

UNIVERZITA PARDUBICE  
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2024

Tereza Holubová

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická

Nanoterapie chronických zánětlivých onemocnění  
Bakalářská práce

2024

Tereza Holubová

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická  
Akademický rok: 2023/2024

# ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Tereza Holubová**  
Osobní číslo: **C21394**  
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**  
Studijní obor: **Zdravotní laborant**  
Téma práce: **Nanoterapie chronických zánětlivých onemocnění**  
Téma práce anglicky: **Nanotherapy for Chronic Inflammatory Diseases**  
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

## Zásady pro vypracování

Vypracujte literární rešerši obsahující:

1. Zánět – vznik, projevy a rozvoj chronického zánětlivého procesu. Role chronického zánětu v patogenezi zánětlivých střevních onemocnění, kardiovaskulárních onemocnění, revmatoidní artritidy atd.)
2. Možnosti ovlivnění výše uvedených onemocnění pomocí nanočástic. Přehled nanočástic využitelných v léčbě těchto onemocnění.
3. Zhodnocení terapeutického potenciálu nanočástic v léčbě chronických zánětlivých onemocnění.

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**  
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**  
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Podle pokynů vedoucího bakalářské práce.

Vedoucí bakalářské práce: **RNDr. Karel Královec, Ph.D.**  
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **22. prosince 2023**  
Termín odevzdání bakalářské práce: **1. července 2024**

**prof. Ing. Petr Němec, Ph.D. v.r.**  
děkan

LS.

**doc. RNDr. Tomáš Roušar, Ph.D. v.r.**  
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 29. února 2024

Prohlašuji:

Práci s názvem Nanoterapie chronických zánětlivých onemocnění 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., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, 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. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 1.11.2024

Tereza Holubová

## **PODĚKOVÁNÍ**

Touto cestou bych chtěla poděkovat vedoucímu bakalářské práce, panu RNDr. Karlovi Královcovi, Ph.D., za trpělivost, cenné rady a poznámky, které mi během psaní bakalářské práce předal. Chtěla bych také poděkovat své rodině a přátelům za podporu a trpělivost, kterou mi během psaní této práce a celého studia věnovali a byli mi oporou.

## **ANOTACE**

Tato bakalářská práce zpracovává téma nanočástic a jejich vliv na chronická zánětlivá onemocnění. V úvodní části se práce zabývá zánětem, konkrétně jeho vznikem, projevem a rozvojem chronického zánětlivého procesu. Následně je popsána role chronického zánětu v patogenezi zánětlivých střevních onemocnění, kardiovaskulárních onemocnění a revmatoidní artritidy. Též se bude práce věnovat ovlivnění výše uvedených onemocnění pomocí nanočástic, jejich přehledem a jak jsou využitelné při léčbě. Závěrem je zhodnocení terapeutického potenciálu nanočástic v léčbě chronických zánětlivých onemocnění. Především jednou z hlavních výhod nanoterapeutik je jejich schopnost překonávat nedostatky tradičních terapií. Inovativní přístup nanotechnologie zvyšuje účinnost léčby a snižuje riziko vedlejších účinků.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

zánět, ulcerózní kolitida, Chronova choroba, ateroskleróza, revmatoidní artritida, nanočástice

## **TITLE**

Nanotherapy of chronic inflammatory diseases

## **ANNOTATION**

This bachelor's thesis addresses the topic of nanoparticles and their impact in chronic inflammatory diseases. The introductory section discusses inflammation, specifically its origin, manifestations, and the progression of the chronic inflammatory process. Following this, the role of chronic inflammation is described in the pathogenesis of inflammatory bowel disease, cardiovascular diseases, and rheumatoid arthritis. The thesis also examines how nanoparticles influence these diseases, providing an overview of them and exploring their applicability in treatment. Finally, the therapeutic potential of nanoparticles in treating chronic inflammatory diseases is assessed. Notably, one of the main advantages of nanotherapeutics is their ability to overcome the limitations of traditional therapies. The innovative approach of nanotechnology enhances treatment effectiveness and reduces the risk of side effects.

## **KEYWORDS**

inflammation, ulcerative colitis, Crohn's disease, atherosclerosis, rheumatoid arthritis, nanoparticles

# OBSAH

ÚVOD .....	13
1. ZÁNĚT .....	14
1.1. Vznik.....	14
1.2. Projevy .....	14
1.3. Rozvoj chronického zánětlivého procesu .....	15
1.3.1. Povrchové receptory rozpoznávající škodlivé podněty .....	17
1.3.2. Aktivace zánětlivého procesu .....	18
1.3.3. NF- $\kappa$ B proces regulace .....	18
2. STŘEVNÍ ONEMOCNĚNÍ .....	20
2.1. Ulcerózní kolitida a Crohnova choroba .....	20
2.2. Terapie zánětlivých střevních onemocnění.....	21
3. ATEROSKLERÓZA .....	22
3.1. Tvorba aterosklerotických plátů .....	23
4. REVMATOIDNÍ ARTRITIDA .....	25
5. NANOMEDICÍNA.....	29
5.1. Historie.....	29
5.2. Nanočástice .....	30
6. ROLE NANOČÁSTIC V TERAPII ZÁNĚTLIVÝCH STŘEVNÍCH ONEMOCNĚNÍ.....	31
6.1. Orální podání .....	31
6.2. Injekční podání .....	32
6.3. Rektální podání .....	32
6.4. Lipidový nanomateriál.....	33
6.5. Polymerní nanomateriál.....	34
6.6. Orální nanoporézní systémy pro léčbu zánětlivých střevních onemocnění.....	35
6.6.1. Doručovací nanosystémy tlustého střeva závislé na velikosti .....	36
6.6.2. Systémy reagující na pH .....	37



6.6.3.	Systemy reagující na enzymy .....	38
6.6.4.	Systemy reagující na reaktivní formy kyslíku .....	38
7.	ROLE NANOČÁSTIC V TERAPII ATEROSKLERÓZY .....	40
7.1.	Historie.....	40
7.2.	Rozdělení druhů nanomateriálů .....	41
7.3.	HDL nanočástice.....	42
7.4.	Nanočástice na principu červených krvinek .....	44
7.5.	Zlaté nanočástice.....	45
7.6.	Magnetické nanočástice oxidu železa.....	46
7.7.	Cílený transport terapeutik.....	47
7.7.1.	Nanočástice cílené na poškozené a nezralé endoteliální buňky .....	47
7.7.2.	Nanočástice cílené na makrofágy .....	48
7.7.3.	Nanočástice cílené na krevní destičky .....	49
7.7.4.	Nanočástice cílené na buňky hladkého cévního svalstva .....	49
7.7.5.	Nanočástice oxidu železitého a jejich aplikace při ateroskleróze.....	50
8.	ROLE NANOČÁSTIC V TERAPII RAVMATOIDNÍ ARTRITIDY .....	53
8.1.	Polymerní nanočástice .....	53
8.2.	Bionické nanomateriály pro léčbu revmatoidní artritidy .....	53
8.2.1.	Nanočástice potažené buněčnou membránou .....	54
8.2.2.	Nanosystémy s exozomy .....	55
8.3.	Využití nanomateriálů v kloubních náhradách .....	56
9.	ZHODNOCENÍ TERAPEUTICKÉHO POTENCIÁLU NANOČÁSTIC V LÉČBĚ CHRONICKÝCH ZÁNĚTLIVÝCH ONEMOCNĚNÍ .....	57
10.	ZÁVĚR.....	58
11.	POUŽITÁ LITERATURA .....	59

## SEZNAM ILUSTRACÍ

Obrázek 1: Zánět reakce úspěšná a chronická .....	16
Obrázek 2: Velikosti molekul a objektů v nanometrech .....	29
Obrázek 3: Polymerní nanočástice .....	34
Obrázek 4: HDL nanočástice .....	43
Obrázek 5: MNP nanočástice a aterosklerotická céva .....	51
Obrázek 6: Neutrofilem potažená nanočástice a klouby revmatoidní artritidy .....	55

## SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

PAMP	Molekulární vzory asociované s patogeny
PRR	Receptory pro rozpoznání vzorů
DAMP	Molekulární vzory asociované s poškozením
TLR	Receptory podobné genu Toll
NF- $\kappa$ B	Jaderný faktor kappa
I $\kappa$ B	Proteinové nhibitory kappa B
MAPK	Mitogenem aktivované kinázy
JAK/STAT	Janusova kináza / přenašeče signálu a aktivátory transkripce
IL-1	Interleukin 1
IL-6	Interleukin 6
TNF- $\alpha$	Tumor nekrotizující faktor alfa
ICAM-1	Intracelulární adhezní molekula 1
ICAM-2	Intracelulární adhezní molekula 2
CAM	Buněčné adhezivní molekuly
5-ASA	Kyselina 5-aminosalicylová
UC	Ulcerózní kolitida
RA	Revmatoidní artritida
NSAID	Nesteroidní antirevmatika
DMARD	Nemoc modifikující antirevmatika
PEG	Polyethylenglykol
IBD	Zánětlivá střevní onemocnění
NP	Nanočástice
SLN	Nanočástice na bázi pevných lipidů
NDDS	Nanopartikulární systémy doručování léčiv
TNBS	Kyselina 2,4,6-trinitrobenzensulfonová

DSS	Dextran-sulfát-sodný
PLGA	Polylaktid-koglykolidový polymer
FDA	Úřad pro kontrolu potravin a léčiv USA
MRI	Magnetická rezonance
AuNP	Zlaté nanočástice
MNP	Magnetické nanočástice
rHDL NP	Rekonstituované nanočástice lipoproteinů s vysokou hustotou
rHDL	Lipoprotein s vysokou hustotou
ApoA-I	Apolipoprotein A-I
PLGA-HDL	Nanonosič kopolymeru kyseliny mléčné a glykolové
[S]-rHDL	Rekonstituované nanočástice HDL naplněné simvastatinem
PBS	Fosfátový pufovaný roztok
PET	Pozitronová emisní tomografie
CT	Počítačová tomografie
RCNP	Nanočástice maskované červenými krvinkami
VCAM-1	Vaskulární buněčná adhezní molekula 1
IONP	Nanočástice oxidu železa
MCP-1	Monocytový chemoatraktantní protein 1
SVT	Sivelestat

## ÚVOD

Proces zánětu je děj probíhající na různých místech organismu. Vzniká jako obranná funkce, která se projevuje specificky a může přecházet do chronického procesu. Tento soubor odpovědí vedoucí k chronicitě hraje důležitou roli při vývoji zánětlivých střevních onemocnění, jako jsou ulcerózní kolitida a Crohnova choroba. Vedou také ke kardiovaskulárnímu onemocnění ateroskleróze a dále k revmatoidní artritidě.

Na terapii výše zmíněných nemocí se bude zaměřovat obor využívající nanočástice. Nanočástice jsou tvořeny z různorodých materiálů, ty jsou kategoricky rozdělovány do specifických skupin, a to na základech původu materiálu, na způsobu podání a na typu působení. Přičemž jednotlivé nanočástice charakteristicky působí na jednotlivá onemocnění.

Cílem této práce je popsat terapeutický potenciál nanočástic pro léčbu chronických zánětlivých onemocnění. Konkrétně na inovaci způsobu podávání léků, diagnostiku a léčebné postupy.

# 1. ZÁNĚT

Zánět je komplexní odpověď organismu v případě poškození tkání. Možné formy pro vyvolání zánětu jsou infekční, traumatické, ischemické, fyzikální, chemické, popř. jiné výzvy. I přes to, že je obrannou reakcí, rozvrat regulace zánětu může být pro organismus také nebezpečný [1].

## 1.1. Vznik

Zánět vzniká v důsledku podnětů signalizujících poškození nebo infekci. Zánětlivá reakce imunitního systému může být prospěšná nebo škodlivá v závislosti na typu a délce trvání podnětů. Zdroj, struktura a množství těchto podnětů jsou odlišné [1]. Na podněty jako jsou patogeny, poškozené buňky, toxické sloučeniny nebo ozáření působí tak, že odstraňuje škodlivé podněty a spouští proces hojení. Zánět je tedy obranný mechanismus, který je pro zdraví životně důležitý. Obvykle během akutních zánětlivých reakcí minimalizují buněčné, molekulární události a interakce hrozící poranění nebo infekci. Tento zmírňující proces přispívá k obnovení tkáňové homeostázy a odstup akutního zánětu [2]. Zánět lze rozdělit do tří typů podle doby procesu, který reaguje na škodící příčinu. Tedy akutní, který se objeví bezprostředně po úrazu a trvá několik dní. Nekontrolovaný akutní zánět se však může stát chronickým, což přispívá k řadě chronických zánětlivých onemocnění. Střední formou je subakutní, což je přechodné období z akutního na chronické, které trvá 2 až 6 týdnů [2].

## 1.2. Projevy

Vzhled tkáně je charakterizován zarudnutím (rubor), otokem, teplem (calor), bolestí (dolor) a ztrátou funkce tkáně (functio laesa), které jsou důsledkem lokální imunitní, vaskulární a zánětlivé buněčné reakce na infekci nebo poranění. Časté jsou i frekventované infekce. Chronická forma může trvat měsíce nebo i roky. [1] Dalšími nespecifickými projevy může být hubnutí nebo naopak přibírání na váze, deprese, úzkost, výkyvy nálad, celkové oslabení, tělesná bolest svalů, insomnie, průjmy, střevní problémy či nadmutí [3].

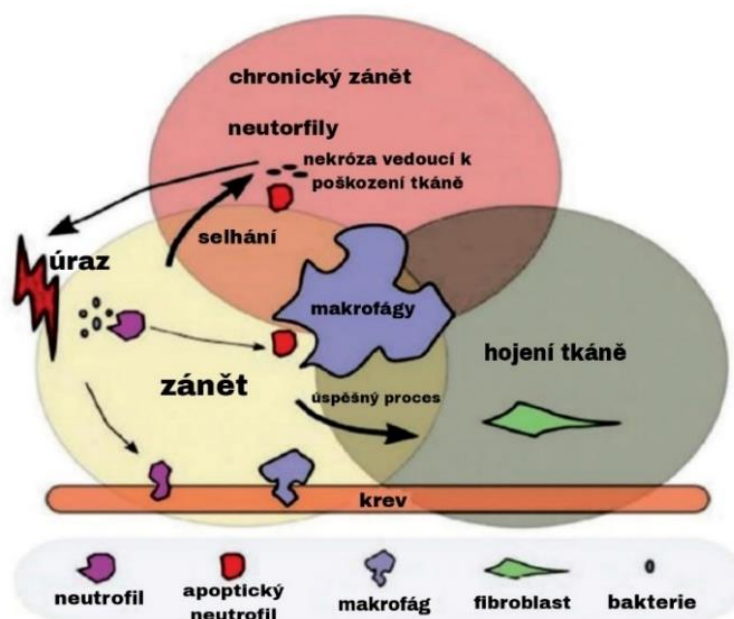
Imunitní reakce, které se účastní na akutní formě, lze rozdělit na vaskulární a buněčné. Odezvy vyskytující se v mikrocirkulaci se za běžných okolností objevují během několika minut po poranění tkáně, nebo mikrobiální infekci v přítomnosti jiných zánětlivých stimulů nazývané

jako vaskulární příhody. Výskyt těchto procesů je rapidní a vede k vazodilataci (expanze krevních cév). Následkem se cévy stanou propustnějšími. Taková imunitní reakce vede ke vstupu mediátorů zánětu a vyvolání intersticiálního edému, který je typem plicního edému vznikající po nahromadění tekutiny mezi buňkami tvořícími plicní tkáň, jehož důsledkem je zhoršená výměna kyslíku a oxidu uhličitého v krvi [4].

Typy chronického zánětu mohou být dva: nespecifický proliferativní a granulomatózní. Proliferativní nespecifický má charakter granulární tkáně způsobené infiltrací mononukleárními buňkami – konkrétně lymfocyty, makrofágy a plazmatickými buňkami. Účastní se také proliferace fibroblastů, epiteliálních buněk, cév a pojivové tkáně. Granulomatózní typ je charakteristický specifickými nodulárními ložisky a granulomy viditelnými na povrchu kůže. Agregací makrofágy či epiteloidními buňkami, často obklopených lymfocyty, vzniká granulom. Pokud se makrofágy a epiteliální buňky spojí, vytvoří se Langhansovy buňky, nebo větší masy buněk nádorových – Reed-Stenbergovy a Aschoffovy [3].

### 1.3. Rozvoj chronického zánětlivého procesu

Akutní zánět začíná po specifickém poranění, které způsobí, že rozpustné mediátory, jako jsou cytokiny, proteiny akutní fáze a chemokiny, podporují migraci neutrofilů a makrofágů do oblasti zánětu. Makrofágy mají především funkci antigen prezentující, fagocytózy a produkci cytokinů s růstovými faktory. Iniclace, průběh a konec procesu zánětu jsou jedny z hlavních rolí makrofágů [5]. Tyto buňky jsou součástí přirozené vrozené imunity, která může hrát aktivní roli při akutním zánětu [6].



