

UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2019

Angelika Jirsová

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko- technologická

Nanoroboti v medicíně - respirocyty

Angelika Jirsová

Bakalářská práce

2019

University of Pardubice
Faculty of Chemical Technology

Nanorobots in medicine – respirocytes

Angelika Jirsová

Bachelor thesis

2019

Zadání práce

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 9/2012, bude práce zveřejněna v Univerzitní knihovně a prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne

.....
Angelika Jirsová

Poděkování

Ráda bych poděkovala vedoucí své práce paní RNDr. Lucii Korecké, Ph.D., za její odborné vedení, trpělivost, cenné rady a připomínky, které mi pomohly při tvorbě mé práce.

ANOTACE

Práce je rešerší na téma nanoroboti a nanotechnologie se zaměřením na respirocyty a mikrobivory. Je popsáno jejich složení, funkce a bezpečnost. Poukazuje i na možné využití těchto nanorobotů v medicíně budoucnosti. Vedle toho se zabývá i využitím nanomotorů a nanočástic v biomedicínských aplikacích. Respirocyty ani mikrobivory nebyly zatím zkonstruovány, ale nanomotory jsou již využívány v *in vitro* pokusech.

KLÍČOVÁ SLOVA

nanotechnologie, nanorobot, respirocyt, mikrobivor, nanomotor, nanočástice

TITLE

Nanorobots in medicine - respirocytes

ANNOTATION

The work is a theoretical compilation on the topic of nanorobots and nanotechnology with a focus on respirocytes and microbivores. Their composition, function and safety are described. It also points to the possible use of these nanorobots in the medicine of the future. In addition, it also deals with the use of nanomotors and nnaoparticles in biomedical applications. Neither the respirocytes nor the microbivores have been constructed yet, but the nanomotors are already being used in in vitro experiments.

KEYWORDS

nanotechnology, nanorobots, respirocytes, microbivores, nanomotors, nanoparticles

Obsah

1	ÚVOD.....	12
2	NANOROBOTI.....	13
3	APLIKACE NANOMOTORŮ	15
4	APLIKACE NANOČÁSTIC V MEDICÍNĚ	16
5	NANOROBOTI V MEDICÍNĚ	20
6	RESPIROCYTY	22
6.1	STRUKTURA RESPIROCYTU	22
6.2	FUNKCE RESPIROCYTŮ	25
6.3	DALŠÍ VYUŽITÍ RESPIROCYTŮ	25
6.4	VSTUP A VÝSTUP RESPIROCYTŮ Z ORGANISMU.....	26
6.5	BEZPEČNOST RESPIROCYTŮ	26
7	MIKROBIVORY	28
7.1	FAGOCYTÓZA.....	28
7.2	STRUKTURA MIKROBIVORU	29
7.3	FUNKCE MIKROBIVORU	30
7.4	BEZPEČNOST MIKROBIVORŮ	31
8	ZÁVĚR.....	32
9	ZDROJE	33
10	ZDROJE OBRÁZKŮ	38

Obrázek 1 Struktura nanorobotu ¹	13
Obrázek 2 Hnací síly nanomotorů ²	14
Obrázek 3 Ukázka kosti s vyznačením místa aplikace hydrogelu s nanočásticemi zlata ³	19
Obrázek 4 Chirurgický nanorobot ⁴	21
Obrázek 5 Erytrocyt ⁵	22
Obrázek 6 Schéma respirocytu ⁶	23
Obrázek 7 Schéma rotoru ⁷	23
Obrázek 8 van der Waalsova rovnice:	24
Obrázek 9 Respirocyty v krevním řečišti ⁹	26
Obrázek 10 Diamantový povrch respirocytů ¹⁰	27
Obrázek 11 Fagocytóza ¹¹	29
Obrázek 12 Návrh Mikrobivoru ¹²	30
Obrázek 13 Vstup cizorodé látky do Mikrobivoru ¹³	31

Seznam zkratek

AgNPs	stříbrné nanočástice, z angl. Silver nanoparticles
AK	aminokyselina
ALP	alkalická fosfatáza, z angl. Alkaline phosphatase
APO/DOX	apoferritin/doxorubicin
AuNPs	zlaté nanočástice, z angl. Gold nanoparticles
CNT	uhlíkové nanotrubičky, z angl. Carbon nanotubes
CRP	C-reaktivní protein
CT	počítačová tomografie, z angl. Computed Tomography
DMEM	z angl. Dulbecco's Modified Eagle's medium
DNA	deoxyribonukleová kyselina, z angl. Deoxyribonucleic acid
DSL	dynamický rozptyl světla, z angl. Dynamic light scattering
Elli	ellipticin
FE-SEM	emisní elektronový mikroskop, z angl. Field Emission Scanning Electron Microscopes
HAV	virus Hepatitidy A, z angl. Hepatitis A virus
Hb	hemoglobin
HBV	virus Hepatitidy B, z angl. Hepatitis B virus
HCV	virus Hepatitidy C, z angl. Hepatitis C virus
HDV	virus Hepatitidy D, z angl. Hepatitis D virus
HeLa	nádorové buňky děložního hrdla dle Henrietty Lacksové
HER2	lidský epidermální receptor
HEV	virus Hepatitidy E, z angl. Hepatitis E virus
HGV	virus Hepatitidy G, z angl. Hepatitis G virus
HIV	virus lidského imunodeficitu, z angl. Human Immunodeficiency Virus
MC3T3-E1	osteoblasty z myších lebek
MNP	magnetické nanočástice, z angl. Magnetic nanoparticles
MPO	myeloperoxidáza
MTT	3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromid
NMR	nukleární magnetická resonance, z angl. Nuclear magnetic resonance
PEG	polyethylenglykol
PET	pozitronová emisní tomografie, z angl. Positron Emission Tomography
PTK7	tyrosin-protein kináza

PVA	polyvinylalkohol
PVP	polyvinylpyrolidon
RES	retikuloendoteliální systém
rRNA	ribozomální ribonukleová kyselina, z angl. Ribosomal ribonucleic acid
TfR	transferinový receptor
TLR	toll-like receptor

1 ÚVOD

Tato práce se zabývá nanoroboty, a to konkrétně respirocyty a mikrobivory a jejich možným potenciálem pro budoucí využitelnost v medicíně. Zároveň uvádí již současné pokroky v aplikaci nanomotorů a nanočástic při pokusech *in vitro*.

Nanomotory se pohybují díky magnetické a ultrazvukové energii. Chemicky poháněný motor může být poháněn např. pomocí elektrokatalytického rozkladu peroxidu vodíku na kyslík, který vyvolá pohyb. Další možností pohybu je ovládání magnetickým polem nebo akustický pohon využívající trvalý asymetrický proud produkující omezenou hnací rychlost.

Nanočástice se v současné medicíně využívají např. při boji s rakovinotvornými buňkami. Jsou známy již z dob starověku, kde je medicíni využívali k léčebným účelům pro léčbu psychických poruch, syfilis nebo epilepsie.

Nanoroboti obecně jsou mikroskopické částice, které by mohly pracovat na molekulární úrovni. Při jejich stavbě by mohly být použity materiály jako uhlíkové nanotrubičky, kovové nanodráty a diamantu podobné částice. Nanoroboti by mohli pomáhat při léčbě nádorového bujení, v regenerativní nebo v transplantační medicíně.

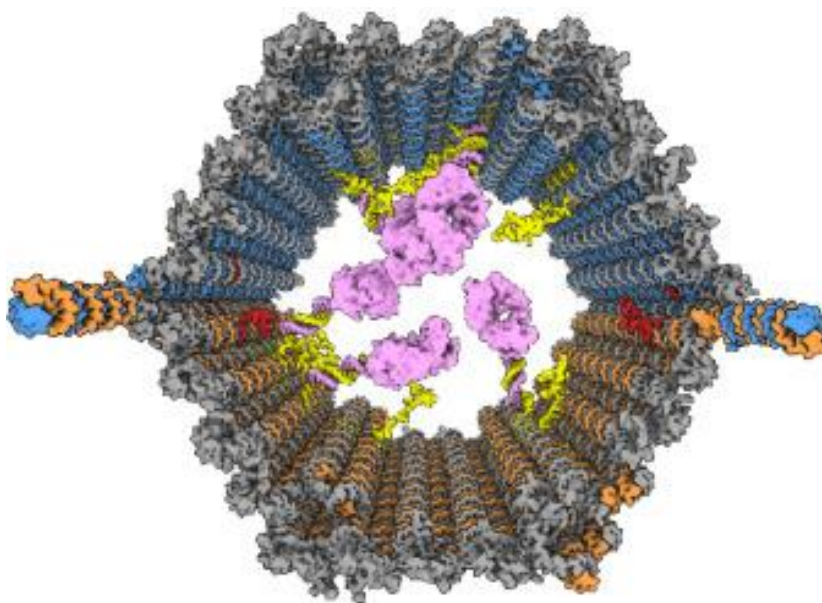
Příkladem nanorobotů jsou respirocyty, čili uměle vytvořené nanopřístroje, které by mohly podpořit či zcela nahradit funkci červených krvinek. Dále by mohly být použity jako umělé krevní náhrady, čímž by se minimalizovalo riziko přenosu onemocnění, jako je HIV, hepatitida nebo malárie, které jsou běžně přenosné krví.

Dalším příkladem jsou mikrobivory, které by mohly podporovat či zcela nahrazovat přirozené fagocytární buňky lidského organismu. Jejich další funkcí by mohlo být uchovávání patogenního materiálu ve svém těle jako schránce pro další lékařské vyšetření.

2 NANOROBOTI

Nano, v překladu z řečtiny znamená “skřítek“ nebo “trpaslík“, v kombinaci s podstatným jménem dává vznik pojmům, jako nanometr, nanotechnologie a nanorobot¹. Nanometr je miliardtinou metru (10^{-9} m). Nanotechnologie je společný pojem pro širokou škálu technologií, které se zabývají strukturami a procesy v nanometrovém měřítku. Průkopníkem vize nanotechnologie (cílené manipulace hmotou na atomové úrovni) byl americký držitel Nobelovy ceny za fyziku Richard P. Feynman, který ji formuloval již v roce 1959².

