίες:

1. **Τριτερπένια (65-70%).** Αποτελούν την κύρια χημική ομάδα που απαντάται στη ρητίνη και μπορεί να διαχωριστεί περαιτέρω σε όξινο και ουδέτερο κλάσμα.
2. **Το πολυμερές (25-30%).** Το Cis-1,4-poly-β-myrcene συνιστά ένα κολλώδες πολυμερές που καθιστά τη ρητίνη αδιάλυτη στο νερό.
3. **Το πτητικό κλάσμα (1-3%).** Αποτελείται από το αιθέριο έλαιο και το μαστιχόνερο.

## 1.2 Ευρείες εφαρμογές μαστίχας

Οι μοναδικές ιδιότητες της μαστίχας Χίου και των παραγώγων της αξιοποιούνται σε πλήθος εφαρμογών. Λόγω του ιδιαίτερου αρώματος και της γεύσης της, η μαστίχα χρησιμοποιείται στη μαγειρική, στην ποτοποιία και, ιδιαίτερα, στη ζαχαροπλαστική. Ορισμένα από τα πιο γνωστά προϊόντα που περιέχουν μαστίχα είναι οι τσίκλες, τα τσουρέκια, τα λουκούμια, το γλύκισμα «υποβρύχιο», διάφορα λικέρ και το ούζο. Επιπλέον, χρησιμοποιείται στον τομέα της αισθητικής, σε αρώματα και καλλυντικά. Οι αντιοξειδωτικές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες της μαστίχας, συνεισφέρουν στη βελτίωση της υγείας του δέρματος, αποτελώντας ιδανικό συστατικό για προϊόντα περιποίησης του, όπως σαμπούνια, σαμπουάν, κρέμες προσώπου και χεριών. Εκτός από αυτά, η μαστίχα χρησιμοποιείται σε ορισμένες βιομηχανίες ως πηκτικό, ενυδατικό και σταθεροποιητικό προϊόν. Η σταθερότητα των χρωμάτων που προσφέρει, αποτελεί την αιτία για τη χρήση της στη λιθογραφία, ζωγραφική, υφαντουργία και βαμβαουργία.

## 1.3 Βιολογικές εφαρμογές μαστίχας

Οι ευεργετικές ιδιότητες της μαστίχας οδήγησαν στη χρήση της ως φαρμακευτική ουσία για περισσότερο από 2500 χρόνια, με πολλαπλές ενδείξεις αξιοποίησης της στην αρχαία Αίγυπτο και στην αρχαία Ελλάδα. Παρ' όλα αυτά, η μαστίχα αναγνωρίστηκε μόλις το 2015 ως φαρμακευτικό φυτικό προϊόν από τον Ευρωπαϊκό Οργανισμό Φαρμάκων, αναφέροντας τις θεραπευτικές ικανότητες έναντι συμπτωμάτων δυσπεψίας και της φλεγμονής του δέρματος, καθώς και τη δράση της στην επούλωση μικρών πληγών (Ema, 2015). Ωστόσο, έχουν δημοσιευθεί διάφορες μελέτες που αναδεικνύουν τις ευεργετικές δράσεις της μαστίχας σε πολλαπλούς βιολογικούς τομείς.

### 1.3.1 Αντιβακτηριακές και Αντιμυκητιακές δράσεις

Η ικανότητα της μαστίχας και των παραγώγων της να αναστέλλουν μικροοργανισμούς έχει επιβεβαιωθεί σε πολλαπλές μελέτες, τόσο *in vitro*, όσο και σε ζωικούς και ανθρώπινους οργανισμούς. Η πρώτη αναφορά για την αντιμικροβιακή δράση του μαστιχέλαιου έγινε το 1995, όταν ελέγχθηκε η δράση του σε παθογόνα βακτήρια που αναπτύσσονται σε τρόφιμα. Οι ερευνητές διαπίστωσαν πως το μαστιχέλαιο είναι αποτελεσματικό ενάντια σε παθογόνα, ακόμα και σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις (0,1 και 0,2% v/v), με μεγαλύτερη δραστηριότητα ενάντια σε Gram θετικά βακτήρια (Tassou and Nychas, 1995). Εργασίες που ακολούθησαν απέδειξαν την αντιμικροβιακή δράση του μαστιχέλαιου (Magiatis *et al.*, 1999) και του μαστιχόνερου (Paraschos *et al.*, 2011) σε ένα πλήθος από βακτήρια και μελέτησαν ξεχωριστά τη δράση των συστατικών. Παρατηρήθηκε πως τα σημαντικότερα συστατικά ενάντια στα παθογόνα είναι τα linalool, verbenone και α-terpineol, με την αντιμικροβιακή δράση, ωστόσο, να οφείλεται κυρίως στη συνεργιστική δράση πολλαπλών συστατικών.

Ξεχωρίζει η αποτελεσματικότητά της στην καταπολέμηση του Ελικοβακτηριδίου του πυλωρού (*H. pylori*), ενός μικροοργανισμού που ευθύνεται για την πλειοψηφία των περιστατικών έλκους του στομάχου και του δωδεκαδάχτυλου. *In vitro* μελέτη της δράσης της μαστίχας εντόπισε ότι η ελάχιστη βακτηριοκτόνος συγκέντρωση (MBC) ισούται με 60 µg/mL, ενώ ακόμα και ελάχιστες συγκεντρώσεις μαστίχας (7,5 µg/mL) ανέστελλαν σημαντικά την ανάπτυξη του βακτηρίου (Huwez *et al.*, 1998). Μετέπειτα αντιμικροβιακές μελέτες των συστατικών της μαστίχας ανέδειξαν πως η δραστηριότητα οφείλεται κυρίως στο πολυμερές (Sharif Sharifi and Hazell, 2009) και, έπειτα, στο όξινο κλάσμα (MBC= 139 µg/mL), με το πιο δραστικό συστατικό να είναι το τριτερπένιο ισομαστικάδιενονικό οξύ (MBC= 202 µg/mL) (Paraschos *et al.*, 2007).

Ιδιαίτερα σημαντικές είναι οι ευεργετικές ιδιότητες της μαστίχας για την στοματική υγιεινή. Έχει αποδειχθεί η αντιμικροβιακή δράση της ενάντια σε παθογόνα της στοματικής κοιλότητας, τα οποία ευθύνονται για τον σχηματισμό πλάκας και την τερηδόνα (πχ *Streptococcus mutans*), την περιοδοντίτιδα και την ουλίτιδα (πχ *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella spp.*). Μάλιστα, λόγω των δράσεων αυτών και της απουσίας τοξικότητας, προτείνεται η μάζηση μαστίχας αντί για τη χρήση των εμπορικών στοματικών διαλυμάτων, τα οποία συνήθως περιέχουν τα κυτταροτοξικά συστατικά χλωρεξιδίνη και υπεροξείδιο (Koychev *et al.*, 2017).

Εκτός από τα βακτήρια, παρατηρήθηκε σημαντική δραστηριότητα της μαστίχας ενάντια σε μύκητες. Εκχυλίσματα μαστίχας, φύλλων και κλαδιών από μαστιχόδενδρα ήταν αποτελεσματικά ενάντια στους παθογόνους μύκητες *Candida albicans*, *Candida tropicalis* και *Torulopsis glabrata* (Magiatis *et al.*, 1999), όπως και στον μύκητα *Rhizoctonia solani* (Duru *et al.*, 2003).

### 1.3.2 Αντιοξειδωτικές δράσεις

Η αντιοξειδωτική δράση της μαστίχας αξιοποιήθηκε ήδη από την αρχαιότητα, με τους αρχαίους Αιγύπτιους γεωργούς να την προσθέτουν σε βουτυρέλαιο για τη διατήρησή του. Η παρατήρηση αυτή αποτέλεσε αφορμή για τον πρώτο έλεγχο της αντιοξειδωτικής δράσης της μαστίχας το 1975, όταν συγκρίθηκε η δραστηριότητα της μαστίχας να συντηρεί το βαμβάκελαιο και το ηλιέλαιο σε σχέση με γνωστά αντιοξειδωτικά συντηρητικά τροφίμων. Τα αποτελέσματα οδήγησαν στο συμπέρασμα ότι 0,05% μαστίχας επαρκεί για την

προστασία των φυτικών ελαίων από την οξείδωση (Abdel-Rahman *et al.*, 1975). Επιπλέον, παρατηρήθηκε και η προστατευτική δράση της μαστίχας σε μονοπύρρηνα κύτταρα περιφερικού αίματος (PBMCs) έναντι της οξειδωμένης LDL, η οποία μειώνει τα επίπεδα της γλουταθειόνης (αντιοξειδωτικό) και αυξάνει του υποδοχέα των μακροφάγων CD36. Τα τριτερπένια της μαστίχας επέφεραν εντυπωσιακή αύξηση της γλουταθειόνης και περιόρισαν τα επίπεδα mRNA του CD36 (Dedoussis *et al.*, 2004).

Η αντιοξειδωτική ικανότητα της μαστίχας επιβεβαιώθηκε και σε ανθρώπινους οργανισμούς. Σε πρόσφατη κλινική μελέτη παρατηρήθηκε πως η μαστίχα οδήγησε σε σημαντική μείωση της έκφρασης του γονιδίου μιας ισομορφής της οξειδάσης του NADPH (NOD-2) (Kontogiannis *et al.*, 2020). Επίσης, αποδείχθηκε ότι η κατανάλωση μαστίχας συνοδεύεται από σημαντική μείωση των επιπέδων οξειδωμένης LDL (oxLDL), η οποία θεωρείται ο πιο ειδικός βιοδείκτης οξειδωτικού στρες. Μάλιστα, η μαστίχα προκαλούσε μείωση της oxLDL μέσα σε μόλις 1 ώρα μετά την χορήγησή της (Parada *et al.*, 2018).

Περισσότερες πληροφορίες για τους μοριακούς μηχανισμούς έγιναν γνωστές μετά από πειράματα σε λεία μυϊκά κύτταρα (RASMC), στα οποία προστέθηκε η προφλεγμονώδης κυτταροκίνη TNF-α (Παράγοντας Νέκρωσης Όγκων-α) και σε βόεια αορτικά ενδοθηλιακά κύτταρα (BAEC), όπου προστέθηκε αγγειοτενσίνη II. Οι ενώσεις αυτές ενεργοποιούν την οξειδάση του NADPH μέσω του μονοπατιού που συμμετέχει η πρωτεϊνική κινάση C (PKC), οδηγώντας στην παραγωγή σουπεροξειδίου ( $O_2^{\cdot-}$ ), υπεροξειδίου του υδρογόνου ( $H_2O_2$ ) και γενικά ελεύθερων ριζών οξυγόνου (ROS). Παρατηρήθηκε ότι η μαστίχα περιόρισε σημαντικά τις ελεύθερες ρίζες, μέσω αναστολής της δραστηριότητας της PKC (60%). Αντιοξειδωτική δράση παρατηρήθηκε και σε ενεργοποιημένα από λιποπολυσακχαρίτες (LPS) μακροφάγα (RAW264.7), όπου η μαστίχα εμπόδισε την παραγωγή των προφλεγμονωδών μορίων προσταγλανδίνη E2 (PGE2) και μονοξειδίου του αζώτου (NO). Αυτό επιτεύχθηκε μέσω της μείωσης των μεταγραφικών και πρωτεϊνικών επιπέδων της κυκλοοξυγενάσης-2 (COX-2) και της συνθάσης του μονοξειδίου του αζώτου (iNOS). Επιπλέον, αποδείχθηκε πως η μαστίχα δρα απευθείας ενάντια στις ρίζες υδροξυλίου ( $\cdot OH$ ), το οποίο δεν συμβαίνει και για το NO και το  $H_2O_2$  (Zhou *et al.*, 2009).

### 1.3.3 Αντιφλεγμονώδεις δράσεις

Οι αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες των συστατικών της μαστίχας αξιοποιούνται για περισσότερο από 2500 χρόνια ως φαρμακευτική αγωγή, ιδιαίτερα σε γαστρεντερολογικές παθήσεις. Ειδικότερα, υπάρχουν πολλαπλές ενδείξεις πως η μαστίχα μπορεί να έχει ευεργετική δράση έναντι ιδιοπαθών φλεγμονωδών νοσημάτων του εντέρου (IΦNE), τα οποία χαρακτηρίζονται από χρόνια φλεγμονή. Τα κυριότερα νοσήματα αυτής της κατηγορίας είναι η νόσος του Crohn και η ελκώδης κολίτιδα (Ottaria *et al.*, 2023).

Πολλές μελέτες έχουν εστιάσει στην επίδραση της μαστίχας σε μοντέλα ελκώδους κολίτιδας ποντικών και αρουραίων. Το 2011 αποδείχθηκε ότι η κατανάλωση 100 mg/kg σωματικού βάρους ανά ημέρα κατόρθωσε αξιοσημείωτη ιστολογική βελτίωση μέσα σε τρεις μέρες. Παρατηρήθηκε σημαντική μείωση των επιπέδων προφλεγμονωδών κυτταροκινών TNF-α, ICAM-1, IL-6, και IL-8, όπως και του βιοδείκτη οξειδωτικού στρες μηλονοδιαδεΰδη (Giochari *et al.*, 2011). Με αφορμή αυτά τα αποτελέσματα, το πείραμα επαναλήφθηκε, με τη διαφορά ότι χορηγήθηκαν ξεχωριστά μαστίχα, το όξινο κλάσμα της και το ουδέτερο. Όλα οδήγησαν σε μείωση των προφλεγμονωδών κυτταροκινών, ωστόσο, μόνο η μαστίχα κατάφερε



ιστολογική βελτίωση. Για την εύρεση των μοριακών μηχανισμών ενάντια στη φλεγμονή, η ίδια ερευνητική ομάδα επανέλαβε το πείραμα *in vitro* σε συνκαλλιέργεια επιθηλιακών κυττάρων του παχέος εντέρου (HT29) και μονοκυττάρων/μακροφάγων. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως περιορίστηκαν τα επίπεδα IL-8 και NF-κΒ p65, ενώ δεν μπόρεσε να ταυτοποιηθεί συγκεκριμένη ένωση ή κλάσμα που ευθύνεται για αυτό το φαινόμενο. Επομένως, οι ερευνητές κατέληξαν στο συμπέρασμα πως το σύνολο της μαστίχας μειώνει τη φλεγμονή μέσω ρύθμισης του μονοπατιού του NF-κΒ (Paraliois *et al.*, 2012). Μετέπειτα έρευνα επιβεβαίωσε την καταστολή της μεταγραφικής δραστηριότητας του NF-κΒ, αλλά και του υποδοχέα γλυκοκορτικοειδών (GR), με τη σημαντικότερη καταστολή να οφείλεται στο ημι-πολικό και πολικό κλάσμα της ρητίνης (Kalousi *et al.*, 2023). Η πιο πρόσφατη έρευνα αφορούσε το μαστιχαδιενονικό οξύ (MDA) και επιβεβαίωσε την ευεργετική δράση της στην ασθένεια και την μείωση των προφλεγμονωδών κυτταροκινών μέσω καταστολής του μονοπατιού του NF-κΒ. Όμως, έδωσε και νέες πληροφορίες για τους μοριακούς μηχανισμούς. Αρχικά, το MDA περιόρισε τα επίπεδα των φωσφορυλιωμένων ERK, JNK και p38, υποδεικνύοντας την δράση της μαστίχας και μέσω καταστολής του σηματοδοτικού μονοπατιού MAPK. Επίσης, το MDA επαναφέρει τη λειτουργία του βλεννογόνιου εντερικού φραγμού, επάγοντας την έκφραση των αποφρακτικών ενώσεων οκλουδίνη και ZO-1. Η χορήγηση MDA αύξησε τα επίπεδα Nrf2 και HO-1, αποδεικνύοντας ότι η επαγωγή της έκφρασης των αποφρακτικών ενώσεων και, γενικά, η αποκατάσταση του βλεννογόνιου εντερικού φραγμού επιτυγχάνεται μέσω του σηματοδοτικού μονοπατιού Nrf2. Εκτός από αυτά, το MDA επαναφέρει τη φυσιολογική σύνθεση της μικροχλωρίδας του εντέρου, την οποία διατάραξε η ελκώδης κολίτιδα, μειώνοντας την ευαισθησία των ποντικών στο νόσημα (Cui *et al.*, 2023). Επιπλέον, εκτός από την ρητίνη, μελέτες έχουν αποδείξει την αντιφλεγμονώδη δράση τόσο του μαστιχέλαιου (Georgantopoulos *et al.*, 2023), όσο και του εκχυλίσματος φύλλων μαστιχόδενδρων (Kalousi *et al.*, 2022).