**Obrázek 1:** Působení zánětu jako obranná reakce úspěšná a přecházející do chronicity, převzato a upraveno dle [4].

Vrozená imunita působí formou fyzickou a chemickou. Chemickou formou může být epitel s antimikrobiálními látkami produkovanými na povrchu fagocytární buňky, konkrétně neutrofilů a makrofágů, dále dendritických buněk, buněk přirozených zabíječů (NK), lymfocytů a krevních proteinů s komplementy [6]. Nezbytnou částí zánětlivých reakcí je imunitní reakce s infiltrací bílých krvinek do krevního oběhu. Mezi leukocyty patří neutrofil, což jsou první rekrutované buňky imunitního systému v místě akutního zánětu. Infiltrace imunitních buněk je, ve spolupráci s endotelem, spouštěna mechanismem v postkapilárních venulách. Buněčné děje zahrnují postupné zachycení a adhezi k endotelu. Tyto děje v mobilizační dráze jsou uspořádány buněčnými adhezivními molekulami (CAM). CAM zahrnují intracelulární adhezivní molekuly ICAM-1, ICAM-2, integriny a selektin. Selektivní skupina CAM obsahuje tři druhy. Pod ně spadají P-selektin a E-selektin produkovaný endoteliálními buňkami a L-selektin produkovaný bílými krvinkami. Adheze v endotelu vysoké afinity na bílých krvinkách je zprostředkována interakcí mezi integriny se znakem CD11/CD18 a adhezivními molekulami CAM-1 a CAM-2 exprimovanými leukocyty a endotelovými buňkami. Po období stacionární adheze mohou leukocyty opustit postkapilární venuly, rozšiřující pseudopodium, neboli panožku, která slouží k pohybu mezi endoteliálními buňkami a míří do subendoteliálního prostoru [4].

Pokud tento zánět po šesti týdnech neustoupí, způsobí to progresi akutního typu v subakutní a dále pak do chronické formy zánětu s migrací T lymfocytů a plazmatických buněk do místa zánětu. Takto dlouhodobé působení bez známek zotavení způsobí poškození tkáně



a fibrózu Jiné druhy buněk, jako jsou makrofágy a monocyty, hrají roli v akutním i chronickém zánětu [2]. V momentě, kdy se zánět stává chronickým, většina rysů akutního zánětu pokračuje, a to vč. vazodilatace, zvýšení průtoku krve, kapilární permeability a migrace neutrofilů do infikované tkáně přes kapilární stěnu (diapedéza). Složení bílých krvinek se však brzy změní – makrofágy a lymfocyty začnou nahrazovat krátkodobé neutrofile. Charakteristickými znaky chronického zánětu jsou tedy infiltrace primárních zánětlivých buněk, jako jsou makrofágy, lymfocyty a plazmatické buňky v místě tkáně. Ty produkují zánětlivé cytokiny, růstové faktory a enzymy přispívající k progresi poškození tkáně a současně k sekundární reparaci včetně fibrózy a tvorbě granulomů [3].

Reakcí na cizí či vlastní antigeny uvolňují tkáňové imunitní buňky cytokiny, jako je interleukin jedna (IL-1) a tumor nekrotizující faktor alfa (TNF- $\alpha$ ). Tyto cytokiny navozují endoteliální buňky v místě poranění k uvolnění selektinů a integrinů iniciujících chemotaxi (pohyb k postiženému) a diapedézu (prostup cévní stěnou) cirkulujících leukocytů. Společně s vyšší koncentrací leukocytů hrají tkáňové makrofágy a dendritické buňky také roli při odstraňování antigenu fagocytózou, uvolňováním cytokinů prezentují antigen lymfocytům. Cirkulující leukocyty jsou aktivovány různými cytokiny a chemokiny v momentě vstupu do místa lokálního poranění [3].

Neutrofile aktivované při akutním stádiu obsahují granule na lysozym bohaté matrixové metaloproteinázy a myeloperoxidázu, které se uvolňují na antigen. Ten může být vlastní i cizí, což vede k jeho destrukci. Antigen je také možné likvidovat fagocytózou nebo uvolňováním reaktivních forem kyslíku a cytokinů, jako je IL-1, IL-6 a TNF- $\alpha$ . Lymfocyty včetně T-lymfocytů a B-lymfocytů jsou další obrannou linií a hrají klíčovou roli ve zprostředkování zánětu několika komplexními mechanismy, vč. sekrece cytokinů, stimulace lymfocytů, produkcí protilátek a imunitních komplexů. Za přispívající mechanismus při zánětlivém procesu lze také považovat agregaci krevních destiček tvorbou trombu a uvolnění chemokinů díky degranulaci [3].

### 1.3.1. Povrchové receptory rozpoznávající škodlivé podněty

Mikrobiální struktury známé jako molekulární vzory asociované s patogeny (PAMP) vyvolávají zánětlivou reakci pomocí receptorů pro rozpoznání vzorů (PRR) exprimované imunitní i neimunitní formou. Některé PRR, známé jako molekulární vzory asociované s poškozením (DAMP), rozpoznávají různorodé endogenní signály aktivované během narušení

tkáně či buněk. DAMP značené jako biomolekuly hostitelské mohou iniciovat a udržovat neinfekční zánětlivou odpověď. Poškozené buňky mohou iniciovat působení vrozených zánětlivých buněk v nepřítomnosti patogenů uvolňováním DAMP [7].

Třídy PRR zahrnují receptory podobné genu Toll (TLR), lektinové receptory typu C atd. TLR třída omezených savčích PRR se účastní aktivace zánětlivé odpovědi. Přenos PAMP a DAMP je zprostředkován faktorem myeloidní diferenciaci 88 spolu s TLR. Signalizace prostřednictvím TLR aktivuje intracelulární signální kaskádu, která vede k jaderné translokaci transkripčních faktorů, např. aktivačního proteinu 1, jaderného faktoru kappa-aktivujícího enhanceru lehkého řetězce B buněk (NF- $\kappa$ B) a regulačního faktoru interferonu. DAMP a PAMP sdílejí receptory TLR4, což naznačuje podobnost procesů způsobené infekčním i neinfekčním podmětem [7].

### 1.3.2. Aktivace zánětlivého procesu

Zánětlivé podněty aktivují intracelulární signály, ty poté aktivují produkci mediátorů. Primární zánětlivé podněty, včetně mikrobiálních produktů a cytokinů, jako je interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), interleukin-6 (IL-6) a TNF- $\alpha$ , podnítlí zánět prostřednictvím interakcí s TLR [7]. Aktivace receptoru navodí důležité signální intracelulární dráhy, jako jsou kinázy aktivované mitogenem (MAPK), NF- $\kappa$ B a Janusovu kinázu / přenašeče signálu a aktivátory transkripce (JAK/STAT). Dráha JAK/STAT pak přenáší informace z extracelulárního prostředí do buněčného nuklea, kde aktivuje transkripční faktory a biologické procesy [8].

### 1.3.3. NF- $\kappa$ B proces regulace

NF- $\kappa$ B je proces regulace prozánětlivých cytokinů, chemokinů, adheze molekul, regulace buněčné proliferace a získávání zánětlivých buněk přispívajících k zánětu [9]. NF- $\kappa$ B transkripční faktor se uplatňuje při imunitní odpovědi. Též se iniciuje aktivace řady faktorů za pomoci stimulačních látek uvolněných z patogenů enzymů a zánětlivých intracelulárních cytokinů. Inhibici NF- $\kappa$ B za fyziologických stavů způsobují proteinové nhibitory kappa B (I $\kappa$ B) uchovávané v cytoplazmě buněk [7].

PRR aktivují I $\kappa$ B kinázu, složenou ze dvou kinázových podjednotek alfa, beta a z regulační podjednotky gama. Ty ovlivňují aktivaci NF- $\kappa$ B signální molekuly fosforylací

inhibitoru I $\kappa$ B [10]. Fosforylace I $\kappa$ B má za následek jeho degradaci proteazomem, přičemž následuje uvolnění NF- $\kappa$ B s důsledkem jaderné translokace a aktivace genové transkripce [7].

## 2. STŘEVNÍ ONEMOCNĚNÍ

Zánětlivá střevní onemocnění jsou výsledkem interakce mezi genetickými a enviromentálními faktory ovlivňující imunitní odpověď [11]. Jsou to onemocnění chronické a z větší části neznámé etiologie s narůstajícími případy incidence. Trvalé remise onemocnění nelze dosáhnout, a proto se hledají alternativní cesty terapie. Špatně regulovaná imunitní odpověď působí na střevní mikroflóru u geneticky citlivých hostitelů, což se projevuje relaps-remitentní formou, známé především jako ulcerózní kolitida (UC) a Crohnova choroba. Ačkoli je etiologie spíše neznámá, roli hrají genetické faktory střevní mikroflóry a imunitní regulace při spouštění a udržování chronické zánětlivé reakce u těchto onemocnění [12].

### 2.1. Ulcerózní kolitida a Crohnova choroba

Jak Ulcerózní kolitida, tak i Crohnova choroba, způsobují poruchy trávení a záněty gastrointestinálního traktu projevující se průjmem, bolestí břicha, hubnutím a rektálním krvácením, přičemž hlavní charakteristikou je ale zánět. Ačkoliv jsou si tyto dvě nemoci velmi podobné, odlišují se od sebe v několika příznacích [11].

Crohnova choroba se nejčastěji objevuje ve věkovém rozmezí 15-35 let, kdy kromě vážných účinků na spodní část tenkého střeva nemoc působí na dutinu ústní, anus a střevní sliznici. Ulcerózní kolitida naopak postihuje slizniční membránu tlustého střeva a léze se projevují na konečníku a střevu. Projevy se pohybují od mírných až po těžké a život ohrožující. Podvýživa je u Crohnovy choroby velmi častá, jelikož tenké střevo je zodpovědné za vstřebávání živin a v tomto případě jej vážně poškozuje. Ulcerózní kolitida je spojena s krví ve stolici, silnou bolestí a průjmem, zatímco u Crohnovy choroby existuje také riziko krvácení v těžkých případech, je méně časté rektální krvácení. Kolem 50 % pacientů s Crohnovou chorobou trpí deficitem vitamínu B9 a vitamínu D, zatímco více než 50 % pacientů s UC trpí nedostatkem železa. Postižené oblasti trávicího traktu se také budou odlišovat podle druhu choroby. Subjektivní projevy Crohnovy nemoci jsou především bolesti břicha a problémy jako rektální léze a píštěle, což je patologicky vytvořený kanálek mezi dutinou a povrchem umožňující transport různým substancím. Naproti tomu pacienti s ulcerózní kolitidou obvykle trpí přerušovanou bolestí v souladu se střevními pohyby [11].

Střevní imunitní systém je klíčový k patogenezi zánětlivého onemocnění střev. Střevní epitel zabraňuje bakteriálnímu nebo antigennímu vstupu do oběhu stěsněnými mezerovými

spoji. Defektivní jsou tyto spoje buď v důsledku selhání primární bariérové funkce, nebo v důsledku těžkého zánětu. Dalším ochranným mechanismem je produkce hlenu pohárkovými buňkami a sekrece a-defensinu z Panethovy buňky. Nadměrné zánětlivé reakce vedou k pokračujícímu ničení epitelu a dalšímu vystavení střevním mikrobům, čímž se zánět dále zhoršuje. Mikroskopické hodnocení s aktivním zánětlivým onemocněním střev vyvodí výraznou infiltraci lamina propria směsí neutrofilů, makrofágů, dendritických buněk a přirozených zabíječů T buněk. Zvýšený počet a aktivace těchto buněk zvyšuje hladinu tumor nekrotizujícího faktoru- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukinu-1 $\beta$ , interferonu-gama a cytokinů [13].

## 2.2. Terapie zánětlivých střevních onemocnění

Definitivní lék na zánětlivá onemocnění střev prozatím není. Pacienti jsou nadále léčeni látkami zaměřenými na blokování nebo inhibici imunitní-zánětlivé kaskády na různých úrovních. U aktivní ulcerózní kolitidy je kyselina 5-aminosalicylová (5-ASA) neboli mesalazin účinný u mírných až středně těžkých forem, zatímco u těžkých případů jsou zapotřebí steroidy, cyklosporin a biologická léčiva. Cyklosporin je u aktivní Crohnovy choroby neúčinný a 5-ASA má omezenou roli. Pro udržení remise se biologická léčiva, imunosupresiva a 5-ASA mohou stát účinnými. Biologická léčiva jsou prověřována a existují určité obavy ohledně skutečné zátěže dlouhodobých nepříznivých účinků včetně oportunních infekcí a malignit. Imunosupresiva jsou účinná, především u pacientů závislých na steroidech, to však s doporučením medikace méně než 5 let. 5-ASA jde na druhou stranu užívat více než 70 let, s mírnými dlouhodobými vedlejšími účinky, avšak s omezeným účinkem. Udržení požadované koncentrace léku v prevenci recidivy Crohnovy choroby je hlavním problémem v zanícené sliznici. Ideální lék k léčbě zánětlivých střevních onemocnění by se tedy měl zaměřit konkrétně na zanícené tkáně s nejmenším systémovým poškozením, zjednodušení aplikace a zajištění maximální adherence k léčbě [14].

### 3. ATEROSKLERÓZA

Ateroskleróza je multifokální, imunožánětlivé onemocnění středně velkých a velkých tepen způsobené lipidy. Endoteliální buňky, leukocyty a buňky hladkého svalstva jsou hlavními faktory ve vývoji tohoto onemocnění. Následky aterosklerózy, jako je srdeční infarkt a mozková mrtvice, jsou způsobeny trombózou. Prasklé pláty jsou charakterizovány velkým jádrem bohatým na lipidy, tenkou fibrinovou čepičkou, které obsahují málo buněk hladkého svalstva ale mnoho makrofágů. Mezi mnoha kardiovaskulárními rizikovými faktory je zvýšená hladina cholesterolu v plazmě, která má největší efekt. Dalšími faktory jsou hypertenze, cukrovka, kouření, pohlaví mužské, které má vyšší incidenci než ženské a žánětlivé markery, ty urychlují onemocnění způsobené aterogenními lipoproteiny, především lipoproteinem s nízkou hustotou (LDL) [15].

Jedná se o chronické žánětlivé onemocnění, u kterého imunitní systém hraje významnou roli v jeho rozvoji a progresi. Endoteliální patologická funkce vyvolaná žánětem má za následek zvýšenou permeabilitu pro lipoproteiny a jejich subendoteliální akumulaci, zvýšení počtu leukocytů a aktivaci krevních destiček. Zvýšený počet monocytů se diferenciuje na makrofágy, které vyvinou prožánětlivé nebo protizánětlivé produkty dle okolního mikroprostředí. Makrofágy a buňky hladkého cévního svalstva vylučují žánětlivé cytokiny včetně interleukinů IL-1 $\beta$ , IL-12 a IL-6. V arteriální stěně podléhá lipoproteinový cholesterol s nízkou hustotou oxidaci. Lipoproteiny bohaté na triglyceridy a zbytkové lipoproteiny vykazují prožánětlivé účinky. Makrofágy poté katabolizují oxidované lipoproteiny a spojují se v nekrotické jádro. Tvorba fibroateromu je způsobena obalením jádra kolagenovou vláknitou čepičkou a hojnou přítomností lipidů. Na fibrózní čepičku mají též katabolický účinek makrofágy, což vede k fibroateromu tenké čepičky, který činí plát oslabeným. Jejich morfologie a působení se může v průběhu času změnit a přejít od vysoce rizikových lézí ke stabilnějším kalcifikovaným plátům. Kromě konvenčních kardiovaskulárních rizikových faktorů může expozice akutního a chronického psychického stresu zvýšit pravděpodobnost tvorby onemocnění. A to díky žánětu zprostředkovaného zvýšeným účinkem sympatiku, vedoucím k uvolňování žánětlivých cytokinů. Žánět je též propojen se stárnutím a kardiovaskulárními onemocněními prostřednictvím zvýšených klonů leukocytů v periferní krvi [16].

### 3.1. Tvorba aterosklerotických plátů

Tvorba aterosklerotických plátů je zprostředkována především komplexními imunitními a zánětlivými reakcemi. Mikroprostředí zranitelných plátů je komplikované prostředí zahrnující mnoho buněk a molekul, jako jsou endoteliální buňky, monocytové nebo makrofágové buňky, buňky hladkého svalstva cév, oxidovaný lipoprotein s nízkou hustotou (ox-LDL), zánětlivé faktory a chemokiny. Kromě toho je mikroprostředí zranitelných plátů slabě kyselé (pH 6,0–6,8) a bohaté na reaktivní formy kyslíku (ROS), lipidy a enzymy [17].

Ateroskleróza je pomalu progredující, komplexní a multifaktoriální onemocnění arteriální stěny. Na výskytu a rozvoji se podílí více rizikových faktorů, včetně kouření, dyslipidémie, hypertenze a cukrovky. Patologická progresse může být kategorizována do čtyř fází: časné tukové pruhy, fibrózní plát, aterosklerotický plát a komplikované léze nebo sekundární změny ve formě intraplakového krvácení, ruptury plátu a trombózy. Fyziologický stav stěny tepny obsahuje tři vrstvy, tunica intima, media a adventicia. Tunica intima se skládá hlavně z endoteliálních. V důsledku poruchy endotelu a hyperpermeability dochází ke zvýšení LDL v krevním oběhu infiltrací a usazuje se v subendoteliální matrix. Následně bude LDL oxidován volnými radikály a upraven na ox-LDL. Kontinuální akumulace ox-LDL spouští vrozenou zánětlivou reakci v intimě, stimuluje aktivované endoteliální buňky k expresi adhezních molekul, jako je adhezní molekula vaskulárních buněk-1 (VCAM-1) a intracelulární adhezní molekula-1, což indukuje uvolňování chemotaktických molekul, jako je monocytový chemotaktický protein-1 (MCP-1) uvnitř buněk hladkého cévního svalstva, které společně rekrutují monocyty a lymfocyty do subendoteliálního prostoru. Poté se monocyty diferencují na makrofágy pod regulací faktoru stimulujícího kolonie makrofágů. Makrofágy, stejně jako buňky hladkého svalstva, které migrují ze střední vrstvy cévní stěny do vnitřní, fagocytují ox-LDL prostřednictvím scavengerových receptorů, vytvářející pěnové buňky, což znamená iniciaci časného lipidního stádia aterosklerózy. Ve stadiu fibrózního plátu přispívá proliferace buněk hladkého svalstva s nadměrnou produkcí proteinů extracelulárního matrix, elastinu a kolagenu k tvorbě fibrózního uzávěru a vaskulární změně struktury, která hraje důležitou roli ve stabilitě plátu [17].