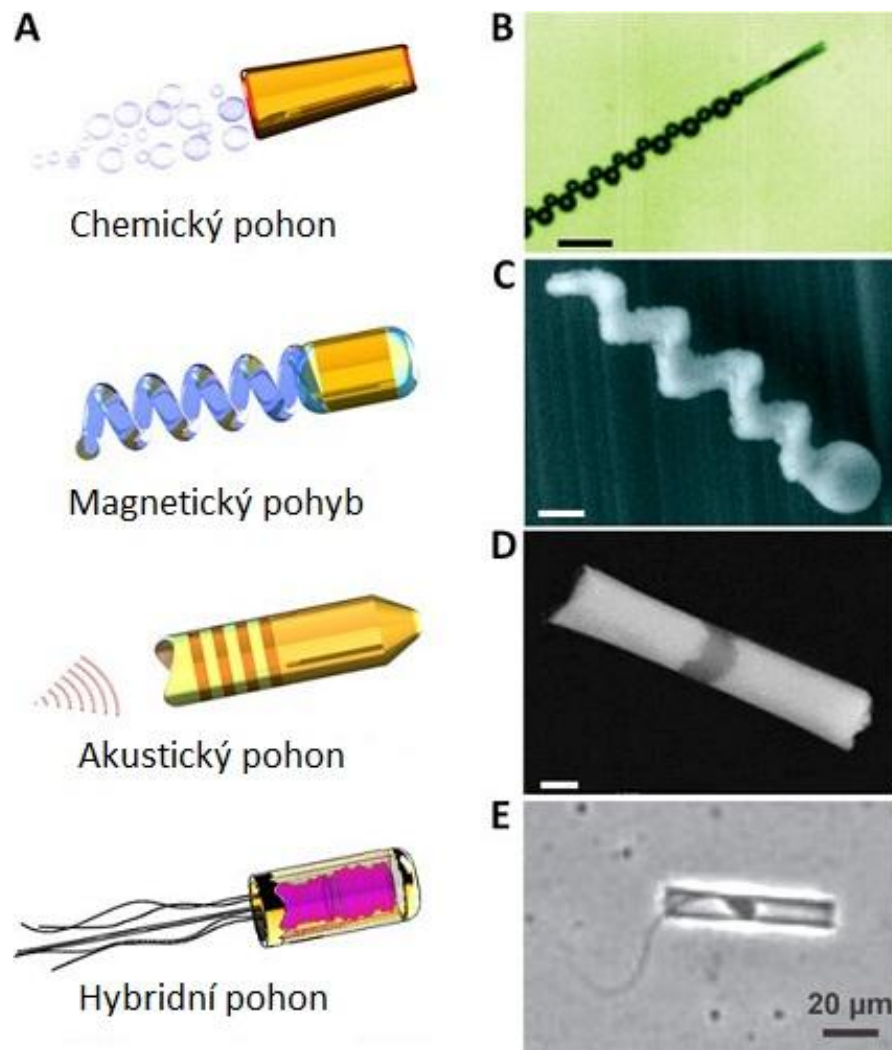
Nanoroboti jsou mikroskopické přístroje, které by měly pracovat na molekulární a buněčné úrovni, a byly využitelné v medicíně nebo jiných oborech. Nanoroboti by mohli být sestaveni z nanomateriálů jako uhlíkových nanotrubic (CNT, z angl. Carbon nanotubes), kovových nanodrátů a možná diamantu podobných materiálů (Obr.1). Jak sestavit tak malé přístroje je stále otevřenou otázkou. Zatím nikdo aplikovat tyto nanomateriály k sestavení nanorobotu nedokázal. Ať se vyrobí z biologických nebo nebiologických materiálů, výroba bude muset být levná a umožňovat produkci ve velkém měřítku³.



Obrázek 1 Struktura nanorobotu¹

Nanoroboti jako kompletní nanopřístroje, jak si je představoval Robert A. Freitas Jr., americký vědec zabývající se nanotechnologiemi, jsou sice stále vizí budoucnosti. Současnost už ale patří nanočásticím a nanomotorům, které už jsou hojně aplikovány, byť jen při pokusech *in vitro*. Pár navržených prototypů (Obr.2) užívá chemicky poháněné motory, které převádějí lokálně dodávané palivo do silových a pohybových motorů, které využívají magnetické a ultrazvukové energie (někdy optické, tepelné a elektrické) k řízení pohybu

nanorobotu^{4,5-8}. Palivem pro chemicky poháněný motor, tzv. nanomotor, může být vodný roztok peroxidu vodíku rozkládající se na kyslík, čímž se generují plynové bubliny⁵. Další možností pohybu je magnetické ovládání, které napodobuje mikroorganismy s pohyblivým bičíkem⁶. Nanomotory na akustický pohon využívají trvalý asymetrický proud produkující omezenou hnací rychlost⁷. Hybridní nanoroboti kombinují umělá zařízení s biologickým organismem např. spermií, bakterií, které je pohání⁸.



Obrázek 2 Hnací síly nanomotorů²

3 APLIKACE NANOMOTORŮ

Příkladem využití chemicky poháněného nanomotoru je nanomotor s Au-Pt nanodrátkem, vykonávající pohyb díky elektrokatalytickému rozkladu peroxidu vodíku na kyslík. Tento nanomotor se využívá například u detekce DNA a bakteriální rRNA. Principem této detekce je monitorování zvyšující se rychlosti nanomotorů vlivem rozpouštění stříbrných nanočástic (AgNPs), které jsou na povrchu stříbrné detekční sondy působením peroxidu vodíku, který je použitý, jako palivo nanomotoru. Rozpouštěním nanočástic vznikají stříbrné ionty. Tato detekce využívá sandwichového uspořádání komponent. Uspořádání je následující: zlatá sonda, nukleová kyselina, modifikovaná sonda se stříbrnými nanočásticemi. Z tohoto vyplývá, že koncentrace cílové nukleové kyseliny se zachycuje zlatou detekční sondou. Čím vyšší je koncentrace nukleové kyseliny, tím víc stříbrných iontů je zachyceno detekční sondou a tím vyšší je rychlost nanomotoru. Rychlost pohybu nanomotoru je tedy přímo úměrná koncentraci nukleové kyseliny. Změnu v rychlosti pohybu můžeme pozorovat pomocí optických mikroskopů⁹.

Tento koncept nanomotorů byl použit i pro detekce proteinových markerů ve spojení s protilátkami nebo aptamerovými receptory^{10,11}.

Dalším příkladem pohonu nanomotoru je pohon pomocí ultrazvukových signálů uvnitř živých buněk, který ve své práci popisuje Wang a kol. (2014). Tyčové nanomotory s ultrazvukovým pohonem byly zabudovány do živých nádorových HeLa buněk. Tyto nanomotory byly sestaveny ze zlatých tyček o šířce 300 nm a délce 3 μm. Jakmile pronikly do buněk, byly aktivovány rezonančním ultrazvukovým signálem při frekvenci 4 MHz a sledoval se pohyb a víření. Díky šetrnému ultrazvukovému pohonu zůstávaly buňky nepoškozené a životaschopné. To dává možnost využití tohoto mechanismu např. pro biomedicínské aplikace¹².

Melek Kiristi a kol. (2015) popsali využití nanomotorů v kombinaci s biologicky aktivní složkou, kterou je například kombinace ultrazvukem poháněných nanomotorů z porézních zlatých nanočástic s antibakteriální aktivitou enzymu lysozymu pro boj s bakteriemi. Výhodou těchto nanoporézních motorů je velký aktivní povrch s větší možností vazby enzymů, což má za následek vyšší antimikrobiální aktivitu proti grampozitivním a gramnegativním bakteriím. Dle výsledku experimentů jsou takovéto nanomotory rychlé a účinné, např. bakterie *Micrococcus lysodeikticus* byly během 1-5 minut usmrceny z 69-84%¹³.

Rozsáhlé diskuze na poli biomedicínské aplikace se z velké části soustřeďují na nanomotory bez nutnosti použití paliv ke svému pohybu. Řešením by mohly být např.

magnetické polymerní částice, které by cíleně přenášely léčivo do nádorových buněk. Pokusy prokázaly, že magnetické nanotyčky z kombinace niklu a stříbra o délce 5-6 μm a o průměru 200 nm jsou schopny transportovat molekuly o velikosti několika jednotek mikrometrů s rychlostí vyšší než $10 \mu\text{m}/\text{s}^{-1}$. Tyto pokusy byly provedeny v biologických médiích na rakovinných HeLa buňkách, kdy do nich byly aplikovány mikročástice s obsahem léčiva¹⁴.

4 APLIKACE NANOČÁSTIC V MEDICÍNĚ

Kromě nanomotorů se využívají i nanočástice, kdy se využívá jejich aplikace v medicíně, konkrétně při boji s rakovinou tvornými buňkami. Nanočástice zlata se používaly už v době starověku, kde je k léčebným účelům, hlavně ve formě roztoku, který pacienti vypili, využívali pro léčbu psychických poruch, syfilis nebo epilepsie již Číňané, Arabové nebo Indové. V současné medicíně, jsou ale využívány i další druhy nanočástic¹⁵. Zde je pár příkladů.

Nejnovější pokusy poukázaly na to, že zlaté nanočástice konjugované DNA-aptamérem s vysokou afinitou k PTK7 (tyrosin-protein kináza u karcinomu střev) a HER2 (lidský epidermální receptor u karcinomu prsu) buňkám prokázaly vysokou citlivost a selektivitu na detekci rakovinných buněk pomocí spektroskopie a fluorescenčního značení¹⁶.

Zde je pár příkladů využití nanotransportérů a nanočástic u různých druhů karcinomů, kdy se pozoruje jejich biokompatibilita, či schopnost využití jako „drug delivery“ systémy.