Η πρώτη κλινική έρευνα, με καθημερινή χορήγηση 2,2 gr μαστίχας για τρεις μήνες σε 10 άτομα με νόσο του Crohn, δημοσιεύτηκε το 2007. Η χορήγηση μαστίχας οδήγησε σε περιορισμό της φλεγμονής (μείωση επιπέδων από C-αντιδρούσα πρωτεΐνη (CRP), IL-6, TNF-α, και MCP-1 στο πλάσμα) και του οξειδωτικού στρες, βελτίωσε την ικανότητα πρόσληψης θρεπτικών συστατικών στο έντερο και προκάλεσε ύφεση του νοσήματος σε 7 από τους 10 ασθενείς (Kaliora *et al.*, 2007). Στην ίδια έρευνα παρατηρήθηκε σε κύτταρα PBMCs μείωση των επιπέδων TNF-α και αύξηση του ανασταλτικού παράγοντα μετανάστευσης μακροφάγων (MIF), γεγονός που υποδεικνύει την ύπαρξη ενός ακόμη μοριακού μηχανισμού ενάντια στη φλεγμονή. Η μαστίχα εμποδίζει τη μετανάστευση μονοκυττάρων στο σημείο της φλεγμονής και την διαφοροποίησή τους σε μακροφάγα, περιορίζοντας τη φλεγμονή. Η επόμενη κλινική έρευνα εστίασε σε βιοδείκτες του ορού και των κοπράνων. Η κατανάλωση μαστίχας οδήγησε σε μείωση της λυσοζύμης στα κόπρανα, η οποία έχει εντοπιστεί να έχει ενεργό ρόλο σε ιδιοπαθή φλεγμονώδη νοσήματα εντέρου, προκαλώντας δυσβίωση εντέρου και φλεγμονή. Επιπλέον, η τιμή της καλπροτεκτίνης και της λακτοφερρίνης, βιοδείκτες φλεγμονωδών νόσων, παρέμειναν σταθερές στο γκρουπ που χορηγήθηκε μαστίχα, σε αντίθεση με το γκρουπ του placebo. Στους ασθενείς που κατανάλωσαν μαστίχα παρατηρήθηκε μείωση του ινωδογόνου, το οποίο είναι αυξημένο κατά την φλεγμονή, και αύξηση του σιδήρου στον ορό, υποδεικνύοντας βελτιωμένη απορρόφηση θρεπτικών ή όρεξης ασθενών, εξαιτίας της ύφεσης των συμπτωμάτων. Στην ίδια έρευνα μελετήθηκαν τα επίπεδα αμινοξέων που συμμετέχουν σε οξειδωτικό στρες και φλεγμονή. Χαρακτηριστικά, τα επίπεδα κυστεΐνης, πρόδρομου μορίου της γλουταθειόνης (αντιοξειδωτική δράση), ήταν χαμηλότερα στο γκρουπ του placebo, ενώ στο

γκρουπ που χορηγήθηκε μαστίχα μειώθηκε σημαντικά η οξειδωμένη LDL (Papada *et al.*, 2018), όπως αναφέρθηκε στην υποενότητα 1.3.2. Στην πιο πρόσφατη κλινική μελέτη, τα αποτελέσματα έδειξαν ανεβασμένα επίπεδα IL-17A, γλυκίνης και τρυπτοφάνης στον ορό. Τα πρώτα δύο μόρια φαίνεται να έχουν προστατευτικό ρόλο έναντι φλεγμονωδών νοσημάτων, χωρίς να είναι πλήρως γνωστοί οι μοριακοί μηχανισμοί, ενώ παράγωγα της τρυπτοφάνης συμμετέχουν στη ρύθμιση ανοσολογικών μηχανισμών, όπως την διαφοροποίηση των Th17 κυττάρων (Amerikanou *et al.*, 2021).

#### 1.3.4 Καρδιοπροστατευτικές δράσεις

Αξιοσημείωτες είναι και οι καρδιοπροστατευτικές δράσεις της μαστίχας. Αυτές πιθανότατα οφείλονται στις αντι-υπερλιπιδαιμικές (υποενότητα 1.3.5) και αντιοξειδωτικές ικανότητές της, και ειδικότερα στην μείωση των επιπέδων οξειδωμένης LDL, όπως αναφέρθηκε στην υποενότητα 1.3.2. Η συσσώρευση oxLDL μπορεί να προκαλέσει αθηροσκλήρωση (Dedoussis *et al.*, 2004). Τα αρχικά στάδια της αθηροσκλήρωσης περιλαμβάνουν την στρατολόγηση μονοκυττάρων από τη κυκλοφορία του αίματος και την πρόσδεση τους στο αγγειακό ενδοθήλιο με τη βοήθεια μορίων κυτταρικής προσκόλλησης. Αποδείχθηκε *in vitro* [σε ανθρώπινα ενδοθηλιακά κύτταρα αορτής (HAEC)] πως η μαστίχα επιφέρει μείωση των επιπέδων τέτοιων μορίων, πιο συγκεκριμένα των VCAM-1 και ICAM-1, μέσω καταστολής του μονοπατιού του NF-κΒ (Loizou *et al.*, 2009). Σε μετέπειτα έρευνα σε αρουραίους, η χορήγηση μαστίχας κατόρθωσε μείωση της αρτηριακής πίεσης, περιορίζοντας τα επίπεδα ρενίνης στον ορό του αίματος. Αυτό πιθανότατα επιτυγχάνεται μέσω αναστολής της έκφρασης της PKC. Στην ίδια έρευνα, αποδείχθηκε από μεταθανάτια ιστοπαθολογική εξέταση πως η μαστίχα απέτρεψε την καρδιακή και αγγειακή υπερτροφία, που προκαλείται από την υπέρταση, και μείωσε την δυσκαμψία των αρτηριών (Tzani *et al.*, 2018). Η μείωση της αρτηριακής πίεσης επαληθεύθηκε και σε κλινικές δοκιμές μετά από καθημερινή χορήγηση 2800 mg μαστίχας, η οποία πιθανώς να οφείλεται σε καταστολή της έκφρασης οξειδασών του NADPH και συστατικών του μηχανισμού κυτταρικής πρωτεόστασης (Kontogiannis *et al.*, 2020).

#### 1.3.5 Αντι-υπερλιπιδαιμικές και αντιδιαβητικές δράσεις

Πολλαπλές έρευνες έχουν εστιάσει στην επίδραση της μαστίχας στο μεταβολισμό λιπιδίων και γλυκόζης. Η πρώτη έρευνα απέδειξε πως η χορήγηση μαστίχας σε υπερλιπιδαιμικούς αρουραίους οδήγησε σε σημαντική μείωση της ολικής χοληστερόλης, της LDL και των τριγλυκεριδίων (Dedoussis *et al.*, 2004). Αντίστοιχα ήταν τα ευρήματα σε μετέπειτα μελέτες σε ποντικούς, με τις επιπλέον παρατηρήσεις της αυξημένης λιποπρωτεΐνης υψηλής πυκνότητας (HDL) και της μειωμένης γλυκόζης στον ορό του αίματος (Georgiadis *et al.*, 2014). Για την απόκτηση περισσότερων λεπτομερειών για τα ενεργά συστατικά, χορηγήθηκαν σε υπερλιπιδαιμικά κουνέλια κλάσμα χωρίς το πολυμερές και ουδέτερο κλάσμα της μαστίχας, προκαλώντας μείωση της ολικής χοληστερόλης κατά 47% και 88% αντίστοιχα (Andreadou *et al.*, 2016). Η χρήση μαστιχέλαιου οδήγησε, επίσης, σε μείωση των επιπέδων ολικής χοληστερόλης, της LDL και των τριγλυκεριδίων, ενώ ανέδειξε και το καμφένιο ως το συστατικό με την μεγαλύτερη αντιλιπιδαιμική δράση. Η χορήγηση 30 μg καμφενίου ανά g σωματικού βάρους επέφερε μείωση των επιπέδων ολικής χοληστερόλης κατά 54,5%, της LDL κατά 54% και των τριγλυκεριδίων κατά 34,5% (Vallianou *et al.*, 2011).

Όσον αφορά τις κλινικές έρευνες, η πρώτη διεξήχθη το 2007, με τη χορήγηση 5g μαστίχας να πετυχαίνει μείωση των επιπέδων ολικής χοληστερόλης, LDL, της λιποπρωτεΐνης α και των απολιποπρωτεϊνών A-1 και B, ενώ μικρότερη δόση μείωσε τις τιμές της γλυκόζης (Triantafyllou *et al.*, 2007). Αργότερη πιλοτική μελέτη ερευνήσε εάν το αδιάλυτο πολυμερές εμποδίζει τη δραστηριότητα της μαστίχας. Ωστόσο, τα αποτελέσματα έδειξαν πως δεν υπήρξε σημαντική διαφορά, και μάλιστα, η χορήγηση μαστίχας με το πολυμερές να ελαττώνει περισσότερο την ολική χοληστερόλη (Kartalis *et al.*, 2016). Σε άλλη μελέτη, η χορήγηση 5 g μαστίχας προκάλεσε σημαντική μείωση των τριγλυκεριδίων και της ινσουλίνης στον ορό του αίματος (Fukazawa *et al.*, 2018).

### 1.3.6 Αντικαρκινικές και αντι-πολλαπλασιαστικές δράσεις

Ιδιαίτερα σημαντική είναι η χημειοπροστατευτική ικανότητα της μαστίχας. Η πρώτη απόδειξη παρουσιάστηκε σε μελέτη το 2005, όπου αναφέρεται πως το εκχύλισμα μαστίχας με τη χρήση εξανίου προκάλεσε απόπτωση σε ανθρώπινα καρκινικά κύτταρα του παχέος εντέρου (HCT116) (Balan *et al.*, 2005). Το πείραμα επαναλήφθηκε με 50% εκχύλισμα μαστίχας με τη χρήση αιθανόλης με αντίστοιχα αποτελέσματα. Αποδείχθηκε τόσο *in vitro*, όσο και *in vivo* σε ποντικούς, πως τα εκχυλίσματα μαστίχας προκαλούν αναστολή του κυτταρικού κύκλου στη φάση G1 με δοσο-εξαρτώμενο τρόπο και πως στην διαδικασία απόπτωσης συμμετέχουν κασπάσες, χωρίς να μπορέσουν να προσδιορίσουν ακριβώς το μηχανισμό δράσης (Balan *et al.*, 2007, Dimas *et al.*, 2009).

Η αντικαρκινική δράση της μαστίχας ήταν εμφανής και σε καρκινικά κύτταρα προστάτη (PC-3) και, πιθανότατα, οφείλεται στην καταστολή του σηματοδοτικού μονοπατιού του NF-κΒ (He *et al.*, 2007). Ένας ακόμη προτεινόμενος μηχανισμός περιλαμβάνει την μείωση της δραστηριότητας των υποδοχέων ανδρογόνων, με τη μαστίχα να εμφανίζει σημαντική δραστηριότητα σε καρκινικά κύτταρα προστάτη (LNCaP) (He *et al.*, 2006). Η μαστίχα μπορεί να είναι αποτελεσματική και ενάντια σε στοματικούς καρκίνους, καθώς η επώαση καρκινικών κυττάρων του στόματος (YD-10B) με 10 μg/mL επαρκούσε για την παρεμπόδιση ανάπτυξης αποικιών και επέφερε απόπτωση στη συντριπτική πλειοψηφία των κυττάρων (Kim *et al.*, 2016). Επιπλέον, η μαστίχα εμφανίζει αντικαρκινικές ιδιότητες σε κυτταρικές σειρές που αποτελούν μοντέλα για προμυελοκυτταρική και μυελογενή λευχαιμία, ερυθρολευχαιμία, ακανθοκυτταρικό καρκίνωμα του στόματος, ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα και γλοιοβλάστωμα (Sakagami *et al.*, 2009).

### 1.3.7 Δράση μαστίχας ενάντια σε δερματικές παθήσεις

Μία πιθανή εφαρμογή της αφορά την θεραπεία δερματικών παθήσεων, με τη χορήγηση μαστίχας να επιδρά θετικά σε μοντέλα ατοπικής δερματίτιδας *in vitro* και *in vivo*. Η τοπική χρήση μαστίχας περιόρισε τις φλεγμονώδεις αποκρίσεις και τον κνησμό (Kishimoto *et al.*, 2021). Αντίστοιχα, η τοπική χρήση κρέμας με μαστιχέλαιο επέφερε ταχύτερη ανακούφιση από ερεθισμούς σε σχέση με placebo μετά από απολέπιση ή αποτρίχωση με τη χρήση θερμόλυσης ή ενζύμων (Protopapa *et al.*, 2001). Τέλος, διάφορες έρευνες έχουν εστιάσει στις συγκολλητικές ιδιότητες της μαστίχας και την αξιοποίησή τους σε προϊόντα που χρησιμοποιούνται για το κλείσιμο δερματικών πληγών (πχ χειρουργικοί επίδεσμοι, ταινίες) (Yavuzer *et al.*, 2005).

## 1.4 Ενθυλάκωση

Η ενθυλάκωση συνιστά μια διαδικασία εγκλεισμού επιθυμητών δραστικών ουσιών σε κατάλληλο περίβλημα. Αυτό απομονώνει και προστατεύει την ουσία από το εξωτερικό περιβάλλον, δημιουργώντας ένα μικροπεριβάλλον, όπου οι δραστικές ουσίες παραμένουν ενεργές κατά την αποθήκευση, την επεξεργασία και τη διέλευση από το γαστρεντερικό σωλήνα. Ο σκοπός της ενθυλάκωσης μπορεί να είναι: η κάλυψη οργανοληπτικών ιδιοτήτων (π.χ. χρώμα, γεύση, οσμή της ουσίας), για τον ασφαλή χειρισμό τοξικών υλικών, για τη στοχευμένη και ελεγχόμενη απελευθέρωση δραστικών ουσιών και για την αποφυγή ανεπιθύμητων παρενεργειών, όπως γαστρικός ερεθισμός. Τα σωματίδια που προκύπτουν αποτελούνται από το υλικό που ενθυλακώνεται (π.χ. ενεργά φαρμακευτικά συστατικά) και το υλικό επικάλυψης (π.χ. τα πολυμερή) (Jyothi *et al.*, 2010).

### 1.4.1 Ενθυλάκωση ουσιών σε πολυμερή

Η αξιοποίηση των πολυμερών για την ενθυλάκωση ουσιών έχει οδηγήσει σε μεγάλη πρόοδο στη δημιουργία συστημάτων ελεγχόμενης αποδέσμευσης φαρμακευτικών ουσιών. Η δυνατότητα δημιουργίας δικτύων πολυμερών με συγκεκριμένη «αρχιτεκτονική» επιτρέπει τον σχεδιασμό ειδικών δομών, ώστε να δίνουν μια καλά καθορισμένη απόκριση στις συνθήκες του μικροπεριβάλλοντος. Επιπλέον, ορισμένα πολυμερή μπορεί να είναι τα ίδια βιοδραστικά ή να εμφανίζουν αντιμικροβιακές ιδιότητες, βελτιώνοντας περαιτέρω τη φαρμακευτική τους δράση. Επίσης, ορισμένα πολυμερή μπορούν να αποικοδομούνται μέσα στο ανθρώπινο σώμα και να μεταβολίζονται σε μη τοξικά μόρια (Arampatzis *et al.*, 2021).

### 1.4.2 Ενθυλάκωση μαστίχας και παραγώγων της

Η ενθυλάκωση της μαστίχας και των παραγώγων της σε κατάλληλο περιβάλλον μπορεί να βοηθήσει να ξεπεραστούν τα εμπόδια στην αξιοποίησή της ως φαρμακευτική ουσία. Όπως αναφέρθηκε στις βιολογικές δράσεις της, σε αρκετές περιπτώσεις δεν συμβάδίζουν πλήρως τα αποτελέσματα *in vitro* με αυτά *in vivo* και σε ανθρώπινους οργανισμούς. Το γεγονός αυτό οφείλεται κυρίως στο αδιάλυτο πολυμερές, το οποίο μειώνει δραστικά τη βιοδιαθεσιμότητα. Ο εγκλεισμός της μαστίχας σε βιοσυμβατά πολυμερή και η ελεγχόμενη αποδέσμευσή της μπορεί να οδηγήσει σε αύξηση της δραστικότητάς της. Χαρακτηριστικά, το 2020 δημοσιεύθηκε μελέτη, στην οποία πραγματοποιήθηκε εγκλεισμός μαστιχέλαιου σε νανοσωματίδια πολυγαλακτικού οξέος (PLA) με τη χρήση μεθόδου εξάτμισης του διαλύτη (Vrounaki *et al.*, 2020).

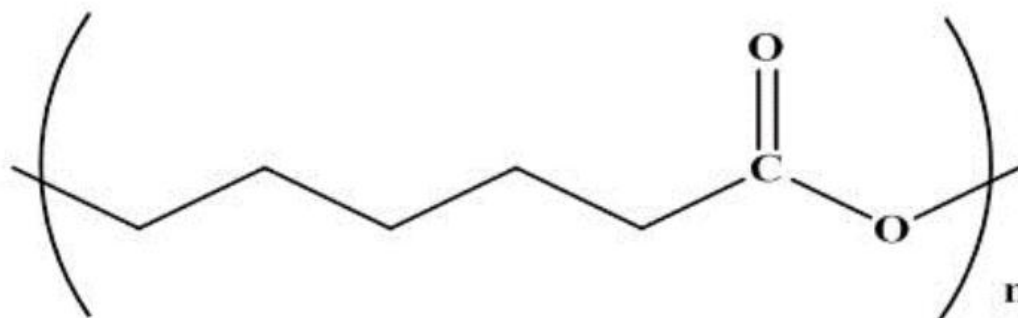
Εκτός από τη χρήση της ως βιοδραστική ουσία, η μαστίχα έχει χρησιμοποιηθεί ή ίδια ως φορέας για εγκλεισμό άλλων ουσιών (Morkhade, 2017) ή σε συνδυασμό με πολυμερή και άλλα μόρια, ώστε να βελτιώσει τις μηχανικές ιδιότητες του τελικού προϊόντος και την αποδέσμευση της δραστικής ουσίας (Aydogdu Emir *et al.*, 2023).