S rostoucí akumulací extracelulárních lipidů, zvětšování lipidového jádra postupně kulminuje ve vývoji aterosklerotických plátů, z nichž některé se vyvíjejí do forem náchylným k ruptuře, která vede k trombóze nebo stenóze. Patologické studie naznačují, že zranitelnost plátů je ovlivněna různými příčinami, jako je zánět, apoptóza a angiogeneze, a riziko jejich ruptury závisí více na molekulárním a buněčném obsahu než na stupni stenózy. Zranitelný plát,

také známý jako rizikový je nebezpečným z důvodu potenciální rychlé progresse stenózy a tendencí k tvorbě trombů. Charakteristickým znakem rizikového plátu je ohromující akumulace pěnových buněk. I přes schopnosti clearance makrofágů, nadměrné množství ox-LDL podporuje nekrózu pěnových buněk a tvorbu nekrotického jádra. Aktivované makrofágy uvolňují zánětlivé faktory a vylučují matrixové metaloproteinázy. Degradace fibrózní tkáně působením metaloproteinázy, společně s lokálním zánětem přispívají ke ztenčování fibrinové čepičky, což je další důležitá charakteristika zranitelných plátů. Tenká fibrinová čepička praskne, čímž se obnaží lipidové jádro, které je vysoce koagulační, a nakonec iniciuje trombózu [17].



## 4. REVMATOIDNÍ ARTRITIDA

Revmatoidní artritida (RA) spadá mezi nejčastější autoimunitní chronická zánětlivá onemocnění. Primárně postihuje klouby, je třeba ji však chápat jako syndrom, který zahrnuje také mimokloubní projevy, jako jsou revmatoidní uzly, postižení plic, vaskulitidu a systémové komorbidity. V posledním desetiletí došlo k terapeutické revoluci v léčbě RA, zejména díky zavedení nových léčebných metod, časné terapii, vývoji nových klasifikačních kritérií a aplikaci účinných léčebných strategií, což zásadně zlepšilo kloubní i systémové výsledky léčby. Stále však existuje značná neuspokojená potřeba pro zlepšování terapie RA. Větší nebo úplná remise není běžná, ani dlouhodobě udržitelná bez pokračující léčby, a proto by měla být prioritou dalšího výzkumu [18].

Revmatoidní artritida představuje značnou zátěž jak pro jednotlivce, tak pro společnost. Pro jednotlivce z této zátěže vyplývají muskuloskeletální deficity, s následným poklesem fyzické funkce, kvality života a zvýšeným rizikem komorbidit. Socioekonomická zátěž kromě přímých zdravotních nákladů zahrnuje i funkční postižení, sníženou pracovní schopnost a omezenou účast ve společnosti. Klíčové je proto včas stanovit diagnózu, zahájit léčbu co nejdříve a navrhnout nové strategie, které by kontrolovali zánět a předcházely poškození kloubů [18].

RA incidence je 0,5 % až 1 % populace. U některých původních obyvatel Ameriky je prevalence velmi vysoká. Pozitivní rodinná anamnéza zvyšuje riziko vzniku RA přibližně třikrát až pětkrát. Vyšší výskyt RA u dvojčat naznačuje, že genetické faktory hrají v patogenezi významnou roli. Dědičnost RA je odhadována na 40–65 % u séropozitivní formy RA, ale nižší 20 % u séronegativního onemocnění [18].

Moderní genetické technologie ve spojení s rozsáhlými klinickými kohortami nám pomohou lépe porozumět genetice tohoto onemocnění. Studie asociací v celém genomu pomocí jednonukleotidových polymorfismů identifikovali více než sto lokusů spojených s rizikem RA, přičemž většina z nich naznačuje zapojení imunitních mechanismů, některé sdílené s jinými chronickými zánětlivými onemocněními. Systém lidských leukocytárních antigenů zůstává klíčovým faktorem, který silně naznačuje, že vazba peptidů hraje důležitou roli v patogenezi [18].

Podobně jako u mnoha autoimunitních onemocnění je i etiologie revmatoidní artritidy (RA) multifaktoriální. Genetická predispozice je zřejmá díky výskytu v rodinách a studiím na jednovaječných dvojčatech, kde se odhaduje, že 50 % rizika vzniku RA je přičítáno genetickým

faktorům. Mezi genetické asociace s RA patří lidské specifické druhy leukocytárních antigenů a skupina alel nazývaná "sdílený epitop". Kouření je hlavním environmentálním spouštěčem RA, zejména u lidí s genetickou predispozicí. I když infekce mohou odhalit autoimunitní reakci, žádný konkrétní patogen nebyl prokázán jako příčina RA. Je však charakterizována zánětlivými procesy, které vedou k proliferaci synoviálních buněk v kloubech. Následná tvorba pannu, což je vaskularizovaná granulační tkáň může způsobit destrukci chrupavky a erozi kostí. Nadměrná produkce prozánětlivých cytokinů, včetně tumor nekrotizujícího faktoru a interleukinu-6, podporuje tento destruktivní proces [19].

Rizikovými faktory mohou být vyšší věk, rodinná anamnéza a pohlaví ženské, i když u starších pacientů je rozdíl mezi pohlavími méně výrazný. Současné i předchozí kouření zvyšuje riziko RA. Těhotenství často způsobuje ústup příznaků RA, pravděpodobně kvůli imunologické toleranci. Porod může mít dlouhodobý vliv. Ženy, které rodily, mají menší pravděpodobnost diagnostiky RA než ženy, které nerodily. Dále kojení snižuje riziko RA u žen, které kojily alespoň 24 měsíců. Negativní vliv na RA však může mít první menstruační cyklus v mladém věku 10 let či dříve a častý nepravidelný cyklus. Užívání antikoncepce či vitamínu E nemá efekt na RA [19].

Onemocnění může začít v jakémkoliv věku, ale nejčastěji se objevuje mezi 30. až 50. rokem života. Typickými příznaky pacientů jsou bolest a ztuhlost ve více kloubech, nejčastěji v zápěstí, kloubech mezi články prstů a kloubech rukou. RA obvykle nepostihuje konce prstů ani bederní páteř. Ranní ztuhlost trvající déle, než jednu hodinu naznačuje zánětlivou povahu onemocnění. Pacienti mohou také mít systémové příznaky, jako jsou únava, úbytek hmotnosti a anémie. Může být viditelný měkký otok způsobený synovitiidou, při vyšetření kloubů lze nahmatat jemné ztluštění synoviální membrány [20].

Strategie léčby revmatoidní artritidy (RA) se v posledních desetiletích výrazně změnily. Dnes se léčba zahajuje co nejdříve, ideálně ještě před tím, než se objeví typické znaky pokročilého onemocnění, jako je poškození chrupavky kloubů a kostí a deformace kostí. Léčba je také agresivnější a účinnější než dříve, což může zabránit nebo oddálit vývoj těchto příznaků [21]. Americká revmatologická společnost definuje časnou RA jako onemocnění s délkou trvání méně než 6 měsíců, a právě v tomto období by měla být léčba zahájena. Bylo prokázáno, že včasná léčba RA může zabránit nevratnému poškození kloubů a chronickému zhoršení funkce, a to i při zpoždění léčby o několik týdnů. Využití DMARD je prvním krokem v léčbě. Nejčastěji se jako první volba používá methotrexát díky své účinnosti při dosahování remise a nízké aktivitě onemocnění u 30 až 40 % pacientů a dále díky nízké ceně. Přesný mechanismus

účinku methotrexátu u RA není zcela objasněn. Jedná se o strukturální analog kyseliny listové, který ovlivňuje syntézu DNA a zvyšuje uvolňování adenosinu [22].

Existují tři hlavní kategorie léků: nesteroidní antirevmatika (NSAID), glukokortikoidy a nemoc modifikující antirevmatika (DMARD). Tyto léky pomáhají zpomalit nebo zastavit postup destrukce kloubů. Methotrexát a glukokortikoidy se často používají jako léčba první volby v raných stádiích [23]. Methotrexát není nikoliv vhodný pro pacienty s vyšším rizikem hepatotoxicity, například pro osoby s častou konzumací alkoholu nebo s již existujícím onemocněním jater [20].

Dlouhodobé užívání těchto farmaceutik, jako jsou glukokortikoidy, NSAID a DMARD, může vést k vážným nežádoucím účinkům. Mezi nejčastější spadá rezistence na terapeutika s vedlejšími účinky, jako jsou gastrointestinální vředy a krvácení, hepatotoxicita, infekce a dysfunkce kostní dřeně. Protože dlouhodobá terapie glukokortikoidy zvyšuje riziko osteoporózy indukované glukokortikoidy, tito pacienti by měli pravidelně užívat vápník a vitamin D [23].

V současnosti jsou biologické léky běžným standardem léčby, protože cíleně zasahují složky imunitní odpovědi, včetně prozánětlivých cytokinů, např. TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6 a imunitních buněk B a T, které se hromadí ve větším množství v zanícených oblastech. Na trhu je dostupných několik protizánětlivých léků a některé jsou stále ve fázi preklinického vývoje, Klasické DMARD způsobují celkovou imunosupresi, zatímco biologické DMARD cílí na specifické mediátory zánětlivého procesu. Sekretované cytokiny, jako TNF- $\alpha$ , IL-6 a IL-1, přispívají k rozvoji a progresi RA, a jejich zasažení může zmírnit systémové příznaky spojené s onemocněním [23].

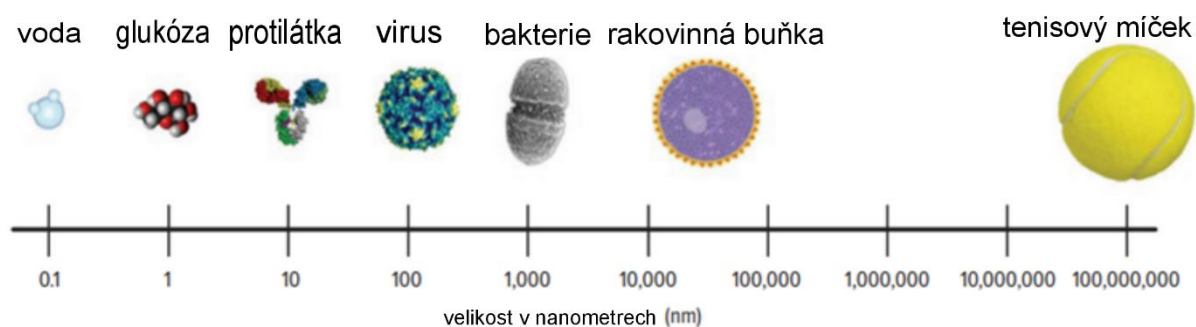
Blokování signálních drah spojených s RA je další strategií v boji proti nemoci. Například rekombinantní fúzní protein neboli abatacept blokuje kostimulaci CD80 a CD86 membránových proteinů. To následně snižuje aktivaci T buněk, což je účinné v boji proti onemocnění. Uvnitř buněk může inhibice mediátorů některých signálních drah přispívat k různým imunitním funkcím a potlačit zánětlivé reakce. Tofacitinib, který inhibuje čtyři členy rodiny kináz JAK, je slibným lékem a jeho podávání vede k rychlému a významnému snížení příznaků RA [23].

Kombinace NSAID nebo DMARD s biologickými látkami, jako jsou protilátky proti TNF- $\alpha$ , se předepisuje pacientům s přetrvávající aktivní RA, kteří nedostatečně reagují na monoterapii. Specifické kombinace mohou být velmi prospěšné, jelikož inhibují více cest

současně, zlepšují snášenlivost léčby aplikací méně léčiva a tím se také snižuje vývoj rezistence [23].

## 5. NANOMEDICÍNA

Je oborem v rozvoji, který se zabývá fyziologickými procesy na úrovni nanoměřítek. Křížení nanotechnologií a medicíny do interdisciplinární oblasti nanomedicíny. K vývoji přispěli genetika, molekulární a buněčná biologie, materiálová věda a bioinženýrství. Mnoho vnitřních funkcí buňky se přirozeně vyskytují na úrovni nanoměřítek, protože rozměry z mnoha biologicky významných molekul, jako je voda, glukóza, protilátka, proteiny, enzymy, receptory a hemoglobin jsou již v rozsahu nanoměřítek [24].



**Obrázek 2:** Ilustrace škály velikostí molekul a objektů v nanometrech, převzato a upraveno dle [24].

Mnoho vědců v současné době pracuje na léčebných postupech, zařízeních a nástrojích, které využívají nanotechnologie, využívající nanočástice o průměrných velikostech menších než 100nm, ke zvýšení účinnosti, bezpečnosti, citlivosti a personalizace. Potenciálně prospěšné vlastnosti nanoterapeutik zahrnují zlepšení biologické dostupnosti, snížené toxicity, větší odezvu na dávku a zlepšení rozpustnosti ve srovnání s konvenčními léky [25].

### 5.1. Historie

Nanomedicína je mladá věda. Lékařská technologie a farmakologie je zkoumána od 90. let 20. století. Samotná nanotechnologie existovala pouze několik desítek let. Po vynálezu mikroskopických metod s vysokým rozlišením se současně kombinoval vývoj v biologii, fyzice a chemii v průběhu 20. století. Zplodily se tak nové disciplíny, jako je mikroelektronika, biochemie a molekulární biologie. Pro nanomedicínu a nanobiotechnologii, které zkoumají strukturu a funkci buněk, intracelulární tak i intercelulární procesy s prvořadým významem buněčné komunikace jsou velmi důležité [26].

Petros a kolega ohlásili studii o práci na nanotechnologii v polovině 19. století. Uvedli, že polymery a léky byly konjugovány v roce 1955. První polymerní zařízení s řízeným uvolňováním se objevilo v roce 1964, lipozom byl objeven Banghamem v roce 1965, nanočástice na bázi albuminu byly hlášeny v roce 1972. V roce 1973 se objevila formulace léků na bázi lipozomů a první micela byla zpracována a schválena v roce 1983. Úřad pro kontrolu potravin a léčiv (FDA) schválil první kontrolovanou formulaci v roce 1989 a první polyethylenglykol (PEG) konjugovaný s proteinem vstoupil na trh v roce 1990. Další studie přinesly neuvěřitelně povzbudivé výsledky pro léčbu různých nemocí [27].

## 5.2. Nanočástice

Nanočástice jsou malé částice o velikosti v průměru menší než 100nm, obvykle obsahují tři vrstvy, skládající se z jádra, obalu a povrchu. Většina nanočástic je biologicky odbouratelná a nejsou toxické pro lidské tělo, čímž se dokážeme vyhnout vedlejším účinkům. Uvnitř jádra mohou být nanočástice naplněny požadovanými léky, které budou lokálně uvolněny do cílové buňky, což umožní podávání nižších dávek léku po danou periodu času. Tímto způsobem si léčba nanočásticemi zachovává stejnou účinnost jako konvenční forma léčby, ale bude snižovat vedlejší účinky podávání volného léčiva. Nanočástice mohou být přírodní fosfolipidy, lipidy, kyselina mléčná, chitosan nebo mít chemické sloučeniny polymeru, uhlíku, oxidu křemičitého a kovů. Správně syntetizované nanočástice by měly zůstat přítomny v krevním oběhu a mít sníženou interakci s retikuloendoteliálním systémem. S pomocí retikuloendoteliálního systému může sekvestrace ovlivnit nanočástice závislé na krevním oběhu, a tím omezit jejich schopnost dosáhnout cílových tkání. Kromě toho se musí makrofágy vyhýbat fagocytóze a sekvestraci zprostředkovanou filtrujícími orgány jako jsou játra, slezina a ledviny. Pro vývoj nejúčinnějších nanočástic vědci navrhli úpravy velikosti, složení, tvaru nebo povrchu [28].

## 6. ROLE NANOČÁSTIC V TERAPII ZÁNĚTLIVÝCH STŘEVNÍCH ONEMOCNĚNÍ

V poslední době se nanomedicína založená na nanočásticích hojně využívá v léčbě zánětlivých střevních onemocnění (IBD). Nanočástice naložené léčivy poskytují podobnou nebo dokonce lepší terapeutickou účinnost při nižších koncentracích léčiva ve srovnání s běžnou formou léků. V praktické léčbě existují dvě hlavní strategie podávání NP, a to nitrožilní injekcí nebo orálním podáním. Dále je možná aplikace rektální. Obecně se nitrožilní injekce používá k léčbě pacientů s mírnou až těžkou formou IBD, zatímco orální podávání je určeno pro mírnější až středně těžké případy IBD. Snahou je orální nanosystémy a nanomateriály zdokonalit pro potenciální užití [29].

### 6.1. Orální podání

Orální podání je nejpoužívanější, nejpohodlnější a také nejpreferovanější cestou pro léčbu zánětlivých onemocnění střev. Má výhody, jako je biologická bezpečnost, přímé doručení léku do oblasti tlustého střeva, flexibilita v úpravě dávky a vysoká spolupráce pacienta při léčbě. Pro vývoj účinných systémů orálního podávání léků pro léčbu IBD je však třeba věnovat zvláštní pozornost patologickým podmínkám trávicího traktu, jako je propustnost střevní tkáně, nadměrná exprese zánětlivých molekul nebo receptorů, druhy bakterií a jejich sekrety. Kromě toho jedním z nejdůležitějších faktorů, které je třeba zohlednit je též aktivita léků. Obvykle je zapotřebí enterálního potahu nebo systému odolnému vůči degradaci. Tím se zabrání předčasnému uvolnění léku před dosažením místa zánětu díky kyselinové erozi nebo enzymatické degradaci [30].