Karcinom prsu

U tohoto karcinomu pozorovali Tesařová a kol. (2019) biokompatibilitu biologického nanotransportéru tzv. PASylací a PEGylací. PASylace představuje povrchovou modifikaci pomocí peptidových sekvencí s AK prolinem, alaninem a serinem. PEGylace je modifikace povrchu polyetylen glykolem. Jako nanotransportér využili biologickou látku a to koňský L22/H2-ferritin modifikovaný pomocí PAS či PEG řetězců, do nichž bylo enkapsulováno cytostatické léčivo ellipticin (Elli). Bylo prokázáno, že modifikace nanotransportéru pomocí PASylace má vyšší cytotoxickou aktivitu pro maligní nádor než nanotransportér bez modifikace. Zároveň se prokázaly i vyšší antiangiogenní účinky (inhibice cév a lepší proniknutí léků k nádoru) a zvýšená internalizaci Elli do nádorové tkáně¹⁷.

Další využití nanotransportérů u tohoto onemocnění uvedla Škubalová a kol. (2019) při zjišťování jejich funkce pro inhibici tyrosinkináz. Opět léčivo enkapsulovali do koňského feritinu. Enkapsulovali tři inhibitory tyrosinkináz (lenvantinib, cabozantinib, vandetanib). Jejich velikost, která činila 12nm, byla zjištěna pomocí dynamického rozptylu světla (DLS).

Tato velikost je vyhovující pro další *in vitro*, případně budoucí *in vivo* analýzy. Uspořádání struktury feritinu po enkapsulaci inhibitorů se měřilo pomocí metody NMR (nukleární magnetická resonance). Působení nanotransportéru u maligních buněk korelovalo se zvýšenou expresí receptoru pro ferritin. Zjistilo se, že takovéto nanotransportéry jsou stabilní s vyhovující velikostí a budou využívány pro další testování¹⁸.

Ruttkey a kol. (2019), popsali při léčbě nádorů prsu i možnost efektu stříbrných nanočástic (AgNPs), které se připravili přírodní či syntetickou cestou. Výhodou těchto nanočástic je jejich cytotoxický účinek. Sledovali účinek stříbrných nanočástic, které byly připraveny zelenou syntézou (AgNPsZS) a srovnávali je s chemicky připravenými nanočásticemi (AgNPsCHS). Chemicky byly připraveny redukcí Ag(I) iontů s citrátem trisodným a NaBH₄ s koncentrací přidaného Ag 800 μM, kdy byly celkem připraveny 4 druhy lišící se v množství přidaného red. činidla NaBH₄ (5, 10, 15, 25 mM). Zelenou syntézou byly také připraveny čtyři druhy roztoků, kdy se míchaly výluhy rostlin (maliník obecný, pelyněk pravý, řepík lékařský, jahodník velkoplodý) a 0,1M roztok AgNO₃ v poměru 1:1. Po přípravě nanočástic, začali s kultivací buněčných linií nádoru prsu na Petriho miskách, které obsahovaly Dulbecco's Modified Eagle's (DMEM) médium a 5% fetální bovinní sérum. Buněčnou linii kultivovali 24 hod při inkubačních podmínkách 37°, 5% CO₂. Po této době se přidali nanočástice a kultivace probíhala za stejných podmínek, jako kultivace samotných buněčných linií. Po 24 hod inkubace byla tedy stanovena cytotoxicita *in vitro* pomocí MTT testu (změna žlutého 3-[4,5-dimethylthiazolu-2-yl]-2,5-difenyl tetrazolium bromidu na modrý formazan pomocí detergentu), kdy se absorpční maxima pohybovala v rozmezí 400-450 nm. Výsledkem bylo, že příprava nanočástic přírodní cestou je účinnější, a to dokonce v menších koncentracích (30 μM) přidaného Ag iontu než chemickou cestou. Pozitivem byl i průkaz snížení metabolické aktivity nádorových buněk na 5-40%¹⁹.

Karcinom prostaty

U tohoto druhu nádoru zjišťovali Čížek a kol. (2019) vliv využití nanočástic pro inkorporaci cytostatik do nanočásticemi modifikovaného apoferritinového nanotransportéru, jako dalšímu „drug delivery“ systému a sledování jejich účinků na karcinom prostaty. U nádorových onemocnění je koncentrace feritinu zvýšena a také je zvýšena tvorba transferinových receptorů (TfR). Do apoferritinového nanotransportéru bylo enkapsulováno cytostatikum doxorubicin (APO/DOX). Povrch nanotransportéru byl modifikován zlatými (AuNPs) a stříbrnými nanočásticemi připravenými zelenou syntézou z jetele (AgNPsGS). Díky nanočásticím dokázal modifikovaný apoferritinový nanotransportér pronikat do nádorových buněk ve zvýšené míře a vykazoval fototermální efekt. Výsledkem bylo zjištění,

že komplex APO/DOX pokrytý zlatými nanočásticemi dokázal uvolnit cytostatikum, ale lepší výsledky měl komplex AgNPsGS-DOX v APO pokrytý zlatými nanočásticemi, který byl stabilnější. Cytostatikum DOX bylo uvolněno z komplexu i při změnách fyzikálních podmínek²⁰.

Využití nanočástic v dalších oblastech medicíny

Dále by nanočástice mohly pomáhat v regenerativní medicíně, která využívá přeměny víceúčelových kmenových buněk na specializované⁶. Konkrétně se jedná o magnetické nanočástice (MNP) pro značení, sledování a aktivaci kmenových buněk. MNP obvykle sestávají z kovového jádra (oxidy železa- magnetit Fe_3O_4 , maghemit, hematit), který by byl pokryt biokompatibilním polymerem (PEG, PVA-polyvinylalkohol, PVP-polyvinylpyrolidon a další)²¹.

MNP se využívají i v *in vivo* aplikacích jako „drug delivery“ systémy či v nanochirurgii, kde se využívají jako „ohříváče“ ke zničení maligních buněk vlivem lokálního zvýšení teploty, nebo jako kontrastní látky při vyšetření magnetickou rezonancí či jinými zobrazovacími technikami PET-CT (pozitronová emisní tomografie) nebo CT (počítačová tomografie). Velkou výhodou těchto nanočástic je jejich snadná příprava (mikroemulzní systém vody v oleji, sol-gel syntéza, hydrotermální reakce, hydrolýza, koprecipitace solí železa-reakce nanočástic s roztokem železitých iontů v alkalickém prostředí), nízké náklady, vysoká chemická stabilita a elektrické, optické, tepelné a magnetické vlastnosti. Nevýhodou je jejich stanovení toxicity, jelikož testy toxicity nejsou sjednocené²².

Mikroemulzní metoda

Mikroemulze jsou izotropní, homogenní termodynamicky stabilní roztoky obsahující alespoň tři složky látek. Patří sem polární fáze (voda), nepolární fáze (olej) a povrchově aktivní látka. Molekuly povrchově aktivního činidla vytvoří mezifázový film, který oddělí polární a nepolární fázi. Tato mezifázová vrstva poté vytvoří různé mikrostruktury od kapiček oleje rozptýlených ve vodní fázi (olej/voda-mikroemulze) až po prostorové obrazce vody v nepolární fázi (voda/olej- mikroemulze). Tyto mikrostruktury poté dávají vzniku nanočástic s nízkou disperzitou^{23,24}.

Sol-gel syntéza

Sol-gel syntéza je založena na přeměně koloidní suspenze na viskózní gel, který se žiháním nebo vysoušením (např. v autoklávu) přeměňuje na pevný materiál (nanočástice). Velikost, morfologie a složení nanočástic se poté může určit pomocí elektronového emisního mikroskopu (FE-SEM)²⁵.

Hydrotermální reakce

Hydrotermální reakce je syntéza krystalů nebo jejich růst za vysokých teplot a tlaku, vznikající ze substancí, které jsou při běžných teplotách a tlacích (<100 °C, <1 atm) nerozpustné. Hydrotermální syntéza se obvykle provádí za teplot pod 300 °C. Kritická teplota a tlak jsou 374 °C a 22,1 MPa. Tyto podmínky mění rozpustnost mnoha sloučenin, tak že je jejich rozpustnost snížena a to příznivě ovlivňuje tvorbu částic²⁶.

Hydrolýza

Hydrolýzy jsou rozkladné reakce. Rozdělují se podle toho, zda se v reakci použije vodný roztok. Hydrolýzou přechodných kovů s vodným roztokem vznikají polynukleární sluky. Aby mohly sluky vzniknout, musí být kyselina, vznikající jako vedlejší produkt reakce, zneutralizována. Tyto sluky se poté zvětšují, až se vysráží jako hydratované oxidy kovu. Následná kalcinace přeměňuje tyto oxidy na krystalické látky. Velikost a tvar krystalických nanočástic se reguluje kyselostí a iontovou silou vodného roztoku, který nesmí tvořit komplexy. Hydrolýza bez vodného roztoku umožňuje lépe kontrolovat krystalizaci oxidu kovu. Při těchto reakcích se místo vody mohou použít alkoholy nebo polyoly (vícesytné alkoholy), které jsou polárnější a tvoří silnější vazby s ionty kovů²⁷.

Nanočástice se využívají i při snaze zregenerovat jakýmkoliv způsobem poškozené kosti. Nové pokusy se zaměřují na nanočástice zlata (AuNPs) pro své pozitivní účinky na osteogenní diferenciaci mezenchymových kmenových buněk a dalších buněk podobných osteoblastům, jako například MC3T3-E1 (prekurzory osteoblastů získané z myších lebek). Tato studie se zaměřuje na využití biologicky odbouratelného hydrogelu s obsahem zlatých nanočástic pro důkaz efektu AuNP v regeneraci kostní tkáně (Obr.3). Tyto hydrogely byly testovány *in vitro* i *in vivo*. *In vitro* bylo dokázáno, že kombinace hydrogelu s AuNP podporuje proliferaci, diferenciaci a stimuluje aktivitu ALP v lidských kmenových buňkách a tím dochází k diferenciaci těchto buněk na buňky osteoblastů. *In vivo* výsledky ukázaly, že vyšší koncentrace AuNP měly významný vliv na tvorbu nové kosti²⁸.



Obrázek 3 Ukázka kosti s vyznačením místa aplikace hydrogelu s nanočásticemi zlata³

5 NANOROBOTI V MEDICÍNĚ

Nanoroboti by mohli být využívány v oblasti cílené distribuce léčiv neboli „drug delivery“ systémech. Vizí jsou nanoroboti jako zařízení, která by na základě jednoduchého pokynu, dokázala doručit lék nebo by mohla být navíc vylepšena o zavedení malých nástrojů k odstraňování překážek v krevním řečišti jako například sraženin²⁹.