## 1.5 Πολυ-ε-καπρολακτόνη (PCL)

Η πολυ-ε-καπρολακτόνη είναι ένα συνθετικό ημι-κρυσταλλικό πολυμερές που χρησιμοποιείται σε πλήθος θεραπευτικών εφαρμογών και η χρήση της έχει εγκριθεί από την Αμερικανική Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA). Η ευρεία χρήση της οφείλεται, κυρίως, στη βιοσυμβατότητα και στη



βιοαποικοδομησιμότητά της, όπως και στην προσαρμοστικότητα της. Εξαιτίας των χαμηλών σημείων τήξης (60 °C) και υαλώδους μετάπτωσης (-60 °C), εμφανίζει μεγάλη ελαστικότητα σε θερμοκρασία δωματίου, χαρακτηριστικό το οποίο καθιστά εύκολη τη μετατροπή της σε διάφορες δομικές μορφές. Η PCL χαρακτηρίζεται από χαμηλό ρυθμό αποικοδόμησης, καθιστώντας εφικτή την παρατεταμένη απελευθέρωση ουσιών για μεγάλο χρονικό διάστημα (Bhadran *et al.*, 2023).



Εικόνα 3. Δομή πολυ-ε-καπρολακτόνης (PCL).

## 1.6 Σκοπός

Σκοπό της παρούσας εργασίας συνιστούσε η ενθυλάκωση διαφορετικών συγκεντρώσεων μαστίχας σε ίνες του πολυμερούς πολυ-ε-καπρολακτόνης (PCL) με τη μέθοδο της ηλεκτροστατικής ινοποίησης, καθώς και η μελέτη φυσικοχημικών και βιολογικών χαρακτηριστικών των δομών που δημιουργήθηκαν. Απώτερο στόχο αυτής της έρευνας αποτελεί η ανάπτυξη βιοδραστικών μεμβρανών με βιοϊατρικές, φαρμακευτικές και καλλυντικοτεχνικές εφαρμογές.

## 2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

### 2.1 Υλικά

#### 2.1.1 Οργανολογία

Πίνακας 1. Οργανολογία

| Όργανο                                      | Εταιρεία                            | Όργανο                                            | Εταιρεία        |
|---------------------------------------------|-------------------------------------|---------------------------------------------------|-----------------|
| Αντλία Σύριγγας (μοντέλο 2274)              | Harvard Apparatus                   | Συσκευή DSC (μοντέλο DSC-50)                      | Shimadzu        |
| Θερμαινόμενος μαγνητικός αναδευτήρας        | Thermolyne                          | Συσκευή TGA (μοντέλο TGA-50)                      | Shimadzu        |
| Θάλαμος κενού αέρος (μοντέλο 320 Pa)        | Shanghai Laboratory Instrument Work | Συσκευή επίστρωσης Άνθρακα (μοντέλο Q150R)        | Quorum          |
| Μικροσκόπιο SEM (JSM-6510)                  | JEOL                                | Σετ φλατζοκόφτη (μοντέλο 0800320)                 | M. Paffrath oHG |
| Αυτόματοι πιπιεταδόροι                      | Gilson                              | Επωαστήρας CO <sub>2</sub> (μοντέλο Galaxy 170 S) | New Brunswick   |
| Ανάστροφο μικροσκόπιο αντίθεσης φάσης       | Krüss Optronic Germany              | Ζυγοί (μοντέλα 440-47N και EW)                    | Kern            |
| Τροφοδοτικό υψηλής τάσης (μοντέλο RHR30P30) | Spellman High Voltage DC Supply     | Θάλαμος καθέτου νηματικής ροής (μοντέλο AV-30/70) | Telstar         |
| Υδατόλουτρο                                 | Selecta, WiseBath                   | Φασματοφωτόμετρο UV-Vis (μοντέλο Lambda Bio+)     | PerkinElmer     |
| Φασματοφωτόμετρο (μοντέλο Enspire 2300)     | PerkinElmer                         | Αιματοκυτταρόμετρο                                | Heinz Herenz    |
| Φυγόκεντρος                                 | Jouan (μοντέλο BR 4i)               | Vortex                                            | Kisker          |

#### 2.1.2 Αντιδραστήρια

Πίνακας 2. Αντιδραστήρια

| Αντιδραστήριο             | Εταιρεία                            | Αντιδραστήριο                                                             | Εταιρεία          |
|---------------------------|-------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------|-------------------|
| Μαστίχα Χίου              | Ένωση Μαστιχοπα-<br>ραγωγών<br>Χίου | Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) High Glucose with Sodium Pyruvate | Life Technologies |
| Poly-ε-caprolactone (PCL) | Aldrich Chemical                    | Trypsin-EDTA 1X in PBS                                                    | Biowest           |
| Dimethylformamide (DMF)   | Fluka                               | Phosphate-Buffered Saline (PBS)                                           | Gibco             |
| MTT                       | VWR                                 | Fetal Bovine Serum (FBS)                                                  | Biowest           |
| Dichloromethane (DCM)     | Fluka                               | Penicillin-Streptomycin                                                   | Biowest           |

|               |                  |                                   |                   |
|---------------|------------------|-----------------------------------|-------------------|
| L-Glutamine   | Biowest          | H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>     | Th. geyer         |
| Isopropanol   | Aldrich Chemical | Dimethyl sulfonyl Chloride (DMSO) | Panreac Applichem |
| Ethanol       | Bionlov          | 2-hydroxy-5-methylbenzaldehyde    | BLDpharm          |
| Sulfuric Acid | Scharlau         |                                   |                   |

### 2.1.3 Αναλώσιμα

#### Πίνακας 3. Αναλώσιμα

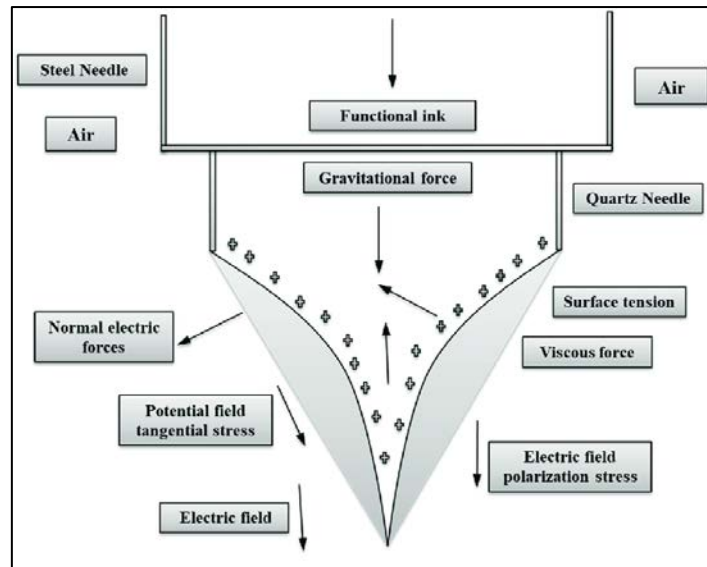
| Αναλώσιμο        | Εταιρεία                 | Αναλώσιμο                              | Εταιρεία         |
|------------------|--------------------------|----------------------------------------|------------------|
| Flasks T25 & T75 | Orange scientific        | Cryovials                              | Corning          |
| 96-well plates   | Thermo Fisher Scientific | Serological Pipettes (2, 5, 10, 25 mL) | Thermoscientific |
| Eppendorf        | FLmedical                | Parafilm                               | BEMIS            |
| Tips             | DIGIPETTIS               | Falcons                                | Th. geyer        |

## 2.2 Μέθοδοι

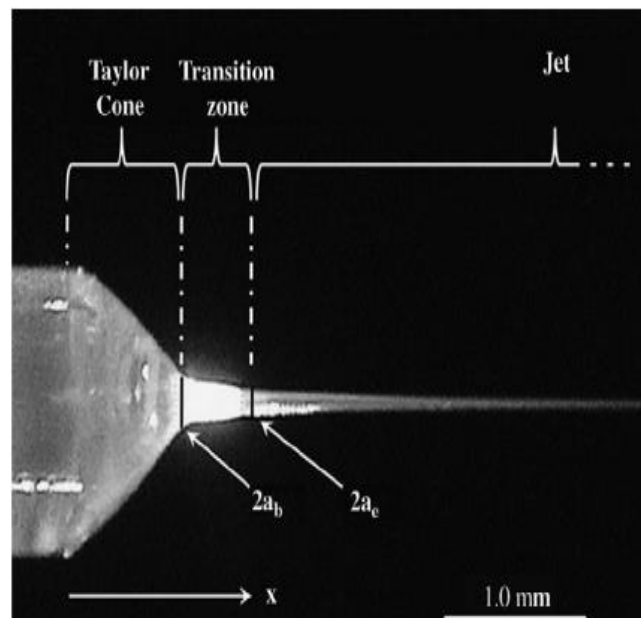
### 2.2.1 Ηλεκτροστατική ινοποίηση (Electrospinning)

Η ηλεκτροστατική ινοποίηση συνιστά μία μέθοδο παραγωγής ινών από πολυμερή με μικροσκοπική διάμετρο (από νανόμετρα μέχρι μικρόμετρα). Ως αποτέλεσμα, μέσω μιας απλής, γρήγορης και οικονομικής διαδικασίας, παρασκευάζονται μεμβράνες με μοναδικές ιδιότητες για την αξιοποίησή τους σε ποικίλες βιομηχανικές και βιοϊατρικές εφαρμογές. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον φέρουν οι ιδιότητες των μεμβρανών για την επούλωση πληγών, λόγω της ομοιότητας των νανοϊνών με την εξωκυττάρια μήτρα (πορώδης δομή και υψηλή αναλογία επιφάνειας προς όγκο), της μηχανικής αντοχής που εμφανίζουν και της δυνατότητας στοχευμένης και ελεγχόμενης απελευθέρωσης φαρμακευτικών ουσιών (Spartali *et al.*, 2024).

Η μέθοδος της ηλεκτροστατικής ινοποίησης βασίζεται στην εφαρμογή ηλεκτρικού πεδίου υψηλής τάσης, καθώς ένα πολυμερικό διάλυμα ρέει από τον κλωστήρα (spinneret) (π.χ. σύριγγα) προς έναν αγωγίμο συλλέκτη. Η εφαρμογή τάσης οδηγεί στην φόρτιση της σταγόνας και στην ομαλή κατανομή των φορτίων στην επιφάνειά της. Ως αποτέλεσμα, εμφανίζεται το φαινόμενο της ηλεκτροστατικής άπωσης μεταξύ των επιφανειακών φορτίων. Ταυτόχρονα, μία ακόμη ηλεκτροστατική δύναμη που ασκείται στη σταγόνα είναι η δύναμη Coulomb από το εξωτερικό ηλεκτρικό πεδίο (εικόνα 4). Όταν η τάση υπερβεί την κρίσιμη τιμή, δηλαδή όταν οι ηλεκτροστατικές δυνάμεις υπερिशχύσουν έναντι της επιφανειακής τάσης, τότε, στην άκρη της βελόνας η σταγόνα επιμηκύνεται, αποκτά μορφή κώνου και το διάλυμα εκτοξεύεται προς τον συλλέκτη. Το σχήμα αυτό ονομάζεται «κώνος Taylor» (εικόνα 5) (Taylor, 1964) και ο σχηματισμός και η σταθερότητά του είναι απαραίτητες προϋποθέσεις για τη δημιουργία ομοιογενών νανοϊνών. Καθώς ο ηλεκτρισμένος πίδακας απομακρύνεται από τη βελόνα, ο διαλύτης εξατμίζεται και η διάμετρος της σχηματιζόμενης ίνας μειώνεται. Τελικά, η ίνα έλκεται από τον αγωγίμο συλλέκτη.

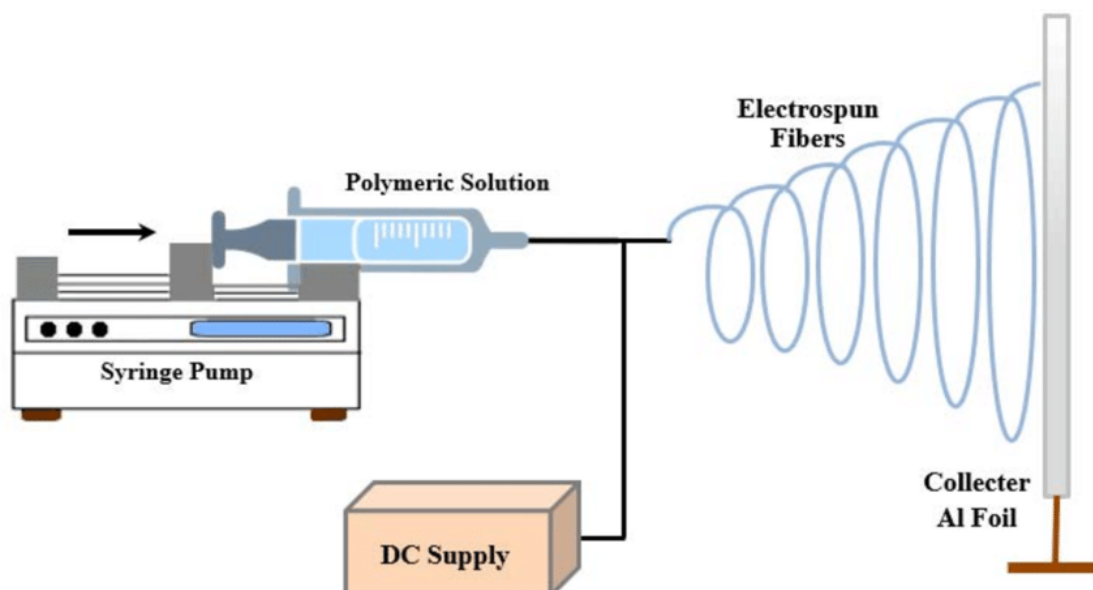


Εικόνα 4. Σχηματική απεικόνιση των δυνάμεων που συμμετέχουν στον σχηματισμό του κώνου Taylor (Wang et al., 2022).



Εικόνα 5. Σχηματισμός κώνου Taylor (Khalil et al., 2013).

Η βασική διάταξη ενός συστήματος ηλεκτροστατικής ινοποίησης, η οποία παρουσιάζεται στην εικόνα 6, αποτελείται από μία σύριγγα, όπου προστίθεται το πολυμερικό διάλυμα, την άκρη της σύριγγας-βελόνα, στην οποία συνδέεται η πηγή τάσης, και τον αγώγιμο συλλέκτη. Συνήθως, η σύριγγα σταθεροποιείται σε μία αντλία σύριγγας, η οποία καθορίζει τον ρυθμό ροής του διαλύματος, ενώ υπάρχουν και συσκευές που κρατούν σταθερές της συνθήκες περιβάλλοντος (π.χ. θερμοκρασία, υγρασία), ώστε να αυξηθεί η επαναληψιμότητα του πειράματος. Επίσης, η χρήση διαφορετικών ειδών κλωστήρων και συλλεκτών μπορεί να μεταβάλλει τα χαρακτηριστικά των ινών που προκύπτουν.



Εικόνα 6. Σχηματική απεικόνιση διάταξης συστήματος ηλεκτροστατικής ινοποίησης.

Πολλαπλοί παράγοντες επηρεάζουν τη διαδικασία της ηλεκτροστατικής ινοποίησης, την τελική μορφολογία των παραγόμενων νανοϊνών και τη βιολογική δραστηριότητα (Xue *et al.*, 2019). Οι σημαντικότεροι από αυτούς είναι οι ακόλουθοι:

- ❖ **Οι ιδιότητες του διαλύματος.**
  - **Ιξώδες.** Μείωσή του οδηγεί συνήθως σε σχηματισμό ινών με μικρότερη διάμετρο. Υπερβολικά χαμηλές τιμές εμποδίζουν τον σχηματισμό ινών, ενώ υψηλές τιμές δυσχεραίνουν την εκτόξευση του διαλύματος από την βελόνα.
  - **Αγωγιμότητα.** Αύξησή της οδηγεί σε σχηματισμό ινών με μικρότερη διάμετρο. Όμως, υπερβολικά υψηλές τιμές επιφέρουν αδυναμία σχηματισμού του κώνου Taylor, όπως και οι χαμηλές τιμές.
- ❖ **Οι ιδιότητες του πολυμερούς.**
  - **Μοριακό βάρος.** Πρέπει να είναι αρκετά υψηλό, ώστε να σχηματίζονται λείες νανοΐνες, χωρίς συσσωματώματα.
  - **Συγκέντρωση πολυμερούς.** Χαμηλή τιμή της ευνοεί τον σχηματισμό ινών με μικρότερη διάμετρο. Ωστόσο, υπερβολικά χαμηλή συγκέντρωση μειώνει την αλληλεπίδραση μεταξύ των πολυμερικών αλυσίδων και εμποδίζει τον σχηματισμό ινών. Αντίθετα, όσο αυξάνεται η συγκέντρωση, τόσο μεγαλύτερη χρειάζεται να είναι η τάση που απαιτείται για τον σχηματισμό ινών, καθώς αυξάνεται το ιξώδες και η επιφανειακή τάση.
- ❖ **Οι ιδιότητες του διαλύτη.**
  - **Αποτελεσματικότητα διαλύτη:** Ο διαλύτης θα πρέπει να είναι αρκετά αποτελεσματικός, ώστε να προκύψει ομοιογενές πολυμερικό διάλυμα.
  - **Πτητικότητα διαλύτη:** πρέπει να είναι αρκετή για να απομακρύνεται πριν φτάσει το διάλυμα στον συλλέκτη, αλλά όχι τόσο υψηλή, ώστε να εξατμίζεται απευθείας στην άκρη της βελόνας και να μπλοκάρει η βελόνα.
  - **Διηλεκτρική σταθερά:** όσο αυξάνεται, τόσο μεγαλύτερη χρειάζεται να είναι η τάση που απαιτείται για τον σχηματισμό ινών.
- ❖ **Χαρακτηριστικά ενθυλακωμένης ουσίας.**
  - Η ενθυλακωμένη ουσία μπορεί να επηρεάζει παράγοντες που αναφέρθηκαν παραπάνω, όπως το ιξώδες και η αγωγιμότητα.