Ve srovnání s tradičními orálními léky byly pokročilé nanoterapeutika rozsáhle zkoumány jako slibné systémy podávání léků s lepší schopností pronikání skrze střevní sliznici, lepší selektivitou při cílení léků, specifikací na střevní záněty, biologickou dostupností léků v tlustém střevě a schopností reagovat na různé podněty při orálním podání. To vše vede k lepším výsledkům při léčbě IBD. Nicméně orální podání vystavuje terapeutické látky žaludeční kyselině, bakteriální zátěži a velkému množství střevních enzymů. Což může ovlivnit jejich účinnost, před absorpcí v tkáních tlustého střeva [30].

V posledních letech byly pro léčbu vyvinuty orální nanoterapeutika kombinovaná s různými mechanismy citlivými na podněty, jako jsou systémy závislé na pH, aktivované

mikrobiomem, časově řízené a systémy kontrolované tlakem. Po orálním podání tyto chytré nanoformulace uvolňují aktivní látky přímo do lumen tlustého střeva, kde jsou následně absorbovány střevní sliznicí [30].

## 6.2. Injekční podání

Injekční podání, včetně intravenózního, intramuskulárního a subkutánního podání, je u pacientů méně oblíbené ve srovnání s orálním podáním. Injekce vyžadují odborný personál a zařízení a často jsou spojeny s bolestí. Injekční podání však nabízí okamžitou a vysokou systémovou biologickou dostupnost a výrazné snížení metabolismu léků v játrech oproti orálnímu podání. Systémová biologická dostupnost ale zvyšuje riziko vedlejších účinků [31].

V současné době se většina biologických látek a některé kortikosteroidy podávají prostřednictvím intravenózním nebo podkožním. Injekční NP mohou umožnit těmto látkám dosáhnout místa zánětu anebo je směřovat prostřednictvím efektu zvýšené permeability a retence. Pomocí čehož jsou následně schopné zajistit lokální uvolnění nákladu, mechanismy závislémi na velikosti a interakci ligand-receptor. Další mechanismy uvolňování jsou závislé na mikroprostředí, jako jsou druhy degradace NP řízené enzymaticky, pomocí pH nebo reaktivní kyslíkovou formou. Stejně jako u orálního podání je stále populárnější navrhovat multi-reaktivní systémy u injekčních NP [31].

## 6.3. Rektální podání

Vzhledem k tomu, že tlusté střevo a konečník jsou obvykle postižené oblasti při IBD, je rektální podání považováno za účinnou strategii pro pacienty s mírnou až středně těžkou kolitidou. Tato metoda se široce využívá jak při indukční terapii, tak při terapii zadržující progresi IBD. Ve srovnání s orálním a injekčním podáním má rektální forma lepší míru odpovědi, vyšší účinnost dodání léku do postižených tkání, lepší průnik k postižené tkáni a nižší systémové vedlejší účinky. Navíc rektální podání využívá výhodu zaměření se na tlusté střevo a konečník, což jsou hlavní oblasti léčby, kde může být zánět v distálním střevě přímo na místě léčen vysokými koncentracemi léčiv [30].

Přes tyto výhody je rektální podání při léčbě IBD nedostatečně využíváno. I když lokální léčba snižuje riziko systémových vedlejších účinků, problémy s omezenou retencí léků a jejich



špatnou přilnavostí stále představují velkou výzvu, což vede k problémům se stabilitou. Bylo zjištěno, že adherence lokální terapie byla výrazně nižší než při orální terapii za stejného dávkovacího režimu. Dalším nevyhnutelným problémem rektálního podání je ochota pacientů tuto metodu přijmout. Rektální podání je méně oblíbené než orální nebo injekční. Z těchto důvodů je klíčové vyvinout inovativní strategie pro zlepšení retence a přilnavosti léků, což je důležitým cílem farmaceutického výzkumu pro podporu aplikace pokročilé nanomedicíny při léčbě IBD [30].

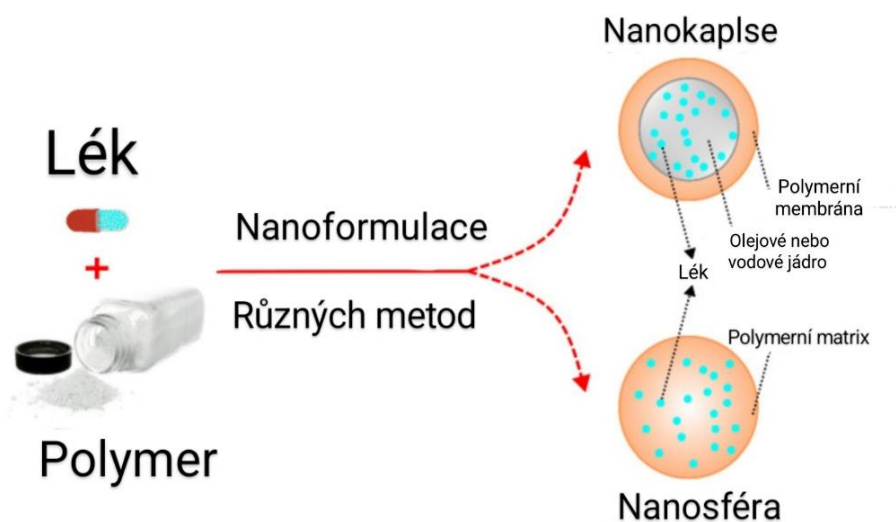
#### 6.4. Lipidový nanomateriál

V současnosti jsou nanomateriály rozděleny do tří hlavních tříd podle jejich strukturálních rozdílů, a to na polymerní NP, anorganické NP a založené na lipidech [32]. Lipidové NP jsou připravovány jak z přírodních, tak syntetických lipidů. Mohou být tvořeny různými formulacemi, jako jsou nanočástice na bázi pevných lipidů (SLN), nanočástice na bázi tekutých lipidů a nanostrukturované lipidové nanočástice. Systémy SLN, představují bezpečnou a účinnou alternativu pro lokální podávání léčiv při léčbě IBD. Kromě toho mají dvouvrstvou membránovou strukturu, která umožňuje doručovat jak hydrofilní, tak lipofilní léčiva. Stabilita také hraje roli, umožňuje nanočásticím odolat náročným podmínkám v trávicím traktu. SLN navíc mají významné vlastnosti, jako je velká povrchová plocha a vysoká kapacita pro naložení léčiva. Díky tomu byly rozsáhle zkoumány jako perorální systémy transportu léčiv, za cílem zlepšit vstřebávání a biologickou dostupnost nerozpustných terapeutik. Například SLN potažené anti-TNF- $\alpha$  oligonukleotidy mohou účinně snižovat expresi TNF- $\alpha$ , snižovat aktivitu nemoci a zmírnit střevní zánět v laboratorním myším modelu indukované kolitidy. Dále při experimentální léčbě myší kolitidy SLN pojmající dexamethason se významně snižují hladiny zánětlivých faktorů, jako jsou IL-1 $\beta$  a TNF- $\alpha$ , a zmírňují střevní zánět ve srovnání s volným lékem nebo jednotlivě podávaným lékem. Lipidové NP odvozené ze zázvoru zapouzdřují specifickou malou interferující RNA navrženou tak, aby cílila na protein CD98. Ta může cíleně doručovat léčivo na požadovaná místa a účinně snižovat expresi proteinu CD98, stanoveného jako biomarker kolitidy a rakoviny spojené s kolitidou v myším modelu [33].

## 6.5. Polymerní nanomateriál

Jednotlivé třídy materiálů mají své vlastní výhody a nevýhody. Například anorganické NP jsou vhodné pro terapeuticko-diagnostické aplikace díky svým unikátním elektrickým, magnetickým a optickým vlastnostem. Nicméně toxicita a omezená rozpustnost představují překážky pro jejich klinické použití. Lipidové NP mají jednoduchou strukturu, vysokou biologickou dostupnost a flexibilitu pro přenos léčiv, avšak jejich účinnost zapouzdření je nízká. Ve srovnání s výše uvedenými lipidovými NP mají polymerní nanomateriály více výhod, jako je vysoká kapacita pro hydrofilní i hydrofobní léčiva, přesná kontrola vlastností částic a snadná modifikace povrchu, stejně jako velký potenciál zapouzdření. Navíc jsou stabilní při skladování, zejména u biodegradovatelných polymerů s nízkou agregací a toxicitou. Z těchto důvodů se biodegradovatelné polymerní NP stále více dostávají do popředí výzkumu v oblasti nanomedicíny [32].

Nejtypičtější formulace obsahují nanokapsle a nanosféry. Struktura nanokapsle je dutina obklopená polymerním obalem nebo membránou. Naopak nanosféra je tvořena pevným matricovým systémem. V rámci těchto dvou hlavních tříd jsou biodegradovatelné polymerní NP dále rozděleny do konfigurací, jako jsou polymersomy, micely a dendrimery [32].



**Obrázek 3:** Struktura polymerní nanokapsle a nanosféry, převzato a upraveno dle [34].

Například polymersom je syntetický váček, jehož membrána je tvořena amfifilními blokovými kopolymery, které jsou typem molekuly skládající se ze dvou nebo více bloků polymerních řetězců, z nichž jeden je hydrofilní a druhý hydrofobní. V případě, kdy se amfifilní blokované kopolymery dostanou do vodného roztoku, hydrofobní části se schovají před vodou

a seskupí se uvnitř struktury, zatímco hydrofilní části směřují ven, kde jsou v kontaktu s vodou. Podobně jako liposomy jsou polymersomy lokálně reaktivní, ale jsou stabilnější a účinnější v zadržování léčiva. Tyto struktury mohou obklopit léčivo a chránit ho před vnějším prostředím, dokud není doručeno na cílové místo v těle. Díky těmto vlastnostem je polymersom schopný efektivně doručit léčivo do cytosolu. Polymerní micely se samy shlukují do nanosféry s hydrofilním jádrem a hydrofobním obalem, jenž také mohou být blokovými kopolymery reagujícími na podněty. Tyto strukturální vlastnosti jsou příznivé pro ochranu vodových léčiv a prodloužení doby jejich uchování. Biodegradovatelné polymerní NP se vytvářejí různými metodami, včetně emulgace neboli vytěšňování či difuze rozpouštědel, nanoprecipitace, mikrofluidiky a iontové gelace. Typ polymeru a zapouzdřeného léčiva určují preferovanou formulaci NP a metodu její syntézy [32].

K dnešnímu dni bylo identifikováno přes 5000 flavonoidů, ty jsou přírodními sloučeninami získanými z rostlin, které mají protizánětlivé, antioxidační a imunomodulační vlastnosti při léčbě zánětů a jiných symptomů spojených s IBD. Jak již bylo uvedeno, flavonoidy mohou regulovat IBD prostřednictvím různých cest. Nicméně jen málo flavonoidních léků se dostalo v klinickém prostředí k užítku, a to kvůli jejich nízké biologické dostupnosti. S rychlým vývojem technologie nanotransportu, zejména velkým pokrokem v oblasti biodegradovatelných polymerů, se více výzkumů zaměřuje na zlepšení biologické dostupnosti flavonoidů pomocí polymerní technologie [32].

## 6.6. Orální nanoporézní systémy pro léčbu zánětlivých střevních onemocnění

Díky pokrokům v posledních několika desetiletích bylo navrženo mnoho orálních nanosystémů doručování léčiv k tlustému střevu (NDDS), které představují slibný přístup pro orální podání léků zaměřených na tlusté střevo při léčbě IBD. Cílené NDDS mají výhody v podobě vylepšené účinnosti, snížené systémové toxicity a zvýšené biologické dostupnosti ve srovnání s konvenčními strategiemi. Nicméně, NDDS by měly dokonale čelit známým patologickým změnám ve zmiňovaném zánětlivém gastrointestinálním traktu a přímo terapeutika doručovat [33].

### 6.6.1. Doručovací nanosystémy tlustého střeva závislé na velikosti

NDDS závislé na velikosti zůstávají nejběžnějším mechanismem pro doručování léků v terapii IBD a jsou navrženy především na základě patologických charakteristik onemocnění. Mnoho studií prokázalo, že menší NDDS mají lepší výkonost doručování než objemnější nanosystémy. Malé NDDS mají mnoho výhod. Za prvé, mohou prodloužit čas setrvání v tlustém střevě a zvýšit propustnost na zánětlivých místech. Kromě toho mohou preferenčně usnadnit příjem tohoto nanosystému imunitními buňkami a výrazně zvýšit koncentraci léku v postižených oblastech. Též mohou malé NDDS zabránit své eliminaci průjemem v aktivní fázi IBD [33].

Lamprecht a kolektiv se zaměřili na příznivý účinek velikosti orální NP u léčby IBD. Výzkum proběhl v modelu TNBS-indukované kolitidy, tato kolitida je navozená u myši pomocí kyseliny 2,4,6-trinitrobenzensulfonové (TNBS). Objevili že, polystyrenové NP o velikosti 100nm vykazují vyšší specifickou akumulaci v postiženém tlustém střevě ve srovnání s NP o velikosti 10 $\mu$ m a 1 $\mu$ m při orálním podání. Navržený systém vykazuje závislost na jejich velikosti, zejména v oblastech postižených zánětem. Menší částice měly vyšší schopnost akumulace v postižených tkáních, což vedlo k lepšímu cílení zánětlivých oblastí. Zároveň bylo zjištěno, že částice se lépe přichytávají na zesílenou vrstvu hlenu v postižených oblastech, což prodlužuje jejich přítomnost v místě zánětu [35].

Dále A. Watanabe a kolektiv porovnali akumulaci NP ve tkáních myšního modelu kolitidy indukované dextranem-sulfátem-sodným (DSS). Porovnání probíhalo mezi třemi různými velikostmi NP, nejmenší o velikosti 54nm, středně velké o 113nm a velké o 183nm. Přičemž ukázali, že střední velikost vykazuje nejvyšší akumulaci na místech postiženého tlustého střeva ve srovnání s malými nebo velkými NP po 3 dnech v modelu DSS-indukované kolitidy. Zatímco akumulace ve zdravém tlustém střevě je srovnatelná bez ohledu na velikost. Závěrem studie ukazuje, že velikost částic hraje klíčovou roli v akumulaci lipidových nanočástic v zánětlivých ložiscích u myšního DSS modelu. Rovnováha mezi velikostí a retencí v tkáni je zásadní, protože menší částice mohou ze zánětlivého ložiska unikat, zatímco větší částice mají sníženou akumulaci. Tento objev by mohl mít významné dopady na navrhování nanočástic pro cílenou léčbu zánětlivých onemocnění střev [36].

## 6.6.2. Systémy reagující na pH

V různých částech trávicího traktu se pH bude lišit. Například pH žaludku je kolem 1,2 zatímco v proximální části tenkého střeva se pohybuje mezi 1,2 a 6,8. V zanícené oblasti ilea a tlustého střeva, kde se často nacházejí léze spojené se zánětlivým onemocněním střev, je pH přibližně 7,4. Proto se vyvíjejí specifické systémy pro podávání léků, které využívají změny pH k řízenému uvolňování v těchto oblastech. Tyto systémy mohou mít různé struktury, jako je jádro-obal, nano-mikro struktury a hierarchické struktury. Stabilní nanostruktura těchto materiálů v kyselém prostředí je účinná pro podávání ústní cestou, což zajišťuje, že lék zůstane neporušený, dokud nedosáhne cílové oblasti s vyšším pH, kde dojde k jeho uvolnění [37].

Systémy NDDS citlivé na pH se rozpouštějí nebo bobtnají při vyšším pH 6–8, což umožňuje uvolnění léku, tím mají potenciál mířit na tlusté střevo. Jedním z nejjednodušších způsobů, jak potáhnout nanočástice pH-citlivými kopolymery je kyselinou metakrylovou (Eudragit, Evonik, Německo), která byla schválena americkou FDA pro perorální použití. Mezi enterální polymery spadá Eudragit S, Eudragit L a Eudragit FS, které mohou zapouzdřit různorodé struktury léků a zvýšit jejich účinnost. Bylo prokázáno, že systémy NDDS založené na Eudragitu mají vlastnosti uvolňování léků v závislosti na pH. Například nanočástice na bázi kopolymeru kyseliny mléčné a glykolové (PLGA) PLGA/Eudragit S100 obsahující kortikosteroid budesonid vykazují silnou a specifickou přilnavost k postiženým oblastem tlustého střeva. Jeví též lepší účinnost při zmírňování kolitidy ve srovnání s běžnými enterosolventními mikročásticemi v modelu TNBS-indukované kolitidy. Podobně nanočástice na bázi Eudragit S100 obsahující 5-ASA nebo dexamethason specificky uvolňují léčivo při hodnotách pH tlustého střeva a účinně zmírňují zánět v modelu DSS-indukované kolitidy. Stejný účinek mají také nanočástice v modelu DSS indukované kolitidy na bázi Eudragit S100 obsahující inhibitor kalcineurinu, ty zvyšují koncentraci léku v zánětlivých místech a hladiny léku v cílových tkáních, což vede ke zvýšení účinnosti a snížení systémové toxicity [33].

Proto mohou být pH-citlivé systémy NDDS slibnou a účinnou strategií v léčbě zánětlivých onemocnění střev. Nicméně pH se v místech tlustého střeva IBD pacientů může lišit v závislosti na individuálních rozdílech, stavu onemocnění a stavu výživy, např. nalačno nebo nasycenost, což znamená, že systémy NDDS založené pouze na pH trávicího traktu nemusí být spolehlivé pro cílenou léčbu tlustého střeva [33].

### 6.6.3. Systémy reagující na enzymy

V tlustém střevě se nachází velké množství mikroflóry, která produkuje enzymy, jako jsou  $\beta$ -glukosidáza, celulóza, azoreduktáza a nitroreduktáza. Různé polymerní materiály například pektin, chitosan, dextran a guarová guma s alginátem sodným nejsou degradovány v horní části trávicího traktu, ale mohou být rozloženy specifickými enzymy produkovánými mikroflórou tlustého střeva.