Využití nanorobotů v oblasti medicíny zatím není ani ve fázi testování *in vitro*. Častou otázkou je, jak by mohli být použity při léčbě nádorových onemocnění. Obecně víme, že se nádorové buňky rozdělují na benigní (nezhoubné), intermediární (zhoubné/nezhoubné) a maligní (zhoubné). Benigní nádor bývá dobře ohraničený bez sklonu k recidivám a metastázám. Intermediární nádor leží na rozhraní benigních a maligních nádorů, někdy je recidivující a metastazující. Maligní nádor roste rychle a není ohraničený, proniká do okolní tkáně (metastazuje) a recidivuje³⁰.

Není jisté, zda v budoucnu budou nanoroboti schopni rozlišovat nádory benigní a maligní, protože se současné pokusy zaměřují pouze na reakce nanočástic *in vitro* s nádorovými maligními buňkami¹⁶.

Příkladem využití nanorobotů jako „drug delivery“ systémů by mohly být pH senzitivní nanoroboti kontrolovaní v krevním řečišti pomocí určitého algoritmu, které by jim pomohlo se vyhnout překážkám, jako například erytrocytům. Takový nanoroboti by pomocí zabudovaných senzorů dokázali reagovat na změny pH v blízkosti tumorů, které vykazují pH menší než 7,4 a zničit je vyloučením látky zvyšující hodnotu pH až by se nádorová buňka zničila³¹.

Také by mohli registrovat elektrické signály, které vysílají nerovnováhy buňky nebo mozek, a tím pomoci diagnostikovat neurodegenerativní onemocnění³². Mezi neurodegenerativní onemocnění patří epilepsie, ateroskleróza, Parkinsonova choroba, Alzheimerova choroba, Friedreichova choroba a jiné spinocerebelární atrofie, amyotrofická laterální skleróza a další onemocnění projevující se omezením pohybu, třesem, dystonií, myoklonem, tikem, demencí a dalšími poruchami³³.

Nanoroboti by mohli být využívány také při implantacích nebo transplantacích, kdy se přenáší tkáň nebo orgán na jiné místo jiného nebo téhož jedince z důvodu selhání, či poškození původního orgánu. K tomuto účelu by měly sloužit nanonástroje, které dokážou opravit orgány na mikroskopické úrovni a nanotechnologie na supramolekulární úrovni by mohla být široce využívána i při rekonstrukci například elektronických jazyků nebo nosů,

jejichž podstatou jsou nanostruny zabudované do čipu, rozpoznávající dle změn vibrace druhy molekul³⁴.

Budoucnost nanorobotů by mohla patřit také uměle modifikovaným strukturám buněk lidského těla např. červeným krvinkám (respirocyty) nebo fagocytárním buňkám (mikrobivory), ale i krevním destičkám a umělým strukturám na bázi chirurgického nanorobotu (Obr.4), který by mohl operovat konkrétní tkáň bez poškození okolních buněk³⁵.



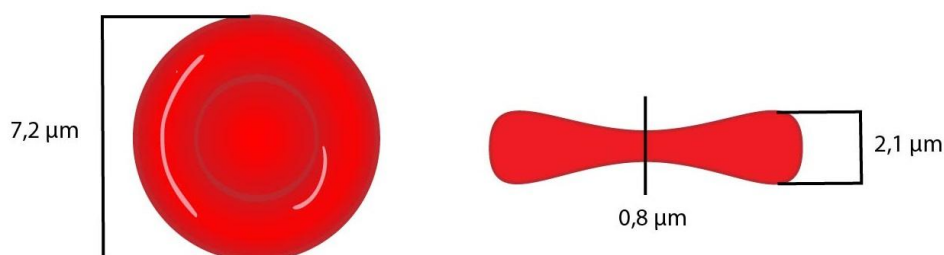
Obrázek 4 Chirurgický nanorobot ⁴

6 RESPIROCYTY

Respirocyty jsou umělé mikroskopické částice, jejichž funkcí by byla podpora, či simulace funkce červených krvinek³⁶.

Respirocyty navrhl Robert A. Freitas Jr. vědec, který se o nich zmínil již v květnu roku 2000 v dokumentu s názvem “Respirocytes in Nanomedicine,” Graft: Organ and Cell Transplantation 52 (May 2050). V tomto dokumentu Freitas popisuje vzdálenou budoucnost, kde by respirocyty už plnohodnotně fungovaly³⁷.

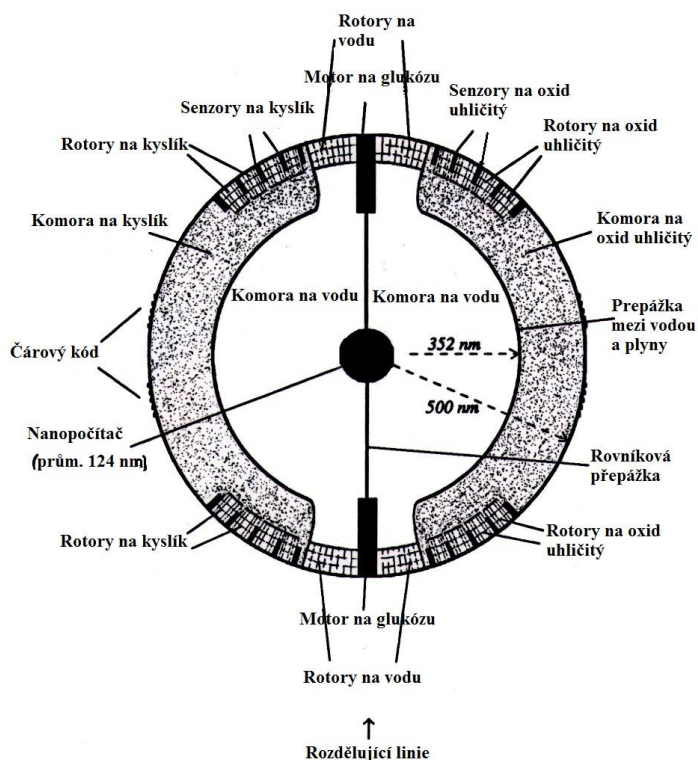
Respirocyt nebo také “sférický nanomedicínský přístroj“ by byl tvořen 18 miliardami přesně uspořádaných strukturálních atomů plus dalšími 9 miliardami dočasně zadržujících molekul (O_2 , CO_2) při plném zatížení na tlak 1000 atm.³⁶. Plášť respirocytu by tvořily diamantu nebo safíru podobné částičky sestavené atom po atomu, kvůli vysoké odolnosti. Průměrem by respirocyt dosahoval $1\mu m$ ³⁸. Běžný erytrocyt, který je bikonkávního tvaru má průměr $7,2\mu m$, tloušťku na obvodu $2,1\mu m$ a tloušťku ve středu $0,8\mu m$ ³⁹ (Obr.5).



Obrázek 5 Erytrocyt⁵

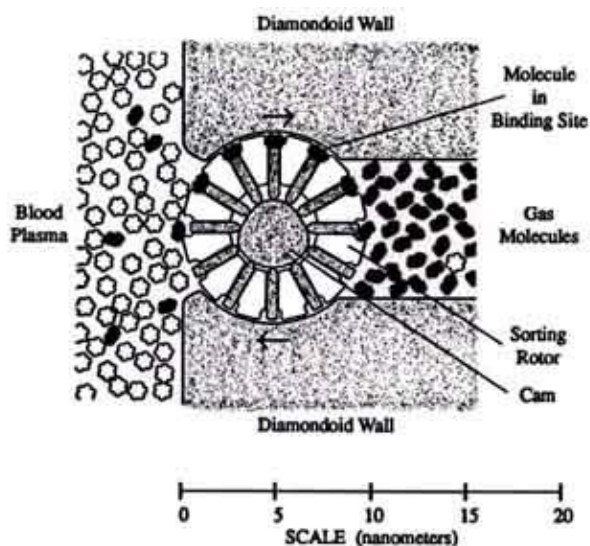
6.1 STRUKTURA RESPIROCYTU

Respirocyt by měl sestávat z komor, rotorů a senzorů na O_2 , CO_2 , H_2O , prostoru pro glukózu, senzorů reagujících na její přítomnost, rotorů pro regulaci glukózy vytvářející energii pro provoz respirocytu. Uprostřed by měl mít respirocyt zabudovaný nanopočítač rozdělující po obou stranách dvě komory na vodu. Na boku respirocytu by se měl nacházet specifický čárový kód, který by lékaři i jiným nanorobotům sloužil k rychlé identifikaci přístroje (Obr.6)^{36,38}.



Obrázek 6 Schéma respirocytu⁶

Transport molekul (O_2 , CO_2) do a z krevního řečiště je důležitou podmínkou správné funkce respirocytu a k tomu by měly sloužit rotory (Obr.7) pro třídění molekul. Rotory by měl řídit počítač uložený uvnitř respirocytu³⁶.



Obrázek 7 Schéma rotoru⁷

Každý rotor by měl mít vazebná místa, která by zasahovala do krevního řečiště a vnitřní komory. Na vazebných místech by měly být specifické receptory pro rozpoznání a záchyt konkrétních molekul z krevního řečiště. Použité receptory by musely být vysoce afinitní a specifické. Příkladem takových receptorů jsou kyslík transportující organické molekuly vázající ve své molekule atomy kovů, jako Cu^{2+} nebo Fe^{3+} . To vytváří vazebná místa, ke kterým se může kyslík reverzibilně vázat. Mezi takové molekuly samozřejmě patří hemoglobin a myoglobin, ale například i hemocyanin nebo chlorokruorin přítomný např. u mořských mnohoštětinatců^{36,40}. Přirozené buňky lidského těla transportující O_2 a CO_2 (erytrocyty) je vážou právě pomocí již zmiňovaného hemoglobinu, skládajícího se z barevné části hemu s atomem Fe^{2+} , a bílkovinné části globinu³⁹. Hydrofilní a polární aminokyseliny a různé enzymy (hydrolázy, dehydratázy), dokážou reverzibilně vázat vodu. Glukózu váží např., transportéry pro glukózu do buněk (Glut-1,2,3,4)^{36,41}. Rotory by třídily molekuly s 20 a méně atomy rychlostí 10^6 molekul/sec proti tlaku až 30 000 atm. při dodatečné energii 10^{-19} J/molekulu.