- ❖ **Τάση.**
  - Η αύξηση της τάσης, συνήθως, συνοδεύεται από μείωση της διαμέτρου των παραγόμενων νανοϊνών.
- ❖ **Απόσταση από τον συλλέκτη.**
  - Η αύξηση της απόστασης από τον συλλέκτη οδηγεί στον σχηματισμό ινών με μικρότερη διάμετρο.
  - Η απόσταση από τον συλλέκτη πρέπει να επαρκεί για την εξάτμιση του διαλύτη
- ❖ **Ρυθμός τροφοδοσίας.**
  - Η αύξηση του ρυθμού τροφοδοσίας επιφέρει τον σχηματισμό ινών με μεγαλύτερη διάμετρο.
- ❖ **Περιβαλλοντικές συνθήκες.**
  - **Θερμοκρασία.** Υψηλότερη θερμοκρασία οδηγεί σε μείωση της επιφανειακής τάσης και του ιξώδους, ευνοώντας τον σχηματισμό ινών με μικρότερη διάμετρο. Ωστόσο, ταυτόχρονα, αυξάνει τον ρυθμό εξάτμισης του διαλύτη, γεγονός που μπορεί να επιφέρει αύξηση της διαμέτρου των ινών.
  - **Υγρασία.** Επηρεάζει την εξάτμιση του διαλύτη. Χαμηλή υγρασία οδηγεί στον σχηματισμό ινών με μικρότερη διάμετρο, αλλά υπερβολική μείωση της υγρασίας επιφέρει πρόωρη εξάτμιση του διαλύτη. Αντίθετα, η υπερβολικά υψηλή υγρασία επηρεάζει τη μορφολογία και την ομοιογένεια των ινών.

Συμπερασματικά, η εύρεση των κατάλληλων συνθηκών ηλεκτροστατικής ινοποίησης συνιστά μια δύσκολη και σύνθετη διαδικασία, καθώς η μεταβολή μόνο μιας συνθήκης επηρεάζει πολλαπλούς παράγοντες.

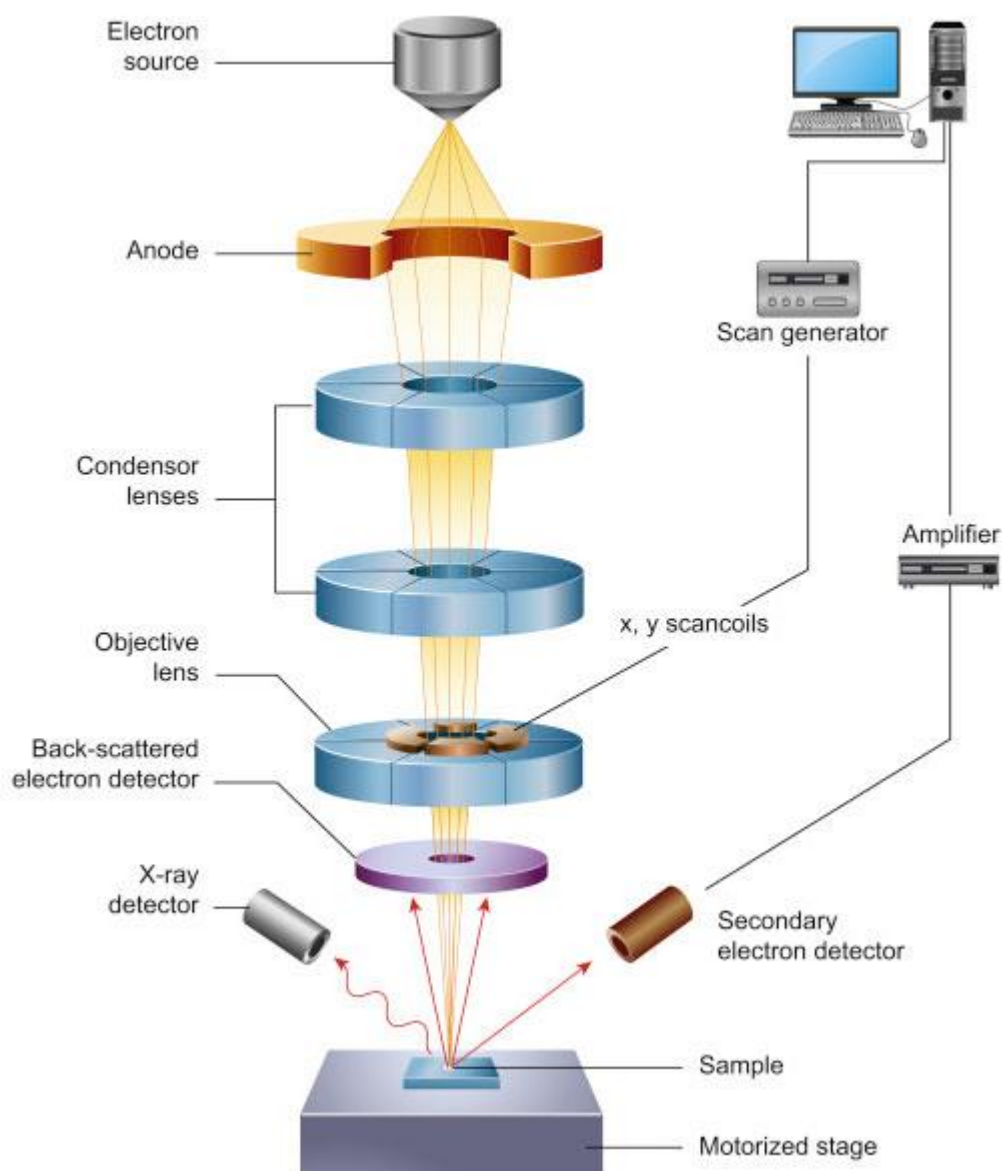
### 2.2.2 Ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης

Η μελέτη της μορφολογίας και ο προσδιορισμός της διαμέτρου των ινών πραγματοποιήθηκε με ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης (SEM). Η μέθοδος βασίζεται στην χρήση εστιασμένης δέσμης ηλεκτρονίων, η οποία «σαρώνει» την επιφάνεια του δείγματος και προσφέρει πληροφορίες για την επιφανειακή μορφολογία και τη σύνθεσή του. Η δέσμη ηλεκτρονίων αλληλεπιδράει με τα άτομα που βρίσκονται στο δείγμα, παράγοντας διάφορα μηνύματα. Για την λήψη πληροφοριών για την επιφανειακή μορφολογία, χρησιμοποιούνται ανιχνευτές δευτερογενών ηλεκτρονίων. Καθώς η δέσμη προσπίπτει στο δείγμα, προκαλεί την εκτόπιση ηλεκτρονίων, τα οποία συγκρατώνται ασθενώς από τα επιφανειακά άτομα. Αυτά τα ηλεκτρόνια ονομάζονται δευτερογενή ηλεκτρόνια και χαρακτηρίζονται από χαμηλή ενέργεια. Ως αποτέλεσμα, μόνο τα δευτερογενή ηλεκτρόνια που παράγονται στην επιφάνεια μπορούν να «αποδράσουν» από το δείγμα και να συλλεχθούν από τους ανιχνευτές. Έτσι, λαμβάνεται πληροφορία μόνο από την επιφάνεια των δειγμάτων, οδηγώντας στην λήψη ποιοτικής εικόνας της επιφανειακής μορφολογίας.

Η συσσώρευση φορτίων στην επιφάνεια του δείγματος, εξαιτίας της προσπίπτουσας δέσμης φωτονίων, μπορεί να αλλοιώσει τα αποτελέσματα της SEM. Για την αποφυγή αυτού του φαινομένου και της υπερθέρμανσης του δείγματος, πριν τη χρήση του μικροσκοπίου, τα υλικά επικαλύπτονται με αγώγιμα επιχρίσματα, δημιουργώντας μια προστατευτική στρώση. Στην παρούσα εργασία, τα δείγματα επικαλύφθηκαν με τη χρήση επιχρίσματος άνθρακα, καθώς το πολυμερές (PCL) είναι μη αγώγιμο υλικό.



Το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης αποτελείται από πολλαπλά εξαρτήματα, όπως φαίνεται και στην Εικόνα 7. Αρχικά, στην κορυφή του μηχανήματος βρίσκεται μία πηγή ηλεκτρονίων, η οποία παράγει τη δέσμη ηλεκτρονίων. Η δέσμη επιταχύνεται μέσω ενός συστήματος ανόδου-καθόδου, όπου εφαρμόζεται υψηλή τάση, και εστιάζεται μέσω συμπυκνωτών φακών και του αντικειμενικού φακού. Για την αποφυγή της σκέδασης της δέσμης από άτομα που βρίσκονται στον αέρα, τα συστήματα SEM διαθέτουν αντλίες, οι οποίες επιτρέπουν τη διενέργεια του πειράματος υπό κενό αέρος. Η προσπίπτουσα δέσμη οδηγεί στην παραγωγή διάφορων μηνυμάτων, τα οποία συλλέγονται από τους αντίστοιχους ανιχνευτές. Στη συγκεκριμένη εφαρμογή, τα δευτερογενή ηλεκτρόνια συλλέγονται από τον ανιχνευτή, το σήμα ενισχύεται μέσω κατάλληλων ενισχυτών και τελικά λαμβάνεται στον υπολογιστή μια εικόνα με διαβαθμίσεις φωτεινότητας (Inkson, 2016).



Εικόνα 7. Σχηματική απεικόνιση ηλεκτρονικού μικροσκοπίου σάρωσης (Inkson, 2016).

### 2.2.3 Έλεγχος ποσοστού ενθυλακωμένης ουσίας

Ο προσδιορισμός της ποσότητας μαστίχας που ενθυλακώθηκε στις ίνες PCL, σε σχέση με την αρχική, βασίστηκε σε φασματοφωτομετρική μέθοδο ανίχνευσης τριτερπενίων (Guo *et al.*, 2024). Κατά τη μέθοδο 2-υδρόξυ-5-μεθυλοβενζαλδεΰδη/θειικό οξύ, οι υδροξυλομάδες (-OH) των τριτερπενίων υφίστανται οξείδωση σε όξινες συνθήκες και σχηματίζουν διπλούς δεσμούς. Έπειτα, υφίστανται συμπύκνωση με ενώσεις αλδεΰδης και σχηματίζουν ένα συζευγμένο σύστημα διενίου, στο οποίο οφείλεται ο σχηματισμός χρώματος (Guo *et al.*, 2024). Η χρήση της χρωστικής 2-υδρόξυ-5-μεθυλοβενζαλδεΰδη αυξάνει την ευαισθησία της μεθόδου και επιτρέπει το σχηματισμό χρώματος χωρίς θέρμανση. Η επιλογή εφαρμογής αυτής της μεθόδου βασίστηκε στο γεγονός πως η μαστίχα αποτελείται από 65-70% τριτερπένια.

### 2.2.4 Αναλύσεις θερμικής συμπεριφοράς

#### 2.2.4.1 Θερμοσταθμική ανάλυση (TGA)

Η θερμοσταθμική ανάλυση συνιστά μία μέθοδο ανάλυσης της θερμικής συμπεριφοράς δειγμάτων, η οποία βασίζεται στην παρατήρηση της μεταβολής της μάζας με τη μεταβολή της θερμοκρασίας ή το χρόνο. Καθώς αυξάνεται η θερμοκρασία, τα διάφορα συστατικά του υλικού μετατρέπονται σε αέρια (σε διαφορετικές θερμοκρασίες) και απομακρύνονται από το αρχικό δείγμα, με αποτέλεσμα να μειώνεται η μάζα του. Η μεταβολή της μάζας ανιχνεύεται μέσω ζυγού ακριβείας, στον οποίο τοποθετούνται τα δείγματα για τη διενέργεια του πειράματος. Συχνά, η ατμόσφαιρα υπό την οποία διενεργείται η μελέτη μπορεί να αποτελείται από αδρανές αέρια (συνήθως άζωτο), ώστε να μελετηθεί η αποικοδόμηση του δείγματος λόγω της αυξημένης θερμοκρασίας και όχι εξαιτίας ανεπιθύμητων αντιδράσεων (πχ οξείδωση). Οι συσκευές θερμοσταθμικής ανάλυσης διαθέτουν μικροϋπολογιστές/μικροεπεξεργαστές για τον χειρισμό των συνθηκών του πειράματος και την απεικόνιση των αποτελεσμάτων.

#### 2.2.4.2 Διαφορική θερμιδομετρία σάρωσης (DSC)

Η διαφορική θερμιδομετρία σάρωσης βασίζεται στη θέρμανση διαφορετικών δειγμάτων με σταθερό ρυθμό, ώστε να έχουν συνεχώς όμοια θερμοκρασία, και τον προσδιορισμό της ενέργειας/θερμότητας που απαιτείται για να επιτευχθεί αυτή. Μέσω της DSC μπορούν να παρατηρηθούν φυσικοί μετασχηματισμοί του δείγματος σε σχέση με ένα δείγμα αναφοράς. Χαρακτηριστικά, όταν το δείγμα υφίσταται ενδόθερμες διεργασίες (π.χ. τήξη), τότε απαιτείται η παροχή περισσότερης θερμότητας για την θέρμανση του δείγματος, ενώ αντίστοιχα απαιτείται λιγότερη ενέργεια για εξώθερμες αντιδράσεις (π.χ. κρυστάλλωση).

Μία τυπική συσκευή ανάλυσης DSC αποτελείται από δύο θέσεις για την τοποθέτηση του δείγματος και του υλικού αναφοράς, ανιχνευτές θερμοκρασίας, φούρνο και ροή αζώτου για την εξασφάλιση αδρανών συνθηκών.

### 2.2.5 Τεχνικές κυτταροκαλλιέργειών

Η καλλιέργεια κυττάρων στον εργαστηριακό χώρο επιτρέπει, μεταξύ άλλων, τη διενέργεια πειραμάτων για την μελέτη της επίδρασης ουσιών σε ευκαρυωτικά κύτταρα, περιορίζοντας την χρήση πειραματόζων. Η διενέργεια πειραμάτων στον ξεχωριστό χώρο των κυτταροκαλλιέργειών πραγματοποιείται πάντα υπό ασηπτικές συνθήκες μέσα σε κλίβανο καθέτου νηματικής ροής και με αυστηρά μέτρα προστασίας για την αποφυγή επιμολύνσεων (χρήση κατάλληλης ενδυμασίας, αποστείρωση ουσιών και απολύμανση αντικειμένων που εισέρχονται στον χώρο με διάλυμα 70% αιθανόλη, αποστείρωση θαλάμου με ακτινοβολία UV για μισή ώρα πριν και μετά τη χρήση του). Η κατάσταση των κυττάρων επιβεβαιώνεται τακτικά με τη χρήση μικροσκοπίου.

#### 2.2.5.1 Κυτταρική σειρά HEK293

Η ανθρώπινη εμβρυϊκή επιθηλιακή κυτταρική σειρά HEK293 (Human Embryonic Kidney 293 cells) αποτελεί τη δεύτερη σε συχνότητα κυτταρική σειρά που χρησιμοποιείται σε βιολογικές έρευνες και στη βιοτεχνολογία. Τα κύτταρα απομονώθηκαν το 1973 από νεφρό ανθρώπινου αποβληθέντος εμβρύου και σε αυτά ενσωματώθηκε μηχανικά κατατμημένο DNA του αδενοϊού 5 (Steranenko and Dmitrenko, 2015). Η κυτταρική σειρά χρησιμοποιείται συχνά για τον έλεγχο φαρμάκων και φυσικών φαρμακευτικών ουσιών.