Chen a kol. vyvinuli lipidový NDDS systém pro podávání léků, citlivý na esterázu, obsahující dexamethason (Dex), modifikovaný chitosanem. Tento systém byl navržen na bázi kyseliny, která využívá esterové vazby pro povrchovou úpravu. Výsledky *in vitro* ukázaly, že nanočástice rychle uvolnily léčivo v umělém střevním roztoku obsahujícím esterázu. V modelu myší kolitidy vyvolané DSS se snížily histologické změny, atrofie tlustého střeva a hladiny prozánětlivých cytokinů, ale zvýšila se exprese E-cadherinu, který je známkou pokusu těla stabilizovat a obnovit epitel v tlustém střevě, přestože by tato zvýšená exprese teoreticky mohla zlepšit funkci střevní bariéry, nemusí vždy efektivně zamezit průniku zánětlivých faktorů, což vede k pokračujícímu nebo opakovanému zánětu.

Podobně Li a kol. vyvinuli NDDS na bázi mesoporézního materiálu oxidu křemičitého s pravidelnou strukturou a velkými, rovnoměrně rozloženými póry, jenž byl uzavřen silsesquioxanem. V přítomnosti azoreduktázy nanočástice uvolnily léčivo u cílové lokace. Avšak tyto enzymově citlivé systémy NDDS by měly být hodnoceny pokusy *in vivo*, aby se extenzivně ověřilo, zda mohou úspěšně uvolňovat terapeutika v komplexním a proměnlivém prostředí tlustého střeva [38].

### 6.6.4. Systémy reagující na reaktivní formy kyslíku

Oxidační stres, což je nerovnováha mezi tvorbou reaktivní formy kyslíku a poklesem obranných antioxidačních systémů, je typickým znakem zánětlivých reakcí, jelikož zánětlivé buňky, jako jsou neutrofilové a makrofágy, produkují velké množství ROS. Ulcerózní kolitida je spojena s nadměrnou produkcí ROS, přičemž koncentrace jsou 10krát až 100krát vyšší v biopsiích postižených UC ve srovnání se zdravými tkáněmi, a jejich hladina koreluje s progresí onemocnění. Na základě těchto patologických podmínek mohou nano-doručovací systémy reagující na ROS představovat obrovský potenciál pro léčbu zánětlivých onemocnění střev [39].

Například thioketalové nanonosiče byly použity pro cílenou distribuci specifické interferující RNA, která je navržena k cílení a potlačení produkce tumor nekrotizujícího faktoru alfa v místech střevního zánětu. Tyto nanonosiče jsou tvořeny polymerem citlivým na reaktivní formy kyslíku, který se selektivně degraduje v přítomnosti ROS. Výsledkem je uvolnění specifické interferující RNA, která cílí na prozánětlivý cytokin TNF- $\alpha$ , což snižuje jeho hladiny v tlustém střevě myši a chrání před UC [39].

Přestože ROS nano-doručovací systémy mají velký potenciál pro léčbu UC, narazili na několik překážek, včetně nestability nosičů v kyselém prostředí horního trávicího traktu, předčasného uvolňování, které snižuje koncentraci léků na místech zánětu, a cílení pouze na 1 nebo 2 typy ROS. Budoucí studie by měly navrhnout multifunkční systémy, které reagují na více druhů ROS [39].

Až dosud metody používané pro NDDS zahrnovaly převážně jednotlivé pH-citlivé, redoxně-citlivé a enzymově-citlivé systémy pro uvolňování léků. Avšak využití pouze jednoho faktoru pro návrh systému podávání léků má mnoho omezení. Proto by mohla kombinace více stimulačních faktorů v jednom systému NDDS poskytnout nadějnou strategii léčby IBD [38].

## 7. ROLE NANOČÁSTIC V TERAPII ATEROSKLERÓZY

Přestože současné terapeutické přístupy mohou zpomalit progresi aterosklerózy dosud neexistuje žádná léčba, která by dokázala tuto nemoc plně vyléčit nebo zvrátit. Nanomedicína představuje nově vznikající oblast v léčbě různorodých patologií, včetně kardiovaskulárních onemocnění. Tato technologie umožňuje vývoj léků, které interagují s buněčnými receptory, a dovoluje řízení procesů po jejich vstupu do buněk. Cílem nanomedicíny je oprava, kontrola a monitorování biologických a fyziologických systémů prostřednictvím nanočástic, které se ukázaly jako efektivní nosiče léčiv. Následující text se zaměří na jejich jednotlivé druhy, konkrétně na magnetické nanočástice oxidu železa [40].

### 7.1. Historie

Užívání nanočástic v rámci cévních onemocnění začalo v 90. letech, kdy byly představeny nanočástice oxidu železa s magnetickými vlastnostmi. Tyto nanočástice, díky svému delšímu poločasu rozpadu v krvi a skvělému výkonu jako kontrastní látky pro magnetickou rezonanci (MRI), vzbudily zájem o výzkum aterosklerotických plátů. Během 90. let byly tyto superparamagnetické nanočástice potaženy různými polymery a biomolekulami, pro zlepšení jejich biologické dostupnosti a interakce se specifickými tkáněmi. Od konce 90. let a na začátku roku 2000 byly pro magnetickou rezonanci používány další typy NP, patřily sem emulze perfluoruhlovodíků zapouzdřené v tucích s gadoliniem a nanočástice podobné lipoproteinům s vysokou hustotou (HDL). Během těchto let výzkumníci také používali strategie cílené ke zlepšení specifčnosti kontrastních látek na bázi nanočástic. V roce 2007 byly použity další typy nanočástic na bázi polymerů a zlata jako kontrastní látky pro zobrazování rentgenovou počítačovou tomografií (CT) a fotoakustické zobrazování [41].

Aplikace nanočástic na aterosklerózu v 90. letech a během dalších dvaceti let byla většinou zaměřena na kontrastní látky pro zlepšení vizualizace a analýzy konvenčních zobrazovacích technik. Od roku 2005 bylo vyvinuto několik nanosystémů s multifunkčními vlastnostmi pro multimodální zobrazování, jako je pozitronová emisní tomografie (PET)-CT, PET-MRI a MRI fluorescence. Nanosystémy pro léčbu cévních onemocnění, kam spadá ateroskleróza byly také vyvíjeny od roku 2000, systémy byly založeny především na polymerních nanočásticích používaných jako transportéry pro léky. V posledním desetiletí byly lipidové nanočástice, jako jsou lipozomy a nanočástice podobné HDL, využívány k dodávání léků, díky



své vysoké biokompatibilitě. Kromě toho mohou tyto nanočástice sloužit jako hybridní nanosystémy kombinující kontrastní látky nebo fluorescenční signály, což umožňuje multimodální zobrazování [41].

## 7.2. Rozdělení druhů nanomateriálů

Anorganické nekovové nanomateriály, jako je mezoporézní oxid křemičitý a nanomateriály na bázi uhlíku, jsou široce používány při terapii aterosklerózy. Mezoporézní nanočástice oxidu křemičitého (MSN) mají velikost částic 10–600 nm a velikost pórů 2–50 nm s rozsáhlým povrchem, unikátní sít'ovinou strukturou pórů, pravidelnými pórovými kanály a nastavitelnou velikostí pórů. Nastavitelná centrální struktura pórů a vysoké hladiny nositelnosti usnadňují funkci nanonosiče pro zlepšení rozpustnosti léčiv ve vodě a snížení vedlejších účinků. Kromě toho nanomateriály na bázi uhlíku existují v různých tvarech a typech, v posledních letech uchopil velkou pozornost nespočet nových nanomateriálů na bázi uhlíku, jako je grafen, uhlíkové nanotrubičky, nanodiamanty, nanotečky atd. Několik nanomateriálů na bázi uhlíku má jedinečné struktury, vlastnosti s vysokou účinností fototermální konverze a výrazným fluorescenčním efektem, které jsou vhodné pro fototermální terapii [42].

Anorganické kovové nanomateriály se vztahují na zlaté nanočástice (AuNP), magnetické nanočástice oxidu železa (MNP) a nanooxidy. AuNP jsou v současnosti nejpoužívanějšími kovovými nanomateriály v oblasti nanomedicíny a obvykle se získávají redukcí anorganických kyselin obsahujících zlato za přítomnosti stabilizátorů. Využití AuNP řídí morfologie, existují tvary koule, nanotyčky a struktury klece. Aterosklerotické zobrazování fototermální terapie a fotoakustické je možné díky AuNP. Sledování CT na základě AuNP je možné díky vysokému atomovému číslu. Z oxidu kovů lze pro MR zobrazování využít oxid železa s magnetickými vlastnostmi. Pozornosti si také získávají nanooxidy ceru ( $\text{CeO}_2$ ), oxidy kobaltu ( $\text{Co}_3\text{O}_4$ ), oxidy manganaté ( $\text{Mn}_2\text{O}_3$ ) a oxidy manganato-manganité ( $\text{Mn}_3\text{O}_4$ ), a to pro svou schopnost vychytávat ROS a zmírňovat zánět [42].

Organické lipidové nanomateriály se pojí s lipidy, zahrnují především lipozomy a rekonstituované nanočástice lipoproteinů s vysokou hustotou (rHDL NP). Lipozomy mají fosfolipidovou dvouvrstvou strukturu skládající se ze složek, jako je cholesterol a fosfolipidy, které se samy spojují. Jako vynikající prostředek pro dodávání léčiv s vysokou biokompatibilitou, širokou škálou doručitelných léčiv, snadnou povrchovou úpravou a řízeným

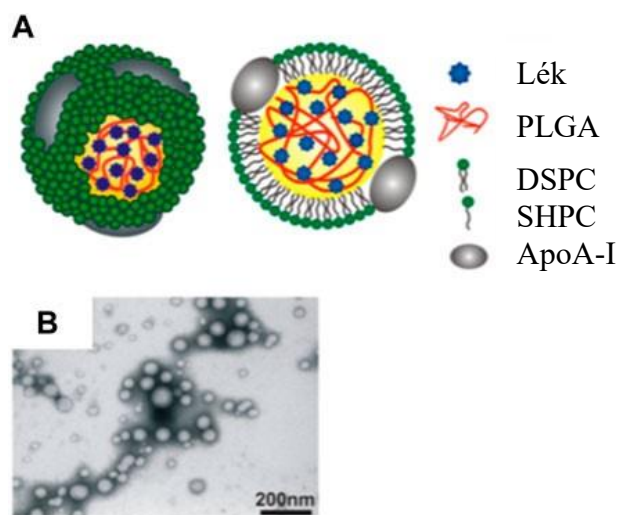
uvolňováním léčiva byly lipozomy široce používány v různých modelech onemocnění. Podobně je rekonstituovaný lipoprotein s vysokou hustotou (rHDL) složen z endogenního apolipoproteinu A-I (ApoA-I), fosfolipidů, cholesterolu a cholesterylesterů, které jsou tělu vlastní. Cholesterylestery působí hydrofobním účinkem na jádro, které může zapouzdřit látky se stejnými vlastnostmi. Ostatní složky působí hydrofilně, a mohou nést hydrofilní složky. Protizánětlivé a antioxidační účinky má zejména rHDL NP, jenž zprostředkovává reverzní transport cholesterolu [42].

Organické polymerní materiály s různými strukturami a složením lze zhotovit stejně jako syntetické polymery za použití přírodních látek. Jsou poddajné a mohou zavádět povrchově aktivní látky s různorodou strukturou, čímž plní rozmanité změny biologických funkcí. Mnoho nosičů léčiv nebo nanočástic využívá polymery jako povlaky jenž existují ve formě polymerních micel. Polymerní micely mají vysokou stabilitu, biologickou odbouratelnost, a jsou schopné snižovat fagocytózu retikuloendoteliálního systému, tím dosahují delší doby působení v krevním oběhu. Polymery se však podílejí na konstrukci dendrimerů a ty jsou umělými makromolekulami stromovitých tvarů, které mají řádně definovanou komplexní 3 D strukturu a menší stabilitu [42].

### 7.3. HDL nanočástice

HDL nanočástice slouží pro dodávání léků do aterosklerotických plátů. V lidských tělech hrají lipoproteiny důležitou roli při řízení homeostázy cholesterolu, hlavní dvě endogenní nanočástice jsou známé jako lipoprotein s vysokou hustotou HDL a nízkou hustotou LDL. LDL jsou malé nosiče tukových molekul do buněk, ty mohou pronikat do arteriálních stěn, oxidovat se a způsobovat zánět. Na rozdíl od toho může HDL interagovat s makrofágy plátu, které jsou nasyceny lipidy a zprostředkuje tím odstranění cholesterolu z plátu jejich transportem do jater [43].

Průměr HDL je asi 8–12nm s hydrofobními lipidy umístěnými v jádře, zatímco fosfolipidy a apolipoproteiny jako ApoA-I a ApoA-II, představují vnější vrstvu. Mikrofluidní technologie byla použita k vytvoření nanonosiče kopolymeru kyseliny mléčné a glykolové (PLGA-HDL). Ten obsahuje jádro PLGA schopné pojmout hydrofobní léčiva [43].



**Obrázek 4:** HDL nanočástice (A) Demonstruje PLGA-HDL nanočástici s formací polymerického jádra z PLGA. (B) Foto sférické morfologie nanočástice zobrazené transmisní elektronovou mikroskopií, převzato a upraveno dle [43].

PLGA-HDL nanonosič vykazoval pomalé uvolňování léčiva s 60 % uvolněním za 24 hodin a až 90 % uvolněním po pěti dnech v PBS pufru. Dále schopnost přejít na cílové místo byla potvrzena vysokou akumulací těchto částic v makrofázích aterosklerotických plátů. I když použití jádra PLGA v tomto systému umožňuje naložení různých terapeutických nebo zobrazovacích molekul, může způsobit omezení konformační flexibility ApoA-I, vedoucí ke zhoršenému odtoku cholesterolu. Navíc toto umělé polymerní jádro vyvolalo změny ve tvaru na spíše kulovitý nežli diskový přirozený tvar HDL, a jejich velikosti se výrazně zvětšily ve srovnání s HDL. Kromě velikosti a tvaru nanočástic bylo studováno fosfolipidové jádro a HDL nanočástice na bázi fosfolipidu 1-palmitoyl-2-oleoyl-sn-glycero-3-fosfocholinu, ty vykazovaly nejbližší podobnost s přirozeným HDL a byly použity k dodávání statinů do zánětlivých aterosklerotických plátů [43].

U laboratorních myší byly v plátech obsahujících apolipoprotein E použity rekonstituované nanočástice HDL naplněné simvastatinem ([S]-rHDL). Tyto nanočástice byly navrženy a úspěšně použity k transportu léku do zánětlivých plátů. Při srovnání nízkých dávek [S]-rHDL o 15mg/kg simvastatinu a 10mg/kg ApoA-I, které byly podávány intravenózně dvakrát týdně, po dobu dvanácti týdnů, oproti perorálně denně podávanému simvastatinu o 15mg/kg, výsledky ukázaly nižší obsah plátových makrofágů díky transportu nanočásticemi [S]-rHDL. Naopak při podání vysoké dávky 60mg/kg simvastatinu a 40mg/kg ApoA-I tímto nanosystémem ve čtyřech intravenózních injekcích k apolipoproteinu E laboratorních myší se prokázalo že, mají významné zmírňující účinky na zánětlivý plát, zatímco samotný rHDL

nezmenšil velikost plátu na základě histologické analýzy. Skupina s krátkodobým vysokým [S]-rHDL ale ráznějším účinkem, ukázala na důležitost podávání vyšších množství simvastatinu pro inhibici zánětu aterosklerotického plátu [44].

Nevýhodou rHDL doručovacího systému je však nežádoucí únik léčiva. Předpokládá se, že jedním z důvodů tohoto úniku je interakce rHDL s obsahem léčiva a lecitinem cholesterol acyltransferázou, které mohou tuto částici přemodelovat. Přístup ke snížení reaktivity těchto látek by mohl vyřešit přidavek kyseliny arachidonové do fosfolipidových dvojvrstev rHDL. Taková úprava fyzikálně-chemických vlastností rHDL by mohla zdokonalit design nanonosičů pro dodávání léčiv k aterosklerotickým plátům [43].

#### 7.4. Nanočástice na principu červených krvinek

Koncept uvádějící červené krvinky je založen na schopnosti nanonosičů adsorbovat se na povrch červených krvinek a poté se uvolnit z erytrocytů v malých krevních cévách, z důvodu dosažení požadovaného místa působení. Nedostatečně kontrolované uvolňování léčiva a omezená kapacita pro intracelulární dodávání jsou hlavními problémy nosičů červených krvinek, které také byly zastiňovány jinými syntetickými transporty léčiva. Ve snaze o rozšíření aplikací terapeutik na bázi červených krvinek se vzbudil velký zájem ve vývoji nanočástic maskovaných červenými krevními buňkami (RCNP), které spojují biologické vlastnosti membrán erytrocytů a výhody syntetických nanočástic [45].

V systému RCNP se erytrocytové membrány používají jako vnější povlak pro syntetické nanočástice, které jsou dále naplněny terapeutickými činidly. Ve srovnání s prostými, neobalenými nanočásticemi poskytuje přítomnost „vlastních markerů“ na plazmatické membráně červených krvinek nižší imunogenicitu a delší výskyt v oběhu. Prodloužení poločasu rozpadu NP v systémové cirkulaci díky obalu může být srovnatelné, nebo lepší než prodloužení dosažené díky kovalentní konjugaci s polyethylenglykolem. Velký rozsah polyethylenglykolu může snížit buněčný příjem nanočástic příjemcovými buňkami a snížit účinnost endozomálního úniku ovlivňujícího metabolismus a buněčný osud. Zapouzdření systémem membrán červených krvinek je také účinný způsob, jak zabránit úniku léčiv z porézních NP a snížit srůstání nepotažených NP [45].