Optimálním provozním tlakem respirocytu je 1000 atm, vyšší tlak by mohl způsobit poškození až explozi přístroje. Kapacita nádrže respirocytu (tlak p v atm. jednotkách) může být spočítána Van der Waalsovou rovnicí (Obr.8) se zohledněním mezimolekulárních sil pevně natlakovaných molekul³⁸.

$$\left(p + \frac{n^2 a}{V^2} \right) (V - nb) = nRT$$

Obrázek 8 van der Waalsova rovnice:
 p (atm.), n (mol), a , b (konstanty), V (m^3), R ($8,314 \text{ m}^3 \text{ PaK}^{-1} \text{ mol}^{-1}$), T (K) ⁸

Respirocyt by měl být poháněn aktivně vyloučeným kyslíkem a glukózou, kterou by čerpal z krve. Tato energie by měla naplnit prázdný respirocyt do 10 sekund kyslíkem, rychlostí 100 milionů molekul/sec³⁶. Díky zabudovanému nanopočítači a senzorům by byl pohyb respirocytů vzdáleně ovladatelný lékařem, pomocí externích akustických signálů⁴².

6.2 FUNKCE RESPIROCYTŮ

Funkce respirocytů by měla být stejná jako erytrocytů. Spočívala by v přenášení kyslíku tkáním a shromažďováním CO₂ a dalších toxických plynů. Respirocyt by měl dodávat až 236krát více kyslíku tkáním na jednotku objemu krve než erytrocyt⁴². K uvolňování kyslíku dochází nepřetržitě nebo v závislosti na změně pO₂. Při snížení pO₂ dochází k hypoxii a produkci hormonu erythropoetinu (glykoprotein), který stimuluje tvorbu erytrocytů, čímž se vyrovná zásobení tkání kyslíkem^{38,43}.

Výměna dýchacích plynů probíhá obecně vnitřním a zevním dýcháním. Při **vnitřním dýchání** dochází k výměně plynů mezi tkáněmi a krví, takže CO₂ produkovaný tkáněmi přechází do krve, kde se mění na (HCO)³⁻ a proton. Kvůli produkci H⁺ dochází k okyselení organismu, a to je příčinou snížení afinity Hb ke kyslíku a ten je posléze uvolněn tkáním. Při **zevním dýchání** se dýchací plyny vyměňují mezi plicními sklípky a krví, takže CO₂ proniká do alveol a je vydechován, naopak vdechovaný kyslík proniká do krve a je přenášen do tkání^{44,45}.

Minimální terapeutickou dávkou aktivované suspenze respirocytu by mělo být 5,61 cm³ respirocytů. Tato dávka by měla umožnit zásobovat tkáně kyslíkem u člověka, který nedýchá, až po dobu 2 minut³⁶.

Maximální dávkou pro zvětšení kyslíkové kapacity krve by bylo dodání 1 litru infuze s 50% suspenzí respirocytů. Tato dávka by vedla ke zvýšení hematokritu na 55 %, přičemž normální hodnota hematokritu se pohybuje v rozmezí od 40-52%³⁶.

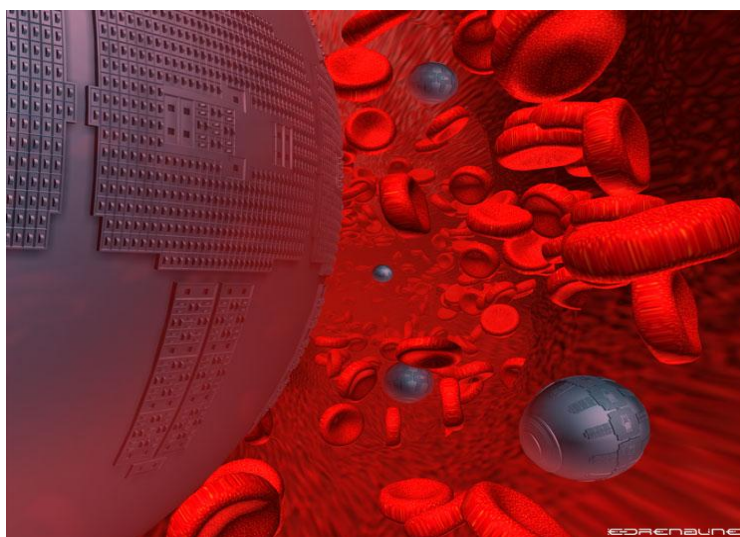
6.3 DALŠÍ VYUŽITÍ RESPIROCYTŮ

Respirocyty by mohly být dále využity jako umělé komponenty zcela nahrazující běžné erytrocytární koncentráty podávané při transfúzi ery. Největším významem této transfúze by byla minimalizace rizika přenosu onemocnění přenášených krví, např. hepatitidy (nejznámější HAV, HBV, HCV, další jsou HDV, HEV a nejnovější HGV⁴⁶), HIV (Human Immunodeficiency Virus), pohlavní choroby, malárie. Tyto erytrocytární koncentráty by mohly být využity i ve veterinárním lékařství. Dále při transplantacích, anémiích ať už akutních či chronických (př. anémií- hemolytická, sideropenická, aplastická aj.), při astmatu, pneumoniích a dalších respiračních problémech, při kardiovaskulárních a neurovaskulárních onemocněních, dále u nádorové léčby, kdy jsou pacienti často anemičtí, v neposlední řadě při asfyxiích (utopení, uškrcení, elektrický šok, otravy CO, vdechnutí zvratek, aj.), kdy by

zdravotnický pracovník injekčně při první pomoci podal terapeutickou dávku respirocytů k okamžitému doplnění O_2 ^{38,3}.

6.4 VSTUP A VÝSTUP RESPIROCYTŮ Z ORGANISMU

Respirocyty by se do krevního řečiště (Obr.9) dostaly přes hypodermální injekci nebo transfúzi s 50% koloidní suspenzí ve fyziologickém roztoku. Vylučování by pak bylo zajištěno tzv. nanoferezou na principu vysílání akustických signálů do přijímače v respirocytu, který ho přesměruje na nulový vztlak, kterého krevní komponenty přesně dosáhnout nemohou. Centrifugační přístroje by poté odčerpaly krevní elementy a plazmu a pomocí jednoduchého filtru se respirocyty oddělily od zbytku krve, která by se nepoškozená následně vrátila do těla⁴⁷.



Obrázek 9 Respirocyty v krevním řečišti⁹

6.5 BEZPEČNOST RESPIROCYTŮ

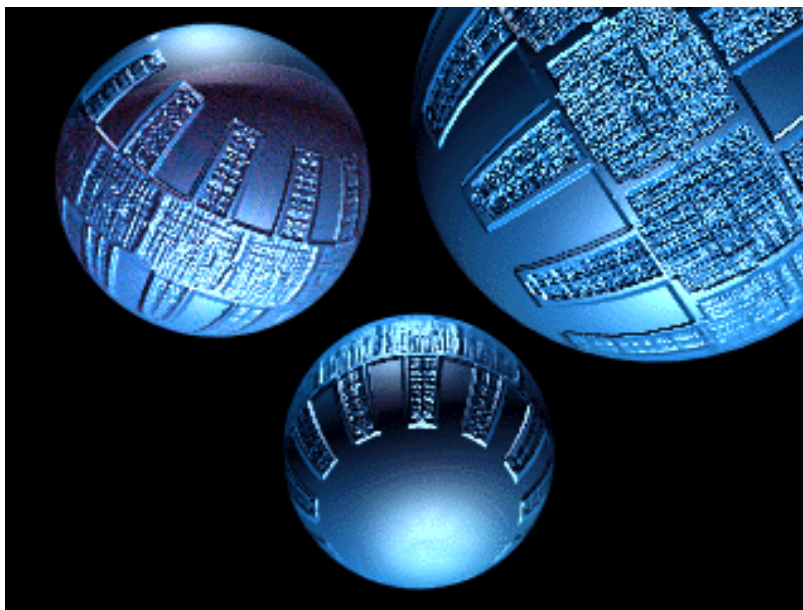
Pro uvedení respirocytů do praxe bude hrát významnou roli jejich kompatibilita s lidským organismem. Imunitní systém se podílí na vyvolání imunitní odpovědi na cizí těleso a sehraje tedy v přijetí respirocytu významnou roli³⁶.

Imunitní mechanismy jsou řízeny nespecifickou a specifickou imunitou. Nespecifická imunita je vrozená, takže nastupuje první a rychle, jejím mechanismem je fagocytóza, kterou zajišťují fagocytární buňky pohlcující a degradující cizorodé látky⁴⁸. Právě tato složka

imunitního systému by mohla rozpoznat respirocyty jako cizí tělesa a mohly by být pohlceny makrofágy.

Dalším problémem by mohla být adsorpce krevních bílkovin zejména fibrinogenu, který je hlavním účastníkem koagulace. Minimalizace této sorpce by mohla být zajištěna diamantovým povrchem respirocytu (Obr.10), který je silně hydrofóbní. Pokud by i přesto k tomu došlo, mohla by to vyřešit povrchová modifikace pláště respirocytu např. polyethylenglykolem nebo vrstvou látek podobných těm, které obsahuje membrána erytrocytů, a díky nimž nejsou rozpoznatelné pro RES (retikuloendoteliální systém). Tím by se i respirocyty staly pro imunitní systém neviditelné^{36,49}.

K zajištění bezpečnosti při mechanickém poškození respirocytu budou sloužit rutinní kontroly, které rozpoznají např. poškození rotorů nebo nekontrolovatelný únik plynů (O_2 , CO_2). Pokud se taková porucha zjistí, přístroj se uvede do klidového režimu a pomocí nanoferézy se odstraní z organismu. Respirocyt by měl být také nehořlavý a nevybušný³⁶.