#### 2.2.5.2 Κυτταρική σειρά HepG2

Η ανθρώπινη ηπατική καρκινική κυτταρική σειρά HepG2 συνιστά την πρώτη σε συχνότητα ηπατική καρκινική σειρά που χρησιμοποιείται σε έρευνες. Απομονώθηκε το 1975 από ηπατοκαρκίνωμα δεκαπεντάχρονου Καυκάσιου και αξιοποιείται για ένα πλήθος μελετών, όπως μελέτες κυτταροτοξικότητας, μεταβολισμού φαρμάκων και ογκογένεσης (Arzumanian *et al.*, 2021).

#### 2.2.5.3 Δημιουργία θρεπτικού μέσου

Η βάση του θρεπτικού μέσου που χρησιμοποιήθηκε για την καλλιέργεια των κυττάρων ήταν το DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium), στο οποίο προστέθηκε:

- 1% του τελικού όγκου penicillin-streptomycin
- 1% του τελικού όγκου L-glutamine
- 10% του τελικού όγκου FBS

#### 2.2.5.4 Απόψυξη Κυττάρων

Οι κυτταρικές σειρές μπορούν να διατηρηθούν για μεγάλα χρονικά διαστήματα σε χαμηλές θερμοκρασίες (-80 °C ή -120 °C) μέσα σε ειδικά φιαλίδια (cryovials). Το πρώτο βήμα για την πραγματοποίηση πειραμάτων στο χώρο των κυτταροκαλλιέργειών είναι η απόψυξη των κυττάρων και η απομάκρυνση του κρυοπροστατευτικού, αλλά ταυτόχρονα κυτταροτοξικού σε θερμοκρασία 37 °C, DMSO. Τα στάδια αυτής της διαδικασίας περιλαμβάνουν:

- Μεταφορά cryovial από τον χώρο αποθήκευσης (-80 °C ή -120 °C) σε υδατόλουτρο (37 °C), μέχρι λίγο πριν ξεπαγώσει πλήρως

- Προσθήκη ποσότητας θρεπτικού μέσου ίση με 4-5 φορές τον όγκο του περιεχομένου του cryovial σε falcon
- Μεταφορά του περιεχομένου του cryovial στο falcon με το θρεπτικό μέσο
- Φυγοκέντρηση (1000 rpm, 5 min, 25 °C) και αφαίρεση υπερκείμενου
- Επαναδιαλυτοποίηση ιζήματος (κύτταρα) με ποσότητα θρεπτικού μέσου ίσου με τον επιθυμητό τελικό όγκο (5 mL για φλάσκα 25 cm<sup>2</sup>)
- Μεταφορά των κυττάρων σε φλάσκα
- Επώαση κυττάρων σε κλίβανο σε θερμοκρασία 37 °C και επίπεδα CO<sub>2</sub> 5%

#### 2.2.5.5 Θρυψινοποίηση κυττάρων

Καθώς τα κύτταρα πολλαπλασιάζονται στη φιάλη κυτταρικής καλλιέργειας, προσδένονται στην επιφάνειά της. Για τους μετέπειτα χειρισμούς των κυττάρων είναι απαραίτητη η αποκόλλησή τους μέσω της διαδικασίας της θρυψινοποίησης. Πιο συγκεκριμένα, προστίθεται η πρωτεάση θρυψίνη, η οποία στοχεύει το καρβοξυ-τελικό άκρο των αμινοξέων Αργινίνη και Λυσίνη και επιτυγχάνει την απομάκρυνση των πρωτεϊνών που συμβάλλουν στην προσκόλληση. Ωστόσο, η δράση της θρυψίνης πρέπει να αναστέλλεται αμέσως μετά την αποκόλληση των κυττάρων, καθώς στη συνέχεια η θρυψίνη μπορεί να στοχεύσει τις επιφανειακές πρωτεΐνες των κυττάρων. Για αυτό το λόγο, προστίθεται θρεπτικό μέσο με FBS, που περιέχει πρωτεάσες και α-αντιθρυψίνη (Rauch *et al.*, 2011). Τα στάδια της θρυψινοποίησης είναι:

1. Αφαίρεση του υπάρχοντος θρεπτικού μέσου
2. Προσθήκη κατάλληλης ποσότητας θρυψίνης
3. Σύντομη μεταφορά φλάσκας καλλιέργειας στον επωαστήρα και τακτικός έλεγχος στο μικροσκόπιο έως ότου αποκολληθούν τα κύτταρα και δεν παρατηρούνται συσσωματώματα
4. Προσθήκη τετραπλάσιου όγκου θρεπτικού από τον όγκο της θρυψίνης, ώστε να ανασταλεί η δράση της
5. Φυγοκέντρηση (1000 rpm, 5 min, 25 °C) και αφαίρεση υπερκείμενου
6. Επαναδιαλυτοποίηση ιζήματος (κύτταρα) με ποσότητα θρεπτικού μέσου ίσου με τον επιθυμητό τελικό όγκο

#### 2.2.5.6 Ανακαλλιέργεια

Καθώς τα κύτταρα πολλαπλασιάζονται στη φλάσκα, καλύπτουν όλο και περισσότερο την επιφάνειά της και σχηματίζουν συσσωματώματα. Ως αποτέλεσμα, δεν επαρκεί ο χώρος για την βέλτιστη ανάπτυξη των κυττάρων, μειώνεται η πρόσβαση σε θρεπτικά συστατικά και αυξάνεται ο κίνδυνος διαφοροποίησης. Για αυτό το λόγο, όταν τα κύτταρα καλύψουν περίπου το 80% της επιφάνειας της φλάσκας πραγματοποιείται ανακαλλιέργεια. Η ανακαλλιέργεια έχει ως στόχο την αποκόλληση των κυττάρων μεταξύ τους και την επιστροφή ποσότητας κυττάρων στη φλάσκα που θα επιτρέψει την βέλτιστη ανάπτυξή τους. Συνοπτικά, τα βήματα της διαδικασίας είναι:

- Θρυψινοποίηση (όπως περιγράφεται στην υποενότητα 2.2.6.4)
- Επιστροφή μικρής ποσότητας στην φλάσκα, ανάλογα με τον ρυθμό πολλαπλασιασμού της κυτταρικής σειράς (πχ για HEK293 και HepG2 περίπου 10% τελικού επιθυμητού όγκου)
- Προσθήκη θρεπτικού μέσου μέχρι τελικό επιθυμητό όγκο

#### 2.2.5.7 Ψύξη κυττάρων

Όπως αναφέρθηκε και στην υποενότητα 2.2.6.3, για την μακροχρόνια αποθήκευση των κυττάρων, αυτά διατηρούνται σε πολύ χαμηλές θερμοκρασίες (-80 °C ή -120 °C). Η διαδικασία περιλαμβάνει:

- Θρυψινοποίηση δείγματος μέχρι και το βήμα 5 (όπως περιγράφεται στην υποενότητα 2.2.6.4)
- Επαναδιαλυτοποίηση ιζήματος με θρεπτικό μέσο και μεταφορά σε cryovial ποσότητας ίσης με το 90% του τελικού επιθυμητού όγκου
- Προσθήκη ποσότητας DMSO ίσης με το 10% του τελικού όγκου
- Ταχύτατη μεταφορά cryovial στους -80 °C ή -120 °C, λόγω της κυτταροτοξικότητας του DMSO

#### 2.2.5.8 Μέτρηση και Στρώσιμο κυττάρων

Για την διενέργεια πολλών πειραμάτων, κρίνεται απαραίτητη η μέτρηση των κυττάρων και η ισόποση κατανομή τους. Για το σκοπό αυτό, χρησιμοποιείται μία ειδική πλάκα, η οποία ονομάζεται πλάκα Neubauer (ή αιματοκυτταρόμετρο). Αυτή η αντικειμενοφόρος πλάκα διαθέτει χαράξεις που διευκολύνουν την καταμέτρηση των κυττάρων. Κάθε καλυπτρίδα χωρίζεται σε 9 τετράγωνα, τα οποία υποδιαιρούνται περαιτέρω. Η μέτρηση των κυττάρων αφορά τα 4 γωνιακά τετράγωνα (χαρακτηρίζονται από πιο αραιές χαράξεις). Η μέτρηση γίνεται ξεχωριστά για κάθε τετράγωνο (τεταρτημόρια Α, Β, Γ, Δ) υπό μικροσκόπιο και σημειώνεται ο αριθμός των κυττάρων (συμβολίζεται με α, β, γ, δ για το αντίστοιχο τεταρτημόριο). Υπολογίζεται ο μέσος όρος των κυττάρων για την ποσότητα που προστέθηκε (πχ 10 μL) και ανάγεται σε ποσότητα που διευκολύνει τους υπολογισμούς (πχ κύτταρα ανά 1mL) με βάση τον παρακάτω τύπο:

$$\text{Αριθμός κυττάρων ανά mL} = \frac{\alpha + \beta + \gamma + \delta}{4} * 10.000$$

Για το στρώσιμο κάθε θέσης στην πλάκα καλλιέργειας με τον επιθυμητό αριθμό κυττάρων, αρχικά υπολογίζεται η συνολική ποσότητα που περιέχει τον αριθμό κυττάρων για κάθε δείγμα και αυτή μεταφέρεται σε falcon. Πραγματοποιείται φυγοκέντρηση και αφαίρεση του υπερκείμενου. Υπολογίζεται ο συνολικός όγκος που απαιτείται για κάθε δείγμα και γίνεται επαναδιαλυτοποίηση του ιζήματος μέχρι αυτόν τον όγκο. Τέλος, γίνεται ισόποσος διαμοιρασμός σε κάθε θέση στην πλάκα καλλιέργειας με τον κατάλληλο τελικό όγκο.

Χαρακτηριστικά, η διαδικασία που ακολουθείται είναι:

- Θρυψινοποίηση δείγματος μέχρι και το βήμα 4 (όπως περιγράφεται στην υποενότητα 2.2.6.4)
- Μεταφορά 10 μL σε αιματοκυτταρόμετρο
- Μέτρηση κυττάρων στο μικροσκόπιο και υπολογισμός ποσότητας κυττάρων ανά mL
- Υπολογισμός συνολικών επιθυμητών κυττάρων, ποσότητας που τα περιέχει και μεταφορά της σε νέο falcon
- Φυγοκέντρηση (1000 rpm, 5 min, 25 °C) και αφαίρεση υπερκείμενου
- Υπολογισμός συνολικού επιθυμητού όγκου και επαναδιαλυτοποίηση ιζήματος μέχρι αυτόν τον όγκο
- Ισόποση μεταφορά σε κάθε θέση της πλάκας καλλιέργειας

## 2.2.6 Δοκιμασία MTT για τον προσδιορισμό της κυτταροτοξικότητας

Η δοκιμασία MTT αποτελεί μια κλασσική μέθοδο για τον προσδιορισμό της κυτταροτοξικότητας ουσιών. Η μέθοδος βασίζεται στην αναγωγή του κίτρινου άλατος τετραζολίου MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) σε αδιάλυτη φορμαζάνη μωβ χρώματος. Η διαλυτοποίηση των κρυστάλλων φορμαζάνης πραγματοποιείται με την προσθήκη DMSO ή ισοπροπανόλης, καθιστώντας εφικτό τον ποσοτικό της προσδιορισμό μέσω φωτομέτρησης στα 570 nm. Η αναγωγή αυτή καταλύεται σε μεταβολικά ενεργά κύτταρα από το ένζυμο της μιτοχονδριακής ηλεκτρικής αφυδρογονάσης. Θεωρείται πως, αφού το κύτταρο είναι μεταβολικά ενεργό, είναι και ζωντανό, προσδιορίζοντας με αυτόν τον έμμεσο τρόπο την κυτταρική βιωσιμότητα. Η μεθοδολογία που ακολουθείται είναι:

- Θρυψινοποίηση, μέτρηση κυττάρων και διαμοιρασμός κατάλληλης ποσότητας, ανάλογα με την πλάκα καλλιέργειας, με τον επιθυμητό αριθμό κυττάρων
- Επώαση σε κλίβανο σε θερμοκρασία 37 °C και επίπεδα CO<sub>2</sub> 5% για 1 ημέρα
- Προσθήκη των ελεγχόμενων ουσιών σε κάθε θέση
- Επώαση πλάκας καλλιέργειας σε κλίβανο σε θερμοκρασία 37 °C και επίπεδα CO<sub>2</sub> 5% για το επιθυμητό χρονικό διάστημα
- Προσθήκη αντιδραστηρίου MTT, ώστε η τελική συγκέντρωσή του να ισούται με 0,5 mg/mL
- Επώαση πλάκας καλλιέργειας σε κλίβανο σε θερμοκρασία 37 °C και επίπεδα CO<sub>2</sub> 5% για 3-4 h
- Αφαίρεση θρεπτικού με MTT (αποφεύγοντας την απομάκρυνση κρυστάλλων φορμαζάνης)
- Προσθήκη 150 μL DMSO και ανακίνηση απουσία φωτός σε θερμοκρασία δωματίου μέχρι την πλήρη διαλυτοποίηση των κρυστάλλων
- Στην περίπτωση μελέτης που περιλαμβάνει ινώδεις μεμβράνες, πραγματοποιείται μεταφορά 100 μL σε νέα πλάκα καλλιέργειας, ώστε να μην επηρεάζεται η διαδικασία φωτομέτρησης
- Φωτομέτρηση στα 570 nm (αντιστοιχεί σε μωβ φορμαζάνη) και 690 nm (χρησιμοποιείται σαν δείγμα αναφοράς)



### 3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ

#### 3.1 Παραγωγή σύνθετων μεμβρανών PCL/μαστίχας

Στην παρούσα εργασία, πραγματοποιήθηκε ενθυλάκωση μαστίχας Χίου σε ίνες με βάση το πολυμερές πολυκαπρολακτόνη (PCL) με τη μέθοδο της ηλεκτροστατικής ινοποίησης. Δημιουργήθηκαν δείγματα διαφορετικών συγκεντρώσεων μαστίχας στην τελική μεμβράνη. Τα δείγματα ονομάστηκαν με βάση το θεωρητικό ποσοστό ενθυλακωμένης μαστίχας σε μεμβράνες με βάση την PCL, όπως ακολουθεί:

- 0% μαστίχα → καθαρή PCL
- 3,5% μαστίχα → PCL/3,5CMG
- 6,5% μαστίχα → PCL/6,5CMG
- 10% μαστίχα → PCL/10CMG

Ο διαλύτης αποτελούταν από διχλωρομεθάνιο (DCM) και διμεθυλοφορμαμίδιο (DMF) σε αναλογία 3:1 v/v. Το σύστημα ηλεκτροστατικής ινοποίησης που χρησιμοποιήθηκε αποτελούταν από αντλία σύριγγας, σύριγγα με χωρητικότητα 5mL και με βελόνα διαμέτρου 1mm, τροφοδοτικό υψηλής τάσης (0-30 kV) και περιστρεφόμενο συλλέκτη, ο οποίος τυλίχτηκε με αλουμινόχαρτο. Οι παράμετροι του πειράματος παρέμειναν σταθεροί για όλα τα δείγματα:

- Ρυθμός ροής διαλύματος → 0,5 mL/h
- Απόσταση ακροφύσιου από συλλέκτη → 7 cm
- Εφαρμοζόμενη τάση → 15.000 V
- Ρυθμός περιστροφής συλλέκτη → 10 rpm

Αμέσως μετά την παρασκευή των ινωδών μεμβρανών, τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε κλίβανο κενού σε πίεση που ισούταν με 0,05 atm και θερμοκρασία δωματίου για τουλάχιστον 1 ημέρα για την εξασφάλιση πλήρους απομάκρυνσης του διαλύτη.

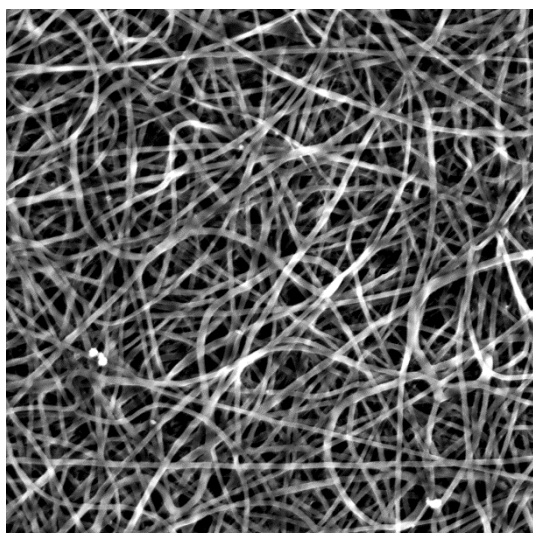
#### 3.2 Ανάλυση μορφολογίας ινών με ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης (SEM)

Για την ανάλυση της επιφανειακής μορφολογίας των ινών, χρησιμοποιήθηκε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης. Οι παράμετροι του πειράματος παρέμειναν σταθεροί για τη λήψη των εικόνων:

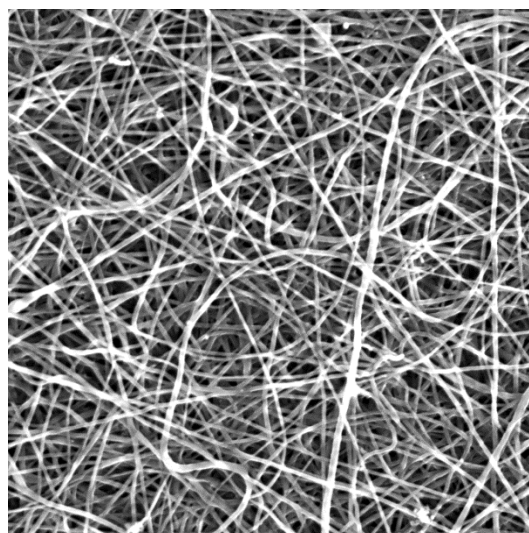
- Τάση επιτάχυνσης ηλεκτρονίων → 20 kV
- Απόσταση δείγματος από τον τελευταίο φακό του μικροσκοπίου (Working Distance) → 10 mm
- Διάμετρος δέσμης ηλεκτρονίων όταν φτάνει στο δείγμα (Spot Size) → 50

Οι φωτογραφίες των διαφορετικών δειγμάτων που ελήφθησαν παρουσιάζονται παρακάτω (εικόνες 8-11).