Na druhou stranu, použití syntetického NP v jádru terapeutického nosiče může poskytnout několik vlastností, které červené krvinky postrádají, jako jsou magnetické vlastnosti, vlastnosti

aktivovatelné světlem a vlastnosti indukované teplem. Tyto vlastnosti lze využít k navedení částice a spouštění uvolňování jejího terapeutického nákladu v cílovém místě, a tím k usnadnění vývoje specifického doručovacího systému [45].

Navzdory tomu, že nabízí mnoho výhod oproti syntetickým aplikačním systémům, je účinnost těchto nanočástic in vivo na bázi červených krvinek stále omezená. Současné návrhy systémů červených krevních buněk a maskovaných buněčných membrán častokrát vyžadují přechodné otevření membránových pórů pro procesy plnění léčivem a opouzdření. To způsobuje nevyhnutelné poškození buněk nebo změny jejich membránových vlastností, a tím se případně snižuje funkčnost dodávacích systémů. Usilování o spojení červených krvinek s nanonosiči je však inovativním a méně invazivním způsobem pro transport [45].

## 7.5. Zlaté nanočástice

Díky svým pozoruhodným vlastnostem optické a povrchové plasmonové rezonanci náleží zlaté nanočástice mezi nepoužívanější nanomateriály, zejména v biologickém a farmaceutickém průmyslu. Se svými přitažlivými fyzikálně-chemickými vlastnostmi, které fungují jako základ pro významnou absorpci a rozptyl světla jsou také atraktivními kandidáty pro kardiovaskulární zobrazování [46].

Tvar a velikost ovlivňují funkci nanočástic. Konkrétně částice o velikosti menší, než 20nm absorbují světlo, zatímco částice větší, než 80nm způsobují silný rozptyl světla. Výhodou žilní injekce oproti arteriální katetrizaci poskytuje zlato větší kontrast, má vyšší absorpci a delší dobu cirkulace. Tyto faktory mohou pomoci zajistit vhodnou vizualizaci oběhového systému pomocí počítačové tomografie. Poskytuje detaily v zobrazení s relací reálného času, tkáňovým kontrastem, prostorovým rozlišením a dostatečnou hloubkou, vyšší nežli fluorescenční zobrazování. Navíc dalšími atraktivními vlastnostmi, jako je inertní povaha, netoxičita, antibakteriální aktivita, velký povrch a možnost funkcionalizace jsou AuNP doporučovány jako potenciální terapeutická platforma. Současné léky používané k léčbě srdečních chorob dosáhly svých limitů a mají významné vedlejší účinky, pokud pacienti užívají léky po zbytek života k utlumení jejich symptomů a zlepšení prognózy. Z toho vyplývá, že optimalizace využití aktuálně dostupných léků a jejich kombinace s AuNP pro zvýšení efektivity podávání, je rozumné a přímočaré rozhodnutí. Očekává se, že toto propojení poskytne inovaci současným lékům tím, že umožní přesnější a účinnější dodávání léčiva přímo do buněk srdečního svalu ve formě konjugované. Poměr povrchu k objemu AuNP umožňuje pokrýt povrch stovky

molekul, jako jsou cílená činidla a terapeutika. Vzhledem k tomu, že je obtížné zaměřit se na postiženou oblast srdce pomocí tradičních metod intravenózního podávání a je nebezpečné podávat léky přímo do srdce, AuNP nesoucí buněčné růstové faktory by pomohly obnovit poškozenou srdeční tkáň v důsledku onemocnění koronárních tepen. Klasický strukturální model jedné AuNP se nazývá klastr chráněný monovrstvou, je typicky tvořen vnější vrstvou vyrobenou z organických ligandů nebo povrchově aktivních látek s centrálním vnitřním atomem zlata známým jako „jádro“. Ochranná vnější vrstva stabilizuje zlaté nanočástice a pomáhá povrchu plnit různorodé funkce, zatímco vnitřní jádro řídí krystalinitu struktury. AuNP mohou tvořit různé nanostruktury, jako jsou čtyřstěny, krychle, válce, dvacetistěny, dvanáctistěny, osmistěny a mnoho-větvené struktury, stejně jako shluky, katalytické částice nebo plazmonické krystaly [46].

## 7.6. Magnetické nanočástice oxidu železa

Magnetické nanočástice (MNP) jsou netoxické, lehce recyklovatelné, opakovaně použitelné a mají magnetické vlastnosti, které poskytují výhody snadné separace při aplikaci vnějšího magnetického pole. Bylo zjištěno, že MNP mají obrovský potenciál jako nosiče katalyzátorů. Magnetická povaha nosiče vylučuje nutnost provádět separaci katalyzátoru extrakcí, odstředováním nebo zdlouhavou filtrací, která má svá vlastní omezení z hlediska nákladů, účinnosti nebo vzniku sekundárního odpadu. Zároveň možnost kovalentní vazby mezi katalyzátory a povrchem MNP silně snižuje jeho disperzi, což vede k vysoké čistotě produktů. MNP jako nosiče pro katalyzátory se tak staly středem výzkumu v organické syntéze kvůli klíčové roli v ekologické a udržitelné chemii. Syntéza materiálů může být skutečně prováděna, a to v ekologicky nezávadných rozpouštědlech. Syntéza tvoří nízké množství odpadu a způsobuje menší znečištění životního prostředí. Kromě toho MNP s řízenou velikostí, chemickým povrchem, tvarem, složením a magnetickými vlastnostmi byly vyrobeny chemickou syntézou pro aplikace v bioobrazování a skladování magnetické energie. Nanostruktury oxidů kovů spadají mezi nejvíce zkoumané MNP. Vykazují kovové, polovodičové nebo izolační vlastnosti díky svým různým elektronickým strukturám. Existuje několik typů magnetických oxidů kovů, včetně  $\text{MnO}_3$ ,  $\text{Co}_3\text{O}_4$ ,  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  a  $\text{NiO}_2$ , které byly syntetizovány pomocí jednoduché, reprodukovatelné a nízkonákladové strategie [47].

Magnetické nanočástice oxidu železa se skládají z vnitřního jádra magnetitu ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) nebo maghemitu ( $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ ) a vhodného povlaku různé povahy v závislosti na plánovaném použití.

Pokud jsou MNP vystaveny vnějšímu magnetickému poli, jejich magnetické momenty se okamžitě stočí po směru pole zesilujícího magnetického toku. Po odstranění magnetického pole je však Brownův pohyb dostatečný k vyvolání chaotických momentů, kterými jsou magnetické vlastnosti pozastaveny. Toto chování je známé jako superparamagnetismus a projevuje se pouze tehdy, pokud jsou některé magnetické materiály redukovány na nanorozměry. Jedná se tedy o vlastnost závislou na velikosti. Vzhledem k jejich vysoké magnetické ovlivnitelnosti a přizpůsobeným povrchovým vlastnostem, superparamagnetické nanočástice oxidu železa jsou rozsáhle zkoumány pro biomedicínské účely, například pro účely podávání léků, bioanalýzu, hypertermii nebo jako kontrastní látky pro MRI. Problému aglomerace částic se vyhýbá řešení potažení povrchu polymery, malými molekulami a povrchově aktivními látkami. Charakteristiky jako jsou hydrodynamický průměr, povrch, náboj, povaha a hustota povlaku jsou klíčové při stanovení životaschopnosti nanočástic v biomedicínských aplikacích. Tyto parametry silně ovlivňují možnosti interakce a také jejich proveditelnost zachovat superparamagnetické chování [48].

## 7.7. Cílený transport terapeutik

Obecně platí, že nanočástice, které jsou selektivně cílené na základě interakcí ligand-receptorů, jsou účinnější než nanočástice cílené pouze na základě jejich fyzikálních vlastností. Proto se jako cílové objekty často používají molekuly s abnormálně vysokou expresí asociované s aterosklerózou. Například exprese  $\alpha\beta3$ -integrinu je významně vyšší oproti tepnám zdravého jedince, což z tohoto integrinu činí potenciální biomarker pro detekci poškozených cév a specifický cíl nanomedicíny. Molekuly exprimované v poškozených nebo nezralých endoteliálních buňkách, agregovaných makrofázích nebo kolagenu exponované cévní stěny, jsou uvnitř plátu specifickými cíli pro dodání nanoterapeutik u aterosklerózy [49].

### 7.7.1. Nanočástice cílené na poškozené a nezralé endoteliální buňky

V počáteční fázi tvorby aterosklerotického plátu se spouští mechanismy mimo fyziologické procesy, metabolismus lipidů, zánětlivé reakce, oxidační stres a poruchy krevního toku, vedoucí k aktivaci a dysfunkci endoteliálních buněk. To dále směřuje k expresi mnoha adhezních molekul a chemokinů zánětlivých buněk, včetně E-selektinu, intercelulární adhezní

molekuly 1 ICAM-1, vaskulární buněčné adhezní molekuly 1 VCAM-1 a monocytového chemoatraktantového proteinu [49].

Lipozomové nanočástice vyplněné cyklopentenonem prostaglandinem a protilátkami VCAM-1 se specificky zaměřovaly na arterii a poškozené endoteliální buňky u aterosklerotických myší, ty vykazovaly protizánětlivé, apoptózu podporující, cytoprotektivní a adipocyty blokující vlastnosti podobné proteinům teplotního šoku. To vedlo ke snížení akumulace lipidů v arteriální stěně [50]. Kromě toho Tang a kol. objevili, že zapouzdřený kolchicin může inhibovat progresi aterosklerotických plátů blokováním klíčové buněčné dráhy, signalizující imunitní dráhu, na které se podílí zánětlivý NF- $\kappa$ B [51].

Integrin- $\alpha\beta$ 3 je jedním z běžných specifických terčů neovaskulárních endoteálních buněk. Angiogeneze uvnitř plátu je známkou jeho nestability, a vyhýbání se neovaskularizaci je úspěšnou cestou pro zpomalení progresu časných plátů na vulnerabilní pláty. Kombinace  $\alpha\beta$ 3-cílených paramagnetických nanočástic prokázala antitrombotické a plát stabilizující účinky [49].

Aby bylo možné překonat krátký poločas a nedostatek specifického cílení kompetitivního inhibitoru sivelestatu, jenž se využívá k terapii akutních úrazů plic. Shi a kol. zkonstruovali sivelestat lipozom cílený na plát, který má schopnost vázat se na specifické buněčné receptory neboli integriny. Mohl by tedy zpomalovat progresi aterosklerózy stabilizací a redukcí oblasti plátu [52].

### 7.7.2. Nanočástice cílené na makrofágy

Během středních až pokročilých stádií aterosklerózy probíhá v místě plátu komplexní souhra buněčných fyziologických aktivit a souvisejících biomolekul. Mezi nimi hrají velkou roli makrofágy, které jsou nejhojnějšími centrálními buňkami plátů, nabízejí bohaté pole terčů a biomarkerů jakožto destinací. Primární částí zánětlivé složky jsou receptory CD44 a cytokiny IL-6 a také biomarkery spojené s makrofágy M1, jako je CD68 receptor. Při aplikaci nanočástic oxidu železa (IONP) byly identifikovány specifické interakce, jako je afinita k vazbě se scavenger receptorem. Kromě toho mohou IONP modifikované kyselinou hyaluronovou cílit na makrofágy díky své interakci s povrchovým receptorem makrofágů CD44. Mezi zánětlivé biomarkery dále spadají myeloperoxidáza a hemperoxidáza, jejíž oxidační produkty přispívají k rozvoji zranitelných plátů a mohou být ovlivňovány 5-hydroxytryptaminem. Studie nového multimodálního zobrazovacího činidla založeného na supermagnetických vlastnostech NP,



kteře jsou zaměřeny na aktivní myeloperoxydázu, odhalila, že aktivní nanočástice by mohly také fungovat jako přístup k detekci zranitelných aterosklerotických plátů [53].

### 7.7.3. Nanočástice cílené na krevní destičky

Krevní destičky hrají klíčovou roli mediátora ruptury plátu a pokročilého stádia aterosklerózy-aterotrombózy. V posledních letech mnoho studií prokázalo, že krevní destičky hrají zánětlivou imunitní roli a podílejí se na rozvoji aterosklerózy. Když se prudce změní smykové napětí krevního toku nebo vaskulární mikroprostředí, krevní destičky cirkulující v krvi mohou tyto signály rychle vnímat a reagovat na ně. Následně se aktivují při endoteliální dysfunkci a adherují se na poškozené krevní cévy za úmyslem zachování jejich integrity. Aktivované krevní destičky dále rekrutují imunitní buňky, jenž podporují jejich transmigraci přes intimu a urychlují proces aterosklerózy. V případě, kdy jsou zanícené endoteliální buňky vystaveny distribuovanému průtoku vykazují vysoké hladiny adhezních molekul, jako P-selektinu a adhezních proteinů. Tyto molekuly stimulují krevní destičky k přilnutí a putování na poškozená místa prostřednictvím jejich receptorů. Následně mohou adheované trombocyty zachytit cirkulující leukocyty, což je omezeno na oblast, kde je exprimován P-selektin při narušeném průtoku [54].

Tersteeg a kol. ukázali, že za působení smykového napětí adherující trombocyty vytvářejí dlouhé negativně nabitě membránové výběžky. Tyto výběžky mohou zachytávat cirkulující monocyty a neutrofilny dle interakcí P-selektinu. Výběžky tak podporují vznik a aktivaci komplexů trombocyt-leukocyt vedoucí k rozvoji zánětlivých procesů. Taktéž podporují tvorbu mikročástic trombocytů, které hrají klíčovou roli v indukci tvorby pěnových buněk podporující rozvoj aterosklerózy [54].

### 7.7.4. Nanočástice cílené na buňky hladkého cévního svalstva

Buňky hladkého svalstva cévního, jsou další složkou cévní stěny s klíčovou rolí progresu mnoha kardiovaskulárních onemocnění. Zasažení těchto buněk lze dosáhnout soustředěním se na profilin-1, protein vázající aktin, který reguluje proliferaci a migraci buněk hladkého cévního svalstva. Je zřejmé, že jeho nadměrná exprese může vést k ateroskleróze. Profilin-1 zaměřené IONP byly syntetizovány pro magnetickou rezonanci a fluorescenční duální zobrazení. Magnetická rezonance a fluorescenční zobrazování bylo prováděno in vivo geneticky upravené

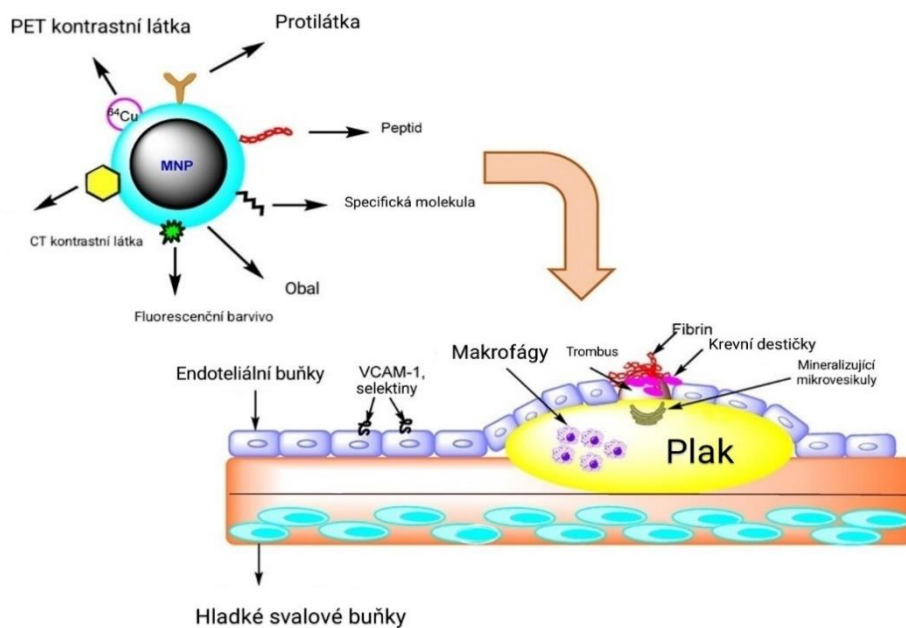
myši se sklonem k rozvoji aterosklerózy, a to z důvodu absenčního genu alipoproteinu E. Před a 36 hodin po podání nanočástic byl fluorescenční signál významně vyšší u cílové krční tepny při fluorescenčním zobrazování blízké infračervené oblasti. Histologická verifikace ukázala více nanočástic uložených v aterosklerotických lézích cílové skupiny než v jiných skupinách [55].

#### 7.7.5. Nanočástice oxidu železitého a jejich aplikace při ateroskleróze

Nanočástice oxidu železitého představují klíčovou kategorii magnetických nanomateriálů, včetně významných variací, jako je magnetit ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ), hematit ( $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ ), maghemit ( $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ ) a smíšené ferity. Díky svým superparamagnetickým vlastnostem, vysoké biokompatibilitě a výrazným katalytickým vlastnostem se IONP ukázaly jako slibné diagnostické a terapeutické látky napříč širokým spektrem nemocí. V oblasti lékařského zobrazování byly IONP široce zkoumány jako kontrastní látky pro MRI. Mohou modulovat intenzitu signálu změnou relaxačních vlastností vodíkových protonů v okolních tkáních, čímž zvyšují diferenciaci a kontrast tkání při zobrazení. Tradičně se nanočástice oxidu železitého s vysokou relativitou  $T_2$  využívají k  $T_2$ -váženému obrazu MRI, což vede k tmavým kontrastům v oblastech, kde se hromadí nanočástice. Tento přístup však představuje omezení, vzhledem k tomu, že může vést k falešně pozitivním detekcím v důsledku potenciální záměny mezi lézemi a krvácením, kalcifikací nebo ukládáním kovů. V důsledku toho byly vyvinuty kontrastní látky  $T_1$  založené na IONP, poskytující jasné kontrasty, za účelem zmírnění těchto omezení. Dále byl proveden významný výzkum realizace simultánního  $T_2/T_1$  a bi- nebo tri-modálního zobrazování, které bylo dosažitelné buď povrchovou konjugací se sekundárními zobrazovacími komponentami pozitronové emisní tomografie (PET), jednofotonovou emisní počítačovou tomografií (SPECT), výpočetní tomografií (CT), fluorescenčním zobrazováním v blízké infračervené oblasti (NIRF), fotoakustickým zobrazováním (PAI) nebo ultrazvukovým zobrazováním (US) [52].