Obrázek 10 Diamantový povrch respirocytů¹⁰

7 MIKROBIVORY

Mikrobivory jsou nanoroboti, které by v budoucnu mohly zcela nahradit bílé krvinky. Popisují se také, jako umělé fagocytární přístroje tzn., že by mohly podporovat nebo zcela nahrazovat funkce buněk nespecifické imunity, mezi které patří fagocytóza⁵⁰.

7.1 FAGOCYTÓZA

Fagocytóza je součástí nespecifické imunity, která se primárně spouští při zánětu. Zánět je přirozeným obranným mechanismem, kterého se účastní cévy, intersticiium i složky specifické imunity. Nejčastějšími příčinami zánětu jsou mikroorganismy, jako viry, bakterie, rickettsie, plísně, prvoci⁵¹.

Lokálními příznaky zánětu jsou rubor (zarudnutí), dále calor (zvýšení teploty), tumor (otok), dolor (bolest) a functio laesa, neboli porucha funkce. Celkovými příznaky zánětu jsou horečka, spavost, nechutenství, leukocytóza, zvýšená sedimentace, produkce bílkovin akutní fáze, kterými jsou fibrinogen, ceruloplasmin, haptoglobin, CRP (C-reaktivní protein), aj.⁵².

Na fagocytóze se podílejí specializované buňky, mezi které patří buňky myeloidní vývojové řady, tedy granulocyty, monocyty neboli makrofágy. Monocyty v krvi nedokážou s infekčním agens plně bojovat, proto musí přestoupit do tkáně, kde zvětší svůj objem a stanou se makrofágy schopnými plné fagocytózy (Obr.11)^{52,53}.

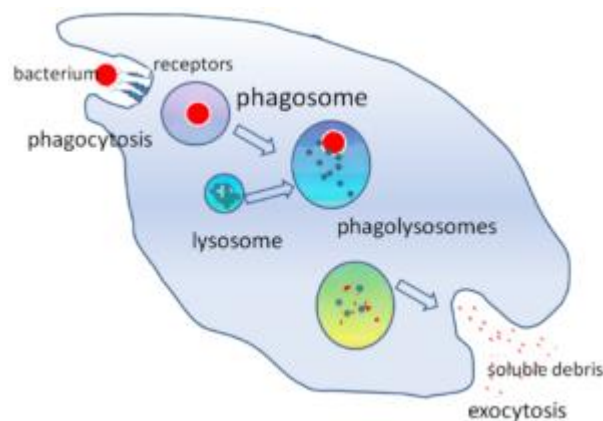
Fáze fagocytózy:

První fází je chemotaxe, kdy fagocytární buňky putují k místu poškození. Následuje přilnutí fagocytu k patogennímu materiálu a opsonizace, při které se buňka zvýrazní navázáním například některé ze složek komplementu nebo protilátky, takže ho fagocyt dokáže pevněji spoutat. To vede k aktivaci buňky, která je pak připravena patogenní materiál pohltit a zlikvidovat. Předposlední fází je vlastní fagocytóza, kdy buňka materiál pohltí a vznikne tzv. fagozom. V poslední fázi dochází k usmrcení a splynutí fagocytu s lysozomy za vzniku fagolysozomu. Začnou působit baktericidní látky, kterými jsou hydroxylové ionty, H₂O₂, myeloperoxidáza (MPO tvoří z H₂O₂ cytotoxickou kyselinu chlornou a tyrosinový radikál)⁵⁴, které rozloží patogenní materiál na jednoduché látky podobně jako se to děje v žaludku⁵⁵⁻⁵⁸.

Speciálními fagocyty jsou dendritické buňky nacházející se ve většině tkání, kromě mozku, varlat a rohovky. Nezralé dendritické buňky váží látku toll-like (TLR) receptory na povrchu cytoplazmatické membrány. Tyto buňky aktivují regulační T-lymfocyty, jejichž oslabením jsou buňky T-lymfocytů tolerantnější vůči tělu vlastním antigenům a tím zabrání

autoimunitním onemocněním (např. roztroušená skleróza, revmatoidní artritida, celiakie aj.⁵⁹). Zralé buňky rozkládají peptidové fragmenty mikroorganismu a prezentací fragmentů na svém povrchu dávají povel T_H- lymfocytům nebo T_C- lymfocytům, čímž spustí specifickou imunitu⁵⁵⁻⁵⁸.

Mikrobivor by měl fungovat jako běžná fagocytární buňka, s tím rozdílem, že fagocytárním buňkám trvá celý proces likvidace mikroorganismu kolem 10-30 minut⁶⁰, kdežto tento nanorobot by to měl zvládat do 30 sekund⁵⁰.



Obrázek 11 Fagocytóza¹¹

7.2 STRUKTURA MIKROBIVORU

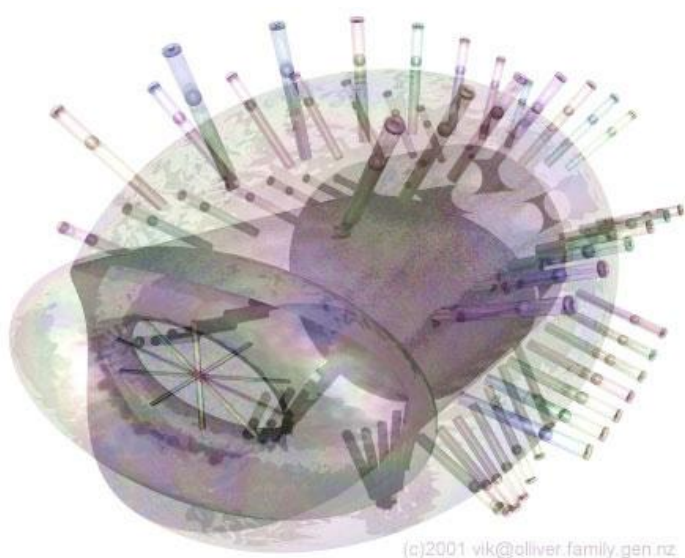
Mikrobivor by měl být konstruován jako sférické nanomedicínské zařízení skládající se z 610 miliard přesně uspořádaných atomů a z dalších 150 miliard plynných nebo kapalných molekul. Při plném zatížení by měl mít tlak až 1000 atm. Podélně by měl měřit 3,4 μm , v průměru 2,0 μm ⁵⁰. Neutrofily a eozinofily měří v průměru 10-14 μm . Monocyty jsou o něco větší, mohou dosáhnout až 20 μm ⁵³. Z toho vyplývá, že mikrobivory by měly být daleko menší než přirozené fagocytární buňky. To by ale mělo být jejich výhodou, protože průměr kapilár je 7-9 μm , ty nejmenší mají dokonce průměr jen 4 μm ⁶¹.

Mikrobivor by se měl skládat z několika komor:

- Přijímací
- Morcelační
- Digestivní
- Vypouštěcí

Dále by měl mít zabudovaná robotická chapadla pro uchycení a transport pohlcovaného materiálu do těla přístroje. Plášť mikrobivoru by měl mít druhově specifická vazebná místa

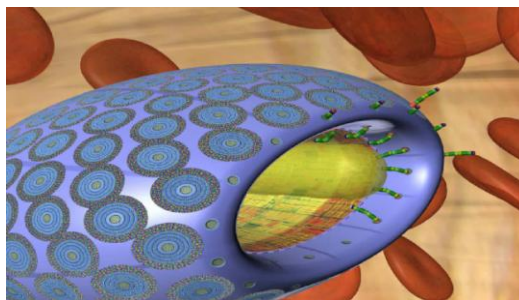
pro zachycení cizorodé látky (Obr. 12). V konstrukci by měly být vloženy externí i interní senzory, nutné pro správnou funkci nanorobotu. Mezi externí by měl patřit např. senzor pro glukózu, kyslík, oxid uhličitý atd. Mezi vnitřní senzory by mělo patřit teplotní čidlo schopné detegovat změny teplot již od 0,3°C. V neposlední řadě by měl mít senzor pro akustickou komunikaci, kterým by měl lékař kontrolovat a řídit aktivitu nanorobotu⁵⁰.



Obrázek 12 Návrh Mikrobivoru ¹²

7.3 FUNKCE MIKROBIVORU

Proces fagocytózy by měl začít navázáním cizorodé látky na specifická vazebná místa na těle mikrobivoru. Jakmile by k navázání došlo, vysunula by se robotická chapadla, která by vtáhla patologický materiál do přijímací komory (Obr.13). Ten by následně postupoval do morcelační komory. Morcelace spočívá ve fragmentaci patogenního materiálu, kde dojde k rozemletí materiálu břity z pevných diamantových kotoučů sestavených v různých úhlech⁴⁷. V digestivní komoře by na materiál měly začít působit enzymy, díky kterým by se rozložil i zbytek patogenního materiálu. V těle přístroje by měly být enzymy již zabudované a na výběr by mělo být až ze 40 druhů. Působením enzymů by docházelo k rozložení cizorodého materiálu na jednoduché látky, jako jsou mastné kyseliny, aminokyseliny, glycerol, jednoduché cukry. Tyto látky by byly poté vypuštěny do krevního řečiště vypouštěcím otvorem⁵⁰.



Obrázek 13 Vstup cizorodé látky do Mikrobivoru¹³

Vstup i výstup mikrobivoru z těla by byl stejný jako u respirocytu. Vstupovaly by tedy prostřednictvím hypodermální injekce a vystupovaly nanoferézou nastavením mikrobivorů na neutrální vztlak, protože jiné komponenty takového vztlaku nemohou dosáhnout, tím by došlo k oddělení přístrojů od zbytku krve, která by byla následně navrácena zpět do těla⁵⁰.

Další funkcí mikrobivoru by mohla být i tzv. schránka pro uchování a přepravu patologického materiálu, který by později mohl být analyzován. Další využití se předpokládá při léčbě infekčních onemocnění, toxémie nebo při trávení bakteriálních biofilmů⁵⁰.