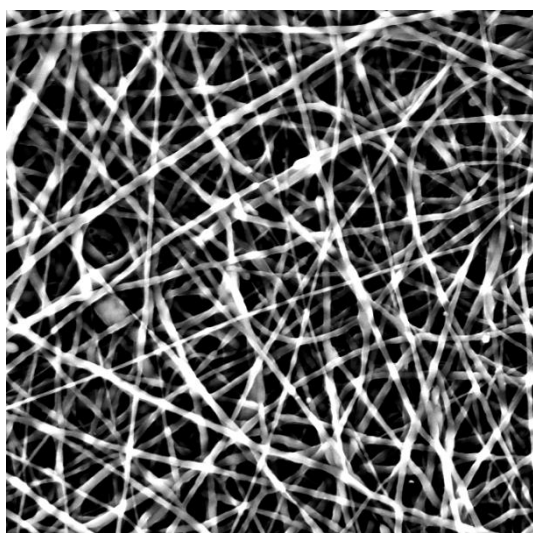




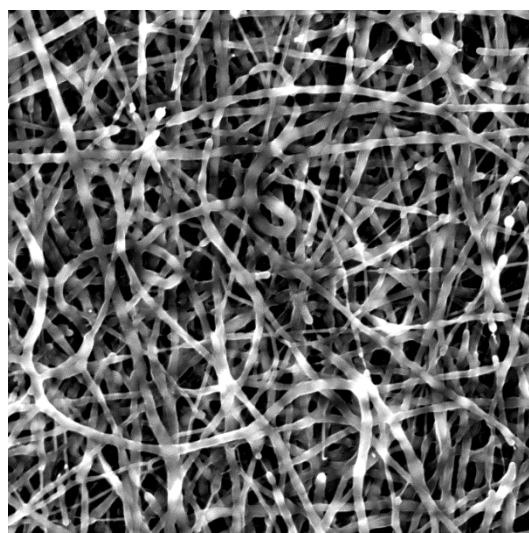
*Εικόνα 8. Μορφολογία ινών  
καθαρής PCL.*



*Εικόνα 9. Μορφολογία ινών  
δείγματος PCL/3,5CMG.*



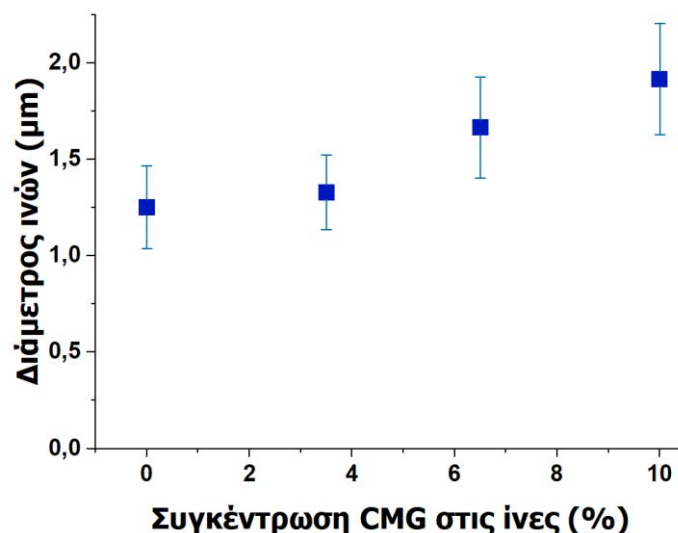
*Εικόνα 10. Μορφολογία ινών  
δείγματος PCL/6,5CMG.*



*Εικόνα 11. Μορφολογία ινών  
δείγματος PCL/10CMG.*

Από τις παραπάνω εικόνες παρατηρούνται λείες και ομοιόμορφές ίνες, χωρίς την παρουσία σφαιριδίων, υποδεικνύοντας την αποτελεσματικότητα των παραμέτρων του πειράματος. Στο δείγμα με την μέγιστη συγκέντρωση (10%) διακρίνονται ίνες με ελαφρώς μικρότερη ομοιομορφία. Το γεγονός αυτό μπορεί να οφείλεται στην μεταβολή των ιδιοτήτων του διαλύματος (υποενότητα 2.2.1), λόγω της προσθήκης σημαντικής ποσότητας μαστίχας. Χαρακτηριστικά, ήταν εμφανής με γυμνό μάτι η αύξηση του ιξώδους στο διάλυμα με την μέγιστη συγκέντρωση μαστίχας, σε σχέση με το διάλυμα χωρίς μαστίχα.

Για τον προσδιορισμό της διαμέτρου των ινών, χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα ImageJ (Schneider *et al.*, 2012) και μετρήθηκαν ξεχωριστά περισσότερες από 100 ίνες σε κάθε δείγμα, για την εύρεση του μέσου όρου και της τυπικής απόκλισης. Η επίδραση της συγκέντρωσης της μαστίχας, που έχει ενθυλακωθεί, στη μορφολογία των ινών παρουσιάζεται στην εικόνα 12.

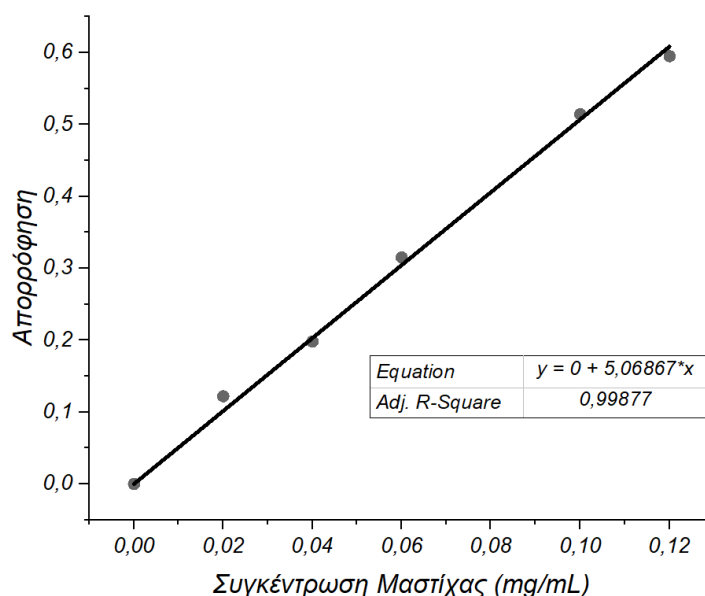


**Εικόνα 12.** Επίδραση της συγκέντρωσης της ενθυλακωμένης μαστίχας στη διάμετρο των ινών. Απεικονίζεται ο μέσος όρος  $\pm$  τυπική απόκλιση ( $n > 100$ ).

Είναι φανερό πως η αύξηση της ποσότητας της μαστίχας οδηγεί σε μικρή αύξηση της διαμέτρου των ινών που παράγονται.

### 3.3 Έλεγχος του ποσοστού ενθυλακωμένης μαστίχας

Η ποσότητα μαστίχας που ενσωματώθηκε τόσο στην επιφάνεια όσο και στο εσωτερικό των ινών σε σύγκριση με την ποσότητα της μαστίχας που είχε προστεθεί αρχικά προσδιορίστηκε με τη φασματοφωτομετρική μέθοδο, όπως περιγράφεται στην υποενότητα 2.2.3. Αρχικά, δημιουργήθηκε η πρότυπη καμπύλη απορρόφησης της μαστίχας, η οποία παρουσιάζεται στην εικόνα 13.



**Εικόνα 13.** Πρότυπη καμπύλη απορρόφησης μαστίχας.

Στη συνέχεια, για κάθε μέτρηση ελήφθησαν δείγματα μεμβρανών μάζας 3 mg, διαλύθηκαν σε ελάχιστη ποσότητα διχλωρομεθανίου (DCM) και μεταφέρθηκε κατάλληλη ποσότητα διαλύματος, ώστε η αναμενόμενη ποσότητα μαστίχας σε κάθε δείγμα να ισούται με 0,1 mg. Για κάθε διαφορετικό δείγμα χρησιμοποιήθηκε τυφλό, το οποίο περιείχε την ανάλογη ποσότητα του καθαρού πολυμερούς. Μετά την εξάτμιση του διαλύτη, πραγματοποιήθηκε η φασματοφωτομετρική μέθοδος. Προσδιορίστηκε η ποσότητα μαστίχας που έχει εγκλειστεί στις μεμβράνες με βάση τους παρακάτω τύπους:

$$\text{Αποτελεσματικότητα ενθυλάκωσης (\%)} = \frac{\text{Ποσότητα ενθυλακωμένης ουσίας}}{\text{Αρχική ποσότητα της ουσίας}} \times 100$$

$$\begin{aligned} \text{Πραγματικό ποσοστό ενθυλακωμένης ουσίας (\%)} \\ = \frac{\text{Ποσότητα ενθυλακωμένης ουσίας}}{\text{Συνολική μάζα ινών}} \times 100 \end{aligned}$$

Ύστερα, εκτιμήθηκε η αποτελεσματικότητα ενθυλάκωσης και το πραγματικό ποσοστό ενθυλακωμένης ουσίας, όπως φαίνεται στον πίνακα 4.

**Πίνακας 4. Αποτελεσματικότητα ενθυλάκωσης και πραγματικό ποσοστό ενθυλακωμένης μαστίχας**

| Δείγματα   | Αποτελεσματικότητα Ενθυλάκωσης (%) | Πραγματικό ποσοστό ενθυλακωμένης ουσίας (%) |
|------------|------------------------------------|---------------------------------------------|
| PCL/3,5CMG | 87 ± 6                             | 3,0 ± 0,2                                   |
| PCL/6,5CMG | 88 ± 3                             | 5,7 ± 0,2                                   |
| PCL/10CMG  | 87 ± 5                             | 8,7 ± 0,4                                   |

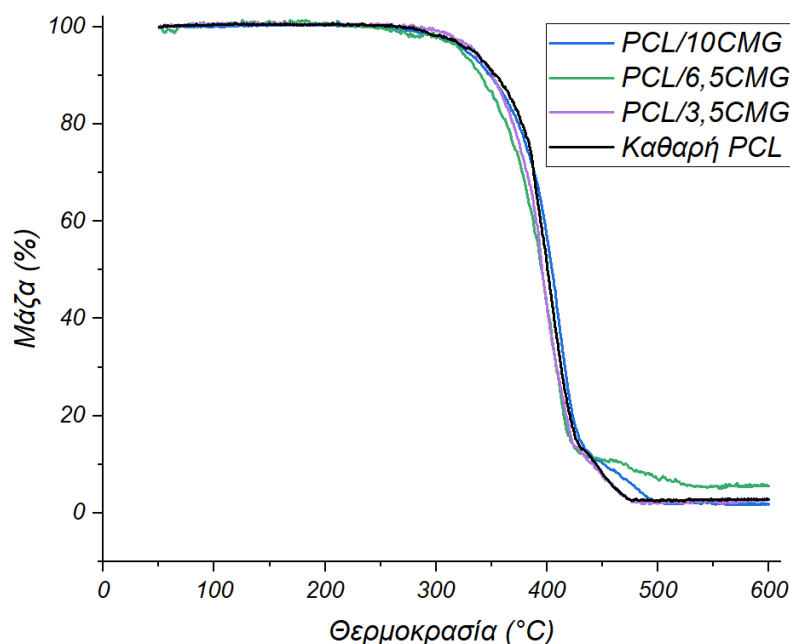
Σύμφωνα με τα παραπάνω αποτελέσματα, η ενθυλάκωση μαστίχας σε ίνες PCL ήταν επιτυχής, και μάλιστα, με μεγάλο ποσοστό αποτελεσματικότητας ( $\approx 87\text{-}88\%$ ).

### 3.4 Ανάλυση θερμικής συμπεριφοράς ινωδών μεμβρανών

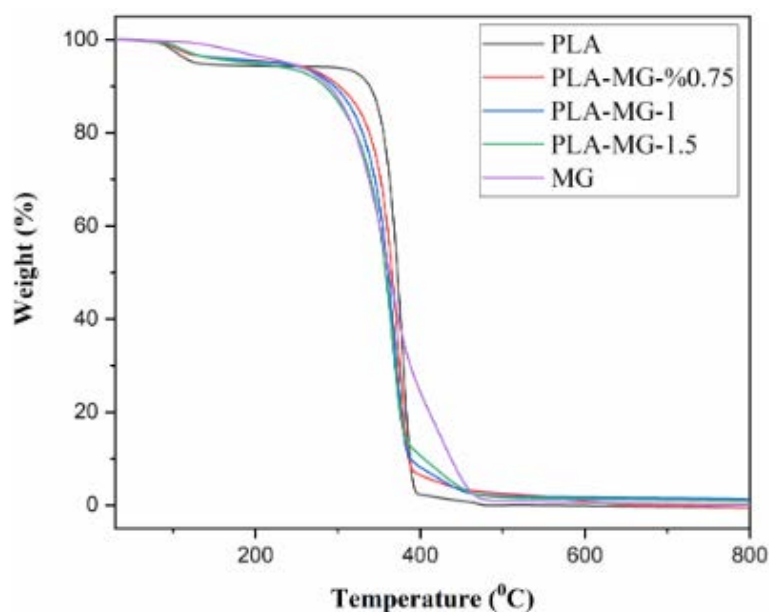
Η θερμική συμπεριφορά των σύνθετων μεμβρανών που παρασκευάστηκαν ελέγχθηκε με θερμοσταθμική ανάλυση (TGA) και ανάλυση διαφορικής θερμιδομετρίας σάρωσης (DSC).

#### 3.4.1 Αποτελέσματα θερμοσταθμικής ανάλυσης (TGA)

Κατά την πραγματοποίηση θερμοσταθμικής ανάλυσης τα δείγματα εξετάστηκαν σε αδρανείς συνθήκες (ρυθμός ροής αζώτου 20 mL/ min), με σταθερό ρυθμό αύξησης της θερμοκρασίας 10 °C/min μέχρι τους 600 °C. Τα αποτελέσματα που προέκυψαν παρουσιάζονται συγκεντρωτικά στην εικόνα 14.



Εικόνα 14. Επίδραση της συγκέντρωσης της μαστίχας στη θερμική σταθερότητα των ινωδών μεμβρανών (TGA).



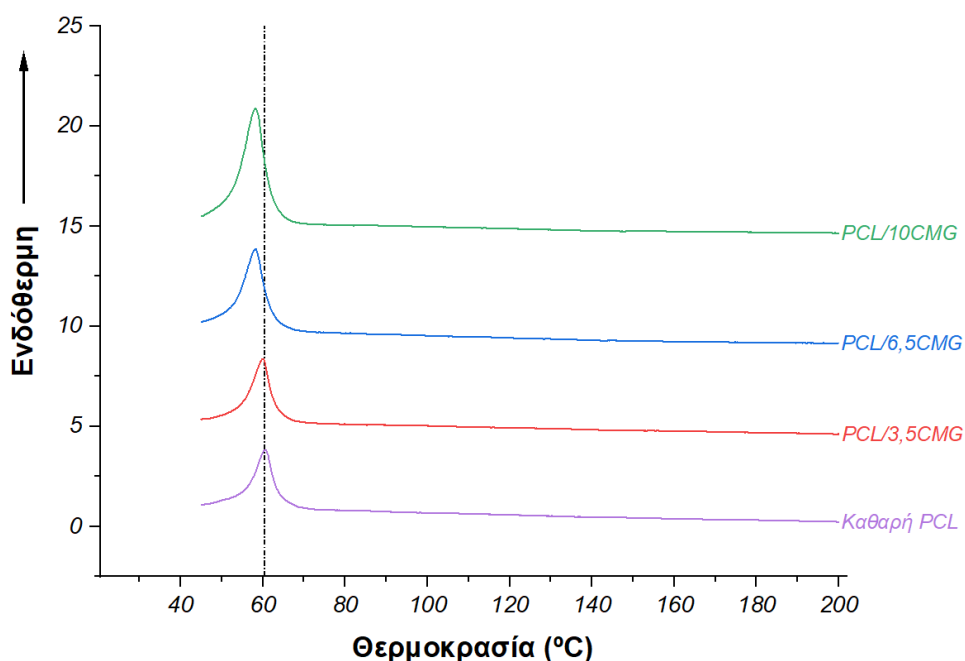
Εικόνα 15. Θερμογράφημα θερμοσταθμικής ανάλυσης (TGA) καθαρής μαστίχας (μωβ χρώμα)(Aydogdu Emir et al., 2023).