Obecně platí, že IONP mají tendenci být fagocytovány makrofágy po vstupu do krevního řečiště, což jim potenciálně umožňuje akumulovat se na zánětlivých místech aterosklerotických plátů. Tato fagocytóza však vede k rychlému metabolismu nanočástic v těle, což může omezovat jejich účinnost. Povrchová funkcionalizace IONP má proto obrovský význam při prodloužení doby jejich krevního oběhu a zlepšení biologické dostupnosti. Toho lze dosáhnout různými prostředky, včetně jejich potažením přírodními a syntetickými polymery, jako

je polyethylenglykol a dextran, nebo obalení v buněčných membránách, například membránou erytrocytu. Úprava povrchu je nezbytná pro zabránění aglomerace nanočástic v biologických tekutinách. Povrch nanočástic navíc ovlivňuje vstřebávání proteinů, což vede k tvorbě povlaku proteinové koróny kolem nanočástice, která významně ovlivňuje clearance imunitního systému [53].



**Obrázek 5:** Struktura MNP a působení na cévu s vytvářejícím se plátem, převzato a upraveno dle [48].

Výzkum Stepiena a kol. objasnil, že biodistribuce a degradace během čtyř měsíců jsou zcela odlišné, a to pomocí dvou NP s identickým jádrem, ale odlišným povrchovým povlakem. V tomto případě byla stanovena přímá korelace mezi složením proteinové koróny in vitro a osudem NP in vivo. Navíc bylo prokázáno, že degradaci NP in vitro řídí dva parametry, těmi jsou vnější povlak, který ovlivňuje rychlost degradace a proteinová koróna, která chrání před degradací jádra NP v kyselých podmínkách. Poprvé bylo prokázáno, že proces biodegradace nesouvisí pouze s jádrem a obalem NP, ale také s povrchovým povlakem, a tím pádem se souvisejí proteinovou korónou. In vivo byla stanovena odlišná rychlost degradace pro nanočástice s povrchovým povlakem PEG a glukóza [56].

Dále Hu a kol. demonstrují syntézu polymerní nanočástice maskované erytrocytovou membránou za účelem dodávání terapeutika s dlouhým oběhem v systému oproti PEGylovaným nanočásticím s kratší dobou cirkulace. Navrhovaný způsob také poskytuje dvouvrstvé médium pro transmembránové ukotvení proteinů a vyhýbá se chemickým

modifikacím, které by mohly ohrozit integritu a funkčnost cílových proteinů [57]. Kromě toho mohou polymerní povlaky poskytnout povrchově reaktivní místa, jako jsou karboxylové, amino nebo thiolové skupiny pro připojení dalších ochranných nebo funkčních molekul, dále prezentují nové vlastnosti citlivosti na pH nebo termocitlivosti. IONP mohou fungovat jako potenciální terapeutická činidla nebo je zapouzdřovat, například v materiálech pro konstrukci multifunkčních teranostických nanoplateform pro aterosklerózu. Pro nanoplateformový transport může být povrch IONP vybaven ligandy pro usnadnění specifických interakcí a posílení jejich aktivního cílení na místa související s aterosklerózou. Alternativně mohou magnetická pole vést nanočástice na bázi IONP k jejich cílovým lokacím, což umožňuje kontrolované uvolňování léčiv [54].

Dosud se výzkum teranostických aplikací IONP soustředil převážně na rakovinu, s poměrně menší pozorností zaměřenou na aterosklerózu. Kromě toho se v souvislosti s aterosklerózou větší část článků soustředila na diagnostické schopnosti nanočástic IONP, přičemž často samostatně vymezovaly diagnostické a terapeutické aplikace. Teranostické nanoplateformy ukotvené v IONP mají obrovský příslib v oblasti diagnostiky a léčby aterosklerózy. Jsou předvojem personalizované medicíny, která nabízí potenciál pro lepší terapeutické výsledky a sledování progresu onemocnění [54].

## 8. ROLE NANOČÁSTIC V TERAPII RAVMATOIDNÍ ARTRITIDY

Nanočástice hrají zásadní roli v diagnostice. Magnetické fibrinové nanočástice spojené s kyselinou listovou se používají jako kontrastní látka magnetické rezonance. Další využití zahrnuje včasnou diagnostiku, která umožňuje aplikaci léku před projevy příznaků pacienta. Fibrinové nanočástice na bázi oxidu železa se používají pro diagnostické zobrazování. V rámci terapie je nejčastěji využíván nanomateriál polymerní, na jeho nedostatky či jiných nanomateriálů se soustředí bionické úpravy [58].

### 8.1. Polymerní nanočástice

Polymerní nanočástice se často zkoumají jako potenciální léčebná strategie. Účinnost těchto NP jako protizánětlivých látek byla prokázána mnohými studiemi. Zvýšená propustnost je základním mechanismem, který umožňuje hromadění syntetického glukokortikoidu, z kterého je NP sestavena. Navíc nepřítomnost PEG vede ke zvýšení počtu makrofágů, což způsobuje hydrolyzu polymerů a uvolňování glukokortikoidu z buněk [59].

Polymerní systémy mají mnoho výhod, například zvýšenou stabilitu v krevním oběhu, kontrolované uvolňování léčiv, cílené doručení léků na specifická místa, zlepšenou biologickou dostupnost, ochranu před degradací způsobenou pH a enzymy, jsou celkově netoxické a biologicky odbouratelné. Hromadění zánětlivých mediátorů, jako jsou cytokiny a makrofágy v synoviálních buňkách revmatoidní artritidy, je hlavním faktorem spouštějící autoimunitní reakci. Materiály založené na polymerech mohou být použity pro bezpečné doručení antirevmatických léků a cytokinů potlačujících imunitu, jako je IL-23 a TNF- $\alpha$  [59].

### 8.2. Bionické nanomateriály pro léčbu revmatoidní artritidy

Bionika je studium materiálů inspirovaných biologickými systémy a jejich aplikací v inženýrství. Bionika v nanotechnologiích pro doručování léků zásadně změnila oblast biomateriálů. I přes úspěšné použití syntetické PEGylace a úpravy fosfolipidů v živých organismech, tyto materiály rychle vyvolávají imunitní reakci, po které následuje jejich odstranění imunitním systémem. Proto se stalo propojení biologického systému strategií s cílem

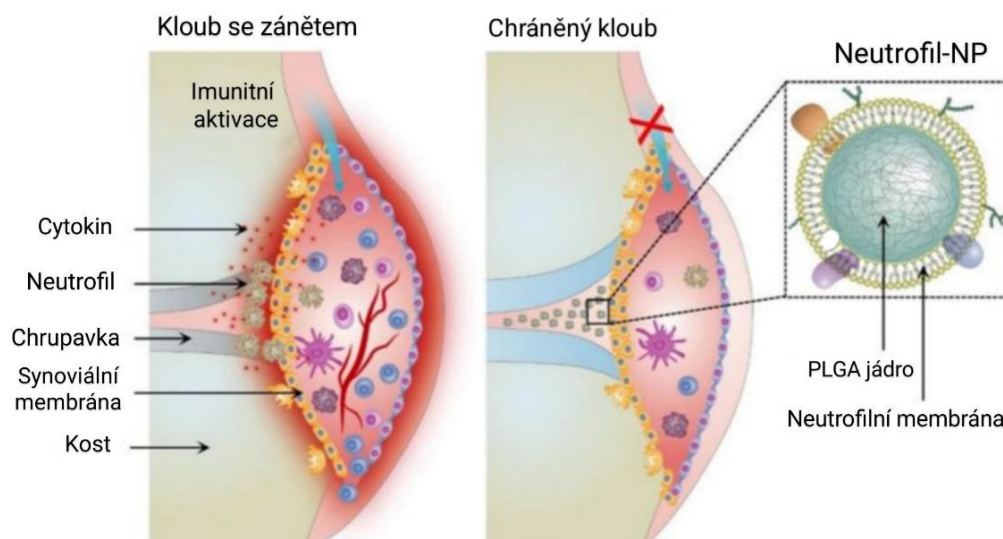
prodloužit dobu cirkulace těchto částic v těle. NP systémy potažené buněčnými membránami a zapouzdřené v exozomech si získaly významné místo v moderních systémech pro doručování léků [60].

### 8.2.1. Nanočástice potažené buněčnou membránou

V posledních letech získávají velkou pozornost biologické systémy inspirované přírodou, zejména zprostředkované buňkami. Tato technologie snižuje imunogenicitu nanočástic a prodlužuje jejich cirkulaci v krvi tím, že povrch NP pokryje endogenní buněčnou membránou, například membránou makrofágů, neutrofilů nebo červených krvinek. Nanočástice potažené biologickou membránou přebírají antigenní povrch a funkce původních buněk, například schopnost chemotaxe k místu zánětu či neutralizace cytokinů. Makrofágy a neutrofilové se účastní zánětlivé reakce těla, čímž mohou způsobit nadměrné zmnožení buněk výstelky kloubní dutiny a vylučování degradačních enzymů, tím způsobují destrukci chrupavky a produkci zánětlivých faktorů. Proto jsou imunitní buňky hojně využívány k vytváření biomimetických nanoterapeutik s protizánětlivými vlastnostmi [61].

Li a kol. použili pro cílenou terapii RA nanočástice potažené mikrovezikuly jenž jsou odvozené z makrofágů. Mikrovezikuly mohou přenášet signály mezi buňkami a ovlivňovat imunitní reakce, například tím, že regulují zánět nebo podněcují regeneraci tkáně. Ve studii byla použita látka cytochalasin B, která navodila interakci mezi cytoskeletem makrofágů a jejich membránou, čímž stimulovala sekreci mikrovezikul. Membránové proteiny mikrovezikul jsou podobné těm v makrofázích, což naznačuje, že mají podobnou schopnost míření na zánětlivá místa. Nanočástice z PLGA byly poté potaženy mikrovezikuly a naplněny takrolimem. Studie prokázaly, že tento biomimetický nanomateriál má silnější cílené a protizánětlivé účinky než nanočástice potažené membránami červených krvinek [61].

Headland a kol. zjistili, že v synoviální kloubní tekutině se nachází velké množství mikrovezikul odvozených z neutrofilů. Proto je spojili s protizánětlivým membránovým proteinem A1 a vytvořili tak komplex protein-mikrovezikul, který prokázal ochranný účinek na klouby [61].



**Obrázek 6:** Kloub s aktivním zánětem a kloub chráněný nanočásticemi potaženými neutrofilní membránou, převzato a upraveno dle [62].

In vitro experimenty ukázaly, že tento komplex může vést k akumulaci extracelulárního matrix a ochraně chrupavky tím, že snižuje produkci interleukinu-8 a prostaglandinu E2. Nitrokloubní injekce daného komplexu dokáže snížit degradaci chrupavky a zvýšit produkci transformačního růstového faktoru- $\beta$  v chondrocytech, který podporuje protizánětlivé účinky, regulaci obnovy chrupavky a modulaci imunitní odpovědi [61].

Zhang a kol. použili přímo nanočástice potažené neutrofilními membránami k zmírnění poškození kloubů. V modelech myší artritidy indukované kolagenem a v modelech transgenních myší s lidskou artritidou tyto nanočástice snižovaly produkci prozánětlivých faktorů, potlačovaly zánět synovia, chránily chrupavku a vykazovaly významné terapeutické účinky [61].

Hu a kol. využili membrány červených krvinek k potažení polymerních nanočástic. Částice z PLGA byly extrudovány s vezikuly odvozené od červených krvinek, čímž vznikly nanočástice napodobující membrány červených krvinek, které mají lepší poločas rozpadu v těle a mohou být využity k dlouhodobému transportu léků [61].

### 8.2.2. Nanosystémy s exozomy

Exozomy jsou malé membránové váčky uvnitř buněk, které se podílejí na různých biologických a patologických procesech. Mají výrazné výhody oproti liposomovým a polymerním technologiím dodávání léčiv, vzhledem k tomu, že nevyvolávají imunitní

odpověď z důvodu podobnosti buňkám těla. Glukokortikoidy mají silný protizánětlivý účinek proti revmatoidní artritidě, ale jejich použití je omezeno kvůli nespecifickému rozmístění organismem, dále také z důvodu výrazných vedlejších účinků při dlouhodobé léčbě. Exozomy jsou novou terapeutickou strategií, a prozatím nebyly prováděny extenzivní výzkumy na tento nanosystém [60].

Ve studii od Yana a kolegů byly vyvinuty biomimetické nanosystémy odvozené z exozomů, které jsou cíleny na zanícené klouby revmatoidní artritidy. Autoři vyvinuli nanonosič s biomimetickým exozomem, který obsahoval dexamethason fosfát. Povrch NP byl modifikován sloučeninou kyseliny listové, polyethylenglykolem a cholesterolem, se záměrem vytvořit aktivní systém cíleného dodávání léčiva. Tento přístup ukázal zvýšenou schopnost pohlcování a silný protizánětlivý účinek tím, že inhiboval prozánětlivé cytokiny a podporoval anti-zánětlivé cytokiny. Biodistribuční studie odhalily, že tento aktivní nanosystém se lépe hromadí v zánětlivých místech než jiné formulace dexamethasonu. V experimentu na laboratorních myších s indukovanou artritidou nanosystém lépe chránil kosti a chrupavky a výrazně snížil zánětlivé změny v kloubech. Navíc testy bezpečnosti in vivo ukázaly minimální toxicitu pro játra a příznivou biokompatibilitu [60].

### 8.3. Využití nanomateriálů v kloubních náhradách

Využití nanotechnologie při léčbě RA může být různorodé. Například při náhradě kloubu představují peptidové nanovláknité scaffoldové struktury slibnou možnost pro pacienty s chronickou RA, kteří nedostatečně reagují na léky. Tkáně jsou rekonstruovány pomocí tkáňového inženýrství, což obnovuje strukturu poškozených tkání v zanícených kloubech a navrácí kloubu jeho biologické funkce. Náhrada kloubu u pacientů s RA často vede k infekcím kostí a kloubů, a tyto náhrady je potřeba měnit každých 5 let. Při operaci se nahrazují poškozené části umělým kloubem. Použití nano-scaffoldu v poškozené chrupavce, který se podobá přirozené extracelulární matrici s antibakteriálními vlastnostmi, může poskytnout účinnou strukturu pro opravu tkání. Nanokompozity s 3 D strukturou jsou ideální pro růst kostí a umožňují přenos růstových faktorů, antibiotik a protizánětlivých léků pro tkáňové inženýrství. Mezi nejvíce biokompatibilní nano-scaffoldy pro regeneraci tkání ortopedických implantátů patří nanočástice oxidu křemičitého, nanovláknna z chitosan-polygalakturonové kyseliny/hydroxyapatitu a nanočástice stříbra [63].



## 9. ZHODNOCENÍ TERAPEUTICKÉHO POTENCIÁLU NANOČÁSTIC V LÉČBĚ CHRONICKÝCH ZÁNĚTLIVÝCH ONEMOCNĚNÍ

Během posledních 20 let došlo k významnému nárůstu výzkumu nanomateriálů díky jejich mnoha aplikacím v medicíně, fotonice a elektronice například v elektronických senzorech, energetických zařízeních, opalovacích krémech a biomedicínských zařízeních. Klinické využití nanomateriálů však stále čelí výzvám [64].

Výzkum toxicity je důležitý pro plné porozumění základním interakcím nanomateriálů s přírodními tkáněmi, jelikož nanotechnologie má významný dopad v oblasti spotřebních a biomedicínských aplikací. Je nutné pochopit přesnou roli nanomateriálů uvnitř živého organismu. Pokud by byly nanočástice aplikovány do lidského těla, je důležité přesně sledovat, jak NP-naložená terapeutika působí a jak jsou distribuovány do tkání. Vyloučení nanomateriálů může probíhat přes plíce, játra nebo ledviny, což ztěžuje předpovídání jejich dlouhodobého chování [64]. Zásadní je zajistit bezpečnost klinických nanoformulací. Například široce používaný biodegradovatelný polymer PLGA může v těle vyvolat zánět přes produkty rozkladu a interakcí s makrofágy. Dalším problémem jsou zvířecí modely chronických zánětů, které často nedosahují klinických standardů. Většina studií na živých organismech, které zkoumají diagnostiku a léčbu zánětů, se zaměřuje na raná stadia zvířecích modelů, přičemž se jen zřídka využívají větší zvířata nebo klinické studie [65].

Navzdory těmto výzvám mají nanomateriály velký potenciál pro zlepšení diagnostiky a léčby zánětů. Proto je nezbytná jejich optimalizace. V oblasti léčby je užitečný návrh systémů podávání léku založený na typu a místě zánětu, tím by se minimalizovaly vedlejší účinky a zlepšila se účinnost. Zaměření se na více zánětlivých signálních drah také může být efektivní. Je důležité provádět studie na živých organismech, aby se zjistila terapeutická účinnost a vyřešila se možná rizika. Dále je zásadní zajistit přesné a konzistentní složení, velikosti, metody syntézy, dávky a způsoby podávání terapeutik, aby byla zajištěna účinnost léčby zánětů a rychlejší proces schvalování [65].