7.4 BEZPEČNOST MIKROBIVORŮ

Pro bezpečné využití mikrobivorů bude hrát opět významnou roli biokompatibilita s lidským organismem. Aby se zabránilo případné imunitní reakci, měl by být povrch nanorobotu pokryt neadhezivním pláštěm pro minimalizaci sorpce krevních bílkovin. Povrch např. z umělého glykokalyxu by zabránil spuštění imunitní reakce, která by přímo ohrozila tělo mikrobivorů^{49,50}.

Na bezpečnost využití mikrobivorů můžeme nahlížet i z jiné perspektivy, a to z hlediska jejich správné funkce, která by neohrožovala mikrobivory samotné, ale pouze lidský organismus. Příkladem takového selhání by mohlo být neúplné pohlcení některé z pohyblivých bakterií, kdy by se bičík odtrhl od zbytku bakteriálního těla. Na toto selhání by zareagoval imunitní systém. Tomu by se však mohlo zabránit např. úplným navinutím pohlcované bakterie až po bičík pomocí dodatečně nainstalovaných válců uvnitř mikrobivoru.^{49,50}

8 ZÁVĚR

Tato práce je rozdělena do několika částí. První část se zabývá nanoroboty a *in vitro* aplikací nanomotorů, které mohou být poháněny chemicky, ultrazvukovými signály, či magnetickou silou. Další část je zaměřena na aplikace nanočástic a to konkrétně v oblasti léčby nádorových onemocnění, kde se vědci při jejich využití široce zaměřují na cytotoxické účinky. V neposlední řadě se tato práce zaměřuje na respirocyty a mikrobivory, na jejich stavbu, bezpečnost a jejich možnou využitelnost v medicíně budoucnosti.

Respirocyty jsou nanoroboti, které by podporovaly či simulovaly funkce červených krvinek. Respirocyty navrhnul americký vědec Robert A. Freitas Jr., který se o nich zmínil již v roce 2000. Složeny by byly z 9 miliard molekul a jejich plášť by tvořily diamantu podobné částičky. Do těla by vstupovaly přes injekci nebo transfúzi a vylučování by probíhalo přes nanoférezu, která by oddělila respirocyty od zbytku krve. Respirocyty, ale prozatím nebyly sestaveny ani aplikovány, proto jsou otázky bezpečnosti a kompatibility přístroje s lidským organismem pouze hypotetické.

Mikrobivory jsou nanoroboti, které se popisují jako umělé fagocytární přístroje s menší velikostí než přirozené fagocytární buňky. Mikrobivor by se skládal z několika komor (přijímací, morcelační, digestivní, vypouštěcí), přes které by postupně postupoval pohlcovaný materiál až by byl pomocí zabudovaných enzymů zcela rozložen. Vstup i výstup mikrobivorů z těla by probíhal stejně jako u respirocytů. Mikrobivory také dosud nebyly sestaveny a stejně jako u respirocytů bude i u nich, v případě jejich aplikace, hrát významnou roli, biokompatibilita s lidským organismem.

Tato práce měla za cíl přiblížit možnou stavbu respirocytů a mikrobivorů, zároveň poukázala na potenciální možnosti jejich budoucího využití v medicíně stejně jako na jejich bezpečnost, která v jejich aplikaci sehraje klíčovou roli.

9 ZDROJE

- 1 SHETTY, J. N., SWATI, P., DAVID, K., Nanorobots: Future in dentistry, *The Saudi dental Journal* 25, 2013, 49-52
- 2 PASCHEN, H., COENEN, C., FLEISCHER, T., GRÜNWALD, R., OERTEL, D., REVERMANN, C., *Nanotechnologie: Forshung, Entwicklung, Anwendung*, Springer-Verlag, 2006, 366, ISBN 9783540350057
- 3 MANJUNATH, A., KISHORE, V., The promising future in Medicine: Nanorobots, *Biomedical Science and Engineering* 2 (2), 2014, 42-47
- 4 LI, J., DE ÁVILA, B. E. F., GAO, W., ZHANG, L., WANG, J., Micro/nanorobots for biomedicine: Delivery, Sumery, sensing, and detoxification, *Science Robotics* 2 (4), 2017
- 5 LI, J., ROZEN, I., WANG. J., Rocket science at the nanoscale, *ACS Nano* 10, 2016, 5619–5634
- 6 PEYER, K. A., ZHANG, L., NELSON, B. J., Bio-inspired magnetic swimming microrobots for biomedical applications, *Nanoscale* 5, 2013, 1259–1272
- 7 NADAL, F., LAUGA, E., Asymmetric Steady Streaming as a Mechanism for Acoustic Propulsion of Rigid Bodies, *Physics of Fluids* 2014, 26
- 8 CARLSEN, R. W., SITTI, M., Bio-hybrid cell-based actuators for microsystems, *Small* 10 (19), 2014, 3831-3851
- 9 WU, J., BALASUBRAMANIAN, S., KAGAN, D., MANESH, K. M., CAMPUZANO, S., WANG, J., Motion based DNA detection using catalytic nanomotors, *Nature Communications* (36), 2010, 6
- 10 YORK, J., SPETZLER, D., XIONG, F., FRASH, WD, Single-molecule detection of DNA via sequence-specific links between F1-ATPase motors and gold nanorod sensors. *Lab Chip* 8, 2008, 415-419
- 11 FISCHER, T., AGARWAL, A., HESS, H., A smart dust biosensor powered by kinesin motors, *Nat. Nanotechnol.* 4, 2009, 162–166
- 12 WANG, W., LI, S., MAIR, L., AHMED, S., HUANG, T., MALLOUK, T., Acoustic Propulsion of Nanorod Motors inside living Cells, *Angewandte International Edition Chemie* 53 (12), 2014, 3201-3204

- 13 KIRISTI, M., SINGH, V. V., ÁVILA, B. E., UYGUN, M., SOTO, F., AKTAS, D., WANG, J., Lysozyme-based antibacterial nanomotors, *ACS Nano* 9 (9), 2015, 9252-9259
- 14 GAO, W., KAGAN, D., PAK., O., CLAWSON, C., CAMPUZANO, S., ERDENE, E., SHIPTON, E., FULLERTON, E., ZHANG, L., LAUGA, E., WANG, J., Cargo-Towing Fuel-Free Magnetic Nanoswimmers for targeted Drug delivery, *Nano micro small* 8 (3), 2012, 460-467
- 15 STUDÝNKA, B. J., STRUŽ, J., *Zlato: Příběh neobyčejného kovu- 2., aktualizované a doplněné vydání*, Grada Publishing a.s., 2014, 344, ISBN 8024794659
- 16 POTURNAYOVÁ, A., BURÍKOVÁ, M., BÍZIK, J., HIANIK, T., Detekcia onkomarkerov pomocou aptamérom modifikovaných nanočástic, *Klinická onkologie* 32, 2019, 148
- 17 TESAŘOVÁ, B., ŠMÍDOVÁ, V., PIRES, A., ABRANTES, A., RODRIGUES, T., MATAFOME, P., BOTELHO, M., MENDES, F., TEIXEIRA, P., DOSTÁLOVÁ, S., PASylace a PEGylace nanotransportérů za účelem zvýšení biokompatibility při cílené léčbě karcinomu prsu, *Klinická onkologie* 32, 2019, 144
- 18 ŠKUBALOVÁ, Z., DOSTÁLOVÁ, S., BYTEŠNÍKOVÁ, Z., CHAROUSOVÁ, M., PŘIBYL, J., WEERASEKERA, A., STIBOROVÁ, M., ECKSCHLAGER, T., HEGER, Z., Příprava a charakterizace nanotrasportérů inhibitorů tyrosinkináz pro cílenou terapii solidních malignit prsu, *Klinická onkologie* 32, 2019, 145
- 19 RUTTKAY-NEDECKÝ, B., NÁDENÍČKOVÁ, T., BOCKOVÁ, K., KIZEK, R., Efekt stříbrných nanočástic na buněčnou linii nádoru prsu MCF-7, *Klinická onkologie* 32, 2019, 145
- 20 ČÍŽEK, M., GARGULÁK, M., SEHNAL, K., UHLÍŘOVÁ, D., STAŇKOVÁ, M., DOČEKALOVÁ, M., RUTTKAY-NEDECKÝ, B., ZÍDKOVÁ, J., KIZEK, R., Nanočásticemi modifikovaný apoferritinový nanotransportér pro cílený transport cytostatik u nádoru prostaty, *Klinická onkologie* 32, 2019, 146
- 21 MARKIDES, H., ROTHERHAM, M., HAJ, E. A., Biocompatibility and toxicity of magnetic nenoparticles in regenerative medicine, *Journal of Nanomaterials* (13), 2012
- 22 KUČÍRKOVÁ, L., KRÁLOVEC, K., HAVELEK, R., BRŮČKOVÁ, L., SEDLÁK, M., Toxicita magnetických nanočástic, *Chem. Listy* 109, 2015, 693-700
- 23 MALIK, A. M., WANI, Y. M., HASHIM, A. M., Microemulsion method: A novel route to synthesize organic and inorganic nanomaterials: 1st Nano Update, *Arabian Journal of Chemistry* 5 (4), 2012, 397-417