Από τα παραπάνω αποτελέσματα παρατηρείται σημαντική ομοιότητα ανάμεσα στα θερμικά χαρακτηριστικά των διάφορων δειγμάτων. Ο μέγιστος ρυθμός αποικοδόμησης σε όλα τα δείγματα παρατηρείται σε παρόμοια θερμοκρασία και κυμαίνεται από τους 402 °C έως τους 409 °C. Στα δείγματα με αυξημένη συγκέντρωση μαστίχας ελαττώνεται η θερμοκρασία έναρξης της αποικοδόμησης (πχ στο δείγμα PCL/10CMG  $\approx$  290 °C) σε σχέση με την καθαρή PCL ( $\approx$  310 °C), ενώ αντίστοιχα καθυστερεί η πλήρης αποσύνθεση των ινών. Σε πρόσφατη έρευνα (Aydogdu Emir et al., 2023) πραγματοποιήθηκε

θερμοσταθμική ανάλυση καθαρής μαστίχας (εικόνα 15, με μωβ χρώμα). Η θερμοκρασία έναρξης της αποικοδόμησής της είναι  $\approx 227^{\circ}\text{C}$  και ολοκληρώνεται περίπου στους  $490^{\circ}\text{C}$ . Επομένως, όσο αυξάνεται η συγκέντρωση της μαστίχας που έχει εγκλειστεί, τόσο το διάγραμμα TGA τείνει να ομοιάζει περισσότερο με την ανάλυση καθαρής μαστίχας, δικαιολογώντας τις διαφορές που παρατηρούνται στα διαφορετικά δείγματα. Συμπερασματικά, δεν εντοπίζεται σημαντική αλληλεπίδραση ανάμεσα στη μαστίχα και το πολυμερές, γεγονός που καθιστά την PCL ασφαλή φορέα για την ενθυλάκωση και τη μεταφορά της μαστίχας, χωρίς να επηρεάζει τις βιοχημικές της ιδιότητες.

### 3.4.2 Αποτελέσματα διαφορικής θερμιδομετρίας σάρωσης (DSC)

Για την εφαρμογή της διαφορικής θερμιδομετρίας σάρωσης, τα δείγματα ινών PCL-μαστίχας τοποθετήθηκαν σε μεταλλικά καψίδια και μελετήθηκαν ξεχωριστά. Ως υλικό αναφοράς χρησιμοποιήθηκε το κενό μεταλλικό καψίδιο, και όλες οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν σε σταθερή ροή αζώτου ( $20\text{ mL/min}$ ) και σταθερό ρυθμό αύξησης της θερμοκρασίας ( $10^{\circ}\text{C/min}$ ) έως τους  $200^{\circ}\text{C}$ . Τα αποτελέσματα της παρουσιάζονται συγκεντρωτικά στο παρακάτω γράφημα (εικόνα 16).



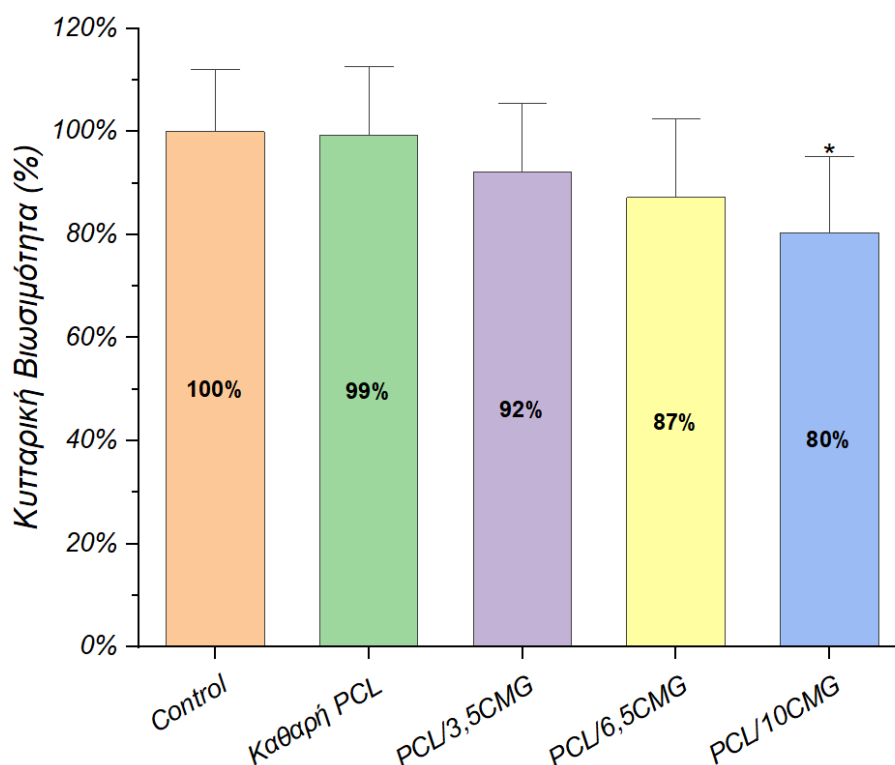
Εικόνα 16. Επίδραση της συγκέντρωσης της μαστίχας στα θερμικά χαρακτηριστικά των ινωδών μεμβρανών, τα οποία διερευνήθηκαν με διαφορική θερμιδομετρία σάρωσης (DSC).

Παρατηρείται μια ενδόθερμη κορυφή, η οποία αντιστοιχεί στην τήξη της PCL. Η αύξηση της συγκέντρωσης μαστίχας επιφέρει μετατόπιση της κορυφής σε χαμηλότερες τιμές. Η τάση αυτή είναι αναμενόμενη και οφείλεται στην ενθυλάκωση μικρών μορίων στην μήτρα του πολυμερούς, τα οποία δρουν ως φραγμός που εμποδίζει την διάχυση μορίων του πολυμερούς προς τον αναπτυσσόμενο κρύσταλλο. Ως αποτέλεσμα, αποτρέπει η κρυστάλλωση και διευκολύνεται η τήξη του πολυμερούς (Spartali *et al.*, 2024).



### 3.5 Προσδιορισμός βιοσυμβατότητας ινωδών μεμβρανών με κύτταρα HEK293

Οι σύνθετες μεμβράνες που παρασκευάστηκαν εξετάστηκαν ως προς την κυτταροτοξικότητά τους σε κύτταρα HEK293 με τη δοκιμασία MTT. Για την προετοιμασία των δειγμάτων, αρχικά δημιουργήθηκαν κυκλικά δείγματα διαμέτρου 4 mm με τη χρήση φλατζοκόφτη. Στη συνέχεια, τα δείγματα αποστειρώθηκαν με τη χρήση ακτινοβολία UV για τουλάχιστον 30 min σε κάθε πλευρά, πριν την χρήση τους. Ο προσδιορισμός της βιωσιμότητας των κυττάρων πραγματοποιήθηκε μετά από επώαση τους με τα δείγματα για 2 ημέρες. Τα αποτελέσματα της ανάλυσης παρουσιάζονται στην εικόνα 17.



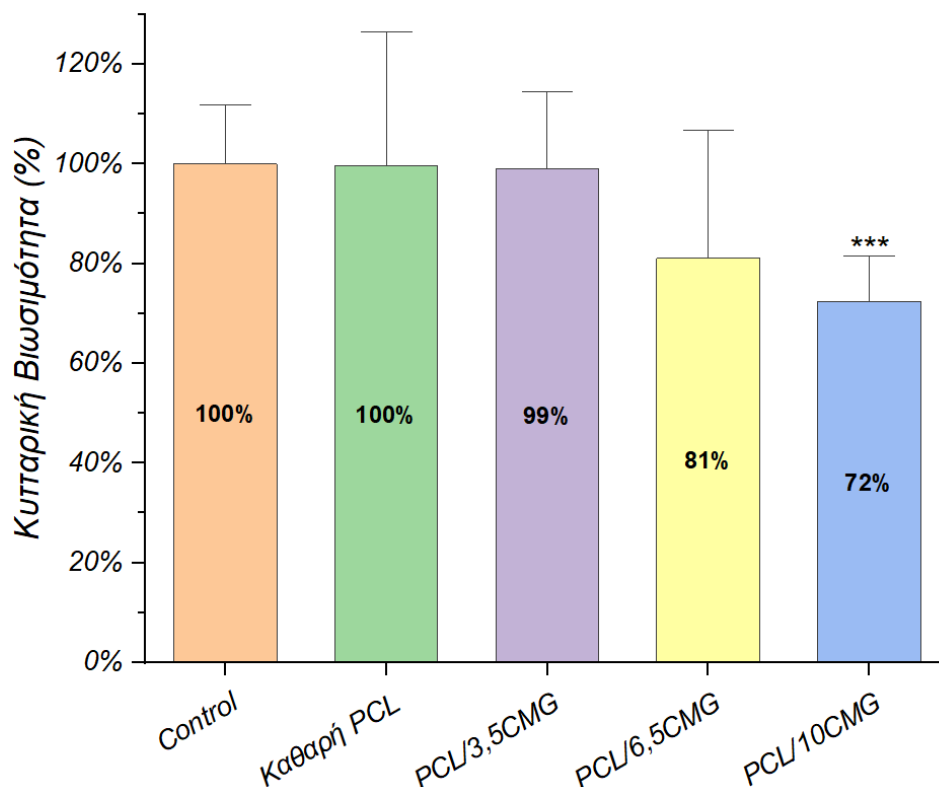
**Εικόνα 17.** Αποτελέσματα κυτταροτοξικότητας μεμβρανών PCL/μαστίχας σε κυτταρική σειρά HEK293. Απεικονίζεται ο μέσος όρος  $\pm$  τυπική απόκλιση ( $n = 4-8$ ), \* $p < 0,05$  (σε σύγκριση με το δείγμα ελέγχου).

Από το παραπάνω γράφημα προκύπτει ότι στατιστικά σημαντική μείωση της κυτταρικής βιωσιμότητας των κυττάρων HEK293 παρατηρείται σε αυξημένες συγκεντρώσεις μαστίχας (δείγμα PCL/10CMG), έπειτα από εφαρμογή της μεθόδου Student's t-test. Εξάλλου, διερεύνηση της κυτταροτοξικότητας των κλασμάτων της μαστίχας σε κύτταρα HEK293 που παρουσιάζεται σε προηγούμενη εργασία (Kalousi *et al.*, 2023) έδειξε ότι έπειτα από επώαση 48 h παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική μείωση της κυτταρικής βιωσιμότητας σε όλα τα κλάσματα που ελέγχθηκαν σε συγκέντρωση  $> 60 \mu\text{g/mL}$ . Ο αυξημένος ρυθμός κυτταρικής ανάπτυξης στα υπόλοιπα δείγματα υποδηλώνει ότι πιθανώς τα δείγματα αυτά αποτελούν ιδανικότερες επιλογές όταν η μεμβράνες προορίζονται για βιοϊατρικές εφαρμογές.



### 3.6 Προσδιορισμός αντικαρκινικής δράσης ινωδών μεμβρανών σε κύτταρα HepG2

Η δοκιμασία MTT εφαρμόστηκε και για τον έλεγχο της αντικαρκινικής δράσης των μεμβρανών PCL/μαστίχας στη βιωσιμότητα καρκινικών κυττάρων HepG2. Τα κύτταρα επωάστηκαν για 2 ημέρες με δείγματα μεμβρανών διαμέτρου 4 mm και τα αποτελέσματα της μεθόδου MTT παρουσιάζονται στην εικόνα 18.



**Εικόνα 18.** Αποτελέσματα κυτταροτοξικότητας μεμβρανών PCL/μαστίχας στην καρκινική κυτταρική σειρά HepG2. Απεικονίζεται ο μέσος όρος  $\pm$  τυπική απόκλιση ( $n=3-8$ ), \*\*\* $p < 0,001$  (σε σύγκριση με το δείγμα ελέγχου).

Από τα παραπάνω αποτελέσματα είναι φανερό πως η αύξηση της ποσότητας μαστίχας οδηγεί σε αναστολή της ανάπτυξης των καρκινικών κυττάρων. Χαρακτηριστικά αναφέρεται ότι στην περίπτωση του δείγματος με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση της ρητίνης (PCL/10CMG) παρατηρήθηκε μία μείωση της βιωσιμότητας των κυττάρων της τάξης του 28%. Τα αποτελέσματα αυτά συμβαδίζουν με προηγούμενη έρευνα (Gortzi *et al.*, 2022), όπου κλάσματα της μαστίχας ενθυλακώθηκαν σε λιποσώματα και περιόρισαν σε μεγάλο βαθμό την ανάπτυξη κυττάρων HepG2.

#### 4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η Μαστίχα Χίου (CMG) αποτελεί ένα φυσικό προϊόν με συνεχώς αυξανόμενο ενδιαφέρον και πολλαπλές βιολογικές δράσεις, οι οποίες την καθιστούν μία πολλά υποσχόμενη ένωση για βιοϊατρικές, φαρμακευτικές και καλλυντικοτεχνικές εφαρμογές.

Στην παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκε με επιτυχία ενθυλάκωση διαφορετικών ποσοτήτων μαστίχας σε ίνες από το βιοαποικοδομήσιμο και βιοσυμβατό πολυμερές μέσω ηλεκτροστατικής ινοποίησης. Η αποτελεσματικότητα της ενθυλάκωσης ήταν εξαιρετικά υψηλή, με το ποσοστό να ανέρχεται σε περίπου 87-88%. Η μορφολογία των ινών που παρήχθησαν διερευνήθηκε με ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης και προέκυψε ότι η ενσωμάτωση της μαστίχας οδηγεί σε μικρή αύξηση της διαμέτρου των ινών

Έλεγχος της θερμικής συμπεριφοράς των σύνθετων ινωδών μεμβρανών με θερμοσταθμική ανάλυση και διαφορική θερμιδομετρία σάρωσης έδειξε ότι δεν παρατηρείται ισχυρή αλληλεπίδραση μεταξύ PCL και ρητίνης και επομένως δεν αναμένεται κάποια διαφοροποίηση των βιοχημικών ιδιοτήτων της μαστίχας λόγω της ενθυλάκωσης.

Διερεύνηση της πιθανής κυτταροτοξικής δράσης του υλικού πραγματοποιήθηκε σε δύο κυτταρικές σειρές με τη δοκιμασία MTT. Παρατηρήθηκε ότι υψηλές συγκεντρώσεις μαστίχας επιδρούν ανασταλτικά στο ρυθμό ανάπτυξης της επιθηλιακής κυτταρικής σειράς HEK293. Αντίστοιχα ήταν τα αποτελέσματα και για την ηπατική καρκινική κυτταρική σειρά, όπου παρατηρήθηκε μείωση της κυτταρικής βιωσιμότητας με δόσοεξαρτώμενο τρόπο.

Για τη συνέχεια της παρούσας εργασίας, προτείνεται η διερεύνηση των αντιβακτηριακών και αντιοξειδωτικών ιδιοτήτων του σύνθετου υλικού, ενώ ιδιαίτερα σημαντικός είναι και ο έλεγχος του ρυθμού αποδέσμευσης της ρητίνης.