Doufejme že, v budoucnosti budou prospěšné spolupráce mezi různými obory, které pomohou posunout nanomateriály z laboratoří do klinické praxe, čímžlepší kvalitu života a zachrání více životů. Nanotechnologie je totiž užitečná nejen v terapii ale také v diagnostice [65].

## 10. ZÁVĚR

Tato bakalářská práce se zaměřuje na chronická zánětlivá onemocnění, která silně ovlivňují kvalitu života pacientů a vedou až k smrtelným následkům. Manifestace onemocnění zasahují do každodenních aktivit, a to od mladého věku až po starší pacienty. Cílem je zaměřit se na jednotlivé nanomateriály a jak by mohly do budoucna napomoci k lepší kvalitě života.

Jednotlivé nanomateriály nabízí unikátní vlastnosti, například biodegradovatelné polymerní NP pro léčbu IBD, které nemají velké riziko toxicity takové jako anorganické NP. Kombinace více stimulačních faktorů v jednom systému NDDS by mohlo také poskytnout příznivější výsledky. Pro aterosklerózu prezentují IONP s magnetickými vlastnostmi možnost využití pro terapii, jsou netoxické a jednoduše připravitelné. Byly by též schopny zaměřovat se na jednotlivé zánětlivé systémy. Na revmatoidní artritidu mohou mít vliv NP polymerní, a vzhledem k jejich rozsáhlému pokrytí ve studiích se nabízí úpravy s benefity bionickými.

Využití NP nemusí být pouze terapeutické ale i diagnostické a užitečné v kloubních náhradách. Prozatím nejsou terapeutické nanočástice využívány v praxi, jsou však významnou nadějí pro posunutí tradiční léčby.

## 11. POUŽITÁ LITERATURA

- [1] Bennett JM, Reeves G, Billman GE, Sturmberg JP. Inflammation–Nature’s Way to Efficiently Respond to All Types of Challenges: Implications for Understanding and Managing “the Epidemic” of Chronic Diseases. *Frontiers in Medicine*. 2018; 5:1-4. doi:10.3389/fmed.2018.00316.
- [2] Hannoodee S, Nasuruddin D. Acute inflammatory response. Treatment & Management | Point of Care. <https://www.statpearls.com/point-of-care/17156>. [cit. 30.10. 2024].
- [3] Pahwa R, Jialal I, Goyal A. Chronic inflammation. Treatment & Management | Point of Care. <https://www.statpearls.com/point-of-care/19530>. [cit. 30.10. 2024].
- [4] Abdulkhaleq LA, Assi MA, Abdullah R, Zamri-Saad M, Taufiq-Yap YH, Hezmee MNM. The crucial roles of inflammatory mediators in inflammation: A review. *Vet World*. 2018; 11(5):627-635. doi:10.14202/vetworld.2018.627-635.
- [5] Fujiwara N, Kobayashi K. Macrophages in inflammation. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy*. 2005; 4(3):281-286. doi:10.2174/1568010054022024.
- [6] Bonilla FA, Oettgen HC. Adaptive immunity. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2010; 125(2):33-40. doi:10.1016/j.jaci.2009.09.017.
- [7] Chen L, Deng H, Cui H, et al. Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. *Oncotarget*. 2017; 9(6):7204-7218. doi:10.18632/oncotarget.23208.
- [8] Purohit M, Gupta G, Afzal O, et al. Janus kinase/signal transducers and activator of transcription (JAK/STAT) and its role in Lung inflammatory disease. *Chemico-Biological Interactions*. 2023; 371:110334. doi:10.1016/j.cbi.2023.110334.
- [9] Liu T, Zhang L, Joo D, Sun SC. NF- $\kappa$ B signaling in inflammation. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2017; 2(1):1-5. doi:10.1038/sigtrans.2017.23.
- [10] Israel A. The IKK complex, a central regulator of NF – kappaB activation. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. 2009; 2(3):a000158. doi:10.1101/cshperspect.a000158.
- [11] Seyedian SS, Nokhostin F, Malamir MD. A review of the diagnosis, prevention, and treatment methods of inflammatory bowel disease. *Journal of Medicine and Life*. 2019; 12(2):113-122. doi:10.25122/jml-2018-0075.

- [12] Serafini MA, Paz AH, Nunes NS. Cholinergic immunomodulation in inflammatory bowel diseases. *Brain Behavior & Immunity – Health*. 2021; 19:100401. doi:10.1016/j.bbih.2021.100401.
- [13] McDowell C, Haseeb M, Farooq U. Inflammatory bowel disease. Treatment & Management | Point of Care. <https://www.statpearls.com/point-of-care/18477>. [cit. 30.10. 2024].
- [14] Viscido A, Capannolo A, Latella G, Caprilli R, Frieri G. Nanotechnology in the treatment of inflammatory bowel diseases. *Journal of Crohn S and Colitis*. 2014; 8(9):903-918. doi:10.1016/j.crohns.2014.02.024.
- [15] Falk E. Pathogenesis of atherosclerosis. *Journal of the American College of Cardiology*. 2006; 47(8):C7-C12. doi:10.1016/j.jacc.2005.09.068.
- [16] Henein MY, Vancheri S, Longo G, Vancheri F. The role of inflammation in cardiovascular disease. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022; 23(21):12906. doi:10.3390/ijms232112906.
- [17] Zhang S, Liu Y, Cao Y, et al. Targeting the microenvironment of Vulnerable atherosclerotic Plaques: An Emerging Diagnosis and therapy Strategy for Atherosclerosis. *Advanced Materials*. 2022; 34(29):e2110660. doi:10.1002/adma.202110660.
- [18] Smolen JS, Aletaha D, McInnes IB. Rheumatoid arthritis. *The Lancet*. 2016; 388(10055):2023-2038. doi:10.1016/s0140-6736(16)30173-8.
- [19] Wasserman AM. Diagnosis and management of rheumatoid arthritis. AAFP. <https://www.aafp.org/pubs/afp/issues/2011/1201/p1245.html>. [cit. 30.10. 2024].
- [20] Wasserman A. Rheumatoid arthritis: Common questions about diagnosis and management. AAFP. <https://www.aafp.org/pubs/afp/issues/2018/0401/p455.html>. [cit. 30.10. 2024].
- [21] Visser H. Early diagnosis of rheumatoid arthritis. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*. 2004; 19(1):55-72. doi:10.1016/j.berh.2004.08.005.
- [22] Littlejohn EA, Monrad SU. Early diagnosis and treatment of rheumatoid arthritis. *Primary Care Clinics in Office Practice*. 2018; 45(2):237-255. doi:10.1016/j.pop.2018.02.010.

- [23] Rahimizadeh P, Rezaieyazdi Z, Behzadi F, Hajizade A, Lim SI. Nanotechnology as a promising platform for rheumatoid arthritis management: Diagnosis, treatment, and treatment monitoring. *International Journal of Pharmaceutics*. 2021; 609:121137. doi:10.1016/j.ijpharm.2021.121137.
- [24] Barani M, Rahdar A, Sargazi S, Amiri MS, Sharma PK, Bhalla N. Nanotechnology for inflammatory bowel disease management: Detection, imaging and treatment. *Sensing and Bio-Sensing Research*. 2021; 32:100417. doi:10.1016/j.sbsr.2021.100417.
- [25] Ventola CL. The Nanomedicine Revolution: Part 1: Emerging Concepts. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3462600/>. [cit. 30.10. 2024].
- [26] Krukemeyer, Manfred Georg, Krenn, Veit, F, Huebner. History and possible uses of nanomedicine based on nanoparticles and nanotechnological progress. *Journal of Nanomedicine & Nanotechnology*. 2015; 6:1-7. doi:10.4172/2157-7439.1000336.
- [27] Afzal O, Altamimi ASA, Nadeem MS, et al. Nanoparticles in drug delivery: From history to therapeutic applications. *Nanomaterials*. 2022; 12(24):4494. doi:10.3390/nano12244494.
- [28] Giron F, Pastó A, Tasciotti E, Abraham BP. Nanotechnology in the treatment of inflammatory bowel disease. *Inflammatory Bowel Diseases*. 2019; 25(12):1871-1880. doi:10.1093/ibd/izz205.
- [29] Yang C, Merlin D. Can naturally occurring nanoparticle-based targeted drug delivery effectively treat inflammatory bowel disease? *Expert Opinion on Drug Delivery*. 2019; 17(1):1-4. doi:10.1080/17425247.2020.1698543.
- [30] Zhang Y, Wang T, Sun M, et al. Advanced Nanomedicine: Redefining therapeutic paradigms for inflammatory bowel Disease. *Advanced Healthcare Materials*. 2023; 12(19):e2300069. doi:10.1002/adhm.202300069.
- [31] Yang C, Merlin D. Nanoparticle-Mediated Drug Delivery Systems For The Treatment Of IBD: Current Perspectives. *International Journal of Nanomedicine*. 2019; 14:8875-8889. doi:10.2147/IJN.S210315.
- [32] Li M, Liu Y, Weigmann B. Biodegradable Polymeric Nanoparticles Loaded with Flavonoids: A Promising Therapy for Inflammatory Bowel Disease. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023; 24(5):4454. doi:10.3390/ijms24054454.

- [33] Li DF, Yang MF, Xu HM, et al. Nanoparticles for oral delivery: targeted therapy for inflammatory bowel disease. *Journal of Materials Chemistry B*. 2022; 10(31):5853-5872. doi:10.1039/d2tb01190e.
- [34] Li M, Liu Y, Weigmann B. Biodegradable Polymeric Nanoparticles Loaded with Flavonoids: A Promising Therapy for Inflammatory Bowel Disease. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023; 24(5):4454. doi:10.3390/ijms24054454.
- [35] Lamprecht A, Schäfer U, Lehr C. Size-dependent bioadhesion of micro – and nanoparticulate carriers to the inflamed colonic mucosa. *Pharmaceutical Research*. 2001; 18(6):788-793. doi:10.1023/a:1011032328064.
- [36] Watanabe A, Tanaka H, Sakurai Y, et al. Effect of particle size on their accumulation in an inflammatory lesion in a dextran sulfate sodium (DSS)-induced colitis model. *International Journal of Pharmaceutics*. 2016; 509(1-2):118-122. doi:10.1016/j.ijpharm.2016.05.043.
- [37] Wang L, Yu M, Yang H. Recent progress in the diagnosis and precise NanoCarrier-Mediated therapy of inflammatory bowel disease. *Journal of Inflammation Research*. 2021; 14:1701-1716. doi:10.2147/jir.s304101.
- [38] Yang M, Zhang Y, Ma Y, et al. Nanoparticle-based therapeutics of inflammatory bowel diseases: a narrative review of the current state and prospects. *Journal of Bio-X Research*. 2020; 3(04):157-173. doi:10.1097/jbr.0000000000000078.
- [39] Zhang M, Merlin D. Nanoparticle-Based oral drug delivery systems targeting the colon for treatment of ulcerative colitis. *Inflammatory Bowel Diseases*. 2018; 24(7):1401-1415. doi:10.1093/ibd/izy123.
- [40] Peters LJF, Jans A, Bartneck M, Van Der Vorst EPC. Immunomodulatory nanomedicine for the treatment of atherosclerosis. *Journal of Clinical Medicine*. 2021; 10(14):3185. doi:10.3390/jcm10143185.
- [41] Bejarano J, Navarro-Marquez M, Morales-Zavala F, et al. Nanoparticles for diagnosis and therapy of atherosclerosis and myocardial infarction: evolution toward prospective theranostic approaches. *Theranostics*. 2018; 8(17):4710-4732. doi:10.7150/thno.26284.
- [42] Cheng J, Huang H, Chen Y, Wu R. Nanomedicine for diagnosis and treatment of atherosclerosis. *Advanced Science*. 2023; 10(36): 1-10. doi:10.1002/advs.202304294.

- [43] Nasr SH, Huang X. Nanotechnology for targeted therapy of atherosclerosis. *Frontiers in Pharmacology*. 2021; 12:5-6. doi:10.3389/fphar.2021.755569.
- [44] Duivenvoorden R, Tang J, Cormode DP, et al. A statin-loaded reconstituted high-density lipoprotein nanoparticle inhibits atherosclerotic plaque inflammation. *Nature Communications*. 2014; 5(1). doi:10.1038/ncomms4065.
- [45] Nguyen PHD, Jayasinghe MK, Le AH, Peng B, Le MTN. Advances in drug delivery systems based on red blood cells and their Membrane-Derived nanoparticles. *ACS Nano*. 2023; 17(6):5187-5210. doi:10.1021/acsnano.2c11965.
- [46] Udriște AS, Burdușel A, Niculescu AG, Rădulescu M, Grumezescu A. Metal-Based nanoparticles for cardiovascular diseases. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024; 25(2):1001. doi:10.3390/ijms25021001.
- [47] Abdullah NH, Shameli K, Abdullah EC, Abdullah LC. Solid matrices for fabrication of magnetic iron oxide nanocomposites: Synthesis, properties, and application for the adsorption of heavy metal ions and dyes. *Composites Part B Engineering*. 2018; 162:538-568. doi:10.1016/j.compositesb.2018.12.075.
- [48] Schneider MGM, Lassalle VL. Magnetic iron oxide nanoparticles as novel and efficient tools for atherosclerosis diagnosis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2017; 93:1098-1115. doi:10.1016/j.biopha.2017.07.012.
- [49] Zong Q, He C, Long B, et al. Targeted delivery of nanoparticles to blood vessels for the treatment of atherosclerosis. *Biomedicines*. 2024; 12(7):1504. doi:10.3390/biomedicines12071504.
- [50] De Bittencourt PIH, Lagranha DJ, Maslinkiewicz A, et al. LipoCardium: Endothelium-directed cyclopentenone prostaglandin-based liposome formulation that completely reverses atherosclerotic lesions. *Atherosclerosis*. 2007; 193(2):245-258. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2006.08.049.
- [51] Tang J, Li T, Xiong X, et al. Colchicine delivered by a novel nanoparticle platform alleviates atherosclerosis by targeted inhibition of NF- $\kappa$ B/NLRP3 pathways in inflammatory endothelial cells. *Journal of Nanobiotechnology*. 2023; 21(1). doi:10.1186/s12951-023-02228-z.

- [52] Shi Y, Dong M, Wu Y, et al. An elastase-inhibiting, plaque-targeting and neutrophil-hitchhiking liposome against atherosclerosis. *Acta Biomaterialia*. 2023; 173:470-481. doi:10.1016/j.actbio.2023.11.020.
- [53] Wang S, He H, Mao Y, Zhang Y, Gu N. Advances in atherosclerosis theranostics harnessing iron Oxide-Based nanoparticles. *Advanced Science*. 2024; 11(17). doi:10.1002/advs.202308298.
- [54] Wang L, Tang C. Targeting platelet in atherosclerosis plaque Formation: Current knowledge and future Perspectives. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020; 21(24):9760. doi:10.3390/ijms21249760.
- [55] Vazquez-Prada KX, Lam J, Kamato D, Xu ZP, Little PJ, Ta HT. Targeted molecular imaging of cardiovascular diseases by iron oxide nanoparticles. *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology*. 2021; 41(2):601-613. doi:10.1161/atvbaha.120.315404.
- [56] Stepien G, Moros M, Pérez-Hernández M, et al. Effect of surface chemistry and associated protein corona on the Long-Term biodegradation of iron oxide nanoparticles in vivo. *ACS Applied Materials & Interfaces*. 2018; 10(5):4548-4560. doi:10.1021/acsami.7b18648.
- [57] Hu CMJ, Zhang L, Aryal S, Cheung C, Fang RH, Zhang L. Erythrocyte membrane-camouflaged polymeric nanoparticles as a biomimetic delivery platform. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2011; 108(27):10980-10985. doi:10.1073/pnas.1106634108.
- [58] Siddique R, Mehmood MH, Haris M, Saleem A, Chaudhry Z. Promising role of polymeric nanoparticles in the treatment of rheumatoid arthritis. *Inflammopharmacology*. 2022; 30(4):1207-1218. doi:10.1007/s10787-022-00997-x.
- [59] Angela S, Fadhilah G, Hsiao WWW, et al. Nanomaterials in the treatment and diagnosis of rheumatoid arthritis: Advanced approaches. *SLAS TECHNOLOGY*. 2024; 29(4):100146. doi:10.1016/j.slant.2024.100146.
- [60] Liang W, Yu Y, Liu Z, et al. The therapeutic potential of targeted nanoparticulate systems to treat rheumatoid arthritis. *Journal of Nanomaterials*. 2022; 2022(1). doi:10.1155/2022/8900658.



- [61] Zheng M, Jia H, Wang H, et al. Application of nanomaterials in the treatment of rheumatoid arthritis. *RSC Advances*. 2021; 11(13):7129-7137. doi:10.1039/d1ra00328c.
- [62] Liu J, Liu Z, Pang Y, Zhou H. The interaction between nanoparticles and immune system: application in the treatment of inflammatory diseases. *Journal of Nanobiotechnology*. 2022; 20(1). doi:10.1186/s12951-022-01343-7.
- [63] Rahimizadeh P, Rezaieyazdi Z, Behzadi F, Hajizade A, Lim SI. Nanotechnology as a promising platform for rheumatoid arthritis management: Diagnosis, treatment, and treatment monitoring. *International Journal of Pharmaceutics*. 2021; 609:121137. doi:10.1016/j.ijpharm.2021.121137.
- [64] Domb AJ, Sharifzadeh G, Nahum V, Hosseinkhani H. Safety evaluation of nanotechnology products. *Pharmaceutics*. 2021; 13(10):1615. doi:10.3390/pharmaceutics13101615.
- [65] Liu Y, Lin Z, Wang Y, Chen L, Wang Y, Luo C. Nanotechnology in inflammation: cutting-edge advances in diagnostics, therapeutics and theranostics. *Theranostics*. 2024; 14(6):2490-2525. doi:10.7150/thno.91394.