- 24 OU, Z., YAO, H., KIMURA, K., Preparation and optical properties of organic nanoparticles of porphyrin without self-aggregation, *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 189 (1), 2007, 7-14
- 25 LEMINE, O. M., OMRI, K., ZHANG, B., MIR, L., SAJIEDDINE, M., ALYAMANI, A., BOUOUDINA, M., Sol-gel synthesis of 8 nm magnetite (Fe_3O_4) nanoparticles and their magnetic properties, *Superlattices and Microstructures* 52, 2012, 793-799
- 26 ZHU, M., WANG, Y., MENG, D., QIN, X., DIAO, G., Hydrothermal synthesis of Hematite Nanoparticles and Their Electrochemical Properties, *The Journal of Physical Chemistry* 116 (30), 2012, 16276-16285
- 27 GUBIN, S. P., *Magnetic Nanoparticles*, John Wiley and Sons, 2009, 484, ISBN 9783527627578
- 28 HEO, N. D., KO, W. K., BAE, M. S., LEE, J. B., LEE, W. D., BYUN, W., LEE, CH. H., KIM, E. CH., JUNG, B. Y., KWON, I. K., Enhanced bone regeneration with gold nanoparticles-hydrogel komplex, *Journal of Materials Chemistry B* (11), 2014, 10
- 29 DURAIRAJ, R.B., SHANKER, J., SIVASANKAR, M., Nanorobots in bio medical application, *IEEE-International Conference On Advances In Engineering, Science and Management*, 2012
- 30 BECKER, H. D., *Chirurgická onkologie*, Grada Publishing a.s., 2005, 854, ISBN 9788024707204
- 31 AHMED, S.Y., AMIN, S.E., ALARIF, T., Efficient cooperative control system for pH sensitive nanorobots in Drug Delivery, *International Journal of Computer Applications* (103), 2014, 5
- 32 MASUDUR RAHMAN, S. M., QUADER, N., SHAON, A. M., ISLAM, K. K., Sensors based autonomous medici nanorobots a cure to demyelination, *Journal of Selected Areas in Nanotechnology*, 2011
- 33 MATĚJ, R., Neurodegenerativní onemocnění neuropatologické aspekty, Oddělení patologie FTNsP, Praha: Dostupné z http://www.kognice.cz/dementia/neurodegenerativni_onemocneni_matej.pdf [cit.2019-6-5]
- 34 UNTERREITHMEIER, P. Q., WEIG, M. E., KOTTHAUS, P. J., Universal transduction scheme for nanomechanical systems based on dielectric forces, *Nature*, 23, 2009
- 35 MISHRA, S., Nanotechnology in medicine, *Indian Heart Journal* 68, 2016, 437-439

- 36 FREITAS, R. A. Jr. (1998). Exploratory Design in Medical Nanotechnology: A Mechanical Artificial Red Cell. *Artificial Cells, Blood Substitutes, and Immobil. Biotech.* (26), 411–430
- 37 FREITAS, R. A. Jr., *Respirocytes in nanomedicine*, *Graft Organ and Cell Transplantation* 52 (May 2050), 2000, 148-154
- 38 SATYAVENI, M., SOWJANYA, S. M., SREENIVASULU, K., SREEKANTH, N., BABURAO, CH., *Respirocytes: Mechanical artificial Red blood cells*, *International Journal Of Biological, Pharmaceutical Research* 4 (4), 2013, 297-301
- 39 TUTWILER, V., MUKHITOV, A. R., PESHKOVA, A. D., MINH, G. L., KHISMATULLIN, R. R., VICKSMAN, J., NAGASWAMI, CH., LITVINOV, I. R., WEISEL, J. W., *Shape ganges of erythrocytes during blood clot contraction and the structure of polyhedrocytes*, *Scientific Reports* 8, 2018, 1-14
- 40 SMRŽ, J., *Základy biologie, ekologie a systému bezobratlých živočichů*. V Praze: Karolinum, 2013, 194, ISBN 9788024622583
- 41 MAGIER, Z., JARZYNA, R., *Rola transporterów glukozy w regulacji metabolizmu czlowieka*, *Postepy Biochemii* 59 (1), 2013, 70-82
- 42 KRÁL, V., ŠOTOLA, J., NEUWIRTH, P., KEJÍK, Z., ZÁRUBA, K., MARTÁSEK, P., *Nanomedicína- současný stav a perspektivy: velký potenciál, nebo jen módní slogan?* *Chemické listy* 100, 2006, 4-9
- 43 YAFFE, K., LAFFAN, A. M., HARRISON, L., S., REDLINE, S., SPIRA, A. P., ENSRUD, K. E., ANCOLI-ISRAEL, S., STONE, K., *Sleep- disordered breathing, hypoxia, and risk of mild cognitive impairment and dementia in older women*, *Jama* 306 (6), 2011, 613 - 619
- 44 CHANG, J. A., ORTEGA, E. F., RIEGLER, J., MADISON, D. V., KRASNOW, M. A., *Oxygen regulativ of breathing through an olfactory receptor activated by lactate*, *Nature* 527, 2015, 240-244
- 45 SOBOTKA, P., *Patologická fyziologie*, Karolinum Press, 2013, ISBN 9788024621289, 110
- 46 DAVIS, CH. P., *Hepatitis (Viral Hepatitis A,B,C,D,E,G)*, 2016, Dostupné z: http://www.medicinenet.com/viral_hepatitis/article.htm [cit. 2018-5-3]
- 47 FREITAS, R. A. Jr., *Nanomedicine, Vol.1 : Basic Capabilities*, Landes Bioscience, 1999, ISBN 157059645, 523
- 48 VERNEROVÁ, E., *Slizniční imunita u dětí, možnosti imunomodulace a alergie*, *Ambulantná terapia* 6 (3), 2008, 198-201

- 49 R. A. FREITAS Jr., *Nanomedicine, Vol. IIA: Biocompatibility*, Landes Bioscience, 2003, ISBN 1570597006
- 50 R. A. FREITAS Jr., Microbivores: Artificial Mechanical Phagocytes Using Digest and Discharge Protocol, *J. Evol. Technol*, 14, 2005, 55-106
- 51 LUKÁŠ, K., ŽÁK, A., *Chorobné znaky a příznaky: Diferenciální diagnostika*, Grada Publishing, a.s., 2015, 928, ISBN 8024750678
- 52 BARTŮŇKOVÁ, J., PAULÍK, M., a kolektiv, *Vyšetřovací metody v imunologii: 2., přepracované a doplněné vydání*, Grada Publishing a.s., 2011, 172, ISBN 9788024770895
- 53 ROKYTA, R., *Fyziologie a patologická fyziologie: pro klinickou praxi*, Grada Publishing, a.s., 2015, 712, ISBN 9788024748672
- 54 HEINECKE, J.W., LI, W., FRANCIS, G. A., GOLDSTEIN, J.A., Tyrosyl radiál generated by myeloperoxidase catalyzes the oxidative cross-linking of proteins, *The Journal of Clinical Investigation* 91 (6), 1993, 2866-2872
- 55 FLANNAGAN, S. R., JAUMOUILLE, V., GRINSTEIN, S., The cell biology of phagocytosis, *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease* 7, 2012, 61 - 98
- 56 MAČÁK, J., MAČÁKOVÁ, J., DVOŘÁČKOVÁ, Jana., *Patologie:2., doplněné vydání*, Grada Publishing a.s., 2012, 376, ISBN 9788024777702
- 57 JAUMOUILLE, V., GRINSTEIN, S., Receptor mobility, the cytoskeleton, and particle binding during phagocytosis, *Current opinion in Cell biology* 23, 2011, 22-29
- 58 HEITBROCK- ZIEGLER, L., ANCUTA, P., CROWE, S., DALOD, M., GRAU, V., HART, D. N., LEENEN, P. J. M., LIU, J. Y., MACPHERSON, G., RANDOLPH, G. J., SCHERBERICH, J., SCHMITZ, J., SHORTMAN, K., SOZZANI, H., ZEMBALA, M., AUSTYN, M. J., LUTZ, M. B., Nomenclature of monocytes and dendritic cells in blood, *Blood* 116 (16), 2010, 74 - 79
- 59 MA, W. T., CHANG, Ch., GERSHWIN, M. E., LIAN, Z. X., Development of autoantibodies precedens clinical manifestations of autoimmune diseases: A comprehensive review, *Journal of Autoimmunity* 83, 2017, 95-112
- 60 The Phagocytic Response of the Host, University of Wisconsin, Dostupné z: http://textbookofbacteriology.net/Bact100/phago_defense.html
- 61 KORIN, N., KANAPATHIPILLAI, M., MATTHEWS, B., CRESCENTE, M., BRILL, A., GHOSH, K., JUREK, S., BENCHERIF, S. A., BHATTA, D., COSKUN, A. U., FELDMAN, CH. L., INGBER, D. E., Shear-activated Nanotherapeutics for drug targeting to obstructed blood vessels, *Science* 337 (6095), 2012, 738-742

10 ZDROJE OBRÁZKŮ

- 1 Převezato z: MISHRA, S., Nanotechnology in medicine, *Indian Heart Journal* 68, 2016, s 437-439
- 2 Převezato a upraveno z: LI, J., DE ÁVILA, B. E. F., GAO, W., ZHANG, L., WANG, J., Micro/nanorobots for biomedicine: Delivery, Sumery, sensing, and detoxification, *Science Robotics* 2 (4), 2017
- 3 Převezato z: HEO, N. D., KO, W. K., BAE, M. S., LEE, J. B., LEE, W. D., BYUN, W., LEE, CH. H., KIM, E. CH., JUNG, B. Y., KWON, I. K., Enhanced bone regeneration with gold nanoparticles-hydrogel komplex, *Journal of Materials Chemistry B* (11), 2014, s 10
- 4 Převezato z: MISHRA, S., Nanotechnology in medicine, *Indian Heart Journal* 68, 2016, s 437-439
- 5 URL1- Převezato z: <http://fbll.cz/skripta/v-krev-a-organy-imunitniho-systemu/3-formovane-krevni-elementy/>
- 6 URL2- Převezato a upraveno z:
<https://www.foresight.org/Nanomedicine/Gallery/Captions/Image124.html>
- 7 URL3- Převezato z: <https://www.foresight.org/Nanomedicine/Respirocytes1.html>
- 8 URL4- Převezato a upraveno z: https://sussle.org/t/Van_der_Waals_equation#
- 9 URL5- Převezato z:
<https://www.foresight.org/Nanomedicine/Gallery/Captions/Image141.html>
- 10 URL6- Převezato z:
<https://www.foresight.org/Nanomedicine/Gallery/Captions/Image128.html>
- 11 URL7- Převezato z: [https://cs.wikipedia.org/wiki/Komplement_\(biologie\)](https://cs.wikipedia.org/wiki/Komplement_(biologie))
- 12 URL8- Převezato z:
<https://nanotecnologia.fundaciontelefonica.com/2015/12/11/nanomedicina-ii-respirocitos-microbivoros-y-clotocitos-nanorobots-en-nuestra-sangre/>
- 13 URL8- Převezato z:
<https://nanotecnologia.fundaciontelefonica.com/2015/12/11/nanomedicina-ii-respirocitos-microbivoros-y-clotocitos-nanorobots-en-nuestra-sangre/>