## 5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Abdel-Rahman A.-H. Y., Soad , Youssef A. M., (1975) Mastich as an antioxidant. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 52(10), 423-423.
- Amerikanou C., Dimitropoulou E., Gioxari A., Papada E., Tanaini A., Fotakis C., Zoumpoulakis P. , Kaliora A. C., (2021) Linking the IL-17A immune response with NMR-based faecal metabolic profile in IBD patients treated with Mastiha. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 138, 111535.
- Andreadou I., Mitakou S., Paraschos S., Efentakis P., Magiatis P., Kaklamanis L., Halabalaki M., Skaltsounis L. , Iliodromitis E. K., (2016) "Pistacia lentiscus L." reduces the infarct size in normal fed anesthetized rabbits and possess antiatheromatic and hypolipidemic activity in cholesterol fed rabbits. *Phytomedicine*, 23(11), 1220-1226.
- Arampatzis A. S., Giannakoula K., Kontogiannopoulos K. N., Theodoridis K., Aggelidou E., Rat A., Kampasakali E., Willems A., Christofilos D., Kritis A., Papageorgiou V. P., Tsvintzelis I. , Assimopoulou A. N., (2021) Novel electrospun poly-hydroxybutyrate scaffolds as carriers for the wound healing agents alkannins and shikonins. *Regenerative Biomaterials*, 8(3).
- Arzumanian V. A., Kiseleva O. I. , Poverennaya E. V., (2021) The Curious Case of the HepG2 Cell Line: 40 Years of Expertise. *Int J Mol Sci*, 22(23).
- Aydogdu Emir A., Akgun M. , Kirtil E., (2023) Effect of mastic gum integration on improvement of polylactic acid biodegradable films. *Polymer Engineering & Science*, 63(5), 1539-1550.
- Balan K. V., Demetzos C., Prince J., Dimas K., Cladaras M., Han Z., Wyche J. H. , Pantazis P., (2005) Induction of apoptosis in human colon cancer HCT116 cells treated with an extract of the plant product, Chios mastic gum. *In Vivo*, 19(1), 93-102.
- Balan K. V., Prince J., Han Z., Dimas K., Cladaras M., Wyche J. H., Sitaras N. M. , Pantazis P., (2007) Antiproliferative activity and induction of apoptosis in human colon cancer cells treated in vitro with constituents of a product derived from Pistacia lentiscus L. var. chia. *Phytomedicine*, 14(4), 263-272.
- Bhadran A., Shah T., Babanyinah G. K., Polara H., Taslimy S., Biewer M. C. , Stefan M. C., (2023) Recent Advances in Polycaprolactones for Anticancer Drug Delivery. *Pharmaceutics*, 15(7).
- Cui H., Li X., An X.-R., Liu W. , Yuan T., (2023) Masticadienonic acid from Chios mastic gum mitigates colitis in mice via modulating inflammatory response, gut barrier integrity and microbiota. *Phytomedicine*, 108, 154518.
- Dedoussis G. V. Z., Kaliora A. C., Psarras S., Chiou A., Mylona A., Papadopoulos N. G. , Andrikopoulos N. K., (2004) Antiatherogenic effect of Pistacia lentiscus via GSH restoration and downregulation of CD36 mRNA expression. *Atherosclerosis*, 174(2), 293-303.
- Dimas K., Hatziantoniou S., Wyche J. H. , Pantazis P., (2009) A Mastic Gum Extract Induces Suppression of Growth of Human Colorectal Tumor Xenografts in Immunodeficient Mice. *In Vivo*, 23(1), 63-68.
- Duru M. E., Cakir A., Kordali S., Zengin H., Harmandar M., Izumi S. , Hirata T., (2003) Chemical composition and antifungal properties of essential oils of three Pistacia species. *Fitoterapia*, 74(1), 170-176.
- Ema, (2015) Assessment Report on Pistacia Lentiscus L., Resin (Mastix).
- European Commission, (1997) Commission Regulation (EC) No 123/97 of 23 January 1997 supplementing the Annex to Commission Regulation (EC) No 1107/96 on the registration of geographical indications and designations of origin under the procedure laid down in Article 17 of Regulation (EEC) No 2081/92 (Text with EEA relevance). In: Official Journal of the European Communities.

- Fukazawa T., Smyrnioudis I., Konishi M., Takahashi M., Kim H. K., Nishimaki M., Xiang M. , Sakamoto S., (2018) Effects of Chios mastic gum and exercise on physical characteristics, blood lipid markers, insulin resistance, and hepatic function in healthy Japanese men. *Food Sci Biotechnol*, 27(3), 773-780.
- Georgantopoulos A., Vougioukas A., Kalousi F. D., Tsialtas I. , Psarra A.-M. G., (2023) Comparative Studies on the Anti-Inflammatory and Apoptotic Activities of Four Greek Essential Oils: Involvement in the Regulation of NF- $\kappa$ B and Steroid Receptor Signaling. *Life*, 13(7), 1534.
- Georgiadis I., Karatzas T., Korou L. M., Agrogiannis G., Vlachos I. S., Pantopoulou A., Tzanetakou I. P., Katsilambros N. , Perrea D. N., (2014) Evaluation of Chios mastic gum on lipid and glucose metabolism in diabetic mice. *J Med Food*, 17(3), 393-399.
- Gioxari A., Kaliora A. C., Papalois A., Agrogiannis G., Triantafillidis J. K. , Andrikopoulos N. K., (2011) Pistacia lentiscus resin regulates intestinal damage and inflammation in trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis. *J Med Food*, 14(11), 1403-1411.
- Gortzi O., Rovoli M., Katsoulis K., Graikou K., Karagkini D.-A., Stagos D., Kouretas D., Tsaknis J. , Chinou I., (2022) Study of Stability, Cytotoxic and Antimicrobial Activity of Chios Mastic Gum Fractions (Neutral, Acidic) after Encapsulation in Liposomes. *Foods*, 11(3), 271.
- Guo Y., Han Z., Zhang J., Lu Y., Li C. , Liu G., (2024) Development of a high-speed and ultrasensitive UV/Vis-CM for detecting total triterpenes in traditional Chinese medicine and its application. *Heliyon*, 10(11), e32239.
- He M.-L., Li A., Xu C.-S., Wang S.-L., Zhang M.-J., Gu H., Yang Y.-Q. , Tao H.-H., (2007) Mechanisms of antiprostata cancer by gum mastic: NF- $\kappa$ B signal as target. *Acta Pharmacologica Sinica*, 28(3), 446-452.
- He M.-L., Yuan H.-Q., Jiang A.-L., Gong A. Y., Chen W.-W., Zhang P.-J., Young C. Y. F. , Zhang J.-Y., (2006) Gum mastic inhibits the expression and function of the androgen receptor in prostate cancer cells. *Cancer*, 106(12), 2547-2555.
- Huwez F. U., Thirlwell D., Cockayne A. , Ala'aldeen D. a. A., (1998) Mastic Gum Kills *Helicobacter pylori*. *New England Journal of Medicine*, 339(26), 1946-1946.
- Inkson B. J., (2016) 2 - Scanning electron microscopy (SEM) and transmission electron microscopy (TEM) for materials characterization. *Materials Characterization Using Nondestructive Evaluation (NDE) Methods*, 17-43.
- Jyothi N. V., Prasanna P. M., Sakarkar S. N., Prabha K. S., Ramaiah P. S. , Srawan G. Y., (2010) Microencapsulation techniques, factors influencing encapsulation efficiency. *J Microencapsul*, 27(3), 187-197.
- Kaliora A. C., Stathopoulou M. G., Triantafillidis J. K., Dedoussis G. V. , Andrikopoulos N. K., (2007) Chios mastic treatment of patients with active Crohn's disease. *World J Gastroenterol*, 13(5), 748-753.
- Kalousi F. D., Pollastro F., Christodoulou E. C., Karra A. G., Tsialtas I., Georgantopoulos A., Salamone S. , Psarra A.-M. G., (2022) Apoptotic, Anti-Inflammatory Activities and Interference with the Glucocorticoid Receptor Signaling of Fractions from Pistacia lentiscus L. var. chia Leaves. *Plants*, 11(7), 934.
- Kalousi F. D., Pollastro F., Karra A. G., Tsialtas I., Georgantopoulos A., Salamone S. , Psarra A.-M. G., (2023) Regulation of Energy Metabolism and Anti-Inflammatory Activities of Mastiha Fractions from Pistacia lentiscus L. var. chia. *Foods*, 12(7), 1390.
- Kartalis A., Didagelos M., Georgiadis I., Benetos G., Smyrnioudis N., Marmaras H., Voutas P., Zotika C., Garoufalis S. , Andrikopoulos G., (2016) Effects of Chios mastic gum on cholesterol and glucose levels of healthy volunteers: A prospective, randomized, placebo-controlled, pilot study (CHIOS-MASTIHA). *Eur J Prev Cardiol*, 23(7), 722-729.
- Khalil A., Singh Lalia B., Hashaikh R. , Khraisheh M., (2013) Electrospun metallic nanowires: Synthesis, characterization, and applications. *Journal of Applied Physics*, 114(17).

- Kim J.-H., Choi J.-H., Jung Y.-S., Cho M.-J., Lee Y.-E., Park D.-O. , Song K.-B., (2016) Anticancer effect of mastic on human oral cancer cells. *jkaoh*, 40(3), 143-148.
- Kishimoto R., Kato N., Koike M., Iwashita N., Takagi Y. , Fukuyama T., (2021) Topical treatment with mastic (resin from *Pistacia lentiscus*) elicits anti-inflammatory and anti-pruritic responses by modulating keratinocyte activation in a mouse model of allergic dermatitis. *Phytomedicine*, 91, 153679.
- Kontogiannis C., Georgiopoulos G., Loukas K., Papanagnou E.-D., Pachi V. K., Bakogianni I., Laina A., Kouzoupis A., Karatzi K., Trougakos I. P. , Stamatelopoulos K., (2020) Chios mastic improves blood pressure haemodynamics in patients with arterial hypertension: Implications for regulation of proteostatic pathways. *European Journal of Preventive Cardiology*, 26(3), 328-331.
- Koychev S., Dommisch H., Chen H. , Pischon N., (2017) Antimicrobial Effects of Mastic Extract Against Oral and Periodontal Pathogens. *J Periodontol*, 88(5), 511-517.
- Loizou S., Paraschos S., Mitakou S., Chrousos G. P., Lekakis I. , Moutsatsou P., (2009) Chios mastic gum extract and isolated phytosterol tirucallol exhibit anti-inflammatory activity in human aortic endothelial cells. *Exp Biol Med (Maywood)*, 234(5), 553-561.
- Magiatis P., Melliou E., Skaltsounis A. L., Chinou I. B. , Mitaku S., (1999) Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Pistacia lentiscus* var. *chia*. *Planta Med*, 65(8), 749-752.
- Morkhade D. M., (2017) Evaluation of gum mastic (*Pistacia lentiscus*) as a microencapsulating and matrix forming material for sustained drug release. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 12(5), 424-432.
- Ottria R., Xynomilakis O., Casati S., Abbiati E., Maconi G. , Ciuffreda P., (2023) Chios Mastic Gum: Chemical Profile and Pharmacological Properties in Inflammatory Bowel Disease: From the Past to the Future. *Int J Mol Sci*, 24(15).
- Papada E., Forbes A., Amerikanou C., Torović L., Kalogeropoulos N., Tzavara C., Triantafyllidis J. K. , Kaliora A. C., (2018) Antioxidative Efficacy of a *Pistacia Lentiscus* Supplement and Its Effect on the Plasma Amino Acid Profile in Inflammatory Bowel Disease: A Randomised, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Nutrients*, 10(11).
- Papalois A., Gioxari A., Kaliora A. C., Lymperopoulou A., Agrogiannis G., Papada E. , Andrikopoulos N. K., (2012) Chios mastic fractions in experimental colitis: implication of the nuclear factor  $\kappa$ B pathway in cultured HT29 cells. *J Med Food*, 15(11), 974-983.
- Paraschos S., Magiatis P., Gousia P., Economou V., Sakkas H., Papadopoulou C. , Skaltsounis A. L., (2011) Chemical investigation and antimicrobial properties of mastic water and its major constituents. *Food Chem*, 129(3), 907-911.
- Paraschos S., Magiatis P., Mitakou S., Petraki K., Kalliaropoulos A., Maragkoudakis P., Mentis A., Sgouras D. , Skaltsounis A. L., (2007) In vitro and in vivo activities of Chios mastic gum extracts and constituents against *Helicobacter pylori*. *Antimicrob Agents Chemother*, 51(2), 551-559.
- Protopapa E. E., Heliou A., Tsigonia A., Kefala V., Triantafyllou A. , Tsaknis J., (2001) The antiphlogistic action of the Chios mastic essential oil: Treatment of skin irritations resulting from hair epilation and peeling with lotions containing mastic essential oil [Article]. *Review of Clinical Pharmacology and Pharmacokinetics, International Edition*, 15(3 SUPPL.), 203-205.
- Rauch C., Feifel E., Amann E.-M., Spötl H. P., Schennach H., Pfaller W. , Gstraunthaler G., (2011) Alternatives to the use of fetal bovine serum: Human platelet lysates as a serum substitute in cell culture media. *ALTEX - Alternatives to animal experimentation*, 28(4), 305-316.
- Sakagami H., Kishino K., Kobayashi M., Hashimoto K., Iida S., Shimetani A., Nakamura Y., Takahashi K., Ikarashi T., Fukamachi H., Satoh K., Nakashima H., Shimizu T., Takeda K.,

- Watanabe S., Nakamura W., (2009) Selective antibacterial and apoptosis-modulating activities of mastic. *In Vivo*, 23(2), 215-223.
- Schneider C. A., Rasband W. S., Eliceiri K. W., (2012) NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature Methods*, 9(7), 671-675.
- Sharif Sharifi M., Hazell S. L., (2009) Fractionation of Mastic Gum in Relation to Antimicrobial Activity. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2(1), 2-10.
- Spartali C., Psarra A.-M. G., Marras S. I., Tsiptsias C., Georgantopoulos A., Kalousi F. D., Tsakalof A., Tsivintzelis I., (2024) Silybin-Functionalized PCL Electrospun Fibrous Membranes for Potential Pharmaceutical and Biomedical Applications. *Polymers*, 16(16), 2346.
- Stepanenko A. A., Dmitrenko V. V., (2015) HEK293 in cell biology and cancer research: phenotype, karyotype, tumorigenicity, and stress-induced genome-phenotype evolution. *Gene*, 569(2), 182-190.
- Tassou C. C., Nychas G. J. E., (1995) Antimicrobial activity of the essential oil of mastic gum (*Pistacia lentiscus* var. *chia*) on Gram positive and Gram negative bacteria in broth and in Model Food System. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 36(3), 411-420.
- Taylor G. I., (1964) Disintegration of water drops in an electric field. *Proceedings of the Royal Society of London. Series A. Mathematical and Physical Sciences*, 280(1382), 383-397.
- Triantafyllou A., Chaviaras N., Sergentanis T. N., Protopapa E., Tsaknis J., (2007) Chios mastic gum modulates serum biochemical parameters in a human population. *J Ethnopharmacol*, 111(1), 43-49.
- Tzani A. I., Doulamis I. P., Konstantopoulos P. S., Pasiou E. D., Daskalopoulou A., Iliopoulos D. C., Georgiadis I. V., Kavantzias N., Kourkoulis S. K., Perrea D. N., (2018) Chios mastic gum decreases renin levels and ameliorates vascular remodeling in renovascular hypertensive rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 105, 899-906.
- Unesco, (2014) Ninth Session of the Intergovernmental Committee (9.COM). Paris, France.
- Vallianou I., Peroulis N., Pantazis P., Hadzopoulou-Cladaras M., (2011) Camphene, a plant-derived monoterpene, reduces plasma cholesterol and triglycerides in hyperlipidemic rats independently of HMG-CoA reductase activity. *PLoS One*, 6(11), e20516.
- Vrouvaki I., Koutra E., Kornaros M., Avgoustakis K., Lamari F. N., Hatziantoniou S., (2020) Polymeric Nanoparticles of *Pistacia lentiscus* var. *chia* Essential Oil for Cutaneous Applications. *Pharmaceutics*, 12(4), 353.
- Wang D., Abbas Z., Lu L., Liang S., Zhao X., Xu P., Zhao K., Suo L., Cui Y., Yin P., Tang B., Xie J., Yang Y., Liang J., (2022) Simulation of Cone-Jet and Micro-Drip Regimes and Printing of Micro-Scale Patterns on PET Substrate. *Polymers*, 14(13), 2683.
- Xue J., Wu T., Dai Y., Xia Y., (2019) Electrospinning and Electrospun Nanofibers: Methods, Materials, and Applications. *Chem Rev*, 119(8), 5298-5415.
- Yavuzer R., Kelly C., Durrani N., Mittal V., Jackson I. T., Remine S., (2005) Reinforcement of subcuticular continuous suture closure with surgical adhesive strips and gum mastic: Is there any additional strength provided? *The American Journal of Surgery*, 189(3), 315-318.
- Zhou L., Satoh K., Takahashi K., Watanabe S., Nakamura W., Maki J., Hatano H., Takekawa F., Shimada C., Sakagami H., (2009) Re-evaluation of anti-inflammatory activity of mastic using activated macrophages. *In Vivo*, 23(4), 583-589.



## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο εργαστήριο Δομικής και Λειτουργικής Βιοχημείας του Τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας στην Λάρισα στα πλαίσια του προγράμματος μεταπτυχιακών σπουδών «Εφαρμογές Μοριακής Βιολογίας - Μοριακή Γενετική - Διαγνωστικοί Δείκτες» με επιβλέποντα καθηγητή τον κ. Μαρρά Σωτήριο. Πρωτίστως, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον υπεύθυνο καθηγητή για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε, την συνεχή ενασχόληση και τις συμβουλές του. Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω την κ. Ψαρρά για το ενδιαφέρον της, τις συμβουλές και, γενικότερα, τη βοήθεια της, ιδιαίτερα για τα πειράματα στον χώρο των κυτταροκαλλιιεργειών και τον χειρισμό της μαστίχας. Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ. Τσιβιντζέλη για την καθοδήγησή του στα πειράματα που πραγματοποιήθηκαν στο εργαστήριο Φυσικοχημείας του τμήματος Χημικών Μηχανικών του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης, καθώς και τον κ. Τζιμπιλή, για την φιλοξενία τους.

Ένα τεράστιο ευχαριστώ στον Αλεξόπουλο Σεραφείμ, υποψήφιο διδάκτορα του εργαστηρίου, που ήταν πάντα πρόθυμος για να με βοηθήσει και να με συμβουλευσει. Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους συμφοιτητές μου Σουιλεμέζη Σταυρούλα και Σουγλέρη Χρήστο για τη συνεργασία τους, καθώς και όλα τα μέλη του εργαστηρίου.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω την Ένωση Μαστιχοπαραγωγών Χίου για τη δωρεά της σκόνης Μαστίχας Χίου που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα διπλωματική εργασία.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους γονείς μου, Μιχαήλ και Παρασκευή, και την αδερφή μου, Ιωάννα, για την αμέριστη υποστήριξη, κατανόηση και βοήθεια.